



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0141059
(43) 공개일자 2024년09월25일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 7/104 (2022.01) A23L 2/84 (2017.01)
A23L 27/20 (2016.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A23L 7/104 (2022.01)
A23L 2/84 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2023-0034787</p> <p>(22) 출원일자 2023년03월16일
심사청구일자 2023년03월16일</p> | <p>(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)</p> <p>(72) 발명자
심재훈
강원도 춘천시 방송길 77, 106동 2101호
이은형
경기도 남양주시 화도읍 묵현로25번길 53, 3동 201호
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
특허법인태동</p> |
|--|---|

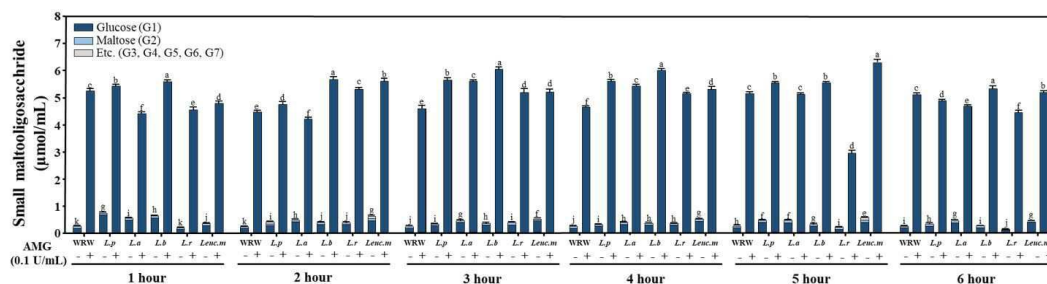
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 쌀뜨물 유산균 발효액 제조방법 및 그것을 이용한 떡볶이 떡

(57) 요약

본 발명은 부산물로 여겨지는 쌀뜨물과 유산균을 활용하여 제조한 쌀뜨물 유산균 발효액에 관한 것으로, 유산균 발효액 (쌀뜨물을 이용하여 유산균이 생산한 대사산물)을 이용하여 쌀 전분의 노화를 억제할 수 있음을 밝힌 것에 특징이 있는 발명이다. 이에 본 발명의 쌀뜨물 유산균 발효액을 첨가하여 떡 (일 예로 떡볶이 떡)을 제조할 경우, 떡의 노화를 억제할 수 있다. 따라서 상기 제조 발효액은 한국 전통 전분 식품의 품질 향상을 위한 새로운 식품첨가물로 사용될 수 있으며 폐수의 감소 및 부산물에서 부가가치를 창출하여 실용적인 자원이 될 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 27/20 (2016.08)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2300/24 (2013.01)
A23V 2300/46 (2013.01)
A23V 2400/113 (2023.08)
A23V 2400/121 (2023.08)
A23V 2400/169 (2023.08)
A23V 2400/173 (2023.08)
A23V 2400/321 (2023.08)

김민영

경기도 안산시 상록구 장화1안길 9-1, 302호

(72) 발명자

정현모

경기도 구리시 인창동 474, 105동 205호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345347278
과제번호	2021R1A6A1A03044501
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축
연구과제명	영양역학기반 노인성질환 예방 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	한림대학교 산학협력단
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

쌀뜨물에 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase)를 첨가하는 단계 (a);

상기 단계 (a) 후, 유산균 또는 그 배양액을 첨가하는 단계 (b);

상기 단계 (b) 후, 38~42℃에서 5~7시간 동안 배양하는 단계 (c); 를 포함하는 것을 특징으로 하는 쌀뜨물 유산균 발효액 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 쌀뜨물은,

쌀을 씻은 후, 발생하는 부산물인 것을 특징으로 쌀뜨물 유산균 발효액 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 단계 (c) 후, 119~123℃에서 13~17분간 고압 멸균하는 단계 (d); 를 추가로 진행하는 것을 특징으로 하는 쌀뜨물 유산균 발효액 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 단계 (b)의 유산균은,

락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 브레비스 (*Lactobacillus brevis*), 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*), 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*), 류코노스톡 메센테로이데스 (*Leuconostoc mesenteroides*) 중 선택되는 어느 하나 이상의 균주를 이용하여 제조하는 것을 특징으로 하는 쌀뜨물 유산균 발효액 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 단계 (c)의 배양은,

정지배양인 것을 특징으로 하는 쌀뜨물 유산균 발효액 제조방법.

청구항 6

제1항의 제조방법에 따라 제조된 쌀뜨물 유산균 발효액이 첨가된 떡.

청구항 7

제6항에 있어서,
상기 떡은,
떡볶이 떡인 것을 특징으로 하는 떡.

청구항 8

제6항에 있어서,
상기 떡은,
노화가 억제되는 것을 특징으로 하는 떡.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 유산균 발효액 제조방법 및 그것을 이용한 떡에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 찰뜨물을 유산균으로 사용하여 발효액을 제조하고 그것을 떡볶이 떡에 첨가하여 노화가 방지된 떡볶이 떡을 제조할 수 있는 기술에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 쌀을 씻을 때 발생하는 찰뜨물은 폐수로 인식되고 있다. 최근 떡과 같은 쌀 가공식품에 대한 관심이 증가되면서 찰뜨물이 다량으로 발생하고 있다. 이렇게 다량으로 발생한 찰뜨물이 정화과정을 거치지 않은 상태에서 방류될 경우 환경오염의 주된 문제가 될 수 있다.

[0003] 한편, 폐수로 인식이 되는 찰뜨물에는 탄수화물, 단백질, 지방, 미네랄 및 비타민 등 미생물이 생육하기에 적합한 다량의 유효성분들이 함유되어 있어, 유산균 발효를 통해 식품소재로서 재활용될 수 있다.

