(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0054633
(43) 공개일자 2020년05월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01) *A23L 33/135* (2016.01)
A23L 33/14 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23L 33/135 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0138158
(22) 출원일자 2018년11월12일
심사청구일자 2018년11월12일

(71) 출원인
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교 산학협력관 201호(신당동)
김형진
대구광역시 달서구 선원로37북길 8-7 (이곡동)
(72) 발명자
이삼빈
대구광역시 달서구 선원로 171, 102동 306호 (이곡동, 성서무지개타운)
김근영
대구광역시 수성구 지범로39길 56, 103동 811호 (범물동, 범물보성타운)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인태백

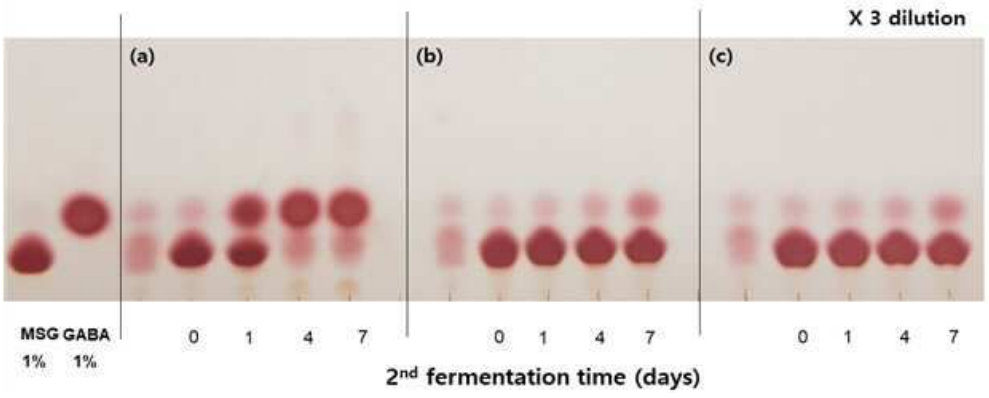
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **효모 및 젖산균 복합발효를 통한 기능성 참외 발효물 제조 방법**

(57) 요 약

본 발명은 효모 및 젖산균 복합발효를 통한 기능성 참외 발효물 제조 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 참외 추출액을 효모 발효 1일 후에 바로 연속적으로 전구물질인 MSG 3%를 첨가하여 젖산균 발효를 7일 동안 수행하였다. 여러 천연물을 이용한 GABA 전환 실험과는 다르게 초기 참외 추출물의 열처리에 따라서 최종 복합발효물의 GABA 생산에 큰 차이를 보였다. 참외 추출물을 열처리하는 경우에 1차 효모발효 후에 2차 젖산발효 7일 경에 약간의 GABA 생산을 보이는 반면에 참외 추출물을 비열처리하는 경우에 2차 젖산 발효 1일부터 GABA 생성을 보이면서 발효 4일에 모든 MSG 전구물질이 GABA로 전환되는 결과를 확인할 수 있었다. 상기와 같이 기능성이 강화된 발효 소재는 기능성 식품 및 건강식품의 소재로서의 활용이 기대된다.

대 표 도 - 도9



(52) CPC특허분류
A23L 33/14 (2016.08)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2250/21 (2013.01)
A23V 2300/26 (2013.01)
A23Y 2220/67 (2013.01)

(72) 발명자
박지현
대구광역시 수성구 범어로 73, 204동 1105호 (범어동, 범어에스케이뷰아파트2단지)

김형진
대구광역시 달서구 선원로37북길 8-7 (이곡동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 S2598778
부처명 중소벤처기업부
연구관리전문기관 중소기업기술정보진흥원
연구사업명 산학연협력기술개발
연구과제명 참외와 GABA증진 혼합발효기술을 이용한 심리불안 해소용 기능성 릴렉스 음료 개발
기 여 율 1/1
주관기관 호앤진
연구기간 2018.06.01 ~ 2019.05.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

(1) 참외를 절단하는 단계;

(2) 상기 절단된 참외 중량 대비 1 내지 3 배의 물을 첨가하여 절단된 참외를 균질화하는 단계;

(3) 상기 균질화된 참외 추출물에 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 스타터(starter)를 접종하여 배양하는 1차 효모 발효 단계; 및

(4) 상기 1차 효모 발효물에 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P) 스타터를 접종하여 배양하는 2차 젖산 발효 단계를 포함하는 감마-아미노뷰티르산(gamma-aminobutyric acid; GABA) 증진된 참외 발효물 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 (2) 단계의 균질화하는 단계는 핸드 블렌더(hand blender)로 1차 균질화하여 여과시킨 후, 전기 블렌더(electronic blender)로 2차 균질화하는 것을 특징으로 하는 GABA 증진된 참외 발효물 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 (3) 단계의 1차 효모 발효는 25 내지 30℃에서, 1 내지 3일 동안 발효하는 것을 특징으로 하는 GABA 증진된 참외 발효물 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 (4) 단계의 배양시에는 전체 배양물 100 중량부에 대해, MSG 1 내지 10 중량부가 포함되는 것을 특징으로 하는 GABA 증진된 참외 발효물 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 (4) 단계의 2차 젖산 발효는 25 내지 30℃에서, 1 내지 10일 동안 발효하는 것을 특징으로 하는 GABA 증진된 참외 발효물 제조방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항의 방법에 의해 제조된 GABA 증진된 참외 발효물.

