

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0074445

(43) 공개일자 2024년05월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 29/00 (2016.01) *A23L 27/22* (2016.01)*A23L 31/15* (2016.01) *A23L 33/135* (2016.01)*A23L 33/175* (2016.01) *C12P 13/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A23L 29/065 (2016.08)*A23L 27/22* (2016.08)

(21) 출원번호 10-2022-0156533

(22) 출원일자 2022년11월21일

심사청구일자 2022년11월21일

(71) 출원인

계명대학교 산학협력단

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)

주식회사 이스트바이오

경상북도 경산시 어봉지길 285-10, 대구한의대학
교 오성캠퍼스 산학협력관 403호(여천동)

(72) 발명자

이삼빈

대구광역시 달서구 선원로 171, 102동 306호(이곡
동, 성서무지개타운)

조범수

대구광역시 수성구 동대구로 95, 102동 1402호(두
산동, 수성 SK리더스뷰)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인태백

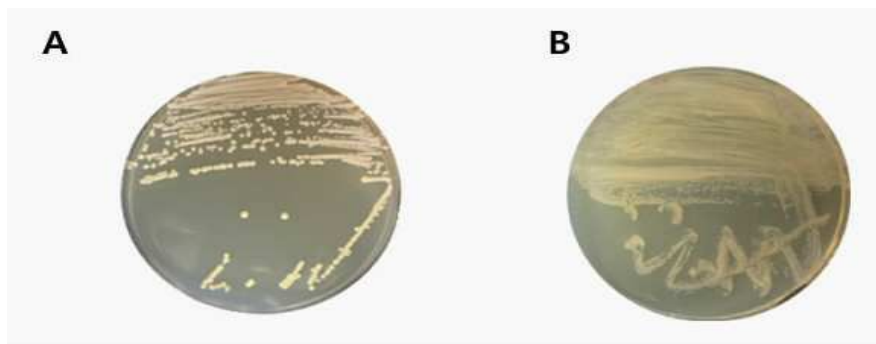
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 GABA 생산성이 증진된 술지게미 발효물 제조방법

(57) 요약

본 발명은 젖산균 및 초산균 혼합발효에 의해 GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성이 증진된 술지게미 발효물 제조방법에 관한 것으로, 막걸리 제조시에 부산물인 술지게미의 젖산 발효물의 GABA 생산성에 있어서, 상기 술지게미를 살균 처리시, 젖산 발효에 의한 GABA 생산량이 증가하고, 특정 술지게미 희석 배수 및 제2인산칼륨 첨가 조건에서 GABA 생산량이 증가하는 것을 확인함으로써, 기능성 물질인 GABA의 생산성이 증진된 술지게미 발효물 제조방법 및 기능성식품 소재로서 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 29/015 (2016.08)
A23L 31/15 (2020.05)
A23L 33/135 (2016.08)
A23L 33/175 (2016.08)
C12P 13/005 (2013.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2250/038 (2013.01)
A23V 2250/218 (2013.01)
A23V 2250/61 (2013.01)

(72) 발명자

박윤호

대구광역시 달서구 용산로 254, 106동 1309호(용산동, 용산블루빌타운)

권민정

대구광역시 달서구 월배로5길 76, 206동 2301호(유천동, 대구월배2차 아이파크)

안유정

대구광역시 수성구 동원로 100, 505동 1001호(만촌동, 메트로팔레스5단지아파트)

손수진

경상북도 영천시 영화새싹길 10-9(화룡동)

허인철

대구광역시 동구 동대구로 469, 101동 1005호(신천동)

정연수

대구광역시 달성군 다사읍 다사역로 60, 101동 1907호(다사 e-편한세상)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1425164981
과제번호	S3221837
부처명	중소벤처기업부
과제관리(전문)기관명	중소기업기술정보진흥원
연구사업명	창업성장기술개발
연구과제명	전통주 술지게미를 이용한 GABA 함유 향스트레스 기능성 곡물발효초 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	주식회사 이스트바이오
연구기간	2022.05.02 ~ 2023.05.01

명세서

청구범위

청구항 1

술지게미를 2 내지 10배 희석하는 단계(제1단계);

상기 희석한 술지게미를 살균 처리하는 단계(제2단계);

상기 살균 처리한 술지게미에 MSG(monosodium glutamate), 포도당(glucose) 효모 추출물(yeast extract) 및 제 2인산칼륨(K_2HPO_4)을 혼합하고, 젖산균 스타터를 접종하여 발효시켜 발효물을 수득하는 단계(제3단계);

상기 술지게미 발효물에 초산균 스타터를 접종하여 발효시켜 발효물을 수득하는 단계(제4단계)를 포함하는, GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성이 증진된 술지게미 발효물 제조방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 술지게미 발효물은 고농도의 GABA를 함유하는 것을 특징으로 하고, 상기 고농도는 2.9 내지 4%인 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 젖산균 스타터는 락토바실러스 플란타럼 (*Lactobacillus plantarum*) 균주로 제조한 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 초산균 스타터는 아세트박터 아세티(*Acetobacter aceti*) 균주로 제조한 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 제3단계는 프레타놀 A(prethanol A) 또는 식초를 추가로 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 제2단계의 살균은 60 내지 80℃에서 10 내지 30분간 수행하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 발효물은 MSG를 5 내지 8 중량% 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 발효물은 제2인산칼륨을 0.2 내지 0.5 중량% 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 상기 제3단계의 발효는 25 내지 35℃에서 4 내지 6일간 수행하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 10

청구항 1에 있어서, 상기 제4단계의 발효는 25 내지 35℃에서 4 내지 6일간 100 내지 200rpm으로 수행하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 11

청구항 1의 제조방법으로 제조한 GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성이 증진된 술지게미 발효물.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 상기 술지게미 발효물은 고농도의 GABA를 함유하는 것을 특징으로 하고, 상기 고농도는 2.9 내지 4%인 것을 특징으로 하는 술지게미 발효물.

