



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년01월05일
(11) 등록번호 10-1814941
(24) 등록일자 2017년12월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/00 (2016.01) A23L 29/00 (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/00 (2016.08)
A23L 29/065 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2016-0159162
(22) 출원일자 2016년11월28일
심사청구일자 2016년11월28일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020140135488 A*
KR1020150144621 A*
KR1020110024355 A
JP2004173652 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 웰파인
서울특별시 금천구 가산디지털1로 168, 우림라이온스밸리 씨동 1507호(가산동)
강원대학교산학협력단
강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동)
(72) 발명자
손일권
경기도 고양시 일산동구 위시티4로 80 위시티 일산자이1단지105동2003호
배정식
인천시 남동구 논현고로10 한화에코메트로 1202동 801호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이덕록

전체 청구항 수 : 총 3 항

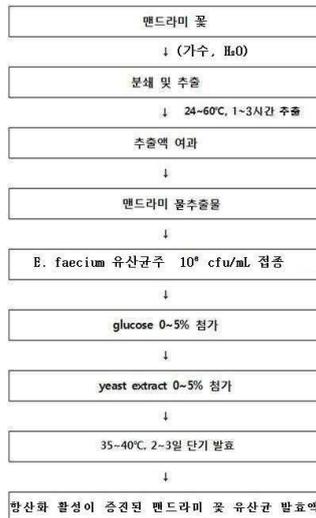
심사관 : 김지연

(54) 발명의 명칭 **맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효액을 함유하는 항산화 기능성 식품 조성물 및 그 제조방법**

(57) 요약

맨드라미꽃의 물추출물에 대한 유산균 발효에 의해 항산화 및 면역 활성이 증진된 천연 발효 조성물의 제조방법에 관한 것으로 맨드라미꽃 물추출물에 별도의 영양원을 첨가하고 고온 단기 발효균주 *Enterococcus*속 또는 *Lactobacillus*속 유산균주를 접종, 고온 단기간 발효하는 것이 특징인 맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효액의 제조방법 및 이를 이용한 항산화 기능성 식품 조성물을 제공하는 뛰어난 효과가 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/30 (2013.01)
A23Y 2220/67 (2013.01)

(72) 발명자

서태수

강원도 춘천시 우목길78번길 25, 일성2차아파트
203동 907호

안지혜

경기도 시흥시 은행로 93-1 시흥은행4차대우푸르지
오아파트 413동 903호

최면

강원도 춘천시 만천로 107 한일유엔아이아파트 10
2동 502호

김태우

강원도 횡성군 횡성읍 성북로 6-7 4층

김대중

강원도 횡성군 횡성읍 어사매로 68 104동 903호
(읍상리, 횡성석미모닝파크)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R0005564

부처명 한국산업기술진흥원

연구관리전문기관 (재)강원지역사업평가단

연구사업명 지역주력산업육성사업

연구과제명 특성화산업 연계를 위한 식용꽃 소재화 기술개발 및 웰니스음료제품 산업화

기 여 율 1/1

주관기관 (주)웰파인

연구기간 2016.07.01 ~ 2016.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

식물의 물추출물을 수득하는 단계와; 상기 단계에서 얻은 물추출물에 유산균을 접종하는 단계와; 유산균 발효공정을 거치는 단계로 이루어진 물추출물의 유산균 발효액의 제조방법에 있어서,

상기 식물의 물추출물은 맨드라미꽃 분말에 증류수를 첨가하여 60℃에서 2시간 동안 추출하여 수득한 물추출물이며, 상기 유산균은 *Enterococcus faecium* KCTC 13225 균주이고, 상기 발효공정은 상기의 유산균을 접종한 유산균 발효 배지에 별도의 유산균 발효배지 전체 대비 yeast extract 5% 및 glucose 5%의 영양원을 더 첨가하여 혼합하고 37℃의 온도에서 48시간 고온 단기 발효시키는 단계로 이루어진 것을 특징으로 하는 맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효액의 제조방법

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 따라 제조되어 pH 3.9 이하인 것이 특징인 맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효액

