



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0027733
(43) 공개일자 2017년03월10일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23K 10/16 (2017.01) A23K 50/75 (2016.01)
C12N 1/20 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A23K 10/16 (2016.05)
A23K 40/00 (2016.05)</p> <p>(21) 출원번호 10-2016-7036510</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2015년06월29일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2016년12월27일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/JP2015/068665</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2016/002710
국제공개일자 2016년01월07일</p> <p>(30) 우선권주장
JP-P-2014-134830 2014년06월30일 일본(JP)</p> | <p>(71) 출원인
제이엑스 에네루기 가부시키키가이샤
일본국 도쿄도 치요다쿠 오테마치 1 초메 1 반 2 고</p> <p>(72) 발명자
나카이 히데타다
일본, 도쿄도 1008162, 치요다-쿠, 오테마치 1-초메, 1-2, 씨/오 제이엑스 니폰 오일 앤드 에네루기 코퍼레이션
카와시마 유키
일본, 도쿄도 1008162, 치요다-쿠, 오테마치 1-초메, 1-2, 씨/오 제이엑스 니폰 오일 앤드 에네루기 코퍼레이션
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
이원희</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 13 항

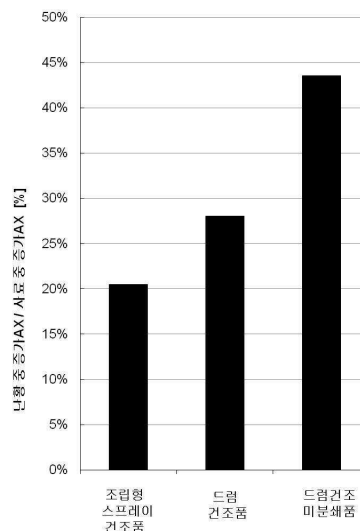
(54) 발명의 명칭 카로티노이드를 함유하는 건조 균체 분말 및 그 제조방법

(57) 요약

색감 강화 작용이 향상된 사료용 카로티노이드 함유 분말 및 그 제조 방법을 제공한다.

전도 수열식 건조 공정 및 분쇄 공정을 가지는 카로티노이드 함유 건조 균체 분말의 제조 방법을 제공한다. 또한, 이 방법으로 제조된 건조 균체 분말을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23K 50/75 (2016.05)

C12N 1/20 (2013.01)

(72) 발명자

스나다 후토시

일본, 도쿄도 1008162, 치요다-쿠, 오테마치 1-쵸
메, 1-2, 씨/오 제이엑스 니폰 오일 앤드 에네루기
코퍼레이션

타카하시 토시유키

일본, 도쿄도 1008162, 치요다-쿠, 오테마치 1-쵸
메, 1-2, 씨/오 제이엑스 니폰 오일 앤드 에네루기
코퍼레이션

야오기 켄이치

일본, 도쿄도 1008162, 치요다-쿠, 오테마치 1-쵸
메, 1-2, 씨/오 제이엑스 니폰 오일 앤드 에네루기
코퍼레이션

명세서

청구범위

청구항 1

카로티노이드를 생성하는 미생물의 균체를 100℃을 초과하는 온도의 전열부와 접촉시켜 전열 수열 건조하는 공정을 포함하는 카로티노이드 함유 건조 균체 분말의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 카로티노이드 생성 미생물은 파라코쿠스(Paracoccus)속 세균인 것을 특징으로 하는 제조 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 방법은 건조시킨 균체 분말을 더 분쇄하여 미분화하는 공정을 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 분쇄 공정에 의해 건조 균체 분말의 체적 입자 지름 D50을 20 μm 이하로 미분화하는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 전열부의 온도는 120℃ 이상인 것을 특징으로 하는 제조 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 건조는 드럼 건조기에 의한 건조, 진공 상형 건조기에 의한 건조, 다원통 건조기에 의한 건조, 도랑형 건조기에 의한 건조, 붕단식 건조기에 의한 건조 또는 핫 플레이트 건조기에 의한 건조인 것을 특징으로 하는 제조 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 카로티노이드는 아스타크산틴인 제조 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 제조된 분말은 가금의 사료에 첨가하기 위한 것인 제조 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 건조 균체 분말을 가금 사료에 첨가하는 공정을 포함하는 가금 사료 제조 방법.

