



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0085602  
(43) 공개일자 2013년07월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A23L 1/202 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)  
A23L 2/38 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2012-0006474  
(22) 출원일자 2012년01월20일  
심사청구일자 2012년01월20일

(71) 출원인  
부산대학교 산학협력단  
부산광역시 금정구 부산대학로63번길 2 (장전동, 부산대학교)  
삼보식품 주식회사  
전라북도 부안군 변산면 내변산로 131  
(72) 발명자  
박건영  
부산시 해운대구 좌동 1286번지 대림2차 202-404  
최혜선  
경기도 화성시 안녕동 신한 미지엔 아파트 103동 1001호  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
이준호, 박국진, 장영태, 노준태

전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 프로바이오틱 혼합균주의 발효물 및 이를 포함하는 건강기능성식품 및 의약조성물

(57) 요약

본 발명은 프로바이오틱 혼합균주의 발효물 및 이를 포함하는 건강기능성식품 및 의약조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 동 혼합균주의 발효물은 다른 균주의 발효물 또는 시판 메주에 비해 발효가 잘 이루어지고, 효소활성이 약 50%정도 높게 나타나 종합적인 맛과 평가에서 뛰어나며 고지혈증, 비만, 암, 대장 및 소장의 염증성 질환 및 기능성 장질환의 개선효과가 있어 우수한 품질을 갖는 발효물 및 이를 포함하는 건강 기능성 식품 및 의약조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1

	CG-m	A-m	AB-m	AL-m	ABL-m
pH	6.97	6.92	7.16	7.11	7.12

(72) 발명자

**정지강**

부산시 금정구 장전2동 521-85 초원빌라 202호

**정연비**

부산시 금정구 장전2동 부산대학교 생활환경과 421호

**김인석**

전라북도 부안군 부안읍 봉덕리 하이안아파트 101-1101

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 201104013025640010300

부처명 농림수산식품부

연구사업명 공동연구사업

연구과제명 전통메주의 효소활성강화 제조기술 구축

주관기관 산학협력단

연구기간 2011.01.01 ~ 2011.12.31

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

바실러스 서브틸리스-SKm(KFCC 11520P), 락토코커스 락티스 및 아스퍼질러스 오리제로 발효된 발효물.

### 청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 락토코커스 락티스는 락토코커스 락티스-GAm(KFCC 11510P)인 발효물.

### 청구항 3

청구항 1에 있어서, 아스퍼질러스 오리제는 발효대상물질 100 중량부에 대하여 0.1~1 중량부, 바실러스 서브틸리스-SKm는  $10^4 \sim 10^8$  cfu/g 및 락토코커스 락티스는  $10^4 \sim 10^8$  cfu/g으로 접종되어 형성되는 발효물.

### 청구항 4

청구항 1에 있어서, 메주, 콩알메주, 된장, 간장, 고추장 및 청국장으로 이루어진 군에서 선택된 것인 발효물.

### 청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항의 발효물을 포함하는 건강기능성식품.

### 청구항 6

청구항 5에 있어서, 고지혈증, 비만, 암, 대장 및 소장의 염증성 질환 및 기능성 장질환의 개선능으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 효능을 갖는 건강기능성식품.

### 청구항 7

청구항 5에 있어서, 유제품, 제과물, 조미료, 음료 및 드링크제, 스낵, 캔디류, 아이스크림 및 냉동용 디저트, 아침 곡물류, 영양바, 스낵 바 초콜렛 제품, 가공 식품, 곡물 제품 및 파스타, 스프, 소스 및 드레싱, 과자 제품, 오일 및 지방 제품, 유제품 음료 (dairy drink) 및 우유 음료, 두유 및 콩 유제품 (soy dairy-like product), 냉동식품, 조리 음식 및 대체 음식, 육류 제품, 치즈, 요구르트, 빵 및 롤빵, 효모 제품, 케이크, 쿠키 및 크래커로 이루어진 군에서 선택된 것인 건강기능성식품.

### 청구항 8

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항의 발효물을 포함하는 고지혈증, 비만, 대장 및 소장의 염증성 질환, 기능성 장질환 및 암으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 질환의 예방 또는 치료용 의약조성물.

### 청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 대장 및 소장의 염증성 질환은 급성장염, 크론씨병, 궤양성 대장염 및 허혈성 대장염으로 이루어진 군에서 선택된 것인 의약조성물.

## 청구항 10

청구항 8에 있어서, 상기 기능성 장 질환은 설사, 변비, 장개설 및 과민성 장증후군으로 이루어진 군에서 선택된 것인 의약조성물.

## 청구항 11

(S1) 콩을 증자시키는 단계;  
(S2) 증자된 콩에 아스퍼질러스 오리제와 바실러스 서브틸리스-SKm을 접종하여 1차 발효시키는 단계; 및  
(S3) 상기 1차 발효 후 락토코커스 락티스를 추가접종하여 2차 발효시키는 단계;  
를 포함하는 발효물의 제조방법.

## 청구항 12

청구항 11에 있어서, 아스퍼질러스 오리제는 콩 100 중량부에 대하여 0.1-1 중량부, 바실러스 서브틸리스-SKm는  $10^4$ - $10^8$  cfu/g 및 락토코커스 락티스는  $10^4$ - $10^8$  cfu/g을 접종하여 이루어지는 것인 발효물의 제조방법.

## 청구항 13

청구항 11에 있어서, 상기 1차 발효단계는 20-45℃에서 24-72시간 동안 수행되는 발효물의 제조방법.

## 청구항 14

청구항 11에 있어서, 상기 2차 발효단계는 20-45℃에서 12-36시간 동안 수행되는 발효물의 제조방법.

## 명세서

### 기술분야

[0001] 본 발명은 프로바이오틱 혼합균주의 개선된 품질을 갖는 발효물 및 이를 포함하는 건강기능성식품 및 의약조성물에 관한 것이다.

### 배경기술

[0002] 종래발명은 재래식 메주 제조방식을 대부분 따르되, 메주나 된장 제조 시 사용되는 물, 소금 등을 달리 사용하거나, 기타의 부재료(한약재 등)를 첨가하여 메주의 품질이나 관능성을 높이거나 의도한 경우가 대부분이다. 또한 메주에 미생물을 접종하여 미생물이 생산하는 효소 등에 의해 발효 속도와 품질을 향상시키고자 한 발명도 있었으나, 대부분의 발명에서 사용한 미생물은 아스퍼질러스 속 등의 단일 미생물이었으며, 담자균이나 자낭균류 등의 진균류를 응용한 경우가 많았다.

[0003] 한국공개특허 제 2011-126447호(2011년 11월 23일 공개)에는 라이조프스 속 (Rhizopus), 아스퍼질러스 우사미 (Aspergillus usami), 아스퍼질러스 오리제 (Aspergillus oryzae)의 각각을 배양하여 혼합한 곰팡이 균주와, 낫또균과 유산균의 배양액을 이용하여 메주를 제조하는 방법이 기재되어 있다.

### 선행기술문헌

## 특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제 2011-126447호(2011년 11월 23일 공개)

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 효소활성 및 기능성이 우수한 3종의 균주를 혼합하여 동 균주로 발효된 품질 및 기능성이 우수한 발효물 및 이를 포함하는 건강기능성식품, 의약조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

