



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0131139
(43) 공개일자 2018년12월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 17/40 (2016.01) A23L 33/10 (2016.01)
A23L 5/10 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 17/40 (2016.08)
A23L 33/10 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0067773
(22) 출원일자 2017년05월31일
심사청구일자 2017년05월31일

(71) 출원인
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 신선로 365 (용당동,
부경대학교)
주식회사 한려엔초비
부산광역시 사하구 두송로 277 (구평동)
(72) 발명자
전병수
부산광역시 해운대구 반여로 67, 111동 505호(반
여동, 해운대메가센텀한화꿈에그린아파트)
이상규
부산광역시 사하구 두송로 277(구평동)
(74) 대리인
위병갑

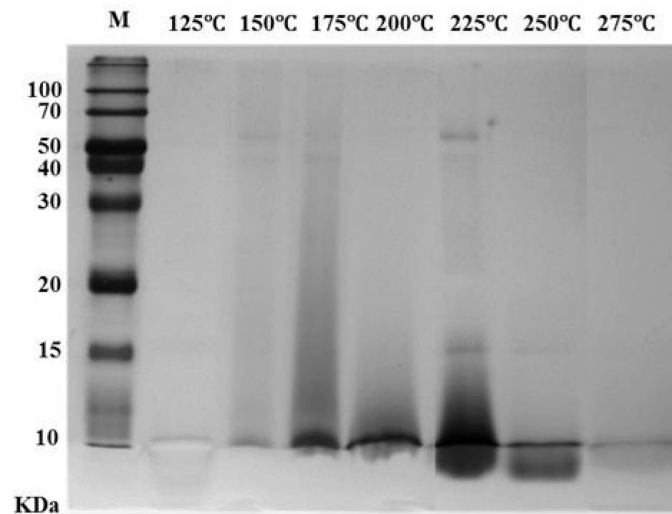
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 고압 열수 추출 공정에 의해 굴 추출물을 제조하는 방법

(57) 요약

본 발명은 고압 열수를 이용하여 굴 추출물을 제조하는 방법에 관한 것으로, 추출 조건을 최적화하여 항고혈압 활성 단백질의 추출 효율 및 시간을 절감하고 대량 추출할 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23L 5/15 (2016.08)

A23L 5/17 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/326 (2013.01)

A23V 2300/14 (2013.01)

A23V 2300/28 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 CD20161048

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 중소기업기술정보진흥원

연구사업명 산학연기술개발사업-연구마을

연구과제명 수산물 유래 고부가성 식품 소재 개발

기 여 율 1/1

주관기관 부경대학교 산학협력단

연구기간 2016.06.01 ~ 2017.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

고압 열수 추출 공정을 이용하여 굴 추출물을 제조하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

물 및 굴을 고압반응기에 투입하는 단계; 및

100 내지 400℃의 온도 및 10 내지 250 bar의 압력 하에서 고압 열수와 굴을 반응시켜 가수분해시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 가수분해시키는 단계는 120 내지 270℃의 온도 및 20 내지 140 bar의 압력 하에서 실시하는 것인 방법.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항의 방법에 의해 제조되는 굴 추출물.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 굴 추출물은 항산화 활성 및 항고혈압 활성을 갖는 것인 굴 추출물.

청구항 6

제 4 항의 굴 추출물을 유효성분으로 포함하는 항고혈압 활성을 갖는 건강기능성 식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 고압 열수 추출 공정을 이용하여 항고혈압 활성을 갖는 굴 추출물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 굴은 전 세계에서 식품 소재로 이용되고 있는 해양생물이다. 이는 다량의 단백질을 함유하고 있으며 지질이 적고 비타민 및 미네랄을 함유할 뿐만 아니라 다당류, 폴리펩타이드, 폴리페놀 및 타우린이 함유되어 있어, 식용 이외에 약재로도 사용되고 있다.

[0003] 단백질은 다량의 펩타이드가 결합되어있는 형태의 거대분자로써, 저분자로 분해된 이후 생리활성을 나타나게 되는데, 이때 저분자량의 가수분해물을 얻기 위한 종래의 방법으로는 산이나 염기를 이용하는 화학적 방법이나 촉매를 이용하는 생물학적 방법이 사용되었다. 하지만, 이러한 종래의 방법들을 통하여 얻어진 물질의 균일성이 떨어지기 때문에 소재의 품질이 저하된다는 문제점이 있다. 아울러, 이들 종래의 공정은 매우 복잡하거나 가혹한 조건에서 진행되기 때문에 공정의 효율성이 저하되고 비효율적이고 비경제적이다.

