



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0104736
(43) 공개일자 2019년09월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 33/18 (2016.01) A23L 27/50 (2016.01)

A23L 29/00 (2016.01) A23L 33/19 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23L 33/18 (2016.08)

A23L 27/50 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2018-0025216

(22) 출원일자 2018년03월02일

심사청구일자 2018년03월02일

(71) 출원인

계명대학교 산학협력단

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

(72) 발명자

김근영

대구광역시 수성구 지범로39길 56, 103동 811호 (범물동, 범물보성타운)

이삼빈

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

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인태백

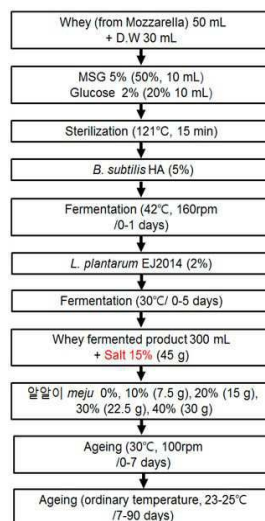
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 유청발효물을 이용한 기능성 간장의 숙성 제조방법

(57) 요약

본 발명은 유청발효물을 이용하여 다양한 생리활성물질이 증가된 기능성 간장 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 치즈 제조시 생성되는 유청을 발효 미생물인 고초균을 이용한 1차 발효를 통하여 점질물 감마폴리글루탐산 생성과 유청 단백질의 가수분해를 촉진시켜 펩타이드를 생산하고, 2차 젖산균 발효를 통하여 GABA 생산 등 생리활성물질을 증진시킨 유청발효물을 이용한 기능성 유청발효간장 제조방법에 관한 것으로, 상기 제조방법에 따른 유청발효간장은 종래의 양조간장 보다 낮은 염도를 나타내며, γ -PGA, 펩타이드 및 GABA와 같은 생리활성물질이 함유된 기능성 양조간장으로 단기간 발효숙성되어 제공될 수 있다.

대표도 - 도11



(52) CPC특허분류

A23L 29/065 (2016.08)

A23L 33/19 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2250/038 (2013.01)

A23V 2250/0618 (2013.01)

A23V 2250/54252 (2013.01)

A23Y 2220/67 (2013.01)

(72) 발명자

김지은

대구광역시 달서구 계대동문로 99, 206동 1002호
(이곡동, 성서보성화성타운)

임종순

대구광역시 달서구 달서대로109안길 54 (호산동)

최지연

대구광역시 중구 달구벌대로 1937, 2동 103호 (대
신동, 동서타운아파트)

박지현

대구광역시 수성구 범어로 73, 204동 1105호 (범어
동, 범어에스케이뷰아파트2단지)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 B0010792

부처명 중소 벤처기업부

연구관리전문기관 한국산업기술진흥원

연구사업명 지역혁신센터사업

연구과제명 천연물과 한방소재를 첨가한 기능성 청국장 제조 및 상품화

기 여 율 1/1

주관기관 계명대학교 산학협력단

연구기간 2017.03.01 ~ 2018.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

유청을 회석하는 단계;

상기 유청 회석액 총 100 중량부에 대하여 모노소듐 글루타메이트(mono sodium glutamate; MSG) 1 내지 5 중량부 및 글루코스 0.1 내지 4 중량부를 첨가하여 혼합하는 단계;

상기 혼합액을 멸균시키는 단계;

상기 멸균된 혼합액에 고초균 스타터(starter)를 접종하고 배양하여 1차 발효시키는 단계;

상기 고초균 발효물에 젖산균 스타터(starter)를 접종하고 배양하여 2차 발효시키는 단계;

상기 2차 발효물 총 100 중량부에 소금 10 내지 15 중량부 및 메주 10 내지 40 중량부를 첨가하고 25 내지 35℃에서 1 내지 7일간 교반시키는 단계;

상기 교반된 혼합물을 20 내지 25℃에서 7 내지 15일간 발효시키는 단계를 포함하는 유청발효물을 이용한 간장 제조방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 유청을 회석하는 단계는 유청을 물로 1 내지 5배 회석하는 것을 특징으로 하는 유청발효물을 이용한 간장 제조방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 혼합액을 멸균시키는 단계는 120 내지 125℃에서 10 내지 20분간 멸균시키는 것을 특징으로 하는 유청발효물을 이용한 간장 제조방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 멸균된 혼합액에 고초균 스타터(starter)를 접종하고 배양하여 1차 발효시키는 단계는 40 내지 45℃에서 150 내지 170 rpm으로 교반시키면서 24시간 발효시키는 것을 특징으로 하는 유청발효물을 이용한 간장 제조방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 고초균은 바실러스 서브틸리스 HA(*Bacillus subtilis* HA) 균주인 것을 특징으로 하는 유청발효물을 이용한 간장 제조방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 고초균 발효물에 젖산균 스타터(starter)를 접종하고 배양하여 2차 발효시키는 단계는 25 내지 35℃에서 1 내지 5일간 발효시키는 것을 특징으로 하는 유청발효물을 이용한 간장 제조방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 젖산균은 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014 (KCCM11545P)인 것을 특징으로 하는 유청발효물을 이용한 간장 제조방법.

청구항 8

청구항 1 내지 청구항 7중 어느 하나의 항의 방법에 의해 제조된 기능성 유청발효간장.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 유청발효간장은 저염도를 나타내며, 기능성물질인 점질물 감마 폴리글루탐산(γ -PGA), 펩타이드 및 감마-아미노뷰티르산(GABA)이 증진된 것을 특징으로 하는 기능성 유청발효간장.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 유청발효물을 이용하여 생리활성물질이 증가된 기능성 간장을 속성으로 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 간장은 단백질원이 풍부한 우리나라 고유의 전통발효식품으로 단맛, 짠맛, 신맛, 쓴맛 및 감칠맛 등이 서로 조화를 이루는 조미식품이다. 간장의 맛은 메주의 곰팡이와 세균에 의해 생성된 단백질 분해 효소인 프로테아제(Protease)가 단백질을 펩티드와 아미노산으로 분해함으로써 감칠맛이 나타나며, 전분 분해 효소인 아밀라제(amylase)에 의해 생성된 당과 젖산균 및 효모에 의해 생성된 유기산 등의 다양한 풍미 성분들이 함께 어우러져 간장 특유의 맛과 향을 생성하게 된다.

[0003] 간장은 매우 특성이 있는 식품으로 간장 제조시 사용되는 발효미생물의 종류 및 제조기술의 차이에 따라 간장의 맛과 향기에 특성이 생긴다. 이러한 장류는 각 가정에서 제조하여 이용해 왔으나 경제성장 및 식생활 양식의 변화로 가정에서 제조하는 것보다 시장에서 구매하는 경향으로 바뀜에 따라 장류의 소비량은 물론 제조방법도 크게 발전하고 있다.

