



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0032121
(43) 공개일자 2025년03월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 27/12 (2016.01) A23L 29/00 (2025.01)
A23L 33/105 (2016.01) A23L 5/30 (2022.01)
A61K 36/44 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A23L 27/12 (2016.08)
A23L 29/06 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2023-0114500

(22) 출원일자 2023년08월30일

심사청구일자 2023년08월30일

(71) 출원인

국립창원대학교 산학협력단

경상남도 창원시 의창구 창원대학로 20(퇴촌동)

주식회사 유니버설푸드

경상남도 창원시 의창구 평산로135번길 14 (서상동)

(72) 발명자

김미정

경상남도 창원시 성산구 삼정자로 79 (유니온빌리지) 107동 1801호

조경래

경상남도 창원시 의창구 평산로135번길 14(서상동)

(74) 대리인

특허법인에스알비

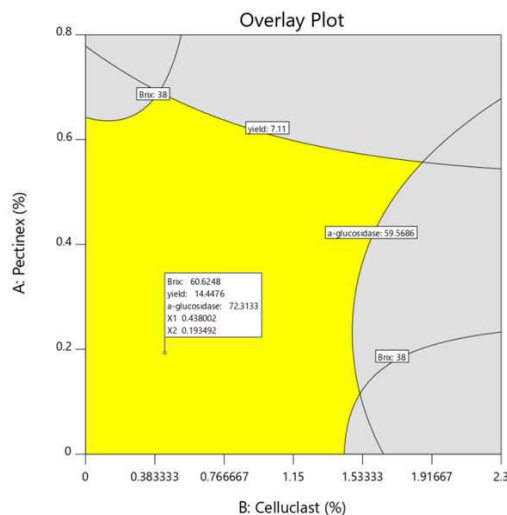
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 못난이 단감 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈당저하능, 항산화능 증진용 감미제 조성물 및 그의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 못난이 단감 추출물을 유효성분으로 함유하는 감미제 조성물 및 그의 제조방법에 관한 것으로서, 상기 제조방법에 따라 제조된 감미제 조성물은 혈당저하능 또는 항산화능 증진에 우수한 효과를 나타내므로, 이를 통해 못난이 단감 추출물을 이용하여 건강기능식품 조성물 또는 약제학적 조성물 등으로 다양하게 활용할 수 있다. 또한, 못난이 단감과 같은 업사이클 푸드를 사용함으로써 식량난 및 환경오염을 감소시키는 방안이 될 수 있다.

대표도 - 도2b



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A23L 5/32 (2016.08)

A61K 36/44 (2013.01)

A61P 3/10 (2018.01)

A61P 39/06 (2018.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/302 (2013.01)

A23V 2200/328 (2013.01)

A23V 2300/24 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345356160
과제번호	LINC3.0-2022-65
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	산학연협력고도화지원
연구과제명	3단계산학연협력선도대학육성사업(LINC3.0)(0.5)
기 여 율	1/1
과제수행기관명	창원대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

다음의 단계를 포함하는 감미제 조성물 제조방법:

감을 착즙하여 감즙을 생성하는 착즙단계;

상기 감즙에 효소를 첨가하여 효소반응액을 제조하는 효소 반응 단계; 및

상기 효소반응액에 초음파를 처리하는 초음파 처리 단계.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 감은 과육, 과피 및 부산물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것인, 감미제 조성물 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 효소 반응 단계는 감즙과 증류수를 1:2 내지 1:4의 부피비로 혼합 후 효소를 첨가하여 수행되는 것인, 감미제 조성물 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 효소는 폴리갈락투로나아제(Polygalacturonase) 또는 셀룰라아제(Cellulase)인 것인, 감미제 조성물 제조방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 폴리갈락투로나아제의 농도는 전체 감미제 조성물에 대하여 0.1 내지 0.4%(v/v)인 것인, 감미제 조성물 제조방법.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 셀룰라아제의 농도는 전체 감미제 조성물에 대하여 0.3 내지 0.6%(v/v)인 것인, 감미제 조성물 제조방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 효소 반응 단계는 60 내지 80℃의 온도 조건에서 1 내지 3시간 동안 수행되는 것인, 감미제 조성물 제조방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 초음파 처리 단계는 초음파를 0.3 내지 0.8분 동안 처리하여 수행되는 것인, 감미제 조성물 제조방법.

청구항 9

감즙에 효소를 첨가하여 반응시킨 후 초음파를 처리하여 제조된 감미제 조성물을 포함하는 혈당저하능 또는 항산화능 증진용 건강기능식품 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 감은 과육, 과피 및 부산물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것인, 건강기능식품 조성물.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 효소는 폴리갈락투로나아제(Polygalacturonase) 또는 셀룰라아제(Cellulase)인 것인, 건강기능식품 조성물.

청구항 12

감즙에 효소를 첨가하여 반응시킨 후 초음파를 처리하여 제조된 감미제 조성물을 포함하는 혈당저하능 또는 항산화능 증진용 약제학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 감은 과육, 과피 및 부산물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 효소는 폴리갈락투로나아제(Polygalacturonase) 또는 셀룰라아제(Cellulase)인 것인, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 못난이 단감 추출물을 유효성분으로 함유하는 감미제 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 단감즙에 효소를 첨가하여 반응시킨 후 초음파를 처리하여 제조된 감미제 조성물을 포함하는 혈당저하능 또는 항산화능 증진용 건강기능식품 조성물 또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 2019년 유엔식량농업기구(UNFAO)에서 발표한 통계에 따르면 못난이 단감과 같이 겉모습이 예쁘지 않는다는 이유로 한 해 동안 버려지는 농산물이 13억 톤에 달한다. 활용되지 못하는 못난이 농산물은 일부 대기업의 주스 공장에서 사용되는 양을 제외한 대부분이 생산 단계에서부터 폐기되어 매립지에서 악취 발생, 수질오염, 온실가스 배출 등 환경오염의 원인이 된다. 실제 유엔환경계획(UNEP)이 발표한 '2021 음식 폐기물 지수 보고서'에 따르면, 식품 폐기물로 발생한 온실가스는 전 세계 배출량의 8~10%에 이른다.

[0003] 따라서 못난이 농산물과 같이 모양이 예쁘지 않거나, 흠집이 생겨 상품가치가 낮은 식재료에 아이디어와 기술을 투입하여 새로운 고부가 제품으로 가공할 필요성이 대두되고 있는 실정이다.

[0004] 최근 식품분야에서는 식품폐기물을 줄이기 위한 친환경적 생산과 윤리적 소비에 기초한 업사이클(upcycle=upgrade+recycling) 푸드가 새로운 트렌드로 자리잡고 있다. 업사이클 푸드는 부산물, 폐기물 또는 상품가치가 낮은 자원 등에 아이디어와 기술을 투입하여 자원의 용도와 가치를 향상시킴으로써, 부가가치가 높은 제품으로 변환시키는 것을 의미한다.

