



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0023262
(43) 공개일자 2019년03월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23D 9/02 (2006.01) A23J 3/30 (2006.01)
A23J 7/00 (2006.01) A61K 35/64 (2015.01)
(52) CPC특허분류
A23D 9/02 (2013.01)
A23J 3/30 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0108717
(22) 출원일자 2017년08월28일
심사청구일자 2017년08월28일

(71) 출원인
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 신선로 365 (용당동,
부경대학교)
지리산곤충연구소 농업회사법인 유한회사
경상남도 산청군 차황면 신차로2116번길 10
(72) 발명자
전병수
부산광역시 해운대구 반여로 67, 11동 505호(반여
동, 해운대메가센텀한화꿈에그린아파트)
윤철호
경상남도 산청군 차황면 신차로1567번길 120-10
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
위병갑

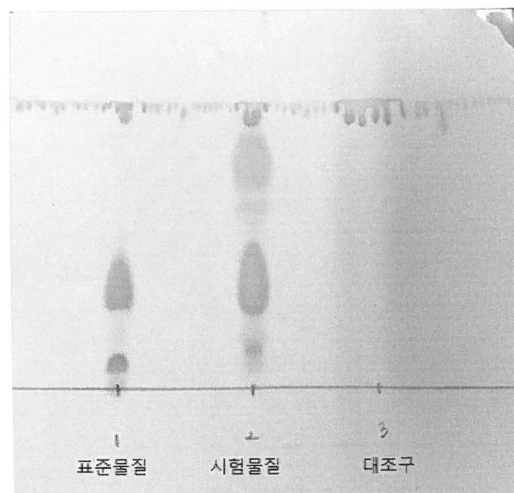
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 갈색거저리 유래 오일 또는 가수분해물

(57) 요약

본 발명은 갈색거저리로부터 유용 오일 또는 가수분해물을 제조하는 방법에 관한 것으로, 친환경 공정으로 갈색거저리로부터 고품질의 오일, 인지질을 분리할 수 있으며, 고단백 및 유용물질 함유 가수분해물을 제조할 수 있으며, 가수분해물의 항산화 효과 및 혈압 강하 효과를 밝혔으므로, 이를 식품조성물 및 약학적 조성물로 이용할 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A23J 7/00 (2013.01)

A61K 35/63 (2015.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

(72) 발명자

천재영

경상남도 산청군 산청읍 친환경로 2756-12

최윤진

서울특별시 강남구 도곡로1길 22, 302호(역삼동,
경인리빙텔)

김진권

경상남도 진주시 사들로 126, 404동 105호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 CD20170602

부처명 민간기업체

연구관리전문기관 지리산곤충연구소

연구사업명 연구용역

연구과제명 식용곤충(갈색거저리) 유래 유용물질 회수 기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 부경대학교

연구기간 2017.03.01 ~ 2017.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

갈색거저리(*Tenebrio molitor*)를 건조 및 분쇄하는 단계; 및
분쇄한 분말로로부터 오일을 추출하는 단계를 포함하는, 갈색거저리로부터 오일을 추출하는 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 건조는 마이크로파 건조 또는 동결건조인, 갈색거저리로부터 오일을 추출하는 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 분쇄한 분말의 직경이 1.5 내지 2mm인, 갈색거저리로부터 오일을 추출하는 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 추출은 초임계 추출인, 갈색거저리로부터 오일을 추출하는 방법.

청구항 5

제 4항에 있어서, 초임계 추출 조건은 초임계 이산화탄소의 유량 10 내지 40g/min, 30 내지 70℃ 및 100 내지 400bar인, 갈색거저리로부터 오일을 추출하는 방법.

청구항 6

제 1항의 방법으로 제조되는 갈색거저리 오일.

청구항 7

갈색거저리를 건조 및 분쇄하는 단계;

분쇄한 분말로로부터 오일을 제거하는 단계; 및

오일을 제거하고 남은 분말로로부터 인지질을 추출하는 단계를 포함하는, 갈색거저리로부터 인지질을 추출하는 방법.

청구항 8

갈색거저리를 건조 및 분쇄하는 단계; 및

가수분해하는 단계를 포함하는, 갈색거저리 가수분해물 제조 방법.

청구항 9

제 8항에 있어서, 상기 건조는 마이크로파 건조 또는 동결건조인, 갈색거저리 가수분해물 제조 방법.

청구항 10

제 8항에 있어서, 상기 가수분해는 아임계 수 가수분해인, 갈색거저리 가수분해물 제조 방법.

청구항 11

제 8항에 있어서, 가수분해는 110 내지 250℃에서 5 내지 100bar로 수행되는, 갈색거저리 가수분해물 제조 방법.

청구항 12

제 8항에 있어서, 갈색거저리를 건조 및 분쇄하는 단계 이후에 하기의 단계를 추가로 포함하는, 갈색거저리 가

수분해물 제조 방법:

분쇄한 분말로부터 오일을 제거하는 단계; 및

인지질을 제거하는 단계.

청구항 13

제 8항의 방법으로 제조된 갈색거저리 가수분해물.

청구항 14

제 13항의 갈색거저리 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 혈압강하용 약학조성물.

청구항 15

제 13항의 갈색거저리 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 식품조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 갈색거저리로부터 유용 오일 또는 가수분해물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전 세계적으로 식용 곤충의 가치가 재조명되면서, 곤충 산업이 국내외적으로 주목받고 있다. 곤충 산업의 보호와 성공적인 육성을 위한 각국의 경쟁이 치열해지고 있고 앞으로도 관련 시장 규모가 더욱 확대될 것으로 전망되고 있다. 식용 곤충은 가축에 비해 사육 면적이 좁아 높은 토지 이용 효율을 보이며, 한번에 알을 수십개 내지 수백개 낳아, 1년에 여러번 세대가 순환되므로 빠른 기간 내에 대량 생산이 가능하고, 생간에 필요한 사료가 다른 육류 가축에 비해 매우 적은 장점이 있다. 또한, 영양학적으로 소고기 등 기존 주요 단백질원에 비해 최소 2배 이상의 단백질을 함유하고 있으며, 현존하는 단백질원 중 영양학적으로 가장 우수하다고 알려져 있다. 더구나, 불포화 지방산이 총 지방산 중 70% 이상을 차지하고, 칼슘, 철 등의 무기질 함량 또한 높아 영양학적 가치가 높은 것으로 평가되고 있다. 아울러, 환경적 측면에서도 곤충은 대부분의 가축들에 비해 온실가스의 배출이 현저히 적게 배출되므로, 친환경적인 식품원으로 조명받고 있다. 이와 관련하여, 식품의약품안전처에서는 각계의 의견을 수렴하고 식품위생심의위원회의 심의를 거쳐 식품공전에 고소애(갈색거저리 유충) 및 쌍별귀뚜라미를 고시하였다 (16.03.09).