청구항 5

제 4항의 맨드라미꽃의 물추출물의 유산균 발효액이 함유되어 기호도가 증대된 것이 특징인 식품 조성물

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 식용 가능한 맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효액을 함유하는 항산화 기능성 식품 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 맨드라미꽃 건조분말에 증류수를 첨가하여 그 물추출물을 수득하고, 상기 맨드라미꽃 물추출물에 고온 단시간 발효 특성을 갖는 유산균을 접종, 발효하여 얻은 유산균 발효액을 유효성분으로 함유하는 인체 항산화 활성 증진용 식품 조성물 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 맨드라미(*Celosia cristata* L.)는 쌍떡잎식물 중심자목 비름과(Amaranthaceae)에 속하는 1년생 한해살이풀이며 관상용으로 재배되어 왔으나, 한방에서는 맨드라미꽃을 계관화라하여 전통 약제로 사용되어 왔다. 줄기와 잎은 치질, 이질, 토혈, 코피, 혈붕, 두드러기 등을 치료하고 종자는 양혈과 지혈의 효능, 혈변, 이질, 간장병, 눈병 등을 치료하는 효능이 알려져 있다. 특히, 꽃은 양혈과 지혈의 효능, 치루로 인한 하혈, 이질, 토혈, 객혈, 혈립 등을 치료하는 효능이 알려져 있다.

[0003] 맨드라미의 유효성분으로는 beta-cyanin, kaempferitrin, amaranthin, pinitol 등이 알려져 있으며, 많은 양의 질산칼륨과 이미 알려진 5개의 flavonoid와 새로운 isoflavone인 cristatein(5-hydroxy-6-hydroxy-methyl-7, 2'-demethoxyisoflavone)과 식물계에 널리 존재하는 phenolic이 함유되어 다양한 약리적, 생물학적인 활성과 항산화 작용을 하는 것으로 알려져 있다.

[0004] 천연물은 일반적으로 비타민, 무기물, 색소 및 각종 특성 성분 등의 중요한 영양소를 풍부하게 함유하고 있어

건강의 유지, 개선, 질병 예방에 크게 기여하는 것으로 알려져 있다. 그러나 저장성이 취약하기 때문에 독성을 제거하고 저장성과 활성성분의 기능성 증대를 위해 가공기술이 요구된다.

