

효모 추출물 농도에 따른 *Leuconostoc mesenteroides* SM에 의해 생산된 dextran의 물리화학적 특성 및 물성개량

김지은^{1,2} · 황 기¹ · 이삼빈^{1,2*}

¹계명대학교 식품가공학과, ²계명대학교 TMR센터

Physicochemical Properties of Dextran Produced by *Leuconostoc mesenteroides* SM according to Concentration of Yeast Extract and its Modulation of Rheological Properties

Ji-Eun Kim^{1,2}, Key Whang¹, and Sam-Pin Lee^{1,2*}

¹Department of Food Science and Technology, Keimyung University

²The Center for Traditional Microorganism Resource (TMR), Keimyung University

Abstract: Dextran was produced by *Leuconostoc mesenteroides* SM with various contents of yeast extract and its rheological properties were modulated, via an addition of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) of different viscosities. The conversion yield reached 90% after adding 3% yeast extract, which remained constant, thereafter. The acidity of the cultures was approximately 1.4 and 0.9% after fermentation for 24 h at 25 and 30°C, respectively. The total dextran content (107.3 g/kg) was the highest in the presence of the 3% yeast extract. Under the same conditions, the consistency, viscous modulus (G''), and elastic modulus (G')

Keywords: yeast extract, dextran, viscoelastic, *Leuconostoc mesenteroides*, HPMC

서 론

덱스트란은 식이섬유의 일종으로 김치 숙성에 관여하는 *Leuconostoc*속의 속하는 젖산균이 젖산 등의 생성 외에도 생고분자인 덱스트란을 생합성하는 특징을 가지고 있다(1). *Leuconostoc* 균주는 세포의 효소인 dextransucrase에 의해 기질인 sucrose로부터 glucose로 유리시키고 동시에 중합반응을 촉매 함으로써 고분자 점질성 물질인 덱스트란 다당류를 생산한다(2). 특정한 크기의 덱스트란은 의약품으로도 쓰여지며, 덱스트란의 구조 형태와 크기는 *Leuconostoc* 균주에 따라 다르며, glucose가 수백 개에서 천개 이상의 α-1,6 glucose 결합을 주사슬로 하고 α-1,2, α-1,3, α-1,4 glucose 결합이 가지 형태인 glucose 고분자로 이루어진다(3). 또한 고분자 덱스트란은 점착성, 흡습성 및 열안정성을 가지며 식품의 물성조절에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있고(4,5), 음료, 시럽, 아이스크림, 젤리 등의 첨가제에 사용되고 있어 *Leuconostoc* 균주에 의한 dextran의 생산에 관한 연구는 매우 활발히 이루어지고 있다(6). 덱스트란에 대한 연구로는 덱스트란

에 대한 흐름의 성질(2), 다양한 농도에서의 덱스트란의 확산(7,8)과 덱스트란 혼합액의 유동학적 특성(9)등이 보고되었다.

효모 추출물(yeast extract)는 식용 효모를 배양한 후 NaCl, 에탄올 또는 효소처리 등에 의한 자가소화를 통해서 생산되므로 산분해 HVP(Hydrolyzed vegetable protein)와 같은 유해 물질 생성의 문제를 유발하지 않는 천연의 생물소재로 미생물 발효배지 또는 천연 조미료의 등에 사용되고 있다(10). 천연 풍미소재, 건강식품 등의 원료로 효모 추출물은 전 세계적으로 많은 양이 소비되고 있으며, 이에 따른 효모 추출물의 제법과 응용에 대하여는 꾸준히 연구되고 있다(11-13). 효모 추출물은 무기질, 비타민, 핵산, 펩타이드 및 아미노산 등이 풍부하여 미생물의 배양에 있어 중요한 영양 소재이다. 특히, 비타민 B복합체 생산의 주요 공급원으로서, 비타민 B₁(thiamine hydrochloride), B₂(riboflavin), B₆(pyridoxine hydrochloride)는 영양학적 관점에서 효모 추출물의 중요한 성분들이다(14). 특히 효모 추출물에 풍부한 필수아미노산 성분인 tryptophan은 뇌의 주된 신경전달물질인 serotonin합성에 관여하는 것으로 알려져 있으며(15), 효모 가수 분해물을 인체실험을 통해서 뇌의 델타 및 알파파의 분석을 통해서 스트레스 완화 효과가 있음을 보고하였다(16).

젖산균의 성장에서도 효모 추출물은 중요한 역할을 하며 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum* SK1305의 항균활성과 성장을 위한 주요 배지 성분 중 질소원으로 효모 추출물을 선발하였다는 보고(17) 등이 있다.

특히 난소화성 식이섬유는 소장에서 소화흡수 되지 않아 영양

*Corresponding author: Sam-Pin Lee, Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
 Tel: 82-53-580-5554
 Fax: 82-53-580-6447
 E-mail: splee@kmu.ac.kr
 Received November 7, 2011; revised January 19, 2012;
 accepted February 29, 2012

성분으로 역할은 미비하지만, 장내에서 일부 유용미생물에 의한 prebiotic으로 이용되어 장내 유용 미생물 군총의 균형을 유지하면서 장내 건강에 기여하는 것으로 보고되고 있다(18). 기능성 소재로서 식이섬유가 음료, 식품 및 건강 식품산업에서 수요가 급증함에 따라서 천연물 유래 다당류 및 다양한 식이섬유가 연구되고 있으며, 일부는 개발되어 산업적인 소재로 활용되고 있다. 최근 기능성 식이섬유로 알려진 HPMC(hydroxypropyl methylcellulose)는 cellulose 유도체로서 식품에 첨가되어 다양한 기능을 나타내는 식품첨가물이다(19). HPMC는 cellulose에 methyl과 hydroxypropyl 첨가로 만들어 표면 활성이 높고, 수용액상에서 온도변화에 따라 수화과 탈수에 독특한 특징을 갖는다. HPMC는 소수성기의 존재에도 불구하고 cellulose의 친수성 특징을 유지하는 성질 때문에 유화제, 강화제 및 수분 보유제로의 역할을 한다(20). 이러한 물리화학적 특징에 의해 고온에서의 식품 형태 보존, 제면 현상을 향상시켜주며, 냉동, 해동에 의한 이수현상 방지 및 튀김옷이나 소스류의 지방 저감 및 분리 방지 등의 기능향상을 위해 식품에 사용되어지고 있다.

