



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년09월26일  
(11) 등록번호 10-2582772  
(24) 등록일자 2023년09월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A23L 29/00 (2016.01) A23L 19/00 (2022.01)  
A23L 19/10 (2016.01) C12N 1/20 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A23L 29/065 (2016.08)  
A23L 19/01 (2016.08)  
(21) 출원번호 10-2022-0115343  
(22) 출원일자 2022년09월14일  
심사청구일자 2022년09월14일  
(56) 선행기술조사문헌  
KR1020160013731 A\*  
KR1020210060864 A\*  
KR101331171 B1  
KR1020110104621 A  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
경상북도(농업기술원)  
대구광역시 북구 칠곡중앙대로136길 47 (동호동)  
(72) 발명자  
최양애  
경상북도 안동시 송현길 23, 안동송현이안  
109-1003  
허민순  
대구광역시 북구 매전로4길 31, 205-1601  
(74) 대리인  
특허법인 태웅

전체 청구항 수 : 총 6 항

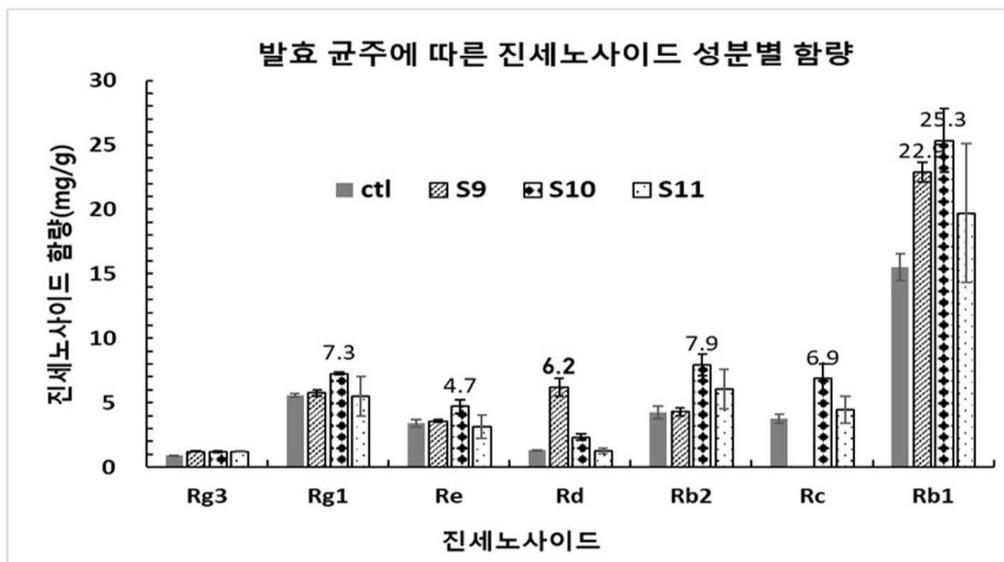
심사관 : 김영립

(54) 발명의 명칭 **진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조 방법**

(57) 요약

본 발명은 바실러스 속(*Bacillus sp*) 미생물로 인삼을 발효시킴에 의해 진세노사이드 Rg1, Re, Rd, Rb2, Rc, Rb1 및/또는 Rg2 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조 방법을 개시한다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

*A23L 19/10* (2016.08)

*C12N 1/20* (2021.05)

*A23V 2002/00* (2023.08)

*A23V 2250/2124* (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395075917
과제번호	PJ016969012022
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	지역농업연구기반및전략작목육성
연구과제명	인삼 시설 재배 안정생산기술 확립 및 활용 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경상북도농업기술원 풍기인삼연구소
연구기간	2022.04.01 ~ 2024.12.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

(a) 인삼 뿌리 분쇄물이나 그 추출물이 포함된 배지를 준비하는 단계, 및 (b) 이 배지에 바실러스 속(*Bacillus sp*) S9 균주(기탁번호 KCTC 13945BP) 또는 바실러스 속(*Bacillus sp*) S10 균주(기탁번호 KACC 92429P)를 접종하여 배양하는 단계를 포함하는 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조 방법으로서,

상기 균주는 인삼 추출물 함유 배지에서 배양된 균주이고,

상기 진세노사이드는 Rb1인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 배양은 30~35℃에서 1주 내지 10주 동안 진탕배양하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 3

(a) 인삼 뿌리 분쇄물이나 그 추출물이 포함된 배지를 준비하는 단계, 및 (b) 이 배지에 바실러스 속 S9 균주(기탁번호 KCTC 13945BP)를 접종하여 배양한 다음, 이후 바실러스 속 S10 균주(기탁번호 KACC 92429P)의 접종하여 배양하는 단계를 포함하는 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조 방법으로서,

상기 균주는 인삼 추출물 함유 배지에서 배양된 균주이고,

상기 진세노사이드 Rg2 또는 Rd인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 4

제3항에 있어서,

상기 배양은 30~35℃에서 1주 내지 10주 동안 진탕배양하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 5

(a) 인삼 뿌리 분쇄물이나 그 추출물이 포함된 배지를 준비하는 단계, 및 (b) 이 배지에 바실러스 속 S11 균주(기탁번호 KCTC13946BP)를 접종하여 배양한 다음, 이후 바실러스 속 S10 균주(기탁번호 KACC 92429P)의 접종하여 배양하는 단계를 포함하는 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조 방법으로서,

상기 균주는 인삼 추출물 함유 배지에서 배양된 균주이고,

상기 진세노사이드 Rg2 또는 Rd인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 6

제5항에 있어서,

상기 배양은 30~35℃에서 1주 내지 10주 동안 진탕배양하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 진세노사이드 함량이 증가된 인삼(인삼 뿌리임, Ginseng radix) 발효물의 제조 방법에 관한 것이다.

