



등록특허 10-2475263



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월06일

(11) 등록번호 10-2475263

(24) 등록일자 2022년12월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 27/10 (2016.01) A23L 17/60 (2016.01)

A23L 23/10 (2016.01) A23L 5/10 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A23L 27/10 (2016.08)

A23L 17/60 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2022-0018041

(22) 출원일자 2022년02월11일

심사청구일자 2022년02월11일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020000074181 A*

(뒷면에 계속)

(73) 특허권자

조선대학교 산학협력단

광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)

(72) 발명자

이숙영

광주광역시 남구 봉선중앙로 46, 108동 201호(봉선동, 삼익아파트)

김춘성

광주광역시 남구 서문대로678번길 7, 101동 1002호(진월동, 대주아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인리채

전체 청구항 수 : 총 5 항

심사관 : 김보림

(54) 발명의 명칭 천연 해조 시즈닝 제조 방법

(57) 요약

본 발명은 해조류 표면에서 방출되는 분말 및 해조류 추출물을 이용하여 천연 해조 시즈닝을 제조하는 방법에 관한 것이다. 구체적으로 본 발명 방법을 통해 다시마, 톳 및 미역에서 표면 방출 분말을 높은 수율로 수득하고, 미역, 다시마, 쇠미역, 생톳, 자숙톳 및 꼬시래기의 용매 추출물을 혼합하여 바이오활성이 풍부한 천연 시즈닝을 제조할 수 있다.

대표도 - 도7



(52) CPC특허분류

A23L 23/10 (2016.08)

A23L 5/15 (2016.08)

(72) 발명자

이현화

광주광역시 남구 서문대로663번안길 12, 106동 80
5호(진월동, 금광하늘연가아파트)

김진솔

광주광역시 남구 봉선중1길 5

오순덕

경기도 성남시 중원구 산성대로 202, 402호(
성남동)

강초은

전라남도 완도군 신지면 신지로1207번길 95-10

(56) 선행기술조사문헌

JP2007037475 A*

JP09028346 A*

JP05917763 B1

KR1020060103238 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1525011797

과제번호 202106562

부처명 해양수산부

과제관리(전문)기관명 해양수산과학기술진흥원

연구사업명 빅데이터기반해양바이러스제어및마린바이오텍스개발(R&D)

연구과제명 해조류 기반 바이오 헬스케어 유효성 소재 실증 지원

기 여 율 1/1

과제수행기관명 조선대학교 산학협력단

연구기간 2021.04.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

20 내지 30℃에서 다시마, 톳 및 미역의 조직 내 습도를 25 내지 35%로 유지하면서 광 처리 및 암 처리를 교차 수행하여 표출시킨 다시마, 톳 및 미역의 표면 방출 분말을 분리 수득하는 단계;

미역을 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 미역 추출물을 얻는 단계;

다시마를 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 다시마 추출물을 얻는 단계;

쇠미역을 메탄올로 추출하여 쇠미역 추출물을 얻는 단계;

생톳을 메탄올로 추출하여 생톳 추출물을 얻는 단계;

자숙톳을 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 자숙톳 추출물을 얻는 단계;

꼬시래기를 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 꼬시래기 추출물을 얻는 단계;

상기 분리 수득된 표면 방출 분말과 상기 미역, 다시마, 쇠미역, 생톳, 자숙톳 및 꼬시래기 추출물을 혼합하는 단계;를 포함하는 시즈닝 제조 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 25℃에서 상기 다시마, 톳 및 미역의 조직 내 습도를 30%로 하는 것인, 시즈닝 제조 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 표면 방출 분말을 분리 수득하는 단계 전에 다시마, 톳 및 미역을 물로 세척하는 단계를 더 포함하는 시즈닝 제조 방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 시즈닝은 타블렛형, 과립형 또는 에센스형의 제형으로 이루어진 것인, 시즈닝 제조 방법.

청구항 5

20 내지 30℃에서 다시마, 톳 및 미역의 조직 내 습도를 25 내지 35%로 유지하면서 광 처리 및 암 처리를 교차 수행하여 표출시킨 표면 방출 분말을 분리하는 단계를 포함하는, 다시마, 톳 및 미역의 표면 방출 분말 수득 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 해조류 표면에서 방출되는 분말 및 해조류 추출물을 이용하여 천연 해조 시즈닝을 제조하는 방법에 관한 것으로 식품 분야, 조미료 제조 분야에서 사용될 수 있다.

배경 기술

[0002] 시즈닝(seasoning)은 향신료와 허브 등을 첨가하여 양념하는 것으로 우리나라 용어로 흔히 '조미료', '감미료'

라고 한다. 시즈닝의 사용은 그것이 가진 자극작용이 취각·미각을 돋우고 각 소화샘의 분비를 촉진하므로 식욕이 증가하고 소화가 잘 되는 효과가 있다. 시즈닝은 인공 시즈닝과 천연 시즈닝으로 분류할 수 있으며, 생산을 용이하게 하거나 적은 양으로 더 강한 맛을 내기 위한 목적으로 다양한 인공 감미료, 즉 화학적 합성품의 개발이 이루어져 왔다. 그러나, 이는 비영양물질이거나 공업적 합성방법에 의해 인체에 유해한 경우가 있어 대체가 능한 천연 감미료에 대한 수요가 점점 높아지는 실정이다. 현재 국내에서 사용이 허가되는 인공 감미료로 소비톨·아스파탐·수크랄로스 등이 있는데, 사카린염은 일부 식품에 한해 그 사용이 제한되었으며, 전에 사용되던 시클라메이트·돌신도 독성문제 때문에 사용이 금지되었다. 포도당을 환원시킨 소비톨은 소화흡수가 잘 되지 않기 때문에 비만증·당뇨병 환자를 위한 감미료로 사용되는데, 설사를 일으키기 쉬운 결점이 있다.

[0003] 이에 본 발명에서는 특유의 감칠맛으로 인해 선호되는 천연 식재료인 해조류를 이용하여 시즈닝을 제조하고자 예의 노력한 결과, 갈조류 표면에서 자연 방출되는 소재 및 해조류 추출물을 혼합하여 천연 시즈닝을 제조하는 방법을 개발하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제2015-88663호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 해조류의 표면 방출 분말과 해조류 추출물을 이용하여 천연 시즈닝을 제조하는 방법을 제공한다.

[0006] 본 발명은 다시마, 톳 및 미역에서 표면 방출 분말을 효과적으로 수득하고, 이에 미역, 다시마, 쇠미역, 생톳, 자숙톳 및 꼬시래기 추출물을 혼합하여 바이오활성이 높은 천연 시즈닝을 제조하는 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0007] 1. 20 내지 30℃에서 다시마, 톳 및 미역의 조직 내 습도를 25 내지 35%로 유지하면서 광 처리 및 암 처리를 교차 수행하여 다시마, 톳 및 미역의 표면 방출 분말을 수득하는 단계; 미역을 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 미역 추출물을 얻는 단계; 다시마를 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 다시마 추출물을 얻는 단계; 쇠미역을 메탄올로 추출하여 쇠미역 추출물을 얻는 단계; 생톳을 메탄올로 추출하여 생톳 추출물을 얻는 단계; 자숙톳을 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 자숙톳 추출물을 얻는 단계; 꼬시래기를 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 꼬시래기 추출물을 얻는 단계; 상기 표면 방출 분말과 상기 미역, 다시마, 쇠미역, 생톳, 자숙톳 및 꼬시래기 추출물을 혼합하는 단계;를 포함하는 시즈닝 제조 방법.

[0008] 2. 위 1에 있어서, 25℃에서 다시마, 톳 및 미역의 조직 내 습도를 30%로 하는 것인, 시즈닝 제조 방법.

[0009] 3. 위 1에 있어서, 상기 표면 방출 분말을 수득하는 단계 전에 다시마, 톳 및 미역을 물로 세척하는 단계를 더 포함하는 시즈닝 제조 방법.

[0010] 4. 위 1에 있어서, 상기 시즈닝은 타블렛형, 과립형 또는 에센스형의 제형으로 이루어진 것인, 시즈닝 제조 방법.

발명의 효과

[0012] 본 발명의 방법을 통해 화학적 합성 없는 천연 해조 시즈닝을 제조할 수 있다.

[0013] 본 발명의 방법을 통해 해조 시즈닝의 재료가 되는 해조류 표면에서 방출되는 분말을 높은 수득물로 얻을 수 있다.

[0014] 본 발명의 방법을 통해 해조 시즈닝의 재료가 되는 해조류의 바이오활성을 높일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 생원초를 상온에서 자연광(광도 약 2만 Lux, 24hr) 처리한 결과를 나타낸 것이다.

- 도 2는 생원초를 상온에서 암처리(24hr)한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 생원초를 상온에서 광처리(광도 약 2만 Lux, 12hr) 및 암처리(12hr)한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 4는 습도 15%에서 3주후 다시마 표면상에 방출된 백색 천연물을 나타낸 것이다.
- 도 5는 습도 30%에서 3주후 다시마 표면상에 방출된 백색 천연물을 나타낸 것이다.
- 도 6은 습도 45%에서 3주후 다시마 표면상에 방출된 백색 천연물을 나타낸 것이다.
- 도 7은 15℃, 3주후 다시마 표면에서 분리한 백색 방출물의 형상 및 다시마 하부 stem 부위에서 방출된 침상구조의 천연물을 나타낸 것이다.
- 도 8은 25℃, 3주후 다시마 표면에서 분리한 백색 방출물의 형상 및 다시마 하부 stem 부위에서 방출된 침상구조의 천연물을 나타낸 것이다.
- 도 9는 35℃, 3주후 다시마 표면에서 분리한 백색 방출물의 형상 및 다시마 하부 stem 부위에서 방출된 침상구조의 천연물을 나타낸 것이다.
- 도 10은 15℃, 3주후 툇에서 방출중인 백색 천연물을 나타낸 것이다.
- 도 11은 25℃, 3주후 툇에서 방출중인 백색 천연물 및 툇에서 분리한 백색 방출물의 형상을 나타낸 것이다.
- 도 12는 35℃, 3주후 툇에서 방출중인 백색 천연물 및 툇에서 분리한 백색 방출물의 형상을 나타낸 것이다.
- 도 13은 15℃, 3주후 미역 표면에서 분리한 백색 방출물의 형상 및 미역 하부 stem 부위에서 방출된 침상구조의 천연물을 나타낸 것이다.
- 도 14는 25℃, 3주후 미역 표면에서 분리한 백색 방출물의 형상 및 미역의 midrib 부위에서 집중적으로 방출된 천연물을 나타낸 것이다.
- 도 15는 미역 표면에서 분리한 백색 방출물의 형상 및 미역의 midrib 부위에서 집중적으로 방출된 천연물을 나타낸 것이다.
- 도 16은 각 해조류 시료의 형상을 나타낸 것이다.
- 도 17은 추출 용매별 해조류 추출물 제조과정을 도식화한 것이다.
- 도 18은 해조류 추출물의 SOD 활성을 나타낸 그래프이다. (A) 프리에탄올 추출물, (B) 메탄올 추출물, (C) 물 추출물.
- 도 19는 해조류 추출물의 CAT 활성을 나타낸 그래프이다. (A) 프리에탄올 추출물, (B) 메탄올 추출물, (C) 물 추출물.
- 도 20은 해조류 추출물의 APX 활성을 나타낸 그래프이다. (A) 프리에탄올 추출물, (B) 메탄올 추출물, (C) 물 추출물.
- 도 21은 추출 용매별 해조류 추출물의 항노화활성 분석 결과를 나타낸 그래프이다. (A) 주정 추출물, (B) 메탄올 추출물, (C) 열수 추출물.
- 도 22는 추출 조건별 해조류 추출물의 항노화활성 분석 결과를 나타낸 그래프이다. (A) 주정 추출물, (B) 메탄올 추출물, (C) 열수 추출물.
- 도 23은 추출조건별 해조류의 Trypsinase 저해활성을 나타낸 그래프이다. (A) 주정 추출물, (B) 메탄올 추출물, (C) 열수 추출물.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명은 20 내지 30℃에서 다시마, 툇 및 미역의 조직 내 습도를 25 내지 35%로 유지하면서 광 처리 및 암 처리를 수행하여 다시마, 툇 및 미역의 표면 방출 분말을 수득하는 단계; 미역을 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 미역 추출물을 얻는 단계; 다시마를 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 다시마 추출물을 얻는 단계; 쇄미역을 메탄올로 추출하여 쇄미역 추출물을 얻는 단계; 생툇을 메탄올로 추출하여 생툇 추출물을 얻는 단계; 자숙

