

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2023-0166498
(43) 공개일자 2023년12월07일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>C12N 1/14</i> (2018.01) <i>A23L 19/10</i> (2016.01)
 <i>A23L 2/38</i> (2021.01) <i>A23L 33/105</i> (2016.01)
 <i>A61K 36/258</i> (2006.01) <i>A61K 8/9789</i> (2017.01)
 <i>C12R 1/69</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>C12N 1/145</i> (2021.05)
 <i>A23L 19/10</i> (2016.08)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-0066545
 (22) 출원일자 2022년05월31일
 심사청구일자 2023년02월08일</p> | <p>(71) 출원인
 주식회사 엘지생활건강
 서울특별시 종로구 새문안로 58 (신문로2가)</p> <p>(72) 발명자
 한형민
 서울특별시 강서구 마곡중앙10로 70
 황성환
 서울특별시 강서구 마곡중앙10로 70
 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
 특허법인한얼</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 신규한 아스퍼질러스 오리제 균주 및 이의 용도**(57) 요약**

본 발명은 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주; 상기 균주 또는 이의 발효물을 포함하는 홍삼 발효물; 상기 홍삼 발효물을 포함하는 식품 조성물, 화장료 조성물, 의약품 조성물 및 약학 조성물; 홍삼을 포함하는 조성물에 상기 균주를 접종하여 발효하는 단계를 포함하는 홍삼 발효물의 제조방법; 상기 제조방법에 따라 제조된 홍삼 발효물; 상기 제조된 홍삼 발효물을 포함하는 식품 조성물, 화장료 조성물, 의약품 조성물 및 약학 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A23L 2/382 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
A61K 36/258 (2013.01)
A61K 8/9789 (2017.08)
A61K 2236/19 (2013.01)
A61K 2800/85 (2013.01)
C12R 2001/69 (2021.05)

(72) 발명자

윤성훈

서울특별시 강서구 마곡중앙10로 70

나승곤

서울특별시 강서구 마곡중앙10로 70

이사도

서울특별시 강서구 마곡중앙10로 70

명세서

청구범위

청구항 1

기탁번호 KCTC 14533BP로 기탁된 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 균주는 진세노사이드 생물전환(bioconversion)능을 갖는 것인, 균주.

청구항 3

제1항의 균주 또는 이의 발효물을 포함하는 홍삼 발효물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 홍삼 발효물은 (R)형 진세노사이드 Rg3 함량이 증가된 것인, 홍삼 발효물.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 홍삼 발효물은 (R)형 진세노사이드 Rg3/(S)형 진세노사이드 Rg3 값이 증가된 것인, 홍삼 발효물.

청구항 6

제3항의 홍삼 발효물을 포함하는 조성물로서, 상기 조성물은 식품 조성물, 화장품 조성물, 의약품 조성물 및 약학 조성물 중 어느 하나 이상을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 7

홍삼을 포함하는 조성물에 제1항의 균주를 접종하여 발효하는 단계를 포함하는 홍삼 발효물의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 제조된 홍삼 발효물은 발효 전 홍삼을 포함하는 조성물보다 (R)형 진세노사이드 Rg3 함량이 증가된 것인, 홍삼 발효물의 제조방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 제조된 홍삼 발효물은 발효 전 홍삼을 포함하는 조성물보다 (R)형 진세노사이드 Rg3/(S)형 진세노사이드 Rg3 값이 증가된 것인, 홍삼 발효물의 제조방법.

청구항 10

제7항에 있어서, 제조된 홍삼 발효물을 농축하는 단계를 추가 포함하는 것인, 홍삼 발효물의 제조방법.

청구항 11

제7항 내지 제10항 중 어느 한 항의 제조방법에 따라 제조된 홍삼 발효물.

