

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2013-0017810 (43) 공개일자 2013년02월20일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A23L 2/38 (2006.01) A23L 2/52 (2006.01)		(71) 출원인 세종대학교산학협력단
(21) 출원번호	10-2011-0080465	서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)
(22) 출원일자	2011년08월12일	
심사청구일자	2011년08월12일	(72) 발명자 정장호
		경기도 성남시 분당구 서현로 181, 209동 408호 (이매동, 이매촌)
		황승환
		인천광역시 남구 주안 3동 862-16번지 3층
		(74) 대리인 특허법인엠에이피에스

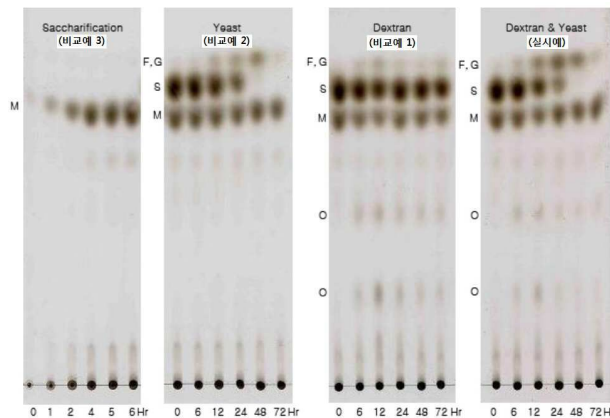
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 식혜 발효 음료 및 이의 제조 방법

(57) 요약

수용체당(acceptor sugar)을 함유하는 식혜를 제조하는 단계, 및 상기 수용체당을 함유하는 식혜에 젖산균 및 효모를 첨가하여 처리하는 단계를 포함하는 발효 음료의 제조 방법, 및 상기 방법에 의하여 제조되는 발효 음료에 관한 것이다.

대표도 - 도5



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20100196

부처명 교육인적자원부

연구사업명 2010년 선정 중점연구소 신진연구지원 (연구비지원 1차년도)

연구과제명 기능성 당류 생산이 가능한 생물신소재 *Leuconostoc mesenteroides* 균주 개발

주관기관 세종대학교산학협력단

연구기간 2010.05.01 ~ 2012.04.30

특허청구의 범위

청구항 1

수용체당(acceptor sugar)을 함유하는 식혜를 제조하는 단계; 및,
상기 수용체당을 함유하는 식혜에 젖산균 및 효모를 첨가하여 처리하는 단계:
를 포함하는, 발효 음료의 제조 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
상기 수용체당은 설탕(sucrose), 맥아당(maltose), 및 이들의 조합들로 이루어진 군에서 선택되는 것을 포함하는 것인, 발효 음료의 제조 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
상기 젖산균은, 상기 수용체당의 존재 하에 발효를 일으켜 다당류를 생성하는 균주를 포함하는 것인, 발효 음료의 제조 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,
상기 젖산균은 김치에서 분리한 것을 포함하는, 발효 음료의 제조 방법.

청구항 5

제 3 항에 있어서,
상기 다당류는 덱스트란(dextran)을 포함하는 것인, 발효 음료의 제조 방법.

청구항 6

제 5 항에 있어서,
상기 덱스트란은 기능성 올리고당의 형태로 전환될 수 있는 것인, 발효 음료의 제조 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서,
상기 기능성 올리고당은 이소말토 올리고당을 포함하는 것인, 발효 음료의 제조 방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서,
상기 효모는 탁주에서 분리한 것을 포함하는, 발효 음료의 제조 방법.

청구항 9

제 1 항에 있어서,
상기 수용체당을 함유하는 식혜를 제조하는 단계는 4 시간 내지 6 시간 동안 수행되는 것을 포함하는, 발효 음료의 제조 방법.

청구항 10

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항의 방법에 의하여 제조되는, 발효 음료.

청구항 11

제 10 항에 있어서,
상기 발효 음료는, 기능성 올리고당 및 알코올을 포함하는 것인, 발효 음료.

청구항 12

제 11 항에 있어서,
상기 기능성 올리고당은 이소말토 올리고당을 포함하는 것인, 발효 음료.

청구항 13

제 12 항에 있어서,
상기 이소말토 올리고당은 혈중 포도당 상승 속도의 저하 효과 또는 장 운동 증진 효과를 가지는 것인, 발효 음료.

청구항 14

제 11 항에 있어서,
상기 발효 음료 중 상기 알코올의 함량은 1 %(w/v) 내지 8 %(w/v)인, 발효 음료.

명세서

기술분야

[0001] 본원은, 식혜 발효 음료 및 상기 식혜 발효 음료의 제조 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 식혜는 우리나라의 전통적인 음청류로서, 그 제조 방법은 다양하나 공통적으로 엿기름의 맥아효소를 이용하여 쌀 전분을 당화시키는 제조 과정을 포함하며, 기호에 따라 설탕, 꿀, 생강 등을 첨가하여 끓여 식힌 후 음용한다. 설탕이 첨가되지 않은 전통음료로서의 식혜는 전분으로부터 생성되는 말토덱스트린이나 맥아당과 같은 당

류, 엷기름에서 비롯된 비타민과 무기질류 등을 함유하고 있어 식품 영양성이 높다. 다만, 현재 대다수의 식혜 생산업체에서는 식혜 제조시 제조 공정을 간단히 하고 제조 단가를 줄이기 위해 맥아당의 함량을 1 % 이하로 하고 있으며, 부족한 단맛을 보충하기 위해서 설탕을 평균 9.6 % 사용하고 있다.

[0003] 식혜의 관한 연구는 식혜에 주재료인 쌀을 현미, 유색미 등으로 대체한 연구, 식혜에 황기 농축액이나 헛개 나 무추출액 등의 기능성 농축액을 첨가한 연구가 대부분을 차지하고 있으며, 그 밖에 안동 식혜에 관한 연구도 이루어지고 있는데, 예컨대, 한국등록특허 10-0467526 "유산균 식혜 및 그의 제조 방법" 등을 들 수 있다. 그러나, 전통 식혜에 유용한 미생물을 첨가하여 제조한 기능성 음료에 대한 연구는 미비한 실정이며, 특히 식혜 제조 과정에서 사용된 미생물 외에 다른 출처를 지닌 미생물을 추가적으로 첨가하여 기능성 음료를 제조하고자 한 시도는 거의 전무하였다. 이에 따라, 종래 기술에 따라 제조된 음료는 전통적인 식혜의 범주를 벗어나지 않는 것이었으며, 식혜에서 비롯된 새로운 기능성 음료로 보기는 어려운 것이었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명자들은, 종래 기술과는 달리 제조된 식혜에 김치, 탁주 등의 다른 식품 출처로부터 분리된 유용한 미생물을 추가적으로 첨가함으로써, 기존의 식혜와는 다른 새로운 기능성 음료를 제조할 수 있음을 발견하여 본원을 완성하였다.

