

유산균을 이용한 밤 발효 퓨레의 발효특성

이진만¹ · 허상선^{2,†}

¹(주)에터미오롯, 건강식품연구소

^{2,†}충부대학교 바이오융합학부 바이오식품학전공, 교수

(2021년 1월 26일 접수: 2021년 4월 12일 수정: 2021년 4월 14일 채택)

Fermentation Characteristic of Fermented Chestnut Puree by Lactic Acid Bacteria as Starter

Jin-Man Lee¹ · Sang-Sun Hur^{2,†}

¹Atomyorot, Innovation Health Food Lab, Charyeong-ro, Jeongan-myeon, Gongju-si, Chungcheongnam-do, 3526, Republic of Korea

[†]Division of Intergrated Biotechnology, Department of BioFood Science, Joongbu University, Geumsan, Chungnam 312-702, Korea

(Received January 26, 2021; Revised April 12, 2021; Accepted April 14, 2021)

요약 : 본 연구는 증숙밤(95°C, 90분) 페이스트의 발효에 적합한 유산균을 탐색하고 유산균에 의해 발효된 밤 발효 퓨레의 품질적 특성을 조사하였다. 유산균 12종에 대하여 2.0%(v/w)의 농도로 접종하여 37°C에서 48시간 발효한 결과 *L. plantarum* KCTC 21004가 산 생성능이 우수하였다. 증숙밤의 함량, 균 접종량 및 발효온도에 따른 발효 밤 퓨레의 발효 및 품질적 특성을 분석한 결과 물리화학적 특성에는 큰 차이가 나타나지 않았으나 퓨레의 물성 측정시 증숙밤 50% 함량 페이스트가 최적의 조건이었다.

주제어 : 증숙밤, 유산균, 퓨레, 접종량, 물리화학적 특성

Abstract : This study developed a fermented chestnut puree by lactic acid bacteria fermentation using steamed chestnut paste at 95°C for 90 min and the quality characteristics were investigated. In addition, quality of the characteristics of the fermented chestnut puree during fermentation by lactic acid bacteria were reported. 12 strains of lactic acid bacteria were inoculated to steamed chestnut paste at a concentration of 2%(v/w), respectively, and incubated at 37°C for 48 hr. *Lactobacillus plantarum*(KCTC 21004) was the most superior in acid production among 12 strains of lactic acid bacteria to the fermented chestnut puree. The effect of steamed chestnut concentration, inoculum size and fermentation temperature for fermented chestnut puree on physical properties and fermentation

[†]Corresponding author
(E-mail: sshur@joongbu.ac.kr)

characteristics were investigated. As a result there was no significant difference on physiochemical properties but the optimum concentration of the steamed chestnut for puree properties is 50%.

Keywords: Steamed chestnut, Lactic acid bacteria, Puree, inoculum size, Physiochemical properties

1. 서론

세계에서 가장 빠른 속도로 초고령 사회로 접어들고 있는 한국은 고령화 쇼크 상태에 직면해 있다. 통계청 자료에 의하면 한국의 인구 고령화 속도는 세계적으로 가장 빠른 수준을 나타내고 있어 2050년에는 65세 이상 인구가 전체의 38.2% 이상으로 초고령사회에 진입할 것으로 전망되고 있다[1]. 노인 인구 비율의 증가는 노화로 인해 발생할 수 있는 질병들의 증가에 따른 의료비 증가, 노인케어에 대한 사회적 비용의 증가, 생산가능인구의 감소로 인한 경기침체 등으로 정치·경제·사회 전반에 걸쳐 큰 변화를 초래할 수 있다. 노화로 인해 나타날 수 있는 문제들 중 구강 기능의 변화로 인해 나타나는 3대 섭식장애는 저작 장애·연하 장애·소화 장애이며 이는 신체적 문제뿐만 아니라 경제적 문제 등으로 인하여 건강한 영양섭취가 어렵게 되어 궁극적으로 건강상태 악화를 일으킨다[2]. 따라서 최근 노인을 위한 식품 개발에 식품 물성조절 기술이 광범위하게 활용되고 있는데 이는 노인들의 섭식 장애를 해결하기 위해 식품 혹은 원재료의 물성을 제어하는 기술로서 효소처리, 수비드(Sous vide Cooking), 초고압기술, 3D 프린팅 기술 등이 있다[3,4]. 퓨레란 과일, 채소, 곡류 및 육류 등을 갈아 익히고 혼합하여 체에 거른 후 액상 혹은 페이스트상으로 만든 식품으로, 연하 곤란자를 위한 텍스처 변형 식품(texture-modified food) 중 가장 낮은 단계의 상태로 제시된다. 미국의 NDD에 의한 식이변형제도 1단계로 퓨레 다이어트(pureed diet)라고 제시하고 있으며[5], 미국 이외에도 영국, 오스트레일리아, 일본 등 각 나라별로 구분한 텍스처 변형 식품에서도 퓨레에 대한 정의를 제시하고 있다[6]. 또한 뇌질환 환자를 대상으로 연하곤란 치료법에서는 구강·인두에 음식이 많이 남아 있거나 구강 준비기에 문제가 있는 경우 퓨레 정도의 점도를 가진 음식 섭취를 권장하고 있다[7,8].