청구항 12

제11항의 홍삼 발효물을 포함하는 조성물로서, 상기 조성물은 식품 조성물, 화장품 조성물, 의약품 조성물 및 약학 조성물 중 어느 하나 이상을 포함하는 것인, 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주; 상기 균주 또는 이의 발효물을 포함하는 홍삼 발효물; 상기 홍삼 발효물을 포함하는 식품 조성물, 화장품 조성물, 의약품 조성물 및 약학 조성물; 홍삼을 포함하는 조성물에 상기 균주를 접종하여 발효하는 단계를 포함하는 홍삼 발효물의 제조방법; 상기 제조방법에 따라 제조된 홍삼 발효물; 상기 제조된 홍삼 발효물을 포함하는 식품 조성물, 화장품 조성물, 의약품 조성물 및 약학 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [0003] 홍삼은 오갈피나무과에 속하는 다년생 풀인 4-6년 근 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)을 선별하여 껍질을 벗기지 않은 상태로 증기에 쪄서 말린 것이다.
- [0004] 한의학적으로는, 성질은 약간 따뜻하고 맛은 달고 약간 쓰며, 비, 폐, 심장으로 들어가 원기를 보충하고 진액을 만드는 등, 건강 증진과 질병 예방의 효과가 있는 대표적 한약재로 사용되어 왔다.
- [0005] 홍삼은 증숙 후 건조하는 과정에서 유효 성분이 보다 농축되는데, 사포닌과 같은 인체에 유효한 생리활성 성분이 생성되어 소화흡수가 잘되고 면역체계 증진 및 기능강화에 도움을 준다.
- [0006] 한편, 사포닌은 화학적으로 배당체(Glycoside)라 부르는 화합물의 일종이다. 식물의 뿌리, 줄기, 잎, 껍질, 씨 등에 있는데 항암, 항산화, 콜레스테롤 저하에 효과적인 생리활성물질로서, 인삼에 있는 사포닌은 진세노사이드(Ginsenoside)라 불린다.
- [0007] 홍삼에 함유되어 있는 진세노사이드의 종류는 약 30여종으로 그 중 진세노사이드 Rb1이 전체 사포닌의 약 23%를 차지할 정도로 가장 함유량이 많고 진세노사이드 Rg1이 약 19%, 진세노사이드 Re가 15%, 진세노사이드 Rb2가 11%, 진세노사이드 Rc가 12%, 진세노사이드 Rd가 약 7% 함유되어 있다고 알려져 있다.
- [0008] 여러 종류의 진세노사이드 중 진세노사이드 Rg3는 인삼에는 없고 홍삼에만 미량으로 존재하는 성분이다. 진세노사이드 Rg3는 혈전생성을 억제하고 혈소판의 응집을 억제하며, 혈관을 확장하여 혈액순환을 촉진하며 혈압을 떨어뜨리는 효능이 있다. 또한 암세포의 전이를 억제하고 항암제에 대한 내성의 발생을 억제하며 치매예방작용이 강한 효능이 있다.
- [0009] 상기 진세노사이드 Rg3는 두 가지 이성질체 중에서 (R)형이 (S)형에 비해 현저히 우수한 면역력 증가 효과 및 항산화 효과를 가진다는 사실이 보고되어 있으나, 선택적 발효 또는 합성법은 알려져 있지 않다
- [0010] 홍삼에만 미량으로 존재하는 진세노사이드 Rg3의 홍삼 내 함유량을 높이기 위한 방법으로 홍삼 발효 공정을 사용하는 방법(대한민국 공개특허 10-2018-0040784호, 대한민국 공개특허 10-2020-0000571호) 등이 제시되어 왔다.
- [0011] 그러나, 상기 방법들은 홍삼 발효공정을 통해 불특정 진세노사이드 전체에 대해 탈당을 진행하여 단순 저배당체

화하는 것에 지나지 않았으며, 보다 우수한 효과를 갖는 (R)형 진세노사이드 Rg3를 선택적으로 얻을 수 있는 방법은 개시되어 있지 않다.

[0013] 이러한 배경 하에서, 본 발명자들은 신규한 아스퍼질러스 오리제 균주를 발굴하여, 홍삼을 포함하는 조성물에 상기 신규 균주를 접종하여 제조되는 홍삼 발효물의 경우, (R)형 진세노사이드 Rg3의 함량이 증가됨을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0015] 본 발명의 하나의 목적은 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주를 제공하는 것이다.
- [0016] 본 발명의 다른 하나의 목적은 상기 균주 또는 이의 발효물을 포함하는 홍삼 발효물을 제공하는 것이다.
- [0017] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 홍삼 발효물을 포함하는 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0018] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 홍삼 발효물을 포함하는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.
- [0019] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 홍삼 발효물을 포함하는 의약품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0020] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 홍삼 발효물을 포함하는 약학 조성물을 제공하는 것이다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 홍삼을 포함하는 조성물에 상기 균주를 접종하여 발효하는 단계를 포함하는 홍삼 발효물의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0022] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 제조방법에 따라 제조된 홍삼 발효물을 제공하는 것이다.
- [0023] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 제조된 홍삼 발효물을 포함하는 식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0024] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 제조된 홍삼 발효물을 포함하는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.
- [0025] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 제조된 홍삼 발효물을 포함하는 의약품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0026] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 제조된 홍삼 발효물을 포함하는 약학 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0028] 이를 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 한편, 본 발명에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 발명에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.
- [0030] 본 발명은 신규한 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주를 발굴하여, 홍삼을 포함하는 조성물에 상기 신규 균주를 접종하여 제조되는 홍삼 발효물의 경우, (R)형 진세노사이드 Rg3의 함량이 증가됨을 새롭게 입증한 것에 기인한다.
- [0032] 본 발명의 일 양태는 기탁번호 KCTC 14533BP 로 기탁된 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주를 제공한다.
- [0033] 본 발명에서 용어 "아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*)"는 황국균으로 알려져 있으며, 누룩곰팡이의 대표 균으로 청주, 일본식 된장, 간장류 제조에 사용되는 균주이다. 집락은 처음에는 백색인데 분생자가 생기면 황색에서 황록색으로 되고 오래되면 갈색으로 된다. 전분 당화력, 단백질 분해력이 강한 특성을 가진다고 알려져 있다.
- [0034] 본 발명자들은 상기 아스퍼질러스 오리제에 속하는 신규한 균주를 개발하여 이를 아스퍼질러스 오리제 LGYM4로

명명하고, 이를 기탁번호 KCTC 14533BP 로 기탁하였다.