[0003] 갈색거저리(*Tenebrio molitor*)는 딱정벌레목 거저리과(*Coleoptera Tenebrionidae*)에 속하는 곤충으로 중국, 캄보디아, 태국 및 멕시코에서는 식용으로 널리 사용되고 있으나 국내에서는 애완동물의 사료로만 이용하고 있는 실정이다(Huang, M. X. 2012). 하지만 현재 천연물 유래 기능성 식품에 대한 관심이 고조되고 있어, 천연물 신약으로 개발 가능한 다양한 물질이 함유되어 있을 것으로 사료되는 곤충에 대한 수요가 증가할 것으로 보인다. 식품 미래학자들은 20년 후의 식량으로 곤충을 꼽는다. 나아가 곤충을 미래의 식의약품으로 이용하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 하지만 갈색거저리에 함유되어 있는 유용 물질에 관한 체계적인 연구는 아직 미비한 실정이다.

[0004] 한편, 원료로부터 오일 및 유용물질을 추출하기 위한 친환경적인 방법으로 초임계 이산화탄소 추출 방법과 아임계 수 가수분해가 있다. 이산화탄소는 임계 조건에 쉽게 접근할 수 있으며, 인체에 무해할 뿐 아니라, 불연성이고 화학적으로 안정하며 임계온도가 낮으므로 용질 성분을 변질시키지 않고, 기존의 추출법보다 추출 속도가 빠르고 친환경적인 장점을 가지고 있다. 또한, 물은 식품 가공에서 가장 안전한 용매로 알려져 있으며, 무해하고 흔히 구할 수 있는 용매이다. 아임계 수는 끓는점 이상 임계점 이하의 액체영역 상태의 물을 의미하며, 아임계 상태의 물을 이용한 가수분해는 고수율, 친환경, 에너지 저감의 이점을 가져 산업적 및 경제적으로 효율적인 공정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 기존의 재래식 추출공정으로부터 발생하는 문제점을 친환경적 공정으로 해결하고, 갈색거저리

의 외형을 드러내지 않고 고품질의 오일, 고단백 분말 및 유용 물질 함유 가수분해물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0006] 상기 목적의 달성을 위해, 본 발명은 갈색거저리로부터 오일을 추출하는 방법과 이를 통해 제조된 오일을 제공한다.
- [0007] 또한, 본 발명은 갈색거저리로부터 인지질을 추출하는 방법과 이를 통해 제조된 인지질을 제공한다.
- [0008] 또한, 본 발명은 갈색거저리 가수분해물 제조 방법과 이를 통해 제조된 가수분해물을 제공한다.
- [0009] 또한, 본 발명은 갈색거저리 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 혈압강하용 약학조성물을 제공한다.
- [0010] 아울러, 본 발명은 갈색거저리 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 향산화용 식품조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [0011] 본 발명에 따르면, 친환경 공정에 의해 갈색거저리로부터 고품질의 오일, 인지질을 분리할 수 있으며, 고단백 및 유용물질 함유 가수분해물을 제조할 수 있으며, 가수분해물의 향산화 효과 및 혈압 강하 효과를 밝혔으므로, 이를 식품조성물 및 약학적 조성물로 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0012] 도 1은 마이크로파 건조된 갈색거저리로부터 추출한 오일의 양과 CO₂ 용해도를 추출 조건에 따라 나타낸 도이다.
- 도 2는 동결건조된 갈색거저리로부터 추출한 오일의 양과 CO₂ 용해도를 추출 조건에 따라 나타낸 도이다.
- 도 3은 갈색거저리로부터 추출한 인지질의 정성분석 결과를 나타낸 도이다.
- 도 4는 갈색거저리로부터 오일을 분리하기 위해 이용할 수 있는 초임계유체추출 장치를 개략적으로 도시한 도이다;
- 1: CO₂ 탱크;
 - 2: 압력게이지;
 - 3: 쿨링배스;
 - 4: 고압펌프;
 - 5: 열교환기;
 - 6: 고압용기;
 - 7: 분리기;
 - 8: 추출물 포집 용기;
 - 9: 유속 측정기;
 - 10: 디지털 온도계;
 - 11: on-off 밸브;
 - 12: 체크밸브;
 - 13: 안전밸브;
 - 14: BPR;
 - 15: 니들밸브;
 - 16: 필터;
 - 17: 보조용매 저장소; 및
 - 18: 보조용매 펌프.

도 5는 갈색거저리 가수분해물을 수득할 수 있는 가수분해 반응기를 개략적으로 도시한 도이다:

- 1: 안전밸브;
- 2: 압력계기판;
- 3: 니들밸브;
- 4: 전기히터;
- 5: 고압반응기;
- 6: 냉각기;
- 7: 회전수&온도 컨트롤러;
- 8: 물 저장장치;
- 9: 촉매 저장장치;
- 10: 펌프; 및
- 11: 추출물 포집기.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0013] 이하, 본 발명의 구현예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않으며 본 발명은 후술하는 특허청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.
- [0015] 일 측면에서, 본 발명은 갈색거저리를 건조 및 분쇄하고, 분쇄한 분말로부터 오일을 추출하는 단계를 포함하는, 갈색거저리로부터 오일을 추출하는 방법에 관한 것이다.
- [0016] 일 구현예에서, 상기 갈색거저리는 갈색거저리 유충일 수 있다.
- [0017] 일 구현예에서, 상기 건조는 마이크로파 건조 또는 동결건조일 수 있다.
- [0018] 일 구현예에서, 분말의 직경이 1.5 내지 2mm가 되도록 분쇄될 수 있다.
- [0019] 일 구현예에서, 상기 추출은 초임계 추출일 수 있으며, 초임계 이산화탄소의 유량 10 내지 40g/min, 30 내지 70 °C 및 100 내지 400bar의 조건으로 1 내지 3시간 동안 추출될 수 있다.
- [0020] 일 구현예에서, 초임계 추출한 오일을 냉각하는 단계가 추가로 수행될 수 있다.
- [0021] 일 구현예에서, 초임계 추출은 도 4의 구성을 포함하는 초임계 이산화탄소 추출장치로 수행될 수 있다.
- [0022] 일 측면에서, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 갈색거저리 오일에 관한 것이다.
- [0023] 일 구현예에서, 갈색거저리 오일은 리놀레산을 포함할 수 있으며, 마이크로파 건조 후 추출한 오일은 표 1의 지방산 조성을, 동결건조 후 추출한 오일은 표 2의 지방산 조성을 가질 수 있다.
- [0024] 일 측면에서, 본 발명은 갈색거저리 오일을 포함하는 식품 조성물에 관한 것이다.
- [0025] 일 측면에서, 본 발명은 갈색거저리를 건조 및 분쇄하고, 분쇄한 분말로부터 오일을 제거한 뒤 인지질을 추출하는 단계를 포함하는, 갈색거저리로부터 인지질을 추출하는 방법에 관한 것이다.
- [0026] 일 구현예에서, 본 발명의 갈색거저리 유래 인지질은 초임계 이산화탄소 및 보조용매를 이용하여 추출될 수 있으며, 초임계 이산화탄소의 유량 10 내지 40g/min, 30 내지 70°C 및 100 내지 400bar의 조건에서 수행될 수 있고, 보조용매는 80 내지 99% 에탄올일 수 있다.
- [0027] 일 측면에서, 본 발명은 갈색거저리를 건조 및 분쇄하고 가수분해하는 단계를 포함하는, 갈색거저리 가수분해물 제조 방법에 관한 것이다.
- [0028] 일 구현예에서, 상기 건조는 마이크로파 건조 또는 동결건조일 수 있다.