### 과제의 해결 수단

- [0006] 1. 바실러스 서브틸리스-SKm(KFCC 11520P), 락토코커스 락티스 및 아스퍼질러스 오리제로 발효된 발효물.
- [0007] 2. 위 1에 있어서, 상기 락토코커스 락티스는 락토코커스 락티스-GAm(KFCC 11510P)인 발효물.
- [0008] 3. 위 1에 있어서, 아스퍼질러스 오리제는 발효대상물질 100 중량부에 대하여 0.1-1 중량부, 바실러스 서브틸리스-SKm는  $10^4$ - $10^8$  cfu/g 및 락토코커스 락티스는  $10^4$ - $10^8$  cfu/g으로 접종되어 형성되는 발효물.
- [0009] 4. 위 1에 있어서, 메주, 콩알메주, 된장, 간장, 고추장 및 청국장으로 이루어진 군에서 선택된 것인 발효물.
- [0010] 5. 위 1 내지 4 중 어느 한 항의 발효물을 포함하는 건강기능성식품.
- [0011] 6. 위 5에 있어서, 고지혈증, 비만, 압, 대장 및 소장의 염증성 질환 및 기능성 장질환의 개선능으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 효능을 갖는 건강기능성식품.
- [0012] 7. 위 5에 있어서, 유제품, 제과물, 조미료, 음료 및 드링크제, 스낵, 캔디류, 아이스크림 및 냉동용 디저트, 아침 곡물류, 영양바, 스낵 바 초콜렛 제품, 가공 식품, 곡물 제품 및 파스타, 스프, 소스 및 드레싱, 과자 제품, 오일 및 지방 제품, 유제품 음료 (dairy drink) 및 우유 음료, 두유 및 콩 유제품 (soy dairy-like product), 냉동식품, 조리 음식 및 대체 음식, 육류 제품, 치즈, 요구르트, 빵 및 롤빵, 효모 제품, 케이크, 쿠키 및 크래커로 이루어진 군에서 선택된 것인 건강기능성식품.
- [0013] 8. 위 1 내지 4 중 어느 한 항의 발효물을 포함하는 고지혈증, 비만, 대장 및 소장의 염증성 질환, 기능성 장질환 및 압으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 질환의 예방 또는 치료용 의약조성물.
- [0014] 9. 위 8에 있어서, 상기 대장 및 소장의 염증성 질환은 급성장염, 크론씨병, 궤양성 대장염 및 허혈성 대장염으로 이루어진 군에서 선택된 것인 의약조성물.
- [0015] 10. 위 8에 있어서, 상기 기능성 장 질환은 설사, 변비, 장계실 및 과민성 장증후군으로 이루어진 군에서 선택된 것인 의약조성물.
- [0016] 11. (S1) 콩을 증자시키는 단계; (S2) 증자된 콩에 아스퍼질러스 오리제와 바실러스 서브틸리스-SKm을 접종하여 1차 발효시키는 단계; 및 (S3) 상기 1차 발효 후 락토코커스 락티스를 추가접종하여 2차 발효시키는 단계;를 포함하는 발효물의 제조방법.
- [0017] 12. 위 11에 있어서, 아스퍼질러스 오리제는 콩 100 중량부에 대하여 0.1-1 중량부, 바실러스 서브틸리스-SKm는  $10^4$ - $10^8$  cfu/g 및 락토코커스 락티스는  $10^4$ - $10^8$  cfu/g을 접종하여 이루어지는 것인 발효물의 제조방법.
- [0018] 13. 위 11에 있어서, 상기 1차 발효단계는 20-45℃에서 24-72시간 동안 수행되는 발효물의 제조방법.
- [0019] 14. 위 11에 있어서, 상기 2차 발효단계는 20-45℃에서 12-36시간 동안 수행되는 발효물의 제조방법.

### 발명의 효과

[0020] 본 발명의 프로바이오틱 혼합균주의 발효물은 시판 메주 및 다른 균주의 발효물에 비해 높은 미생물 분포를 나

타내어 발효가 잘 이루어지고, 효소활성이 30~50% 정도 우수하여 종합적인 맛과 평가에서 뛰어나다. 항산화 효과가 증가되었고 암세포 성장 억제효과도 시판메주 및 다른 균주에 비해 20% 이상 높다.

[0021] 또한 혈중 중성지방의 감소 효과가 있어 고지혈증, 비만 억제에 이용가능하고 장내 유산균 증가, 유해물질 감소로 인해 기능성 장질환 및 대장 및 소장염의 염증성 질환의 개선효과도 있는 우수한 품질의 발효물, 건강기능성식품 및 의약조성물을 제공한다.

### 도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1은 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주의 pH를 나타낸 것이다.
- 도 2는 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주의 아미노태 및 암모니아태 질소값을 나타낸 것이다.
- 도 3은 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주의 미생물 분포를 나타낸 것이다.
- 도 4는 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주의 효소 활성을 나타낸 것이다.
- 도 5는 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주를 경구 투여한 흰쥐의 분변 중 수분함량 및 유산균수 변화를 나타낸 것이다.
- 도 6은 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주를 경구 투여한 흰쥐의 분변 중 유해 효소 함량 변화를 나타낸 것이다.
- 도 7은 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주를 경구 투여한 흰쥐의 체중 변화를 나타낸 것이다.
- 도 8은 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주를 경구 투여한 흰쥐의 혈액 중 지질 성분 함량을 나타낸 것이다.
- 도 9는 대장염 유도 흰쥐의 메주 처리에 따른 대장 길이를 나타낸 것이다.
- 도 10은 대장염 유도 흰쥐의 메주 처리에 따른 대장 조직의 변화를 나타낸 것이다.
- 도 11은 대장염 유도 흰쥐의 메주 처리에 따른 대장 조직의 조직학적 평가를 나타낸 것이다.
- 도 12는 대장염 유도 흰쥐의 메주 처리에 따른 염증성 사이토카인의 변화를 나타낸 것이다.
- 도 13은 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조한 된장의 발효기간 중 pH 및 염도 변화를 나타낸 것이다.
- 도 14는 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조한 된장의 발효기간 중 아미노태 및 암모니아태 질소함량 변화를 나타낸 것이다.
- 도 15는 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조한 된장의 발효기간 중 효소활성 변화를 나타낸 것이다.
- 도 16은 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조한 된장의 외관을 나타낸 것이다.
- 도 17은 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조한 된장의 DPPH 자유 라디칼 소거능을 나타낸 것이다.
- 도 18은 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조한 된장의 HT-29 대장암 세포 성장 억제능을 나타낸 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 본 발명은 프로바이오틱 혼합균주의 발효물 및 이를 포함하는 건강기능성식품 및 의약조성물에 관한 것이다.

[0024] 이하 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0025] 본 발명에 따른 혼합균주는 아스퍼질러스 오리재, 락토코커스 락티스, 바실러스 서브틸리스-SKm KFCC 11520P를 포함하는 것을 특징으로 한다. 상기 3종의 균주는 효소활성 및 기능성이 우수하다. 상기 3종의 균주는 다양한 방법으로 얻을 수 있으며, 바람직하게는 전통메주에서 분리하여 얻을 수 있다.

