

전통 누룩 발효과정 중 품질 및 항원성 변화

이효형 · 이진형 · 고유진 · 박미화 · 이정옥 · 류충호[†]
경상대학교 응용생명과학부(BK21 program) · 농업생명과학연구원

Changes in Allergenicity and Quality of *Nuruk* during Fermentation

Hyo-Hyung Lee, Jin-Hyeong Lee, Yu-Jin Ko, Mi-Hwa Park,
Jeong-Ok Lee, and Chung-Ho Ryu[†]

Division of Applied Life Science (BK 21 Program), Institute of Agriculture and Life Science,
Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-701, Korea

Abstract

Wheat is the most widely cultivated cereal and an important source of dietary protein worldwide. Wheat allergy, defined as an adverse immunologic reaction to wheat, encompasses a broad spectrum of disorders with different pathomechanisms and clinical manifestation. The *Nuruk*, a traditional Korean *Koji* for brewing, was made with wheat flour and fermenting microbes such as bacteria, yeast and mold. The strains grown on *Nuruk* secrete various enzymes as amylase and protease. By the activation of such enzymes, starch and proteins in *Nuruk* are hydrolyzed to sugar and amino acid. Therefore, it is supposed to reduce allergic proteins in wheat. To study quality properties and degradation degree of allergenicity in *Nuruk* by fermentation, we investigated the changes of general ingredients and allergenicity in *Nuruk* during fermentation. Moisture contents was decreased from 24.2% to 13.6% during fermentation. Crude lipid and protein contents were gradually increased during fermentation. After 15 days of fermentation, reducing sugar and total sugar contents were reached its maximum level, and they were 27.45% and 39.00%, respectively. Acid and neutral protease activity were significantly increased during fermentation, but alkaline protease activity was not detected. α -amylase activity was gradually increased and showed maximum level about 2,833.00 U/g after 15 days of fermentation. Glucoamylase activity was the highest level about 497.9 U/g after 10 days of fermentation. The increase of these proteolytic and saccharogenic enzyme activities will provide efficient condition for production of rice wine. Also, protein fractions were isolated from *Nuruk*, and degradation of these proteins during fermentation were confirmed by SDS-PAGE. IgE immunoblotting using patient's sera with wheat allergy was performed to confirm allergenic protein in *Nuruk*. These results as fermentation of *Nuruk* will provide a useful tool for developing safer wheat products to prevent wheat allergy.

Key words: *Nuruk*, SDS-PAGE, immunoblot, wheat allergy

서 론

현대 사회가 점점 다양하게 발달해가면서 환경오염이 심해지고, 방부제, 향료, 색소와 화학성 인공첨가물이 함유된 인스턴트 또는 fast food의 섭취가 늘어남으로 인해 두드러기와 아토피 같은 알레르기성 질환 발생률이 증가하여 현대 사회의 큰 문제로 대두되고 있다(1,2).

식품알레르기란 원인식품을 섭취함으로써 나타나는 유해 반응 중 면역학적 기전에 의해 일어나는 반응으로, 대표적인 알레르기 원인식품으로는 대두, 우유, 계란, 생선, 땅콩, 갑각류, 견과류, 밀 등이 보고되어 있다. 특히, 전 세계 인류의 주식으로 사용되고 있는 밀에 의한 식품알레르기는 식생활 서구화에 따른 밀 가공식품 소비량 증가로 인해 더욱 큰 비

율로 증가하고 있다(3). 그러나 알레르기 원인식품에 대한 연구는 대개 달걀, 우유, 대두 등으로 국한되어 있으므로 (4-6) 주식을 담당하고 있는 쌀, 밀 등에 대한 연구는 미비한 실정이다.

누룩은 밀을 주원료로 성형하여 저온에서 장기간에 걸쳐 다양한 미생물군에 의해 발효된다. 또한, 누룩은 각종 전분 분해효소가 풍부하여 효율적인 당화를 유도하는 효소제로서의 역할뿐만 아니라 누룩에 효모의 증식으로 알코올 발효제의 역할을 수행하므로 주로 병행발효식 한국 전통 양조주에 향과 맛을 낸다(7).

누룩은 제조 방법에 따라 자연 환경 중에 존재하는 미생물이 증식되어 만들어지는 재래식 누룩과 살균한 전분질 원료에 *Aspergillus kawachii*, *Asp. oryzae* 등의 순수 배양한 균

[†]Corresponding author. E-mail: ryu@gnu.ac.kr
Phone: 82-55-751-5482, Fax: 82-55-753-4630

을 집중하여 만드는 개량식 누룩으로 분류된다(5,8). 개량식 누룩은 여러 균주에 의해 발효되므로 제조된 술의 풍미가 다양하며, 개량식 누룩의 경우 잡균 오염이 방지되어 술덧이 안전하게 발효되므로 수득율이 높고 균일한 품질의 술을 제조할 수 있다(9).

