



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0068710
(43) 공개일자 2018년06월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 27/00 (2016.01) A23L 27/10 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 27/88 (2016.08)
A23L 27/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0170663
(22) 출원일자 2016년12월14일
심사청구일자 2016년12월14일

(71) 출원인
창원대학교 산학협력단
경상남도 창원시 의창구 창원대학교 20(퇴촌동)
김현진
경남 창원시 의창구 반계로 104-8, 117동 502호
(팔용동, 원풍벽산아파트B단지)
(72) 발명자
차용준
경상남도 창원시 성산구 동산로 115, 105동 908호(상남동, 대동아파트)
왕문봉
경남 창원시 창원대학교 20 창원대학교 식품영양학과
(74) 대리인
김순웅

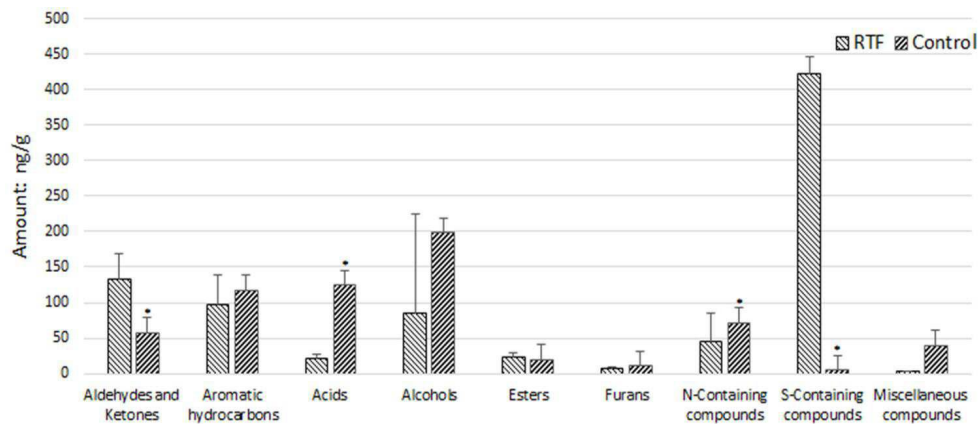
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 간장박 및 탈지대두박을 이용한 향미 개선 조미료 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 간장박 및 탈지대두박을 이용한 향미 개선 조미료 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명의 조미료 조성물 및 이의 제조방법에 따르면 간장 제조과정에서 버려지는 간장박과 탈지대두박을 재활용하므로 새로운 식량자원으로의 이용이 가능하고 제조원가를 절감시킬 수 있으며, 반응향을 적용하여 풍미가 우수한 조미료를 제조할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2250/06 (2013.01)

A23V 2250/60 (2013.01)

A23V 2300/28 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C0364364

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 한국산학연합회

연구사업명 산학협력 기술개발사업(연구마을)

연구과제명 간장박 부산물로부터 생물?반응향기기술을 적용한 고부가가치성 조미소재 개발

기 여 율 1/1

주관기관 창원대학교 산학협력단

연구기간 2015.12.01 ~ 2016.11.30

명세서

청구범위

청구항 1

간장박 가수분해물, 대두박 가수분해물, 아미노산 및 당을 포함하는, 조미료 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 가수분해물은 효소가수분해물인, 조미료 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 간장박 가수분해물은

(a) 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-50℃에서 2-3시간 동안 반응시키는 1차 가수분해단계; 및

(b) 프로타멕스(Protamex) 및 플라보르자임(Flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 1차 가수분해물에 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 2차 가수분해 단계;

에 의해 제조되는 것인, 조미료 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 대두박 가수분해물은

(a) 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시키는 1차 가수분해단계; 및

(b) 1차 가수분해물에 0.4%(v/v) 플라보르자임을 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 대두박 가수분해물을 얻는 2차 가수분해단계;

에 의해 제조되는 것인, 조미료 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 아미노산은 글루타민산, 아르기닌, 메티오닌, 및 글리신인, 조미료 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 당은 과당인, 조미료 조성물.

청구항 7

(a) 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-55℃에서 2-3시간 동안 반응시킨 후 프로타멕스(protamex) 및 플라보르자임(flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 단계; 및

(b) 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시킨 후

0.4%(v/v) 플라보르자임을 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 탈지대두박 가수분해물을 얻는 단계;

를 포함하는, 조미료용 간장박 가수분해물 및 탈지대두박 가수분해물의 제조방법.

청구항 8

(a) 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-55℃에서 2-3시간 동안 반응시킨 후 프로타멕스(protamex) 및 플라보르자임(flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 단계; 및

(b) 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시킨 후 0.4%(v/v) 플라보르자임을 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 탈지대두박 가수분해물을 얻는 단계; 및

(c) 상기 간장박 가수분해물과 탈지대두박 가수분해물을 1:1(v/v)로 혼합하는 단계;

를 포함하는, 조미료 조성물의 제조방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

(d) 상기 간장박 가수분해물 및 탈지대두박 가수분해물의 혼합물 100mL에 0.3-0.5%(w/v) 글루타민산 및 0.5%(w/v)과당을 첨가하는 단계; 및

(e) 상기 (d)로부터 얻은 산물에 100mL당 0.6-0.8%(w/v) 아르기닌 0.3-0.5%(w/v) 메티오닌, 및 0.8-0.9%(w/v) 글리신을 첨가하여 90-95℃에서 100-150분 동안 반응시키는 단계;를 더 포함하는, 조미료 조성물의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 간장박 및 탈지대두박을 이용한 향미 개선 조미료 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 장류에 속하는 간장은 고추장, 된장과 함께 대한민국을 대표하는 발효식품으로 오랜 역사 속에서 발전해 왔으며, 한국인의 식단에서 큰 비중을 차지하고 있다. 특히 다른 반찬류의 맛을 좌우하는 양념으로도 광범위하게 쓰이는 한국적인 맛의 기본이 된다고 할 수 있다.

[0004] 2012년 조사자료(닐슨컴퍼니코리아)에 의하면, 급격한 도시화로 인하여 장을 담가서 먹는 가정의 비율이 현저하게 줄어들게 되었고, 국민들의 79%정도가 가까운 슈퍼마켓이나 마트에서 다양한 종류의 장을 구입한다. 장류의 특성상 발효기간이 전문화된 노하우 설비 없이는 일정한 맛을 구현해내기 힘들기 때문에, 전문인력과 대형설비를 통하여 생산되는 공업화 장류가 필요하다. 특히 미래 식품시장의 동향 및 소비자 트렌드를 겨냥한 신제품이나 기능성을 부여한 차세대 제품개발에 대한 투자가 요구되고 있다.

