



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0063186
(43) 공개일자 2012년06월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/105 (2006.01) A23L 1/20 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0124262
(22) 출원일자 2010년12월07일
심사청구일자 2010년12월07일

(71) 출원인
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)
(72) 발명자
이삼빈
대구광역시 달서구 선원로 171, 무지개아파트
102동 306호 (이곡동)
손세진
대구광역시 달서구 한들로 70, 파랑새마을 303동
302호 (장기동)
(74) 대리인
박우근, 경진영, 공민호

전체 청구항 수 : 총 11 항

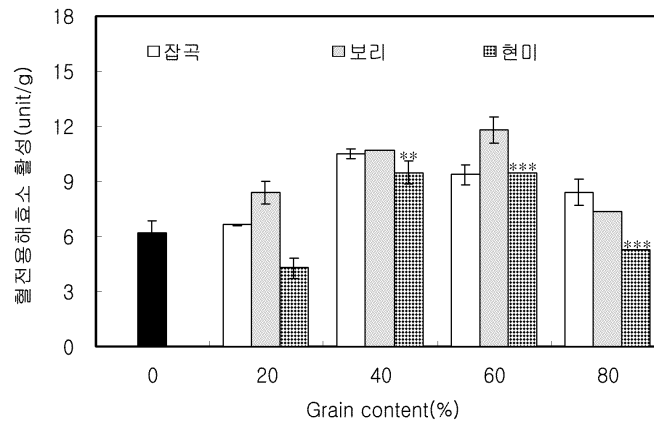
(54) 발명의 명칭 곡류 분말 발효물 제조방법 및 이에 따른 곡류 분말 발효물

(57) 요약

본 발명은 곡류 분말 발효물 및 그 제조방법에 관한 것으로, 구체적으로는 (S1) 볶은 콩 분말을 포함하는 혼합 곡류 분말을 준비하는 단계; 및 (S2) 준비된 혼합 곡류 분말에 당근즙 및 바실러스 스타터를 첨가하여 발효하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

상기한 본 발명은 볶은 콩 분말을 포함하는 혼합 곡류 분말과 당근즙을 바실러스 스타터에 의하여 발효시킴으로써 청국장 냄새가 제거되고 혈전용해능이 증진된 곡류 분말 발효물을 제공할 수 있다.

대표도 - 도3



특허청구의 범위

청구항 1

(S1) 볶은 콩 분말을 포함하는 혼합 곡류 분말을 준비하는 단계;

(S2) 준비된 혼합 곡류 분말에 당근즙 및 바실러스 스타터를 첨가하여 발효하는 단계;를 포함하는 곡류 분말 발효물 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

(S1) 단계에서의 혼합 곡류 분말은 볶은 콩 분말 55~85중량% 및 보리, 현미, 백미, 옥수수, 찹쌀, 흑미, 찰수수, 밀, 찰기장, 검정콩 찹쌀현미 중 선택된 1종 이상의 곡류 분말 15~45중량% 포함하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

(S1) 단계에서의 혼합 곡류 분말은 볶은 콩 분말 55~67중량% 및 보리 분말 33~45중량% 포함하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

(S1) 단계에서의 혼합 곡류 분말은 볶은 콩 분말 60~70중량% 및 현미 분말 30~40중량% 포함하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

(S2) 단계에서의 바실러스 스타터는 바실러스속 균주를 1~10%(w/v)의 대두분말 용액에 접종하여 진탕배양한 것인 곡류 분말 발효물 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

(S2) 단계에서의 바실러스 스타터는 혼합 곡류 분말 100 중량부에 대하여 0.5~2 중량부를 첨가하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

(S2) 단계에서의 당근즙은 물과 혼합하여 20~60%(v/v)의 농도의 당근즙 용액으로 첨가하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

(S2) 단계에서의 당근즙 용액은 볶은 콩 분말 100 중량부에 대하여 80~120중량부를 첨가하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법.

청구항 9

제1항에 있어서,

(S2) 단계에서의 발효는 35~42℃에서 20~24시간 수행되는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 제조방법으로 제조된 곡류 분말 발효물.

청구항 11

제10항의 곡류 분말 발효물을 포함하는 식품.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 볶은 콩 분말을 포함하는 혼합 곡류 분말과 당근즙을 바실러스 스타터에 의하여 발효시킴으로써 냄새가 제거되고 혈전용해능이 증진된 곡류 분말 발효물 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 대두에는 이소플라본(isoflavone), 레시틴(lecithin), 섬유질(fiber) 등과 같은 물질이 풍부하며 고초균 발효를 통해 생성되는 생리활성물질은 멜라노이딘(melanoidin), γ -PGA(γ -poly glutamic acid), 혈전용해 활성물질 등이 있다. 이러한 물질들을 포함하는 대두 발효 식품은 인체 내에서 항암, 항고혈압, 항당뇨, 항비만 등의 효과를 나타내므로 단순한 영양학적인 기능뿐만 아니라 건강식품 및 성인병 예방에 가장 우수한 식품 소재로 각광받고 있다.

[0003] 대두 발효 식품의 효능 중 가장 연구가 활발하며 관심이 높아진 분야는 혈전용해효소에 관한 것이다. 혈전의 생성은 활성화된 트롬빈에 의하여 혈장 단백질인 피브리노겐이 피브린으로 전환됨으로써 유도된다. 혈전용해 효소 활성을 가진 물질들은 혈액응고의 기질인 피브린을 가수분해하여 가용화시켜 혈전증을 치료할 수 있다. 우리나라 사망원인 통계에 의하면 사망률은 암, 뇌혈관질환, 심장질환 등의 순으로 사망률이 높다. 하지만 1위인 암이 여러 장기의 모든 암의 사망률을 합쳐 계산한 것을 고려하면 사실상 혈관질환이 사망률 1순위라고 볼 수 있다. 현재까지 혈전증 치료제로는 tPA, urokinase, streptokinase 등 다양한 약품이 개발되어 사용되나 값이 비싸고 부작용이 나타나는 단점을 가지고 있다. 이런 문제를 해결하는 방법의 일환으로 최근 각종 천연물 및 된장, 청국장과 같은 대두발효식품에서 혈전용해 활성 물질을 탐색하는 연구가 진행되고 있다.

