



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0134045
(43) 공개일자 2023년09월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/105 (2016.01) A23L 33/135 (2016.01)
A23L 5/10 (2016.01) C12N 1/20 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23L 33/135 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2022-0030588
(22) 출원일자 2022년03월11일
심사청구일자 2022년03월11일

(71) 출원인
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
양재경
경상남도 진주시 강변길 31, 103동 402호(가좌동, 가호 에일린의 뜰 아파트)
정지영
경상남도 창원시 마산회원구 양덕서로 30, 104동 1702호(양덕동, 메트로시티)
하시영
경상남도 진주시 진주대로 501, 456동 304호(가좌동)
(74) 대리인
특허법인태백

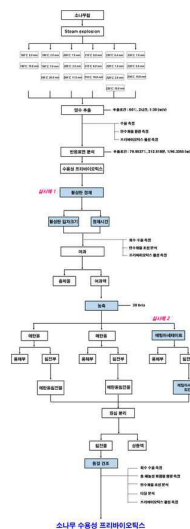
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 목재 유래 수용성 프리바이오틱스 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 목재 유래 수용성 프리바이오틱스 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 반응 표면 분석을 통하여 고온 증기 처리된 소나무 칩으로부터 최적의 열수 추출 조건을 도출하고, 상기 열수추출물의 정제를 통하여 우수한 총 당 함량과 색상을 나타내고, 상기 열수추출물의 유기용매 분획을 통하여 우수한 수율을 나타내는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스 제조방법을 확인하였으며, 상기 제조방법으로 수득된 목재 유래 수용성 프리바이오틱스는 장내 유익균의 증식을 향상시키는 것으로 확인됨에 따라, 목재 유래 수용성 프리바이오틱스를 유효성분으로 함유하는 조성물은 장내 유익균 증식용 건강식품으로 제공될 수 있다.

대표도 - 도21



(52) CPC특허분류

A23L 5/13 (2016.08)
C12N 1/20 (2021.05)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/32 (2013.01)
A23V 2200/3202 (2013.01)
A23V 2250/21 (2013.01)
A23V 2300/14 (2013.01)
A23V 2300/18 (2013.01)
A23V 2400/113 (2023.08)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1405004747
과제번호	2020193B10-2122-BA01
부처명	산림청
과제관리(전문)기관명	한국임업진흥원
연구사업명	산림생명자원소재발굴연구(R&D)
연구과제명	목질자원으로부터 육계를 위한 프리바이오틱스 성분의 분리 및 가금류 기능성 사료
첨가제 시제품 개발	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경상대학교
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

목재 칩을 고온 증기 처리하는 단계;

상기 고온 증기 처리된 목재 칩을 열수 추출하는 단계;

상기 열수추출물을 활성탄을 이용하여 정제하는 단계 ; 및

상기 정제된 열수추출물을 분획하는 단계; 를 포함하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 목재는 소나무, 참나무, 편백나무, 상수리나무, 갈참나무, 졸참나무, 신갈나무, 굴참나무 및 떡갈나무로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 목재 칩을 고온 증기 처리하는 단계는 180 내지 220℃로 0.4 내지 5분간 고온 증기 처리하는 것을 특징으로 하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 목재 칩을 고온 증기 처리하는 단계는 엄격계수 (severity factor; log Ro)가 3.1 내지 5.0 인 것을 특징으로 하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 고온 증기 처리된 목재 칩을 열수 추출하는 단계는 70 내지 90℃에서 목재 칩과 물을 1:40 내지 60 (w/v)의 액비로 200 내지 250 분간 열수 추출하는 것을 특징으로 하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 열수추출물을 활성탄을 이용하여 정제하는 단계는 20~60 mesh 크기의 그래놀라 타입의 활성탄을 이용하여 20분 내지 90분 동안 반응시키는 것을 특징으로 하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 열수추출물을 분획하는 단계는 에탄올 수용액 또는 에틸아세테이트로 분획하여 프리바이오틱스를 회수하는 것을 특징으로 하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 프리바이오틱스(prebiotics)는 프로바이오틱스(probiotics)의 성장을 활성시키는 것을 특징으로 하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 프로바이오틱스는 바실러스 코아굴런스 (Bacillus coagulans), 바실러스 서브틸리스 (Bacillus subtilis subsp. inaquosorum), 바실러스 아밀로리퀴페시엔스 (Bacillus amyloliquefaciens), 엔테로코커스 패칼리스 (Enterococcus faecalis), 엔테로코커스 패시움 (Enterococcus faecium), 락토바실러스 아시도필루스 (Lactobacillus acidophilus) 및 락토바실러스 텔브루케이 아균 불가리쿠스 (Lactobacillus

delbrueckii subsp. bulgaricus)로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법.

청구항 10

청구항 1 내지 청구항 9 중 어느 한 항에 따른 제조방법으로 수득된 목재 유래 수용성 프리바이오틱스.

청구항 11

청구항 10에 따른 프리바이오틱스를 유효성분으로 함유하는 장내 유익균 증식용 건강식품.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 상기 장내 유익균은 바실러스 코아굴런스 (*Bacillus coagulans*), 바실러스 서브틸리스 (*Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum*), 바실러스 아밀로리퀴페시엔스 (*Bacillus amyloliquefaciens*), 엔테로코커스 패칼리스 (*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 패시움 (*Enterococcus faecium*), 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*) 및 락토바실러스 델브루케이 아균 불가리쿠스 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 장내 유익균 증식용 건강기능식품.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 목재 유래 수용성 프리바이오틱스 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 장내 미생물도 우리가 섭취하는 식품을 이용하여 성장하므로 섭취하는 음식물이 장에 존재하는 미생물의 종류를 변화시킬 수 있다. 그중에서도식이섬유, 올리고당, 흡수되지 않은 당류 등이 장내 미생물의 성장에 영향을 준다. 이와 같이 인체에 유익한 장내 미생물의 성장을 도와주는 성분이 프리바이오틱스이다. 프리바이오틱스는 소장에서 소화가 되지 않으며, 대장으로 이동하여 유산균과 같은 박테리아의 성장이나 활성을 선택적으로 높여 인체의 건강을 증진시킨다.

[0003] 프리바이오틱스는 올리고당이 인체의 장에 존재하는 유산균을 선택적으로 증가시킨다는 것이 알려지면서부터 언급되기 시작했다. 올리고당은 대장에서 유산균을 선택적으로 성장시키고 장내 유해균의 성장은 막아주는 작용을 한다. 모유를 먹고 자란 아이들이 면역력이 뛰어난 이유가 바로 모유 속의 올리고당 덕분이다. 유산균은 식품 발효에 관여하면서 장내 염증성 질병, 설사, 변비 등을 예방하며, 혈액 내 콜레스테롤을 감소시키고, 장내 유해균의 성장을 억제하는 등 우리 몸에 유익한 작용을 한다. 그러므로 프리바이오틱스를 섭취해 유산균의 성장을 증진시키는 것은 장 건강뿐만 아니라 전체적인 건강을 유지하는 방법이 될 수 있다.

[0004] 종래 리그노셀룰로스 바이오매스로부터 구조적 탄수화물을 추출하기 위하여 많은 방법이 시도되어 왔지만, 리그노셀룰로오스 바이오매스는 식물 세포벽이 단단하고 조밀한 구조를 갖기 때문에 분해가 어렵다는 문제점이 있다.

[0005] 이러한 문제점을 해결하기 위해 효소, 산 추출법, 이산화황 처리법 등을 이용하여 당을 추출하기 위한 시도가 있었으나, 수율이 낮거나, 높은 비용을 필요로 하며, 추출물에 독성물질이 남아 있는 문제점이 여전히 남아 있다.

[0006] 따라서 리그노셀룰로스 바이오매스인 목질 원료로부터 프리바이오틱스를 추출하기 위한 최적의 처리방법에 대한 연구가 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2016-0097264호 (2016.08.17. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 리그노셀룰로스 바이오매스인 목재로부터 수용성 프리바이오틱스를 추출하기 위한 최적의 처리방법을 제공하며, 상기 목재 유래 수용성 프리바이오틱스를 유효성분으로 함유하는 조성물을 장내 유익균 증진용 조성물로 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 목재 칩을 고온 증기 처리하는 단계;
 [0010] 상기 고온 증기 처리된 목재 칩을 열수 추출하는 단계;
 [0011] 상기 열수추출물을 활성탄을 이용하여 정제하는 단계 ; 및
 [0012] 상기 정제된 열수추출물을 분획하는 단계; 를 포함하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법을 제공한다.
 [0013] 본 발명은 상기 제조방법으로 수득된 목재 유래 수용성 프리바이오틱스를 제공한다.
 [0014] 또한, 본 발명은 목재 유래 수용성 프리바이오틱스 프리바이오틱스를 유효성분으로 함유하는 장내 유익균 증식용 건강식품을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따르면, 반응 표면 분석을 통하여 고온 증기 처리된 소나무 칩으로부터 최적의 열수 추출 조건을 도출하고, 기 열수추출물의 정제를 통하여 우수한 총 당 함량과 색상을 나타내고, 상기 열수추출물의 유기용매 분획을 통하여 우수한 수율을 나타내는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스 제조방법을 확인하였으며, 상기 제조방법으로 수득된 목재 유래 수용성 프리바이오틱스는 장내 유익균의 증식을 향상시키는 것으로 확인됨에 따라, 목재 유래 수용성 프리바이오틱스를 유효성분으로 함유하는 조성물은 장내 유익균 증식용 건강식품으로 제공될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 고온 증기 처리된 소나무 칩에서 유래된 액체 분획 수율에 대한 엄격 계수(Ro)의 영향을 확인한 결과이다.
 도 2는 고온 증기 처리된 소나무 칩에서 유래된 액체 분획의 바실러스 코아쿨런스 (*Bacillus coagulans*) 프리바이오틱스 활성화에 대한 엄격 계수(Ro)의 영향을 확인한 결과이다.
 도 3은 고온 증기 처리된 소나무 칩에서 유래된 액체 분획의 바실러스 서브틸리스 (*Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum*) 프리바이오틱스 활성화에 대한 엄격 계수(Ro)의 영향을 확인한 결과이다.
 도 4는 고온 증기 처리된 소나무 칩에서 유래된 액체 분획의 바실러스 아밀로리퀴페시언스 (*Bacillus amyloliquefaciens*) 프리바이오틱스 활성화에 대한 엄격 계수(Ro)의 영향을 확인한 결과이다.
 도 5는 고온 증기 처리된 소나무 칩에서 유래된 액체 분획의 엔테로코커스 패칼리스 (*Enterococcus faecalis*) 프리바이오틱스 활성화에 대한 엄격 계수(Ro)의 영향을 확인한 결과이다.
 도 6은 고온 증기 처리된 소나무 칩에서 유래된 액체 분획의 엔테로코커스 패시움 (*Enterococcus faecium*) 프리바이오틱스 활성화에 대한 엄격 계수(Ro)의 영향을 확인한 결과이다.
 도 7은 고온 증기 처리된 소나무 칩에서 유래된 액체 분획의 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*) 프리바이오틱스 활성화에 대한 엄격 계수(Ro)의 영향을 확인한 결과이다.
 도 8은 고온 증기 처리된 소나무 칩에서 유래된 액체 분획의 락토바실러스 델브루케이 아균 불가리쿠스 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) 프리바이오틱스 활성화에 대한 엄격 계수(Ro)의 영향을 확인한 결과이다.
 도 9는 중심 합성 설계 (run 17 조건)에 따라 추출된 액체 분획을 확인한 결과이다.