[0004] 이에, 본 발명에서는 찰뜨물을 활용하여 품질개선제로 사용 가능한 발효액을 제조하고, 이를 떡볶이 떡에 적용하여 품질이 개선된 떡볶이 떡을 제조함에 따라 찰뜨물로 인한 폐수를 감소시키고 부산물에서 부가가치를 창출할 수 있어 실용적인 찰뜨물 유산균 발효액 제조방법 및 찰뜨물 유산균 발효액을 적용한 떡볶이 떡을 제공하고자 하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1666504호(2016.10.10. 등록)에는, 유산균을 이용한 떡의 노화 또는 부패 억제 방법이 기재되어 있다.

(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 제10-2013-0110109호(2013.10.08. 공개)에는, 찰뜨물 유산균 발효 조성물의 제조방법 및 그 방법에 의하여 제조된 식품이 기재되어 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 폐수로 여겨지는 찰뜨물에 유산균을 접종하여 발효시킴으로써, 찰전분의 노화를 억제할 수 있는, 찰뜨물 유산균 발효액을 개발하여 제공하고자 한다.

[0008] 또한, 본 발명은 상기 찹쌀물 유산균 발효액을 이용하여 노화가 억제된 떡볶이 떡을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 찹쌀물에 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase)를 첨가하는 단계 (a); 상기 단계 (a) 후, 유산균 또는 그 배양액을 첨가하는 단계 (b); 상기 단계 (b) 후, 38~42℃에서 5~7시간 동안 배양하는 단계 (c); 를 포함하는 것을 특징으로 하는 찹쌀물 유산균 발효액 제조방법을 제공한다.

[0010] 본 발명의 찹쌀물 유산균 발효액 제조방법에 있어서, 상기 찹쌀물은, 쌀을 씻은 후, 발생하는 부산물인 것을 특징으로 하는 것일 수 있다.

[0011] 본 발명의 찹쌀물 유산균 발효액 제조방법에 있어서, 상기 단계 (c) 후, 119~123℃에서 13~17분간 고압 멸균하는 단계 (d); 를 추가로 진행하는 것을 특징으로 하는 것일 수 있다.

[0012] 본 발명의 찹쌀물 유산균 발효액 제조방법에 있어서, 상기 단계 (b)의 유산균은, 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 브레비스 (*Lactobacillus brevis*), 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*), 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*), 류코노스톡 메센테로이데스 (*Leuconostoc mesenteroides*) 중 선택되는 어느 하나 이상의 균주를 이용하여 제조하는 것을 특징으로 하는 것일 수 있다.

[0013] 본 발명의 찹쌀물 유산균 발효액 제조방법에 있어서, 상기 단계 (c)의 배양은, 정치배양인 것을 특징으로 하는 것일 수 있다.

[0014] 본 발명은 본 발명의 제조방법에 따라 제조된 찹쌀물 유산균 발효액이 첨가된 떡을 제공한다.

[0015] 본 발명의 떡에 있어서, 상기 떡은, 떡볶이 떡인 것을 특징으로 하는 것일 수 있다.

[0016] 본 발명의 떡에 있어서, 상기 떡은, 노화가 억제되는 것을 특징으로 하는 것일 수 있다.

[0017] 본 발명은 본 발명의 찹쌀물 유산균 발효액 제조방법에 따라 제조된 찹쌀물 유산균 발효액을 첨가하여 노화가 억제되는 것을 특징으로 하는 떡을 제공한다.

발명의 효과

[0018] 본 발명은 부산물로 여겨지는 찹쌀물과 유산균을 활용하여 제조한 찹쌀물 유산균 발효액에 관한 것으로, 유산균 발효액 (찹쌀물을 이용하여 유산균이 생산한 대사산물)을 이용하여 쌀 전분의 노화를 억제할 수 있음을 밝힌 것에 특징이 있는 발명이다. 이에 본 발명의 찹쌀물 유산균 발효액을 첨가하여 떡 (일 예로 떡볶이 떡)을 제조할 경우, 떡의 노화를 억제할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 4종의 락토바실러스(*Lactobacillus* sp.)와 1종의 류코노스톡 메센테로이데스 (*Leuconostoc mesenteroides*)의 각각 발효된 찹쌀물에 포함된 총 유기산을 분석한 그래프이다.

도 2는 4종의 락토바실러스(*Lactobacillus* sp.)와 1종의 류코노스톡 메센테로이데스 (*Leuconostoc mesenteroides*)의 각각 발효된 찹쌀물에 포함된 소당류를 분석한 그래프이다.

도 3은 본 발명에 따라 제조된 떡볶이 떡의 4℃ 노화 가속 저장 중 1, 3, 5일 저장 기간동안 경도를 TA로 측정 한 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명에 따라 제조된 떡볶이 떡의 4℃ 가속 저장 중 노화되는 정도를 DSC로 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 5는 본 발명에 따라 제조된 떡의 물리적인 특성인 수분함량과 색도를 측정한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 찹쌀물은 쌀을 씻고 나온 흰색의 탁한 물로 부산물 또는 심지어 폐수로 여겨지고 있다. 하지만, 찹쌀물 내에는 균이 생육하기에 필요한 탄소원, 질소원 등 유용한 성분이 존재한다. 이에, 본 발명은 찹쌀물을 한국 전통 전분 식품의 품질 향상, 특히 노화 개선을 위한 새로운 식품 소재로 개발하고자 하며, 이를 통해 폐수의 감소 및 부

산물에서 부가가치를 창출하여 실용적인 자원으로 활용하고자 한다.

