(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0052412
(43) 공개일자 2009년05월26일

(51) Int. Cl.
*A23L 1/18* (2006.01) *A23L 1/10* (2006.01)
*A23L 1/105* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-0118884
(22) 출원일자 2007년11월21일
심사청구일자 2007년11월21일

(71) 출원인
**계명대학교 산학협력단**
대구 달서구 신당동 1000번지
(72) 발명자
**이삼빈**
대구 달서구 이곡동 무지개아파트 102동 306호
**오수명**
대구 남구 대명3동 2258-39
**류기형**
경기 군포시 수리동 한양아파트 804동 1301호
(74) 대리인
**특허법인명문**

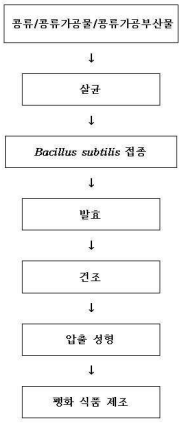
전체 청구항 수 : 총 9 항

# (54) 팽화식품 및 그 제조방법

## (57) 요 약

본 발명은 콩류, 콩류가공물 및 콩류가공부산물 중 선택된 원료를 이용하여 유용한 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)에 의한 발효를 통해서 생산된 콩발효물 함유 팽화식품을 제조하는 방법에 관한 것으로, 콩류 또는 콩류가공물에 글루탐산나트륨을 첨가한 후 바실러스 서브틸리스를 접종하여 콩발효물을 제조하고, 상기 콩발효물을 건조한 뒤 전분질물질을 혼합하여 압출 성형기를 이용하여 팽화식품을 제조함으로서 콩발효물의 각종 생리활성물질을 포함하면서 콩발효물 특유의 냄새가 제거되고, 조직감이 부여된 팽화식품을 제공할 수 있다.

*대 표 도* - 도1



## *특허청구의 범위*

**청구항 1**

콩류, 콩류 가공물 또는 콩류가공부산물 중 선택된 원료를 준비하는 단계;

원료 100중량부에 대하여 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) 0.2~5중량부를 접종하여 30~50℃에서 15~60시간 발효시켜 콩발효물을 제조하는 단계;

상기의 콩발효물을 수분 함량이 5~40%가 되도록 건조시키는 단계; 및

건조된 콩발효물에 전분질원료를 첨가한 뒤 압출 성형하는 단계;

를 포함하는 팽화식품의 제조방법.

**청구항 2**

제 1 항에 있어서,

원료를 준비하는 단계에서 원료를 110℃~130℃에서 살균하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 팽화식품의 제조방법.

**청구항 3**

제 1 항에 있어서.

원료는 콩류, 콩류 가공물 또는 콩류가공부산물 중 선택된 원료 100중량부에 대하여 글루탐산나트륨 3~10중량부 및 클로렐라, 녹차, 쑥 또는 뽕잎 중 선택된 하나 또는 그 이상으로 이루어진 혼합 분말을 1~5 중량부 포함하는 것을 특징으로 하는 팽화식품의 제조방법.

**청구항 4**

제 1 항에 있어서.

건조된 콩발효물은 식품 조성물 전체 함량에 대하여 10~40중량% 포함하는 것을 특징으로 하는 팽화식품의 제조방법.

**청구항 5**

제 1 항에 있어서.

압출 성형은 압력 5~20kg/㎠, 온도 100~150℃에서 3~4분간 압출 성형하는 것을 특징으로 하는 팽화식품의 제조방법.

**청구항 6**

제 1 항에 있어서.

전분질 원료는 멥쌀, 옥수수 및 전분가루 중 선택된 어느 하나 또는 그 이상인 것을 특징으로 하는 팽화식품의 제조방법.

**청구항 7**

제 1항 내지 제 6 항 중 어느 한 항의 제조방법에 의하여 제조된 팽화식품.

**청구항 8**

타이로신(Tyrosine)함량이 150mg% 이상인 팽화식품.

**청구항 9**

제 8 항에 있어서.

직경 팽화율이 2.0이상인 것을 특징으로 하는 팽화식품.

# 명 세 서

## 발명의 상세한 설명

### 기 술 분 야

<1> 본 발명은 팽화식품 및 그 제조방법에 관한 것으로, 콩류, 콩류가공물 및 콩류가공부산물 중 선택된 원료를 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)에 의해 고체발효시킨 뒤 콩발효물을 건조하여 압출 성형 시킨 팽화식품 및 그 제조방법에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

<2> 콩 식품은 풍부한 단백질 성분을 함유하여 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.

<3> 지방질을 다량 함유한 콩은 식용유의 원료로 이용되며, 부산물로 생산되는 탈지대두분 또는 이의 가공물은 고농도의 단백질을 함유하고 있어서 식품소재 및 콩발효의 원료로 유용하게 이용되고 있다.

<4> 또한 콩가공물로서 콩을 파쇄시켜 거친 입자화(grit)한 소재는 콩보다 표면적이 증가되며, 수송 및 가공 중에 혼합이 용이하며, 특히 바실러스 서브틸리스에 의한 고체발효시에 다량의 점질물을 생산하는 효과가 있어 콩발효를 위한 소재로 유용하다.

<5> 한편 콩류가공부산물은 대표적으로 비지를 들 수 있는데, 이는 두부 제조과정에서 부산물로 생산되는 소재로서 비교적 콩의 영양성분을 함유하고 있으며, 특히 식이섬유가 다량 함유되어 식품소재로 활용이 기대되고 있다. 그러나 비지에 포함된 높은 수분함량과 오염된 각종 미생물에 의해서 쉽게 변질되는 단점을 가지고 있다. 일반적으로 생산된 비지는 동물의 사료로 주로 사용되어 왔으며, 이의 새로운 활용방안에 관한 연구가 진행되고 있다.