도 10은 각 실험설계 조건에 따라 확인된 실제값(actual value)과 2차 회귀식에 각 실험설계 조건을 대입하여 계산된 예측값(predicted value)을 시계열도를 통하여 나타낸 결과이다.

도 11은 고온 증기 처리된 소나무로부터 수용성 프리바이오틱스 추출을 위해 추출 온도 (X_1), 추출 시간(X_2) 및 추출 액비 (X_3)가 탄수화물 함량(Y_1)에 미치는 영향을 확인한 3차원 반응표면 그래프 결과이다.

도 12는 고온 증기 처리된 소나무로부터 수용성 프리바이오틱스 추출을 위해 추출 온도 (X_1), 추출 시간(X_2) 및 추출 액비 (X_3)가 프리바이오틱스 함량(Y_2)에 미치는 영향을 확인한 3차원 반응표면 그래프 결과이다.

도 13은 고온 증기 처리된 소나무 칩으로부터 프리바이오틱스 함량에 효과적인 수용성 프리바이오틱스 추출을 위한 최적 조건을 확인한 결과이다.

도 14는 활성탄의 입자크기 및 정제시간에 따른 수용성 프리바이오틱스의 총 당 함량을 측정한 결과이다.

도 15는 활성탄의 입자크기 및 정제시간에 따른 수용성 프리바이오틱스의 색상의 밝기, 색차기로 측정한 결과이다.

도 16은 유기용제 침전 전 액상 시료 무게(g) 대비 동결건조 후 회수된 분말 시료 무게(g)를 측정하여 수용성 프리바이오틱스의 회수율을 확인한 결과이다.

도 17은 수용성 프리바이오틱스의 페놀 화합물 함량에 대한 용매의 영향을 확인한 결과이다.

도 18은 에탄올 수용액, 메탄올 수용액 및 에틸아세테이트 분획 내 수용성 프리바이오틱스에 대한 가스 크로마토그램(GC) 분석 결과이다.

도 19는 에탄올 수용액, 메탄올 수용액 및 에틸아세테이트 분획 내 수용성 프리바이오틱스에 대한 HPAEC-PAD 크로마토그램 분석 결과이다.

도 20은 수용성 프리바이오틱스의 프리바이오틱스 함량에 대한 용매의 영향을 확인한 결과이다.

도 21은 목재 유래 수용성 프리바이오틱스 제조 과정을 나타낸 모식도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017]

이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0019]

본 발명의 발명자들은 반응 표면 분석을 통하여 고온 증기 처리된 소나무 칩으로부터 최적의 열수 추출 조건을 도출하고, 상기 열수추출물의 유기용매 분획을 통하여 우수한 수율을 나타내는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스 제조방법을 확인하였으며, 상기 제조방법으로 수득된 목재 유래 수용성 프리바이오틱스는 장내 유익균의 향상된 증식 효과를 확인함에 따라 본 발명을 완성하였다.

[0021]

본 발명은 목재 칩을 고온 증기 처리하는 단계; 상기 고온 증기 처리된 목재 칩을 열수 추출하는 단계; 상기 열수추출물을 활성탄을 이용하여 정제하는 단계 ; 및 상기 정제된 열수추출물을 분획하는 단계; 를 포함하는 목재 유래 수용성 프리바이오틱스(prebiotics) 제조방법을 제공할 수 있다.

[0022]

상기 목재는 소나무, 참나무, 편백나무, 상수리나무, 갈참나무, 졸참나무, 신갈나무, 굴참나무 및 떡갈나무로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0023]

상기 목재 칩을 고온 증기 처리하는 단계는 180 내지 220℃로 0.4 내지 5분간 고온 증기 처리하는 것일 수 있다.

[0024]

상기 목재 칩을 고온 증기 처리하는 단계는 엄격계수 (severity factor; log Ro)가 3.1 내지 5.0 인 것일 수 있다.

[0025]

상기 고온 증기 처리된 목재 칩을 열수 추출하는 단계는 70 내지 90℃에서 목재 칩과 물을 1 : 40 내지 60 (w/v)의 액비로 200 내지 250 분간 열수 추출하는 것일 수 있다.

[0026]

상기 열수추출물을 활성탄을 이용하여 정제하는 단계는 20~60 mesh 또는 20~40 mesh 크기의 그래놀라 타입의 활

성탄을 이용하여 20분 내지 90분 또는 20분 내지 40분 동안 정제 반응을 수행할 수 있다.

- [0027] 상기와 같이 그래놀라 타입의 활성탄을 이용하는 경우, 제조된 프리바이오틱스의 총 당 함량과 색상을 향상시킬 수 있다.
- [0028] 상기 열수추출물을 분획하는 단계는 에탄올 수용액 또는 에틸아세테이트로 분획하여 프리바이오틱스를 회수하는 것일 수 있다.
- [0029] 상기 프리바이오틱스(prebiotics)는 프로바이오틱스(probiotics)의 성장을 활성화시키는 것일 수 있다.
- [0030] 상기 프로바이오틱스는 바실러스 코아굴런스 (*Bacillus coagulans*), 바실러스 서브틸리스 (*Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum*), 바실러스 아밀로리퀴페시언스 (*Bacillus amyloliquefaciens*), 엔테로코커스 패칼리스 (*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 패시움 (*Enterococcus faecium*), 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*) 및 락토바실러스 델브루케이 아균 불가리쿠스 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0031] 본 발명은 상기 제조방법으로 수득된 목재 유래 수용성 프리바이오틱스를 제공할 수 있다.
- [0032] 또한, 본 발명은 상기 프리바이오틱스를 유효성분으로 함유하는 장내 유익균 증식용 건강식품을 제공할 수 있다.
- [0033] 상기 장내 유익균은 바실러스 코아굴런스 (*Bacillus coagulans*), 바실러스 서브틸리스 (*Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum*), 바실러스 아밀로리퀴페시언스 (*Bacillus amyloliquefaciens*), 엔테로코커스 패칼리스 (*Enterococcus faecalis*), 엔테로코커스 패시움 (*Enterococcus faecium*), 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*) 및 락토바실러스 델브루케이 아균 불가리쿠스 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)로 이루어진 군에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0034] 상기 건강식품은 상기 목재 유래 수용성 프리바이오틱스 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0035] 상기 건강식품에 함유된 화합물의 유효용량은 상기 치료제의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.
- [0036] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 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 복합제등을 들 수 있다.
- [0037] 또한, 상기 건강기능식품은 소나무 칩으로부터 분리된 프리바이오틱스를 포함하는 캡슐, 정제, 분말, 액상 현탁액, 환제 및 과립제 등의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0038] 상기 건강기능식품은 유효성분으로서 소나무 칩으로부터 분리된 프리바이오틱스 외에 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분이나 당업계에서 널리 알려진 통상적인 프리바이오틱스를 더 포함시킬 수도 있으며, 구체적으로는 올리고당류(oligosaccharides), 락툴로오스(lactulose), 락티톨(lactitol) 등이 더 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0040] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.
- [0042] <실시예 1> 소나무 목질부에 함유된 탄수화물의 수용성 프리바이오틱스 전환을 위한 엄격 계수 (severity factor) 확인
- [0044] 1. 고온 증기 처리 조건별 소나무 칩으로부터 획득된 액상 분획의 수율 확인

[0045] 엄격 계수 (Severity factor, Ro) 3.1 ~ 5.0 (18조건)으로 각각 처리된 소나무 칩을 추출 온도 60℃, 추출 액비 1/30 (w/v), 추출 시간 2시간으로 추출 후 획득된 액상 분획의 수율을 확인하였다.

[0046] 그 결과, 도 1과 같이 엄격 계수 (Ro) 3.1의 조건에서는 4.9 ~ 11.6%, 엄격 계수 (Ro) 3.5의 조건에서는 9.6 ~ 13.1%, 엄격 계수 (Ro) 4.0의 조건에서는 6.1 ~ 13.0%, 엄격 계수 (Ro) 4.5의 조건에서는 8.4 ~ 12.6%, 엄격 계수 (Ro) 5.0의 조건에서는 8.0% 범위의 수분 함량이 확인되었다. 특히 각 엄격 계수 (Ro) 구간에서 모델링 5 (220℃, 0.4분), 모델링 8 (200℃, 3.5분), 모델링 14 (230℃, 1.5분), 모델링 16 (220℃, 10.0분), 모델링 17 (230℃, 5.0분)에서 높은 수율을 나타내었다.