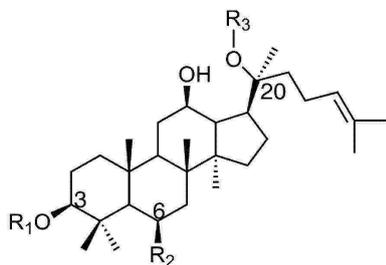
배경 기술

[0003] 인삼은 다년생 초본으로 세계적으로 6-7종이 알려져 있으며, 현재 한국산 고려인삼(*Panax ginseng* C.A. MEYER), 미국산 광동인삼(*Panax quinquefolium* L.), 중국산 삼칠인삼(*Panax notoginseng*) 및 일본산 죽절인삼(*Panax japonicus* C.A. MEYER) 등이 약재로 사용되고 있다. 그 뿌리(Ginseng radix)는 가공법에 따라 백삼(Ginseng Radix alba)과 홍삼(Ginseng Radix Rubra)로 나뉘어지는데, 백삼은 수삼(생인삼)을 햇볕 자연건조 등의 방법으로 익히지 않고 말린 것이며 홍삼은 수삼의 뿌리를 수증기 등으로 증숙시켜 말린 것으로 담황갈색 또는 적갈색을 띤다. 백삼과 다른 홍삼 특유의 색은 홍삼을 증숙할 때 열처리에 의해 인삼 전분이 호화(gelatinization)되고 아미노-카보닐반응(amino carbonyl reaction)에 의해 내용 조직색이 변하기 때문이다.

[0004] 이러한 인삼은 중국, 한국, 일본 등의 동아시아 국가에서 약 2천년 전부터 약재나 건강 증진의 보약재로 폭넓게 사용되어 왔다. 이러한 인삼의 주요 활성 성분인 사포닌(ginsenoside)는 면역증진, 항염증 작용, 항알러지 작용, 항암 효과, 발기부전에 대한 효과, 혈압 강하 작용, 항콜레스테롤 작용, 항혈전 작용, 항당뇨 효과, 성인병 및 노화에 대한 예방 및 치료효과가 있음이 보고되어 있다(J. Immunol., 148:1519-25, 1992; Lee FC., Facts about ginseng, the elixir of life. Hollyn International. New Jersey, 1992; Huang KC., The pharmacology of Chinese herbs. CRC Press. Florida, 1999; Chang HM., Pharmacology and application of Chinese material medica. Vol1. World Scientific. Singapore, 1986; Biol. Pharm. Bull. 17:635-9, 1994; Biol. Pharm. Bull. 18:1197-1202, 1995).

[0005] 이처럼 인삼에서 생리활성을 나타내는 주요성분은 사포닌인데, 인삼 사포닌은 트리테르페노이드 계열의 담마란(dammarane) 골격에 포도당, 아라비노오스, 자일로오스, 람노오스 등이 결합한 비스테스모사이드의 중성 배당체이다. 이들을 column chromatography에 의한 극성 순서에 따라 Ginsenoside Rx라고 명명한다. 현재까지 40여 종이 넘는 진세노사이드가 분리·동정되었으며, 이러한 진세노사이드는 PPD(Protopanaxadiol) 계열 및 PPT(Protopanaxatriol) 계열로 나누어지는데, 그 기본적인 화학 구조식은 아래의 [화학식 1]과 같다. PPD 계열의 사포닌은 아래 [표 1]에서 볼 수 있듯이 R<sub>2</sub>가 수소(H)로 PPD가 기본 구조이며 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rg3, Rc, Rd, F2, 화합물 Y, 화합물 K 등이 여기에 속하고, PPT 계열의 사포닌은 R<sub>1</sub>이 수소(H)로 PPT가 기본 구조이며 진세노사이드 Re, Rf, Rg1, Rh1 등이 여기에 속한다.

[0006] [화학식 1]



[0007]

표 1

Ginsenoside	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<i>Protopanaxatriol</i>			
Rg <sub>1</sub>	H	-O- <i>glc</i>	<i>glc</i>
Rg <sub>2</sub>	H	-O- <i>glc(2-1)rha</i>	H
Re	H	-O- <i>glc(2-1)rha</i>	<i>glc</i>
Rf	H	-O- <i>glc(2-1)glc</i>	H
Rh <sub>1</sub>	H	-O- <i>glc</i>	H
F1	H	-OH	<i>glc</i>
<i>Protopanaxadiol</i>			
Rb <sub>1</sub>	<i>glc(2-1)glc</i>	H	<i>glc(6-1)glc</i>
Rb <sub>2</sub>	<i>glc(2-1)glc</i>	H	<i>glc(6-1)ara(p)</i>
Rg <sub>3</sub>	<i>glc(2-1)glc</i>	H	H
Rh <sub>2</sub>	<i>glc</i>	H	H
Rc	<i>glc(2-1)glc</i>	H	<i>glc(6-1)ara(f)</i>
Rd	<i>glc(2-1)glc</i>	H	<i>glc</i>
Ra	<i>glc(2-1)glc</i>	H	<i>glc(6-1)glc</i>
F2	<i>glc</i>	H	<i>glc</i>
Compound Y	H	H	<i>glc(6-1)ara(p)</i>
Compound K	H	H	<i>glc</i>
Compound O	<i>glc</i>	H	<i>glc(6-1)ara(p)</i>
Compound Mc	<i>glc</i>	H	<i>glc(6-1)ara(f)</i>

[0008]

[0009]

본 발명은 진세노사이드 Rg<sub>1</sub>, Re, Rd, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rb<sub>1</sub> 및/또는 Rg<sub>2</sub> 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조 방법을 개시한다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0011]

본 발명의 목적은 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조 방법을 제공하는 데 있다.

[0012]

본 발명의 다른 목적이나 구체적인 목적은 이하에서 제시될 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0014]

본 발명자들은 아래의 실시예에서 확인되는 바와 같이 인삼(이하 인삼이라 표현된 것은 특별히 달리 언급이 없는 한 인삼 뿌리(Ginseng radix)를 의미함) 분말을 바실러스 속(*Bacillus* sp.) 미생물로 단독 발효시킬 경우 진세노사이드 총 함량이 증가하고, 2중 균주로 순차 발효할 경우 진세노사이드 Rg<sub>2</sub>, Rg<sub>1</sub>, Rd 및 Rb<sub>1</sub> 함량이 증가함을 확인하였다.

