



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0097889
(43) 공개일자 2023년07월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/33 (2006.01) G01N 21/31 (2006.01)
G01N 21/84 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 21/33 (2013.01)
G01N 21/314 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0187815
(22) 출원일자 2021년12월24일
심사청구일자 2021년12월24일

(71) 출원인
대한민국(농촌진흥청장)
전라북도 전주시 덕진구 농생명로 300 (중동)
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(72) 발명자
김남숙
전라북도 완주군 이서면 농생명로 166
김기영
전라북도 완주군 이서면 농생명로 166
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김순웅

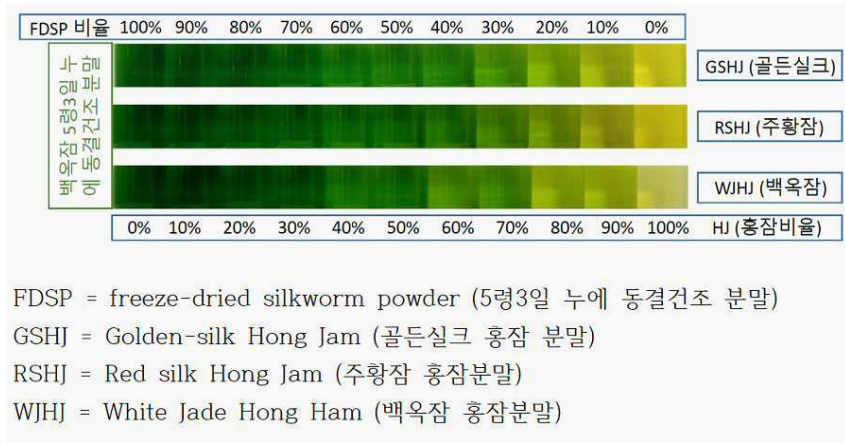
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 UV-VIS 분광광도계를 이용한 홍잠 내 비홍잠의 혼입 여부 판별방법

(57) 요약

본 발명은 UV-VIS 분광광도계를 이용한 홍잠 내 비홍잠의 혼입여부 판별 방법에 관한 것으로, 본 발명의 방법은 의심되는 홍잠 시료의 특정 영역에서의 흡수스펙트럼을 수집 및 분석하여, 신속하고 정확하게 비홍잠의 혼입 여부 및 수준 판별이 가능하므로, 순도가 높은 홍잠의 제조에 유용하게 사용할 수 있는 효과가 있다. 또한, 나아가 홍잠을 이용한 식품 중 허위 함량으로 표시한 홍잠 식품을 판별할 수 있어, 소비자가 신뢰할 수 있도록 안전한 식품의 유통 관리에 크게 기여할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 21/84 (2013.01)

G01N 2021/3155 (2013.01)

G01N 2201/1296 (2013.01)

(72) 발명자

강상국

전라북도 완주군 이서면 농생명로 166

김성완

전라북도 완주군 이서면 농생명로 166

주완택

전라북도 완주군 이서면 농생명로 166

박종우

전라북도 완주군 이서면 농생명로 166

차익섭

전라북도 완주군 이서면 농생명로 166

고영호

서울특별시 영등포구 버드나루로 55, 1005C호

김아영

서울특별시 영등포구 버드나루로 55, 1005E호

마이썬안린

서울특별시 영등포구 버드나루로 55, 1005E호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1395069285

과제번호 PJ015659032021

부처명 농촌진흥청

과제관리(전문)기관명 농촌진흥청

연구사업명 바이오그린연계농생명혁신기술개발

연구과제명 홍삼의 노인성 근감소증 예방 및 개선 효능의 소재화 기술 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 국립농업과학원

연구기간 2021.01.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

다음 단계를 포함하는, UV-VIS 분광광도계(ultraviolet-visible spectroscopy)를 이용한 홍잠 내 비홍잠의 혼입여부 판별방법:

- (a) 판별하고자 하는 목적시료 및 비교대조군인 100% 홍잠시료를 준비하는 단계;
- (b) 상기 각 시료를, 80 내지 100%(v/v) 메탄올, 80%(v/v) 에탄올 및 트리톤 X-100으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 추출하여 추출물을 제조하는 단계;
- (c) 상기 각 추출물의 상등액에서 UV-VIS 분광광도계로 흡광도를 측정하는 단계; 및
- (d) 상기 측정된 흡광도 결과 중 200 내지 425nm 파장, 200 내지 485nm 파장, 또는 550 내지 755nm 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 합을 산출하고, 이를 비교하여, 차이가 있을 경우, 비홍잠이 상기 목적시료 중에 혼입되어 있는 것으로 판별하는 단계.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 (b) 단계의 추출이 80%(v/v) 메탄올 또는 에탄올을 이용하여 수행되는 경우, (d) 단계의 판별은 200 내지 425nm 파장에서 수행되는 것인, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 (b) 단계의 추출이 100% 메탄올을 이용하여 수행되는 경우, (d) 단계의 판별은 200 내지 485nm 파장에서 수행되는 것인, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 (b) 단계의 추출이 트리톤 X-100을 이용하여 수행되는 경우, (d) 단계의 판별은 200 내지 485nm 파장 또는 550 내지 755nm 파장에서 수행되는 것인, 방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 (b) 단계의 추출은 트리톤 X-100을 이용하여 추출한 추출액을, -50℃ 내지 90℃에서 15 내지 60 분 동안 트리톤 X-100과 반응시키는 단계;를 추가로 포함하는 것인, 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 추출은 상온에서 2 내지 10분간 수행되는 것인, 방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 홍잠은 5령4일의 4면잠 누에부터 숙잠기까지의 누에 중에서 선택되는 견사단백질을 갖는 생누에를 55 내지 125℃의 온도에서 7분 내지 30시간 동안 물에 넣어 익히거나 또는 증기의 열로 익혀 제조한 것인, 방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 홍잠은 열풍건조 또는 진공동결건조물인 것인, 방법.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 누에는 백옥잠, 골든실크 및 주황잠으로 이루어진 군으로부터 선택된 누에품종인 것인, 방법.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 비홍잠은 5령3일 누에인, 방법.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 방법은 시료 내 2.5%중량 미만의 비홍잠의 혼입을 판별하는 것인, 방법.

청구항 12

다음 단계를 포함하는, UV-VIS 분광광도계(ultraviolet-visible spectroscopy)를 이용한 홍잠 내 비홍잠의 혼입여부 판별방법:

- (a) 판별하고자 하는 목적시료 및 비교대조군인 100% 홍잠시료를 준비하는 단계;
- (b) 상기 각 시료에, PEG200, PEG600, Tween 20, Tween 80, LFP-50P, Koremul pH4, CocoPG, CAPB 및 Bardap26로 이루어진 군에서 선택된 1 종의 계면활성제를 처리하는 단계;
- (c) 상기 계면활성제가 처리된 각 시료에서 UV-VIS 분광광도계로 흡광도를 측정하는 단계; 및
- (d) 상기 측정된 흡광도 결과 중 200 ~ 425nm 파장, 200 ~ 485nm 파장, 또는 550 ~ 755nm 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 합을 산출하고, 이를 비교하여, 차이가 있을 경우, 비홍잠이 상기 목적시료 중에 혼입되어 있는 것으로 판별하는 단계.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 (b) 단계 이후 난하이드린 발색 반응을 추가로 수행하는 단계;를 포함하는 것인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 UV-VIS 분광광도계를 이용한 홍잠 내 비홍잠의 혼입여부 판별방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 누에고치를 생산하는 양잠산업은 고조선시대부터 이어온 우리나라의 전통산업으로써 1970년대에는 연간 100만 상자 이상의 누에를 농가에서 사육하였으나, 경제발전과 고급 화학섬유의 영향으로 현재는 크게 위축된 상황이다. 이에, 현재의 양잠산업은 건조누에, 수번데기, 동충하초 등 건강기능식품원료를 생산하는 산업으로 전환하였는데, 그 중 농가의 주 생산품목은 5령3일 동결건조누에이다. 5령3일 동결건조누에를 이용하는 이유는 5령3일이 지나 5령 4일부터는 강도가 강한 견사단백질이 누에의 몸속에서 급속히 비대해져 식용으로 사용하기에 매우 어려워지기 때문이다. 견사단백질은 견사선의 형태로 누에 몸속에 저장되어 있다가 누에가 숙잠(grown-up silkworm; mature silkworm)이 되면 이 견사단백질을 뱉어내면서 실크의 원료인 누에고치를 짓게 된다.

[0004] 이처럼 식용가능한 시기를 지난 숙잠은 실크의 생산을 위한 용도로서 사용되는 것 이외에는 특별하게 이용되지 못하고 있었으나, 본 발명자들이 대한민국 등록특허 제10-1388455호와 대한민국 등록특허 제10-1546446호에서 처음으로 이러한 견사단백질이 함유된 누에를 가압 또는 상압 조건하에서 55 내지 125℃로 익혀 이를 피부개선용 화장품 조성물로서 개발한 바 있다. 또한, 익힌숙잠은 농촌진흥청이 대국민 공모를 통해서 “홍잠”으로 명명하였다. 최근 연구에 따르면 인간이 섭취할 수 있도록 가공된 홍잠은 다양한 기능성을 가지고 있음을 밝혀냈다.

[0005] 이러한 홍잠이 뛰어난 기능성을 가지기 위해서는 5령7일이나 8일 제의 숙잠을 이용하여 제조하여야 하나, 5령7일이나 8일까지 누에를 키우는 데에는 많은 노력이 필요하고, 5령3일 누에 동결건조 분말이 혼합될 가능성이 항상 존재하므로, 동결건조된 5령3일 누에가 홍잠에 포함되어 있는지를 확인할 수 있는 기술의 개발이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 이러한 상황에서, 본 발명자들은 5령3일 누에 동결건조 분말과 5령7일 이후의 숙잠으로 제조된 홍잠(익힌 숙잠) 분말의 혼합 여부를 판별할 수 있는 방법을 개발하기 위하여 예의 연구 노력하였다. 그 결과, UV/VIS 분광광도계를 이용한 판별방법을 개발하였으며, 이를 적용하여 의심되는 홍잠 시료의 특정 영역대에서의 흡수스펙트럼을 수집 및 분석한 경우, 신속하고 정확하게 비홍잠 시료의 혼입 여부 및 수준 판별이 가능한 것을 규명함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[0008] 따라서, 본 발명의 목적은 UV-VIS 분광광도계(ultraviolet-visible spectroscopy)를 이용한 판별방법을 제공하는 데 있다.

[0010] [선행기술문헌]

[0011] [특허문헌]

[0012] 대한민국 등록특허 제10-1388455호

과제의 해결 수단

[0014] 본 명세서에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다"

또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

- [0015] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 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 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0017] 이하, 본 발명에 대하여 보다 상세히 설명한다.
- [0019] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은, 다음 단계를 포함하는, UV-VIS 분광광도계(ultraviolet-visible spectroscopy)를 이용한 홍잠 내 비홍잠의 혼입여부 판별방법을 제공한다:
- [0020] (a) 판별하고자 하는 목적시료 및 비교대조군인 100% 홍잠시료를 준비하는 단계;
- [0021] (b) 상기 각 시료를, 80 내지 100%(v/v) 메탄올, 80%(v/v) 에탄올 및 트리톤 X-100으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상으로 추출하여 추출물을 제조하는 단계;
- [0022] (c) 상기 각 추출물의 상등액에서 UV-VIS 분광광도계로 흡광도를 측정하는 단계; 및
- [0023] (d) 상기 측정된 흡광도 결과 중 200 내지 425nm 파장, 200 내지 485nm 파장, 또는 550 내지 755nm 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 합을 산출하고, 이를 비교하여, 차이가 있을 경우, 비홍잠이 상기 목적시료 중에 혼입되어 있는 것으로 판별하는 단계.
- [0024] 본 발명에 있어서, 상기 (b) 단계의 추출이 80%(v/v) 메탄올 또는 에탄올을 이용하여 수행되는 경우, (d) 단계의 판별은 200 내지 425nm 파장에서 수행된다.
- [0025] 또한, 상기 (b) 단계의 추출이 100% 메탄올을 이용하여 수행되는 경우, (d) 단계의 판별은 200 내지 485nm 파장에서 수행된다.
- [0026] 또한, 상기 (b) 단계의 추출이 트리톤 X-100을 이용하여 수행되는 경우, (d) 단계의 판별은 200 내지 485nm 파장 또는 550 내지 755nm 파장에서 수행된다.
- [0027] 즉, 상기 판별하고자 하는 시료를 특정 용매로 추출하고 이의 상등액의 흡광도를 측정하게 되면, 결과물인 추출물 상등액 내 성분 함량 차이로 흡수 파장이 변화하거나, 흡광도의 증감을 유발하게 된다. 홍잠 내 비홍잠의 함유 정도는 측정하고자 하는 시료 중 비홍잠의 농도와 비례하게 되므로, 상기 추출물 상등액의 흡광도를 측정하여 비교함으로써, 시료 중 비홍잠의 혼입(함유, 혼합) 여부 및/또는 수준을 측정할 수 있게 된다.
- [0028] 보다 구체적으로, 상기 측정된 흡광도 결과 중 200 내지 425nm 파장, 200 내지 485nm 파장, 또는 550 내지 755nm 파장에서 '각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 합을 산출' 하는 것은, 해당 파장의 흡광 스펙트럼의 면적을 구하는 것을 의미하며, 이를 비교하여, 판별하고자 하는 목적시료의 흡광도 합 값과 비교대조군인 100% 홍잠시료 흡광도 합 값에 차이가 있을 경우, 비홍잠이 상기 목적시료 중에 혼입되어 있는 지 여부 뿐만 아니라, 2.5%중량 미만의 낮은 함량으로 혼입되어 있는 수준까지 판별할 수 있는 것을 특징으로 한다.
- [0029] 즉, 상술한 특정 파장대의 흡광도 합을 측정함으로써, 홍잠 내 비홍잠의 혼입을 정성 및 정량적으로 식별할 수 있는 방법을 제공한다.
- [0030] 일 구현 예에 따르면, 상기 흡광도를 측정하는 단계는 용매에 따라 200 내지 425nm 파장, 200 내지 485nm 파장, 또는 550 내지 755nm 영역대의 흡광을 측정하는 것일 수 있다.
- [0031] 상기 흡광 측정을 가능하게 하는 흡광도 측정장치에는 제한이 없으나, 현장에서의 즉각적 식별이 가능하다는 측면을 고려해 볼 때, 이동식 UV-VIS 분광광도계가 바람직하다.
- [0032] 또한, 상기 (b) 단계의 추출은 트리톤 X-100을 이용하여 추출한 추출액을, -50℃ 내지 90℃에서 15 내지 60 분 동안 추가적으로 트리톤 X-100과 반응시키는 단계를 포함할 수 있다.