[0005] 이에, 본원은, 기능성 올리고당 및 알코올을 포함하는 식혜 발효 음료 및 상기 식혜 발효 음료의 제조 방법을 제공하고자 한다.

[0006] 그러나, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 본원의 제 1 측면은, 수용체당(acceptor sugar)을 함유하는 식혜를 제조하는 단계; 및, 상기 수용체당을 함유하는 식혜에 젖산균 및 효모를 첨가하여 처리하는 단계: 를 포함하는, 발효 음료의 제조 방법을 제공한다.

[0008] 본원의 제 2 측면은, 상기 본원의 제 1 측면의 방법에 의하여 제조되는, 발효 음료를 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본원에 의하여 제조된 기능성 올리고당 및 알코올을 포함하는 식혜 발효 음료는, 기능성 올리고당을 포함한다는 점에서 기능성 음료로서 음용될 수 있고, 알코올을 포함한다는 점에서 기호 음료로서 음용될 수 있다.

[0010] 우선, 기능성 올리고당을 포함한다는 점과 관련된 효과를 살펴보도록 한다. 현재 국내 식품 제조업체에서는 자연적인 올리고당을 추출하거나, 또는 효소를 이용하여 인공적으로 올리고당을 생산하여, 이를 식품에 첨가함으로써 식품의 부가가치나 영양기능성을 높이고 있다. 이때 주로 사용되는 대표적인 기능성 올리고당으로는, 예컨대, 프락토 올리고당(fructooligosaccharide), 이소말토 올리고당(isomaltooligosaccharide) 등을 들 수 있다. 특히, 이소말토 올리고당은, 단당류로서 포도당을 포함하고 당간 결합 형태로서 α -1,6 주 결합, 및 α -1,2; α -1,3; 또는 α -1,4 가지 결합을 포함하는 기능성 올리고당으로서, 최근 유럽 연합으로부터 그 건강 기능성을 승인 받은 물질이다. 상기 이소말토 올리고당의 건강 기능성으로는, 예컨대, 혈중 포도당의 상승 속도 저하 효과, 장 운동 증진 효과 등을 들 수 있다. 또한, 상기 이소말토 올리고당은 비피더스 균의 생육인자(Growth Factor)로서 작용할 수 있으며, 상기 비피더스 균은 소화 흡수를 도와주는 비타민을 형성하고 다른 유해 세균의 증식을 억제함으로써 궁극적으로 장 건강을 증진시키는 효과가 있다. 또한 상기 이소말토 올리고당은 단 맛을 내면서도 글루칸(Glucan)을 생성하지 않는 물질인데, 상기 글루칸은 충치의 원인이 되는 물질인바, 상기 이소말토 올리고당을 설탕 대체용 감미료로서 이용할 경우 충치 예방에 도움이 될 수 있다. 본원에 따른 식혜 발효 음료는, 기능성 올리고당인 이소말토 올리고당을 포함함으로써, 상기 혈중 포도당의 상승 속도 저하, 장 운동 증진 효과, 비피더스 균에 의한 장 건강 증진 효과, 충치 예방 효과 등의 건강 기능성을 보유할 수 있

다.

[0011] 다음으로, 알코올을 포함한다는 점과 관련된 효과를 살펴보도록 한다. 본원에 따른 식혜 발효 음료는, 발효 시간 및 발효를 위해 첨가되는 젖산균 및 효모의 양에 따라 그 정도가 다르기는 하지만, 약 1 %(w/v) 내지 약 8 %(w/v)의 알코올을 포함하게 된다. 이처럼 본원에 따른 식혜 발효 음료가 적은 양의 알코올을 포함하게 됨에 따라, 주류를 대체할 기호 음료로서 응용될 가능성을 지니게 된다. 또한, 알코올 함량이 특정되는 것이 아니라 제조 조건에 따라 변화시킬 수 있다는 점 또한 본원 발명의 효과 중 하나로 볼 수 있다.

[0012] 본원에 따른 식혜 발효 음료는 그 제조 과정이 복잡하지 않으며, 제조 단가도 비싸지 않고, 기능성 음료 및 기호 음료로서 응용될 수 있다는 점에서 식품 산업 분야에서 높은 활용 가능성을 보유한다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은, 본원의 일 실시예에 있어서, 식혜 제조 과정 중의 pH 변화 및 가용성 고형물(°Brix) 변화를 1 시간 간격으로 측정하여 나타낸 그래프이다.

도 2는, 본원의 일 실시예에 있어서, 제조된 식혜의 발효 과정 중의 pH 변화를 3 시간 간격으로 측정하여 나타낸 그래프이다.

도 3은, 본원의 일 실시예에 있어서, 제조된 식혜의 발효 과정 중의 가용성 고형물(°Brix) 변화를 3 시간 간격으로 측정하여 나타낸 그래프이다.

도 4는, 본원의 일 실시예에 있어서, 제조된 식혜의 발효 과정 중의 적정 산도 변화를 3 시간 간격으로 측정하여 나타낸 그래프이다.

도 5는, 본원의 일 실시예에 있어서, 제조된 식혜, 및 효모 또는 젖산균을 처리하여 발효된 식혜의 당 함량을 정성적으로 나타낸 TLC 결과이다.

도 6은, 본원의 일 실시예에 있어서, 제조된 식혜의 발효 과정 중의 에탄올 함량 변화를 3 시간 간격으로 측정하여 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 이하, 첨부한 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명한다.

[0015] 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 구현예 및 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.

[0016] 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0017] 본 명세서에서 사용되는 정도의 용어 "약", "실질적으로" 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로서 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다. 또한, 본원 명세서 전체에서, "~ 하는 단계" 또는 "~의 단계"는 "~를 위한 단계"를 의미하지 않는다.

[0018] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명한다.

[0019] 본원의 제 1 측면은, 수용체당(acceptor sugar)을 함유하는 식혜를 제조하는 단계; 및, 상기 수용체당을 함유하는 식혜에 젖산균 및 효모를 첨가하여 처리하는 단계: 를 포함하는, 발효 음료의 제조 방법을 제공한다.

