(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년03월26일
(11) 등록번호 10-2094084
(24) 등록일자 2020년03월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) *A23L 29/00* (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) *A61Q 19/02* (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A23L 29/065 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0131307
(22) 출원일자 2018년10월30일
심사청구일자 2018년10월30일
(56) 선행기술조사문헌
KR100884252 B1
KR100866504 B1
KR1020160077285 A

(73) 특허권자
경남과학기술대학교 산학협력단
경상남도 진주시 동진로 33 (칠암동)
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
조계만
경상남도 진주시 진주대로 829번길 21, 103동 2501호
김수철
경상남도 진주시 대신로389번길 6-5
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
조영신

전체 청구항 수 : 총 6 항 심사관 : 홍성란

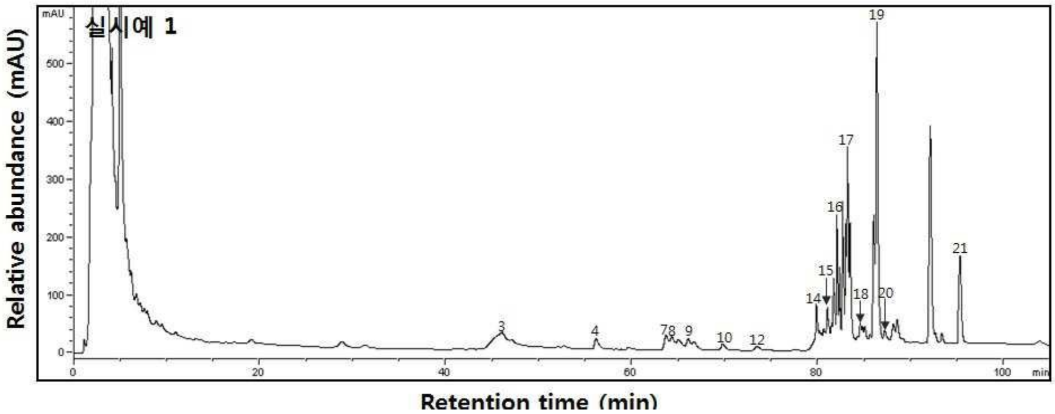
(54) 발명의 명칭 **인체 흡수형 진세노사이드 및 오메가-6 지방산이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물 및 그 제조 방법**

(57) 요 약

본 발명에서는 인체 흡수가 용이한 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2와 컴파운드 케이와 오메가-6 지방산(ω-6 지방산: 리놀레산과 아라키돈산), 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 현저히 증진된 산양삼 숙성 복합발효물 및 그 제조방법이 개시된다.

본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물은 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 현저히 증진되어 있고 더불어 항산화 효과가 우수하여, 기능성 식품 및 의약품의 소재로 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 기능성식품 및 화장품은 우수한 항산화 활성을 가져서, 라디칼 등에 의한 산화적 스트레스에 따른 면역력 저하 개선, 인지능력 개선, 피로회복, 먹는 화장품 및 피부 미용용으로 유용하다.

대 표 도 - 도2d



(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A61Q 19/02 (2013.01)
A61Q 19/08 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)
A23V 2200/322 (2013.01)
A23V 2200/324 (2013.01)
A61K 2800/85 (2013.01)
A61K 2800/92 (2013.01)

(72) 발명자

강상수

경상남도 진주시 신안들말길 58, 202동 102호(신안동, 평거2차현대아파트)

박상원

경상남도 진주시 천수로 30 한보은빛마을아파트 105동 402호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2017023A00-1720-BA01
부처명	산림청 / 한국임업진흥원
연구관리전문기관	한국임업진흥원
연구사업명	산림생명자원 소재발굴연구사업
연구과제명	지리적 표시제 관련 산양삼을 활용한 유효성분 극대화 및 기반 기술 개발
기 여 율	1/2
주관기관	경남과학기술대학교 산학협력단
연구기간	2017.03.31 ~ 2019.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	R0006207
부처명	중소기업벤처부 / 한국산업기술진흥원
연구관리전문기관	한국산업기술진흥원
연구사업명	풀뿌리기업육성사업
연구과제명	함양 산양삼 기반 항노화 블록버스터급 상품 고도화 사업
기 여 율	1/2
주관기관	경남과학기술대학교 산학협력단
연구기간	2017.04.01 ~ 2019.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물의 제조방법으로,

상기 방법은

ⅰ) 산양삼 또는 산양새싹삼을 증숙 및 밀폐 숙성과 증숙 및 개방 숙성을 교대로 4회 수행하는 단계; 및

ⅱ) 수탁번호 KACC 92157P로 기탁된 락토바실러스 브레비스 BMK484 균주와 수탁번호 KACC91848P로 기탁된 락토바실러스 플란타륨 P1201 균주의 복합 종균으로 발효하는 단계를 포함하고,

상기 증숙은 100℃에서 30 ~ 120분간 수행하고,

상기 밀폐 숙성은 70~80℃의 밀폐형 숙성기에서 2~3일간 숙성을 수행하고,

상기 개방 숙성은 60~70℃의 개방형 숙성기에서 2~3일간 숙성을 수행하는 것인 제조방법.

청구항 2

제 1항에 따른 방법에 의해 제조되고, 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 산양삼 숙성 복합발효물은 진세노사이드 Rd2를 2.75 mg/g 이상, 진세노사이드 Rg3는 2.90 mg/g 이상, 진세노사이드 F2는 3.61 mg/g 이상, 진세노사이드 컴파운드 케이는 6.20 mg/g이상 함유하고, 페놀릭스 8.48 mg/g 이상, 플라보노이드스 2.22 mg/g 이상 함유하고, 오메가-6 지방산인 리놀레산과 아리키돈산은 각각 282.6 mg/100g 이상 및 6.6 mg/100 g 이상 함유하고, 가바는 100.33 mg/100g 이상 함유하는 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물.

청구항 4

제 2항에 있어서, 상기 산양삼 숙성 복합발효물은 증진된 항산화 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물.

청구항 5

제 2항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 따른 산양삼 숙성 복합발효물을 포함하는 식품.

청구항 6

제 2항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 따른 산양삼 숙성 복합발효물을 포함하는 화장품.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 인체 흡수형 진세노사이드 및 오메가-6 지방산이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물 및 그 제조방법에 관한 것으로, 더 상세하게는 산양삼을 증숙/밀폐 숙성과 증숙/개방 숙성을 교대로 4회 수행한 후에 락토바실러스 브레비스 BMK484 균주와 락토바실러스 플란타룸 P1201 균주로 복합발효하여 제조되어, 인체 흡수가 용이한 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2와 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산(ω-6 지방산; 리놀레산과 아라키돈산), 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 현저히 증진된 산양삼 숙성 복합발효물 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 삼(*Ginseng*)은 재배환경에 따른 인위적인 성장과 자연적인 성장의 차이와 형태학적 차이 등에 따라 인삼(人蔘), 산삼(山蔘) 또는 산양삼(山羊蔘)으로 구분한다. 특히 산양삼은 오가피과에 속하며 다년생 초목인 인삼(*Panax ginseng*)이 산간의 삼림하의 야생상태에서 자연적으로 성장한 산삼의 씨앗이나 유삼을 인위적으로 산에서 재배한 것을 말하며 이들을 산양삼이라 한다. 또한 예로부터 야생에서 자생한 산삼은 최고의 산삼으로 쳤으며 장뇌삼이라고도 불린다. 인삼의 경우에는 대부분 노두(머리 부분)가 3-7개 정도이나 산양삼은 연령에 따라 그 이상인 것이 많으며 인삼의 뿌리는 굵고 짧으나 산양삼은 길고 가늘다. 산양삼은 여러 효능면에서 재배 인삼보다 효과가 더 높은 것으로 알려져 있으나 이를 뒷받침 할 수 있는 과학적 근거가 인삼에 비해 그리 많지는 않은 것은 현 실정이다.

