



저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

한 영 숙 교수지도
석사학위 청구논문

전통발효유 타락의
일부 발효특성과 미생물분석에 관한 연구

2013년

성신여자대학교 대학원

식품영양학과

정진경

전통발효유 타락의
일부 발효특성과 미생물분석에 관한 연구

한 영 숙 교수지도

이 논문을 석사학위논문으로 제출함

2013년 7월

성신여자대학교 대학원

식품영양학과

정 진 경

인 준 서

정진경의 석사학위 논문으로 인준함.

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

성신여자대학교 대학원

논문개요

본 연구는 한국 전통 발효유인 타락을 제조하기 위하여 현재까지 발견된 가장 오래된 한문필사본 조리서인 수운잡방(需雲雜方)에 기초하여 막걸리와 우유를 사용한 ‘타락’을 제조하여 발효특성을 분석하는데 그 목적을 두었다. 5종의 시판막걸리를 발효원으로 사용하여 타락을 제조(T1, T2, T3, T4, T5)하여 제조한 타락을 발효 0시간, 4시간, 8시간, 12시간, 16시간, 20시간, 24시간에 일정량을 채취하여 분석에 사용하였다. pH, 적정 산도, 점도, 당도의 변화를 측정하여 이화학적 특성을 분석하였으며 알코올과 유기산 및 유리당의 함량을 분석하여 발효산물을 분석 하였다. 또한 발효과정 중의 젖산균 및 효모수의 변화를 조사하였으며 24시간 발효시켜 커드가 형성된 타락에서 균주를 분리·동정하여 균주의 특성을 분석하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 타락의 pH는 발효 시간에 따라 유의적으로($p < 0.001$) 감소되었으며 산도는 유의적으로($p < 0.001$) 증가하였다. 점도는 T1, T3는 발효 8시간에 최고 점도를 보였으며 T4는 8시간, T2와 T5는 12시간에 최고 점도를 보인 후 유청이 분리되며 점도가 감소하였다. 당도는 T1, T3, T4는 발효 4시간에, T2과 T5는 20시간에 급격히 감소된 이 후 유지하였다. 에탄올 함량은 시간에 따라 증가하였으며 초기균수가 가장 높았던 T1에서 그 증가도가 가장 높았다.

2. 발효시간에 따른 타락 에서 생성된 주된 유기산은 lactic acid로 발효시간에 따라 점차 증가하여 발효 24시간에서의 lactic acid 생성량은 5개의 시료

에서 모두 전체 유기산 생성량의 80%이상을 차지하였다. 이 외에 acetic acid, citric acid, succinic acid, 도 검출이 되었다. 이는 정상젖산발효로 인한 lactic acid의 생성과 이상젖산발효로 인한 lactic acid 이외의 유기산의 생성에 따른 것이라 생각한다.

발효와 더불어 타락에서 생성된 유리당은 주로 lactose였으며 T1 시료에서 glucose와 fructose가, T4 시료에서는 glucose가 검출되었다. T1과 T4에서 검출된 glucose와 fructose는 발효시간에 따라 감소하여 발효 20시간부터는 검출되지 않았으며 lactose의 함량에는 큰 변화가 없었다.

3. 타락의 젖산균수는 발효 0시간에 5.23 ~ 6.25 log CFU/ml를 나타냈으나 발효 24시간에는 9.87 ~ 10.02 log CFU/ml 로 증가하였다. 효모수는 발효 0시간에 5.14 ~ 6.47 log CFU/ml에서 발효 24시간에는 6.99 ~ 7.73 로 증가하였다.

발효 24시간에 PDA, MRS 배지를 이용하여 분리 동정한 타락의 균주는 *Pediococcus acidilactici*(33.33%), *Lactobacillus fermentum*(15.15%), *Leuconostoc mesenteroides*(9.09%), *Pediococcus pentosaceus*(9.09%), *Lactobacillus brevis*(6.06%), *Lactobacillus plantarum*(6.06%), *Weissella viridescens*(6.06%), *Enterococcus faecalis*(3.03%), *Lactobacillus curvatus* (3.03%), *Lactobacillus crustorum*(3.03%), *Lactobacillus sakei*(3.03%), 이며 효모는 *Saccharomyces cerevisiae*가 주된 균주였다. 이 후 주사전자현미경(SEM)을 통하여 타락을 관찰한 결과 효모와 젖산균이 혼재되어 있음을 알 수 있었다.

이상과 같이 본 연구는 우리나라에서 전통적으로 음용하였던 발효유인 타

락을 제조하여 그 발효특성을 분석하였다. 그 결과 발효 24시간까지의 타락에서는 발효원인 막걸리에서 유래된 젖산균과 효모의 작용으로 인하여 원료의 lactose, galactose, fructose 등을 기질로 하여 lactic acid, citric acid, succinic acid, acetic acid 가 생성되었으며 일부 타락에서는 알코올이 생성되었다. 또한 제조된 타락에서의 균주를 순수분리 동정하여 그 특성을 파악한 결과 효모는 *Saccharomyces cerevisiae* 와 *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* 등의 정상젖산균, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* 등의 이상젖산균이 검출되었다. 이를 통하여 제조된 한국 전통 발효유 타락은 효모인 *S. cerevisiae* 와 첨가하는 막걸리에 따라 다양한 유산균이 존재하는 유산균 음료임을 알 수 있었다.

목 차

논문개요

I. 서론	1
1. 서언	1
1) Probiotics	5
II. 재료 및 방법	7
1. 실험재료	7
1) 시료	7
2) 시약 및 기구	7
3) 타락의 제조	7
2. 실험방법	10
1) 타락의 이화학적특성 분석	10
(1) 타락의 pH	10
(2) 타락의 적정산도	10
(3) 타락의 점도	10
(4) 타락의 당도	11
2) 타락의 발효특성 분석	11
(1) 타락의 에탄올 함량	11
(2) 타락의 유기산 함량	11
(3) 타락의 유리당 함량	12
3) 타락의 미생물특성 분석	12
(1) 타락의 젖산균 및 효모균 수	12

(2) 타락의 균주분리 및 분석.....	12
4) 타락의 주사전자현미경(SEM) 관찰	13
5) 통계처리	14
III. 연구결과 및 고찰	14
1. 타락의 이화학적특성 분석	14
1) 타락의 pH	14
2) 타락의 적정산도	17
3) 타락의 점도	19
4) 타락의 당도	22
2. 타락의 발효특성 분석	24
1) 타락의 에탄올 함량	24
2) 타락의 유기산 함량	26
3) 타락의 유리당 함량	33
3. 타락의 미생물특성 분석	39
1) 타락의 젖산균 및 효모균 수	41
2) 타락의 균주분리 및 분석.....	43
4. 타락의 주사전자현미경(SEM) 관찰	53
IV. 요약 및 결론	59

참고문헌

ABSTRACT

List of Tables

Table 1. Characteristic of fermentation source 'Makgeolli'	9
Table 2. Isolated strains from T1	44
Table 3. Isolated strains from T2	45
Table 4. Isolated strains from T3	46
Table 5. Isolated strains from T4	47
Table 6. Isolated strains from T5	48

List of Fig

Fig. 1. Changes of pH in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr	16
Fig. 2. Changes of titratable acidity in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr	18
Fig. 3. Changes of viscosity in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr	21
Fig. 4. Changes of Brix(%) in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr	23
Fig. 5. Changes of Ethanol(mg/ml) in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr	25
Fig. 6. Changes of organic acids in T1 at 37°C during 24 hr	28
Fig. 7. Changes of organic acids in T2 at 37°C during 24 hr	39
Fig. 8. Changes of organic acids in T3 at 37°C during 24 hr	30
Fig. 9. Changes of organic acids in T4 at 37°C during 24 hr	31

Fig. 10. Changes of organic acids in T5 at 37°C during 24 hr	32
Fig. 11. Changes of free sugar in T1 at 37°C during 24 hr	34
Fig. 12. Changes of free sugar in T2 at 37°C during 24 hr	35
Fig. 13. Changes of free sugar in T3 at 37°C during 24 hr	36
Fig. 14. Changes of free sugar in T4 at 37°C during 24 hr	37
Fig. 15. Changes of free sugar in T5 at 37°C during 24 hr	38
Fig. 16. Changes of latic acid bacteria in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr	40
Fig. 17. Changes of yeast in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr	42

List of Photo

- Photo 1. Scanning electron microscopic image of strain of T1($\times 5000$)
..... 54
- Photo 2. Scanning electron microscopic image of yeast of T2($\times 5000$)
..... 55
- Photo 3. Scanning electron microscopic image of yeast of T3($\times 5000$)
..... 56
- Photo 4. Scanning electron microscopic image of yeast of T4($\times 2,000$)
..... 57
- Photo 5. Scanning electron microscopic image of yeast of T5($\times 5000$)
..... 58

I. 서론

1. 서언

인류가 우유를 이용한 역사는 매우 오래로 그 기원을 거슬러 올라간다. 우유가 식품으로 이용된 연대는 대략 기원전 4000~6000년경으로 추정된다¹⁾. 우유를 음용한 가장 오래된 유물은 기원전 6000년경 스위스 누샤텔지역에서 발견한 질그릇조각으로 당시의 사람들이 치즈를 만들 때 사용한 그릇으로 밝혀졌다²⁾. 또한 기록 연대가 기원전 약 3000년경으로 추정되는 구약성서 출애굽기에서 이상향인 가나안을 묘사할 때 ‘젖과 꿀이 흐르는 땅’으로 표현하였다³⁾. 이와 같은 직접적인 유물 외에도 많은 문헌은 인류가 우유를 음용하였으며 우유를 매우 귀한 음식으로 묘사하고 있음을 알 수 있다.

우유는 단일식품 중 단백질과 탄수화물 등의 다량영양소와 칼슘, 마그네슘, 인, 철분, 비타민 A, 비타민 B₂, 비타민 C 등의 영양소가 골고루 함유되어 있어 인체에 필요한 약 114가지의 영양 성분이 수분 중에 고르게 분산되어 있는 것으로 알려져 있고 그 효능에 대하여도 대중에게 비교적 널리 알려진 식품이다⁴⁾⁵⁾. 1929년 존스홉킨스대학의 영양학자인 맥콜럼박사는 ‘우유와 유제품을 충분히 먹은 민족은 건강한 신체로 장수를 누리고, 특히 유아사망률이 낮으며 경제적 예술적 과학적으로 많은 발전을 이루었다고 기록하고 있다’ 19세기 중반에 들어오며 영양학의 발달과 함께 우유는 인간에게 필요한 거의 모든 영양소를 골고루 함유하고 있음이 증명되며 그 중요성이 더욱 커지고 있다¹⁾.

발효유는 동지중해지역에서 아마도 페니시아시대(B.C 3000년경)이전에 유

래되어 그 후에 중동부 유럽지역으로 전파된 것으로 추정된다. 사막의 유목민들이 신선한 우유를 가죽부대로 만든 용기에 넣어 사막을 횡단하는 중 우유가 사막의 더운 기후에서 세균에 의해서 자연 발효되어 커드(curd)가 형성되었는데 이것이 발효유의 탄생으로 여겨진다⁶⁾. 성서의 창세기편에도 “엿긴 젖”이라는 말이 나와 그 역사가 오랜 것으로 추정된다. 초기 유럽 전파시기에 발효유는 전통음식의 하나로써 지역적으로만 소비되었다. 그러나 19세기 파스퇴르 등에 의한 미생물학이 발달하며 발효유의 효능에 관한 연구가 속속 등장하며 주목을 받기 시작하였다. 엘리 메치니코프는 불가리아발칸지방에 장수하는 사람들이 더 많은 이유와 발효유와의 상관관계에 관한 연구를 하여 “인간생명의 연장(The prolongation of life)”이라는 논문을 발표 하였고 발칸지방 사람들의 장수 원인을 그 지역 사람들이 상식하는 ‘yahourth’라고 불리는 발효유 때문이라 주장하였다. 이로 인해 유산균과 더불어 발효유에 대한 많은 연구가 오늘날까지 진행되고 있다⁷⁾.

발효유는 일반적으로 우유, 산양유, 마유 등과 같은 포유 동물류의 젖을 원료로하여 젖산균이나 효모 또는 이 두 가지 미생물을 스타터로 하여 발효시킨 것을 말하며, 여기에 응용하기 좋게 향료나 과즙을 첨가하기도 한다.⁸⁾ 발효유는 사용되는 미생물에 따라 순수하게 유산균에 의해서만 발효된 유산발효유와, 유산균과 효모를 함께 발효시켜 만들어진 유산-알코올발효유로 구분하며 그 형태는 원료, 고형분, 미생물, 지역 등에 따라 대단히 많다. yogurt, acidophilus milk, cultured buttermilk, cultured cream등이 유산발효유에 속하며 kefir와 kumiss등이 대표적인 유산-알코올발효유에 속한다⁹⁾. 이 중 유산-알코올발효유는 젖산균의 작용뿐만 아니라 효모의 작용으로 유산 이외에 알코올과 일부의 탄산가스가 포함되어 있는 것이 특징으로 효모와 함께 혼합 발효하는 것이 적당한 산도, 맛, 향미를 주는 것으로 알려져 있다. 또한 효모

가 함유하고 있는 풍부한 단백질과 비타민 B군으로 인하여 효모를 이용한 발효제품이 주목받고 있다¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾.

발효유는 우유를 섭취하는 것 보다 첫째, 우유에 유산균을 첨가하여 배양시키는 과정에서 단백질이 분해되어 필수아미노산 함량이 증가되고, 유당불내증을 일으킬 수 있는 lactose가 젖산균에 의해 glucose와 galactose로 분해되어 소화흡수가 용이하다는 장점과, 둘째 건강상 기능성이 있다. 여러 연구를 통하여 발효유의 기능성은 널리 입증된 바 있는데 유산균이 배양중에 생성한 비타민 B₁₂, folic acid, nicin 및 생리활성 물질로 영양 효과와, 대사산물로 항균물질의 생성 등 장내 pH를 저하시킴으로서 장내 유해균의 증식을 억제하는 장내 정상 세균총의 유지의 기능을 한다¹³⁾. 이 외에 설사와 변비의 개선, 혈 중 콜레스테롤 저하효과¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾ 면역기능의 강화 및 항암효과¹⁷⁾가 과학적으로 입증되었다. 최근에는 건강에 대한 인식이 높아지며 발효유에 건강기능성 물질을 첨가하는 연구도 많이 진행되고 있다¹⁸⁾¹⁹⁾.

우리나라에서의 발효유는 서양에서 전래된 것으로만 인식되지만 문헌을 통해서 우리나라에서도 유제품을 이용했다는 것을 알 수 있다. 고려시대 연등행사인 팔관회에서는 수(酬) 라는 연유형태의 제품이, 조선시대에 낙죽(酪粥)이라는 우유로 만든 죽이 있었음을 확인할 수 있다. 한의학자인 이창연이 지은 '임원십육지'에서 '우유는 노인의 기운을 돋우고 여러 병을 다스리는데 좋다'고 하였다. 또한 허준의 '동의보감'에서는 '가슴이 답답하고 목이 마르는 증세를 다스리고 피부를 매끄럽게 하며, 심장과 폐를 튼튼하게 하고 열독을 없앤다.'고 하여 당시 임금을 비롯한 귀족들의 우유 소비가 급증하자 세종 2년(1420)에 유우소(乳牛所)라는 관청을 폐지하고 그 후 약으로만 사용하였다는 기록이 있다²⁰⁾.

이 후 현재까지 발견된 가장 오래된 한문필사본 조리서인 수운잡방(需雲雜

方)에는 ‘타락’이라 하여 우유에 탁주를 넣어 발효시킨 발효유가 등장한다. 수운잡방(需雲雜方)은 탁청공 김유(1481-1552)에 의해 지어진 것으로 상하권 두 권에 108가지 음식 만드는 법을 기록하고 있는데 우유를 발효한 형태인 타락의 제조법에 대해 다루고 있다. 수운잡방에서의 타락의 제조법을 보면

若駝駱卽沸 盛沙缸納本駝駱一小盞和之 置溫處厚 至夜半以木插之
黃水湧出卽置其器於涼處 若無本駝駱則好濁酒一中中鍾亦可
本駝駱入時好醋少許并入甚良

“우유가 끓어서 익게 되거든 오지향아리에 담고 본타락 작은 잔 한잔을 섞어서 따뜻한 곳에 놓은 다음 두껍게 덮어둔다. 밤중에 나무 막대로 찔러 보아서 누런 물이 솟아오르면 그 그릇을 시원한 곳에 둔다. 본타락이 없으면 탁주 한 중바리를 넣어도 좋다. 본타락을 넣을 때 좋은 식초를 조금 같이 넣으면 더욱 좋다²¹⁾”라고 되어있어 발효유가 이용되었음을 알 수 있다.

