



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년07월13일
(11) 등록번호 10-2133473
(24) 등록일자 2020년07월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23V 2002/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0133678(분할)
(22) 출원일자 2019년10월25일
심사청구일자 2019년10월25일
(65) 공개번호 10-2020-0039607
(43) 공개일자 2020년04월16일
(62) 원출원 특허 10-2018-0118794
원출원일자 2018년10월05일
심사청구일자 2018년10월05일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020180016875 A*
'천기누설' 만성변비, 장염, 대장암, 장 건강에
좋은 음식, 고구마줄기, 토란대, 머윗대 효능, 효
과. 글로벌이코노믹 기사. 2017.08.28. 공개,
<URL:http://www.g-enews.com/ko-kr/print.php?u
d=20170828163404863700c551d053_1&md=201708281
63755>*
JP01199554 A
KR1020170135520 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
한국식품연구원
전라북도 완주군 이서면 농생명로 245
(72) 발명자
박호영
전라북도 전주시 덕진구 출판로 87, 202동 1801
호(장동, 호반베르디움더클래스)
김윤숙
서울특별시 성동구 독서당로 191, 6동 605호(옥수
동, 옥수동극동아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 2 항

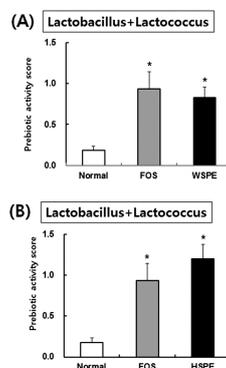
심사관 : 김영립

(54) 발명의 명칭 **고구마 줄기를 포함하는 장내 미생물 개선용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 프리바이오틱(prebiotic) 조성물, 장내 미생물 개선용 조성물, 장건강 또는 장기능 개선용 조성물에 관한 것으로, 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 함유함으로써, 장건강 또는 장기능을 개선하는 장내 유익균의 증식을 유도하여, 장건강 또는 장기능을 개선, 예방 또는 치료할 수 있다. 또한, 독성이 없으므로 식품의 형태로 섭취할 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A23V 2200/3202 (2013.01)

A23V 2250/21 (2013.01)

A23V 2300/14 (2013.01)

(72) 발명자

남영도

전라북도 전주시 완산구 호암로 40, 202동 501호(호자동2가, 골든팰리스휴먼시아아파트)

도문호

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1842, 112동 404호(보라동, 보라마을 현대 모닝사이드)

박용곤

경기도 수원시 영통구 매영로 346, 665동 1304호(영통동, 신나무실 건영아파트)

오미진

전라북도 전주시 덕진구 송천로 31, 105동 102호(송천동1가, 송천서호1차아파트)

이상훈

경기도 성남시 분당구 분당로 212, 203동 205호(분당동, 셋별마을동성아파트)

이은정

서울특별시 성북구 오패산로 46, 113동 1501호(하월곡동, 월곡두산위브아파트)

이혜빈

전라북도 전주시 덕진구 두간6길 9, 102동 1404호(송천동1가, 케이제이라미안아파트)

전현정

전라북도 완주군 이서면 갈산1로 71, 807동 1604호(이노힐스아파트)

최상윤

서울특별시 강남구 일원로14길 25, 106동 1004호(일원동, 푸른마을아파트)

하상근

대전광역시 유성구 반석동로 33, 502동 1802호(반석동, 반석마을5단지아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 E0170600-02

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국식품연구원

연구사업명 한국식품연구원 주요사업

연구과제명 장내미생물 매개 대사질환 개선 식의약 연구

기여율 1/1

주관기관 한국식품연구원

연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

고구마 줄기 추출물을 분자량 10 kDa 이상으로 분획한 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 함유하는 프리바이오틱 조성물로서,

상기 고구마 줄기 추출물은 물, 에탄올 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것이고,

상기 프리바이오틱 조성물은 장내 유해균 대비 장내 유익균을 상대적으로 증식시키는 프리바이오틱 활성을 가지며,

상기 장내 유익균은 락토바실러스 파라카제이, 락토바실러스 플란타럼, 락토코쿠스 락티스, 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 비피덤 및 비피도박테리움 브레이브로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상이며,

상기 장내 유해균은 대장균인 것을 특징으로 하는 프리바이오틱 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

고구마 줄기 추출물을 분자량 10 kDa 이상으로 분획한 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 함유하는 장건강 또는 장기능 개선용 식품 조성물로서,

상기 고구마 줄기 추출물은 물, 에탄올 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것이고,

상기 조성물은 장내 유해균 대비 장내 유익균을 상대적으로 증식시키는 프리바이오틱 활성을 가지며,

상기 장내 유익균은 락토바실러스 파라카제이, 락토바실러스 플란타럼, 락토코쿠스 락티스, 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 비피덤 및 비피도박테리움 브레이브로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상이며,

상기 장내 유해균은 대장균인 것을 특징으로 하는 장건강 또는 장기능 개선용 식품 조성물.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 장내 미생물 개선용 조성물에 관한 것으로, 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 함유함으로써, 장내 유익균의 증식을 유도하며, 장건강 또는 장기능을 개선, 예방할 수 있는 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [0002] 프리바이오틱스(prebiotics)란 장내미생물을 제한하거나 유용미생물의 생육을 선택적으로 촉진시켜 숙주에 유익한 효과를 주는 난소화성 식품첨가물로서 올리고당(프럭토올리고당, 갈락토올리고당, 이소말토올리고당, 자일로올리고당, 키틴올리고당 등)과 식이섬유(dextrin, inulin, gum등)가 있다.
- [0003] 인간의 장관 내에는 400여종 이상의 세균이 대장 내용물 g당 100조 정도의 숫자로 서식하고 있으며 일정한 균형을 유지하는 복잡한 생태계로 구성되어 있다. 장내 균총은 유익균과 유해균으로 나눌 수 있으며, 이들의 균형에 의해 건강상태가 조절된다. 건강을 유지하기 위해서는 유익균이 많고 유해균이 적은 상태로 장내 균총을 유지시켜야 한다. 균총은 외부에서 유입된 음식물이나 스트레스, 호르몬 분비 등 인체의 상태에 따라 변화될 수 있으며, 이들이 생성하는 효소와 대사산물들은 여러 가지 물질의 인체 내 대사에 관여하고, 영양분이나 약물의 흡수, 독성물질의 생성에 영향을 미친다. 이에 유익균의 장내 증식을 촉진시키고 유해균을 억제할 수 있는 방법의 개발에 대한 필요성이 점차 증가하고 있다.
- [0004] 고구마는 감서, 단고구마라고도 하는 것으로, 한국 전역에서 널리 재배되는 식용작물이다. 길이 약 3m이고, 잎은 어긋나고 잎몸은 심장 모양으로 얇게 갈라지며 잎과 줄기를 자르면 즙이 나오며, 줄기 밑쪽의 잎자루 기부에서 뿌리를 내는데, 그 일부는 땅속에서 커져 덩이뿌리인 고구마가 되는 것이다. 모양은 양쪽이 뾰족한 원기둥꼴에서 공 모양까지 여러 가지이고 빛깔도 흰색○노란색○연한 붉은색○붉은색○연한 자주색으로 다양하다. 특히, 줄기는 길게 땅바닥을 따라 번으면서 뿌리를 내린다. 고구마 줄기는 둥글고 털이 거의 없는 것으로부터 많은 것까지 있으며 선단은 기부에 쉰이 많고 담색이며 생육습성에 따라 직립성과 도복형으로 구분된다.
- [0005] 고구마의 성분은 수분 68.5%, 탄수화물 26.4%, 단백질 1.8%, 지방0.6%이고, 프로비타민 A인 카로틴을 많이 함유하고 있으며, 그 밖에 비타민B1, B2, C, 니아신 등을 함유하고 있다. 특히 탄수화물이 다량 함유되어 주식대용이 가능하며 예로부터 구황작물로 재배되어 왔다. 날고구마를 썰어 말린 것을 <절간(切干) 고구마>라고 하며, 저장에 편리하고 알코올의 원료로 쓰인다. 저장중에 수분이 감소하고 녹말이 효소의 작용으로 당화하여 매우 달다. 고구마는 녹말과 당분이 주성분이고, 단백질과 지방이 적어, 찌기, 굽기, 튀기등으로 조리해서 먹고, 녹말, 물엿, 과자, 술, 알코올, 각종 화학약품 등의 재료나 사료로도 쓰인다. 잎과 줄기는 사료, 녹비로도 쓰인다.
- [0006] 이러한 고구마 줄기를 사용한 국내 특허들은 고구마 줄기로 제조된 과자, 차 등의 건강식품, 동물사료 등이 주류를 이루고 있을 뿐, 장내 미생물의 총균을 효과적으로 개선할 수 있는 프리바이오틱 조성물에 대해서는 전혀 공지된 바 없다.
- [0007] 따라서, 본 발명자들은 천연물로부터 장내 미생물의 총균을 효과적으로 개선할 수 있는 새로운 프리바이오틱을 개발하고자 예의 노력하였고, 그 결과 본 발명자들은 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물이 장내 유익균의 증식을 촉진하고 장내 유해균의 생육을 억제하는 활성을 갖는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제10-2002-0071422호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명의 목적은 고구마 줄기 추출물을 유효성분으로 하는 프리바이오틱 조성물 및 장건강 또는 장기능 개선용 조성물을 제공하는데 있다.
- [0010] 또한, 본 발명의 다른 목적은 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 프리바이오틱 조성물 및 장건강 또는 장기능 개선용 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 고구마 줄기 추출물을 유효성분으로 하는 프리바이오틱 조성물을 제공