[0004] 예를 들어, 효소적 방법을 이용한 가수분해는 거대분자의 분해에 특이적으로 작용하기는 하지만, 효소적 방법에서 사용되는 효소는 상당히 고가이기 때문에 경제성이 떨어질 뿐만 아니라, 공정을 완료하는데 장시간이 소요된다는 단점이 있다. 한편, 화학적 분해방법은 경제적이기는 하지만, 격렬한 반응이 요구되며 반응 부산물을 처리할 때 심각한 환경오염을 초래할 수 있고, 특히 기능성 성분으로 활용될 수 있는 생리 활성 성분이 상대적으로

적게 추출되어 회수율이 낮다는 단점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-0904631호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 상기와 같은 문제를 해소하기 위해, 본 발명은 고압 열수 추출 공정을 이용하여 항산화 및 항고혈압 활성을 갖는 굴 추출물을 친환경적이고 경제적으로 제조할 수 있음을 발견함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 고압 열수 추출 공정을 이용하여 굴 추출물을 제조하는 방법을 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 굴 추출물 및 이를 포함하는 항고혈압 활성을 갖는 건강기능성 식품을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본 발명의 고압 열수 추출 공정을 이용한 굴 추출물 제조 방법은 온도, 압력, 용매 등을 최적화하여 굴 추출물을 제조하기 위한 비용 및 시간을 절감하고, 대량화를 가능하게 하여 산업에 적용이 용이하다. 또한, 본 발명의 방법에 의해 제조된 굴 추출물은 고단백 가수분해물로서, 펩톤 화합물 등의 생리활성물질도 함께 포함하고 있어, 질병과 관련된 다양한 생리적 활성을 억제하거나 질병의 억제와 관련된 생리적 활성을 촉진시키는 용도로서 사용될 수 있다. 따라서, 상기 굴 추출물은 질병의 치료 및 예방을 위한 의약품의 원료로 사용될 수 있고, 기능성 화장품 또는 기능성 식품 등의 기능성 성분으로서 첨가될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 고압 열수를 이용하여 굴 추출물을 회수하기 위한 가수분해 반응기를 개략적으로 도시한 개략도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 굴 가수분해물의 저분자량 물질의 함량을 나타낸 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예들을 상세히 설명한다. 이하의 설명에 있어, 당업자에게 주지 저명한 기술에 대해서는 그 상세한 설명을 생략할 수 있다. 또한, 본 발명을 설명함에 있어서, 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다.

[0012] 따라서 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0013] 본 발명은 고압 열수 추출 공정을 이용하여 굴 추출물을 제조하는 방법에 대한 것으로, 상기 방법은 구체적으로 하기 단계를 포함한다:

[0014] 물 및 굴을 고압반응기에 투입하는 단계; 및

[0015] 100 내지 400℃의 온도 및 10 내지 250 bar의 압력 하에서 고압 열수와 굴을 반응시켜 가수분해시키는 단계.

[0016] 상기 고압 열수 추출 공정을 위해 사용되는 고압 반응기는 예를 들어 도 1에 도시된 바와 같다. 상기 고압 반응

기는, 가스 실린더(1), 배압조절기(2), 밸브(3), 교반기(4), 전기 히터(5), 안전밸브(6), 압력 계기판(7), 반응기(8), 온도조절기(9) 및 추출물 포집기(10)를 포함할 수 있다.

