

유산균과 *Bifidobacterium longum*을 혼합균으로 사용한 Flour Sourdough의 발효 특성

채동진¹ · 이광석² · 장기효^{3*}

¹동우대학 호텔제과제빵과, ²경희대학교 조리·서비스경영학과, ³강원대학교 식품영양학과

Fermentation Characteristics of Flour Sourdough using Mixed Lactic Acid Bacteria and *Bifidobacterium longum* as Starters

Dong Jin Chae¹, Kwang-Suck Lee² and Ki-Hyo Jang^{3*}

¹Dept. of Hotel Baking and Pastry Arts, Dong-u College, Gangwon-do 217-711, Korea

²Dept. of Culinary Service Management, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

³Dept. of Food and Nutrition, Kangwon National University at Samcheok, Gangwon-do 245-711, Korea

Abstract

The influence of various fermenting conditions using *Saccharomyces cerevisiae*, alone (Control, Single) and in combination with mixed lactic acid-producing bacteria (Combined 1, Mixed, Combined 2), including *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium*, and *Lactobacillus acidophilus* on flour sourdough preparation was examined. For the Combined 2 method, starters were incubated separately for 15 h, combined, and then further incubated for 10 h. Fermentation using Combined 2 improved the growth of mixed lactic acid-producing bacteria, but inhibited that of *S. cerevisiae*. This was also reflected in the extent of the pH reduction in sourdough produced in the Combined 2 step by these organisms. Among biochemical activities, CO₂ production and titratable acidity were increased by Combined 2, although the viable yeast counts were decreased. Aroma compounds in sourdough markedly varied according to fermentation conditions.

Key words : *Bifidobacterium*, fermentation, probiotic, sourdough, yeast.

서 론

생활 수준의 향상과 건강을 중시하는 웰빙 식생활 추구 경향 등으로 발효빵인 sourdough에 대한 관심이 고조되고 있다. 기존의 빵제품은 제빵용 효모를 사용하여 발효시킨 빵으로 어디서든 똑같은 맛과 풍미를 가지는 반면에 sourdough bread는 독특하고 뛰어난 맛과 향을 갖는다(Katina et al 2005, Seppo & Jorma 1968). 자연 발효법에 의하여 제조되는 전통적인 sourdough bread는 다양한 종류의 효모와 세균으로 혼합되어 있어 자칫 적절치 못한 작업 환경에서는 종종 다른 미생물에 의한 오염으로 풍미가 나빠지거나 산패취 발생 등의 문제점과 더불어 공간과 시간적 차이에 의해 일정한 수준의 제품을 재현하는데 어려움이 있다(Ingram & Shapter 1999). 따라서, 자연 발효빵의 오염 기회 회피와 균일한 수준의 제품 확보를 위하여 기능성과 안정성이 확보된 미생물 starter를 인위적으로 첨가하는 발효법이 개발되었으며, 이들 미생물 starter로는 GRAS(Generally Recognized As Safe) 미생물인 유산균(lactic acid bacteria)이 선호되고 있다(Kline & Sugihara

1971). 다양한 미생물 즉, *Lactobacillus sanfrancisco*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus faecium* 등이 sourdough에서 분리되어 제빵에서 starter로 제한적으로 사용된 예는 있으나(Kline & Sugihara 1971, Meignan et al 2001), 이들 미생물을 복수로 혼합하여 사용한 예는 드물다. 유산을 생성하는 세균은 일반적으로 유기산을 생성하여 pH를 저하시키면서 빵의 풍미와 저장성을 향상시키는 효능이 있으나(Galal et al 1977, Nachf OS 1995), 사용하는 각각의 미생물의 특성에 따라 생산하는 대사 산물이 달라진다. 유산균 중에는 포도당 등의 6탄당을 사용하여 발효시 유산만을 생성하는 homofermentative 유산균(정상 발효 유산균)과 유산을 포함하여 ethanol, CO₂ 등을 함께 생산하는 heterofermentative 유산균(이상 발효 유산균)으로 구분된다(Seibel & Brümmer 1991). 정상 발효 유산균에는 *Streptococcus* 속, *Pediococcus* 속, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* 등의 유산균이 포함되며, 이상 발효 유산균에는 *Leuconostoc*속, *Lactobacillus brevis* 등이 포함된다(Axelsson L 1998, Beuchat LR 1995). 한편, *Bifidobacterium brevis*, *B. bifido*, *B. longum* 등의 미생물은 이상 발효 유산균과 유사한 경로를 따른다(Axelsson L 1998). *Lactobacillus* 속, *Enterococcus* 속,

* Corresponding author : Ki-Hyo Jang, Tel : +82-33-570-6882, Fax : +82-33-570-6889, E-mail : kihyojang@kangwon.ac.kr

Bifidobacterium 속과 같은 미생물이 probiotics(생균제)로 많이 사용되고 있으며, 이들 생균제의 일반적인 효능으로는 섭취 시 장내 균총 안정화, 부패 산물 생성 감소, 질병예방, 면역 작용 증진, 콜레스테롤 저하 등의 효능이 알려져 있다 (Choi *et al* 2010).

