



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0111104
(43) 공개일자 2012년10월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 1/337 (2006.01) A23L 1/015 (2006.01)

A23P 1/02 (2006.01) A23L 1/29 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0029409

(22) 출원일자 2011년03월31일

심사청구일자 2011년03월31일

(71) 출원인

부경대학교 산학협력단

부산광역시 남구 신선로 365 (용당동,
부경대학교)

(72) 발명자

김영목

부산광역시 남구 분포로 111, LG메트로시티 101동
1802호 (용호동)

송호수

부산광역시 남구 대연3동 대우그린1차아파트 103
동 1701호

(74) 대리인

김순용

전체 청구항 수 : 총 4 항

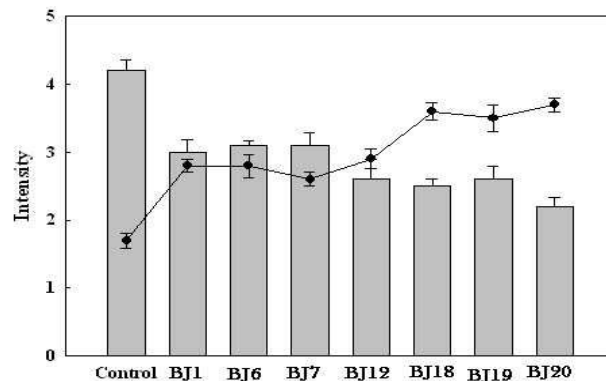
(54) 발명의 명칭 **투스 추출물의 이취 제거방법 및 이취 제거된 유산균 발효 톱 분말의 제조방법.**

(57) 요약

본 발명은 톱(*Hizikia fusiforme*) 추출물에 유산균을 접종하여 발효하는 단계를 포함하는 톱의 이취 제거 방법에 관한 것이다. 본 발명에 의하면 해조류 특유의 이취를 제거하여 톱의 관능성을 개선할 수 있다.

또한 본 발명은 이취 제거된 톱의 추출물을 이용하여 유산균 발효 톱 분말을 제조하는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2010-3001
부처명	지식경제부
연구사업명	2010년 지역기반육성기술개발사업
연구과제명	톳으로부터 발효기술을 이용한 기능성 천연식품개발
주관기관	부경대학교 식품가공센터
연구기간	2010.04.01 ~ 2011.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

톳 추출물에 유산균을 접종하여 발효하는 단계를 포함하는 톳의 이취 제거 방법.

청구항 2

제1항의 방법으로 제조된 이취 제거된 유산균 발효 톳.

청구항 3

제1항의 유산균 발효 톳 추출물을 분말화하는 단계를 포함하는 이취 제거된 유산균 발효 톳 분말의 제조 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 유산균은 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*)인 것을 특징으로 톳의 이취제거 방법.

명세서

기술 분야

- [0001] 본 발명은 톳 추출물에 유산균을 접종하여 발효하는 단계를 포함하는 톳의 이취 제거 방법에 관한 것으로써 보다 구체적으로는 락토바실러스 브레비스를 접종하여 톳의 이취제거를 하는 방법에 관한 것이다.
- [0002] 또한 본 발명은 유산균 발효를 통하여 이취 제거된 톳 추출물을 이용한 유산균 발효 톳 분말의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0003] 톳 (*Hizikia fusiforme*)은 갈조식물의 모자반과 톳 속에 속하며 녹미채(鹿尾菜) 또는 토의채(土衣菜)라고 부른다. 우리나라에서는 제주를 포함하여 남도지역에서 예로부터 식용으로 이용되어 왔다 (Kim et al., 2010). 톳은 다시마와 더불어 천연 정미 성분인 아미노산 (glutamic acid 및 aspartic acid 등)과 기능성 천연소재로 각광을 받고 있는 해조 다당류 (fucoidan 등) 또한 풍부하며, 최근 톳의 항산화 활성이 알려지면서 식품으로서 가치가 한층 높아져 이상적인 천연식품으로 인식되고 있다 (Kim et al., 2004; Park et al., 2005).
- [0004] 톳의 생리활성에 관한 연구는 주로 일본에서 많이 이루어 졌으며, 한국에서의 톳에 대한 연구는 톳에서 추출한 fucoidan의 화학적 특성 (Koo et al., 1995; Koo et al., 1997), 용매 별 건조 톳의 추출물들에 대한 항균성에 관한 연구 (Kim et al., 1994; Lim et al., 1995) 및 톳 추출물이 지질대사 및 간 효소활성에 미치는 영향 등에 대해서 보고가 이루어지고 있다 (Jung et al., 2001). 하지만, 연간 2만24만 톤 정도 생산되고 있는 톳의 대부분은 1차적인 단순 가공품 형태로 판매되고 있는 실정으로 현재까지 톳을 이용한 제품개발은 썩 톳 상태로만 들어 판매하거나 단순 가공을 통해 건조분말 형태로의 판매에 머물러 있어 부가가치가 낮은 상태이다 (Ki, 2002).
- [0005] 일반적으로 해조류의 유용성분을 추출하여 이용할 때에는 해조류를 열수 추출이나 알칼리, 산 또는 효소처리 등에 의하여 추출 후 가공하는 방법들이 대부분이다 (Do et al., 1997; Kim and Bae, 2002). 그러나 이러한 추출 공정은 해조류에 포함되어 있는 탄수화물의 대부분이 비소화성 복합다당류로서 산이나 알칼리에 비교적 안정하고 특수한 미생물 효소에 의하지 않고서는 분해되기가 어려워 여러 가지 생체 활성물질의 변질 및 파괴 등을 수