청구항 7

제6항의 참외 발효물을 유효성분으로 포함하는 GABA 증진된 식품조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 효모 및 젖산균 복합발효를 통한 기능성 참외 발효물 제조 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 참외는 박과(Cucurbitaceae)에 속하는 식물로서, 원산지는 인도지역으로 알려져 있으며, 전파된 지역에 따라 동양계 참외와 서양계 멜론으로 분리되어 발달되었다. 현재는 주로 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등지에서 재배되고 있다. 우리나라에서는 신라시대 이전부터 참외가 재배된 것으로 추정되며, 각 지방에서 여러 가지 다양한 품종의 재래종 참외가 재배되었다. 참외에는 단맛과 독특한 향이 있는 과채류의 일종으로 시원한 맛이 우리의 기호에 적합하여, 예로부터 여름철 과실로 널리 식용되고 있다. 참외는 당도가 높고 탄수화물이 7.3~7.4%로

많고, 카로틴과 비타민 C가 많이 들어 있고 수박처럼 이뇨작용이 인정되고 있다. 그 외 칼슘, 인 등의 무기질과 비타민 A, C의 함량이 많은 것이 특징이다. 참외의 약리작용으로는 덜 익은 참외꼭지 말린 것에 에라테린(elaterin)이라는 결정성 고미(苦味) 물질이 함유되어 있고 이 성분은 최토 효과가 있어서 한방에서는 참외꼭지 말린 것을 과채라고 하여 약용으로 쓰이고 있다. 그 밖에도 참외에는 진해, 거담 작용을 하는 성분이 있고 완화작용도 하므로 변비에도 도움을 주며 풍담, 황달, 이뇨 등에도 효과가 있다고 한다. 특히 땀을 많이 흘리는 여름철에 갈증을 해소시켜 주고, 체질이 산성으로 변하기 쉬운 여름철에 참외는 특히 좋은 식품으로 피로 회복에 도움을 준다고 알려져 있다. 참외를 건강 식품소재 및 고부가가치 소재로 활용하기 위한 방안으로, 발효에 의해 유용 물질의 생성으로 기능성 물질이 강화된 소재를 개발하여 식품 및 건강식품의 소재로 활용이 필요하다.

[0003] 젖산균과 효모는 대표적인 발효미생물이면서 안전성이 입증된 GRAS(generally recognized as safe)로서 야채, 과실 및 동물성 원료의 젖산발효 및 효모발효를 통해서 대사산물인 젖산과 알코올을 생산함으로서 발효제품의 맛, 풍미 및 저장성을 부여하는 작용을 한다. 특히 젖산균, 효모는 probiotics로 인체 유해세균을 억제하면 유익한 균으로 정장작용 및 효능이 밝혀지면서 식품소재로 활용이 증가하고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1324621호(2013.10.28 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 효모 및 젖산균 복합발효를 통해 감마-아미노뷰티르산(gamma-aminobutyric acid; GABA)이 증진된 참외 발효물 제조방법을 제공하는데 있다.

[0006] 또한, 본 발명의 목적은 상기 방법에 의해 제조된 GABA 증진된 참외 발효물을 제공하는데 있다.

[0007] 또한, 본 발명의 목적은 상기 참외 발효물을 유효성분으로 포함하는 GABA 증진된 식품조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 (1) 참외를 절단하는 단계; (2) 상기 절단된 참외 중량 대비 1 내지 3배의 물을 첨가하여 절단된 참외를 균질화하는 단계; (3) 상기 균질화된 참외 추출물에 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 스타터(starter)를 접종하여 배양하는 1차 효모 발효 단계; 및 (4) 상기 1차 효모 발효물에 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P) 스타터를 접종하여 배양하는 2차 젖산 발효 단계를 포함하는 감마-아미노뷰티르산(gamma-aminobutyric acid; GABA) 증진된 참외 발효물 제조방법을 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 GABA 증진된 참외 발효물을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 상기 참외 발효물을 유효성분으로 포함하는 GABA 증진된 식품조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명은 효모 및 젖산균 복합발효를 통한 기능성 참외 발효물 제조 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 참외 추출액을 효모 발효 1일 후에 바로 연속적으로 전구물질인 MSG 3%를 첨가하여 젖산균 발효를 7일 동안 수행하였다. 여러 천연물을 이용한 GABA 전환 실험과는 다르게 초기 참외 추출물의 열처리에 따라서 최종 복합발효물의 GABA 생산에 큰 차이를 보였다. 참외 추출물을 열처리하는 경우에 1차 효모발효 후에 2차 젖산발효 7일 경에 약간의 GABA 생산을 보이는 반면에 참외 추출물을 비열처리하는 경우에 2차 젖산 발효 1일부터 GABA 생성을 보이면서 발효 4일에 모든 MSG 전구물질이 GABA로 전환되는 결과를 확인할 수 있었다. 상기와 같이 기능성이 강화된 발효 소재는 기능성 식품 및 건강식품의 소재로서의 활용이 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 참외 추출물 제조과정을 나타낸다.

도 2는 참외 추출물의 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 단일발효 과정을 나타낸다.

도 3은 참외 추출물의 열처리 조건에 따른 단일 발효물의 (A) pH, (B) 산도 측정 결과를 나타낸다. (a) 비열처리(non-heat treatment), (b) 85℃, 20min 열처리(heat treatment), (c) 121℃, 15min 열처리(heat treatment).

도 4는 참외 추출물의 열처리 조건에 따른 단일 발효물의 (A) 생균수, (B) 환원당 측정 결과를 나타낸다. (a) 비열처리(non-heat treatment), (b) 85℃, 20min 열처리(heat treatment), (c) 121℃, 15min 열처리(heat treatment).

도 5는 참외 추출물의 열처리 조건에 따른 단일발효물의 GABA 함량 측정 결과를 나타낸다. (a) 비열처리(non-heat treatment), (b) 85℃, 20min 열처리(heat treatment), (c) 121℃, 15min 열처리(heat treatment).

도 6은 참외 추출물의 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 및 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*)을 이용한 혼합발효 과정을 나타낸다.

도 7은 참외 추출물의 열처리 조건에 따른 혼합 발효물의 (A) pH, (B) 산도 측정 결과를 나타낸다. (a) 비열처리(non-heat treatment), (b) 85℃, 20min 열처리(heat treatment), (c) 121℃, 15min 열처리(heat treatment).

도 8은 참외 추출물의 열처리 조건에 따른 혼합 발효물의 (A) 효모군 생균수, (B) 젖산균 생균수 측정 결과를 나타낸다. (a) 비열처리(non-heat treatment), (b) 85℃, 20min 열처리(heat treatment), (c) 121℃, 15min 열처리(heat treatment).

