



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0149805
(43) 공개일자 2022년11월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 17/00 (2016.01) A23L 11/50 (2021.01)

A23L 33/10 (2022.01) A23L 33/17 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23L 17/65 (2016.08)

A23L 11/50 (2021.01)

(21) 출원번호 10-2021-0054410

(22) 출원일자 2021년04월27일

심사청구일자 2021년04월27일

(71) 출원인

장영진

광주시 서구 풍서우로 102번길 21, 102동1110호(매월동, 이지스위트밸리)

재단법인 전남바이오산업진흥원

전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)

조선대학교산학협력단

광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)

(72) 발명자

이호우

광주광역시 서구 화개1로 59-2, 110동 2005(금호동, 종원팰리스빌아파트)

정진원

광주광역시 북구 비엔날레로82번길 27, 401호(용봉동, 로즈빌라)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

황이남

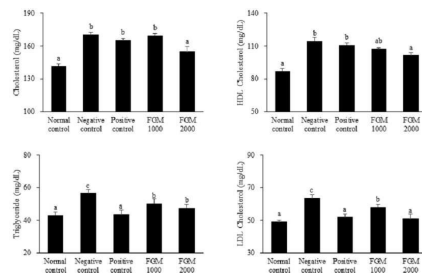
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 기능성 장류 조성물과 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 기능성 장류 조성물과 그 제조방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 동식물성 단백질성분으로 멸치와 이종발효액 및 발효대두를 액상발효 처리하여 제조되며 혈행개선, 혈중 중성지방 개선 또는 혈중 콜레스테롤 개선에 효과가 있는 기능성 장류 조성물과 그 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/17 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/326 (2013.01)

A23V 2200/3262 (2013.01)

(72) 발명자

장영진

광주시 서구 풍서우로 102번길 21, 102동1110호(매월동, 이지스위트밸리)

우재걸

전라남도 화순군 화순읍 부처샘길 2-12, 301호(대창빌라)

양은주

광주광역시 북구 동림용산로 12, 415동 1104호(동림동, 동림푸른 주공4단지)

김숙정

전라남도 나주시 공산면 공산로 108

선유경

광주광역시 서구 화개1로1번길 6-2, 3층(금호동)

서예슬

전라남도 나주시 한빛로 61, 102동 804호(빛가람동, 빛가람우미린아파트)

이현화

광주광역시 남구 서문대로663번안길 12, 106동 805호(진월동, 금광하늘연가아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1425147993

과제번호 S2915298

부처명 중소벤처기업부

과제관리(전문)기관명 전남지역사업관리평가단

연구사업명 지역특화산업육성 (R&D)

연구과제명 단백질 분해 활성 바실러스균을 이용한 혈행개선 기능성 장류소재의 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 청우F&B

연구기간 2020.05.01 ~ 2021.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

멸치 30-60중량%, 멸치액젓과 콩을 발효시켜 제조한 이중발효액 25-50중량% 및 발효대두 5-30중량%를 함유하고, 액상발효하여 이루어진 장류 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 멸치는 생멸치, 반건조멸치 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 장류 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 이중발효액은 *바실러스(Bacillus)*균 0.01~5중량%, 대두 25~70중량%와 멸치액젓 25~70중량%을 항온조건에서 발효시켜 얻은 액상 발효물인 것을 특징으로 하는 장류 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 발효대두는 증자 대두를 *바실러스(Bacillus)*균 0.01-1중량% 존재하에 12-48시간 발효시킨 것을 특징으로 하는 장류 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 발효대두는 pH 7.0-7.2인 것을 특징으로 하는 장류 조성물.

청구항 6

청구항 1 내지 5 중에서 선택된 어느 하나의 항에 따른 장류 조성물을 포함하는 혈행개선, 혈중 중성지방 개선 또는 혈중 콜레스테롤 개선용 건강식품.

청구항 7

멸치를 준비하는 단계;

멸치액젓과 콩을 발효시켜 이중발효액을 준비하는 단계; 및

증자 대두를 *바실러스*균 0.01-1중량% 존재하에 12-60시간 발효시켜서 발효대두를 준비하는 단계;

상기 멸치 30-60중량%, 이중발효액 25-50중량% 및 발효대두 5-30중량%를 혼합하여 액상발효하는 단계를 포함하는 장류 조성물의 제조방법.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 액상발효는 상온에서 3-25일간 수행하는 것을 특징으로 하는 장류 조성물의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 기능성 장류 조성물과 그 제조방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 동식물성 단백질성분을 액상발효 처리하여 제조되며 혈행개선 등에 효과가 있는 기능성 장류 조성물과 그 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 우리 전통 음식 중에 발효음식은 매우 다양하고 중요한 비중을 차지하고 있다. 그중에서도 대표적인 음식으로는 김치와 된장, 고추장, 간장 등 장류와, 젓갈류 등이 자주 거론되고 있다.

[0004] 전통 음식 중에서 장류는 콩을 발효하여 얻어지는 메주를 이용하여 제조하는데, 메주는 한국의 대표적인 발효 식품인 간장과 된장의 주원료이다. 메주를 이용한 장류는 쌀 위주의 식생활을 하는 중국이나 한국에서 일부 해 산물이 귀한 내륙지방에서 중요한 단백질 공급원으로 이용되어 왔다.

[0005] 전통적인 방법에 의한 메주의 제조방법은, 늦은 가을에서 겨울 사이에 대두를 삶은 다음 절구로 찧고, 메주 덩 어리를 만들어서 메주 덩어리를 빻짚으로 묶은 후 겨우내 벽에 매달아 말리는 방법으로서, 이러한 과정에서 빻 짚의 고초균과 공기 중의 곰팡이들이 자연적으로 접종되고, 숙성이 완료되면 표면의 곰팡이를 물로 씻은 후 말 려서 장을 담그는데 사용한다.

[0006] 최근에 공장에서 대량으로 메주를 제조하기 위하여, 순수한 단일균으로서 곰팡이의 일종인 황국균(*Aspergillus oryzae*)을 사용하는 개량식 메주의 제조방법이 알려져 있다. 이러한 방법은 대두를 삶은 후 황국균을 인위적으 로 접종하여 30℃ 정도의 온도에서 3일간 배양하는 방식이다.

[0007] 또한, 다른 발효식품으로는 젓갈을 예로 들수 있는데, 젓갈은 염장을 통해 장기간 보관이 가능하도록 하는 가공 처리된 것이다.

[0008] 그러나 상기와 같은 장류와 젓갈류 등의 발효식품들은 몸에 유익한 성분을 함유하는 것으로 분석되고 있지만, 그 기능성을 특별하게 강조하여 특정 효가가 있는 장류 등으로 개발하는 것은 용이하지 않다.