- [0029] 일 구현예에서, 상기 가수분해는 아임계 수 가수분해일 수 있으며, 가수분해는 110 내지 250℃에서 5 내지 100bar의 조건으로 수행될 수 있다.
- [0030] 일 구현예에서, 아임계 수 가수분해는 도 5의 구성을 포함하는 가수분해 반응기에서 수행될 수 있다.
- [0031] 일 구현예에서, 갈색거저리를 건조 및 분쇄한 뒤, 오일 및 인지질을 제거하는 단계를 추가로 포함할 수 있으며, 오일을 제거한 갈색거저리 분말을 500 내지 1000 μm 의 직경으로 재분쇄하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0032] 일 구현예에서, 가수분해물을 제조한 후에 냉각하는 단계가 추가로 수행될 수 있다.
- [0033] 일 측면에서, 본 발명은 본 발명의 방법으로 제조된 갈색거저리 가수분해물에 관한 것이다.
- [0034] 일 구현예에서, 갈색거저리 가수분해물은 갈색거저리를 건조 및 분쇄한 뒤 가수분해된 것일 수 있으며, 건조 및 분쇄한 뒤 오일과 인지질을 제거한 뒤에 가수분해된 것이 더욱 바람직하다.
- [0035] 일 측면에서, 본 발명은 본 발명의 방법으로 제조된 갈색거저리 가수분해물을 포함하는 식품 조성물에 관한 것이다.
- [0036] 일 측면에서, 갈색거저리 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 항산화용 식품조성물에 관한 것이다.
- [0037] 본 발명의 조성물을 식품 조성물로 사용하는 경우, 상기 갈색거저리 오일, 인지질 또는 가수분해물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상의 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 상기 조성물은 유효성분 이외에 식품학적으로 허용가능한 식품보조첨가제를 포함할 수 있으며, 유효성분의 혼합량은 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적절하게 결정될 수 있다.
- [0038] 본 발명에서 사용되는 용어 "식품보조첨가제"란 식품에 보조적으로 첨가될 수 있는 구성요소를 의미하며, 각 제형의 건강기능식품을 제조하는데 첨가되는 것으로서 당업자가 적절히 선택하여 사용할 수 있다. 식품보조첨가제의 예로는 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 충전제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등이 포함되지만, 상기 예들에 의해 본 발명의 식품보조첨가제의 종류가 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명의 식품 조성물에는 건강기능식품이 포함될 수 있다. 본 발명에서 사용되는 용어 "건강기능식품"이란 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상 및 환 등의 형태로 제조 및 가공한 식품을 말한다. 여기서 '기능성'이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 통상의 기술분야에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 통상의 기술분야에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 건강기능식품의 제형 또한 건강기능식품으로 인정되는 제형이면 제한없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품용 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반약품과는 달리 식용 곤충을 원료로 하여 인위적으로 제조된 건강기능식품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다.
- [0040] 또한, 본 발명의 조성물이 사용될 수 있는 건강식품의 종류에는 제한이 없다. 아울러 본 발명의 아출 추출물을 활성성분으로 포함하는 조성물은 당업자의 선택에 따라 건강기능식품에 함유될 수 있는 적절한 기타 보조 성분과 공지의 첨가제를 혼합하여 제조할 수 있다. 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 본 발명에 따른 추출물을 주성분으로 하여 제조한 즙, 차, 젤리 및 주스 등에 첨가하여 제조할 수 있다.
- [0041] 일 측면에서, 본 발명은 본 발명의 갈색거저리 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 혈압강하용 약학조성물에 관한 것이다.
- [0042] 본 발명의 조성물은 갈색거저리 가수분해물 뿐 아니라 이와 동일 또는 유사한 기능을 지닌 다른 유효성분을 추가로 함유하거나, 또는 상기 성분들과 상이한 기능을 지닌 다른 유효성분을 추가로 함유함으로써, 혈압강하용 약학조성물로 제조될 수 있다.
- [0043] 본 발명에서, 용어 "혈압 강하"란 본 발명에 따른 갈색거저리 가수분해물 또는 이를 포함하는 조성물의 투여에 의해 혈압이 낮아지는 모든 행위를 의미하며, 고혈압의 예방 또는 치료용 약학 조성물로 이용될 수 있다.