이에 본 연구는 현재 상업적으로 대량 구매가 가능한 probiotics 중에서 *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium* 과 *Lactobacillus acidophilus*가 혼합된 probiotic 혼합균을 *Saccharomyces cerevisiae*와 단독 또는 혼합하여 사용하고 발효 조건을 달리하면서 sourdough 발효를 진행하여 완성된 sourdough의 이화학적 특성을 분석하였다.

재료 및 방법

1. 재료 준비

혼합 probiotic 균주로 사용한 미생물은 *Bifidobacterium longum*(5.0×10^{10} CFU/g), *Enterococcus faecium*(1.0×10^{11} CFU/g) 과 *Lactobacillus acidophilus*(1.0×10^{11} CFU/g)가 혼합된 제품으로 Cell Biotech사(GyeongGi-Do, Korea)에서 구입하였다. 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)는 생 효모로 Jenico Food사(Seoul, Korea) 제품을 사용하였다.

2. 배지

혼합 probiotic 균 배양을 위한 배지는 MRS broth(DIFCO, St. Louis, MO, USA)를 사용하였으며, 고체 배지(MRS agar)

제조를 위하여 MRS broth에 한천을 1.5%(w/v) 농도로 첨가하였다. 브롬 크레솔 퍼플(5,5'-di-bromo-o-cresol-sulfonphthalein)은 중성인 pH에서는 자주색을 pH 5.2 이하에서는 황색을 나타내는 특성을 가지고 있고, 미생물에 의한 acid 생성 여부를 확인하기 위하여 사용하였다. 구체적으로, 살균한 MRS 배지를 냉각한 다음 여기에 여과법으로 멸균한 브롬 크레솔 퍼플 0.006%과 아스코르빈산 0.1%를 무균적으로 첨가하여 생균수 측정용 배지를 제조하였다. 효모의 생육 실험에서는 YPD agar(DIFCO)를 사용하였다.

3. 생균수 측정

혼합 probiotic 균 배양을 위하여 MGC AnaeroPack(Mitsubishi Gas Chemical Co, Inc, Japan)을 사용하였다. 10배 연속희석법으로 희석 조제한 시료를 고체 배지에 도말하여 플라스틱 용기에 담고 여기에 MGC 혐기적 키트를 넣어 배양기(SI- 4000R SHAKING INCUBATOR, Jeio Tech, Co., Ltd, Seoul, Korea)에서 30°C에서 2일 동안 배양하였다. 생균수는 실험의 정확성을 위하여 3회 측정한 균락수를 평균값으로 표시하였다.

4. Sourdough Starter 제조

혼합 probiotic 균과 제빵용 효모를 이용한 sourdough starter 제조 시 사용한 재료 배합율은 다른 연구자(Meignen *et al* 2001)의 실험 방법을 변형하여 사용하였다(Table 1). Control 균은 강력밀가루 1,000 g, 물 1,000 g과 제빵용 효모 0.16

Table 1. Production of sourdough starters

	Ingredients				Temperature(°C)	Time(hr)
	Flour(g)	Water(g)	Probiotics ¹⁾ (g)	Yeast ²⁾ (g)		
Control ³⁾	1,000	1,000	—	0.16	30	20
Single ⁴⁾	1,000	1,000	1.4	—	30	20
Combined 1 ⁵⁾	500	500	1.4	—	30	20
	500	500	—	0.16	30	20
Mixed ⁶⁾	1,000	1,000	1.4	0.16	30	20
Combined 2 ⁷⁾	500	500	1.4	—	30	15
	500	500	—	0.16	30	15

1) Mixed probiotic microorganisms.

2) *Saccharomyces cerevisiae*.

3) *S. cerevisiae* only as control group.

4) Mixed probiotic microorganisms fermented for 20 hr at 30°C.

5) Mixed probiotic microorganisms or *S. cerevisiae* fermented separately for 20 hr at 30°C then combined.

6) Mixed probiotic microorganisms + *S. cerevisiae* fermented together for 20 hr at 30°C.

