



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0105513
(43) 공개일자 2011년09월27일

(51) Int. Cl.

A23K 1/14 (2006.01) A23K 1/16 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0024690

(22) 출원일자 2010년03월19일

심사청구일자 2010년03월19일

(71) 출원인

건국대학교 산학협력단

서울 광진구 화양동 1 건국대학교내

(72) 발명자

문상호

충청북도 충주시 연수동 연수계룡리슈빌아파트
105동 201호

김문자

충청북도 음성군 금왕읍 본대리 121

(74) 대리인

유완식, 이은철

전체 청구항 수 : 총 10 항

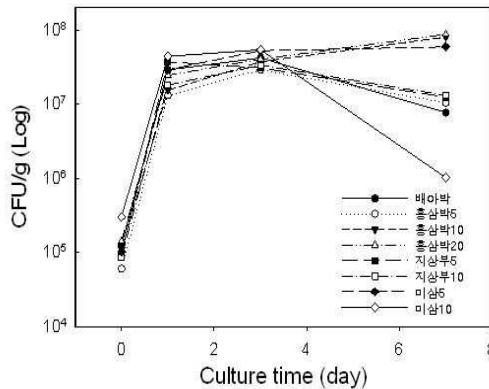
(54) 인삼 부산물을 유효성분으로 함유하는 기능성 사료첨가제

(57) 요약

본 발명은 인삼 부산물을 유효성분으로 함유하는 기능성 사료첨가제에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 인삼 가공 시 발생하는 부산물인 잔근 또는/및 가공박을 미생물 균주를 이용하여 발효시킨 후 이를 사료와 함께 급여함으로써 면역성을 증가시킬 수 있는 기능성 사료첨가제에 관한 것이다.

상기와 같은 본 발명에 따르면, 기존 항생제를 대체할 수 있는 천연소재 항생물질을 함유한 기능성 첨가제로 가축의 면역성을 증강시키고, 기호성을 높이는 것으로 유용하게 이용될 수 있다. 또한, 인삼 부산물의 재활용이 가능하며, 인삼 가공 시 부산물의 폐기물화 방지를 통해 환경오염원 차단이 가능하다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2008-A001-0084

부처명 지식경제부(중소기업청)

연구관리전문기관

연구사업명 산학공동기술개발지원사업

연구과제명 인삼 잔근 및 가공박을 이용한 기능성 사료첨가제 개발에 관한 연구

기여율

주관기관 건국대학교 산학협력단

연구기간 2008년 07월 01일 ~ 2009년 06월 30일

특허청구의 범위

청구항 1

인삼 부산물을 유효성분으로 함유하는 기능성 사료첨가제.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 인삼 부산물은 인삼 가공 시 발생되는 인삼의 꽃, 줄기, 잎, 잔근 및 가공박 중 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 기능성 사료첨가제.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 기능성 사료첨가제는 기능성 사료첨가제의 총 중량 대비 잔근(미삼) 5~10%를 포함하는 것을 특징으로 하는 기능성 사료첨가제.

청구항 4

제 2 항에 있어서,

상기 기능성 사료첨가제는 기능성 사료첨가제의 총 중량 대비 홍삼박 5~20%를 포함하는 것을 특징으로 하는 기능성 사료첨가제.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 인삼 부산물은 미생물 균주를 이용하여 3~7일간 30℃에서 발효시킨 것을 특징으로 하는 기능성 사료첨가제.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 미생물 균주는 유산균, 효모균 및 바실러스균으로 이루어진 균에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 기능성 사료첨가제.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 효모균은 젖산(lactic acid) 또는 글루코스(glucose)에 혼합한 것을 특징으로 하는 기능성 사료첨가제.

청구항 8

제 6 항에 있어서,

상기 미생물 균주는 상기 인삼 잔근 및 가공박에 1 : 1의 중량비로 혼합되는 것을 특징으로 하는 기능성 사료첨가제.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항의 기능성 사료첨가제가 혼합된 기능성 사료.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

상기 기능성 사료는 상기 인삼 부산물을 유효성분으로 함유하는 기능성 사료첨가제를 사료 총 중량 대비 1 내지 20%를 포함하는 것을 특징으로 하는 기능성 사료.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 인삼 부산물을 유효성분으로 함유하는 기능성 사료첨가제에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 인삼 가공 시 발생하는 부산물인 잔근 또는/및 가공박을 미생물 균주를 이용하여 발효시킨 후 이를 사료와 함께 급여함으로써 면역성을 증가시킬 수 있는 기능성 사료첨가제에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 인류의 생존과 건강에 밀접한 관계를 맺고 있는 축산물은 종류도 다양할 뿐만 아니라 그 생산원(source)도 매우 다양하여 인간의 까다로운 취향을 뒤받침 할 수 있었기에 지금도 전 세계적으로 다양한 형태의 축산물이 이용되고 있다. 이러한 축산물의 이용은 시대의 흐름 속에서 인류의 식문화 변천과 더불어 변화되어 왔는데 특히 경제수준의 향상은 보다 안전한 축산물, 보다 다양한 축산물, 보다 기능적인 축산물을 요구하는 상황으로 변모하고 있다. 최근 들어서는 무엇보다도 기능성이 가미된 또는 기능성이 함유된 축산물 선호도가 크게 증가하고 있는 실정이다.

[0003] 인삼은 우리나라를 대표하는 생약재로서 최근 3년간 평균 생산량이 14,514톤/년에 이를 정도로 많은 생산량을 기록하고 있으며, 대부분 백삼 (4년근)과 홍삼 (6년근)으로 상품화되고 있다. 그러나 이들 인삼의 상품화 비율은 전국평균 92% (충북지역 인삼 상품화 비율 92.8%, 농진청 농업경영연구보고, 2006)로 나머지 약 7-8%의 부산물이 상품화 되지 못하고 폐기 또는 다른 용도로 활용되고 있는 실정이다. 이들의 대부분은 인삼을 상품화 하는 과정에서 생산되는 잔근 부위에 해당하며 이들 역시도 인삼의 주성분인 사포닌과 당류 등이 풍부하여 항암, 중추신경계 흥분 억제, 혈압강하 방지 등에 효능적 기능성을 보유하고 있다. 또한 인삼을 가공하는 과정에서 생산되는 인삼박은 매년 약 1,600톤 정도가 생산 (한국인삼제품공업협회, 2006)되고 있어 대부분 폐기되거나 매립 또는 부분적인 재활용이 시도되고 있는 실정이다.

[0004] 지금까지 인삼박을 사료화 및 사료첨가제로 활용하기 위한 연구가 일부에서 진행되었으나(김병기, 황인엽, 김영직, 황영현, 배만중, 김수민, 안중호, 한국축산식품학회지, 22(2), 122-129, 2002) 이들 연구의 대부분은 단순히 인삼박을 가축사료에 첨가하여 반추위내 발효특성이나 기호성 증진 등에 미치는 영향을 규명하였을 뿐 인삼 부산물의 기능성과 이를 활용한 효율적인 첨가제 개발 등에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다.

[0005] 일반적으로 가축사료의 첨가제는 생균제, 효소제, 광물질, 항생제 및 비타민제 등 특수한 목적으로 사료에 첨가되는 사료들을 의미하며 이들은 가축의 생체 내에서 각각 다양한 생리기능을 발휘할 수 있어야 한다. 그러나 최근의 축산물 생산 및 소비 동향은 보다 안전한 축산물을 지향하고 있기 때문에 가축 자체의 건강성과 생리기능 활성화를 통해 안전한 축산 생산물을 위한 기능성 첨가제의 개발이 요구되고 있다.

[0006] 따라서, 본 발명자들은 지금까지 대부분 폐기되어 왔던 인삼의 잔근류와 가공부산물 등에 함유된 인삼 고유의

생리활성물질을 활용하여 미생물 처리에 의해 안전하고 높은 기능성을 갖는 발효사료(첨가제)를 개발하여 상품화하기 위한 기술력을 확보하고자 하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 이에 본 발명자들은 무항생제 사료첨가제의 개발을 위한 기술력을 확보하고자 예의 노력한 결과, 인삼 잔근 및 가공박의 생리활성 성분을 평가하고 효율적 발효를 위한 미생물 균주를 선별함으로써 본 발명을 성공적으로 완성하였다.
- [0008] 결국, 본 발명의 주된 목적은 인삼 잔근 및 가공박을 함유하는 기능성 사료첨가제를 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 인삼 잔근 및 가공박을 유효성분으로 함유하는 기능성 사료첨가제를 제공한다.
- [0010] 본 발명에서 상기 인삼 잔근 및 가공박은 인삼을 상품으로 가공 시 나오는 부산물과 인삼성분을 추출하고 남은 부산물로 미생물 균주를 이용하여 3~7일간 발효시킨 것을 특징으로 한다.
- [0011] 또한, 본 발명에 있어서 상기 인삼 잔근 및 가공박은 통상적인 사료와 함께 사료 총 중량의 1% 내지 20%를 급여하는 것이 특징이다.
- [0012] 또한, 본 발명에 있어서 상기 미생물 균주는 유산균, 효모 및 바실러스로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하며, 상기 미생물 균주는 잔근 및 가공박에 1 : 1의 중량비로 혼합하여 발효시키는 것이 특징이다.