- [0021] 구체적으로, 본 발명은 쌀뜨물에 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase)를 첨가하는 단계 (a); 상기 단계 (a) 후, 유산균 또는 그 배양액을 첨가하는 단계 (b); 상기 단계 (b) 후, 38~42℃에서 5~7시간 동안 배양하는 단계 (c); 를 포함하는 것을 특징으로 하는 쌀뜨물 유산균 발효액 제조방법을 제공한다.
- [0022] 또한, 본 발명은 상기 제조방법에 따라 제조된 쌀뜨물 유산균 발효액이 첨가된 떡을 제공한다.
- [0024] 하기에서는 본 발명의 쌀뜨물 유산균 발효액의 제조방법을 각 단계별로 세분화해서 구체적으로 설명하고자 한다.
- [0026] <단계 (a): 아밀로글루코시다아제(AMG) 첨가 단계>
- [0027] 본 단계는 쌀뜨물에 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase, AMG)를 첨가하는 과정이다.
- [0028] 한편, 상기 쌀뜨물은 쌀을 씻은 후 발생하는 부산물을 이용할 수 있는데, 상세하게는 가정이나 기업에서 밥 또는 즉석밥 제조 시 발생하는 부산물은 쌀뜨물을 이용할 수 있다. 다만, 필요에 의해 쌀 및 증류수를 혼합하고 교반하여 쌀뜨물을 의도적으로 제조하여 사용할 수도 있다.
- [0029] 한편, 본 발명에서 사용하는 쌀뜨물은 흡광도(660nm)를 5.5로 맞춰 농도를 조절한 후, 멸균하는 과정을 거치는 것이 좋다. 구체적으로 쌀뜨물 1,000 μ l를 큐벳(cuvet)에 담아 분광광도계(spectrophotometer)로 660 nm에서 측정하여 흡광도를 5.5로 맞춰 농도를 조절한 후, 멸균하는 것이 바람직하다. 이때, 상기 멸균은 120~122℃에서 14~16분간 고압 멸균하는 것이 바람직하다.
- [0030] 한편, 상기 아밀로글루코시다아제(AMG)는 상기 쌀뜨물에 0.05~0.15 unit/ml을 첨가하는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 쌀뜨물 대비 아밀로글루코시다아제(AMG) 0.1 unit/ml 을 첨가하는 것이 좋다.
- [0031] 이와 같이, 본 단계에서 아밀로글루코시다아제(AMG)를 첨가해줌에 따라 아밀로오스를 단당류로 가수분해하여 탄소원으로 사용할 수 있어 균의 성장력을 높여 효율적으로 본 발명의 쌀뜨물 유산균 발효액을 제조할 수 있다.
- [0033] <단계 (b): 유산균 첨가 단계>
- [0034] 본 단계는 상기 단계 (a) 후, 유산균 또는 그 배양액을 첨가하는 과정이다.
- [0035] 이때, 상기 유산균은 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 브레비스 (*Lactobacillus brevis*), 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*), 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*), 류코노스톡 메센테로이데스 (*Leuconostoc mesenteroides*) 중 선택되는 어느 하나 이상의 균주를 이용하여 제조하는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*) 및 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*) 중 선택되는 어느 하나 이상의 균주를 이용하여 제조하는 것이 좋다.
- [0036] 한편, 상기 유산균 배양액은 유산균을 전 배양하여 상기 단계 (a)의 AMG 첨가 쌀뜨물 40 중량부 대비 0.9~1.1 중량 (건조 중량 기준)% 접종하는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 1중량 (건조 중량 기준)% 접종하고 배양하여 제조한다. 이때, 상기 배양은 39~41℃에서 5~7시간 진행하는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 40℃에서 6시간 배양한 후, 원심분리하여 제조한다.
- [0038] <단계 (c): 배양 단계>
- [0039] 본 단계는 상기 단계 (b) 후, 38~42℃에서 5~7시간 동안 배양하는 과정이다. 이때, 더욱 바람직하게는 본 단계에서 상기 배양은 40℃에서 6시간 동안 정치배양하는 것이 좋다.
- [0040] 한편, 배양 후, 배양액에는 유산균이 전분과 뭉쳐 잔존물로 존재하게 된다. 이 잔존물을 그대로 떡에 사용하면 떡에 유산균 특유의 이취감이 발생할 수 있는데, 이취감 제거를 위해, 바람직하게 본 단계의 배양 후, 가라앉은 전분과 균체를 제거하는 것이 좋을 수도 있다. 떡볶이와 같이 양념이 강한 음식의 제조를 위해 사용되는 떡은

상기 유산균과 전분의 제거없이도 사용 가능하나, 떡국 떡과 같은 경우는 이취감의 제거가 필요하기도 하는 것이다.

[0041] 한편, 본 단계 이후, 119~123℃에서 13~17분간 고압 멸균하는 단계 (d); 를 추가적으로 수행할 수도 있다. 더욱 바람직하게는 121℃에서 15분간 고압멸균기로 멸균하는 것이 좋다.

[0042] 한편, 상기 단계 (a)~(c)를 거쳐 제조한 본 발명의 쌀뜨물 유산균 발효액은 떡볶이 떡, 면과 같은 한국 전통 전 분 식품 등 다양한 식품에 적용하여 노화 방지의 목적으로 사용할 수 있다.

[0044] 이하, 본 발명의 내용에 대해 하기 실시예 및 실험예를 통하여 더욱 상세히 설명하고자 한다. 다만, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예 및 실험예에 대해서만 한정되는 것은 아니고, 이와 등가의 기술적 사상의 변형까지를 모두 포함한다.

[0046] [제조예 1 : 쌀뜨물 제조]

[0047] 본 제조예에서는 유산균 배양에 이용할 쌀뜨물을 제조하였다.

[0048] 100 g의 쌀을 200 mL의 증류수에 넣고, 약 10분간 교반시켜 쌀뜨물을 수득하였다. 상기 수득한 쌀뜨물의 흡광도 (농도)를 측정하기 위해 쌀뜨물 1,000 μ l를 큐벳(cuvet)에 담아 분광광계도(spectrophotometer)로 660 nm에서 측정하였다(Optizen POP, Mecasys Co. Ltd.; Daejeon, Korea). 배양할 쌀뜨물의 흡광도는 5.5를 기준으로 하였다. 흡광도를 5.5로 맞추고 고압 멸균(121℃, 15분)하여 멸균 쌀뜨물을 제조하였다.

[0050] [실시예 1 : 멸균 쌀뜨물을 이용한 쌀뜨물 유산균 발효액 제조]

[0051] 본 실시예에서는 상기 제조예 1에서 제조한 멸균 쌀뜨물을 이용하여 쌀뜨물 유산균 발효액을 제조하고자 하였다.

