



박테리오신 생산균주를 이용한 복분자 첨가 발효유 특성

National Institute of
Animal Science

김부민, 이은선, 김종희, 오미화
농촌진흥청 국립축산과학원

ABSTRACT

발효유는 유산균을 이용하여 우유를 발효시킨 식품으로 프로바이오틱스 뿐만 아니라 다양한 생리활성 물질이 함유된 식품이다. 또한 유산균은 대사과정을 통해 유기산과 박테리오신과 같은 유용물질을 생산하여 식품 내 유해균의 증식을 억제한다. 이러한 유산균의 특성을 이용하여 식품에 사용되는 합성 보존제를 대체하고자 하는 연구가 활발하게 수행되고 있으며, 이전 연구에서 항균특성이 확인된 균주가 농후발효유 제조하는 데에 적합함을 확인한 바가 있다. 복분자는 장미과의 나무딸기류로 분류되며, 주로 6월 중순경에 수확되는 붉은 열매이다. 복분자에 풍부하게 들어있는 폴리페놀, 안토시아닌과 같은 기능성 성분을 이용하기 위해 최근에 다양한 형태로 가공식품에 적용되고 있다. 본 연구에서는 국산 농산물을 활용하여 우유에 복분자 동결건조물을 첨가하였을 때 유산균의 성장과 발효유의 항산화 특성에 미치는 영향을 확인하는 것이 목적이다.

시중판매 복분자 동결건조 분말을 4% 가당 우유에 각각 0, 0.5, 1, 2% 첨가하고 *Lactococcus* 종 균주를 초기농도 4 log CFU/mL로 조정하여 각 배지에 접종하였다. 호기적 조건에서 30°C, 24시간 동안 배양하였으며, 배양종료 직후에는 유산균수와 pH를 측정하였다. 발효가 완료된 발효유는 동결건조 시킨 후 분말화 하여 각각 항균특성과 항산화특성을 측정하였다. 그 결과 유산균은 배양 후 시간이 지남에 따라 모든 배지에서 pH 감소를 보였고, 유산균수는 모든 배지에서 8 log CFU/mL 이상 증식하여 식품공전에서 규정하는 농후발효유 규격에 적합함을 보였다. 복분자 분말 첨가구의 항균력은 무첨가구 보다 높게 나타났으며, 복분자 분말 첨가량에 따라 농도 의존적으로 항산화능이 증가하였다. 이 실험에서 도출된 결과를 바탕으로 보았을 때 박테리오신 생산균주와 복분자 분말을 이용하여 천연 항균제 및 항산화제를 이용한 발효 유제품에 활용 할 수 있을 것으로 사료된다.

실험재료 및 방법

■ 사용균주

- 유산균: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* KCCM 40104
 - 4% 가당 우유배지에 접종한 후 30°C에서 호기적 조건으로 배양하였다
- 항균평가용 지시균: *Listeria monocytogenes*
 - TSB 배지에 접종한 다음 호기적 조건에서 37 °C에서 배양하였다

■ 배지 준비

- 4% 가당 우유배지에 시중판매 복분자 동결건조 분말을 각각 0, 0.5, 1, 2% 첨가하고 초기 접종농도 4 log CFU/mL로 유산균 접종하였다

■ 배지조건에 따른 유산균수 및 pH 측정

- 4% 가당 우유배지유산균을 접종한 직후와 24시간 배양 후에 각각 유산균 수를 측정하였다
- 각 우유배지에서 유산균의 산 생성능을 확인하기 위해 배양 시작점과 배양종료점에서 pH 측정하였다

■ 배지조건에 따른 항균특성평가

- 항균평가를 하기 위해 well diffusion method를 이용하였고, well 크기는 직경 9mm이며, 항균물질은 각 well마다 180 µl씩 로딩하였다
- 지시균주인 리스테리아는 각 test plate 마다 5 log CFU를 접종하였다