- [0044] 본 발명에서, 용어 "예방"이란 본 발명에 따른 갈색거저리 가수분해물 또는 이를 포함하는 조성물의 투여에 의해 고혈압의 발생, 심화 및 재발을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0045] 본 발명에서 사용된 용어 "치료"란 갈색거저리 가수분해물 또는 이를 포함하는 조성물의 투여로 고혈압 또는 이의 합병증의 증세를 호전시키거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다. 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면, 대한의학협회 등에서 제시된 자료를 참조하여 본원의 조성물이 효과가 있는 질환의 정확한 기준을 알고, 개선, 향상 및 치료된 정도를 판단할 수 있을 것이다.
- [0046] 본 발명의 조성물의 치료적으로 유효한 양은 여러 요소, 예를 들면 투여방법, 목적부위, 환자의 상태 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 인체에 사용 시 투여량은 안전성 및 효율성을 함께 고려하여 적정량으로 결정되어야 한다. 동물실험을 통해 결정한 유효량으로부터 인간에 사용되는 양을 추정하는 것도 가능하다. 유효한 양의 결정시 고려할 이러한 사항은, 예를 들면 Hardman and Limbird, eds., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed.(2001), Pergamon Press; 및 E.W. Martin ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed.(1990), Mack Publishing Co.에 기술되어있다.
- [0047] 본 발명의 약학조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에서 사용되는 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 염증 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여, 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0048] 일 구현예에서, 상기 약학 조성물은 경구형 제형, 외용제, 좌제, 멸균 주사용액 및 분무제를 포함하는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 제형일 수 있다.
- [0049] 본 발명의 조성물은 또한 생물학적 제제에 통상적으로 사용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 둘 이상의 이들의 조합을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 조성물을 생체 내 전달에 적합한 것이면 특별히 제한되지 않으며, 예를 들면, Merck Index, 13th ed., Merck & Co. Inc. 에 기재된 화합물, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로스 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 이용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주이용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 당 분야의 적절한 방법으로 또는 Remington's Pharmaceutical Science(Mack Publishing Company, Easton PA, 18th, 1990)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [0050] 본 발명의 조성물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다. 본 발명의 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 단백질을 0.0001 내지 10 중량 %로, 바람직하게는 0.001 내지 1 중량 %를 포함한다.
- [0051] 본 발명의 약학 조성물은 약학적으로 허용 가능한 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 이때 약학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이달실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엷, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바 납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당, 텍스트로스, 소르비톨 및 탈크 등이 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 약학적으로 허용 가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1 중량부 내지 90 중량부 포함되는 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0052] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 비 경구 투여(예를 들어 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)하거나 경구 투여할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설물 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 본 발명에 따른 조성물의 일일 투여량은 0.0001 ~ 10 mg/ml이며, 바람직하게는 0.0001 ~ 5 mg/ml이며, 하루 일 회 내지 수회에 나누어 투여하는 것이 더욱 바람직하다.
- [0053] 본 발명의 조성물의 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 통상적으로 사용되는 단순 희석제인 물, 액체 파라핀 이외에 다양한 부형제, 예컨대 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제

등이 함께 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제 등이 포함된다.

[0055] 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0057] **실시예 1. 갈색거저리 건조 및 분말 제조**

[0058] 지리산곤충연구소 (경상남도 산청군)에서 공급받은 갈색거저리 유충 (밀웜) 1kg을 세척한 뒤, 마이크로파 건조기 (12000w의 발진기 헤드 6개 구비, 금화이엔에스)에 넣어 10분간 건조하거나, 또는 동결건조.((주)일신바이오 베이스)에서 -40℃에서 240분, -20℃에서 360분 동결건조 후 480분 유지, -10℃에서 360분 동결건조 후 480분 유지, 0℃에서 120분 동결건조 후 480분 유지한 후 30℃에서 360분 건조하여 동결건조를 완료하였다. 건조한 시료를 블렌더로 분쇄하고, 분쇄한 분말을 망의 직경이 1.7mm인 체로 걸러 균일한 직경의 분말 80g을 제조하였다.

[0060] **실시예 2. 갈색거저리 분말로부터 오일 추출**

[0061] 상기 실시예 1에서 마이크로파 건조 또는 동결건조 방법을 통해 제조한 갈색거저리 분말 각각을 얇은 탈지면이 바닥에 배치된 100ml 스테인리스 추출용기에 넣고, 시료 위를 다른 탈지면으로 덮은 뒤, CO₂를 고압펌프 (Milroyal, Milton Roy, USA)CO₂로 일정한 압력으로 유입하였다. 배압 조절기로 CO₂의 압력을 조절하고, 워터배스로 추출 용기의 온도를 조절하였으며, 유속 및 장치를 통과하는 가스는 가스 유량계 (시나가와, 도쿄, 일본)으로 측정하였다. 초임계 이산화탄소의 유량은 27g/min으로 유지하였으며, 45 내지 55℃에서 25 내지 30MPa의 조건으로 2시간 동안 진행하였다. 오일 1g CO₂ 용해도는 하기의 수학적 식 1로 계산되었다.

수학적 식 1

$$\text{용해도} = \frac{(\text{최초 장입된 원료의 중량} - \text{추출 종료 후 원료의 중량})}{(\text{펌프의 분당 토출 유량} \times \text{추출 유지 시간})}$$

[0062]

[0063] 마이크로파 건조 또는 동결건조 방법으로 제조한 갈색거저리 분말로부터 회수한 오일의 양과 CO₂ 용해도를 도 1 및 도 2에 나타냈다.

[0065] **실시예 3. 오일 추출 후 분말로부터 인지질 추출**

[0066] 상기 실시예 2에서 오일을 분리한 갈색거저리 분말로부터 인지질을 추가로 추출하였다. 구체적으로, 초임계 이산화탄소의 유량은 2시간의 추출 시간 동안 27g/min으로 일정하게 유지하였으며, 50℃에서 250bar의 조건으로 추출을 진행하였다. 보조용매로 94% 에탄올을 이용하였고 유량은 3ml/min을 유지하였다.

[0068] **실시예 4. 인지질 추출 후 분말의 가수분해**

[0069] 상기 실시예 3에서 인지질을 추출한 뒤에 남은 갈색거저리 분말을 아임계 수 가수분해하였다. 구체적으로, 가수분해 반응기에 갈색거저리 분말과 증류수를 각각 1:10 또는 1:20으로 넣고 고정시킨 뒤 가수분해를 진행하였다. 반응기의 온도가 175℃가 되었을 때 가수분해가 시작되었고, 압력은 40 내지 50bar였다. 온도가 안정화된 후 10분 동안 가수분해 반응을 진행하였다. 수득한 갈색거저리 가수분해물을 4℃에서 저장하였다.

[0071] 실험예 1. 갈색거저리 유래 오일의 특성 분석

[0072] 1-1. 지방산 분석

[0073] 상기 실시예 2에서 초임계 이산화탄소를 이용해 추출한 갈색거저리 유래 오일의 추출 방법 및 조건별 지방산을 분석하기 위하여, GC(Gas Chromatography) (6890 Agilent Technologies, Wilmington, USA)를 이용하였다. 또한, 지방은 트리글리세리드 형태로 존재하여 분자량이 크기 때문에, 각각의 지방산을 확인하기 위해, 메틸화를 통해 지방산을 떼어내어 검출이 용이하게 하였다. 단, 마이크로파 건조 방법과 동결건조 방법으로 제조한 분말 유래 오일을 구별하여 각각 측정하였다. 구체적으로, 이동상 Gas (H₂, He, Mixed air)의 밸브를 열어둔 후, GC의 전원을 켜고, Instrument/Online 소프트웨어를 실행하여 Front inlet, Oven, Front detector를 설정 및 확인한 후, Oven 온도가 설정 온도인 250℃에 도달하면 분석을 진행하였다. 지방산 조성은 지방산 메틸 에스테르 표준품 (SuplcoTM, Bellefonte, PA, USA)와 비교하여 확인하였고, 정량 결과는 피크 면적 (%)으로 나타냈다.