반하는 결과를 초래하거나 또는 효과적으로 추출해내지 못하는 단점이 있다 (Lim et al., 1995; Kim et al., 2002). 또한 해조류 추출공정에서 발생하는 알긴산 등의 점질 다당류와 해조류 특유의 향, 풍미 및 조직감 등이 해조류를 이용한 제품 개발의 문제점으로 지적되고 있다 (Eom et al., 2010).

[0006] 또한 톳은 다시마와 더불어 천연 정미 성분인 아미노산 (glutamic acid 및 aspartic acid 등)과 혈액응고작용 (Kim et al., 1998), 면역증강작용 등의 기능성이 있는 것으로 알려진 중성다당류인 jaminaran과 황산성 다당류인 fucoidan이 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다 (Koo et al., 1995; Koo et al., 1997; Shon et al., 2006).

[0007] 톳의 생리활성에 관한 연구는 주로 톳에서 추출한 fucoidan의 화학적 특성 (Koo et al., 1995; Koo et al., 1997), 및 톳 추출물이 지질대사 및 간 효소활성에 미치는 영향 등에 대해서 보고가 이루어지고 있으며 (Jang et al., 2007; Jung et al., 2001), 또한 생체 내 항고지혈증 (Shan et al., 1999), 항고콜레스테롤 (Abdussalam, 1990)에 대한 연구가 이루어지고 있다.

[0008] 하지만 톳과 같은 해조류의 유용성분을 추출하여 이용할 때에는 해조류를 열수 추출이나 알칼리, 산 또는 효소 처리 등에 의하여 추출 후 가공하는 방법들이 대부분이다 (Do et al., 1997; Kim and Bae, 2002). 그러나 이러한 추출공정은 해조류에 포함되어 있는 탄수화물의 대부분이 비소화성 복합다당류로서 산이나 알칼리에 비교적 안정하고 특수한 미생물 효소에 의하지 않고서는 분해되기가 어려워 여러 가지 생체 활성물질의 변질 및 파괴 등을 수반하는 결과를 초래하거나 또는 효과적으로 추출해내지 못하는 단점을 가지고 있다 (Lim et al., 1995; Kim and Bae, 2002).

[0009] 따라서, 해조류가 가지고 있는 상기와 같은 단점을 극복하고 안전성 및 기능성이 향상된 발효 추출물을 얻는 것이 필요한 실정이다.

[0010] 본 발명자들은 톳 특유의 이취를 경감시키면서 GABA와 같은 유용성분을 증대시킬 수 있는 방법을 연구한 결과 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 목적은 유산균을 접종하여 발효시킴으로써 톳의 이취를 효과적으로 제거할 수 있는 방법을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 유산균 발효를 통하여 이취 제거된 톳을 이용하여 흡수력이 증대된 유산균 발효 톳 분말을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 톳 추출물에 유산균을 접종하여 발효시키는 단계를 포함하는 톳의 이취 제거 방법을 제공한다.

[0014] 또한 본 발명은, 톳에 유산균을 접종하여 발효하는 단계를 포함하는 톳의 이취제거 방법에 의하여 제조된 이취 제거된 유산균 발효 톳을 제공한다.

[0015] 본 발명의 또 다른 양태로써, 이취가 제거된 유산균 발효 톳 추출물을 이용하여 유산균 발효 톳 분말을 제조하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명에 따르면, 해조류인 톳을 유산균 발효를 통하여 발효시킴으로써 해조류 특유의 이취감을 감소시키고, 유산균 발효된 톳 추출물을 이용하여 분말을 제조함으로써 톳의 입자 크기 감소를 통해 톳의 흡수 능력을 향상시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1는 톳 추출물에서의 유산균의 생육도를 배양시간에 따라 도시한다. (●, *Lactobacillus brevis* BJ-1; ○, *L. brevis* BJ-6; ▼, *L. brevis* BJ-7; ▽, *L. Brevis* BJ-12; ■, *L. brevis* BJ-18; □, *L. brevis* BJ-19; ◆, *L. brevis* BJ-20.)
- 도 2은 톳 추출물을 유산균으로 발효시킨 후 관능 평가 결과를 나타낸 것이다. (막대그래프: 향, 꺾은 선 그래프: 맛)
- 도 3는 락토바실러스 브레비스 BJ20의하여 발효된 톳 추출물에서의 입자 크기 분획을 나타낸 것이다. (●, 톳 추출물 (대조군); ○, *L. brevis* BJ-20의해 발효된 톳 추출물.)