따라서 효모 추출물은 발효 미생물의 생육에 필요한 유리 아미노산, 저분자 펩타이드, growth factor 등의 각종 영양 성분을 다량 함유하고 있어 영양 요구성이 높은 젖산 발효에 유익한 소재이다. 특히, 필수아미노산으로 tryptophan 등의 영양 성분을 풍부하게 함유한 효모 추출물의 고농도 첨가를 통해서 영양성분, 고분자 식이섬유 및 probiotic이 강화된 젖산균 발효물의 생산은 기능성소재로 활용이 기대된다. 본 연구에서는 식물성 젖산균 *Ln. mesenteroides* SM을 이용한 고분자 텍스트란 생산의 최적화를 위해서 효모 추출물의 첨가 농도에 따른 텍스트란 함유 발효물을 생산하였으며, 이들의 이화학적 특성, 점조성 및 점탄성 등의 물성을 평가하였다. 또한 분자량이 다양한 기능성 HPMC의 강화에 따른 텍스트란 함유 발효물의 영양 및 기능성이 증진되며 물성이 개량된 미생물 생고분자함유 식품소재를 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 Yeast extract powder는 시중에 유통되고 있는 (주)조흥(Ansan, Korea)의 분말 이스트 엑기스-(II)를 구입하여 실온에서 밀봉하여 보관한 것을 사용하였다. 감자분말은 정신물산(Pocheon, Korea)에서 구입하여 사용하였고, sucrose는 식품용 정백당인 백설탕을 (주)제일제당(Incheon, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 물성 조절제로 사용한 점도가 다른 3가지 종류의 HPMC(50, 400, 4,000 cp)는 삼성정밀화학(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

사용균주

실험에 사용한 균주는 당근주스에서 분리된 젖산균으로 sucrose를 포함하는 Difco™ Lactobacilli MRS(Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) agar 배지에서 다량의 점질물을 생산하였으며, 아이혼 관에서 gas 생성을 나타내었다. 이 균주는 30°C에서 최적생육을 보였으며, 40°C 이상에서는 생육이 억제되는 것으로 나타났다. 16S rDNA sequencing을 이용하여 확인, 동정한 결과 *Ln. mesenteroides* AY675249와 99.0% 상동성을 나타내었다. 따라서 당근주스로부터 분리한 본 균주는 *Ln. mesenteroides* SM으로 명명하였다(21).

Starter 배양액 제조

Difco™ Lactobacilli MRS 액체배지에 MRS agar plate에서 배양(30°C, 24h)시킨 *Ln. mesenteroides* SM 균주를 1회 접종한 후에 항온배양기(SI-900R, Jeio tech Co., Ltd, Daejeon, Korea)에서 30°C, 24시간 동안 정치 배양한 후 스타터로 사용하였다. 생균수는 심진 회석법으로 MRS agar 배지에서 배양시킨 후 계수하였다.

텍스트란 발효물 제조

텍스트란 발효의 배지는 200 mL 삼각플라스크에 yeast extract powder를 0.5%(w/v)의 범위로 첨가하고, sucrose 20%(w/v), K₂HPO₄ 0.5%(w/v), 감자분말 0.1%(w/v)를 첨가 후 증류수를 이용하여 100 mL로 정용한 후 85°C에서 30분간 열처리하여 제조하였다. 제조된 배지에 *Ln. mesenteroides* SM starter 배양액을 총 배지 함량의 2%(생균수 10⁸ cfu/mL)를 접종하여 30°C 항온 배양기(IS-971R, Jeio tech.)에서 12-60시간 동안 정치 배양하였다.

pH 및 산도

pH는 pH meter(Digital pH meter 420A+, Thermo Orion. Beverly, MA., USA)를 사용하여 측정하였고, 적정 산도는 시료 1 mL에 증류수 19 mL을 첨가하여 pH meter로 pH가 8.3에 도달할 때까지 0.1 N NaOH로 적정한 소비량을 젖산 함량(% , v/v)으로 환산하였다.

점조도 측정

텍스트란 발효물의 점조도 및 유동특성 측정은 Rheometer System(HAAKE RheoStress 1, Karlsruhe, Germany)에 cone plate device(Platte PP35 Ti, 3.5 cm diameter)를 장착하여 측정하였다. 시료 1.0 mL를 취하여 plate에 올려 구간 당 10초 동안의 평균값이 측정되어 얻은 값을 shear rate(1/s)와 shear stress(Pa)로 나타내어 점조도가 높아짐에 따라 충밀립 변형력이 높아지는 효과를 측정하였다. 측정온도 20°C에서 전단속도($\dot{\gamma}$)는 1-100 s⁻¹의 범위로 유동특성을 알아보고, 점조도 지수 값은 Power law 모델 식을 사용하여 나타내었다(22).

$$\text{Power law model: } \sigma = K \cdot \dot{\gamma}^n$$

σ 는 전단응력(shear stress, Pa), K는 점조도 지수(consistency index, Pa·sⁿ), $\dot{\gamma}$ 는 전단속도(shear rate, s⁻¹), n은 유동성 지수(flow behavior index, -)이다.

동적 점탄성 측정

텍스트란 발효물의 동적 점탄성(dynamic viscoelasticity) 측정은 정상유동특성과 동일한 실험조건에서 수행하였다. 변형력과 변형을 사이에 선형관계가 나타나는 구간을 결정하기 위하여 frequency sweep로부터 결정된 진동수(frequency, ω) 6.2832 rad/s 범위(25°C)에서 탄성률(elastic modulus, G')과 점성률(viscous modulus, G'')을 측정하였다.

당 전환율

Sucrose의 전환율 분석은 high performance liquid chromatography (HPLC, Knauer Co., Berlin, Germany)를 이용하여 측정하였다. 발효액 0.5 mL에 증류수 동량을 혼합한 후 22,250×g에서 10분간 원심 분리하여 상등액을 회수하였다. 회수한 용액을 0.45 μ m syringe filter로 여과한 다음, 여액 20 μ L를 HPLC 분석용 시료로 사용하였다. HPLC 분석 시 검출기는 refractive index(RI)를 이용

하였으며, 당분석 전용 column(Shodex, Tokyo, Japan)을 이용하여 이동상을 75% acetonitrile로 유속은 1.0 mL/min의 속도로 흘려주었다(23).

덱스트란 함량 측정

수용성 덱스트란 측정을 위해서 발효물을 증류수로 5배 희석하여 22,250×g에서 10분간 원심분리 하였다. 덱스트란 중합체를 회수하기 위해 수용성 덱스트란이 포함된 상등액을 2배 가량의 -20°C에서 보관된 ethanol 첨가하여 덱스트란을 침전시켰다. 침전된 덱스트란 중합체를 원심분리기로 22,250×g, 10 min 동안 원심분리하고 증류수로 덱스트란을 용해하였다. 에탄올 침전 과정을 3회 반복하여 얻어진 덱스트란을 투석하여 3차 증류수에 넣어 24 시간 정지한 후 동결 건조하여, 정제된 덱스트란을 얻었다.

