(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0098426
(43) 공개일자 2011년09월01일

(51) Int. Cl.
A23L 1/20 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0018046
(22) 출원일자 2010년02월26일
심사청구일자 2010년02월26일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가 1
(72) 발명자
황한준
충청남도 연기군 조치원읍 서창리 고려대학교세종캠퍼스 과학기술대학 208호
윤미영
서울특별시 성북구 안암동5가 고려대학교 생명공학원 특수연구동 205B
(74) 대리인
특허법인다나

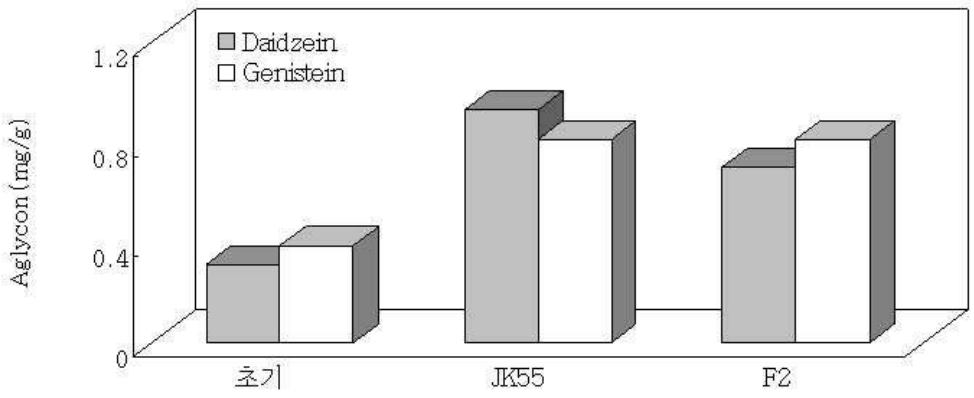
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 고형의 콩 발효 식품 및 이의 제조방법

(57) 요 약

본 발명은 a) 콩 단백질, 당 및 유산균을 배합하고 균질화하는 단계; b) 상기 배합물을 상온에서 숙성하는 단계; c) 상기 숙성된 배합물을 케이싱에 충전하는 단계; d) 상기 충전된 배합물을 발효시키는 단계; 및 e) 상기 발효된 배합물을 냉온에서 숙성하는 단계를 포함하는 고형의 콩 발효 식품의 제조 방법 및 이에 따라 제조된 고형의 콩 발효 식품에 관한 것이다. 본 발명의 방법에 따르면 유산균을 이용하여 콩 단백질을 발효 및 숙성시킴으로써, 콩 단백질을 고형화시키고, 제품 내의 수분을 증발시켜 저장 안전성뿐만 아니라 탄력 있는 식감을 갖는 고형의 콩 단백 발효식품을 얻을 수 있다. 상기 방법에 의해 제조된 고형의 콩 발효 식품은 식물성 에스트로겐의 함량의 증가, 피틴산 및 올리고당 함량의 감소, 항산화 효과 및 항암 효과의 증가 등과 같은 향상된 기능성을 제공한다. 본 발명에 따른 고형의 콩 발효 식품은 신축성, 점성 및 탄력성이 적당하여 가벼운 열처리에 의한 조리 제품으로서 이용이 가능하다.

대 표 도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

a) 콩 단백질, 당 및 유산균을 배합하고 균질화하는 단계;

b) 상기 배합물을 상온에서 숙성하는 단계;

c) 상기 숙성된 배합물을 케이싱에 충전하는 단계;

d) 상기 충전된 배합물을 발효시키는 단계;

e) 상기 발효된 배합물을 냉온에서 숙성하는 단계를 포함하는

고형의 콩 발효 식품의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 콩 단백질은 조직대두단백인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 콩 단백질은 분리대두단백인 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 단계 a)의 배합시 글루텐을 추가로 첨가하는 것을 포함하는 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 단계 a)의 배합시 전분을 추가로 첨가하는 것을 포함하는 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 유산균은 유산균이 접종된 발효 두유를 포함하는 두유 배양액의 형태로 배합되는 것인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 유산균은 루코노스톡 메센테리우디스(*Leuconostoc mesenteriodes*)인 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 유산균은 락토바실루스 파시미니스(*Lactobacillus farciminis*)인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 유산균은 루코노스톡 메센테리우스 제이케이-55(*Leuconostoc mesenteriodes* JK-

55)(KACC91445)인 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 당은 콩 단백질 100 중량부에 대하여 1 내지 5 중량부로 배합되는 방법.

청구항 11

제4항에 있어서, 상기 글루텐은 분리대두단백 100 중량부에 대하여 70 내지 100 중량부로 배합되는 방법.

청구항 12

제5항에 있어서, 상기 전분은 분리대두단백 100 중량부에 대하여 1 내지 20 중량부로 배합되는 방법.

청구항 13

제6항에 있어서, 상기 콩 단백질이 조직대두단백이고, 상기 두유 배양액이 조직대두단백 100 중량부에 대하여 40 내지 80 중량부로 배합되는 방법.

청구항 14

제6항에 있어서, 상기 콩 단백질은 분리대두단백이고, 상기 두유 배양액은 분리대두단백 100 중량부에 대하여 400 내지 500 중량부로 배합되는 방법.

청구항 15

제1항에 있어서, 단계 b)의 숙성은 15 내지 25℃에서 10 내지 15분간 수행되는 것인 방법.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 케이싱은 천연 케이싱 또는 인조 케이싱인 방법.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 충전된 배합물의 발효는 20 내지 25℃, 습도 85 내지 95%에서 24 내지 72시간 동안 수행되는 것인 방법.

청구항 18

제1항에 있어서, 상기 발효된 배합물에는 유산균이 2 X 10^9 내지 8 X 10^9 CFU/g 로 존재하고, 발효된 배합물의 pH는 4.5 내지 5.0인 방법.

청구항 19

제1항에 있어서, 단계 e)의 숙성은 15 내지 18℃, 습도 75 내지 85%에서 3 내지 6일 동안 수행되는 것인 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항의 방법에 따라 제조된 고형의 콩 발효 식품.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 유산균을 이용하여 콩 단백질을 발효시키고 고형화한 고형의 콩 발효 식품에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 본 발명은 고형의 콩 발효 식품에 관한 것으로, 보다 구체적으로 콩 단백질 및 유산균을 포함하는 고형의 콩 발효식품에 관한 것이다.