[0015]

본 발명은 이러한 실험 결과에 기초하여 제공되는 것으로, 본 발명은 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조 방법에 관한 것으로, 본 발명의 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조 방법은 (a) 인삼 분쇄물이나 그 추출물이 포함된 배지를 준비하는 단계, 및 (b) 이 배지에 바실러스 속(*Bacillus* sp) 미생물을 접종하여 배양하는 단계를 포함하여 구성된다. 여기서 진세노사이드는 아래의 실시예를 참조할 때 Rg<sub>1</sub>, Re, Rd, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rb<sub>1</sub> 및/또는 Rg<sub>2</sub>를 의미한다.

[0016]

본 발명에서, 인삼 분쇄물은 채취 후 말리지 아니한 인삼(수삼)의 분쇄물이나 말린 인삼(백삼) 또는 증숙된 인삼(홍삼) 분쇄물일 수 있다. 분쇄물은 입도가 작은 분말이나 입도가 큰 세절물 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

[0017]

또 본 발명에서, 인삼 추출물은 추출 대상인 인삼 뿌리를 물이나 유기 용매 또는 이들의 혼합용매로 침출시켜 얻어진 것을 말한다. 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 저급 알콜(메탄올, 에탄올, 부탄올 등), 메틸렌클로라이드, 에틸렌, 아세톤, 헥산, 에테르, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, N,N-디메틸포름아미드(DMF), 디

메틸설폭사이드(DMSO), 1,3-부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 등을 말하며 바람직하게는 에탄올이다. 추출 방법으로는 냉침, 환류, 가온, 초음파 방사, 초임계 추출 등 임의의 방법이 적용될 수 있다. 추출 후에는 여과나 원심분리, 일정 시간 정치 등을 통해 추출 잔사(추후 후의 고형물)를 제거한 것이 바람직할 수 있다. 특히 본 발명에서 인삼 추출물은 열수(60~90℃) 추출 후 추출 잔사를 제거하고 추출 잔사가 제거된 상등액에 에탄올을 가하여 일정 시간(20~240분) 반응시킨 후 원심분리하여 얻어진 상등액인 것이 바람직하다. 에탄올을 가하여 반응시켜 원심분리할 경우 그 상등액에 존재하는, 진세노사이드 이외의 당 성분이 제거됨으로써 원심분리 후의 상등액에 진세노사이드 농도를 높일 수 있게 된다.

- [0018] 본 발명에서, 인삼 분쇄물이나 추출물이 포함된 배지는 인삼 분쇄물이나 추출물에 물(정제수나 증류수)을 적량, 바람직하게는 인삼 분쇄물이나 추출물에 2~4배 중량으로 첨가하여 준비할 수 있다.
- [0019] 상기 배지는 접종되는 바실러스 속 미생물의 원활한 성장과 증식을 위하여 적정 pH로 조정될 수 있는데, 예컨대 pH 6.0 내지 pH 7.5 범위로 조정될 수 있다.
- [0020] 또 상기 배지에는 접종되는 바실러스 속 미생물의 성장과 증식을 촉진 또는 보조하기 위하여 당업계에 공지된 탄소원, 질소원 및/또는 미량원소가 추가될 수 있다.
- [0021] 탄소원은 바람직하게는 단당류, 이당류 또는 다당류와 같은 당이다. 예컨대 글루코오스, 프럭토오스, 만노오스, 갈락토오스, 리보오스, 소르보오스, 리블로오스, 락토오스, 말토오스, 수크로오스, 라피노오스, 전분, 전분 가수분해물 등이 사용할 수 있다. 당밀이나 당 정제 과정의 부산물 등 복합 화합물이 또한 사용될 수 있다. 경우에 따라서는 대두유, 해바라기유 등 오일이나 아세트산 등의 유기산, 글리세롤 등이 탄소원으로서 유리할 수 있다. 이들 탄소원은 단독으로 또는 2종 이상의 혼합물로 상기 배지에 포함될 수 있으며, 단독으로 배지에 포함되든, 2종 이상의 혼합물로 배지에 포함되든 0.1%(w/w) 내지 20%(w/w)의 범위로 배지에 포함될 수 있다.
- [0022] 질소원으로는 통상적으로 무기 질소 화합물, 유기 질소 화합물 또는 이들 화합물들을 포함하는 복합 화합물일 수 있다. 예컨대 무기 질소 화합물로서는 암모니아, 암모늄염(예컨대, 암모늄 술페이트, 암모늄 클로라이드, 암모늄 포스페이트, 암모늄 카르보네이트, 암모늄 니트레이트 등), 니트레이트 등을 들 수 있고, 유기 질소 화합물로서는 우레아, 아미노산 등을 들 수 있으며, 복합 화합물로서는 효모 추출물(yeast extract), 소이톤(soytone), 펩톤(peptone), 트립톤(tryptone), 맥아 추출물(malt extract), 육즙, 콩 분말, 콩 비지 분말, 청국장 분말, 된장 분말 등의 천연 질소원 등을 들 수 있다. 이들 질소원도 1종 이상 혼합하여 사용될 수 있으며, 배지에 0.1%(w/w) 내지 8.0%(w/w)의 범위로 포함될 수 있다. 천연 질소원을 사용할 경우 천연 탄소원을 사용할 경우와 관련하여 설명한 바와 동일한 이유에서 멸균하여 사용하는 것이 바람직하다.
- [0023] 미량원소로서는 칼슘, 마그네슘, 나트륨, 코발트, 몰리브덴, 칼륨, 망간, 아연, 구리, 철, 인, 황 등을 포함하며 이들 미량원소는 염 화합물 형태로 배지에 첨가될 수 있으며, 이들 미량 원소의 배지에서 용해도를 높이고 용액 상태를 유지하기 위해 킬레이트제 예컨대 카테콜, 시트르산 등이 함께 첨가될 수 있다. 상기 염 화합물 형태로서는 인산수소나트륨, 황산마그네슘, 염화철, 칼슘염, 망간염, 코발트염, 몰리브덴산염, 킬레이트금속염 등을 들 수 있다. 이들 미량원소는 1종 이상 혼합하여 사용될 수 있으며, 0.001%(w/w) 내지 3.0%(w/w)의 범위로 배지에 포함될 수 있다.
- [0024] 또한 상기 배지는 선택적으로 비오틴, 리보플라빈, 티아민, 폴산, 니코틴산, 판토텐네이트, 피리독신 등의 성장 촉진제를 포함하여 조제될 수 있다.
- [0025] 기타 배지 조성의 최적화와 관련하여서는 문헌(Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach (Editors P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) pp. 53-73, ISBN 0 19 963577 3)을 포함하여 당업계에 많은 문헌이 공지되어 있으며, 이들 공지된 문헌을 참조할 수 있다.
- [0026] 또 본 발명에서, 바실러스 속 미생물은 임의의 바실러스 속(*Bacillus* sp.) 미생물이 사용될 수 있다. 구체적으로 그러한 미생물로서는 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 바실러스 속 미생물로서는 바실러스 섭틸리스(*B. subtilis*), 바실러스 리크네포르미스(*B. lichneformis*), 바실러스 메가테리움(*B. megaterium*), 바실러스 아밀로리퀘파시엔스(*B. amyloliquefaciens*), 바실러스 나토(*B. natto*) 등이 대표적이며, 이외에도 바실러스 안스라시스(*B. anthracis*), 바실러스렌투스(*B. lentus*), 바실러스 퍼미러스(*B. pumilus*), 바실러스 더링지엔시스(*B. thuringiensis*), 바실러스 알베이(*B. alvei*), 바실러스 아조토폭시안스(*B. azotofixans*), 바실러스 매세란스(*B. macerans*), 바실러스 폴리믹사(*B. polymyxa*), 바실러스 파필리에(*B. popilliae*), 바실러스 코아글란스(*B. coagulans*), 바실러스 스테아로더모필러스(*B. stearothermophilus*), 바실러스 파스퇴리(*B. pasteurii*), 바실러스 페리커스(*B. sphaericus*), 바실러스 페스티디오서스(*B. fastidiosus*) 등을 들 수 있다. 바람직하게는 아래의