- [0026] 본 발명에 따른 혼합균주를 발효균주로서의 효능을 알아보고자 이를 이용하여 콩알 메주를 제조한 후, 시판메주 및 혼합을 달리하여 발효시킨 콩알메주와의 품질 및 기능성을 비교하였다. 다만 콩알 메주는 발효물의 일 예시일 뿐이며, 된장, 간장, 고추장, 청국장 등에도 적용이 가능하다.
- [0027] 이하에서는 본 발명에 따른 발효물로서 콩알메주의 제조방법의 일 구현예에 대해 보다 상세하게 설명하도록 한다.
- [0028] 먼저 콩을 증자시킨다(S1).
- [0029] 콩의 증자는 콩을 수세하고 5-24시간 동안 물에 침지한 후, 100-150℃에서 20-40분간 증자하고 30-60℃로 식히는 공정을 통해 수행될 수 있다. 콩의 증자 정도에 가장 큰 영향을 미치는 요인 중 하나는 물에 침지시키는 시간이다. 콩의 침지 시간은 5-24시간 동안, 바람직하게는 10-15시간 동안 수행되는 것이 가장 적합한 증자 정도를 나타낼 수 있다.
- [0030] 콩을 증자시킨 후에는 아스퍼질러스 오리제와 바실러스 서브틸리스-SKm을 접종하여 1차 발효시킨다(S2).
- [0031] 본 발명에 있어서, 아스퍼질러스 오리제와 바실러스 서브틸리스-SKm은 락토코커스 락티스-GAm보다 발효 속도가 늦으므로 먼저 접종하는 것을 특징으로 한다. 균주의 접종량은 특별히 제한되지 않으나, 바람직하게는 아스퍼질러스 오리제는 발효대상물질인 콩 100 중량부에 대하여 0.1-1중량부, 바실러스 서브틸리스-SKm은  $10^4$ - $10^8$  cfu/g로 접종될 수 있다. 상기 조건하에서 최적의 생육조건을 나타내어 발효가 가장 효과적으로 이루어질 수 있다. 균주에 따라 발효 시간 및 온도는 적절히 선택될 수 있으나 바람직하게는 20-45℃에서 24-72시간 동안 발효될 수 있다.
- [0032] 상기 1차 발효 후에 락토코커스 락티스를 추가 접종하고 2차 발효하여 콩알 메주를 제조할 수 있다(S3).
- [0033] 본 발명에 있어서, 락토코커스 락티스는 다른 2종의 균주보다 발효 속도가 빠르고 발효 산물이 다른 2종의 균주의 성장을 방해할 수 있으므로 2차 발효 단계에서 접종하는 것을 특징으로 한다. 균주의 접종량은 특별히 제한되지 않으나, 바람직하게는  $10^4$ - $10^8$  cfu/g로 접종될 수 있다. 상기 접종량에서 가장 우수한 발효 효과를 얻을 수 있다. 균주에 따라 발효 시간 및 온도는 적절히 선택될 수 있으나 바람직하게는 20-45℃에서 12-36시간 동안 발효될 수 있다. 상기 조건하에서 최적의 생육조건을 나타내어 보다 발효가 잘 이루어질 수 있다.
- [0034] 본 발명에 따른 락토코커스 락티스는 바람직하게는 락토코커스 락티스-GAm KFCC 11510P이다.
- [0035] 본 발명의 발효물은 고지혈증, 비만, 암, 대장 및 소장의 염증성 질환 및 기능성 장질환의 개선에 효과가 있어 이를 포함하는 건강기능성식품으로 이용가능하다. 이는 캡슐, 정제, 분말, 액상 현탁액, 환제, 과립제 등으로 제형화하여 사용할 수 있으나 이에 한정되지는 않는다.
- [0036] 본 발명의 건강기능성식품은 유제품, 제과물, 조미료, 음료 및 드링크제, 스낵, 캔디류, 아이스크림 및 냉동용 디저트, 아침 곡물류, 영양바, 스낵 바 초콜렛 제품, 가공 식품, 곡물 제품 및 파스타, 스프, 소스 및 드레싱, 과자 제품, 오일 및 지방제품, 유제품 음료 (dairy drink) 및 우유 음료, 두유 및 콩 유제품 (soy dairy-like product), 냉동식품, 조리 음식 및 대체음식, 육류 제품, 치즈, 요구르트, 빵 및 물빵, 효모 제품, 케이크 및 쿠키 및 크래커로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있으나 이에 한정되지는 않는다.
- [0037] 정제 형태의 건강기능성식품은 그대로 또는 부형제, 결합제, 붕해제 또는 다른 첨가제를 넣어 고르게 섞은 것을 적당한 방법으로 과립상으로 한 다음 활택제 등을 넣어 압축 성형하여 조제하거나 정제 형태의 건강기능성식품을 그대로 또는 부형제, 결합제, 붕해제 또는 다른 적당한 첨가제를 넣어 고르게 섞은 것을 직접 압축 성형하여 만들거나 또는 미리 만든 과립에 건강기능성식품을 그대로 혹은 적당한 첨가제를 넣어 고르게 섞은 다음 압축 성형하여 조제하거나 건강기능성식품에 부형제, 결합제 또는 다른 적당한 첨가제를 넣어 고르게 섞은 분말을 용매로 습윤시키고, 습윤 된 분말을 저압으로 틀에 넣어서 성형한 후, 적당한 방법으로 건조하여 조제한다. 또한, 상기 정제 형태의 건강기능성식품에 필요에 따라 교미제 등을 넣을 수 있으며, 적당한 제피제로 제피 가능하다.
- [0038] 캡슐 형태의 건강기능성식품 중 경질 캡슐제는 보통 캡슐에 건강기능성식품 또는 건강기능성식품에 적당한 부형제 등을 고르게 섞은 것 또는 적당한 방법으로 입상으로 한 것 또는 입상으로 한 것에 적당한 제피제로 제피한 것을 그대로 또는 가볍게 성형하여 충전하여 조제하며, 연질 캡슐제는 보통 캡슐에 건강기능성식품 또는 건강기능성식품에 적당한 부형제 등을 넣은 것을 젤라틴 등 적당한 캡슐기체에 글리세린 또는 소르비톨 등을 넣어 소성을 높인 캡슐기체로 피포하여 일정한 형상으로 성형하여 조제하며, 필요에 따라 상기 캡슐기체에 착색료 보존료 등을 첨가할 수 있다.



- [0039] 환 제형의 건강기능성식품은 보통 건강기능성식품에 부형제, 결합제, 봉해제 등을 고르게 섞은 다음 적당한 방법으로 구상으로 성형하여 조제하며, 필요에 따라 백당이나 다른 적당한 제피제로 제피를, 또는 전분, 탈크 또는 적당한 물질로 환의를 입힐 수도 있다.
- [0040] 과립 제형의 건강기능성식품은 보통 건강기능성식품을 그대로 또는 건강기능성식품에 부형제, 결합제, 봉해제 등을 넣어 고르게 섞은 다음 적당한 방법으로 입상으로 만들고 될 수 있는 대로 입자를 고르게 한 것이며, 필요에 따라 착향료, 교미제 등을 넣을 수 있다.
- [0041] 음료 제형의 건강기능성식품은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드, 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 녹용추출물, 배변활동과 칼슘의 흡수를 도와주는 프락토올리고당, 아카시아꿀, 천연 보존제인 복합황금추출물 및 침전개선 점증제인 젤란검 등의 기능성 원료도 부가할 수 있으나, 이에 한정하지는 않고 건강기능성식품에 적합한 성분을 적절하게 사용할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 의약조성물은 고지혈증, 비만, 암, 대장 및 소장의 염증성 질환 및 기능성 장질환의 예방 또는 치료용 의약 용도를 갖는다. 염증성 질환은 급성장염, 크론씨병, 궤양성 대장염 및 허혈성 대장염을 포함하며 기능성 장질환에는 설사, 변비, 장계실 및 과민성 장증후군을 포함한다.
- [0043] 본 발명의 발효물을 포함하는 의약조성물의 경우, 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 봉해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [0044] 본 발명의 의약조성물은 투여를 위해서 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화 할 수 있다. 약제 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 또는 유제 등이 될 수 있다.
- [0045] 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 봉해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐 레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 봉해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가로스, 벤토나이트, 잔탄 검 등을 포함한다.
- [0046] 액상 용액으로 제제화되는 약학 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 환약, 캡슐, 과립 또는 정제 등으로 제제화 할 수 있다. 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화 할 수 있다.
- [0047] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예, 실험예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.
- [0048] **실시예 1. 콩알매주 제조법**
- [0049] 대두는 충북 괴산군 장연면에서 2011년 생산된 백태를 구입하여 사용하였다. 아스퍼질러스 오리재는 (주)충무발효에서 제공받아 사용하였으며, 바실러스 서브틸리스-SKm은 영양배지(Difco Co., Sparks, MI, USA)에 접종하여 40℃에서 24-48시간 배양하고, 락토코커스 락티스-GAm(KFCC 11510P)은 MRS 배지(Difco Co.)를 사용하여 37℃에서 24-48시간 배양한 후  $10^6$  cfu/g이 되도록 조정하여 사용하였다.
- [0050] 대두는 정선 및 수세하여 1.5배의 물에 12시간 침지한 후, 121℃에서 30분간 증자하고 50℃로 식혀 대두 100 중량부 대비 아스퍼질러스 오리재 0.2중량부와 바실러스 서브틸리스-SKm를  $10^6$  cfu/g를 접종하고, 30℃에서 48시간 1차 발효시켰다. 1차 발효 후에 락토코커스 락티스-GAm  $10^6$  cfu/g을 접종하여 37℃에서 24시간 2차 발효 하여 콩



알 메주를 제조하였다.

[0051] 후술하는 실험예에서 CG-m은 시판 콩알 메주, A-m은 아스퍼질러스 오리재 단일 균주로 발효된 콩알 메주, AB-m은 아스퍼질러스 오리재 및 바실러스 서브틸리스-SKm로 발효된 콩알 메주, AL-m은 아스퍼질러스 오리재 및 락토코커스 락티스로 발효된 콩알 메주 그리고 ABL-m이 아스퍼질러스 오리재, 바실러스 서브틸리스-SKm 및 락토코커스 락티스로 발효된 콩알 메주로서 본 발명을 나타낸다.

[0052] ND는 일반식이 섭취군, Control은 고콜레스테롤 식이 + 살린 경구투여군, CG-m은 고콜레스테롤 식이 + 시판콩알 메주 경구투여군, A-m은 고콜레스테롤 식이 + A-m 경구투여군, AB-m은 고콜레스테롤 식이 + AB-m 경구투여군, AL-m은 고콜레스테롤 식이 + AL-m 경구투여군 그리고 ABL-m은 고콜레스테롤 식이 + ABL-m 경구투여군을 나타낸다.