[0004] 청국장에 포함된 고분자 점질물은 *Bacillus* 균주의 발효대사산물이며 글루탐산(glutamic acid)이 약 5,000개 중합된 γ -PGA와 과당의 중합체인 프룩탄(fructan) 형태의 레반으로 구성되어 있다. 이러한 점질물은 발효제품의 품질특성에 중요한 영향을 미치며, 특히 γ -PGA는 미생물 고분자물질의 일종으로 면역증진효과, 항암효과가 뛰어나며 식품, 의약품뿐만 아니라 보습성이 뛰어나 화장품으로도 각광받고 있는 기능성 소재이다.

[0005] 대두 발효식품은 바실러스속 균주(*Bacillus* sp.)에 의해 발효숙성과정 중 대두단백질을 분해시켜 특유한 맛과 향을 내는 식품이다. 그런데, 이 식품의 발효 시에 생성되는 냄새는 젊은 세대가 대두 발효식품을 기피하게

되는 가장 큰 원인이 된다. 상기 발효취의 주된 발생 기작은 대두 단백질이 바실러스 서브틸리스 균주(*B. subtilis*)가 발효과정 중에 생산하는 펩타이드나 아미노산으로 전환되고, 아미노산이 탄소와 에너지 급원으로 써 이용되어 암모니아 가스를 발생하게 되는 것이다. 발효취에 가장 영향을 미치는 것으로는 단백질, 펩타이드, 아미노산, 탄수화물, 지질, 비타민 같은 비휘발성 전구체로부터 효소나 열처리에 의해 유도되어진 butyricvaleric acid류, tetramethyl-pyrazine과 같은 휘발성 화합물이다. 이러한 화합물은 소량일 경우에는 우리나라 장류 제품 특유의 향으로 여겨지나 과량으로 생성되면 불쾌취의 원인이 된다.

[0006] 최근 대두 및 대두 가공품을 원료로 한 생리활성물질 생산 및 바실러스 균주를 이용한 고체 발효에 관한 연구는 활발히 진행되고 있으며 대두 및 곡류 분말을 이용한 연구에는 볶은 콩가루를 이용한 식빵 특성 연구, 보리의 유산발효 등에 관한 연구는 수행되어있으나 콩과 곡류를 혼합하여 고초균 고체 발효한 연구는 이루어지지 않았으며, 당근을 이용한 혈전용해효소 활성 증진에 대한 연구도 미비한 실정이다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 볶은 콩 분말을 포함하는 혼합 곡류 분말과 당근즙을 바실러스 스타터에 의하여 발효시킨 곡류 분말 발효물 및 그 제조방법을 제공하고자 한다.

[0008] 본 발명은 청국장 냄새가 제거되고 혈전용해능이 증진된 곡류 분말 발효물 및 그 제조방법을 제공하고자 한다.

[0009] 이에 본 발명은 바람직한 제1구현예로서 (S1) 볶은 콩 분말을 포함하는 혼합 곡류 분말을 준비하는 단계; (S2) 준비된 혼합 곡류 분말에 당근즙 및 바실러스 스타터를 첨가하여 발효하는 단계;를 포함하는 곡류 분말 발효물 제조방법을 제공한다.

[0010] 상기 구현예에 의한 곡류 분말 발효물 제조방법에서, (S1) 단계에서의 혼합 곡류 분말은 볶은 콩 분말 55~85 중량% 및 보리, 현미, 백미, 옥수수, 찹쌀, 흑미, 찰수수, 밀, 찰기장, 김정콩 찹쌀현미 중 선택된 1종 이상의 곡류 분말 15~45중량% 포함하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법을 제공한다.

[0011] 상기 구현예에 의한 곡류 분말 발효물 제조방법에서, (S1) 단계에서의 혼합 곡류 분말은 볶은 콩 분말 55~67 중량% 및 보리 분말 33~45중량% 포함하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법을 제공한다.

[0012] 상기 구현예에 의한 곡류 분말 발효물 제조방법에서, (S1) 단계에서의 혼합 곡류 분말은 볶은 콩 분말 60~70 중량% 및 현미 분말 30~40중량% 포함하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법을 제공한다.

[0013] 상기 구현예에 의한 곡류 분말 발효물 제조방법에서, (S2) 단계에서의 바실러스 스타터는 바실러스속 균주를 1~10%(w/v)의 대두분말 용액에 접종하여 진탕배양한 것일 수 있다.

[0014] 상기 구현예에 의한 곡류 분말 발효물 제조방법에서, (S2) 단계에서의 바실러스 스타터는 혼합 곡류 분말 100 중량부에 대하여 0.5~2 중량부를 첨가하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법을 제공한다.

[0015] 상기 구현예에 의한 곡류 분말 발효물 제조방법에서, (S2) 단계에서의 당근즙은 물과 혼합하여 20~60%(v/v)의 농도로 첨가하는 것인 곡류 분말 발효물 제조방법을 제공한다.

[0016] 상기 구현예에 의한 곡류 분말 발효물 제조방법에서, (S2) 단계에서의 당근즙은 볶은 콩 분말 100 중량부에 대하여 80~120중량부를 첨가하는 것일 수 있다.

[0017] 상기 구현예에 의한 곡류 분말 발효물 제조방법에서, (S2) 단계에서의 발효는 35~42℃에서 20~24시간 수행되는 것일 수 있다.

[0018] 본 발명은 바람직한 제2구현예로서 상기의 제조방법에 의하여 제조된 곡류 분말 발효물을 제공한다.

[0019] 본 발명은 바람직한 제3구현예로서 상기의 곡류 분말 발효물을 포함하는 식품을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 본 발명의 바람직한 일 실시예에 의한 곡류 분말 발효물의 제조방법을 개략적으로 나타내는 공정도이고,

도 2는 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따라 제조된 곡류 분말 발효물의 점질물 함량을 측정한 결과를 나타내는 그래프이며,

도 3은 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따라 제조된 곡류 분말 발효물에 대한 혈전용해효소 활성 측정 결과를 나타내는 그래프이고,

도 4는 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따라 제조된 보리분말 60중량부 첨가구의 곡류 분말 발효물에 대한 혈전용해효소 활성 측정 결과를 피브린 플레이트에 나타낸 것이며,

도 5는 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따라 제조된 보리분말 60중량부 첨가구의 곡류 분말 발효물에 대하여, 당근즙 용액의 농도에 따른 점조도 및 점질물 함량을 측정한 결과를 나타내는 그래프이고,

도 6은 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따라 제조된 보리분말 60중량부 첨가구의 곡류 분말 발효물에 대하여, 당근즙 용액의 농도 및 가열 온도에 따른 혈전용해효소 활성을 측정결과를 나타내는 그래프이며,

도 7은 본 발명의 실시예 2 중 보리분말 60중량부 첨가구의 곡류 분말 발효물을 가열하지 않은 경우와 70℃에서 10분간 가열한 경우의 혈전 용해능을 비교한 결과를 나타내는 사진이다.

