



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0144718
(43) 공개일자 2016년12월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 7/64 (2006.01) C12N 1/16 (2006.01)
C12P 19/44 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C12P 7/6436 (2013.01)
C12N 1/16 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0081193
(22) 출원일자 2015년06월09일
심사청구일자 2015년06월09일

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)

(72) 발명자
김은기
서울특별시 양천구 목동서로 38 (목동, 목동1단지 아파트) 131동 506

이향복
인천광역시 남동구 석산로 35 (간석동, 간석마을 푸림아이원아파트) 108동 2003호
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
이원희

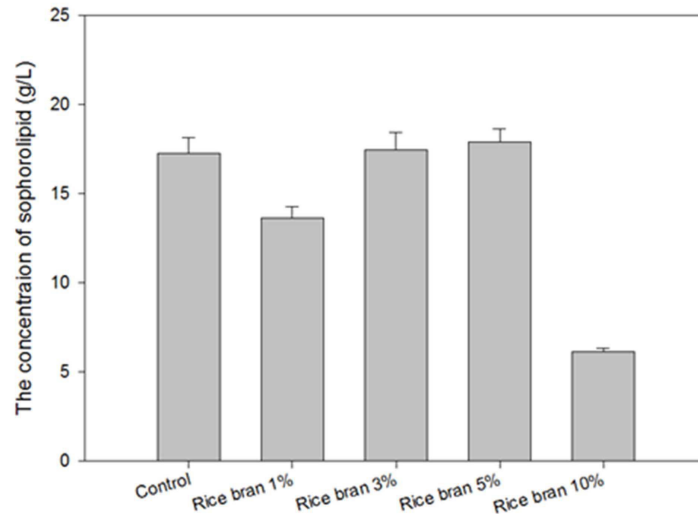
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 쌀겨를 이용한 소포로리피드의 생산방법

(57) 요약

본 발명은 쌀겨(rice bran)를 이용한 소포로리피드(sophorolipid)의 생산 방법에 관한 것으로, 쌀겨, 글루코스 및 오일을 혼합한 배지에서 효모를 배양하였을 때, 일반적으로 사용되는 산업배지에서 배양하였을 때보다 특이취가 현저히 감소하는 것을 확인함으로써, 상기 쌀겨를 이용한 소포로리피드 생산 방법은 소포로리피드 생산 단가를 낮추고, 특이취를 개선시켜 화장품 원료 및 적조구제물질로 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

C12P 19/44 (2013.01)

C12N 2500/34 (2013.01)

C12N 2500/36 (2013.01)

(72) 발명자

박지호

인천광역시 동구 화도진로 187 (만석동, 만석비치
타운 주공아파트) 101-1101

서성필

서울특별시 강동구 천호옛12길 58 (성내동) 144-35
3층

명세서

청구범위

청구항 1

- 1) 쌀겨(rice bran)를 포함하는 배지에서 소포로리피드 생산 효모 균주를 배양하는 단계; 및
- 2) 단계 1)의 배양액으로부터 소포로리피드(sophorolipid)를 추출하는 단계를 포함하는 소포로리피드의 생산 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 단계 1)의 쌀겨는 3 내지 10 중량%를 포함하는 것을 특징으로 하는 소포로리피드의 생산 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 단계 1)의 소포로리피드 생산 효모 균주는 캔디다 봄비콜라(*Candida bombicola*), 캔디다 아피콜라(*C. apicola*), 캔디다 바티스태(*C. batistae*), 위커라미넬라 도메리키애(*Wickerhamiella domericqiae*), 로도토룰라 보고리엔시스(*Rhodotorula bogoriensis*) 및 캔디다 페트롤리움(*C. petrollium*) 균주로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 소포로리피드의 생산 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 단계 1)의 배지는 글루코스(glucose) 및 오일(oil)을 포함하는 것을 특징으로 하는 소포로리피드의 생산 방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 단계 2)의 추출은 효모 균주 배양액에 에틸아세테이트를 처리하여 소포로리피드를 추출한 후, 헥산을 처리하여 잔여 오일을 제거하는 것으로 수행되는 것을 특징으로 하는 소포로리피드의 생산 방법.