- [0033] 본 발명의 (b) 단계의 추출은 상온에서 2 내지 10분간 수행될 수 있으며, 본 발명의 목적을 달성할 수 있는 한, 이에 제한되지 않는다.
- [0034] 본 발명의 일 실시 예에 따르면, 바람직하게는,
- [0035] 80% 메탄올 및 에탄올을 이용하여 홍잠 시료를 추출하고, 이의 상등액의 흡광도를 UV-VIS 분광광도계로 측정하는 경우, 320-365nm에서 차이가 나타났고, 200-425nm 파장에서의 흡광도의 합이 차이가 나타났고;
- [0036] 또한, 0.5% Triton X-100 용액을 이용하여 상온에서 3분 동안 홍잠 시료를 추출하고, 이의 상등액의 흡광도를 UV-VIS 분광광도계로 측정하는 경우, 320-410nm에서 차이가 나타났고, 200-485nm 파장에서의 흡광도의 합이 차이가 나타났고;
- [0037] 또한, 0.5% Triton X-100 용액을 이용하여 상온에서 3분 동안 홍잠 시료를 추출하고, 상온 조건하에서 15분 또는 30분 동안 인큐베이션시킨 후 이의 상등액의 흡광도를 UV-VIS 분광광도계로 측정하는 경우, 320-395nm에서 차이가 나타났고;
- [0038] 또한, 0.5% Triton X-100 용액을 이용하여 상온에서 3분 동안 홍잠 시료를 추출하고, 60℃ 조건하에서 15분 또는 30분 동안 인큐베이션시킨 후 이의 상등액의 흡광도를 UV-VIS 분광광도계로 측정하는 경우, 320-410nm에서 차이가 나타났고;
- [0039] 또한, 0.5% Triton X-100 용액을 이용하여 상온에서 3분 동안 홍잠 시료를 추출하고, 80℃ 조건하에서 15분 또는 30분 동안 인큐베이션시킨 후 이의 상등액의 흡광도를 UV-VIS 분광광도계로 측정하는 경우, 320-365nm에서 차이가 나타났고;
- [0040] 또한, 0.5% Triton X-100 용액을 이용하여 상온에서 3분 동안 홍잠 시료를 추출하고, -50℃ 조건하에서 15분, 30분 또는 60분 동안 인큐베이션시킨 후 이의 상등액의 흡광도를 UV-VIS 분광광도계로 측정하는 경우, 320-365nm에서 차이가 나타났고;
- [0041] 또한, 0.5% Triton X-100 용액을 이용하여 상온에서 3분 동안 홍잠 시료를 추출하고, 브래드포드와 반응시킨 후 흡광도를 UV-VIS 분광광도계로 측정하는 경우, 560-650nm에서 차이가 나타났고;
- [0042] 또한, 다양한 계면활성제 처리시 특정 계면활성제로 처리한 경우에만 320-380nm에서 차이가 나타났다.
- [0043] 즉, 본 발명의 실시 예에 따르면, 특정 추출용매를 이용하여 시료(홍잠) 추출액을 제조하고, 이의 상등액의 흡광도를 측정한 후, 100% 홍잠 시료의 흡광도 값과 비교한 결과, 특정 파장대에서 흡광도의 차이가 나타나는 것을 확인하였다.
- [0044] 따라서, 본 발명의 UV-VIS 분광광도계를 이용한 판별방법은 판별이 어려운 홍잠 시료의 특정 영역대에서의 흡수 스펙트럼을 수집 및 분석함으로써, 신속하고 정확하게 홍잠의 순도 판별이 가능함을 의미한다.
- [0045] 본 발명의 홍잠은 생누에를 물에 넣어 익히거나 또는 증기의 열로 익혀 제조한 것으로서, 견사단백질이 모두 함유된 상태로 식이용으로 섭취가능한 것이 특징이다. 본 명세서에서 홍잠을 언급하면서 사용되는 단어 "익힌 숙잠"은 명세서 내에서 홍잠과 혼용된다.
- [0046] 기존에는 식용하지 못하고 견사 생성용 누에고치를 만들기 위해 사육하는 것 이외에는 별다른 용도가 없었던 견사단백질을 갖는 누에를 익혀 견사단백질이 함유된 섭취할 수 있는 식이용 상태로 가공한 홍잠의 뛰어난 기능성을 유지시키기 위해서는, 5령7일이나 8일 쯤의 숙잠을 이용하여 제조하여야 하나, 이러한 제조 과정에서 5령3일 누에 동결건조 분말이 혼합될 수 있다.
- [0047] 한편, 당업계에는 누에의 각 시기별에 있어서 생 것일 때와 이를 익혔을 때의 함유하고 있는 성분의 함량이 다르다는 것이 공지되어 있다. 따라서, 이를 기반으로 홍잠과 비홍잠 간에는 상이한 이화학적 특징을 확인함으로써, 홍잠에 비홍잠이 포함되어 있는지를 판별할 수 있다는 점에서 본 발명이 의의가 있다.
- [0048] 본 명세서에서, 상기 견사단백질을 포함하고 있는 익힌 누에가공물인 익힌 숙잠(홍잠)은, 3면잠, 4면잠 등의 모든 누에를 익힌 과정을 통해 제조한 것을 의미하며, 바람직하게는 누에 중 5령4일의 4면잠 누에부터 숙잠기까지의 누에 중 어느 하나 이상을 선택하여 사용할 수 있으며, 더 바람직하게는 숙잠기의 누에를 사용하는 것이 가장 좋다. 5령3일의 누에도 사용할 수는 있으나 5령4일 이후의 누에에 비해서 누에가 갖는 견사단백질이 적은 편이기 때문에 홍잠으로서의 효능을 충분히 발휘하지 못할 우려가 있다. 따라서, 본 발명의 발명에 따르면, 시료에 5령3일의 비홍잠이 혼입되었는지 여부를 판별하여 5령4일의 4면잠 누에부터 숙잠기까지의 누에로만 제조된

순도 높은 홍잠을 제공할 수 있도록 한다.

- [0049] 한편, 숙잠기의 누에라 함은 누에 몸속에 견사단백질이 가득 차 있는 누에로서 고치를 짓기 전까지의 누에를 의미하는 것으로써, 숙잠기의 누에는 누에똥이 대부분 배출되어 있기 때문에 약화 조성물 또는 식품조성물(건강기능식품)의 유효성분으로 사용하기에 가장 적합하다.
- [0050] 상기 홍잠은 5령4일의 4면잠 누에부터 숙잠기까지의 누에 중에서 선택되는 생누에를 55 내지 125℃의 온도에서 7분 내지 30 시간 동안 물에 넣어 익히거나 또는 증기의 열로 익혀 제조할 수 있으며, 바람직하게는 상기 누에를 80 내지 125℃의 증기의 열로 100 내지 150분(예컨대, 130분) 동안 익혀 견사단백질이 모두 함유되도록 제조하는 것이 특징이다. 즉, 80℃ 미만의 증기 열로 150분을 초과하여 제조할 경우에는 제조시간이 너무 길어 오히려 견사단백질이 포함된 누에 자체가 갖고 있는 유효성분들이 파괴될 우려가 있으며, 125℃를 초과하여 100분 미만으로 제조할 경우에는 온도가 너무 높아 이 또한, 견사단백질이 포함된 누에 자체가 갖고 있는 유효성분들에 악영향을 미칠 우려가 있기 때문이다.
- [0051] 이러한, 상기 익힌 과정 후에는 통상의 방법으로 건조하여 분말형태로 제조하여 사용할 수 있으며, 바람직하게는 열풍건조 또는 진공동결건조 중 선택된 어느 하나를 통해 건조시켜 분말화하는 것이 좋으며, 유효성분의 손실을 최소화하기 위해서는 진공동결건조 방법이 가장 적합하다.
- [0052] 따라서, 본 발명의 홍잠은 열풍건조 또는 진공동결건조될 수 있다.
- [0053] 상기 분말화는 가정용 믹서기, 해머밀, 롤러밀, 에어제트밀(동결분쇄) 등 어떠한 방법을 사용해도 무관하지만, 시료유실의 최소화, 성분 왜곡현상 방지 및 미세분말화를 위해서는 롤러밀에 의한 방법이 좋다. 보통 가정용 믹서기나 해머밀로 분쇄하면 분말입자의 크기가 0.1mm 정도 이하로 분쇄하기가 매우 어려운데 비하여, 롤러밀로 수차례 반복 분쇄하면 분말화된 입자의 크기가 평균 10 μ m 정도까지 미세분말화가 가능하여 유리하게 작용할 것으로 예상된다.
- [0054] 상기 누에는 백옥잠, 골든실크 및 주황잠으로 이루어진 군으로부터 선택된 누에품종이나, 본 발명의 목적을 달성할 수 있는 한, 이에 제한되지 않는다.
- [0055] 본 발명에 있어서, 비홍잠이란, 홍잠 제조에 적합하지 않은 누에를 의미하며, 바람직하게는, 5령3일 누에일 수 있다. 본 발명의 방법에 따르면, 상기 시료 내 2.5%중량 미만으로 혼입된 비홍잠의 존재 여부를 판별할 수 있어 5령4일의 4면잠 누에부터 숙잠기까지의 누에로만 제조된 우수한 품질의 홍잠을 제공할 수 있다.
- [0057] 또한, 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 다음 단계를 포함하는, UV-VIS 분광광도계(ultraviolet-visible spectroscopy)를 이용한 홍잠 내 비홍잠의 혼입여부 판별방법을 제공한다:
- [0058] (a) 판별하고자 하는 목적시료 및 비교대조군인 100% 홍잠시료를 준비하는 단계;
- [0059] (b) 상기 각 시료에, PEG200, PEG600, Tween 20, Tween 80, LFP-50P, Koremul pH4, CocoPG, CAPB 및 Bardap26로 이루어진 군에서 선택된 1 종의 계면활성제를 처리하는 단계;
- [0060] (c) 상기 계면활성제가 처리된 각 시료에서 UV-VIS 분광광도계로 흡광도를 측정하는 단계; 및
- [0061] (d) 상기 측정된 흡광도 결과 중 200 내지 425nm 파장, 200 내지 485nm 파장, 또는 550 내지 755nm 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 합을 산출하고, 이를 비교하여, 차이가 있을 경우, 비홍잠이 상기 목적시료 중에 혼입되어 있는 것으로 판별하는 단계.
- [0062] 상기 방법은 상기 (b) 단계 이후 닐하이드린 발색 반응을 추가로 수행하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0063] 즉, 닐하이드린과 반응시켜 발색하게 하고, 상기 색을 흡광도 측정 장치를 이용하여 흡광도를 측정함으로써, 홍잠 내 비홍잠의 혼입여부를 정성 및 정량적으로 식별할 수 있는 방법을 제공한다.
- [0064] 본 발명의 목적을 달성할 수 있는 한, 본 발명에 따른 시료와 반응하는 닐하이드린의 농도는 특별히 한정되지 않는다.
- [0066] 종합적으로, 본 발명은, 새로운 형태의 식의약품 원료인 홍잠 내에 함유된 비홍잠의 존재 여부(혼입, 혼합), 즉, 홍잠의 순도를 판별할 수 있다는 것을 최초로 규명한 것으로서, 본 방법을 이용하는 경우, 고순도로 포함된

홍잠의 활용도 창출 및 고부가가치화로 양잠산업 및 농업 발전에 기여하는 효과가 클 것으로 기대된다.

발명의 효과

[0068]

본 발명의 UV-VIS 분광광도계를 이용한 홍잠 내 비홍잠의 혼입여부 판별방법은 의심되는 홍잠 시료의 특정 영역 대에서의 흡수스펙트럼을 수집 및 분석하여, 신속하고 정확하게 비홍잠의 혼입 여부 및 수준 판별이 가능하므로, 순도가 높은 홍잠의 제조에 유용하게 사용할 수 있는 효과가 있다. 또한, 나아가 홍잠을 이용한 식품 중 허위 함량으로 표시한 홍잠 식품을 판별할 수 있어, 소비자가 신뢰할 수 있도록 안전한 식품의 유통 관리에 크게 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0070]

도 1은 3품종 누에로 제조된 홍잠과 5령3일 누에의 동결건조 분말의 혼합비율에 따른 80% MeOH 추출 용액들의 색상 변화를 보여준다.

도 2는 80% MeOH에 추출된 3품종 홍잠과 5령3일 누에 동결건조 분말의 혼합물에 대한 200 내지 800 nm에서의 흡광도 측정 결과를 보여준다.

도 3은 90 내지 100%의 홍잠과 2.5 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 혼합물을 80% MeOH로 상온에서 3분간 추출한 추출액의 색상 변화를 보여준다.

도 4는 90 내지 100%의 3품종의 홍잠과 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함하는 혼합물들을 상온에서 3분간 80% MeOH로 추출한 추출액에 대한 200 ~ 800 nm에서의 흡광도의 변화를 보여준다.

도 5는 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 80% EtOH로 추출한 추출액의 색상변화를 보여준다.

도 6은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 3품종의 홍잠을 상온에서 3분간 80% EtOH로 추출한 추출액에 대한 200 내지 800 nm에서의 흡광도의 변화를 보여준다.

도 7은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 100% MeOH로 추출한 추출액의 색상변화를 보여준다.

도 8은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 100% MeOH로 추출한 추출액의 흡광도 변화를 보여준다.

도 9는 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 100% EtOH로 추출한 추출액의 색상변화를 보여준다.

도 10은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 100% EtOH로 추출한 추출액의 흡광도변화를 보여준다.

도 11은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액의 색상변화를 보여준다.

도 12는 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액의 흡광도변화를 보여준다.

도 13은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 60℃에서 15분과 30분간 반응을 시킨 후의 색상변화를 보여준다.

도 14는 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 60℃에서 15분과 30분간 반응을 시킨 후의 흡광도변화를 보여준다.

도 15는 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 상온에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화를 보여준다.

도 16은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 상온에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화를 보여준다.

도 17은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 80℃에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화를 보여준다.

도 18은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 80℃에서 15분과 30분과 60분간 반응을 시킨 후의 색상변화를 보여준다.

도 19는 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 -50℃에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화를 보여준다.

도 20은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 -50℃에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화를 보여준다.

도 21은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 3품종홍잠들을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 Bradford 용액과 혼합 반응시킨 후 색상변화를 보여준다.

도 22는 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ 혼합물의 추출액에 다양한 detergent를 사용하였을 경우의 추출물의 색상변화를 보여준다.

도 23은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ 혼합물의 추출액에 다양한 detergent를 사용하였을 경우의 추출물의 색상변화를 보여준다.

도 24는 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ에서 여러 종류의 detergent를 사용한 추출물에 Ninhydrin 반응 후의 색상변화를 보여준다.

도 25는 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ에서 0.5% Triton X-100 (TX-100)으로 추출한 추출액에 다양한 종류의 발색 용액을 처리한 경우 흡광도 변화를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0071] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0073] 시료 및 실험방법

[0074] 5령3일 동결건조 누에 제조 방법

[0075] 백옥잠 누에를 5령3일 까지 뿔잎으로 사육하여 세척 후 바로 급속냉동하였다. 동결된 5령3일 누에는 동결건조기를 이용하여 건조를 완료한 후, 분쇄하여 5령3일 누에 동결건조 분말(FDSP, freeze-dried silkworm powder) 시료를 준비하였다.

[0077] 홍잠(익힌 숙잠) 제조 방법

[0078] 백옥잠, 골든실크, 주황잠을 숙잠(5령7일~8일)까지 뿔잎으로 사육하여 세척 후 압력이 걸리지 않는 찢기를 활용하여 100℃에서 130분간 찢서 익힌 후, 급속냉동하였다. 급속 냉동된 익힌 숙잠들은 동결건조기를 이용하여 수분을 제거하여 건조를 진행한 후 분말화시켜, 익힌 숙잠(홍잠) 동결건조 분말(steamed mature silkworm powder)을 준비하였고, 본 실시예에 이용된 다음과 같이 명명하였다:

[0079] GSHJ = Golden-silk Hong Jam (골든실크 홍잠 분말)

[0080] RSHJ = Red silk Hong Jam (주황잠 홍잠분말)

[0081] WJHJ = White Jade Hong Ham (백옥잠 홍잠분말).

[0083] 3품종 홍잠과 5령3일 누에 동결건조 분말의 혼합물 추출액 제조 및 분광광도계 이용 측정법

[0084] 10%에서 90%까지의 비율로 홍잠에 포함된 5령3일 누에 동결건조분말 확인 방법

[0085] 3종류의 다른 품종의 숙잠으로 제조된 홍잠과 백옥잠으로 제조된 5령3일 누에 동결건조물을 100%:0% 비율에서 10% 간격으로 0%:100% 비율까지 무게의 비를 이용하여 혼합하였다. 홍잠과 5령3일 동결건조 누에 분말 혼합물들은 무게의 9배에 달하는 양의 80% methanol (MeOH)용액을 첨가해준 후, 37℃ 항온 수조에서 교반하면서 1시간 동안 추출하였다. 추출된 용액들은 상온에서 3000 rpm에서 10분간 침전을 시킨 후, 상등액을 확보하였다. 확보된 상등액들은 눈으로 색깔의 차이가 명확하게 나타났다. 상등액을 200 ~ 800 nm까지 15 nm의 차이로 흡광도를 측정하였다. 회석을 진행하지 않은 추출 원액들은 흡광도가 너무 높아서 80% MeOH를 이용하여 1:10으로 희석을 한 후 흡광도를 Thermo Fischer Multiskan Go를 이용하여 진행하였다. 각각의 추출용액들의 흡광도에서 80% MeOH의 흡광도를 뺀 값을 용액의 흡광도로 계산을 한 후, 그래프로 나타냈다.

[0086] UV/VIS 분광광도계(ultraviolet-visible spectroscopy) 분석조건은 하기 표 1과 같다.

