

유과의 침지공정 단축 및 향미개선을 위한 효소·미생물 첨가제 개발

Development of Microbial and Enzyme Additives
to Improve Flavor and to Shorten Steeping
Process for *Yukwa* Production

연 구 기 관
한 국 식 품 개 발 연 구 원

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “유과의 침지공정 단축 및 향미개선을 위한 효소·미생물 첨가제 개발”에 관한 연구 과제의 최종보고서로 제출합니다

2003년 8월 13일

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원
총괄연구책임자 : 전 향 숙
세부연구책임자 : 이 명 기
위탁연구책임자 : 김 혜 영(B)
연 구 원 : 김 현 정
연 구 원 : 조 용 진
연 구 원 : 구 경 형
연 구 원 : 박 동 준
위 축 연 구 원 : 이 승 준
참 여 업 체 : 신공전통한과

요 약 문

I. 제 목

유과의 침지공정 단축 및 향미개선을 위한 효소·미생물 첨가제 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

유과는 장시간 침지한 찹쌀을 호화시키고 공기유입, 성형, 건조한 다음 유당 팽화하여 제조하는 우리나라의 대표적인 전통한과이다. 유과의 품질 특성은 찹쌀수침 기간, 제분 방법, 짜리치기와 증자의 조건, 반대기 건조조건 및 부재료의 첨가 등에 따라 달라지며 최근 전통식품에 대한 인식 고조로 유과의 소비량이 증가하고 수출가능성도 높아지고 있다. 그러나 이를 위해서는 전통적인 제조공정의 식품 과학적 해석 및 표준화, 저장기간의 연장, 품질향상 및 신제품 개발, 대량 생산 시스템의 구축 등과 같은 문제점들을 체계적으로 검토함으로써 해결 방안을 모색해야 한다.

유과의 제조공정 중 수침공정의 기간과 온도는 유과의 품질과 밀접한 관계가 있어 고문헌에 의하면 3-4일에서 20일까지 찹쌀이 ‘골토록’, ‘문드러질 정도로’, ‘시큼하게’ 또는 ‘원내가 나도록’ 장기간 침지하는 것으로 나타나 있으나, 장시간 수침원인은 명확하게 규명되어 있지 않다. 찹쌀이 최대 수분흡수율인 40% 내외에 이르는 시간은 12℃에서 2-3시간이면 충분한 것을 생각해 볼 때, 유과 제조 공정중 장시간을 필요로 하는 침지 과정의 목적은 단순히 수분 흡수뿐 아니라 여러 가지 유효 성분의 용출 및 분해나 발효에 의한 생물학적 변화를 유도하는 등의 다른 복합적인 목적이 있을 것이라 추측되고 있다. 뿐만 아니라 수침 공정은 장시간을 요구하기 때문에 폐수발생 및 위해 미생물의 번식 등 환경/식품 위생적인 문제를 야기 시킬 가능성이 높아 장기간 수침공정의 식품과학적인 해석을 시도하고 수침공정의 표준화 및 기간을 단축시킬 수 있는 방안 마련에 대한 연구가 필요하다.

이에 본 연구에서는 대표적인 전통 한과인 유과의 제조공정 중 수침공정을

식품 과학적으로 해석함으로써 수침공정을 표준화하고, 기간을 단축시킬 수 있는 방안으로 효소·미생물 첨가제를 개발하여 공정개선 및 품질향상을 이루고자 하였다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

- 1차년도 : 효소·미생물 첨가제 개발을 위한 **기본기술 확립**
 - 효소첨가를 위한 유과용 찹쌀 침지물의 기초 특성 조사
 - 유과용 찹쌀 침지물의 균충천이 조사
 - 침지기간별 찹쌀/유과의 호화특성 및 관능특성 조사

- 2차년도 : 효소·미생물 첨가제 개발을 위한 **응용기술 확립**
 - 효소첨가에 의한 침지공정의 단축효과 조사
 - 천이 단계별 우세균주 특성 조사 및 활용 방법 조사
 - 처리에 따른 유과 및 찹쌀의 품질특성 조사

- 3차년도 : **효소·미생물 첨가제 개발**
 - 효소 첨가제 개발 및 유과 제조
 - 미생물 첨가제 개발 연구
 - 유과 시제품의 품질 특성 평가 및 기호도 조사

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

본 연구에서는 대표적인 전통 한과인 유과의 제조공정 중 수침공정을 식품 과학적으로 해석함으로써 수침공정을 표준화하고, 기간을 단축시킬 수 있는 방안으로 효소·미생물 첨가제를 개발하여 공정개선 및 품질향상을 이루고자 하였다.

유과 제조용 효소·미생물 첨가제 개발을 위한 기본기술을 확립하기 위해 유과 제조시 주원료인 찹쌀과 그 침지물의 기초 특성을 살펴보았다. 찹쌀의 침지기간 동안 일어나는 화학적인 성분변화로는, 침지기간 증가에 따라 찹쌀 중 수분함량은 증가하였고, 단백질 및 회분 함량은 침지기간에 비례하여 감소되었으나 지방 함량의 변화는 거의 없었다. 찹쌀 시료중 Ca, Mg 및 P의 함량은 침지초기와 비교하여 각각 37%, 37% 및 26% 감소하였으며, 이와 반대로 침지액중 Ca, Mg 및 P의 함량은 침지기간이 증가 할수록 증가하

는 경향이였다. 침지기간이 증가할수록 대부분 유기산이 증가하였으나, lactic acid의 함량 및 증가폭이 가장 크게 나타났다. 침지액 중 G3~G7의 중합도를 가진 당은 침지기간 초기에는 검출되지 않다가 침지 후기로 갈수록 미약하나마 증가하는 경향이었고 G8이상의 중합도를 가진 당은 검출되지 않았다. GPC로 침지기간 동안 찹쌀 전분의 중량 평균 분자량과 분산도를 측정된 결과, 거의 변화를 관찰할 수 없었다. 침지기간별 찹쌀 전분의 X-선 회절도는 전형적인 A자형 회절양상을 보였으며, 회절각도(2θ) 22.8°에서 구한 전분의 상대적 결정도는 침지 3일(119%)까지는 증가하다가 침지 15일에는 87%로 낮아졌다. 전체적으로 찹쌀과 비교할 때 찹쌀 전분의 성분변화는 거의 없거나 미미한 것으로 조사되었다.

찹쌀의 침지기간 동안 일어나는 물리적인 변화로, SEM에 의해 찹쌀의 단면과 표면의 미세구조를 관찰한 결과, 침지초기에는 여러 성분들이 촘촘히 배열되어 있는 형태를 보이다가 침지기간이 증가할수록 전분립의 노출이 증가하고, 물질들이 떨어져 나온 흔적이 증가하였다. 침지기간 증가에 따라 찹쌀의 peak viscosity, breakdown, final viscosity, setback과 같은 호화 특성치가 뚜렷하게 증가하였다. 찹쌀의 용해도와 팽윤력은 침지기간 증가에 따라 미약하게 증가하는 경향이였으나 물결합력의 차이는 없었다. 찹쌀의 경도는 침지 3일까지 유의적으로 감소하였으며, 6, 9, 12, 15일 침지한 찹쌀의 경도는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 찹쌀의 침지기간 동안 α -amylase, β -amylase, protease활성은 증가하는 경향을 나타내었으나, lipase 활성의 변화는 거의 없었다.

침지기간별 찹쌀, 전분 및 수침액의 이화학적 특성치와 침지기간이 다른 찹쌀로 제조한 유과의 관능적, 기계적 품질 특성치간의 상관성을 살펴보았다. 그 결과, 유과바탕의 팽화율과 높은 상관성을 보인 것은 침지액의 환원당(0.975), Ca(0.945), P(0.850)함량, 찹쌀 전분의 회분(-0.855), 지방(-0.945)함량, 찹쌀의 회분(-0.958), 단백질(-0.857), 경도(-0.909), 최고점도(0.910)이었다. 관능 특성치중 유과바탕의 경도와 높은 상관성을 보인 것은 침지액의 환원당(-0.988), Ca(-0.912), P(-0.817)함량과 찹쌀 전분의 회분(0.819), 지방(0.967)함량이었고 찹쌀의 회분(0.921), 경도(0.858), 최고점도(-0.874) 등 이였다.

유과제조시 찹쌀의 침지과정에 관여하는 미생물을 체계적으로 살펴보기

위하여 침지기간 별로 찹쌀 침지물에 존재하는 우세균주를 조사한 결과, 침지과정 중 관찰된 균주로는 일반젖산균, *Enterococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Lactobacillus* sp., Coli form, *Bacillus* sp., 곰팡이류, *Corynebacterium* sp.이었고, 침지기간 전반에 걸쳐 젖산균이 발견되었으며, *Bacillus* sp.은 침지 9일 까지 증가하다 침지 9일 이후 급격하게 감소하였다. 분리균주를 Gram 염색법에 의해 염색하여 본 결과 모든 균주가 Gram 양성을 나타내었으며, 현미경을 이용하여 균주의 형상을 관찰한 결과 15번, 6번, 25번, 40번 균주는 간균이었으며, 나머지 분리균주는 구균으로 나타났다. 분리균주의 당이용성을 조사하여 균주의 동정을 실시한 결과, 75번 균주는 *Brevibacterium* sp., 74번 균주는 *Lueconostoc* sp.으로 나타났으며 나머지 균주는 *Lactobacillus* sp.으로 동정되었다. 찹쌀 침지물에서 분리한 B1, 37번, 12번 균주에 대하여 보다 정확한 동정을 위한 16S rDNA염기서열 분석과 *gyrase A gene(gyr A)* 염기서열 분석을 실시한 결과, B1과 37번 균주는 *Lactobacillus* sp.으로 동정되었으나, 12번 균주는 *Bacillus amyloliquefaciens*로 동정되었다.

유과 제조용 찹쌀 침지물의 기초 특성에 관한 결과를 토대로 국내·외로부터 침지공정의 단축가능성이 높은 상업적 효소를 수집하고, 찹쌀 침지물로부터 분리한 균주를 포함한 14종 미생물 starter를 선정하였다. 먼저 찹쌀 침지물에 대해 효소를 처리한 다음 단백질, 환원당 등 화학적 특성과 호화 특성, 찹쌀의 경도 등 물리적 특성을 조사하였다. 그 결과, CH-4, CC-5, CB-9의 세가지 효소가 선별되었으며, 선별된 효소로 처리한 찹쌀을 사용하여 동일한 조건에서 침지→세척→분쇄→증자→반죽→건조→성형→절단→유당 팽화하는 공정에 의해 유과 바탕을 제조한 다음 품질특성의 변화를 살펴보았다. 그 결과, 15일 침지한 찹쌀로 제조한 대조군 유과와 비교하여 CH-4, CC-5, CB-9 효소를 처리한 찹쌀로 제조한 유과는 외형적 특징에서 대조군에 필적하거나 우수한 것으로 보여 유과 제조용 효소로서 사용할 수 있는 가능성이 높은 것으로 보였다. 특히 CH-4 처리군 유과의 경우, 팽화정도로 판단할 때 대조군과 같거나 더 우수한 것으로 나타났다.

미생물 스타터를 처리한 찹쌀 침지물의 pH, 적정산도, 균수 측정 등 화학적 특성과 호화 특성, 찹쌀의 경도 등 물리적 특성을 조사하고 나아가 미생물 starter로 처리한 찹쌀로 유과를 제조한 다음 유과의 품질 특성을 살펴보았다. 그 결과, 찹쌀 침지물에서 분리한 37번, 12번, B1이 선별되었다.

15일간 침지한 찹쌀로 제조한 대도균에 비하여 37번, 12번, *Saccharomyces cerevisiae* 등의 미생물 스타터를 이용하여 1일 침지한 실험군의 팽화도가 크게 나타났으며, 특히 12번 균주 처리군이 2,779%로 가장 컸다. Aroma scan을 이용하여 유과바탕의 향기패턴 차이를 분석한 결과, B1 처리군을 제외한 나머지 실험군의 향기패턴이 유사한 것으로 나타났으며, *Saccharomyces cerevisiae* 처리군이 control과 가장 유사한 향기패턴을 갖는 것으로 나타났다. 그러나 관능검사결과는 control이 다른 미생물 스타터 처리군에 비하여 유과 고유의 냄새(original fresh *Yukwa* aroma)와 유과 고유의 맛(original *Yukwa* flavor)에서 유의적으로 높게 평가되어 기계적 분석과는 차이가 있는 것으로 나타났다.

유과제조시 찹쌀의 도정, 미생물 starter 및 효소를 복합적으로 고려하여 처리했을 때, 팽화정도, 기계적 경도, 관능 특성 등의 품질 특성치 상에서 측정치에 따라 다소 차이는 있으나 전체적으로 15일 침지한 찹쌀로 제조한 유과에(대조군)에 필적하거나 우수한 것으로 나타났다. 이에 30명을 대상으로 기호도 조사를 실시한 결과, 외관(appearance), 조직감(texture) 및 전반적인 기호도에 있어서 15일 침지한 찹쌀로 제조한 유과와 유의적인 차이가 없었다.

이러한 연구결과들을 바탕으로 열량 산출, 침지 후 탈수를 위한 그물 망 설계, 침지조의 규격, 기타 설계를 위한 기준들을 검토하였다. 그런 다음 효소·미생물 첨가제 활용을 위한 개량 침지조의 설계도면을 제시하였다.

이상의 결과는 대표적인 전통 한과인 유과의 제조공정 중 수침공정을 식품 과학적으로 해석하고 수침공정의 표준화가 가능하게 함으로써 공정개선 및 품질향상에 기여할 것으로 생각된다. 또한 침지기간을 단축시킬 수 있는 방안으로 본 연구결과로부터 제시된 효소·미생물 첨가제는 실제 유과 제조 현장에서 활용될 수 있을 것이다.

SUMMARY

I. Title

Development of Microbial and Enzyme Additives to Improve Flavor and to Shorten Steeping Process for *Yukwa* Production

II Objective and Significance

Yukwa is a Korean traditional oil-puffed snack made of waxy rice (*Oryza sativa*). Presently, in Korea, *Yukwa*, which had once been a type of home-style food, has become a factory-made product due to its large increase in consumption. The main procedures for its traditional manufacturing are as follows: 1) water-steeping of waxy rice for 2-14 days, 2) pulverizing, 3) steaming, 4) pounding and kneading for aeration, 5) molding, 6) drying, 7) deep-frying with two-stage operations, and 8) coating with honey syrup. The quality of *Yukwa* produced by traditional methods depends primarily on the process conditions such as the water-steeping period of the raw waxy rice, milling method, pounding, drying, frying and so on. Among these quality-related conditions, the water-steeping time of the waxy rice is being considered as one of the dominant factors. Several studies have been made on the effects of steeping time of the waxy rice as it relates to the properties of *Yukwa*, and it has been recognized that the steeping duration may influence its volume expansion. However,

The major objective of rice steeping is to hydrate and induce chemical and physical changes in the kernel. This in turn, result in the leaching of soluble components, sufficient gelatinization on subsequent heating, and changes of texture and volume expansion, the most important characteristics of rice snacks and cracker products. Moreover, natural fermentation could also be involved in the steeping process because of its long duration. Thus, even though a lengthy steeping process is used in Korea based on years of experience, this

process is unpredictable and often leads to *Yukwa* with varied qualities. Understanding the mechanisms of the steeping process is important in order to obtain suitable criteria for the determination of the proper end point of this unique process and to produce high quality *Yukwa* or other rice-based snacks using a similar process. Even so, little is known about the various aspects of changes associated with *Yukwa* quality during steeping process, specially, the effects of steeping conditions on the physical, chemical and functional changes of raw waxy rice. Moreover, science-based new strategy to standardize and/or to shorten steeping process for *Yukwa* production is necessary.

Therefore, the aim of this study was to estimate the influence of steeping periods on the physicochemical changes of milled waxy rice in relation to *Yukwa* quality. Further, this study was aimed to development of microbial and enzyme additives to improve flavor and to shorten steeping process for *Yukwa* production.

III. Scope

- Characterization of conventional steeping process for the development of microbial and enzyme additives
 - Physico-chemical and biochemical properties of waxy rice slurry for *Yukwa* production
 - Succession of microbial flora in waxy rice slurry during steeping
 - Pasting and sensory characteristics of waxy rice and *Yukwa*

- Effect of enzyme and microbial starter treatments on waxy rice and *Yukwa*
 - Enzyme treatment to shorten the steeping process for *Yukwa* production
 - Characterization of superior strain and their utilization for *Yukwa* production
 - Evaluation of quality characteristics by various treatments

- Development of microbial and enzyme additives for *Yukwa* production
 - Investigation on the use of enzyme additives for *Yukwa* production
 - Investigation on the use of microbial additives for *Yukwa* production
 - Evaluation of quality characteristics and consumer preference of *Yukwa* product

IV. Results and Recommendation

The *Yukwa*, a Korean ethnic puffed-rice snack, is typically prepared by the steps of long-period steeping and wet-milling of waxy rice, steaming, pounding, kneading, molding, drying, oil-puffing and coating with starch syrup. Especially, the long-period of steeping ranging from 3 days to 20days in water has been known to be related with the quality of *Yukwa*, but the reason for this unique process is not still clearly defined. Assuming that the objective of long-period steeping is to improve cooking and/or eating qualities via fermentation and modifications of constituents in waxy rice, we investigated the physiochemical and microfloral changes of waxy rice and its steeping water for 15 days.

As the steeping period increased, contents of crude protein and fat of waxy rice decreased. The organic acids (lactic acid and acetic acid) and minerals (P, Mg, Ca) of waxy rice also decreased, with a corresponding increase in the steeping water. Acidity in the steeping water increased as pH decreased during steeping. Swelling power of waxy rice flour slightly increased in proportion with steeping period. In addition, amylograph result showed that peak viscosity of waxy rice flour increased with increasing steeping period. Major microorganism in steeping water is lactic acid bacteria, which exhibited a peak count 2 days after steeping. During a long-period steeping, the activities of

protease, α -amylase and β -amylase in steeping water tended to increase with longer steeping.

The influence of steeping period for waxy grain on the physicochemical properties of the starch was investigated. Milled waxy rice (*Shinsunchalbyeo* cultivar) was steeped in water at 25°C for 0, 1, 3, 6, 9, 12 and 15 days, prior to starch isolation. As the steeping period of milled waxy rice changed from 0 to 15 days, the contents of lipid and ash in waxy starch were decreased to 46% and 42% of initial contents, respectively. In particular, the contents of Mg and P were decreased by water-steeping. Depending on the steeping duration of waxy rice kernel, starches showed differences in the surface appearance under SEM. As measured by Rapid Visco-Analyzer(RVA), the consistencies of waxy rice flours increased, while that of starch did not change as the steeping duration increased. The water-steeping appeared to slightly reduce the crystallinity of the starch granules, as judged on X-ray diffraction. On the other hand, GPC analyses showed no differences in the molecular weight and typical two peaks among starches obtained from waxy rice with different water-steeping durations. These results indicate that water-steeping only affects the chemical composition, but does not or slightly affect the physical properties and molecular structure of waxy rice starch.

Microorganism present in waxy rice slurry was isolated and identified during steeping. As a result, microorganisms in steeping water were lactic acid bacteria, *Enterococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Lactobacillus* sp., Coli form, *Bacillus* sp., Fungi and *Corynebacterium* sp. Many microorganisms were increased at 6 days and maintained to 15 days of steeping. But *Bacillus* sp. was increased at 9 days, thereafter reduced quickly. The 16S rDNA sequencing and *gyrase A* gene(*gyr A*) analysis showed that B1, 37, 12 isolates, which were derived

from waxy rice slurry, were identified *Lactobacillus* sp., *Lactobacillus* sp. and *Bacillus amyloliquefaciens*, respectively.

The effects of various steeping periods on the physical and sensory properties of *Yukwa* were investigated. As the steeping period changed from 0 to 15 days, the cross-sectional area and expansion ratio of *Yukwa* evaluated by an image analysis significantly increased from 226 to 437 mm² and from 805 to 1,874%, respectively. Conversely, the ratio of length to height and density of *Yukwa* significantly decreased with an increase in steeping period duration. The Hunter a value of *Yukwa* tended to increase, whereas b value tended to decrease as steeping period increased. Among the mechanical textural parameters, hardness was greatly affected by the differing steeping period with values ranging from 1,358 to 25,514 dyne/cm². Sensory results showed that sour aroma, color uniformity and original flavor tended to increase, but hardness, crispiness, color roughness, oil flavor and oil aroma tended to decrease in *Yukwa* with the longer steeping period. From these observations, it can be concluded that the steeping period of waxy rice has an influence on the physical and sensory properties of *Yukwa*.

Correlation analysis was performed and the results showed that there were high correlation between expansion rates and reducing sugar(0.975), Ca(0.945), P(0.850) in steeping water, ash(-0.855), lipid(-0.945) in waxy starch, ash(-0.958), crude protein(-0.857), hardness(-0.909), peak viscosity(0.910) in waxy rice. There were high correlation between sensory hardness and reducing sugar(-0.988), Ca(-0.912), P(-0.817) in steeping water, ash(0.819), lipid(0.967) in waxy starch, ash(0.921), hardness(0.858), peak viscosity(-0.874) in waxy rice. The regression models for expansion rates related to diameter, perimeter and area in a diameter-axis view, area and shape factor in a longitudinal-axis view, and volume were highly noteworthy at the

significant level of 0.01. Out of them, the determination coefficient of the model for diameter-axis-viewed perimeter expansion rate was the highest value of 0.958, followed by 0.942 for longitudinal-axis-viewed area and 0.934 for volume. Even though the determination coefficient of the model for a diameter expansion rate was 0.931, the diameter of the *Yukwa* can be pointed out as a simple and useful parameter for its quality control because of the simplicity of its measurement.

Yukwa is traditionally made from waxy rice water-steeped for long time periods ranging from 3 to 15 days. This unique steeping process has known to be responsible for the specific functional properties and/or required organoleptic characteristics of the end product, *Yukwa*. Its economical mass-production, however, has been limited due to the long steeping period, the difficulties in quality control and the hygienic problem caused by spoilage microorganism. The use of commercial starter and isolated starter were tried to shorten the steeping process and to improve the quality of *Yukwa*. *Yukwa* made from waxy rice with or without bacterial starter treatment and those made by traditional 15-day steeping process were compared for their color, instrumental texture, expansion ability and sensory properties. The expansion parameters, mechanical hardness and sensory attributes of *Yukwa* made from waxy rice treated with 12 isolate were superior or similar to compared with control *Yukwa* made from waxy rice steeped for 15days. This results suggest that 12 isolate has high potential to shorten the steeping process and to improve the quality of *Yukwa*.

In order to shorten the steeping process and to improve the quality of *Yukwa*, nine commercial enzyme additives and their combinations were incubated for 1 hour together with the 24 hour-steeped waxy rice slurry, based on enzyme units provided by the manufacturer. After selecting the effective enzyme additives, *Yukwa*

made from waxy rice with or without enzyme treatment and those made by traditional 15-day steeping process were compared for their color, instrumental texture, expansion ability and sensory properties. The addition of CH-4 to waxy rice was effective in improving *Yukwa* quality compared with those from waxy rice without enzyme treatment. Particularly, a significantly lower hardness value of 976.49 dyne/cm² was observed in the *Yukwa* from waxy rice treated with CH-4. Moreover, expansion volume, evaluated by computerized image analysis, of the *Yukwa* from waxy rice treated with CH-4 did not show a statistical difference even compared with those made from waxy rice steeped for 15-day. The further results showed that the addition of enzyme(CH-4) and bacterial starter(12 isolate) to waxy rice was effective in improving *Yukwa* quality compared with those from waxy rice without enzyme treatment. These results demonstrate that the addition of commercial enzyme and/or bacterial starter will be used to shorten the steeping process and to improve the quality of *Yukwa*.

CONTENTS

Chapter I. Introduction

Part 1. Objective and scope

1. Background and specific aim

Part 2. Scientific summary

Chapter II. Materials and methods

Part 1. Materials

Part 2. Methods

1. Preparation of waxy rice and waxy starch
 - 1) Steeping
 - 2) Starch
2. Physico-chemical properties of waxy rice slurry
 - 1) Proximate composition
 - 2) pH, titerable acidity and organic acid
 - 3) Minerals
 - 4) Reducing sugar and Blue value
 - 5) GPC and sugar chain distribution
 - 6) X-ray diffraction
 - 7) Pasting characteristics
 - 8) Hardness of waxy rice
 - 9) Particle size analysis
 - 10) Swelling power, solubility and water holding capacity
 - 11) SEM analysis

3. Enzyme activity
 - 1) α -, β -Amylase activity
 - 2) Protease activity
4. Microbial observation
 - 1) Microbial flora during steeping
 - (1) Selective media
 - (2) Microbial count
 - 2) Characterization of isolate
 - (1) Isolation
 - (2) Amylolytic activity of isolates
 - (3) Carbohydrate fermentation of isolate
 - (4) 16S rDNA sequencing
 - (5) Gyrase A sequencing
5. Preparation of *Yukwa*
6. Quality characteristics of *Yukwa*
 - 1) Expansion ratio
 - 2) Texture
 - 3) Color
 - 4) Aroma scan analysis
 - 5) Storage stability
 - (1) Acid value
 - (2) POV
 - 6) Sensory evaluation
7. Statistical analysis

Chapter III. Results and discussion

1. Characterization of steeping process
 - 1) Steeping condition
 - 2) Physico-chemical properties of waxy rice slurry
 - (1) Proximate composition and minerals
 - (2) Organic acid and sugar
 - (3) Microstructure
 - (4) Pasting characteristics
 - (5) Other physical property
 - 3) Enzyme activity in waxy rice slurry
 - 4) Microbial changes in waxy rice slurry
 - (1) Change in Microbial flora during steeping
 - (2) Isolation and identification of superior strain
 - (3) Characterization of superior strain
2. Changes in quality characteristics of *Yukwa*
 - 1) Expansion ratio and density
 - 2) Texture and color
 - 3) Sensory characteristics
3. Correlation analysis
4. Effect of enzyme treatment
 - 1) Process condition for enzyme treatment
 - 2) Effect of enzyme treatment on chemical properties
 - 3) Effect of enzyme treatment on physical properties
 - 4) Effect of enzyme treatment on sensory properties
5. Effect of microbial starter treatment
 - 1) Process condition for microbial treatment

- 2) Effect of starter treatment on chemical properties
 - 3) Effect of starter treatment on physical properties
 - 4) Effect of starter treatment on sensory properties
6. Effect of both enzyme and starter treatments
- 1) Process condition for enzyme and microbial treatment
 - 2) Effect of enzyme and starter treatment on chemical properties

 - 3) Effect of enzyme and starter treatment on physical properties

 - 4) Effect of enzyme and starter treatment on sensory properties
7. Steeping tank for use of microbial and enzyme additives

Reference

Appendix

목 차

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적과 범위

1. 연구배경 및 필요성

제 2 절 기존의 연구개요

제 2 장 시험재료 및 방법

제 1 절 시험재료

제 2 절 시험방법

1. 찹쌀의 처리 및 전분 분리

1) 찹쌀의 침지

2) 전분의 분리

2. 찹쌀 침지물의 이화학적 특성 조사

1) 일반성분

2) pH, 적정산도 및 유기산 분석

3) 무기질 분석

4) 환원당 및 Blue value 조사

5) GPC 및 당쇄 분포 조사

6) X-선 회절 분석

7) 찹쌀 및 찹쌀전분의 호화특성

8) 찹쌀의 경도 측정

9) 찹쌀가루의 입도분석

10) 팽윤력, 용해도 및 물결합력 측정

11) 찹쌀의 미세구조 변화관찰

3. 찹쌀 침지물의 효소학적 특성 조사
 - 1) α -, β -Amylase 활성 조사
 - 2) Protease 활성 조사
4. 찹쌀 침지물의 미생물학적 조사
 - 1) 침지기간별 균총의 변화
 - (1) 선택배지의 선정
 - (2) 미생물수 측정
 - 2) 침지물중 균주분리, 특성분석 및 동정
 - (1) 균주의 분리
 - (2) 분리균주의 amylolytic 특성
 - (3) 분리균주의 당이용성 및 동정
 - (4) 16S rDNA 염기서열 분석에 따른 동정
 - (5) Gyrase A sequencing에 따른 동정
5. 유과의 제조
6. 유과바탕의 특성분석
 - 1) 팽화율
 - 2) 조직감
 - 3) 색도
 - 4) Aroma scan을 이용한 향기특성
 - 5) 유과의 저장안전성 조사
 - (1) 산가
 - (2) 과산화물가
 - 6) 관능검사
7. 통계처리

제 3 장 결과 및 고찰

1. 유과용 찹쌀 침지물의 기초특성 조사
 - 1) 찹쌀 침지조건 조사
 - 2) 찹쌀 침지물의 이화학적 특성 변화
 - (1) 일반성분 및 무기질 변화
 - (2) 유기산 및 당의 변화
 - (3) 찹쌀의 미세 구조 변화
 - (4) 호화 특성의 변화
 - (5) 기타 물리적 특성 변화
 - 3) 찹쌀 침지액의 효소 활성도 변화
 - 4) 찹쌀 침지물의 미생물학적 변화
 - (1) 침지기간 동안의 균총 변화
 - (2) 우세균주의 분리 및 동정
 - (3) 우세균주의 특성 조사
2. 침지기간에 따른 유과의 품질변화
 - 1) 팽화율 및 밀도
 - 2) 조직감 및 색도
 - 3) 관능적 특성
3. 찹쌀침지물의 특성 변화와 유과 품질과의 상관성
4. 효소첨가에 의한 침지공정의 단축효과 조사
 - 1) 효소의 선정 및 첨가조건 검토
 - 2) 효소처리에 의한 화학적 특성 변화
 - 3) 효소처리에 의한 물리적 특성 변화
 - 4) 효소처리에 의한 유과의 품질 특성 변화
5. 천이단계별 우세균주 특성결과의 활용방법 조사
 - 1) 미생물의 선정 및 처리 조건 검토

- 2) 미생물 starter처리에 의한 화학적 특성 변화
 - 3) 미생물 starter처리에 의한 물리적 특성 변화
 - 4) 미생물 starter처리에 의한 유과의 품질 특성 변화
6. 효소 및 미생물 starter의 복합 활용도 조사
- 1) 효소 및 미생물 starter의 처리 조건 검토
 - 2) 효소 및 미생물 starter 처리에 의한 화학적 특성 변화

 - 3) 효소 및 미생물 starter 처리에 의한 물리적 특성 변화

 - 4) 효소 및 미생물 starter 처리에 의한 유과의 품질 특성 변화
7. 효소·미생물 첨가제 활용을 위한 개량 침지조 제시

참고문헌

부 록

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적과 범위

1. 연구배경 및 필요성

유과는 장시간 침지한 찹쌀을 호화시키고 공기유입, 성형, 건조한 다음 유탕 팽화하여 제조하는 우리나라의 대표적인 전통한과이다. 유과의 품질 특성은 찹쌀수침 기간, 제분 방법, 파리치기와 증자의 조건, 반대기 건조조건 및 부재료의 첨가 등에 따라 달라지며 최근 전통식품에 대한 인식 고조로 유과의 소비량이 증가하고 수출가능성도 높아지고 있다¹⁻⁴⁾. 그러나 이를 위해서는 전통적인 제조공정의 식품 과학적 해석 및 표준화, 저장기간의 연장, 품질향상 및 신제품 개발, 대량 생산 시스템의 구축 등과 같은 현안 문제점들을 체계적으로 검토함으로써 해결 방안을 모색해야 한다.

유과의 제조과정 중 수침공정의 기간과 온도는 유과의 품질과 밀접한 관계가 있어 고문헌에 의하면 3-4일에서 20일까지 찹쌀이 ‘골토록’, ‘문드러질 정도로’, ‘시큼하게’ 또는 ‘섰내가 나도록’ 장기간 침지하는 것으로 나타나 있으나, 장시간 수침원인은 명확하게 규명되어 있지 않다⁵⁻⁷⁾. 찹쌀이 최대 수분흡수율인 40% 내외에 이르는 시간은 12℃에서 2-3시간이면 충분한 것을 생각해 볼 때⁸⁾, 유과 제조 공정중 장시간을 필요로 하는 침지 과정의 목적은 단순히 수분 흡수 뿐 아니라 여러 가지 유효 성분의 용출 및 분해나 발효에 의한 생물학적 변화를 유도하는 등의 다른 복합적인 목적이 있을 것이라 추측되고 있다. 뿐만 아니라 수침 공정은 장시간을 요구하기 때문에 폐수발생 및 위해 미생물의 번식 등 환경/식품 위생적인 문제를 야기시킬 가능성이 높아 장기간 수침공정의 식품 과학적인 해석을 시도하고 수침공정의 표준화 및 기간을 단축시킬 수 있는 방안 마련에 대한 연구가 필요하다.

이에 본 연구에서는 대표적인 전통 한과인 유과의 제조과정 중 수침공정을 식품 과학적으로 해석함으로써 수침공정을 표준화하고, 기간을 단축시킬 수 있는 방안으로 효소·미생물 첨가제를 개발하여 공정개선 및 품질향상을 이루고자 하였다.

제 2 절 기존 연구개요

우리나라의 대표적인 전통식품 가운데 한과는 큰 잔치나 제사, 계절에 따라 즐기는 계절식 등 특별한 행사에 사용되었으며, 그 중에서 대표적인 것이 유과이다. 유과를 비롯한 한과류를 언제부터 만들기 시작하였는지 확실하게 언급할 수는 없으나 삼국시대부터 이미 만들어지기 시작하였을 것으로 추측되고 있다. ‘유과’라는 명칭은 조선시대 요리서인 도문대작(屠門大嚼, 1569~1618년)에 유밀과류로 기록되었으며, 그 후 음식디미방(飲食知味方, 1598~1680년), 규합총서(閩閩叢書, 1759~1824년), 규곤시의방(閩壺是議方, 1670년경)등 고문헌에 강정이란 이름으로 소개되어 있다. 오늘날에는 강정, 산자 또는 유과로 혼용되며 전라도 지방에서는 유과, 부수계, 과줄 혹은 산자로, 경상도 지방에서는 흔히 유과라고 불리고 있다^{9,10}.

유과의 제조방법에 관해서는 도문대작, 규곤시의방, 규합총서, 열양세시기(遼陽歲時記, 1819), 아언각비(雅言覺非, 1819), 동국세시기(東國歲時記, 1849)와 같은 고문헌에 기록되어 있다. 즉, ‘규곤시의방’에 의하면 먼저 찹쌀가루를 술과 콩물에 반죽하여 파리가 일도록 치대어 밀은 후 말려서 기름에 지져 부풀게 한다. 그런 다음, 꿀물을 바르고 흰깨, 물들인 쌀튀김, 승김초가루 등의 고물을 묻힌다고 기록되어 있다. 또한 ‘아언각비’에서는 진한 술을 찹쌀가루에 타서 반죽하여 떡을 만들고 가늘게 썰어 말린 후 기름에 띄우면 둥글고 크게 일어난다고 하였다^{9,10}. 현재 생산되고 있는 유과 또한 기본적으로 전통적인 유과의 제조방법을 따르고 있으며, 대량생산보다는 가내수공업적인 형태로 생산되고 있는 실정이다.

유과제조를 위해 공통적으로 요구되는 공정은 주원료인 찹쌀의 침지 및 분쇄 → 반죽 및 증자 → 파리치기(치대기) → 반데기의 제조 → 팽화 → 엿물 및 고물 묻히기 등이며 생산자 또는 지역에 따라 약간의 차이가 있다. 강과 류⁴⁾에 의하면 기본적으로 침지한 찹쌀을 분쇄하여 증자한 반죽물을 파리치기 공정을 통해 기포가 형성된 펠릿형태의 반데기를 제조한다. 이렇게 제조한 반데기는 수분함량이 15~20% 전후가 되도록 건조하며 표면건조가 일어나지 않도록 비닐봉투에 넣어 7~8시간 정도 방치한다. 적정 수분함량으로 유지된 반데기는 여러 가지 팽화매체를 이용하여 팽화시키는데 유당팽화의 경우, 2회에 걸쳐 튀기며 1차 튀김온도는 110~120℃, 2차 튀김온도는 170~180℃인 것으로 보고하였다.

유과의 각 제조공정은 최종적으로 생산된 유과의 품질에 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데, 특히 찹쌀의 침지기간 및 조건에 의한 영향이 큰 것으로 보고되고 있다^{1,2,4,11-16}. 찹쌀의 침지는 침지온도에 따라 2~14일 정도로 장시간 동안 이루어지며 찹쌀의 상태가 “문들어질 정도로”, “골토록” 또는 “쑤내가 날 정도로”까지 침지하도록 고문헌에 나타나 있다^{5,10}. 김과 양은 수분함량만 고려할 경우, 15℃에서 2시간의 수침으로 수분함량이 11%에서 39%까지 흡수되므로 4~5시간 수침으로 충분하다고 하였다. 이는 침지과정이 단순한 불순물의 제거나 수분을 흡수하는 목적 이외에 생물학적, 이화학적 작용에 의한 찹쌀의 변화를 유도하는 과정임을 시사한다.

침지기간이 길어질수록 산, 당, 조단백질, 조지방 등 이화학적 성분변화뿐만 아니라 찹쌀의 경도, 제분시 입도, amylogram상 최고점도 등 물리적 특성 변화가 일어나는 것으로 보고되고 있다^{12,15}. 신 등⁸과 강과 류⁴는 찹쌀을 침지하는 동안 미생물이 생산한 amylase 등의 효소작용에 의해 전분 분해가 일어나며, 발효과정을 통하여 pH가 크게 감소하고 적정산도는 증가한다고 하였다. 김과 요시마쥬 등¹⁷은 찹쌀의 수침온도 5℃와 20℃에서 수침일수에 따른 팽화율을 살펴본 결과, 20℃에서 수침일수가 증가할수록 팽화율이 큰 것으로 나타났는데 이는 amylase의 작용으로 dextrin양이 많아졌기 때문이라 보고하였다. 임 등¹⁴은 유과제조를 위한 찹쌀 수침중 조지방과 조단백질은 침지초기에 원료찹쌀의 30~50%가 수침액으로 용출된다고 하였다. 또한 수침과정중 생성된 유리당의 90% 이상이 glucose라고 하였다. 침지기간동안 생성되는 알콜류와 유기산은 ethyl ester, acetic acid, ethanol, 2-butanol, 2-methyl 1-propanol, 1-butanol, 3-methyl 1-butanol, 1-pentanol, 1-hexanol, lactic acid, propanoic acid, butyric acid, hexanoic acid 등인 것으로 보고하였다².

그러나 이화학적 성분변화와 관련하여 제시하고 있는 적정 수침기간은 임¹⁸의 경우 30℃에서 3일, 김¹⁹은 48시간, 박 등²¹은 7일, 신 등²²은 60℃에서 3시간, 전 등은 15℃에서 15일 이상 수침하는 것이 좋다고 하여 매우 상이하였다. 이는 연구자마다 사용한 온도와 찹쌀의 품종 및 첨가물이 다르고 몇 연구를 제외하고는 이화학적 성분변화를 살펴보는데 국한되었기 때문으로 보인다. 또한 최종 유과 제품을 제조하여 이화학적 변화와의 상관성을 살펴본 연구에서도 유과의 제조공정이 복잡하고 유탄팽화로 인해 분석을 위한 시

료의 제조 및 확보가 어려워 유의성 있는 결과를 얻기가 용이하지 않았을 것으로 추측된다. 이에 최적의 유과제조 공정 하에서 찹쌀 수침중 일어나는 이화학적 변화와 유과 품질간의 상관성을 정확하게 파악하는 연구가 요구된다고 하겠다.

손 등¹⁶⁾과 강과 류⁴⁾는 주원료인 찹쌀의 침지시, 침지 5일부터 20일까지 수침액에 존재하는 균주는 Yeast와 *Lactobacillus* sp.이었고 침지 25일 이후에는 *Corynebacter* sp.가 관찰되었다고 했다¹⁶⁾. 또한 *Lactobacillus* sp.의 작용에 의해 pH가 낮아진 후, pH 4.0이하에서는 내산성 계통의 효모만이 살아남고 이런 효모에 의해 찹쌀의 화학적 성분변화가 나타났다고 보고하였다²²⁾. 손 등¹⁶⁾은 수침 20일 까지 생성된 Yeast와 *Lactobacillus* sp.가 유과제조시 수침기간에 따른 유과의 팽화도와 경도에 영향을 미치는 것으로 보고하였으며, 강 등²²⁾은 침지액에서 분리한 효모를 침지물에 접종한 후 고온에서 침지하였을 때, 5일 정도의 침지만으로도 대조군과 비교하여 팽화력이 향상되었다고 보고하였다.

그러나 유과제조과정에 있어서 침지과정 중 관여하는 미생물 및 미생물 스타터 이용에 관한 연구는 손 등¹⁶⁾과 강 등²²⁾의 연구에 불과한 실정이다. 이들 연구의 경우도 유과품질에 영향을 미치는 미생물의 역할이 뚜렷하게 나타나 있지 않다. 또한 미생물 동정은 선택배지를 이용한 방법과 형태학적 방법에 의한 동정에 그치고 있는 실정이어서 생화학적인 특성분석 및 유전자적 염기서열분석(DNA sequencing)등을 통한 보다 정확한 동정이 요구되어진다. 또한 강 등²²⁾은 *Lactobacillus* sp.의 작용에 의해 pH가 4.0이하로 낮아지면 강한 산성에서 활동하는 효모계통만 남고 *Lactobacillus*계통은 죽게 된다고 보고하였다. 반면, Gotcheva 등²³⁾은 곡류를 이용한 발효음료인 보자(boza)에 대한 연구에서 pH 3.2인 제품에서도 효모인 *Saccaromyces* sp.와 *Candida* sp. 외에 *Leuconostoc* sp.과 젖산균이 발견된다고 하여 강 등²²⁾의 보고와 차이를 보이고 있어 균총에 대한 보다 깊이 있는 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

이와 같이, 유과제조와 유사하게 미생물 발효를 이용하는 곡류식품은 전 세계적으로 수중에 달하며, 이들을 조사하여 제품형태 별로 정리한 것은 Table 1과 같다. 발효를 이용하여 생산된 빵 및 스낵류(bread and snack)제품에는 유과를 비롯하여 발효빵(sour bread), 호밀빵(rye bread), 아이들리

(idli), 푸토(puto), 엔저라(enjera), 키스라(kisra), 호퍼(hopper), 증편(jeungpyun) 등이 있다. 그리고 유동식 및 비알콜음료(cereal gruels and non-alcoholic beverage) 제품에는 오지(Ogi), 우지(Ugi), 마히위(mahewe), 훌우무어(hulumur), 보자(boza) 등이 있었다. 알콜음료(alcoholic beverage) 제품에는 부사(bussa), 보우자(bouza), 매리자(merriza), 탁주(takju), 타푸(Tapuy), 쿠미스(koumiss) 등이 있었다. 또한 전분 및 전분가공 식품(starch ingredients product)으로 가리(gari), 녹두전분(mungbean starch), 크한움젠(khanomjeen), 포졸(pozol), 미(me) 등이 알려져 있다²²⁻²⁹⁾.

대표적인 예로, 이들 중 중국에서 주로 생산되고 있는 녹두전분 및 녹두전분 국수는 생산을 위한 침지공정에서 *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus cellobiosus* 와 *Lactobacillus fermentum* 등에 의한 발효과정을 통해 pH의 감소효과와 더불어 다른 부패미생물의 오염을 방지한다고 한다. 태국의 쌀국수인 크한움젠(Khanomjeen) 또한 3일 이상의 침지기간 동안 *Lactobacillus* sp.과 *Streptococcus* sp.에 의한 발효를 이용하여 제조되고 있다. 이와 같이 발효는 제품의 질적인 면과 향미(flavor)의 향상을 가져올 뿐만 아니라, 저급 원료의 활용도 및 보존성을 증진시킬 목적으로 이용되고 있음을 알 수 있다²⁴⁾.

따라서 본 연구에서는 유과제조시 찹쌀의 침지과정에 관여하는 미생물을 체계적으로 살펴보기 위하여 침지기간 별로 찹쌀 침지물에 존재하는 우세균주를 분리하고 형태학적, 생화학적, 유전자적(16S rDNA sequencing) 분석을 통해 동정하였다. 또한 이들 분리 균주와 찹쌀의 특성변화를 유도할 수 있을 것으로 예상되는 상업적 균주를 침지공정에 첨가하여 찹쌀침지물의 이화학적 특성을 분석하고 나아가 선별 미생물을 처리한 유과 제품의 이화학적, 관능적 품질 특성을 조사함으로써 유과제조용 미생물 스타터로서의 사용 가능성을 살펴보고자 하였다.

Table 1. Fermented products in different regions of the world²²⁻²⁹⁾

| Classification | Product name | Country of use | Major ingredient | Microorganism identified |
|---|---|---------------------------|---|---|
| Bread and snacks | Sour bread (sandwich bread) | Germany | Wheat | Lactic acid bacteria, Yeast |
| | Rye bread (sandwich bread) | Denmark | Rye | Lactic acid bacteria |
| | Idli (steam cake) | India, Sri Lanka | Rice, black gum | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> |
| | Puto ²⁵⁾ (steam cake) | Philippines | Rice | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , Yeast |
| | Enjera (pancake) | Ethiopia | Tef or other cereal | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> |
| | Kisra (pancake) | Sudan | Sorghum, millet | <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Acetobacter</i> sp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |
| | Hopper (stake-baked pancake) | Sri Lanka | Rice+coconut milk | Lactic acid bacteria, Yeast |
| | <i>Yukwa</i>²²⁾ (fried sneak) | Korea | Waxy rice | Lactic acid bacteria, Yeast |
| | <i>Jeungpyun</i> ²⁶⁾ (steamed cake) | Korea | Rice | Lactic acid bacteria, Yeast |
| Cereal gruels and non-alcoholic beverages | Ogi (sour porridge, baby food) | Nigeria | Maize, sorghum, or millet | <i>Lactobacillus plantarum</i> , Yeast <i>Acetobacter</i> sp. <i>Corynebacterium</i> sp. |
| | Uji (sour porridge, main meal) | Kenya, Uganda, Tanzania | Maize, sorghum, millet or cassava flour | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> |
| | Mahewu (sour drink) | South Africa | Maize + wheat flour | <i>Saccharomyces lactis</i> , <i>Lactobacillus</i> sp. |
| | Hulumur (clear drink) | Sudan | Red sorghum | <i>Lactobacillus</i> sp. |
| | Boza ²³⁾ | Turkey, Romania, Bulgaria | Rice, millet | <i>Lactobacillus</i> sp. |

Continue

| Classification | Product name | Country of use | Major ingredient | Microorganism identified |
|----------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------------|--|
| Alcoholic beverages | Bussa (refreshment drink) | Kenya | Maize, sorghum, malt, finger millet | <i>Candida crusei</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus saliverius</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> |
| | Bouza (alcoholic thin gruel) | Egypt | Wheat, malt | Lactic acid bacteria, Yeast |
| | Merriza (bantu beer) | Sudan | Millet, cassava | <i>Saccharomyces serecisiae</i> |
| | Takju | Korea | Rice, wheat | Lactic acid bacteria, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |
| | Tapuy | Philippines | Rice, waxy rice | <i>Saccharomyces</i> sp., <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Lactobacillus plantarum</i> , |
| | Koumiss ²⁷⁾ (alcohol-fermented milk beverage) | Mongolian | Goat milk | Lactic acid bacteria, Yeast, <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Candida kefyi</i> |
| Starch ingredients product | Gari ^{28,29)} | Nigeria | Cassava | <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Alcaligenes</i> sp., <i>Bacillus</i> sp. <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp. |
| | Mungbean starch | China, Thailand, Korea, Japan | Mungbean | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus cellobiosus</i> , <i>Lactobacillus fermenti</i> |
| | Khanomjeen | Thailand | Rice | <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp. |
| | Pozol | Mexco | Maize | Lactic acid bacteria, <i>Candida</i> sp. |
| | Me | Vietnam | Rice | Lactic acid bacteria |

제 2 장 재료 및 방법

제 1 절 시험재료

참쌀은 영덕지역에서 2001년~2003년 생산된 신선참쌀(*Shinsunchalbyeo* cultivar)로 10분도로 도정한 것을 S전통한과(경기도 포천군 소재)로부터 제공받아 4℃ 저온저장고에 보관하면서 사용하였다. 유과바탕의 제조를 위해 사용한 튀김용 기름은 시판 채종유(제일제당)를 사용하였다.

제 2 절 시험방법

1. 참쌀의 처리 및 전분 분리

1) 참쌀의 침지 및 도정

참쌀의 침지방법은 고문헌^{30,31}과 조사를 통하여 나타난 방법을 종합적으로 검토한 다음 쌀과 침지액의 비율을 7 : 11(w/v)로, 침지수는 수돗물을 기본적으로 사용하였다. 참쌀의 침지는 준공장규모(semi-pilot scale)와 실험실 규모(lab scale)로 나누어 병행 실시하였다. 준공장규모의 경우, 1.5~2.5 kg의 참쌀을 이용하여 실험하였다. 실험실규모의 실험 또한 위 비율에 준하여 500 ml 삼각플라스크에 참쌀과 수도수를 넣어 침지하였다. 침지가 종료된 참쌀은 수돗물로 3회 수세한 후, 4℃에서 약 4시간동안 방치하여 침지액을 분리하는 동시에 참쌀 표면의 수분을 제거하였다.

