(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0080923
(43) 공개일자 2023년06월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01) *A23L 33/17* (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23L 33/17 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2021-0168502
(22) 출원일자 2021년11월30일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
농업회사법인다비치농산주식회사
충청북도 청주시 청원구 오창읍 중심상업로 14 ,106호(대운프라자)
(72) 발명자
강창우
충청북도 청주시 청원구 오창읍 탑기암길 52-28
홍석표
충청북도 청주시 청원구 오창읍 탑기암길 52-28
(74) 대리인
특허법인서한

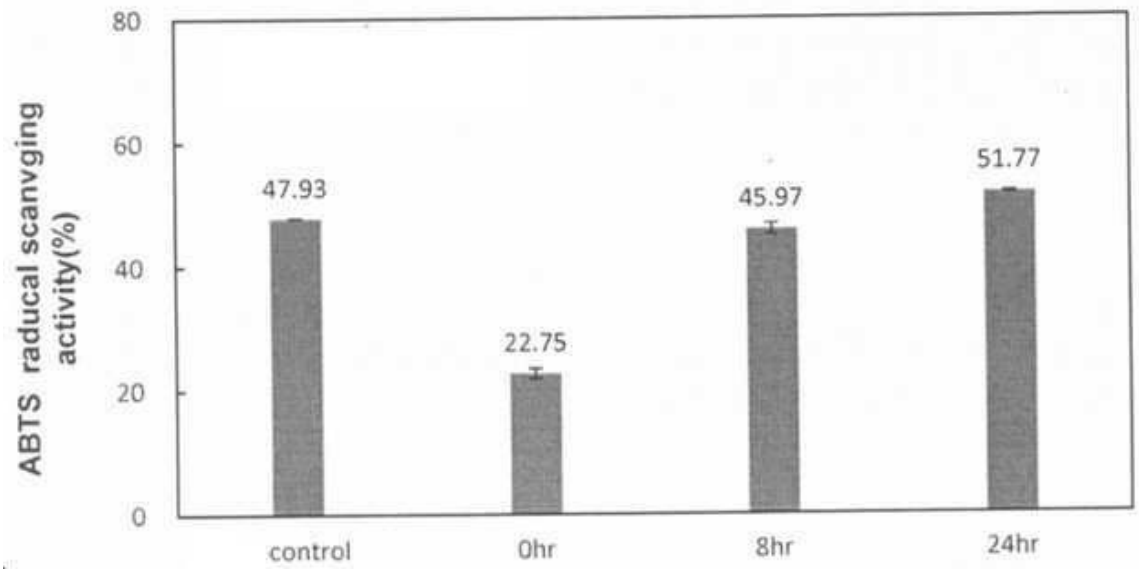
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **병풀 발효 추출물의 제조방법 및 그로부터 제조된 병풀 발효 추출물을 포함하는 항산화용 식품 조성물**

(57) 요 약

본 출원은 병풀 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 항산화용 식품 조성물에 관한 것으로 항산화 효능이 우수한 장점이 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/302 (2013.01)
A23V 2200/324 (2013.01)
A23Y 2260/21 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395071624
과제번호	PJ016309012021
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	농업실용화기술R&D지원(R&D)
연구과제명	류코노스탁 균주를 이용한 유산균발효 병풀차 개발(1주관)
기 여 율	1/1
과제수행기관명	농업회사법인다비치농산주식회사
연구기간	2021.02.01 ~ 2021.11.30

명 세 서

청구범위

청구항 1

병풀 분말을 90℃ 내지 120℃에서 10분 내지 3시간 동안 덖은 후 분쇄하는 단계;

상기 분쇄한 분말에 물과 에탄올의 혼합 용매를 첨가하여 추출하는 단계; 및

상기 병풀 추출물에 류코노스톡(*Leuconostoc*) 속 균주를 첨가하여 25℃내지 35℃에서 8시간 내지 72시간 동안 발효하는 단계; 를 포함하여 병풀 발효 추출물을 제조하는 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 류코노스톡(*Leuconostoc*) 속 균주는,

류코노스톡 시트리움(*Leuconostoc citreum*) Cares-1(기탁번호 KACC91931P) 균주인 병풀 발효 추출물을 제조하는 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

발효하는 단계 이후 상기 발효물을 115℃ 내지 140℃에서 멸균하는 단계; 를 더 포함하는 병풀 발효 추출물을 제조하는 방법.