[0047] 일반적으로 목질 원료의 주성분인 cellulose, hemicellulose 및 lignin의 용해 온도에 영향을 받는 것으로 판단되며, 220℃ 이상에서 열분해가 일어난 것이 확인되었다.

[0049] 2. 고온 증기 처리 조건별 소나무 칩으로부터 획득된 액상 분획의 탄수화물 조성 확인

[0050] 탄수화물 (arabinose, xylose, mannose, galactose 및 glucose)은 대표적인 비전분 다당류로서, 장내 유해 미생물을 부착시켜 체외로 배출시킴과 동시에 유익균의 기질인 프리바이오틱스로 작용하는 기능성 물질로 알려져 있다.

[0051] 엄격 계수 (Ro) 3.1 ~ 5.0 (18 조건)으로 각각 처리된 소나무 칩을 추출 온도 60℃, 추출 액비 1/30 (w/v), 추출 시간 2시간으로 추출 후 획득된 액상 분획의 탄수화물 함량 및 조성을 확인하였다.

[0052] 그 결과, 표 1과 같이 탄수화물 함량은 엄격 계수 (Ro) 3.1의 조건에서는 35.9 ~ 80.2 mg/g, 엄격 계수 (Ro) 3.5의 조건에서는 28.8 ~ 91.4 mg/g, severity factor (Ro) 4.0의 조건에서는 23.1~ 134.5 mg/g, 엄격 계수 (Ro) 4.5의 조건에서는 57.0 ~ 77.2 mg/g, 엄격 계수 (Ro) 5.0의 조건에서는 90.0 mg/g의 탄수화물 함량을 나타냈으며, 모델링 10 (190℃, 20.0분)과 모델링 11 (200℃, 11.5분)에서 130 mg/g의 이상의 높은 탄수화물 함량을 나타내었다.

[0053] 탄수화물 조성은 엄격 계수 (Ro) 3.1 및 엄격 계수 (Ro) 3.5 조건에서 arabinose의 함량이 높게 나타났고, 엄격 계수 (Ro) 4.0에서 mannose 함량이 높게 나타났다.

표 1

[0054]

Modeling No.	Severity factor (Ro)	Temperature (℃)	Time (min)	Carbohydrate (mg/g raw material)					
				Arabinose	Xylose	Mannose	Galactose	Glucose	Total
1	3.1	180	5.0	22.6	8.0	4.8	5.0	2.4	42.9
2		190	3.0	22.3	8.2	4.3	4.9	1.8	41.4
3		200	1.5	21.4	7.5	2.5	2.1	2.3	35.9
4		210	0.8	23.5	8.0	5.4	5.5	2.9	45.3
5		220	0.4	16.5	27.5	14.3	17.7	4.2	80.2
6	3.5	180	15.0	17.3	4.3	4.6	2.4	3.2	31.8
7		190	7.0	21.9	6.9	5.1	5.0	2.5	41.3
8		200	3.5	14.4	30.3	21.4	19.7	5.7	91.4
9		220	1.0	12.8	4.4	5.7	2.0	3.9	28.8
10	4.0	190	20.0	6.5	26.9	52.2	20.6	24.0	130.2
11		200	11.5	7.0	27.7	56.7	24.6	20.5	134.5
12		210	6.0	8.1	5.7	4.4	2.3	2.6	23.1
13		220	3.0	19.9	4.3	44.7	3.6	2.9	35.5
14		230	1.5	15.8	29.2	17.8	16.7	5.4	84.9
15	4.5	210	18.0	12.6	25.9	17.3	15.8	5.6	77.2
16		220	10.0	13.8	21.2	9.1	11.1	1.7	57.0
17		230	5.0	14.0	20.9	13.2	11.5	4.2	63.9
18	5.0	230	15.0	5.7	19.7	35.6	15.1	14.1	90.0

- [0056] 3. 고온 증기 처리 조건별 소나무 칩으로부터 획득된 액상 분획의 균주별 프리바이오틱스 활성 확인
- [0057] 엄격 계수 (Ro) 3.1 ~ 5.0 (18 조건)으로 각각 처리된 소나무 칩을 추출 온도 60℃, 추출 액비 1/30 (w/v), 추출 시간 2시간으로 추출 후 획득된 액상 분획의 프리바이오틱스 활성을 확인하였다.
- [0058] 도 2와 같이 *Bacillus coagulans*에 대한 고온 증기 처리 조건별 소나무 칩으로부터 획득된 액상 분획의 프리바이오틱스 활성을 확인한 결과, 엄격 계수 (Ro) 3.5의 구간에서 높은 프리바이오틱스 활성을 나타냈고, 모델링 6 (180℃, 3.5분)에서 가장 높은 프리바이오틱스 활성을 나타냈으며, 엄격 계수 (Ro)가 증가함에 따라, 감소하는 경향이 나타나는 것을 확인하였다.
- [0059] 도 3과 같이 *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum*에 대한 고온 증기 처리 조건별 소나무 칩으로부터 획득된 액상 분획의 프리바이오틱스 활성을 확인한 결과, 모델링 5 (220℃, 0.4분)에서 가장 높은 프리바이오틱스 활성 (67.5%)을 나타냈으며, 엄격 계수 (Ro) 3.1 ~ 4.0의 구간에서는 대조구보다 높은 프리바이오틱스 활성을 나타냈으나, 엄격 계수 (Ro) 4.5 이상의 구간에서는 낮은 프리바이오틱스 활성이 확인되었다.
- [0060] 도 4와 같이 *Bacillus amyloliquefaciens*에 대한 고온 증기 처리 조건별 소나무 칩으로부터 획득된 액상 분획의 프리바이오틱스 활성을 확인한 결과, 엄격 계수 (Ro) 3.1 구간의 모델링 5 (220℃, 0.4분) 가장 높은 활성 (67.6%)을 나타냈었으며, 엄격 계수 (Ro)가 증가함에 따라 프리바이오틱스 활성이 낮아지는 경향을 나타내었다.
- [0061] 도 5와 같이 *Enterococcus faecalis*에 대한 고온 증기 처리 조건별 소나무 칩으로부터 획득된 액상 분획의 프리바이오틱스 활성을 확인한 결과, 동일한 엄격 계수 (Ro) 구간에서도 모델링 조건에 따라 상이한 결과를 나타냈으며, 엄격 계수 (Ro) 4.0의 모델링 11 (220℃, 11.5분)에서 가장 높은 프리바이오틱스 활성 (69.1%)이 확인되었다.
- [0062] 도 6과 같이 *Enterococcus faecium*에 대한 고온 증기 처리 조건별 소나무 칩으로부터 획득된 액상 분획의 프리바이오틱스 활성을 확인한 결과, 엄격 계수 (Ro) 3.5의 구간에서 전체적으로 높은 프리바이오틱스 활성 (59.7 ~ 64.8%)을 나타내었다.
- [0063] 도 7과 같이 *Lactobacillus acidophilus*에 대한 고온 증기 처리 조건별 소나무 칩으로부터 획득된 액상 분획의 프리바이오틱스 활성을 확인한 결과, 엄격 계수 (Ro) 3.5의 모델링 8 (200℃, 3.5분), 모델링 9 (220℃, 1.0분) 및 엄격 계수 (Ro) 4.0의 모델링 10 (190℃, 20.0분)에서 72% 이상을 나타내는 것이 확인되었다.
- [0064] 또한, 도 8과 같이 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*에 대한 고온 증기 처리 조건별 소나무 칩으로부터 획득된 액상 분획의 프리바이오틱스 활성을 확인한 결과, 엄격 계수 (Ro) 3.0 구간의 모델링 5 (220℃, 0.4분)과 엄격 계수 (Ro) 3.5 구간, 엄격 계수 (Ro) 4.0 구간의 모델링 10 (190℃, 20.0분), 모델링 11 (200℃, 11.5분), 모델링 12 (210℃, 6.0분)에서 55.3 ~ 66.8%의 높은 프리바이오틱스 활성을 나타내었다.
- [0066] <실시예 2> 엄격 계수 최적 조건으로 처리된 목질 원료로부터 수용성 프리바이오틱스 분리에 적합한 추출 조건 확인
- [0068] 1. 수용성 프리바이오틱스 분리 조건의 최적화를 위한 실험 계획
- [0069] 추출 조건의 최적화를 위한 실험 계획은 central composite design (CCD)법에 따라 표 2와 같이 분리 공정의 주요 변수로 작용할 수 있는 독립변수는 3 수준 (추출 온도 X_1 , 추출 시간 X_2 , 추출 액비 X_3)으로 코드화하였으며, 추출 온도, 추출 시간, 추출 액비의 범위는 5 레벨(-1.68179, -1, 0, 1, 1.68179)로 설정하여, 총 17번의 조건으로 설계되었고, 종속변수는 표 3과 같이 탄수화물 함량(Y_1), 및 프리바이오틱스 활성(Y_2)으로 하였다.
- [0070] 도 9와 같이 각 조건별 여과액은 150 mL 조정 후, 분석 전 냉장 보관하였다.
- [0071] GC로 분석된 탄수화물 함량은 Run 12 (추출 온도 80℃, 추출 시간 240 분, 추출 액비 1/57 (w/v))에서 175.1 mg/g으로 가장 높은 수치를 나타냈고, Run 10 (추출 온도 70℃, 추출 시간 180분, 추출 액비 1/30 (w/v))에서 127.4 mg/g으로 가장 낮은 수치를 나타내었으며, *Lactocacillus acidophilus*로 측정된 프리바이오틱스 활성은

Run 15 (추출 온도 80℃, 추출 시간 240분, 추출 액비 1/40 (w/v))에서 81.2%로 가장 높은 수치를 나타냈고, Run 11 (추출 온도 97℃, 추출 시간 240분, 추출 액비 1/40 (w/v))에서 64.4%로 가장 낮은 수치를 나타냈다.