참쌀의 침지에 사용한 효소는 α -amylase(CB-1, CF-2, CM-3, CA-6, CB-9), cellulase(CC-5), xylanase(CH-4), α -glucosidase(CT-8), pullulanase(CD-7), protease(P-1, P-2), lipase(L-1, L-2) 등의 상업용 효소로 태평양(한국), novozymes사(덴마크)와 amano enzyme사(일본)로부터 공급 받아 사용하였다. 첨가한 효소의 양은 제조사가 곡류 제품에 대해 추천한 활성을 기준으로 참쌀침지액에 대하여 1~100 unit/ml의 범위이었다. 처리조건은 25℃로 유지된 배양기에서 실시하였으며, 침지참쌀이 균일한 영향을 받게 하기 위하여 impeller(MS-3010D, MTOPS, 한국)를 이용하여 110~120 rpm의 속도로 교반하였다.

참쌀 침지액으로부터 분리한 우세균주를 침지액에 접종하기 위하여 MRS agar와 YM agar에 streaking한 후 단일 colony를 일백금이 취하여

MRS배지(Difco, USA)와 YM배지(yeast extract 3 g, malt extract 3 g, peptone 5 g, dextrose 10 g, 증류수 1 L)에 접종하여 30°C incubator에서 48 시간동안 정치배양 하였다. 액체배지에 배양한 균을 다시 고체 배지에 streaking하여 단일균주임을 확인한 후, 다시 액체배지에 3차 계대배양하여 균을 활성화 시켰다. 배양액 1 ml을 micro-tube에 취하고 1분간 원심분리(Combispin, SLFVI-2400, SeouLin Bioscience, 한국)한 후 상층액을 제거한 다음 멸균식염수 1 ml에 현탁하였다. 이것을 찹쌀침지액의 0.1%(v/v)로 접종하여 침지액 중 선택균주의 균수가 1.0×10^6 cfu/ml의 수준이 되도록 하여 실험하였다. 상업적균주는 찹쌀침지액의 0.01%(w/v)로 접종하여 침지액 중 혼합균주의 균수가 1.0×10^6 cfu/ml의 수준이 되도록 하여 실험하였다. 침지중 찹쌀의 균일한 처리를 위하여 impeller (MS-3010D, MTOPS, 한국)를 사용하여 110~120 rpm의 속도로 교반하면서 실시하였다.

찹쌀의 도정은 도정기(Grain testing mill, Satake engineering Co. LTD, Japan)을 이용하여 실시하였다. 1회도정시 찹쌀 200g을 이용하였으며, 20% 도정은 2분씩 2회 반복하였고 30% 도정은 3분씩 3회 반복하여 실시하였다.

2) 전분의 분리

침지한 찹쌀을 깨끗한 물로 6회 정도 세척한 후 일정량의 물을 첨가한 후 마쇄기로 마쇄한 다음(1분 가동, 1분 정지/ 3회) 원심분리기를 이용하여 전분을 침전시켰다. 침전물만 회수한 다음 다시 세척하는 과정을 3회 반복한 후 건조시키고 이것을 120 mesh의 sieve에 통과 시켜 전분을 얻었다³¹⁻³²⁾.

2. 찹쌀 침지물의 이화학적 특성 조사

1) 일반성분

일반성분 분석은 AOAC방법³³⁾에 준하여 실시하였다. 일반성분 분석을 위한 찹쌀 시료의 전처리는 24시간동안 침지한 찹쌀을 수돗물로 3회 수세한 후 4°C에서 약 14시간동안 건조하였다. 조단백질 분석의 경우, 전술한 바와 같이 전처리 한 찹쌀 1 g을 취하여 황산 15 ml과 단백질분해제를 넣고 45 0°C에서 2시간동안 분해하였다. 그런 다음 단백질 자동분석기(Kjeltec Auto 1030 Analyzer, Tecator, Sweden)을 이용하여 함량을 측정하였다. 수분함량은 105°C 건조기(HS-100, Daeil Engineering, 한국)에서 함량이 되도록 건조시킨 후 무게를 측정하여 산출하였다. 조지방 함량은 Soxhlet 추출기를 사용

하여 에테르로 추출하여 정량하였고, 조회분 함량은 550℃ 회화로(MF-10, Jeitech, 한국)를 이용하여 직접 회화법으로 측정하였다.

2) pH, 적정산도 및 유기산 분석

침지시간에 따른 미생물의 산생성 능력을 알아보기 위하여 침지액의 산도를 변형된 AOAC 방법³³⁾을 사용하여 측정하였다. 즉, 50 ml 삼각플라스크에 침지액 1 ml를 취하고 증류수 9 ml을 가한 후, 1% phenolphthalein 지시약을 4~5방울 첨가하였다. 그런 다음 0.1 N NaOH를 이용하여 적정한 후 0.1 N NaOH 소요량으로부터 lactic acid의 중량비(%)를 계산하여 적정산도로 나타내었다

침지액의 pH측정은 pH meter(Orion, model 420, USA)를 사용하여 측정하였다.

$$\text{Titerable acidity(\%)} = \frac{A \times F \times 0.009008}{S} \times 100$$

A : ml of 0.1 N NaOH consumed

f : Factor of 0.1N NaOH

S : Sample (ml)

유기산 분석의 경우, 침지액 50 ml를 회전진공농축기로 저온건조 시킨 다음 0.008 N H₂SO₄에 용해시키고 0.22 μm 필터로 여과하였다. 이 여액 10 μl를 고성능 액체 크로마토그래피(Jasco, Japan)에 주입하였다. 이동상은 0.008 N H₂SO₄을, 0.6 ml/min의 유속으로, 분리관은 Aminex Resin-based column HPX-42A(300× 7.8 mm, Waters)를 35℃로 유지하면서 사용하였다.

3) 무기질 분석

침지기간에 따른 침지액, 찹쌀 및 전분의 주요 무기질(P, Ca, Mg) 함량 변화는 ICP-AES(Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry, Jobin Yvon 138 ULTRAU, France)를 사용하여 측정하였다. 찹쌀 시료 1.5 g에 산분해제(HNO₃-HClO₄ = 2:1) 30 ml를 첨가하고 투명한 색이 될 때 까지 가열시켜 분해하였으며 분해가 끝난 시료는 50 ml의 volumetric flask로 정용한 후 정량분석 하였다.

4) 환원당 및 Blue value 조사

참쌀침지액을 교반하여 잘 섞은 후 0.4 ml을 취하여 15 ml 시험관에 넣고 DNS(dinitrosalicylic acid color reagent)용액 1.2 ml을 넣은 후 voltex mixer(Type 37600 Mixer, Thermolyne, USA)로 혼합한 다음 95°C에서 5분간 반응시킨 다음 실온에서 냉각시켰다. 여기에 8.4 ml의 증류수를 가하여 잘 섞어준 후, 원심분리(13,000rpm, 3min)하고 상등액을 10배 희석하여 spectrophotometer(Diod Array Spectrophotometer, Hewlett Packard, Germany)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원당 함량은 미리 준비하여 둔 검량선에 의하여 glucose농도로 계산하였다³⁴.

Blue value는 Gilbert와 Spragg의 방법³⁵을 응용하여 600 nm에서 spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정한 다음 100을 곱한 값을 사용하였다.

5) GPC 및 당쇄 분포 조사

침지된 참쌀의 당 가수분해정도를 알아보기 위해 GPC를 이용하여 침지 참쌀로부터 분리한 전분의 중량 평균 분자량과 분산도를 조사하였다. 실험조건은 침지일 별로 GPC용 건조시료 DMSO를 이용하여 용해시키고 이것을 YOUNGLIN GPC M930시스템에서 RI detector를 이용하여 측정하였으며 용매는 증류수를 사용하였다. 컬럼은 1000, 500 Ultrahydrogel column 2개를 연결하였으며 이때 용매 흐름속도는 1.0ml/min이었으며 온도는 38°C였다³⁶.

유과 침지액에 존재하는 당쇄가 다른 당의 분포를 분석하기 위해서 HPAEC(high-performance anion-exchange chromatography)을 사용하였고, pulsed amperometric detector로 검출하였다.

6) X-선 회절 분석

X-선 회절도 측정을 위해 참쌀은 분쇄하여 100 mesh 체를 통과한 것을 시료로 사용하였다. 측정방법은 X-선 회절기(RAD-2A diffractometer, Rigaku Co., Japan)를 사용하여 target, Cu-K α ; filter, Ni; 45 kV; 40mA의 조건으로 회절각도(θ) 5~40°까지 회절시켜 분석하였다³⁷.

7) 참쌀 및 참쌀전분의 호화특성

참쌀의 호화특성 변화를 신속점도계(RVA, Rapid Visco Analyser-4D, Newport Co., Australia)로 측정하였다. 시료는 일정기간 침지된 참쌀을 3회

세척한 후 4℃ 저장고에서 약 4시간 방치하여 물기를 제거한 다음 분쇄기 (GM-307, Goldmill, 한국)로 찹쌀을 분쇄하여 40 mesh 체에 통과 시켰다.

시료 3.5 g(건량 기준)과 증류수 25 ml을 RVA측정 용기에 넣고, 50℃에서 1분간 유지한 후 95℃까지 1분당 12℃로 가열하고 95℃에서 2.5분간 유지한 다음 1분당 12℃로 50℃까지 냉각시키고 50℃에서 2분간 유지하는 조건으로 점도의 변화를 측정하였다³⁸⁾. RVA viscogram으로부터 최고점도(peak viscosity), 최종점도(final viscosity), breakdown, set back 등을 구하였고, 점도의 단위는 rapid visco unit(RVU)로 표시하였다. 이때 각 수분함량에 따른 시료의 양을 보정하기 위하여 다음의 식으로 계산하였으며, 시료의 수분함량은 AOAC법³³⁾에 준하여 일반성분 분석과 동일한 방법을 이용하여 측정하였다.

$$M_2 = \frac{(100 - 14) \times M_1}{(100 - W_1)}$$

$$W_2 = 25.0 + (M_1 - M_2)$$

M_1 = Sample mass for the material as listed in the above table (g)

M_2 = Corrected sample mass (g)

W_1 = Actual moisture content of sample (% as is)

W_2 = Corrected water volume (ml)

DSC(DSC-7, Perkin-Elmer, Norwalk, CT)에 의한 호화특성은 DSC용 시료용기에 4 mg 침지된 찹쌀가루와 8 mg의 증류수를 넣어 뚜껑을 덮고, 상온에서 2시간 동안 방치하여 수화시킨 후 DSC(7 series thermal analysis system, Perkin-ER)로 10℃/min의 속도로 30℃에서 120℃까지 가열하였다. DSC thermogram으로부터 찹쌀가루의 상변화에 흡수된 열량(enthalpy, cal/g)과 상전이개시온도, 상전이최고온도를 산출했다. Reference는 증류수를 사용하였다³⁹⁾.

8) 찹쌀의 경도 측정

도정, 효소 및 미생물의 처리가 찹쌀의 경도에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 찹쌀 곡립의 경도를 측정하였다. 곡립의 경도는 Texture analyzer(TA-X2, Stable Micro System, UK)를 이용하였으며, texturogram상

의 최대힘(maximum force ; g)을 경도로 나타내었다. 측정조건은 Table 3과 같다.

Table 3. Instrumental condition for texture analysis

| | | |
|---------------------|---|---------------------------------|
| Option | : | Rupture |
| Force unit | : | Grams |
| Distance format | : | Strain |
| Pre-test speed | : | 5.0 mm/s |
| Test speed | : | 0.5 mm/s |
| Post-test speed | : | 5.0 mm/s |
| Rupture-test strain | : | 1.0 % |
| Strain | : | 50 % |
| Trigger type | : | Auto |
| Trigger force | : | 10g |
| Probe | : | P25 (25mm DIA CYLINDER ALUMIUM) |

9) 찹쌀가루의 입도분석

침지된 찹쌀을 3회 세척한 후 4℃ 저장고에서 약 4시간 방치하여 물기를 제거한 다음 분쇄기(GM-307, Goldmill, 한국)로 1분간 분쇄시킨 것을 사용하였다. 입도분석은 입도분석계(Particle size analyzer, CILAS 1064 L, France)를 이용하여 실시하였으며, 펌프(peristaltic pump)의 회전은 120 rpm으로 하였고 레이저의 파장은 635 nm와 830 nm로 하였다. 측정시 용매로는 증류수를 사용하였고 시료량은 0.05 g을 사용하였으며 시료의 측정범위는 0.04 μm~500.00 μm로 하였다⁴⁰⁾.

10) 팽윤력, 용해도 및 물결합력 측정

침지한 찹쌀가루 2 g과 증류수 40 ml을 가한 후 85℃에서 30분간 교반, 가열하고 3,000rpm에서 30분간 원심분리 하였다. 침전층과 분리된 상등액을 취한 후 phenol-H₂SO₄ 총당 측정법을 적용하여 당 함량을 구한 다음 아래의 식에 의하여 팽윤력과 용해도를 산출하였다⁴¹⁾.

$$\% \text{ Solubility} = [\text{Total sugar content in supernatant} / \text{sample weight(dry base)}] \times 100$$

$$\text{Swelling power} = [\text{Weight of precipitate} / \text{sample weight(dry base)} \times (100 - \% \text{ Solubility})] \times 100$$

물결합력(water-holding capacity) 측정을 위해 침지한 찹쌀 1 g과 증류수 20ml을 30 ml의 원심분리용 tube에 첨가한 후 37℃ 항온수조에서 1시간동안 교반하면서 가열하였다. 이것을 10℃ 원심분리기에서 14,000rpm의 속도로 60분 동안 분리한 다음 여과한 후 상등액을 제거하였다. 15분 동안 침전물중에 흐르는 수분을 1차적으로 제거한 다음, 이것을 열풍건조기에서 하룻동안 건조하여 수분함량을 측정 한 값으로 나타내었다⁴²⁾.

11) 찹쌀의 미세구조 변화관찰

침지기간에 따른 찹쌀 표면 구조의 변화를 살펴보기 위하여 SEM(Hitachi S-2380, Tokyo, Japan)을 사용하였다. 건조된 침지 찹쌀을 두께 0.7mm정도로 단면을 자른 후 sputter-coater(Hitachi E-1010 10N, Tokyo, Japan)를 이용하여 gold palladium 코팅을 한 후 15kV의 광원을 주사하여 400~800배에서 관찰하였다⁴³⁾.

3. 찹쌀 침지물의 효소 활성 조사

1) α -, β -Amylase 활성 측정

α -Amylase 활성은 Yamamoto 등⁴⁴⁾의 방법으로 측정하였으며 α -amylase의 활성측정에 필요한 기질은 0.5% potato starch(pH 5.9)를 사용하였다. 기질 2 ml에 조효소액 1 ml를 첨가하고 vortexing한 후 water bath를 이용하여 40℃에서 10분간 반응시킨 후 반응혼합액 중 0.3 ml를 취하여 여기에 0.01 N I_2 solution을 0.1 ml 첨가하고 증류수를 총 10 ml이 되도록 가한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성은 660nm에서의 blue color density가 10분동안 50% 감소할 때를 1 unit로 하였다.

β -Amylase 활성은 Yamamoto 등⁴⁴⁾의 방법을 측정하였으며 2 ml의 0.5% potato starch solution(pH 5.9)에 1ml의 조효소액을 첨가하여 40℃ water bath에서 10분간 반응시켰으며 이때 생성된 당을 Somogy-Nelson법으로 측정하였다. β -amylase의 활성은 이 조건에서 10 μ mol의 glucose가 생성될 때를 1 unit로 하였다.

2) Protease 활성 측정

찹쌀 침지액의 protease활성은 Anson의 방법으로 다음과 같이 측정하였다. 즉, 기질로는 0.6% casein solution을 2.5 ml 사용하였으며 여기에 조효

소액을 0.5 ml 첨가하여 vortexing한 후 30°C water bath에서 10분간 반응시켰다. 여기에 2.5 ml의 TCA(trichloroacetic acid)를 첨가하고 vortexing한 후 실온에서 30분간 정치하여 반응을 정지시킨 다음 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하거나 Whatman No. 4필터로 여과하였다. 이 침전을 제거한 여액 2 ml에 대하여 5 ml의 0.55 M Na₂CO₃와 1 ml의 2/3 N Folin reagent를 첨가하고 vortexing한 후 30°C에서 30분간 반응시켜 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 L-tyrosin용액에 0.55 M Na₂CO₃ 5 ml과 1 ml의 Folin reagent를 첨가하고 vortexing한 후 30°C에서 30분간 반응시켜 660 nm에서 흡광도를 작성하였다. 효소의 활성은 조효소액 1ml이 1분동안 30°C에서 1 µg의 tyrosine을 생성할 때를 1 protease unit(PU)로 하였다⁴⁵⁾.

4. 찹쌀 침지물의 미생물학적 조사

1) 침지기간별 균총의 변화

(1) 선택배지의 선정

선택배지 및 성분은 Table 4와 같다. 젖산균 선별을 위한 선택배지에서 일반젖산균은 MRS 배지, 젖산간균은 modified *Lactobacillus* selection agar(m-LBS), 장구균은 KF *Streptococcus* agar, *Leuconostoc*은 phenylethyl alcohol sucrose agar(PES) 배지를 이용하였으며, *Bacillus* 선별을 위한 선택배지에서는 tryptone glucose extract agar(TGE)를 제조하여 사용하였다. 효모 및 사상균 선별을 위한 선택배지는 potato dextrose agar(PDA)에 rose bengal(0.007%), cyclohexamide(0.4 g/L), chloramphenicol(0.05 g/L)을 첨가하여 이용하였다. Coliform bacteria 선별을 위한 선택배지에서는 EMB 배지를 이용하였고, *Corynebacterium*속 분리용으로 *Corynebacterium* agar(CRA)를, 총균수 측정 배지로 plate count agar(PCA)를 사용하였다.

(2) 미생물수 측정

찹쌀 침지액을 1 ml씩 골고루 취한 다음 멸균식염수로 10진 희석하였다. 그런 다음, 희석액 1 ml를 취하여 선택배지 plate상에 도말한 후 30°C에서 24~48시간 동안 배양하여 colony를 계수하였다⁴⁶⁾.

Table 4. Composition of selective medium used

| Selective medium | Composition (w/v) |
|------------------------------------|--|
| MRS agar | Peptone 1.0%, Beef extract 1.0%, Yeast extract 0.5%, Dextrose 2.0%, Polysorbate 0.1%, Ammonium citrate 0.2%, Sodium acetate 0.5%, Magnesium sulfate 0.01%, Manganese sulfate 0.005%, Dipotassium phosphate 0.2%, Agar 1.5% |
| m-LBS agar | Yeast extract 0.5%, Peptone 1.0%, Sodium chloride 1.0%, Agar 1.5% |
| KF <i>Streptococcus</i> agar | Peptone 1.0%, Yest extract 1.0%, Sodium chloride 0.5%, Sodium glycerophosphate 1.0%, Maltose 2.0%, Lactose 0.1%, Sodium azide 0.04%, Bromocresol purple 0.002%, Agar 1.50% |
| PES agar | Peptone 0.5%, Yeast extract 0.05%, Sucrose 2%, Ammonium sulfate 0.02%, Magnesium sulfate 0.024%, Potassium phosphate 0.1%, Phenyl ethyl alcohol 0.25%, Agar 1.50% |
| TGE agar | Tryptose 2.0%, Dextrose 0.1%, Sodium chloride 0.5%, Thiaminium dichloride 0.001%, agar 1.5% |
| PDA | Potato infusion 0.4%, Dextrose 2.0%, Rose bengal 0.007%, Cyclohexamide 0.04%, Chloramphenicol 0.005%, Agar 1.5% |
| EMB agar | Peptone 1.0%, Dipotassium hydrogen phosphate 0.2%, lactose 0.5%, Sucrose 0.5%, Eosin Y, yellowish 0.04%, Methylene blue 0.01%, Agar 1.5% |
| CRA | Peptone 2.0%, Sodium chloride 0.5%, D-glucose 0.2%, Potassium tellurite 0.01%, Serium 5%(v/v), Agar 1.5% |
| PCA | Peptone 0.5%, Yeast extract 0.25%, Dextrose 0.10%, Agar 1.5% |

3) 침지물중 균주분리, 특성분석 동정

(1) 균주의 분리

선택배지를 이용한 찹쌀침지물의 균총 조사결과 나타난 우세균주의 단일콜로니를 분리, 배양하였다. 그런 다음 분리한 균주를 1백금이 취하여 액체배지에 접종한 후 30℃에서 24~48시간 배양하였다. 이 배양액을 멸균 microtube에 옮겨 원심분리 후 상등액을 제거하고 36% glycerol(v/v)에 현탁하여 -70℃의 deep freezer에 동결보관 하면서 실험에 사용하였다.

(2) 분리균주의 amylolytic 특성

분리한 균주 중, 전분분해력을 갖는 균주를 알아보기 위하여 분리균주

를 TSA-starch 배지(10% corn starch를 함유한 tryptone glucose agar)를 사용하여 30°C incubator에서 48시간 배양하였다. 그런 다음, Lugol solution(1.3% I₂ + 3.0% KI) 10 ml를 분주하여 10분간 방치한 다음 clear zone 생성여부를 관찰하였으며, 전분분해력은 형성된 clear zone의 크기에 대한 colony의 크기 비로 나타내었다⁴⁷⁾.

α-Amylase의 활성 측정은 Blue value방법³⁵⁾에 의하여 분석하였다. 즉, TSB배지에 균을 접종하여 30°C에서 48시간동안 배양한 다음, 배양액 5 ml를 취하여 증류수를 이용하여 10 ml로 정용하고 여과한 것을 조효소액으로 사용하였다. 활성측정은 0.5% 전분용액(1% 전분용액 1 ml과 pH 5.2 acetic acid 완충용액 1 ml 혼합)에 조효소액 1 ml를 가하여 혼합하고 40°C의 항온수조에서 30분간 정치시켜 반응시킨 다음 0.5 N acetic acid 10 ml을 첨가하여 반응을 중지시켰다. 그런 다음 이 용액을 여과한 여액 1 ml에 0.005% 요오드액 10 ml을 반응시켜 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성도(unit/g)는 조효소액 1 ml에 의해 40°C에서 30분 동안 분해된 0.5% 전분용액의 ml로 나타내었다.

β-Amylase 활성 측정은 2% 전분용액 1 ml과 pH 4.4 acetate 완충용액 1 ml을 30°C에서 3분 예열한 후 조효소액 0.5 ml을 첨가하여 30 °C에서 1시간 반응시킨 다음, 5% ZnSO₄ 2.5 ml과 0.3 N Ba(OH)₂ 8H₂O 2.5 ml을 혼합한 후, 4500 rpm에서 5분간 원심분리하여, 상등액 1 ml을 취하여 DNS법으로 환원당 함량을 정량하여 %로 나타내었다.

(3) 분리균주의 당이용성 및 동정

분리한 균주는 API 50 CHL kit(bioMérieux sa, Marcy l'Etoile, France)를 사용하여 49개 당 이용성을 조사하고, API Software(Consult bioMérieux)로 동정하였다⁴⁸⁾.

(4) 16S rDNA rDNA 염기서열 분석에 따른 동정

선택배지에서 30°C, 24~48시간 배양한 균을 이용하여 Jukes 등⁴⁹⁾의 방법을 이용하여 chromosomal DNA와 16S rDNA를 분리하였다. 즉, 선택배지로부터 균체를 회수하고 여기에 lysis buffer(10 mM Tris·Cl, 100 mM EDTA, 15 mg/ml lysozyme, pH 8.0) 1.5 ml을 첨가하여 37°C로 1시간 동안

교반하며 반응시켰다. 여기에 SDS(sodium dodecyl sulfate)를 최종농도 1%가 되도록 첨가하고 65°C에서 15분간 정치한 후, -70°C에서 얼리고 60°C에서 녹이는 과정을 3회 반복하였다. 멸균된 10 ml 주사기를 이용하여 2 ml centrifuge tube로 옮긴 후 phenol : chloroform : isoamylalcohol(25 : 24 : 1)을 2회 처리하고 chloroform : isoamylalcohol(24 : 1)을 1회 처리하였다. 상층액을 취하여 동량의 isopropanol을 첨가하여 DNA를 침전시킨 후 상온에서 감압하여 DNA 침전물을 얻었다⁵⁰⁾.

16S rDNA의 PCR 증폭(GenAmp™ PCR System 9700, Applied Biosystem, USA)은 45 μ l의 반응용액[Taq x10 buffer 5 μ l, dNTP(2.5 mM stock) 5 μ l, primer F(20 μ M) 2 μ l, primer R(20 μ M) 2 μ l, milli Q water 31 μ l, 2.5unit Taq DNA polymerase]과 16s rDNA 5 μ l를 이용하여 실시하였다. 16s rDNA 증폭과 염기서열분석에 이용한 primer는 27F(*E. coli* numbering 8~27 : 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3')를 이용하였다. 이때 PCR의 반응조건은 94°C에서 2분간 초기 열처리(pre-denaturation)를 한 후, 94°C에서 2분(denaturation), 50°C에서 1분(annealing), 72°C에서 2분씩(extention) 30회 반복하고 마지막에는 72°C에서 20분간 처리한 후 반응을 중지하였다^{50,51)}. 증폭된 PCR 반응물은 agarose gel에서 전기영동하여 분리하였으며, Wizard PCR Prep(Promega, USA)을 이용하여 정제하였다. PCR 반응물의 염기서열은 1.5 ml 용기에 3M sodium acetate(pH 4.6) 2.0 μ l, 95% ethanol 50 μ l과 PCR 반응물을 넣고 교반하여 얼음에서 10분간 정치시킨 후 13,000 rpm으로 20분간 원심분리(MIKRO 22R, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany)하였다. 그런 다음, 상등액을 제거하고 70% ethanol 250 μ l를 넣어 혼합하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하고 상등액을 제거하는 방법으로 세척하였다. 세척 후, 진공 원심분리기(vacuum centrifuge, Supra 22k, 한일과학, 한국)를 이용하여 10분간 건조하고 TSR(template suppression reagent) 12 μ l를 첨가하여 혼합하고 원심분리하였다⁵⁰⁻⁵²⁾. 상등액을 취한 다음 injection tube에 옮겨 95°C에서 2분동안 가열하여 원심분리 시킨 것을 ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer(Applied Biosystem, USA)을 이용하여 분석하고 다양한 균주와의 유사성(similarity)을 분석하여 %로 나타내었다.

(5) *gyrA* sequencing에 따른 동정

gyrA gene을 증폭하기 위해 p-*gyrA*-f(5' -CAG TCA GGA AAT GCG TAC GTC CTT-3')와 p-*gyrA*-r(5'-CAA GGT AAT GCT CCA GGC ATT GCT-3') primer를 사용하였다. PCR을 위한 reaction mixture의 구성은 template DNA 10ng, 200uM dNTP, 10mM Tris-HCl(pH 9.0), 40mM KCl, 0.15mM MgCl₂, 3mM MgSO₄, 20ug BSA, 0.005U Vent polymerase, 1U *Taq* polymerase 그리고 primer 27F와 1522R로 각각 0.5uM로 총 volume을 50 μ l로 하였다.

Temperature cycling은 GenAmp™ PCR System 9700(Applied Biosystem)을 이용하여 predenaturation과정으로 94°C에서 3분간 수행하였고, denature(94°C, 30초), annealing(50°C, 30초), elongation(72°C, 5분) 반응을 총 30회 반복하고 post-elongation (72°C, 10분)을 수행하였다. PCR 산물은 1% agarose gel에 전기영동 한 후 16S rDNA 크기를 확인하였다.

증폭된 PCR 산물은 Wizard PCR Preps DNA Purification System(Promega)을 이용하여 정제하였다. 염기서열분석은 capillary 방식의 ABI PRISM™310 Genetic Analyzer(Applied Biosystem)를 사용하였으며 분석에 사용된 sequencing kit는 ddNTP에 형광물질 lable 방식인 BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit(Applied Biosystem)을 사용하였고 반응조건은 PCR reaction 96°C 10초, 50°C 5초, 60°C 4분(25 cycles)으로 하였다⁵³⁻⁵⁵.

5. 유과의 제조

유과 바탕의 제조는 일반업체에서 사용되는 방법을 준용하여 S전통한과의 제조시설을 이용하여 제조하였다(Fig. 1). 앞서 제시한 시료 전처리 방법에 의하여 침지하고 물기를 제거한 다음 roller mill(경창기계, 한국)로 2회 습식분쇄 하였다. 그런 다음 수분함량이 50% 정도가 되도록 반죽하여 100°C 수증기로 30분간 증자하였다. 증자한 반죽을 250 rpm으로 5분간 파리치기를 실시한 후, 두께가 3 ± 0.5 mm가 되도록 성형한 다음 60~65°C에서 2시간동안 1차 건조하였다. 건조가 끝난 성형물은 30 mm × 8.5 mm × 3 mm(길이 × 폭 × 두께)로 절단한 다음 수분함량이 17~18%가 되도록 62~65°C 열풍건조기에서 2시간동안 2차 건조하였다. 건조가 끝난 성형물('반데기'라 칭함)은

PE film bag에 넣어 일주일 동안 숙성시켰다. 그런 다음 100 ± 5 °C에서 10~15초간 1차 튀김을 실시하고 165 ± 5 °C에서 10~15초간 2차 튀김한 후 1시간동안 탈유하여 유과바탕을 제조하였다¹⁾.

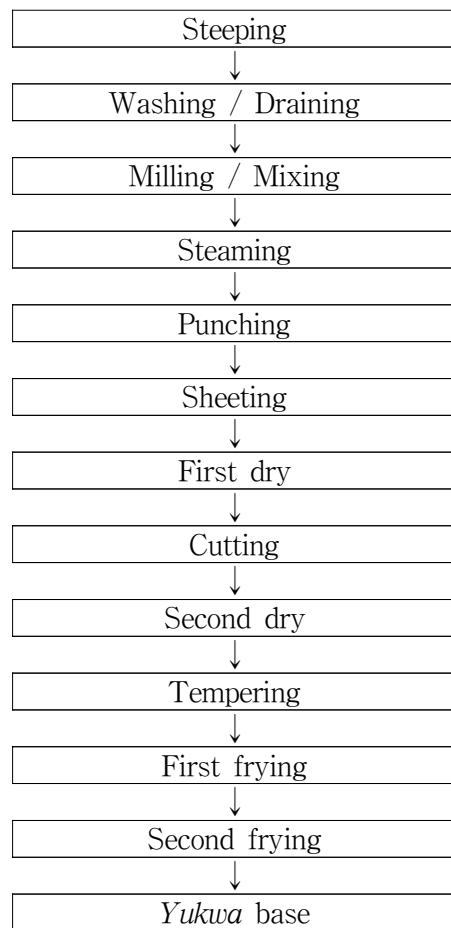


Fig. 1. Schematic diagram for preparation of *Yukwa* base.

6. 유과바탕의 특성분석

1) 팽화율

20개의 유과바탕의 장축의 길이와 단면적을 화상분석기(Image analyzer, VILBER LOURMAT, France)를 이용하여 측정하였다. 단면적은 두께가 2 mm정도가 되도록 유과바탕을 절단하여 측정한 면적으로 하였다. 부피는 장축의 길이에 단면적의 넓이를 곱한 값으로 나타내었다. 팽화율(expansion ratio)은 반테기의 부피에 대한 유과바탕의 부피를 백분율로 나타내었다¹⁾.

$$\text{Expansion ratio (\%)} = \frac{[(A \times D) - V]}{V} \times 100$$

A : Cross-section area (mm²)

D : Length of *Yukwa* base (mm)

V : Volume of *bandegi* (mm³)

2) 조직감

유과바탕의 조직감 측정은 Texture analyser(TA-X2, Stable Micro System, UK)를 이용하여 측정하였다. 측정조건은 graph type : force v time, force threshold : 400 g, acquisition rate 200 pps, contact force : 5.0 g, pre-test : 5.0 mm/s, test speed : 1.0 mm/s, post test speed : 10.0 mm/s, trigger force : 10 g이었으며, probe는 3-point bending rig(HDP/3pb)를 사용하였다.

3) 색도

처리에 따른 유과바탕의 색도변화를 살펴보았다. 즉, 10개의 유과바탕을 분쇄하여 지름 60mm의 원형접시에 담은 다음 색도계(spectrophotometer, color-eye 310, Macbeth, Japan)를 이용하여 Hunter L(lightness), a(redness), b(yellowness)값을 측정하고 ΔE 값을 산출하였다.

$$\Delta E = \sqrt{(L - L')^2 + (a - a')^2 + (b - b')^2}$$

4) Aroma scan을 이용한 향기특성

참쌀 침지 시 미생물 스타터이용이 유과바탕의 향기성분에 미치는 영향을 알아보기 위하여 전자코가 32개 장착된 Aroma Scan(Model no. 32-12-008, Aroma Scan Co. England)을 이용하여 분석하였다. 내부에 장착된 펌프가 외부 공기를 먼저 센서위로 130 ml/min의 유속으로 60초간 흘려보낸 뒤, 시료병의 headspace의 공기를 120초간 같은 유속으로 센서에 흘려보낸 후, 120초간 세척공기가 유입되도록 3방향의 밸브를 조절하였다. 이때 유입되는 공기의 습도가 센서에 미치는 영향을 최소화하기 위하여 실리카겔을 넣은 유리관을 사용하여 시료의 수분함량과 외부공기의 습도를 조절하였다^{56,57}.

유과바탕 3 g을 취하여 루프가 연결된 500 ml 시료병에 넣고 밀봉하여 30°C의 항온기에서 30분간 평형에 도달시킨 후, headspace를 120초간 센서를 통과시켜 발생하는 전기저항의 변화를 각각 3회 반복하여 측정하고, 반응이 안정한 부분에 대해 센서의 반응을 표준화한 패턴과 냄새강도의 평균값으로부터 2차원 그래프를 얻어 분석하였다⁵⁸.

5) 유과의 저장안전성 조사

(1) 산가

유과의 저장은 배양기를 이용하여 37°C를 유지시키며 실시하였다. 유과 포장에 사용된 필름은 PP(두께 30 μm)를 이용하였다. 저장한 유과바탕 시료 약 20 g을 250 ml 삼각플라스크에 취하고 에테르 200 ml를 가한 후 회전식 진탕기를 이용하여 25°C, 200 rpm에서 16시간동안 유지를 추출하였다. 그런 다음 Whatman No. 4필터를 이용하여 여과한 후 회전식증발기를 이용하여 에테르를 날려 보내고 남은 유지를 AOAC법에 의한 산가 측정에 사용하였다. 즉, 추출한 유지 1 g을 250 ml 삼각플라스크에 넣고 에테르와 에탄올 혼합액(2:1) 100 ml를 가하여 용해시킨다. 그 후, 1% 페놀프탈레인 용액을 3~5방울 가하여 0.1N KOH-ethanol 용액으로 적정하여 측정하였다³³.

(2) 과산화물가

산가 측정과 동일한 방법을 이용하여 유지를 추출한 후, 과산화물가 측정에 이용하였다. 추출한 유지 1 g을 250 ml 삼각플라스크에 넣고 빙초산과 클로르포름 혼합액(3:2) 30 ml를 가하여 용해시키고 포화요드칼륨 시약 0.5

ml를 가하여 30초 동안 천천히 흔들어 섞어주고 어두운 곳에 정확히 10분간 방치하였다. 그런 다음 증류수 50 ml과 1% 녹말용액(w/v) 1 ml를 가하여 0.01N 티오황산나트륨 용액으로 적정하여 측정하였다³³⁾.

6) 관능검사

관능검사에 참여한 패널은 관능검사에 경험이 있는 Y대학교 식품영양학과 9~10명의 대학원생으로 구성하였다. 예비훈련을 통하여 시료의 검사 특성을 개발하고 각 특성의 정의를 확립한 후 특성의 강도 측정방법을 결정하였다. 패널요원을 특성의 개념과 강도에 대한 안정된 판단기준이 확립되어 측정능력의 재현성이 인정될 때까지 계속하여 훈련한 뒤 본 검사에 임하도록 하였다. 관능검사에 필요한 시료보관은 -20°C 냉동고에서 보관하였으며, 시료의 label은 세자리의 숫자를 무작위로 조합하여 제시하였다. 관능검사에 사용된 용어와 관능검사용 sheet의 내용은 Table 5 및 Fig. 2와 같다. 즉, 관능검사 요원들은 15점 선척도를 이용한 유과의 관능검사표에 각각 특성별로 느끼는 정도를 표시하도록 하였다.

소비자 기호도 검사는 Y 대학교에 근무하거나 재학중인 직원 또는 학생들 30명을 대상으로 실시하였다. 기호도의 평가시, 1점의 경우 굉장히 싫어함이며, 9점의 경우 굉장히 좋아함의 9점 척도(9-point hedonic scale)를 사용하였다.

7. 통계처리

모든 실험결과의 통계처리는 SAS 프로그램을 이용하였다. 데이터는 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, 분산분석(ANOVA test)에 의해 유의성이 인정되면 Duncan's multiple range test를 실시하여 분석하였다. 또한 침지기간별 찹쌀, 전분 및 수침액의 이화학적 특성치와 침지기간이 다른 찹쌀로 제조한 유과의 관능적, 기계적 품질 특성치간의 상관성 분석과 회귀분석을 실시하였다. 한편, 회귀분석에 의해 원료 찹쌀의 수분 함량에 따른 팽화 특성치를 모델링 하였다.

Score sheet for *Yukwa*

Sample No. :

Date :

Name :

I. Oder

1) Original fresh *Yukwa* aroma (sour aroma)

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

2) Oily aroma

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

II. Appearance

1) Color uniformity

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

2) Surface roughness

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

3) Expansion

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

III. Flavor

1) Original *Yukwa* flavor

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

2) Oily flavor

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

IV. Texture

1) Hardness

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

2) Crispness

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

3) Adhesiveness

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

4) Fellings in the mouth after swallow

| | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ |
| Extremely | Very | Moderately | Slightly | Neither low | Slightly | Moderately | Very | Extremely | |
| low | low | low | low | nor high | high | high | high | high | |

Fig. 2. Score sheet for sensory evaluation of *Yukwa*.

Table 5. Definition of term for evaluating the sensory properties of *Yukwa*

| Sensory attribute | Definition |
|---|--|
| Odor | |
| Original fresh <i>Yukwa</i> aroma (sour aroma) | Degree of original fresh sour aroma of <i>Yukwa</i> |
| Oily aroma | Degree of fresh oily aroma |
| Appearance | |
| Color uniformity | Degree of color uniformity on the surface |
| Surface roughness | Degree of unevenness on the surface |
| Expansion | Degree of expansion of <i>Yukwa</i> |
| Flavor | |
| Original <i>Yukwa</i> flavor | Degree of original <i>Yukwa</i> flavor |
| Oily flavor | Degree of oily flavor |
| Texture | |
| Hardness | Force required to the first bite through |
| Crispness | Degree of something firm but easily broken with pleasing ear and fresh sense |
| Adhesiveness | Force required to remove sample from molars |
| Feelings in mouth after swallow | Degree of residual feelings in the mouth after swallow |

제 3 절 결과 및 고찰

1. 유과용 찹쌀 침지물의 기초특성 조사

1) 찹쌀의 침지조건 조사

유과의 제조과정 중 침지공정의 기간과 온도는 유과의 품질과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있으나 각 제조자마다 다양한 조건을 사용하고 있다. 또한 일반적인 곡물이나 두류의 가공을 위한 수침시간에 비해 장시간 수침하는 원인은 명확하게 규명되어 있지 않으며, 폐수발생 및 위해 미생물의 번식 등 환경/식품 위생적인 문제를 야기 시킬 가능성도 높다. 이에 본 연구에서는 대표적인 전통 한과인 유과의 제조과정 중 침지공정을 식품 과학적으로 해석함으로써 침지공정을 표준화하고, 기간을 단축시킬 수 있는 방안으로 효소·미생물 첨가제를 개발하여 공정개선 및 품질향상을 이루고자 하였다.

침지공정을 표준화하고, 기간을 단축시킬 수 있는 효소·미생물 첨가제를 개발하기 위해서는 침지 실태의 파악이 기본적으로 요구되므로, 유과 관련 문헌조사, 방문 및 전화로 침지조건을 조사하였다. 방문 및 전화에 응한 업체를 대상으로 조사한 결과는 Table 6과 같이, 침지 시간의 경우 하절기에는 3~7일, 동절기에는 14~15일 범위이었다. 침지 온도는 대부분 실온이었고, 침지 기구는 플라스틱 용기를 사용하고 있었다. 예외적으로 35℃에서 3일 동안 침지하는 업체가 있었으나 35℃를 유지하는 특별한 수단은 없는 것으로 조사 되었다. 유과 제조에 사용하는 원료 찹쌀은 왕찹쌀, 수원찹쌀, 재래종 논찰, 동진찰, 신선찰 등이었고 특별하게 고려하지 않는다는 업체가 비교적 많았다. 침지 매체는 대부분 수도수이며, 소수 업체가 지하수를 사용하고 있었다. 문헌조사를 통한 조사에서는 옛 문헌의 경우 문드러질 정도로, 골토록, 시큼해질 정도로, 쉰내가 날 정도라고 표현되어 있으며, 3~4일 또는 2~20일 범위로 다양하였다. 또한 연구결과를 토대로 제시된 적정 수침시간은 임의 경우 30℃에서 3일¹⁸⁾, 김은 48시간¹⁹⁾, 박 등은 7일²¹⁾, 신 등은 60℃에서 3시간²²⁾, 전 등은 15℃에서 15일 이상 수침하는 것이 좋다고 하여 연구자에 따라 매우 달랐다. 유과 관련 연구에 이용된 찹쌀의 품종은 신선찰이 비교적 많은 것으로 조사되었다. 이에 본 연구에서는 찹쌀은 신선찰을, 침지조건은 유과 제조업체에서 주로 사용하는 침지기간, 온도 및 매체를 고려하여 0~15일, 25℃ 및 수도수 사용을 기본 침지조건으로 설정하였다.

Table 6. Steeping condition for commercial *Yukwa* production

| Company name ^a | Steeping temperature(°C) | Steeping time(day) | Equipment | Waxy rice |
|---------------------------|--------------------------|--|----------------|----------------------|
| D | R.T. | 3~4 | Plastic jar | <i>Wangchapssal</i> |
| M | R.T. | - Sumer season : 7 - Winter season : 14 - 35°C : 3 | Plastic jar | N.S. |
| G, J | R.T. | - Sumer season : 7 - Winter season : 14~15 | Plastic jar | N.S. |
| S-1 | R.T. | 7 | Plastic jar | N.S. |
| Y | R.T. | - Sumer season : 7 - Winter season : 15 | Plastic jar | <i>Suwonchapssal</i> |
| Y-1 | R.T. | - Sumer season : 7 - Winter season : 14~15 | Plastic jar | <i>Nonchal</i> |
| H-1 | R.T. | - Sumer season : 7 - Winter season : 14 | Stainless tank | <i>Dongjin</i> |
| J-1 | R.T. | 10 | Plastic jar | N.S. |
| S-2 | R.T. | 15 | Plastic jar | <i>Shinsun</i> |

^aResponded company

2) 찹쌀 침지물의 이화학적 특성 변화

(1) 일반성분 및 무기질 변화

효소 및 미생물 첨가를 위한 찹쌀 침지물의 기초 특성을 파악하기 위하여 침지기간별 찹쌀 및 분리한 전분의 일반성분과, 찹쌀, 전분 및 침지액 중 Ca, Mg, P와 같은 무기질을 분석하였다.

찹쌀을 침지한 다음 0(침지 30분), 1, 3, 6, 9, 12, 15일째에 찹쌀을 채취하여 침지 기간별 수분, 조단백질, 조지방, 조회분 등 일반성분의 변화를 살펴본 것은 Table 7과 같다. 찹쌀 중 수분함량은 침지 초기 34.6%에서 침지 15일에 43.3%로 침지 기간에 비례하여 증가하였다. 단백질은 0(침지 30분), 1, 3, 6, 9, 12, 15일째에 각각 6.2, 6.9, 5.7, 4.1, 3.9, 3.8, 3.9%로 9일까지 비교적 빠르게 감소하다가 9일 이후에는 큰 변화가 없었다. 회분 함량은 침지 초기 0.4%에서 침지 15일째 0.2%로 약 50% 정도 감소되었으나 지방 함량의 변화는 거의 없었다. 또한 침지기간에 따라 찹쌀로부터 단백질이 용출되는 것을 관찰하기 위하여 ninhydrin 염색을 실시한 다음 image analyzer를 이용하여 관찰하고 RGB(red, green, blue)값으로 나타내었다. 그 결과 Fig 3과 같이 찹쌀의 단백질은 찹쌀 곡립의 외부 둘레에 분포하고 있었고, 중심 배유부에는 거의 존재하지 않은 것으로 관찰되었다. 침지일이 증가함에 따라 RGB 값으로 나타낸 표면 염색정도는 뚜렷하게 감소하여 작업장에서 침지기간에 따른 성분변화를 간이로 측정할 수 있는 좋은 방법의 하나로 생각되었다. 한편, 침지기간별로 찹쌀을 채취하여 분리한 전분의 일반성분 변화는 Table 8과 같다. 찹쌀과는 달리 전분의 수분함량과 조단백질은 침지기간이 증가함에 따라 거의 변화가 없었다. 회분 함량은 침지 초기 약 0.3%에서 침지 15일째 0.1%로 감소하여 찹쌀과 같은 경향이였다. 지방함량은 침지 초기 1.3%에서 침지 15일째 0.6%로 감소하는 경향을 보여 찹쌀과는 상반되는 결과이였다.

25°C에서 0~15일의 침지기간 동안 찹쌀, 전분 및 침지액 중 일반적으로 곡류스낵의 팽화와 관련성이 높다고 알려진 Ca, Mg 및 P의 함량변화를 조사하였다. 그 결과는 Table 9와 같이, 찹쌀중 Ca, Mg 및 P의 함량 변화는 침지 0에서 3일에 이르는 기간 동안에 대부분 감소되었고 이후에는 일정한 수준을 유지하는 것으로 보였다. 즉, 침지 0일 찹쌀시료와 비교하여 침지 3일 찹쌀 시료중 Ca, Mg 및 P의 함량은 각각 37%, 37% 및 26% 감소하였다.

참쌀 중 Ca, Mg 및 P의 함량이 감소한 것과는 반대로 침지액중 Ca, Mg 및 P의 함량은 침지기간이 증가 할수록 증가하는 경향이였다. 즉, 침지 0(침지 30분), 1, 3, 6, 9, 12, 15일째에 Mg는 각각 1.0, 1.7, 9.2, 12.4, 12.8, 14.0, 14.7 mg/100g로 증가하였고, Ca는 각각 0.1, 불검출, 1.1, 2.3, 2.7, 3.5, 3.9 mg/100g로 Mg에 비해 완만하게 증가하였다. P는 침지 0(침지 30분), 1, 3, 6, 9, 12, 15일째에 0.4, 2.7, 19.8, 26.5, 30.4, 35.3, 35.8 mg/100g로 가장 증가폭이 컸다. 이와 같은 경향은 참쌀중 Ca, Mg 및 P가 침지액으로 용출된 것이 반영되었기 때문인 것으로 보인다. 전분의 Mg 및 P의 함량 또한 침지기간이 증가 할수록 감소하는 경향이였으나 Ca 함량의 변화는 거의 없는 것으로 나타났다.

Table 7. Proximate composition of the waxy rice with the different steeping periods

| Measured variable(%) | Steeping period(day) | | | | | | |
|----------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 | 1 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 |
| Moisture | 34.6±0.13 | 38.2±0.25 | 38.7±0.70 | 41.8±0.21 | 42.2±0.35 | 42.1±0.46 | 43.2±0.05 |
| Crude protein | 6.18±0.01 | 5.85±0.04 | 5.74±0.01 | 4.06±0.02 | 3.89±0.02 | 3.83±0.04 | 3.88±0.04 |
| Crude lipid | 1.3±0.01 | 1.3±0.27 | 1.1±0.11 | 0.9±0.25 | 1.0±0.10 | 1.1±0.17 | 1.2±0.06 |
| Ash | 0.40±0.02 | 0.41±0.02 | 0.39±0.13 | 0.28±0.10 | 0.25±0.08 | 0.24±0.01 | 0.23±0.02 |
| Total carbohydrate | 57.5±0.14 | 54.6±0.46 | 53.4±0.95 | 52.9±0.53 | 52.8±0.15 | 52.3±0.26 | 51.4±0.01 |

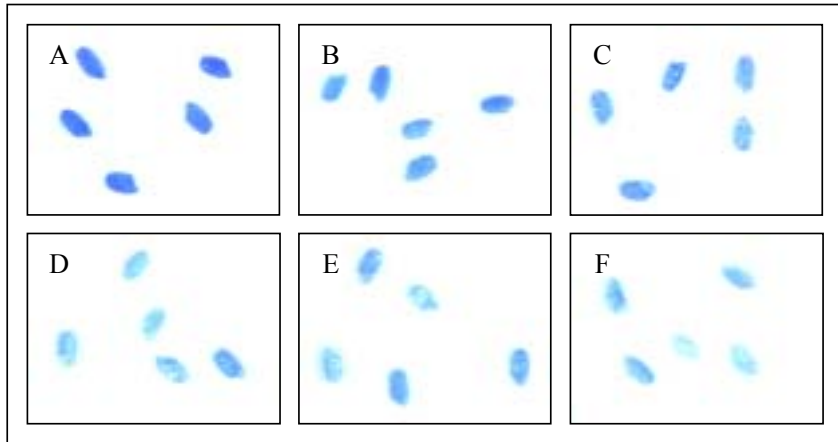


Fig. 3. Images of waxy rice grain stained with ninhydrin depending on water-steeping durations. A, steeping for 0.5 h (R 100±4, G 150±8, B 255±0); B, steeping for 1 days (R 121±8, G 185±11, B 255±0); C, steeping for 3 days (R 136±10, G 196±12, B 255±0); D, steeping for 6 days (R 152±12, G 217±14, B 255±0); E, steeping for 9 days (R 147±17, G 209±16, B 255±0); F, steeping for 15 days (R 171±17, G 230±17, B 255±0).