[0005] 한편, 현재 우리나라의 간장류의 품질을 규정하는 식품공전(식품의약품안전처)의 기준규격을 살펴보면, 발효 또는 중화가 끝난 간장원액은 여과하여 간장박(soy sauce residue) 등을 제거하여야 한다고 규정하고 있다. 국내 장류공장에서 적절한 처리방법이 없으므로, 상기와 같은 식품공전 규격에 따라 제거되는 간장박의 생산량을 단순 계산한다면, 미 이용되는 간장박은 대략 8,000톤 정도가 된다. 따라서 천연발효를 통하여 생성된 간장박이 고부가가치화상품으로 재탄생된다면 간장 가격의 원가절감, 자원 재활용을 통한 식품바이오산업의 연구활성화 기여와 가공 부산물의 재활용이 가능하여 환경적인 측면에서도 매우 유용할 것으로 기대된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 이에 본 발명자들은 간장의 제조공정에서 얻어지는 부산물인 간장박과 탈지대두박을 이용하여 좋은 향미를 갖는 조미료 조성물을 제조할 수 있는 최적의 조건을 발견하고 본 발명을 완성하였다.
- [0008] 따라서 본 발명의 목적은 간장박 가수분해물, 대두박 가수분해물, 아미노산 및 당을 포함하는, 조미료 조성물을 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 또 다른 목적은 (a) 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-55℃에서 2-3시간 동안 반응시킨 후 프로타멕스(Protamex) 및 플라보르자임(Flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 단계; 및 (b) 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시킨 후 0.4%(v/v) 플라보르자임을 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 탈지대두박 가수분해물을 얻는 단계;를 포함하는, 조미료용 간장박 가수분해물 및 탈지대두박 가수분해물의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 목적은 (a) 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-55℃에서 2-3시간 동안 반응시킨 후 프로타멕스(Protamex) 및 플라보르자임(Flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 단계; 및 (b) 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시킨 후 0.4%(v/v) 플라보르자임을 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 탈지대두박 가수분해물을 얻는 단계; 및 (c) 상기 간장박 가수분해물과 대두박 가수분해물을 1:1(v/v)로 혼합하는 단계;를 포함하는, 조미료 조성물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0012] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 간장박 가수분해물, 대두박 가수분해물, 아미노산 및 당을 포함하는, 조미료 조성물을 제공한다.
- [0013] 또한, 본 발명은 (a) 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-55℃에서 2-3시간 동안 반응시킨 후 프로타멕스(protamex) 및 플라보르자임(flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 단계; 및 (b) 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시킨 후 0.4%(v/v) 플라보르자임을 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 탈지대두박 가수분해물을 얻는 단계;를 포함하는, 조미료용 간장박 가수분해물 및 탈지대두박 가수분해물의 제조방법을 제공한다.
- [0014] 또한, 본 발명은 (a) 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-55℃에서 2-3시간 동안 반응시킨 후 프로타멕스(Protamex) 및 플라보르자임(Flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 단계; 및 (b) 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시킨 후 0.4%(v/v) 플라보르자임을 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 탈지대두박 가수분해물을 얻는 단계; 및 (c) 상기 간장박 가수분해물과 대두박 가수분해물을 1:1(v/v)로 혼합하는 단계;를 포함하는, 조미료 조성물의 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0016] 본 발명의 조미료 조성물 및 이의 제조방법에 따르면 간장 제조과정에서 버려지는 간장박과 탈지대두박을 재활용하므로 새로운 식량자원으로의 이용이 가능하고 제조원가를 절감시킬 수 있으며, 반응향을 적용하여 풍미가 우수한 조미료를 제조할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0018] 도 1은 탈지대두박에 Protamex[®]을 1, 2, 3, 4, 5시간 동안 처리한 경우의 가수분해율을 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 2는 간장박에 단백질분해효소의 다양한 조합을 처리한 경우의 가수분해율을 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3은 관능검사(향)에 영향을 미치는 두 독립변수간의 반응표면분석도를 나타낸 도이다.
- 도 4는 관능검사(맛)에 영향을 미치는 두 독립변수간의 반응표면분석도를 나타낸 도이다.
- 도 5는 반응향을 적용시킨 조미료와 반응향을 적용시키지 않은 대조구 사이의 휘발성 향기성분을 분석한 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0020] 본 발명은 간장박 가수분해물, 대두박 가수분해물, 아미노산 및 당을 포함하는, 조미료 조성물을 제공한다.
- [0021] 본 발명에서는 간장제조공정에서 발생하는 간장박 효소가수분해물에 일정량의 탈지대두박 효소가수분해물을 혼합함으로써 간장박 가수분해물의 부족한 총질소 함량을 높이고 반응향을 적용하여 식품소재용 풍미가 높은 조미료 조성물을 제조하고자 하였다. 이를 위하여 먼저 상업용 단백질분해효소를 이용하여 탈지대두박에 대한 최적 조건의 단백질분해효소를 선정하고 이의 반응조건을 결정하고, 둘째로는 간장박 효소가수분해물과 탈지대두박 효소가수분해물의 최적 배합비를 관능검사로 결정하였다. 셋째로는 간장박 및 탈지대두 효소가수분해물을 기질로 하여 여기에 반응향을 유도하기 위하여 본 발명에 알맞은 아미노산류 및 당을 선정하고 나서, 반응표면분석법을 통하여 최적의 첨가량 및 조건을 결정하였다. 넷째로 이렇게 얻어진 반응향 유도 조미료와 대조구의 휘발성 향기성분을 분석 비교함으로써 실제 반응의 효과를 검증하였다.
- [0022] 본 발명에서, 용어 “간장박(soy sauce residue)”은 콩을 원료로 하는 간장을 제조하는 과정에서 발생하는 부산물을 지칭하는 것으로, 보통 가축의 사료로 많이 사용된다.
- [0023] 본 발명에서, 용어 “간장박 가수분해물”은 간장박이 물의 개입에 의해 분해되어 생성된 산물을 지칭한다. 바람직하게는 단백질분해효소에 의해 가수분해된 산물인 간장박 효소가수분해물을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명에서, 용어 “탈지대두박(defatted soybean meal)”은 둥근 대두를 압편하여 대두유를 추출하고 남은 것을 지칭하는 것으로, 단백질 함량이 높은 특징을 갖는다.
- [0025] 본 발명에서, 용어 “탈지대두박 가수분해물”은 탈지대두박이 물의 개입에 의해 분해되어 생성된 산물을 지칭한다. 바람직하게는 단백질분해효소에 의해 가수분해된 산물인 간장박 효소가수분해물을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0026] 상기 간장박 가수분해물은 (a) 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-50℃에서 2-3시간 동안 반응시키는 1차 가수분해단계; 및 (b) 프로타멕스(Protamex) 및 플라보르자임(Flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 1차 가수분해물에 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 2차 가수분해 단계;에 의해 제조되는 것을 특징으로 한다.
- [0027] 이하, 간장박 가수분해물의 제조 단계에 대해 구체적으로 설명한다.
- [0028] (a) 단계는 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-50℃에서 2-3시간 동안 반응시키는 1차 가수분해단계이다.
- [0029] 간장박 용액은 조단백질 함량과 아미노질소 함량이 매우 높고 염도가 높아 조미료에 사용하기 적합한 것을 특징으로 한다. 본 발명에서는 간장박 용액에 단백질분해효소인 알칼라아제를 첨가하여 pH 7, 50℃에서 2시간 동안 1차 가수분해반응을 수행하였다. 상기 조건에서 가수분해반응을 수행하는 경우, 다른 조건에서 수행하는 경우보다 간장박의 가수분해율이 증가되는 효과가 있다.
- [0030] (b) 단계는 프로타멕스(Protamex) 및 플라보르자임(Flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 1차 가수분해물에 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 2차 가수분해 단계이다.