톳을 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 자숙톳 추출물을 얻는 단계; 꼬시래기를 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 꼬시래기 추출물을 얻는 단계; 상기 표면 방출 분말과 상기 미역, 다시마, 쇠미역, 생톳, 자숙톳 및 꼬시래기 추출물을 혼합하는 단계;를 포함하는 시즈닝 제조 방법에 관한 것이다.

- [0020] 상기 표면 방출 분말은, 다시마, 톳 및 미역의 건조과정에서 표면으로 방출되는 하얀색 분말을 의미한다. 상기 분말은 다시마, 톳 및 미역이 함유하는 당알코올이 표면으로 석출되는 것이며, 감칠맛의 원인이 되어 이를 천연 시즈닝 재료로 사용할 수 있다.
- [0021] 상기 표면 방출 분말의 주요 성분은 만니톨이며, 그 외 알긴산, 타우린, 후코이단 및 나트륨이 포함될 수 있다 (표 5).
- [0022] 본 발명에서는 20 내지 30℃에서 다시마, 톳 및 미역의 조직 내 습도를 25 내지 35%로 유지하면서 광 처리 및 암 처리를 수행하여, 다시마, 톳 및 미역으로부터 상기 표면 방출 분말을 수득하며, 상기 조건에서 다시마, 톳 및 미역의 표면에서 방출되는 분말의 수득률을 효과적으로 높일 수 있다.
- [0023] 구체적으로 상기 시즈닝 제조 방법은 25℃에서 다시마, 톳 및 미역의 조직 내 습도를 30%로 하여 수행되는 것일 수 있다.
- [0024] 상기 다시마, 톳 및 미역의 조직 내 습도는 예를 들면 조직의 수분함량을 측정하면서 주변 습도를 조절함으로써 유지할 수 있다. 상기 수분함량의 측정 및 주변 습도의 조절을 위해서는 당업자에게 알려진 기계, 기구가 제한 없이 사용될 수 있으며 예를 들면 수분분석기 및 항습기 등을 사용할 수 있다.
- [0025] 상기 광 처리 및 암 처리는 예를 들면 광 처리-암 처리 또는 암 처리-광 처리 순서일 수 있고, 반복 수행되는 것일 수 있다. 예를 들면 상기 광 처리 및 암 처리는 각 12시간씩 반복 수행될 수 있다. 상기 광 처리에서는 예를 들면 1만 내지 10만 LUX, 1만 내지 3만 LUX, 1만 5천 내지 2만 5천 LUX의 빛이 사용될 수 있고, 구체적으로 2만 LUX일 수 있다. 상기 광 처리 및 암 처리를 수행한 경우 광 처리 또는 암 처리만을 수행한 경우와 비교하여 다시마, 톳 및 미역에서 표면 방출 분말의 수득률이 증가한다.
- [0026] 상기 조건에서 다시마, 톳 및 미역의 표면 방출 분말을 수득하는 시간은 본 발명의 통상의 기술자에 의해 적절하게 선택될 수 있으며, 예를 들면 1주 이상, 2주 이상, 3주 이상일 수 있고 구체적으로 3주일 수 있다. 그 상한은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들면 10주, 9주, 8주, 7주, 6주, 5주 등일 수 있다.
- [0027] 본 발명의 시즈닝 제조 방법은 상기 표면 방출 분말 외에 해조류의 추출물을 얻어 이를 혼합하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0028] 구체적으로, 미역을 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 미역 추출물을 얻는 단계; 다시마를 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 다시마 추출물을 얻는 단계; 쇠미역을 메탄올로 추출하여 쇠미역 추출물을 얻는 단계; 생톳을 메탄올로 추출하여 생톳 추출물을 얻는 단계; 자숙톳을 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 자숙톳 추출물을 얻는 단계; 꼬시래기를 주정, 메탄올 또는 열수로 추출하여 꼬시래기 추출물을 얻는 단계; 상기 표면 방출 분말과 상기 미역, 다시마, 쇠미역, 생톳, 자숙톳 및 꼬시래기 추출물을 혼합하는 단계;를 포함할 수 있다.
- [0029] 상기 미역, 다시마, 쇠미역, 생톳, 자숙톳 및 꼬시래기 추출물은 상기 표면 방출 분말과 혼합되어 시즈닝의 풍미를 향상시키며, 항균, 항산화, 항암, 항위궤양, 지질대사, 항산화 효과, 혈액순환촉진, 지혈작용, 노화억제 등의 다양한 생리활성을 가진다.
- [0030] 구체적으로 본 발명에서는 상기 주정, 메탄올 또는 열수 추출로 얻어진 미역, 다시마, 쇠미역, 생톳, 자숙톳 및 꼬시래기의 추출물이 전술한 생리활성을 가지는 polyphenol, flavonoid, phenolic compounds를 포함하며, DPPH radical 소거능을 가지고, 항산화 효소활성, 구체적으로 SOD(superoxide dismutase) 활성, CAT(catalase) 활성, APX(ascorbate peroxidase) 활성을 가지고, 또한 항노화활성, 구체적으로 Collagenase 저해 활성, Elastase 저해 활성, Tyrosinase 저해 활성을 가지는 것을 확인하였다.
- [0031] 상기 쇠미역 추출물을 메탄올 추출로 얻는 경우, 추출물의 DPPH 라디칼 소거능, SOD 활성, CAT 활성, APX 활성 및 항노화활성을 증가시킬 수 있다.
- [0032] 상기 생톳 추출물을 메탄올 추출로 얻는 경우, 추출물의 플라보노이드, 폴리페놀 함량을 증가시킬 수 있다.
- [0033] 본 발명에서 미역은 미역 전체, 미역 엽상체, 미역 잎, 미역 줄기, 미역귀 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0034] 상기 추출물을 얻는 추출 방법은 당업자에게 알려진 공지의 추출방법이라면 제한 없이 사용가능하며, 예를 들어

열수 추출, 용매 추출, 환류 순환 추출, 가압 추출, 초음파 추출, 침출법 등의 추출방법일 수 있으며, 용매로 주정 또는 메탄올을 사용하는 경우에는 구체적으로 침출법, 보다 구체적으로는 냉침 추출법에 의할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0035] 상기 주정 추출물은 예를 들면 95% 주정을 사용하는 것일 수 있다.
- [0036] 상기 메탄올 추출물은 예를 들면 95% 메탄올을 사용하는 것일 수 있다.
- [0037] 상기 열수 추출물은 예를 들면 80℃의 열수를 사용하는 것일 수 있다.
- [0038] 상기 추출 단계는 이후 감압농축하는 단계, 건조하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0039] 상기 건조는 동결건조, 열풍건조일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0040] 상기 동결건조는 -50℃ 내지 -90℃, 바람직하게는 -60℃ 내지 -80℃의 온도, -70℃에서 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0041] 또한, 상기 동결건조 시 압력은 30 mTorr 내지 70 mTorr, 바람직하게는 40 mTorr 내지 60 mTorr일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0042] 상기 동결건조 수행 시간은 10 내지 70시간, 15 내지 20시간, 구체적으로 16시간일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0043] 상기 시즈닝 제조 방법은 상기 추출 후 필요에 따라 원심분리, 여과 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0044] 상기 시즈닝 제조 방법은 다시마, 톳 및 미역의 표면 방출 분말을 수득하는 단계 전에 다시마, 톳 및 미역을 물로 세척하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0045] 상기의 물로 세척하는 단계는 예를 들면 20℃에서 12시간 동안 흐르는 물에 침지하는 것일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 이후 50℃에서 24시간 열풍건조 하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0046] 상기 물로 세척하는 전처리 단계는 다시마, 톳 및 미역의 염도를 감소시켜 건강에 이로운 저염의 천연 시즈닝을 제조할 수 있다. 예를 들면, 전처리를 통해 염도를 약 3% 감소시킬 수 있다.
- [0047] 상기 시즈닝 제조 방법에서, 상기 시즈닝은 타블렛형, 과립형 또는 에센스형의 제형으로 이루어진 것일 수 있다.
- [0048] 상기 타블렛(tablet)형은 알약, 정, 정제(錠劑)형과 상호교환적으로 사용 가능한 용어이며, 고체의 투약형으로 무게, 크기, 형상은 여러 종이 가능하다. 타블렛형은 성형 또는 압축에 의해서 만들어지고 식품을 순수 혹은 희석(稀釋)의 형으로 함유한다. 예를 들면 상기 시즈닝 제조 방법에 의해 얻어진 표면 방출 분말과, 상기 시즈닝 제조 방법에 의해 얻어진 추출물을 건조하여 얻어진 분말을 압축하여 제작될 수 있다.
- [0049] 상기 타블렛형 시즈닝의 제조 방법은 상기 시즈닝 제조 방법에 멸치엑기스, 홍합분말, 표고버섯분말, 무즙분말, 양파분말, 대파분말, 마늘분말, 새우분말, 소고기분말, 간장분말, 흑후추분말 및 말토덱스트린을 혼합하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0050] 상기 과립형 시즈닝 성분의 조성과 이의 배합비는 예를 들면 본원 실시예 표 22에 따른 조성 및 배합비를 포함하는 것일 수 있다.
- [0051] 상기 과립형은 작고 둥근 알갱이 모양으로 되어 있는 유형을 의미한다. 예를 들면 상기 시즈닝 제조 방법에 의해 얻어진 표면 방출 분말과, 상기 시즈닝 제조 방법에 의해 얻어진 추출물을 건조하여 얻어진 분말을 압축하여 제작될 수 있다.
- [0052] 상기 과립형 시즈닝의 제조 방법은 상기 시즈닝 제조 방법에 멸치엑기스, 홍합분말, 표고버섯분말, 무즙분말, 양파분말, 대파분말, 마늘분말, 새우분말, 소고기분말, 간장분말, 흑후추분말 및 말토덱스트린을 혼합하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0053] 상기 과립형 시즈닝 성분의 조성과 이의 배합비는 예를 들면 본원 실시예 표 23에 따른 조성 및 배합비를 포함하는 것일 수 있다.
- [0054] 상기 에센스(essence)형은 물체의 본질, 정수 또는 증류하여 추출한 물질, 향유를 의미한다. 상기 에센스형 시즈닝의 제조 방법은 상기 시즈닝 제조 방법에 김의 추출액, 구체적으로 김의 열수 추출액, 탈색 간장을 혼합하