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0019] 본 발명에서 “발효”란, 미생물이 자신이 가지고 있는 효소를 이용해 유기물을 분해시키는 과정을 말하고 특히 “유산균 발효”란 유산균을 이용하여 발효과정을 수행하는 것을 말한다.
- [0020] 본 발명의 유산균 톳 발효 산물을 제공하기 위하여 톳 추출액을 제조한다. 추출액 제조에 사용되는 톳은 시중에 판매되고 있는 모든 톳을 이용할 수 있다. 톳에서 추출액을 제조하기 위해서는 당업계에서 공지된 모든 추출 방법을 사용할 수 있다. 구체적으로 본 발명의 톳 추출액을 얻기 위해서 일반적으로 해조류의 유용성분을 추출하여 이용할 때 사용되는 열수 추출이나 알칼리, 산 또는 효소처리 등에 의하여 추출 후 가공하는 방법들을 수행할 수 있다. 바람직하게는 열수 추출법에 의하여 톳 추출액을 제조할 수 있고 더욱 바람직하게는 톳 중량 대비 16배의 물을 첨가하고 70~80℃에서 30분 내지 한 시간 동안 열수 추출이 가능하나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0021] 톳 추출액의 발효에 사용되는 균주는 유산균 발효를 위한 모든 균주를 사용 가능하다. 본 발명의 “유산균”이란, 당류를 발효하여 에너지를 획득하고 다량의 락트산을 생성하는 세균의 총칭을 말하며 통상적으로 락토바실러스, 락토코쿠스, 루코노스톡, 페디오코커스, 비피더스균 등의 균 속을 말한다. 따라서 본 발명에 사용되는 유산균으로는 본 균 속의 특징을 갖는 산소가 적은 환경에서 잘 발육하여 각종 당으로부터 락트산을 생성하는 것을 제한 없이 사용할 수 있다. 바람직하게는 락토바실러스 브레비스를 사용할 수 있고 더욱 바람직하게는 락토바실러스 브레비스 BJ20을 이용하여 발효를 수행할 수 있으며 상기의 유산균을 조합하여 사용할 수 있다.
- [0022] 한편, 유산균으로써 접종 될 수 있는 락토바실러스 브레비스 BJ1, BJ 6, BJ 7, BJ 12, BJ 18, BJ 19, BJ 20(수탁번호 KCTC 11377BP, 균주명 : *Lactobacillus brevis* BJ20)은 동일 종에 속하는 균주와 비교하여 일반적인 분류학적 특성은 동일한 것을 특징으로 한다. 락토바실러스 브레비스 BJ20(수탁번호 KCTC 11377BP)는 한국 전통식품인 김치에서 추출한 유산균이다.
- [0023] 본 발명의 톳의 유산균 발효를 위하여 상기 균주를 전 배양한 후 배양액의 톳 추출액에 접종하고 후 배양하는 단계를 거친다. 발효 물을 수득하는 방법이 특별하게 한정되지는 않으며, 당업계에 통상적인 방법을 사용하여 발효에 사용하는 유산균의 발효조건에 적당한 것으로 알려진 조건으로 발효를 수행할 수 있으며, 구체적으로는 예를 들어 24시간 동안 전 배양을 한 후, 그로부터 얻어진 배양액 10%를 톳 추출액에 접종하고 30 ℃에서 진탕 배양하는 것을 특징으로 하는 방법에 의하여 얻어질 수 있다.
- [0024] 본 발명의 유산균 발효 톳을 생산하기 위하여 적합한 유산균주들을 선정하기 위한 생육도를 측정할 수 있다. 본 발명에서의 생육도 측정에 따라 BJ-20균주를 이용하는 경우 상대적으로 다른 유산균에 비하여 안정적으로 균수가 유지되므로 BJ -20균주를 이용하는 것이 바람직할 수 있다. 본 발명에 의하면 약 40시간이상 48시간 이하로 배양한 톳 추출물을 이용하는 경우 균주의 최대 증식도를 나타낼 수 있고 가장 바람직하게는 48시간 동안 배양한 톳 추출물을 이용하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0025] 효율적인 발효기간을 정하기 위하여 톳의 정미 성분에 영향을 미치는 유리 아미노산의 발효에 따른 변화를 살필 수 있다. 이를 위하여 상기의 공지된 유산균들을 이용할 수 있으나 바람직하게는 락토바실러스 브레비스, 더욱 바람직하게는 락토바실러스 브레비스 BJ20을 이용할 수 있다. 유산균을 이용하여 4일 내지 7일 동안 발효를 시킨 후 유리 아미노산 함량을 살핀다. 발효에 따라 유리 아미노산의 변화가 일어나며 발효 시작 후 글루탐산의 경우 48시간이상의 발효를 하는 경우 대폭 감소될 수 있으며 감마-아미노부티릭 산의 경우(GABA)의 함량은 60배 이상 증가할 수 있다.