- [0017] 가스실린더(1)는 질소 등 고압 기체로 설정할 수 있으며, 배압조절기(2)를 이용하여 반응기 내 압력을 조절할 수 있다. 밸브(3)를 이용하여, 반응기 내 열수의 역류를 방지할 수 있다.
- [0018] 교반기(4)는 반응기 내 고압 열수와 굴을 혼합할 수 있게 하는 요소이고, 전기 히터(5)는 열수의 온도를 상승시킴으로써 고압 열수로 전환시킬 수 있는 열을 부여하는 요소이다.
- [0019] 안전밸브(6)는 반응기 내 온도 및 압력이 기준치 이상일 경우 반응기 내 용액을 방출함으로써 기기의 이상을 방지하며, 압력계기판(7)은 압력을 표시하는 기능을 수행하며, 고압반응기(9)은 유속을 표시하는 기능을 수행한다.
- [0020] 추출물 포집기(10)를 이용하여, 굴로부터 항고혈압 활성을 갖는 단백질이 다량 함유된 가수분해물을 제조할 수 있으며, 상기 가수분해기에 유입되는 고압 열수의 온도 및 압력은 예를 들어, 120 내지 270℃의 온도 및 20 내지 140 bar의 압력 범위 내로 유지할 수 있다.
- [0021] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 우선, 물과 굴을 고압반응기(9)에 넣고, 교반기(4)를 이용해 교반하면서 전기 히터(5)와 배압조절기(2)를 이용하여 물을 고온, 고압의 상태로 전환시킨 후 고압반응기의 온도와 압력을 120 내지 270℃의 온도 및 20 내지 140 bar의 범위 내로 유지시킨다. 고압 열수와 굴을 반응시킨 산물은 설정한 온도에 도달한 5분 내지 10분 후 회수할 수 있다.
- [0022] 본 발명의 방법에서, 고압 열수 추출 공정을 위한 온도 및 압력을 최적화하여 단백질, 당류, 페놀 화합물 등의 생리활성 물질의 함량 역시 증가시킬 수 있다.
- [0023] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 굴은 고압 열수와의 반응면적을 최대화하고 가수분해를 촉진하기 위해 건조 분쇄한 후 사용할 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 굴 추출물을 제공한다.
- [0025] 상기 굴 추출물은 항균 활성, 항산화 활성 및 항고혈압 활성을 갖는 다량의 단백질, 페놀 등의 생리활성물질을 포함하는 가수분해물일 수 있다.
- [0026] 상기 굴 추출물은 항고혈압 활성을 갖는 식품 또는 건강기능식품으로도 사용할 수 있다. 예컨대, 식품의 주원료, 부원료, 식품 첨가제, 기능성 식품 또는 음료로 용이하게 활용할 수 있다.
- [0027] 상기 “식품”이란, 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 식품, 식품 첨가제, 기능성식품 및 음료를 모두 포함하는 것을 말한다.
- [0028] 상기 식품용 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합체, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 빵류, 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스낵류), 캔디류, 초코렛류, 껌류, 아이스크림류, 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과일음료, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등)를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.
- [0029] 또한, 상기 “기능성 식품” 또는 “건강기능성 식품”이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물 공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병방지와 회복 등에 관한 체내조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미하며, 구체적으로는 건강 기능성 식품일 수 있다. 상기 기능성 식품에는 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.
- [0030] 상기 건강보조식품의 종류로는 이에 제한되지는 않으나, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료 형태 일 수 있다.
- [0031] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명하기로 한다. 그러나 이들 실시예들은 본 발명을 구체

적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<실시예>

실시예 1. 고압 열수 추출 방법을 이용한 굴 가수분해물 제조

본 실시예에서 사용된 굴은 경상남도 통영시 용남면에서 채매된 것을 사용하였다. 가수분해에 사용한 물은 일반 증류수였으며, 사용된 모든 시약은 분석 등급 또는 고성능 액상크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC) 등급이었으며, Sigma Aldrich Chemical Co.(St. Louis, USA)에서 구입하였다.

우선, 굴을 고압 반응기에 담은 후 굴의 30배에 해당하는 양의 물을 넣고, 반응기를 밀봉시킨 후 전기히터를 통해 가열하였다. 물의 압력은 온도가 증가함에 따라 20 내지 140 bar 정도로 유지되고, 온도가 설정온도 부근에서 안정화된 5분 후 가수분해물을 수득하였다.