도 9는 참외 추출물의 열처리 조건에 따른 혼합발효물의 GABA 함량 측정 결과를 나타낸다. (a) 비열처리(non-heat treatment), (b) 85℃, 20min 열처리(heat treatment), (c) 121℃, 15min 열처리(heat treatment).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명은 (1) 참외를 절단하는 단계; (2) 상기 절단된 참외 중량 대비 1 내지 3 배의 물을 첨가하여 절단된 참외를 균질화하는 단계; (3) 상기 균질화된 참외 추출물에 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 스타터(starter)를 접종하여 배양하는 1차 효모 발효 단계; 및 (4) 상기 1차 효모 발효물에 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P) 스타터를 접종하여 배양하는 2차 젖산 발효 단계를 포함하는 감마-아미노뷰티르산(gamma-aminobutyric acid; GABA) 증진된 참외 발효물 제조방법을 제공한다.

[0014] 바람직하게는, 상기 (2) 단계의 균질화하는 단계는 핸드 블렌더(hand blender)로 1차 균질화하여 여과시킨 후, 전기 블렌더(electronic blender)로 2차 균질화할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0015] 바람직하게는, 상기 (3) 단계의 1차 효모 발효는 25 내지 30℃에서, 1 내지 3일 동안 발효할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0016] 바람직하게는, 상기 (4) 단계의 배양시에는 전체 배양물 100 중량부에 대해, MSG 1 내지 10 중량부가 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0017] 바람직하게는, 상기 (4) 단계의 2차 젖산 발효는 25 내지 30℃에서, 1 내지 10일 동안 발효할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0018] 본 발명의 실시예에서 사용된 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014 균주는 한국미생물보존센터에 KCCM11545P로 수탁하였다.

[0019] 또한, 본 발명은 상기의 방법에 의해 제조된 GABA 증진된 참외 발효물을 제공한다.

[0020] 본 발명에 있어서, "감마 아미노부티르산(gamma-amino butyric acid; GABA)"은 4-아미노부틸산으로써 L-글루타메이트(L-glutamate) 기질이 탈탄산 반응에 의해 생성되며, 이에 관여하는 효소로는 글루타메이트 디카르복실라제(glutamate decarboxylase; GAD)가 있으며 피리독시드-5'-포스페이트(pyridoxid-5'-phosphate) 의존성 경로로 합성된다. GABA는 단백질에서는 발견이 되지 않는 비단백질성 아미노산으로 뇌나 척수에 존재하는 신경전달물질로 혈류를 개선하며 뇌의 산소공급을 증가시켜 뇌의 대사촉진 및 뇌 기억을 증진시키는 뇌의 영양제로 알려져 있다. GABA는 글루타메이트(glutamate)가 신경을 활성화시키는 것과는 달리 신경활성을 억제하는 것으로 알

려져 있으며, 이러한 기능은 신경세포의 기능과 정보처리에 지대한 영향을 미치게 되는데 특히 감각 뇌에서 방향 민감성, 각도 민감성 반응 등을 결정하며 정교한 운동기능도 조율하는 것으로 알려져 있다. GABA의 뇌혈류 촉진 효과와 산소공급 증가효과는 뇌세포의 대사를 촉진시킴으로써 뇌졸중의 후유증 및 뇌동맥경화증 등에 개선 효과가 나타나 의약품으로 사용되고 있다.

[0021] 본 발명에 있어서, "스타터(starter)"란 발효물을 제조하는 경우에 사용하는 미생물 배양액을 말한다. 따라서 스타터 미생물의 종류는 그 제품의 특성을 결정하게 되며 제품의 품질에 중요한 영향을 미친다. 미생물 중에서 스타터로 사용되고 있는 것은 박테리아, 곰팡이, 효모 등을 들 수 있으며, 이것을 단독 혹은 혼합하여 사용할 수 있다.

[0022] 또한, 본 발명은 상기 참외 발효물을 유효성분으로 포함하는 GABA 증진된 식품조성물을 제공한다.

[0023] 본 발명의 식품 조성물인 경우, 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 혼합 발효물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 쵸코렛, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있다.

[0024] 이하, 하기 실시예를 통해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 다만, 이러한 실시예에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0025] **<실시예 1> 참외 추출물의 열처리에 따른 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 단일발효**

[0026] **1. 참외 추출물 제조**

[0027] (1) 재료 및 방법

[0028] 경북 성주 참외(2018년 수확)를 세척한 후 1~2cm 정도로 절단한 후 냉동 보관하면서 시료로 사용하였다. 냉동 참외 절편과 증류수를 동량 혼합하여 2배 희석한 다음 Hand blender (HR1673, Koninklijke Philips N.V. Co., Ltd., Amsterdam, Nederland)로 1차 균질화하고, Electronic blender (SMX-3610WS, Guandgdong Shunde Lefan Electric Appliance Co., Ltd., Cheonan, Korea)을 이용하여 2차 고속으로 균질화를 하였다. 1차 균질화시킨 참외액은 70㎛의 25mesh를 이용하여 씨 등의 이물질을 제거하기 위해서 여과한 후 2차 고속으로 균질화시켰다. 최종 추출액의 수율은 82.5%(w/w)이며 멸균된 채수병에 담아 -18℃ 냉동 보관하면서 사용하였다(도 1).

[0029] (2) 결과 및 고찰

[0030] 2배 희석된 참외의 이화학적 분석한 결과, pH와 산도는 각각 5.95, 0.10%를 보였으며 당도, 환원당 및 고형분 함량은 각각 6.67 ° Brix, 4.24% 및 5.75%를 나타냈다(표 1). 이러한 결과는 이전 보고(Jo YJ et al. 2010, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39: 1359-1365)에서 2009년 수확된 참외의 pH 5.95, 산도 0.21%, 당도 10.5 ° Brix 및 고형분 함량 10.8%라고 보고한 것과 유사한 경향이 있었으나 산도, 당도 및 고형분 함량은 조금 낮게 나타나 희석에 의한 것으로 판단되었다.

