(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월21일
(11) 등록번호 10-2365198
(24) 등록일자 2022년02월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01) *A23L 27/30* (2016.01)
A23L 33/135 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23L 27/30 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0169219
(22) 출원일자 2019년12월17일
심사청구일자 2019년12월17일
(65) 공개번호 10-2021-0077509
(43) 공개일자 2021년06월25일
(56) 선행기술조사문헌
KR101055746 B1*
KR1020150082760 A*
KR1020160122422 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
백초영농조합법인
경상남도 거창군 마리면 거안로 682
(72) 발명자
백성봉
경상남도 거창군 거창읍 거함대로3길 23, 1501호 (들꽃마을)
(74) 대리인
박용민

전체 청구항 수 : 총 1 항 심사관 : 김현주

(54) 발명의 명칭 **천마, 하수오 및 산양삼을 이용한 기능성 액상 건강식품의 제조 방법**

(57) 요 약

본 발명은 천마, 하수오 및 산양삼을 이용한 기능성 액상 건강식품의 제조 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 1) 천마를 슬라이스 하고 찌고 말리는 증폭 과정을 반복한 후 건조시키는 단계; 2) 하수오를 찌고 말리는 증폭 과정을 반복하는 단계; 3) 상기 1) 천마와 2) 하수오를 혼합하고 상기 약재를 분말화하는 단계; 4) 상기 분말

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1

화된 약재를 생수로 반죽하고 당을 첨가한 후 유산균 발효균주로 발효시키는 단계; 및 5) 상기 발효물을 여과하고 농축하여 액상 제품을 제조하는 단계;를 포함하는 기능성 액상 건강식품의 제조 방법에 관한 것이다. 본 발명의 식품은 천마와 하수오의 우수한 영양 성분과 더불어 황국균과 같은 발효 균주에 의한 발효로 다양한 아미노산류, 비타민류 등의 성분들이 어우러져 영양가를 더욱 증가시키고 생체 신진대사를 촉진시키며, 천마와 하수오가 가지고 있는 특유의 강한 향과 맛을 순화시켜 이미, 이취가 없는 액상으로 제조되어 기호성이 크게 향상되고, 소화력이 우수하며 복용감도 훨씬 좋아지며, 순환기나 혈관 질환과 같은 각종 질병의 예방에 효과적이다.

(52) CPC특허분류
A23L 33/135 (2016.08)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/30 (2013.01)
A23Y 2220/00 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

1) 천마를 슬라이스 하고 찌고 말리는 증폭 과정을 2~4회 수행 반복한 후 건조시키는 단계;

2) 하수오와 산양삼을 찌고 말리는 증폭 과정을 2~4회 수행 반복하는 단계;

3) 상기 1) 천마 및 2) 하수오와 산양삼을 혼합하고 상기 약재를 분말화하고, 구기자, 두충, 울금, 둥굴레, 말토덱스트린, 현미, 보리, 검정콩, 들깨 및 검정깨로 이루어진 군중에서 선택된 1종 이상의 추가적 성분의 분말을 혼합하는 단계;

4) 상기 천마: 하수오 : 산양삼의 함량은 1: 0.5~2 : 0.5~2의 중량비의 분말 약재에 건조하고 분쇄된 오가피 및 비타민 어린잎을 혼합하는 단계;

5) 상기 분말을 생수로 반죽하고 설탕을 첨가하여 배양액을 제조하는 단계;

6) 상기 배양액을 30~35℃에서 1~3일 동안 배양된 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) KCTC 3108 및 락토바실러스 애시도필러스(*Lactobacillus acidophillus*) KCTC 3140 유산균 발효균주로 발효시키는 단계; 및

7) 상기 발효물을 여과하고 농축하여 55° Brix의 액상 제품을 제조하는 단계;를 포함하는 기능성 액상 건강식품의 제조 방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 천마, 하수오 및 산양삼을 이용한 기능성 액상 건강식품의 제조 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 천마(天麻, Gastroia elata Blume)는 난초과(Orchidaceae) 식물에 속하는 다년초로써 담자균류인 뽕나무버섯 속(Armillaria mellea) 균사와 공생하며 땅속의 괴경을 가지며, 한방에서의 천마는 고혈압, 두통, 마비, 신경성질환, 당뇨병, 간질, 어지럼증 등의 증상에 대하여 효능이 있는 것으로 알려져 있다(Lee, Y.B. 1990. Dictionary of oriental medicine. Sam moon dang. p. 814). 천마는 gastrodin, vanillyl alcohol, vanillin, benzaldehydes, p-hydroxybenzyl alcohol 등의 약리성분이 함유되어 있어 체내에서 생리활성을 가진 것으로 보고되었고(Taguchi et al., 1981, Chem. Pharm. Bull. 29:55-62), 생천마로부터 4,4-dihydroxy-diphenyl

methane 등의 phenolic compounds의 존재를 확인하였다(Zhou et al., 1980, Acta botanica Yunnanica. 2:370-372). 또한, 들깨유를 기질로 한 천마추출물의 항산화력은 합성항산화제인 BHT 보다 높게 나타내었고 천마추출물의 농도가 증가할수록 항산화력도 증가하였음을 보고하였으며, 천마는 DPPH, FRAP 라디칼 소거능에서 높은 활성능이 있음을 보고하였다. 천마의 주요성분인 p-hydroxybenzyl alcohol과 vanillin은 DPPH, superoxide, hydroxyl 라디칼 소거능에서 강력한 항산화 효과가 있으며, in vitro, in vivo에서 항산화제로서 탁월한 효과가 있음을 보고하였다. 이와 같이 천마를 식품소재로 이용하기 위해 다각적인 연구가 요구되며, 최근에 천연물을 발효나 효소를 처리하여 다양한 생리활성 연구가 진행되고 있으나 천마는 아직까지 발효를 이용하여 생리활성을 규명한 연구는 부족한 실정이다.