도 8a는 본 발명의 실시예 2의 보리분말 60중량부 첨가 및 40%의 당근즙 용액 첨가구의 곡류 혼합 발효물을 동결 건조한 후 가스-크로마토그래피를 이용하여 향기성분을 분석한 결과를 나타낸 것이고, 도 8b는 대조구로 조직대두단백질(texture vegetable protein; TVP)의 향기성분을 분석한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 이하, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

[0022] 본 발명은 볶은 콩 분말을 포함하는 혼합 곡류 분말을 당근즙과 함께 청국장 발효시켜 곡류 분말 발효물 및 그 제조방법을 제공하는 것으로, 볶은 콩 분말을 포함하는 혼합 곡류 분말을 청국장 발효시킴에 있어서 여러 균들 중에서 점질물 생산이 우수한 바실러스속 미생물을 스타터로 제조하여 발효시에 당근즙과 함께 첨가하여 청국장 특유의 냄새가 적고 혈전용해능이 강화된 곡류 분말 발효물을 제조한다.

[0023] 이를 위하여 본 발명은 (S1) 볶은 콩 분말을 포함하는 혼합 곡류 분말을 준비하는 단계; (S2) 준비된 혼합 곡류 분말에 당근즙 및 바실러스 스타터를 첨가하여 발효하는 단계;를 포함하는 곡류 분말 발효물 제조방법을 제공한다.

[0024] 상기 (S1) 단계에서의 혼합 곡류 분말은 볶은 콩 분말을 포함하는 것으로, 볶은 콩 분말 100 중량부에 대하여 보리, 현미, 백미, 옥수수, 찹쌀, 흑미, 찰수수, 밀, 찰기장, 검정콩 찹쌀현미 중 선택된 1종 이상의 곡류 분말 20~80 중량부를 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, (S1) 단계에서의 혼합 곡류 분말은 볶은 콩 분말 55~85중량% 및 보리, 현미, 백미, 옥수수, 찹쌀, 흑미, 찰수수, 밀, 찰기장, 검정콩 찹쌀현미 중 선택된 1종 이상의 곡류 분말 15~45중량% 포함하는 것일 수 있다. 이때, 곡류 분말은 보리 25~35중량%, 옥수수 3~10 중량%, 현미 20~35중량%, 백미 10~20중량%, 찹쌀 20~30중량%를 포함하는 것일 수 있다.

[0025] 또는, 상기 (S1) 단계에서의 혼합 곡류 분말은 볶은 콩 분말 55~67중량% 및 보리 분말 33~45중량% 포함하는

것일 수 있다. 보리는 밀, 벼, 옥수수과 더불어 소비량이 세계 4위인 중요한 식량 작물이며 폴리페놀성 물질이 다량 함유되어 있고, 특히 이들 페놀성 화합물은 보리의 내부 배유조직보다 껍질을 포함하는 외층부 및 배아 부위에 더 많이 집적되어 있고 우수한 항산화성 및 활성산소 소거능을 갖고 있으므로 더욱 바람직하다.

[0026] 또한, (S1) 단계에서의 혼합 곡류 분말은 볶은 콩 분말 60~70중량% 및 현미 분말 30~40중량% 포함하는 것일 수도 있다.

[0027] 상기와 같이 볶은 콩을 이용하면 생대두에 비해 고온에서 볶는 과정을 거치면서 살균 작용으로 이물질이 제거되고 소화, 흡수가 용이해지며 콩 비린내가 제거됨과 동시에 콩의 고소한 풍미가 향상되는 등 여러 장점이 있다.

[0028] 이 때 상기 혼합 곡류 분말은 고압멸균기(autoclave) 등을 이용하여 100~130℃에서 10~20분간 멸균하여 사용하는 것이 바람직하다.

[0029] 그리고, (S2) 단계에서는 준비된 혼합 곡류 분말에 당근즙 및 바실러스 스타터를 첨가하여 발효한다.

[0030] 상기 바실러스 스타터는 바실러스속 균주를 1~10%(w/v)의 대두분말 용액에 접종하여 진탕배양한 것일 수 있다. 상기 대두분말용액은 물에 대두분말을 혼합한 것일 수 있는데, 진탕배양시의 유동성을 고려하여 대두분말이 1~10%(w/v) 포함된 용액인 것이 유리할 수 있다. 대두는 디스크밀로 분쇄하여 200mesh 정도의 입도를 갖는 대두분말로 분쇄한 후 사용할 수 있다.

[0031] 본 발명에서 사용하는 바실러스속 균주는 청국장에서 분리 가능한 같은 종(species)에 속하는 균주이면 어느 것이나 사용이 가능하다. 그 중에서도 바실러스 서브틸리스 HA(bacillus subtilis HA) 균주를 이용하는 것이 혈전용해효소 및 점질물 생산성이 우수하므로 바람직하다.

[0032] 제조된 바실러스 스타터는 (S1) 단계에서 준비된 혼합 곡류 분말 100 중량부에 대하여 0.5~2중량부로 첨가하는 것이 바람직하다. 바실러스 스타터를 0.1 중량부 미만으로 첨가하는 경우 발효가 효과적으로 이루어지지 않을 수 있고, 2 중량부를 초과하여 첨가하는 경우에는 바실러스균 특유의 발효취가 날 수 있다.

[0033] 한편, (S2) 단계에서의 당근즙은 물과 혼합하여 20~60%(v/v)의 농도의 당근즙 용액으로 첨가하는 것이 바람직하다. 그리고, 당근즙 용액은 상기 볶은 콩 분말 100 중량부에 대하여 80~120중량부의 양으로 첨가하는 것이 바람직하다. 발효시 다른 잡균이 섞이지 않도록 물은 멸균된 물을 사용하는 것이 더욱 바람직하다.

