



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0069370
(43) 공개일자 2018년06월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 29/00 (2016.01) A21D 2/36 (2006.01)
A21D 8/04 (2017.01) A23L 17/60 (2016.01)
A23L 33/10 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23L 29/065 (2016.08)
A21D 2/368 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0171485

(22) 출원일자 2016년12월15일

심사청구일자 2016년12월15일

(71) 출원인

계명대학교 산학협력단

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)

(72) 발명자

이삼빈

대구광역시 달서구 선원로 171, 102동 306호 (이
곡동, 성서무지개타운)

구지은

경상북도 구미시 고아읍 문장로22길 33, 304동
1204호 (원호한누리타운3단지)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인태백

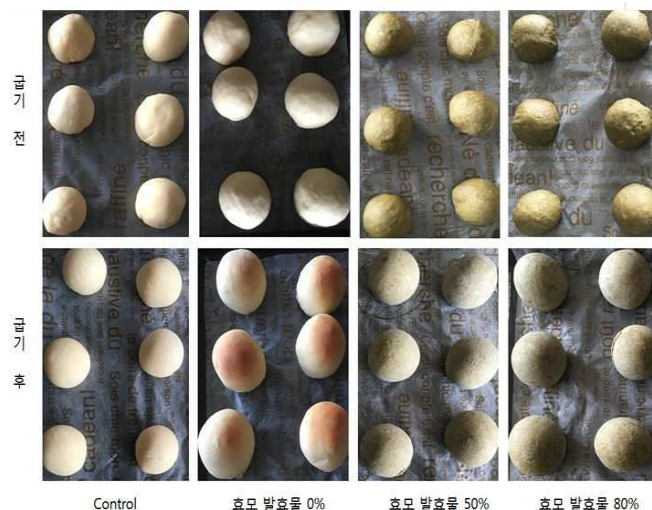
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 젖산 발효 또는 효모 발효를 통한 기능성 스피루리나 발효물 제조방법

(57) 요약

본 발명은 젖산 발효 또는 효모 발효를 통한 기능성 스피루리나 발효물 제조방법에 관한 것으로서, 상세하게는 GABA를 생산하는 젖산균인 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P)를 이용한 젖산 발효 또는 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*)를 이용한 효모 발효를 통한 기능성 스피루리나 발효물 제조방법에 대한 것이다. 본 발명자들은 스피루리나를 이용한 젖산발효를 통해 기능성 물질 GABA 및 probiotics가 강화된 기능성 발효물을 제조할 수 있었으며, 스피루리나를 효모 발효함으로써 가공된 건조 이스트를 대체할 수 있는 효모 스타터를 제공함으로써 기능성 물질이 강화된 스피루리나 모닝 빵 제조가 가능하였다. 또한 기능성이 강화된 스피루리나 발효 소재는 기능성 식품 및 건강식품의 소재로서의 활용이 기대된다.

대표도 - 도37



(52) CPC특허분류

A21D 8/04 (2013.01)
A23L 17/60 (2016.08)
A23L 33/10 (2016.08)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2250/038 (2013.01)
A23Y 2220/67 (2013.01)

(72) 발명자

윤용규

대구광역시 달서구 장산남로 33, 109동 1906호 (용
 산동, 용산롯데캐슬그랜드)

최재원

대구광역시 달서구 달서대로 719, 105동 2005호 (신
 당동, 꿈에그린한화신당동아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	314082-3
부처명	농림축산식품부
연구관리전문기관	농림수산물기술기획평가원
연구사업명	농생명산업기술개발사업
연구과제명	농산물 소재를 활용한 고부가가치 제품 개발 지원을 위한 CRO 구축
기 여 율	1/1
주관기관	계명대학교 산학협력단
연구기간	2015.12.19 ~ 2016.12.18

명세서

청구범위

청구항 1

- (1) 스피루리나 분말 또는 페이스트(paste)를 물에 첨가하여 혼합하는 단계;
- (2) 상기 혼합물을 열처리 또는 멸균 처리하는 단계;
- (3) 상기 열처리 또는 멸균 처리된 혼합물에 글루코스(glucose) 및 모노소듐 글루타메이트(monosodium glutamate; MSG)를 첨가하여 혼합하는 단계; 및
- (4) 상기 (3) 단계의 혼합물에 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P) 스타터를 접종하고 배양하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 감마-아미노뷰티르산(gammaaminobutyric acid; GABA) 증진된 스피루리나 젖산 발효물 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 (3) 단계는 전체 혼합물 100 중량부에 대해, 글루코스(glucose) 0.5 내지 5 중량부 및 MSG 1 내지 5 중량부를 첨가하여 혼합하는 것을 특징으로 하는 GABA 증진된 스피루리나 젖산 발효물 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 (3) 단계의 젖산 발효는 25 내지 30℃에서, 1 내지 10일 동안 발효하는 것을 특징으로 하는 GABA 증진된 스피루리나 젖산 발효물 제조방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항의 방법에 의해 제조된 GABA 증진된 스피루리나 젖산 발효물.

청구항 5

- (1) 스피루리나 분말 또는 페이스트(paste)를 물에 첨가하여 혼합하는 단계;
- (2) 상기 혼합물을 열처리 또는 멸균 처리하는 단계;
- (3) 상기 열처리 또는 멸균 처리된 혼합물에 글루코스(glucose) 또는 수크로스(sucrose); 및 효모 추출물(yeast extract)을 첨가하여 혼합하는 단계; 및
- (4) 상기 (3) 단계의 혼합물에 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 스타터를 접종하고 배양하여 효모 발효시키는 단계를 포함하는 스피루리나 효모 발효물 제조방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 (3) 단계는 전체 혼합물 100 중량부에 대해, 글루코스(glucose) 또는 수크로스(sucrose) 0.5 내지 5 중량부 및 효모 추출물(yeast extract) 0.1 내지 3 중량부를 첨가하여 혼합하는 것을 특징으로 하는 스피루리나 효모 발효물 제조방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 (3) 단계의 효모 발효는 20 내지 30℃에서, 1 내지 5일 동안 발효하는 것을 특징으로 하는 스피루리나 효모 발효물 제조방법.

청구항 8

제5항 내지 제7항 중 어느 하나의 항의 방법에 의해 제조된 스피루리나 효모 발효물.

청구항 9

제4항의 스피루리나 젖산 발효물 및 제8항의 스피루리나 효모 발효물을 유효성분으로 포함하는 GABA 증진된 식품조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 식품은 빵인 것을 특징으로 하는 GABA 증진된 식품조성물.

청구항 11

(1) 제4항의 스피루리나 젖산 발효물, 제8항의 스피루리나 효모 발효물, 밀가루, 설탕, 소금 및 달걀을 혼합하여 반죽하는 단계;

(2) 상기 반죽을 30℃에서 3시간 동안 1차 발효하는 단계;

(3) 상기 1차 발효된 반죽을 분할하여, 30℃에서 30분 내지 1시간 동안 2차 발효하는 단계; 및

(4) 상기 2차 발효된 반죽을 오븐에 굽는 단계를 포함하는 GABA 증진된 스피루리나 발효 모닝 빵 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 젖산 발효 또는 효모 발효를 통한 스피루리나 발효물 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 GABA를 생산하는 젖산균인 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P)를 이용한 젖산 발효 또는 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)를 이용한 효모 발효를 통한 기능성 스피루리나 발효물 제조방법 및 상기 스피루리나 발효물을 함유하여 제조된 기능성 모닝 빵에 대한 것이다.

배경 기술

[0002] 자연계에 존재하는 식물 중에 노화 억제와 질병의 방지 등 생체조절기능을 가지는 기능성 성분들이 다량 함유되어 있다고 밝혀져 천연식품소재에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 스피루리나(Spirulia)는 건강기능식품 뿐만 아니라 당뇨, 비만 등 질병예방, 면역기능에 대해 많은 연구가 진행되고 있다.

[0003] 스피루리나(Spirulia)라는 이름은 ‘나선형의(Spiral) 모양을 하고 있는 생물’이라는 어원에서 유래되었고, 색은 청록색을 띄고 있으며 모양은 가늘고 긴 나선형 사상체이며 폭 0.04~0.06mm, 길이 3~5mm인 분화되지 않은 다세포성 독립영양생물이다. 원핵세포 생물인 시아노박테리아(cyanobacteria)의 한 종류로 분류되고 있는 스피루리나는 pH 9~11의 강알칼리성 호수, 사해와 같은 바닷물보다 6~7배나 짠 염호, 40~50℃의 열수 등 다른 생물들이 살기 힘든 환경에서 살아갈 수 있는 강한 생명력을 지닌 독특한 생명체이다.

[0004] 스피루리나를 비롯한 시아노박테리아와 조류(algae)는 자연건강식품으로서 영양소를 여러 가지 골고루 포함하고 있으며 지구상에서 가장 오래된 조류의 하나로 이용 효율이 높아 인류의 가치 있는 식량자원으로 사용되어 왔으며, 생물학적 활성을 갖는 성분들을 함유하고 있어 기능성 식품으로 활용되고 있다. 또한 스피루리나는 피코시아닌, 비타민 E, 카로티노이드, 베타카로틴 등의 양질의 단백질과 항산화물질을 고농도로 함유하고 있고, 그 안정성을 WHO, FAO, UNICEF, UNIDO의 국제기구들로부터 인정을 받아 건강 기능성 식품으로 활용되고 있다.

[0005] 스피루리나에는 탄수화물 15~20%, 단백질 60~70%, 지방질 6~9% 이외에도 단백질 함량이 높을 뿐만 아니라 질도 우수하여 많은 필수아미노산을 함유하고 있으며, 탄수화물로는 포도당, 람노스(rhamnose), 자일로스(xylose), 만노스(mannose) 등을 함유하고 있고, 지질성분으로는 고도불포화 필수지방산인 리놀렌산(linolenic acid), 감마-2 리놀렌산(γ -linolenic acid)이 풍부하며 n-3 지방산인 리놀레익산(linoleic acid)도 다량 포함하고 있다. 또한 다량의 무기질과 비타민을 함유하고 있으며 특히 항산화제 역할을 하는 β -carotene, tocopherol, phenolic acid와 비타민 B12를 다량 함유하고 있다. 색소 성분으로는 피코시아닌, 엽록소, 베타카로틴색소를 갖고 있다. 피코시아닌 색소는 연구가 왕성한 색소 성분이며 남조류에만 함유된 청색 색소로서, 활성 산소에 대한 항산화 성분이 있어 간 기능 개선을 비롯하여 혈액순환 개선, 성인병 예방효과, GLA의 지질대사 활성화, 노화억제 등 여러 가지 질병의 치료 또는 예방에 효과가 있다. 각종 성분이 인체와 비슷한 비로 구성되어 있어 소화 흡수율이 95% 이상이며 노약자, 소화기능이 약화된 환자, 유아 등이 섭취할 때 효과가 크며 오랜 기간 복용하여도 영양에 불균형을 야기하지 않는 알칼리성 완전식품이다.

[0006] 최근 신경전달물질로 알려진 감마 아미노부티르산(γ -aminobutyric acid; GABA)의 다양한 생리활성에 주목하고

있다. GABA는 자연계에 분포하는 비단백질 아미노산의 일종으로 동물의 뇌나 척수에 존재하는 신경전달물질이다. GABA는 억제성 신경전달 물질의 하나로써 혈압상승을 억제하고 시력 증진에 효과가 있으며, 불안감, 초조감 등을 진정시키는 작용을 한다. 동물의 경우 뇌, 폐, 심장, 신장 등에 분포되어 있으며, 식물의 경우 발아 녹차, 현미 등에서 주로 발견되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2008-0079955호(2008.09.02 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 GABA 생성 젖산균인 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P)을 이용한 감마-아미노뷰티르산(gamma-aminobutyric acid; GABA)이 증진된 스피루리나 젖산 발효물 제조방법을 제공하는데 있다.

[0009] 또한, 본 발명의 목적은 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)를 이용한 스피루리나 효모 발효물 제조방법을 제공하는데 있다.

[0010] 또한, 본 발명의 목적은 상기 스피루리나 젖산 발효물 및 상기 스피루리나 효모 발효물을 유효성분으로 포함하는 GABA 증진된 식품조성물을 제공하는데 있다.

[0011] 또한, 본 발명의 목적은 상기 스피루리나 젖산 발효물 및 상기 스피루리나 효모 발효물 함유 GABA 증진된 모닝 빵 제조방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 (1) 스피루리나 분말 또는 페이스트(paste)를 물에 첨가하여 혼합하는 단계; (2) 상기 혼합물을 열처리 또는 멸균 처리하는 단계; (3) 상기 열처리 또는 멸균 처리된 혼합물에 글루코스(glucose) 및 모노소듐 글루타메이트(monosodium glutamate; MSG)를 첨가하여 혼합하는 단계; 및 (4) 상기 (3) 단계의 혼합물에 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P) 스타터를 접종하고 배양하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 감마-아미노뷰티르산(gammaaminobutyric acid; GABA) 증진된 스피루리나 젖산 발효물 제조방법을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 상기의 방법에 의해 제조된 GABA 증진된 스피루리나 젖산 발효물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 (1) 스피루리나 분말 또는 페이스트(paste)를 물에 첨가하여 혼합하는 단계; (2) 상기 혼합물을 열처리 또는 멸균 처리하는 단계; (3) 상기 열처리 또는 멸균 처리된 혼합물에 글루코스(glucose) 또는 수크로스(sucrose); 및 효모 추출물(yeast extract)을 첨가하여 혼합하는 단계; 및 (4) 상기 (3) 단계의 혼합물에 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 스타터를 접종하고 배양하여 효모 발효시키는 단계를 포함하는 스피루리나 효모 발효물 제조방법을 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기의 방법에 의해 제조된 스피루리나 효모 발효물을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 상기 스피루리나 젖산 발효물 및 상기 스피루리나 효모 발효물을 유효성분으로 포함하는 GABA 증진된 식품조성물을 제공한다.

[0017] 또한, 본 발명은 (1) 상기 스피루리나 젖산 발효물, 상기 스피루리나 효모 발효물, 밀가루, 설탕, 소금 및 달걀을 혼합하여 반죽하는 단계; (2) 상기 반죽을 30℃에서 3시간 동안 1차 발효하는 단계; (3) 상기 1차 발효된 반죽을 분할하여, 30℃에서 30분 내지 1시간 동안 2차 발효하는 단계; 및 (4) 상기 2차 발효된 반죽을 오븐에 굽는 단계를 포함하는 GABA 증진된 스피루리나 발효 모닝 빵 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

[0018] 본 발명은 젖산 발효 또는 효모 발효를 통한 기능성 스피루리나 발효물 제조방법에 관한 것으로서, 상세하게는

GABA를 생산하는 젖산균인 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P)를 이용한 젖산 발효 또는 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)를 이용한 효모 발효를 통한 기능성 스피루리나 발효물 제조방법에 대한 것이다. 본 발명자들은 스피루리나를 이용한 젖산발효를 통해 기능성 물질 GABA 및 probiotics가 강화된 기능성 발효물을 제조할 수 있었으며, 스피루리나를 효모 발효함으로써 가공된 건조 이스트를 대체할 수 있는 효모 스타터를 제공함으로써 기능성 물질이 강화된 스피루리나 모닝 빵 제조가 가능하였다. 또한 기능성이 강화된 스피루리나 발효 소재는 기능성 식품 및 건강식품의 소재로서의 활용이 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0019]

도 1은 스피루리나 페이스트(paste)의 현미경 사진을 나타낸다.

도 2는 현미경 상에서의 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014의 형태 및 아가 배지에서 계대배양한 사진을 나타낸다.

도 3은 현미경 상에서의 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)의 형태 및 아가 배지에서 계대배양한 사진을 나타낸다.

도 4는 스피루리나 젖산 발효물 제조 모식도를 나타낸다.

도 5는 스피루리나 효모 발효물 제조 모식도를 나타낸다.

도 6은 스피루리나 발효 모닝 빵 제조방법을 나타낸다.

도 7은 열처리 방법에 따른 *L. plantarum* EJ2014를 이용한 스피루리나 발효물의 pH, 산도 변화 결과를 나타낸다.

도 8은 열처리 방법에 따른 *L. plantarum* EJ2014를 이용한 스피루리나 발효물의 생균수 변화 결과를 나타낸다.

도 9는 열처리 방법에 따른 *L. plantarum* EJ2014를 이용한 스피루리나 발효물의 GABA 함량 측정 TLC 분석 결과를 나타낸다.

도 10은 Homogenizer 이용시간에 따른 *L. plantarum* EJ2014를 이용한 스피루리나 발효물의 pH, 산도 변화 결과를 나타낸다.

도 11은 Homogenizer 이용시간에 따른 *L. plantarum* EJ2014를 이용한 스피루리나 발효물의 생균수 변화 결과를 나타낸다.

도 12는 Homogenizer 이용시간에 따른 *L. plantarum* EJ2014를 이용한 스피루리나 발효물의 GABA 함량 측정 TLC 분석 결과를 나타낸다.

도 13은 Homogenizer 이용시간 및 젖산 발효시간에 따른 스피루리나 페이스트(paste) 이미지를 나타낸다.