[0020] 상기 수용체당(acceptor sugar)이란, 포도당이 텍스트란 등의 다당류가 되기 위하여 포도당 중합반응(glucose polymerization) 등의 당전이 반응(당 복합체 형성 반응)을 일으킬 때 상기 반응에 함께 참여할 수 있는 단당류, 이당류, 또는 올리고당류의 물질로서, 설탕이 텍스트란으로 되는 반응이 일어날 때 이에 함께 참여할

수 있는 대표적인 수용체당(acceptor sugar)은 하기 표 1의 좌측에 나타낸 바와 같다. 또한, 상기 수용체당이 반응에 참여함으로써 생성되는 당류는 표 1의 "생성물"로서 나타낸 바와 같다. 예를 들어, 본원의 발효 음료 제조에 있어서는 수용체당으로서 말토오스(maltose)를 사용할 수 있으며, 이에 따라 생성물로서 이소말토덱스트린(isomaltodextrin)이 생성될 수 있으나, 본원이 이에 제한되는 것은 아니다:

표 1

수용체당 (acceptor sugar)	생성물
D-glucose	Isomaltodextrin
α -methyl-D-glucose	α -methyl-isomaltoside
D-fructose	Leucrose, Somaltulose
D-mannose	α -D-glucopyransol- β -D-mannopyranoside
D-galactose	α -D-glucopyransol- β -D-galactofuranoside
Isomaltose	Isomaltodextrin
Maltose	Panose, higher isomaltodextrin
Cellobiose	2- α -isomaltodextrinyl-cellobiose
Kojibiose	2- α -isomaltosyl-D-glucose
Nigerose	3- α -isomaltosyl-D-glucose
Lactose	2- α -D-glucopyranosyl-lactose
Raffinose	2- α -D-glucopyranosyl-raffinose
B-521F dextran	α -1,3-dextranosyl-dextran α -1,3-glucopyransol-dextran

본원의 일 구현예에 따르면, 상기 수용체당은 설탕(sucrose), 맥아당(maltose), 및 이들의 조합들로 이루어진 군에서 선택되는 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본원의 일 구현예에 따르면, 상기 젖산균은 상기 수용체당의 존재 하에 발효를 일으켜 다당류를 생성하는 균주를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본원의 일 구현예에 따르면, 상기 젖산균은 김치에서 분리한 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본원의 일 구현예에 따르면, 상기 수용체당의 존재 하에 상기 젖산균이 발효를 일으켜 생성되는 상기 다당류는 덱스트란(dextran)을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본원의 일 구현예에 따르면, 상기 덱스트란은 기능성 올리고당의 형태로 전환될 수 있는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본원의 일 구현예에 따르면, 상기 기능성 올리고당은 이소말토 올리고당을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

김치 발효의 초기 과정에 관여하는 균주 중에서는 수크로오스의 존재 하에 발효 과정을 거치면서 덱스트란과 같은 다당류를 생산하는 젖산균도 있는데, 이형젖산발효균인 *Leuconostoc mensenteroides*, 또는 *Weissella* 속 균들이 이에 속한다.

*Leuconostoc mensenteroides*는, 덱스트란수크라아제(dextranase)와 같은 효소를 분비하여 수크로오스로부터 글루코오스를 유리시키는 동시에 고분자 중합반응을 촉매함으로써 고분자 점질성 물질인 덱스트란과 같은 다당류를 생산할 수 있다. 또한, 수크로오스와 함께 말토오스 또는 이소말토오스와 같은 물질이 존재하는 경우에는, 상기 말토오스 또는 이소말토오스에도 글루코오스가 전달되게 되는데, 이때 말토오스와 같은 탄수화물을 수용체당(acceptor sugar)이라고 한다. 이와 같이 수크로오스와 상기 수용체당이 함께 존재하는 경우, 생성된 덱스트란이 이소말토 올리고당 등의 수용체 산물로 전환될 수도 있다. 이러한 방법으로 이소말토 올리고당이 생성되는 것을 일컬어 수용체 반응(Acceptor reaction)이라고 한다.

본원에서는 본원에 따른 발효 음료에 이소말토 올리고당 등의 기능성 올리고당이 포함되도록 하기 위하여, *Leuconostoc mensenteroides* 등의 김치로부터 분리된 젖산균을 균주로서 이용하고 식혜에 포함된 수크로오스 및 말토오스를 기질로서 이용할 수 있으나, 본원이 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0031] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 효모는 탁주에서 분리한 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본원의 발효 음료 제조 방법에 있어서, 상기 효모는 알코올 발효에 참여함으로써 상기 발효 음료가 알코올을 함유할 수 있도록 하는 역할을 담당할 수 있으나, 본원이 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0032] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 본원의 제 1 측면의 발효 음료 제조 방법에 있어서, 상기 수용체당을 함유하는 식혜를 제조하는 단계는 약 4 시간 내지 약 6 시간 동안 수행되는 것을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본원의 도 1을 참조하면, 식혜를 제조하는 단계에 투여되는 시간에 따른 가용성 고형물의 생성량을 알 수 있는데, 약 5 시간이 경과한 이후로는 상기 가용성 고형물의 생성량의 증가율이 둔화된다. 따라서, 제조 시간이 제조 비용에 영향을 미친다는 점을 감안할 때, 시간 대비 가용성 고형물의 생성량을 최대화할 수 있는 시간을 투여하여 식혜를 제조하는 것이 바람직하며, 예를 들어, 약 4 시간 내지 약 6 시간 동안 식혜 제조 과정을 수행할 수 있을 것이나, 본원이 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0033] 본원의 제 2 측면은, 상기 본원의 제 1 측면의 방법에 의하여 제조되는, 발효 음료를 제공한다.
- [0034] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 발효 음료는, 기능성 올리고당 및 알코올을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 발효 음료 중 상기 기능성 올리고당은 주로 젖산균에 의해 생성되고, 상기 알코올은 주로 효모에 의해 생성되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0035] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 기능성 올리고당은 이소말토 올리고당을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0036] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 이소말토 올리고당은 혈중 포도당 상승 속도의 저하 효과 또는 장 운동 증진 효과를 가지는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0037] 올리고당이란 단당류가 당간 결합을 통해 결합한 약 2 개 내지 약 20 개의 당을 통칭하는 것으로서, 이를 구성하는 단당류 및 상기 당간 결합의 종류에 따라 명칭이 달라진다. 식품 제조업계에서는 자연적인 올리고당을 추출하거나, 또는 효소를 이용하여 인공적으로 올리고당을 생산하여, 이를 식품에 첨가함으로써 식품의 부가가치나 영양기능성을 높이고 있다. 국내 식품 업계에서 많이 사용되는 대표적인 기능성 올리고당은, 예를 들어, 프락토 올리고당(fructooligosaccharide), 이소말토 올리고당(isomaltooligosaccharide) 등이 있다.
- [0038] 특히, 이소말토 올리고당(Isomaltooligosaccharides, IMO)은, 단당류로서 포도당을 포함하고 당간 결합 형태로서 α -1,6 주결합, 및 α -1,2; α -1,3; 또는 α -1,4 가지결합을 포함하는 기능성 올리고당으로서, 최근 유럽 연합으로부터 그 건강 기능성을 승인 받은 물질이다. 상기 이소말토 올리고당의 건강 기능성으로는, 예컨대, 혈중 포도당의 상승 속도 저하, 장 운동 증진 등을 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 이소말토 올리고당은 비피더스 균의 생육인자(Growth Factor)로서 작용할 수 있으며, 상기 비피더스 균은 소화 흡수를 도와주는 비타민을 형성하고 다른 유해 세균의 증식을 억제함으로써 궁극적으로 장 건강을 증진시키는 효과가 있다. 또한 상기 이소말토 올리고당은 단 맛을 내면서도 글루칸(Glucan)을 생성하지 않는 물질인데, 상기 글루칸은 충치의 원인이 되는 물질인바, 상기 이소말토 올리고당을 설탕 대체용 감미료로서 이용할 경우 충치 예방에 도움이 될 수 있다.
- [0039] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 발효 음료 중 상기 알코올의 함량은 약 1 %(w/v) 내지 약 8 %(w/v)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본원의 발효 음료는 효모에 의하여 생성되는 알코올을 소량 포함함으로써 기존의 주류를 대체할 수 있는 기호 식품으로서의 가능성을 가지는 동시에, 앞서 살펴본 바와 같이 기능성 올리고당을 함유하여 기능성 식품으로서의 가능성 또한 가지고 있는 것이며, 상기 알코올의 함량은 상기 발효 음료의 제조 조건을 변화시킴으로써 조절할 수 있다.
- [0040] 이하, 본원에 대하여 실시예를 이용하여 좀더 구체적으로 설명하지만, 본원이 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0041] [실시예]
- [0042] 1. 발효 음료의 제조