<6> 한편, 콩류, 콩류가공물 및 콩류가공부산물 중 선택된 원료의 발효물은 풍부한 비타민 B2를 함유하고 있어 간의 원활한 해독작용에 도움을 준다. 또한 콩 발효의 주역인 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis)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 바실러스 서브틸리스는 콩 발효 중에 여러 가지 이로운 효소들을 생산하며, 특히 그 중 혈전을 녹이는 작용을 수행하는 혈전분해효소는 심근경색 및 뇌혈전 등을 예방하는데 효과가 있다는 연구 보고가 발표되고 있다.

<7> 이러한 콩발효물의 기능이 알려지면서 생청국장, 분말, 환 등의 다양한 제품이 생산되어 판매되고 있으며, 특히, 검정콩을 이용한 청국장 및 식품소재를 부가적으로 혼합함으로써 청국장 상의 점질물의 생산을 향상시킨 우수한 콩발효물의 연구가 이루어지고 있다.

<8> 특히 콩소재의 바실러스 서브틸리스 발효물을 이용한 식품을 대중의 주된 기호식품으로 인식시키고, 소비를 증진시키기 위해서 콩발효물 특유의 맛과 풍미를 개선하고 저장성이 향상된 콩발효물을 이용한 식품의 개발이 요구되고 있다.

<9> 그러나, 종래 콩발효물을 이용한 발효식품에 대한 발명으로는 대한민국 특허 공개 제2005-88892호에 대두박을 이용한 기능성 빵의 제조방법이 있으며, 두부 생산 후 부산물로 남는 대두박을 증기로 멸균한 다음 이를 배양기에 넣고 바실러스속이나 아스퍼질러스속 또는 모나커스속 중에서 선택된 하나의 균주를 접종한 후 이를 37~47℃로 유지하면서 발효시킨 다음, 이를 통상의 빵 제조시에 첨가하여 기능성 빵을 제조하는 방법이 개시되어 있다. 그러나 상기 발명은 대두박만을 사용하여 발효시킴으로서 유용성분의 생산이 부족하여 콩발효물의 유효 생리활성물질을 다량 함유하는 기능성 빵을 제조하지 못하는 단점이 있으며, 제품의 기호성에서 부정적이다.

<10> 한편, 대한민국 특허 등록 제10-0718347호는 비지발효물을 이용한 쿠키의 제조방법으로, 박력분, 소금, 이이스트후드, 설탕, 쇼트닝 및 기타첨가제로 구성된 반죽을 이용하여 제조된 쿠키가 개시되어 있다. 그러나 상기 쿠키 등의 제과 등은 설탕, 쇼트닝을 다량 첨가하는 관계로 칼로리가 높아 웰빙 식품으로써 적합하지 않다.

### 발명의 내용

### 해결 하고자하는 과제

<11> 본 발명은 콩류, 콩류가공물 및 콩류가공부산물 중 선택된 원료의 발효물을 활용하여 맛과 풍미를 개선하고, 우수한 조직감과 저장성을 갖춘 팽화식품 및 그 제조방법을 제공하고자 한다.

<12> 또한 본 발명은 콩류, 콩류가공물 및 콩류가공부산물 중 선택된 원료의 발효물의 우수한 기능을 유지하고, 이러한 효능을 용이하고 간편하게 섭취할 수 있으며, 기호성이 높은 팽화식품 및 그 제조방법을 제공하고자 한다.

### 과제 해결수단

<13> 이에 본 발명은 바람직한 일 구현예로서 콩류, 콩류 가공물 및 콩류가공부산물 중 선택된 원료를 준비하는 단계; 원료 100중량부에 대하여 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) 0.2~5중량부를 접종하여 30~50℃에서 15~60시간 발효시켜 콩발효물을 제조하는 단계; 상기의 콩발효물을 수분 함량이 5 ~ 40%가 되도록 건조시키는 단계; 및 건조된 발효물에 전분질원료를 첨가한 뒤 압출 성형하는 단계를 포함하는 팽화식품의 제조방법을 제공하고자 한다.

<14> 상기 원료를 준비하는 단계에서 원료를 110℃~130℃에서 살균하는 단계를 더 포함할 수 있다.

<15> 상기 원료는 콩류, 콩류가공물 및 콩류가공부산물 중 선택된 원료 100중량부에 대하여 글루탐산나트륨 3~10중량부 및 클로렐라, 녹차, 쑥 또는 뽕잎 중 선택된 하나 또는 그 이상으로 이루어진 혼합 분말을 1~5중량부 포함할 수 있다.

<16> 상기 건조된 콩발효물은 식품 조성물 전체 함량에 대하여 10~40중량% 포함할 수 있다.

<17> 상기 압출 성형은 압력 5~20 kg/㎠, 온도 100~150℃에서 3~4분간 압출 성형할 수 있다.

<18> 상기 전분질 원료는 멥쌀, 옥수수 및 전분가루 중 선택된 어느 하나 또는 그 이상일 수 있다.

<19> 본 발명은 바람직한 다른 구현예로서 상기의 제조방법에 의하여 제조된 팽화식품을 제공하고자 한다.

<20> 본 발명은 바람직한 다른 구현예로서 타이로신(Tyrosine)함량이 150mg% 이상인 팽화식품을 제공하고자 한다.

<21> 상기 팽화식품은 직경 팽화율이 2.0이상일 수 있다.

### 효 과

<22> 본 발명은 콩류, 콩류가공물 및 콩류가공부산물 중 선택된 원료를 바실러스 서브틸리스로 발효시킨 발효물을 이용하면서 맛과 풍미를 개선하고, 우수한 조직감과 저장성을 갖춘 팽화 식품을 제공할 수 있다.

<23> 또한 본 발명은 콩류, 콩류가공물 및 콩류가공부산물 중 선택된 원료를 발효시킨 콩발효물의 우수한 기능성 성분을 유지하면서, 용이하고 간편하게 섭취할 수 있는 팽화식품을 제공할 수 있다.