[0003] 천마는 예로부터 뇌혈관, 심혈관질환에 사용되었으며, 여러 연구에서도 그 기능성과 유효성을 인정받고 있는 작물로 특히 노화과정에서 발생하는 여러 질환에 다양한 도움을 준다고 알려져 있다. 이러한 천마제품은 스트레스가 많은 현대인들에게 유효하게 작용할 수 있을 것이다. 특히 아시아권 국가에서는 이러한 천마의 유효성에 대한 관심과 이해가 이미 일부 형성되어 있어 신뢰할 수 있는 제품으로 접근한다면 시장성을 높일 수 있다고 본다.

[0004] 천마는 난초과의 다년생 약용식물로 유효성분인 가스트로딘은 뇌질환개선 및 혈압조절에 탁월하고 에르고티오닌 성분의 함량은 영지버섯류의 수십배에 달한다. 당사 천마 제품은 전통적인 천마의 효능을 바탕으로 강화된 기능성과 믿을 수 있는 원료로 개발, 생산되었다.

[0005] 그러나 천마 특유의 불쾌한 향과 맛으로 인해 거부감을 나타내는 소비자가 많아 소비층이 다양화 되지 못하고, 휴대와 섭취의 편의성이 떨어져 유사제품 시장에서 두각을 나타내기 어려운 상황이다.

[0006] 천마의 주효능은 뇌혈관, 심혈관, 기억력 및 인지능력 개선기능 등으로, 고령사회의 도래로 심화된 만성질환 예방과 고령생활을 위한 식품개발에 대한 수요증가에 부합하는 약용식물이다. 또한 식품사업 및 헬스케어 트랜드도 기능성강화와 고령친화제품에 주목하고 관련 제품들이 개발, 출시되고 있다.

[0007] 천마 등의 한방약용자원의 경우 원물로의 판로와 수익, 수출 등은 한정적이지만 신기술을 접목시켜 개발한 가공품의 경우 다양한 판로 모색과 수출개척에도 유리하다. 이미 그 유효성에 관한 검증은 이루어진 천마에 발효기술을 접목하여 기능성을 강화시키고 식이성을 향상시킬 수 있다면 소비자의 접근성을 높일 수 있는 기회가 될 것이다. 이러한 제품연구와 개발로 좀 더 높은 부가가치를 얻을 수 있다고 본다.

[0008] 하수오(何首烏, Polygonummultiflorum Thunberg)는 마디풀과에 속하는 다년생 초본인 3~4년 된 하수오의 괴근(塊根)을 채취하여 건조한 것이다. 여기에서, 하수오는 적하수오(赤何首烏)를 의미하는 것으로서, 우리나라 대한약전외한약규격집에서 적하수오(赤何首烏)를 하수오로, 백하수오(白何首烏)를 백수오로 구분하여 규정하고 있는 것에 따른다. 하수오의 맛은 쓰고 달고 떫으며 성질은 약간 온하며 간과 신장을 보하고 혈을 자양하며 풍을 제거하는 효능이 있어서, 만성 간염, 유정 등을 치료하는데 사용한다. 서양의학적 관점에서 보면, chrysophanol, emodin, lecithin등 성분들을 함유하고 있는 하수오는 혈당을 하강시키고 항균 작용이 있으며 혈청 콜레스테롤을 낮추는 효능도 있다.

[0009] 하수오(Pleuropterus multiflorus)는 중국에서 들어와 오랫동안 재배되어온 약용식물로, 전체에 털이 없고, 뿌리는 땅 속으로 뻗으면서 때때로 둥근 덩이뿌리를 형성한다. 잎은 어긋나고 자루가 있으며 길이 3~6㎝, 너비 2.5~4.5㎝로서 끝이 뾰족하고 밑부분이 심장형인 난상심장형을 하고 있다. 꽃은 8~9월에 백색으로 피며 가지 끝에 원추화서를 이룬다. 과실은 수과(瘦果:볍씨와 같이 과피가 목질 또는 혁질을 이루고 속에 1개의 씨가 들어 있는 열매)이다. 한방에서는 덩이뿌리를 약재로 사용한다.

[0010] 약성은 온(溫)하고 감고(甘苦)하며 조삽(燥澁:파슬파슬함)하다. 강장・강정・양혈(養血)・보간・거풍・소종의 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 신체허약・요통・동맥경화・양위(陽萎)・고혈압・만성간염・결핵성임파선염・장염・옹종(癰腫)・변비 등의 증상에 치료제로 쓴다.

[0011] 그러나 약용식물 추출물이 세포 대사에 독성을 나타내는 경우가 종종 있는 것으로 보고되어 있어 버섯균사체로 발효시킨 약용식물 추출물에 관한 관심이 증가되고 있다. 발효에 의해 많은 효소가 생성되며 생산되는 효소 중에서 항산화 효소가 많이 생산되므로 노화 예방, 피부 개선 등에 효과가 있으며 미생물의 발효산물은 독성과 부작용을 유발하는 원인 물질을 해결할 수 있을 뿐만 아니라 체질, 가령 체질에 따른 부작용이나 약재의 알러지 문제를 개선할 수 있는 것으로 보고되고 있다.

[0012] 인삼(Panax Ginseng C. A. Meyer)은 五加科(두릅나무과 ; Araliaceae)에 속한 다년생 초목으로 뿌리를 약으로 사용하며, 가공 방법에 따라 말린 것을 백삼, 수증기 또는 기타 방법으로 쪄서 건조한 것을 홍삼이라고 한다.

최근 들어 삼에 대한 포제방법에 따라 효능이 달라질 수 있음이 보고되면서 인삼의 새로운 가공방법이 많이 나타나고 있는데 주로 열처리, 산(acid), 효소처리 및 미생물을 이용한 발효처리 등에 의해 인삼의 맞춤형 제품들이 출시되고 있다. 특히 미생물 및 효소를 이용한 발효를 이용하여 특정성분을 강화시킨 가공인삼이 최근 들어 기능성식품으로 주목을 받고 있다.