- [0043] 본 실시예에서는, 본원에 따른 발효 음료의 제조 과정을 3 개의 단계, 즉, 젖산균 및 효모를 분리하는 단계, 식혜를 제조하는 단계, 및 상기 식혜에 상기 젖산균 및 효모를 첨가하여 처리하는 단계로 구분하고, 이하 상기 각 단계를 구체적으로 설명하기로 한다.
- [0044] **(1) 젖산균 및 효모를 분리하는 단계**
- [0045] 본 실시예에 있어서, 젖산균은 서울 성동구 화양동 소재 시장에서 구입한 김치로부터 분리하였다. 구체적으로, Difco사 MRS 배지 조성(Detroit, MI, USA)과 함께 제조한 설탕 아가(sucrose agar) 배지에 소듐 아자이드(sodium azide) 0.005 %(w/v)를 첨가한 배지를 형성한 후, 상기 배지에서 김치로부터 분리된 젖산균을 배양하여, 탄소원을 설탕(sucrose)으로 한 배지 상에서 텍스트란을 포함하는 점질물을 생성하는 젖산균을 선택 · 분리하여 사용하였다.
- [0046] 한편, 본 실시예에 있어서, 효모는 시중 막걸리 제품으로부터 분리하였다. 구체적으로, 시중 막걸리(장수 생막걸리, 서울탁주) 제품을 YMPGA 배지(Yeast extract 3 %(w/v), Malt extract 3 %(w/v), Peptone 5 %(w/v), Glucose 10 %(w/v), Agar 2 %(w/v))에 처리하여 분리한 효모를 사용하였다.
- [0047] **(2) 식혜를 제조하는 단계**
- [0048] 본 실시예에 있어서, 식혜를 제조하기 위한 원료인 쌀은 천안시에서 생산된 일반계 맵쌀을 사용하였으며, 엿기름은 (주) 청구식품에서 제조된 엿기름(대맥 70 % 한국산, 소맥 30 % 미국산)을 사용하였다. 설탕은 정백당(CJ, 서울)을 사용하였다.
- [0049] 본 실시예의 식혜 제조 과정을 시계열적인 순서에 따라 설명하면 다음과 같다. 먼저, 쌀 300 g을 5 회 세척하고 600 mL의 물에 2 시간 동안 침지한 뒤, 15 분간 체에 받쳐 물기를 제거하였고, 물 450 mL을 넣어 밥을 지었다. 한편, 식혜 제조를 위해 첨가할 엿기름 액은, 엿기름 300 g에 물 3000 mL을 첨가하고, 20℃에서 30 분 간격으로 저어주면서 2 시간 30 분에 걸쳐 추출하는 방법으로 제조하였다. 상기와 같이 제조한 엿기름 액에 지어진 밥을 첨가하고 잘 섞어 준 뒤, 56℃에서 교반하면서 1 시간 간격으로 제조된 식혜를 채취하여 당도, 및 pH를 측정하였다.
- [0050] 한편, 4 시간에 걸쳐 당화된 식혜에 설탕을 10 % 첨가하여 15 분간 끓여주었고, 121 ℃에서 15 분간 멸균한 뒤, -60℃ 냉동 보관하면서 사용하였다.
- [0051] **(3) 식혜에 젖산균 및 효모를 첨가하여 처리하는 단계 (발효 단계)**
- [0052] 상기 방법으로 제조된 식혜를 35 ℃가 되도록 한 뒤, 식혜 300 mL에 발효 음료 제조를 위한 균주를 1 mL씩 접종하였으며, 30 ℃에서 72 시간 동안 발효시켰다. 상기 접종한 균주는 3 가지 종류였는데, 구체적으로, 비교예로서 젖산균만을 접종한 식혜(비교예 1), 및 효모만을 접종한 식혜(비교예 2)를 준비하였으며, 실시예로서 젖산균 및 효모를 접종한 식혜(실시예)를 준비하여 발효 단계를 진행하였다.
- [0053] **2. 발효 음료의 특성 분석**
- [0054] 본 실시예에 따라 제조된 발효 음료의 특성의 분석 방법 및 상기 분석 방법에 따라 수득한 분석 결과에 대하여, 이하 구체적으로 설명하기로 한다.
- [0055] **(1) 식혜를 제조하는 과정 중의 pH 변화 및 가용성 고형물(°Brix) 변화**
- [0056] 식혜를 제조하는 과정 중의 pH 변화 및 가용성 고형물(°Brix) 변화는 1 시간 간격으로 측정하였다. 구체적으로, pH 변화는 pH meter(Satious, PB-101, Germany)를 이용하여 측정하였고, 가용성 고형물(°Brix) 변화는 당도계(ATAGO, PR-10, Japan)를 이용하여 측정하였다. 가용성 고형물(°Brix) 변화를 측정하기 위해서, 식혜 제조 과정 중에 1 시간 간격으로 추출한 시료를 1.5 mL 취한 뒤 이를 2000 x g 에서 10분간 원심분리함으로써 수득한 상층액을 이용하였다.

