



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0040784
(43) 공개일자 2018년04월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 19/10 (2016.01) A23L 2/38 (2006.01)
A23L 33/14 (2016.01)

(52) CPC특허분류
A23L 19/10 (2016.08)
A23L 2/382 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0132478
(22) 출원일자 2016년10월13일
심사청구일자 2016년10월13일

(71) 출원인
하이트진로 주식회사
서울특별시 강남구 영동대로 714 (청담동)

(72) 발명자
안지혜
대전광역시 중구 대흥로111번길 24, 414호 (대흥동, 대미리치빌)

심문보
경기도 용인시 처인구 신송로55번길 20-9 (마평동)
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
제일특허법인

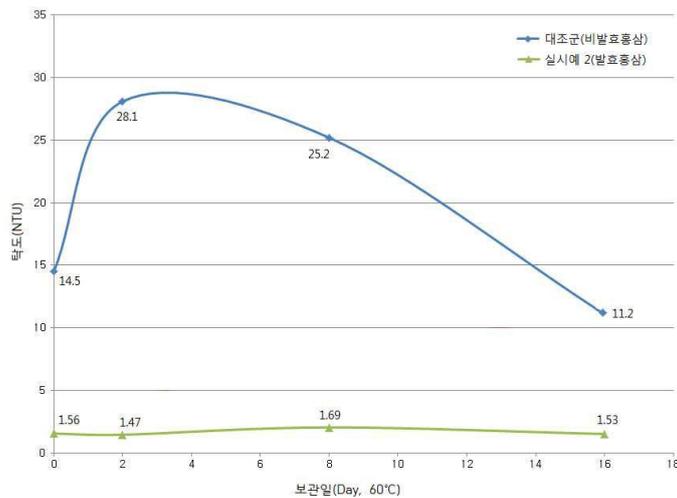
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 아스퍼질러스 속 국균을 이용한 발효홍삼의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 아스퍼질러스 속 국균을 이용한 발효홍삼의 제조방법에 관한 것으로, 홍삼에 아스퍼질러스 속 국균을 접종하여 발효시키는 본 발명의 발효홍삼의 제조방법을 이용하면, 진세노사이드를 고함량으로 포함하되 홍삼 특유의 향미를 감소시킨 발효홍삼을 제조할 수 있다. 나아가, 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 홍삼 발효물을 이용하여 혼탁이 방지되고 침전 안정성이 향상된 홍삼 음료를 제조할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/14 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2300/50 (2013.01)

(72) 발명자

전영욱

서울특별시 서대문구 증가로 191, 103동 1006호 (남가좌동, 남가좌삼성아파트)

송진환

세종특별자치시 만남로 190, 2009동 1403호 (고운동, 가락마을 20단지)

명세서

청구범위

청구항 1

홍삼에 아스퍼질러스 속(*Aspergillus spp.*) 국균을 접종하여 발효시키는 것을 포함하는, 발효홍삼의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 아스퍼질러스 속 국균이 아스퍼질러스 카와치(*Aspergillus kawachii*), 아스퍼질러스 오리재(*Aspergillus oryzae*), 아스퍼질러스 니제르(*Aspergillus niger*), 아스퍼질러스 우사미(*Aspergillus usami*), 아스퍼질러스 시로우사미(*Aspergillus shirousami*) 및 아스퍼질러스 아와모리(*Aspergillus awamori*)로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인, 발효홍삼의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 발효가 고체발효인, 발효홍삼의 제조방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 고체발효가 멸균된 홍삼 고형분에 고형분 1g 당 0.5 내지 2ml의 물을 가하고, 얻어진 혼합물에 국균을 접종한 후, 25 내지 40℃에서 1일 내지 20일 동안 발효시키는 것을 포함하는, 발효홍삼의 제조방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 국균이 상기 홍삼 고형분 총 중량을 기준으로 0.01 내지 1.0 중량%의 양으로 접종되는, 발효홍삼의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 발효가 액체발효인 것을 특징으로 하는, 발효홍삼의 제조방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 액체발효가 멸균된 홍삼 고형분에 고형분 1g 당 5 내지 50ml의 물을 가하고, 얻어진 혼합물에 국균을 접종한 후, 25 내지 40℃에서 1일 내지 20일 동안 발효시키는 것을 포함하는, 발효홍삼의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 국균이 상기 홍삼 고형분 총 중량을 기준으로 0.01 내지 1.0 중량%의 양으로 접종되는, 발효홍삼의 제조방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 제조방법에 의해 제조된, 홍삼 발효물.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 홍삼 발효물이 3 내지 20 $\mu\text{mole/g}$ 의 진세노사이드 Rd를 포함하는, 홍삼 발효물.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 홍삼 발효물이 1.5 내지 15.0 $\mu\text{mole/g}$ 의 진세노사이드 Rg1을 포함하는, 홍삼 발효물.