표 1

SI No	Name of fatty acids	300 bar, 45°C	300bar, 55°C	250bar, 45°C	250bar, 55°C	Hexane
1	Lauric Acid (C12:0)	0.33	0.30	0.33	0.37	0.28
2	Myristic Acid (C14:0)	4.09	4.10	4.09	4.43	3.76
3	Myristoleic Acid (C14:1)	0.26	0.30	0.26	0.28	0.23
4	Palmitic Acid (C16:0)	15.43	15.50	15.38	15.67	15.47
5	Palmitoleic Acid (C16:1)	2.65	2.60	2.64	2.79	2.45
6	Stearic Acid (C18:0)	1.73	1.70	1.71	1.63	2.17
7	Oleic Acid (C18:1n9C)	45.73	45.70	45.70	45.16	45.20
8	Linoleic Acid (C18:2n6c)	28.56	28.60	28.67	28.46	29.24
9	Linolenic Acid (C18:3n3)	1.22	1.20	1.22	1.20	1.19
Total=		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
ΣSFA		21.58	21.60	21.51	22.10	21.68
ΣMUFA		48.64	48.60	48.60	48.23	47.88
Σω-3 fatty acids		1.22	1.20	1.22	1.20	1.19
Σω-6 fatty acids		28.56	28.60	28.67	28.46	29.24

N.B.: SFA= Saturated fatty acids
 MUFA=Monounsaturated fatty acids
 TFAs=Total fatty acids
 RT= Retention time

[0074]

표 2

SI No.	Name of fatty acids	300bar, 45°C	300bar, 55°C	250bar, 45°C	250bar, 55°C
1	Lauric Acid (C12:0)	N.D	N.D	3.77	N.D
2	Myristic Acid (C14:0)	2.36	2.37	2.47	2.39
3	Palmitic Acid (C16:0)	17.95	18.01	17.55	18.19
4	Palmitoleic Acid (C16:1)	1.48	1.50	1.46	1.50
5	Heptadecanoic Acid(C17:0)	5.30	4.88	4.78	4.94
6	Stearic Acid (C18:0)	2.87	2.88	2.80	2.94
7	Oleic Acid (C18:1n9C)	39.75	40.03	37.94	39.62
8	Linoleic Acid (C18:2n6c)	28.67	28.72	27.68	28.80
9	Linolenic Acid (C18:3n3)	1.60	1.61	1.55	1.60
Total=		100.0	100.0	100.0	100.0
ΣSFA		28.48	28.14	31.37	28.46
ΣMUFA		41.23	41.53	39.4	41.12
Σω-3 fatty acids		1.60	1.61	1.55	1.60
Σω-6 fatty acids		28.67	28.72	27.68	28.80

N.B.: SFA= Saturated fatty acids
 MUFA=Monounsaturated fatty acids
 TFAs=Total fatty acids
 RT= Retention time

[0075]

[0076]

그 결과, 갈색거저리 유래 오일의 지방산 조성은 표 1 (마이크로파 건조) 및 2 (동결건조)와 같이 나타났다. 두 건조 방법을 이용한 갈색거저리 분말을 추출한 오일은 대체로 유사한 지방산 조성을 나타냈고, 대체로 오메가 6 계열인 리놀레산(linoleic acid)이 풍부하였다.

[0078]

1-2. 유지안전성 확인

[0079]

상기 실시예 2에서 초임계 이산화탄소를 이용해 추출한 갈색거저리 유래 오일의 추출 방법 및 조건별 유지안전성을 확인하기 위하여, 산가와 과산화물가를 AOAC, 표준 방법 969.1 (2005)의 방법으로 측정하였으며, 촉진 실험은 Rancimat 방법 (743 Rancimat, Metrohm Co., Vasel Switzerland)을 이용하여 수행하였다. 단, 마이크로파 건조 방법과 동결건조 방법으로 제조한 분말 유래 오일을 구별하여 각각 측정하였다.

표 3

산가 (mg KOH/g)					
추출조건					
Sample	300bar, 45°C	300bar, 55°C	250bar, 45°C	250bar, 55°C	Soxhlet
Microwave dried	3.76±0.48	5.90±0.17	3.28±0.39	5.45±0.40	7.44±0.13
Freeze dried	5.63±1.09	6.35±0.64	3.62±0.62	5.83±0.94	8.38±0.46

[0080]

표 4

과산화물가 (meq/kg)					
추출조건					
Sample	300bar, 45°C	300bar, 55°C	250bar, 45°C	250bar, 55°C	Soxhlet
Microwave dried	3.91±0.44	3.50±0.51	2.91±0.71	3.91±0.64	3.92±0.86
Freeze dried	2.80±0.36	3.81±1.06	3.84±0.59	3.80±0.43	4.04±1.13

[0081]

표 5

Induction time(h)				
추출조건				
Sample	300bar, 45°C	300bar, 55°C	250bar, 45°C	250bar, 55°C
Microwave dried	0.12	0.32	0.11	0.19
Freeze dried	0.17	0.22	0.08	0.15

[0082]

[0083]

그 결과, 산가(산도)의 경우 오일수득률이 높으면 낮게 나타나고 온도가 높으면 증가하는 것으로 나타났으며, 마이크로파로 건조한 갈색거저리 유래 오일의 산도가 동결건조한 갈색거저리 유래 오일의 산도보다 대체로 낮고, 추출 조건 55°C 및 250bar에서 가장 낮게 나타났다 (표 3). 또한, 과산화물가는 온도와 압력이 높을수록 높아지는 경향을 보였으며, 건조 방법별로 대체로 유사한 정도로 나타났으며, 동결건조하여 45°C에서 300bar로 추출한 오일이 가장 낮은 과산화물가를 나타냈다 (표 4). 아울러, 유지안전성은 55°C에서 300bar로 추출한 오일이 비교적 높은 유지안전성을 나타냈다 (표 5).