- [0036] 하나의 구체예로, 상기 균주는 진세노사이드 생물 전환능을 가지는 것일 수 있다.
- [0037] 본 발명에서 용어 "진세노사이드(Ginsenoside)"는 인삼의 주요 생리 활성 성분이 포함된 사포닌 성분을 의미한다. 상기 진세노사이드 중 Re, Rg1, Rb1, Rc, Rb2, Rf 및 Rd는 전체 사포닌의 90% 이상을 차지하는 메이저 진세노사이드(major ginsenoside)로, 이들은 큰 사이즈로 인하여 생체 내에서의 흡수율이 매우 낮다.
- [0038] 한편, 마이너 진세노사이드(minor ginsenoside)는 Rg2, Rh1, Rg6, F2, Rk3, Rh4 및 Rg3등으로 구성되며 최근 마이너 진세노사이드의 뛰어난 약리효능에 관련한 연구결과가 발표되고 있다. 따라서, 메이저 진세노사이드를 생리활성이 우수한 마이너 진세노사이드로 생물전환하는 방법에 대한 연구가 각광받고 있다.
- [0039] 본 명세서에서 용어 “생물전환(bioconversion)”은 미생물이 가지고 있는 효소적 기능을 이용하여 전구물질로부터 원하는 산물을 제조하는 방법을 의미한다. 상기 생물전환은 미생물 발효 또는 효소처리 등의 생물학적 방법을 통해 물질의 구조적 변화를 유도한다. 상기 변화로 인하여 유효성분의 함량이 증가하거나 흡수율이 개선되고, 새로운 기능성분의 생성된다. 이러한 생물전환 기술은 항생제, 스테로이드를 포함한 의약품 및 의약품 원료 물질의 생산뿐만 아니라 아미노산, 비타민 등의 유용 물질의 생산에 널리 이용되고 있다.
- [0040] 본 발명의 일 실시예에서는, 상기 아스퍼질러스 오리제 LGYM4 균주가 메이저 진세노사이드를 마이너 진세노사이드로 생물전환하는 효과가 있음을 확인하였는 바, 상기 아스퍼질러스 오리제 LGYM4 균주는 메이저 진세노사이드를 생물전환하여 총 진세노사이드 중 마이너 진세노사이드 함량을 증가시켜 생리활성을 높일 수 있음을 확인하였으며, 특히 마이너 진세노사이드 중에서도 생리활성이 높은 특정 마이너 진세노사이드((R)형 진세노사이드 Rg3) 함량을 선택적으로 증가시킬 수 있음을 확인하였다(실시예 3).
- [0042] 본 발명의 다른 하나의 양태는 상기 균주 또는 이의 발효물을 포함하는 홍삼 발효물을 제공한다.
- [0043] 본 발명의 목적상, 상기 균주는 신규한 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주를 의미한다.
- [0044] 본 발명에서 용어 "발효"는 미생물이 자신이 가지고 있는 효소를 이용하여 유기물을 분해시키는 과정 중 부패반응이 아닌 것을 의미한다. 발효 반응과 부패 반응은 비슷한 과정에 의해 진행되지만, 분해 결과 유용한 물질이 만들어지면 발효라 하고 악취가 나거나 유해한 물질이 만들어지면 부패라고 한다.
- [0045] 본 발명에서, 용어 “발효물”은 발효된 물질 자체뿐만 아니라, 균주 및 배양물이 공존하는 균주의 배양 배지, 상기 배양 배지로부터 균주를 여과시킨 발효물, 상기 배양 배지로부터 균주를 멸균처리하고 이를 여과시킨 발효물, 상기 발효물 또는 이를 포함하는 배양 배지를 추출한 추출물, 상기 발효물 또는 이의 추출물을 희석시킨 희석액, 상기 발효물 또는 이의 추출물을 건조시킨 건조물, 상기 균주의 균체를 포집해서 파쇄시킨 용해물 등, 상기 균주로부터 발생한 발효물을 포함하는 모든 종류의 물질을 포함한다. 뿐만 아니라, 상기 발효물을 포함하는 모든 종류의 물질에 더하여, 상기 발효물을 포함하는 모든 종류의 물질의 희석액, 이들의 농축액, 이들의 조정제물, 정제물 등을 모두 포함한다.
- [0046] 본 발명에서, 용어 “농축액” “배양액” 및 “파쇄물”의 경우, 미생물이 유기 화합물을 분해한 결과로 제조되는 것이므로 상기 발효물로 혼용할 수 있다.
- [0047] 본 발명에서, 용어 “홍삼 발효물”은 홍삼 발효물, 홍삼 발효물의 농축액 또는 홍삼 농축액의 발효물 등을 모두 포함한다.
- [0048] 구체적으로, 본 발명에서, 상기 홍삼 발효물은 i) 홍삼을 신규한 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주에 의해 발효한 발효물, ii) 홍삼의 추출물, 홍삼의 추출물의 농축액, 또는 홍삼을 포함하는 조성물에 신규한 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주를 접종하여 얻어진 생성물, iii) 상기 ii)의 발효물 또는 iv) 상기 i) 내지 iii)의 농축액을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0049] 본 발명에서, 상기 균주로부터 발효물을 수득하는 방법은 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술분야 또는 유사 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 수득할 수 있다.
- [0050] 본 발명에서, 발효물을 수득하기 위한 발효 공정은 균주의 에너지원인 당에 상기 분리된 균주를 처리하여 발효시킴으로써 수득하는 것일 수 있으나, 상기 발효 공정의 온도, 발효 시간 등은 특별히 제한되지 아니하며, 발효

전구체 물질, 발효 조건, 발효물로부터 얻고자 하는 물질의 종류 등에 따라 다양하게 선택될 수 있다.