- [0026] GABA는 미생물이 가지고 있는 glutamate decarboxylase (GAD) 효소작용에 의한 glutamic acid의 탈 탄산 반응으로 생성되는 기능성 물질(Kook et al., 2009)로 GABA는 중추신경계의 신경전달물질로서 뇌의 혈류를 활발하게 하고 산소 공급량을 증가시켜 뇌세포의 대사기능을 촉진시키기도 하고 (Narayan and Nair, 1990) 혈압강하와 알코올 대사를 증진시키는 것으로 알려져 있는 물질이며 (Omori et al., 1987; Bae and Kim, 2010). 톳 발효액에서 생성된 GABA도 L. brevis LB-20이 생산하는 GAD에 의해 glutamate가 GABA로 전환된 것으로 GABA 함량은 2일 이상의 발효가 진행될 때 최고 함량을 나타낼 수 있다.
- [0027] 본 발명의 또 다른 양태로써 유산균 발효된 톳 분말을 제공한다. 이때 톳 추출물의 분말은 공지된 분말제조 방법이라면 제한 없이 사용 가능하다. 바람직하게는 발효 전 후의 추출액을 동결 건조하고 이를 분말화하여 사용할 수 있다. 본 발명의 발효 톳 분말은 비 발효 톳의 분말에 비하여 톳 추출액 중의 거대 분자들이 저 분자화됨에 따라 생체 이용성이 증대되고 소화, 흡수에 유리한 특징을 갖는다. 본 발명의 비 발효 톳 분말은 평균 125.7 μm 임을 특징으로 하나 본 발명에서 BJ -20 균주를 이용하여 발효하는 경우 평균 25 μm 이상 35 μm 이하의 분말 입자크기를 가지는 것을 특징으로 하고 더욱 바람직하게는 평균 32.76 μm 의 입자 크기를 갖게 되므로 비 발효 톳의 입자에 비하여 약 4배 이상의 입자크기의 감소를 확인하였다.
- [0028] 본 발명의 발효 톳 산물은 하기 실시예에서 입증되는 바와 같이 톳 자체의 향기 성분 등이 개선된다. 이에 따라 본 발명의 톳 추출액을 이용하는 경우 고부가 가치의 기능성 식품 소재로써 유산균을 이용한 발효 공정을 적용할 수 있다. 특히 유용한 균주로써 락토바실러스 브레비스를 사용할 수 있으며, 더욱 바람직하게 락토바실러스 브레비스 BJ 20을 통하여 발효 과정을 수행하는 경우 분말 입자의 크기를 감소시킴으로써 다양한 소재의 식품 소재에 가능하다.
- [0029] 본 발명이 적용 가능한 식품이란, 인간의 생명유지를 위한 영양성분의 섭취목적으로 인간이 먹고 마시는 모든 음식물을 의미하며, 농?축?임?수산물을 그대로 유통하는 신선식품과 이들의 원료를 제조?가공 처리하여 저장성, 영양성, 기호성 등을 높인 가공식품을 포함할 수 있다.
- [0030] 본 발명은 유산균 발효 톳을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물을 제공한다. 상기 식품이란 건강보조식품, 건강기능식품, 기능성 식품 등이나 이에 제한되는 것은 아니며, 천연식품, 가공식품, 일반적인 식자재 등에 유산균 발효 톳을 첨가한 것도 포함된다. 유산균 발효 톳은 추출물 형태 또는 추출물 분말 가공 형태 어느 것으로나 제한 없이 첨가될 수 있다.
- [0031] 본 발명의 이취 제거된 유산균 발효 톳 또는 이를 분말화한 성분을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물은, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 조성물과 함께 사용될 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.
- [0032] 또한 본 발명의 발효 톳 산물을 이용하여 건강 기능 식품을 제조하여 제공할 수 있으며 본 발명의 “건강기능식품”이란, 인체에 유용한 기능을 갖는 원료를 사용하여 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 가공된 모든 보조 식품을 포함할 수 있다.
- [0033] 상기 건강기능식품을 식품 또는 음료로 제조 시에 원료에 대하여 발효 톳 산물을 0.01 내지 70.00 중량%, 바람직하게는 0.01 내지 30.00 중량%의 양으로 첨가될 수 있으며, 더욱 바람직하게는 0.01 내지 10.00 중량%의 양으로 첨가될 수 있다. 또한, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 외에도 안전성 명에서 문제되지 않으므로 상기 범위 이상의 첨가도 가능하다.
- [0034] 식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 예를 들어 육류, 소시지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있으나 이들 종류의 식품으로 제한되는 것은 아니다.
- [0035] 이하, 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- [0036] **실시예1. 톳 추출액의 제조.**
- [0037] 톳은 2009년 6월에 채취한 완도 산을 구입하여 사용하였다.
- [0038] 톳 추출액을 제조하기 위하여 톳을 수세하였다. 해조류인 톳의 염분 제거를 위하여 탈염하는 과정을 처리하고

추출하기에 적합하도록 분쇄하였다. 획득된 톳 분쇄물에 톳 중량 대지 16배의 물을 첨가하였다. 열수 추출을 하기 위하여 80℃에서 30분간 열수 추출하고 20 mesh 망으로 잔사를 제거하여 추출액을 얻었다.

[0039] 실시예2. 발효균주 및 균주의 배양 조건.

[0040] 톳 추출액의 발효를 위하여 사용된 균주는 전통 발효식품에서 분리하여 부경대학교 식품공학과 식품미생물학연구실에서 보관중인 7종의 *Lactobacillus brevis* (BJ-1, BJ-6, BJ-7, BJ-12, BJ-18, BJ-19 및 BJ-20)을 사용하였다.