- [0005] 식품을 유익 미생물을 접종시켜 발효하면 고분자 물질들이 저분자 물질들로 분해되어 소화 흡수율을 높이고, 새로운 풍미 생성으로 기호성이 증대되며, 생리활성을 갖는 유효성분이 생성되어 최근 발효식품에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.
- [0006] 유산균(Lactic acid bacteria)은 당류를 발효하여 에너지를 획득하고 다량의 유산(lactic acid)를 생성하며, 소비되는 당의 50% 이상을 대사 생산물로 생성하지 않고 부패를 방지하는 유익균이다. 유산균은 그람양성균으로 통성혐기성 또는 혐기성 미생물이며 운동성은 없고 대부분이 카탈라아제 음성이며 생육에는 각종 비타민, 아미노산, 펩티드 등을 요구한다. 일반적으로 유산균의 섭취는 장내 미생물들이 음식물의 소화, 흡수, 분해와 배설 등을 돕는 유익균의 증가를 유도하여 소화작용을 도와 소화기계 질환에 개선 효과를 나타낸다(Rolfe, 2000, J Nutr, 130:396-402). 또한, 유산균 발효를 통해 유용 물질의 합성에 의한 영양 및 건강 증진 효과가 있으며, 정장 작용, 면역증강 작용, 간경화 개선, 항암 작용, 피부미용 효과 등 영양학적인 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.
- [0007] 본 발명과 관련된 선행기술로서 대한민국 등록특허 제10-0881035호는 맨드라미 유기용매 추출물을 함유하는 바이러스로 인한 인간 질환의 예방 및 치료를 위한 조성물에 관한 것이, 등록특허 10-0881033호는 맨드라미의 유기용매 추출물을 함유하는 바이러스로 인한 동물 질환의 예방 및 치료를 위한 조성물에 관한 것이 공지되어 있다.
- [0008] 그러나 현재까지 맨드라미꽃 단일 원료의 물추출물에 단기 고온발효 특성을 갖는 유산균주만을 접종 발효시켜 항산화 기능성과 관능성을 증진시킨 기술에 관하여는 공지된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 따라서 본 발명의 목적은 단일 원료 맨드라미꽃의 물추출물에 고온 단기간 발효 특성이 있는 *Enterococcus*속 유산균주를 접종하여 항산화 활성을 현저히 증진시키고 관능효과를 증대시킨 맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효액을 제공하는 데 있다.
- [0010] 본 발명의 다른 목적으로는 상기 맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효액을 유효성분으로 함유하는 항산화 기능성 및 관능성이 증대된 식품 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명의 상기 목적은 맨드라미꽃의 건조분말에 대하여 그 중량의 15배에 해당하는 증류수에 침지시키는 단계와; 항산화 활성이 높은 추출 조건인 30~90℃ 범위에서 1~3시간 가장 바람직하게는 60℃에서 2시간 동안 물추출하는 단계와; 상기 맨드라미꽃의 물추출물에 고온 단기간 발효 특성이 있는 GRAS(Generally Recognized As Safe)급 유산균 *Enterococcus faecium* KCTC 13225 또는 *Lactobacillus plantarum* KCTC 13093을 접종하고, 영양원으로 glucose 0~5%, yeast extract 0~5%를 첨가하는 단계를 통하여 속성 고온발효하여 단일 원료로 구성된 맨드라미꽃 물추출물에 대한 유산균 발효액을 제공하고 항산화 및 관능효과를 평가함으로써 달성하였다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명의 맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효액은 항산화 효과가 현저히 증진되어 있으며, 천연 물질만을 사용하기 때문에 인체에 독성 등 부작용이 없어 건강 기능성 식품의 소재로 널리 사용가능한 효과가 있을 뿐만 아니라, 고온 단기간 발효에 의해 유기산이 포함되지 않아 이미 이취가 없는 발효액을 제공하는 뛰어난 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0013] 도 1은 본 발명에 따른 맨드라미꽃의 물추출물의 유산균 발효액의 제조방법의 개략적인 공정을 나타낸 다이어그램이다.
- 도 2는 본 발명에 따른 맨드라미꽃의 물추출 온도에 따른 각 DPPH radical 소거활성 측정결과를 나타낸 그래프

이다.

도 3은 본 발명에 따른 맨드라미꽃의 물추출 온도에 따른 총 폴리페놀 함량에 대한 측정결과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명에 따라 제조된 맨드라미꽃의 물추출물에 대한 유산균 접종 발효액의 DPPH radical 소거능에 의한 항산화 활성의 결과를 나타낸 그래프이다.