[0003] 콩은 단백질 30-45%, 지방 16-22%, 탄수화물 약 20%를 포함하여, 일반 곡물과 달리 단백질 및 지방의 함량이 매우 높은 편이다. 또한 탄수화물의 경우 전분은 거의 없고 섬유질로 이루어져 있으며, 가용성 당이 약 10% 정도를 차지한다. 따라서 콩은 그 영양적 조성이 육류에 가까우며, 콩 단백질을 구성하는 아미노산은 우유와 그 조성이 유사하다.

[0004] 또한, 콩에는 항암, 항노화, 항비만, 또는 항심혈관 질환 등을 예방하는 여러 가지 생리활성물질이 함유되어 있으며, 항산화작용, 골다공증 예방, 혈압강화작용, 항혈전작용, 면역 증강 효과, 또는 간 기능 증진 등의 영양학적 및 그 기능성에 있어서 우수한 식품으로 알려져 있다.

[0005] 그러나 생콩에 존재하는 안티트립신과 올리고당은 소화 장애를 일으키고, 헥사놀(hexanol), 펜타놀(pentanol)등의 물질은 대두의 비린내를 유발한다. 이 물질들은 제거가 어려운 문제점이 있어 장시간의 고온 살균에 의해 콩 가공식품을 제조하고 있다.

[0006] 따라서 기호성과 낮은 소화율, 대두취, 저장 안전성 등의 문제를 극복하기 위한 콩 가공제품들이 제안되어 왔다. 지금까지 대두를 이용하는 고형제품의 개발은 그 원료가 두유나 대두단백이 아닌 어육이나 다른 단백질 소재가 주원료이며 두유나 대두단백을 주원료로 한 제품의 경우도 소포제, 유화제, 전분, 응고제 등의 첨가물들에 의해 응고시켜 제품을 제조하고 있다.

[0007] 화학물질의 첨가로 인해 건강식품으로서의 가치를 감소시키고, 제품 내에 존재하는 다량의 수분으로 인해 저장 안전성에도 문제를 가지고 있다. 또한, 콩 원료가 주원료가 아님으로 콩 단백 자체의 식품으로서의 활용을 충분히 살리지 못한 단점이 있으며, 묵 형태의 제조로 인해 식감이 떨어져 시장성이 떨어지는 단점이 있었다. 또한 열처리와 복잡한 가공 공정으로 인해 생리활성 물질의 감소를 유발하므로 기능성 식품으로서의 가치도 떨어진다.

[0008] 최근에는 상기와 같은 문제점들은 해소하고 콩의 활성 물질의 함량은 증가시키기 위한 방안으로 미생물을 이용하여 발효제품을 제조하는 방안이 많이 제시되고 있으나, 발효 후 기호성이 좋지 못하거나 제품의 형상이 안정하지 않으며 저장 기간도 짧은 단점 등이 있어 실제로 식생활에 활용되지 못하고 있다. 또한 유산균을 이용한 발효식품의 경우 수분함량이 높은 형태인 요구르트(yogurt)나 두유에 초점이 맞추어져 있으므로 콩 단백이 가지고 있는 영양소를 충분히 섭취하는데 한계가 있으며 저장성이 낮은 문제점이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 상기 문제점을 해결하기 위한 것으로서 소화흡수가 용이하고, 저장안정성, 영양성 및 기능성이 증가된 고형의 콩 발효식품 및 이의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 a) 콩 단백질, 당 및 유산균을 배합하고 균질화하는 단계; b) 상기 배합물을 상온에서 숙성하는

단계; c) 상기 숙성된 배합물을 케이싱에 충전하는 단계; d) 상기 충전된 배합물을 발효시키는 단계; 및 e) 상기 발효된 배합물을 냉온에서 숙성하는 단계를 포함하는 고형의 콩 발효 식품의 제조 방법 및 이에 따라 제조된 고형의 콩 발효 식품을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명의 방법에 따르면 유산균을 이용하여 콩 단백질을 발효 및 숙성시킴으로써, 콩 단백질을 고형화시키고, 제품 내의 수분을 증발시켜 저장 안전성뿐만 아니라 탄력 있는 식감을 갖는 고형의 콩 단백 발효식품을 얻을 수 있다. 상기 방법에 의해 제조된 고형의 콩 발효 식품은 식물성 에스트로겐의 함량의 증가, 피틴산 및 올리고당 함량의 감소, 항산화 효과 및 항암 효과의 증가 등과 같은 향상된 기능성을 제공한다. 본 발명에 따른 고형의 콩 발효 식품은 신축성, 점성 및 탄력성이 적당하여 가벼운 열처리에 의한 조리 제품으로서 이용이 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 JK-55 또는 F-2로 발효시킨 고형의 콩 발효 식품의 이소플라본 함량이 발효 전에 비해 현저히 증가함을 보여주는 그래프이다.

도 2는 JK-55 또는 F-2로 발효시킨 고형의 콩 발효 식품의 피틴산 함량이 발효 전에 비해 현저히 감소함을 보여주는 그래프이다.

도 3은 JK-55 또는 F-2로 발효시킨 고형의 콩 발효 식품의 올리고당 함량이 발효 전에 비해 현저히 감소함을 보여주는 그래프이다.

도 4는 JK-55 또는 F-2로 발효시킨 고형의 콩 발효 식품의 항산화 효능이 발효 전에 비해 증가함을 보여주는 DPPH 라디칼 제거 능력 (DPPH radical scavenging assay) 결과이다.

도 5는 HepG2 세포와 vero 세포에 대한 JK-55 또는 F-2로 발효시킨 고형의 콩 발효 식품의 항암 효능이 발효 전에 비해 우수함을 보여주는 MTT 분석 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명은 a) 콩 단백질, 당 및 유산균을 배합하고 균질화하는 단계; b) 상기 배합물을 상온에서 숙성하는 단계; c) 상기 숙성된 배합물을 케이싱에 충전하는 단계; d) 상기 충전된 배합물을 발효시키는 단계; 및 e) 상기 발효된 배합물을 냉온에서 숙성하는 단계를 포함하는 고형의 콩 발효 식품의 제조 방법 및 이에 따라 제조된 고형의 콩 발효 식품을 제공한다.

[0014] 콩 단백질, 당 및 유산균을 배합하고 균질화하는 a) 단계는 준비된 원료를 적정 비율로 배합하고 균질화시키는 단계에 해당한다.