- [0031] 본 발명에서, 용어 “간장박 효소가수분해물”은 간장박 용액에 효소, 바람직하게는 단백질분해효소를 처리하여 얻은 가수분해산물을 의미한다.
- [0032] 본 발명에서, 용어 “탈지대두박 효소가수분해물”은 탈지대두박 용액에 효소, 바람직하게는 단백질분해효소를 처리하여 얻은 가수분해산물을 의미한다.
- [0033] 간장박 용액에 알칼라아제를 첨가하여 1차 가수분해반응을 수행한 후 프로타멕스 및 플라보르자임의 혼합물을 첨가하여 2차 가수분해반응을 수행하는 경우, 간장박의 가수분해율이 유의적으로 증가하고 쓴 맛이 감소될 수 있다.
- [0034] 상기 프로타멕스 및 플라보르자임의 혼합물은 0.4%(v/v) 내지 0.5%(v/v) 농도로, 바람직하게는 0.4%(v/v) 농도로 첨가하여, 3-5시간 동안 반응시키는 것이 바람직하다.
- [0035] 상기 (a) 및 (b) 단계를 통해 제조한 간장박 효소가수분해물은 수분 함량이 높아 총질소량이 상대적으로 낮으므로, 상기 간장박 효소가수분해물에 탈지대두박 효소가수분해물을 처리함으로써 단백질 및 아미노산의 함량을 증대시킬 수 있다.
- [0036] 상기 대두박 가수분해물은 (a) 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시키는 1차 가수분해단계; 및 (b) 1차 가수분해물에 0.4%(v/v) 플라보르자임을 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 대두박 가수분해물을 얻는 2차 가수분해단계;에 의해 제조되는 것을 특징으로 한다.
- [0037] 이하, 탈지대두박 가수분해물의 제조 단계에 대해 구체적으로 설명한다.
- [0038] (a) 단계는 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시키는 1차 가수분해단계이다.
- [0039] 본 발명에서는 탈지대두박 용액에 단백질분해효소인 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 50℃에서 4시간 동안 1차 가수분해반응을 수행하였다. 상기 조건에서 가수분해반응을 수행하는 경우, 다른 조건에서 수행하는 경우보다 탈지대두박의 가수분해율이 증가되는 효과가 있다.
- [0040] (b) 단계는 0.4%(v/v) 플라보르자임을 1차 가수분해물에 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 대두박 가수분해물을 얻는 2차 가수분해단계이다.
- [0042] 간장박 효소가수분해물:탈지대두박 효소가수분해물의 비율은 3:7(v/v), 4:6(v/v), 1:1(v/v), 66:4(v/v) 또는 7:3(v/v)이나, 바람직하게는 1:1(v/v)이다. 간장박 효소가수분해물과 탈지대두박 효소가수분해물을 동일 부피비로 혼합하는 경우, 향과 맛이 관능 평가에서 유의적으로 우수함을 확인하였다.
- [0043] 본 발명에서, 상기 아미노산은 글루타민산, 아르기닌, 메티오닌, 및 글리신일 수 있고, 상기 아미노산을 동시에 또는 순차적으로 첨가할 수 있다.
- [0044] 본 발명에서, 상기 당은 과당일 수 있고, 상기 아미노산과 동시에 또는 따로 첨가될 수 있다.
- [0045] 본 발명의 조미료 조성물의 제형은 크게 제한되지 않으며, 제조하고자 하는 조미료의 용도에 따라 분말상, 액상, 고상 등의 제형으로 모두 사용될 수 있다.
- [0046] 본 발명의 조미료 조성물은 아미노산 및 펩티드 함량이 높으며 향미가 우수한 특징이 있으므로, 화학조미료를 전혀 사용하지 않고도 맛과 향, 영양적인 면이 우수하여 가정 또는 외식 사업에서 다양한 요리에 사용할 수 있다.
- [0048] 또한, 본 발명은 (a) 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-55℃에서 2-3시간 동안 반응시킨 후 프로타멕스(Protamex) 및 플라보르자임(Flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 단계; 및 (b) 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시킨 후 0.4%(v/v) 플라보르자임을 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 탈지대두박 가수분해물을 얻는 단계;를 포함하는, 조미료용 간장박 가수분해물 및 탈지대두박 가수분해물의 제조방법을 제공한다.

- [0049] 간장박 가수분해물 및 대두박 가수분해물에 대한 구체적인 설명은 상기와 같으며, 중복 기재를 피하기 위하여 생략한다.
- [0051] 또한, 본 발명은 (a) 간장박 용액에 0.4%(v/v) 알칼라아제(Acalase)를 첨가하여 pH 7-8, 45-55℃에서 2-3시간 동안 반응시킨 후 프로타멕스(Protamex) 및 플라보르자임(Flavorzyme)이 1:1(w/w)로 혼합된 혼합물을 0.3-0.5%(w/v)로 첨가하여 3-5시간 동안 반응시켜 간장박 가수분해물을 얻는 단계; 및 (b) 탈지대두박 용액에 0.4%(v/v) 프로타멕스를 첨가하여 pH 5.5-6.5, 45-55℃에서 3-5시간 동안 반응시킨 후 0.4%(v/v) 플라보르자임을 첨가하여 pH 5.0-6.5, 45-55℃에서 4-5시간 동안 반응시켜 탈지대두박 가수분해물을 얻는 단계; 및 (c) 상기 간장박 가수분해물과 탈지대두박 가수분해물을 1:1(v/v)로 혼합하는 단계;를 포함하는, 조미료 조성물의 제조방법을 제공한다. 상기 “포함하는”의 의미는 본 발명의 제조방법이 상기 (a) 단계와 (b) 단계를 동시에 또는 순차적으로 포함할 수 있음을 의미한다.
- [0052] 간장박 가수분해물 및 대두박 가수분해물에 대한 구체적인 설명은 상기와 같으며, 중복 기재를 피하기 위하여 생략한다. 상기 (a), (b), (c) 단계는 동시에 또는 순차로 포함될 수 있다. 즉, 상기 단계의 순서는 무관하게 본 발명에 포함될 수 있다.
- [0053] 본 발명의 조미료 조성물의 제조방법은 (d) 상기 간장박 가수분해물 및 탈지대두박 가수분해물의 혼합물 100mL에 0.3-0.5%(w/v) 글루타민산 및 0.5%(w/v)과당을 첨가하는 단계; 및 (e) 상기 (d)로부터 얻은 산물에 100mL당 0.6-0.8%(w/v) 아르기닌 0.3-0.5%(w/v) 메티오닌, 및 0.8-0.9%(w/v) 글리신을 첨가하여 90-95℃에서 100-150분 동안 반응시키는 단계;를 더 포함할 수 있다.
- [0054] 간장박 가수분해물에 글루타민산과 과당을 첨가함으로써 부족한 펩티드와 아미노산을 보충할 수 있다. 또한, 간장박 가수분해물에 아르기닌, 메티오닌, 글리신을 첨가함으로써 반응향 기술이 적용되어 좋은 향미를 갖는 조미료를 제조할 수 있다.
- [0056] 본 명세서에서 달리 정의되지 않은 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것이다.
- [0058] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0060] **실시예 1: 간장박 및 탈지대두박 분석**

[0061] 간장박과 탈지대두박은 창녕군소재의 성심마스타푸드로부터 제공받았고, 간장박 및 탈지대두박의 성분 분석은 식품공전의 간장 분석법에 따랐다.

[0062] 구체적으로, 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 Semi micro-Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법, 조회분은 건식회화법으로 분석하였다. 총 질소함량은 조단백질을 6.25로 나눠서 계산하였으며, 아미노질소는 Formol법으로 분석하였다. 또한, 간장박과 탈지대두박의 pH 및 염도를 측정하기 위해서, 분쇄한 간장박 또는 탈지대두박 5g을 증류수 30mL에 넣어 10분간 잘 교반한 다음, 여과한 여액을 취하여 pH meter (Corning Pinacle 530, USA)로 pH를 측정하고, 염도계(YM-30D, Takemura Electric Work, Japan)로 염도를 측정하였다. 간장박과 탈지대두박의 성분 측정 결과를 표 1 및 표 2에 나타내었다.

표 1

[0063]

시료	수분(g/100g)	조단백질(g/100g)	조지방(g/100g)	조회분(g/100g)
간장박	32.19±0.91	23.09±0.19	7.68±0.08	8.85±0.04
탈지대두박	6.95±0.00	51.58±0.88	1.35±0.12	6.12±0.03

[0064] (평균값±표준편차(n=3))

표 2

시료	총질소 (g%)	아미노질소 (mg%)	pH	염도 (%)
간장박	3.69±0.03	788.00±18.17	4.51±0.01	10.00±0.00
탈지대두박	8.25±0.14	198.83±1.60	6.33±0.02	2.67±0.23

[0067] (평균값±표준편차(n=3))

[0069] 상기 표 1 및 2에 나타난 바와 같이, 간장박과 탈지대두박 내 조단백질 함량이 매우 높고, 정미에 관여하는 아미노질소의 함량도 매우 높은 것을 확인하였다. 간장 제조공정에서 압착과정을 통하여 얻어지는 간장박의 특성상 염도가 매우 높으므로, 이를 조미료의 소재로 활용하는 것이 효과적임을 확인하였다. 또한 단백질 함량이 매우 높은 탈지대두박 가수분해물과 간장박 가수분해물을 복합적으로 사용할 경우 상호 부족한 단백질 및 펩티드를 보완할 수 있을 것으로 예상하였다.

