



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0142923
(43) 공개일자 2016년12월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12J 1/10 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
A23L 29/00 (2016.01)
(52) CPC특허분류
C12J 1/10 (2013.01)
A23L 29/065 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2015-0078484
(22) 출원일자 2015년06월03일
심사청구일자 2016년05월12일

(71) 출원인
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)
(72) 발명자
이삼빈
대구광역시 달서구 선원로 171 102동 306호 (이곡동, 성서무지개타운)
권순영
대구광역시 북구 연암공원로5길 18 (산격동)
(74) 대리인
특허법인태백

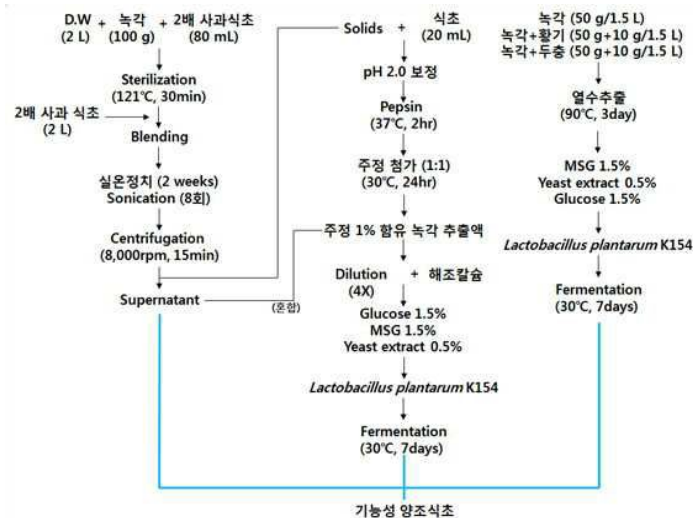
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법 및 이를 이용한 기능성 식품

(57) 요약

본 발명은 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법 및 이를 이용한 기능성 식품에 관한 것으로, 상기 기능성 식품은 녹각을 이용한 식초 조성물과 녹각 및 한약재 추출 발효물을 최적 비율로 혼합한 조성물이며, 이러한 조성물은 단순한 녹각 추출물이 아닌 녹각을 단백질분해효소를 완전히 분해시켜 칼슘 등 녹각의 영양성분이 버려지는 것 없이 모두 포함되어 있으며, 두충이나 황기 젖산발효물이 첨가되어 뇌기능 개선 효과가 있는 GABA가 강화되었을 뿐 아니라, 전체적인 기호도가 향상되어 기능성 음용 식초로서 유용하게 활용할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/10 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2250/204 (2013.01)

A23V 2300/14 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C0193775

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 (사)한국산학연협회

연구사업명 기업부설연구소설치지원사업

연구과제명 생물전환 및 혼합발효기술을 이용한 녹각 및 녹용의 기능성 강화 및 고부가 제품화

기 여 율 1/1

주관기관 계명대학교 산학협력단

연구기간 2014.07.01 ~ 2016.06.30

명세서

청구범위

청구항 1

녹각에 물과 식초를 넣고 고온 추출하는 단계(제1단계);
제1단계의 추출물에 식초를 첨가한 후 실온 추출하는 단계(제2단계);
제2단계의 추출물을 원심분리하는 단계(제3단계);
상기 원심분리된 침전물에 식초를 첨가한 후 pH를 조정하는 단계(제4단계);
상기 pH가 조정된 반응물에 단백질 분해효소를 첨가하는 단계(제5단계);
제5단계의 반응물에 주정을 첨가하는 단계(제6단계); 및
제3단계의 상등액과 제6단계의 반응물을 혼합하는 단계(제7단계)
를 포함하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 제7단계 이후 젖산 발효하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 제1단계는 녹각 1 중량부에 대하여 물 10 내지 100 중량부 및 식초 10 내지 100 중량부를 넣고 100 내지 130℃에서 고온 추출하는 것을 특징으로 하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 제2단계는 제1단계의 추출물 100 중량부에 대하여 식초 20 내지 200 중량부를 첨가한 후 실온 추출하는 것을 특징으로 하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 원심분리는 10,000 내지 15,000 rpm에서 5 내지 30분 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 제4단계는 원심분리된 침전물 100 중량부에 대하여 식초 10 내지 100 중량부를 첨가한 후 산을 넣어 pH를 조정하는 것을 특징으로 하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 단백질 분해효소는 펩신, 트립신, 파파인 및 브루멜라인으로 이루어진 군에서 선택된 것을 특징으로 하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 제5단계의 반응물 100 중량부에 대하여 주정 50 내지 100 중량부를 첨가하는 것을 특징으로 하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 상기 제3단계의 상등액 10 내지 90 중량% 및 제6단계의 반응물 10 내지 90 중량%를 혼합하는 것을 특징으로 하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법.

청구항 10

녹각과, 황기 또는 두충에서 선택된 하나 이상의 한약재를 열수 추출하는 단계(제1단계); 및

상기 열수 추출물에 모노소듐글루타메이트(MSG), 이스트 추출물 및 글루코스를 첨가하고 젖산균으로 발효하는 단계(제2단계)

를 포함하는 녹각 및 한약재 추출 발효물의 제조방법.

청구항 11

청구항 1에 따라 제조된 녹각을 이용한 식초 조성물 20 내지 80 중량% 및 청구항 10에 따라 제조된 녹각 및 한약재 추출 발효물 20 내지 80 중량%를 포함하는 기능성 식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법과, 녹각 및 한약재 추출 발효물의 제조방법 및 이들을 이용한 기능성 식품에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 식초는 초산 함량이 4~29%으로 식용 가능한 초산으로 동서양을 막론하고 오래 전부터 제조되어 온 발효식품이다. 식초는 크게 합성식초와 양조식초로 나뉘 수 있는데, 합성 식초는 식용 빙초산을 물에 희석하여 제조한 것이며, 양조식초는 곡물이나 과일을 초산 발효시켜 생산한 것이다.

[0003] 식초는 음식을 조리할 때 신맛을 내게 하는 조미료로 주로 사용되지만, 그 외에도 생선의 비린 냄새를 감소시키고, 안토시아닌계 색소를 더욱 선명하게 하고, 육류를 연하게 하는 등 매우 다양한 용도로 사용되고 있다. 또한, 식초는 TCA 회로에 관여하여 젖산의 분해를 촉진시켜 과격한 운동에 의한 피로회복에 좋고, 동맥경화 및 고혈압 예방 등 인체의 생리조절에도 유용한 것으로 알려져 있으며, 기능성이 보다 향상된 식초에 대한 관심이 높아지고 있다.