개량식 누룩의 주원료인 밀에는 약 12%의 단백질이 함유되어 있고, 대부분이 gluten 분획물이며 특히 albumin/globulin, gliadin, glutenin 등은 알레르기 원인단백질로 알려져 있다(10). 이들 단백질들은 특이 체질의 사람들의 면역시스템에 비자기성 침입자, 즉 항원으로 인식되어 알레르기관련 질환을 유발한다(11). 또한 예로부터 celiac disease라는 매우 심한 위장 증상을 나타내는 질환은 밀을 비롯한 소맥류(밀, 보리, 귀리 등)를 섭취함으로써 발생하며, 특히 소장에서의 염증과 전반적인 흡수불량을 특징으로 한다(12).

알레르기를 유발하는 원인식품 중의 주요 알레르겐성 단백질을 규명하는 연구(13)뿐만 아니라, 이러한 지식을 바탕으로 식품항원을 변화시켜 알레르기성을 저하(14)시킨 식품을 생산하기 위해 농경학적 방법, 열처리 가공에 의한 방법, 발효법, 효소를 이용한 단백질 분해방법 및 유전자조작 등의 다양한 방법(15-17)이 시도되고 있다. 최근 국내산 밀에 protease 등의 효소를 처리하여 항원성을 감화시키는 연구(18)가 발표되어 있으나, 발효법에 의한 항원성 저감화에 관한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 발효시간에 따른 누룩의 일반성분, 효소활성을 측정하고 밀 단백질의 분해정도 및 항원성 단백질의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

전통 누룩은 2007년 진주곡자에서 금강밀로 제조하여 발효시간별로 채취·분쇄하여 사용하였다(Fig. 1).

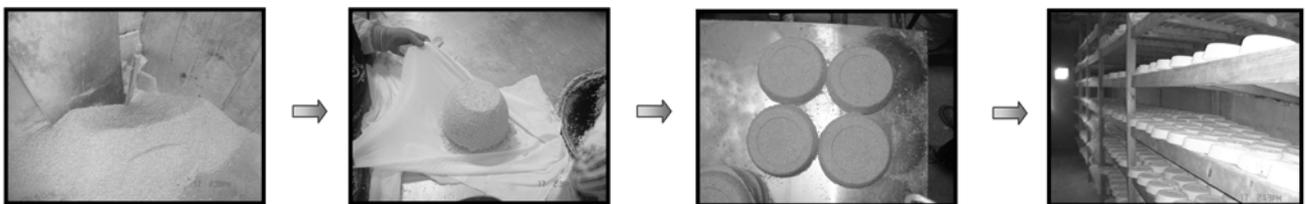


Fig. 1. Manufacturing process of Nuruk.

환자의 혈청은 서울 삼성병원에서 알레르기 증상으로 내원한 환자 중 밀에 대한 CAP검사에서 2⁺ 이상의 반응을 나타낸 밀 민감성 환자의 혈액으로부터 분리하였으며 실험에 사용할 때까지 -80°C에 보관하였다. 본 연구에 사용된 밀 민감성 환자의 혈청의 특성은 Table 1에 나타내었다.

수분함량 측정

시료 5.0 g을 적외선 수분측정기(FD-600, Kett)로 40분간 측정하였다.

총당 함량 측정

Phenol-H₂SO₄(19)법에 따라 시료를 정확히 2.0 g을 취하여 70% ethanol 60 mL을 가한 후 80°C에서 2시간 동안 환류 추출하여 냉각하였다. 이를 여과(Whatman No. 2)하여 1 mL을 취한 다음 증류수 4 mL로 5배 희석하였다. 희석액 1 mL에 5% phenol 1 mL을 가한 다음 H₂SO₄ 5 mL을 첨가하여 15분간 반응시키고 상온에서 냉각 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

환원당 함량 측정

환원당 함량은 dinitrosalicylic acid(DNS)법(20)으로 측정하였다. 즉 시료 2.0 g을 취하여 막자사발로 마쇄한 후 70 mL 증류수를 가하여 3시간 동안 환류 추출한다. 이를 100 mL로 정용하고 여과(Whatman No. 2)하여 시료로 사용하였다. 여액 1 mL에 dinitrosalicylic acid 1 mL을 첨가하고 100°C에서 5분간 반응시킨 다음 증류수 8 mL을 가한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