[0009] 특히, 최근들어서는 이러한 장류의 원료인 메주나 젓갈 등을 이용하여 기능성 원료 조성물로 제조하는 기술이 제안되어 있다.

[0010] 이러한 개발의 예로서, 본 발명자들에 의해 제안된바 있는 한국특허공개 제10-2020-0039599호의 멸치 가공물을 이용한 기능성 식품 조성물과 한국특허공개 제10-2021-0029118호의 어류 가공물 및 콩 가공물을 유효성분으로 포함하는 약학 조성물 등이 제안되어 있다. 이러한 선행문헌에서는 액젓이나 메주 등을 이용하여 혈행개선 등에 효과가 있는 기능성 식품 조성물이나 고지혈증 치료용 의약품에 관한 기술을 제시하고 있다.

[0011] 그러나 이러한 종래 기술의 경우 우리 전통 식품의 특정 조성으로 심혈관계 질환과 성인병에 유용한 바이오 소 재를 개발하였다는 점에서 큰 진전을 이루었다. 특히, 액젓이나 메주 등의 동식물성 단백질 성분의 발효 제품으 로 심혈관 계통에 효과가 있는 새로운 용도의 바이오 소재 적용 기술은 천연 소재를 이용한 건강기능식품이나 의약품의 실용화의 가능성을 높여 주고 있다.

[0012] 그러나 이러한 기존의 단백질 발효를 기반으로 하는 기능성 바이오 소재의 경우 우수한 기술로 평가될 수는 있 으나, 아직 그 기능성을 더욱 발전시키고, 고효율 고기능성으로의 개선이 요구되고 있다.

[0013]

선행기술문헌

특허문헌

[0014] (특허문헌 0001) 1. 한국특허공개 제10-2020-0039599호

(특허문헌 0002) 2. 한국특허공개 제10-2021-0029118호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0015] 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명은 기존의 단백 발효 기술을 개선함으로써 기능성이 크게 향상되고 상품성이 우수한 새로운 개념의 장류 조성물의 제조를 해결과제로 한다.
- [0016] 따라서 본 발명의 목적은 새로운 조성과 단백 발효 기술을 이용하여 제조된 기능성이 우수한 장류 조성물을 제공하는데 있다.
- [0017] 또한, 본 발명의 다른 목적은 단백질 자원으로 동물성 소재와 식물성 소재를 사용하고 발효조건을 새롭게 설정하여 제조한 혈행개선 효과를 가지는 식품 조성물을 제공하는데 있다.
- [0018] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 단백질 자원으로 동물성 소재와 식물성 소재를 사용하고 발효조건을 새롭게 설정하여 우수한 기능성을 가지는 장류 조성물 또는 식품 조성물의 제조방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0020] 상기와 같은 과제 해결을 위하여, 본 발명은 멸치 30-60중량%, 멸치액젓과 콩을 발효시켜 제조한 이중발효액 25-50중량% 및 발효대두 5-30중량%를 함유하고, 액상발효하여 이루어진 장류 조성물을 제공한다.
- [0021] 본 발명의 바람직한 예에 의하면, 상기 멸치는 생멸치, 반건조멸치 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다.
- [0022] 본 발명의 바람직한 예에 의하면, 상기 이중발효액은 *바실러스(Bacillus)*균과 대두, 멸치, 멸치액젓을 혼합하여 향온 조건에서 발효시켜 얻은 액상 발효물이 사용될 수 있다.
- [0023] 본 발명의 바람직한 예에 의하면, 발효대두는 증자 대두를 *바실러스(Bacillus)*균 0.01-5중량% 존재하에 12-48시간 발효시킨 것을 사용할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 바람직한 예에 의하면, 발효대두는 pH 7.0-7.2인 것을 바람직하게 사용할 수 있다.
- [0025] 또한, 본 발명은 상기 장류 조성물을 포함하는 혈행개선, 혈중 중성지방 개선 또는 혈중 콜레스테롤 개선용 건강식품을 제공한다.
- [0026] 또한, 본 발명은 멸치를 준비하는 단계; 멸치액젓과 콩을 발효시켜 이중발효액을 준비하는 단계; 및 증자 대두를 *바실러스*균 0.01-5중량% 존재하에 12-60시간 발효시켜서 발효대두를 준비하는 단계; 상기 멸치 30-60중량%, 이중발효액 25-50중량% 및 발효대두 5-30중량%를 혼합하여 액상발효하는 단계를 포함하는 장류의 제조방법을 제공한다.
- [0027] 본 발명의 바람직한 예에 의하면, 상기 액상발효는 상온에서 3-25일간 수행할 수 있다.

발명의 효과

- [0029] 본 발명에 따른 기능성 장류 조성물은 기존의 장류 조성물에 비해 혈행개선, 혈중 중성지방 개선 또는 혈중 콜레스테롤 개선 등의 기능성이 월등하게 우수한 효과를 가진다.
- [0030] 또한, 본 발명의 장류 조성물은 그 자체로서 식품 첨가제나 일반적인 복용형태의 건강식품 조성물로 사용할 수 있다.
- [0031] 또한, 본 발명의 기능성 장류 조성물은 그 자체로서 다양한 형태, 예컨대 액상, 분말상 등으로 음식물에 첨가하여 사용할 수 있으며, 된장, 고추장, 간장, 청국장, 소두장 등의 다양한 장류에 첨가하여 사용할 수 있어서 다양한 건강식품으로의 적용이 가능하다.

도면의 간단한 설명

- [0033] 도 1은 본 발명의 실험예에서 동물실험결과 본 발명의 조성물 시료에 대한 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 변화를