발명의 효과

- [0013] 상기와 같은 본 발명은 기존 항생제를 대체할 수 있는 천연소재 항생물질을 함유한 기능성 사료첨가제로 가축의 면역성을 증강시키고, 기호성을 높이는 데 유용하게 이용될 수 있다.
- [0014] 또한, 인삼 부산물의 재활용이 가능할 뿐만 아니라, 인삼 가공 시 부산물의 폐기물화 방지를 통해 환경오염원 차단이 가능하다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 배양일에 따른 시료별 생균수 변화를 나타낸 것이다.
- 도 2는 배양일에 따른 시료별 pH 변화를 나타낸 것이다.
- 도 3은 배양일에 따른 시료별 당 함량의 변화(%)를 나타낸 것이다.
- 도 4은 배양일에 따른 시료별 당 함량 감소량(%)을 나타낸 것이다.
- 도 5는 시험원료 부탄올 추출물의 조사포닌 함량을 나타낸 것이다.
- 도 6은 사포닌 표준물질의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 7은 미삼의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 8은 홍삼박의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 9는 지상부의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 10은 배아박의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 11은 홍삼박 5%의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 12는 홍삼박 10%의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 13은 홍삼박 20%의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.

- 도 14는 지상부 5%의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 15는 미삼 5%의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 16은 미삼 10%의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다.
- 도 17은 균주별 혼합배양 시 홍삼박과 미삼 첨가에 따른 생균수의 변화를 나타낸 것이다.
- 도 18은 인삼박을 이용하여 제조한 발효사료의 산장 저장 시 생균수 및 pH의 변화를 나타낸 것이다.
- 도 19는 시험원료의 항산화성 평가를 나타낸 것이다.
- 도 20은 배양일에 따른 시료의 농도별 항산화성 평가를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0017] 본 발명은 인삼 부산물을 유효성분으로 함유하는 기능성 사료첨가제를 제공한다.
- [0018] 통상적으로 인삼은, 가공방법에 따라 가공하지 아니한 수삼, 수삼을 건조시킨 백삼, 수삼을 찌서 건조시킨 홍삼 등이 있으며, 재배방법에 따라서는 인삼밭에서 인위적으로 재배한 재배삼, 인삼씨를 산중에 뿌려서 자연 상태에서 재배한 장뇌삼, 자연 상태로 자생한 산삼 등이 있으나, 본 발명에서의 인삼은 모든 인삼 종류를 포함하는 의미로 사용된다. 또한, 본 발명에서 인삼은 고려인삼(*Panax ginseng C. A. Meyer*), 서양삼 및 중국인삼 등을 포함한다.
- [0019] 또한, 본 발명에서 인삼 부산물은 인삼 가공 시 발생하는 부산물인 인삼의 꽃, 줄기, 잎, 잔근 및 가공박 중 선택되는 1종 이상인 것이 바람직하다. 구체적으로, 상기 “잔근”은 미삼(尾蔘)을 의미하며, 인삼을 상품으로 가공 시 발생하는 잔뿌리 등 모든 부산물을 포함한다. 이 때, 미삼은 기능성 사료첨가제의 총 중량 대비 5~10%를 포함한다. 또한, 상기 “가공박”은 인삼이나 홍삼 등을 가공하고 남은 찌꺼기, 즉 폐기물 내지는 부산물을 의미하며, 이 때 홍삼박은 기능성 사료첨가제의 총 중량 대비 5~20%를 포함하는 것이 바람직하다.
- [0020] 본 발명에 있어서, 상기 인삼 잔근 및 가공박은 그대로 사료와 함께 급여할 수 있으나 효율적인 발효를 위해 미생물 균주를 이용하여 3~7일간 30℃에서 발효시키는 것이 바람직하다. 또한, 본 발명의 사료첨가제는 통상적인 사료와 함께 급여하되 사료 총 중량의 1 내지 20%를 급여하는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 사료 총 중량의 10%를 급여하는 것이 좋다.
- [0021] 또한, 본 발명에 있어서, 상기 미생물 균주는 유산균, 효모균 및 바실러스균 등에서 선택되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 락토바실러스속(*Lactobacillus sp.*), 스트렙토코쿠스속(*Streptococcus sp.*), 페디오코쿠스속(*Pediococcus sp.*), 류코노스톡속(*Leuconostoc sp.*), 락토코커스속(*Lactobacillus sp.*), 비피도박테리움속(*Bifidobacterium sp.*), 사카로마이세스 세레비시아에(*Saccharomyces cerevisiae*), 사카로마이세스 루시(*Saccharomyces ruxii*), 사카로마이세스 오비폴미스(*Saccharomyces oviformis*), 사카로마이세스 스테이네리(*Saccharomyces steineri*), 불가리커스균(*Lactobacillus bulgaricus*), 애시도필러스균(*Lactobacillus acidophilus*), 스트렙토코커스(*Streptococcus*), 비피더스균(*Bifidobacterium*)로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상인 것이 바람직하며, 이때 미생물 균주는 상기 인삼 잔근 및 가공박과 1 : 1의 중량비로 혼합하여 발효시키는 것이 좋다.
- [0022] 특히 효모균을 사용할 때에는 젖산(lactic acid) 또는 글루코스(glucose)에 혼합하여 사용하는 것이 좋다.
- [0023] 본 발명은 또한, 상기 인삼 부산물을 유효성분으로 함유하는 기능성 사료첨가제가 사료 총 중량 대비 1 내지 20%로 혼합된 기능성 사료를 제공한다.
- [0024] 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 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- [0025] 실시예 1. 인삼 잔근 및 가공박을 함유하는 사료첨가제의 제조

[0026] 먼저, 본 실시예에 따른 사료첨가제를 제조하기 위한 인삼 잔근은 채취된 인삼으로부터 잔뿌리를 제거함으로써 취득한다. 다음으로 가공박은 인삼 또는 홍삼의 중탕 및 추출 공정을 거치고, 이에 의해 발생한 잔사로부터 취득한다.

[0027] 그 후, 인삼박, 홍삼박, 지상부(인삼의 뿌리를 제외한 줄기와 잎) 등의 혼합비를 하기 표 1과 같이 달리 배양하였으며, 효모액은 Yeast 1 g, lactic acid 0.5 g, glucose 12 g을 140ml 증류수에 녹인 후 30℃에서 하룻밤 동안 방치해 두었다가 사용하였으며, 조효소액은 조효소(α -amylase)3g, 효모액 15ml을 증류수 90ml과 혼합하여 사용하였다. 이때 잔근 및 가공박에 효모액을 첨가한 원료 550g, 청하박(청하를 주조하고 남은 주정박을 의미함) 110g, 조효소액 10ml을 1L 비이커에 넣고 혼합한 후 30℃, 혐기성 조건에서 7일 동안 배양하였다.

표 1

실험 원료

No.	sample	첨가량 (g)			
		잔근 및 가공박	효모액	청하박	조효소
1	배아박	550	0	110	10
2	홍삼박5	522	28		
3	홍삼박10	495	55		
4	홍삼박20	440	110		
5	지상부5	522	28		
6	지상부10	495	55		
7	미삼5	522	28		
8	미삼10	495	55		

[0028]

[0029] (1) 배양일에 따른 시료별 pH 및 생균수

[0030] 배양일에 따른 시료별 pH 및 생균수 측정 결과를 표 2, 그리고 도 1, 2에 나타내었다. 배양일의 경과에 따른 pH 변화는 8가지 시료 모두 배양 1일차에서 감소하였다(시료당 0.2 이상) 이후 점차 상승하는 것으로 확인되었으나 초기 pH와 증감량을 비교하였을 때 시료 당 pH 변화 차이는 거의 없는 것으로 나타났다.

[0031] 한편 배양일에 따른 생균수 분석 결과, 홍삼박 10%, 홍삼박 20%, 미삼 5%가 첨가된 시료의 경우 배양 3일차 이후 7일차 분석에서도 생균수가 비슷하게 유지된 반면 3가지 시료를 제외한 다른 시료들은 3일차 분석결과에 비해 생균수가 감소하는 경향을 나타내었다.

[0032] 이상의 연구결과로 볼 때 효모배양용 배지에 홍삼박을 첨가하였을 때 생균수가 배양 7일까지 지속적으로 증가하는 결과를 보였으며 첨가농도로는 홍삼박 10~20%가 적합할 것으로 사료되었다.