[0085] **실험예 2. 갈색거저리 유래 인지질의 정성 분석**

[0086] 상기 실시예 3에서 추출한 인지질의 정성 분석을 위해 TLC (10cm*10cm, 0.2mm 두께, Macherey-Nazel, Duren, Germany)를 이용하였으며, 전개 용매로는 클로로포름, 메탄올, 빙초산 및 물을 50:8:8:2 (v/v/v/v)의 비율로 사용하였다. 상기 실시예 3에서 수득한 인지질을 클로로포름:메탄올 1:1 (v/v) 용액으로 녹여 시료로 이용하였으며, 표준물질로는 포스파티딜콜린(phosphatidylcholine)을 사용하였다. 구체적으로, TLC 플레이트에 표준물질과 시료 (인지질)을 가하여 건조한 뒤 전개용매가 있는 챔버에 넣고 전개 용매로 전개시켰다. 전개 후 플레이트를 꺼내 전개 용매를 휘발시키고 요오드 증기 챔버에 넣어 정성 분석 결과를 확인하였다.

[0087] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 뚜렷하게 인지질이 추출된 것을 알 수 있었다.

[0089] **실험예 3. 갈색거저리 가수분해물 특성 분석**

[0090] 3-1. 정성 분석

[0091] 3-1-1. 총 당 함량, 환원당 함량 및 수용성 단백질 함량 확인

[0092] 총 당 함량을 확인하기 위하여, 5% 수용성 페놀 용액 1ml와 황산 5ml을 글루코스 용액 (표준 물질), 실시예 4에서 제조한 갈색거저리 가수분해물 (마이크로파 건조 또는 동결건조 후 오일 및 인지질 추출 후의 가수분해물) 또는 실시예 1에서 마이크로파 건조 또는 동결건조한 후 가수분해한 가수분해물 1ml과 각각 혼합한 뒤 상온에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 그 후, 분광계로 490nm에서 흡광도를 측정하여 총 당 함량을 확인하였다.

[0093] 또한, 환원당 함량을 확인하기 위하여, 4ml DNS 용액과 시료 (글루코스 용액 (표준 물질), 실시예 4에서 제조한 갈색거저리 가수분해물 (오일 및 인지질 추출 후의 물질) 또는 실시예 1에서 마이크로파 건조 또는 동결건조한 후 가수분해한 가수분해물과 혼합한 뒤, 5분 동안 가열한 뒤 식혀 분광계로 540nm에서의 흡광도로 환원당 농도를 측정하였다.

[0094] 아울러, 수용성 단백질 함량을 확인하기 위하여, Lowry 법을 이용하였으며, BSA(bovin serum albumin)을 표준물질로 사용하여 750nm에서 흡광도를 측정하여 블랭크와 표준 곡선을 작성하고, 시료를 희석하여 동일한 파장에서 분석함으로써 단백질 함량을 측정하였다.

표 6

	Sample	Total glucose (mg/g)	Reducing sugar (mg/g)	Soluble protein (g/100g)
Microwave dried	M1	96.67±2.00	17.83±1.15	30.61±0.33
	M2	178.67±1.97	24.53±2.43	38.85±0.40
	M3	121.77±1.66	14.30±1.35	24.36±0.33
	M4	158.17±1.64	19.05±1.77	33.53±0.38
Freeze dried	F1	365.65±3.59	22.87±1.54	32.24±0.36
	F2	340.29±2.74	30.69±2.51	36.38±0.71
	F3	95.37±1.79	17.25±1.15	25.45±0.37
	F4	150±2.40	19.61±2.44	29.88±0.81

(M1 : Deoil microwave dried powder, ratio 1:10/ M2 : Deoil microwave dried powder, ratio 1:20/ M3 : Microwave dried powder, ratio 1:10/ M4 : Microwave dried powder, ratio 1:20/ F1 : Deoil freeze dried powder ratio 1:10/ F2: Deoil freeze dried powder, ratio 1:20/ F3 : Freeze dried powder, ratio 1:10/ F4 : Freeze dried powder, ratio 1:20)

[0095]

[0096]

그 결과, 표 6에 나타난 바와 같이, 총 당 및 환원당 함량은 오일이 제거된 갈색거저리 가수분해물에서 높게 나타났다고, 원료의 비율이 낮은 가수분해물에서 환원당의 함량이 높은 것을 확인하였다. 또한, 수용성 단백질 함량 또한 유사한 경향을 나타냈다.

[0098]

3-1-2. 아미노산 함량 확인

[0099]

automated amino analyzer (Sykam GmbH, Germany)를 이용하여 아미노산 함량을 분석하였으며, 표준 용액을 제조하여 검량선을 작성한 뒤, 본 발명의 실시예 4에서 제조한 갈색거저리 가수분해물 (마이크로파 건조 또는 동결건조 후 오일 및 인지질 추출 후 가수분해)과 실시예 1에서 마이크로파 건조 또는 동결건조한 후 가수분해한 가수분해물을 주입한 뒤, 하기 표 7에 기재된 조건으로 분석하여 피크를 얻어 아미노산의 종류 및 함량을 확인하였다. 아미노산의 % 농도는 하기의 수학식 4를 이용하여 도출하였다.

표 7

System	S7131 Reagent organizer S4300 Amino acid reaction module S2100 Solvent delivery system Auto sampler
Column	Cation exchange LCA (150 x 4.6mm, 7μm)
Detector	Dual filter photometer (440nm, 570nm)
Eluent	Buffer A(pH 2.9), Buffer B(pH 4.2), Buffer C(pH 10.5)
Derivatization reagent	2% Ninhydrin solution
Reactor temperature	130°C
Flow rate	0.45mL/min
Injection volume	100μL

수학식 4

$$\% \text{농도} = \text{표준농도}(\mu\text{-mol}) \times \text{시료면적} / \text{표준시료} \times \text{회석배수}(ml) \times \text{분자량} / \text{시료량}(\mu g) \times 100$$

표 8

Conditions				
Amino acid (% in sample)	MW /1:10 (Deoil)	MW /1:10 (Oil)	FD /1:10 (Deoil)	FD /1:10 (Oil)
Essential amino acids(EAA)				
Histidine	0.14	0.10	0.15	0.08
Isoleucine	0.15	0.10	0.16	0.09
Leucine	0.24	0.16	0.26	0.14
Lysine	0.19	0.13	0.23	0.10
Phenylalanine	0.11	0.08	0.13	0.06
Threonine	0.12	0.09	0.12	0.08
Valine	0.22	0.15	0.23	0.14
Total E	1.17	0.81	1.28	0.69
Non-essential amino acids(NEAA)				
Arginine	0.17	0.12	0.23	0.11
Aspartic acid	0.26	0.17	0.27	0.15
Serine	0.12	0.09	0.13	0.08
Glutamic acid	0.50	0.34	0.60	0.34
Proline	0.31	0.10	0.23	0.12
Glycine	0.19	0.13	0.21	0.12
Alanine	0.26	0.17	0.24	0.17
Tyrosine	0.18	0.13	0.20	0.10
Total NE	1.99	1.25	2.11	1.19
Total	3.16	2.06	3.39	1.88

MW/ 1:10 = Microwave dried mealworm, ratio 1:10

FD/ 1:10 = Freeze dried mealworm, ration 1:10

[0102]

[0103]

그 결과, 오일이 제거된 갈색거저리 가수분해물이 필수아미노산이 많고 총 아미노산 함량도 높은 것을 알 수 있었다 (표 8).