는 단계를 포함할 수 있다.

[0055] 상기 에센스형 시즈닝 성분의 조성과 이의 배합비는 예를 들면 본원 실시예 표 23에 따른 조성 및 배합비를 포함하는 것일 수 있다.

[0056] 상기 타블렛형, 과립형 또는 에센스형 시즈닝의 제조 방법을 통해 운반, 보관 및 사용이 편이하고 풍미가 높은 천연 해조 시즈닝을 제조할 수 있다.

[0058] 실시예

[0059] 1. 해조조직 표면방출 유도

[0060] 1) 다시마에서의 최적 광·암처리 조건 분석

[0061] 해조조직 표면방출 유도시 광과 암의 조건이 영향을 미치는지 확인하기 위해, 선행실험으로서 다시마의 생원초를 소재로 하여 실험을 진행하였다.

[0062] 실험군은 3개군(A, B, C)으로 구성하였으며, 하단과 같다.

[0063] * A : 생원초를 상온에서 자연광(광도 약 2만 Lux, 24hr) 처리

[0064] * B : 생원초를 상온에서 암처리(암실에서 24hr) 처리

[0065] * C : 생원초를 상온에서 광처리(광도 약 2만 Lux, 12hr) + 암처리(12hr)

[0067] A, B, C에 대한 실험결과는 도 1 내지 3에 나타내었다. 실험군 A는 해조조직이 거의 건조된 상태이며, 미약하게나마 부분적으로 표면방출이 발생했음을 알 수 있었다(도 1). 실험군 B는 생원초의 수분이 거의 감소되지 않았으며, 해조조직이 전체적으로 연화된 상태로 탄력이 없어졌으며, 표면방출 현상이 전혀 발생되지 않았다(도 2). 실험군 C는 생원초가 거의 건조된 상태로 해조조직의 표면이 50% 이상에서 백색의 방출물질이 유도되었음을 알 수 있었다(도 3). 이상과 같은 1차 선행 실험결과를 통하여 광처리와 암처리가 적절히 이루어졌을 때 표면방출이 효과적으로 유도됨을 알 수 있다.

[0069] 2) 다시마에서의 최적 습도조건 분석

[0070] 해조조직 표면방출 유도시 해조조직내 습도 조건이 어느 정도 영향을 미치는지 확인하기 위해, 2차 선행실험으로서 다시마의 생원초를 소재로 하여 실험을 진행하였다.

[0071] 실험군은 3개군(D, E, F)으로 구성하였으며, 하단과 같다.

[0072] * D : 생원초가 상온에서 습도 15%를 유지하도록 처리

[0073] * E : 생원초가 상온에서 습도 30%를 유지하도록 처리

[0074] * F : 생원초가 상온에서 습도 45%를 유지하도록 처리

[0076] D, E, F에 대한 실험결과는 도 4 내지 6에 나타내었다. 실험군 D는 해조조직이 거의 건조된 상태이며, 해조조직 80% 이상에서 표면방출이 발생했음을 알 수 있었다. 실험군 E는 약간의 수분(30%)을 보유한 상태이며, 해조조직 전면에 탁월한 표면방출이 유도 되었으며, 백색물질이 표면상에 상당한 농도로 축적되어 있음을 알 수 있었다. 실험군 F는 생원초가 거의 건조된 상태로 해조조직의 표면이 약 60% 이상에서 백색의 방출물질이 유도되었음을 알 수 있었으며, 이는 실험군 D와 거의 유사하게 나타났다. 이상과 같은 2차 선행 실험결과를 통하여 해조조직이 적절한 습도(약 30%)를 유지하고 있을 때 표면방출이 효과적으로 유도됨을 알 수 있었다.

[0078] 3) 광·암처리 및 습도 30%에서의 온도조건별 표면방출물질의 수율 분석

[0079] 선행실험결과를 통하여 확인된 최적의 광암처리 및 습도조건을 토대로하여 온도조건이 해조조직 표면방출 유도시 어느 정도 영향을 미치는지 확인하기 위해, 최종 실험을 진행하였다. 실험 소재는 다시마, 톳, 미역을 사용하였으며, 각각의 소재에 대하여 실험군을 하단과 같이 3개군으로 구성하여 표면방출을 유도하였으며, 하단과 같은 결과를 얻었다.

표 1

[0080]

다시마 (광·암처리 및 습도 30% 유지)	* G : 생원초를 15℃에서 3주간 처리 => 표면방출이 매우 서서히 유도되었으며, 총 수율은 495mg/100g(건조해조중량)이 얻어짐. 또한 다시마 하부쪽 stem 부위에서 침상구조의 천연물이 방출됨
	* H : 생원초를 25℃에서 3주간 처리 => 실험군 G에 비하여 표면방출이 더 안정적으로 빠르게 유도되었으며, 총 수율은 3,570mg/100g(건조해조중량)이 얻어졌으며, 방출물질의 형상이 단순 백색분말이 아닌 주로 유리파편 형상과 침상 구조물을 나타냄. 또한 실험군 G와 마찬가지로 다시마 하부쪽 stem 부위에서 침상구조의 천연물이 매우 풍성하게 방출됨
	* I : 생원초를 35℃에서 3주간 처리=> 실험군 H와 비슷한 속도로 표면방출이 유도되었으며, 총 수율은 2,430mg/100g (건조해조중량)이 얻어졌으며, 실험군 H와 유사하게 방출물질의 형상이 단순 백색분말이 아닌 주로 유리파편 형상과 침상 구조물을 나타냄. 또한 실험군 G, H와 유사하게 다시마 하부쪽 stem 부위에서 침상구조의 천연물이 방출됨
톳 (광·암처리 및 습도 30% 유지)	* J : 생원초를 15℃에서 3주간 처리 => 표면방출이 서서히 유도되었으며, 톳의 약 3분의1의 비율로 표면방출이 유도 되었으며, 총 수율은 456mg/100g(건조해조중량)이 얻어짐.
	* K : 생원초를 25℃에서 3주간 처리 => 실험군 J에 비하여 표면방출이 더 안정적으로 빠르게 유도되었으며, 총 수율은 2,670mg/100g(건조해조중량)이 얻어졌으며, 방출물질의 형상이 단순 백색분말이 아닌 부드러운 실 모양으로 실 구조물들이 서로 뭉쳐있는 구조물(미약한 점성적 특성을 보임)을 나타냄.
	* L : 생원초를 35℃에서 3주간 처리=> 실험군 K와 유사한 양상으로 표면방출이 유도되었으며, 총 수율은 1,540mg/100g (건조해조중량)이 얻어졌으며, 실험군 K와 마찬가지로 방출물질의 형상이 단순 백색분말이 아닌 부드러운 실 모양으로 실 구조물들이 서로 뭉쳐있는 구조물(미약한 점성적 특성을 보임)을 나타냄.
미역 (광·암처리 및 습도 30% 유지)	* M : 생원초를 15℃에서 3주간 처리 => 표면방출이 매우 서서히 유도되었으며, 총 수율은 520mg/100g(건조해조중량)이 얻어짐. 또한 미역 하부쪽 stem 부위에서 침상구조의 천연물이 방출됨
	* N : 생원초를 25℃에서 3주간 처리 => 실험군 M에 비하여 표면방출이 더 안정적으로 빠르게 유도되었으며, 총 수율은 3,250mg/100g(건조해조중량)이 얻어졌으며, 엽상체(Blade) 표면과 기부 (가장자리)의 방출물질은 침상 구조물을 나타냄. 또한 미역의 중간줄기 부위(Midrib)에서 집중적으로 매우 많은 양의 백색물질이 방출, 축적되어짐. 뿐만아니라 미역은 해조 조직이 매우 얇고 유연하여 인위적으로 '조직팽창술'을 활용할 경우, 조직내의 천연물을 분말의 형태로 분리할 수 있는 장점이 있음.
	* O : 생원초를 35℃에서 3주간 처리 => 실험군 N과 유사한 패턴으로 표면방출이 유도되었으며, 총 수율은 1,97mg/100g (건조해조중량)이 얻어졌으며, 미역의 중간줄기 부위(Midrib)에서 집중적으로 많은 양의 백색물질이 방출, 축적되어짐. 또한 실험군 N과 마찬가지로 '조직팽창술'을 활용할 경우, 조직내의 천연물을 분말의 형태로 분리할 수 있는 장점이 있음.

[0081]

이상과 같은 실험을 통하여 광·암처리 및 습도 30% 유지 조건에서 25℃로 3주간 표면방출을 유도할 때 가장 효율적인 수율을 확보할 수 있음을 실험적으로 검증하였다.