표 1

[0031]

	Oriental melon
pH	5.95±0.01[1)]
Total acidity (%)	0.10±0.02
° Brix	6.67±0.06
Reducing sugar (%)	4.24±0.54
Soluble content (%)	5.75±0.23

[0032] [1)]수치는 평균±SD (n=3)로 나타냈다.

[0033] **2. 참외 추출물의 열처리에 따른 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 단일발효**

[0034] (1) 재료 및 방법

[0035] 성주군에서 수확된 참외를 2배 희석한 후 2단계 균질화시킨 참외시료를 열처리 하지 않은 조건과 85℃ 20분, 121℃ 15분간 열처리 한 조건으로 나눈 뒤, MSG 3%, yeast extract 0.5%를 동일하게 첨가한다. 그 후 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014를 접종하여 30℃에서 7일간 젖산발효를 진행한다(도 2). 발효

조성은 표 2와 같다.

표 2

[0036]

Ingredient	(a)	(b)	(c)
Oriental melon (x2 dilution, mL)	100		
MSG[2)] (g)	3		
10% Yeast extract (mL)	5		
Total (mL)	105		

[0037] [2)] 모노소듐 글루타메이트(Monosodium glutamate)

[0038] (a) 비열처리(non-heat treatment)

[0039] (b) 85℃, 20min 열처리(heat treatment)

[0040] (c) 121℃, 15min 열처리(heat treatment)

[0041] (2) 결과 및 고찰

[0042] 1) pH, 산도 결과

[0043] 참외의 열처리 조건에 따른 단일발효 특성 결과, 젖산발효가 진행됨에 따라 모든 조건의 pH는 발효 전 pH 5.9-6.0에서 pH 4로 감소한 후 유지하였다(도 3A).

[0044] 산도의 경우, 발효 전 0.06-0.10에서 발효 1일째 모든 조건에서 산이 생성되어 1.19-1.34%를 나타낸 뒤 증가하였으나 열처리하지 않은 조건은 발효 7일째 1.11%로 감소하였다(도 3B).

[0045] 2) 생균수, 환원당 결과

[0046] 생균수 결과, 발효가 시작됨에 따라 모든 조건에서 발효 1일째 8.5-8.6 log CFU/mL의 높은 균 활성을 보였으며 발효 3일째까지 활성이 유지되었다. 열처리 하지 않은 조건은 발효 7일째 8.1 log CFU/mL로 균수가 감소하였다(도 4A).

[0047] 환원당은 발효 초기에서부터 약간의 차이를 보였다. 2배 희석된 참외의 환원당은 4.24%로 a, b, c 시료의 발효 전 환원당 수치 2.68-3.25%와 1-1.5% 가량 차이를 보였다. 이는 참외가 본래 가지고 있던 미생물이 실온에서 지속적으로 발효를 진행하고 있는 것으로 사료된다. 열처리하지 않은 조건이 열처리한 조건보다 당을 소진하는 속도는 늦었지만 발효 4일째에 모든 조건에서 젖산균이 당을 소진하는 것으로 나타났다(도 4B).

[0048] 3) GABA 분석 결과

[0049] 젖산균에 의한 발효물의 GABA 함량 변화를 측정하기 위해, 발효물을 3배 희석하여 원심분리한 후 얻은 상등액을 TLC를 이용하여 정성분석 하였다. 젖산발효 1일째부터 GABA가 생성되는 것을 볼 수 있으나 발효 7일째까지 모든 조건에서 MSG가 잔존하는 것을 볼 수 있었다(도 5). 그러나 열처리하지 않은 조건에서 발효 7일째 MSG spot이 많이 작아진 것으로 보아 참외를 이용한 발효 시 열처리를 하지 않은 조건이 GABA 생성에 도움을 줄 것으로 보인다.

[0050] **<실시예 2> 참외 추출물의 열처리에 따른 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 및 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 혼합발효**

[0051] **1. 재료 및 방법**

[0052] 경상북도 성주군에서 수확된 참외를 2배 희석한 후 2차까지 균질화시킨 참외 추출물 시료를 열처리 하지 않은 조건과 85℃ 20분, 121℃ 15분간 열처리한 조건으로 나눈 뒤, 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)를 접종하여 30℃에서 1일간 효모발효를 진행하였다. 그 후 MSG 3%를 동일하게 첨가하여 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014를 접종하여 30℃에서 7일간 젖산발효를 진행한다(도 6). 발효 조성은 표 3과 같다.

표 3

[0053]

Ingredient	(a)	(b)	(c)
	1st - Yeast Fermentation		
Oriental melon (x2 dilution, mL)	100		
	2nd - Lactic acid Fermentation		
30% MSG (mL)	10		
Total (mL)	110		

[0054] (a) 비열처리(non-heat treatment)

[0055] (b) 85℃, 20min 열처리(heat treatment)

[0056] (c) 121℃, 15min 열처리(heat treatment)

[0057] **2. 결과 및 고찰**

[0058] (1) pH, 산도 결과

[0059] pH 결과, 발효 초기 멸균 유무에 따라 pH 차이를 보였다. 이는 참외에 있던 미생물이 실온에서 발효가 진행되어 차이를 보인 것으로 사료된다. 열처리를 한 조건은 pH 5.21-5.28, 열처리를 하지 않은 조건은 pH 4.24로 약간 감소하면서 산성화를 보인 뒤 효모 발효가 진행됨에 따라 약간 증가함을 보였다. 젖산발효 1일째 열처리 유무에 따라 pH가 많은 차이를 보였다. 열처리를 한 b, c 조건은 젖산발효가 진행됨에 따라 감소하여 젖산발효 7일째 4.21-4.23을 나타냈다. 열처리를 하지 않은 a 조건은 젖산발효 1일째까지 pH가 증가하여 pH 6.44를 나타낸 뒤 감소하여 젖산발효 7일째 pH 4.61을 나타냈다(도 7A).