[0072] 중심점(추출 온도 80℃, 추출 시간 240분, 추출 액비 1/40 (w/v))으로 추출된 Run 11, Run 15, Run 16에서 탄수화물 함량은 161.5 ~ 167.8 mg/g 및 프리바이오틱스 활성은 80.9 ~ 81.2%로 전반적으로 높은 수치가 확인되었다.

[0073] 각 실험설계 조건에 따라 측정된 실제값(actual value)과 2차 회귀식에 각 실험설계 조건을 대입하여 계산된 예측값(predicted value)을 시계열도를 통하여 나타낸 결과, 도 10과 같이 탄수화물 함량 및 프리바이오틱스 활성의 실제값과 예측값의 경향이 일치하는 것을 확인하였다.

[0074] 상기 결과로부터 도출된 2차 회귀식에 의해 예측되는 결과의 재현성이 높은 것이 확인되었다.

표 2

[0075]

Independent variable	Unit	Symbol	Coded levels				
			-1.682	-1	0	1	+1.682
Temperature	℃	X_1	63	70	80	90	97
Time	min	X_2	139	180	240	300	341
Solid/liquid ratio	min	X_3	23	30	40	50	57

표 3

[0076]

Run	Independent variables			Dependent variables	
	Temperature (X_1 , ℃)	Time (X_2 , min)	Solid/liquid ratio (X_3 , w/v)	Carbohydrate (Y_1 , mg/g)	Prebiotic activity (Y_2 , %)
1	-1	-1	1	158.0	72.1
2	0	0	-1.68179	106.9	76.3
3	1	1	1	164.0	68.1
4	-1	1	1	166.1	81.0
5	0	1.68179	0	149.4	70.4
6	-1.68179	0	0	143.5	70.0
7	0	0	0	164.8	80.9
8	-1	1	-1	134.9	76.7
9	1	1	-1	130.0	65.4
10	-1	-1	-1	127.4	74.3
11	1.68179	0	0	157.0	64.4
12	0	0	1.68179	175.1	75.6
13	0	-1.68179	0	144.1	77.6
14	1	-1	1	163.9	71.8
15	0	0	0	161.5	81.2
16	0	0	0	164.8	80.8
17	1	-1	-1	128.2	69.5

[0078] 2. 3차원 표면분석 그래프에 의한 추출 영향 인자간의 상관관계 확인

[0079] 고온 증기 처리된 소나무로부터 수용성 프리바이오틱스 추출에 있어서 추출 온도 (X_1), 추출 시간(X_2), 추출 액비 (X_3)가 탄수화물 함량(Y_1) 및 프리바이오틱스 활성(Y_2)에 미치는 영향을 확인하기 위해, Design-Expert 13 프로그램을 사용하여, 3차원 반응표면 그래프를 확인하였다.

[0080] 도 11과 같이 탄수화물 함량에 대한 추출 인자의 영향을 확인하였으며, 도 12와 같이 프리바이오틱스 활성화에 대한 추출 인자의 영향을 확인하였다. 그 결과, 탄수화물 함량의 반응표면 그래프에서는 추출 온도 및 추출 시간의 영향을 나타낸 그래프에서 완만한 능선을 나타내었고, 프리바이오틱스 활성화의 반응표면 그래프에서는 추출 시간 및 추출 액비의 영향을 나타낸 그래프에서 완만한 능선을 나타내었다.

[0081] 상기 결과로부터 탄수화물 함량에는 추출 액비가 프리바이오틱스 활성화에는 추출 온도 인자가 영향을 크게 미칠 것으로 제안될 수 있다.

[0083] 3. 최적 수용성 프리바이오틱스 추출 조건에 대한 분산분석(ANOVA)

[0084] 상기 표 3, 도 11 및 도 12의 결과들로부터 탄수화물 함량, 및 프리바이오틱스 활성화에 대한 2차 회귀식을 다음과 같이 유도하였다.

$$[0086] \quad Y_1 = + 164.58 + 1.64X_1 + 1.93X_2 + 18.03X_3 - 4.73X_1^2 - 1.71X_1X_2 - 5.97X_2^2 + 0.9875X_1X_3 - 0.1375X_2X_3 - 8.00X_3^2$$

$$[0087] \quad Y_2 = + 80.93 - 2.84X_1 - 0.6304X_2 + 0.4337X_3 - 4.76X_1^2 - 2.39X_1X_2 - 2.35X_2^2 + 0.3625X_1X_3 + 0.8625X_2X_3 - 1.66X_3^2$$

[0089] 고온 증기 처리된 소나무로부터 최적 수용성 프리바이오틱스 다당류 추출에 대한 탄수화물 함량 및 프리바이오틱스 활성화에 대한 반응 모델의 분산분석을 확인하였다. 그 결과, 표 4와 같이 탄수화물 함량에 있어서, 종속변수에 영향을 미치는 1차 항(Linear)인 추출 온도 (X_1), 추출 시간(X_2) 및 추출 액비 (X_3)에 대한 p-value는 각각 0.2086, 0.1465 및 <0.0001로 영향 인자 중 추출 액비가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 2차 항(Quadratic)의 p-value는 각각 0.0084, 0.0025 및 0.0005로 반응 모델에서 유의성이 있는 것으로 나타났으며 ($p < 0.05$), 교차항(Interaction)의 p-value는 각각 0.3051, 0.5438 및 0.9317로 통계적으로 유의하지 않아 독립변수 간의 상호 작용은 이루어지지 않는 것으로 판단되었다 ($p > 0.1$).

[0090] 프리바이오틱스 활성화에 있어서, 1차 항(Linear)인 추출 온도 (X_1), 추출 시간(X_2) 및 추출 액비 (X_3)의 p-value는 각각 0.0043, 0.3876 및 0.5464로 탄수화물 함량의 분산분석 결과와 다르게 영향 인자 중 추출 온도가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났고, 2차 항(Quadratic)의 p-value는 각각 0.0004, 0.0168 및 0.0630로 추출 온도와 추출 시간의 2차 항이 유의성이 있는 것으로 나타났으며, 교차항(Interaction)의 p-value는 각각 0.0.2020, 0.6972 및 0.3668로 추출 온도와 추출시간 (X_1X_2)의 상호 작용에서 유의한 영향을 나타내었다.

[0091] 반응 모델의 타당성을 나타내는 Lack of fit (적합성 결여)은 탄수화물 함량 및 프리바이오틱스 활성화의 반응 모델에서 각각 0.3301 및 0.0580으로 유의하지 않은 것($p > 0.05$)으로 확인됨에 따라, 상기 실험설계가 적합하게 이루어진 것이 확인되었다.

[0092] 반응 모델의 신뢰도를 나타내는 R^2 (결정 계수)는 탄수화물 함량 및 프리바이오틱스 활성화의 반응 모델에서 각각 0.9761 및 0.9070으로 확인되었으며, 상기 결과로부터 유도된 2차 회귀식이 실험된 조건 안에서의 반응은 97.61% 및 90.70% 설명될 수 있다. 또한, 유도된 탄수화물 함량 및 프리바이오틱스 활성화에 대한 2차 회귀식은 각각 <0.0001 및 0.0070의 유의성이 확인됨에 따라, 반응값 예측에 적합한 것이 확인되었다.

표 4

Model parameter	Carbohydrate		Prebiotic activity	
	p-value		p-value	
Model	<0.0001	significant	0.0070	significant
Linear				

X_1	0.2086		0.0043	
X_2	0.1465		0.3876	
X_3	<0.0001		0.5464	
Quadratic				
X_1^2	0.0084		0.0004	
X_2^2	0.0025		0.0168	
X_3^2	0.0005		0.0630	
Interaction				
X_1X_2	0.3051		0.0320	
X_1X_3	0.5438		0.6972	
X_2X_3	0.9317		0.3668	
Lack of fit	0.3301	not significant	0.0580	not significant
R^2	0.9761		0.9070	

[0095] 4. 최적 수용성 프리바이오틱스 추출 조건에 대한 피어슨 상관관계 분석

[0096] 상관관계 분석법 중 가장 일반적으로 사용되는 피어슨 상관관계 분석은 전체 편차 내에서 예측치와 평균 간의 차이가 차지하는 비율로서 상관계수를 나타내며, 통상적으로 상관계수가 -1 또는 1에 가까울수록 강한 음적 또는 양적 선형관계로 해석한다.

[0097] 표 5는 피어슨 상관관계 분석에 의한 상관계수를 나타낸 결과로, 프리바이오틱스 활성은 탄수화물 함량(carbohydrate, arabinose, xylose, mannose, galactose, glucose)과 모두 양의 상관관계를 가지는 것으로 나타났다으며, 프리바이오틱스 활성은 탄수화물에 함유된 당 중 상관계수 0.61 및 0.59를 나타내는 아라비노스(arabinose) 및 만노스(mannose)와 가장 강한 상관관계를 나타내었다.

표 5

[0098]

	Carbohydrate	Arabinose	Xylose	Mannose	Galactose	Glucose	Prebiotic activity
Carbohydrate	1.00	0.76	0.98	0.97	0.93	0.93	0.51
Arabinose	0.76	1.00	0.68	0.69	0.59	0.66	0.61
Xylose	0.98	0.68	1.00	0.96	0.92	0.92	0.51
Mannose	0.97	0.69	0.96	1.00	0.95	0.94	0.59
Galactose	0.93	0.59	0.92	0.95	1.00	0.93	0.25
Glucose	0.93	0.66	0.92	0.94	0.93	1.00	0.24
Prebiotic activity	0.51	0.61	0.51	0.59	0.25	0.24	1.00

[0100] 5. 최적 수용성 프리바이오틱스 추출 조건

[0101] 고온 증기 처리된 소나무 침으로부터 프리바이오틱스 활성에 효과적인 수용성 프리바이오틱스 추출을 위한 최적 조건은 도 13과 같다. 예측된 최적 조건은 추출 온도 79.9537℃, 추출 시간 212.618분, 추출 액비 1/46.3365(w/v)로 나타났으며, 예측값은 탄수화물 함량 및 프리바이오틱스 활성은 각각 172.906 mg/g 및 80.5294%로 확인되었다.