청구항 12

제9항의 홍삼 발효물을 포함하는 음료.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 홍삼 발효물이 고체 발효에 의해 제조된 것인, 음료.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 아스퍼질러스 속 국균을 이용한 발효홍삼의 제조방법 및 이에 의해 제조된 홍삼 발효물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 홍삼은 수삼으로부터 특수한 증숙, 건조 및 가공 공정을 통해 제조된 생약의 일종이다. 열처리에 따른 성분 변화로 인해 홍삼에는 진세노사이드(Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rg1, Re 등) 및 항산화 활성 물질이 수삼이나 백삼에 비해 다량 함유되어 있고, 특유의 진세노사이드가 생성되기도 한다. 상기 여러 종류의 진세노사이드는 자양강장, 중추신경계 증상개선효과, 학습기능 증진, 기억력 향상, 생체 저항력 증진, 생체의 항상성 유지, 혈당 강하 기능, 해독 촉진 작용, 간 보호 및 재생, 심근세포보호 및 심기능 강화, 혈중콜레스테롤 함량저하, 혈압조절, 항암효과 등의 다양한 약리 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 특히, 상기 진세노사이드 Rd는 타 성분들에 비해 홍삼에 미량 포함되나 항비만, 노화방지, 피로 회복 등의 효과가 뛰어나고, 진세노사이드 Rg1은 면역력 증진,

감기예방, 숙취 해소, 스트레스 해소 등에 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다.

- [0003] 이에, 홍삼 특유의 유효성분인 진세노사이드를 포함하는 다양한 제품들이, 예컨대, 농축, 분말, 캡슐, 액상 제제, 음료 등의 다양한 형태로 가공되어 판매되고 있다. 이 중 액상 제제, 음료 등은 복용이 간편하고 흡수가 빠르다는 장점이 있어 소비자에게 높은 선호도를 보인다. 그러나, 상기 액상 제제, 음료 등은 저장 및 유통 과정에서 시간이 증가함에 따라 혼탁이 발생하거나 침전물이 생성되어 제품의 외관과 품질을 저하시킨다는 단점이 있다.
- [0004] 나아가, 홍삼 제품의 제조에 있어서, 유효성분의 증대, 복용 편의성 등을 위해 발효, 효소 처리 등의 공정이 더 수반될 수 있다.
- [0005] 일례로 대한민국 등록특허 10-1093062는 고초균(*Bacillus spp.*)을 이용한 홍삼박 발효물의 제조 방법을 개시하고 있다. 그러나, 상기 특허는 고체 및 액체 발효의 공정을 통해 제조된 발효물의 유효성분, 특히 진세노사이드의 함량에 대해서는 전혀 개시하고 있지 않다.
- [0006] 다른 예로, 대한민국 공개특허 10-2015-0050726는 홍삼 추출물을 포함하는 발효홍삼 농축액 조성물 및 이의 제조방법으로서, 홍삼 추출물에 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*)을 접종하여 발효시키는 방법을 개시하고 있다.
- [0007] 그러나, 기존의 방법들은, 홍삼의 유효성분인 진세노사이드가 발효 공정을 통해 당이 제거됨으로써 비극성이 높아져 액상 제제로 제품화할 때 혼탁도를 높이거나 침전을 형성하는 것을 억제하는 것에 대해서는 만족할 만한 결과를 보이지 못하고 있다.
- [0008] 이에 본 발명에서는 발효홍삼을 제조함에 있어서 특정 유용 진세노사이드를 고함량으로 포함할 뿐만 아니라, 이로부터 제조된 추출물의 혼탁 및 침전 안정성을 개선할 수 있는 발효홍삼, 및 이의 제조방법을 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0009] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 10-1093062
(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 10-2015-0050726