조단백질 함량 측정

시료 1.0 g을 정확히 칭량하여 약포지에 싸서 분해 플라스크에 넣고 분해촉진제 약 1.0 g과 H₂SO₄ 30 mL을 첨가한 후 가열분해 장치에서 가열하였다. 시료가 검은색에서 청색으로 변한 후 30분간 더 가열하였다. 가열분해가 끝나면 냉각한 후 강산을 희석시키기 위해 증류수 4 mL을 가한 후

Table 1. Biological characteristics of wheat sensitized patient's sera (kU_A/L)

Patients	Sex	Age (yr)	Total IgE	Egg	Milk	Wheat	Buckwheat	Soybean	Peanut	Dp.	Df.
Normal	F	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	M	3	1669.00	101.00	1.24	3.85	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	M	0	1717.00	92.50	23.3	4.21	0.55	2.13	2.48	0.00	0.00

Dp., Df.: house dust mite group allergens Der p I and Der f I.

32% NaOH로 중화하였다.

30 mL H₃BO₃에 지시약(0.4 g brom cresol green; 0.2 g methyl red; 100 mL ethanol)을 1~2방울 떨어뜨린 후 auto Kjeldahl 장치로 단백질을 추출하였다. 회수액을 0.1 N HCl로 적정하여 아래와 같은 식을 이용하여 조단백질 함량을 구하였다.

$$\text{Crude protein (\%)} = 0.0014 \times (V_1 - V_0) \times F \times D \times N \times 100 / S$$

V₀: blank test의 적정 mL수, V₁: 시료의 적정 mL수, F: 0.1 N HCl의 factor, D: 회석배수, S: 시료의 채취량, N: 질소계수 (6.25), 0.0014: 0.1 N HCl 용액 1 mL에 상당하는 질소량(g)

조지방 함량 측정

시료 중의 조지방은 Soxhlet 추출법(21)으로 측정하였다. 시료를 정확히 칭량하여 원통여지에 넣고 시료 위를 탈지면으로 가볍게 막고 추출관 속에 넣었다. 항량을 미리 구한 수기에 ether 100 mL을 넣은 후 추출관과 냉각관을 연결하여 8~16시간 동안 지방을 추출하였다. 수기를 분리하여 감압 농축기로 ether를 회수하고 105°C에서 1시간 건조 후 항량을 측정하여 조지방 함량을 구하였다.

α-Amylase 활성 측정

α-Amylase 활성 측정은 Bernfeld 방법(22)으로 측정하였다. 시료 2.0 g을 1% NaCl 20 mL로 환류 추출한 후 여과(Whatman No. 2)시킨 여액을 효소액으로 사용하였다. 효소액 0.5 mL에 증류수 0.5 mL, 1% NaCl 1 mL, 0.2 M acetate buffer 2 mL과 5% soluble starch 5 mL을 첨가한 후 65°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액 1 mL을 취하여 dini-trosalicylic acid 3 mL을 넣고 100°C에서 5분간 반응시켜 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소 활성 단위는 1분간 maltose 1 μmol을 생성하는 효소량을 1 unit로 하였다.

Glucosylase 활성 측정

Fehling-Lehman-Schoorl변법(23)에 따라 시료 2.0 g을 1% NaOH 20 mL에 2시간 환류 추출한 후 여과(Whatman No. 2)한 효소액을 사용하였다.

효소액 1 mL에 1% soluble starch 4 mL을 첨가하여 40°C에서 15분간 반응시킨 후 Rochell-salt 용액 2 mL을 가하여 반응을 중지시키고 70% CuSO₄ 2 mL을 첨가하여 100°C에서 20분간 반응시켰다. 냉각 후 30% KI와 25% H₂SO₄를 각각 2 mL씩 넣은 다음 0.05 N Na₂SO₄로 적정하였다. 효소 활성 단위는 30분간 glucose 10 mg을 생성하는 효소량을 1 unit로 하였다.

단백질 분해효소 활성 측정

단백질 분해효소 활성은 Park과 Oh(24)의 방법으로 측정하였다. 기질로는 산성 protease(pH 3.0)는 lactic acid를, 중성 protease(pH 6.0)와 알칼리성 protease(pH 9.0)는 0.1 N NaOH을 첨가하여 제조한 2% casein(Hammarstein, USA)

용액을 사용하였으며, buffer는 단백질 분해효소 종류에 따라 산성 protease와 중성 protease는 McIlvaine buffer(0.2 M Na₂HPO₄ · 12H₂O + 0.1 M citric acid, pH 3.0, pH 6.0)를, 알칼리성 protease는 boric acid-borex buffer(pH 9.0)를 사용하였다. 효소액은 누룩 10.0 g과 3차 증류수 100 mL을 천천히 혼합하면서 4시간 동안 용출시킨 후 여과(Whatman No. 2)한 액을 사용하였다.