불용성 덱스트란은 Kim 등(5)의 방법을 사용하였다. 덱스트란 발효물을 증류수로 4배 희석하고 22,250×g에서 15분간 원심분리 하였다. 불용성 물질을 상온에서 보관된 KOH 10%(w/v) 용액에 용해시켰고, 이때 균체도 함께 용해되어 있는 상태가 된다. 균체와 불용성 덱스트란이 포함된 용액을 분리하기 위해 22,250×g에서 15분 동안 원심 분리하여 상등액을 회수하였다. 불용성 덱스트란을 응집시키기 위해 2배 가량의 -20°C에서 보관된 ethanol 첨가하여 덱스트란을 침전시켜 회수하고 100% ethanol로 세척하였다.

HPMC 첨가에 따른 조직감 측정

점도가 다른 각각의 HPMC 첨가에 따른 발효물의 물성 변화를 Texture analyzer(TA-XTplus, Micro Stable System, Godalming, UK)를 이용하여 TPA(texture profile analysis) test와 extrusion test를 시행하여 측정하였다. TPA test는 시료를 지름 25 mm, 높이 20 mm의 둥근 용기에 담아 원통형의 cylinder (20 mm diameter)로 일정 속도로 눌렀을 때 변형을 일으키는데 필요한 힘을 측정하였으며 Texture analyser의 조건은 test speed(3 mm/s), distance (6 mm), time(3 s), trigger force(5 g)에서 시료 당 5회 이상 반복 측정하였다. TPA test에 의해 얻을 수 있는 값으로는 발효물이 경도(hardness), 탄성(springiness), 씹힘성(chewiness), 점착성(gumminess), 응집성(cohesiveness)을 평가하였다. Extrusion test는 시료를 지름 40 mm, 높이 50 mm의 둥근 용기에 담아 원통형의 cylinder로 일정 속도로 눌렀을 때 둥근 용기의 아래 부분의 원형 배출구(0.7 mm diameter)로 시료가 빠져나가는 데 필요한 힘을 측정하였으며 Texture analyser의 조건은 test speed(1 mm/s), distance(30 mm), trigger force(10 g)에서 시료 당 5회 이상 반복 측정하였고 extrusion test에 의해 시료의 firmness 값을 평가하였다.

분자량 측정

건조한 점질물을 0.1 M Na₂SO₄/0.05 M NaN₃(pH 4) 용액에 1% 가 되게 녹인 다음, 원심분리 후 상등액을 0.45 μm syringe filter로 여과하여 GPC(Gel permeation chromatography)로 분석하였다. 분석 조건은 검출기로 RI를 이용하였으며, GPC column은 Shodex SB 805 HQ(Kawasaki, Japan)를 이용하여 이동상을 0.1 M Na₂SO₄/0.05 M NaN₃(pH 4)로 유속은 1.0 mL/min의 속도로 흘려주었다. 표준곡선은 각기 다른 분자량(130, 400, 770, 1,200 kDa)을 가진 덱스트란(American Polymer Corporation, Mentor, OH, USA)을 이용하여 작성하였다.

통계 처리

모든 자료는 평균±표준편차 나타내었으며, 유의성 검사는 SPSS™ version 19.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 one-way ANOVA를 실시하였고, 통계적 유의성은 Duncan's multiple comparison test로 검증하였다. $p < 0.05$ 이상일 때만 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결과 및 고찰

효모 추출물 농도에 따른 발효물의 점조도 및 당 전환율의 변화

Ln. mesenteroides SM을 이용하여 기본 제한배지((sucrose 20%(w/v), K₂HPO₄ 0.5%(w/v), 감자분말 0.1%(w/v))에 효모 추출물 농도를 0-5%로 수준으로 첨가하여 30°C에서 24시간 동안 발효 후 발효물의 점조도를 측정된 결과, 효모 추출물을 3% 첨가한 경우에 발효물의 점조도가 37.6 Pa·sⁿ로 가장 높게 나타났다(Fig. 1).

효모 추출물을 3% 이상 첨가했을 때에는 점조도가 13.0 Pa·sⁿ 이하로 떨어져, 효모 추출물을 3% 첨가했을 때와는 많은 차이를 나타내었다. 이는 덱스트란 생성효소인 dextransucrase의 활성이 효모 추출물을 3% 정도로 첨가했을 때 가장 활성이 우수하여 덱스트란의 생산을 높여주어 발효물의 점조도에 영향을 미치는 것으로 사료된다. Hwang(24)에 의하면 *Ln. citrium* 균주에 의한 덱스트란의 생산 속도와 수율에 가장 영향을 미치는 것을 배양액의 pH이고 그 다음으로는 효모 추출물의 농도 그리고 온도 순이라고 보고하여 다른 영양원들에 비해 효모 추출물이 덱스트란 생산에 미치는 영향이 크며, 덱스트란 생산에 가장 적합한 효모 추출물의 농도는 6-7%로 보고하고 있어 본 실험 보다 조금 높은 것으로 나타났다.

Ln. mesenteroides SM 균주는 sucrose를 기질로 하는 덱스트란 생산 균주로서 sucrose를 첨가하였을 때 덱스트란 점질물 생산이 증가하였으며, 이때 첨가한 sucrose의 전환율은 HPLC를 통하여 확인하였다. 제한 배지에 sucrose를 20% 첨가하고, 효모 추출물 농도에 따라 발효된 발효물의 sucrose 전환율을 분석하였을 때,

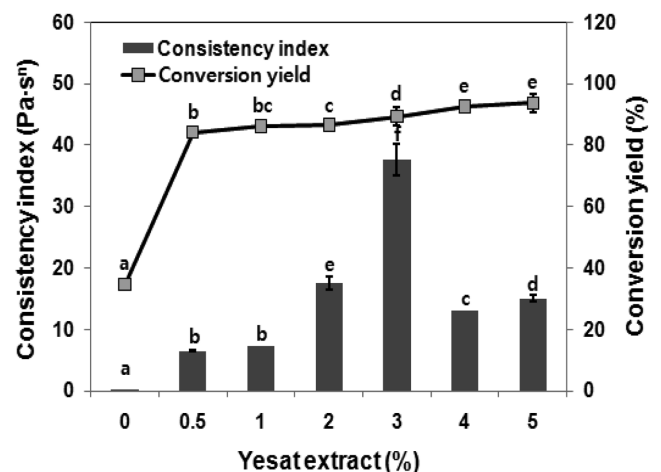


Fig. 1. Changes of consistency index and conversion yield according to the concentration of yeast extract. Data are expressed as mean±standard error values (n=3). Means with different letters are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