[0057] 상기 방법으로 측정된 식혜 제조 과정 중의 pH 변화 및 가용성 고형물(°Brix) 변화는 도 1에 나타난 바와 같다. 먼저, pH 변화를 살펴보면, 식혜 제조 시작 후 3 시간이 될 때 까지는 pH 5.98에서 pH 6.21까지 유의적으로 증가하는 양상을 보였으나, 4 시간 이후부터는 더 이상 변화를 보이지 않고 pH 6.08로 유지되었다.

[0058] 한편, 가용성 고형물(°Brix)은 식혜 제조 시작 후 시간이 흐름에 따라 그 함량이 유의적으로 증가하여, 매시간마다 약 1°Brix 이상 증가하는 경향을 보였다. 다만, 식혜 제조 시작 후 4 시간이 경과한 뒤부터는 증가폭이 감소하였으며, 5시간 이후에는 약 0.3°Brix 정도만 증가하는 경향을 보였다. 이와 같은 분석 결과를 통하여, 식혜 제조 과정에 투입되는 시간은 가용성 고형물의 함량을 시간 대비 최대화할 수 있는 5 시간 정도가 바람직함을 알 수 있었다.

[0059] (2) 식혜를 발효시키는 과정 중의 pH 변화, 가용성 고형물(°Brix) 변화, 및 적정 산도 변화

[0060] 식혜 제조를 마친 뒤, 젖산균 또는 효모를 첨가하여 제조된 식혜를 발효시키는 과정 중의 pH 변화 및 가용성 고형물(°Brix) 변화를 3 시간 간격으로 측정하였다. 구체적으로, pH 변화는 pH meter(Satirious, PB-101, Germany)를 이용하여 측정하였고, 가용성 고형물(°Brix) 변화는 당도계(ATAGO, PR-10, Japan)를 이용하여 측정하였다. 가용성 고형물(°Brix) 변화를 측정하기 위해서, 식혜 발효 과정 중에 3 시간 간격으로 추출한 시료를 1.5 mL 취한 뒤 이를 2000 x g 에서 10 분간 원심분리함으로써 수득한 상층액을 이용하였다.

[0061] 한편, 식혜를 발효시키는 과정 중의 적정 산도 변화를 측정하기 위하여, 식혜 발효 과정 중에 3 시간 간격으로 추출한 시료를 10 mL 취한 뒤 이에 증류수 40 mL를 가하고, 0.1 N 농도의 NaOH를 이용하여 pH 8.2 값으로 적정 되기까지 소비된 0.1 N 농도의 NaOH의 양(mL)을 기록하였다.

[0062] 상기 방법으로 측정된 식혜 발효 과정 중의 pH 변화, 가용성 고형물(°Brix) 변화, 및 적정 산도 변화는 각각 도 2, 도 3, 및 도 4에 나타난 바와 같다. 제조된 식혜를 발효시켜 발효 음료를 제조할 경우 상기 발효를 위하여 식혜에 접종되는 균주 각각의 역할을 보다 명확히 하기 위하여 3 가지 시료를 이용하였기 때문에, 이에 따라 도 2, 도 3, 및 도 4의 그래프 또한 각각 3 개씩 나타내었다. 상기 3 가지 시료는, 젖산균만을 접종한 식혜(비교예 1), 효모만을 접종한 식혜(비교예 2), 및 젖산균 및 효모를 접종한 식혜(실시예)였다.

[0063] 먼저, 식혜 발효 과정 중의 pH 변화는 도 2를 통하여 확인할 수 있다. 비교예 1, 비교예 2, 및 실시예 모두에 있어서, 시료를 준비한 직후의 pH는 모두 pH 5.91 이었으며, 12 시간이 경과될 때까지는 시간이 경과됨에 따라 pH가 급격하게 감소되었고, 이 후 24 시간이 경과될 때까지는 시간이 경과됨에 따라 pH가 비교적 완만하게 감소되었으며, 24 시간 경과 후부터는 pH 3 전후의 값으로 유지되는 양상을 보였다. 다만, 효모만을 접종한 식혜(비교예 2)의 경우, 24 시간이 경과될 때까지 pH가 감소되는 속도가 가장 느렸다.

[0064] 다음으로, 식혜 발효 과정 중의 가용성 고형물(°Brix) 변화는 도 3을 통하여 확인할 수 있다. 젖산균만을 접종한 식혜(비교예 1)의 경우, 0 시간 때의 가용성 고형물 함량이 17.2 °Brix 였고, 3 시간 경과 후에 16.9 °Brix, 24 시간 경과 후에 16.7 °Brix, 72 시간 경과 후에 16.5 °Brix로, 시간 경과에 따라 가용성 고형물의 함량이 크게 변화하지 않았다. 반면, 효모만을 접종한 식혜(비교예 2)의 경우, 0시간 때의 가용성 고형물 함량은 17.2 °Brix 였으나, 효모 접종 후 3 시간이 경과한 후부터 9 시간이 경과할 때까지는 느린 속도로, 그리고 발효가 활발히 진행되는 시점인 9 시간이 경과한 후부터는 지속적으로 급격한 속도로 가용성 고형물 함량이 감소하였다. 특히, 효모만을 접종한 식혜(비교예 2)의 경우, 3 가지 시료 중 가용성 고형물의 변화량이 가장 커서, 72 시간이 경과한 후에는 가장 낮은 값을 나타내었다. 또한, 젖산균 및 효모를 동시에 접종한 식혜(실시예)의 경우, 비교예 2만큼 변화량이 크지는 않았으나, 변화 양상은 비교예 2와 유사하였다.

[0065] 마지막으로, 식혜 발효 과정 중의 적정 산도 변화는 도 4를 통하여 확인할 수 있다. pH 적정을 위하여 소비된 0.1 N 농도의 NaOH 양은, 젖산균 및 효모를 접종한 식혜(실시예), 젖산균만을 접종한 식혜(비교예 1), 효모만을 접종한 식혜(비교예 2) 순이었으며, 모든 시료에서 24시간이 경과한 이후로는 적정 산도에 큰 변화가 없었다.