[0004] 간장의 제조방법은 기본적으로 원료인 대두를 삶아서 분쇄하고 벽돌형, 직사각형 등으로 메주를 성형하여, 일정 시간 동안 건조한 뒤 균열이 생기면 짚 등으로 매달아 적당한 온도와 습도를 유지하게 한다. 이렇게 하여 주위의 다양한 미생물들이 자연적으로 착생하여 번식하게 한 메주를 깨끗이 씻어 소금물에 담가 일정시간(약 1년)동안 발효 숙성시킨 후 액상은 달여서 간장으로 만든다. 최근 곰팡이 코지를 접종하여 알메주 형태의 개량메주를 제조한 후 이를 소금물에 담금하여 개량형의 조선간장과 메주를 제조할 수 있다.

[0005] 그러나 종래 기술은 메주와 소금을 주 원료로 하여 간장을 제조하는 방법으로 간장의 염도가 상당히 높아 나트륨 섭취량을 증가시키는 문제가 있으며, 발효숙성이 장기간 소요되는 단점이 있다. 또한, 개량메주를 사용하는 경우에 소금용액에 첨가하는 메주의 양을 감소시켜 양조간장을 제조한다면 제품 경쟁력을 높일 수 있을 것으로 판단하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2015-0070630호 (2015.06.25. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 상기 문제점을 해결하기 위해, 본 발명은 유청발효물을 단백질 가수분해를 위한 효소원으로 사용하여 간장 숙성 과정을 단축시키고 낮은 염도와 고초균과 젖산균이 생산하는 다양한 기능성 물질을 함유하는 기능성 양조간장을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 유청을 희석하는 단계; 상기 유청 희석액 총 100 중량부에 대하여 모노소듐 글루타메이트(mono sodium glutamate; MSG) 1 내지 5 중량부 및 글루코스 0.1 내지 4 중량부를 첨가하여 혼합하는 단계; 상기 혼합액을 멸균시키는 단계; 상기 멸균된 혼합액에 고초균 스타터(starter)를 접종하고 배양하여 1차 발효시키는 단계; 상기 고초균 발효물에 젖산균 스타터(starter)를 접종하고 배양하여 2차 발효시키는 단계; 상기 2차 발효물 총 100 중량부에 소금 10 내지 15 중량부 및 메주 10 내지 40 중량부를 첨가하고 25 내지 35℃에서 1 내지 7일간 교반시키는 단계; 상기 교반된 혼합물을 20 내지 25℃에서 7 내지 150일간 발효시키는 단계를 포함하는 유청

발효물을 이용한 간장 제조방법을 제공한다.

[0009] 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조된 기능성 유청발효간장을 제공한다.

발명의 효과

[0010] 본 발명은 치즈 제조시 생성되는 유청을 발효 미생물인 고초균을 이용한 1차 발효를 통하여 유청 단백질의 가수 분해를 촉진시키고, 2차 젖산균 발효를 통하여 GABA 생산 및 생리활성물질을 증진시킨 유청발효물을 이용한 기능성 유청발효간장 제조방법에 관한 것으로, 상기 제조방법에 따른 유청발효간장은 종래의 양조간장 보다 낮은 염도를 나타내며, 점질물 감마폴리글루탐산, 펩타이드 및 GABA와 같은 생리활성물질이 함유된 기능성 양조간장으로 제공될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 MSG 농도에 따른 유청의 고초균 발효 방법을 나타낸 모식도이다.
 도 2는 MSG 농도에 따른 유청 고초균 발효물의 pH 및 산도 변화를 확인한 결과이다.
 도 3은 MSG 농도에 따른 유청 고초균 발효물의 생균수 변화를 확인한 결과이다.
 도 4는 MSG 농도에 따른 유청 고초균 발효물의 점조도 및 점질물 변화를 확인한 결과이다.
 도 5는 유청고초균 발효물의 2차 젖산발효 방법을 나타낸 모식도이다.
 도 6은 유청 2차 젖산 발효물의 pH 및 산도 변화를 확인한 결과이다.
 도 7은 유청 2차 젖산 발효물의 생균수 변화를 확인한 결과이다.
 도 8은 유청 2차 젖산 발효물의 환원당 변화를 확인한 결과이다.
 도 9는 1차 유청 발효물의 2차 젖산발효 중 티로신(tyrosine) 함량 변화를 확인한 결과이다.
 도 10은 유청 2차 젖산 발효물의 GABA 함량을 확인한 결과이다.
 도 11은 유청 발효물을 이용한 저염간장 제조 방법을 나타낸 모식도이다.
 도 12는 유청 발효물을 이용한 양조간장의 pH 및 산도 변화를 확인한 결과이다.
 도 13은 유청 발효물을 이용한 양조간장 숙성 중 생균수 변화를 확인한 결과이다.
 도 14는 유청 발효물을 이용한 양조간장의 티로신 변화를 확인한 결과이다.
 도 15는 유청 발효물을 이용한 양조간장의 숙성 전후의 색상 변화를 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0013] 본 발명은 유청을 희석하는 단계; 상기 유청 희석액 총 100 중량부에 대하여 모노소듐 글루타메이트(mono sodium glutamate; MSG) 1 내지 5 중량부 및 글루코스 0.1 내지 4 중량부를 첨가하여 혼합하는 단계; 상기 혼합액을 멸균시키는 단계; 상기 멸균된 혼합액에 고초균 스타터(starter)를 접종하고 배양하여 1차 발효시키는 단계; 상기 고초균 발효물에 젖산균 스타터(starter)를 접종하고 배양하여 2차 발효시키는 단계; 상기 2차 발효물 총 100 중량부에 소금 10 내지 15 중량부 및 메주 10 내지 40 중량부를 첨가하고 25 내지 35℃에서 1 내지 7일간 교반시키는 단계; 상기 교반된 혼합물을 20 내지 25℃에서 7 내지 150일간 발효시키는 단계를 포함하는 유청 발효액을 이용한 간장 제조방법을 제공할 수 있다.