청구항 10

체적 입자 지름 D50은 7~12 μm 이며, 이하의 순서:

i) 농도 1mg(건조 균체 중량)/mL(EtOH)의 샘플액을 준비한다;

ii) 샘플을 진동시킨다(25℃, 300rpm);

iii) 진동 개시 후 3분 또는 8분에 상등액을 분취하여, 필터로 여과한다; 및

iv) 샘플에 등용적의 에탄올을 첨가하여 480nm에서의 흡광도를 측정한다;

를 사용하여 에탄올 추출을 할 경우의 아스타크산틴 추출 속도가 3분당 1.1 또는 8분당 1.9의 흡광(A480nm)로 되는 추출 속도로, 체적 입자 지름 D50이 20 μm 이하로 미분화된 아스타크산틴 함유 건조 파라콕쿠스 균체 분말.

청구항 11

체적 입자 지름 D50이 7~12 μm 의 경우에 에탄올 추출에 의해 추출되는 아스타크산틴의 확산 계수 D의 25℃ 및 35℃와 온도 변화 비율이 0.807 ± 0.05 인 아스타크산틴 함유 건조 파라콕쿠스 균체 분말.

청구항 12

분쇄 공정에 의해 미분화된 건조 균체 분말의 체적 입자 지름 D50이 20 μm 이하인, 카로티노이드 함유 건조 균체 분말.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 카로티노이드가 아스타크산틴인 카로티노이드 함유 건조 균체 분말.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 카로티노이드를 함유하는 건조 균체 분말 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 카로티노이드 화합물은 사료에 첨가하는 것으로 어육의 붉은 색 강화나 계란 난황의 색감 강화에 이용되어 왔다. 카로티노이드의 일종인 아스타크산틴은 가금류의 난황이나 양식 어패류 등의 색감 강화에 이용되고 있다. 아스타크산틴을 포함하는 사료를 이용하면 이것이 생체에 흡수되면서 계란과 어육의 색감이 강화된다. 아스타크산틴의 제조 방법으로는 감각류로부터의 추출법, 파피아 효모를 배양하는 방법, 녹조를 배양하는 방법, 유기 합성하는 방법 등이 있다. 파라콕쿠스는 아스타크산틴 생산 능력이 높고 그 건조 균체는 연어의 사료로 이용되고

있다(비특허 문헌 1).

- [0003] 특허문헌 1은 저장 안전성이 뛰어난 카로티노이드 색소 함유 조성물과 그 제조 방법을 기재하고 있다.
- [0004] 특허문헌 2는 브레발디모나스(brevundimonas) 속 미생물을 이용한 아스타크산틴의 제조 방법을 기재하고 있다.
- [0005] 특허문헌 3은 파피아 효모를 이용한 사료용 효모의 제조 방법을 기재하고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0006] (특허문헌 0001) 특개 2006-101721
- (특허문헌 0002) 특개 2006-340676
- (특허문헌 0003) 특개평 8-182