한다.

- [0012] 상기 고구마 줄기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4개의 알콜 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것일 수 있다.
- [0013] 상기 프리바이오틱 조성물은 장내 유익균의 증식을 촉진하는 것일 수 있다.
- [0014] 상기 장내 유익균은 비피도박테리움 속, 락토바실러스 속 또는 스트렙토코커스 속 균주일 수 있다.
- [0015] 또한, 상기 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 프리바이오틱 조성물을 제공한다.
- [0016] 상기 고구마 줄기 고분자 분획물은 고구마 줄기 추출물을 분자량 10 kDa 이상으로 분획한 것일 수 있다.
- [0017] 상기 고분자 분획물은 (a) 고구마 줄기를 물, C1 내지 C4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 침전시키는 단계; 및 (b) 상기 추출물에서 한외여과 또는 겔 여과 크로마토그래피를 이용하여 분자량 10 kDa 이상의 고분자 분획물을 회수하는 단계;를 포함하는 제조방법에 의해 제조된 것일 수 있다.
- [0018] 또한 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 고구마 줄기 추출물을 유효성분으로 하는 장건강 또는 장기능 개선용 조성물을 제공한다.
- [0019] 상기 고구마 줄기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4개의 알콜 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것일 수 있다.
- [0020] 또한 상기 다른 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 장건강 또는 장기능 개선용 조성물을 제공한다.
- [0021] 상기 고구마 줄기 고분자 분획물은 고구마 줄기 추출물을 분자량 10 kDa 이상으로 분획한 것일 수 있다.
- [0022] 상기 고분자 분획물은 (a) 고구마 줄기를 물, C1 내지 C4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 침전시키는 단계; 및 (b) 상기 추출물에서 한외여과 또는 겔 여과 크로마토그래피를 이용하여 분자량 10 kDa 이상의 고분자 분획물을 회수하는 단계;를 포함하는 제조방법에 의해 제조된 것일 수 있다.
- [0023] 상기 고구마 줄기 고분자 분획물은 전체 고분자 분획물 대비 불활성 식이섬유가 포함되어 있지 않는 것일 수 있다.

발명의 효과

- [0024] 본 발명의 장내 미생물 개선용 또는 프리바이오틱 조성물은 고구마 줄기의 유효성분으로 알려진 불활성 식이섬유를 포함하지 않는데도 불구하고, 장내 유익균들의 증식을 촉진하는 효과를 갖는다. 상기 장내 유익균들의 유의적인 증진 효과를 통해 병원성균에 의한 장 감염을 개선하고, 억제하며, 예방할 수 있으며, 장내 균총의 균형을 유지할 수 있다. 즉, 본 발명의 프리바이오틱 조성물은 장내 미생물, 장내 균총, 장내 환경 개선용으로 활용 가능하며, 독성이 없으므로 식품의 형태로 섭취할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0025] 도 1은 다양한 박테리아에 실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물, FOS(프락토 올리고당)을 처리하였을 때, 장내 유익균 활성(prebiotic activity score)을 분석하여 나타낸 그래프이다. 도 1A는 락토바실러스 파라카제이 ATCC 25302(T)(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*)에 대한 것이고, 도 1B는 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*), 도 1C는 락토코쿠스 락티스 NCD0604(T)(*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), 도 1D는 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*), 도 1E는 비피도박테리움 비피덤(*Bifidobacterium bifidum*), 도 1F는 비피도박테리움 브레이브(*Bifidobacterium breve*)에 대한 것이다.
- 도 2는 다양한 박테리아에 실시예 2의 고구마 줄기 고분자 분획물, FOS(프락토 올리고당)을 처리하였을 때, 장내 유익균 활성(prebiotic activity score)을 분석하여 나타낸 그래프이다. 도 2A는 락토바실러스 파라카제이 ATCC 25302(T)(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*)에 대한 것이고, 도 2B는 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*), 도 2C는 락토코쿠스 락티스 NCD0604(T)(*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*)에 대한 것이고, 도 2D는 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*), 도 2E는 비피도박테리움 비피덤(*Bifidobacterium bifidum*), 도 2F는 비피도박테리움 브레이브(*Bifidobacterium breve*)에 대한 것이다.
- 도 3은 총 균에 실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물, FOS(프락토 올리고당)을 처리하였을 때, 장내 유익균 중 락토바실러스와 락토코쿠스에 대한 활성(prebiotic activity score)을 분석하여 나타낸 그래프(A)와 실시예 2의

고구마 줄기 고분자 분획물, FOS(프락토 올리고당)을 처리하였을 때, 장내 유익균 중 락토바실러스와 락토코쿠스에 대한 활성(prebiotic activity score)을 분석하여 나타낸 그래프(B)이다.