그러한 식품중에서 너도 밤나무과의 밤나무속

의 열매인 밤은 일반 과실류에 비해 전분함량이 높고 수분함량이 낮으며, 단백질, 지질, 비타민, 무기질 등 5대 영양소가 고루 함유되어 있어 영양적으로 뛰어나 허약하며 영양상태가 좋지 못한 사람에게 좋다. 그리고 근육과 뼈를 튼튼하게 하므로 성장기 어린이나 하체가 약한 사람에게 이로운 것으로 알려져 있다. 뿐만 아니라 위와 비장을 튼튼하게 하고 신장을 보호하는 것으로 하며, 피부미용, 피로회복, 감기예방에 효과적이라 하여 한방 식품재료로도 널리 이용되고 있다[9]. 밤을 이용한 선행연구에는 밤의 기능성 성분에 관한 연구[10], 발효음료 제조에 관한 연구[11], 밤을 이용한 기능성 발효 제품 제조에 관한 연구[12]와 밤 페이스트 제조[13] 등으로 한국산 밤의 기능성 연구와 가공식품 개발 연구가 시도되고 있다. 하지만 아직도 밤 소비는 주로 생식용과 수출용이 대부분을 차지하고 있다.

Lactobacillus, *Bifidobacterium*, *Lactococcus* 등 probiotic에 많이 이용되고 있는 유산균은 식품 내에서 유산균 발효를 통해 높은 산 생성으로 인한 식품의 부패를 방지하고 항균물질인 bacteriocin을 분비하여 식중독균을 억제하며 사람의 장내 pH를 낮추어 부패세균의 증식을 억제하는 등의 효과를 나타내고 있어 식품의 보존성, 정장작용, 병원성세균의 생육억제 작용, 콜레스테롤 저하작용, 항암작용, 면역증진효과 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다[14].

이에 본 실험에서는 그동안 단순한 가공식품 품목에 국한되어 있는 밤 가공제품에서 탈피하여 밤의 이용성 및 부가가치를 증진하여 새로운 밤 가공식품의 개발과 상품화 연구의 기초자료를 제시하고자 한다.

2. 실험

2.1. 공시재료

본 실험에 사용한 밤 원료는 충남 공주시에 위치한 신울영농조합의 생산물을 구입하여 밤의 외

피와 내피를 모두 제거한 흰 과육을 실험에 사용하였다. 밤 페이스트 제조는 90°C에서 90분 증숙하여 물과 혼합하여 으갠 뒤 121°C에서 15분 멸균한 후 발효에 이용하였다.

2.2. 사용균주 및 배양

실험에 사용한 유산균은 한국생명공학연구원 생물자원센터(Biological resource center)에서 분양받은 *Lactobacillus rhamnosus* KCTC 3237, KCTC 5033, *L. Kimchicus* KCTC 12976, *L. plantarum* KCTC 21004, *L. plantarum subsp. plantarum* KCTC 3103, KCTC 3104, *L. brevis* KCTC 3102, KCTC 13094, *L. acidophilus* KCTC 3164, *L. sakei subsp. sakei* KCTC 3598, *Lactococcus lacticus subsp. lacticus* KCTC 2013, KCTC 3899를 구입하여 사용하였다. 유산균의 배양은 MRS broth(Difco Co., MD, USA)을 사용하여 37°C에서 배양하였다. 밤 퓨레의 유산균 발효 실험을 위해서는 제조한 밤 퓨레에 MRS 배지에서 하룻밤 배양한 유산균을 2%(v/w) 접종한 후 37°C에서 일정기간 배양하여 발효하였다.

2.3. 밤 페이스트의 이화학적 특성 분석

2.3.1. pH 및 적정산도 측정

pH 측정은 pH meter(DocuMeter, Sartorius, USA)를 사용하여 실온에서 측정하였다. 적정산도는 10배로 희석한 시료 10 mL를 pH 8.2가 될 때까지 0.1N-NaOH 표준용액으로 중화적정한 후 lactic acid로 환산하여 나타내었다.

$$\text{적정산도}(\%) = \frac{V \times F \times A \times D}{S} \times 100$$

V : 0.1N NaOH의 적정치 소비량(mL)

F : 0.1N NaOH의 factor

A : 0.1N NaOH 1 mL에 상당하는 유기산의 양 (lactic acid : 0.009)

D : 희석배수

S : 시료 채취량

2.3.2. 유산균 수 측정

유산균수는 표준한천배양법으로 측정하였으며, 유산균의 생균수를 측정하기 위하여 시료를 0.85% NaCl 용액을 이용하여 10⁹까지 단계적으

로 희석하여 MRS agar 배지에 0.1 mL씩 분주 및 도말한 후 37°C에서 24~36시간 배양하였다. 배양 후 colony 수가 30~300개인 평판을 택하여 colony 수를 측정하고 희석배수를 곱하여 단위부피당 생균수(CFU/mL)를 산출하였다.