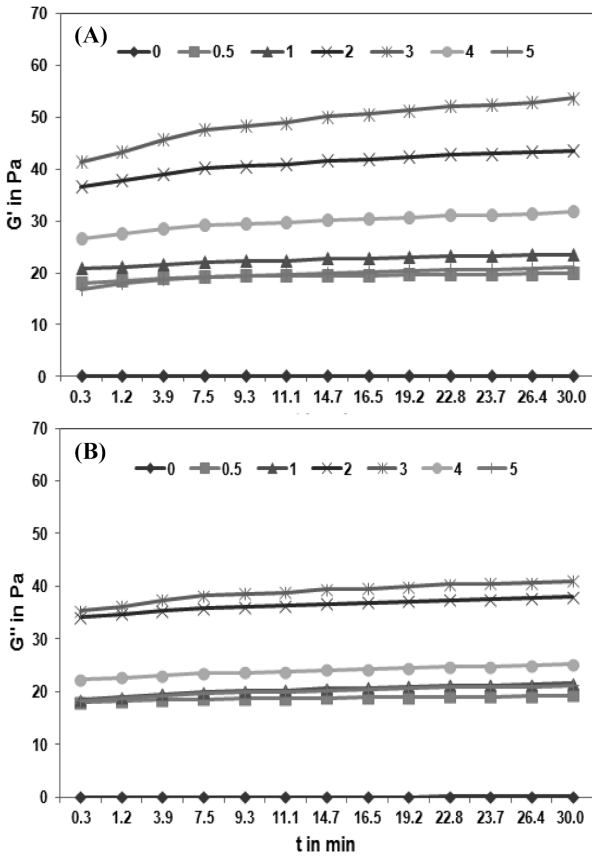


Fig. 2. Changes in the elastic modulus (G' -value) and viscous modulus (G'' -value) of viscous culture broth fermented by *Ln. mesenteroides* SM for 24 h. (a) elastic modulus, (b) viscous modulus

효모 추출물을 0.5% 수준으로 첨가하는 경우에 전환율이 약 85% 이상 나타났으며, 1% 이상 수준으로 첨가할 때에 전환율이 완만하게 증가하는 경향을 나타냈다. 이는 같은 균주를 사용한 당근 젖산발효음료 개발에 있어 sucrose 20% 농도에서 발효 24시간에 88.4%의 sucrose 전환율을 보인다는 Jo 등(21)의 보고와 유사한 결과를 나타내었다.

따라서 *Ln. mesenteroides* SM를 이용하여 텍스트란을 생산하는 경우에 기본 제한배지에 효모 추출물을 3% 수준으로 첨가하면 젖산균 배양을 위한 영양분을 충분히 공급해 줄 수 있어 단기간 발효에 의해서 sucrose 전환에 따른 당당류의 증가 및 텍스트란 함유 발효물의 점성 상승과 물성 개량 등의 효과를 주는 것으로 판단된다.

효모 추출물 농도에 따른 점탄성 변화

효모 추출물 첨가 농도에 따라 얻어진 젖산균 발효물의 점탄성 변화를 측정하였을 때 텍스트란 함유 발효물은 점성 값(G'' value)보다 탄성 값(G' value)이 높게 나타나는 결과를 나타냈으며 겔과 유사한 특성을 가진 것으로 나타났다(Fig. 2). 효모 추출물 3%의 농도에서 점성(G'')과 탄성(G')을 나타내는 값이 가장 높게 나타나는 경향을 보였는데 이는 텍스트란 함유 발효물이 흐름이 거의 없는 gel 형태의 물성을 가지며 점성보다는 탄성적 특성을 보이는 것으로 나타내었다. 김치 젖산균 *Ln. citreum*을 이용하여 얻어진 텍스트란 발효물도 탄성이 점성보다 높은 값을 보였는데 이와 유사한 결과를 나타내었다(25). 텍스트란 생산 젖산균을 이

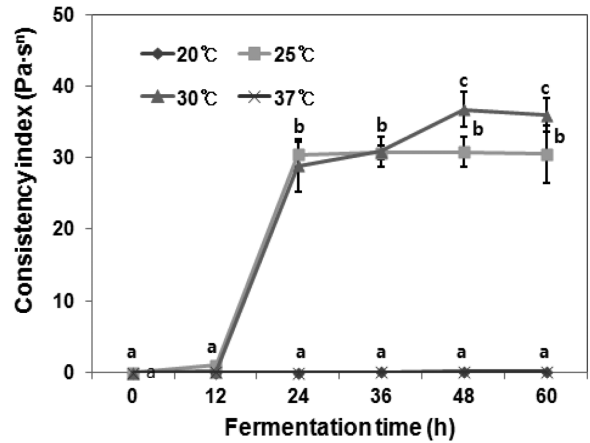


Fig. 3. Changes of consistency index of dextran according to fermentation temperature. Data are expressed as mean±standard error values (n=3). Means with different letters are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

용한 젖산 발효 시 기질로서 sucrose를 함유한 제한배지는 발효 초기에 수용성 텍스트란의 생성으로 발효액의 점도가 증가되는 경향을 보이며 기질인 sucrose의 생물전환에 따른 수용성 및 불용성 텍스트란의 지속적으로 생산되며 텍스트란 함유 발효물이 흐름이 거의 없는 겔 형태를 보이면서 점성보다 탄성 값이 큰 특성을 보인다(Fig. 2).

특히 효모 추출물을 2-3%를 첨가했을 때 점탄성이 높았고, 4-5%를 첨가했을 때는 점탄성이 확연히 떨어지는 경향을 나타내었다. 이는 텍스트란 발효물에 효모 추출물을 2-3% 첨가하는 것이 발효 중에 효모 추출물 내에 함유되어 있는 질소 등의 영양성분으로 인해 발효 적성이 좋은 것으로 사료되고, 효모 추출물이 많은 양이 첨가될 경우에는 질소 성분이 과하게 첨가되어 발효 시에 텍스트란 생합성이 억제됨으로서 점조성뿐만 아니라 점탄성도 낮아지게 되는 것으로 판단된다.