도 14는 스피루리나 생물 농도에 따른 *L. plantarum* EJ2014를 이용한 스피루리나 발효물의 pH, 산도 변화 결과를 나타낸다.

도 15는 스피루리나 생물 농도에 따른 *L. plantarum* EJ2014를 이용한 스피루리나 발효물의 생균수 변화 결과를 나타낸다.

도 16은 스피루리나 생물 농도에 따른 *L. plantarum* EJ2014를 이용한 스피루리나 발효물의 GABA 함량 측정 TLC 분석 결과를 나타낸다.

도 17은 영양조건에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 제조 모식도를 나타낸다.

도 18은 영양조건에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 pH, 산도 변화 결과를 나타낸다.

도 19는 영양조건에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 생균수 변화 결과를 나타낸다.

도 20은 영양조건에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 당도 변화 결과를 나타낸다.

도 21은 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효 3일째의 잡균 이미지를 나타낸다.

도 22는 열처리 방법에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 pH, 산도 변화 결과를 나타낸다.

도 23은 열처리 방법에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 생균수 변화 결과를 나타낸다.

도 24는 열처리 방법에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 당도 변화 결과를 나타낸다.

도 25는 열처리 및 멸균 처리시 스피루리나 효모 발효물의 색깔 차이를 나타낸다.

도 26은 Homogenizer 이용시간에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 pH, 산도 변화 결과를 나타낸다.

도 27은 Homogenizer 이용시간에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 생균수 변화 결과를 나타낸다.

도 28은 Homogenizer 이용시간에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 당도 변화 결과를 나타낸다.

도 29는 Homogenizer 이용시간 및 효모 발효시간에 따른 스피루리나 페이스트(paste) 이미지를 나타낸다.

도 30은 당 함량에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 pH, 산도 변화 결과를 나타낸다.

도 31은 당 함량에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 생균수 변화 결과를 나타낸다.

도 32는 당 함량에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 당도 변화 결과를 나타낸다.

도 33은 수크로스(sucrose) 농도에 따른 거품 정도를 나타낸다.

도 34는 스피루리나 생물 농도에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 pH, 산도 변화 결과를 나타낸다.

도 35는 스피루리나 생물 농도에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 생균수 변화 결과를 나타낸다.

도 36은 스피루리나 생물 농도에 따른 *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 당도 변화 결과를 나타낸다.

도 37은 빵 굽기 전후의 모닝 빵 이미지를 나타낸다.

도 38은 모닝 빵의 지름 및 높이를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 이에, 본 발명자들은 스피루리나를 식품재료로 다방면으로 사용하기 위한 연구의 일환으로 식품영양학적 특성과 생리활성이 우수한 스피루리나 젖산 발효 또는 효모 발효를 통해 GABA가 함유된 기능성 소재 및 이를 이용한 기능성 모닝 빵을 제조하고 본 발명을 완성하였다.

[0021] 본 발명은 (1) 스피루리나 분말 또는 페이스트(paste)를 물에 첨가하여 혼합하는 단계; (2) 상기 혼합물을 열처리 또는 멸균 처리하는 단계; (3) 상기 열처리 또는 멸균 처리된 혼합물에 글루코스(glucose) 및 모노소듐 글루타메이트(monosodium glutamate; MSG)를 첨가하여 혼합하는 단계; 및 (4) 상기 (3) 단계의 혼합물에 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P) 스타터를 접종하고 배양하여 젖산 발효시키는 단계를 포함하는 감마-아미노뷰티르산(gammaaminobutyric acid; GABA) 증진된 스피루리나 젖산 발효물 제조방법을 제공한다.

[0022] 바람직하게는, 상기 (3) 단계는 전체 혼합물 100 중량부에 대해, 글루코스(glucose) 0.5 내지 5 중량부 및 MSG 1 내지 5 중량부를 첨가하여 혼합할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0023] 바람직하게는, 상기 (3) 단계의 발효는 25 내지 30℃에서, 1 내지 10일 동안 발효할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0024] 본 발명의 실시예에서 사용된 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014 균주는 한국미생물보존센터에 KCCM11545P로 수탁하였다.

[0025] 또한, 본 발명은 상기의 방법에 의해 제조된 GABA 증진된 스피루리나 젖산 발효물을 제공한다.

[0026] 본 발명에 있어서, "감마 아미노뷰티르산(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 경로

로 합성된다. GABA는 단백질에서는 발견이 되지 않는 비단백질성 아미노산으로 뇌나 척수에 존재하는 신경전달 물질로 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 알려져 있으며, 이러한 기능은 신경세포의 기능과 정보처리에 지대한 영향을 미치게 되는데 특히 감각 뇌에서 방향 민감성, 각도 민감성 반응 등을 결정하며 정교한 운동기능도 조절하는 것으로 알려져 있다. GABA의 뇌혈류 촉진 효과와 산소공급 증가효과는 뇌세포의 대사를 촉진시킴으로써 뇌졸중의 후유증 및 뇌동맥경화증 등에 개선 효과가 나타나 의약품으로 사용되고 있다.

[0027] 본 발명은 (1) 스피루리나 분말 또는 페이스트(paste)를 물에 첨가하여 혼합하는 단계; (2) 상기 혼합물을 열처리 또는 멸균 처리하는 단계; (3) 상기 열처리 또는 멸균 처리된 혼합물에 글루코스(glucose) 또는 수크로스(sucrose); 및 효모 추출물(yeast extract)을 첨가하여 혼합하는 단계; 및 (4) 상기 (3) 단계의 혼합물에 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*) 스타터를 접종하고 배양하여 효모 발효시키는 단계를 포함하는 스피루리나 효모 발효물 제조방법을 제공한다.

[0028] 바람직하게는, 상기 (3) 단계는 전체 혼합물 100 중량부에 대해, 글루코스(glucose) 또는 수크로스(sucrose) 0.5 내지 5 중량부 및 효모 추출물(yeast extract) 0.1 내지 3 중량부를 첨가하여 혼합할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0029] 바람직하게는, 상기 (3) 단계의 효모 발효는 20 내지 30℃에서, 1 내지 5일 동안 발효할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0030] 또한, 본 발명은 상기의 방법에 의해 제조된 스피루리나 효모 발효물을 제공한다.

[0031] 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.

[0032] 본 발명에 있어서, "페이스트(paste)"란 고체와 액체의 중간상태로 점성이 강한 유동성의 반 고상의 상태를 의미한다.

[0033] 또한, 본 발명은 상기 스피루리나 젖산 발효물 및 상기 스피루리나 효모 발효물을 유효성분으로 포함하는 GABA 증진된 식품조성물을 제공한다.

[0034] 본 발명의 식품 조성물인 경우, 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 스피루리나 젖산 발효물 및 상기 스피루리나 효모 발효물을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발명의 실시예에서는 빵, 특히 모닝 빵 제조에 상기 스피루리나 젖산 발효물 및 상기 스피루리나 효모 발효물을 첨가하였다.

[0035] 또한, 본 발명은 (1) 상기 스피루리나 젖산 발효물, 상기 스피루리나 효모 발효물, 밀가루, 설탕, 소금 및 달걀을 혼합하여 반죽하는 단계; (2) 상기 반죽을 30℃에서 3시간 동안 1차 발효하는 단계; (3) 상기 1차 발효된 반죽을 분할하여, 30℃에서 30분 내지 1시간 동안 2차 발효하는 단계; 및 (4) 상기 2차 발효된 반죽을 오븐에 굽는 단계를 포함하는 GABA 증진된 스피루리나 발효 모닝 빵 제조방법을 제공한다.

[0036] 이하, 하기 실시예를 통해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 다만, 이러한 실시예에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0037] <실험예>

[0038] 하기의 실험예들은 본 발명에 따른 각각의 실시예에 공통적으로 적용되는 실험예를 제공하기 위한 것이다.

[0039] 1. 재료

[0040] 본 발명에 사용된 스피루리나 분말(powder)은 서현약초(Seoul, Korea)로부터 제공받아 상온에 보관하였고, 스피루리나 페이스트(paste)(도 1)는 코리아메론(Sungju, Korea)으로부터 제공받아 100 g씩 개별 포장된 것을 -20℃에서 냉동 보관하며 사용하였다. 스피루리나 페이스트(paste) 균질화를 위해서 WiseTis(HG-15D, Korea)사에서 제조된 Homogenizer를 이용하였고 당도는 전자굴절당도계(Refractometer, ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하였다. 스피루리나 효모 발효 시, 주 영양분으로 사용된 설탕은 대한제당(KS H-2003, Incheon, Korea)으로부터 구입하

여 사용하였다. YM broth는 DifcoTM YM Broth (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 제품을 구입하였고, 생육 촉진제로서 효모 추출물(yeast extract; YE)은 (주)조흥(Ansan, Korea)으로부터 제품을 구입하여 사용하였다. 스피루리나 젖산 발효 시, GABA 생성을 위한 부원료로 사용된 소듐 L-글루타메이트(sodium L-glutamate)는 Yakuri pure chem.사(Kyoto, Japan)에서 구입하였고, K₂HPO₄는 Sigma(St. Louis, Mo, USA)에서, MRS broth는 DifcoTM Lactobacilli MRS (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 제품을 구입하여 사용하였으며, 분석에 사용된 시약은 특급이상을 구입하여 사용하였다.

2. 사용균주

실험에 사용된 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014(KCCM11545P)는 미강(울진, 정미소)으로부터 시료 2 g을 멸균 증류수 18 mL에 혼합한 후 10³배까지 희석하고 DifcoTM Lactobacilli MRS broth agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD., USA)에 도말하여 30℃ 항온배양기 (IS-971R, Jeio tech., Kimpo, Korea)에서 24시간 배양하여 균주를 순수 분리하였다. 균주의 단일콜로니를 취하여 2회 계대배양한 후, 121℃에서 15분간 멸균한 MRS broth에 순수 분리된 *L. plantarum* EJ2014를 한 백금이를 접종하여 30℃에서 24시간 정치배양한 뒤 스타터로 사용하였다(도 2).

실험에 사용된 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*)는 빵 효모로부터 시료 2 g을 멸균 증류수 18 mL에 혼합한 후 10³배까지 희석하고 DifcoTM YM broth agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD., USA)에 도말하여 25℃ 항온배양기 (IS-971R, Jeio tech., Kimpo, Korea)에서 48시간 배양하여 균주를 순수 분리하였다. 균주의 단일콜로니를 취하여 2회 계대배양한 후, 121℃에서 15분간 멸균한 YM broth에 순수 분리된 사카로마이세스 세레비지애를 한 백금이를 접종하여 25℃에서 24시간 정치배양한 뒤 스타터로 사용하였다(도 3).

3. Starter 배양액 제조

균주 *L. plantarum* EJ2014를 DifcoTM Lactobacilli MRS broth agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)배지에, *Sacch. cerevisiae*를 DifcoTM YM Broth agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)에 도말하여 각각 30℃와 25℃ 항온배양기 IS-971R (Jeio Tech. Kimpo, Korea)에서 24시간 배양한 뒤 균주의 단일콜로니를 취하여 2회 계대배양한 후, MRS broth와 YM broth에 순수 분리된 각각의 *L. plantarum* EJ2014, *Sacch. cerevisiae*를 한 백금이 접종하여 각각 30℃, 25℃에서 24시간 정치 배양하여 스타터로 사용하였다.

4. *L. plantarum*. EJ2014를 이용한 스피루리나 젖산 발효 최적화

스피루리나 분말(powder) 또는 -20℃에서 냉동보관 되어 해동시킨 스피루리나 페이스트(paste) 10%를 증류수 100 mL에 넣는다. 미생물을 사멸하기 위해 121℃에서 15분간 멸균하거나 항온 수조기에서 85℃에서 30분간 열처리 후 사용하였다. 그리고 영양성분인 글루코스(glucose) 2%와 GABA의 전구물질인 MSG 3%를 첨가한 후, *L. plantarum* EJ2014 starter 1%를 접종하여 항온 배양기에서 30℃, 7일간 정치 배양하여 스피루리나를 이용한 젖산 발효물을 제조하였다(도 4).

5. *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 효모 발효 최적화

스피루리나 분말(powder) 또는 -20℃에서 냉동보관 되어 해동시킨 스피루리나 페이스트(paste) 10%를 증류수 100 mL에 넣는다. 미생물을 사멸하기 위해 121℃에서 15분간 멸균하거나 항온 수조기에서 85℃에서 30분간 열처리 후 사용하였다. 그리고 생육 촉진제의 역할을 하는 영양성분인 효모 추출물(yeast extract; YE), 글루코스(glucose) 2%를 첨가한 후, *Sacch. cerevisiae* starter 1%를 접종하여 항온 배양기에서 25℃, 3일간 정치 배양하여 스피루리나 분말과 생물의 효모 발효물을 제조하였다. (도 5).

6. 스피루리나 젖산 발효물의 물리·화학적 성분 분석

(1) pH 및 산도 측정

스피루리나 젖산 발효물의 pH는 pH meter (420A+, Thermo Orion, USA)를 이용하여 측정하였으며, 발효물 1 mL에 증류수 9 mL을 혼합한 후 측정하였다. 적정 산도는 시료 1 mL에 증류수 9 mL을 첨가하여 pH meter로 pH가 8.3에 도달할 때까지 0.1N NaOH로 적정한 소비량을 lactic acid 함량(% v/w)으로 환산하였다.

(2) 생균수 측정

생균수는 발효물 1 mL에 멸균수 9 mL을 첨가하여 10^4 , 10^5 , 10^6 배로 단계별로 희석하여 MRS broth agar 배지에 20 μ L 도말한 후, 30℃ 항온배양기에서 24시간 배양한 후의 생균수를 CFU (colony forming unit)/mL 로 나타내었다.

(3) TLC를 이용한 GABA 함량 측정

TLC 전개는 사각 chamber (30×25×10 cm)에서 수행하고, silica gel TLC plate는 10×20 cm의 크기로 잘라서 사용하였다. MSG 분해 정도와 GABA 생성능 비교를 위한 standard로 MSG 0.25-1%와 GABA 0.25-1%를 사용하였다. 전개용매는 n-butyl alcohol : acetic acid glacial : distilled water 3:1:1의 비율로 혼합하여 실온에서 4시간 이상 포화시켰다. 각 sample은 TLC plate의 끝에서 20 mm 되는 위치에 2 μ L를 점적하였고, sample 간격은 1cm를 유지하였다. 점적 후 TLC plate sample을 건조시킨 후 전개하고, 전개가 끝난 TLC plate는 60℃ dry oven에서 건조시킨다. 건조 된 TLC plate에 발색시약 0.2% ninhydrin을 뿌리고, 100℃ dry oven에서 5-10분 동안 발색 시킨 후 GABA spot을 확인하였다.

7. 스피루리나 효모 발효물의 물리·화학적 성분 분석

(1) pH, 산도 및 당도 측정

스피루리나 효모 발효물의 pH는 pH meter (420A+, Thermo Orion, USA)를 이용하여 측정하였으며, 발효물 1 mL에 증류수 9 mL을 혼합한 후 측정하였다. 적정 산도는 시료 1 mL에 증류수 9 mL을 첨가하여 pH meter로 pH가 8.3에 도달할 때까지 0.1N NaOH로 적정한 소비량을 lactic acid 함량(% , v/w)으로 환산하였다. 당도는 전자굴절 당도계(Refractometer, ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하여 시료 1mL로 당도를 측정하였으며 3반복 하였다.

(2) 생균수 측정

생균수는 효모 발효물 1 mL에 멸균수 9 mL을 첨가하여 10^3 , 10^4 , 10^5 배로 단계별로 희석하여 YM broth agar 배지에 20 μ L 도말한 후, 25℃ 항온배양기에서 48시간 배양한 후의 생균수를 CFU (colony forming unit)/mL 로 나타내었다.

8. 스피루리나 젖산 발효물, 효모 발효물을 이용한 스피루리나 모닝빵 제조 최적화

모닝 빵의 일반적인 제조과정은 도 6과 같다. 스피루리나는 젖산균과 효모를 이용하여 젖산 발효와 효모 발효를 진행한 후, 스피루리나 분말(powder)을 이용한 3일째의 젖산 발효물과 페이스트(paste)로 발효한 2일째의 효모 발효물을 우유 대용으로 사용하였다. 모닝 빵의 제조 비율은 표 1과 같다. 대조군(Control)은 강력분 300 g과 우유 150 mL, 설탕 45 g, 소금 5 g, 달걀 1개를 섞어 반죽을 하였고, 효모 발효물 0% 군은 대조군과 동일하나 시중에 파는 모닝 빵 제조법에 따라 드라이 이스트 10 g을 첨가하여 반죽하였다. 스피루리나 효모 발효물 50% 군은 효모 발효물 75 mL, 젖산 발효물 30 mL, 우유 45 mL을, 효모 발효물 80% 군은 효모 발효물 120 mL, 젖산 발효물 30 mL을 우유 대용으로 사용하였으며 발효물이 들어간 반죽에는 드라이 이스트를 사용하지 않았다. 각각의 내용물들이 잘 섞이도록 저속에서 1-2분, 고속에서 3-5분 믹싱한 다음 30℃ 발효실에서 3시간 동안 1차 발효하였다. 1차 발효가 끝난 반죽을 40 g 씩 분할하여 둥글리기 한 다음, 30℃ 발효실에서 1시간 동안 2차 발효를 하고 180℃에서 8-9분 동안 모닝 빵을 구웠다.