표 2

배양일에 따른 시료별 pH 및 생균수 변화

배양일 (day)	배아박	홍삼박5	홍삼박10	홍삼박20	지상부5	지상부10	미삼5	미삼10
0	pH	3.81	3.86	3.89	3.95	3.93	3.98	3.92
	생균수 CFU/ml	1.3×10^5	6.0×10^4	1.1×10^5	1.4×10^5	9.7×10^4	8.6×10^4	1.0×10^5
1	pH	3.57	3.59	3.63	3.64	3.66	3.77	3.64
	생균수 CFU/ml	2.9×10^7	1.3×10^7	1.5×10^7	2.5×10^7	2.4×10^7	1.4×10^7	2.9×10^7
3	pH	3.63	3.63	3.68	3.69	3.71	3.81	3.74
	생균수 CFU/ml	4.2×10^7	2.9×10^7	3.7×10^7	4.0×10^7	3.0×10^7	3.3×10^7	5.3×10^7
7	pH	3.65	3.68	3.73	3.75	3.75	3.89	3.81
	생균수 CFU/ml	7.7×10^6	1.0×10^7	8.0×10^7	8.7×10^7	1.2×10^7	1.3×10^7	5.9×10^7

[0033]

[0034] (2) 배양일에 따른 시료별 당 함량

[0035] 배양일에 따른 시료별 당 함량 측정 결과를 표 3, 그리고 도 3, 4에 나타내었다. 시료중의 당 함량은 8가지 시료 모두 배양일의 경과에 따라 점차 감소하는 것으로 나타났으며, 배양 7일째 당 함량의 감소량은 2.55~7.69%로 나타났다.

[0036] 전반적으로 볼 때 배지 내에 홍삼박, 지상부 및 미삼을 첨가할 경우 첨가량 증가에 따라 당 함량이 감소하는 결과를 보였으나 홍삼박의 경우 지상부나 미삼을 첨가한 경우에 비해 배양 7일차의 당 함량에 있어 감소폭이 다소 적은 것으로 나타났다.

표 3

배양일에 따른 시료별 당 함량 (%)

배양일(day)	배아박	홍삼박5	홍삼박10	홍삼박20	지상부5	지상부10	미삼5	미삼10
0	6.12	7.32	8.03	9.78	7.67	9.56	8.66	10.94
1	5.75	5.47	5.53	5.17	6.07	6.53	5.48	5.47
3	5.29	4.93	4.81	5.06	4.72	4.74	5.02	4.26
7	3.57	3.54	3.44	4.65	4.54	3.73	4.10	3.25

[0037]

[0038] (3) 배양일에 따른 시료별 조사포닌 함량

[0039] 분석에 사용된 메탄올, 아세트나이트릴 등의 시약은 HPLC급으로 사용하였으며, test solution은 1.0mg ginsenoside 표준품(13종)을 HPLC급 methanol 1ml에 용해하여 사용하였다. 시료 중의 조사포닌 함량은 식품공전 방법(하상도, 2007)으로 구한 후 이를 ginsenoside 분석용 시료로 사용하였다.

[0040] 그 결과, 도 5에서 보듯이 시험원료의 부탄올 추출물 내 조사포닌 함량은 지상부가 62mg/g으로 가장 많았으며, 미삼과 홍삼박은 각각 37mg/g과 30mg/g으로 나타났다. 배양일의 경과에 따른 시료별 조사포닌 함량은 대부분의 시료가 배양 1일차에 다소 감소하다가 배양 3일차 이후 7일차까지 증가하는 경향을 보였다. 그러나 전반적으로 보았을 때 모든 시료에 있어서 배양일의 경과에 따른 시료의 부탄올 추출물 내 조사포닌 함량에는 일정한 경향성이나 큰 변화를 보이지는 않았다.

[0041] (4) 배양일에 따른 시료별 사포닌 조성의 변화

[0042] 조사포닌을 메탄올에 녹이고, 0.2 μm의 필터로 여과시킨 후 HPLC (Hewlett Packard 1100)에 20 μl씩 주입하여 분석하였다. 이 때 C18 (4.6×250mm, 5μm, Supelco)(Discovery HS C18, Supelco, 미국) 컬럼을 사용하여, UV/VIS 검출기 203 nm(Hewlett Packard 1100, HP, 미국)로 분석하였다.

[0043] 배양일에 따른 시험원료의 부탄올 추출물 내 사포닌 조성 변화는 표 4 및 도6과 도 7에 자세히 나타냈다. 사포닌은 triterpenoid계의 dammarane계 사포닌으로서 구조적으로 비당화합물 (aglycone), protopanaxadiol group (PD계; ginsenoside-Ra, -Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd, -Rg₃, -Rh₂, Rs 등) 및 protopanaxatriol group (PT계; ginsenoside-Re, -Rf, -Rg₁, -Rg₂, -Rh₁)으로 분류된다. PD계 사포닌은 대체적으로 안정, 역제의 효능이 있는 것으로 알려져 있는 반면, PT계 사포닌은 흥분작용을 가지는 등 서로 상반된 약리효능을 보이는 것으로 알려져 있다.

[0044] compound K (CK; 20-O-(beta-D-glucopyranosyl)-20(S)-protopanaxadiol)도 항암작용을 나타내는 것으로 보고되고 있다.

[0045] 배양일에 따른 시료의 사포닌 조성 분석을 위한 표준물질로는 PD계인 ginsenoside-Rb₁, -Rc, -Rd, -Rg₃ S과 PT계인 ginsenoside-Rg₁, -Re 및 compound K의 8종을 사용하였다.

표 4

사포닌 표준물질의 HPLC 분석 결과

Peak No.	RT [min]	compounds
1	18.074	ginsenoside Rg ₁
2	18.754	ginsenoside Re
3	42.080	ginsenoside Rc
4	43.728	ginsenoside Rb ₁
5	47.061	ginsenoside Rd
6	59.291	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	ginsenoside Rg ₃ R
8	70.328	compound K

[0046]

[0047] ① 미삼

[0048] 미삼의 사포닌 조성 분석 결과는 표 5와 도 7에 나타내었다. 미삼의 경우, PD계인 ginsenoside-Rb₁, -Rc, -Rd, -Rg₃ S과 PT계인 ginsenoside-Rg₁, -Re 및 compound K의 7가지 성분이 검출되었다. 또한 각 ginsenoside의 양은 PD계가 PT계에 비해 높은 수치를 보였으며, PD계의 경우 ginsenoside-Rc, PT계의 경우 ginsenoside-Re가 가장 높은 값을 보였다.

표 5

미삼의 HPLC 분석 결과

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.830	0.485084	ginsenoside Rg ₁
2	18.561	1.12771	ginsenoside Re
3	42.051	3.21156	ginsenoside Rc
4	43.629	0.459047	ginsenoside Rb ₁
5	46.927	0.167026	ginsenoside Rd
6	59.647	0.0247508	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	0.579729	compound K

[0049]

[0050] ② 홍삼박

[0051] 홍삼박의 사포닌 조성 분석 결과는 표 6, 도 8에 나타낸 바와 같다. 즉, PD계인 ginsenoside-Rb₁, -Rc, -Rd, -Rg₃ S, -Rg₃ R과 PT계인 ginsenoside-Rg₁ 및 compound K의 7가지 성분이 검출되었으며, 그 중 compound K와 ginsenoside-Rg₃ R이 각각 1.64 ppb와 1.51 ppb로 가장 높은 수치를 보이는 것으로 나타났다.

표 6

홍삼박의 HPLC 분석 결과

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.735	0.0120422	ginsenoside Rg ₁
2	18.754	-	ginsenoside Re
3	42.258	0.353036	ginsenoside Rc
4	43.668	0.0126047	ginsenoside Rb ₁
5	46.863	0.117883	ginsenoside Rd
6	59.601	0.743993	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.262	1.51089	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.175	1.64142	compound K

[0052]

[0053] ③ 지상부

[0054] 지상부의 경우에도 미삼의 분석결과와 유사하게 PD계인 ginsenoside-Rb₁, -Rc, -Rd, -Rg₃ S과 PT계인 ginsenoside-Rg₁, -Re 및 compound K의 7가지 성분이 검출되었으며, PT계인 ginsenoside-Re가 가장 높은 수치를 보였다(표 7, 도 9).

표 7

지상부의 HPLC 분석 결과

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.669	0.800389	ginsenoside Rg ₁
2	18.413	1.28991	ginsenoside Re
3	41.687	0.757894	ginsenoside Rc
4	43.411	0.0849696	ginsenoside Rb ₁
5	46.891	0.412920	ginsenoside Rd
6	58.636	0.00602160	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	72.844	0.124373	compound K

[0055]

[0056] ④ 배아박

[0057] 배아박 부탄을 추출물의 배양일에 따른 사포닌 조성 분석 결과는 표 8과 도 10에 나타내었다. 배아박 시료의 경우 일정한 경향성을 보이지는 않았지만 배양 초부터 배양 7일째까지 PD계 뿐 아니라 PT계 사포닌 조성 대부분을 유지하고 있는 것으로 나타났다.