■ DPPH assay를 이용한 항산화특성 평가

- 복분자 분말 첨가량에 따른 발효유를 동결건조 시킨 후 분말화 시킨 후 DPPH assay를 이용하여 측정하였다

결론

- 박테리오신 생산균주를 이용하여 4% 가당 우유를 발효 시켰을 때 농후발효유 규격에 적합한 유산균수와 pH를 보였다
- 박테리오신 생산균주(*Lactococcus* 종)를 이용하여 만든 발효유는 항 리스테리아 활성을 보였으며, 복분자 분말을 첨가할 경우 항균특성이 무첨가구보다 증가하였다
- 발효유의 항산화능은 복분자 첨가량에 따라 농도 의존적으로 항산화 능이 증가하였으며, 이는 복분자 분말에 함유된 폴리페놀과 같은 항산화 성분에서 기인한 것으로 보여진다
- 박테리오신 생산균주와 복분자 분말을 천연항균제 및 항산화제로서 활용하여 발효 유제품 제조에 이용될 수 있을 것으로 보여진다

Reference

- Eun Seo Lim, Eun Woo Lee, (2015). Antilisterial activity of fresh cheese fermented by *Lactobacillus paracasei* BK57. *KOREAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY*, 51(4), 407-418.
- Zalan, Z., Hudaccek, J., Stetina, J., Chumchalova, J., and Halasz, A., (2010). Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media., *Eur. Food Res. Technol.*, 230, 395-404

결과

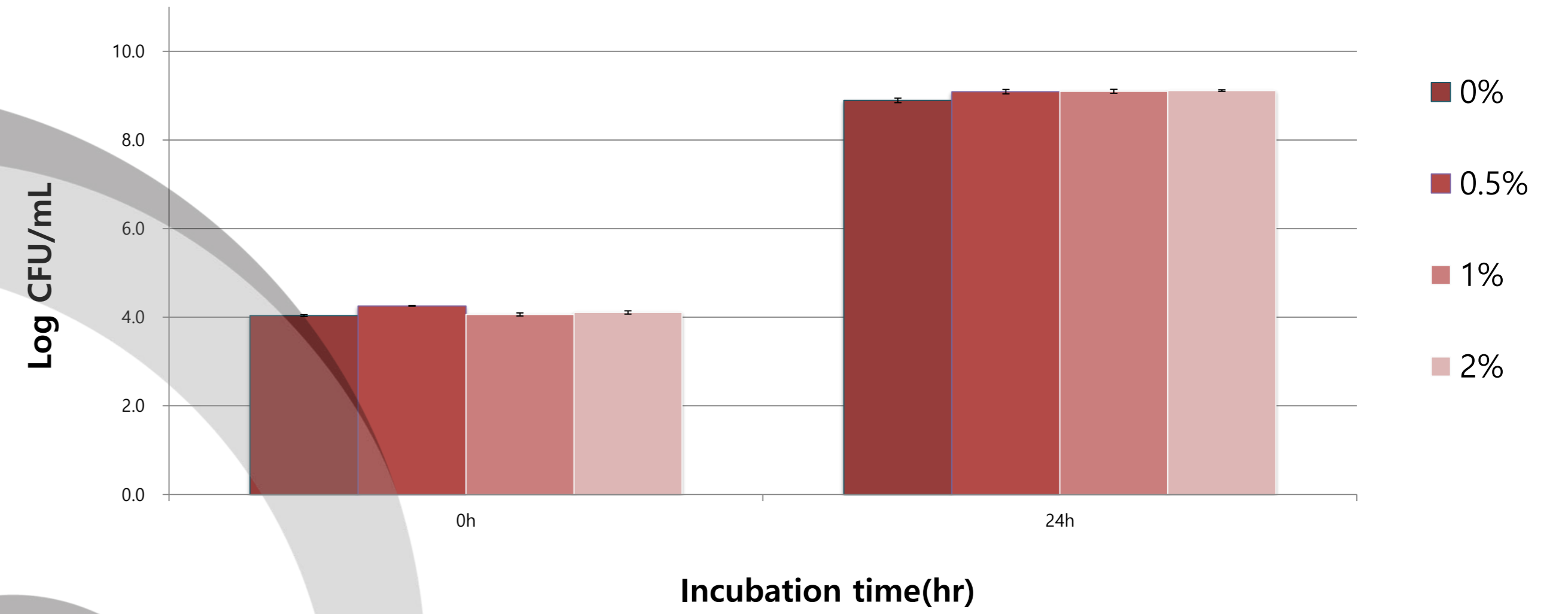


그림 1. 4% 가당 우유에 복분자 분말 첨가농도에 따른 유산균 증식 변화
유산균 초기 접종농도 4log CFU/mL에서 24시간 발효 시켰을 때, 모든 배지에서 8 log CFU/mL 이상 증식하였으며 식품공전에서 규정하는 농후 발효유 규격에 적합함을 보였다.