표 1

	대조군(Control)	0%	50%	80%
강력분(g)	300	300	300	300
스피루리나 효모 발효물(mL)	0	0	75	120
스피루리나 젖산 발효물(mL)	0	0	30	30
우유(mL)	150	150	45	0
설탕(g)	40	40	40	40
소금(g)	5	5	5	5
달걀(EA)	1	1	1	1
드라이 이스트(g)	0	10	0	0

[0065] 9. 관능검사

[0066] 스피루리나 분말(powder)을 이용한 젖산 발효물과 스피루리나 페이스트(paste)를 이용한 효모 발효물을 이용한 스피루리나 모닝빵의 관능검사는 신뢰성과 실험에 대한 관심도 등을 고려하여 식품 연구원 10명을 관능검사 요원으로 선정하였으며, 이들에게 실험의 목적과 평가방법을 인지시킨 후 실시하였다. 평가 항목으로는 색(Color), 향(Flavor), 맛(taste), 발효취 강도(fermented smell intensity), 물성(texture), 전반적인 기호도(Overall preference)로 하였으며, 5점법을 사용하여 5점으로 갈수록 특성의 기호도가 좋아지는 것으로 하였다. 시료는 흰 바탕의 접시를 이용하여 관능평가를 실시하였다.

[0067] <실시예 1> 스피루리나 분말(powder) 및 페이스트(paste)의 특성 분석

[0068] 스피루리나 분말(powder) 및 페이스트(paste)의 특성을 분석한 결과는 표 2와 같다. 스피루리나 페이스트(paste)의 명도(L), 적색도(a), 황색도(b)가 각각 13.95, 0.45, 0.38로 나타났다. 스피루리나 페이스트(paste)는 당도와 수분함량이 4.5 ° Brix, 88.84%이었으며, pH와 총 산도(total acidity)가 5.53, 1.56%, 환원당이 0.44%로 나타났다. 스피루리나 분말(powder)의 명도(L), 적색도(a), 황색도(b)는 각각 8.38, -2.29, 2.28로 나타났다. 당도와 수분함량이 12 ° Brix, 6.86%이었으며, pH와 총 산도(total acidity)가 7.32, 0.82%, 환원당이 2.12%로 나타났다.

표 2

	페이스트(Paste)	분말(Powder)
색도(Chromaticity)	L:13.95 / a:0.45 / b:0.38	L:8.38 / a:-2.29 / b:2.28
당도 (° Brix)	4.5	12
수분함량 (%)	88.84	6.86
pH	5.53	7.32
총 산도 (%)	1.56	0.82
환원당 (%)	0.44	2.12

[0070] <실시예 2> *L. plantarum* EJ2014을 이용한 스피루리나 발효물의 특성

[0071] 1. 열처리 방법에 따른 *L. plantarum* EJ2014 젖산 발효물의 특성

[0072] (1) pH, 적정산도 및 생균수 변화

[0073] 열처리 방법에 따른 GABA 생산 최적화를 위하여 스피루리나 젖산발효를 수행하였다. 스피루리나 분말(powder) 10%를 증류수에 혼합한 후, 한 시료는 85℃에서 15분간 열처리 하였고, 또 다른 시료는 121℃에서 15분간 멸균 처리 하였다. 그리고 MSG 3%와 글루코스(Glucose) 2%를 첨가한 후, *L. plantarum* EJ2014 starter 1%를 접종하고 30℃에서 7일간 배양하였다.

[0074] 열처리 방법에 따른 pH 및 산도 변화를 측정한 결과는 표 3 및 도 7과 같다. 발효 0일째 열처리한 발효물과 멸균 처리한 발효물의 pH는 각각 7.62, 7.42였다. 발효 1일째 열처리 한 발효물의 pH는 4.51로 감소하였고, 5일째 까지 유지하다 7일째에 pH 5.37로 증가하였다. 반면, 멸균처리 한 발효물의 pH는 발효 1일째에 4.44로 감소하였고, 3일째부터 pH 5.3으로 증가되어 발효가 끝날 때까지 유지되었다. 적정 산도는 발효 0일째 0.07%로 비슷한 경향을 보였고, 열처리 한 발효물은 발효 3일째에 1.45%로 가장 산도가 높았으며 발효 시간이 길어질수록 감소하였다. 반면에 멸균처리 한 발효물은 발효 1일째에 1.42%로 가장 높은 산도를 보였으며 발효 3일째부터 0.55%로 감소하여 유지되는 경향을 보였다.

[0075] 열처리 방법에 따른 생균수 변화를 측정한 결과는 표 3 및 도 8과 같다. 열처리 방법에 따른 각각 발효물의 생균수는 발효 3일째에 4.75×10^9 CFU/mL, 1.92×10^9 CFU/mL로 가장 높았으며 발효시간이 지나면서 점차 감소하는 경향을 보였다.

[0076] pH 및 적정 산도의 결과에서 열처리 방법에 따른 차이는 크게 보이지 않았으며, 경향은 조금 차이가 났지만 발효 시간이 길어질수록 pH가 감소하였고, 적정산도는 증가하였다.

표 3

	열처리 방법	발효 시간 (days)				
		0	1	3	5	7
pH	Heating	7.62	4.51	4.33	4.45	5.37
	Autoclave	7.42	4.44	5.30	5.32	5.25
산도(%)	Heating	0.07	1.07	1.45	1.28	0.50
	Autoclave	0.07	1.42	0.55	0.51	0.56
생균수 (cfu/ml)	Heating	1.2×10^7	1.4×10^9	4.8×10^9	2.0×10^9	1.9×10^9
	Autoclave	1.2×10^7	1.3×10^9	1.9×10^9	7.9×10^8	4.8×10^8

cfu: 콜로니 형성 단위(colony forming unit)

(2) TLC를 이용한 GABA 생성 변화

열처리 방법을 달리한 스피루리나 발효물 각각의 sample을 2배 희석하여 15,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 TLC로 GABA 함량을 확인하였다(도 9). 열처리를 한 발효물의 MSG는 발효시간이 지나면서 점차 감소하는 경향을 보이다가 발효 7일째에 모두 소진되어 약 1% 이상의 GABA가 생성되었다. 반면에 멸균처리 한 발효물의 MSG는 발효 3일차에 모두 약 1% 이상 GABA로 전환되었다.

TLC를 이용하여 정성 분석한 결과 GABA 전환은 모든 조건에서 이루어졌지만 MSG는 멸균처리 한 발효물이 발효 3일째에 대부분 소진되어 GABA 전환이 모두 되었으므로 스피루리나를 이용한 젖산 발효는 멸균 처리하는 방법이 적합하다고 생각된다.

2. Homogenizer 이용시간에 따른 *L. plantarum* EJ2014 젖산 발효물의 특성

(1) pH, 적정산도 및 생균수 변화

Homogenizer 이용시간에 따른 GABA 생산 최적화를 위하여 스피루리나 젖산발효를 수행하였다. 스피루리나 페이스트(paste)에 물리적인 힘을 가하여 잘려진 세포에서 용출되는 영양분이 발효에 어떤 영향을 끼치는지 알기 위해 균질화 하였다. 스피루리나 페이스트(Paste) 10%를 증류수 100 mL에 첨가하여 20분, 40분, 60분간 5,000 rpm으로 균질화 하였다. 균질화 하지 않은 대조군(Control)과 20분, 40분, 60분 균질화 한 모든 시료를 121℃에서 15분간 멸균처리 하고, MSG 3% 및 글루코스(Glucose) 2%를 첨가한 후, *L. plantarum* EJ2014 starter 1%를 접종하고 30℃에서 배양하였다.

Homogenizer 이용시간과 발효 후의 스피루리나 세포 모습을 현미경으로 관찰한 결과는 도 13과 같다. 균질화 시간이 증가될수록 절단된 세포의 모습을 확인할 수 있었고, 열처리 전과 후의 세포 형태의 변화는 없었으며 엽록소가 고온고압에 의해 파괴되어 색상이 많이 짙어졌다. 발효 후, 젖산균의 증식으로 더 많이 절단된 세포를 확인할 수 있었다.

Homogenizer 이용시간에 따른 pH 및 산도 변화를 측정한 결과는 표 4 및 도 10과 같다. 발효 0일째 Homogenizer 이용시간에 관계없이 대부분 pH 6.65로 비슷한 경향을 보였다. 발효 1일째 pH가 각각 pH 4.54, 4.69, 4.75, 4.74로 감소하였고, 발효시간이 길어질수록 일정하게 유지되었다. 적정산도는 발효 0일째 0.07%로 모두 같았으며 발효 7일째까지 1.03%, 0.95%, 1.04%, 0.88%로 꾸준히 증가하는 경향을 보였다. 발효 5일째까지는 40분, 60분 균질화 한 발효물의 산도가 가장 높았으나 발효 7일째에 40분 균질화 한 발효물은 여전히 가장 높았으나 60분 균질화 한 발효물은 0.88%로 가장 낮았다.

Homogenizer 이용시간에 따른 생균수 변화를 측정한 결과는 표 4, 도 11과 같다. 각각 발효물의 생균수는 발효 3일째에 7.40×10^8 CFU/mL, 5.58×10^8 CFU/mL, 5.82×10^8 CFU/mL, 4.66×10^8 CFU/mL까지 증가하였으며 발효시간이 지나면서 유지하는 경향을 보였다.

pH, 적정 산도 및 생균수의 결과에서 Homogenizer 이용시간에 따른 차이는 크게 보이지 않았으며, 발효 시간이 길어질수록 pH가 감소하였고, 적정 산도 및 생균수는 증가하였다.

표 4

	Homogenizer (minutes)	발효 시간 (days)				
		0	1	3	5	7
pH	0	6.69	4.54	4.42	4.26	4.19
	20	6.65	4.69	4.42	4.28	4.21
	40	6.66	4.75	4.38	4.26	4.18
	60	6.63	4.74	4.39	4.24	4.17
산도 (%)	0	0.07	0.40	0.63	0.84	1.03
	20	0.07	0.38	0.65	0.85	0.95
	40	0.07	0.41	0.71	0.89	1.04
	60	0.07	0.38	0.68	0.88	0.88
생균수	0	1.5×10^7	5.8×10^8	7.4×10^8	6.9×10^8	5.0×10^8
	20	1.5×10^7	5.4×10^8	5.6×10^8	6.4×10^8	4.8×10^8
	40	1.5×10^7	5.2×10^8	5.8×10^8	4.7×10^8	4.3×10^8
	60	1.5×10^7	4.9×10^7	4.7×10^8	4.3×10^8	4.1×10^8

(2) TLC를 이용한 GABA 생성 변화

Homogenizer 이용시간을 달리한 스피루리나 발효물 각각의 sample을 2배 희석하여 15,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 TLC로 GABA 함량을 확인하였다(도 12). 스피루리나 분말(powder)을 이용한 젖산 발효물과 달리 페이스트(paste)를 이용한 젖산 발효물은 GABA 전환도 되지 않았고 MSG 소진조차 없었다.

잘려진 스피루리나 생물에서 용출되는 영양분이 발효에 영향을 미치는지 알아보기 위해 진행한 실험이었지만 모든 조건에서 GABA 생성을 못 하였으므로 스피루리나 분말(powder)과 페이스트(paste)의 성분 차이가 실험 결과에 영향을 끼친 것으로 판단된다.

3. 스피루리나 생물 농도에 따른 *L. plantarum* EJ2014 젖산 발효물의 특성

(1) pH, 적정산도 및 생균수 변화

스피루리나 생물의 농도에 따른 GABA 생산 최적화를 위하여 스피루리나 젖산발효를 수행하였다. 스피루리나 페이스트(paste)는 분말(powder)보다 수분함량이 많기 때문에 분말(Powder)과 페이스트(Paste)의 농도 차이를 알기 위해 실험을 진행하였다. 스피루리나 페이스트(Paste)의 농도를 10, 20, 30%로 달리하여 증류수 100 mL과 혼합하여 121°C에서 15분간 멸균처리 하였다. 그리고 각각의 시료에 MSG 3%와 글루코스(Glucose) 2%를 첨가한 후, *L. plantarum* EJ2014 starter 1%를 접종하고 30°C에서 7일간 배양하였다.

스피루리나 농도에 따른 pH 및 산도 변화를 측정한 결과는 표 5 및 도 14와 같다. 발효 0일째 발효물의 초기 pH는 각각 pH 6.55, 6.35, 6.27이었다. 발효 1일째 pH가 5.02, 4.86, 4.8로 감소하였고, 발효가 진행됨에 따라 감소하는 경향이었으나 큰 차이는 없었다. 적정산도는 발효 0일째 각각 0.1%, 0.09%, 0.12%였으며 스피루리나 농도 10%와 20%의 발효물은 발효 7일째에 0.91%, 1.32%까지 증가하였으나 30%의 발효물은 발효 5일째에 1.65%로 가장 높았으며 7일째에 감소하는 경향을 보였다.

스피루리나 농도에 따른 생균수 변화를 측정한 결과는 표 5 및 도 15와 같다. 각각 발효물의 생균수는 발효 1일째에 4.60×10^8 CFU/mL, 8.33×10^8 CFU/mL, 7.65×10^8 CFU/mL로 가장 높았으며 발효시간이 지나면서 발효 3일째에 2.63×10^8 CFU/mL, 3.20×10^8 CFU/mL, 4.03×10^8 CFU/mL까지 감소하였다가 5일째에 다시 증가하여 유지하는 경향을 보였다. pH, 적정산도 및 생균수의 결과에서 스피루리나 농도 30% 조건의 발효물이 가장 발효에 적합하다고 판단된다.

표 5

	스피루리나 농도	발효 시간 (days)				
		0	1	3	5	7
pH	0.1	6.55	5.02	4.60	4.44	4.33

산도 (%)	0.2	6.35	4.86	4.44	4.27	4.17
	0.3	6.27	4.80	4.33	4.15	4.08
	0.1	0.10	0.33	0.67	0.85	0.91
	0.2	0.09	0.49	0.91	1.23	1.32
	0.3	0.01	0.01	0.20	0.12	0.03
생균수	0.1	2.2×10^6	4.6×10^8	2.6×10^8	4.0×10^8	3.3×10^8
	0.2	2.2×10^6	8.3×10^8	3.2×10^8	8.1×10^8	5.8×10^8
	0.3	2.2×10^6	7.7×10^8	4.0×10^8	8.3×10^8	7.2×10^8

[0099] (2) TLC를 이용한 GABA 생성 변화

[0100] 스피루리나 페이스트(paste)의 농도를 달리한 젖산 발효물 각각의 sample을 2배 희석하여 15,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 얻은 상등액을 TLC로 GABA 함량을 확인하였다(도 16). 스피루리나 페이스트(paste)의 농도를 달리하여 분말(powder)과 페이스트(paste)의 농도 차이를 알기 위해 실험하였지만 이번 실험 역시 GABA 전환도 되지 않았고 MSG 소진조차 없었다. 이번 실험을 통해 스피루리나 생물은 GABA 생산 최적화하기 위한 조건에 적합하지 않은 것으로 판단된다. GABA를 형성하기 위한 스피루리나 젖산 발효는 페이스트(Paste) 보다 분말(Powder)이 적합하다.

[0101] <실시예 3> *Sacch. cerevisiae*를 이용한 스피루리나 발효물의 특성

[0102] 1. 영양조건에 따른 *Sacch. cerevisiae* 효모 발효물의 특성

[0103] (1) pH, 적정산도, 생균수 및 당도 변화

[0104] 영양조건에 따른 스피루리나를 이용한 효모발효를 수행하였다. 조건 1은 스피루리나 분말(powder) 10%에 영양성분 없이 100℃의 증류수와 혼합하였고, 조건 2는 스피루리나 분말(powder) 10%와 글루코스(glucose) 2%를 100℃의 증류수에 첨가했으며, 조건 3은 스피루리나 분말(powder) 10%, 글루코스(glucose) 2% 그리고 효모 추출물(Yeast extract; YE) 0.5%를 100℃의 증류수에 혼합하였다. 상기 모든 조건에 있어서, 스피루리나 분말(powder) 10%와 100℃의 증류수를 혼합하고, 상기 시료들을 85℃에서 15분간 열처리하여 냉각한 후, 영양성분인 글루코스(glucose) 2%와 효모 추출물(Yeast extract; YE) 0.5%를 첨가한 후에 *Sacch. cerevisiae* starter 1%를 접종하고 25℃에서 배양하였다(도 17).

[0105] 영양조건에 따른 pH 및 산도 변화를 측정한 결과는 표 6 및 도 18과 같다. 발효 0일째 영양조건에 따른 스피루리나 효모 발효물의 pH는 각각 pH 7.80, 7.81, 7.53이었다. 발효 1일째에 조건 2와 3의 발효물이 각각 pH 6.43, 5.33으로 감소하여 발효시간이 지나면서 유지하는 경향이었고, 조건 1의 발효물은 발효 2일째에 pH 6.42로 감소하여 발효시간이 지나면서 유지하는 경향을 보였다. 적정산도는 발효 0일째 약 0.03%로 비슷하였고, 발효시간이 지나면서 모든 조건의 발효물에서 증가하는 경향을 보였다. 발효 2일째까지는 조건 3의 발효물이 0.42%로 가장 높았으나 발효 3일째에 조건 2의 발효물이 0.51%로 가장 높았다.