### 발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<24> 본 발명은 콩류, 콩류가공물 및 콩류가공부산물 중 선택된 원료에 청국장으로부터 분리된 유용 고초균인 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) 균주를 첨가하여 단기간에 발효를 수행함으로써 풍미를 개선하고, 기능성 펩타이드 및 점질물을 다량 함유한 기능성 콩발효물을 얻음과 동시에 조직감이 부여된 팽화식품을 제조하여 담백하면서 콩발효물 특유의 냄새를 없애고 콩류, 콩류가공물 및 콩류가공부산물의 발효에 의한 각종 생리활성물질을 포함하는 기능성 팽화식품 및 그 제조방법에 관한 것이다.

<25> 이에 본 발명의 팽화식품은 기능성 단백질 가수분해물인 펩타이드를 용이하게 섭취할 수 있도록 콩펩타이드의 구성성분인 아미노산인 타이로신(Tyrosine) 함량이 150mg% 이상인 것이 바람직하다.

<26> 또한, 본 발명의 팽화식품은 팽화식품으로서의 적절한 조직감 및 저작감을 고려하여, 직경 팽화율이 2.0이상이며, 하기 식 1로 표시되는 수분용해지수(WSI)가 20% 이상인 것이 바람직하며, 나아가 하기 식 2로 표시되는 수분흡착지수(WAI)가 6.5g/g 이하인 것이 바람직하다.

<27> **<식 1>**

<28> $$WSI(\%)=\frac{\text{상등액의건조후얻어진분말}(g)\text{s}100}{\text{시료무게}(g)}$$

<29>

<30> **<식 2>**

<31> $$WAI(g/g)=\frac{\text{원심분리후얻어진침전물의무게}(g)}{\text{시료무게}(g)}$$

<32> 이러한 팽화식품을 제공하기 위한 팽화식품 제조방법을 구체적으로 살펴보도록 하겠다.

<33> 도 1은 본 발명의 팽화식품을 제조하기 위한 방법을 개략적으로 설명한 모식도로서, 각 단계별로 살펴보면 콩류, 콩류가공물 콩류가공부산물 중 선택된 원료에 바실러스 서브틸리스를 접종한 뒤 발효시켜 콩가공물을 제조하고, 이를 건조하여 압출 성형하는 과정을 통하여 팽화식품을 제조하는 것을 특징으로 한다. 이때, 원료를 바실러스 서브틸리스 접종 전에 원료100 중량부에 수분을 100~300중량부로 첨가한 후 이를 110℃~130℃에서 살균하는 것이 바람직하다.

<34> 본 발명에서 사용되는 콩발효물의 원료로는 콩류, 콩류가공물 콩류가공부산물 중 선택된 원료이면 특별히 제한되지 않으며, 특히 두부 제조시 부산물로 생산되는 비지는 경제적으로 저렴하게 수득할 수 있으며, 식이섬유가 풍부하므로 원료로 활용할 수 있다.

<35> 본 발명에서는 콩발효물의 발효 시 생성되는 점질물은 면역증진 효과, 항암효과 등의 생리활성기능을 가지고 있으며 식품, 의약품 뿐만 아니라 보습성이 뛰어나 화장품으로도 각광받고 있는 기능성 소재이다. 따라서 이러한 점질물의 생산을 증진시키기 위해서 콩류, 콩류가공물 콩류가공부산물 중 선택된 원료에 글루탐산나트륨을 첨가한다. 이 때 아미노산인 글루탐산나트륨이 발효 시 기질로서 작용하여 글루탐산 중합체인 폴리글루타믹산(polyglutamic acid)을 효과적으로 합성하기 때문에 점질물이 다량 함유된 콩발효물을 제조할 수 있다.

<36> 글루탐산나트륨은 원료로 하는 콩류, 콩류가공물 콩류가공부산물 중 선택된 원료 100중량부에 대하여 3~10중량부 첨가하는 것이 바람직하며, 상기 하한보다 적게 또는 많게 첨가하면 콩발효물의 점질물 생산이 감소된다. 또한 10중량부를 초과하여 첨가하면 글루탐산나트륨이 점질물로 완전하게 전환되지 못하고 일부 남아있게 된다.

<37> 본 발명은 상기 콩류, 콩류가공물 콩류가공부산물 중 선택된 원료에 쑥, 뽕잎, 녹차 또는 클로렐라 분말을 더 첨가할 수 있다. 상기 기능성 소재를 첨가함으로써 콩발효물 특유의 냄새를 없애고 풍미를 개선시키며, 부가적으로 상기 소재로부터의 기능적 효과를 부여할 수 있다. 상기 분말은 콩류, 콩류가공물 콩류가공부산물 중 선택된 원료 100중량부에 대하여 1~5중량부 첨가하는 것이 바람직하며, 5중량부를 초과하여 첨가하면 미감이 떨어지는 단점이 있다.

<38> 상기의 원료를 110℃~130℃에서 멸균하고, 원료 100중량부에 대하여 바실러스 서브틸리스를 0.2~5중량부 접종하여 30~50℃에서 15~60시간 발효하여 콩발효물을 제조한다. 바실러스 서브틸리스 균주는 상기 원료 100중량부에 대하여 0.2~5중량부 접종하는 것이 바람직하며, 상기 하한보다 적게 첨가하면 발효시간이 지연될 수 있으며, 상한보다 많이 첨가해도 발효 효율이 증가하지 않는다.

<39> 바실러스 서브틸리스는 콩소재 원료의 발효에 관여하는 균들 중 하나로 이를 이용하여 발효하였을 때 특히 콩발효물의 냄새가 적고, 점질물의 생산이 우수한 특징이 있다. 본 발명에서 사용한 바실러스 서브틸리스는 청국장에서 분리 가능한 같은 종(species)에 속하는 균주이면 어느 것이나 사용이 가능하다.