청구항 6

제 1항의 방법에 의해 생산된 특이취가 현저히 개선된 소포로리피드.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 쌀겨(미강, rice bran)를 이용하여, 현저히 특이취가 개선된 소포로리피드(sophorolipid)를 생산하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 계면 활성제(surfactant)는 분자 내에 친수기와 소수기를 함께 보유하고 있는 양친매성 분자이고, 선택적으로

흡착하여 계면의 성질을 변화시키고, 매질 중에 배양한 분자 집합체를 형성한다. 이러한 성질로 계면활성제는 습윤, 침투, 기포, 유화, 가용화, 분산, 응집이나 세정 작용 이외에 대전방지, 윤활, 항균제 역할을 한다. 이러한 계면 활성제는 대부분 석유에 유래하여 생산되지만 자연적으로 잘 분해되지 않고, 자체 독성이 있어서 환경 친화적인 제품으로 많은 위험성을 내포하고 있다. 이러한 관점에서 효모, 곰팡이, 박테리아 등에 의해 생산되는 생분해성 계면활성제의 관심이 증가되고 있는 실정이다.

[0005] 미생물 계면활성제(biosurfactants)는 효모, 곰팡이, 박테리아 등 미생물에 의해 생산되는 생분해성 계면활성제로서 생산에 사용하는 균주에 따라 생산물의 특성, 항미생물 효과 및 생산효율 등에 차이가 있다. 생산에 있어 경제적 요인은 원료물질의 비용과 분리-정제 방법 및 그 생산성이 중요하다. 원료비용이 전체 생산비용의 40-50%에 이르므로 저렴한 원료물질을 개발하는 것이 중요하여, 탄수화물, 식물성오일, 동물지방, 단일세포 오일과 같은 다양한 원료를 이용하여 소포로리피드를 생산하고 있으나 생산시 고비용과 낮은 수율의 문제점이 대두되고 있다.

[0007] 미생물 계면활성제는 화학적 계면활성제와 비교하여, 낮은 독성, 높은 분해성, 환경 친화성, 표면장력 저하능력, 온도, 압력 및 pH에 대한 안정성 등 큰 장점이 있어, 화장품, 의약품, 세제, 원유의 2차 회수, 환경 정화(적조구제물질) 등 광범위하게 응용될 수 있다. 특히 화장품 및 신체세정용으로 사용되는 계면활성제의 경우 발효에 의한 특이취가 있다면 사용에 제한이 있다.

[0008] 또한, 적조구제물질의 경우 양식중인 어류에 냄새가 배면 상품가치가 떨어질 수 있어서 특이취가 없는 소포로리피드(sophorolipid)의 사용이 중요하다.

[0010] 소포로리피드(Sophorolipid)는 캔디다 봄비콜라(*Candida bombicola*), 캔디다 아피콜라(*C. apicola*), 캔디다 바티스타(*C. batistae*), 위커라미넬라 도메리카에(*Wickerhamiella domericqiae*), 로도토룰라 보고리엔시스(*Rhodotorula bogoriensis*) 및 캔디다 페트롤리움(*C. petrollium*)와 같은 일부 효모 종에 의해 합성되는 글리코리피드(glycolipid) 형태의 계면활성(surface-active) 물질이다(Konishi et al., J. Oleo. Sci. 57, 359-369, 2008). 소포로리피드의 연간 소비량은 약 1000만 톤 정도로 추산되며, 주로 가정용/세탁용 세제로 사용되지만, 화학 제품, 식물, 음식, 종이 및 화장품 산업에서도 몇 가지 잠재적인 적용성을 갖는다(Van Bogaert et al., Appl. Microbiol. Biotechnol. 76(1), 23-34, 2007). 소포로리피드 기반 제품의 상용화는 한방 화장품의 시장 점유율을 빠르게 차지하고 있으며, 프랑스 기업 Soliance(<http://www.groupe-soliance.com>) 및 한국의 MG Intobio Co. Ltd는 소포로리피드-기초 화장품 및 피부 관리 제품을 생산하고 있다. 소포로리피드는 계면활성제 특성뿐만 아니라, 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*) 및 코리네박테리움 제로시스(*Corynebacterium xerosis*)에 대한 항균 특성을 갖고, 낮은 세포 독성을 나타내기 때문에, 화장품 제형에서 다른 계면활성제보다 더 좋은 유화제가 된다. 또한, 소포로리피드의 항암, 진피 섬유아세포(dermal fibroblast) 대사 촉진, 자유 라디칼 제거, 표피층 박리 및 미백, 모발 보호 및 위생처리(sanitization)와 같은 다양한 장점들은 소포로리피드를 화장품 및 피부용 의약품(pharmacodermatological product)을 위한 매력적인 성분으로 만든다(Shao et al., J. Surg. Res. 173(2), 286-291, 2012).