나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0034] 이하, 본 발명을 하나의 구현예로서 더욱 상세하게 설명하면 다음과 같다.
- [0035] 본 발명은 멸치와 콩을 주원료로 사용하면서, 종래와는 다른 특이한 조성과 발효조건으로 액상 발효한 기능성 장류(醬類) 조성물에 관한 것이다.
- [0036] 본 발명의 장류 조성물은 기본적으로 멸치와 대두를 주원료로 사용한다. 본 발명에서 사용되는 멸치는 일반적으로 멸치과의 어류로서 생멸치를 사용할 수 있으며, 생멸치, 반건조멸치 또는 그 혼합물이 사용될 수 있다.
- [0037] 본 발명에 의하면, 멸치는 전체 원료 조성물 중에 30~60중량%로 함유할 수 있는데, 그 함량이 너무 적으면 기능성이 크게 저하되며, 너무 과량 사용하면 다른 성분이 상대적으로 적게 사용되어 역시 기능성이 크게 저하된다.
- [0038] 본 발명에서는 멸치와 대두를 사용하는 것 이외에 효과적인 액상 발효를 위해 이중발효액을 사용하는데, 본 발명의 바람직한 예에 의하면, 상기 이중발효액은 예컨대, *바실러스(Bacillus)*균 0.01~5중량%, 대두 25~70중량%와 멸치액젓 25~70중량%를 항온조건에서 혼합하여주면서, 45~55℃ 조건 하에서 7일 이상 발효시켜 얻은 액상 발효물이 사용될 수 있다.
- [0039] 본 발명에서 사용되는 이러한 이중발효액은 전체 원료에서 25~50중량%로 함유한다.
- [0040] 이러한 이중발효액이 너무 소량 사용되면 전체적으로 발효가 잘 이루어지지 아니하고, 발효상태도 좋지 않게 되어 발효 후의 유익한 성분의 함량이 저하된다. 또한, 그 함량이 지나치게 과다하면 과발효의 문제가 있고, 유익한 성분의 불균형으로 인해 항산화 효과나 혈행개선 등의 기능성이 현저하게 저하된다.
- [0041] 본 발명에서는 발효대두를 원료성분에 대해 5~30중량%로 함유하는 바, 그 함량이 너무 적으면 아미노태질소의 함량이 저하되고 다른 유익 성분의 함량도 저하된다. 또, 그 함량이 너무 과다하면 상대적으로 다른 성분의 함량이 저하되어 혈행개선, 혈중 중성지방 개선 또는 혈중 콜레스테롤 개선 등의 기능성이 크게 저하된다.
- [0042] 본 발명에 따르면, 발효대두의 함량 증가에 따라 염도가 증가하는 것으로 나타났다. 그러므로 발효대두를 지나치게 과량 사용하면 염도 증가로 좋지 않게 된다.
- [0043] 또한, 본 발명에 의하면, 멸치의 함량이 높을수록 멸치의 수분이 이중발효액에 이수되어 염도가 희석되고, 이와 반대로 수분함량이 낮은 발효대두의 증가에 따라 삼투압에 의해 이중발효액의 수분이 빼앗기는 효과를 나타낸다.
- [0044] 따라서 본 발명에서는 상기와 같은 멸치, 이중발효액 및 발효대두를 특정 함량비율로 혼합 사용함으로써, 액상발효 과정에서 염도가 낮게 조절되고 발효효과가 우수하여 유익한 성분이 증가하는 효과가 있다.
- [0045] 본 발명의 바람직한 예에 의하면, 발효대두는 증자 대두를 *바실러스(Bacillus)*균 0.01~1중량% 존재하에 12~24시간 발효시킨 것을 사용할 수 있다. 여기서, 대두발효에 사용되는 *바실러스(Bacillus)*균으로서는 예컨대 *바실러스 벨레젠시스*균이 사용될 수 있으며, 더 바람직하게는 *바실러스 벨레젠시스(Bacillus velezensis)* L2, 더 구체적으로는 KCCM12498P로 기탁된 *바실러스 벨레젠시스 L2*가 사용될 수 있다. 이러한 균주는 락토오스(Lactose), 아미그달린(Amygdalin), 멜리바이오스(Melibiose) 및 겐티오비오스(gentiobiose) 등에 양성반응을 나타낸다. 이러한 *바실러스* 균은 본 발명의 전 과정에서 사용되는 균을 동일한 종류로 사용할 수 있다.
- [0046] 본 발명의 바람직한 예에 의하면, 발효대두는 pH 7.0~7.2인 것을 바람직하게 사용할 수 있다. 발효대두의 pH는 전체적인 액상 발효에 영향을 주게 되므로 pH가 상기 범위인 것이 바람직하다.
- [0047] 본 발명의 바람직한 예에 의하면, 상기 멸치와 이중발효액 및 발효대두를 혼합하여 다시 발효처리를 하는데, 이때 발효는 액상발효에 의해 우수한 발효물을 얻을 수 있다. 여기서 액상발효는 상온에서 3~25일간 수행할 수 있다.
- [0048] 본 발명에서 액상발효는 혼합물을 다른 형태로 발효하지 아니하고 이중발효액을 포함하는 형태로 발효시킴으로써 그 발효 효과가 크게 개선되어 유익한 성분의 함량을 크게 개선시키고, 바람직하지 않은 성분의 함량을 저하시켜서 각종 활성 효과를 증대시킬 수 있게 된다.
- [0049] 상기와 같은 본 발명에 따른 기능성 장류 조성물은 그 조성물에 함유된 각종 성분의 함량이 매우 우수한 특성을 발휘한다. 특히 항산화 활성이 우수하고, 특히 혈행개선에 탁월한 효과를 나타낸다.

[0050] 그러므로, 본 발명은 상기 장류 조성물을 함유하는 혈행개선, 혈중 중성지방 개선 또는 혈중 콜레스테롤 개선용 건강식품을 포함한다.

[0052] 이하, 본 발명을 실시예에 의거 상세하게 설명하겠는바, 본 발명이 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0054] [제조예 및 제조실험예]

[0055] 발효 대두를 제조하기 위해 증자대두와 종균으로 *바실러스 셀레젠티스* L2(KCCM12498P)균을 하기 비율로 혼합하여 발효하였다.

[0056] 이로한 대두발효 조건을 탐색하기 위해 종균 함량별로 얻어지는 발효대두에 대한 이화학 특성과 발효시간별 이화학 특성을 비교 실험하였다.

[0057] 다음 표는 발효대두에 사용된 원료의 배합비를 예시한 것이다.

표 1

샘플구분	배합비(%)				배합원료중량(g)			
	A	B	C	D	A	B	C	D
종균함량	0	0.5	1.0	2.0	-	12	24	48
전대두	100	99.5	99	98	2,400	2,388	2,376	2,352

[0059] 상기 표 1의 종균 배합비율에 따라 충분한 발효상태가 이루어진 후의 결과를 확인하기 위하여, 48시간 동안 충분히 발효한 결과에 대한 이화학 분석결과를 다음 표에 나타내었다.