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 따라서, 본 발명의 목적은 유용 진세노사이드를 고함량으로 포함하는 발효홍삼의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0011] 나아가, 본 발명의 다른 목적은 혼탁 및 침전 안정성을 향상시킨 홍삼 발효물 및 이를 포함하는 음료를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0012] 상기 목적을 달성하기 위해 본 발명은, 홍삼에 아스퍼질러스 속(*Aspergillus spp.*) 국균을 접종하여 발효시키는 것을 포함하는, 발효홍삼의 제조방법을 제공한다.

[0013] 상기 다른 목적을 달성하기 위해 본 발명은, 상기 제조방법에 의해 제조된 홍삼 발효물을 제공한다.

[0014] 상기 또 다른 목적을 달성하기 위해 본 발명은, 상기 홍삼 발효물을 포함하는 음료를 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명의 발효홍삼의 제조방법을 이용하면 특정 진세노사이드를 고함량으로 포함하되 홍삼 특유의 향미를 감소시킨 발효홍삼을 제조할 수 있다. 나아가, 상기 제조방법에 의해 제조된 홍삼 발효물을 이용하여 혼탁이 방지되고 침전 안정성이 향상된 홍삼 음료를 제조할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 실시예 2에서 제조된 발효홍삼 및 비발효홍삼의 추출물을 60℃에서 보관할 때, 시간 경과에 따른 혼탁도 변화를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0018] 본 발명은 홍삼에 아스퍼질러스 속(*Aspergillus spp.*) 국균을 접종하여 발효시키는 것을 포함하는, 발효홍삼의 제조방법을 제공한다.

[0019] 상기 아스퍼질러스 속 국균은 아스퍼질러스 카와치(*Aspergillus kawachii*), 아스퍼질러스 오리재(*Aspergillus oryzae*), 아스퍼질러스 니제르(*Aspergillus niger*), 아스퍼질러스 우사미(*Aspergillus usami*), 아스퍼질러스 시로우사미(*Aspergillus shirousamii*), 아스퍼질러스 아와모리(*Aspergillus awamori*) 등일 수 있고, 자세하게는 아스퍼질러스 카와치, 아스퍼질러스 오리재, 아스퍼질러스 니제르 등일 수 있고, 보다 자세하게는 아스퍼질러스 카와치일 수 있다.

[0020] 상기 발효는 고체발효일 수 있다. 구체적으로, 상기 고체발효는 멸균된 홍삼 고형분(예컨대, 홍삼 분말)에 고형분 1g 당 0.05 내지 2ml, 자세하게는 0.1 내지 1ml, 보다 자세하게는 0.1 내지 0.5ml의 물을 가하고, 얻어진 혼합물에 국균을 접종한 후 25℃ 내지 40℃에서 1일 내지 20일, 자세하게는 3일 내지 20일 동안 발효시키는 것을 포함할 수 있다. 상기 국균의 접종량은 상기 홍삼 고형분 총 중량을 기준으로 0.01 내지 1.0 중량%, 자세하게는 0.05 내지 0.5 중량%, 보다 자세하게는 0.05 내지 0.3 중량%, 보다 더 자세하게는 약 0.1 중량%일 수 있다.

[0021] 또한, 상기 발효는 액체발효일 수 있다. 구체적으로 상기 액체발효는 멸균된 홍삼 고형분(예컨대, 홍삼 분말)에 고형분 1g 당 5 내지 50ml, 자세하게는 5 내지 20ml의 물이 첨가된 혼합물에 국균을 접종하고, 25℃ 내지 40℃에서 1일 내지 20일, 자세하게는, 3일 내지 20일 동안 발효시키는 것을 포함할 수 있다. 상기 국균의 접종량은 상기 홍삼 고형분 총 중량을 기준으로 0.01 내지 1.0 중량%, 자세하게는 0.05 내지 0.5 중량%, 보다 자세하게는 0.05 내지 0.3 중량%, 보다 더 자세하게는 약 0.1 중량%일 수 있다.