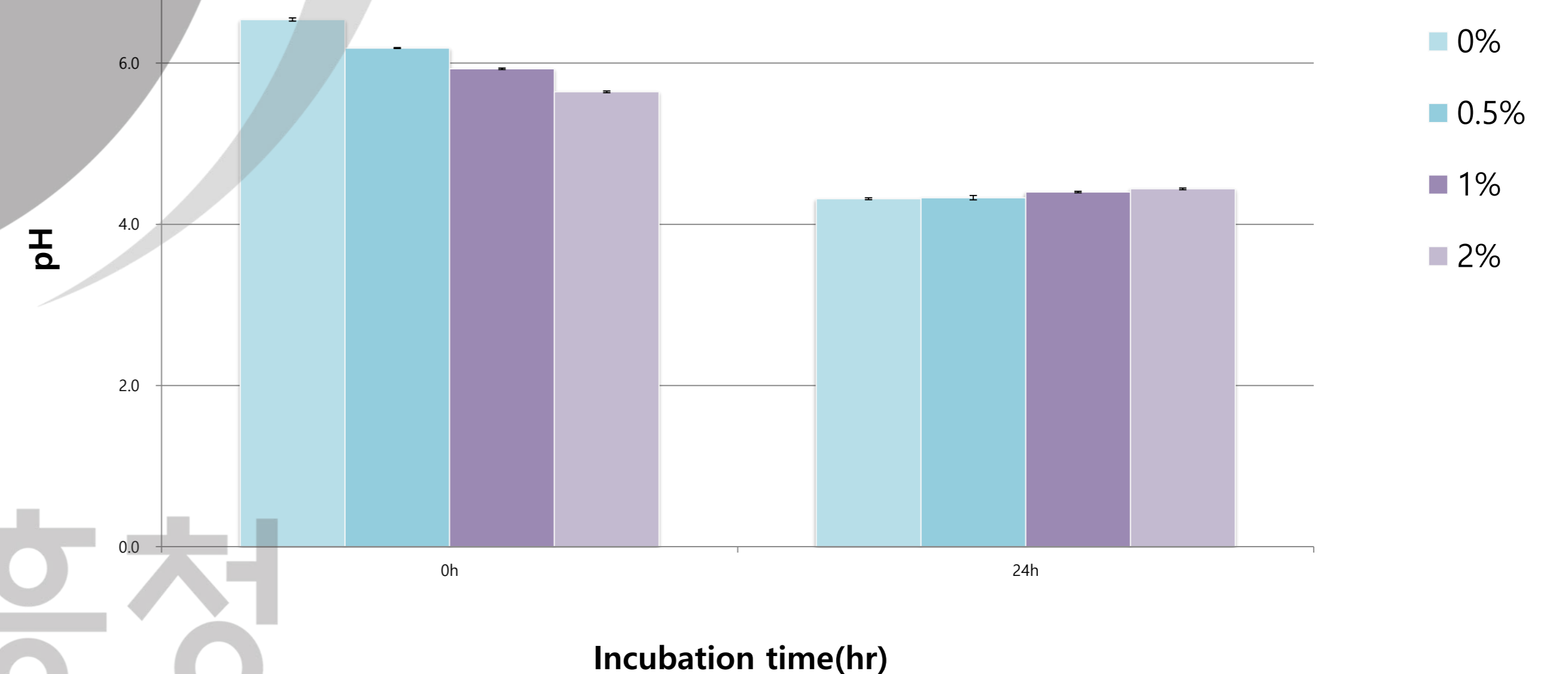


그림 2. 4% 가당 우유에 복분자 분말 첨가농도에 따른 pH 변화
배지 초기 pH는 복분자 분말 첨가농도에 따라 감소하는 경향을 보였으며, 이는 복분자가 가지는 산성(pH 3.3)에서 기인한 것으로 보인다. 발효가 완료된 후, 모든 배지에서는 pH가 감소하여 pH4.3~4.4를 나타냈다.