도 4는 총 균에 실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물, FOS(프락토 올리고당)을 처리하였을 때, 장내 유익균 활성(prebiotic activity score)을 분석하여 나타낸 그래프와 실시예 2의 고구마 줄기 고분자 분획물, FOS(프락토 올리고당)을 처리하였을 때, 장내 유익균 활성(prebiotic activity score)을 분석하여 나타낸 그래프이다. 도 4A는 실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물의 총 균에 대한 장내 유익균 활성(prebiotic activity score)의 평균을 나타낸 것이며, 도 4B는 실시예 2의 고구마 줄기 고분자 분획물의 총 균에 대한 장내 유익균 활성(prebiotic activity score)의 평균을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 본 발명은 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 함유함으로써, 장내 유익균의 증식을 활성화하는 프로바이오틱스 조성물 및 장건강 또는 장기능 개선용 조성물에 관한 것이다.
- [0027] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.
- [0028] 본 발명 고구마 줄기 추출물을 유효성분으로 하는 프리바이오틱 조성물에 관한 것이다.
- [0029] 본 발명에서 'Prebiotic 또는 프리바이오틱' 이란, 체내에서 잘 소화되지 않는 식품 구성성분으로, 위장관 상부에서 가수분해나 흡수가 이루어지지 않으면서, 제한된 특정 공생박테리아의 생육 또는 활성에 자극을 주어 장내 균총을 숙주의 건강에 유익한 방향으로 유도하는 물질이다. 구체적으로 장내 유익균의 증식을 증진시키는 물질을 의미한다. 상기 프리바이오틱스 조성물은 장내 미생물 또는 균총 개선용 조성물이라고도 할 수 있다. 이는 프로바이오틱스의 효능을 증감시키고 장건강을 개선하거나 장기능을 개선하는 효과를 갖는다. 장내 미생물 또는 장내 균총 개선이란 장내 유익균의 생장은 촉진하고 장내 유해균의 생장은 억제하되, 장내 유익균과 유해균의 균형을 유지하는 것을 의미할 수 있다.
- [0030] 본 발명에서 '추출물'은 추출 원재료에 추출 용매를 처리하여 얻은 조추출물뿐만 아니라 조추출물의 가공물도 포함한다. 예를 들어, 고구마 줄기 추출물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.
- [0031] 또한 본 발명에서 '고구마 줄기 추출물'은 상기 고구마 줄기를 물, 탄소수 1 내지 4 개의 알코올 또는 이들의 혼합 용매에 의한 추출물로서, 추출방법은 특별히 한정할 필요가 없다. 바람직하게는 상기 고구마 줄기 추출물은 고구마 줄기 열수 추출물 또는 고구마 줄기 에탄올 수용액일 수 있으며, 예를 들어 고구마 줄기 주정 추출물일 수 있다.
- [0032] 또한, 상기 고구마 줄기 추출물은 상기 고구마 줄기 추출물을 가공하고, 이를 다시 물, 탄소수 1 내지 4 개의 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 1회 이상 반복 추출한 것일 수 있다.
- [0033] 상기 고구마 줄기 추출물은 바람직하게는 고구마 줄기에 존재하는 불활성 식이섬유와 같이 장건강 또는 장기능 개선 효과를 갖는 것으로 알려진 성분이 포함되어 있지 않은 추출물로, 그럼에도 불구하고, 장내 유익균의 증식을 증진시키고, 이로 인한 장건강 또는 장기능 개선 효과를 나타내는 것을 특징으로 한다.
- [0034] 상기 고구마 줄기는 일정한 크기로 절단하여 그늘이나, 건조기를 사용하여 건조한 후, 파쇄시키거나 그대로 사용할 수 있다. 상기 건조 기간은 상기 고구마 줄기 내에 수분함량이 20% 미만인 것이라면 특별히 한정되지 않는다.
- [0035] 본 발명에서 '유효성분으로 하는' 또는 '유효성분으로 포함하는'이란 본 발명의 고구마 줄기 추출물의 장내 유익균 증식 증진 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다.
- [0036] 본원에서 사용되는 용어인 상기 장내 유익균은 기존에 숙주의 장내에서 서식하는 유익균 및 섭취되어 장에 도달하였을 때 장내 환경에 유익한 작용을 하는 균주를 의미한다.
- [0037] 이들은 위산과 담즙산에서 살아남아 소장까지 도달하여 장에서 증식하고 정착하며, 장관 내에서 유용한 효과를 나타내고, 독성이 없으며 비병원성인 조건을 만족하는 균을 의미한다. 즉, 프로바이오틱스(probiotics)로 이해될 수 있다.
- [0038] 본 발명에서는, 상기 고구마 줄기 추출물을 유효성분으로 함유하는 조성물을 처리하였을 때, 상기 조성물이 장내 균총 개선 효과가 있음을 확인하였다.

- [0039] 상기 장내 유익균은 비피도박테리움 속, 류코노스톡 속, 페디오코쿠스 속, 웨이셀라 속, 스트렙토코쿠스 속, 락토바실러스 속 및 락토코쿠스 속 균주일 수 있고, 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 락토바실러스 파라카제이 ATCC 25302(T)(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*), 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*), 락토코쿠스 락티스 NCD0604(T)(*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*), 비피도박테리움 비피덤(*Bifidobacterium bifidum*) 및 비피도박테리움 브레이브(*Bifidobacterium breve*)로 이루어진 균으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있고, 바람직하게는 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 및/또는 비피도박테리움 비피덤(*Bifidobacterium bifidum*)일 수 있다.
- [0040] 유산균은 당류를 영양원으로 하여 에너지를 생성하고 최종 생산물로 유산을 만들어 내는 미생물의 총칭이다. 유산균이 장 건강에 좋은 이유는 유산균이 생성하는 유산이 웰치균 같이 유해한 균들이 살지 못하도록 산성 환경을 만들기 때문이다.
- [0041] 장 속에서 유산균의 활동이 왕성해 유산이 많이 생성되면 장내 환경이 산성화되고 그 결과 사람에게 유해한 균들의 활동은 억제되는 것이다.
- [0042] 몸에 이상이 생기는 것은 몸속에 특정한 유해 미생물이 지나치게 득세하여 체내 균형을 무너뜨리는 경우다. 우리의 장 속에는 유해균과 유산균이 있는데 몸을 건강하게 유지하기 위해서는 유산균의 비율이 중요하며, 실제 건강한 사람의 변을 조사하면 유산균의 비율이 높다고 한다. 이를 '장내 플로라'라고 하며 장내 세균의 균형을 나타내는 말이다.
- [0043] 대장균은 사람 및 동물의 장 속, 특히 대장에 많이 존재하는 세균의 하나이다. 대장균은 장 속에서는 병원성을 나타내지 않는 것이 보통이지만, 장 이외의 부위에 들어가면 방광염, 신우염, 복막염, 폐증 등을 일으킨다.
- [0044] 대장균은 인간 및 동물에서 배출된 분뇨 등에 의해 발생되므로 환경, 보건 측면에서 병원성균의 지표로서 이용되고 있다.
- [0045] 본 발명의 프리바이오틱 조성물은 장내 유익균의 영양원이 단일 제제에 혼합되어 있는 것으로, 섭취시 장내 유익균의 대사에 최적의 환경을 제공함으로써, 장내 유익균의 증식을 증진시켜주며, 이와는 반대로 대장균의 생육은 억제시켜 활생 효과가 용이하게 나타날 수 있다.
- [0046] 본 발명은 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 프리바이오틱 조성물을 제공한다.
- [0047] 상기 프리바이오틱스 조성물은 장내 미생물 또는 장내 균총 개선용 조성물이라고도 할 수 있다. 이는 프로바이오틱스의 효능을 증감시키고 장건강을 개선하거나 장기능을 개선하는 효과를 갖는다. 장내 미생물 또는 장내 균총 개선이란 장내 유익균의 생장은 촉진하고 장내 유해균의 생장은 억제되되, 장내 유익균과 유해균의 균형을 유지하는 것을 의미할 수 있다.
- [0048] 본 발명에서 '분획물'은 상기 고구마 줄기 추출물을 추가적으로 분획(fractionation)한 분획물로, 즉, 고구마 줄기 고분자 분획물은 추출 용매를 이용하여 얻은 것뿐만 아니라, 여기에 정제과정을 추가적으로 적용하여 얻은 것도 포함한다. 예를 들어, 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시켜 얻은 분획, 다양한 크로마토그래피(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된 다양한 방법을 통해 정제할 수 있다.
- [0049] 상기 고구마 줄기 고분자 분획물은 고구마 줄기 추출물을 분자량 10 kDa 이상으로 분획한 것으로, 전체 고분자 분획물 대비 중성 다당(neutral sugar) 60 내지 70 중량% 및 이외의 다당을 잔여량 포함하는 것일 수 있다. 또한, 단백질은 1 내지 10 중량%를 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0050] 상기 중성 다당은 람노오스, 푸코오스, 아라비노오스, 자일로스, 만노오스, 갈락토오스 및 글루코오스를 포함할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0051] 본 발명의 고구마 줄기 고분자 분획물은 (a) 고구마 줄기를 물, C1 내지 C4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출하는 단계; 및
- [0052] (b) 상기 추출물에서 한외여과 또는 겔 여과 크로마토그래피를 이용하여 분자량 10 kDa 이상의 고분자 분획물을 회수하는 단계;를 포함하는 제조방법에 의해 제조된 것일 수 있다.
- [0053] 본 발명에서 고구마 줄기는 건조되지 않은 것 또는 건조된 것을 사용할 수 있으며, 분쇄된 것 또는 분말화된 것