[0022] 상기 고체 또는 액체발효 후 얻어진 발효홍삼, 또는 발효물은 고온의 조건에서도 진세노사이드를 고함량으로 포함할 뿐만 아니라, 혼탁이 발생하지 않는다. 구체적으로, 상기 발효홍삼, 또는 발효물은 50 내지 70℃에서 효소 반응을 유도하여 보관하는 경우, 자세하게는 60℃에서 보관하는 경우에도, 혼탁이 거의 발생하지 않으며 오히려 진세노사이드의 함량이 증가할 수 있다(시험예 3 참조).

[0023] 더 나아가, 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조된 홍삼 발효물을 제공한다.

[0024] 상술한 바와 같이 아스퍼질러스 속 국균을 홍삼에 접종한 후 고체 또는 액체발효시킴으로써 제조된 홍삼 발효물

은 발효 전보다 Rg1, Rd 등의 특정 유용 진세노사이드의 함량이 증가한다. 자세하게, 본 발명의 홍삼 발효물은 3 내지 20 $\mu\text{mole/g}$ 의 진세노사이드 Rd를 포함할 수 있다. 또한, 1.5 내지 15.0 $\mu\text{mole/g}$ 의 진세노사이드 Rg1을 포함할 수 있다.

[0025] 또한, 본 발명의 홍삼 발효물은 발효 전보다 증가한 pH값을 갖는다. 진세노사이드는 알칼리 환경에서 보다 안정하여 침전 및 혼탁 유발 가능성이 낮은 것으로 알려져 있으므로, 본 발명의 홍삼 추출물을 이용하면 침전 안정성이 향상된 발효홍삼 용액을 얻을 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는, 아스퍼질러스 카와치를 접종하여 고체 또는 액체 발효시킨 발효홍삼의 진세노사이드 함량, 및 상기 발효홍삼을 포함하는 추출물의 보관 안정성(침전 및 혼탁 발생 감소)에 대한 시험 결과를 개시하고 있다(시험예 2 및 3 참조).

[0026] 본 발명은 또한 상기 홍삼 발효물을 포함하는 음료를 제공한다. 상기 홍삼 발효물은 고체발효 또는 액체 발효에 의해 제조될 수 있으며, 자세하게는 고체 발효에 의해 제조된 것일 수 있다.

[0027] 본 발명의 음료는 상기 홍삼 발효물을 식품 분야의 공지의 방법에 따라 가공하여 제조할 수 있다. 예컨대, 상기 홍삼 발효물을 물, 메탄올, 주정, 부탄올, 아세톤, 에탄올, 에틸아세테이트, 이산화탄소, 이소프로판올, 클로로포름, 헥산 등의 식품학적으로 허용되는 용매를 이용하여 추출하거나, 상기 용매에 현탁시킬 수 있다. 이 때, 상기 홍삼 발효물로부터 1차적으로 얻어진 추출물 또는 현탁액을 여과함으로써 침전을 제거하여, 보다 침전 발생이 적고 혼탁도가 낮은 음료를 제조할 수 있다.

[0028] 상기 음료는 식품학적으로 허용가능한 첨가제를 더 포함할 수 있다. 상기 식품학적으로 허용가능한 첨가제로는, 감미료, 산미료, 비타민류, 미네랄류, 아미노산류, 검류 또는 이들의 혼합물을 사용할 수 있다. 상기 감미료는 포도당, 설탕, 올리고당, 과당 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 상기 산미료는 구연산, 사과산, 젖산, 주석산 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0029] 본 발명의 음료는 발효에 의해 홍삼 특유의 향미가 감소되고, 혼탁 및 침전이 억제됨으로써 우수한 관능성을 나타낸다.