도 5는 본 발명에 따라 제조된 맨드라미꽃의 물추출물의 유산균 발효액의 항산화 활성을 총 폴리페놀 함량의 측정 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0014] 본 발명은 맨드라미꽃로부터 물추출한 맨드라미꽃의 추출액에 유산균을 접종한 후 발효시켜 제조된 맨드라미꽃의 물추출물의 유산균 발효액과 이를 유효성분으로 함유하는 항산화 활성 증진용 기능성 식품 조성물을 제공한다.
- [0015] 본 발명에 따르면 사용할 수 있는 바람직한 유산균은 *Enterococcus*속 및 *Lactobacillus*속 유산균주이나 가장 바람직하게는 *Enterococcus faecium* KCTC 13225 및 *Lactobacillus plantarum* KCTC 13093이다.
- [0016] 또한, 본 발명에 따른 맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효 조성물의 제조방법은 (a) 발효원료인 맨드라미꽃의 경우 생화 또는 건조된 맨드라미꽃을 분쇄하여 사용될 수 있다. (b) 맨드라미꽃의 물추출물은 맨드라미꽃에 증류수를 15배 첨가하는 단계와; 30~90℃에서 1~3시간, 가장 바람직하게는 60℃에서 2시간 추출하는 단계를 포함할 수 있다. (c) 상기 단계에서 얻은 맨드라미꽃의 물추출액에 이와 별도로 배양된 전배양한 유산균을 전체 배지 조성물 대비 1%(w/w)를 접종한 후 영양원으로 glucose 0~5%, yeast extract 0~5%를 더 첨가하는 단계를 포함한다. (d) 상기 a) 및 b) 단계 후에 혼합물에 *Enterococcus faecium*(KCTC 13225) 또는 *Lactobacillus plantarum*(KCTC 13093) 균주를 접종하여 35~40℃에서 24~72시간, 가장 바람직하게는 37℃에서 48시간 동안 발효한다.
- [0017] 본 발명은 또한, 맨드라미꽃 유산균 발효액의 DPPH radical 소거활성, 총 페놀 함량 측정을 통해 항산화 활성이 증진된 발효액을 평가하는 단계가 포함된다.
- [0018] 또한, 본 발명은 맨드라미꽃을 유산균으로 발효한 발효액이 항산화 효과가 있는 유산균 발효액에 함유되어 있는 유산균수 측정 결과를 제공한다.
- [0019] 이하, 본 발명의 구체적인 내용을 실시예를 들어 상세하게 설명한다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로 본 발명의 권리범위가 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0020] 실시예 1. 본 발명 맨드라미꽃의 물추출물 제조
- [0021] 본 발명에 사용되는 맨드라미꽃은 건조된 맨드라미를 분쇄하여 사용하였으나, 생화가 사용될 수 있다. 맨드라미꽃 물추출물은 건조된 맨드라미꽃 분말에 그 중량의 15배(w/w)에 해당하는 증류수를 첨가하여 60℃에서 1~3시간 추출하였다. 60℃에서 2시간 동안 추출한 경우 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량이 가장 높았다(도2 및 도3). 추출 후 감압여과를 통해 회수된 여액으로 맨드라미꽃의 물추출물을 공시재료로 사용하였다.
- [0022] 실시예 2. 맨드라미꽃의 물추출물의 유산균 발효액 제조
- [0023] 상기 실시예 1에서 얻은 공시재료 맨드라미꽃의 물추출물에 이와 별도로 배양된 *Enterococcus faecium* KCTC 13225 또는 *Lactobacillus plantarum* KCTC 13093을 10⁶ cfu/mL로 접종하고, 유산균 발효조성물 전체대비 가장 바람직하게는 yeast extract 5% 및 glucose 5% 질소 및 탄소 영양원을 각각 더 첨가하여 37℃에서 48시간 유산균의 고온, 단기간 발효하였다.
- [0024] 실험예 1. DPPH소거능에 의한 항산화 활성

[0025] DPPH(α, α-diphenyl-β-picrylhydrazyl)는 화합물 내 질소 중심의 안정화된 구조의 라디칼(radical)로 존재하는데 이 안정화된 radical의 소거능 정도에 따라 항산화 활성을 측정할 수 있다. 본 발명에서 DPPH 라디칼 소거능의 측정은 Biosis 등(1958)의 방법에 의해 측정하였다. 상기 실시예 1과 실시예 2에서 얻은 각 시료 0.5mL에 DPPH 5mL을 넣고 실온, 암소에서 30분 동안 반응시킨 후 517nm에서 흡광도를 측정하여 하기 수학적식에 의해 저해율을 계산하였다. 양성대조군으로는 vitamin C를 사용하였다.

수학적식 1

$$DPPH\text{라디칼소거능}(\%) = \frac{1 - \text{시료}O.D}{\text{대조군}O.D} \times 100$$

[0026]

[0027] 실험 결과, 도4에서 알 수 있듯이 DPPH 소거능에 의한 항산화 활성은 실시예 1의 맨드라미꽃의 물추출물 시료에 비해 실시예2의 유산균 발효를 한 시료가 DPPH 소거능이 증가되어 항산화 활성이 증대되었다.

[0028] 본 발명에 따라 제조된 맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효액은 가장 바람직하게는 glucose 5% 및 yeast extract 5%가 첨가된 배지에서 발효되어 고온 단기 발효 특성을 갖는 유산균 발효에 의해 항산화 활성이 30% 이상 증대되었으나, 영양원의 첨가 범위가 상기 5%로 제한되는 것은 아니다.