[0014] 상기 유청을 희석하는 단계는 유청을 물로 1 내지 5배 희석하는 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0015] 상기 혼합액을 멸균시키는 단계는 120 내지 125℃에서 10 내지 20분간 멸균시키는 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0016] 상기 멸균된 혼합액에 고초균 스타터(starter)를 접종하고 배양하여 1차 발효시키는 단계는 40 내지 45℃에서 150 내지 170 rpm으로 교반시키면서 24시간 발효시키는 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

- [0017] 상기 고초균은 바실러스 서브스틸리스 HA(*Bacillus subtilis* HA) 균주일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0018] 상기 고초균 발효물에 젖산균 스타터(starter)를 접종하고 배양하여 2차 발효시키는 단계는 25 내지 35℃에서 1 내지 5일간 발효시키는 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0019] 상기 젖산균은 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) EJ2014 (KCCM11545P)일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0020] 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.
- [0021] 본 발명에 있어서, "감마 아미노부티르산(gama 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 피리독살-5'-포스페이트(pyridoxal-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 알려져 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 개선효과가 나타나 의약품으로 사용되고 있다.
- [0022] 또한, 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조된 기능성 유청발효간장을 제공할 수 있으며, 상기 유청발효간장은 저염도를 나타내고, 기능성물질인 점질물 감마폴리글루탐산(γ -PGA), 펩타이드 및 감마-아미노부티르산(GABA)이 증진된 것일 수 있다.
- [0024] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.
- [0026] <실시예 1> 유청의 고초균 발효물 제조 및 분석
- [0027] 1. 재료 및 방법
- [0028] 도 1과 같이 치즈 제조과정에서 생산되는 부산물인 유청을 농축시킨 유청 농축액(milk whey concentrate, 고형분 21% w/v, 매일유업) 50mL에 증류수 30mL를 첨가하여 2배 희석한 후, 121℃에서 15분간 멸균하여 사용하였다. 폴리-감마-글루탐산(poly- γ -glutamic acids) 생산을 증진시키기 위해 글루코스 2% 및 모노소듐 글루타메이트(mono sodium glutamate; MSG) 농도를 0%, 1%, 3% 및 5%로 한 후, 바실러스 서브스틸리스 HA(*Bacillus subtilis* HA; *B. subtilis* HA) 스타터를 5% 접종한 후, 42℃ 교반 배양기에서 160 rpm으로 3일간 고초균 발효를 진행한 뒤 분석하였다.
- [0030] 2. 결과 및 고찰
- [0031] 1) pH 및 산도 확인
- [0032] 유청 발효물의 pH 산도를 측정한 결과, 도 2와 같이 발효 시간 경과에 따라, 모든 조건에서 pH가 증가하여 초기 pH 6.26-6.45에서 발효 3일 pH는 6.45-7.30을 나타내었다. 산도는 발효 전 0.16%로 모든 조건에서 비슷한 수치를 나타내었으나, 발효가 진행됨에 따라 MSG 무첨가 조건을 제외한 모든 조건에서 발효 1일째 가장 높은 값을 나타낸 뒤 감소하는 경향을 보였다.

- [0034] 2) 생균수 확인
- [0035] 생균수 측정 결과, 도 3과 같이 발효가 시작됨에 따라 MSG 무첨가 조건을 제외한 모든 조건에서 발효 1일째 $3.0\text{--}6.3 \times 10^8$ CFU/mL로 가장 높은 균 활성을 보였다. MSG 0% 조건은 발효 3일째 4.3×10^6 CFU/mL로 균수가 급격히 감소하는 것으로 확인되었다.
- [0036] 상기 결과로부터 MSG 유무가 고초균의 활성에 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었다.
- [0038] 3) 점질물 및 점조도 확인
- [0039] 도 4와 같이 점질물 함량은 MSG를 첨가한 모든 조건에서는 생성량을 확인할 수 있었으며, 생성량은 MSG 농도가 높을수록 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 고초균이 생산하는 점질물은 아미노산 (글루탐산, glutamic acid)의 중합체로 감마폴리글루탐산(poly- γ -glutamic acid, γ -PGA)을 60% 정도 함유하고 있다. 발효 2일째 MSG 1%, 3% 및 5% 조건에서 각각 2.0%, 4.8% 및 6.2%로 점질물이 가장 많이 증가되는 것을 확인할 수 있었으며, 상기 결과로부터 MSG 5% 조건에서 고분자 점질물 또는 감마글루탐산이 가장 많이 생성된 것으로 나타났다.
- [0040] 점조도는 발효가 진행될수록 높은 값을 보였으며, 특히, 발효 1일째 MSG 5% 조건에서 $0.57 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$ 으로 높은 값을 나타내었으며, 발효 3일째 가장 높은 값을 나타내었다.
- [0042] <실시에 2> 유청 고초균 발효물을 이용한 2차 젖산균 발효
- [0043] 1. 재료 및 방법
- [0044] 앞선 실험에서 확인된 발효조건으로 도 5와 같이 2배 희석한 유청에 *B. subtilis* HA를 이용한 1차 발효를 수행하여 고분자 점질물을 생산한 후, GABA 생성을 위해 7일간 *L. plantarum* EJ2014 (KCCM11545P) 젖산발효를 수행하였다.
- [0046] 2. 결과 및 고찰
- [0047] 1) pH 및 산도 확인
- [0048] 도 6을 참고하면 1차 발효 후 pH는 6.18에서 2차 젖산 발효 5일 차에 pH가 4.58로 감소하였으며, 이후 비슷한 수준으로 유지되었다.
- [0049] 산도는 젖산 발효 전 0.07%에서 젖산발효 1일째에 1.21%로 급격히 증가하여 젖산이 생산되는 것을 알 수 있었으며, 젖산 발효 3일째 산도가 급격히 감소한 후 일정하게 증가하는 것으로 나타났다.
- [0050] 상기 결과로부터 GABA의 전구물질인 MSG가 전환된 것을 확인할 수 있었다.
- [0052] 2) 생균수 확인
- [0053] 생균수 확인 결과, 도 7과 같이 *Bacillus* sp.의 생균수는 젖산발효 전 5.6×10^8 CFU/mL을 나타낸 후 젖산발효가 진행됨에 따라 감소하여 젖산발효 7일째에는 10^5 CFU/mL까지 감소하는 경향을 나타내었으며, *Lactobacillus* sp. 스타터 생균수는 2.3×10^7 CFU/mL로 발효 7일차까지 1.5×10^9 CFU/mL로 생균수가 유지되는 것을 확인할 수 있었다.
- [0055] 3) 환원당 및 락토스(lactose) 감소 확인
- [0056] 당이 많을 경우 GABA 전환이 어려우므로 락토스 감소를 확인하기 위해, 환원당 변화를 확인하였다.
- [0057] 그 결과, 도 8과 같이 발효시간이 지남에 따라 환원당 수치가 감소하는 것을 확인할 수 있었으며, 발효 전 환원당 함량은 10.37%에서 젖산발효 1일째 6.60%로 크게 감소하여 젖산발효 7일째 4.73%까지 감소하는 것으로 확인

됨에 따라, *Lactobacillus plantarum* 균의 발효에 의해 감소된 것으로 제안될 수 있다.