[0015] 본 발명의 고형의 콩 발효 식품의 제조를 위해 사용되는 콩 단백질은 식품에 통상적으로 사용되는 콩 단백질이면 어떠한 것이든 가능하다. 본 발명의 한 구체예에서, 상기 콩 단백질은 조직대두단백(soy protein textured) 또는 분리대두단백(soy protein isolate)일 수 있다. 조직대두단백 또는 분리대두단백은 식품 제조에 있어서 통상적으로 사용되는 것으로서, 트립신 저해제, 키모트립신 저해제, 우레아제 등과 같은 항영양인자나 글리시닌(glycinin) 또는 β-콘글리시닌(β-conglycinin) 등과 같은 대두 알레르겐(soy allergen) 등을 제거하고 단백질 함량을 최대로 한 것이라는 점에서 바람직하다.

[0016] 조직대두단백은 세절된 대두단백질에 조직감을 부여하여 섭취하기 좋고 기호성을 향상시키고 육류와 동일한 씹힘성을 부여한 제품으로, 압출기 사용, 섬유방적기의 이용, 직접증기 이용, 형체성형 후 가열, 효소에 의한 조직감 부여 등의 방법에 의해 제조된다. 조직대두단백은 형태, 크기, 색상이 다양하며 미립자, 덩어리, 플레이크 형태로 존재한다.

[0017] 상기 분리대두단백(soy protein isolate)은 가장 잘 정제된 대두 미세분화된 단백질 제품이다. 탈지대두가루 또는 탈지박편(flake)으로부터 비단백질 성분 대부분이 제거된 순수단백질로 단백질함량이 90%이상인 분말 제품이다. 분리대두단백의 분산도를 증가시키고 가루로 인한 먼지를 감소시키기 위해 레시틴(lecithin)을 첨가한 제품이나, 단백질 분해효소로 부분적 가수분해시켜 기능성을 향상시킨 가수분해 대두단백(hydrolyzed soy protein)

또한 상기 분리대두단백에 포함된다.

[0018] 상기 조직대두단백 또는 분리대두단백을 그대로 사용할 경우에는 수분리 현상에 의해 제품이 변형되므로 이를 개선하기 위해 본 발명에서는 단백질이 등전점에서 응고되는 원리를 이용하고자 유산균 발효를 이용한다.

[0019] 상기 제조 방법에 있어서, 당은 유산균의 증식을 위해 사용되는 것으로 어떠한 당이든 사용될 수 있다. 본 발명의 한 구체예에서, 상기 당은 과당 (fructose), 설탕(sucrose), 맥아당(maltose) 및 포도당(glucose)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 당일 수 있다. 본 발명의 한 구체예에서, 당은 콩 단백질 100 중량부에 대하여 1 내지 5 중량부를 포함하는 것이 바람직하다. 1 중량부 미만인 경우 사용하는 유산균 스타터(starter)의 생육이 부진하여 초기에 충분한 pH 저하를 유도하지 못하므로 제품의 성상에 나쁜 영향을 주어 숙성이 오래되면 저장과정 중에 갈라짐 현상이 발생하고, 5 중량부를 초과하는 경우 단맛이 증가하고 과도한 산 생성으로 인해 제품의 풍미에 영향을 미친다.

[0020] 상기 제조방법에 있어서, 유산균은 대두에 많이 함유되어 있는 난소화성 올리고당을 분해하여 이의 소화흡수를 용이하게 해 주는 역할을 한다. 또한 유산균은 콩 단백질의 고형화를 촉진시켜 조직감을 형성하고, 유산균의 효소 활성에 의해 생리활성물질인 이소플라본의 함량을 증가시킨다. 콩의 주요 생리활성 물질인 이소플라본은 식물성에스트로젠(phytoestrogen)으로 장내 균총에 의해 활성화되는 식물성화합물(phytochemical)이다. 상기 이소플라본은 제니스테인(genistein: $C_{15}H_{10}O_5$), 다이드제인(daidzein: $C_{15}H_{10}O_4$), 이들의 배당체, 및 기타 여러 유도체 등으로 구성되어 있다. 이들 대부분은 배당체 형태로 존재하지만 아글리콘(aglycon)이 배당체로부터 유리되었을 때 생체 이용성이 더 높아진다. 따라서 효소활성에 의한 발효식품의 형태가 이소플라본(isoflavone)을 더 효과적으로 이용할 수 있다.

[0021] 상기 유산균은 콩 단백질의 발효를 위해 사용되는 것이면 어떠한 것이든 가능하다. 본 발명의 한 구체예에서, 상기 유산균은 루코노스톡 메센테리우디스 (*Leuconostoc mesenteriodes*) 또는 락토바실루스 파시미니스 (*Lactobacillus farciminis*) 일 수 있다. 바람직하게는 상기 유산균은 루코노스톡 메센테리우스 제이케이-55(*Leuconostoc mesenteriodes* JK-55)(KACC91445)일 수 있다.상기 유산균은 충분한 생육을 거친 후 콩 단백질 및 당과 함께 배합되게 된다. 유산균을 배양하는 배양액은 유산균의 충분한 생육이 가능한 배양액이면 어떠한 것이든 가능하다. 이에 제한되는 것은 아니나, 두유, 탈지박 두유 및 탈지 우유로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 혼합물 중에서 배양될 수 있다.

[0022] 본 발명의 한 구체예에서는, 상기 유산균은 유산균이 접종된 발효 두유를 포함하는 두유 배양액의 형태로 배합될 수 있다. 상기 두유는 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있으며, 고형분을 포함하는 것이 바람직하다. 고형분이라 함은 수분을 제외한 대두 성분을 말하며, 탄수화물, 지방질 및 단백질이 주된 성분이다. 상기 두유 중의 고형분 함량은 이에 제한되는 것은 아니나, 5 내지 15%가 바람직하다. 두유 중의 고형분 함량이 상기 범위를 벗어나는 경우, 유산균의 충분한 생육 및 제품 성형에 적합하지 않다.

[0023] 상기 두유에 유산균을 접종하고 일정시간 배양시켜 균수를 증가시킨다. 상기 배양은 30-37℃에서 24-48시간 배양하는 것이 바람직하다. 상기 두유를 40 내지 45℃로 냉각시켜 유산균을 1 X 10^5 내지 9 X 10^6 CFU/ml이 되도록 접종한다. 상기 발효두유의 발효 후 최종 균수는 2×10^9 내지 5×10^9 균수/㎖ 인 것이 바람직하다.