Table 8. Proximate composition of the waxy rice starch with the different steeping period

| Measured variable(%) | Steeping period(day) | | | | | | |
|----------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 | 1 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 |
| Moisture | 12.1±0.26 | 11.8±0.41 | 11.5±0.15 | 11.5±0.01 | 11.0±0.18 | 12.0±0.06 | 11.9±0.08 |
| Crude protein | 0.09±0.00 | 0.11±0.00 | 0.13±0.01 | 0.19±0.00 | 0.19±0.04 | 0.39±0.01 | 0.19±0.01 |
| Crude lipid | 1.3±0.20 | 1.2±0.14 | 1.1±0.11 | 1.2±0.04 | 0.9±0.06 | 0.7±0.06 | 0.6±0.03 |
| Ash | 0.26±0.02 | 0.28±0.05 | 0.19±0.01 | 0.21±0.02 | 0.11±0.01 | 0.09±0.01 | 0.11±0.03 |
| Total carbohydrate | 86.3±0.09 | 86.7±0.32 | 87.1±0.04 | 87.0±0.01 | 87.8±0.08 | 86.8±0.13 | 87.3±0.08 |

Table 9. Effect of steeping period on the content of Mg, Ca and P in waxy rice, waxy starch and its steeping water at 25°C

| Measured variable (mg/100g) | Steeping period(day) | | | | | | | |
|-----------------------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 0 | 1 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | |
| Waxy rice | Mg | 12.4±0.3 | 10.8±0.2 | 7.8±0.2 | 7.8±0.1 | 8.4±0.1 | 8.7±0.3 | 9.6±0.3 |
| | Ca | 9.0±0.4 | 7.4±0.9 | 5.7±0.6 | 4.4±0.2 | 5.6±0.1 | 5.7±0.6 | 5.6±0.8 |
| | P | 41.4±2.5 | 37.3±1.4 | 30.7±0.5 | 33.5±0.3 | 34.2±1.4 | 33.9±1.1 | 36.1±0.4 |
| Waxy starch | Mg | 8.9±0.2 | 5.2±0.1 | 3.7±0.2 | 4.0±0.1 | 3.6±0.2 | 3.6±0.1 | 3.1±0.1 |
| | Ca | 5.8±0.8 | 7.7±0.5 | 6.0±0.6 | 6.4±0.7 | 5.9±0.7 | 6.4±0.4 | 5.2±1.1 |
| | P | 16.0±0.5 | 8.3±0.1 | 6.4±0.3 | 6.1±0.3 | 6.1±0.1 | 6.5±0.2 | 5.8±0.2 |
| Steeping water | Mg | 1.0±0.1 | 1.7±0.2 | 9.2±0.2 | 12.4±2.3 | 12.8±0.1 | 14.0±0.5 | 14.7±0.3 |
| | Ca | 0.1±0.1 | ND | 1.1±0.1 | 2.3±0.7 | 2.7±0.1 | 3.5±0.2 | 3.9±0.1 |
| | P | 0.4±0.1 | 2.7±0.5 | 19.8±0.2 | 26.5±4.3 | 30.4±0.8 | 35.3±1.5 | 35.8±0.9 |

ND: not detected.

(2) 유기산 및 당의 변화

침지기간별 수침액의 pH 및 산도를 분석한 결과, 침지기간이 증가할수록 수침액의 pH는 감소하였고 이와 병행하여 산도도 침지기간과 비례하여 증가하였다(Fig. 4). 즉 pH는 침지초기 6.3이었던 것이 침지 15일에는 3.8로 감소하였다. 적정 산도는 침지초기 0.07이었던 것이 0.65로 증가하였다. 이것을 좀 더 세부적으로 살펴보기 위하여 유기산 분석을 실시한 결과는 Fig. 5와 같다. 수침액에서 검출된 유기산은 lactic acid, butyric acid, acetic acid, propionic acid 및 succinic acid이었다. 침지기간이 증가할수록 대부분 유기산이 증가하였으나, lactic acid의 함량 및 증가폭이 가장 크게 나타났다. 따라서 수침일수 증가에 따른 산도 증가는 이들 유기산의 증가에 기인된 것으로 보인다.

수침액중 환원당 함량의 변화를 조사한 결과 Fig. 6과 같이 침지일이 증가함에 따라 환원당 함량도 침지초기 0.61 mg/ml에서 침지 15일에 10.43 mg/ml으로 약 17배 증가하는 것으로 나타났다. 또한 물리화학적 및 생물학적 인자들에 의해 당 분해가 일어나는 정도를 파악하기 위해 이온크로마토그래피에 의해 수침액으로 용출된 전분 중합도별(DP, degree of polymerization) 분포 양상을 분석하였다. 그 결과 Table 10과 같이, 침지 0일째(침지 30분)에는 찹쌀의 주 유리당인 sucrose가 0.46 mg% 검출되다가 점차 감소하여 9일 시료로부터는 검출되지 않는 것으로 보아 침지액에 존재하는 미생물들의 영양원으로 이용된 것으로 생각된다. 반면 glucose(G1)와 maltose(G2)는 침지 0일에는 검출되지 않았으나 침지 기간이 증가함에 따라 급격하게 증가하여 전분분해 효소에 의해 분해된 것으로 보인다. 침지 15일까지의 모든 시료에서 G8이상의 중합도를 가진 당은 거의 검출되지 않았으며, G3~G7의 중합도를 가진 당은 침지기간 초기에는 검출되지 않다가 침지 후기로 갈수록 미약하나마 증가하는 경향이였다. G3~G7중에서는 G3의 함량이 가장 높았고 상대적으로 G4의 함량은 적었는데 이는 G3의 경우 amylase의 기질이 될 수 없어 수침액에 축적되는데 비해 G4는 amylase의 작용으로 다시 분해되기 때문인 것으로 생각된다.

일반적으로 찹쌀과 같은 A형 전분의 경우 짧은 사슬의 비가 큼으로 인해 분지점(branch points)의 일부는 무정형 부분에 나머지 부분들은 결정영역에 존재하는 scattered branch structure를 가짐으로써 결정구조가 약화되어

효소적 분해를 받기 쉽다고 알려져 있다. 본 연구에서는 찹쌀을 장기간 수침하면 여러 가지 물리화학적, 생물학적 요인에 의한 변화가 야기되어 찹쌀 전분 분자의 변화가 야기될 것으로 가정하였다. 이에 찹쌀의 침지에 따른 전분 분자량의 변화유무를 살피기 위해 GPC로 중량 평균 분자량과 분산도를 분석하였다. 그 결과, 0, 1, 3, 6, 9, 12 및 15일 수침한 찹쌀로부터 얻은 전분의 중량 평균 분자량은 각각 1.80×10^5 , 1.49×10^5 , 1.72×10^5 , 1.63×10^5 , 1.42×10^5 , 1.74×10^5 및 1.80×10^5 이었고, 분산도는 8.78~10.69 범위로 나타나 침지일에 따른 차이가 크지 않은 것으로 보였다(Fig. 7). 이와 병행하여 전분 특히 아밀로펙틴의 분해정도를 나타내는 청값(Blue value)을 조사하였다. 그 결과 침지 찹쌀의 청값(Blue value)은 침지기간이 증가함에 따라 미미하게 증가하는 경향을 보였으나 흡광도로 나타내는 분석방법 자체의 민감도가 매우 낮아 뚜렷한 경향을 판단하기 어려웠다.

침지기간별 찹쌀전분의 X-선 회절양상을 측정된 결과는 Fig. 8과 같다. 수침기간이 다른 찹쌀 전분 모두 회절각도(2θ) 15.0, 17.2, 18.0과 22.8°에서 강한 피크를 보이는 전형적인 A자형 회절양상을 보였다. X-선 회절도로부터 회절각도(2θ) 22.8°에서 구한 전분의 상대적 결정도는 Table 11과 같다. 즉, 상대적 결정도는 침지 3일(119%)까지는 증가하다가 침지 6(96%), 9(96%), 및 12(100%)일째는 0일과 비슷한 양상을 보이다가 침지 15일에는 87%로 낮아졌다. 이와 같은 경향은 감자전분을 수침한 결과 5일까지는 상대적 결정도가 증가하다가 이후에는 감소한다고 한 김 등⁶⁰⁾의 결과와 유사하였다. 이러한 경향을 나타내는 이유로, 수침초기에는 비결정형 부분의 분해가 일어나므로 상대적 결정도가 증가하다가 수침 후기에는 결정형 부분의 분해가 일어나므로 상대적 결정도가 감소한다고 하였다.

이상의 결과를 종합하면, 찹쌀의 장기간 수침은 침지액 중 유기산과 산도의 증가, 중합도 7 이하의 단쇄 당류 및 환원당의 증가를 유도하나 찹쌀 전분에는 거의 영향이 없거나 미미한 영향을 미치는 것으로 보인다. 그러나 이러한 변화가 찹쌀의 기능적 특성 나아가 유과의 품질 특성에 어떠한 영향을 나타내는지에 관한 연구가 이루어져야 할 것이다.

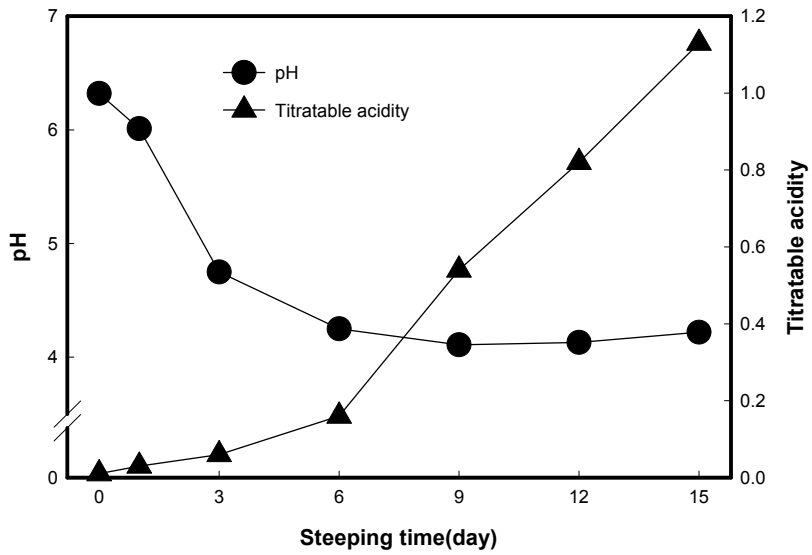


Fig. 4. Changes in pH and titratable acidity during steeping of waxy rice.

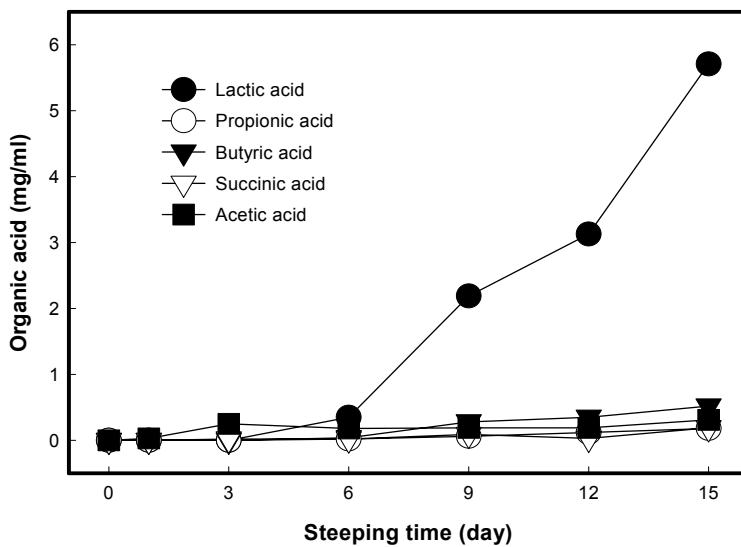


Fig. 5. Changes in organic acids present in steeping water during steeping.

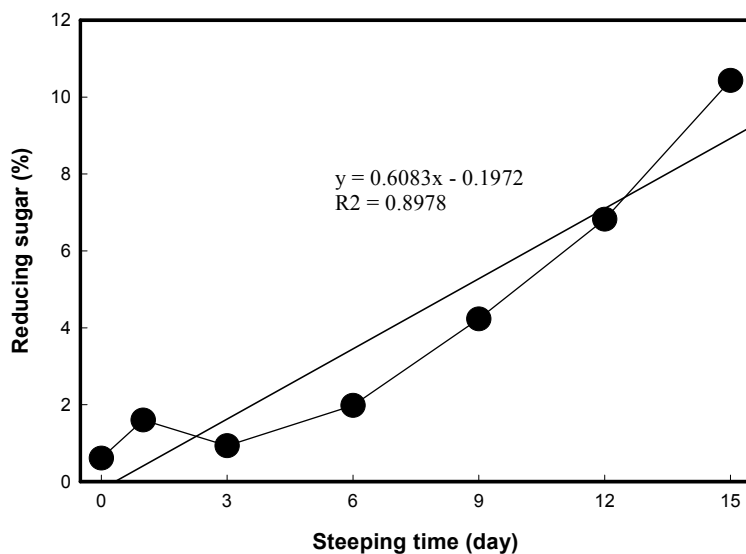


Fig. 6. Changes in reducing sugar during steeping of waxy rice.

Table 10. Analysis of short chain sugar component in steeping water depending on water-steeping durations

unit : mg%

| Sugar | Steeping period(day) | | | | | | |
|---------|----------------------|------|------|------|------|------|------|
| | 0 | 1 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 |
| Glucose | - | 0.11 | 0.20 | 0.19 | 1.17 | 3.80 | 7.61 |
| Sucrose | 0.46 | 0.22 | 0.15 | 0.10 | - | - | - |
| Maltose | - | 0.18 | 0.59 | 1.57 | 3.09 | 4.89 | 5.22 |
| G3 | - | - | 0.03 | 1.42 | 2.43 | 3.65 | 5.10 |
| G4 | - | - | Ta | 0.15 | 0.30 | 0.42 | 0.60 |
| G5 | - | - | 0.08 | 0.15 | 0.60 | 0.90 | 1.25 |
| G6 | - | - | - | - | 0.39 | 0.40 | 0.45 |
| G7 | - | - | 0.06 | - | 0.14 | 0.20 | 0.30 |

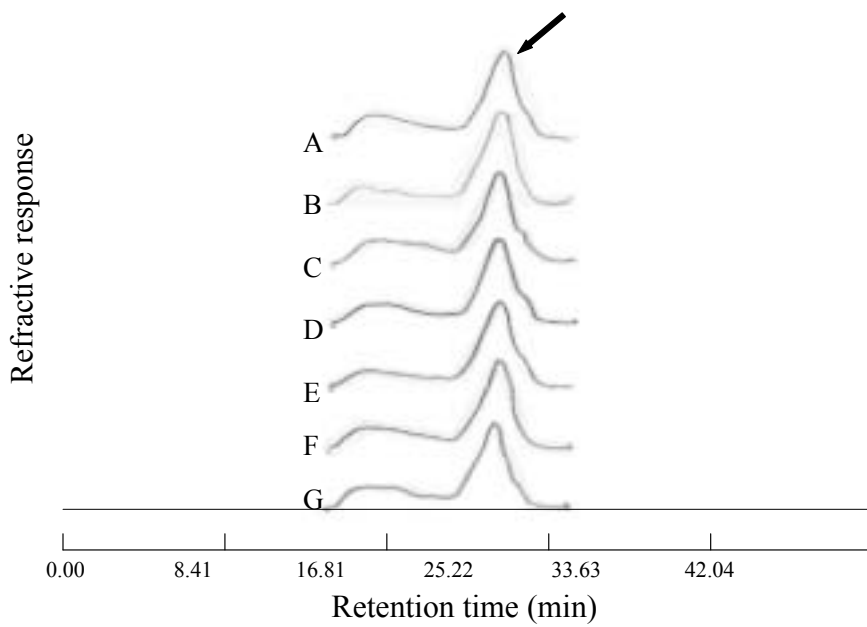


Fig. 7. GPC chromatogram of starch from waxy rice with different steeping duration. A, starch from waxy rice steeped for 0.5 hr; B, starch from waxy rice steeped for 1 day; C, starch from waxy rice steeped for 3 days; D, starch from waxy rice steeped for 6 days; E, starch from waxy rice steeped for 9 days; F, starch from waxy rice steeped for 12 days; G, starch from waxy rice steeped for 15 days.

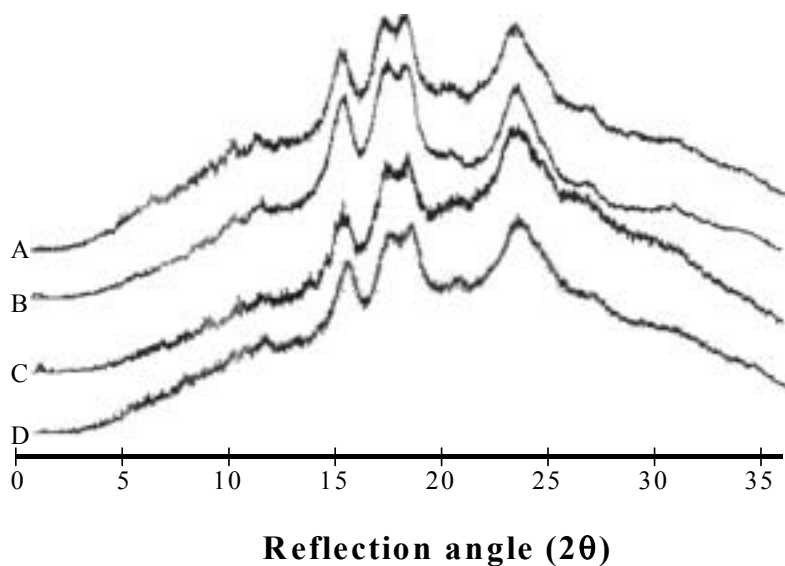


Fig. 8. X-ray diffractograms of waxy rice starch from waxy rice with different steeping durations. A, steeping for 0.5 h; B, steeping for 3 days; C, steeping for 9 days; D, steeping for 15 days.

Table 11. Relative crystallinity of waxy rice starch from waxy rice with different steeping period

| Steeping period (day) | Relative crystallinity (%) |
|--------------------------|-------------------------------|
| 0 | 2.70 |
| 1 | 3.05 |
| 3 | 3.20 |
| 6 | 2.60 |
| 9 | 2.60 |
| 12 | 2.70 |
| 15 | 2.38 |

(3) 찹쌀의 미세 구조 변화

침지기간별 찹쌀 표면과 단면, 찹쌀가루에 대해 전자주사현미경으로 관찰함으로써 찹쌀의 미세 구조 변화를 살펴보고자 하였다. 먼저 찹쌀 표면을 관찰한 결과는 Fig. 9와 같다. 침지 초기의 찹쌀은 매끈한(smoother) 표면을 보이고 있는 반면, 3, 6, 9, 15일 침지한 찹쌀은 수침기간과 비례적으로 불규칙적인 섬유망(irregular fibrous network)이 노출된 느슨한(loose) 표면구조를 보였다. 이는 찹쌀 곡립 표면을 이루고 있는 성분들이 초기에는 잘 결합되어 있다가 수침에 따라 단백질, 무기질, 일부 가수분해된 수용성 당들이 수침액으로 분리되어 나왔기 때문으로 생각된다. Fig. 10은 0, 3, 6, 9, 15일 침지한 찹쌀의 단면을 전자주사현미경으로 관찰한 결과이다. 찹쌀의 단면도 표면과 마찬가지로 침지초기에는 여러 성분들이 촘촘히 배열되어 있는 형태를 보이다가 침지기간이 증가할수록 전분립의 노출이 증가하고, 물질들이 떨어져 나온 흔적이 증가하였다. 이는 본 연구에서 앞서 살펴본 여러 성분의 변화로 미루어 보아 단백질, 무기질 등 여러 성분들이 수침에 의해 용출되어 나갔다고 보여진다. 특히 찹쌀의 성분중 전분질을 제외한 비전분질 다당(nonstarch polysaccharides, 주로 리그닌, 펜토산, 섬유질 성분), 단백질, 지질 및 기타 미량 유기물질들은 대부분 찹쌀 곡립의 배아(germ), 겨층(bran layer), 호분층(aleurone layer), 부호분층(subaleurone layer) 등 외부 둘레에 분포하고 있어 수침환경에 의해 쉽게 영향을 받을 것이라고 판단된다.

침지기간이 다른 찹쌀로부터 전분을 분리한 다음 전자주사현미경으로 전분의 손상도를 포함한 미세구조의 변화를 살펴보았다. 그 결과는 Fig. 11와 같이, 찹쌀 전분의 입자는 수침과 관계없이 다면체 형태를 나타내었다. 수침일이 증가함에 따라 찹쌀 전분 표면에 움푹 들어간 흔적이 관찰되었고, 작은 전분 입자가 증가하는 경향이였다. 쌀 전분은 plastid 내에 여러 개의 전분립이 존재하는 복합 전분립(compound granule) 형태로 존재하여 plastid가 깨어질 때 나오는 개개 전분은 다각형 형태를 가진다. 또한 복합 전분립을 구성하는 전분입자의 수는 20-60개 이며, 전분 표면에 움푹 들어간 흔적이 있는 것은 전분 제조시 전분에 붙어있던 단백질이 떨어져 나간 것이라고 알려져 있다. 본 연구에서 관찰된 결과도 이와 대체로 일치하는 것으로 보인다. 즉, 수침기간 증가에 따라 찹쌀 표면과 단면에서 관찰된 바와 같이 느슨한 미세구조를 보이기 때문에 전분 제조시 전분에 붙어 있던 단백질이 쉽게 분리되어 전분 표면에 움푹 들어간 흔적이 증가한 것으로 사료된다.

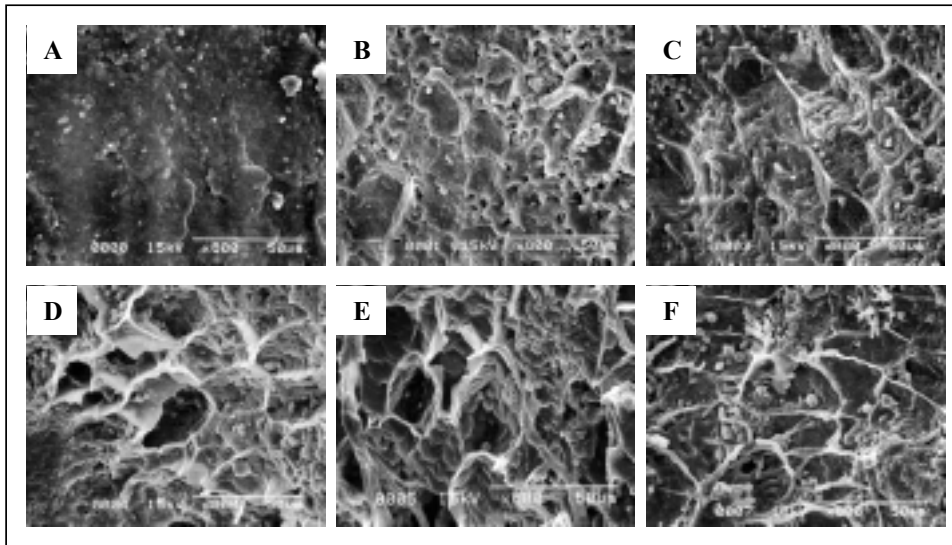


Fig. 9. Scanning electron micrographs of kernel surface of waxy rice with different water-steeping durations. A, non-steeping waxy rice; B, steeping for 0.5 h; C, steeping for 3 days; D, steeping for 6 days; E, steeping for 9 days; F, steeping for 15 days.

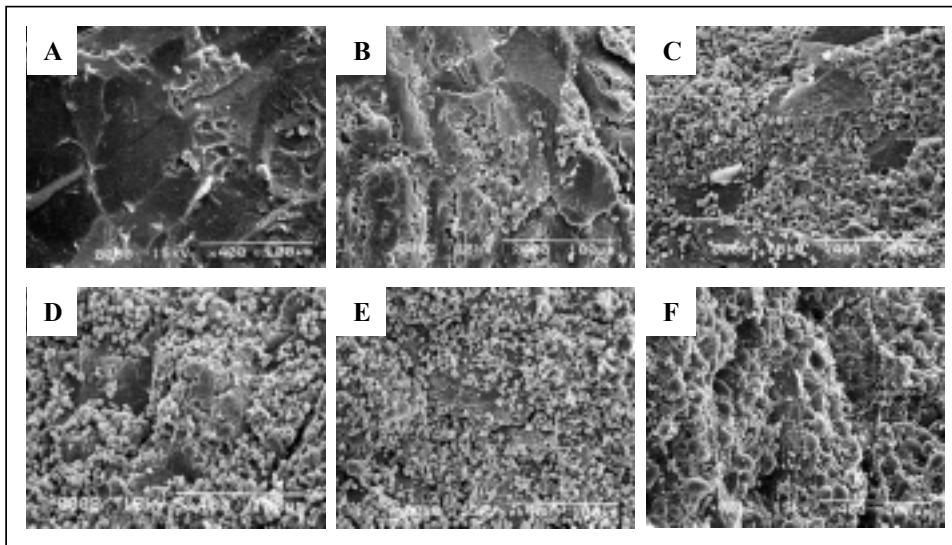


Fig. 10. Scanning electron micrographs of cross-sections of waxy rice grain with different water-steeping durations. A, non-steeping waxy rice; B, steeping for 0.5 h; C, steeping for 3 days; D, steeping for 6 days; E, steeping for 9 days; F, steeping for 15 days.

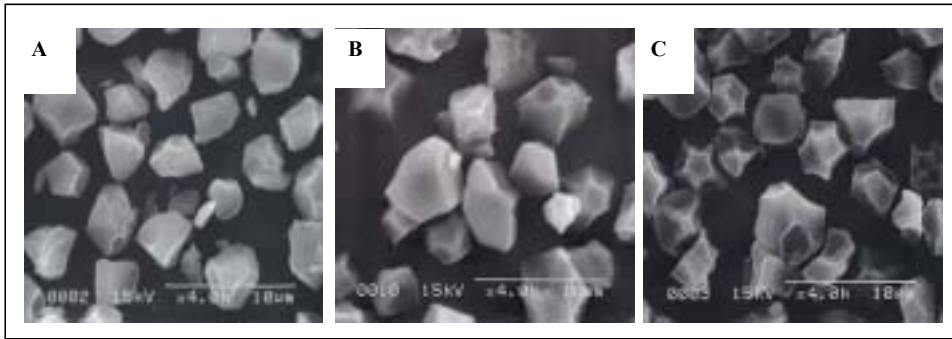


Fig. 11. Scanning electron micrographs of starch granules from waxy rice with different water-steeping durations. A, steeping for 0.5 h; B, steeping for 9 days; C, steeping for 15 days.

(4) 호화 특성의 변화

침지기간별 찹쌀의 호화양상 변화와 특성치를 살펴본 결과는 Fig. 12 및 Table 12와 같다. 침지기간 증가에 따라 찹쌀의 점도는 증가하는 경향이 있었다. 또한 찹쌀의 peak viscosity, breakdown, final viscosity, setback과 같은 호화 특성치는 침지초기(0)부터 침지 15일째에 걸쳐 각각 122~281(2.3배), 47~166(3.5배), 101~166(1.6배), 26~51(2.0배)로 뚜렷하게 증가하였다. 이와 같은 결과는 양 등, 박과 오가 침지일수 증가에 따라 찹쌀의 점도가 증가한다고 한 것과 일치하였다. 쌀가루의 아밀로그래프에 의한 점도 특성은 지방과 단백질의 영향을 받는데 이는 전분 입자 사이에 존재하는 단백질체가 전분의 팽윤과 붕괴를 방해하기 때문이며 지질도 동일한 효과를 보이는 것으로 알려져 있다. 수침기간 증가에 따라 비례적으로 찹쌀의 점도가 증가한 것은 점도 특성에 영향을 미치는 단백질, 지방, 무기질 등의 성분이 감소되었기 때문으로 사료된다. 또한 peak viscosity는 전분립의 팽윤정도와 아밀로오스의 용출에 영향을 받는다고 알려져 있는데, 수침에 의해 전분립으로부터 아밀로오스의 용출이 쉬워졌기 때문에 침지기간에 비례하여 증가한 것으로 보인다.

앞서 살펴본 성분변화와 미세구조 변화에서 수침기간이 찹쌀 전분에 미치는 영향은 찹쌀에 비해 비교적 적었다. 그러나 미세한 차이가 호화양상과 같은 물리적인 특성에는 영향을 줄 것이라고 가정하고 찹쌀을 0~15일에 걸쳐 수침한 다음 분리한 전분의 호화양상 변화와 특성치를 살펴본 것은 Fig. 12 및 Table 13과 같다. 그러나 찹쌀과는 대조적으로, 침지기간 증가에 따른 전분의 호화양상 및 특성치의 변화는 거의 없는 것으로 관찰되었다. 즉, peak viscosity의 경우 침지 0, 1, 3, 6, 9, 12 및 15일 침지한 찹쌀로부터 제조한 전분은 각각 163, 152, 150, 150, 150, 150 및 155 RVU를 보여 거의 차이가 없었다. 또한 호화 중 열과 전단(shear)에 대한 저항성을 나타내는 breakdown 값도 침지초기(0)부터 침지 15일째에 걸쳐 최소 76에서 최대 86으로 거의 차이가 없었다. 따라서 이를 열역학적인 측면에서 미세하게 호화양상을 측정하는 DSC(differential scanning calorimeter)로 다시 살펴보았다. 그 결과는 Table 14에 나타나듯이, 흡열곡선 1과 흡열곡선 2에서 침지기간 증가에 따른 호화개시온도(T_0)와 최대호화온도(T_p)의 변화는 거의 없는 것으로 보였다. 흡열곡선의 엔탈피 변화(ΔH)는 침지기간 증가에 따라 미약하게 증가하는 경향을 보였는데, 이는 동일조건으로 전분을 호화시킬 때 장시간 침지한 찹쌀로 제조한 전분이 더 많이 호화된다는 것을 나타낸다.

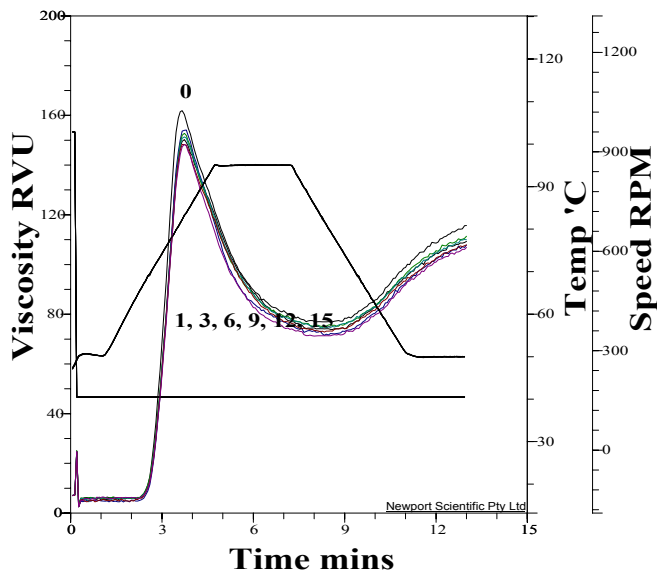
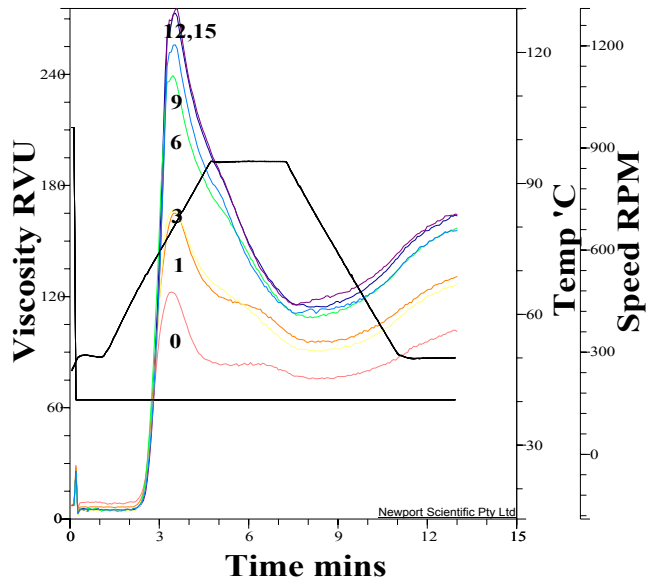


Fig. 12. Viscosity profile for waxy rice flour(upper) and waxy starch(botom) stepped from 0 to 15 days at 25°C by Rapid Visc Analyzer(RVA).

Table 12. Pasting characteristics(RVA) of steeped waxy rice powder with different steeping duration

| Steeping time (day) | Peak viscosity | Breakdown | Final viscosity | Setback | Peak time |
|---------------------|----------------|-----------|-----------------|----------|-----------|
| 0 | 122.2±0.3 | 47.3±0.8 | 100.7±0.9 | 25.8±0.1 | 3.4±0.0 |
| 1 | 160.4±6.8 | 67.8±3.1 | 127.8±4.2 | 34.7±1.2 | 3.5±0.0 |
| 3 | 165.5±1.8 | 76.1±0.5 | 125.4±1.3 | 36.0±0.0 | 3.5±0.0 |
| 6 | 240.2±1.2 | 131.3±0.8 | 158.2±1.7 | 49.4±1.4 | 3.5±0.0 |
| 9 | 260.3±6.1 | 149.5±6.3 | 155.8±0.1 | 45.0±0.3 | 3.5±0.0 |
| 12 | 273.8±1.0 | 161.0±3.1 | 162.8±1.2 | 50.0±0.9 | 3.4±0.1 |
| 15 | 281.0±7.6 | 165.8±8.4 | 165.6±1.7 | 50.5±2.5 | 3.6±0.1 |

Table 13. Pasting characteristics(RVA) of steeped waxy rice starch with different steeping duration

| Steeping time (day) | Peak viscosity | Breakdown | Final viscosity | Setback | Peak time |
|---------------------|----------------|-----------|-----------------|----------|-----------|
| 0 | 162.9±1.4 | 85.9±1.3 | 115.8±0.2 | 38.8±0.1 | 3.6±0.1 |
| 1 | 152.3±0.7 | 77.7±0.5 | 110.9±0.6 | 36.3±0.4 | 3.7±0.0 |
| 3 | 150.0±1.9 | 76.1±1.0 | 109.5±0.6 | 35.7±0.4 | 3.7±0.0 |
| 6 | 149.6±1.8 | 77.1±2.3 | 108.4±0.7 | 35.9±1.2 | 3.7±0.0 |
| 9 | 150.1±2.5 | 78.1±1.3 | 107.8±1.4 | 35.8±0.2 | 3.7±0.0 |
| 12 | 150.2±0.1 | 76.9±0.6 | 109.3±0.1 | 36.0±0.7 | 3.7±0.0 |
| 15 | 155.0±1.2 | 82.8±0.3 | 108.2±0.5 | 36.0±0.4 | 3.8±0.1 |

Table 14. Effect of steeping period on thermal properties^a of waxy rice starch

| Steeping period (day) | Peak 1 | | | Peak 2 | | |
|--------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | $T_o(^{\circ}\text{C})$ | $T_p(^{\circ}\text{C})$ | $\Delta H(\text{J/g})$ | $T_o(^{\circ}\text{C})$ | $T_p(^{\circ}\text{C})$ | $\Delta H(\text{J/g})$ |
| 0 ^b | 63.8±0.3 | 81.9±0.3 | 2.3±0.5 | 94.3±0.1 | 95.9±0.1 | 0.1±0.0 |
| 1 | 73.4±6.0 | 78.1±0.2 | 3.0±1.1 | 94.5±0.2 | 96.1±0.1 | 0.4±0.0 |
| 3 | 65.2±2.6 | 81.6±0.7 | 2.6±0.1 | 94.3±0.1 | 96.1±0.1 | 0.5±0.0 |
| 6 | 69.6±0.8 | 80.0±2.2 | 3.9±0.2 | 94.7±0.0 | 96.1±0.0 | 0.4±0.1 |
| 9 | 69.4±0.4 | 80.0±2.5 | 5.1±0.1 | 94.5±0.0 | 96.2±0.0 | 0.4±0.1 |
| 12 | 62.3±0.4 | 81.4±1.1 | 4.8±0.1 | 94.6±0.0 | 96.0±0.2 | 0.5±0.1 |
| 15 | 66.8±4.8 | 82.1±0.5 | 4.0±0.4 | 94.5±0.2 | 96.0±0.1 | 0.3±0.1 |

^a $T_o(^{\circ}\text{C})$ = onset temperature, $T_p(^{\circ}\text{C})$ = peak temperature, $\Delta H(\text{J/g})$ = enthalphy change.

^b Steeping for 0.5 hour

(5) 기타 물리적 특성 변화

침지기간에 따른 찹쌀의 팽윤력, 물결합력 및 용해도를 살펴본 것은 Fig. 13과 같다. 찹쌀의 용해도는 침지기간이 0, 1, 3, 6, 9, 12, 15일로 증가함에 따라 각각 21.2, 33.4, 28.5, 44.9, 46.2, 46.5, 47.1%를 나타내어 증가하는 경향이였다. 팽윤력 또한 1일 침지시료가 6.7을 나타낸 것을 제외하고는 침지기간이 0, 3, 6, 9, 12, 15일로 증가함에 따라 4.8, 5.8, 5.8, 7.0, 6.9, 7.2의 수치를 보여 미미하게 증가하는 경향이였다. 이와 같은 결과는 1일간 수침한 찹쌀가루의 팽윤력은 수침하지 않은 것과 별 차이가 없었으나 7일간 수침한 경우는 증가하였다고 한 최의 결과와 비슷한 경향이였다. 반면, 찹쌀의 물결합력은 약 53~55%의 범위를 나타내어 침지기간에 따른 차이가 거의 없는 것으로 나타났다.

0~15일에 걸친 찹쌀의 침지기간 동안 찹쌀 경도의 변화를 살펴본 것은 Fig. 14와 같다. 침지기간이 0, 1, 3, 6, 9, 12, 15일로 증가함에 따라 찹쌀의 경도는 $2,695 \pm 403.5$, $2,531 \pm 393.0$, $2,413 \pm 299.5$, $1,688 \pm 186.9$, $1,593 \pm 277.4$, $1,627 \pm 165.0$, $1,460 \pm 167.1$ g/cm²로 감소하였다. 찹쌀의 경도는 침지 3일까지 유의적으로 감소하였으며, 6, 9, 12, 15일 침지한 찹쌀의 경도는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다($P > 0.05$). 이와 같은 결과는 침지 3일까지 찹쌀의 경도가 낮아지는 경향이 뚜렷하였으나 그 이후엔 저하 정도가 적었다는 박과 오의 결과와 비슷한 경향이였다. 이러한 찹쌀의 경도변화는 수침에 의해 곡립내 성분의 조성, 분포, 전분내 또는 다른 성분간의 결합강도 등에 의해 영향을 받을 것이라고 생각된다. 따라서 앞서 살펴본 찹쌀의 성분변화, 미세구조 변화와 잘 일치하는 것으로 보인다. 또한 찹쌀의 경도변화는 유과제조시 중요한 가공적성의 하나인 제분 특성과도 관계되므로 최종 유과의 품질 특성에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

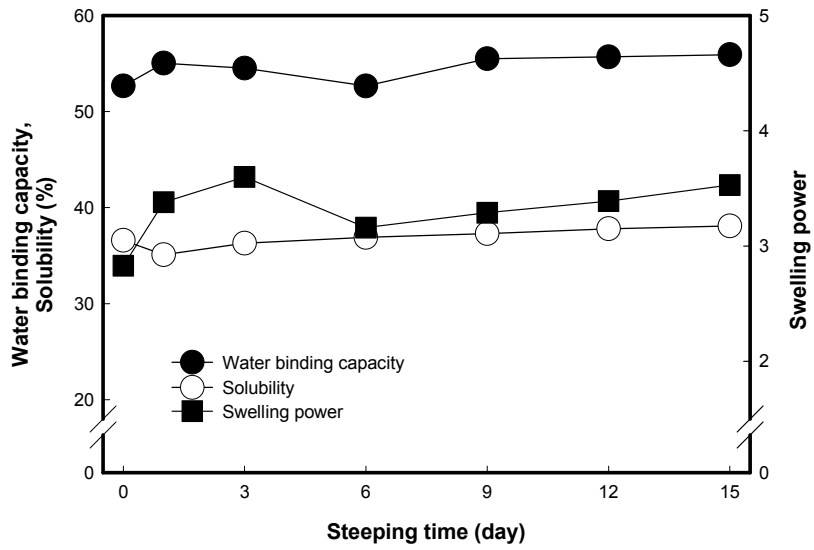


Fig. 13. Water binding capacity, solubility and swelling power of waxy rice starch with different steeping duration.

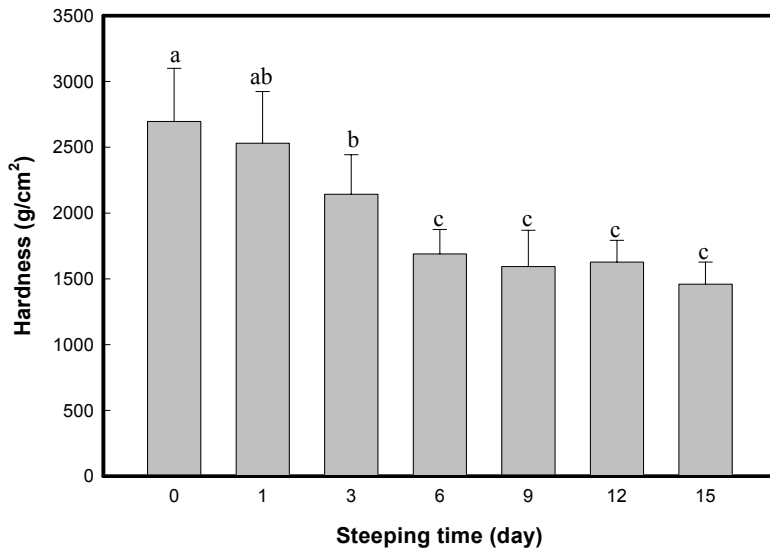


Fig. 14. Changes in hardness of waxy rice kernel during steeping.

3) 찹쌀 침지액의 효소활성도 변화

침지 기간이 증가함에 따라 침지액 중 환원당과 G7 이하의 짧은 사슬의 당이 증가한 결과를 토대로 찹쌀 수침액 중 전분 분해와 관련된 효소 활성이 증가할 것이라고 가정하였다. 따라서 수침액 중 α -amylase 활성과 β -amylase 활성을 측정된 결과는 Fig. 15와 같다. α -Amylase 활성은 침지일이 0, 1, 3, 6, 9, 12, 15일로 증가함에 따라 0, 14, 8, 11, 15, 20, 23 unit로 증가하였다. β -Amylase 활성 역시 침지일이 0, 1, 3, 6, 9, 12, 15일로 증가함에 따라 0, 1, 1, 6, 16, 29, 34 unit로 증가하였으나 α -amylase 활성에 비해 β -amylase 활성의 증가는 비교적 완만하였다. 전 등⁶¹⁾은 찹쌀 수침액에서 수침시간이 길어짐에 따라 α -amylase의 활성도가 증가하지만 β -amylase 활성에는 큰 변화가 없다고 하여 α -, β -amylase 활성이 모두 증가한 본 연구의 결과와는 다소 차이가 있었다. 이는 원료 찹쌀과 찹쌀을 침지하는 환경에 따라 다른 미생물의 작용을 받을 수 있으며, 이에 따라 검출되는 효소 활성도 다를 가능성이 높은데서 기인된 차이라고 생각된다. 또한 침지기간이 증가함에 따라 수침액 중 protease 활성도 3~44 unit 범위로 거의 직선적으로 증가하는 경향을 나타내었다. Lipase 활성은 침지 15일째 약간 활성이 증가하는 것으로 보였으나 찹쌀을 0, 1, 3, 6, 9, 12일 침지한 침지액에서는 검출이 되지 않았다.

이와 같이 수침액 중 효소활성의 변화 특히 α -amylase, β -amylase, protease 활성의 증가는 찹쌀의 앞서 살펴본 찹쌀 성분의 변화와 미세 구조적인 변화, 호화 특성을 비롯한 물리적인 특성의 변화를 유도해 최종적으로 유과의 품질특성에 영향을 미칠 것으로 생각된다. 또한 이러한 데이터를 잘 응용한다면 유과제조시 찹쌀의 침지 공정을 표준화하고 단순화시킬 수 있을 가능성이 높을 것으로 사료된다.

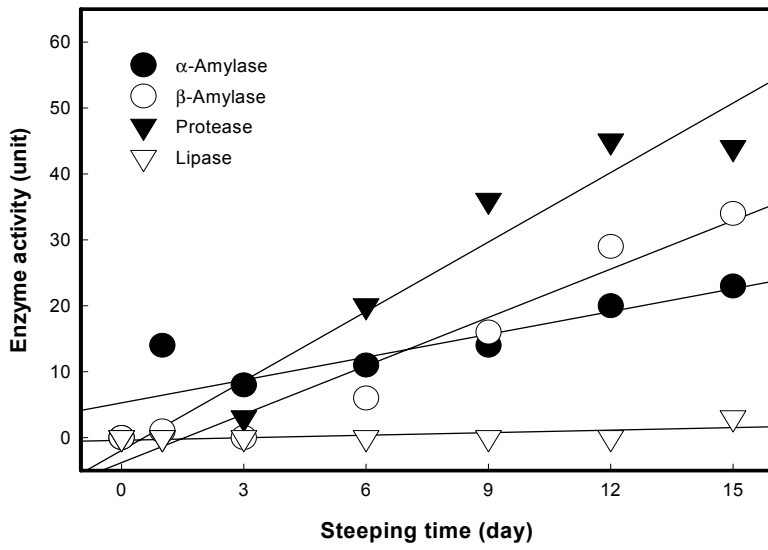


Fig. 15. Changes in enzyme activity in steeping water during steeping of waxy rice

4) 찹쌀 침지물의 미생물학적 변화

(1) 침지기간 동안의 균총 변화

찹쌀의 침지기간동안 침지물 중 미생물의 경시적인 변화 및 우세균주를 알아보기 위하여 선택배지를 선정하고, 이를 이용하여 침지 후 15일 동안 3일 간격으로 침지액을 취하여 실험하였다. 선택배지는 미생물 중에 따른 검출정도가 높고, 다른 종의 미생물에 대한 오염이 적은 배지를 예비실험을 통해 선발하였다. 그 결과 일반젖산균은 MRS배지, *Lactobacillus* 속은 mLBS 배지가 적합하였으며, *Enterococcus* 속, *Leuconostoc* 속, *Bacillus* 속과 *Corynebacterium* 속은 각각 KF *Streptococcus* agar, phenylethyl alcohol sucrose(PES agar), tryptone glucose extract agar(TGE)와 *Corynebacterium* agar(CRA)가 적합하였다. 그리고 coli form의 균은 EMB agar를, 사상균 및 효모분리를 위한 선택배지로는 potato dextrose agar(PDA)를 선발하였으며, 총균수 측정은 모든 미생물이 잘 자라는 plant count agar(PCA)배지를 선택 배지로 이용하여 실시하였다(Table 15).

총균수는 침지 0일째 6.0×10^3 cfu/ml이었던 것이 6일째 8.0×10^7 cfu/ml을 나타내었다. Lactic acid bacteria는 침지 0일째 1.6×10^2 cfu/ml이었던 것이 침지 6일째 9.2×10^7 cfu/ml로 증가하였으며, *Enterococcus* 속은 0일째 1.4×10^3 cfu/ml이었던 것 3일째 3.6×10^6 cfu/ml까지 급격히 증가하여 이후 완만한 증가 추세를 나타내었다. *Leuconostoc* 속은 0일째 8.0×10^2 cfu/ml이었던 것이 6일째 9.3×10^7 cfu/ml로 증가하였으며 이후에는 이와 유사한 수준을 유지하였다. *Lactobacillus* 속은 0일째 1.0×10^1 cfu/ml이었던 것이 6일째 1.1×10^8 cfu/ml로 급격히 증가하였고 이후에도 같은 수준을 유지하였다. 대장균군, 곰팡이 그리고 *Corynebacterium* 속은 침지 0일째 각각 6.0×10^2 cfu/ml, 1.8×10^2 cfu/ml, 5.5×10^2 cfu/ml의 수준을 나타내었고, 침지 6일째 급격히 증가하여 5.8×10^6 cfu/ml, 4.3×10^6 cfu/ml, 2.8×10^6 cfu/ml을 나타내었으며, 이후에는 완만하게 감소하는 경향을 나타내었다. *Bacillus* 속의 경우는 침지 0일째 5.5×10^2 cfu/ml이었던 것이 침지 6일째 2.2×10^5 cfu/ml으로 급격히 증가하였고 침지 9일째까지 4.2×10^6 cfu/ml로 완만한 증가 추세를 보였고, 이후 급격히 감소하여 침지 15일째는 5.0×10^1 cfu/ml을 나타내었다(Fig. 16).