<40> 상기로부터 바실러스 서브틸리스 발효가 완료된 콩발효물은 압출성형기에 투입되기 적절하도록 건조 단계를 가지며, 이때의 점질성을 갖는 발효물의 수분함량은 5~40%가 되도록 하는 것이 바람직하다. 콩발효물은 영양소의 파괴를 줄이기 위하여 열풍건조기를 이용하여 50℃에서 24시간 건조할 수 있고, 동결건조를 통해서 보다 냄새와 수분이 제거된 건조물을 얻을 수 있다.

<41> 건조가 완료된 콩발효물의 건조물에 팽화식품의 맛과 조직감을 살리기 위하여 전분질 원료를 혼합할 수 있다. 전분질 원료로는 특별히 제한되지 않으나 옥수수가루, 멥쌀가루, 전분가루 등이 바람직하다. 상기 혼합물 중 콩발효물 건조물의 함량은 전체 혼합물 중 10~40중량%가 바람직하며, 더욱 바람직하기로는 25중량%로 첨가하는 것이 좋다.

<42> 상기 혼합물을 압출 성형기에 투입하여 팽화단계를 거쳐 본 발명의 팽화식품을 얻을 수 있다. 이때 혼합물의 수분함량이 10~30%가 되도록 하여 압력 5~20 kg/㎠, 온도 100~150℃에서 3~4분간 압출 성형하는 것이 바람직하다.

<43> 압출 성형을 위한 압출성형기의 종류 또는 압출 성형의 방법이 특별히 제한되는 것은 아니나, 바람직하게는 쌍축압출팽화기를 사용하는 것이 좋다.

<44> 이하, 본 발명의 구성을 제조예 및 실시예를 통하여 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 제조예 및 실시예로 한정되는 것은 아니다.

<45> **제조예 : 콩발효물 제조**

<46> 제 1 단계 : 원료처리

<47> 비지, 대두 및 대두를 파쇄시켜 거친 입자화(grit)한 대두가공물 100중량부에 대하여 각각 글루탐산나트륨을 5중량부 넣고 표 1과 같은 조성으로 쑥, 녹차, 뽕잎, 클로렐라를 2중량부 첨가하여 혼합하였다. 그 후 고압멸균기로 121℃에서 15분간 멸균하였다.

*표 1*

<48>

| 구분 | 비지 | 대두 | 대두 가공물 | 글루탐산나트륨 | 쑥 | 녹차 | 뽕잎 | 클로렐라 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 제조예 1 | 100 | - | - | 5 | - | - | - | - |
| 제조예 2 | 100 | - | - | 5 | 2 | - | - | - |
| 제조예 3 | 100 | - | - | 5 | - | 2 | - | - |
| 제조예 4 | 100 | - | - | 5 | - | - | 2 | - |
| 제조예 5 | 100 | - | - | 5 | - | - | - | 2 |
| 제조예 6 | - | 100 | - | 5 | - | - | - | - |
| 제조예 7 | - | - | 100 | 5 | - | - | - | - |

<49> (단위 : 중량부)

<50> 제 2 단계: 바실러스 서브틸리스 스타터 제조

<51> 먼저 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis PUL-A)을 다음과 같이 분리하였다. 먼저 전통 콩발효물 시료 1g을 멸균 증류수 9㎖에 첨가하여 잘 현탁시킨 후 5분 동안 방치한 다음 그 상층액을 각각 104~107배로 희석하고 미리 준비한 MRS agar plate에 도말하여 37℃에서 24시간 동안 배양하여 다량의 점질물을 생산하는 균주를 개별 분리하였다. 그 다음 상기에서 각각의 분리된 균주를 MRS agar plate에서 도말하여 순수분리 하였다. 마지막으로 각각 분리된 균주를 MRS agar plate에서 24시간 동안 배양하여 Analytical Profile Index(API) kit 및 16s rDNA sequencing을 사용하여 동정하였다.

<52> 상기 콩발효물에서 분리선별한 바실러스 서브틸리스 PUL-A(*Bacillus subtilis* PUL-A)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.

<53> 제 3 단계: 바실러스 서브틸리스를 이용한 콩발효물 제조

<54> 상기 제 1단계에서 제조된 원료조성물 100중량부에 대하여 상기 제 2단계에서 얻은 바실러스 서브틸리스 PUL-A(*Bacillus subtilis* PUL-A)의 스타터를 1중량부씩 각각 접종하여 42℃에서 45시간 발효시켜 콩발효물을 제조하였다.

<55> **실험예 : 팽화식품 제조**

<56> 제 1 단계 : 콩발효물의 건조

<57> 상기 제조예 1,6 및 7의 발효가 끝난 콩발효물을 동결건조기에서 24시간 건조하여 수분함량 7%인 콩발효물 건조물을 수득하였다. 상기 콩발효물 건조물에 전분질 원료로서 멥쌀 또는 옥수수가루를 아래 표 2와 같이 배합하였으며, 콩발효물 건조물과 전분질 원료의 혼합물에 대한 수분함량을 표 2와 같이 조절하였다.

*표 2*

<58>

| 구 분 | 혼합물 성분비 (%) | | | | | 수분함량 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 콩발효물 (제조예1) | 콩발효물 (제조예6) | 콩발효물 (제조예7) | 멥쌀 | 옥수수 | |
| 실시예 1 | 10 | - | - | 90 | - | 20 |
| 실시예 2 | 25 | - | - | 75 | - | 20 |
| 실시예 3 | 40 | - | - | 60 | - | 25 |
| 실시예 4 | 40 | - | - | 60 | - | 35 |
| 실시예 5 | 10 | - | - | - | 90 | 20 |
| 실시예 6 | 25 | - | - | - | 75 | 20 |
| 실시예 7 | 40 | - | - | - | 60 | 20 |
| 실시예 8 | - | 10 | - | 90 | - | 20 |
| 실시예 9 | - | - | 10 | 90 | - | 20 |
| 비교예 1 | - | - | - | 100 | - | 20 |

<59> 제 2 단계 : 압출 성형공정

<60> 상기 실시예 및 비교예에서 제조된 혼합물을 골고루 잘 섞은 후 실험용 쌍축 압출성형기(THK 31T, Inchen Machinery, Korea)에 투입하여 팽화스낵을 제조하였다. 이때 압출성형기의 배럴 온도를 110℃, 스크루 회전속도는 250rpm, 원료 사입량은 104g/min으로 고정하였다. 쌍축 압출성형기의 스크루배열은 도 2와 같으며, 스크루 직경은 2.9㎝, 길이와 직경비(L/D ratio)는 25:1이고, 사출구는 원형으로 직경이 3.0㎜인 것을 사용하였다. 배럴의 온도는 전열기와 냉각수를 사용하여 조절하였다.