7) Mixed probiotic microorganisms or *S. cerevisiae* fermented separately for 15 hr at 30°C, combined then fermented for 10 hr at 30°C.

g을 넣어 반죽기(KENWOOD, England)를 이용하여 5분간 혼합하여 플라스틱 용기에 담아서 일정한 온도 30°C와 상대 습도 80%로 조정된 dough conditioner(SDDC-3640, Sungdong-giup Sa, GyeongGi-Do, Korea)에 넣어 20시간 발효하였다. Single 군은 강력밀가루 1,000 g, 물 1,000 g과 혼합 probiotic 균 1.4 g을 넣어 Control군과 같은 조건에서 20시간 동안 발효시켰다. Combined 1군은 강력밀가루 500 g, 물 500 g과 혼합 probiotic균 1.4 g을 넣어 20시간 동안 발효시킨 것과 강력 밀가루 500 g, 물 500 g과 제빵용 효모 0.16 g을 넣어 20시간 동안 발효시킨 것을 2분간 혼합하였다. Mixed군은 강력밀가루 1,000 g, 물 1,000 g, 혼합 probiotic 균 1.4 g과 제빵용 효모 0.16 g을 넣어 20시간 동안 발효시켰다. Combined 2는 강력밀가루 500 g, 물 500 g과 혼합 probiotic 균 1.4 g을 넣어 15시간 동안 발효시킨 것과 강력 밀가루 500 g, 물 500 g과 제빵용 효모 0.16 g을 넣어 15시간 동안 발효시킨 것을 2분간 혼합한 후 동일한 조건에서 10시간 동안 발효시켰다. 발효시키는 동안 정확히 3시간 단위로 꺼내어 sourdough starter의 pH, TTA(Total Titratable Acidity)와 발효율 측정에 이용하였다.

5. Sourdough의 특성 분석

1) pH 측정

발효 중의 pH 측정을 위하여 반죽의 표면에 직접 탐침봉을 5 cm 깊이로 꼽고 5초 후에 pH meter(model 720A, Orion Research Inc., Boston, MA, USA)로 상온에서 측정하였다 (Miller *et al* 1994).

2) TTA 측정

Sourdough의 TTA 측정은 AACC method 02-52(AACC 1995) 방법을 사용하였다. Sourdough 10 g을 비커에 담고 증류수 100 mL를 첨가하여 잘 혼합될 때까지 섞었다. Sourdough starter와 증류수가 혼합된 것에 phenolphthalein 5방울을 첨가 후, 혼합물의 색깔이 핑크색으로 변할 때까지 0.1N NaOH로 적정하였다. 혼합물의 핑크색이 30초간 유지되는 점을 end point로 하고, TTA 측정값은 핑크색이 유지되는 지점까지 소비된 NaOH mL로 계산하였다.

3) 발효율 측정

Sourdough starter의 발효율을 측정하기 위해서 반죽 직후의 sourdough starter를 100 g씩을 채취하여 발효율을 측정하였다. 100 g의 반죽을 둥글게 만들어 500 mL mess cylinder에 넣어 매 3시간마다 발효(30°C, 상대 습도 80%)가 끝난 직후에 팽창된 반죽의 높이를 측정하여 부피(mL)로 발효율을 나타내었다.

4) 향 성분 분석

Sourdough starter의 향 패턴 분석에 이용하기 위해서 발효 후의 sourdough starter 5 g씩을 취하여 40 mL vial(Supelco, Bellefonte, PA, USA)에 넣고 전자코는 semi-vocs 칼럼이 장착된 7100 FAST GC ANALYZER(Electronic Sensor Technology, CA, USA)를 사용하였다. Fig. 1에서와 같이 시료는 수증기 상태로 주입되며, 센서 표면에서 흡착과 탈착이 반복되면서 발생하는 주파수 변화로 휘발 성분을 분석하게 되는데, 10초 동안 칼럼으로부터 분리된 후 SAW(Surface Acoustic Wave) 검출기에 그 결과가 검출되었다. 매 시료마다 두 번씩 독립적으로 준비한 시료를 이용하여 측정하였으며, 결과는 평균치로 나타내었다. 시료가 바뀔 때마다 빈 vial을 이용하여 칼럼의 오염도를 측정하였으며, 이 때 앞 시료의 전체 면적 대비 5% 이내의 수치로 다음 시료에 영향을 주었다.

