



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0109708
(43) 공개일자 2013년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/28 (2006.01) A23L 2/38 (2006.01)
A23L 2/52 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0031672
(22) 출원일자 2012년03월28일
심사청구일자 2012년03월28일

(71) 출원인
한국식품연구원
경기도 성남시 분당구 안양판교로1201번길 62 (백현동)
영천시(농업기술센터)
경상북도 영천시 오미동 1144
(72) 발명자
김영언
경기도 용인시 수지구 풍덕천1동 현대아파트 109동 101호
한대석
경기도 성남시 분당구 판교동 629번지 대우 푸르지오 아파트 304동 1602호
이영경
경기도 성남시 분당구 구미동 까치마을 신원아파트 308동 201호
(74) 대리인
특허법인충현

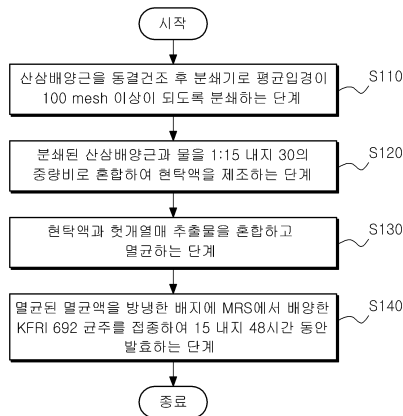
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 산삼배양근 발효물을 유효성분으로 하는 숙취해소 및 면역증진용 건강기능식품 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 산삼배양근 발효물을 유효성분으로 하는 건강기능식품 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 평균입경이 100 내지 200 mesh인 산삼배양근과 헛개열매 추출액의 혼합물을 KFRI 692 균주로 발효한 산삼배양근 발효물을 유효성분으로 포함함으로써, 알코올 분해효소(ADH), 아세트알데히드 분해효소(ALDH) 및 면역세포의 활성을 향상시킬 수 있다.

대표도 - 도2



특허청구의 범위

청구항 1

산삼배양근과 헛개열매 추출물의 혼합물이 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692)에 의해 발효된 산삼배양근 발효물을 유효성분으로 하는 것을 특징으로 하는 숙취해소 및 면역증진용 건강기능식품.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 건강기능식품은 글루코스, 말토덱스트린 및 트레할로오스로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 당류가 추가로 첨가된 것을 특징으로 하는 숙취해소 및 면역증진용 건강기능식품.

청구항 3

산삼배양근을 동결건조 후 분쇄기로 평균입경이 100 mesh 이상이 되도록 분쇄하는 단계;

상기 분쇄된 산삼배양근과 물을 1:15 내지 30의 중량비로 혼합하여 현탁액을 제조하는 단계;

상기 현탁액과 헛개열매 추출물을 혼합하고 멸균하는 단계; 및

상기 멸균된 멸균액을 방냉한 배지에 MRS에서 배양한 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692)를 접종하여 15 내지 48시간 동안 발효하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 숙취해소 및 면역증진용 건강기능식품의 제조방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 현탁액과 헛개열매 추출물은 1:0.05 내지 5의 중량비로 혼합되는 것을 특징으로 하는 숙취해소 및 면역증진용 건강기능식품의 제조방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 알코올 분해효소(ADH), 아세트알데히드 분해효소(ALDH) 및 면역세포의 활성을 향상시킬 수 있는 산삼 배양근 발효물을 유효성분으로 하는 건강기능식품 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 산삼(*Panax schinseng* NESS)은 인삼과 같은 *Panax* 과의 다년생 초본성 식물로서 한국, 중국, 러시아에 분포하고 있는 야생식물이다.

[0003] 산삼은 동의보감에서 "신초"라 불리울 만큼 희귀한 식물로서 인삼, 홍삼보다도 높은 함량의 진센노사이드(Rb1, Rb2, Rc, Re, Rf, Rg1, Rg2, Rg3 등)를 함유하고 있으며, 고속액체크로마토그래피(HPLC)를 이용하여 정량분석을 하면 산삼이 인삼에 비해 밝혀지지 않은 특이 피크들이 많은 것으로 알려져 있다.