<61> 상기 제조예로부터 제조된 콩발효물 및 실험예로부터 제조된 팽화스낵을 다음과 같은 방법으로 측정하여 평가하였다.

<62> **평가 1: 콩발효물의 분석**

<63> 상기 제조예 (표 1)에서 제조한 콩발효물의 물리화학적 성질을 다음과 같이 측정하였으며, 그 결과를 표 3에 나타내었다.

<64> 가. 타이로신 함량

<65> 단백질의 분해산물인 펩타이드의 함량을 나타내는 타이로신의 함량은 Folin phenol 시약을 이용하여 시료에 존재하는 타이로신 함량을 측정하였다. 각 시료를 증류수로 5배 희석한 시료액 0.7㎖에 0.44M TCA(trichloroacetic acid)를 0.7㎖ 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시키고, 15,000rpm에서 15분 동안 원심분리하여 침전물을 제거하였다. 회수된 상등액 1㎖에 0.55M $Na_2CO_3$ 2.5㎖와 페놀 시약 0.5㎖를 차례로 넣고 혼합한 후 37℃ 항온수조에서 30분간 반응시켰다. 이후 상온에서 냉각시킨 뒤 반응액의 흡광도를 spectrophotometer(UNION, Kontron instruments, France)를 이용하여 660nm에서 측정하였다.

<66> 나. 효소 활성 측정

<67> 효소활성은 알파-아미라제(α-amylase)활성과 단백질분해효소 활성로 나누어 역가를 측정하였다.

<68> (1) 알파-아미라제 활성

<69> 알파-아미라제 활성은 D.U.N.(Dextrinogenic Unit of Nagase)법에 준하여 측정하였다. 실험예에서 제조된 콩발효물 1g을 0.1M 인산완충용액(phosphate buffer)(pH 7.5) 19㎖에 혼합하고 여과한 후 원심분리하여 얻은 상등액에 효소액 1㎖를 넣고 37℃ 항온수조에서 30분간 반응시킨 후 반응액 1㎖에 1M acetic acid 10㎖를 넣어 정지시켰다. 반응종료 후 요오드화 용액(0.005% 요오드 + 0.05% 요오드화칼륨) 2㎖을 넣고 발색시킨 후 660nm에서 흡광도를 측정하여 공시험의 값의 10% 감소시키는 것을 1단위(U)로 하여 시료 1g 으로 환산 시킨 후 표시하였다. 대조군인 공시험은 미리 제조한 효소액을 100℃에서 30분간 끓여서 불활성화 시킨 효소액을 사용하였다.

<70> (2) 단백질분해효소 활성

<71> 안손의 방법(M. L. Anson, J. Gen. Physiol. 22, 79(1983))을 응용하여 측정하였다. 실험예에서 제조된 콩발효물 1g을 0.1M 인산완충용액(phosphate buffer, pH 7.5) 19㎖에 혼합하고 여과한 후 원심분리하여 얻은 상등액에

효소액 0.1㎖(1.0×10-5~1.0×10-3A.U)을 첨가하고, 37℃에서 10분간 배양한 뒤, 0.44 M의 트리클로로아세트산 0.7㎖을 가하여 반응을 정지하였다. 반응종료 후 원심분리(15,000rpm, 15분)를 행하고, 이 상층액 1㎖에 0.55 M 탄산나트륨 2.5㎖과 3배 희석된 포린리젠트 0.5㎖을 넣고 37℃에서 30분간 반응한 후 660nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한, 효소 1단위(U)는 상기의 반응조건에서 1분간에 1 mmol의 타이로신에 상당하는 산가용성 단백질분해물을 유리하는 효소량으로 했다.

<72> 다. 혈전용해효소 활성

<73> 혈전용해효소 활성은 피브린 플레이트법(fibrin plate method)의 일종인 아스트럽 및 뮬러츠법(Astrup and Mㅟllertz method)을 사용하여 측정하였다.

<74> 피브린 플레이트(Fibrin plate)는 0.5% 피브리노겐(fibrinogen)을 0.067M 인산화 나트륨 완충용액(sodium phosphate buffer)(pH 7.4)에 용해시켜서 직경 9cm인 페트리 접시(petri dish)에 10㎖를 가하였다. 여기에 0.067M 인산화 나트륨 완충용액에 용해된 트롬빈(thrombin)(100NIH/㎖) 0.1㎖를 가하고 신속하게 혼합하여 균일한 평판을 제조한 후 실온에서 30분 방치하여 사용하였다.

<75> 혈전용해능 측정시료는 실험예에서 제조된 콩발효물 1g을 0.1M 인산완충용액(phosphate buffer)(pH 7.5) 19㎖에 혼합하고 여과한 후 원심분리하여 얻은 상등액을 사용하였다.

<76> 피브린 플레이트(Fibrin plate)에 시료 점적 위치를 표시하고 콩발효물 추출액을 20㎕씩 취하여 각 표시한 위치에 점적하고 37℃ 항온기에서 2시간 반응시킨 후 용해 면적으로 효소활성을 측정하였다.

<77> 혈전용해효소의 표준곡선을 구하기 위해서 표준 플라스민(plasmin) 용액이 각각 0.6, 1.6, 2.6, 5 unit/㎖가 되도록 트리스-라이신 완충용액(Tris-lysine buffer)(pH 9.0)로 조제한 다음, 피브린 플레이트(fibrin plate)에 20㎕씩 가하여 형성된 용해 면적으로부터 플라스민(plasmin) 효소활성의 표준곡선을 작성하였다. 콩발효물의 혈전용해효소는 표준곡선과 비교하여 플라스민 단위(plasmin unit)로 환산한 것이며, 아래 식 3을 이용하여 혈전용해효소 활성을 계산하였다.