[0005] 특히 식량자원의 경우 기후변화의 영향을 크게 받아서 기후위기가 심화될수록 수급에 대한 불안성이 증대하며, 식량은 여타의 제품과 달리 생존에 필수적이므로 자립도가 낮으면 식량자원의 무기화로 인하여 경제 전반의 불안정성을 초래할 수 있다. 이에 따라 점차 식량난을 포함하여 식량안보가 중요한 국가적 안건으로 떠오르고 있다.

[0006] 따라서 업사이클 푸드는 기후위기시대에 식량 자급률을 높이는 핵심 대안으로 가치가 클 것으로 보이며, 지구환경을 살리는데도 큰 도움이 될 수 있으므로, 이를 이용한 다양한 상품의 개발 및 연구가 점차 확대되고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 이에 본 발명자들은 단감에 효소 및 초음파를 처리하여 제조된 단감 추출물을 유효성분으로 함유하는 감미제 조성물을 개발하고자 노력하였다. 그 결과, 단감 추출물의 감미제로서의 기능 뿐만 아니라 혈당저하능 또는 항산화능 증진을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

- [0008] 이에, 본 발명의 목적은 다음의 단계를 포함하는 감미제 조성물 제조방법을 제공하는 것이다:
- [0009] 감을 착즙하여 감즙을 생성하는 착즙단계;
- [0010] 상기 감즙에 효소를 첨가하여 효소반응액을 제조하는 효소 반응 단계; 및
- [0011] 상기 효소반응액에 초음파를 처리하는 초음파 처리 단계.
- [0012] 본 발명의 다른 목적은 감즙에 효소를 첨가하여 반응시킨 후 초음파를 처리하여 제조된 감미제 조성물을 포함하는 혈당저하능 또는 항산화능 증진용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 목적은 감즙에 효소를 첨가하여 반응시킨 후 초음파를 처리하여 제조된 감미제 조성물을 포함하는 혈당저하능 또는 항산화능 증진용 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0014] 본 발명은 단감 추출물을 유효성분으로 함유하는 감미제 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 감미제 조성물은 혈당저하능 또는 항산화능 증진에 우수한 효과를 나타낸다.
- [0015] 본 발명자들은 단감 추출물을 유효성분으로 함유하는 감미제 조성물을 제조하였고, 이에 대하여 혈당저하능 또는 항산화능 증진에 우수한 효과를 나타내는 것을 확인하였다.
- [0016] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.
- [0017] 본 발명의 일 양태는 다음의 단계를 포함하는 감미제 조성물 제조방법이다:
- [0018] 감을 착즙하여 감즙을 생성하는 착즙단계;
- [0019] 상기 감즙에 효소를 첨가하여 효소반응액을 제조하는 효소 반응 단계; 및
- [0020] 상기 효소반응액에 초음파를 처리하는 초음파 처리 단계.
- [0021] 본 발명에 있어서 상기 감은 과육, 과피 및 부산물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0022] 상기 부산물은 감의 꼭지, 잎 및 씨로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있다.
- [0023] 본 발명에 있어서 상기 효소 반응 단계는 감즙과 증류수를 1:2 내지 1:4의 부피비로 혼합 후 효소를 첨가하여 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명에 있어서 상기 효소는 폴리갈락투로나아제(Polygalacturonase) 또는 셀룰라아제(Cellulase)인 것일 수 있다.
- [0025] 본 발명에 있어서 상기 폴리갈락투로나아제의 농도는 전체 감미제 조성물에 대하여 0.1 내지 0.4%(v/v)인 것일 수 있다.
- [0026] 상기 폴리갈락투로나아제의 농도는 바람직하게는 0.1 내지 0.3%(v/v), 0.2 내지 0.4%(v/v) 또는 0.2 내지 0.3%(v/v), 예를 들어, 0.1 내지 0.2%(v/v)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0027] 상기 폴리갈락투로나아제는 펙티넥스 울트라 SP-L(Pectinex Ultra SP-L)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0028] 본 발명에 있어서 상기 셀룰라아제의 농도는 전체 감미제 조성물에 대하여 0.3 내지 0.6%(v/v)인 것일 수 있다.
- [0029] 상기 셀룰라아제의 농도는 바람직하게는 0.3 내지 0.5%(v/v), 0.3 내지 0.4%(v/v) 또는 0.4 내지 0.6%(v/v), 예를 들어, 0.4 내지 0.5%(v/v)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0030] 상기 셀룰라아제는 셀루클라스트 1.5L(Celluclast 1.5L)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0031] 본 발명에 있어서 상기 효소 반응 단계는 60 내지 80℃의 온도 조건에서 1 내지 3시간 동안 수행되는 것일 수 있다.
- [0032] 상기 효소 반응 단계는 바람직하게는 60 내지 75℃, 60 내지 70℃, 65 내지 80℃, 65 내지 70℃, 70 내지 80℃, 70 내지 75℃ 또는 75 내지 80℃, 예를 들어, 65 내지 75℃의 온도 조건에서 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한

정되는 것은 아니다.

- [0033] 상기 효소 반응 단계는 바람직하게는 1 내지 2시간, 예를 들어, 2 내지 3시간 동안 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0034] 본 발명에 있어서 상기 초음파 처리 단계는 초음파를 0.3 내지 0.8분 동안 처리하여 수행되는 것일 수 있다.
- [0035] 상기 초음파 처리 단계는 바람직하게는 초음파를 0.3 내지 0.7분, 0.3 내지 0.6분, 0.3 내지 0.5분, 0.3 내지 0.4분, 0.4 내지 0.8분, 0.4 내지 0.7분, 0.4 내지 0.5분, 0.5 내지 0.8분 또는 0.5 내지 0.7분, 예를 들어, 0.5 내지 0.6분 동안 처리하여 수행되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] 본 발명의 다른 양태는 감즙에 효소를 첨가하여 반응시킨 후 초음파를 처리하여 제조된 감미제 조성물을 포함하는 혈당저하능 또는 항산화능 증진용 건강기능식품 조성물이다.
- [0037] 본 발명에 있어서 상기 감은 과육, 과피 및 부산물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0038] 상기 부산물은 감의 꼭지, 잎 및 씨로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있다.
- [0039] 본 발명에 있어서 상기 효소는 폴리갈락투로나아제 또는 셀룰라아제인 것일 수 있다.
- [0040] 상기 폴리갈락투로나아제는 펙티넥스 울트라 SP-L(Pectinex Ultra SP-L)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0041] 상기 셀룰라아제는 셀루클라스트 1.5L(Celluclast 1.5L)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0042] 본 발명의 건강기능식품 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 건강기능식품 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 원료에 대하여 15 중량% 이하, 바람직하게는 10 중량% 이하의 양으로 첨가될 수 있다.
- [0043] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.
- [0044] 상기 음료는 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 당업자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.
- [0045] 상기 외에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강기능식품 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율 또한 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있다.
- [0046] 본 발명의 또 다른 양태는 감즙에 효소를 첨가하여 반응시킨 후 초음파를 처리하여 제조된 감미제 조성물을 포함하는 혈당저하능 또는 항산화능 증진용 약제학적 조성물이다.
- [0047] 본 발명에 있어서 상기 감은 과육, 과피 및 부산물로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0048] 상기 부산물은 감의 꼭지, 잎 및 씨로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있다.
- [0049] 본 발명에 있어서 상기 효소는 폴리갈락투로나아제 또는 셀룰라아제인 것일 수 있다.
- [0050] 상기 폴리갈락투로나아제는 펙티넥스 울트라 SP-L(Pectinex Ultra SP-L)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0051] 상기 셀룰라아제는 셀루클라스트 1.5L(Celluclast 1.5L)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0052] 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서,

락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0053] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 인간을 포함하는 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여 방식은 통상적으로 사용되는 모든 방식일 수 있으며, 예컨대, 경구, 피부, 정맥, 근육, 피하 등의 경로로 투여될 수 있으며, 바람직하게는 경구로 투여될 수 있다.