발명의 설명**기술 분야**

[0001] 본 발명은 젖산균 및 초산균 혼합발효에 의해 GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성이 증진된 술지게미 발효물 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 술지게미는 쌀(곡류), 물, 누룩, 효모 등을 이용하여 탁주(막걸리)나 약주를 제조한 후, 술을 걸러내는 과정에서 생성되는 부산물로서, 흔히 주박 또는 주정박이라고 부른다. 술지게미는 원료 쌀에 대하여 약 20% 정도를 얻을 수 있고, 7% 내외의 알코올 성분을 함유하며, 전분, 단백질, 섬유소, 무기질, 비타민, 알코올과 유기산, 효소, 효모 등의 영양성분을 다량 함유하고 있는 것으로 보고되었다.

[0003] 최근 막걸리 및 전통주 사업의 확장으로 부산물로 생산되는 술지게미는 더욱 많아지고 있다. 과거에는 식량이 부족한 이유로 술지게미를 식용으로도 사용하였으나, 최근에는 먹거리가 다양해짐에 따라, 축산 사료에 혼합하여 이용되는 정도로만 활용되는 등 제대로 된 활용분야를 찾지 못하고 있는 상황이다. 또한, 술지게미를 바로 사용하지 않을 경우, 곰팡이 오염 등에 취약하여 사용되지 않는 술지게미는 대부분 폐기되는데, 폐기에 추가비용이 발생하고, 제대로 폐기되지 않을 경우 환경오염을 유발하는 문제가 있다. 따라서, 술지게미의 경제성과 부가가치를 높이기 위해, 술지게미를 다양한 용도로 활용하기 위한 연구가 활발히 진행 중인 상황이다.

선행기술문헌**특허문헌**

[0004] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 등록특허 제10-1880239호(2018.03.20. 공개)

발명의 내용**해결하려는 과제**

[0005] 본 발명의 목적은 GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성이 증진된 술지게미 발효물 제조방법을 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은 상기 제조방법으로 제조한 GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성이 증진된 술지게미 발효물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성이 증진된 술지게미 발효물 제조방법을 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 상기 제조방법으로 제조한 GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성이 증진된 술지게미 발효물을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본 발명에 따르면, 막걸리 제조시에 부산물인 술지게미의 젖산 발효물의 GABA 생산성에 있어서, 상기 술지게미를 살균 처리시, 젖산 발효에 의한 GABA 생산량이 증가하고, 특정 술지게미 희석 배수 및 제2인산칼륨 첨가 조건에서 GABA 생산량이 증가하는 것을 확인함으로써, 기능성 물질인 GABA의 생산성이 증진된 술지게미 발효물 제

조방법 및 기능성식품 소재로서 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0010] 도 1A 및 1B는 각각 MRS 배지에서 배양한 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) KS2020 및 아세트박터 아세티(*Acetobacter aceti*) 균주의 모습이다.
- 도 2는 술지게미의 GABA(γ -aminobutyric acid) 생산을 위한 젖산 발효 공정도이다.
- 도 3은 MSG 첨가량에 따른 술지게미 젖산 발효물의 젖산균 생균수 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 4는 MSG 첨가량에 따른 술지게미 젖산 발효물의 pH 및 산도 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 5는 MSG 첨가량에 따른 술지게미 젖산 발효물의 GABA 생산성을 TLC를 통해 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 6은 술지게미 젖산 발효물의 2차 초산 발효 공정도이다.
- 도 7은 2차 초산 발효에 따른 젖산균 및 효모 생균수 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 8은 2차 초산 발효에 따른 pH 및 산도 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 9는 2차 초산 발효에 따른 GABA 생산성을 TLC를 통해 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 10은 술지게미 회석 배수 및 살균 여부에 따른 술지게미 젖산 발효 공정도이다.
- 도 11은 술지게미 회석 배수 및 살균 여부에 따른 생균수 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 12는 술지게미 회석 배수 및 살균 여부에 따른 pH 및 산도 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 13은 술지게미 회석 배수 및 살균 여부에 따른 GABA 생산성을 TLC를 통해 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 14는 술지게미 살균 여부 및 제2인산칼륨 첨가량에 따른 술지게미 젖산 발효 공정도이다.
- 도 15는 술지게미 살균 여부 및 제2인산칼륨 첨가량에 따른 생균수 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 16은 술지게미 살균 여부 및 제2인산칼륨 첨가량에 따른 pH 및 산도 차이를 비교 및 분석한 결과이다.
- 도 17은 술지게미 살균 여부 및 제2인산칼륨 첨가량에 따른 GABA 생산성을 TLC를 통해 비교 및 분석한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0011] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0013] 본 발명은 술지게미를 2 내지 10배 회석하는 단계(제1단계); 상기 회석한 술지게미를 살균 처리하는 단계(제2단계); 상기 살균 처리한 술지게미에 MSG(monosodium glutamate), 포도당(glucose) 효모 추출물(yeast extract) 및 제2인산칼륨(K_2HPO_4)을 혼합하고, 젖산균 스타터를 접종하여 발효시켜 발효물을 수득하는 단계(제3단계); 및 상기 술지게미 발효물에 초산균 스타터를 접종하여 발효시켜 발효물을 수득하는 단계(제4단계)를 포함하는, GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성이 증진된 술지게미 발효물 제조방법을 제공한다.
- [0014] 상기 술지게미 발효물은 고농도의 GABA를 함유할 수 있고, 바람직하게는, 2.9 내지 4%의 GABA를 함유할 수 있다.
- [0015] 상기 젖산균 스타터는 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 균주로 제조한 것일 수 있다.
- [0016] 상기 초산균 스타터는 아세트박터 아세티(*Acetobacter aceti*) 균주로 제조한 것일 수 있다.
- [0017] 상기 제3단계는 프레타놀 A(prethanol A) 또는 식초를 추가로 첨가하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0018] 상기 제2단계의 살균은 60 내지 80℃에서 10 내지 30분간 수행하는 것일 수 있다.
- [0019] 상기 발효물은 MSG를 5 내지 8 중량% 포함할 수 있다.
- [0020] 또한, 상기 발효물은 제2인산칼륨을 0.2 내지 0.5 중량% 포함할 수 있다.