표 1

[0088] 96 well plate UV/VIS 분광광도계 분석조건 (Multiskan Go, Thermo-Fisher Scientific)

분석 조건	25℃
측정 파장 영역대	200 ~ 800 nm
파장 Resolution	15nm
흡광도(absorption) 영역/resolution	0 ~ 4.0./0.003
UV/VIS spectrometer용 96 well plates	85.4 mm x 126.6 mm

[0090] 2.5%에서 10% 까지의 비율로 혼합된 5령3일 누에 동결건조 분말 확인 방법

[0091] 10% 이상의 5령3일 누에 동결건조분말을 포함한 경우에는 80% MeOH의 추출액의 색깔만으로도 혼입여부를 확인할 수 있기에 10% 미만의 5령3일 누에 동결건조분말의 혼입여부를 확인할 수 있는 방법을 추가적으로 개발하였다. 현장에서 활용 가능하게 80% MeOH를 90% ~ 100%의 홍잠과 0 ~ 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말의 혼합물에 무게의 9배에 해당하는 부피로 넣어 준 후 상온에서 3분간 교반을 시켜서 추출을 진행한 후, 용액을 5분간 세워 두어서 혼합물을 침전시킨 후, 상등액을 이용하여 색깔 변화에 대한 관찰과 200 ~ 800 nm에서의 흡광도의 변화를 측정하였다.

[0093] 최적의 추출용액 개발

[0094] 최적의 추출 용액을 개발하기 위하여, 다음과 같은 각각의 다양한 용액으로 상온에서 3분간 추출하고, 5분간 안정화시킨 후, 이의 상등액을 이용하여 흡광도를 측정하였다:

[0095] 100% MeOH, 80% Ethanol (EtOH), 100% EtOH, 0.5% Triton X-100 용액, Bradford 단백질 정량 용액, 0.5% PEG 200 용액, 0.5% PEG600 용액, 0.5% Tween 20 용액, 0.5% Tween 80 용액, 0.5% LFP-50P 용액, 0.5% Koremul-pH4 용액, 0.5% CocoPG 용액, 0.5% CAPB 용액, 0.5% Bardap26 용액 등을 사용하여 추출을 진행하였다.

[0097] 닐하이드린 아미노산 반응 발색 반응 (ninhydrin reactioin)을 이용한 흡광도 변화 측정

[0098] 0.5% PEG 200 용액, 0.5% PEG600 용액, 0.5% Tween 20 용액, 0.5% Tween 80 용액, 0.5% LFP-50P 용액, 0.5% Koremul-pH4 용액, 0.5% CocoPG 용액, 0.5% CAPB 용액, 0.5% Bardap26 용액 등으로 추출된 추출액에 ninhydrin

reaction을 한 후, 흡광도 변화를 위에 언급한 방법을 이용하여 측정하였다.

- [0100] 식물유래 화합물 측정 방법인 추정 색상 테스트 (presumptive color test)를 이용한 흡광도 변화 측정
- [0101] 홍삼과 5령3일 누에 동결건조 분말의 0.5% Triton X-100의 추출액이 가장 뛰어난 분별효과를 보여주었다. 이에 0.5% Triton X-100 추출액에 식물유래 화합물의 측정에 사용되는 presumptive color test를 수행하여 혼합비율에 따른 추출액의 색상 차이를 더 손쉽게 구별을 할 수 있는지에 대한 연구를 진행하였다. 연구에 사용된 presumptive color test는 Chen test, Cobalt test, Froehde test, Liebermann test, Mandelin test, Mecke test, Marquis test, Zwikker test, Simon test, Dille-Koppanyi test, Dragnodoff test, Biuret test 등 이다.
- [0103] **실시에 1. 3품종 누에로 제조된 홍삼과 5령3일 누에의 동결건조 분말의 혼합비율에 따른 80% MeOH 추출용액들의 색상변화**
- [0104] 본 발명자들은 3품종 누에로 제조된 홍삼과 5령3일 누에의 동결건조 분말의 혼합비율에 따른 80% MeOH 추출 용액들의 색상 변화를 측정하였다.
- [0105] 그 결과, 도 1에 나타낸 바와 같이, 홍삼과 5령3일 누에 동결건조 분말의 비율을 10% 단위로 100%에서 0%까지 변화시킨 후, 80% MeOH를 이용하여 37℃에서 1시간 동안 추출한 추출물의 색상변화를 확인한 결과, 100% 5령3일 누에 동결건조분말의 경우는 진녹색의 추출물이 관찰되었고 100% 홍삼의 경우는 품종에 따라서 차이는 있었지만 연한 노랑색의 추출물이 관찰되었다. 70~90%의 5령3일 누에 동결건조 추출물을 포함한 추출물까지 진녹색이 관찰이 되다가 홍삼의 비율이 높아질 수록 명록색을 거쳐서 30%에서는 연두색이 관찰되었다. 또한, 20%에서는 연한 연두색을 거친 후, 10%에서는 연한 연두색과 금모래색의 중간 정도의 색깔을 띠고 있었다. 백옥잠 홍삼의 추출물들이 가장 연한 금모래색을 띠고 있었다.
- [0106] 즉, 추출물의 색깔 만으로도 90 ~ 10%의 5령3일 누에의 포함여부를 확인 할 수 있었다.
- [0108] **실시에 2. 80% MeOH에 추출된 3품종 홍삼과 5령3일 누에 동결건조 분말의 혼합물에 대한 200 내지 800 nm에서의 흡광도 측정**
- [0109] 본 발명자들은 80% MeOH에 추출된 3품종 홍삼과 5령3일 누에 동결건조 분말의 혼합물에 대한 200 내지 800 nm에서의 흡광도를 측정하였다.
- [0110] 골든실크와 주황잠과 백옥잠으로 제조된 홍삼과 5령3일 누에 동결건조 분말을 100%에서부터 10%의 비율 차이로 혼합비율을 달리하는 혼합물을 제조한 후 80% MeOH로 37℃에서 1시간 동안 추출한 용액을 80% MeOH를 이용하여 1/10으로 희석한 후 200 내지 800 nm에서의 흡광도의 변화를 비교하였다. 80% MeOH의 흡광도를 측정하여 보정한 후의 각각의 추출액의 흡광도를 측정하였다.
- [0111] 그 결과, 도 2에 나타낸 바와 같이, 골든실크홍삼(GSHJ)과 5령3일 누에 동결건조 분말 혼합물(FDSP)의 추출물의 흡광도 변화를 보면 5령3일 누에 동결건조 분말의 비율이 높을수록 275 ~ 365 nm에서의 흡광도의 차이가 가장 크게 관찰되었다(도 2A). 또한, 주황잠 홍삼(RSHJ)과 5령3일 누에 동결건조 분말 혼합물의 추출물의 흡광도 변화를 보면 5령3일 누에 동결건조 분말의 비율이 높을수록 275 ~ 350 nm에서의 흡광도의 차이가 가장 크게 관찰되었다(도 2B). 또한, 백옥잠 홍삼(WJHJ)과 5령3일 누에 동결건조 분말 혼합물의 추출물의 흡광도 변화를 보면 5령3일 누에 동결건조 분말의 비율이 높을수록 275 ~ 380 nm에서의 흡광도의 차이가 가장 크게 관찰되었다(도 2C). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발을 하였다. 구체적으로 측정된 흡광도 결과 중 200 ~ 425 nm까지의 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 값을 산출하여 시료 간에 비교를 수행하였으며, 3종의 홍삼을 100% 포함한 시료의 경우 흡광도가 GSHJ은 2.3 ± 0.05 , RSHJ은 2.5 ± 0.13 , WJHJ은 2.1 ± 0.11 로서 10%의 FDSP를 포함한 90% 홍삼 시료 보다 37.81 ~ 42.10% 낮게 나타났다. FDSP의 경우는 3종의 홍삼시료 보다 3.48 ~ 4.43배 높은 흡광도를 보여주었다. 이 결과는 비홍삼의 비율이 10% 미만으로 포함되는 경우로 홍삼의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 2.0 ~ 2.8 범위에 존재를 하면 됨을 보여준다.

- [0113] 실시예 3. 90 내지 100%의 홍삼과 2.5 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 혼합물을 80% MeOH로 상온에서 3분간 추출한 추출액의 색상 변화
- [0114] 본 발명자들은 90 내지 100%의 홍삼과 2.5 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 혼합물을 80% MeOH로 상온에서 3분간 추출한 추출액의 색상 변화를 확인하였다.
- [0115] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 육안으로 보면 5%의 조성 비율에 차이가 있는 경우, 색상이 분별이 가능하였지만, 2.5% 조성 비율 차이에서는 분별이 어려웠다.
- [0117] 실시예 4. 90 내지 100%의 3품종의 홍삼과 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함하는 혼합물들을 상온에서 3분간 80% MeOH로 추출한 추출액에 대한 200 ~ 800 nm에서의 흡광도의 변화
- [0118] 본 발명자들은 90 내지 100%의 3품종의 홍삼과 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함하는 혼합물들을 상온에서 3분간 80% MeOH로 추출한 추출액에 대한 200 ~ 800 nm에서의 흡광도의 변화를 확인하였다.
- [0119] 도 4에 나타난 바와 같이, 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함하는 골든실크홍삼(GSHJ) 혼합물의 추출액의 흡광도 변화를 측정한 결과를 보면, 320 ~ 365 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 흡광도변화를 이용하면 2.5%의 혼합비율 차이도 측정 가능하였다(도 4A). 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함하는 주황삼 홍삼(RSHJ) 혼합물의 추출액의 흡광도 변화를 측정한 결과를 보면, 320 내지 365 nm에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 흡광도 변화를 이용하면 2.5%의 혼합비율 차이도 측정 가능하였다(도 4B). 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함하는 백옥삼 홍삼(WJHJ) 혼합물의 추출액의 흡광도 변화를 측정한 결과를 보면, 320 ~ 365 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 흡광도 변화를 이용하면 2.5%의 혼합비율 차이도 측정 가능하였다(도 4C). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발을 하였다. 구체적으로 측정된 흡광도 결과 중 200 ~ 425 nm까지의 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 값을 산출하여 시료 간에 비교를 수행하였으며, 3종의 홍삼을 100% 포함 한 시료의 경우 흡광도가 GSHJ는 $6.8 + 0.09$, RSHJ는 $6.1 + 0.06$, WJHJ는 $6.2 + 0.07$ 로서 2.5%의 FDSP를 포함한 97.5% 홍삼 시료 보다 8.11 ~ 12.90% 낮게 나타났다. 이 결과는 비홍삼의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍삼의 품질을 판명하는 경우 GSHJ의 경우는 흡광도가 6.4 ~ 7.2, RSHJ의 경우는 5.7 ~ 6.5, WJHJ의 경우는 5.8 ~ 6.6의 범위에 존재를 하면 됨을 보여준다.
- [0121] 실시예 5. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍삼을 상온에서 3분간 80% EtOH로 추출한 추출액의 색상변화
- [0122] 본 발명자들은, 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍삼을 상온에서 3분간 80% EtOH로 추출한 추출액의 색상변화를 확인하였다.
- [0123] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 육안으로 보면 5%의 홍삼비율에 차이가 있는 경우, 색상이 분별이 가능하였지만, 2.5% 차이에서는 분별이 어려웠다.
- [0125] 실시예 6. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 3품종의 홍삼을 상온에서 3분간 80% EtOH로 추출한 추출액에 대한 200 내지 800 nm에서의 흡광도의 변화
- [0126] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 3품종의 홍삼을 상온에서 3분간 80% EtOH로 추출한 추출액에 대한 200 내지 800 nm에서의 흡광도의 변화를 확인하였다.
- [0127] 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, 5령3일 누에 동결건조 분말 포함 GSHJ 혼합물들의 80% EtOH 추출물의 흡광도를 보면 320 ~ 365 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 측정 가능하였다(도 6A). 5령3일 누에 동결건조 분말 포함 RSHJ 혼합물들의 80% EtOH 추출물의 흡광도를 보면 320 ~ 365 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 측정 가능하였다(도 6B). 5령3일 누에 동결건조 분말 포함 WJHJ 혼합물들의 80% EtOH 추출물의 흡광도를 보면 320 ~ 365 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 측정 가능하였다(도 6C). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발을 하였다. 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 3종의 홍삼을 100% 포함 한 시료의 경우 흡광도가 GSHJ는 $6.3 + 0.04$,

RSHJ는 $6.9 + 0.08$, WJHJ는 $6.7 + 0.12$ 로서 2.5%의 FDSP를 포함한 97.5% 홍잡 시료 보다 5.65% ~ 11.6% 낮게 나타났다. 이 결과는 비홍잡의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잡의 품질을 판명하는 경우 GSHJ의 경우는 흡광도가 6.1 ~ 6.7, RSHJ의 경우는 6.6 ~ 7.2, WJHJ의 경우는 6.4 ~ 7.0의 범위에 존재를 하면 됨을 보여준다.

- [0129] 실시예 7. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잡을 상온에서 3분간 100% MeOH로 추출한 추출액의 색상변화
- [0130] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잡을 상온에서 3분간 100% MeOH로 추출한 추출액의 색상변화를 확인하였다.
- [0131] 그 결과, 도 7에 나타난 바와 같이, 육안으로 보면 5%의 홍잡비율에 차이가 있는 경우, 색상이 분별이 가능하였지만, 2.5% 차이에서는 분별이 어려웠다.
- [0133] 실시예 8. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잡을 상온에서 3분간 100% MeOH로 추출한 추출액의 흡광도 변화
- [0134] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잡을 상온에서 3분간 100% MeOH로 추출한 추출액의 흡광도 변화를 확인하였다.
- [0135] 그 결과, 도 8에 나타난 바와 같이, 5령3일 누에 동결건조 분말 포함 GSHJ 혼합물들의 100% MeOH 추출물의 흡광도를 보면 290 ~ 440 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 명확하게 구분 가능하였다(도 8A). 5령3일 누에 동결건조 분말 포함 RSHJ 혼합물들의 100% MeOH 추출물의 흡광도를 보면 290 ~ 440 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 명확하게 구분 가능하였다(도 8B). 5령3일 누에 동결건조 분말 포함 WJHJ 혼합물들의 100% MeOH 추출물의 흡광도를 보면 290 ~ 440 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 명확하게 구분 가능하였다(도 8C). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발을 하였다. 구체적으로 측정된 흡광도 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 값을 산출하여 시료 간에 비교를 수행하였으며, 3종의 홍잡을 100% 포함 한 시료의 경우 흡광도가 GSHJ는 $4.9 + 0.10$, RSHJ는 $7.0 + 0.26$, WJHJ는 $5.4 + 0.45$ 로서 2.5%의 FDSP를 포함한 97.5% 홍잡 시료 보다 5.65% ~ 11.6% 낮게 나타났다. 이 결과는 비홍잡의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잡의 품질을 판명하는 경우 GSHJ의 경우는 흡광도가 4.1 ~ 5.6, RSHJ의 경우는 6.5 ~ 7.5, WJHJ의 경우는 4.9 ~ 5.9의 범위에 존재를 하면 됨을 보여준다.
- [0137] 실시예 9. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잡을 상온에서 3분간 100% EtOH로 추출한 추출액의 색상변화
- [0138] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잡을 상온에서 3분간 100% EtOH로 추출한 추출액의 색상변화를 확인하였다.
- [0139] 그 결과, 도 9에 나타난 바와 같이, 육안으로 보면 5%의 홍잡비율에 차이가 있는 경우, 색상이 분별이 가능하였지만, 2.5% 차이에서는 분별이 어려웠다.
- [0141] 실시예 10. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잡을 상온에서 3분간 100% EtOH로 추출한 추출액의 흡광도변화
- [0142] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잡을 상온에서 3분간 100% EtOH로 추출한 추출액의 흡광도변화를 확인하였다.
- [0143] 그 결과, 도 10에 나타난 바와 같이, 5령3일 누에 동결건조 분말 포함 GSHJ 혼합물들의 100% EtOH 추출물의 흡광도를 보면 290 ~ 440 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 명확하게 구분 가능하였다(도 10A). 5령3일 누에 동결건조 분말 포함 RSHJ 혼합물들의 100% EtOH 추출물의 흡광도를 보면 흡광도가 유의한 차이를 보여주지 않았다(도 10B). 5령3일 누에 동결건조 분말 포함 WJHJ 혼합물들의 100%

EtOH 추출물의 흡광도를 보면 흡광도가 유의한 차이를 보여주지 않았다(도 10C).

