

# 밀가루 입국과 유산균을 이용하여 만든 Seed mash를 첨가한 발효액종의 특성

이명구 · 강상모<sup>1</sup> · 이시경\*

건국대학교 응용생물 화학과, <sup>1</sup>건국대학교 미생물공학과

## Characteristics of Flour Ferment with Seed Mash Containing Wheat Flour Koji and Lactic Acid Bacteria

Myung-Koo Lee, Sang-Mo Kang<sup>1</sup> and Si-Kyung Lee\*

Department of Applied Biology & Chemistry, KonKuk University

<sup>1</sup>Department of Microbiological Engineering, KonKuk University

Received March 17, 2006; Accepted May 4, 2006

This study was carried out to investigate the components of organic acids and flavour in flour ferment composed of water, flour, seed mash, yeast and lactic acid bacteria. The pH and TTA in the control (flour ferment without seed mash and lactic bacteria) were 5.6 and 2.5, respectively at 6 hrs after culturing; however, those in flour ferment with seed mash and different lactic acid bacteria were 4.63-4.69 and 9.0-9.9, respectively. Organic acid contents were propionic acid 0.09 mg/g, lactic acid 0.06 mg/g and acetic acid 0.04 mg/g in flour ferment without seed mash, whereas lactic acid 0.23-0.27 mg/g, propionic acid 0.21 mg/g, and acetic acid 0.06-0.08 mg/g in flour ferment with seed mash and lactic acid bacteria. Flavour compounds including ethyl caprylate, ethyl caproate, ethyl acetate, ethyl caprate and phenylethyl acetate were detected to be high in flour ferment with seed mash and different lactic acid bacteria than in the control. This results show that the use of flour ferment with seed mash and lactic acid bacteria in making bread will enhance bread flavour.

**Key words:** flour ferment, lactic acid bacteria, flour koji

### 서 론

냉동반죽으로 만들어진 빵은 scratch 방법을 이용한 중증법에 의하여 만들어진 빵에 비해서 반죽의 안정성이 적고 빵의 풍미가 떨어지며 또한 빵의 부피가 작으면서 노화 속도가 빠른 단점을 지니고 있다. 이런 빵의 노화 지연을 위한 연구는 많이 이루어지고 있으나 냉동반죽을 이용한 빵의 풍미개량을 포함한 노화 지연에 관한 연구는 아직 많이 이루어지고 있지 않은 실정이다. 빵의 풍미는 여러 가지 물질이 조합되어 형성된다<sup>1-3</sup>. 지금까지 150종류 이상의 화합물이 확인되었지만 빵의 풍미에 주 영향을 주는 물질은 유기산류, 유기산 에스테르류, 알코올류, 알데히드류, 케톤류, 유황함유화합물, 가열에 의하여 생성되는 maltol, isomaltol과 melanoidin 화합물들이 확인되었다<sup>1</sup>.

사워도우(sour dough)빵은 유산균과 효모를 첨가하여 주로 호밀빵에 응용하였는데 최근에는 밀가루 빵에 적용하여 빵의 방

향과 풍미를 증가시키고 노화속도를 지연시켜 빵의 저장기간을 연장시키는 장점을 가지고 있다<sup>4-6</sup>.

액체발효법은 1950년대 이후 미국에서 식빵과 롤빵을 전통적인 중증법으로 생산하던 것을 간략히 변형하여 연속반죽공정으로 간편하게 공정을 개편하여 생산하는 방법으로, 보통 식빵이나 햄버거빵, 롤빵에서 널리 이용되었고 특히 곡물빵에서의 응용이 우수하였다<sup>7-9</sup>.

일본에서는 청주 제조시 사용하는 *A. oryzae* 황국균을 이용하여 주종 발효액을 만들고 이 발효액을 이용해서 주종빵을 만들어 빵의 표피가 얇고, 부드러우며 청주 풍미가 나는 특징적인 제품을 생산하고 있다. 빵에서 국의 역할은 액화효소와 당화효소의 작용으로 발효성 당을 생산하고 단백질 가수분해 효소의 작용으로 아미노산을 생산하며, 또 국이 가지고 있는 무기질과 비타민 등을 효모에게 공급하여 주종 특유의 풍미성분을 생성한다<sup>10</sup>. 한국은 오래전부터 전통주인 탁주를 첨가하여 증편을 만들어 왔는데 이것은 일본의 주종빵을 유사하게 응용한 방법의 하나이다<sup>11</sup>.

