

젖산발효에 의한 혼합과채음료 제조의 최적화

김수연 · 최언호*

서울여자대학교 식품과학부

Optimization for the Lactic Acid Fermentation of Mixed Fruit and Vegetable Juices

Su-Yeun Kim and Eon-Ho Choi*

Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University

An optimization for fermentation processes to make lactic acid juice with the extracts from apples, carrots, celery, watercress, jujube and lycii (3:3:1:1/2:1:1/2) using co-cultures of *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus cellobiosus* isolated from Dongchimi had been investigated on the emphasis of composition of sugars and sodium chloride at various temperatures. The concentration of sugars less than 25% and salt less than 0.8% did not affect remarkably the cell growth of lactic acid bacteria and acid formation during fermentation. The fermenting juice showed increases in the population of lactic acid bacteria and acidity, and decreases in population of coliform bacteria and sugar concentration with high cultural temperature. At 25°C viscous substance was not formed as it had at 15°C. The optimum composition, based on the sensory evaluation, was determined to be oligosaccharide and 0.2% for sodium chloride. It took 3 days to produce the most preferable juice of pH 3.62 at 25°C. At the optimal state the fermented juice showed viable cell counts (cfu/mL) of exponential numbers 8 for lactic acid bacteria and 4 for yeast. Coliform bacteria which had been 5.6×10^2 cfu/mL at the beginning of fermentation were not detected.

Key words: juices, fruits and vegetables, lactic acid fermentation, oligosaccharides, sodium chloride

서 론

과채발효는 당을 주요 기질로 하여 일어나는 젖산발효가 대부분이다. Fleming⁽¹⁾은 곡물과 채소류의 발효는 재료 중에 함유되어 있는 미생물의 종류, 당의 종류와 농도 등이 최종 제품의 품질에 크게 영향을 미친다고 보고하였다.

젖산균은 생육환경에 따라 생리적인 특성이 다를 수 있으므로 당 이용능이 달라질 수 있다⁽²⁻⁴⁾. 정 등⁽⁵⁾은 김치에 첨가한 당류가 발효를 촉진시키지는 않았으나 풍미는 약간 향상시켰다고 보고하였고, 여⁽⁶⁾는 25°C에서 야채 발효시 초기 당 농도가 낮은 구간에서 이상취가 많이 생성되어 관능적으로 바람직하지 않다고 보고하였다. 그 외 발효성 당의 함량이 발효에 미치는 영향과 발효성 당의 함량을 조절하여 저장성을 향상시키는 연구가 보고되었고⁽⁷⁻⁹⁾, 발효시 설탕 대신 올리고당을 첨가하여 발효시킴으로 발효시 당의 안정성을 향

상시킬 수 있었다는 보고도 있다⁽¹⁰⁾.

과채 및 김치의 품질은 발효시 첨가되는 식염의 농도에 따라 서로 달라진다. 이와 이⁽¹¹⁾는 배추김치와 동치미 발효시 소금 농도가 0.2~0.5%일 때 젖산균의 발육이 왕성하며 산의 생성이 많고, 3.5% 이상에서는 산의 생성이 억제된다고 하였고, 민과 권⁽¹²⁾은 김치 발효시 소금 농도가 2.25%일 때가 5.0% 또는 7.0%일 때보다 총산도가 더 높았으며 최고에 도달하는데 걸리는 시간도 짧았다고 보고하였다. Sauerkraut⁽¹³⁾은 식염 농도 2%일 때 25°C에서 15~20일간의 발효 후에 최적 pH 3.5, 산도 1.6~2.0%에 도달하였고, pickle⁽¹⁴⁾의 경우 식염 농도 1.5%일 때 25°C 발효시 42~63일째에 최적 pH 3.5, 산도 0.6~0.8%에 도달한다고 보고된 바 있다.

발효식품은 발효에 관여하는 미생물의 종류와 증식 양상이 온도의 영향을 크게 받기 때문에 발효온도에 따라 이화학적 특성과 관능적 품질이 달라진다⁽¹⁵⁻²⁵⁾. 과채의 발효 및 숙성기간 중에 젖산균과 같은 통성혐기성균은 발효가 진행됨에 따라 그 수가 계속 증가하나 호기성 세균은 감소하다가 숙성발기에 다시 증가한다고 보고되고 있다⁽¹⁾. Starmer 등⁽²⁶⁾은 온도에 따른 sauerkraut의 발효양상을 연구, 보고하였고, 여⁽⁶⁾는 당근, 토마토, 오이, 당근잎의 혼합야채를 온도를 달리하여 발효시 25°C에서 초기 당 농도에 관계없이 목적인 산

*Corresponding author : Eon-Ho Choi, Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University, 126 Kongnung 2-dong, Nowon-gu, Seoul 139-774, Korea
Tel: 82-2-970-5634
Fax: 82-2-970-5639
E-mail: ehchoi@swu.ac.kr

도를 얻을 수 있었다고 하였다. 김치 및 과채를 저온에서 발효시키면 중온 또는 고온에서 발효시킬 때보다 숙성에 소요되는 시간은 훨씬 오래 걸리지만 휘발산, 탄산, 알콜 등의 성분들의 양이 많아져 발효식품의 풍미가 좋아진다고 보고되고 있다⁽¹⁵⁻¹⁸⁾.

젖산음료의 향미는 젖산균의 종류와 생육속도에 크게 지배되고 젖산균의 생육과 산생성능은 당과 식염의 농도에 크게 지배된다. 따라서 본 연구에서는 혼합과채즙의 젖산발효시 젖산균의 생육과 산생성능 등에 효과적인 환경조건을 만들어주기 위하여 식염 농도, 당 종류와 농도, 배양 온도에 따른 젖산균의 발효능과 성분변화를 조사하여 최적화를 시키고자 하였다.