청구항 4

청구항 1 내지 청구항 3 중 어느 한 항의 방법에 의하여 제조된 병풀 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화용 식품 조성물.

청구항 5

청구항 4에 있어서,

상기 병풀 발효 추출물은 조성물 총 중량을 기준으로 0.0001 내지 10 중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 항산화용 식품 조성물.

청구항 6

청구항 4에 있어서,

상기 조성물은,

포유류 또는 어류에서 수득한 평균 분자량 1000 Da 이하인 콜라겐을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 항산화용 식품 조성물.

청구항 7

청구항 4에 있어서,

상기 병풀 발효 추출물이 비타민 C보다 콜라겐의 흡수율을 120 내지 180% 증가시키는 것을 특징으로 하는 항산화용 식품 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 병풀 발효 추출물의 제조방법 및 이를 활용한 식품 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 공기 중에 일반적으로 존재하는 안정한 분자상태인 기저 삼중항산소가 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학 반응과 같은 환경 및 생화학적 요인 등에 의하여 반응성이 매우 큰 자유라디칼(free radical)인 활성산소(active oxygen)로 전환되어 세포의 구성성분을 비가역적으로 파괴한다.

[0003] 활성산소는 체내 방어기구인 수퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, SOD), 카탈라아제(catalase), 퍼옥시다아제(peroxidase), 글루타치온(glutathione) 등의 항산화성 효소, 및 비타민 C(vitamin C, ascorbic acid), 비타민 E(tocopherol) 등의 항산화 물질의 작용에 의하여 최소화될 수 있다. 하지만, 과도한 활성산소에 노출되거나 생체 방어력에 이상이 생기게 될 경우 균형이 깨어져서 활성산소가 생체에 치명적인 산소 독성을 일으키게 된다.

[0004] 체내 과도한 활성산소는 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 당, DNA 등과 반응하여 파괴작용을 함으로써 노화는 물론 암을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨씨병 등의 뇌질환과 심장질환, 허혈, 동맥경화, 피부손상, 염증, 류마티스, 자가면역 질환 등의 각종 질병을 일으키는 원인이 되고 있다.

[0005] 이와 같은 산화적 스트레스가 노화를 비롯하여 각종 질환을 일으키는 중요한 원인임이 밝혀지면서 생체 내 활성산소를 제거하는 항산화제를 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.

[0006] 합성 항산화제로 널리 사용되고 있는 BHA(butylated hydroxy anisol)와 BHT(butylated hydroxy toluene)는 그 효과와 경제성 그리고 안전성 때문에 많이 사용해 왔지만 합성 첨가물의 일반적인 기피 현상뿐만 아니라 장기간 과량 복용 시 위장점막, 폐, 신장, 순환계 등에 심각한 독성작용을 일으키는 것으로 알려져 그 사용량이 법적으로 규제되어 있다.

[0007] 또한, 인체에 무해하고 항산화력이 우수한 천연 항산화제 관한 연구가 오래전부터 진행되어 왔으나 토코페롤과 같은 천연 항산화제는 인체에 대하여 안전하기는 하나 단독으로는 산화 연쇄반응 저지 능력이 있고, 가격이 비싼 단점이 있다.

[0008] 따라서 보다 안전하고 항산화 효능이 탁월하면서도 경제성이 있는 새로운 소재의 항산화 식품 개발이 절실히 요구 되어 진다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 한국 등록 특허 제10-1771702호(2017.09.06. 공고)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 출원이 해결하고자 하는 과제는 항산화 효능이 우수한 병풀 발효 추출물의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0011] 본 출원이 해결하고자 하는 다른 과제는 상기 병풀 발효 추출물을 유효성분으로 포함하여 항산화 효능과 콜라겐 흡수 촉진 효과를 가지는 식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명의 일 실시예는 병풀 분말을 90~120℃에서 10분~3시간 동안 덖은 후 분쇄하는 단계; 상기 분쇄한 분말에 물과 에탄올의 혼합 용매를 첨가하여 추출하는 단계; 및 상기 병풀 추출물에 류코노스톡(*Leuconostoc*) 속 균주를 첨가하여 25~35℃에서 8시간 내지 72시간 동안 발효하는 단계; 를 포함하여 병풀 발효 추출물을 제조하는 방법을 제공한다.