[0004] 녹용은 사슴과에 속하는 동속 근연동물 숫사슴의 머리에 난 골절화 되지 않은 어린 뿔이고, 녹각은 이미 골절화된 뿔이다. 두 약물 모두 성질이 따뜻하고 맛은 달고 그 쓰임새가 유사한데 다만 녹용의 약력이 녹각에 비해 우월하다고 알려져 있다. 녹용의 현재까지 알려진 약리작용은 발육촉진 작용, 조혈작용, 강심작용 등이 있고, 최근에는 부교감신경에 대한 영향, 내분비계 기능항진, 면역기능 증강과 더불어 골다공증 등 뼈의 생리병리와 관련된 연구들이 보고되었다. 녹각 역시 발육촉진, 조혈, 강심작용을 하는 약리를 가지고, 면역기능과 간장해에 대한 영향, 골다공증에 대한 연구들이 진행되어 왔다. 최근 녹각은 노인들의 관절염 개선을 위한 처방으로 한의원에서 활용되고 있다.

[0005] 현재 시판되는 녹용 제품들은 녹용의 추출물을 사용하므로, 추출된 이후의 녹용을 대부분 버려지므로 전체적으로 볼 때 녹용의 이용율은 중량 대비 30%에도 이르지 못하고 있는 실정이다.

[0006] 한편, 녹용은 매우 고가의 한약재인데, 녹용과 유사한 생리활성을 나타내면서도 녹용에 비해 상대적으로 저가인 녹각을 이용한 기능성 식품을 개발할 수 있다면 유용할 것이므로, 녹각의 이용율을 향상시킨 기능성 식품 특히 식초의 개발이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제1133077호 (2012.03.28)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 본 발명에서는 녹각을 발효를 통해 쉽게 접할 수 있는 제품화를 통해 여러 가지 기능성이 향상된 녹각을 이용한 식초와 같은 건강식품을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 녹각에 물과 식초를 넣고 고온 추출하는 단계(제1단계); 제1단계의 추출물에 식초를 첨가한 후 실온 추출하는 단계(제2단계); 제2단계의 추출물을 원심분리하는 단계(제3단계); 상기 원심분리된 침전물에 식초를 첨가한 후 pH를 조정하는 단계(제4단계); 상기 pH가 조정된 반응물에 단백질을 분해 효소를 첨가하는 단계(제5단계); 제5단계의 반응물에 주정을 첨가하는 단계(제6단계); 및 제3단계의 상등액과 제6단계의 반응물을 혼합하는 단계(제7단계)를 포함하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법을 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명은 녹각과, 황기 또는 두충에서 선택된 하나 이상의 한약재를 열수 추출하는 단계(제1단계); 및 상기 열수 추출물에 모노소듐글루타메이트(MSG), 이스트 추출물 및 글루코스를 첨가하고 젖산균으로 발효하는 단계(제2단계)를 포함하는 녹각 및 한약재 추출 발효물의 제조방법을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 상기 녹각을 이용한 식초 조성물 20 내지 80 중량% 및 상기 녹각 및 한약재 추출 발효물 20 내지 80 중량%를 포함하는 기능성 식품을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 발명에 따라 제조된 녹각을 이용한 식초 조성물과 녹각 및 한약재 추출 발효물을 최적 비율로 혼합한 조성물은 단순한 녹각 추출물이 아닌 녹각을 단백질분해효소를 완전히 분해시켜 갈슘 등 녹각의 영양성분이 버려지는 것 없이 모두 포함되어 있으며, 두충이나 황기 젖산발효물이 첨가되어 뇌기능 개선 효과가 있는 기능성물질 GABA가 강화되었을 뿐 아니라, 전체적인 기호도가 향상되어 기능성 음료 식초로서 유용하게 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 본 발명에 따른 녹각 식초 조성물, 녹각 및 한약재 추출 발효물 및 이들을 혼합한 식초 조성물 제조공정을 도식화한 것이다.

도 2는 본 발명에 따른 녹각 식초 조성물 중 열처리 시간에 따른 효소반응을 통한 티로신 함량 분석 결과이다.

도 3은 본 발명에 따른 녹각 식초 조성물의 pH 및 산도 변화의 분석 결과이다.

도 4는 본 발명에 따른 녹각 식초 조성물의 GABA 함량 분석 결과이다.

도 5는 영양원을 첨가하지 않은 녹각 및 한약재 추출 발효물의 pH 및 산도 변화의 분석 결과이다.

도 6은 영양원을 첨가한 녹각 및 한약재 추출 발효물의 pH 및 산도 변화의 분석 결과이다.

도 7는 영양원을 첨가한 녹각 및 한약재 추출 발효물의 GABA 함량 분석 결과이다.

도 8은 본 발명에 따른 최종 제품인 녹각 식초 조성물과 녹각 및 두충 추출 발효물의 혼합물인 시제품에 관한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0015] 본 발명자들은 녹용과 유사한 생리활성을 나타내면서도 상대적으로 저렴한 녹각을 버리는 부위 없이 모두 활용하여 녹각의 이용율을 향상시킨 기능성 식품 특히 음료 식초를 개발하고자 연구한 결과, 특정한 제조공정을 통해 얻어진 녹각 식초 조성물에 녹각과 두충 젖산발효물 또는 녹각과 황기 젖산 발효물을 최적 비율로 혼합한 조성물에서 갈슘 함량이나 뇌기능 개선 효과가 있는 GABA가 크게 강화되었을 뿐 아니라, 전체적인 기호도가 향상됨을 확인하여 본 발명을 완성한 것이다.

[0016] 본 발명은 녹각에 물과 식초를 넣고 고온 추출하는 단계(제1단계); 제1단계의 추출물에 식초를 첨가한 후 실온 추출하는 단계(제2단계); 제2단계의 추출물을 원심분리하는 단계(제3단계); 상기 원심분리된 침전물에 식초를 첨가한 후 pH를 조정하는 단계(제4단계); 상기 pH가 조정된 반응물에 단백질을 분해 효소를 첨가하는 단계(제5단계); 제5단계의 반응물에 주정을 첨가하는 단계(제6단계); 및 제3단계의 상등액과 제6단계의 반응물을 혼합하는 단계(제7단계)를 포함하는 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조방법을 제공한다.