[0004] 산삼의 적응증이나 효용은 인삼과 비슷하나 약효과는 월등히 좋다. 산삼의 약효성분과 약리적 효능을 탐구하기 위하여 광범위한 연구가 계속되고 있으며 지금까지 과학적으로 밝혀진 대표적 효능으로는 신체 조절 기능의 향상성 유지 작용이라 할 수 있으며, 이러한 작용에 근거하여 항피로 및 항스트레스 작용, 항당뇨 작용, 혈압조절 작용, 항암작용, 동맥경화 및 고혈압의 예방, 두뇌기능 강화, 위장기능 강화, 면역기능 강화, 항 바이러스 작용 등이 보고되고 있다.

- [0005] 또한, 산삼은 체내의 기능이 지나치게 항진된 경우에는 이를 저하 시켜주고 과도하게 저하된 경우에는 오히려 항진시켜줌으로써 생체를 정상으로 유지 시켜주는 작용 즉, 적응소의 역할을 할 뿐만 아니라 큰 부작용도 없는 것으로 알려져 있다.
- [0006] 산삼배양근의 조사포닌 함량은 6~8중량%로 산삼이나 재배삼의 조사포닌 함량인 4~6중량%에 비하여 대단히 높은 것으로 알려지고 있으며, 최근에 와서 산삼배양근에 대한 성분 및 효능이 많이 인식 되어가고 있다.
- [0007] 산삼배양근에 함유되어 있는 조사포닌은 현대인들에게 많이 발생하는 스트레스종의 일종인 활성산소를 제거할 수 있는 전자공여능(EDA)이 재배삼에 비해 월등히 높은 것으로 알려져 있으며, 활성산소에 의해 손상된 세포를 복원 및 해독작용을 하는 각종 항산화효소의 활성이 재배삼보다 훨씬 높다.
- [0008] 이와 같은 산삼 배양근은 원래 산삼조직에서 배양된 것이며 천종산삼과 그 성분 및 DNA 배열이 같다. 또한, 산삼과 산삼배양근의 배수성검정에서 DNA함량과 핵수가 일치하고 있는데 이는 산삼배양근이 다년간 배양을 해도 변이의 발생이 이루어지지 않고 산삼과 유전적으로 동일하다는 것을 증명하는 것이다. 산삼배양근의 염색체수를 산삼의 염색체 수와 동일한 2n=48개이다.
- [0009] 따라서 현대인들이 섭취하기 용이하면서 상기와 같은 다양한 효능이 있는 산삼배양근을 이용한 건강기능식품이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명의 목적은 알코올 분해효소(ADH), 아세트알데히드 분해효소(ALDH) 및 면역세포의 활성을 향상시킬 수 있는 산삼배양근 발효물을 유효성분으로 하는 건강기능식품을 제공하는데 있다.
- [0011] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 건강기능식품을 제조하는 방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0012] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 건강기능식품은 산삼배양근 발효물을 유효성분으로 하며, 산삼배양근 발효물은 평균입경이 100 mesh 이상인 산삼배양근과 헛개열매 추출물의 혼합물이 락토바실러스 카세이 (*Lactobacillus casei*, KFRI 692)에 의해 발효된 것이다.
- [0013] 상기 건강기능식품은 글루코스(glucose), 말토덱스트린(maltodextrin) 및 트레할로오스(trehalose)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 당류가 추가로 첨가된 것이다.
- [0014] 또한, 상기한 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 건강기능식품의 제조방법은 산삼배양근을 동결건조 후 분쇄기로 평균입경이 100 mesh 이상이 되도록 분쇄하는 단계, 상기 분쇄된 산삼배양근과 물을 1:15 내지 30의 중량비로 혼합하여 현탁액을 제조하는 단계, 상기 현탁액과 헛개열매 추출물을 혼합하고 멸균하는 단계 및 상기 멸균된 멸균액을 방냉한 배지에 MRS에서 배양한 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692)를 접종하여 15 내지 48시간 동안 발효하는 단계를 포함한다.
- [0015] 상기 현탁액과 헛개열매 추출물은 1:0.05 내지 5의 중량비로 혼합된다.