표 8

0 day			
Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.669	-	ginsenoside Rg ₁
2	18.314	0.0794182	ginsenoside Re
3	41.393	0.0393978	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside Rb ₁
5	47.061	-	ginsenoside Rd
6	59.291	-	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	72.820	0.262085	compound K
1 day			
Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.485	0.0553160	ginsenoside Rg ₁
2	18.178	0.0333869	ginsenoside Re
3	41.132	0.0320234	ginsenoside Rc
4	43.927	0.00420257	ginsenoside Rb ₁
5	46.475	0.0102180	ginsenoside Rd
6	59.291	-	ginsenoside Rg ₃ S
7	61.445	0.00739387	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	-	compound K
3 day			
Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.811	0.141328	ginsenoside Rg ₁
2	18.413	-	ginsenoside Re
3	42.080	-	ginsenoside Rc
4	44.391	0.00248525	ginsenoside Rb ₁
5	45.803	-	ginsenoside Rd
6	58.471	0.00677212	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.959	0.00918475	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.450	0.00710109	compound K
7 day			
Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.669	-	ginsenoside Rg ₁
2	18.090	0.0281121	ginsenoside Re
3	42.201	0.0209712	ginsenoside Rc
4	43.096	0.00797146	ginsenoside Rb ₁
5	45.831	0.00325587	ginsenoside Rd
6	59.291	-	ginsenoside Rg ₃ S
7	61.888	0.00837157	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.241	0.0129881	compound K

[0058]

[0059]

[표 8] 배아박의 HPLC 분석 결과

[0060]

⑤ 홍삼박 5%

[0061]

5%의 홍삼박 부탄을 추출물을 함유하는 시료의 배양일에 따른 사포닌 조성 분석 결과 배양 1일째에는 PD계인 ginsenoside-Rb₁, -Rc, -Rd, -Rg₃ S, -Rg₃ R과 PT계인 ginsenoside-Rg₁, -Re의 7가지 성분이 검출되었으며, 배양일의 경과에 따라 시료내의 ginsenoside 조성이 감소하여 배양 7일째에는 PT계인 ginsenoside-Rg₁ 만이 검출되었다(표 9, 도 11).

표 9

0 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.669	-	ginsenoside Rg ₁
2	18.321	0.0866744	ginsenoside Re
3	41.414	0.0904721	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside Rb ₁
5	46.300	0.00310830	ginsenoside Rd
6	59.507	0.0190801	ginsenoside Rg ₃ S
7	59.830	0.0408921	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.128	0.0253952	compound K

1 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.412	0.0619909	ginsenoside Rg ₁
2	18.142	0.0297405	ginsenoside Re
3	42.114	0.0330328	ginsenoside Rc
4	42.864	0.00612052	ginsenoside Rb ₁
5	46.472	0.00486274	ginsenoside Rd
6	59.068	0.0538752	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.416	0.0668580	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	-	compound K

3 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.854	0.103580	ginsenoside Rg ₁
2	18.865	0.0249622	ginsenoside Re
3	42.080	-	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside Rb ₁
5	45.803	-	ginsenoside Rd
6	58.629	0.0303666	ginsenoside Rg ₃ S
7	59.958	0.0538164	ginsenoside Rg ₃ R
8	72.984	0.0249332	compound K

7 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.682	0.0135390	ginsenoside Rg ₁
2	18.413	-	ginsenoside Re
3	42.080	-	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside Rb ₁
5	45.803	-	ginsenoside Rd
6	59.291	-	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	-	compound K

[0062]

[0063] [표 9] 홍삼박 5%의 HPLC 분석 결과

[0064] ⑥ 홍삼박 10%

[0065] 10%의 홍삼박 부탄을 추출물을 함유하는 시료의 배양일에 따른 사포닌 조성 분석 결과는 표 10, 도 12에 나타낸 바와 같다. 즉, 배양 1일째에는 홍삼박 5%의 시료와 동일하게 PD계인 ginsenoside-Rb₁, -Rc, -Rd, -Rg₃ S, -Rg₃ R과 PT계인 ginsenoside-Rg₁, -Re의 7가지 성분이 검출되었으며, 배양일의 경과에 따라 시료내의 ginsenoside 조성이 감소하였으나 홍삼박 5%와는 달리 PT계인 ginsenoside-Rg₁에 추가적으로 ginsenoside-Re이 검출되었다. 그러나 홍삼박 10%를 첨가하였을 때까지는 배양 7일째에 PD계 사포닌은 검출되지 않은 것으로 보아 배양과정 중 PD계가 PT계에 비해 손실량이 더 많은 것으로 사료되었다.

표 10

0 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.669	-	ginsenoside Rg ₁
2	18.612	0.0371449	ginsenoside Re
3	42.082	0.0532661	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside Rb ₁
5	46.767	0.00373521	ginsenoside Rd
6	59.429	0.0416347	ginsenoside Rg ₃ S
7	59.950	0.0952567	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.067	0.0605623	compound K

1 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.454	0.0874639	ginsenoside Rg ₁
2	18.135	0.0389610	ginsenoside Re
3	41.824	0.0292849	ginsenoside Rc
4	43.073	0.00446114	ginsenoside Rb ₁
5	46.719	0.00817129	ginsenoside Rd
6	59.023	0.0525963	ginsenoside Rg ₃ S
7	59.958	0.134764	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	-	compound K

3 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.266	0.0944937	ginsenoside Rg ₁
2	18.462	0.0188824	ginsenoside Re
3	42.080	-	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside Rb ₁
5	45.877	0.00379575	ginsenoside Rd
6	59.061	0.0385148	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.293	0.00910755	compound K

7 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.826	0.152241	ginsenoside Rg ₁
2	18.639	0.0846710	ginsenoside Re
3	42.080	-	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside Rb ₁
5	45.803	-	ginsenoside Rd
6	59.291	-	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	-	compound K

[0066]

[0067] [표 10]홍삼박 10%의 HPLC 분석 결과

[0068] ⑦ 홍삼박 20%

[0069] 20%의 홍삼박 부탄을 추출물을 함유하는 시료의 배양일에 따른 사포닌 조성 분석 결과는 표 11, 도 13에 나타낸 바와 같다. 홍삼박 20% 시료의 경우 배양 0일부터 배양 3일까지는 홍삼박 5% 및 홍삼박 10%와 유사한 경향을 보여 PD계인 ginsenoside-Rb₁, -Rc, -Rd, -Rg₃ S, -Rg₃ R과 PT계인 ginsenoside-Rg₁, -Re의 7가지 성분이 검출되었다.

[0070] 그러나 홍삼박을 20% 첨가한 시료의 경우 배양 7일째 시료 내 ginsenoside 조성에 있어 PD계인 ginsenoside-Rb₁, -Rc, -Rd, -Rg₃ R 및 compound K 성분이 추가로 검출되었으며, 각 ginsenoside 함량은 배양일의 경과에 따라 감소한 반면, 홍삼박 첨가량에 따라 증가하는 결과를 나타냈다. 이상의 결과로 볼 때 배양일의 경과에 따라 PT계와 PD계 사포닌을 모두 함유하도록 하는 홍삼박의 첨가량은 20%가 적절한 것으로 사료되었다.

표 11

0 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	18.052	0.0530741	ginsenoside R _{G1}
2	18.545	0.0365922	ginsenoside Re
3	42.114	0.101351	ginsenoside Rc
4	43.552	0.00857328	ginsenoside R _{B1}
5	46.823	0.00458985	ginsenoside Rd
6	59.374	0.102480	ginsenoside R _{G3} S
7	60.142	0.237860	ginsenoside R _{G3} R
8	73.013	0.145209	compound K

1 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.551	0.100304	ginsenoside R _{G1}
2	18.125	0.0415729	ginsenoside Re
3	41.489	13038	ginsenoside Rc
4	43.985	0.00923396	ginsenoside R _{B1}
5	47.064	0.0380310	ginsenoside Rd
6	58.989	0.123799	ginsenoside R _{G3} S
7	60.988	0.0419935	ginsenoside R _{G3} R
8	73.187	-	compound K

3 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.741	0.138805	ginsenoside R _{G1}
2	18.413	-	ginsenoside Re
3	42.080	-	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside R _{B1}
5	45.963	0.00492426	ginsenoside Rd
6	58.543	0.0730441	ginsenoside R _{G3} S
7	60.633	-	ginsenoside R _{G3} R
8	73.055	0.0149776	compound K

7 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.637	0.242889	ginsenoside R _{G1}
2	18.413	-	ginsenoside Re
3	42.333	0.0421229	ginsenoside Rc
4	43.680	0.0227815	ginsenoside R _{B1}
5	45.703	0.00525335	ginsenoside Rd
6	59.291	-	ginsenoside R _{G3} S
7	61.683	0.0300897	ginsenoside R _{G3} R
8	72.401	0.00873193	compound K

[0071]

[0072] [표 11] 홍삼박 20% HPLC 분석 결과

[0073] ⑧ 지상부 5%

[0074] 5% 지상부를 첨가한 시료의 경우 배양일에 따른 사포닌 조성 분석 결과 배양 0일부터 3일째까지는 모든 ginsenoside 조성을 함유하고 있었으나 배양 7일째에는 대부분의 ginsenoside가 소실되어 결국 PT계인 ginsenoside-R_{G1}만이 검출되었다 (표 12, 도 14).