실시예에서 사용된 바실러스 속(*Bacillus* sp.) S9 균주(기탁번호 KCTC 13945BP), S10 균주(기탁번호 KACC 92429P) 또는 바실러스 속 S11 균주(기탁번호 KCTC13946BP)일 수 있다.

- [0027] 이러한 바실러스 속 미생물은 인삼 발효에 순화되도록 인삼 추출물이 포함된 배지에 접종하고 1일~3일 정도 배양하여 순화시켜 사용하는 것이 바람직할 수 있다. 여기서 인삼 추출물은 물이나 열수(50~80℃) 추출물일 수 있으며, 추출 과정에서 진세노사이드가 보다 높은 수율로 추출되도록 하기 위해 초음파 처리 등이 수행될 수 있다. 인삼 추출물함유 배지는 인삼 추출물을 분말상으로 제조하고 여기에 물을 가하여 제조하거나 인삼 분쇄물에 물을 가하여 추출하고 그 추출액을 여과하여 여과액을 취하거나 방치하여 상등액을 취하여 준비할 수 있다.
- [0028] 이들 균주 중 바실러스 속 S9 균주는 한국 공개특허 제2021-0060864호(공개일: 2021.05.27)에 개시된 바와 같이 *Stenotrophomonas* sp. S7 균주와 혼합으로 기탁번호 KCTC 13945BP로 기탁되어 있는데, 이 혼합 균주를 35℃ 온도에서 R2A 아가 배지(R2A agar)에서 배양하면 바실러스 속(*Bacillus* sp.) S9 균주만을 분리, 배양하여 이용할 수 있다.
- [0029] 상기 바실러스 속 미생물이 접종된 후에는 25~45℃의 온도, 특히 30~35℃에서 1일 이상, 바람직하게는 1주 내지 10주, 특히 4주 내지 8주 동안 동안 진탕배양하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0030] 본 발명에서, 인삼 분말이나 추출물이 포함된 배지는 타 미생물에 의한 의도하지 않은 발효를 방지하기 위해서 멸균하여 사용하는 것이 바람직하다. 멸균은 고온·고압 멸균법, 자외선 조사 등 당업계에서 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다.
- [0031] 또 본 발명에서, 진세노사이드 Rg2, Rg1, Rd 및/또는 Rb1 함량이 특히 높은 인삼 발효물을 제조하기 위하여, 바실러스 속 S9 균주, 바실러스 속 S10 균주 또는 바실러스 속 S11 균주의 순차 접종과 배양이 바람직할 수 있다. 여기서 순차 접종과 배양은 구체적으로 바실러스 속 S9 균주의 접종과 배양 후 바실러스 속 S10 균주의 접종과 배양이거나 바실러스 속 S11 균주의 접종과 배양 후 바실러스 속 S10 균주의 접종과 배양일 수 있다. 이때 순차의 각 배양은 1일 이상, 바람직하게는 1주 내지 8주, 특히 2주 내지 4주일 수 있다. 아래의 실시예는 바실러스 속 S10 균주를 바실러스 속 S9 균주나 바실러스 속 S11 균주와 순차 배양할 경우 비발효에 비해 또 각 균주의 단독 배양이나 바실러스 속 S10 균주의 2차례 접종과 배양의 경우보다 진세노사이드 Rg2, Rg1, Rd 및/또는 Rb1 함량이 특히 높은 인삼 발효물을 제조할 수 있음을 보여준다. 아래의 실시예에서 결과로 제시되지 않았지만 순차 배양이 아닌 단순 혼합 배양(바실러스 속 S9 균주와 바실러스 속 S10 균주 또는 바실러스 속 S11 균주와 바실러스 속 S10 균주를 한 차례 접종, 배양)의 경우 진세노사이드 Rg2, Rg1, Rd 및/또는 Rb1 함량이 높아지지 않았다.
- [0032] 한편 본 발명의 제조방법에 의하여 얻어진 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물은 여러 생리활성을 가짐이 알려져 있으므로, 이를 약학적 조성물, 건강기능식품, 기능성 화장품 등으로 제품화할 수 있다. 구체적으로 상기 약학적 조성물, 건강기능식품, 기능성 화장품은 이들 진세노사이드 성분들이 가지는 면역증진, 피로개선, 뼈 건강 증진, 항당뇨, 항고혈압, 항고지혈증, 심혈관질환 치료 또는 예방, 아토피성 피부염 개선, 항비만, 원기회복, 피부 주름 개선, 피부 미백 등 당업계에 공지된 용도 또는 기능성을 가질 수 있다.
- [0033] 본 발명의 제조방법에 의하여 얻어진 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물은 약학적 조성물로 제품화되어 이용될 경우 그 약학적 조성물은 그 인삼 발효물 이외에 억제학적으로 허용되는 담체를 포함하여 당업계에 공지된 통상의 방법으로 투여 경로에 따라 경구용 제형 또는 비경구용 제형으로 제조될 수 있다. 여기서 투여 경로는 국소 경로, 경구 경로, 정맥 내 경로, 근육 내 경로, 및 점막 조직을 통한 직접 흡수를 포함하는 임의의 적절한 경로일 수 있으며, 두 가지 이상의 경로를 조합하여 사용할 수도 있다. 두 가지 이상 경로의 조합의 예는 투여 경로에 따른 두 가지 이상의 제형의 약물이 조합된 경우로서 예컨대 1차로 어느 한 약물은 정맥 내 경로로 투여하고 2차로 다른 약물은 국소 경로로 투여하는 경우이다.
- [0034] 약학적으로 허용되는 담체는 투여 경로나 제형에 따라 당업계에 주지되어 있으며, 구체적으로는 "대한민국약전"을 포함한 각국의 약전을 참조할 수 있다.
- [0035] 본 발명의 억제학적 조성물이 경구용 제형으로 제조될 경우, 적합한 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 현탁액, 웨이퍼 등의 제형으로 제조될 수 있다. 이때 적합한 담체의 예로서는 락토스, 글루코스, 슈크로스, 텍스트로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨 등의 당류, 옥수수 전분, 감자 전분, 밀 전분 등의 전분류, 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸셀룰로오스 등의 셀룰로오스류, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 마그네슘 스테아레이트, 광물유, 맥아, 젤라틴, 탈크, 폴리올, 식물