- [0051] 예를 들어, 20℃ 내지 40℃, 구체적으로는 30℃ 내지 40℃, 보다 구체적으로는 약 37℃내외의 온도에서 수행될 수 있다. 또한, 예를 들어, 1일 내지 10일동안, 구체적으로는 1일 내지 5일동안, 더욱 구체적으로는 약 2일 내외의 기간동안 발효시킬 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0053] 본 발명에서 상기 홍삼 발효물은 (R)형 진세노사이드 Rg3 함량이 증가된 것일 수 있고, 구체적으로, 발효 전에 비하여, (R)형 진세노사이드 Rg3 함량을 (S)형 진세노사이드 Rg3 함량으로 나눈 값이 증가된 것일 수 있다. 구체적으로, 본 발명에서 “(R)형 진세노사이드 Rg3/(S)형 진세노사이드 Rg3 값”은 진세노사이드 Rg3의 두 가지 이성질체인 (R)형과 (S)형의 함량 비율을 수치로 나타낸 값을 의미하는 것이며, “R/S 값”으로 표현될 수 있다. 예를 들어, 발효 전에 비하여 상기 R/S 값이 증가하는 경우, (S)형에 비해 (R)형이 선택적으로 증가되었음을 의미하는 것이다.
- [0054] 본 발명에서, “(R)형 진세노사이드 Rg3 함량이 증가된”이란 (R)형 진세노사이드 Rg3의 함량이 발효를 거치지 않은 홍삼을 포함하는 조성물에 비해 증가된다는 것을 의미한다.
- [0055] 본 발명의 일 실시예에서는, 신규 아스피질러스 오리제 LGYM4 균주를 이용하여 (R)형 진세노사이드 Rg3 함량 및 (R)형 진세노사이드 Rg3/(S)형 진세노사이드 Rg3 값이 선택적으로 증가한 홍삼 발효물을 제조할 수 있음을 확인하였다(실시예 3).
- [0057] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 홍삼 발효물을 포함하는 식품 조성물을 제공한다.
- [0058] 상기 홍삼 발효물은 전술한 바와 같다.
- [0059] 본 발명의 용어 "식품"은 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합체, 건강 기능 식품 및 건강 식품 등이 있으며, 통상적인 의미의 식품을 모두 포함한다.
- [0060] 상기 건강기능식품이란, 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조·가공한 식품을 말한다. 여기서 "기능(성)"이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조 가능하며, 상기 제조시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 식품의 제형 또한 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품용 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고, 휴대성이 뛰어나, 본 발명의 식품은 면역증진 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.
- [0061] 상기 건강 식품(health food)은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품(health supplement food)는 건강보조 목적의 식품을 의미한다. 경우에 따라, 건강 기능 식품, 건강 식품, 건강보조식품의 용어는 혼용된다.
- [0062] 구체적으로, 상기 건강 기능 식품은 상기 홍삼 발효물을 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 복용 시 발생할 수 있는 부작용이 없는 장점이 있다.
- [0063] 본 발명의 식품 조성물은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 면역증진 효과를 기대할 수 있어 매우 유용하다.
- [0064] 상기 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 아니하며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다.
- [0065] 또한, 상기 조성물은 식품 조성물에 통상 사용되어 냄새, 맛, 시각 등을 향상시킬 수 있는 추가 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비타민 A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, 니아신(niacin), 비오틴(biotin), 폴레이트(folate), 판토텐산(panthotenic acid) 등을 포함할 수 있다. 또한, 아연(Zn), 철(Fe), 칼슘(Ca), 크롬(Cr),

마그네슘(Mg), 망간(Mn), 구리(Cu), 크롬(Cr) 등의 미네랄을 포함할 수 있다. 또한, 라이신, 트립토판, 시스테인, 발린 등의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0066] 또한, 상기 조성물은 방부제(소르빈산 칼륨, 벤조산나트륨, 살리실산, 데히드로초산나트륨 등), 살균제(표백분과 고도 표백분, 차아염소산나트륨 등), 산화방지제(부틸히드록시아니졸(BHA), 부틸히드록시톨류엔(BHT) 등), 착색제(타르색소 등), 발색제(아질산 나트륨, 아초산 나트륨 등), 표백제(아황산나트륨), 조미료(MSG 글루타민산나트륨 등), 감미료(돌신, 사이클레메이트, 사카린, 나트륨 등), 향료(바닐린, 락톤류 등), 팽창제(명반, D-주석산수소칼륨 등), 강화제, 유화제, 증점제(호료), 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품첨가물(food additives)을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절한 양으로 사용될 수 있다.

[0067] 상기 홍삼 발효물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적절하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명의 식품 조성물은 식품 또는 음료에 대하여 50 중량부 이하, 구체적으로 20 중량부 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 함량을 포함할 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0068] 본 발명의 식품 조성물의 일 예로 건강음료 조성물로 사용될 수 있으며, 이 경우 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드; 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 mL 당 일반적으로 약 2 ~ 10 g, 구체적으로는 약 4 ~ 8 g 이다.

[0069] 상기 외에 건강음료 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산, 펙트산의 염, 알긴산, 알긴산의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올 또는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 천연 과일주스, 과일주스 음료, 또는 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부당 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0070] 본 발명의 식품 조성물에서, 상기 홍삼 발효물은 상기 식품 조성물의 전체 중량을 기준으로 0.001 내지 90%, 구체적으로는 0.01 내지 30%, 보다 구체적으로는 0.05 내지 10%, 더욱 구체적으로는 0.05 내지 0.15%로 함유될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0072] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 홍삼 발효물을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.

[0073] 상기 홍삼 발효물은 전술한 바와 같다.

[0074] 본 발명의 화장료 조성물에서, 상기 홍삼 발효물은 상기 화장료 조성물의 전체 중량을 기준으로 0.001 내지 90%, 구체적으로는 0.01 내지 30%, 보다 구체적으로는 0.05 내지 10%, 더욱 구체적으로는 0.05 내지 0.15%로 함유될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0075] 본 발명의 상기 화장료 조성물은 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 향수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 로션, 파우더, 비누, 계면 활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취 및 스프레이로 구성되는 군에서 선택되는 제형일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0076] 본 발명의 상기 화장료 조성물은 일반 피부 화장료에 배합되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 추가로 포함할 수 있으며, 통상의 성분으로 예를 들면 유분, 물, 계면 활성제, 보습제, 저급 알코올, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제, 향료 등을 적절히 배합할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0077] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체는 상기 화장료 조성물의 제형에 따라 다양하다.