5) 통계처리

자료는 1-way analysis of variance (ANOVA) 방법으로 통계처리 하였다(Albright *et al* 1999). 분석 결과를 평균값±표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 발효 조건에 따른 혼합 probiotic균과 제빵용 효모의 첨가에 의한 발효 특성 변화

발효 조건을 달리하여 비교한 시료는 Control, Single, Combined 1, Mixed와 Combined 2 등 5가지 군이었다. 즉, *S. cerevisiae* 0.16 g을 20시간 발효한 Control 군, 혼합 probiotic 균 1.4 g을 20시간 동안 발효시킨 Single 군, 혼합 probiotic 균 1.4 g과 *S. cerevisiae* 0.16 g을 각각 20시간 동안 발효시켜 혼합한 Combined 1군, 혼합 probiotic 균 1.4 g와 *S. cerevisiae* 0.16 g을 함께 넣어 20시간 발효한 Mixed 군, 혼합 probiotic균 1.4 g과 *S. cerevisiae* 0.16 g을 각각 15시간 동안 발효시킨 후 이를 혼합하여 다시 10시간 발효한 Combined 2군이었다. 제빵용 효모와 혼합 probiotic을 첨가하여 제조한 sourdough starter

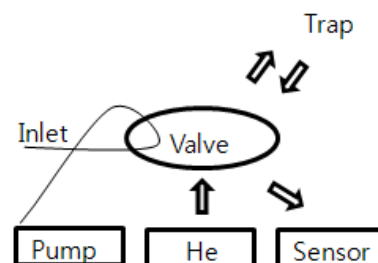


Fig. 1. Process of electronic nose system based on GC-SAW.

의 발효 조건에 따라 starter내에 존재하는 생균수를 측정 한 결과는 Table 2와 같다. 발효 전, 혼합 probiotic 균과 제빵용 효모의 생균수는 각각 3.0×10^5 , 1.3×10^5 CFU/g of cells였다. 발효 20시간 후에는, Single 군에서 혼합 probiotic 균수와 효모수는 각각 $2,570 \times 10^5$ 와 880×10^5 CFU/g of sourdough였고, Combined 1군에서는 각각 $3,200 \times 10^5$ 와 300×10^5 CFU/g였고, Mixed 군에서는 각각 $2,950 \times 10^5$ 와 310×10^5 CFU/g였다. 25시간을 발효한 Combined 2군의 혼합 probiotic 균은 $3,770 \times 10^5$ CFU/g이었고, 효모는 190×10^5 CFU/g이었다.

혼합 probiotic 균의 경우에, 발효 전과 비교 시 20시간 발효한 후에 생균수가 약 1,000배 증가하였다. 효모의 생균수는 Control 군에서 발효 전과 비교 시 20시간 발효한 후에 경우 약 7배 증가하였고, Combined 1과 Mixed 군에서는 약 2배 증가하였다. 25시간 발효한 Combined 2군에서는, 혼합 probiotic 균수는 Single, Combined 1과 Mixed 군과 비교 시 증가한 반면, 효모의 생균수는 감소하였다. 결과적으로, 혼합 probiotic 균의 생균수가 $3,770 \times 10^5$ CFU/g으로 더 많아진 것에 비해 효모의 생균수는 오히려 감소하였는데 이는 probiotic 균의 빠른 증식에 따른 효모의 생육이 저지된 것으로 사료된다.

2. Sourdough Starter의 특성

각각의 sourdough starter를 사용하여 발효하는 동안 pH를 측정함으로써 sourdough starter로 사용하기에 적당한지를 알

Table 2. Comparison of cell numbers changes according to fermentation conditions

	Cell number at T ₀ ¹⁾ (CFU $\times 10^5$ /g starter)	Cell number at T ₂₀ ²⁾ (CFU $\times 10^5$ /g starter)	Cell number at T ₂₅ ³⁾ (CFU $\times 10^5$ /g starter)
Single	3 ⁴⁾	2,570	
Combined 1	3	3,200	
Mixed	3	2,950	
Combined 2	3		3,770
Control	13 ⁵⁾	880	
Combined 1	13	300	
Mixed	13	310	
Combined 2	13		190

¹⁾ Before fermentation.

²⁾ After fermentation for 20 hr.

³⁾ After fermentation for 25 hr.

⁴⁾ Numbers of mixed probiotic microorganisms.

⁵⁾ Numbers of *S. cerevisiae*.

Legends are referred in Table 1.