[0004] 삼은 중추신경계를 비롯하여 내분비계, 면역계, 대사계 등에 영향을 미쳐 신체기능 조절에 다양한 약리효과를 나타낸다고 보고되어 있으며, 또한 미백, 주름개선, 보습 및 항염증 효과 등의 피부건강 효과 역시 보고되어 있다. 이와 같은 약리효과는 특히 인체 장내 혹은 피부 세포에서 흡수가 용이한 즉, 인체 흡수형 진세노사이드에 기인하는 것으로 알려져 있다.

[0005] 인체 흡수형 진세노사이드로는 진세노사이드 Rg1, Rg3, Rd, Rf, F2, 컴파운드 케이(compound K) 등이 있다. 진세노사이드 Rg1은 학습기능 개선, 항피로 작용, 진세노사이드 Rf는 뇌신경세포 진통작용, 지질과 산화억제작용, 진세노사이드 Rg3는 암세포 전이억제, 간보호 작용, 항암제 내성억제 작용, 진세노사이드 Rd 계열은 부신피질 호르몬 분비 촉진 작용, 진세노사이드 컴파운드 케이는 항암작용, 간보호 작용, 피부보호 작용, 종양증식억제 작용, 항산화 작용, 항알레르기 작용이 밝혀져 있다. 진세노사이드 F2는 아토피성 피부의 염증을 가라앉히고 가려움증을 억제시키는 효과가 최근에 알려져 있다. 진세노사이드 컴파운드 케이 (20-O-beta-D-glucopyranosyl-20(S)- protopanaxadiol)는 진세노사이드 대사체로서 특히 체내 흡수율이 탁월하고 약리학적 활성도 우수한 것으로 알려져 있으며, 최근에는 황반변성질환 치료, 신경변증성 통증 치료, 미백과 주름개선 등의 효과 역시 보고되어 있다 (등록특허 10-1539573, 등록특허10-1300775, 공개특허 10-2014-0003198).

[0006] 그러나 이들 인체 흡수형 진세노사이드는 인삼 자체에는 거의 함유되어 있지 않아, 이를 해결하고자 효소를 이용하여 인삼에 포함된 진세노사이드를 인체 흡수형으로 전환하는 기술들이 몇몇 개발되어 있으나, 이들 기술은 비용이 높거나 인체 흡수형 진세노사이드의 증진률이 낮은 문제를 내포하고 있어서, 여전히 인체 흡수형 진세노사이드가 증진된 산양삼 가공품의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

[0007] 지방산은 한쪽 말단이 카복실기 (-COOH)이고 다른 쪽 말단이 메틸기 ($-CH_3$)인데, 메틸기가 붙어 있는 탄소 (ω 탄소)로부터 몇 번째 탄소에 이중결합이 있는가에 따라 오메가-3 (ω-3) 또는 오메가-6 (ω-6) 지방산으로 나눌 수 있다. 오메가-6 지방산은 ω 탄소로부터 6번째 탄소에 이중결합이 있는 불포화지방산을 말하며, 리놀레산(linoleic acid)과 아라키돈산 (arachidonic acid)이 있다. 오메가-6 지방산은 동물체 내에서 합성되지 않으므로 필수지방산이라 하며, 식물성 기름인 옥수수기름과 낙화생기름이 급원식품으로 알려져 있다. 오메가-6 지방산은 혈액 콜레스테롤 양을 저하시키는 데 효과가 있다.

[0008] 가바 (Gamma-aminobutyric acid, GABA)는 탄소 4개로 구성되어진 비-단백성 아미노산으로 글루타메이트 디카르복실라제(GADase)에 의해 글루탐산(glutamic acid; GA)으로부터 탈탄산 반응과 함께 이산화탄소가 방출됨으로써 가바로 전환되어진다. 가바는 뇌에서 신경전달물질로서의 역할뿐 아니라 뇌기능 촉진, 정신안정작용, 혈압저하작용, 이뇨작용, 간 기능 개선 작용, 비만 방지 작용, 알코올대사 촉진작용 및 소취작용 등 매우 다양한 생리기능을 갖고, 또한 의약품으로 등록되어 뇌졸중 또는 뇌동맥 후유증에 의한 두통, 이명 및 의욕저하 등의 치료에 사용되고 있다. 보통 인체에서 가바를 생성하지만 부적절한 식품 또는 첨가물의 과잉섭취, 비타민이나 무기질류의 섭취 부족에 의해 노화가 진행되면서부터 체내의 가바 생성에는 한계가 오게 된다. 이에 따라서 가바가 포함된 식품의 섭취가 필요로 한다.

[0009] 산양삼 가공품과 관련하여서는 인체 흡수형 진세노사이드, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 모두 현저히 증진된 산양삼 가공품은 아직까지 개발된바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 이에 본 발명자들은 종래 기술의 요구에 부응하기 위한 연구를 지속한 결과, 산양삼을 증숙 및 밀폐 숙성과, 증숙 및 개방 숙성을 교대로 4회 수행한 후 락토바실러스 브레비스 BMK484 균주와 락토바실러스 플란타룸 P1201 균주로 복합발효하여 가공한 경우, 인체 흡수형 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산(리놀레산과 아라키돈산), 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 현저히 증진됨을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

[0012] 따라서 본 발명의 목적은 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 본 발명의 산양삼 숙성 복합발효물을 포함하는 면역력 저하 개선, 인지능력 개선, 피로회복 및 먹는 화장품(이너뷰티)용 기능성식품을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 본 발명의 산양삼 숙성 복합발효물을 포함하는 미백 및 주름개선용 기능성 화장품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0017] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기와 같은 단계들을 포함하는 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물의 제조방법을 제공한다:

[0018] ⅰ) 산양삼을 증숙 및 밀폐 숙성과 증숙 및 개방 숙성을 교대로 4회 수행하는 단계; 및

[0019] ⅱ) 락토바실러스 브레비스 BMK484 균주와 락토바실러스 플란타륨 P1201 균주의 복합 종균으로 발효하는 단계.

[0020] 본 발명의 제조방법은, 추가로, 단계 ⅱ)로부터의 산양삼 숙성 복합발효물을 건조시켜 분말화하는 단계를 포함할 수 있다.

[0022] <u>단계 ⅰ): 산양삼 증숙 및 숙성</u>

[0023] 산양삼을 증숙 및 밀폐 숙성과 증숙 및 개방 숙성을 교대로 4회 수행한다.

[0024] 본 발명에서 '산양삼'은 산양삼 또는 산양새싹삼을 의미한다.

[0025] 본 발명에서 '산양새싹삼'은 해발 500m 이상의 산지에서 재배된 3년근 이상의 5월 ~ 7월 사이 산양삼의 뿌리, 잎과 줄기 전체를 포함한 산양삼 전초 혹은 2년근 이상 산양삼의 묘삼을 인공 환경에서 90일 이내로 수경 혹은 토경 재배한 것를 의미한다. 한편 산양새싹삼은 재배 동안에는 농약이 전혀 사용되지 않은 친환경 농산물로 수경 혹은 토경 재배, 연중생산 가능 및 재배 기간의 단축으로 인해 종래에 이용되는 산양삼보다 낮은 가격을 형성하고 있어 산양삼 보다 장점이 있다.

[0026] 본 발명에서 산양새싹삼은 자연 환경에서 재배된 5월에 수확한 산양새싹삼 혹은 인공 환경에서 30일 배양된 산

양새싹삼을 사용하는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 인공 환경에서 30일 배양된 산양새싹삼을 사용한다.

[0027] 산양삼과 산양새싹삼은 뿌리, 잎, 줄기 전체를 포함한 전초로 사용될 수 있다.

[0028] 산양삼 또는 산양새싹삼을 흐르는 물에 3회 세척하고 물기를 제거한 후 증숙한다.

[0029] 증숙은 통상의 찜기와 같은 증숙기를 사용하여 수행할 수 있으며, 100℃에서 30 ~ 120분간 수행한다. 증숙 시간이 30분 미만인 경우 충분한 증숙이 진행되지 않아 숙성과 같은 후속 단계가 원활하지 않을 수 있고 잡균의 오염이 발생될 수 있다. 120분 초과하여 증숙될 경우는 오랜 열처리로 산양삼 또는 산양새싹삼의 영양성분이 파괴될 수 있다.