[0106] 영양조건에 따른 생균수 변화를 측정한 결과는 표 6 및 도 19와 같다. 각각 발효물의 생균수는 발효 1일째에 1.00×10^6 CFU/mL, 3.00×10^7 CFU/mL, 3.85×10^7 CFU/mL이었으며 조건 1의 효모 활성이 가장 낮았다. 발효 3일째에 모든 조건의 발효물이 4.41×10^9 CFU/mL, 4.21×10^9 CFU/mL, 4.45×10^9 CFU/mL로 증가하였다.

[0107] 영양조건에 따른 당도 변화를 측정한 결과는 표 6, 도 20과 같다. 조건 1의 당도는 1.4 ° Brix에서 발효가 진행되면서 발효 3일째에 3.4 ° Brix로 증가하였으나 조건 2와 3은 4.7 ° Brix, 5.46 ° Brix에서 발효시간이 지나면서 2.2 ° Brix, 2.9 ° Brix로 감소하였다.

[0108] pH, 적정 산도, 생균수 및 당도의 결과에서 영양조건에 따른 효모 발효는 글루코스(Glucose) 2%와 YE 0.5%를 넣은 조건 3이 스피루리나를 이용한 효모발효에 가장 적합하다. 위 실험은 85℃에서 15분간 열처리하였다. 발효 1일차부터 잡균이 플레이트를 덮었으며 조건 1에서 가장 많은 잡균이 보였다(도 21). 효모의 활발한 생육을 위해 열처리 시간을 늘려야 할 것으로 보인다.

표 6

	영양조건	발효 시간 (days)			
		0	1	2	3
pH	1	7.80	7.29	6.42	6.96
	2	7.81	6.43	6.49	5.86
	3	7.53	5.33	5.31	5.4
산도 (%)	1	0.02	0.07	0.38	0.29
	2	0.02	0.25	0.29	0.51
	3	0.05	0.41	0.42	0.31
생균수	1	4.5×10^5	1.0×10^6	1.0×10^7	4.4×10^9
	2	4.5×10^5	3.0×10^7	2.0×10^7	4.2×10^9
	3	4.5×10^5	3.9×10^7	3.1×10^7	4.5×10^9
당도 (° Brix)	1	1.4	1.8	2.6	3.4
	2	4.7	2.2	3.1	3.7
	3	5.8	3.1	3.2	2.9

2. 열처리 방법에 따른 *Sacch. cerevisiae* 효모 발효물의 특성

(1) pH, 적정산도, 생균수 및 당도 변화

열처리 방법에 따른 스피루리나를 이용한 효모발효를 수행하였다. 스피루리나 분말(powder) 10%를 증류수 100mL에 혼합하여 조건 1은 85℃에서 15분간 열처리 하였고, 조건 2는 85℃에서 30분간 열처리 하였으며, 조건 3은 121℃에서 15분간 멸균처리 하였다. 각각 시료에 글루코스(glucose) 2% 그리고 효모 추출물(Yeast extract; YE) 0.5%를 첨가한 후, *Sacch. cerevisiae* starter 1%를 접종하고 25℃에서 3일간 배양하였다.

열처리 방법에 따른 pH 및 산도 변화를 측정한 결과는 도 22와 같다. 발효 0일째 발효물의 pH는 각각 pH 7.53, 6.13, 7.22였다. 발효 1일째 pH 5.32, 5.30, 5.05로 감소하였고 발효시간이 지나면서 유지하는 경향을 보였다. 적정산도는 발효 0일째 각각 0.05%, 0.06%, 0.13%였고 발효 1일차에 0.41%, 0.13%, 0.52%로 증가하여 발효시간이 지나면서 유지하는 경향을 보였다. 조건 3의 적정 산도가 가장 높았으며 조건 2의 적정 산도가 가장 낮았다.

열처리 방법에 따른 생균수 변화를 측정한 결과는 도 23과 같다. 각각 발효물의 생균수는 발효 3일째에 2.45×10^7 CFU/mL, 7.68×10^7 CFU/mL, 3.60×10^7 CFU/mL로 가장 높은 효모 활성을 보였으며 발효 1, 2일째에는 조건 2의 발효물의 생균수가 가장 높았으며 조건 1이 가장 낮았다.

열처리 방법에 따른 당도 변화를 측정한 결과는 도 24와 같다. 발효물의 당도는 발효 0일째에 각각 5.76, 3.73, 8.03 ° Brix였고 발효 1일째에 3.1, 0.7, 4.8 ° Brix로 감소하였다. 조건 3의 발효물은 약 2배 감소하였고 조건 2의 발효물은 약 5배 이상 감소하였다.

pH, 적정 산도, 생균수 및 당도의 결과에서 열처리방법에 따른 효모 발효는 85℃에서 30분 열처리하는 방법과 121℃에서 15분간 멸균처리 하는 방법이 적합하다고 생각된다. 스피루리나는 염색소를 가진 생물로 청록색을 띄지만 121℃에서 15분간 멸균하면 색소가 파괴되어 색이 짙어져 스피루리나 본연의 색을 잃게 된다(도 25). 위 실험은 멸균처리 방법보다는 85℃에서 30분간 열처리하는 방법이 적합하다고 판단된다.

3. Homogenizer 이용시간에 따른 *Sacch. cerevisiae* 효모 발효물의 특성

(1) pH, 적정산도, 생균수 및 당도 변화

Homogenizer 이용시간에 따른 스피루리나를 이용한 효모발효를 수행하였다. 스피루리나 페이스트(paste)에 물리적인 힘을 가하여 잘려진 세포에서 용출되는 영양분이 발효에 어떤 영향을 끼치는지 실험하기 위해 균질화 하였다. 스피루리나 페이스트(Paste) 10%를 증류수 100mL에 녹여 20분, 40분, 60분간 5,000 rpm으로 균질화 하였다. 균질화 하지 않은 대조군(Control)과 20분, 40분, 60분 균질화 한 모든 시료를 85℃에서 30분간 열처리 하였다. 그리고 글루코스(glucose) 2%와 효모 추출물(Yeast extract; YE) 0.5%를 첨가한 후, *Sacch. cerevisiae* starter 1%를 접종하고 25℃에서 3일간 배양하였다.

Homogenizer 이용시간과 발효 후의 스피루리나 세포 모습을 현미경으로 관찰한 결과 도 29와 같다. 균질화 시간

이 증가될수록 절단된 세포의 모습을 확인할 수 있었고, 열처리 전과 후의 세포 형태의 변화는 없었으며 엽록소가 열처리로 파괴되어 색상이 많이 짙어졌다.

[0121] Homogenizer 이용시간에 따른 pH 및 산도 변화를 측정한 결과는 표 7, 도 26과 같다. 발효 0일째 Homogenizer 이용시간에 관계없이 모든 시료의 pH가 약 6.15로 비슷한 경향을 보였다. 발효 1일째 pH가 각각 pH 5.30, 5.28, 5.35, 5.37로 감소하였고, 발효시간이 길어질수록 일정하게 유지 되었다. 적정산도는 발효 0일째 약 0.07%로 경향이 같았으며 20분, 40분 균질화 한 발효물의 산도가 발효 1일째에 0.18%로 가장 높았지만 발효 2, 3일째 감소하여 모든 조건의 발효물이 0.1%의 산도를 유지했다.

[0122] Homogenizer 이용시간에 따른 생균수 변화를 측정한 결과는 표 7, 도 27과 같다. 각각 발효물의 생균수는 발효 1일째에 5.48×10^7 CFU/mL, 5.05×10^7 CFU/mL, 6.68×10^7 CFU/mL, 5.18×10^7 CFU/mL까지 증가하였으며 발효시간이 지나면서 유지하는 경향을 보였다.

[0123] Homogenizer 이용시간에 따른 당도 변화를 측정한 결과는 표 7, 도 28과 같다. 발효 0일째에 모든 발효물이 약 3.8 ° Brix였고 발효 1일째에 약 0.7 ° Brix로 모든 발효물이 동등하게 감소하여 발효시간이 지나면서 유지하였다. 당도는 약 5배 감소하였으며 1일차에 발효가 모두 이루어졌다고 생각된다.

[0124] pH, 적정 산도, 생균수 및 당도의 결과에서 Homogenizer 이용시간에 따른 차이는 크게 보이지 않았으며, 발효시간이 길어질수록 pH가 감소하였고, 적정산도 및 생균수는 증가하였다.

표 7

[0125]

	Homogenizer (min)	발효 시간 (days)			
		0	1	2	3
pH	0	6.13	5.30	5.40	5.54
	20	6.17	5.28	5.45	5.52
	40	6.12	5.35	5.46	5.50
	60	6.15	5.37	5.44	5.47
산도 (%)	0	0.06	0.13	0.10	0.10
	20	0.08	0.18	0.11	0.09
	40	0.07	0.18	0.11	0.11
	60	0.07	0.11	0.12	0.10
생균수	0	5.7×10^5	5.5×10^7	7.7×10^7	7.7×10^7
	20	5.7×10^5	5.1×10^7	5.1×10^7	6.8×10^7
	40	5.7×10^5	6.7×10^7	5.6×10^7	5.7×10^7
	60	5.7×10^5	5.2×10^7	6.4×10^7	5.0×10^7
당도 (° Brix)	0	3.7	0.7	0.7	0.7
	20	3.9	0.7	0.6	0.6
	40	3.8	0.6	0.7	0.7
	60	3.8	0.7	0.7	0.7

[0126] 4. 수크로스(Sucrose) 농도에 따른 *Sacch. cerevisiae* 효모 발효물의 특성

[0127] (1) pH, 적정산도, 생균수 및 당도 변화

[0128] 당 함량이 높을수록 알코올 생성이 많으므로 수크로스(Sucrose) 농도에 따른 스피루리나를 이용한 효모발효를 수행하였다. 스피루리나 페이스트(paste) 10% 및 Homogenizer한 시료를 증류수 100mL에 녹여 85℃에서 30분간 열처리 하였다. 수크로스(Sucrose) 0%, 5%, 10%, 15% 그리고 Homogenizer한 조건에 수크로스(Sucrose) 10%를 첨가한 후, 각각의 시료에 효모 추출물(Yeast extract; YE) 0.5%를 첨가하였다. 그 후, *Sacch. cerevisiae* starter 1%를 접종하여 25℃에서 3일간 배양하였다.

[0129] 수크로스(Sucrose) 농도에 따른 pH 및 산도 변화를 측정한 결과는 표 8, 도 30과 같다. 수크로스(Sucrose) 농도에 따른 pH는 각각 pH 6.16, 6.33, 6.13, 6.05, 6.05였다. 발효 1일째부터 발효물의 pH는 발효시간이 지나면서 감소하였지만 Sucrose 0%의 발효물은 발효가 진행되면서 증가하는 경향이였다. 적정 산도는 발효 1일째에 0.06%, 0.16%, 0.26%, 0.25%, 0.21%로 가장 높았으며, 수크로스(Sucrose) 농도 15% 발효물의 산도가 발효 2일

째에 0.35%로 가장 높았다.

[0130] 수크로스(Sucrose) 농도에 따른 생균수 변화를 측정한 결과는 표 8, Figure 31과 같다. 각각 발효물의 생균수는 발효 2일째에 5.85×10^7 CFU/mL, 8.50×10^7 CFU/mL, 9.30×10^7 CFU/mL, 1.25×10^8 CFU/mL, 9.65×10^7 CFU/mL까지 증가하였으며 발효시간이 지나면서 유지하는 경향을 보였다. 수크로스(Sucrose) 10%와 15%의 발효물의 효모 활성이 가장 뛰어났으며 수크로스(Sucrose) 10%와 균질화한 발효물의 차이는 크게 없었다.

[0131] 수크로스(Sucrose) 농도에 따른 당도 변화를 측정한 결과는 표 8, 도 32와 같다. 0% 발효물의 당도는 약 0.4 ° Brix로 당이 없었다. 5% 발효물은 6.30 ° Brix에서 0.73 ° Brix, 10% 발효물은 11.03 ° Brix에서 1.76 ° Brix로 15% 발효물은 15.86 ° Brix에서 6.86 ° Brix, 균질화한 발효물은 11.33 ° Brix에서 1.97 ° Brix로 크게 감소하였다. 10%와 균질화한 10% 발효물은 큰 차이가 없었으며 15% 발효물은 약 2배 감소하였고 10% 발효물은 약 10배 이상 감소하였다.

[0132] pH, 적정 산도, 생균수 및 당도의 결과에서 수크로스(Sucrose) 농도에 따른 효모 발효는 큰 차이를 보였으며 수크로스(Sucrose) 10%와 15%의 발효물이 가장 발효가 잘 되었으며 거품 또한 당 함량이 높을수록 많이 생성되었다(도 33). 10% 발효물과 균질화한 10% 발효물은 큰 차이가 없었으므로 수크로스(Sucrose) 10% 조건이 가장 적합하다고 판단된다.

표 8

[0133]

	당 함량	발효 시간 (days)			
		0	1	2	3
pH	0%	6.16	6.18	6.65	7.33
	5%	6.33	5.13	4.84	4.95
	10%	6.13	4.96	4.41	4.65
	15%	6.05	4.78	4.20	4.42
	10%+homo	6.05	4.97	4.31	4.66
산도 (%)	0%	0.06	0.06	0.07	0.04
	5%	0.04	0.16	0.14	0.11
	10%	0.08	0.26	0.24	0.14
	15%	0.08	0.25	0.35	0.20
	10%+homo	0.08	0.21	0.19	0.15
생균수	0%	3.1×10^5	2.8×10^6	5.9×10^7	8.8×10^7
	5%	3.1×10^5	4.5×10^7	8.5×10^7	6.1×10^7
	10%	3.1×10^5	5.0×10^7	9.3×10^8	7.5×10^7
	15%	3.1×10^5	4.3×10^7	1.3×10^8	8.0×10^7
	10%+homo	3.1×10^5	7.6×10^6	9.7×10^6	8.0×10^7
당도 (° Brix)	0%	0.4	0.4	0.4	0.3
	5%	6.3	2.3	0.7	0.9
	10%	11	8.7	1.8	1.8
	15%	16	12	6.9	4.3
	10%+homo	11	8	2	2

[0134] 5. 스피루리나 생물 농도에 따른 *Sacch. cerevisiae* 효모 발효물의 특성

[0135] (1) pH, 적정산도, 생균수 및 당도 변화

[0136] 스피루리나 페이스트(paste)의 농도에 따른 스피루리나를 이용한 효모발효를 수행하였다. 스피루리나 페이스트(paste)는 분말(powder)보다 수분함량이 높기 때문에 분말(Powder)과 페이스트(Paste)의 농도차이를 알기 위해 실험을 진행하였다. 스피루리나 페이스트(Paste)의 농도를 10%, 20%, 30%로 달리하여 증류수 100 mL에 혼합하여 85°C에서 30분간 열처리하였다. 그리고 각각의 시료에 수크로스(Sucrose) 10%, 효모 추출물(Yeast extract; YE) 0.5%를 첨가한 후, *Sacch. cerevisiae* starter 1%를 접종하여 25°C에서 3일간 배양하였다.

[0137] 스피루리나 농도에 따른 pH 및 산도 변화를 측정한 결과는 표 9, 도 34와 같다. 발효 0일째 발효물의 pH는 각각

pH 5.97, 6.06, 6.08이었다. 발효 2일째 pH 4.39, 4.70, 5.10로 감소하였고 발효 3일차에 조금 증가하였다. 적정산도는 발효 0일째 약 0.10%였으며 발효 3일째에 0.32%, 0.29%, 0.31%까지 증가하였으나 발효 3일째에 감소하는 경향을 보였다.

[0138] 스피루리나 농도에 따른 생균수 변화를 측정한 결과는 표 9, 도 35와 같다. 발효물의 생균수는 발효 2일째에 각각 1.06×10^8 CFU/mL, 1.19×10^8 CFU/mL, 1.17×10^8 CFU/mL로 가장 높았으며 발효시간이 지나면서 유지하는 경향을 보였다. 모든 조건의 발효물이 비슷한 경향을 나타냈으나 스피루리나 농도 20% 발효물의 효모 활성이 가장 좋다.

[0139] 스피루리나 농도에 따른 당도 변화를 측정한 결과는 표 9, 도 36과 같다. 발효 0일째에 발효물 각각의 당도는 11.6, 11.9, 12 ° Brix였으며 발효 2일째에 2.1, 2.1, 2.7 ° Brix로 약 5배 이상 감소하였으며 스피루리나 농도가 진할수록 당도가 더 높았다.

[0140] pH, 적정산도, 생균수 및 당도 결과에서 스피루리나 농도 20% 조건의 발효물이 가장 발효에 적합하다고 판단된다.