[0066] (3) 발효 음료에 포함된 당 함량의 변화

[0067] 발효 음료에 포함된 당 함량의 변화를 확인하기 위하여, 본 실시예에서는 TLC(Thin Layer Chromatography, 박막 크로마토그래피) 방법을 이용하였다. 구체적으로, 4 종류의 시료 각각을 TLC 플레이트(Merck, TLC Silica gel 60 F254, Germany)에 점적하고 완전히 건조시켰다. 그 후, 니트로메탄 : 이소프로판올 : 물을 2 : 5 : 1.5로 혼합하여 만든 전개용매를 이용하여 2 시간 30 분 동안 전개시키고, 완전히 건조시켰다. 그 후, 다시 2 시간

30 분 동안 전개시켜 건조시켰으며, 발색시약(에탄올 95 %, SO_4 5 %, 나프타 0.3 %)으로 처리하고 110℃의 고온에서 12분 동안 건조시켰다. 상기 4 종류의 시료는, 젖산균만을 접종한 식혜(비교예 1), 효모만을 접종한 식혜(비교예 2), 어떠한 균주도 접종하지 않은 식혜(비교예 3), 및 젖산균 및 효모를 접종한 식혜(실시예)였다.

[0068] 상기 방법으로 측정된 발효 음료에 포함된 당의 함량은 도 5에 나타내었다. 도 5의 세로축의 영문 약자들 중, F는 프럭토오스(Fructose), G는 글루코오스(Glucose), M은 말토오스(Maltose), S는 수크로오스(Sucrose), O는 올리고당(Oligosaccharise)를 의미한다.

[0069] 도 5 중 어떠한 균주도 접종하지 않은 식혜(비교예 3)의 경우를 참조하면, 시간이 경과함에 따라 M(말토오스)의 점적이 짙어졌는데, 이를 통해 식혜 제조가 진행됨에 따라 말토오스가 생성되었음을 확인할 수 있었다.

[0070] 한편, 도 5 중 효모만을 접종한 식혜(비교예 2)의 경우를 참조하면, 24시간 경과 후부터는 S(수크로오스)의 점적이 사라졌는데, 이를 통해 효모는 발효 과정 중에 주로 수크로오스를 기질로서 이용한다는 것을 확인할 수 있었다. 비교예 2에서, S(수크로오스)와는 달리 M(말토오스)는 72 시간이 경과할 때까지 점적이 남아있었는데, 이를 통해 효모는 발효 과정 중에 마로오스를 기질로서 이용하지 않음을 확인할 수 있었다. 또한, 비교예 2에서, O(올리고당)은 형성되지 않았다.

[0071] 한편, 도 5 중 젖산균만을 접종한 식혜(비교예 1)의 경우를 참조하면, 72 시간이 경과할 때까지 S(수크로오스)와 M(말토오스)의 점적이 모두 남아 있었는데, 이를 통해 젖산균에 의한 발효 과정에서는 당의 분해가 활발히 일어나지 않는다는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 비교예 1의 경우에는 O(올리고당)의 점적이 약간 관찰되어, 약간의 올리고당이 생성되었음을 알 수 있었다.

[0072] 한편, 도 5 중 젖산균 및 효모를 동시에 접종한 식혜(실시예)에서는 S(수크로오스)의 분해가 24 시간이 경과할 때까지 이루어짐을 확인할 수 있었으며, 약간의 O(올리고당) 점적이 관찰되어 약간의 올리고당이 생성되었음을 알 수 있었다. 젖산균은 S(수크로오스)가 존재하는 환경에서 M(말토오스)를 수용체로 하여 올리고당을 형성할 수 있는 것으로 알려져 있는데, 이를 참조하면, 본 실시예에 있어서 젖산균이 올리고당을 생성하는 역할을 수행하였음을 확인할 수 있다.

[0073] (4) 발효 음료에 포함된 알코올 함량의 변화

[0074] 본 실시예에서 3 종류의 시료 각각의 알코올 함량의 변화를 측정하기 위하여, Sugar pak(6.5×300 mm) 컬럼과 Waters RI-2414 검출기를 사용하였다. 대조군으로서 에탄올(99.9%) 1 g에 증류수를 가하여 100 g(w/w)를 만들고, 3 종류의 시료 각각은 1 ° Brix로 희석하여 알코올 농도를 분석하였다. 이동상으로는 물을 사용하였으며, 유량(flow rate)은 0.6 mL/min, 오븐 온도는 80℃, 주입 부피(injection volume)는 20 μL 이었다. 알코올 함량의 변화를 측정된 3 종류의 시료는, 젖산균만을 접종한 식혜(비교예 1), 효모만을 접종한 식혜(비교예 2), 및 젖산균 및 효모를 접종한 식혜(실시예)였다.

[0075] 상기 방법으로 측정된 발효 음료에 포함된 알코올의 함량은 도 6에 나타내었다.

[0076] 먼저, 효모만을 접종한 식혜(비교예 2)의 경우, 6 시간이 경과할 때까지는 알코올이 거의 생성되지 않았으나 9 시간이 경과한 후에는 소량 생성되기 시작하였으며, 48 시간이 경과할 때까지는 알코올 함량이 증가하다가 이후 감소하기 시작하였다. 비교예 2의 경우, 최종적인 알코올 함량은 약 3 %(w/v)로 수렴하였다. 이와 같은 결과를 볼 때, 효모에 의한 알코올 발효는 48 시간이 경과할 때까지만 활발하게 일어나는 것으로 추정된다.

[0077] 다음으로, 젖산균만을 접종한 식혜(비교예 1)의 경우, 시간 경과에 상관없이 알코올이 생성되지 않았다. 다만, 앞서 분석한 pH 변화나 적정 산도 변화 등을 고려할 때, 비교예 1처럼 젖산균만을 접종한 경우에는 12 시간이 경과할 때까지 발효가 진행되고, 그 이후에는 발효가 활발히 일어나지 않는 것으로 추정된다. 이는, 시간이 경과함에 따라 pH가 저하되면서 젖산균의 생육적정 pH인 pH 5 이하의 산도 조건이 형성되어 젖산균의 생장이 늦어졌기 때문이거나, 또는 당분해 효소의 활성이 저해되어 효과적인 발효가 어려워졌기 때문인 것으로 판단된다. 참고로, 본원에서 이용한 젖산균의 최적 pH는 pH 5.8이고 최적 온도는 28℃였으며, 상기 최적 pH 및 최적 온도의 조건을 충족시켰을 경우 상기 젖산균에 의한 발효가 가장 활발하게 일어나면서 과량의 이소말토 올리고당이 생성되었다.

[0078] 마지막으로, 젖산균 및 효모를 동시에 접종한 식혜(실시예)의 경우, 6 시간이 경과할 때까지는 알코올이 거의 생성되지 않았으나 9 시간이 경과한 후에는 소량 생성되기 시작하였으며, 72 시간까지는 그 생성량이 꾸준히 증

가하여 약 4 %(w/v)까지 생성되었다.