[0034] 당근은 산형과에 속하는 1-2년생 근채류로서 풍부한 식이섬유와 카로틴을 많이 함유하고 있으며, 상기 카로틴은 당근의 색깔과 영양을 결정하는 주요 물질로서 비타민 A의 전구체이고 항암 작용 및 성인병 예방 등의 기능을 가지고 있으므로 생리활성물질이 더해진 곡류 분말 발효물을 제공할 수 있어 바람직하다.

[0035] 이후, 상기 혼합 곡류 분말에 당근즙과 바실러스 스타터를 첨가한 혼합물은 35~42℃에서 20~24시간 발효를 수행함으로써 본 발명의 곡류 분말 발효물을 제조할 수 있다. 상기에서 발효온도가 상기 범위보다 낮은 경우 바실러스균의 생육이 느려져서 발효기간이 길어지게 되고, 이로 인해 바실러스균 특유의 발효취가 증가하게 되므로 바람직하지 못하며, 상기 온도범위보다 높은 경우 바실러스균이 과도하게 많이 증식되어 발효시간은 단축시킬 수 있으나 균의 정상적인 생육이 불가능하고, 고초균 특유의 발효취가 강하게 생성될 우려가 있으므로 바람직하지 못하다.

[0036] 이렇게 제조된 본 발명에 따른 곡류 분말 발효물은 단시간에 발효를 수행함으로써 냄새가 없고, 혼합 원료로부터 유래된 식이섬유 및 다양한 영양성분이 함유되어 있으며, 상기 혼합 곡류 분말을 당근즙과 함께 바실러스균으로 발효하여 생산된 점질물, 펩타이드, 효소 등의 각종 생리활성 물질들이 풍부할 뿐 아니라 혈전용해효소의 활성이 현저히 증진되므로, 이를 가공식품, 건강기능식품의 소재로 활용하기에 유용하다.

[0037] 이하, 본 발명의 구성을 실시예를 통하여 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 실시예로 한정되는 것은 아니다.

[0038] [실시예]

[0039] **제조예 1-1: 혼합 곡류 분말 제조**

[0040] 먼저, 볶은 콩은 분쇄하여 150mesh 정도의 볶은 콩 분말을 준비하였다. 그리고, 곡류 분말은 보리 28중량%, 옥수수 5중량%, 현미 20중량%, 백미 10중량%, 찹쌀 20중량%, 밀 10중량% 및 찰수수 7중량%을 혼합한 후 분쇄하여 150mesh 정도의 분말로 제조하였다. 원료인 볶은 콩(Roasted soybean flour)과 곡류 분말은 천호식품(대구)으로부터 구입하여 밀봉한 후 암소에서 보관하여 사용하였다.

[0041] 그리고, 볶은 콩 분말 100 중량부 대비 각각 20, 40, 60 및 80 중량부의 곡류 분말을 혼합하여 혼합 곡류 분말을 제조하였다.

[0042] **제조예 1-2: 혼합 곡류 분말 제조**

[0043] 볶은 콩 분말 100 중량부 대비 20, 40, 60 및 80 중량부의 보리 분말을 혼합하여 혼합 곡류 분말을 제조하였다.

[0044] **제조예 1-3: 혼합 곡류 분말 제조**

[0045] 볶은 콩 분말 100 중량부 대비 20, 40, 60 및 80 중량부의 현미 분말을 혼합하여 혼합 곡류 분말을 제조하였다.

[0046] **제조예 2: 바실러스 스타터 제조**

[0047] 입도 크기가 600메쉬(평균 25 μ m)인 대두분말을 물에 혼합하여 5%(w/v) 용액으로 제조하고 Homogenizer(Omni 10000, USA)를 이용하여 10,000rpm에서 1분간 균질화하여 대두분말 용액을 제조하였다.

[0048] 그리고, 재래식 청국장에서 분리한 후 한국미생물 보존센터에 기탁한 바실러스 서브틸리스 HA(Bacillus subtilis HA, KCCM 10775P)를 MRS 아가 플레이트에서 배양(42℃, 24h)하였다. 상기 배양된 균주 중에서 한 콜로니(colony)를 따서 오토클레이브를 이용하여 121℃에서 15분간 멸균된 상기 대두분말 용액 50mL로 이루어진 액체 배지에 접종하였다. 그리고, 42℃ 항온기에서 24시간 동안 배양(180rpm)한 후 스타터(6.5×10^8 CFU/mL)로 사용하였다.

[0049] **실시예 1~3**

[0050] 제조예 1-1~3에서 준비된 각각의 혼합 곡류 분말 100 중량부를 고압멸균기로 121℃에서 15분간 멸균하였다.

[0051] 그리고, 시중에서 판매되는 당근을 구입하여 물로 깨끗이 세척한 다음, 20℃ 그늘에서 물기가 없도록 3시간 동안 건조시킨 후 녹즙기를 이용하여 당근즙을 제조하였다. 그리고, 제조된 당근즙을 물과 혼합하여 20, 40, 60, 80, 100%(v/v)의 당근즙 용액으로 만들었다.

[0052] 이후 상기 혼합 곡류 분말 100 중량부에 대하여 상기 각각의 농도별 당근즙 용액 100 중량부를 첨가하고, 상기 제조예 2에서 얻은 바실러스 서브틸리스 HA 스타터를 1중량부 접종하였다.

[0053] 다음으로, 항온 발효조에서 42℃, 24시간 동안 고체 발효시킴으로써 본 발명의 곡류 분말 발효물을 제조하였다.