표 12

0 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.496	0.0733161	ginsenoside Rg ₁
2	.184	0.184918	ginsenoside Re
3	41.622	0.0966307	ginsenoside Rc
4	43.399	0.00909298	ginsenoside Rb ₁
5	.878	0.0324475	ginsenoside Rd
6	59.291	-	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.707	0.0541540	compound K

1 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.669	0.0580037	ginsenoside Rg ₁
2	18.700	0.168392	ginsenoside Re
3	41.255	0.00985042	ginsenoside Rc
4	43.945	0.0330624	ginsenoside Rb ₁
5	45.803	0.0281034	ginsenoside Rd
6	58.472	0.0134429	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	-	compound K

3 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.323	0.131837	ginsenoside Rg ₁
2	18.739	0.0442817	ginsenoside Re
3	42.807	0.0248378	ginsenoside Rc
4	43.574	0.0259183	ginsenoside Rb ₁
5	45.601	0.0328663	ginsenoside Rd
6	58.607	0.00773280	ginsenoside Rg ₃ S
7	61.417	0.0568277	ginsenoside Rg ₃ R
8	72.878	0.0709461	compound K

7 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.964	0.0916089	ginsenoside Rg ₁
2	18.413	-	ginsenoside Re
3	42.080	-	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside Rb ₁
5	45.803	-	ginsenoside Rd
6	59.291	-	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	-	compound K

[0075]

[0076]

[표 12] 지상부 5%의 HPLC 분석결과

[0077]

⑨ 미삼 5%

[0078]

5%의 미삼을 첨가한 시료의 배양일에 따른 사포닌 조성 분석 결과 배양 1일째는 PD계인 ginsenoside-Rb₁, -Rc, -Rd, -Rg₃ S, -Rg₃ R 및 PT계인 ginsenoside-Rg₁, -Re 모두 검출되었으며, ginsenoside-Rb₁의 경우는 배양 3일 이후부터 검출되지 않았다. 반면 배양 7일째에는 PD계인 ginsenoside-Rd와 PT계인 ginsenoside-Rg₁만이 검출되었다(표13, 도 15).

표 13

0 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.696	0.0942571	ginsenoside Rg ₁
2	18.233	0.0728823	ginsenoside Re
3	41.652	0.204374	ginsenoside Rc
4	43.423	0.0203997	ginsenoside Rb ₁
5	46.912	-	ginsenoside Rd
6	59.291	-	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	0.401318	compound K

1 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.992	0.0761455	ginsenoside Rg ₁
2	18.846	0.123579	ginsenoside Re
3	42.295	0.0654047	ginsenoside Rc
4	44.025	0.0257744	ginsenoside Rb ₁
5	45.862	0.0322179	ginsenoside Rd
6	59.249	0.0101780	ginsenoside Rg ₃ S
7	61.032	0.0107358	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	-	compound K

3 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.669	-	ginsenoside Rg ₁
2	18.464	0.0197000	ginsenoside Re
3	42.641	0.0632492	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside Rb ₁
5	45.748	0.00751446	ginsenoside Rd
6	59.692	0.00621446	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.185	0.00625919	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.157	0.0192414	compound K

7 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.555	0.0960133	ginsenoside Rg ₁
2	18.413	-	ginsenoside Re
3	42.080	-	ginsenoside Rc
4	43.728	-	ginsenoside Rb ₁
5	44.941	0.213256	ginsenoside Rd
6	59.291	-	ginsenoside Rg ₃ S
7	60.633	-	ginsenoside Rg ₃ R
8	73.187	-	compound K

[0079]

[0080]

[표 13] 미삼 5%의 HPLC 분석 결과

[0081]

⑩ 미삼 10%

[0082]

미삼 10%를 첨가한 시료의 배양일에 따른 사포닌 조성 분석 결과는 표 14와 도 16에 나타난 바와 같다. 배양 1 일째는 PD계인 ginsenoside-Rb₁, -Rc, -Rd, -Rg₃ S, -Rg₃ R과 PT계인 ginsenoside-Rg₁, -Re 및 compound K를 포함한 총 8가지 성분이 모두 검출되었다. 배양 3일째에는 ginsenoside-Rb₁, -Rg₃ S, compound K만이 검출되었으나, 이후 배양 7일째에는 ginsenoside-Re와 -Rg₃ R을 제외한 6종류의 사포닌이 모두 검출되었다.

표 14

0 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.520	0.0680758	ginsenoside R _{G1}
2	18.141	0.0758837	ginsenoside Re
3	41.696	0.200941	ginsenoside Rc
4	43.452	0.0295652	ginsenoside R _{B1}
5	46.950	0.0190443	ginsenoside Rd
6	59.148	0.0162794	ginsenoside R _{G3 S}
7	60.378	-	ginsenoside R _{G3 R}
8	73.187	0.421658	compound K

1 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.536	0.0786285	ginsenoside R _{G1}
2	18.464	0.108798	ginsenoside Re
3	42.289	0.131519	ginsenoside Rc
4	44.046	0.0338853	ginsenoside R _{B1}
5	46.444	0.0146276	ginsenoside Rd
6	59.555	0.00911912	ginsenoside R _{G3 S}
7	60.307	0.0235903	ginsenoside R _{G3 R}
8	73.030	0.0399239	compound K

3 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	17.669	-	ginsenoside R _{G1}
2	18.413	-	ginsenoside Re
3	42.080	-	ginsenoside Rc
4	44.041	0.0100011	ginsenoside R _{B1}
5	5.803	-	ginsenoside Rd
6	59.028	0.00392791	ginsenoside R _{G3 S}
7	60.633	-	ginsenoside R _{G3 R}
8	72.903	0.0515513	compound K

7 day

Peak No.	RT [min]	contents [ppb]	compounds
1	18.004	0.0475367	ginsenoside R _{G1}
2	18.413	-	ginsenoside Re
3	42.433	0.149342	ginsenoside Rc
4	44.090	0.0385258	ginsenoside R _{B1}
5	45.417	0.00962329	ginsenoside Rd
6	58.842	0.0114797	ginsenoside R _{G3 S}
7	60.633	-	ginsenoside R _{G3 R}
8	72.888	0.0200378	compound K

[0083]

[0084]

[표 14] 미삼 10%의 HPLC 분석 결과

[0085]

(5) 인삼박을 이용한 균주별 혼합배양

[0086]

홍삼박(10%)을 이용하여 제조한 배지 내에서 각 균주 (바실러스, 유산균, 효모)의 혼합 배양 후 생장을 비교함으로써 발효공정에서 홍삼박을 이용할 수 있는 미생물 균주를 분리, 확인하였다.

[0087]

바실러스(*CH₃-B. subtilis*), 유산균(LAB-EML₄, 새우생균제용 유산균) 및 Yeast(S-culture 원료, Danbaoli)를 본 실험의 균주로 사용하였으며 배지는 홍삼박 10% (배아박495+홍삼박55+청하박110+조효소10), 미삼 10% (배아박495+미삼55+청하박110+조효소10)가 되도록 제조하여 각 균주를 1:1의 비율로 혼합한 후 pH를 측정하였다. 또한 조효소 1g을 증류수 30mL에 녹여 (원료 55g 기준) 제조하여 혼합하여 사용하였다(140mL). 혼합된 각 균주는 접종한 후 30℃, 혐기조건(anaerobic condition)에서 7일 동안 배양 후 생균수를 확인하였다.