표 9

[0141]

	스피루리나 농도	발효 시간 (days)			
		0	1	2	3
pH	10%	5.97	5.11	4.39	4.65
	20%	6.06	5.42	4.70	4.82
	30%	6.08	5.59	5.10	5.17
산도 (%)	10%	0.09	0.26	0.32	0.18
	20%	0.09	0.25	0.29	0.20
	30%	0.13	0.28	0.31	0.20
생균수	10%	4.0×10^5	2.3×10^7	1.1×10^7	8.3×10^7
	20%	4.0×10^5	2.6×10^7	1.2×10^7	1.1×10^8
	30%	4.0×10^5	2.5×10^7	1.2×10^7	9.4×10^7
당도 (° Brix)	10%	11.6	9.9	2.1	2.2
	20%	11.9	10	2.1	2.5
	30%	12	10	2.7	2.9

[0142] <실시예 4> 스피루리나 젖산, 효모 발효물을 이용한 스피루리나 모닝빵 제조

[0143] 젖산 발효와 효모 발효의 최적화 실험을 하였다. GABA를 함유한 스피루리나 모닝 빵은 GABA 전환이 빠른 스피루리나 분말(powder) 10%를 이용하여 젖산 발효한 3일째의 젖산 발효물과 당도의 급감소를 보여준 스피루리나 페이스트(paste) 20%와 수크로스(sucrose) 10%의 2일째의 효모 발효물을 이용하여 제조하였다. 모닝 빵의 부품 정도는 표 10과 같다. 이스트와 효모 발효물을 넣지 않은 대조군(Control)의 빵은 굽기 전후의 차이가 없었으며 드라이 이스트를 넣은 빵은 지름 1.8 cm, 높이 1.4 cm 차이가 있었다. 젖산 발효물 20%와 효모 발효물 50% 넣은 빵은 지름 0.4 cm, 높이 1 cm 팽창하였고, 젖산 발효물 20%와 효모 발효물 80% 넣은 빵은 지름 0.6 cm, 높이 0.7 cm 팽창하였다. 효모 발효물을 이용한 모닝 빵은 드라이 이스트를 넣은 빵 보다는 부품 정도가 적지만 대조군(Control)과 비교하였을 때 확연한 차이가 있었다(도 37 및 도 38).

표 10

[0144]

		대조군	0%	50%	80%
빵굽기 전	지름 (cm)	4	4	4	4
	높이 (cm)	3	3	3	3
빵굽기 후	지름 (cm)	4	5.8	4.4	4.6
	높이 (cm)	3	5.4	4	3.7

[0145] 한편, 관능검사를 위해, 스피루리나를 이용하여 GABA가 함유된 모닝 빵을 제조하였다. 드라이 이스트를 넣지 않은 대조군(Control)과 드라이 이스트 10 g을 첨가한 효모 발효물 0% 그리고 효모 발효물 50% 군과 효모 발효물

80% 군을 비교하여 관능평가를 실시하였다. 계명대학교 식품가공학과 전공 학생 및 연구원 10명을 관능요원으로 선발하여 실시하였으며 색(color), 맛(taste), 향(flavor), 발효취 강도(fermented smell intensity), 물성(Texture), 전반적인 기호도(overall acceptability)에 대한 관능검사를 실시하였고 결과는 표 11과 같다. 색에 대한 기호도는 각각 1.67, 3.67, 4, 4.5점으로 효모 발효물이 80% 함유된 빵의 선호도가 가장 높았다. 맛에서는 각각 1.33, 3, 4.17, 4.17점으로 발효물이 함유된 두 가지의 빵이 가장 높은 선호도를 보였다. 밀가루 맛이 강한 대조군(Control)과 이스트 맛이 많이 나던 두 번째 조건의 빵에 비해 발효물이 들어간 빵에서는 스피루리나의 구수한 맛이 났다. 향은 각각 2, 2.67, 3.5, 3.33으로 50% 효모 발효물이 가장 높은 선호도를 나타냈고 발효취 강도는 각각 0.83, 2.17, 2.33, 3 점으로 스피루리나 발효물 80%가 가장 높았다. 효모 발효물 함량이 더 높기 때문에 발효취가 더 강했으며 발효물 함량이 적은 빵의 향이 더 좋았다. 물성은 각각 1, 4.33, 4.17, 4점으로 드라이 이스트를 넣은 빵이 가장 높았으며 다음으로 50% 발효물을 넣은 빵이 높았다. 이스트의 작용으로 식감이 부드러웠으며 기공 또한 많았다. 전반적인 기호도는 효모 발효물 50%, 효모 발효물 80%, 이스트 넣은 빵, 대조군(Control) 순서로 높았다. 이상의 관능평가 결과를 색, 맛, 향, 발효취 강도, 물성, 전반적인 기호도를 통해 종합적으로 고려하면 효모 발효물 50% 넣은 것이 가장 높게 나타났다. 시중에 판매되는 일반적인 모닝 빵에 슈퍼푸드인 스피루리나가 첨가 되면서 전반적인 기호도가 높아질 뿐만 아니라 젖산 발효물을 첨가함으로써 GABA를 함유한 빵을 만들어 기능성과 관능을 증대 시킨 스피루리나 발효 모닝 빵을 만들 수 있었다.

표 11

	Sample(모닝 빵)			
	대조군	0%	50%	80%
색	1.67	3.67	4.00	4.5
맛	1.33	3.00	4.17	4.17
향	2.00	2.67	3.50	3.33
발효취 강도	0.83	2.17	2.33	3.00
물성	1.00	4.33	4.17	4.00
전반적인 기호도	1.86	2.67	4.33	3.87

수탁번호

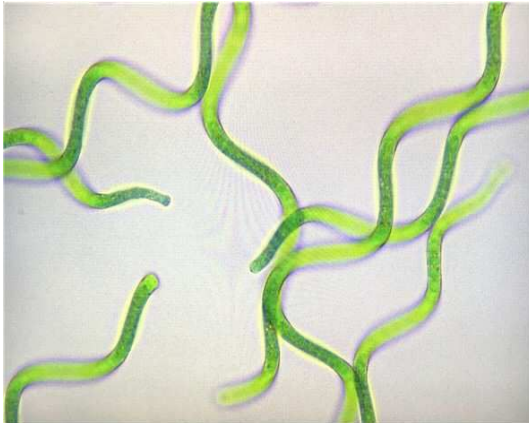
기탁기관명 : 한국미생물보존센터(국외)