[0054] [실험예]

[0055] **혈전용해효소 활성 측정방법**

[0056] 혈전용해효소 활성은 피브리린 플레이트 방법(fibrin plate method)의 일종인 Astrup와 Mllerz의 방법을 사용하여 측정하였다. 피브리린 플레이트(Fibrin plate)는 0.5 % 피브리노겐을 0.067 M 인산나트륨 완충액(sodium phosphate buffer)(pH 7.5)에 용해시켜서 직경 9 cm인 페트리디쉬에 10 mL을 가하였다. 여기에 0.067 M 인산나트륨 완충액(pH 7.5)에 용해된 트롬빈(100 unit/mL) 0.1 mL을 가하고 신속하게 혼합한 후 실온에서 30 분 방치하여 고형화 시켰다. 혈전용해효소 활성 측정 시료는 발효물 1 g에 0.1 M 인산나트륨 완충액(pH 7.5) 9 mL을 혼합한 후 15,000 rpm에서 15 분 동안 원심 분리하여 얻은 상등액을 이용하였다. 피브리린 플레이트에 샘플을 20 μ L씩 점적하여 37 $^{\circ}$ C에서 2 시간 반응시킨 후 용해 면적으로 효소 활성을 구하였다. 표준 플라스민 효소활성의 표준곡선을 작성한 후 표준곡선과 비교하여 플라스민 유닛(plasmin unit)로 환산하여 혈전용해 효소 활성(%)을 나타내었다. 대조구로는 정제된 혈전용해효소인 플라스민(5 unit/mL)을 사용하여 계산하였다.

[0057] **점질물 함량 측정방법**

[0058] 점질물 함량은 상기 실시예에서 제조한 곡류 분말 발효물 5 g에 증류수 45 mL를 첨가하여 점질물을 용출한 후 원심 분리하여 상등액을 회수하였다. 회수된 상등액에 2배의 이소프로판올을 첨가하여 혼합한 후 형성된 점질물은 95% 에틸알코올에 세척하여 정제도를 높여주었다. 회수한 점질물을 건조하여 실험에 사용하였다. 상기에서 회수된 건조 점질물을 50 $^{\circ}$ C에서 항량이 될 때까지 감압건조기를 이용하여 건조 후, 건조중량으로 측정하였다.

[0059]

[0060] **실험예 1: 곡류 분말 종류 및 첨가량에 따른 점질물 함량변화**

[0061] 상기 각각의 실시예에서 제조된 곡류 분말 발효물에 대한 점질물 함량을 측정한 결과를 도 2에 나타내었다. 이때, 당근즙 용액은 40%(v/v) 농도인 것을 사용하여 실험하였다.

[0062] 도 2에 나타난 바와 같이, 점질물 함량에 대한 효과는 잡곡(실시예 1)과 보리(실시예 2)에서도 나타났으나, 현미 첨가 발효물(실시예 3)에서 점질물 함량의 증대 효과가 크게 나타난 것을 알 수 있다. 즉, 현미 첨가량이 증가 할수록 점질물 함량이 비례적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 현미를 첨가하지 않고 볶은 콩 분말만 발효시킨 대조구의 점질물 함량은 12.8%인 반면 현미를 볶은 콩 분말의 중량 대비 80중량부 첨가한 경우 점질물 함량이 24.55%까지 증가하여 약 2배에 달하는 것으로 나타났다.

[0063] **실험예 2: 곡류 분말 종류 및 첨가량에 따른 혈전용해효소 활성 변화**

[0064] 상기 각각의 실시예에서 제조된 곡류 분말 발효물에 대한 혈전용해효소 활성 측정 결과를 도 3에 나타내었고, 혈전용해효소 활성 측정 결과를 피브리린 플레이트에 나타난 결과를 도 4에 나타내었다. 이때, 당근즙 용액은 40%(v/v) 농도인 것을 사용하여 실험하였다.

[0065] 도 3에서는 실시예 2에서 혈전용해효소 활성 향상 효과를 크게 나타내는 것을 알 수 있으며, 보리 첨가량이 증가 할수록 비례적으로 혈전용해효소 활성이 증가하였다. 곡류 분말이 첨가되지 않은 대조구에서 약 6 unit/g의 활성을 나타낸 것과 비교해 볼 때, 실시예 1 및 실시예 3에서도 혈전용해효소 활성 모두 증가하였으나 특히 실시예 2의 볶은 콩 분말의 중량 대비 보리 60중량부 첨가구에서 11.82 unit/g인 것으로 나타나, 대조구에 비해 약 2배가량 활성이 증가된 것을 알 수 있다. 또한, 실시예 2의 볶은 콩 분말의 중량 대비 보리 60중량부 첨가구에서 혈전용해효소 활성이 최고치에 이르렀다가 80중량부 첨가구에서 감소하는 경향을 나타냈다.

[0066] 즉, 도 3에서 볼 수 있듯이, 본 발명에 따른 곡류 분말 발효물은 잡곡, 보리, 현미 등의 곡류 분말을 첨가하지 않고 볶은 콩 분말만 가지고 발효시킨 대조구에 비해 혈전용해효소의 활성이 매우 우수한 것을 알 수 있다.

[0067] 결과적으로 보리 분말이 첨가된 발효물을 꾸준히 섭취하게 되면 혈전용해효소 활성 증진에 의해 혈관관련 질환 예방에 상당한 도움을 줄 수 있을 것이라고 생각된다. 따라서 혈전용해효소 활성 생성 능력이 가장 우수한 곡류 분말 발효물은 실시예 2 중 볶은 콩 중량 대비 보리 60중량부 첨가구이다. 이하의 실험예에서는 혈

전용해효소 활성이 가장 우수한 실시예 2 중 붉은 콩 중량 대비 보리 60중량부 첨가구를 이용하였다.

실험예 3: 당근즙 용액의 농도에 따른 점도 및 점질물 함량 변화

혼합 곡류 분말 원료로 붉은 콩 분말 중량 대비 보리분말 60중량부(실시예 2)를 혼합한 것을 이용하여 제조된 곡류 분말 발효물에 대하여, 당근즙 용액의 농도에 따른 점도 및 점질물 함량을 측정한 결과를 도 5에 나타내었다.

도 5에 나타낸 바와 같이, 점도 변화는 당근즙 용액의 농도가 높을수록 증가하였으며 40%의 당근즙 용액 첨가시 점도가 28.58 Pasⁿ으로 가장 높게 나타났다. 이로 인해 점도가 폴리머의 함량과 어느 정도 관련은 있으나 첨가물의 종류에 따른 폴리머의 구성성분과 분자량의 크기에 따라 크게 좌우되는 것으로 추측된다. 점질물 함량 변화 역시 점도 변화와 동일하게 40%의 당근즙 용액 첨가시 점질물 함량이 27.14%로 가장 높은 것을 확인하였다. 당근즙 용액의 농도에 따른 점질물 함량 측정 결과 보리 분말 등의 곡류 분말과 당근즙의 첨가가 점질물 함량 증진에 효과를 주는 것을 확인 할 수 있었다.

