

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2009-0082985 (43) 공개일자 2009년08월03일
(51) Int. Cl. <i>A23L 1/202</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2008-0008883 (22) 출원일자 2008년01월29일 심사청구일자 2008년01월29일	(71) 출원인 계명대학교 산학협력단 대구 달서구 신당동 1000번지 (72) 발명자 이삼빈 대구 달서구 이곡동 무지개 아파트 102-306 권춘석 경남 창원군 계성면 4리 760-3 오수명 대구 남구 대명3동 2258-39 (74) 대리인 특허법인명문	

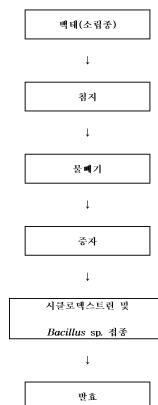
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 고 함량의 점질물을 함유하는 청국장 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 청국장 및 그 제조방법에 관한 것으로, 시클로텍스트린을 첨가하여 바실러스(*Bacillus* sp.)에 의해 고체 발효시켜 청국장을 제조함으로써 기능성 점질물의 생산을 최적화하여 고 함량의 점질물을 함유한 청국장 및 그 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

콩 총 중량에 대하여 2배 이상의 물을 가한 후 20~30시간 침지하는 단계;

물 제거 후 110~130℃에서 10~20분간 증자하는 단계;

증자된 원료에 시클로텍스트린을 가하는 단계; 및

시클로텍스트린을 첨가한 원료에 바실러스 스타터 배양액을 0.1~3중량% 접종한 후 고체발효하는 단계를 포함하는 청국장 제조방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

증자된 원료에 시클로텍스트린을 가하는 단계에서 글루타민 나트륨 용액을 증자된 콩 총 중량에 대하여 1~3 중량% 더 첨가하는 것을 특징으로 하는 청국장 제조방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

시클로텍스트린은 30~40% 농도의 용액이며, 증자된 콩 중량에 대하여 2~5중량% 포함하는 것임을 특징으로 하는 청국장 제조방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

고체발효는 37~45℃에서 20~35시간 수행되는 것임을 특징으로 하는 청국장 제조방법.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항의 제조방법에 의하여 제조된 청국장.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

점질물의 고형분 함량이 청국장 총 중량에 대하여 2.6중량% 이상인 것임을 특징으로 하는 청국장.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

<1> 본 발명은 청국장 및 그 제조방법에 관한 것으로, 시클로텍스트린을 첨가하여 바실러스(*Bacillus* sp.)에 의해 고체 발효시켜 청국장을 제조함으로써 기능성 점질물의 생산을 최적화하여 고 함량의 점질물을 함유한 청국장 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

<2> 콩 식품은 풍부한 단백질 성분을 함유하고 있어 예로부터 동양인의 중요한 단백질 공급원으로 이용되어 왔다. 특히 대두는 간장, 된장을 비롯한 장류 및 콩나물 등의 다양한 전통 식품에 이용되고 있으며, 전통적인 방법으로 청국장 제조에 사용되어 왔다. 청국장은 풍부한 비타민 B₂를 함유하고 있어 간의 원활한 해독작용에 도움을 준다. 또한 콩 발효의 주역인 바실러스(*Bacillus* sp.)는 고초균이라고도 하며, 콩의 가수분해를 비롯하여 기능성 펩타이드, 점질물 등의 생리활성물질의 생산에 기여하며, 유산균과 함께 프로바이오틱스(Probiotics)로서 작용하면서 장 내 균총의 개선과 건강유지 등의 효과를 수행한다. 이와 더불어 바실러스는 콩 발효 중에 여러 가

지 이로운 효소들을 생산하며, 특히 그 중 혈전을 녹이는 작용을 수행하는 혈전분해효소는 심근경색 및 뇌혈전 등을 예방하는데 효과가 있다는 연구 보고가 발표되고 있다. 특히 청국장 발효물에서 생성되는 주된 점질물인 폴리감마글루탐산은 다양한 물성과 생리활성이 있는 것으로 보고되었으며, 일본청국장인 나토에서 점질물의 생성이 중요시되면서 우량 균주들의 확보와 산업적 활용이 활발한 실정이다. 폴리감마글루탐산은 바실러스 균주가 생산하는 발효산물로써 사람과 환경에 독성이 없고, 수용성이며 생분해 가능한 고분자이다. 이러한 특징을 이용하여 침전농축장치, 습윤제, 동결방지제, 생분해성 섬유 등의 다양한 분야에서 이용가능하기 때문에 몇 년 전부터 많은 주목을 받고 있는 바이오 소재이기도 하다.