빵 제조시 반죽의 물성을 최적의 상태로 만들고 또한 빵의 품질을 개선할 목적으로 acidic protease, pentosanase, hemicellulase,

\*Corresponding author  
Phone: 82-2-450-3759; Fax: 82-2-456-7183  
E-mail: lesikyung@konkuk.ac.kr

cellulase, glucose oxidase, sulfhydryl reductase, lipoxygenase, lipase에 관한 연구가 많이 이루어져 왔는데 이 효소들이 직·간접적으로 적절한 사용이 이루어졌을 때 빵에 유용한 것으로 보고되었다<sup>12,13)</sup>.

따라서 본 연구에서는 제빵공업의 현장에서 새로운 독창적인 제빵법을 확립하기 위하여 한국 전통주인 탁주제조에 이용되고 있는 백국균(*A. kawachii*)을 증자한 밀가루에 접종하여 만든 밀가루 코지에 물을 가하여 seed mash를 만들고, 밀가루에 이 seed mash와 사위도우법에서 사용되는 유산균을 함께 첨가하여 혼합 배양한 발효액종의 특성을 조사하였다.

## 실험재료 및 방법

**실험재료.** 소맥분은 국내에서 생산된 제빵용 밀가루(수분 13.9%, 단백질 12.73%, 회분 0.41% 함유)를 사용하였고, 효모로는 시판용 인스턴트 드라이 이스트를 사용하였으며, 유산균은 *L. brevis*와 *Leu. cremoris*, *Str. lactis* subsp. *lactis*, *Str. lactis* subsp. *diacetylactis* 및 *Str. lactis* subsp. *cremoris* (Christian Hansen Co., Ltd., Denmark)의 혼합균주를 사용하였다. 코지는 천등산 박달주에서 제조한 밀가루 입국을 사용하였다.

**실험기기.** 원심분리기(H50Q-8, Hanil Industrial Co., Korea), packed column(HaySep P80-100 mesh, HaySep Separation Co., Ltd., USA), HPLC(M501, Waters Co., USA)를 이용하여 유기산과 알코올 함량을 측정하였고, 각각의 시료 pH와 총산도의 측정은 pH meter(model 420A, Orion Co., USA)를, 향기성분 분석은 GC와 GC-MSD(Agilent Co., Palo Alto, CA, USA), Mass spectral database(Agilent Co. Palo Alto, CA, USA)를, 이용하여 측정하였다.

## 실험방법

**발효액종 제조.** 일정량의 증류수(520-570 ml)를 삼각 플라스크에 넣고 해당 원료 및 균주들을 Table 1과 같이 효모와 유산

Table 1. Formula of flour ferments (Unit: g)

Ingredients	Control	I	II	III	IV
Flour	400	400	400	400	400
Skim milk powder	30	30	30	30	30
Salt	5	5	5	5	5
Water	570	520	520	520	520
Ammonium sulfate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Instant dry yeast	2	2	2	2	2
Seed mash <sup>1)</sup>	0	50	50	50	50
<i>L. brevis</i> (L-62)	0	0	0.2	0	0.1
Lactic acid bacteria (CHN-22)*	0	0	0	0.2	0.1

<sup>1)</sup>I: Koji, Water and *S. cerevisiae*

II: Koji, Water, *S. cerevisiae* and *L. brevis* (L-62)

III: Koji, Water, *S. cerevisiae* and Lactic acid bacteria (CHN-22)

IV: Koji, Water, *S. cerevisiae*, *L. brevis* (L-62) and Lactic acid bacteria (CHN-22)

(CHN-22)\*: *Leuconostoc cremoris*, *Streptococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *cremoris*

균을 각각의 비율로 첨가하고, 여기에 증류수 500 g과 코지 400 g에 각 균주를 첨가하여 72시간 배양한 seed mash를 5%와 밀가루 400 g씩을 넣고 혼합한 후 각각의 시료를 25°C 항온기에서 6시간 교반하면서 발효하였다<sup>14)</sup>. 발효가 종료되면 5°C 냉장고에 보관하여 사용하였다.

**pH의 측정.** pH 측정은 AACC 방법(02-52)에 의하여 각각의 시료 20 g을 250 ml 비이커에 넣고 100 ml의 증류수를 첨가한 다음 균일하게 혼합하고 25°C에서 30분간 방치한 후 pH meter로 측정하였다<sup>15)</sup>.

**총 적정산도(TTA)의 측정.** 총 적정산도의 측정은 AACC 방법(02-31)에 따라서 1.0%(w/v) phenolphthaleine 50% 에탄올 5 방울을 넣어 혼합한 후 pH가 6.6에 도달할 때까지의 0.1N NaOH 용액으로 적정한 ml로 나타내었다<sup>16)</sup>.