2.3.3. 점도 측정

발효 밤 페이스트의 점도는 점도계(Brookfield DV-II+ pro, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., MA, USA)를 사용하였다. 이때 사용된 스피들(spindle)은 No.64을 선택하여 3회 반복한 평균값을 산출하였다.

2.3.4. 색도 측정

색도 측정은 petri dish에 시료를 담아 Colorimeter(Model JC 801S, Color Techno System, Japan)로 측정하였다. Hunter's value인 L, a, b 값을 측정하였다.

2.4. 통계 분석

모든 분석은 3회 반복 측정하였으며, mean±SD로 표현하였다. 통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0. SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균값과 표준편차를 산출하였다. 유의성 검정은 일원 분산분석(one way ANOVA test)를 이용하였으며, P<0.05 수준으로 Duncan의 다중범위 검정(Duncan's multiple range test)에 의하여 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 유산균 종류에 따른 유산균 발효 특성

발효제품의 적절한 pH는 풍미를 향상시킬 수 있다고 알려져 있으며[15], 유산균은 장내에서 산도 증가와 pH 감소를 시켜 유해세균 증식을 억제하는 것으로 알려져 있다. 따라서 밤 유산균 발효 퓨레를 제조하기 위한 우수 유산균을 선발하기 위하여 유산균 12종의 밤 발효를 통하여 생육속도, 유산생성 속도 등을 통하여 균을 선발하고자 하였다. 밤에 의한 유산균의 생육특성을 확인하기 위해 동량의 물을 혼합하여 제조한 밤 페이스트를 멸균하고 각각의 유산균을 2%(v/w) 접종한 다음 37°C에서 48시간동안 발효를 진행하였고, 12시간마다 sampling한 밤 페이스트 발효물

의 pH와 산도를 측정하였다. 밤을 이용한 유산균 종류에 따른 발효시기별 pH와 적정산도의 변화는 Table. 1과 같다. 본 실험에 사용된 균주의 종류에 따른 밤 발효 시 생육속도에 의한 산 생성

의 차이는 있지만 발효 시간 경과에 따라 pH는 감소하였으며, 산도는 증가하는 경향을 나타내었다. 유산균은 발효를 통해 젖산을 포함하는 유기산을 생성하고, 생성된 유기산은 발효물의 pH를

Table 1. Patterns of pH and titratable acidity of chestnuts during fermentation by lactic acid bacteria at 37°C.

Test strains		Fermentation time(hr)					
		0	6	12	24	36	48
KCTC 2013	pH	5.78±0.01	4.20±0.03	3.95±0.01	3.80±0.01	3.55±0.01	3.12±0.01
	TA (%)	0.17±0.00	0.27±0.00	0.29±0.02	0.40±0.01	0.46±0.02	0.77±0.05
KCTC 3012	pH	5.81±0.01	4.54±0.01	4.17±0.03	3.52±0.01	3.39±0.01	3.34±0.01
	TA (%)	0.18±0.01	0.21±0.01	0.35±0.01	0.61±0.02	0.68±0.01	0.75±0.02
KCTC 3013	pH	5.75±0.01	4.32±0.01	3.60±0.01	3.23±0.01	3.06±0.01	2.94±0.02
	TA (%)	0.17±0.01	0.26±0.01	0.66±0.09	1.11±0.01	0.94±0.03	1.33±0.01
KCTC 3104	pH	5.79±0.01	4.44±0.01	3.45±0.01	3.20±0.01	2.96±0.01	2.94±0.01
	TA (%)	0.18±0.01	0.22±0.01	0.65±0.05	0.91±0.02	0.73±0.45	1.01±0.12
KCTC 3164	pH	5.76±0.01	5.45±0.01	5.13±0.01	4.28±0.01	3.86±0.03	3.91±0.01
	TA (%)	0.15±0.00	0.14±0.01	0.16±0.01	0.25±0.01	0.31±0.01	0.31±0.00
KCTC 3237	pH	5.83±0.01	4.96±0.01	4.70±0.01	4.16±0.01	3.90±0.01	3.67±0.01
	TA (%)	0.17±0.01	0.17±0.00	0.17±0.00	0.34±0.01	0.31±0.01	0.31±0.01
KCTC 3598	pH	5.77±0.01	4.13±0.01	3.51±0.01	3.22±0.01	2.95±0.01	2.96±0.01
	TA (%)	0.18±0.02	0.26±0.01	0.72±0.01	1.03±0.04	1.03±0.04	1.05±0.03
KCTC 3899	pH	5.78±0.01	5.76±0.02	5.89±0.01	4.77±0.01	4.29±0.01	3.44±0.01
	TA (%)	0.15±0.01	0.14±0.01	0.12±0.00	0.20±0.01	0.23±0.00	0.52±0.03
KCTC 5033	pH	5.76±0.01	4.95±0.02	4.94±0.01	4.89±0.01	4.73±0.01	3.50±0.01
	TA (%)	0.15±0.02	0.16±0.01	0.17±0.01	0.14±0.00	0.17±0.00	0.36±0.01
KCTC 12976	pH	5.80±0.01	4.41±0.01	4.11±0.01	4.11±0.01	3.99±0.01	3.51±0.01
	TA (%)	0.18±0.02	0.29±0.01	0.40±0.01	0.39±0.05	0.38±0.01	0.63±0.02
KCTC 13094	pH	5.78±0.02	5.22±0.02	4.16±0.01	4.17±0.02	4.06±0.01	4.02±0.01
	TA (%)	0.15±0.01	0.15±0.01	0.37±0.02	0.31±0.01	0.30±0.01	0.32±0.02
KCTC 21004	pH	5.77±0.01	3.60±0.01	3.37±0.02	3.11±0.01	2.86±0.01	2.87±0.01
	TA (%)	0.18±0.01	0.47±0.03	0.74±0.03	1.01±0.05	1.63±0.03	1.46±0.06