[0088]

실험결과 균주별 혼합배양 시 홍삼박과 미삼 첨가에 따른 시료별 생균수 변화는 표 15와 도 17에 나타내었다. 바실러스, 유산균, 효모를 단일 접종하였을 경우와 혼합배양한 경우 모두에서 배양 7일째에 10⁶ 이상의 생균수를 확인하였다. 특히 바실러스, 유산균, 효모를 단일 접종하였을 경우 10⁷ 이상의 생균수를 확인할 수 있었다. 10%

홍삼박을 첨가한 바실러스의 경우, 유산균, 효모 등과 혼합 접종하여도 최소 10^7 혹은 10^8 이상으로 증가한 생균수를 확인하였으나, 미삼 10%를 첨가한 바실러스의 경우 10^7 이하로 감소하는 결과를 보였다. 유산균의 경우 홍삼박 첨가와 미삼 첨가, 그리고 단일접종과 혼합접종에 상관없이 최소 10^7 이상의 생균수를 확인하였다. 반면 효모의 경우 홍삼박 첨가와 미삼 첨가, 그리고 단일접종과 혼합접종 전체적으로 유사한 생균수를 나타내었으나, 대체적인 경향성으로 보아 미삼10% 첨가보다는 홍삼박10% 첨가의 경우 조금 더 높은 생균수를 보였다.

표 15

홍삼박과 미삼 첨가가 균주별 혼합배양 시 시료별 생균수에 미치는 영향

	생균수(cfu/g)							
	홍삼박 10%				미삼 10%			
	pH	바실러스	유산균	효모	pH	바실러스	유산균	효모
① 유산균	3.64	-	2.0×10^8	4.7×10^7	3.60	-	9.8×10^7	1.3×10^7
② 효모	3.74	-	-	1.8×10^7	3.80	-	-	3.1×10^7
③ 바실러스	3.64	1.2×10^7	-	9.9×10^7	3.78	1.4×10^7	-	7.6×10^7
④ 유산균 + 효모	3.68	-	7.6×10^7	2.6×10^7	3.83	-	8.6×10^7	3.2×10^6
⑤ 바실러스 + 효모	3.62	1.3×10^7	-	7.1×10^7	3.84	1.9×10^7	-	2.4×10^7
⑥ 유산균 + 바실러스	3.59	1.3×10^8	2.2×10^8	3.6×10^7	3.69	2.8×10^6	6.0×10^7	1.5×10^7
⑦ 바실러스+유산균+효모	3.64	9.2×10^7	1.4×10^8	5.3×10^7	3.73	8.0×10^6	5.2×10^8	3.3×10^7

[0089]

[0090] 실험예 1. 추출물을 이용한 발효사료의 저장성 확인

[0091] 홍삼박을 이용한 사료첨가제의 조건별 저장성을 확인하고자 당장, 산장 및 유산균 혼합 3가지의 균으로 나누어 실시하였다. 이때, 당장은 glucose 10%, 20%, 40%로 제조하여 각각 15g, 30g, 60g으로 시료인 홍삼박 150g과 혼합된 균을 의미하며, 산장은 Lactic acid 1%, 5%, 10%를 제조하여 당장과 동일하게 시료와 혼합된 균을 의미한다. 또한, 유산균 혼합균은 glucose 5%와 유산균(EML-4) 1%를 혼합시켜 시료인 홍삼박 150g에 glucose 7.5g 및 유산균 1.5g을 접종 시킨 균을 의미한다.

[0092] 이때의 홍삼박의 수분 측정은 AOAC 법(Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C. 1999)에 의해 측정하였다.

[0093] 저장성 평가 결과를 표 16, 17 및 18와 도 18에 나타내었듯이 당장 및 유산균을 혼합하여 배양한 경우 밀봉과 진공포장 조건에서 모두 저장 2주차부터 용기 내부에서 발생하는 가스에 의해 팽팽하게 부풀어 올랐으며, 산장에 비해 저장성이 확연히 떨어지는 것으로 판단되었다. 산장 저장 방법에 따른 8주간의 생균수 변화 분석 결과, 1%의 lactic acid를 첨가하였을 경우 5%나 10%를 첨가하였을 때보다 일반세균, 효모 모두 안정한 생균수가 유지되는 것으로 보여졌다.

표 16

인삼박 (홍삼박)을 이용하여 제조한 발효사료의 조건별 (당장, 산장, 유산균 혼합) 저장기간에 따른 생균수 변화

0주차		당 장			산 장			유산균
		10%	20%	40%	1%	5%	10%	
밀봉	일반세균	5.6×10^3	3.8×10^3	3.7×10^3	3.6×10^3	6.2×10^3	2.0×10^3	8.4×10^3
	Yeast	7.4×10^7	5.3×10^7	7.7×10^7	6.9×10^7	1.3×10^8	8.6×10^7	6.1×10^7
	& 유산균							2.4×10^6
진공	pH	4.82	4.78	4.79	3.81	3.27	3.47	4.51

[0094]

표 17

인삼박 (홍삼박)을 이용하여 제조한 발효사료의 산장 저장 시 저장방법에 따른 생균수 (일반세균수, 효모) 및 pH의 변화 (4주차)

4주차		산 장		
		1%	5%	10%
밀봉	일반세균	3.7×10^2	2.1×10^3	5.6×10^2
	Mold/Yeast	6.6×10^6	1.1×10^7	2.3×10^6
	pH	3.77	3.15	3.07
진공	일반세균	1.1×10^3	4.5×10^3	1.8×10^2
	Mold/Yeast	4.7×10^6	3.9×10^5	6.6×10^6
	pH	3.71	3.08	3.05

[0095]

표 18

인삼박 (홍삼박)을 이용하여 제조한 발효사료의 산장 저장 시 저장방법에 따른 생균수 (일반세균수, 효모) 및 pH의 변화 (8주차)

8주차		산 장		
		1%	5%	10%
밀봉	일반세균	2.5×10^2	7.8×10^2	6.9×10^2
	Mold/Yeast	1.3×10^6	5.9×10^5	3.5×10^3
	pH	3.74	2.95	2.66
진공	일반세균	1.4×10^3	2.2×10^3	4.0×10^2
	Mold/Yeast	1.4×10^6	1.6×10^4	3.1×10^3
	pH	3.52	2.93	2.65

[0096]

[0097] 실험예 2. 추출물의 항산화성 분석을 통한 기능성 평가

[0098] 혼합비를 달리하여 배양한 실시 예1의 시료를 이용하여 동결건조한 후 삼각플라스크에 각각 5g을 취하여 50ml의 증류수에 넣고 60℃에서 4시간 3번 반복 열수추출하고, 추출액을 여과지를 사용하여 2회 감압여과하고, 회전 농

축기(rotary evaporator)로 농축하여 동결건조 시킨 다음 -70℃에서 보관 후 DPPH 라디칼 소거활성을 Nanjo 등 (Nanjo, F., Goto, K., Seto, R., Suzuki, M., Sakai, M., & Hara, Y. (1996). Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radical Biology & Medicine*, 21(6),895902. 1996)에 의한 방법으로 측정하였다.

[0099] ① 시험원료의 항산화성 평가

[0100] 홍삼, 지상부 및 미강의 항산화성 평가 결과를 도 19에 나타내었다. 본 연구결과에서 IC₅₀ 값은 DPPH에 의한 free radical의 50%를 소거시키는 농도를 나타내는 값으로 홍삼, 지상부 및 미강의 IC₅₀ 값은 각각 0.126 mg/ml, 0.715 mg/ml, 1.978 mg/ml로써 항산화성은 홍삼, 지상부, 미강 순으로 높은 결과를 나타냈다. 또한 시험원료의 농도별 DPPH radical scavenging activity를 평가한 결과, 홍삼의 경우 0.0625 mg/ml와 0.125 mg/ml의 농도에서도 DPPH radical scavenging activity가 약 50% 정도로 높게 나타났으며, 0.25 mg/ml 이상의 농도에서는 DPPH radical scavenging activity이 약 80% 정도로 높은 항산화성을 보였다. 지상부의 경우 농도가 증가함에 따라 DPPH radical scavenging activity가 뚜렷하게 증가하였으며 특히 2.0 mg/ml의 농도에서는 약 80% 정도의 높은 DPPH radical scavenging activity를 보였다. 반면, 미강의 경우는 2.0 mg/ml의 비교적 높은 농도값에서만 약 50%정도의 DPPH radical scavenging activity를 보임으로써 시험원료에 따른 항산화성은 홍삼 첨가의 경우가 가장 뛰어난 것으로 나타났다.

[0101] ② 배양일에 따른 시료별 항산화성 평가

[0102] 혼합비를 달리한 시료의 배양일에 따른 항산화성 분석 결과는 표 19와 도 20에 나타내었다. 배아박, 홍삼박 20과 지상부 5의 경우 배양 3주차에 항산화성이 가장 큰 것으로 나타났다. 홍삼박 5와 홍삼박 10, 미강 10의 경우 배양 0주차에 가장 큰 항산화성을 보였다. 반면, 지상부 10과 미강 5의 경우는 배양 7주차에 가장 큰 항산화성을 나타내어 시료별 배양일의 경과에 따른 항산화성에 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 한편 배양일에 따른 시료의 농도별 DPPH radical scavenging activity를 평가한 결과 배양일의 경과와 상관없이 각 시료의 농도가 증가함에 따라 DPPH radical scavenging activity가 비례적으로 증가하는 결과를 보였다.