**유기산 및 에탄올 측정.** 각각의 시료 50 g에 100 ml의 증류수를 가하여 희석하고 15,000 rpm에서 10분 동안 원심분리한 후 상층액을 Sep-pak(C18) 처리하고 나서 Millipore filter(0.45 µm)로 여과한 후 유기산 분석을 위해 HPLC 및 에탄올 분석을 위해 GC 주입용 시료로 사용하였다. 유기산 분석시 컬럼은 Supelco gel C-610H를 사용하여 1 ml/min의 flow rate로 조절하였으며, Waters 441 UV detector를 사용하였다. 에탄올 함량은 Packed column을 사용하여 분석하였고 오븐 온도는 110°C에서 125°C까지 3°C/min로 승온시켰다. 주입구 온도는 180°C, 검출기 온도는 250°C로 하였다<sup>14)</sup>.

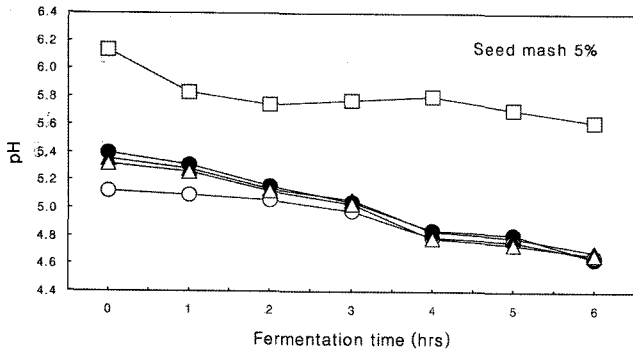
**향기성분 분석.** 각각의 시료의 향기성분의 포집은 SPME를 이용한 headspace법을 이용하였다. Headspace volatiles를 추출하기 위한 SPME fiber는 100 µm polydimethylsiloxane(PDMS)를 이용하였다. 발효액종을 15 g 취하여 50 ml headspace glass vial에 넣고 밀봉한 후 내부온도 40°C에서 약 30분간 SPME fiber를 노출시켜 흡착시킨 후 1분 동안 탈착하였다<sup>14)</sup>. GC분석에 의하여 분리된 각 peak 성분의 확인은 각 성분의 mass spectra와 문헌상의 mass spectral database<sup>17)</sup>의 mass spectra를 비교하여 확인하였다.

## 결과 및 고찰

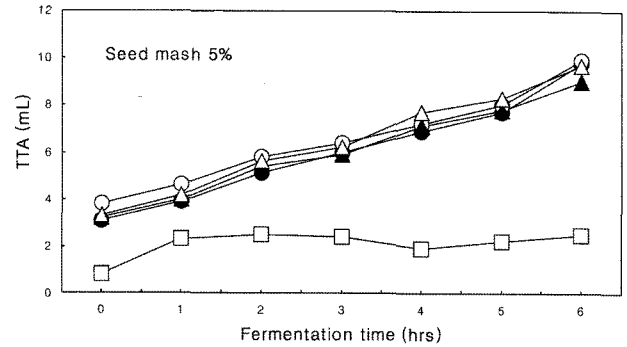
**발효액종의 pH 변화.** 증류수 520 ml에 해당 원료 및 균주들을 일정 비율로 첨가하고 여기에 seed mash 5%와 밀가루 400 g을 혼합하여 25°C에서 발효시키면서 발효액종의 pH 변화를 측정된 결과는 Fig. 1과 같다.

Seed mash를 첨가하지 않고 효모만을 단독 발효시킨 대조구와 seed mash를 5% 첨가한 시험구의 pH 변화를 측정된 결과 배양직후 각 발효액종의 pH는 대조구가 6.13, seed mash 첨가 시험구가 5.12-5.40으로 나타나 다소 차이가 있었다. 또한 대조구의 경우 배양 1시간 후 pH는 5.83으로 감소하였고, 이후 6시간 발효하는 동안 pH는 계속 감소하여 5.62를 나타내었다. Seed mash를 첨가한 시험구의 경우 배양 1시간 후 pH는 모두 감소하였고 그 감소 폭은 첨가한 균주에 따라 다른 양상을 보였다. 즉 seed mash와 효모만을 혼합 발효시킨 경우 4시간 후의 pH는 4.84이었으며 6시간 후에는 pH가 4.65로 감소하였다.