각각의 buffer에 용해시킨 2% casein 용액 1.5 mL과 각 pH별 buffer 1 mL을 시험관에 넣은 다음 효소액 0.5 mL을 넣고 40°C에서 60분간 반응한 후 0.4 M trichloroacetic acid(TCA) 용액 3 mL을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 실온에서 10분간 방치한 다음 여과(Whatman No. 2)하여 얻은 여액 1 mL에 0.4 M Na₂CO₃ 용액 5 mL과 5배 희석한 Folin-Ciocalteu 용액 1 mL을 첨가하여 40°C에서 30분간 발색시키고 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소 활성은 60분간 tyrosine 1 μg을 생성하는 효소량을 1 unit로 하였다.

단백질 함량 정량

단백질 함량은 Bradford 방법(25)에 따라 Bio-Rad Protein Assay kit(Bio-RAD Laboratories Hercules, CA, USA)를 사용하여 정량하였고, 표준물질로 bovine serum albumin(BSA)을 사용하였다. 단백질 정량은 시료 20 μL에 1:4의 비율로 희석한 dye reagent 1 mL을 넣은 후 잘 혼합하여 실온에서 5분 이상 방치한 다음 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도 값은 BSA 표준 곡선을 이용하여 단백질 함량을 정량하였다.

SDS-PAGE

SDS-PAGE(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)는 Laemmli법(26)에 의하여 다음과 같이 실험하였다. Bio-Rad사의 Mini-PROTEIN 3 cell을 이용하여 전기영동 하였다. 전기영동 시 gel은 12%의 separating gel (30% acrylamide mix; 1.5 M tris-HCl(pH 8.8); 10% SDS; 10% ammonium persulfate; 0.2% TEMED)과 5% stacking gel(30% acrylamide mix; 1.0 M tris-HCl(pH 6.8); 10% SDS; 10% ammonium persulfate; 0.2% TEMED)을 사용하였으며, running buffer(1.44% glycine; 0.3% tris-HCl(pH 8.0); 0.2% SDS)는 pH 8.3으로 조정하여 사용하였다. 단백질 함량이 정량된 시료를 각 well 당 15 μg의 단백질이 loading 될 수 있도록 시료의 함량을 조절하여 loading한 후 100 V로 전기영동 하였다. 전기영동이 끝난 gel은 Coomassie Brilliant Blue(CBB)로 staining 하여 단백질 pattern을 확인하였다.

Immunoblotting

누룩의 항원성을 측정하기 위하여 발효시기별로 채취한 시료와 밀 알레르기 환자 혈청을 사용해서 immunoblotting을 실시하였다. 누룩에서 단백질을 추출하여 단백질 함량을 15 μg/well이 되도록 loading하여 SDS-PAGE를 실시한 다

Table 2. Change of moisture, total sugar and reducing sugar contents during fermentation of *Nuruk*

Components (%)	Fermentation period (days)			
	0	5	10	15
Moisture	24.20±0.20	20.04±0.38	17.00±0.07	13.60±0.25
Total sugar	49.50±0.25	45.00±0.56	43.50±0.35	39.00±0.10
Reducing sugar	7.30±0.23	13.60±0.31	27.90±0.12	27.45±0.38

음 분리된 단백질 밴드를 PVDF membrane에 transblot apparatus(Bio-Rad)를 이용하여 transfer하였다. 전사된 membrane은 5% skim milk로 4°C에서 하룻밤 동안 blocking하여 비 특이적 반응 부위를 차단한 다음 다시 washing buffer(TTBS)로 3회 세척하였다. 5% skim milk로 1차 antibody인 밀 민감성 환자의 혈청을 100배 희석한 용액을 Membrane에 가하여 37°C에서 3시간 교반하면서 반응시킨 후 washing buffer로 3회 세척하였다. 2차 antibody인 peroxidase-conjugated antihuman IgE를 5% skim milk에 100배 희석한 용액을 가하여 반응시킨 후 세척한 다음 membrane에 있는 peroxidase를 enhanced chemiluminescent (ECL) western blotting detection system으로 검출하였다.

결과 및 고찰

누룩 발효 중 수분, 총당 및 환원당 함량 변화

분쇄한 밀과 물을 섞어 성형한 후 전통적인 방법으로 고체 발효시킨 누룩의 발효 기간에 따른 수분, 총당 및 환원당 함량 변화를 Table 2에 나타내었다.