[0013] 본 발명의 일 실시예에 따른 방법은 상기 발효하는 단계 이후 상기 발효물을 115℃ 내지 140℃에서 멸균하는 단계; 를 더 포함할 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 실시예에서 상기 류코노스톡(*Leuconostoc*) 속 균주는, 류코노스톡 시트리움(*Leuconostoc citreum*) Cares-1(기탁번호 KACC91931P) 균주일 수 있다.

[0015] 본 발명의 일 실시예는 상기 제조방법에 의해 제조된 병풀 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화용 식품 조성물을 제공한다.

[0016] 본 발명의 일 실시예에서 상기 병풀 발효 추출물은 조성물 총 중량을 기준으로 0.0001 내지 10 중량%로 포함될 수 있다.

[0017] 본 발명의 일 실시예에서 상기 조성물은, 포유류 또는 어류에서 수득한 평균 분자량 1000 Da 이하인 콜라겐을 더 포함할 수 있다.

[0018] 본 발명의 일 실시예에서 상기 콜라겐은 조성물 총 중량을 기준으로 0.0001 내지 10 중량%로 포함될 수 있다.

[0019] 본 발명의 일 실시예에서 상기 병풀 발효 추출물이 비타민 C보다 콜라겐의 흡수율을 120% 내지 180% 증가시키는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0020] 본 출원의 식품 조성물은 아시아티코사이드를 높은 함량으로 포함하므로 항산화 효과가 우수하다는 장점이 있다.

[0021] 또한, 본 출원의 식품 조성물은 비타민 C보다 콜라겐의 흡수율을 120% 내지 180% 증가시키는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물의 ABTS 소거 활성 효과를 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 조성물의 폴리페놀 함량 측정 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0024] 이하의 특정한 기능적 설명들은 단지 본 발명의 개념에 따른 실시예를 설명하기 위하여 예시된 것으로, 본 발명의 개념에 따른 실시예들은 다양한 형태로 실시될 수 있으며 본 명세서에 설명된 실시예들에 한정되는 것으로 해석되어서는 아니된다.

[0025] 본 발명의 개념에 따른 실시예는 다양한 변경을 가할 수 있고 여러가지 형태를 가질 수 있으므로 특정 실시예들은 본 명세서에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명의 개념에 따른 실시예들을 특정한 개시 형태에 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0026] 본 명세서에서 사용하는 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한 복수의 표현을 포함한다.

[0027] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 갖는 것으로 해석되어야 하며, 본 명세서에서 명백하게 정의하지 않는 한 이상적이거나 과도하게 형식적인

의미로 해석되지 않는다.

[0028] 병풀(Centella asiatica)은 남아시아에서 주로 서식하는 다년생 포복성 약용식물로서는, 한국은 제주도 및 중남부 지역 저습지에 군생한다. 원줄기는 옆으로 뻗고, 뿌리가 내리는 마디 근처에 2개의 퇴화된 비늘 모양의 잎이 있다. 잎은 마디에서 밀생하고, 신장형, 지름 2~5cm, 표면은 광택이 나고, 가장자리에 둔한 톱니가 있으며, 잎자루의 길이는 4~20cm이다. 꽃은 홍자색, 잎겨 드랑이에 3~4송이씩 산형꽃차례로 달리며, 머리 모양이다. 암술대는 2갈래이며, 열매는 분과의 편원형이다. 인 도에서는 상처를 입은 호랑이가 병풀이 많이 난 곳에서 뒹굴어 치료하는 것을 보고 호랑이풀이라고 부르며, 오래전부터 약으로 사용하였다. 병풀의 잎과 줄기에 있는 마데카식산이란 성분이 염증을 낫게 하고, 종양과 궤양 등의 상처를 치유하는 힘이 있다는 게 밝혀지면서 연고, 치약 또는 화장품 등의 원료로 쓰인다.