[0052] 상기 제조예 1에서 제조한 멸균 쌀뜨물을 40℃에서 30분간 예열한 후, 각각 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 브레비스 (*Lactobacillus brevis*), 락토바실러스 카제이 (*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*), 락토바실러스 커바투스 (*Lactobacillus curvatus*), 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*), 류코노스톡 메센테로이데스 (*Leuconostoc mesenteroides*)의 7종의 균주를 이용한 단일 유산균 배양액을 1중량 (건조 중량 기준)% 접종하였다. 그런 다음, 40℃에서 6시간 동안 정지배양한 후, 가라앉은 전분과 균체를 제거하여 각각의 쌀뜨물 유산균 발효액을 제조하였다. 이후 상기 제조한 쌀뜨물 유산균 발효액은 고압멸균기로 121℃에서 15분간 멸균을 진행하여 쌀뜨물 유산균 발효액을 제조하였다.

[0054] [실시예 2 : 멸균 쌀뜨물을 이용한 'AMG 효소' 첨가 쌀뜨물 유산균 발효액 제조]

[0055] 본 실시예에서는 상기 제조예 1에서 제조한 멸균 쌀뜨물을 이용하여 효소 첨가 쌀뜨물 유산균 발효액을 제조하고자 하였다.

[0056] 상기 제조예 1에서 제조한 멸균 쌀뜨물을 40℃에서 30분간 예열한 후, 아밀로글루코시다아제(AMG)를 0.1 unit/mL을 첨가한 다음, 하기 표 1에 기재된 균주를 이용한 단일 유산균 배양액을 1중량 (건조 중량 기준)% 접종하였다. 그런 다음, 40℃에서 6시간 동안 정지배양한 후, 가라앉은 전분과 균체를 제거하여 각각의 효소 첨가 쌀뜨물 유산균 발효액을 제조하였다. 이후 상기 제조한 효소 첨가 쌀뜨물 유산균 발효액은 고압멸균기로 121℃에서 15분간 멸균을 진행하였다.

[0057] 한편, 상기와 같은 방법으로 제조하되, 효소로 아밀로글루코시다아제(AMG) 대신 테르마밀(Termamyl)을 이용하여 쌀뜨물 유산균 발효액 (비교군)을 각각 제조하였다.

[0058] 아래 표 1은 7종의 유산균 배양액을 각각 이용하여 제조한 본 발명의 쌀뜨물 유산균 발효액에 테르마밀 (Termamyl), 아밀로글루코시다아제(AMG) 첨가에 따른 pH 측정 결과를 나타낸 것이다.

표 1

균주	효소	발 효 시 간 (시간)					
		1	2	3	4	5	6
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	무첨가 ¹⁾	5.7 ± 0.1	5.4 ± 0.0	4.9 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.3 ± 0.0
	AMG	5.8 ± 0.0	5.6 ± 0.1	5.0 ± 0.2	4.5 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.1 ± 0.1
	Termamyl	5.9 ± 0.1	5.6 ± 0.1	5.2 ± 0.1	4.6 ± 0.0	4.4 ± 0.0	4.3 ± 0.0
<i>Lactobacillus brevis</i>	무첨가	5.4 ± 0.0	5.4 ± 0.1	5.3 ± 0.0	4.8 ± 0.0	4.6 ± 0.0	4.3 ± 0.0
	AMG	5.4 ± 0.0	5.4 ± 0.1	5.3 ± 0.0	4.8 ± 0.0	4.4 ± 0.0	4.2 ± 0.0
	Termamyl	5.4 ± 0.1	5.4 ± 0.0	5.3 ± 0.1	4.9 ± 0.1	4.6 ± 0.0	4.3 ± 0.0
<i>Lactobacillus casei</i>	무첨가	5.6 ± 0.1	5.5 ± 0.1	5.0 ± 0.1	4.9 ± 0.1	4.7 ± 0.0	4.6 ± 0.1
	AMG	5.9 ± 0.1	5.6 ± 0.1	5.1 ± 0.1	4.9 ± 0.1	4.6 ± 0.1	4.4 ± 0.0
	Termamyl	5.8 ± 0.0	5.6 ± 0.0	5.1 ± 0.0	4.9 ± 0.1	4.7 ± 0.1	4.6 ± 0.0
<i>Lactobacillus curvatus</i>	무첨가	6.0 ± 0.1	5.9 ± 0.0	5.8 ± 0.0	5.6 ± 0.1	5.6 ± 0.0	5.5 ± 0.0
	AMG	6.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0	5.9 ± 0.1	5.6 ± 0.1	5.5 ± 0.1	5.5 ± 0.0
	Termamyl	6.1 ± 0.1	6.0 ± 0.1	5.9 ± 0.1	5.5 ± 0.0	5.6 ± 0.1	5.5 ± 0.1
<i>Lactobacillus reuteri</i>	무첨가	5.8 ± 0.1	5.6 ± 0.1	5.4 ± 0.1	5.3 ± 0.1	5.2 ± 0.0	5.2 ± 0.0
	AMG	5.9 ± 0.0	5.6 ± 0.1	5.2 ± 0.0	4.9 ± 0.1	4.6 ± 0.1	4.1 ± 0.1
	Termamyl	6.0 ± 0.1	5.6 ± 0.1	5.3 ± 0.1	5.0 ± 0.1	4.7 ± 0.1	4.6 ± 0.0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	무첨가	5.8 ± 0.0	5.4 ± 0.1	5.0 ± 0.0	4.6 ± 0.0	4.3 ± 0.0	4.1 ± 0.0
	AMG	5.5 ± 0.0	5.1 ± 0.0	4.6 ± 0.0	4.3 ± 0.0	4.3 ± 0.0	3.9 ± 0.0
	Termamyl	5.6 ± 0.0	5.2 ± 0.0	4.8 ± 0.0	4.5 ± 0.0	4.2 ± 0.0	4.0 ± 0.0
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	무첨가	5.6 ± 0.1	5.5 ± 0.0	5.4 ± 0.1	5.0 ± 0.2	4.7 ± 0.1	4.4 ± 0.1
	AMG	5.6 ± 0.0	5.5 ± 0.0	5.4 ± 0.1	4.8 ± 0.0	4.4 ± 0.0	4.2 ± 0.1
	Termamyl	5.5 ± 0.0	5.5 ± 0.1	5.4 ± 0.0	4.8 ± 0.0	4.6 ± 0.0	4.3 ± 0.0

주1) '무첨가'는 실시예 1을 의미함.

