



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0145981
(43) 공개일자 2021년12월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 17/40 (2016.01) A23L 17/00 (2016.01)
A23L 19/10 (2016.01) A23L 27/14 (2016.01)
A23L 27/40 (2016.01) A23L 29/00 (2016.01)
A23L 7/10 (2016.01) A23L 7/25 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23L 17/40 (2016.08)
A23L 17/65 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2020-0062904

(22) 출원일자 2020년05월26일

심사청구일자 2020년05월26일

(71) 출원인

순천대학교 산학협력단
전라남도 순천시 중앙로 255(매곡동)
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
어업회사법인 별교꼬막 주식회사
전라남도 보성군 별교읍 장암길 185-95

(72) 발명자

천지연
전라남도 순천시 중앙로 255, 순천대학교
박수진
전라남도 순천시 중앙로 255, 순천대학교
(뒷면에 계속)

(74) 대리인

정성종

전체 청구항 수 : 총 5 항

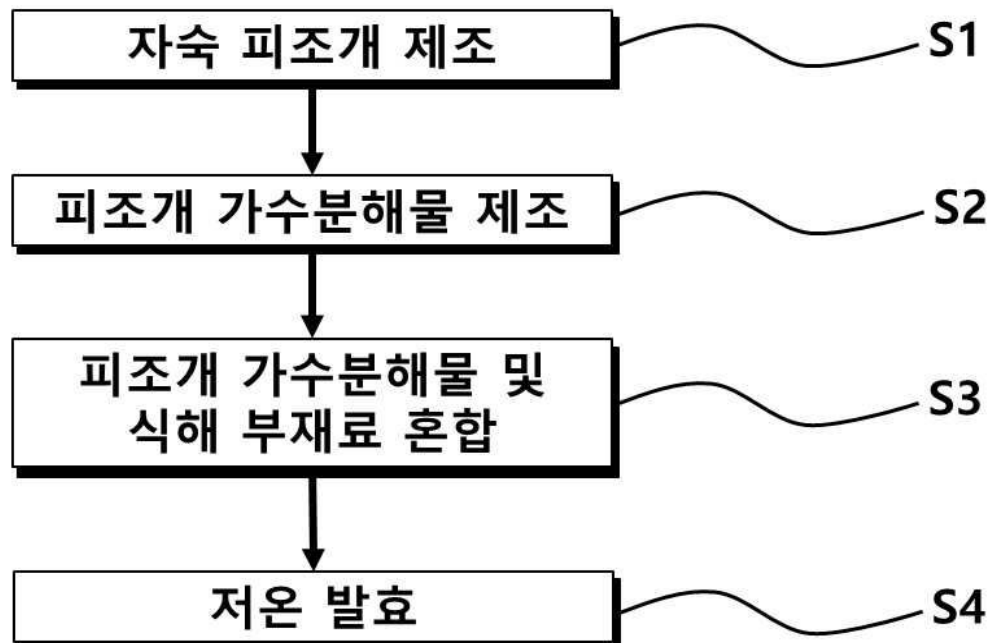
(54) 발명의 명칭 피조개 식해 조성물 및 피조개 식해 제조 방법

(57) 요약

본 발명은 피조개 식해 조성물 및 그 피조개 식해 제조 방법에 관한 것이다. 상기 피조개 식해 조성물은 피조개 가수분해물 및 식해 부재료로 이루어지며, 상기 제조 방법은 자숙 피조개 제조하는 단계; 자숙 피조개를 단백질 가수분해하여 피조개 가수분해물을 제조하는 단계; 상기 피조개 가수분해물을 식해 부재료와 혼합하는 단계; 및

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



상기 혼합물을 발효하는 단계를 포함한다.

본 발명에 따른 피조개 식해는 피조개에 비하여 총 폴리페놀 함량이 증가하고 항산화능이 증가할 뿐만 아니라 감칠맛이 증가하고 쓴맛 및 비린맛 등의 이미 및 이취가 감소하여, 건강 기능성이 증진되고 관능이 우수한 식해를 제공하는 효과가 있다. 또한, 자숙된 피조개의 단단한 육질과 불활성화된 내인적 가수분해 효소를 대체한 외부 효소를 이용하여 피조개 식해의 제조 시간을 효율적으로 단축할 수 있는 효과가 있으며, 피조개를 이용한 새로운 가공 식품을 제공하는 효과가 있다.

(52) CPC특허분류

A23L 19/10 (2016.08)

A23L 27/14 (2016.08)

A23L 27/40 (2016.08)

A23L 29/06 (2016.08)

A23L 7/10 (2016.08)

A23L 7/25 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2300/08 (2013.01)

A23V 2300/24 (2013.01)

(72) 발명자

정유나

전라남도 순천시 중앙로 255, 순천대학교

정보미

전라남도 순천시 중앙로 255, 순천대학교

박은영

전라남도 순천시 중앙로 255, 순천대학교

박예은

전라남도 순천시 중앙로 255, 순천대학교

최성길

경남 진주시 금산면 중천로 82, 106동 1801호(금산면, 금산아이파크아파트)

명세서

청구범위

청구항 1

내장 및 껍질이 제거된 자숙 피조개를 단백질 가수분해한 피조개 가수분해물 및 식해 부재료가 동일한 중량비로 이루어진 피조개 식해 조성물로,

상기 식해 부재료는 절인 무 100 중량부, 쌀풀 45 내지 55 중량부, 엿기름 4 내지 6 중량부, 소금 7 내지 8 중량부, 고춧가루 4 내지 6 중량부, 멸치액젓 4 내지 6 중량부, 마늘 4 내지 6 중량부, 및 생강 0.8 내지 1.2 중량부를 포함하며,

상기 절인 무는 일정한 크기로 절단된 무를 소금물에서 10 내지 14시간 동안 절인 후 세척하고 탈수한 것을 특징으로 하며,

상기 쌀풀은 쌀 및 조의 분말에 상기 분말의 4.5 내지 5.5배 중량의 물을 혼합하고 교반 가열하여 제조된 것을 특징으로 하는, 피조개 식해 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 피조개 가수분해물은 알칼리성 또는 중성의 단백질 가수분해 효소에 의해 이루어진 것을 특징으로 하는 피조개 식해 조성물.

청구항 3

내장 및 껍질이 제거된 자숙 피조개를 제조하는 단계(S1);

상기 (S1) 단계의 자숙 피조개를 단백질 가수분해하여 피조개 가수분해물을 제조하는 단계(S2);

상기 (S2) 단계의 피조개 가수분해물과 식해 부재료를 혼합하는 단계(S3); 및

상기 (S3) 단계의 피조개 가수분해물과 식해 부재료를 저온에서 10 내지 30일 동안 발효하는 단계로 이루어진 피조개 식해 제조 방법으로,

상기 (S2) 단계의 단백질 가수분해는 50 내지 70분 동안 가수분해한 후 효소를 불활성화한 것을 특징으로 하며,

상기 (S3) 단계의 식해 부재료는 절인 무, 쌀풀, 엿기름, 소금, 고춧가루, 멸치액젓, 마늘, 및 생강을 포함하며,

상기 절인 무는 일정한 크기로 절단된 무를 소금물에서 10 내지 14시간 동안 절인 후 세척하고 탈수한 것을 특징으로 하며,

상기 쌀풀은 쌀 및 조의 분말에 상기 분말의 4.5 내지 5.5배 중량의 물을 혼합하고 교반 가열하여 제조된 것을 특징으로 하는, 피조개 식해 제조 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 (S1) 단계의 피조개 가수분해물은 알칼리성 또는 중성의 단백질 가수분해 효소에 의해 이루어진 것을 특징으로 하는 피조개 식해 제조 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 식해 부재료는 절인 무 100 중량부, 쌀풀 45 내지 55 중량부, 엿기름 4 내지 6 중량부,

소금 7 내지 8 중량부, 고춧가루 4 내지 6 중량부, 멸치액젓 4 내지 6 중량부, 마늘 4 내지 6 중량부, 및 생강 0.8 내지 1.2 중량부인 것을 특징으로 하는 피조개 식해 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피조개 식해 조성물 및 피조개 식해의 제조 방법에 관한 것으로, 구체적으로는 피조개를 자숙 후 내장 및 껍질을 제거한 뒤 효소가수분해물을 제조함으로써 가공 및 보관이 용이하고, 피조개의 다양한 생리활성 물질을 효과적으로 섭취할 수 있는 효능 및 기능성과 기호도가 증진된 효능을 나타내는 피조개 식해 조성물 및 피조개 식해의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 우리나라는 세계 상위권 패류 생산국으로 2015년 패류 생산량은 410,970톤으로 총 수산물 생산량의 12.3%를 차지하고 있다. 피조개(*Scapharca broughtonii*)는 연체동물, 이미패강, 둘조개목, 꼬막조개과에 속하며 수심 50 m 정도에서 식물성 플랑크톤과 유기물을 먹이로 하여 살아간다. 한국, 일본 및 중국 연안에 주로 서식하는데 우리나라에서는 남해안, 서해안 및 제주도에서 주로 채집되고 있다. 피조개는 주로 생식으로 이용되고 있으며 회, 초밥, 식초요리, 샐러드 등의 주원료로 이용되고 있다.

[0004] 현재 시장에서 패류가공품은 단순 열처리 및 건조 등 단순가공품이 주류를 이루고 있으며 피조개 가공에 관한 연구는 거의 전무한 실정으로 피조개의 고부가화를 위해서는 다양한 가공 제품 개발 연구가 필요하다.