[0058] 또한, 발효물의 락토스 함량을 HPLC로 정량한 결과, 발효 전 6.72%에 젖산 발효 1일째 4.30%로 감소하였으며 7일째 3.68%까지 소진되어 발효 전과 비교하여 락토스가 약 3% 가량 감소하였다. 고초균 발효 시 감소된 환원당은 글루코스가 소진된 것으로 사료된다.

[0060] 4) 티로신(Tyrosin) 함량 확인

[0061] 발효물의 펩타이드 함량을 측정하기 위해, 티로신 함량을 측정하여 확인하였다. 이는 다양한 펩타이드를 구성하는 아미노산 중에서 티로신 함량을 측정하는 방법으로 펩타이드 함량을 간접적으로 측정할 수 있다.

[0062] 그 결과, 도 9와 같이 발효 전 16.29 mg%로 고초균 발효가 시작되면서 27.03 mg%로 증가하였으며, 젖산발효 7일째에는 30.16 mg%로 초기보다 높은 함량을 나타내는 것으로 확인되었다.

[0064] 5) GABA 생성 및 함량 확인

[0065] GABA 함량 변화를 비교하기 위해, 3배 희석한 발효물을 원심분리한 후 얻은 상등액을 이용하여 TLC 정성분석을 수행하였다.

[0066] 그 결과, 도 10과 같이 젖산발효 1일째부터 GABA가 생성되는 것을 확인할 수 있었으며, 젖산발효 5일째 MSG가 GABA로 모두 전환되어 고농도의 GABA 스팟이 나타났다. GABA 함량을 HPLC로 정량분석한 결과, 발효 후 GABA는 2.21%의 매우 높은 함량을 나타내었다.

[0068] <실시에 3> 유청 발효물을 이용한 저염 간장 제조

[0069] 1. 재료 및 방법

[0070] 상기 실시예 1의 유청의 고초균 발효물 제조 방법 및 도 11과 같은 과정으로 2배 희석된 유청에 MSG 및 글루코스(glucose)를 각각 5% 및 2% 농도 수준으로 첨가하고, *B. subtilis* HA (5%)를 이용하여 1차 고초균 발효 후, GABA 생성을 위해 *L. plantarum* EJ2014 (KCCM11545P) 젖산발효를 5일간 수행하여 제조된 유청 발효물을 이용하여 일반적으로 사용되는 양조간장의 염도(17-20%)보다 낮은 15% 염도의 양조간장을 제조하였다.

[0071] 일반적인 방법으로 코지 형태의 알 메주를 이용한 양조간장 제조는 19% 소금농도 (음용수 18L + 소금 3kg)의 소금용액 21kg에 알메주 4.5kg을 첨가하여 소금용액 100중량 대비 22중량 알 메주를 첨가하여 발효 숙성시켰으며, 유청 발효물을 이용한 양조간장 제조에는 첨가되는 알메주의 함량을 낮추기 위해서 15% 소금용액 300중량 대비 알 메주를 각각 0g, 7.5g, 15g, 12.5g 및 30g으로 첨가하여 최종 농도를 각각 0%, 10%, 20%, 30% 및 40%(w/w)로 조정하였다.

[0072] 빠른 숙성과 표면 위로 올라오는 메주를 가라앉히기 위해 30℃에서 100rpm으로 7일간 발효물을 진탕한 후 상온에서 총 90일간 숙성하였다.

[0074] 2. 결과 및 고찰

[0075] 1) pH 및 산도 확인

[0076] 발효기간에 따른 pH 산도를 확인하였다.

[0077] 그 결과, 도 8과 같이 발효가 시작됨에 따라 알메주가 첨가된 모든 조건에서 pH가 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 숙성기간이 길어질수록 pH가 증가하여 숙성기간 90일에 pH 5.26-5.51을 나타내었다. 또한, 알메주를 첨가하지 않은 조건에서는 숙성기간 30일 이후부터 pH 5.06-5.07을 유지하는 것을 확인할 수 있었다.

[0078] 산도는 숙성 5일 이후 변화가 나타나기 시작하였다. 알메주를 첨가하지 않은 조건에서는 숙성이 시작됨에 따라 감소하였으며 산도 0.63-0.57%를 유지하는 경향을 나타내었다. 한편, 알메주가 첨가된 조건에서는 함량이 높을수록 산도가 높게 나타났으며, 알메주 40% 첨가된 조건에서는 숙성 30일까지 꾸준히 증가한 후 완만하게 감소하여 산도 0.99%를 나타내었다.

[0080] 2) 생균수 확인

[0081] 생균수 확인 결과, 도 13과 같이 모든 조건에서 *Bacillus* sp.의 생균수는 숙성 15일째까지 $4.5-5.7 \times 10^5$ CFU/mL를 유지하였으며, 숙성 30-45일째에 생균수가 10^6 CFU/mL로 증가하였으며, 이후 $2.2-3.0 \times 10^5$ CFU/mL로 감소된 후 유지되는 경향을 나타내었다.

[0082] *Lactobacillus* sp.의 생균수는 숙성 1일째에 1.6×10^9 CFU/mL을 나타냈으며, 알 메주를 첨가하지 않은 조건에서는 숙성 5일째에 젖산균을 측정하지 못 하였으며, 숙성 15일 이후 모든 조건에서 젖산균의 생균수는 나타나지 않았다.

[0083] 상기 결과로부터 고농도의 염 농도에서는 양조간장의 숙성에 관여하는 미생물인 젖산균의 생육이 어려우며, 고초균이 일부 잔존하면서 숙성에 역할을 하는 것으로 제안될 수 있다.

[0085] 3) 티로신(Tyrosine) 함량

[0086] 티로신 함량 측정은 단백질로부터 가수분해된 펩타이드 함량을 간접적으로 측정하는 방법으로 알메주 함량과 숙성기간에 따른 티로신 함량은 숙성기간이 길어질수록 증가하는 경향을 나타냈다. 도 14를 참고하면 알메주를 첨가하지 않은 조건에서는 티로신 함량에 변화가 없었으나 알메주를 첨가한 조건에서는 변화가 나타났다. 특히 알메주 10%가 첨가된 조건보다 알메주 40%가 첨가된 조건에서 더 높은 티로신 함량이 나타났으며, 숙성 90일차를 분석한 결과, 알메주 함량이 증가함에 따라 티로신 함량은 각각 31.18%, 83.97%, 103.03%, 157.95% 및 188.27%로 나타났다.

[0088] 4) 알메주 숙성 전, 후 색상 변화 확인

[0089] 유청 혼합 발효물을 이용한 양조간장의 색상 변화를 확인한 결과, 도 15와 같이 숙성시간에 따라 양조간장의 색이 점점 갈색화되었으며, 그 중 알메주 40% 조건에서 짙은 갈색도를 나타내었다.