[0060] 산도의 경우도 마찬가지로 발효 초기에 열처리 유무에 따른 차이를 보였다. a 조건 0.63%, b, c 조건은 각각 0.16%, 0.32%를 나타내어 열처리를 하지 않은 조건이 발효 초기에 산이 생성되어 높은 값을 보인다. 젖산발효 1일째 열처리를 한 b, c 조건은 산도가 증가하여 0.88-0.90%를 나타낸 뒤 젖산발효 7일째 1.46-1.51%를 보였다. 열처리를 하지 않은 a 조건은 젖산발효 1일째 0.14%에서 젖산발효 4일째 2.15%를 나타낸 뒤 유지하였다(도 7B).

[0061] (2) 생균수 측정 결과

[0062] 효모균의 생균수 결과, 발효가 시작됨에 따라 모든 조건에서 발효 1일째 8.8-9.0 log CFU/mL의 높은 균 활성을 보였으나, 젖산균 발효가 진행됨에 따라 활성이 떨어짐을 보였다. 열처리하지 않은 조건은 젖산발효 1일째 7.8 log CFU/mL로 감소한 뒤 관찰되지 않은 반면 열처리를 한 두 조건은 젖산발효 7일째에 6.2-6.5 log CFU/mL을 나타냈다(도 8A).

[0063] 젖산균의 생균수 결과는 세 조건 모두 젖산발효 1일째 8.9-10.0 log CFU/mL로 가장 높은 활성을 나타낸 뒤 약간 감소하거나 유지하였다. 열처리를 하지 않은 조건은 젖산발효 7일째까지 감소하여 7.7 log CFU/mL을 나타내었다(도 8B).

[0064] (3) GABA 분석 결과

[0065] 효모균, 젖산균에 의한 혼합 발효물의 GABA 함량 변화를 측정하기 위해, 발효물을 3배 희석하여 원심분리한 후, 얻은 상등액을 TLC를 이용하여 정성분석 하였다. 열처리 하지 않은 a 조건에서 젖산발효 1일째부터 GABA가 생성되는 것을 볼 수 있었으며 젖산발효 4일째 MSG가 GABA로 전환되는 것을 볼 수 있었다(도 9).

[0066] 결론적으로, 성주지역에서 재배되는 참외를 이용한 기능성물질 GABA를 강화시키는 발효를 수행하면서 미강 유래 젖산균 *L. plantarum* EJ2014를 이용한 단독 젖산발효를 통해서 전구물질인 MSG가 일부 GABA로 전환되는 결과를 보였다. 특히 참외 추출액(2배 희석)을 비열처리한 경우에 GABA물질 생성이 증가하였다.

[0067] 동일한 참외 추출액을 전구물질인 MSG 3% 존재하에서 효모 발효 1일 후에 바로 연속적으로 젖산균 발효를 7일 동안 수행하였다. 여러 천연물을 이용한 GABA전환 실험과는 다르게 초기 참외 추출물의 열처리에 따라서 최종 복합발효물의 GABA생산에 큰 차이를 보였다. 참외 추출물을 열처리하는 경우에 1차 효모발효 후에 2차 젖산발효 7일 경에 약간의 GABA 생산을 보이는 반면에 참외 추출물을 비열처리하는 경우에 2차 젖산 발효 1일부터 GABA 생성을 보이면서 발효 4일에 모든 MSG 전구물질이 GABA로 전환되는 결과를 보였다.

[0068] 따라서 참외와 같이 당이 많은 과일을 원료로 GABA를 강화시키는 발효에서 초기에 생수로 2배 희석시켜 균질화를 통해서 참외 추출물을 제조한 후 발효성 당의 첨가 없이 전구물질인 MSG만을 첨가하여 발효시키는 것이 가능하였다. 특히, 참외 추출물의 제조시에 1차 균질화시킨 시료는 입자 형태의 고형분이 1차 효모 발효중에 표면에 노출되면서 호기성 오염균(고초균 등)의 생육이 촉진되는 현상을 보이면서 이취 등의 냄새를 생성하였다. 따라서 2단계 균질화를 통해 제조된 참외 추출물을 비열처리를 통해서 영양성분의 파괴를 최소화하는 조건이 1차 효모 발효와 2차 젖산발효에 의해서 단기간에 GABA를 고농도도 생산하는 것이 가능하였다.

수탁번호

[0069]

기탁기관명 : 한국미생물보존센터(국외)