- [0021] 상기 제3단계의 발효는 25 내지 35℃에서 4 내지 6일간 수행한 것일 수 있다.
- [0022] 상기 제4단계의 발효는 25 내지 35℃에서 4 내지 6일간 100 내지 200rpm으로 수행한 것일 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명은 상기 제조방법으로 제조한 GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성이 증진된 술지게미 발효물을 제공한다.
- [0025] 상기 술지게미 발효물은 고농도의 GABA를 함유할 수 있고, 바람직하게는, 2.9 내지 4%의 GABA를 함유할 수 있다.

[0027] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0029] [실험예 1] 스타터 제조

[0030] 1-1. 젖산균 스타터 제조

[0031] 김치로부터 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) KS2020 균주(KCCM 12782P)를 분리하고, MRS 아가(agar) 플레이트에서 30℃에서 48시간 동안 배양한 후, MRS broth에 배양된 상기 균주 백금이를 접종하고, 30℃ 항온 배양기에서 24시간 동안 정지 배양하여 젖산균 발효 스타터를 제조하였다. MRS 배지에서 배양한 상기 락토바실러스 플란타럼 균주는 도 1A에 나타난 바와 같다.

[0033] 1-2. 초산균 스타터 제조

[0034] 아세트박터 아세티(*Acetobacter aceti*) 균주를 MRS 아가 플레이트에서 30℃에서 48시간 동안 배양하고, 막걸리 95mL 및 2배 사과식초 5mL를 혼합한 후, MRS broth에 배양된 상기 균주 백금이를 접종하고, 30℃ 진탕 배양기에 72시간 동안 진탕 배양하여 초산균 발효 스타터를 제조하였다. MRS 배지에서 배양한 상기 아세트박터 아세티 균주는 도 1B에 나타난 바와 같다.

[0036] [실시예 1] 술지게미의 젖산 발효를 통한 이화학적 특성 분석

[0037] 1-1. 1차 젖산 발효

[0038] 도 2에 나타난 바와 같이, 술지게미의 1차 젖산 발효를 수행하였다. 먼저, 술지게미를 2배 희석하고, 80℃에서 20분 동안 살균 처리하였다. 2배 희석한 술지게미의 조성은 표 1에 나타난 바와 같다. 그 후, 술지게미 250g에 증류수 250mL를 넣고, 핸드믹서(HR1673, Philips Korea, Hungary)를 이용하여 3,600rpm에서 25분 동안 균질화한 후, 40% 포도당(Glucose) 2%(w/v), 10% 효모 추출물(yeast extract) 1%(w/v), 10% 제2인산칼륨(K_2HPO_4) 0.5% 및 50% MSG(monosodium glutamate) 3~10%(w/v)를 혼합하고, 최종 부피 1,000mL이 되도록 멸균수를 첨가하였다. 그 후, 상기 실험예 1-1에서 제조한 젖산균 스타터 1%(w/v)를 접종하여 항온 배양기 30℃에서 5일간 정지 배양한 후, 이화학적 특성을 분석하였다. 술지게미 젖산 발효 조성은 표 2와 같다.

표 1

[0039]

Component	술지게미(2배 희석)
Moisture content(%)	84.9±0.03
Alcohol content(%)	3.7±0.14
pH	3.95±0.01
Acidity(%)	0.9±0.01
Reducing sugar content(mg/mL)	25.61±0.18

표 2

Component (mL)	MSG 3%	MSG 5%	MSG 8%
술지게미(2배 희석)	500	500	500
증류수(멸균수)	230	190	140
40% 포도당	50	50	50
50% MSG	60	100	150
10% 효모 추출물	100	100	100
10% 제2인산칼륨	50	50	50
젖산균 스타터 (MRS broth)	10	10	10
Total	1000	1000	1000

1-2. MSG 첨가량에 따른 생균수 분석

MSG 첨가량에 따른 상기 술지게미 젖산 발효물의 젖산균 생균수를 확인하기 위해, 상기 발효물 100 μ L를 멸균된 생리식염수 0.9mL에 희석하는 10배 희석법을 사용하였다. MRS 한천 배지에 10^5 및 10^6 배로 희석된 것을 20 μ L 도말하고, 30℃ 항온 배양기에서 48시간 동안 배양한 후, 생균수를 CFU(colony forming unit)/mL로 나타냈다.

그 결과, 표 3 및 도 3에 나타난 바와 같이, 발효 전 7.021 log CFU/mL의 생균수를 기준으로, MSG 3% 및 5% 조건은 3일 차까지 생균수가 증가하다가 이후 감소하였고, MSG 8% 조건은 1일 차까지 생균수가 증가하다가 감소하는 것을 확인하였다. 또한, MSG 8% 조건은 5일 차에 다른 조건들보다 낮은 생균수를 보였고, 나머지 두 조건은 비슷한 수치를 나타내는 것을 확인하였다.

표 3

시간(일)	MSG 3% (log CFU/mL)	MSG 5% (log CFU/mL)	MSG 8% (log CFU/mL)
1	9.332	9.455	9.519
3	9.538	9.477	9.279
5	9.255	9.243	8.699

1-3. MSG 첨가량에 따른 pH 및 산도 분석

MSG 첨가량에 따른 상기 술지게미 젖산 발효물의 pH 및 산도를 확인하기 위해, pH는 pH meter(SevenEasy pH, Mettler-Toledo AG, Schwerzenbach, Switzerland)를 이용하여 측정하였고, 적정 산도는 시료 1mL를 증류수 9mL로 희석하여 0.1N 수산화나트륨(NaOH)으로 pH 8.3까지 도달할 때까지 적정한 후, 소비량을 젖산 함량(% v/v)으로 환산하여 측정하였다.

그 결과, pH는 표 4 및 도 4에 나타난 바와 같이, 세 조건 모두 발효 기간에 상관없이 일정했고, 산도는 표 5 및 도 4에 나타난 바와 같이, MSG 3% 조건은 1일 차까지 감소하다가 3일 차부터 증가하였고, MSG 5% 조건은 발효 기간에 비례하여 산도가 증가하였으며, MSG 8% 조건은 1일 차에 증가하다가 이후 감소하는 것을 확인하였다.