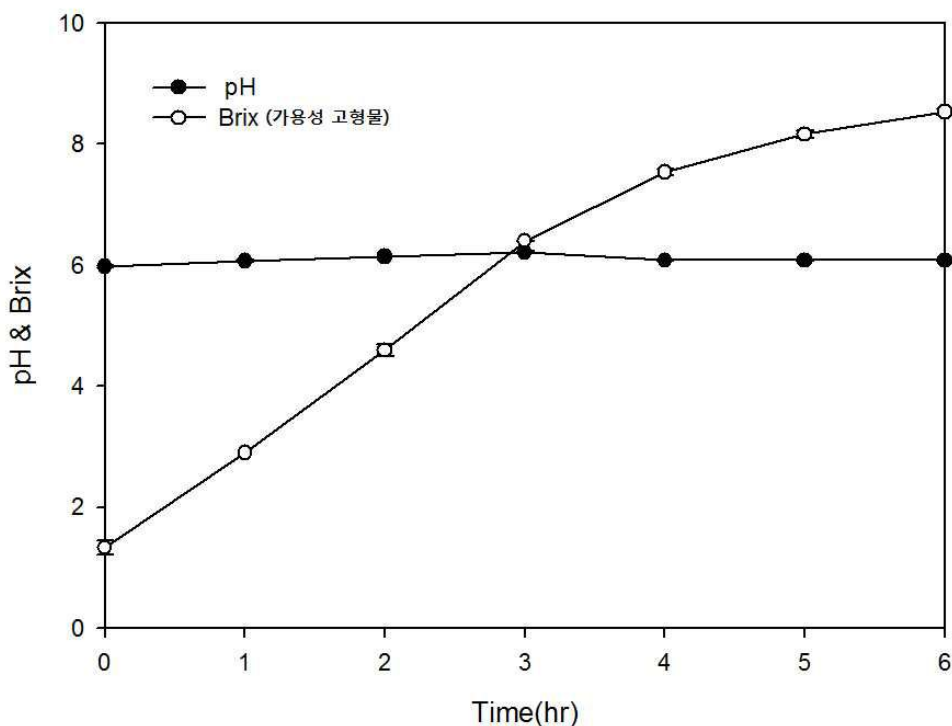
[0079] 본 실시예에 따른 발효 음료의 특성 분석 결과를 정리하여보면, 젖산균만을 접종한 식혜(비교예 1)의 경우 올리고당은 생성되었으나 알코올은 생성되지 않았으며, 효모만을 접종한 식혜(비교예 2)의 경우 알코올은 생성되었으나 올리고당이 생성되지 않았다. 따라서, 알코올과 올리고당을 모두 함유하는 발효 음료를 제조하기 위해서는 실시예와 같이 젖산균 및 효모를 동시에 접종해야 함을 알 수 있다. 젖산균 및 효모를 동시에 접종함으로써 얻을 수 있는 또 다른 효과는 당을 효율적으로 이용할 수 있다는 것이다. 젖산균은 발효를 빠르게 시작하지만 발효 진행 과정에서 산도가 높아짐에 따라 생장을 멈추는 속도 또한 빠르다. 반면, 효모는 발효를 느리게 시작하지만 산도에 영향을 덜 받기 때문에 높은 산도 조건에서도 생장을 멈추지 않고 잔존하는 당을 소비하며 알코올을 생성한다. 따라서, 식혜에 젖산균 및 효모를 동시에 접종하여 발효 음료를 제조한 뒤 젖산균의 단독발효에 의하여 생성된 젖산량을 적절하게 조절함으로써, 적절한 산도와 향미를 가지는 기능성 알코올 함유 발효 음료를 제조할 수 있다.

[0080] 전술한 본원의 설명은 예시를 위한 것이며, 본원이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본원의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성요소들도 결합된 형태로 실시될 수도 있다.

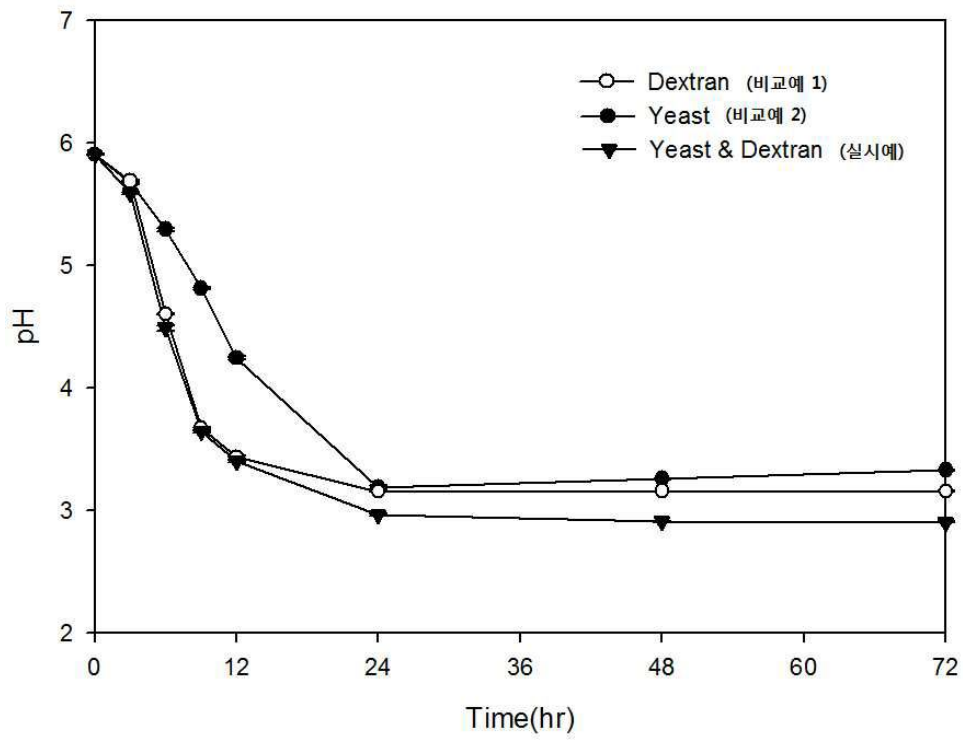
[0081] 본원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위, 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