수득된 가수분해물을 전기영동하여 저분자량 물질의 함량을 확인하였다. 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 반응 온도가 높아짐에 따라 저분자량의 물질이 점점 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

실험예 1. 생리활성물질 함량 측정

단백질 함량 측정

2%의 탄산나트륨이 용해된 0.1N의 수산화나트륨 용액 48mL와 1%의 주석산칼륨 나트륨 용액 1mL, 0.5%의 황산동 1mL가 섞인 용액(reagent A)과 2N의 Folin-Phenol과 물이 1:1로 혼합된 용액(reagent B)을 준비하였다. 0.2mL의 굴 가수분해물 및 표준시약을 시험관에 넣고 탈이온수 1mL를 채운 뒤 4.5mL의 reagent A를 넣고 10분간 반응시킨 뒤 0.5mL의 reagent B를 넣고 다시 30분간 반응시켰다. 그리고나서 660nm에서 흡광도를 측정하였다. 회수된 가수분해물 내 단백질 함량 측정은 단백질 표준물질인 우혈청 알부민을 이용하여 작성한 검정곡선을 이용하여 계산하고 그 결과를 표 1에 나타냈다. 하기 표 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 225℃의 조건 하에서 가장 높은 단백질 함량이 나타났다.

글리코젠(glycogen) 함량 측정

Anthrone reagent(280mL 증류수, 720mL 황산, 500mg anthrone)를 제조한 후, 40배로 희석된 굴 가수분해물 및 표준물질 2mL와 10mL의 Anthrone 용액을 넣어 섞은 후 끓는 물에 15분간 반응시켰다. 그런 다음 상온에서 방냉한 후 620nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질의 결과값을 토대로 가수분해물 내의 글리코젠 함량을 계산하고 그 결과를 표 1에 나타냈다. 하기 표 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 온도가 증가함에 따라 점차적으로 글리코젠 함량이 감소하는 것을 확인하였다.

환원당 함량 측정

굴 가수분해물 3mL와 DNS 용액 3mL를 혼합한 뒤 5분간 끓는 물에서 검붉은색이 나타날 때까지 가열하였다. 이후 40% 주석산칼륨 나트륨 용액 1mL를 넣고 상온이 될 때까지 워터배스를 이용하여 식히고, 흡광광도계를 이용하여 575nm에서 흡광도를 측정하였다. 하기 표 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 반응온도가 225℃에 도달할 때 까지 환원당의 함량이 증가하다가, 250℃ 이후 감소하는 것을 확인하였다.

페놀화합물 함량 측정

1mL의 굴 가수분해물과 1mL의 FCR용액을 상온에서 4분간 반응시킨 뒤 7.5%의 탄산나트륨 용액 0.8mL를 넣고, 암실에 2시간 동안 반응시켰다. 그런 다음, 분광광도계를 이용하여 765nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질인 gallic acid의 결과를 토대로 페놀화합물의 함량을 계산하였다. 하기 표 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 반응온도가 225℃에 도달할 때까지 페놀화합물의 함량이 증가하다가, 250℃ 이후 감소하는 것을 확인하였다.

표 1

Temperature/ Pressure	Glycogen (g glucose / 100g dried mass)	Protein (g BSA / 100g dried mass)	Reducing sugar (g glucose /100g dried mass)	Total phenolic content (g gallic acid /100g dried mass)
125 °C/20 bar	39.70±0.45	3.69±1.67	7.81±0.53	0.11±0.02
150 °C/40 bar	36.28±0.93	11.39±1.17	10.77±0.77	0.18±0.01
175 °C/60 bar	35.91±0.69	16.53±0.86	14.26±1.00	0.27±0.02
200 °C/80 bar	27.56±0.69	20.18±0.58	14.26±1.30	0.67±0.02
225 °C/100 bar	6.48±0.53	22.48±1.93	15.45±0.35	0.72±0.03
250 °C/120 bar	2.22±0.24	13.09±0.84	13.15±0.47	0.59±0.01
275 °C/140 bar	1.28±0.51	9.24±2.42	11.17±0.46	0.50±0.03

[0051]

[0052]

실험예 2. 아미노산 함량 측정

[0053]

굴 가수분해물을 물과 혼합한 후 0-phthalaldehyde를 이용하여 유도하였다. Capcellpak UG120 C18 column을 이용하여 시료를 분리하였으며, 유도된 시료는 40mmol/L의 NaH₂PO₄ 용액과 아세트나이트릴과 메탄올과 물이 45:45:10의 비율로 혼합된 용액을 이동상으로 용해되어 40분간 1.5mL/min의 유속으로 40℃에서 검출되었다. 하기 표 2(구성 아미노산) 및 3(유리 아미노산)에서 볼 수 있는 바와 같이, 반응온도가 175℃일 때 아미노산의 함량이 가장 많은 것을 확인하였다.