[0029] 실험예 2. 총 폴리페놀 함량에 의한 항산화 활성

[0030] 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 법으로 측정하였다(Zhou et al., 1980). 상기 실시예1과 실시예2의 각 시료 1mL에 1N Folin-Ciocalteu's reagent 1mL을 가하고 3분간 정치시킨 후 10% Na₂CO₃ 용액 1mL을 가하여 혼합한 다음 실온에서 1시간 정치시킨 후 700nm에서 흡광도를 측정하여 총 폴리페놀 함량을 수치화하였다.

[0031] 실험 결과, 도5에서 알 수 있듯이 총 폴리페놀 함량은 실시예1의 맨드라미꽃 물추출물 시료에 비해 실시예2에 따른 유산균 발효를 수행한 시료에서 증대되었다.

[0032] 본 발명에 따라 제조된 맨드라미꽃의 물추출물의 유산균 발효물은 glucose 5%, yeast extract 5%가 첨가된 배지에서 본 발명 고온 단기 발효 특성을 갖는 유산균 발효에 의해 항산화 활성이 65% 이상 증대되었으나, 영양원의 첨가 범위가 반드시 5%로 제한되는 것은 아니다.

[0033] 실험예 3. pH 및 유산균수 측정

[0034] 본 발명의 상기 실시예1에서 얻은 맨드라미꽃의 물추출물과 실시예2에서 얻은 맨드라미꽃의 물추출물의 유산균 발효 조성물의 pH를 분석하고 유산균수 측정을 위해 실시예 2의 시료를 0.85% 멸균 생리 식염수로 10배 연속 희석법으로 희석한 후 MRS agar 배지에 접종한 다음 집락수를 계측하는 방법으로 유산균수를 산출하였다.

[0035] 실험결과 하기 표1에서 알 수 있듯이 실시예 1 시료의 pH는 5.02이고, 실시예 2 시료의 pH는 *Enterococcus faecium* KCTC 13225(실험구1)의 경우 3.82, *Lactobacillus plantarum* KCTC 13093(실험구2)의 경우 3.54로 측정되었다. 이를 통해 실시예2에서 얻은 맨드라미꽃의 물추출물의 유산균 발효물의 경우 유산균 발효로 유기산이 생성되어 산도가 pH가 3.9 이하로 감소하는 것을 알 수 있었다. 또한, 실시예2의 유산균 발효를 수행한 시료의 유산균수 측정결과 *Enterococcus faecium* KCTC 13225의 경우 1.6 x 10⁹, *Lactobacillus plantarum* KCTC 130931의 경우 1.3 x 10⁹ cfu/mL로 유산균 발효에 의해 10⁹ 이상의 유산균수의 증가가 측정되었다.

[0036] 본 발명에 따르면 *Lactobacillus*속 균주보다는 *Enterococcus*속 균주에 있어서, 생균수가 더 많았고(표1) 유쾌하지 못한 이취 유기산의 냄새가 적었다(표1).

표 1

[0037]

맨드라미꽃 물추출물과 그 유산균 발효물의 pH 및 생균수

	발효 전 pH	발효 후 pH	배양액 생균수
<i>Enterococcus faecium</i> KCTC 13225	5.02	3.82	1.6 x 10 ⁹ cfu/ml
<i>Lactobacillus plantarum</i> KCTC 13093	5.02	3.54	1.3 x 10 ⁹ cfu/ml

[0038]

제조예1. 맨드라미꽃 유산균 발효 음료 제조

[0039]

본 발명 실시예2에 따라 수득한 맨드라미꽃 물추출물의 유산균 발효물이 함유된 음료를 하기 표2와 같이 제조하였다.

표 2

[0040]

재료명	국화꽃 추출물 음료
맨드라미꽃의 물추출물의 유산균 발효물(wt%)	10.0
액상과당(wt%)	12.0
텍스트린(wt%)	0.5
구연산(wt%)	0.13
젖산칼슘(wt%)	1.6
비타민C(wt%)	0.03
구연산삼나트륨(wt%)	0.02
젤란검(wt%)	0.03
정제수(wt%)	잔량
합계(wt%)	100.0

[0041]

상기 제조예에 따라 제조된 음료에 대하여 무작위 추출한 남녀 각 5명을 판넬로하여 관능검사를 실시하였다. 대조구는 맨드라미꽃 물추출물로 하였다. 관능 검사는 7점 척도법을 이용하였고, 실험 결과는 하기 표3과 같다.