을 사용할 수 있다.

- [0054] 상기 고구마 줄기를 물, 탄소수 1 내지 4 개의 알코올 또는 이들의 혼합 용매에 의한 추출물로서, 추출방법은 특별히 한정할 필요가 없다. 바람직하게는 상기 고구마 줄기 추출물은 고구마 줄기 열수 추출물 또는 고구마 줄기 에탄올 수용액, 예를 들어 고구마 줄기 주정 추출물일 수 있다.
- [0055] 또한, 상기 고구마 줄기 추출물은 상기 고구마 줄기 추출물을 가공하고, 이를 다시 물, 탄소수 1 내지 4 개의 알코올 또는 이들의 혼합 용매로 1회 이상 반복 추출한 것일 수 있다.
- [0056] 상기 (a) 단계 후에, 상기 고구마 줄기 추출물을 90 내지 110 °C에서 10 내지 60분 동안 가열시키는 공정을 추가로 수행할 수 있다. 상기 가열로 인해 가용성 다당 성분의 용출을 증가시키며, 일부 불순물로 포함되어 있는 고분자 단백질을 변성 및 침전시킴으로써 원심분리에 의한 고분자 분획물 획득 및 순도를 증진시킨다.
- [0057] 상기 (a) 단계를 거쳐 수득한 고구마 줄기 추출물은 중성다당의 비율이 현저하게 높은 것을 특징으로 한다. 즉, 상기 방법에 따라 추출된 고구마 줄기 추출물은 다당 분획물을 다량 포함하고 있다.
- [0058] 또한, 상기 (a) 단계 이후에, 고구마 줄기 추출물을 원심분리, filtration 등 공지의 혼합물로부터 고형분을 제거하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 이는 필요에 따라 생략할 수 있으나, 바람직하게는 원심분리에 의할 수 있다.
- [0059] 다음으로, 상기 (b) 단계에서는 한외여과 또는 겔 여과 크로마토그래피(gel filtration chromatography)를 이용하여 분자량 10 kDa 이상의 분획물을 회수하는 것일 수 있다.
- [0060] 상기 분획물을 수득하는 방법은 분자량을 기준으로 정제하는 방법이라면 특별히 한정되지 않지만, 바람직하게는 한외여과 또는 겔 여과 크로마토그래피이고, 더욱 바람직하게는 겔 여과 크로마토그래피이다. 또한, 최종 다당 분획물의 형태는 추출물, 농축물, 분말 등일 수 있다.
- [0061] 상기 최종 고분자 분획물에 50~100%의 탄소수 1 내지 4의 알코올을 첨가하여 저분자 물질 및 불순물을 제거하여 다당을 정제하는 단계를 추가로 실시할 수 있다.
- [0062] 구체적으로, 본 발명은 상기 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올로 추출하여 얻은 고구마 줄기 추출물을 상기와 같은 방법을 이용하여 분자량 10 kDa 이상인 고구마 줄기 고분자 분획물을 수득하였다.
- [0063] 본 명세서에서 용어 '분획물'은 추출용매를 처리하여 얻은 분획물뿐만 아니라 고구마 줄기 고분자 분획물의 가공물도 포함한다. 예를 들어, 고구마 줄기 고분자 분획물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.
- [0064] 또한, 본 발명의 고구마 줄기 고분자 분획물은 분자량 10 kDa 이상의 중성다당 60~70 중량%와 이외의 다당 잔여량을 포함하고 있는 것으로, 여과 과정을 통해 10 kDa 분자량 이하의 배당체(저분자 물질)는 배제한 것일 수 있다.
- [0065] 프리바이오틱에서 유산균의 증식을 증진하는 것은 주로, 단당류에 의한 것이라 알려져 있었다. 허나 본 발명의 고구마 줄기 고분자 분획물은 분자량 10 kDa 이하의 저분자 물질(배당체)가 제거되었음에도 불구하고, 대다수의 장내 유익균에 대하여 증식 증진 효능 또는 활성을 가지고 있음을 확인하였을 뿐만 아니라, 락토코쿠스 락티스 NCD0604(T)(Lactococcus lactis subsp. lactis)에 대해서는 프락토 올리고당(FOS) 및 고구마 줄기 열수 추출물에 비해서 3 배 이상의 현저히 높은 활성을 달성하고 있음을 확인하였다(도 2).
- [0066] 본 발명의 고구마 줄기 고분자 분획물의 광의로는 고구마 줄기를 동물에게 투여할 수 있도록 제형화된 고구마 줄기 고분자 분획물, 고구마 줄기 다당 분획물, 고구마 줄기 고분자 가공물, 예컨대, 고구마 줄기 고분자 분말도 포함하는 의미를 갖는다. 비록 본 발명에서 고구마 줄기 고분자 분획물로 실험을 진행하긴 하였으나, 고구마 줄기 고분자 가공물과 같은 형태로도 목적하는 효과를 달성할 수 있음은 당업자라면 예상 가능할 것이다.
- [0067] 한편, 본 명세서에서 용어 '유효성분으로 함유하는'이란 고구마 줄기 고분자 분획물의 효능 또는 활성을 달성하는 데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다. 일례로, 상기 고구마 줄기 고분자 분획물은 10 내지 1500 µg/ml, 바람직하게는 100 내지 1000 µg/ml의 농도로 사용된다. 고구마 줄기 고분자 분획물은 천연물로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 고구마 줄기 고분자 분획물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.
- [0068] 본 발명의 다른 측면은 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 함유하는 것을 특

징으로 하는 장건강 개선용 또는 장기능 개선용 조성물에 관한 것이다.