- [0017] 상기 제7단계 이후 젖산 발효하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0018] 상기 젖산 발효는 앞서 준비된 녹각 식초 조성물을 물로 1 내지 10 중량배 희석하고 해조칼슘을 첨가한 후, 상기 녹각 식초 조성물 희석액 100 중량부에 대하여 영양원으로 모노소듐글루타메이트(MSG) 1 내지 3 중량부, 이스트 추출물 0.25 내지 1 중량부 및 글루코스 1 내지 3 중량부를 첨가하고 젖산균 바람직하게는 락토바실러스 플란타륨 K154을 이용하여 25 내지 40 ℃에서 1 내지 10일 동안 발효할 수 있다.
- [0019] 상기 제1단계는 녹각 1 중량부에 대하여 물 10 내지 100 중량부 및 식초 10 내지 100 중량부를 넣고 100 내지 130 ℃에서 고온 추출할 수 있다. 만약, 상기 조건을 벗어나면 단백질함량이 감소되는 문제가 야기될 수 있다.
- [0020] 상기 제2단계는 제1단계의 추출물 100 중량부에 대하여 식초 20 내지 200 중량부를 첨가한 후 실온 추출할 수 있다. 만약, 상기 조건을 벗어나면 무기질함량이 감소하는 문제가 야기될 수 있다.
- [0021] 상기 원심분리는 10,000 내지 15,000 rpm에서 5 내지 30 분 동안 수행할 수 있다. 만약, 상기 조건을 벗어나면 추출액의 상태변화의 문제가 야기될 수 있다.
- [0022] 상기 제4단계는 원심분리된 침전물 100 중량부에 대하여 식초 10 내지 100 중량부를 첨가한 후 산을 넣어 pH를 조정할 수 있다. 만약, 상기 조건을 벗어나면 무기질함량이 낮게 나타나거나 효소반응이 억제되어 문제가 야기될 수 있다.
- [0023] 상기 단백질 분해효소는 펩신, 트립신, 파파인 및 브로멜라인으로 이루어진 군에서 선택될 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0024] 상기 제5단계의 반응물 100 중량부에 대하여 주정 50 내지 100 중량부를 첨가할 수 있다. 만약, 상기 조건을 벗어나면 알코올의 도수가 낮아 고형분의 추출물의 함량이 낮아져 문제가 야기될 수 있다.
- [0025] 상기 제3단계의 상등액 10 내지 90 중량% 및 제5단계의 반응물 10 내지 90 중량%를 혼합할 수 있다. 만약, 상기 조건을 벗어나면 주정 추출액에 맛 성분에 따른 기호성이 낮아져 문제가 야기될 수 있다.
- [0026] 또한, 본 발명은 녹각과, 향기 또는 두층에서 선택된 하나 이상의 한약재를 열수 추출하는 단계(제1단계); 및 상기 열수 추출물에 모노소듐글루타메이트(MSG), 이스트 추출물 및 글루코스를 첨가하고 젖산균으로 발효하는 단계(제2단계)를 포함하는 녹각 및 한약재 추출 발효물의 제조방법을 제공한다.
- [0027] 상기 제1단계는 녹각 30 내지 70 중량% 및 향기 또는 두층 30 내지 70 중량%를 70 내지 120 ℃에서 2 내지 4 일 동안 열수 추출할 수 있으며, 상기 조건을 벗어나면 추출 효율 및 발효시 기능성 물질 생산에 문제가 야기될 수 있다.
- [0028] 상기 제2단계는 열수 추출물 100 중량부에 대하여 모노소듐글루타메이트(MSG) 1 내지 5 중량부, 이스트 추출물 0.25 내지 1 중량부 및 글루코스 1 내지 5 중량부를 첨가하고 젖산균 바람직하게는 락토바실러스 플란타륨을 이용하여 25 내지 40℃에서 3 내지 10 일 동안 발효할 수 있다. 만약, 상기 조건을 벗어나면 발효를 통해 기능성 물질의 생산이 되지 않아 문제가 야기될 수 있다.
- [0029] 또한, 본 발명은 상기 녹각을 이용한 식초 조성물 20 내지 80 중량% 및 상기 녹각 및 한약재 추출 발효물 20 내지 80 중량%를 포함하는 기능성 식품을 제공한다.
- [0030] 상기 기능성 식품은 다양한 형태로 제공될 수 있지만, 바람직하게는 음용 식초일 수 있으며, 상기 음용식초는 당류, 베리농축액, 비타민류, 유기산 및 향으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 또는 둘 이상의 성분을 더 포함할 수 있다.
- [0031] 이하, 하기 실시예를 통해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 다만, 이러한 실시예에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.
- [0032] <실시예 1> 녹각을 이용한 식초 조성물의 제조
- [0033] 1. 식초 조성물 제조
- [0034] 녹각 100 g, 물 2 L 및 사과식초 80 mL를 넣고 121℃에서 30분 동안 멸균한 후, 사과식초 2 L를 첨가하여 블렌딩하였다. 그 후 실온에서 2주간 정치시킨 후 8회 초음파 처리하였다. 그 후 반응물을 8,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 상등액을 준비하였다. 상기 원심분리 후 얻어진 녹각 고형분인 침전물에 식초 20 mL를 넣고, 3N HCl을 첨가하여 pH를 조정하였다. pH를 조정한 반응물에 펩신을 처리하고 37℃에서 1시간, 2시간 및 6시간

동안 각각 효소 처리하였다. 상기 효소 처리된 반응물에 주정을 1:1 중량비로 첨가하고 30℃에서 24시간 동안 처리하여 주정 녹각 추출액을 준비하였다. 상기 상등액에 상기 주정 녹각 추출액을 혼합하여 녹각을 이용한 식초 조성물을 제조하였다.

2. 단백질 함량

단백질 함량을 측정하기 위하여 염색시약을 이용하여 정량분석을 하였다. 발효물 추출액을 원심 분리하여 얻은 상등액 100 μ L에 염색시약 5 mL 첨가하여 실온에서 30분간 반응시켜 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 standard를 제조한 후 최종농도가 0, 200, 400, 600, 800 μ g/mL 용액이 되도록 조제하고 이를 일정량 취하여 위와 같은 방법으로 595 nm에서 흡광도를 측정하였다.