[0013] 산양삼의 경우, 중국의 도홍경(488-496)의 수정한 '신농본초경'에 인삼은 "오장을 보하고, 정신을 안정시키며, 혼백을 고정 경계를 멈추게 하고, 외부로부터 침입하는 사기를 제거하여 주며, 눈을 밝게 하고 마음을 열어 더욱 지혜롭게 하며 오래 복용하면 몸이 가벼워지고 장수한다"고 되어 있다. 또한 명의별록, 본초강목에도 인삼의 효능을 집약 수록된 바 있고, 조선의 동의보감에 이들을 인용하여 적고 있다.

[0014] 삼은 독성이 없어 장기간 복용해도 해가 없으며 불로장생에 도움을 주는 "상약"의 대표적인 약으로 단독, 또는 한방 구성의 생약으로 처방약의 군약으로 이용되고, 주로 기허(서양의학적으로 생리기능이 저하된 상태)를 치료하는 중요한 보기약으로 쓰인다.

[0015] 나아가 한방의학 연구에 따른 브레이크만 박사에 의하면, 산삼은 스트레스 해소, 알콜해독, 당뇨병, 암, 동맥경화증, 고혈압, 간 질환, 빈혈에 효과가 있다고 발표했고, 산삼은 간장제로서 피로 회복 및 수술이나 질병 후 기력회복에 좋고 노약자에게 좋은 보약제이다.

[0016] 현대 과학 연구결과에 의하면 암, 당뇨, 동맥경화 등 성인병에 효능이 있다는 연구결과가 나왔다. 즉, 피로회복, 체력증진, 빈혈, 저혈압, 심장쇠약, 노이로제, 자율신경실조, 폐결핵, 천식, 위장염, 설사, 변비, 식용부진, 당뇨병, 옹절, 피부병 및 거친 살갗에 탁월한 효과가 있음이 입증되었다.

[0017] 산양삼에 들어있는 사포닌 및 비사포닌계 물질(Panacen, 다당류, 아미노산 유도체, 폴리아세틸렌 유도체, 페놀화합물)은 약리활성이 우수하고 자유라디칼(free radical) 제거에 탁월한 효능을 가져 항암, 혈압강하, 지질강하, 간독성 제거 등의 목적으로 다양하게 이용된다. 이처럼 우수 효능을 지닌 산양삼의 주요 약리성분은 PD(proto panaxadiol), PT(proto panaxatriol)계로 나누어지며, 산양삼에 포함된 진세노사이드(ginsenosides)의 함량은 일반 인삼에 비해 최대 3 내지 4배 더 높은 것으로 알려져 있다.

[0018] 한편, 점점 가속화되고 있는 고령사회진행으로 심화된 만성질환에 대한 우려와 건강한 노후생활을 위한 기대를 반영한 식품개발에 대한 수요가 증가하는 추세이다. 이에, 식품산업 및 헬스케어 트랜드도 기능성강화와 고령친화제품에 주목하고 관련제품들이 개발, 출시되고 있다.

[0019] 건강식품 원료를 제조하는 방법은 끓여 졸이거나 건조하여 생약을 이용하는 방법이 일반적이다. 이러한 방법에서는 가열에 의한 유효성분의 소멸이 많아 생약이 본래 가지고 있는 효과를 기대하기 어렵고, 더욱이 건조생약을 그대로 사용할 경우 대부분의 생약은 체내에서 흡수될 수 없는 산화형 NAD를 가지고, 체내 섭취한 후, 환원형 NAD로 변환되어 흡수되지만 변환된 환원형 NAD 성분은 다시 산화형 NAD로 재변환되어 대부분 유효성분이 체외로 배출된다.

[0020] 이러한 결점을 보충하기 위하여, 발효미생물을 이용하여 전분함유가 많은 곡물원료를 분쇄하고, 발효공정처리에 의해 환원형 성분으로 변환함으로써 기능성 건강식품을 제조하여야 할 필요성이 크다. 미생물의 분해·대사·생성을 이용한 반응은 고온·고압을 필요로 하지 않는 자원절약 및 에너지 절약형이고, 반응선택성이 크고, 간단한 장치로 물질생산이 가능하다는 등의 특징을 가지고 있으므로 발효미생물을 이용하여 천마와 하수오의 기능성 성분을 보다 흡수가 용이한 기능성의 발효 식품으로 이용할 수 있다.

[0021] 이에, 본 발명자들은 우리나라에서 자생하고 있는 한방 생약재 중 쉽게 구할 수 있고, 여러 가지 생리활성 기능이 알려진 천마, 하수오 및 산양삼에 발효균을 발효시켜 얻은 약제의 추출물로부터 항산화 효과와 tyrosinase 활성 억제 등에 의한 기능성과 액상으로서의 기호도가 증진됨을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0022] 본 발명의 목적은 천마, 하수오 및 산양삼을 혼합하고 여기에 유효미생물을 접종, 발효 분해 처리함으로써, 미생물의 기능인 대사, 발효, 분해 능력을 활용하여 그 과정 화학반응에 의해 생성되는 성분을 이용하여 환원형 성분으로 변환되는 기능성 액상 건강식품의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0023] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 1) 천마를 슬라이스 하고 찌고 말리는 증폭 과정을 반복한 후 건조시키는 단계; 2) 하수오와 산양삼을 찌고 말리는 증폭 과정을 반복하는 단계; 3) 상기 1) 천마 및 2) 하수오를 혼합하고 상기 약재를 분말화하는 단계; 4) 상기 분말 약재에 건조하고 분쇄된 오가피 및 비타민 어린잎을 혼합하는 단계; 5) 상기 분말을 생수로 반죽하고 당을 첨가하여 배양액을 제조하는 단계; 6) 상기 배양액을 유산균 발효균주로 발효시키는 단계; 및 7) 상기 발효물을 여과하고 농축하여 액상 제품을 제조하는 단계;를 포함하는 기능성 액상 건강식품의 제조 방법을 제공한다.