[0012] 지난 수년간, 다양한 식물성 오일들이 다양한 생물학적 활성을 갖는 소포로리피드의 생산을 위해 선별되었다(Kim et al., Bioresour. Technol. 100(23), 6028-6032, 2009). 사용된 많은 기질들의 생산 가변성은 계면활성제로서 소포로리피드의 산업적 적용에 대한 주요한 제약이 되어왔다. 선행 연구에서, 중간 사슬 소포로리피드 생산을 위해 다양한 기질이 사용되었으나, 많은 제한 요소 때문에 산업 공정에는 적용되지 못했다. 1998년에, Brakemeier와 동료들은 중간 사슬 소포로리피드를 생산하기 위한 대체 방법으로 글루코스(탄소 공급원)와 함께 기질로 이차 알콜(secondary alcohol, C12 및 C14)을 사용했다(Brakemeier et al., Appl. Microbiol. Biotechnol. 50, 161-166, 1998). 그러나, 그 방법은 이차 알콜의 높은 비용 때문에 업계에 채택되지 못했다(Van Bogaert et al., Process Biochem. 46(4), 821-833, 2011).

[0014] 쌀겨(미강, rice bran)는 연간 385,000톤(2006년)에 달하는 유용한 자원임에도 불구하고, 30% 정도가 미강유 제

조에 사용되고 나머지 70%는 사료나 비료 등의 저가치 물질로 이용되거나 폐기되고 있는 실정이다. 최근 식품에서 미강은 에너지를 얻는 것을 넘어 건강을 유지하는 소스로, 소비자의 생각이 바뀌면서 미강이 주목을 받게 되었다. 미강은 약 30% 이상이 식이섬유이며, 15% 정도의 단백질과 10 ~ 15% 정도의 지방이 함유되어 있다. 현미가 백미보다 수 배 이상의 식이섬유를 공급할 수 있고, 알부민과 글로불린 등 양질의 단백질과 칼슘, 인, 나트륨, 철분 등의 무기질과 비타민 E, 니코틴산, 엽산, 판토텐산 등의 영양소가 다량 함유되어 건강식품소재로서의 식품학적 가치가 높은 것은 미강 부위에 기인한다고 볼 수 있다. 미강의 우수함을 이용하려는 연구가 최근 다양하게 이루어지고 있고, 그 기능성에 대한 다양한 연구가 진행되고 있다.

[0016] 이에, 본 발명자들은 상기 문제점들을 극복하기 위해 연구하던 중, 쌀겨, 글루코스 및 오일을 혼합한 배지에서 효모를 배양하였을 때, 일반적으로 사용되는 산업배지에서 배양하였을 때보다 특이취가 현저히 감소하는 것을 확인함으로써, 쌀겨를 이용하여 소포로리피드를 생산함으로써, 소포로리피드 생산 단가를 낮추고, 특이취를 개선시켜 화장품 원료 및 적조구제물질로 유용하게 사용할 수 있음을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0018] 본 발명의 목적은 쌀겨(미강, rice bran)를 이용하여, 현저히 특이취가 개선된 소포로리피드(sophorolipid)를 생산하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0020] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은

[0021] 1) 쌀겨(rice bran)를 포함하는 배지에서 소포로리피드 생산 효모 균주를 배양하는 단계; 및

[0022] 2) 단계 1)의 배양액으로부터 소포로리피드(sophorolipid)를 추출하는 단계를 포함하는 소포로리피드의 생산 방법을 제공한다.

[0023] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 생산된 특이취가 현저히 개선된 소포로리피드를 제공한다.

발명의 효과

[0025] 본 발명은 쌀겨(rice bran)를 이용한 소포로리피드(sophorolipid)의 생산 방법에 관한 것으로, 쌀겨, 글루코스 및 오일을 혼합한 배지에서 효모를 배양하였을 때, 일반적으로 사용되는 산업배지에서 배양하였을 때보다 특이취가 현저히 감소하는 것을 확인함으로써, 상기 쌀겨를 이용한 소포로리피드 생산 방법은 소포로리피드 생산 단가를 낮추고, 특이취를 개선시켜 화장품 원료 및 적조구제물질로 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 쌀겨(rice bran)를 이용하여 15 L 배양을 통해 소포로리피드(sophorolipid)를 생산하는 배양 프로파일을 나타낸 도이다.

