

김치유산균(*Weissella koreensis* HO20, *Weissella kimchii* HO22)으로 발효한 쌀가루의 이화학적 특성 및 이를 이용한 절편의 제조

최혜정 · 이화원 · 윤선[†]
연세대학교 식품영양학과

Fermentation of rice flour with *Weissella koreensis* HO20 and *Weissella kimchii* HO22 isolated from *kimchi* and its use in the making of *jeolpyeon*

Hyejung Choi, Hwawon Lee and Sun Yoon[†]
Department of Food & Nutrition, Yonsei University

Abstract

Demand for a rice cake, a popular traditional food in Korea, is rising, but its industrial-scale production is extremely difficult due to its short shelf-life caused by starch retrogradation and microbial spoilage. By means of the sourdough fermentation technique, we attempt to develop rice cakes with a longer shelf-life. Heterofermentative lactic acid bacteria (*Weissella koreensis* HO20, *Weissella kimchii* HO22) isolated from kimchi were used to ferment wet-milled rice flour for their abilities to produce exopolysaccharides and to inhibit the microbial spoilage of rice cakes. After 24 hr of fermentation at 25°C, viable cell counts in rice dough increased from 10⁶ CFU/g to 10⁸ CFU/g and total titratable acidity increased from 0.05% to 0.20%, whereas pH decreased from 6.5 to 5.1. Fermented rice flour showed significantly lower peak, trough, and final viscosities as well as breakdown and setback viscosities measured by rapid viscoanalyzer. Both lactic acid bacteria showed in vitro antifungal activity against *Penicillium crustosum* isolated from rice cakes. The antifungal activity remained constant after the treatments with heat, proteinase K and trypsin, but fell significantly by increase of pH. Rice cakes made of fermented rice flour were found to retard mycelial growth of *P. crustosum*. The degree of retrogradation as measured by the hardness of the rice cake was significantly reduced by the use of fermented rice flour. The results suggest that use of fermented rice flour has a beneficial role in retarding starch retrogradation and in preventing fungal growth, hence extending the shelf-life of rice cakes.

Key words: fermentation, rice flour, *Weissella koreensis*, *Weissella kimchii* jeolpyeon

1. 서론

전 세계적으로 쌀은 밀과 함께 인류의 에너지원으로 이용되는 가장 중요한 곡물로(Awika JM 2011), 우리나라에서도 오래전부터 주식으로 이용되어왔다. 그러나 서구화되어가는 식습관 및 다양한 먹거리, 즉석 가공 식품 등으로 인하여 쌀의

소비량은 지난 30년간 지속적으로 감소하였고, 2011년 1인당 쌀 소비량은 71.2 kg에 그쳤다(통계청 2012). 이와는 반대로 쌀 생산 기술의 괄목할만한 발달과 자유무역협정 체결 등으로 말미암은 수입쌀 공급은 잉여 쌀의 재고 문제와 함께 농가 경제를 악화시키고 있다. 이에 쌀 소비를 다양하게 증가시킬 수 있는 방안이 요구되고 있는 실정이다(Kim JS 2008). 떡은 대표적 쌀 가공 식품으로 전통 식품이라는 긍정적 이미지와 함께 알레르기 유발이 없는 안전하고 건강한 저지방 식품으로 재평가되고 있다. 특히 종래 간식으로만 섭취하던 것에서 벗어나 최근에는 간단한 아침 식사 대용품으로 인기가 증가하고 있으며, 다양한 연령층을 만족시킬 수 있는 여러 종류의 떡 개발이 꾸준히 이루어지고 있는 추세이다. 하지만 떡

[†]Corresponding author : Sun Yoon, Department of Food & Nutrition, Yonsei University
Tel: +82-2-2123-3119
Fax: +82-2-365-3118
E-mail: snkim@yonsei.ac.kr

은 저장 중 전분의 노화로 인한 경화와 수작업에 따른 미생물 오염 등으로 유통 기간이 짧은 단점이 있다.

서양에는 떡과 유사한 곡류 가공 식품으로 빵이 있으며, 저장 중 노화 및 미생물에 의한 품질 저하를 막기 위하여 오래전부터 sourdough 기술이 널리 이용되어 왔다. Sourdough는 발효 기간 중 생성되는 유기산, 향균 물질 등 다양한 발효산물로 인하여 저장 중 노화가 지연되고 미생물에 의한 부패가 더디 일어나는 것으로 알려져 있다(Arendt EK 등 2007). 서양의 sourdough 기술처럼 유산 발효가 떡에 적용된 예는 증편이 유일하다(Oh CH와 Oh NS 2009).

유산균에 의한 발효는 식품에 다양한 풍미와 조직감을 부여하고, 영양 및 기능성 성분의 생성으로 식품의 가치를 증가시킬 뿐 아니라, 향균성 물질의 생합성으로 저장성을 향상시키는 오래된 식품 가공법이다(Leroy F와 De Vuyst L 2004). 김치는 우리나라의 대표적 젖산 발효 식품으로 다양한 미생물들이 발효과정에 관여하는 것으로 알려져 있다. 김치 발효에 주된 역할을 하는 김치 유산균으로는 *Lactobacillus* 속, *Leuconostoc* 속 등이 오래 전부터 알려져 왔으나(Rhee S 등 2011), 최근 미생물 동정 기술의 발달로 인하여 *Weissella* 속 유산균들이 새롭게 분리 동정되었다(Lee JS 등 2002). 김치 유산균의 우수한 건강 기능성에 대한 다각적 연구 결과들이 보고된바 있으나(Rhee S 등 2011), 김치 유산균을 스타터로 식품에 활용한 예는 김치(Choi IK 등 2003), sourdough 빵(Choi H 등 2012), 소시지(Lee JY 등 2006) 등으로 극히 일부에 국한되어있다. 따라서 우리나라 토착 균인 김치 유산균의 산업적 가치를 증진시키기 위해서는 보다 다양한 활용 방안이 제시되어야 할 것으로 여겨진다.