저하시켜 잡균의 오염을 방지할 수 있다는 보고를 고려할 때 *L. plantarum* KCTC 21004 균주 발효에 의한 pH 저하로 발효 밤 페이스트의 잡균 오염을 방지할 수 있을 것으로 판단되었다[16, 17]. 밤 페이스트의 초기 pH는 5.75~5.83로 약 산성이었으며, 초기 산도는 0.15~0.18%의 범위로 나타났다. 밤 페이스트를 48시간까지 발효시켰을 경우 모든 균에서 산도가 증가하였으나 산도가 1.0%까지 증가한 균은 *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3103, KCTC 3104, *L. sakei* subsp. *sakei* KCTC 3598, *L. plantarum* KCTC 21004로 다른 균들에 비해 산 생성능이 높은 것으로 확인하였다. 그 중 *L. plantarum* KCTC 21004가 발효 48시간 후 산도가 최대 1.46%까지 증가하여 다른 균들에 비해 산 생성능이 높은 것으로 나타났다. 이에 본 실험결과 12종의 유산균 균주 중 *L. plantarum* KCTC 21004가 발효 속도가 빠르고 유기산을 더 많이 생성하는 가장 우수한 균주인 것으로 분석되었다.

3.2. 밤 페이스트의 유산균 발효 특성

본 실험의 Starter 균주로 선정된 *L. plantarum* KCTC 21004의 생육 특성을 알아보기 위하여, 37°C에서 48시간동안 3시간 간격으로 pH와 흡광도를 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 종균 접종 후 3시간 후부터 대수 증식기가 시작되어 18시간 경과 후에 흡광도 값 약 2.7에 도달하여 생균수는 9.85 log CFU/mL이었다. 접종 후 24시간일 때 생균수가 12.12 log CFU/mL로 도달하였으며 그 이후로는 생균수가 감소하여 48시간에 10.8 log CFU/mL로 나타났다. 조 등의[18]의 보고에 의하면 두유에 *Lactobacillus plantarum*과 *Bacillus subtilis*로 발효시켰을 때 발효 10시간에 총 균수가 2.86×10^9 CFU/mL였다는 결과와는 다소 차이가 있는데 이는 균종간, 시료종류 및 제조공정 등의 차이에 기인한 것으로 사료된다. 이에 본 실험에서 발효공정의 배양시간은 24시간, 첨가하는 starter의 접종량은 2.0%(v/w)로 하여 밤 푸레 발효를 진행하였다.

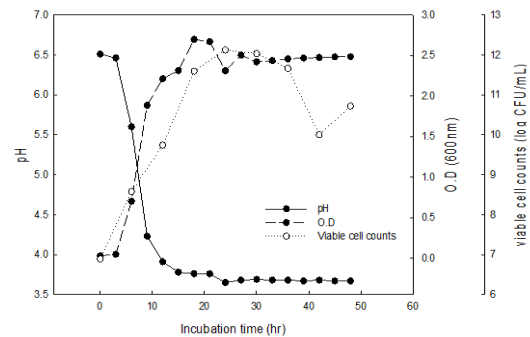


Fig. 1. Growth curve of *L. plantarum* KCTC 21004 at 37°C in MRS medium.

3.3. 밤 함량에 따른 유산균 발효 특성

증숙밤 함량에 따라 유산균의 생육 및 산 생성능의 차이를 분석하기 위해 증숙밤의 첨가량(40%, 50%, 60%)에 따른 유산균 발효 푸레의 발효시기별 pH와 적정산도의 변화를 분석하여 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 발효 전 푸레의 pH는 5.7~6.02, 산도는 0.20~0.21%이었으나 발효 초기부터 pH가 급격히 감소하여 12시간 경과 후에 pH는 3.8~3.9, 산도는 0.73~0.92%로 증가하였다. 발효 36시간 이후로는 pH 3.6~3.7로 안정된 값을 나타내었고 발효 48시간에 산도는 1.56~1.62%이었다. 밤 함량에 따른 밤 푸레의 발효의 특성은 밤 함량이 증가할수록 산 생성능이 높은 경향이 나타났으나 최종 발효 시간에 변화는 큰 차이를 보이지 않았으며, 발효 시간이 길어질수록 pH는 감소하고, 산도는 증가하는 경향이 나타났다. MRS broth에서 24시간 전배양 시킨 *L. plantarum* KCTC 21004를 접종하여 시간별로 sampling하여 균수를 측정된 결과를 Table 2 나타내었다. Table 2에서 보는 바와 같이 초기 생균수는 8.6~9.3 log CFU/mL였으며 모든 실험군에서 발효 36시간까지 증가하다가 발효 48시간째에 밤 함량 40%와 50%에서는 균수가 감소하였으나 밤 함량 60%는 균수가 증가한 것으로 보아 밤 함량 60%는 유산균이 이용할 수 있는 잔당이 남아있는 것으로 생각된다. 따라서 *L. plantarum* KCTC 21004로 발효한 증숙밤 함량에 따른 푸레는 유산균의 생육 및 산 생성능에 큰 차이가 없이 우수한 것으로 나타났다.