[0024] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0025] 본 발명의 기능성 액상 건강식품의 제조 방법에 있어서, 상기 유산균 발효균주는 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) 및/또는 락토바실러스 애시도필러스(*Lactobacillus acidophillus*)인 것이 바람직하고, 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) KCTC 3108 및/또는 락토바실러스 애시도필러스(*Lactobacillus acidophillus*) KCTC 3140인 것이 가장 바람직하다.

[0026] 또한, 본 발명의 기능성 액상 건강식품의 제조 방법에 있어서, 상기 천마 : 하수오 : 산양삼의 함량은 1: 0.5~2 : 0.5~2의 중량비인 것이 바람직하다.

[0027] 또한, 본 발명의 기능성 액상 건강식품의 제조 방법에 있어서, 상기 약재는 구기자, 두충, 울금, 둥굴레, 말토덱스트린, 현미, 보리, 검정콩, 들깨 및 검정깨로 이루어진 군중에서 선택된 1종 이상의 추가적 성분의 분말을 포함하는 것이 바람직하고, 상기 찌고 말리는 증폭 과정은 2~4회 수행하고, 발효 균주의 배양은 30~35℃에서 1~3일 동안 이루어지는 것이고, 상기 여과와 농축으로 55° Brix의 액상이 달성되고, 상기 당은 설탕인 것이 바람직하다.

[0028] 상기 2) 단계의 증폭은 2~4회 수행하여 하수오 및 산양삼의 최적 기능성을 생성하고, 상기 6) 단계의 발효는 30~35℃에서 24시간 동안 이루어짐으로서 식품의 기능성과 미감을 향상시킨다. 또한, 상기 5) 단계의 추가 당으로 설탕을 사용하여 미감을 향상시킨다.

[0029] 상기 당으로 설탕을 사용하는 것이 발효균의 발효 증진과 미감 향상에 도움이 된다. 또한, 상기 약 55° Brix로 농축을 달성하여야 식품 기능성과 미감 향상을 달성할 수 있다. 천마, 하수오, 산양삼의 함량은 1: 0.5~2 : 0.5~2의 중량비에서 최적의 기능성을 달성하며, 상기 천마, 하수오와 산양삼 이외에 울금, 둥굴레, 말토덱스트린이나 현미, 보리, 검정콩, 들깨 및 검정깨와 같은 곡물을 추가적으로 함유시켜 그 기능성을 향상시킬 수 있다.

[0030] 발효란 미생물의 생리활동에 의해 일어나는 화학변화로서 유기물이 산화, 환원 또는 분해에 의하여 인간생활에 유익한 다른 물질로 변화되는 현상으로, 인류가 기원전 3,000년경부터 각 지역의 토착 미생물이 식품원료에 자연 접종되는 과정을 통해 섭취하면서 고유한 음식문화를 형성하여 왔고, 최근에는 건강기능성 장수식품으로 인식되고 있다(Goldin BR. Br. J. Nutr. 1998; 80: 203-207).

[0031] 특히 Lactobacilli 및 Bifidobacterium과 같은 유산균들은 사람의 장내에서 우세균으로 분포하면서 체내 유익균의 성장을 촉진하여 위장기능의 개선, 체내 콜레스테롤 흡수저해, 면역조절, 영양소의 흡수 및 이용률을 높이는 등 다양한 질병 예방효과와 생리조절작용을 하는 것으로 알려져 있다(Fuller R. et al., J. Applied Bacteriology. 1989; 66: 365-378). 인삼에 있어서도 ginsenoside의 분해를 통한 흡수과정에 관여하여 특정 산물을 만들어낼 수 있음이 최근 연구를 통해 밝혀진 바 있다.

[0032] 본 발명을 통해 천마의 최적화된 공정기술을 확립하고 천마 고유의 불쾌한 미식감 극복 및 흡수율 개선을 통해 노년층에 국한된 기존 시장을 전 연령층으로 확대할 것이다. 본 제품의 전통적인 유효성 검증을 바탕으로 한방원료에 관한 관심이 큰 아시아권 국가, 특히 한국 제품에 대한 신뢰가 큰 동남아국을 대상으로 한 수출시장의 확대를 꾀할 수 있다.

[0033] 본 발명은 발효기술을 이용한 항노화소재 개발, 천마에 고온숙성 발효기술을 접목시켜 새로운 형태의 천연물질 항노화소재를 개발, 섭취편의성을 향상시킨 제형의 개발, 바쁜 현대인의 요구에 부합하는 편의성을 향상시킨 제형의 제품 개발 등으로 확대될 수 있다.

발명의 효과

[0034] 이상과 같이, 본 발명의 천마는 심혈관, 뇌혈관의 피를 맑게 해주어 순환기에 도움이 되고, 하수오는 혈관 확장 기능이 있으며, 산양삼은 면역력 증강 및 병후 기력회복 효과가 있으며, 인공 합성물을 전혀 첨가하지 않고, 천

마, 하수오와 산양삼의 우수한 영양 성분과 더불어 황국균과 같은 발효 균주에 의한 발효로 다양한 아미노산류, 비타민류 등의 성분들이 어우러져 영양가를 더욱 증가시키고 생체 신진대사를 촉진시킨다. 또한, 비타민 어린잎을 이용하므로 항산화활성이 매우 우수하며, 피로 지표물질을 경감시켜 피로회복용 기능성 식품 제조에 효과적이다. 또한, 암세포의 성장 및 전이억제 효과가 보고된 ginsenoside Rh2, ginsenoside Rg3를 대량 함유한 산양삼의 ginsenoside 함량이 발효과정에 의해 변화됨을 확인하였다.