[0041] *Lactobacilli* MRS Broth (MRS; Difco, USA) 배지에 각각의 균주를 24 시간 전 배양 후, 배양액 10%를 톳 추출액에 접종하고 30℃에서 진탕 배양하면서 배양시간에 따른 특성 변화를 조사하였다.

[0042] 분리한 유산균주들의 톳 추출액에서 생육도를 측정하였다 (도. 1).

[0043] 실험에 사용된 7종의 유산균주 모두 톳 추출액에서 비교적 성장이 잘되는 것으로 나타났으며 유산균주들 간의 생육도에는 약간의 차이는 있지만 모두 배양 48시간에 최대 생육곡선을 나타내었다.

[0044] BJ-20 균주를 제외하고는 48시간 이후의 배양 조건에서는 유산균들이 급속히 사멸하였다. 이는 톳 추출액 중의 영양성분의 고갈 및 독성 대사산물의 축적에 의한 것으로 BJ-20 균주는 다른 유산균에 비하여 상대적으로 안정적으로 균수가 유지 되는 것으로 나타나 균의 생존력이 뛰어난 것으로 나타났다. (도. 1).

[0045] 실시예 3. 톳 추출액 및 톳 발효액의 비교

[0046] 3.1 관능 평가.

[0047] 톳 추출액 및 톳 발효액의 기호성에 대한 관능 평가를 실시하였다.

[0048] 관능 평가를 위한 방법으로 조사 패널은 21세에서 30세의 사람을 선발하여 수행하였으며 당업계에 공지된 방법인 7점 기호 척도법을 실시하였다.(Peryam and Pilgrim, 1957; Ryu et al., 2009) 7점은 “매우 좋다”, 6점은 “약간 좋다”, 5점은 “보통 좋다”, 4점은 “보통”, 3점은 “약간 싫다”, 2점은 “보통 싫다”, 1점은 “매우 싫다”로 나타내어 관능적 특성이 높을수록 높은 점수를 주도록 하고 그 평균값을 나타내었다. (Ryu et al., 2009).

[0049] 락토바실러스 브레비스7종의 유산균으로 48시간 발효한 톳 발효 과 발효를 하지 않은 톳 추출액에 대한 관능 평가 결과 대조구(비발효구)에 비해 모든 유산균 발효구에서 톳의 off-flavor는 감소하면서 상대적으로 쾌도는 증가하는 것으로 나타났다. (도2참조).

[0050] 균주에 따른 톳 발효 추출액의 관능평가 결과 유산균들 중에서는 LB-20 균주가 발효 후에 악취의 강도가 가장 낮았으며 상대적으로 향기의 쾌도는 높은 결과를 나타내어 톳 특유의 off-flavor를 감소시키는 효과가 가장 높은 것으로 나타났다.

[0051] 3.2 일반 성분 및 pH, 염도 비교.

[0052] 성분 분석은 A.O.A.C법 (1995)에 의거하여 수분은 상압 가열 건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조회분은 건식회화법, 그리고 조단백질은 Kjeldahl법으로 분석하였다. 환원당의 측정은 Somogy의 방법 (Somogy, 1952)에 따라 측정하였으며 톳 추출액의 pH 및 염도는 YSI 63 pH meter (YSI Inc., USA)를 이용하여 측정하였다.

[0053] 상압 가열 건조법에 따른 결과 톳 추출 발효액의 수분의 경우 평균 98%로 조사되었으며 발효 시간에 따른 함량 변화는 크게 나타나지 않았으며 조회분, 조단백질 및 조지방도 거의 변화가 없었다 (표1 참조).

표 1

Change of proximate composition in *Hizikia fusiforme* water extract during the fermentation of *Lactobacillus brevis* BJ-20 (Unit : %)

	Fermentation time (hr)					
	0	24	48	72	96	120

Moisture	98.33±5.17	98.39±3.45	98.30±1.21	98.25±2.18	98.27±5.42	98.31±3.37
Crude Ash	0.47±0.10	0.50±0.04	0.47±0.02	0.51±0.04	0.49±0.05	0.48±0.01
Crude Protein	0.21±2.21	0.13±0.81	0.15±0.38	0.12±0.12	0.14±0.41	0.15±0.18
Crude Lipid	0.16±0.01	0.27±0.04	0.27±0.04	0.28±0.09	0.29±0.07	0.41±0.04
Reducing sugar	0.96±0.05	0.70±0.00	0.67±0.02	0.79±0.02	0.68±0.02	0.68±0.01

[0055] Fermentation was carried out at 30℃.

[0056] 환원당의 경우에는 발효 24시간 이후부터 서서히 감소하는 경향을 나타내었는데 이는 미생물이 추출액 중의 당분을 탄소원으로 이용하였기 때문인 것으로 판단된다.

[0057] 발효에 따른 추출액의 pH 변화는 발효 전 pH 5.72에서 발효 종료 무렵에는 약 5.16 정도로 낮아졌지만 pH의 변화는 크지 않았고 또한 염도의 경우에도 큰 변화는 관찰되지 않았다

[0058] 3.3 유리 아미노산의 분석.