[0071] 실시예 2: 간장박 효소가수분해물의 제조

[0072] 간장박 효소가수분해물을 제조하기 위해서, 3종의 상업용 단백질가수분해효소(Novozymes, Denmark)인 Alcalase[®], Protamex[®], Flavourzyme[®]를 이용하였다. 예비실험을 통하여 분쇄한 간장박 용액(간장박 15g/증류수 200 mL)에 0.4%(v/v) 농도의 Alcalase 2.4L를 첨가하여 pH 7.0, 50℃에서 2시간 반응시킨 다음, Protamex[®]와 Flavourzyme[®] 500 MG을 혼합한 효소(1:1(w/w) 비율)를 1차 가수분해물에 0.4%(w/v)로 첨가하여 4시간동안 가수분해시키는 경우 가수분해율이 우수함을 확인하였다.

[0073] 이후, 반응표면분석법을 통하여 보다 효율적인 가수분해조건을 분석한 결과, 간장박을 증류수에 8.79%(w/v)로 첨가한 기질에 Alcalase[®] 2.4L를 0.4%(v/v)로 첨가한 후 pH 7.0, 50℃에서 2시간 동안 1차 가수분해반응시킨 다음, 2차 가수분해반응으로 혼합효소(Flavourzyme[®] 500 MG과 Protamex[®]를 1:1 비율(w/w)로 혼합)를 기질에 대하여 0.43 %(w/v)로 첨가하여 4.43시간 동안 분해시켜 간장박 효소가수분해물을 얻는 것이 효과적임을 확인하였다.

[0075] 실시예 3: 탈지대두박의 가수분해를 위한 최적의 효소 및 최적의 가수분해 조건 확립

[0076] 탈지대두박의 가수분해를 위한 최적의 효소 및 최적의 가수분해 조건을 확립하기 위해서, 단백질의 가수분해도를 측정하였다.

[0077] 구체적으로, 이중자켓으로 된 반응조(500 mL, 자체제작)에 탈지대두박을 10% (w/v)농도로 첨가하고 각 단백질분해효소를 첨가하면서 교반 반응시켰다. 반응시 각 단백질분해효소의 조건에 맞도록 pH, 온도 및 반응시간을 조정하였다. 단백질분해효소는 Novozymes (Denmark)의 한국지사로부터 Flavourzyme 500 MG, Alcalase 2.4 L 및 Protamex의 3종을 제공받아 사용하였다.

[0078] Alcalase은 *B. licheniformis* 균주로부터 유래된 엔도펩티다아제(endopeptidase)이며, 최적 활성 온도는 60℃, 최적 활성 pH는 6.5-8.5이다. Protamex는 *Bacillus* sp.로부터 유래된 엔도펩티다아제이고 최적 활성 온도는 35-60℃, pH는 5.5-7.5로서, Alcalase[®]에 비해 약산성에서 중성까지의 pH 활성대를 가지므로, 탈지대두박 및 간장박의 pH와 비슷하여 pH를 조정할 필요가 없는 점이 장점이다. 또한 Protamex[®]의 가수분해물의 맛이 Alcalase[®]를 처리한 경우보다 덜고 쓴맛이 훨씬 적었다. 가수분해 실험 결과, 동일 농도의 효소를 처리하였을 경우 가수분해율은 거의 차이가 없었다(반응시간 4-5시간에서 8.85-9.35%의 가수분해율). 따라서 Protamex[®]를 탈지대두박의 1차 가수분해효소로 선정하였다.

[0079] 2차 가수분해의 최적 조건을 확립하기 위하여, 2차 가수분해효소로 Flavourzyme® 500 MG를 첨가한 후 반응시간에 따른 가수분해율을 측정하였다.

[0080] 단백질 가수분해도의 정도는 아미노질소 함량(Formol법)을 통해 분석하였으며, 이러한 아미노질소 함량을 상대적으로 비교분석하기 위하여 단백질 가수분해율로 환산하여, 다음의 식(김 등, 2002)에 의하여 계산하였다.

[0081] 가수분해율 (%) = $(N_H - N_S) / (N_T - N_S) \times 100$

[0082] 여기서, N_T : 탈지대두박(기질)의 총질소량(mg%), N_H : 가수분해물의 아미노질소 함량(mg%), N_S : 가수분해 전 기질의 아미노질소 함량(mg%).

[0083] 시간에 따른 탈지대두박의 가수분해율 측정 결과를 도 1에 나타내었다.

[0084] 도 1에 나타낸 바와 같이, 단백질분해효소를 단독으로 사용하는 것보다 Protamex로 가수분해한 후에 Flavourzyme® 500 MG를 추가적으로 첨가하여 2단계 가수분해시키는 경우, 분해율이 매우 낮은 탈지대두박의 가수분해율이 시간의 증가에 따라 증가하여 15-18%의 우수한 분해율을 나타내는 것을 확인하였다.

[0085] 또한 10% 탈지대두박, 0.4%(v/v) Protamex®를 첨가하고 pH 6.5, 50℃에서 1차 가수분해시킨 다음 0.4%(v/v) Flavourzyme® 500 MG를 첨가하여 다음과 같은 조건에서 가수분해율을 확인한 결과를 도 2에 나타내었다.

[0086] 1. 반응온도: 40℃ 또는 50℃, Protamex® 4 시간 반응

[0087] 2. 반응온도: 40℃ 또는 50℃, Protamex® 4 시간 + Flavourzyme® 500MG 4 시간 반응

[0088] 3. 반응온도: 40℃ 또는 50℃, Protamex® 4 시간 + Flavourzyme® 500MG 5 시간 반응

[0089] 도 2에 나타낸 바와 같이, 40℃ 보다는 50℃에서의 가수분해율이 높았으며, 4시간 보다는 5시간에서 18.14%로 유의하게 분해율이 높았다($P < 0.05$). 또한 1차 가수분해만 수행하는 것 보다는 2차 가수분해를 수행하는 경우 가수분해율이 증가함을 확인하였다.

[0090] 따라서, 증자 및 건조한 다음 분쇄한 10%(w/v) 탈지대두박(수분 함량 6.95%) 용액에 0.4%(v/v) 농도의 Protamex®를 첨가하여 pH 6.5, 50℃에서 4시간 반응시킨 다음, Flavourzyme® 500 MG를 0.4%(w/v) 농도로 첨가하여 pH 6.5, 50℃에서 5시간동안 가수분해시키는 것이 최적의 조건임을 확인하였다.

[0092] 실시예 4: 간장박 효소가수분해물과 탈지대두박 효소가수분해물의 최적 배합비 결정

[0093] 4.1 간장박 효소가수분해물의 성분 분석

[0094] 상기 실시예 1의 방법으로 간장박 효소가수분해물의 일반성분을 분석한 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

시료	수분 (g/100g)	조단백질 (g/100g)	조지방 (g/100g)	조회분 (g/100g)	아미노질소 (mg/100g)	염도 (g/100g)
간장박	32.91±0.35	23.09±0.19	7.68±0.08	8.85±0.04	788.00±18.17	10.00±0.00
간장박 효소가수분해물	96.94±0.02	0.50±0.29	0.23±0.07	0.91±0.06	88.37±0.49	0.97±0.01
탈지대두박	6.95±0.00	51.58±0.88	1.35±0.12	6.12±0.03	198.83±1.60	2.67±0.23

[0096] (평균값±표준편차(n=3))

[0098] 표 3에 나타낸 바와 같이, 간장박 효소가수분해물의 아미노질소 ?t량이 건물량 기준으로 2,887.9 mg%로 간장박의 1,174.5mg%에 비해 2.46배 정도 높음을 확인하였다. 다만 간장박 효소가수분해물은 수분 함량이 높아 총질소량이 상대적으로 낮으므로 조미료에 사용하기에는 불충분하였다. 따라서 수분 함량을 줄이고 단백질(또는 펩티

드) 및 아미노산의 함량을 증대시키기 위해 탈지대두박 효소가수분해물을 첨가하였다.