[0005] 피조개에 함유된 주요 성분으로는 유리아미노산 28종이 약 1,966 mg/100 g 함유되어 있다고 보고되어 있다. 특히 그 비중이 타우린 약 32%, 글루탐산 약 10%의 높은 비율로 함유되어 응용가치가 매우 높다고 알려져 있다. 또한 피조개는 전체 지방산 중 35.7%가 다가 불포화 지방산이며, 그 중 DHA와 EPA가 주를 이룬다. 또한 간기능 보호, 시력회복, 동맥경화 및 고혈압예방 기능을 가지는 베타인류의 일종인 글리신 베타인과 호마린이 풍부하게 함유되어 있다고 보고되어 있다. 이 외에도 피조개의 붉은 피는 헤모글로빈을 다량 함유하고 있어 이로 인한 철분 함량이 다른 식품에 비하여 비교적 높으며, 아연과 마그네슘의 함량 또한 인체의 생리활성 유지에 많은 도움이 된다고 알려져 있다.

[0006] 반면, 피조개는 다른 조개류와 달리 생물유통 또는 가공 시 헤모글로빈 성분으로 인한 붉은색으로 인해 식품으로서 미관이 저해되는 문제점이 있으며, 식중독 발병 위험도가 높아 저온유통 관리가 필요하기 때문에 채취 후 생물로 유통되기 보다는 주로 자숙과정을 거친 후 냉동하여 보관 및 유통되고 있다.

[0007] 우리나라 수산자원의 전통저장식품은 염장 후 효소가수분해 또는 발효를 시켜 제조하는 것갈, 식해(Sikhae) 등을 꼽을 수 있다. 식해의 기원은 라오스, 타이, 버마 등의 산지내륙지방의 강에서 물고기를 채취하여 소금과 밥을 배합한 후 유산발효를 생성시켜 제조하여 해산물 저장성을 부여한 발효식품이다. 발효식품의 염은 부패를 유발하는 미생물의 생육을 억제하고 내염성 발효미생물이 선택적 성장을 조절하는 역할을 한다. 그러나 과도한 나트륨의 이용으로 인한 나트륨 섭취는 혈액량 증가로 인한 혈압 상승 등의 문제를 일으킬 수 있다. 식염섭취의 약 73%정도가 장류 및 젓갈 등 발효식품이 원인인 된다는 보고 등에 따르면 발효식품의 높은 식염사용은 과염 섭취에 대한 우려를 낳고 있다. 장기간 높은 수준의 나트륨 섭취는 신장질환, 위암, 골다공증 등 만성질환의 주요 위험요인으로 알려져 있어 섭취에 대한 관리가 필요하다.

[0008] 이에 비하여 식해는 어류, 젓갈에 비하여 저염도의 식염(5~10%), 곡물 등 다양한 부재료를 첨가, 혼합하여 유산 발효를 일으켜 제조하게 되는데, 숙성기간이 짧고 20% 이상의 식염을 첨가하는 젓갈에 비하여 낮은 염도를 갖으며 김치향이 가미되어 독특한 맛과 풍미를 주기 때문에 우수한 전통식품으로 이어져 오고 있다. 식해 제조법은 어육과 혼합된 맥아분 및 곡물에 의해 젖산균의 번식이 이루어지는데, 무 등의 채소류를 첨가하여 발효시키는 김치제조와 비슷한 원리를 가지고 있다. 식해에 관련한 연구로는 오징어, 키토산 첨가 멸치식해, 명태식해 등 식해에 관련한 다양한 연구들이 진행되고 있으나, 피조개 등과 같은 패류를 이용한 식해 제조 및 연구는 이루어지지 않고 있어 기초자료가 부족한 실정이다.

[0009] 특히, 피조개의 경우 멸치와 같은 어류와 달리 단단한 육질을 가지고 있으며 껍질을 제거하기 위해 자숙하는 과정에서 육질이 더욱 치밀해지고 자체 효소들이 불활성화되기 때문에 젓갈이나 식해와 같이 내부 효소에 의해 자가분해되는 방법을 적용하기 어렵고, 일반적인 식해나 젓갈 제조 방식으로 제조하는 경우 육질이 분해되는데 상

당히 오랜 시간이 걸려 제조 시간이 길어지므로 경제적 생산성이 떨어지게 된다. 따라서 피조개의 경우 저장성을 부여할수 있는 가공을 위해서는 자체 효소에 의한 가수분해를 대체할 수 있으면서도 제조 시간을 효율적으로 단축할 수 있는 제조 방법이 필요하다.

- [0010] 이에 본 발명자들은 피조개의 가공 식품으로서의 활용 방안을 다양하게 모색하던 중, 자숙 피조개를 외부 효소에 의해 가수분해할 경우 상기와 같은 문제점을 해결할 수 있을 뿐만 아니라 피조개의 기능성 성분의 섭취가 가능하고 상품성이 우수한 새로운 가공 식품으로 적용 가능성을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0012] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1731193호(2017.04.27. 공고)
(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 제10-2009-0012436호(2009.02.04. 공개)
(특허문헌 0003) 대한민국 등록특허 제10-1438539호(2014.09.01. 공고)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0013] 본 발명의 하나의 목적은 피조개 식해 조성물을 제공하는 것이다.
[0014] 본 발명의 다른 하나의 목적은 상기 피조개 식해 조성물을 이용하여 피조개 식해를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0016] 하나의 양태로서, 본 발명은 피조개 가수분해물 및 피조개 식해 부재료로 이루어진 피조개 식해 조성물을 제공한다.
- [0018] 본 발명에 있어서, 피조개 가수분해물은 자숙 후 피조개의 내장 및 껍질이 제거된 피조개를 단백질 가수분해하여 제조된 것을 말한다. 여기서, 자숙 후 피조개의 내장 및 껍질이 제거된 피조개를 자숙 피조개라 하며, 상기 자숙은 당해 분야에서 알려진 온도 및 시간으로 이루어질 수 있는데, 바람직하게는 120 내지 130℃에서 30초 내지 2분 동안 이루어진다.
- [0019] 상기 자숙 피조개는 단백질 가수분해효소에 의하여 가수분해 전에 분쇄하여 사용할 수 있으며, 분쇄 후 일정량의 단백질 가수분해효소를 혼합하여 단백질을 가수분해한다. 여기서, 자숙 피조개를 단백질 가수분해효소로 가수분해한 산물을 피조개 가수분해물이라 한다.
- [0020] 보다 구체적으로, 상기 피조개 가수분해물은 분쇄된 자숙 피조개를 일정량의 단백질 가수분해효소를 첨가하고 50 내지 70분, 바람직하게는 55 내지 65분, 보다 바람직하게는 60분 동안 효소 반응시킨 후 고온 처리 등의 적절한 방법으로 효소를 불활성화하여 제조된 것이다.
- [0021] 본 발명에 있어서, 상기 단백질 가수분해효소는 알칼리성 단백질 가수분해효소 또는 중성 단백질 가수분해효소가 바람직하며, 보다 바람직하게는 중성 단백질 가수분해효소를 사용한다. 상기 알칼리성 단백질 가수분해효소는 pH 8 내지 11, 특히 pH 10 내지 11에서 활성을 나타내는 효소로서, 이의 시판 예로는 Aroase XA-10 등이 있다. 상기 중성 단백질 가수분해효소는 pH 6 내지 8에서 활성을 나타내는 효소로서, 이의 시판 예로는 Aroase AP-10, Aroase NP-10, Pandidase NP-2, Papain Y-20 등이 있다. 이러한 단백질 가수분해효소는 사용되는 효소의 특성에 따라 농도를 달리할 수 있으며, 하나의 예로 0.3 내지 0.4 %의 농도로 사용할 수 있으며, 바람직하게는 0.4% 농도로 사용할 수 있다.