재료 및 방법

과채 착즙액의 혼합

전보⁽²⁷⁾에서와 같이 사과, 당근, 샐러리, 돌미나리, 대추, 구기자의 착즙액을 3:3:1:1/2:1:1/2의 비율로 혼합하였다. 녹색채소(돌미나리, 샐러리)는 착즙 전에 끓는 물에 30초, 당근은 끓는 0.05 M acetic acid(사과양조식초, 오투기)에서 1분간 데치기를 한 후 착즙기(엔젤 녹즙기)로 마쇄, 착즙하였고, 대추, 구기자는 물에 넣어 끓인 후 포로 여과하여 그 여액을 사용하였다^(27,28).

공시균주

본 연구실에서 동치미로부터 분리⁽²⁷⁾한 *Leuconostoc mesenteroides* M5-17, *Lactococcus lactis* M30-11, *Lactobacillus cellobiosus* Y30-1를 젖산발효균주로 사용하였다.

당과 식염의 첨가

당: 과즙 혼합액에 식염을 0.2% 되게 첨가하고 glucose, fructose, sucrose, fructooligosaccharide(대상), isomaltooligosaccharide(대상)를 각각 당도가 20oBrix가 되게 첨가하였다. 한편 fructooligosaccharide의 농도를 0, 10, 15, 20, 25, 30%(w/v)로 조절하여 과채즙에 첨가하였다.

식염(NaCl): Fructooligosaccharide를 15% 함유하는 과채즙에 식염농도를 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8% 되게 첨가하였다.

배양온도와 젖산발효

각 균주를 MRS 배지(Difco) 5 mL에 접종하여 25°C에서 24시간 전배양하고 당과 식염이 첨가된 과채즙에 0.01%로 접종하여 15, 25, 35°C에서 9일간 발효하였다.

품질평가

미생물 계수: 발효액 0.5 mL를 0.85% NaCl 용액 4.5 mL에 현탁하고 이를 10배 단위로 희석한 후 coliform bacteria는 Macconkey agar(Difco)를 사용하여 spread plating 방법으로, 총젖산균은 0.02% sodium azide가 함유된 Lactobacilli MRS agar(Difco)를 사용하여 pour plating 방법으로 측정하였다.

pH 및 적정산도: 시료 10 mL를 pH meter(Suntex, model sp-5A)로 pH를 측정한 다음, pH 8.3이 될 때까지 0.1 N NaOH를 적하하고 시료 100 mL당 0.1 N NaOH 용액의 소

비 mL수를 적정산도로 나타내었다.

당도: 발효액을 굴절당도계(Hand refractometer, No. 507-I, NOW, Japan)를 사용하여 당도를 측정하였다.

관능검사: 선호도 검사는 20대의 여성 40명을 임의로 선정하여 실시하였고, 그 결과는 순위합에 의해서 통계처리하였다⁽²⁹⁾. 당의 첨가시기를 결정하기 위한 관능검사는 이점기호검사를 실시하고 그 결과는 단축검정에 의해 유의성 차이를 비교하였다⁽³¹⁾.

결과 및 고찰

당의 첨가

당의 종류: 젖산균의 생육, 산생성능, 관능적으로 좋은 영향을 미칠 수 있는 당의 종류와 농도를 선정하기 위하여 여러 당을 첨가하여 발효특성을 비교, 조사하였다. 당을 첨가하지 않은 과채즙의 초기 당농도는 8.4°Brix였고, 여기에 glucose, fructose, fructooligosaccharide, isomaltooligosaccharide를 20°Brix가 되게 첨가한 후 25°C에서 9일간 발효시킨 결과는 Table 1과 같다.

발효 초기 젖산균수는 8.40~9.40×10⁵ cfu/mL이던 것이 fructose를 첨가한 구에서는 발효 1일째 1.11×10⁹ cfu/mL까지 증가하여 발효 3일째 1.64×10⁹ cfu/mL까지 증가하였다가 6일째부터 점차 감소하기 시작하여 발효 9일째 1.43×10⁸ cfu/mL이 되었으나 다른 모든 구에서는 발효 1일만에 10⁸ cfu/mL로 단위로 증가하였고, 그 후부터 발효 9일째까지 젖산균수는 큰 변화가 없었다. Coliform bacteria 수는 발효 초기 2.90~3.40×10² cfu/mL이던 것이 발효 2일째 모든 구에서 검출되지 않았다.

pH는 발효초기 4.94~5.02이던 것이 발효가 진행됨에 따라 점차 감소하여 발효 9일째 3.35~3.39로, pH 저하에는 당의 종류가 영향을 미치지 못하였다. 이는 원료로 사용된 혼합과채즙 내에 있는 당만으로 젖산균이 생육하기에 충분한 것으로 여겨진다. 반면 첨가 당 종류간에 pH 변화는 차이가 없었으나 적정산도는 오히려 당을 첨가하지 않은 대조구가 당을 첨가한 구에 비해 더 높게 나왔음을 알 수 있다. pH는 거의 동일하나 적정산도가 더 높게 나온 것으로 보아 당첨가구에 비해 대조구의 경우 산도가 강한 유기산을 더 많이 생성한 것으로 추측된다.

당도는 발효 4일째까지 거의 변화가 없다가 6일째부터 서서히 감소되었다.

순위법에 의해 기호도검사를 실시한 결과 전체적인 선호도는 fructooligosaccharide 첨가구, isomaltooligosaccharide 첨가구, glucose 첨가구, fructose 첨가구, 무첨가구 순으로 무첨가구와 올리고당 첨가구는 1% 유의수준에서 차이가 있었다. 올리고당을 첨가한 구에서는 부드러운 맛과 발효 과채간에 조화가 있었다는 의견이 많았고, 당을 첨가하지 않은 구의 경우 신맛이 너무 강해 기호도가 낮게 나왔다.