도 2는 쌀겨의 농도에 따른 소포로리피드 생산량을 산업배지와 비교하여 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0030] 본 발명은

- [0031] 1) 쌀겨(rice bran)를 포함하는 배지에서 소포로리피드 생산 효모 균주를 배양하는 단계; 및
- [0032] 2) 단계 1)의 배양액으로부터 소포로리피드(sophorolipid)를 추출하는 단계를 포함하는 소포로리피드의 생산 방법을 제공한다.
- [0033] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 생산된 특이취가 현저히 개선된 소포로리피드를 제공한다.
- [0034] 상기 단계 1)의 쌀겨는 3 내지 10 중량%를 포함하는 것이 바람직하다.
- [0035] 상기 단계 1)의 소포로리피드 생산 효모 균주는 캔디다 봄비콜라(*Candida bombicola*), 캔디다 아피콜라(*C. apicola*), 캔디다 바티스타(*C. batistae*), 위커라미넬라 도메리키애(*Wickerhamiella domericqiae*), 로도토룰라 보고리엔시스(*Rhodotorula bogoriensis*) 및 캔디다 페트롤리움(*C. petrollium*) 균주로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하다.
- [0036] 상기 단계 1)의 배지는 글루코스(glucose) 및 오일(oil)을 포함하는 것이 바람직하고, 오일은 식물성 오일이 보다 바람직하며, 식물성 오일은 콩, 옥수수, 해바라기씨, 포도씨, 홍화씨, 야자(코코넛) 및 유채씨 중 어느 하나로부터 채유한 것이 바람직하며, 유채씨로부터 채유한 채종유인 것이 가장 바람직하다.
- [0037] 상기 단계 2)의 추출은 효모 균주 배양액에 에틸아세테이트를 처리하여 소포로리피드를 추출한 후, 헥산을 처리하여 잔여 오일을 제거하는 것으로 수행되는 것이 바람직하다.
- [0039] 본 발명의 구체적인 실시예에서, 본 발명자들은 기존에 사용되던 산업배지를 쌀겨로 대체하여 배양을 통해 소포로리피드를 생산하는 배양 프로파일을 나타내었고(도 1 참조), 이 때, 배지에 사용되는 쌀겨의 농도에 따라 소포로리피드의 생산량의 변화를 확인한 결과, 쌀겨 3 내지 5 중량% 포함된 배지에 배양하였을 때, 소포로리피드의 생산량이 대조군과 비슷한 것을 확인하였으며(도 2 참조), 이렇게 생산된 소포로리피드의 특이취를 관능 평가로 확인한 결과, 기존의 산업배지를 이용하여 생산한 소포로리피드는 특이취가 강하게 나타났지만(약 7.10), 쌀겨를 포함한 배지에서 추출한 소포로리피드는 특이취가 약한 것(약 3.88)을 확인하였다(표 1 참조).
- [0040] 따라서, 본 발명의 쌀겨를 이용한 소포로리피드의 생산 방법은 쌀겨, 글루코스 및 오일을 혼합한 배지에서 효모를 배양하였을 때, 일반적으로 사용되는 산업배지에서 배양하였을 때보다 특이취가 현저히 감소하는 것을 확인함으로써, 상기 쌀겨를 이용한 소포로리피드의 생산 방법은 소포로리피드의 생산 단가를 낮추고, 소포로리피드의 특이취를 개선시켜, 소포로리피드를 화장품 원료 및 적조구제물질로 유용하게 사용할 수 있다.
- [0042] 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 상세히 설명한다.
- [0043] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0045] <실시예 1> 쌀겨(rice bran)를 이용한 소포로리피드(sophorolipid) 생산 방법
- [0046] 소포로리피드를 생산하기 위해 캔디다 봄비콜라(*Candida bombicola*; ATCC 22214) 균주를 이용하였다. 기존에 사용되던 산업배지(효모 추출물, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4(7\text{H}_2\text{O})$, $\text{CaCl}_2(2\text{H}_2\text{O})$, NaCl, 펩톤)를 쌀겨로 대체하여 소포로리피드를 생산하였다.
- [0047] 구체적으로, 쌀겨 3 중량%에 10% 글루코스(포도당, glucose) 및 10% 채종유(오일)를 넣고 멸균하였다. 멸균한 배지에 효모균(캔디다 봄비콜라)을 2% 접종한 후, 25℃에서 7일간 배양하였다. 균주를 7일 배양한 액에 1/5의 헥산(hexane)을 넣어 분획한 후, 상층의 헥산층을 제거하여 잔여 오일을 제거하였고, 동량의 배양액에 에틸아세테이트를 넣어, 상층의 에틸아세테이트 층을 농축하여 소포로리피드를 추출하였다. 대조군으로 산업배지(0.5% 효모 추출물, 0.1% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4(7\text{H}_2\text{O})$, 0.01% $\text{CaCl}_2(2\text{H}_2\text{O})$, 0.01% NaCl, 0.07% 펩톤)에 10% 글루코스과 10% 채종유를 넣어 멸균한 배지를 이용하였다.
- [0048] 상기의 방법으로 쌀겨를 이용하여 15 L 배양을 통해 소포로리피드를 생산하는 배양 프로파일을 도 1에 나타내었다(도 1).