[0030] 증숙시, 필요에 따라서, 수분 함량 40 ~ 50%가 되도록 산양삼 또는 산양새싹삼에 수분을 첨가할 수 있다.

[0031] 밀폐 숙성은 증숙된 산양삼 또는 산양새싹삼을 밀폐형 숙성기(용기)에 담고 70 ~ 80℃에서 2 ~ 3일간 숙성을 수행한다.

[0032] 개방 숙성은 증숙된 산양삼 또는 산양새싹삼을 개방형 숙성기에 담은 후 60 ~ 70℃에서 2 ~ 3일간 숙성을 수행한다.

[0033] 밀폐 숙성과 개방 숙성은 번갈아(교대로) 수행되며 밀폐 숙성과 개방 숙성의 순서는 상관이 없다.

[0034] 일예로서 하기 실시예(제조예)에 예시된 바와 같이, 산양삼을 1차 증숙하고 1차 밀폐 숙성하고, 2차 증숙하고 2차 개방 숙성하고, 3차 증숙하고 3차 밀폐 숙성하고, 4차 증숙하고 4차 개방 숙성하여 수행할 수 있다.

[0035] 상기와 같이 증숙 및 숙성된 산양삼 또는 산양새싹삼은 숙성이 충분히 되고 생산된 생리활성물질의 분해가 최소화된다.

[0037] <u>단계 ii) 복합발효</u>

[0038] 상기 단계 i)로부터의 증숙 및 숙성된 산양삼 또는 산양새싹삼을 락토바실러스 브레비스 BMK484 균주와 락토바실러스 플란타륨 P1201 균주의 복합 종균으로 발효한다.

[0039] 본 발명에서 복합 종균을 구성하는 하나의 균주인 락토바실러스 브레비스 BMK484 균주는 본 발명자들이 김치로부터 분리/동정하여 국립농업과학원 농업유전자원센터(KACC)에 2016년 12월 12일에 기탁한 균주(수탁번호 KACC92157P)로, 가바(GABA)의 생산성 및 진세노사이드 컴파운드 케이(compound K) 생산성이 탁월하다 (특허출원 10-2017-0152033).

[0040] 본 발명에서 복합종균을 구성하는 또 다른 하나의 균주인 락토바실러스 플란타륨 P1201 균주는 본 발명자들이 발효식품으로부터 분리/동정하여 국립농업과학원 농업유전자원센터(KACC)에 2013년 7월 19일에 기탁한 균주(수탁번호 KACC91848P)로서, 생균제제능이 우수하고 생리활성물질 생산성이 우수한 특성을 갖는다 (등록특허 10-154418호).

[0041] 본 발명의 복합종균을 구성하는 락토바실러스 브레비스 BMK484 균주와 락토바실러스 플란타륨 P1201 균주는 발효 특성이 상호 보완되어 상승작용을 나타낸다. 락토바실러스 브레비스 BMK484 균주는 이형유산발효 (hetero-lactic acid fermentation) 유산균으로 단독 발효 시 유산 생성이 충분하지 않고, 락토바실러스 플란타륨 P1201 균주는 동형유산발효(homo-lactic acid fermentation) 유산균으로 단독 발효 시 유산이 과다하게 생성되는데, 놀랍게도 산양삼 또는 산양새싹삼 전초를 이들 두 가지 종균을 함께 사용하여 복합발효시 양 균주의 발효 특성이 상호 보완되고 인체 흡수형 진세노사이드, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 현저히 증진되었다 (시험예 1~4).

[0042] 본 발명에서 복합종균은 락토바실러스 브레비스 BMK484 균주와 락토바실러스 플란타륨 P1201 균주 각각 별도의 배양액으로서 첨가될 수도 있으며, 혼합 배양된 혼합 배양액으로서 첨가될 수도 있다.

[0043] 복합종균에서 상기 2종의 균주의 혼합 비율은 3 : 1 ~ 1 : 3(v/v)으로 혼합될 수 있다.

[0044] 발효는 상기 복합종균의 배양액을 증숙 및 숙성된 산양삼 또는 산양새싹삼에 2 ~ 10% (v/w) 농도로 접종하여 25 ~ 40℃에서 2 ~ 7일간 발효시키는 것으로 수행될 수 있다.

[0045] 복합종균 접종량이 2%(v/w) 미만일 경우에는 발효 속도가 지연될 수 있고 10%(v/w) 초과 시에는 균체 증식 속도가 빨라 활성 진세노사이드의 전환율이 낮으며 신맛이 등이 과다할 수 있으며, 발효 온도가 25℃ 미만일 경우 발효기간이 길어져 잡균의 오염을 초래하고 40℃를 초과할 경우에는 균주의 생육이 정지될 수 있고, 발효 기간

이 2일 미만일 경우 발효가 충분하지 않아 생리활성물질 등의 생성이 저조하게 될 수 있으며, 7일을 초과한 경우는 과발효에 의해 생리활성물질이 분해될 수 있다.

[0046] 또한 발효시, 필요에 따라서, 증숙 및 숙성된 산양삼 또는 산양새싹삼에 물을 첨가하여 수분이 40 ~ 50% (v/w)가 되도록 조정 및/또는 살균한 후, 복합종균을 접종하여 발효할 수 있다. 수분이 함량이 상기 범위일 때 발효효율이 가장 높다. 40% 미만의 수분함량일 경우 미생물이 생존 혹은 생육을 위한 수분이 충분하지 않아 원활한 발효가 진행되지 않고 50% 초과의 경우 발효 종료 후 건조 시간과 비용이 많이 들 수 있으며, 살균 처리를 하지 않을 경우 잡균의 오염 등으로 원할한 발효가 진행되지 않을 수 있다.

[0047] 본 발명의 상기와 같은 단계로 가공되어 제조된 산양삼 숙성 복합발효물은, 가공 전에 비하여 진세노사이드 Rd2는 1.5배 이상, 진세노사이드 Rg3는 8.1배 이상, 진세노사이드 F2는 11.6배 이상, 진세노사이드 컴파운드 케이는 12.4배 이상 함량이 증진되었고, 페놀리스와 플라보노이드스의 함량도 각각 3.6배 이상 및 1.4배 이상 증진되었고, 오메가-6 지방산인 리놀레산과 아리키돈산은 각각 3.1배 이상 및 3.7배 이상 증진되었고, 가바는 3.1배 이상 증진되었다 (표 2, 도 2, 도 3a, 도 3b, 표 3).

[0048] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제조방법에 의해 제조되고, 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물을 제공한다.

[0049] 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물은 진세노사이드 Rd2는 2.75 mg/g 이상, 진세노사이드 Rg3는 2.90 mg/g 이상, 진세노사이드 F2는 3.61 mg/g 이상, 진세노사이드 컴파운드 케이는 6.20 mg/g 이상 함유하고, 페놀릭스 8.48 mg/g 이상, 플라보노이드스 2.22 mg/g 이상 함유하고, 오메가-6 지방산인 리놀레산과 아리키돈산은 각각 282.6 mg/100g 이상 및 6.6 mg/100g 이상 함유하고, 가바는 100.33 mg/100g 이상 함유한다 (표 2, 도 2, 도 3a, 도 3b, 표 3).

[0050] 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물은 현저히 증진된 항산화 활성을 갖는다 (시험예 4).

[0051] 본 발명의 또 다른 목적에 따라서, 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조되고, 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물을 유효성분으로 포함하는 항산화 활성을 갖는 기능성식품을 제공한다.

[0052] 본 발명에서 기능성식품은 본 발명의 산양삼 숙성 복합발효물을 건조하여 분말화한 것을 그대로 이용하거나 혹은 추출하여 이용하거나, 식품첨가제로 사용하거나, 분말 혹은 추출액을 과립, 환, 음료, 젤리 등의 형태의 제품으로 제조될 수 있다.