이상의 결과를 살펴볼 때, 침지기간 전반에 걸쳐 나타난 우세 균총은

젖산균이었고, 침지 6일째 대부분의 균들의 균수가 최고로 증가하였고, 그 이후는 비슷한 수준을 유지하는 양상을 나타내었다. 반면 *Bacillus* 속의 경우는 침지 3일째까지 급격히 증가한 후 침지 9일째까지는 완만한 증가추세를 보였으며, 그 이후 급격히 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 찹쌀의 침지 5일부터 20일까지 침지액에 존재하는 균주는 Yeast와 *Lactobacillus* sp.이었고, 침지 25일 이후에는 *Corynebacter* sp. 가 관찰되었다는 손 등¹⁶⁾이 보고와 비교할 때, Yeast는 발견되지 않았고, *Corynebacter* sp.가 관찰된 시기에도 차이가 있었다.

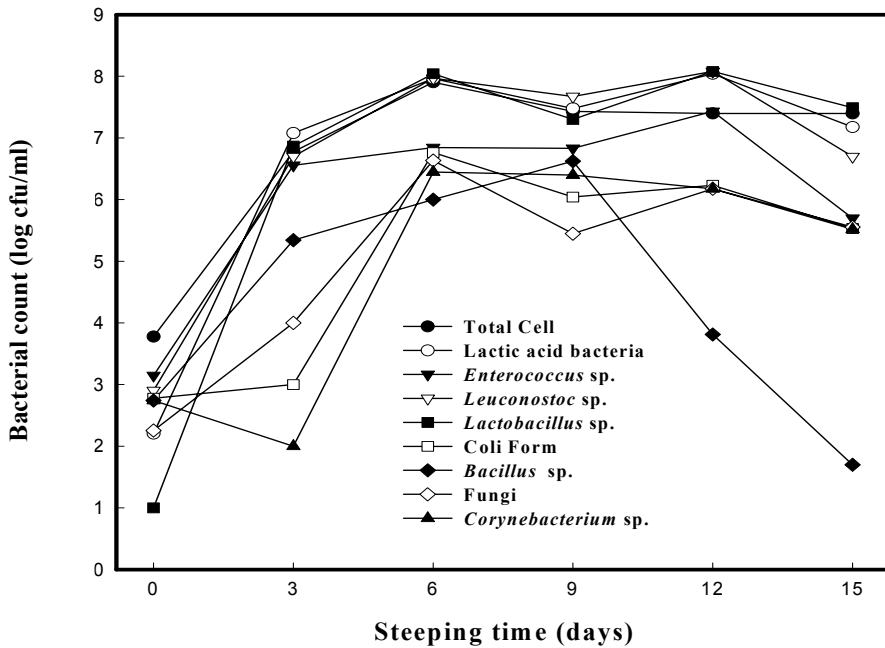


Fig. 16. Changes in bacterial count during stepping.

Values are mean of triplicate determination. Each bacterial population was counted by growing colony on selective media. The selective media used for counting total cell, Lactic acid bacteria, *Enterococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Lactobacillus* sp., Coil form and *Corynebacterium* sp. were PCA, MRS, KF *Streptococcus* agar, PES, m-LBS, EMB and CRA, respectively. The most consistently isolated microorganism was lactic acid bacteria.

Table 15. Total bacterial number counted by growing colony on selective media

| Medium | Colony form | | | | | | | | | | |
|--------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| | White (small) | White (large) | White (smooth) | Mold (white) | Mold (grey) | Red (small) | Red (large) | Yellow (large) | Yellow (smooth) | black (small) | black (large) |
| MRS | - | 3.0×10 ⁷ | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| m-LBS | 2.0×10 ⁷ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| SA | 9.8×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| APT | 2.2×10 ⁵ | - | - | 6.1×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - |
| OSA | - | - | 9.8×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - | - |
| KFS | - | - | - | - | - | 6.8×10 ⁶ | - | - | - | - | - |
| MFE | - | 3.1×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| EBA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1.9×10 ⁵ | 4.0×10 ⁵ |
| KEA | 2.6×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - | - | 1.7×10 ⁵ | - |
| PES | - | - | 4.7×10 ⁷ | - | - | - | - | - | - | - | - |
| FSDA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| TGE5.0 | 2.0×10 ⁶ | - | - | 2.5×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - |
| TGE7.0 | 4.2×10 ⁶ | - | - | 1.5×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - |
| TGE9.0 | 3.6×10 ⁶ | - | - | 1.2×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - |
| MYP | - | - | - | - | - | - | - | - | 5.0×10 ⁴ | - | - |
| DCP | - | - | - | 3.6×10 ⁵ | - | - | - | - | 4.57×10 ⁵ | - | - |
| PDAr | - | - | - | 2.6×10 ⁵ | - | 4.3×10 ⁴ | - | - | - | - | - |
| PDArt | - | - | - | 2.8×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - |
| PDAch | - | - | - | 1.5×10 ⁵ | - | 1.5×10 ⁵ | - | - | - | - | - |
| PDAcp | - | - | - | 1.8×10 ⁶ | - | 1.0×10 ⁵ | - | - | - | - | - |
| SEL | 1.9×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| AFB | 9.5×10 ⁵ | - | - | 5.3×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - |
| CDA | - | - | - | 3.7×10 ⁵ | - | - | - | - | - | - | - |
| MEA | - | - | - | 3.3×10 ⁴ | - | - | - | - | - | - | - |
| WA | - | - | - | 2.6×10 ⁴ | - | - | - | - | - | - | - |
| MC | - | - | - | - | - | - | 3.0×10 ³ | - | - | - | - |
| EMB | 1.1×10 ⁶ | - | - | - | - | - | - | - | - | 1.5×10 ⁵ | - |
| FC | - | - | - | - | - | - | - | 7.5×10 ³ | - | - | - |
| CR | - | - | - | - | 2.4×10 ⁵ | - | - | - | - | 2.5×10 ⁶ | - |
| CRch2 | - | - | - | - | 1.1×10 ⁶ | - | - | - | - | 2.1×10 ⁶ | - |
| TSB-s | 7.5×10 ⁶ | - | - | 2.3×10 ⁵ | - | - | - | - | 6.0×10 ⁵ | - | - |
| PCA | 2.7×10 ⁷ | - | - | 2.5×10 ⁵ | - | - | - | - | 8.0×10 ⁵ | - | - |

MRS: MRS agar, m-LBS: modified *Lactobacillus* selection agar, KFS: KF-*Streptococcus*, PES-3: phenylethyl alcohol sucrose agar, FSDA: fast slow differential agar, TGE: tryptone glucose extract agar (pH 5.0, 7.0, 9.0), SLA: selective agar, PDA: potato dextrose agar (rose bengal(r), cyclohexamide(ch), chloramphenicol(cp)), MCA: MacConkey agar, FCA: fluromocult agar, CRA: *Corynebacterium* agar, TSAs: tryptic soybean agar (10% starch), MYP: *Cereus* selective agar base acc. to Mossel, DCP: Dextrose casein peptone agar, EMB: EMB agar, AFB: Agar for fungi Base, CDA: Czapek-Dox agar, MEA: Malt extract agar, WA: Wort agar, MFE: Membrane Filter Enterococcus selective agar, EBA: Esculin Bile agar, SA: Sorbid acid agar, APT: APT agar, OSA: Orange Serum agar, KEA: Kanamycin Esculin azid agar.

(2) 우세균주의 분리 및 동정

참쌀 침지물로부터 분리한 균주의 동정을 위하여 형태학적·생리학적 특성을 알아본 결과는 Table 16과 같다. Gram 염색을 실시한 본 결과 분리된 모든 균주가 Gram 양성으로 나타났다. 또한 현미경을 이용하여 형태를 관찰한 결과 15번, 6번, 25번, 40번 균주는 간균이었으며, 나머지 균주는 구균인 것으로 나타났다. Catalase활성은 75번 균주를 제외한 모든 균주에서 확인되지 않았다.

Table 16. Morphological and physiological characteristics of bacteria isolated from steeping water of waxy rice

| Steeping period (day) | Isolate | Characteristics | | |
|-----------------------|---------|-----------------|-----------|----------|
| | | Gram St. | Cell form | Catalase |
| 3 | 75 | P* | coccus | + |
| | 74 | P | coccus | - |
| | 12 | P | coccus | - |
| 6 | 15 | P | rod | - |
| | 58 | P | coccus | - |
| | 37 | P | coccus | - |
| | 68 | P | coccus | - |
| | 6 | P | rod | - |
| 9 | B4 | P | coccus | - |
| | B1 | P | coccus | - |
| 12 | 25 | P | rod | - |
| | 40 | P | rod | - |

* : Positive.

API 50 CHL kit를 이용하여 균주의 당 발효능력을 알아본 결과는 Table 17과 같다. 49개의 당 중, D-glucose, D-fructose, D-mannose, N-acetyl glucosamin, arbutine, esculine, salicine, cellobiose, maltose, β -gentiobiose는 분리된 모든 균주가 이용하는 것으로 나타났다. Erythritol, D-arabinose, L-xylose, adonitol, β -methyl-xyloside, rhamnase, dulcitol, insitol, inuline, xylitol, D-lyxose, L-arabitol은 모든 분리균주가 이용하지 못하거나 이용하는 정도가 약한 것으로 나타났고, gluconate는 분리된 모든 균주에서 이용성이 약한 것으로 나타났다.

당 이용성을 토대로 하여 분리균주를 API software를 이용하여 동정한 결과는 Table 18에 나타난 바와 같다. 즉, 침지 3일째 분리된 균주의 당 발효형태의 경우, 75번 균주는 *Brevibacillus lacterosporus*와 99.3%, 74번 균주는 *Leuconostoc citreum*와 95.8%, 12번 균주는 *Lactobacillus pentosus*와 72.3% 유사하게 나타났다. 침지 6일째 분리된 15번 균주는 *Lactobacillus pentosus*와 98.5%, 58번, 37번 및 68번 균주는 *Lactobacillus plantarum*과 각각 81.0%, 99.0%, 76.9% 유사한 것으로 나타났으며, 6번 균주는 *Lactococcus lactis lactis*와 95%가 유사한 것으로 나타났다. 침지 9일째 분리된 B4와 B1 균주는 *Lactobacillus plantarum*과 82.4%, 60.0%가 유사하게 나타났으며, 침지 12일째 분리된 25번과 40번 균주는 *Lactobacillus plantarum*과 99.9%로 매우 흡사한 발효형태를 나타내었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때, 침지 초기에는 lactic acid bacteria, *Enterococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Lactobacillus* sp., Coil form, *Bacillus* sp. 및 *Corynebacterium* sp. 과 같은 여러 균주의 영향을 동시에 받는 것으로 보이며, 침지 후기에는 주로 젖산균의 영향을 받는 것으로 사료된다. 이는 손¹⁶⁾등의 보고와 젖산균이 침지기간 동안 영향을 미친다는 점에서 유사한 경향을 나타내었으나 강²²⁾등의 보고와는 상반되는 결과를 나타내었다.

한편, 미생물 스타터로 선발한 균주인 B1, 37, 12번 균주는 보다 정확한 동정을 위하여 부분적인 16S rDNA 염기서열 분석을 실시하였다. 각 균주로부터 추출한 DNA를 PCR에 의해 증폭한 다음 0.8% agarose gel에서 전기영동하여 분리하고(Fig. 17), Wizard PCR Prep을 이용하여 정제하였다. 그런 다음 ABI PRISMTM 310 Genetic Analyzer를 이용하여 분석한 후, 다양한 균주와의 유사성(similarity)을 분석하여 %로 나타내었다.

그 결과, Fig 18, 19와 Table 19, 20에 나타낸 바와 같이 B1과 37번 균주 모두 *Lactobacillus* 속에 속하는 세균이었다. 즉, B1균주는 *Lactobacillus plantarum*(JCM 1149T)과 *Lactobacillus pentosus*(JCM 1558T)의 표준균주와 16S rDNA의 염기서열이 100% 일치하였고, *Lactobacillus paraplanctarum* (DSM 10667T)과도 99.6%, *Lactobacillus arizonensis*(NRRL B-14768T)와 96.4%, *Lactobacillus collinoides*(JCM 1123T) 및 *Lactobacillus alimentarius*(ATCC 29643T)와 91.2%의 유사성을 보였다. 37번 균주 또한 *Lactobacillus plantarum*(JCM 1149T)과 *Lactobacillus pentosus*(JCM 1558T)의 표준균주와 16S rDNA의 염기서열이 100% 일치하였고, *Lactobacillus paraplanctarum* (DSM 10667T)과도 99.6%, *Lactobacillus arizonensis*(NRRL B-14768T)와 96.4%, *Lactobacillus collinoides*(JCM 1123T) 그리고 *Lactobacillus alimentarius*(ATCC 29643T)와 91.2%의 유사성을 보였다. 현재 *Lactobacillus*는 80개의 종 및 아종이 존재하며^{55, 62)}, *Lactobacillus plantarum* 와 *Lactobacillus pentosus*는 full 16S rDNA 염기 서열이 불과 1 base의 차이를 보이고, *Lactobacillus paraplanctarum*과는 4 base의 차이를 보이므로 본 연구결과만으로 정확한 동정이 불가능하다고 판단된다. 따라서 보다 정확한 동정을 위해서는 DNA-DNA hybridization 방법⁶²⁾과 같은 분석을 추가적으로 실시하여야 할 것으로 사료된다.

12번 균주는 Fig. 20과 Tabel 21에 나타낸 바와 같이 *Bacillus amyloliquefaciens*(ATCC 23350T)와 99.9%, *Bacillus atrophaeus*(NCIB 12889T)와 99.7%, *Bacillus vallismortis*(DSM 11031T)와 99.6%의 유사성을 보였다. 또한 *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis*(ATCC 6051T)와 99.3%, *Bacillus mojavensis*(IFO 15718T) 그리고 *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*(NRRLB-23049)와 99.2%의 유사성을 보여 *Bacillus* 속에 속하는 세균으로 판명되었다. *Bacillus*는 현재 75종이 존재하며 *Bacillus subtilis* Complex에는 *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus mojavensis*, *Bacillus vallismortis*, *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*, *Bacillus licheniformis*가 속해 있는 것으로 알려져 있다⁵⁵⁾. 따라서 부분적인 16S rDNA sequence 만으로 분리주를 동정하는 것은 불가능하며, 정확한 동정을 위해 *gyrase A* gene(*gyr A*) 염기서열 분석⁵⁵⁾과 같은 분석이 요구된다.

따라서 12번 균주의 보다 정확한 동정을 위해 *gyrase A* gene(*gyr A*) 염기서열 분석을 실시한 결과는 Fig. 21 및 Table 22와 같다. *Bacillus subtilis* complex에 속하는 종들과 *gyrase A* 유전자의 유사도 분석 결과, *Bacillus amyloliquefaciens*의 표준균주와 95.31%로 가장 높은 nucleotide sequence similarity를 보이며, 계통수에서도 이를 확인할 수 있으므로 *Bacillus amyloliquefaciens* 균주로 동정하였다(Fig. 22).

Bacillus amyloliquefaciens 는 1943년 Fukumoto에 의해 처음으로 기록되었다. 이 종은 *Bacillus subtilis* 와 유사하지만, DNA hybridization 분석에서 *Bacillus subtilis*와 15%의 homology를 나타낸다. Mol% G+C 함량은 *Bacillus amyloliquefaciens* (43.5-44.9%)가 *Bacillus subtilis* (42-43%) 보다 약간 높으며, 토양(soil)에서 분리되었다.

Table 17. Carbohydrate fermentation of bacteria isolated from steeping water of waxy rice

| Characteristics | Isolates | | | | | | | | | | | |
|----------------------|----------|----|----|----|----|----|----|---|----|----|----|----|
| | 75 | 74 | 12 | 15 | 58 | 37 | 68 | 6 | B4 | B1 | 25 | 40 |
| Glycerol | + | - | ± | ± | - | ± | - | - | ± | ± | ± | - |
| Erythritol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D-Arabinose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| L-Arabinose | - | + | - | ± | ± | + | + | - | + | ± | + | + |
| Ribose | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| D-Xylose | + | + | + | + | + | - | + | + | + | - | - | - |
| L-Xylose | ± | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Adonitol | ± | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| β Methyl-xyloside | ± | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Galactose | ± | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| D-Glucose | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| D-Fructose | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| D-Mannose | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| L-Sorbose | ± | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| Rhamnose | ± | - | - | - | - | - | ± | - | - | - | - | - |
| Dulcitol | ± | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Inositol | ± | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Mannitol | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Sorbitol | ± | - | + | + | + | + | + | ± | + | + | ± | + |
| α Methyl-D-mannoside | ± | - | - | - | + | + | + | - | + | - | + | + |
| α Methyl-D-glucoside | ± | + | - | - | + | + | + | - | + | + | ± | - |
| N Acetyl glucosamine | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Amygdalin | ± | ± | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Arbutine | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Esculine | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Salicine | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Cellobiose | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Maltose | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Lactose | ± | ± | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Melibiose | - | - | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + |
| Saccharose | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Trehalose | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Inuline | - | - | - | - | - | ± | - | - | - | - | - | - |
| Melezitose | - | - | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + |
| D-Raffinose | - | - | + | + | + | + | ± | - | + | - | - | + |
| Amidon | + | - | ± | ± | ± | - | - | ± | ± | - | - | - |
| Glycogen | + | - | ± | ± | - | - | - | - | ± | - | - | - |
| Xylitol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| βGentiobiose | ± | + | + | + | + | + | + | + | ± | ± | ± | + |
| D-Turanose | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + |
| D-Lyxose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D-Tagatose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| D-Fucose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| L-Fucose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| D-Arabitol | + | - | - | - | ± | ± | ± | - | ± | ± | ± | ± |
| L-Arabitol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gluconate | ± | + | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | + |
| 2 ceto-gluconate | - | ± | - | - | - | - | ± | - | - | - | - | - |
| 5 ceto-gluconate | ± | - | - | - | - | - | ± | - | - | ± | - | - |

Symbols: +; Fermented, -; Not fermented, ±; Slightly fermented.

Table 18. Identification with API 50 CHL of bacteria isolated from steeping water of waxy rice

| Steeping period (day) | Isolate | API50CHL | |
|-----------------------|---------|------------------------------------|-----------------|
| | | Scientific name | Probability (%) |
| 3 | 75 | <i>Brevibacterium laterosporus</i> | 99.3 |
| | 74 | <i>Leuconostoc citreum</i> | 95.8 |
| | 12 | <i>Lactobacillus pentosus</i> | 72.3 |
| 6 | 15 | <i>Lactobacillus pentosus</i> | 98.5 |
| | 58 | <i>Lactobacillus plantarum</i> | 81.0 |
| | 37 | <i>Lactobacillus plantarum</i> | 99.0 |
| | 68 | <i>Lactobacillus plantarum</i> | 76.9 |
| | 6 | <i>Lactococcus lactis lactis</i> | 95.0 |
| 9 | B4 | <i>Lactobacillus plantarum</i> | 82.4 |
| | B1 | <i>Lactobacillus plantarum</i> | 60.0 |
| 12 | 25 | <i>Lactobacillus plantarum</i> | 99.9 |
| | 40 | <i>Lactobacillus plantarum</i> | 99.9 |

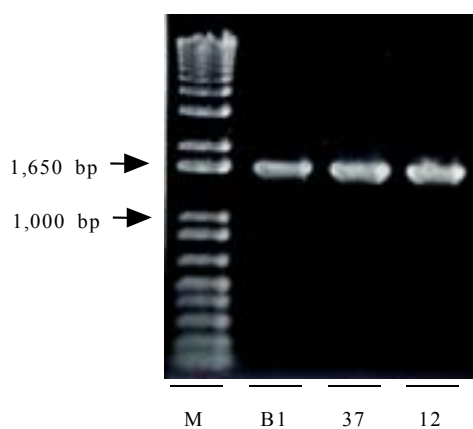


Fig. 17. PCR amplification of DNA samples with 16S rDNA universal primer. M : DNA marker [1kb plus ladder(Promega)], B1 : 16S rDNA extract from B1 strain, 37 : 16S rDNA extract form 37 strain, 12 : 16S rDNA extract from 12 strain.

5-ACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGAACTCTGGT
ATTGATTGGTGCTTGCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGA
ACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGGGGGATAAC
ACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCGCATGG
TCCGAGYTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCG
CGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGA
TACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGAC
ACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAA
TGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTT
TCGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGT
AACTGTTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCG
GATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGAT
GTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAA
ACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAT-3

Fig. 18. 16S rDNA partial sequence of B1 isolate.

Table 19. Identification of B1 isolate with nucleotide differences

| Strain | Accession No. | Similarity (%) | Nucleotide differences /compared |
|--|---------------|----------------|----------------------------------|
| <i>Lactobacillus plantarum</i> JCM 1149T | D79210 | 100.0 | 0/695 |
| <i>Lactobacillus pentosus</i> JCM 1558T | D79211 | 100.0 | 0/696 |
| <i>Lactobacillus paraplantarum</i> DSM 10667T | AJ306297 | 99.6 | 3/696 |
| <i>Lactobacillus arizonensis</i> NRRL B-14768T | AF093757 | 96.4 | 25/689 |
| <i>Lactobacillus collinoides</i> JCM 1123T | AB005893 | 91.2 | 61/694 |
| <i>Lactobacillus alimentarius</i> ATCC 29643T | M58804 | 91.2 | 61/689 |
| <i>Lactobacillus brevis</i> ATCC 14869T | M58810 | 90.9 | 63/694 |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> JCM 1136T | D16552 | 90.2 | 68/692 |

5-ACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGAACTCTGGT
ATTGATTGGTGCTTGCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGA
ACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGGATAAC
ACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCGCATGG
TCCGAGYTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCG
CGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGA
TACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGAC
ACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAA
TGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTT
TCGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGT
AACTGTTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCG
GATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGAT
GTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAA
ACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAA
ATGCGTAGAT-3

Fig. 19. 16S rDNA partial sequence of 37 isolate.

Table 20. Identification of 37 isolate with nucleotide differences

| Strain | Accession No. | Similarity (%) | Nucleotide differences /compared |
|--|---------------|----------------|----------------------------------|
| <i>Lactobacillus pentosus</i> JCM 1558T | D79211 | 100.0 | 0/696 |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> JCM 1149T | D79210 | 100.0 | 0/695 |
| <i>Lactobacillus paraplantarum</i> DSM 10667T | AJ306297 | 99.6 | 3/696 |
| <i>Lactobacillus arizonensis</i> NRRL B-14768T | AF093757 | 96.4 | 25/689 |
| <i>Lactobacillus collinoides</i> JCM 1123T | AB005893 | 91.2 | 61/694 |
| <i>Lactobacillus alimentarius</i> ATCC 29643T | M58804 | 91.2 | 61/689 |
| <i>Lactobacillus brevis</i> ATCC 14869T | M58810 | 90.9 | 63/694 |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> JCM 1136T | D16552 | 90.2 | 68/692 |

5-GAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGAT
GGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGT
GGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCT
AATACCGGATGBTTGTTTGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAGGTG
GCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTT
GGTGAGGTAACGGCTACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAG
AGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACG
GGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGG
AGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTG
TTGTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTTCAAATAGGGCGGCACCTTGAC
GGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGG
GCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAA
CCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAAGTTGAGTGCAGAAGAGGA
GAGTGGAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGG
AACACCAGTGCGGAAGGCGACTCTCTGGTCT-3

Fig. 20. 16S rDNA partial sequence of 12 isolate.

Table 21. Identification of 12 isolate with nucleotide differences

| Strain | Accession No. | Similarity (%) | Nucleotide differences /compared |
|--|---------------|----------------|----------------------------------|
| <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23350T | X60605 | 99.9 | 1/713 |
| <i>Bacillus atrophaeus</i> NCIB 12899T | X60607 | 99.7 | 2/681 |
| <i>Bacillus vallismortis</i> DSM 11031T | AB021198 | 99.6 | 3/721 |
| <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> ATCC 6051T | X60646 | 99.3 | 5/719 |
| <i>Bacillus mojavensis</i> IFO 15718T | AB021191 | 99.2 | 6/721 |
| <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> NRRLB-23049T | AF074970 | 99.2 | 6/721 |
| <i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580T | X68416 | 97.9 | 15/720 |
| <i>Bacillus pumilus</i> ATCC 7061T | X60637 | 96.0 | 28/701 |
| <i>Bacillus pseudofirmus</i> DSM 8715T | X76439 | 95.2 | 35/721 |
| <i>Bacillus oleronius</i> DSM 9356T | X82492 | 94.7 | 38/712 |
| <i>Bacillus sporothermodurans</i> DSM 10599T | U49078 | 94.6 | 39/716 |
| <i>Bacillus carboniphilus</i> JCM 9731T | AB021182 | 94.5 | 40/721 |

5'- CCCGGGCGCTTCCGGATGTGCGTGACGGTCTGAAGCCGGTTCAC
AGGCGGATTTTGTACGCAATGAATGATTTAGGCATGACCAGTGACA
AACCATATAAAAAATCTGCCCGTATCGTCGGTGAAGTTATCGGTAA
GTACCACCCGCACGGTGACTCAGCGGTTTACGAATCAATGGTCAGA
ATGGCGCAGGATTTTAACTACCGCTACATGCTTGTTGACGGACACG
GCAACTTCGGTTCGGTTGACGGCGACTCAGCGGCCGCGATGCGTTAC
ACAGAAGCGAGAATGTCAAAAATCGCAATGGAAATTCTGCGTGAC
ATTACGAAAGATACGATTGATTATCAAGATAACTATGACGGCGCA
GAAAGAGAACCTGTCGTCATGCCTTCGAGATTTCCGAATCTGCTCG
TAAACGGAGCTGCCGGTATTGCGGTCGGAATGGCGACAAATATTCC
TCCGCATCAGCTTGGGGAAGTCATTGAAGGCGTGCTTGCCGTAAGT
GAGAATCCTGAGATTACAAACCAGGAGCTGATGGAATACATTCCGG
GCCCCGATTTTCCGACTGCTGGTCAGATTTTGGGCCGGAGCGGCATC
CGCAAGGCATATGAATCCGGACGGGGATCAATCACAATCCGGGCTA
AGGCTGAAATCGAAGAGACATCATCAGGAAAAGAAAGAATTATTG
TTACGGAACTTCCTTATCAGGTGAACAAAGCGAGATTAATTGAAA
AAATCGCAGATCTTGTCCGAGACAAAAAAATCGAAGGAATTACCG
ACCTGCGAGACGAATCCGACCGTAACGGAATGAGAATCGTCATTGA
GATCCGCCGTGACGCCAATGCTCACGTCATTTTGAATAACCTGTAC
AAACAAACGGCCCTGCAGACGTCTTTCGGAATCAACCTGCTGGCGC
TCGTTGACGGACAGCCGAAGGTG -3'

Fig. 21. *Gyrase A* sequence of 12 isolate.

Table 22. Identification of 12 isolate with *gyrase A* sequence

| Strain | Accession No. | Similarity (%) | Nucleotide differences /compared |
|---|---------------|----------------|----------------------------------|
| <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> KCTC 1660T | AF272015 | 95.31 | 43/917 |
| <i>Bacillus mojavensis</i> NRRL B-14698T | AF272019 | 84.23 | 123/780 |
| <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> NRRL B-23049T | AF272020 | 83.09 | 137/810 |
| <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> KCTC 3135T | AF272021 | 82.61 | 132/759 |
| <i>Bacillus atrophaeus</i> KCTC 3701T | AF272016 | 82.53 | 152/870 |
| <i>Bacillus vallismortis</i> NRRL B-14890T | AF272025 | 81.95 | 163/903 |
| <i>Bacillus licheniformis</i> KCTC 1918T | AF272017 | 78.29 | 185/852 |

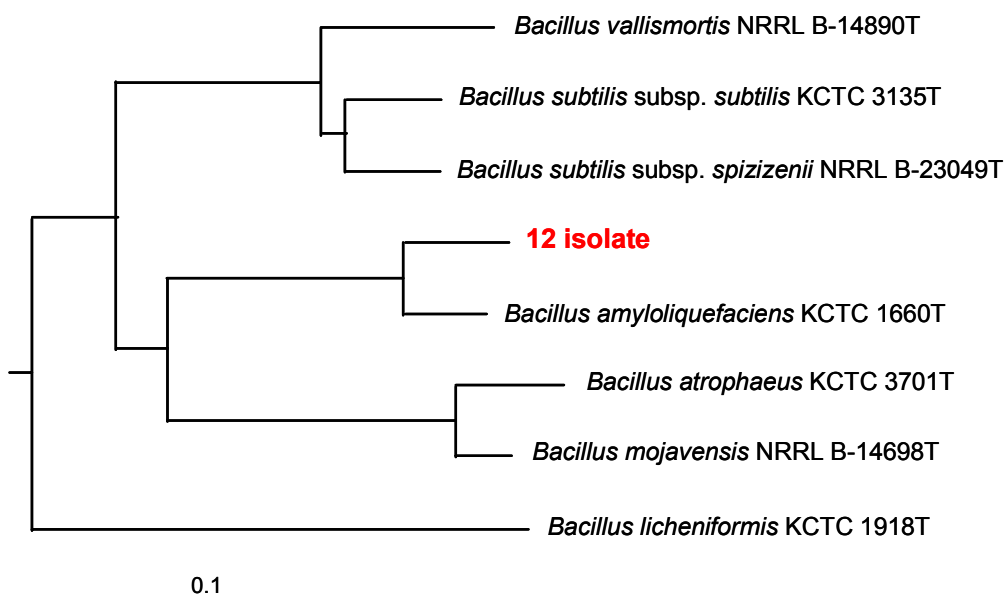


Fig. 22. Phylogenetic tree of 12 isolate obtained from steeping slurry of waxy rice. This tree was constructed from a matrix of pair-wise genetic distances by the neighbor-joining method.

(3) 우세균주의 특성 조사

참쌀의 주성분인 전분에 대한 분리균주의 amylolytic 특성을 살펴본 결과는 Table 23과 같다. 고체배지(10% corn starch를 함유한 tryptone glucose agar)에 분리된 균주를 접종하여 형성된 clear zone의 크기에 대한 colony의 크기의 비를 조사한 결과, 74번, 12번, 15번, 58번 균주가 1.9로 전분 분해력이 가장 우수하였고, 75번, 37번, 68번, 6번, B4, B1, 40번은 1.3~1.8을 나타냈으며, 25번 균주가 1.1로 전분분해력이 가장 약한 것으로 나타났다. 이러한 결과를 살펴 볼 때, 침지 초반 분리된 균주가 후반에 분리된 균주에 비하여 전분분해력이 큰 것으로 나타났다. 이는 참쌀의 전분분해가 주로 침지 초반에 이루어지는 것임을 시사한다고 볼 수 있다.

유과제조시 7~14일의 장기간 수침을 시키는 이유는 수침시 수침액 내의 미생물이 분비하는 α -amylase에 의한 참쌀 전분의 분해효과에 기인한 amylopectin 구조상의 변화로 조직감이 부드러워지고 팽화가 잘 일어나기 때문이라고 한다.¹⁷⁾ 이런 이유에서 분리한 균주의 amylase활성을 조사하였으며 그 결과는 Table 24와 같다. α -Amylase 활성이 높았던 균주는 74번 균주가 0.13 $\mu\text{g/ml}$, 37번 균주가 0.18 $\mu\text{g/ml}$, 25번 균주가 0.14 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났으며, β -amylase 활성이 높았던 균주는 12번 균주가 45.6 $\mu\text{g/ml}$, B1 균주가 40.2 $\mu\text{g/ml}$, 40번 균주가 40.1 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났다.

이러한 결과를 토대로 하여 유과제조용 미생물 스타터로는 α -amylase 활성이 높은 37번 균주와 β -amylase 활성이 높은 12번 균주를 선택하였다. 또한, α -amylase와 β -amylase활성이 비교적 높은 B1 균주와 40번 균주 중 40번은 당 발효형태가 37번 균주와 흡사한 것으로 나타나 비교적 당 발효형태가 다른 B1 균주를 선택하여 실험에 이용하였다.

Table 23. Colony and clear zone size on starch agar fermented by isolate strain present during the steeping process

| Isolates | Colony size (cm) | Clear zone (cm) | Clear zone / Colony size |
|----------|------------------|-----------------|--------------------------|
| 75 | 1.7 | 2.5 | 1.5 |
| 74 | 0.9 | 1.7 | 1.9 |
| 12 | 0.9 | 1.7 | 1.9 |
| 15 | 0.9 | 1.7 | 1.9 |
| 58 | 0.8 | 1.5 | 1.9 |
| 37 | 1.0 | 1.5 | 1.5 |
| 68 | 1.1 | 1.7 | 1.6 |
| 6 | 0.8 | 1.4 | 1.8 |
| B4 | 1.0 | 1.7 | 1.7 |
| B1 | 0.4 | 0.5 | 1.3 |
| 25 | 0.7 | 0.8 | 1.1 |
| 40 | 1.0 | 1.5 | 1.5 |

Table 24. Amyloytic enzyme activity of isolate strain cultured in tryptic soy broth from steeping water

| Strain | α -Amylase activity ¹⁾ (Unit, D ^{40°C} ₃₀) | β -Amylase activity ²⁾ (Reducing sugar, μ g/ml) |
|--------|--|---|
| 75 | 0.08 | 36.2 |
| 74 | 0.13 | 33.5 |
| 12 | 0.09 | 45.6 |
| 15 | 0.08 | 38.2 |
| 58 | 0.12 | 35.6 |
| 37 | 0.18 | 37.79 |
| 68 | 0.12 | 35.4 |
| 6 | 0.09 | 36.8 |
| B4 | 0.09 | 36.1 |
| B1 | 0.10 | 40.2 |
| 25 | 0.14 | 33.9 |
| 40 | 0.11 | 40.1 |

¹⁾ A unit of α -amylase activity is defined as lysed volume(ml) of 0.5% soluble starch by 1ml crude enzyme for 30 min at 40°C.

²⁾ A unit of β -amylase activity is defined as the amount of enzyme that produce reducing sugar equivalent to 1 μ mol of maltose from starch per min at 30°C.

2. 침지기간에 따른 유과의 품질 변화

1) 팽화율 및 밀도

참쌀을 0(0.5 h), 1, 3, 6, 9, 12 및 15일 동안 수침한 다음 세척→분쇄→증자→반죽→건조→성형→절단→건조 및 조질→유탕 팽화하여 유과 바탕을 제조하였다. 제조한 유과와 유과 단면의 외관을 나타낸 것은 Fig. 23과 같다. 유과와 유과 단면은 크기뿐만 아니라 부피에서도 참쌀의 수침 기간이 0에서 15일로 증가할수록 비례적으로 증가하였다.

유과의 팽화와 관련된 특성치들을 설정한 다음 참쌀의 수침기간이 이들 변수와 밀도에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 25와 같다. 방사상의 팽화 지표인 유과의 단면적은 참쌀의 수침기간이 6일에서 15일로 증가함에 따라 급격하게 증가하였다. 길이 팽화 정도의 지표인 유과의 세로 단면적 또한 참쌀의 수침기간에 비례하여 증가하는 경향을 보여주었다. 유과의 높이에 대한 길이의 비율은 수침 기간이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었는데, 이는 방사상 팽화에 대한 수침의 효과가 길이 팽화에 대한 효과보다 더 크다는 것을 시사한다. 침지 기간이 길어질수록 유과의 밀도는 유의적으로 감소하였다. 반데기 부피에 대한 유과의 부피 $\times 100$ 으로 나타낸 유과의 팽화율은 수침기간이 6일에서 15일로 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다. 15일 동안 침지한 참쌀로 제조한 유과의 팽화율은 0일 수침한 것과 비교하여 2.3배 증가하였다. 따라서 참쌀가루의 장기간 수침과 유과의 팽화 특성치와 밀도사이에는 강한 상관관계가 있는 것으로 보인다.

Bean 등⁶³⁾은 세 종류의 참쌀에 대해 수분 흡수정도를 살펴본 결과, 수분은 1시간 이내에 거의 흡수되고, 나머지 수침기간동안에는 수분의 평형이 일어난다고 보고하였다. 수분흡수만 고려 할 경우, 15℃에서 2시간의 수침으로 수분함량이 11%에서 39%까지 흡수되므로 4~5시간 수침으로 충분하다는 것을 비롯하여 많은 연구자들에 의해 비슷한 결과가 보고되고 있다. 이러한 사실들을 고려해볼 때 유과 제조에 있어서 장기간 수침의 목적은 더욱 복잡한 것처럼 보인다. 위의 결과들로부터 참쌀의 장기간 수침은 유과제조에서 밀도 및 팽화와 같은 품질 특성에 명백한 영향을 미친다고 볼 수 있다.

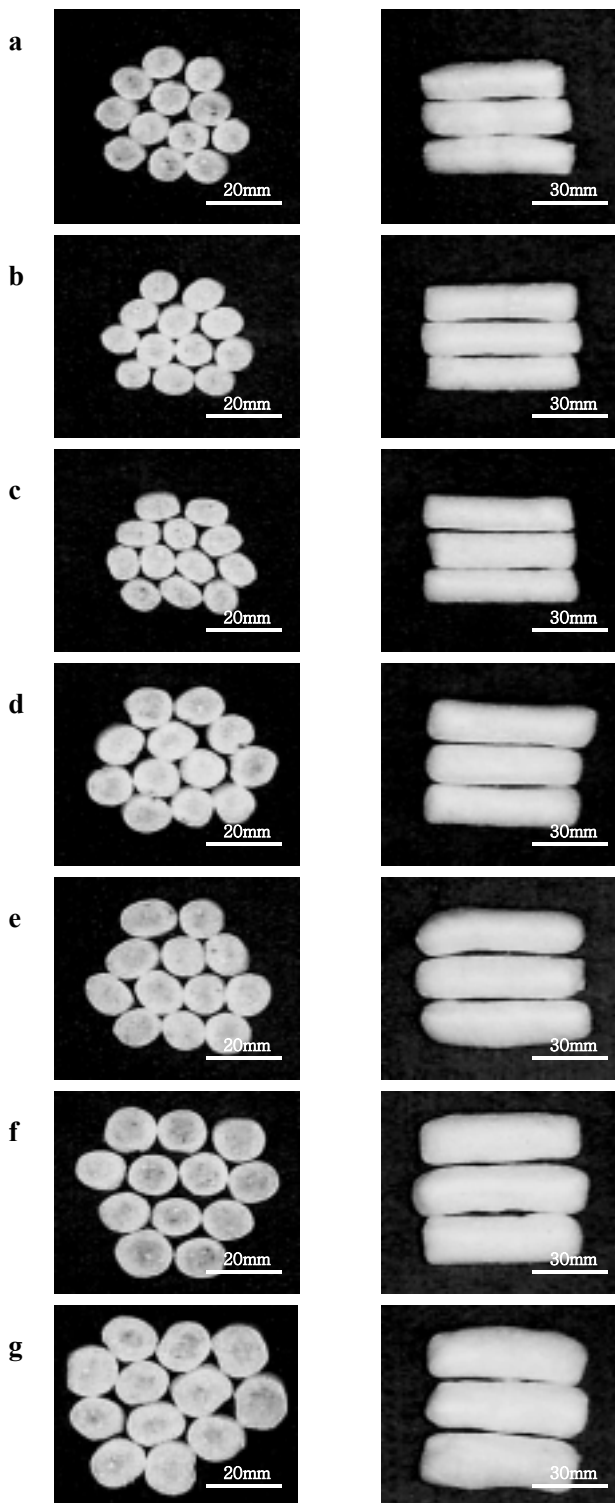


Fig. 23. Photograph of cross-sectioned (left) and whole (right) *Yukwa* made from waxy rice steeped for duration from 0 to 15 days.

a, *Yukwa* made from waxy rice steeped for 0 day; b, *Yukwa* made from waxy rice steeped for 1 day; c, *Yukwa* made from waxy rice steeped for 3 days; d, *Yukwa* made from waxy rice steeped for 6 days; e, *Yukwa* made from waxy rice steeped for 9 days; f, *Yukwa* made from waxy rice steeped for 12 days; g, *Yukwa* made from waxy rice steeped for 15 days.

Table 25. Effects of steeping periods of waxy rice on the expansion parameters and density using image analysis

| Steeping period (day) | Cross-sectional area (A, mm ²) | Longitudinal-cut area (B, mm ²) | Length/Height (D/C) | Density (g/cm ³) | Expansion ratio ^a (%) |
|-----------------------|--|---|---------------------|------------------------------|----------------------------------|
| 0 | 226 ^d | 942 ^e | 4.10 ^b | 0.16 ^a | 805 ^d |
| 1 | 211 ^d | 1017 ^d | 4.40 ^a | 0.17 ^a | 764 ^d |
| 3 | 210 ^d | 969 ^d | 4.35 ^a | 0.16 ^a | 721 ^d |
| 6 | 298 ^c | 1142 ^c | 3.97 ^{bc} | 0.13 ^b | 1171 ^c |
| 9 | 311 ^c | 1163 ^{bc} | 3.91 ^c | 0.13 ^b | 1238 ^c |
| 12 | 357 ^b | 1209 ^b | 3.72 ^d | 0.13 ^b | 1468 ^b |
| 15 | 437 ^a | 1290 ^a | 3.48 ^e | 0.12 ^c | 1874 ^a |

Each value is the average of twenty replicates. Mean values followed by the same letter in the same column are not significantly different at 5% significance level by Duncan's multiple range test (n = 20).

^aVolume expansion ratio (%) = $[(A \times D) - V] / V \times 100$,

A : cross-sectional area

B : length (longitudinal-cut)

V : volume of *bandegi*

한편 반데기에서 유과로 팽화하는 특성을 길이와 부피 dimension으로 살펴보고자, 먼저 반데기가 원통형이 아닌 벽돌 모양인 점을 고려하여 원통에 대한 effective dimension equivalent로 전환하였다(Table 26). 또한 아래의 정의에 따라 유과의 형상 계수(shape factor)와 다공성(porosity)이 평가되었다. FD와 FL은 각각 유과의 단축 단면(diameter-axis view)과 장축 단면(longitudinal-axis view)의 형상계수로 최소값은 1이다. P는 다공성의 정도를 나타낸다.

$$FD = \frac{(PD_y)^2}{4\pi(AD_y)} \quad (1)$$

$$FL = \frac{(PL_y)^2}{4\pi(AL_y)} \quad (2)$$

$$P = \frac{\text{Void area in a cross - sectional view}}{\text{Total area in a cross - sectional view}} \quad (3)$$

Fig. 24에 나타난 것처럼 유과는 반데기의 얇고 긴 벽돌 모양에서 변형되어 원통형을 하고 있다. Table 27은 원료 찹쌀의 수침기간에 따른 유과 dimension의 변화를 나타낸 것이다. D_y , L_y , PD_y , PL_y , Ad_y , Al_y 및 V_y 를 포함하는 대부분의 유과 dimension은 0일에서 15일로 수침기간이 증가함에 따라 함께 증가하는 경향이였다. Fig. 25는 원료 찹쌀의 수분 함량에 관한 유과의 길이, 면적, 부피의 팽화 정도를 나타낸다. 예측한 바와 같이 생찹쌀의 수분함량은 수침기간이 증가할수록 증가하였고, 수분함량의 증가와 더불어, 직경, 둘레, 직경축 면적, 세로축 면적, 그리고 부피를 포함하는 유과의 모든 dimension이 뚜렷하게 증가하였다. 이러한 결과는, Kokini 등⁶⁴⁾이 수분함량은 전분의 점탄성의 변화에 있어서 중요한 역할을 하며 나아가 부피 증가에 영향을 미친다고 한 보고와 일치하였다. 반면에 세로 길이와 둘레는 수침 시간 증가에 따른 변화를 보이지 않았다.

Table 28은 유과의 팽화율과 Duncan's multiple range test의 결과를 보여준다. Fig. 25에서 살펴본 것처럼, 직경과 직경이 포함된(diameter-implicit) 계수들은 수침 시간 증가에 따라 더 높은 수치를 나타내었다. 특히, 원료 찹

쌀을 6일 이상 수침하였을 때, 유과의 팽화는 유의적으로 증가하였다. 한편, Fig. 26에 제시된 것처럼, 유과의 기하학적 특성의 변화는 형상계수로 해석될 수 있다. 즉, 장축 단면상에서 본 형상계수는 감소되는 추세를 보여주었으나 반면에 단축 단면상의 형상계수는 변화를 보이지 않았다. 이것은, 형상계수가 1이기 때문에 유과의 팽화정도가 증가함에 따라 가장자리가 둥그런 모양을 띠는 것을 의미한다. 한편, 다공성은 생찹쌀의 수분함량 증가에 따라 함께 증가하였다.

이상의 결과를 살펴보면, 유과를 전통적인 방법으로 제조할 때, 원료 찹쌀의 수침 기간은 품질에 커다란 영향을 미치는 중요한 인자이다. 수침 시간은 유과의 중요한 품질 지표인 팽화와 관계가 있으며, 수침 시간이 길어질수록 유과의 팽화와 관련된 dimension들은 더 큰 수치를 나타냈다. 특히, 생찹쌀을 6일 이상 수침했을 때, 유과의 팽화는 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$).

Table 26. Definition of parameters to describe expansion from the *Bandegi* to the *Yukwa*

| Dimension | <i>Bandegi</i> | <i>Yukwa</i> | Expansion parameter |
|---------------------------------------|----------------|--------------|---------------------|
| Diameter | Db(effective) | Dy | $Dy_b = Dy / D_b$ |
| Length | Lb | Ly | $Ly_b = Ly / L_b$ |
| Perimeter in a diameter-axis view | PDb(effective) | PDy | $PDy_b = PDy / PDb$ |
| Perimeter in a longitudinal-axis view | PLb(effective) | PLy | $PLy_b = PLy / PLb$ |
| Area in a diameter-axis view | ADb(effective) | ADy | $ADy_b = ADy / ADb$ |
| Area in a longitudinal-axis view | ALb(effective) | ALy | $ALy_b = ALy / ALb$ |
| Volume | Vb | Vy | $Vy_b = Vy / V_b$ |

Notes: The dimension of the brick-shaped *Bandegi* was converted to the effective dimension of a cylinder.

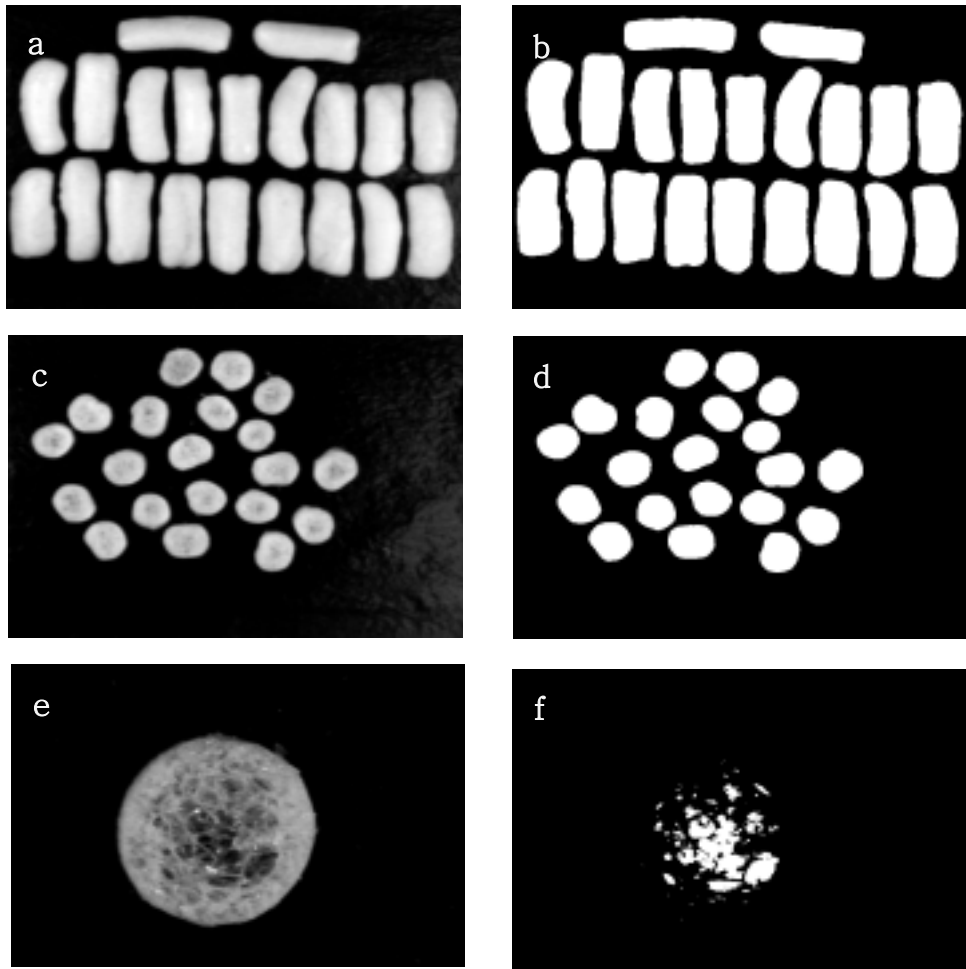


Fig. 24. Images of *Yukwa* samples. (a) the original and (b) processed images in the longitudinal-axis view; (c) the original and (d) processed images in the diameter-axis view of the *Yukwa* for the analysis of geometric features; and (e) the original and (f) processed images for the analysis of its porosity.