[0078] 본 발명의 화장료 제형이 연고, 페이스트, 크림, 또는 젤인 경우에는, 담체 성분으로서 동물성 유, 식물성 유,

왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화 아연 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

- [0079] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제 등이 이용될 수 있으며, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일 등이 이용될 수 있고, 특히, 목화씨 오일, 땅콩 오일, 옥수수 배종 오일, 올리브 오일, 피마자 오일 및 참깨 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 이용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 사용될 수 있다.
- [0080] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 예특실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타하이드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0081] 본 발명의 제형이 비누인 경우에는, 담체 성분으로서 지방산의 알칼리 금속염, 지방산 헤미에스테르 염, 지방산 단백질 히드롤리제이트, 이세티오네이트, 라놀린 유도체, 지방족 알코올, 식물성 유, 글리세롤, 당 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0082] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는, 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실케이트, 폴리아미드 파우더 또는 이들의 조성물이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진제를 포함할 수 있다.
- [0083] 한편, 본 발명에 기재된 모든 성분이 바람직하게는 화장품 안전기준 등에 관한 규정 및 중국 '화장품 안전·기술 규범'에서 규정한 최대 사용치를 초과하지 않는 범위 내에서 본 발명의 조성물에 포함될 수 있다.
- [0085] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 홍삼 발효물을 포함하는 의약외품 조성물을 제공한다.
- [0086] 상기 홍삼 발효물은 전술한 바와 같다.
- [0087] 본 발명에서 용어 "의약외품"은 마디 클렌저, 소독 청결제, 세정제, 주방용 세정제, 청소용 세정제, 치약, 가글제, 물티슈, 세제, 비누, 핸드워시, 헤어 세정제, 헤어 유연제, 가습기 충전제, 마스크, 연고제 및 필터 충전제로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0088] 본 발명의 의약외품 조성물에는 상기 성분 외에 필요에 따라 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더욱 포함할 수 있다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제는 본 발명의 효과를 해하지 않는 한 제한되지 않으며, 예를 들어 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제, 윤활제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다.
- [0089] 본 발명의 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제의 대표적인 예로는, 락토스, 텍스트로스, 슈크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 말티톨, 전분, 젤라틴, 글리세린, 아카시아 고무, 알지네이트, 칼슘포스페이트, 칼슘카보네이트, 칼슘실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 광물유, 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 식물성 오일, 주사가능한 에스테르, 위캡슐, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우리지 등을 들 수 있다.
- [0090] 본 발명의 홍삼 발효물을 의약외품으로 사용하는 경우, 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- [0091] 본 발명의 의약외품 조성물은 당업계에 공지된 당업계에 공지된 유효성분을 추가로 포함할 수 있다. 추가 성분은 전체 조성물 중량에 대하여 0.0001 중량% 내지 10 중량%로 포함될 수 있을 것이며, 상기 함량 범위는 본 발명의 홍삼 발효물의 제형화 시의 용이성 등의 요건에 따라 조절될 수 있을 것이다.
- [0092] 의약외품의 제제화 방법, 용량, 이용방법, 구성성분 등은 기술분야에 공지된 통상의 기술로부터 적절히 선택될 수 있다.

- [0094] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 홍삼 발효물을 포함하는 약학 조성물을 제공한다.
- [0095] 상기 홍삼 발효물은 전술한 바와 같다.
- [0096] 본 발명의 약학 조성물은 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 약학으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있고, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occurring carrier)를 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- [0097] 또한, 상기 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제, 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 경피흡수제, 젤제, 로션제, 연고제, 크림제, 첩부제, 카타플라스마제, 페이스트제, 스프레이, 피부 유흥액, 피부 현탁액, 경피 전달성 패치, 약물 함유 봉대 또는 좌제의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다.
- [0098] 구체적으로, 제형화할 경우 통상 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제 등도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 첨가하여 조제될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 좌제를 포함한다. 비수성 용제 및 현탁제로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 에틸올레이트와 같은 주사가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 워텡솔, 마크로콜, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0099] 본 발명의 약학 조성물에서, 상기 홍삼 발효물은 상기 약학 조성물의 전체 중량을 기준으로 0.001 내지 90%, 구체적으로는 0.01 내지 30%, 보다 구체적으로는 0.05 내지 10%, 더욱 구체적으로는 0.05 내지 0.15% 로 함유될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0100] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있다. 상기 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학 적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 예를 들면, 상기 약학 조성물은 1일 0.01 내지 500 mg/kg으로, 구체적으로 10 내지 100 mg/kg의 용량으로 투여할 수 있으며, 상기 투여는 하루에 한 번 또는 수회 나누어 투여할 수도 있다.
- [0101] 상기 약학 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0102] 또한, 상기 약학 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [0104] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 홍삼을 포함하는 조성물에 상기 균주를 접종하여 발효하는 단계를 포함하는 홍삼 발효물의 제조방법을 제공한다.
- [0105] 구체적으로 본 발명에서, 상기 발효하는 단계는 홍삼을 포함하는 조성물에 균주 배양액을 첨가한 후 발효하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 다양한 형태로 가공된 모든 홍삼, 산삼, 인삼, 수삼, 백삼, 홍미삼, 미삼, 산양삼, 장뇌삼, 미삼, 원삼 및 태극삼 등에 적용될 수 있다.