<78> **<식 3>**

<79>
$$\text{혈전용해활성}(\%) = \frac{\text{시료의용해영역}}{\text{플라스민의용해영역}} x100$$

<80> 라. 점질물 함량

<81> 실험예 1에서 제조된 콩발효물에 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 105℃ 상압건조법에 의해서 결정하였다.

<82> 마. 점조도

<83> 점조도는 상기 라.에서 얻은 콩발효물에 10배 부피의 증류수를 첨가한 콩발효물 추출액에 대하여 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 층밀림 변형력이 높아지는 효과를 측정하였다. 측정온도 20℃에서 전단속도는 1~100 $s^{-1}$의 범위로 유동특성을 알아보았고, 점조도지수와 유동지수 값은 파워 로우 모델(Power law model)( $\tau = ar^{b}$ )로 측정하였다.

*표 3*

<84>

| 구 분 | 제조예 1 | 제조예 2 | 제조예 3 | 제조예 4 | 제조예 5 | 제조예6 | 제조예7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 수분함량 Moisture content (%) | 72.6 | 70.9 | 70.5 | 71.0 | 71.1 | 70.8 | 71.2 |
| pH | 7.6 | 7.1 | 7.2 | 7.5 | 7.7 | 7.5 | 7.4 |
| 타이로신 함량 Tyrosine content (mg%) | 471.0 | 462.0 | 503.5 | 498.6 | 476.4 | 479.0 | 512.3 |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 알파-아미라제 활성<br>α-amylase activity (unit/g) | 39.0 | 43.0 | 51.5 | 38.9 | 46.5 | 40.0 | 40.9 |
| 단백질분해효소 활성<br>Protease activity (unit/g) | 542.6 | 482.0 | 421.7 | 437.9 | 569.3 | 540.3 | 538.2 |
| 혈전용해효소 활성<br>Relative activity (%) | 37.8 | 30.3 | 27.2 | 33.4 | 39.2 | 35.3 | 37.8 |
| 점질물 함량<br>Solid content (%) | 6.2 | 6.0 | 6.0 | 6.2 | 6.2 | 6.3 | 6.3 |
| 점조도<br>Consistency index ($Pas^n$) | 0.34 | 0.24 | 0.34 | 0.33 | 0.32 | 0.35 | 0.39 |

<85> 상기 측정 결과, 실시예의 혈전용해효소 활성은 대부분 30%를 웃도는 높은 값을 나타냄을 알 수 있으며, 알파-아미라제 활성은 녹차를 첨가한 경우 가장 높았으며, 단백질 분해효소 활성은 클로렐라를 첨가한 경우 가장 높은 값을 나타내었다.

<86> 일반적으로 글루탐산나트륨을 첨가하지 않을 경우 점질물 함량이 4.5% 정도 나오는데 비해, 글루탐산나트륨이 첨가된 실험예의 경우 점질물 함량은 모두 6%(w/w) 이상 생산되었으며, 기능성 소재인 쑥, 녹차, 뽕잎, 클로렐라 분말을 각각 2중량부씩 첨가하여 발효한 경우에도 점질물의 함량은 비슷한 값을 나타냄을 알 수 있다.

<87> 한편, 콩발효물의 점조도는 점질물의 PGA 생합성에 관련된 지표로서, 본 발명의 제조예에 의하여 제조된 콩발효물의 점조도는 적정범위임을 알 수 있다.

<88> **평가 2 : 팽화스낵 분석**

<89> **가. 타이로신 함량**

<90> 평가 1에서 기제한 타이로신 측정방법을 이용하여 실시예 및 비교예에서 제조된 팽화스낵의 타이로신 함량을 측정하였으며, 그 값은 표 4와 같다.

*표 4*

<91>

| 시 료 | 타이로신 함량(mg%) |
|---|---|
| 실시예 1 | 152.8 |
| 실시예 2 | 433.9 |
| 실시예 3 | 464.8 |
| 실시예 4 | 446.1 |
| 실시예 5 | 227.5 |
| 실시예 6 | 442.9 |
| 실시예 7 | 538.4 |
| 실시예 8 | 180.1 |
| 실시예 9 | 205.4 |
| 비교예 1 | 27.1 |

<92> 상기 측정 결과, 콩발효물의 첨가량이 증가함에 따라서 팽화스낵의 타이로신 함량도 증가하는 것을 알 수 있다. 한편 콩발효물이 첨가되지 않은 비교예의 경우 실시예와 비교하였을 때 최대 약 20배의 타이로신 함량의 차이가 있음을 볼 수 있다. 특히 원료의 초기 수분함량이 20%이고, 비지를 이용한 콩발효물을 옥수수와 6:4의 비율로 첨가한 실시예 7의 경우 가장 높은 타이로신 함량을 나타냄을 알 수 있으며, 동일한 콩발효물 첨가시 옥수수를 첨가한 경우가 멥쌀보다 높은 타이로신 함량을 보이는 것을 볼 수 있으며, 이는 팽화과정에서 추가적으로 콩단백질의 부분적 가수분해가 수반되었음을 알 수 있다. 따라서 본 발명의 팽화식품은 콩발효물을 스낵화 한 후에도 콩펩타이드 함량을 나타내는 타이로신의 함량이 팽화조건에 따라서 높아질 수 있음을 알 수 있다.