수탁번호 : KCCM11545P

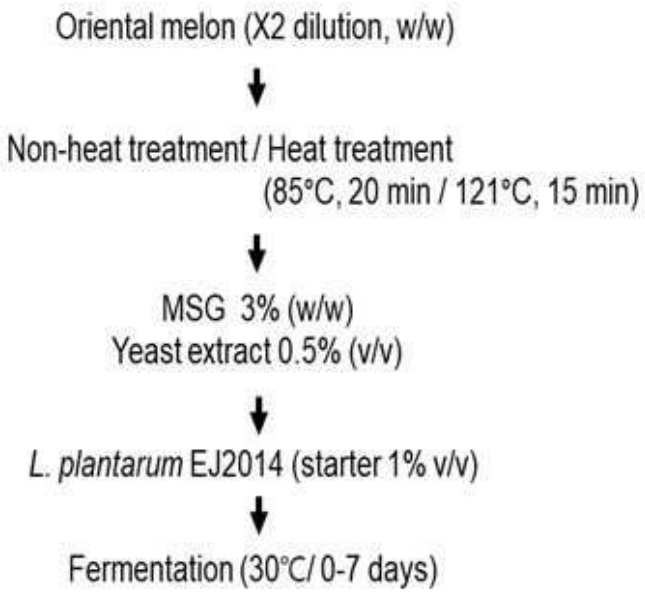
수탁일자 : 20140609

도면

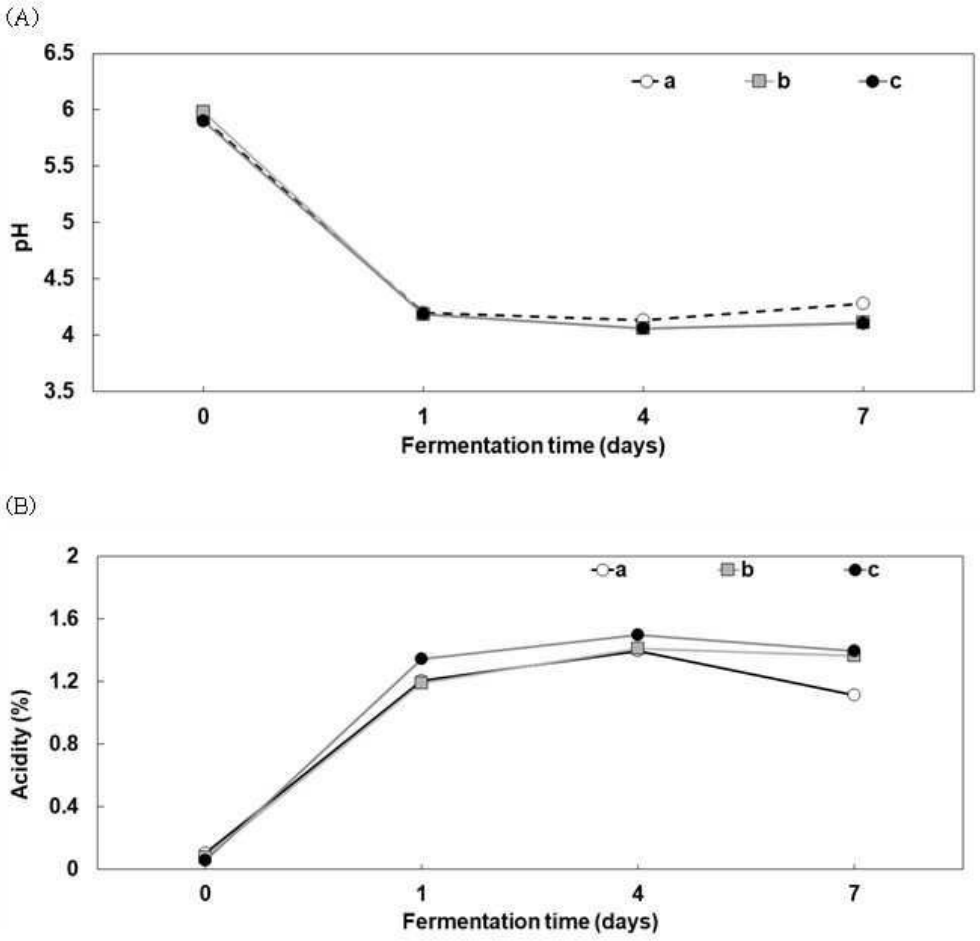
도면1



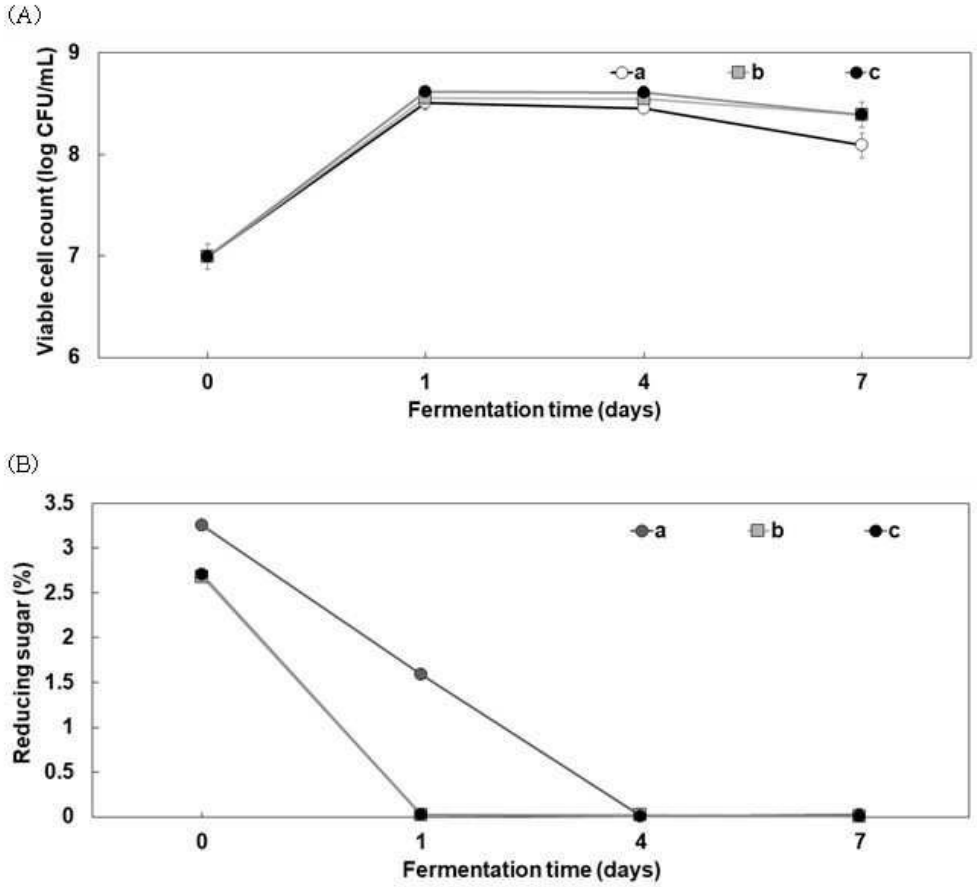
도면2


Oriental melon (X2 dilution, w/w)
Non-heat treatment / Heat treatment
(85°C, 20 min / 121°C, 15 min)
MSG 3% (w/w)
Yeast extract 0.5% (v/v)
L. plantarum EJ2014 (starter 1% v/v)
Fermentation (30°C/ 0-7 days)