성유, 에탄올, 그리세롤 등을 들 수 있다. 제제화할 경우 필요에 따라적절한 결합제, 운할제, 봉해제, 착색제, 희석제 등을 포함시킬 수 있다. 적절한 결합제로서는 전분, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분페리스트, 젤라틴, 메틸셀룰로스, 소듐 카복시메틸셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 글루코스, 옥수수 감미제, 소듐 알지네이트, 폴리에틸렌 글리콜, 왁스 등을 들 수 있고, 운할제로서는 올레산나트륨, 스테아르산나트륨, 스테아르산마그네슘, 벤조산나트륨, 초산나트륨, 염화나트륨, 실리카, 탈콧, 스테아르산, 그것의 마그네슘염과 칼슘염, 폴리테틸렌글리콜 등을 들 수 있으며, 봉해제로서는 전분, 메틸 셀룰로스, 아가(agar), 벤토나이트, 잔탄 검, 전분, 알긴산 또는 그것의 소듐 염 등을 들 수 있다. 또 희석제로서는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 소비톨, 셀룰로스, 글라이신 등을 들 수 있다.

[0036] 본 발명의 약제학적 조성물이 비경구용 제형으로 제조될 경우, 적합한 담체와 함께 당업계에 공지된 방법에 따라 주사제, 경피 투여제, 비강 흡입제 및 좌제의 형태로 제제화될 수 있다. 주사제로 제제화할 경우 적합한 담체로서는 수성 등장 용액 또는 현탁액을 사용할 수 있으며, 구체적으로는 트리에탄올 아민이 함유된 PBS(phosphate buffered saline)나 주사용 멸균수, 5% 텍스트로스 같은 등장 용액 등을 사용할 수 있다. 경피 투여제로 제제화할 경우 연고제, 크림제, 로션제, 겔제, 외용액제, 파스타제, 리니먼트제, 에어로졸제 등의 형태로 제제화할 수 있다. 비강 흡입제의 경우 디클로로플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 등의 적합한 추진제를 사용하여 에어로졸 스프레이 형태로 제제화할 수 있으며, 좌제로 제제화할 경우 그 담체로는 위텡솔(witepsol), 트윈(tween) 61, 폴리에틸렌글리콜류, 카카오지, 라우린지, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르류, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트류, 소르비탄 지방산 에스테르류 등을 사용할 수 있다.

[0037] 약제학적 조성물의 구체적인 제제화와 관련하여서는 당업계에 공지되어 있으며, 예컨대 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences(19th ed., 1995)] 등을 참조할 수 있다. 상기 문헌은 본 명세서의 일부로서 간주 된다.

[0038] 본 발명의 약제학적 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태, 체중, 성별, 연령, 환자의 중증도, 투여 경로에 따라 1일 0.001mg/kg ~ 10g/kg 범위, 바람직하게는 0.001mg/kg ~ 1g/kg 범위일 수 있다. 투여는 1일 1회 또는 수회로 나누어 이루어질 수 있다. 이러한 투여량은 어떠한 측면으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 아니 된다.

[0039] 다른 측면에서 본 발명의 제조방법에 의하여 얻어진 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물이 건강기능식품 조성물로 제품화되어 이용될 경우 그 식품 조성물은 어떠한 형태로도 제조될 수 있으며, 예컨대 차, 주스, 탄산음료, 이온음료 등의 음료류, 우유, 요구르트 등의 가공 유류, 껌류, 떡, 한과, 빵, 과자, 면 등의 식품류, 정제, 캡슐, 환, 과립, 액상, 분말, 편상, 페이스트상, 시럽, 겔, 젤리, 바 등의 건강기능식품 제제류 등으로 제조될 수 있다.