[0103] <실시예 3> 최적 추출 조건으로 분리된 수용성 프리바이오틱스 회수

[0104] 1. 활성탄의 입자크기 및 정제 시간에 따른 총 당 함량 및 색상 비교

[0105] 최적 추출 조건으로 추출된 프리바이오틱스 100 mL에 파우더타입(100 mesh)의 활성탄 또는 그레놀라 타입 (20-40 mesh)의 활성탄을 각각 10g씩 넣고, 30 ℃, 50 rpm으로 교반시킨 후, 중력여과하여, 총 당 함량을 측정하였고, 색상의 밝기, 검은색과 흰색을 의미하는 L*값을 색차기로 측정하여 색상을 비교하였다.

[0106] 총 당 함량을 측정한 결과, 도 14와 같이 파우더 타입으로 30 ~ 90분 처리한 프리바이오틱스보다 그레놀라 타입으로 30 ~ 90분 처리한 프리바이오틱스에서 높은 총 당 함량을 나타냈다.

[0107] 색상의 밝기, 검은색과 흰색을 의미하는 L*값을 색차기로 측정한 결과, 도 15와 같이 파우더 타입으로 30 ~ 90분 처리한 프리바이오틱스에서 색상이 개선된 것으로 나타났다. 총 당 함량과 색상 개선 정도를 고려하였을 때, 그레놀라 타입의 활성탄을 첨가하여, 30분 동안 반응시키는 것이 적합할 것으로 판단된다.

[0109] 2. 유기용제 종류에 따른 수용성 프리바이오틱스 특성

[0110] 수용성 프리바이오틱스 원료의 회수에 효과적인 정제 방법을 선정하기 위해, 대량 추출된 수용성 프리바이오틱스 액상 원료를 30 brix로 농축하여, 80% 에탄올(EtOH; ethanol precipitation) 및 80% 메탄올(MeOH; Methanol precipitation)을 각각 7배 용량으로 첨가하고, 4℃ 및 24시간 동안 침전시키고, 에틸아세테이트(EA; ethyl acetate precipitation)은 3회 반복 분획하여, 각각 원심 분리 후 동결 건조하여 각각의 고형물을 획득하였다.

[0111] 각각의 회수 수율 함량은 유기용제 침전 전 액상 시료 무게(g) 대비 동결건조 후 회수된 분말 시료 무게 (g)를 측정하였다.

[0112] 그 결과, 도 16과 같이 회수 수율은 에탄올로 침전하여 회수 시, 0.6 %, 메탄올로 침전하여 회수 시, 0.3%, 에틸아세테이트로 분획하여 회수 시 17.8%로 나타났다.

[0113] 상기 결과로부터 에틸아세테이트로 분획하여 회수하였을 때, 가장 많은 양의 고형분이 획득되는 것을 확인할 수 있었다.

[0114] 각각의 회수된 고형분은 Folin-ciocalteu법을 적용하여, 총 페놀성 화합물 함량을 분석하였다.

[0115] 그 결과, 도 17과 같이 에탄올로 침전하여 회수된 고형분에서 9.9 mg/g precipitated material, 메탄올로 침전하여 회수된 고형분에서 11.3 mg/g precipitated material, 에틸아세테이트로 분획하여 회수된 고형분에서 31.4 mg/g precipitated material로, 에탄올 침전 방법으로 회수된 고형분에서 가장 낮은 페놀성 화합물 함량을 나타내었다.

[0116] 탄수화물 조성은 GC를 이용하여 에탄올 침전, 메탄올 침전 및 에틸아세테이트로 분획으로 회수된 고형분의 탄수화물 조성을 비교하였다.

[0117] 그 결과, 도 18과 같이 에탄올로 침전하여 회수된 고형분은 arabinose 4.2%, xylose 10.1%, mannose 37.2%, galactose 12.4%, glucose 29.2%로 구성된 것으로 나타났고, 메탄올로 침전하여 회수된 고형분은 arabinose 2.0%, xylose 5.2%, mannose 39.3%, galactose 6.4%, glucose 39.5%로 구성된 것으로 나타났으며, 에틸아세테이트로 분획하여 회수된 고형분은 arabinose 3.2%, xylose 12.6%, mannose 30.5%, galactose 11.5%, glucose 24.6%로 구성된 것으로 확인되었다.

[0118] 또한, 에탄올 또는 메탄올로 침전하여 회수된 시료의 chromatogram과 달리 에틸아세테이트로 분획하여 회수된 시료의 chromatogram에서 당 이외의 성분이 확인되었다.

[0119] 중합도는 HPAEC-PAD를 이용하여 다당 분석을 수행하였다. 프리바이오틱스는 대부분 소화되지 않는 탄수화물 또는 올리고당류로, 에탄올로 침전하여 회수된 고형분, 메탄올로 침전하여 회수된 고형분 및 에틸아세테이트로 분획하여 회수된 고형분의 중합도를 측정하여 올리고당 유무를 확인하였다.

[0120] 그 결과, 도 19와 같이 에탄올로 침전하여 회수된 고형분과 에틸아세테이트로 분획하여 회수된 고형분의 중합도는 2 ~ 5를 나타냈으나, 메탄올로 침전하여 회수된 고형분은 중합도 2 정도를 나타내었다.

[0122] 3. 유기용제 종류에 따른 수용성 프리바이오틱스의 활성 확인

[0123] 에탄올 (EtOH; ethanol precipitation), 메탄올 (MeOH; Methanol precipitation), 에틸아세테이트 (EA; ethyl acetate precipitation)로 회수된 수용성 프리바이오틱스의 *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*에 대한 프리바이오틱스 활성을 확인하였다.

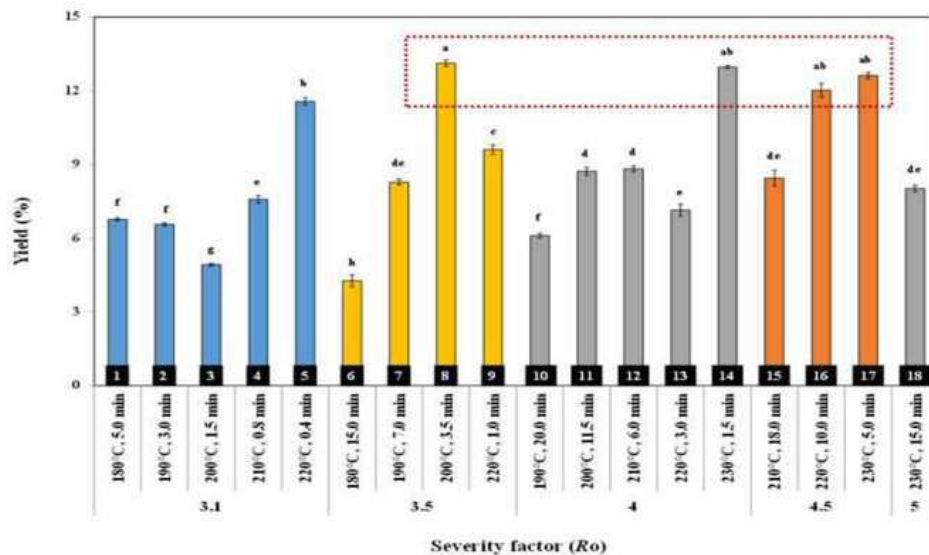
[0124] 그 결과, 도 20과 같이 유기용제에 따라 회수된 수용성 프리바이오틱스의 *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* 및 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*에 대한 활성에 있어서, 각각 68.4 ~ 84.5%, 75.1 ~ 85.5%, 71.1 ~ 81.7%, 71.9 ~ 88.1%, 78.8 ~ 94.3%, 81.3 ~ 96.3% 및 86.6 ~ 95.1% 범위를 나타내었으며, *Bacillus coagulans*을 제외한 6종의 균주에서 control에 비해 높은 프리바이오틱스 성장 활성을 확인하였다.

[0125] 특히, 메탄올로 침전하여 회수된 수용성 프리바이오틱스는 에탄올 및 에틸아세테이트로 회수된 수용성 프리바이오틱스에 비해 현저히 낮은 프리바이오틱스 활성을 나타내는 것을 확인함에 따라, 소나무 목질부로부터 수용성 프리바이오틱스 제조를 위한 방법으로 에틸아세테이트로 회수하는 것이 가장 적합한 것으로 확인되었다.