비특허문헌

- [0007] (비특허문헌 0001) 생물 공학, 2010년 제88권 제9호, pp. 492-493

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명은 색감 강화 작용이 향상된 사료용 카로티노이드류 함유 분말 및 그 제조 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0009] 상기 과제를 해결하기 위해서 열심히 연구한 결과, 본 발명자는 카로티노이드 생성 미생물을 스프레이 건조한 경우보다 드럼 건조한 경우 얻어지는 건조 균체 분말이 사료에 첨가한 경우에 색감 강화 작용이 향상하는 것을 알아내어 본 발명을 완성시켰다.
- [0010] 즉, 본 발명은 이하를 포함한다.
- [0011] [1] 카로티노이드를 생성하는 미생물의 균체를 100℃을 초과하는 온도의 전열부와 접촉시켜 전열 수열 건조하는 공정을 포함하는 카로티노이드 함유 건조 균체 분말의 제조 방법.
- [0012] [2] 상기 카로티노이드 생성 미생물은 파라콕쿠스(Paracoccus)속 세균인 1의 제조 방법.
- [0013] [3] 상기 방법은 건조시킨 균체 분말을 더 분쇄하여 미분화하는 공정을 포함하는 1 또는 2 기재의 제조방법.
- [0014] [4] 상기 분쇄 공정에 의해 건조 균체 분말의 체적 입자 지름 D50을 20 μm 이하로 미분화하는 3 기재의 제조 방법.
- [0015] [5] 상기 전열부의 온도는 120℃ 이상인 1 내지 4 중 어느 하나 기재의 제조 방법.
- [0016] [6] 상기 건조는 드럼 건조기에 의한 건조, 진공 상형 건조기에 의한 건조, 다원통 건조기에 의한 건조, 도랑형 건조기에 의한 건조, 봉단식 건조기에 의한 건조 또는 핫 플레이트 건조기에 의한 건조인 1 내지 5 중 어느 하나 기재의 제조 방법.
- [0017] [7] 상기 카로티노이드는 아스타크산틴인 1 내지 6 중 어느 하나 기재의 제조 방법.
- [0018] [8] 상기 제조된 분말은 가금의 사료에 첨가하기 위한 1 내지 7 중 어느 하나 기재의 제조 방법.
- [0019] [9] 1 내지 8 중 어느 하나 기재의 방법으로 제조된 건조 균체 분말을 가금 사료에 첨가하는 공정을 포함하는 가금 사료 제조 방법.
- [0020] [10] 체적 입자 지름 D50은 7~12 μm 이며, 이하의 순서:

- [0021] i)농도 1mg(건조 균체 중량)/mL(EtOH)의 샘플액을 준비한다;
- [0022] ii)샘플을 진동시킨다(25℃, 300rpm);
- [0023] iii)진동 개시 후 3분 또는 8분에 상등액을 분취하여, 필터로 여과한다; 및
- [0024] iv)샘플에 등용적의 에탄올을 첨가하여 480nm에서의 흡광도를 측정한다;
- [0025] 를 사용하여 에탄올 추출을 할 경우의 아스타크산틴 추출 속도가 3분당 1.1또는 8분당 1.9의 흡광(A480nm)로 되는 추출 속도로, 체적 입자 지름 D50이 20 μ m 이하로 미분화된 아스타크산틴 함유 건조 파라콕쿠스 균체 분말.
- [0026] [11] 체적 입자 지름 D50이 7~12 μ m 의 경우에 에탄올 추출에 의해 추출되는 아스타크산틴의 확산 계수 D의 25℃ 및 35℃과 온도 변화 비율이 0.807 \pm 0.05인 아스타크산틴 함유 건조 파라콕쿠스 균체 분말.
- [0027] [12] 분쇄 공정에 의해 미분화된 건조 균체 분말의 체적 입자 지름 D50이 20 μ m 이하인, 카로티노이드 함유 건조 균체 분말.
- [0028] [13] 상기 카로티노이드가 아스타크산틴인 12 기체의 카로티노이드 함유 건조 균체 분말.
- [0029] 본 명세서는 본원의 우선권의 기초인 일본 특허 출원 2014-134830호의 명세서 및/또는 도면에 기재되는 내용을 포함한다.