[0029] 본 발명의 일 실시예는 병풀 분말을 90~120℃에서 10분~3시간 동안 덖은 후 분쇄하는 단계(S10); 상기 분쇄한 분말에 물과 에탄올의 혼합 용매를 첨가하여 추출하는 단계(S20); 및 상기 병풀 추출물에 류코노스톡(*Leuconostoc*) 속 균주를 첨가하여 25~35℃에서 8시간 내지 72시간 동안 발효하는 단계(S30); 를 포함하여 병풀 발효 추출물을 제조하는 방법을 제공한다.

[0030] 본 발명의 일 실시예에 따른 방법은 상기 발효하는 단계 이후 상기 발효물을 115℃ 내지 140℃에서 멸균하는 단계(S40);를 더 포함할 수 있다.

[0031] 본 발명의 일 실시예에서 상기 류코노스톡(*Leuconostoc*) 속 균주는, 류코노스톡 시트리움(*Leuconostoc citreum*) Cares-1(기탁번호 KACC91931P) 균주일 수 있다.

[0032] 상기 류코노스톡 시트리움(*Leuconostoc citreum*) Cares-1 균주는 난분해성 프리바이오틱 중 하나인 분지형 올리고당 생성 활성 및 항진균 활성을 가지는 것을 특징으로 한다. 또한 상기 균주는 당전이효소(glucansucase)를 생성함으로써 당전이 반응의 부산물인 과당을 생성하여 단맛을 증진시킨다. 상기 균주는 난분해성 올리고당 생성 활성을 가진다. 상기 "난분해성 올리고당"이란, 가수분해가 되지 않는 분 지형 올리고당을 의미하며 프리바이오틱스의 일종이다. 상기 난분해성 올리고당은 판노오스(panose), 이소말토 실 말토오스(isomaltosyl maltose) 및 이소말토트리오실 말토오스(isomaltotriosyl maltose)로 이루어진 군으 로부터 선택될 수 있으나 반드시 이로 제한되는 것은 아니며, 이 기술분야에 널리 알려진 난분해성 올리고당은 모두 포함될 수 있다. 상기 균주는 항진균 활성을 가진다. 상기 진균은 상기 진균은 아스퍼질러스 오크라세우스(Aspergillus ochraceus)(KACC41810) 및 클라도스포리움 고시피콜라(Cladosporium gossypiicola)(KACC43795)로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다.

[0033] 상기 덖은 후 분쇄하는 단계(S10)는 병풀 추출물의 항산화 효과를 높이는 효과가 있다. 덖은 후 분쇄하는 단계가 생략되면, 최종 산물의 효능에 현저한 차이가 있다.

[0034] 상기 추출하는 단계(S20)에서 물 단독의 용매보다는 에탄올 수용액 용매를 사용하여 병풀을 추출한 후, 추출물에 균을 접종하여 발효하는 것이 바람직하다. 그러므로, 병풀 분말의 열수 추출물에 균을 접종하여 발효하는 것보다 에탄올 수용액 용매를 사용한 주정 추출물에 균을 접종하여 발효하는 것이 훨씬 항산화 효과가 우수하다.

[0035] 또한, 추출하는 단계(S20) 이후에 발효하는 단계(S30);를 거치는 것이 병풀 발효 추출물의 항산화 효능을 우수하게 하는 효과가 있다. S20단계와 S30 단계의 순서가 변경되면 항산화 효능이 좋지 않다.

[0036] 상기 발효는 25~35℃, 구체적으로 28℃ 내지 32℃에서, 더 구체적으로 30℃에서, 8시간 내지 72시간 동안, 구체적으로 8시간 내지 48시간, 더 구체적으로 8시간 내지 24시간 동안 진행할 수 있다. 24시간이 지나면 발효물의 효능에 큰 차이가 없다. 상기 발효는 선택적으로 100 내지 300rpm으로 회전배양할 수 있고, 구체적으로 120 rpm 내지 180 rpm의 조건으로 배양할 수 있다.