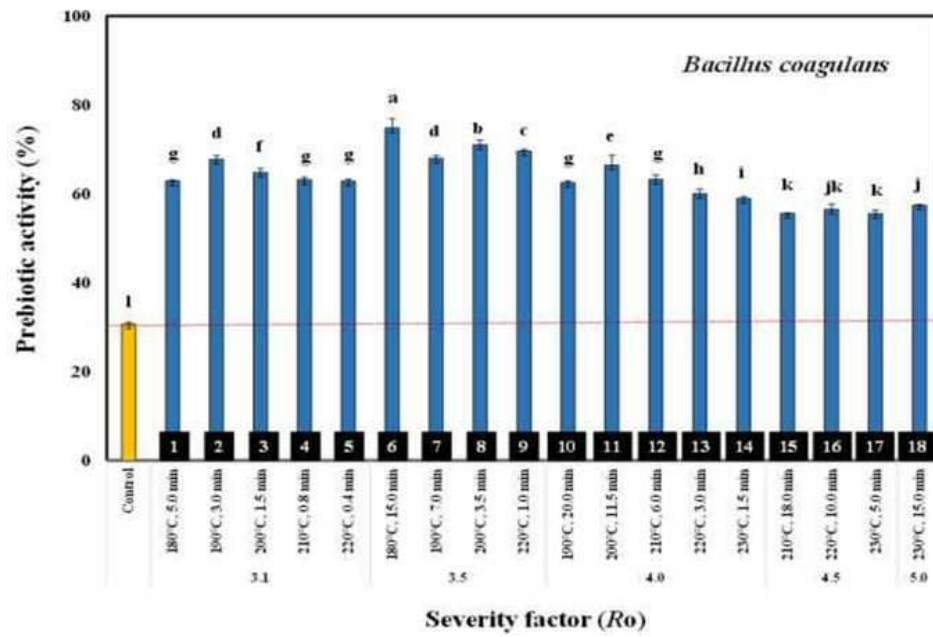
[0127] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