[0040] 또 본 발명의 식품 조성물은 법률상·기능상의 구분에 있어서 제조·유통 시점의 시행 법규에 부합하는 한 임의의 제품 구분을 떨 수 있다. 예컨대 한국 「건강기능식품에관한법률」에 따른 건강기능식품이거나, 한국 「식품위생법」의 식품공전(식약처 고시 「식품의 기준 및 규격」)상 각 식품유형에 따른 과자류, 두류, 다류, 음료류, 특수용도식품 등일 수 있다.

[0041] 본 발명의 식품 조성물에는 그 발효액 이외에 식품첨가물이 포함될 수 있다. 식품첨가물은 일반적으로 식품을 제조, 가공 또는 보존함에 있어 식품에 첨가되어 혼합되거나 침윤되는 물질로서 이해될 수 있는데, 식품과 함께 매일 그리고 장기간 섭취되므로 그 안전성이 보장되어야 한다. 식품의 제조·유통을 규율하는 각국 법률(한국에서는 「식품위생법」임)에 따른 식품첨가물공전에는 안전성이 보장된 식품첨가물이 성분 면에서 또는 기능 면에서 한정적으로 규정되어 있다. 한국 식품첨가물공전(식약처 고시 「식품첨가물 기준 및 규격」)에서는 식품첨가물이 성분 면에서 화학적 합성품, 천연 첨가물 및 혼합 제제류로 구분되어 규정되어 있는데, 이러한 식품첨가물은 기능 면에 있어서는 감미제, 풍미제, 보존제, 유향제, 산미료, 점증제 등으로 구분된다.

[0042] 감미제는 식품에 적당한 단맛을 부여하기 위하여 사용되는 것으로, 천연의 것이거나 합성된 것 모두 본 발명의 조성물에 사용할 수 있다. 바람직하게는 천연 감미제를 사용하는 경우인데, 천연 감미제로서는 옥수수 시럽 고형물, 꿀, 수크로오스, 프룩토오스, 락토오스, 말토오스 등의 당 감미제를 들 수 있다.

[0043] 풍미제는 맛이나 향을 좋게 하기 위하여 사용될 수 있는데, 천연의 것과 합성된 것 모두 사용될 수 있다. 바람직하게는 천연의 것을 사용하는 경우이다. 천연의 것을 사용할 경우에 풍미 이외에 영양 강화의 목적도 병행할 수 있다. 천연 풍미제로서는 사과, 레몬, 감귤, 포도, 딸기, 복숭아 등에서 얻어진 것이거나 녹차잎, 둥굴레,

대잎, 계피, 국화 잎, 자스민 등에서 얻어진 것일 수 있다. 또 인삼(홍삼), 죽순, 알로에 베라, 은행 등에서 얻어진 것을 사용할 수 있다. 천연 풍미제는 액상의 농축액이나 고형상의 추출물일 수 있다. 경우에 따라서 합성 풍미제가 사용될 수 있는데, 합성 풍미제는 에스테르, 알콜, 알데하이드, 테르펜 등이 이용될 수 있다.

[0044] 보존제로서는 소듐 소르브산칼슘, 소르브산나트륨, 소르브산칼륨, 벤조산칼슘, 벤조산나트륨, 벤조산칼륨, EDTA(에틸렌디아민테트라아세트산) 등이 사용될 수 있고, 또 유화제로서는 아카시아검, 카르복시메틸셀룰로스, 잔탄검, 펙틴 등을 들 수 있으며, 산미료로서는 연산, 말산, 푸마르산, 아디프산, 인산, 글루콘산, 타르타르산, 아스코르브산, 아세트산, 인산 등이 사용될 수 있다. 산미료는 맛을 증진시키는 목적 이외에 미생물의 증식을 억제할 목적으로 식품 조성물이 적정 산도로 되도록 첨가될 수 있다.

[0045] 점증제로서는 현탁화 구현제, 칩강제, 겔형성제, 팽화제 등이 사용될 수 있다.

[0046] 본 발명의 식품 조성물은 전술한 바의 식품첨가물 이외에, 기능성과 영양성을 보충, 보강할 목적으로 당업계에 공지되고 식품첨가물로서 안정성이 보장된 생리활성 물질이나 미네랄류를 포함할 수 있다.

[0047] 그러한 생리활성 물질로서는 녹차 등에 포함된 카테킨류, 비타민 B1, 비타민 C, 비타민 E, 비타민 B12 등의 비타민류, 토코페롤, 디벤조일티아민 등을 들 수 있으며, 미네랄류로서는 구연산 칼슘 등의 칼슘 제제, 스테아린 산마그네슘 등의 마그네슘 제제, 구연산철 등의 철 제제, 염화 크롬, 요오드칼륨, 셀레늄, 게르마늄, 바나듐, 아연 등을 들 수 있다.

[0048] 본 발명의 식품 조성물에는 전술한 바의 식품첨가물이 제품 유형에 따라 그 첨가 목적을 달성할 수 있는 적량으로 포함될 수 있다.

[0049] 본 발명의 식품 조성물에 포함될 수 있는 기타의 식품첨가물과 관련하여서는 각국 식품공전이나 식품첨가물 공전을 참조할 수 있다.

[0050] 또 다른 측면에서 본 발명의 제조방법에 의하여 얻어진 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물이 기능성 화장품 조성물로 제품화되어 이용될 경우 그 화장품 조성물은 그 발효액 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들, 예컨대, 안정화제, 용해화제, 계면활성제, 비타민, 색소 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 및 담체를 포함할 수 있다.

[0051] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 진분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0052] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0053] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되는데, 구체적으로 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0054] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 등이 이용될 수 있다.

[0055] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0056] 본 발명의 화장품 조성물은 본 발명의 제조방법에 의하여 얻어진 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물을 포함하는 것을 제외하고는 당업계에 통상적으로 행하여지는 화장품 조성물의 제조방법에 따라 제조할 수 있다.

**발명의 효과**

[0058] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따르면, 인삼로부터 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물을 제조할 수 있는

방법을 제공할 수 있다. 이러한 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물은 건강기능식품, 의약품 등에 유용하게 이용될 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0060] 도 1은 단독 균주에 의한 인삼 발효물의 HPLC 크로마토그램이고, 도 2는 단독 균주에 의한 인삼 발효물의 진세노사이드 총 함량 측정 결과이며, 도 3은 단독 균주에 의한 인삼 발효물의 진세노사이드 성분별 함량의 측정 결과이다.