[0100] 4.2 간장박 효소가수분해물과 탈지대두박 효소가수분해물의 최적 배합비 결정

[0101] 간장박 효소가수분해물에 대한 탈지대두박 효소가수분해물의 최적 배합비율을 결정하기 위해서, 관능검사를 수행하였다.

[0102] 관능검사 시험은 구체적으로, 창원대학교 생명윤리위원회에서 본 발명의 연구를 위해 사전승인(IRB승인번호: 104027-201607-HR-016)을 받은 후에 실시하였다. 먼저, 기호도 검사는 창원대학교 교직원 및 학생 30명을 대상으로 제공된 시료에 대하여 설문지에 향(odor), 맛(taste) 및 색(color)에 대하여 9점 평점법으로 평가하였다. 1점은 아주 좋지 않다, 5점은 보통이다, 9점은 아주 좋다고 표현하였다. 제공된 시료를 보고, 냄새를 맡고 또 0.1-0.5mL 이내로 맛을 보고 뱉어낸 다음, 제공된 미지근한 식음수로 입안을 행구어 내고서 제공된 설문지에 향미 강도(9점평점법)를 표현하였다. 묘사분석(QDA)에서는 식품품질평가에 기본적인 지식을 가진 창원대학교 식품영양학과 대학원 및 학부생으로 6개월간 간장 및 소스류에 대한 훈련을 한 사람 10명을 대상으로, 제공된 시료에 대하여 기호도 검사와 마찬가지로 냄새(odor)와 맛(taste)에 대하여 특징적인 향미(flavor) 프로파일(profile)을 작성하고, 각 프로파일에 대하여 9점 평점법으로 평가하였다.

[0103] 상기 방법에 따라 간장박 효소가수분해물과 탈지대두박 효소가수분해물을 각각 30:70(v/v), 40:60(v/v), 50:50(v/v), 60:40(v/v), 70:30(v/v)으로 혼합한 후 실시한 관능검사 결과의 평균을 표 4에 나타내었다. 동일 칼럼내에서 다른 알파벳(a-b)은 통계적으로 유의함(P<0.05)을 나타낸다.

표 4

간장박 효소가수분해물 : 탈지대두박 효소가수분해물(v/v)	점수		
	냄새	맛	색
30% : 70%	5.21±1.64	3.61±1.97 ^a	5.47±1.48
40% : 60%	4.96±1.97	4.43±2.06 ^{ab}	6.07±1.39
50% : 50%	5.85±1.58	4.96±1.91 ^b	6.07±1.68
60% : 40%	5.64±1.34	4.75±1.80 ^b	5.56±1.22
70% : 30%	5.82±1.59	4.68±1.89 ^{ab}	6.03±1.17

[0106] 표 4에 나타난 바와 같이, 간장박 및 탈지대두박 효소가수분해물의 배합비율에 따라 냄새 및 색은 제품군에 따라 유의차가 없었으나, 50:50(v/v)로 배합하는 것이 맛에서 가장 높은 점수를 얻었음을 확인하였다. 구체적으로, 50: 50으로 배합하는 것이 4.96으로 가장 높은 점수를 보였다.

[0107] 따라서 간장박 및 탈지대두박의 효소가수분해물의 최적 배합비율을 1:1(v/v)로 결정하였다.

[0109] 실시예 5: 반응표면분석법(response surface methodology)을 적용한 최적 반응향(processed flavor) 생성 조건 결정

[0110] 상기 실시예 4에서 확인한 최적 배합비율인 1:1(v/v)로 간장박 효소가수분해물과 탈지대두박 효소가수분해물을 혼합한 분해물에 대한 최적의 반응향을 생성하기 위한 조건을 확립하기 위해서, 상기 혼합 분해산물에 각종 아미노산류 및 당류를 이용하여 예비실험한 결과, 아르기닌(arginine, Ajinomoto Co., INC., 동경, 일본), 메티오닌(methionine, Dongeun Co., 평택, 한국), 글리신(glycine, KBF Co., 김해, 한국), 글루타민산(glutamic acid, Dongeun Co., 평택, 한국) 및 과당(fructose, ADM, 일리노이주, 미국)가 본 실험에 가장 적합한 반응향 전구물질(precursor)로 선정되었다.

[0111] 예비실험 결과에 따라, 먼저 혼합 효소가수분해물(간장박 효소가수분해물: 탈지대두박 효소가수분해물=1:1(v/v) 비율) 100 mL에 글루타민산을 0.33%(w/v), 과당을 0.5%(w/v)을 넣은 다음, 3종의 유리아미노산(아르기닌, 메티오닌, 글리신)을 첨가하였다. 예비실험에서 가장 좋은 첨가량을 중심점(0)으로 하였고, +2에서 -2까지 간격을

두고 설정하여 반응표면분석을 위해 하기 표 5와 같이 코드화하였다.

표 5

[0112]

코드단위	독립변수 ¹⁾		
	Arg	Met	Gly
-2	0.67	0.17	0.33
-1	0.83	0.25	0.67
0	1.00	0.33	1.00
1	1.17	0.42	1.33
2	1.33	0.50	1.67

[0113]

¹⁾ 간장박 및 탈지대두박 효소가수분해물(1:1 (v/v) 비율) 100 mL에 첨가된 각각의 아미노산 함량(g%, w/v).

[0115]

표 5에 코드화한 디자인으로부터 하기 표 6과 같은 중심합성계획법을 작성하였다.

표 6

[0116]

디자인 포인트	독립변수 ^{1,2,3)}			종속변수 ^{4,5)}	
	아르기닌	메티오닌	글리신	향	맛
1	-1	-1	-1	4.97	4.93
2	1	-1	-1	4.37	5.10
3	-1	1	-1	5.33	4.73
4	1	1	-1	4.77	5.10
5	-1	-1	1	5.20	5.20
6	1	-1	1	5.07	5.47
7	-1	1	1	5.23	4.87
8	1	1	1	5.00	5.23
9	2	0	0	4.50	5.23
10	-2	0	0	5.67	4.33
11	0	2	0	4.97	5.03
12	0	-2	0	5.13	4.83
13	0	0	2	5.10	5.03
14	0	0	-2	4.63	5.00
15	0	0	0	4.50	4.90
16	0	0	0	4.50	4.70
17	0	0	0	4.47	4.77
18	0	0	0	4.50	4.80
19	0	0	0	4.70	4.60

[0117]

¹⁾ 독립변수의 코드화 수치는 표 5에 나타난 것과 같다.

[0118]

²⁾ 반응표면분석법을 위한 반응물은 먼저 간장박 및 탈지대두박 효소가수분해물(1:1(v/v) 비율) 100mL에 0.33% (w/v)의 글루타민산 및 0.5%(w/v) 과당을 첨가하였다.

[0119]

³⁾ 본 실험은 93℃의 진탕 배양조에서 120 분동안 수행되었다.

[0120]

⁴⁾ 종속변수는 훈련된 10명의 패널에 의해 묘사분석법(QDA)으로 수행되었다.

[0121]

⁵⁾ 향은 savory odor값으로, 맛은 마른 새우맛(dried shrimp-like)으로 나타내었다(평균값, n=3).

[0123]

즉, fractional point 8개(No. 1-8), star point 6개(No. 9-14), 그리고 central point 5개(No. 15-19)의 총

19개의 실험을 무작위로 수행하였으며, 종속변수는 관능검사 패널 10명에 의해 묘사분석법(QDA, quantitative description analysis)으로 평균 값을 나타내었다.