발효 초기 누룩의 수분함량은 24.20%였으나 15일간 발효 기간 중 점차 감소하여 발효 완료 시 13.60%로 나타났다. 이는 발효과정 중 미생물에 의해 이용되었거나 증발에 의한 것으로 생각되며 수분함량이 14% 이상일 경우 저장성을 감소시키는 문제점을 가질 수 있을 것으로 사료된다.

누룩 발효 기간 중 총당 함량의 변화는 발효 초기 즉, 성형 직후에는 49.50%였으나 발효 15일에는 39.00%로 감소되었다. 환원당 함량은 발효 초기에 7.30%였으나 발효가 진행될수록 증가하여 발효 10일에는 27.90%로 가장 높게 나타났으며 발효 15일에는 27.45%로 다소 감소하였다. 이는 누룩 생산과정 중 발효에 관여하는 미생물, 특히 곰팡이에 의해 생성되는 전분 분해효소의 활성이 증가되어 누룩의 전분이 당으로 활발히 전환되었기 때문으로 추측된다.

누룩 발효 중 조단백질 및 조지방 함량 변화

누룩 발효 중 조단백질 및 조지방 함량 변화를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 누룩 발효 초기의 조단백질 함량은 1.58%였으나 발효가 진행됨에 따라 증가하여 발효 15일에는 2.05%로 나타났다. 조지방 함량은 누룩 발효 초기 1.32%였으나 발효 15일에는 2.24%로 증가하는 경향을 나타내었다.

Ha 등(27)의 *Koji* 원료미의 품종에 따른 양조 특성에서 조지방의 경우 평균 1.80%로 본 실험과 유사한 경향을 나타

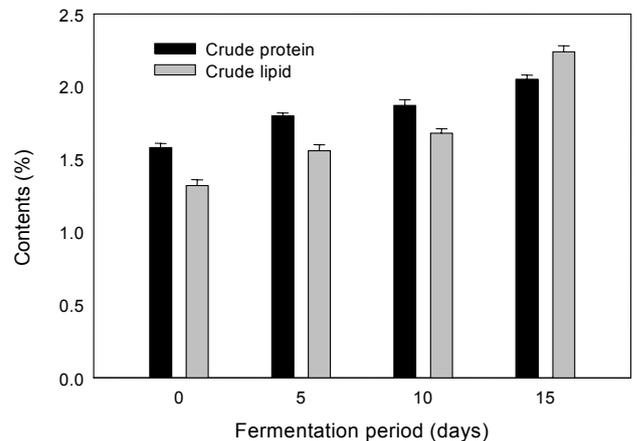


Fig. 2. Change of crude protein and crude lipid during fermentation of *Nuruk*.

내었으나, 조단백질의 함량은 평균 8.30%로 본 실험에서보다 높은 함량을 나타내었다.

조단백질과 조지방은 발효시간이 경과할수록 증가하였는데, 이는 수분 감소로 인한 고형분의 농축과 발효 균주의 증식에 기인하는 것으로 사료된다.

누룩 발효 중 amylase 활성 변화

누룩 발효 중 α-amylase 및 glucoamylase 활성 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 전분 액화 효소인 α-amylase 활성은 발효 초기 1,416.67 U/g에서 발효가 진행됨에 따라 급격히 증가하여 발효 15일에는 2,833.00 U/g로 나타났다.

Jung 등(28)의 NTG(N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-

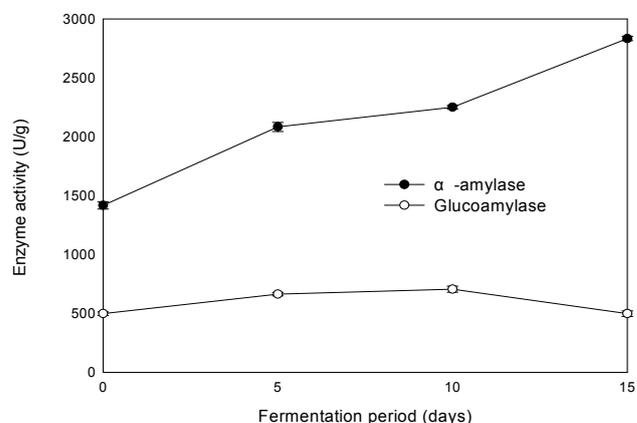


Fig. 3. Change of α-amylase and glucoamylase activity during fermentation of *Nuruk*.