Seed mash와 유산균 *L. brevis*(L-62), 효모를 혼합 발효시킨



**Fig. 1. Changes in pH of flour ferment prepared with 5% seed mash during fermentation at 25°C.** □: Flour ferment with *S. cerevisiae*, ●: Flour ferment with seed mash and *S. cerevisiae*, ○: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae* and *L. brevis*, ▲: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae* and Lactic acid bacteria (CHN-22\*), △: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae*, *L. brevis* and Lactic acid bacteria (CHN-22), \*CHN-22: *Leuconostoc cremoris*, *Streptococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *cremoris*.



**Fig. 2. Changes in TTA of flour ferment prepared with 5% seed mash during fermentation at 25°C.** □: Flour ferment with *S. cerevisiae*, ●: Flour ferment with seed mash and *S. cerevisiae*, ○: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae* and *L. brevis*, ▲: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae* and Lactic acid bacteria (CHN-22\*), △: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae*, *L. brevis* and Lactic acid bacteria (CHN-22), \*CHN-22: *Leuconostoc cremoris*, *Streptococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *cremoris*.

경우 4시간 후 pH 4.79, 6시간 후 pH 4.63을 나타내었고, seed mash와 혼합유산균(CHN-22), 효모를 혼합 발효한 경우 배양 4시간 후 pH 4.83, 6시간 후 pH 4.69를 나타내었다. 또한 seed mash와 유산균 *L. brevis*(L-62), 혼합유산균(CHN-22), 효모를 혼합 발효한 경우 4시간 후 pH 4.78, 6시간 후 pH 4.65를 나타내었다. 이 등<sup>18)</sup>은 물과 코지를 혼합한 후 효모와 유산균을 넣고 배양한 seed mash의 pH는 배양 직후 3.33-3.35이었으며, 배양 시간의 경과에 따라 pH가 증가하였다고 하였으나, 본 실험에서는 seed mash와 물, 밀가루를 혼합 배양시켰을 때 초기 pH가 5.12-5.4로 높았으며, 배양시간의 경과에 따라 pH가 감소하였다. 그러나 차 등<sup>19)</sup>의 면에 사용할 발효물의 제조실험에서 밀가루 100, 소금 2, 증류수 160, *L. acidophilus* 배양액 1의 비율로 혼합하여 37°C에서 배양시켰을 때 5.5 이상의 초기 pH가 배양 72시간 후에 3.06으로 감소하였다고 하여 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보였다.

일반적으로 빵 반죽에 첨가하는 발효액종의 pH는 4.8-5.0이 가장 좋은 것으로 알려져 있는데<sup>20)</sup> 본 실험에서 seed mash를 5% 첨가하여 4시간 발효했을 때의 pH가 4.78-4.84로 발효액종의 발효조건에 가장 적합하였다. 그러나 seed mash를 10% 첨가한 경우는 발효액종 초기의 pH가 너무 낮아(자료생략) 효모의 활성저하와 산 생성과다로 반죽 손상이 우려되므로 산업적 이용가치는 떨어질 것으로 생각된다.

**발효액종의 TTA 변화.** 증류수 520 ml에 해당 원료 및 균주들을 일정 비율로 첨가하고 여기에 seed mash 5%와 밀가루 400 g을 혼합하여 25°C에서 발효시키면서 발효액종의 총 산도 변화를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다.

Seed mash를 첨가하지 않고 효모만을 단독 발효시킨 대조구와 seed mash를 첨가한 시험구의 총산도 변화를 측정된 결과 배양직후 각 발효액종의 총산도는 대조구가 0.8, seed mash 첨가 시험구는 3.1-3.8이었으며, 대조구의 경우 1시간 후 총산도는 2.3으로 증가하였고, 이후 6시간 발효 후의 산도는 2.5를 나타내었다. 그러나 seed mash를 첨가한 시험구의 경우 배양 1시

간 후 총산도는 모두 증가하여 대조구 보다 높았으며 그 증가 폭은 균주별로 다른 양상을 보였다. 즉 seed mash와 효모만을 혼합 발효시킨 경우 4시간 후의 총산도는 7.2를 나타냈으며 6시간 후 총산도는 9.8로 증가하였다.