도 4는 2종 균주의 순차 배양에 의한 인삼 발효물의 진세노사이드 성분별 함량의 측정 결과이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0061] 이하 본 발명을 실시예를 참조하여 설명한다. 그러나 본 발명의 범위가 이러한 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0063] <실시예> 진세노사이드 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조

[0064] <실시예 1> 진세노사이드 총 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조

[0065] 1. 접종 균주 준비

[0066] 접종 균주의 준비를 위하여, 먼저 R2A 한천배지(R-2A Agar, millipore 17209-500G)에, 바실러스 속 S9 균주 (*Bacillus sp.* S9 균주, KCTC13945BP), 바실러스 속 S10 균주(*Bacillus sp.* S10, KACC 92429P), 및 바실러스 속 S11 균주(*Bacillus sp.* S11, KCTC13946BP) 각각을 접종하여 콜로니가 뚜렷하게 보일 때까지 12시간 정도 배양하였다. 이후 10%(w/v) 인삼 추출물 함유 배지 1mL에 상기 R2A 배지에서 준비한 각 균주를 접종하고 30℃에서 24시간 이상 진탕배양(80rpm)하여 접종 균주를 준비하였다. 10%(w/v) 인삼 추출물 함유 배지는 불밀을 통해 얻은 인삼 분말 10g을 90ml의 증류수에 현탁한 후 50℃에서 30분간 초음파 처리하여 추출한 후 4℃에서 하룻밤 방치하여 상등액을 회수하고 그 상등액을 원심분리(8000rpm/30min)하여 상정액을 회수한 다음 멸균(121° C, 15분)하여 준비한 것이다.

[0067] 2. 진세노사이드 총 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조

[0068] 인삼 뿌리(수삼)의 건조 분말에 2배 중량의 증류수를 첨가하고 멸균(121° C, 15분)한 다음, 상기 균주 배양액인 멸균 상정액 0.2ml을 접종하고 30~35℃에서 8주간 배양하였다.

[0069] 3. 인삼 발효물의 진세노사이드 함량 측정

[0070] 상기 인삼 발효물의 진세노사이드(ginsenoside) 성분별 함량은 김금숙 등의 방법(Korean J. Medicinal Crop Sci. 24(1):47-54, 2016)에 따라 분석하였다. HPLC의 분석에는, 시료를 300ul을 1.2ml 메탄올과 혼합하고 초음파 추출하여 원심분리한 다음 상정액 1ml을 취하였다. 이를 고상추출기(SPE)를 이용하여 진세노사이드를 부분 정제한 것을 사용하였고 기기는 Agilent 1100 series HPLC system (Agilent Technologies, USA)를 사용하였으며, 진세노사이드 표준품은 엠보연구소로부터 구입한 것을 사용하였다.

[0071] 4. 인삼 발효물의 진세노사이드 함량 측정 결과

[0072] 인삼 발효물의 HPLC 크로마토그램을 도 1에 나타내었고, 진세노사이드 총 함량 측정 결과를 도 2에 나타내었으며, 진세노사이드 성분별 함량을 도 3에 나타내었다.

[0073] 도 1 내지 도 3을 참조하여 보면, 진세노사이드 총 함량이 S9 균주, S10 균주 및 S11 균주 발효에 의해 모두 비발효 대조군(ct1)에 비해 증가하였음을 알 수 있으며, 특히 S10 균주 발효에 의해 뚜렷하게 증가하였음을 알 수 있다. 또한 인삼 분말, 추출물 또는 발효물을 기능성 원료로 활용한 기능성 식품에 있어서 진세노사이드 Rg1과 Rb1이 지표성분으로 활용되는데(식품의약품안전처 고시 제2022-25호 「건강기능식품 기준 및 규격」 2-1 인삼 참조), 이러한 지표성분의 함량도 대조군에 비해 모두 증가하였으며, 특히 S10 균주 발효에 의해 뚜렷하게 증가하였다. 지표성분의 증가는 건강기능식품 개발에 있어 원료 표준화에 유리하고 원료 사용량을 절감할 수 있음을 의미한다.

[0074] <실시예 2> 진세노사이드 Rg2, Rg1, Rd 및 Rb1 함량이 증가된 인삼 발효물의 제조

[0075] 상기 실시예 1과 동일하게 인삼 발효물을 제조하고 김금숙 등의 방법에 따라 진세노사이드 함량을 측정하되, 다만 인삼 발효물의 제조에는 2종의 균주를 순차적으로 사용하였다. 구체적으로 (i) S9 균주 접종(균주 배양액인