[0091] 5) 유청 양조간장의 관능검사

[0092] 관능검사 대상은 20-30대 남, 녀 10명을 대상으로 무작위로 검사하여 외관적 특성인 색깔, 향미 및 맛의 정도를 매우 좋다 5, 좋다 4, 보통 3, 나쁘다 2, 매우 나쁘다 1로 평점으로 나타내었다.

[0093] 알 메주 농도에 따라 숙성된 양조간장 관능평가를 실시한 결과, 표 2와 같이 색깔과 향미 부분에서 알메주 20% 첨가 조건에서 요구르트와 같은 향미를 느낄 수 있다는 의견이 많았으며 높은 점수를 얻었다. 알메주 함량이 높을수록 모든 항목에서 낮은 점수를 얻었으나 이는 간장과 같은 진한 향미가 난다는 의견과 조선간장(집 간장)과 비슷하다는 견해로 인해 낮게 나온 것으로 보인다.

표 1

관능검사 평점

	매우 좋다	좋다	보통이다	나쁘다	매우나쁘다
평점	5	4	3	2	1
표시기호	++	+	±	-	--

표 2

관능검사 결과

검사 내용	알 메주 농도 (%)				
	0%	10%	20%	30%	40%

색깔	++	±	±	±	±
향미	+	-	++	-	--
맛	±	±	±	-	--

[0098] 기탁기관명 : 한국미생물보존센터(국외)

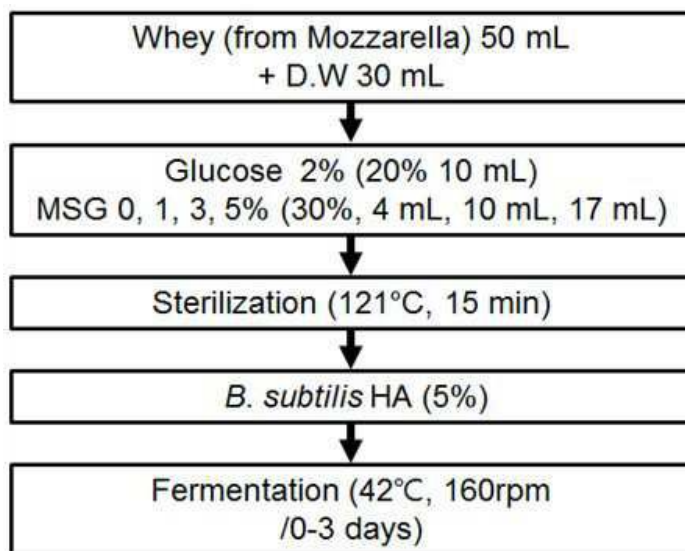
[0099] 수탁번호 : KCCM11545P

[0100] 수탁일자 : 20140609

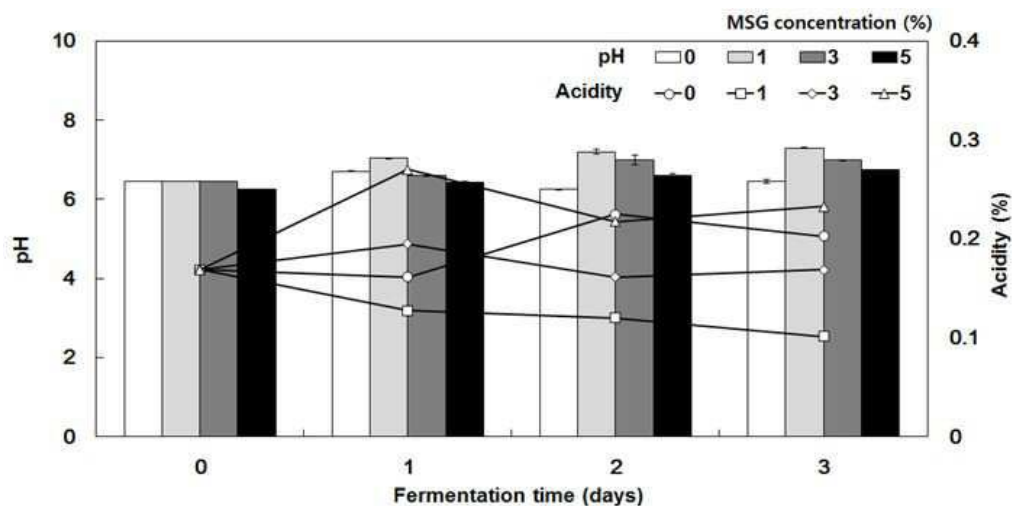
[0102] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