아보았고, 더불어 TTA를 측정하여 시료의 산도를 측정하였다(Table 3, 4). Combined 1과 Combined 2군에는 혼합 probiotic 균과 *S. cerevisiae*를 각각 발효하여 제조한 sourdough starter로 혼합 probiotic 균 만을 사용한 발효는 Combined 1(L)으로 *S. cerevisiae* 만을 사용한 발효는 Combined 1(S)로 표기하고, Combined 2에서도 유사하게 Combined 2(L)와 Combined 2(S)로 나눠서 각각 표기하였다. 전체적으로 pH 수치가 두드러지게 급격하게 감소한 시점이 6~9시간이었으며, 6시간 이후 시점에서 Single, Combined 1(L), Mixed과 Combined 2(L)군에서 급격하게 감소하였고, 9시간 이후에는 Control, Combined 1(S)와 Combined 2(S)군에서도 두드러지게 감소하는 경향을 보였으나, 결과적으로 pH 수치가 가장 낮은 군은 Combined 2였다. 전반적으로 pH의 범위는 3.9에서 4.4로 나타났다.

발효 기간 증가에 따른 반죽의 변화를 살펴보면, 발효 초기에는 반죽이 아주 묽었고, 3시간 이후부터는 반죽에 미세한 거품이 생성되었다. 6시간 이후에는 전보다 좀 더 많은 거품이 생겼고, 9시간 이후에는 Control, Single, Combined 1(S), Mixed, Combined 2(S)군에서 거품이 생성되었고, Single과 Combined 1(L)군에서는 강한 발효 냄새가 나기 시작하였다. 9시간 이후의 두드러진 변화는 Control, Combined 1(S), Mixed와 Combined 2(S)에서는 스펀지와 같은 구멍이 생겼고, 전체적으로 거품이 형성되었던 반면에 Single, Combined 1(L)과 Combined 2(L)군에는 거품이 약간 생겼고, 모든 반죽에서 발효 냄새가 났다. 12시간 이후에는 Single 군에서 전체적으로 거품이 생성되었다. 15시간 이후로는 Control, Combined 1(S), Mixed와 Combined 2(S)군에서 거품의 크기도 커지고, 생성되는 양도 전체적으로 많았다. 시간이 지날수록 Single은 거품의 크기는 작지만 반죽에 전반적으로 생성되었다. 15시간 이후 Combined 2(S)와 Combined 2(L)군을 다시 혼합하였을 때는 거품이 약간 생성되었고, 내부에는 스펀지와 같은 미세한 구멍이 생겼다. 그러나 혼합한 후 4시간이 경과하였을 때에는 전체적으로 거품의 크기도 커지고 생성되는 양도 많았고, 내부에는 스펀지 같은 구멍이 많이 생겼다.

TTA 측정 결과는 반죽한 직후에는, Single 군의 수치가 가장 낮게 측정되었고, 3시간 이후에는 Combined 1(L), Combined 1(S), Combined 2(L)와 Combined 2(S)에서 수치가 급격히 증가하였다. 6시간 이후에는 Combined 1(S)와 Combined 2(S)의 수치가 오히려 감소하는 경향을 보였다. 시간이 지날수록 서서히 증가하다가 발효가 끝난 시점인 20시간 이후에는 Control, Single, Combined 1(L), Combined 1(S)와 Mixed 군에서 감소하였고, 15시간 이후에 Combined 2(L)와 Combined 2(S)를 혼합하여 10시간 더 발효시킨 Combined 2의 경우에는 25시간 이후에도 계속 증가하는 경향을 보였다.

Sourdough 발효는 pH, 산성도, 균주의 성분 등 여러 측정

관점에서 평가되며, 산성도와 함께 CO₂ 가스의 생성에 의한 발효율 측정도 중요한 변수가 될 수 있다(Gobbetti M 1988, Gul *et al* 2005, Wehrle & Arendt 1998, Wick *et al* 2003). Sourdough starter의 발효율 측정을 위하여 각각의 반죽을 mess cylinder에 넣어 sourdough starter를 제조하는 동안 부피를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. Combined 2군은 Combined 2(L)과 Combined 2(S)를 15시간 동안 발효한 후, 혼합하여 다시 10시간 발효한 것으로 15시간 이후에 혼합한 시료를 다시 발효하여 완성하였다. 9시간 후 Control 군에서는 60 mL에서

105 mL, Combined 1(S)군에서는 70 mL에서 140 mL, Mixed 군에서는 80 mL에서 125 mL, Combined 2(S)군에서는 85 mL에서 155 mL로 부피가 팽창하였다. Single, Combined 1(L)와 Combined 2(L)군은 발효되는 동안 70 mL에서 부피 변화가 거의 없었으나, Combined 2(L)군은 15시간이 지난 후 Combined 2(S)와 혼합하고 난 뒤 발효율이 급격하게 증가하였다. 특히 혼합한 후 5시간이 경과하였을 때에는 230 mL에서 400 mL로 거의 두 배 가까이 증가하였으나, 8시간 이후로는 오히려 감소하였다. 그리고 발효 시간이 지날수록 전반