Seed mash와 유산균 *L. brevis*(L-62), 효모를 혼합 발효시킨 경우 4시간 후 총산도는 4.79, 6시간 후 총산도 9.9로 증가하였으며 seed mash와 혼합유산균(CHN-22), 효모를 혼합 발효한 경우 4시간 후 총산도는 7.3, 6시간 후 총산도 9.0을 나타내었고, seed mash와 유산균 *L. brevis*(L-62), 혼합유산균(CHN-22), 효모를 혼합 발효한 경우 4시간 후 총산도는 7.7, 6시간 후 총산도 9.7을 나타내었다. 이상에서와 같이 seed mash를 첨가하지 않은 대조구와 seed mash를 5% 첨가한 시험구 모두 발효 시간의 경과에 따라 총산도가 증가함을 보였으며 seed mash를 첨가하여 발효시킨 발효액종이 대조구 보다 총 산도 값이 높게 나타났으며, 발효액종의 총산도의 증가와 pH 감소는 다양한 유기산의 생성과 밀접한 관계가 있으며, 이는 잡균의 생육을 억제하는 것으로 알려져 있어, 이를 빵 제조시에 이용할 경우 제품의 품질 및 보존성에 좋은 영향을 줄 것으로 생각된다.

**발효액종의 유기산 함량 측정.** 증류수 520 ml에 해당 원료 및 균주들을 일정 비율로 첨가하고 여기에 seed mash 5%와 밀가루 400 g을 혼합하여 25°C에서 4시간 발효시킨 발효액종에 함유되어 있는 유기산 함량을 조사한 결과는 Table 2와 같다.

Seed mash를 첨가하지 않고 밀가루에 효모만을 단독발효시킨 대조구의 경우는 프로피온산 0.09 mg/g, 젖산 0.06 mg/g, 구연산 0.02 mg/g, 아세트산 0.04 mg/g이 검출되었다. 또한 seed mash와 효모를 혼합 발효시킨 발효액종은 프로피온산이 0.21 mg/g으로 가장 높게 나왔고 젖산 0.16 mg/g, 구연산 0.05 mg/g, 아세트산 0.06 mg/g이 검출되었다. 그러나 seed mash와 유산균 *L. brevis*(L-62), 효모를 혼합 발효한 발효액종은 젖산이 0.23 mg/g으로 가장 높았으며 프로피온산 0.2 mg/g, 아세트산과 구연산이 각각 0.1 mg/g, 0.06 mg/g이 검출되었다. Seed mash와 혼합유산균(CHN-22), 효모를 혼합 발효한 발효액종도 젖산이

**Table 2. Contents of organic acids contained in flour ferments**  
(Unit: mg/flour ferment g)

Organic acids	Control	I	II	III	IV
Lactic acid	0.06	0.16	0.23	0.27	0.24
Citric acid	0.02	0.05	0.06	0.08	0.07
Acetic acid	0.04	0.06	0.10	0.06	0.08
Propionic acid	0.09	0.21	0.20	0.21	0.20
Malic acid	0.02	0.04	0.04	0.03	0.03
Succinic acid	0.03	0.04	0.04	0.05	0.04
Total	0.26	0.56	0.67	0.70	0.66

Control: Flour ferment with *S. cerevisiae*

I: Flour ferment with seed mash and *S. cerevisiae*

II: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae* and *L. brevis*

III: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae* and Lactic acid bacteria (CHN-22\*)

IV: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae*, *L. brevis* and Lactic acid bacteria (CHN-22)

\*CHN-22: *Leuconostoc cremoris*, *Streptococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *cremoris*

0.27 mg/g, 프로피온산 0.21 mg/g, 아세트산 0.06 mg/g, 구연산 0.08 mg/g이 검출되었다. Seed mash와 유산균 *L. brevis*(L-62), 혼합유산균(CHN-22), 효모를 혼합 발효한 발효액종은 젖산이 0.24 mg/g, 프로피온산이 0.20 mg/g, 아세트산이 0.08 mg/g, 구연산이 0.07 mg/g이 검출되었다.

이상의 실험에서 seed mash와 효모, 유산균을 함께 첨가하여 배양한 발효액종에서 젖산과 프로피온산이 가장 많이 검출되었고 다음으로 아세트산과 구연산이 검출되었다. 이 등<sup>18)</sup>은 물, 코지와 유산균, 효모를 72시간 혼합 배양한 seed mash에서 젖산이 3.69-3.96 mg/g, 프로피온산이 3.64-3.73 mg/g으로 가장 높았으며, 초산이 1.24-1.62 mg/g 생성되었다고 하였다.