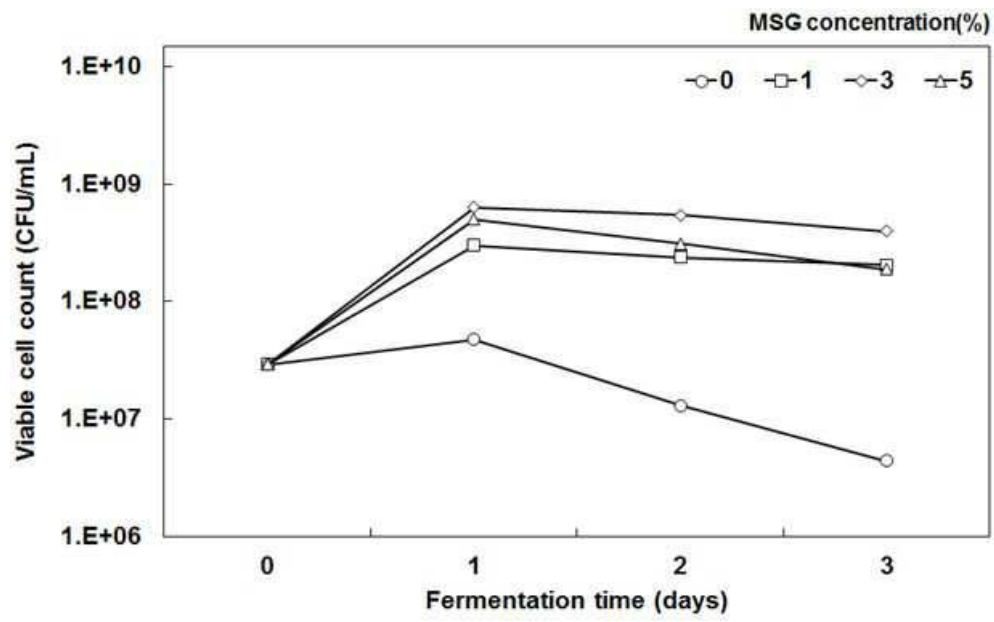
도면1



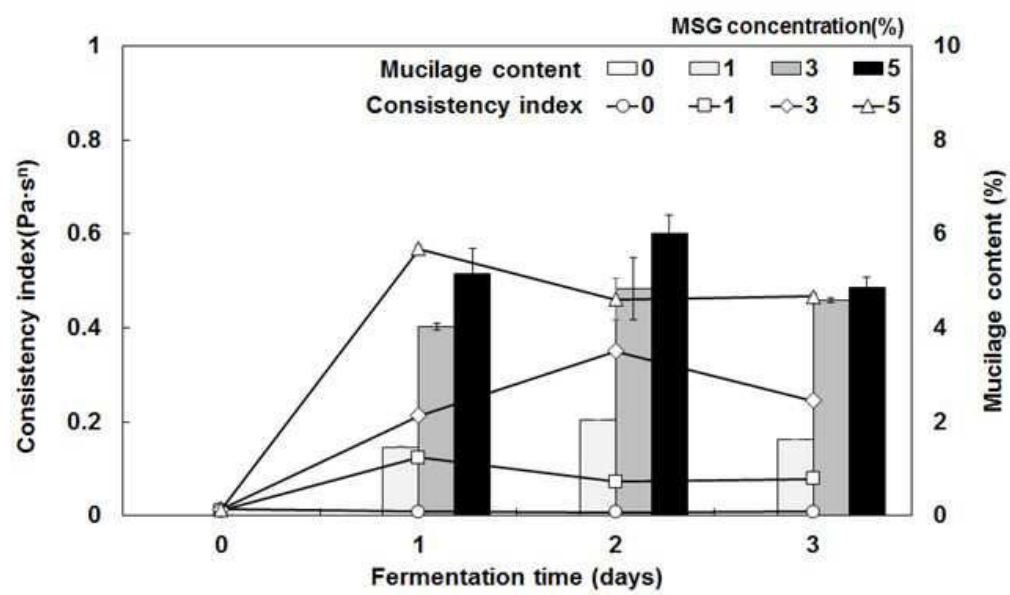
도면2



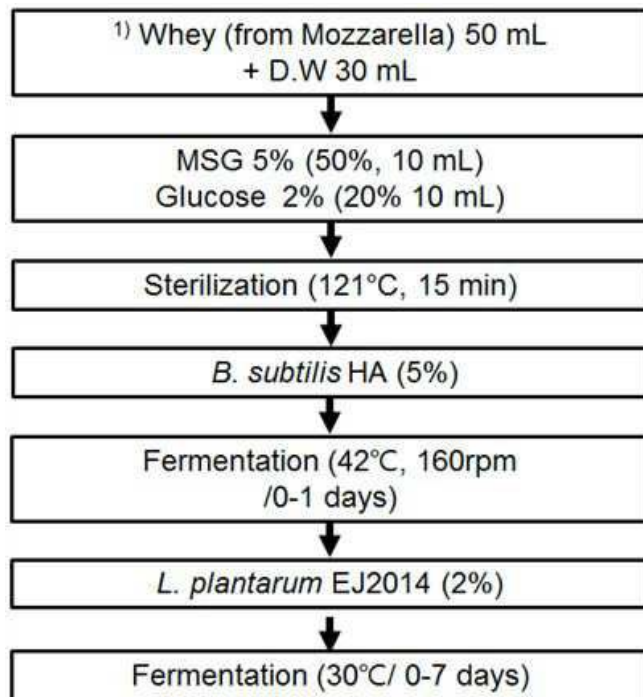
도면3



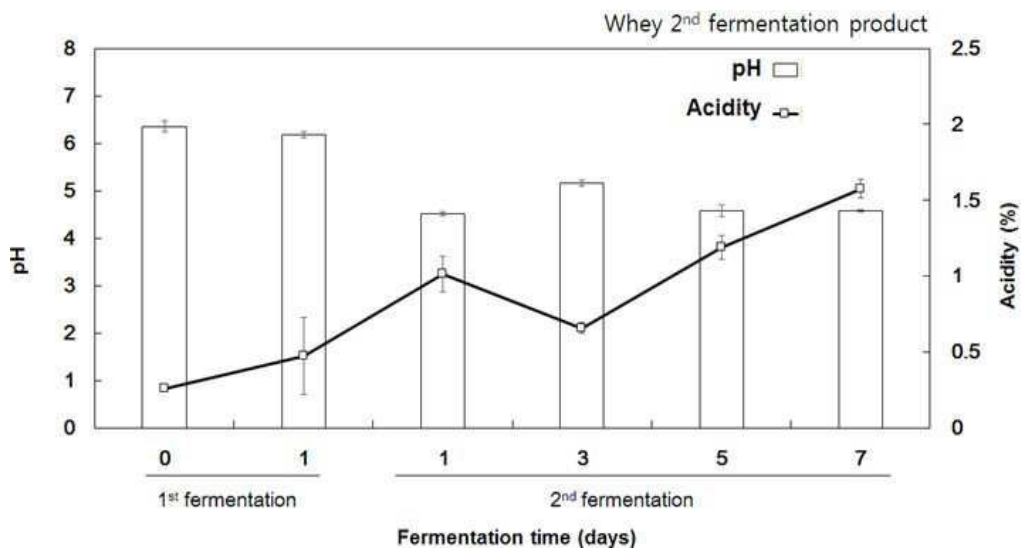
도면4



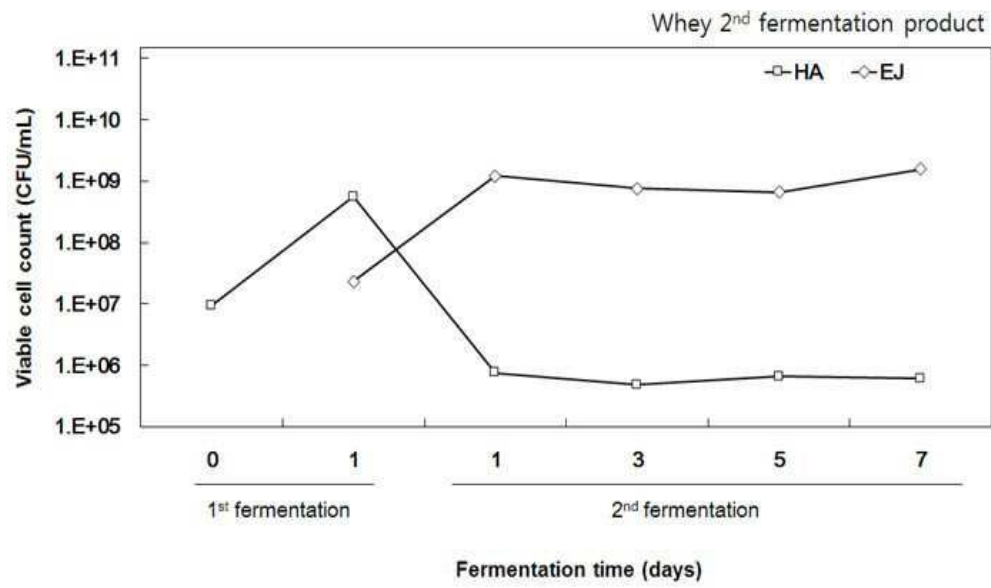