[0053] 본 발명에 따른 식품은 면역력 저하 개선, 인지능력 개선, 피로회복 및 먹는 화장품(이너뷰티)으로 유용하다.

[0054] 본 발명의 또 다른 목적에 따라서, 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조되고, 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스 및 플라보노이드스 함량이 증진된 산양삼 숙성 복합발효물을 유효성분으로 포함하는 항산화 활성을 갖는 화장품을 제공한다.

[0055] 본 발명에 따른 화장품은 미백 및 주름개선용으로 유용하다.

[0056] 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발표물은 건조하여 분말화한 것을 그대로 또는 추출하여 미백, 주름개선 혹은 보습을 위한 화장품의 첨가제로 이용하거나, 마스크팩, 스킨, 크림, 로션 등의 형태의 제품으로 제조될 수 있다.

발명의 효과

[0058] 본 발명의 제조방법은, 통상의 방법에 비하여, 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량과 항산화 활성이 현저히 증진된 산양삼 가공품을 생산케 한다.

[0059] 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물은 진세노사이드 Rd2, Rg3, F2 및 컴파운드 케이, 오메가-6 지방산, 가바, 페놀릭스, 및 플라보노이드스 함량이 현저히 증진되어 있고 더불어 항산화 효과도 우수하여, 기능성식품, 화장품 및 의약품의 소재로 사용될 수 있다.

[0060] 본 발명에 따른 기능성식품은 우수한 항산화 활성을 가져서, 산화적 스트레스에 따른 면역력 저하 개선, 인지능력 개선, 피로회복, 먹는 화장품 및 피부 미용용으로 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0062] 도 1은 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물의 제조공정의 일례이다.

도 2은 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물의 진세노사이드 화합물 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다. 도 2a는 진세노사이드 표준물질 21종의 HPLC 크로마토그램이며, 도 2b는 비교예 1의 진세노사이드 화합물 HPLC 크로마토그램이며, 도 2c는 비교예 2의 진세노사이드 화합물 HPLC 크로마토그램이며, 도 2d는 실시예 1의 진세노사이드 화합물 HPLC 크로마토그램이며, 2e는 실시예 2의 진세노사이드 화합물 HPLC 크로마토그램이다.

도 3은 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물의 페놀릭스 및 플라보노이드스 함량을 나타낸 그래프이다. 도 3a는 총 페놀릭스 함량을 나타낸 것이며, 도 3b는 총 플라보노이드스 함량을 나타낸 것이다.

도 4은 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물의 항산화 활성을 나타낸 그래프이다. 도 4a는 DPPH 라디칼 소거활성을 나타낸 것이며, 도 4b는 ABTS 라디칼 소거활성을 나타낸 것이며, 도 4c는 히드록실 라디칼 소거활성을 나타낸 것이며, 도 4d는 FRAP 환원력을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0063] 다음의 실시예들에 의해 본 발명이 더 상세히 설명된다. 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것이며, 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되어서는 안된다.

[0064] **제조예 1. 산양삼 숙성 복합발효물 제조**

[0065] 3년근 이상 산양삼(전초) 10 kg을 흐르는 물에 3회 세척하고 완전히 물기를 제거한 후, 5 kg을 찜기통에 담은 후 100℃에서 60분간 1차 증숙하였다. 1차 증숙된 산양삼을 밀폐형 숙성기에 각각 2 kg 담아 수분이 증발되게 하면서 75℃에서 1차 밀폐 숙성을 3일간 수행하였다. 1차 숙성된 산양삼에 수분(수분 함량 약 40%)을 첨가하고 찜기통에 담은 후 100℃에서 60분간 2차 증숙하였다. 2차 증숙된 산양삼을 개방형 숙성기에 옮겨 담은 후 65℃에서 3일간 2차 개방 숙성을 수행하였다. 2차 숙성된 산양삼에 수분(수분 함량 약 40%)을 첨가하고 찜기통에 담은 후 100℃에서 60분간 3차 증숙하였고, 3차 증숙된 산양삼을 다시 밀폐형 숙성기에 담고 75℃에서 3일간 3차 밀폐 숙성을 수행하였다. 최종적으로 3차 숙성된 산양삼에 수분(수분 함량 약 40%)을 첨가하고 찜기통에 담은 후 100℃에서 60분간 4차 중숙하고, 4차 증숙된 산양삼을 개방형 숙성기에 옮겨 담은 후 65℃에서 3일간 4차 개방 숙성을 수행하여 증숙 및 숙성된 산양삼을 제조하였다 (도 1).

[0066] 제조된 증숙 및 숙성된 산양삼 500 g을 발효용기에 넣고 2배의 정세수(1 L)를 첨가하고 1시간동안 수화시켜 수분 함량을 약 50% 정도로 되게 조정한 후, 120℃에서 30분간 살균하고, 락토바실러스 플란타륨 P1201 균주 및 락토바실러스 브레비스 BMK484 균주를 각각 맥아엑기스 액체배지에서 종균으로 배양하며 1:1 비율로 혼합한 복합종균을 5% (v/w)로 접종하고 30℃에서 7일간 발효시켜 산양삼 숙성 복합발효물을 제조하였다 (실시예 1).

[0067] 한편 2년근 이상 산양삼의 묘삼을 30일 토경 재배한 산양새싹삼(전초) 10 kg을 상기와 동일한 방법으로 증숙, 숙성 및 복합발효한 산양삼(산양새싹삼) 숙성 발효조성물을 제조하였다 (실시예 2).

[0068] 비교를 위하여, 원재료 산양삼을 비교예 1로서 준비하였고, 비교예 2로서 산양삼 5 kg을 100℃에서 1시간 증숙하고 건조 채반(개방형 용기)에 담은 후 65℃에서 3일간 건조시키는 공정을 4회 반복하여 12일간 숙성한 후 상기와 동일한 방법으로 발효한 산양삼 발효조성물을 준비하였다.

[0069] <이화학적 특성>

[0070] 실시예 1, 실시예 2, 비교예 1 및 2에 대해 이화학적 특성을 측정하였다. pH는 pH 미터기를 사용하여 측정하였고, 총산도는 중화적정법을 통해 수행하여 젖산으로 환산하여 표기하였고, 환원당은 DNS법(Mille, 1953)을 통해 수행하여 포도당으로 환산하여 표기하여 표 1에 나타내었다.

표 1

[0071]

분석항목	비교예 1	비교예 2	실시예 1	실시예 2
pH	5.05	4.21	4.31	4.26
산도 (%, 젖산기준)	1.81	3.02	2.91	3.12
환원당 (mg/g)	5.02	6.24	5.85	5.55
*모든 실험은 삼 반복 수행하여 평균값으로 나타냄				

[0072] 본 발명에 따라 제조된 산양삼 숙성 복합발효물(실시예 1과 실시예 2)는 비교예 1(원료산양삼)보다 pH는 감소하

였고 총산도는 증가하여서, 보존성과 기호성이 향상된 것으로 판단된다. 환원당은 큰 차이는 없었다(표 1).

[0074] **시험예 1. 진세노사이드 함량 분석**

[0075] 상기에서 제조된 실시예 1의 산양삼 숙성 복합발효물, 실시예 2의 산양새싹삼 숙성 복합발효물, 비교예 1의 원료 산양삼 및 비교예 2의 산양삼 발효조성물을 각각 50 ~ 55℃에서 2일 건조시킨 후 분쇄기로 100메쉬 이하로 분쇄하여 분말화하였다.

[0076] <분석시료 준비>

[0077] 상기에서 제조된 분말은 건강기능식품분석법에 따라 삼 진세노사이드를 추출하였다. 구체적으로는 각 건조분말을 1 g씩 250 ㎖ 삼각플라스크에 정확히 취하고 70% 메탄올 20 ㎖를 가하여 80℃ 항온수조에서 1시간 정치한 후 냉각하였다. 이를 원심분리하여 상등액만 취하고 이를 2회 반복하였다. 이 상등액을 60℃에서 감압 농축하여 그 잔유물을 3차 증류수 2 ㎖에 용해하여 0.45 ㎛ 멤브레인 필터로 여과한 후 분석시료로 사용하였다.