발명의 효과

- [0016] 본 발명의 산삼배양근 발효물을 유효성분으로 하는 건강기능식품은 알코올 분해효소(ADH), 아세트알데히드 분해효소(ALDH)의 활성이 우수하여 체내의 혈중에 용해된 에틸알코올과 아세트알데히드의 농도를 저감시켜 숙취해소의 효과가 탁월하고, 간 기능 향상의 효과가 있다.
- [0017] 또한, 본 발명의 건강기능식품은 NO의 양이 많으므로 심혈관계 질환을 예방할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0018] 도 1은 산삼배양근 분말을 균주로 발효하기 전과 발효한 사진이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따라 산삼배양근 발효물을 유효성분으로 하여 건강기능식품을 제조하는 방법을 나타낸 흐름도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 본 발명은 알코올 분해효소(ADH), 아세트알데히드 분해효소(ALDH) 및 면역세포의 활성을 향상시킬 수 있는 산삼 배양근 발효물을 유효성분으로 하는 건강기능식품 및 이의 제조방법에 관한 것이다.
- [0020] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.
- [0021] 본 발명의 건강기능식품은 산삼배양근 발효물을 유효성분으로 한다.
- [0022] 상기 산삼배양근 발효물은 평균입경이 100 mesh 이상이 되도록 미분쇄한 산삼배양근과 헛개열매 추출물을 혼합한 혼합물에 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692)를 접종하여 발효된 것이다.
- [0023] 상기 산삼배양근은 도 1에 도시된 바와 같이 발효되면서 입자가 멩치므로 100 mesh 이상, 바람직하게는 100 내지 200 mesh가 되도록 분쇄하여 발효시킨다. 상기 산삼배양근의 평균입경이 상기 하한치 미만인 경우에는 발효 후에 더욱 큰 입자로 형성되어 질감이 매우 거칠고 섭취시 이물감이 느껴질 뿐만 아니라 신맛과 짠맛이 느껴진다.
- [0024] 상기 헛개열매 추출물은 헛개열매를 통상의 방법으로 추출한 추출물로서, 산삼배양근 단독으로 사용할 때보다 산삼배양근과 헛개열매 추출물을 함께 사용하면 알코올 분해효소(ADH), 아세트알데히드 분해효소(ALDH) 및 면역세포의 활성이 더욱 향상된다. 상기 헛개열매 추출물은 건강기능식품의 맛을 향상시키기 위하여 당도가 0.3 내지 0.6 브릭스(brix), 바람직하게는 0.5 브릭스인 것을 사용한다.
- [0025] 상기 혼합된 산삼배양근과 헛개열매 추출물을 발효할 때 사용되는 균주는 한국식품연구원 '식품 미생물 유전자 은행'으로부터 분양받은 균주인 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692)가 바람직하다. 상기 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692)를 사용하면 다른 종래의 균주를 사용할 때보다 알코올 분해효소(ADH), 아세트알데히드 분해효소(ALDH) 및 면역세포의 활성을 향상, 특히 아세트알데히드 분해효소(ALDH)를 향상시킬 수 있다.
- [0026] 또한, 본 발명의 건강기능식품은 당류 및 향료 등이 추가로 첨가될 수 있다.
- [0027] 상기 당류는 산삼배양근 발효물에 첨가되어, 건강기능식품에 적용되기 위하여 동결건조되는 산삼배양근 발효물의 생균수가 급격히 감소하는 것을 방지할 수 있다. 예컨대, 산삼배양근 발효물을 동결건조하면 생균수가 급격히 감소하지만, 산삼배양근 발효물에 당류를 첨가한 후 동결건조하면 생균수가 조금 감소하거나 유지하므로 알코올 분해효소(ADH), 아세트알데히드 분해효소(ALDH) 및 면역세포의 활성을 향상시킬 수 있다.
- [0028] 상기 당류로는 글루코스(glucose), 말토덱스트린(maltodextrin) 및 트레할로오스(trehalose)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 들 수 있으며, 바람직하게는 말토덱스트린(maltodextrin) 또는 트레할로오스(trehalose)를 들 수 있다.
- [0029] 상기 당류는 산삼배양근 발효물 100 중량부에 대하여 100 내지 350 중량부, 바람직하게는 200 내지 250 중량부로 첨가된다. 상기 함량을 벗어나는 경우에는 신맛 및/또는 짠맛이 강하게 나는 등 건강기능식품의 맛이 저하될 수 있다.
- [0030] 상기 향료는 건강기능식품에 어울어지는 향료이면 통상의 향료 중 어느 것이나 사용할 수 있으나 바람직하게는 인삼향 및/또는 요구르트 코튼을 이용할 수 있다.
- [0031] 상기 향료는 산삼배양근 발효물 100 중량부에 대하여 0.01 내지 1 중량부로 사용될 수 있다.
- [0032] 또한, 본 발명은 산삼배양근 발효물을 유효성분으로 하는 건강기능식품을 제조하는 방법을 제공하며, 도 2를 참조하여 설명한다.