발명의 효과

- [0030] 본 발명에 의하면, 색감 강화 작용이 향상된 건조 균체 가루를 제조할 수 있다. 이 분말을 사료에 첨가하면 기존의 스프레이 건조에 따라 제조된 카로티노이드 함유 건조 균체 분말 첨가 사료와 비교하여 계란 난황의 색감이 보다 두드러지게 강화된다. 또한, 본 발명에 따르면 기존의 스프레이 건조에 따라 제조된 카로티노이드 함유 건조 균체 분말을 첨가한 사료와 비교하여 적은 사료에서도 동일한 정도로 색감의 강화된 난황을 얻을 수 있어 제조 비용을 저감할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1은 계란 색상 상승 효과성을 비교한 도이다.
- 도 2는 에탄올 추출 실험 결과 그림이다.
- 도 3은 (1-E) vs. t 반로그 플롯(드럼 건조품)의 도이다.
- 도 4는 (1-E) vs. t 반로그 플롯(스프레이 건조품)의 도이다.
- 도 5는 (1-E) vs. t 반로그 플롯(조립형 스프레이 건조품)의 도이다.
- 도 6은 계란 색상 상승 효과성의 건조 균체 정도 의존성을 비교한 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 이하, 본 발명을 더욱 상술한다. 본 발명의 범위는 이러한 설명에 한정되지 않고, 이하의 예시 외의 형태에 대해서도 본 발명의 취지를 훼손하지 않는 범위에서 적당히 변형을 실시할 수 있다.
- [0033] 본 발명은 색감 강화 작용이 향상된, 카로티노이드 생성 미생물의 건조 균체 분말에 관한 것이다. 본 건조 균체 분말은 카로티노이드를 생성하는 미생물의 균체를 100℃을 초과하는 온도의 전열부와 접촉시켜 가열 건조함으로써 제조할 수 있다. 따라서, 본 발명은 카로티노이드를 생성하는 미생물의 균체를 100℃을 넘는 온도 전열부와 접촉시키는 가열 건조 공정을 포함하는 카로티노이드 함유 건조 균체 분말의 제조 방법을 제공한다.
- [0034] 본 발명에 이용할 수 있는 미생물은 카로티노이드를 생산하는 미생물이면 아무런 한정되지 않으나, 파라콕쿠스(Paracoccus)속 세균, 스피고모나스(Sphingomonas)속 세균, 브레번디모나스(Brevundimonas)속 세균, 엘리스로박터(Erythrobacter)속 세균, 헤마토 구균 속 조류, 파피아 속 효모 등을 이용할 수 있다. 파라콕쿠스속 세균으로는, 예를 들면, Paracoccus carotinifaciens, Paracoccus marcusii, Paracoccus haeundaensis, Paracoccus zeaxanthinifaciens, Paracoccus denitrificans, Paracoccus aminovorans, Paracoccus aminophilus, Paracoccus kourii, Paracoccus halodenitrificans 및 Paracoccus alcaliphilus를 들 수 있다. 헤마토 구균 속 조류로는 예를 들면, Haematococcus pluvialis, Haematococcus lacustris, Haematococcus capensis, Haematococcus droebakensis 및 Haematococcus zimbabwiensis 등을 들 수 있다. 파피아 속 효모는

Phaffia rhodozyma를 들 수 있다. 단, 본 발명에 이용되는 카로티노이드 생성 미생물은 이에 한정되지 않는다.