발효시간 및 온도에 따른 발효물의 점조도 변화

기본 제한배지에 효모 추출물을 3% 첨가하여, 발효 온도에 따른 발효물의 점도 변화를 측정 한 결과는 Fig. 3과 같다. 20, 37°C에서는 발효물의 점조도 값이 매우 낮아 텍스트란이 거의 생성되지 않은 것으로 추측되며 25와 30°C에서 발효시간 24시간 후에 점조도 값이 30 Pa·sⁿ 이상으로 점조도가 크게 증가하였다. 30°C에서 발효하는 경우에 발효시간이 24시간 이후에도 발효물의 점조도 값이 완만하게 증가하는 경향을 보였다. *Ln. citrium* 균주에 의한 텍스트란의 생산 최적 온도는 27-28°C라고 보고한 결과와 비슷한 경향을 나타내었다(24). 발효 시간에 따른 점조도 변화를 측정 한 결과 25, 37°C에서 발효 12시간까지는 배양액의 점조도가 낮았으나 24시간 쯤 급격히 증가하여 *Ln. mesenteroides* SM 균주는 발효 12시간 이후로부터 dextransucrase 활성이 급격히 증가하는 것으로 사료된다. Lopretti 등(26)은 dextransucrase 활성이 발효 6시간 이후로부터 급격히 증가하여 발효 10시간 쯤 최대 활성을 보이고 이후 큰 변화가 없다고 보고하였다. 25°C에서는 24시간 이후 점조도에 큰 변화가 없으나 30°C에서는 소량 점조도가 상승하는 것으로 나타났다.

발효 온도 및 시간에 따른 텍스트란 함량

기본 제한배지에 효모 추출물을 3%로 동일하게 첨가하여, 발

Table 1. Contents of soluble and insoluble dextran according to fermentation time and temperature

(Unit g/kg)

Fermentation time (h)	Soluble dextran (g/kg)		Insoluble dextran (g/kg)		Total dextran (g/kg)	
	25	30	25	30	25	30
12	26.01 ^{bc}	28.76 ^d	58.02 ^b	54.90 ^a	84.03 ^a	83.66 ^a
24	34.18 ^{efg}	33.05 ^{ef}	78.79 ^g	74.23 ^{ef}	112.97 ^f	107.28 ^d
36	35.87 ^g	35.66 ^{fg}	76.04 ^f	72.87 ^{de}	111.91 ^{de}	108.53 ^{de}
48	27.76 ^{cd}	32.42 ^e	68.32 ^c	82.08 ^h	96.08 ^e	128.50 ^g
60	18.32 ^a	24.65 ^b	70.43 ^{cd}	90.14 ⁱ	88.75 ^b	114.79 ^f

Yeast extract concentration: 3%(w/v). Data are expressed as mean values (n=3). Means with different letters in each column are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

효 온도와 발효 시간에 따른 발효물의 수용성, 불용성 덱스트란 함량을 측정하였다. 그 결과 발효 온도에 따른 수용성 덱스트란 함량 차이는 크게 나타나지 않았으나 불용성 덱스트란은 발효 온도 30°C에서 발효 시간이 길어질수록 함량이 증가하는 경향을 보였다(Table 1). 발효 시간에 따른 수용성 덱스트란 함량은 발효 초기에 덱스트란이 생성되기 시작하여 발효 24, 36시간에서 약 35 g/L로 최대로 생성되며 그 후에는 점차 감소하는 경향을 보였다. 불용성 덱스트란 함량은 수용성 덱스트란 함량보다 약 2배 정도 높은 수치를 나타냈으며 25°C에서는 발효 24시간에서 약 79 g/kg으로 가장 높은 함량을 나타내었고 약간 감소하는 경향을 보였다. 총 덱스트란 함량 역시 발효 24, 36시간에서 가장 높은 함량이 나타났고 발효 시간이 증가할수록 덱스트란 함량이 감소하는 경향을 보였다. Hwang(24)은 덱스트란의 생산 속도가 25°C에서 서서히 증가하다 27-28°C에서는 최고조에 도달하고 이후로는 감소하며 최대 생산 속도가 0.79 g/h로 생산되며, 생산 속도에 가장 영향을 미치는 요인은 pH라고 보고하였다. 덱스트란 발효물 전체를 동결 건조하여, 이를 10%(w/v) 농도로 동일한 용액으로 제조하여 여과한 후, 분자량을 측정하였다. 측정 결과, 분자량이 약 910-950 kDa으로 모든 구간에서 유사하게 측정되어, 덱스트란의 함량과 분자량과는 큰 상관관계가 없는 것으로 나타났다(data not shown).

발효시간 및 온도에 따른 pH 및 산도의 변화

기본 제한배지에 효모 추출물을 3% 첨가하여, 발효 온도를 20-37°C까지 변화를 주어 pH 및 산도 변화를 측정하였다. 발효 온도 20°C를 제외하고 덱스트란 함유 발효물의 초기 pH는 pH 7.3에서 발효 24시간에 도달하면서 pH 4.5 이하로 급격히 떨어졌으며, 그 이후에는 거의 변하지 않아 발효 시간은 24시간이면 충분한 것으로 사료되었다(Fig. 4). 25와 30°C 발효에서 산도 변화는 발효 초기 증가한 후 감소하는 경향을 보였으며, 발효시간 24시간에서 25와 30°C에서 발효하는 경우에 각각 1.4%, 0.8% 정도로 나타났다. 37°C에서 발효되었을 때는 최고 산도가 1.0% 정도로 나타났으며 발효시간이 증가하면서 산도가 완만하게 감소하는 경향을 보였다. 반면 20°C에서 발효 시에는 발효시간이 증가함에 따라서 산생성이 완만하게 증가하는 경향을 보였다(Fig. 4). 이상 발효(hetero-fermentative) 균주인 *Leuconostoc* 속이 스타터로 작용하면서 발효성 당으로부터 산 생성 효율이 낮음에도 불구하고, 김치 젖산균을 이용한 당근 젖산 발효음료의 제조 시에 발효물의 산도는 0.88%를 나타내는 것으로 보고(21)한 것과 비교할 때 비교적 높은 산도 값을 나타내었다. 이는 sucrose를 포함하는 제한배지에 첨가된 효모 추출물의 농도가 일반적인 배지조성보다 높은 농도로 첨가되어 젖산균에 생육을 촉진시킴으로서 산생성이 증가되는 것으로 사료된다. 30°C에서 24시간 동안 발효한 텍