표 4

시간(일)	MSG 3%	MSG 5%	MSG 8%
0	4.78	4.87	5.06
1	4.91	4.86	4.97
3	4.62	4.94	5.2
5	4.50	4.79	5.31

표 5

시간(일)	MSG 3% (%)	MSG 5% (%)	MSG 8% (%)
0	1.3	1.51	1.64
1	1.24	1.68	1.73
3	2.21	1.69	1.35
5	3.22	2.34	1.24

1-4. TLC를 통한 MSG 첨가량에 따른 GABA(γ -aminobutyric acid) 생산성 분석

MSG 첨가량에 따른 상기 술지게미 젖산 발효물의 GABA 생산성을 확인하기 위해, 정성 분석을 위해 TLC 실리카 겔(silica gel) 60 F254 plate(Merck KGaA, Darmstadt, Germany)는 $10 \times 20\text{cm}$ 로 잘라서 시료를 전개용매에 전개시킨 후, MSG 소진 및 GABA의 생성 유무를 측정하였다. 증류수로 3배 희석한 발효물을 원심분리하여 얻은 상등액을 분석시료로 사용하였다. TLC 플레이트의 아래에서 15mm 높이에 2 μL 의 MSG(CJ 제일제당 주식회사), GABA 표준물질(Sigma Aldrich Co., Ltd., St Louis, MO, USA) 및 분석시료들을 8~10mm의 간격을 유지하며 점적하였다. TLC 플레이트에 점적한 표준물질 및 시료들을 건조시킨 후, 밀폐된 유리 챔버($30 \times 25 \times 10\text{cm}$)에서 전개시켰다. 전개는 n-부틸 알코올(n-butyl alcohol) : 빙초산(glacial acetic acid) : 증류수(distilled water)를 3:1:1(v/v)의 비율로 혼합하여 4시간 포화시킨 전개 용매를 이용하여 TLC 플레이트 상단이 10~15mm 남을 때까지 진행하였다. 전개가 끝난 TLC 플레이트는 100 $^{\circ}\text{C}$ 감압 건조기에서 건조하여 발색 시약으로 0.2% 닐하이드린(ninhydrin) 용액을 처리하였다. 100 $^{\circ}\text{C}$ 감압 건조기에서 5~10분 동안 발색하여 발효물의 MSG 및 GABA spot을 확인하였다.

그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, MSG 농도가 낮을수록 발효 1일 차의 MSG가 GABA로 전환이 많이 되는 것을 확인하였다. MSG 3% 조건은 3일 차에 GABA로 전환이 모두 되었고, MSG 5% 및 8% 조건은 5일 차에 일부 MSG가 잔존하였으나, MSG 5% 조건은 대부분 GABA로 전환이 된 것을 확인하였다. 발효 5일 차에 GABA의 크기 및 MSG 소진 여부를 고려하였을 때 GABA는 약 3%인 것을 확인하였다. 상기 결과에 따라, MSG 5% 조건이 GABA 생산에 대한 최적조건임을 확인하였다.

[실시예 2] 술지게미의 초산 발효를 통한 이화학적 특성 분석

2-1. 2차 초산 발효

상기 술지게미 젖산 발효물을 초산 발효 시, 이화학적 특성을 확인하기 위해, 도 6에 나타난 바와 같이, 2차 초산 발효를 수행하였다. 술지게미 젖산 발효물 312mL에 프레타놀 A(prethanol A) 7% 및 2배 사과식초(12% 초산) 5%를 혼합한 후, 상기 실험예 1-2에서 제조한 초산균 스타터 10% (w/v)를 접종하여 30 $^{\circ}\text{C}$ 및 160rpm 조건으로 7일간 진탕 배양하였다.

2-2. 2차 초산 발효에 따른 생균수 분석

2차 초산 발효에 따른 젖산균 및 효모 생균수를 확인하기 위해, 상기 실시예 1-2와 동일한 방법을 수행하여 생균수를 확인하였다.

그 결과, 표 6 및 도 7에 나타난 바와 같이, 초기 젖산균 8.683 log CFU/mL 및 초기 효모 7.699 log CFU/mL 기준으로, 초산 발효가 진행됨에 따라, 젖산균 및 효모 생균수가 감소하였고, 7일 차에는 급격히 감소하는 것을 확인하였다.

표 6

시간(일)	젖산균 (log CFU/mL)	효모 (log CFU/mL)
1	8.049	7.176
3	7.349	6.699
5	6.477	6.000
7	4.809	3.651

[0066] 2-3. 2차 초산 발효에 따른 pH 및 산도 분석

[0067] 2차 초산 발효에 따른 pH 및 산도를 확인하기 위해, 상기 실시예 1-3과 동일한 방법을 수행하여 pH 및 산도를 확인하였다.

[0068] 그 결과, 표 7 및 도 8에 나타난 바와 같이, pH는 5일 차까지 상관없이 일정하게 유지되다가, 7일 차에 소폭 감소하였고, 산도는 3일 차까지 일정하게 유지되다가, 5일 차부터 증가하는 것을 확인하였다. 이는 국내 식초 총산(acid) 규격이 4% 이상인 점을 감안할 때, 상기 2차 초산 발효물에서 식초 발효가 진행된 것을 의미한다.

표 7

시간(일)	pH	산도(%)
0	4.48	1.26
1	4.53	1.23
3	4.56	1.28
5	4.54	2.06
7	3.93	7.81

[0071] 2-4. TLC를 통한 2차 초산 발효에 따른 GABA 생산성 분석

[0072] MSG 첨가량에 따른 상기 술지게미 2차 초산 발효물의 GABA 생산성을 확인하기 위해, 상기 실시예 1-4와 동일한 방법을 수행하여 GABA 생산성을 확인하였다.

[0073] 그 결과, 도 9에 나타난 바와 같이, 0~7일 차까지 젖산 발효 때 남아있던 미량의 MSG 및 GABA가 유지되는 것을 확인하였다. 이는 2차 초산 발효에 의해 제조된 식초의 높은 산도가 기능성 물질인 GABA의 안정성에 큰 영향을 끼치지 않음을 의미한다.