- [0035] 실시 형태에서 카로티노이드를 생성하는 미생물로 *Paracoccus carotinifaciens*를 사용할 수 있다. *Paracoccus carotinifaciens*의 주로는 *Paracoccus carotinifaciens* E-396 주(FERM BP-4283)를 들 수 있다.
- [0036] 이들의 카로티노이드 생성 미생물의 변이주도 본 발명에 이용할 수 있다. 즉, 본 발명에서 카로티노이드 생산 능력의 개변된 변이주도 사용 가능하다. 변이 주는 아스타크산틴 생산 능력의 높은 균주(특개 2001-95500), 칸타크산틴을 선택적으로 많이 만드는 균주(특개 2003-304875), 제아크산틴 및 β -크립톡산틴을 선택적으로 많이 만드는 균주(특개 2005-87097), 리코펜을 선택적으로 만드는 균주(특개 2005-87100) 등이 있으나 이에 한정되지 않는다.
- [0037] 카로티노이드의 생산 능력이 개변된 변이주는 예를 들면, 변이 처리와 스크리닝에 의해 취득할 수 있다. 변이 처리 방법으로는 N-메틸-N'-니트로-N-니트로소구아니딘이나 에틸메탄설포네이트 등의 변이 원성 물질에 의한 화학적 방법, 자외선 및 X선 조사 등의 물리적 방법, 유전자 변형과 트랜스포 손에 의한 생물학적 방법 등을 들 수 있으나 이에 한정되지 않는다.
- [0038] 변이주의 스크리닝 방법은, 예를 들면 한천 배지 상의 콜로니의 색조로 목적의 변이주를 선택하는 방법 외에 시험관, 플라스크, 발효 탱크 등에서 변이주를 배양하여, 흡광도, 고속 액체 크로마토그래피(HPLC), 박층 크로마토그래피(TLC) 등을 이용한 카로티노이드 색소 분석의 목적의 변이주를 선택하는 방법 등을 들 수 있다. 변이와 선택은 1회 또는 복수 회여도 좋다.
- [0039] 본 발명의 카로티노이드 생성 미생물이 생성한 카로티노이드로는, 예를 들면 아스타크산틴, β -카로틴, 리코펜, 제아산틴(zeaxanthin), β -크립톡산틴, 칸타크산틴(cantaxanthin), 페니코산틴(phenicoxanthin), 아드니산틴(adnixinanthin), 에키네논(echinenone), , 아스테로이데논(asteroidenone), 3-히드록시에키네논 등을 들 수 있다.
- [0040] 카로티노이드 생성 미생물을 배양하는 방법으로는 카로티노이드를 생성하는 조건이라면 어느 방법이어도 되나, 예를 들면 다음과 같은 방법이 있다. 즉, 배지로서는, 예를 들면, 생산균이 생장에 필요한 탄소원, 질소원, 무기염 및 경우에 따라 특수한 요구 영양 물질(예를 들면, 비타민, 아미노산, 핵산 등)을 포함하는 것을 사용한다.
- [0041] 탄소원으로는 글루코오스, 수크로오스, 프룩토오스, 트레할로스, 만노오스, 만니톨, 맥아당 등의 당류, 아세트산, 푸마르산, 구연산, 프로피온산, 사과산, 말론산 등의 유기산; 에탄올, 프로판올, 부탄올, 펜탄올, 헥사놀, 이소 부탄올 등의 알코올류 및 이들의 조합을 들 수 있다. 첨가 비율은 탄소원의 종류에 의하나, 일반적으로 배지 1L 대하여 1~100g, 예를 들면 2~50 g으로 할 수 있다.
- [0042] 질소원으로는 질산 칼륨, 질산 암모늄 염화 암모늄, 황산 암모늄, 인산 암모늄, 암모니아, 요소 및 이들의 조합을 들 수 있다. 첨가 비율은 질소원의 종류에 의하나, 일반적으로 배지 1L에 대하여 0.1~20 g, 예를 들면 1~10 g으로 할 수 있다.
- [0043] 무기염은 인산 이수소 나트륨, 인산 수소 이칼륨, 인산 수소 이나트륨, 황산 마그네슘, 염화 마그네슘, 황산 철, 염화 철, 황산 망간, 염화 망간, 황산 아연, 염화 아연, 황산 구리, 염화 칼슘, 탄산 칼슘, 탄산 나트륨 및 이들의 조합 등을 들 수 있다. 첨가 비율은 무기염의 종류에 의하나, 일반적으로 배지 1L에 대하여 0.1 mg~10 g으로 할 수 있다.
- [0044] 특수한 요구 물질로는 비타민류, 핵산류, 효모 추출물, 펩톤, 고기 추출물, 맥아 추출물, 옥수수 침지액, 건조 효모, 대두박, 대두유, 올리브유, 옥수수유, 아마씨유 및 이들의 조합을 들 수 있다. 첨가 비율은 특수한 요구 물질의 종류에 의하나, 일반적으로 배지 1L에 대하여 0.01 mg~100 g으로 할 수 있다.
- [0045] 배지의 pH는 예를 들면 pH 2~12, 예를 들면 pH 6~9로 조정한다.
- [0046] 배양은 예를 들면 10~70℃, 예를 들면 20~35℃의 온도에서 통상 하루~20일, 예를 들면 2~9일 동안 진동 배양 또는 통기 교반 배양에 의해 할 수 있다. 이런 조건 하에서 카로티노이드 생성 미생물을 배양한다. 배양하면 미생물은 균체 내외에 카로티노이드를 저장 생성한다.
- [0047] 이상의 배양 방법으로 얻어진 배양액은 적당히 농축할 수 있다. 농축 방법으로는, 막농축, 원심 분리법 등을 들 수 있다.
- [0048] 다음으로 배지 성분을 제거한다. 원심 분리의 경우에는, 농축한 것이라면 농축액에 가수하여, 배지 성분을 제거