- <3> 이러한 콩발효물의 기능이 알려지면서 생청국장, 분말, 환 등의 다양한 제품이 생산되어 판매되고 있으며 점질물의 생산을 향상시킨 우수한 생청국장의 연구가 이루어지고 있다.
- <4> 최근에는 점질물 생산을 최적화하기 위하여 글루타민 나트륨을 이용하여 점질물 폴리감마글루탐산을 생산하는 균주를 이용하여 액체배양에서 50 g/L의 생산성이 보고되었다. 고체배양의 경우 배양물의 조성에 따라 점질물의 생산성이 다르며, 특히 최적의 농도조건에 따라서 최대 점질물의 생산을 확인할 수 있었다.
- <5> 종래 청국장의 점질물의 생산에 관한 연구에 대한 발명으로는 대한민국 특허 등록 제 324132호에 작두콩과 메주콩을 혼합하거나, 작두콩에 글루타민 나트륨을 첨가하여 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis)를 접종하여 발효시킴으로써 수득될 수 있는 이취가 감소하고 새로운 맛과 풍미가 발현되어 기호도가 높고 작두콩의 기능성을 더한 청국장과 이의 제조방법이 개시되어 있다. 그러나, 상기 청 국장은 글루타민 나트륨을 이용한 기호도 증진과 작두콩의 기능성을 제공할 수는 있으나 청국장의 기능성 물질인 점질물의 생성율이 저조하다는 단점을 가지고 있다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <6> 본 발명은 콩 발효물 중의 점질물의 생산을 향상시킬 수 있는 청국장 제조방법을 제공하고자 한다.
- <7> 또한 본 발명은 다양한 물성과 생리활성을 갖는 점질물 함량이 높은 청국장을 제공하고자 한다.

과제 해결수단

- <8> 이에 본 발명은 바람직한 일 구현예로서 콩 총 중량에 대하여 2배 이상의 물을 가한 후 20~30시간 침지하는 단계; 물 제거 후 110~130℃에서 10~20분간 증자하는 단계; 증자된 원료에 시클로텍스트린을 가하는 단계; 및 시클로텍스트린을 첨가한 원료에 바실러스 스타터 배양액을 0.1~3중량% 접종한 후 고체발효하는 단계를 포함하는 청국장 제조방법을 제공한다.
- <9> 상기 구현예에서, 증자된 원료에 시클로텍스트린을 가하는 단계에서 글루타민 나트륨 용액을 증자된 콩 총 중량에 대하여 1~3 중량% 더 첨가하는 것일 수 있다.
- <10> 상기 구현예에서, 시클로텍스트린은 30~40% 농도의 용액이며, 증자된 콩 중량에 대하여 2~5중량% 포함하는 것일 수 있다.
- <11> 상기 구현예에서, 고체발효는 37~45℃에서 20~35시간 수행되는 것일 수 있다.
- <12> 본 발명은 바람직한 다른 구현예로서 상기의 제조방법에 의하여 제조된 청국장을 제공한다.
- <13> 상기 구현예에 의한 청국장은 점질물의 고형분 함량이 청국장 총 중량에 대하여 2.6중량% 이상인 것일 수 있다.

효 과

- <14> 본 발명은 본 발명은 콩 발효물 중의 점질물의 생산을 향상시킬 수 있는 청국장 제조방법을 제공할 수 있다.
- <15> 또한 본 발명은 다양한 물성과 생리활성을 갖는 점질물 함량이 높은 청국장을 제공할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- <16> 이하, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.
- <17> 본 발명은 콩을 바실러스(Bacillus sp.)에 의해 고체 발효시켜 청국장을 제조함으로써 시클로텍스트린을 첨가함으로써 청국장의 기능성 물질인 점질물의 생산을 최적화하여 고 함량의 점질물을 함유한 청국장의 제조방법 및

이를 이용하여 제조된 청국장에 관한 것이다.