도면5



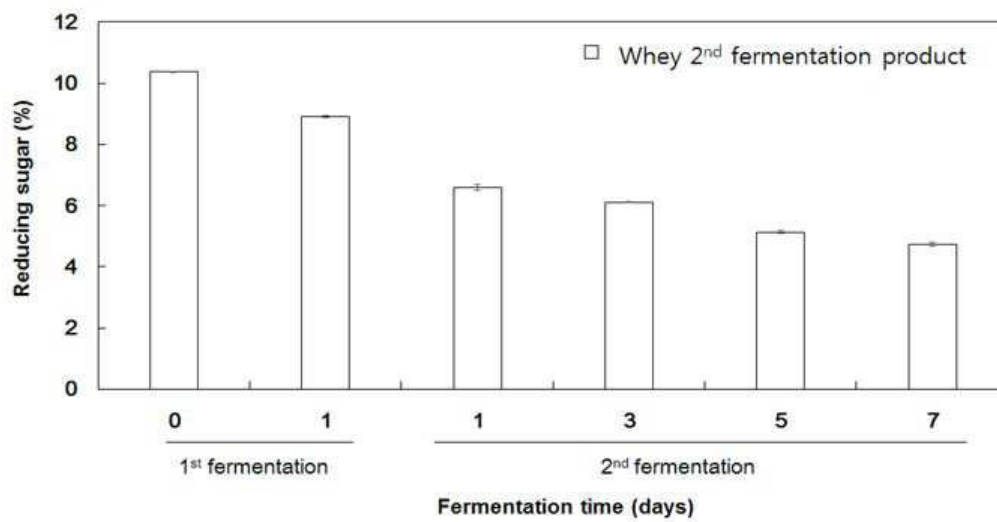
도면6



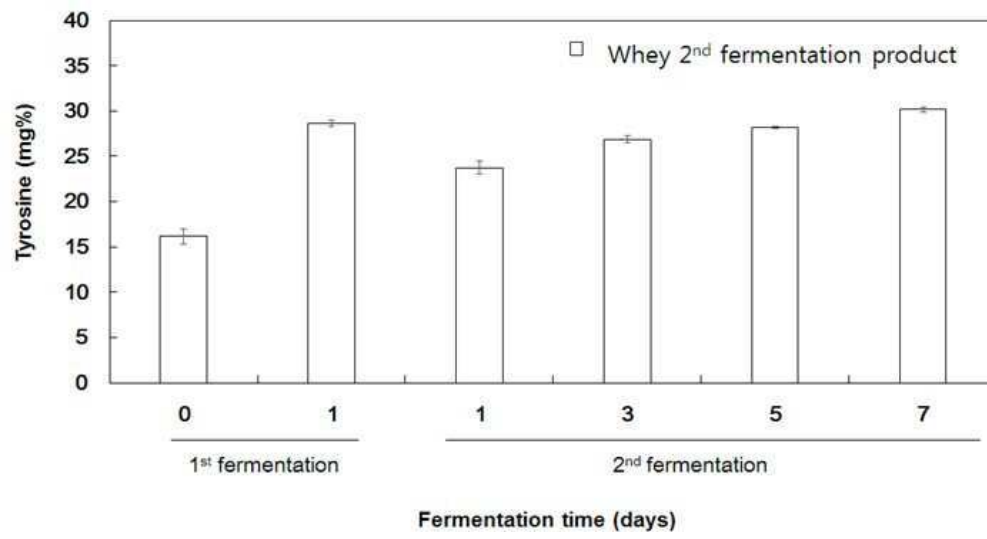
도면7



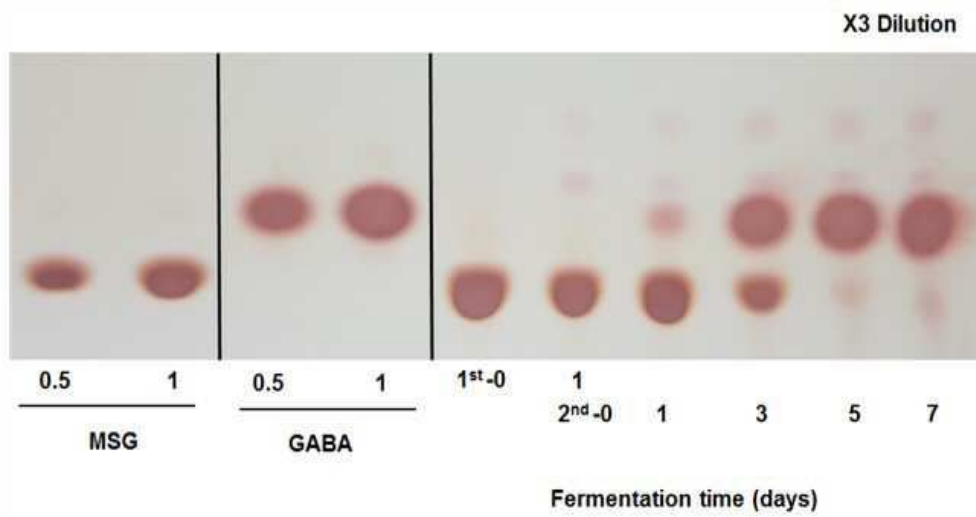
도면8



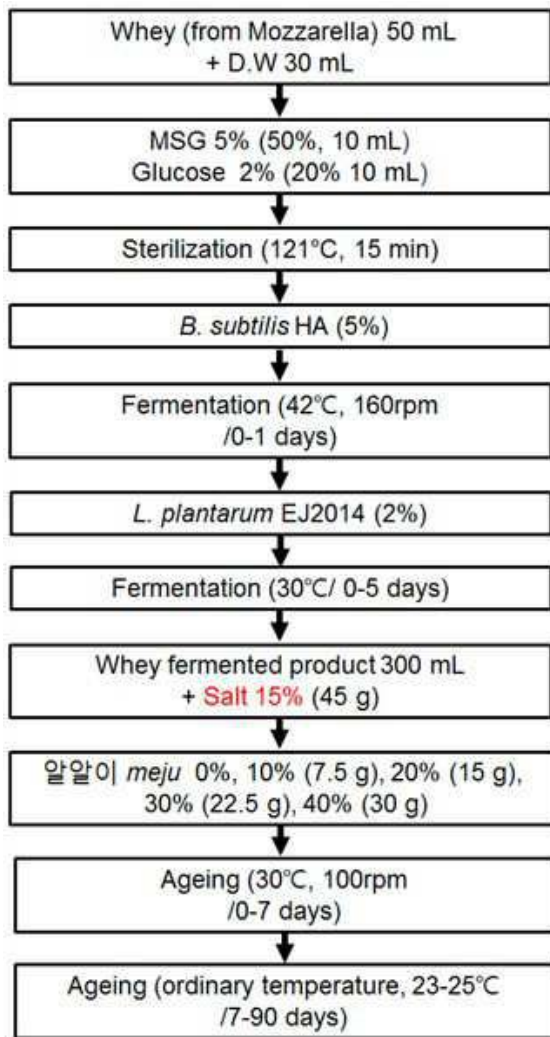
도면9



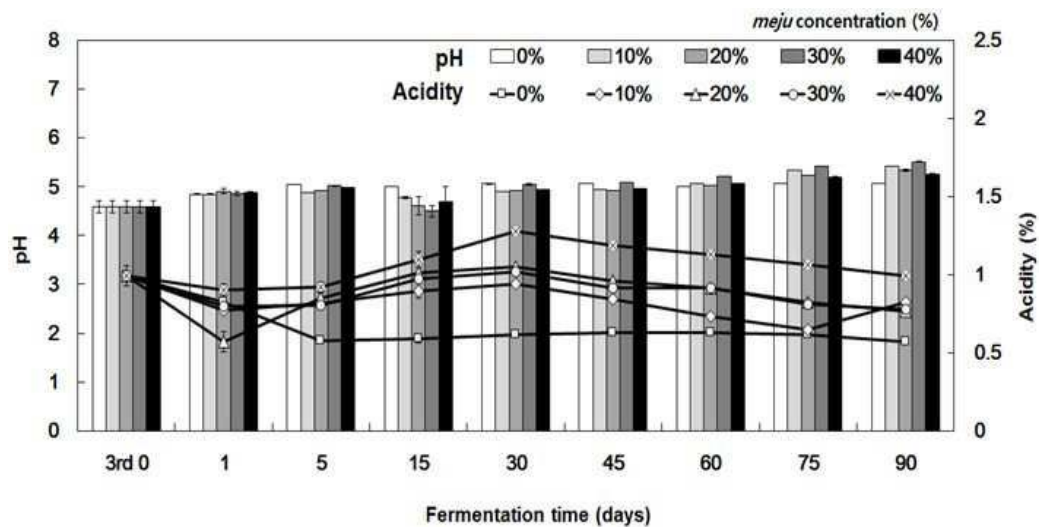