[0083]

(1) 다시마

표 2

[0084]

실험군	온도 및 기간	수율: mg/100g(건조해조중량)	온도 조건별 표면방출물질의 형상
G	15℃, 3주	495	도 7
H	25℃, 3주	3,570	도 8
I	35℃, 3주	2,430	도 9

[0085]

(2) 톳

표 3

실험군	온도, 기간	수율: mg/100g(건조해조중량)	온도 조건별 표면방출 물질의 형상
J	15℃, 3주	456	도 10
K	25℃, 3주	2,670	도 11
L	35℃, 3주	1,540	도 12

(3) 미역

표 4

실험군	온도, 기간	수율 : mg/100g(건조해조중량)	온도 조건별 표면방출 물질의 형상
M	15℃, 3주	520	도 13
N	25℃, 3주	3,250	도 14
O	35℃, 3주	1,970	도 15

4) 표면방출물 100mg 당 유효성분의 함량 분석

표 5

성분	미역	다시마	톳
Mannitol	34.35mg	17.04mg	4.55mg
알긴산	26.42mg	20.55mg	19.43mg
타우린	0.0037mg	0.0035mg	0.015mg
후코이단	6.60mg	2.78mg	2.53mg
나트륨	0.361mg	0.554mg	0.228mg

2. 해조류의 전처리후 염도변화 분석

* 전처리: 흐르는 물에 침지 (20℃, 12시간)-> 열풍건조 (50℃, 24시간)

* 염도 감소율 분석: 해조류 샘플을 증류수에 3% 농도로 녹인 후 30분간 소니케이션하였다.

디지털 염도계를 이용하여 샘플 염도를 측정된 후 10배 희석하여 재측정하였다.

염도계 측정 단위; (g/100g)

표 6

전처리후 시료농도 3%에서의 염도 감소율

해조 종류	전처리 전의 염도(g/100g)	전처리 후의 염도(g/100g)
다시마	0.8	0.1
미역	whole body	0.9
	엽상체	0.8
	줄기	1.2
	귀	1.1
	생톳	0.4
톳	자숙톳	0.2
	꼬시래기	0.8
쇠미역	0.9	0.1

3. ICP-OES를 이용한 해조류의 미네랄 및 중금속 함량 분석

* 유도결합 플라즈마 분광분석기(ICP-OES)를 이용하여 해조류의 미네랄(Fe, Zn, S, P, Ca, Mg, K, Na)과 2종 (Cd, Pd)의 중금속 함량을 분석하였다.

표 7

[0103]

미네랄 함량, 단위; mg/100g

해조 종류			Fe	Zn	S	P	Ca	Mg	K
다시마		비자숙	-	0.79	605.07	189.73	1,293.26	1,009.26	6,462.15
		자숙	-	1.99	572.36	90.32	2,257.52	1,458.07	4,754.54
미역	whole body	비자숙	5.80	2.26	736.99	420.47	2,043.47	1,275.94	5,457.65
		자숙	9.22	3.73	810.75	414.26	2,060.96	1,328.20	5,074.67
	귀	비자숙	-	9.75	2,140.61	599.51	753.86	924.93	13,142.99
		자숙	-	0.75	2,046.59	424.71	1,140.33	1,018.48	6,487.15
툰		비자숙	126.90	4.00	1,324.20	133.70	1,699.44	904.50	7,557.57
		자숙	98.64	1.43	1,157.81	152.24	1,727.41	981.05	8,352.61

표 8

[0105]

중금속

해조 종류			Cd(mg/kg)	Pb(mg/kg)
다시마		비자숙	N.D.	N.D.
		자숙	N.D.	N.D.
미역	whole body	비자숙	N.D.	N.D.
		자숙	N.D.	N.D.
	귀	비자숙	N.D.	N.D.
		자숙	N.D.	N.D.
툰		비자숙	N.D.	N.D.
		자숙	N.D.	N.D.

[0106]

추출 용매조건별 해조 종류별 추출천연물의 수율 분석

[0107]

* 추출 용매 범위: 주정알콜, 메탄올, 열수

[0108]

* 해조 종류 및 사용부위: 미역(잎-Blade, 줄기-Stipe, 미역귀, 잎줄기 구조-Blade+Stipe)/ 꼬시래기/ 다시마/ 쇠미역/ 툰(생툰, 자숙툰)

[0109]

각 해조류 시료의 형상은 도 16에 나타내었다.

표 9

[0111]

실험에 사용할 해조류 시료 무게 측정 결과

해조류	무게(g)
미역 엽상체	52.70
미역 줄기	17.74
미역	36.77
미역귀	17.70
다시마	32.72
쇠미역	27.78
생툰	18.42
자숙툰	38.12
꼬시래기	36.79

[0112]

* 9가지 해조 시료에 95% 주정과 95% 메탄올을 각각 1:10(시료:용매)의 비율로 혼합하여 25℃에서 24시간 동안 반응시킴. 24시간 후 4℃에서 3,000rpm으로 10분 동안 원심분리하여 상층액을 취하고 whatman No.2 여과지를 이용하여 상층액을 여과함. 여과액은 38℃에서 감압 농축하고 메탄올추출물은 질소가스를 이용하여 건조시켰으며 주정추출물은 -70℃에서 16시간 동안 동결건조 하였음. 건조시킨 시료는 무게를 측정한 후 4℃에 보관하며 실험에 사용함.

- [0113] * 열수추출은 해조류와 증류수를 1:50의 비율로 혼합하여 25℃에서 1시간 동안 반응시킨 후 80℃에서 3시간 동안 열수추출함. Whatman No.2 여과지를 이용하여 상층액을 여과하고 70℃에서 감압 농축 후 -70℃에서 16시간 동안 동결건조 하였음. 동결건조 후 시료는 무게를 측정 한 후 4℃에 보관하며 실험에 사용함.
- [0114] * 추출조건에 따른 시료 무게를 측정하여 수율을 계산함.
- [0116] - 주정추출물은 생톳과 자숙톳이 8.5 %, 7.8 %으로 가장 높은 수율을 나타냄.
- [0117] - 메탄올추출물에서는 생미역 9.15 %로 가장 높은 수율을 보였고, 생다시마가 1.2 %으로 가장 낮은 수율을 보임.
- [0118] - 열수추출물에서는 생꼬시래기가 43.4 %로 가장 높은 수율을 보였고 생미역 엽상체가 4.5 %로 가장 낮은 수율을 보임.
- [0119] - 열수추출물의 수율차이(4.5~43.4 %)는 열수 추출 중 미역과 다시마 시료가 물에 불어 여과에 어려움이 있어 수율의 차이가 나타났음.

표 10

[0121] 추출 조건에 따른 해조류 추출물의 수율(%)

시료	수율(%)		
	주정	메탄올	열수
미역 엽상체	2.2±0.3	2.5±0.5	4.5±0.4
미역 줄기	2.3±0.3	1.5±0.3	29.5±2.6
미역 whole body	2.1±0.3	9.2±0.4	35.6±3.3
미역귀	3.3±0.3	1.3±0.2	43.4±1.7
다시마	3.2±0.2	1.2±0.2	9.4±0.8
쇠미역	0.6±0.1	2.5±0.2	13.6±1.9
생톳	8.5±0.3	6.4±0.5	25.0±2.2
자숙톳	7.8±0.2	2.9±0.1	19.0±0.9
꼬시래기	0.7±0.2	4.1±0.2	18.6±1.3

[0123] 4. 해조 시즈닝 소재의 바이오활성 분석

[0124] 1) 해조 종류별, 추출조건별 polyphenol 함량 분석

[0125] - 10 mg/mL의 해조류 추출물 80 uL에 Folin-Denis 시약 80 uL을 혼합하여 실온에서 3분간 반응 시키고 10% sodium carbonate 80 uL를 넣어 실온에서 1시간 반응시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정함. 추출 조건에 따른 해조류 추출물의 총 폴리페놀 함량은 tannic acid를 이용하여 표준검량곡선을 작성하여 나타냄.

[0126] - 시료는 3반복 분석한 후 평균값을 계산함.

[0128] 2) 해조 종류별, 추출조건별 flavonoid 함량 분석

[0129] - 20 mg/mL의 해조류 추출물 5 uL에 10 % aluminum nitrate 5 uL와 1 M potassium acetate

[0130] 5 uL에 증류수 235 uL을 혼합하여 실온에서 40분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정함. 총 플라보노이드 함량은 quercetin를 가지고 표준검량곡선을 작성하여 추출 조건에 따른 해조류 추출물의 총 플라보노이드 함량을 나타냄.

[0131] - 시료는 3반복 분석한 후 평균값을 계산함.

표 11

[0133] 추출 조건에 따른 해조류 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

Seaweeds	Prethanol		Methanol		Water	
	Polyphenol (mg TAE/g extracts)	Flavonoids (mg QC/g)	Polyphenol (mg TAE/g extracts)	Flavonoids (mg QC/g)	Polyphenol (mg TAE/g extracts)	Flavonoids (mg QC/g)
미역 엽상체	1.69±0.01	2.30±0.02	5.61±1.94	7.8±0.22	0.71±0.49	0.01±0.01

미역 줄기	1.54±0.05	0.98±0.1	4.67±2.52	2.73±0.21	0.59±0.26	0.17±0.04
미역	2.32±0.05	2.49±0.09	2.97±0.52	5.22±0.35	0.95±0.24	0.59±0.14
꼬시래기	1.45±0.04	0.86±0.06	3.74±2.34	0.64±0.12	0.85±0.52	0.22±0.11
다시마	1.31±0.05	2.21±0.01	3.63±1.63	3.69±0.43	0.24±0.51	0.04±0.03
쇠미역	2.64±0.01	0.85±0.02	5.49±2.49	4.19±0.34	1.38±0.26	0.28±0.05
생돔	4.52±0.02	8.98±0.04	7.62±1.99	13.42±1.32	5.85±0.66	0.98±0.22
자숙돔	4.82±0.02	12.81±0.10	9.76±0.7	3.11±0.35	4.33±0.65	0.43±0.1
미역귀	2.53±0.02	0.55±0.01	0.74±0.75	2.47±0.12	0.76±0.08	0.23±0.14

[0134] - 페놀화합물은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있어 단백질 또는 효소, 기타 거대분자들과 결합하는 성질이 있으며 또 한 항균, 항산화 및 항암 등의 다양한 생리활성기능을 가진 것으로 알려져 있음. 용매의 극성에 따라 추출되는 물질이 매우 다르게 나타나기 때문에 사용되는 용매에 따라 추출되는 폴리페놀 함량이 다름.

[0135] - 주정과 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량이 열수 추출물보다 높음.

[0136] - 추출조건별 해조류 추출물의 폴리페놀 함량은 주정 추출물에서 자숙돔이 4.82 mg/g, 메탄올 추출물에서 자숙돔이 9.76 mg/g, 열수 추출물에서는 생돔이 5.85 mg/g으로 다른 해조류에 비해 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타냄.