표 2

발효경과시간		48Hr							
종균함량		0%		0.5%		1.0%		2.0%	
샘플반복 구분		Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
이화학 특성	TN(%)	2.67	3.66	2.80	2.81	2.85	2.85	2.83	2.83
	AN(mg%)	5.9 ⁶	6.0 ⁶	3.3 ¹⁷	0.1 ¹⁷	5.6 ¹⁷	2.9 ¹⁷	8.3 ¹⁷	9.1 ¹⁷
	pH	6.30	6.32	7.72	7.71	7.09	7.10	7.07	7.05
	수분함량(%)	0.1 ⁶	0.2 ⁶	0.6 ⁶	0.7 ⁶	0.5 ⁶	0.5 ⁶	0.2 ⁶	0.1 ⁶
	생균수	4.5*10 ⁹	2.5*10 ⁹	2.3*10 ⁹	2.5*10 ⁹	2.4*10 ⁹	3.0*10 ⁹	2.6*10 ⁹	3.2*10 ⁹
	효소활성	1,100	1,070	2700	2610	1950	1910	1680	1620
	히스타민(ppm)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	ACE 저해활성(200 μ g/mL)	45.10	49.77	63.65%	64.81%	58.21%	57.66%	59.68%	59.30%
	DPPH 라디칼소거능(4 mg/mL)	23.01%	23.33%	70.11%	69.98%	62.58%	63.07%	62.15%	62.42%
	ABTS 라디칼소거능(100 μ g/mL)	24.24%	55.03%	69.11%	69.92%	65.44%	66.43%	65.44%	66.57%
	Daidzein(water) (ug/g)			124		117		121	
	Genistein(water) (ug/g)			81		83		86	
	L-arginine(water) (ug/g)			2350		2290		2065	

[0061] 또한, 발효기간별 발효대두의 특성을 관찰하기 위해, 종균을 0.5% 적용한 경우의 발효대두에 대한 기간별 발효 결과물에 대한 이화학적 특성을 분석하여 다음 표에 나타내었다.

표 3

종균함량		0.5%									
발효시간		0Hr		12Hr		24Hr		36Hr		48Hr	
샘플반복 구분		Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2	Lot 1	Lot 2
이 화 학 특 성	TN(%)	2.72	2.72	2.84	2.84	2.95	2.94	3.05	3.07	3.12	3.14
	AN(mg%)	109	110	185	185	302	302	437	438	487	486
	pH	7.09	7.08	6.57	6.54	7.06	7.05	7.45	7.43	7.72	7.71
	수분함량(%)	62.70	62.68	61.88	62.01	61.45	61.50	60.20	60.30	59.20	59.3
	생균수	1.9*10 ⁵	3.4*10 ⁵	1.4*10 ⁹	1.4*10 ⁹	1.5*10 ⁹	1.5*10 ⁹	1.8*10 ⁹	2.1*10 ⁹	2.6*10 ⁹	2.9*10 ⁹
	효소활성	125	105	2190	2250	2720	2820	4500	4660	4670	4550
	히스타민(ppm)	40.35	38.36	13.92	13.65	12.60	12.34	10.22	10.76	10.00	9.35
	ACE 저해활성(200 μg/mL)	-	-	72.61%	75.65%	71.30%	70.68%	59.09%	62.06%	57.50%	57.99%
	DPPH 라디칼소 거능 (4 mg/mL)	-	-	48.71%	54.12%	50.82%	48.94%	43.53%	42.35%	37.88%	30.12%
	ABTS 라디칼소 거능 (100 μg/mL)	-	-	61.83%	62.04%	68.05%	68.09%	69.99%	70.70%	68.05%	70.15%
	Daidzein(wate r) (ug/g)	111	108	111	124	122	127	120	129	124	131
	Genistein(wat er) (ug/g)	81	84	85	84	86	92	98	92	85	82
	L-arginine(wa ter) (ug/g)	1970	2110	2030	2066	2290	2320	2271	2310	2400	2490

[0065] 상기 발효대두의 특성을 관찰하기 위해, 발효시간에 따른 관능검사를 실시하였다. 관능검사는 5점 척도법을 이용하여 해당 항목이 우수한 경우(암모니아취는 적은 경우) 5점으로 하여 실험을 실시하였다,

[0066] 그 결과는 다음 표와 같다.

표 4

발효시간	관능검사평가항목					
	균향	구수함	크리미	산미	단맛	암모니아취
0Hr	1.5	4.5	1.0	2.0	3.5	3.4
12Hr	3.2	4.0	2.8	2.9	4.0	3.4
24Hr	2.9	3.5	3.5	3.0	3.4	3.2
36Hr	과발효 및 암모니아취로 관능검사 제외					
48Hr	과발효 및 암모니아취로 관능검사 제외					

[0069] [실시예 1-4]

[0070] 멸치는 생멸치 3,37g을 바닷물로 수세하여 정선 준비하였다.

[0071] 이중발효액은 2,669g으로 제조하였다.

[0072] 발효대두는 대두를 세척하여 물에 침지하고 증자한 다음, *바실러스 벨레젠시스* L2(KCCM12498P)균을 0.5중량% 넣고 이를 종균을 포함한 증자대두 1.2Kg 을 접종처리하여 500ml 비이커에 300g씩 담아 30℃ 인큐베이터에서 발효하여 24시간 경과 시점에서 샘플을 채취하여 발효대두로 사용하였다.

[0073] 상기 멸치와 이중발효액 및 발효대두를 하기 표와 같은 함량으로 혼합하고, 45~55℃ 조건에서 액상발효를 시행하였다.

[0074] 이와 같이 액상발효가 이루어진 발효산물을 여과 혹은 농축 하여 분말상의 장류 조성물 제품으로 제조하였다.

[0075] 이에 대한 각 배합비는 다음 표와 같다.

표 5

구분	배합비(%)				중량(g)			
	실시예1	실시예2	실시예3	실시예4	실시예1	실시예2	실시예3	실시예4
생멸치	56.64	51.64	47	41.64	4,531	4,131	3,731	3,331
이중발효액	33.36	33.36	33	33.36	2,669	2,669	2,669	2,669
발효대두	10	15	20	25	800	1,200	1,600	2,000
합계	100	100	100	100	8,000	8,000	8,000	8,000

[0078] [실험예 1]

[0079] 상기 실시예 3에 대하여 하기 표와 같이 이화학 특성 검사를 실시하였다. 그 결과는 다음 표와 같다.

표 6

발효대두함량		20%									
발효대두함량		Day-0		Day-5		Day-10		Day-15		Day-20	
샘플반복 구분		LOT1	LOT2	LOT1	LOT2	LOT1	LOT2	LOT1	LOT2	LOT1	LOT2
이 화 학 특 성	TN(%)	1.91	1.91	3.26	3.27	3.4	3.39	3.47	3.48	3.48	3.48
	AN(mg%)	996.8	997	1512	1510	1960	1962	2044	2046	2184	2188
	pH	6.23	6.22	6.20	6.21	6.06	6.05	6.03	6.04	5.90	5.92
	염도	11.9	11.8	8.3	8.3	8.0	8.4	8.3	8.4	8.8	9.0
	히스타민(ppm)	149.76	149.56	73.97	73.18	70.98	71.06	69.58	65.98	66.61	66.80
	ACE 저해활성(%, 200 µg/mL)	51.04	52.11	56.12	58.71	73.13	73.35	60.06	60.22	49.11	48.89
	DPPH 라디칼소거 능 (%, 2 mg/mL)	39.81	42.28	43.23	44.88	60.50	64.65	77.92	78.79	75.12	76.91
	ABTS 라디칼소거 능 (%, 150 µg/mL)	38.73	39.83	57.58	58.14	54.93	56.10	54.93	55.81	58.32	58.28
	Daidzein(water) (ug/g)	20.40	17.84	253.20	284.00	408.00	428.00	355.60	323.60	340.80	385.20
	Genistein(water) (ug/g)	3.80	3.52	68.40	70.40	152.00	149.20	122.00	114.80	134.00	146.00
	L-arginine(water) (ug/g)	412.00	476.00	-	-	4000.0 0	4400.0 0	4520.0 0	4400.0 0	-	-

[0082] [실시예 5-8]

[0083] 상기 실시예 1과 동일하게 실시하되 실시조건을 다음 표와 같이 실시하였다.