제조된 유산균 발효액의 pH가 낮으면 식품에 적용할 경우 유해균의 생육을 억제할 수 있어, 위생적 또는 저장측면에서 바람직하다고 할 수 있다. 이에 상기 실시예 1 및 2를 통해 제조한 유산균 발효액의 pH를 측정하여 보았는데, 상기 표 1에서 보듯이, 상기 락토바실러스 커바터스 (*Lactobacillus curvatus*)를 제외한 다른 유산균들은 효소를 첨가하지 않거나, 효소 2종을 첨가한 샘플에서 공히 pH가 낮아졌다. 다만, 효소 2종 중 AMG가 보다 낮은 pH를 나타냈다. 락토바실러스 커바터스 (*Lactobacillus curvatus*)는 효소를 첨가하지 않거나, 효소 2종을 첨가한 경우 모두에 있어서, pH 변화가 미미하였다. 락토바실러스 카제이 (*Lactobacillus casei*)의 경우에도 다른 유산균에 비해 pH 변화가 미미하였다.

한편, 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*)는 효소 첨가 유무에 민감하게 pH 변화가 나타났는데, 효소를 첨가하지 않는 경우는 6주차에 pH가 약 5.2 근방이었으나, 효소를 첨가한 경우에는 6주차에 pH가 4.1 및 4.6으로 현저히 감소했다.

한편, 상기 7종의 유산균 중 pH 4.5 이하로 낮출 수 있는 유산균으로 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 브레비스 (*Lactobacillus brevis*), 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*), 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*), 류코노스톡 메센테로이데스 (*Leuconostoc mesenteroides*)의 5종을 선정하여 하기 실험을 진행하였다.

[실험예 1 : 본 발명 쌀뜨물 유산균 발효액의 유기산 및 소당류 분석]

본 실험에서는 상기 실시예 2에서 제조한 본 발명의 효소 첨가 쌀뜨물 유산균 발효액의 시간대별 유기산 및 소당류를 측정하기 위한 실험을 진행하였다.

상기 실시예 2에서 선정한 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 브레비스 (*Lactobacillus brevis*), 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*), 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*), 류코노스톡 메센테로이데스 (*Leuconostoc mesenteroides*) 균주 이용 5종의 쌀뜨물

유산균 발효액을 원심분리하고 얻은 상층액을 필터링 후 유기산 및 소당류를 측정하였다.

[0070] (1) HPAEC 분석을 통한 소당류 확인

[0071] 상기 실시예 2에서 제조한 5종의 효소 첨가 쌀뜨물 유산균 발효액을 HPAEC(high performance anion exchange chromatography)로 분석하였다. HPAEC 분석을 위하여 CarboPac PA1 guard columns(4×50 mm and 4×250 mm; Dionex)을 활용하였으며 펄스 전류 측정 검출기 (pulsed amperometric detector, ED40; Dionex)를 이용하여 검출물을 분석하였다. 샘플(sample)의 주입(injection) 양은 20 μ L로 하였으며, 유속(flow rate)은 1 mL/min 속도로 하여 용매를 이동하였다. 이동상은 150 mM NaOH를 이용하였고 분리능을 높이기 위하여 600 mM 아세트산나트륨(sodium acetate)의 비중을 단계적으로 높여서 이동상을 주입하였다.

[0072] 도 1은 일반 쌀뜨물 용액 및 본 발명의 실시예 1 및 실시예 2에서 제조한 AMG 첨가에 따른 쌀뜨물 유산균 발효액의 음이온 교환 크로마토그래피 PA1 컬럼(HPAEC PA1 column) 분석 결과를 나타낸 것이다.

[0073] 도 1에서 보듯이, 유산균 발효 중 생성된 소당류는 모든 AMG 처리군에서 미처리군 대비 약 10배 가량의 많은 양의 포도당이 생성되었다. 한편, 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*) 그룹은 다른 유산균 그룹에 비해 적은 양의 포도당을 생성하는 점을 확인할 수 있었다.

[0075] (2) HPLC 분석을 통한 유기산 확인

[0076] 상기 실시예 2에서 제조한 5종의 효소 첨가 쌀뜨물 유산균 발효액을 HPLC(High performance liquid chromatography)로 분석하였다. 구체적으로, 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 브레비스 (*Lactobacillus brevis*), 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*), 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*), 류코노스톡 메센테로이데스 (*Leuconostoc mesenteroides*) 균주 이용 5종의 쌀뜨물 유산균 발효액을 원심분리기를 이용하여 불용성 물질을 제거한 후, 상층액을 분석 시료로 사용하였다.

[0077] 분석에 사용된 용매의 조건은 3차 증류수에 0.1% 트리플루오로아세트산 (trifluoroacetic acid)을 넣어 A 버퍼를 만들고, 20 mM 인산(phosphoric acid)으로 B 버퍼를 만들어 용매로 사용하였다.

[0078] 유속(Flow rate)은 1 mL/min이고, 시료는 한번 주입할 때 20 μ L씩 주입하였다. 분석에 이용된 최적화된 그라디언트(gradient) 조건은 다음과 같다. 0~100% B 버퍼로 0~10분 그리고 100% B 버퍼로 10~20분 흘려주어 총 20분 동안 측정하였다. 유기산은 UV 검출기(UV detector)로 210 nm 파장에서 유기산을 확인할 수 있었다.