[0075] [실시예 3] 술지게미 회석 배수 및 살균 여부에 따른 1차 젖산 발효물의 이화학적 특성 분석

[0076] 3-1. 생균수 분석

[0077] 술지게미 회석 배수 및 살균 여부에 따른 술지게미 1차 젖산 발효물의 생균수를 확인하기 위해, 도 10에 나타난 바와 같이, 회석 배수(4, 6 및 8배) 및 살균 여부를 달리하여 1차 젖산 발효를 수행한 후, 생균수를 측정하였다.

[0078] 그 결과, 도 11에 나타난 바와 같이, 살균 처리된 젖산 발효물에서 생균수가 더 높게 나타났고, 회석 배수에 따른 큰 차이는 나타나지 않는 것을 확인하였다. 이는 술지게미 자체의 오염균이 젖산균 발효를 통한 GABA 생성에 영향을 줄 수 있음을 의미한다.

[0080] 3-2. pH 및 산도 분석

[0081] 술지게미 회석 배수 및 살균 여부에 따른 상기 술지게미 1차 젖산 발효물의 pH 및 산도를 확인하기 위해, 도 10에 나타난 바와 같이, 회석 배수(4, 6 및 8배) 및 살균 여부를 달리하여 1차 젖산 발효를 수행한 후, pH 및 산도를 측정하였다.

[0082] 그 결과, 도 12에 나타난 바와 같이, pH는 큰 차이가 나타나지 않았고, 산도는 회석 배수가 적을수록 증가하였으며, 특히 4배 회석 조건의 경우, 발효 5일 차에 산도가 3.5%인 것을 확인하였다.

[0084] 3-3. GABA 생산성 분석

[0085] 술지게미 회석 배수 및 살균 여부에 따른 상기 술지게미 1차 젖산 발효물의 GABA 생산성을 확인하기 위해, 도

10에 나타난 바와 같이, 희석 배수(4, 6 및 8배) 및 살균 여부를 달리하여 1차 젖산 발효를 수행한 후, GABA 생산성을 분석하였다.

[0086] 그 결과, 도 13에 나타난 바와 같이, 살균 조건에서 GABA 생산성이 증가하였고, 희석 배수가 많을수록 GABA 전환율이 증가하는 것을 확인하였다. 구체적으로, 4배 희석 및 살균 조건에서 발효 3일 차에 MSG를 모두 소진하면서 GABA를 생산하였고, 8배 희석 및 살균 조건에서 발효 3일차에 MSG를 모두 소진하면서 GABA를 생산하는 것을 확인하였다.

[0088] **[실시예 4] 술지게미 살균 여부 및 영양성분 첨가 함량에 따른 1차 젖산 발효물의 이화학적 특성 분석**

[0089] 4-1. 생균수 분석

[0090] 술지게미 희석 배수 및 살균 여부에 따른 상기 술지게미 1차 젖산 발효물의 생균수를 확인하기 위해, 도 14에 나타난 바와 같이, 살균 여부 및 제2인산칼륨(K_2HPO_4) 첨가 함량(0, 0.5 및 1%)을 달리하여 1차 젖산 발효를 수행한 후, 생균수를 측정하였다.

[0091] 그 결과, 도 15에 나타난 바와 같이, 살균 조건에서 생균수가 더 높게 나타났고, 제2인산칼륨 첨가 함량에 따른 생균수 변화는 크게 나타나지 않는 것을 확인하였다.

[0093] 4-2. pH 및 산도 분석

[0094] 술지게미 희석 배수 및 살균 여부에 따른 상기 술지게미 1차 젖산 발효물의 pH 및 산도를 확인하기 위해, 도 14에 나타난 바와 같이, 살균 여부 및 제2인산칼륨(K_2HPO_4) 첨가 함량(0, 0.5 및 1%)을 달리하여 1차 젖산 발효를 수행한 후, pH 및 산도를 측정하였다.

[0095] 그 결과, 도 16에 나타난 바와 같이, pH의 경우, 살균한 발효물에서 살균하지 않는 발효물에 비해, pH가 소폭 증가하였고, 제2인산칼륨 첨가 함량에 따른 pH 변화는 크게 나타나지 않는 것을 확인하였다. 또한, 산도의 경우, 살균한 발효물에서 산도가 더 증가하였고, 발효 5일 차에 제2인산칼륨 0.5% 첨가 발효물에서 가장 높은 산도가 나타나는 것을 확인하였다.

[0097] 4-3. GABA 생산성 분석

[0098] 술지게미 희석 배수 및 살균 여부에 따른 상기 술지게미 1차 젖산 발효물의 GABA 생산성을 확인하기 위해, 도 14에 나타난 바와 같이, 살균 여부 및 제2인산칼륨(K_2HPO_4) 첨가 함량(0, 0.5 및 1%)을 달리하여 1차 젖산 발효를 수행한 후, GABA 생산성을 분석하였다.

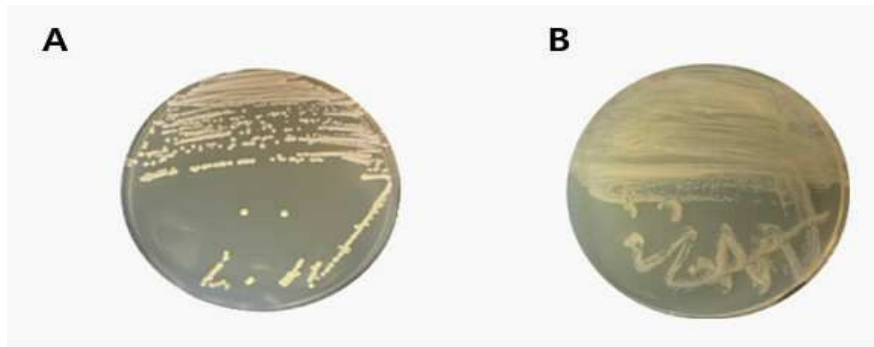
[0099] 그 결과, 도 17에 나타난 바와 같이, 살균 조건이 비살균 조건과 비교해서, 우수한 GABA 생산성을 나타냈고, 가장 우수한 생산성을 보이는 조건은 살균 및 제2인산칼륨 0.5% 첨가 조건인 것을 확인하였다.