당의 농도: 관능특성이 좋고 장내세균, 즉 비피더스균을 증식시켜 줄 수 있으며 또한 미생물에 의해 분해되지 않아 체내에서 흡수되지 않음으로 당뇨병과 같은 성인병 예방을 고려하여 fructooligosaccharide를 선정하고 과채즙스에 0~30% (w/v)의 당을 첨가하여 25°C에서 9일간 발효한 결과는 Table

Table 1. Effect of sugars on the fermentation properties and preference test of mixed fruit and vegetable juices during coculture of *Leu. mesenteroides*, *Lc. lactis* and *Lb. cellobiosus* at 25°C

Fermentation time (day)	Control (8.4°Brix)	Sugars (20°Brix)			
		Glucose	Fructose	Fructo-oligosaccharide	lto-malto-oligosaccharide
Lactic acid bacteria (cfu/mL)					
0	9.40 × 10 ⁵	8.40 × 10 ⁵	8.35 × 10 ⁵	8.50 × 10 ⁵	8.49 × 10 ⁵
1	6.20 × 10 ⁸	9.20 × 10 ⁸	1.11 × 10 ⁹	7.75 × 10 ⁸	7.50 × 10 ⁸
2	7.10 × 10 ⁸	1.31 × 10 ⁹	1.71 × 10 ⁹	7.90 × 10 ⁸	7.31 × 10 ⁸
3	8.10 × 10 ⁸	8.50 × 10 ⁸	1.64 × 10 ⁹	8.58 × 10 ⁸	8.45 × 10 ⁸
6	6.60 × 10 ⁸	6.57 × 10 ⁸	1.70 × 10 ⁸	7.55 × 10 ⁸	7.32 × 10 ⁸
9	3.51 × 10 ⁸	4.20 × 10 ⁸	1.43 × 10 ⁸	4.85 × 10 ⁸	4.25 × 10 ⁸
Coliform bacteria (cfu/mL)					
0	2.90 × 10 ²	2.90 × 10 ²	3.40 × 10 ²	3.10 × 10 ²	3.02 × 10 ²
1	2.00 × 10 ¹	2.00 × 10 ¹	1.00 × 10 ¹	1.00 × 10 ¹	1.00 × 10 ¹
2	nd	nd	nd	nd	nd
3	nd	nd	nd	nd	nd
6	nd	nd	nd	nd	nd
9	nd	nd	nd	nd	nd
pH					
0	4.99	4.94	4.98	5.02	5.03
1	3.87	3.93	4.00	3.92	3.88
2	3.70	3.66	3.66	3.70	3.68
3	3.56	3.53	3.55	3.57	3.57
6	3.41	3.38	3.39	3.42	3.41
9	3.37	3.35	3.36	3.39	3.34
Titrateable acidity (mL of 0.1 N NaOH/100 mL)					
0	18.0	18.0	18.5	17.5	17.5
1	54.0	43.0	39.0	49.0	48.9
2	88.5	76.0	76.5	79.0	79.6
3	111.0	97.5	98.0	97.0	98.6
6	130.0	121.0	128.0	119.0	123.5
9	162.0	141.0	149.3	159.0	158.3
Soluble solid (°Brix)					
0	8.4	20.5	20.4	20.2	20.3
1	8.3	20.4	20.2	20.0	20.2
2	8.0	20.3	20.2	20.2	20.2
3	8.2	20.2	20.1	20.4	20.1
6	7.8	19.6	19.0	19.0	19.6
9	7.1	18.6	18.4	18.6	18.9
Preference test					
Sum of ranking order*	200 ^b	130 ^{ab}	123 ^{ab}	65 ^a	82 ^a

*The data are obtained from 40 panel members. ^{a,b,c}The most preferable sample is ranked first and the least preferable sample sixth. Means with different superscripts in a column are significantly different at p<0.01.

2와 같다.

발효 초기 총젓산균수는 8.40~9.98 × 10⁵ cfu/mL이던 것이 모든 구에서 발효 1일째에 10⁸ cfu/mL에 도달하였고, 그 후 약간 증가하다가 발효 6일째부터 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. Coliform bacteria는 모든 구에서 발효 2일째에 사라진 것을 관찰할 수 있었다. 여⁽⁶⁾는 15°C에서의 발효는 초기 당농도에 관계없이 목적하는 산도가 얻어지지 않으나 25°C에서의 발효는 10~25°Brix의 초기 당농도 전구간에서 목적하는 산도를 얻었으며, 15, 25°C 온도 구간 모두 초기 당농도 25°Brix 발효인 경우에는 4일 발효 후 총균수의 대부분이 유

산균이었으나 초기 당농도가 낮을수록 유산균 이외에 다른 균들이 있는 것으로 나타났다고 보고하였다.

pH는 당의 농도와는 관계없이 모든 농도에서 1일째에 급격히 감소하여 그 이후에는 서서히 감소하는 경향을 나타내었고 적정산도와 가용성 고형분의 함량도 당의 농도와는 관계가 없음을 알 수 있었다. 정 등⁽⁵⁾의 glucose, lactose, sucrose, potato starch를 2.5% 첨가한 김치는 발효 9일째까지는 당을 첨가하지 않은 김치와 비교할 때 총산도와 pH에 별 차이가 없었다는 보고와 김 등⁽³¹⁾의 깍두기에 1~4%의 포도당을 첨가하여 발효하였을 때 최종 산도 증가나 발효 양상

Table 2. Effect of fructooligosaccharide concentration on the fermentation properties and preference test of mixed fruit and vegetable juices during coculture of *Leu. mesenteroides*, *Lc. lactis* and *Lb. cellobiosus* at 25°C