[0037] 발효 온도가 상기 범위 미만이면 유용한 물질의 추출 수율이 낮아지면서도 온도를 낮추기 위한 장비가 필요하므로 경제적이지 않으며, 교반 온도가 상기 범위를 초과하면 유용한 물질이 파괴되거나, 유용하지 않은 물질이 높은 함량으로 함께 추출될 수 있어 기능성이 저하된 발효물이 제조될 수 있어 바람직하지 않다. 예를 들어, 발효 온도가 25 ℃ 내지 35 ℃의 온도범위 정도인 경우, 식물 세포 조직이 연화되어 미용 활성을 지니는 유효한 물질인 페놀류 등 성분의 용출이 용이해지므로 효능이 우수한 발효물을 얻을 수 있는 효과가 있다. 또한, 상기 배양이 8 시간 미만으로 수행되는 경우에는 시간이 불충분하여 함유된 생리활성 성분이 완전히 용출되기 어려우며, 발효 시간이 72 시간을 초과하는 경우에는 함유된 생리활성 성분이 유의한 수준으로 증가하지 않으며, 오히려 과도한 배양으로 인하여 항산화, 피부 미백 활성이 저하된 발효물이 제조될 수 있다.

[0038] 발효 후 더 이상 발효가 진행되지 않도록 115℃ 내지 140℃, 구체적으로 121℃에서 멸균처리할 수 있다. 그 이후 통상의 여과 방법 또는 장치를 이용하여 불순물을 제거할 수 있으며, 예를 들어 원심분리 방법을 이용하거나 마이크로 필터를 이용하여 여과하여 불순물이 제거된 발효물을 얻을 수 있다. 예를 들어, 사용가능한 마이크로 필터는 0.3 ㎛ 내지 5 ㎛ 크기의 기공을 갖는 필터를 사용할 수 있다. 구체적으로 3㎛ 크기의 기공을 갖는 필터를 사용하여 여과할 수 있다. 다른 예로, 1000 rpm 내지 2000 rpm에서 5분 내지 20분간 원심분리할 수 있다. 구체적으로 1500rpm에서 10분간 원심분리하여 침전물은 버리고, 상층액만 수거하여 그대로 사용할 수 있다.

[0039] 본 출원의 일 실시예는 상기 불순물을 제거하고 수득한 병풀 발효 추출물을 유효성분으로 포함하는 항산화용 식품 조성물을 제공한다.

[0040] 상기 병풀 발효 추출물은 조성물 총 중량을 기준으로 0.0001 내지 10 중량%로 포함될 수 있다.

[0041] 이 때 발효물의 함량이 0.0001 중량% 미만일 경우 본 출원의 항산화 효과를 수득할 수 없으며, 10 중량%를 초과할 경우 함량의 증가에 따라 효과가 비례적이지 않아 비효율적일 수 있으며 제형상의 안정성이 확보되지 않는 문제점이 있다.

[0042] 본 발명의 일 실시예에서 상기 조성물은, 포유류 또는 어류에서 수득한 평균 분자량 저분자량을 가지는 콜라겐 펩타이드를 더 포함할 수 있고, 1 내지 1000 Da, 1 내지 800 Da, 1 내지 500 Da인 분자량을 가지는 콜라겐 펩타이드일 수 있다.

[0043] "콜라겐"은 인체 내에서 양적 및 기능적으로 가장 큰 부분을 차지하는 단백질로, 인체 내 모든 세포의 뼈대를 형성하는 세포외기질(extracellular matrix), 보다 구체적으로 결합조직(connective tissue)의 주요 구성 인자를 의미한다. 콜라겐을 다량 함유하는 인체 조직으로는 피부(skin), 뼈 및 연골 등의 골(bone) 조직, 건(tendon), 인대(ligament) 등이 있다. 상기 조직들의 노화로 인해 피부 주름 및 처짐, 골다공증 등의 인체 노화 질환들이 비롯되며, 이는 조직의 콜라겐 합성 감소로 인한 체내 콜라겐 양 및 기능 감소에 의한 것으 로 알려져 있다. 본 발명의 일측면에서, 상기 콜라겐 가수 분해물은 포유류 또는 어류에서 수득한 것을 포함한다. 본 발명의 다 른 일측면에서, 상기 콜라겐 가수 분해물은 포유류의 피부 또는 어류의 어린(비늘) 또는 어피로부터 수득한 것을 포함한다.