[0105]

3-2. 항산화 효과 확인

[0106]

3-2-1. DPPH 자유라디칼 소거 활성

[0107]

실시에 4에서 제조한 갈색거저리 가수분해물 (마이크로파 건조 또는 동결건조 후 오일 및 인지질 추출 후 가수분해)과 실시에 1에서 마이크로파 건조 또는 동결건조한 후 가수분해한 가수분해물의 항산화 특성을 DPPH 자유라디칼 소거활성을 통해 확인하였다. 구체적으로, DPPH 자유라디칼 소거 활성은 Cai et al. (2006) 방법을 약간 수정하여 진행하였으며, 에탄올로 희석한 DPPH (60mM) 용액 3.9ml를 에탄올 (블랭크), 갈색거저리의 가수분해물 0.1ml 또는 트롤락스(trolox)와 혼합한 뒤, 암실에서 상온으로 30분 동안 보관하였다. 그 후, 혼합 용액을 UV 분광계 (UV mini 1240, Simadzu Co., Japan)을 사용하여 517nm에서의 흡광도를 3회 반복 측정하였다. 측정된 흡광도는 0.25mg/ml 트롤락스 용액의 흡광도와 대조하였으며, 하기의 수학적 식 2를 이용하여 DPPH 자유라디칼 소거 활성을 계산하였다.

수학식 2

$$\text{DPPH 자유라디칼 소거 활성 (\%)} = 1 - \frac{\text{갈색거저리 가수분해물 흡광도}}{\text{trolox 흡광도}} \times 100$$

[0108]

표 9

	Sample	DPPH inhibition(%)	ABTS inhibition(%)
Microwave dried	M1	82.13±0.75	87.34±0.11
	M2	48.48±2.09	75.61±1.27
	M3	50.66±2.76	89.37±0.25
	M4	32.48±3.21	72.41±2.00
Freeze dried	F1	74.59±0.93	86.41±0.14
	F2	48.95±4.24	70.21±1.02
	F3	67.44±2.38	90.13±0.25
	F4	43.82±2.86	62.03±1.33
Standard	Trolox (250ppm)	86.95±0.93	90.72±0.29

(M1 : Deoil microwave dried powder, ratio 1:10/ M2 : Deoil microwave dried powder, ratio 1:20/ M3 : Microwave dried powder, ratio 1:10/ M4 : Microwave dried powder, ratio 1:20/ F1 : Deoil freeze dried powder ratio 1:10/ F2: Deoil freeze dried powder, ratio 1:20/ F3 : Freeze dried powder, ratio 1:10/ F4 : Freeze dried powder, ratio 1:20)

[0109]

[0110]

그 결과, 오일을 제거한 갈색거저리 가수분해물이 그렇지 않은 건조분말 가수분해물보다 비교적 높은 항산화 활성을 보였으며, 원료의 비율이 높을 때 항산화능이 높게 나타났다 (표 9).

[0112]

3-2-2. ABTS 자유라디칼 소거 활성

[0113]

실시에 4에서 제조한 갈색거저리 가수분해물 (오일 및 인지질 추출 후의 물질)과 실시에 1에서 마이크로파 건조 또는 동결건조한 후 가수분해한 가수분해물의 항산화 특성을 ABTS 자유라디칼 소거활성을 Cai et al. (2006) 방법을 약간 수정하여 확인하였다. 구체적으로, ABTS 용액 10ml과 2.45mM 과황산칼륨 용액 10ml을 갈색병에서 혼합하여 ABTS^+ 라디칼 용액을 제조하여 어두운 파란색이 될 때까지 상온의 암실에서 12 내지 16시간 동안 보관하였다. 제조된 ABTS^+ 라디칼 용액을 734nm에서 흡광도가 0.70 ± 0.02 가 될 때까지 에탄올로 희석하여 3.9ml를 에탄올, 갈색거저리 가수분해물 0.1ml 또는 트롤락스와 혼합하여 상온의 암실에서 6분 동안 인큐베이션하였다. 그 후, 혼합 용액을 UV 분광계 (UV mini 1240, Simadzu Co., Japan)을 사용하여 734nm에서의 흡광도를 3회 반복 측정하였다. 측정된 흡광도는 0.25mg/ml 트롤락스 용액의 흡광도와 대조하였으며, 하기의 수학식 2를 이용하여 ABTS 자유라디칼 소거 활성을 계산하였다.

수학식 3

$$\text{ABTS 자유라디칼 소거 활성 (\%)} = 1 - \frac{\text{갈색거저리 가수분해물 흡광도}}{\text{trolox 흡광도}} \times 100$$

[0114]

[0115] 그 결과, 오일을 제거한 갈색거저리 가수분해물이 그렇지 않은 건조분말 가수분해물보다 비교적 높은 항산화 활성을 보였으며, 원료의 비율이 높을 때 항산화능이 높게 나타났다 (표 9).

[0117] 3-3. 항고혈압 효과 확인

[0118] 실시예 4에서 제조한 갈색거저리 가수분해물 (마이크로파 건조 또는 동결건조 후 오일 및 인지질 추출 후 가수분해)과 실시예 1에서 마이크로파 건조 또는 동결건조한 후 가수분해한 가수분해물의 항고혈압 활성을 ELISA 키트로 확인하였다. 구체적으로, 96웰 플레이트의 각 웰에 가수분해물 시료들을 100 μ l씩 넣어 커버필름을 덮은 뒤 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 그 후, 각 웰의 액체를 제거한 뒤, Detection Reagent A를 100 μ l 넣어 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 반응시켰다. wash solution을 희석하여 각 웰을 3회 세척하여 물기를 잘 제거한 뒤, Detection Reagent B를 100 μ l 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 반응시켰다. 각 웰을 wash solution으로 5회 반복 세척한 뒤 Substration solution을 90 μ l 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 15분 동안 반응시켰다. 이 때, 빛을 차단해주었다. 그 후, Stop solution 50 μ l을 넣고 노란색으로 바뀌도록 잘 섞어준 뒤, 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 용액을 농도별로 희석한 뒤, 표준 곡선을 그려 항고혈압 활성 물질의 함량을 계산하였으며, 결과는 ng/g (건조 중량)으로 나타났다.