[0078] <진세노사이드 화합물 분석>

[0079] 진세노사이드 화합물 분석은 기능성식품 분석법에 기술된 방법을 변형하여 고압액체크로마토그래피(HPLC, high press liquid chromatograph)로 분석하였다. 분석 컬럼은 TSKgel ODS-100Z을 사용하여 시료주입량 10 ㎕, 온도는 30℃, 측정파장은 203 nm, 유속은 1.0 ㎖/min으로 하였고 이동상으로는 A용액은 HPLC water, B용액은 아세토니트릴을 사용하였다. HPLC 분석 조건은 이동상 용액은 0분때 A용액 81%:B용액 19%로 흘려주고, 15분때에는 A용액 80%:B용액 20%로 흘려주고, 40분때 A용액 77%:B용액 23%, 42분때 A용액 70%:B용액 30%, 75분때에 A용액 65%:B용액 35%, 80분때에 A용액30%:B용액70%, 90분때에 A용액 10%:B용액9 0%로 이동상을 흘려주었다. 분석된 비교예 1, 비교예 2, 실시예 1 및 실시예 2의 진세노사이드 함량은 표 2 및 도 2에 나타내었다.

표 2

[0080]

함량 (mg/g d.w.)	비교예 1	비교예 2	실시예 1	실시예 2
진세노사이드 Rd2	1.81	2.77	2.75	4.63
진세노사이드 F2	0.31	2.27	3.61	4.09
진세노사이드 Rg3	0.36	1.93	3.03	2.90
진세노사이드 C.K	0.50	4.13	6.20	6.30
*모든 실험은 삼 반복 수행하여 평균값으로 나타냄				

[0081] 표 2와 도 2에 나타낸 바와 같이, 실시예 1인 산양삼 숙성 복합발효물의 경우에는 비교예 1(원료 산양삼, 도 2b)에 비해, 진세노사이드 Rd2는 약 1.5배(2.75 mg/g) 이상, 진세노사이드 Rg3는 약 8.4배(3.03 mg/g) 이상, 진세노사이드 F2는 약 11.6배(3.61 mg/g) 이상과 진세노사이드 컴파운드 케이는 약 12.4배(6.20 mg/g) 이상으로 현저히 증진되었다(도 2d).

[0082] 실시예 2의 산양새싹삼 숙성 복합발효물의 경우에는 진세노사이드 Rd2는 약 2.6배(4.63 mg/g) 이상, 진세노사이드 Rg3는 약 8.1배(2.90 mg/g) 이상 증진되었고, 특히 진세노사이드 F2는 약 13.2배(4.09 mg/g) 이상과 진세노사이드 컴파운드 케이는 약 12.6배(6.30 mg/g) 이상으로 현저히 증진되었다(도 2e).

[0083] 또한 실시예 1 및 2인 산양삼 혹은 산양새싹삼 숙성 복합발효물은 비교예 2의 산양삼 발효조성물에 비하여도 진세노사이드 Rg3, 진세노사이드 F2 및 컴파운드 케이는 훨씬 더 증진되었다.

[0085] **시험예 2. 페놀릭스 및 플라보노이드스 함량 분석**

[0086] 생리활성성분인 페놀릭스와 플라보노이드스 함량을 분석하였다.

[0087] <분석시료 준비>

[0088] 상기 시험예 1에서와 같이 준비된 각각의 분말 10 g에 50% 발효주정 10 ㎖를 첨가하여 상온(20±5℃)에서 24시간 추출하고 3,000 rpm의 속도로 원심분리 하여 상등액만을 취하여 추출물을 제조하고 이 추출물을 시료로 하여 총 페놀릭스와 총 플라보노이드스를 분석하였다.

[0089] <총 페놀릭스 함량>

[0090] 총 페놀릭스 함량은 Folin Denis법(1912)으로 측정하였다.

[0091] 구체적으로는 상기에서 준비된 각 분석시료를 시험관에 0.5 ㎖ 분주하고 여기에 25% Na_2CO_3 용액 0.5 ㎖를 첨가하여 3분간 정치시켰다. 다시 2N-Folin-Ciocalteu 페놀 시약 0.25 ㎖를 첨가하여 혼합한 다음 30℃에서 1시간 동안 정치시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 페놀릭스 함량은 갈산(Gallic acid)을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하여 갈산에 상당하는 양으로 계산하였고 그 결과를 도 3a에 나타냈다.

[0092] 도 3a에 나타낸 바와 같이, 총 페놀릭스 함량은 비교예 1(산양삼 원료)와 비교예 2(개방 숙성된 산양삼 발효조성물)에 비하여, 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물(실시예 1)은 각각 약 3.6배와 1.5배 증진되었고, 산양새싹삼 숙성 복합발효물(실시예 2)은 각각 약 3.7배와 1.4배 증진되었다.

[0093] <총 플라보노이드스 함량>

[0094] 총 플라보노이드스 함량은 Davis 변법으로 측정하였다.

[0095] 구체적으로는 상기에서 준비된 시료 0.1 ㎖에 1 N NaOH 0.01 ㎖를 첨가한 후 디에틸렌글리콜 1.0 ㎖를 첨가하여 37℃에서 1시간 방치 후 420 nm 흡광도를 측정하였다. 이때 총 플라보노이드스 함량은 루틴(rutin)의 최종 농도를 0, 0.25, 0.5, 1.0 mg/㎖로 제조하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였고 그 결과는 도 3b에 나타내었다.

[0096] 도 3b에 나타낸 바와 같이, 총 플라보노이드스 함량도, 비교예 1(산양삼 원료)와 비교예 2(개방 숙성된 산양삼 발효조성물)에 비하여, 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물(실시예)은 각각 약 13.1배와 2.5배 증진되었고, 산양새싹삼 숙성 복합발효물(실시예 2)은 각각 약 13.2배와 2.6배 증진되었다.

[0098] <u>시험예 3. 오메가 6 지방산(리놀레산과 아라키돈산) 및 가바 함량 분석</u>

[0099] 오메가 6 지방산 함량 분석은 가스 크로마토그래피(gas chromatograph, GC)로 분석하였고, 가바 함량 분석은 자동아미노산 분석기로 분석하였다.

[0100] <오메가 6 지방산 함량 분석>

[0101] 식품공전법의 지방산 분석 방법에 준하여 수행하였다.

[0102] 구체적으로는 상기 시험예 1에서와 같이 준비된 각각의 분말 1 g를 취하여 메탄올성 0.5 N NaOH 3 ㎖를 가하고 100℃에서 10분간 열처리 하였다. 그리고 나서 BF_3 2 ㎖를 가하여 교반한 후 다시 30분간 지방산 메틸화(methylation)를 수행하였다. 반응이 끝난 후 이소옥탄(isooctane) 1 ㎖를 첨가하여 혼합한 후 이소옥탄만을 회수하여 무수황산나트륨(sodium sulfite anhydrous)으로 탈수시킨 뒤 0.45 ㎛ 멤브레인 필터 (Dismic-25CS)로 여과하여 분석 시료로 사용하였다.

[0103] 분석은 GC를 사용하였고 SP-2560 capillary column (100 m×0.25 mm, 0.20 ㎛, Sigma-Aldrich Co.)을 장착한 후 이동상은 질소 가스를 사용하였다. 상기 분석 시료 20 ㎕를 주입하여 1 ㎖/min의 이동상 속도를 유지하였다. 이때 오븐의 온도는 200℃까지 승온 후 최종 230℃에서 30분간 유지하여 형광 검출기를 사용하여 검출하여 그 함량을 표 3에 나타내었다.