[0044] 본 발명의 일 실시예에서 상기 콜라겐은 조성물 총 중량을 기준으로 0.0001 내지 10 중량%로 포함될 수 있다.

[0045] 본 발명의 일 실시예에서 상기 병풀 발효 추출물이 비타민 C보다 콜라겐의 흡수율을 120% 내지 180% 증가시키는 것일 수 있다. 구체적으로 비타민 C 대비하여 140% 내지 160% 로 흡수율을 증가시킬 수 있다.

[0046] 본 출원은 또한 상기 기술한 발효물을 포함하는 조성물은 상술한 바와 같은 효능을 목적으로 한 식품, 예를 들면, 건강보조식품, 기능성 식품, 식품첨가제 등으로 제공될 수 있다.

[0047] 본 출원에서 사용된 용어 "식품"이란 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 구체적으로는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인의 미로서, 식품, 식품 첨가제, 기능성식품 및 음료를 모두 포함하는 의도이다.

[0048] 본 명세서에서 사용된 용어 "기능성식품"이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 가공한 식품을 의미한다.

[0049] 상기 기능성식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 더욱 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0050] 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 출원에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제 품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스넥류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치 류, 장아찌 등), 음료(예, 과실,채소류 음료, 두유류, 발효 음료류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등)을 포함 하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.

[0051] 식품으로는 기능성 음료로 제조되며, 기능성 음료란 음료에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 음료의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 음료 군이나 음료 조성이 갖는 생체 방어 리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 음료를 의미하며, 특히 항산화와 피부 탄력 향상, 콜라겐 합성 촉진을 위한 음료를 의미한다.

[0052] 본 발명의 건강음료는 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토오스, 수크로스와 같은 이당류; 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 다당류; 또는 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강음료 100 ㎖ 당 일반적으로 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g이다.

[0053] 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 이러한 성분을 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.

[0054] 그 밖에 본 발명의 건강식품은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 건강식품 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0055] 이하, 제조예, 실시예, 실험예들을 통해서 본 출원을 더욱 구체적으로 설명하기로 하되, 하기 예는 본 출원의 이해를 돕기 위 한 것일 뿐, 본 출원의 범위를 제한하는 것은 아니다.

[0057] **<제조예 1> 병풀 추출물 시료 제조**

[0058] 한국에서 재배된 병풀을 구입해 세척하고, 50℃에서 24시간 건조한 후 100℃에서 30분 동안 덖은 후 분쇄하였다. 분쇄한 병풀 중량의 20배의 물에 10%가 되도록 에탄올을 추가한 후 60℃에서 24시간 동안 추출하였다.

[0060] **<실시예 1> 병풀 발효물 제조**

[0061] 균주는 류코노스톡 시트리움(*Leuconostoc citreum*) Cares-1(기탁번호 KACC91931P) 균주를 사용하였다. 생육배지로 MRS Broth로 30℃에서 배양하였다.

[0062] 상기 제조예1의 추출물에 설탕 2%, 맥아당 4%, 균주 1%를 첨가하고, 30℃에서 8시간 진탕배양한 후 더 이상 발효되지 않도록 121℃에서 10분동안 고압멸균하였다. 배양 완료 후 여과하여 침전물은 버리고 상층액만 수거하여 발효물을 제조하였다.

[0064] **<실시예 2> 병풀 발효물 제조**

[0065] 상기 실시예 1에서 24시간 배양한 것 외에는 동일한 방법으로 발효물을 제조하였다.

[0067] **<비교예 1> 병풀 추출물 제조**

[0068] 제조예 1에서 물로만 추출한 것 외에는 동일하게 추출물을 제조하였다.

[0070] **<비교예 2> 병풀 추출물 제조**

[0071] 제조예 1의 추출물을 비교예 2로 하여 실험하였다.