[0053] Normal은 대장염 유도 없이 PBS를 섭취한 군, Control은 DSS로 대장염을 유도하고 PBS를 섭취한 군, CG-m은 DSS로 대장염을 유도하고 CG-m을 섭취한 군 그리고 ABL-m은 DSS로 대장염을 유도하고 CG-m을 섭취한 군을 나타낸다.

#### [0054] 실험예 1. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주의 pH 측정

[0055] 시료를 증류수로 희석하여 pH계 (TP-93, Toko Chemical Laboratories, Tokyo, Japan)로 실온에서 측정하였다. 산도는 AOAC(Association of Official Analytical Chemists) 표준시험법에 따라, 20배 희석한 시료를 20ml 취하여 pH 8.4가 될 때까지 0.1N NaOH로 적정하고, 이때 소요되는 0.1N NaOH의 양으로 나타내었다.

$$\text{산도 (\%)} = \frac{\text{ml of 0.1N NaOH} \times 0.1 \times \text{희석비율} \times 0.09}{\text{샘플의 무게 (g)}} \times 100$$

[0056] pH는 AB-m, Al-m 및 ABL-m에서 7.1대로 비슷하게 나타났고, CG-m, A-m에서 6.9대로 낮게 나타났다(도 1 참조).

#### [0058] 실험예 2. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주의 아미노태 및 암모니아태 질소함량 측정

[0059] 아미노태는 시료를 10배 희석하여 포물적정법으로 측정하였다. 즉, 시료액 20ml에 중성 포르말린 용액 20ml를 가한 다음 pH 8.4가 될 때까지 0.1N NaOH로 적정하여 소비된 0.1N NaOH 용액의 ml수를 측정하여 아미노태 질소의 함량을 계산하였다. 암모니아태는 시료를 40배 희석하여, AM 505-K (Asan, Pharmaceutical, Hwasung, Korea)에 의한 인도페놀법으로 측정하였다.

[0060] 아미노태 질소는 ABL-m에서 CG-m 또는 AL-m보다 10%이상 높게 나타났다. 암모니아태 질소는 모든 메주가 비슷한 수치를 나타냈다(도 2 참조).

#### [0061] 실험예 3. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주의 미생물 분포 측정

[0062] 시료를 단계별로 희석한 후 플레이트 카운트 한천 배지(Difco Co.)에 100μl씩 분주하여 도달한 후 30℃에서 48시간 배양한 다음 나타난 군체를 계수하여 나타내었다. 효모 및 곰팡이 수는 감자 한천 배지(Difco Co.)를 사용하여 30℃에서 48시간 배양하여 나타난 군체를 계수하여 측정하였다.

[0063] 각각 총 호기성미생물 9-10log cfu/g, 유산균 7-10log cfu/g, 효모 및 곰팡이 7-8log cfu/g의 분포를 보였으며, ABL-m이 유의적으로 높은 미생물 분포를 나타냈다(도 3 참조).

#### [0064] 실험예 4. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주의 효소 활성 측정

[0065] 프로테아제 활성은 0.6% 카세인을 기질로 하여 생성된 타이로신을 폴린법으로 측정하였으며, 효소의 활성은 30℃에서 1분간 생성되는 타이로신의 μg수로 표시하였다. 알파-아밀라아제 활성은 1% 가용성 녹말을 기질로 하여 반응액을 요오드 용액으로 발색시키고 700nm에서 흡광도를 측정하였으며, 효소의 활성은 40℃에서 분해된 가용성 녹말의 ml수로 표시하였다. 리파아제 활성은 올리브 오일을 기질로 하여 생성된 지방산을 0.05N NaOH로 적정

하여 측정하였다.

[0066] 복합 균주를 스타터로 제조한 메주의 효소활성이 모두 단일균주를 스타터로 사용한 메주보다 높게 나타났으며, 특히 ABL-m의 효소활성이 CG-m 또는 AL-m보다 30~50% 정도 우수한 것으로 나타났다(도 4 참조).

**[0067] 실험예 5. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주를 경구 투여한 흰쥐의 분변 중 수분함량, 유산균수 및 유해효소 함량 변화 측정**

[0068] 분변의 경우는 일주일 간격으로 채취하여 -80℃에 보관하면서 사용하였다.

[0069] 수분함량은 건조기(105℃, 24 h)를 사용하여 분석하였으며, 아래와 같은 식으로 계산하였다.

[0070] 분변 수분 함량(%) =  $(W_{wet} - W_{dry}) / W_{wet} \times 100$

[0071]  $W_{wet}$  : 건조 전 분변의 중량,  $W_{dry}$  : 건조 후 수분의 중량

[0072] 분변내 유산균수 측정은 분변을 단계적으로 회석하여 MRS 배지(Difco Co.)에 분주하고, 37℃에 48시간 동안 배양한 후 나타난 군체의 수를 계수하여 측정하였다.

[0073] 트립토판아제 활성은 2.5ml의 complete reagent solution (2.75mg 피리독살 포스페이트, 19.6mg 디소듐 이디티에이 이수화물 및 10mg 소혈청알부민 in 100ml of 0.05M 인산완충용액, pH 7.5)에 0.2ml의 20mM 트립토판과 0.1ml의 조효소액 (분변 회석액)을 첨가한 후 37℃에서 1시간 동안 방치한다. 이 후에 2ml의 발색시약용액 (14.7g 파라-다이메틸아미노벤잘데히드 in 52ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and 948ml of 95% 에탄올)을 넣어 반응을 중지시킨 다음, 이것을 3,000rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0074] 베타-글루쿠로니다아제 활성은 2ml의 reaction mixture(1.6ml의 2mM 파라- 니트로페닐-베타-D-글루쿠로니드, 0.4ml의 조효소액)을 37℃에서 30분간 원심분리 한 다음, 1ml의 0.5N NaOH을 넣어 반응을 중지시킨다. 이것을 3,000rpm에서 10분간 원심분리 한 다음, 상등액을 취하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0075] 메주 투여군의 분변 중 수분함량이 시간이 지나면서 증가되었다. Control군이 고콜레스테롤 식이로 인해 분변 중 수분함량이 50%이하로 감소하고 변비가 유발된 것으로 볼 때, AL-m군과 ABL-m군의 경우 분변 중 수분함량이 증가하였고 ABL-m이 60% 이상으로 가장 높게 나타났다(도 5a 참조).

[0076] 분변 중 유산균의 경우 고콜레스테롤 식이를 시작한 초반에는 줄어들다가, 시간이 경과하면서 점차 증가하였고, ABL-m군의 분변 중 유산균수가 가장 크게 증가하여 ND보다 높게 나타났다(도 5b 참조).

[0077] 장내 대표적 유해성 물질 유도 효소인 트립토판아제, 베타-글루쿠로니다아제의 활성은 4주간의 메주 섭취 후, 모두 뚜렷하게 감소하였다. ND, control군에 비해서도 메주 투여군이 훨씬 낮은 활성을 나타냈고 ABL-m이 가장 낮은 활성을 나타냈다(도 6 참조).

**[0078] 실험예 6. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주를 경구 투여한 흰쥐의 체중변화 측정**

[0079] 실험동물은 SD rat(수컷, 5주령, (주)샘타코)을 사용하였으며, 사육실의 온도는 22±2℃로 조정하고, 12시간 간격으로 light/dark cycle을 조정하였다. 실험기간 동안 사료와 물은 자유롭게 공급하였다.

[0080] SD rat에 콩알메주를 4주간 경구투여 하면서 체중변화를 관찰하였다.

[0081] 실험군에 따라 큰 차이를 보이지 않았으나, 메주 투여군의 경우 control군에 비해 체중 증가가 적었으며, ABL-m이 가장 체중이 적은 것으로 나타났다(도 7 참조).

**[0082] 실험예 7. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주를 경구 투여한 흰쥐의 혈액 중 지질 성분 함량 측정**

[0083] 혈액을 채취하여 3,500 rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈장을 분리하였다.

[0084] 혈중 중성지방의 농도는 commercial kit(AM202K, AM1575K, 077K9806, 아산제약)를 사용하여 각각 분석하였다.

[0085] Control군에 비해 메주 투여군에서 혈중 중성지방의 함량이 낮게 나타났으며 ABL-m이 가장 낮은 것으로 나타났다.(도 8 참조).