- [0069] 본 발명에서 상기 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물은 장건강 또는 장기능 개선, 억제 또는 예방 효과를 갖는 장내 유익균의 증진을 촉진함으로써, 장건강을 개선하거나 장기능을 개선하는 효과를 갖는다.
- [0070] 본 발명의 장건강 또는 장기능 예방 및 개선 효과는 in vitro 시험에서 장건강 또는 장기능 개선 효과를 갖는 것으로 알려진 장내 유익균(락토바실러스 파라카제이 ATCC 25302(T)(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*), 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*), 락토코쿠스 락티스 NCD0604(T)(*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*), 비피도박테리움 비피덤(*Bifidobacterium bifidum*) 및 비피도박테리움 브레이브(*Bifidobacterium breve*)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상)의 증식을 증진시키고 있으며, 이와는 반대로 대장균(*Escherichia coli*)의 증식을 억제시키고 있음을 확인함으로써, 장건강 및 장기능 개선 가능성을 확인하였다.
- [0071] 특히, 고구마 줄기 추출물을 유효성분으로 하는 경우에는 종래 프락토 올리고당보다 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*) 및/또는 비피도박테리움 비피덤(*Bifidobacterium bifidum*)을 현저히 증진시키는 것을 확인하였고, 고구마 줄기 고분자 분획물의 경우에는 종래 프락토 올리고당보다 락토코쿠스 락티스 NCD0604(T)(*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*)에 대해 현저히 높은 활성을 달성하고 있음을 확인하였다.
- [0072] 즉, 본 발명의 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 장건강을 개선하거나 장기능을 개선하는 효과를 갖는 것으로 알려진 다양한 장내 유익균에 처리하였을 때, 상기 장내 유익균의 증식이 증진되었으므로 장건강 또는 장기능 개선, 억제 또는 예방 목적으로 이용될 수 있다.
- [0073] 본 발명의 조성물은 약제학적 조성물로, 유효성분인 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물 외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 율활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [0074] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [0075] 상기 약제학적 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 율활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다.
- [0076] 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 율활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.
- [0077] 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [0078] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여이다.
- [0079] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 0.001-10 g/kg이다.
- [0080] 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡셀제 형태일 수도 있으며, 분산제

또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

- [0081] 또 다른 예에서 상기한 바와 같은 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물은 장건강 또는 장기능 개선, 억제 또는 예방용 식품 조성물로 다양하게 이용될 수 있다.
- [0082] 본 발명의 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물은 각종 식품류 예를 들어, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 분말, 과립, 정제, 캡슐 등의 형태로 사용할 수 있다.
- [0083] 본 발명에 따른 식품 조성물은 상기 약제학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 알코올 음료류, 과자류, 다이어트바, 유제품, 육류, 초코렛, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다.
- [0084] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분으로서 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물뿐만 아니라, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제와 음료류로 제조되는 경우에는 본 발명의 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 및 각종 식물 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.
- [0085] 본 발명은 상기 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효성분으로 포함하는 장건강 또는 장기능의 개선, 억제 또는 예방용 식품 조성물을 포함하는 건강기능식품을 제공한다. 건강기능식품이란, 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다. 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명의 건강기능식품은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 매우 유용하다. 이와 같은 건강기능식품에 있어서의 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물의 첨가량은, 대상인 건강기능식품의 종류에 따라 달라 일률적으로 규정할 수 없지만, 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 20 중량%의 범위이다. 또한, 환제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태의 건강기능식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량% 바람직하기로는 0.5 내지 80 중량%의 범위에서 첨가하면 된다. 한 구체예에서, 본 발명의 건강기능식품은 환제, 정제, 캡슐제 또는 음료의 형태일 수 있다.
- [0086] 또한, 본 발명은 장건강 또는 장기능의 개선, 억제 또는 예방용 의약 또는 식품의 제조를 위한 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물의 용도를 제공한다. 상기한 바와 같이 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물은 장건강 또는 장기능의 개선, 예방 또는 치료를 위한 용도로 이용될 수 있다.
- [0087] 또한, 본 발명은 포유동물에게 유효량의 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 투여하는 것을 포함하는 장건강 또는 장기능의 개선, 예방 또는 치료 방법을 제공한다.
- [0088] 여기에서 사용된 용어 "포유동물"은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유동물을 말하며, 바람직하게는 인간을 말한다.
- [0089] 여기에서 사용된 용어 "유효량"은 연구자, 의사, 기타 임상시에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 해당 증상의 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효 성분에 대한 유효량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 수 있다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 장건강 또는 장기능 정도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 예방, 치료 또는 개선 방법에 있어서, 성인의 경우, 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 1일 1회 내지 수회 투여시, 0.001 g/kg 내지 10 g/kg의 용량으로 투여하는 것이 바람직하다.
- [0090] 본 발명의 치료방법에서 고구마 줄기 추출물 또는 고구마 줄기 고분자 분획물을 유효 성분으로 포함하는 조성물

은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 흉골내, 경피, 국소, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.

[0091] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 다양한 변경 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.

[0092] **실시예 1. 고구마 줄기 열수 추출물**

[0093] 강원도에서 재배한 국내산 고구마 줄기를 구매하여 사용하였다. 고구마 줄기를 50 °C 건조 오븐에서 건조한 다음 분쇄기를 이용하여 1.0 mm 이하가 되도록 분쇄하여 고구마 줄기 분말을 준비하였다.

[0094] 고구마 줄기 분말 5 g에 20 배 부피에 해당하는 물을 가하고 80 °C 에서 3 시간 동안 환류 추출하여 열수 추출 물을 수득하였다. 상기 열수 추출물을 여과한 후, 회전 진공 증발기(rotary vacuum evaporator)를 이용하여 감압농축하고, 72 시간 동안 동결건조하였다. 상기 방법으로 수득한 고구마 줄기 열수 추출물은 WSPE(Water-soluble sweet potato extract)로 기재하였다.

[0095] **실시예 2. 고구마 줄기 고분자 분획물**

[0096] 강원도에서 재배한 국내산 고구마 줄기를 구매하여 사용하였다. 고구마 줄기를 50 °C 건조 오븐에서 건조한 다음 분쇄기를 이용하여 1.0 mm 이하가 되도록 분쇄하여 고구마 줄기 분말을 준비하였다.

[0097] 고구마 줄기 분말 100 g에 20 배 부피에 해당하는 증류수를 가하고 80 °C 의 온도에서 3 시간 동안 환류 추출하여 열수 추출물을 수득하였다. 상기 열수 추출물을 여과한 다음, 회전 진공 증발기(rotary vacuum evaporator)를 이용하여 추출액의 1/10이 되도록 감압농축하고, 감압농축된 열수 추출물의 4배 부피(v/v)의 80% ethanol을 가하여 24시간 침전시켰다. 침전시킨 후 원심분리(6000 rpm, 635 μ g, 30분) 하여 침전물을 얻었으며 여기에 소량의 증류수를 가하여 침전물을 재용해하고 투석막(MW cut off 12,000, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하여 2~3일간 투석을 행하여 저분자 물질들을 제거하였으며 72시간 동결건조하여 고구마 줄기 고분자 분획물을 얻었다. 상기 방법으로 수득한 고구마 줄기 고분자 분획물은 HSPE(High-molecular fraction from sweet potato extract)라고 명명하였다.

[0098] **<시험예>**

[0099] **시험예 1. 실시예 1의 열수 추출물과 실시예 2의 고분자 분획물의 구성당 분석**

[0100] 구성당 분석은 Albersheim 등의 방법을 일부 변형하여 가수분해 후 각 구성당을 알디톨 아세테이트(alditol acetate)와 aldono-lactone로 유도체화 하여 GC(Gas Chromatography ACME-6100, Young-Lin Co. Ltd. Anyang, Korea)를 이용하여 분석하였다. 실시예 1 또는 실시예 2의 시료를 2 M TFA(trifluoroacetic acid) 중에서 121°C, 1.5 hr 반응시켜 가수분해한 후, 1 ml의 1 M NH₄OH (ammonia solution)에 용해하여 10 mg의 NaBH₄로 4 hr 환원시켰다. Acetic acid를 적당량 가하여 잔존 NaBH₄를 제거한 후, 메탄올을 가하며 반복 건조함으로써 과량으로 가해진 아세트산을 제거하여 각 구성당에 상당하는 알디톨(alditol)로 전환하였다.