한다. 막분리를 이용하는 경우, 다이아 필터레이션(diafiltration)을 수행하여 배지 성분을 제거한다. 가수량은 농축액 색소 함유량 등의 상태에 의하나, 예를 들면 1~5배 정도로 할 수 있다.

[0049] 또한, 배양물 또는 농축물로부터 건조 균체 분말을 얻기 위해서 건조한다. 즉, 본 발명은 배양물 또는 균체 슬러리로 얻어지는 카로티노이드 함유 균체를 건조시켜서 분말로 한다. 건조 방식으로는 크게 나눠서 열풍 수열과 전도 수열이 있다. 열풍 수열 건조기는 목적물에 열풍을 대고 건조한다. 전열 수열 건조기는 가열된 전열부(플레이트)로부터의 전열에 의해 목적물에 열을 가하여 건조한다.

[0050] 열풍 수열 방식의 건조기로서는, 터널 건조기, 충돌 분류 건조기, 밴드 건조기, 회전형 건조기, 유동층 건조기, 분무 건조기, 기류 건조기 등이 꼽힌다. 분무 건조기는 스프레이 건조기여도 좋고, 액체나 슬러리를 열풍 중에 분무하여 미립자형 제품을 얻는다. 액체나 슬러리에 열풍을 비추면 물 등의 매체가 증발하고 건조한 입자나 가루 형태를 얻을 수 있다. 애토마이저(분무기)에 의해 발생하는 물방울은 가열된 공기의 열량 공급에 의해 건조된다. 일반적으로 건조용 기체는 고온으로 있으나 건조시키는 액체 또는 슬러리의 매체가 물이면, 분무되어 구형으로 된 액체의 표면 온도는 물의 이탈 기간 중에는 물의 증발 온도인 100℃을 넘을 수 없고 가열된 공기의 열량 공급 속도는 그만큼 높일 수 있지 않다고 생각된다. 스프레이 건조에서는 물방울의 표면으로부터 건조하기 때문에 목적물 표면의 구멍은 축소하고 표면 경화를 가져오는 것이 있다.

[0051] 전도 수열 건조기는 진공 상형 건조기, 드럼 건조기(드럼식 건조기, 드럼 건조기라고도 한다), 다원통 건조기, 도랑형 건조기, 봉단식 건조기, 핫 플레이트 건조기 등을 들 수 있다. 전도 수열 건조기는 목적물을 가열된 전열부와 접촉시키므로 전열부의 온도가 100℃을 넘을 경우에는 전열 효율이 높아 매우 높은 열량이 공급되어 물의 이탈 속도는 빨라지게 되는 것으로 상정된다. 목적물을 전열부와 접촉시키려면 목적물을 전열부에 적용, 도포, 적하하면 된다. 전열부의 재료는 금속이라도 좋고, 열의 진동에 의해 가열시키는 아크릴 수지 같은 비금속성 물질이라도 좋다. 전열부는 충분한 열 전달 면적이 있으면 좋고, 평면, 곡률면, 실린더의 측면 등의 적당한 형상의 플레이트로 할 수 있다. 전열부에 접촉시켜서 건조시킨 목적물은 시트형(막상)이며, 경우에 따라 헤라(spatula) 등으로 긁어낼 수 있다.