Narendranath 등<sup>21)</sup>은 효모의 알콜 발효에 미치는 유산균의 영향에 관한 연구에서 효모가 비타민과 니코틴산, 아테닌, 구아닌, 및 아스파틴산, 트립토판, 글라이신, 알라닌과 라이신 같은 아미노산을 생산하여 공급한 결과로 유산균의 증식이 좋다고 하여, 빵 제조시 유산균과 효모를 혼합 배양시킬 경우 이러한 아미노산은 빵의 풍미와 영양에도 좋은 영향을 줄 것으로 생각된다. 또한 유기산은 빵의 향미에 영향을 줄 뿐만 아니라 gluten의 팽윤을 도와주어 수분 보유력을 높여 조직감을 좋게 하고 비용적(체적)이 큰 제품을 생산할 수 있어 밀가루와 물, seed mash, 효모, 유산균을 혼합 배양한 발효액종은 천연 제빵 개량제로서 역할이 가능하며, 이는 빵 제품의 조직감 등 품질 특성에 좋은 영향을 줄 것으로 생각된다.

**발효액종의 향기성분 분석.** 증류수 520 ml에 해당 원료 및 균주들을 일정 비율로 첨가하고 여기에 seed mash 5%와 밀가루 400 g을 혼합하여 25°C에서 4시간 발효한 발효액종의 향기성분 분석 결과는 Table 3과 같다. 표에서와 같이 효모로만 발효시킨 발효액종의 향기성분은 검출된 총 함량을 100으로 보았을 때 에탄올이 70%, 이소아밀알코올 16.3%, 페닐에틸알코올 3.37%, 에틸카프릴레이트 3.01% 순으로 검출되었다. Seed mash와 효모를 발효시킨 발효액종의 경우는 에탄올 52.7%, 이소아밀알코올 20.5%, 에틸카프릴레이트 4.75%, 페닐에틸아세테이트

**Table 3. Flavour components in flour ferments fermented for 4 hrs at 25°C**  
(Unit: % of total)

Components	Control	I	II
Ethyl acetate	1.74	2.28	5.15
Ethanol	70	52.7	51.5
Propanol	-	0.41	-
Ethyl butyrate	-	0.54	0.60
Isobutyl alcohol	1.29	1.05	0.91
Isoamyl acetate	-	0.50	1.16
Isoamyl alcohol	16.3	20.5	18.4
Ethyl caproate	1.86	3.58	4.76
n-Hexanol	1.01	-	-
Ethyl caprylate	3.01	4.75	7.97
Ethyl caprate	-	1.41	2.24
Ethyl laurate	-	-	0.33
Capric acid	-	0.95	0.25
Lauric acid	-	1.14	-
Acetic acid	-	-	1.53
Octanol	0.97	-	-
Phenylethyl acetate	-	4.43	-
Caproic acid	0.45	-	0.52
Phenylethyl alcohol	3.37	-	4.31
Others	-	5.76	0.37

Control: Flour ferment with *S. cerevisiae*

I: Flour ferment with seed mash and *S. cerevisiae*

II: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae* and *L. brevis*

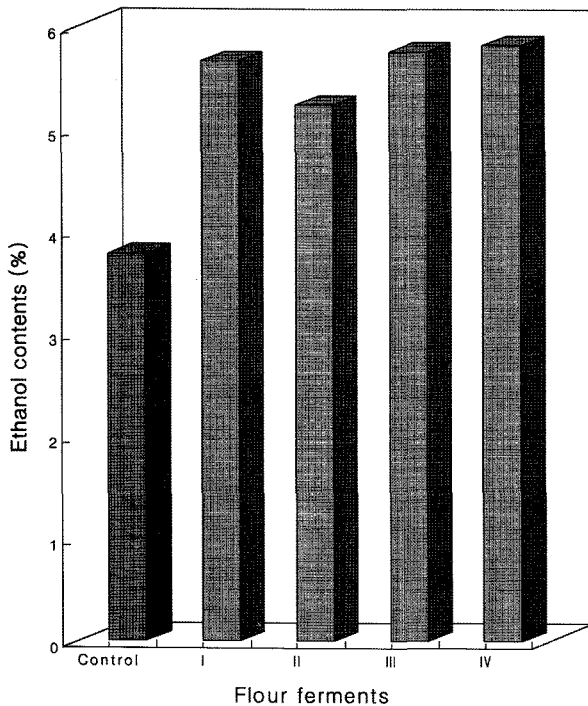
4.435%, 에틸카프로에이트 3.58% 순으로 검출되었다. 또한 seed mash와 효모, 유산균 *L. brevis*를 배양시킨 발효액종은 에탄올이 51.5%, 이소아밀알코올 18.4%, 에틸카프릴레이트 7.97%, 에틸아세테이트 5.15%, 에틸카프로에이트 4.76%가 검출되었다.