[0054] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여방식, 환자의 연령, 체중, 성별, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다.

[0055] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제, 캡셀제 또는 젤(예컨대, 하이드로젤) 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0056] 본 발명은 못난이 단감 추출물을 유효성분으로 함유하는 감미제 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것으로서, 상기 제조방법에 따라 제조된 감미제 조성물은 혈당저하능 또는 항산화능 증진에 우수한 효과를 나타내므로, 이를 통해 못난이 단감 추출물을 이용하여 건강기능식품 조성물 또는 약제학적 조성물 등으로 다양하게 활용할 수 있다. 또한, 못난이 단감과 같은 업사이클 푸드를 사용함으로써 식량난 및 환경오염을 감소시키는 방안이 될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0057] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따른 펙티넥스 울트라 SP-L(Pectinex Ultra SP-L) 처리량 및 셀루클라스트 1.5L(Celluclast 1.5L) 처리량별 Brix의 반응 표면 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 1b는 본 발명의 일 실시예에 따른 펙티넥스 울트라 SP-L 처리량 및 초음파 처리시간별 Brix의 반응 표면 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 1c는 본 발명의 일 실시예에 따른 셀루클라스트 1.5L 처리량 및 초음파 처리시간별 Brix의 반응 표면 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 1d는 본 발명의 일 실시예에 따른 펙티넥스 울트라 SP-L 처리량 및 셀루클라스트 1.5L 처리량별 수율(Yield)의 반응 표면 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 1e는 본 발명의 일 실시예에 따른 펙티넥스 울트라 SP-L 처리량 및 초음파 처리시간별 수율의 반응 표면 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 1f는 본 발명의 일 실시예에 따른 셀루클라스트 1.5L 처리량 및 초음파 처리시간별 수율의 반응 표면 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 1g는 본 발명의 일 실시예에 따른 펙티넥스 울트라 SP-L 처리량 및 셀루클라스트 1.5L 처리량별 α -글루코시다아제(α -Glucosidase)의 반응 표면 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 1h는 본 발명의 일 실시예에 따른 펙티넥스 울트라 SP-L 처리량 및 초음파 처리시간별 α -글루코시다아제의 반응 표면 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 1i는 본 발명의 일 실시예에 따른 셀루클라스트 1.5L 처리량 및 초음파 처리시간별 α -글루코시다아제의 반응 표면 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따른 각각의 최적 추출 조건의 예측값을 나타낸 등고선도(contour map)이다.

도 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 등고선도 겹치기(contour map superimposing)를 통하여 예측한 최적 추출

조건을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 "%"는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는 (중량/중량)%, 고체/액체는 (중량/부피)%, 그리고 액체/액체는 (부피/부피)%이다.

실시예 1: 단감 추출물의 제조

효소를 이용한 단감 추출물을 만들기 위하여 착즙기를 이용하였다(H-201, 휴롬, 한국). 착즙 된 감즙은 감즙과 증류수를 1:3의 부피비로 혼합한 후, 다양한 농도로 효소인 폴리갈락투로나아제(Polygalacturonase) 또는 셀룰라아제(Cellulase)를 첨가하여 70℃에서 2시간 추출하였다. 폴리갈락투로나아제로는 펙티넥스 울트라 SP-L(Pectinex Ultra SP-L)를, 셀룰라아제로는 셀루클라스트 1.5L(Celluclast 1.5L)를 각각 사용하였다. 그 다음 90℃에서 5분간 효소불활성화 후, ultrasound processor(Omni Sonic Ruptor 400, Omni, USA)를 이용하여 80%의 파워와, 20의 펄스 조건으로 초음파 처리를 해주었다. 면보에 1차로 여과한 후, 2차로 4,000g에 15분 동안 원심분리를 진행하였다. 그 다음 감압여과 후 60℃, 55rpm으로 세팅된 감압 농축기를 이용해 총무게가 25g이 될 때까지 농축하여 50ml 코니칼(Conical)에 옮겨 담아 4℃ 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였다.

실시예 2: 반응 표면 분석

본 연구에서는 혈당저하능이 높은 감 추출물의 조건을 찾기 위해 박스-벤켄 디자인(Box-Behnken design; BBD)을 사용하였으며, 추출에 영향을 미치는 Pectinex Ultra SP-L, Celluclast 1.5L 또는 초음파 시간과 시간을 독립변수로 정하여 표 1과 같이 실험을 설계한 후, Brix, 수율(Yield) 및 α-글루코시다아제(α-Glucosidase) 저해활성을 측정하였다. 또한, 감 추출물을 천연 감미 소재로 활용하기 위하여, 단감 추출물의 감미도를 확인하였고, 가용성 고형분의 단감 추출물을 굴절당도계(N-2E, Atogo, tokyp, japan)로 측정하여 Brix로 표시하였다.

표 1

반응 표면 분석 실험에 사용된 독립변수의 code 및 actual level

Code		Actual level		
		-1	0	+1
X1	Pectinex Ultra SP-L(%)	0	0.2	0.4
X2	Celluclast 1.5L(%)	0	0.3	0.6
X3	Ultra (min)	0	0.5	1

표 2

반응 표면 분석에 사용된 박스-벤켄 디자인

실험	Actual level					
	Pectinex Ultra SP-L(%)	Celluclast 1.5L(%)	초음파(min)	Brix(%)	수율(%)	α-glucosidase(%)
1	0	0.6	0.5	60.3	13.05	72.63±0.18 ^a
2	0.2	0.3	0.5	60.6	13.81	72.63±0.18 ^a
3	0.4	0.3	0.5	58	14.21	71.73±0 ^c
4	0	0	0.5	38	7.11	70.95±0 ^d

5	0.2	0.3	0.5	61	13.85	72.50 ± 0^{ab}
6	0	0.3	1	51	9.46	72.44 ± 0.18^{ab}
7	0.4	0	0.5	61.2	13.76	70.18 ± 0^e
8	0.2	0.6	1	61.6	15.24	70.12 ± 0.24^{ef}
9	0.2	0.3	0.5	60.8	14.12	72.31 ± 0.32^{ab}
10	0.4	0.3	0	59.4	13.98	69.21 ± 0^g
11	0.2	0.3	0.5	60.4	13.66	72.12 ± 0.16^b
12	0.2	0	0	61.4	12.88	68.63 ± 0.27^h
13	0.2	0.3	0.5	60.2	13.51	72.31 ± 0.16^{ab}
14	0.4	0.3	1	58.6	13.88	69.02 ± 0^g
15	0.2	0	1	59.6	12.8	69.79 ± 0.16^f
16	0	0.3	0	58.2	11.52	69.34 ± 0.09^g
17	0.2	0.6	0	61.8	15.17	68.63 ± 0.32^h

[0071] 도 1a 내지 도 1c 및 표 2에서 확인할 수 있듯이, Brix는 Pectinex Ultra SP-L와 Celluclast 1.5L의 첨가량이 증가함에 따라 증가하였지만, 초음파를 가하는 시간이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었다.