실험예 4: 점질물의 γ -PGA 함량, levan 함량 및 γ -PGA 분자량

상기 실시예 2에서 제조된 곡류 분말 발효물 중에서 보리분말 60중량부 첨가구의 점질물만 회수하여 동결 건조 한 분말로 γ -PGA, levan 생산량 및 생산된 γ -PGA의 분자량을 측정한 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

실험예 3에서 점질물 함량이 40%의 당근즙 용액 첨가구에서 27.14%로 가장 높았던 것과 같이, γ -PGA 역시 7.43%로 40%의 당근즙 용액 첨가구에서 가장 높게 나타났다.

바실러스 서브틸리스 HA 균주를 통해 생산된 점질물에는 약간의 레반을 포함되어 있으며 당근즙 용액이 첨가되지 않은 대조구에서 레반 함량이 약 7% 함유되어 있는 것을 알 수 있다. 그리고, 당근즙 용액의 농도에 따른 레반 함량은 대조구와 조금 차이는 있었으나 유의적으로 큰 차이는 없는 것으로 확인되었다.

분자량은 당근즙 용액이 첨가되지 않은 대조구는 1510 kDa인 것으로 확인되었으며, 당근즙 용액의 농도가 증가 할수록 분자량이 감소하여 약 1300 kDa에 이르는 것으로 나타났다. 반면 100% 당근즙 용액 첨가구에서 얻은 발효물의 γ -PGA 분자량은 1400 kDa으로 약간 증가하는 것으로 확인되었다.

표 1

당근즙용액 농도 (%)	γ -PGA 함량 (%)	Levan 함량 (%)	분자량(kDa)
0	5.65	6.7	1510
20	6.94	5.2	1330
40	7.43	3.9	1310
60	6.83	4.6	1310
80	6.09	6.9	1330
100	5.91	4.6	1400

상기 표 1에서 볼 수 있듯이, 20~80%의 당근즙 용액을 첨가한 본 발명에 따른 곡류 분말 발효물의 γ -PGA함량이 당근즙 용액을 첨가하지 않은 발효물에 비해 훨씬 높은 것을 알 수 있다.

실험예 5: 당근즙 용액의 농도에 따른 열전용해효소 활성의 열안정성 측정

당근즙 용액의 농도 및 가열 온도에 따른 열전용해효소 활성을 측정하여 도 6에 그래프로 나타내었다. 도 7은 실시예 2 중 보리분말 60중량부 첨가구의 곡류 분말 발효물을 열처리하지 않은 경우와 70℃에서 10분간 가열한 경우의 열전 용해능을 비교한 결과를 나타내는 사진이다.

[0081] 먼저, 열처리하지 않은 대조구의 경우 실시예 2의 보리분말 60중량부 첨가 및 40%의 당근즙 용액 첨가구에서 31.45 unit/g로 혈전용해효소 활성이 최대치였다가 당근즙 용액의 농도가 증가 할수록 활성이 점점 감소하는 것을 알 수 있었다.

[0082] 그리고, 실시예 2의 보리분말 60중량부 첨가구를 50℃, 60, 70℃에서 10분간 열처리한 결과, 실시예 2의 보리분말 60중량부 첨가 및 40%의 당근즙 용액 첨가구의 동결 건조물을 50℃와 60℃ 열처리시 각각 26.29 unit/g, 18.90 unit/g로 열처리 온도가 증가 할수록 효소 활성이 급격히 감소하는 것을 확인하였으며 특히 70 ℃ 열처리구는 혈전용해효소 활성이 소실되었다.

[0083] **실험예 6: 최종 제품의 가스-크로마토그래피를 통한 향기성분 분석**

[0084] 실시예 2의 보리분말 60중량부 첨가 및 40%의 당근즙 용액 첨가구의 곡류 혼합 발효물을 동결 건조한 후 가스-크로마토그래피를 이용하여 향기성분을 분석한 결과를 도 8b에 나타내었다. 본 발효물의 대조구는 조직대두 단백질(texture vegetable protein; TVP)이라는 청국장향과 가장 유사한 발효물을 42 ℃에서 24시간 동일하게 배양 후 동결 건조하여 사용하였으며, 가스-크로마토그래피를 이용하여 향기성분을 분석한 결과를 도 8a에 나타내었다.

[0085] 따라서 청국장의 방향을 주도하는 청국장 냄새성분의 지표성분으로 알려진 피라진(pyrazine)류를 위주로 확인한 결과, 조직대두단백질(TVP) 발효물에서 2,5-디메틸 피라진, 트리메틸 피라진, 테트라메틸 피라진의 3가지 물질이 검출되었으며, 곡류 혼합 발효물은 트리메틸 피라진 및 테트라메틸 피라진의 2가지 물질이 검출되었다. 구체적으로는 TVP에 비해 트리메틸 피라진의 함량이 2,661,435에서 663,515로 약 4배가량 감소된 수치이며, 테트라메틸 피라진 함량은 22,095,798에서 2,396,433로 약 10배 감소된 것을 확인 할 수 있었다