Fermentation time (day)	Fructooligosaccharides(%)					
	0	10	15	20	25	30
Lacticacidbacteria(cfu/mL)						
0	8.60×10^5	8.40×10^5	9.98×10^6	8.50×10^5	9.00×10^5	8.75×10^5
1	5.40×10^8	6.30×10^9	6.22×10^8	6.60×10^8	8.00×10^8	7.50×10^8
2	8.90×10^8	8.10×10^8	7.90×10^8	7.70×10^8	7.12×10^8	9.50×10^8
3	9.80×10^8	9.40×10^9	9.10×10^8	7.90×10^8	7.20×10^8	9.99×10^8
6	7.22×10^8	7.30×10^8	7.70×10^8	5.40×10^8	5.50×10^8	7.32×10^8
9	4.27×10^8	4.46×10^9	4.52×10^8	3.41×10^8	2.08×10^8	4.39×10^8
Coliformbacteria(cfu/mL)						
0	3.60×10^2	3.40×10^2	4.98×10^2	4.50×10^2	4.00×10^2	3.75×10^2
1	7.00×10^1	5.00×10^1	9.90×10^1	9.00×10^1	9.00×10^1	1.00×10^1
2	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6	nd	nd	nd	nd	nd	nd
9	nd	nd	nd	nd	nd	nd
pH						
0	4.76	4.75	4.76	4.75	4.75	4.78
1	3.83	3.82	3.83	3.83	3.84	3.87
2	3.72	3.71	3.71	3.72	3.71	3.76
3	3.59	3.57	3.57	3.54	3.55	3.61
6	3.42	3.40	3.41	3.38	3.40	3.45
9	3.39	3.37	3.39	3.36	3.38	3.40
Titrateability (mL of 0.1 N NaOH/100 mL)						
0	27.0	26.5	26.0	25.0	24.5	30.0
1	74.0	75.0	70.0	61.0	66.0	82.0
2	106.5	105.0	98.0	96.5	94.1	113.5
3	145.0	145.0	134.0	129.7	126.5	156.5
6	159.0	170.5	165.0	175.0	171.0	190.2
9	170.0	185.0	189.0	190.4	185.2	201.5
Soluble solid (°Brix)						
0	10.0	16.0	19.1	21.0	23.4	25.3
1	9.0	15.0	18.1	20.5	23.0	24.8
2	9.2	15.2	18.0	20.2	22.8	25.0
3	9.3	15.4	18.0	20.7	23.6	25.5
6	9.0	14.8	17.8	20.5	23.0	24.8
9	8.2	14.2	17.1	20.2	22.6	23.9
Preferencetest						
Sum of ranking order*	240 ^b	123 ^{ab}	58 ^a	76 ^a	152 ^{ab}	191 ^b

*The data are obtained from 40 panel members. ^{a,b,c}The most preferable sample is ranked first and the least preferable sample sixth. Means with different superscripts in a column are significantly different at $p < 0.01$.

의 변화는 나타나지 않았다는 보고와 일치하였다.

당의 농도를 달리한 과채즙을 발효 3일째에 관능검사를 실시한 결과 전체적인 선호도는 15, 20, 10, 25, 30, 0% 첨가구 순이었다. 1% 유의수준에서 15, 20% 첨가구와 0, 30% 첨가구간에 차이가 있었다. 주로 단맛을 선호하는 사람의 경우 20%의 당 첨가구에 좋은 점수를 주었고, 단맛에 대한 선호도가 낮은 사람은 15%의 당첨가구에 좋은 점수를 주었으며 25, 30% 첨가구는 지나치게 단맛이 느껴졌고, 0, 10% 첨가구는 신맛이 강하다는 의견이 많았다.

당의 첨가시기: 발효 전 과채즙에 fructooligosaccharide를

15% 첨가하여 3일간 발효하거나, 당을 첨가하지 않은 채 과채즙을 3일간 발효 후 fructooligosaccharide를 15% 첨가하여 관능검사를 실시하였다. 검사 결과 40명의 검사자 중 35명의 검사자들이 발효 전에 당을 첨가하여 발효한 주스에 더 높은 선호도를 보였다. 단맛의 강도나 정도는 거의 비슷하나 발효 전에 당을 넣은 시료의 경우 탁한 맛이 덜하고 상쾌한 신맛이 나지만 발효 후에 당을 넣은 시료의 경우 텁텁하고 끈적이며 점성이 높다는 의견이었다. 이는 정 등⁶⁾의 당류의 첨가가 김치발효를 촉진시키지는 않았으나 풍미는 향상시켰다고 한 보고와 일치하는 결과였다.

Table 3. Effect of sodium chloride concentration on fermentation properties and preference test of mixed fruit and vegetable juices during coculture of *Leu. mesenteroides*, *Lc. lactis* and *Lb. cellobiosus* at 25°C

Fermentation time (day)	Sodium chloride (%)				
	0	0.1	0.2	0.4	0.8
Lactic acid bacteria (cfu/mL)					
0	9.40 × 10 ⁵	1.14 × 10 ⁶	9.37 × 10 ⁵	9.55 × 10 ⁵	9.93 × 10 ⁵
1	6.63 × 10 ⁸	8.00 × 10 ⁸	8.40 × 10 ⁸	8.93 × 10 ⁸	6.97 × 10 ⁸
2	7.40 × 10 ⁸	9.55 × 10 ⁸	1.02 × 10 ⁹	9.40 × 10 ⁸	5.70 × 10 ⁸
3	6.70 × 10 ⁸	9.40 × 10 ⁸	1.07 × 10 ⁹	9.25 × 10 ⁸	7.50 × 10 ⁸
6	4.22 × 10 ⁸	7.30 × 10 ⁸	8.70 × 10 ⁸	7.40 × 10 ⁸	5.50 × 10 ⁸
9	1.27 × 10 ⁸	4.46 × 10 ⁸	6.52 × 10 ⁸	4.41 × 10 ⁸	2.08 × 10 ⁸
Coliform bacteria (cfu/mL)					
0	3.50 × 10 ²	2.50 × 10 ²	2.00 × 10 ²	3.10 × 10 ²	2.40 × 10 ²
1	2.00 × 10 ¹	1.00 × 10 ¹	1.00 × 10 ¹	1.00 × 10 ¹	1.00 × 10 ¹
2	nd	nd	nd	nd	nd
3	nd	nd	nd	nd	nd
6	nd	nd	nd	nd	nd
9	nd	nd	nd	nd	nd
pH					
0	4.78	4.72	4.70	4.65	4.60
1	3.94	3.90	3.91	3.89	3.83
2	3.72	3.66	3.67	3.65	3.66
3	3.65	3.52	3.56	3.52	3.46
6	3.42	3.40	3.40	3.38	3.32
9	3.39	3.37	3.37	3.36	3.30
Titratable acidity (mL of 0.1 N NaOH/100 mL)					
0	27.6	28.0	27.0	27.0	28.0
1	57.0	57.2	57.0	55.0	55.0
2	96.0	97.2	99.2	97.5	96.0
3	150.0	114.0	116.0	115.5	117.0
6	161.0	131.5	158.5	155.0	158.0
9	180.0	165.0	171.0	170.4	175.2
Preferencetest					
Sum of ranking ordera)	114	95*	40**	148**	190**