수탁번호 : KCCM11545P

수탁일자 : 20140609

도면

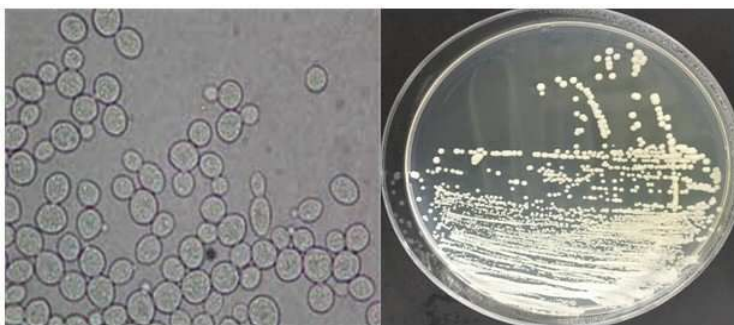
도면1



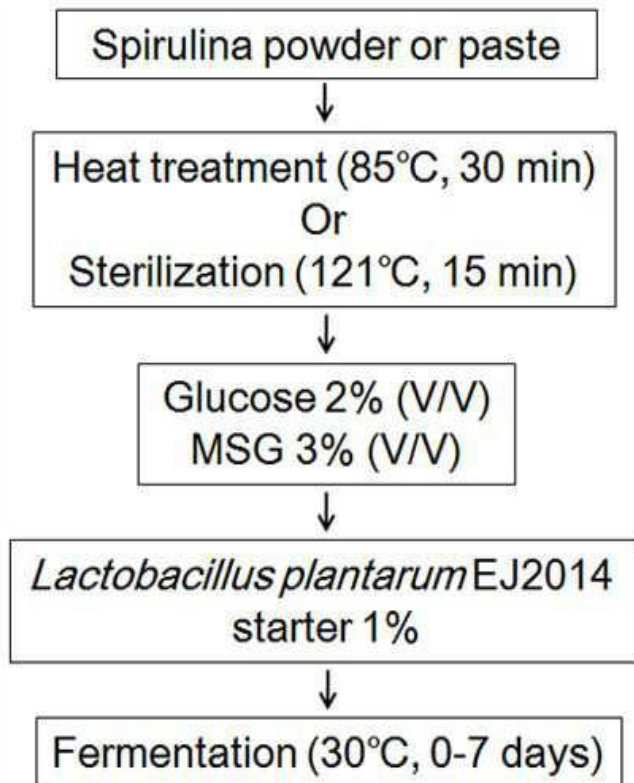
도면2



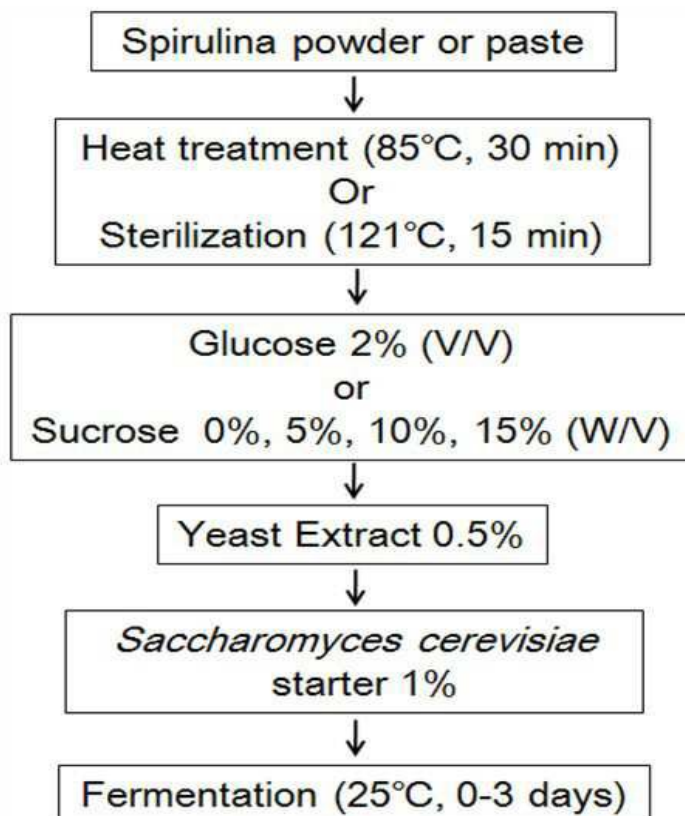
도면3



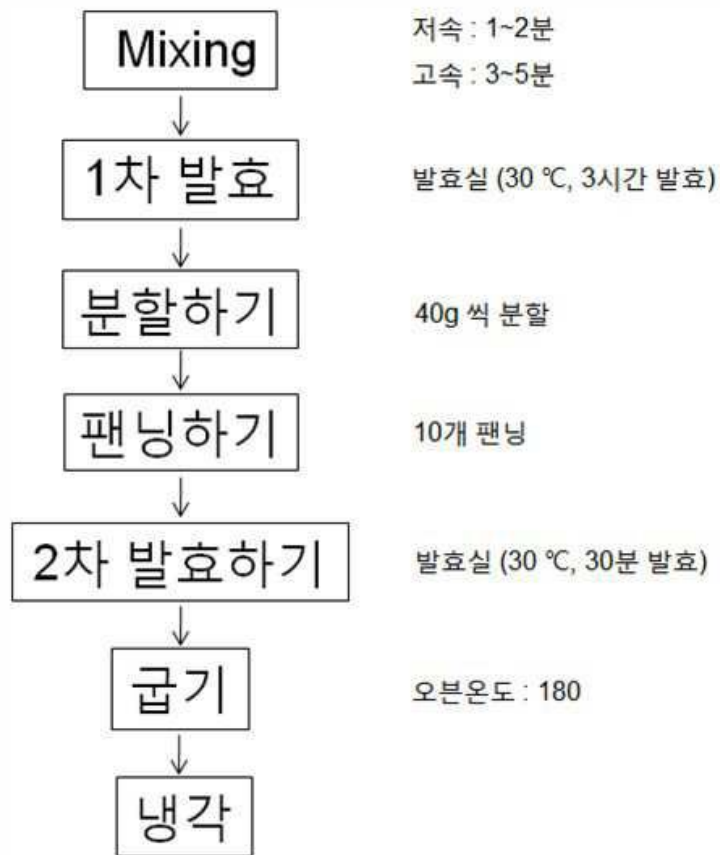
도면4



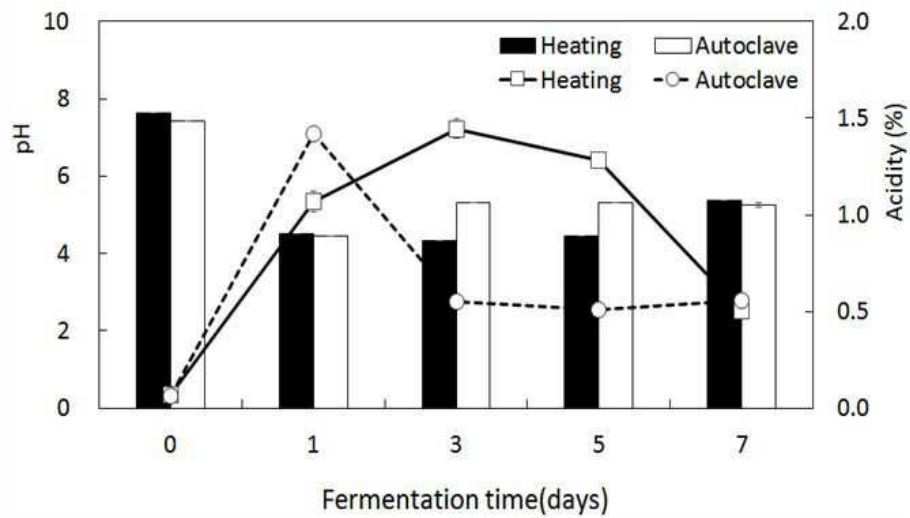
도면5



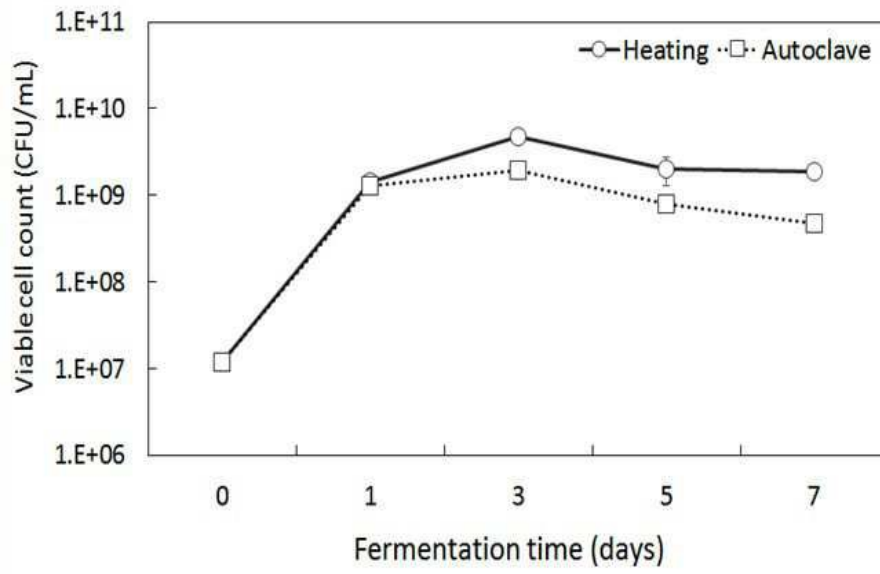
도면6



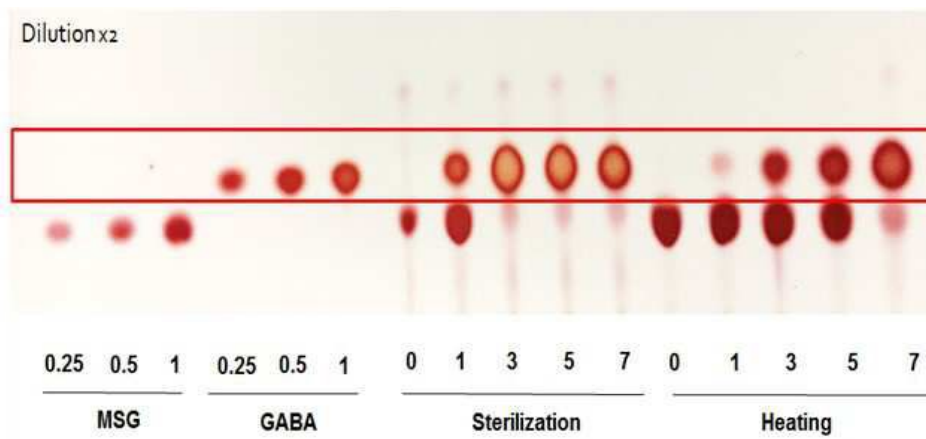
도면7



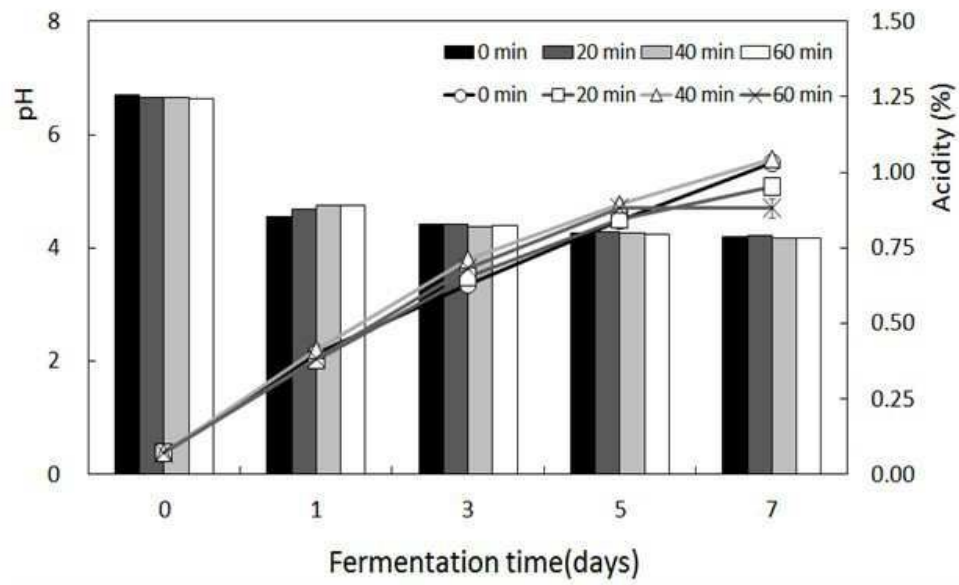
도면8



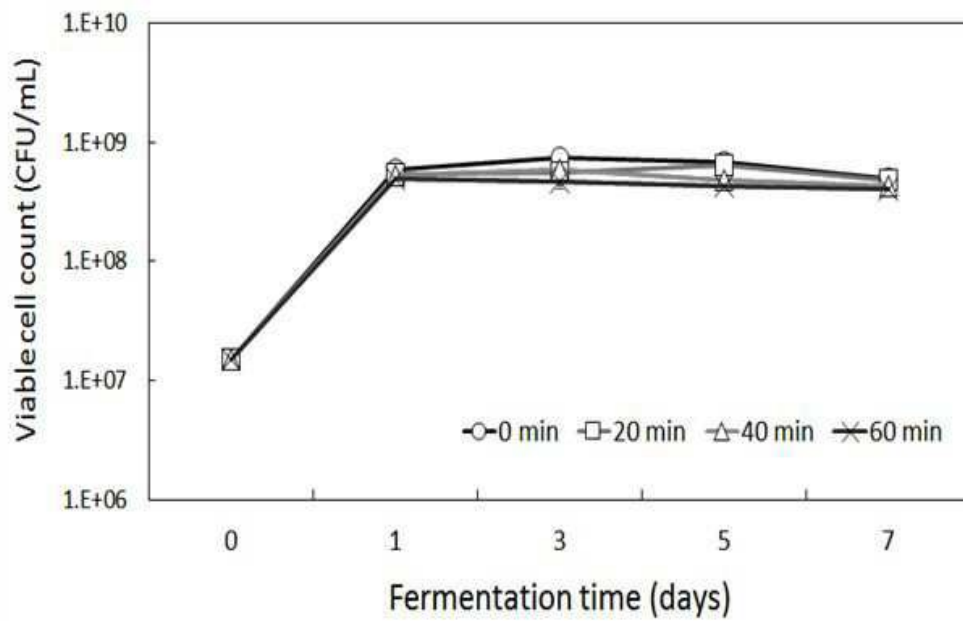
도면9



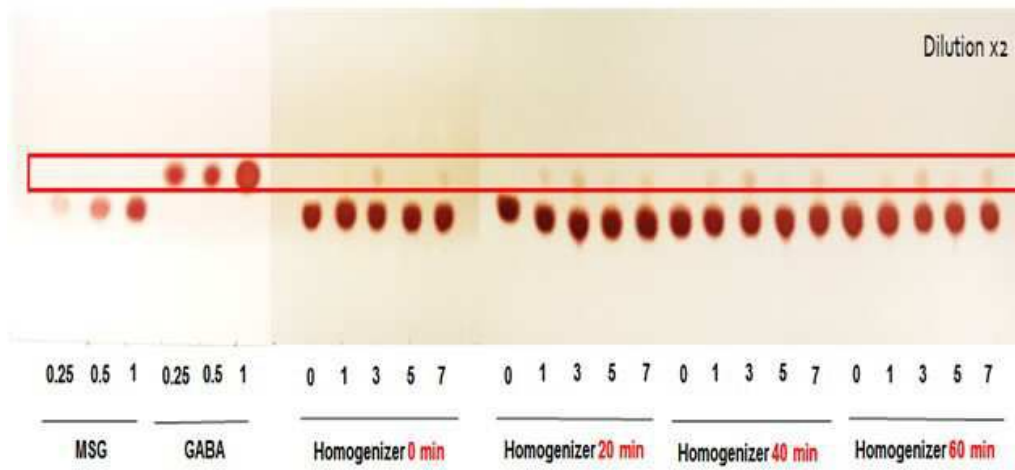
도면10



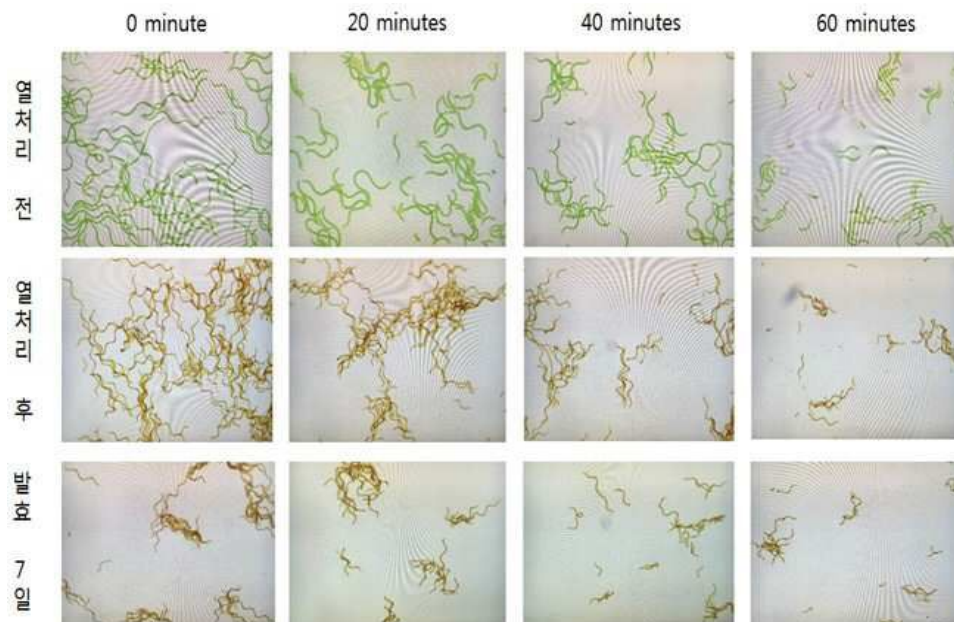
도면11



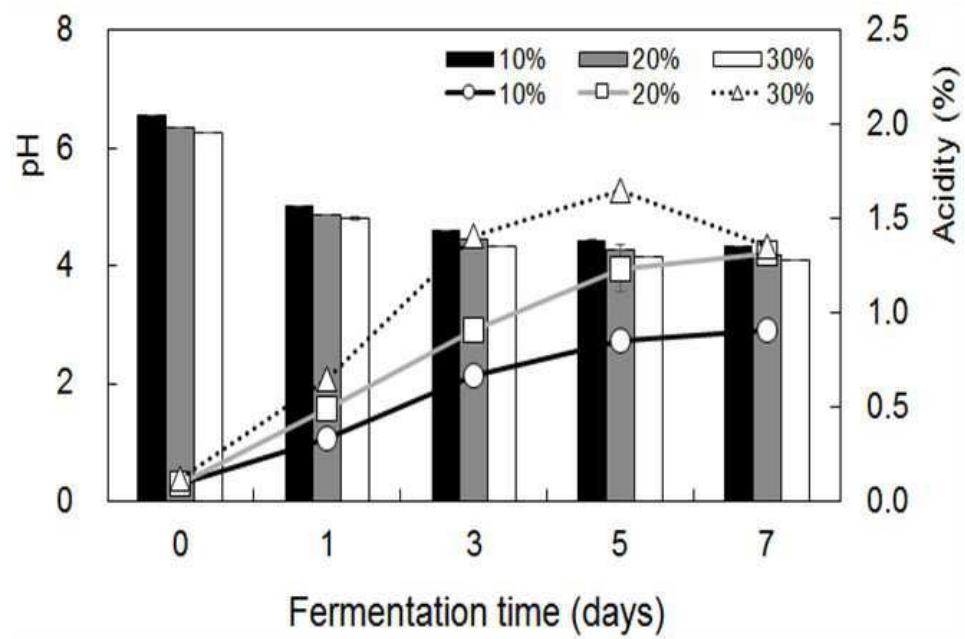