<93> **나. 수분용해지수(WSI)와 수분흡착(WAI)지수**

<94> 제조된 팽화식품의 수용성 성질을 분석하기 위하여 AACC(American Association of Cereal Chemists) 방법을 응용하여 시료 1g(건량기준)에 증류수 25 ㎖를 가하여 30℃의 항온수조(SWB 10, Jeio Tech, Korea)에서 30분간

교반한 후 원심분리기(HA-1000-3, Hanil Science Industril Co., Korea)에서 2500rpm으로 20분간 원심분리하였다. 상등액은 알루미늄접시에 부어 105℃의 열풍건조기(HB-502MP, Han Beak Co., Korea)에서 2시간 동안 건조하였다. 건조된 시료를 데시케이터에 담아 30분간 방냉 후 고형분 함량을 측정하였다. 상등액을 따른 후의 튜브무게를 칭량하고 수분용해지수(water solubility index, WSI)와 수분흡착지수(water absorption index, WAI)를 각각 식 1과 식 2에 따라 계산하였으며 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다.

<95> **<식 1>**

$$WSI(\%)=\frac{\text{상등액의건조후얻어진분말}(g)\times 100}{\text{시료무게}(g)}$$

<96>

<97> **<식 2>**

$$WAI(g/g)=\frac{\text{원심분리후얻어진침전물의무게}(g)}{\text{시료무게}(g)}$$

<98>

<99> **다. 직경 팽화율(expansion ratio)**

<100> 직경 팽화율은 약 10cm정도로 절단한 팽화스낵을 시료 당 10개를 준비한 후 버니어 캘리퍼스로 직경을 5번씩 측정하여 사출구의 직경과 압출성형물의 직경비의 평균치로 하여 산출하였으며 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다.

*표 5*

<101>

| 비 고 | WSI(%) | WAI(g/g) | 직경 팽화율 |
|---|---|---|---|
| 실시예 1 | 24.79 | 6.04 | 2.77 |
| 실시예 2 | 26.95 | 5.56 | 2.41 |
| 실시예 3 | 26.35 | 5.44 | 2.09 |
| 실시예 4 | 21.51 | 5.52 | 1.77 |
| 실시예 5 | 26.16 | 6.03 | 2.67 |
| 실시예 6 | 30.82 | 5.94 | 2.27 |
| 실시예 7 | 23.85 | 4.80 | 1.79 |
| 실시예 8 | 24.63 | 6.17 | 2.67 |
| 실시예 9 | 25.21 | 6.02 | 2.65 |
| 비교예 1 | 15.15 | 6.51 | 1.90 |

<102> 상기 측정 결과, 멥쌀 또는 옥수수를 콩발효물과 3:1로 혼합한 실시예 2 또는 실시예 6의 경우 수분용해지수(WSI)가 가장 높은 값을 나타내었으며, 콩발효물의 함량이 많을수록 수분흡착지수가 낮음을 볼 수 있다.

<103> 또한 콩발효물이 10% 또는 25% 첨가된 경우 직경 팽화율이 우수한 것을 알 수 있으며, 팽화스낵으로서 우수한 조직감을 갖는 결과를 보였다. 특히 멥쌀 또는 옥수수와 콩발효물의 중량비가 9:1로 첨가된 팽화스낵의 경우 가장 높은 직경 팽화율을 보였다. 제조된 팽화스낵의 형태는 도 3과 같다.

<104> **라. 관능검사**

<105> 실시예 및 비교예에서 제조한 팽화스낵의 관능검사를 실시하고 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

<106> 기호도는 9점 등급제(9=대단히 좋아한다; 8=좋아한다; 7=좋은 편이다; 6=약간 좋다; 5=좋지도 싫지도 않다; 4=약간 싫다; 3=싫은 편이다; 2=싫어한다; 1=대단히 싫어한다)에 준하여 2회 평가한 뒤 이들의 평균치를 구하였다.

*표 6*

<107>

| | 외관 | 풍미 | 단단함 | 바삭거림 | 구수한맛 | 전반적인 기호도 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 실시예 1 | 6.3 | 5.7 | 5.8 | 5.2 | 5.9 | 6.5 |
| 실시예 2 | 6.4 | 5.5 | 4.8 | 4.8 | 5.4 | 5.6 |
| 실시예 3 | 6.0 | 5.3 | 5.8 | 4.9 | 5.2 | 5.2 |
| 실시예 4 | 6.2 | 5.4 | 5.7 | 4.7 | 5.3 | 5.5 |
| 실시예 5 | 6.4 | 5.7 | 5.8 | 5.5 | 5.9 | 6.5 |
| 실시예 6 | 6.3 | 5.6 | 4.8 | 5.8 | 5.4 | 6.2 |
| 실시예 7 | 6.1 | 5.3 | 5.8 | 5.3 | 5.2 | 5.2 |
| 실시예 8 | 6.5 | 5.6 | 5.3 | 5.2 | 6.0 | 6.7 |
| 실시예 9 | 6.2 | 6.5 | 5.5 | 5.0 | 5.8 | 6.5 |
| 비교예 1 | 5.3 | 5.6 | 4.8 | 5.0 | 5.5 | 5.3 |

<108> 관능검사 결과, 대두를 첨가한 실시예 9의 경우 전반적인 기도호가 높게 나타났으며, 콩발효물의 첨가 비율이 10%인 실시예 1, 5, 8 및 9의 경우 전반적인 기호도가 높은 것을 볼 수 있다.

<109> **마. 페이스트 점도**

<110> 페이스트 점도는 팽화식품의 페이스트 상의 점도를 나타낸 것으로, 본 발명의 팽화식품의 제조에 있어서 압출성형 중에 발생하는 전분의 호화정도를 예측하는 지표가 된다. 특히 팽화식품의 페이스트 상의 점도 중 최고점도(peak viscosity, PV)가 낮을수록 동일 압출성형 조건에서 호화가 많이 일어났다는 것을 의미하며, 따라서 팽화가 잘 되어 바삭바삭한 스낵을 제공할 수 있다.

<111> 실시예 및 비교예에서 제조된 팽화스낵을 신속점도측정기(RVA, Rapid Visco Analyser, Newport Scientific Inc., RVA-3D, Australia)를 사용하여 페이스트 점도를 측정하였다.