a)The data were obtained from 40 panel members. The most preferable sample is ranked first and the least preferable sample sixth. *P<0.05. **P<0.01.

식염의 첨가

혼합과채즙에 식염을 각각 0.1, 0.2, 0.4, 0.8%가 되게 과채즙에 첨가하여 발효특성을 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 젓산균은 식염 농도가 0.2%일 때 가장 생육속도가 빨랐고 coliform bacteria는 첨가되는 식염 농도에 관계없이 발효 2일째에 검출되지 않았으며, pH 저하 정도와 적정산도의 증가 속도는 모든 구에서 거의 동일한 것으로 보아 본 과채즙 발효에 사용된 0.2~0.5%의 식염 농도는 과채즙의 발효에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 볼 수 있다. 이는 Pederson⁽³²⁾이 고농도의 식염은 *Leu. mesenteroides*의 성장을 억제하지만 1.0% 정도의 낮은 농도는 오히려 증식을 돕는다고 한 보고와 김⁽³³⁾이 과채즙에 0.5% 식염 첨가시 식염을 첨가하지 않은 과채즙보다 pH 저하속도가 빠르다고 한 보고와도 일치하였다. 또한 배추김치나 동치미에서 식염 농도가 0.2~0.5% 일 때 젓산균의 발육이 왕성하며, 산의 생성이 많고, 3.5% 이상에서는 산의 생성이 억제된다고 한 이와 이⁽¹¹⁾의 보고와 일치하였다. 관능검사를 실시한 결과 기호도는 0.2, 0.1, 0,

0.4, 0.8% 순이었고, 1% 유의수준에서 0.4, 0.8% 첨가구와 0.2% 첨가구간에는 유의적 차이가 있었다. 0.4% 첨가구부터는 짠맛이 느껴지고 0.8%의 식염 첨가시 느끼한 짠맛이 느껴졌다는 의견이 많았다. 이는 낮은 농도의 식염이 발효과채즙의 기호도에 어떠한 상승효과를 부여하는 것이라 볼 수 있다.

배양 온도

앞에서 선정된 조건으로 혼합과채즙에 fructooligosaccharide를 15%, sodium chloride를 0.2%가 되게 첨가하여 15, 25, 35°C에서 9일간 배양하였다.

Starter를 첨가하기 전 혼합과채즙의 미생물 분포는 lactic acid bacteria 1.01×10⁴ cfu/mL, coliform bacteria 5.90×10² cfu/mL로서 야생젓산균의 비율이 그다지 높지 않았다. 젓산균수는 접종 직후 1.20×10⁶ cfu/mL이었으나 15, 25, 35°C 배양시 각각 배양 4, 1, 1일째에 10⁸ cfu/mL에 도달하였고, 15°와 25°C 배양의 경우 배양 4일 이후부터 9일째까지 균수가 거의 일정하게 유지되는 경향을 보였고, 35°C 배양에서는 3

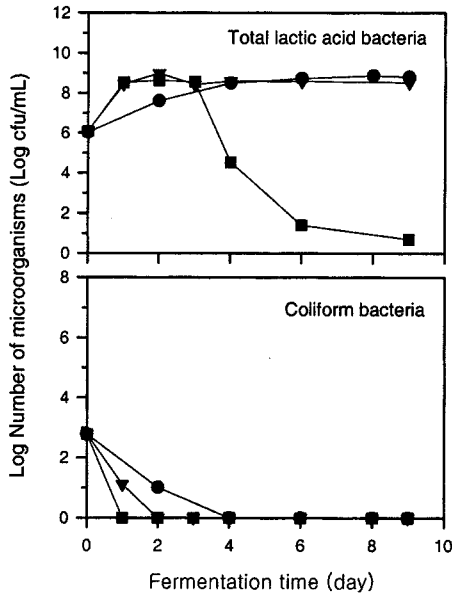


Fig. 1. Effect of temperature on the microbial population in mixed fruit and vegetable juices during coculture of *Leu. mesenteroides*, *Lc. lactis* and *Lb. cellobiosus*. ● - ● : 15°C, ▼ - ▼ : 25°C, ■ - ■ : 35°C.

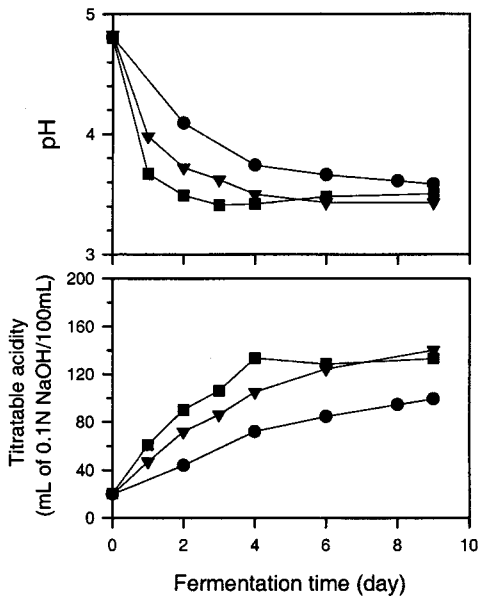


Fig. 2. Effect of temperature on the pH and titratable acidity in mixed fruit and vegetable juices during coculture of *Leu. mesenteroides*, *Lc. lactis* and *Lb. cellobiosus*. ● - ● : 15°C, ▼ - ▼ : 25°C, ■ - ■ : 35°C.