[0050] <실시예 2> 쌀겨의 농도에 따른 소포로리피드 생산 확인

[0051] 배지에 사용되는 쌀겨의 농도에 따라 소포로리피드의 생산량의 변화를 확인하였다.

[0052] 구체적으로, 상기 <실시예 1>과 동일한 방법으로 쌀겨 1, 3, 5 또는 10 중량%에 10% 글루코스 및 10% 채종유를 넣어 균주를 배양하여 소포로리피드를 추출하였다. 대조군으로 산업배지를 사용하였다.

[0053] 그 결과 도 2에 나타난 바와 같이, 쌀겨 3 또는 5%의 배지에 배양하였을 때, 소포로리피드의 생산이 대조군과 비슷한 것을 확인하였다(도 2).

[0055] <실시예 3> 생산된 소포로리피드의 관능 평가

[0056] 상기 <실시예 2>에서 추출한 소포로리피드의 특이취를 관능 평가로 확인하였다.

[0057] 구체적으로, 상기 <실시예 2>와 동일한 방법으로 대조군(산업배지) 및 쌀겨를 농도별로 함유한 배지에서 추출한 소포로리피드를 가지고, 인하대학교 생명공학과 대학원생으로 구성된 20명의 패널을 대상으로 각 시료에 대하여 냄새의 강도를 9점 척도법으로 실시하였다. 냄새의 강도에 대한 평가 기준은 매우 약하다(1점), 약하다(3점), 보통(5점), 강하다(7점), 매우 강하다(9점)로 하였다.

[0058] 그 결과 하기 표 1에 나타난 바와 같이, 기존의 산업배지를 이용하여 생산한 소포로리피드는 특이취가 강하게 나타났지만, 쌀겨 3 중량% 함유된 배지에서 추출한 소포로리피드는 특이취가 약한 것을 확인하였다(표 1).

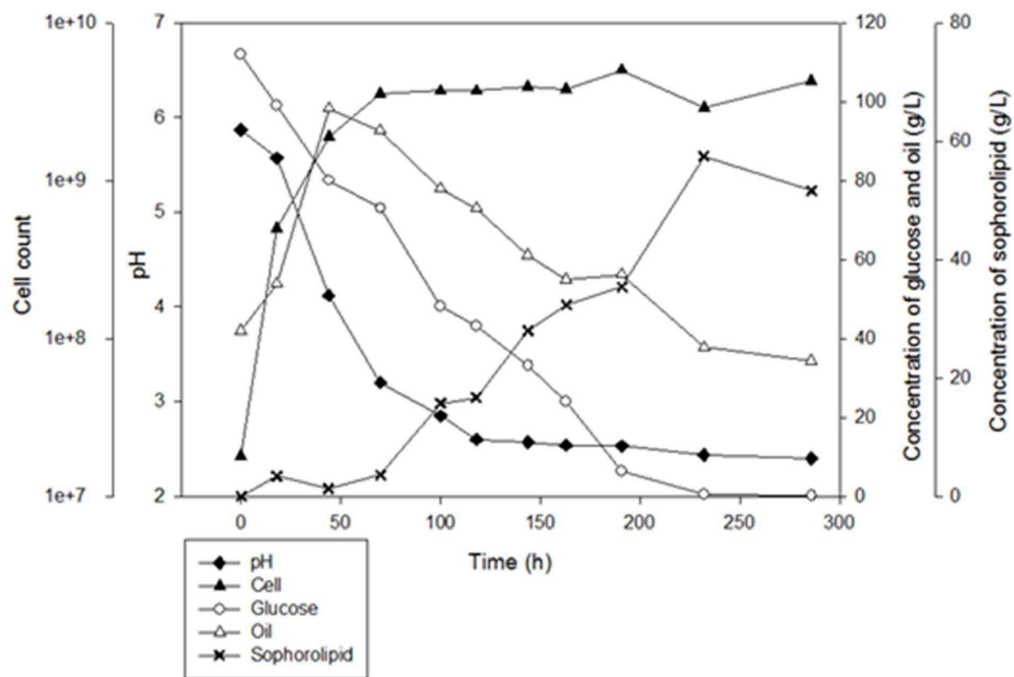
표 1

[0060]

시료명	냄새의 강도
대조군	7.10±0.62
쌀겨 1%	8.12±0.75
쌀겨 3%	3.88±0.85
쌀겨 5%	5.88±0.79
쌀겨 10%	5.34±0.86

도면

도면1



도면2