- [0033] 도 2에 도시된 바와 같이, 본 발명의 건강기능식품의 제조방법은 산삼배양근을 동결건조 후 분쇄기로 평균입경이 100 mesh 이상이 되도록 분쇄하는 단계(S110), 상기 분쇄된 산삼배양근과 물을 1:15 내지 30의 중량비로 혼합하여 현탁액을 제조하는 단계(S120), 상기 현탁액과 헛개열매 추출물을 혼합하고 멸균하는 단계(S130), 및 상기 멸균된 멸균액을 방냉한 배지에 MRS에서 배양한 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692)를 접종하여 20 내지 28시간 동안 발효하는 단계(S140)를 포함한다.
- [0034] 먼저, 상기 S110단계에서는 산삼배양근을 -68 내지 -73 °C에서 10 내지 28시간 동안 동결건조한 후 분쇄기로 평균입경이 100 mesh 이상이 되도록 분쇄한다.
- [0035] 다음으로, 상기 S120단계에서는 S110단계에서 제조된 산삼배양근 분말과 물을 1:15 내지 30의 중량비, 바람직하게는 1:15 내지 25의 중량비, 더욱 바람직하게는 1:19의 중량비로 혼합하여 현탁액을 제조한다.
- [0036] 다음으로, 상기 S130단계에서는 S120단계에서 제조된 현탁액과 헛개열매 추출물을 혼합하고 110 내지 130 °C에서 5 내지 30분 동안 멸균한다. 상기 헛개열매 추출물은 통상의 방법으로 추출된 추출물일 수 있으나, 바람직하게는 90 내지 130 °C에서 1 내지 5시간 동안 열수 추출된 추출물이다.
- [0037] 상기 현탁액과 헛개열매 추출물은 1:0.05 내지 5의 중량비, 바람직하게는 1:0.1 내지 1의 중량비로 혼합한다. 상기 현탁액을 기준으로 헛개열매 추출물의 중량비가 상기 하한치 미만인 경우에는 알코올 분해효소(ADH), 아세트알데히드 분해효소(ALDH) 및 면역세포의 향상되는 활성을 기대할 수 없으며, 헛개열매 추출물의 중량비가 상기 상한치 초과인 경우에는 건강기능식품의 맛이 저하될 수 있다.
- [0038] 다음으로, 상기 S140단계에서는 S130단계에서 제조된 멸균액을 방냉하여 배지를 제조한 후 MRS에서 배양한 5×10^9 CFU/ml의 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692)를 접종하여 35 내지 40 °C 인큐베이터에서 15 내지 48시간 동안 발효한다.
- [0039] 상기 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692)는 상기 멸균액을 방냉한 배지 100 중량부에 대하여 0.5 내지 1.5 중량부로 접종된다. 균주가 상기 하한치 미만으로 접종되는 경우에는 발효가 제대로 이루어지지 않을 수 있으며, 상기 상한치 초과인 경우에는 건강기능식품의 맛이 저하될 수 있다.
- [0040] 상기 S140단계에서 발효된 산삼배양근 발효물은 -68 내지 -73 °C에서 10 내지 28시간 동안 동결건조하여 건강기능식품 총 중량%를 기준으로 0.1 내지 10 중량%로 건강기능식품에 이용될 수 있으며, 산삼배양근 발효물의 함량이 상기 범위를 벗어나는 경우에는 알코올 분해효소(ADH), 아세트알데히드 분해효소(ALDH) 및 면역세포의 향상되는 활성을 기대할 수 없다.
- [0041] 또한, 상기 동결건조로 인하여 산삼배양근 발효물의 생균수가 급격히 감소되는 것을 방지하기 위하여 산삼배양근 발효물에 당류가 첨가될 수 있다.
- [0042] 상기와 같이 제조된 건강기능식품은 일상식사에서 부족할 수 있는 영양소를 보충하거나 인체에 유용한 기능성 원료를 보충할 목적으로 캡슐, 정제, 분말, 과립, 액상, 환, 편상, 페이스트상, 시럽, 젤, 젤리 및 바로 이루어진 군에서 선택되어 1회 섭취가 용이하게 제조 및 가공된 것이다.
- [0043] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 다양한 변경 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.
- [0044] 실시예 1.
- [0045] 산삼배양근 100 g을 -73 °C에서 20시간 동안 동결건조한 후 분쇄기(한일, HMF-3000S)로 평균입경이 100 mesh가 되도록 분쇄하고, 분쇄된 산삼배양근 분말과 물을 1:19의 중량비로 혼합하여 현탁액을 제조한다. 상기 현탁액과 헛개열매 추출물을 1:0.1의 중량비로 혼합한 후 121 °C에서 15분 동안 멸균하고, 이를 방냉하여 배지를 제조한다. 상기 제조된 배지 100 중량부에 대하여 MRS에서 배양한 5×10^9 CFU/ml의 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692) 1 중량부를 접종하여 37 °C 인큐베이터에서 24시간 동안 발효하여 액상의 산삼배양근 발효물을 제조하였다. 이때 산삼배양근의 조사포닌의 함량은 25.87 ± 0.58 mg/g이다.
- [0046] 상기 제조된 산삼배양근 발효물을 -73 °C에서 12시간 동안 동결건조기(PVTFA 10AT, ILSIN, Korea)로 동결건조하여 산삼배양근 발효물 분말을 제조하였다.