[0059] 유리아미노산은 시료 1 g에 6 N HCl 9 mL를 가하여 110℃에서 24시간동안 방치 후 농축시켜 100 mL로 시료를 희석시키고 0.2 μm syringe filter로 여과하여 아미노산 자동분석기 (Hitachi Amino Acid Analyzer L-8900, Hitachi Ltd., Japan)로 분석하였다.

[0060] 톳 추출액을 *L. brevis* BJ-20으로 5일째까지 발효 시킨 후 이에 따른 유리아미노산 함량 변화를 살펴본 결과는 표2과 같다.

[0061] 톳 추출액 (비발효구)에서 유리아미노산 함량은 글루탐산, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 아스파르트산의 순으로 존재하는 것으로 나타났으며 이외에 23종의 아미노산이 검출되었다.

[0062] 발효에 따른 아미노산 변화를 살펴보면 글루탐산의 경우 발효기간이 증가함에 따라 상대적으로 감소하는 결과를 나타내었으며 발효 48시간 이후에는 대폭 감소하는 결과를 나타내었다. 그러나 감마 아미노부티릭산(γ-aminobutyric acid, (GABA))의 함량은 60배 이상 증가하였다. GABA 함량은 발효 2일째 최고 함량을 나타내었으며 이후 약간 감소하는 경향을 나타내었으나 발효 5일까지 큰 감소는 없었다.

표 2

[0063] Change of free amino acid content in *Hizikia fusiforme* water extract during the fermentation of *Lactobacillus brevis* BJ-20 (unit : mg/L)

Amino acid	Fermentation time (hr)					
	0	24	48	72	96	120
Phosphoserine	175.47	181.29	206.83	172.78	180.22	181.45
Urea	54.48	—*	—	—	—	—
Aspartic acid	123.81	126.29	213.08	150.76	144.26	149.16
Threonine	85.56	74.38	148.09	99.23	87.09	91.94
Serine	70.04	61.93	124.4	85.75	79.3	83.5
Glutamic acid	11285.36	3941.53	1420.08	177.2	151.15	147.29
Glycine	126.51	138.21	208.08	159.48	156.18	161.52
Alanine	1027.65	1064.39	1063.01	1003.75	1077.1	1080.45
Citrulline	21.13	60.52	69.02	77.87	98.22	94.93
L-α-aminoiso-n-butyric acid	27.9	31.21	34.19	24.97	24.66	30.55
Valine	224.74	258.01	340.74	285.83	293.28	295.23
Cystine	—	—	1.8	—	—	—

Methionine	33.25	35.4	50.56	41.89	45.05	55.68
Cystathione	9.73	10.45	10.09	9.85	10.05	13.4
Isoleucine	147.67	165.96	248.83	196.11	197.22	198.21
Leucine	289.98	308.38	397.82	328.39	335.45	334.16
Tyrosine	99.5	111.84	192.43	140.35	136.52	135.84
Phenylalanine	131.66	139.76	201.73	162.89	164.2	164.17
β -alanine	6.17	8.33	6.74	5.41	5.82	7.84
D,L- β -aminoisobutyric acid	18.18	4.63	7.59	5.74	6.26	3.11
γ -aminobutyric acid	110.01	4825.05	6897.23	6594.23	6729.93	6588.73
Ethanolamine	11.27	10.99	18.48	12.02	10.67	-
Ornithine	80.05	23.65	15.53	11.63	10.74	12.68
Lysine	96.61	91.28	185.29	130.02	121.28	128.41
L-histidine	17.04	19.1	29.8	24.07	25	24.12
Anserine	-	-	-	-	-	65.19
Carnosine	18.72	21.88	21.81	23.14	21.01	38.58
Arginine	47.17	28.66	37.66	16.98	6.48	5.35
Proline	46.51	31.81	15.73	27.25	34.36	67.87

[0064] Fermentation was carried out at 30°C; *, not determined.

[0065] 3.4 입도분석.

[0066] 기능성 식품소재로의 활용 가능성을 살펴보기 위해 발효에 따른 톳 분말의 입도 분석은 발효 전후의 추출액을 동결건조하고 각각의 분말을 Laser 입도분석기 (LS 13320, Beckman Coulter, USA)를 이용하여 건식 법으로 측정하였다.

[0067] 비 발효 톳 분말의 경우 입자크기는 평균 125.7 μ m 이었지만 BJ-20 균주를 이용하여 발효한 톳 분말의 입자크기는 평균 32.76 μ m로 대조구 (무 발효구)에 비하여 약 4배 감소한 것으로 조사되었다 (도3 참조).

[0068] 이는L. brevis BJ-20 발효에 의해 톳 추출액 의 알긴산, 해조 다당류 등의 거대분자들이 저 분자화 되었다는 것을 의미한다. 입자 크기가 작아짐에 따라 표면적이 증가되고 용해도와 흡수성이 증가하여 생체 이용률이 향상되게 되므로(Raghavendra et al. (2006)) L. brevis BJ-20을 이용한 발효 톳 분말을 이용하여 개발한 제품의 경우 기존의 제품과 비교하여 월등한 체내 이용률과 흡수율 증대가 가능할 것으로 판단되었다.