- [0022] 하나의 구체적 실시에서, 피조개 가수분해물의 가수분해도 및 당도를 측정한 결과 산성 단백질 가수분해효소의 가수분해도 및 당도에 비하여 중성 또는 알칼리성 가수분해효소의 가수분해도 및 당도가 현저히 높음을 확인할 수 있었다.
- [0023] 다른 하나의 구체적 실시에서, 피조개 가수분해물의 항산화능을 측정한 결과 산성 단백질 가수분해효소의 항산화능에 비하여 중성 또는 알칼리성 가수분해효소의 항산화능이 현저히 증가하였음을 확인할 수 있었다.
- [0024] 상술한 피조개 가수분해물은 생물 및 자숙 피조개에 비하여 핵산관련물질에 있어서 쓴맛을 나타내는 Hx(hypoxanthine)의 함량이 감소하고 AMP(adenosine monophosphate) 및 IMP(inosine monophosphate)의 함량이 증가하여 감칠맛 및 향미가 증가한 반면 쓴맛 및 비린맛 등의 이미 및 이취는 감소하는 장점이 있다. 따라서 상기 피조개 가수분해물을 이용한 식혜는 피조개 가수분해물의 상술한 장점을 보유하여 식품의 기능성, 맛 및 향 등이 향상된 식혜를 제공하는 효과가 있다.
- [0026] 상기 피조개 식혜 부재료는 피조개 식혜의 향미와 영양을 손상하지 않는 한 식혜의 제조 시 사용하는 통상의 부재료일 수 있으나, 바람직하게는 절인 무, 쌀풀, 엿기름, 소금, 고춧가루, 멸치액젓, 마늘, 및 생강을 포함한다.
- [0027] 상기 절인 무는 식용 가능한 일정 크기로 절단한 무를 소금물에서 10 내지 14시간 동안 절인 후 세척하고 탈수한 것이다. 상기 소금물은 염도가 8 내지 12%, 바람직하게는 9 내지 11%, 보다 바람직하게는 10%인 것을 특징으로 한다. 상기 소금물의 염도가 낮을 경우 무가 충분히 절여지지 않아 최종 제조되는 피조개 식혜의 향미가 감소되는 문제가 있으며, 상기 소금물의 염도가 높을 경우 최종 제조되는 피조개 식혜의 염도가 높아져 과도한 나트륨을 섭취하게 되는 문제가 있을 뿐만 아니라 피조개 식혜 제조 시의 발효 과정에서 발효가 충분히 이루어지지 않는 문제가 있다.
- [0028] 상기 쌀풀은 쌀 및 조의 분말에 상기 분말의 4.5 내지 5.5배, 바람직하게는 4.7 내지 5.2배, 보다 바람직하게는 4.9 내지 5.1배, 가장 바람직하게는 5배 중량의 물을 혼합하고 교반 가열하여 제조된 것이다. 상기의 쌀풀 제조 시 교반 가열은 80 내지 100℃, 바람직하게는 90 내지 100℃, 가장 바람직하게는 100℃에서 4 내지 6분, 바람직하게는 4분 30초 내지 5분 30초, 가장 바람직하게는 5분 동안 교반하는 것을 의미한다. 이에 따른 쌀풀은 쌀만을 재료로 하여 제조한 쌀풀에 비하여 식혜의 맛과 향을 증가시키는 효과가 있다.
- [0029] 상기 마늘 및 생강은 얇게 절단된 형태 또는 분쇄하여 사용할 수 있다.
- [0030] 상기 식혜 부재료는 절인 무 100 중량부, 쌀풀 45 내지 55 중량부, 엿기름 4 내지 6 중량부, 소금 7 내지 8 중량부, 고춧가루 4 내지 6 중량부, 멸치액젓 4 내지 6 중량부, 마늘 4 내지 6 중량부, 및 생강 0.8 내지 1.2 중량부를 포함한다. 바람직하게는 절인 무 100 중량부, 쌀풀 48 내지 52 중량부, 엿기름 4.5 내지 5.5 중량부, 소금 7.3 내지 7.7 중량부, 고춧가루 4.5 내지 5.5 중량부, 멸치액젓 4.5 내지 5.5 중량부, 마늘 4.5 내지 5.5 중량부, 및 생강 0.9 내지 1.2 중량부를 포함한다. 보다 바람직하게는 절인 무 100 중량부, 쌀풀 50 중량부, 엿기름 5 중량부, 소금 7.5 중량부, 고춧가루 5 중량부, 멸치액젓 5 중량부, 마늘 5 중량부, 및 생강 1 중량부를 포함한다. 상술한 범위 내인 경우 최종 제조되는 피조개 식혜의 맛과 향 등의 관능성을 증가시키는 효과가 있다.
- [0032] 상기 피조개 식혜를 구성하는 피조개 가수분해물과 식혜 부재료는 0.8 내지 1.2: 0.8 내지 1.2의 중량비, 바람직하게는 0.9 내지 1.1: 0.9 내지 1.1의 중량비, 보다 바람직하게는 1: 1의 중량비로 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0034] 상기 피조개 식혜를 구성하는 피조개 가수분해물과 식혜 부재료는 혼합 후 저온, 바람직하게는 5 내지 18℃, 바람직하게는 12 내지 18℃, 보다 바람직하게는 12 내지 15℃, 가장 바람직하게는 15℃에서 10일 이상, 바람직하게는 10일 내지 30일, 보다 바람직하게는 15일 내지 30일, 보다 더 바람직하게는 15일 내지 25일 동안 발효한 후 섭취하는 것이 좋다.
- [0035] 상술한 발효는 통상의 발효 균주를 첨가하여 이루어질 수 있으므로 특별히 한정되지 않는다.
- [0036] 상술한 발효에 의하여 본 발명에 따른 피조개 식혜는 총 폴리페놀 함량이 증가하고 항산화능이 증가할 뿐만 아니라 감칠맛이 증가하고 쓴맛 및 비린맛 등의 이미 및 이취가 감소하여 건강 기능성을 가지고 맛과 향이 우수한

식품을 제공할 수 있다.

[0038] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 조성물을 이용하여 피조개 식해를 제조하는 방법을 제공한다.

[0040] 구체적인 양태로서, 본 발명의 피조개 식해 제조 방법은

[0041] (S1) 내장 및 껍질이 제거된 자숙 피조개를 제조하는 단계;

[0042] (S2) 상기 (S1) 단계의 자숙 피조개를 단백질 가수분해하여 피조개 가수분해물을 제조하는 단계;

[0043] (S3) 상기 (S2) 단계의 피조개 가수분해물과 식해 부재료를 혼합하는 단계; 및

[0044] (S4) 상기 (S3) 단계의 피조개 가수분해물과 식해 부재료의 혼합물을 저온에서 10 내지 30일 동안 발효하는 단계를 포함한다.

[0046] 이하, 도 1을 참조하여 본 발명의 피조개 식해 제조 방법을 구체적으로 설명한다.

[0048] 먼저, (S1) 단계는 자숙 피조개를 제조하는 단계로서, 피조개를 자숙한 후 내장 및 껍질을 제거하는 자숙 피조개 제조 단계이다.

[0049] 상기 자숙은 당해 분야에서 알려진 온도 및 시간으로 이루어질 수 있는데, 바람직하게는 120 내지 130℃에서 30 초 내지 2분 동안 이루어진다.

[0051] (S2) 단계는 상기 (S1) 단계의 자숙 피조개를 단백질 가수분해하여 피조개 가수분해물을 제조하는 단계이다.

[0052] 구체적으로는, 상기 (S1) 단계의 자숙 피조개를 일정 크기로 분쇄한 후 일정량의 단백질 가수분해효소를 첨가하고 50 내지 70분, 바람직하게는 55 내지 65분, 보다 바람직하게는 60분 동안 효소 반응시킨 후 고온 처리 등의 적절한 방법으로 효소를 불활성화하여 피조개 가수분해물을 제조하는 단계이다.

[0053] 상기 단백질 가수분해효소는 알칼리성 단백질 가수분해효소 또는 중성 단백질 가수분해효소가 바람직하며, 보다 바람직하게는 중성 단백질 가수분해효소를 사용한다. 이에 대한 보다 구체적인 설명은 상기 조성물에서 설명한 바와 같다.

[0055] (S3) 단계는 상기 (S2) 단계의 피조개 가수분해물과 식해 부재료를 혼합하는 단계이다.

[0056] 구체적으로, 상기 (S2) 단계의 피조개 가수분해물과 절인 무, 쌀풀, 엿기름, 소금, 고춧가루, 멸치액젓, 마늘, 및 생강을 포함하는 식해 부재료를 0.8 내지 1.2: 0.8 내지 1.2의 중량비, 바람직하게는 0.9 내지 1.1: 0.9 내지 1.1의 중량비, 보다 바람직하게는 1: 1의 중량비로 혼합하는 단계이다.

[0057] 상기 식해 부재료에 포함되는 재료 및 이들의 함량 등은 상기 상기 조성물에서 설명한 바와 같다.

[0059] (S4) 단계는 상기 (S3) 단계의 피조개 가수분해물과 식해 부재료의 혼합물을 저온에서 10 내지 30일 동안 발효하는 단계이다.

[0060] 상기 발효는 저온, 저온, 바람직하게는 5 내지 18℃, 바람직하게는 12 내지 18℃, 보다 바람직하게는 12 내지 15℃, 가장 바람직하게는 15℃에서 10일 이상, 바람직하게는 10일 내지 30일, 보다 바람직하게는 15일 내지 30일, 보다 더 바람직하게는 15일 내지 25일 동안 이루어진다.

[0062] 본 발명의 상기 방법에 의하여 제조된 피조개 식해는 총 폴리페놀 함량이 증가하고 항산화능이 증가할 뿐만 아니라 감칠맛이 증가하고 쓴맛 및 비린맛 등의 이미 및 이취가 감소하여, 건강 기능성이 증진되고 관능이 우수한

식해를 제공하는 효과가 있다. 또한, 본 발명에 의하여 제조된 피조개 식해는 피조개를 이용한 식해를 제공함으로써 새로운 식품으로 소비자들에게 제공하는 효과가 있다.