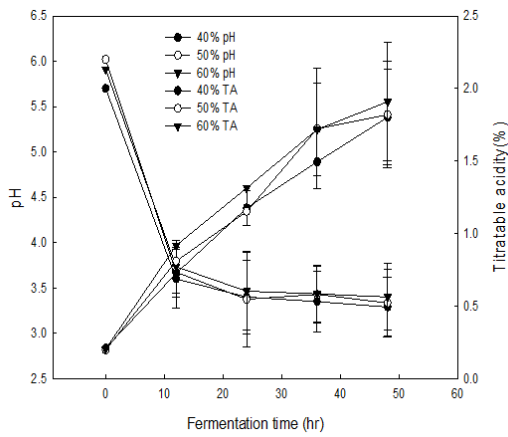


Fig. 2. Patterns of pH and titratable acidity of chestnut puree during fermentation by *L. plantarum* KCTC 21004.

증숙밤과 물의 혼합비율에 따른 유산균 발효 퓨레의 색도변화를 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 증숙밤 함량을 40~60%(w/w)로 달리한 밤 퓨레의 발효 전과 48시간 발효 후 색도를 측정하였을 때 발효 전 명도(L)값은 50.62~53.74, 적색도(a)값은 -0.42~1.46, 황색도(b)는 19.60~

22.49로 나타났으며, 밤 함량이 증가할수록 L, b 값은 감소하였고 a값은 증가하는 것으로 나타났다. 발효 전 밤 함량에 따라 색도 차이를 보이는 것은 밤 혼합비율이 증가할수록 당의 양이 많아져 멸균 시 가열에 의한 당의 캐러멜화 반응에 기인하는 것으로 생각된다. 발효 후 색도값은 발효 전보다 명도와 황색도값이 높아지고, 적색도가 감소한 결과는 유산균 발효에 의해 갈변한 당의 소비와 분해로 인한 명도와 황색도가 증가하고 적색도값이 감소한 것으로 추정된다[19]. 밤 함량에 따른 유산균 발효의 점도 변화의 결과를 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 밤 함량이 증가할수록 점도가 증가하는 경향을 나타내며, 이는 밤에 존재하는 전분질이나 섬유소 등에 의해 증가된 것으로 보인다. 한편, 발효 후 모든 실험군의 점도는 발효 전보다 점도가 감소하였다. 즉, 밤 함량 40% 퓨레는 발효 전 28,994cp에서 48시간 발효 후 26,994cp, 밤 함량 50% 퓨레는 119,000cp에서 112,000cp, 밤 함량 60% 퓨레는 435,000cp에서 344,000cp로 감소하였다. 이처럼 발효 후의 퓨레의 점도 감소는 유산균 증식에 따라 생성된 유기산에 의한 침출물 분해와 전분 가수분해효소작용으로 인한 환원당 생성과 전분의 저분자화가 그 원인으

Table 2. Patterns of the number of lactic acid bacteria in chestnut puree during fermentation by *L. plantarum* KCTC 21004

Chestnut content	Viable cell counts (log CFU/mL)				
	Fermentation time (hr)				
	0	12	24	36	48
40%	8.69	11.28	12.43	13.38	12.43
50%	9.28	12.64	12.75	13.04	11.60
60%	8.57	10.93	12.08	13.26	14.08

Table 3. Patterns of colors of chestnut puree fermented by *Lacto- bacillus plantarum* KCTC 21004

Chestnut concentration	Surface color					
	L value		a value		b value	
	Fresh	Fermented	Fresh	Fermented	Fresh	Fermented
40%	53.74±0.38 ^{a1,2)}	59.57±0.59 ^a	-0.46±0.05 ^c	-1.81±0.44 ^c	22.49±0.43 ^b	27.17±1.21 ^b
50%	50.90±0.10 ^a	57.18±0.95 ^a	0.86±0.09 ^c	-0.87±0.14 ^c	19.60±0.54 ^b	20.74±0.51 ^b
60%	50.62±0.15 ^a	55.69±0.68 ^a	1.42±0.11 ^c	-0.65±0.30 ^c	20.05±0.88 ^b	22.50±0.66 ^b

¹⁾Each value represents mean±SD (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same column are not significantly different(p<0.05)

로 판단된다고 보고하였다[20]. 일반 적으로 시판되어지는 요구르트의 점도는 7,850~21,000cp로 보고[21]되고 있는데 이는 함 함량 40% 페이스트의 유동점성과 비슷한 점성을 나타내고 있어 본 실험에서 도출하고자 하는 밤 발효 퓨레의 물성하과는 적합하지 않은 것으로 판단된다. 따라서 본 실험 결과 밤 발효 퓨레 제조에 있어 증숙함 함량을 50% 페이스트가 가장 적합한 것으로 분석되었다.