Table 3. pH changes for sourdough starter according to fermentation conditions

Time(hr)	Type						
	Control	Single	Combined 1(L)	Combined 1(S)	Mixed	Combined 2(L)	Combined 2(S)
0	6.07	6.03	6.22	6.17	6.01	6.22	6.17
3	5.79	5.90	6.00	5.90	5.81	6.00	5.90
6	5.74	5.81	5.20	5.48	5.44	5.20	5.48
9	5.55	5.02	4.64	5.22	4.67	4.64	5.22
12	4.69	4.46	4.49	4.48	4.32	4.49	4.48
15	4.32	4.23	4.19	4.29	4.29	4.19	4.35
18	4.23	4.15	4.15	4.23	4.20		4.26**
20	4.20	4.07		4.30*	4.14		4.14**
23							3.98**
25							3.88**

Legends are referred in Table 1.

Table 4. TTA changes for sourdough starter according to fermentation conditions

Time(hr)	Type						
	Control	Single	Combined 1(L)	Combined 1(S)	Mixed	Combined 2(L)	Combined 2(S)
0	18.9	17.4	19.0	18.9	22.1	19.0	18.9
3	21.8	25.4	28.6	29.0	21.4	28.6	29.0
6	22.0	26.2	29.0	25.3	26.7	29.0	25.3
9	24.8	31.5	30.0	28.6	30.3	30.0	28.6
12	32.7	34.5	33.1	32.3	31.6	33.1	32.3
15	32.1	32.8	36.4	34.4	34.0	36.4	34.4
18	36.0	37.8	37.8	36.0	35.6		35.3**
20	29.0	30.5		35.5*	33.5		36.1**
23							37.1**
25							37.5**

Legends are referred in Table 1.

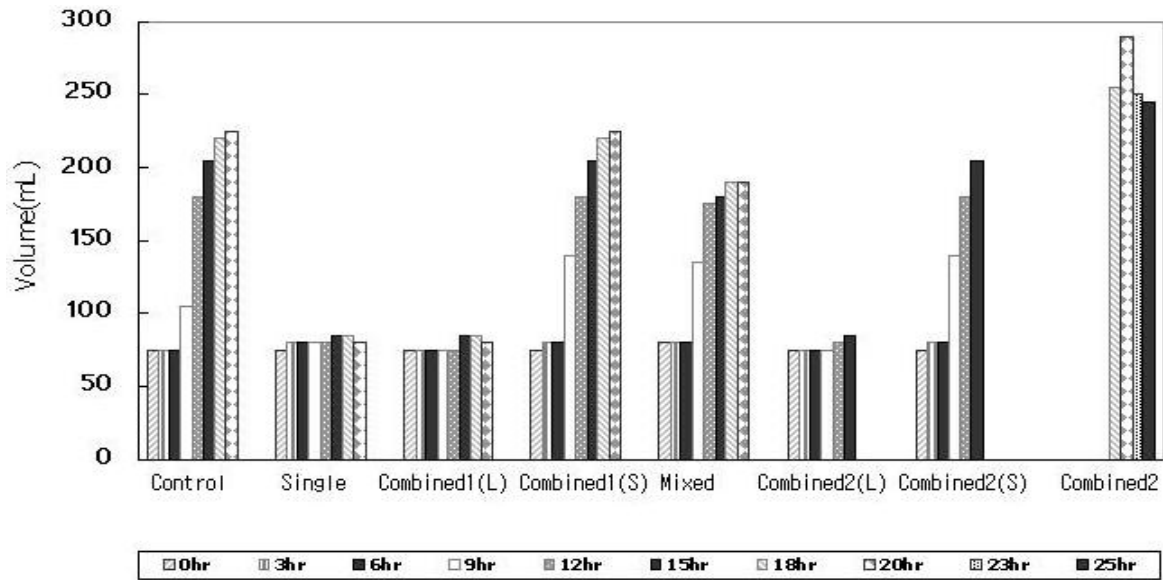


Fig. 2. Volume changes of sourdough starters according to fermentation conditions. Legends are referred in Table 1.

적으로 발효율이 증가하는 것이 아니라 반죽이 산성화가 되어 오히려 감소하는 경향을 보였다. Chang & Ann (1996)의 실험에 의하면 발효 팽창력에서 효모를 단독으로 발효한 것보다 sour liquid ferments를 사용한 것이 우수하다고 결론지으면서, probiotic 균이 생성한 유산이 효모 생육에 알맞은 pH를 제공하여 발효 속도와 발효 팽창력이 증대한다고 설명하고 있는데, 이러한 결과는 본 실험의 결과와 유사함을 보여 준다.