[0030] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명이 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0031] [실시예]

[0032] 실시예 1 : 액체발효에 의한 발효홍삼의 제조

[0033] 홍삼 분말 2g(고려홍삼분말, 한국인삼유통공사) 및 RO수(Reverse osmotic water) 20ml를 혼합한 후 121°C에서 15분간 멸균하였다. 멸균된 혼합물을 실온으로 냉각시킨 다음, 아스퍼질러스 카와치(*Aspergillus kawachii*) 균주(HIGUCHI MATSUNOSUKE SHOTEN사)를 상기 홍삼 분말의 총 중량을 기준으로 0.1중량% 접종하였다. 이후, 150rpm의 속도로 진탕하면서 37°C에서 13일 동안 배양한 후 국균에서 분비된 효소의 반응을 위해 60°C에서 3시간 처리하여 발효홍삼을 제조하였다.

[0034] 실시예 2 : 액체발효에 의한 발효홍삼의 제조

[0035] 아스퍼질러스 카와치(*Aspergillus kawachii*) 균주 대신 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) 균주(HIGUCHI MATSUNOSUKE SHOTEN사)를 상기 홍삼 분말의 총 중량을 기준으로 0.1중량%를 사용하는 것을 제외하고는, 실시예 1과 동일한 방법으로 수행하여 발효홍삼을 제조하였다.

[0036] **실시예 3 : 액체발효에 의한 발효홍삼의 제조**

[0037] 아스퍼질러스 카와치(*Aspergillus kawachi*) 균주 대신 아스퍼질러스 니제르(*Aspergillus niger*) 균주(HIGUCHI MATSUNOSUKE SHOTEN사)를 상기 홍삼 분말의 총 중량을 기준으로 0.1중량%를 사용하는 것을 제외하고는, 실시예 1과 동일한 방법으로 수행하여 발효홍삼을 제조하였다.

[0038] **실시예 4 : 고체발효에 의한 발효홍삼의 제조**

[0039] 홍삼 분말 20g(고려홍삼분말, 한국인삼유통공사)을 121℃에서 15분간 멸균한 다음 실온으로 냉각시켰다. 상기 홍삼 분말에 멸균수 10 ml를 분무한 후, 아스퍼질러스 카와치 균주(HIGUCHI MATSUNOSUKE SHOTEN사)를 상기 홍삼 분말의 총 중량을 기준으로 0.1중량% 접종하였다. 이후, 37℃, 상대습도(RH) 99%에서 13일 동안 배양하여 고체 홍삼을 제조하였다. 이후 100ml의 멸균수를 첨가하여 60℃에서 3시간 반응하여 고체발효홍삼 추출물을 제조하였다.

[0040] **[시험예]**

[0041] **시험예 1 : 아스퍼질러스 카와치 균주를 접종하여 발효시킨 발효홍삼의 진세노사이드 함량 측정**

[0042] 실시예 1에서 제조된 발효홍삼 시료의 진세노사이드 함량을 측정하기 위하여 발효홍삼의 추출물을 제조하였다.

[0043] 구체적으로, 실시예 1 내지 3에서 제조된 발효홍삼 시료 각각을 90℃에서 10 분동안 열수 추출한 후, 4500rpm으로 15분동안 원심분리하고 상층액 14ml를 분리하여 극성 진세노사이드를 분리하였다. 상층액 분리 후 남은 시료 6ml에 100% 메탄올 14ml를 첨가하여 최종 농도 70% 메탄올추출물을 제조하고 상온에서 24시간 추출하여 4500rpm으로 15분동안 원심분리한 후 상층액(비극성 진세노사이드) 14ml를 얻었다. 상기 각각의 상층액을 37℃에서 밤새(overnight) 보관하였다. 각 상층액을 4500rpm으로 15분동안 원심분리하고 얻어진 상층액을 1µm 멤브레인 필터로 여과하여 추출액 1 및 2를 제조하였다. 상기 추출액 1 및 2를 하기 시험예에서 각각 분석한 후 데이터를 합하여 각 시료의 데이터로 나타내었으며, 아스퍼질러스 카와치 균주를 접종하지 않고 동일한 과정을 반복한 대조군과 비교하였다.