[0101] 결론적으로, 술지게미 원료의 살균 조건이 비살균 조건에 비해 높은 젖산균 생균수를 나타냈고, 희석 배수가 많을수록 젖산균 발효에 의한 낮은 산도가 나타났으며, 살균 조건이 비살균 조건에 비해 높은 GABA 생산성을 나타내는 것을 확인하였다. 그 중 GABA 생산성이 우수한 조건은 1) 살균 및 8배 희석 조건 또는 2) 살균, 4배 희석 및 제2인산칼륨 0.5% 첨가 조건으로 나타났다. 현재 술지게미를 이용한 기능성 물질 GABA를 고농도로 함유하는 발효물을 제조하는데 있어, 희석배수를 4배까지 높이는 것이 효율적인 것을 감안했을 때, 살균 처리된 4배 희석액에 제2인산칼륨을 0.5% 첨가하는 것이 술지게미를 통한 GABA 생산에 있어 최적 조건임을 확인하였다.

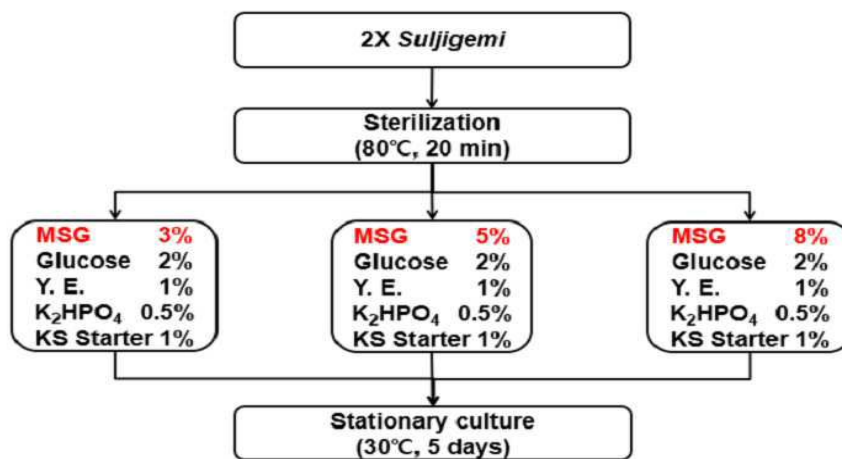
[0103] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