[0035] 아울러, 천마, 하수오, 산양삼이 가지고 있는 특유의 강한 향과 맛을 순화시켜 이미, 이취가 없는 액상으로 제조되어 기호성이 크게 향상되고, 소화력이 우수하며 복용감도 훨씬 좋아지며, 순환기나 혈관 질환과 같은 각종 질병의 예방에 효과적이다.

도면의 간단한 설명

[0036] 도 1은 실시예 1에 따른 발효 후, 여과 및 농축하기 전의 액상 조성물을 나타낸 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0038] **<실시예 1> 액상 조성물의 제조 1**

[0039] 본 실험에 사용한 발효 균주로 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)에서 분양받은 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) KCTC 3108과 락토바실러스 애시도필러스(*Lactobacillus acidophillus*) KCTC 3140를 사용하였다. 배양은 맥아배지를 이용하여 멸균기(AC-60, Han Yang Scientific Equipment, Seoul, Korea)에서 121℃에 15분간 멸균을 한 후 발효균을 접종하였고 진탕배양기(VS-8480SR, Scientific, Bucheon, Korea)에 넣은 후 150 rpm에서 34℃로 3일 동안 배양하여 이를 액체종균으로 사용하였다.

[0040] 천마는 본 출원인인 백초영농조합법인이 자체 재배하여 수확한 후 물로 수세하여 표면 흙과 이물질을 제거한 다음 일정 두께로 얇게 슬라이스하고 찌고 말리는 증폭 과정을 3회 반복한 후, 50℃ 열풍건조기를 이용하여 건조한 시료를 분쇄하여 분말화시켜 약재를 제조하였다. 또한, 하수오와 산양삼 모두 본 출원이 자체 재배하여 수확한 것을 사용하였으며, 이때 수확된 산양삼은 수령 8-9 년생을 36 뿌리 무작위로 선정하여 사용하였다. 하수오와 산양삼은 사용 전 흐르는 물에 30초간 수세하여 불순물을 제거한 후, 찌고 말리는 증폭 과정을 3회 반복하였다.

[0041] 산양삼을 가공할 때 산양삼의 잔가지들도 모두 떨어지지 않도록 주의해야 한다. 이 산양삼의 잔가지에도 많은 양의 인체에 유용한 성분이 포함되어 있기 때문이다. 그리고 상기 산양삼에서 물기를 없애는 건조의 단계를 거쳐 분쇄를 한다. 즉, -40~-1℃로 65-80시간 동결건조하여 함수율이 2-7% 될 때까지 유지한 후 70-100메쉬로 분쇄하는 것이다.

[0042] 상기 제조한 천마, 하수오와 산양삼을 혼합하고 이들을 분말화시켜 약재를 제조하였다. 상기 분말 약재 100중량부에 생수 600중량부를 첨가하여 반죽하고 여기에 설탕 30중량부를 첨가한 후 발효균으로 발효시켰다.

[0043] 상기 분말 약재 100중량부에 생수 600중량부를 첨가하여 반죽하고 여기에 설탕 30중량부를 첨가한 후 발효균으로 발효시켰다.

[0044] 구체적으로, 설탕 함유 약재 100 g을 각각 850 mL polypropylene bottle에 넣고 121℃에서 20분간 고압멸균한 후 상온에서 냉각하였다. 상기에서 조제된 발효균 액체종균 20ml을 상기 약재에 무균상태에서 접종한 후 멸균마개를 고정시켜 오염을 방지하였다. 발효는 34℃, 상대습도 90%의 배양기에서 2일 동안 진행하였다. 균사체 배양정도는 육안으로 판단하였으며, 배지에 성장되는 균사체의 양에 따라 생장 우수(++), 생장 양호(+), 및 생장 불량(-)로 나타내었다.

[0045] 2일 동안 발효 후 (도 1) 상기 발효물을 여과하고 55° Brix로 농축하여 액상 조성물을 제조하였다.

[0046] 상기 락토바실러스 플란타룸(Lactobacillus plantarum) 및 락토바실러스 애시도필러스(*Lactobacillus acidophillus*)은 약 90가지의 유효하게 명명된 종 또는 서브(sub)종을 포함하는 락토바실러스의 방대하고 비교적 다양한 속(genus)중의 박테리아 종이다. 전통적으로, 락토바실러스 spp.는 이들의 발효 능력에 따라서 세가지의 기능성 그룹으로 구분된다: 절대적인 정상발효(그룹 Ⅰ), 임의의 이상발효(그룹 Ⅱ) 및 절대적인 이상발효

(그룹 Ⅲ).

[0047] 본 발명의 락토바실러스 플란타룸(Lactobacillus plantarum) 및 락토바실러스 애시도필러스(*Lactobacillus acidophillus*)은 공지의 락토바실러스 플란타룸, 락토바실러스 애시도필러 균주라면 제한되지 않고 본 발명에 적용될 수 있지만, 바람직하게 락토바실러스 플란타룸 (*Lactobacillus plantarum*) KCTC 3108 및/또는 락토바실러스 애시도필러스(*Lactobacillus acidophillus*) KCTC 3140 균주일 수 있다.

[0048] **<실시예 2> 액상 조성물의 제조 2**

[0049] 상기 실시예 1의 약재 분말 100중량부에 오가피와 비타민 어린잎 20중량부를 정선하고 세척하며 건조해서 분쇄하여 혼합하였다. 이하 과정은 상기 실시예 1과 동일하다.

[0050] 오가피는 중국 전통한방에서 가시오가피를 장기 복용하였을 때 "보중익정, 견근골, 강한 정신력" 작용이 있는 것으로 사용하였으며 다른 약제와 함께 복용시 거풍습, 장근골, 순기화담, 첨정보수 등에 효과가 있고 장기간 복용시 노화를 막는 약제로 사용하여 왔다.

[0051] 뿐만 아니라 식욕을 돋구고, 기력이 강해지며, 기억력이 좋아지므로 흑룡강성 산간지방에서는 자양강장제라고 하여 가시오가피를 술에 담구어 먹는다고 한다. 70년대 초, 흑룡강성의 노인만성 기관지염 방지에 대한 연구 중 가시오가피가 좋다는 것이 밝혀졌다.