[0024] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 콩 단백질이 조직대두단백인 경우 상기 두유 배양액은 조직대두단백 100 중량부에 대하여 40 내지 80 중량부로 배합될 수 있다. 예컨대, 조직대두단백 100 중량부에 대하여 두유 35 내지 60 중량부 및 발효두유 5 내지 20 중량부를 합하여 두유 배양액이 40 내지 80 중량부로 배합될 수 있다. 두유 배양액이 40 중량부 미만인 경우에는 수분 함량이 부족하여 발효가 충분히 일어나지 않으며 저장 과정 중에 조직이 갈라지는 현상이 발생할 수 있고, 80 중량부를 초과하는 경우 탄력있는 조직감이 형성되지 않을 수 있다.

[0025] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 콩 단백질이 분리대두단백인 경우, 상기 두유 배양액은 분리대두단백 100 중량부에 대하여 400 내지 500 중량부로 배합될 수 있다. 예컨대, 분리대두단백 100 중량부에 대하여 두유 370 내지 440 중량부 및 발효두유 30 내지 60 중량부를 합하여 400 내지 500 중량부로 배합될 수 있다. 두유 배양액이 400 중량부 미만일 경우에는 수분 함량이 부족하여 발효가 충분히 일어나지 않으며 저장 과정 중에 조직이 갈라지는 현상이 발생할 수 있고, 500 중량부를 초과하는 경우 탄력있는 조직감이 형성되지 않을 수 있다.

[0026] 상기 제조 방법에 있어서, 콩 단백질로서 분리대두단백을 사용할 경우에는 분리대두단백의 조직감을 형성하기 위해 글루텐(gluten)을 추가로 배합할 수 있다. 이 경우 글루텐은 분리대두단백 100 중량부에 대하여 70 내지 100 중량부를 포함할 수 있다. 글루텐이 70 중량부 미만인 경우 최종 제품의 조직감이 매우 약하여 쉽게 부스러

지거나 물컹한 형태를 나타내며, 100 중량부를 초과하는 경우에는 최종 제품의 탈수가 빠르게 진행되며 공기와 접촉할 경우 쉽게 굳는 현상을 보인다.

[0027] 상기 제조 방법에 있어서, 콩 단백질로서 분리대두단백을 사용할 경우, 부드러운 조직감 형성에 도움이 되도록 전분(starch)을 추가로 배합할 수 있다. 이 경우 전분은 분리대두단백 100 중량부에 대하여 5 내지 20 중량부를 포함할 수 있다. 5 중량부 미만으로 사용될 경우에는 부드러운 조직감 형성에 큰 도움이 되지 않고, 20 중량부를 초과하는 경우에는 대두단백의 함량이 상대적으로 적어 콩 제품으로서의 제품의 가치가 떨어지며, 저장과정 중 탈수가 촉진되어 제품의 성상에 바람직하지 않다.

[0028] 상기 배합된 원료들의 균질화 공정은 이에 제한되는 것은 아니나, 카터기에서 수행되는 것이 바람직하다. 상기 균질화 공정에서 글루텐이 지나치게 조직에 영향을 주지 않도록 2 내지 5분 간격으로 카터기를 작동하여 열이 발생하지 않도록 하는 것이 좋다. 균질화 공정의 온도는 45℃ 미만인 것이 바람직하다. 온도가 이보다 높은 경우 글루텐의 결합이 깨져 물성이 나빠지고 수분이 이탈되며 콩 단백질의 변성이 일어나게 된다.

[0029] 상기 배합물을 상온에서 숙성하는 b) 단계는 균질화된 배합물을 반죽 형태가 되도록 숙성하는 단계이다. 균질화된 배합물을 약하게 반죽한 후 상온에서 숙성시킨다. 이 때 배합물이 갈변되지 않도록 공기와의 접촉을 막아주는 것이 바람직하다. 숙성시간은 이에 제한되는 것은 아니나, 10 내지 15분이 바람직하다. 숙성시간이 10분 미만인 경우 글루텐을 사용하는 분리단백대두 배합물은 제품의 탄성이 약하여 조직감이 떨어지며, 15분을 초과하는 경우 공기와의 접촉에 의해 표면이 건조해진다. 상기 단계를 거치면 균질화된 원료는 탄력 있는 반죽 형태가 된다.

[0030] 단계 c)는 숙성된 배합물을 케이싱에 충전하는 단계이다. 상기 단계 c)를 거쳐 반죽 형태로 만들어진 숙성된 배합물을 케이싱에 적당한 중량으로 충전하여 제품을 제조한다. 상기 케이싱은 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 천연 케이싱 또는 인조 케이싱일 수 있다. 천연 케이싱으로는 소, 돼지, 양 등의 가축의 내장으로 만든 케이싱을 이용할 수 있고, 인조 케이싱으로는 콜라겐 케이싱, 셀룰로오스 케이싱, 파이브러스 케이싱, 플라스틱 케이싱 등을 이용할 수 있다.

[0031] 단계 d)는 충전된 배합물을 발효시키는 단계이다. 케이싱에 충전된 제품은 충분한 효소작용 및 미생물의 생육을 유도하고, 제품 내의 수분을 증발시키기 위하여 발효 단계를 거친다. 제품 내의 수분이 증발되어, 미생물이 이용할 수 있는 수분이 감소되어 저장 안정성이 증대된다. 상기 발효조건은 이에 제한되는 것은 아니나, 20 내지 25℃, 습도 85 내지 95%에서 24 내지 72시간 발효시키는 것이 바람직하다. 상기 조건을 벗어나는 경우 젖산균 스타터의 생육이 원활하지 못하거나 너무 빠른 생육으로 인해 부패가 일어나거나 신맛이 나는 제품이 만들어진다. 발효된 제품은 유산균이 2×10^9 내지 8×10^9 CFU/g, pH는 4.5 내지 5.0이 되는 것이 바람직하다. 상기 범위를 벗어나는 경우 숙성 및 판매 과정 중에서 병원성 미생물에 의해 오염되기 쉬우며 제품의 성상을 유지하는데도 영향을 미친다. 또한 제품이 발효 식품이라는 취지에도 부합하지 않는다.

[0032] 단계 e)는 상기 발효된 배합물을 냉온에서 숙성하는 단계이다. 발효시킨 제품의 저장 안정성을 증대하기 위하여 냉온에서 숙성하는 것이 바람직하다. 이에 제한되는 것은 아니나, 15 내지 18℃, 습도 75 내지 85%에서 3 내지 6일 정도 숙성하는 것이 바람직하다. 상기 조건을 벗어나는 경우 제품의 급격한 건조가 일어나거나 미생물의 성장이 억제된다.