도면

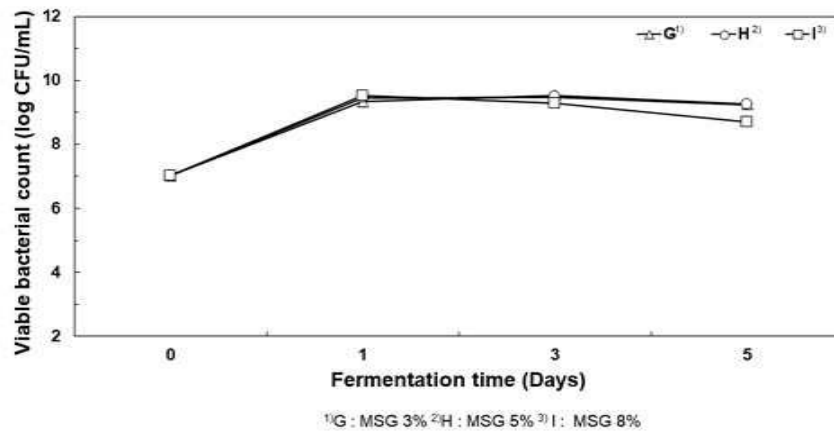
도면1



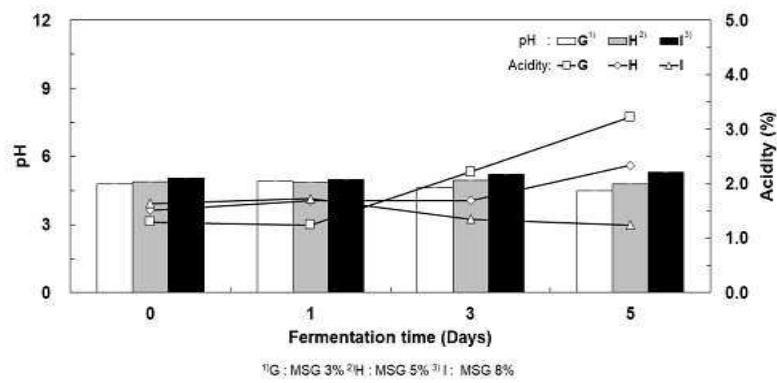
도면2



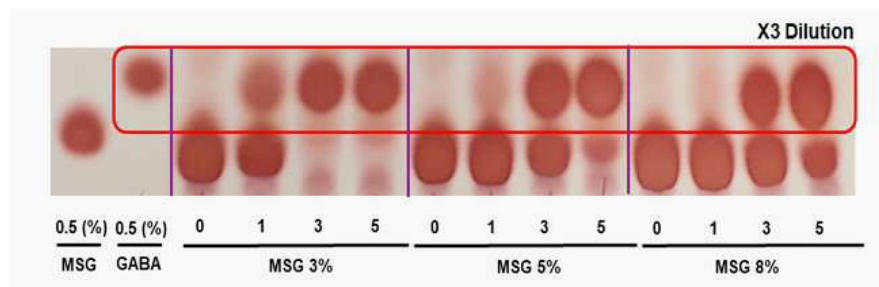
도면3



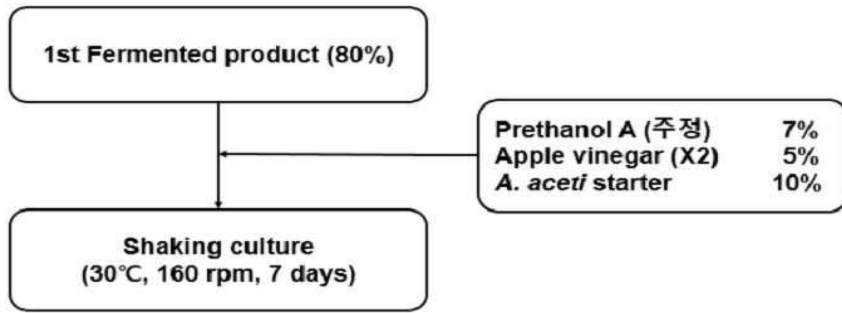
도면4



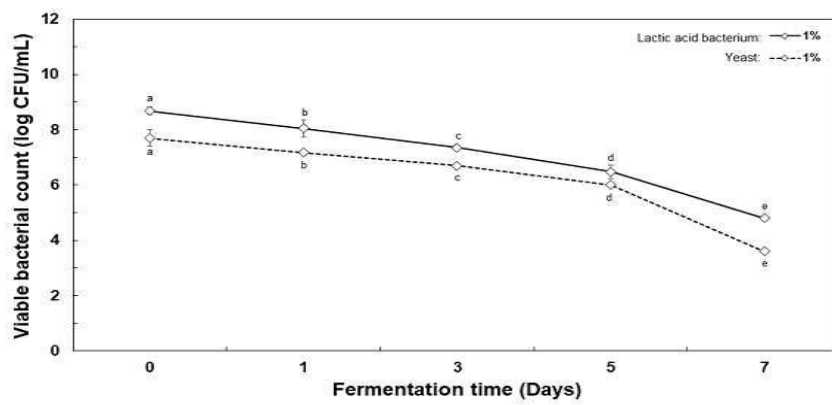
도면5



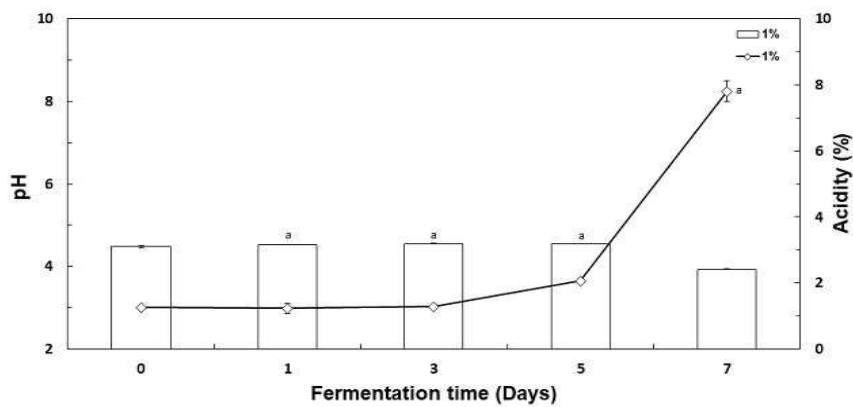
도면6



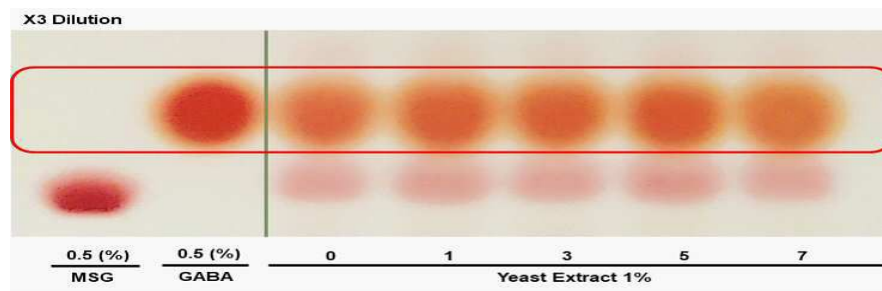
도면7