[0044] 상기 발효홍삼 추출물 및 대조군의 진세노사이드의 함량을 UPLC(Ultra Performance(Pressure) Liquid Chromatography) 방법을 통하여 하기 조건에서 진세노사이드의 함량을 측정하였다.

- [0045] - 기기 : Acquity UPLC(Waters)
- [0046] - 컬럼 : Cortecs UPLC C18+Column(1.6µm, 2.1x 50mm, Waters)
- [0047] - 검출기: PDA detector 사용(203nm)
- [0048] - 이동상 : 물, 아세토니트릴(하기 표 1의 농도 기울기 사용)
- [0049] - 시료주입량 5µl, 분석온도 30℃, Runtime 15분

표 1

[0050]

| 시간(분) | 유속(mL/min) | 물(%) | 아세토니트릴(%) | Curve |
|-------|------------|------|-----------|-------|
| 0(초기) | 0.7 | 82 | 18 | 6 |
| 0.5 | 0.7 | 82 | 18 | 6 |
| 3 | 0.7 | 81.4 | 18.6 | 6 |
| 10 | 0.7 | 57 | 43 | 6 |
| 10.5 | 0.7 | 57 | 43 | 6 |
| 12.5 | 0.7 | 38 | 62 | 6 |
| 13 | 0.7 | 20 | 80 | 6 |
| 13.5 | 0.7 | 20 | 80 | 6 |
| 15 | 0.7 | 82 | 18 | 1 |

[0051] 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0052]

| 진세노사이드 | 함량($\mu\text{mole/g}$) | | | |
|--------|--------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | 대조군 | 실시에 1 (<i>A.kawachi</i>) | 실시에 2 (<i>A.oryzae</i>) | 실시에 3 (<i>A.niger</i>) |
| Rg1 | 6.24 | 2.07 | 1.92 | 1.19 |
| Re | 2.57 | 0.13 | 0.30 | 1.15 |
| Rb1 | 3.10 | 1.28 | 0.06 | 0.11 |
| Rc | 1.06 | 0.21 | 0.29 | 0.56 |
| Rb2 | 1.19 | 0.72 | 1.22 | 1.50 |
| Rd | 3.41 | 11.20 | 9.50 | 9.03 |
| C-0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| C-F2 | 0.00 | 0.19 | 0.11 | 0.08 |
| Rg3(S) | 1.01 | 2.50 | 1.91 | 1.78 |
| Rg3(R) | 0.54 | 1.64 | 1.45 | 1.33 |
| C-Y | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| C-K | 0.00 | 0.17 | 0.00 | 0.00 |
| Rh2(S) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Rh2(R) | 0.601 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 합계 | 19.73 | 20.12 | 16.75 | 16.73 |

[0053] 상기 표 2의 결과를 살펴보면, 상기 아스퍼질러스 카와치, 아스퍼질러스 오리재 및 아스퍼질러스 니제르 균주를 이용하여 제조된 발효홍삼의 추출물은, 대조군에 비하여 Rd, C-F2, Rg3(S), Rg3(R) 등과 같은 유용 진세노사이드의 함량이 대부분 우수하게 나타났다. 특히 실시에 1 내지 3의 Rd 함량은 대조군에 비하여 약 3.3배, 2.8배 및 2.7배가량 증가하였다.

[0054] **시험예 2 : 액체 및 고체발효에 의한 발효홍삼의 진세노사이드 함량 측정**

[0055] 실시에 1 및 4에서 얻어진 발효시간을 달리한 발효홍삼 시료들을 이용하여 시간 경과(발효일 수)에 따른 진세노사이드의 함량을 측정하였다. 상기 각각의 발효홍삼 시료들로부터 시험예 1과 동일한 방법으로 추출물을 제조하였으며, 이들의 진세노사이드 함량을 측정해 그 결과를 하기 표 3 및 4에 나타내었다.