이에 본 연구에서는 김치에서 분리 동정한 *W. koreensis* HO20과 *W. kimchii* HO22로 쌀가루를 발효한 후, 발효 쌀가루의 이화학적 특성을 알아보고 발효 쌀가루를 절편 제조에 이용하여 김치 유산균의 활용 방안과 저장성이 향상된 떡의 제조법을 제시하고자 하였다.

1. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에서는 2009년산 경기도 이천쌀(임금님표, 대월농협, 이천)을 시중에서 구입하여 사용하였다. 설탕(백설탕, 제일제당)과 소금(해표 꽃소금, 사조)은 근처 가게에서 구입하였다. 실험에 사용된 모든 시약은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, 그 외 회사 제품은 시약 뒤에 따로 표기하였다.

2. 균주의 배양

본 연구에 사용된 유산균은 배추 김치에서 분리한 *Weissella koreensis* HO20과 *Weissella kimchii* HO22였고(Cho J 등 2006), 향균성 시험에 사용한 곰팡이는 떡에서 분리 동

정한 *Penicillium crustosum*으로(Baek E 등 2012) 인하대학교 생명과학과 김정호 교수로부터 분양 받아 사용하였다. 유산균은 Difco 사(Becton, Dickinson & Co., Franklin Lakes, NJ, USA)의 de Man Rogosa and Sharpe (MRS) broth에 1% 접종하여, 25°C에서 24시간씩 2회 계대배양 하였고, 실험에는 정지기 초기(*W. koreensis* HO20: 18시간, *W. kimchii* HO22: 12시간)의 균체를 사용하였다. 곰팡이는 potato dextrose agar에서 7일간 25°C에서 배양하여 1% tween 용액으로 포자를 채취하였다. 멸균된 거즈로 거른 포자 현탁액은 50% glycerol과 8:2의 비율로 혼합하여 -80°C에서 보관하며 사용하였다.

3. 쌀가루의 제조 및 발효

1) 쌀가루의 제조

쌀은 수돗물로 3번 씻은 후, 2배의(w/w) 물로 4시간 동안 수침하고, 체에서 30분 동안 수분을 제거하였다. 쌀가루 분쇄 롤러(삼우떡기계, 한국)에서 2번 제분한 후 20 mesh 체가 내장된 백설기 자동체(삼우기계)에서 2번 내려 쌀가루를 제조하였다. 쌀가루는 300 g씩 담아 진공 포장기(Tecnovac, Italy)로 80% 진공포장 후 -20°C 냉동고(LS-1040F2, 라셀르, 한국)에서 보관하며 시료로 사용하였다.

2) 반죽 및 발효

냉동 보관 중인 쌀가루는 발효 3시간 전 25°C 향온기(BOD incubator J-IB03, 제일과학산업)로 옮겨 일정한 온도를 유지하였다. 쌀가루 100 g에 설탕 10 g, 소금 1 g, 수돗물 35 g을 넣어 반죽을 만들었다. 정지기 초기까지 배양한 유산균 배양액은 원심분리하여(8,000 x g, 4°C, 10 min) 균체를 회수하고, 반죽 1 g당 10⁶ CFU의 비율로 반죽에 접종하여 25°C 향온기에서 24시간 동안 정치시켰다. 본 연구에서는 유산균을 첨가하지 않고 향온 정치하지 않은 대조군(control)과 유산균을 첨가하지 않고 24시간 동안 향온 정치한 대조군(incubated control)으로 나누어 실험군과 비교하였다.

4. 발효 반죽의 이화학적 특성

1) 생균수, 적정산도 및 pH

발효 시간에 따른 반죽의 생균수는 시료를 0.85% 생리식염수로 단계적으로 희석한 후, cycloheximide (20 µg/mL)가 첨가된 MRS 고체 배지에 도말하고, 25°C에서 배양하면서 형성된 colony를 계수하였다. 적정산도 및 pH는 시료를 증류수로 10배 희석하여 측정하였다. pH는 pH meter (PL-500 pH meter, Ezodo, Taiwan)로 측정하였으며, 적정산도는 0.1 N NaOH를 이용하여 pH 8.2가 될 때까지 중화 적정하고, 이 때 소비된 표준 용액의 양을 % lactic acid 로 환산하였다.

2) 유기산 및 에탄올 정량

반죽에 동일한 증량의 증류수를 첨가하여 4°C, shaking

incubator에서 2시간 동안 혼합하였다. 이를 원심 분리하여 (8,000 x g, 4℃, 10 min) 얻은 상등액을 0.2 μm Acrodisc syringe filter로 여과하여 시료로 사용하였다. Lactic acid, acetic acid, ethanol 함량은 Enzymatic assay kit (Boehringer Mannheim/R-Biopharm, Darmstadt, Germany)를 사용하여 정량하였다.