[0042]

실험 결과 색, 맛, 종합 기호도에 있어서 대조구 또는 실험구2에 비하여 *Enterococcus*속 균주에 의해 발효된 유산균 발효액이 가장 우수한 것으로 평가되었다.

표 3

[0043]

구분	색	맛	종합 기호도
대조구	4.5	4.4	4.6
실험구1	5.8	6.2	6.1
실험구2	5.1	5.1	4.9

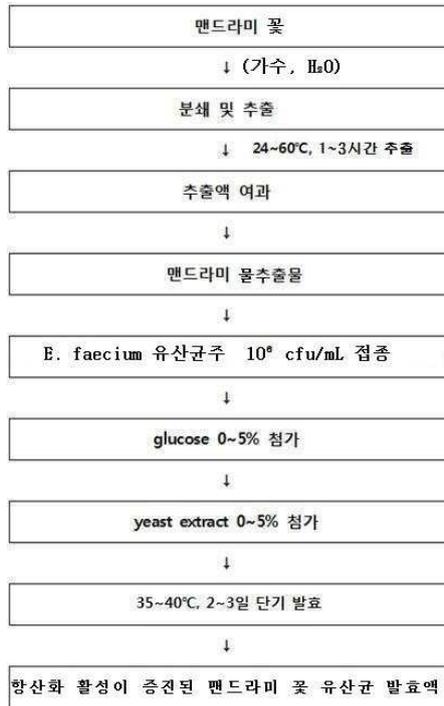
산업상 이용가능성

[0044]

이상 설명한 바와 같이 본 발명은 맨드라미꽃으로부터 물추출물을 얻고 이에 영양원을 첨가한 후 고온 단기 발효 특성을 갖는 유산균을 접종시켜 pH 3.9 이하로 발효하여 항산화 활성이 증진된 발효액과 이를 이용하여 기호도를 증진시킨 식품을 제공하는 뛰어난 효과가 있으므로 건강 기능성 식품 산업상 매우 유용한 발명인 것이다.

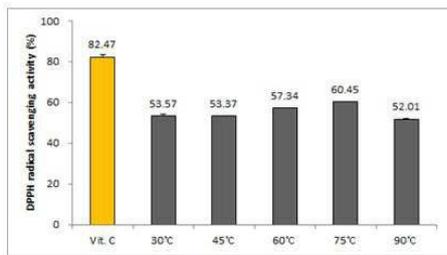
도면

도면1



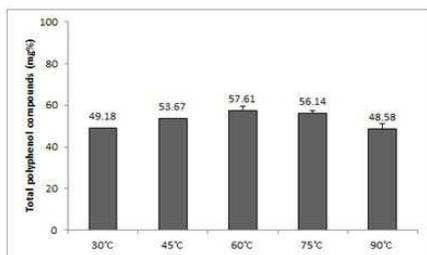
도면2

맨드라미꽃 추출 온도별 DPPH radical 소거 활성



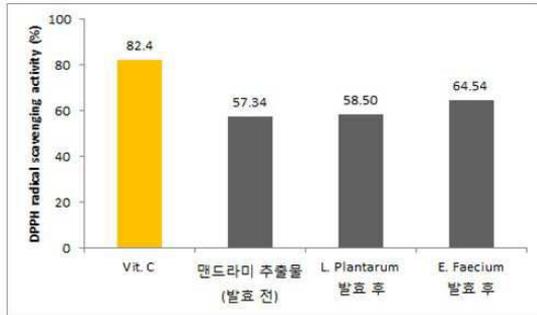
도면3

맨드라미꽃 추출 온도별 총 폴리페놀 함량



도면4

멘드라미꽃 추출물의 유산균 발효액 DPPH radical 소거 활성



도면5

멘드라미꽃 추출물의 유산균 발효액 총 폴리페놀함량 측정 결과