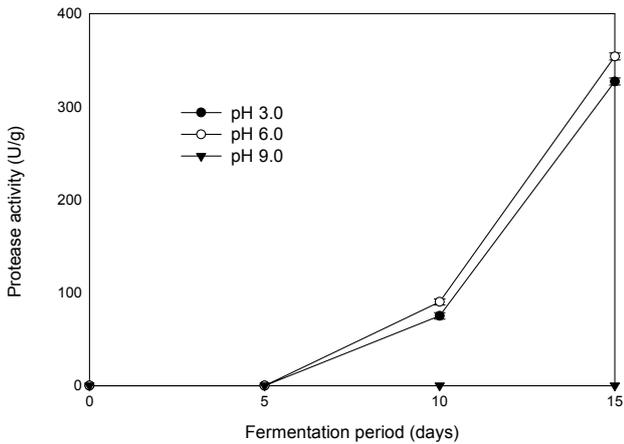


Fig. 4. Change of protease activity during fermentation of Nuruk.

guanidine)에 의한 amylase 활성이 높은 누룩사상균 변이주의 분리에 관한 연구에서 α-amylase 활성은 발효 168시간에 1,348.00 U/g으로 가장 높았다고 보고하여 본 실험 결과와는 다소 차이를 보였고, Lee 등(29)은 신종 누룩사상균 *A. coarcanus* NR 15-1이 생산하는 α-amylase 활성의 최대값이 2,000.00 U/g이라고 보고하여, 본 실험과 유사한 경향을 보였다. 이는 누룩의 형태, 크기, 수분함량, 발효온도뿐만 아니라 발효 균주의 특성에 따른 차이에 의한 것으로 사료된다.

전분 당화 효소인 glucoamylase 활성은 발효 초기 497.90 U/g에서 발효 10일 경과 후 705.40 U/g으로 최대 활성을 보였으며 그 후 약간 감소하였다.

Jung 등(28)의 연구에서 glucoamylase 활성은 168시간에 394.00 U/g으로 최대 활성을 가진다고 보고한 바 있어, 발효 10일에 705.40 U/g으로 가장 높게 나타난 본 실험결과와 유사한 경향을 나타내었다.

누룩 발효 중 단백질 분해효소 활성 변화

누룩 발효 중 단백질 분해효소 활성을 산성, 중성, 알칼리성으로 구분하여 측정된 결과를 Fig. 4에 나타내었다.

누룩 발효 중 산성 protease(pH 3.0) 활성은 발효 5일까지는 거의 검출되지 않았으나 발효 10일에 75.00 U/g으로 증가하기 시작하여 발효 15일에는 327.00 U/g으로 매우 높은 활성을 나타내었다.

중성 protease(pH 7.0) 활성도 발효 10일에 90.00 U/g으로 증가하기 시작하여 발효 15일에는 354.00 U/g으로 10일보다 약 4배나 높은 활성을 나타내었으며, 중성 protease가 산성 protease보다 높은 활성을 나타내었다, pH 9.0에서 측정된 알칼리성 protease 활성은 누룩 발효 중 전혀 검출되지 않았다.

So(30)의 쌀 코오지 제조 실험에서 발효 12시간 후 protease 활성이 14.90 U/g으로 증가하기 시작하여 발효 72시간 후에는 42.70 U/g이었으며 이후 계속 완만하게 증가한다고 보고하여 본 연구결과와는 다소 차이가 있었지만 이는 발효 원료, 환경과 중균 특성의 차이에 기인한 것으로 사료된다.

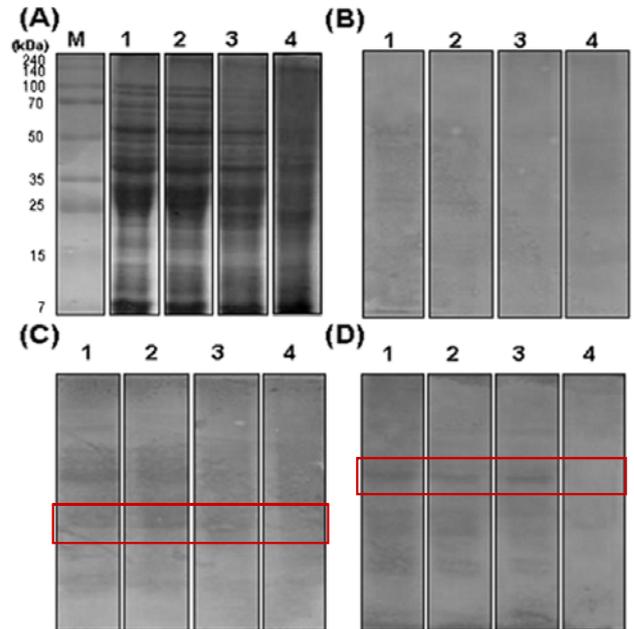


Fig. 5. (A), SDS-PAGE pattern of total protein extract from Nuruk during fermentation. (B, C, D), IgE immunoblotting of total protein extract from Nuruk with sera from normal human (B) and wheat allergy patients (C and D) during fermentation. lane M, molecular weight markers; lane 1, 0 day after fermentation; lane 2, 5 days after fermentation; lane 3, 10 days after fermentation; lane 4, 15 days after fermentation.