[0124] 묘사분석 패널은 창원대학교 식품영양학과와 대학원생 및 학부생으로 관능품질평가에 대한 지식을 알고 있는 사람들로써(n=10), 간장 및 조미소스류에 대해 6개월 이상을 훈련한 사람들이다. 상기 표 6에 나타난 바와 같이 간장박 가수분해물과 탈지대두박 가수분해물의 혼합물에 반응향을 유도한 다음 묘사분석을 한 결과, 향에서는 달콤한 향(sweet), 풍미 향(savory), 훈연 향(smoke), 고소한 향(nutty), 짭내(salty) 등 5개의 향이 표현되었으며, 맛에서는 감칠맛(savory), 마른 새우맛(dried shrimp-like), 고소한 맛(nutty), 훈연 맛(smoke), 신 맛(acidic) 등 5개의 맛으로 표현되었다. 향에서는 9점 평점법으로 평가하였을 때 다른 향에 비해 높은 값을 나타낸 풍미 향(savory)을, 맛에서는 조미소스류의 풍미와 관련성이 높은 마른 새우맛을 종속변수 값으로 선택하였다. 표 7에서 디자인 포인트 1-19번까지 3번 반복 평가한 평균값을 종속변수(향 및 맛)에 표시하였다.

[0125] 상기 표 6의 결과를 SAS 프로그램을 이용하여 통계분석을 하였으며, 분석 결과를 표 7에 나타내었다.

표 7

[0126]

요인	계수	
	향	맛
Constant	4.558**	4.779**
Linear		
[Arg]	-0.241**	0.186*
[Met]	0.025	-0.023
[Gly]	0.125**	0.061
Quadratic		
[Arg] ²	0.147**	0.023
[Met] ²	0.138*	0.061
[Gly] ²	0.092*	0.082
Crossproduct		
[Arg]×[Met]	-0.008	0.036
[Arg]×[Gly]	0.100	0.011
[Met]×[Gly]	-0.100	-0.046
Model		
Linear	<0.001	0.030
Quadratic	0.002	0.275
Crossproduct	0.134	0.882
R-Square	0.915	0.682
Total regression (>F)	0.001	0.136
Lack of fit	0.113	0.062

[0127] *p<0.05, **P<0.01.

[0129] 표 7에 나타난 바와 같이, 1% 수준에서 유의성(P<0.01)이 있는 것은 1차항(linear)에서는 아르기닌(arginine) 및 글리신(glycine)이었고, 맛에서는 아르기닌(arginine) 만이 유의하였다(P<0.05). 이차항(quadratic)의 경우 향에서 아르기닌(arginine) [Arg]²(P<0.01), 메티오닌(methionine)[Met]² (P<0.05) 및 [Gly]² (P<0.05)만이 유의하였다. 그리고 교차항(crossproduct)에서는 향과 맛에서 모두 유의성이 없었다. 결정계수(R²)가 향에서는 0.915으로, 맛에서는 0.682로 낮았다. 적합결여 검증(lack of fit)에서는 향과 맛이 각각 0.113 및 0.062으로 나타나 P<0.05보다 높아 적합하였다. 또한 전체적인 모델은 향이 P<0.05보다 낮아, 본 실험의 디자인은 적합하다고 사료된다.

[0130] 또한, 반응표면분석에서 향에 미치는 두 독립변수간의 모형(A, B, C)을 도 3에 나타내었다. 글리신과 메티오닌간의 모형을 A에, 글리신과 아르기닌간의 모형을 B에, 메티오닌과 아르기닌간의 모형을 C에 나타내었다.

[0131] 도 3에 나타난 바와 같이, 메티오닌의 일정농도에서 글리신의 함량이 증가하면 오히려 향은 낮은 값을 나타내었

고, 반면에 글리신 1.0% 이상의 농도에서는 아르기닌의 농도가 0.75% 농도 범위에서 향에 기여하는 효과가 좋았음을 확인하였다. 아르기닌의 함량이 증가할수록 메티오닌의 함량은 낮추는 것이 향에 더 좋은 결과를 나타내었다.

[0132] 반응표면분석에서 맛에 미치는 두 독립변수간의 모형(A, B, C)을 도 4에 나타내었다. 글리신과 메티오닌간의 모형을 A에, 글리신과 아르기닌간의 모형을 B에, 메티오닌과 아르기닌간의 모형을 C에 나타내었다.

[0133] 도 4에 나타낸 바와 같이, 메티오닌의 일정농도에서 아르기닌과 글리신 함량의 증가가 맛의 기여도에 높았다. 글리신 및 아르기닌의 경우는 1.0-1.4%(w/v)가 적당하였고, 메티오닌은 일정량 정도로 한정하는 것이 바람직함을 확인하였다.

[0134] 상기 내용을 종합한 결과, 반응향에 대한 모델식은 다음과 같다.

[0135]
$$\text{odor score} = 4.558 - 0.241[\text{Arg}] + 0.025[\text{Met}] + 0.125[\text{Gly}] + 0.147[\text{Arg}]^2 + 0.138[\text{Met}]^2 + 0.092[\text{Gly}]^2 - 0.008[\text{Arg}][\text{Met}] + 0.100[\text{Arg}][\text{Gly}] - 0.100[\text{Met}][\text{Gly}]$$

[0136] 그리고 정상점(stationary point)에서의 반응향 예측치는 4.258로 나타났다. 보다 높은 값을 구하기 위하여 능선분석(ridge analysis)을 하였고, 얻어진 결과 값을 종합적으로 정리하면, 기질(간장박 및 탈지대두박 효소가 수분해물 혼합물(1:1(v/v) 비율) 100mL에 먼저 0.33%(w/v) 글루타민산(glutamic acid) 및 0.5% 과당(fructose)을 첨가한 다음, 100mL당 아르기닌(arginine) 0.69%(w/v), 메티오닌(methionone) 0.37%(w/v) 및 글리신(glycine) 0.86%(w/v)를 넣고 93℃에서 120분 동안 반응시키는 것이 가장 바람직하였고, 이 때의 관능검사 향의 점수는 5.66으로 가장 높은 값을 나타내는 것을 확인하였다.

[0138] 실시예 6: 휘발성 향기 성분의 분석

[0139] 반응향을 적용시킨 조미료(RFT)와 반응향을 적용시키지 않은 대조구(Control) 간의 휘발성 향기성분을 분석하기 위해서 SPME(Solid phase microextraction)와 GC/MSD(Gas chromatography/Mass selective detector)를 수행하였다.

[0140] 구체적으로, 간장박의 효소가수분해물 및 탈지대두박의 효소가수분해물의 휘발성 향기성분의 흡착을 위해 SPME 장치(Supelco™ Solid Phase Microextraction Fiber Holder, Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA)를 사용하였으며, 흡착용 fiber로 Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene(PDMS/DVB) fiber(65 μm coating thickness, Supelco, USA)를 사용하였다. 분석 직전에 SPME fiber는 220℃에서 30분 동안 GC injection port에서 활성화한 다음 사용하였다. 20 mL headspace glass vial(Supelco, Inc., USA)에 각 시료 5 g과 메탄올에 내부표준물질 hexyl acetate(Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 녹여 1 μL(91.11 ng)를 넣은 후에 aluminum crimp seal(20 mm, open center)과 polytetrafluoroethylene (PTFE)/silicone septum(60 mils)으로 밀봉하였다. 다음 40℃에서 25분 동안 fiber를 vial내에서 노출시켜서 휘발성 화합물을 흡착하였다. 탈착은 220℃ GC injection port에서 10분간 fiber를 노출시켰으며, SPME법에 의한 휘발성 성분의 추출은 시료 당 3회 반복실험을 수행하였다.