표 2

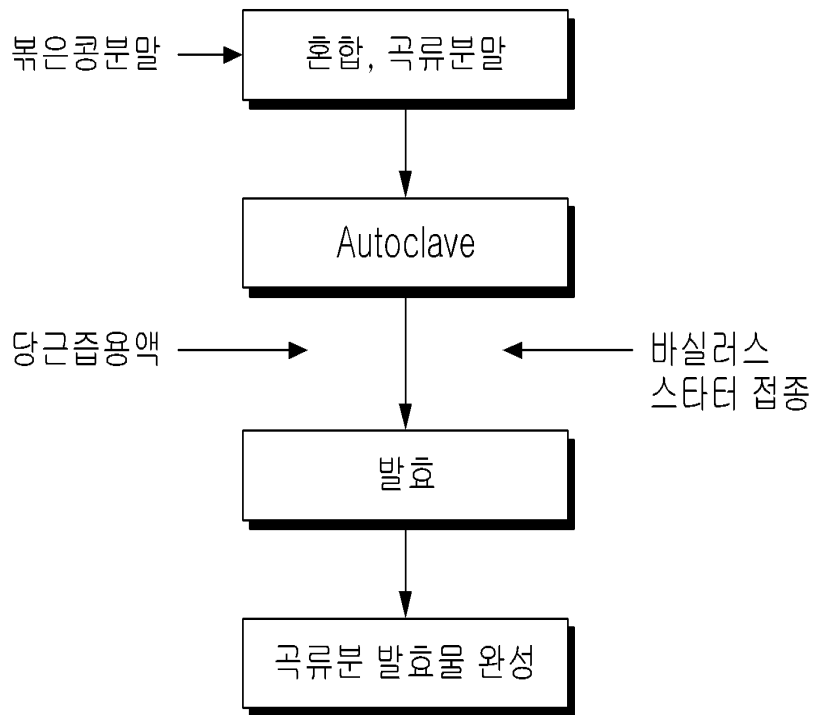
샘플	화합물	Retention Time (min)	Area
TVP	2,5-디메틸 피라진	11.20	2,282,904
	트리메틸 피라진	14.70	2,661,435
	테트라메틸 피라진	17.61	22,095,798
실시예 2	트리메틸 피라진	14.76	663,515
	테트라메틸 피라진	17.63	2,396,433

[0087] 도 7 및 표 2에서 볼 수 있듯이, 볼 발명에 따른 곡류 분말 발효물은 발효취가 현저히 제거된 것을 알 수 있다.

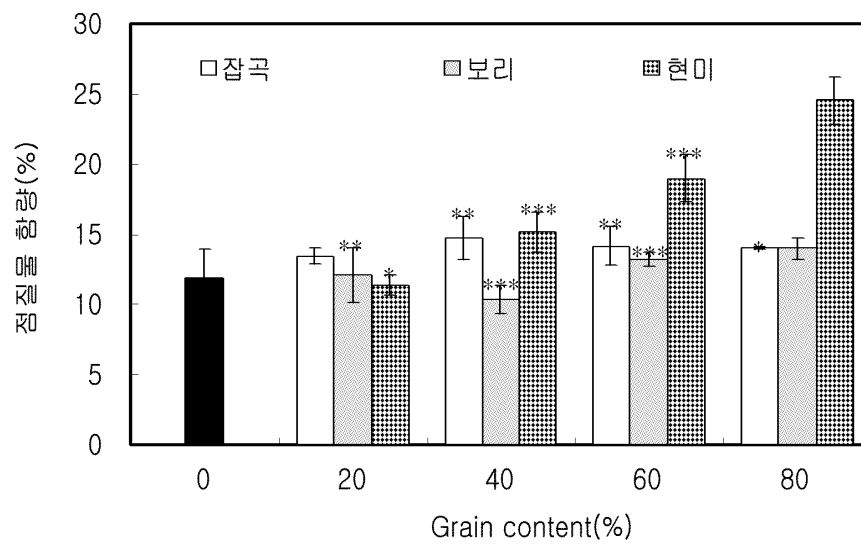
[0088] 이상 살펴본 바와 같이, 본 발명은 볶은 콩 분말을 포함하는 혼합 곡류 분말에 당근즙을 첨가한 후 바실러스 스타터를 이용하여 발효물로 제조함으로써 청국장 특유의 냄새가 제거되고, 혈전용해능이 현저히 증대되어, 발효물의 섭취 및 가공식품의 소재로 활용이 증가될 수 있는 효과가 있으므로 식품 산업에 매우 유용한 발명이다.