- [0047] 실시예 2.
- [0048] 상기 실시예 1에서 제조된 산삼배양근 발효물 100 중량부에 대하여 당류로 트레할로오스 200 중량부 및 말토덱스트린 50 중량부를 첨가하여 산삼배양근 발효물 분말을 제조하였다.
- [0049] 실시예 3.
- [0050] 상기 실시예 2와 동일하게 실시하되, 상기 실시예 1에서 제조된 산삼배양근 발효물 100 중량부에 대하여 인삼향 0.5 중량부, 요구르트 코튼 0.02 중량부를 첨가하여 산삼배양근 발효물 분말을 제조하였다.
- [0051] 비교예 1.
- [0052] 산삼배양근 100 g을 -73 ℃에서 20시간 동안 동결건조 한 후 분쇄기(한일, HMF-3000S)로 평균입경이 100 mesh가 되도록 분쇄하고, 이를 110 ℃에서 열수 추출한 산삼배양근 추출물을 다시 -73 ℃에서 12시간 동안 동결건조기(PVTFA 10AT, ILSHIN, Korea)로 동결건조하여 분말로 제조하였다.
- [0053] 비교예 2.
- [0054] 상기 실시예 3과 동일하게 실시하되, 100 mesh의 산삼배양근 대신에 50 mesh의 산삼배양근을 사용하여 산삼배양근 발효물 분말을 제조하였다.
- [0055] 비교예 3.
- [0056] 상기 실시예 3과 동일하게 실시하되, 분쇄된 산삼배양근 분말과 물을 1:19의 중량비로 혼합하는 대신에 1:39로 혼합하여 산삼배양근 발효물 분말을 제조하였다.
- [0057] 비교예 4.
- [0058] 상기 실시예 3과 동일하게 실시하되, 헛개열매 추출물 대신 대추 추출물을 사용하여 산삼배양근 발효물 분말을 제조하였다.
- [0059] 비교예 5.
- [0060] 상기 실시예 3과 동일하게 실시하되, 헛개열매 추출물을 사용하지 않고 산삼배양근 발효물 분말을 제조하였다.
- [0061] 비교예 6.
- [0062] 상기 실시예 3과 동일하게 실시하되, 산삼배양근을 사용하지 않고 발효물 분말을 제조하였다.
- [0063] 비교예 7.
- [0064] 상기 실시예 3과 동일하게 실시하되, 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692) 대신 락토바실러스 루테리(*Lactobacillus reuteri*, KCTC 3594)를 사용하여 산삼배양근 발효물 분말을 제조하였다.
- [0065] 비교예 8.
- [0066] 상기 실시예 3과 동일하게 실시하되, 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692) 대신 락토바실러스

퍼멘툼(*Lactobacillus fermentum*, KFRI 164)를 사용하여 산삼배양근 발효물 분말을 제조하였다.

[0067] 시험예 1.