[0137] - 추출조건별 해조류 추출물의 플라보노이드 함량은 주정 추출물에서 자숙돔이 12.81 mg/g, 메탄올 추출물에서 생돔이 13.42 mg/g, 열수 추출물에서는 생돔이 0.98 mg/g으로 다른 해조류에 비해 가장 높은 플라보노이드 함량을 나타냄.

[0139] 3) 해조 종류별, 추출조건별 4종의 phenolic compounds 함량 분석

[0140] - 분석 물질의 범위: 4-hydroxy benzoic acid, Naringein, Nicotinic acid, Naringin

[0141] - 분석 조건: 추출 조건에 따른 9가지 해조류 추출물의 페놀화합물 정량분석하기 위해 LC-MS/MS 질량분석기를 이용하였고 분석조건은 하단의 표와 같음.

표 12

Item	Condition
Instrument	AB SCIEX 4000 Q-Trap
Column	Gemini C18(3 um, 5.0 mm × 2.0 mm)
Mobile phase	A : 0.1 % formic acid with deionized water
	B : 0.1 % formic acid with acetonitrile
	(A : B = 80 : 20 (V/V))
Column flow rate	0.3 mL/min
Mode	Negative mode
Spray voltage	4500 V

[0143] - 추출 조건별 해조류 추출물 20 mg을 각 추출 용매 1 mL에 녹인 후 상층을 증류수로 40배 희석하고 10 uL를 주입하여 분석 후 환산하였음.

[0144] - 시료는 3반복 분석한 후 평균값을 계산함.

표 13

[0146] 추출조건별 해조류의 페놀화합물 함량

페놀화합물	시료	함량(ug/g)		
		주정	메탄올	열수
4-hydroxy benzoic acid	미역 엽상체	2.64±0.08	8.88±0.06	3.02±0.05
	미역 whole body	1.40±0.03	2.30±0.03	3.11±0.04
	다시마	ND	8.25±0.03	2.10±0.06
	생돔	4.60±0.08	10.46±0.11	1.05±0.04
	자숙돔	ND	1.62±0.03	1.72±0.08
Naringein	미역 엽상체	0.15±0.02	ND	ND

Nicotinic acid	미역 whole body	0.30±0.05	ND	ND
	다시마	0.44±0.06	ND	ND
	생톳	0.21±0.03	ND	ND
	자숙톳	0.41±0.07	ND	ND
	미역 엽상체	2.48±0.08	10.42±0.30	1.72±0.11
	미역 whole body	17.10±0.37	6.81±0.23	32.04±1.74
	다시마	0.88±0.11	ND	2.55±0.27
	생톳	1.39±0.21	ND	ND
	자숙톳	1.97±0.19	ND	ND
	미역 엽상체	236.26±9.62	ND	ND
Naringin	미역 whole body	379.03±7.72	ND	ND
	다시마	661.66±13.93	ND	ND
	생톳	298.08±10.54	ND	ND
	자숙톳	517.98±9.64	ND	ND

[0147] (*ND : no detected)

[0148] - 파라벤류(parabens)는 화장품에 주로 사용되는 합성 방부제로 체내에 흡수 시 p-hydroxy benzoic acid로 대사되어 체내 축적이 되지 않으며 4-hydroxybenzoic acid는 피부 자극이 적고 화장품 방부효과, 혈당을 낮추고, 지혈작용이 있는 것으로 알려짐.

[0149] - 감귤과 유자 과피 내에 다량으로 존재하는 플라보노이드 중 하나인 naringin과 naringin의 비당체(aglycone) 형태인 naringenin은 항균작용, 항암, 항위궤양, 지질대사, 항산화 효과를 지닌다고 알려짐.

[0150] - 비타민 B3로 알려진 nicotinic acid는 체내에서 탄수화물 대사, 지방산 대사와 다양한 화합물 합성 과정에 참여하며 혈액순환촉진과 콜레스테롤 감소 효과로 알려져 있음.

[0151] - 추출 조건별 해조류 추출물의 naringin과 naringenin의 함량은 메탄올과 열수 추출물에서는 측정되지 않았음.

[0152] - 추출 조건에 따른 9가지 해조류 추출물의 페놀화합물 함량 분석 결과, 4-hydroxybenzoic acid는 톳 메탄올 추출물(10.46 ug/g), naringin과 naringenin은 다시마 주정 추출물(0.44, 661.66 ug/g), nicotinic acid는 미역 열수 추출물(17.10 ug/g)에서 가장 높은 함량이 관찰됨.

[0154] 4) 해조 종류별, 추출조건별 DPPH radical 소거능 분석

[0155] - DPPH 라디칼 소거능 측정은 비교적 안정적인 자유 라디칼 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)가 항산화 활성을 갖는 시료와 반응하여 자색의 화합물이 노란색으로 탈색되 간단히 시료의 항산화활성을 측정하는 방법임.

[0156] - 150 μm DPPH 용액 0.98 mL에 20 mg/mL의 해조류 추출물 0.02 mL를 각각 혼합한 다음 암조 건에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정함.

[0157] - 각 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 다음과 같이 계산하여 백율로 표시함.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능 (\%)} = 1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무첨가구의 흡광도}} \times 100$$

[0159] - 시료는 3반복 분석한 후 평균값을 계산함.

표 14

추출조건별 해조류의 DPPH 라디칼 소거능

시료	DPPH 라디칼 소거능(%)		
	주정	메탄올	열수
미역 엽상체	5.77±3.27	9.30±1.61	4.64±0.91
미역 줄기	4.72±1.36	4.46±1.61	6.99±0.91
미역 whole body	10.86±2.09	5.74±0.18	6.33±3.26
미역귀	9.18±1.82	11.38±3.12	8.07±3.88
다시마	5.42±2.20	1.56±0.50	6.80±5.69
쇠미역	11.88±2.01	14.43±4.98	8.62±4.74

생톳	70.95±0.70	68.41±9.36	20.98±7.04
자숙톳	53.57±1.06	42.59±12.67	14.67±2.47
꼬시래기	9.67±1.98	1.37±1.18	2.04±0.43

[0162] - 항산화 물질은 free radical의 소거 작용을 가지며 이는 활성 라디칼 전자를 공여하여 식물 중의 항산화 효과나 인체에서 노화를 억제하는 척도로 이용. DPPH radical 소거능이 높으면 free radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 높아지며, 활성산소와 같은 free radical의 소거작용 증진으로 인체 내의 노화를 억제하는 효과가 있는 것으로 알려져 있음.

[0163] - 식물체의 총 페놀 함량과 DPPH radical 소거능이 매우 밀접한 상관관계를 가진다고 보고되고 있음.

[0164] - DPPH radical 소거능은 생톳의 주정, 메탄올, 열수 추출물에서 각각 70.95, 68.41, 20.98 %으로 다른 해조류에 비해 가장 높은 소거능을 보임.

[0165] - 총 폴리페놀 함량과 유사하게 생톳과 자숙톳에서 높은 DPPH radical 소거능을 보임.

[0167] 5) 해조 종류별, 추출조건별 항산화 효소활성 분석

[0168] - 추출 조건별 9가지 해조류 추출물에 50 mM Potassium phosphate pH 7.0, 1 % Triton X-100, 1 % PVP-40 용액을 1 : 4의 비율로 혼합하고 4℃에서 20분간 반응시킨 후 12,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 다음 상층액을 분리하였음. 그 후 BSA protein assay kit를 사용하여 정량 후 항산화효소 활성 분석에 사용함.

[0170] - SOD(superoxide dismutase) 활성

[0171] : SOD(Superoxide dismutase) activity는 Xanthine과 Xanthine oxidase 반응으로 생성된 superoxide anion를 이용해 Nitroblue tetrazolium(NBT)의 환원 정도를 측정함. 50 mM potassium phosphate pH 7.0, 3 mM EDTA, 3 mM Xanthine, 0.75 mM Nitroblue tetrazolium(NBT) 용액 0.2 mL에 각각의 추출조건에 따른 해조류 추출물 20 uL를 혼합하여 25℃에서 10분간 반응함. 그 다음 0.3 unit/mL Xanthine oxidase를 첨가한 후 560 nm에서 흡광도를 측정하고 SOD 효소 활성은 다음과 같이 환산함.

[0172]
$$\text{SOD activity (unit/mg)} = ((A-B)/B) \times 50 / (\text{Sample volume} \times \text{Total volume} / \text{Pr(mg/mL)})$$

[0173] A : 시료 첨가구의 흡광도

[0174] B : 시료 무첨가구의 흡광도

[0176] : 시료는 3반복 분석한 후 평균값을 계산함.

[0177] : SOD는 생체에 유해한 superoxide anion radical과 반응하여 과산화수소를 생성하는 효소로서 가장 독성이 강한 hydroxy radical의 생성 억제활성을 나타내는 대표적 항산화효소임.

[0178] : 추출조건별 해조류 추출물의 SOD 활성은 주정과 메탄올 추출물이 열수 추출물보다 더 높은 SOD 활성을 보임.

[0179] : 추출조건별 해조류 추출물의 SOD 활성은 주정 추출물에서 자숙톳(7.93 unit/mg)이, 메탄올 추출물에서 생미역엽상체(11.03 unit/mg), 열수 추출물에서 자숙톳(0.99 unit/mg)이 가장 높은 SOD 활성을 나타냄.

[0180] : 전체적으로 자숙톳의 SOD 활성이 가장 높게 나타남.

[0181] 상기 실험결과를 도 18에 그래프로 나타내었다.

표 15

[0182] 3가지 추출용매에 대한 SOD 활성

Seaweeds	SOD (units/mg)		
	Prethanol	Methanol	Water
미역 엽상체	2.51±0.5	11.03±2.78	0.30±0.34
미역 줄기	2.44±0.45	8.21±0.79	0.35±0.43
미역	3.33±0.64	4.92±2.39	0.43±0.34
꼬시래기	2.26±0.46	2.79±0.40	0.21±0.15
다시마	2.88±0.70	10.64±2.18	0.23±0.22
쇠미역	6.63±1.75	9.66±2.28	0.53±0.25

톳	2.23±0.56	3.12±0.76	0.7±0.21
자숙톳	7.93±0.69	9.95±0.35	0.99±0.51
미역귀	4.34±1.10	3.50±1.33	0.62±0.27

[0184] - CAT(catalase) 활성

[0185] : CAT(Catalase) activity는 기질인 Hydrogen peroxide(H₂O₂)의 감소량을 측정하는 방법임. 50 mM potassium phosphate pH 7.0, 10 mM H₂O₂ 용액 0.2 mL에 추출 조건에 따른 해조류 추출물 20 uL를 각각 혼합하고 2분 동안 30초마다 240 nm에서 흡광도를 측정함.