표 7

[0084]

구분	배합비(%)				중량(g)			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
생멸치	56.64	51.64	46.64	41.64	4,531	4,131	3,731	3,331
이중발효액	33.36	33.36	33.36	33.36	2,669	2,669	2,669	2,669
발효대두	10	15	20	25	800	1,200	1,600	2,000
합계	100	100	100	100	8,000	8,000	8,000	8,000

[0086] [실험예 2]

[0087] 상기 실시예 3에 대하여 하기 표와 같이 이화학 검사를 실시하였다. 그 결과는 다음 표와 같다.

표 8

[0088]

발효 기간	0일							15일								
발효 대두 함량	10%		15%		20%		25%		10%		15%		20%		25%	
샘플 반복 구분	LO T1	LOT2	LO T1	LOT2	LO T1	LOT2	LOT1	LOT2	LOT1	LOT2	LOT1	LOT2	LOT1	LOT2	LOT1	LOT2

이 화 학 특 성	TN (%)	1.73	1.75	1.73	1.74	1.81	1.82	1.84	1.82	2.73	2.71	2.8	2.82	3.12	3.1	대두함 량이 높 을수록 액분리가 되지않아 샘플링 진행하지 않음		
	AN (mg %)	874	875	980	979	952	953	946	947	1490	1534	1394	1411	1361	1383			
	pH	6.48	6.53	6.62	6.71	6.53	6.63	6.49	6.54	6.31	6.32	6.12	6.10	6.04	6.02			
	산 도	0.95	0.96	1.04	1.03	0.99	0.98	1.03	1.01	1.74	1.74	1.89	1.90	2.29	2.31			
	염 도	9.30	9.35	9.20	9.20	10.20	10.30	10.00	10.05	8.40	8.40	8.30	8.40	9.00	8.90			
	히 스 타 민 (ppm)	118.94	118.93	163.36	163.19	182.17	180.96	165.93	165.98	73.22	74.78	53.56	53.00	63.61	60.73			
	AC E 저 해 활 성 (%, 200 μg/mL)	38.56	38.91	42.65	46.73	49.88	51.52	62.72	64.00	55.95	49.07	60.97	60.62	64.70	66.57			
	DP PH 라 디 칼 소 거 능 (%, 2mg/mL)	53.49	54.59	60.48	61.35	48.67	49.28	46.02	46.86	68.67	69.57	63.61	64.25	70.84	71.01			

ABTS 라디칼 소거능 (% 150 µg/mL)	47.10	49.19	48.74	49.04	47.10	47.42	45.62	47.72	54.98	56.62	52.60	53.76	52.15	53.46		
Daidzein (water) (ug/g)	32.64	38.56	30.64	36.16	46.40	48.40	42.40	44.00	47.60	512.00	350.40	408.00	298.40	312.80		
Genistein (water) (ug/g)	8.28	9.32	7.84	9.40	10.16	11.04	9.32	9.92	18.52	186.80	100.80	114.00	124.00	126.00		
L-arginine (water) (ug/g)	217.60	223.20	338.40	354.00	209.20	221.20	188.80	203.60	1412.00	1432.00	1728.00	1896.00	3524.00	3636.00		

[0090] [실험예 3]

[0092] (1) 실험 시료의 준비

[0093] 본 실험에서 사용된 발효대두 분말시료는 발효대두 100g에 증류수 400mL을 첨가하여 50℃에서 24시간 동안 추출하였으며 추출액을 Whatman NO.2 여과지로 여과하여 80℃에서 rotary evaporator(VV2000, Heidolph, Schwabach, Germany)로 농축시켜 추출물을 얻었다. 농축시킨 추출물은 4℃에서 보관하면서 사용하였다. 이를 이용한 액상 발효물(실시예 3)을 실험에 시료로 사용하였다.

[0095] (2) 실험동물 사육 및 식이

[0096] 실험동물은 9주령의 Balb/C 수컷 마우스 25마리를 (주)샘타코(Samtako bio Korea, Osan, Korea)에서 구입하여 사육하였고 일반식이 섭취군(정상대조군)을 제외한 모든 군에 60% fat을 포함하는 고지방 사료(No.D12492, Reserch Diets Inc, New Brunswick, USA)를 5주간 공급하여 고지혈증을 유도하였으며 식수를 충분히 공급하고 온도 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\pm 5\%$, 조명 12시간/일 조건을 유지하였다. 모든 동물실험은 조선대학교 동물실험윤리위원회 승인(CIACUC2020-A0037)을 받은 후 연구 지침을 준수하여 진행하였다.

[0098] (3) 실험군과 시료투여

[0099] 정상대조군은 일반식이를 자율급식으로 제공하였고 실험군과 비슷한 스트레스를 주기 위해 1XPBS 200 μL 를 경구 투여하였다. 음성대조군은 60% fat을 함유하는 고지방식이를 자율급식으로 제공하고 마찬가지로 1XPBS 200 μL 를 경구투여하였다. 양성대조군은 60% fat을 함유하는 고지방식이를 자율급식으로 제공하며 lovastatin(Sigma, St. Louis, USA) 50 mg/kg/day를 경구투여하였다. 마지막으로 시료를 투여하는 실험군 또한 60% fat을 함유하는 고지방식이를 자율급식으로 제공하며 시료 1000 mg/kg과 시료 2000 mg/kg을 각각 경구투여하였다.

[0100] 고지방식으로 3주간 고지혈증을 유도한 후 2주 동안 고콜레스테롤 치료제로 이용되는 lovastatin(Sigma, St. Louis, USA)과 시료(Fermented Glycin max extract; FGM)을 lovastatin 50 mg/kg, FGM 1000 mg/kg/day, 2000 mg/kg/day 의 농도로 1XPBS 200 μL 에 녹여 2주 동안 매일 경구투여하였다. 실험 기간동안 체중과 식이 섭취량은 2일에 한번씩 동일한 시간에 측정하였다.