- <18> 즉, 점질물의 생성을 높이기 위하여 식품첨가물로 사용되고 있는 시클로텍스트린을 첨가하여 최적 농도를 정하고 고체발효를 일정 시간 동안 수행하여 콩 발효물에 점질물의 생성을 최대화하였다.
- <19> 본 발명의 청국장은 점질물의 고형분 함량이 청국장 총 중량에 대하여 2.6중량% 이상인 것이 바람직하며, 이러한 청국장은 하기 설명하는 공정에 의하여 제조할 수 있다.
- <20> 즉, 콩 총 중량에 대하여 2배 이상의 물을 가한 후 20~30시간 침지하는 단계; 물 제거 후 110~130℃에서 10~20분간 증자하는 단계; 증자된 원료에 시클로텍스트린을 가하는 단계; 및 시클로텍스트린을 첨가한 원료에 바실러스 스타터 배양액을 0.1~3중량% 접종한 후 고체발효하는 단계를 포함하는 청국장 제조방법을 제공한다.
- <21> 이 때 시클로텍스트린은 30~40% 농도의 용액이며, 증자된 콩 중량에 대하여 2~5중량% 포함하는 것일 수 있다.
- <22> 시클로텍스트린은 6~8개의 포도당이 결합한 형태로 분자 내부에 특징적인 소수성 영역을 갖고 있어, 여러 분자들을 끌어들이며 조점화합물을 형성하여 물성 개선효과가 있다. 따라서 청국장 제조시 시클로텍스트린을 첨가함으로써 점질물의 생산을 증진시킬 뿐만 아니라 청국장 특유의 이취를 개선시킬 수 있다.
- <23> 증자된 원료에 시클로텍스트린을 가하는 단계에서 글루타민 나트륨 용액을 증자된 콩 총 중량에 대하여 1~3 중량%를 함께 첨가할 수 있다.
- <24> 글루타민 나트륨은 점질물 고농도 생산을 도와주며, 수분함량을 고려하여 고농도(30~40%)의 용액을 제조하여 첨가하였다.
- <25> 상기 청국장 제조방법에서 고체발효는 27~45℃에서 20~35시간 수행되는 것이 바람직하다.
- <26> 이와 같은 공정에 의하여 제조된 본 발명의 청국장은 상기 설명한 바와 같이 다량의 점질물을 포함하고 있다.
- <27> 이하, 본 발명의 구성을 실시예를 통하여 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 제조에 및 실시예로 한정되는 것은 아니다.
- <28> <실시예>
- <29> 제 1 단계 : 원료처리
- <30> 백태를 선별한 후 원료무게의 2배의 비율로 물을 첨가하여 하루동안 침지시켰다. 물을 제거한 다음 고압증자로 110~130℃에서 10~20분간 증자하였다. 35%의 시클로텍스트린 용액과 35%의 글루타민산 나트륨 용액을 준비하였다.
- <31> 제 2 단계: 바실러스 서브틸리스 스타터 제조
- <32> 청국장에서 분리선별한 바실러스 펠무스 NA-1(*Bacillus firmus* NA-1), 바실러스 서브틸리스 PUL-A(*Bacillus subtilis* PUL-A), 바실러스 서브틸리스 KU-A(*Bacillus subtilis* KU-A), 바실러스 서브틸리스 HA(*Bacillus subtilis* HA), 바실러스 서브틸리스 GT-D(*Bacillus subtilis* GT-D)를 MRS agar plate에서 42℃ 항온기를 이용하여 24시간 활성화시킨 후, 한 콜로니(colony)를 따서 멸균된 5% 콩분말용액에 접종한 후 42℃ 항온기에서 24시간 150rpm에서 진탕 배양시켜 스타터 종균으로 사용하였다.
- <33> 제 3 단계: 시클로텍스트린을 첨가한 원료 배합물 제조
- <34> 상기 제 1단계에서 증자된 콩에 증자된 콩 총 중량에 대하여 시클로텍스트린 용액을 0~5중량% 가하였다. 여기에 상기 제 2단계에서 얻은 5종의 바실러스 균주를 각각 1중량부씩 접종한 후, 42℃에서 24시간 발효시켜 청국장을 제조하였다.
- <35> 제 4 단계: 글루타민산 나트륨을 첨가한 원료 배합물 제조
- <36> 상기 제3단계에서 제조된 청국장 중 점질물 생산능이 가장 뛰어난 최적조건에서 시클로텍스트린 용액을 첨가하는 단계에서 멸균된 35%의 글루타민산 나트륨 용액을 증자된 콩 중량에 대하여 1~3중량% 첨가하였다. 그 이후 바실러스 서브틸리스 HA 균주를 이용하여 동일한 방법으로 고체발효를 수행하였다.
- <37> 실험예 : 청국장에서부터 점질물의 생산량 변화 조사
- <38> 제 1 단계 : 농도별 시클로텍스트린을 첨가한 청국장의 점질물 함량 변화
- <39> 상기 실시예의 제3단계에서 말한 것과 같이 청국장을 제조하였을 때의 점조도와 점질물 함량을 도 3에 나타내었

다.