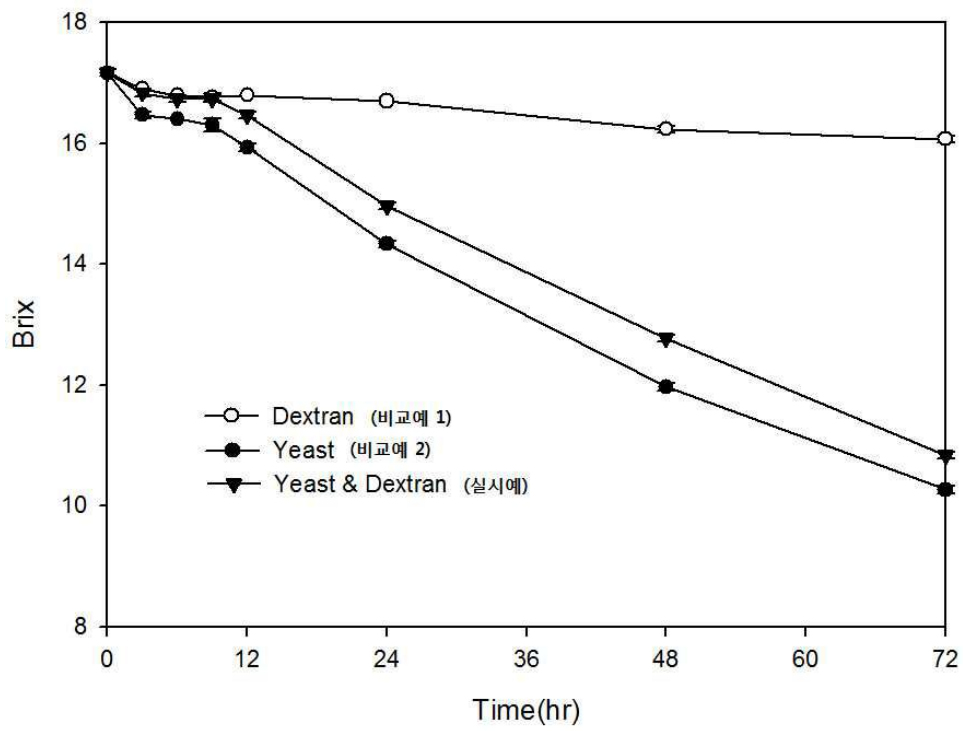
도면1



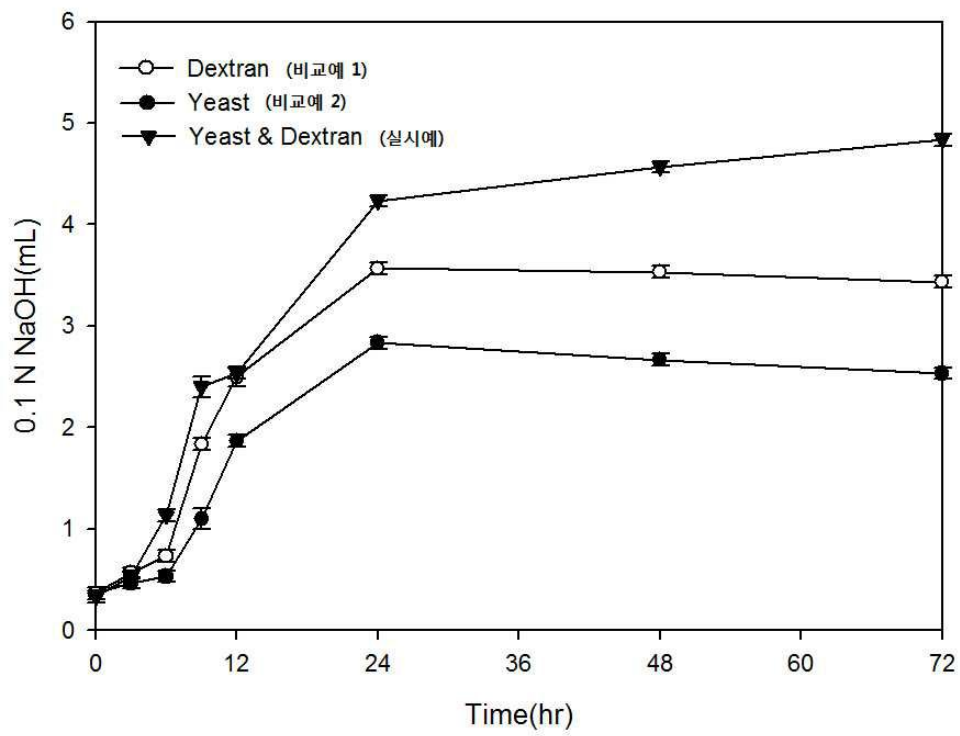
도면2



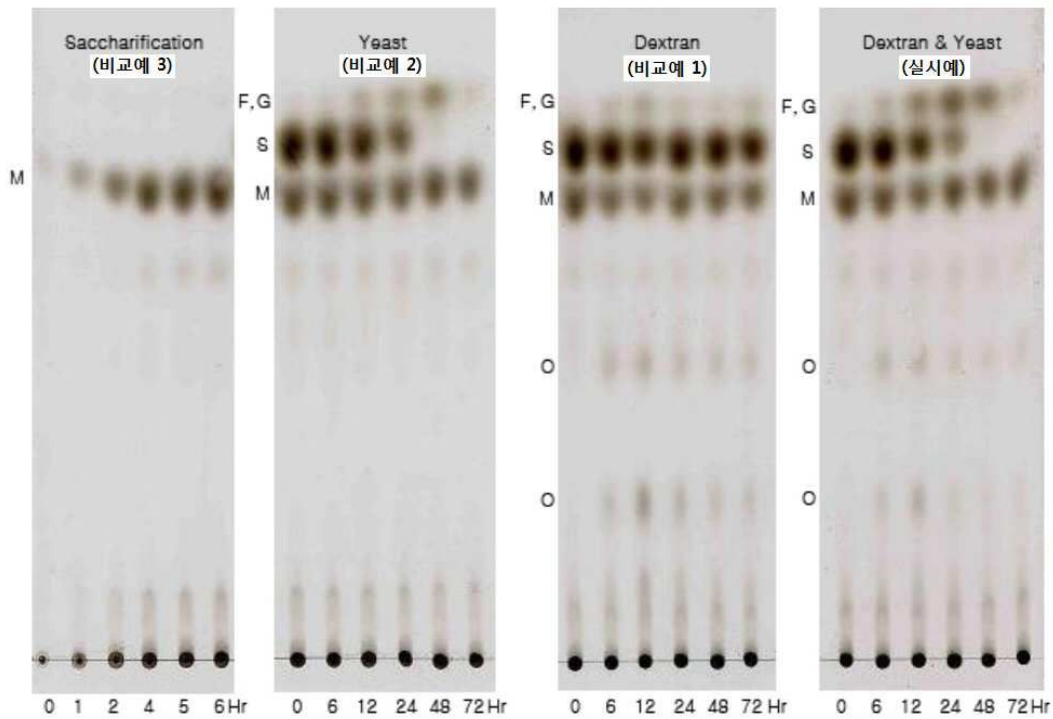
도면3



도면4



도면5



도면6