[0052] 또한 오가피 분말의 경우 식욕을 돋구고, 기력이 강해지며, 기억력이 좋아지는 효과가 있을 것이다

[0053] 비타민(Vitamin)은 십자화과의 녹황색채소로 '다채'라고도 불리우며, 본 발명의 비타민의 잎은 농녹색으로 두텁고, 맛이 담백하다. 원래는 수확기까지 기다려 포기를 꽉 채워 수확하지만 국내에서는 밀식 생산하여 주로 어린 채소로 수확한다. 중국채소 중 비타민 A의 함유량이 제일 많다. 성채의 경우 비타민 A 함유량은 시금치의 2배이다. 비타민 B, 비타민 C 도 풍부하다. 중국요리에서는 여러 가지 요리에 들어간다. 본 발명의 '비타민 어린잎'은 당업자에게 알려진 공지의 비타민 종 또는 품종이면 제한되지 않으며, 예를 들어 Brassica rapa var. chinensis 일 수 있다. 또한 발아한지 15 내지 30일경에 수확한 것일 수 있다.

[0054] **<실시예 3> 액상 조성물의 제조 3**

[0055] 상기 실시예 2의 오가피와 비타민 어린잎 첨가 이외에 천마, 하수오와 산양삼의 함량과 동일한 구기자 및 두충 분말을 포함시켜 약재를 제조한 점을 제외하고는 실시예 1과 동일하다.

[0056] **<비교예 1>**

[0057] 상기 실시예 2의 천마와 하수오를 혼합하고 이들을 분말화시켜 약재를 제조하였다. 상기 분말 약재 100중량부에 생수 50중량부를 첨가하여 반죽하고 여기에 설탕 30중량부를 첨가한 후 과정까지는 동일하고 이후에 발효균의 접종과 배양을 생략하고 생수 200중량부를 추가로 첨가하여 충분히 교반하여 액상 조성물을 제조하였다.

[0058] **<비교예 2>**

[0059] 상기 실시예 1에서 약재에 설탕 30중량부를 첨가한 점을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 액상 조성물을 제조하였다.

[0060] **<실험예 1> 천마, 하수오 및 산양삼의 생리활성 조사**

[0061] 먼저, 본 발명에 사용한 천마, 하수오 및 산양삼의 생리활성을 조사하기 위하여, 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)에서 분양받은 *Lactobacillus plantarum*(KCTC 3108)과 *Lactobacillus acidophillus*(KCTC 3140)를 발효균주로 사용하였다.

[0062] **<1-1> 액상 조성물의 추출**

[0063] 상기 실시예 1~3 및 비교예 1에서 제조한 액상 조성물을 물과 메탄올을 사용하여 추출하였다. 상기 조성물에 각각 메탄올 1000ml를 첨가하여 상온에서 24시간 동안 추출하였으며, 이를 3회 반복 후 추출액을 감압하에서 농축하여 분말로 조제하였다. 물 추출물의 경우 물 1000ml를 첨가하여 100℃에서 4시간 동안 각각 3회 반복 추출 후, 동일한 조건으로 감압 농축 후 분말로 조제하였다.

[0064] 비교예 1의 발효 전의 약재 추출물과 실시예 1~3의 발효 후의 약재 추출물의 코직산 함량, 총 폴리페놀 함량, tyrosinase 활성, DPPH에 의한 항산화 활성을 다음과 같은 방법으로 측정하였다.

[0065] **<1-2> 총 폴리페놀 함량 측정**

[0066] 총 폴리페놀 함량은 분석방법으로 널리 사용되고 있는 Filin-Denis법 (Swain, T. et al., J. Sci. Food Agric., 10, 83-88 (1959))으로 측정하였다. 각 시료 1mg을 증류수 1mL에 녹이고 10배 희석한 희석액 2mL에 2배로 희석한 Folin 시약 2mL을 첨가하고 잘 혼합한 후 3분간 방치한 후 2mL의 10% Na_2CO_3를 서서히 가하였다.

혼합액을 1시간동안 방치한 후 분광광도계(HITACHI U-2900, Hitachi High-Technologies Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 700nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물의 표준곡선은 tannic acid를 이용하여 최종 농도가 5, 25, 50㎍/㎖이 되도록 하여 위와 같은 방법으로 700nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

[0067] 폴리페놀 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물로서 flavamoid, catechin, tannin 등이 있다. 특히, 페놀성 화합물들은 전자공여능이 있어 항산화 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다.

[0068] 본 발명에 사용한 천마 및 하수오의 약재의 발효 후와 발효전의 항산화 생리활성을 비교하기 위하여 대표적인 총 폴리페놀 성분의 함량을 측정하였다.

[0069] 비교예 1의 메탄올 추출물과 물 추출물의 총 폴리페놀 함량은 각각 1.44±0.12, 1.13±0.07%이었고, 실시예 1의 메탄올 추출물과 물 추출물의 총 폴리페놀 함량은 각각 3.98±0.10, 3.34±0.07%로 발효 전에 비하여 약 2~3배 가까이 증가하였으며, 실시예 2의 경우 4.39±0.17, 3.99±0.07%, 실시예 3의 경우 4.46±0.13, 43.31±0.06%로 각각 발효 전에 비하여 3~4배 증가하였다. 총 폴리페놀 함량 측정 모든 실시예에서 모두 메탄올 추출물이 물 추출물보다 더 높은 함량을 보였다.