이상의 실험결과 모든 발효액종에서 향기 성분 중 에탄올이 가장 많이 검출 되었으며, 특히 효모만을 단독 발효한 경우가 효모와 유산균 첨가구에서 보다 상대적으로 높은 함량을 나타냈다. 그러나 효모만 단독 발효한 경우보다 효모와 유산균을 혼합 배양한 발효액종에서 에칠 아세테이트, 에칠 카프레이트, 에틸 라우레이트, 페닐에칠 아세테이트 등의 에스테르 화합물이 상대적으로 더 많이 생성되었다. 따라서 빵 제조시 효모와 유산균을 혼합 배양한 발효액종을 첨가한 제품에서 풍미에 영향을 주는 에스테르 향이 많이 생성될 것으로 생각된다. 이는 빵 제품의 관능검사 실험에서 seed mash와 유산균 효모로 배양한 발효액종을 첨가한 제품에서 풍미와 조직감이 좋았던 결과와 일치하였다<sup>14)</sup>.

또한 이 등<sup>18)</sup>은 증류수 560 ml에 코지 400 g을 넣고 유산균 *L. brevis*와 효모를 혼합 배양시켰을 때, 검출된 총 향기성분 대비 에탄올이 가장 높았으며, 에칠 카프릴레이트, 이소아밀 아세테이트, 에칠 카프레이트 등 에스테르 화합물의 비율이 높았다고 하여, 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보였다.

**발효액종의 에탄올 함량.** 증류수 520 ml에 해당 원료 및 균주들을 일정 비율로 첨가하고 여기에 seed mash 5%와 밀가루 400 g을 혼합하여 25°C에서 4시간 발효한 발효액종의 에탄올 함량은 Fig. 3과 같다.

Seed mash를 첨가하지 않고 효모만을 단독 발효시킨 대조구



**Fig. 3. Ethanol contents in flour ferments fermented for 4 hrs at 25°C.** Control: Flour ferment with *S. cerevisiae*, I: Flour ferment with seed mash and *S. cerevisiae*, II: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae* and *L. brevis*, III: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae* and Lactic acid bacteria (CHN-22\*), IV: Flour ferment with seed mash, *S. cerevisiae*, *L. brevis* and Lactic acid bacteria (CHN-22), \*CHN-22: *Leuconostoc cremoris*, *Streptococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *cremoris*.

의 경우 에탄올 함량이 3.78%로 가장 낮았으며 seed mash와 효모를 혼합 발효시킨 경우 5.66%로 나타났으며 seed mash와 유산균, 효모를 혼합 발효한 경우는 5.23-5.82%로 나타났다. 본 실험에서 대조구의 에탄올 함량이 가장 낮은 것은 발효액종 제조시 코지가 함유된 seed mash를 첨가하지 않아 밀가루 전분의 당화가 적어 환원당의 부족에 기인하며, 그 외 시험구는 코지를 첨가한 seed mash속에 포함된  $\alpha$ -amylase, saccharifying amylase에 의해 발효성 당이 생성되고, 이를 효모가 에탄올 생산에 이용하여 대조구보다 높게 나온 것으로 생각된다.

이 등<sup>18)</sup>은 물과 코지 만으로 제조한 seed mash를 42시간 배양하였을 때 환원당 함량이 12%까지 증가하였고, 이는 코지 중에 함유된 *Aspergillus kawachii*가 생성하는 다양한 아밀라제가 밀가루 전분을 분해하여 증가되었으며, 반면 효모와 유산균을 더 첨가하였을 때는 환원당 함량이 월등히 감소하여 0.28-0.72%이었으며, 이는 효모에 의한 에탄올 생산에 환원당이 이용되어 72시간 배양 후에 에탄올 함량이 7.23-8.32%로 높게 나왔다고 하였으나, 본 실험에서는 4시간 배양한 결과 에탄올 함량이 낮은 것으로 생각된다.

**초 록**

빵의 노화와 풍미 향상을 목적으로 빵 제조시 첨가하기 위하여 제조한 유산균, 효모, seed mash을 첨가하여 배양한 발효

액종(flour ferment)의 특성을 조사한 결과는 다음과 같다. Seed mash를 첨가하지 않은 발효액종은 배양 6시간 경과시 pH와 TTA가 각각 5.6 및 2.5이었으며, seed mash 5%와 각기 다른 유산균을 첨가한 발효액종은 pH가 4.63-4.69와 TTA가 9.0-9.9이었다. 4시간 발효시킨 발효액종에 함유된 유기산은 대조구의 경우 프로피온산이 0.09 mg/g, 젖산과 초산이 각각 0.06 및 0.04 mg/g 검출되었으며, seed mash와 효모만을 발효시킨 발효액종에서는 프로피온산이 0.21 mg/g, 젖산과 초산이 각각 0.16, 0.06 mg/g, seed mash와 유산균, 효모를 혼합 배양한 발효액종에서는 젖산이 0.23-0.27 mg/g으로 가장 높았으며, 프로피온산이 0.21 mg/g, 초산이 0.06-0.08 mg/g 검출되었다. 발효액종의 향기성분은 seed mash, 효모, 유산균을 혼합 배양한 발효액종에서 ethyl caprylate, ethyl caproate, ethyl acetate, ethyl caprate, phenylethyl acetate등의 에스테르 화합물이 대조구에서 보다 많이 검출되었다.