<112> 시료 3.5g(14%, w.b.)을 알루미늄 캔에 넣은 후 25㎖의 증류수를 가하고 유리막대기를 이용하여 1차 교반한 후 페이스트 점도를 측정하였다. 신속점도측정기의 가열과 냉각조건은 초기온도 25℃에서 2분 동안 25℃로 유지한 다음 5분에 걸쳐 95℃로 가열 후 3분 동안 95℃를 유지하였으며 다시 5분에 걸쳐 25℃로 냉각한 뒤 3분 동안 25℃를 유지하였다. 총 소요 시간은 18분이였으며 시료의 분산을 증가시키기 위하여 10초간 960rpm으로 페달을 회전시킨 후 160rpm에서 점도를 측정하여 최고점도(peak viscosity, PV), 최저점도(trough viscosity, TV), 구조파괴점도 (breakdown viscosity, BV), 최종점도(final viscosity, FV)와 회복점도(setback viscosity, SV) 등의 페이스트 점도 지표를 각각 계산하였다.

*표 7*

<113>

| | 최고점도 (cp) | 최저점도 (cp) | 구조파괴점도 (cp) | 최종점도 (cp) | 회복점도 (cp) |
|---|---|---|---|---|---|
| 실시예 1 | 869 | 18 | 851 | 237 | 219 |
| 실시예 2 | 1038 | 0 | 1038 | 145 | 145 |
| 실시예 3 | 1008 | 0 | 1008 | 134 | 134 |
| 실시예 4 | 1135 | 0 | 1135 | 150 | 150 |
| 실시예 5 | 577 | 31 | 546 | 228 | 196 |
| 실시예 6 | 271 | 0 | 271 | 198 | 198 |
| 실시예 7 | 658 | 73 | 585 | 386 | 313 |
| 실시예 8 | 892 | 12 | 872 | 198 | 210 |
| 실시예 9 | 1001 | 16 | 899 | 212 | 198 |
| 비교예 1 | 990 | 6 | 984 | 201 | 195 |

<114> 상기 측정 결과 투입된 콩발효물과 멥쌀 또는 옥수수의 중량비의 차이에 따라 점도의 차이가 있음을 볼 수 있으며, 이는 첨가된 콩발효물의 수용성 고형분이 점도 증가에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 또한 멥쌀을 첨가한 경우보다 옥수수를 첨가한 경우의 최고점도(peak viscosity)가 낮은 것을 볼 수 있으며, 이는 옥수수 및 멥쌀의

아밀로오스(amylose)와 아밀로펙틴(amylopectin)의 함량 차이, 구조적 차이, 결합 정도의 차이 등에 기인한 것으로 판단되며, 옥수수가 압출성형 과정 중에 전단력에 의하여 전분사슬이 더 잘 절단되었음을 알 수 있다. 특히 옥수수를 콩발효물과 3:1로 첨가한 실시예 6의 경우 최고점도가 가장 낮았으며, 이때의 팽화스낵이 조직감이 우수한 최적비율임을 알 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

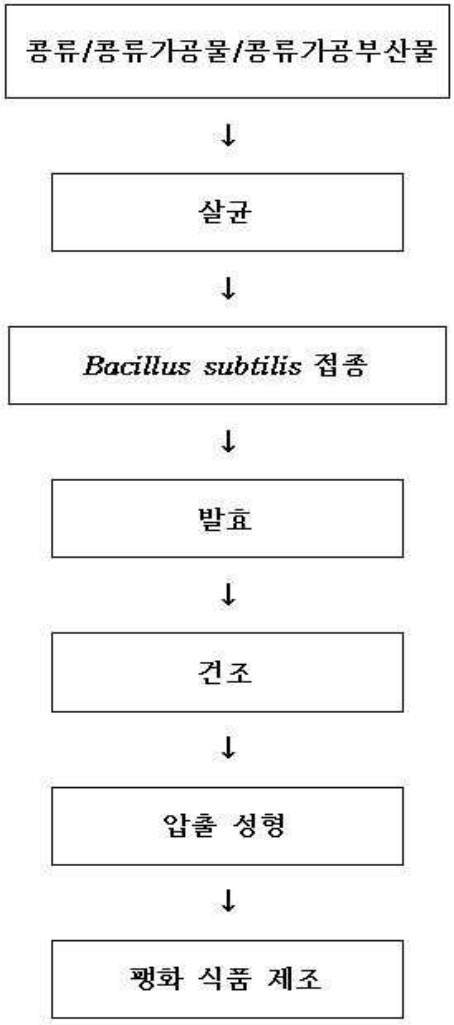
<115> 도 1은 본 발명의 팽화식품의 제조과정을 개략적으로 나타내는 순서도이다.

<116> 도 2는 본 발명에서 사용된 쌍축 압출 성형기의 쌍축스크루 조합(Model THK 31T)을 개략적으로 나타내는 공정도이다.

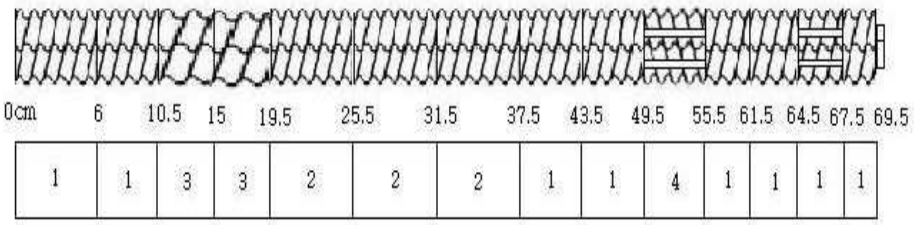
<117> 도 3은 본 발명으로부터 제조된 팽화식품의 모습을 보여주는 사진이다.

## 도면

### 도면1



도면2




1. 1/2 Pitch screw
2. 2/3 Pitch screw
3. Forward paddle
4. Reverse screw element
L/D ratio : 25:1
Φ : 2.9cm

도면3