3) Exopolysaccharide (EPS) 함량

반죽 2 g에 증류수 10 mL을 가하여 4℃ shaking incubator (Model IS-971R, JELO Tech., Seoul, Korea)에서 150 rpm으로 2시간 동안 혼합한 후 원심분리 하였다(20,000 x g, 4℃, 10 min). 상등액에 trichloroacetic acid를 상등액의 4% 농도로 첨가하고 4℃에서 2시간 동안 단백질을 침전시켰다. 이를 원심 분리하여(20,000 x g, 4℃, 25 min) 얻은 상등액에 상등액 부피의 2배가 되는 95% 에탄올을 첨가하고 4℃에서 15시간 이상 정치하였다. 이를 원심분리하여(20,000 x g, 4℃, 25 min) 침전물을 회수하였다. 침전물은 10 mL 증류수에 녹인 후 dialysis tube (MW cut-off 12,000)에 넣고 증류수에서 15시간 이상 투석하고 동결건조 하였다. EPS 함량은 Phenol-sulfuric acid 방법(DuBois M 등 1956)을 사용하여, 포도당을 이용한 정량곡선으로부터 추정하였다.

4) 신속점도계 (Rapid Visco Analyzer, RVA)를 이용한 호화 점도 특성

동결 건조한 반죽의 호화 점도 특성은 RVA (AU/RVA-4, Newport Scientific, Irvine, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. 동결 건조한 반죽 3 g에 증류수 25 g을 넣어 섞어준 후, 50℃에서 960 rpm으로 10초, 160 rpm으로 1분간 교반 하였다. 이후 동일한 교반 속도를 유지하면서 분당 12℃씩 95℃까지 가열하고, 온도를 유지하면서 2분간 교반 하였다. 이후 분당 12℃씩 50℃로 냉각하여 2분 30초 동안 교반 하면서 점도를 측정하였다. 최고 점도(peak viscosity), 최저 점도(trough viscosity), 최종 점도(final viscosity)로부터 breakdown 값과 setback 값을 구하였다. Breakdown 값은 최고 점도에서 최저 점도를 뺀 값이며, setback 값은 최종 점도에서 최저 점도를 빼어 계산하였다.

5. 유산균 배양액 및 발효 쌀가루의 항균성

유산균 배양액의 항균활성은 Choi H 등(2012)의 방법을 수정하여 포자 발아 저해율로 측정하였다. MRS 배지에서 정지기 초기까지 배양한 유산균 배양액을 원심분리(8,000 x g, 4℃, 10 min)한 후 상등액을 0.2 μm Acrodisc syringe filter로 여과하여 cell-free supernatant (CFS)를 얻었다. CFS 190 μL와 곰팡이 포자 현탁액(10^4 spores/mL) 10 μL를 96-well microplate에 넣은 후 25℃에서 72시간 배양하고 520 nm에서 탁도를 측정하였다. 포자 발아 저해율은 CFS 대신 MRS배지를 넣은 대조군의 탁도와 비교하여 계산하였다. CFS의 항균활성

에 미치는 열처리, pH, protease 효과는 100℃에서 10분 가열한 CFS, 4 M HCl 또는 4 M NaOH로 pH를 3.5와 6.0으로 조정된 CFS, proteinase K (Sigma) 또는 trypsin (Sigma)으로 37℃에서 1시간 처리한 CFS를 이용하여 측정하였다. 발효 쌀가루의 항균활성은 발효 쌀가루의 증류수 현탁액(1:9, w/v)을 사용하여 dual agar plate 방법(Choi H 등 2012)으로 측정하였다.

6. 절편의 제조 및 기계적 질감 평가

1) 절편의 제조

발효한 반죽은 전기 스티밍(스팀보일러, 삼우기계)에서 20분간 쪄 후 Kitchenaid mixer (Model 5KSM150, USA)를 이용해 2단계로 1분, 6단계로 4분 동안 치대주었다. 반죽은 63 g 씩 원통형의 틀(지름 6.5 cm, 높이 1.5cm)에 넣어준 뒤 30분간 상온에서 굳혀 주었다. 대조군은 발효하지 않은 반죽을 이용하여 제조하였다.

2) 절편의 기계적 질감 평가

절편의 질감은 Rheometer (Compact II-100, Sun Scientific Co., Japan)를 사용하여 압착 시험을 실시하였다. Adaptor No. 2를 장착하고 테이블 이동 속도 120 mm/min, 진입거리 33%로 압착 시험을 하여 최대응력 값을 경도(Hardness)로 나타내었다.

7. 통계처리

본 실험의 모든 통계처리는 SPSS (version 18.0)를 이용하여, 분산분석(ANOVA)을 실시했으며 각 시료간의 유의성 차이는 Duncan's multiple range test를 사용하여 p < 0.05의 수준에서 검정하였다.

II. 결과 및 고찰

1. 김치 유산균에 의한 반죽의 발효

1) 발효 과정 중의 pH, 적정 산도, 생균수 변화

W. koreensis HO20과 *W. kimchii* HO22를 접종한 후 25℃에서 발효한 반죽의 pH와 적정 산도 변화는 Fig. 1 (A) 과 같다. 발효가 진행되면서 반죽의 pH는 6.5에서 점차 감소하여 24시간 후 *W. koreensis* HO20과 *W. kimchii* HO22 첨가군 모두 pH 5.1로 측정되었다. 스타터 유산균을 첨가하지 않고 24시간 항온 정치한 반죽의 pH는 6.1로 스타터 첨가군에 비하여 미미한 감소 경향을 보였다. 반죽의 초기 산도 0.07%는 유산균을 첨가한 두 반죽의 경우 발효 24시간 이후 약 0.2%로 측정되었으며 두 유산균군 사이에 유의적 차이는 없었다.