[0068] 상기 실시예 및 비교예에서 제조된 발효물 및 분말을 이용하여 pH 및 생균수를 측정하였으며, 이를 표 1에 나타내었다. 이때 측정시 사용된 분말의 함량은 분말 제조시 사용된 산삼배양근 100 g을 기준으로 하였다. 다만, 비교예 6의 분말의 함량은 헛개열매 추출물 100 g을 기준으로 하였다.

[0069] 1-1. pH: pH 측정기(pH-220S, LUTRON)를 이용하여 측정하였다.

[0070] 1-2. 생균수(CFU/ml): 실시예 및 비교예에서 제조된 산삼배양근 발효물 및 산삼배양근 발효물 분말을 희석하여 한천 배지에 24시간 동안 배양 후 형성되는 콜로니(colony) 수를 측정하였다.

표 1

구분	pH		생균수(CFU/ml)	
	산삼배양근 발효물 또는 추출물	산삼배양근 발효물 분말 또는 추출물 분말	산삼배양근 발효물 또는 추출물	산삼배양근 발효물 분말 또는 추출물 분말
실시예1	3.72	3.83	4.5×10^8	4.0×10^7
실시예2	3.70	3.81	3.7×10^8	1.1×10^8
실시예3	3.71	3.83	3.6×10^8	1.1×10^8
비교예1	4.13	4.46	1.8×10^5	1.2×10^4
비교예2	3.71	3.84	3.7×10^8	1.2×10^8
비교예3	3.70	3.81	2.0×10^7	4.0×10^6
비교예4	3.73	3.82	3.0×10^8	1.0×10^7
비교예5	3.96	4.22	4.0×10^6	1.1×10^6
비교예6	4.33	4.53	2.6×10^4	1.0×10^2
비교예7	4.31	4.43	4.1×10^7	3.4×10^6
비교예8	3.92	4.06	4.1×10^8	4.1×10^7

[0072] 위 표 1에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따라 제조된 실시예 1 내지 3의 산삼배양근 발효물은 건강기능식품에 적용하기 좋은 pH를 보이며, 생균수도 우수한 것으로 확인되었다. 특히, 당류가 첨가된 실시예 2 및 3은 동결건조 후에도 생균수가 많이 감소되지 않은 것으로 확인되었다. 또한, 실시예 2 및 3은 실시예 1에 비하여 생균수가 거의 유사한 것으로 확인되었다.

[0073] 반면, 비교예 1, 3, 4, 6, 7 및 8은 산삼배양근 발효물을 동결건조하면 생균수가 급격히 줄어드는 것으로 확인되었다.

[0074] 또한, 균주로 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus* GG, KCTC 5033), 락토바실러스 애시도플러스, 비피더스 롱검, 스트렙티카쿠스 써머필러스 혼합(*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidus longum*, *Streptococcus thermophilus* 혼합), 락토바실러스 애시도플러스(*Lactobacillus acidophilus*, KFRI 128), 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*, KFRI 345), 락토바실러스 텔브루에키이 서브스피시스 (*Lactobacillus delbrueckii* subspecies. *lactic*, KFRI 442), 락토바실러스 애시도플러스(*Lactobacillus acidophilus*, KFRI 491), 락토바실러스 가세리(*Lactobacillus gasseri*, KFRI 658), 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 693)를 각각 사용하여 생균수를 측정한 결과, 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus* GG, KCTC 5033), 락토바실러스 애시도플러스, 비피더스 롱검, 스트렙티카쿠스 써머필러스 혼합(*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidus longum*, *Streptococcus thermophilus* 혼합)를 이용한 발효물의 생균수가 5.7×10^7 , 5.0×10^6 으로 낮은 것으로 확인되었다. 반면, 다른 균주들을 이용한 발효물의 생균수는 $6.2 \times 10^8 \sim 1.9 \times 10^9$ 로 실

시예 1 내지 3과 유사하였다.

[0075] 시험예 2. 효능평가

[0076] 상기 실시예 및 비교예에서 제조된 분말을 이용하여 측정하였다.