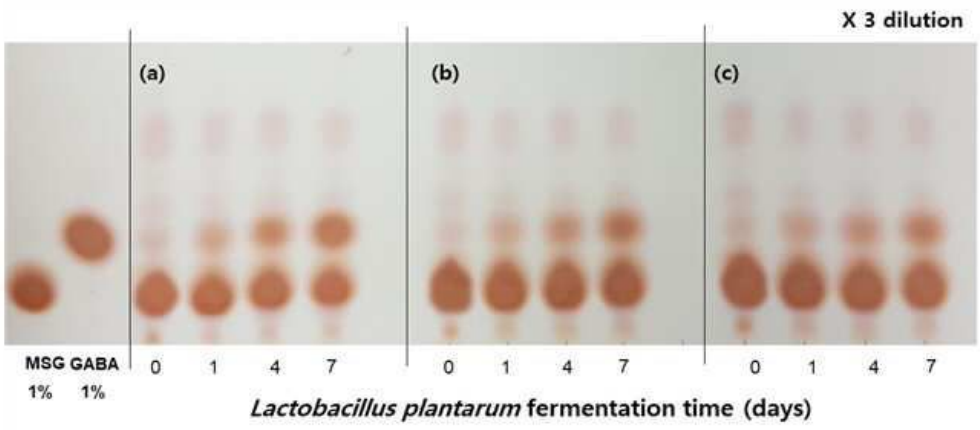
도면3


(A)
pH
6.5
6
5.5
5
4.5
4
3.5
a
b
c
0
1
4
7
Fermentation time (days)
(B)
Acidity (%)
2
1.6
1.2
0.8
0.4
0
a
b
c
0
1
4
7
Fermentation time (days)

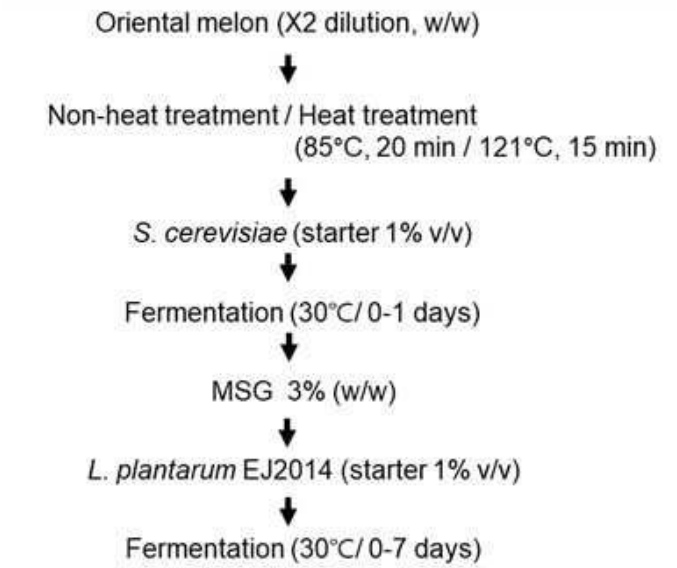
도면4


(A)
Viable cell count (log CFU/mL)
9
8
7
6
a
b
c
0
1
4
7
Fermentation time (days)
(B)
Reducing sugar (%)
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
a
b
c
0
1
4
7
Fermentation time (days)

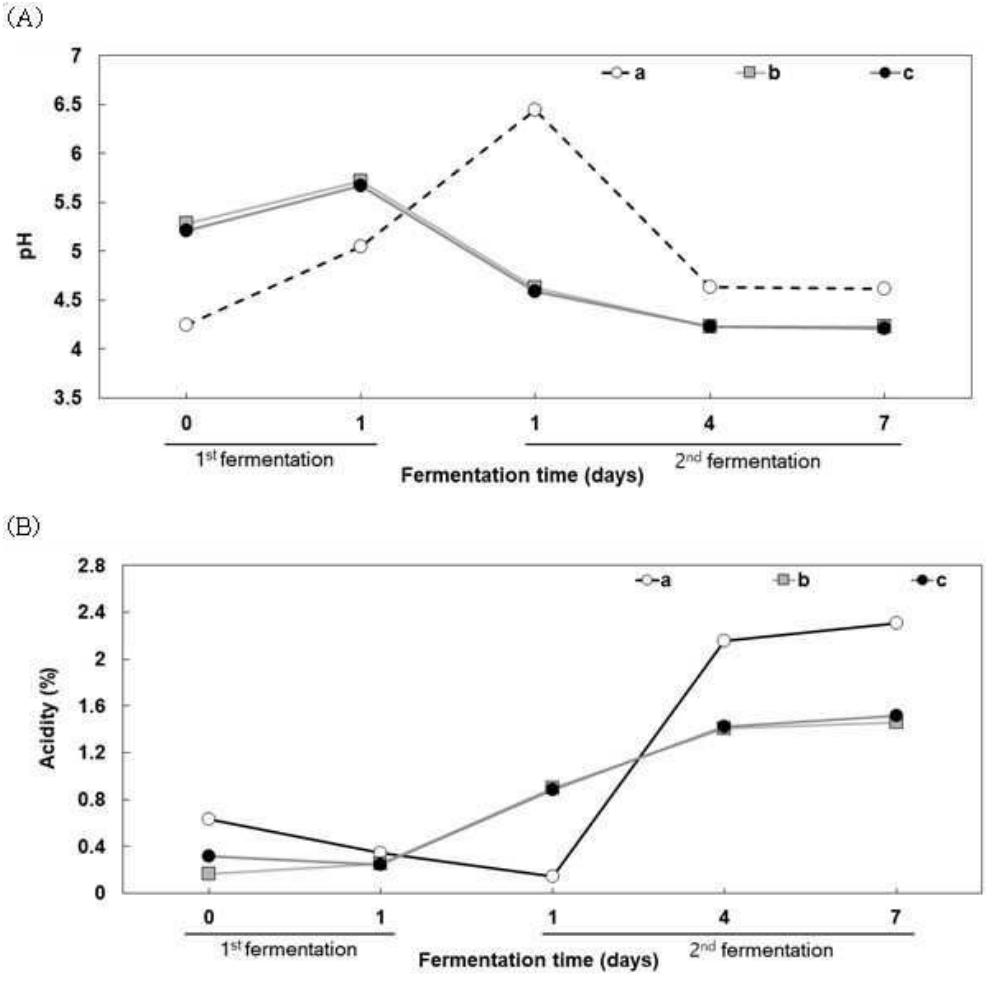
도면5


X 3 dilution
(a)
(b)
(c)
MSG GABA
1% 1%
0 1 4 7
0 1 4 7
0 1 4 7
Lactobacillus plantarum fermentation time (days)