[0072] 도 1d 내지 도 1f 및 표 2에서 확인할 수 있듯이, 수율은 Pectinex Ultra SP-L와 Celluclast 1.5L의 첨가량이 증가함에 따라 증가하였지만, 초음파를 가하는 시간이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었다.

[0073] 도 1g 내지 도 1i 및 표 2에서 확인할 수 있듯이, α-글루코시다아제의 경우 Celluclast 1.5L의 첨가량과 초음파를 가하는 시간이 길어질수록 값이 높아지는 경향을 나타내었다. 다만, Pectinex Ultra SP-L의 첨가량 증가에 따라 값이 높아지기는 하였지만 Celluclast 1.5L와 초음파에 비해 큰 차이를 나타내지는 않았다.

[0075] 실시예 3: 혈당저하능 증진 효과 확인

[0076] 단감 추출물의 혈당저하능 증진 효과를 확인하기 위하여, 나이트로페놀(nitrophenol) 분석법을 응용하여 α-글루코시다아제(α-Glucosidase) 저해활성을 측정하였다.

[0077] 샘플 50 μL를 0.2 U/mL의 α-글루코시다아제 효소액 50 μL, 2.5 mM의 p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside(pNPG) 100 μL 및 50 mM의 인산완충액(phosphate buffer)(pH 6.8) 50 μL와 혼합하여 37℃에서 20분간 전처리(preincubation)한 후, 0.1M NaOH 100 μL를 가하여 반응을 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0078] 도 1g 내지 도 1i 및 표 2에서 확인할 수 있듯이, α-글루코시다아제의 경우 Celluclast 1.5L의 첨가량과 초음파를 가하는 시간이 길어질수록 값이 높아지는 경향을 나타내었고, 이를 통해 단감 추출물의 혈당저하능 효과를 확인할 수 있었다.

[0080] 실시예 4: 항산화능 증진 효과 확인

[0081] 단감 추출물의 항산화능 증진 효과를 확인하기 위하여, 다음과 같은 항산화 관련 인자들을 확인하였다.

[0083] 4-1. 총 페놀 화합물(Total phenol compounds; TPC) 함량

[0084] 폴리페놀물질들은 식물체 및 인체의 항산화 효과 및 방어 기작 등의 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

총 페놀 화합물의 함량을 측정하는 방법에는 여러가지가 있다. 그 중 폴린-데니스(Folin-Dennis)법은 페놀성 물질이 인몰리브덴산(phosphomolybdic acid)과 반응하여 청색으로 발광하는 현상을 이용하여 식물체 중 총 페놀 함량을 측정하는 방법으로서 시료간의 변이가 적게 나타나고 빠르게 측정할 수 있는 장점이 있다. 이에, 단감 추출물의 항산화 기능을 확인하기 위하여 총 페놀 화합물(TPC)의 함량을 측정하였다.

[0085] 추출물 2 μL 에 10% 폴린(folin) 시약 5 μL , 20% 탄산나트륨(sodium carbonate) 150 μL 를 넣고 혼합하였다. 암소인 상태로 상온에 서 2시간 동안 반응시킨 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0087] 4-2. ABTS radical 소거활성

[0088] ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)는 활성산소에 의해 특정한 색을 띄게 되는데, 이를 항산화 물질과 반응시킨 뒤 색이 변하면서 생기는 색농도의 변화를 측정하는 방법이다. 항산화력이 있는 시료와 반응하면 청록색에서 투명색으로, 항산화력이 없는 시료와 반응하면 청록색에서 청록색으로 반응이 나타난다. 또한, ABTS 라디칼 소거 활성 측정 방법은 측정이 빠르고 pH 변화에 다소 민감하지 않다는 장점이 있어 생체의외실험(in vitro)에서 항산화능을 측정하기 위한 방법으로 널리 이용되고 있는 방법 중의 하나이다. 이에, 단감 추출물의 항산화 기능을 확인하기 위하여 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정하였다.

[0089] 7.4 mM ABTS와 2.6 mM 과산화이중황산칼륨(potassium peroxodisulfate)를 혼합하여 암소에서 하루 동안 반응시켰다. ABTS 용액은 메탄올을 이용하여 734 nm에서 파장 0.7로 맞추고 사용하였었다. 샘플 40 μL 와 ABTS 용액 2960 μL 를 혼합한 후, 7분 후에 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0091] 4-3. 총 플라보노이드 화합물(Total flavonoid compounds; TFC) 함량

[0092] 플라보노이드는 식물의 껍질, 잎 또는 꽃 등에서 발견되는 화학 물질의 한 그룹으로, 식물이 자유 라디칼로부터 보호하는 강력한 항산화 물질로 알려져있다. 이에, 단감 추출물의 항산화 기능을 확인하기 위하여 총 플라보노이드 화합물(TFC)의 함량을 측정하였다.

[0093] 추출물 100 μL 에 증류수 1.25 mL, 5% 아질산나트륨(sodium nitrite) 75 μL 를 혼합하고 6분 동안 반응시켰다. 6분 후에, 10% 염화알루미늄(aluminium chloride) 150 μL 를 넣고 5분 동안 반응시켰다. 1 M 수산화나트륨(sodium hydroxide) 500 μL 를 넣고 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0095] 4-4. DPPH 라디칼 소거 활성

[0096] DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)는 라디칼 상태에서는 강한 자색을 띄지만 시료로부터 전자 혹은 수소를 제공받으면 비라디칼로 전환되면서 노란색의 DPPH-H가 된다. 따라서 노란색을 관측하지 못하는 성질을 이용해 항산화력을 측정하는 방법이다. 이에, 단감 추출물의 항산화 기능을 확인하기 위하여 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다.

[0097] 추출물 50 μL 에 0.1 mM의 DPPH 1950 μL 를 넣고 30분 동안 반응시킨 후, 515 nm에서 흡광도를 측정하였다.