[0070] 위와 같이 발효 전에 비해 발효 후의 총 폴리페놀 함량이 증가한 것으로 나타났는데, 이것은 산화성이 낮은 화합물이 항산화성이 높은 물질로 생물전환 되거나 항산화활성과 관련된 화합물이 발효균 배양시 배지 속으로 유출되었기 때문에 증가한 것이라 판단된다. 즉, 천마, 하수오와 산양삼의 페놀성 물질인 p-hydroxybenzyl alcohol, p-hydroxybenzaldehyde, vanillyl alcohol, vanillin 등의 증가로 인해 폴리페놀 함량도 높아진 것으로 판단된다. 페놀성 물질은 식물의 고유한 색을 부여하는 동시에 식품의 맛에 깊이 관여하며, 천연물에서 얻어지는 항산화성 물질은 주로 phenolic compound와 flavonoid 류의 화합물로서 특히, caffeic acid, chlorogenic, gentistic acid 등이 강한 항산화 효과가 있다. 따라서 발효 중 protease, amylase, lipase 등의 효소가 분비하여 페놀성 물질들이 증가하는데 기인한 것으로 판단되며, 발효에 의해 항산화 활성도 증가되리라 예상된다.

[0071] **<1-3> DPPH에 의한 항산화 활성 측정**

[0072] 항산화 활성 측정은 Abe 등의 방법 (Abe, N. et al., Biosci. Biotechnol. Biochem., 62, 661-666 (1998))으로 측정하였다. 에탄올 100 ml에 α,α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH) 16mg을 녹인 후 증류수 100ml를 혼합하여 Whatman filter paper No.2에 여과시켜 DPPH 반응 용액을 만들었다. 각 건조분말시료 1ml을 취하고, 여기에 DPPH 반응 용액 5ml을 넣어 혼합한 후 냉암소 (25℃)에서 30분간 반응시킨 후 528nm에서 분광광도계(HITACHI U-2900, HitachiHigh-Technologies Co., Kyoto, Japan)로 흡광도를 측정하였다. DPPH를 이용한 항산화 활성은 다음의 공식을 사용하여 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도차를 백분율(%)로 표시하였다.

[0073] DPPH radical scavenging activity(%) = [1-(sample absorbance)/control absorbance 528nm]× 100

[0074] 항산화 기능은 DPPH 라디칼 소거법을 사용하여 측정하였다. DPPH는 비교적 안정한 자유 라디칼로써, ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 환원되어 짙은 자색이 탈색되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 간단히 측정할 수 있는 동시에 식물체의 항산화 활성과도 연관성이 매우 높기 때문에 많이 이용되고 있는 방법이다.

[0075] 본 발명에 사용된 약재의 항산화기능은 DPPH 라디칼 소거법으로 측정한 결과, 비교예 1의 메탄올 추출물은 22.4±3.5%, 물 추출물은 20.5±1.5 %로 나타났으며, 실시예 1의 경우 메탄올 추출물은 45.2±2.8%, 물 추출물은 49.6±1.7%, 실시예 2의 경우 메탄올 추출물은 61.8±6.7%, 물 추출물은 53.4±5.2%, 실시예 3의 경우 메탄올 추출물은 62.8±6.6%, 물 추출물은 54.7±5.2%로 모두 메탄올 추출물이 더 높은 항산화 활성을 나타내었다. 따라서, 비교예 1에 비하여 실시예 1~3이 대략 2~3배 증가하였다. 이러한 결과는 총 폴리페놀 함량 측정 결과에서 나타난 바와 같이 총 폴리페놀 함량이 증가함에 따른 것으로 생각된다.

[0076] 라디칼 소거 작용은 인체의 질병과 노화를 억제시키는데 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며, DPPH 라디칼 소거활성 효과는 페놀성 화합물에 의한 항산화 작용이며, 이러한 물질의 환원력이 클수록 DPPH 라디칼 소거활성이 크다고 보고되었다. 본 발명은 역시 총 폴리페놀 함량이 높게 나온 천마와 하수오의 발효물이 DPPH 라디칼 소거활성이 높게 나타낸 것으로 보아 페놀성 화합물과 DPPH 라디칼 소거능과의 상관관계가 있는 것으로 여겨지며,

DPPH 라디탈 소거에 의한 전자공여능이 페놀성 물질에 기인하여 항산화 활성을 나타내는 것으로 사료된다.

[0077] **<1-4> ABTS 라디칼 소거능 측정**

[0078] ABTS 라디칼 소거능의 측정은 Re 등(1999, Free Radic. Biol. Med. 26:1231-1237)의 방법에 의해 측정하였다. 7 mM ABTS 600 μL와 7.35 mM $K_2S_2O_8$ 300 μL을 혼합시킨 후 암소에서 14시간 동안 반응시킨 뒤 80 mL 증류수와 희석시킨 다음 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7 ± 0.02가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. 0.05~10 mg/mL의 농도로 맞춘 시료용액 20 μL와 ABTS solution 2 mL를 6분 동안 반응시킨 다음 734nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같은 식에 의해 저해율을 계산하였다.

[0079] $$\text{ABTS 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료무첨가구의흡광도}}{\text{무첨가구의흡광도}}\right) \times 100$$

[0080] 비교예 1의 비발효 추출물보다 실시예 1~3의 발효 추출물이 높은 활성능을 나타내었다. 비발효 추출물이 17.20%의 소거율을 나타내었고 발효 추출물은 실시예 1~3서 각각 39.96, 43.61, 47.39%로 다소 차이가 있으나, 비교예 1보다 높았다. DPPH는 자유라디칼을 ABTS는 양이온 라디칼을 소거하는 점에서 서로 차이가 나며 두 기질과 반응물과의 결합정도가 달라지므로 라디칼 제거 능력에서도 차이가 있다고 판단된다.

[0081] **<1-5> Superoxide 라디칼 소거능 측정**

[0082] Superoxide 라디칼 소거능의 측정은 Fontana 등(2001, Biochem. Pharmacol. 61:1253-1257)의 방법을 참고하여 측정하였다. Phosphate buffer(pH 7.4) 0.4 mL에 시료 0.4 mL, NADH 365 μM 0.4 mL, NBT 250 μM 0.4 mL, PMS 75 μM 0.4 mL를 첨가 후 실온에서 5분 동안 반응시킨 다음 562 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같은 식에 의해 저해율을 계산하였다.