[0186] : CAT활성은 다음과 같이 계산하였음. 여기서, 43.6은 240 nm에서 H₂O₂의 extinction coefficient 임.

[0187] $CAT\ activity\ (unit/mg) = ((A-B)/43.6) \times Total\ volume / Sample\ volume / Pr\ (mg/mL)$

[0188] A : 시료 첨가구의 흡광도

[0189] B : 시료 무첨가구의 흡광도

[0191] : 시료는 3반복 분석한 후 평균값을 계산함.

[0192] : Catalase (CAT)의 활성 측정은 hydrogen peroxide의 분해에 따라 감소하는 흡광도를 측정하는 방법임.

[0193] : CAT활성은 주정과 메탄올 추출물이 열수 추출물보다 더 높은 CAT 활성을 보임.

[0194] : 추출조건에 따른 해조류 추출물의 CAT 활성은 주정 추출물에서 자숙톳(1.17 unit/mg), 메탄올 추출물 에서 생 미역 엽상체(2.18 unit/mg), 열수 추출물에서 자숙톳(1.63 unit/mg)이 가장 높은 CAT 활성을 나타냄.

[0195] : 전체적으로 자숙톳이 높은 CAT 활성을 보임.

[0196] 상기 실험결과는 도 19에 그래프로 나타내었다.

표 16

Seaweeds	CAT (units/mg)		
	Prethanol	Methanol	Water
미역 엽상체	0.35±0.04	2.18±0.17	0.005±0.001
미역 줄기	0.32±0.03	1.59±0.35	0.012±0.006
미역	0.53±0.03	1.02±0.09	0.010±0.006
꼬시래기	0.33±0.03	0.57±0.08	0.040±0.013
다시마	0.34±0.02	2.03±0.30	0.015±0.009
쇠미역	0.93±0.02	1.39±0.61	0.054±0.003
톳	0.67±0.01	0.64±0.19	0.047±0.009
자숙톳	1.17±0.02	1.84±0.09	0.023±0.009
미역귀	0.53±0.06	0.27±0.14	0.022±0.004

[0199] - APX(ascorbate peroxidase) 활성

[0200] : APX(Ascorbate peroxidase)는 catalase와 더불어 Hydrogen peroxide(H₂O₂)를 제거하는 중요한 효소로 알려져 있음. APX activity는 ascorbate를 산화시켜 H₂O₂의 감소량을 측정하였음. 50 mM potassium phosphate pH 7.0, 0.5 mM ascorbate, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM H₂O₂ 용액 0.2mL에 해조류 추출물 20 uL를 혼합한 다음 37℃에서 5분간 반응시켰음. 이후 290 nm에서 혼합액의 흡광도를 측정함.

[0201] : APX활성은 다음과 같이 계산하였으며 2.8은 290 nm에서 ascorbate의 extinction coefficient 임.

[0202] $APX\ activity\ (unit/mg) = ((A-B)/2.8) \times (Total\ volume / Sample\ volume / Pr\ (mg/mL))$

[0203] A : 시료 첨가구의 흡광도

[0204] B : 시료 무첨가구의 흡광도

[0206] : 시료는 3반복 분석한 후 평균값을 계산함.

[0207] : APX는 엽록체, 미토콘드리아, 세포질 및 세포벽에 존재하고, ascorbate를 산화시킴으로써 H₂O₂를 불 활성화시

키고 생체 내에서 활성산소로부터 생체를 보호하는 작용을 함.

[0208] : 메탄올 추출물이 주정과 열수 추출물보다 높은 APX 활성을 보임.

[0209] : 추출조건별 해조류 추출물의 APX 활성은 주정 추출물에서 자숙툇(2.05 unit/mg), 메탄올 추출물에서 생미역 엽상체(5.05 unit/mg), 열수 추출물에서 자숙툇(1.63 unit/mg)이 높은 APX 활성을 나타냄.

[0210] : 전체적으로 전체적으로 자숙툇이 높은 APX활성을 보임.

[0211] 상기 실험결과는 도 20에 그래프로 나타내었다.

표 17

[0212]

Seaweeds	APX (units/mg)		
	Prethanol	Methanol	Water
미역 엽상체	1.08±0.56	5.05±0.57	1.58±0.20
미역 줄기	1.03±0.18	4.89±0.62	1.59±0.28
미역	1.22±0.47	2.00±0.31	1.58±0.16
꼬시래기	1.18±0.22	1.59±0.23	1.52±0.13
다시마	1.22±0.60	5.76±0.22	1.51±0.16
쇠미역	2.01±0.75	3.91±0.77	1.51±0.11
툇	1.54±0.64	2.38±0.38	1.56±0.22
자숙툇	2.05±0.94	5.01±1.37	1.63±0.24
미역귀	1.19±0.59	2.70±0.34	1.55±0.32

[0214] 6. 해조 종류별, 추출조건별 항노화활성 분석

[0215] - Collagenase inhibition activity

[0216] : 1 mg/mL의 추출 용매별 해조류 추출물 50 uL에 0.1 M Tris-HCl pH 7.5, 4 mM CaCl₂ 12.5 uL와 0.5 mg/mL의 collagenase 75 uL를 혼합 후 37℃에서 20분 동안 반응시킴. 그 다음 6 % citric acid 0.25 mL을 넣어 반응을 정지시 키고 ethyl acetate 750 uL를 첨가한 후 96 well plate에 상층액을 0.2 mL씩 분주하여 320 nm에서 흡광도를 측정함.

[0217] : 다음과 같은 식으로 collagenase 저해 활성을 계산함.

[0218] $\text{Collagenase inhibition activity}(\%) = (1 - (A - AB) / (C - CB)) \times 100$

[0219] A : 시료 첨가구의 흡광도

[0220] AB : 시료 첨가구에 효소 무첨가구의 흡광도

[0221] C : 대조구의 흡광도

[0222] CB : 대조구에 효소 무첨가구의 흡광도

[0224] : 시료는 3반복 분석한 후 평균값을 계산함.

[0225] 상기 실험결과는 도 21에 그래프로 나타내었다.

표 18

[0226]

추출조건별 해조류의 collagenase inhibition activity

시료	Collagenase inhibition activity(%)		
	주정	메탄올	열수
생미역 엽상체	21.4±1.2	68.9±1.9	ND
생미역 줄기	13.7±1.9	ND	14.2±0.3
생미역	65.8±2.5	11.1±0.7	31.6±0.2
생미역귀	10.1±1.3	16.4±1.0	0.9±0.1
생다시마	65.0±2.2	19.6±0.2	ND
생쇠미역	17.6±1.0	88.3±0.2	ND
생툇	28.7±0.9	25.6±3.4	23.1±0.1

자숙톳	32.0±0.3	56.9±4.9	28.9±0.5
생꼬시래기	43.9±1.8	43.2±0.8	6.6±0.1

[0227] (*ND : no detected): Collagen은 피부결합조직의 저항성, 조직력, 세포분화, 조직 보호 및 지지 작용을 함. 연령 증가에 따라 세포활성 감소, 스트레스, 자외선 노출 등의 요인으로 피부 내 collagenase에 의해 collagen이 감소 되면 피부의 탄력 저하를 일으켜 피부의 주름과 처짐의 원인이 됨.

[0228] : 메탄올 추출물에서 주정 추출물과 열수 추출물보다 더 높은 collagenase 저해 활성을 보임.

[0229] : 추출조건에 따른 해조류 추출물의 collagenase 저해 활성은 주정 추출물에서 생미역 (65.8 %)이, 메탄올 추출물은 생곰피 (88.3 %), 열수 추출물에서는 생미역 (31.6 %)이 다른 해조류 추출물에 비해 높은 collagenase 저해 활성을 나타냄.

[0230] : 전체적으로 생미역이 높은 collagenase 저해 활성을 보임.

[0232] - Elastase inhibition activity

[0233] : Elastase 저해 활성은 1 mg/mL의 추출 용매별 해조류 추출물 시료 50 uL에 50 mM Tris-HCl, pH 8.6으로 녹인 0.5 mg/mL의 N-succinyl-(Ala)3-p-nitroanilide 50 uL를 혼합하여 37℃에서 5분간 반응 시킨 후 410 nm에서 흡광도를 측정함. 그 후 50 mM Tris-HCl, pH 8.6를 이용하여 만든 0.2 unit/mL porcine pancreas elastase 50 uL를 추가로 넣고 37℃에서 5분간 반응 시킨 후 410 nm에서 흡광도를 측정하였음.

[0234] : 아래와 같은 식으로 elastase 저해 활성을 계산함.

[0235] Elastase inhibition activity(%)=(A-(B-C))/A×100

[0236] : 시료는 3반복 분석한 후 평균값을 계산함.

[0237] 상기 실험결과는 도 22에 그래프로 나타내었다.

표 19

[0238] 추출조건별 해조류의 elastase inhibition activity

시료	Elastase inhibition activity(%)		
	주정	메탄올	열수
생미역 엽상체	22.9±0.3	31.0±0.2	9.60±0.2
생미역 줄기	14.9±0.8	23.6±0.3	11.2±0.2
생미역	22.3±0.4	12.4±0.3	10.0±0.2
생미역귀	10.9±0.4	21.2±0.2	16.8±0.1
생다시마	19.0±0.2	12.1±0.5	10.3±0.2
생쇠미역	ND	12.6±1.1	7.40±0.2
생톳	68.6±0.1	39.8±0.2	14.0±0.1
자숙톳	44.7±0.1	16.0±0.7	12.4±0.3
생꼬시래기	26.3±0.1	30.4±0.3	10.5±0.2

[0239] (*ND : no detected)

[0240] : Elastase는 결합조직의 불용성 탄성섬유 단백질인 elastin을 분해하는 효소로 elastase의 활성을 억제시 피부의 주름생성을 억제하여 피부 노화를 늦출 수 있음.

[0241] : 추출조건에 따른 해조류 추출물의 elastase 저해 활성은 주정 추출물에서 생톳 (68.6 %), 메탄올 추출물에서는 생톳 (39.8 %), 열수 추출물에서는 생꼬시래기 (16.8 %)가 가장 높은 elastase 저해 활성을 나타냄. 전체적으로 생톳이 높은 elastase 저해 활성을 보임.

[0243] - Tyrosinase inhibition activity

[0244] : Tyrosinase 저해활성은 1 mg/mL의 추출 용매별 해조류 추출물 시료 20 uL에 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.8)로 녹인 1.5 mM의 3,4-dihydroxy-L-phenyl-alanine(L-DOPA) 70 uL와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.8) 60 uL를 혼합하여 37℃에서 5분간 반응 시킨 후 500 U/mL의 mushroom tyrosinase 50

uL를 첨가하여 37℃에서 5분간 반응시킨 다음 490 nm에서 흡광도를 측정함.