스타터를 첨가하지 않은 대조군의 산도는 24시간 항온 정치 후 0.1%로 증가 하였다. 반죽 1 g당 약 10^6 CFU로 유산균을 접종하고 25°C에서 24시간 발효하면서 24시간 동안 균 수의 변화를 측정된 결과는 Fig. 1(B)와 같다. 유산균을 첨가하지 않은 대조군은 항온 정치 24시간 후 반죽 1 g당 10^7 CFU에 도달하였고, 유산균을 첨가한 실험군은 초기 8시간 동안 급격히 균 수가 증가하였으나, 이후 증가 속도가 완만해져 발효 24시간까지 10^8 CFU를 유지하였다.

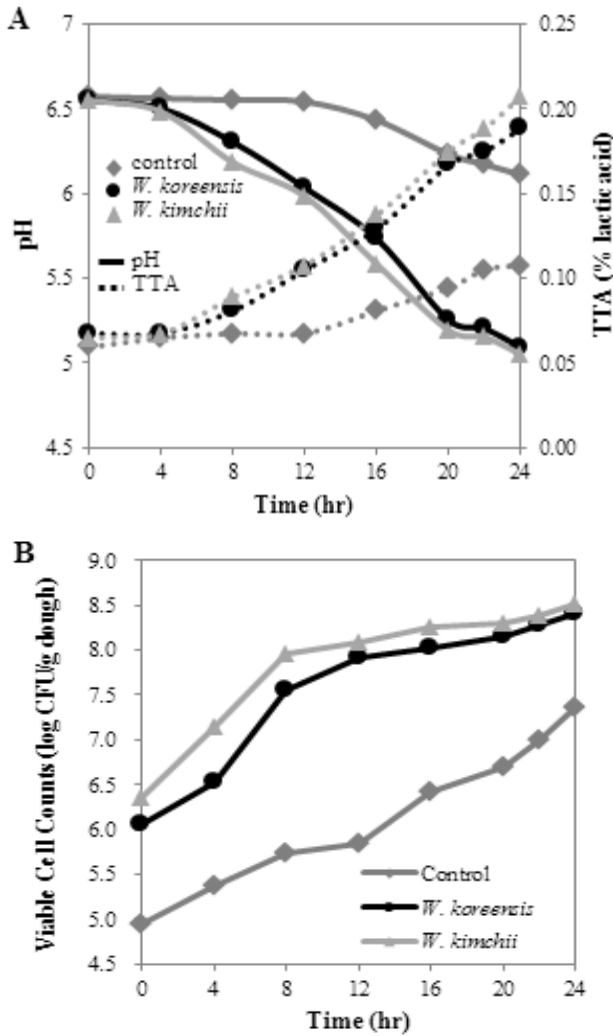


Fig. 1. Changes in pH and total titratable acidity (A), and viable cell counts (B) in rice dough during fermentation with *W. koreensis* HO20 and *W. kimchii* HO22.

2) 발효 반죽의 유기산, 에탄올, EPS 함량 변화

스타터 유산균을 첨가 하거나 첨가하지 않고 24시간 발효한 반죽의 젖산, 초산, 에탄올, EPS 함량은 Table 1에 나타내었다. 젖산과 초산 함량은 유산균을 첨가한 실험군이 대조군에 비하여 유의적으로 높았으며, 두 유산균 사이에 유의적

인 차이가 있었다. *W. kimchii* HO22를 첨가한 반죽의 유기산 함량이 *W. koreensis* HO20을 첨가한 반죽에 비하여 유의적으로 높게 측정되었다. *W. koreensis* HO20 또는 *W. kimchii* HO22를 첨가하여 발효한 반죽에서는 젖산 외에 초산도 검출되었으며, 이는 두 유산균이 이성 발효균이라는 이전 연구결과와 동일한 결과이다(Lee JS 등2002 Park SM 등 2004). 유산균의 주요 발효 산물인 유기산은 유산균 발효 식품이 갖는 저장성 향상 효과와 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있다(Caplice E 와 Fitzgerald GF 1999). 유기산은 식품의 pH를 낮추어 병원성 세균 또는 식품의 부패를 유발하는 미생물의 증식을 억제할 뿐 아니라, 직간접적으로 식품의 풍미 형성에도 관여하는 것으로 알려져 있다(Leroy F 와 De Vuyst L 2004). 일반적으로 sourdough 빵에서는 젖산과 초산의 비율이 2.0-2.7일 경우 풍미가 우수한 제품이 생산될 수 있다고 보고된 바 있다(Hammes WP 와 Gänzle MG 1998). 에탄올 함량은 *W. koreensis* HO20으로 발효한 반죽보다는 *W. kimchii* HO22로 발효한 반죽에서 유의적으로 높게 나타났다. *W. koreensis* HO20과 *W. kimchii* HO22는 sucrose를 이용하여 EPS의 일종인 dextran을 생성하는 것으로 알려져 있다(Choi HJ 등2002 Lee JS 등 2002). 반죽의 EPS 함량은 유산균을 첨가하지 않고 항온 정치한 대조군(incubated control)의 경우 대조군과 유의적인 차이가 없었으나, 유산균을 첨가하고 발효한 반죽은 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였다. 이는 발효 후 반죽의 EPS 증가가 *W. koreensis* HO20 또는 *W. kimchii* HO22에 의한 것임을 시사한다. *W. kimchii* HO22로 발효한 반죽에 비하여 *W. koreensis* HO20으로 발효한 반죽에서 유의적으로 더 많은 EPS가 검출되었다. Arendt EK 등 (2007)은 발효 산물로 생성된 EPS가 빵의 노화 지연 및 질감 개선 목적으로 첨가하는 hydrocolloids를 대체할 수 있다고 보고한 바 있다. 또한 sourdough 발효 시 생성된 EPS는 체내에서 Bifidobacteria와 같은 장내 미생물에 의해 이용될 수 있어 prebiotic 기능이 있음이 보고된 바 있다(Korakli M 등 2002).