[0144] 따라서, 100% EtOH은 본 발명의 판별 방법에 이용하기에는 부적절하다.

[0146] 실시예 11. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액의 색상변화

[0147] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액의 색상변화를 확인하였다.

[0148] 그 결과, 도 11에 나타난 바와 같이, 육안으로 보면 5%의 홍잠비율에 차이가 있는 경우, 색상이 분별이 가능하였지만, 2.5% 차이에서는 분별이 어려웠다.

[0150] 실시예 12. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액의 흡광도변화

[0151] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액의 흡광도 변화를 확인하였다.

[0152] 그 결과, 도 12에 나타난 바와 같이, 5령3일 누에 동결건조 분말을 0.25 ~ 10% 포함한 GSHJ 혼합물들의 0.5% Triton X-100 추출물의 흡광도를 보면 320 ~ 410 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 명확하게 구분 가능하였다(도 12A). 5령3일 누에 동결건조 분말을 0.25 ~ 10% 포함한 RSHJ 혼합물들의 10.5% Triton X-100 추출물의 흡광도를 보면 320 ~ 410 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이는 명확하게 구분 되지 않았다(도 12B). 5령3일 누에 동결건조 분말을 0.25 ~ 10% 포함한 WJHJ 혼합물들의 0.5% Triton X-100 추출물의 흡광도를 보면 320 ~ 440 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 명확하게 구분 가능하였다(도 12C). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발을 하였다. 구체적으로 측정된 흡광도 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 값을 산출하여 시료 간에 비교를 수행하였으며, 3종의 홍잠을 100% 포함 한 시료의 경우 흡광도가 GSHJ은 $10.2 + 0.13$, RSHJ은 $10.6 + 0.08$, WJHJ은 $10.8 + 0.12$ 로서 2.5%의 FDSP를 포함한 97.5% 홍잠 시료 보다 8.47% ~ 14.55% 낮게 나타났다. 이 결과는 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 GSHJ의 경우는 흡광도가 9.2 ~ 11.2, RSHJ의 경우는 9.6 ~ 11.6, WJHJ의 경우는 10.2 ~ 11.4의 범위에 존재를 하면 됨을 보여준다.

[0154] 실시예 13. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 60℃에서 15분과 30분간 인큐베이션시킨 후의 색상변화

[0155] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 60℃에서 15분과 30분간 인큐베이션시킨 후의 색상변화를 확인하였다.

[0156] 그 결과, 도 13에 나타난 바와 같이, 육안으로 보면 5%의 홍잠비율에 차이가 있는 경우, 추출물들의 색상이 분별 가능하였지만, 2.5% 차이에서는 분별이 어려웠다.

[0158] 실시예 14. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 60℃에서 15분과 30분간 인큐베이션 시킨 후의 흡광도변화

[0159] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 60℃에서 15분과 30분간 인큐베이션을 시킨 후의 흡광도변화를 확인하였다.

[0160] 그 결과, 도 14에 나타난 바와 같이, 5령3일 누에 동결건조 분말을 0.25 ~ 10% 포함한 GSHJ 혼합물들의 0.5% Triton X-100 추출물을 60℃에서 반응 시키기 전의 흡광도를 보면 320 ~ 410 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 명확하게 구분 가능하였다(도 14A). 5령3일 누에 동결건조 분말을 0.25 ~ 10% 포함한 RSHJ 혼합물들의 10.5% Triton X-100 추출물을 60℃에서 15분간 반응시킨 후 흡광도를 보면

320 ~ 410 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이는 명확하게 구분 되지는 않았다(도 14B). 5령3일 누에 동결건조 분말을 0.25 ~ 10% 포함한 WJHJ 혼합물들의 0.5% Triton X-100 추출물을 60℃에서 30분간 반응시킨 후, 흡광도를 보면 320 ~ 410 nm의 빛에서 흡광도가 가장 커다란 차이를 보여 주었다. 2.5%의 혼합비율 차이도 명확하게 구분 가능하였다(도 14C). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발을 하였다. 구체적으로 측정된 흡광도 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 값을 산출하여 시료 간에 비교를 수행하였으며, 3종의 홍잠을 100% 포함 한 시료의 경우 흡광도가 GSHJ는 $9.8 + 0.08$, RSHJ는 $9.0 + 0.10$, WJHJ는 $9.1 + 0.16$ 로서 2.5%의 FDSP를 포함한 97.5% 홍잠 시료 보다 11.85% ~ 18.48% 낮게 나타났다. 이 결과는 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 GSHJ의 경우는 흡광도가 8.8 ~ 10.8, RSHJ의 경우는 8.4 ~ 9.6, WJHJ의 경우는 8.1 ~ 10.1의 범위에 존재를 하면 됨을 보여준다.

[0162] 실시예 15. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 상온에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화

[0163] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 상온에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화를 확인하였다.

[0164] 그 결과, 도 16에 나타난 바와 같이, 육안으로 보면 5%의 홍잠비율에 차이가 있는 경우, 추출물들의 색상이 분별 가능하였지만, 2.5% 차이에서는 분별이 어려웠다.

[0166] 실시예 16. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 상온에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화

[0167] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크 홍잠을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 상온에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화를 분광광도계로 확인하였다.

[0168] 그 결과, 도 16에 나타난 바와 같이, 상온에서 15분간 반응 시킨 후에는 320 ~ 395 nm의 파장대에서 2.5%의 성분 차이를 구별할 수 있었다(도 16A). 상온에서 30분간 반응 시킨 후에는 320 ~ 395 nm의 파장대에서 2.5%의 성분 차이를 구별할 수 있었다(도 16B). 상온에서 60분간 반응 시킨 후에는 320 ~ 395 nm의 파장대에서 2.5%의 성분 차이를 구별할 수 있었다(도 16C). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발을 하였다. 구체적으로 측정된 흡광도 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 값을 산출하여 시료 간에 비교를 수행하였으며, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 상온에서 15분 인큐베이션 후에는 $10.2 + 0.08$, 30분 인큐베이션 후에는 $10.3 + 0.08$, 60분 후에는 $10.7 + 0.17$ 로서 2.5%의 FDSP를 포함한 97.5% 홍잠 시료 보다 13.81% ~ 16.08% 낮게 나타났다. 이 결과는 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 상온 15분 인큐베이션 후에는 흡광도가 9.2 ~ 11.2, 30분 인큐베이션 후에는 9.3 ~ 11.3, 60분 인큐베이션 후에는 9.7 ~ 11.7의 범위에 존재를 하면 됨을 보여준다.

[0170] 실시예 17. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 80℃에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화

[0171] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 80℃에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화를 확인하였다.

[0172] 그 결과, 도 17에 나타난 바와 같이, 육안으로 보면 5%의 홍잠비율에 차이가 있는 경우, 추출물들의 색상이 분별 가능하였지만, 2.5% 차이에서는 분별이 어려웠다.

[0174] 실시예 18. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 80℃에서 15분과 30분과 60분간 반응을 시킨 후의 색상변화

- [0175] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 80℃에서 15분과 30분과 60분간 반응을 시킨 후의 색상변화를 분광광도계로 확인하였다.
- [0176] 그 결과, 도 18에 나타난 바와 같이 80℃에서 15분간 반응 시킨 후에는 320 ~ 365 nm의 파장대에서 2.5%의 성분 차이를 구별할 수 있었다(도 18A). 80℃에서 30분간 반응 시킨 후에는 320 ~ 365 nm의 파장대에서 2.5%의 성분 차이를 구별할 수 있었다(도 18B). 80℃에서 60분간 반응 시킨 후에는 320 ~ 365 nm의 파장대에서 2.5%의 성분 차이를 구별할 수 있었다(도 18C). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발을 하였다. 구체적으로 측정된 흡광도 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 값을 산출하여 시료 간에 비교를 수행하였으며, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 80℃에서 15분 인큐베이션 후에는 $9.7 + 0.17$, 30분 인큐베이션 후에는 $9.7 + 0.31$, 60분 후에는 $10.0 + 0.29$ 로서 2.5%의 FDSP를 포함한 97.5% 홍잠 시료 보다 13.81% ~ 16.08% 낮게 나타났다. 이 결과는 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 상온 15분 인큐베이션 후에는 흡광도가 9.0 ~ 10.4, 30분 인큐베이션 후에는 8.8 ~ 10.7, 60분 인큐베이션 후에는 9.0 ~ 11.0의 범위에 존재를 하면 됨을 보여준다.
- [0178] 실시예 19. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 -50℃에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화
- [0179] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 -50℃에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화를 확인하였다.
- [0180] 그 결과, 도 19에 나타난 바와 같이, 육안으로 보면 5%의 홍잠 비율에 차이가 있는 경우, 추출물들의 색상이 분별 가능하였지만, 2.5% 차이에서는 분별이 어려웠다.
- [0182] 실시예 20. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 -50℃에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화
- [0183] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 골든실크(GSHJ)을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 -50℃에서 15분과 30분과 60분간 반응시킨 후의 색상변화 분광광도계로 확인하였다.
- [0184] 그 결과, 도 20에 나타난 바와 같이, -50℃에서 15분간 반응 시킨 후에는 320 ~ 365 nm의 파장대에서 2.5%의 성분 차이를 구별할 수 있었다(도 20A). -50℃에서 30분간 반응 시킨 후에는 320 ~ 365 nm의 파장대에서 2.5%의 성분 차이를 구별할 수 있었다(도 20B). -50℃에서 60분간 반응 시킨 후에는 320 ~ 365 nm의 파장대에서 2.5%의 성분 차이를 구별할 수 있었다(도 20C). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발을 하였다. 구체적으로 측정된 흡광도 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 값을 산출하여 시료 간에 비교를 수행하였으며, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 -50℃에서 15분 인큐베이션 후에는 $10.7 + 0.04$, 30분 인큐베이션 후에는 $10.9 + 0.10$, 60분 후에는 $11.0 + 0.03$ 로서 2.5%의 FDSP를 포함한 97.5% 홍잠 시료 보다 11.24% ~ 12.09% 낮게 나타났다. 이 결과는 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 상온 15분 인큐베이션 후에는 흡광도가 9.9 ~ 11.5, 30분 인큐베이션 후에는 10.0 ~ 11.8, 60분 인큐베이션 후에는 10.3 ~ 11.7의 범위에 존재를 하면 됨을 보여준다.
- [0186] 실시예 21. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 3품종 홍잠들을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 Bradford 용액과 혼합 반응시킨 후 색상변화
- [0187] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 3품종홍잠들을 상온에서 3분간 0.5% Triton X-100 용액으로 추출한 추출액을 Bradford 용액과 혼합 반응시킨 후 색상변화를 분광광도계로 확인하였다.
- [0188] 그 결과, 도 21에 나타난 바와 같이, 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 GSHJ 혼합물의 경우를 보면 560 ~ 650 nm의 파장대에서 2.5%의 혼합비율에서 차이가 있는 혼합물을 구분할 수 있었다(도 21A). 5령3일 누에 동결

건조 분말을 포함한 RSHJ 혼합물의 경우를 보면 560 ~ 650 nm의 파장대에서 2.5%의 혼합비율에서 차이가 있는 혼합물을 구분할 수 있었다(도 21B). 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 WJHJ 혼합물의 경우를 보면 560 ~ 650 nm의 파장대에서 2.5%의 혼합비율에서 차이가 있는 혼합물을 구분할 수 있었다(도 21C). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발을 하였다. 구체적으로 측정된 흡광도 결과 중 550 ~ 755 nm까지의 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 값을 산출하여 시료 간에 비교를 수행하였으며, 3종의 홍잠을 100% 포함한 시료의 경우 흡광도가 GSHJ는 $1.1 + 0.06$, RSHJ는 $1.1 + 0.08$, WJHJ는 $1.2 + 0.10$ 으로서 2.5%의 FDSP를 포한 97.5% 홍잠 시료 보다 27.34% ~ 29.22% 낮게 나타났다. 이 결과는 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 GSHJ의 경우는 흡광도가 1.0 ~ 1.2, RSHJ의 경우는 1.0 ~ 1.2, WJHJ의 경우는 1.1 ~ 1.3의 범위에 존재를 하면 됨을 보여준다.

- [0190] 실시예 22. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ 혼합물을 다양한 계면활성제로 추출한 추출물의 색상변화
- [0191] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ 혼합물 Triton X-100을 대신하여 다른 다양한 계면활성제를 사용하였을 경우의 추출물의 색상변화를 확인하였다.
- [0192] 그 결과, 도 22에 나타난 바와 같이, 육안으로 0.5% PEG200, 0.5% PEG600, 0.5% Tween 80, 0.5% LFP-50P, 0.5% Koremul-pH4, 0.5% CocoPG, 0.5% Bardap26 추출액의 색상을 확인한 경우에는 혼합비율에 따른 차이가 명확하게 보이지 않았다. 그러나, 0.5% Tween20와 0.5% CAPB의 경우는 0.5% Triton X-100과 비슷하게 5% 차이는 색상으로 구별이 되었지만, 2.5% 차이는 구별이 되지 않았다.
- [0194] 실시예 23. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ 혼합물의 추출액에 다양한 detergent를 사용하였을 경우의 추출물의 색상변화
- [0195] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ 혼합물에, Triton X-100 대신, 다른 다양한 계면활성제를 사용하여 추출한 추출물의 색상변화를 분광광도계로 확인하였다.
- [0196] 그 결과, 도 23에 나타난 바와 같이, 0.5% PEG200을 이용한 경우는 320 ~ 380 nm에서 2.5% 차이의 혼합물을 구별할 수 있었다(도 23A). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 앞서 확인한 바와같이 각 파장에서 각 시료의 흡광도 값을 적분하여 흡광도 값을 산출하여 시료 간에 비교를 수행하는 예측 모델을 개발하였다. 0.5% PEG200 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $10.6 + 0.20$ 으로 97.5% GSHJ시료에 비하여 10.39% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 10.0 ~ 11.2의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0197] 0.5% PEG600을 이용한 경우도 320 ~ 380 nm에서 2.5% 차이의 혼합물을 구별할 수 있었다(도 23B). 0.5% PEG600 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $10.3 + 0.16$ 으로 97.5% GSHJ시료에 비하여 7.89% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 9.8 ~ 10.8의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0198] 0.5% Tween 20를 이용한 경우도 320 ~ 380 nm에서 2.5% 차이의 혼합물을 구별할 수 있었다(도 23C). 0.5% Tween 20 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $10.8 + 0.02$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 11.59% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 10.2 ~ 11.4의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0199] 그러나, 0.5% LFP-50P를 이용한 경우는 320 ~ 380 nm에서 2.5%에서는 차이가 명확하게 나타나지 않았지만(도 23D), 0.5% LFP-50P 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $9.9 + 0.13$ 으로 97.5% GSHJ시료에 비하여 8.51% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 9.6 ~ 10.2의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0200] 0.5% Tween 80을 이용한 경우는 320 ~ 380 nm에서 2.5% 차이의 혼합물을 구별할 수 있었다(도 23E). 0.5% Tween 80 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $10.3 + 0.16$ 으로 97.5% GSHJ시료에 비하여 7.89% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 9.9 ~ 10.7의 범위에 존재를 하면 된다.