표 2

Conditions (°C/ bar)							
	125 20	150 40	175 60	200 80	225 100	250 120	275 140
Essential amino acids (EAA)							
Histidine	9.28±0.06 ^a	12.06±0.08 ^b	37.46±0.13 ^a	9.82±0.08 ^c	4.39±0.09 ^d	ND	ND
Isoleucine	7.29±0.04 ^f	12.73±0.12 ^c	53.3±0.21 ^a	19.25±0.17 ^b	11.23±0.07 ^d	8.38±0.05 ^a	8.08±0.04 ^a
Leucine	11.95±0.09 ^f	20.95±0.12 ^c	89.59±0.34 ^a	31.60±0.23 ^b	19.79±0.12 ^d	15.62±0.14 ^a	15.43±0.09 ^a
Lysine	17.31±0.28 ^d	27.61±0.06 ^b	84.88±0.07 ^a	19.14±0.07 ^c	7.54±0.09 ^a	3.65±0.08 ^a	5.24±0.11 ^f
Methionine	6.55±0.11 ^a	8.16±0.05 ^c	21.67±0.15 ^a	11.62±0.07 ^b	6.83±0.07 ^c	5.33±0.19 ^d	5.26±0.07 ^d
Phenylalanine	6.92±0.28 ^a	11.95±0.08 ^c	54.09±0.13 ^a	18.49±0.13 ^b	10.45±0.07 ^d	8.72±0.17 ^a	9.38±0.06 ^a
Threonine	14.61±0.18 ^d	20.98±0.14 ^b	73.68±0.19 ^a	18.62±0.08 ^c	7.17±0.03 ^a	ND	ND
Valine	8.23±0.06 ^a	14.56±0.08 ^c	60.94±0.08 ^a	22.58±0.06 ^b	14.28±0.06 ^d	11.68±0.13 ^f	12.04±0.08 ^a
Total	82.14±1.10	129±0.73	475.61±1.30	151.12±0.89	81.68±0.60	53.58±0.69	55.43±0.45
Non-essential amino acids (NEAA)							
Arginine	23.78±0.08 ^c	23.04±0.11 ^b	62.06±0.08 ^a	16.11±0.03 ^d	3.94±0.03 ^a	3.22±0.05 ^a	2.57±0.11 ^f
Aspartic acid	34.82±0.10 ^c	45.39±0.07 ^b	130.55±0.11 ^a	24.54±0.07 ^d	8.61±0.04 ^a	4.52±0.07 ^a	5.68±0.07 ^d
Serine	15.52±0.07 ^d	21.84±0.08 ^b	68.57±0.09 ^a	19.53±0.06 ^c	5.75±0.06 ^a	1.08±0.03 ^a	1.94±0.02 ^f
Glutamic acid	80.66±0.09 ^f	98.16±0.14 ^a	275.01±0.12 ^a	122.81±0.12 ^b	108.26±0.18 ^d	56.69±0.27 ^a	118.54±0.08 ^c
Proline	43.78±0.16 ^c	64.60±0.09 ^b	99.98±0.05 ^a	32.55±0.10 ^d	16.29±0.08 ^a	14.62±0.04 ^f	7.07±0.03 ^a
Glycine	36.44±0.14 ^c	42.95±0.12 ^b	105.35±0.32 ^a	39.64±0.45 ^c	19.31±0.27 ^a	12.64±0.17 ^b	15.54±0.24 ^f
Alanine	23.93±0.17 ^c	31.68±0.23 ^b	89.40±0.29 ^a	31.39±0.21 ^b	17.68±0.14 ^d	14.88±0.1 ^a	14.23±0.16 ^f
Tyrosine	7.35±0.19 ^f	11.71±0.31 ^a	41.04±0.64 ^a	18.69±0.35 ^b	12.80±0.36 ^c	10.36±0.26 ^a	9.86±0.26 ^a
Total	266.28±1.00	339.37±1.15	871.93±1.70	305.26±1.39	192.64±1.16	118.01±0.99	175.43±0.92

[0054]