**[0086] 실험예 8. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주의 대장염 억제능 측정**

[0087] 본 실험에 사용한 동물은 6주령의 암컷 Balb/c mouse((주)셀타코, 오산)로, 체중이 20-25g 전후의 것을 사용하였으며, 사료는 표준사료로 사육하였다. 사육시 물과 사료는 충분한 양을 공급하였고, 동물실험실은 온도  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도  $55 \pm 5\%$ 를 유지하였으며, 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지하여 1주 순화시킨 후, 사용하였다.

[0088] BALB/C 마우스에서 텍스트란황산나트륨(DSS)으로 대장염을 유도하고 메주를 2주간 경구투여 하면서 대장염 예방 효과 관찰하였다.

[0089] 대장의 조직병리학적 분석을 위해 대장 내 잔여 분뇨를 0.6% NaCl로 사용하여 깨끗이 제거하고 10% 포르말린으로 24시간 고정 후, 파라핀 조직표본을 제작하여 5  $\mu\text{m}$ 로 각 조직표본을 절편하였다. 이 후에 조직을 헤마톡실린 & 에오진으로 염색하여 현미경으로 관찰하였다.

[0090] 염증성 사이토카인의 정량적 평가를 위해 마우스의 혈액을 3000rpm으로 15분 원심분리 하여 혈청을 분리하였으며, IL-12, IL-17  $\alpha$ 의 혈청 농도를 효소 면역측정법 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA MAX Deluxe Sets, Biolegend)을 이용하여, 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0091] 궤양성 대장염의 가장 대표적인 증상인 대장의 길이가 심하게 짧아지고 경직되는 현상이 메주 투여군에서는 완화된 모습을 보였으며, 특히 ABL-m 투여군에서는 유의적인 효과가 나타났다( $P < 0.05$ )(도 9 참조).

[0092] 대장 조직을 헤마톡실린 & 에오진 염색을 실시하여 관찰한 결과, control 군의 대장에 비해 메주투여군의 대장조직이 훨씬 병변과 염증이 감소되고, 융모 및 상피조직이 회복된 모습을 보였으며(도 10 참조), 이것을 수치화한 결과 메주 투여군에서 유의적으로 궤양성 대장염의 증상이 완화된 것으로 나타났고 ( $P < 0.05$ ) ABL-m이 가장 좋은 평가를 나타냈다(도 11 참조).

[0093] 궤양성 대장염 발병에 관여하는 IL-12, IL-17  $\alpha$  등의 염증성 사이토카인을 마우스 혈청에서 측정한 결과, 역시 메주 투여군에서 유의적으로 감소하는 경향을 보였고 ABL-m의 경우 비교실험군에 비해 20~30% 정도 더 감소하였다(도 12 참조).

**[0094] 실험예 9. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조된 된장의 발효기간 중 pH 및 염도변화 측정**

[0095] 메주, 물 및 소금을 1:1.7:0.46의 비율로 혼합하여  $37^\circ\text{C}$ 에서 6주간 발효하면서 된장을 제조하여 발효 양상을 관찰하였다.

[0096] 시판 각메주 및 시판 콩알메주를 이용하여 제조한 된장을 비교군으로 사용하였다. 시판 각메주는 알알이 재래메주((주)알알이 식품, 경북 고령)를 사용하였고 시판 콩알메주는 알알이 메주((주)알알이 식품, 경북 고령)를 사용하였다.

[0097] pH는 0일째에는 6.4~7.6, 6주 후에는 6.0~7.3의 분포로 큰 변화를 보이지 않음, 염도 역시 발효기간 동안 8.7~9.2%의 범위로 큰 변화를 보이지 않았다(도 13 참조).

**[0098] 실험예 10. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조된 된장의 발효기간 중 아미노태 및 암모니아태 질소함량 변화 측정**

[0099] 실험방법은 상기 실험예 2의 방법과 동일하다.

[0100] 아미노태 질소의 경우, 6종의 된장 모두 6주간의 발효기간 동안 점점 증가하는 경향을 보였다. 시판 메주로 제조한 된장(CB-d, CG-d)에 비해서 모두 제조 콩알 메주로 만든 된장의 아미노태가 높았으며, 특히 ABL-d의 아미노태가 높게 나타났다. 또한 제조 콩알 메주로 만든 된장의 아미노태 질소 증가폭이 CG-d에 비해 큰 것으로 보아 시판 콩알 메주로 만든 된장 보다 발효 속도가 빠름을 짐작할 수 있다.

[0101] 암모니아태 질소도 아미노태 질소와 비슷한 경향을 보여, 발효기간 중 모든 된장의 암모니아태 질소는 증가하였다. 모든 된장들이 정상범위내의 수치를 보였으며, CG-d의 암모니아태 질소 함량이 매우 낮았다(도 14 참조).

- [0102] **실험예 11. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조된 된장의 발효기간 중 효소활성 변화 측정**
- [0103] 실험방법은 상기 실험예 4의 방법과 동일하다.
- [0104] 프로테아제 활성은 ABL-d에서 시판 메주에 비해 5배 이상 높게 나타났고 AL-d에 비해서도 20% 이상 높았다.
- [0105] 알파-아밀라아제 활성도 ABL-d에서 시판 메주에 비해 70%이상 높게 나타났다.
- [0106] 리파아제 활성도 ABL-d에서 시중 메주 및 타 균주에 비해 약 30 내지 250% 정도 높게 나타났다(도 15 참조).
- [0107] **실험예 12. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조된 된장의 발효기간 중 외관 관찰**
- [0108] 아미노태 질소 증가폭이 크고, 효소활성이 높은 AL-d, ABL-d 등이 외관 상으로도 콩의 분해가 많이 일어나 발효가 잘 이루어진 것으로 나타났다. CG-d의 경우는 콩의 형태가 분해되지 않고 그대로인 모습이었으며, CB-d는 발효는 잘 이루어져 보였으나, 갈변화가 많이 이루어져 빛깔이 검은 편이었다(도 16 참조).
- [0109] **실험예 13. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조된 된장의 DPPH 자유 라디칼 소거능 측정**
- [0110] 동결 건조한 시료를 마쇄하고 시료에 20배(w/v)의 메탄올을 첨가하여 12시간 교반을 3회 반복한 후 여과하여 회전식 진공농축기(EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이들 추출물들은 다이메틸설폭사이드(DMSO)에 적당 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.
- [0111] DPPH 자유 라디칼 소거효과는 Blois 등의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 100 $\mu$ l와 150 $\mu$ m DPPH(1,1-diphenyl-2picrylhyrazyl, Sigma Co., Louis, MO, USA)용액 100 $\mu$ l를 96홈판에 혼합하여 30분간 실온에 빛이 차단된 상태로 반응시킨 후 515nm에서 분광광도계(UV/VIS spectrophotometer, Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 1mg/ml, 2mg/ml 모든 농도에서 ABL-d가 유의적으로 높은 소거능을 나타냈다(도 17 참조).
- [0112] **실험예 14. 프로바이오틱 혼합 균주로 발효된 콩알 메주로 제조된 된장의 HT-29 대장암 세포 성장 억제능 측정**
- [0113] 실험에 사용된 HT-29 인체 결장암 세포는 한국 세포주 은행으로부터 분양 받아 배양하면서 실험에 사용하였다. 즉, 암세포를 100unit/ml의 페니실린-스트렙토마이신과 10%의 FBS가 함유된 RPMI 1640 배지 (GIBCO, Grand Island, NY, USA)을 사용하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하고, 배양된 각각의 암세포는 일주일에 2회 내지 3회 재파종하면서, 6일 내지 7일마다 계대 배양하여 실험에 사용하였다. 배양된 암세포는 96홈판에 홈 당  $2 \times 10^4$  cells/ml이 되도록 180 $\mu$ l씩 분주하고, 일정 농도로 제조한 시료 20 $\mu$ l를 첨가하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 72시간 배양하였다. 여기에 PBS를 이용하여 5mg/ml의 농도로 제조한 MTT 용액 20 $\mu$ l를 첨가하여 동일한 배양 조건에서 4시간 동안 더 배양한 후, 생성된 포르마잔 결정을 DMSO에 녹여서 효소면역측정기(ELISA reader)로 540nm에서 흡광도를 측정하였다.
- $$\text{세포독성 (\%)} = \frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{시료처리구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$
- [0114]
- [0115] 0.5mg/ml, 1.0mg/ml 모든 농도에서 ABL-d가 유의적으로 높은 암세포 성장 억제능을 나타냈다(도 18 참조).