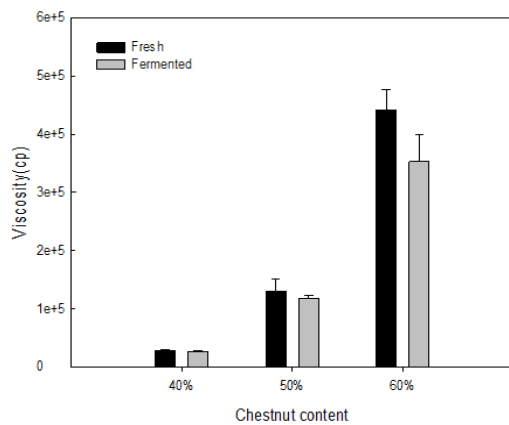


Fig. 3. Comparison of viscosity depending on chestnuts paste concentration in the lactic acid fermentation.

3.4. 균 접종량에 따른 유산균 발효특성

보통 우유의 발효 시 통상 2.0%의 범위에서 유산균을 접종하여 유산균 발효 식품을 제조한다고 보고[22]하고 있다. 이에 본 실험에서 접종량에 따른 균의 활성도를 검토하기 위한 접종량 범위를 0.5~3.0%(v/w)로 정하여 최적 접종량을 결정하였다. 증숙밤 50% 함량을 첨가한 페이스트에서 유산균 발효의 특성을 분석한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 균 접종량이 높을수록 발효유도가 빠른 경향을 보였고, 3%(v/w)일 경우 배양 12시간에 1.10%로 다른 실험군에 비해 초기 산 생성이 높다는 것을 알 수 있었으며, 최종 배양 48시간에 1.71%로 산 생성이 높게 나타났다. 그러나 다른 실험군의 경우 접종량에 따른 pH와 적정산도는 큰 차이가 나지 않는 것으로 나타났다. 접종량에 따른 밤 발효 퓨레의 시간별 생균수를 측정된 결과는 Table 4와 같다. *L. plantarum* KCTC 21004를

MRS broth에 24시간 전배양하여 밤 50% 함량 페이스트에 0.5~3.0%(v/w)를 접종하여 발효기간 중 경과시간에 따라 생균수를 측정하였다. 접종 후 초기 균수는 8.34~9.28 log CFU/mL로 나타났으며, 발효 36시간까지 생균수가 증가 추세를 보이다가 발효 48시간 이후부터 감소하는 경향을 보였다. 발효 48시간에 10.85~12.93 log CFU/mL로 모든 실험군에서 많은 유산균수를 유지하고 있는 것으로 나타났다.

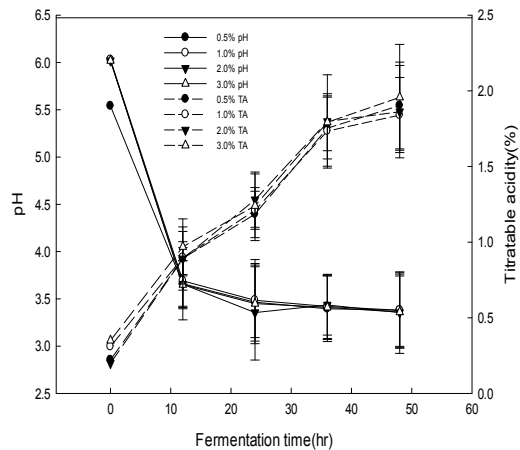


Fig. 4. Effect of inoculation concentration of starter on the pH and titratable acidity of chestnut puree fermented by *L. plantarum* KCTC 21004.

MRS broth에서 24시간 전배양한 *L. plantarum* KCTC 21004균을 0.5~3.0%로 접종량을 달리하여 발효 전과 발효 후의 색도변화를 관찰한 결과는 Table 5와 같다. 모든 실험군에서 발효 전보다 발효 후 명도(L)값이 증가하여 밝아졌으며, 적색도(a)값은 감소하였고, 황색도(b)값은 증가하여 발효 후 밤 발효 퓨레는 밝은 노란빛으로 나타남을 알 수 있었다. 균 접종량에 따른 밤 페이스트의 발효 전후의 점도 변화 결과는 Fig. 5와 같다. *L. plantarum* KCTC 21004균을 발효 시 접종량이 많아질수록 퓨레가 묽어지는 경향을 보이면서 점도 값이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 밤퓨레 발효(50% 함량)에 있어서 유산균의 접종량은 0.5%~2.0%(v/w)범위가 가장 양호한 물성으로 나타남을 알 수 있었다.