표 3

Conditions (°C/ bar)							
	125/20	150/40	175/60	200/80	225/100	250/120	275/140
Essential amino acids (EAA)							
Histidine	3.38±0.04 ^a	4.11±0.01 ^a	3.35±0.03 ^a	0.66±0.02 ^a	0.18±0.01 ^a	0.18±0.01 ^a	0.12±0.02 ^a
Isoleucine	0.57±0.02 ^a	1.15±0.01 ^b	1.58±0.04 ^a	0.88±0.02 ^a	0.22±0.02 ^a	0.25±0.02 ^a	0.25±0.01 ^a
Leucine	1.22±0.02 ^a	2.43±0.02 ^b	3.16±0.01 ^a	1.29±0.02 ^a	0.43±0.01 ^a	0.48±0.01 ^a	0.35±0.01 ^a
Lysine	5.46±0.01 ^b	5.85±0.02 ^a	5.12±0.02 ^b	1.55±0.03 ^a	0.04±0.03 ^a	0.04±0.01 ^{cd}	0.35±0.02 ^d
Methionine	2.76±0.01 ^a	3.16±0.02 ^a	3.03±0.04 ^b	0.75±0.03 ^a	0.07±0.01 ^a	0.07±0.01 ^{cd}	ND
Phenylalanine	2.76±0.03 ^b	3.09±0.02 ^a	2.39±0.02 ^a	1.07±0.02 ^a	0.33±0.01 ^a	0.30±0.01 ^a	0.28±0.01 ^a
Threonine	5.06±0.01 ^a	5.98±0.02 ^a	5.48±0.01 ^b	1.81±0.01 ^a	0.55±0.01 ^a	0.47±0.02 ^d	0.31±0.02 ^d
Valine	1.53±0.02 ^a	2.27±0.01 ^b	2.47±0.02 ^a	1.66±0.02 ^a	0.41±0.02 ^d	0.49±0.01 ^d	0.64±0.01 ^a
Tryptophan	2.08±0.02 ^a	1.67±0.01 ^b	1.42±0.02 ^a	ND	1.17±0.01 ^a	ND	ND
Total	21.44±0.14	25.6±0.13	26.65±0.18	9.01±0.15	3.22±0.12	2.1±0.09	2.38±0.08
Non-essential amino acids (NEAA)							
Arginine	ND	6.78±0.01 ^b	9.32±0.01 ^a	2.85±0.02 ^a	0.87±0.02 ^a	0.92±0.02 ^a	1.41±0.02 ^a
Aspartic acid	1.95±0.01 ^a	5.83±0.01 ^b	7.71±0.02 ^a	4.37±0.01 ^a	0.92±0.01 ^a	0.56±0.01 ^d	0.47±0.01 ^d
Serine	1.27±0.02 ^a	6.16±0.02 ^b	8.19±0.01 ^a	4.25±0.01 ^a	0.71±0.02 ^a	0.06±0.01 ^d	0.45±0.02 ^d
Glutamic acid	17.23±0.01 ^b	19.02±0.02 ^a	6.72±0.02 ^a	1.32±0.02 ^a	1.62±0.02 ^a	1.32±0.02 ^a	1.22±0.11 ^d
Proline	43.77±0.01 ^b	46.85±0.01 ^a	37.86±0.02 ^a	12.14±0.02 ^a	3.65±0.01 ^d	3.86±0.01 ^d	1.93±0.01 ^d
Glycine	21.53±0.02 ^a	24.56±0.01 ^a	24.26±0.01 ^b	13.73±0.01 ^a	2.41±0.01 ^a	2.08±0.01 ^d	1.90±0.01 ^d
Alanine	11.45±0.01 ^a	18.15±0.01 ^b	18.32±0.02 ^a	10.35±0.03 ^a	1.77±0.01 ^d	0.90±0.02 ^d	1.85±0.02 ^a
Tyrosine	1.76±0.02 ^a	3.04±0.02 ^b	3.33±0.01 ^a	1.37±0.01 ^a	0.42±0.01 ^a	0.34±0.01 ^d	0.33±0.01 ^d
Cysteine	0.65±0.01 ^a	0.84±0.01 ^a	0.82±0.01 ^{ab}	0.80±0.01 ^b	0.51±0.01 ^a	0.25±0.01 ^d	0.31±0.02 ^a
Total	99.61±0.11	124.45±0.11	107.41±0.12	48.33±0.12	12.01±0.10	9.37±0.10	8.46±0.11