표 19

배양일에 따른 시료별 항산화성 평가

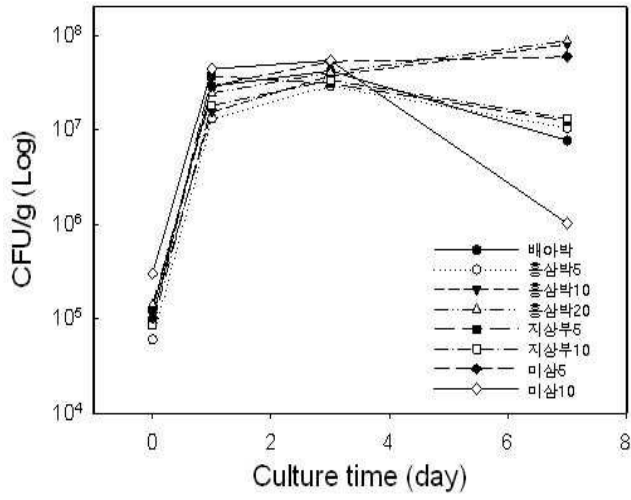
IC ₅₀ (mg/ml)	배양일							
	배아박	홍삼박5	홍삼박10	홍삼박20	지상부5	지상부10	미강5	미강10
0주차	0.257	0.219	0.510	0.228	0.242	0.341	0.493	0.246
1주차	0.514	0.328	0.652	0.686	0.401	0.236	0.290	0.424
3주차	0.223	0.424	0.712	0.198	0.132	1.092	0.616	0.399
7주차	0.394	0.468	0.714	0.315	0.597	0.228	0.222	0.433

[0103]

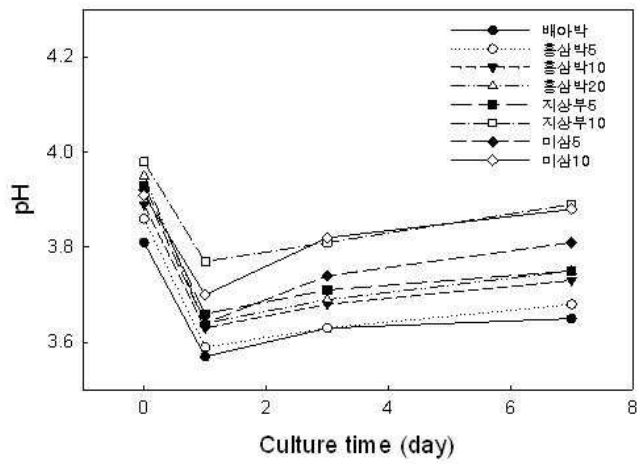
[0104] 이상, 본 발명의 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의해 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