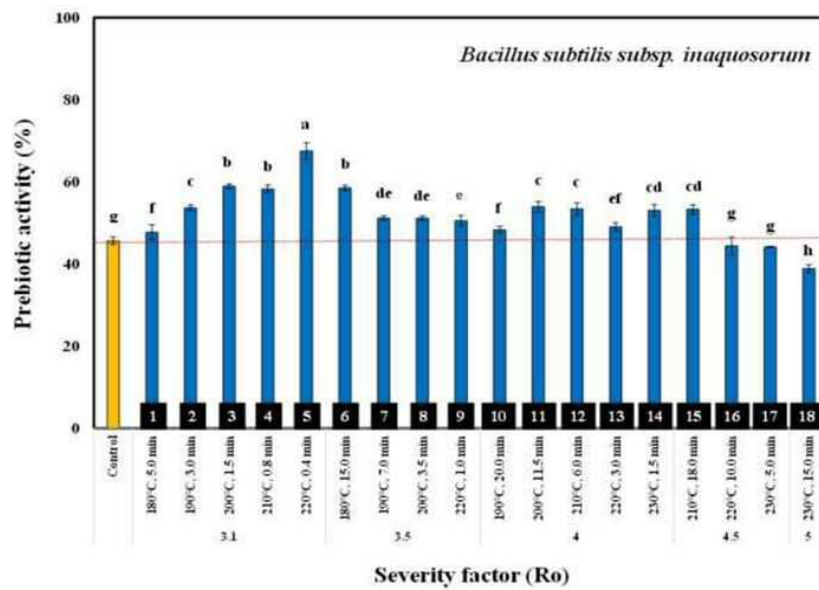
도면1



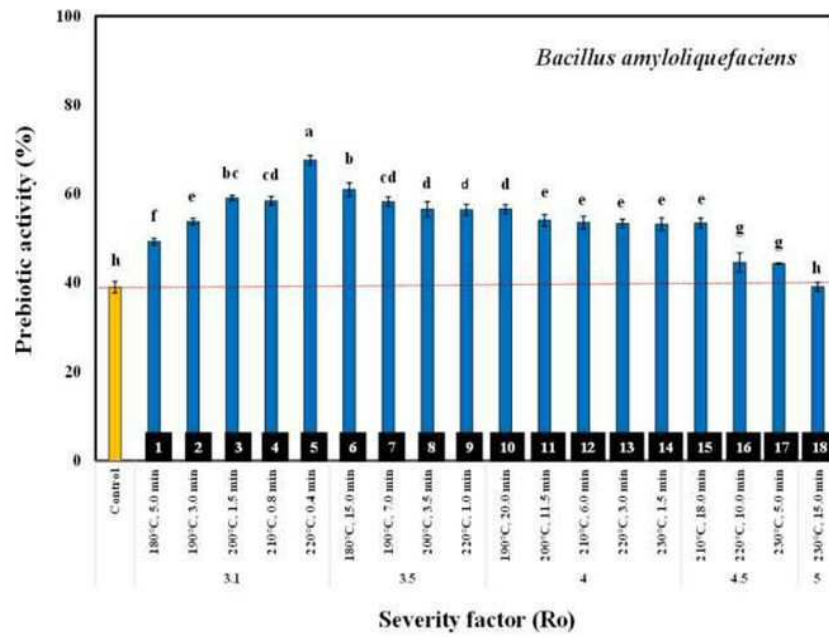
도면2



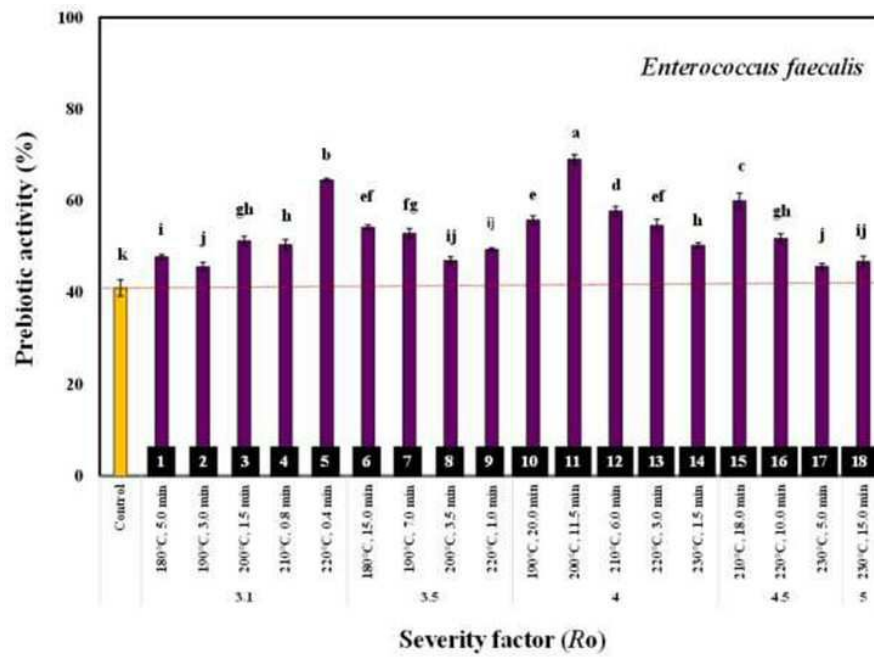
도면3



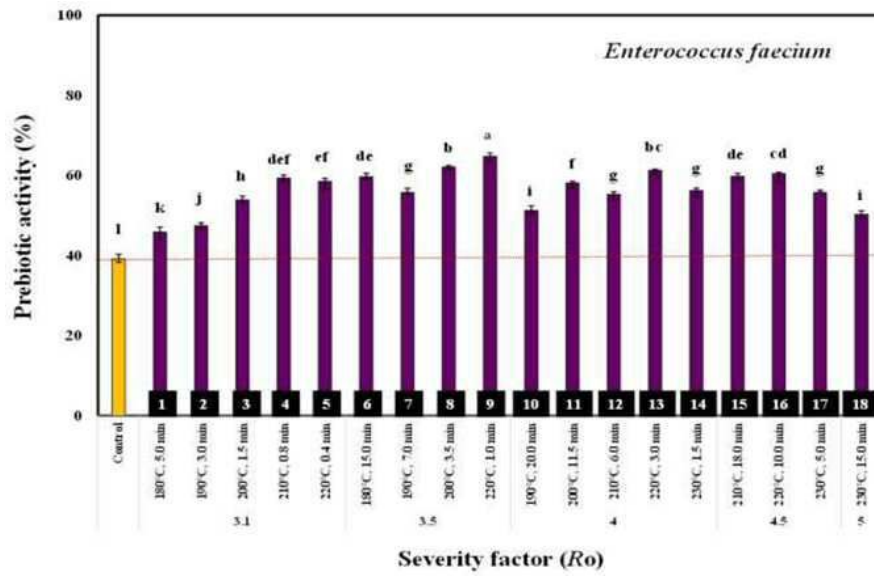
도면4



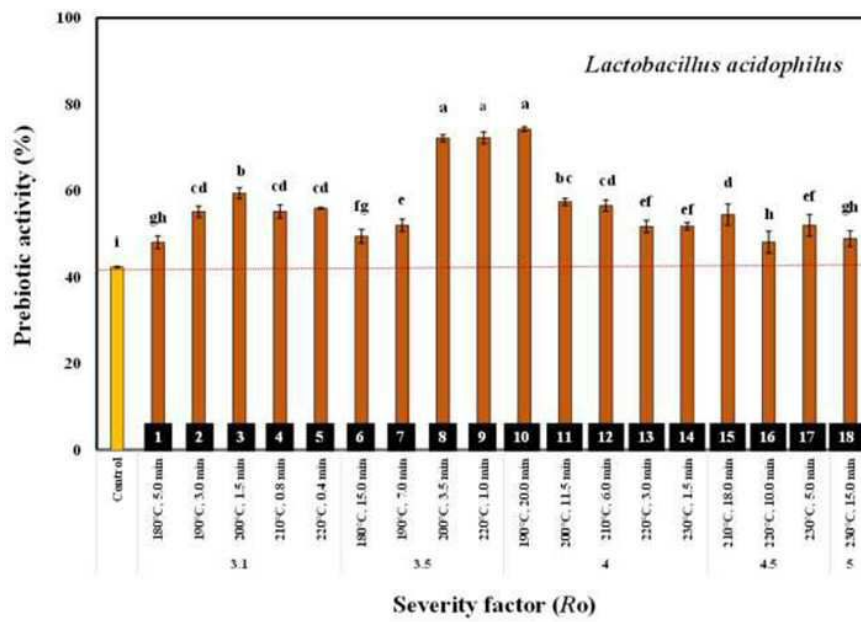
도면5



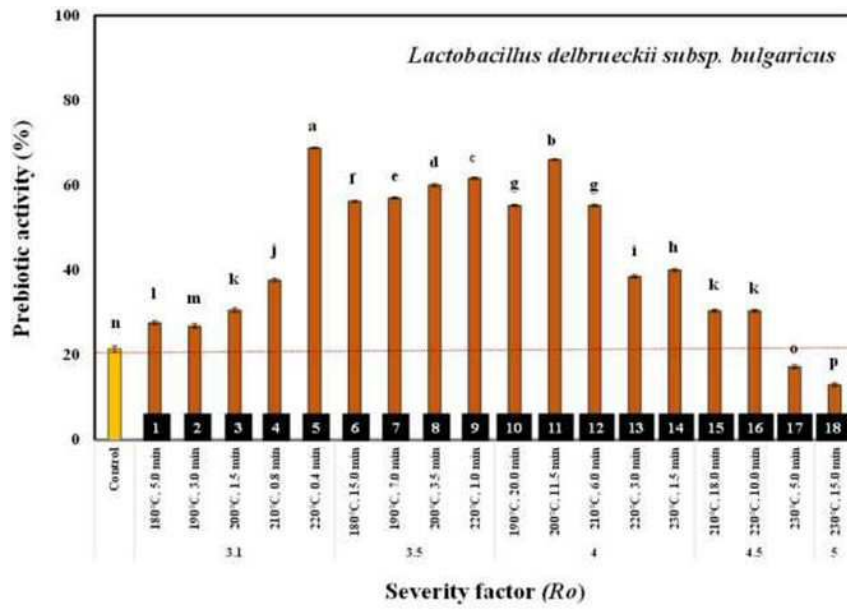
도면6



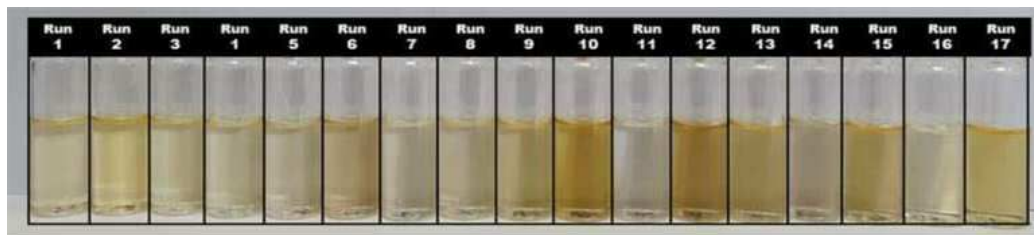
도면7



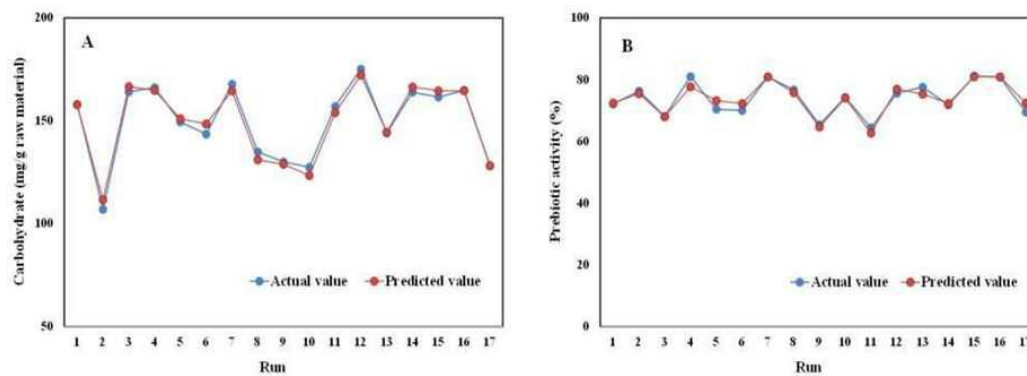
도면8



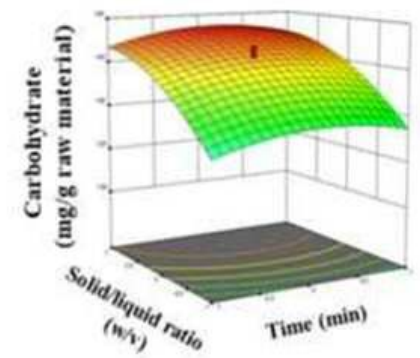
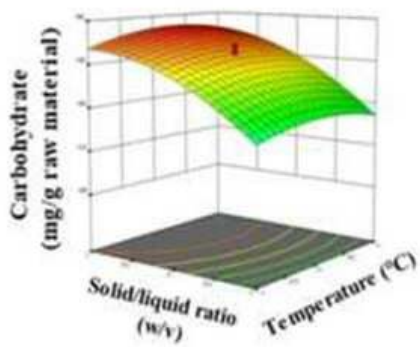
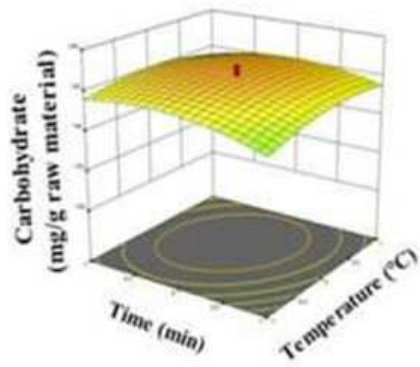
도면9