[0055]

[0056]

실험예 3. 항산화능 측정

[0057]

(1) DPPH 자유라디칼 소거활성 분석

[0058]

에탄올로 희석한 DPPH(60 μM)용액 3.9mL를 굴 가수분해물 0.1mL 혹은 에탄올과 혼합시킨 후, 암실 및 상온 조건에서 30분간 보관했다. 혼합 용액을 UV 분광계(UV mini 1240, Simadzu Co., Japan)를 이용하여 517nm에서 측정했다. 이 때 사용된 에탄올은 블랭크이며, 1.00mg/mL trolox 용액을 기준으로 하여 흡광도를 대조하였고, 흡광도 측정은 3번 반복하여 진행하였다. DPPH 자유라디칼 소거 활성율은 다음의 식을 이용하여 계산되었다.

[0059]

$$\text{DPPH 자유라디칼 소거활성 (\%)} = [1 - (As/Ac)] \times 100$$

[0060]

(여기서, As는 굴 가수분해물의 흡광도이며, Ac는 trolox의 흡광도이다.)

[0062]

(2) ABTS 자유라디칼 소거활성 분석

[0063]

ABTS 라디칼 소거활성은 DPPH 자유라디칼 소거활성과 마찬가지로 Cai et al.(2006)의 방법을 따라 진행되었다. ABTS용액 10mL와 2.45mM 과황산칼륨 용액 10mL를 갈색병에다 혼합하여 ABTS⁺ 라디칼 용액을 제조하였다. 제조된 ABTS⁺ 라디칼 용액은 어두운 파란색이 될 때까지 암실 및 상온 조건에서 12 ~ 16시간 보관되었다. ABTS⁺ 라디칼 용액은 사용하기 직전 734nm에서 흡광도가 0.70±0.02가 될 때까지 변성알코올에 희석하였다. ABTS⁺ 라디칼 용액 3.9mL와 굴 가수분해물 0.1mL 혹은 에탄올 혹은 1.00mg/mL trolox와 섞은 후 6분간 암실 및 상온 조건에 보관했다. 이 때 사용된 에탄올은 블랭크이며, 1.00mg/mL trolox 용액을 기준으로 하여 흡광도를 대조하였고, 흡광도 측정은 3번 반복하여 진행하였다. DPPH 자유라디칼 소거 활성율은 다음의 식을 이용하여 계산되었다.

[0064]

$$\text{ABTS 자유라디칼 소거활성 (\%)} = [1 - (As/Ac)] \times 100$$

[0065]

(여기서, As는 굴 가수분해물의 흡광도이며, Ac는 trolox의 흡광도이다.)

[0067] (3) FRAP 측정

[0068] 3.1g의 아세트산나트륨과 아세트산 16mL를 1L의 탈이온수에 희석한 300mM의 아세테이트 버퍼와 10mM의 TPTZ 용액, 20mM의 염화철 용액을 10:1:1의 로 혼합한 용액(FRAP 용액) 2.85mL에 가수분해물 0.15mM를 넣고 37℃에서 10분간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 593nm에서 흡광도를 측정하였고 FRAP 용액을 블랭크로 사용하였다. 이 때 표준물질로 trolox를 사용하였으며, 표준물질과 대조함으로써 항산화능을 확인하였다.

[0070] 상기 측정된 항산화 결과를 표 4에 나타냈으며, 반응온도가 증가함에 따라 항산화능 또한 증가하는 것을 확인할 수 있으나, 225℃ 이후 감소하는 것을 확인하였다.