표 3

[0099] 항산화능 측정 결과

샘플 (10mg/mL)	TPC ^{***} (mg GE/g)	ABTS ^{***} (mMTE/g)	TFC ^{***} (mg CE/g)	DPPH ^{***} (mMTE/g)
Control	139.63 $\pm$ 2.47 ^c	8.18 $\pm$ 0.33 ^c	65.58 $\pm$ 0.38 ^c	17.53 $\pm$ 0.01 ^b
초음파	143.82 $\pm$ 8.37 ^c	7.75 $\pm$ 0.21 ^{cd}	65.039 $\pm$ 0.66 ^c	16.29 $\pm$ 0.01 ^c
Pectinex Ultra SP-L	157.55 $\pm$ 2.70 ^b	11.61 $\pm$ 0.41 ^a	72.87 $\pm$ 0.38 ^a	17.37 $\pm$ 0.14 ^b
Pectinex Ultra SP-L + 초음파	199.876 $\pm$ 3.78 ^a	10.80 $\pm$ 0.14 ^b	68.55 $\pm$ 0.38 ^b	15.92 $\pm$ 0.17 ^d

Celluclast 1.5L	141.91±2.47 ^c	7.25±0.2 ^d	72.87±1.01 ^a	17.99±0.02 ^a
Celluclast 1.5L + 초음파	166.32±8.48 ^b	7.52±0.21 ^d	62.60±0.00 ^d	17.36±0.02 ^b

[0100] (***) 각각 $p < 0.0001$ 에서 크게 다름)

[0102] 표 3에서 확인할 수 있듯이, control 및 초음파 처리 샘플 보다 효소 처리 또는 효소와 초음파를 같이 처리한 샘플의 항산화능이 높게 나타났다.

[0104] 실시예 5: 최적 추출 조건 확인

[0105] 각 추출물의 최적 추출 조건을 예측하기 위하여 Brix, 수율(Yield) 및 α -글루코시다아제(α -Glucosidase) 저해 활성에 대한 등고선도 겹치기(contour map superimposing)를 하였을 때, 중복되는 부분의 범위에서 최적 추출 조건 범위를 예측하였다.

[0106] 도 2a 및 도 2b에서 확인할 수 있듯이, Brix, 수율 및 α -글루코시다아제의 경우 각각 최대치가 되도록 설정하였고, 그 결과 펙티넥스 울트라 SP-L(Pectinex Ultra SP-L)의 경우 0.193%(v/v), 셀루클라스트 1.5L(Celluclast 1.5L)의 경우 0.438%(v/v), 초음파를 가하는 시간의 경우 0.564분의 조건일 때, 추출물의 활성이 우수할 것으로 예측되었다. 예측된 최적 추출 조건에 대한 반응변수의 예측값은 brix 60.625, 수율 14.447%, α -글루코시다아제 72.313%였다. 예측값의 정확도를 검증하기 위해 최적 추출 조건에서 추출 및 실험을 수행하였으며, 그 결과값은 Brix 60.17, 수율 14.20%, α -글루코시다아제 71.58%로 예측값과 유사한 결과를 나타냄을 확인할 수 있었다.

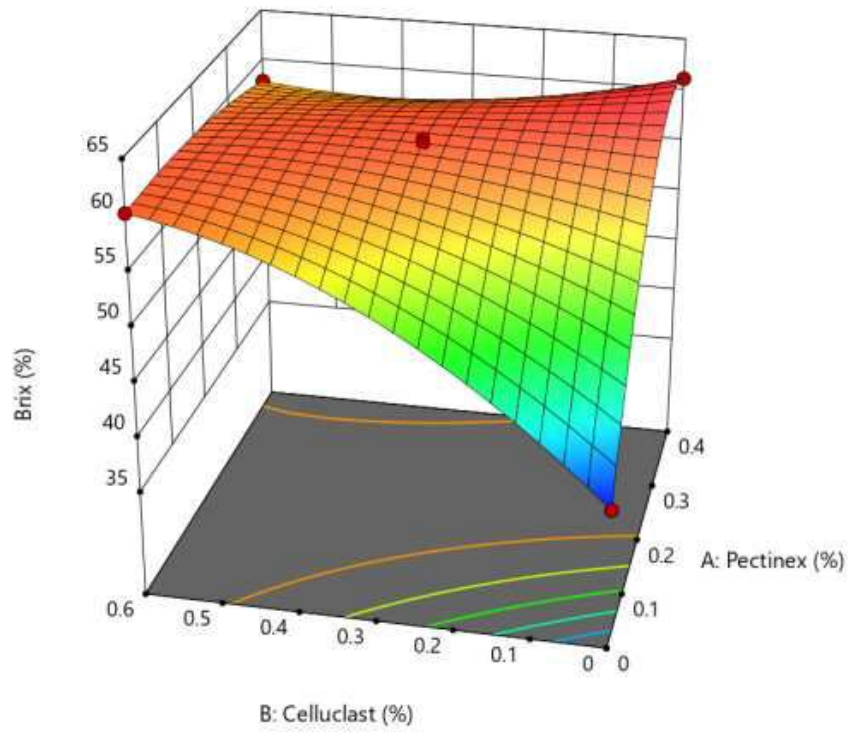
표 4

[0108] 최적 추출 조건을 통해 도출된 결과

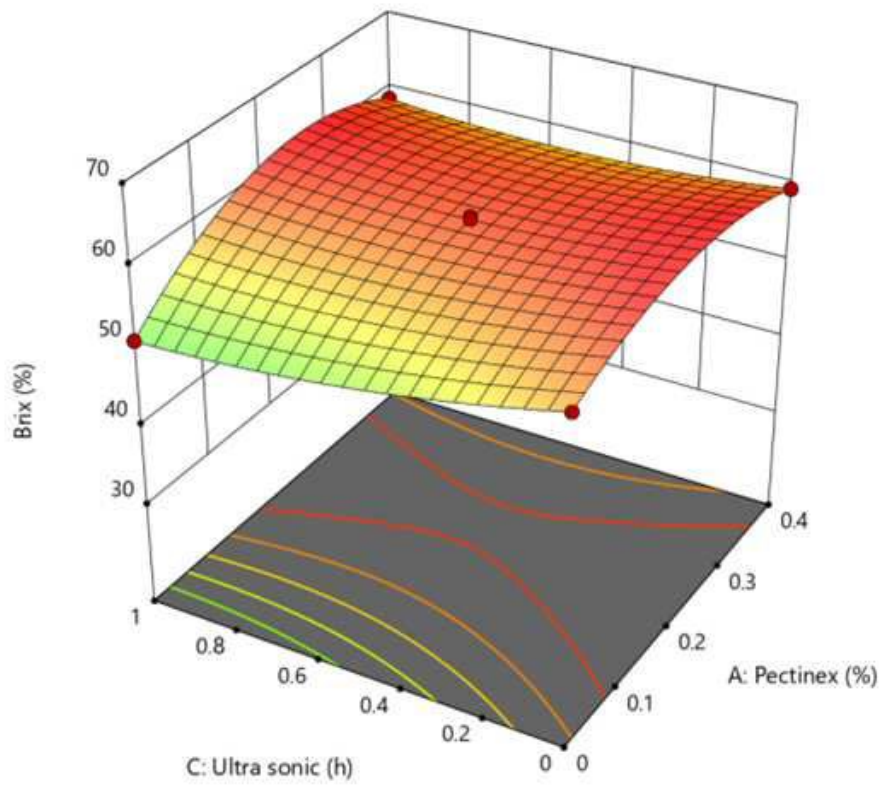
반응변수	예측값	결과값	오차율(%)
Brix(%)	60.625	60.17±0.09	0.76
Yield(%)	14.447	14.20±0.2	1.71
α -glucosidase(%)	72.313	71.58±0.42	1.01