도면10



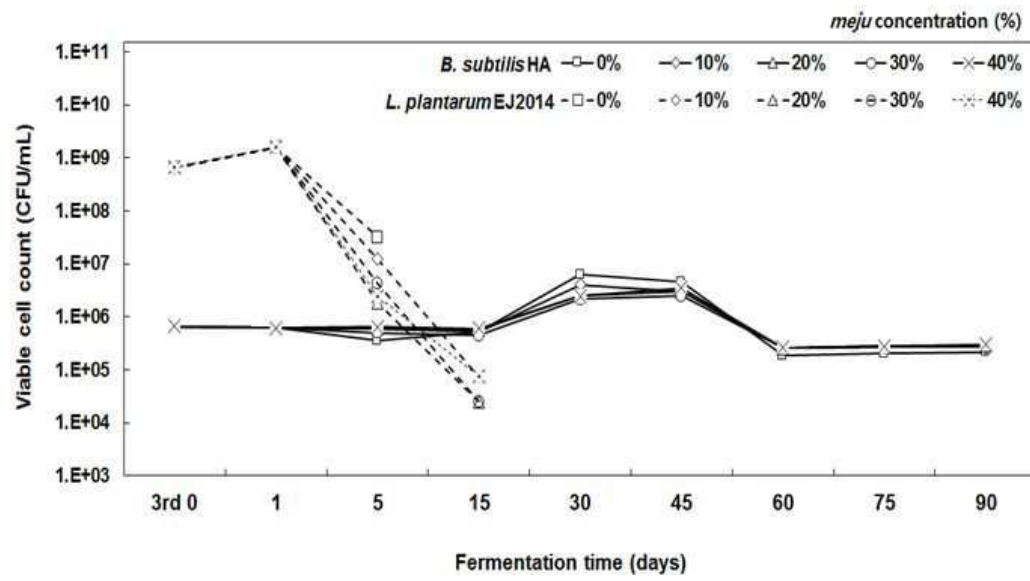
도면11



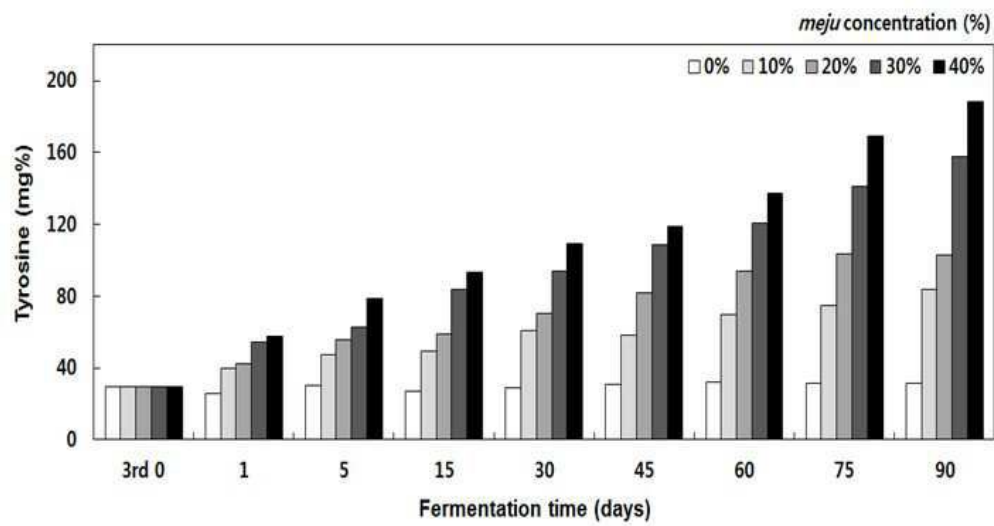
도면12



도면13



도면14



도면15

숙성 전	숙성 후	숙성 전	숙성 후	숙성 전	숙성 후	숙성 전	숙성 후	숙성 전	숙성 후
									
알 메주 0%		알 메주 10%		알 메주 20%		알 메주 30%		알 메주 40%	