**Key words:** 발효액종, 유산균, 밀가루 입국

**참고문헌**

- Hansen, A. and Hansen, B. (1994) Volatile compounds in wheat sourdoughs produced by lactic acid bacteria and sourdough yeasts. *Z Lebensm Unters Forsch.* **198**, 202-209.
- Gelinas, P. and Lachance, O. (1995) Development of fermented dairy ingredients as flavor enhancers for bread. *Cereal Chem.* **72**, 17-21.
- Stöllman, U.M. (1986) In *Flavour changes in white bread during storage: The shelf life of foods and beverages*. Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam, pp. 293-301.
- Rocken, W. and Voysey, P. A. (1995) The society for applied bacteriology: Sour-dough fermentation in bread-making. *J. of Applied Bacteriology Symposium Supplement.* **79**, 38-48.
- Vollmar, A. and Meuser, F. (1992) Influence of starter cultures consisting of lactic acid bacteria and yeasts on the performance of a continuous sourdough fermenter. *Cereal Chem.* **69**, 20-27.
- Martinez-Anaya, M. A., Pitarch, B., Bayarri, P. and De Barber, B. (1990) Micro-flora of the sourdoughs of wheat flour bread. *Cereal Chem.* **67**, 85-91.
- Stuteville, B. J. G., Ponte, J. G., Faubion, J. M. and Kulp, K. (1988) Comparison of white and whole wheat flour brews in the liquid ferment breadmaking process. *Cereal Foods World* **33**, 434-438.
- Bastetti, G. (2001) Breads produced in Italy. Part I: Sour preferments and starters. American Institute of Baking. *Tech. Bull.* **23**, 1-8.
- Kulp, K. (1986) Influence of liquid ferments on quality characteristics of white pan bread. American Institute of Baking. *Tech. Bull.* **8**, 1-9.
- Akinaga, A. (1999) In *Bakery I: New Making Bread (Basic Technic)*. Fujimisha Co., Tokyo, pp. 42-45.
- Lee, J. M. (1990) Properties of Jeung-Pyun made with different methods. *Miwon res. insti. of Kor. foods diet. cult.* **26**, 209-247.
- Borrelli, G. M., Troccoli, A., Fonzo, N. D. and Fares, C. (1999) Drum wheat lipoxygenase activity and other quality parameters

- that affect pasta color. *Cereal Chem.* **76**, 335-340.
13. Vemulapalli, V., Miller, K. A. and Hosney, R. C. (1998) Glucose oxidase in breadmaking system. *Cereal Chem.* **75**, 439-442.
  14. Lee, M. K. (2004) Quality characteristics of frozen dough bread prepared with flour ferments containing wheat flour Koji and lactic acid bacteria. Ph.D. thesis. Konkuk University, Seoul, Korea.
  15. AACC. (1983) In Approved methods of the American Association of Cereal Chemists, AACC method 02-52, Determination of pH. (8th ed.) St. Paul, MN.
  16. AACC (1983) In *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists, AACC method 02-31, Total titratable acidity*. (8th ed.) St. Paul, MN.
  17. Wiley/National Bureau of standards (1989) In Registry of mass spectra data. Wiley Science Co., New York.
  18. Lee, M. K., Park, J. K. and Lee, S. K. (2005) The physicochemical properties of seed mash prepared with Koji. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**, 199-205.
  19. Cha, W. J., Lee, S. K., Lee, J. H. and Cho, N. J. (2004) Characteristics of flour ferment using *Lactobacillus acidophilus* as starter. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 116-122.
  20. Karise, T. (1997) In *Bread making*. Japan Institute of Baking. Tokyo, pp. 12-18.
  21. Narendranath, N. V., Hynes, S. H., Thomas, K. C. and Lngledew, W. M. (1997) Effect of Lactobacilli on yeast-catalyzed ethanol fermentation. *Appl. Environ. Microbiol. Nov.* 4158-4163.