누룩 발효에 따른 항원성의 변화

발효시간별로 채취한 후 분쇄시킨 누룩에서 단백질을 추출하여 밀 알레르기 환자 및 정상인의 혈청과 immunoblotting한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 누룩 추출물의 단백질 함량을 동일한 농도(15 µg)로 정량하여 SDS-PAGE 전기영동한 결과 발효시간이 경과함에 따라 고분자의 단백질 밴드 농도가 현저히 감소하는 것으로 나타났다.

발효시간에 따른 누룩 추출물과 정상인의 혈청을 immunoblotting한 결과, 밀 단백질과 정상인의 혈청은 반응하지 않았으며 밀 알레르기 환자의 혈청과 반응 시 발효 초기에는 항원성 단백질 밴드와 강하게 반응하는 것으로 관찰되었으나, 발효 10일부터는 밴드가 약하게 반응하는 것을 확인하였다(Fig. 5-D). 따라서 누룩이 발효됨에 따라 protease 활성이 증가하여 밀의 항원성 단백질이 각종 미생물에 의해 분해되어 저분자의 펩타이드로 분해되는 것으로 나타나 밀 단백질의 항원성이 감소되는 것을 확인할 수 있었다.

Park(31)은 밀에 bovine pancrease 유래 protease를 처리하였을 때 25 kDa 부근의 단백질과 15 kDa 이하의 단백질 밴드가 흐리게 나타난다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다.

요 약

본 연구에서는 발효과정 중 누룩의 일반성분 및 효소 활성

변화를 측정하고, 단백질의 분해정도와 밀 단백질에 민감한 환자의 혈청과 반응성을 관찰하였다. 누룩의 수분함량은 발효 1일 24.20%였으며 발효가 진행됨에 따라 미생물의 이용과 증발로 인해 감소되어 발효 15일에는 13.60%를 나타내었다. 누룩 발효 중 총당과 환원당의 함량은 발효시간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 누룩의 발효 초기 조단백질 함량은 1.58%였으나 발효가 진행됨에 따라 다소 증가하여 발효 15일에는 2.05%로 나타났다. 또한 누룩의 조지방 함량은 발효 초기 1.32%였으며 발효 15일에는 2.24%로 다소 증가함을 나타내었다. α -Amylase 활성은 발효 초기 1,416.67 U/g에서 발효 15일에는 2,833.00 U/g으로 급격히 증가하였으며, glucoamylase 활성은 발효 초기 497.90 U/g에서 발효 10일 경과 후 705.40 U/g으로 최대 활성을 보였으나 그 후 완만한 감소를 나타내었다. 누룩의 산성 protease 활성은 발효 초기에는 검출되지 않았으나 발효 10일에 75.00 U/g으로 급격히 증가하기 시작하여 발효 15일에는 327.00 U/g에 도달하였으며 중성 protease 활성도 발효 10일에 90.00 U/g으로 급격히 증가하기 시작하여 15일에는 354.00 U/g로 검출되었으며 이후에도 계속 증가하였다. 반면에 알칼리성 protease 활성은 검출되지 않았다. 발효가 진행됨에 따라 누룩 중 고분자 단백질이 각종 미생물에 의해 분해되어 저분자의 펩타이드 밴드가 생성되었으며 밀 민감성 환자의 혈청과 반응하는 밴드도 점차 감소하여 발효 15일에는 거의 검출되지 않았으므로 누룩 중 밀 단백질의 항원성이 감소하였음을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구를 통해 누룩은 영양학적 측면뿐만 아니라 효소학적 측면의 장점까지 겸비한 효율적인 한국 고유의 발효 식품용 스타터(starter)로써 전통주 제조에 필수적이며, 누룩의 고분자 단백질이 발효에 의해 저분자 펩타이드로 분해됨을 확인함으로써 밀 민감성 환자를 위한 다양한 가공식품용 소재로 활용이 기대된다.