[0101] 중성당의 구성을 알기 위해 각각의 알디톨(alditol)에 1 ml의 아세트산 무수물(acetic anhydride)을 가하여 121 °C에서 30 min 동안 반응시켜 알디톨 아세테이트(alditol acetate)로 전환시켰으며 이를 클로로포름/H₂O 2상 용매계로 분리하여 추출하고, 추출물은 건조 후 소량의 아세톤에 용해하여 GC 분석용 시료로 사용하였다.

[0102] 단백질 정량은 Bradford법에 따라 측정하였으며, BSA(Bovine Serum Albumin, sigma aldrich)를 표준품으로 사용하여 1 mg/ml을 최고농도로 하여 일정배수로 희석하였다. Bradford시약 980 μ l에 표준품과 시료를 각각 20 μ l를 가하여 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 단백질 정량은 BSA에 대한 양으로 환산하였다.

[0103] 총당은 phenol-sulfuric acid법에 따라 측정하였으며, 시료용액 0.5 ml에 동량의 5 % phenol 용액을 첨가하여 교반한 후 진한 황산(98%, v/v) 2.5 ml를 가하여 상온에서 20분간 반응시켜 microplate reader를 이용하여 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총당의 정량은 glucose 표준품(sigma aldrich)을 사용하여 검량선을 작성하여 이에 대한 양으로 환산하였다.

[0104] 그 결과, 고구마 줄기로부터 열수 추출물 및 주정 추출물의 주요성분 함량 등의 이화학적 특성을 분석한 결과 하기 표 1과 같았다.

표 1

구분	실시에 1(WSPE)	실시에 2(HSPE)
Extraction yield (%)	59.76	1.11
Chemical composition (%)		
Neutral sugar(중성당)	52.13±0.16	63.26±1.85
Protein(단백질)	1.67±0.11	5.01±0.48
총 식이섬유 (중량%)	0.1	0.05
불활성 식이섬유 (중량%)	0.01	-

[0105]

[0106]

[0107]

[0108]

[0109]

[0110]

[0111]

[0112]

[0113]

[0114]

[0115]

[0116]

[0117]

[0118]

[0119]

[0120]

* 상기 chemical component의 함량비(%)는 건조 샘플 내의 비율을 나타낸 것이다.

표 1에 나타난 바와 같이, 실시예 1로부터 제조된 고구마 줄기 열수 추출물은 수율이 59.76%로 높게 나타났으며, 단백질 함량은 1.67 중량%였고, 중성당 함량은 52.13 중량%인 것으로 확인되었다. 이에 반해, 실시예 2로부터 제조된 고구마 줄기 고분자 분획물의 수율은 1.11%로 낮게 나타났으나, 중성당 함량은 63.26 중량%로 확인되었다. 결국 실시예 2의 고구마 줄기 고분자 분획물(HSPE)의 대부분은 당이 차지하고 있는 것으로 분석되었다.

고구마 줄기 중, 장건강 또는 장기능 개선 효과를 갖는 것으로 널리 알려진 불활성 식이섬유의 경우, 실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물 및 실시예 2의 고구마 줄기 고분자 분획물에서는 거의 관찰되지 않는 것으로 확인되었다.

시험예 2. 실시예 1의 열수 추출물과 실시예 2의 고분자 분획물의 장내 유익균 증식 활성 분석

장내 유익균 활성 측정용 균주의 분리 및 동정

실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물 및 실시예 2의 고구마 줄기 고분자 분획물의 프리바이오틱 활성 수치(Prebiotic activity score) 분석을 위하여, 장내 유익균을 확보하였다. 이는 장내 유익균으로 알려진 것들을 선별하였다. 균들은 발효 인간 장내와 전통식품(된장, 김치 등)로부터 분리하거나 생물자원센터에서 분양받아 사용하였다.

락토바실러스 파라카제이 ATCC 25302(T)(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*), 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*), 락토코쿠스 락티스 NCD0604(T)(*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*), 비피도박테리움 비피덤, (*Bifidobacterium bifidum*), 비피도박테리움 브레이브(*Bifidobacterium breve*)와 대장균(*Escherichia coli*)을 확보하였다.

상기 락토바실러스 및 락토코쿠스 균주는 MRS 배지를 이용하여 배양하였고, 비피도박테리움 균주는 BL 배지를 이용하여 배양하였으며, pH 6.5 ± 0.2, 온도 37℃ 및 48시간 정지 배양시켰으며, 산소 요구성은 통성혐기성이고 동결건조보존 또는 세포현탁액 동결을 통해 균주를 보존하였다.

대장균 활성 측정용 균주의 분리 및 동정

실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물 및 실시예 2의 고구마 줄기 고분자 분획물의 프리바이오틱 활성 수치(Prebiotic activity score) 분석을 위하여, 대장균을 생물자원센터에서 분양받아 사용하였다.

장내 유익균 및 대장균 활성 측정용 균주 배양

상기 분리 및 동정된 균주의 배양을 위하여, 유산균은 *Lactobacilli* MRS agar와 *Lactobacilli* MRS broth를 사용하였고, 비피도박테리움 균주는 BL agar와 BL broth를 사용하였다. 대장균은 Tryptic soy agar와 Tryptic soy broth를 사용하였다. 상기 배지는 Difco사에서 구입하였다.

상기 균주의 콜로니를 각각의 균주에 해당하는 아가 배지에 도말하고, 37℃에서 24 시간동안 1차 배양한 뒤, 다시 액체 배지 10 ml에 접종하여 37℃에서 24 시간동안 2차 배양하였다. 600 nm에서 흡광도가 2.0이 되었을 때, 본 배양 배지에 1%(v/v) 접종하였다. 본 배양은 M9 minimal medium(MB cell) 배지를 사용하였고, 상기 M9 배지는 glucose 2 g/L, CaCl₂ 0.015 g/L, MgSO₄ 0.5 g/L를 첨가하여 제조하였다.

시험예 2-1. 고구마 줄기 열수 추출물에 대한 장내 유익균 활성(prebiotic activity score) 분석

상기 수득한 균을, 각각 10 mg/ml 글루코스를 함유한 M9 배지에 1%(v/v) 첨가하여, 대조균을 제조하였다.

[0121] 또한, 상기 수득한 균을, 각각 10 mg/ml 프락토 올리고당(Fructooligosaccharides, FOS)을 함유한 M9 배지에 1%(v/v) 첨가하여, 양성 대조균을 제조하였다.

[0122] 상기 수득한 균을, 각각 고구마 줄기 열수 추출물 10 mg/ml을 함유한 M9 배지에 1%(v/v) 첨가하여, 실험균을 제조하였다.

[0123] 각각의 균은 균을 접종하고 바로(0 시간), 24시간이 지난 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 이들 값을 아래의 식 1에 대입하여 장내 유익균 활성(prebiotic activity score) 수치를 얻었다.

[0124] [식 1]

$$\text{Prebiotic activity score} = \frac{(\text{probiotic log O.D. on the prebiotic at 24 h} - \text{probiotic log O.D. on the prebiotic at 0 h})}{(\text{probiotic log O.D. on glucose at 24 h} - \text{probiotic log O.D. on glucose at 0 h})} - \frac{(\text{enteric log O.D. on the prebiotic at 24 h} - \text{enteric log O.D. on the prebiotic at 0 h})}{(\text{enteric log O.D. on glucose at 24 h} - \text{enteric log O.D. on glucose at 0 h})}$$

[0125] [식 1]
 [0126] 상기 식에서,

[0127] *) probiotic log O.D on the prebiotic at 24 h는 양성 대조균 또는 실험균에서 락토바실러스 및 비피도박테리움균을 접종하고 24시간이 지난 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정된 흡광도이다.