Table 1. Lactic acid, acetic acid, ethanol, and exopolysaccharide contents in rice dough after 24 hr of incubation.

	Lactic acid (mmol/kg)	Acetic Acid (mmol/kg)	Ethanol (mmol/kg)	Exopolysaccharide (g/kg)
Control	0.33 ± 0.00 ^a	0.22 ± 0.00 ^a	0.43 ± 0.00 ^a	0.77 ± 0.03 ^a
Incubated Control	1.00 ± 0.00 ^a	0.89 ± 0.00 ^b	6.08 ± 0.01 ^c	0.79 ± 0.01 ^a
Fermented dough with <i>W. koreensis</i>	15.32 ± 0.83 ^b	6.55 ± 0.00 ^c	1.74 ± 0.65 ^b	1.85 ± 0.08 ^c
Fermented dough with <i>W. kimchii</i>	18.82 ± 0.33 ^c	14.21 ± 0.44 ^d	6.95 ± 0.22 ^c	1.58 ± 0.03 ^b

Values are means ± standard deviations of three independent experiments. Means with different superscript letter within a column are significantly different (p < 0.05).

3) 발효 반죽의 RVA 호화 특성

발효 반죽의 RVA 호화 특성은 Fig. 2에 나타내었다. 쌀 반죽의 호화 점도는 발효에 의하여 유의적인 영향을 받았으나, 두 유산균 사이에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 호화

시 최고 점도는 대조군이 2105 cP로 가장 높았으며 향온 정지한 대조군이 1820 cP, 유산균 첨가 실험군이 약 1700 cP로 실험군의 점도가 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 이러한 결과는 발효 산물인 유기산이 가열 시 전분의 가수분해를 촉진하였기 때문으로 보인다. Ohishi K 등(2007)은 쌀가루에 초산을 첨가하였을 때, Haros M 등(2004)은 젓산에 옥수수 전분을 침지하였을 때, RVA 최고 점도가 감소함을 보고한 바 있다. 또한 Yang Y 와 Tao WY (2008)는 밀가루의 호화 점도가 유산균 발효를 통해 감소하였음을 보고하였다. 산에 의한 전분의 가수분해는 오래 전부터 알려져 왔으며, 산에 의한 전분의 물리 화학적 변화에 대한 광범위한 고찰이 보고된 바 있다(Hoover R 2000). 반죽의 호화 점도는 발효 과정 동안 생성된 유기산 외에도 쌀가루에 존재하는 미생물 또는 스타터로 첨가한 유산균이 분비하는 효소들이나, 쌀가루 자체의 효소 등에 의하여 영향을 받을 수 있다고 알려져 있다(Lu ZH 등 2005). 점도와 최저 점도의 차이를 나타내는 breakdown 값은 대조군의 경우 약 250 cP 이었으나 발효 후 약 2배 증가하여 실험군에서 약 450 cP를 나타내었다. Breakdown 값은 전분이 가열 호화 된 후 입자가 붕괴되지 않고 어느 정도 형태를 유지할 경우 낮은 값을 가지게 된다. 따라서 발효 쌀가루에서 breakdown 값이 더 증가한 것은 입자의 파괴 정도가 대조군 보다 더 많이 일어났다는 것을 의미한다. 최종 점도와 최저 점도의 차이 값인 setback 값은 대조군이 약 920 cP 이었으나 발효 쌀가루의 경우 약 840 cP로 감소하였다. Setback 값이 낮을수록 노화 진행이 천천히 일어나는 것으로 알려져 있다(Chiang PY 와 Yeh AI 2002). 이러한 결과는 산 변성 전분(acid thinned starch)에서 보여진 결과들(Singh H 등 2009 Singh SK 등 2007)과 일치하여 발효 반죽에서 나타난 호화 특성의 변화는 발효 시 생성된 유기산에 의한 것으로 추측된다.

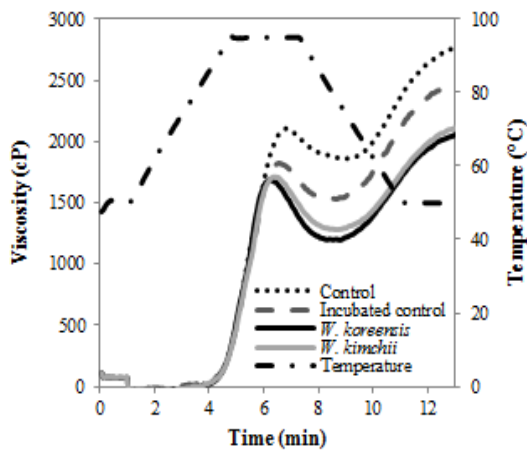


Fig. 2. RVA pasting curves of rice dough after 24 hr of incubation.