이에 본 연구에서는 발효원으로 균주가 제어된 시판 막걸리를 사용하여 우리나라 전통 발효유 타락을 제조하였다. 이를 통하여 타락의 이화학적 특성 및 발효특성을 분석하고 이러한 타락의 발효에 관여하는 미생물의 분석을 통하여 전통발효유 타락연구의 기초자료를 제공하고 전통발효유 타락을 재조명하는것에 그 목적을 두었다.

1) Probiotics

Probiotic은 “Pro”와 “Biotics”의 합성어로 그리스어로 ‘생명을 위한(for life)’이란 의미를 지니고 있으며 장내 균총의 균형을 조절하여 숙주의 건강에 도움을 주는 살아있는 미생물(viable microorganisms that exhibit beneficial effects on the health of the host by improving its intestinal microbial balance)로 정의할 수 있다²²⁾. 세계보건기구 WHO(World Health Organization)서는 “충분한 양을 섭취하였을 때 건강에 도움이 되는 생균 (probiotics are 'living microorganism which when administered in adequate amount confer a health benefit on the host')” 으로 정의하였다.

식품의약품안전처에서 발행한 건강기능식품공전을 통하여 인정한 프로바이오틱균주는 *Lactobacillus* 속의 *L.acidophilus*, *L.casei*, *L.gasseri*, *L.delbrueckii*, *L.bulgaricus*, *L.helveticus*, *L.fermentum*, *L.paracasei*, *L.plantarum*, *L.reuteri*, *L.rhamnosus*, *L.salivarius* 이며 *Lactococcus* 속 으로는 *Lc. lactis*, *Enterococcus* 속의 *E.faecium*, *E.faecalis* *Streptococcus* 속의 *S.thermophilus* *Bifidobacterium* 속의 *B.bifidum*, *B.breve*, *B.longum*, *B.animalis spp. lactis* 이다²³⁾.

이들 균주들이 프로바이오틱 제제로 사용되기 위해서는 위산에 기인되는 극한의 낮은 pH와 담즙산에서 견디어 장내에 도달할 수 있는 생존능력, 즉 균주의 안정성이 먼저 고려되어야 하며 이들 균주의 균집화를 위한 장 상피세포 부착능과 자가응집능력도 구비되어야한다²⁴⁾²⁵⁾. 유산균은 대표적인 프로바이오틱스 균주로 알려져 있으며 건강기능식품법상으로 ‘유해균 억제, 배변활동 원활’로 그 기능성이 인정되었다. 항생제 같이 유해균을 죽이는 것이 아니라 유해균과 공생하면서 유해균을 억제하여 건강을 증진, 숙주를 증생(增生)

시키는 것이다²⁶⁾. 이상젖산발효균은 정상젖산발효균에 비하여 내산성이 약하기 때문에 주로 정상젖산발효균인 *Lactobacillus sp.* 유산균이 프로바이오틱 제제로 인정받고 있다.

유산균에 대한 관심이 높아지면서 이러한 프로바이오틱 균주의 기능성도 주목을 받고 있다. 프로바이오틱 균주는 적정량을 섭취 시 장관 및 장 건강유지에 도움을 주며 캔디다 감염 및 요도감염의 임상적 증상을 감소시켜 비뇨생식기의 미생물 오염을 방지한다. 또한 건강유지, 혈청 지질 및 콜레스테롤 감소 효과, 소화 흡수력의 향상, 유해균의 증식억제, 대장암에 대한 억제효과, 유당불내증 감소, 항암, 면역 증강, 변비 완화, 설사 방지, 강건변 부작용 방지, 위산과다, 골다공증에 효과가 있다고 알려져 있다²⁴⁻²⁷⁾.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 시료

주재료인 우유는 서울우유사 저지방우유(탄수화물 2 %, 단백질 5 %, 지방 2 %, 세균수 기준 1급A)를 사용하였다. 5종의 막걸리는 시판되어 구입할 수 있는 막걸리 중 지역적 특성을 고려하여 구입하였다. 옛날막걸리(국순당), 생막걸리(국순당), 금정산성막걸리(금정산성토산주), 느린마을막걸리(배상면 주가), 덕산쌀막걸리(세왕주조)에서 구입하였다. 시료는 서울의 대형 마트 1 곳, 백화점 2 곳에서 구입하여 사용하였다.

2) 시약 및 기구

타락의 제조 및 발효특성 분석을 위해 사용한 시약은 ethanol(DAEJUNG, Korea), acetic acid(MERCK, GERMANY), sodium hydroxide(SAMCHUN Chemicals, Korea) 배지는 MRS agar(BD Difco, USA), PDA(BD Difco, USA)를 사용하였다. 기타 HPLC 분석용 시약은 분석급을 사용하였다.

3) 타락의 제조

타락의 제조는 ‘수운잡방’⁹⁾에 근거하여 재현 하였다. 전통적인 우유의 살균은 우유가열시 표면에 단백질과 지방이 응고되어 생기는 막을 걷어내며 끓인 후 사용하지만 autoclave를 이용해 살균을 진행하여 이 공정을 거칠 수 없기에 저지방우유를 사용하였다. 우유는 autoclave를 이용하여 90℃에서 20분간

가열하였으며 37 °C까지 식혀 MRS와 PDA배지를 이용하여 도말하여 균수를 측정하여 유효콜로니가 검출되지 않음을 확인 한 후 사용하였다. 이 후 6% acetic acid를 0.1 % 첨가한 후 10 %의 시판막걸리를 첨가하여 37 °C의 인큐베이터에서 배양하여 타락을 제조하였다. 제조한 타락은 0시간부터 4시간 간격으로 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 시간에 채취하여 실험에 사용하였다. 시판막걸리로는 국순당 옛날막걸리(M1), 국순당 생막걸리(M2), 금정산성막걸리(M3), 배상면주가 느린마을막걸리(M4), 덕산 쌀막걸리(M5)를 사용하였으며 이 후 제조된 타락은 순서대로 T1, T2, T3, T4, T5로 표기하였다. 발효원으로 사용된 막걸리의 품질특성은 Table 1 과 같다.

Table 1. Characteristic of fermentation source 'Makgeolli'

	Samples				
	M1	M2	M3	M4	M5
pH	3.96	3.77	3.45	4.47	3.36
acidity (%)	0.78	0.82	0.67	0.58	1.09
alcohol (%)	7	6	8	6	8
log (CFU/ml)	7.55	7.56	7.21	8.19	8.63
Yeast log(CFU/ml)	6.45	7.31	7.09	6.91	9.68

M1) Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)

M2) Draft Makgeolli(Kooksoondang)

M3) Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)

M4) SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)

M5) DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

2. 실험방법

1) 타락의 이화학적특성 분석

(1) 타락의 pH 측정

발효시간에 따른 타락 시료의 pH는 타락 10 mL 씩을 취하여 상온에서 pH meter(ORION 3 STAR, Thermo, Singapore)를 사용하여 3회 반복 측정하여 평균값을 취하였다.

(2) 타락의 적정산도 측정

발효시간에 따른 타락의 산도는 0.1 N NaOH 수용액으로 pH 8.3이 될 때 까지 적정하여 이 때 소비된 NaOH 용액의 양을 다음 식에 의하여 lactic acid 함량(%)으로 환산하였다²⁷⁾. 적정산도는 3회 반복 측정 하였다.

$$Lactic\ acid(\%) = \frac{0.009 \times ml\ of\ N\ NaOH \times F}{Sample(ml)} \times 100$$

(F = Factor of 0.1 N NaOH = 1)

(3) 타락의 점도 측정

발효시간에 따른 타락의 점도는 점도계(LVDV-I+, BROOKFIELD, USA) 사용하여 측정하였으며, spindle No. 2 를 사용하여 60 rpm에서 그 값을 측정하였으며 최대값은 2500 cP 이다. 단위는 cP 로 나타내었으며 측정 시작 후 1분간 안정화 시킨 후 20초 간격으로 3회 반복 측정하였다.

(4) 타락의 당도 측정

발효시간에 따른 타락의 당도는 측정 범위가 Brix 0-32%인 당도계 (PR-1, ATAGO, JAPAN)를 이용하여 측정하였다. 당도계에 타락 시료를 점적하여 3회 반복 측정하였다.

2) 타락의 발효특성 분석

(1) 타락의 에탄올 함량

타락의 발효에 따라 생성된 에탄올함량을 측정하기 위해 발효시간에 따른 타락시료를 1 ml씩 취한 후 9.942 ×g 에서 10분간 원심분리 하였다. 상징액 100 µl를 취한 후 3차 증류수로 10배 희석을 하여 \varnothing 0.25 µm membrane filter를 여과한 후 HPLC(Ultimate3000, Dionex, USA) 분석의 시료로 사용하였다. 이 때 이용된 HPLC의 컬럼은 Aminex 87H column(300 X 7.8 mm)를 사용하였으며 이동상은 0.01 N H₂SO₄를 이용하여 0.5 ml/min로 흘려보냈다. 시료의 1회 주입량은 10 µl 이었으며 detector는 RI (Shodex RI-101, Japan), UV(210 nm)를 사용하여 검출하였다.

(2) 타락의 유기산 함량

타락의 발효에 따라 생성된 유기산을 측정하기 위해 발효시간에 따른 타락시료를 1 ml씩 취한 후 9.942 ×g 에서 10분간 원심분리 하여 사용하였다. 상징액 100 µl를 취한 후 3차 증류수로 10배 희석을 하여 \varnothing 0.25 µm membrane filter를 여과한 후 HPLC(Ultimate3000, Dionex, USA) 분석의 시료로 사용하였다. HPLC 분석조건은 에탄올 함량 분석조건과 동일하다.

(3) 타락의 유리당 함량

발효시간에 따른 유리당의 변화를 측정하기 위하여 타락시료를 1 ml를 취해 9.942 ×g 에서 10분간 원심분리 하였다. 상정액을 Ø 0.25 µm membrane filter를 이용하여 column에 주입하였다. 유리당 분석에 이용된 HPLC(Ultimate 3000, Dionex, USA)의 컬럼은 Waters Sugar-pak를 사용하였으며 이동상은 3차 증류수를 이용하여 0.5 ml/min로 흘려보냈다. detector는 RI (Shodex RI-101, Japan)를 사용하여 검출하였다.

3) 타락의 미생물특성 분석

(1) 타락의 젖산균 및 효모균수

발효시간에 따른 타락의 젖산균 및 효모 균수를 측정하기 위해 0시간부터 4시간 간격으로 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 시간 발효한 시료를 1 g 취한 후 9 ml의 멸균수와 혼합하여 십진 희석법을 이용하여 희석하였다. 젖산균수는 희석한 시료를 MRS배지에 도말하여 37 °C에서 24시간 배양 한 후 유효숫자 범위내의 콜로니 수를 계측하였으며 효모는 희석한 시료를 PDA 배지에 도말하여 37 °C에서 24시간 배양하여 젖산균과 같은 방법으로 계측하였다.

(2) 타락의 균주분리 및 분석

타락제조에 관여하는 균주를 동정하기 위하여 제조된 타락의 균주를 MRS, PDA 배지를 사용하여 단일균주를 분리하였다. 각각이 배지에 획선배양하여 균주를 분리 후 이를 3번 반복하여 순수 분리하였다. 이를 젖산균은 16S rDNA 효모균은 18S rDNA 염기서열 분석을 위한 PCR 반응을 통하여

균주를 동정하였다.

16S rDNA의 primer는 27F 5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'와 1492R 5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'이 PCR분석에 사용되었다.

18S rDNA의 primer는 ITS1 primer (5 - TCCGTAGGTGAACCTGCGG - 3), ITS5 (5 -GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG - 3), ITS4 primer (5 - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3)이 PCR분석에 사용되었다.

PCR 반응조건은 95 °C에서 2분간 반응하여 Taq polymerase를 활성화시킨 후 95 °C에서 1분, 55 °C와 72 °C에서 1분씩 35회 실시하고 마지막 72 °C에서 10분 반응하여 PCR을 종결하였다.

증폭된 DNA는 multiscreen filter plate (Millipore Corp. Bedford, MA, USA)로 정제되어 PRISM BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit를 사용하여 염기서열을 분석하였다. DNA샘플은 Hi-Di formamide (Applied Biosystems, Foster City, CA)를 더하여 95 °C에서 5분간 배양한 후에 얼음 위에서 5분간 배양하였다. 이 후 ABI Prism 3730XL DNA analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여 분석하였다.

4) 타락의 주사전자현미경(SEM) 관찰

제조된 타락의 형상과 관여 미생물 관찰을 위하여 점도값을 기준으로 커드가 형성된 지점의 타락을 -70 °C Deeprezer로 냉각 후 동결건조기 (FDSA8508, ILSHIN, Korea)를 이용하여 48시간동안 동결건조 하였다. 동결 건조된 타락 파우더를 Sputter Coater(108 auto, Cressington, USA)를 이용하여 240초간 platinum coating을 한 후에 Field-Emission Scanning Electron Microscope(JSM-7522F, JEOL, KOREA)을 이용하여 촬영하였

다.

5) 통계처리

본 연구의 결과는 3번 반복하여 평균(±표준편차)을 구한 값을 사용하였다. 각 항목에 따른 자료 분석을 위하여 SPSS program(ver. 18.0)을 이용하였다. 분산분석(ANOVA)을 실시하여 처리물질의 유의성을 검토한 후 유의성이 있는 경우의 차이검증을 위해 Duncan's multiple range test로 각 시료간의 사후검증을 하였다.

Ⅲ. 연구결과 및 고찰

1. 타락의 이화학적 분석

1) 타락의 pH

시판막걸리를 이용하여 제조한 타락의 발효시간에 따른 pH는 Fig. 1. 과 같다. 우유의 pH는 7.3 였으나 0.1 % acetic acid와 발효원인 막걸리를 첨가한 타락의 제조직후 pH는 6.20 ~ 6.59를 나타내었다. 이 후 첨가된 막걸리에 의해 발효가 진행되며 점차 pH가 감소하는 것을 알 수 있는데 T1의 경우 발효 4시간 이 후 급격히 pH가 감소하면서 발효 16시간이 경과하였을 때는 pH 4.64의 범위를 나타내어 우유의 등전점에 도달하여 겔이 형성되었음을 알 수 있었다. T3의 경우 발효 12시간 경과할 때 까지는 완만한 감소를 나타내다가 발효 12시간 pH 6.0에서 16시간 5.74로 감소하며 급격한 감소를 보이기 시작하여 발효 24시간 까지 꾸준한 감소추세를 보이고 있었다. T4의 경우 발효 초기인 4 시간 까지 가장 pH 6.21에서 5.84로 가장 급격한 감소추세를 보이지만 이 후 완만한 감소를 보이며 발효 24시간에는 pH 5.03 으로 T3와 비슷한 pH를 나타내었다. T5의 경우에는 16 시간까지의 pH가 제조 초기의 pH와 비슷한 수준을 나타내었지만 16시간부터 점차 pH가 감소하며 발효가 진행됨을 알 수 있었고 24 시간의 최종 pH는 5.56이었다. 이처럼 타락이 발효가 진행되면서 pH가 감소하는 것은 발효를 주도하는 젖산균이 우유에 함유된 당을 기질로 소비하여 lactic acid와 이 외의 유기산을 생성하면서 pH가 감소되는 것으로 생각되었다²⁸⁾. 실제 발효시간에 따른 타락의 유기산 생성량을 보면

pH가 가장 빠르게 감소하는 T1, T4의 lactic acid 생성량이 T2, T3, T5에 비해 높음을 알 수 있다.

Fig. 1. Changes of pH in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr.