일째 이후 급격히 감소하여 9일째에는 5.13×10^9 cfu/mL가 검출되었다(Fig. 1). 관능검사시 35°C 배양의 경우 알코올 향이 강하게 느껴진 것으로 보아 효모에 의해 초기에 생성된 알코올 성분에 의해 젖산균이 저해를 받은 것으로 추측된다. 여⁶⁾는 당근, 토마토, 오이, 당근잎을 15°C에서 4일간 배양시 젖산균수가 1.1×10^8 cfu/mL, 25°C 구간에서는 1.6×10^9 cfu/mL로써 15배 정도의 차이를 보였다고 보고하였으나 본 실험에서는 배양 2일째까지는 25°C 배양이 15°C 배양보다 균

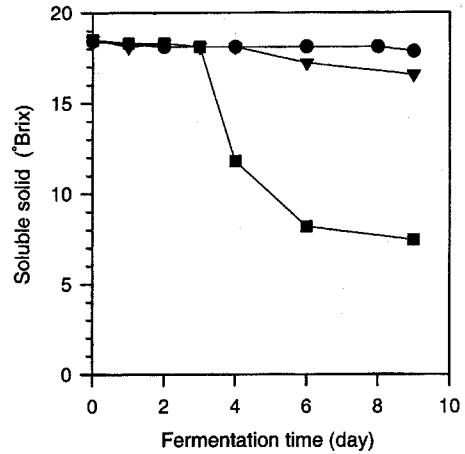


Fig. 3. Effect of temperature on the soluble solid contents in mixed fruit and vegetable juices during coculture of *Leu. mesenteroides*, *Lc. lactis* and *Lb. cellobiosus*. ● - ● : 15°C, ▼ - ▼ : 25°C, ■ - ■ : 35°C.

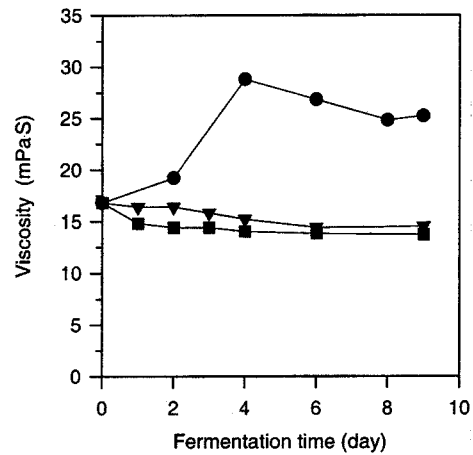


Fig. 4. Effect of temperature on the viscosity of mixed fruit and vegetable juices during coculture of *Leu. mesenteroides*, *Lc. lactis* and *Lb. cellobiosus*. ● - ● : 15°C, ▼ - ▼ : 25°C, ■ - ■ : 35°C.

수가 3배 정도 더 많았지만, 배양 3일째부터는 15°C 배양의 젖산균수가 약간 더 많이 계수된 것으로 보아 본 실험에서 사용된 starter는 비교적 고온에 약한 것으로 보인다.

Coliform bacteria는 35°C의 경우 배양 중 급격히 감소하여 1일째부터는 검출되지 않았으나 25°C에서는 2일째, 15°C에서는 4일째부터 검출되지 않았다. 이것은 배양 온도가 낮을수록 젖산균의 생육속도와 pH 저하속도가 느려 coliform bacteria에 대한 저해가 지연된 것으로 볼 수 있다.

pH 저하속도는 젖산균의 생육속도와 같이 배양온도가 높을수록 빠르게 진행되었다(Fig. 2). 35°C에서는 배양 3일째에 최저 pH 3.41에 도달하였고, 4일째부터는 pH가 도리어 약간 증가하는 경향을 보였다. 25°C의 경우 배양기간이 경과할수록 급격히 감소하여 배양 6일째에 최저 pH 3.43에 도달하였다. 그러나 15°C 배양에서는 9일째에 pH 3.59로 다른 온도에 비해 상대적으로 높은 값을 나타내었다. 마찬가지로 배양 온도가 높을수록 적정산도가 더 많이 증가하였으나 35°C 배

양에서는 다른 온도에 비해 빠르게 증가하였다가 배양 4일째부터 거의 변화가 없었다(Fig. 2). 이것은 젖산균의 급격한 감소로 인해 젖산의 생성은 적으나 도리어 효모가 젖산배양에 의해 생성된 젖산을 이용하여 pH가 증가하는 경향을 나타낸 것으로 한 등⁽³⁴⁾의 발효 말기에는 *Brettanomyces custersii*와 같은 효모가 출현하여 젖산을 이용한다는 보고와 일치하였다. 장⁽³⁵⁾은 동치미 발효시 4, 10, 20°C에서 식염 농도를 2.0, 3.2, 5.1%로 조절하였을 때 pH와 적정산도의 변화는 배양 온도와 식염 농도가 높을수록 빠르게 진행한다고 보고하였다. 이는 식염의 농도가 본 혼합과채즙의 배양중 pH나 적정산도의 변화에 영향을 미치지 않았다는 결과와 일치하지 않았으나 배양온도가 높을수록 pH 저하와 적정산도의 증가 속도가 빠르다는 결과와는 일치하였다.

당도는 Fig. 3과 같이 15°C 배양의 경우 배양 9일까지 거의 변화가 없었고, 25°C에서는 6일째부터 감소하여 배양 9일째에 16.55°Brix, 35°C에서는 4일째부터 급격하게 감소되어 배양 9일째에는 7.45°Brix로 매우 낮은 함량을 나타내었다.