그 결과, 하기 표 1과 같이 pH 4.2의 경우 0시간 일 때 0.131로 나타났고 1시간 반응 했을 때 0.689로 가장 높은 것을 알 수 있었고 효소반응 시간이 늘어날수록 그 값이 감소하는 것을 알 수 있었다. pH 2.0의 경우 0시간 일 때 4.465로 나타났고 1시간 반응 했을 때 0.12로 감소하는 것을 알 수 있었다. 그리고 반응시간이 증가해도 값은 거의 변화가 없는 것을 알 수 있었다.

표 1

단백질 함량 (mg/mL)	Time (hour)				
	0		1	2	6
	열처리 0	열처리 ×			
pH 4.2	0.131±0.01	0.060±0.01	0.689±0.07	0.564±0.05	0.470±0.02
pH 2.0	4.465±0.09	0.754±0.03	0.120±0.01	0.107±0.07	0.151±0.00

3. 티로신 함량

티로신 함량을 측정하기 위하여 폴린(folin) 시약을 이용하여 측정하였다. 추출액을 원심분리(1,500 g, 20 min)하여 얻은 상등액 0.7 mL에 0.44 M TCA (trichloroacetic acid) 0.7 mL를 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 다음 1,500g에서 10분간 원심분리하여 침전물을 제거하였다. 회수된 상등액 1 mL에 0.55 M Na₂CO₃ 2.5 mL과 페놀 시약 0.5 mL를 첨가하고, 37℃에서 30분간 반응시켜 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

그 결과, 도 2와 같이 pH 4.2일 때 0시간, 1시간, 2시간 및 6시간으로 시간이 증가할수록 티로신 함량이 각각 42.2, 143.63, 165.38 및 213.88 mg%로 증가하였으며, pH 2.0일 때 각각 74.53, 177.07, 268.23 및 271.6 mg%로 나타났다. 따라서, pH 2.0으로 조정하였을 때 티로신 함량이 더 높은 것을 알 수 있었다.

4. 열처리 시간에 따른 효소반응을 통한 상태변화

녹각 고형분을 이용해서 펩신 효소 처리를 했을 때 pH 2.0으로 조정하면 색이 진한 색을 나타냈고, 반응을 하고 난 뒤 녹각 고형분이 반응을 해서 투명하게 바뀌는 것을 볼 수 있었다. 이때, 반응 시간이 지남에 따라 변화는 없는 것을 확인하였다.

<실시예 2> 녹각 식초 조성물을 이용한 젖산 발효물의 제조

1. 식초 조성물을 이용한 젖산 발효물의 제조

앞선 실시예 1에서 제조한 녹각을 이용한 식초 조성물에 물을 넣어 4배 희석하고, 상기 희석된 식초 조성물에 해조칼슘을 0.5 중량이 되도록 첨가하고 초기 pH를 4.5로 조정한 다음 글루코스 0-1 중량%, MSG 2 중량% 및 이스트 추출물 0-0.5 중량%가 되도록 첨가하였고, 그 후 젖산균 스타터(*Lactobacillus plantarum* K154, 1%)를 접종한 다음 30℃에서 7일 동안 발효시켜 젖산 발효물을 제조하였다.

2. 생균수

생균수는 발효물 1 g에 멸균수 9 mL을 첨가하여 10⁴, 10⁵, 10⁶배로 단계별로 희석하여 MRS broth agar 배지에 20 μ L 도말한 후, 25℃ 내지 30℃ 항온배양기에서 24시간 배양한 후의 생균수를 CFU (colony forming unit)/mL로 나타내었다.

그 결과, 하기 표 2와 같이 발효 1일째 7.9x10⁸ CFU/mL로 가장 높은 것을 알 수 있었고 발효 7일째 8.8x10⁷ CFU/mL로 발효 시간이 지남에 따라 생균수가 감소하는 것을 알 수 있었다.

표 2

생균수(CFU/mL)	발효 시간 (일)				
	0	1	3	5	7
	3.6×10^7	7.9×10^8	3.1×10^8	1.3×10^8	8.8×10^7

2. pH 및 산도 분석

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 젖산(lactic acid) 함량(% , v/w)으로 환산하였다.

그 결과를 도 3과 같이 녹각 식초 조성물을 물로 5배 희석했을 때 발효 0일째 pH 5로 나타났고 발효시간이 지남에 따라 약간 감소하는 경향을 보였고 거의 발효 7일째 pH 5로 거의 변화가 없는 것을 알 수 있었다. 산도의 경우 발효 0일째 0.6%에서 발효 7일째 0.5%로 증가하다가 감소하는 것을 알 수 있었다.

3. TLC를 이용한 GABA 함량 분석

TLC 전개는 사각 chamber (30x25x10 cm)에서 수행하고, 실리카겔 TLC 플레이트는 10x20 cm의 크기로 잘라서 사용하였다(도 8). MSG 분해 정도와 GABA 생성능 비교를 위한 standard로 MSG 0.25-1 중량%와 GABA 0.25-1 중량%를 사용하였다. 전개용매는 n-부탄올 : 빙초산 : 증류수 = 3:1:1의 비율로 혼합하여 실온에서 4시간 이상 포화시켰다. 각 시료는 TLC 플레이트의 끝에서 20 mm 되는 위치에 2 μ L를 점적하였고, 시료 간격은 13 mm를 유지하였다. 점적 후 TLC plate sample을 건조시킨 후 전개하고, 전개가 끝난 TLC plate는 50 $^{\circ}$ C dry oven에서 건조시켰다. 건조된 TLC plate에 발색시약 0.2% 닐히드린(ninhydrin)을 뿌리고, 100 $^{\circ}$ C 건조 오븐에서 5-10분 동안 발색시킨 후 GABA spot을 확인하였다.

그 결과, 도 4와 같이 발효 7일째 0.5%의 GABA spot을 확인할 수 있었고 MSG 또한 GABA로 전환되는 것을 알 수 있었다.