발명의 효과

[0064] 본 발명에 따른 피조개 식해는 피조개의 다양한 기능성 성분을 가공 식품으로 보다 쉽게 복용하는 효과가 있다. 또한, 피조개로 효소가수분해물을 제조하여 생물에 비해 가공 및 보관이 용이한 효과가 있다. 더욱이, 본 발명의 피조개 식해는 총 폴리페놀 함량이 증가하고 항산화능이 증가할 뿐만 아니라 감칠맛이 증가하고 쓴맛 및 비린맛 등의 이미 및 이취가 감소하여, 건강 기능성이 증진되고 관능이 우수한 식해를 제공하는 효과가 있다. 이외에도 본 발명의 피조개 식해는 자숙 과정에서 발생하는 피조개 육질의 치밀한 구조 및 경도의 증가로 인한 문제점이 해소되어 자숙 전 피조개 육질과 같은 부드러운 육질을 느낄 수 있으며, 단백질 가수분해효소의 사용으로 인한 가공 식품의 제조 공정을 효과적으로 단축할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0066] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 피조개 식해의 제조 방법을 도시화한 그림이다.
 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 피조개 효소가수분해물의 가수분해도를 나타낸 그림이다.
 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 피조개 효소가수분해물의 핵산관련물질 함량을 나타낸 그림이다.
 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 피조개 식해의 발효기간 중 pH 변화를 나타낸 그림이다.
 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 피조개 식해의 발효기간 중 젖산균 수 변화를 나타낸 그림이다.
 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 피조개 식해의 발효기간 중 생균 수 변화를 나타낸 그림이다.
 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 피조개 식해의 발효기간 중 총 폴리페놀 함량 변화를 나타낸 그림이다.
 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 피조개 식해의 발효기간 중 DPPH 라디칼 소거능 변화를 나타낸 그림이다.
 도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 피조개 식해의 발효기간 중 ABTS 라디칼 소거능 변화를 나타낸 그림이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0067] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예 등을 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명에 따른 실시예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 하기 실시예들에 한정되는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본 발명의 실시예들은 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0069] 실시예 1: 재료의 준비

[0070] 본 발명에 사용된 피조개(전남 별교산, 2019)는 (주)별교꼬막에서 채취한 후 자숙 및 탈각하여 내장을 제거한 것을 구매하여 -70℃에서 보관하며 사용하였다. 단백질 효소가수분해에 사용된 Aroase AP-10(AP), Aroase XA-10(XA), Pandidase NP-2(NP), Protease YP-SS(YP)는 야쿠르트 제약사(Yakult pharmaceutical industry CO., LTD(Tokyo, Japan))에서 구입하여 사용하였다.

[0072] 실시예 2: 피조개 효소가수분해물의 제조

[0073] 상기 실시예 1에서 준비한 동결 보관된 피조개는 멸균증류수로 3회 세척하여 채에 거른 후 그라인더(grinder)를 이용하여 분쇄한 후 10 g씩 칭량한 후 피조개 중량과 동량의 증류수(10 mL)을 가하고 효소를 첨가하였다. 효소의 첨가량은 효소 제조사에서 제시한 식품에 사용 가능한 농도 중 가장 높은 농도(0.4%)를 원물 첨가량에 대한 비율(w/w)에 따라 첨가하였다. 각 효소첨가 피조개는 50℃ 진탕배양기(shaking incubator)에서 1시간 동안 가수분해를 진행하였다. 가수분해가 끝난 피조개 가수분해물은 100℃ 항온수조(water bath)에서 20분간 중탕하여

효소를 불활성화 하였다.

[0075] 실시예 3: 피조개 식해 제조

[0076] 상기 실시예 2에서 제조한 피조개 가수분해물을 이용한 피조개 식해 제조에 사용된 부재료의 첨가량은 표 1과 같다.

[0077] 먼저, 쌀 및 조 분말 20 g과 물 100 mL을 100℃에서 5분간 교반하며 쌀풀을 제조하였다. 절인 무는 10% 소금물에서 12시간 동안 절인 후 흐르는 물에 3회 세척하여 탈수한 후 사용하였다. 피조개 식해에 사용한 양념은 쌀풀, 엿기름, 절인 무, 고춧가루, 마늘, 생강, 소금 및 멸치액젓 일정량을 혼합한 후 그라인더(grinder)를 이용하여 마쇄하였다. 균질하게 마쇄한 양념은 피조개 가수분해물과 중량비 1:1로 혼합한 후 각각 45 g씩 나누어 담고 밀봉하였다. 시료 혼합물은 15℃ 항온기(incubator)에서 30일간 발효시켰으며, 3일 간격으로 마개를 열어 발효로 생성된 내부 gas를 탈기하였다. 시료는 5일 간격으로 처리군마다 각각 3개씩 꺼내어 혼합 균질화한 후 분석시료로 사용하였다.

표 1

재료	첨가량 (g)
절인 무	100
쌀풀	50
엿기름	5
소금	7.5
고춧가루	5
멸치액젓	5
마늘	5
생강	1

[0081] 실험 방법

[0083] (1) 가수분해도 측정

[0084] 피조개의 가수분해도는 피조개의 가수분해가 끝난 시료를 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 여액과 잔사를 분리한 후 잔사를 105℃에서 24시간 이상 건조하였다. 효소를 첨가하지 않은 피조개 잔사와 효소를 첨가한 피조개 잔사의 건조중량을 나눈 뒤 퍼센트로 환산하여 가수분해도를 계산하였다.

[0086] (2) 당도 및 pH 측정

[0087] pH는 pH meter(Mettler-Toledi AG 8603, Schwerzenbach, Switzerland)를 이용하여 측정하였으며, 당도는 디지털 당도계(PR-101, ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다.

[0089] (3) DPPH 라디칼 소거능 측정

[0090] DPPH 라디칼 소거능은 Blois(1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 피조개 효소가수분해물 및 식해 발효물 2 g에 70% 에탄올 20 mL을 넣고 혼합 후 50℃에서 60분간 초음파 추출하여 15,000 rpm에서 3분간 원심분리하고 상층액을 0.45 µm membrane filter로 여과 하여 시험용액으로 사용하였다. 시험용액 60 µL에 0.2 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 240 µL를 가하여 잘 혼합한 후 암실에서 30분간 반응시켜 준 뒤 spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical scavenging은 µg gallic acid equivalent(GAE)/g로 환산하여 나타내었다.

[0092] (4) ABTS 라디칼 소거능 측정

[0093] ABTS 라디칼 소거능은 Arts 등(2004)의 방법을 변형하여 측정하였다. 피조개 효소가수분해물 및 식해 발효물 2 g에 70% 에탄올 20 mL을 넣고 혼합 후 50℃에서 60분간 초음파 추출하여 15,000 rpm에서 3분간 원심분리하고 상층액을 0.45 μ m membrane filter로 여과 하여 시험용액으로 사용하였다. 2.4 mM potassium persulfate에 7 mM ABTS를 첨가한 후 냉장고에 12시간 이상 방치하여 ABTS radical cation(ABTS+)을 제조하였다. 제조된 ABTS+는 흡광도 값이 0.70 ± 0.05 가 되도록 ethanol로 희석하여 사용하였다. 희석한 ABTS+ 용액 950 μ L과 시험용액 50 μ L를 혼합하여 7분간 반응시킨 다음 spectrophotometer를 이용하여 734 nm에서의 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거능은 μ g ascorbic acid equivalent(AAE)/g로 나타내었다.

[0095] (5) 총 폴리페놀 함량 측정

[0096] 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis(1912)법으로 측정하였다. 피조개 효소가수분해물 및 식해 발효물 2 g에 70% ethanol을 20 mL 가한 뒤 50℃에서 한 시간 동안 초음파 추출하여 15,000 rpm에서 3분간 원심분리하고 상층액을 0.45 μ m membrane filter로 여과한 여액을 시험용액으로 사용하였다. 시험용액 40 μ L를 취하고 DDW 200 μ L, 50% Folin-Ciocalteu's phenol reagent 20 μ L를 혼합하고 5% Na_2CO_3 용액 40 μ L를 넣어 잘 혼합한 후, 1시간 암실에 방치한 후 분광광도계를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀함량은 μ g gallic acid equivalent(GAE)/g로 환산하여 나타내었다.

[0098] (6) 총 플라보노이드 함량 측정

[0099] 총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(1999)의 방법을 이용하여 측정하였다. 피조개 효소가수분해물 및 식해 발효물 2 g에 50% ethanol을 15 mL 가한 뒤 50℃ shaking incubator에서 100 rpm으로 한 시간 동안 추출하여 여과한(Whatman No.1) 추출액을 시험용액으로 사용하였다. 시험용액 100 μ L에 80% ethanol 400 μ L, 5% sodium nitrite 30 μ L를 차례로 가하여 혼합한 뒤 실온에서 5분간 반응시켰다. 10% aluminium chloride 30 μ L와 1 M sodium hydroxide 200 μ L를 가하여 혼합한 후 1분간 정치한 뒤, 반응액에 DDW 200 μ L를 가하고 분광광도계를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 mg quercetin equivalent(QE)/g으로 환산하였다.

[0101] (7) 핵산관련물질 함량 측정

[0102] 핵산관련물질 함량은 Qiu 등(2016)의 방법으로 분석하였다. 시료 5 g에 10% perchloric acid (PCA)를 10 mL 가하여 ice bath에서 15분간 균질화하여 원심분리(3000 $\times$ g, 10분) 상등액을 취하였으며, 위 조작을 3반복 수행하였다. 수거한 상등액은 10 M KOH로 pH를 5.8로 조절한 후 20 mM potassium phosphate buffer를 이용하여 50 mL로 정용하였다. 추출액은 30분간 4℃에서 보관한 후 상층액을 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다.

[0104] (8) 젖산균 및 총균수 변화 측정

[0105] 피조개 식해 발효 중 젖산균 및 총균수 측정은 발효물을 10배 단계 희석법으로 희석한 후 건조필름법과 주입평판법으로 측정하였다. 생균수 측정은 시료 희석액을 건조필름배지에 1 mL 주입한 뒤 37℃에서 36~48시간 배양하였다. 젖산균수 측정은 Petri dish에 시료 희석액과 MRS agar(Difco CO., Beckton-Dickinson, Sparks, MD, USA)를 분주하고 잘 혼합하여 응고시킨 뒤 37℃ incubator에서 24~48시간 동안 배양시킨 후 젖산균 및 생균수 집락을 계수하여 log colony forming unit(CFU)/mL으로 나타내었다.