[0077] 2-1. 알코올 분해효소(ADH) 활성: 시험관에 증류수 1.4 ml, 1M Tris-HCl(pH 8.8) 750 μ l, 2.5mM NAD/ 0.05M Trizma-HCl 300 μ l, 95% 에탄올 300 μ l, 7.5 unit ADH/mL 100 μ l를 분주 후 상기 분말(분말 제조시 사용된 산삼배양근 100 g 기준)을 500 μ g/ml로 희석한 희석액 100 μ l를 분주하였으며, 분주한지 1분 및 10분 후에 ELISA Reader기를 사용하여 37 $^{\circ}$ C, 340nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0078] 2-2. 아세트알데히드 분해효소(ALDH) 활성: 라운드 튜브에 증류수 2.1 ml, 1M Trizma-HCl(pH 8.0) 300 μ l, 2.5mM NAD 100 μ l, 1 M Acetaldehyde 100 μ l, 3M KCL/ 1M Trizma-HCl 100 μ l, 0.33M 2-멜캅토에탄올 (Mercaptoethanol) 100 μ l, 1 unit ALDH/ml 100 μ l를 분주 후 상기 분말(분말 제조시 사용된 산삼배양근 100 g 기준)을 500 μ g/ml로 희석한 희석액 100 μ l를 분주하였으며, 분주한지 1분 및 10분 후에 ELISA Reader기를 사용하여 37 $^{\circ}$ C, 340nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0079] 2-3. 면역세포 활성: 세포주 은행으로부터 분양받은 RAW 264.7 세포와 10% FBS, 1% Antibiotic-antimycotic을 포함한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM) 배양액을 이산화탄소 농도 5%, 온도 37 $^{\circ}$ C인 인큐베이터에서 배양하였다. 또한 분말(분말 제조시 사용된 산삼배양근 100 g 기준)을 증류수에 500ppm 농도로 정량하여 실린지 필터로 여과한 후 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM) 배양액을 이용하여 100 ppm으로 희석하였다.

[0080] Nitrite oxide(NO) 측정은 Griess assay법(kiemer&Vollmar, 1997)을 따라 RAW 264.7 세포와 LPS 1 μ M/ml 또는 상기 희석된 산삼배양근 발효물 분말 100 ppm을 24시간 동안 배양한 상층액을 이용해 측정하였다. 즉, 96 well tissue culture palte(TPP)에 배지 100 μ l와 Griess reagent(Sigma) 100 μ l를 혼합하여 10분간 혼든 후 ELISA reader기로 540nm에서 흡광도를 측정하여 NaNO₂(0-200 μ M/ml) standard curved의 흡광도에 준하여 Nitrite oxide(NO)의 생성능을 측정하였다.

[0081] 또한, 세포독성은 MTT assay로 측정하였다.

표 2

구분	ADH 활성(%)	ALDH 활성(%)	RAW 264.7 세포의 세포독성(%)	RAW 264.7 세포의NO 측정(μ M)
실시예1	87	120	102	12.2
실시예2	90	135	105	13.4
실시예3	89	134	105	13.2
비교예1	11	43	42	3.6
비교예2	54	83	87	7.9
비교예3	24	63	44	5.2
비교예4	46	77	59	6.9
비교예5	26	66	47	5.5
비교예6	10	31	37	1.1
비교예7	55	73	54	6.5
비교예8	50	75	63	7.2

[0083] 위 표 2에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따라 제조된 실시예 1 내지 3의 산삼배양근 발효물은 ADH, ALDH의 활성이 우수하므로 알코올 분해능이 우수한 것을 알 수 있다. 또한, 실시예 1 내지 3은 LPS 대조구(세포독성 98%)를 100%로 하여 환산하면 RAW 264.7세포가 성장하므로 세포 독성에 대한 세포의 생존율이 우수한 것으로 확인되었으며, 세포 생존율이 우수하므로 NO의 양이 많아지는 것으로 확인되었다.

[0084] 반면, 비교예 1 내지 8은 ADH, ALDH의 활성 및 세포의 생존율이 좋지 않은 것으로 확인되었다.

[0085] 또한, 균주로 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus* GG, KCTC 5033), 락토바실러스 애시도플러스, 비피더스 롱검, 스트렙토카커스 써머필러스 혼합(*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidus longum*, *Streptococcus*

thermophilus 혼합), 락토바실러스 에시도플러스(*Lactobacillus acidophilus*, KFRI 128), 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*, KFRI 345), 락토바실러스 텔브루에키이 서브스피시스 (*Lactobacillus delbrueckii subspecies. lactic*, KFRI 442), 락토바실러스 에시도플러스(*Lactobacillus acidophilus*, KFRI 491), 락토바실러스 가세리(*Lactobacillus gasserii*, KFRI 658), 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 693)를 각각 사용하여 ADH, ALDH의 활성을 측정 한 결과, ADH 활성은 45 내지 50%를 보이며, ALDH 활성은 70 내지 75%를 보이므로 실시예 1 내지 3에 비하여 낮은 것으로 확인되었다.