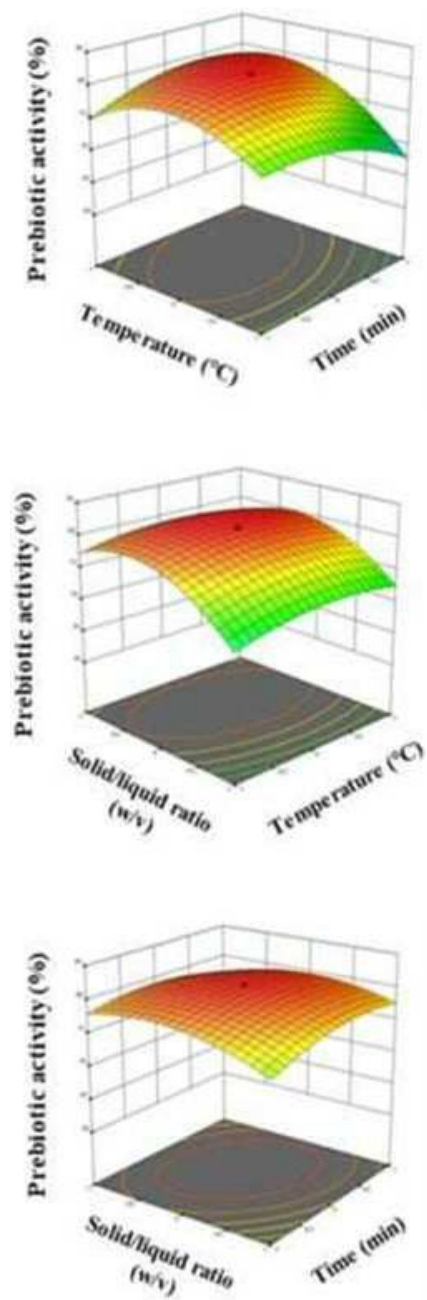
도면10



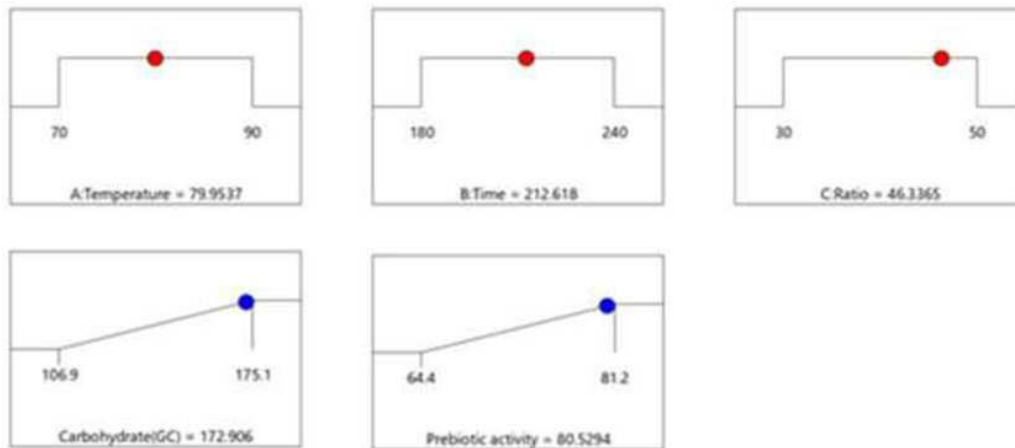
도면11



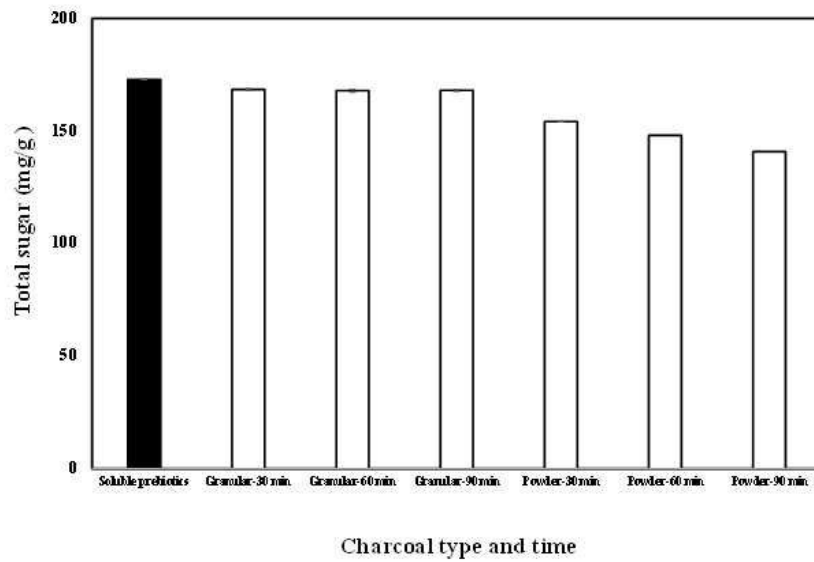
도면12



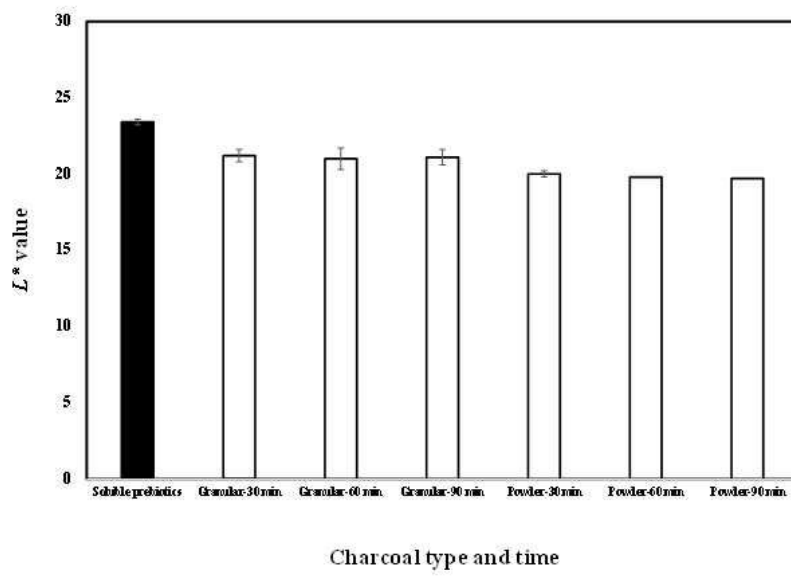
도면13



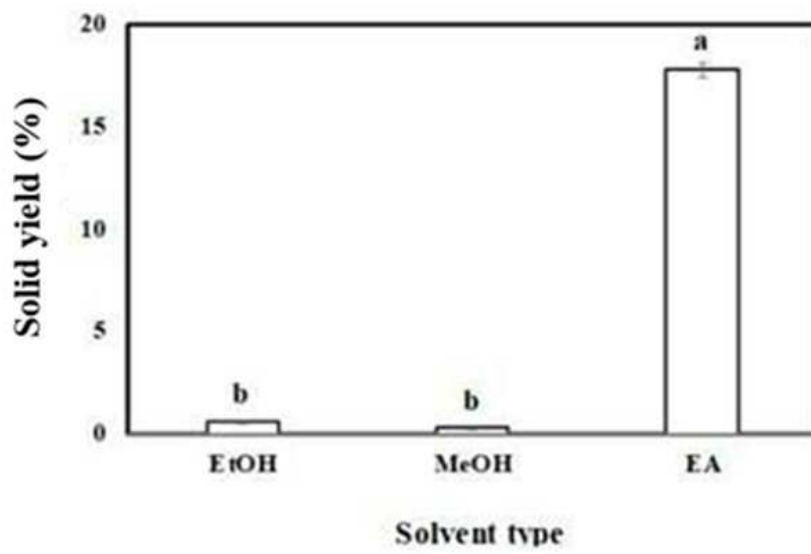
도면14



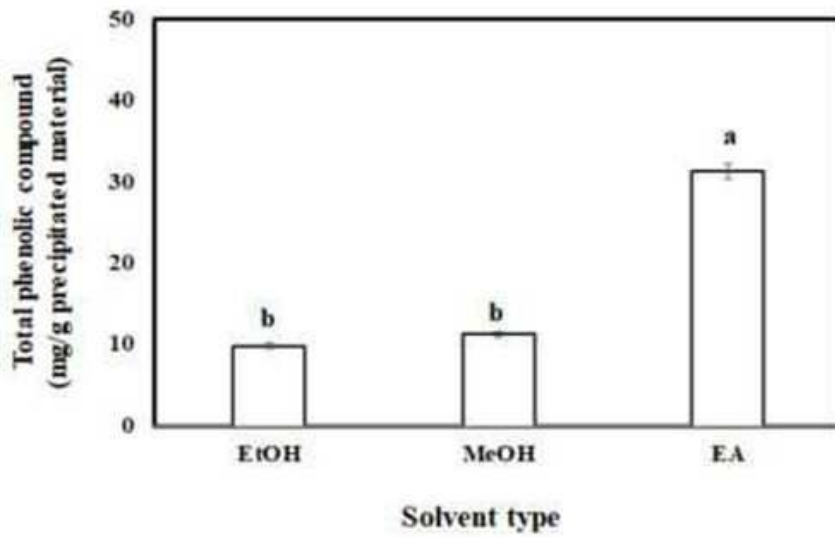
도면15



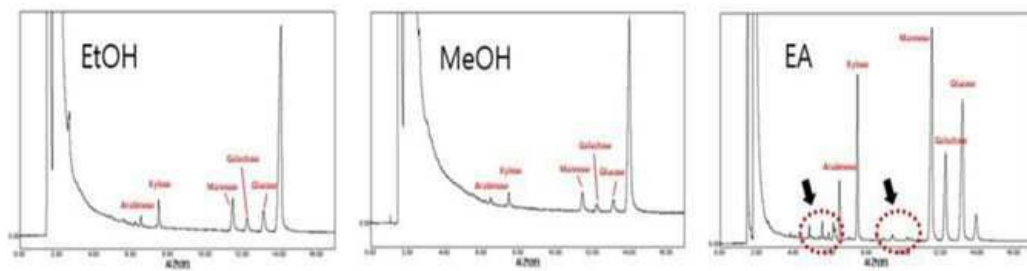
도면16



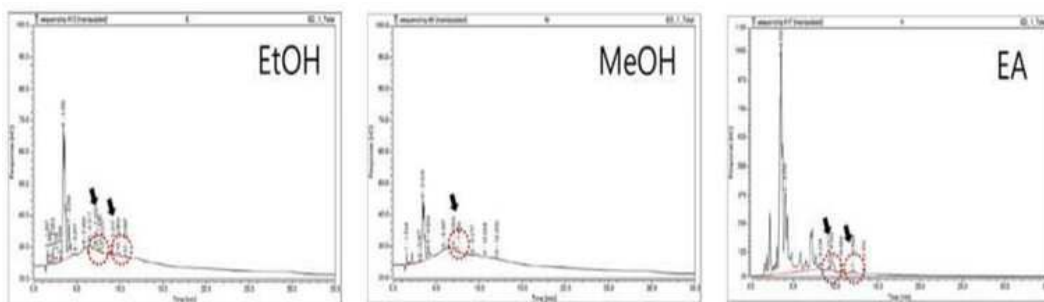
도면17



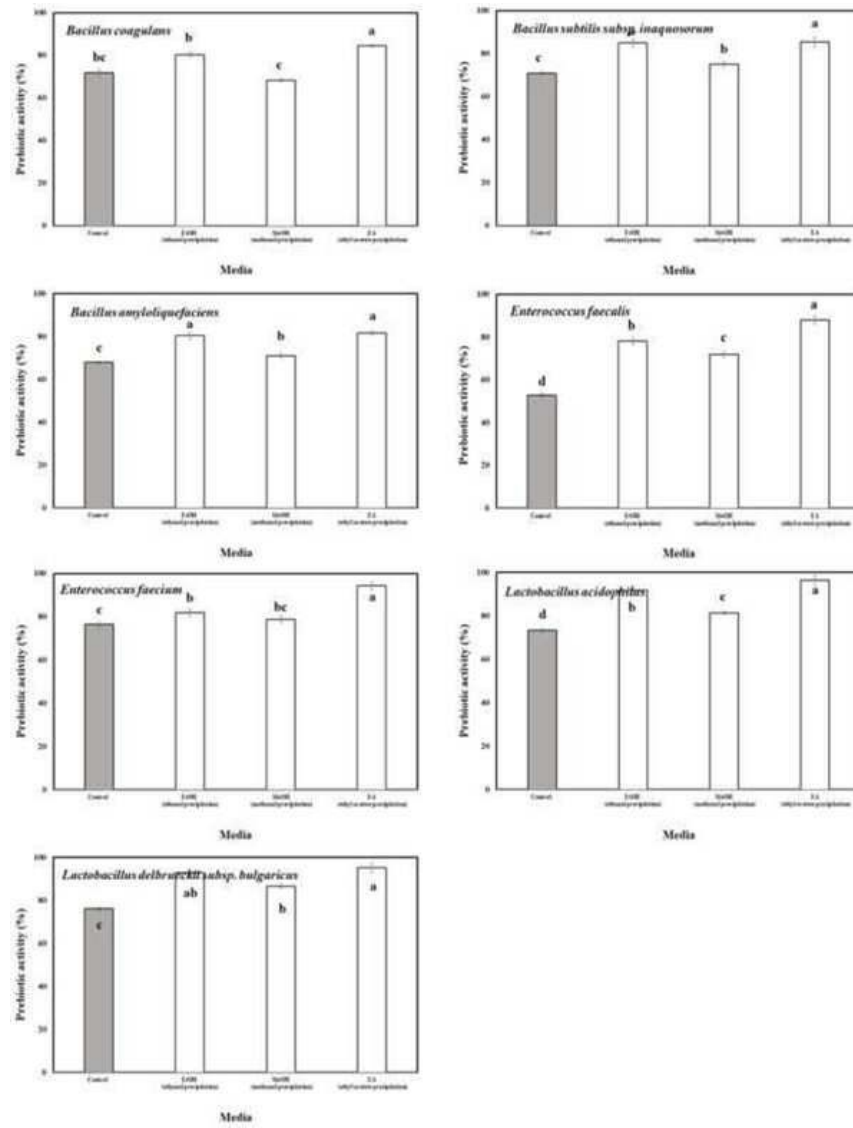
도면18



도면19



도면20



도면21