[0107] (8) 관능평가

[0108] 관능적 특성으로 훈련된 패널(panel) 10명을 구성하고 7점 기호 척도법을 사용하여 피조개 식해의 맛 성분에 대

한 강도를 쓴맛(bitter taste), 비린향(fishy taste), 신맛(sour taste), 전체적 기호도(overall acceptability)로 평가하였다.

(9) 통계처리

모든 시료는 3반복 이상 측정된 후 평균값으로 나타내었으며, 각 시험구간의 통계처리는 SPSS프로그램(SPSS 25.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, 분산분석 평균값의 유의성은 $p < 0.05$ 수준으로 Duncan의 다중범위시험법을 사용하여 검증하였다.

실험예 1: 피조개 효소가수분해물의 특성 조사

1-1. 가수분해도 측정 결과

첨가 효소에 따른 피조개 효소가수분해물의 가수분해도를 도 2에 나타내었다. 효소첨가에 따른 가수분해도는 XA와 AP가 가장 높은 가수분해도를 나타내었으며 YP가 가장 낮은 가수분해도를 나타내었다. YP는 낮은 pH인 2.5~3.0에서 활성을 나타내는 효소로 피조개 가수분해물의 중성 pH인 환경에서는 효소가 잘 활성되지 않은 것으로 사료된다. 반면에 XA는 알칼리성 효소로 pH 10~11 환경에서 활성을 나타낸다고 하였으나 본 실험에서는 중성 pH에서도 가수분해도가 높게 나타났다.

1-2. 당도 및 pH 측정 결과

pH는 pH meter(Mettler-Toledo AG 8603, Schwerzenbach, Switzerland)를 이용하여 측정하였으며, 당도는 디지털 당도계(PR-101, ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다.

피조개 효소가수분해물의 당도 및 pH 결과를 하기 표 2에 나타내었다. 당도는 효소를 처리함에 따라 유의적으로 증가하였으나 효소 종류에 따라 그 정도가 차이를 나타냈다. 효소를 첨가하지 않은 피조개 가수분해물의 당도는 4.5° Brix 였으며, 효소를 첨가한 시료군에서는 5.5~9.9° Brix를 나타냈다. 가수분해도가 낮았던 YP 처리 가수분해물의 당도가 5.5° Brix로 가장 낮은 값을 나타내었고 가수분해도가 높은 AP 처리군은 약 2배에 달하는 가장 높은 9.9° Brix 를 나타내어 가수분해도의 정도에 따라 당도에 영향을 미치는 것으로 보여진다. 한편, 피조개 가수분해물의 pH는 가수분해 유무에 따라 큰 차이를 나타내지 않았으며 효소를 첨가하지 않은 피조개가 pH 6.42를 나타낸 반면 효소를 첨가한 피조개 가수분해물은 6.41~6.59로 나타나 가수분해 유무에 따른 pH 변화는 나타나지 않은 것으로 보인다.

표 2

처리군	당도 (°Brix)	pH
Control(non-treatment)	4.5±0.0 ^{c1)}	6.42±0.00
Aroase AP-10	9.9±0.0 ^a	6.41±0.00
Aroase XA-10	9.7±0.0 ^a	6.43±0.00
Padidase NP-2	9.1±0.0 ^a	6.44±0.00
Protease YP-SS	5.5±0.0 ^b	6.59±0.00

¹⁾ 평균±표준편차, 동일 컬럼에서 소문자가 상이한 평균은 던컨의 다중범위시험법에 의해 $p < 0.05$ 수준으로 유의적 차이가 있음을 의미함 (a>b).

1-3. 항산화능 측정 결과

[0125] 피조개 효소가수분해물의 항산화능 측정결과를 하기 표 3에 나타내었다.

[0126] DPPH 라디칼 소거능은 효소를 처리하지 않은 피조개에 비하여 효소처리한 피조개 시료구 전체에서 소거능이 증가하였다. AP, XA, NP 처리 피조개 가수분해물이 약 15%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었으며 YP가 가장 낮은 8% 수준을 나타냈다.

[0127] 피조개의 ABTS 라디칼 소거능도 효소처리에 의해 유의적으로 증가하였으며 AP, NP, XA, 그리고 YP 처리 순으로 높게 나타났다. 가수분해에 의한 항산화능의 증가는 가수분해도가 높았던 AP에서 가장 높은 ABTS 라디칼 소거능이 관찰되었고, 가수분해도가 가장 낮은 YP 처리군에서 가장 낮은 소거능을 나타내었다.

표 3

[0129]

Treatment	DPPH 라디칼 소거능 (%)	ABTS 라디칼 소거능 (%)
Control(non-treatment)	4.93±0.43 ^{c2)}	13.43±1.08 ^e
Aroase AP-10	14.94±0.50 ^a	58.13±0.82 ^a
Aroase XA-10	14.41±1.18 ^a	45.09±2.28 ^c
Pandidase NP-2	13.78±2.30 ^a	55.50±0.23 ^b
Protease YP-SS	8.27±2.25 ^b	20.37±1.79 ^d

¹⁾ 평균±표준편차, 동일 컬럼에서 소문자가 상이한 평균은 던컨의 다중범위시험법에 의해 p<0.05 수준으로 유의적 차이가 있음을 의미함 (a>b>c>d>e).

[0131] 1-4. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정 결과

[0132] 피조개 효소가수분해물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 결과를 하기 표 4에 나타내었다.

[0133] 총 폴리페놀 함량은 모든 효소 처리구에서 함량이 유의적으로 증가하였으며 NP 처리 시 총 폴리페놀 함량이 가장 많이 나타났다. 반면에 YP의 총 폴리페놀 함량이 가장 낮게 나타났으며 이는 가수분해도에 영향을 받은 것으로 사료된다.

[0134] 총 플라보노이드 함량은 NP가 가장 낮게 나타났으며, 반면에 항산화능과 총 폴리페놀 함량이 가장 낮게 나타난 YP가 비교적 높은 총 플라보노이드 함량을 나타내었다.

표 4

[0136]

Treatment	총 폴리페놀 함량 (μg GAE/mL)	총 플라보노이드 함량 (μg QE/mL)
Control(비처리군)	87.40±3.61 ^{e2)}	0.41±0.19 ^{cd}
Aroase AP-10	494.69±15.62 ^c	1.72±0.10 ^b
Aroase XA-10	503.02±21.27 ^{bc}	2.15±0.12 ^a
Pandidase NP-2	528.02±1.80 ^a	0.26±0.05 ^d
Protease YP-SS	161.35±3.61 ^d	1.69±0.08 ^b

¹⁾ 평균±표준편차, 동일 컬럼에서 소문자가 상이한 평균은 던컨의 다중범위시험법에 의해 p<0.05 수준으로 유의적 차이가 있음을 의미함 (a>b>c>d>e).

[0138] 1-5. 핵산관련물질 함량 측정 결과

[0139] 피조개 효소가수분해물의 핵산관련물질 함량 변화를 도 3에 나타내었다. 피조개의 효소처리 유무에 상관없이

모든 시료에서 ATP는 검출되지 않았다. ADP 함량은 효소를 처리하지 않은 피조개에서 가장 낮은 함량($1.35 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$)을 나타냈으며 NP에서 가장 높은 함량($4.14 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$)을 나타내었다. AMP는 AP에서 가장 높은 $56.82 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ 을 나타내었으며 YP, XA, NP 순으로 높게 나타났다. 반면, IMP는 NP 가수분해물에서 다른 효소처리군에 비하여 2배 이상 높은 $24.04 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ 수준을 나타내었다. Hx는 효소처리에 따라 그 함량이 큰 폭으로 감소한 것으로 나타났다. HxR은 NP에서 가장 높은 $35.97 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ 을 나타내었으며 AP, XA, YP 순으로 높게 나타났다. 무척추동물의 핵산관련물질 분해경로는 ATP, ADP, AMP, HxR, Hx 순으로 보고되어 있는데, 본 연구에서 효소를 처리하지 않은 Control의 경우 ADP, AMP, HxR의 함량이 비교적 낮은 것에 반해 Hx의 함량이 높게 나타나 가수분해시간 동안 분해경로가 빠르게 진행된 것으로 보여진다. 또한 Kassemarsan 등(1963)은 hypoxanthine(Hx)이 쓴맛을 나타낸다고 보고하였는데 본 연구에서 피조개 가수분해물의 Hx함량이 단백질 가수분해 후 모든 효소처리군에서 감소하는 것으로 나타났다. Fraser 등(1968)은 IMP의 함량이 많을수록, Hx의 함량이 적을수록 맛이 좋다고 보고하였는데, 본 연구에서 NP 가수분해물의 IMP 함량이 다른 효소들에 비하여 유의적으로 높은 함량을 나타낸 반면, Hx의 함량은 낮게 나타나 이러한 변화가 관능적 특성을 조절할 수 있을 것으로 보여진다. 한편, Fuke과 Konosu(1991)의 연구에 따르면 AMP와 IMP 등은 맛에 큰 영향을 미치기 때문에 이들의 함량이 많은 어류 등에서 중요한 정미성분으로 작용한다고 하였다. 본 연구에서 AP 가수분해물에서 AMP 함량이 가장 높게 나타났고 NP 가수분해물에서 IMP 함량이 가장 높게 나타나 관능적 특성에서도 우수할 것으로 사료된다.