<40> 시클로텍스트린의 최적 농도를 알아보기 위하여 종균은 바실러스 서브틸러스 HA 균주만을 사용하였으며, 35 중량% 시클로텍스트린 용액을 증자된 콩 중량에 대하여 0~5% 범위로 첨가하여 42℃에서 24시간 발효하였다. 그 결과 시클로텍스트린을 첨가하지 않은 대조군에서는 $0.09 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$ 으로 낮은 점조도를 보였으며, 시클로텍스트린을 첨가할수록 점조도의 값은 점차 증가하였다. 특히 3%의 시클로텍스트린을 첨가한 청국장에서 $0.54 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$ 으로 대조군에 비하여 6배의 점조도가 증가하는 것을 확인하였다. 또한 점질물 함량 측정 결과 역시 도 3에서 보는 것과 같이 3%의 시클로텍스트린을 첨가한 청국장에서 3.68%로 가장 많은 점질물 함량을 나타내었다.

<41> 제 2 단계 : 균주별로 알아본 시클로텍스트린의 효과

<42> 상기의 제 1 단계에서 최적의 점조도와 점질물 함량을 얻은 조건을 이용하여 다른 4종의 바실러스 균주들을 이용하여 같은 방법으로 청국장을 제조하였을 때 시클로텍스트린의 효과를 알아보았다.

<43> 표 1에서 보는 것과 같이 5종의 바실러스 균주를 이용하여 점조도를 측정한 결과 균주에 상관없이 시클로텍스트린 첨가의 효과가 있는 것으로 나타났다.

표 1

균주	점조도($\text{Pa} \cdot \text{s}^n$)	
	시클로텍스트린 0%	시클로텍스트린 3%
<u>바실러스 서브틸러스</u> HA	0.4839	0.8693
<u>바실러스 펙투스</u> NA-1	0.0857	1.0930
<u>바실러스 서브틸러스</u> PUL-A	0.0541	0.5983
<u>바실러스 서브틸러스</u> GT-D	0.0723	0.0821
<u>바실러스 서브틸러스</u> KU-A	0.2372	1.3490

<45> 한편, 도 2는 본 발명의 청국장 제조방법에서 시클로텍스트린을 농도별로 첨가하였을 때의 외관의 변화를 나타낸 사진으로써 시클로텍스트린의 함량이 증가할수록 점질물 생성이 증가하였음을 볼 수 있다.

<46> 제 3 단계 : 농도별 글루타민 나트륨을 첨가한 청국장의 점질물 함량 변화

<47> 상기 실시예의 제4단계에서 글루타민 나트륨을 첨가하였다.

<48> 종균은 바실러스 서브틸러스 HA 균주를 사용하였으며, 35% 시클로텍스트린 용액은 증자된 콩 함량에 대하여 3중량%로 첨가하였고, 35%의 글루타민 나트륨을 증자된 콩 함량에 대하여 1~3% 범위로 첨가하여 42℃에서 24시간 발효하였다.

<49> 실험 결과는 도 4에 나타내었으며, 1번 조건은 종균만 접종하여 발효한 대조군이며 2번은 시클로텍스트린을 3% 첨가한 조건, 3번은 시클로텍스트린 3%와 글루타민 나트륨 1%, 4번은 시클로텍스트린 3%와 글루타민 나트륨 2%, 5번은 시클로텍스트린 3%와 글루타민 나트륨 3% 첨가한 조건을 나타내었다.

<50> 실험 결과 시클로텍스트린만을 첨가하였을 때보다 글루타민 나트륨을 2% 더 첨가하였을 때 점조도는 $0.53 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$ 에서 $0.75 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$ 으로 증가하였으며, 점질물 함량 역시 3.85%에서 4.96%로 증가하였다.

<51> 상기 실시예로부터 제조된 청국장을 다음과 같은 방법으로 측정하여 평가하였다.