2. 김치 유산균 및 발효 반죽의 항곰팡이성

여로부터 유산균은 식품의 저장성을 증가시킬 수 있는 천

연 보존제로 이용됐으며, 유기산을 비롯한 다양한 발효 산물들이 항균성을 갖고 있음이 밝혀진 바 있다(Schnürer J 와 Magnusson J 2005). *Weissella koreensis* HO20과 *Weissella kimchii* HO22의 배양액이 떡에서 분리한 *P. crustosum* 포자 발아에 미치는 영향과 배양액의 항곰팡이성에 미치는 열처리, pH, 단백질 분해 효소의 효과를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. *P. crustosum*의 포자 발아율은 유산균 배양액에 의하여 약 84%의 저해를 받았으며, 두 유산균 사이에 유의적 차이는 없었다. 이러한 저해 효과는 열처리나 trypsin 또는 proteinase K와 같은 단백질 분해 효소에 의해 영향을 받지 않았으나, pH를 6.0으로 증가시켰을 때 저해율이 감소하였다. 이상의 결과는, 두 유산균의 *P. crustosum*에 대한 저해 효과가 단백질에 의한 것이 아니라, pH에 민감한 유기산에 의한 것임을 시사한다. 유기산의 항균성은 해리 형태 보다는 비해리 형태일 때 효과적이고, 따라서 중성의 pH 범위에서 pKa가 높은 약산이 더 효과적인 것으로 잘 알려져 있다(Ouwehand AC 와 Vesterlund S 2005). *W. koreensis* HO20과 *W. kimchii* HO22로 발효한 반죽이 포함되어 있는 배지에 *P. crustosum*를 접종하고 생육하는 콜로니 크기를 측정된 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 대조군은 접종 2일째부터 육안으로 증식을 관찰할 수 있었으나, 향온 정지한 대조군은 관찰 4일째부터 증식을 관찰할 수 있었다. 반면, 유산균으로 발효한 반죽 상에서는 관찰 기간 열흘 동안 곰팡이 증식을 전혀 관찰할 수 없었다. 이상의 결과들은 본 연구에서 사용한 두 유산균이 떡의 부패를 일으키는 곰팡이의 생육을 효과적으로 저해할 수 있으며, 이 두 유산균을 이용하여 제조한 발효 반죽도 항곰팡이성을 갖고 있어 발효 반죽을 이용한 식품을 제조하였을 때 저장성 향상을 기대할 수 있음을 시사한다.

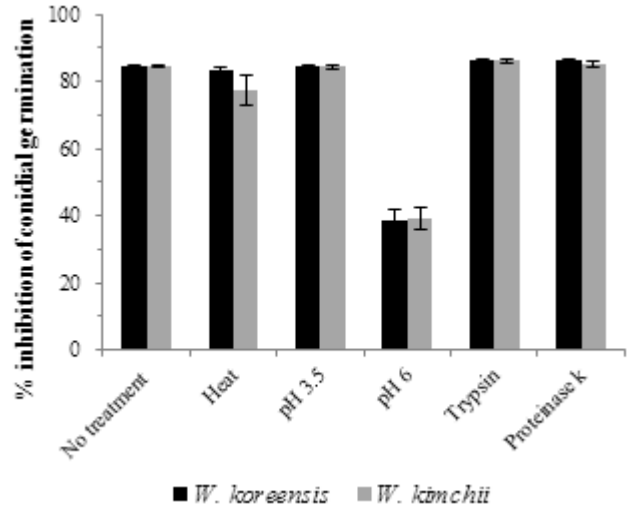


Fig. 3. Effect of different treatments on the inhibition of conidial germination of *P. crustosum* by *W. koreensis* HO20 and *W. kimchii* HO22.

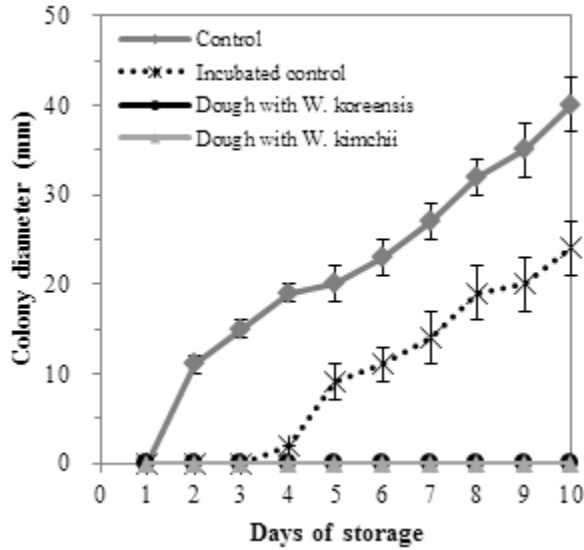


Fig. 4. Inhibition of mycelial growth of *P. crustosum* by the rice dough fermented by *W. koreensis* HO20 and *W. kimchii* HO22.

3. 발효 반죽으로 제조한 절편의 저장 중 경도 변화

발효 반죽의 활용 방안으로 절편을 제조하고 저장 기간 중 경도 변화를 측정하였다(Fig. 5.). 발효 반죽 또는 24시간 향은 정치한 반죽으로 제조한 절편의 제조 직후 경도는 대조군에 비하여 유의적으로 낮았다. 이는 향은 정치 기간 동안 유산균이 생성하는 유기산 또는 쌀에 존재하는 전분 분해 효소의 활성으로 전분의 가수 분해가 일어났기 때문으로 여겨진다. 발효 또는 향은 정치가 반죽의 경도를 감소시키는 결과는 RVA 호화 점도 감소 결과와 일치한다. Phohiset S 와 Charoenrein S (2007)는 스타터를 첨가하지 않고 쌀가루를 자연 발효 (spontaneous fermentation)하였을 때 쌀가루 자체 효소와 발효 산물인 유기산으로 인하여 전분 입자의 비결정형 구조가 분해된다고 보고한 바 있다. 또한 Wang HH 등(2000)은 쌀가루의 pH를 6.2에서 4.1로 낮추었을 때 호화 점도가 감소하며, pH를 낮추어 제조한 쌀국수의 경도도 대조군 보다 낮음을 보고하였다. 저장기간 동안 떡의 경도 증가는 전분의 노화에 의한 것으로 품질 저하를 일으키는 주요 원인이다. 떡의 노화 지연을 위하여 전분 분해 효소의 첨가(Park HJ 와 Song JC 2003), 변성 전분 첨가(Kim SS 와 Chung HY 2010), 당류 첨가(Kim HY 와 Noh KS 2008 Kim SS 와 Chung HY 2007 Park JW 등 2003 Yoo JN 과 Kim YA 2001), 친수성폴로이드 첨가(Song JC 와 Park HJ 2003), surfactants 첨가 (Shin AC 와 Song JC 2004), 기계적 충격법(Han SY 등 2012) 등 다양한 연구 방안들이 발표된 바 있다. 발효 유무에 상관없이 절편은 저장 시간이 증가할수록 경도가 증가하는 경향을 보였다. 저장 기간 중 경도의 증가 속도는 대조군, 향은 정치한 대조군, 유산균 발효군의 순으로 높았다. *W. kimchii* HO22로 발효하여 제조한 절편의 경도가 *W. koreensis* HO20으로 발효