도면12



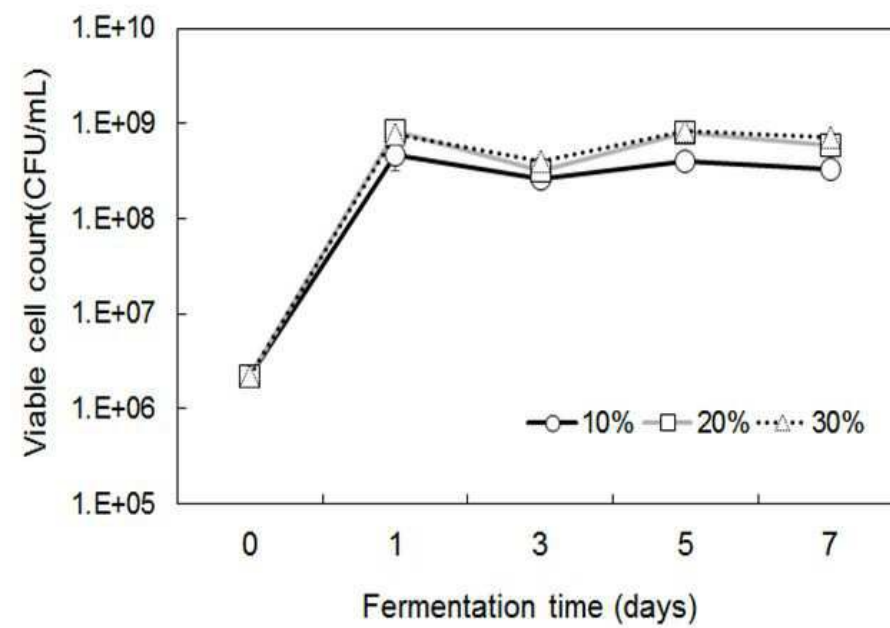
도면13



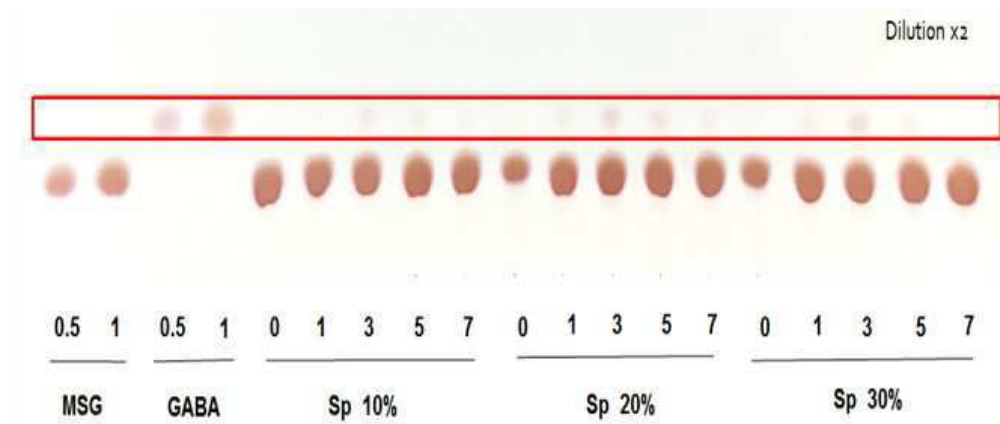
도면14



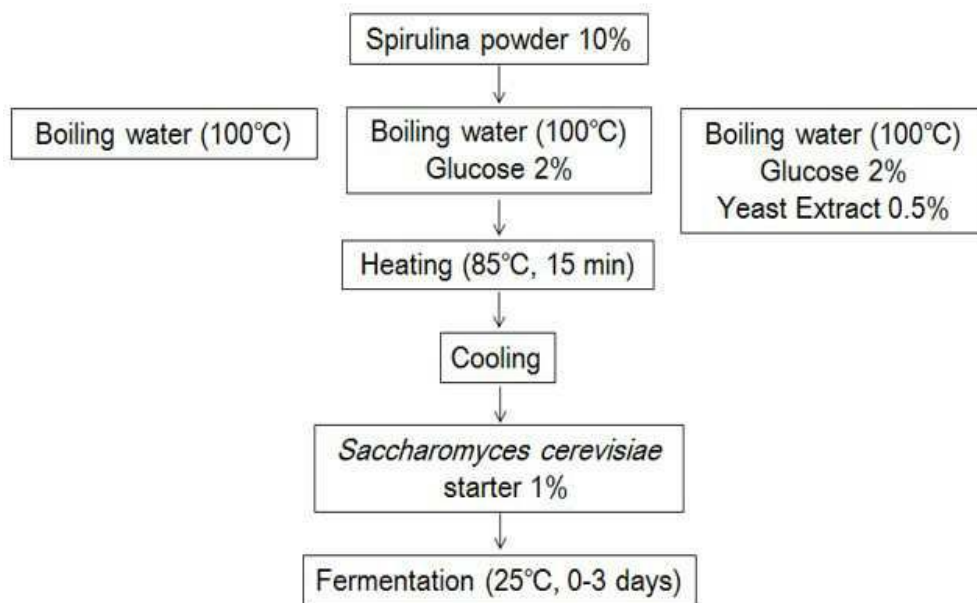
도면15



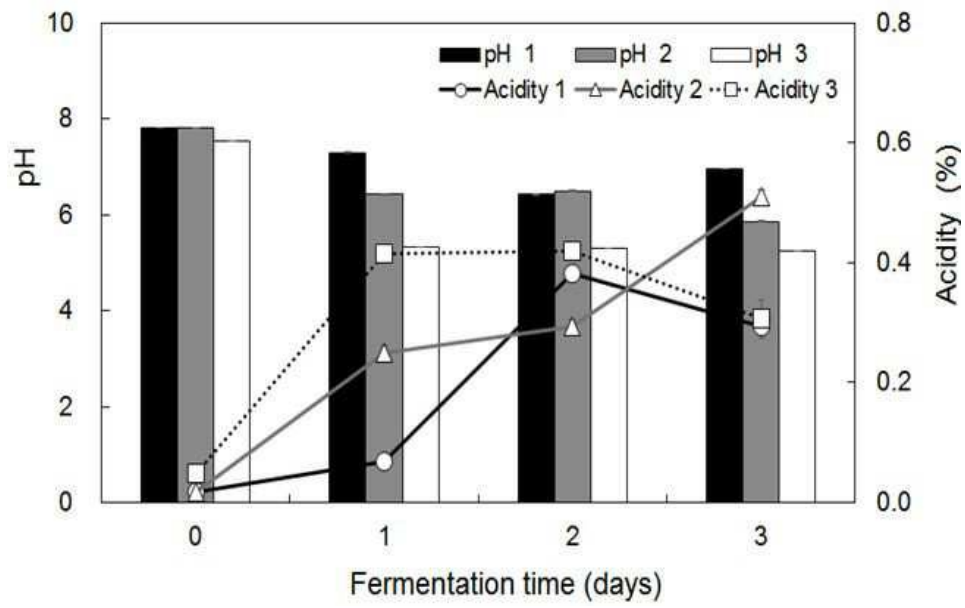
도면16



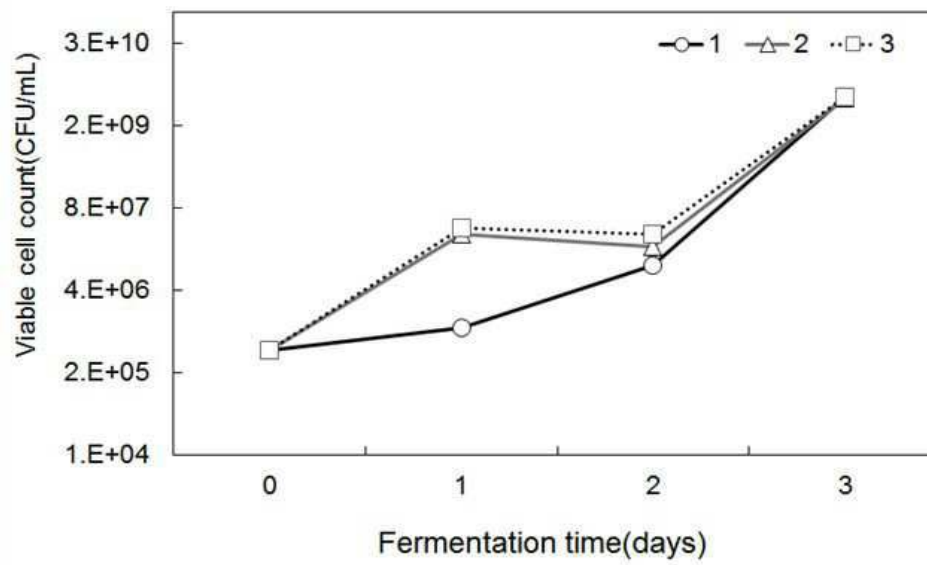
도면17



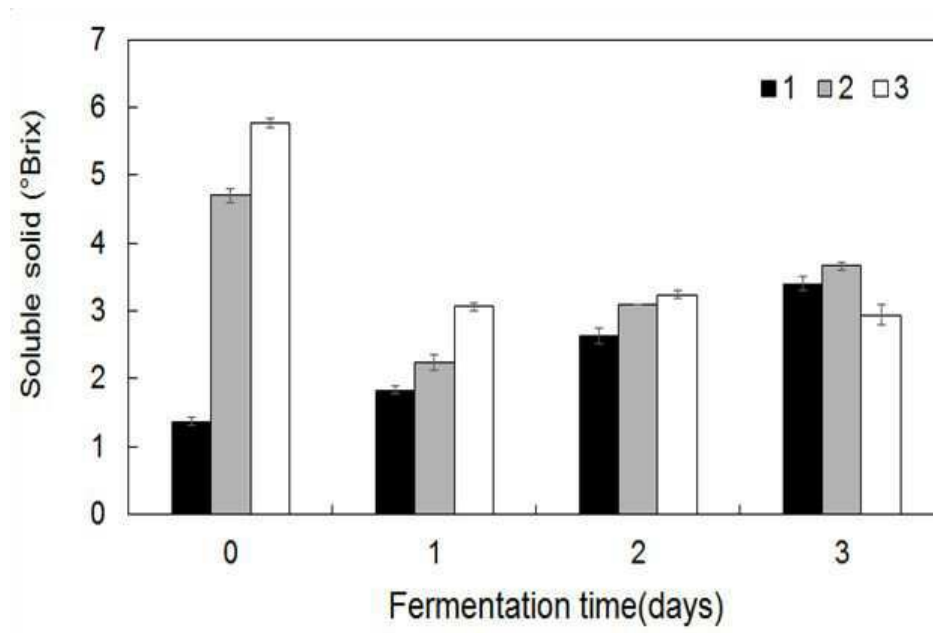
도면18



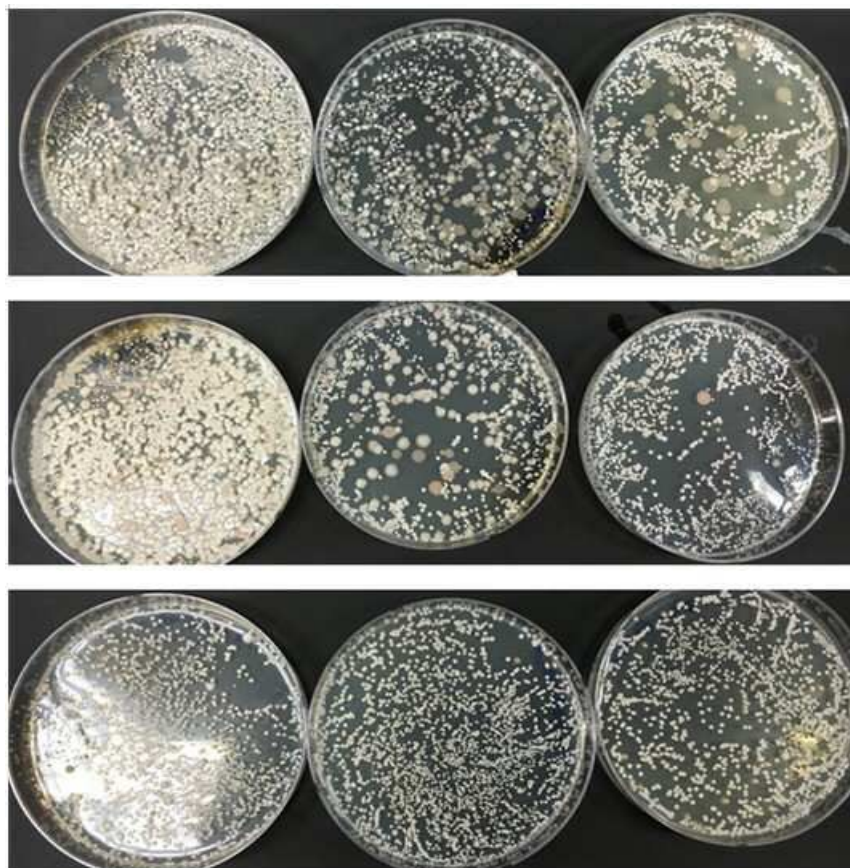
도면19



도면20



도면21

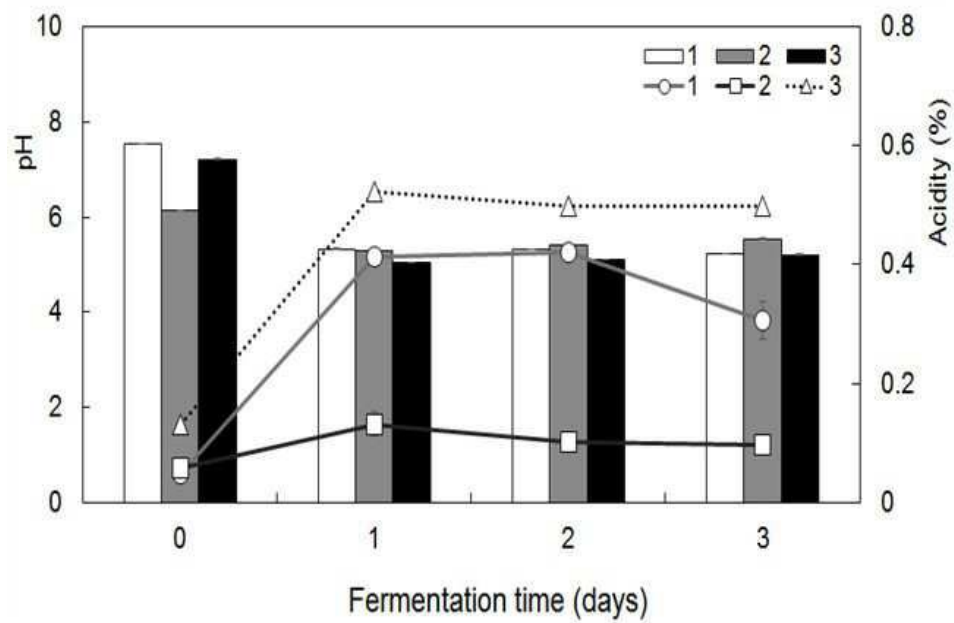


조건 1

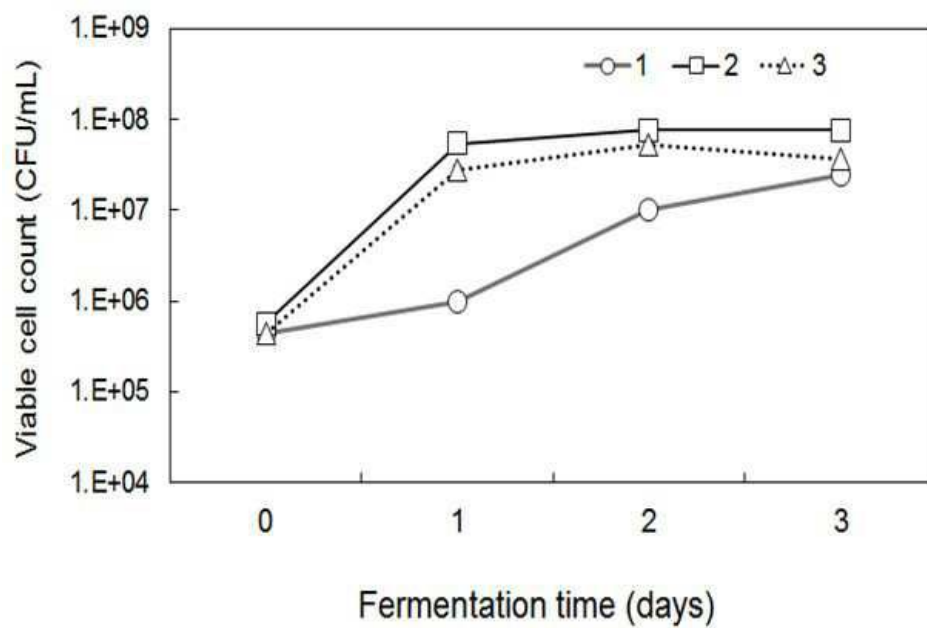
조건 2

조건 3

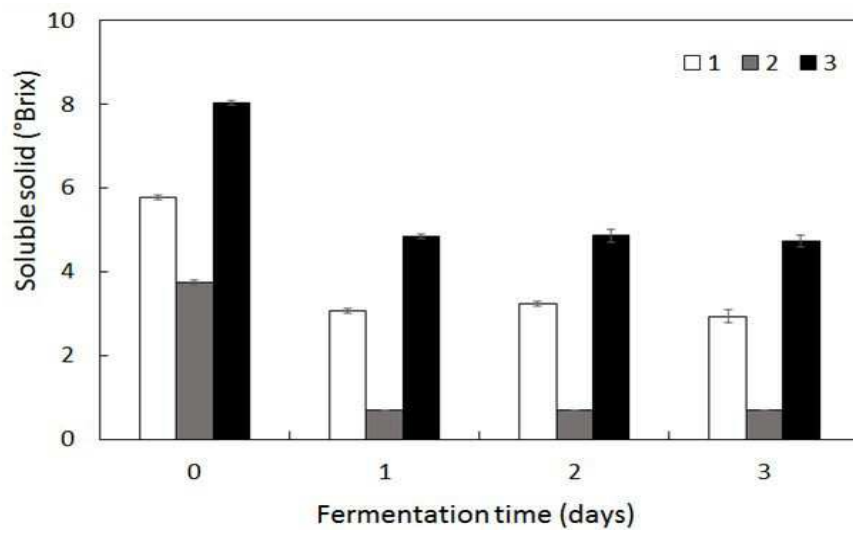
도면22



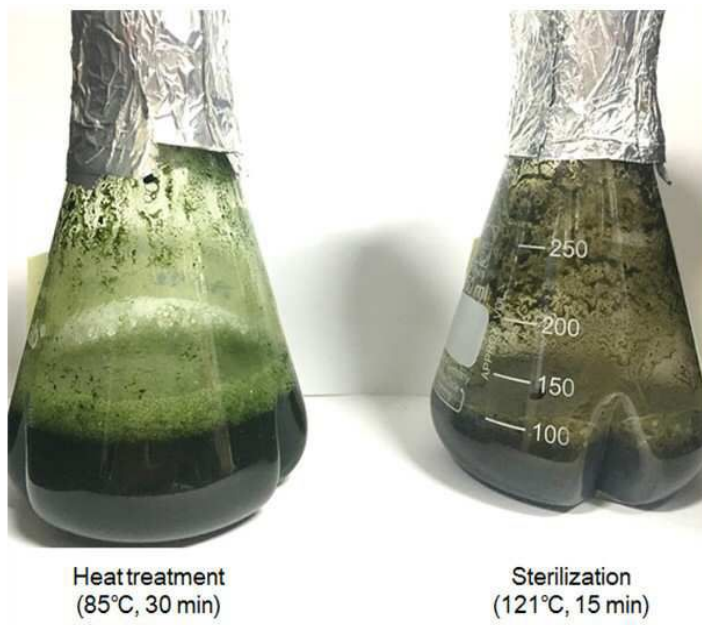
도면23