[0033] 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조된 고형의 콩 발효식품을 제공한다. 상기 제조방법에 의하여 제조된 고형의 콩 발효식품은 기능성 유산균이 다량으로 배양되어 있고, 소화흡수가 용이하고, 영양성, 저장안정성 및 기능성이 증가된 것이다. 상기 제조방법은 콩 발효 식품의 제조과정을 단순화함으로써 산업적인 대량 생산을 가능하게 해 준다.

[0034] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0035] **[실시예]**

[0036] **실시예 1: 조직대두단백 및 루코노스톡 메센테리우스 제이케이-55를 이용한 고형의 콩 발효식품의 제조**

[0037] 팽윤 및 세절단계를 거쳐 준비된 조직대두단백 200 g에 과당 3.2 내지 5 g을 첨가하여 혼합하고 사이런트 카터(silent cutter)를 이용하여 2분 정도 회전시켜 원료를 배합하였다.

[0038] 루코노스톡 메센테리우스 제이케이-55(*Leuconostoc mesenteriodes* JK-55, 이하 'JK-55'라 함, KACC91445)를 접종한 발효 두유를 포함하는 두유 배양액을 제조하였다. 먼저 10%의 고형분이 함유된 두유를 40 내지 45℃까지 냉각시켰다. 상기 두유에 JK-55을 10^6 CFU/ml이 되도록 접종하고, 30℃에서 24 시간 배양하여 2-5×10^9 균수/㎖까지 증가시켰다.

[0039] 80-110 ㎖의 두유에 JK-55를 이용한 발효두유 30 ㎖의 비율로 첨가된 두유배양액을 주입하고 5분 정도 회전하여 배합하는 균질화하였다. 10분간 상온에서 숙성단계, 상기 숙성된 원료를 진공 스타퍼(stuffer)에서 케이싱(casing)에 충전하는 단계, 케이싱에 충전한 것을 25℃, 습도 95%의 조건에서 48시간 발효시키는 단계, 발효시킨 제품을 15℃, 습도 85%의 조건에서 3-6일간 숙성시키는 단계를 거친 후, 제조된 제품을 포장하고 냉장보관(10℃ 이하)하였다.

[0040] **실시예 2: 조직대두단백 및 락토바실루스 파시미니스 에프에프-2를 이용한 고형의 콩 발효식품의 제조**

[0041] 팽윤 및 세절단계를 거쳐 준비된 조직대두단백 200 g에 과당 3.2 내지 5 g의 비율로 첨가하여 혼합하고 사이런트 카터(silent cutter)를 이용하여 2분 정도 회전시켜 원료를 배합하였다.

[0042] 락토바실루스 파시미니스 에프에프-2(*Lactobacillus farciminis* FF2, 이하 'F-2'라 함)를 접종한 발효 두유를 포함하는 두유 배양액을 제조하였다. 먼저 10%의 고형분이 함유된 두유를 40 내지 45℃까지 냉각시켰다. 상기 두유에 F-2를 10^6 CFU/ml이 되도록 접종하고, 30℃에서 24 시간 배양하여 2×10^9 내지 5×10^9 균수/㎖까지 증가시켰다.

[0043] 80 내지 110 ㎖의 두유에 F-2를 이용한 발효두유 30 ㎖의 비율로 첨가된 두유배양액을 주입하고 5분 정도 회전하여 배합하는 균질화하였다. 10분간 상온에서 숙성단계, 상기 숙성된 원료를 진공 스타퍼(stuffer)에서 케이싱(casing)에 충전하는 단계, 케이싱에 충전한 것을 25℃, 습도 95%의 조건에서 48시간 발효시키는 단계, 발효시킨 제품을 15℃, 습도 85%의 조건에서 3 내지 6일간 숙성시키는 단계를 거친 후, 제조된 제품을 포장하고 냉장보관(10℃ 이하)하였다.

[0044] **실시예 3: 분리대두단백 및 JK-55를 포함하는 고형의 콩 발효식품의 제조**

[0045] 분리대두단백 100 g에 글루텐 73 내지 97 g, 과당 3.2 g, 전분 15 g의 비율로 각각 첨가하여 혼합하고 사이런트 카터(silent cutter)를 이용하여 2분 정도 회전시켜 원료를 배합하였다. 배합된 원료믹서에 두유 390 ㎖에 JK-55를 이용한 발효두유 50 ㎖의 비율로 첨가된 두유배양액을 주입하고 5분 정도 회전하여 균질 배합하였다. 10분간 상온에서의 숙성단계, 상기 혼합물을 진공 스타퍼(stuffer)에서 케이싱(casing)에 충전하는 단계, 케이싱에 충전한 것을 25℃, 습도 95%의 조건에서 48시간 발효시키는 단계, 발효시킨 제품을 15℃, 습도 85%의 조건에서 3 내지 6일간 숙성시키는 단계를 거친 후, 제조된 제품을 포장하고 냉장보관(10℃ 이하)하였다.

[0046] **실시예 4: 분리대두단백 및 F-2를 포함하는 고형의 콩 발효식품의 제조**

[0047] 분리대두단백 100 g에 글루텐 73 내지 97 g, 과당 3.2 g, 전분 15 g의 비율로 각각 첨가하여 혼합하고 사이런트 카터(silent cutter)를 이용하여 2분 정도 회전시켜 원료를 배합하였다. 배합된 원료믹서에 두유 390 ㎖에 F-2를 이용한 발효두유 50 ㎖의 비율로 첨가된 두유배양액을 주입하고 5분 정도 회전하여 균질 배합하였다. 10분간 상온에서의 숙성단계, 상기 혼합물을 진공 스타퍼(stuffer)에서 케이싱(casing)에 충전하는 단계, 케이싱에 충전한 것을 25℃, 습도 95%의 조건에서 48시간 발효시키는 단계, 발효시킨 제품을 15℃, 습도 85%의 조건에서 3 내지 6일간 숙성시키는 단계를 거친 후, 제조된 제품을 포장하고 냉장보관(10℃ 이하)하였다.

[0048] **[실험예]**

[0049] 하기 실험예에서는 실시예 1을 통해 제조된 콩 발효 식품을 시료로 하여 제품의 특성, 기능성 등을 확인하였다.

[0050] **실험예 1: 고형의 콩 발효식품의 제품 특성 및 미생물 균수 측정**

[0051] 본 발명에 따른 고형의 콩 발효식품의 제조를 위해서는 유산균이 충분한 유기산을 생성하여 콩 단백질의 등전점인 약 pH 4.5까지 pH를 낮춤으로써 단백질을 응고시킬 수 있어야 하며, 잡균의 생육 억제, 발효 후 미생물 균수의 현저한 증가, 제품에서의 탈수 유도 등이 요구된다. 이에 실시예 1을 통해 제조된 콩 발효식품의 수분활성도 및 수분 함량, pH 변화, 미생물 균수 측정, 조직감 측정을 수행하였다.