하여 제조한 절편에 비하여 미미하지만 유의적으로 낮았으며, 두 실험군 간의 차이는 저장 시간이 길어질수록 벌어져 저장 60시간일 때는 뚜렷한 차이를 볼 수 있었다. 이상의 결과는 떡을 제조 할 때 발효 반죽의 사용이 저장 기간 동안 노화 속도를 감소시킬 수 있음을 보여준다.

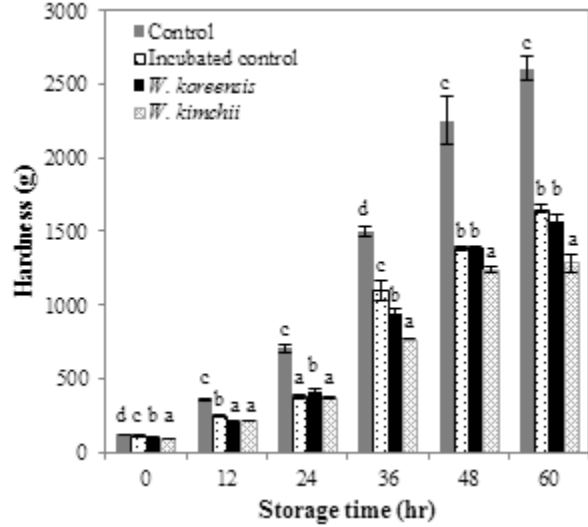


Fig. 5. Changes in hardness of jeolpyeon during storage at 20° C. Data represent means of at least 6 replicates. Columns marked by different letters at the same time of storage are significantly different (p < 0.05).

III. 요약 및 결론

본 연구에서는 김치유래 *W. koreensis* HO20 또는 *W. kimchii* HO22로 발효한 쌀가루의 이화학적 특성과 이를 이용하여 제조한 절편의 저장성을 살펴보았다. 25°C에서 24시간 발효하였을 때 쌀가루의 생균수는 10⁶ CFU/g에서 10⁸ CFU/g로 증가하였고, pH는 6.5에서 5.0으로, 산도는 0.05%에서 0.20%로 증가하였다. 또한 대조군과 비교하면 발효 쌀가루에서 유의적으로 많은 양의 EPS가 검출 되었다. 신속점도측정계로 측정된 발효 쌀가루의 최고, 최저, 냉각 점도, breakdown, setback값은 대조군보다 유의적으로 낮았는데, 이러한 결과는 발효에 의해 생성된 유기산으로 인하여 전분의 가수분해가 일어났기 때문으로 여겨진다. 두 유산균은 떡에서 분리한 *P. crustosum*의 포자 발아를 80% 이상 저해하였다. 또한 두 유산균으로 발효한 쌀가루 상에서 *P. crustosum* 균사체의 증식이 10일 동안 관찰되지 않았다. 절편의 노화 속도는 20°C에서 60시간 동안 저장하면서 경도 변화를 측정하였고, 발효 쌀가루로 제조한 떡의 경도 증가가 대조군보다 완만함을 확인하였다. 이상의 결과는 김치유래 *W. koreensis* HO20과 *W. kimchii* HO22로 발효한 쌀가루의 이용이 떡의 부패에 관여하는 곰팡이를 억제하고 떡의 노화를 지연하여

저장성이 향상된 떡을 제조할 수 있는 효과적인 방안을 시사한다.