[0128] *) probiotic log O.D. on the prebiotic at 0 h는 양성 대조균 또는 실험균에서 락토바실러스 및 비피도박테리움균을 접종하고 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정된 흡광도이다.

[0129] *) probiotic log O.D. on glucose at 24h는 글루코스 대조균에서 락토바실러스 및 비피도박테리움균을 접종하고 24시간이 지난 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정된 흡광도이다.

[0130] *) probiotic log O.D. on glucose at 0h는 글루코스 대조균에서 락토바실러스 및 비피도박테리움균을 접종하고 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정된 흡광도이다.

[0131] *) enteric log O.D on the prebiotic at 24 h는 양성 대조균 또는 실험균에서 대장균을 접종하고 24시간이 지난 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정된 흡광도이다.

[0132] *) enteric log O.D. on the prebiotic at 0 h는 양성 대조균 또는 실험균에서 대장균을 접종하고 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정된 흡광도이다.

[0133] *) enteric log O.D. on glucose at 24h는 글루코스 대조균에서 대장균을 접종하고 24시간이 지난 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정된 흡광도이다.

[0134] *) enteric log O.D. on glucose at 0h는 글루코스 대조균에서 대장균을 접종하고 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정된 흡광도이다.

[0135] 도 1은 다양한 박테리아에 실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물, FOS(프락토 올리고당)을 처리하였을 때, 장내 유익균 활성(prebiotic activity score)을 분석하여 나타낸 그래프이다. 도 1A는 락토바실러스 파라카제이 ATCC 25302(T)(*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*)에 대한 것이고, 도 1B는 락토바실러스 플란타럼(*Lactobacillus plantarum*), 도 1C는 락토코쿠스 락티스 NCD0604(T)(*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), 도 1D는 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*), 도 1E는 비피도박테리움 비피덤(*Bifidobacterium bifidum*), 도 1F는 비피도박테리움 브레이브(*Bifidobacterium breve*)에 대한 것이다.

[0136] 도 3A는 실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물의 총 균에 대한 장내 유익균 중 락토바실러스와 락토코쿠스에 대한 활성(prebiotic activity score)을 분석하여 나타낸 그래프이고, 도 4A는 실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물의 총 균에 대한 장내 유익균 활성(prebiotic activity score)의 평균을 나타낸 것이다.

[0137] 각 균주들에 종래 프리바이오틱인 프락토 올리고당과 실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물을 투여하고, prebiotic activity score를 확인하였다. 도 1을 살펴보면, 본 발명에 따른 실시예 1의 고구마 줄기 열수 추출물은 대다수의 장내 유익균에 대해 종래 프리바이오틱 프락토 올리고당과 비교하여 동등하거나 그 이상의 활성을 나타내는 것으로 확인되었으며, 대장균에 대해 활성이 억제되는 것으로 확인되었다. 대부분 대조균보다 모든

유익균의 활성이 높은 것으로 확인되었다(최대 3~6 배).

[0138] 본 발명의 고구마 줄기 열수 추출물은 락토바실러스 플란타럼(Lactobacillus plantarum)와 비피도박테리움 비피덤(Bifidobacterium bifidum)에 대해 가장 높은 prebiotic activity score를 나타내는 것으로 확인되었다. 구체적으로 종래 프리바이오틱스로 널리 알려진 프락토 올리고당보다 더 높은 활성(최대 0.5 배 증가함)을 갖는 것으로 확인되었다. 본 발명의 고구마 줄기 열수 추출물은 양성대조군인 FOS와 유사하거나 그 이상의 활성을 갖는 것으로 확인되었고, 대조군에 비해서는 모두 높은 활성을 갖는 것으로 확인되었다. 이 중에서도 본 발명의 고구마 줄기 열수 추출물은 락토바실러스 플란타럼(Lactobacillus plantarum)와 비피도박테리움 비피덤(Bifidobacterium bifidum)에 대하여, 종래 프리바이오틱(프락토 올리고당)보다 더 높은 prebiotic activity을 갖는 것을 확인하였다.

[0139] 도 3A에 나타난 바와 같이, 혐기성 균주인 비피도박테리움을 제외한 락토바실러스와 락토코쿠스에 대한 활성을 비교한 결과, 본 발명의 고구마 줄기 열수 추출물은 FOS와 유사한 수준의 활성을 나타냄을 확인하였다. 또한 전체적인 장내 유익균에 대한 prebiotic activity를 비교한 결과, 고구마 줄기 열수 추출물은 0.961으로 FOS 군에 비해 약간(0.124) 낮았으나, 아무것도 처리하지 않은 경우에 비해서는 약 4~5배 정도 증가하였음을 확인하였다.

[0140] **시험예 2-2. 고구마 줄기 고분자 분획물에 대한 장내 유익균 활성(prebiotic activity score) 분석**

[0141] 상기 수득한 균을, 각각 10 mg/ml 글루코스를 함유한 M9 배지에 1%(v/v) 첨가하여, 대조군을 제조하였다.

[0142] 또한, 상기 수득한 균을, 각각 10 mg/ml 프락토 올리고당(Fructooligosaccharides, FOS)을 함유한 M9 배지에 1%(v/v) 첨가하여, 양성 대조군을 제조하였다.

[0143] 상기 수득한 균을, 각각 고구마 줄기 고분자 분획물(실시예 2) 10 mg/ml을 함유한 M9 배지에 1%(v/v) 첨가하여, 실험군을 제조하였다.

[0144] 각각의 균은 균을 접종하고 바로(0 시간), 24시간이 지난 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 이들 값을 아래의 식 1에 대입하여 장내 유익균 활성(prebiotic activity score) 수치를 얻었다.

[0145] [식 1]

$$\text{Prebiotic activity score} = \frac{(\text{probiotic log O.D. on the prebiotic at 24 h} - \text{probiotic log O.D. on the prebiotic at 0 h})}{(\text{probiotic log O.D. on glucose at 24 h} - \text{probiotic log O.D. on glucose at 0 h})} - \frac{(\text{enteric log O.D. on the prebiotic at 24 h} - \text{enteric log O.D. on the prebiotic at 0 h})}{(\text{enteric log O.D. on glucose at 24 h} - \text{enteric log O.D. on glucose at 0 h})}$$

[0146] [0147] 상기 식에서,

[0148] *) probiotic log O.D on the prebiotic at 24 h는 양성 대조군 또는 실험군에서 락토바실러스 및 비피도박테리움균을 접종하고 24시간이 지난 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정한 흡광도이다.

[0149] *) probiotic log O.D. on the prebiotic at 0 h는 양성 대조군 또는 실험군에서 락토바실러스 및 비피도박테리움균을 접종하고 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정한 흡광도이다.

[0150] *) probiotic log O.D. on glucose at 24h는 글루코스 대조군에서 락토바실러스 및 비피도박테리움균을 접종하고 24시간이 지난 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정한 흡광도이다.

[0151] *) probiotic log O.D. on glucose at 0h은 글루코스 대조군에서 락토바실러스 및 비피도박테리움균을 접종하고 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정한 흡광도이다.