[0056] 하기 표 3은 실시에 1에서 제조된 액체발효홍삼에 대하여 0일, 6일, 13일 및 20일의 발효 기간에 따른 진세노사이드의 함량을 측정된 결과이다.

표 3

[0057]

| 진세노사이드 ($\mu\text{mole/g}$) | 액체발효 기간 | | | |
|----------------------------------|---------|------|------|------|
| | 0일(대조군) | 6일 | 13일 | 20일 |
| Rg1 | 1.37 | 2.40 | 1.59 | 1.54 |
| Re | 1.00 | 0.20 | 0.68 | 0.00 |
| Rb1 | 3.31 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Rc | 0.98 | 0.32 | 0.31 | 0.28 |
| Rb2 | 0.87 | 0.86 | 0.97 | 1.04 |
| Rd | 0.38 | 5.39 | 6.23 | 5.83 |
| C-0 | 0.00 | 0.01 | 0.03 | 0.04 |
| C-F2 | 0.00 | 0.20 | 0.19 | 0.15 |
| Rg3(S) | 1.40 | 1.40 | 1.69 | 1.86 |
| Rg3(R) | 0.90 | 0.98 | 1.08 | 1.21 |
| C-Y | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| C-K | 0.00 | 0.08 | 0.25 | 0.34 |

| | | | | |
|--------|-------|-------|-------|-------|
| Rh2(S) | 0.07 | 0.07 | 0.07 | 0.04 |
| Rh2(R) | 0.12 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 합계 | 10.41 | 11.91 | 13.10 | 12.32 |

[0058] 상기 표 3의 결과를 살펴보면, 액체발효홍삼은 시간이 경과함에 따라 대조군에 비해 Rd 함량이 약 14 내지 16배로 크게 증가하였고, Rg1 함량은 약 1.1 내지 1.8배 증가하였다. 또한, 진세노사이드의 총 함량은 6일, 13일 및 20일 발효홍삼에서 각 11.91, 13.10 및 12.32 $\mu\text{mole/g}$ 로 대조군의 10.41 $\mu\text{mole/g}$ 에 비해 약 11 내지 26% 높게 나타났다.

[0059] 하기 표 4는 실시예 4에서 제조된 고체발효홍삼에 대하여 0일, 3일, 6일 및 13일의 발효 기간에 따른 진세노사이드의 함량을 측정된 결과이다.

표 4

| 진세노사이드 ($\mu\text{mole/g}$) | 고체발효 기간 | | | |
|----------------------------------|---------|-------|-------|-------|
| | 0일(대조군) | 3일 | 6일 | 13일 |
| Rg1 | 5.61 | 3.40 | 6.79 | 13.49 |
| Re | 5.90 | 3.32 | 6.53 | 0.31 |
| Rg2(S) | 0.46 | 1.22 | 0.57 | 0.00 |
| Rg2(R) | 0.00 | 0.19 | 0.00 | 0.00 |
| Rb1 | 5.81 | 0.12 | 0.11 | 0.14 |
| Rc | 1.95 | 0.43 | 0.38 | 0.00 |
| Rb2 | 1.63 | 1.30 | 1.71 | 2.00 |
| Rd | 2.00 | 8.83 | 12.68 | 14.62 |
| C-0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.01 |
| C-F2 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.11 |
| Rg3(S) | 0.14 | 0.86 | 0.13 | 0.17 |
| Rg3(R) | 0.05 | 0.54 | 0.05 | 0.05 |
| C-Y | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| C-K | 0.00 | 0.00 | 0.09 | 0.45 |
| Rh2(S) | 0.00 | 0.02 | 0.00 | 0.04 |
| Rh2(R) | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 합계 | 23.56 | 20.24 | 29.03 | 31.39 |

[0061] 상기 표 4의 결과를 살펴보면, 고체발효홍삼은 발효 기간 6일인 시료부터 Rg1 함량이 증가하기 시작하여 발효 기간 13일 시료에서는 발효 0일째의 대조군에 비해 약 2.4배 높은 13.49 $\mu\text{mole/g}$ 이 검출되었다. 나아가, Rd 함량이 대조군에 비해 약 4.4 내지 7.3 배로 크게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 또한, 진세노사이드의 총 함량은 6일, 13일 발효 시 29.03, 31.39 $\mu\text{mole/g}$ 로 대조군의 23.56 $\mu\text{mole/g}$ 에 비해 약 23%, 33% 증가하였다.