[0245] : 아래와 같은 식으로 tryosinase 저해활성을 계산함.

[0246] Tyrosinase inhibition activity(%)=(A-(B-C))/A×100

[0247] A : 대조군과 효소첨가구의 흡광도

[0248] B : 시료와 효소 첨가구의 흡광도

[0249] C : 시료 첨가 후 효소 무첨가구의 흡광도

[0250] : 시료는 3반복 분석한 후 평균값을 계산함.

[0251] 상기 실험결과는 도 23에 그래프로 나타내었다.

표 20

[0252] 추출조건별 해조류의 tyrosinase inhibition activity

시료	Tyrosinase inhibition activity(%)		
	주정	메탄올	열수
미역 엽상체	ND	34.9±0.7	ND
미역 줄기	5.4±0.6	27.0±0.3	13.3±3.2
미역	7.2±3.6	36.0±1.8	7.8±8.1
미역귀	6.1±0.5	37.9±1.4	22.4±16.6
다시마	13.7±3.4	41.8±2.3	28.7±9.2
쇠미역	9.2±0.4	30.3±0.5	22.4±0.2
생톳	14.9±2.3	23.3±0.8	30.6±3.2
자숙톳	25.1±1.1	30.5±0.1	21.7±1.7
꼬시래기	ND	31.2±2.7	18.6±5.9

[0253] (*ND : no detected)

[0254] : Tyrosinase는 tyrosine을 산화시켜 멜라닌을 생성하는 효소로 자외선 노출 등 외부환경 자극으로 피부에서 멜라닌 생합성 증가되면 기미와 주근깨 등의 색소침착을 일으키게 됨.

[0255] : Tyrosinase 활성을 저해시키면 멜라닌 생성이 억제되어 미백효과를 볼 수 있음.

[0256] : 추출조건에 따른 해조류 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 주정 추출물에서 자숙톳 (25.1 %), 메탄올 추출물에서는 생다시마 (41.8 %), 열수 추출물에서는 생톳 (30.6 %)이 가장 높은 tyrosinase 저해 활성을 나타냄.

표 21

[0257] 추출 용매별 collagenase, elastase, tyrosinase 저해활성 비교

Seaweeds	Collagenase inhibition activity (%)			Elastase inhibition activity (%)			Tyrosinase inhibition activity (%)		
	Prethanol	Methanol	Water	Prethanol	Methanol	Water	Prethanol	Methanol	Water
미역 엽상체	21.4±1.2	68.9±1.9	ND	22.9±0.3	31.0±0.2	9.60±0.2	ND	34.9±0.7	ND
미역 줄기	13.7±1.9	ND	14.2±0.3	14.9±0.8	23.6±0.3	11.2±0.2	5.4±0.6	27.0±0.3	13.2±3.2
미역	65.8±2.5	11.1±0.7	31.6±0.2	22.3±0.4	12.4±0.3	10.0±0.2	7.2±3.6	36.0±1.8	3.0±0.5
꼬시래기	10.1±1.3	16.4±1.0	0.9±0.1	10.9±0.4	21.2±0.2	16.8±0.1	6.1±0.5	37.9±1.4	12.3±2.1
다시마	65.0±2.2	19.6±0.2	ND	19.0±0.2	12.1±0.5	10.3±0.2	13.7±3.4	41.8±2.3	22.6±0.5
쇠미역	17.6±1.0	88.3±0.2	ND	ND	12.6±1.1	7.40±0.2	9.15±0.4	30.3±0.5	21.35±0.2
톳	28.7±0.9	25.6±3.4	23.1±0.1	68.6±0.1	39.8±0.2	14.0±0.1	14.9±2.3	23.3±0.8	28.2±0.2

자숙투스	32.0 ±0.3	56.9 ±4.9	28.9 ±0.5	44.7 ±0.1	16.0 ±0.7	12.4 ±0.3	25.1 ±1.1	30.5 ±0.1	22.9±1.7
미역귀	43.9 ±1.8	43.2 ±0.8	6.6±0.1	26.3 ±0.1	30.4 ±0.3	10.5 ±0.2	ND	31.2 ±2.7	16±1.8

5. 제형별 해조 시즈닝 조성물

1) 타블렛형 해조 시즈닝의 조성물

표 22

조성 성분	배합비(중량%)
다시마 미세분말	15~20 %
미역 미세분말	15~20 %
투스 미세분말	5~10 %
해조방출 바이오소재	1.5~3.5 %
멸치분말	5.0 %
홍합분말	5.0 %
표고버섯분말	4.0 %
무즙분말	0.1 %
양파분말	4.0 %
대파분말	0.1 %
마늘분말	4.0 %
새우분말	5.0 %
소고기분말	5.0 %
간장분말	3.0 %
흑후추분말	0.7 %
말토덱스트린	6.5~8.0 %

2) 파립형 해조 시즈닝의 조성물

표 23

조성 성분	배합비(중량%)
다시마 추출물(동결건조분말)	5.0~10 %
미역 추출물(동결건조분말)	5.0~10 %
투스 추출물(동결건조분말)	5.0~10 %
해조방출 바이오소재	1.0~2.0 %
멸치엑기스	10 %
홍합분말	10 %
표고버섯분말	9.0 %
무즙분말	0.1 %
양파분말	9.1 %
대파분말	0.1 %
마늘분말	9.1 %
새우분말	10 %
소고기분말	10 %
간장분말	5.9 %
흑후추분말	0.7 %
말토덱스트린	4.0~5.0 %