[0052] (1) 수분활성도(a_w) 및 수분함량

[0053] 발효 및 숙성 과정 중 제품을 취하여 상하, 좌우에서 중심이 되는 부분을 선택하여 절단 한 후 단면을 취하였다. 취한 단면의 가장자리 부분과 중심부에서 적당량의 시료를 취하여 수분활성도 측정기를 이용하여 수분활성도를 측정하였으며 수분 함량은 AOAC의 상압가열건조법을 이용하여 측정하였다.

[0054] (2) pH 변화

[0055] 제조된 Novel Fermented Soyfood (NFS)를 발효 및 숙성 중의 pH 변화를 측정하였다. pH는 시료의 가장 중심부에 pH 측정기를 주입하여 측정하였다.

[0056] (3) NFS 시스템 내에서의 미생물학적 변화

[0057] 시료 1 g을 멸균 희석수 (0.85% NaCl, 1% peptone, 0.02% tween 80)를 이용하여 단계적으로 희석한 후 PCA(plate count agar), PDA(potato dextrose agar), MRS(0.6% $CaCO_3$ 첨가)에 도말하여 유산균의 경우 48시간 곰팡이의 경우 5일간 배양 후 측정하였다. 총균수, 유산균 스타터, 곰팡이 스타터의 변화를 측정하였다.

[0058] (1) 내지 (3)의 결과를 하기 표에 나타내었다. 초기 제품의 pH는 6.84에서 최종 제품의 pH는 각각 4.77과 4.63이 되는데 숙성 단계에서 등전점인 4.5이하로 떨어졌다가 숙성 후기에 다시 증가하는 것으로 확인되었으며 이는 단백질이 분해되어 아미노산이 약간 생성되므로 나타나는 현상으로 생각된다. JK55와 F2는 각각 초기 10^6의 균수에서 10^{10}으로 증가하여 제품 내에서 충분한 생육이 가능함을 확인하였다. 또한 수분함량 및 수분 활성도의 측정 결과 최종 제품의 수분활성도가 잡균의 반식을 제어하는데 효과가 있을 것이라 기대되었으며 균수 측정 결과도 타 미생물의 생육이 거의 발생하지 않음을 확인하였다.

표 1

[0059]

Strains	Initial	JK55	F2
pH	6.84	4.77	4.63
Total viable cells (CFU/g)	1.03 X 10^6	9.43 X 10^9	9.82 X 10^9
Aw	0.99	0.963	0.965
Moisture content (%)	51.67	35.74	36.64

[0060] (4) 최종 제품의 조직감 측정

[0061] 조직감 분석기(Texture analyzer)를 이용하여 로투스 1-2-3 시스템의 TPA (texture profile analysis) 프로그램으로 조직감 결과를 분석하였다. 힘과 시간에 따른 관능 특성으로 수행하였으며 compression probe (직경 30 ㎜)를 사용하였다. 대조구(control)로는 시판중인 비발효 콩 단백 소시지를 구입하여 사용하였으며 그 결과 하

기 표와 같다. 측정 결과 대조구와 탄성력은 유사하며 저작성(chewiness), 점착성(gumminess), 경도는 대조구에 비해 높아 탄력 있는 조직감을 가지고 있는 것으로 확인되었다.

표 2

[0062]

	JK55	F2	Control
Product Height	10.680±0.98	11.320±1.44	10.470±2.17
Initial Stress	3.650±0.51	2.722±0.94	3.087±1.44
Compression	5.660±0.71	5.741±0.88	5.235±1.49
Springiness	0.875±0.14	0.836±0.22	0.831±0.45
Cohesiveness	0.694±0.11	0.680±0.32	0.663±0.17
Chewiness	1174.662±21.41	1273.565±28.11	1001.999±18.59
Gumminess	1341.799±25.78	1522.618±19.44	1205.602±22.73
Adhesiveness	-15.308±2.47	-17.486±3.96	-16.419±1.99
Fracturgtlility	NA	NA	NA
Hardness	1934.6±26.14	2240.8±19.78	1818.78±1.43

[0063] **실험예 2: 생리활성 물질의 함량 변화 측정**

[0064] (1) 이소플라본 함량 변화 측정

[0065] 시료 1 g을 취하여 0.1% glicial acetic acid 가 첨가된 70% EtOH를 4 ml 첨가한 후 균질화하였다. 준비된 시료를 50℃ 수조에서 2시간 반응시킨 후 다시 6시간 동안 상온에서 진탕하여 미정제 플라보노이드(crude flavonoid)를 추출하였다. 3,000 rpm에서 10 분간 원심 분리하고 상층액을 0.22 ㎛의 실린지 필터(sylinge filter)로 여과 멸균하여 HPLC 분석에 사용하였다. 이소플라본 분석은 RP-HPLC를 수행하였으며 실험에 사용된 컬럼은 Nova-pak (Waters, 3.9 × 150 mm)를, 이동상은 1% 아세트산을 함유한 DW (Sol. A)와 1% 아세트산을 함유한 아세토니트릴 (Sol. B)을 65:35 비로 혼합하여 30 분간 분석하였으며 용출속도는 1 ㎖/min, 탐지기(detector)는 UV 254 nm로 분석하였다.

[0066] 도 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 발효되지 않은 초기 상태에 비해 JK-55로 발효시킨 제품의 아글리콘 함량은 다이드제인과 제니스테인 함량이 각각 3, 2배 증가하는 것으로 확인되었으며 F-2의 경우에도 각각 2.3, 2배 증가하는 것으로 나타났다. 이로 인해 이소플라본, 특히 제니스테인이 갖는 것으로 알려진 여러 가지 생리 활성이 훨씬 더 효과적으로 나타날 것으로 기대된다.

[0067] (2) 피틴산의 함량 변화 측정

[0068] Wheeler와 Ferrel의 방법을 변형하여 피틴산의 함량 변화를 측정하였다. 시료 3 g을 칭량하여 3% TCA 용액 30 ㎖에 녹여서 1 시간 동안 진탕하였다. 염화제2철, 3% TCA-3% 황산나트륨 혼합액, 증류수, 1.5 N 수산화나트륨, 열수, 3.2 N 질산용액을 순서대로 반응시킨 후 1.5 M KSCN을 가하여 30분간 반응시킨 후 480 nm에서 흡광도를 측정하였다. 염화제2철 용액을 이용하여 작성된 표준곡선을 이용하여 철이온 양을 구한 후 피틴산의 함량은 Fe:P의 몰비율, 피틴산의 P 함유율 (28.20%)를 이용하여 계산하였다.