- T1) Tarak made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)
- T2) Tarak made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)
- T3) Tarak made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)
- T4) Tarak made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)
- T5) Tarak made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

2) 타락의 적정 산도

시판막걸리를 이용하여 제조한 타락의 발효시간에 따른 적정산도는 Fig. 2. 와 같다. 적정산도는 발효시간에 따른 pH변화의 결과와 반비례하여 발효가 진행됨과 동시에 증가하는 추세를 보였다. 초반 빠른 산도의 증가를 보인 것은 T4로 발효 초기 0.22 %에서 4시간 0.32%로 빠른 산도의 증가를 보이지만 이 후 완만히 증가하여 최종 적정산도는 0.56%로 나타났다. 가장 높은 산도를 보인 것은 T1으로 발효 4시간 이 후 급격한 산도의 증가를 보여 발효 24 시간에는 0.73%로 시료 중 가장 높은 산도를 나타냈다. 이는 pH와 마찬가지로 lactic acid의 생성량이 많을수록 빠른 산도의 증가를 보인 것으로 사료된다. 이는 Fig 6. Fig 9를 참고하여 실제 lactic acid의 생성량이 많은 T1과 T4에서 산도의 증가량이 가장 높게 나타났음을 알 수 있다. T3는 발효 16시간 이 후 산도가 증가하여 최종 산도는 0.53 %이며 T5 또한 발효 16 시간 이 후 산도의 증가를 나타내어 최종 산도는 0.40%를 나타내었으며 증가의 폭은 T3가 0.1 % 가량 높게 나타내었다. T2의 경우도 16시간 이 후 증가를 나타내어 최종 산도는 0.40%로 T5와 같았다.

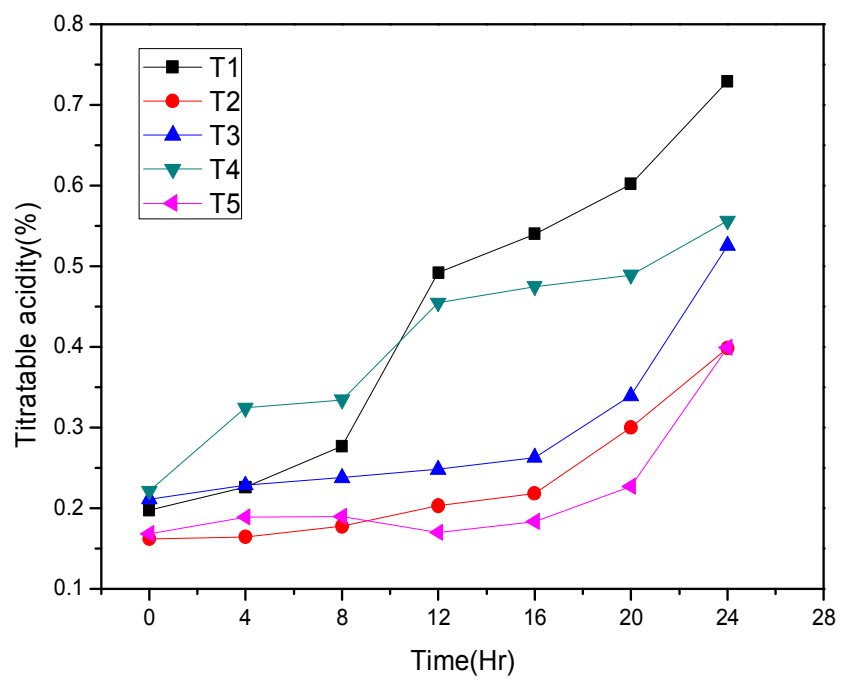


Fig 2. Changes of titratable acidity in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr.

- T1) Tarak made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)
- T2) Tarak made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)
- T3) Tarak made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)
- T4) Tarak made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)
- T5) Tarak made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

3) 타락의 점도

시판막걸리를 이용하여 제조한 타락의 발효시간에 따른 점도는 Fig. 3. 과 같다. 발효 초반 발효원인 시판막걸리를 첨가 하였을 때는 우유의 물성과 같은 액상을 나타내며 점도는 7.5 ~ 12.5 cP를 나타내었다. 이 후 발효가 시작되면서 pH의 저하에 따라 산도가 증가하고 응고가 시작되면서 되어 점점 높은 점도값을 나타내는데 T1과 T4의 경우 0시간부터 증가하여 발효 8 시간에는 각각 844.17 cp, 1017.33 cP로 최고값을 나타내었다. T4의 경우 발효 12 시간에 가장 높은 점도값인 1058.83 cP를 가지며 이는 5개의 실험군중 최고 점도값을 나타내었다. T2와 T5의 경우에는 발효 12시간 까지는 점도는 각각 25.83 cP, 26.67 cP로 거의 변화를 보이지 않지만 16시간에는 55.00 cP, 67.50 cP로 소폭 상승하였다. 이 후 급격한 상승추세를 보이며 발효 24 시간에는 480.00 cP, 861.83 cP를 나타내는데 이러한 결과는 발효시간에 따른 pH와 산도의 변화와도 같은 추세를 보이며 T2와 T5의 경우에는 16 시간 이후부터 활발한 발효가 일어남을 알 수 있었으며 발효 24 시간 까지 유청이 분리되지 않았다. 최고점도를 보인 이후 응고되었던 타락에서 점차 유청이 분리되면서 형성된 타락의 커드가 유청의 윗부분으로 뜨면서 점도는 감소하는 현상을 보였기에 점도는 최고점도를 보인 시점까지 측정을 진행하였다. 김 등²⁹⁾은 판요구르트의 점도가 7,850~21,000 cP로 제품들간에 차이가 있고, 첨가한 증점제에 따라서도 차이가 있다고 하였는데 본 실험에서 최고 발효시점에서의 점도는 844.17 ~ 1058.83 cP로 시판요구르트보다 다소 낮은 점도값을 가지지만 이는 요구르트에 탈지분유같은 고형분을 첨가하지 않았기 때문으로 생각된다. Rasic과 Kurmann³⁰⁾은 발효유의 점도는 발효유 혼합액의 전고형분, 단백질, 염 함량, 산도, 균질화 및 사용균주의 단백질 분해력 등에 의

한 요인에 의한다고 보고하였는데 본 연구에서는 발효원인 시판막걸리 함유
균주의 젖산균 및 효모의 함량과 단백질 분해력에 따른 점도의 차이가 나타난
것으로 보여진다.

Fig 3. Changes of viscosity in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr.

- T1) Tarak made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)
- T2) Tarak made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)
- T3) Tarak made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)
- T4) Tarak made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)
- T5) Tarak made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

4) 타락의 당도

시판막걸리를 이용하여 제조한 타락의 발효시간에 따른 당도는 Fig 4. 와 같다. 발효 0시간 타락의 당도는 각각 9.83 ~ 10.67 %로 모든 실험군에서 비슷한 수준을 나타내었다. 이 후 T1, T3, T4의 경우에는 발효 4시간까지 당도가 급격히 감소하여 각각 T1은 7.2 %, T3는 7.0 %, T4는 7.3 %의 당도를 나타냈으며 T1, T3, T4의 경우 발효시작과 동시에 감소하여 각각 7.2 %, 7 %, 7.3 %를 나타내었다. 하지만 T2의 경우 발효 16 시간까지 0 시간에 비해 큰 차이가 나지 않았으나 발효 16시간에서 감소하여 발효 20 시간에는 7.67 %를 나타내었으며 T5의 경우도 발효 16 시간 의 당도가 10.17 %로 0 시간에서 약 0.5% 감소하였으나 발효 16시간에서 감소하여 발효 20시간에는 6.8 %를 나타내었다. 이는 pH가 감소하고 산도가 증가하는 결과와 일치하여 타락의 발효가 시작되며 당도가 감소하는 것으로 생각된다. T2, T3, T5의 경우에는 당도가 감소한 이 후 일정한 당도값을 유지하는 것을 확인할 수 있었는데 정 등³¹⁾의 연구에 따르면 이와 같은 결과는 발효원으로 사용된 젖산균이 우유에 있는 lactose를 분해하여 glucose를 생육하는데 사용하기 때문에 당도가 감소하고, galactose는 계속 잔존하기 때문에 당도가 유지되는 것으로 생각된다. 또한 T1과 T4의 경우에는 발효 4시간에 당도가 감소한 이 후 소폭 증가하여 발효 24시간에는 최종 당도는 각각 8.3 %, 8.2 %를 나타내었다.

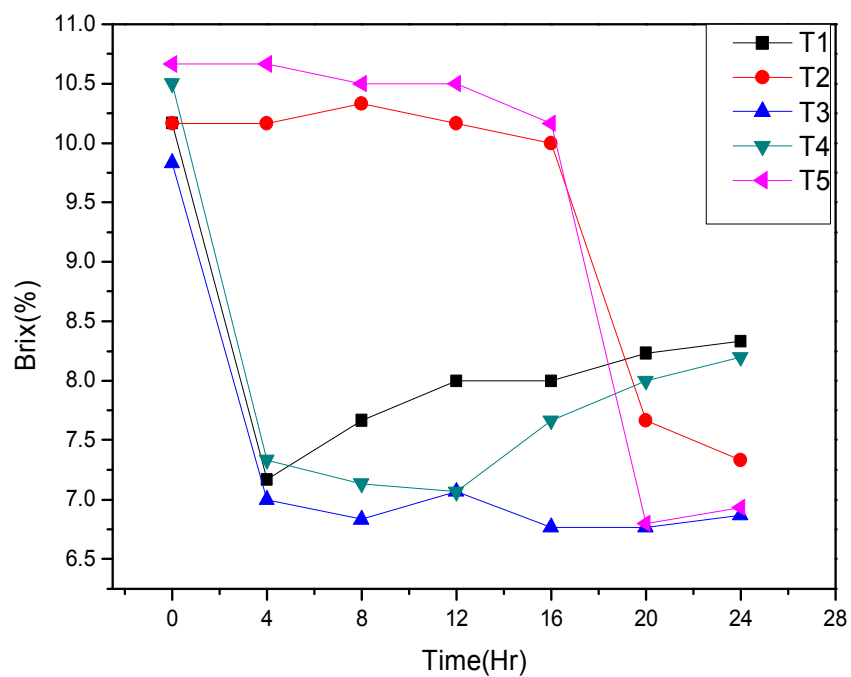


Fig. 4. Changes of Brix(%) in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr.

- T1) Tarak made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)
- T2) Tarak made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)
- T3) Tarak made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)
- T4) Tarak made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)
- T5) Tarak made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

2) 타락의 발효특성 분석

(1) 타락의 에탄올 함량

시판막걸리를 이용하여 제조한 타락의 발효시간에 따른 당도는 Fig. 5. 와 같다. 발효 0 시간 에탄올 함량은 3.74 mg/ml 에서 5.20 mg/ml 범위를 나타내었으며 이것은 발효원인 막걸리에서의 유래한 에탄올 함량이라 여겨진다. 시판막걸리에서 알코올 도수가 6 %로 가장 낮았던 T2와 T4는 각각 4.01 mg/ml 3.74 mg/ml로 가장 낮은 에탄올 함량을 나타내며 알코올 도수가 8%로 가장 높았던 T5 타락은 5.20 mg/ml로 가장 높은 에탄올 함량을 나타내었다. 이 후 T5를 제외한 T1, T2, T3, T4에서 모두 에탄올이 발효시간에 따라 증가하는 것을 알 수 있는데 T1의 경우 증가의 폭이 가장 커서 발효 16시간 까지 꾸준한 증가를 보여 6.90 mg/ml를 나타내었고 이 후 완만한 증가를 보여 발효 24 시간에는 7.05 mg/ml 에탄올 농도를 보였다. T4의 경우 또한 발효 20 시간 까지 꾸준한 증가를 보여 5.39 mg/ml를 나타내며 이 후 24시간에는 5.52 mg/ml를 나타낸다. T2, T3의 경우 소폭이지만 에탄올 함량이 증가함을 알 수 있었다. 이러한 타락에서의 에탄올 생성은 Table 2. Table 3. Table 4. Table 5. Table 6. 의 균주 동정결과에 따르면 막걸리 유래 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*의 영향으로 생각된다. 알코올 발효능이 뛰어난 것으로 알려진 *S. cerevisiae* 가 작용하여 알코올발효를 주도하며 이상젖산발효균도 소량의 에탄올을 생성하는 것으로 생각된다. 또한 *S. cerevisiae* 는 lactose를 기질로 사용하지 못하는데 이로 인하여 glucose와 fructose가 검출된 T1과 T4의 타락이 T2, T3, T5 타락보다 더 빠른 에탄올 함량의 증가를 보인 것이라 생각되었다.(Fig. 11. Fig. 14.)

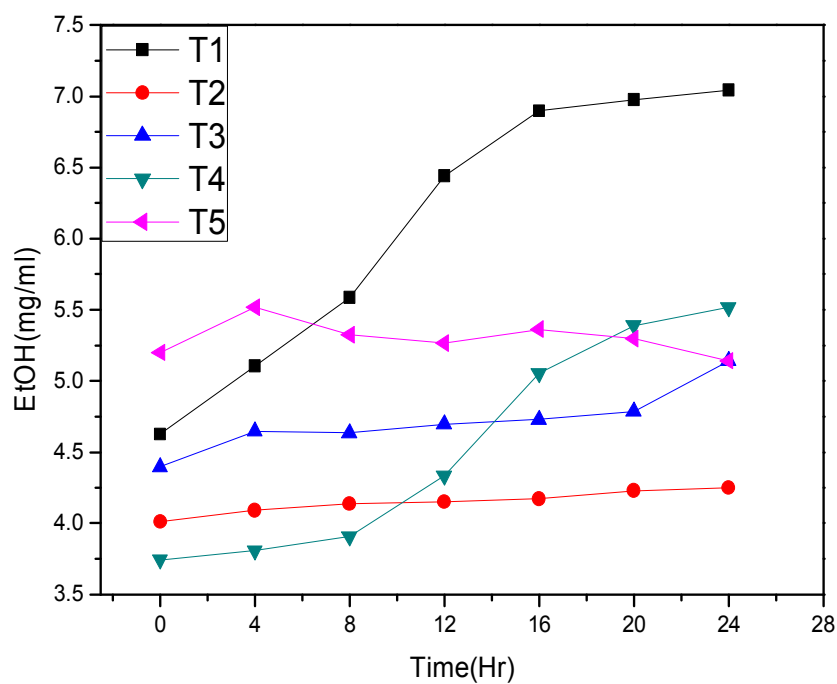


Fig. 5. Changes of ethanol(mg/ml) in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr.

- T1) Tarak made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)
- T2) Tarak made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)
- T3) Tarak made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)
- T4) Tarak made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)
- T5) Tarak made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

(2) 타락의 유기산 함량

젖산균은 발효과정중 당류를 이용해 정상젖산발효균은 lactic acid를 이상젖산발효균은 lactic acid 이외의 다양한 유기산들과 탄산가스를 생성하게 된다. 이러한 젖산균이 발효를 일으키며 생성하는 유기산은 산에 예민한 장내 병원성 세균에 대한 오염과 번식을 저해함으로써 사람에게 유익한 효과를 주며, 식중독 원인세균을 사멸시키는 것으로도 알려져 있다³²⁾³³⁾. 시판막걸리를 이용해 제조한 타락에서의 발효시간에 따른 유기산 생성량은 Fig. 6. Fig. 7. Fig. 8. Fig. 9. Fig. 10. 과 같다. 타락 발효 시 생성되는 유기산은 주로 lactic acid 이었다. 젖산균에 의한 lactose 대사과정 중 생성되는 glucose는 Embden-Meyerhof(EMP) 대사경로를 통해 pyruvate로 전환되고 대부분의 homo 젖산발효 젖산균이 함유하고 있는 lactate dehydrogenase 에 의해 약 95%가 lactic acid로 전환되며, 이를 통해 생성된 lactic acid는 발효유제품의 풍미, 조직 및 영양 면에서 중요한 역할을 담당하게 된다³⁴⁾. 발효원의 종류를 다르게 한 5개의 실험군 모두 lactic acid가 생성되는 것을 알 수 있었고 특히 T1과 T4 에서의 발효 12시간부터 lactic acid의 농도는 큰 폭으로 증가하였는데, 이를 통해 타락에서 젖산발효가 우세적으로 일어났음을 알 수 있고 정상젖산발효균이 우세할수록 lactic acid의 생성량이 우세할 것이라 여겨진다. 생성된 lactic acid는 5개의 실험군 모두에서 전체 유기산 생성량의 80%이상을 차지하였고 이는 자색고구마를 첨가하여 제조한 요구르트에서 lactic acid가 주요 유기산으로 나타났다는 보고와 유사하였다³⁵⁾. citric acid는 구연산으로도 분리며 식물의 씨나 과즙 속에 많이 존재하는 유기산이다. 당류를 기질로 하여 미생물을 배양했을 때 주로 축적되는 산중의 하나인 citric acid는 원료에서 유래하여 발효

0시간 가장 높게 검출되었다. 이 후 T1과 T2의 경우에는 완만히 증가하였지만 T3, T4, T5의 경우 발효가 진행되며 citric acid가 감소하였다. 이는 T3, T4, T5에서 공통적으로 존재하는 *Leuconostoc mesenteroides*의 영향으로 이 균주는 우유에서 citric acid를 소비하여 diacetyl을 생성할 수 있는 것으로 알려져 있다³⁶⁾. 또한 초반 acetic acid를 0.1% 첨가한 것으로 여겨지는 acetic acid가 발효 0시간부터 소량 검출되었으며 이 후 완만히 생성되었다. succinic acid도 소량 생성되었다.