[0073] **<실험예 1> 병풀 발효물의 ABTS 라디칼 소거능 측정**

[0074] 비교예 2와 실시예 1 및 2의 발효물로 ABTS assay를 Re et al.(1999)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS 5 mL와 140 mM potassium persulfate 88 μL를 섞은 후 상온에서 16시간 빛을 차단하여 ABTS 양이온을 형성시킨다. 이후 이 용액을 414 nm에서 흡광도 값이 1.5가 되도록 PBS로 희석하였다. 조제된 희석용액 190 μl와

시료 10 μl를 혼합한 후 상온에서 6분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 용매 대조군으로 하여 대조군에 대한 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

수학식 1

$$\text{ABTS 라디칼 소거활성(\%)} = \frac{(\text{대조구 흡광도} - \text{시료 첨가시의 흡광도})}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

[0075]

[0076] 병풀 발효액의 Radical 소거능은 농도 의존적인 활성 증가를 확인하여 하기 표 1과 도 1에 나타내었다. 병풀 발효 추출물인 실시예 1과 실시예 2는 비교예 2의 에탄올과 물의 추출물과 비교할 때 ABTS 소거 활성 효과에 현저한 차이가 있었으며, 대조군인 비타민 C과 유사한 효과를 보여주었다.

표 1

[0077]

	ABTS 소거능
대조군	47.93
비교예 2	22.75
실시예 1	45.97
실시예 2	51.77

[0079] **<실험예 2> 병풀 발효물의 폴리페놀 측정**

[0080] 총 폴리페놀 함량은 공인기관에 분석 의뢰하여 「건강기능식품의 기준 및 규격」 제 4. 3-59 총 폴리페놀 시험법으로 진행하여 비교예 2와 실시예 1 및 2의 발효물을 하기 표 2와 도 2에 나타내었다. 병풀 발효 추출물인 실시예 1과 실시예 2는 비교예 2의 에탄올과 물의 추출물과 비교할 때 폴리페놀 함량에 현저한 차이가 있었다.

표 2

[0081]

	폴리페놀 함량(ug/ml GAE)
비교예 2	100.91
실시예 1	147.66
실시예 2	157.46

[0083] **<실험예 3> 병풀 발효물의 아시티코사이드 측정**

[0084] 비교예 1 내지 2와 실시예 1 내지 2의 아시아티코사이드(Asiaticoside), 마데카스소사이드(Madecassoside), 아시아틱산(Asiatic acid), 마데카식산(Madecassic acid)의 함량을 측정하여 하기 표 3에 나타내었다. 비교예들에 비하여 실시예 1 내지 2의 마데카스소사이드와 아시아티코사이드의 함량이 현저하게 높았고, 마데카식산은 검출되지 않았으며, 아시아틱산의 함량도 현저하게 높은 것을 확인할 수 있었다.

표 3

[0085]

	Madecassoside (μg/ml)	Asiaticoside(μg/ml)	Madecassic acid(μg/ml)	Asiatic acid(μg/ml)
비교예 1	28±0.71	8.49±0.80	-	3.95±1.43
비교예 2	163.82±4.16	112.31±2.86	-	4.29±0.95
실시예 1	192.24±2.52	130.94±0.25	-	6.12±0.88
실시예 2	193.50±12.37	129.40±14.62	-	5.49±0.86

[0086] 하기에 본 발명에 따른 식품 조성물의 제조예를 설명하나, 하기 예시 이외에도 여러 가지 제형으로 응용 가능하

며, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0088] **<제조예 2> 식품의 제조**

[0089] 본 발명의 병풀 발효 추출물을 포함하는 식품들을 다음과 같이 제조하였다.

[0090] 1. 밀가루 식품의 제조

[0091] 상기 병풀 발효 추출물 1 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강식품을 제조하였다.

[0093] 2. 유제품(dairy products)의 제조

[0094] 상기 병풀 발효 추출물 1 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0096] 3. 선식의 제조

[0097] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다. 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 쪄서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다. 상기 발효 추출물을 진공 농축기에서 감압농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.

[0098] 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 병풀 발효 추출물의 건조분말을 혼합 분말 100 중량부에 대하여 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.