[0104] <가바 함량 분석>

[0105] 상기 시험예 1에서와 같이 준비된 각각의 산양삼 분말 1 g에 증류수 4 ㎖를 가해 60℃에서 1시간 가수분해시킨 후 10% 5-술포살리실산(sulfosalicylic acid) 1 ㎖를 첨가하여 4℃에서 2시간 방치시키고 원심분리하여 얻은 상등액을 0.45 μm 멤블레인 필터로 여과시켜 60℃에서 감압 농축하였다. 농축 후 건조물에 대하여 pH 2.2 리튬 버퍼(lithium buffer) 2 ㎖씩 첨가하여 용해 후 0.45 μm 멤블레인 필터로 여과시킨 것을 아미노산 자동분석기로 분석하여 그 함량을 표 3에 나타내었다.

표 3

[0106]

함량 (mg/100 g d.w.)	비교예 1	비교예 2	실시예 1	실시예 2
리놀레산 (C18:2c)	261.6	300.5	329.1	282.6
아라키돈산 (C20:4n6)	1.8	4.3	7.4	6.6
가바 (GABA)	75.12	83.17	100.61	100.33
*모든 실험은 삼 반복 수행하여 평균값으로 나타냄				

[0107] 표 3에 나타낸 바와 같이, 비교예 1(산양삼 원료)에 비하여, 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물(실시예

1)은 리놀레산과 가바가 각각 약 3.1배 (329.1 mg/100 g: 리놀레산 및 100.61 mg/100 g: 가바) 증진되었고, 특히 아리키돈산은 약 4.1배(7.4 mg/100 g)로 현저히 증진되었고, 산양새싹삼 숙성 복합발효물(실시예 2)은 리놀레산 함량(282.6 mg/100 g)은 증진되었으며, 가바와 아리키돈산은 각각 약 3.1배와 3.7배 증진되었다.

[0108] 또한 비교예 2(개방 숙성된 산양삼 발효조성물)에 비하여도 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물(실시예 1 및 2)은 아라키돈산과 가바가 훨씬 증진되었다.

[0110] <u>시험예 4. 항산화 활성 분석</u>

[0111] 항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거활성, ABTS 라디칼 소거활성, 히드록실(hydroxyl) 라디칼 소거활성 및 FRAP 환원력을 측정하여 분석하였다.

[0112] <시료 준비>

[0113] 상기 시험예 1에서와 같이 준비된 각각의 분말 10 g에 50% 발효주정 10 ㎖를 첨가하여 상온(20±5℃)에서 24시간 추출하고 3,000 rpm의 속도로 원심분리 하여 상등액만을 취하여 추출물을 제조하고, 각각의 추출물을 60℃에서 감압농축 및 동결건조 후, 0.25, 0.5, 1.0 mg/㎖ 농도로 제조한 시료를 대상으로 하여 항산화 활성 분석을 하였다.

[0114] <DPPH 라디칼 소거활성>

[0115] DPPH 라디칼 소거활성은 상기에서 준비된 시료 (0.25, 0.5, 1 mg/㎖ 농도) 0.2 ㎖에, DPPH 용액(1.5×10^{-4} M) 0.8 ㎖를 첨가하여 균일하게 혼합한 30분간 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하여 수행하였다. DPPH 라디칼 소거활성의 음성 대조구는 시료 대신 증류수를 사용하여 동일한 방법으로 수행하여 흡광도의 차이를 다음과 같은 식에 의해 백분율(%)로 산출하였으며, 그 결과를 도 4a에 도시하였다.

[0116] 라디칼 소거활성(%) = [1-(음성대조구 흡광도 ÷ 실험구 흡광도)]×100

[0117] <ABTS 라디칼 소거활성>

[0118] ABTS 라디칼 소거활성은 7 mM ABTS 시약 5 ㎖과 140 mM $K_2S_2O_8$ (FW 270.3, Sigma 9392) 5 ㎖을 섞어 어두운 곳에 16시간 방치시켜 양이온 라디칼을 생성시킨 후, 이를 메탄올로 섞어 732 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7±0.02가 되도록 조절한 ABTS 용액을 사용하였다.

[0119] 상기에서 준비된 시료 (0.25, 0.5, 1 mg/㎖ 농도) 0.1 ㎖과 ABTS 용액 0.9 ㎖를 혼합하여 3분간 반응시키고 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거활성 역시 음성 대조구는 시료 대신 증류수를 사용하여 동일한 방법으로 수행하여 흡광도의 차이를 상기 식에 의해 백분율(%)로 산출하였으며, 그 결과를 도 4b에 도시하였다.

[0120] <히드록실 라디칼 소거활성>

[0121] 히드록실(·OH) 라디칼 소거능은 $FeSO_4.7H_2O$-EDTA (10 mM) 2㎖와 2-데옥시리보스 (10 mM) 0.2 ㎖, H_2O_2 (10 mM) 0.2 ㎖, 제조예의 각각의 조성물 1.4 ㎖를 혼합하고 37℃에서 4시간 반응시켜 이 혼합액에 1% 티오바비투르산(thiobarbituric acid, TBA)와 2.8% 트리클로로아세트산(trichloroaceric acid, TCA)를 각각 1 ㎖ 가하여 100℃에서 20분간 발색시켜 냉각시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 행하였다. 히드록실 라디칼 소거활성도 음성 대조구는 시료 대신 증류수를 사용하여 동일한 방법으로 수행하여 흡광도의 차이를 상기 식에 의해 백분율(%)로 산출하였으며, 그 결과를 도 4c에 나타내었다.

[0122] <FRAP 환원력 분석>

[0123] FRAP (Ferric reducing antioxidant power) 환원력 분석은 화합물의 환원력을 측정하는 방법으로 Fe^{3+}를 Fe^{2+}로 환원시키는 힘을 측정하는 방법이다. 구체적으로는 FeⅢ-TPTZ(ferric tripyridyl triazine)가 시료의 환원력에 의하여 푸른색의 FeⅡ-TPTZ(ferrous tripyridyl triazine)으로 환원될 때 흡광도를 측정하여 항산화 활성을 알아보는 것이다.

[0124] FRAP 환원력 분석에서 반응액으로는 30 mM 아세테이트 완충액(pH 3.6), 40 mM 염산에 녹인 10 mM 2,4,6-트리피리딜-s-트리아진(TPTZ, T1253, C18H12N6, MW312.33) 및 20 mM $FeCl_3$(F7134, MW 162.20, in DW)를 준비하였으며, 아세테이트 완충액, TPTZ 용액 및 $FeCl_3$ 용액을 10:1:1 (v/v/v)로 혼합하여 37℃에서 15분간 예

비반응을 시켜두었다.

[0125] 상기에서 준비된 각각의 분석시료(0.25, 0.5, 1 mg/㎖ 농도) 50 ㎕와 FRAP 시약 950 ㎕를 시험관에 분주한 후, 약 15분간 반응시키고 마이크로플레이트 리더 (Biorad 3055, Sweden)를 사용하여 593 nm에서 흡광도를 측정하여 그 결과를 도 4d에 나타냈다.

[0126] 도 4a ~ 도 4d에 도시된 바와 같이, 비교예 1(산양삼 원료)와 비교예 2(개방 숙성된 산양삼 발효조성물)에 비하여, 본 발명에 따른 산양삼 숙성 복합발효물(실시예 1)과 산양새싹삼 숙성 발효복합물(실시예 2)은 DPPH 라디칼 소거활성, ABTS 라디칼 소거활성, 히드록실 라디칼 소거활성, FRAP 환원력이 모두 현저히 증진되었고, 특히 시료 1 mg/㎖ 처리시 실시예 1과 실시예 2의 DPPH 라디칼 소거활성은 각각 90.66%와 89.92%, ABTS 라디칼 소거활성은 각각 89.77%과 94.37%, 히드록실 라디칼 소거활성은 각각 64.57%과 67.72% 및 FRAP 환원력은 각각 1.752과 1.859로 매우 높게 나타났다.

[0127] 상기 결과들로부터, 본 발명에 따른 산양삼 또는 산양새싹삼 숙성 복합발효물은 항산화 활성도 현저히 증진되어 기능성식품 또는 화장품의 소재로 유용하다는 것을 알 수 있다.