[0069] 3.5 향기 성분의 분석.

[0070] 발효에 따른 향기성분의 변화는 Shin et al. (1999)의 방법에 따라 분석하였다. 흡착-채취 열 탈착 시스템 (ATD 400, PerkinElmer, UK)을 이용하여 휘발 성분을 포집 후, GC/MS (GCMA/QP 5050A, Shimadzu, Japan)로 분석하였다. 칼럼은 HP-5MS (30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μ m), detector는 TIC (total ion chromatogram) 를 사용하였고, 오븐의 온도는 130°C에서 시작하여 10°C/min, 3°C/min, 5°C/min 및 3°C/min의 속도로 150°C, 250°C, 270°C, 300°C까지 각각 4단계 승온 시키고 마지막 시간을 15분간 유지하였다. 이때 mass range는 50?550이고 질량 스펙트로미터에서 얻은 TIC의 각 피크의 성분은 윌리 데이터베이스로 확인하였다(Stehagen et al., 1974).

[0071] 향기 성분의 분석을 위해서 관능평가 결과 가장 톳의 off-flavor 감소가 가장 뛰어난 것으로 제시된 L. brevis BJ-20 균주를 이용하여 GC/MS를 이용한 톳의 휘발성 성분 분석을 실시하여 관능평가 결과와의 상관성을 조사하였다.

[0072] 48시간 발효한 발효액과 발효하지 않은 추출액의 휘발성 향기 성분 동정 결과를 표4에 나타내었다.

[0073] 발효 전 추출원액의 휘발성 물질을 GC/MS로 분석한 결과 aldehyde류 2종 (9.68%), 유기산 1종(4.13%), aroma류 1종 (2.74%), ester류 1종(4.62%), oxygen류 2종(8.82%), alcohol류 5종(68.36%), sulfide류 1종 (1.65%)이 검출되었으며, LB-20 균주 발효 후에는 유기산 1종 (4.13%), alkane류 3종 (7.66%), aroma류 2종 (5.06%), ester류가 3종(18.76%), oxygen류 2종 (54.42%), alcohol류 1종 (4.32%), keton류 1종 (1.32%)이 검출되었다.

[0074] 발효 전의 주요 휘발성 성분을 살펴보면 지방산의 2차적 분해산물로 알려진 알코올 류가 전체 피크 면적의 68.36%를 차지하는 것으로 조사되었으나 알코올 류는 높은 허용한계(threshold limit value, TLV)를 가지므로

향기에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있다 (Heath and Reineccius, 1986; Ebeler, 2001).

[0075] 이외에 두통이나 구토를 유발하는 알데하이드, 비린내를 가지는 핵산알, 수산가공품의 강한 황 냄새에 관여하는 것으로 알려진 술폰아이드류, 산패취를 나타내는 1-펜텐-2-올이 발효 전 추출액에서 검출되었다 (표3 참조).

[0076] 하지만, 발효 후의 향기성분 분석결과는 발효 전 나타났던 아세트알데하이드, 핵산알, 술폰아이드류, 1-펜텐-2-올 등의 off-flavor의 주된 원인 물질이 사라졌으며 향기 성분인 에스테르류와 산소 류는 증가하는 결과를 나타내었다. 또한, 냄새강도도 발효 후의 경우 발효 전에 비해 약 85% 감소하여 해조류 특유의 냄새와 관련된 off-flavor가 감소한 것으로 나타나 관능평가의 결과와도 일치하였다.

표 3

[0077] Volatile organic compounds identified in *Hizikia fusiforme* water extract before and after the fermentation of *Lactobacillus brevis* BJ-20

Class	Name	Before fermentation	After fermentation
		Peak area (%)	Peak area (%)
Aldehydes			
	Acetaldehyde	4645147 (1.61)	—*
	Hexanal	23350606 (8.07)	—
Acids			
	Acetic acid	11948702 (4.13)	3714814 (8.56)
Aroma HC			
	Toluene	7914077 (2.74)	—
	Benzene	—	1139894 (2.63)
	Chloroform	—	1054353 (2.43)
Esters			
	Ethyl Acetate	13358178 (4.62)	—
	Ethyl Ether	—	6392736 (14.72)
	Sulfurous acid, 2-Ethylhexyl hexyl ester	—	1168259 (2.69)
	Oxalic acid, 2-ethylhexyl hexyl ester	—	583989 (1.35)
Oxides			
	Cyclotrisiloxane, hexamethyl	12683681 (4.39)	9607334 (22.13)
	Cyclotrisiloxane, octamethyl	12823862 (4.43)	14020386 (32.29)
Alcohol			
	Methyl Alcohol	4099891 (1.42)	—
	Ethyl Alcohol	134943295 (46.66)	1874743 (4.32)
	Isopropenyl Alcohol	37053809 (12.81)	—
	1-Penten-3-ol	8561714 (2.96)	—
	2-Butanol	13027988 (4.51)	—
Sulfides			
	Diallyl disulphide	4765857 (1.65)	—
Alkane HC			
	3-Ehtyl-3-methylheptane	—	1490068 (3.43)
	Undecane	—	810967 (1.87)
	Nonane,5-(2-methylpropyl)-	—	1026413 (2.36)
Ketons			
	Acetone	—	533570 (1.23)

[0078] Fermentation was carried out for 48 hr at 30°C. *, not determined.