[0141] 실험예 2: 피조개 식해의 발효 기간에 따른 특성 변화 측정

[0143] 2-1. 발효 기간에 따른 pH 변화

[0144] 발효 기간에 따른 피조개 식해의 pH 변화를 도 4에 나타내었다.

[0145] 피조개 식해 발효 중 pH는 효소가수분해물의 사용 유무와 상관없이 발효 초기 pH 5.5에서 5일간 천천히 감소하여 5.32~5.40의 범위를 나타내다가 이후 발효 10일차까지 빠르게 감소하여 3.82~3.87 수준으로 감소되었으며 이후 발효 25일차까지 두드러진 변화 없이 유지되는 경향을 나타내었다. 이는 식해 제조 시 젖산발효에 의한 젖산 생성으로 pH가 낮아지게 되며 낮아지는 정도는 재료와 발효 조건에 따라 달라질 수 있음을 나타내는 것으로, Kim 등(2008)은 어류의 식해 제조 시 맛이 가장 우수할 때의 pH가 3.96~4.26으로 보고하여 식해 제조 조건에서 pH의 관찰은 관능성과도 상관성이 있는 지표가 될 수 있을 것으로 판단된다. 한편, 효소 가수분해물의 사용유무, 효소 2종의 종류에 따른 pH의 두드러진 변화는 관찰되지 않았다.

[0147] 2-2. 발효 기간에 따른 젖산균 및 총균수 변화

[0148] 피조개 식해 발효 중의 젖산균수 변화를 도 5에 나타내었다. 시료군의 초기 젖산균수는 $4.0\sim4.6 \log \text{CFU/g}$ 수준이었으며 발효가 진행되면서 초기 5일 동안 $4.5\sim5.1 \log \text{CFU/g}$ 수준으로 증가하다가 발효 10일 동안 $7.1\sim7.3 \log \text{CFU/g}$ 로 급격하게 증가하는 양상을 보였다. 발효 10일 이후부터 젖산균수는 지속적으로 감소하여 25일차에는 약 $6.0 \log \text{CFU/g}$ 수준을 유지하여 젖산 발효가 초기 발효 10일 동안 빠르게 진행되었음을 확인할 수 있었다. 효소가수분해물을 이용한 피조개 식해와 첨가하지 않은 시료군에서의 젖산균 생육의 두드러진 차이는 관찰되지 않았다.

[0149] 피조개 식해의 생균수 변화를 도 6에 나타내었다. 효소가수분해물을 이용하지 않은 대조군(control)의 발효 0일차 생균수는 $5.7 \log \text{CFU/g}$ 수준이었으며, 효소가수분해물을 이용한 피조개 식해의 초기 생균수는 약 $5.0 \log \text{CFU/g}$ 였다. 모든 피조개 식해는 발효 10일까지 생균수가 증가하다가 10일 이후 감소하여 control 및 AP는 20일까지 감소하였으며 NP는 20일까지 다소 감소 후 $5 \log \text{CFU/g}$ 수준에서 유지되는 경향을 보였다. 이는 발효가 진행되면서 젖산균수가 증가되면서 pH가 낮아지고 이로 인해 내산성균 이외의 다른 잡균들의 생육이 억제되기 때문인 것으로 보여진다.

[0151] 2-3. 발효 기간에 따른 피조개 식해의 총 폴리페놀 변화 측정

[0152] 발효 기간에 따른 피조개 식해의 총 폴리페놀의 변화를 도 7에 나타내었다.

- [0153] 대조군(Control)의 총 폴리페놀 함량은 발효 0일차에서 80.57 $\mu\text{g GAE/g}$ 을 나타내었으며 발효 5일 동안 112.09 $\mu\text{g GAE/g}$ 수준으로 증가한 후 그 수준이 유지되다가 발효 15일 이후 다시 증가하여 25일 후에는 약 235 $\mu\text{g GAE/g}$ 수준을 나타내었다. 반면, 효소가수분해물을 이용한 피조개 식해의 경우 발효 0일차에서 대조구에 비하여 약 2배 이상 높은 188.8~196.7 $\mu\text{g GAE/g}$ 수준의 총 폴리페놀 함량을 나타내었는데 발효 기간이 지남에 따라 차츰 증가하여 발효 25일 후에는 AP처리 시료군의 경우 약 353 $\mu\text{g GAE/g}$, NP처리 시료는 약 344 $\mu\text{g GAE/g}$ 의 수준으로 초기에 비해 약 1.5~2배 증가된 것을 확인할 수 있었다. 발효에 의한 가수분해도가 진행될수록 총 폴리페놀 함량이 높게 나타나 피조개 식해 제조에 사용된 동물성 재료인 피조개와 곡물, 엿기름, 기타 채소 등의 식물성 재료 등 모두가 가수분해에 의하여 총 폴리페놀 함량이 증가된 것으로 보여진다.
- [0155] **2-4. 발효 기간에 따른 피조개 식해의 항산화능 변화 측정**
- [0156] 발효 기간에 따른 피조개 식해의 항산화능의 변화를 도 8 및 9에 나타내었다.
- [0157] 항산화능은 효소를 처리한 피조개 식해가 효소를 처리하지 않은 피조개 식해에 비하여 높은 결과를 나타내었다. 이는 효소처리에 의한 피조개 및 부재료의 항산화 관련 물질이 높아진 것으로 보여진다. 도 8에서 볼 수 있는 바와 같이, 대조군(Control)의 DPPH 라디칼 소거능은 발효 초기부터 10일까지 발효기간에 비례적으로 증가하였으며 발효 20일까지 다소 감소하다가 25일에 급격히 증가하였다. 반면에 효소를 처리한 피조개 식해는 DPPH 라디칼 소거능이 발효 5일까지 증가한 후 15일까지 증가와 감소를 보이다가 20일 이후 급격히 증가하였다. 도 9에서 볼 수 있는 바와 같이, ABTS 라디칼 소거능은 발효 초기 시료군에서 모두 DPPH 라디칼 소거능보다 높은 수준으로 관찰되었으며 발효 기간동안 점진적으로 증가하는 경향을 나타내었다. ABTS 라디칼 소거능은 control에 비하여 효소가수분해물을 이용한 피조개 식해에서 모두 높은 수준으로 관찰되었으며 발효 25일 후 AP 및 NP 처리 시료군의 경우 약 320 $\mu\text{g AAE/g}$ 수준을 나타내어 초기 수준보다 약 1.5배 정도 증가된 수준을 보였으며 이는 대조구에 비하여 약 30% 높은 수준을 보였다.
- [0159] **2-5. 발효 기간에 따른 피조개 식해의 핵산관련물질 함량 변화**
- [0160] 피조개 식해 발효 중 핵산관련물질의 변화를 하기 표 5에 나타내었다.
- [0161] 모든 시료군에서 전 발효기간동안 adenosine triphosphate(ATP) 및 inosine monophosphate (IMP)는 검출되지 않았다. Adenosine diphosphate (ADP) 함량은 발효가 진행됨에 따라 감소하는 경향을 나타내었는데 효소를 처리하지 않은 control에서는 발효 초기 3.76 $\mu\text{mol/100 g}$ 수준이었으나 발효 기간 중 점차 감소하여 발효 25일차에는 검출되지 않았으며 이러한 경향은 AP와 NP 처리군에서는 유사하게 관찰되었다.
- [0162] 한편, AMP의 함량은 발효 초기 control 시료의 14.30 $\mu\text{mol/100 g}$ 보다 AP 및 NP 처리 피조개 식해에서 각각 25.09와 29.07 $\mu\text{mol/100 g}$ 로 높게 나타났으며 발효 기간에 따라 점진적으로 감소하여 대조구의 경우 발효 20일 이후에는 AMP가 검출되지 않았으며 효소 처리군에서도 95% 이상 분해되어 $\mu\text{mol/100 g}$ 이하의 수준을 나타내었다.
- [0163] Inosine 함량은 발효초기 AP와 NP를 처리한 피조개 식해에서 control(59.46 $\mu\text{mol/100 g}$)에 비하여 각각 74.76와 80.63 $\mu\text{mol/100 g}$ 유의적으로 높게 나타났으며 발효가 진행됨에 따라 inosine 함량이 빠르게 감소되는 경향을 보여 발효 25일차에는 모든 피조개 식해에서 1.38~1.49 $\mu\text{mol/100 g}$ 의 수준을 나타냈다.
- [0164] 반면, guanosine monophosphate (GMP) 함량은 발효가 진행됨에 따라 증가하는 경향을 보였으나 수치적으로 함량 변화가 크지 않았으며 AP와 NP 처리 피조개 식해가 대조군에 비하여 발효기간 동안 유의적으로 높은 함량을 나타내었다.
- [0165] Kuninaka 등(1964)에 의하면 GMP나 IMP는 같은 정미성을 가지며 그 맛의 강도가 GMP가 더 강하다고 보고하였다. 또한, monosodium glutamate(MSG) 보다 맛이 강력하고 부드러운 맛을 주며 MSG와 혼합하여 사용 시 맛의 상승작용이 두드러지게 발현된다고 보고하였다. 본 연구에서 효소를 처리함에 따라 전체적인 발효기간동안 GMP함량이 control에 비하여 높은 함량을 나타내었고 발효기간에 따라 증가하는 것으로 볼 때 피조개 식해 제조에서 효소가수분해물을 이용하여 제조하는 방법과 발효 및 숙성 기간의 조절에 따라 정미성의 향상을 기대할 수 있을 것으로 보인다. 한편, hypoxanthine(Hx) 함량은 효소처리 유무와 관계없이 0일에서 5일, 10일까지 매우 큰 폭으로 증가하였다가 10일 이후 100.49~108.32 $\mu\text{mol/100 g}$ 수준으로 유지되는 것으로 나타났다.