[0102] (4) 식이효율 계산

[0103] 식이효율(Food efficiency ratio, FER)을 계산하기 위한 식이 섭취량은 매주 제공된 사료에서 섭취 후 남은 사료를 제하여 얻었고, 체중의 증가량과 비교하여 아래와 같은 식으로 식이효율을 계산하였다.

[0104] [수학식]

[0105] 식이효율(Food efficiency ratio, FER)=체중 증가량(Weight gain, g)/식이 섭취량(Food intake, g)

[0107] (5) 혈액채취 및 장기무게 측정

[0108] 혈액채취 24시간 전 절식시키고 24시간 후 생리식염수로 희석한 25% Urethane(Sigma, St. Louis, USA) 200 μL 를 복강투여하여 마취시키고 심장채혈을 통해 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 측정을 위하여 4°C 에 보관하여 실험하였다. 개복하여 심장, 비장, 간, 신장을 적출하여 관찰하고 무게를 측정, 기록하여 군 간의 차이가 있는지 확인하였다.

[0110] (6) 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 측정

[0111] 혈액은 $1500\times\text{g}$ 원심분리(Centrifuge Micro 17TR, Hanil Science, Inchun, Korea)를 통해 혈장을 분리하여 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 측정에 사용하였다. 측정기기는 ADVIA® 1800(SIEMENS Healthcare, Japan)를 사용하였다. 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 측정은 각각 ADVIA® 1800 Chemistry Triglycerides_2 reagent(TRIG_2), ADVIA® 1800 Chemistry Cholesterol_2 Reagents(CHOL_2)를 사용하여 ADVIA® chemistry calibrator(Siemens Healthcare Diagnostics Inc)로 계산하였다. HDL 및 LDL 함량 측정은 Direct HDL Cholesterol reagent 와 LDL Cholesterol reagent를 사용하여 ADVIA® Chemistry HDL/LDL Cholesterol calibrator(Siemens Healthcare Diagnostics Inc)를 통해 계산하였다.

[0113] (7) Mice tail bleeding time 측정

[0114] Mice tail bleeding time측정은 Hornstra의 방법[3]을 수정하여 측정하였다. 마우스를 25% Urethane으로 마취

한 후 꼬리 끝에서 0.4 cm 되는 지점을 잘라 37℃의 생리식염수에 곧바로 직각으로 담그고 bleeding이 시작되는 시점부터 처음 멈춘 시간까지를 측정하였으며, bleeding이 300초 이상 진행될 경우 300초로 표기하였다.

[0116] (8) 혈소판 응집 측정

[0117] 혈소판 응집 측정을 위해 항응고제(0.8% citric acid, 2.2% sodium citrate, 2.45% glucose)와 채취한 혈액이 1:9의 비율이 되도록 혼합하고 상온에서 230×g에서 10분동안 원심분리하여 혈장층을 얻었고 1,100×g에서 10분 동안 원심 분리 후 상층액을 제거하여 platelet rich plasma(PRP)층을 얻는다. 침전된 PRP층을 washing buffer(138mM NaCl, 2.7mM KCl, 12mM NaHCO₃, 0.36mM NaH₂PO₄, 5.5mM glucose, 1mM EDTA, pH 6.5)로 2회 반복 하여 세척하고 1,100×g에서 10분동안 원심 분리 후 상층액을 제거하였다. 혈소판 응집반응을 억제시키는 EDTA를 제거하기 위해 suspending buffer(138mM NaCl, 2.7mM KCl, 12mM NaHCO₃, 0.36mM NaH₂PO₄, 0.49mM MgCl₂, 5.5mM glucose, 0.25% gelatin, pH 7.4)로 2회 세척 후 마찬가지로 1,100×g에서 10분동안 원심 분리 후 상층액을 제거한 후 suspending buffer를 이용하여 최종 1.18×10⁶ platelet/mL 로 혈소판을 계수화하였다. 실험은 혈소판 응집을 최소화하기 위해 상온에서 진행하였다.

[0118] 혈소판 응집은 응집유도제로 알려진 collagen과 thrombin(Sigma, St. Louis, USA)을 이용하여 흡광도를 측정해 계산하였다. 96 well plate에 계수화한 혈소판 200 uL과 2mM CaCl₂를 넣어 미리 37℃에서 3분간 110 rpm으로 반응시키고 660 nm에서 흡광도를 측정한다. 그 후 100 ug/mL collagen과 2 U/uL thrombin을 각각 넣고 37℃에서 5분간 110 rpm으로 반응 후 최종으로 660 nm에서 흡광도를 측정하고 다음의 계산식으로 투과도를 계산하여 응집도를 나타내었다.

[0119] [수학식]

$$\text{Transmittance} = \frac{1}{10^{-\Delta A}}$$

$$\Delta A = OD_{660}5\text{min} - OD_{660}3\text{min}$$

[0123] (9) 통계처리

[0124] 통계적 분석은 IBM SPSS Statistics software (ver. 23, IBM Co., NY, USA)를 이용하여 실험결과를 평균±표준 편차(mean±SD)로 표시하였다. 각 실험군의 차이는 일원배치분산분석법(one way analysis of variance, ANOVA)으로 분산분석을 하였으며, 실험군의 통계적 유의성을 Duncan's multiple range test로 유의성을 P<0.05 수준에서 검정하였다.

[0126] (10) 체중 및 식이효율 실험결과

[0127] 실험기간 동안 일반식이 섭취군(정상대조군)은 26.71 g으로 초기체중 25.28 g보다 5.3% 증가하였으며 고지방식이 섭취군(음성대조군)은 19.1% 증가하였고 양성대조군, FGM 1000, FGM 2000 각각 20.6%, 18.4%, 17.6%씩 증가하였다. 이는 고지방식이 섭취를 통해 비만이 유도된 것으로 판단된다.

[0128] 하기 표는 5주간 마우스(male mice)에게 fermented Glycine max extract를 먹인 결과 Food efficiency rate에 대한 데이터이다.

표 9

Diet	Dose(mg/kg)	Initial weight	Final weight	Weight gain	Food intake	FER
Normal diet	PBS	25.28±0.83	26.71±1.24	1.44±0.61 ^a	26.43±4.50	0.017±0.010

High fat diet	PBS	25.77±0.93	30.70±0.97	4.92±1.32 ^b	23.88±5.95	0.026±0.013
	Lovastatin 50	24.58±0.82	29.66±0.57	4.79±0.17 ^b	25.31±4.49	0.022±0.003
	FGM 1000	24.81±1.26	29.39±1.04	4.58±0.23 ^b	25.50±10.4	0.025±0.005
	FGM 2000	25.02±1.02	29.44±1.24	4.43±0.37 ^b	25.83±9.77	0.023±0.006

FGM ; Fermented *Glycine max* extract. The values represent the means±SD for each group (n=5). Means with different letters(a-b) are statistical statistical significantly as determined by Duncan's multiple test ($p<0.05$).