이를 통하여 타락은 정상젖산발효균과 이상젖산발효균이 혼재하는 발효유임을 알 수 있고 이때의 발효를 이끄는 균주에 따라서 유기산의 생성량이 달라지는 것으로 생각된다.

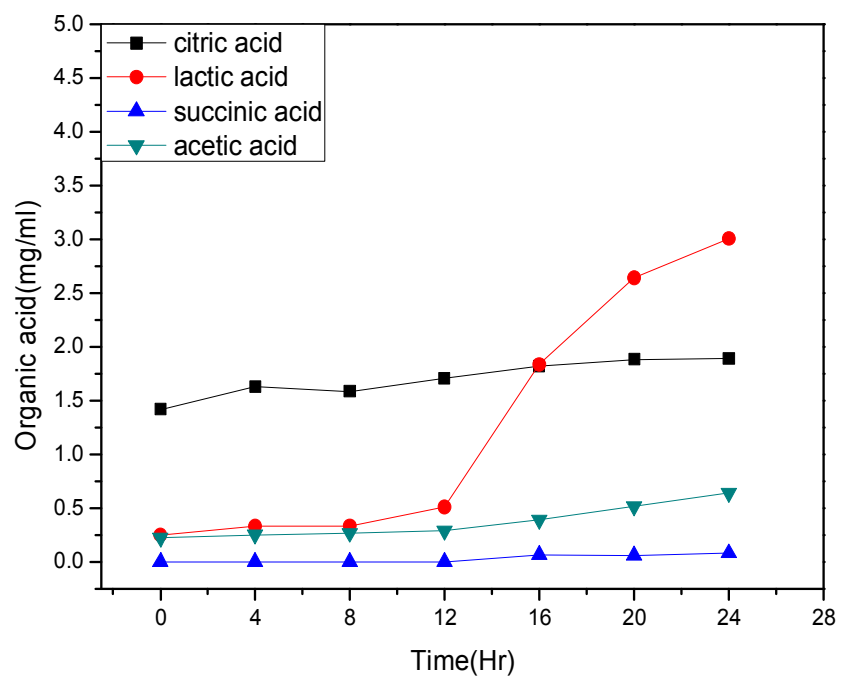


Fig. 6. Changes of organic acids in T1 at 37°C during 24 hr.

T1) Tarak made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)

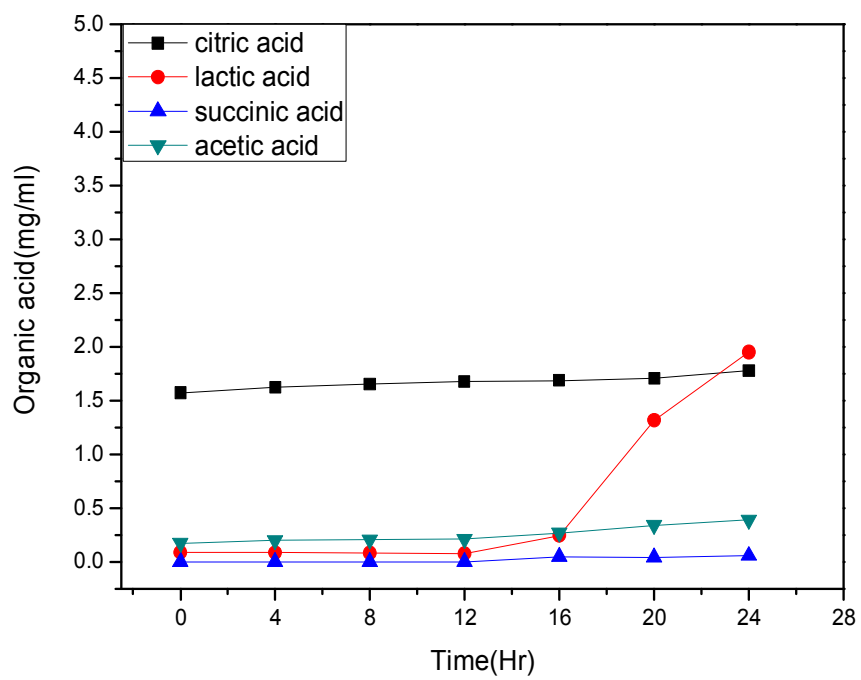


Fig. 7. Changes of organic acids in T2 at 37°C during 24 hr

T2) Tarak made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)

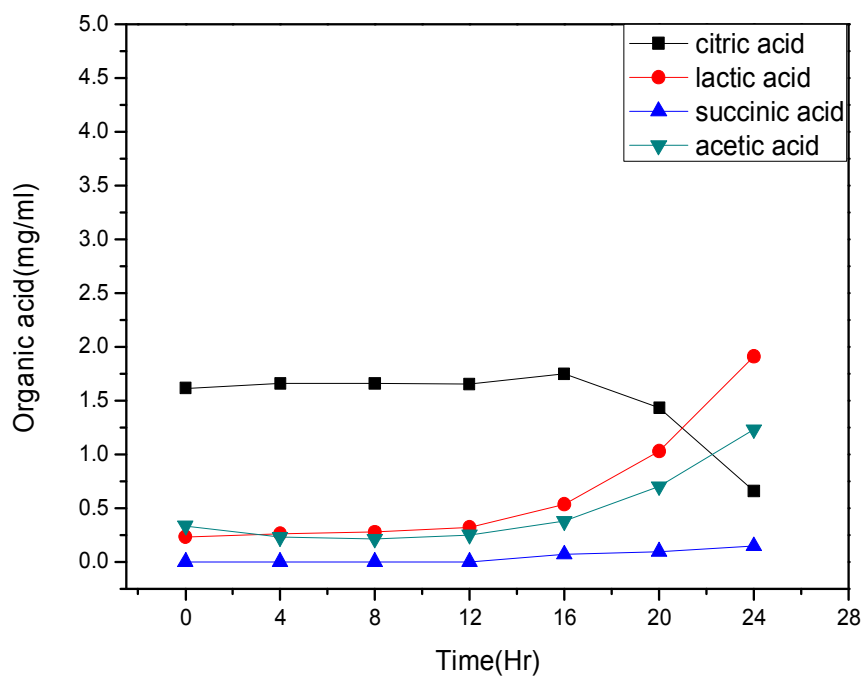


Fig. 8. Changes of organic acids in T3 at 37°C during 24 hr

T3) Tarak made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)

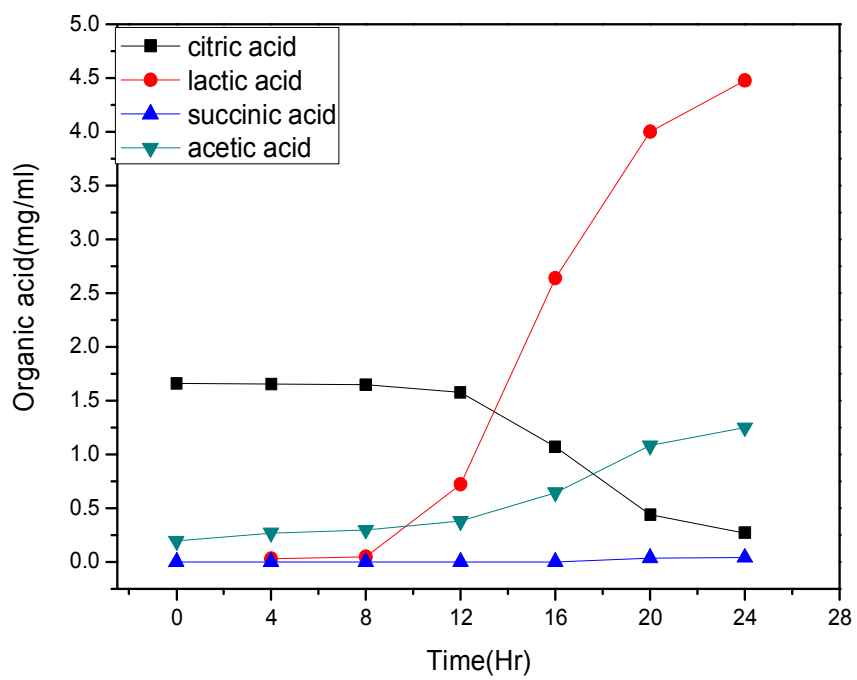


Fig. 9. Changes of organic acids in T4 at 37°C during 24 hr

T4) Tarak made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)

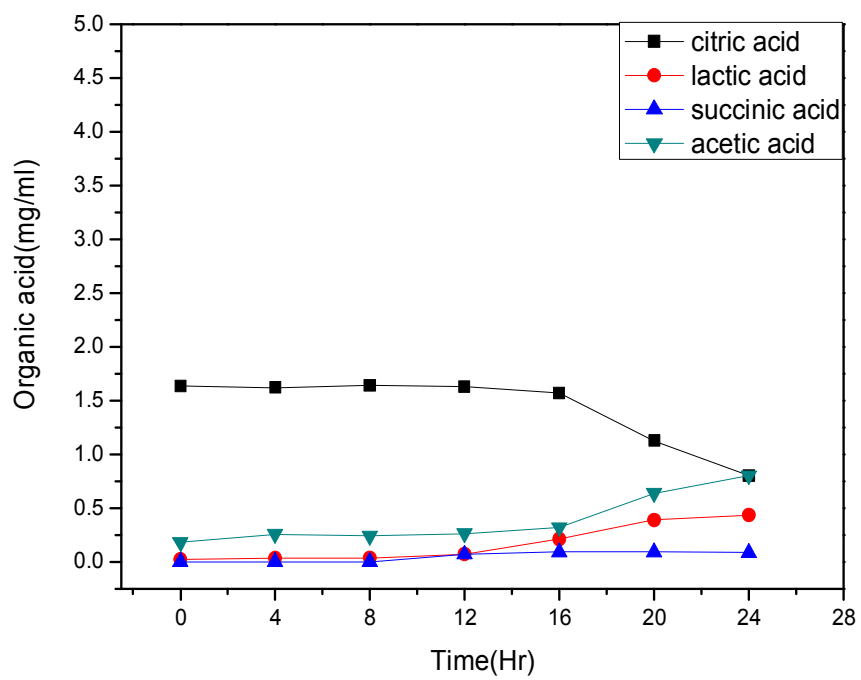


Fig. 10. Changes of organic acids in T5 at 37°C during 24 hr

T5) Tarak made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

(3) 타락의 유리당 함량

발효시간에 따른 타락의 유리당의 변화량은 Fig. 11. Fig. 12. Fig. 13. Fig. 14. Fig. 15. 와 같다. 검출된 주된 당은 lactose 이었으며 T1의 경우 발효 0시간 타락에서는 lactose 이외에 4.95 mg/ml glucose, 1.30 mg/ml galactose가 검출되었다. 이 후 발효 4시간까지의 lactose, glucose, fructose 함량은 다소 증가하지만 이 후 glucose와 fructose의 양은 감소하여 발효 20 시간에는 검출되지 않았다. T4의 경우 lactose 이외에 7.58 mg/ml glucose가 검출되었지만 이 또한 점차 감소하여 발효 20 시간부터는 검출되지 않았다. 검출된 glucose와 fructose는 원료 중 발효원인 막걸리에서 유래된 것으로 보이며 이를 발효 중 젖산균과 효모가 단당류인 glucose와 fructose를 초기 발효원으로 사용하여 16시간 이후에는 검출되지 않은 것으로 생각된다. lactose만이 검출된 T2, T3, T5의 경우에 T2의 lactose 함량은 다소 감소하였으나 T3, T5의 lactose의 함량은 큰 차이가 없었다. 이를 통하여 발효 24시간까지의 타락에서는 단당류인 glucose와 fructose등의 단당류를 우선적으로 기질로 사용하여 발효를 하며 24시간 이후에는 lactose의 함량이 감소할 것이라 예상되었다.

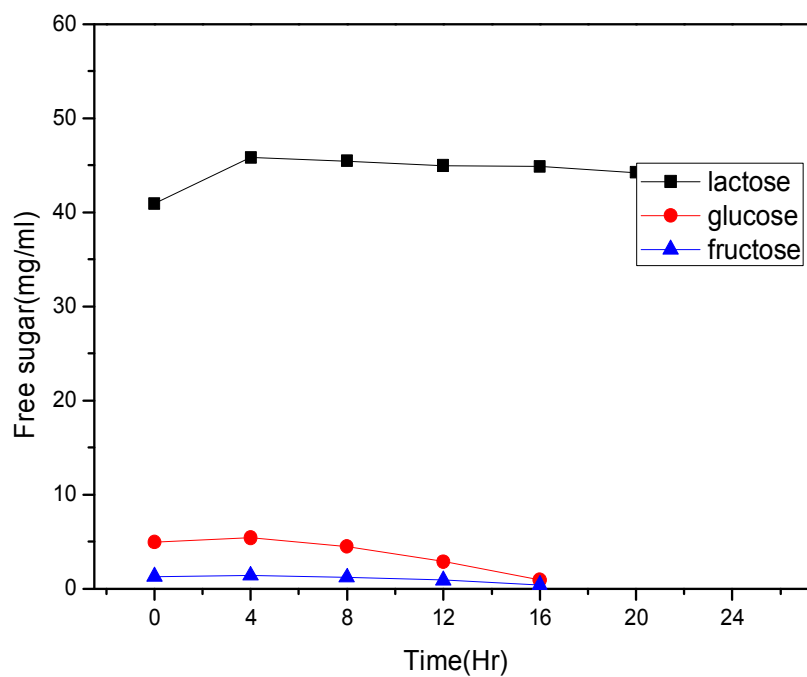


Fig. 11. Changes of free sugar in T1 at 37°C during 24 hr.

T1) Tarak made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)

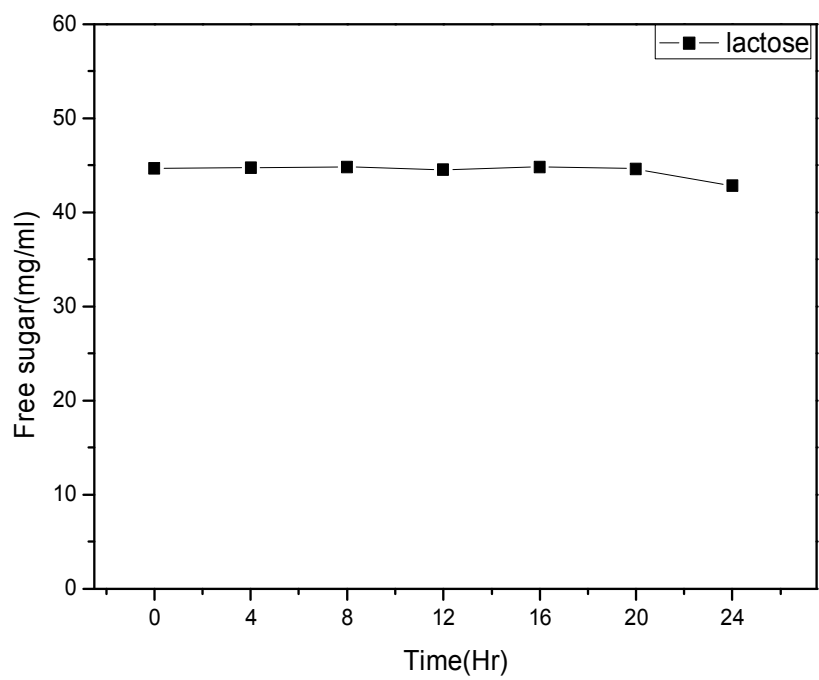


Fig. 12. Changes of free sugar in T2 at 37°C during 24 hr.