<실시예 3> 녹각 및 한약재 추출 발효물을 이용한 젖산 발효물의 제조

1. 녹각 및 한약재 추출 발효물을 이용한 젖산 발효물의 제조

물 1.5 L에 녹각 50 g을 넣고 90 $^{\circ}$ C에서 3일 동안 열수 추출하여 녹각 열수추출물을 준비하였다. 물 1.5 L에 녹각 50 g과 황기 또는 두충 10 g을 넣고 90 $^{\circ}$ C에서 3일 동안 열수추출하여 녹각 한약재 열수추출물을 준비하였다. 상기 각각의 열수추출물에 글루코스 1.5 중량%, MSG 1.5 중량% 및 이스트 추출물 0.5 중량%가 되도록 첨가하였고, 그 후 젖산균 스타터(*Lactobacillus plantarum*, 1%)를 접종한 다음 30 $^{\circ}$ C에서 7일 동안 발효시켜 젖산 발효물을 제조하였다.

2. 생균수

생균수는 발효물 1 g에 멸균수 9 mL을 첨가하여 10^4 , 10^5 , 10^6 배로 단계별로 희석하여 MRS broth agar 배지에 20 μ L 도말한 후, 25 $^{\circ}$ C 내지 30 $^{\circ}$ C 항온배양기에서 24시간 배양한 후의 생균수를 CFU (colony forming unit)/mL로 나타내었다.

그 결과, 하기 표 3과 같이 영양원(글루코스, 이스트 추출물)을 첨가하지 않은 대조군의 경우 발효 1일째 각각 4.7×10^8 , 1.5×10^7 , 9.5×10^8 CFU/mL로 녹각과 황기를 함께 추출한 조건에서 균수가 가장 낮은 것을 알 수 있었고, 발효 7일째 녹각을 제외한 나머지 조건에서는 균수가 급격히 감소하는 것을 알 수 있었다. 영양원을 첨가한 실험군의 경우 발효 1일째 균수가 모두 10^9 CFU/mL으로 유지하는 것을 알 수 있었고 발효 3일째까지 높은 균수가 유지되는 것을 알 수 있었다. 따라서, 영양원을 첨가한 조건에서 대조군보다 더 높은 균수를 유지하는 것을 알 수 있었다.

표 3

생균수(CFU/mL)	발효 시간 (일)				
	0	1	3	5	7

대조군 (영양원 무첨가)	녹각	3.6×10^7	4.7×10^8	3.0×10^8	1.7×10^8	1.3×10^8
	녹각+황기		1.5×10^7	8.0×10^6	3.7×10^6	2.4×10^6
	녹각+두충		9.5×10^8	1.1×10^8	8.8×10^7	8.3×10^7
실험군 (영양원 첨가)	녹각	3.6×10^7	1.8×10^9	2.0×10^9	3.1×10^9	3.8×10^8
	녹각+황기		2.3×10^9	3.2×10^9	3.7×10^8	3.6×10^8
	녹각+두충		1.6×10^9	1.5×10^9	4.6×10^8	2.6×10^8

[0064] 3. pH 및 산도 분석

[0065] 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 젖산(lactic acid) 함량(% , v/w)으로 환산하였다.

[0066] 그 결과를 도 5와 같이 영양원을 첨가하지 않은 녹각 젖산 발효물, 녹각+황기 젖산 발효물, 녹각+두충 젖산 발효물의 경우 발효 각각 0일째 pH 7.27, 7.32 및 7.13으로 나타났고 녹각에 황기를 첨가하여 추출한 젖산 발효물의 경우 가장 높았으며, 발효 7일째 각각 pH 5.41, 6.81 및 6.19로 녹각만 이용하여 추출한 발효물의 경우 가장 낮은 것을 알 수 있었고 발효 시간이 지남에 따라 pH는 감소하였다. 산도의 경우 발효 0일째 각각 0.03, 0.04, 0.03%로 세 가지 조건 모두 비슷한 것을 알 수 있었고 발효 7일째 각각 0.16, 0.03, 0.05%로 약간씩 증가하는 것을 알 수 있었고 거의 변화가 없는 것을 알 수 있었다.

[0067] 영양원을 첨가한 녹각 젖산 발효물, 녹각+황기 젖산 발효물, 녹각+두충 젖산 발효물의 경우 도 6과 같이 발효 각각 0일째 pH 6.17, 6.16, 6.13으로 나타났고 세 가지 모두 비슷하게 나타났다. 발효 7일째 각각 pH 4.48, 4.5, 4.48로 발효 시간이 지남에 따라 pH는 감소하였다. 산도의 경우 발효 0일째 각각 0.14, 0.15, 0.16%로 세 가지 조건 모두 비슷하였고 발효 7일째 각각 1.13, 0.93, 1.08%로 영양원을 첨가 했을 때 pH는 감소하고 산도는 증가하였다.

[0068] 4. TLC를 이용한 GABA 함량 분석

[0069] TLC 전개는 사각 chamber (30x25x10 cm)에서 수행하고, silica gel TLC plate는 10x20 cm의 크기로 잘라서 사용하였다(도 8). MSG 분해 정도와 GABA 생성능 비교를 위한 standard로 MSG 0.25-1%와 GABA 0.25-1%를 사용하였다. 전개용매는 n-부탄올 : 빙초산 : 증류수 = 3:1:1의 비율로 혼합하여 실온에서 4시간 이상 포화시켰다. 각 sample은 TLC plate의 끝에서 20 mm 되는 위치에 2 μ L를 점적하였고, sample 간격은 13 mm를 유지하였다. 점적 후 TLC plate sample을 건조시킨 후 전개하고, 전개가 끝난 TLC plate는 50℃ dry oven에서 건조시켰다. 건조 된 TLC plate에 발색시약 0.2% ninhydrin을 뿌리고, 100℃ dry oven에서 5-10분 동안 발색 시킨 후 GABA spot을 확인하였다.

[0070] 그 결과, 도 7과 같이 대조군에서는 세 가지 조건 모두 발효시간이 지남에 따라 MSG가 GABA로 전환되지 않고 MSG가 잔존하였으나, 실험군에서는 발효 3일째부터 GABA spot이 보이기 시작했고 발효 7일째 GABA 함량이 약 1%로 생성되는 것을 알 수 있었다.

[0071] 5. 총 폴리페놀 함량 측정

[0072] 총 폴리페놀 함량은 AOAC법에 의하여 측정하였다. 추출물을 농도별로 희석한 용액 60 μ L를 취하여 Folin 시약(원액을 2배 희석한 액) 60 μ L를 가하여 3분간 방치한 후, 10% Na₂CO₃ 용액 60 μ L를 가하여 반응시켜 반응액의 흡광도를 microplate reader (Epoch, Biotek Intstuments, Winooski, VT, USA)로 700nm에서 측정하였다. 표준곡선을 증류수로 gallis acid 0.1% (w/v)를 제조한 후 최종농도가 0, 20, 40, 60, 80, 100 μ g/mL 용액이 되도록 조제하고 이를 일정량 취하여 위와 같은 방법으로 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0073] 그 결과, 하기 표 4와 같이 총 폴리페놀 함량은 발효 전 녹각과 황기를 함께 추출한 발효물에서 3.1 mg/mL로 가장 높았으며 발효 7일째 녹각과 두충을 함께 추출한 발효물에서 3.39로 가장 높은 것을 알 수 있었다.