3) 고농축 해조 에센스 시즈닝의 조성물

표 24

조성 성분	배합비(중량%)
다시마 고농축 열수추출액	10~30 %
미역 고농축 열수추출액	10~30 %

투스 고농축 열수추출액	5.0~10 %
김 고농축 열수추출액	1.0~3.0 %
해조방출 바이오소재	0.5~2.0 %
탈색 간장	15 %

도면

도면1



도면2



도면3



도면4



도면5



도면6



도면7



도면8



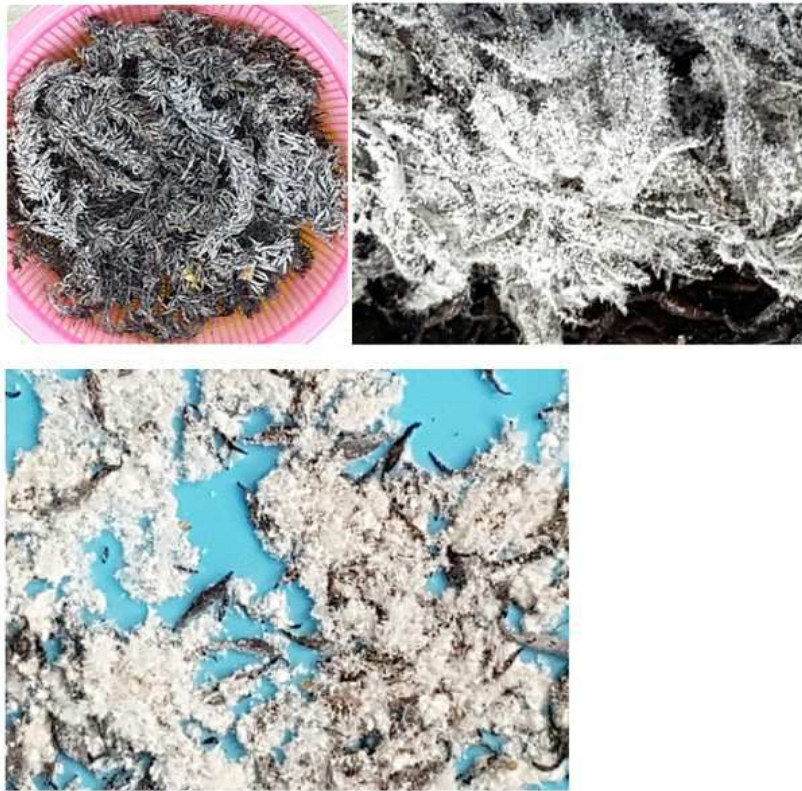
도면9



도면10



도면11



도면12



도면13



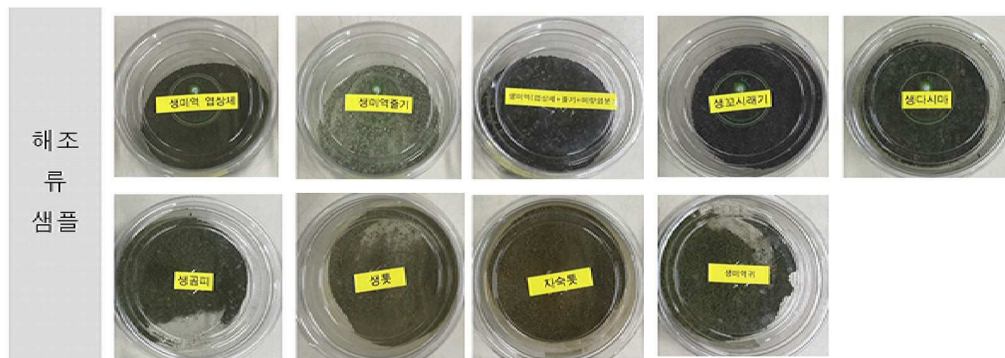
도면14



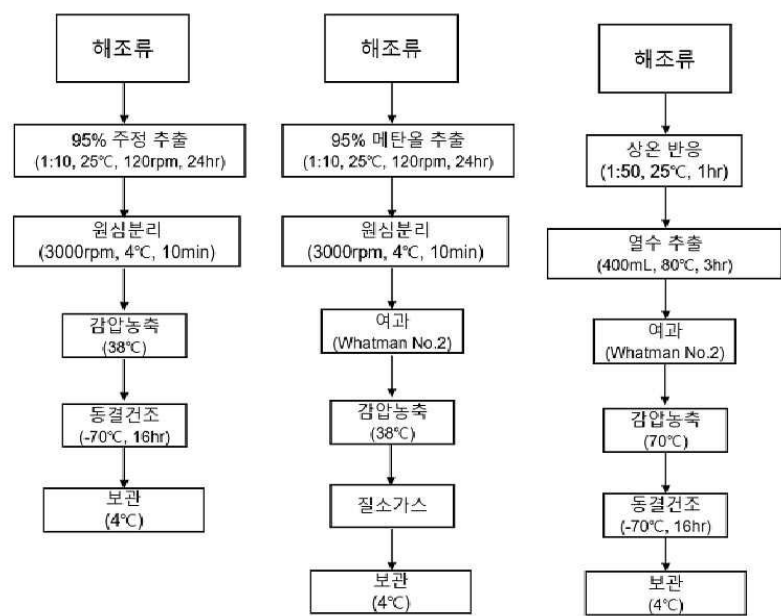
도면15



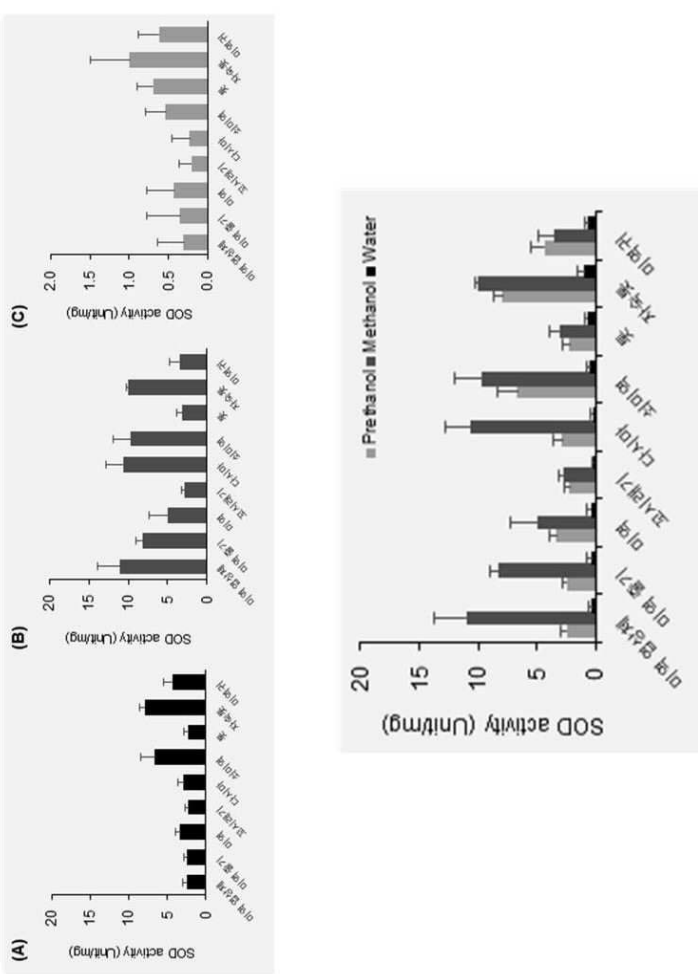
도면16



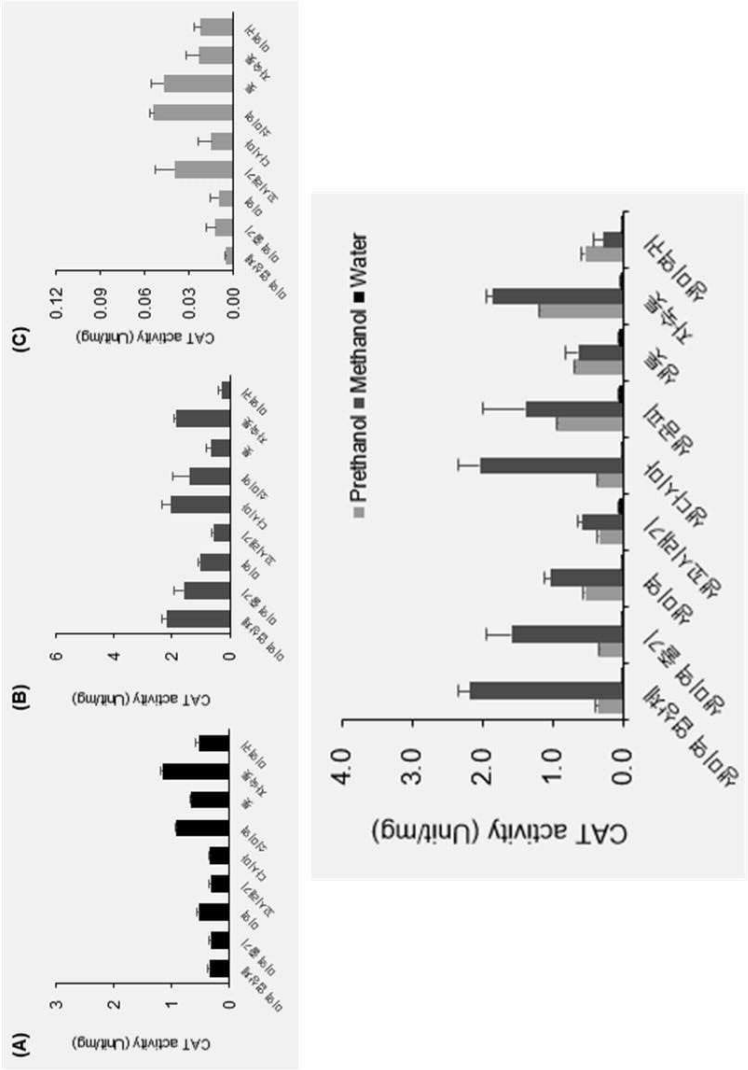
도면17



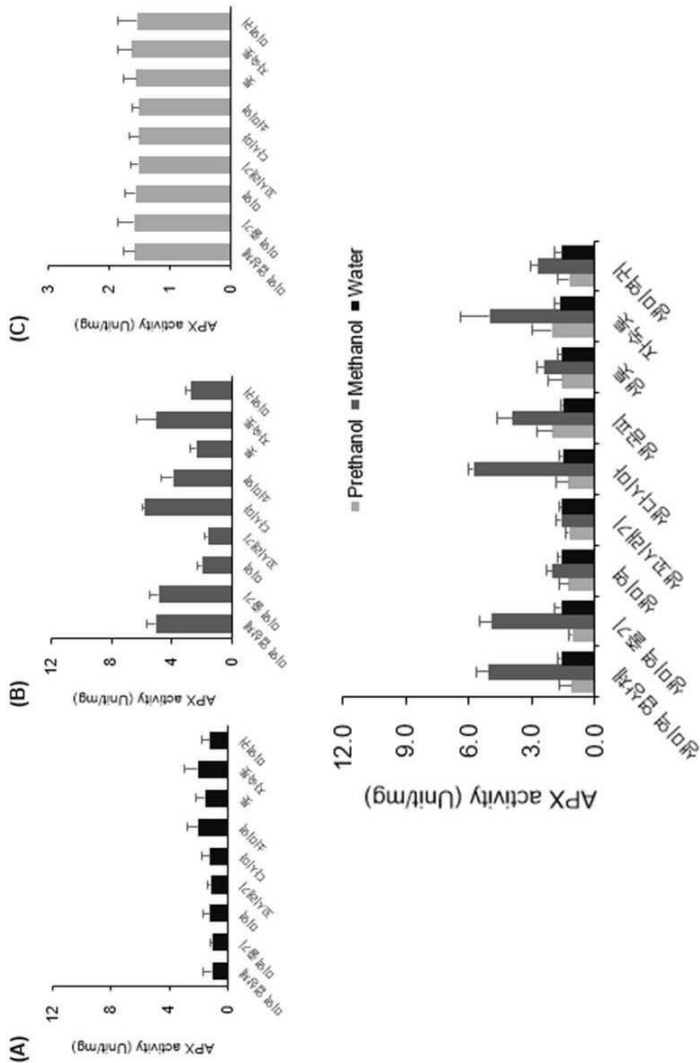
도면18



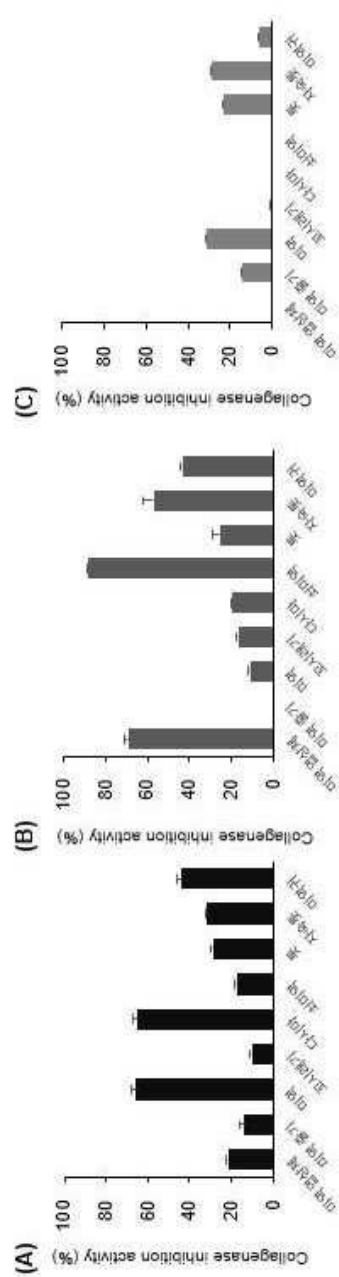
도면19



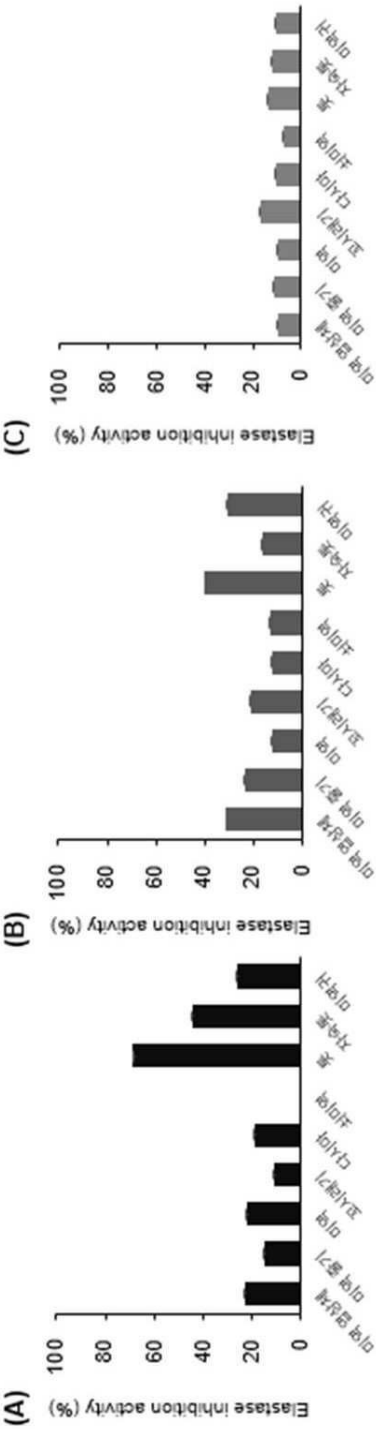
도면20



도면21



도면22



도면23