도면

도면1

	CG-m	A-m	AB-m	AL-m	ABL-m
pH	6.97	6.92	7.16	7.11	7.12

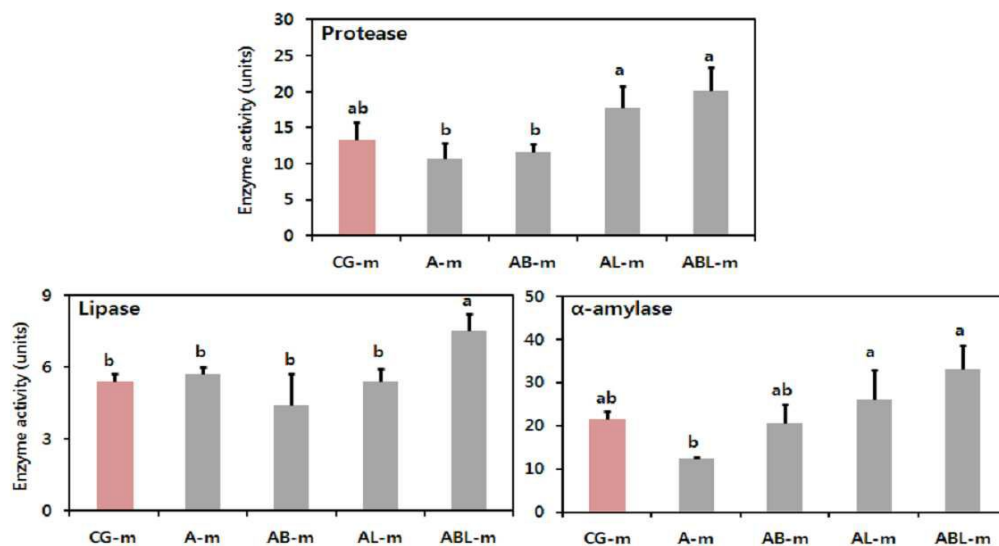
도면2

	CG-m	A-m	AB-m	AL-m	ABL-m
NH <sub>2</sub> -N (mg%)	852.4±4.5 <sup>c</sup>	750.4±2.1 <sup>d</sup>	854.0±5.8 <sup>c</sup>	882.0±8.2 <sup>b</sup>	973.0±11.9 <sup>a</sup>
NH <sub>3</sub> -N (μg/dl)	1423.2±5.3 <sup>ab</sup>	1337.7±21.1 <sup>c</sup>	1495.9±8.9 <sup>a</sup>	1414.5±4.4 <sup>b</sup>	1453.6±41.7 <sup>a</sup>

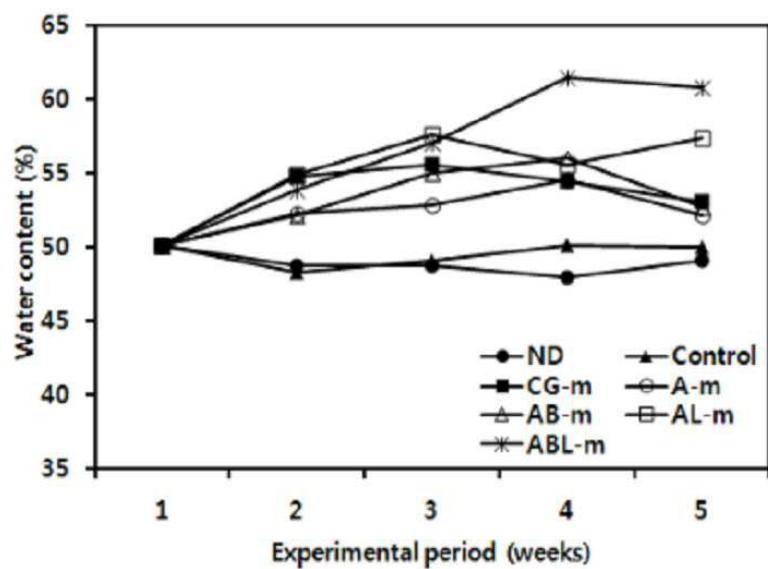
도면3

log cfu/g	CG-m	A-m	AB-m	AL-m	ABL-m
Aerobic bacteria	7.7±0.3 <sup>b</sup>	9.4±0.2 <sup>a</sup>	9.7±0.7 <sup>a</sup>	9.0±0.5 <sup>ab</sup>	9.9±0.3 <sup>a</sup>
Lactic acid bacteria	6.0±0.0 <sup>b</sup>	3.0±0.0 <sup>d</sup>	5.4±0.2 <sup>c</sup>	7.9±0.3 <sup>a</sup>	8.5±0.5 <sup>a</sup>
Yeasts & molds	7.1±0.0 <sup>b</sup>	7.9±0.2 <sup>ab</sup>	8.1±0.4 <sup>ab</sup>	8.3±0.7 <sup>a</sup>	8.8±0.6 <sup>a</sup>