[0079] 도 2는 일반 쌀뜨물 용액 및 본 발명의 실시예 1 및 실시예 2에서 제조한 AMG 첨가에 따른 쌀뜨물 유산균 발효액의 고성능액체크로마토그래피 C18 컬럼(HPLC C18 column) 분석 결과를 나타낸 것이다. 도 2에서 보듯이, 모든 쌀뜨물 유산균 발효액에서 유기산 함량이 증가한 점을 확인할 수 있었다.

[0080] 젖산의 비율은 이형 젖산발효가 진행된 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*) 그룹을 제외한 모든 발효액에서 증가함을 확인하였다. 이형 젖산 발효를 함으로써 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*)는 상대적으로 초산 생성 비율이 높게 나타났으며, 5시간 전까지 유기산 생성량이 가장 높게 관찰된 유산균은 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*)으로 확인되었다.

[0081] 도 1에서 가장 많은 유기산을 생성한 유산균은 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*)이지만 독특한 향으로 인해 식품에 사용하기에는 적합하지 않았다.

[0082] 이에, 본 발명에서는 떡볶이 떡 제조에 활용하기 위한 유산균으로 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 및 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*)로 선별하였다.

[0084] [실시예 3 : 쌀뜨물 유산균 발효액을 이용한 떡볶이 떡 제조]

[0085] 본 실시예에서는 상기 실시예 1 및 실시예 2에서 제조한 쌀뜨물 유산균 발효액 중 실험예 1에서 선별한 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 및 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*) 균주 이용 쌀뜨물 유산균 발효액 4종을 활용하여 떡볶이 떡을 제조하였다.

[0086] 떡볶이 제조를 위해 쌀가루를 준비하고, 상기 쌀뜨물 유산균 발효액 4종을 준비해서 떡볶이 떡을 각각 제조하였

다. 구체적으로 쌀가루 150 g에, 떡 제조를 위해 첨가하는 물의 1%(v/v)를 쌀뜨물 유산균 발효액 (각각 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 단독, 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*) 단독, AMG 및 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*), AMG 및 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*))으로 대체한 '떡 제조용 물' 75 mL을 첨가하였다.

반죽된 가루를 면보로 감싸 덮어 물이 직접 들어가지 않도록 한 후 30분간 증자한 후 반죽기에서 5분간 치대주었다. 치댄 반죽은 압출 성형 떡 제조기에 넣고 10 mm 노즐을 통해 떡을 제조하였다.

상기 제조한 떡볶이 떡의 일부는 25℃에서 멸균백에 보관하여 미생물 측정을 진행하였으며, 나머지 일부 떡볶이 떡은 노화 가속 저장 온도인 4℃에서 보관하여 DSC, TPA, 수분함량, 색도 측정을 진행하였다.

[실험예 2 : 본 발명 쌀뜨물 유산균 발효액 첨가 떡볶이 떡의 미생물 분석, 노화 정도 및 물리적 특성 측정]

본 실험에서는 상기 실시예 3에서 제조한 4종의 쌀뜨물 유산균 발효액 첨가 떡볶이 떡의 미생물 분석, 노화 정도 및 물리적 특성을 측정하고자 하였다.

(1) 떡볶이 떡의 미생물 증식 억제 첨가제로서의 쌀뜨물 유산균 발효액 특성 확인

먼저 본 발명 떡볶이 떡을 멸균 가위와 핀셋을 이용하여 5 g 채취 후 멸균백에 옮긴 후 멸균 생리식염수(0.85% NaCl) 45 mL을 첨가하여 3분간 혼합하였다. 이를 펠트리필름(petrifilm)을 이용하여 일반세균, 대장균, 황색포도상구균 및 진균류를 측정하였다. 상기 균질화 된 떡볶이 떡을 0.1% 멸균 생리 식염수로 연속 희석 후, 37℃에서 48시간 동안 일반세균수와 대장균 수를 측정하였으며, 37℃에서 24시간 동안 포도상구균을 측정하였다. 진균류는 25℃에서 120시간 동안 진행하였으며, 측정 결과는 log CFU/g으로 표시하였다.

하기 표 2는 본 발명에서 제조한 떡볶이 떡의 미생물 측정 결과를 나타낸 것이다.

표 2

Microbe	Day	Control	FWRW-P	FWRW-PA	FWRW-R	FWRW-RA
Total plate count (log CFU/g)	1	5.87 ± 0.05 ^{aA}	4.60 ± 0.12 ^{aB}	3.36 ± 0.10 ^{aC}	1.90 ± 0.07 ^{aD}	ND ^{bE}
	2	7.77 ± 0.04 ^{bA}	7.62 ± 0.05 ^{bB}	6.83 ± 0.08 ^{bC}	6.61 ± 0.03 ^{bD}	ND ^{bE}
	3	8.92 ± 0.09 ^{cA}	8.24 ± 0.08 ^{cB}	7.65 ± 0.05 ^{cC}	7.66 ± 0.04 ^{cC}	ND ^{bD}
	4	9.14 ± 0.03 ^{dA}	8.81 ± 0.07 ^{dB}	7.99 ± 0.09 ^{dC}	8.75 ± 0.09 ^{dB}	ND ^{bD}
	5	9.41 ± 0.03 ^{eA}	8.98 ± 0.02 ^{eB}	9.00 ± 0.02 ^{eB}	8.96 ± 0.03 ^{eB}	5.41 ± 0.05 ^{aC}
<i>E. coli</i> (log CFU/g)	1	ND	ND	ND	ND	ND
	2	ND	ND	ND	ND	ND
	3	ND	ND	ND	ND	ND
	4	ND	ND	ND	ND	ND
	5	ND	ND	ND	ND	ND
Yeast & Mold (log CFU/g)	1	ND	ND	ND	ND	ND
	2	ND	ND	ND	ND	ND
	3	ND	ND	ND	ND	ND
	4	ND	ND	ND	ND	ND
	5	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. aureus</i> (log CFU/g)	1	ND	ND	ND	ND	ND
	2	ND	ND	ND	ND	ND
	3	ND	ND	ND	ND	ND
	4	ND	ND	ND	ND	ND
	5	ND	ND	ND	ND	ND