Table 27. Changes of the *Yukwa* dimension with increases in the water-steeping period of raw waxy rice

| Steeped time of raw waxy rice(day) | <i>Yukwa</i> | | | | | | |
|--|---------------|---------------|----------------|----------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | D_y (mm) | L_y (mm) | PD_y (mm) | PL_y (mm) | AD_{y_2} (mm^2) | AL_{y_2} (mm^2) | V_{y_3} (mm^3) |
| 0 ¹ | 16.96 | 55.60 | 53.52 | 139.85 | 226.2 | 942.2 | 12550 |
| 1 | 16.40 | 62.08 | 51.54 | 142.31 | 211.4 | 1016.9 | 13100 |
| 3 | 16.34 | 59.36 | 51.84 | 140.50 | 209.7 | 969.1 | 12430 |
| 6 | 19.42 | 59.09 | 61.43 | 146.99 | 297.5 | 1142.4 | 17420 |
| 9 | 19.88 | 58.56 | 63.02 | 148.16 | 310.9 | 1163.3 | 18180 |
| 12 | 21.30 | 56.90 | 67.45 | 151.01 | 357.1 | 1208.9 | 20230 |
| 15 | 23.57 | 54.85 | 74.77 | 151.29 | 437.0 | 1289.9 | 23870 |

¹ Water-steeped for 0.5 hr.

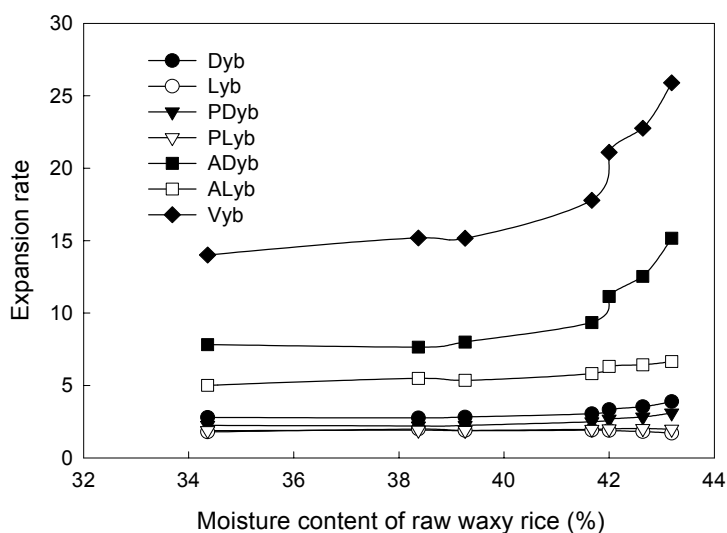


Fig. 25. The expansion rates of length, area and volume of *Yukwa* with respect to the moisture content of raw waxy rice.

Table 28. Expansion from the *Bandegi* to the *Yukwa* with respect to the water-steeped period of raw waxy rice

| Time (day) | Expansion parameter | | | | | | | | | |
|----------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | D _{yb} | L _{yb} | PD _{yb} | PL _{yb} | AD _{yb} | AL _{yb} | V _{yb} | FD | FL | P(%) |
| 0 ¹ | 2.80 ^{e2} | 1.79 ^{dc} | 2.25 ^e | 1.89 ^b | 7.83 ^e | 5.01 ^e | 14.01 ^e | 1.009 ^{bc} | 1.657 ^a | 12.7 ^b |
| 1 | 2.76 ^e | 1.99 ^a | 2.21 ^e | 1.92 ^b | 7.65 ^e | 5.49 ^d | 15.18 ^e | 1.001 ^c | 1.588 ^b | 9.5 ^d |
| 3 | 2.83 ^e | 1.90 ^{abc} | 2.24 ^e | 1.90 ^b | 8.00 ^e | 5.36 ^d | 15.16 ^e | 1.021 ^a | 1.624 ^{ab} | 12.1 ^{bcd} |
| 6 | 3.05 ^d | 1.92 ^{ab} | 2.50 ^d | 1.98 ^a | 9.35 ^d | 5.83 ^c | 17.78 ^d | 1.014 ^{ab} | 1.513 ^c | 14.4 ^b |
| 9 | 3.34 ^c | 1.90 ^{abc} | 2.68 ^c | 2.01 ^a | 11.15 ^c | 6.32 ^b | 21.10 ^c | 1.018 ^{ab} | 1.506 ^c | 11.0 ^{cd} |
| 12 | 3.54 ^b | 1.82 ^{bcd} | 2.83 ^b | 2.03 ^a | 12.54 ^b | 6.44 ^{ab} | 22.76 ^b | 1.017 ^{ab} | 1.506 ^c | 18.9 ^a |
| 15 | 3.89 ^a | 1.71 ^d | 3.11 ^a | 1.99 ^a | 15.17 ^a | 6.66 ^a | 25.90 ^a | 1.020 ^a | 1.416 ^d | 17.5 ^a |

¹ Water-steeped for 0.5 hr.

² Means with the same letter in a column are not significantly different at the significant level of 0.05.

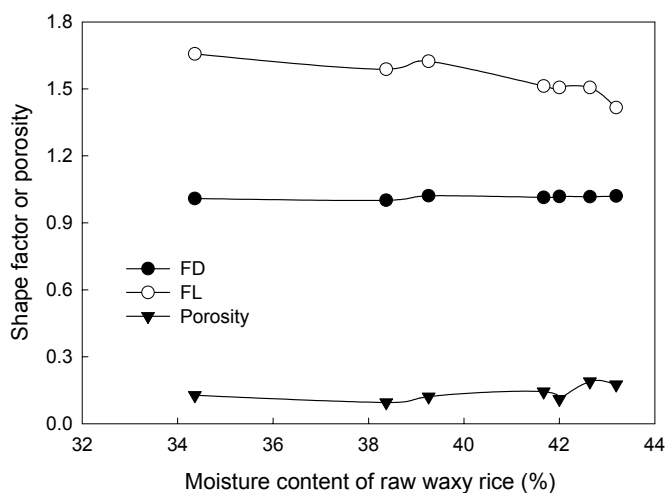


Fig. 26. The shape factors and porosity of *Yukwa* with respect to the moisture content of the raw waxy rice.

2) 조직감 및 색도

침지기간이 다른 찹쌀로 제조한 유과의 색도를 분석한 결과는 Table 29와 같다. 하루 수침한 시료군의 L값(밝기의 지표)은 76.56으로서 대조군의 수치보다 유의적으로 컸다($p < 0.05$). 그러나 이를 제외한 거의 모든 시료군의 L값은 72.29~76.56의 범위로 유의성이 없었다. 붉기의 지표인 a값은 모든 시료군에서 -0.87에서 -1.83의 수치를 보였다. 0일 수침한 찹쌀로 제조한 유과시료군은 -1.83의 a값을 나타냈고, 1일 수침한 것만 제외하고는 수침기간이 6일에서 15일로 증가할수록 유의적으로 더 밝아지는 경향을 나타내었다. 15일 수침한 시료군은 가장 밝은 green 색을 띠었고 수치는 -0.87이었다. 이러한 결과는 유과의 색이 찹쌀의 수침기간에 의해 크게 영향을 받는다는 것을 나타내어 준다.

레오메타로 측정된 유과의 조직감에 대한 결과는 Table 30에 제시되었다. 조직감 특성치 중에서 유과의 경도와 강도는 찹쌀의 수침기간에 크게 영향을 받았다. 경도는 수침기간이 증가함에 따라 함께 감소하는 경향을 보였는데, 특히 3일 동안 수침한 시료군은 19,843 dyne/cm^2 의 경도값을 보였다. 9일, 12일과 15일 동안 수침한 찹쌀로 제조한 유과 시료군에서 유의적으로 낮은 경도 값인 1,727, 1,358 및 1,784 dyne/cm^2 을 각각 나타내었다. 한편, 강도(strength)는 전체적으로 경도와 유사한 경향을 보여주었다. 그러나 항복치(yield value), 최대 무게(Maximum weight), 거리(distance)의 값은 찹쌀의 수침기간에 크게 영향을 받지 않았다. 모든 시료군의 부착성은 1.0~1.7의 수치로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

유과와 같은 스낵에서 중요한 조직감 특성치인 경도는 팽화도와 심지어 air cells의 분포와 매우 관련이 크다⁶⁵⁾. 따라서 수침기간과 관련된 팽화율의 증가가 경도의 감소에 영향을 줄 것으로 보고 이를 조사하였다. Fig. 27에 나타난 바와 같이, 찹쌀의 수침기간이 증가함에 따라 유과의 경도는 비례적으로 감소하였고, 유과의 팽화율은 반비례적으로 증가하였다. 이러한 결과로부터 찹쌀의 장기간 수침은 유과의 중요한 품질특성인 팽화율과 조직감에 뚜렷한 영향을 미친다고 할 수 있겠다.

Table 29. Effects of steeping periods of waxy rice on color properties using colorimeter

| Steeping period | Hunter color value* | | |
|-----------------|---------------------|--------|--------|
| | L | a | b |
| 0 | 73.23bc | -1.83d | 6.59b |
| 1 | 76.56a | -1.43c | 3.67d |
| 3 | 72.29c | -1.71d | 11.64a |
| 6 | 75.01ab | -1.35c | 5.38c |
| 9 | 73.41bc | -1.31c | 4.06d |
| 12 | 73.42bc | -1.09b | 2.58e |
| 15 | 72.40c | -0.87a | 1.41f |

*Means with the same letter are not significantly different(P<0.05, n=10).

Table 30. Effects of steeping periods of waxy rice on textural properties using rheometer

| Steeping period (day) | Textural parameter* | | | | | |
|-----------------------|----------------------------------|------------------|---------------------|----------------------|-------------------|---------------------|
| | Hardness (Dyne/cm ²) | Adhesivness | Yield | MaxWeight | Distance | Strength |
| 0 | 25514 ^a | 1.7 ^a | 869.0 ^{ab} | 1179.0 ^{ab} | 4.94 ^a | 117900 ^b |
| 1 | 27542 ^a | 1.3 ^a | 1053.7 ^a | 1420.8 ^a | 5.26 ^a | 142080 ^a |
| 3 | 19843 ^b | 1.0 ^a | 551.9 ^c | 727.4 ^{de} | 3.73 ^b | 72740 ^d |
| 6 | 18517 ^b | 1.5 ^a | 635.9 ^{bc} | 950.4 ^{bcd} | 5.14 ^a | 95040 ^c |
| 9 | 1727 ^c | 1.2 ^a | 867.4 ^{ab} | 996.4 ^{bc} | 5.93 ^a | 996 ^e |
| 12 | 1358 ^c | 1.5 ^a | 567.1 ^c | 637.8 ^e | 5.06 ^a | 638 ^e |
| 15 | 1784 ^c | 1.3 ^a | 667.6 ^{bc} | 853.5 ^{cde} | 5.12 ^a | 854 ^e |

*Means with the same letter are not significantly different(P<0.05, n=10).

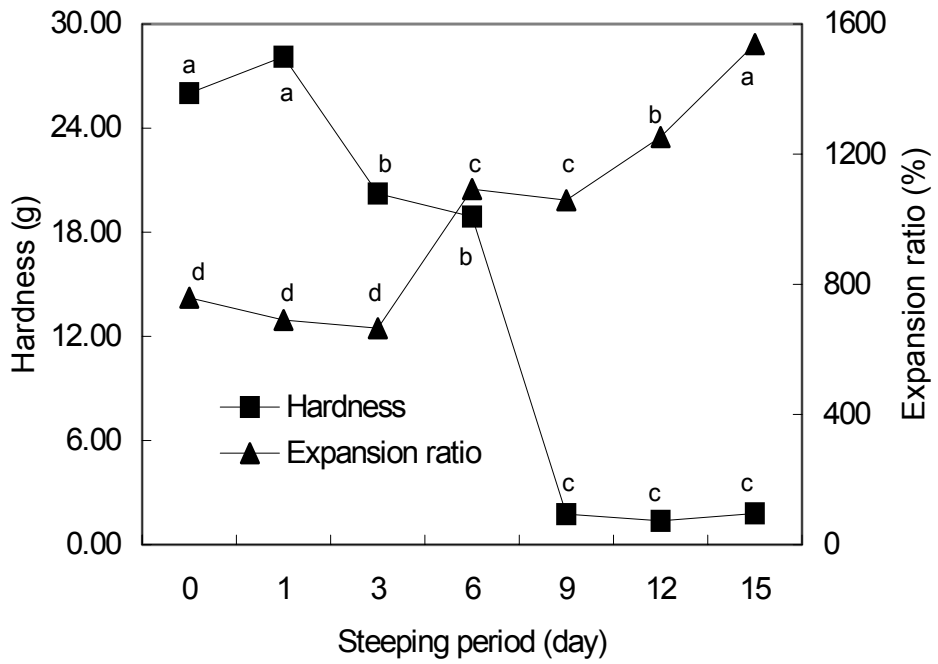


Fig. 27. Effect of steeping period on mechanical hardness and expansion ratio of *Yukwa*.

^{abcd} Different letters indicate significant difference at $P < 0.05$.

3) 관능적 특성

수침시간을 달리한 찹쌀로 제조한 유과의 관능특성을 측정한 결과는 Table 31과 같다. 유과의 독특한 신 냄새(sour aroma)는 9일 동안 수침한 유과 시료군에서 9.6으로, 3일과 6일 동안 수침한 값인 3.60 및 6.65과 비교할 때 유의적으로 증가하였다. 9일 동안 수침한 찹쌀로 제조한 유과 시료군의 기름 냄새(oily aroma)는 5.15로 크게 감소하였다. 그러나 15일간 수침한 시료군과 비교하였을 경우 유의적인 차이가 없었다.

9일 동안 수침한 찹쌀로 제조한 유과 시료군의 색 균일도는 10.00으로서 0일, 3일, 6일 동안 수침한 찹쌀로 제조한 유과시료에 비해 유의적으로 증가되었다. 12일간 수침한 찹쌀로 제조한 유과 시료군의 색 균일도는 11.00으로서 9일 동안 수침한 찹쌀로 제조한 유과와 비교하여 유의성이 없었다. 9일 동안 수침한 찹쌀로 제조한 유과 시료군의 color roughness는 6.55를 나타냈고, 0일 수침한 찹쌀로 제조한 유과 보다 유의적으로 낮았다. 이러한 관능검사에 의한 색도 결과들은 색도계(color difference meter)로 측정된 결과와 거의 일치하는 경향이였다.

9일 동안 수침한 찹쌀로 제조한 유과 시료군의 전형적인 유과향은 0일 수침한 찹쌀로 제조한 유과 시료군과 비교하여 매우 높은 수치인 9.80을 나타내었다($p < 0.05$). 그러나 9일 이상 수침한 찹쌀로 제조한 유과 시료들은 9일간 수침한 값과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 9일 동안 수침한 찹쌀로 제조한 유과 시료군은 0일 동안 수침한 것과 비교하여 낮은 기름 냄새값(6.60)을 보였다.

관능적인 경도값은 수침 기간이 증가함에 따라 유의적으로 감소하는 경향이였다. 이러한 경향은 레오메타($R^2=0.85$)로 측정된 기계적 경도와 일치하였다. 유과의 crispiness(바삭거림)는 찹쌀을 6일 이하로 수침할 경우에는 일관성 있는 결과를 보여주지 못했으나 전체적으로 sensory crispiness 또한 수침 시간 증가에 따라 감소하는 경향이였다. 이러한 결과들은 수침 시간 증가에 따른 유과의 팽창 증가에 의해 설명될 수 있다고 생각된다. 이와 유사하게, 팽화율과 extruded product의 경도, 바삭거림, chewiness와 같은 관능적 조직감 특성치 간에는 역의 상관관계가 있는 것으로 보고되었다

Table 31. Effects of steeping durations of waxy rice on sensory properties

| Sensory attributes | Steeping period(day) | | | | | | |
|------------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| | 0 | 1 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 |
| Sour aroma | 5.45 ^c | 6.45 ^c | 3.60 ^d | 6.65 ^c | 9.60 ^b | 11.20 ^a | 9.70 ^b |
| Oily aroma | 8.90 ^b | 7.30 ^c | 11.00 ^a | 7.45 ^c | 5.15 ^d | 3.60 ^e | 4.60 ^{de} |
| Color uniformity | 7.30 ^e | 9.40 ^{cd} | 3.30 ^f | 8.35 ^{de} | 10.00 ^{bc} | 11.10 ^b | 13.30 ^a |
| Surface roughness | 9.15 ^b | 7.10 ^c | 10.40 ^a | 7.70 ^c | 6.55 ^{cd} | 5.95 ^d | 4.35 ^e |
| Original <i>Yukwa</i> flavor | 6.25 ^b | 6.90 ^b | 4.30 ^c | 7.40 ^b | 9.80 ^a | 10.95 ^a | 10.20 ^a |
| Oily flavor | 9.25 ^b | 8.40 ^b | 10.75 ^a | 8.20 ^b | 6.60 ^c | 6.30 ^c | 6.20 ^c |
| Hardness | 11.10 ^a | 10.10 ^{ab} | 10.45 ^{ab} | 9.40 ^{bc} | 8.55 ^c | 6.35 ^d | 4.95 ^e |
| Crispiness | 11.30 ^a | 9.85 ^b | 12.00 ^a | 9.85 ^b | 8.25 ^c | 7.95 ^c | 6.55 ^d |
| Adhesiveness | 8.35 ^{de} | 9.15 ^{cd} | 6.90 ^e | 8.95 ^{cd} | 9.95 ^{bc} | 11.75 ^a | 11.00 ^{ab} |

* Means with the same letter are not significantly different ($P < 0.05$, $n = 7$).

3. 찹쌀침지물의 특성 변화와 유과 품질과의 상관성

SAS 통계 프로그램을 사용하여 침지기간별 찹쌀, 전분 및 수침액의 이화학적 특성치와 침지기간이 다른 찹쌀로 제조한 유과의 관능적, 기계적 품질 특성치간의 상관성 분석 및 회귀분석을 실시하였다. 그 결과, 측정된 약 70개의 parameter중에서 유과바탕의 팽화율과 높은 상관성을 보인 것은 침지액중 환원당(0.975), Ca(0.945), P(0.850)함량과 찹쌀 전분중 회분(-0.855), 지방(-0.945)함량이었고 찹쌀의 회분(-0.958), 단백질(-0.857), 경도(-0.909), 최고점도(0.910)이었다. 관능특성중 유과바탕의 경도와 높은 상관성을 보인 것은 침지액중 환원당(-0.988), Ca(-0.912), P(-0.817)함량과 찹쌀 전분중 회분(0.819), 지방(0.967)함량이었고 찹쌀의 회분(0.921), 경도(0.858), 최고점도(-0.874) 등 이었다(Table 32).

Shin 등(1990)은 온수와 첨가제를 이용하여 원료 쌀의 수침 시간을 감소시키는 방법을 조사하였다. 그러나 소비자들은 첨가제를 넣지 않고 전통적인 방법으로 제조된 유과를 선호하는 경향이 있다. 전통적인 제조공정 하에서 유과의 품질을 관리하기 위해서는 원료 찹쌀의 수침조건을 정량적으로 조절할 필요성이 크다. 따라서 원료 찹쌀의 수분 함량으로 유과의 팽화율을 예측할 수 있는 모델을 검토한 결과는 Table 33과 같다.

유과 단축 단면의 직경, 둘레, 면적과 장축 단면의 면적, 형상계수 및 부피와 관련된 팽화 특성치에 관한 회귀 모델은 0.01 유의수준에서 유의성이 있었다. 이 가운데 단축 단면의 둘레를 나타내는 팽화 특성치 모델의 결정상수는 0.958로 가장 컸고, 그 다음이 장축 단면의 면적으로 0.942, 부피에 대해서 0.934이었다. 직경 팽화율에 대한 모델의 결정 상수는 0.931이었지만, 유과의 직경은 측정방법의 단순성 때문에 품질 관리를 위해서 간단하고 유용한 계수로서 사용될 수 있을 것이라고 본다.

Table 32. Correlation coefficients¹⁾ for selected physico-chemical properties

| Variable | Volume expansion | Peak viscosity | Color a | Hardness | Ash in waxy rice | Protein in waxy rice | Lipid in waxy starch | Ash in waxy starch | Reducing sugar in SM | Ca in steeping media | P in steeping media | Sensory hardness | Sensory crispness |
|----------------------------------|------------------|----------------|---------|----------|------------------|----------------------|----------------------|--------------------|----------------------|----------------------|---------------------|------------------|-------------------|
| Volume expansion | 1 | | | | | | | | | | | | |
| Peak viscosity | 0.9102 | 1 | | | | | | | | | | | |
| Color a | 0.9317 | 0.9038 | 1 | | | | | | | | | | |
| Hardness | -0.9088 | -0.9066 | -0.7833 | 1 | | | | | | | | | |
| Ash in waxy rice | -0.9577 | -0.8982 | -0.8974 | 0.8687 | 1 | | | | | | | | |
| Protein in waxy rice | -0.8565 | -0.9848 | -0.8300 | 0.9565 | 0.5197 | 1 | | | | | | | |
| Lipid in waxy starch | -0.9454 | -0.8551 | -0.8975 | 0.9060 | 0.8429 | -0.7327 | 1 | | | | | | |
| Ash in waxy starch | -0.8549 | -0.8795 | -0.7228 | 0.9803 | 0.7906 | 0.7625 | 0.8915 | 1 | | | | | |
| Reducing sugar in steeping water | 0.9750 | 0.8198 | 0.9259 | -0.8393 | -0.9017 | -0.7370 | -0.9603 | -0.7859 | 1 | | | | |
| Ca in steeping water | 0.9448 | 0.9648 | 0.8679 | -0.9313 | -0.9017 | -0.9393 | -0.9000 | -0.9259 | 0.8715 | 1 | | | |
| P in steeping water | 0.8505 | 0.9471 | 0.7843 | -0.9073 | -0.7872 | -0.9268 | -0.8448 | -0.9372 | 0.7589 | 0.9714 | 1 | | |
| Sensory hardness | -0.9789 | -0.8739 | 0.9533 | 0.8580 | 0.9213 | 0.7980 | 0.9674 | 0.8187 | -0.9881 | -0.9116 | -0.8169 | 1 | |
| Sensory crispness | -0.9420 | -0.8699 | -0.9552 | 0.8262 | 0.9300 | 0.8194 | 0.8746 | 0.7258 | -0.9264 | -0.8283 | -0.7135 | 0.9264 | 1 |

¹⁾From 70 parameters, parameters which were significantly correlated with sensory hardness or volume expansion of *Yukwa* were selected.

Table 33. The regression models for expansion parameters of the *Yukwa* with moisture content¹ of raw waxy rice

| Model: $y = a + b (\text{MC}) + c (\text{MC})^2$ | | | | R^2 | Pr^2 |
|--|--------|----------|-----------|-------|---------------|
| Y | A | b | c | | |
| L_{yb} | -12.57 | 0.7524 | -0.009737 | 0.779 | 0.0488 |
| PD_{yb} | 34.62 | -1.757 | 0.02375 | 0.958 | 0.0018 |
| PL_{yb} | 4.348 | -0.1413 | 0.002024 | 0.840 | 0.0254 |
| AD_{yb} | 273.0 | -14.38 | 0.1942 | 0.912 | 0.0077 |
| AL_{yb} | 33.08 | -1.607 | 0.02301 | 0.942 | 0.0034 |
| V_{yb} | 356.7 | -18.83 | 0.2579 | 0.934 | 0.0043 |
| FD | 1.227 | -0.01248 | 0.0001778 | 0.391 | 0.3712 |
| FL | -2.259 | 0.2230 | -0.003177 | 0.911 | 0.0079 |
| P (%) | 370.4 | -19.12 | 0.2537 | 0.663 | 0.1132 |

¹ %, wet basis

² Pr is a significant probability that means the significant level.

4. 효소첨가에 의한 침지공정의 단축효과 조사

1) 효소제의 선정 및 첨가조건 검토

앞서 침지기간별 찹쌀, 전분 및 수침액의 이화학적 특성치와 침지기간이 다른 찹쌀로 제조한 유과의 관능적, 기계적 품질 특성치간의 상관성을 살펴보았다. 그 결과, 유과바탕의 팽화율과 높은 상관성을 보인 것은 침지액의 환원당(0.975), Ca(0.945), P(0.850)함량, 찹쌀 전분의 회분(-0.855), 지방(-0.945)함량, 찹쌀의 회분(-0.958), 단백질(-0.857), 경도(-0.909), 최고점도(0.910)이었다. 관능 특성치중 유과바탕의 경도와 높은 상관성을 보인 것은 침지액의 환원당(-0.988), Ca(-0.912), P(-0.817)함량과 찹쌀 전분의 회분(0.819), 지방(0.967)함량이었고 찹쌀의 회분(0.921), 경도(0.858), 최고점도(-0.874) 등 이었다. 이 가운데 측정의 신속성, 간편성, 용이성을 고려하여 효소 처리 효과를 파악할 수 있는 1차적 지표로는 침지액중 환원당, 찹쌀의 단백질 함량을 선정하였고, 2차적 지표로는 RVA에 의한 최고점도를 선정하였다.

전술한 유과 제조용 찹쌀 침지물의 기초 특성에 관한 결과를 토대로 국내·외로부터 침지공정의 단축가능성이 높은 효소를 수집하였다. 그런 다음 찹쌀 g당 1, 10, 100unit의 효소를 첨가한 후 1시간 또는 24시간 동안 반응시킨 후 1차적으로 1) 효소첨가량 및 반응시간에 따른 과쇄미 발생 정도, 2) 환원당 및 단백질 등 이화학적 성분 변화 조사, 3) 효소처리에 의한 이미, 이취 발생정도를 파악하기 위한 관능검사의 실시, 4) 일정 효과를 나타내는데 요구되는 가격 및 취급용이성 등을 조사·비교하였다. 먼저 탄수화물 가수분해 효소 가운데, 효소 처리후 이미를 발생하는 CA-2, 비교적 고가이고 취급이 어려운 CH-6, CD-7 등을 1차적으로 제외시켰다. 효소 종류에 따라 효소첨가량 및 반응시간을 달리하여 중량비, 환원당과 단백질을 분석한 결과는 Table 34와 같다. 중량비로 손실률을 살펴본 결과 CB-1, CF-2, CM-3는 다른 처리구에 비해 효소 첨가량에 비해 손실율이 비례하여 큰 것으로 보였다. 탄수화물 분해 효소이기 때문에 효소 처리에 따른 조단백질 함량의 차이는 거의 없었다. 또한 효소 처리에 따른 환원당의 함량은 모든 처리구에서 처리량의 증가에 따라 증가하는 것으로 나타났으나 효소 종류 간에 큰 차이는 없는 것으로 보였다. 따라서 2차 지표로 선정한 효소처리 찹쌀의 최고 점도를 살펴본 결과, 효소처리전 찹쌀의 침지시간은 1시간 처리구보다 24시간 처리구가 우수하였고, CH-4, CC-5, CB-9 효소처리구가 15일 동안 침지한 찹쌀의

최고 점도와 유사한 것으로 조사되었다(Fig. 28). 한편, 단백질 분해효소나 지방질 분해효소도 마찬가지로 1차 지표인 중량 손실률, 환원당과 단백질 함량에서 큰 차이가 없었고, 최고 점도에서도 탄수화물 분해효소에 비해 효과가 적었다. 따라서 CH-4, CC-5, CB-9 효소들을 유과제조용 효소로 선별하였다.

Table 34. Changes in Brix, weight ratio, crude protein and reducing sugar by enzyme treatment under different conditions

| Enzyme | Amount added (unit/g) | Reaction time(1 hour) | | | | Reaction time(24 hour) | | | |
|--------|-----------------------|-----------------------|-----------------|-------------------|------------------------|------------------------|-----------------|-------------------|------------------------|
| | | Brix (%) | Wight ratio (%) | Crude protein (%) | Reducing sugar (mg/ml) | Brix (%) | Wight ratio (%) | Crude protein (%) | Reducing sugar (mg/ml) |
| CB-1 | 1 | 1.0 | 96.1 | 5.55 | 6.0 | 1.6 | 79.9 | 5.19 | 11.8 |
| | 10 | 1.1 | 94.0 | 5.55 | 8.3 | 1.9 | 75.4 | 5.16 | 15.6 |
| | 100 | 1.3 | 89.3 | 5.33 | 9.7 | 2.5 | 75.0 | 4.98 | 21.0 |
| CF-2 | 1 | 1.2 | 93.3 | 5.60 | 7.6 | 1.7 | 82.5 | 5.23 | 17.5 |
| | 10 | 1.3 | 91.7 | 5.33 | 10.2 | 2.5 | 80.9 | 5.16 | 21.8 |
| | 100 | 2.9 | 88.4 | 5.43 | 18.0 | 5.2 | 70.5 | 5.19 | 22.7 |
| CM-3 | 1 | 1.1 | 88.8 | 5.45 | 4.6 | 1.5 | 76.1 | 5.15 | 13.4 |
| | 10 | 1.3 | 90.4 | 5.35 | 10.8 | 2.2 | 65.1 | 1.93 | 22.2 |
| | 100 | 2.5 | 80.7 | - | 16.8 | 6.2 | 59.7 | 4.59 | 26.2 |
| CH-4 | 1 | 0.9 | 92.6 | 5.69 | 6.9 | 1.0 | 93.2 | 5.25 | 13.6 |
| | 10 | 0.9 | 93.3 | 5.86 | 8.1 | 1.3 | 93.0 | 5.19 | 12.6 |
| | 100 | 1.0 | 93.6 | 5.61 | 10.5 | ND | 63.7 | 4.63 | 27.2 |
| CC-5 | 1 | 0.9 | 91.8 | 5.73 | 8.0 | 1.3 | 90.1 | 5.32 | 17.5 |
| | 10 | 1.0 | 92.9 | 5.52 | 10.2 | 1.2 | 89.8 | 5.18 | 34.4 |
| | 100 | 1.2 | 92.8 | 5.56 | 13.7 | ND | 56.4 | 4.86 | 30.8 |
| CA-6 | 1 | 1.1 | 93.7 | 5.70 | 7.9 | 2.5 | 91.6 | 5.30 | 19.2 |
| | 10 | 1.3 | 92.7 | 5.67 | 10.9 | 4.0 | 90.1 | 5.27 | 19.7 |
| | 100 | 3.8 | 91.8 | 5.57 | 18.2 | 6.0 | 89.0 | 5.14 | 23.7 |
| CD-7 | 1 | 1.1 | 99.7 | 5.69 | 9.2 | 1.2 | 90.3 | 5.25 | 18.5 |
| | 10 | 1.3 | 99.7 | 5.86 | 9.3 | 1.9 | 90.6 | 5.19 | 15.8 |
| | 100 | 2.7 | 99.8 | 5.61 | 15.6 | 3.7 | 91.4 | 4.63 | 16.3 |
| CT-8 | 1 | 1.0 | 101.3 | 5.65 | 9.6 | 1.1 | 91.1 | 5.32 | 10.1 |
| | 10 | 1.0 | 100.2 | 5.52 | 9.3 | 1.2 | 90.0 | 5.18 | 13.7 |
| | 100 | 1.3 | 101.0 | 5.73 | 10.6 | 1.5 | 90.3 | 4.86 | 17.3 |
| CB-9 | 1 | 1.1 | 100.6 | 5.70 | 10.3 | 1.2 | 90.3 | 5.30 | 17.6 |
| | 10 | 1.1 | 100.7 | 5.67 | 10.6 | 1.5 | 91.0 | 5.27 | 17.2 |
| | 100 | 1.2 | 99.0 | 5.57 | 14.1 | 1.8 | 87.8 | 5.14 | 31.3 |

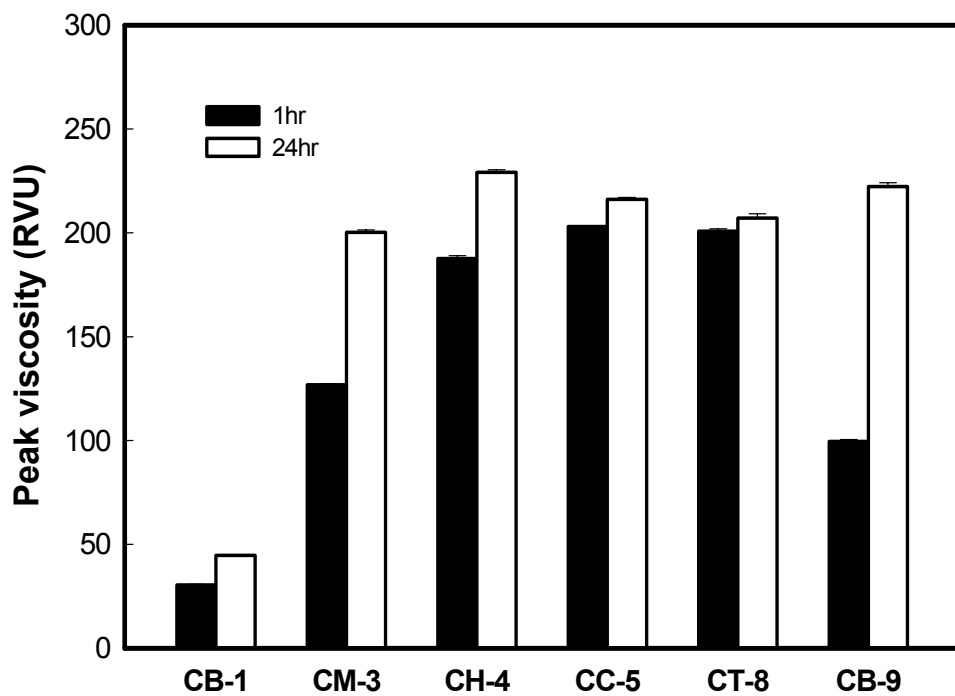


Fig. 28. Effect of pre-steeping time on peak viscosity of waxy rice treated with several enzyme. Peak viscosity was measured by Rapid Visco Analyzer.

한편, 앞서 살펴본 결과에서 찹쌀의 성분중 단백질, 무기질을 포함한 비전분질 성분들은 곡립의 외부 둘레에 주로 분포하고 있었다. 이에 유과의 제조시 침지공정을 단축시킬 수 있는 효소제 첨가 조건의 하나로 주원료인 찹쌀의 도정율에 따른 일반성분의 차이를 살펴보았다. 그 결과는 Table 36에 나타낸 바와 같다. 즉, 현미찹쌀은 조단백질, 조지방, 회분의 함량이 각각 8.58%, 2.65%, 1.29%였으나 30%도정한 찹쌀에서는 각각 6.18%, 0.37%, 0.20%로 도정에 따라 점차 감소하였다. 따라서 유과의 주원료인 찹쌀의 도정도를 조절하여 효소나 다른 처리를 할 경우 상승효과를 나타낼 가능성이 높을 것으로 보인다.

또한, 유과의 제조시 침지공정을 단축시킬 수 있는 효소제 첨가 조건의 하나로 HCl, lactic acid, acetic acid, butyric acid 등 산(acid)을 이용한 찹쌀의 전처리 조건을 알아보려고 하였다. 네 가지 산의 0.1~4%용액과 1~24 시간의 반응시간을 조합하여 침지공정중 산의 첨가효과를 살펴 본 결과는 Table 37과 같다. 그 결과, 중량비로 나타낸 손실률은 산의 종류, 농도, 반응시간에 관계없이 큰 변화가 없었다. 침지액의 환원당 함량은 같은 농도에서는 반응시간이 길수록, 동일 처리시간에서는 산 처리 농도가 높아질수록 증가하는 경향을 나타내었다. 반면, 찹쌀의 단백질 함량은 산의 종류, 농도, 반응시간에 따라 큰 변화가 없었으며, 일정한 경향을 살펴보기가 어려웠다.

Table 36. Composition of waxy rice with different polishing degrees

| Polishing degrees (%) | Moisture (%) | Crude protein (%) | Crude fat (%) | Ash (%) |
|-----------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0% | 13.94±0.33 ^a | 8.58±0.00 ^a | 2.65±0.01 ^a | 1.29±0.06 ^a |
| 10% | 13.76±0.12 ^a | 7.61±0.01 ^b | 0.90±0.03 ^b | 0.42±0.02 ^b |
| 20% | 13.63±0.00 ^a | 6.67±0.02 ^c | 0.55±0.08 ^c | 0.28±0.03 ^c |
| 30% | 13.31±0.23 ^a | 6.18±0.05 ^d | 0.37±0.06 ^d | 0.20±0.04 ^c |

Table 37. Comparative effects of different acid treatment on weight ratio, crude protein and reducing sugar of waxy rice slurry

| Acid | Concentration | Reaction time(hr) | Weight ratio(%) | Crude protein (%) | Reducing sugar(mg/ml) | |
|--------------|---------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------------|------|
| HCl | 0.1% | 1 | 133.8 | 4.04 | 0.78 | |
| | | 24 | 118.7 | 3.73 | 1.38 | |
| | 0.2% | 1 | 139.1 | 3.63 | 0.98 | |
| | | 24 | 122.5 | 3.34 | 2.01 | |
| | 0.3% | 1 | 140.5 | 3.42 | 1.08 | |
| | | 24 | 126.4 | 3.41 | 1.92 | |
| | 0.4% | 1 | 139.4 | 3.34 | 1.48 | |
| | | 24 | 117.4 | 3.38 | 2.70 | |
| | 0.5% | 1 | 139.6 | 3.31 | 1.77 | |
| | | 24 | 125.0 | 3.22 | 2.76 | |
| | Lactic Acid | 0.1% | 1 | 125.0 | 4.10 | 0.62 |
| | | | 24 | 123.2 | 3.64 | 1.05 |
| 0.5% | | 1 | 127.0 | 3.39 | 0.65 | |
| | | 24 | 125.7 | 3.68 | 0.92 | |
| 1.0% | | 1 | 129.5 | 3.45 | 1.07 | |
| | | 24 | 128.2 | 3.42 | 1.06 | |
| 2.0% | | 1 | 132.5 | 3.30 | 1.63 | |
| | | 24 | 130.9 | - | 1.79 | |
| 4.0% | | 1 | 133.3 | 3.47 | 159.10 | |
| | | 24 | 132.0 | - | 162.07 | |
| Acetic Acid | 0.1% | 1 | 124.7 | 4.10 | 0.77 | |
| | | 24 | 122.2 | 3.95 | 1.18 | |
| | 0.5% | 1 | 124.5 | 3.39 | 0.58 | |
| | | 24 | 122.8 | 3.42 | 1.24 | |
| | 1.0% | 1 | 125.6 | 3.45 | 0.51 | |
| | | 24 | 124.1 | 3.40 | 1.01 | |
| | 2.0% | 1 | 128.4 | 3.47 | 0.78 | |
| | | 24 | 125.3 | 3.42 | 1.93 | |
| | 4.0% | 1 | 128.8 | 3.30 | 11.31 | |
| | | 24 | 127.1 | 3.34 | 25.85 | |
| Butyric Acid | 0.1% | 1 | 134.0 | 4.55 | 0.83 | |
| | | 24 | 117.2 | 3.66 | 2.00 | |
| | 0.5% | 1 | 133.7 | 4.32 | 0.86 | |
| | | 24 | 126.6 | 3.36 | 1.67 | |
| | 1.0% | 1 | 134.1 | 3.95 | 0.92 | |
| | | 24 | 126.0 | 3.42 | 1.68 | |
| | 2.0% | 1 | 135.7 | 3.74 | 0.99 | |
| | | 24 | 126.7 | 3.34 | 1.91 | |
| | 4.0% | 1 | 134.9 | 3.53 | 4.57 | |
| | | 24 | 128.3 | 3.31 | 10.09 | |

2) 효소처리에 의한 화학적 특성 변화

효소 종류에 따라서 효소첨가량 및 반응시간을 달리하여 환원당과 단백질 분석한 결과는 앞서 나타낸 Table 34와 같다. CB-1, CF-2, CM-3, CH-4, CC-5, CA-6, CD-7, CT-8, CB-9 효소를 1시간 수침한 찹쌀 침지물에 처리했을 때 단백질 함량은 각각 5.3~5.5, 5.3~5.6, 5.4~5.5, 5.6~5.9, 5.5~5.7, 5.6~5.7, 5.6~5.9, 5.5~5.7, 5.6~5.7%이었다. CB-1, CF-2, CM-3, CH-4, CC-5, CA-6, CD-7, CT-8, CB-9 효소를 24시간 수침한 찹쌀 침지물에 처리했을 때 단백질 함량은 각각 5.0~5.2, 5.2, 1.9~5.2, 4.6~5.3, 4.9~5.3, 5.1~5.3, 4.6~5.3, 4.9~5.3, 5.1~5.3%이었다. CM-3 효소를 24시간 수침한 찹쌀 침지물에 10 unit 처리했을 경우 예외적으로 1.9%의 낮은 단백질 함량을 나타내었으나 이는 분석오차인 것으로 보인다. 이러한 결과를 살펴볼 때, 효소 처리에 따른 조단백질 함량은 사용한 효소의 종류, 효소의 양, 찹쌀의 전처리 수침시간에 거의 영향 받지 않은 것으로 보인다. 이는 사용한 효소가 탄수화물 분해 효소이기 때문으로 생각된다.

CB-1, CF-2, CM-3, CH-4, CC-5, CA-6, CD-7, CT-8, CB-9 효소를 1시간 수침한 찹쌀 침지물에 처리했을 때 환원당 함량은 각각 6.0~9.7, 7.0~18.0, 4.6~16.8, 6.9~10.5, 8.0~13.7, 7.0~18.2, 9.2~15.6, 9.3~10.6, 10.3~14.1 mg/ml이었다. CB-1, CF-2, CM-3, CH-4, CC-5, CA-6, CD-7, CT-8, CB-9 효소를 24시간 수침한 찹쌀 침지물에 처리했을 때 환원당 함량은 각각 11.8~21.0, 17.5~21.7, 13.4~26.2, 13.6~27.2, 17.5~30.8, 19.2~23.7, 15.8~18.5, 10.1~17.3, 17.2~31.3 mg/ml이었다. 전체적으로 동일 효소에서도 효소의 양이 증가됨에 따라, 1시간 수침한 찹쌀 침지물 보다 24시간 수침한 찹쌀 침지물에 처리했을 때 환원당 함량이 증가하는 경향이였다. 대상 9가지 효소 종류 간에 환원당 함량의 차이는 크지 않은 것으로 보였다.

한편, 24시간 수침한 찹쌀 침지물에 효소들을 2가지씩 조합하여 복합적으로 처리했을 때 환원당 함량을 조사한 결과는 Table 38과 같다. 복합 효소 처리에 따른 환원당 함량은 5.0~9.3 mg/ml 범위로 단일 효소처리에 비해 낮은 경향을 나타내었다. 여러 가지 조합 중에 CH100 unit + CM100 unit 처리구의 환원당 함량이 9.33 mg/ml으로 최대치를 나타내었다. 그러나 효소들의 2가지 조합 종류별 환원당 함량의 차이는 크지 않은 것으로 보였다.

Table 38. Reducing sugar content in steeping medium of waxy rice

treated with two different enzyme

| Sample | Reducing sugar (mean±S.D.) |
|-----------------------|-------------------------------|
| Control | 4.82±0.08 |
| CH100unit + CM100unit | 9.33±0.05 |
| CH100unit + CM50unit | 8.46±0.11 |
| CC10unit + CM100unit | 7.77±0.11 |
| CC10unit + CM50unit | 6.28±0.03 |
| CB10unit + CM100unit | 6.98±0.04 |
| CB10unit + CM50unit | 6.85±0.08 |
| CH100unit + CT100unit | 6.51±0.09 |
| CH100unit + CT50unit | 7.53±0.01 |
| CC10unit + CT100unit | 8.33±0.07 |
| CC10unit + CT50unit | 5.09±0.01 |
| CB10unit + CT100unit | 5.60±0.01 |
| CB10unit + CT50unit | 5.04±0.05 |

3) 효소처리에 의한 물리적 특성 변화

효소처리에 따른 찹쌀의 호화양상 변화와 특성치를 살펴본 결과는 Table 39와 같다. 즉, CB-1, CM-3, CH-4, CC-5, CT-8, CB-9 효소를 1시간 수침한 찹쌀 침지물에 처리했을 때 peak viscosity는 각각 31, 127, 188, 203, 201, 100 RVU이었다. 24시간 수침한 찹쌀 침지물에 CB-1, CM-3, CH-4, CC-5, CT-8, CB-9 효소를 처리한 경우 45, 200, 229, 216, 207, 223 RVU로 1시간 침지물에 처리한 것 보다 높아지는 경향이였다. Breakdown, final viscosity, setback과 같은 호화 특성치도 peak viscosity와 비슷한 경향

이었다.

한편, 24시간 수침한 찹쌀 침지물에 효소들을 2가지씩 조합하여 복합적으로 처리했을 때 찹쌀의 호화양상 변화와 특성치를 살펴본 결과는 Fig. 29 및 Table 40과 같다. 즉, 효소를 처리하지 않은 대조구, CC10 + CM100, CC10 + CM50, CC10 + CT100, CH100 + CM100, CH100 + CM50, CH100 + CT100(숫자는 첨가한 효소의 unit를 뜻함) 처리구의 peak viscosity는 각각 190, 167, 194, 233, 264, 205, 240 RVU이었다. 처리구 가운데 CH100 + CM100의 조합이 가장 높은 peak viscosity 수치를 보였다. 효소를 처리하지 않은 대조구에 비해 효소 처리구의 호화 특성치가 다소 높은 경향이었고, breakdown, final viscosity, setback과 같은 호화 특성치도 peak viscosity와 유사한 경향으로 CH100 + CM100의 조합이 가장 높은 수치를 보였다. 그러나 호화 특성치 분석방법의 오차범위를 고려할 때 효소를 2가지씩 조합하여 복합적으로 처리하는 것이 단일효소 처리에 비해 상승효과를 나타내지는 않는다고 생각된다.

유과의 제조시 침지공정을 단축시킬 수 있는 효소제 첨가 조건의 하나로 찹쌀의 도정율에 따른 호화특성을 알아본 결과는 Fig. 30과 같다. 10%, 20%, 30% 도정한 찹쌀의 peak viscosity는 각각 272.05, 293.04, 297.30 RVU, final viscosity는 150.30, 165.79, 167.50 RVU로 나타났다. 또한 breakdown과 setback도 도정율이 증가할수록 증가하는 것으로 분석되었다. 이는 침지기간이 증가할수록 최고점도 및 breakdown이 증가한다는 것을 고려할 때, 유과생산에 사용되는 찹쌀의 도정율을 조절하는 것이 침지기간을 단축시키는 요인으로 작용할 가능성을 시사한다.