- [0201] 0.5% Koremul pH4를 이용한 경우에는 320 ~ 380 nm에서 2.5% 차이의 혼합물을 구별할 수 있었다(도 23F). 0.5% Koremul pH4 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $10.1 + 0.15$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 16.02% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 9.1 ~ 11.1의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0202] 0.5% CocoPG를 이용한 경우는 10%의 차이를 구분할 수 없었지만(도 23G). 0.5% CocoPG 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $8.1 + 0.10$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 4.92% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 7.9 ~ 8.3의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0203] 0.5% Cocamidopropyl Betaine (CAPB)를 활용한 경우는 320 ~ 380 nm에서 2.5% 차이의 혼합물을 구별할 수 있었다(도 23H). 0.5% Bardap26을 이용한 경우 10%의 차이가 전혀 구별되지 않았지만(도 23I). 0.5% Cocamidopropyl Betaine 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $10.0 + 0.02$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 7.77% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 9.5 ~ 10.5의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0204] 0.5% Bardap26를 활용한 경우는 320 ~ 320nm에서 2.5%의 차이의 혼합물을 구분할 수 없었지만, 0.5% Bardap26 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $7.7 + 0.08$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 2.59% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 7.6 ~ 7.8의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0206] **실시예 24. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ에 여러 종류의 계면활성제를 사용한 추출물에 Ninhydrin 반응 후의 색상변화**
- [0207] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ를 여러 종류의 detergent를 사용하여 추출한 추출물에 Ninhydrin 반응 후의 색상변화를 분광광도계로 확인하였다.
- [0208] 그 결과, 도 24에 나타낸 바와 같이, 0.5% PEG200의 추출물의 경우는 320 ~ 380 nm에서 2.5% 비율의 차이가 구분이 되지 않았다(도 24A). 더 정확한 판단을 위해서 흡광도 수치를 이용하여 판별하는 예측 모델을 개발하였다. Ninhydrin반응을 진행한 0.5% PEG200 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $20.0 + 0.68$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 2.61% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만을 판단하는데 는 적당하지 않은 것으로 판명되었다.
- [0209] 0.5% PEG600의 추출물의 경우는 320 ~ 380 nm에서 2.5% 비율의 차이가 구분이 되었다(도 24B). 더 정확한 판단을 위하여 Ninhydrin반응을 진행한 0.5% PEG600 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $10.1 + 0.15$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 5.66% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 9.9 ~ 10.3의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0210] 0.5% Tween 80 추출물의 경우는 320 ~ 395 nm에서 2.5% 비율의 차이가 구분이 되었다(도 24C). 더 정확한 판단을 위하여 Ninhydrin반응을 진행한 0.5% Tween80 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $10.2 + 0.31$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 4.94% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 10.0 ~ 10.4의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0211] 0.5% Koremul pH4 추출물의 경우는 320 ~ 410 nm에서 2.5% 비율의 차이가 구분이 되었다(도 24D). 더 정확한 판단을 위하여 Ninhydrin반응을 진행한 0.5% Koremul pH4 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $9.3 + 0.12$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 18.21% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 8.3 ~ 10.3의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0212] 0.5% CocoPG 추출물의 경우는 2.5% 비율의 차이를 구분할 수 없었다(도 24E). 더 정확한 판단을 위하여 Ninhydrin반응을 진행한 0.5% CocoPG 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $8.5 + 0.17$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 3.89% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 8.4 ~ 8.6의 범위에 존재를 하면

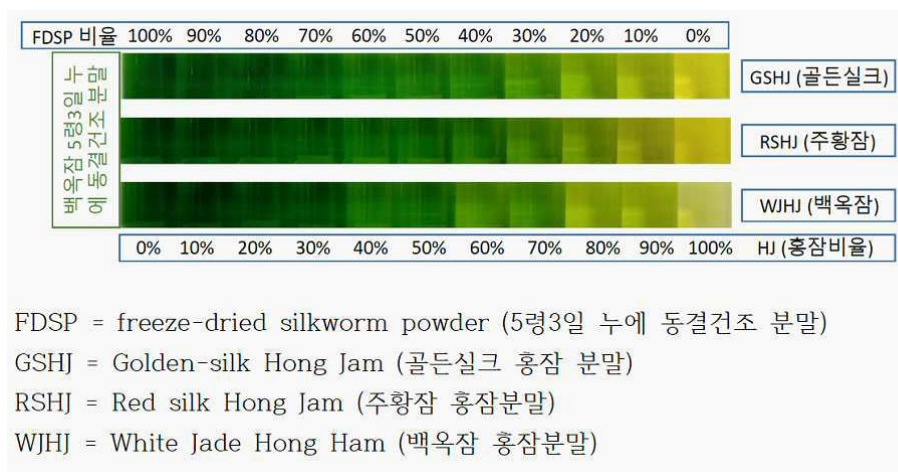
된다.

- [0213] 0.5% CAPB 추출물의 경우는 320 ~ 410 nm에서 2.5% 비율의 차이가 구분되었다(도 24F). 더 정확한 판단을 위하여 Ninhydrin반응을 진행한 0.5% CAPB 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $9.1 + 0.10$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 8.99% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 8.7 ~ 9.5의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0214] 0.5% Bardap26 추출물의 경우는 10% 이내 비율의 차이가 구분되지 않았다(도 24G). 더 정확한 판단을 위하여 Ninhydrin반응을 진행한 0.5% CAPB 추출물의 200 ~ 425 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $9.3 + 0.19$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 2.28% 낮지만, 95.0% 시료에서는 3.82%로 증가를 하여 홍잠 품질을 판단하는데 적당하지 않았다.
- [0216] 실시예 25. 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ에서 0.5% Triton X-100 (TX-100)으로 추출한 추출액에 다양한 종류의 발색 용액을 처리한 경우 흡광도 변화
- [0217] 본 발명자들은 0 내지 10%의 5령3일 누에 동결건조 분말을 포함한 90 내지 100%의 GSHJ에서 0.5% Triton X-100 (TX-100)으로 추출한 추출액에 다양한 종류의 발색용액을 처리한 경우 흡광도 변화를 분광광도계로 분석하였다.
- [0218] 그 결과, 도 25에 나타낸 바와 같이, Chen' s test를 처리한 경우, 320 ~ 425 nm에서 2.5%의 비율 차이를 구분할 수 있었다(도 25A). 더 정확한 판단을 위하여 0.5% Triton X-100 추출물에 Chen' s Test를 처리한 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $5.8 + 0.49$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 9.59% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 5.6 ~ 6.2의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0219] Cobalt' s test를 처리한 경우에는 320 ~ 425 nm에서 2.5%의 비율 차이를 구분할 수 있었다(도 25B). 더 정확한 판단을 위하여 0.5% Triton X-100 추출물에 Cobalt' s Test를 처리한 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $4.4 + 0.12$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 18.42% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 4.0 ~ 4.8의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0220] Froehde' s test를 처리한 경우는 320 ~ 515 nm에서 2.5%의 비율 차이를 구분할 수 있었다(도 25C). 더 정확한 판단을 위하여 0.5% Triton X-100 추출물에 Froehde' s Test를 처리한 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $8.7 + 0.24$ 로 97.5% GSHJ시료에 비하여 15.04% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 7.8 ~ 9.6의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0221] Liebermanm reagent를 처리한 경우 10% 차이가 구분되지 않았다(도 25D).
- [0222] Mandelin 's test 처리한 경우도 10%의 차이가 구분되지 않았다(도 25E).
- [0223] Mecke' s test는 305 ~ 530 nm에서 2.5% 차이가 구분되었다(도 25F). 더 정확한 판단을 위하여 0.5% Triton X-100 추출물에 Mecke' s Test를 처리한 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $10.5 + 1.73$ 으로 97.5% GSHJ시료에 비하여 17.50% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 9.5 ~ 11.5의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0224] Marguis' s test를 처리한 경우는 355 ~ 440 nm에서 2.5% 차이가 구분되었다(도 25G). 더 정확한 판단을 위하여 0.5% Triton X-100 추출물에 Marguis' s Test를 처리한 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $7.1 + 0.47$ 으로 97.5% GSHJ시료에 비하여 20.26% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 6.5 ~ 7.7의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0225] Zwikker reagents는 2.5%의 구분이 되지 않았다(도 25H).
- [0226] Simon' s test는 2.5%의 차이를 구분할 수 없었다(도 25I).

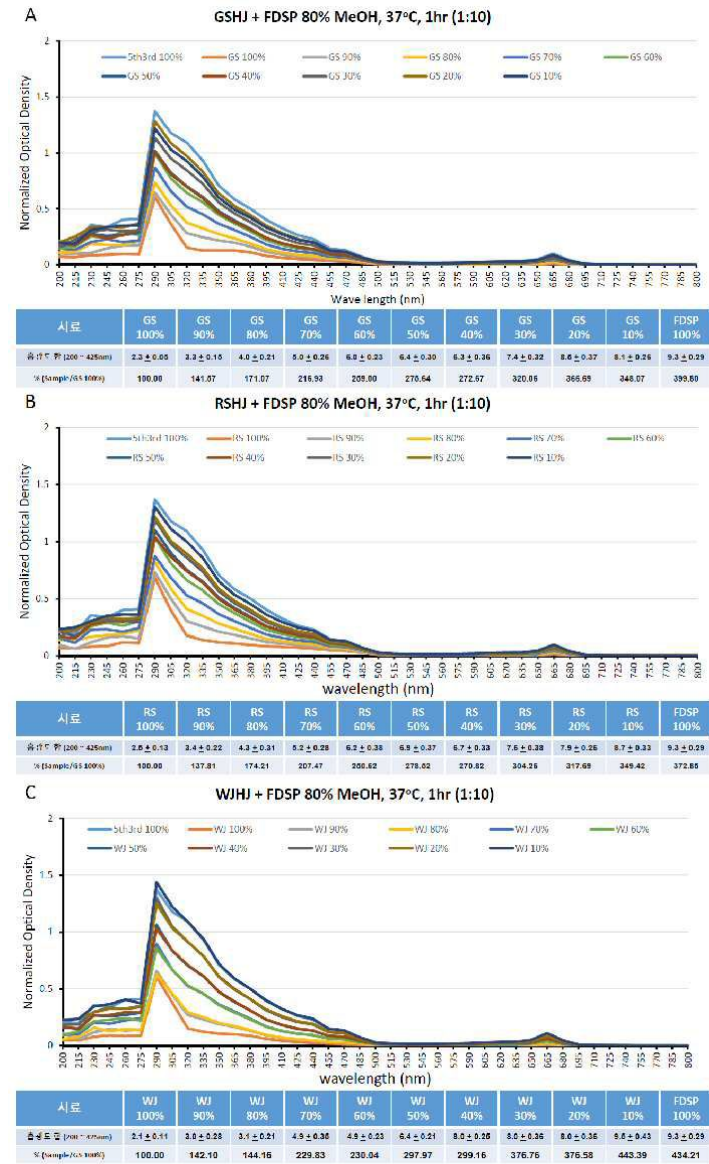
- [0227] Dille-Koppanyi reagent의 경우는 2.5% 차이를 구분할 수 없었다(도 25J).
- [0228] Dragondoff reagent는 5% 차이를 구분할 수 없었다(도 25K).
- [0229] Biuret reagent를 처리한 경우는 320 ~ 425 nm의 파장에서 2.5% 차이를 명확히 구분할 수 있었다(도 25L). 더 정확한 판단을 위하여 0.5% Triton X-100 추출물에 Biuret reagent를 처리한 결과 중 200 ~ 485 nm까지의 흡광도를 합하여 시료 간에 비교를 진행한 결과를 보면, 100% GSHJ시료의 경우 흡광도가 $4.5 + 0.16$ 으로 97.5% GSHJ 시료에 비하여 10.81% 낮아서, 비홍잠의 비율이 2.5% 미만으로 포함되는 경우로 홍잠의 품질을 판명하는 경우 흡광도가 4.4 ~ 4.6의 범위에 존재를 하면 된다.
- [0230] 따라서, 2.5% 미만으로 비홍잠이 포함된 경우를 홍잠의 비율을 판명하는 기준으로 하면 Triton X-100 추출물에 Chen's test, Cobalt's test, Froehde's test, Mecke's test, Marquis's test, Dragondoff reagent, 또는 Biuret reagent를 처리한 후 분광분석기를 활용하여 그래프 분석과 흡광도 분석을 진행하면 된다.
- [0232] 즉, 5령3일 누에 동결건조 분말(비홍잠)과 5령7일 이후의 숙잠으로 제조된 홍잠 분말(홍잠) 간의 스펙트럼의 양상은 특정 파장대에서 흡광도의 차이가 나타남을 알 수 있고, 200 ~ 485nm까지의 흡광도를 합치면 정확하게 판단할 수 있음을 확인하였다.
- [0235] 즉, 본 발명의 UV/VIS 분광광도계를 이용한 홍잠-비홍잠 혼입 수준 판별방법은 홍잠-비홍잠 혼입 수준 판별이 어려운 시판 홍잠을 시료 특정 영역대에서의 흡수스펙트럼을 수집 및 분석하면, 신속하고 정확하게 비홍잠과의 혼합(혼입) 수준 판별이 가능함을 확인하였다.
- [0237] 이상으로, 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