[0141] 휘발성 향기성분의 분석 및 동정은 Perkin Elmer clarus 600 T GC/MSD(Perkin Elmer Co., Fremont, CA, USA)를 사용하였고, column은 DB-WAX™ capillary column(60 m length × 0.25 mm I.D × 0.25 μm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)을 사용하였다. 향기성분을 흡착한 SPME fiber를 직접 GC에 주입하여 injection port에서 10분간 탈착시켰으며, splitless mode로 분석하였다. 운반기체인 He의 선속도는 1.0 cm/sec, 오븐의 온도는 40℃에서 5분간 머문 후 200℃까지 3℃/min 속도로 승온한 다음 20분간 머물도록 조정하였다. MSD분석 조건은 capillary direct interface 온도, 220℃; ion source 온도, 204℃; ionization energy, 70 eV; mass range, 33-350 amu; electron multiplier voltage, 1500 V로 하였다.

[0142] 각 화합물의 잠정적 동정은 표준품과의 retention index(RI) 비교 및 NIST(The national institute of standards and technology) standard MS library data(Perkin Elmer Co., Fremont, CA, USA)로 검색하였고, 동정된 휘발성 화합물의 정량은 내부표준물질(hexyl acetate)을 이용하여 상대적 함량(factor=1, ng/g)으로 계산하였다.

[0143] 분석 결과, 총 56종의 휘발성 성분이 검출 동정 되었는데, 알콜류가 12종으로 가장 많았고, 질소함유화합물류(9종), 알데히드 및 케톤류(8종), 방향족화합물류(6종), 에스테르류(6종), 퓨란류(4종), 황함유화합물류(3종), 산

류(3종) 및 기타화합물류(4종)이 동정되었다. 반응향을 적용시킨 조미료(RFT)에서는 42종, 대조구에서는 45종이 동정되었다.

[0144] 이 중에서 향기성분에 크게 관여하는 질소 및 황함유화합물(N and S-containing compound)류의 화합물을 표 8에 나타내었고, 각 화합물 그룹별의 비교는 도 5에 나타내었다. 화합물은 내부표준물질(hexyl acetate, 91.12 ng/g)에 대한 상대적 함량으로 표시하였고(factor=1), 단위는 ng/g이다.

표 8

[0145]

화합물류	RI ¹⁾	반응향 적용		대조구		t-value
		평균값 ²⁾	편차 ³⁾	평균값	편차	
질소함유 화합물류		44.15		71.71		
1,3-Propanediamine	1079	-- ⁴⁾	-	12.90	4.60	-4.86*
2,5-Dimethylpyrazine	1331	8.20	3.07	8.01	1.86	0.05
2,6-Dimethylpyrazine	1337	1.70	0.62	--	--	4.80*
2-Acetyl-1-pyrroline	1338	--	--	1.32	0.30	-7.73*
2-Ethyl-6-methylpyrazine	1401	3.92	1.92	1.11	0.51	2.45
Trimethylpyrazine	1413	9.39	4.30	7.88	2.53	0.52
2-Ethyl-5,6-dimethylpyrazine	1471	--	--	1.90	0.61	-5.39*
Tetramethylpyrazine	1482	16.00	7.52	14.65	5.98	0.24
3,5-Diethyl-2-methylpyrazine	1520	4.93	3.00	23.93	35.61	-0.92
황함유 화합물류		422.58		4.34		
Dimethyl disulfide	1078	412.66	21.02	--	--	34.00*
Methional	1470	6.32	2.91	--	--	3.76*
2-Acetylthiazole	1666	3.59	1.61	4.34	1.11	-0.66

[0146]

¹⁾ Retention index in Supelcowax 10TM column.

[0147]

²⁾ 3번 반복실험(3 SPME extractions)의 평균 값(ng/g)

[0148]

³⁾ 표준편차(n=3).

[0149]

⁴⁾ 검출안됨.

[0150]

* P<0.05 by t-test

[0152]

표 8에 나타낸 바와 같이, 함량이 가장 많은 화합물 그룹은 반응향을 적용시킨 조미료의 황함유 화합물류임을 확인하였다. 이들 화합물은 거의 대부분이 디메칠 디설파이드(dimethyl disulfide)(구운 마늘, 양파 또는 구운 고기향)이었고, 일부 메티오날(methional)(구운 감자 및 스낵칩 향) 및 2-acetylthiazole(팝콘 향, 구운 땅콩 및 헤즐넛 향) 등도 동정되었다. 이러한 황함유화합물은 본 발명에서 첨가한 메티오닌(methionine)이 반응향 유도과정을 통하여 분해되어 메티오날이 생성되고 난 후에 다시 분해되어 디메칠 디설파이드로 전환된 것으로 사료된다. 또한 알데히드화합물류에서는 벤زال데히드(benzaldehyde)(알몬드향)가 반응향을 통하여 다량 생성되었다. 반면 불쾌취를 가지는 산류 중 3-methylbutanoic acid(땀냄새) 및 2-methylpropanoic acid(상한 버터냄새, 땀냄새) 등의 함량이 반응향 과정을 통하여 거의 없어진 것을 확인하였다. 또한 동정된 알코올류의 대부분을 차지한 3-methylbutanol(위스키 향) 및 3-octanol(버섯 향) 등이 감소되거나 없어졌다. 대신에 황함유화합물의 생성이 주도적으로 이루어졌으므로, 본 발명의 조미료가 풍미가 우수함을 알 수 있다.

[0153]

또한, 도 5에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 황함유 화합물(디메칠 디설파이드)는 양파 및 마늘 성분의 냄새로 알려져 있고, 매우 낮은 역치(0.3 ng/g)를 가지고 있어 조미료 냄새의 기여도에 매우 크게 관여할 것으로 사료된다. 따라서 함질소화합물류에서 고소한 향을 가진 피라진류(prazines)와 디메칠 디설파이드(dimethyl disulfide) 및 메티오날(methional) 등의 황함유화합물류가 반응향을 유도한 조미소스 베이스의 특징적인 향기성분으로 기여할 것이라 추정되며, 질소 및 황함유화합물들 간에는 유의한 결과(P<0.05)가 있어, 본 발명을 통하

여 얻어진 반응향 적용기술은 매우 바람직한 것으로 보인다.

[0154]

상기 실시예의 내용을 종합한 결과는 다음과 같다.

[0155]

1. 탈지대두박 효소가수분해물을 얻기 위한 최적 효소 및 분해조건은, 증자 및 건조한 다음 분쇄한 10%(w/v) 탈지대두박(수분 함량 6.95%) 용액에 0.4%(v/v) 농도의 Protamex[®]를 첨가하여 50℃에서 4시간 반응시킨 다음, Flavourzyme[®] 500 MG을 0.4%(w/v)로 첨가하여 5시간 동안 가수분해시키는 조건임을 확인하였다.

[0156]

2. 조미료 제조를 위한 간장박 및 탈지대두박 효소가수분해물의 배합비율을 실험한 결과, 냄새 및 색은 제품군에 따라 유의차가 없었으나 50:50%(v/v)로 배합하는 것이 가장 높은 점수를 얻었으며, 맛에서는 제품군 간에 유의차가 있었는데 50:50%(v/v)로 배합하는 것이 4.96으로 가장 높은 점수를 보였다. 따라서 바람직한 간장박 및 탈지대두박의 효소가수분해물의 배합비율을 1:1(v/v)로 결정하였다.

[0160]

3. 반응표면분석법을 이용하여 최적의 반응향 생성조건을 실험한 결과, 기질(간장박 및 탈지대두박 효소가수분해물 혼합물(1:1(v/v) 비율)에 먼저 0.33%(w/v)의 글루타민산(glutamic acid) 및 0.5%의 과당(fructose)을 첨가한 다음, 100mL당 아르기닌(arginine) 0.69%(w/v), 메티오닌(methionone) 0.37%(w/v) 및 글리신(glycine)을 0.86%(w/v)를 넣고 93℃에서 120분 동안 반응시키는 것이 가장 바람직하였고, 이 때의 관능검사(향)의 점수는 5.66으로 가장 우수함을 확인하였다.