Table 39. Pasting characteristics of steeped waxy rice treated with different enzyme

| Steeping time (hour) | Enzyme | Pasting Feature | | | | | | |
|----------------------------|--------|-------------------|-----------|---------------|--------------------|----------|--------------|------------------|
| | | Peak Viscosity | Through | Break down | Final Viscosity | Setback | Peak Time | Pasting Temp. |
| 1 | CB-1 | 30.5±0.2 | 11.3±0.7 | 19.2±0.5 | 16.5±1.1 | 5.1±0.0 | 3.1±0.0 | 70.7±0.5 |
| | CM-3 | 126.8±0.5 | 47.1±0.8 | 79.6±0.3 | 58.9±0.6 | 11.8±0.1 | 3.4±0.1 | 69.4±0.1 |
| | CH-4 | 187.6±1.4 | 92.0±1.1 | 95.6±2.5 | 120.2±1.5 | 28.2±0.0 | 3.3±0.0 | 68.8±0.0 |
| | CC-5 | 203.0±0.3 | 105.7±0.2 | 97.3±0.5 | 138.7±0.2 | 33.0±0.1 | 3.4±0.1 | 68.7±0.0 |
| | CT-8 | 200.8±1.1 | 111.1±0.5 | 89.8±1.6 | 144.0±1.5 | 33.0±0.1 | 3.4±0.1 | 68.6±0.1 |
| | CB-9 | 99.6±0.9 | 53.6±0.8 | 46.0±0.1 | 70.8±0.7 | 17.2±0.0 | 3.3±0.0 | 68.6±0.1 |
| 24 | CB-1 | 44.7±0.3 | 15.3±1.1 | 29.4±0.8 | 22.3±1.1 | 7.0±0.0 | 3.2±0.1 | 69.9±0.7 |
| | CM-3 | 200.3±1.1 | 102.7±0.2 | 97.6±0.9 | 130.6±0.2 | 27.8±0.0 | 3.4±0.0 | 68.9±0.0 |
| | CH-4 | 229.2±1.2 | 119.3±1.5 | 109.8±0.4 | 157.2±0.2 | 37.8±1.3 | 3.4±0.1 | 68.9±0.1 |
| | CC-5 | 216.1±1.0 | 117.0±2.0 | 99.1±1.0 | 150.9±0.2 | 33.9±1.8 | 3.4±0.1 | 68.9±0.2 |
| | CT-8 | 207.1±2.1 | 123.3±1.9 | 83.8±0.2 | 156.9±1.5 | 33.5±0.4 | 3.5±0.0 | 69.2±0.5 |
| | CB-9 | 222.3±1.8 | 119.8±0.5 | 102.5±2.2 | 155.3±0.1 | 35.5±0.6 | 3.5±0.0 | 69.1±0.6 |

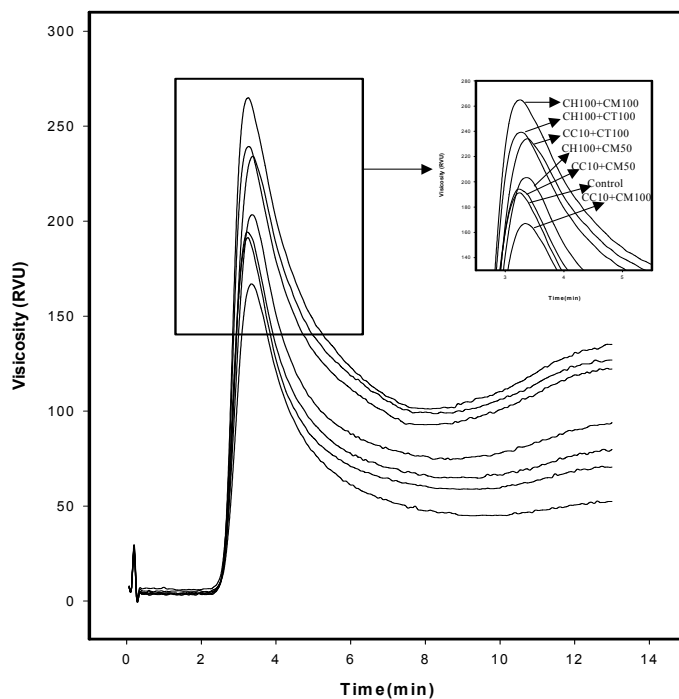


Fig. 29. Rapid Visco Analyser curves of steeped waxy rice treated with combined enzyme.

Table 40. Pasting characteristics of steeped waxy rice treated with enzyme mixture

| Treatment group name | Peak viscosity (RVU) | Trough | Break down | Final viscosity (RVU) | Set back | Pick time (min) | Pasting temperature (°C) |
|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|--------------------------|
| Control | 190.13 ^f | 59.58 ^{de} | 130.54 ^d | 71.79 ^f | 12.21 ^e | 3.27 ^c | 70.33 ^b |
| CC10+CM100 | 167.42 ^g | 45.00 ^e | 122.42 ^e | 52.75 ^g | 7.75 ^f | 3.33 ^b | 71.18 ^a |
| CC10+CM50 | 194.25 ^e | 64.79 ^{cd} | 129.46 ^d | 79.42 ^e | 14.63 ^d | 3.27 ^c | 70.30 ^b |
| CC10+CT100 | 232.71 ^c | 82.30 ^{bc} | 135.42 ^c | 126.42 ^b | 29.13 ^b | 3.40 ^a | 70.30 ^b |
| CH100+CM100 | 264.25 ^a | 101.21 ^a | 163.04 ^a | 135.46 ^a | 34.25 ^a | 3.27 ^c | 69.48 ^c |
| CH100+CM50 | 205.38 ^d | 75.17 ^{bcd} | 130.21 ^d | 94.84 ^d | 19.67 ^c | 3.33 ^b | 70.33 ^b |
| CH100+CT100 | 239.75 ^b | 92.38 ^{ab} | 147.38 ^b | 122.25 ^c | 29.88 ^b | 3.27 ^c | 69.55 ^c |

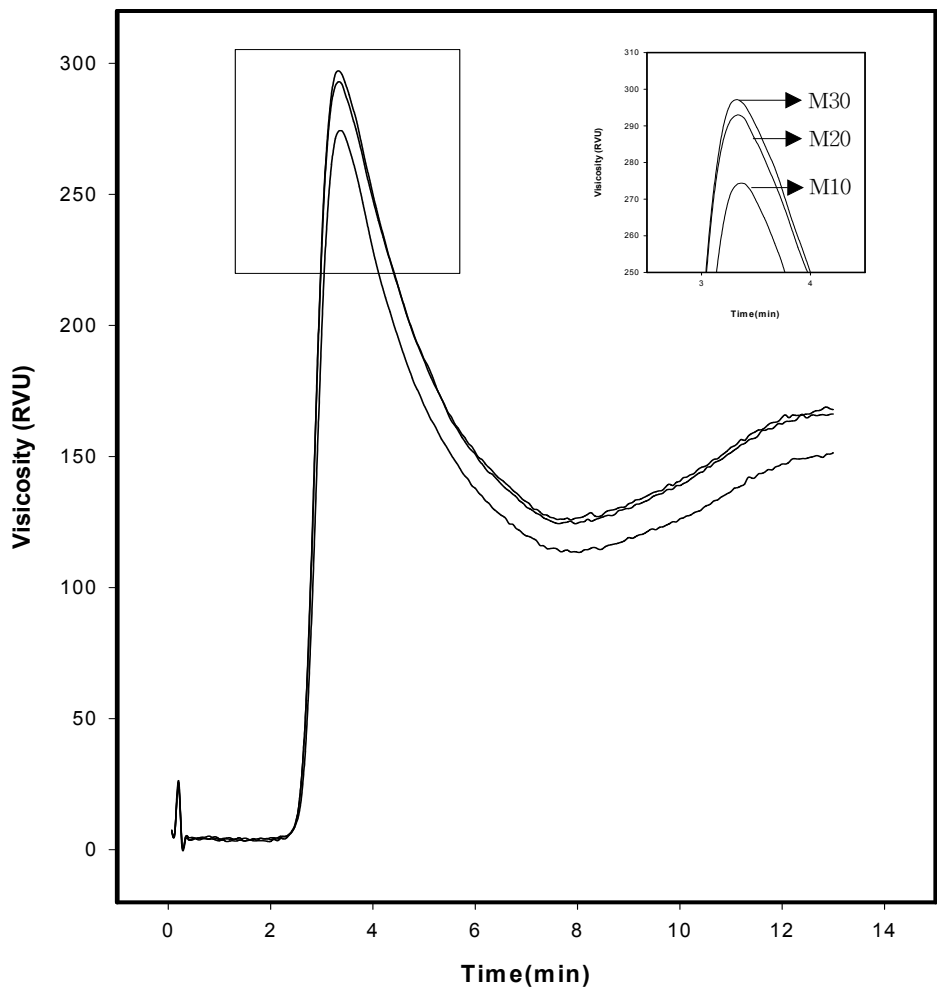


Fig. 30. Rapid Visco Analyzer curves of stepped waxy rice treated with different polishing degrees.

4) 효소처리에 의한 유과의 품질특성 변화

선별된 효소로 처리한 찹쌀을 사용하여 동일한 조건에서 침지→세척→분쇄→증자→반죽→건조→성형→절단→유당 팽화하는 공정에 의해 유과 바탕을 제조한 다음 품질특성의 변화를 살펴보았다. 먼저 선별된 효소로 처리한 찹쌀로 제조한 유과의 외형적 특징은 Fig. 31과 같다. 15일 침지한 찹쌀로 제조한 대조군 유과와 비교하여 CH-4, CC-5, CB-9 효소를 처리한 찹쌀로 제조한 유과는 외형적 특징에서 대조군에 필적하거나 우수한 것으로 보여 유과 제조용 효소로서 사용할 수 있는 가능성이 높은 것으로 판단되었다. 특히 CH-4 처리군 유과의 경우, 팽화정도로 판단할 때 대조군과 같거나 더 우수한 것으로 나타났다.

CH-4, CC-5, CB-9 효소를 처리한 찹쌀로 제조한 유과의 화학분석을 실시한 결과는 Table 41과 같다. 외형적 관찰에서 나타난 결과와 동일하게, CH-4처리군(24시간 침지한 찹쌀에 1시간 처리)은 면적, 둘레길이, 팽화부피 등의 특성치에서 대조군과 같거나 유의적으로 높은 수치를 보였다. CH-4, CC-5, CB-9 효소를 처리한 찹쌀로 제조한 유과의 조직감 특성치 가운데 경도 또한 CH-4처리군이 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮은 수치를 나타내었다(Table 42). CH-4, CC-5, CB-9 효소를 처리한 찹쌀로 제조한 유과에 대해 관능 분석을 실시한 결과는 Table 43과 같다. 즉, 15점 척도를 이용하여 냄새, 외관, 향미, 조직감 등 관능특성을 살펴본 결과, 1일 침지한 찹쌀로 제조한 유과(control-II)와 비교하여 1일 침지한 찹쌀에 1시간 효소처리한 유과(CH-4, CC-5, CB-9)의 고유의 냄새(신냄새), 외관 특성(색의 밝은 정도, 균일성, 거친 정도), 향미 특성(유과 고유의 맛, 기름진 맛), 조직감 특성(단단함, 바삭한 정도, 씹은 후 느낌)이 15일 침지한 찹쌀로 제조한 유과의 특성에 가까운 경향을 나타내었다. 따라서 이러한 데이터를 활용하여 여러 처리조건을 고려하고, 산, 미생물 처리 등 여러 가지 복합처리를 시도한다면 15일 침지한 찹쌀로 제조한 유과제품의 품질특성과 같거나 더 우수한 유과 제품의 생산이 가능할 것으로 생각된다.

24시간 수침한 찹쌀 침지물에 효소들을 2가지씩 조합하여 복합적으로 처리한 찹쌀로 제조한 유과의 팽화 특성치를 단일효소 및 대조군과 비교하여 살펴본 결과는 Table 44와 같다. 즉, 15일 침지한 찹쌀로 제조한 대조군, CH100, CH100 + CM100, CH100 + CT100 처리구의 팽화률은 1,545, 2005,

1,552, 1771로 복합효소 처리에 비해 단일 효소 처리의 효과가 가장 높았다. 다른 팽화 특성치에서도 CH100 처리구의 효과가 높은 것으로 나타났으며, 다음이 CH100 + CT100 처리구 이었다. 또한 효소들을 2가지씩 조합하여 복합적으로 처리한 찹쌀로 제조한 유과의 기계적 경도와 색도를 분석한 결과는 Table 45 및 46과 같다. CH100, CH100 + CM100, CH100 + CT100 처리구의 경도는 717, 573, 656 g/cm²으로 15일 침지한 찹쌀로 제조한 대조구 유과의 경도 931 g/cm²에 비해 유의적으로 낮았다(p<0.05). 색도 분석에서 a 값의 경우, CH100 + CT100 처리구가 CH100, CH100 + CM100 처리구에 비해 유의적으로 가장 높았고, b값은 다른 처리구에 비해 CH100 + CM100 처리 유과가 가장 높았다(p<0.05). 그러나 ΔE값은 시료군간에 유의적 차이가 없었다.

효소들을 2가지씩 조합하여 복합적으로 처리한 찹쌀로 제조한 유과의 관능 특성치를 분석한 결과를 Table 47에 제시하였다. 그 결과, 냄새의 특성 중 유과 고유의 냄새(sour aroma)는 대조군 I 과 M10-CH100+CM100 시료군은 5.95의 값으로 시료군 중 유의적으로 가장 낮게 평가되었다. 신선한 기름냄새(oily aroma)는 M10-CH100+CT100 시료군이 12.10의 값으로 시료군 중 유의적으로 가장 강하게 평가되었다. 또한 신선한 기름냄새 역시 대조군 I 과 M10-CH100+CM100 시료군이 각각 4.95와 4.45의 값으로 신선한 기름냄새가 약하다고 평가되어 시료군 중 유의적으로 가장 낮게 평가되었다. 외관의 특성 중 색의 균일성은 대조군 II를 제외한 나머지 시료군이 모두 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 거친 정도는 대조군 II가 11.60의 값으로 약간 강하다고 평가되어 시료군 중 거친 정도가 유의적으로 가장 높게 평가되었고 이와 유의적인 차이를 나타내지 않은 시료군으로는 대조군 I 10.75의 값을 나타내었다. 유과바탕의 팽화도는 M10-CH100이 12.05로 시료군 중 가장 높게 평가되었다. 향미의 특성 중 유과 고유의 맛(original *Yukwa* flavor)은 M10-CH100+ CM100이 4.60의 값으로 약하다고 평가되었으며 M10-CH100이 8.30으로 가장 높게 평가되었다. 기름진 맛(oily flavor)의 경우 대조군 I 을 제외한 시료군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 조직감의 특성 중 단단한 정도는 대조군 II가 10.05의 값으로 약간 강하다고 평가되어 시료군 중 유의적으로 가장 높게 평가 되었고, M10-CH100+CT100이 6.40으로 가장 낮게 평가되었다. 바삭한 정도(crispness)는 대조군 I 과 대조군 II가 각각 10.00, 10.35으로 가장 높게 평가되었고, M10-CH100+CT100이 6.00의 값으로 가장

낮게 평가되었다. 부착성(adhesiveness)은 M10-CH100을 제외한 모든 시료군이 유사한 것으로 평가되었다. 씹은 후 느낌(feelings in mouth after swallow)은 M10-CH100+CM100이 12.75로 가장 높게 평가되었고, M10-CH100이 8.60으로 가장 낮게 평가되었다.

한편, 앞서 효소나 다른 처리의 전처리 조건으로 찹쌀의 도정율과 산처리의 실시를 검토하였다. 따라서 찹쌀의 도정율과 산처리의 실시에 따른 유과의 품질 특성을 살펴보았다. 먼저, 현미찹쌀, 10%, 20%, 30%로 도정율을 달리한 찹쌀을 24시간동안 침지하여 유과를 제조한 후 유과바탕의 팽화율을 살펴본 결과는 Table 48과 같다. 유과의 단면적은 15일 동안 침지한 찹쌀로 제조한 유과가 347 mm²이었으며 현미찹쌀로 제조한 유과는 114 mm², 30% 도정한 찹쌀로 제조한 유과는 349 mm²이었다. 15일 침지한 찹쌀로 제조한 유과의 단면적에 대한 비율을 살펴볼 때, 현미찹쌀, 10%, 20%, 30%로 도정한 찹쌀로 제조한 유과가 각각 32.9%, 78.7%, 88.5%, 100.6%로 나타나 도정도가 증가할수록 유과바탕의 팽화율이 증가한다는 것을 알 수 있었다. 도정율 30%인 찹쌀로 제조한 유과바탕(M30-Y)과 기존 침지조건에서 침지한 찹쌀(S15-Y) 및 찹쌀전분으로 제조한 유과바탕(WRS-Y)의 관능적 품질특성을 비교, 평가한 결과는 Table 49와 같다. 그 결과, 유과 고유의 냄새와 맛은 M30-Y, S15-Y, WRS-Y 순으로 나타났으나, 기름진 맛은 WRS-Y시료가 높았다. 색의 평가에서는 밝은 정도는 WRS-Y 시료가 가장 밝게 평가되었고 M30-Y와 S15-Y시료는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 색의 균일성은 M30-Y 시료가 가장 균일하다고 평가된 반면에 S15-Y시료가 5.68로 가장 균일하지 않다고 평가되었다. 시료의 단단함은 S15-Y시료가 가장 단단하다고 평가되었고, WRS-Y시료가 5.96으로 단단함이 적다고 평가되었다. 시료의 부착성은 WRS-Y시료가 13.11로 다른 시료들에 비해 유의적으로 가장 부착성이 강하다고 평가되었다. 이는 전술한 결과에서 나타낸 바와 같이 팽화 및 제품의 색과 부의 상관성을 보이는 단백질이나 무기질 등 여러 성분들이 찹쌀 곡립의 외부에 존재하기 때문에 도정에 의해 이들 성분이 제거되고 상대적으로 전분의 정제도가 높아졌기 때문으로 보인다. 따라서 찹쌀의 도정율을 조정하여 효소 처리를 실시한다면 상승효과를 얻을 수 있을 것으로 사료되었다.

찹쌀의 다양한 산처리가 유과의 팽화율에 미치는 영향을 알아보기 위해

여 선정된 산처리 조건에 의하여 찹쌀을 처리한 후 유과를 제조하여 image analyser를 이용하여 팽화율을 측정하였으며 그 결과는 Table 50에 나타낸 바와 같다. 그 결과 15일 동안 침지한 찹쌀로 제조한 유과의 팽화율과 비교하여 4% acetic acid와 4% butyric acid 1시간동안 처리한 실험군의 팽화율이 각각 3,167%와 3,155%로 높게 나타났으며 4% butyric acid를 24시간 처리한 실험군은 2,719%로 유사하게 나타났다. 산처리한 찹쌀로 제조된 유과바탕의 조직감을 측정된 결과는 Table 51과 같다. Springiness는 0.47~0.60로 산처리 실험군의 유과바탕과 15일 동안 침지한 찹쌀로 제조된 유과바탕인 대조군 I 과 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. Hardness는 4% butyric acid를 1시간동안 처리한 실험군이 428.55 g/cm²로 가장 낮았고 대조군이 676.36 g/cm²로 가장 높게 나타났다. 또한 산처리가 유과의 색도에 미치는 영향을 알아본 것은 Table 52에 제시된 바와 같다. 즉, L과 ΔE값은 control이 각각 76.07과 20.20로 가장 높았던데 반하여 산 처리군은 69.55~76.99, 13.46~17.92로 어둡게 나타났으며 반응시간이 길어질수록 유과바탕의 명도가 낮아지는 경향을 나타내었다. 반면, a와 b값은 대조군 I 이 각각 0.14와 11.01로 가장 낮았으며, 4% butyric acid를 이용하여 1시간과 24시간 처리한 실험군 모두 유의적으로 가장 높게 나타났다. 그러나 산처리 찹쌀로 제조한 유과의 경우 수차례 세척과정을 거쳤지만 최종 유과제품에 산미가 남아(데이터 미제시) 이를 해결하기 위해서는 별도의 추가적인 연구가 요구되었다.

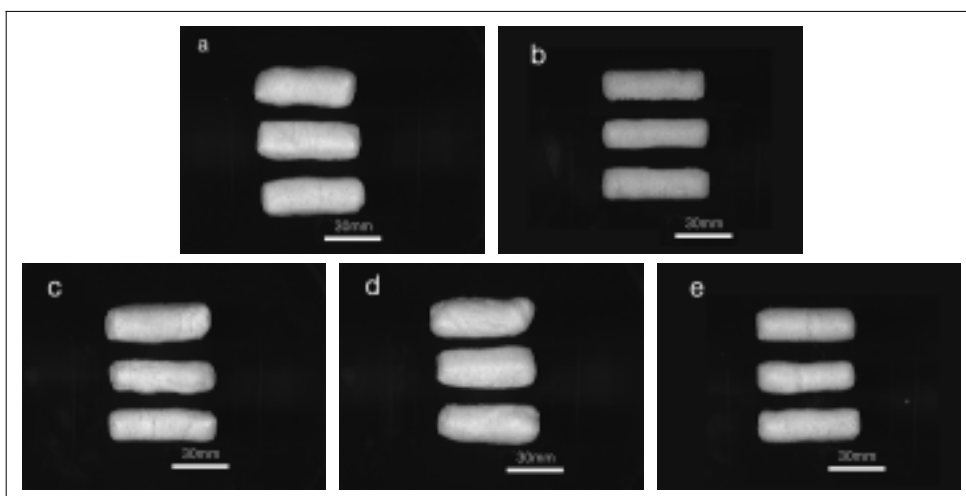


Fig 31. Images of *Yukwa* made from waxy rice treated with selected enzymes.

a) Control I (water-steeped for 15 days), b) Control II (water-steeped for 1 days) c) Treatment CC-5 (water-steeped for 1 days with CC-5 treatment for 1 hour), d) Treatment CH-4 (water-steeped for 1 days with CH-4 treatment for 1 hour), e) Treatment CB-9 (water-steeped for 1 days with CB-9 treatment for 1 hour)

Table 41. Expansion parameters of *Yukwa* made from waxy rice treated with selected enzymes

| Sample group | Gross-sectional area | Circumference | Gross-sectional long length | Gross-sectional short length | <i>Yukwa</i> area | <i>Yukwa</i> circumference | <i>Yukwa</i> short length | <i>Yukwa</i> volume |
|--------------|----------------------|-------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------|
| Control | 3.94 ^a | 7.59 ^a | 2.32 ^a | 2.14 ^a | 12.06 ^a | 15.04 ^b | 2.27 ^a | 22.09 ^a |
| CH-4 | 3.64 ^b | 7.26 ^b | 2.21 ^b | 2.04 ^b | 12.08 ^a | 15.41 ^a | 2.16 ^b | 21.58 ^a |
| CC-5 | 3.11 ^d | 6.86 ^c | 2.10 ^c | 1.91 ^c | 11.35 ^b | 15.24 ^{ab} | 2.00 ^c | 19.33 ^b |
| CB-9 | 3.27 ^c | 6.67 ^d | 2.04 ^d | 1.87 ^c | 11.21 ^b | 14.91 ^b | 2.05 ^c | 17.84 ^c |

Table 42. Textural properties of *Yukwa* base prepared from waxy rice treated with enzyme

| Experimental group | Texture attribute | | | | |
|--------------------|--------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | Springiness | Cohesiveness | Chewiness | adhesiveness | Hardness |
| Control | 0.461 ^a | 0.102 ^c | 50.612 ^b | 17.113 ^{ab} | 1185.71 ^a |
| CH-4 | 0.441 ^a | 0.116 ^a | 51.562 ^{ab} | 21.906 ^a | 976.49 ^b |
| CC-5 | 0.418 ^a | 0.114 ^{ab} | 52.410 ^{ab} | 11.487 ^b | 1259.08 ^a |
| CB-9 | 0.449 ^a | 0.105 ^{bc} | 60.725 ^a | 21.093 ^a | 1207.07 ^a |

Table 43. Sensory properties of *Yukwa* base prepared from waxy rice treated with enzyme

| Sensory attribute \ Sample group | Control-I | Control-II | CH-4 | CC-5 | CB-9 |
|----------------------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Aroma original | 12.87 ^{a2)} | 2.20 ^d | 11.27 ^b | 11.27 ^b | 9.73 ^c |
| Flavor original | 13.67 ^a | 6.00 ^e | 10.00 ^c | 12.33 ^b | 8.60 ^d |
| Flavor oil | 13.33 ^a | 8.00 ^c | 9.53 ^b | 13.00 ^a | 9.20 ^b |
| Color lightness | 10.73 ^a | 3.60 ^d | 8.40 ^b | 6.53 ^c | 10.40 ^a |
| Color uniformity | 12.73 ^a | 2.00 ^d | 11.80 ^b | 9.80 ^c | 9.53 ^c |
| Roughness | 4.67 ^d | 13.40 ^a | 7.93 ^b | 5.60 ^c | 8.53 ^b |
| Hardness | 3.73 ^e | 13.00 ^a | 4.67 ^d | 6.87 ^c | 7.93 ^b |
| Crispiness | 10.20 ^a | 3.40 ^b | 10.87 ^a | 10.67 ^a | 11.00 ^a |
| Adhesiveness | 12.67 ^a | 2.80 ^d | 11.73 ^b | 10.00 ^c | 9.53 ^c |

¹⁾Based on a 15-cm line scale, with left end for very low density and right end for very high intensity. ²⁾Means with the same letter are not significantly different (P<0.05, n=20).

Control I (water-steeped for 15 days without treatment), Control II (water-steeped for 1 days without treatment), CH-4 (water-steeped for 1 days with CH-4 treatment for 1 hour), CC-5 (water-steeped for 1 days with CC-5 treatment for 1 hour), CB-9 (water-steeped for 1 days with CB-9 treatment for 1 hour).

Table 44. Expansion parameters of *Yukwa* made from waxy rice treated with enzyme mixture

| Sample group | Cross-sectional area (mm ²) | Cross-sectional long length | Cross-sectional short length | Cross-sectional circumference | Yukwa long length | Yukwa short length | Yukwa circumference | Yukwa area | Yukwa volume | Expansion Ratio(%) |
|--------------|---|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| Control * | 330 ^d | 19.0 ^d | 17.0 ^e | 65.7 ^f | 54.9 ^d | 19.8 ^c | 148.0 ^e | 1,145 ^f | 18,159 ^d | 1,545 ^d |
| CH100 | 410 ^b | 21.1 ^b | 19.0 ^b | 74.6 ^c | 56.7 ^c | 22.6 ^a | 162.1 ^b | 1,386 ^b | 23,238 ^b | 2,005 ^b |
| CH100+CM100 | 307 ^f | 18.7 ^c | 16.9 ^e | 66.8 ^e | 58.3 ^b | 19.2 ^e | 157.7 ^c | 1,225 ^e | 17,903 ^d | 1,522 ^d |
| CH100+CT100 | 364 ^c | 20.0 ^c | 18.2 ^c | 70.2 ^d | 56.7 ^c | 20.9 ^b | 156.0 ^d | 1,275 ^d | 20,653 ^c | 1,771 ^c |

* : *Yukwa* made of waxy rice steeped for 15 days.

Table 45. Textural properties of *Yukwa* made from waxy rice treated with enzyme mixture

| Sample group name | Hardness |
|-------------------|--------------|
| Control* | 931.91±80.58 |
| CH100 | 717.73±35.82 |
| CH100+CM100 | 573.74±72.62 |
| CH100+CT100 | 656.29±69.59 |

* : *Yukwa* made of waxy rice steeped for 15days.

Table 46. Color properties of *Yukwa* made from waxy rice treated with enzyme mixture

| Sample group name | L | a | b | ΔE |
|-------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Control* | 81.23±0.97 ^{abc} | -0.52±0.01 ^{bc} | 8.53±0.65 ^b | 25.32±0.96 ^{ab} |
| M10-CH100 | 81.76±0.38 ^{ab} | -0.24±0.06 ^a | 8.67±0.35 ^b | 25.68±0.34 ^{ab} |
| M10-CH100+CM100 | 82.22±0.67 ^a | -0.41±0.12 ^b | 10.31±0.09 ^a | 26.02±0.58 ^a |
| M10-CH100+CT100 | 80.89±0.23 ^{cd} | -0.83±0.06 ^d | 7.67±0.61 ^c | 25.26±0.16 ^{ab} |

* : *Yukwa* made of waxy rice steeped for 15days.

Table 47. Sensory properties of *Yukwa* base prepared from waxy rice treated with enzyme mixture

| Sensory attribute | A | B | C | D | E |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| Original fresh <i>Yukwa</i> aroma (sour aroma) | 5.95 | 9.20 | 9.25 | 5.95 | 9.50 |
| Oily aroma | 4.95 | 9.05 | 9.85 | 4.45 | 12.10 |
| Color uniformity | 10.30 | 7.05 | 10.10 | 10.55 | 10.40 |
| Surface roughness | 10.75 | 11.60 | 9.60 | 8.35 | 8.10 |
| Expansion | 5.35 | 7.35 | 12.05 | 6.55 | 10.75 |
| Original <i>Yukwa</i> flavor | 6.80 | 8.00 | 8.30 | 4.60 | 5.90 |
| Oily flavor | 13.45 | 11.10 | 10.75 | 11.00 | 10.80 |
| Hardness | 10.80 | 10.05 | 7.20 | 7.30 | 6.40 |
| Crispness | 10.00 | 10.35 | 8.05 | 6.65 | 6.00 |
| Adhesiveness | 10.20 | 10.05 | 8.75 | 10.45 | 9.15 |
| Feelings in mouth after swallow | 12.80 | 10.35 | 8.60 | 12.75 | 10.20 |

A: Control I (*Yukwa* made steeping of waxy rice during 15day), B: Control II (*Yukwa* made steeping of waxy rice during 24hour), C: M10-CH100, D: M10-CH100+ CM100, E: M10-CH100+ CT100.

Table 48. Expansion parameters of *Yukwa* made from waxy rice with different polishing degree

| Polishing degrees (%) | Cross sectional area (A, mm ²) | Circumference | The minor axis of diameter (mm) | The major axis of diameter (mm) | Ratio of cross-sectional area (A/control)×100 |
|-----------------------|--|------------------|---------------------------------|---------------------------------|---|
| 0 | 114 ^a | 44 ^a | 8.0 ^a | 14.3 ^a | 32.9 |
| 10 | 273 ^b | 64 ^b | 16.2 ^b | 20.2 ^b | 78.7 |
| 20 | 307 ^c | 69 ^c | 17.3 ^c | 21.0 ^c | 88.5 |
| 30 | 349 ^d | 71 ^{cd} | 20.7 ^d | 21.6 ^d | 100.6 |

Table 49. Sensory properties of *Yukwa* made from waxy rice with different polishing degree

| Sensory parameter | S15-Y | M30-Y | WR8-Y |
|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Aroma original | 9.54 ^b | 12.71 ^a | 5.86 ^c |
| Flavor original | 10.00 ^b | 13.25 ^a | 2.96 ^c |
| Flavor oil | 9.68 ^b | 7.57 ^c | 12.96 ^a |
| Color lightness | 9.21 ^b | 9.64 ^b | 14.04 ^a |
| Color uniformity | 5.68 ^c | 12.57 ^a | 10.50 ^b |
| Roughness | 13.04 ^a | 5.71 ^c | 9.39 ^b |
| Hardness | 12.39 ^a | 9.68 ^b | 5.96 ^c |
| Crispiness | 8.43 ^c | 10.89 ^b | 12.96 ^a |
| Adhesiveness | 9.14 ^b | 8.86 ^b | 13.11 ^a |

S15-Y: *Yukwa* made from waxy rice steeped in water for 15 days, M30-Y: *Yukwa* made from waxy rice with 30% polishing degree, WR8-Y: *Yukwa* made from waxy rice starch.

Table 50. Comparative effects of different acid treatment on expansion parameters of *Yukwa* base

| Treatment | Cross sectional area (mm ²) | Cross sectional long length | Cross sectional short length | Cross sectional circumference | Yukwa long length | Yukwa short length | Yukwa area | Yukwa volume | Expansion Ratio(%) |
|----------------------|---|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| Control I * | 398.0 ^{bc} | 22.8 ^b | 20.7 ^b | 75.3 ^{bc} | 64.8 ^c | 22.8 ^a | 1,426 ^c | 25,768 ^b | 2,739 ^b |
| 4% Acetic acid 1hr | 437.5 ^a | 23.7 ^a | 21.9 ^a | 78.5 ^a | 67.8 ^b | 22.6 ^a | 1,507 ^b | 29,651 ^a | 3,167 ^a |
| 4% Butyric acid 1hr | 421.9 ^{ab} | 23.4 ^{ab} | 20.7 ^b | 76.3 ^{abc} | 70.1 ^a | 22.7 ^a | 1,578 ^a | 29,545 ^a | 3,155 ^a |
| 4% Butyric acid 24hr | 388.4 ^c | 22.7 ^b | 20.6 ^b | 73.6 ^c | 65.9 ^c | 21.7 ^b | 1,384 ^c | 25,590 ^b | 2,719 ^b |

* : *Yukwa* made from waxy rice steeped for 15day.

Table 51. Comparative effects of different acid treatment on textural properties of *Yukwa* base

| Treatment | Textural Parameter | | | |
|----------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | Springiness | Cohesiveness | Chewiness | Hardness |
| Control I * | 0.58 ^a | 0.10 ^a | 42.75 ^a | 676.36 ^a |
| Control II ** | 0.47 ^b | 0.08 ^{bc} | 19.59 ^c | 526.66 ^c |
| 4% Acetic acid 1hr | 0.55 ^a | 0.08 ^c | 25.81 ^{bc} | 531.24 ^c |
| 4% Butyric acid 1hr | 0.60 ^a | 0.09 ^b | 25.02 ^{bc} | 428.55 ^d |
| 4% Butyric acid 24hr | 0.59 ^a | 0.08 ^{bc} | 28.98 ^b | 595.05 ^b |

* : *Yukwa* made from waxy rice steeped for 15day.

** : *Yukwa* made from waxy rice steeped for 24hour.

Table 52. Comparative effects of different acid treatment on color properties of *Yukwa* base

| | Hunter's value | | | |
|-------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | L | a | b | ΔE |
| Control I * | 76.07 ^a | 0.14 ^d | 11.01 ^d | 20.20 ^a |
| Control II ** | 76.99 ^b | 1.32 ^c | 12.46 ^c | 17.92 ^b |
| 4% Acetic acid 1hr | 72.28 ^c | 1.96 ^b | 14.13 ^b | 15.91 ^c |
| 4% Butyric acid 1hr | 71.41 ^d | 3.31 ^a | 15.48 ^a | 15.34 ^d |
| 4% Butyric acid 24hr | 69.55 ^e | 3.37 ^a | 15.27 ^a | 13.46 ^e |

* : *Yukwa* made from waxy rice steeped for 15day.

** : *Yukwa* made from waxy rice steeped for 24hour.

5. 천이단계별 우세균주 특성 결과의 활용방법 조사

1) 미생물의 선정 및 처리 조건 검토

유과제조용 찹쌀 침지물에 사용한 미생물 스타터의 종류와 조성은 Table 53과 같다. 즉, 유과 침지액에서 분리한 균주들 중에서 α -amylase와 β -amylase 활성이 높은 B1, α -amylase 활성이 높은 37번, β -amylase 활성이 높은 12번 균주를 미생물 스타터로 사용하였다. 또한 *Bacillus amyloliquefaciens*(IMSNU 11009)를 서울대학교 미생물연구소에서, *Saccaromyces cerevisiae*(ATCC 6037), *Saccaromyces diastaticus*(ATCC 28338), *Sporobolomyces holstaticus*(IFO 1032), *Lactobacillus amylophilus*(KFRI 00238)을 한국식품개발연구원에서 분양받아 사용하였다. 상업적 균주로는 쌀요구르트의 제조시 쌀발효용 스타터로 사용되었거나 쌀과 같은 곡류 발효에 효과가 있을 것으로 예상되는 ABT-1D, ABT-1E, ABY-2D, LH100, MD088, TA061(Rhodia, Inc., USA)등의 복합균주를 사용하였다.

이들 미생물 스타터를 침지액에 접종하기 위하여 MRS agar와 YM agar에 streaking한 후 단일 colony를 일백금이 취하여 MRS배지(Difco, USA)와 YM배지에 접종하여 30℃ incubator에서 48시간동안 정치배양 하였다. 액체배지에 배양한 균을 다시 고체 배지에 streaking하여 단일균주임을 확인한 후, 다시 액체배지에 3차 계대 배양하여 균을 활성화 시키는 조건으로 하였다. 예비실험을 통해 유과 침지액에서 분리한 균주의 경우, 찹쌀침지액의 0.1%(v/v)로 접종하는 것이 침지액 중 선택균주의 균수가 1.0×10^6 cfu/ml의 수준이 되어 이를 접종량으로 선정하였다. 상업적균주의 접종량은 찹쌀침지액의 0.01%(w/v)로 접종하는 것이 침지액 중 혼합균주의 균수가 1.0×10^6 cfu/ml의 수준이 되어 이를 접종량으로 선정하였다(데이터 미제시).

Table 53. Types and composition of bacterial starter used

| Abbreviation | Starter used |
|--------------|--|
| B1 | Isolate from steeped water at 9 day |
| 37 | Isolate form steeped water at 6 day |
| 12 | Isolate form steeped water at 3day |
| LA | <i>Lactobacillus amylophilus</i> (KFRI 00238) |
| BA | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (IMSNU 11009) |
| SC | <i>Saccaromyces cerevisiae</i> (ATCC 6037) |
| SD | <i>Saccaromyces diastaticus</i> (ATCC 28338) |
| SH | <i>Sporobolomyces holstaticus</i> (IFO 1032) |
| ABT-1D | <i>Lactobacillus acidphilus</i> , <i>Bacillus longum</i> , <i>Streptococcus themophilus</i> |
| ABT-1E | <i>Lactobacillus acidphilus</i> , <i>Bacillus longum</i> , <i>Streptococcus themophilus</i> |
| ABY-2D | <i>Lactobacillus acidphilus</i> , <i>Bacillus longum</i> |
| LH100 | <i>Lactobacillus dolbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> |
| MD088 | <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var <i>diacetylactis</i> |
| TA061 | <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>themophilus</i> |

2) 미생물 starter처리에 의한 화학적 특성 변화

침지기간동안 찹쌀 침지물의 pH와 적정산도 변화를 살펴본 결과는 Fig. 32, 및 33과 같다. 즉, 전반적으로 침지시간이 경과될수록 pH는 낮아졌으며 적정산도는 증가하는 경향을 보였다. 미생물 스타터의 처리군은 미생물 스타터 없이 30°C에서 침지한 대조구에 비하여 좀 더 빠른 pH와 적정산도의 변화를 나타내었다. pH는 대부분의 처리구에서 침지 0시간째 6.67~6.83이었던 것이 침지 8시간째에 5.85~6.36으로 완만하게 감소한 반면 MD088은 pH 4.71까지 급속히 떨어졌다. 침지 24시간까지 pH 3.66~5.50으로 처리구간에 큰 차이를 보이며 급속히 감소하였고 침지 48시간까지 완만하게 감소하였다. 위 결과를 살펴볼 때, 37번 균주와 상업적 복합균주인 MD088는 침지 초반 산생성 능력이 높은 것으로 나타났으며, *Saccharomyces diastaticus*는 산생성 능력이 다른 균주에 비하여 낮은 것으로 나타났다. 적정산도는 침지 0시간에 0.01~0.02%이었던 것이 침지 16시간에 0.08~0.36%로 완만하게 증가하였으며, 침지 48시간까지 *Lactobacillus amylophilus*와 *Saccharomyces diastaticus*를 제외한 나머지 실험군에서 0.71~0.94%으로 급격히 증가하였다. 특히 *Lactobacillus amylophilus*가 1.05%로 가장 높았고 *Saccharomyces diastaticus* 0.42%로 가장 낮았다.

Linko 등⁴⁸⁾은 제과·제빵용 미생물 스타터의 요건으로 pH를 4.0정도까지 신속하게 낮추며 젖산과 초산 등과 같은 분해산물의 생성력이 좋아야 한다고 보고하였다. 또한 김 등¹¹⁾과 김과 방⁶⁶⁾의 보고에 따르면 찹쌀의 침지기간이 경과할수록 침지액의 pH는 감소하고 적정산도는 증가하며 이는 젖산균의 작용에 의한 것이라고 보고하여 본 연구의 결과와 유사하였다.

미생물 스타터를 처리한 찹쌀침지물의 환원당 변화를 알아본 결과는 Fig. 34와 같다. 침지 8시간까지는 모든 실험군간에 차이 없이 환원당 함량이 증가하였다. 그 이후에는 ABT-1E, ABY-2D, MD088, TA061을 제외한 모든 실험군에서 환원당이 감소하는 추세를 나타내었고, ABY-2D, MD088, TA061는 침지 24시간 이후 완만한 환원당의 감소를 나타내었으며, ABT-1E는 침지 8시간부터 침지 48시간까지 완만한 증가를 나타내었다.

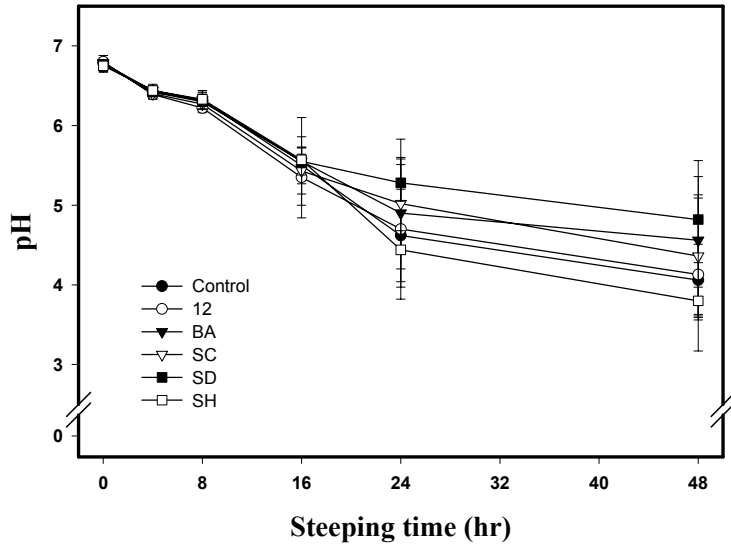
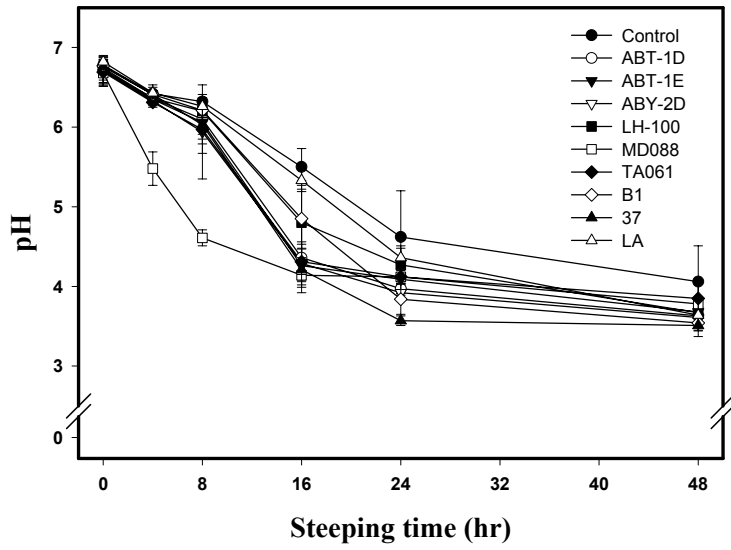


Fig. 32. Comparative effects of bacterial inocula on pH of steeping water.

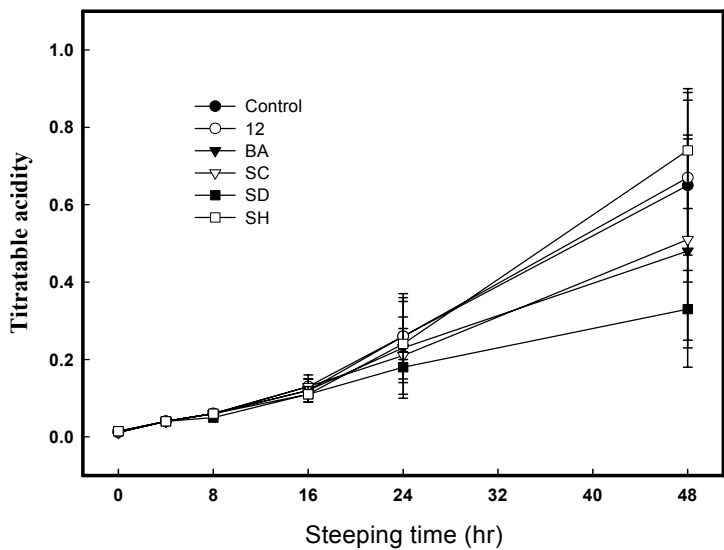
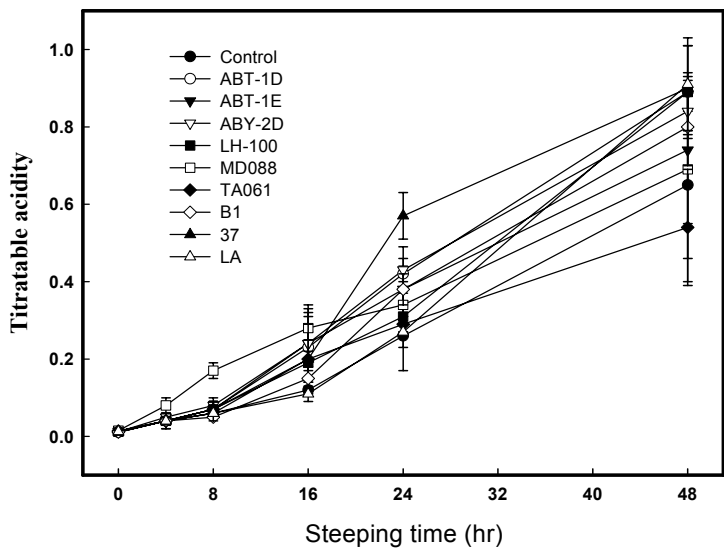


Fig. 33. Comparative effects of bacterial inocula on titratable acidity of steeping water.

임 등¹⁴⁾의 보고에 따르면 침지 중 생성되는 유리당은 90% 이상이 glucose의 형태로 존재하며 maltose는 소량씩 생성되고 원료 찹쌀 중에 함유된 sucrose는 초기에 완전 분해되어 침지 1일 이후에는 검출되지 않았다. 침지초기에 glucose 함량이 급속하게 증가한 것은 찹쌀의 α -amylase와 β -amylase의 작용으로 전분의 급격한 분해가 일어나며, 생성된 glucose가 더욱 발효되어 각종 유기산을 생성하여 침지 중반에 pH가 급격히 저하된다고 보고하였다. 또한 김 등⁴⁶⁾은 효모 스타터의 첨가가 김치발효에 미치는 연구에서 초반에 배추와 양념들에 존재하는 환원성기를 갖는 화합물들이 분해 또는 용출되어 나와 환원당이 증가하며 그 이후 젖산균들이 급속하게 성장하면서 젖산을 비롯한 초산, 알콜, 이산화탄소 등의 발효산물로 변화시켜 환원당이 감소한다고 보고하였다

한편, 찹쌀 침지물에 미생물 스타터를 처리하였을 때, 침지물 중 미생물 수의 변화를 총균수로 살펴보았다. 그 결과는 Fig. 35에 나타난 바와 같다. 즉, 총균수는 침지 후 16시간까지 급격히 증가하였고 이후에는 비슷한 수준을 유지하는 것으로 나타났다. MD088과 37번 균주는 침지 초반에 증식이 빠른 것으로 나타났다. 특히 MD088은 침지 4시간 때 다른 실험군의 침지 16시간째의 총균수 수준인 1.9×10^8 cfu/ml까지 증식하였다.

미생물 스타터를 찹쌀 침지물에 24시간 동안 처리한 다음 찹쌀의 일반 성분을 비교한 결과는 Table 54와 같다. 즉, 수분함량은 35.7~37.5%로 37번 균주 처리구가 가장 높았으며 ABT-1D처리구가 가장 낮게 나타났다. 단백질함량은 4.7~6.1%로 처리군에 따라 큰 차이를 보였으며 ABY-2D가 6.10%로 가장 높았다. 조지방 함량은 0.8~1.2%로 모든 처리군에서 유사하게 나타났다. 회분함량은 전체적으로 0.2~0.4% 범위를 나타내었다. 특히, control, ABT-1D 및 12번 균주를 처리한 군이 0.4%로 높았으며, ABT-1E, ABY-2D, LH-100, *Saccharomyces diastaticus*, *Sporobolomyces holstaticus*를 처리한 군은 0.2%로 낮았다. 최와 김⁶⁷⁾은 찹쌀을 장시간 침지함으로써 단백질, 지질, 회분의 성분이 크게 감소하였다고 보고하였다^{11,66,68,69)}. 또한 임 등¹⁴⁾은 침지기간이 증가함에 따라 조단백질은 계속하여 감소하였으나 조지방함량은 침지 2일까지 감소하다가 침지 3일 이후 서서히 증가하는 경향을 나타내었고, 침지온도에 따른 조지방과 조단백질의 용출량은 큰 차이를 보이지 않았다고 했다.

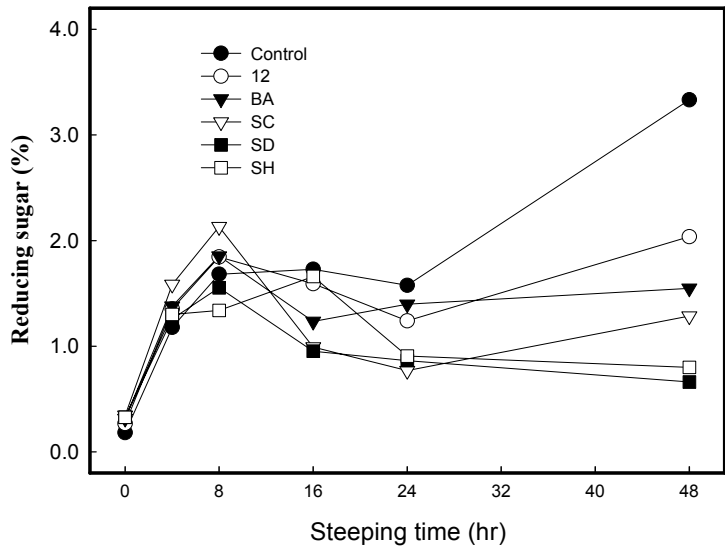
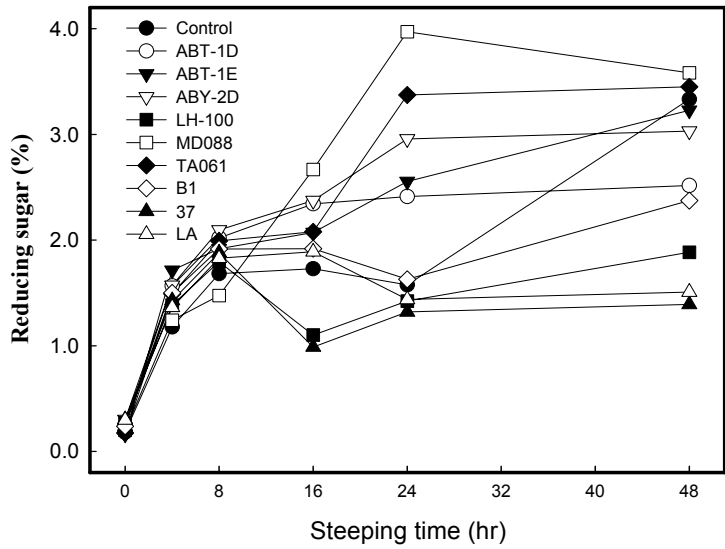


Fig. 34. Change in reducing sugar by treatment of bacterial inocula during steeping.