표 5

[0167]

NRCs ¹⁾ ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$)	Time(day)	Sample ²⁾		
		Control	AP	NP
ADP	0	$3.76 \pm 0.76^{\text{Aa3)}$	$1.00 \pm 0.19^{\text{Cc}}$	$1.64 \pm 0.16^{\text{Ab}}$
	5	$2.91 \pm 0.57^{\text{Ba}}$	$1.76 \pm 0.18^{\text{Ab}}$	$0.92 \pm 0.05^{\text{Bc}}$
	10	$2.87 \pm 0.20^{\text{Ba}}$	$1.49 \pm 0.19^{\text{Bb}}$	$1.16 \pm 0.25^{\text{Bb}}$
	15	$2.28 \pm 0.41^{\text{Ba}}$	$0.47 \pm 0.04^{\text{Dc}}$	$1.08 \pm 0.02^{\text{Bb}}$
	20	$0.04 \pm 0.02^{\text{Cb}}$	N.D.	$1.14 \pm 0.10^{\text{Ba}}$
	25	N.D. ⁴⁾	N.D.	N.D.
AMP	0	$14.30 \pm 0.28^{\text{Bc}}$	$25.09 \pm 0.07^{\text{Bb}}$	$29.07 \pm 1.56^{\text{Ba}}$
	5	$19.04 \pm 0.63^{\text{Ac}}$	$29.33 \pm 0.23^{\text{Ab}}$	$31.08 \pm 0.79^{\text{Aa}}$
	10	$3.18 \pm 0.26^{\text{Cc}}$	$6.64 \pm 0.17^{\text{Ca}}$	$4.81 \pm 0.38^{\text{Cb}}$
	15	$2.02 \pm 0.08^{\text{Da}}$	$2.14 \pm 0.30^{\text{Da}}$	$2.40 \pm 0.45^{\text{Da}}$
	20	N.D.	$1.74 \pm 0.06^{\text{Da}}$	$1.29 \pm 0.18^{\text{Db}}$
	25	N.D.	$2.14 \pm 0.92^{\text{Da}}$	$1.71 \pm 0.02^{\text{Da}}$
GMP	0	$1.85 \pm 0.11^{\text{BCb}}$	$2.30 \pm 0.07^{\text{BCa}}$	$2.38 \pm 0.78^{\text{BCa}}$
	5	$1.57 \pm 0.34^{\text{Cb}}$	$3.60 \pm 0.06^{\text{ABCa}}$	$3.28 \pm 0.45^{\text{Aa}}$
	10	$1.70 \pm 0.12^{\text{Cc}}$	$2.93 \pm 0.20^{\text{ABCa}}$	$1.88 \pm 0.02^{\text{Cb}}$
	15	$1.94 \pm 0.10^{\text{BCa}}$	$2.19 \pm 0.47^{\text{Ca}}$	$2.30 \pm 0.59^{\text{BCa}}$
	20	$2.49 \pm 0.12^{\text{ABb}}$	$4.07 \pm 0.71^{\text{Aa}}$	$3.06 \pm 0.27^{\text{ABb}}$
	25	$3.05 \pm 0.86^{\text{Aa}}$	$3.82 \pm 0.99^{\text{ABa}}$	$3.55 \pm 0.05^{\text{Aa}}$
Inosine	0	$59.46 \pm 2.16^{\text{Ac}}$	$80.63 \pm 0.42^{\text{Aa}}$	$74.76 \pm 2.76^{\text{Ab}}$
	5	$38.75 \pm 1.31^{\text{Bc}}$	$51.53 \pm 1.04^{\text{Ba}}$	$46.90 \pm 0.56^{\text{Bb}}$
	10	$3.48 \pm 0.37^{\text{CDa}}$	$3.19 \pm 0.12^{\text{Ca}}$	$3.45 \pm 0.63^{\text{Ca}}$
	15	$5.61 \pm 0.57^{\text{Ca}}$	$1.70 \pm 0.23^{\text{Dc}}$	$2.48 \pm 0.15^{\text{Cb}}$
	20	$8.52 \pm 2.69^{\text{CDa}}$	$3.20 \pm 0.93^{\text{Cb}}$	$2.36 \pm 0.43^{\text{Cb}}$
	25	$1.49 \pm 0.10^{\text{Da}}$	$1.45 \pm 0.14^{\text{Da}}$	$1.38 \pm 0.05^{\text{Ca}}$
Hx	0	$26.65 \pm 1.01^{\text{Cc}}$	$34.06 \pm 0.19^{\text{Cb}}$	$37.76 \pm 1.49^{\text{Ea}}$
	5	$59.44 \pm 1.84^{\text{BCb}}$	$68.37 \pm 0.32^{\text{Ba}}$	$69.06 \pm 1.44^{\text{Da}}$
	10	$86.92 \pm 1.42^{\text{Bb}}$	$106.54 \pm 3.84^{\text{Aa}}$	$102.57 \pm 0.79^{\text{Ca}}$
	15	$100.49 \pm 0.59^{\text{ABc}}$	$104.08 \pm 1.23^{\text{Ab}}$	$108.32 \pm 2.78^{\text{ABa}}$
	20	$107.17 \pm 7.04^{\text{Aa}}$	$101.67 \pm 5.28^{\text{Aa}}$	$111.44 \pm 3.90^{\text{Aa}}$
	25	$102.70 \pm 0.04^{\text{ABb}}$	$105.43 \pm 2.30^{\text{Aa}}$	$104.65 \pm 1.38^{\text{BCa}}$

[0168]

¹⁾ ADP: adenosine diphosphate; AMP: adenosine monophosphate; GMP: guanosine monophosphate; Hx:

hypoxanthine.

²⁾ Control(대조군): 효소 비처리군; AP: Aroase AP-10; NP: Pandidase NP-2

³⁾ 평균±SD, 동일 줄에서 소문자가 다른 평균은 던컨의 다중범위시험법에 의해 $p<0.05$ 수준으로 유의적 차이가 있음을 의미함 ($a>b>c$). 각 핵산 관련 물질에 대한 동일 컬럼에서 대문자가 상이한 평균은 던컨의 다중범위시험법에 의해 $p<0.05$ 수준으로 유의적 차이가 있음을 의미함 ($A>B>C>D>E$).

⁴⁾ 검출되지 않음

실험예 3: 피조개 식해의 관능적 특성

15℃에서 25일간 발효 및 숙성된 피조개 식해의 부정적인 맛에 대한 관능특성을 쓴맛, 비린 맛, 신맛으로 구분하여 그 강도를 조사한 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

AP 및 NP 효소 처리된 피조개 식해는 효소 처리하지 않은 대조구 피조개 식해에 비하여 쓴맛, 비린 맛, 신맛 모두에서 유의적으로 모두 낮은 값을 보였다. 한편, AP와 NP 처리군 간에는 신맛에서 유의적인 차이를 나타내었으나 쓴맛과 비린맛이 없었다. 이는 피조개 식해를 제조하는데 있어서 효소를 이용하여 피조개를 가수분해 처리한 후 식해 발효시키는 것이 쓴맛과 비린맛을 감소시키는데 유리할 것으로 보여진다.

한편, 하기 표 6의 관능 특성에 포함되지는 않았지만, 관능패널들은 피조개의 육질이 부드러워 씹힘성이 우수하다는 의견이 공통적이었다.

표 6

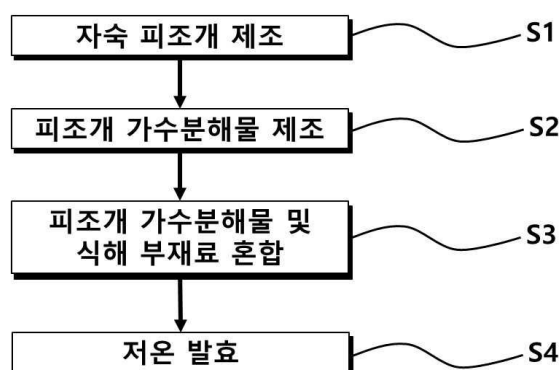
Sample ¹⁾	Bitter taste	Fishy flavor	Sour taste
Control	$3.88 \pm 0.83^{a2)}$	4.75 ± 1.28^a	4.13 ± 1.25^a
AP	1.75 ± 0.71^b	3.13 ± 0.99^b	3.63 ± 1.06^{ab}
NP	1.75 ± 0.71^b	3.13 ± 1.25^b	2.63 ± 1.60^b

¹⁾ Control: 효소 비처리군; AP: Aroase AP-10; NP: Pandidase NP-2 treated enzymatic hydrolyzates.