(11) 장기무게 변화 측정 결과

일반식이 섭취군과 고지혈증을 유도한 후 lovastatin, 시료를 경구투여한 군의 심장, 비장, 간, 신장 무게를 측정하여 Table 2에 나타내었다. 일반식이 섭취군에 비해 고지방식이를 섭취하면서 lovastatin, 시료를 경구투여한 군에서 장기 무게는 증가하였지만 이는 고지방식이 섭취로 인한 마우스의 체중 증가 때문으로 판단되며, 단독 고지방식이 섭취군(음성대조군)과 시료를 함께 경구투여군 간에는 장기 무게의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 고지혈증을 유도하기 위해 고지방식이를 섭취한 군에서 마우스의 체중과 혈중 콜레스테롤 수치가 유의적으로 증가한 결과로 고지혈증이 유발된 것을 확인하였고 마우스의 심장, 비장, 간, 신장을 육안으로 관찰하였을 때 일반식이 섭취군과 고지방식이 섭취군 사이에 장기의 색과 모양이 차이가 없는 것으로 보아 고지방식이가 장기무게 변화에 큰 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다.

하기 표는 “Organ weight of male mice fed with high fat diet and fermented *Glycine max* extract for 5 weeks”의 결과이다.

표 10

Diet	Dose (mg/kg)	Organ weight (g)				
		Heart	Spleen	Liver	Kidney (R)	Kidney (L)
Normal diet	PBS	0.16±0.01 ^a	0.08±0.01 ^{ab}	1.02±0.07 ^a	0.19±0.02	0.19±0.01
High fat diet	PBS	0.17±0.01 ^{ab}	0.09±0.02 ^b	1.25±0.12 ^b	0.21±0.02	0.20±0.02
	Lovastatin 50	0.19±0.02 ^c	0.09±0.01 ^b	1.20±0.08 ^b	0.22±0.02	0.21±0.02
	FGM 1000	0.18±0.01 ^{bc}	0.07±0.01 ^a	1.12±0.10 ^{ab}	0.21±0.01	0.20±0.02
	FGM 2000	0.17±0.02 ^{ab}	0.08±0.01 ^b	1.14±0.13 ^{ab}	0.23±0.03	0.22±0.03

FGM ; Fermented *Glycine max* extract. The values represent the means±SD for each group (n=5). Means with different letters(a-c) are statistical statistical significantly as determined by Duncan's multiple test ($p<0.05$).

(12) 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 변화

고지방식이의 Lovastatin, 시료를 투여한 후 총 콜레스테롤 및 중성지방, HDL Cholesterol, LDL Cholesterol의 함량은 Figure 1과 같다. 총 콜레스테롤의 증가는 고지혈증, 당뇨병, 내분비질환, 신장질환의 원인이 되는 것으로 알려져있다. 본 실험 결과, 일반식이 섭취군(정상대조군, 141.67 mg/dL)에 비해 고지방식이 섭취군(음성대조군, 164.50 mg/dL)의 Cholesterol 수치는 16.1% 증가하였으며, 고지방식이 섭취 및 FGM 1000 mg/kg 처리군(FGM 1000)에선 169.67 mg/dL의 수치로 음성대조군과 비교하였을 때 유의적 변화를 확인하지 못하였으나 고지방식이 섭취 및 FGM 2000 mg/kg 처리군(FGM 2000)에서는 155.00mg/dL로 음성대조군의 비교하여 5.77%의 감소를 확인하였다. 고지방식이섭취 및 Lovastatin을 처리군(양성대조군)에 사용한 Lovastatin은 고콜레스테롤혈증 개선에 사용되는 스타틴계 약물로서 혈중 콜레스테롤의 수치를 약 10~20% 줄이는 것으로 알려져있다. 그러나 본 실험에서는 음성대조군에 비교하였을 때 유의적 변화를 확인하지 못하였다.

혈중 중성지방의 경우 정상대조군(43.00 mg/dL)에 비해 음성대조군(56.50 mg/dL)에서 31.3% 증가를 보였으며 이는 콜레스테롤과 동일하게 고지방식이 섭취로 유도된 것으로 보인다. 양성대조군은 45.67 mg/dL의 수치로 음성대조군과 비교하였을 때 19.5%의 감소를 보였으며 발효대두 추출물을 투여한 군에서는 각각 50.33 mg/dL, 47.50

mg/dL로 10.9%, 15.9%의 감소를 보였다.

[0137] HDL-, LDL-Cholesterol은 체내 콜레스테롤을 운반하는 역할로 알려져 있다. HDL-Cholesterol은 혈중 콜레스테롤을 간으로 이송하여 혈중 함량을 감소시키는 반면, LDL-Cholesterol은 간으로부터 다른 조직이나 혈액으로 옮기는 역할을 하여 체내에 콜레스테롤을 축적시키는 역할을 하고 있다. 이는 체내 콜레스테롤을 축적시키는 결과로 이어져 심혈관계 질환의 주요인이 된다. 본 실험의 결과, HDL-Cholesterol에서 정상대조군(87.00 mg/dL)에 비해 음성대조군(114.50 mg/dL)에서 유의적 증가를 확인하였으며, 양성대조군은 음성대조군과 비교하였을 때 유의적 감소를 확인할 수 없었다. FGM 1000에서도 양성대조군과 유사하게 유의적 차이를 보이지 않았으나 FGM 2000에선 101.50 mg/dL의 수치로 11.35%의 감소를 보였다.

[0138] LDL-Cholesterol에선 동일하게 정상대조군(49.00 mg/dL)에 비해 음성대조군(56.5 mg/dL)에서 유의적 증가가 보였는데, 양성대조군에서는 음성대조군과 비교하였을 때 52.00mg/dL의 수치로 18.11%의 감소를 보였다. 또한 FGM 1000와 FGM 2000에선 각각 58.00 mg/dL, 51.00 mg/dL의 수치로 8.66%, 19.68%로 농도에 따른 감소효과를 보였으며 그중 FGM 2000은 양성대조군과 유사하게 감소효과를 보였다.(도 1 참조)

[0139] 위 결과를 보았을 때, FGM 2000에서 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 감소에 효과가 있는 것으로 판단된다.