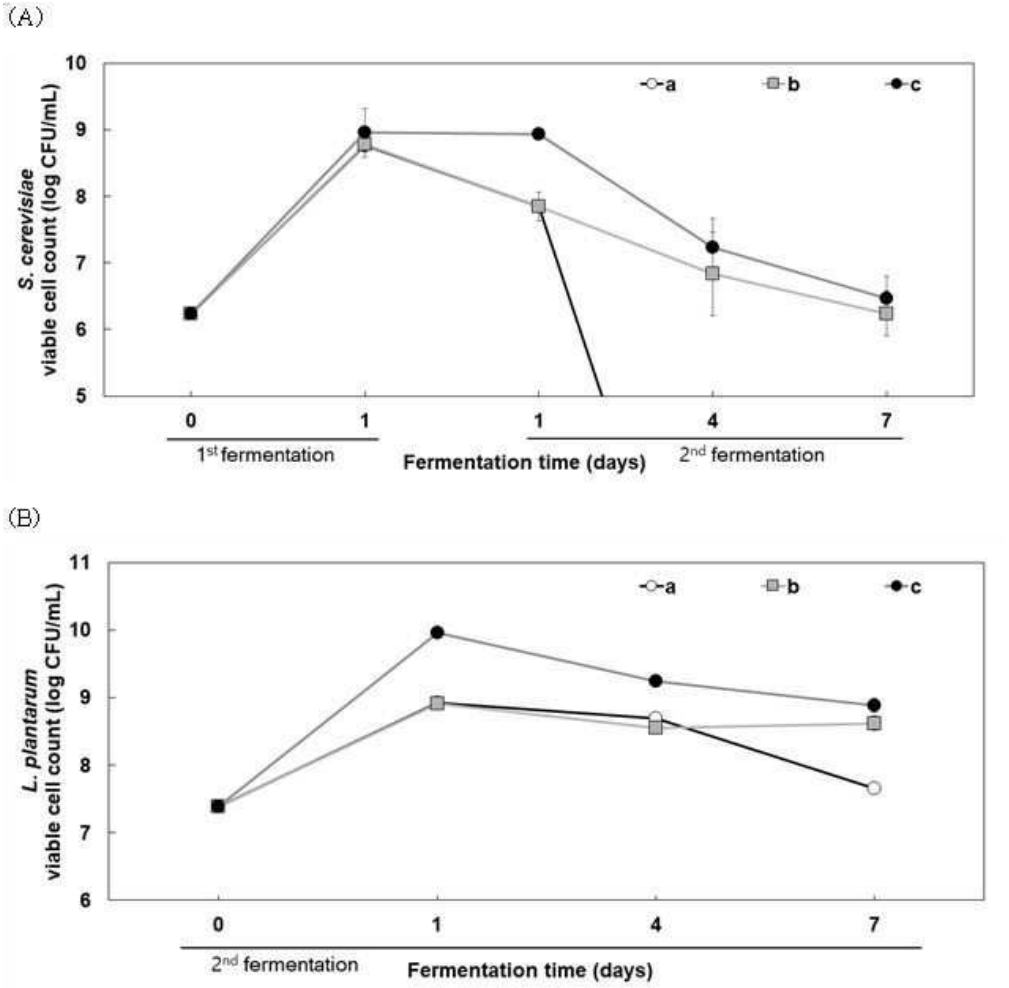
도면6


Oriental melon (X2 dilution, w/w)
Non-heat treatment / Heat treatment
(85°C, 20 min / 121°C, 15 min)
S. cerevisiae (starter 1% v/v)
Fermentation (30°C/ 0-1 days)
MSG 3% (w/w)
L. plantarum EJ2014 (starter 1% v/v)
Fermentation (30°C/ 0-7 days)

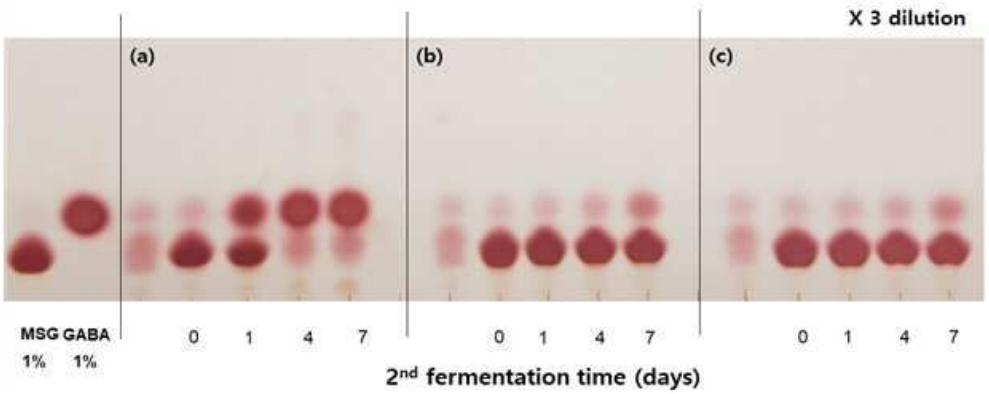
도면7


(A)
pH
a
b
c
Fermentation time (days)
1st fermentation
2nd fermentation
(B)
Acidity (%)
a
b
c
Fermentation time (days)
1st fermentation
2nd fermentation

도면8


(A)
S. cerevisiae viable cell count (log CFU/mL)
10
9
8
7
6
5
a
b
c
0
1
1
4
7
1st fermentation
Fermentation time (days)
2nd fermentation
(B)
L. plantarum viable cell count (log CFU/mL)
11
10
9
8
7
6
a
b
c
0
1
4
7
2nd fermentation
Fermentation time (days)

도면9


X 3 dilution
(a)
(b)
(c)
MSG 1%
GABA 1%
0 1 4 7
0 1 4 7
0 1 4 7
2nd fermentation time (days)