도면

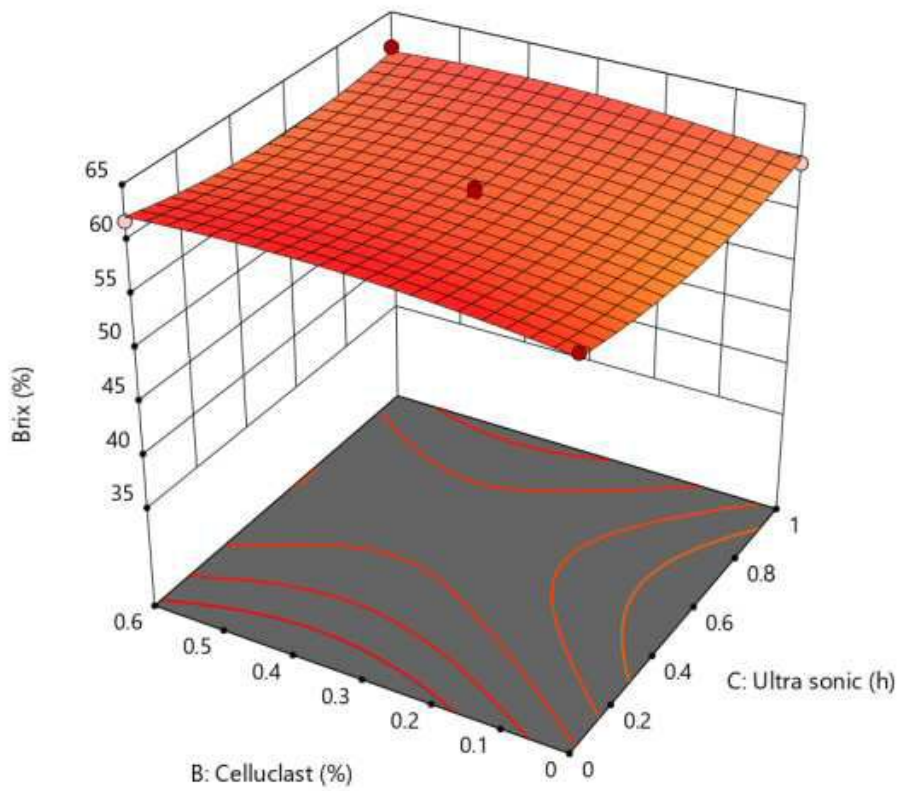
도면1a



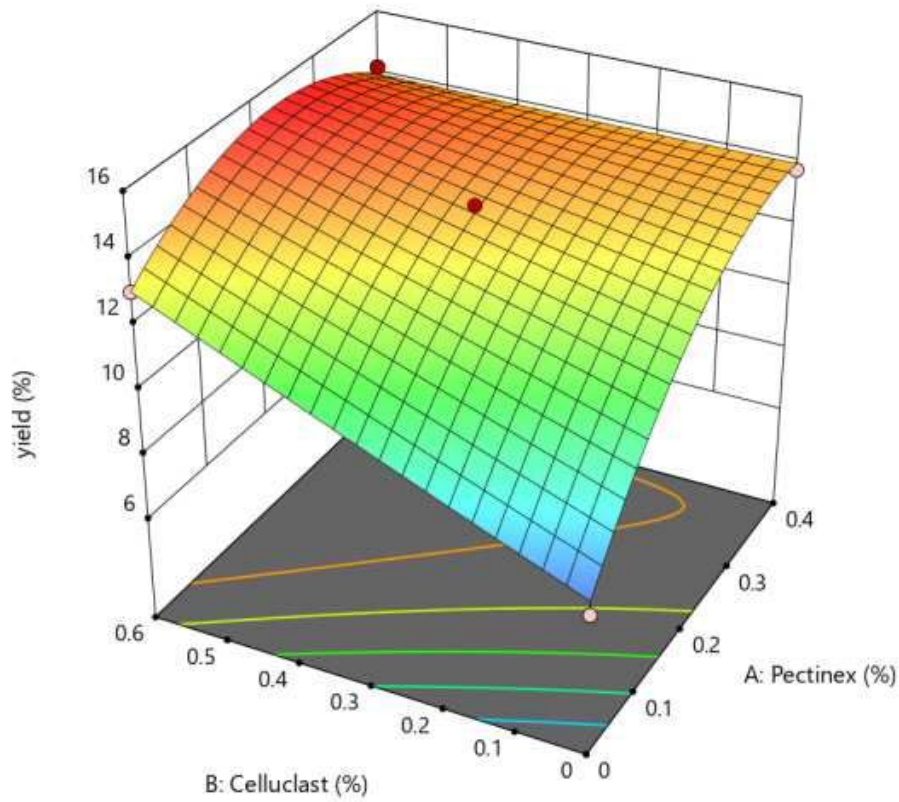
도면1b



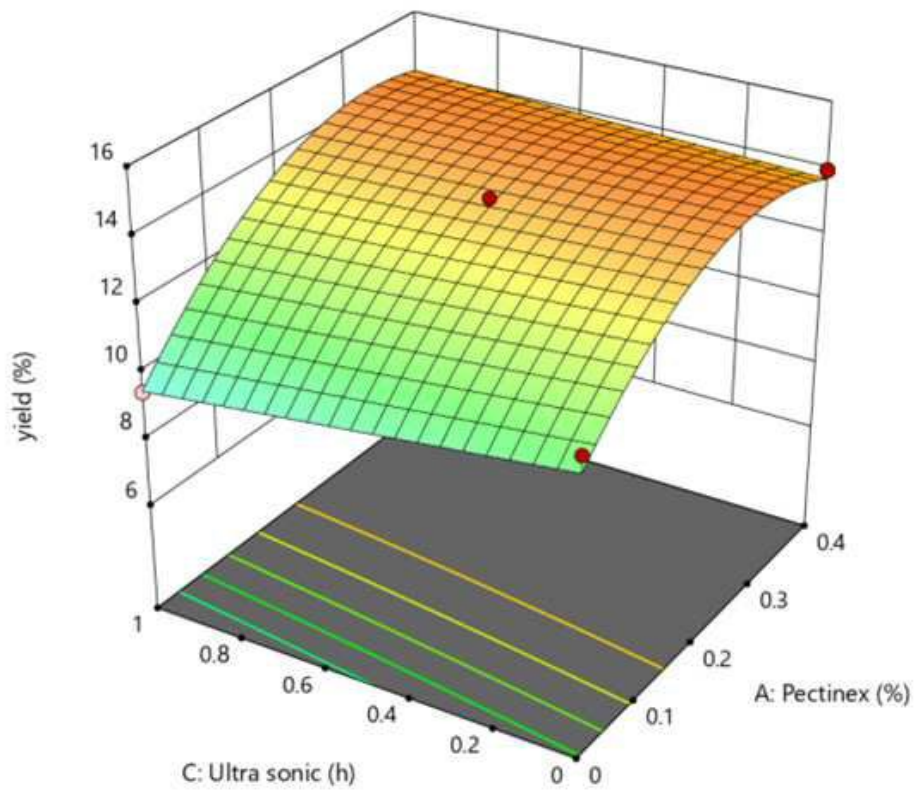