[0086] 따라서 산삼배양근과 헛개열매 추출물의 혼합물에 접종되어 우수한 ADH, ALDH의 활성을 보이는 균주는 실시예 1 내지 3에서 사용한 락토바실러스 카세이(*Lactobacillus casei*, KFRI 692)인 것으로 확인되었다.

[0087] 시험예 3. 관능평가

[0088] 실시예 및 비교예에서 제조된 산삼배양근 발효물을 전문패널 10명에게 시식하게 한 후 9점 척도법으로 관능검사를 실시하여 평균값 구하였으며, 이를 하기 표3에 나타내었다.

[0089] -신맛, 단맛 및 종합적 기호도: 1점= 매우 나쁘다, 9점= 매우 좋다

[0090] -짠맛, 이취: 1점= 매우 강하다, 9점= 없다

표 3

구분	신맛	단맛	짠맛	이취	종합적 기호도
실시예1	7	5	5	7	7
실시예2	7	8	7	7	8
실시예3	7	8	7	7	8
비교예1	5	4	6	4	4
비교예2	7	8	4	6	5
비교예3	6	6	5	6	5
비교예4	7	6	5	8	6
비교예5	7	5	6	5	4
비교예6	4	4	5	5	5
비교예7	5	6	5	7	6
비교예8	6	6	5	7	6

[0092] 위 표 3에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따라 제조된 실시예 1 내지 3의 산삼배양근 발효물은 신맛, 단맛, 짠맛, 이취 및 종합적 기호도가 모두 우수한 것으로 확인되었다. 다만, 실시예 1에서는 당류가 첨가되지 않아 단맛이 떨어지며, 짠맛이 약간 강한 것으로 확인되었다.

[0093] 반면, 비교예 1 내지 8은 종합적 기호도가 낮은 것으로 확인되었다. 특히 비교예 2는 이물감이 느껴졌다.

[0094] 제제예.

[0095] 하기에 본 발명의 추출물을 함유하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0096] 제제예 1. 정제의 제조

[0097] 실시예 3에서 얻은산삼배양근 발효물을 동결건조한 분말 300 mg

[0098] 옥수수전분 100 mg

[0099] 유당 100 mg

[0100] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0101] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0102]	<u>제제예 2. 캡슐제의 제조</u>	
[0103]	실시예 3에서 얻은산삼배양근 발효물을 동결건조한 분말	200 mg
[0104]	결정성 셀룰로오스	3 mg
[0105]	락토오스	14.8 mg
[0106]	마그네슘 스테아레이트	0.2 mg
[0107]	통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.	
[0108]	<u>제제예 3. 액제의 제조</u>	
[0109]	실시예 3에서 얻은산삼배양근 발효물을 동결건조한 분말	4 g
[0110]	이성화당	10 g
[0111]	만니톨	5 g
[0112]	정제수	적량
[0113]	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100g으로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.	
[0114]	<u>제제예 4. 과립제의 제조</u>	
[0115]	실시예 3에서 얻은산삼배양근 발효물을 동결건조한 분말	1,000 mg
[0116]	비타민 혼합물	적량
[0117]	비타민 A 아세테이트	70 μ g
[0118]	비타민 E	1.0 mg
[0119]	비타민 B1	0.13 mg
[0120]	비타민 B2	0.15 mg
[0121]	비타민 B6	0.5 mg
[0122]	비타민 B12	0.2 μ g
[0123]	비타민 C	10 mg
[0124]	비오틴	10 μ g
[0125]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0126]	엽산	50 μ g
[0127]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0128]	무기질 혼합물	적량
[0129]	황산제1철	1.75 mg
[0130]	산화아연	0.82 mg
[0131]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0132]	제1인산칼륨	15 mg
[0133]	제2인산칼슘	55 mg

- [0134] 구연산칼륨 90 mg
- [0135] 탄산칼슘 100 mg
- [0136] 염화마그네슘 24.8 mg

[0137] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 과립제에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 과립제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

도면

도면1



도면2