<52> 평가 1: 청국장의 물성 분석

<53> 가. 점질물 함량

<54> 실험예 1에서 제조된 청국장 발효물에 10배 부피의 증류수를 첨가하여 추출액을 얻은 후 원심분리하여 상등액을 취한 다음, 상등액에 2배 부피의 알코올을 첨가하여 다당류를 응집시킨 후 원심분리하여 점질물을 회수하였다. 점질물의 고형분 함량은 50℃ 감압건조법에 의해서 결정하였다.

<55> 나. 점조성

<56> 콩발효물 추출물의 점조도는 레오미터 시스템(Rheometer System)(HAAKE RheoStress 1, Germany)에 스핀들

(spindle)(Rotor DG43 DIN 53544 Titan)을 장착하여 측정용 컵 DG43(measuring cup DG43)을 사용하여 측정하였다. 점조도 값은 변형 속도(shear rate)(1/s)와 변형 압력(shear stress)(Pa)으로 나타내어 점조도가 높아짐에 따라 층밀립 변형력이 높아지는 효과를 측정하였다. 측정온도 20℃에서 전단속도는 1~100 s⁻¹의 범위로 유동특성을 알아보았고, 점조도지수와 유동지수 값은 파워 로우 모델(Power law model)($\tau = ar^b$)로 측정하였다.

<57> 평가 2 : HPLC를 이용한 점질물 생산량 측정

<58> 상기 평가 1의 가.에서 말한 것과 같이 건조한 점질물을 0.1 M Na₂SO₄/ 0.05M NaN₃(glacial acetic acid로 pH를 4로 조정) 용액에 1% 되게 녹인 다음, 원심분리 후 상층액 만을 0.45 μ m 실린지 필터(syringe filter)로 여과하여 GPC(Gel Permeation Chromatography)로 분석하였다. 분석조건은 검출기로 RI(Waters 410, USA)를 이용하였으며, GPC 컬럼(column)은 Shodex SB 805 HQ(Japan)를 이용하여 이동상을 0.1 M Na₂SO₄/ 0.05M NaN₃(glacial acetic acid로 pH를 4로 조정) 로 유속은 1.0 mL/min의 속도로 흘려주었다. 점질물 생성 정도는 생성된 peak area를 비교하여 표 2에 나타내었다.

표 2

시료	Area
시클로텍스트린 0%	505494
시클로텍스트린 1%	654854
시클로텍스트린 2%	981104
시클로텍스트린 3%	2543883
시클로텍스트린 4%	2169240
시클로텍스트린 5%	1203527
시클로텍스트린 3% + 글루타민 나트륨 1%	2598568
시클로텍스트린 3% + 글루타민 나트륨 2%	2687563
시클로텍스트린 3% + 글루타민 나트륨 3%	1979363

<60> 상기 측정 결과, 시클로텍스트린을 농도별로 첨가하였을 때 Retention time(RT, 분)이 6.5~7.1분대에 생성된 peak area를 기준으로 area 값이 가장 큰 것이 발효 후 점질물 함량이 가장 많이 생성 된 것이라 할 수 있다. 시클로텍스트린을 첨가할수록 area 값이 점차 커지는 것을 알 수 있으며, 특히 시클로텍스트린 3%를 첨가한 시료에서 2543883으로 넓이가 가장 큰 것을 알 수 있다. 또한 시클로텍스트린 3%에 글루타민 나트륨을 첨가하였을 때 1~2% 까지는 값이 점차 넓어지다가 3%에서는 약간의 감소를 보였다. 이는 도 2, 3에서 말한 것과 같이 점조도와 점질물 함량의 변화와 같은 경향으로 서로간의 유의성이 있다고 할 수 있다.