[0141] (13) Mouse tail bleeding time 효과 탐색

[0142] 정상 혈관에서는 혈소판응집을 촉진시키는 인자와 억제시키는 인자가 균형을 맞추고 있지만 동맥경화증이나 혈관벽의 상처와 같은 유전적, 환경적 여러 가지 요인에 따라 지나치게 혈소판 응집이 활성화되면 혈전이 형성되고 이는 혈행 흐름을 막아 심혈관질환 등의 다양한 혈행장애를 일으키게 된다.

[0143] 시료의 혈행개선 효과를 살펴보기 위해 tail bleeding time을 측정하였다. 일반식이 섭취군의 경우 78.8 ± 16.5 초, 단독 고지방식이 섭취군은 62.5 ± 19 초, 고지방식이와 함께 발효 시료 1000 mg/kg, 2000 mg/kg 경구투여군은 각각 137.5 ± 14.5 , 176.3 ± 16 초로 농도 의존적으로 tail bleeding time이 증가되었다. Lovastatin 50 mg/kg를 경구투여한 양성대조군에서는 113.3 ± 15.1 초로 측정되었으며 이러한 결과는 시료가 지나친 혈소판 응집을 저해하여 혈전 형성을 억제시켰고 그 결과 고지방식이와 함께 경구투여하였을 때 고지방식이 섭취군에 비해 tail bleeding time이 연장된 것으로 판단된다.

[0144] 하기 표는 “Effect of fermented *Glycine max* extract at the tail bleeding time of male mice fed high fat diet for 5 weeks” 결과이다.

표 11

Diet	Dose (mg/kg)	Tail bleeding time (second)
Normal diet	PBS	78.8 ± 16.5
High fat diet	PBS	62.5 ± 19
	Lovastatin 50	$113.3 \pm 15.1^*$
	FGM 1000	$137.5 \pm 14.5^*$
	FGM 2000	$176.3 \pm 16^*$

FGM ; Fermented *Glycine max* extract. The values represent the means $\pm$ SD for each group (n=5).

[0146] 하기 표는 “Effect of fermented *Glycine max* extract on platelet aggregation(%)” 결과이다.

표 12

Diet	Dose (mg/kg)	Thrombin (0.1 U/mL)	Collagen (100 ug/mL)
------	--------------	---------------------	----------------------

High fat diet	PBS	100	100
	Lovastatin 50	52.87±5.65	56.87±4.3
	FGM 1000	63.75±6.83	54.67±4.47
	FGM 2000	61.36±6.32	53.02±4.98

FGM ; Fermented Glycine max extract. The values represent the means±SD for each group (n=3).

(14) 혈소판 응집 억제 작용 평가

혈소판은 지혈, 혈액 내 혈전 생성에도 중요한 역할을 하는데 혈소판이 응집이 일어나면 혈전이 생성되고 이 혈전이 혈액의 흐름을 막아 혈류장애를 일으키기 때문에 혈소판 과응집의 억제는 혈류장애 예방에 중요하다. 혈소판은 thrombin, collagen, adenosin diphosphate(ADP) 등과 같은 응집 유도제에 의해 혈소판 응집 반응이 증가된다고 알려져 있는데, platelet rich plasma(PRP)를 분리하고 0.1 U/mL thrombin과 100 ug/mL collagen으로 혈소판 응집반응을 유도하여 고지방 식이 섭취와 함께 시료를 경구투여하여 시료가 혈소판 응집에 미치는 영향을 알아보기 위해 실험을 진행하였다.

지방식이와 함께 lovastatin 50 mg/kg, 시료 1000, 2000 mg/kg를 경구투여하였을 때 0.1 U/mL thrombin과 100 ug/mL collagen에 의한 혈소판 응집도(%) 측정 결과 Table 4dp 나타내었다. 를 표시하고 있다.

단독 고지방식이 섭취군의 혈소판 응집도를 100%로 하였을 때 lovastatin 50 mg/kg, 시료 1000, 2000 mg/kg를 경구투여한 군의 thrombin에 의한 혈소판 응집도는 각각 52.87±5.65, 63.75±6.83, 61.36±6.32%이고, collagen에 의한 응집반응에서는 56.87±4.3, 54.67±4.47, 53.02±4.98%의 응집이 일어났다. 이것은 thrombin으로 처리한 단독 고지방식이 섭취군의 응집도에 대해 lovastatin과 시료 1000, 2000 mg/kg 투여군에서 각각 47.13, 36.25 38.64% 응집이 억제되었고, collagen으로 처리한 처리한 단독 고지방식이 섭취군의 응집도에 대해서는 43.13, 45.33, 46.98% 응집이 억제되었다. Lovastatin은 고콜레스테롤 치료제로 잘 알려져 있는데 혈소판막의 콜레스테롤 함량변화가 혈소판막의 유동성을 변형시켜 혈소판 응집을 감소시킬 것으로 보고되었는데, 본 실험 결과 lovastatin 50 mg/kg 투여군의 혈소판 응집 억제도와 유사하게 시료에서 혈소판 응집이 억제되었다.

본 실험 결과, 시료 2000 mg/kg 투여군에서 혈소판 응집반응 억제율이 가장 높게 측정되었고 이러한 혈소판 응집 억제 작용은 혈관의 안정된 혈액 흐름으로 관찰되어 시료는 혈행개선 작용의 치료 및 예방에 유용할 것으로 판단된다.

[실험예 4]

상기 실시예 3의 시료와 기존의 다른 유사 발효식품에 대하여 품질을 비교분석하였다.

비교분석은 모든 실험조건을 동일한 조건에서 수행하여 비교하였다. 특히, 실험에 사용된 대조군은 어분메주와 멸치액젓의 혼합 조성물(이종발효액이 사용되지 않음)과, 다른 시중 제품을 비교 대상으로 하였다. 대조군에서 건 청국장과 청국장 가루는 저온건조 발효 방식으로 제조된 ‘햇콩마루’ 제품을 사용하였다.

[0157] 그 결과는 다음 표와 같으며, 대조군에 비해 월등하게 우수한 물성을 나타낸다는 것이 확인되었다.

샘플구분	실시예3	메주+멸치액젓	청정원액젓	몽고 간장	건 청국장	청국장 가루
TN(%)	3.43	2.02	1.4	0.79	6.6	6.5
AN(mg%)	1.982	1121	895	470.4	100.8	187.6
pH	6.04	6.88	6.85	5.37	6.96	6.6
염도	8.2	19.8	23.8	16.5		
ACE 저해활성 (200 μ g/mL)	70.06	52.8	15.01	38.77	7.23	7.22
HMG-CoA reductase	활성없음	활성없음	활성없음	활성없음	활성없음	활성없음
DPPH 라디칼소거능 (2 mg/mL)	81.85	68.9	37.96	63.53	-	-
ABTS 라디칼소거능 (150 μ g/mL)	55.17	49.3	17.81	33.94	-	45.00

[0158]

도면

도면1