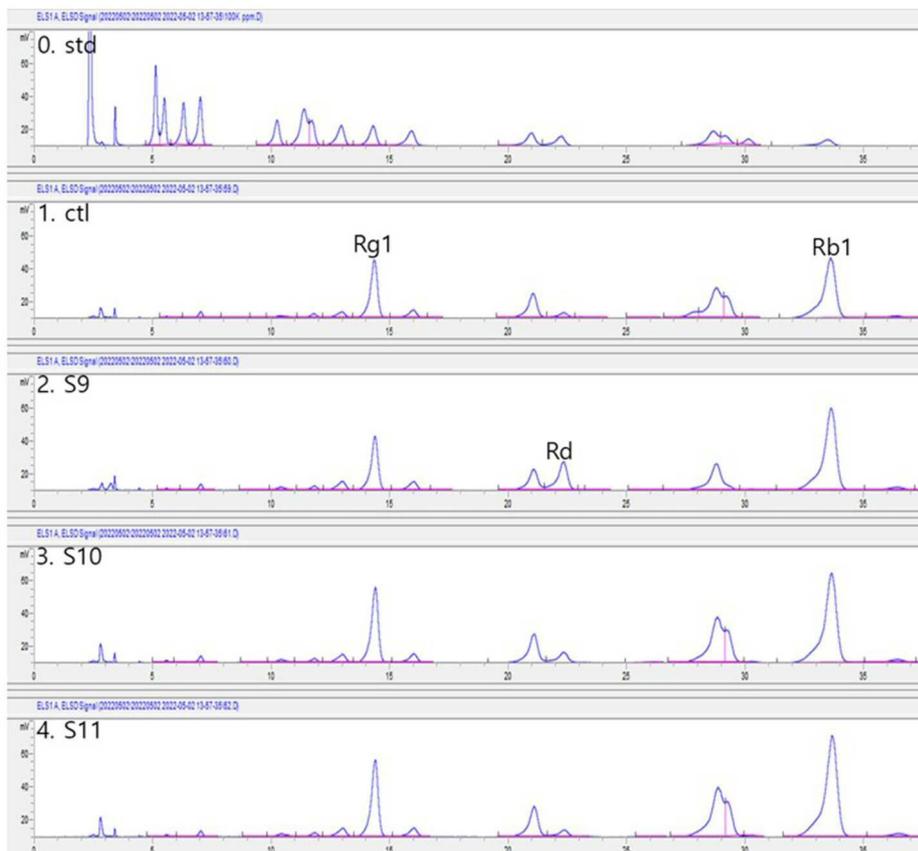
멸균 상징액 0.2ml을 접종함) 후 4주간 배양하고 이 배양물에 멸균 없이 S10 균주를 추가로 접종(균주 배양액인 멸균 상징액 0.2ml을 접종함)하고 4주간 더 배양하여 인삼 발효물(S9+S10)을 제조하거나, (ii) S11 균주 접종(균주 배양액인 멸균 상징액 0.2ml을 접종함) 후 4주간 배양하고 이 배양물에 멸균 없이 S10 균주를 추가로 접종(균주 배양액인 멸균 상징액 0.2ml을 접종함)하고 4주간 더 배양하여 인삼 발효물(S11+S10)을 제조하였다. 대조군으로는 비발효 대조군(ct1)과, S10 균주 접종(균주 배양액인 멸균 상징액 0.2ml을 접종함) 후 4주간 배양하고 이 배양물에 멸균 없이 다시 S10 균주를 접종(균주 배양액인 멸균 상징액 0.2ml을 접종함)하고 4주간 더 배양하여 얻은 인삼 발효물(S10+S10)을 사용하였다.

[0076]

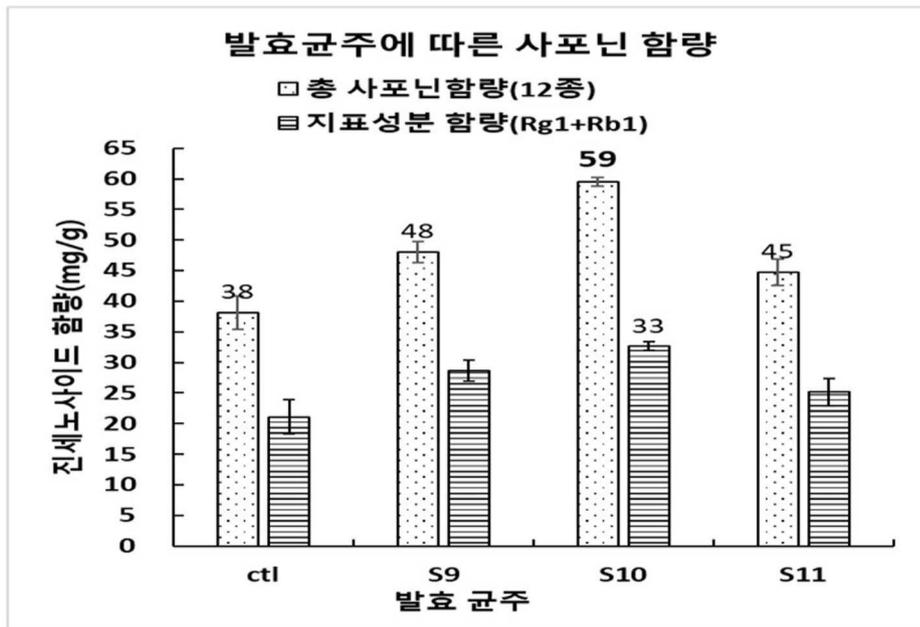
인삼 발효물의 성분별 함량 측정 결과를 도 4에 나타내었다. 도 4를 참조하여 보면, S9+S10 순차 배양한 인삼 발효물과 S11+S10 순차 배양한 인삼 발효물의 경우 진세노사이드 Rg2 및 Rd 함량이 비발효 대조군(ct1)이나 S10+S10에 비해 뚜렷하게 증가하였음을 알 수 있다.

도면

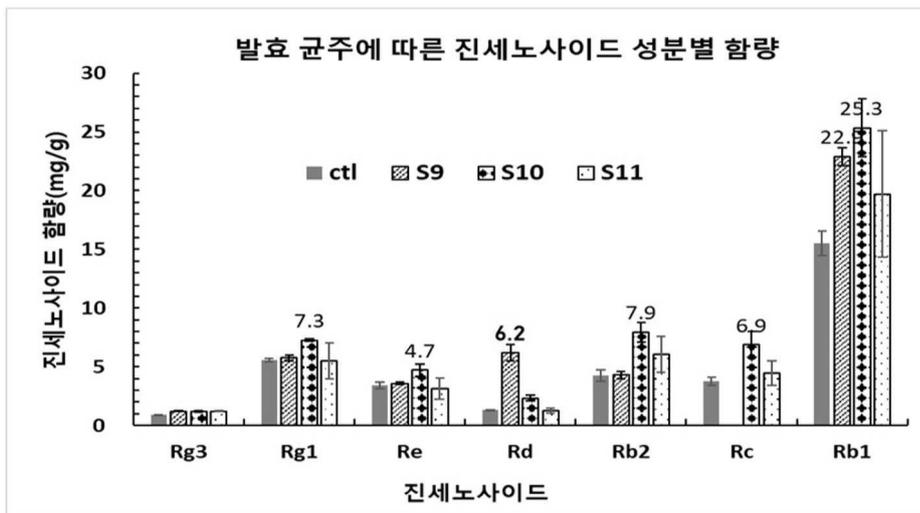
도면1



도면2



도면3



도면4