T2) Tarak made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)

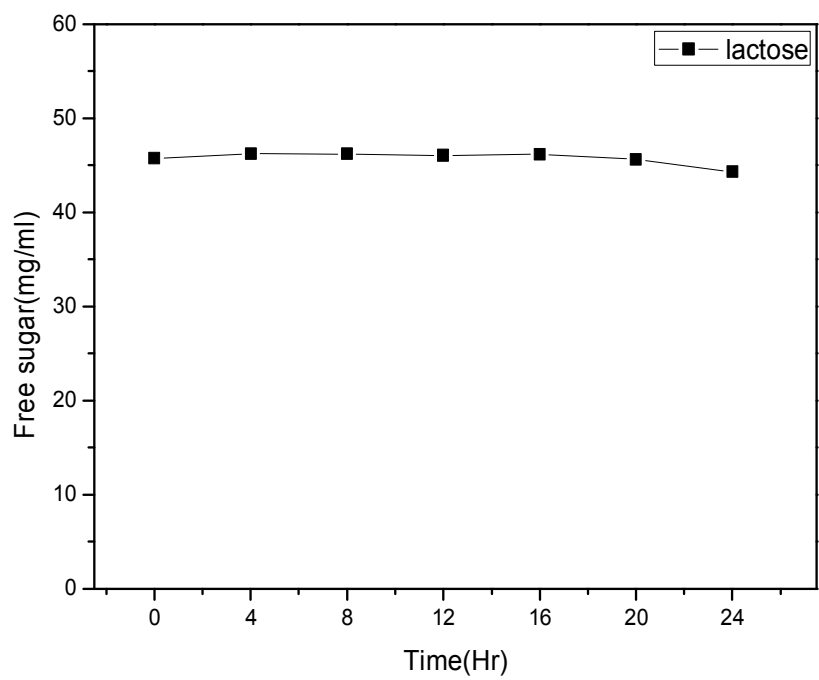


Fig. 13. Changes of free sugar in T3 at 37°C during 24 hr.

T3) Tarak made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)

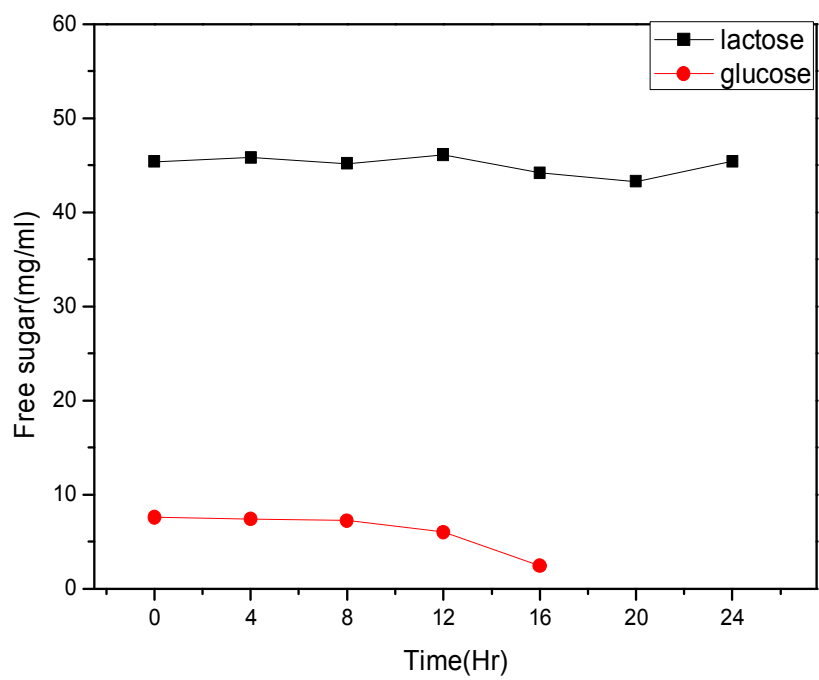


Fig. 14. Changes of free sugar in T4 at 37°C during 24 hr.

T4) Tarak made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)

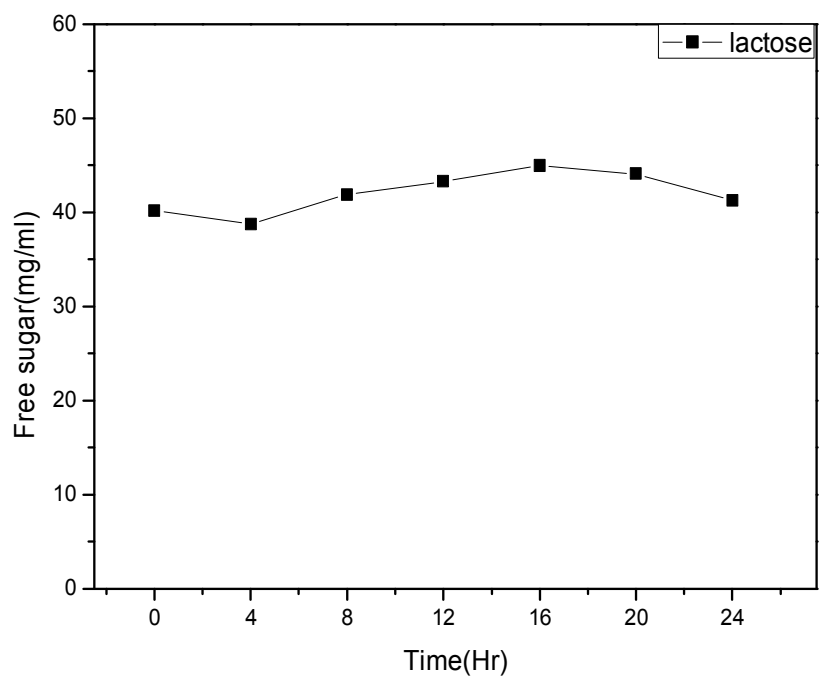


Fig. 15. Changes of free sugar in T5 at 37°C during 24 hr.

T5) Tarak made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

3) 타락의 미생물특성 분석

(1) 타락의 젖산균 및 효모균 수

시판막걸리를 이용하여 제조한 타락의 발효시간에 따른 젖산균 수는 Fig. 16. 과 같다. 타락을 처음 제조한 0시간은 각각 발효원인 시판막걸리함유 젖산균으로 인해 T1, T4는 5 log CFU/ml 수준의 젖산균이 T2, T3, T5의 경우에는 6 log CFU/ml 수준의 젖산균이 존재함을 알 수 있었다. 이 중 T1과 T4의 타락이 가장 빠른 젖산균의 성장을 보였는데 T1은 발효 4시간에서 12 시간 까지 급격한 젖산균의 성장을 거쳐 12 시간에는 9.47 log CFU/ml 의 젖산균수를 나타내었다. T4는 발효 4시간에서 급격히 성장하여 발효 8시간에는 9.47 log CFU/ml를 나타내어 젖산균이 가장 빠르게 성장하는 모습을 보였으며 이 후 완만히 성장하여 12 시간에는 10.10 log CFU/ml 의 젖산균수를 나타내었다. T3의 경우 발효초기 젖산균의 수는 6.21 log CFU/ml를 나타내었으며 이 후 발효 20시간까지 비교적 일정한 증가하여 10.35 log CFU/ml를 나타내었고 발효 24시간에도 소폭 증가하여 최종 젖산균수는 10.41 log CFU/ml를 나타내었다. 발효 T2와 T5의 경우는 발효 20시간 까지 비교적 완만하게 젖산균의 성장을 거쳐 9.31 ~ 10.27 log CFU/ml를 나타내었지만 20 시간 이후에는 모든 실험군에서 생장이 이루어지지 않거나 다소 감소하는 모습을 보였다. T2의 경우가 발효 24시간 9.28 log CFU/ml 로 가장 낮은 젖산균 함량을 보였지만 우리나라 축산물의 가공기준 및 성분규격³⁷⁾에 따르면 발효유의 총 유산균수 기준은 10^7 CFU/ml, 농후발효유는 10^8 CFU/ml 이상으로 규정되어 있어 5개의 실험군 모두 유산균수 기준에 적합한 농후발효유가 제조됨을 알 수 있다.

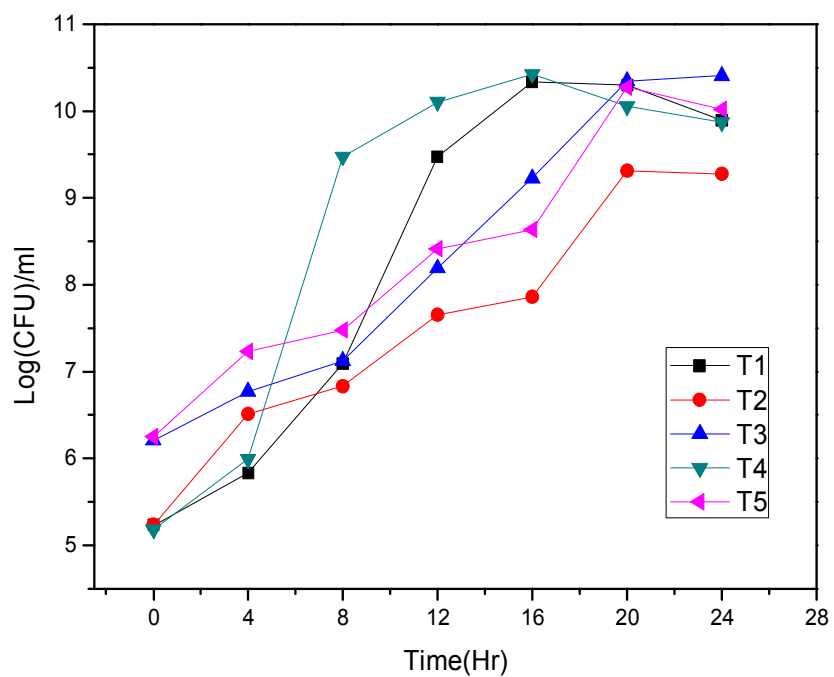


Fig. 16. Changes of lactic acid bacteria in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr.

- T1) Tarak made made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)
- T2) Tarak made made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)
- T3) Tarak made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)
- T4) Tarak made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)
- T5) Tarak made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

발효시간에 따른 효모수는 Fig. 17.과 같다. 발효 0 시간의 효모수는 시판막걸리 함유 효모의 수로 생각되며 T1과 T4의 경우는 각각 5.14 CFU/ml, 5.40 CFU/ml의 효모수를 나타내며 T3, T4, T5는 6.16 ~ 6.47 log CFU/ml 의 효모수를 나타내었다. 가장 빠른 효모의 성장을 보인 것은 T1으로 발효 0시간부터 급격한 증가를 나타내며 발효 12시간에는 7.29 log CFU/ml 를 나타내었다. 이 후 발효 20시간 까지는 소폭 상승하여 7.66 log CFU/ml을 나타내었고 이 후 감소하여 발효 24시간에는 7.51 log CFU/ml를 나타내었다. T4의 경우는 발효 16시간까지 완만히 효모가 성장하여 6.27 log CFU/ml 이지만 이 후 급격히 성장해 20시간 에는 7.83 log 를 나타내었으며 발효 24시간에는 소폭 감소하여 최종 효모수는 7.49 log CFU/ml를 나타내었다. T1과 T4의 경우는 발효 초기 함유 효모의 수는 적었지만 비교적 빠른 효모의 성장이 일어나면서 최종 효모의 수는 7 log CFU/ml 범위를 나타내었다.

T2, T3, T5의 효모의 성장은 발효 12시간 까지는 큰 차이를 보이지 않다가 이 후 증가를 하여 T1보다 효모의 알코올 발효가 늦게 일어남을 알 수 있다. T5의 경우에는 가장 높은 효모수를 가졌지만 발효 12시간까지는 완만한 성장세를 보여 6.30 log CFU/ml를 나타내었고 12 시간부터 급격하게 성장하여 20시간에는 8.00 log CFU/ml를 나타낸 후 발효 24시간에는 소폭 감소하였다. 이를 통하여 효모의 수가 가장 많은 T5가 앞서의 이화학적인 특성분석을 통해 보아 가장 발효가 늦게 일어난다는 것을 알 수 있는데 이는 동일한 양의 우유를 배지로 사용할 때 효모와 젖산균이 서로 경쟁을 일으켜 효모수가 많은 경우 오히려 젖산발효를 방해하여 발효가 천천히 일어나는 것으로 생각된다. 효모는 알코올발효를 통하여 특유의 향이 나게 하는 원인이 되며 결과적으로 최종 타락의 효모수는 모든 실험군에서 6.99 ~ 7.73 log CFU/ml를 나타내었다³⁸⁾.

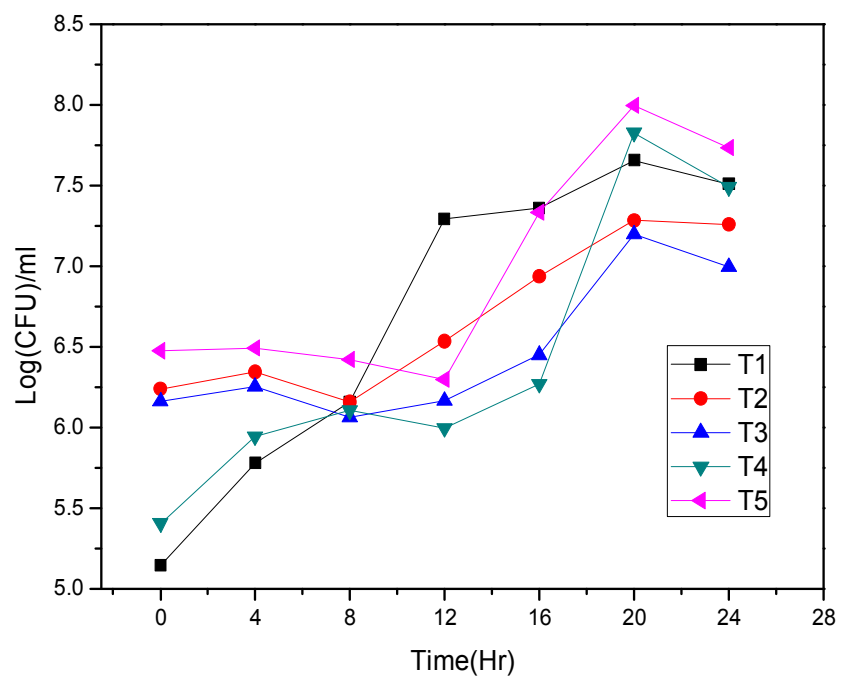


Fig. 17. Changes of yeast in Tarak made with various Makgeolli at 37°C during 24 hr.

- T1) Tarak made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)
- T2) Tarak made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)
- T3) Tarak made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)
- T4) Tarak made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)
- T5) Tarak made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

(2) 타락의 균주분리 및 분석

발효 24 시간의 타락에서 PDA 배지에서 효모를, MRS 배지에서 젖산균을 순수분리하여 동정한 결과를 다음과 같이 나타내었다. 분리된 효모는 모두 *Saccharomyces cerevisiae* 로 알코올 생성능이 강한 것으로 알려진 이 효모는 포도주, 맥주, 빵 등을 발효시키는데 널리 쓰인다. 발효원인 막걸리 제조시 누룩으로부터 유래된 것으로 타락 발효시 에탄올을 생성하여 알코올 발효를 주도하였으리라 생각된다. 그러나 *S. cerevisiae*는 lactose 분해능이 없으므로 Fig. 11. ~ Fig. 15. 에서와 같이 타락의 lactose는 거의 소비되지 않았고 초기에 우연재료 유래 glucose, fructose를 이용하여 알코올 발효를 하였음을 알 수 있다(Fig. 5).