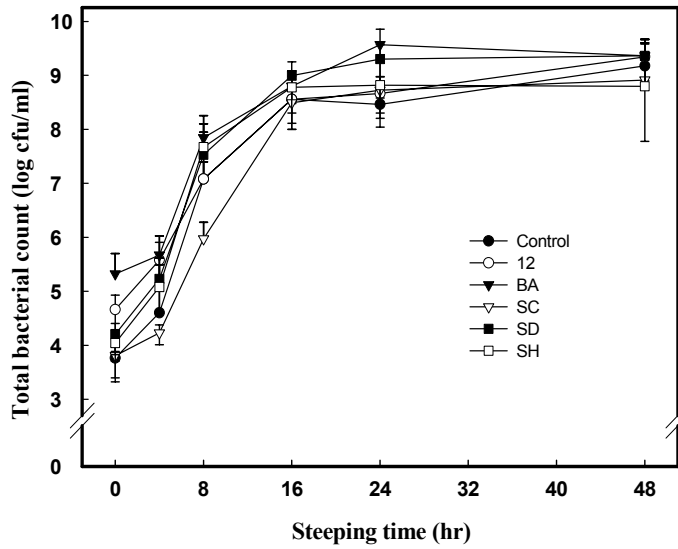
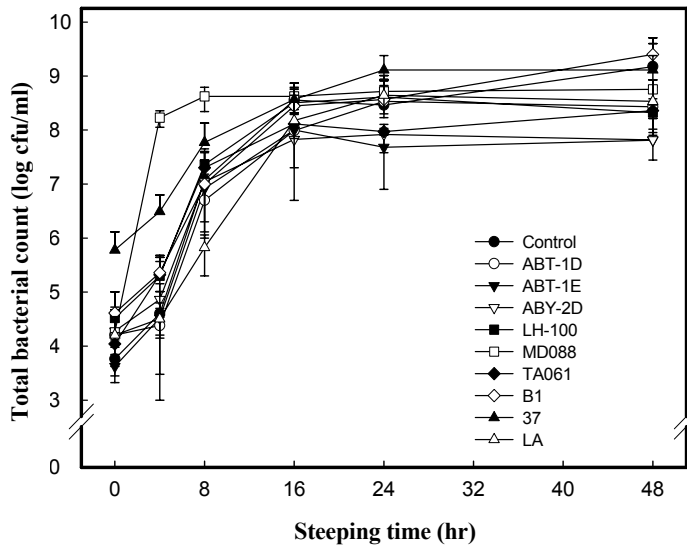


Fig. 35. Changes in total bacterial count by treatment of bacterial inocula in steeping slurry.

Table 54. Composition of steeped waxy rice treated with different bacterial starter

| Treatment | Moisture (%) | Protein (%) | Lipid (%) | Ash (%) |
|-----------|--------------|-------------|-----------|---------|
| Control | 37.0 | 5.5 | 1.1 | 0.4 |
| ABT-1D | 35.7 | 5.7 | 1.1 | 0.4 |
| ABT-1E | 37.2 | 5.5 | 1.2 | 0.2 |
| ABY-2D | 37.0 | 6.1 | 1.1 | 0.2 |
| LH-100 | 36.2 | 5.6 | 1.2 | 0.2 |
| MD88 | 36.7 | 5.5 | 1.1 | 0.3 |
| TA61 | 36.6 | 5.5 | 1.2 | 0.3 |
| B1 | 37.2 | 5.0 | 1.0 | 0.3 |
| 37 | 37.5 | 5.1 | 0.9 | 0.3 |
| 12 | 36.3 | 5.5 | 1.0 | 0.4 |
| LA | 36.9 | 5.3 | 0.9 | 0.3 |
| BA | 36.6 | 5.9 | 0.8 | 0.3 |
| SC | 36.6 | 4.8 | 1.0 | 0.3 |
| SD | 37.0 | 4.9 | 1.0 | 0.2 |
| SH | 37.3 | 5.5 | 1.0 | 0.2 |

Values are mean of three replicates.

3) 미생물 starter처리에 의한 물리적 특성 변화

미생물 스타터를 이용하여 침지한 찹쌀의 경도를 측정한 결과는 Fig. 36과 같다. 그 결과, B1과 12번 균주를 접종하여 침지한 찹쌀의 경도는 2,480 g/cm²와 2,463 g/cm²로 가장 낮았다. 나머지 실험군은 2,541~2,900 g/cm²의 범위를 나타내어 실험군 간에 차이가 있었다.

미생물 스타터를 처리한 찹쌀을 분쇄하여 입도의 차이를 알아본 결과는 Table 55와 같다. 즉, control이 50.0 μ m로 가장 크게 나타났으며, B1 균주가 42.5 μ m로 가장 작게 나타났다. 또한 분쇄시 쌀가루와 경도와의 상관성을 살펴본 결과는 Fig. 37과 같이 쌀의 경도가 클수록 평균입자의 크기가 큰 것으로 ($R^2=0.69$, $r=0.83$)나타났다. 이는 이 등²⁾은 침지 중 전분손상은 미생물에 의하여 생산된 amylase 등의 작용에 의해 전분이 분해되어지며, 침지기간이 길어질수록 찹쌀가루의 입도크기가 작아진다고 한 결과와 일치한다. 또한 박과 오¹³⁾는 침지기간이 경과됨에 따라 미세한 입자가 증가하였으며 침지 3일까지는 변화의 폭이 크게 나타났으며 그 이후로는 큰 변화가 없었다고 보고하였다. 신 등²¹⁾은 찹쌀가루의 입도별로 유과를 제조하여 본 결과 입도의 크기가 작아질수록 팽화도가 증가하였으며, 제조된 유과의 경도가 감소하여 유과의 품질이 향상되었다고 보고하였다.

미생물 스타터를 접종하여 찹쌀을 침지하였을 때 신속점도계(RVA)를 이용하여 호화양상을 살펴본 결과는 Fig 38, Fig 39 그리고 Table 56과 같다. 최고점도(peak viscosity)의 경우, 미생물 스타터를 접종한 실험군의 RVU가 239.88~283.00 범위인데 비하여 대조군은 230.63 RVU로 낮게 나타났다. 단일균주로는 12번균주, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces diastaticus*를 처리한 찹쌀분말의 경우 최고점도가 높았으며, 상업적 균주로는 ABT-1D와 LH100이 높았다. 최종점도(final viscosity) 또한 미생물 스타터를 접종한 실험군이 99.84~152.04 RVU로 control의 98.54 RVU보다 높게 나타났다. Breakdown은 *Saccharomyces diastaticus*처리군이 193.92 RVU로 가장 높았으며, control이 153.88 RVU였고, MD088 처리군이 147.54 RVU로 가장 낮았다. 또한 나머지 미생물 스타터 처리군은 152.67~187.50 RVU를 나타내었다.

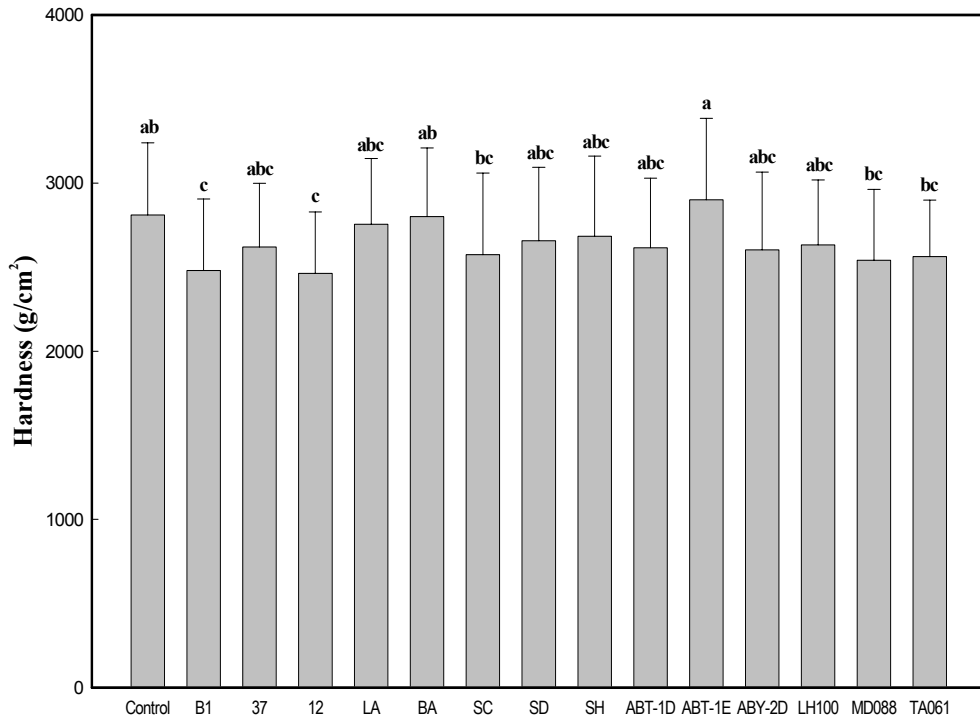


Fig. 36. Hardness of waxy rice treated with bacterial starter in steeping process.

Each value is the means \pm S.D. of 20 replications. Values followed by the same letter in the same column are not significantly different ($P < 0.05$).

Table 55. Particle size and specific surface of steeped waxy rice flour treated with different bacterial starter

| Bacterial starter | Diameter (μm) | Specific surface (cm^2/g) |
|-------------------|--------------------------------|---|
| Control | 50.0 \pm 2.8 ^a | 7,947 \pm 353 ^{cd} |
| ABT-1D | 47.7 \pm 2.7 ^{abc} | 7,567 \pm 304 ^e |
| ABT-1E | 46.8 \pm 3.1 ^{abcd} | 8,054 \pm 226 ^{cd} |
| ABY-2D | 48.5 \pm 1.8 ^{ab} | 7,743 \pm 145 ^{de} |
| LH-100 | 48.0 \pm 2.7 ^{abc} | 7,912 \pm 203 ^{de} |
| MD88 | 43.8 \pm 1.2 ^{cd} | 8,814 \pm 73 ^a |
| TA61 | 49.6 \pm 0.7 ^{ab} | 7,562 \pm 147 ^e |
| B1 | 42.8 \pm 2.7 ^d | 8,490 \pm 189 ^{ab} |
| 37 | 47.8 \pm 5.2 ^{abc} | 8,046 \pm 540 ^{cd} |
| 12 | 46.1 \pm 1.8 ^{abcd} | 8,022 \pm 92 ^{cd} |
| LA | 45.2 \pm 0.9 ^{bcd} | 8,387 \pm 122 ^{abc} |
| BA | 43.5 \pm 1.0 ^{cd} | 8,671 \pm 33 ^a |
| SC | 46.4 \pm 0.6 ^{abcd} | 7,885 \pm 93 ^{de} |
| SD | 49.8 \pm 2.2 ^{ab} | 7,543 \pm 282 ^e |
| SH | 48.1 \pm 1.8 ^{abc} | 8,109 \pm 162 ^{bcd} |

Values are mean \pm SD of 20 replicates.

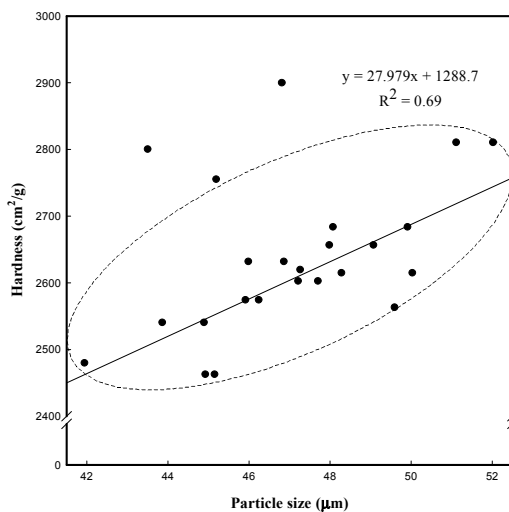


Fig. 37. Correlation between particle size and hardness of waxy rice steeped for 24 hour.

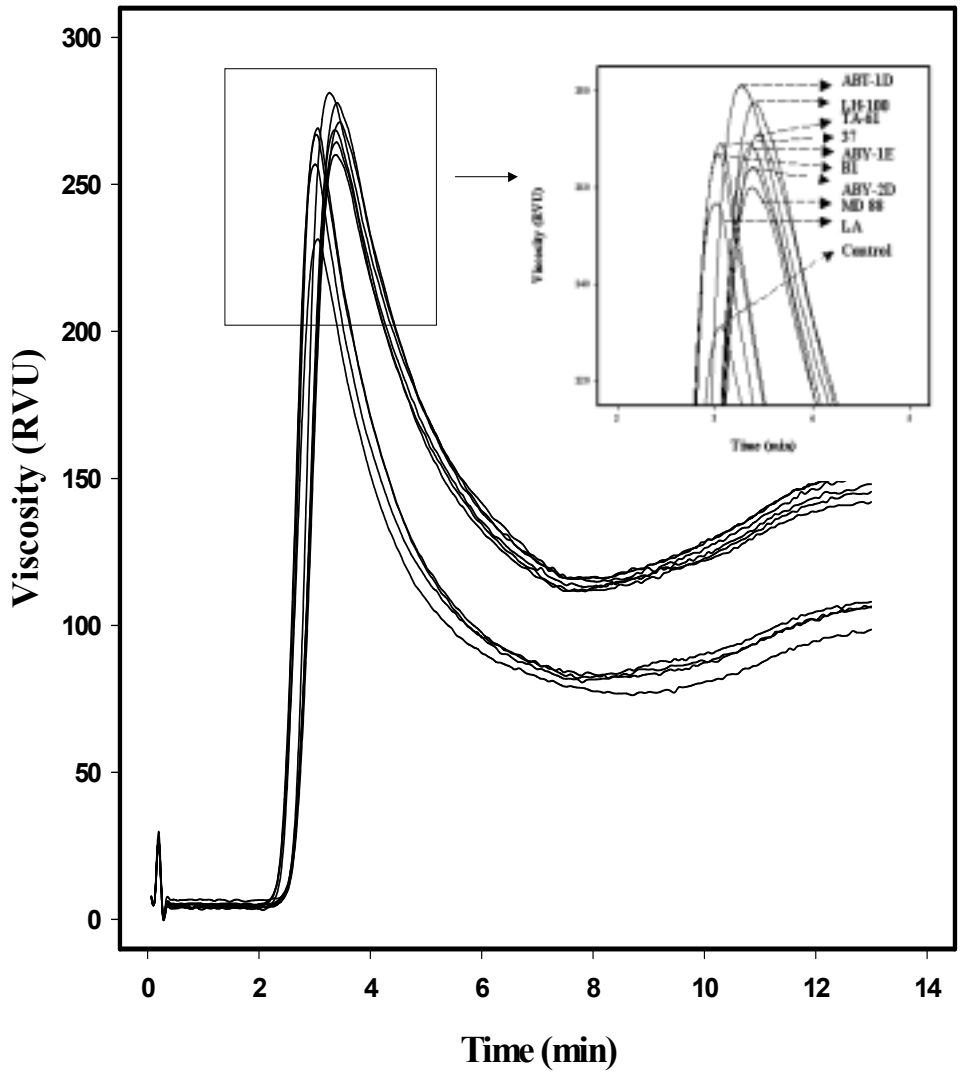


Fig. 38. Rapid Visco Analyser curves of stepped waxy rice treated with lactic acid bacterial starter.

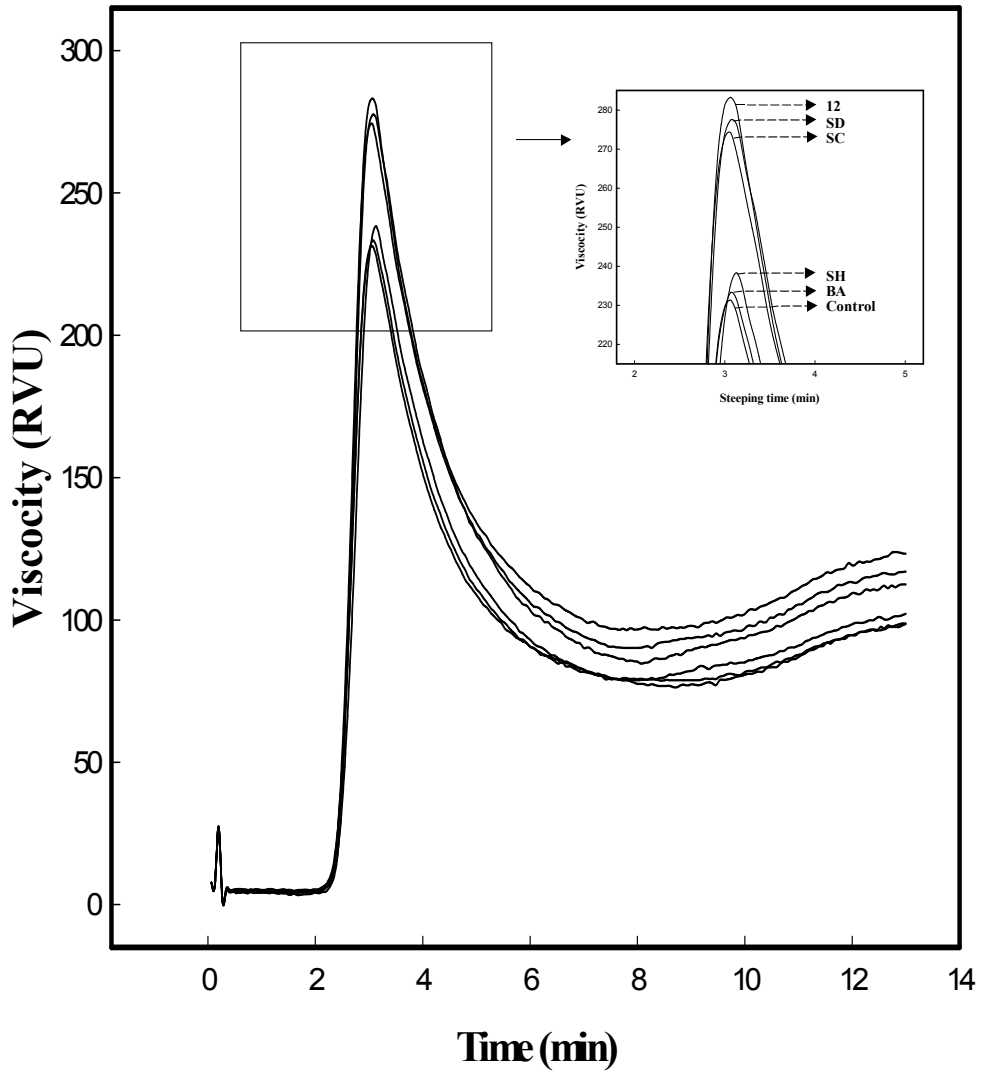


Fig. 39. Rapid Visco Analyser curves of stepped rice waxy treated with bacterial starter.

Table 56. Pasting characteristics of steeped waxy rice treated with different bacterial starter

| Bacterial starter | Peak viscosity | Trough | Break down | Final viscosity | Set back | Peak time | Pasting temperature |
|-------------------|----------------|--------|------------|-----------------|----------|-----------|---------------------|
| Control | 230.63 | 76.75 | 153.88 | 98.54 | 21.79 | 3.07 | 68.18 |
| ABT-1D | 281.17 | 115.67 | 165.50 | 151.88 | 36.21 | 3.27 | 69.53 |
| ABT-1E | 268.05 | 112.17 | 155.88 | 147.75 | 35.58 | 3.33 | 70.38 |
| ABY-2D | 265.71 | 113.05 | 152.67 | 147.00 | 33.96 | 3.40 | 70.40 |
| LH100 | 276.38 | 116.00 | 160.38 | 151.75 | 35.75 | 3.40 | 70.35 |
| MD088 | 258.59 | 111.04 | 147.54 | 141.17 | 30.13 | 3.37 | 70.33 |
| TA061 | 271.13 | 116.00 | 155.13 | 152.04 | 36.04 | 3.44 | 70.25 |
| B1 | 266.17 | 82.08 | 184.09 | 107.54 | 25.46 | 3.04 | 67.15 |
| 37 | 268.63 | 81.13 | 187.50 | 106.75 | 25.63 | 3.04 | 67.58 |
| LA | 257.96 | 81.84 | 176.13 | 106.00 | 24.17 | 3.00 | 67.18 |
| 12 | 283.00 | 95.50 | 187.50 | 122.17 | 26.67 | 3.04 | 67.63 |
| BA | 234.04 | 79.34 | 154.71 | 99.84 | 20.50 | 3.07 | 68.00 |
| SC | 275.59 | 90.17 | 185.42 | 116.63 | 26.46 | 3.04 | 67.25 |
| SD | 277.92 | 84.00 | 193.92 | 112.84 | 28.83 | 3.07 | 67.60 |
| SH | 239.88 | 78.83 | 161.04 | 101.88 | 23.04 | 3.13 | 67.98 |

Values are average of three replicates

4) 미생물 starter처리에 의한 유과의 품질특성 변화

미생물 스타터를 처리하여 제조한 유과바탕의 팽화율과 밀도를 측정한 결과는 Fig. 40 및 Table 57과 같다. 즉, 12번 균주를 처리하여 제조한 유과바탕의 팽화율이 2,779%로 가장 높았으며, 37번 균주를 처리한 유과바탕의 팽화율은 2,412%로 control에 비하여 팽화가 더 잘된 것으로 나타났다. 반면 B1 균주를 처리한 처리군의 팽화도는 2,071%로 가장 낮았으나 대조구와 유의적인 차이는 없었다. 예측했던 것처럼 밀도는 전반적으로 팽화도가 높을수록 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 없었다. 이는 팽화도가 높은 유과바탕의 무게가 유지를 많이 흡수하여 더 무거워지기 때문인 것으로 추측된다.

여러 가지 미생물 스타터로 처리한 찹쌀로 제조한 유과바탕의 경도를 살펴본 결과는 Table 58과 같다. 12번 균주를 처리한 유과바탕의 경도는 623.5 g/cm²로 가장 낮았으며, 37번 균주를 처리한 유과바탕의 경도는 721.3 g/cm²로 가장 높았으나 유의적인 차이는 나타나지는 않았다. 따라서 미생물 스타터를 이용하여 1일정도 침지함으로써 15일 침지한 유과바탕의 조직감을 낼 수 있었다. 기존 15일 침지한 찹쌀로 제조한 유과 보다 미생물 스타터를 이용하여 1일 침지한 유과바탕의 팽화도가 더 높았으며 조직감 또한 유사하게 나타난 미생물 스타터를 이용한 유과의 생산기간을 단축할 가능성이 높다고 사료된다.

미생물 스타터를 처리하여 생산한 유과바탕의 색도를 측정한 결과는 Table 59와 같다. L값(lightness)은 37번 균주 처리군이 83.19로 나타나 가장 밝은 것으로 나타났으며, 15일 침지 후 제조한 control과 B1균주 처리군, 12번균주 처리군이 각각 81.23, 81.91, 81.02로 유사하였다. 반면, a값(redness)은 *Saccharomyces cerevisiae*를 처리군이 0.07로 가장 높았으며, control이 -0.52로 가장 낮게 나타났다. b값(yellowness)은 12번 균주를 처리군이 9.76으로 가장 높았고 control, B1균주 처리군, 37번균주 처리군이 각각 8.53, 8.19, 8.76으로 유사하게 나타났다. ΔE값은 37번 균주 처리군이 26.99로 가장 높았으며 12번 균주처리군이 24.80으로 가장 낮게 나타났다.

미생물 스타터 처리군과 15일 침지하여 생산한 유과바탕의 향기특성을 aroma scan에 의해 분석한 결과는 Table 60 및 Fig. 41과 같다. 즉, aroma scan의 32개 센서의 시간에 따른 반응 profile을 얻어 이를 토대로 비교적 안

정한 상태를 이룬 90~130초 사이의 profile을 표준화하고 각 향기성분에 대한 aroma scan의 기계적인 mapping을 실시하여 총저항의 변화에 대한 각 센서의 저항의 변화 비율을 얻었다. 그런 다음, 주요성분분석(Principal Component Analysis; PCA)을 실시하여 Fig. 41과 같은 2차원 그래프를 얻었다. 2차원 그래프의 분석은 그래프상의 거리와 방향의 근접성에 따라 시료의 향기 차이를 판단하는 것으로 같은 방향과 가까운 거리에 있는 점들은 서로 유사한 향기를 가지고 있고 반대로 서로 다른 방향과 멀리 떨어져 있는 점들은 유사성이 없는 향기로 판단한다⁵⁷⁾. 또한 mapping에 의해 구분된 집단간의 차이를 정량화 하기 위하여 Mahalanobis distance를 사용하여 Table 60과 같이 품질특성값(quality factor)을 계산하였다. 품질특성값은 시료간의 향기차이가 있는지를 판단하는 기준으로서 그 값이 2이상일 때 시료간 향기 패턴의 차이가 있다고 판단한다⁵⁷⁾. 그 결과 B1 균주처리군은 control 그리고 *Saccharomyces cerevisiae* 처리군과 향기패턴의 차이가 있는 것으로 나타났으며, control, 37번, 12번, *Saccharomyces cerevisiae* 처리군 사이에는 향기패턴의 차이가 없는 것으로 나타났다.

미생물 스타터를 처리한 유과바탕의 냄새(oder), 외관(appearance), 향미(flavor), 조직감(texture)의 항목에 대하여 관능검사를 실시한 결과는 Fig. 42 및 43과 같다. 냄새 특성 중 유과 고유의 냄새(original fresh *Yukwa* aroma)는 control이 11.3으로 약간 강하다고 평가되어 미생물 스타터 처리군보다 유의적으로 강하였으며, B1균주 처리군은 7.1로 가장 약한 것으로 평가되었다. 또한 신선한 기름 냄새(oily aroma)의 경우 역시 control이 9.9로 값으로 약간 강하다(slightly high)로 평가되었고 12번 균주 처리군은 9.4로 control과 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 외관의 특성 중 색의 균일성(color uniformity)은 B1 시료군이 10.9로 색의 균일성이 가장 높게 평가되었으며, *Saccharomyces cerevisiae* 처리군과 12번 균주 처리군이 각각 9.88과 9.31로 B1과 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한, 거친 정도(surface roughness)의 경우 B1균주 처리군이 8.0으로 가장 낮게 평가되었으며 나머지 처리군에서는 유의적인 차이가 없었다. 팽화도(expansion)는 12번 균주 처리군이 11.6으로 강함(moderately high)에 가깝게 평가되어 팽화도가 큰 것으로 평가되었다. 나머지 실험군 중 37번 균주 처리군과 *Saccharomyces cerevisiae* 처리군이 각각 11.1과 10.0으로 12번 균주 처리군과 유의적인 차이가 없었으며, control이 8.3로 팽화도가 가장 작은 것으로 평가되었다. 향미

특성 중 유과 고유의 맛(original *Yukwa* flavor)은 control이 11.9로 가장 강한 것으로 평가되었으며, 37번 균주 처리군, B1균주 처리군, 12번 균주 처리군 그리고 *Saccharomyces cerevisiae* 처리군은 각각 7.6, 6.8, 6.7 그리고 6.3으로 control에 비하여 유의적으로 약하게 평가되었다. 기름진 맛(oily flavor)의 경우, 이 중 12번 균주 처리군이 11.6으로 가장 강하게 평가되었으나 모든 처리군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 조직감의 특성 중 유과바탕의 경도는 control 시료군이 9.7로 약간 강함(slightly high)으로 모든 처리군 중 가장 단단한 것으로 평가되었고, 12번 균주 처리군이 6.4로 약간 약하다(slightly low)로 평가되어 가장 부드러운 것으로 평가되었다. 또한, 바삭바삭한 정도(crispness)와 부착성(adhesiveness) 역시 유과바탕의 경도 결과와 마찬가지로 control이 11.1과 12.1로 모든 처리군 중 가장 강하게 평가되었으며, 12번 처리군이 5.7과 8.8로 가장 약하게 평가되었다. 씹은 후 느낌(fellings in the mouth after swallow)는 12번 균주 처리군이 9.1로 가장 강하게 평가되었고, 37번 균주 처리군이 7.3으로 가장 약하게 평가되었으나 모든 실험군에서 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

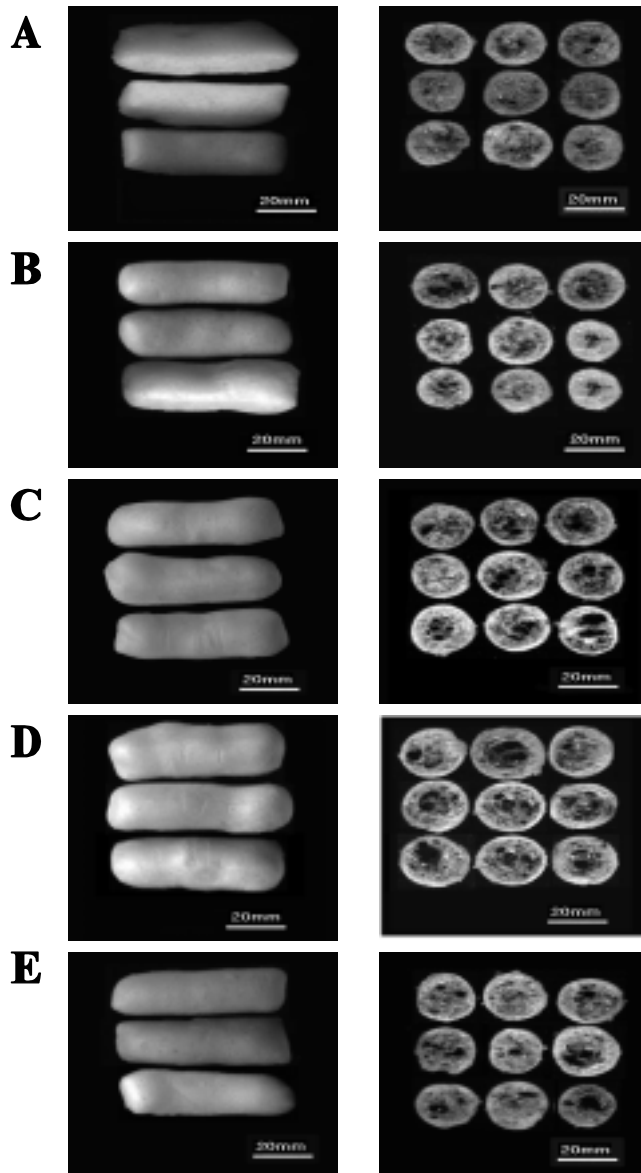


Fig. 40. Whole and cross-section *Yukwa* made from steeped waxy rice treated with bacterial starter(A-E, respectively).

A: Control(during steeped 15day), B: treated B1 strain, C: treated 37 strain, D: treated 12 strain, E: treated SC strain. (during steeped 24hour, B-E)

Table 57. Expansion parameter and density of *Yukwa* base made from steeped waxy rice treated with bacterial starter

| Treatment | Weight (g) | Volume (mm ³) | Expansion ratio (%) | Density (g/cm ³) |
|-----------|--------------------|---------------------------|---------------------|------------------------------|
| Control* | 1.68 ^c | 25,016 ^c | 2,166 ^c | 0.069 ^a |
| B1 | 1.69 ^c | 23,966 ^c | 2,071 ^c | 0.072 ^a |
| 37 | 1.88 ^b | 27,729 ^b | 2,412 ^b | 0.069 ^a |
| 12 | 2.09 ^a | 31,784 ^a | 2,779 ^a | 0.066 ^a |
| SC | 1.71 ^{bc} | 26,023 ^{bc} | 2,257 ^{bc} | 0.067 ^a |

* *Yukwa* made from waxy rice steeped for 15day.

Each values is the average of 20 replicates.

Values followed by the same column are not signification different(P<0.05).

Expeption ratio(%) =([A × D] - V) / V × 100, where A = cross-sectional area, D= length(longitudinal cut), and V = volume of *bandegi*.

Table 58. Textural properties of *Yukwa* base made from steeped waxy rice treated with bacterial starter

| Treatment | Hardness (g/cm ²) |
|-----------|-------------------------------|
| Control | 654.4 ± 138.3 ^a |
| B1 | 702.7 ± 212.6 ^a |
| 37 | 721.3 ± 162.4 ^a |
| 12 | 623.5 ± 122.9 ^a |
| SC | 698.7 ± 155.2 ^a |

Values are mean ± SD of 20 replicates

Table 59. Color properties of *Yukwa* base made from steeped waxy rice treated with bacterial starter

| Treatment | Hunter value | | | |
|-----------|---------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| | L | a | b | ΔE^* |
| Control | 81.23 ^c | -0.52 ^d | 8.53 ^{bc} | 25.32 ^{bc} |
| B1 | 81.91 ^{bc} | -0.43 ^c | 8.19 ^c | 25.95 ^{abc} |
| 37 | 83.19 ^a | -0.22 ^b | 8.76 ^{bc} | 26.99 ^a |
| 12 | 81.02 ^c | 0.02 ^a | 9.76 ^a | 24.80 ^c |
| SC | 82.74 ^{ab} | 0.07 ^a | 9.13 ^{ab} | 26.42 ^{ab} |

Values are average of three replicates.

$$* \Delta E = \sqrt{(L - L')^2 + (a - a')^2 + (b - b')^2}$$

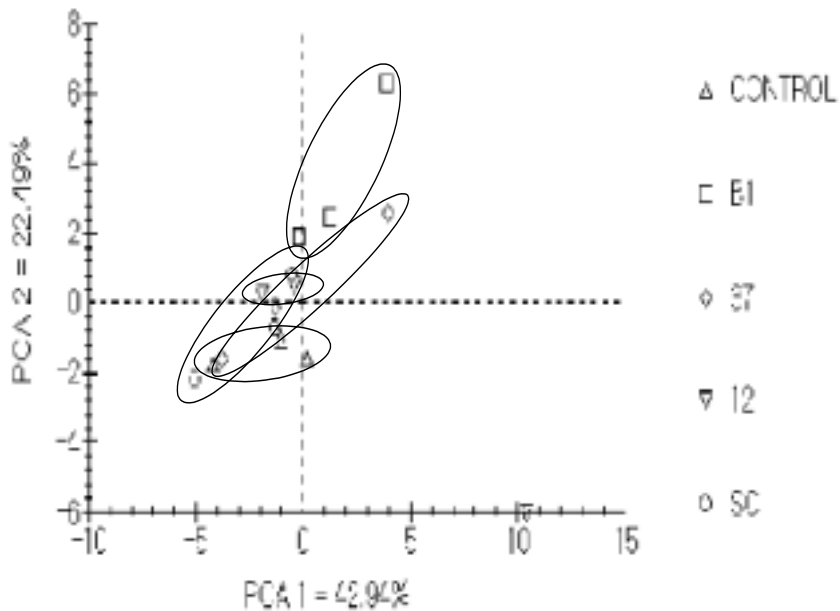


Fig. 41. Volatile flavor analysis of *Yukwa* base made from steeped waxy rice treated with bacterial starter by aroma scan.

Table 60. Quality factor for normalized patterns of *Yukwa* base made from steeped waxy rice treated with bacterial starter

| Sample | Quality factor |
|--------------|----------------|
| Control : B1 | 2.852 |
| Control : 37 | 0.988 |
| Control : 12 | 1.197 |
| Control : SC | 0.302 |
| B1 : 37 | 1.071 |
| B1 : 12 | 1.044 |
| B1 : SC | 2.692 |
| 37 : 12 | 0.593 |
| 37 : SC | 0.887 |
| 12 : SC | 1.232 |

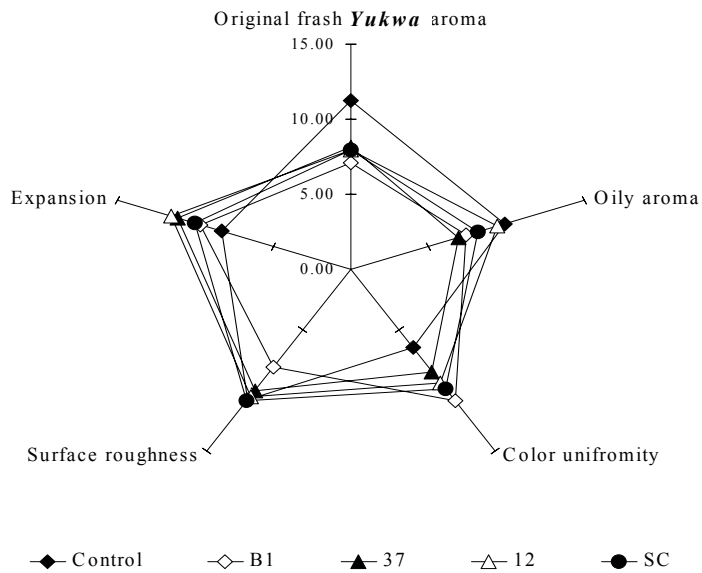


Fig. 42. Sensory evaluation on odor and appearance of *Yukwa* base made from steeped waxy rice treated with bacterial starter.

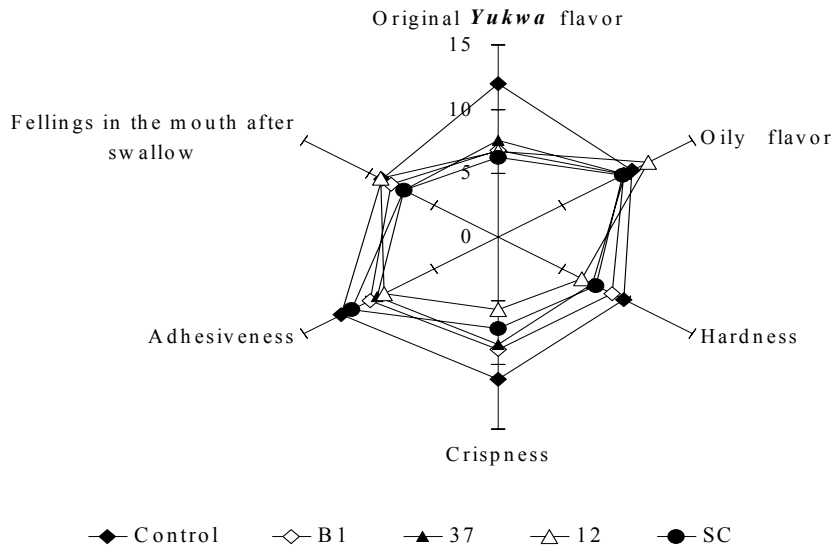


Fig. 43. Sensory evaluation on flavor and texture of *Yukwa* base made from steeped waxy rice treated with bacterial starter.

6. 효소 및 미생물 starter의 활용도 조사

1) 효소 및 미생물 starter의 처리조건 검토

전술한 결과에서 나타낸 바와 같이 효소나 미생물 starter처리를 위한 전처리 조건으로 찹쌀의 도정율과 산 처리의 실시를 검토하였다(Table 37~38, Table 48~52, Fig. 30). 그 결과를 요약하면, 찹쌀의 도정도가 증가할수록 유과바탕의 팽화 특성치와 관능 특성치가 15일 침지한 찹쌀로 제조한 유과의 품질 특성에 근접해지는 것을 알 수 있었다. 이는 팽화 및 제품의 색과 부의 상관성을 보이는 단백질이나 무기질 등 여러 성분들이 찹쌀 곡립의 외부에 존재하기 때문에 도정에 의해 이들 성분이 제거되고 상대적으로 전분의 정제도가 높아졌기 때문으로 보인다. 반면, 산 처리의 경우, 경도를 비롯한 일부 품질 특성치 상에서 바람직한 효과를 나타냈지만 최종 유과제품에 산미가 남는 것이 문제점으로 지적되었다. 이에 본 연구에서는 찹쌀의 도정율을 조정하여 효소 및 미생물 starter 처리를 실시한다면 상승효과를 얻을 수 있을 것으로 판단되었다. 한편, 도정율별 유과의 품질특성을 살펴본 결과에서는 도정율이 높을수록 바람직한 효과를 나타내었지만 경제적인 측면을 고려하여 20% 도정한 찹쌀을 사용하였다.

효소 처리를 위한 이화학적 특성치를 살펴본 결과(Table 34, Fig. 28)에서 효소 처리전에 찹쌀을 1시간 침지한 처리구보다 24시간 침지처리구가 우수한 것으로 나타났다. 한편, 미생물 starter의 처리시간은 미생물의 수, pH, 적정산도, 환원당 함량 결과를 고려하면 적어도 24시간은 요구되는 것으로 보였다. 이에 본 연구에서는 20% 도정 찹쌀에 미생물 starter를 균주에 따라 0.1~0.01% 접종한 다음 23시간 후에 선별된 효소를 첨가한 후 추가적으로 1시간 더 배양하는 조건을 설정하였다.

2) 효소 및 미생물 처리에 의한 화학적 특성 변화

찰쌀의 침지과정 중 효소와 미생물 starter를 복합적으로 처리시 찰쌀 침지물의 pH, 적정산도 및 침지액의 환원당 함량의 변화를 살펴보았다. 그 결과 pH는 12번 균주와 CH 효소 처리군이 4.82~5.53으로 효소만 처리한 실험군의 4.08~4.84 보다 높은 것으로 나타났다. 적정산도는 12번 균주와 CH 효소 처리군이 0.056~0.199로 효소만 처리한 실험군의 0.166~0.355 보다 낮은 것으로 나타났다. 또한 침지액의 환원당 함량은 10% 도정찰쌀 보다 20% 도정찰쌀을 사용하여 실험한 처리구가 높게 나타났다(Table 61).

Table 61. Change in pH, titratable acidity and reducing sugar in steeped waxy rice slurry treated with bacterial starter and enzyme

| Polishing degrees (%) | Microbiology(12) (%) | Enzyme(CH) (unit/ml) | pH | Titratable acidity (%) | Reduced Sugar (%) |
|-----------------------|----------------------|----------------------|------|------------------------|-------------------|
| 10 | 0.0 | 0 | 5.08 | 0.140 | 0.181 |
| | | 1 | 4.20 | 0.250 | 0.263 |
| | | 10 | 4.08 | 0.295 | 0.227 |
| | | 100 | 4.16 | 0.355 | 0.367 |
| | 0.1 | 0 | 5.83 | 0.117 | 0.445 |
| | | 1 | 5.32 | 0.117 | 0.042 |
| | | 10 | 5.08 | 0.145 | 0.845 |
| | | 100 | 4.82 | 0.199 | 1.021 |
| 20 | 0.0 | 0 | 4.95 | 0.165 | 1.612 |
| | | 1 | 4.81 | 0.166 | 1.772 |
| | | 10 | 4.84 | 0.174 | 1.723 |
| | | 100 | 4.75 | 0.187 | 2.846 |
| | 0.1 | 0 | 5.48 | 0.056 | 1.939 |
| | | 1 | 5.53 | 0.077 | 0.560 |
| | | 10 | 5.22 | 0.068 | 1.874 |
| | | 100 | 5.21 | 0.085 | 2.687 |

3) 효소 및 미생물 처리에 의한 물리적 특성 변화

도정도를 달리한 찹쌀의 침지과정 중 효소, 미생물 starter 또는 이들의 복합처리에 따른 찹쌀의 경도 변화를 살펴본 결과는 Table 62와 같다. 10% 도정한 찹쌀의 경도는 $2,615 \text{ g/cm}^2$ 로 20% 도정한 찹쌀의 $2,550 \text{ g/cm}^2$ 보다 약간 높게 나타났다. 10%와 20% 도정한 찹쌀을 12번 균주를 이용하여 침지하였을 때 찹쌀의 경도는 $2,326 \text{ g/cm}^2$ 과 $2,036 \text{ g/cm}^2$ 으로 미생물 starter를 사용하지 않았을 경우보다 경도가 낮아졌으며 도정도별로는 미생물 starter를 사용하지 않았을 때와 유사한 경향을 나타내었다. 20% 도정한 찹쌀을 원료로 하여 침지시 12번 균주와 CH 100 unit/ml 처리군은 $1,235 \text{ g/cm}^2$ 의 경도를 나타내어 처리군 중 가장 낮았다. 반면, 효소나 미생물 starter를 처리하지 않고 10% 도정한 찹쌀을 침지한 찹쌀의 경도는 $2,615 \text{ g/cm}^2$ 로 가장 낮았다.

선정된 효소와 미생물 starter를 이용하여 찹쌀을 침지하였을 때 신속점도계(RVA)를 이용하여 호화양상의 변화를 살펴본 결과는 Fig. 44와 같다. Peak viscosity는 침지액으로부터 분리한 12번 균주와 선발된 CH 효소를 1 unit/ml으로 함께 처리하였을 때, 284.75 RVU로 가장 높게 나타났다. 다음으로 12번 균주 처리구와 12번균주와 CH 10 unit/ml을 동시에 처리한 것이 각각 270.96 RVU와 270.33 RVU로 유사한 수준이었다. 12번 균주와 CH 100 unit/ml 처리구는 264.75 RVU를 나타내었고, 24시간동안 침지한 대조구는 250.92 RVU로 가장 낮은 수치를 나타내었다. Final viscosity는 침지액으로부터 분리한 12번 균주와 선발된 CH 효소 1unit/ml을 함께 처리하였을 때 145.59 RVU로 가장 높게 나타났으며, 12번 균주 처리구와 12번균주 및 CH 10 unit/ml을 동시에 처리한 것이 각각 145.30 RVU와 139.58 RVU이었다. 12번 균주와 CH 100 unit/ml 처리군은 142.21 RVU를 나타내었고, 24시간동안 침지한 대조구는 135.38 RVU로 가장 낮은 수치를 나타내었다. 또한 breakdown, setback 등 다른 호화 특성치도 peak viscosity나 final viscosity와 같은 경향이였다.

Table 62. Hardness of steeped waxy rice treated with bacterial starter and enzyme

| Polishing degrees (%) | Microbiology(12) (%) | Enzyme(CH) (unit/ml) | Hardness (g/cm ²) |
|-----------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------|
| 10 | 0.0 | 0 | 2,615 ± 262 |
| | | 1 | 2,561 ± 203 |
| | | 10 | 2,462 ± 284 |
| | | 100 | 2,085 ± 203 |
| | 0.1 | 0 | 2,326 ± 309 |
| | | 1 | 2,256 ± 284 |
| | | 10 | 2,195 ± 310 |
| | | 100 | 1,855 ± 332 |
| 20 | 0.0 | 0 | 2,550 ± 181 |
| | | 1 | 2,281 ± 380 |
| | | 10 | 2,255 ± 297 |
| | | 100 | 2,116 ± 246 |
| | 0.1 | 0 | 2,036 ± 408 |
| | | 1 | 1,981 ± 289 |
| | | 10 | 1,849 ± 425 |
| | | 100 | 1,235 ± 352 |

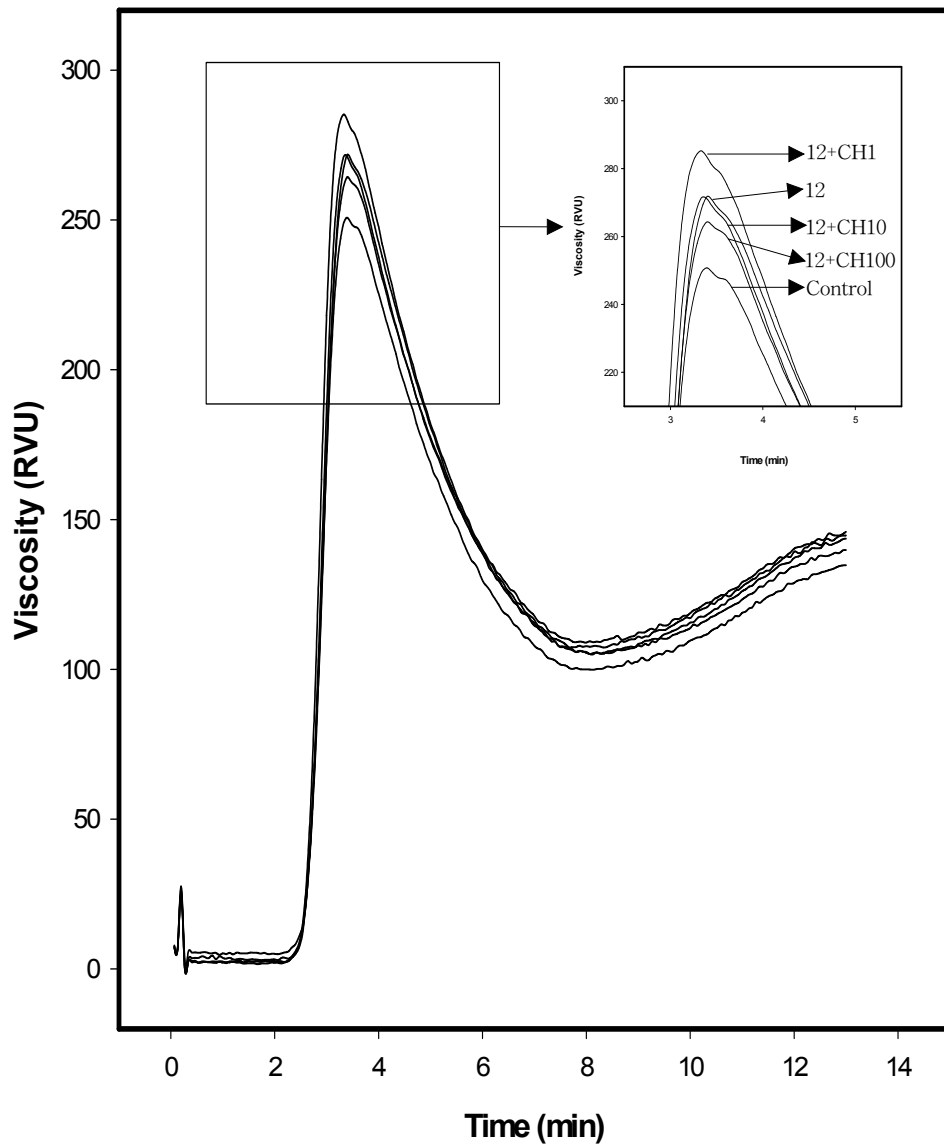


Fig. 44. Rapid Visco Analyser curves of steeped waxy rice treated with bacterial starter and enzyme.