[0083] $$\text{Superoxide 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료무첨가구의흡광도}}{\text{무첨가구의흡광도}}\right) \times 100$$

[0084] 비교예 1의 비발효 추출물이 1.9% 억제효과를 나타내었고 실시예 1~3의 발효 추출물은 각각 33.13, 36.06, 36.17%로 높은 활성능을 보였다. 이는 발효 추출물의 활성능이 높은 것을 확인할 수 있었다. 산화물은 체내에서 산화스트레스를 유발하는 것으로 알려져 있으며 노화의 대표적 원인이라 할 수 있다. 산화물 중 활성산소는 인체에 매우 독성이 강한 물질로써 생성과 동시에 superoxide의 저해물질인 superoxide dismutase(SOD)에 의해서 독성이 사라지는 것으로 알려져 있다. 따라서 천마와 하수오 분말을 이용한 발효에 의해 생성된 활성물질들에 의해 superoxide 라디칼 소거능이 증가한 것으로 판단된다.

[0085] 발효균 균사체를 발효시킨 천마와 하수오 약재에 대하여 발효균 균사체는 발효 배양 기간 동안 전반적으로 양호한 균사체 성장을 나타내었으며, 총 폴리페놀 및 DPPH radical 소거법, ABTS 라디칼 소거능, Superoxide 라디칼 소거능에 의한 항산화 기능은 발효전보다 크게 증가하였으며, 메탄올 추출물에서 보다 높게 나타났다.

[0086] **<실험예 2> 발효과정에서 ginsenoside의 함량변화**

[0087] 천마, 하수오 및 산양삼 분말에 대한 유산균 균주에 의한 발효시에 다양한 ginsenoside의 함량 변화를 조사하였다.

[0088] 먼저, 발효과정에서 ginsenoside Rb1의 함량분석을 실시한 결과 실시예 1의 약재는 3.15 mg/g에서 발효 10시간 후 2.19 mg/g으로, 20시간 후는 2.05 mg/g, 30시간 후에는 2.01 mg/g, 그리고 40시간 후에는 0.45 mg/g을 나타내었다. 발효과정에서 ginsenoside Rb2의 함량 분석을 실시한 결과, 실시예 1의 약재는 2.37 mg/g에서 발효 10시간 후 1.60 mg/g으로, 20시간 후는 1.59 mg/g, 30시간 후에는 1.49 mg/g, 그리고, 40시간 후에는 0.37 mg/g을 나타내었다. 발효과정에서 ginsenoside Rc의 함량 분석을 실시한 결과, 실시예 1의 약재는 1.98 mg/g에서 발효 10시간 후 1.60 mg/g으로, 20시간 후는 1.54 mg/g, 30시간 후에는 1.35 mg/g, 그리고 40시간 후에는 0.22 mg/g을 나타내었다. 발효과정에서 ginsenoside Rd의 함량 분석을 실시한 결과, 실시예 1의 약재는 0.93 mg/g에서 발효 10시간 후 0.91 mg/g으로, 20시간 후 0.90 mg/g, 30시간 후에는 0.86 mg/g, 그리고 40시간 후에는

0.36 ㎎/g을 나타내었는다. 이들 ginsenoside들은 모두 초기에는 감소하는 경향을 나타내다가 발효 말미에 급격한 감소를 나타내었다. 기타 ginsenoside Re, ginsenoside Rf, ginsenoside Rh1는 그 함량 변화가 크지 않았다.

[0089] 발효과정에서 ginsenoside Rg1의 함량분석을 실시한 결과 실시예 1의 약재는0.38 ㎎/g에서 발효 10시간 후 0.217 ㎎/g으로, 20시간 후는 0.26 ㎎/g, 30시간후에는 0.25 ㎎/g, 그리고 40시간 후에는 0.00 ㎎/g을 나타내어 발효 말미에 급격한 감소를 나타내어 분해과정에 의해 완전히 분해됨을 알 수 있었다.

[0090] 발효과정에서 ginsenoside Rg3의 함량분석을 실시한 결과 실시예 1의 약재는 0.12 ㎎/g에서 발효 10시간 후 0.16 ㎎/g으로, 20시간 후는 0..18 ㎎/g, 30시간후에는 0.20 ㎎/g, 그리고 40시간 후에는 0.31 ㎎/g을 나타내어 발효 말미에 급격한 함량의 증가를 나타내었다.

[0091] **<실험예 3> 관능실험**

[0092] 관능검사는 혼탁도, 잡냄새, 기호도로 구분하여 9 점 평정법을 이용하여 평가하였다. 연령과 성별을 고려하여 10 대 ~ 40 대 성인 남녀를 각각 연령대별로 10 명씩 총 40 명을 선발하였다. 그 결과를 하기 표 1에 기재하였다.

표 1

[0093]

구분	혼탁도	잡냄새	기호도	종합
실시예 1	8	9	9	8
실시예 2	9	8	9	9
실시예 3	9	8	8	8
비교예 2	2	3	2	2

[0094] * 관능 검사 수치(9 : 아주 좋음, 5 : 보통임 0 : 아주 나쁨)

[0095] 상기 표 1의 결과로 볼 때, 실시예 1~3은 약재와 설탕을 적절한 중량비로 발효액을 제조하였기 때문에 혼탁도와 낮으며, 잡냄새가 거의 나지 않아 기호도가 높음을 알 수 있었다.

[0096] 반면, 비교예 2의 경우에는 설탕을 포함하지 않고 발효액을 제조하였기 때문에 발효가 충분히 일어나지 않아 혼탁도가 높고, 잡냄새가 많이 나서 기호도가 현저히 떨어짐을 알 수 있었다.

[0097] 이상, 본 발명의 바람직한 실시예를 들어 상세하게 본 발명은 상기 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 기술적 사상의 범위 내에서 당 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 여러 가지 변형이 가능하다.

도면

도면1