표 1. 복분자 분말 첨가농도별 발효유의 항 리스테리아 활성

배지조건에 따른 항균특성을 확인하였을 때, 복분자 분말 첨가 발효유가 무첨가 발효유 보다 항균력이 높게 나타났다. 발효유의 항균특성은 *Lactococcus* 종 유산균이 생산하는 항균물질 외에 복분자 분말에서 기인한 것으로 보여진다.

첨가농도 (%)	0%	0.5%	1%	2%
Clear zone (mm)	12.55±0.92	13.67±0.52	14.45±0.35	13.57±0.10

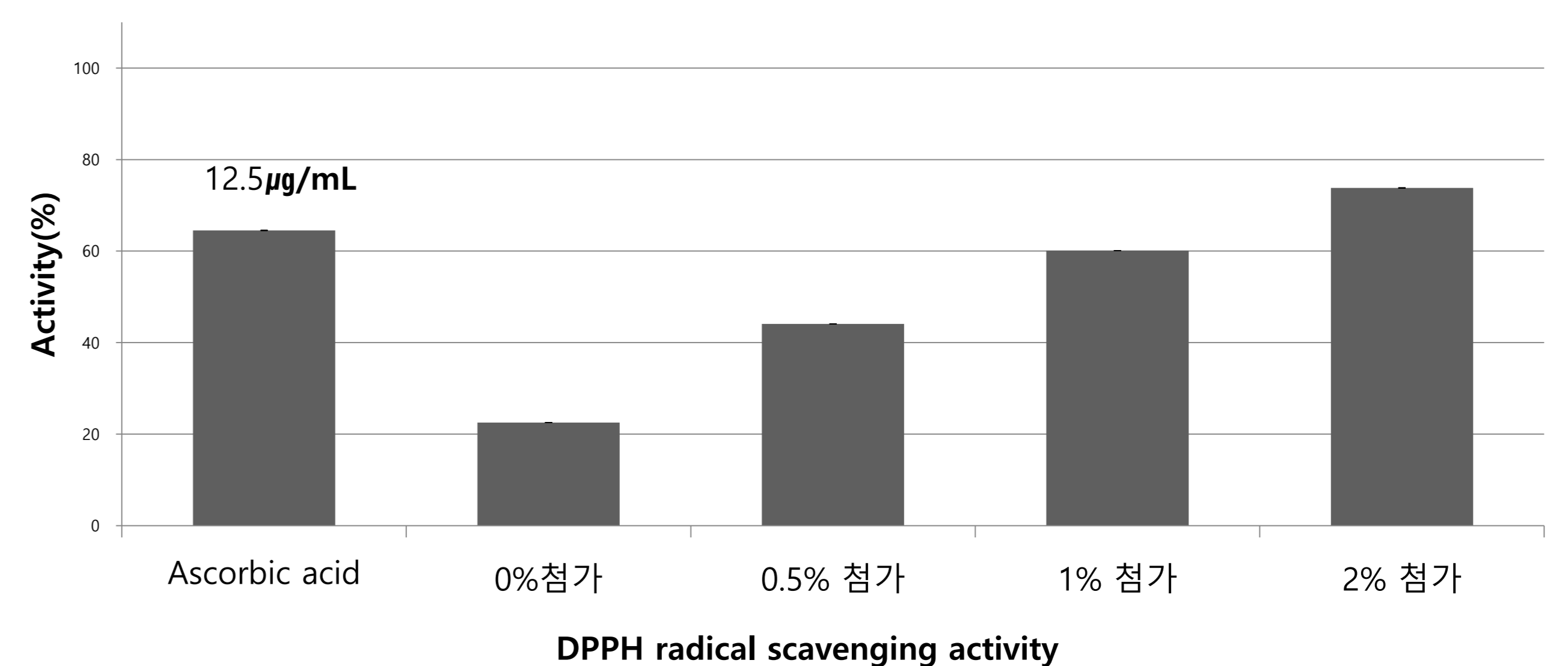


그림 3. 복분자 분말 첨가농도에 따른 발효유의 항산화 특성
복분자 분말 첨가 발효유의 DPPH radical 소거능을 확인한 결과, 복분자 분말 첨가 농도에 따라 발효유의 항산화능이 증가함을 보였다. 양성대조군인 아스코르브산(12.5µg/mL)와 비교하였을 때 복분자 분말 1% 첨가 발효유가 비슷한 효과를 나타냈다.