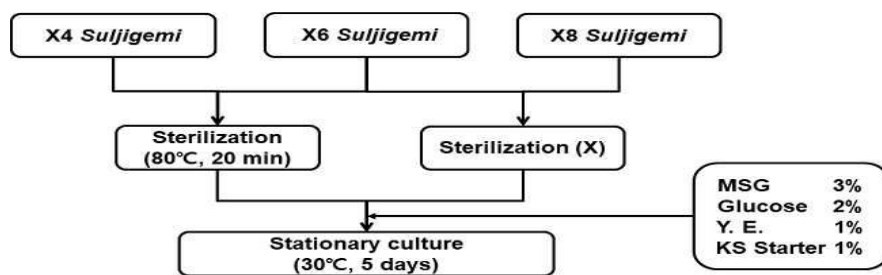
도면8



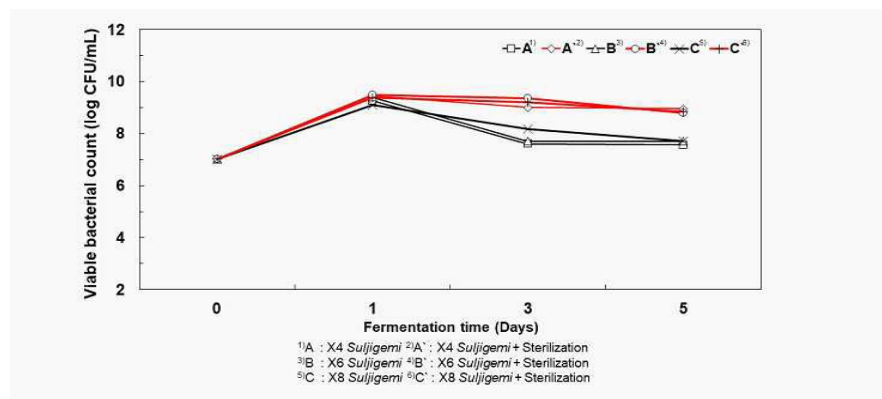
도면9



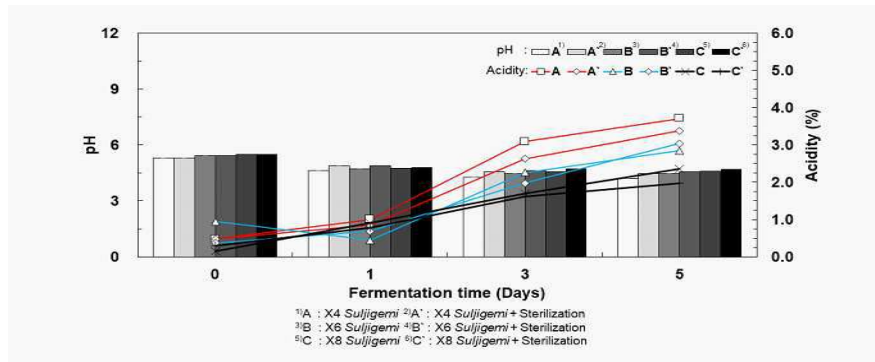
도면10



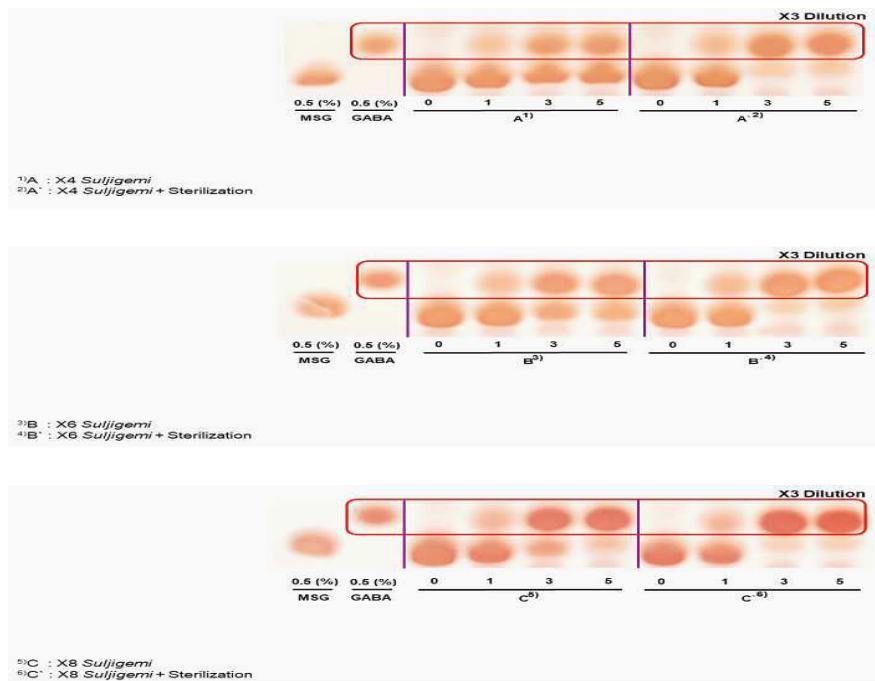
도면11



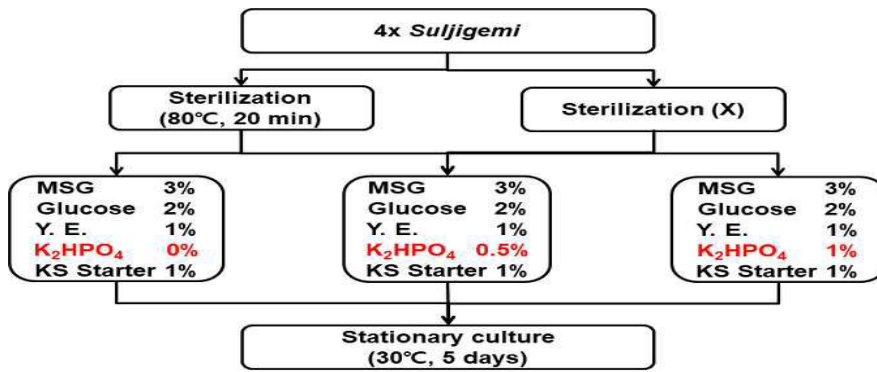
도면12



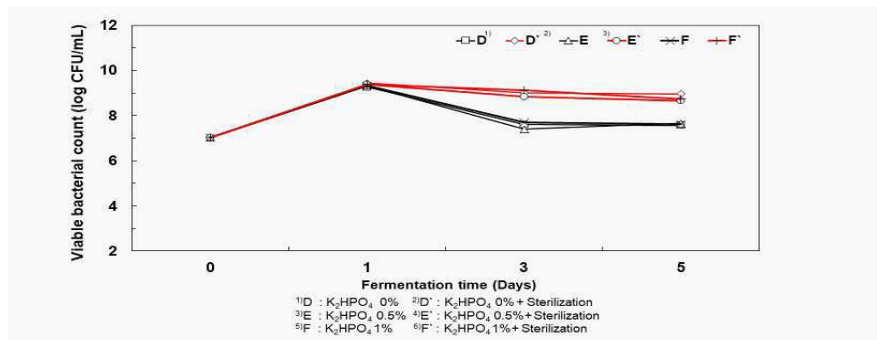
도면13



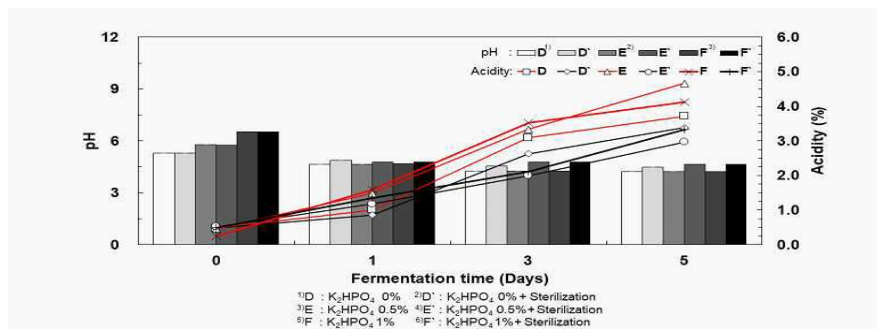
도면14



도면15



도면16



도면17