T1에서 분리된 결과는 Table 2. 와 같으며 분리된 젖산균은 *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* 이었다. 이 중 T1에서 분리된 *Lactobacillus brevis* 는 당류를 발효시켜 lactic acid 이 외에도 acetic acid, ethanol, 등을 생성할 수 있는 이상젖산발효균으로 숙성된 김치에서 주로 분리되는 균주로 우유, 치즈 등에서도 분리가 된다. *Lactobacillus brevis*는 내산성을 가지는 것으로 보고되었으며³⁹⁾ 외에도 낮은 pH와 담즙산, 췌장액에 대한 저항성을 가지는 것으로 알려져 있다⁴⁰⁾. 김 등⁴¹⁾에 따르면 김치로부터 분리한 *Lactobacillus brevis* FSB-1을 대상으로 면역증진활성을 조사한 결과 마이크로파지에 대한 높은 활성을 보이며, splenocyte mitogen에도 활성을 지니고, 보체계 활성화에도 농도의존적인 활성이 나타내는 것으로 보아 면역증진활성도 뛰어난 것으로 보고되고 있다.

Table 2. Isolated strains and yeast from T1

Name	Description	Acession	Pct(%)
T1-a	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T1-b	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T1-c	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T1-1	<i>Lactobacillus brevis</i>	FJ476121.1	99
T1-2	<i>Pediococcus acidilactici</i>	FJ844982.1	99
T1-3	<i>Pediococcus acidilactici</i>	FJ844982.1	99
T1-4	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	AB598987.1	99
T1-5	<i>Lactobacillus brevis</i>	FJ476121.1	100
T1-6	<i>Pediococcus acidilactici</i>	AB598949.1	99
T1-7	<i>Pediococcus acidilactici</i>	FJ844982.1	100

T1) Tarak made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)

T2에서 분리된 균주는 *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus sakei*, *Weissella viridescens* 이며 결과는 Table 3. 에 나타내었다. T1과 T2에서 주로 분리된 *Pediococcus sp.* 의 젖산균인 *Pediococcus acidilactici*는 그람양성의 통성혐기성의 정상젖산발효를 일으키는 젖산균으로 발효야채와 발효 우유에서 주로 분리가 된다. 허 외⁴²⁾의 연구에 따르면 *Lactobacillus paracasei* (ATCC 25598), *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Lactobacillus acidophilus ADH*, *Bifidobacterium longum B6*, *Lactobacillus brevis* (KACC 10553), *Lactobacillus casei* (KACC 12413), *Pediococcus acidilactici* (KACC 12307)를 각각 첨가하여 발효시킨 오징어에서 *Pediococcus acidilactici*는 *Bifidobacterium longum*과 함께 다른 균주들보다 10배 이상 높은 DPPH radical 소거 활성을 보였으며 DMA와 TMA 감소를 가져오는것을 확인할 수 있었다. 또한 송 외(2013)의 연구에 따르면 *Pediococcus acidilactici* 는 65 °C까지 최적 성장온도를 가지며 넓은 pH범위에서 성장할 수 있기 때문에 새로운 생균제로 주목받고 있다⁴³⁾.

Lactobacillus sakei 는 그람양성의 이상젖산발효균으로 김치발효후기에 우점종으로 알려져 있으며 사케나 막걸리 같은 주류발효의 유익균으로도 널리 알려져 있다. 문 등⁴⁴⁾에 따르면 김치에서 분리한 *Lactobacillus sakei* K-7의 항충치 활성을 보이며 박 등⁴⁵⁾에 따르면 동치미에서 분리한 *Lactobacillus sakei* J4는 *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus enterica*, *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균활성을 보이는 것으로 알려졌다.

Table 3. Isolated strains and yeast from T2

Name	Description	Acession	Pct(%)
T2-a	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	BK006945.2	99
T2-b	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN942842.1	99
T2-c	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T2-1	<i>Pediococcus acidilactici</i>	AJ305322.1	99
T2-2	<i>Pediococcus acidilactici</i>	EF059987.1	99
T2-3	<i>Pediococcus acidilactici</i>	FJ844982.1	99
T2-4	<i>Lactobacillus sakei</i>	CR936503.1	99
T2-5	<i>Pediococcus acidilactici</i>	AB598949.1	100
T2-6	<i>Weissella viridescens</i>	AB680180.1	99

T2) Tarak made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)

T3에서 분리된 균주는 *Lactobacillus fermentum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus crustorum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus plantarum* 이며 그 결과는 Table 4. 와 같다. 분리된 균주 중 *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*은 probiotics로 이미 그 기능성이 인정된 균주이다.

*Enterococcus faecalis*는 포유동물과 조류의 장내에 주로 서식하는 그람양성의 정상젖산발효균이다. 일반적인 *Enterococcus*는 장구균으로 분변오염의 지표로 사용하지만 *Enterococcus faecalis*는 *Enterococcus faecium*과 더불어 probiotics의 대표적인 균으로 박 등⁴⁶⁾의 연구에 따르면 신생아의 분변에서 분리된 *Enterococcus faecalis* 2B4-1은 항종양활성을 지닌 것으로 보고되었으며 함⁴⁷⁾의 연구에 따르면 *Enterococcus faecalis*는 항생제인 streptomycin (95.6%), Kanamycin(84.5%), gentamycin(66.7%), cephaloxin(97.8%), ampicillin/sulbactam(88.9), ticarcillin(66.7), amikacin(97.8%), sulfonamides (97.8), ceftriaxone (75.6%), nalidixic acid(100.0%), cefoxitin(100.0%) 에 대한 내성을 나타내어 항생제 부작용으로 인한 장 질환 치료에 적용할 수 있을 것 이라는 보고가 있다⁴⁸⁾.

*Lactobacillus plantarum*는 그람양성의 정상젖산발효균이다. 특히 항균활성이 뛰어나 *Lactobacillus plantarum*가 생성되는 유기산과 박테리오신은 병원성 미생물(*Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*)의 생장을 억제한다는 보고가 있었으며⁴⁹⁾ 이 등⁵⁰⁾에 따르면 특히 *E. coli*에 높은 항균성을 나타내는 것으로 알려져 많은 발효유제품에 스타터로 사용되고 있다.

Table 4. Isolated strains and yeast from T3

Name	Description	Acession	Pct(%)
T3-a	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T3-b	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T3-c	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T3-1	<i>Lactobacillus fermentum</i>	EU825661.1	99
T3-2	<i>Pediococcus acidilactici</i>	AB598949.1	99
T3-3	<i>Lactobacillus fermentem</i>	CP002033.1	99
T3-4	<i>Lactobacillus crustorum</i>	AB626073.1	99
T3-5	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	AB601158.1	99
T3-6	<i>Enterococcus faecalis</i>	AB362602.1	99
T3-7	<i>Lactobacillus plantarum</i>	AB601179.1	99

T3) Tarak made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)

T4는 *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*. 가 동정되었으며 그 결과는 Table 5. 와 같다. 송 등⁵¹⁾의 연구에 따르면 *Pediococcus pentosaceus*는 내산성, 담즙 내성, 다양한 항생제 내성, biofilm 형성능 및 병원성 세균의 발육 억제능이 뛰어난 것으로 보고되었으며 이 등⁵²⁾의 연구에서 소화성 궤양, 위염, 위선암 또는 mucosa associated lymphoid tissue 림프종 등의 중요한 유발인자로 알려져 있는 *Helicobacter pylori* 균에 대한 억제능을 지니는 것으로 보고되어 있어 잠재적인 프로바이오틱 유산균으로서 개발 가능성이 주목받고 있다⁵³⁾.

또한 김치의 초기발효를 주도하는 것으로 알려진 *Leuconostoc mesenteroides*. 는 이상젖산발효균으로 다양한 유기산을 생성하여 타락의 향과 산미에 영향을 주는 것으로 여겨진다.

Table 5. Isolated strains and yeast from T4

Name	Description	Acession	Pct(%)
T4-a	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T4-b	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T4-c	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T4-1	<i>Lactobacillus curvatus</i>	AB600197.1	99
T4-2	<i>Pediococcus acidilactici</i>	AB598949.1	99
T4-3	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	AB598987.1	99
T4-4	<i>Lactobacillus curvatus</i>	AB600200.1	99
T4-5	<i>Lactobacillus curvatus</i>	AB600200.1	100
T4-6	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	AB601158.1	99

T4) Tarak made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)

T5에서 *Lactobacillus fermentum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*. 가 동정되었으며 그 결과는 Table 6. 과 같다. 분리된 균주 중 *Lactobacillus fermentum*은 임 등⁵⁴⁾에 따르면 내산성과, 내담즙성을 가지고 이 외에도 다양한 환경스트레스에 내성을 가지는 것으로 연구되었으며 *Lactobacillus fermentum* CET5716이 대장염 증상 완화와 독감백신의 면역반응을 증진시킨다는 보고도 있었다⁵⁵⁾⁵⁶⁾. 또한 원유에서 분리한 *Lactobacillus fermentum* LC272은 우수한 Vitamin K2 생산능을 가지는 것을 보고되고 있다.

이처럼 타락의 발효에는 다양한 이상젖산발효균과 정상젖산발효균이 혼재되어 관여함을 알 수 있다. 이 후 타락에서 분리된 균주의 생리학적 분석하고 젖산균과 효모가 타락에서 어떠한 상호작용을 하여 발효를 이끄는지에 대한 심도 있는 연구가 필요할 것이다.

Table 6. Isolated strains and yeast from T5

Name	Description	Acession	Pct(%)
T5-a	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T5-b	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T5-c	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	JN837100.1	99
T5-1	<i>Lactobacillus fermentum</i>	CP002033.1	99
T5-2	<i>Lactobacillus fermentum</i>	CP002033.1	99
T5-3	<i>Pediococcus acidilactici</i>	FJ844982.1	99
T5-4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	AB598986.1	99
T5-5	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	AB598987.1	99
T5-6	<i>Lactobacillus fermentum</i>	CP002033.1	99
T5-7	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	AB6001158.1	99

T5) Tarak made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

5. 타락의 주사전자현미경(SEM) 관찰

제조된 타락의 성상과 미생물은 주사전자현미경(SEM, Scanning Electron Microscope)을 이용하여 관찰하였다. 타락은 Table 6에서 발효시간에 따른 점도값에 기초하여 유청이 분리되기 전 가장 높은 점도값을 가지는 타락을 선정하여 관찰에 이용하였다.

photo 1 은 발효 8시간의 T1 타락에서 관찰된 주사전자현미경 사진으로 출아중인 효모가 관찰되었다. 관찰된 효모는 Table 2 ~ Table 5의 균주동정결과를 참고하여 *S. cerevisiae* 로 생각되었다. photo 2 는 발효 24시간의 T2 타락에서 관찰된 사진으로 효모가 관찰되었으며 표면에 기포도 함께 관찰이 되었는데 이는 이상젖산발효균의 발효로 인해 생성되는 탄산가스로 인한 기포인 것으로 여겨졌다. photo 3 은 발효 8시간의 T3 타락에서 관찰된 주사전자현미경 사진으로 출아중인 효모가 관찰되었다. 관찰된 효모에서는 출아효모의 딸세포가 모세포로부터 분리된 후에는 모세포 쪽에 남는 출아흔(出芽痕, bud scar)도 관찰되었다⁵⁷⁾. 모든 실험군에서 위와 같은 효모와 출아흔이 관찰되었다. photo 4는 발효 8 시간의 T4 타락의 주사전자현미경 관찰사진이며 효모와 함께 간균으로 보이는 젖산균도 함께 관찰되었으며 이는 Table 5의 균주동정결과를 참고하여 *Lactobacillus sp.* 으로 여겨졌다. photo 5 는 발효 24시간의 T5 타락의 주사전자현미경 사진이며 역시 효모와 젖산간균이 관찰되었다.

주사전자현미경 관찰 결과와 같이 유청이 분리되기 전 타락에서는 유산균과 효모의 혼재하여 공생하고 있는 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 유산균과 효모의 작용으로 타락에서의 유산-알콜 발효가 일어남을 알 수 있었다.

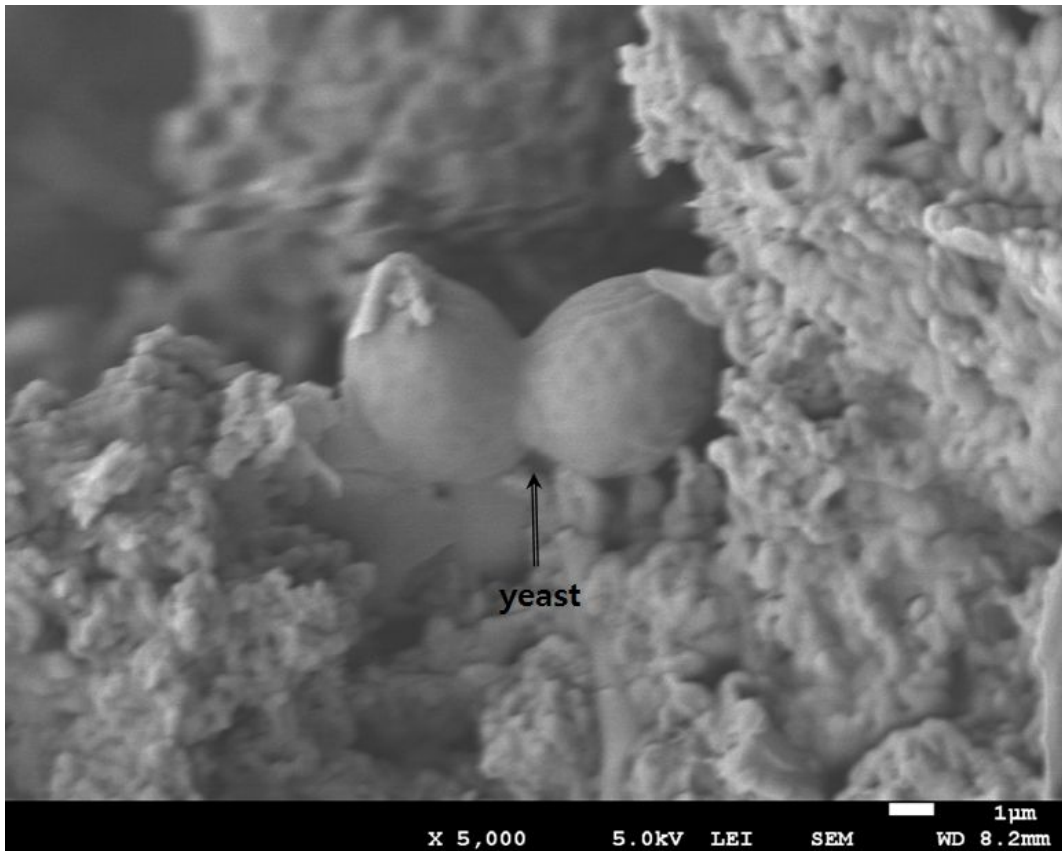


Photo 1. Scanning electron microscopic image of T1 ($\times 5,000$)

T1) made with Yetnal Makgeolli(Kooksoondang)