- [0106] 본 발명에서 용어 "인삼"은 식물 분류학상 미나리목 오가피나무과에 속하는 음지성 여러해살이풀로서, 홍삼을 만들기 위한 처리를 하지 않은 인삼을 "수삼"이라고 한다. 상기 인삼은 산삼, 수삼, 백삼, 홍미삼, 미삼, 산양삼, 장뇌삼, 미삼, 원삼 및 태극삼 등을 모두 포함하는 가장 넓은 개념이다. 상기 인삼은 홍삼과 비교하여 진세노사이드 Rg3의 함량이 낮은 특징이 있다.
- [0107] 보다 구체적으로, 본 발명의 제조방법은 본 발명의 신규한 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주를 상기 홍삼을 포함하는 조성물에 첨가하는 단계를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0108] 상기 발효하는 단계의 온도, 발효 시간 등은 특별히 제한되지 아니하며, 발효 전구체 물질, 발효 조건, 발효물로부터 얻고자 하는 물질의 종류 등에 따라 다양하게 선택될 수 있다.
- [0109] 예를 들어, 20℃ 내지 40℃, 구체적으로는 30℃ 내지 40℃, 보다 구체적으로는 약 37℃내외의 온도에서 수행될 수 있다. 또한, 예를 들어, 1일 내지 10일동안, 구체적으로는 1일 내지 5일동안, 더욱 구체적으로는 약 2일 내외의 기간동안 발효시킬 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0110] 본 발명의 제조방법은 제조된 홍삼 발효물을 여과하는 단계를 추가 포함하는 것일 수 있다.
- [0111] 또한, 본 발명의 제조방법은 농축하는 단계를 추가 포함하는 것일 수 있다.
- [0112] 본 발명에서 상기 여과 방법 및 농축 방법은 특별히 제한되지 아니하며, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [0114] 본 발명에서 상기 제조된 홍삼 발효물은 발효 전 홍삼을 포함하는 조성물보다 (R)형 진세노사이드 Rg3 함량이 증가된 것일 수 있고, 구체적으로, (R)형 진세노사이드 Rg3/(S)형 진세노사이드 Rg3 값이 증가된 것일 수 있다.
- [0115] 본 발명에서, "(R)형 진세노사이드 Rg3 함량이 증가된"이란 (R)형 진세노사이드 Rg3의 함량이 발효를 거치지 않은 홍삼을 포함하는 조성물에 비해 증가된다는 것을 의미한다.
- [0116] 본 발명의 일 실시예에서는, 신규 아스퍼질러스 오리제 LGYM4 균주를 이용하여 (R)형 진세노사이드 Rg3 함량 및 (R)형 진세노사이드 Rg3/(S)형 진세노사이드 Rg3 값이 선택적으로 증가한 홍삼 발효물을 제조할 수 있음을 확인하였다(실시예 3).
- [0118] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 제조방법에 따라 제조된 홍삼 발효물을 제공한다.
- [0119] 상기 제조방법, 홍삼 발효물은 전술한 바와 같다.
- [0121] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 제조된 홍삼 발효물을 포함하는 식품 조성물을 제공한다.
- [0122] 상기 식품 조성물, 홍삼 발효물 및 이의 제조방법은 전술한 바와 같다.
- [0124] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 제조된 홍삼 발효물을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.
- [0125] 상기 화장료 조성물, 홍삼 발효물 및 이의 제조방법은 전술한 바와 같다.
- [0127] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 제조된 홍삼 발효물을 포함하는 의약품 조성물을 제공한다.
- [0128] 상기 의약품 조성물, 홍삼 발효물 및 이의 제조방법은 전술한 바와 같다.
- [0130] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는 상기 제조된 홍삼 발효물을 포함하는 약학 조성물을 제공한다.
- [0131] 상기 약학 조성물, 홍삼 발효물 및 이의 제조방법은 전술한 바와 같다.

발명의 효과

- [0133] 본 발명의 신규 균주는 메이저 진세노사이드를 생물전환하여 총 진세노사이드 중 마이너 진세노사이드 함량을 증가시켜 생리활성을 높일 수 있으며, 특히 마이너 진세노사이드 중에서도 생리활성이 높은 특정 마이너 진세노사이드((R)형 진세노사이드 Rg3) 함량을 선택적으로 증가시킬 수 있는 우수한 효능이 있다.
- [0134] 또한, 본 발명의 홍삼 발효물의 제조방법은 상기 균주를 이용하여 (R)형 진세노사이드 Rg3 함량 및 (R)형 진세노사이드 Rg3/(S)형 진세노사이드 Rg3 값이 선택적으로 증가한 홍삼 발효물을 제조할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0136] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되는 것은 아니다.

[0138] 실시예 1: 신규 균주 발굴

- [0140] 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) 균주 중 메이저 진세노사이드를 생물전환하여 (R)형 진세노사이드 Rg3 함량을 선택적으로 증가시킬 수 있는 균주를 선별하였다.

- [0141] 구체적으로, 약누룩에서 미생물을 동정하여 24종의 균주를 확인한 후 분리하였다. 분리된 균주 24종 중에서 식품에 사용 가능한 균주로 다시 5종(YM4, BS1, BS2, BS4, BS5)을 선별하였고, 이들이 (R)형 진세노사이드 Rg3의 함량을 선택적으로 증가시킬 수 있는지를 평가하였다. 보다 구체적으로, 선별된 5종의 균주 각각을 PDB 액체배지에서 180rpm, 30℃의 환경 하에서 1일간 배양하였다. 이어서, 40%(W/V) 홍삼배지(홍삼농축액 400g + PBS total 1L)에 1:10 ratio로 1일간 계대배양하였다. 홍삼배지에 사용한 홍삼농축액은 ㈜대동고려삼에서 구입하였다. 이어서 180rpm, 30℃의 환경 하에서 2일간 배양한 뒤 water bath에서 90℃, 1h incubation을 통해 멸균하였다. 멸균 후 마이크로필터를 이용하여 여과하고 LC/Q-TOF를 통해 진세노사이드 함량을 정량하였다. 그 결과는 하기 표1에 나타내었다.