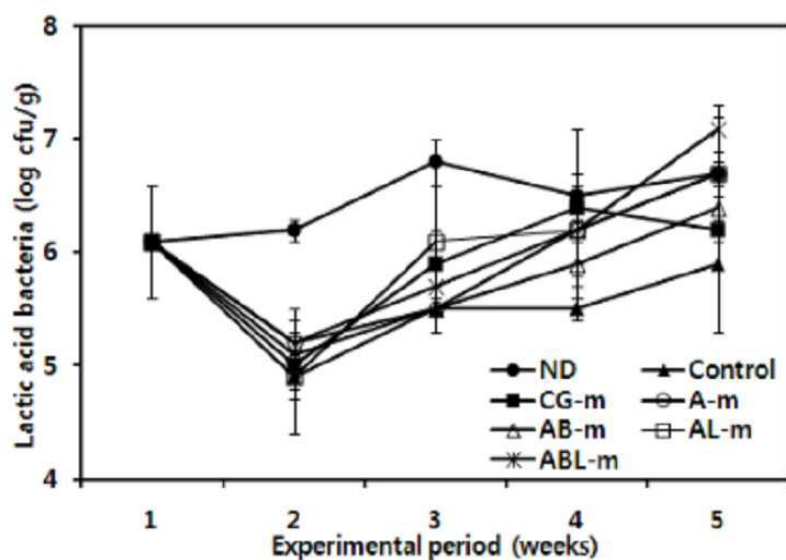
도면4



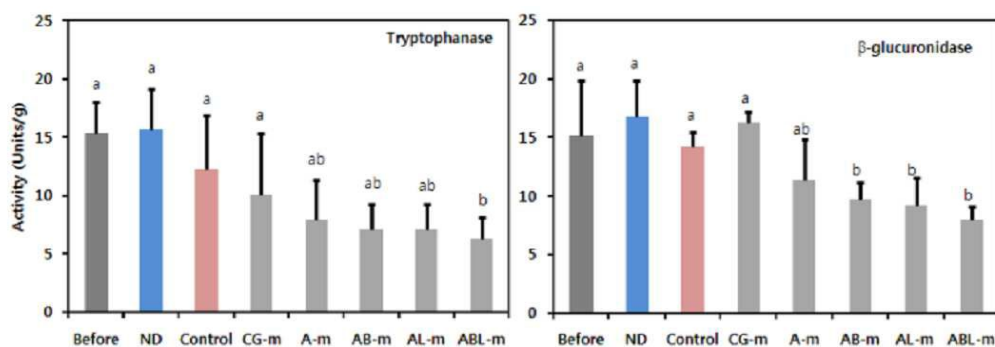
도면5a



도면5b



도면6

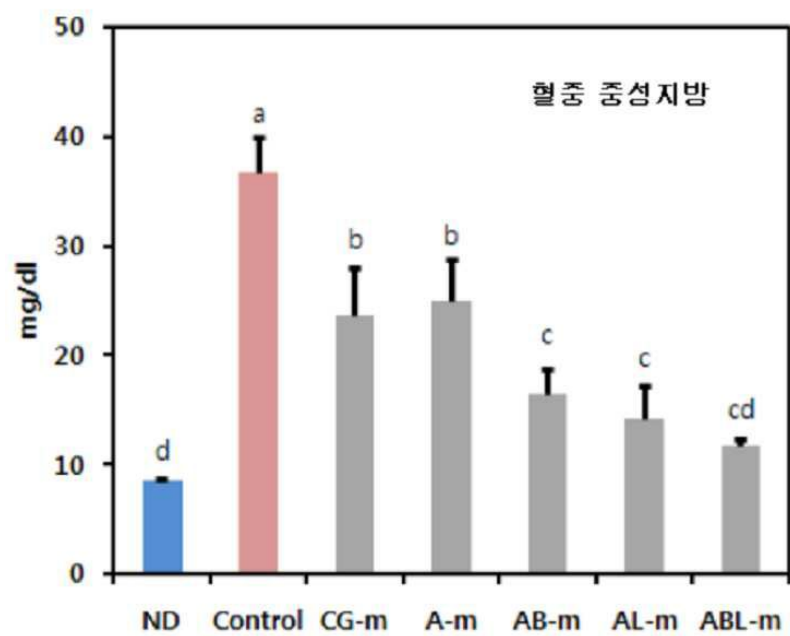




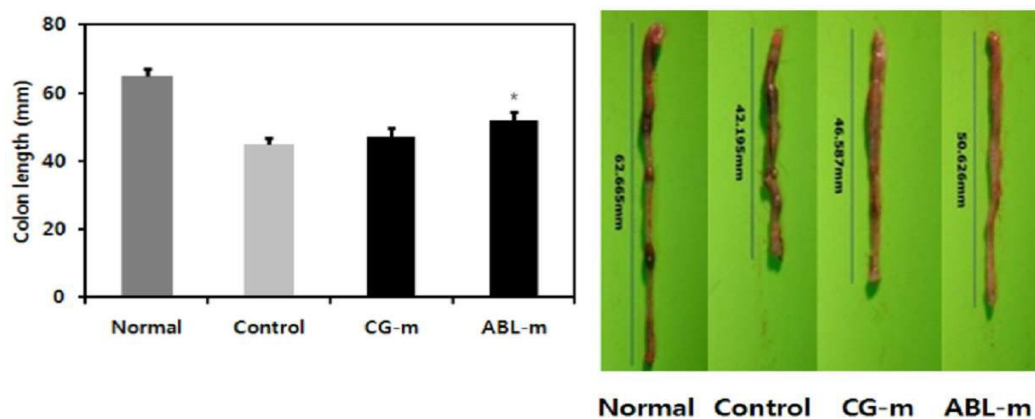
도면7

실험기간	시작	체중 (g)				
		1	2	3	4	5
ND	81.6±1.7	134.3±5.9	193.4±7.8	232.3±14.8	302.1±8.1	329.9±14.8
Control	82.4±2.1	135.2±7.8	191.1±9.7	235.4±14.1	304.9±15.9	342.8±21.0
CG-m	82.5±1.1	144.2±9.2	196.9±9.9	239.9±17.6	293.2±19.3	326.2±25.1
A-m	82.1±2.5	138.9±3.5	189.0±8.4	231.2±9.4	291.2±12.0	321.9±16.0
AB-m	82.9±2.7	135.5±8.6	194.4±8.1	236.4±10.6	293.5±10.4	326.8±12.0
AL-m	83.4±2.9	142.1±5.0	198.9±10.0	240.5±11.4	297.2±17.1	329.4±22.1
ABL-m	82.0±3.2	135.1±6.7	190.9±9.8	233.4±17.9	295.1±23.2	321.5±13.4

도면8

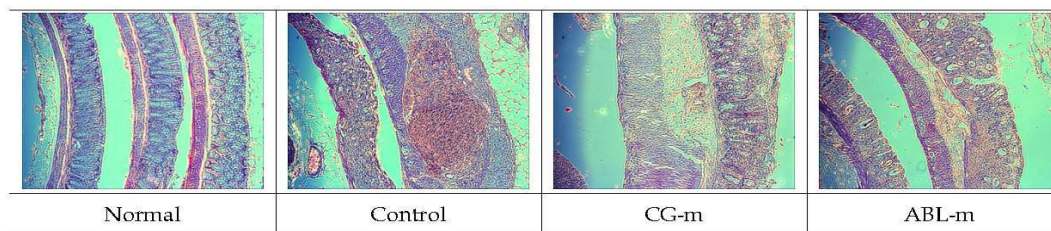


도면9

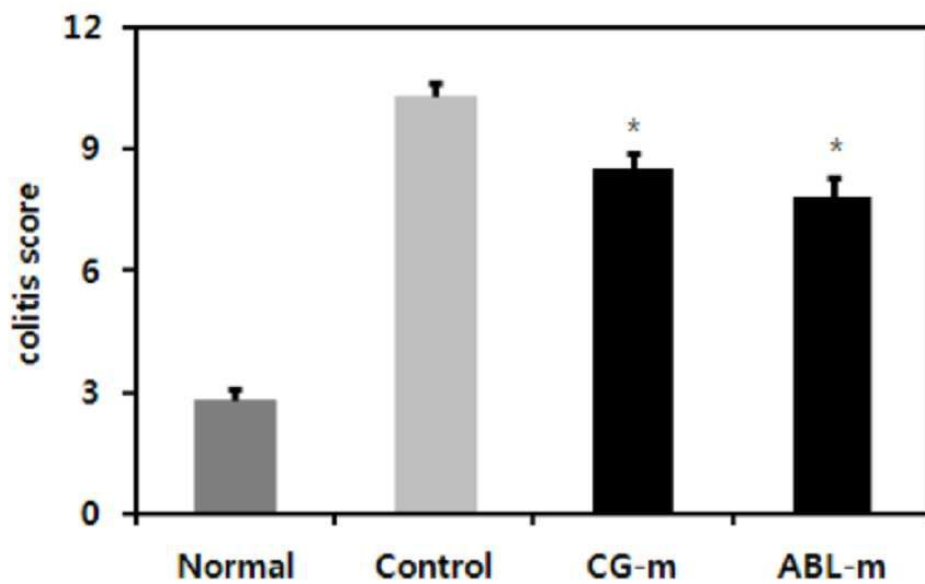




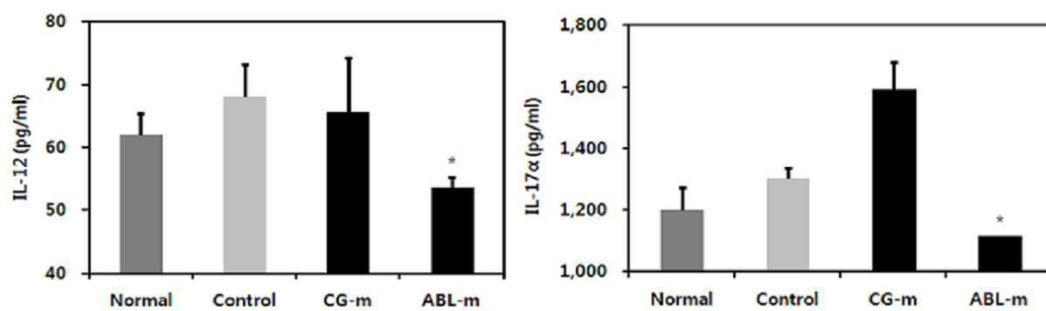
도면10



도면11



도면12



도면13

		기간		
		시작	3주	6주
pH	CB-d	7.2	6.5	6.4
	CG-d	6.4	5.9	6.0
	A-d	7.6	7.5	7.2
	AB-d	7.5	7.3	7.1
	AL-d	7.6	7.4	7.2
	ABL-d	7.6	7.5	7.3
염도 (%)	CB-d	9.0	8.8	8.8
	CG-d	8.8	8.6	8.7
	A-d	9.0	8.8	8.7
	AB-d	9.0	8.8	8.8
	AL-d	9.2	9.0	8.9
	ABL-d	9.1	9.0	8.8