Table 4. Patterns of inoculation concentration of starter on the cell counts of chestnut puree fermented by *Lactobacillus plantarum* KCTC 21004

Seed volume (%)	Viable cell counts (log CFU/mL)				
	Fermentation time(hr)				
	0	12	24	36	48
0.5	8.66	11.26	12.38	13.32	12.23
1.0	8.34	9.90	12.61	13.88	10.85
2.0	9.28	12.64	12.75	13.00	11.60
3.0	9.28	11.67	12.45	10.95	12.93

¹⁾Each value represents mean±SD (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same column are not significantly different(p<0.05)

Table 5. Effect of inoculation concentration of starter on the colors of fermented chestnut puree

Seed volume (%)	Surface color					
	L value		a value		b value	
	Fresh	Fermented	Fresh	Fermented	Fresh	Fermented
0.5	44.64±0.80 ^{ab1,2)}	57.75±1.03 ^a	2.76±0.31 ^c	-1.34±0.46 ^d	16.43±1.10 ^{bc}	23.85±0.75 ^b
1.0	51.44±0.52 ^a	56.73±1.00 ^a	1.16±0.32 ^c	-0.84±0.28 ^d	20.65±0.56 ^b	23.23±0.44 ^b
2.0	50.90±0.10 ^a	57.18±0.95 ^a	0.86±0.09 ^{cd}	-0.87±0.14 ^d	19.60±0.54 ^c	20.74±0.51 ^b
3.0	48.87±0.43 ^{ab}	53.70±0.49 ^a	1.69±0.18 ^c	-0.81±0.38 ^d	17.19±0.70 ^{bc}	19.74±0.40 ^{bc}

¹⁾Each value represents mean±SD (n=3)

²⁾Values with the same letter in the same column are not significantly different(p<0.05)

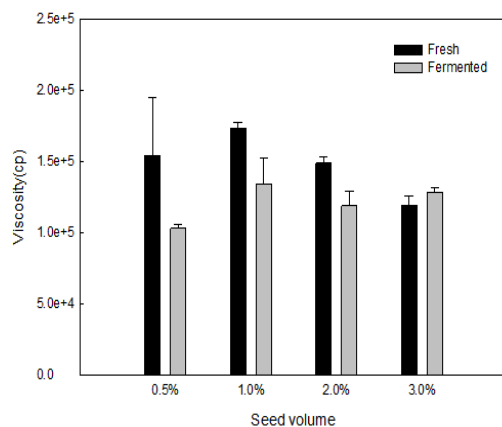


Fig. 5. Effect of inoculation concentration of starter on the viscosity fermented chestnut puree fermented by *L. plantarum* KCTC 21004.

4. 결론

본 연구에서는 친환경 식품인 밤의 영양성분과 유산균 발효를 통한 기능성 향상된 발효 푸레를 개발을 위한 최적 조건을 검토하여, 다양한 가공 식품에 응용할 수 있는 푸레 제품의 기초를 마련하고자 하였다. 밤 발효에 적합한 유산균을 탐색하기 위하여 증숙밤(95°C, 90분) 페이스트에 유산균 12종에 대하여 2.0%(v/w)의 농도로 접종하여 발효한 결과 *L. plantarum* KCTC 21004가 산 생성능이 우수하였으며, 밤 발효 푸레의 발효 조건을 확립하기 위한 전배양액 조건은 MRS broth에서 37°C 배양 시 높은 생균수(12.12 log CFU/mL)를 나타낸 24시간으로 결정되었다. 증숙밤의 함량을 달리하였을 때 산 생성과 생균수에 큰 영향을 미치지 않았으며 푸레의 물성 측정 시 증숙밤 50% 함량 페이스트가 최적의 물성값

을 나타내는 것으로 분석되었다. 전배양액의 접종량은 산 생성과 생균수, 물성 및 기능성 변화에서 접종량 1.0~2.0%(v/w)가 최적으로 나타났으며, 본 실험에서는 접종량 2.0%로 결정하였다. 국내 밤가공업체의 경우 대부분 영세업체임점을 감안할 때 밤 가공식품의 상품화를 위해서는 밤 가공식품의 개발에 머물지 말고 상품화를 위해 식품제조보고서 작성에 필요한 유통기한 설정, 첨가된 식품첨가물의 종류 및 함량, 고열량-저열량 식품 판별, 영양성분표시 등의 구체적인 자료가 이루어져야 한다. 이에 본 연구진에서는 본 실험을 기초로 하여 다양한 당 종류의 첨가량에 따른 밤 발효 푸레의 품질 특성뿐만 아니라 유산균 종류에 따른 밤 발효물의 항산화 활성 등을 분석하고 상품성이 높은 밤 푸레 제품을 개발한 후 업체 의견 및 여건을 반영하여 밤 발효 푸레 가공품이 즉시 상품화가 가능할 수 있도록 연구를 수행하고자 한다.

감사의 글

본 연구는 2020년 중부대학교 교원 연구년 지원에 의하여 수행되었습니다.