IV. 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 고부가 식품개발사업에 의해 이루어진 것으로, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 통계청. 2012. 2011양곡년도 양곡소비량조사 보고서
- Arendt EK, Ryan LAM, Dal Bello F. 2007. Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiol* 24(2):165-174
- Awika JM. 2011. Major cereal grains production and use around the world. pp 1-13. In: *Advances in cereal science: Implications to food processing and health promotion*, Awika JM, Piironen V, Bean S (ed). American Chemical Society, Washington, DC
- Baek E, Kim H, Choi H, Yoon S, Kim J. 2012. Antifungal activity of *Leuconostoc citreum* and *Weissella confusa* in rice cakes. *J Microbiol* 50(5):842-848
- Caplice E, Fitzgerald GF. 1999. Food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation. *Int J Food Microbiol* 50(1-2):131-149
- Chiang PY, Yeh AI. 2002. Effect of soaking on wet-milling of rice. *J Cereal Sci* 35(1):85-94
- Cho J, Lee D, Yang C, Jeon J, Kim J, Han H. 2006. Microbial population dynamics of *kimchi*, a fermented cabbage product. *FEMS Microbiol Lett* 257(2):262-267
- Choi HJ, Cheigh CI, Kim SB, Lee JC, Lee DW, Choi SW, Park JM, Pyun YR. 2002. *Weissella kimchii* sp. Nov., a novel lactic acid bacterium from *kimchi*. *Int J Syst Evol Micr* 52(2):507-511
- Choi H, Kim YW, Hwang I, Kim J, Yoon S. 2012. Evaluation of *Leuconostoc citreum* HO12 and *Weissella koreensis* HO20 isolated from *kimchi* as a starter culture for whole wheat sourdough. *Food Chem* 134(4):2208-2216
- Choi IK, Jung SH, Kim BJ, Park SY, Kim J, Han HU. 2003. Novel *Leuconostoc citreum* starter culture system for the fermentation of *kimchi*, a fermented cabbage product. *Anton van Leeuw* 84(4):247-253
- DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28(3):350-356
- Hammes WP, Gänzle MG. 1998. Sourdough breads and related products. pp 199-216. In: *Microbiology of fermented foods*, Woods BJB (ed). 2nd ed. Blackie Academic & Professional, London
- Han SY, Han GJ, Park HY. 2012. A study on the application of indigenous pigmented rice for *garaedduk* adapted with mechanically impacting technology. *Korean J Food Cookery Sci* 28(1):24-31
- Haros M, Perez OE, Rosell CM. 2004. Effect of steeping corn with lactic acid on starch properties. *Cereal Chem* 81(1):10-14
- Hoover R. 2000. Acid-treated starches. *Food Rev Int* 16(3):369-392
- Kim HY, Noh KS. 2008. Effect of trehalose on the shelf-life of *backsulgies*. *Korean J Food Cookery Sci* 24(6):912-918
- Kim JS. 2008. Blooming of rice food processing industry. *Food Ind Nutr* 13(2):9-14
- Kim SS, Chung HY. 2007. Effects of carbohydrate materials on retarding retrogradation of a Korean rice cake (*karedduk*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36(10):1320-1325
- Kim SS, Chung HY. 2010. Retarding retrogradation of Korean rice cakes (*karedduk*) with a mixture of trehalose and modified starch analyzed by Avrami kinetics. *Korean J Food Nutr* 23(1):39-44
- Korakli M, Gänzle MG, Vogel RF. 2002. Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *J Appl Microbiol* 92(5):958-965
- Lee JS, Lee KC, Ahn J-S, Mheen TI, Pyun YR, Park YH. 2002. *Weissella koreensis* sp. Nov., isolated from kimchi. *Int J Syst Evol Micr* 52(4):1257-1261
- Lee JY, Kim CJ, Kunz B. 2006. Identification of lactic acid bacteria isolated from *kimchi* and studies on their suitability for application as starter culture in the production of fermented sausages. *Meat Sci* 72(3):437-445
- Leroy F, De Vuyst L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci Tech* 15(2):67-78
- Lu ZH, Li LT, Min WH, Wang F, Tatsumi E. 2005. The effects of natural fermentation on the physical properties of rice flour and the rheological characteristics of rice noodles. *Int J Food Sci Technol* 40(9):985
- Oh CH, Oh NS. 2009. Quality characteristics of *jeungpyun* prepared by rice sourdough. *Korean J Food Nutr* 38(9):1215-1221

- Ohishi K, Kasai M, Shimada A, Hatae K. 2007. Effects of acetic acid on the rice gelatinization and pasting properties of rice starch during cooking. *Food Res Int* 40(2):224-231.
- Ouwehand AC, Vesterlund S. 2005. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. pp 375-396. In: *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects*. Salminen S, Von Wright A, Ouwehand A (ed). 3rd ed. Marcel Dekkers, Inc. New York
- Park HJ, Song JC. 2003. Effect of starch degradation enzymes on the retrogradation of Korean rice cakes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32(8):1262-1269
- Park JW, Park HJ, Song JC. 2003. Suppression effect of maltitol on retrogradation of Korean rice cake (*karedduk*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32(2):175-180
- Park SM, Kang HS, Park DH. 2004. Metabolic flux shift of *Weissella kimchii* SK10 grown under aerobic conditions. *J Microbiol Biotechnol* 14(5):919-923
- Phothiset S, Charoenrein S. 2007. Morphology and physicochemical changes in rice flour during rice paper production. *Food Res Int* 40(2):266-272
- Rhee S, Lee JE, Lee CH. 2011. Importance of lactic acid bacteria in asian fermented foods. *Microb Cell Fact* 10(Suppl 1):S5
- Schnürer J, Magnusson J. 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends Food Sci Tech* 16(1-3):70-78
- Shin AC, Song JC. 2004. Suppression functions of retrogradation in Korean rice cake (*garaeduk*) by various surfactants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33(7):1218-1223
- Singh H, Sodhi NS, Singh N. 2009. Structure and functional properties of acid thinned sorghum starch. *Int J Food Prop* 12(4):713-725
- Singh SK, Singh N, Lim ST. 2007. A comparison of native and acid thinned normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. *LWT - Food Sci Technol* 40(9):1527-1536
- Song JC, Park HJ. 2003. Functions of various hydrocolloids as anticaking agents. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32(8):1253-1261
- Wang HH, Sun DW, Zeng Q, Lu Y. 2000. Effect of pH, corn starch and phosphates on the pasting properties of rice flour. *J Food Eng* 46(2):133-138
- Yang Y, Tao WY. 2008. Effects of lactic acid fermentation on FT-IR and pasting properties of rice flour. *Food Res Int* 41(9):937-940
- Yoo JN, Kim YA. 2001. Effect of oligosaccharide addition on gelatinization and retrogradation of *backsulgies*. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 17(2):156-164

2013년 2월 2일 접수; 2013년 2월 12일 심사(수정); 2013년 5월 8일 채택