3. Sourdough Starter의 향 성분 분석

발효 조건에 따른 probiotic 균과 효모의 첨가에 의한 sourdough starter의 향 성분을 분석한 결과는 Table 5에 나타내었다. Single 군의 경우, Control, Combined 1, Mixed과 Combined 2군에 비해 0.62 초과 0.95 초과 1.37초에 Single의 peak의 크기가 작았던 반면에 2.05초, 2.40초, 3.35초, 3.95초, 4.45초, 6.25 초과 7.95초에 peak의 크기가 컸다. 발효하는 동안에 미생물이나 단백질 분해 효소인 protease 활성에 의해 단백질로부터 아미노산이 생성된다. 또한, 효모에 의해 사용되거나 굽는 동안 다른 aroma 혼합물로 변형될 수 있다(Heunisen & Schieberle 2005, Meignen et al 2001). Combined 1군과 유사한 발효 조건으로 제조한 sourdough 선행 연구에서는 혼합 probiotic 균 대신 *L. brevis*를 사용하면 생성되는 aroma 성분이 단순해진다(Meignen et al 2001). Mixed 군에서 Combined 1군의 발효 조건보다 더 많은 aroma 혼합물을 생산하였다. Mixed군에 적용한 발효 조건에서 aroma 혼합물이 많이 생성되는 것은 혼합 probiotic 균의 효소 활성들 특히 단백질 분해 활성과 관계가 있을 것이라고 추정된다. 이에 비하여 sour-

dough starter Combined 2군에 적용한 발효 조건에서 aroma 혼합물의 생성이 더 많게 나타난 것은 다른 발효 조건에 비해 발효 시간이 5시간 더 연장되어서 나타난 결과로 판단된다.

결론

혼합 probiotic균과 효모를 sourdough starter로 사용한 발효 식빵 제조를 위하여 선행 연구로 sourdough 최적화를 다음과 같은 5가지 조건에서 실시하였다. 반죽에 효모 0.16 g을 첨가하여 20시간 발효한 그룹(Control군), Control군에서 효모를 혼합 probiotic 균 1.4g으로 대체한 그룹(Single군), Control 군과 Single 군을 발효한 후 혼합 그룹(Combined 1군), Control 군에서 혼합 probiotic 균을 첨가한 그룹(Mixed 군), Combined 1에서 발효 시간을 15시간으로 조정하고 발효한 반죽 두 가지를 혼합 후에 다시 10시간 발효한 그룹(Combined 2군) 등을 제조하였다. Sourdough starter의 생균수는 초기 혼합 probiotic 균의 생균수는 20시간 발효한 후의 생균수가 약 1,000배씩 증가하였으며, 25시간 발효 후 Combined 2군의 혼합 생균수는 Single, Combined 1과 Mixed군과 비교 시 더 많이 증가하였다. 발효 반죽의 pH는 발효 시작 후 8~12시간에서 급격하게 감소하였으며, 최종 pH는 3.9~4.4로 나타났다. 총산도는 발효 시간에 따라 증가하였으며, 20시간 후에는 발효 전과 비교 시 약 2배 증가하였다. 발효율은 시간의 경과에 따라 증가하였으나, Combined 2군에서 가장 높게 나타났으며, Single에서 가장 낮게 나타났다. Combined 2군의 pH가 가장 많이 감소하였으며, sourdough starter로 사용하기에 적당한

Table 5. Aroma compounds (% area of total peaks) in sourdough starter according to fermentation conditions

Retention time(sec) ¹⁾	Control	Single	Combined 1	Mixed	Combined 2
0.62	24.2±1.4	12.5±0.3	24.5±1.2	26.4±1.6	25.6±1.2
0.95	8.0±1.2	— ²⁾	9.5±0.1	6.4±0.2	5.2±0.2
1.37	26.2±1.2	9.0±6.4	23.9±0.5	25.2±0.8	20.2±0.2
1.95	—	—	1.4±0.0	7.0±0.0	—
2.05	—	11.8±0.4	—	—	—
2.40	2.4±1.7	11.6±1.9	2.2±1.2	—	—
3.35	0.9±0.1	7.1±1.2	1.8±0.1	2.6±0.2	0.8±0.1
3.65	2.4±0.1	—	1.4±0.3	2.0±0.1	3.5±0.2
3.95	—	10.7±0.3	—	0.8±1.1	—
4.45	2.6±0.3	9.8±0.6	3.6±0.9	4.2±0.2	2.9±0.1
4.90	16.3±0.3	—	15.9±0.7	9.3±0.4	26.9±1.9
5.75	9.1±0.4	—	3.0±0.5	4.7±0.4	8.0±0.7
6.25	—	12.2±0.6	3.2±0.6	3.8±0.1	—
7.95	8.0±0.2	15.3±4.9	9.7±1.0	3.4±4.7	—
8.05	—	—	—	4.3±6.1	6.9±0.1

¹⁾ Retention time±0.03(sec)

²⁾ Where in blank, no or little peaks(<0.2%) were found.