표 1

[0143]

구분	Ginsenoside content (mg/g)																		
	Rb1	Rb2	Rc	Rb3	Re	Rd	Ro	Rg1	Rg2 (S)	Rg2 (R)	Rg6	Rg3 (S)	Rg3 (R)	Rk1	Rg5	F4	Rh1 (S)	Rh1 (R)	Rh4
발효 전	18.95	15.75	8.8	7.9	5.525	3.8	2.625	3.625	1.8	0.6	0.7	2.325	1.15	1.7	4	1.525	0.775	0.45	0.8
YM4	17.95	1.5	8.55	7.725	4.8	3.65	2.225	3.15	1.875	0.7	0.75	2.525	2.1	1.75	3.975	1.575	0.825	0.525	0.875
BS1	18.325	1.525	8.5	7.675	5.15	3.85	2.3	3.25	1.85	0.675	0.725	2.5	1.25	1.75	3.95	1.6	0.825	0.5	0.85
BS2	17.9	1.375	8.35	7.475	4.85	3.775	2.275	3.15	1.875	0.675	0.7	2.425	1.225	1.75	3.85	1.575	0.85	0.525	0.825
BS4	18.175	1.5	8.475	7.65	5.05	3.8	2.475	3.275	1.85	0.675	0.7	2.45	1.25	1.7	3.75	1.575	0.825	0.5	0.825
BS5	16.85	1.4	7.925	7.2	4.675	3.55	1.725	3	1.725	0.6	0.675	2.275	1.125	1.575	3.55	1.425	0.775	0.475	0.775

- [0145] 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 다른 균들에 비해 YM4로 발효한 홍삼배지의 경우 (R)형 진세노사이드 Rg3 함량이 월등히 높았으며, 발효 전에 비해서는 82%가 증가하였음을 확인하여, (R)형 진세노사이드 Rg3 함량을 선택적으로 증가시킬 수 있는 우수한 효능을 가진 균주로 선별하였다.

[0147] 상기 선별된 YM4 균주의 하기 ITS 서열을 NCBI blast 분석한 결과, 기존 균주들과의 일치도가 97.69% 내지 99.82%의 동일성을 가지므로, 상기 분리된 균주는 기존 균주들과 상이한 균주임을 확인하였다.

[0149] LGYM4 균주의 ITS 서열(서열번호 1):
 ATTGATATGCTTAAGTTCAGCGGGTATCCCTACCTGATCCGAGGTCAACCTGGAAAAAGATTGATTTGCGTTCGGCAAGCGCCGGCCGGCCTACAGAGCGG
 GTGACAAAGCCCCATACGCTCGAGGATCGGACGCGGTGCCGCCGCTGCCTTTGGGGCCCGTCCCCCGGAGAGGGGACGACGACCAACACACAAGCCGTG
 CTTGATGGGCAGCAATGACGCTCGGACAGGCATGCCCCCGGAATACCAGGGGGCGCAATGTGCGTTCAAGACTCGATGATTCACGGAATCTGCAATTCA
 CACTAGTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCGGAACCAAGAGATCCATTGTTGAAAGTTTTAACTGATTGCGATAACAATCACTCAGACTTCAC
 TAGATCAGACAGAGTTTCGTGGTGTCTCCGGCGGGCGGGCCCGGGGCTGAGAGCCCCGGCGGCCATGAATGGCGGGCCCGCGAAGCAACTAAGGTACAG
 TAAACACGGGTGGGAGGTTGGGCTCGCTAGGAACCTACACTCGGTAATG

[0151] 또한, 공지 균주에 해당하는, 아스퍼질러스 오리제 균주(NCBI GenBank accession number: NR_135395.1)와 유전자 서열을 비교한 결과, 99.82%의 일치도를 나타내므로, 실시예 1에서 발굴한 균주는 상기 공지 균주와 다른 신규한 균주임을 다시 한번 확인하였다.

[0152] 상기 신규 균주(YM4)는 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 로 명명하였으며, 부다페스트 조약 하의 국제기탁기관인 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)에 국제 기탁하여, 2021년 4월 12일 자로 기탁번호 KCTC 14533BP 를 부여 받았다.

[0154] **실시예 2: 홍삼 발효물의 제조**

[0156] **[비교예]**

[0157] 발효조에 홍삼 추출물 4kg과 정제수 4kg을 투입한 후 용해하여 약 25 Brix를 만든 후 121℃에서 30분간 멸균하여 발효되지 않은 홍삼 추출물을 제조하였고, 비교예로서 사용하였다.

[0159] **[실시예]**

[0160] 통밀분말 3%, 효모추출물 0.3%, 일인산칼륨 0.1%, 황산마그네슘 0.05% 의 배지를 121℃에서 30분간 멸균한 다음 상기 실시예 1에서 선별한 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) LGYM4 균주를 접종하여 160 rpm, 37℃의 환경 하에서 2일간 배양하여 seed culture를 제조하였다.

[0161] 한편, 발효조에 홍삼 추출물 4kg과 정제수 4kg을 투입한 후 용해하여 약 25 Brix를 만든 후 121℃에서 30분간 멸균하여 실험구를 제조하였다.