[0162]

4. 상기와 같은 조건에서 휘발성 향기성분을 대조구와 함께 비교한 결과 반응향을 가지는 조미료에서 가장 많은 황함유화합물류가 생성되었다. 이들 화합물은 대부분이 디메칠 디설파이드(dimethyl disulfide)(구운 마늘, 양파 또는 구운 고기향)이었고, 일부 메티오날(methional)(구운 감자 및 스낵칩 향) 및 2-acetylthiazole(팝콘향, 구운 땅콩 및 헤즐넛 향) 등으로 동정되었다. 반면 불쾌취를 가지는 3-methylbutanoic acid(땀냄새) 및 2-methylpropanoic acid(상한 버터냄새, 땀냄새) 등의 함량이 반응향 과정을 통하여 거의 소실된 것을 확인하였다. 또한 알코올류의 대부분을 차지한 3-methylbutanol(위스키 향) 및 3-octanol(버섯 향) 등도 감소되거나 없어졌고, 대신 황함유화합물의 생성이 주도적으로 이루어진 것을 확인하였다.

[0164]

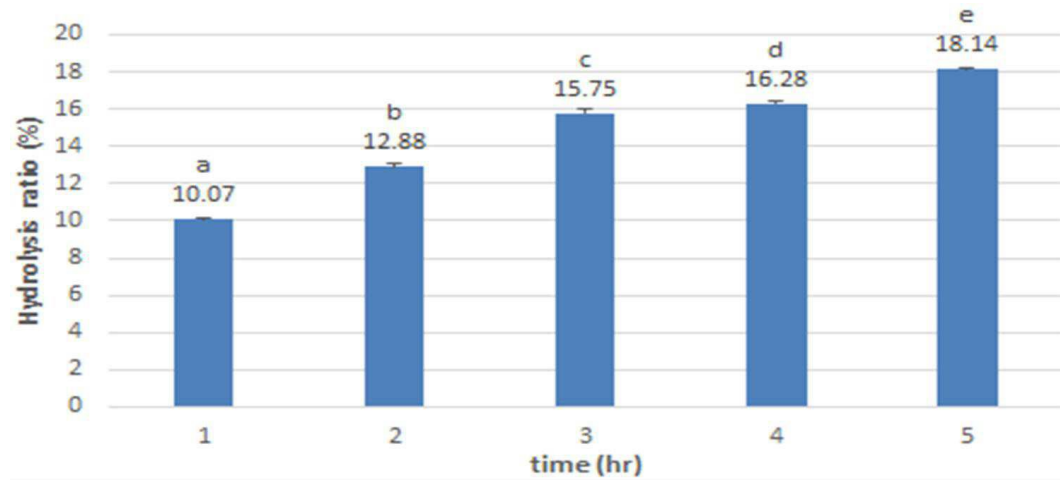
5. 질소함유 화합물류에서 고소한 향을 가진 피라진류(prazines)와 디메칠 디설파이드(dimethyl disulfide) 및 메티오날(methional) 등의 황함유화합물류가 반응향을 유도한 조미료의 특징적인 향기성분으로 기여할 것이라 추정되며, 질소 및 황함유화합물들 간에는 유의한 결과(P<0.05)가 있어, 본 발명을 통한 반응향 적용기술이 매우 효과적인 것으로 확인된다.

[0166]

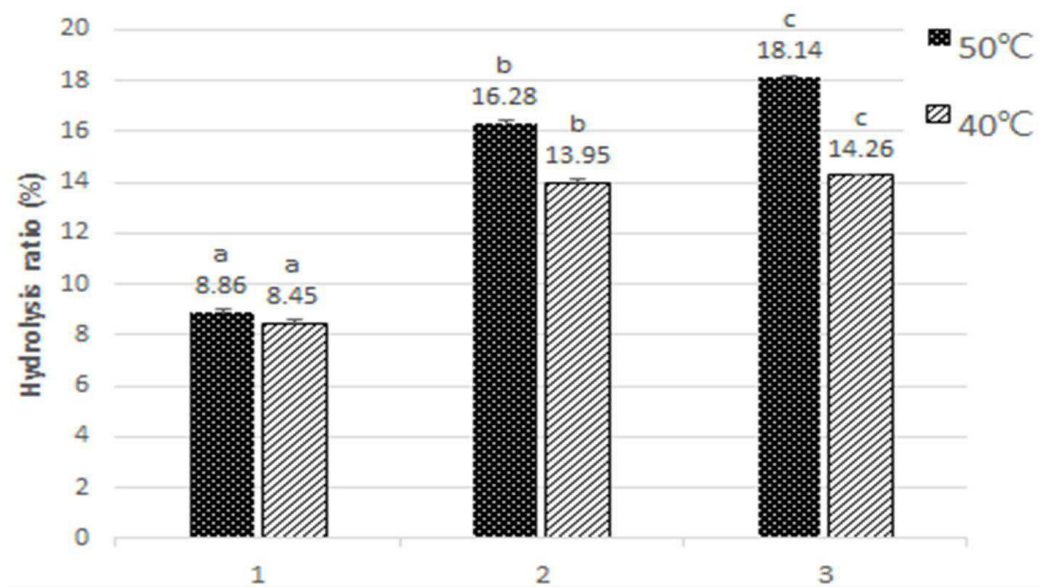
비록 본 발명이 상기에 언급된 바람직한 실시예로서 설명되었으나, 발명의 요지와 범위로부터 벗어남이 없이 다양한 수정이나 변형을 하는 것이 가능하다. 또한 첨부된 청구 범위는 본 발명의 요지에 속하는 이러한 수정이나 변형을 포함한다.

도면

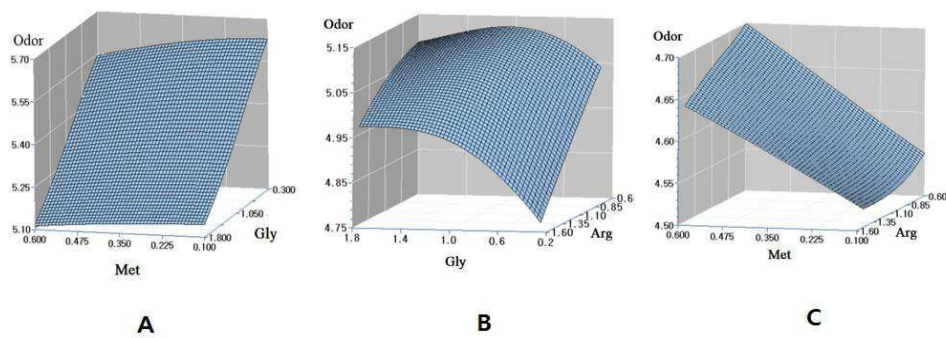
도면1



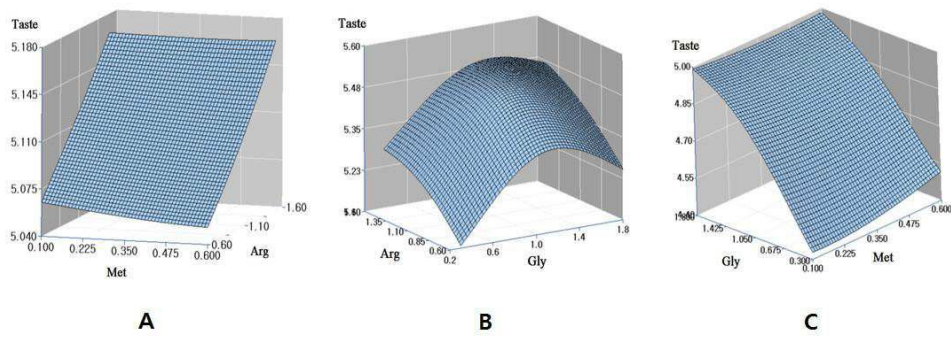
도면2



도면3



도면4



도면5