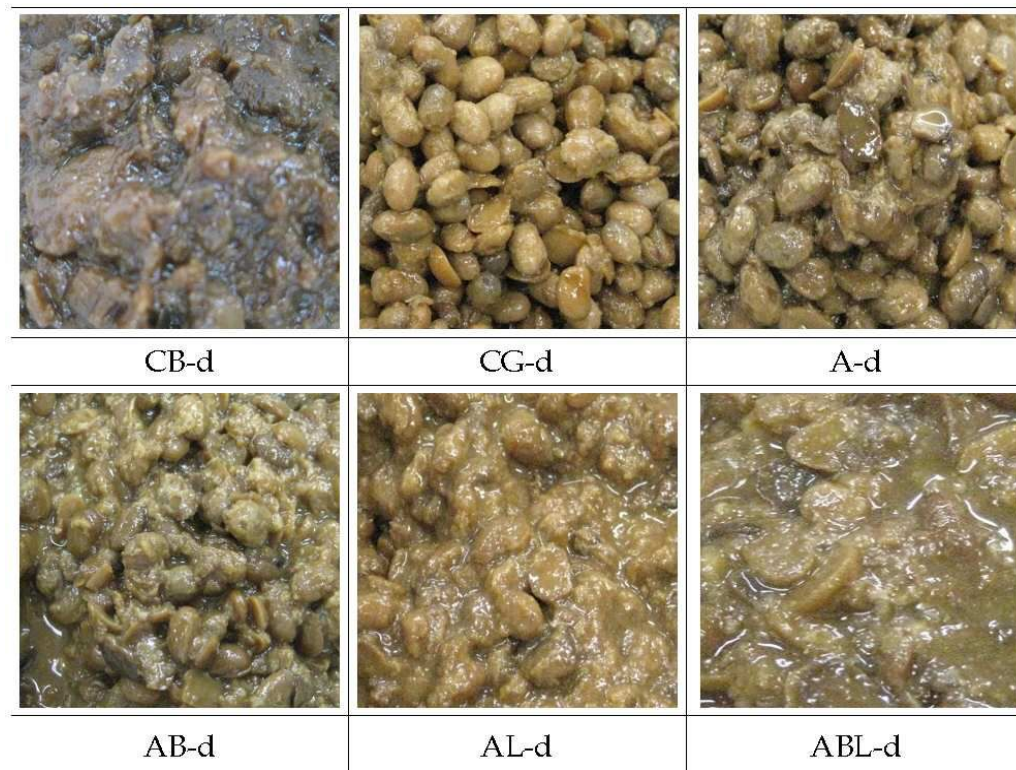
도면14

		기간		
		시작	3주	6주
NH <sub>2</sub> -N (mg%)	CB-d	155.8±2.5 <sup>d</sup>	199.5±4.9 <sup>b</sup>	735.0±59.4 <sup>b</sup>
	CG-d	171.5±19.8 <sup>d</sup>	154.0±0.0 <sup>c</sup>	591.0±14.8 <sup>c</sup>
	A-d	255.5±4.9 <sup>c</sup>	353.5±44.5 <sup>a</sup>	750.8±17.3 <sup>b</sup>
	AB-d	297.5±9.9 <sup>a</sup>	343.0±49.5 <sup>a</sup>	812.0±29.7 <sup>a</sup>
	AL-d	275.8±1.0 <sup>b</sup>	385.0±49.5 <sup>a</sup>	822.5±24.7 <sup>a</sup>
	ABL-d	297.9±12.4 <sup>a</sup>	392.0±19.8 <sup>a</sup>	847.0±49.5 <sup>a</sup>
NH <sub>3</sub> -N (μg/dl)	CB-d	939.7±7.4 <sup>a</sup>	1302.4±43.9 <sup>a</sup>	1657.4±50.1 <sup>a</sup>
	CG-d	340.2±10.8 <sup>e</sup>	558.1±27.0 <sup>d</sup>	724.4±37.6 <sup>f</sup>
	A-d	671.3±53.1 <sup>d</sup>	696.8±42.6 <sup>c</sup>	1017.9±49.2 <sup>e</sup>
	AB-d	896.6±25.7 <sup>b</sup>	849.2±83.0 <sup>b</sup>	1343.2±35.4 <sup>b</sup>
	AL-d	773.6±55.8 <sup>c</sup>	683.1±53.4 <sup>cd</sup>	1126.8±12.0 <sup>d</sup>
	ABL-d	871.3±7.7 <sup>b</sup>	741.1±61.3 <sup>c</sup>	1278.4±42.3 <sup>c</sup>

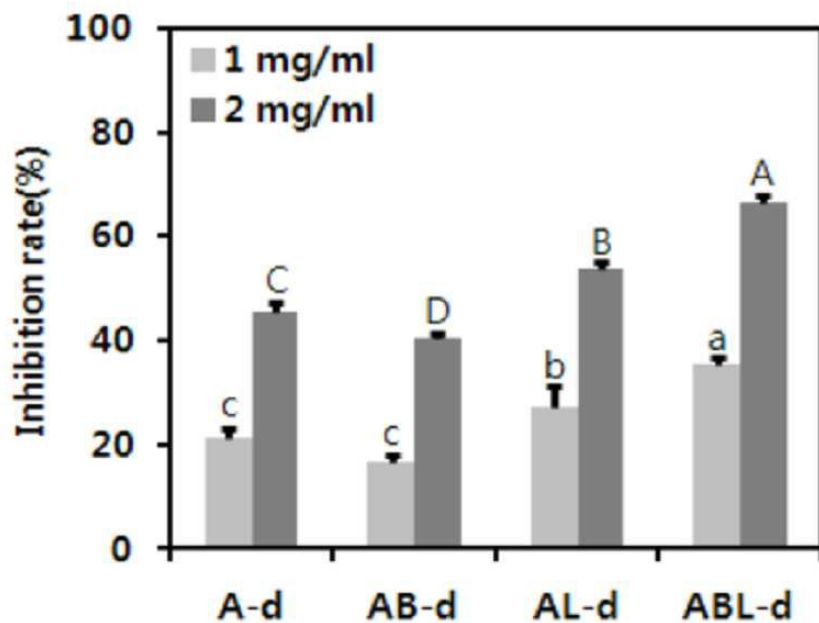
도면15

		기간		
		시작	3주	6주
프로테아제 (units)	CB-d	19.8±3.0 <sup>cd</sup>	5.5±1.8 <sup>c</sup>	5.1±1.2 <sup>b</sup>
	CG-d	23.4±1.8 <sup>c</sup>	16.1±0.0 <sup>b</sup>	6.3±3.0 <sup>b</sup>
	A-d	15.9±0.6 <sup>d</sup>	6.8±3.6 <sup>c</sup>	7.2±3.0 <sup>b</sup>
	AB-d	20.2±4.8 <sup>c</sup>	15.7±1.8 <sup>b</sup>	31.7±16.2 <sup>a</sup>
	AL-d	37.7±0.6 <sup>b</sup>	14.4±1.2 <sup>bc</sup>	27.5±18.5 <sup>a</sup>
	ABL-d	48.1±2.4 <sup>a</sup>	36.0±0.6 <sup>a</sup>	33.8±8.4 <sup>a</sup>
알파-아밀라아제 (units)	CB-d	14.5±2.1 <sup>b</sup>	14.7±1.8 <sup>bc</sup>	21.0±3.7 <sup>b</sup>
	CG-d	14.7±1.8 <sup>b</sup>	17.4±2.3 <sup>b</sup>	21.0±3.7 <sup>b</sup>
	A-d	22.5±1.5 <sup>a</sup>	21.9±2.7 <sup>a</sup>	29.9±4.3 <sup>a</sup>
	AB-d	22.6±2.5 <sup>a</sup>	22.2±2.5 <sup>a</sup>	35.0±14.2 <sup>a</sup>
	AL-d	22.9±2.6 <sup>a</sup>	21.9±2.7 <sup>a</sup>	35.4±13.7 <sup>a</sup>
	ABL-d	24.0±2.9 <sup>a</sup>	24.3±3.9 <sup>a</sup>	36.1±12.7 <sup>a</sup>
리파아제 (units)	CB-d	2.3±0.4 <sup>b</sup>	3.0±0.7 <sup>d</sup>	2.7±0.1 <sup>c</sup>
	CG-d	0.8±0.4 <sup>d</sup>	3.3±0.1 <sup>d</sup>	4.4±1.3 <sup>b</sup>
	A-d	1.6±0.4 <sup>c</sup>	1.7±0.7 <sup>e</sup>	3.0±0.2 <sup>bs</sup>
	AB-d	2.8±0.4 <sup>b</sup>	4.1±0.2 <sup>c</sup>	2.5±1.1 <sup>c</sup>
	AL-d	3.9±0.4 <sup>a</sup>	5.0±0.0 <sup>b</sup>	1.7±0.4 <sup>cd</sup>
	ABL-d	4.1±0.4 <sup>a</sup>	8.5±0.7 <sup>a</sup>	5.8±0.1 <sup>a</sup>

도면16



도면17



도면18