수탁번호

[0129]

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC92157P

수탁일자 : 20161212

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

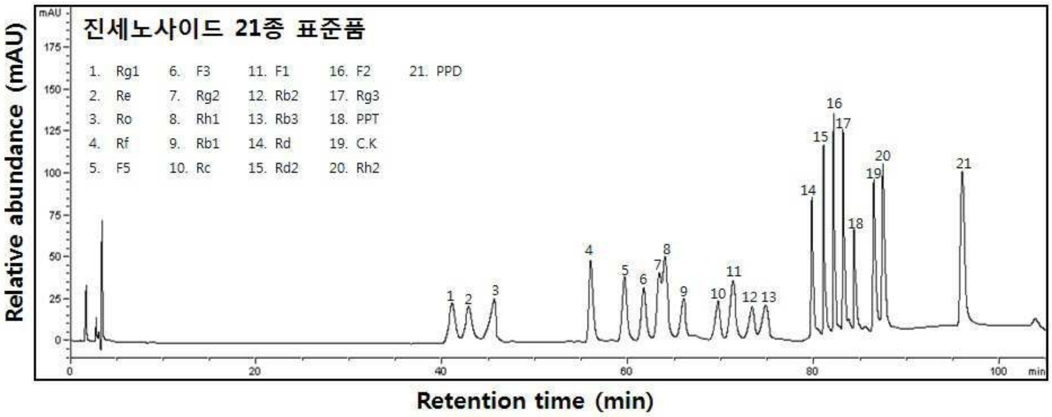
수탁번호 : KACC91848P

수탁일자 : 20130719

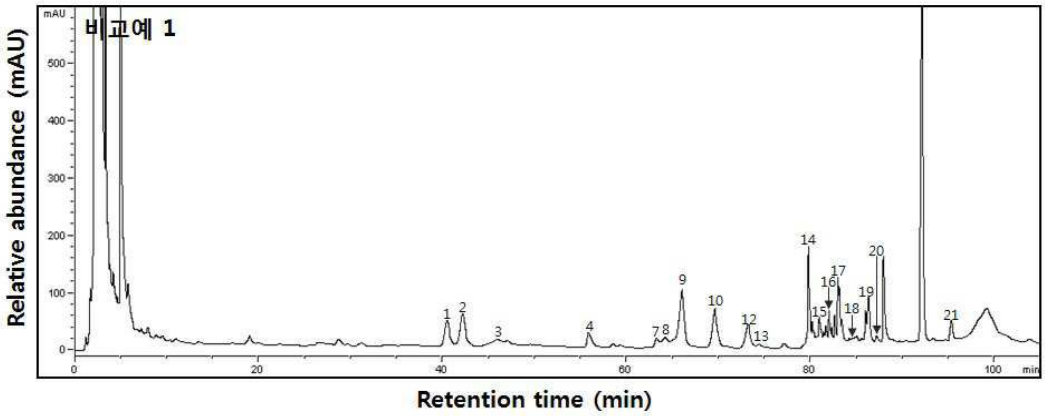
도면

도면1

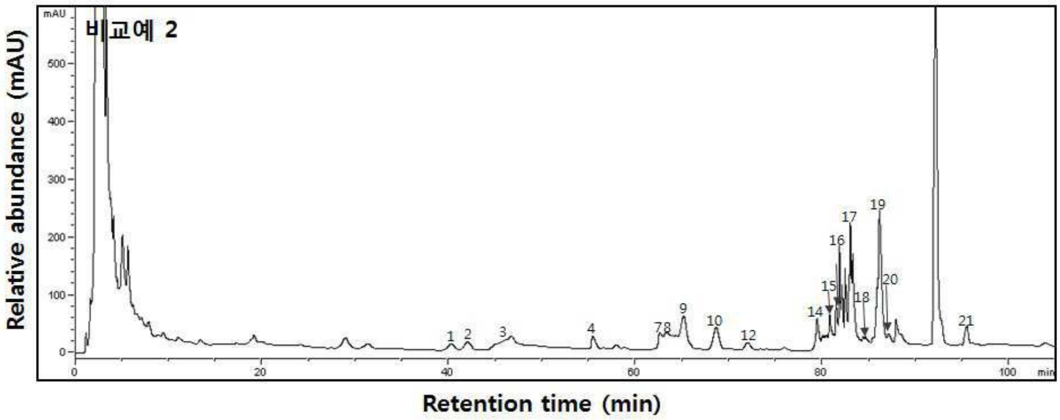
도면2a



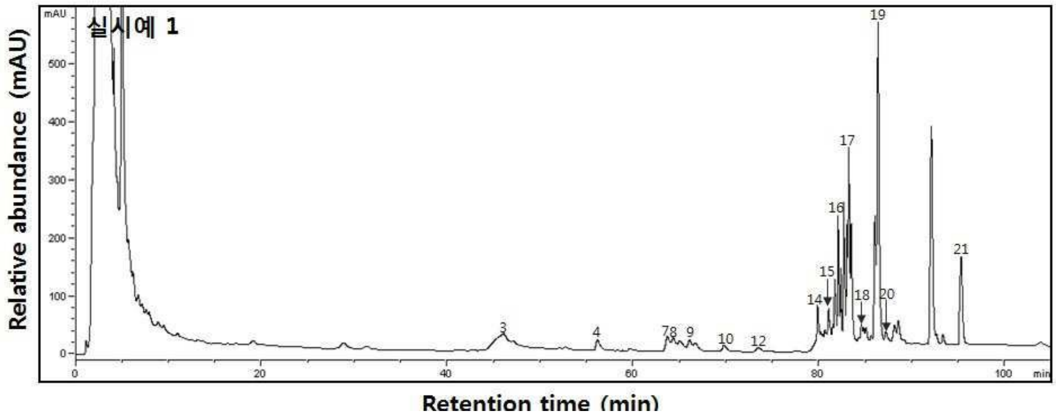
도면2b



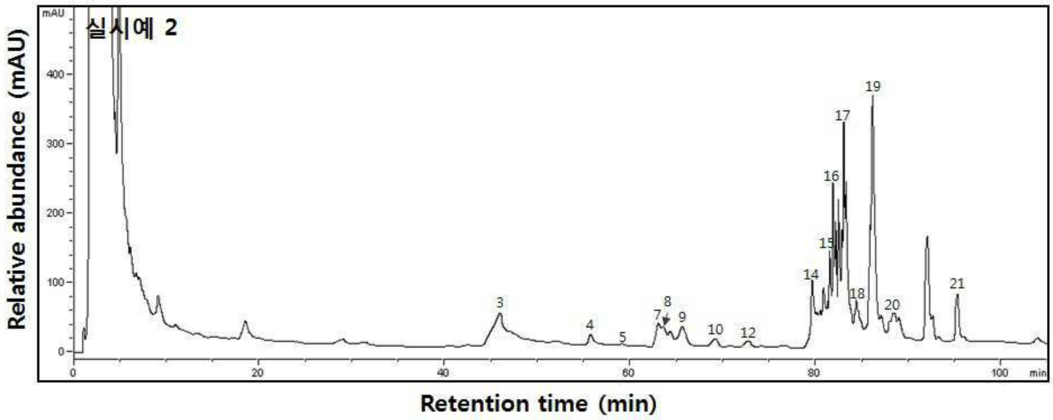
도면2c



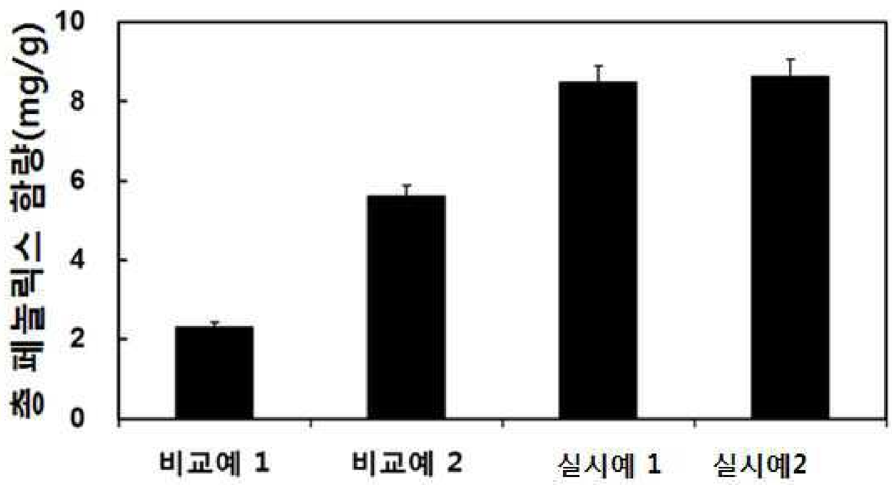
도면2d