4) 효소 및 미생물 starter 처리에 의한 유과의 품질특성 변화

도정율을 달리한 찹쌀에 12번 균주와 CH 10 unit/ml을 처리한 찹쌀로 유과를 제조한 다음 유과의관과 팽화 특성치를 살펴본 결과를 Fig. 45와 Table 63에 나타내었다. 또한 유과를 제조할 때, 일반적으로 유과제조에 사용하는 술, 대두 등 부재료의 첨가효과도 동시에 살펴보았다. 그 결과, 20% 도정한 찹쌀을 원료로 하여 12번 균주와 CH 효소를 10 unit/ml 처리하고 유과 제조시 부재료를 첨가하여 제조한 유과바탕(M20+12+CH10+additives)의 팽화율이 가장 크게 나타났다. 부재료의 첨가 유무에 따른 팽화율을 살펴볼 때, 대조구의 경우 부재료를 첨가하지 않고 제조한 유과바탕(control)의 팽화율이 1,587%로 부재료를 첨가하여 제조한 유과바탕(control+additives)의 팽화율인 1,777%보다 적었다.

도정율, 효소처리, 미생물 starter를 복합적으로 처리함에 의해 제조된 유과바탕의 색도를 측정된 결과는 Table 64와 같다. L값(lightness)은 20% 도정한 찹쌀을 12번 균주와 CH 효소 10 unit/ml를 처리한 후 유과 제조시 부재료를 첨가하여 제조한 유과바탕(M20+12+CH10+additives)이 87.94로 가장 높게 나타났다. 전반적으로 L값은 도정율이 증가할수록 증가하는 경향이 있었다. 또한 부재료를 첨가하여 제조한 유과의 L값이 더 높았으나 유의적인 차이는 없었다.

찹쌀의 도정도, 효소, 미생물 starter 등 복합 처리에 의하여 제조된 유과바탕의 경도를 살펴본 결과는 Fig. 46과 같다. 20% 도정한 찹쌀을 12번 균주와 CH 효소 10 unit/ml를 처리한 후 유과제조시 부재료를 첨가하여 생산된 유과바탕(M20+12+CH10+additives)의 경도가 901.61 g/cm²로 가장 낮았다. 또한 부재료를 첨가하여 제조한 유과바탕은 부재료를 첨가하지 않은 유과바탕에 비하여 경도가 낮게 나타났다(p<0.05).

찹쌀의 도정도, 미생물 starter, 효소 등의 복합처리와 유과 제조시 부재료의 첨가 유무가 유과바탕의 향기성분에 미치는 영향을 살펴보고자 aroma scan에 의해 향기 분석을 실시하였다. 그 결과는 Table 65 및 Fig. 47에 나타난 바와 같다. 유과바탕 제조시 부재료를 첨가하여 제조한 시험구와 첨가하지 않은 시험구 간의 품질특성값(quality factor)은 2이상의 차이를 보여 시료 간 향기성분의 차이가 있는 것으로 나타났다. 반면, 유과바탕에 있어서 도정

율이 달라짐에 따라 향미특성의 차이는 관찰되지 않았다.

유과의 주원료인 찹쌀의 침지기간동안 효소 및 미생물 starter의 처리가 유과의 저장성에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 찹쌀의 도정도, 효소, 미생물 starter 등 복합 처리를 한 찹쌀로 제조한 유과바탕을 저장하면서 산가 및 과산화물가의 변화를 측정된 결과는 Fig. 48과 같다. 유과시료는 PP 재질(T=30 μ m)의 포장용기에 포장하여 37 $^{\circ}$ C 항온기에 저장하였다. 산가(AV)는 저장 0주째 0.24~0.25였으나 저장 2주째 0.24~0.28로 약간 상승하였으며, 처리구 간의 차이는 나타나지 않았다. 과산화물가(POV)는 0주째 14.9~15.2였으나 저장 2주째에 53.0~58.8로 빠르게 증가하였다. 저장 2주째에는 12번 균주 처리구의 과산화물가가 타 처리구와 비교하여 약간 높은 것으로 나타났는데, 이는 12번 균주 처리구의 팽화정도가 다른 처리구 보다 높은데서 기인된 차이라고 사료된다.

찹쌀의 도정도, 미생물 starter, 효소 등의 복합처리와 유과 제조시 부재료의 첨가 유무가 유과바탕의 관능 특성에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다. 평가는 BIBD(balanced incompleted block design)를 이용하여 6가지의 시료를 한번에 3가지씩 제시한 후 15점 척도를 사용하여 5회 반복 실시하였다. 그 결과는 Table 66에 나타난 바와 같다. 즉, 냄새의 특성 중 유과 고유의 냄새(sour aroma)는 대조군 II가 11.40의 값으로 시료군 중 유의적으로 가장 강하게 평가되었다. 미생물 starter와 효소 처리구에서 부재료 첨가에 따른 차이는 없었다. 한편, M10+12+CH10, M20+12+CH10, 대조군 I의 세 시료군 비교에서 각각 8.00, 8.30, 9.30으로 서로 유의적인 차이가 없었다. 신선한 기름 냄새(oily aroma)의 경우 시료군 사이에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 외관의 특성의 중 색의 균일성(color uniformity) 역시 시료군 사이에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 거친정도(surface roughness)의 경우 M10+12+CH10+additives이 13.30으로 시료군 중 거친정도가 가장 높은 것으로 평가되었고, M20+12+CH10+additives 시료군이 7.40으로 거친정도가 가장 낮게 평가되었다. 팽화정도(expansion)는 M20+12+CH10+additives 시료군이 13.00의 값으로 시료군 중 팽화정도가 유의적으로 가장 높게 평가되었고, M10+12+CH10+additives이 3.50으로 가장 낮게 평가되었다. 대조군 I 과 대조군 II는 9.70과 11.80으로 시료간의 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 향미의 특성 중 유과 고유의 맛(original *Yukwa* flavor)은 시료군 사이에 유의적

인 차이를 나타내지 않았다.

조직감의 특성 중 단단한 정도(hardness)의 경우 대조군 I 과 M10+12+CH10+additives가 각각 11.30과 12.30으로 시료군 중 단단한 정도가 가장 높게 평가되었다. 바삭한 정도(crispness)의 경우 M20+12+CH10, M20+12+CH10+additives, 대조군 II가 각각 11.20, 10.70, 10.30으로 시료군 중 바삭한 정도가 유의적으로 가장 높게 평가되었고, M10+12+CH10+additives가 6.70으로 시료군 중 유의적으로 가장 낮게 평가되었다. 부착성(adhesiveness)의 경우 M20+12+CH10, M10+12+CH10, M20+12+CH10+additives는 각각 11.20, 10.30, 10.10으로 시료군 중 부착성이 유의적으로 가장 높게 평가되었으며, M10+12+CH10+additives가 7.20으로 시료군 중 유의적으로 가장 낮게 평가되었다. 씹은 후 느낌(feelings in mouth after swallow)은 시료군 사이에 유의적인 차이가 없었다.

유과제조시 찹쌀의 도정, 미생물 starter 및 효소처리가 유과의 기호도에 미치는 영향을 조사하고자 30명을 대상으로 기호도 조사를 실시하였다. 그 결과는 Table 67에 나타내었다. 외관(appearance)의 기호도는 대조군 I 이 7.23으로 유의적으로 기호도가 높게 평가되었으나 M10+12+CH10 시료군과는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 조직감(texture)의 기호도는 모든 시료군이 6.23에서 6.73의 범위로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한 전반적인 기호도에 있어서도 대상 시료들 간에 유의적인 차이가 없었다.

Table 63. Expansion parameters of *Yukwa* base made from steeped waxy rice treated with bacterial starter and enzyme

| Experimental group | Cross sectional area (mm ²) | Cross sectional long length | Cross sectional short length | Cross sectional circumference | <i>Yukwa</i> long length | <i>Yukwa</i> short length | <i>Yukwa</i> area (mm ²) | <i>Yukwa</i> volume (mm ³) | Expansion ratio(%) |
|------------------------|---|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------------------|--|---------------------|
| M10+12+CH10 | 326.2 ^b | 19.2 ^{bc} | 17.3 ^b | 67.4 ^b | 55.5 ^{ab} | 20.0 ^b | 1,194 ^c | 18,112 ^{cd} | 1,541 ^{cd} |
| M20+12+CH10 | 323.1 ^b | 19.3 ^b | 16.7 ^b | 68.6 ^b | 52.2 ^c | 19.8 ^b | 1,131 ^{de} | 16,845 ^d | 1,426 ^d |
| Control | 345.0 ^b | 19.6 ^b | 18.3 ^a | 70.1 ^b | 54.0 ^b | 19.3 ^b | 1,153 ^{cd} | 18,617 ^c | 1,587 ^c |
| M10+12+CH10 +additives | 287.5 ^c | 18.3 ^c | 15.3 ^c | 64.8 ^c | 51.8 ^c | 18.3 ^c | 1,080 ^e | 14,864 ^e | 1,247 ^e |
| M20+12+CH10 +additives | 399.2 ^a | 21.8 ^a | 19.2 ^a | 75.3 ^a | 56.9 ^a | 21.6 ^a | 1,325 ^a | 22,673 ^a | 1,954 ^a |
| Control +additives | 378.7 ^a | 21.0 ^a | 18.8 ^a | 73.6 ^a | 54.8 ^b | 20.9 ^a | 1,253 ^b | 20,718 ^b | 1,777 ^b |

Means with the same letter are not significantly different(P<0.05, n=9).

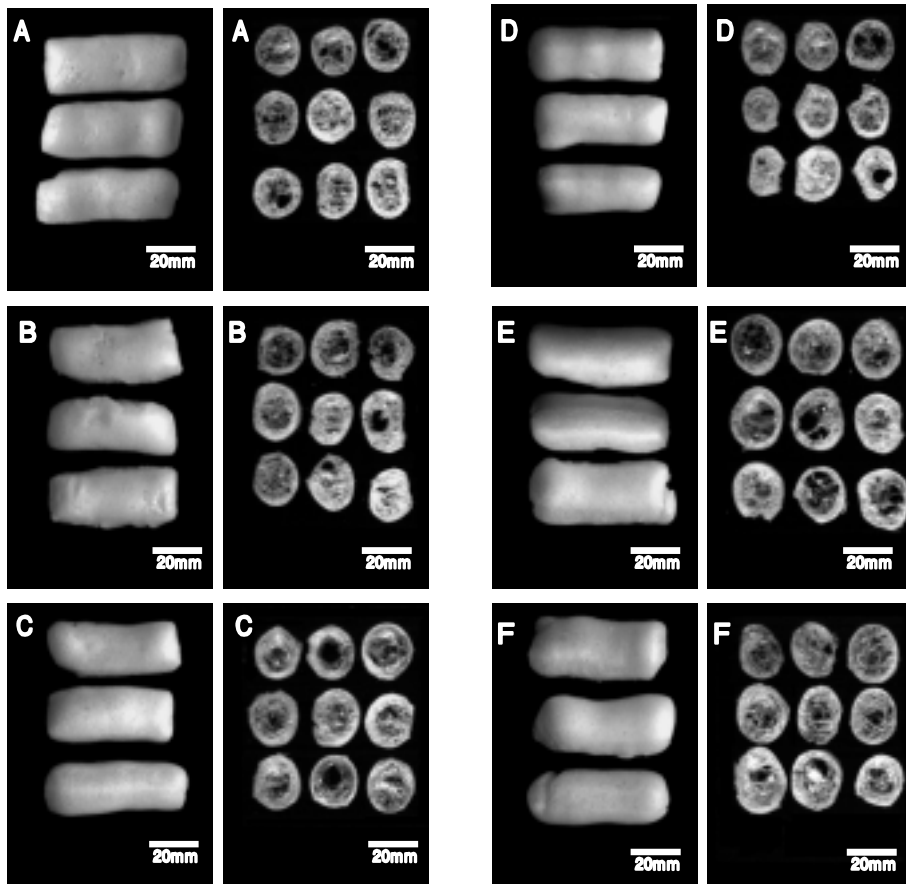


Fig. 45. Whole and cross-section *Yukwa* made from waxy rice treated with bacterial starter and enzyme.

A: M10+12+CH10, B: M20+12+CH10, C: Control (steeped waxy rice during 15 days), D: M10+12+CH10+additives, E: M20+12+CH10+additives, F: Control+additives

Table 64. Comparative effects of treatment with bacterial starter and enzyme on color properties of *Yukwa* base

| Treatment | Hunter's value | | | |
|-----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| | L | a | b | ΔE |
| M10+12+CH10 | 85.05 ^{bc} | -0.50 ^b | 8.99 ^a | 25.96 ^{ab} |
| M20+12+CH10 | 86.23 ^{ab} | -0.51 ^b | 8.20 ^{ab} | 25.86 ^{ab} |
| Control | 83.36 ^c | -0.46 ^b | 7.30 ^b | 24.04 ^b |
| M10+12+CH10+additives | 85.20 ^{bc} | -0.33 ^a | 9.18 ^a | 24.69 ^b |
| M20+12+CH10+additives | 87.94 ^a | -0.49 ^b | 8.94 ^a | 27.16 ^a |
| Control+additives | 85.14 ^{bc} | -0.34 ^a | 6.87 ^b | 25.55 ^{ab} |

Means with the same letter are not significantly different ($P < 0.05$).

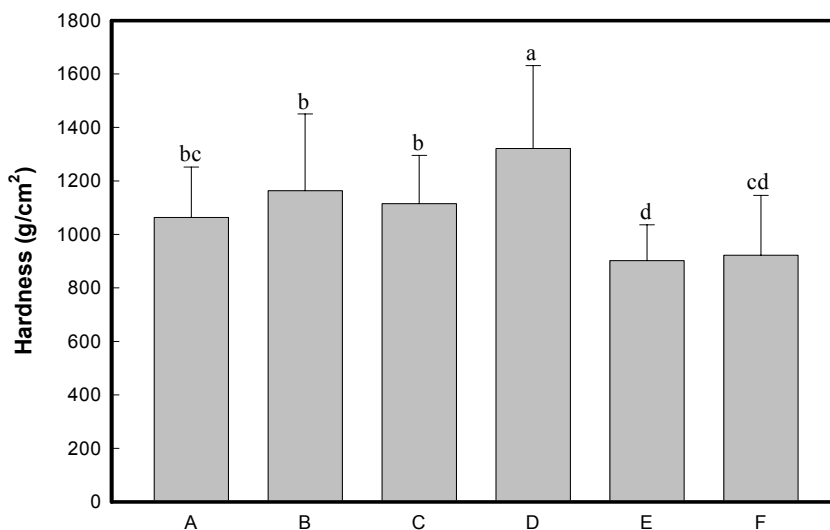


Fig. 46. Comparative effects of treatment with bacterial starter and enzyme on mechanical hardness of *Yukwa* base.

A: M10+12+CH10, B: M20+12+CH10, C: Control (steeped waxy rice during 15 days), D: M10+12+CH10+additives, E: M20+12+CH10+additives, F: Control (steeped waxy rice during 15 days)+additives. Means with the same letter are not significantly different ($P < 0.05$).

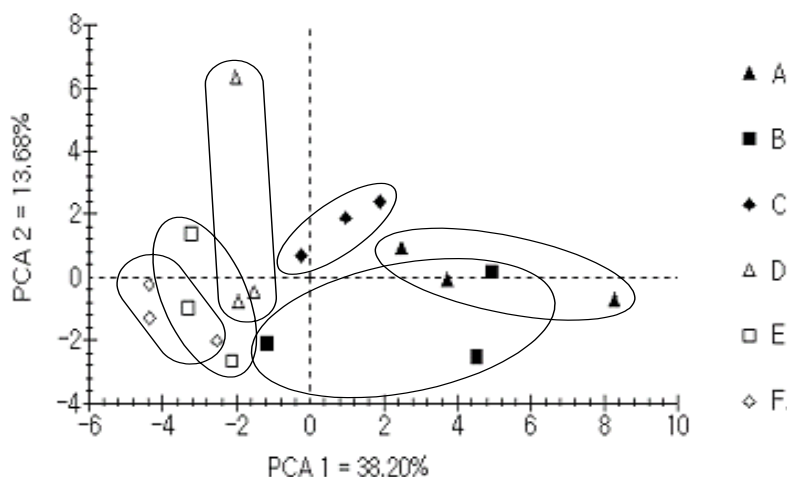


Fig. 47. Volatile flavor analysis of *Yukwa* base made from steeped waxy rice treated with bacterial starter and enzyme by aroma scan.

A: M10+12+CH10, B: M20+12+CH10, C: Control(steeped waxy rice during 15 days), D: M10+12+CH10+additives, E: M20+12+CH10+additives, F: Control(steeped waxy rice during 15 days)+additives.

Table 65. Quality factor for normalized patterns of *Yukwa* base analyzed

| Sample | Quality factor |
|--------|----------------|
| A : B | 0.753 |
| A : C | 2.045 |
| A : D | 1.927 |
| A : E | 3.002 |
| A : F | 4.154 |
| B : C | 1.615 |
| B : D | 1.446 |
| B : E | 2.029 |
| B : F | 2.874 |
| C : D | 1.145 |
| C : E | 2.605 |
| C : F | 3.923 |
| D : E | 0.916 |
| D : F | 1.474 |
| E : F | 0.563 |

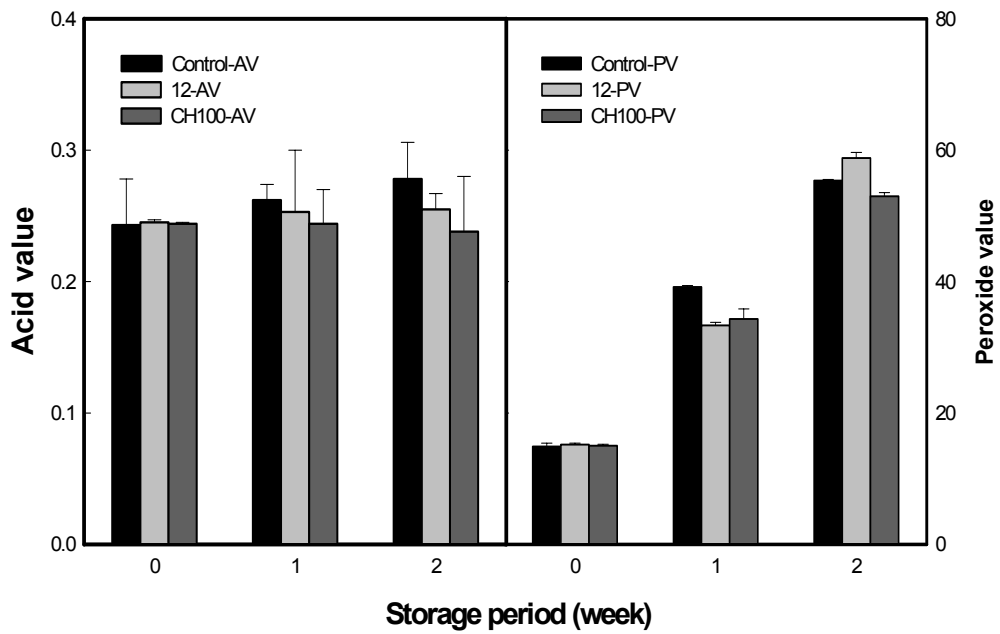


Fig. 48. Changes in acid value and peroxide values of *Yukwa* prepared from waxy rice treated with bacterial starter or enzyme during storage at 37°C.

Table 66. Sensory properties of *Yukwa* base made from waxy rice treated with bacterial starter or enzyme

| Sensory attribute | Sample name | | | | | |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | A | B | C | D | E | F |
| Original fresh <i>Yukwa</i> aroma (sour aroma) | 8.00 ^b | 8.30 ^b | 9.30 ^{ab} | 7.50 ^b | 10.10 ^{ab} | 11.40 ^a |
| Oily aroma | 9.60 ^a | 7.30 ^a | 7.90 ^a | 7.40 ^a | 7.90 ^a | 8.90 ^a |
| Color uniformity | 10.60 ^a | 11.00 ^a | 11.10 ^a | 9.70 ^a | 9.60 ^a | 10.00 ^a |
| Surface roughness | 10.20 ^{bc} | 11.20 ^{ab} | 10.10 ^{bc} | 13.30 ^a | 7.40 ^c | 8.90 ^{bc} |
| Expansion | 8.70 ^c | 9.00 ^c | 9.70 ^{bc} | 3.50 ^d | 13.00 ^a | 11.80 ^{ab} |
| Original <i>Yukwa</i> flavor | 8.90 ^a | 9.30 ^a | 9.10 ^a | 7.50 ^a | 9.80 ^a | 10.40 ^a |
| Oily flavor | 9.40 ^a | 10.40 ^a | 10.20 ^a | 10.70 ^a | 10.70 ^a | 10.00 ^a |
| Hardness | 10.00 ^{ab} | 10.20 ^{ab} | 11.30 ^a | 12.30 ^a | 8.50 ^{bc} | 7.70 ^c |
| Crispness | 9.40 ^{ab} | 11.20 ^a | 8.40 ^{ab} | 6.70 ^b | 10.70 ^a | 10.30 ^a |
| Adhesiveness | 10.30 ^a | 11.20 ^a | 9.40 ^{ab} | 7.20 ^b | 10.10 ^a | 9.10 ^{ab} |
| Feelings in mouth after swallow | 9.80 ^a | 8.90 ^a | 11.00 ^a | 9.60 ^a | 8.70 ^a | 10.50 ^a |

A: M10+12+CH10, B: M20+12+CH10, C: Control I (steeped waxy rice during 15 days), D: M10+12+CH10+additives, E: M20+12+CH10+additives
F: Control II (steeped waxy rice during 15 days+additives)

Table 67. Hedonic sensory attributes of *Yukwa* base made from waxy rice treated with bacterial starter or enzyme

| Treatment | Characteristics | | |
|-----------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|
| | Appearance | Texture | Overall acceptability |
| Control I * | 7.23 ^a | 6.73 ^a | 6.83 ^a |
| M10+12+CH10 | 6.77 ^{ab} | 6.73 ^a | 6.67 ^a |
| M20+12+CH10+additives | 6.23 ^b | 6.23 ^a | 6.63 ^a |

* *Yukwa* made from steeped waxy rice during 15 days. ^{ab}The means with the same superscripts within each column are not different ($p>0.05$). 1-9 point hedonic scale (1=extremely dislike, 5=neither dislike nor like, 9=extremely like)

7. 효소·미생물 첨가제 활용을 위한 개량 침지조 제시

효소·미생물 첨가제 활용을 위한 개량 침지조를 설계하기 위해 열량 산출, 침지 후 탈수를 위한 그물 망 설계, 침지조의 규격, 기타 설계를 위한 기준들을 검토한 결과는 아래와 같다.

■ 열량 산출

- 찹쌀 침지를 위한 온도 제어 범위: 20~45°C±2°C
- 쌀(백미, 일반계)의 성분 조성비

Unit: %

| Moisture | Carbohydrate | Crude protein | Crude lipid | Ash |
|----------|--------------|---------------|-------------|-----|
| 11.7 | 80.0 | 6.8 | 1.0 | 0.5 |

□ 비열 산출

$$\text{산출식: } c_p = 1.424X_C + 1.549X_P + 1.675X_F + 0.837X_A + 4.187X_M$$

여기서, X_C : 탄수화물 조성비(소수)

X_P : 단백질 조성비(소수)

X_F : 지질 조성비(소수)

X_A : 회분 조성비(소수)

X_M : 수분 조성비(소수)

c_p : 비열(kJ/kg°C)

쌀 비열의 산출:

$$c_p = 1.424 \cdot 0.8 + 1.549 \cdot 0.068 + 1.675 \cdot 0.01 + 0.837 \cdot 0.005 + 4.187 \cdot 0.117$$

$$= 1.755 \text{ (kJ/kg}^\circ\text{C)}$$

※ 침지수의 비열: 4.187(kJ/kg°C)

- 침지조 처리 용량: 찹쌀 80 kg/침지액 126 L

물의 밀도: 1000 kg/m³ = 1 kg/L

1 batch의 중량 = 80 + 126 = 206 kg

- 침지물 가열을 위한 소요 열량

적정 침지 온도: 20~45℃
 외기 온도 및 수온 가정: 10~25℃
 최대 온도 폭: 35℃
 여유계수: 1.3

소요 열량:

$$\begin{aligned}
 Q &= 1.3 \cdot (80 \cdot 1.755 + 126 \cdot 4.187) \cdot 35 \\
 &= 30,390 \text{ kJ} \\
 &= 7,260 \text{ kcal}
 \end{aligned}$$

■ 침지 후 탈수를 위한 그물 망 설계

□ 쌀의 크기(40개 품종)

Unit: mm

| | Width | Length | Depth |
|-------|-------------|-------------|-------------|
| Range | 2.20 ~ 3.10 | 4.82 ~ 6.67 | 1.70 ~ 2.20 |
| Mean | 2.82 | 5.49 | 2.01 |
| S.D. | 0.22 | 0.55 | 0.12 |

□ 그물 망 눈의 유효 크기: 기준치(쌀의 폭)의 1/3~1/4

탈수용 망의 눈 크기:

$$\begin{aligned}
 d &= (1/4 \sim 1/3) \cdot 2.82 \\
 &= 0.71 \sim 0.94 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

■ 침지조의 규격

□ 침지조 처리 용량: 찹쌀 80 kg/침지액 126 L

□ 쌀의 산물밀도 및 공극률

산물밀도: 789~858 kg/m³

공극률: 0.273~0.308

□ 침지조의 부피 용량

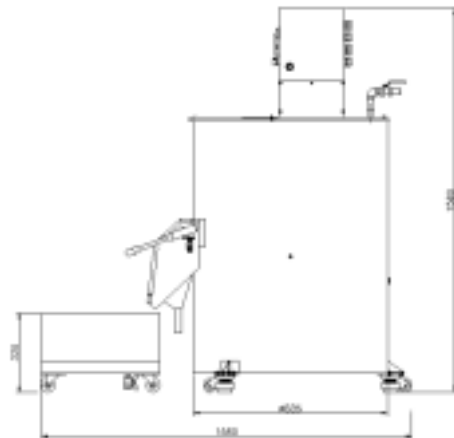
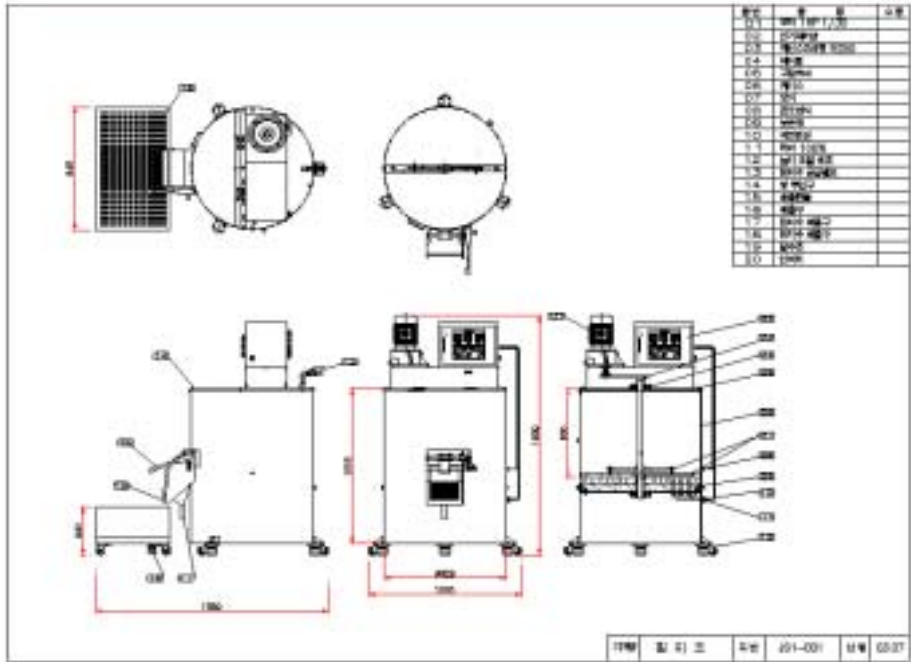
1 batch의 부피: 쌀 0.101 + 침지수 0.126 - 쌀 공극 0.073 = 0.154 m³

여유계수: 2

침지조의 규격: 2 × 0.154 = 0.308 m³

■ 기타 설계기준

- 침지물의 교반
- 쌀의 적재 및 반출 용이
- 침지수의 입수 및 배수 용이



참 고 문 헌

1. Chun, H.S., Cho, S.B., and Kim, H.Y. L.: Effects of various Steeping periods on physical and Sensory characteristics of *Yukwa*(Kprean rice snack). *Cereal Chem.* 79(1):98-101 (2002)
2. Lee, Y.H., Kum, J.S., Ku, K.H., Chun, H.S. and Kim, W.J.: Changes in chemical composition of glutinous rice during steeping and quality properties of *Yukwa*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33(6):737-744 (2001)
3. Kang, S.H. and Ryu, G.H.: Analysis of traditional process for *Yukwa* making, a Korean puffed rice snack (I):Steeping and punching processes. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34(4):597-603 (2002)
4. Kang, S.H. and Ryu, G.H.: Analysis of traditional process for *Yukwa* making, a Korean puffed rice snack (II):Pelleting, Drying, conditioning and additive. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34(5):818-823 (2002)
5. Lim, Y.H., Lee, H.Y. and Jang, M.S.: Changes of physicochemical properties of soaked glutinous rice during preparation of Yu-kwa. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25(3):247-251 (1993)
6. Kim, K., Kang, K.J., Lee, Y.H. and Kim, S.K.: Changes in properties of waxy rice during steeping in water. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25(1):86-87 (1993)
7. Chi, E.J. and Kim, H.S.: Physicochemical and gelatinization properties of glutinous rice flour and starch steeped at different conditions. *Korean J. Food Sci. Nutr.* 26(1):17-24 (1997)
8. Shin, D.H., Kim, M.K. Chung, T.K., and Lee, H.Y.: Quality characteristics of *Yukwa*(popped rice snack) made by different varieties of rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 21(6)820-825 (1989)
9. Kum, J.S.: Globalism and commercialization of korean traditional rice products. *Korean society of Food Science and Nutrition.* 6(3):11-22 (2001)
10. Lee, C.H., Meang, Y.S., A Literature Review on Traditional Korean Cookies, Hankwa. *Korean Society of Food Culture.* 2(1):55 (1987)
11. Kim, K., Lee, Y.H., Kang, K.J. and Kim, S.K.: Effects of steeping on physicochemical properties of waxy rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25(5):535-540 (1993)

12. Sohn, K.H. and Park, J.: Effect of Long-Term Steeping and enzyme treatment of glutinous rice on *Yukwa* characteristics - II. Physicochemical characteristics of enzyme-treated glutinous rice flour. *Korean J. Soc. Food Sci.* 14(3):225-231 (1998)
13. Park, Y.M. and Oh, M.S.: Effect of soaking on expansion volume of Gang Jung. *Korean J. Food Sci. Technol.* 17(6):415-420 (1985)
14. Lim, Y.H., Lee, H.Y. and Jang, M.S.: Changes of physicochemical properties of soaked glutinous rice during preparation of Yu-kwa. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25(3):247-251 (1993)
15. Kang, S.H. and Ryu, G.H.: Changes in paste viscosity waxy rice during steeping time. *Food Engineering Progress.* 5(4):241-245 (2001)
16. Shon, K.H., Jeon, H.J. and Park J.: Studies on optimum conditions for experimental procedure of *Yukwa* and mechanism of steeping glutinous rice. *Daesan Rural Cuktre.* 3:224-250 (1995)
17. Kim, K., and Yoshimatsu, F.; On the expansion factors of Gangjung (Korean rice cookies) *Sci. Cookery* 17:45-51 (1984)
18. 임영희 : 유과의 최적조건 확립을 위한 연구. 단국대학교 박사학위논문 (1994)
19. 김태홍 : 강정과 산자류 제조에 관한 실험조리적 연구(II) 건조와 튀기는 과정에 따른 산자의 질간에 대하여. *대한가정학회지* 20(2):119 (1982)
20. Park, J.Y., Kim, K.O. and Lee, J.M. Standardization of traditional preparation method of Gangjung. I. Optimization of steeping time of glutinous rice and extent of beating of the cooked rice. *Korean J. Dietary Culture* 7:291-296 (1992)
21. Shin, D.H., Kim, M.K., Chung, T.K.. and Lee, H.Y. Effect of some additives for *Yukwa*(Popped rice snack) uality improvement and process mastification trials. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22:272-277 (1990)
22. Kang, S.H., Chung, K.W. and Ryu, G.H.: Roles of microorganism for steeping process of *Yukwa* making. *Kongju National University collection of learned papers* 5:269-277 (1997)
23. Gotcheva, V., Pandiella, S.S., Angelov, A., Roshkova, Z.G. and Webb C.: Microflora identification of the Bulgarian cereal-based fermented beverage *boza*. *Process Biochem.* 36:127-130 (2000)

24. Lee, C.K.: Lactic acid fermented foods and their benefits in Asia. *Food Control*. 8(5):259-269 (1997)
25. Kelly, W.J., Asmundson, R.V., Harrison, G.L. and Huang C.M.: Differentiation of dextran-producing *Leuconostoc* strains from fermented rice cake(puto) using pulsed-field gel electrophoresis. *Int. J. of Food Microbiology*. 26:345-352 (1995)
26. Moon, H.J., Chang, H.G. and Mok, C.Y.: Selection of lactic starter improvement of *Jeungpyun* manufacturing process. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31(5):1241-1246 (1999)
27. Ham, J.S., Jeong, Y.M., Kim, H.B., Kim, D.W., Kim, Y.K. and Kim, H.U.: Fermentation of goat milk using *Lactobacillus plantarum* and *Candida kefir* isolated from Mongolian koumiss. *Korean J. Dairy Sci.* 21(3):247-254 (1999)
28. Okafor, N., Umeh, C., Ibenegbu, C., Obizoba, I., and Nnam, N.: Improvement of garri guality by the inoculation of microorganisms into cassava mash. *Int. J. of Food Microbiol.* 40:43-49 (1998)
29. Amoa-Awua, W.K.A. and Jakobsen, M.: The role of *Bacillus* species in the fermentation of cassava. *J. Appl. Bacteriol.* 79:250-256. (1995)
30. 윤서석 : 한국의 전래생활. 수학사 98 (1988)
31. 황혜성, 한복려, 한복진 : 한국의 전통음식. 교문사 p.477 (1991)
32. Juliano, B.O.; Properties of rice starch in relation to varietal difference in processing characteristics of rice grain. *J. Jap. Soc. Starch Sci.* 29:305. (1982)
33. Juliano, B.O.; Rice starch: Production properties, and uses. *Starch chemistry and technology*, 2nd. 507-528. (1984)
34. AOAC.: Official Methods of Analysis 16th ed. The Association of official analytical chemists, Washigton D.C. (1995)
35. Kim, H.J., Kang, S.M. and Yang, C.B.: Effects of yeast addition as on fermentation of *Kimchi*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29(4):790-799 (1997)
36. Gilbert GA, Spragg SP. 1964. Starch degradations. In: Wistler RL, editor. Methods in carbohydrate chemistry IV: starch. New York: Academic Press. p 168-169.

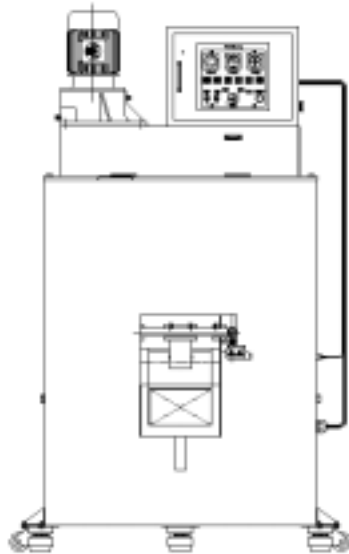
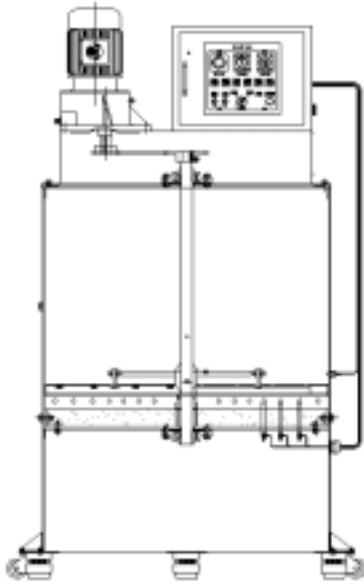
37. Siswoyo, T.; Influence of acyl chain lengths in mono- and diacyl-sn-glycerophosphatidylcholine on gelatinization and retrogradation of starch. *J. Agri. & Food Chemistry*. 49(10):4688-4693. (2001)
38. Song, J.Y. and Shin, M. S.; Solubility Patterns and Gelatinization Properties of waxy rice Starches. *J. Korean agri. chemistry and biotechnol.* 41(7):516-521.(1998)
39. Kang, S.H. and Ryu, G.H.; Changes in paste viscosity waxy rice during steeping time. *Food Engineering Progress*. 5(4):241-245 (2001)
40. Cheon, K.C., Kim, K.J., Kim, Y.S., Baik, M.Y., Chang, Y.I. and Chang, K.S.; Effect of sugars on recrystallization and glass transition of rice starch gels. *Food engineering progress*. 2(3):235-242. (1998)
41. Kim, Y.J. and Kim, S.S.; Comparison of size distributions of rice flour measured by microscope, sieve, coulter counter and aerodynamic methods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26(2):184-187 (1994)
42. Kim, K.A. and Jeon, E.R.; Physicochemical properties and hydration of rice on various polishing degrees. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28(5):959-964 (1996)
43. Kim, Y.S., Lee, Y.T. and Seog, H.M.; Physicochemical properties of starches from waxy and non-waxy hull-less barleys. *Journal of the Korean agri. chemistry and biotechnol.* 42(3):240-245. (1999)
44. Kim, Y.S.; Effect of heat treatments on physicochemical properties of defatted rice bran. *Food sci. Biotechnol.* 8(3):143-148. (1999)
45. Yamamoto, T., Miyahara, I., Yamamoto, S., Fujita, K. and Mizokami, K., *Denpun Kagaku*, 37(3):129 (1990)
46. Kim, Y.D., Ha, K.Y., Kim, M.K., Shin, H.T. and Cho, S.Y.; Varietal difference of enzyme activity in rice Koji using Basidiomycetes. *Korean J. Breeding*. 31(3):276-279. (1999)
47. Kim, H.J., Kang, S.M. and Yang, C.B.; Effects of yeast addition as on fermentation of *Kimchi*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29(4):790-799 (1997)
48. Park, S.Y., Kim, K. and Lee, C.H.; Improvement of starch-fermentability of recombinant haploid yeast strain by hybridization.

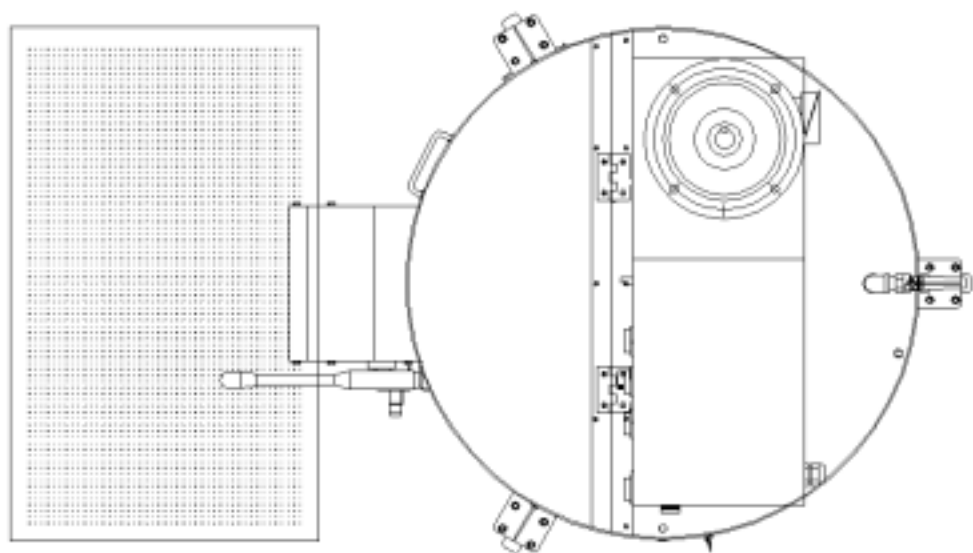
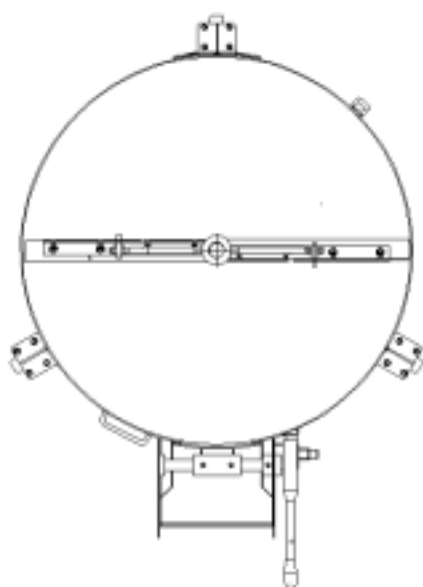
- Korean J. Applied Microbiol. Biotechnol.* 24(6):726-732. (1996)
49. Lee, K.S. Shin, Y.S. Lee, C.H.; Acid tolerance of *Lactobacillus brevis* isolated from Kimchi. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30(6) :1399-1403. (1998)
 50. Jukes, T.H. and Cantor, C.R.: Evolution of protein molecules. In *Mammalian protein metabolism*. Edited by H. N. Munro. New York: Academic Press. 21-132 (1969)
 51. Han, S.K., Lee, I.G. and Ahn, T.Y.: Bacterial diversity of the Han river as determined by 16S rDNA gene analysis. *The Korean J. Microbiol.* 34(4):194-199 (1998)
 52. Lee, M.S., Hong, S.G., Lee, D.H., Kim, C.K. and Bae, K.S.: Bacterial diversity in the mud flat of Suncheon bay, chunnam province, by 16S rRNA gene analysis. *The Korean J. Microbiol.* 37(2):137-144 (2001)
 53. Lee, Y.K., Choi, S.M., Oh, S.K., Lee, K.M. and Ryeom, K.: Molecular taxonomy based on 16S rDNA analysis and pathogenicity of *Yersinia pseudotuberculosis* isolated from spring waters. *The Korean J. Microbiol.* 37(1):9-14 (2001)
 54. Jukes, T. H. and Cantor, C. R.; Evolution of protein molecules. In *Mammalian protein metabolism*. Edited by H. N. Munro. New York: Academic Press. pp. 21-132 (1969).
 55. Saitou, N. and Nei, M.; The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4, 406-425.(1987).
 56. Chun. J., Bae, K. S.; Phylogenetic analysis of *Bacillus subtilis* and related taxa based on partial *gyrA* gene sequences. *Antonie van Leeuwenhoek* 78:123127. (2000)
 57. Lee, B.Y. and Yang, Y.M.: Analysis of aroma patterns of Nagaimo, Ichoimo and Tsukuneimo by the electronic nose. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33(1):24-27 (2001)
 58. Lee, B.Y., Yang, Y.M. and Han, C.J.: Analysis of aroma pattern of Gastrodiae Rhizoma by the drying condition. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34(1):13-17 (2002)
 59. Song, H.S., Kim, Y.E., Hwang, I.K. and Ahn, S.Y.: Volatile flavor characteristic of propolis. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31(5):1153-1158

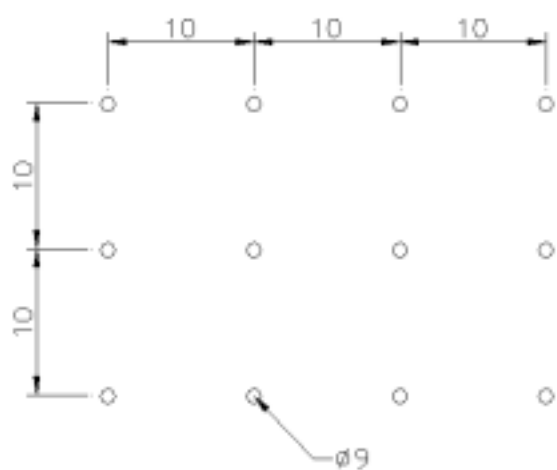
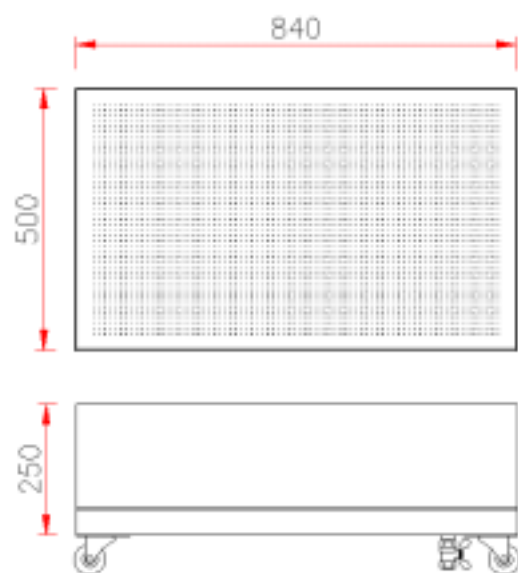
(1999)

60. 김경애, 이성우, 김성곤. Changes of starch properties during steeping of potato. *Korean J. Food Sci.* 25(5):691 (1989)
61. Jeon, H.J. and Shon, K.H. Studies on optimum conditions for experimental procedure of *Yukwa*(II) On the additives and drying methods. *Korean J. Dietary Culture* 10:83-88 (1995)
62. Bringel, F., Curk, M.C. and Hubert, J.C.: Characterization of Lactobacilli by southern-type hybridization with a *Lactobacillus plantarum pyrDEF* probe. *Int. J. Sys. Bacteriol.* 46(2):588-594 (1996)
63. Bean, M. M., Esser, C. A., and Nishita, K. D. 1984. Some physico-chemical and food application characteristics of California waxy rice varieties. *Cereal Chem.* 61:475-480.
64. Kokini JL, Chang CN and Lai LS. 1992. The role of rheological properties on extrudate expansion. In: Kokini JL, Ho CT and Karwe MV, editors. Food extrusion science and technology. New York: Marcel Dekker. p 631-652.
65. Chinnaswamy, R., and Hanna, M. A.: Optimum extrusion cooking conditions for maximum expansion of corn starch. *J. Food Sci.* 53:834-836 (1988)
66. Kim, S.K. and Bang, J.B.: Physicochemical properties of rice affected by steeping conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28(6):1026-1032 (1996)
67. Choi, E.J. and Kim, H.S.: Physicochemical and gelatinization properties of glutinous rice flour and starch steeped at different conditions. *Korean J. Food Sci. Nutr.* 26(1):17-24 (1997)
68. Kim, K., Kang, K.J., Lee, Y.H. and Kim, S.K.: Changes in properties of waxy rice during steeping in water. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25(1):86-87 (1993)
69. Park, D.J., Ku, K.H. and Mok, C.Y.: Characteristics of glutinous rice fractions and improvement of Yoogwa processing by microparticulation/air-classification. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27(6):1008-1012 (1995)

부 록







타공망 상세도