점도는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 15°C 배양에서는 급속히 증가하여 4일째에 최고치인 28.8 mPa·S의 점도가 되었다가 그 후에 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 본 실험에 사용된 fructooligosaccharide는 순수한 올리고당이 아니라 glucose, fructose, sucrose와 같은 단당류, 이당류가 함유된 복합 올리고당이므로 발효액중의 당, 특히 sucrose를 젖산균이 이용하여 dextran 같은 점질물을 형성함으로 점도가 증가된 것으로 생각할 수 있다. 이는 젖산균 중 특히 *Leu. mesenteroides*는 저온의 고농도 설탕용액에서 점질물질인 dextran을 생성한다는 보고와 일치하였다⁽²⁾. 25, 35°C 발효에서는 발효가 진행됨에 따라 점도가 약간씩 감소한 것으로 보아 이 발효온도에서는 점질물이 형성되지 않은 것으로 생각된다. 이와같이 15°C 배양에서는 발효 중 점질물의 형성으로 발효즙의 품질을 저하시키는 것으로 나타났다.

최적 발효중점 설정

이상과 같이 발효 전에 fructooligosaccharide를 15%, 식염 0.2%를 혼합과채즙에 첨가하고 각 균주 전배양액을 0.01% 접종하여 25°C에서 발효시 혼합과채즙의 발효 및 선호도에 가장 좋은 영향을 미친 것으로 볼 수 있다. 이와같은 최적 조건으로 25°C에서 9일간 발효시 발효과채즙의 발효특성은 Fig. 5와 같이 발효 전 젖산균과 coliform bacteria는 각각 9.37×10^5 , 2.00×10^2 cfu/mL이던 것이 발효 3일째 젖산균은 1.02×10^9 cfu/mL이었고, coliform bacteria는 검출되지 않았고, pH와 적정산도는 발효 전 4.70, 27.0이던 것이 발효 3일째 3.58, 116.0이었다.

4일간 발효하면서 날짜별로 시료를 채취하여 관능검사를 실시한 결과 선호도는 발효 3일, 2일, 4일, 1일 순이었고, 1% 유의수준에서 발효 1일째와 3일째 간에 차이가 있었다(Table 4). 따라서 25°C에서 발효 3일째를 최적 발효 중점으로 잡았다. 이 때의 pH는 3.62였다.

요 약

당근, 사과, 셀러리, 돌미나리, 대추, 구기자의 착즙액을

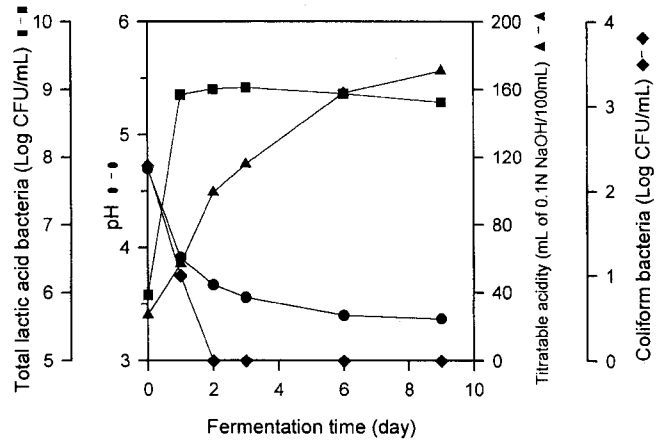


Fig. 5. Fermentation properties of mixed fruit and vegetable juices under the optimum condition: fructooligosaccharide 15%, NaCl 0.2%, temperature 25°C.

Table 4. A preference test for mixed fruit and vegetable juices fermented by mixture of *Leu. mesenteroides*, *Lc. lactis* and *Lb. cellobiosus* at the optimum concentrations of fructooligosaccharide, sodium chloride and starter at 25°C

Fermentation time (day)	Sum of ranking ordera)
1	150**
2	85*
3	50**
4	115

a)The data were obtained from 40 panel members. The most preferable sample is ranked first and the least preferable sample fourth. *P<0.05. **P<0.01.

3 : 3 : 1 : 1/2 : 1 : 1/2의 비율로 혼합한 혼합과채즙에 동치미로부터 분리한 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus cellobiosus*을 접종하고 당과 식염의 첨가와 배양온도의 최적조건을 발효 및 관능특성에 중점을 두고 조사하였다. 올리고당을 포함한 당은 25% 이하에서, 식염은 0.8% 이하에서 젖산균의 성장률이나 산 생성능에 크게 영향을 미치지 않았다. 배양온도가 높을수록 젖산균수와 산도가 증가하고 대장균수와 당도가 빠르게 감소하였다. 15°C에서는 발효가 진행됨에 따라 점질물이 형성되어 발효즙의 선호도가 저하되었다. 따라서 혼합과채즙의 젖산발효는 관능특성면에서 fructooligosaccharide 15%, 식염 0.2%, 배양온도 25°C가 최적이었다고 최적 발효중점은 3일로서 이때의 pH는 3.62였다. 최적상태에서 발효즙은 1 mL당 젖산균수 8, 효모수 4의 지수를 보였으며 발효초기에 5.6×10^2 cfu/mL이던 대장균은 검출되지 않았다.

감사의 글

이 연구는 서울여자대학교 2000년도 교비로 지원되었으며 이에 감사 드립니다.