- [0097] 본 발명의 쌀뜨물 유산균 발효액 첨가 떡볶이 떡을 25℃에서 5일 동안 보관한 결과, 대장균, 포도상구균, 진균류는 모두 미 검출되었다. 또한, 쌀뜨물 유산균 발효액(fermented washed rice water, FWRW)을 첨가한 그룹에서는 대조군에 비해 상대적으로 일반세균 검출 수가 적었으며, 특히, AMG 처리한 락토바실러스 루테리(*Lactobacillus reuteri*) 발효액(FWRW-RA)에서는 4일까지 일반 세균이 검출되지 않았다. 이러한 결과는 락토바실러스 루테리(*Lactobacillus reuteri*) 발효 시 생산되는 항생물질 및 유기산으로 인해 유해 미생물의 성장을 억제한 결과로 판단할 수 있었다.
- [0099] (2) 떡볶이 떡의 노화방지제로서의 쌀뜨물 유산균 발효액의 특성 확인
- [0100] 떡볶이 떡은 시간이 지나면 굳어져서 제품의 가치를 잃기 때문에 경도는 전분질 식품의 노화정도를 나타내는 중요한 지표 중 하나이다. 4℃에서 1, 3, 5일차 보관한 본 발명 제조 떡볶이 떡을 TA-XT plus texture analyzer(SMS Co., Ltd., Croydon, UK)로 지름 1 cm, 높이 1 cm의 원통형으로 잘라낸 후 시료 당 10회 경도를 측정하였다. 35-N 로드셀이 장착된 테스트로 1회 압축한 후 바로 이어서 한 번 더 압축하는 2회 반복 압축하는 2회 반복 압축 시험을 하여 경도를 측정하였다. 가래떡 슬라이스는 직경 35 mm의 실린더 프로브로 10 mm/s, 진입 깊이 20%로 분석하였으며, 실험결과를 도 3에 나타내었다.
- [0101] 도 3에서 보듯이, 쌀뜨물 유산균 발효액을 첨가한 떡은 미첨가 떡(대조군)에 비해 경도가 유의적으로 낮은 것을 확인할 수 있었다. 생산 직후의 모든 떡볶이 떡의 경도는 약 $4,400 \text{ g/cm}^2$ 로 유의적인 차이가 없었지만 저장 5일차 이후 시료별 경도를 측정한 결과, 쌀뜨물 유산균 발효액 미첨가 떡(대조군)의 경도는 $12,113.6 \text{ g/cm}^2$ 로 증가하였으며, AMG 첨가 락토바실러스 루테리(*Lactobacillus reuteri*) 쌀뜨물 유산균 발효액 처리 떡볶이 떡은 경도가 9690.3 g/cm^2 로 유의적으로 가장 낮은 값을 나타내었다.
- [0102] 떡볶이 떡의 노화 정도를 보다 정확하게 분석하기 위해 DSC 측정을 진행하였다. 4℃에서 보관한 시료를 스테인리스 스틸 팬(stainless steel pan)에 약 3 mg을 칭량한 후 밀봉하였다. 밀봉한 샘플을 시차주사 열량측정법(Differential scanning calorimetry(DSC 4000 system(Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)))을 이용하여 10℃에서 140℃까지 10℃/min의 가열 속도로 40℃ 내지 70℃ 사이의 흡열 피크의 면적을 측정하여 호화 엔탈피를 구하여 비교 분석하였다. 빈 팬을 표준 물질로 사용하였다. 보관 기간 5일간 쌀뜨물 유산균 발효액을 처리하지 않은 떡볶이 떡의 피크 면적은 35.50 mJ/mg으로 나타났으며, AMG 첨가 락토바실러스 루테리(*Lactobacillus reuteri*) 쌀뜨물 유산균 발효액은 33.34 mJ/mg으로 가장 낮은 값을 나타내었다. 이와 같이, AMG 첨가 시, 첨가하지 않은 시료에 비해 높은 호화 엔탈피를 보이는 것으로 나타났으며, 이를 통해 쌀뜨물 유산균 발효액의 첨가 및 AMG 첨가가 노화억제에 도움을 주는 것을 확인하였다.
- [0104] (3) 떡볶이 떡의 첨가제로서의 쌀뜨물 유산균 발효액의 특성 확인
- [0105] 본 발명에서 제조한 떡볶이 떡 첨가제로서의 4종의 쌀뜨물 유산균 발효액의 적용 가능성을 판단하기 위해 물의 1%(v/v)를 쌀뜨물 유산균 발효액으로 대체하여 적용한 떡볶이 떡의 수분함량 및 색도를 측정하였다.
- [0106] 떡볶이 떡의 수분함량은 전반적인 품질인 질감 및 저장 안정성 및 식품의 노화에 영향을 미친다. 1, 3, 5일간 4℃에 저장 후 105℃ 오븐에서 상압 건조법으로 분석하였다. 그 결과, AMG 첨가 락토바실러스 루테리(*Lactobacillus reuteri*) 발효액은 첨가 떡볶이 떡의 수분함량이 47.6%로 가장 높은 값을 보였으며, 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 발효액 첨가 떡볶이 떡은 수분함량에는 영향을 미치지 않았다.
- [0107] 본 발명에서 제조한 쌀뜨물 유산균 발효액이 함유된 떡볶이 떡의 색도변화를 알아보기 위해 색차계(CR-400; Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 떡볶이 떡 시료를 각각 총 10회 반복 측정하여 명도(lightness, L), 적색도(redness, a) 및 황색도(yellowness, b)값을 그 평균값으로 측정하였다. 아래 표 3은 색도 측정 결과를 나타낸 것이다.