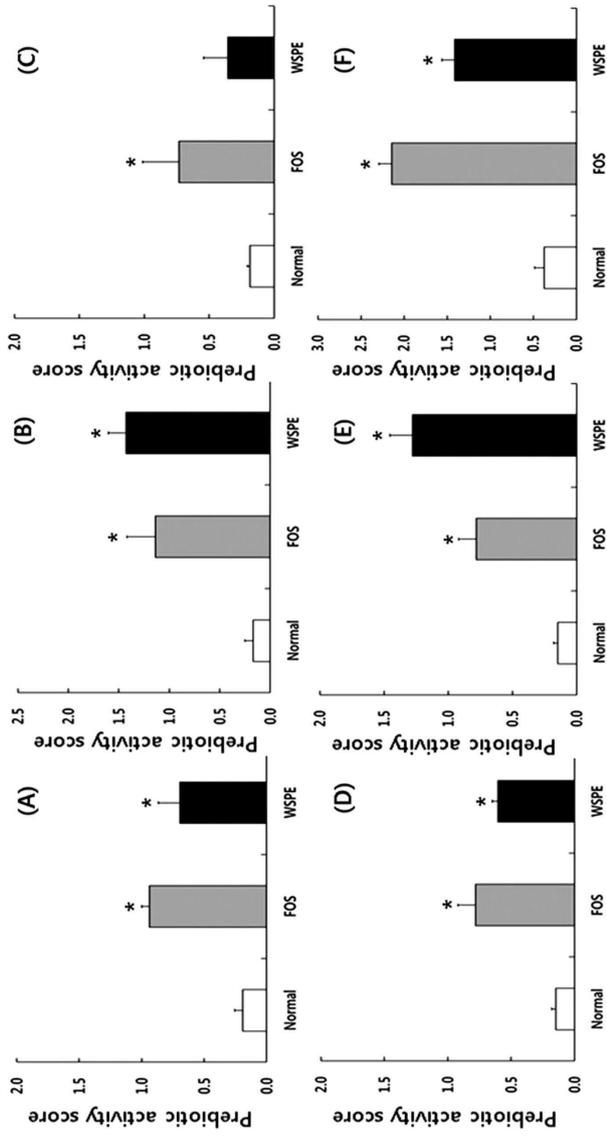
[0152] *) enteric log O.D on the prebiotic at 24 h는 양성 대조군 또는 실험군에서 대장균을 접종하고 24시간이 지난 후, 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정한 흡광도이다.

[0153] *) enteric log O.D. on the prebiotic at 0 h는 양성 대조군 또는 실험군에서 대장균을 접종하고 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 600 nm에서 측정한 흡광도이다.

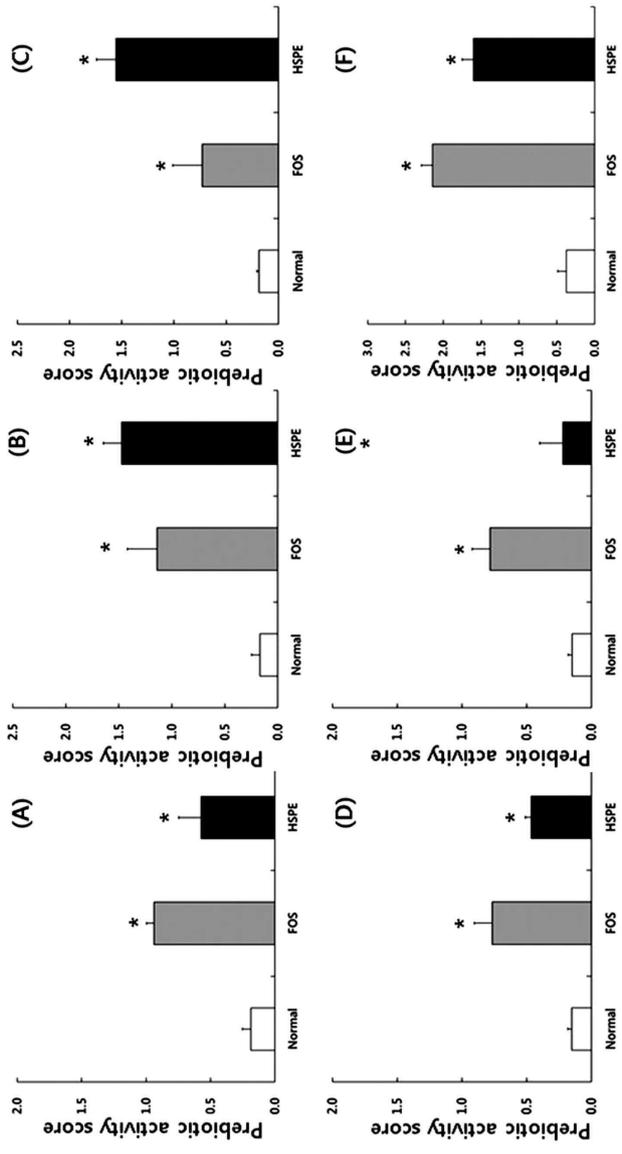
[0154] *) enteric log O.D. on glucose at 24h는 글루코스 대조군에서 대장균을 접종하고 24시간이 지난 후, 마이크

[0206]	비타민 B1	0.13 mg
[0207]	비타민 B2	0.15 mg
[0208]	비타민 B6	0.5 mg
[0209]	비타민 B12	0.2 μ g
[0210]	비타민 C	10 mg
[0211]	비오틴	10 μ g
[0212]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0213]	엽산	50 μ g
[0214]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0215]	무기질 혼합물	적량
[0216]	황산제1철	1.75 mg
[0217]	산화아연	0.82 mg
[0218]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0219]	제1인산칼륨	15 mg
[0220]	제2인산칼슘	55 mg
[0221]	구연산칼륨	90 mg
[0222]	탄산칼슘	100 mg
[0223]	염화마그네슘	24.8 mg
[0224]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 과립제에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 과립제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.	
[0225]	<u>제제예 7. 기능성 음료의 제조</u>	
[0226]	실시예 1에서 얻은 고구마 줄기 열수 추출물; 또는	
[0227]	실시예 2에서 얻은 고구마 줄기 고분자 분획물;	1,000 mg
[0228]	구연산	1,000 mg
[0229]	올리고당	100 g
[0230]	매실농축액	2 g
[0231]	타우린	1 g
[0232]	정제수를 가하여	전체 900 mL
[0233]	통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85 °C에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 기능성 음료 조성물 제조에 사용한다.	
[0234]	상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.	

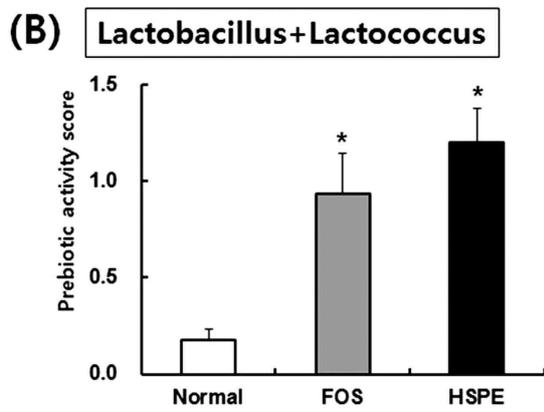
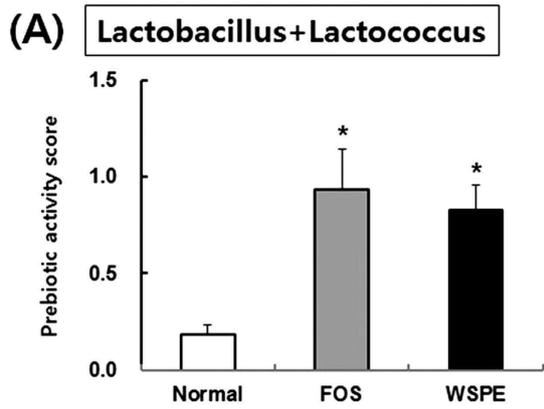
면도
면도1



도면2



도면3



도면4