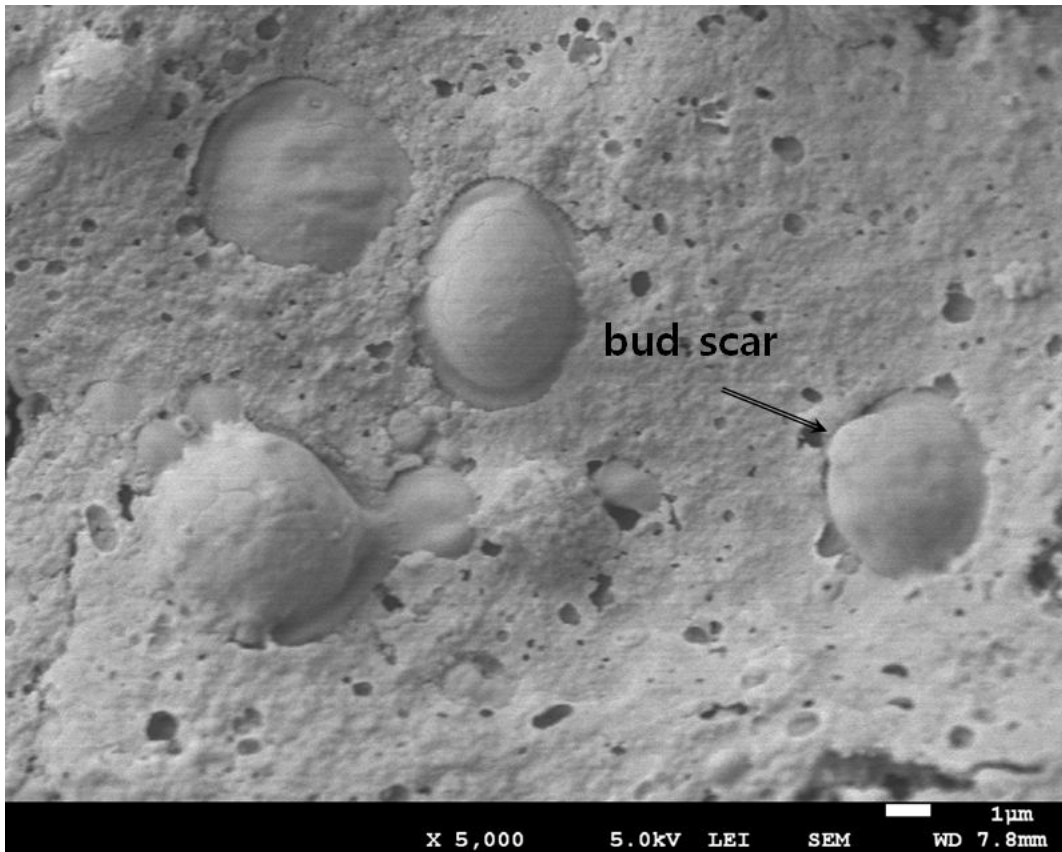


Photo 2. Scanning electron microscopic image of T2 ($\times 5,000$)
T2) made with Draft Makgeolli(Kooksoondang)

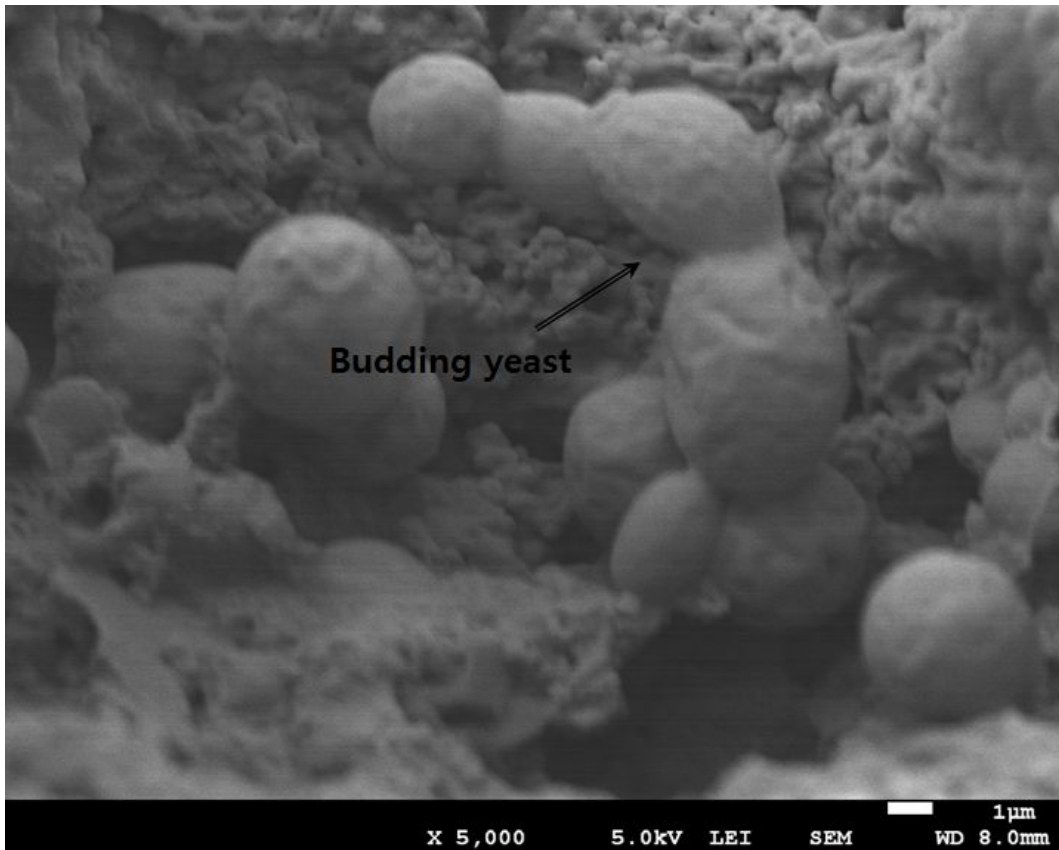


Photo 3. Scanning electron microscopic image of T3($\times 5,000$)

T3) made with Gumjungsansung Makgeolli(Gumjungsansung Tosanju)

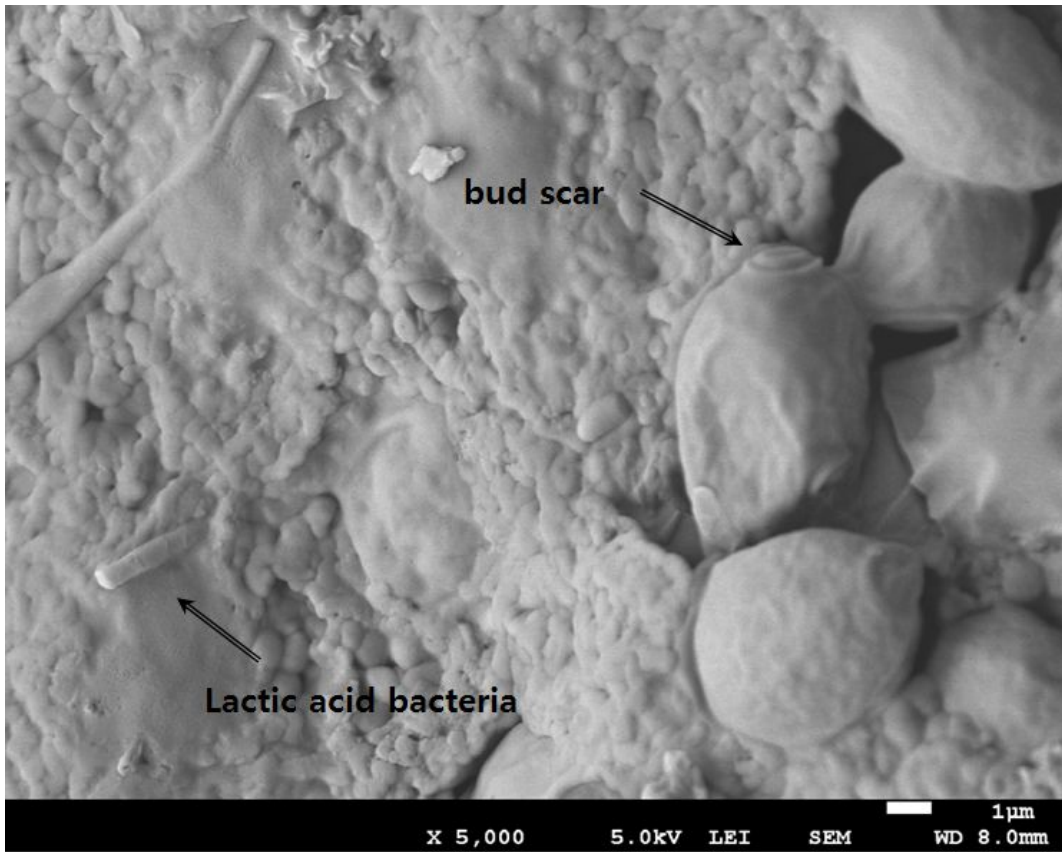


Photo 4. Scanning electron microscopic image of T4 ($\times 5,000$)

T4) made with SlowCity Makgeolli(Beasangmyunjuga)

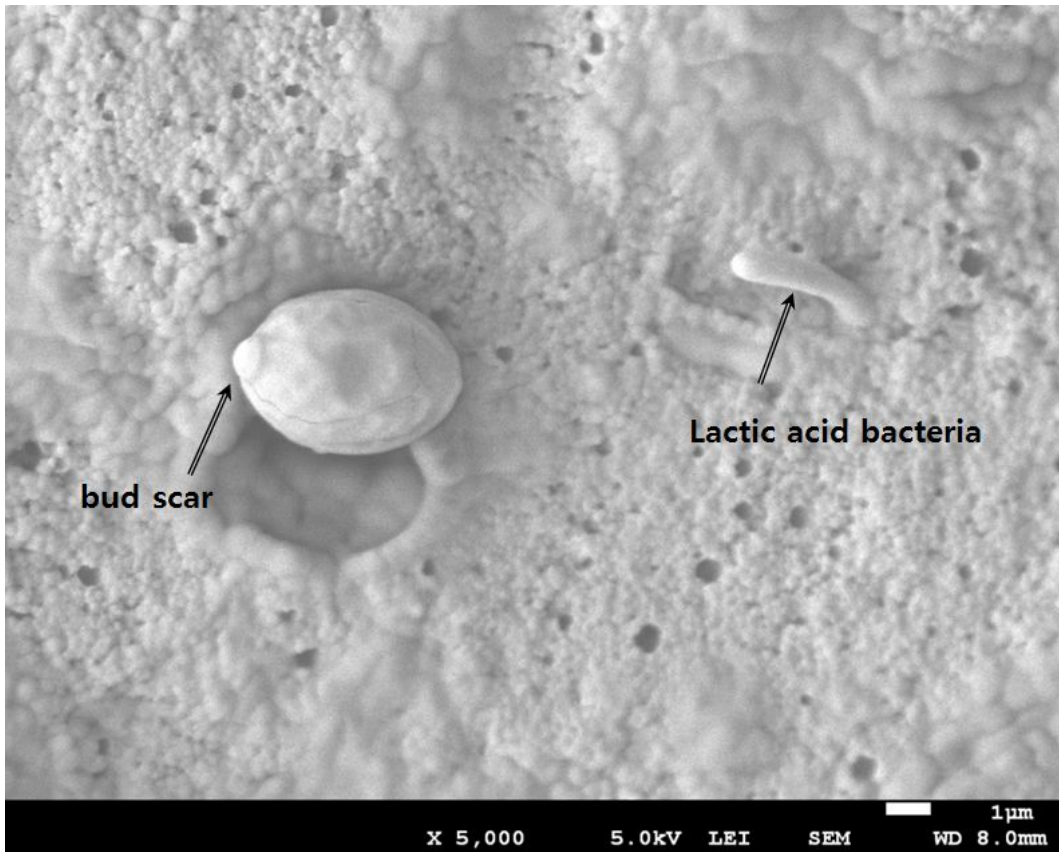


Photo 5. Scanning electron microscopic image of T4 ($\times 5,000$)
T5) made with DeoksanRice Makgeolli(Sewangjujo)

IV. 요약 및 결론

본 연구는 한국 전통 발효유인 타락을 제조하기 위하여 현재까지 발견된 가장 오래된 한문필사본 조리서인 수운잡방(需雲雜方)에 기초하여 막걸리와 우유를 사용한 ‘타락’을 제조하여 발효특성을 분석하는데 그 목적을 두었다. 5종의 시판막걸리를 발효원으로 사용하여 타락을 제조(T1, T2, T3, T4, T5)하여 제조한 타락을 발효 0시간, 4시간, 8시간, 12시간, 16시간, 20시간, 24시간에 일정량을 채취하여 분석에 사용하였다. pH, 적정 산도, 점도, 당도의 변화를 측정하여 이화학적 특성을 분석하였으며 알코올과 유기산 및 유리당의 함량을 분석하여 발효산물을 분석 하였다. 또한 발효과정 중의 젖산균 및 효모수의 변화를 조사하였으며 24시간 발효시켜 커드가 형성된 타락에서 균주를 분리·동정하여 균주의 특성을 분석하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 타락의 pH는 발효 시간에 따라 유의적으로($p < 0.001$) 감소되었으며 산도는 유의적으로($p < 0.001$) 증가하였다. 점도는 T1, T3는 발효 8시간에 최고 점도를 보였으며 T4는 8시간, T2와 T5는 12시간에 최고 점도를 보인 후 유청이 분리되며 점도가 감소하였다. 당도는 T1, T3, T4는 발효 4시간에, T2과 T5는 20시간에 급격히 감소된 이 후 유지하였다. 에탄올 함량은 시간에 따라 증가하였으며 초기균수가 가장 높았던 T1에서 그 증가도가 가장 높았다.

2. 발효시간에 따른 타락 에서 생성된 주된 유기산은 lactic acid로 발효시간에 따라 점차 증가하여 발효 24시간에서의 lactic acid 생성량은 5개의 시료에서 모두 전체 유기산 생성량의 80%이상을 차지하였다. 이 외에 acetic acid,

citric acid, succinic acid, 도 검출이 되었다. 이는 정상젖산발효로 인한 lactic acid의 생성과 이상젖산발효로 인한 lactic acid 이외의 유기산의 생성에 따른 것이라 생각한다.

발효와 더불어 타락에서 생성된 유리당은 주로 lactose였으며 T1 시료에서 glucose와 fructose가, T4 시료에서는 glucose가 검출되었다. T1과 T4에서 검출된 glucose와 fructose는 발효시간에 따라 감소하여 발효 20시간부터는 검출되지 않았으며 lactose의 함량에는 큰 변화가 없었다.

3. 타락의 젖산균수는 발효 0시간에 5.23 ~ 6.25 log CFU/ml를 나타냈으나 발효 24시간에는 9.87 ~ 10.02 log CFU/ml 로 증가하였다. 효모수는 발효 0시간에 5.14 ~ 6.47 log CFU/ml에서 발효 24시간에는 6.99 ~ 7.73 로 증가하였다.

발효 24시간에 PDA, MRS 배지를 이용하여 분리 동정한 타락의 균주는 *Pediococcus acidilactici*(33.33%), *Lactobacillus fermentum*(15.15%), *Leuconostoc mesenteroides*(9.09%), *Pediococcus pentosaceus*(9.09%), *Lactobacillus brevis*(6.06%), *Lactobacillus plantarum*(6.06%), *Weissella viridescens*(6.06%), *Enterococcus faecalis*(3.03%), *Lactobacillus curvatus*(3.03%), *Lactobacillus crustorum*(3.03%), *Lactobacillus sakei*(3.03%), 이며 효모는 *Saccharomyces cerevisiae*가 주된 균주였다. 이 후 주사전자현미경(SEM)을 통하여 타락을 관찰한 결과 효모와 젖산균이 혼재되어 있음을 알 수 있었다.

이상과 같이 본 연구는 우리나라에서 전통적으로 음용하였던 발효유인 타락을 제조하여 그 발효특성을 분석하였다. 그 결과 발효 24시간까지의 타락에서

는 발효원인 막걸리에서 유래된 젖산균과 효모의 작용으로 인하여 원료의 lactose, galactose, fructose 등을 기질로 하여 lactic acid, citric acid, succinic acid, acetic acid 가 생성되었으며 일부 타락에서는 알코올이 생성되었다. 또한 제조된 타락에서의 균주를 순수분리 동정하여 그 특성을 파악한 결과 효모는 *Saccharomyces cerevisiae* 와 *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* 등의 정상젖산균, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* 등의 이상젖산균이 검출되었다. 이를 통하여 제조된 한국 전통 발효유 타락은 효모인 *S. cerevisiae* 와 첨가하는 막걸리에 따라 다양한 유산균이 존재하는 유산균 음료임을 알 수 있었다.