도면

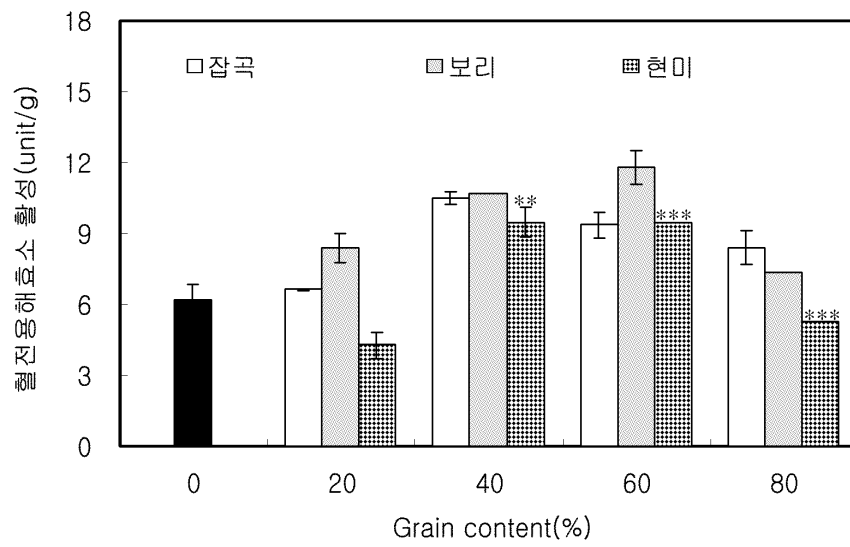
도면1



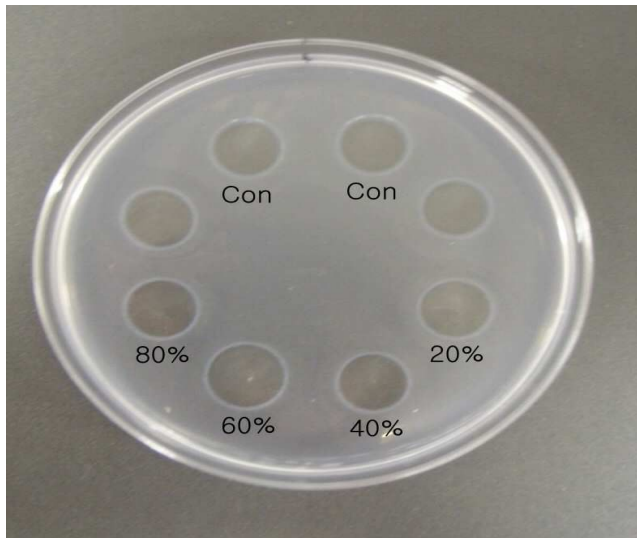
도면2



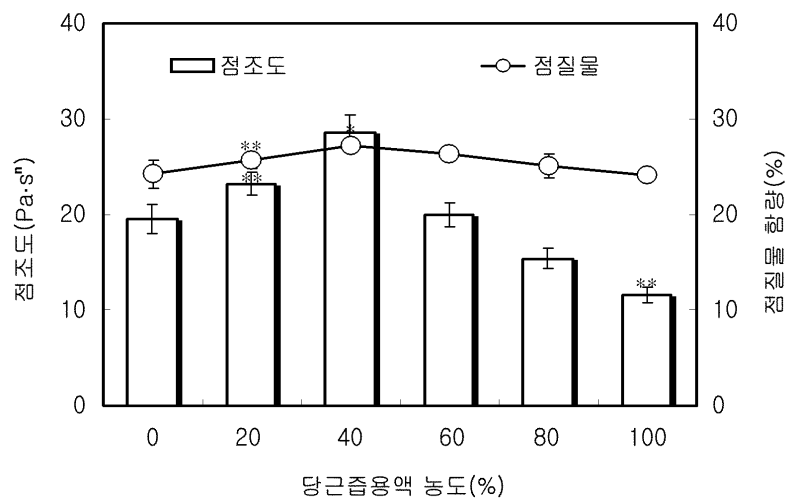
도면3



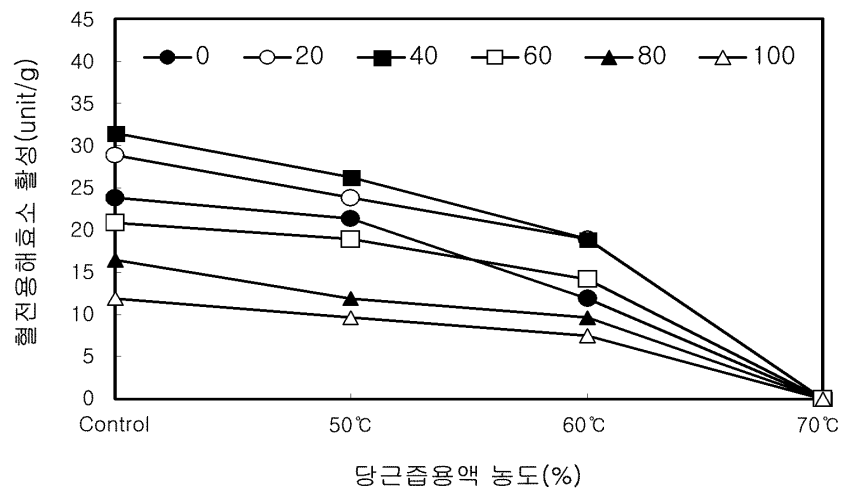
도면4



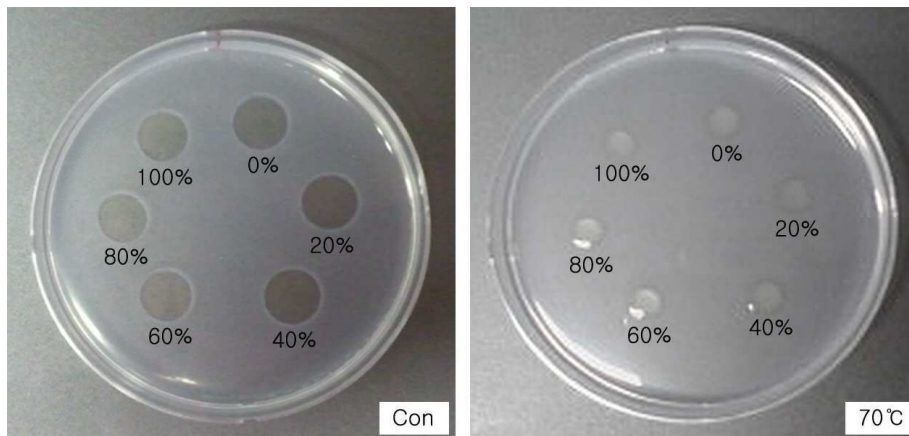
도면5



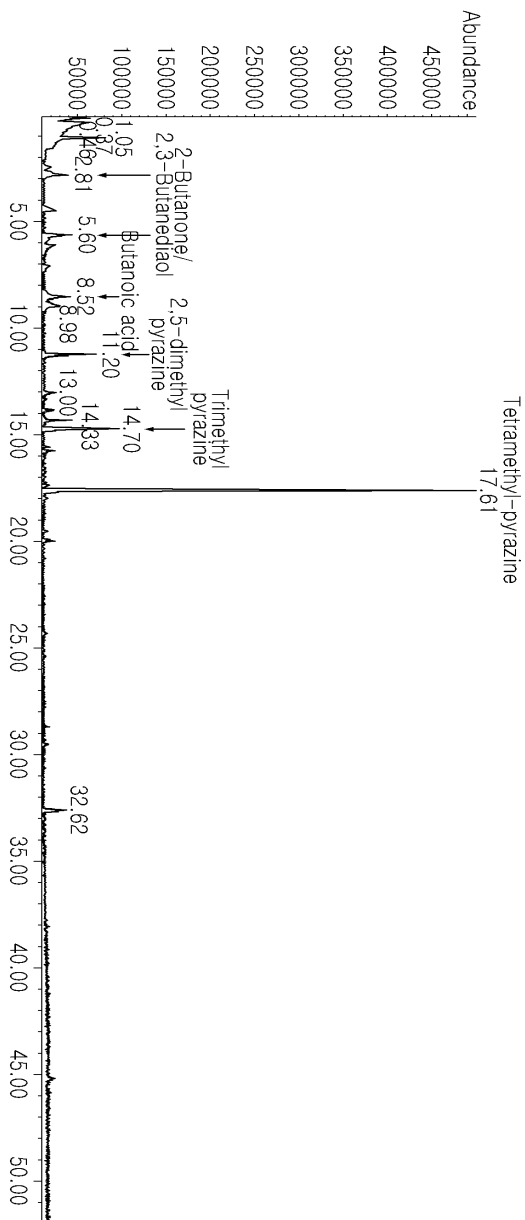
도면6



도면7



도면8a



도면8b