표 4

총 폴리페놀 함량(mg/mL)	발효 시간 (일)	
	0	7
녹각	3.07	2.73
녹각+황기	3.10	3.14
녹각+두충	2.90	3.39

6. 플라보노이드 함량 측정

시료 중의 총 플라보노이드 함량은 Nieva Moreno 등의 방법을 이용하여 측정하였다. 각 시료 추출물 0.1 mL와 80% ethanol 0.9 mL을 혼합한 후 혼합물의 0.5 mL에 10% ALUMINIUM NITRATE와 1M potassium acetate을 각각 0.1 mL 그리고 80% ethanol 4.3 mL을 가하여 실온에 40분 방치한 뒤 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선을 증류수로 quercetin 0.1% (w/v)를 제조한 후 최종농도가 0, 50, 100, 150, 200 µg/mL 용액이 되도록 조제하고 이를 일정량 취하여 위와 같은 방법으로 415 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

그 결과, 하기 표 5와 같이 플라보노이드 함량은 발효가 진행됨에 따라 모두 감소하였고, 발효 0일째 녹각에 황기 또는 두충을 첨가하여 추출했을 때 그 함량이 각각 21.36, 21.08 mg/mL로 높게 나타났다.

표 5

플라보노이드 함량 (mg/mL)	발효 시간 (일)	
	0	7
녹각	20.24	19.59
녹각+황기	21.36	17.38
녹각+두충	21.08	18.11

7. 관능평가

계명대학교 식품가공학과 교수님, 전공 학생 및 연구원 20명을 관능요원으로 선발하여 실시하였으며 색(color), 맛(taste), 향(flavor), 발효취 강도(fermented smell intensity), 물성(Texture), 전반적인 기호도(overall acceptability)에 대한 관능검사를 실시하였다.

그 결과, 표 6과 같이 색에 대한 기호도는 녹각과 황기 젖산 발효물, 녹각과 두충 젖산 발효물은 각각 4.57, 4.85로 나타났고, 녹각 젖산 발효물에서는 4.42로 나타나 기호도가 낮았다. 맛에서는 녹각 젖산 발효물은 3.85, 녹각과 황기 젖산 발효물은 4.71, 녹각과 두충 젖산 발효물에서는 4.85로 나타나 맛에서도 녹각과 두충 젖산 발효물보다 녹각 젖산 발효물이 기호도가 낮았다. 녹각의 특유의 비린 냄새가 녹각에 황기 또는 두충을 첨가한 젖산 발효물에서는 향이 많이 덜했기 때문에 기호도 차이가 난 것으로 판단된다.

향은 녹각 젖산 발효물 4.85, 녹각과 황기 젖산 발효물은 5.00, 녹각과 두충 젖산 발효물은 5.28로서 녹각과 두충 젖산 발효물의 기호도가 높았다. 발효취 강도는 녹각 젖산 발효물, 녹각과 황기 젖산 발효물이 각각 4.14, 4.42로 나타났고, 녹각과 두충 젖산 발효물은 4.71로 나타나 기호도가 높았다. 전반적인 기호도는 녹각 젖산 발효물은 3.42, 녹각과 황기 젖산 발효물은 3.71, 녹각과 두충 젖산 발효물은 3.85로 나타나 녹각과 두충 젖산 발효물의 기호도가 가장 높게 나타났다.

이러한 관능평가 결과를 색, 맛, 향, 발효취 강도, 전반적인 기호도를 통해 종합적으로 고려하면 녹각과 두충 젖산 발효물이 가장 높게 나타났다.

표 6

	녹각	녹각+황기	녹각+두충
색	4.42±1.13	4.57±0.97	4.85±1.06
맛	3.85±1.21	4.71±1.38	4.85±0.69
향	4.85±0.37	5.00±0.57	5.28±0.95
발효취 강도	4.14±1.21	4.42±1.13	4.71±0.75
전반적인 기호도	4.28±1.25	5.14±1.46	5.00±0.81

[0085] <실시예 4> 녹각 식초 조성물과 녹각 및 두충 추출 발효물을 블렌딩한 식품의 제조

[0086] 1. 녹각 식초 조성물과 녹각 및 두충 추출 발효물을 블렌딩한 식품의 제조

[0087] 칼슘과 단백질을 최대로 용출한 앞서 준비된 녹각 식초 조성물(I)과, 앞서 준비된 녹각과 두충을 이용한 추출 발효물(II)을 1:1의 중량비로 혼합하여 도 8과 같이 시제품을 제작하였으며, 시제품의 성능을 앞선 실험방법과 동일하게 수행한 결과 하기 표 7과 같다.

표 7

	칼슘 (mg%)	단백질 (mg%)	pH	산도 (%)	가바 (%)
I + II	414	42.03	3.9	6.3	0.9%

[0089] 2. 관능평가

[0090] 최종 혼합액과 혼합하지 않은 녹각 식초 조성물을 비교하여 관능평가를 실시하였다. 계명대학교 식품가공학과 교수님, 전공 학생 및 연구원 20명을 관능요원으로 선발하여 실시하였으며 색(color), 맛(taste), 향(flavor), 발효취 강도(fermented smell intensity), 물성(Texture), 전반적인 기호도(overall acceptability)에 대한 관능검사를 실시하였다.

[0091] 그 결과, 표 8과 같이 색에 대한 기호도는 최종 혼합액, 혼합하지 않은 녹각 식초 조성물에서 각각 4.42, 4.50으로 나타났다. 맛에서는 최종 혼합액은 4.85, 혼합하지 않은 녹각 식초 조성물은 4.21로 나타나 맛에서도 혼합하지 않은 녹각 식초 조성물보다 최종 혼합액이 기호도가 높았다. 녹각의 특유의 비린 냄새가 최종 혼합액에서는 향이 많이 덜했기 때문에 기호도 차이가 난 것으로 판단된다.