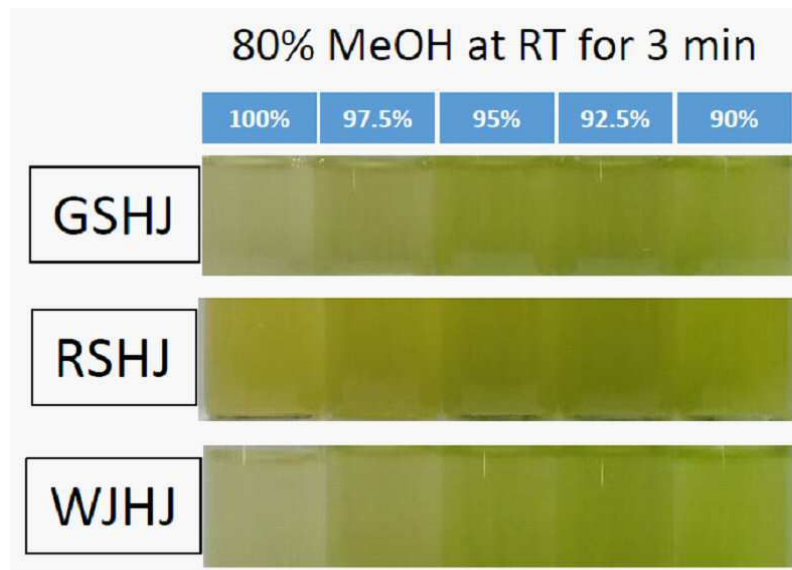
도면1



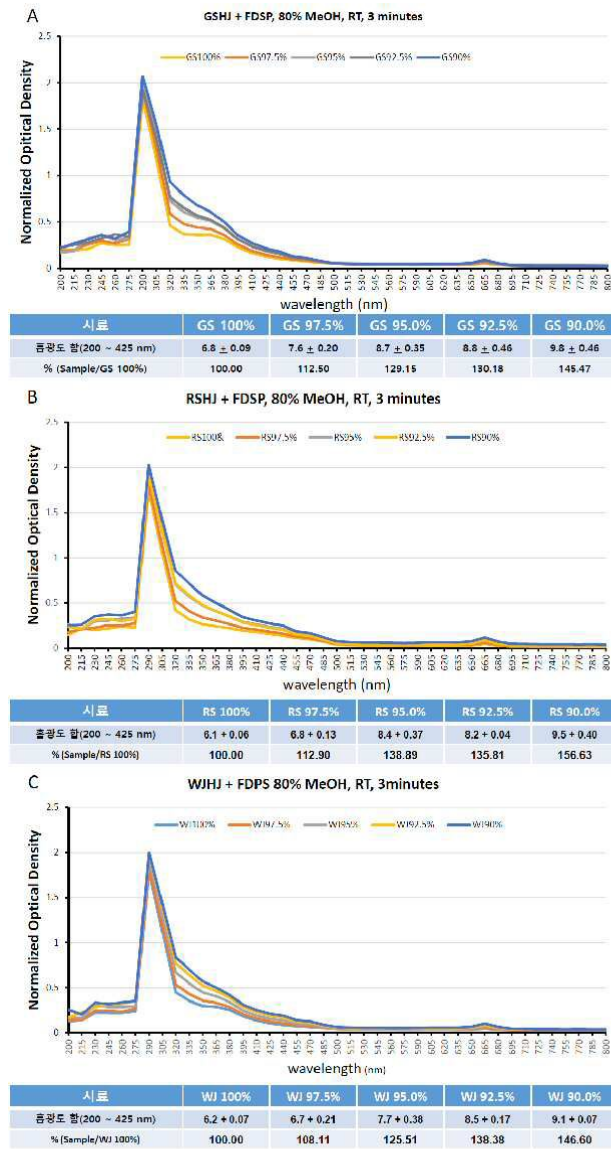
도면2



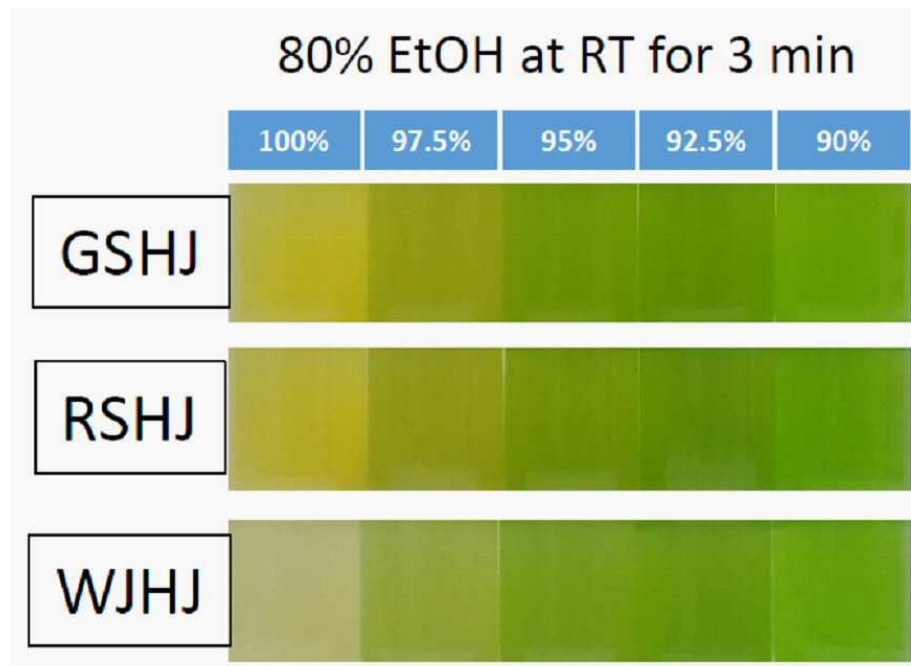
도면3



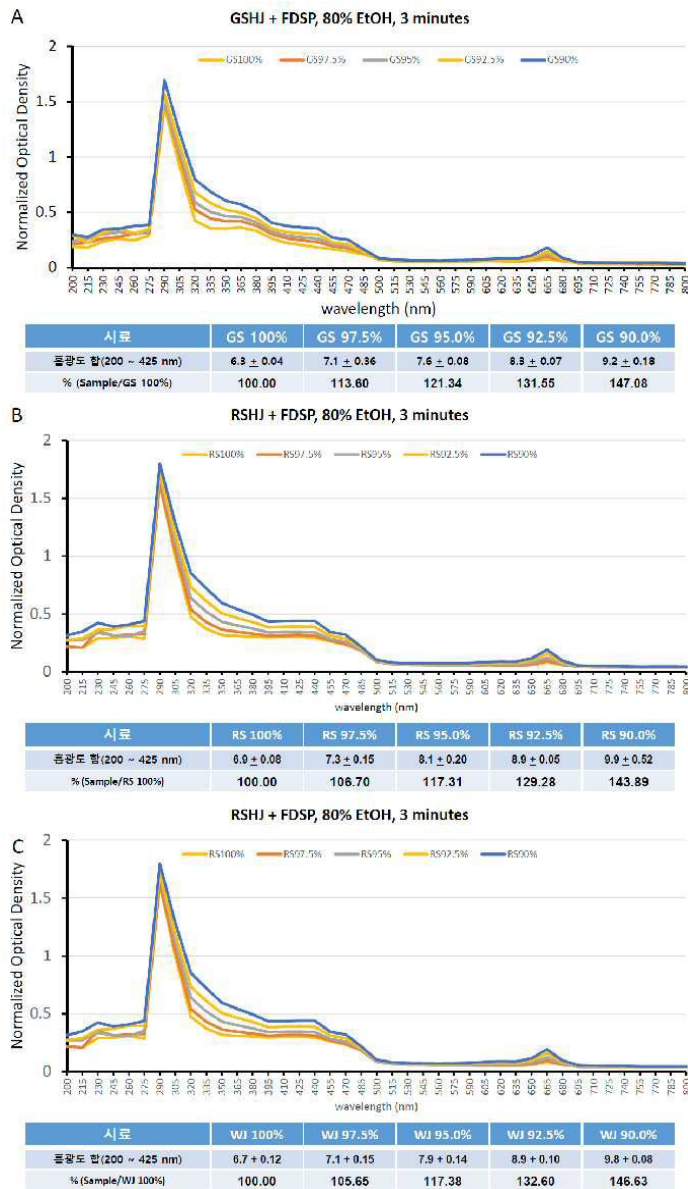
도면4



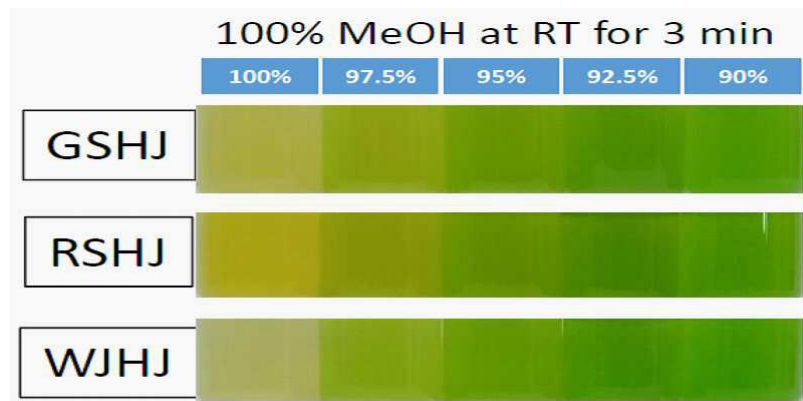
도면5



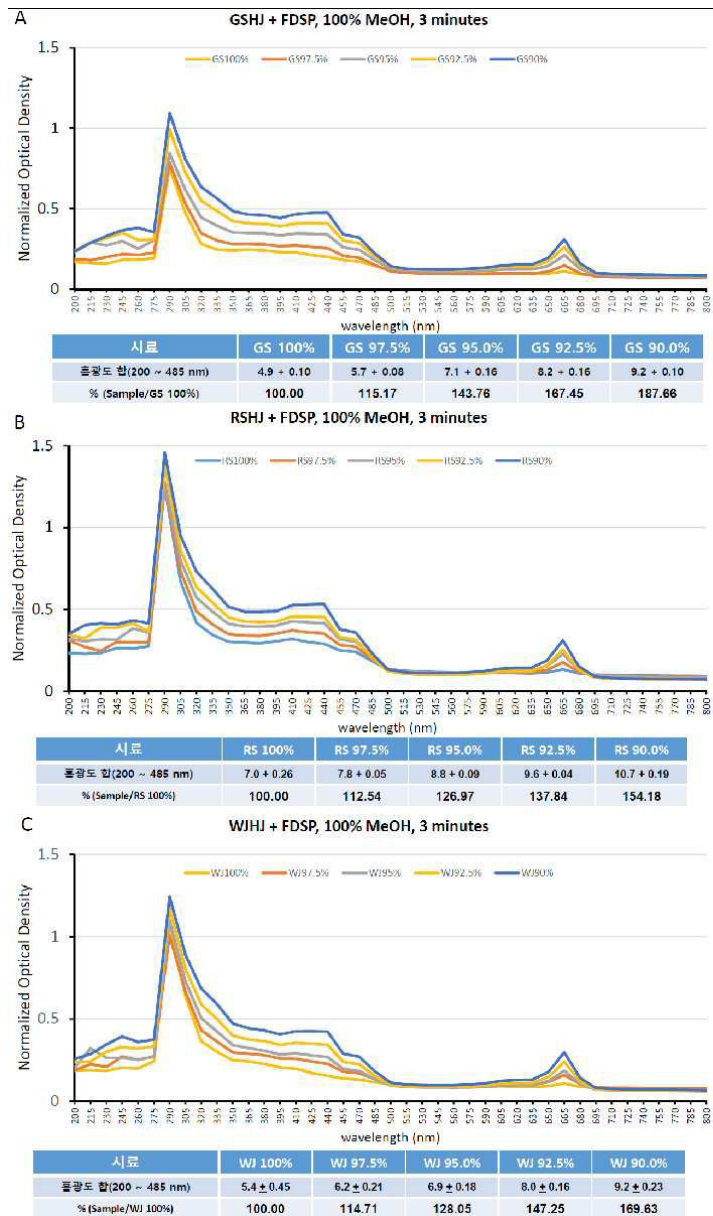
도면6



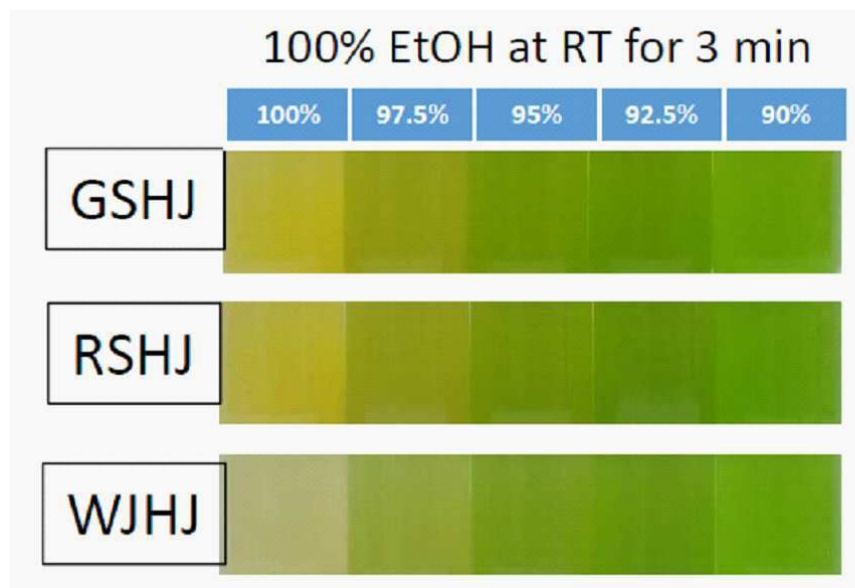
도면7



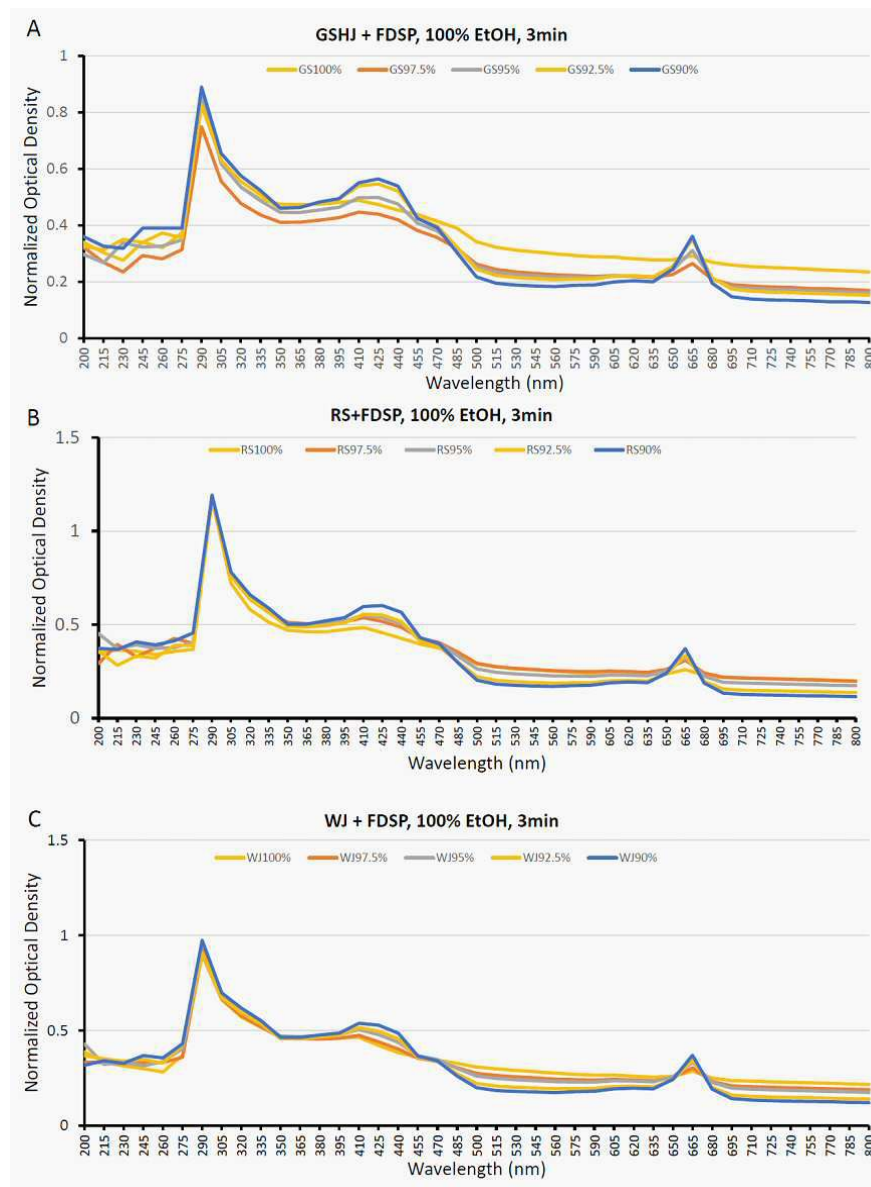
도면8



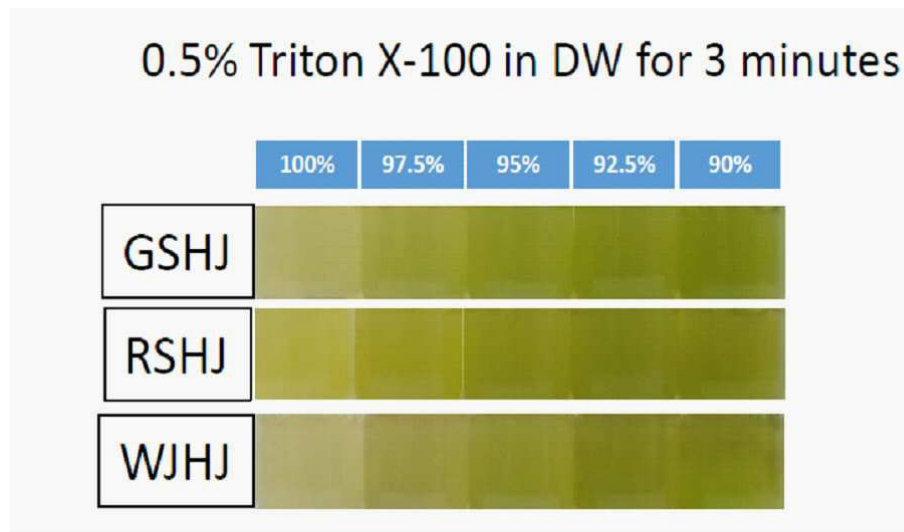
도면9



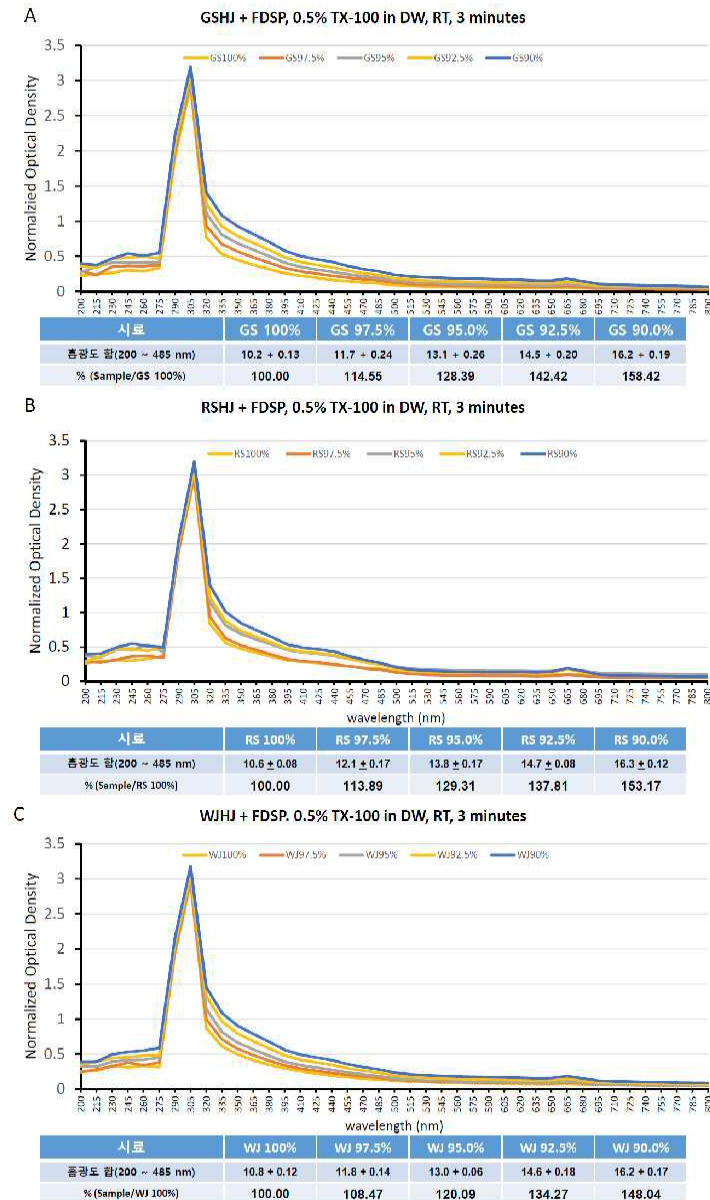