[0062] **시험예 3: 안정성 평가**

[0063] 상기 시험예 2의 결과를 기초로 진세노사이드 함량이 보다 우수한 고체발효홍삼의 액상에서의 안정성을 평가하기 위하여 다음과 방법으로 추출물 시료를 얻어 탁도, pH 및 진세노사이드 함량을 측정하였다.

[0064] 구체적으로, 실시예 4의 고체발효홍삼과 비발효홍삼(대조군)을 90°C에서 10분동안 가열하고 4500rpm으로 15분동안 원심분리하였다. 상층액 15ml을 얻어 R0수 85ml으로 희석하였다. 그 다음 카트리지로 여과(Absolute 1 μm 필터)하고 110°C에서 90초동안 살균하여 추출물을 얻었다.

[0065] 상기 얻어진 추출물을 60°C에서 보관하면서 2일, 5일, 8일 및 16일째에 샘플링을 실시하여 pH, 진세노사이드 함량 및 탁도를 측정하였다.

[0066] 그 결과를 하기 표 5 및 도 1에 나타내었다.

[0067] 표 5는 초기 진세노사이드의 초기 함량을 100%로 하여 시간 경과에 따른 진세노사이드의 함량과, 이에 따른 pH를 나타낸 것이다.

표 5

| 보관일 수 (60℃) | 대조군 (비발효홍삼) | | 실시에 4 (아스퍼질러스 속 국균 접종 고체발효홍삼) | |
|----------------|----------------|------|----------------------------------|------|
| | 진세노사이드 | pH | 진세노사이드 | pH |
| 0 | 100% | 5.60 | 100% | 6.66 |
| 8 | 115% | 5.85 | 123% | 6.03 |
| 16 | 97% | 5.92 | 106% | 5.87 |

[0069] 상기 표 5의 결과를 살펴보면, 실시에에 따른 발효홍삼의 진세노사이드 함량은 비발효홍삼보다 높았으며, 시간 경과에 따라 꾸준히 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 나아가, pH값이 약 6 정도로 비발효홍삼보다 높았으며, 시간이 경과하여도 거의 변화하지 않아 비발효홍삼에 비해 알칼리성을 띄고 있는 것을 알 수 있었다. 진세노사이드가 알칼리 환경에서 비교적 안정한 것으로 알려져 있기 때문에 본 발명의 고체발효홍삼은 장기 안정성이 높을 것으로 판단된다.

[0070] 또한, 진세노사이드 함량은 초기 농도를 100%로 하였을 때 비발효홍삼은 최종 97%, 실시에 4의 고체발효홍삼은 최종 106%로 본 발명의 고체발효홍삼의 안정성이 더 뛰어난 것을 확인할 수 있었다.

[0071] 도 1은 60℃ 에서 보관일 수에 따른 탁도 변화를 나타낸 그래프이다.

[0072] 도 1의 탁도 측정 결과를 살펴보면, 실시에 4의 발효홍삼의 추출물은 0, 2, 8 및 16일째의 탁도가 1.56 NTU, 1.47 NTU, 1.69 NTU 및 1.53 NTU의 낮은 수준의 탁도를 보이고 있는 반면, 비발효홍삼은 14.5 NTU, 28.1 NTU, 25.2 NTU 및 11.2 NTU로, 실시에 2의 발효홍삼에 비해 최대 약 18배 높은 수준의 탁도를 보이고 있음을 확인하였다.

[0073] 이와 같이, 본 발명의 발효홍삼은 알칼리성에 가까워 진세노사이드를 보다 안정하게 함유하고 있어 액상에서 침전 안정성이 우수하다. 또한, 낮은 혼탁도를 나타내어 홍삼 음료에 유용하게 적용 가능하다.

도면

도면1