[0079] 이상의 실시예에 따라 톳 추출액의 유산균 발효는 톳의 관능성 및 기능성을 개선시킨 이취감이 개선된 유산균 톳 추출물을 제공한다. 또한 이를 이용하여 분말화를 수행하여 이취 제거된 유산균 발효 톳 분말을 제공함으로써 이취감 및 흡수능이 개선된 유산균 발효 톳 분말을 제공한다.

[0080] 제제 예1. 건강기능성 식품의 제조.

[0081] 유산균 발효 톳 조성물 또는 분말화된 유산균 발효 톳 조성물 1000 mg

[0082] 비타민 혼합물 20 g

[0083] 비타민 A 아세테이트 70 μg

[0084] 비타민 E 1 mg

[0085] 비타민 B1 0.13 mg

[0086] 비타민 B2 0.15 mg

[0087] 비타민 B6 0.5 mg

[0088] 비타민 B12 0.2 μg

[0089] 비타민 C 10 mg

[0090] 비오틴 10 μg

[0091] 니코틴산아미드 1.7 mg

[0092] 엽산 50 μg

[0093] 판토텐산 칼슘 0.5 mg

[0094] 무기질 혼합물 적량

[0095] 황산제1철 1.75 mg

[0096] 산화아연 0.82mg

[0097] 탄산마그네슘 25.3 mg

[0098] 제1인산칼륨 15 mg

[0099] 제2인산칼슘 55 mg

[0100] 구연산칼륨 90 mg

[0101] 탄산칼슘 100 mg

[0102] 염화마그네슘 24.8 mg

[0103] 상기 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합 비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조 방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0104] 제제 예2. 건강음료의 제조.

[0105] 유산균 발효 톳 조성물 또는 분말화된 유산균 발효 톳 조성물 1000 mg

[0106] 구연산 100 mg

[0107] 올리고당 100 g

[0108] 정제수를 가하여 전체 900ml

[0109] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

수탁번호

[0110]

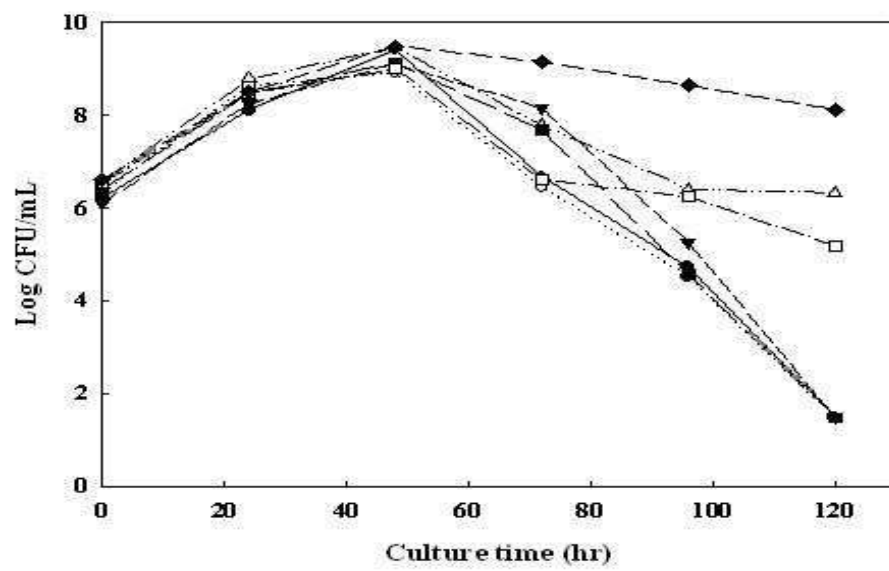
기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC11377BP

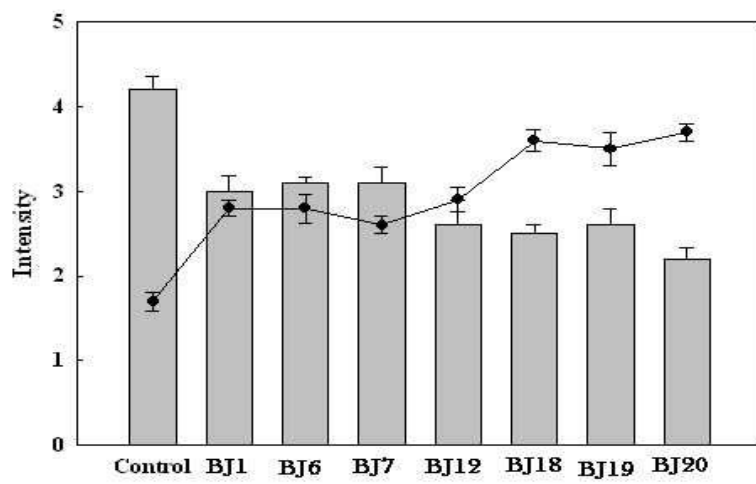
수탁일자 : 20080819

도면

도면1



도면2



도면3