도면10



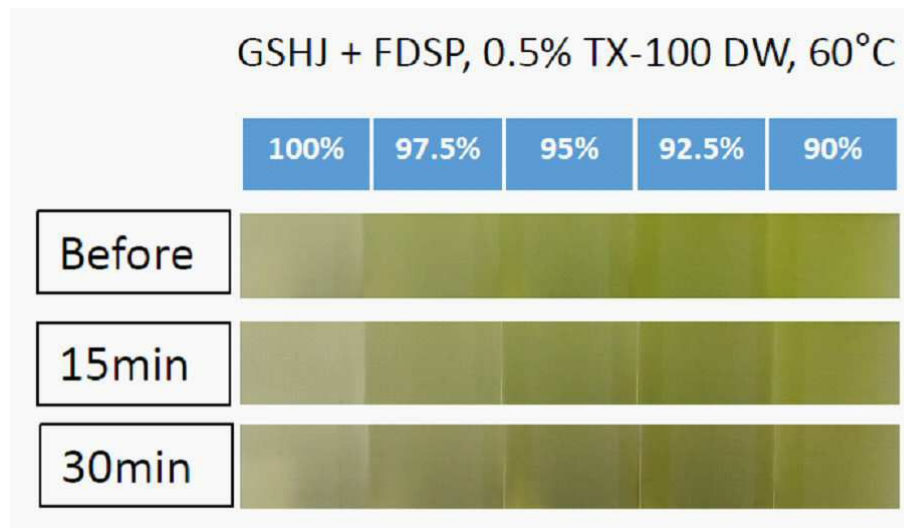
도면11



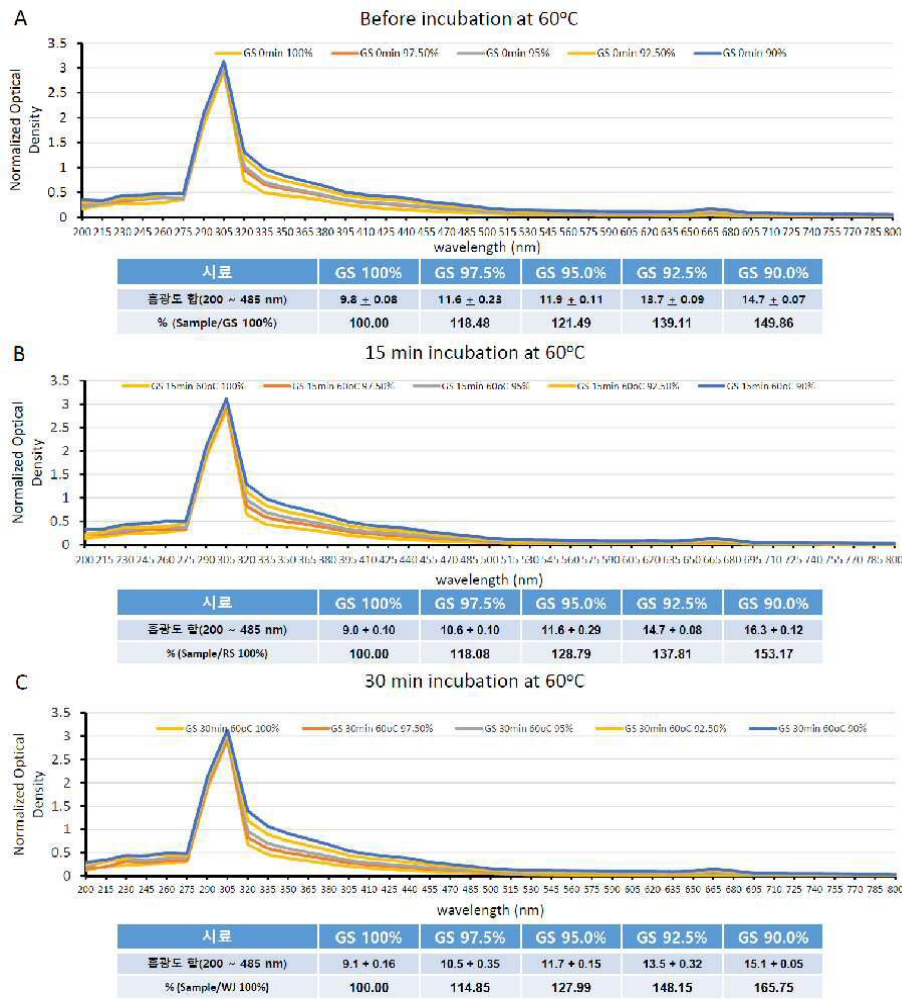
도면12



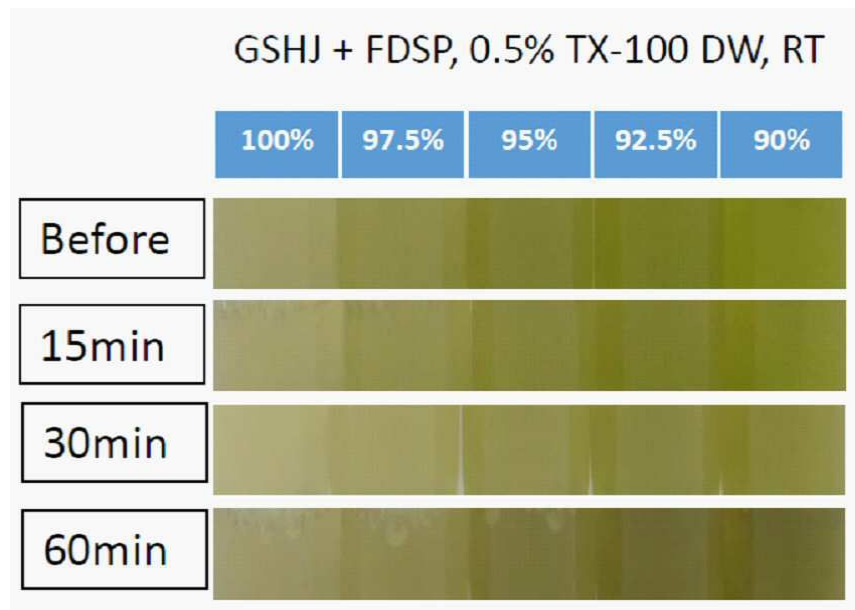
도면13



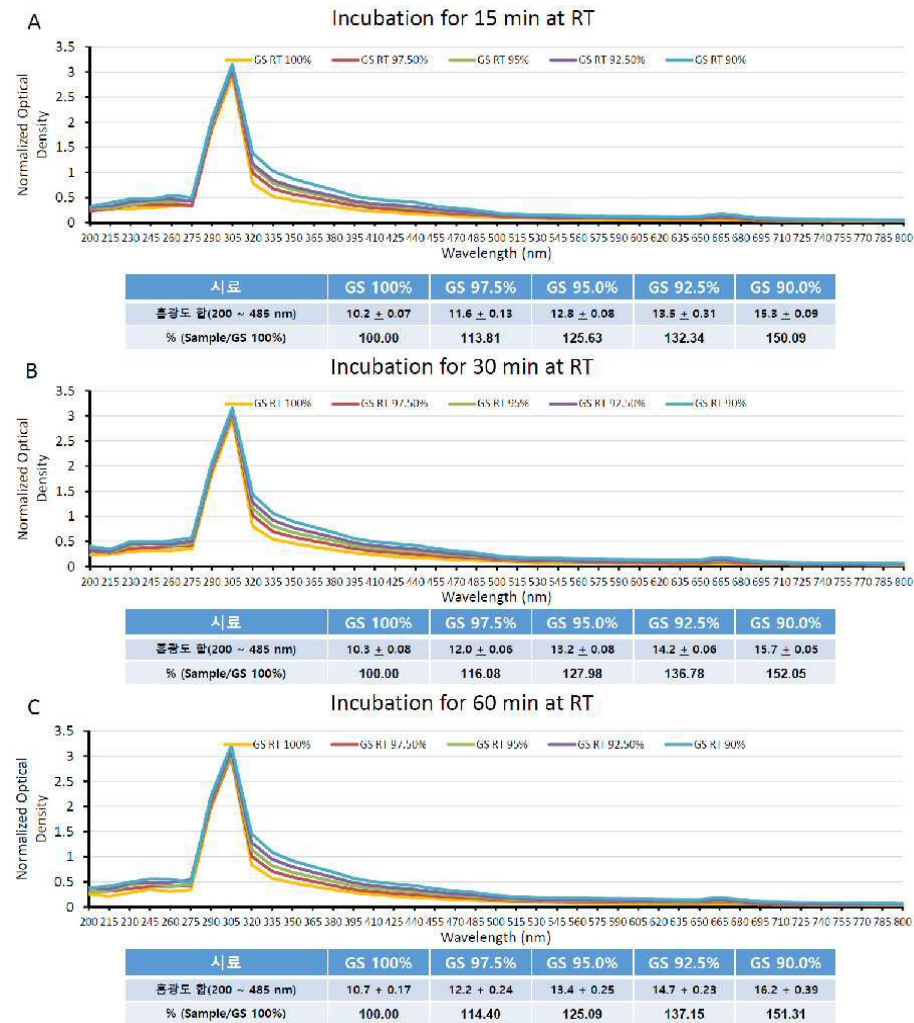
도면14



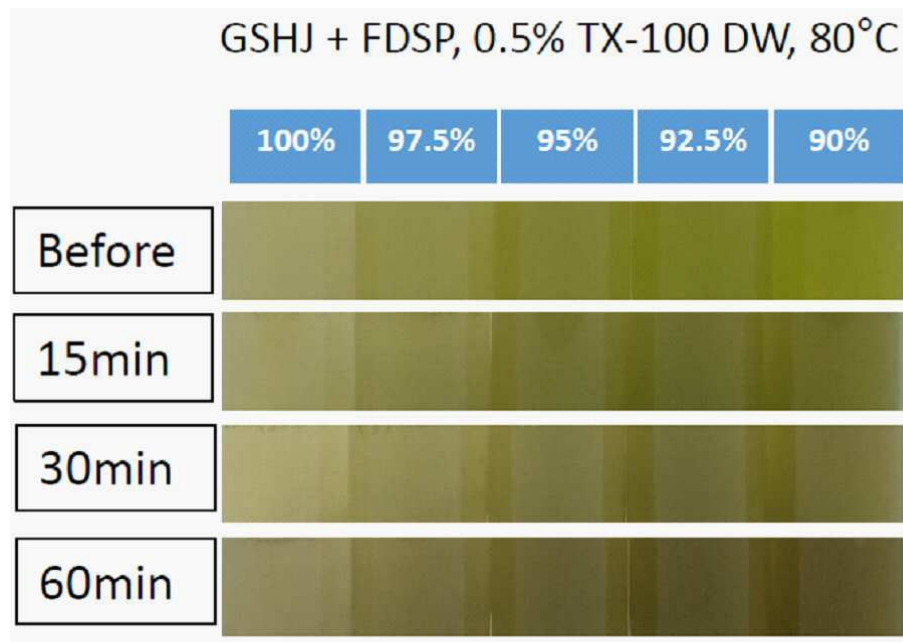
도면15



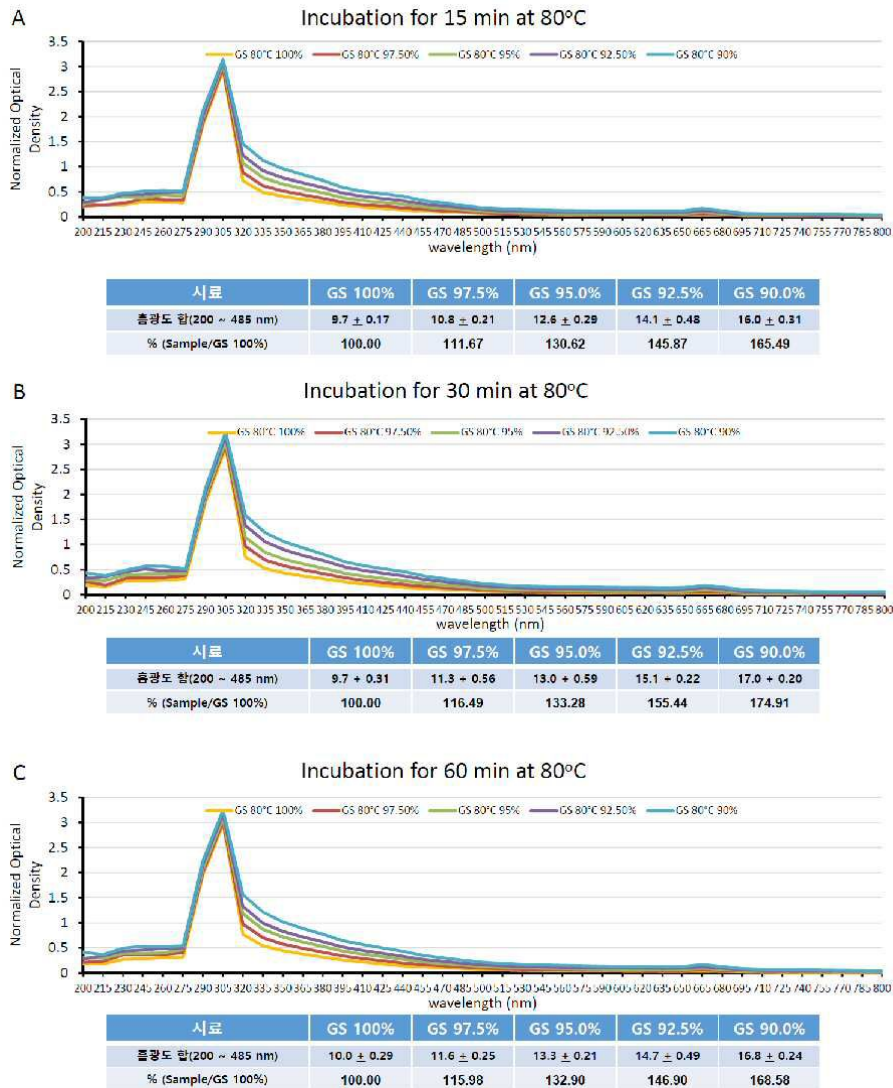
도면16



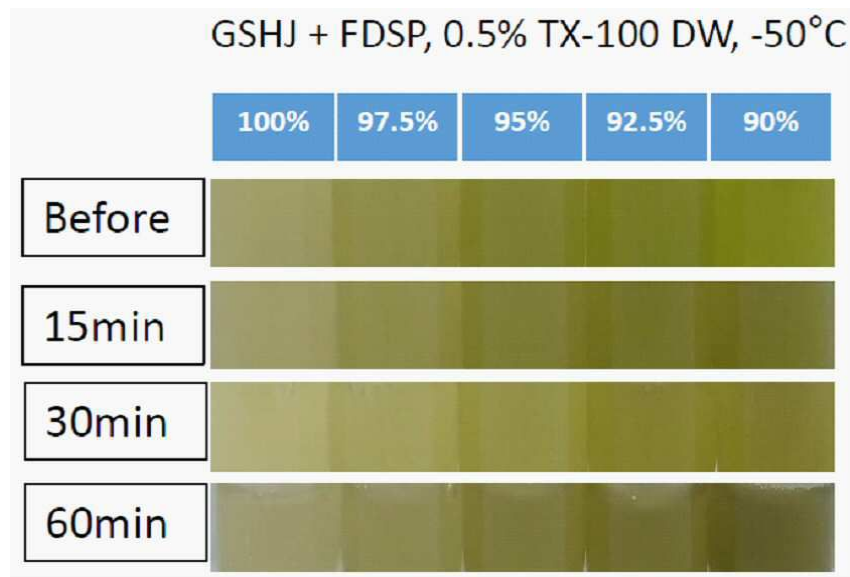
도면17



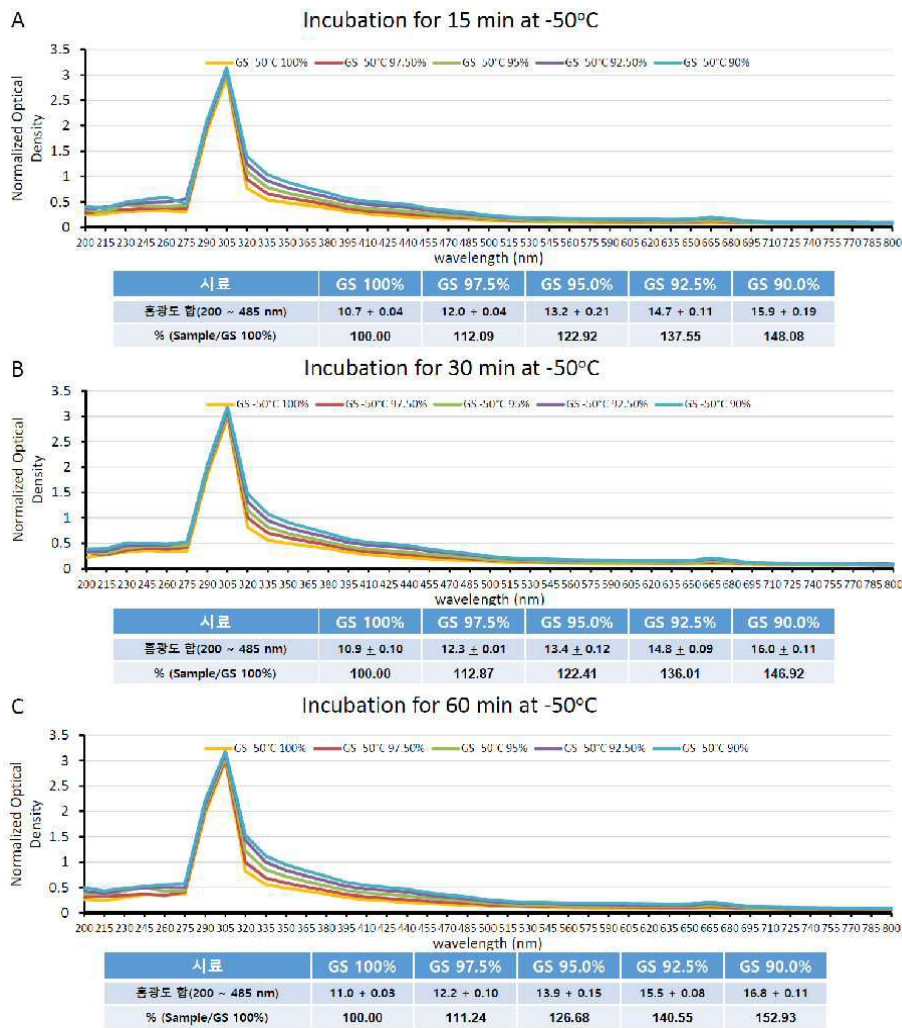
도면18



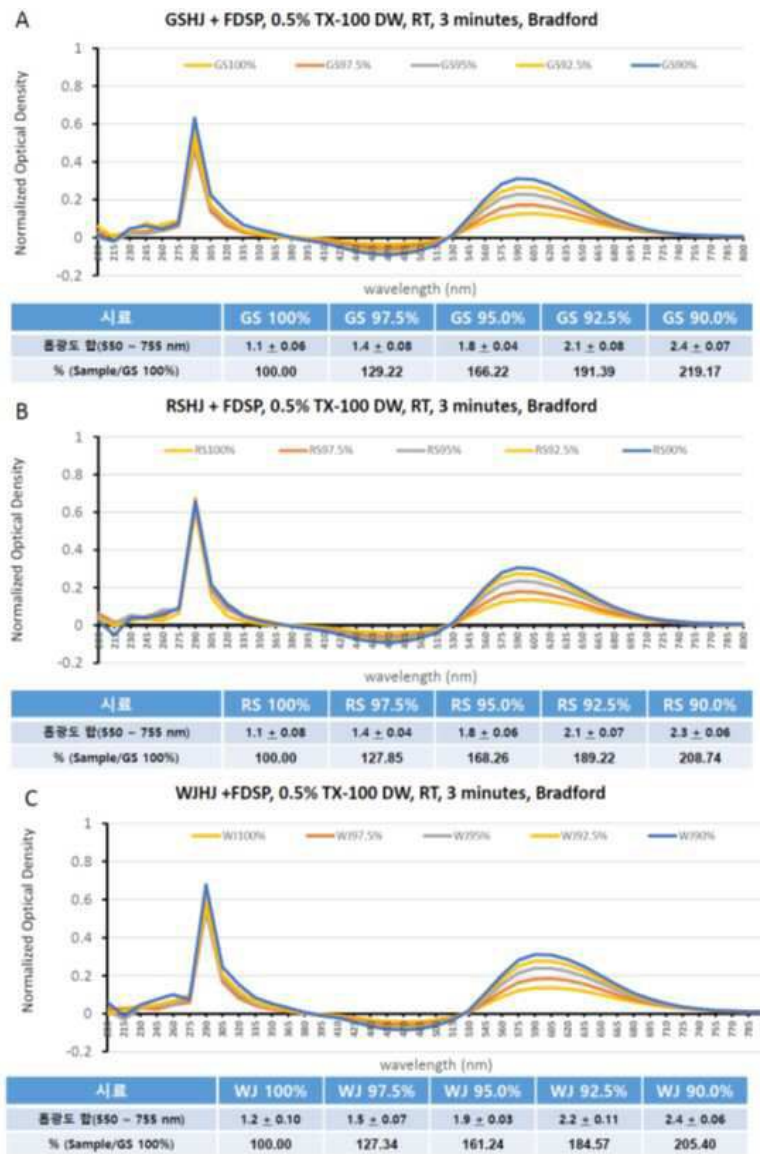
도면19



도면20