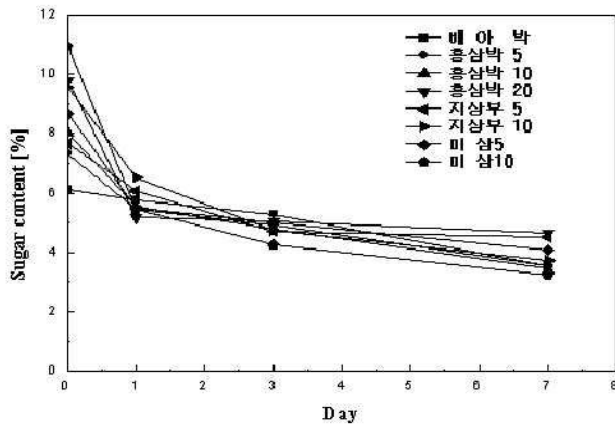
도면1



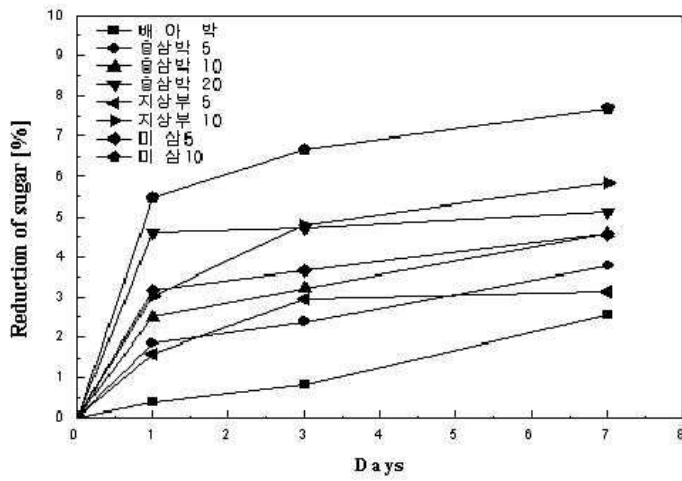
도면2



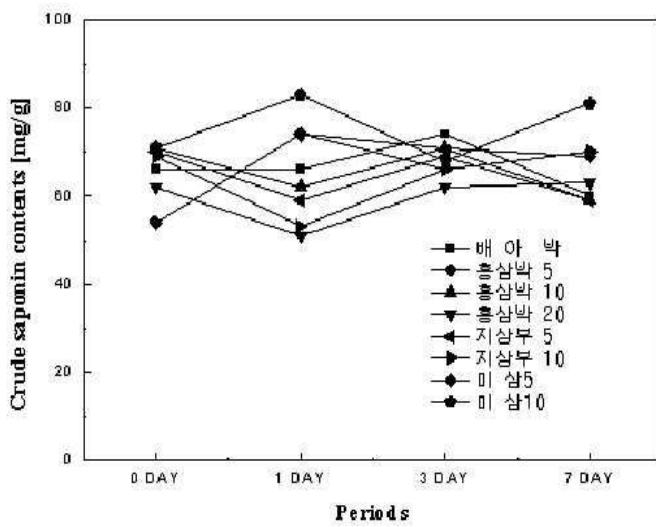
도면3



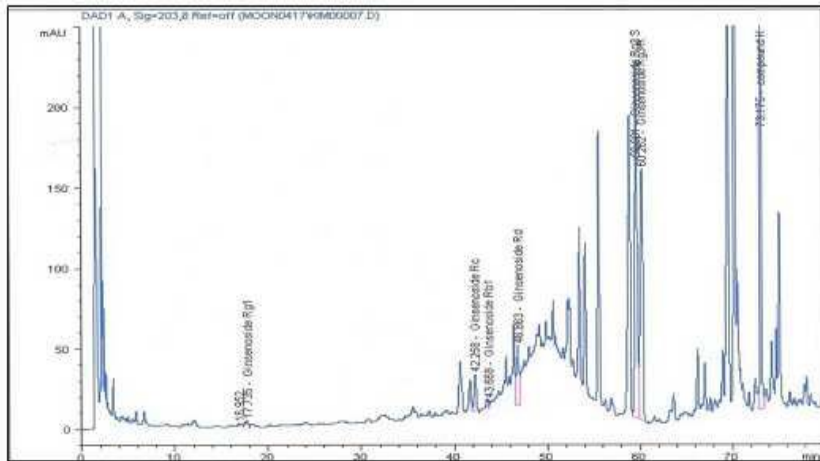
도면4



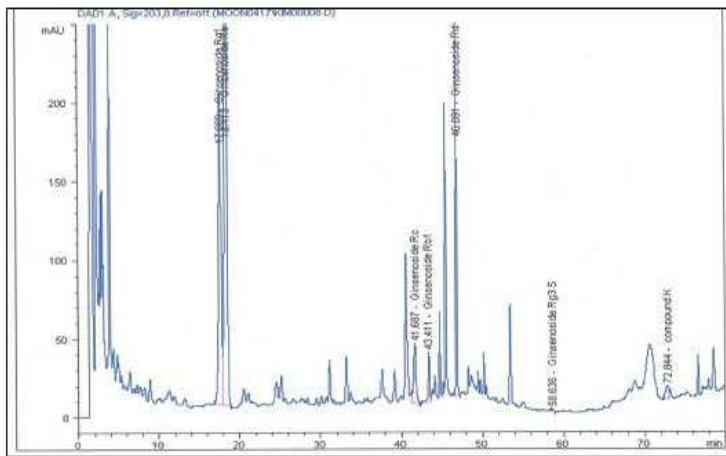
도면5



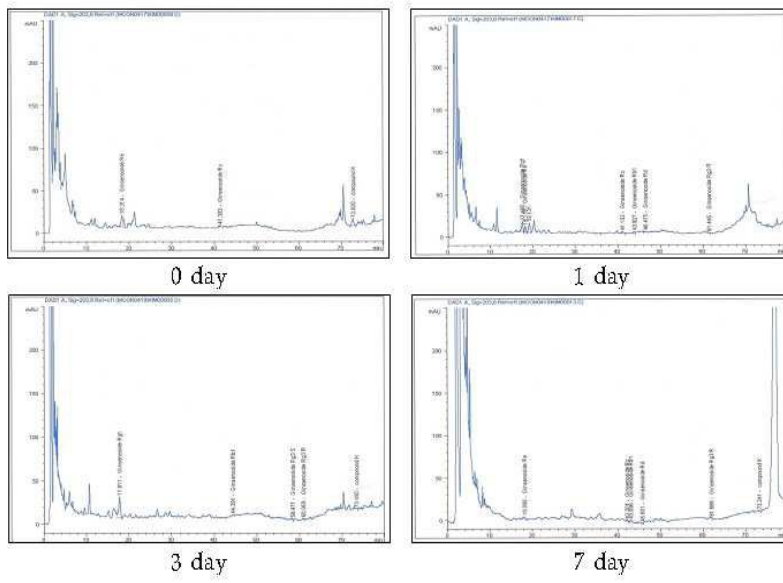
도면8



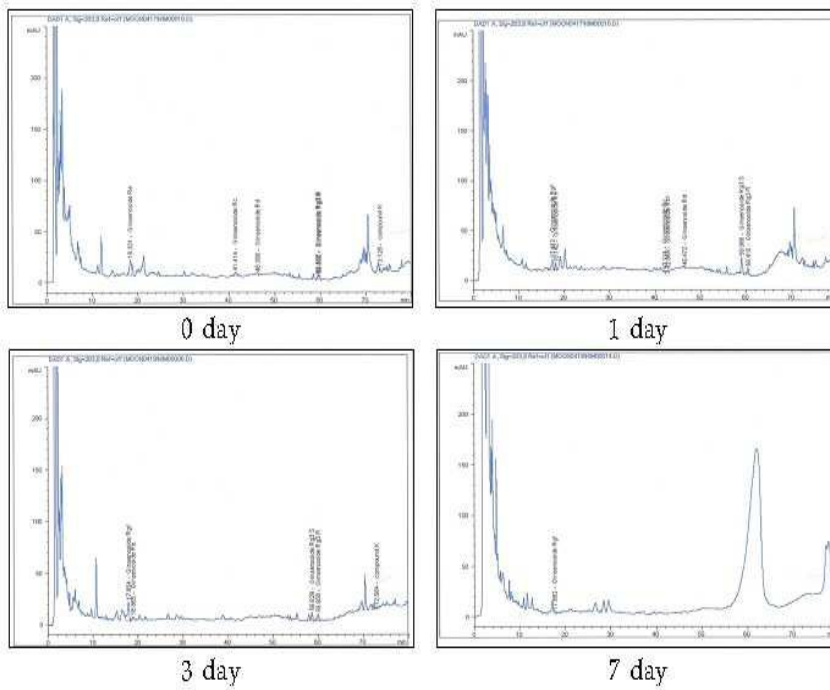
도면9



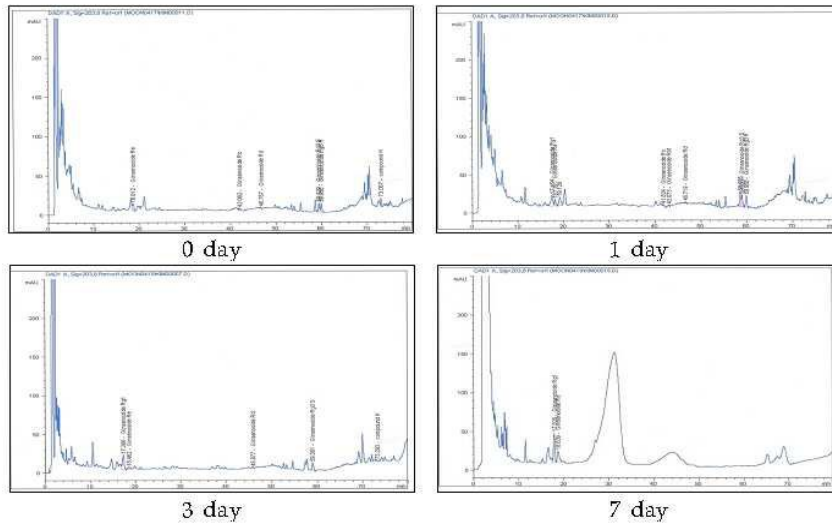
도면10



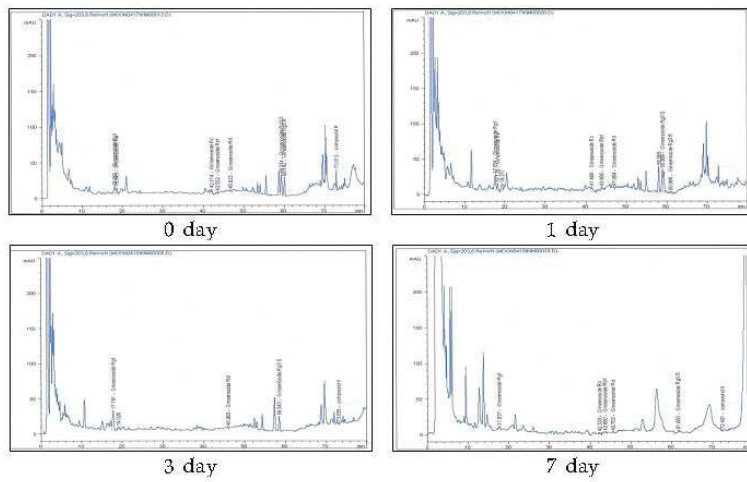
도면11



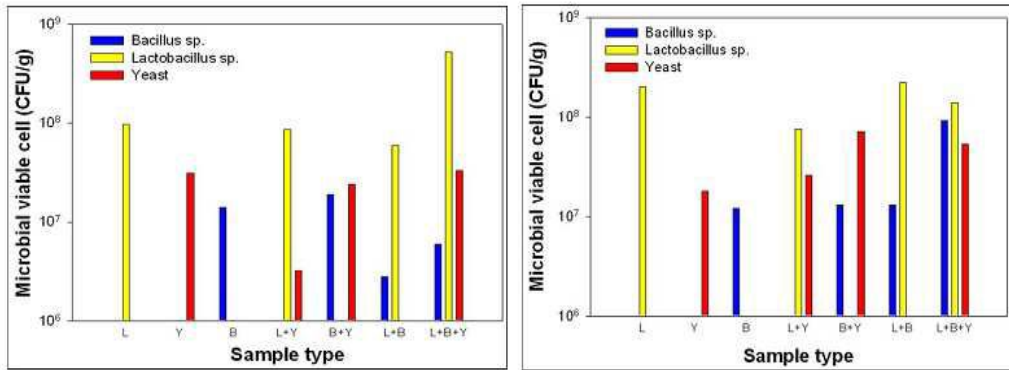
도면12



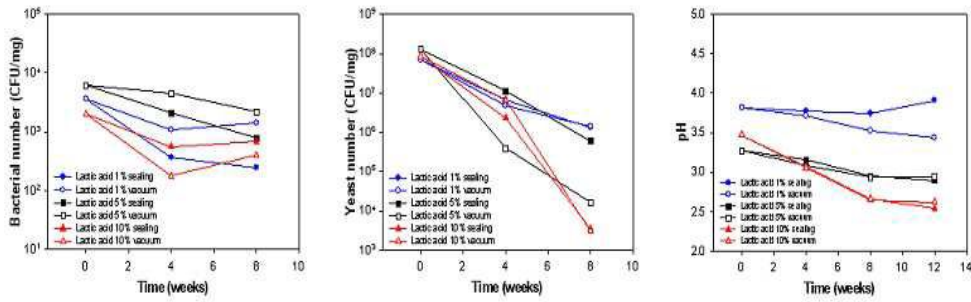
도면13



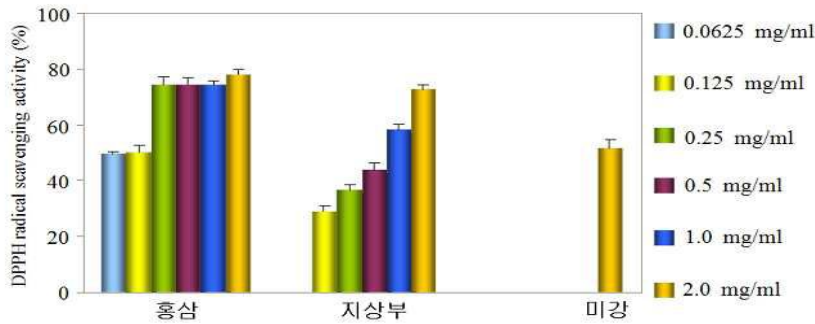
도면17



도면18



도면19



도면20