도면의 간단한 설명

<61> 도 1은 본 발명의 청국장 제조방법을 모식적으로 도시한 도면,

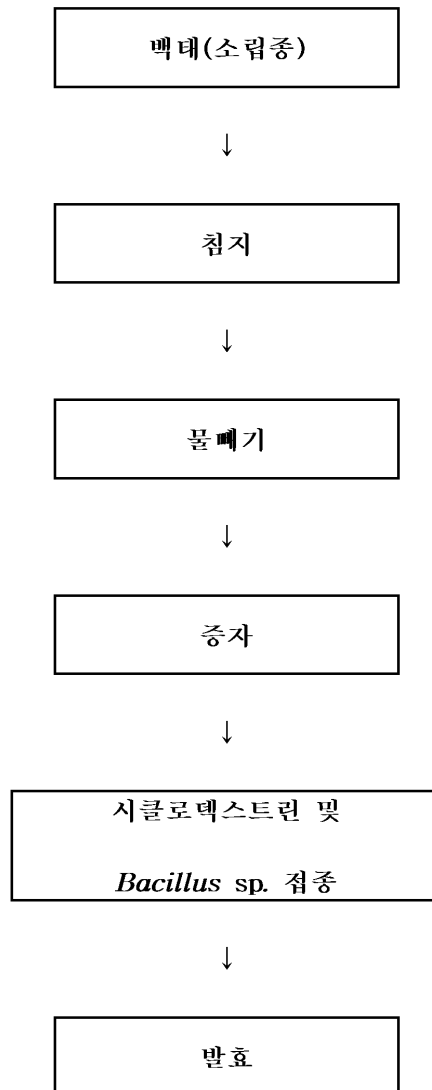
<62> 도 2는 본 발명의 청국장 제조방법에서 시클로텍스트린을 농도별로 첨가하였을 때의 외관의 변화를 나타낸 사진,

<63> 도 3는 본 발명에서 사용된 시클로텍스트린을 농도별로 첨가하였을 때의 점조도와 점질물 함량 변화를 나타내는 그래프,

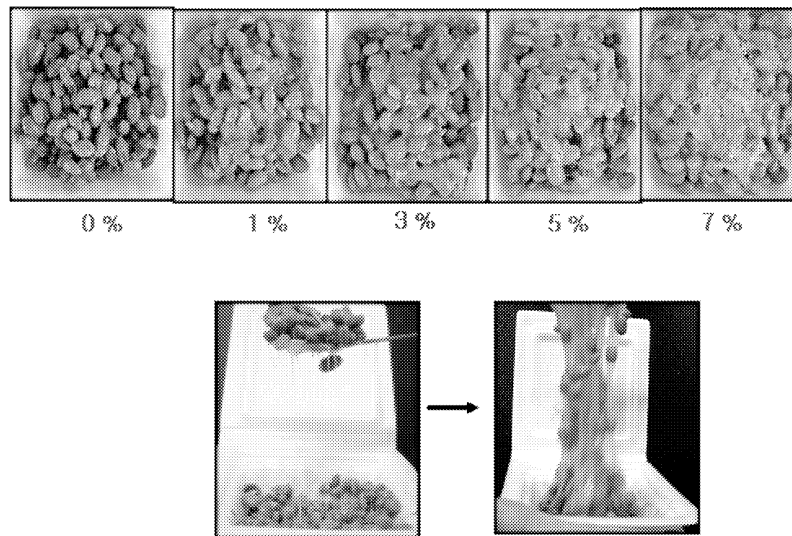
<64> 도 4은 본 발명에서 사용된 시클로텍스트린 3%와 글루타민 나트륨을 농도별로 첨가하였을 때의 점조도와 점질물 함량 변화를 나타내는 그래프이다.

도면

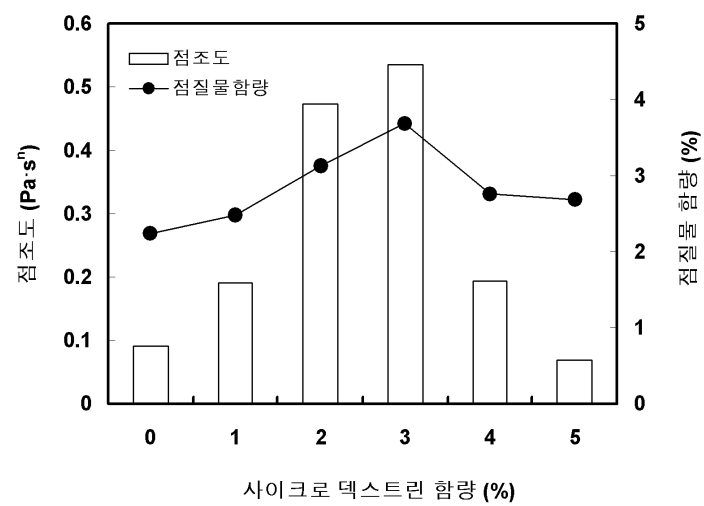
도면1



도면2



도면3



도면4