[0092] 향은 최종 혼합액 3.95, 혼합하지 않은 녹각 식초 조성물은 3.75로서 최종 혼합액의 기호도가 높았다. 발효취 강도는 최종 혼합액, 혼합하지 않은 녹각 식초조성물이 각각 3.70, 3.55로 나타났고 최종 혼합액이 기호도가 높았다. 전반적인 기호도는 최종 혼합액은 4.94, 혼합하지 않은 녹각 식초 조성물을 4.28로 나타나 최종 혼합액의 기호도가 가장 높게 나타났다.

[0093] 이러한 관능평가 결과를 색, 맛, 향, 발효취 강도, 전반적인 기호도를 통해 종합적으로 고려하면 최종 혼합액이 가장 높게 나타났다.

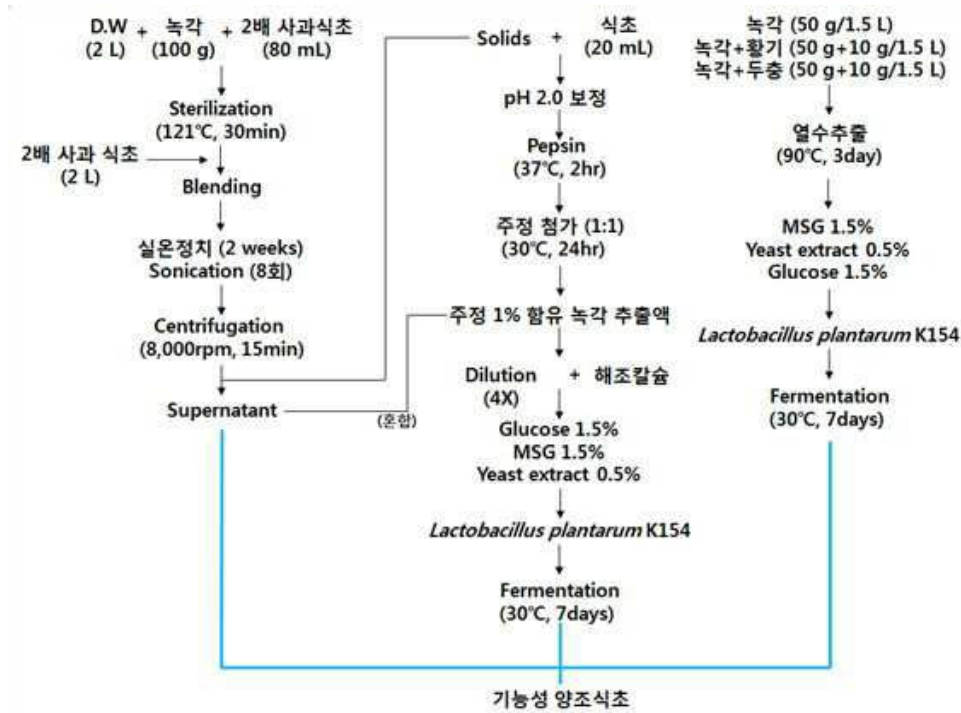
표 8

	녹각 식초 조성물(I)	최종 혼합액(I+II)
색	4.50±1.07	4.42±0.88
맛	4.21±1.11	4.85±1.27
향	3.75±0.35	3.95±0.43
발효취 강도	3.55±1.21	3.70±1.01
전반적인 기호도	4.28±1.17	4.94±1.21

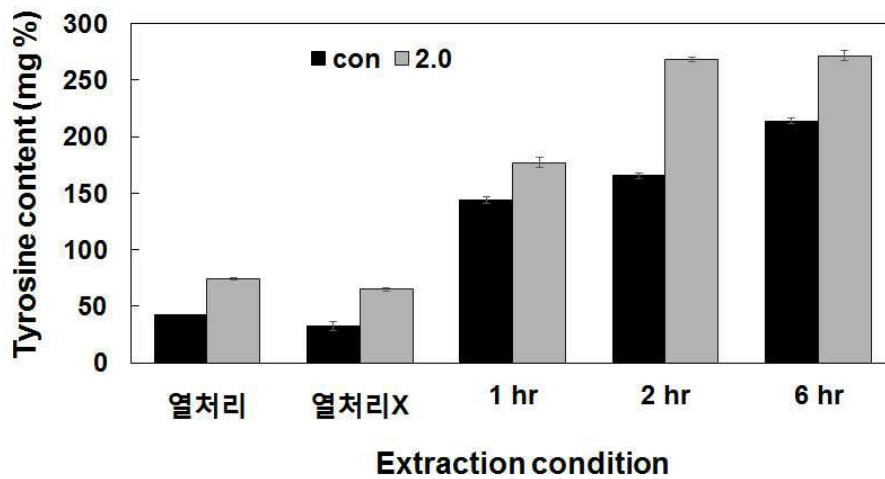
[0095] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