도면1c



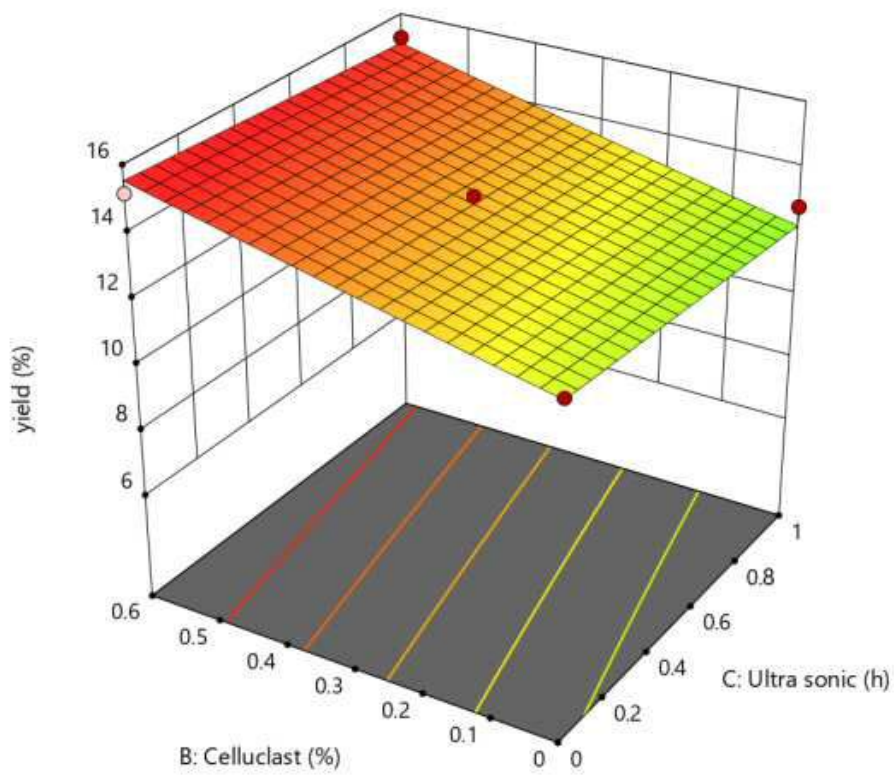
도면1d



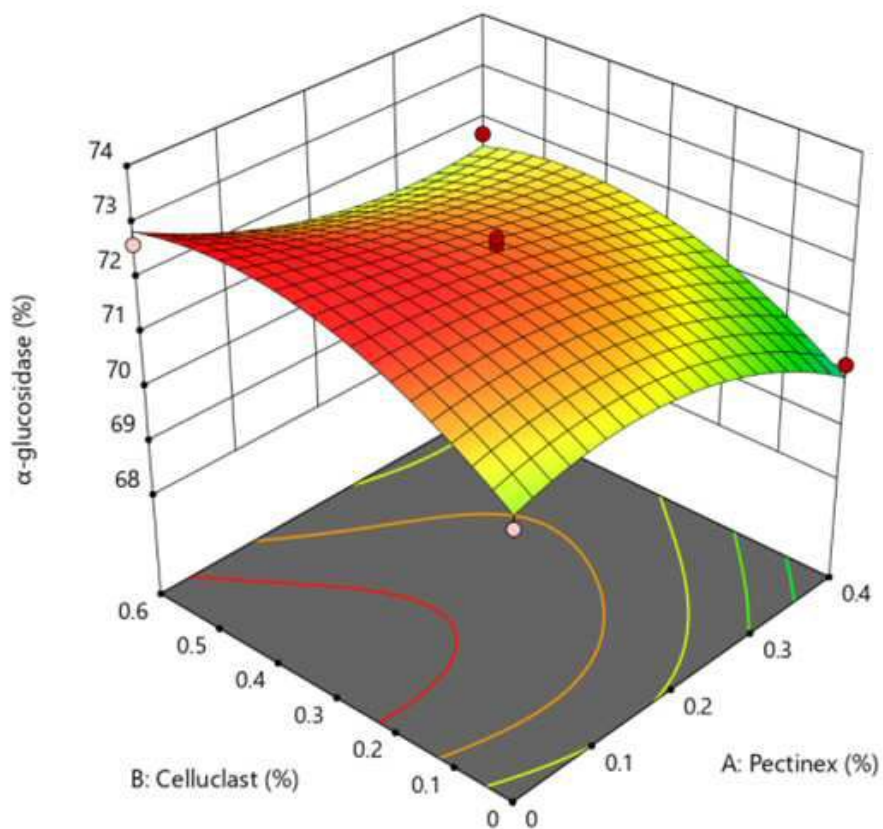
도면1e



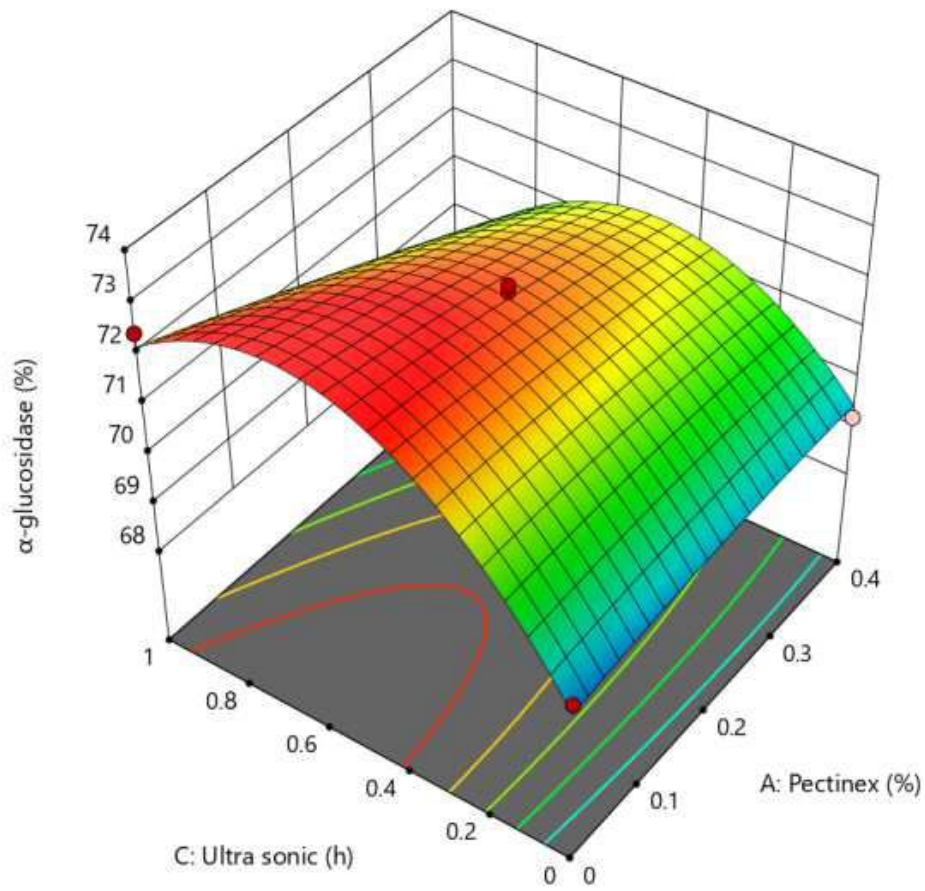