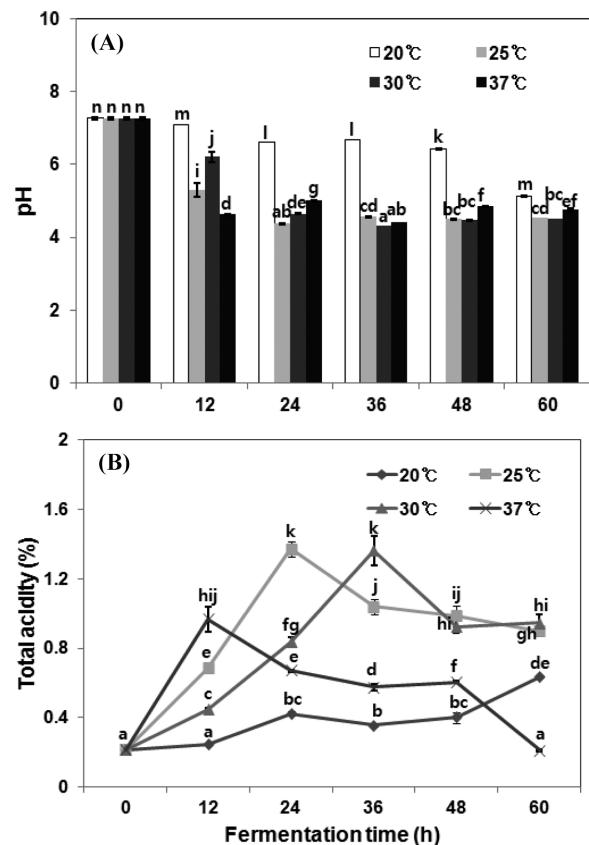


Fig. 4. Changes of pH and acidity according to fermentation time and temperature. Yeast extract concentration: 3%(w/v). Data are expressed as mean±standard error values (n=3). Means with different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

스트란 함유 발효물의 생균수는 약 1×10^9 CFU/mL로 나타났으며 *Leuconostoc*속 균주로 당근 주스 발효물의 생균수는 7.5×10^8 CFU/mL을 보인 결과와 유사한 것으로 나타났다(21).

Lee 등(27)은 덱스트란 성분을 포함하는 유산균 음료의 가장 적당한 산도는 1.0% 정도라고 보고하여 본 실험의 덱스트란 함유 발효물은 30°C에서 24시간 발효함으로써 산도가 0.8%정도를 나타내면서 유사한 값을 나타내어 적절한 산도를 생성하는 것으로 보인다. 또한 덱스트란 유효 성분으로 함유하는 젖산균의 증식 촉진은 장내의 pH를 떨어뜨려 부패세균의 증식을 억제하여 변비를 예방하는데 사용되고 있다(24).

Table 2. Texture analysis of viscous culture broth according to the addition of different types and amounts of HPMC

	5%				10%		
	Control	50 cp	400 cp	4,000 cp	50 cp	400 cp	4,000 cp
Hardness (dyne/cm ²)	29 ^a	89 ^b	254 ^c	328 ^d	252 ^c	583 ^e	722 ^f
Adhesiveness (g)	-35 ^f	-92 ^e	-223 ^d	-324 ^c	-23 ^{4d}	-610 ^b	-654 ^a
Springiness (%)	0.95 ^a	0.99 ^c	0.96 ^{ab}	0.94 ^a	0.98 ^{bc}	0.97 ^{bc}	0.95 ^a
Cohesiveness (%)	0.76 ^a	0.90 ^{cd}	0.82 ^{ab}	0.85 ^{bc}	0.91 ^{cd}	0.94 ^d	0.89 ^{cd}
Gumminess (g)	23 ^a	80 ^b	208 ^c	274 ^d	236 ^c	541 ^e	635 ^f
Chewiness	22 ^a	79 ^b	201 ^c	259 ^d	232 ^{cd}	525 ^e	603 ^f
Firmness (gfmm ⁻¹)	298 ^a	440 ^b	76 ^{5c}	991 ^d	1342 ^f	1,985 ^f	2,382 ^g

Data are expressed as mean values (n=5). Means with different letters in each row are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

HPMC 농도에 따른 덱스트란 발효물의 조직감 변화

기본 제한배지에 효모 추출물을 3% 첨가하고 발효 온도는 30°C에서 24시간 발효하여 생산된 덱스트란 발효물에 점도가 각각 다른 HPMC(50, 400, 4,000 cp)를 5, 10% 첨가하였을 때의 조직감을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 단단함을 나타내는 hardness는 HPMC 농도에 의존하여 증가하였고 HPMC의 점도가 높을수록 hardness가 높아지는 경향을 보였다. 400 cp의 HPMC를 5% 첨가한 것과 50 cp의 HPMC를 10% 첨가한 것의 hardness가 250 dyne/cm²로 정도로 비슷한 수치로 나타났고 4,000 cp의 HPMC를 10% 첨가하였을 때 722 dyne/cm²로 가장 높은 값을 나타내었다. 또한 점착성을 나타내는 adhesiveness는 HPMC의 점도값이 높을수록 높은 값을 나타내었으며, 농도 증가에 따라 증가하는 경향을 보였다. 조직감 인자들인 cohesiveness, gumminess 및 chewiness 값도 첨가되는 HPMC의 점도가 높은 수록 증가하는 경향을 보였다. 이는 덱스트란 함유 발효물이 점성이 약한 물성을 갖지만, HPMC의 첨가에 의해서 응집력이 강한 조직감을 갖는 특징을 나타내는 겔을 형성하였다. 특히 덱스트란 함유 발효물의 extrusion에 의한 조직감 측정에서 Table 2에서 나타내는 것처럼 HPMC의 점도 및 농도가 증가할수록 firmness값이 급격하게 증가하는 경향을 보였다. 초기 발효물이 갖는 firmness 298 g은 4,000 cp 점도를 갖는 HPMC의 5%, 10% 첨가에 의해서 각각 991 g과 2382 g으로 급격하게 증가되었다. HPMC는 친수성과 소수성을 모두 가진 수용성 고분자로 이루어져 있어 물에 녹으면 결합력이 있는 점성을 띤 투명한 물질을 형성함과 동시에 용해되어 있는 친수성 혹은 소수성의 다른 물질의 용해도를 높이거나 현탁 상태를 안정화시켜주는 역할을 한다(28). 따라서 다양한 점도를 갖는 HPMC는 덱스트란 함유 발효물에 혼합되어 경도를 포함한 조직감에 큰 영향을 줌으로서 물성 조절제로서 유용한 소재라 사료된다.