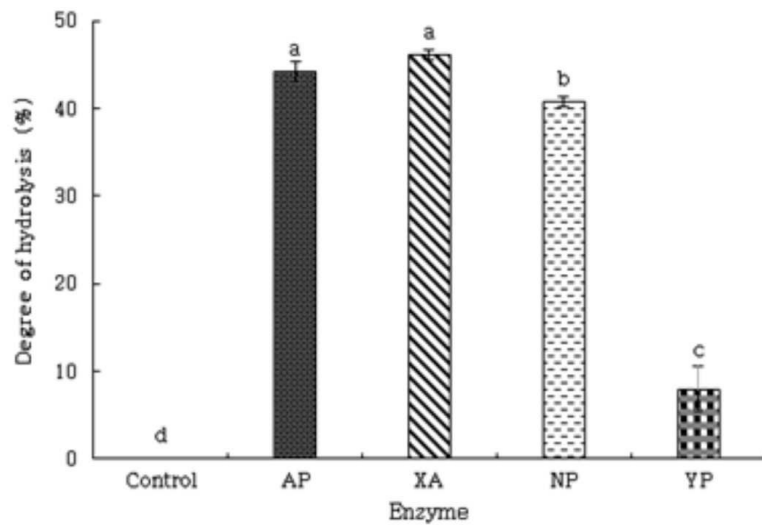
²⁾ Mean±SD, 동일 컬럼에서 소문자가 다른 평균은 던컨의 다중범위시험법에 의해 $p<0.05$ 수준으로 유의적 차이가 있음을 의미함 ($a>b$).

도면

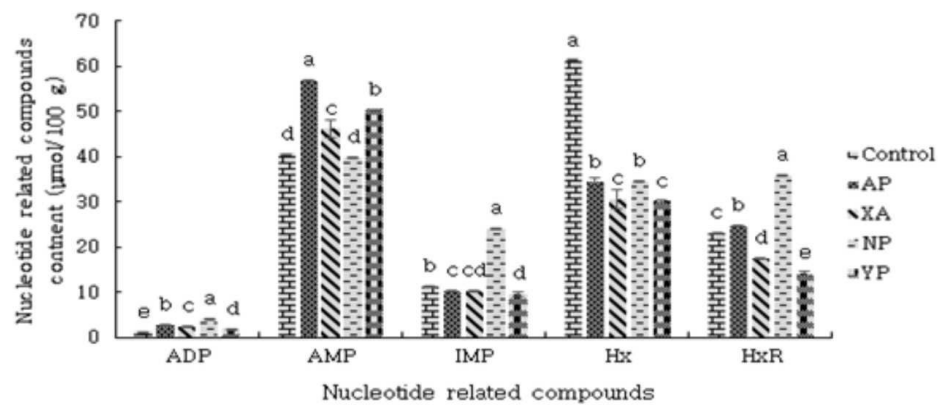
도면1



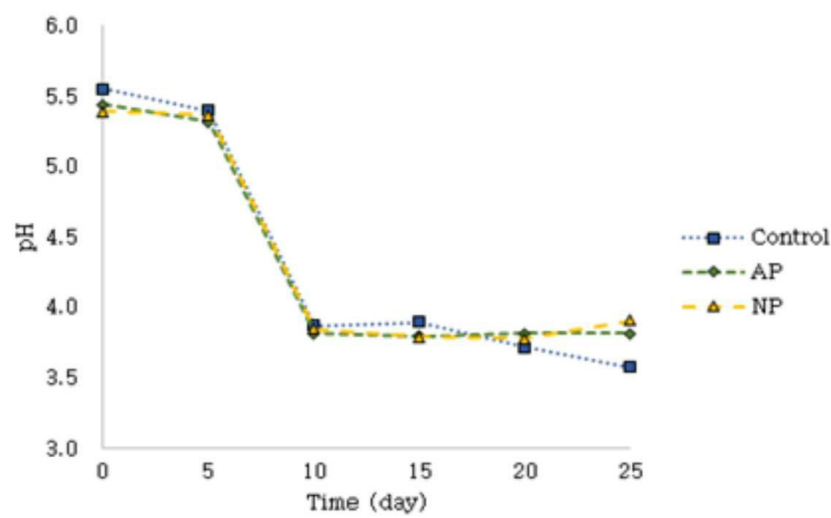
도면2



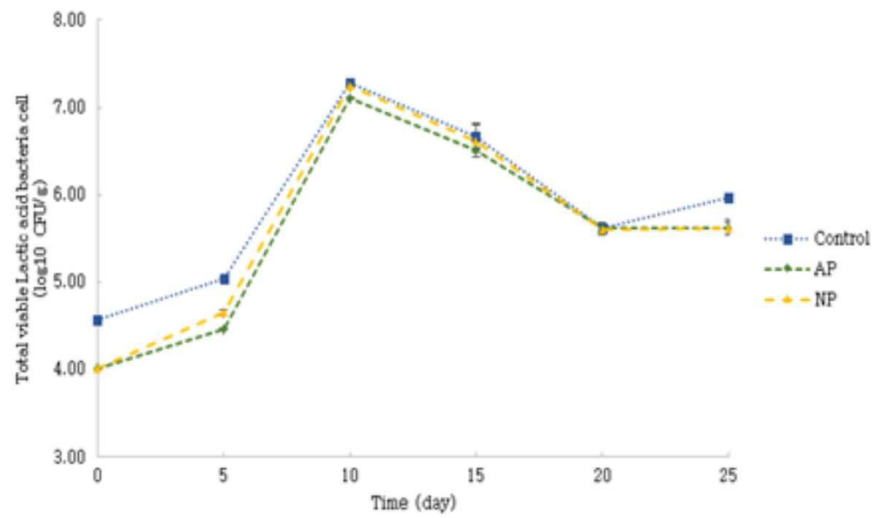
도면3



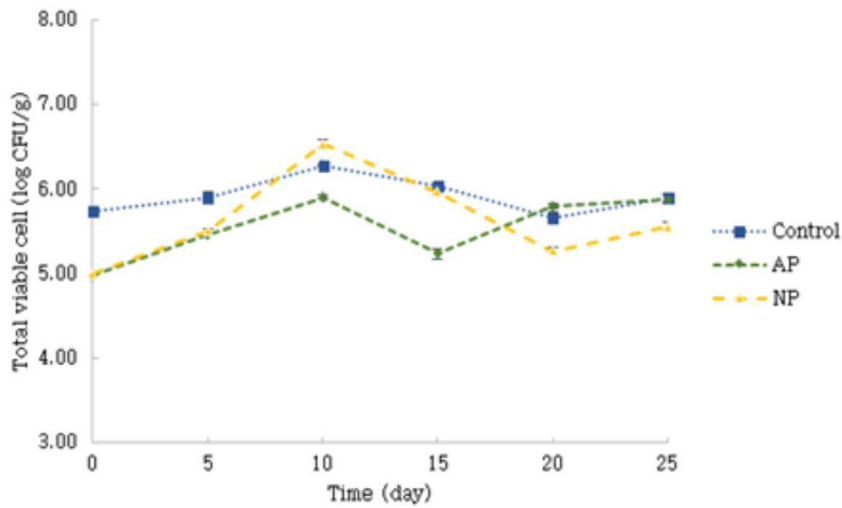
도면4



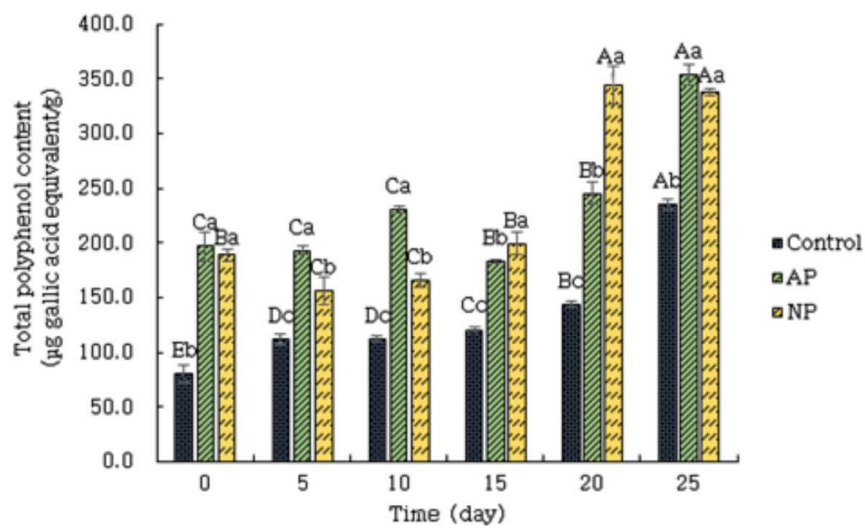
도면5



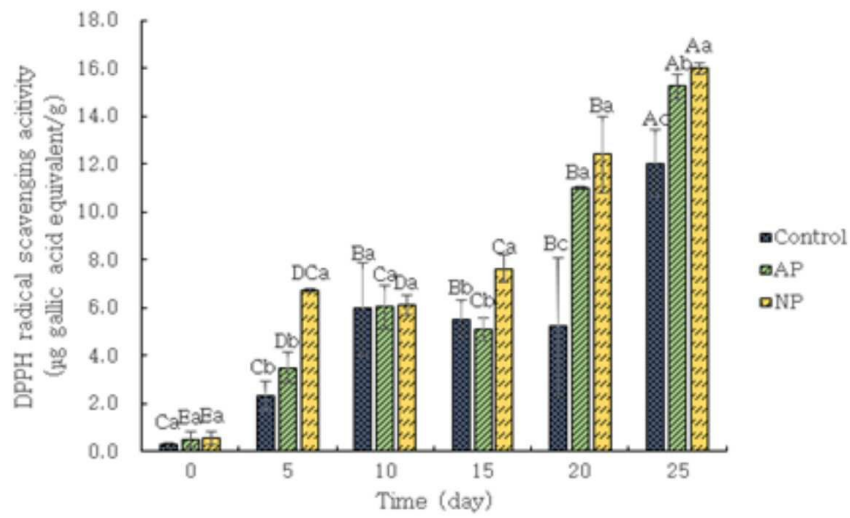
도면6



도면7



도면8



도면9