감사의 글

본 연구에서 사용된 환자 혈청은 서울 삼성병원으로부터 제공받았으며 한국 교육과학기술부 BK21 program 지원으로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

문헌

- Samaritin S, Marcos A, Chanadra RK. 2001. Food hypersensitivity. *Nurt Res* 21: 473-497.
- Hill DJ, Hosking CS, Zhie CY, Leung R, Baratwaja K, Likura Y, Iyngkaran N, Gonzalez-Andaya A, Wah LB, Hsieh KH. 1997. The frequency of food allergy in Australia and Asia. *Environ Toxicol Pharmacol* 4: 101-110.
- Usui Y, Nakase M, Hotta H, Urisu A, Aoki N, Kitajima K, Matsuda T. 2000. A 33 kDa allergen from rice (*Oryza sativa* L. *Japonica*). *J Biol Chem* 276: 11376-11381.
- Ryu JH, Lee JM, Shon DH. 2000. Changes in the antigenicity of chicken egg white by the treatments of protease, trifluoromethanesulfonic acid, heat and NaOH. *Korean J Food Sci Technol* 32: 720-725.
- Ha WK, Juhn SL, Kim JW, Lee SW, Lee JY, Shon DH. 1994. Reduction of the antigenicity of whey protein by enzymatic hydrolysis. *Korean J Food Sci Technol* 26: 74-80.
- Son DY, Lee BR, Shon DW, Lee KS, Ahn KM, Nam SY, Lee SI. 2000. Allergenicity change of soybean proteins by thermal treatment. *Korean J Food Sci Technol* 32: 959-963.
- Kim MJ. 2002. The study about traditional *Nuruk*. *Korean J Food Sci Technol* 9: 324-329.
- Park CS, Lee TS. 2002. Quality characteristics of *Takju* prepared by wheat flour *Nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 34: 296-302.
- So MH. 1999. Characteristics of a modified *Nuruk* made by inoculation of traditional *Nuruk* microorganisms. *Korean J Food Sci Technol* 12: 219-225.
- Son DH. 1997. The food and allergy. *Food Sci Ind* 30: 120-142.
- Samaritin S, Marcos A, Chanadra RK. 2001. Food hypersensitivity. *Nutr Research* 21: 473-497.
- Huby RD, Dearman RJ, Kimber I. 2000. Why are some protein allergen. *Toxicol Sci* 55: 235-246.
- Nam SY, Lee SI. 2000. Treatment and prevention of food allergy. *Food Sci Industry* 33: 16-21.
- Nekam K. 1997. Management of food allergy. *Allergy* 46: 122-124.
- Ortolani C, Pastorello EA, Scibilia J. 1997. How do we develop hypoallergenic foods and is there a need for them. *Allergy* 52: 1170-1174.
- Singh B, Lee KC, Fraga E, Wilkinson A, Wong M, Barton MA. 1980. Minimum peptide sequences necessary for priming and triggering of humoral cell mediated immune responses in mice: Use of synthetic peptide antigens of defined structure. *J Immunol* 124: 1336-1343.
- Nakamura R, Matsuda T. 1996. Rice allergenic protein and molecular genetic approach for hypoallergenic rice. *Biosci Biotech Biochem* 60: 1215-1221.
- Park JY, Ahn JY, Hong HO, Hahn YS. 2004. Reduction of allergenicity of wheat flour by enzyme hydrolysis. *Korean J Food Sci Technol* 36: 52-57.
- Dibois M, Gillers KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Coloric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28: 350-356.
- Jung DH, Jung HG. 1985. *Food analysis*. Jin Lo Co., Seoul. p 197.
- AOAC. 1990. *Official methods analysis*. 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington, DC. p 876.
- Bernfeld P. 1955. Enzymes of carbohydrate metabolism, amylase alpha and beta. In *Method in Enzymology*. Colowish SP, Kaplan NO, eds. Academic Press, New York. Vol 1, p 146-158.
- Fukumoto K. 1959. Protein, nucleic acid and enzyme. *Ishi Press*, Tokyo. p 4-8.
- Park JM, Oh HI. 1995. Changes in microflora and enzyme activities of traditional *Kochujang Meju* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 27: 56-62.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 650-680.
- Ha KY, Kim YD, Cho SY, Kang CS. 1999. Effect of different varieties as *Koji* materials in brewing for rice wine. *Korean*

- J Breed* 31: 336-340.
28. Jung HJ, Kim YS, Yu DS. 2000. Isolation of mutants over-producing amylase from *Nuruk* fungi by NTG. *Korean J Food Sci Technol* 29: 984-994.
29. Lee TS, Lee DS, No BS, Han UH. 1997. Quality characteristics in mash of *Takju* prepared by using different *Nuruk* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 29: 280-292.
30. So MH. 1993. Cultural conditions for the production of organic acid during rice, *Koji* making by *Aspergillus awamori* var. *kawachii*. *Korean Food Nutr.* 6: 287-293.
31. Park JY. 2003. *Development of hypoallergenic bread for domestic wheat*. Sungshin Woman's University Press, Seoul. p 26-39.

(2008년 6월 2일 접수; 2009년 1월 6일 채택)