표 4

Temperature/Pressure	DPPH (mg Trolox / g dried mass)	ABTS (mg Trolox / g dried mass)	FRAP (mg Trolox / g dried mass)
125 °C/20 bar	12.49±1.43 ^a	3.80 ± 0.75 ^a	1.22±0.30 ^a
150 °C/40 bar	15.05±1.76 ^a	6.45 ± 0.95 ^a	4.20±0.20 ^f
175 °C/60 bar	27.84±0.49 ^c	19.79±0.53 ^c	21.00±0.44 ^a
200 °C/80 bar	30.42±0.30 ^a	31.25±0.23 ^c	45.56±0.21 ^d
225 °C/100 bar	35.79±0.26 ^{ab}	36.11±0.40 ^{ab}	78.61±0.30 ^a
250 °C/120 bar	28.59±0.44 ^{bc}	32.35±0.11 ^a	69.34±0.54 ^b
275 °C/140 bar	18.80±0.43 ^{abc}	22.12±0.90 ^{ac}	50.41±0.49 ^c

[0071]

[0073] 실험예 4. 항고혈압 활성 측정

[0074] 동결건조된 굴 가수분해물을 0.1%의 DMSO에 50mg/mL의 농도로 희석시킨 용액 20 μL와 5mmol/L HHL, 50mmol/L HEPES-HCl, 300mmol/L NaCl이 혼합된 용액 200 μL를 혼합한 뒤 ACE(Angiotensin I-converting enzyme) 40 μL를 투여하여 37℃에서 30분간 반응시키고 난 후 1M HCl을 150 μL를 투여하였다. 그런 다음 히푸르산이 생성되면 1mL의 에틸아세테이트를 이용하여 추출해내고, 상청액을 튜브에 담은 뒤 증발시켰다. 남은 잔여물을 800 μL의 증류수로 용해시켜 분광광도계를 이용해 228nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 표준물질로 사용된 물질은 captopril이며, 측정된 이후 항고혈압 활성은 다음과 같은 식을 이용하여 계산되었다.

[0075] % Inhibitory activity = (A-B)/(A-C)×100

[0076] (A는 Blank, B는 ACE를 투여하지 않은 시료의 흡광도이며, C는 ACE를 투여하고 난 후 시료의 흡광도이다.)

[0077] 표 5에 나타난 바와 같이 온도가 증가함에 따라 항고혈압 활성 또한 증가하였으나, 225℃ 이후 감소하는 경향을 보였다. 항고혈압 활성은 225℃에서 최고 활성인 90.28%를 나타냈으며, 이는 표준물질로 사용된 captopril과 거의 유사한 활성을 보임을 확인할 수 있었다.

표 5

Temperature/ Pressure	Inhibitory (%)
125 °C/20 bar	65.86±1.28 ^a
150 °C/40 bar	73.06±0.89 ^a
175 °C/60 bar	82.44±1.44 ^a
200 °C/80 bar	86.86±1.32 ^a
225 °C/100 bar	90.28±2.60 ^a
250 °C/120 bar	76.27±1.86 ^a
275 °C/140 bar	63.08±1.91 ^a
Captopril (10%)	93.28±2.08

[0078]

[0080]

이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

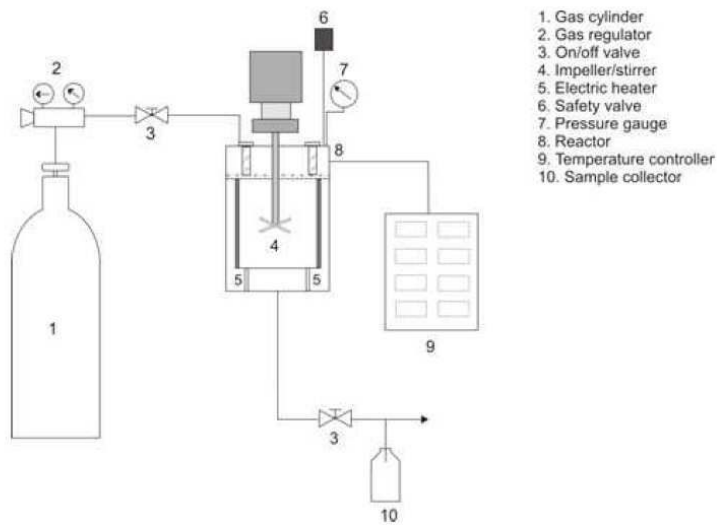
부호의 설명

[0081]

- 1: 가스 실린더
- 2: 배압조절기
- 3: 밸브
- 4: 교반기
- 5: 전기히터
- 6: 안전밸브
- 7: 압력 계기판
- 8: 반응기
- 9: 온도조절기
- 10: 추출물 포집기

도면

도면1



도면2