[0099] 곡물류(현미 30 중량부, 율무 15 중량부, 보리 20 중량부),

[0100] 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부),

[0101] 발효 추출물(1 중량부),

[0102] 영지(0.5 중량부),

[0103] 지황(0.5 중량부)

[0105] **<제조예 3> 음료의 제조**

[0106] 1. 건강음료의 제조

[0107] 병풀 발효 추출물 5g

[0108] 구연산 1000㎎

[0109] 올리고당 100g

[0110] 매실농축액 2g

[0111] 타우린 1g

[0112] 정제수를 가하여 전체 900 ㎖

[0113] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2L-용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용하였다.

[0114] 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

[0116] 2. 과일주스의 제조

[0117] 본 발명의 병풀 발효 추출물 4.5g, 패션후르츠농축액(베트남산)4g, 망고농축액(이스라엘산)1g, 파인애플농축액(필리핀산)1g, 오렌지농축액(미국산)1g, 대추추출농축액(국내산)0.7g, 프락토올리고당2g, 저분자피쉬콜라겐분말 1g, 정제수 잔량을 가하여 총 100mL의 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

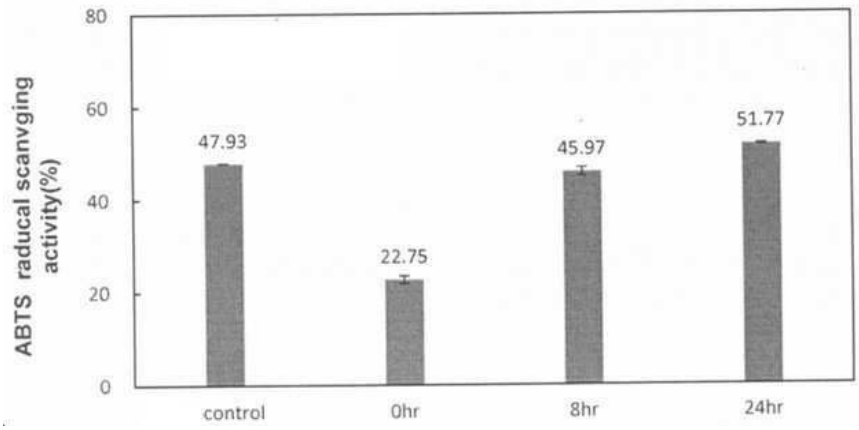
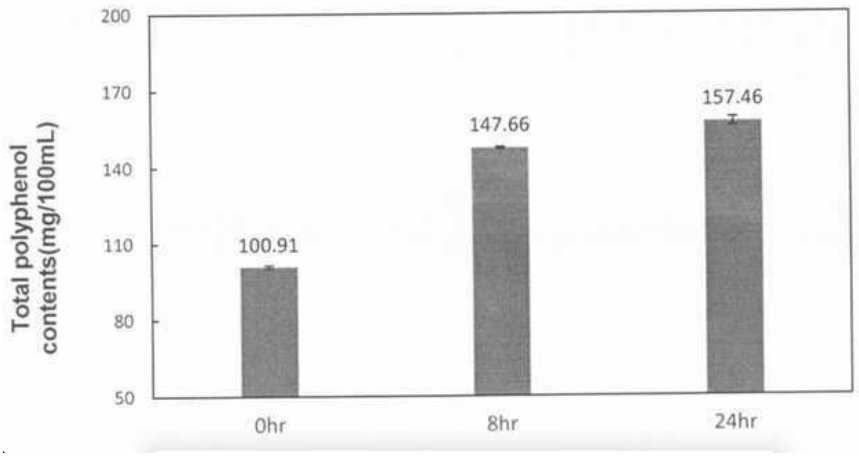
[0119] 이상, 본 출원을 바람직한 실시예 및 실험예를 들어 상세하게 설명하였으나, 본 출원은 상기 실시예 및 실험예에 의해 한정되지 않고, 본 출원의 기술적 사상 및 범위 내에서 당 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 여러 가지 변형 및 변경이 가능하다.

[0120] 본 발명이 속한 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기 내용을 바탕으로 본 발명의 범주 내에서 다양한 응용 및 변형을 행하는 것이 가능할 것이다.

[0121] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1



도면2