참고 문헌

- 1) 정충일, 역사적 고찰로 본 우유음용 및 건강효과, 한국 유가공기술과학회지, 제28권 제1호, 2010, p 29-33
- 2) 진현석, 아이의 식탁에서 우유를 지켜라, 랜덤하우스 중앙, 2006, p 193
- 3) 이수원 외 5인, 최신 유가공학, 유한문화사, 2011, p 26
- 4) Murphy MM, Douglass JS, Johnson RK, Spence LA, 2008, Drinking flavored or plain milk is positively associated with nutrient intake and is not associated with adverse effects on weight status in US children and adolescents, J Am Diet Assoc, Apr;108(4) p 631-639
- 5) Jun JY, Kim SH, Kwak BM, Ahn JH, Kong UY, 2005, Analysis of volatile flavor compounds in cow's milk by purge & trap method, Korean J Food Sci Ani Resource, Vol. 25, 25, p 78-83.
- 6) 임광세, 2003, 유산균의 건강증진 효과, 한국식품영양학회지, Vol. 16. NO. 1, p 93-103
- 7) Metchnikoff, E, The prolongation of life, Springer publishing company, 2003, p 17-28
- 8) Lim, K. S, 2007, Current market trends and prospects of functional fermented milk products in Korea, Food Ind. Nut, Vol, p 20-28
- 9) 한영숙 외 7인, 발효식품, 파워북, 2012, p 135-136
- 10) Mital, B. K. Growth Steinkraus, K. H, 1979, Growth of lactic acid bacteria in soy milk, J. Food Prot, Vol 42 p 895
- 11) Larry, R. G, 1987, Alcoholic beverages In "Food and beverage micrology", Van Nostrand Reinhold, New York, p 307
- 12) Fleming, H. P. Mcfeeters, R. F. Thompson, R. L. Sanders, D.C., 1883, Storage stability of vegetable fermented with pH control, J. Food Sci, Vol 48, p 975
- 13) Hoffmann, K., 1996, Bakterielle Besiedlung des menschlichen IARC Intestinal Microbiology Group. The Lancet Vol 2, p 207~211.
- 14) Jaspers, D.A., L.K. Massey, L. Luedeke., 1984, Effect of Consuming Yogurts Prepared with 3 Culture Strains on Human Serum Lipoproteins. J. Food Sci., 49, p 1178~1181.
- 15) Grunewald, K.K., 1982, Serum Cholesterol Levels in Rats Fed Skim Milk Fermented by Lactobacillus Acidophilus. J. Food Sci., 47, p 2078~2079.
- 16) Kiyosawa, H., C. Sukanwara, N. Sagawara and H. Miyake, 1984 Effect of Skim Milk and Yogurt on Serum Lipids and Development of Sudanophilic Lesions in Cholesterol Fed rabbits. Am. J.

Clin. Nutri., 40, p 479~484

- 17) Nagaoka, M., Muto, M., Nomto, K., Matuzaki, M., Watanabe, T. Yokokura, T., 1990, Structure of Polysaccharide Peptidoglycan Complex from the Cell Wall of *Lactobacillus casei* YIT 9018. *J. Biochem.* 108, p 568~571.
- 18) Jo-Yoon Lee. Hyoung-Churl Bae., 2009, Preparation of Fermented Milk Added with Powder of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* and Its Sensory Characteristics, *The east asian society of dietary life*, Vol.19 No.6, p.967-974
- 19) Jae-Young Cha. Beong-Sam Jeon. Jeong-Won Park. Gab-Gyun Shin. Beom-Kyu Kim. Dong-Won Bae. Ji-Hyun Yoo. Bang-Sil Jeon. Young-Su Cho., 2004, Antioxidative Effects of Mushroom Extract and Fermented Milk Containing Its Extract on in vivo and in vitro Lipid Peroxidation, *Journal of Life Science*, Vol.14 No.3, p 514-520
- 20) Lee JL, Huh CS, Baek YJ, 1999, Utilization of fermented milk and it's health promotion, *Korean Dairy Techno*, 17(1), p 58-71
- 21) 수운잡방 연구원, 수운잡방, 컴퍼니 마요. 2011, p 30-31
- 22) Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 66: p 365-378.
- 23) 식품의약품안전처, 건강기능식품공전, 2008, p 194
- 24) Ozlem, O., Fadime, K. and Ingolf, F. N. 2011. A probiotic bacterium, *Pediococcus pentosaceus* OZF, isolated from human breast milk produces pediocin AcH/PA-1. *Afr. J. Food Sci.* 10, p 2070-2079
- 25) Shin, H. J., Bang, J. H., Choi, H. J., Kim, D. W., Ahn, C. S., Jeong, Y. K. and Joo, W. H. 2012. Probiotic potential of indigenous *Bacillus* sp. BCNU 9028 isolated from *meju*. *J. Life Sci.* 22, p 605-612.
- 26) Yong Geun Ann, 2011, Review : Probiotic Lactic Acid Bacteria, *Journal of food science and nutrition*, Vol.24 No.4, p 817-832
- 27) Park WP, Kim IU. 1991. Effect of salt concentrarion on kimchi fermentation. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* p 295-297
- 28) Chang-Soon Ahn, Chung-Suk Yuh and In-Soo Bang, 2009, Physicochemical Characteristics of Fermented Milk Containing Mulberry Leaf Extract, *Korean J. Food & Nutr.* Vol. 22. No. 2, p 272~278
- 29) Kim MS, Shin DH, 1993, Physico-chemical Proterties of Commercial Yogurt in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 25 p 340-344
- 30) Rasic JL, Kurmann JA, 1978, *Yogurt*. Technical Dairy Publishing, House, Copenhagen, p.215-218

- 31) Kyou-Ho Jeong, Joo-Hee Choi, Jee-Min Lee, Jeong-Hun Lee, Se-Young Jang, Yong-Jin Jeong, 2002, Fermentation Characteristic of Kefir Beverage Added Fruit Juice, Food industry and nutrition, Vol.7 No.3, p 35~38
- 32) Park, G Y, 1995, The nutritional evaluation, and antimutagenic and anticancer effects of kimchi. J. Kor. Soc. Food Nutr:24, p 169-182
- 33) Baek, H, M. S. Choi, and K. H. Oh, 2012, Characterization and antibacterial activity of *Lactobacillus casei* HK-9 isolated from korean rice wune makgeolli. KSBB J. 27, p 161-166
- 34) Ostlie, H. M., Helland, M. H., and Narvhus, J. A., 2003, Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. Int. J. Food Microbiol. 87, p 17-27.
- 35) Seung-ho Chun, Sang-Uk Lee, Yong-Seo Shon, Kap-Sang Lee and IL-Hoan Ru 2000, Preparation of Yogurt from Milk Added with Purple Sweet Potato, Journal of food science and nutrition, Vol.13 No.1, p 71~77
- 36) M. Kihal, H. Prevost, D.E. Henni, Z. Benmechernene and C. Diviès, 2007, Carbon Dioxide Production by *Leuconostoc mesenteroides* Grown in Single and Mixed Culture with *Lactococcus lactis* in Skimmed Milk World Journal of Dairy & Food Sciences 2 (2), p 62-68
- 37) 식품의약품안전처, 「축산물의 가공기준 및 성분규격」, 2013, p 25-26
- 38) Sook Young Lee, Jae Hyuk Choi, Seon Sung Park, Ik Dong Kim, Ji Young Yoon, 2005, Fermentation Characteristics and Quality of Soy Kefir According to the Concentration of Kefir Grain, Pomegranate Extract, and Adlay Powder, Chung Ang Journal of Human Ecology) Vol.21, p 91-108
- 39) Lee KS Shin YS Lee CH, 1998, Acid tolerance of *Lactobacillus brevis* isolated from kimchi. J Korean . Food Sci Technol. Vol 30 No 6 p 1399~1403
- 40) Elina R, Erja M, Maria S, Merja RK, Johannes A, Airi P. 2003. Probiotic and milk technological properties of *Lactobacillus brevis*. Int J Food Microbiol 83, p 63-74
- 41) Kim SY, Shin KS, Lee H, 2004, Immunopotentiating activity of cellular components of *Lactobacillus brevis* FSB-1, J Korean Soc Food Sci Nutr 33(9), p 1552-1559
- 42) Hua Xu ,Jingyu Gou ,Geun-Pyo Choi ,Hyeon-Yong Lee ,Juhee Ahn, 2009, Functional Properties of Squid By-products Fermented by Probiotic Bacteria, Food Science and Biotechnology , Vol.18 No.3, p 761~765
- 43) Song YR, Jeong DY, Cha YS, Baik SH., 2013, Exopolysaccharide Produced by *Pediococcus acidilactici* M76 Isolated from the Korean Traditional Rice Wine, Makgeolli, J Microbiol Biotechnol. 2013 May;23(5): p 681~688.
- 44) Jin Seok Moon, Ji Eun Ahn, A Reum Han, Jeong Seon Heo, Hyun-Ju Eom, Chul-Soo Shin1, Hye-Sun Choi2, and Nam Soo Han, 2011, Anticariogenic Activities of *Lactobacillus sakei* K-7

Isolated from Kimchi, KSBB Journal Vol 26 No 6, p .513-516

- 45) Joong-Hyun Park¹, Deog-Hwan Oh, and Ha-Yull Chung, 2005, Antimicrobial Activity of *Lactobacillus sakei* J4 Isolated from Korean Dongchimi and Its Probiotic Properties, Food Engineering Progress Vol. 16, No. 2. p 122-128
- 46) Park SJ, Lim DS, Yoon SG, Beak YG, Kim CH, 1998, Isolation and Identification of *Enterococcus faecalis* 2B4-1 Containing Antitumor Substances, Korean Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol.26 No.6, p 471-474
- 47) Sung Mee Lim, 2005, Synergistic Effect of Physico-chemical Treatment and Bacteriocin Produced by *Enterococcus faecium* MJ-14, Journal of Food Hygiene and Safety, Vol.20 No.4, p 217-224
- 48) Hee Jin Ham, 2007, *E. faecalis* and *E. faecium* Isolated in Dried Marine Products, (Journal of Food Hygiene and Safety, Vol.22 No.4, p 294-299
- 49) Muller, D. M., Carrasco, M. S., Tonarelli, G. G., and Simonetta, A. C., 2009, Characterization and purification of a new bacteriocin with a broad inhibitory spectrum produced by *Lactobacillus plantarum* lp31 strain isolated from dry-fermented sausage. J. Appl. Microbiol. 106, p 2031-2040.
- 50) Seung Gyu Lee, Ki Sung Han, Seok Geun Jeong, Mi Hwa Oh, Ae Ra Jang, Dong Hun Kim, In Hyu Bae, Jun Sang Ham, 2010, Article : A Study on the Sensory Characteristic of Yogurt and Antimicrobial Activity of *Lactobacillus plantarum* LHC52 Isolated from Kimchi, Korean Society for Food Science of Animal Resources, Vol.30 No.2, p 328-335
- 51) Hyun Jung Song, Kang Jin Kim, Hee Dai Kim, Jung Hee Yoo, Jae Geun Koo, Kwon Sam Park, 2011, Probiotic Properties of *Pediococcus pentosaceus* SH-10 Isolated from the Hard Clam *Meretrix meretrix* Shikhae, The Korean Society of Fisheries and Aquatic Science, Vol.44 No.6, p 605-611
- 52) Jae Joon Lee. Yu Mi Lee. Hae Choon Chang. Myung Yul Lee. 2007. Repeated Dose Toxicity Study of *Pediococcus pentosaceus* MD1, an Anti-*Helicobacter pylori* Activity Lactic Acid Bacteria Isolated from Kimchi, in Rats, Korea J. Food Nut. Sci, Vol.36 No.8, p 975-982
- 53) Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Drentreich N, Sibley RK. 1991. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med 325, p 1127-1131
- 54) 조혜정, 2011, 원유에서 분리한 *Lactobacillus fermentum* LC272의 Vitamin K2 생산 및 생리적 특성에 관한 연구, 단국대학교 대학원
- 55) Mónica, O. Maria, P, D.-R. Saleta, S. Federico, L.-V. Juristo, F. Mónica, N. Juan, M. R. and Jordi, X. ,2007, Oral intake of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 enhance the effects of influenza vaccination. Nutr. 23(3), p254-260

- 56) Mañé, J. Loren, V. Pedrosa, E. Ojanguren, I. Xaus, J. Cabré E. Domenech, I, and Gassull, M. A. ,2009, *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 prevents and reverts intestinal damage on TNBS-induced colitis in mice. *Inflamm Bowel Dis.* 15(8) p 1155-1163
- 57) 생명과학사전편찬위원회, 생명과학사전, 2003, 아카데미서적, p 126

ABSTRACT

Fermentation and Microbial Characteristics of Tarak,
Traditional Fermented Milk

Jung, Jin Kyoung
Department of Food & Nutrition
Graduate School
Sungshin Women's University

This experiment was conducted to analyze the fermentation characteristics of Tarak, a traditional fermented milk of Korea, by actually producing it with milk and makgeolli, based on book named Suwoon-Jabbang, the oldest Chinese manuscript for making Tarak. The samples (T1, T2, T3, T4, T5) were collected from five types of commercial Makgeolli, with the time interval of every four hours (0,4,6,8,12,16,20,24). By observing any change of PH, titration acidity, viscosity, sugar contents occurred to the samples, the research analyzed their physiochemical properties. Additionally, the research analyzed the fermentation product by measuring the level of organic acid and free sugar present in the samples.

The research also analyzed any change occurred in the number of yeast and lactic acid bacteria during the process of fermentation and the characteristic of strain by conducting isolation and identification. The result is as follows.

The PH scale of Tarak significantly decreased ($p < 0.01$), and its acidity significantly increased ($p < 0.01$) T1 and T3 exhibited the highest level of viscosity 8 hours after the fermentation, T4 after 8 hours, and T5 after 12 hours. The viscosity of those samples dropped as they began to separate. The sugar content of T1, T3, and T4 significantly dropped 4 hours after the fermentation, that of T2 and T5 after 20 hours, and remained constant afterwards. The level of Ethanol increased as time goes by, and the increase was the greatest in T1.

Lactic acid was the major organic acid produced in Tarak. It increasingly grew in amounts as the time went by, and 24 hours after the fermentation, the amounts of lactic acid took more than 80% of the total organic acid production. Citric acid, succinic acid, and acetic acid were also found. The research concluded this as the result of lactic acid production caused by homo-lactic acid fermentation and other organic acid production caused by hetero-lactic acid fermentation.

The major free sugar produced in Tarak was lactose. Glucose and fructose were found in T1, and glucose in T4. Glucose and fructose decreased over time, and couldn't be found 20 hours after the fermentation. Lactose did not show any significant change in its amount.

The number of lactic acid bacterium was $5.23 \sim 6.25$ log CFU/ml at

zero hour, but it amounted to 9.87 ~ 10.02 log CFU/ml after 24 hours of fermentation. The number of yeast was 5.14 ~ 6.47 log CFU/ml at zero hour, and amounted to 6.99 ~ 7.73 after 24 hours of fermentation.

The strains of Tarak acquired through separation identification by using PDA, MRS were *Pediococcus acidilactici*(33.33%), *Lactobacillus fermentum*(15.15%), *Leuconostoc mesenteroides*(9.09%), *Pediococcus pentosaceus*(9.09%), *Lactobacillus brevis*(6.06%), *Lactobacillus plantarum*(6.06%), *Weissella viridescens*(6.06%), *Enterococcus faecalis*(3.03%), *Lactobacillus curvatus* (3.03%), *Lactobacillus crustorum*(3.03%), *Lactobacillus sakei*(3.03%), and *Saccharomyces cerevisiae* was the major strain of yeast. After observing Tarak through Scanning Electron Microscope, it was found out that yeast and lactic acid bacterium exist together in Tarak.

The research, as suggested above, analyzed the fermentation characteristic of Tarak, a traditional fermented milk of Korea, by actually producing it. The research showed that 24 hours before the fermentation, lactic acid, citric acid, succinic acid, and acetic acid were produced through the workings of lactic acid bacterium and yeast from maggoli via the substrates like lactose, galactose, fructose, and that alcohol was also produced in some of the samples. Moreover, by conducting pure isolation and identification to Tarak and therefore analyzing its characteristic, the research identified homo lactic acid bacteria such as *Saccharomyces cerevisiae*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* and homo lactic acid bacteria such as *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc*

mesenteroides. As a result, the research could identify Korea traditional fermented milk Tarak as an lactic acid bacteria beverage, fermented by *S. cerevisiase* and variety lactic acid bacteria depending on added makgeolli.