도면21



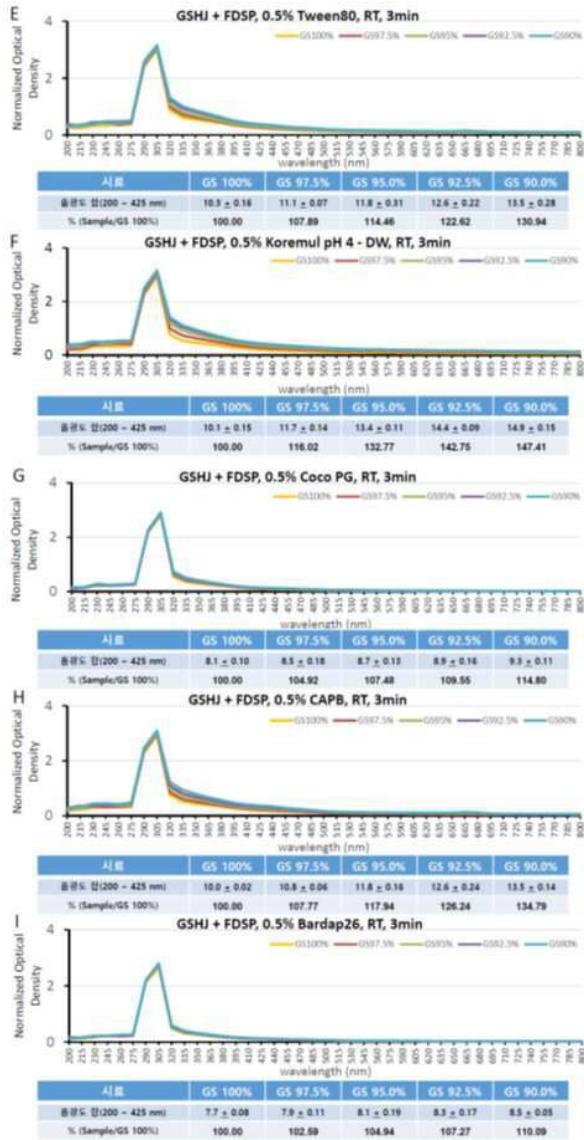
도면22

	100%	97.5%	95%	92.5%	90%		100%	97.5%	95%	92.5%	90%
0.5% TX-100						0.5% LFP-50P					
0.5% PEG200						0.5% Koremul - pH4					
0.5% PEG600						0.5% CocoPG					
0.5% Tween20						0.5% CAPB					
0.5% Tween80						0.5% Bardap26					

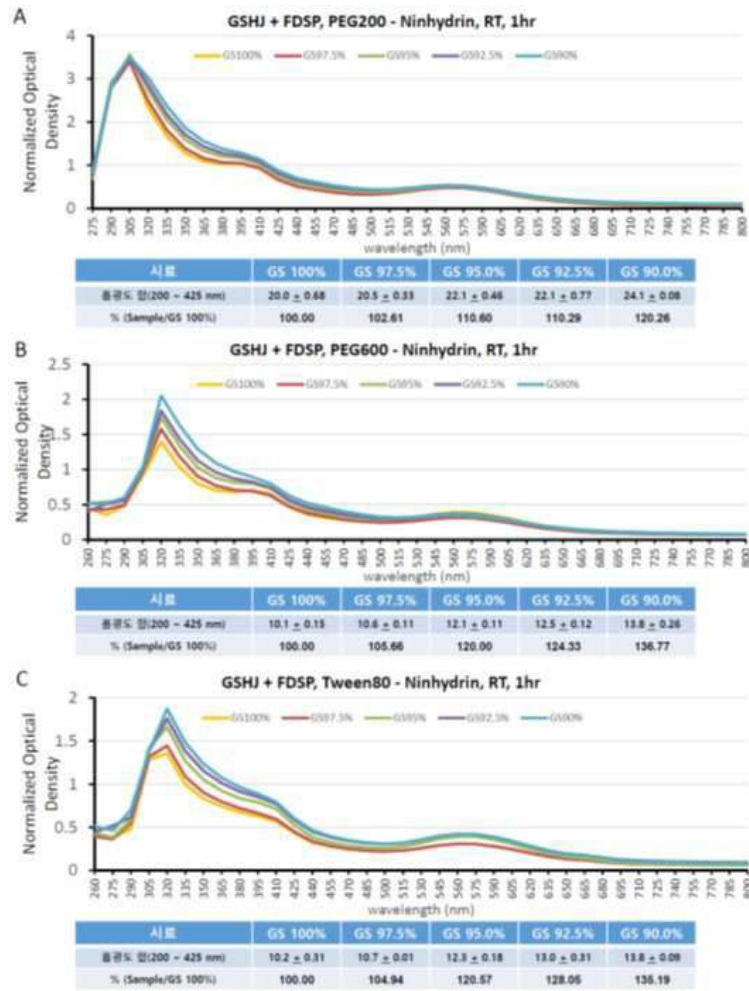
도면23a



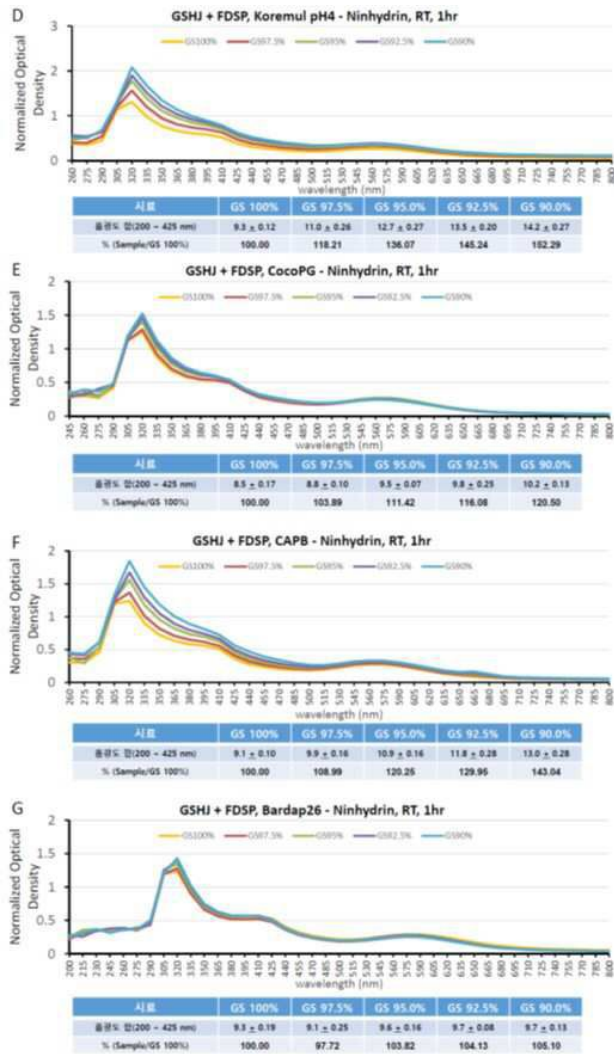
도면23b



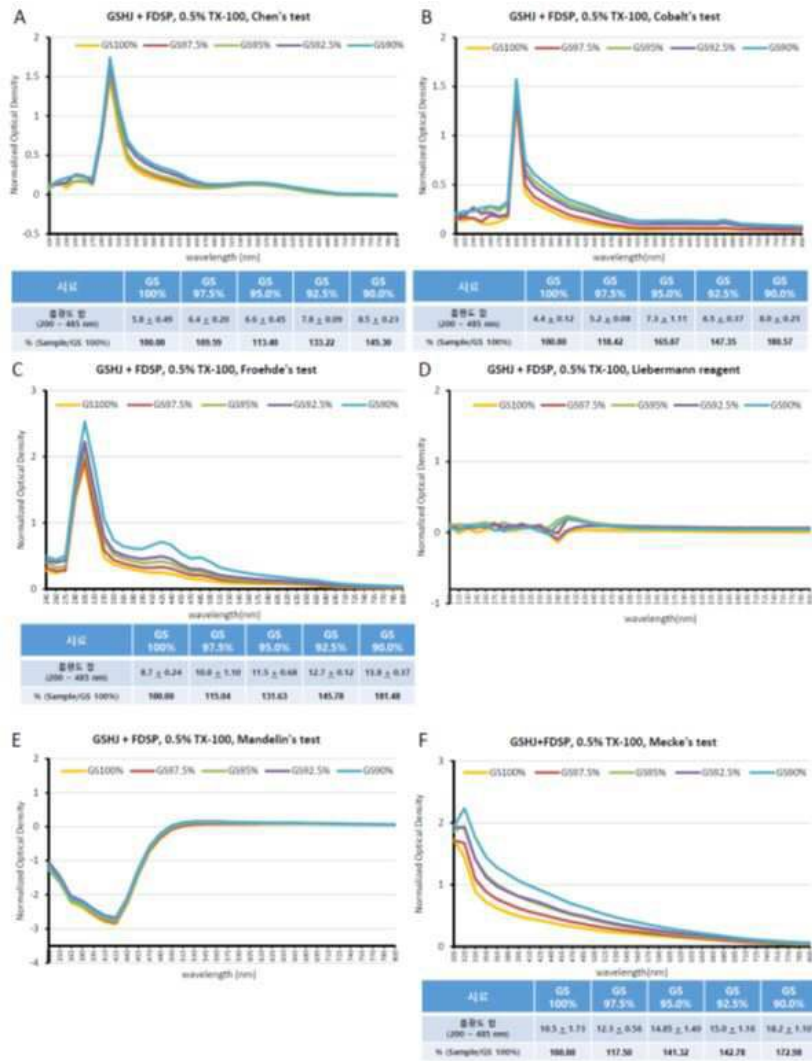
도면24a



도면24b



도면25a



도면25b