[0069] 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이 비발효된 제품에 비해 JK-55와 F-2균주로 발효시킨 최종 제품의 경우 피틴산 함량이 현저하게 감소하는 것으로 나타나 소화 흡수율이 용이해지는 것으로 확인되었다.

[0070] (3) 올리고당 함량 변화 확인

[0071] HPLC (Waters system, MA, USA)를 이용하여 시료 중의 올리고당의 함량 변화를 분석하였다. 즉, NFS 1 g에 증류수 10 g을 가하여 180 rpm으로 12시간 교반한 다음 상층액을 필터(0.2 ㎛)로 여과 멸균하여 사용하였다. 컬럼은 carbohydrate analysis, CHO-820을 사용하였으며, 컬럼 온도는 90℃로 유지하고 검출기는 RI 디텍터(Waters, USA)를 이용하였으며 이동상으로는 3차 증류수를 사용하였다. 표준물질인 라피노즈, 스타키노즈, 수크로스, 프락토스, 글루코스는 Sigma-Aldrich (USA)에서 구입하였다.

[0072] 올리고당 중 비소화성 당류인 라피노즈와 스타키노즈의 함량 변화를 측정한 결과, 도 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 5-8배 이상 감소하는 것으로 확인되었다. 따라서 올리고당이 장내 유해균에 의해 분해되어 생성되는 H_2나

CO_2의 발생이 감소함으로 소화 흡수율이 높은 식품을 제조할 수 있는 것으로 판단된다.

[0073] **실험예 3: 고형의 콩 발효식품의 기능성 측정**

[0074] (1) 고형의 콩 발효식품의 항산화 효과

[0075] DPPH 라디컬 제거 분석(DPPH radical scavenging assay)을 이용하여 다음과 같이 발효된 제품의 항산화 효과를 측정하였다. DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)이 환원되어 감소되는 정도를 흡광도로 측정하여 확인하였다. 준비된 DPPH용액을 시료에 첨가한 후 혼합하고 상온에서 20 분간 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 멸균 증류수를 브랭크로 하여 결과값을 보정하였다. 도 4에서 볼 수 있는 바와 같이, JK55와 F2 균주를 이용하여 발효시킨 경우 항산화 효과가 증가함을 확인하였다.

[0076] (2) 고형의 콩 발효식품의 항암효과

[0077] 간암세포주인 HepG2 ATCC HB-8065와 신장암 세포주인 vero KCLB 10081에 대한 항암효과를 측정하였다. 96 웰 세포 배양 디쉬에 vero cell의 경우 1 X 10^4 cells/well, HepG2의 경우 1 X 10^5 cells/well이 되도록 접종(seeding)하고 24 시간 동안 배양하였다. 24 시간 후 준비된 추출물을 각각의 웰에 최종 부피의 10%로 주입하고 24 시간 동안 37℃에서 배양하였다. 배양 후 2.5 mg/㎖의 농도로 준비된 MTT 시약을 50 ㎕/웰 처리하여 MTT가 생존 세포의 효소작용에 의해 포마잔(formazan)으로 환원되도록 하였다. 3시간 후 상등액을 제거하고 DMSO를 150 ul/well 처리하여 10분 동안 실온에 방치한 후 마이크로플레이트 리더(microplate reader)(BIORAD, 550)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 도 5에서 볼 수 있는 바와 같이, 발효되지 않은 경우에 비해 JK55와 F2 균주를 이용하여 발효시킨 경우 암세포에 대한 세포독성 효과가 더 높은 것으로 나타나 항암 효과를 기대할 수 있는 것으로 확인되었다.

수탁번호

[0078]