HPMC 농도에 따른 덱스트란 발효물의 점탄성 변화

기본 제한배지에 효모 추출물을 3% 첨가하고 발효 온도는 30°C에서 24시간 발효하여 생산된 덱스트란 발효물에 점도가 다른 HPMC(50, 400, 4,000 cp)를 5, 10% 첨가하였을 때의 점탄성을 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. HPMC를 첨가하지 않은 발효물 (yeast extract 3% 첨가구)에서는 탄성이 약 40-50 Pa로 나타났고 점성이 약 30-40 Pa로 나타나 탄성이 점성보다 높았으나 HPMC를 첨가 구에서는 점성이 탄성보다 높은 특성을 보였다(Fig. 2). 4,000 cp의 점도를 갖는 HPMC 10% 첨가한 구에서 탄성 값이 약 1,800 Pa로 가장 높았으며 400 cp 점도를 갖는 HPMC 10% 첨가한 구는 약 800 Pa를 나타내면서 점도가 높은 HPMC를 10% 첨가 시 탄성이 급격하게 증가하는 경향을 보였다. 점성 역시 탄성

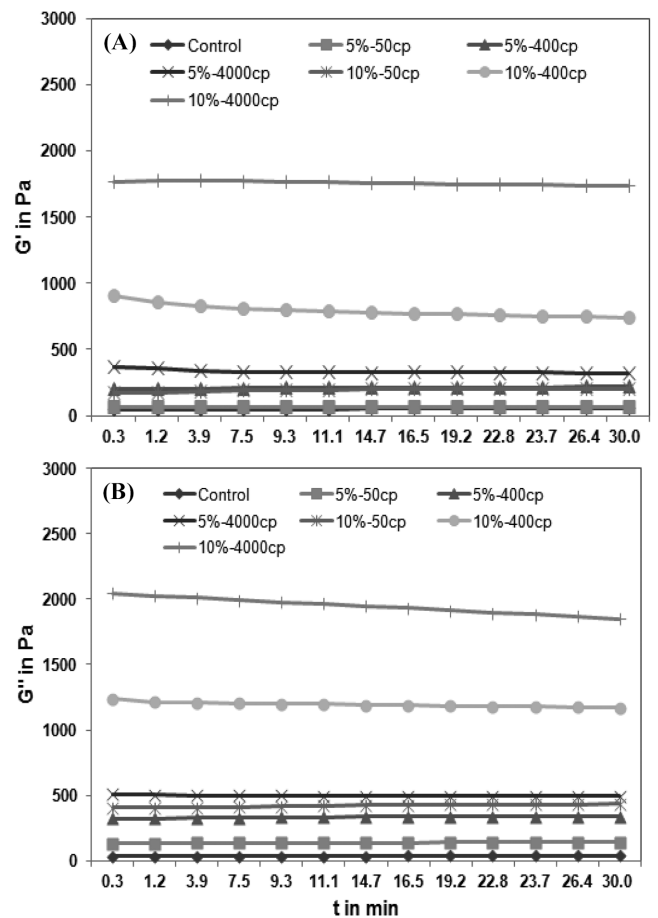


Fig. 5. Effects of different types and amounts of HPMC on the changes in the elastic modulus (G' -value) and viscous modulus (G'' -value) of viscous culture broth fermented by *Ln. mesenteroides* SM. (a) elastic modulus, (b) viscous modulus

과 비슷한 경향으로 4,000 cp의 HPMC를 10% 첨가한 구에서 점성 값이 약 1,900 Pa로 가장 높았으며, 400 cp 점도를 갖는 HPMC 10%첨가는 약 1,200 Pa로 나타났다. 따라서 식이섬유 HPMC의 첨가는 고점도일 때 덱스트란 함유 발효물의 점성을 급격하게 증가시키므로서 탄성보다 높은 점성을 갖는 물성 특성을 갖는 것으로 나타났다. HPMC는 높은 온도에서는 겔, 낮은 온도에서는 졸로 존재하는 상전이 현상을 가지고 있으며, 이는 HPMC 내의 소수성 작용기들 간의 상호작용에 의해 그물망 구조를 형성하기 때문인데, 치환도에 따라 겔이 형성되는 온도와 겔의 강도가 차

이가 난다고 보고되어 있다(29). 이러한 특성은 형성된 겔이 일정온도 범위에서 보형성을 유지시키고 겔리와 같은 코팅 막을 형성하는데 사용될 수 있다(30). 따라서 sucrose를 기질로 하는 제한배지로부터 *Leuconostoc*속 균주의 단시간 액체발효에 의해서 얻어진 고분자 텍스트란 함유 발효물은 점탄성 값이 50 Pa 이하의 낮은 값을 보이면서, 형태가 쉽게 붕괴되는 겔을 형성하는 특성을 나타내었다. 이에 식이섬유 HPMC의 10%수준으로 첨가함에 따라 발효물의 점탄성이 급격히 증가되면서 점성 값이 탄성 값보다 높으면서 형태가 유지되는 겔로 전환시킬 수 있었다.

요 약

당근주스에서 분리된 *Ln. mesenteroides* SM 균주와 효모 추출물 첨가 농도에 따라 생산된 텍스트란 함유 발효물의 물리, 화학적 성질을 평가하였으며, 식이섬유 HPMC 첨가에 따른 발효물의 물성을 조절하였다. Sucrose를 포함한 제한배지에 효모 추출물을 0.5% 이상 첨가 시 sucrose 전환율이 급격히 증가되었으며 3% 농도증가에 따라 전환율이 90%까지 증가하였으며 점조도 값은 37.6 Pa·s²으로 가장 높은 값을 나타내었다. 발효물의 산생성은 발효온도 25, 30°C에서 24시간 이후 최고 산도 값 1.4% 이상을 나타냈으며, 낮은 발효온도에서는 1.0% 수준으로 낮은 값을 보였다. 기본 제한배지에 효모 추출물을 3% 수준으로 첨가하여 30°C에서 24시간 동안 발효했을 때, 발효물의 점성과 탄성 값이 각각 약 40과 50 Pa로 가장 높게 나타났으며, 불용성 텍스트란과 전체 텍스트란의 생산량이 가장 높았다. 식이섬유 HPMC의 점도가 400, 4,000 cp인 경우에 텍스트란 함유 발효물은 높은 점탄성 값을 보였으며, 첨가 농도가 증가할수록 점탄성 값이 크게 증가되었다. 또한 HPMC가 강화된 텍스트란 함유 발효물의 견고성을 포함한 firmness는 HPMC 첨가 농도 증가 및 점도가 높을수록 급격하게 증가하면서 점탄성이 높은 겔을 형성하였다.