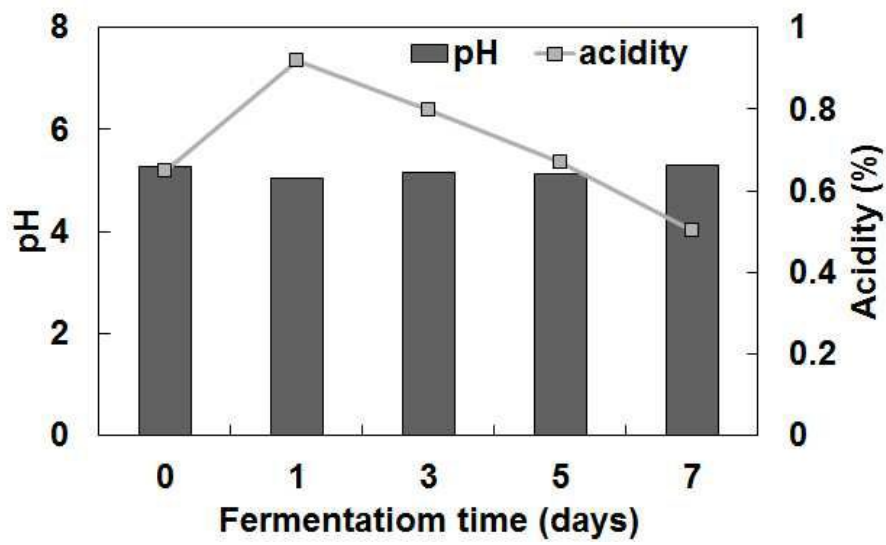
도면1



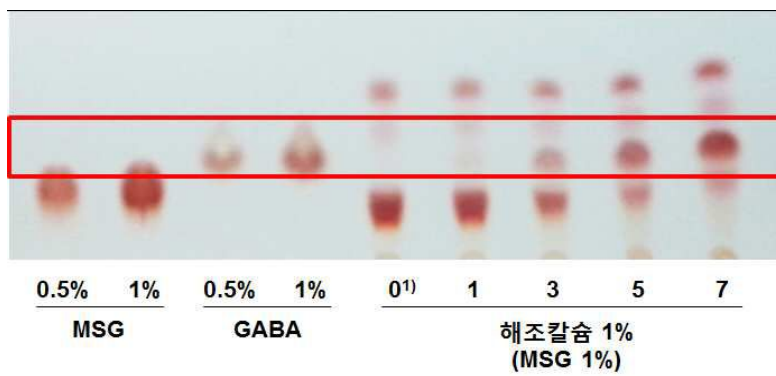
도면2



도면3

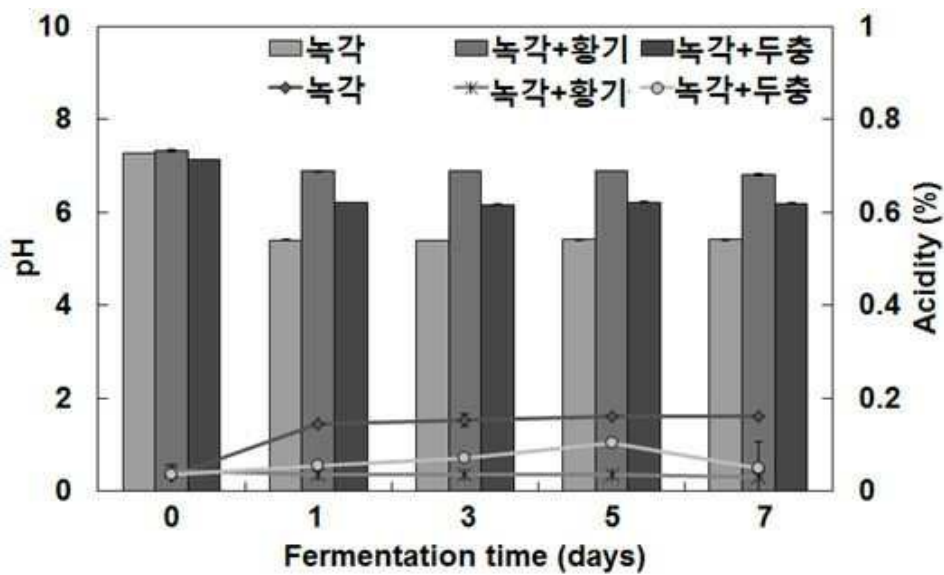


도면4

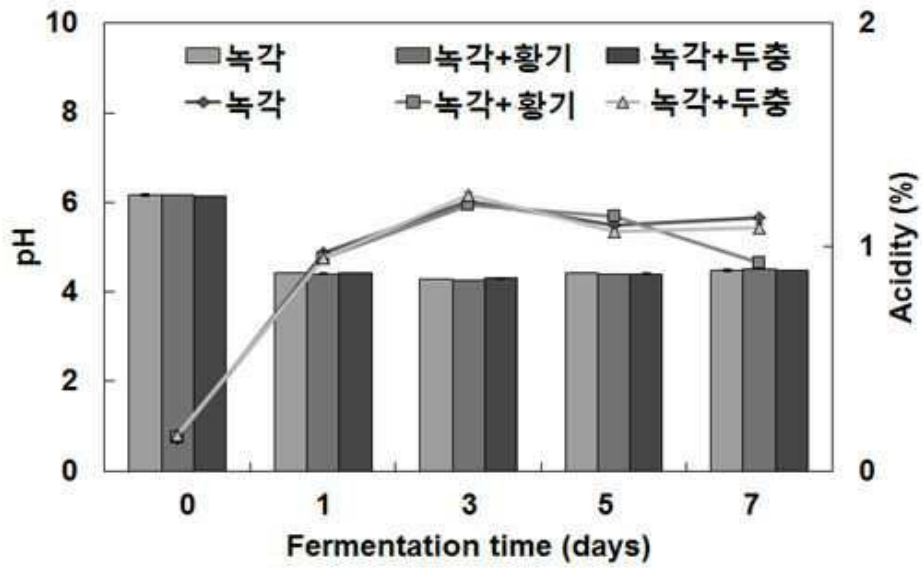


1) Fermentation time (days)

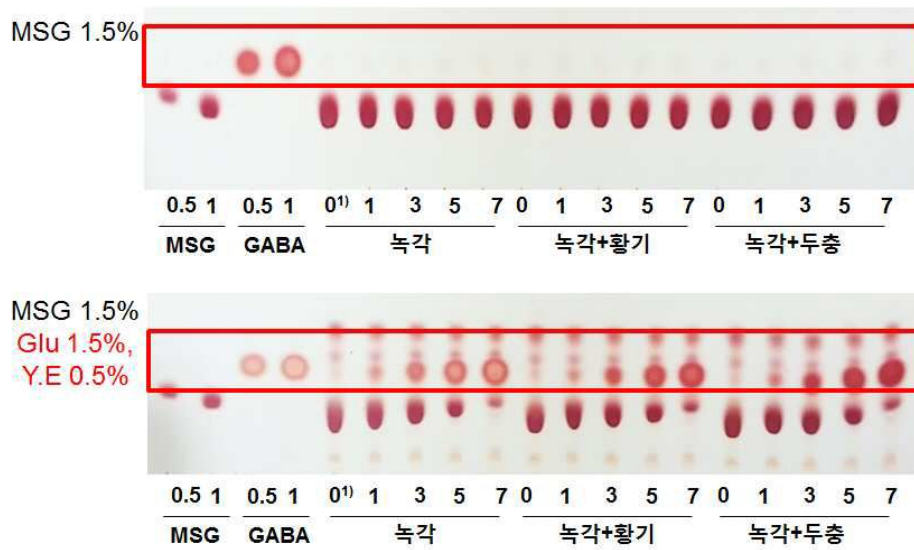
도면5



도면6



도면7



1) Fermentation time (days)

도면8