Legends are referred in Table 1.

수치의 범위에 있고, pH의 감소로 인하여 산도는 가장 높은 값으로 나타났다. Sourdough starter의 발효율은 서서히 증가하다가 18시간 이후에는 오히려 감소하였고, Combined 2(L)는 15시간 이후, Combined 2(S)와 혼합하여 발효율이 급격히 증가하였고, 6시간 이후로는 오히려 감소하였다. 이는 발효시간이 지날수록 반죽이 산성화가 되어 오히려 감소하는 것으로 사료되며, 결과적으로 Combined 2군의 발효율이 가장 좋은 것으로 나타났다.

문헌

- AACC (1995) *Approved Methods of the AACC*. 9th ed. Method 02-25 : pH and TTA determinations, American Association of Cereal Chemists. St. Paul, M.N., USA.
- Albright SC, Winston WL, Zappe C (1999) Data analysis and decision making with Microsoft Excel. Pacific Grove, Calif. Brooks/Cole Publishing Co., California, USA.
- Axelsson L (1998) Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In: Lactic acid bacteria, microbiology and functional aspects. S Salminen and A von Wright, eds, 2nd ed. Marcel Decker Inc, New York, USA. pp 1-72.
- Beuchat LR (1995) Application of biotechnology to indigenous fermented foods. *Food Technol* 49: 97-99.
- Chang JH, Ann JB (1996) Effect of lactic acid bacteria on the qualities of white pan bread. *Korean J Food Nutr* 9: 509-515.
- Choi KO, Nguyen HH, Kwak HS (2010) The role of the immune system in the use of probiotic lactic acid bacteria in preventing and treating allergic diseases. *Korean J Food Sci Ani Resour* 30: 1-12.
- Galal AM, Johnson JA, Vamiano ME (1977) Lactic acid volatile(C2-C5) organic acids of Sanfrancisco sourdough french bread. *Cereal Chem* 55: 461-468.
- Gobbetti M (1988) The sourdough microflora: Interactions of lactic acid bacteria and yeasts. *Trends Food Sci Technol* 9: 267-274.
- Gul H, Ozcelik S, Sagdie O, Certel M (2005) Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. *Process Biochem* 40: 691-697.
- Heunsaen A, Schieberle P (2005) Generation of aroma com-

- pounds during sourdough fermentation : Applied and fundamental aspects. *Trends Food Sci Technol* 16: 85-94.
- Ingram C, Shapter J (1999) The world encyclopedia of bread and bread making. Hermes House, London, UK. pp 23.
- Katina K, Arendt E, Liukkonen KH, Autio K, Fleunder L, Poutanen K (2005) Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends Food Sci Technol* 16: 104-112.
- Kline L, Sugihara TF (1971) Microorganism of the San Francisco sour dough process II, Isolation and characterization of underscribed bacterial species responsible for the souring activity. *Appl. Microbiol* 21: 459-465.
- Meignen B, Onno B, Gélinas P, Infantes M, Guilois S (2001) Optimization of sourdough fermentation with *Lactobacillus brevis* and baker's yeast. *Food Microbiol* 18: 239-245.
- Miller RA, Graf E, Hosney RC (1994) Leavened dough pH determination by an improved method. *J Food Sci* 59: 1086-1087.
- Nachf OS (1995) Sourdough or sour dough? *Baking & Snack* 17(8): 86.
- Seibel W, Brümmer JM (1991) The sourdough process for bread in Germany. *Cereal Food World* 36: 299-302.
- Seppo L, Jorma E (1968) Formation of ethyl acetate in *Hansenula anomala*. *Acta Chem Scand* 22: 1482-1486.
- Wehrle K, Arendt EK (1998) Rheological changes in wheat sourdough during controlled and spontaneous fermentation. *Cereal Chem* 75: 882-886.
- Wick M, Stolz P, Bocker G, Lebeault JM (2003) Influence of several process parameters on sourdough fermentation. *Acta Biotechnol* 23: 51-61.

접 수: 2010년 9월 2일
 최종수정: 2010년 9월 27일
 채 택: 2010년 10월 3일