문 헌

1. Fleming, H. P. Vegetable Fermentations. In: Economic Microbiol-

- ogy, Vol. 7, Academic Press, London, England (1982)
2. Tilbury, R. H. Occurrence and effect of lactic acid bacteria in the sugar industry, p. 177. In: *Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food*, Academic Press, London, England (1975)
 3. Rainbow, C. Beer spoilage microorganisms, p. 491. In: *Brewing Science*, Vol. 2, Academic Press, London, England (1981)
 4. Peter H. A. Sneath. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2, p. 1208. Williams and Wilkins Co., Baltimore, MD, USA (1986)
 5. Jung, H.S., Ko, Y.T. and Lim, S.J. Effects of sugars on Kimchi fermentation and on the stability of ascorbic acid. *Korean J. Nutr.* 81: 36-46 (1985)
 6. Yeo, I.H. Studies on the microbial changes of vegetable fermentation broth. M.S. thesis, Yonsei Univ., Seoul (1992)
 7. Yoo, H.G. The effect of the fermentable sugar on the self-life of Kimchi. M.S. thesis, Yonsei Univ., Seoul (1996)
 8. Fleming, H.P., McFeeters, R.F. and Thompson, R.L. Storage stability of vegetable fermented with pH control. *J. Food Sci.* 48: 975-981 (1983)
 9. Chen, K.H., Fleming, H.P. and McFeeters, R.F. Complete hetero-lactic acid fermentation of green beans by *Lactobacillus cellobiosus*. *J. Food Sci.* 48: 967-971 (1983)
 10. Yun, J.W., Ro, T.W. and Kang, S.C. Stability of oligosaccharides during Kimchi fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 203-207 (1996)
 11. Lee, M.R. and Rhee, H.S. A study on the flavor compounds of Dongchimi. *J. Korean Sci. Food Sci.* 6: 1-8 (1990)
 12. Mheen, T.I. and Kwon, T.W. Effect of temperature and salt concentration on Kimchi fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 16: 443-450 (1984)
 13. Stamer J.R., Stoyla, B.O. and Dunckel, B.A. Growth rates and bacteria associated with the sauerkraut fermentation. *J. Milk Food Technol.* 34: 521 (1971)
 14. Dollinger, E. *Food and Microbiology*, p. 5. MacGraw-Hill Inc., USA (1988)
 15. Kim, H.O. and Rhee, H.S. Studies on the nonorganic acids in Kimchis fermented at different temperatures. *Korean J. Food Sci. Technol.* 7: 74-81 (1975)
 16. Chyun, J.H. and Rhee, H.S. Studies on the volatile fatty acids and carbon dioxide produced in different Kimchi. *Korean J. Food Sci. Technol.* 8: 90-94 (1976)
 17. Cho, Y. and Rhee, H.S. Effect of lactic acid bacteria and temperature on Kimchi fermentation (I). *Korean J. Sci. Food Sci.* 7: 15-25 (1991)
 18. Cho, Y. and Rhee, H.S. Effect of lactic acid bacteria and temperature on Kimchi fermentation (II). *Korean J. Sci. Food Sci.* 7: 89-95 (1991)
 19. Yi, J.H. and Rhee, H.S. Effect of onion on Kimchi fermentation (I). *Korean J. Sci. Food Sci.* 8: 27-30 (1992)
 20. Shim, S.T., Kyung, K.H. and Too, Y.J. Lactic acid bacteria isolated from fermenting Kimchi and their fermentation of chinese cabbage juice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 373-379 (1990)
 21. Lee, C.W., Ko, C.Y. and Ha, D.M. Microfloral changes of the lactic acid bacteria during Kimchi fermentation and identification of the isolates. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 20: 102-109 (1992)
 22. Lim, C.R., Park, H.K. and Han, H.U. Reevaluation of isolation and identification of gram-positive bacteria in Kimchi. *Korean J. Microbiol.* 27: 404-414 (1989)
 23. Parish, M. and Higgins, D. Isolation and purification of lactic acid bacteria from samples of citrus molasses and unpasteurized grape juice. *J. Food Sci.* 53: 645-646 (1988)
 24. Shin, D.H., Kim, M.S., Han, J.S., Lim, D.K. and Bak, W.S. Changes of chemical composition and microflora in commercial Kimchi. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 137-145 (1996)
 25. Ko, Y.D., Kim, H.J., Chun, S.S. and Sung, N.K. Development of control system for Kimchi fermentation and storage using refrigerator. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 199-203 (1994)
 26. Stamer J.R., Stoyla, B.O. and Dunckel, B.A. Growth rates and bacteria associated with the sauerkraut fermentation. *J. Milk Food Technol.* 34: 521 (1971)
 27. Kim, S.Y. and Choi, E.H. Isolation of lactic acid bacteria from Dongchimi juice and lactic acid fermentation using mixed fruit and vegetable juices. *Food Sci. Biotechnol.* 10: 76-83 (2001)
 28. Kim, S.Y. and Choi, E.H. Preparation and characteristics of mixed fruit and vegetable juices. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 90-96 (1998)
 29. Johnston, M.R. *Sensory evaluation methods for the practicing food technologist*. Institute of Food Technologists, Chicago, IL, USA (1978)
 30. Kim, K.O. and Lee, Y.C. *Sensory Evaluation of Food*, p. 242. Hakyonse, Seoul (1998)
 31. Kim, K.J., Kyung, K.H., Myung, W.K., Shim, S.T. and Kim, H.K. Selection of scheme of radish varieties to improve storage stabilities of fermented pickled radish cubes with special reference to sugar content. *Korean J. Food Sci. Technol.* 21: 100 (1989)
 32. Pederson, C. S. The effect of pure culture inoculation on the quality and chemical composition of sauerkraut. *Bull.* 169, New York State, Agr. Exp. Sta., Geneva, N.Y., USA (1930)
 33. Kim, Y.K. A Study on preparation and characteristics of fermented fruit-vegetable juice. M.S. thesis, Yonsei Univ., Seoul (1995)
 34. Lim, C.R. and Park, H.K. Determination of microbial community as an indicator of Kimchi fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 26-32 (1990)
 35. Kim, J.G., Kim, W.J., Jang, S.G., Ko, S.N. and Choi, H.S. Effect of fermentation temperature and salt concentration on the fermentation rate of Dongchimi. *Agric. Chem. Biotechnol.* 39: 398-403 (1996)

(2002년 2월 27일 접수)