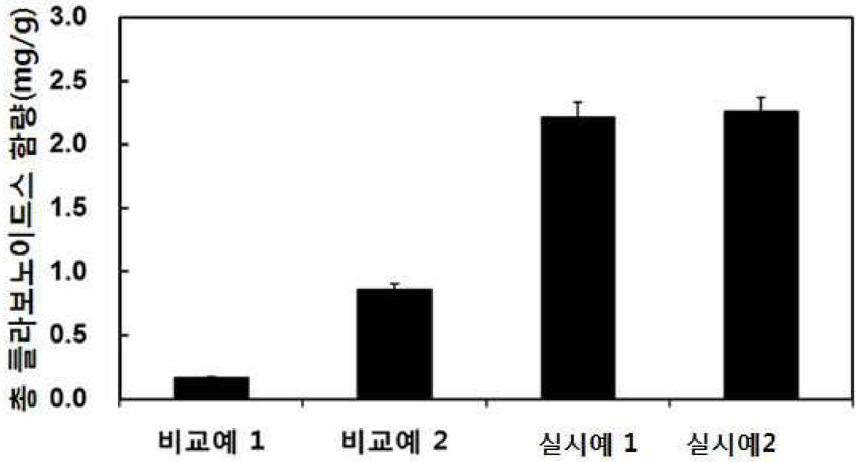
도면2e



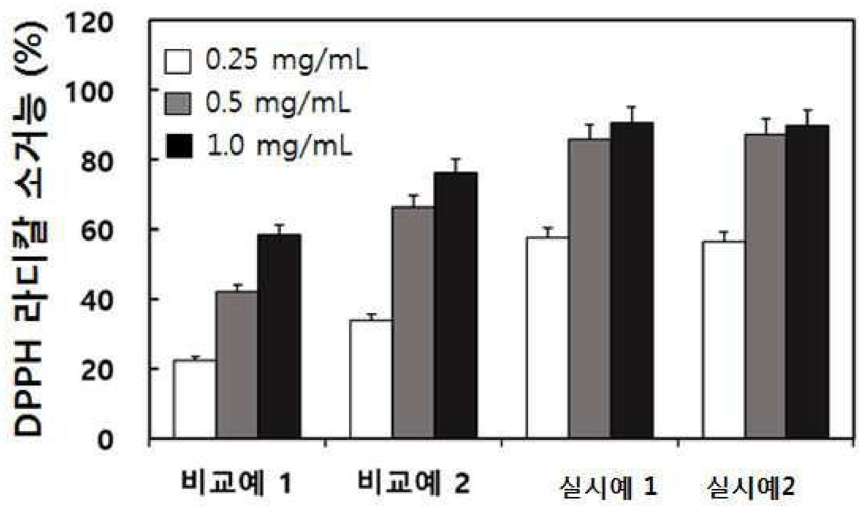
도면3a



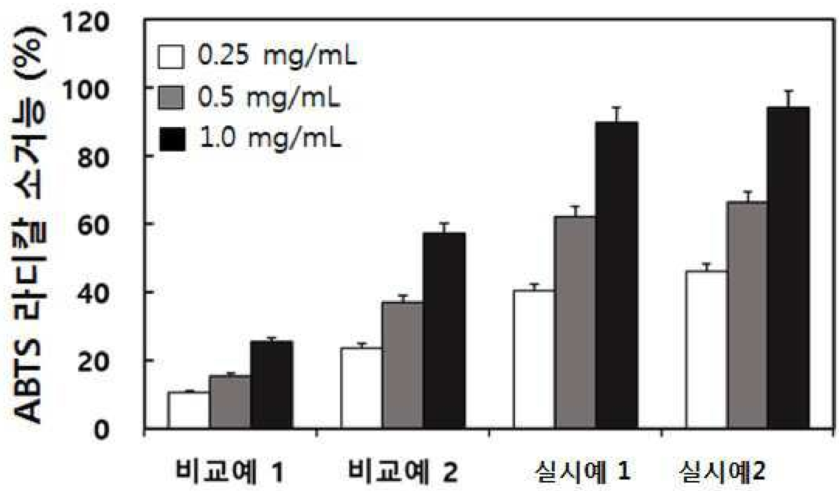
도면3b



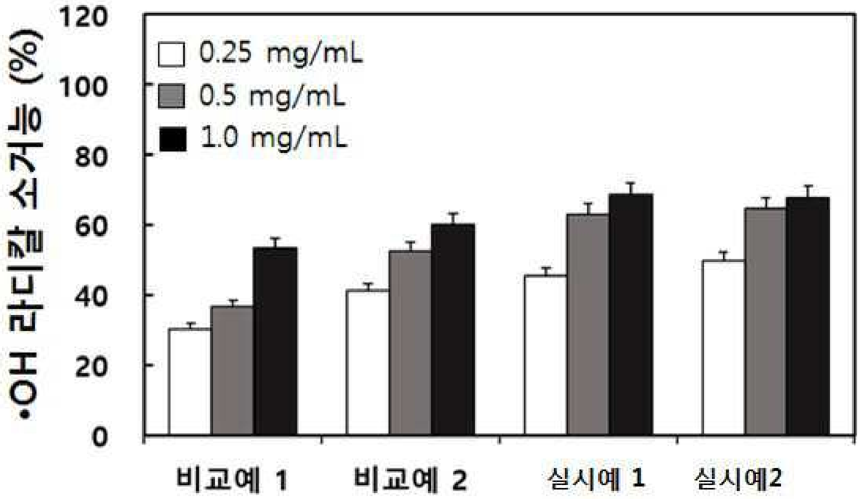
도면4a



도면4b

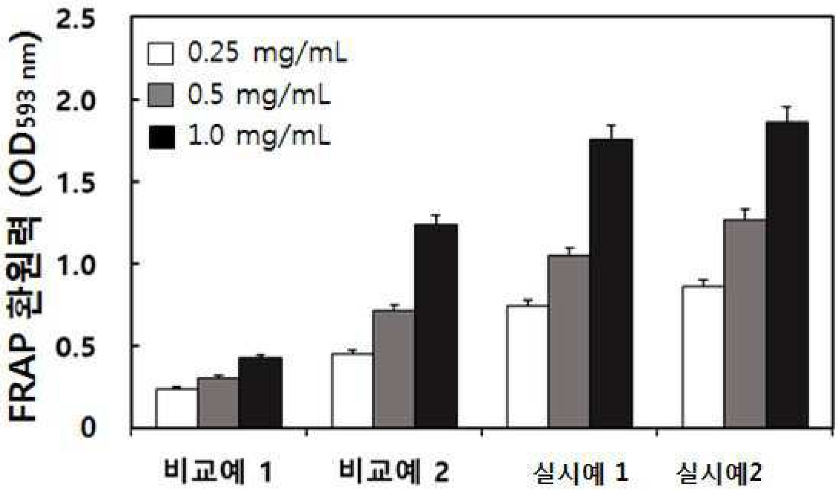


도면4c



•OH 라디칼 소거능 (%)
120
100
80
60
40
20
0
0.25 mg/mL
0.5 mg/mL
1.0 mg/mL
비교예 1
비교예 2
실시예 1
실시예2

도면4d



FRAP 환원력 (OD593 nm)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0
0.25 mg/mL
0.5 mg/mL
1.0 mg/mL
비교예 1
비교예 2
실시예 1
실시예2