표 10

	Sample	Antihypertensive content(ng/g)
Microwave dried	M1	45.04 $\pm$ 0.36
	M2	84.87 $\pm$ 0.88
	M3	42.60 $\pm$ 0.50
	M4	79.15 $\pm$ 1.00
Freeze dried	F1	46.84 $\pm$ 0.36
	F2	80.44 $\pm$ 0.44
	F3	44.92 $\pm$ 0.36
	F4	72.94 $\pm$ 0.75

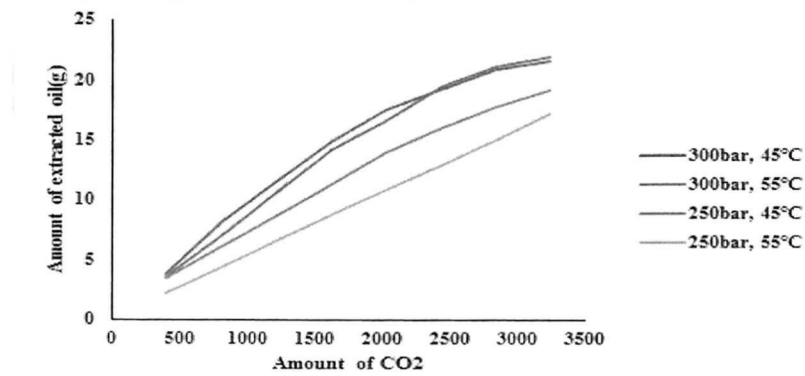
(M1 : Deoil microwave dried powder, ratio 1:10/ M2 : Deoil microwave dried powder, ratio 1:20/ M3 : Microwave dried powder, ratio 1:10/ M4 : Microwave dried powder, ratio 1:20/ F1 : Deoil freeze dried powder ratio 1:10/ F2: Deoil freeze dried powder, ratio 1:20/ F3 : Freeze dried powder, ratio 1:10/ F4 : Freeze dried powder, ratio 1:20)

[0119]

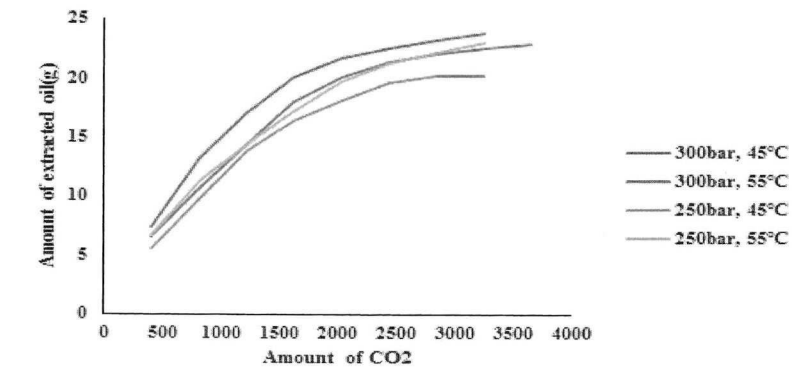
[0120] 그 결과, 마이크로파 건조 가수분해물에서 원료의 비율이 낮고, 오일이 분리된 원료를 사용하였을 때 항고혈압 활성이 높은 것을 알 수 있었다 (표 10).

도면

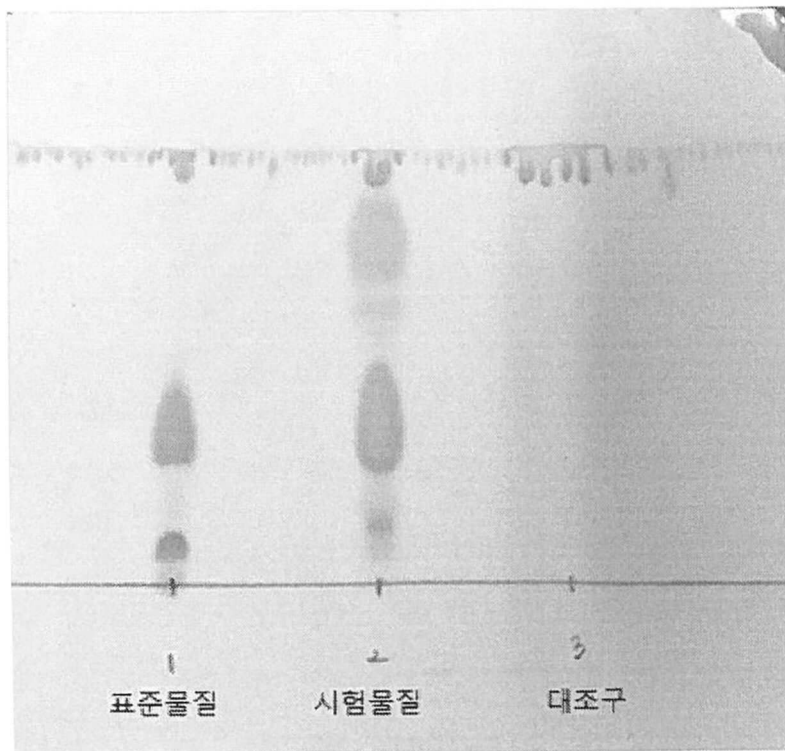
도면1



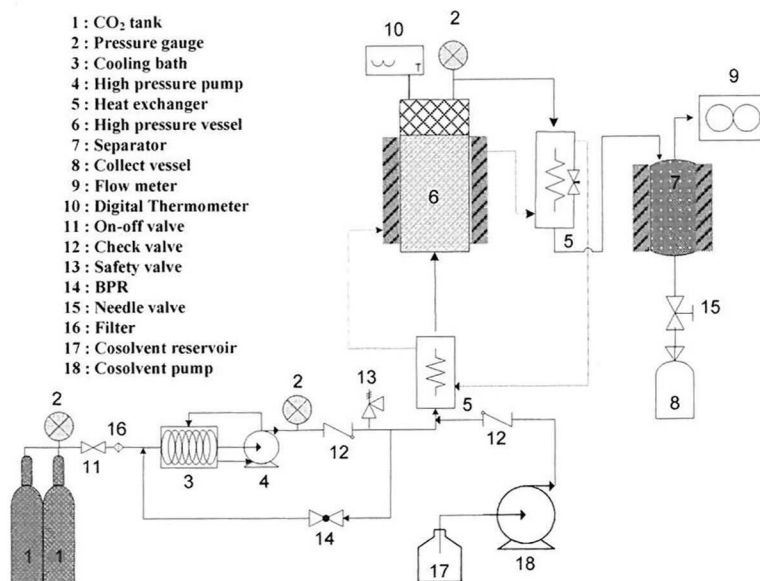
도면2



도면3



도면4



도면5