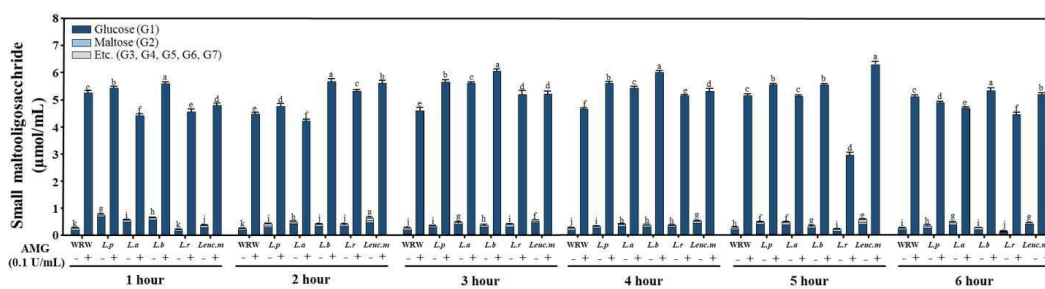
표 3

	Storage Time (days)	Control	<i>Lactobacillus plantarum</i> 발효액 첨가 떡	AMG 첨가 <i>Lactobacillus plantarum</i> 발효액 첨가 떡	<i>Lactobacillus reuteri</i> 발효액 첨가 떡	AMG 첨가 <i>Lactobacillus reuteri</i> 발효액 첨가 떡
L	0	69.06 ± 0.03 ^c	71.25 ± 0.66 ^b	72.40 ± 0.83 ^a	67.73 ± 0.59 ^d	68.14 ± 0.10 ^d
	3	63.57 ± 0.05 ^d	66.93 ± 0.05 ^{bc}	62.78 ± 0.21 ^e	66.64 ± 0.13 ^c	70.62 ± 0.01 ^a
	5	64.25 ± 0.90 ^b	65.64 ± 0.03 ^a	61.66 ± 0.12 ^c	66.65 ± 0.58 ^a	62.57 ± 0.64 ^c
a	0	-1.28 ± 0.05 ^c	-1.24 ± 0.01 ^c	-1.76 ± 0.02 ^a	-1.13 ± 0.02 ^d	-1.56 ± 0.02 ^b
	3	-2.15 ± 0.01 ^a	-1.44 ± 0.00 ^c	-1.12 ± 0.03 ^e	-1.37 ± 0.04 ^d	-1.92 ± 0.01 ^b
	5	-2.02 ± 0.02 ^a	-1.19 ± 0.00 ^e	-1.51 ± 0.02 ^b	-1.30 ± 0.01 ^d	-1.34 ± 0.00 ^c
b	0	11.71 ± 0.01 ^c	12.82 ± 0.02 ^d	11.07 ± 0.03 ^b	11.04 ± 0.03 ^b	10.42 ± 0.36 ^a
	3	10.06 ± 0.04 ^a	13.13 ± 0.06 ^d	11.71 ± 0.06 ^b	11.91 ± 0.06 ^c	11.84 ± 0.02 ^c
	5	8.48 ± 0.02 ^a	11.26 ± 0.03 ^d	10.54 ± 0.02 ^b	10.76 ± 0.02 ^c	11.69 ± 0.12 ^e

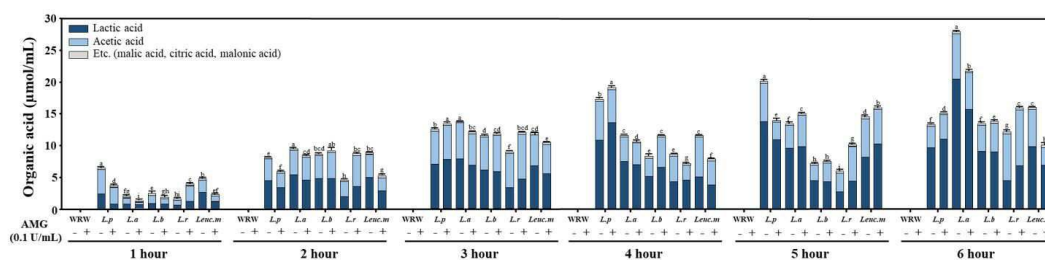
상기 표 3에서 보듯이, 조리 전 떡볶이 떡의 명도(L), 적색도(a) 및 황색도(b)를 측정된 결과, 쌀뜨물 유산균 발효액 미첨가군에서는 저장 5일 후 명도가 7% 감소하였으며, 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*) 이용 쌀뜨물 유산균 발효액, AMG 첨가 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*) 이용 쌀뜨물 유산균 발효액, 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*) 이용 쌀뜨물 유산균 발효액 및 AMG 첨가 락토바실러스 루테리 (*Lactobacillus reuteri*) 이용 쌀뜨물 유산균 발효액에서 각각 7.9%, 14.8%, 1.6%, 8.2%가 감소하였다. 이는 실제 상품으로서 떡볶이 떡에 적용시 소비자의 기호도에 큰 영향을 미치지 않을 것으로 판단되었다.

도면

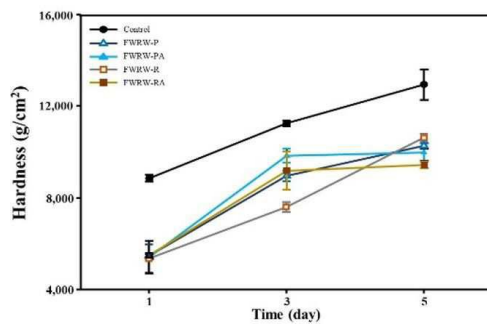
도면1



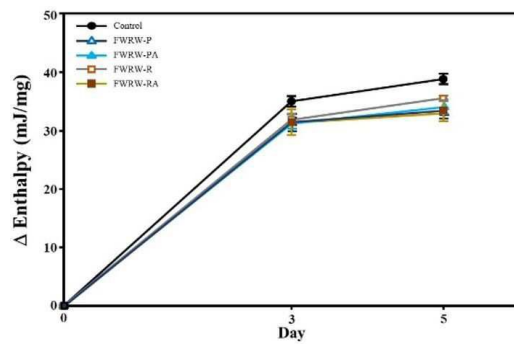
도면2



도면3



도면4



도면5