[0162] 멸균 후 발효조를 37℃로 냉각시키고 상기 seed culture 1.2L를 상기 실험구에 접종하여 37℃, 150rpm, 0.5vvm, 0.6bar의 환경 하에서 1일간 배양하여 홍삼 발효물을 제조하였다.

[0163] 이어서, 이를 다시 95℃에서 1시간 살균한 후, 규조토를 이용한 여과를 통해 불순물이 제거된 여과된 발효액을 수득하였다.

[0164] 이어서, 규조토에 흡착된 진세노사이드의 회수를 위해 액량대비 50% (v/v)의 95% 주정을 투입하여 세척하여, 흡착된 진세노사이드가 포함된 주정을 수득하였다.

[0165] 이어서, 상기 여과된 발효액 및 상기 흡착된 진세노사이드가 포함된 주정(2:1)을 혼합하여 67 Brix 이상이 되도록 농축한 후, 95℃에서 1시간 열처리를 통해 살균하여 홍삼 발효물의 농축액을 제조하였다.

[0167] **실시예 3: 홍삼 발효물의 진세노사이드 분석**

[0169] 상기 실시예 2에서 제조한 홍삼 발효물에 함유된 진세노사이드 성분의 함량을 측정하기 위해, 고성능액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC, Agilent)를 이용하였다. 그 결과는 하기 표 2에 나타내었다. 홍삼 추출물, 홍삼 발효물, 홍삼 발효물의 농축액 각각의 진세노사이드의 농도는 고형분 72% 기준 대비로 환산하였을 때의 값으로 계산하여, 동일 농도(birx) 수준에서 비교하였다.

표 2

	홍삼 추출물	홍삼 발효물	홍삼 발효물의 농축액
Rg3(S) (mg/g)	2.97	11.43	11.60
Rg3(R) (mg/g)	1.79	8.81	8.72
비율(R/S)	60.27%	77.08%	75.17%

[0173] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 홍삼 발효물의 진세노사이드 분석 결과, (R)형 진세노사이드 Rg3의 함량은 8.81 mg/g이었으며, 이는 발효 전 홍삼 추출물 대비 492%로 증가된 함량임을 확인하였다. 또한 진세노사이드 Rg3의 두 가지 이성질체인 (R)형과 (S)형 함량 비율을 보았을 때, R/S 값의 경우, 발효 전 홍삼 추출물은 60.27%였으나, 홍삼 발효물은 77.08%로 (S)형에 비해 (R)형이 선택적으로 증가되었음을 확인하였다.

[0174] 또한, 홍삼 발효물의 농축액의 진세노사이드 분석 결과, (R)형 진세노사이드 Rg3의 함량은 8.72 mg/g이었으며, 이는 발효 전 홍삼 추출물 대비 487%로 증가된 함량임을 확인하였다. 또한 진세노사이드 Rg3의 두 가지 이성질체인 (R)형과 (S)형 함량 비율을 보았을 때, R/S 값의 경우, 발효 전 홍삼 추출물은 60.27%였으나, 홍삼 발효물의 농축액은 75.17%로 (S)형에 비해 (R)형이 선택적으로 증가되었음을 확인하였다.

[0175] 이를 통해 본 발명의 신규 균주는 메이저 진세노사이드를 생물전환하여 총 진세노사이드 중 마이너 진세노사이드 함량을 증가시켜 생리활성을 높일 수 있고, 특히 마이너 진세노사이드 중에서도 생리활성이 높은 특정 마이너 진세노사이드((R)형 진세노사이드 Rg3) 함량을 선택적으로 증가시킬 수 있는 우수한 효능이 있음을 확인하였으며, 이에, 본 발명의 신규 균주를 이용한 홍삼 발효물 제조 방법을 이용하여 (R)형 진세노사이드 Rg3 함량 및 (R)형 진세노사이드 Rg3/(S)형 진세노사이드 Rg3 값이 선택적으로 증가한 홍삼 발효물을 제조할 수 있음을 확인하였다.

[0177] 이상의 설명으로부터, 본 출원이 속하는 기술분야의 당업자는 본 출원이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 출원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위, 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 출원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

수탁번호

[0179] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)
 수탁번호 : KCTC14533BP
 수탁일자 : 20210412

서열 목록

- <110> LG HOUSEHOLD & HEALTH CARE LTD.
- <120> Novel Aspergillus oryzae strain and use thereof
- <130> KPA211004-KR
- <160> 1
- <170> KopatentIn 2.0
- <210> 1
- <211> 560
- <212> DNA
- <213> Unknown

<220><223> Aspergillus oryzae LGYM4

<400> 1

attgatatgc ttaagttcag cgggiatccc tacctgatcc gaggtcaacc tggaaaaaga	60
ttgatttgcg ttcggcaagc gccggccggg cctacagagc gggtgacaaa gcccatacgc	120
ctcgaggatc ggacgcggtg ccgccgctgc ctttggggcc cgtccccccc ggagagggga	180
cgacgacca acacacaagc cgtgcttgat gggcagcaat gacgctcgga caggcatgcc	240
ccccggaata ccagggggcg caatgtgcgt tcaaagactc gatgattcac ggaattctgc	300
aattcacact agttatcgca tttcgtcgcg ttcttcatcg atgccggaac caagagatcc	360
attgttgaaa gttttaactg attgcgatac aatcaactca gacttcaacta gatcagacag	420
agttcgtggt gtctccggcg ggcgcgggccc cggggctgag agcccccggc ggccatgaat	480
ggcgggcccc ccgaagcaac taaggtacag taaacacggg tgggaggttg ggctcgctag	540
gaacctaca ctcgtaatg	560