References

1. T. Y. Seo, E. J. Lim, "The direction and corresponding strategies for the low-birth rate and old-aging era in Korean social studies", *Social Studies Education*, Vol.52, No.4 pp.23-35, (2013).
2. C. R. OH, "Industry trend and food development status for the elderly people: Focused on dysphagia", *Culinary Science & Hospitality Research*, Vol.25, No.6 pp.194-201, (2019).
3. B. K. Kim, Y. G. Chun, S. H. Lee, D. J. Park, "Emerging technology and institution of foods for the elderly", *Food Science and Industry*, Vol.48, No.3 pp.28-36, (2015).
4. L. B. Alain, C. M. L. B. Bianca, "Patricia, Recent advances and future perspective in additive manufacturing of foods based on 3D printing", *Current Opinion in Food Science*, Vol.35, No.10 pp.54-64, (2020).
5. American Dietetic Association, National Dysphagia Diet: Standardization for optimal care, pp.1-25, Diana Faulhaber Publisher, (2002).
6. A. Y. C. Julie, S. Catriona, D. Janice, C. Pere, C. Jianshe, K. Jun, D. Dantas, L. Caroline, S. Renee, L. Peter, M. Joseph, "The need for international terminology and definitions for texture-modified foods and thickened liquids used in dysphagia management: foundations of a global initiative", *Current Physical Medicine and Rehabilitation Reports*, Vol.1, No.4, pp.280-291, (2013).
7. J. W. Beom, T. R. Han, "Treatment of dysphagia in patients with brain disorders", *Journal of the Korean Medical Association*, Vol.56, No.1 pp.7-15, (2013).
8. W. Hidetaka, R. Takahashi, T. Murakami, "The prevalence and prognosis of sarcopenic dysphagia in patients who require dysphagia rehabilitation", *The journal of nutrition, health & aging*, Vol.23, No.10 pp.84-88, (2019).
9. H. S. Lee, Y. J. Jang, S. H. Kim, "The study on development of processed foods with chestnut", *Journal of Korean Society of Food Culture*, Vol.31, No.2 pp.194-2003, (2016).
10. H. J. Lee, M. J. Chung J. Y. Cho, S. S. Ham, M. Choe, "Antioxidative and macrophage phagocytic activities and functional component analyses of selected Korean chestnut (*Castanea crenata* S. et Z.) cultivars", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.37, No.9 pp.1095-1100, (2008).
11. S. S. Kang, M. K. Kim, Y. J. Kim, "Comprehensive evaluation of micro-biological and physicochemical properties of commercial drinking yogurts in Korea", *Food Science of Animal Resources*, Vol.39, No.5 pp.820-830, (2019).
12. H. S. Jin, Y. S. Choi, K. J. Lee,

- “Development of a fermented food product using chestnut broth and mixed cultures of lactic acid bacteria”, *The Korean Society of Food & Nutrition*, Vol.14, No.3 pp.217-21. (2001).
13. L. Qi, L. Xuemei, Y. Fang, S. Tianlei, B. Dingren, H. Xingjian, P. Siyi, “Research on the technology of inhibiting browning in chestnut paste processing”, *Advance Journal of Food Science and Technology*, Vol.11, No.9 pp.599-604, (2016).
 14. Y. J. Seong, M. S. Park, “Trends in probiotics product”, *Food Science and Industry*, Vol.52, No.3 pp.229-240, (2019).
 15. M. J. Seo, B. W. Kang, J. U. Park, M. J. Kim, H. H. Lee, Z. S. Kim, M. B. Yoo, H. S. Kim, S. M. Kim, J. Y. Kee, “Characterization analysis of functional gochujang including grain syrup with tomato puree”, *Korean Society of Life Science*, Vol.22, No.11 pp.1463-1469, (2012).
 16. M. I. Masood, M. I. Qadir, J. H. Ahrazi, I. U. Khan, “Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings”, *Critical Reviews in Microbiology*, Vol.37, No.1 pp.91-98, (2011).
 17. L. G. Stoyanova, E. A. Ustyugova, A. I. Netrusov, “Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: Their diversity and properties”, *Applied Biochemistry and Microbiology*, Vol.48, No.4 pp.229-243, (2012).
 18. Y. H. Cho, J. Y. Imm, H. Y. Kim, S. G. Hong, S. J. Hwang, D. J. Park, S. Oh, “Isolation and partial characterization of isoflavone transforming *Lactobacillus plantarum* YS712 for potential probiotic use”, *Food Science of Animal Resources*, Vol.29, No. pp. 640-646, (2009).
 19. Y. J. Lee, W. S. Kim, B. J. Lee, Y. J. Jeon, Y. T. Kim, “Quality characteristics and antioxidant activities of gruel containing saccharina japonica powder”, *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol.50, No.6 pp.707-713, (2017).
 20. Y. R. Ko, M. Y. Shon, Y. G. Kim, K. S. Chung, S. B. Wang, S. K. Park, “Changes in quality properties of fermented waxy rice paste of yakchobugak as affected by lactic acid bacteria and waxy rice powder”, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.38, No.2 pp.201-210, (2009).
 21. M. S. Kim, E. S. Ahn, D. H. Shin, “Physico-chemical properties of commercial yoghurt in Korea”, *Korean Journal of Food Science & Technology*, Vol.25, No.4 pp.340-344, (1999).
 22. Y. S. Shin, H. J. Sung, D. H. Kim, K. S. Lee, “Preparation of yogurt added with potato and its characteristics”, *Korean Journal Food Science & Technology*, Vol.26, No.3 pp.266-271. (1994).