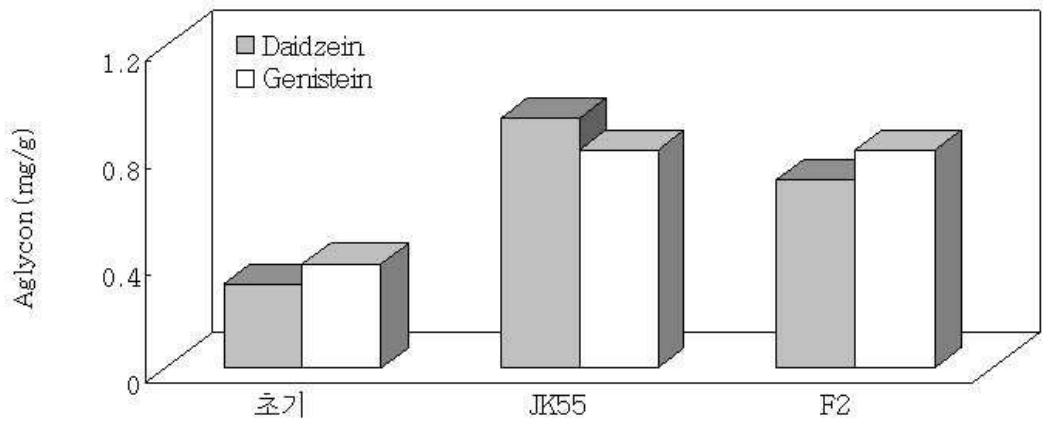
기탁기관명 : 국립농업과학원농업유전자원센터

수탁번호 : KACC91445P

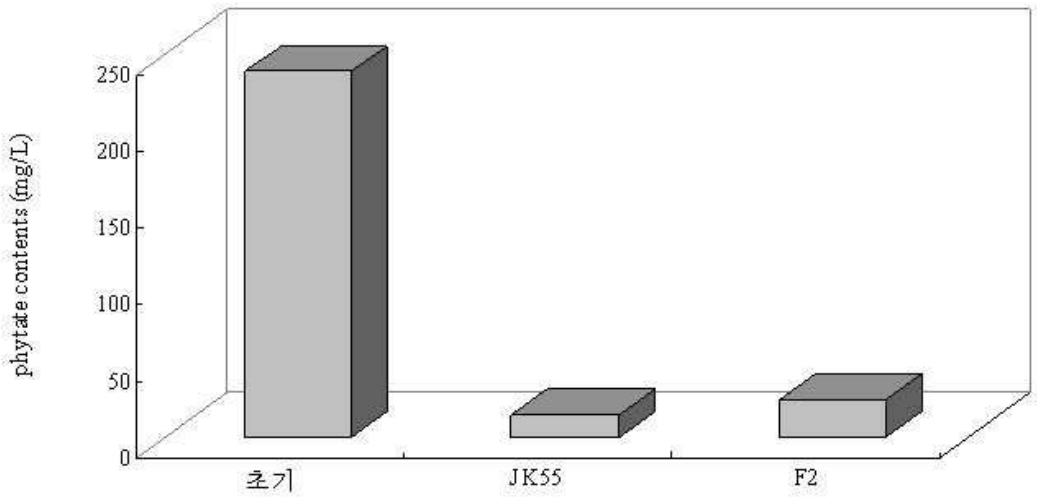
수탁일자 : 20090217

도면

도면1

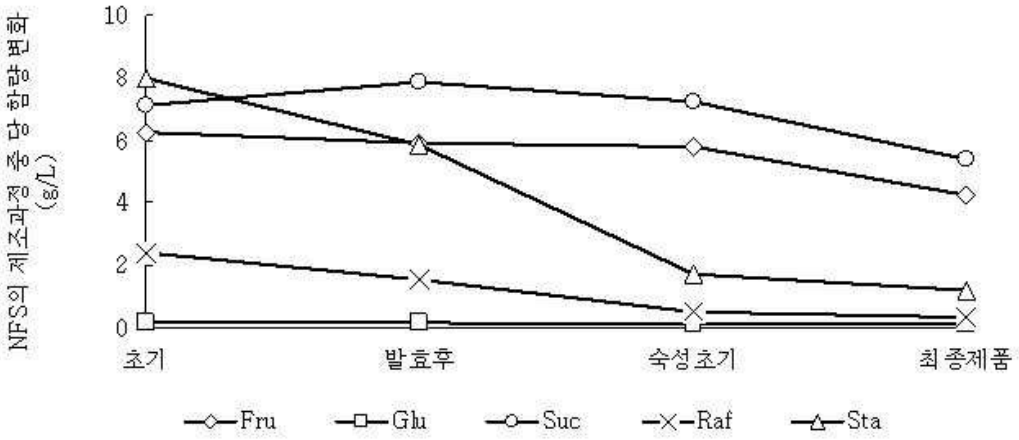


도면2

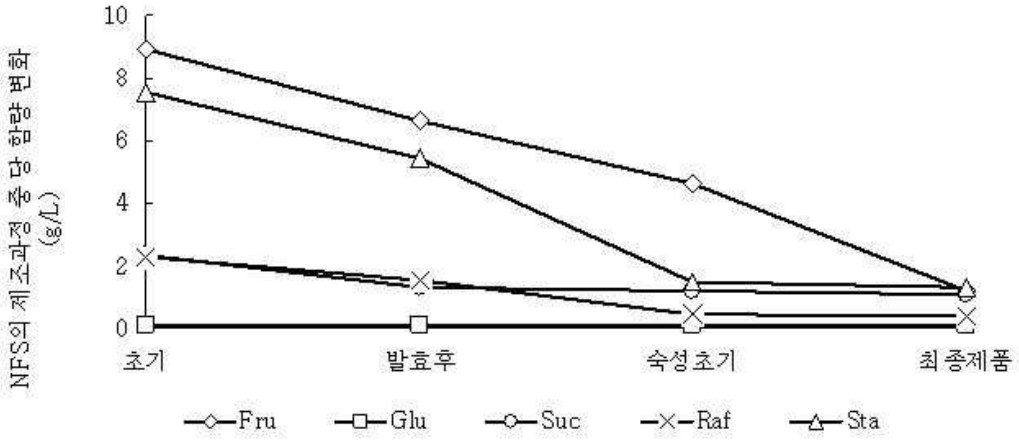


도면3

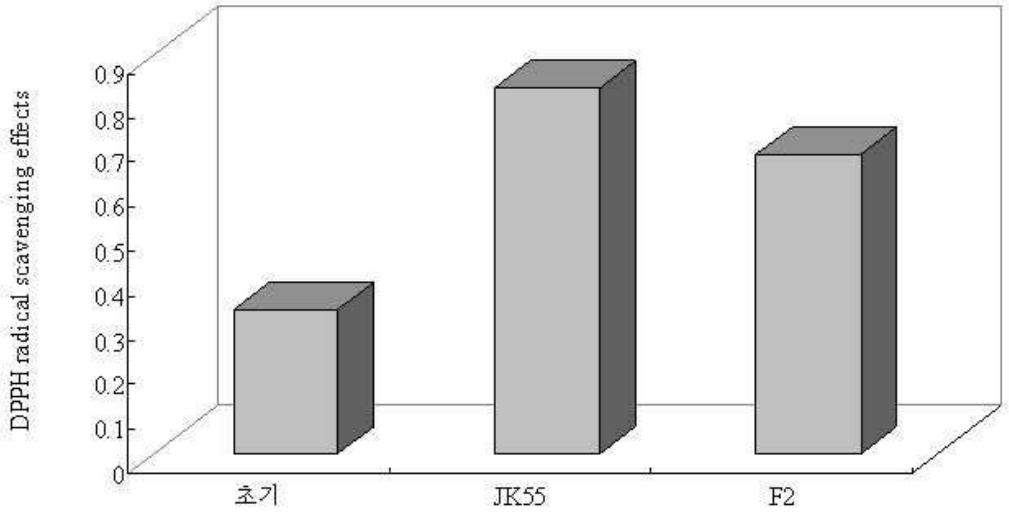
A. F2 균주로 발효시킨 경우



B. JK55 균주로 발효시킨 경우

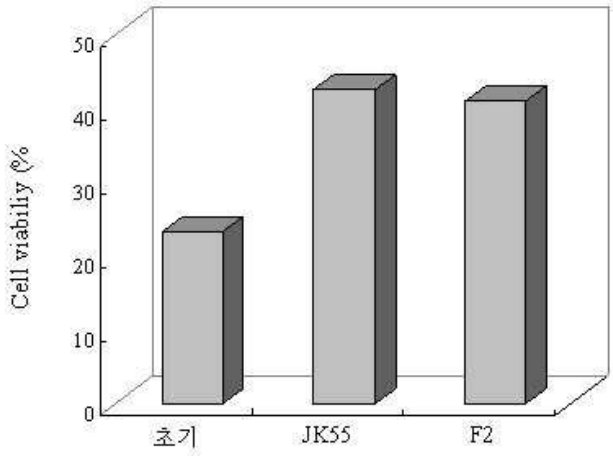


도면4



도면5

(a) Vero cell line



(b) HepG2 cell line