도면1f



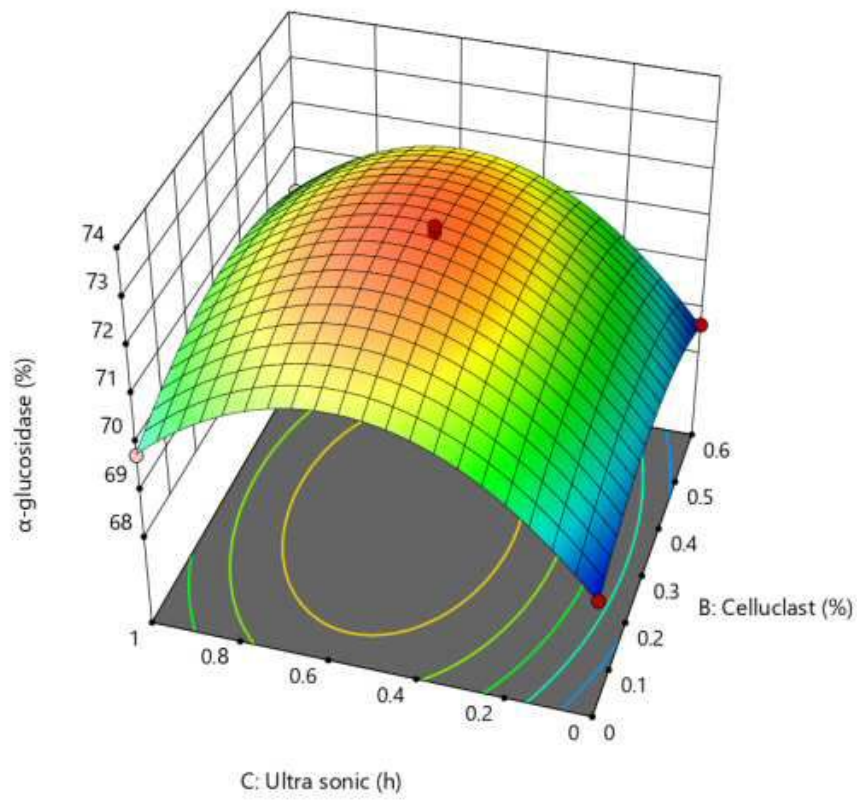
도면1g



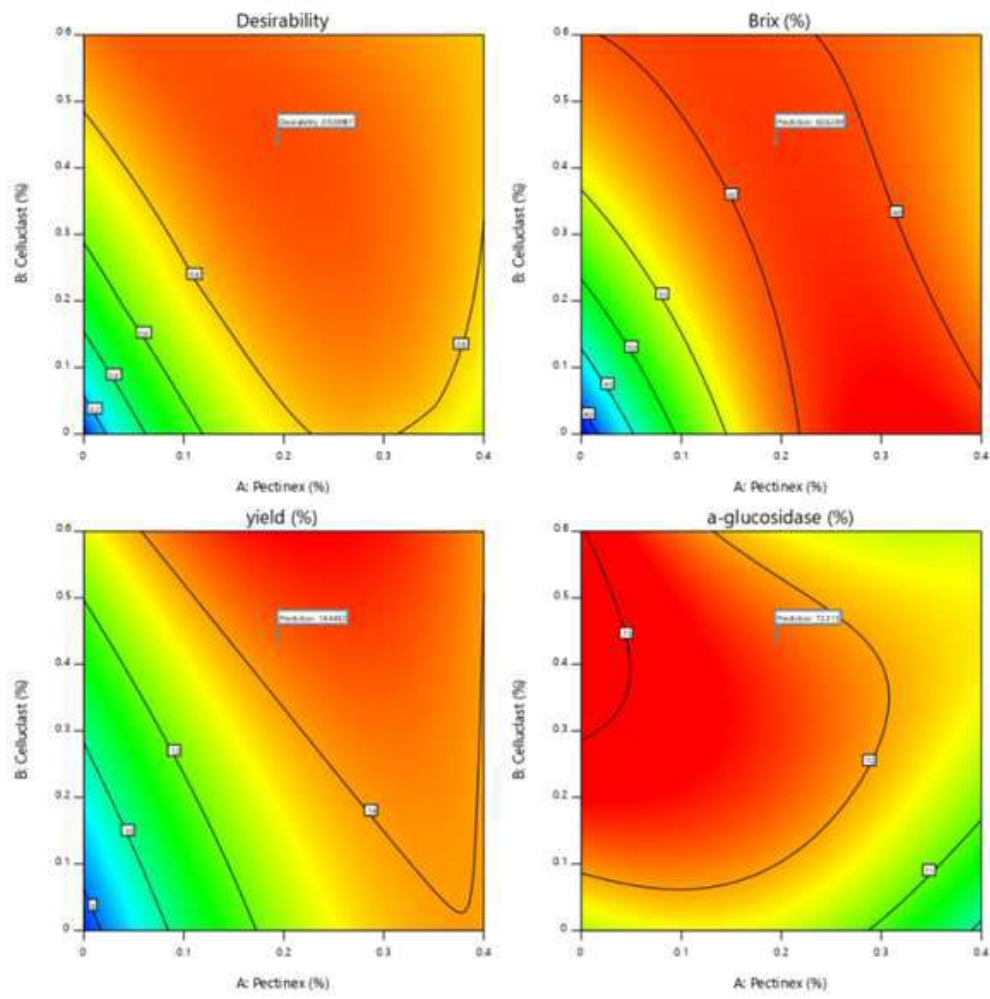
도면 1h



도면1i



도면2a



도면2b