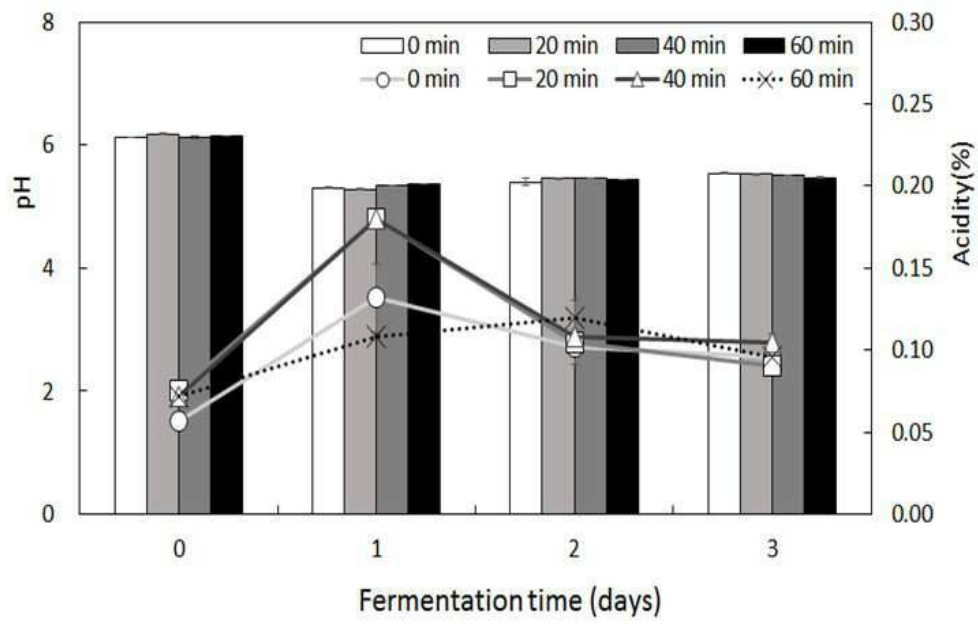
도면24



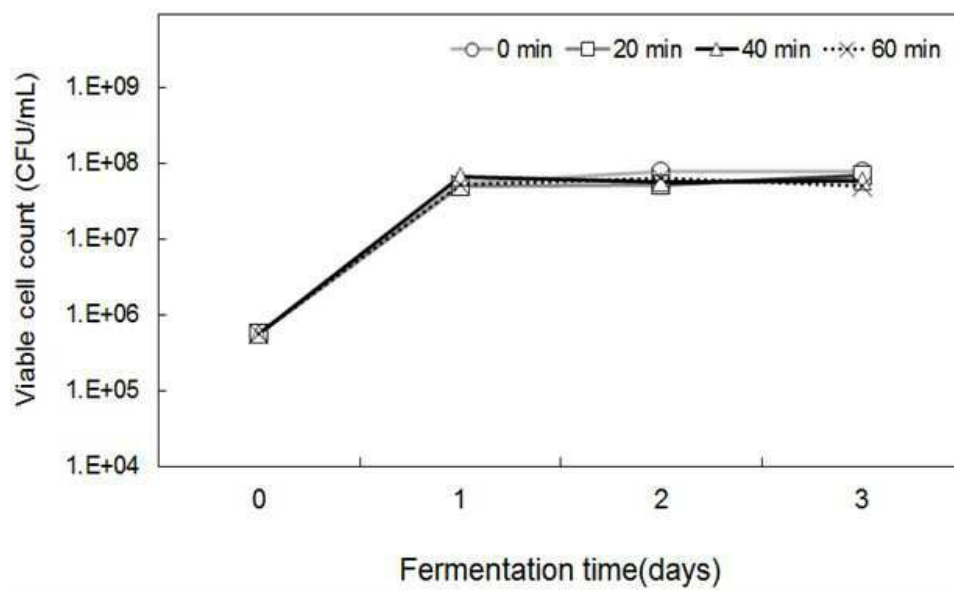
도면25



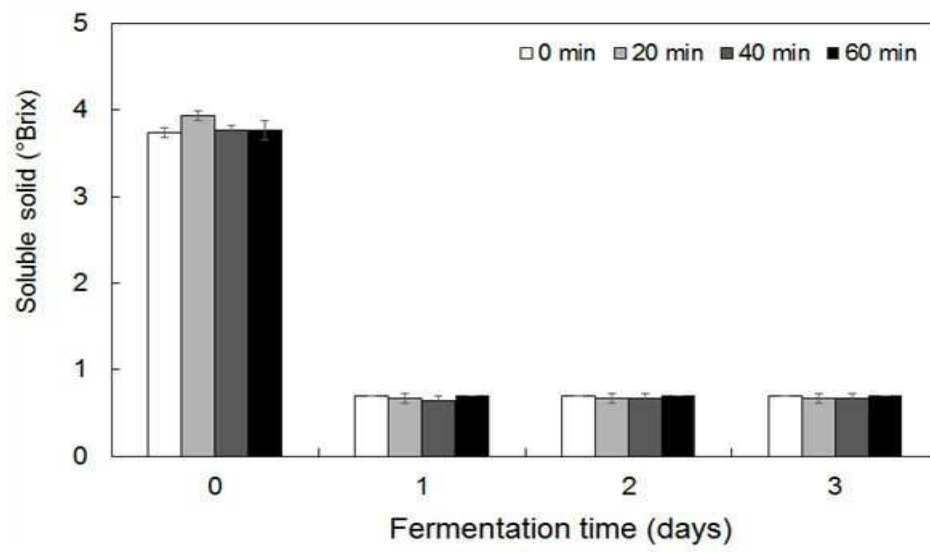
도면26



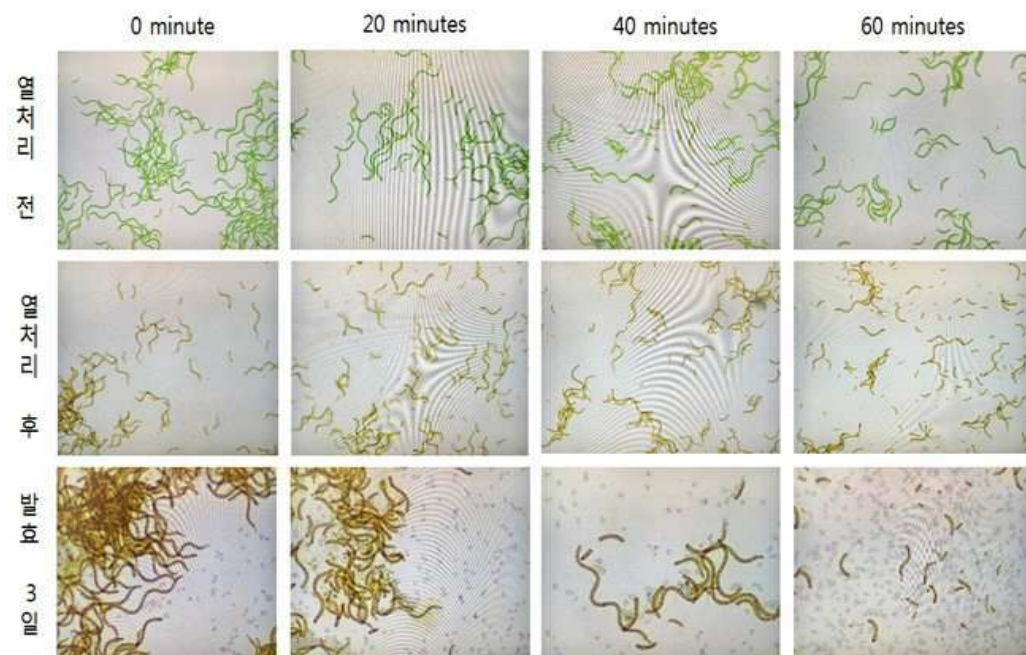
도면27



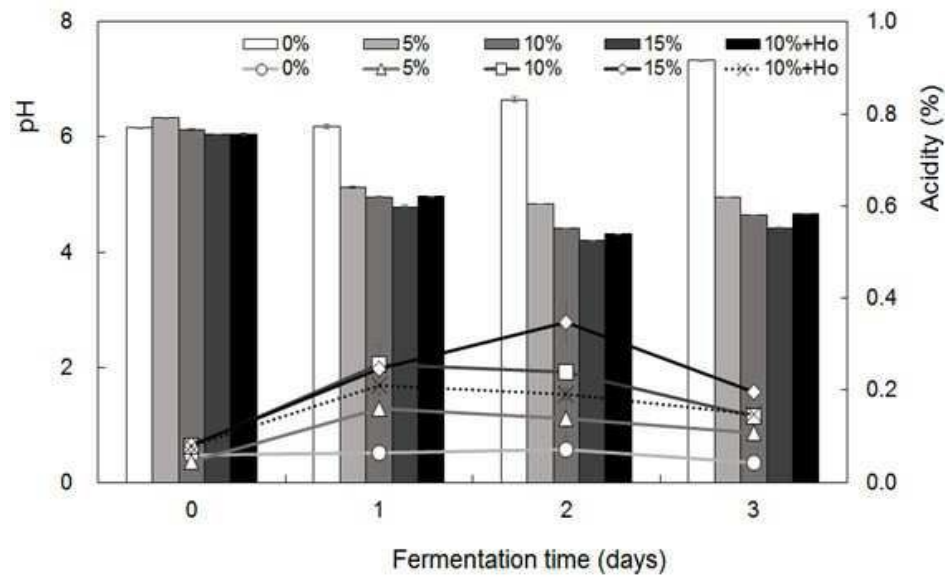
도면28



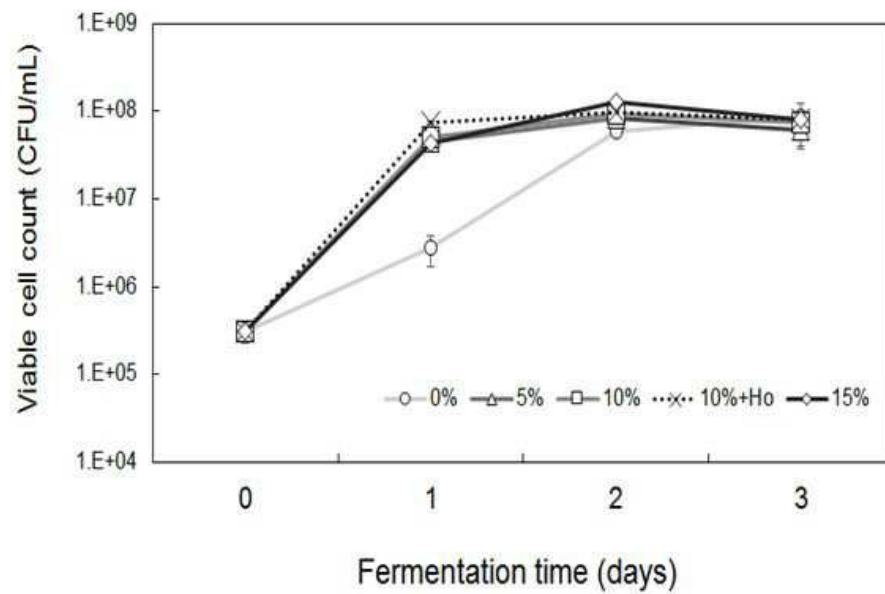
도면29



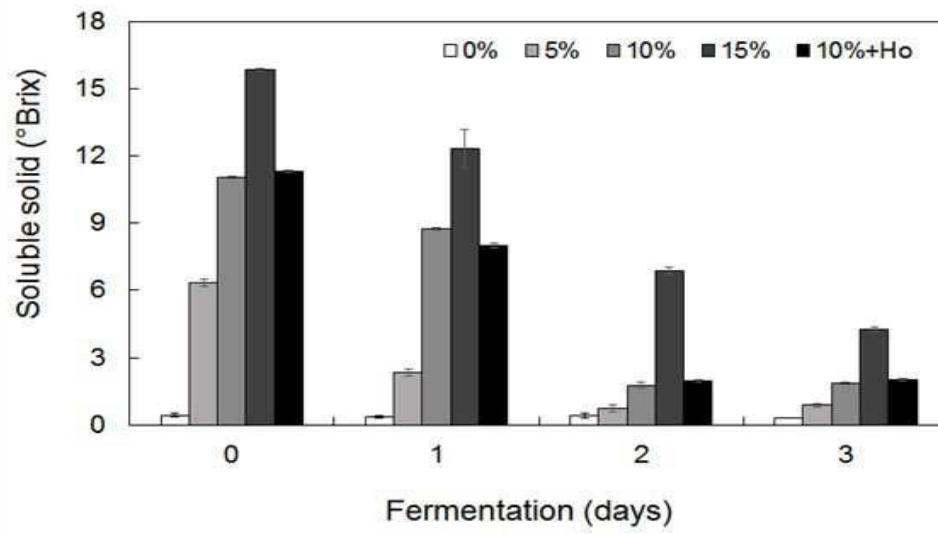
도면30



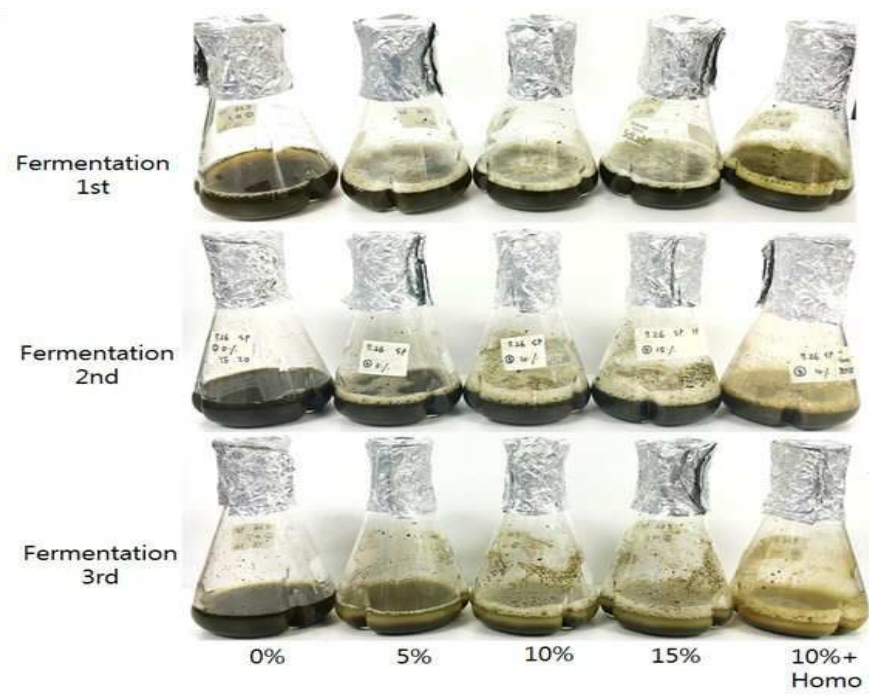
도면31



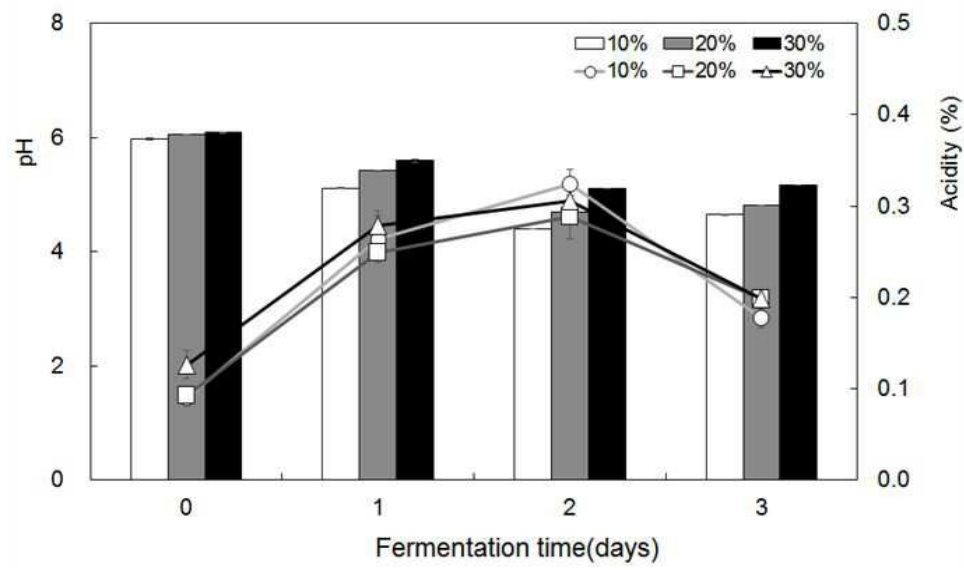
도면32



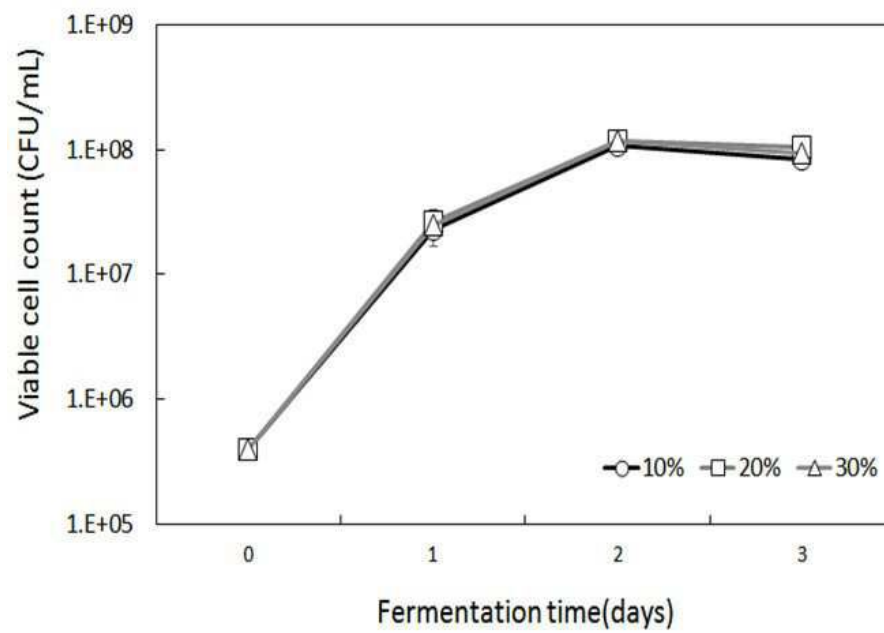
도면33



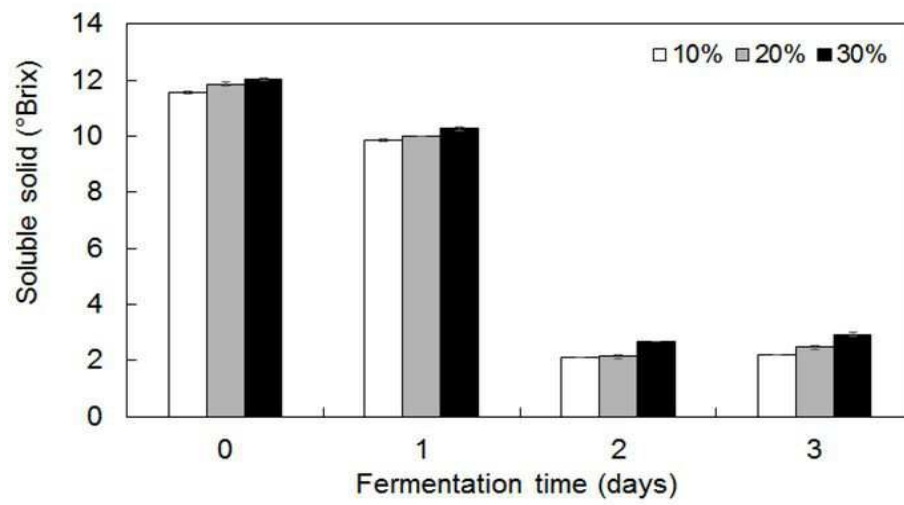
도면34



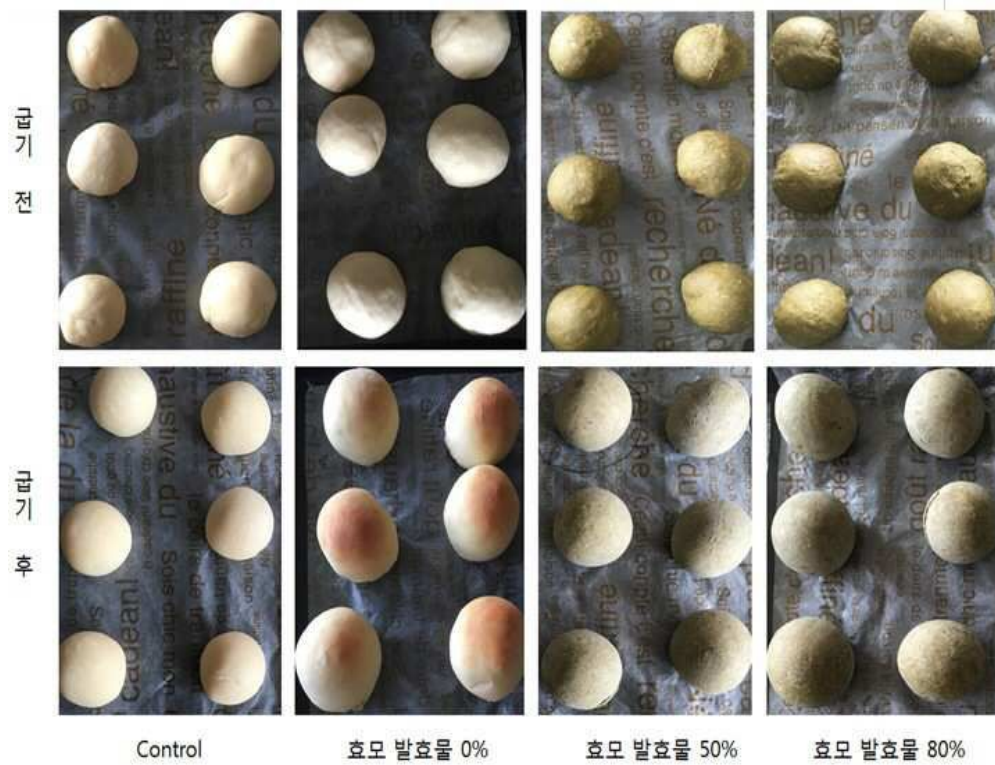
도면35



도면36



도면37



도면38