결론적으로 식물성 젓산균 *Ln. mesenteroides* SM 균주를 이용하여 효모 추출물을 고농도로 첨가하여 24시간 발효를 통해서 점조성이 높고, 산도가 적절한 겔 형태의 발효물을 생산할 수 있으며, 식이섬유인 HPMC의 혼합에 따라 텍스트란 함유 발효물의 견고성, firmness등의 조절이 가능하며 점탄성이 급격하게 증가된 겔을 형성할 수 있었다. 따라서 텍스트란 함유 젓산균 발효물은 수용성 식이섬유 HPMC의 강화에 따라 probiotic 및 prebiotic을 포함하면서 점조도 및 점탄성이 증진되어 식품의 물성개량제 등으로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부의 고부가 식품산업 전문인력양성사업으로 수행된 연구 결과로 이에 감사드립니다.

문 헌

- Hwang SK, Hong JT, Jung KH, Chang BC, Hwang KS, Shin JH, Yim SP, Yoo SK. Process optimization of dextran production by *Leuconostoc* sp. strain YSK. Isolated from fermented kimchi. *J. Life Sci.* 18: 1377-1383 (2008)
- Morris ER, Currence AN, Ross-Murphy SB, Rees DA. Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharide solutions. *Carbohydr. Polym.* 1: 5-21 (1981)
- Miller AW, Robyt JF. Functional molecular size and structure of dextransucrase by radiation inactivation and gel electrophoresis. *Biochim. Biophys. Acta* 870: 198-203 (1986)
- Santos M, Teixeira J, Rodrigues A. Production of dextransucrase, dextran and fructose from sucrose using *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B412(f). *Biochem. Eng.* 4: 177-188 (2000)
- Kim D, Thomas S, Fogler H. Effects of pH and trace minerals on long-term starvation of *Leuconostoc mesenteroides*. *Appl. Environ. Microb.* 66: 976-981 (2000)
- Son MJ, Jang EK, Kwon OS, Seo JH, Kim IJ, Lee IS, Park SC, Lee SP. Characterization of dextran produced from *Leuconostoc citreum* S5 strain isolated from Korean fermented vegetable. *Eur. Food Res. Technol.* 226: 697-706 (2008)
- Barry NP, Waynem DC. Diffusion of dextran at intermediate concentrations. *J. Chem. Soc. Farad. T* 1 78: 1209-1221 (1982)
- Comper WD, Preston BN. The approach of mutual diffusion coefficient to molecular weight independence in semidilute solutions of polydisperse dextran fractions. *J. Phys. Chem.* 90: 128-132 (1986)
- Tecante A, Lopez-Munguia C. Rheological characterization of dextran- enzymatic synthesis media. *J. Appl. Polymer Sci.* 31: 2337-2350 (1986)
- In MJ, Chae HJ. Production of yeast extract by a combined method of autolysis and enzymatic hydrolysis. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 19: 245-249 (2004)
- Hirosh S. Synergistic effect of ethanol and sodium chloride on autolysis baker's yeast for preparing food-grade yeast extract. *J. Food Sci.* 39: 939-942 (1974)
- Izzo HV, Ho CT. Ammonia affects maillard chemistry of an extruded autolyzed yeast extract: Pyrazine roma generation and brown color formation. *J. Food. Sci.* 57: 657-659 (1992)
- Choi SJ, Chung BH. Simultaneous production of invertase and yeast extract from baker's yeast. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 13: 308-311 (1998)
- Choi HT, Rhee SK, Son JY. Studies on the processing of yeast extract by waste brewery yeast. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 14: 161-166 (2001)
- David H, Louis H, Bartley G. Tryptophan increase extracellular serotonin in the lateral hypothalamus of food-deprived rats. *Brain Res. Bull.* 25: 803-807 (1990)
- Lee HS, Jung EY, Suh HJ. Chemical composition and anti-stress effects of yeast hydrolysate. *J. Med. Food* 12: 1281-1285 (2009)
- Bae C. Antagonistic effect of *Lactobacillus plantarum* SK1305 and optimum media composition determined by Plackett-Burman Design. MS thesis, Konkuk University, Seoul, Korea (2008)
- Sarkar S. Potential of prebiotics as functional foods- A review. *Nutr. Food Sci.* 37: 168-177 (2007)
- Chen HH. Rheological properties of HPMC enhanced surimi analyzed by small and large strain tests: The effect of concentration and temperature on HPMC flow properties. *Food Hydrocolloid.* 21: 1201-1208 (2007)
- Kim MY, Yun MS, Lee JH, Lee SK. Effects of HPMC, MC, and sodium alginate on rheological properties of flour dough *Food Sci. Biotechnol.* 40: 474-478 (2008)
- Jo SJ, Oh SM, Jang EK, Hwang K, Lee SP. Physicochemical properties of carrot juice fermented by *Leuconostoc mesenteroides* SM. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 210-216 (2008)
- Turabi E, Sumnu G, Sahin S. Rheological properties and quality of rice cakes formulated with different gums and an emulsifier blend. *Food Hydrocolloid.* 22: 305-312 (2008)
- Kang TH, Jung SJ, Kang SA, Jang KH, Jang EK, Kim SH, Kim IH, Kim SH, Rhee SK, Chun UH. Preparation of levan oligosaccharides by acid hydrolysis and its application in growth of lactic acid-producing bacteria. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 17: 137-141 (2002)
- Hwang SK. Isolation of bacteria producing dextran from fermented kimchi and optimization of dextran production. MS Thesis, Joongbu University, Geumsan, Korea (2007)
- Son MJ, Lee SP. Effects of various polysaccharides on the physicochemical properties of the dextran culture containing carrot juice residue obtained from submerged culture using *Leuconostoc citreum* S5. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 352-358 (2009)
- Lopretti M, Martinez E, Torres L, Perdomo R, Santos M, Rodrigues AE. Influence of nitrogen/carbon ration and complementary sugars on dextransucrase production by *Leuconostoc*

- mesenteroides* NRRLB512(f). *Process Biochem.* 34: 879-884 (1999)
27. Lee JS, Han PJ, Suh KB. Studies on production of modified yoghurt (soy cream) from soybean milk (I). *Korean J. Food Sci. Technol.* 4: 194-199 (1972)
28. Hardy IJ, Cook WG, Melia CD. Compression and compaction properties of plasticised high molecular weight hydroxy propyl methyl cellulose (HPMC) as a hydrophilic matrix carrier. *Int. J. Pharm.* 311: 26-32 (2006)
29. Sarker N, Walker L. Hydration-dehydration properties of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. *Carbohydr. Polymer* 27: 177-185 (1995)
30. Chen HH, Huang YC. Rheological properties of HPMC enhanced surimi analyzed by small and large strain tests: Effect of water content and ingredients. *Food Hydrocolloid.* 22: 313-322 (2008)