[0052] 전열부로 건조하는 목적물과 접촉시키는 시간은 보통 몇 분 이하, 예를 들면 5분 이하, 4분 이하, 3분 이하, 2분 이하, 예를 들면 60초 이하로 할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 재료의 과열은 상압으로 하여도 좋고, 가압 하, 감압 하 또는 진공 하에 수행하여도 좋다. 전열부의 온도는 100℃ 보다 높다. 일 실시 형태에서 전열부의 온도는 110℃, 120℃, 130℃, 또는 140℃ 보다 높다. 일 실시 형태에서 전열부의 온도는 220℃ 이하, 210℃ 이하, 200℃ 이하, 190℃ 이하, 180℃ 이하, 170℃ 이하, 160℃ 이하 또는 150℃ 이하이다. 일 실시 형태에서 전열부의 온도는 140~160℃, 예를 들면 140~150℃이다.

[0053] 드럼 건조기를 사용하는 경우는, 액상 또는 페이스트형의 목적물을 가열된 드럼의 표면에 도포하고 드럼을 회전시키며 목적물을 건조시킨다. 드럼 건조기의 종류로는 더블 드럼형과 싱글 드럼형을 들 수 있다. 더블 드럼형으로는 내향 회전식, 외향 회전식, 진공식이 있다. 싱글 드럼으로서로는 톱 피드형, 딥 피드형, 스플래시 피드형이 있다. 어느 종류를 이용해서도 얻어지는 건조물은 플레이크(flake) 또는 시트형이 된다.

[0054] 드럼 건조기는 건조물을 얻을 수 있으면 어떤 조건에서 운전해도 좋다. 예를 들면 드럼 회전 속도는 1~5 rpm, 2~5 rpm, 2~4 rpm, 2~3 rpm으로 할 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 접촉 시간과 전열부 온도는 상기와 같다.

[0055] 드럼 건조 등의 전열 수열 건조에 의해 플레이크 또는 시트형이 된 건조물은 건조 후에 해머 밀(hammer mill) 등의 파쇄 공정에 의한 가루로 할 수 있다. 본 명세서에서는 편의상 이를 해쇄물이라고 하는 경우가 있다. 다음으로 건조물 또는 그 해쇄물을 제트 분쇄 공정에 의해 더 작게 파쇄할 수 있다. 본 명세서에서는 편의상 이를 파쇄물 또는 미분화물이라고 하는 경우가 있다. 해쇄물도 파쇄물도 시트형의 건조물을 잘게 자른 것이므로, 평면상의 형태를 남긴 채 잘게 된다. 본 명세서에서 건조 균체 분말의 경우, 이는 전열 수열 건조시킨 균체 분말뿐만 아니라 그 미분화물도 포함하기도 한다.

[0056] 일 실시 형태에서 본 발명의 전열 수열에 의해 건조시킨, 예를 들면 드럼 건조시킨 건조 균체 분말은 제트 분쇄기 파쇄에 의해 미분화할 수 있다. 파쇄 공정에 의해 분말의 곡선을 예를 들면 1 μm ~ 30 μm , 1 μm ~ 20 μm , 5 μm ~ 20 μm , 예를 들면 7 μm ~ 20 μm 로 할 수 있다. 본 명세서에서 입경이라고 하는 경우, 이는 입자를 구체로 봤을 때의 그 직경을 말한다. 또한, 본 명세서에서 평균 입경이라고 하는 경우, 이는 체적 입자 지름 D50을 말한다. 체적 입자 지름 D50은 중간 입자여도 좋고, 입자 지름 분포를 측정했을 때 누적치가 50%로 되는 입자 지름을 말한다. 입자의 곡선은 공지의 수법, 예를 들면 레이저 회절 산란법에 의해 측정할 수 있다.

[0057] 본 발명에 관한 건조 균체 분말 또는 그 미분화물은 양가금 사료에 첨가할 수 있다. 가금은 닭, 메추라기, 칠면

조, 호로호로새(guinea fowl), 비둘기, 오리, 거위 등을 들 수 있고, 특히 닭이 바람직하다. 예를 들면, Paracoccus 속 세균의 건조 균체 1 g 중에는 2.1 mg~2.5 mg 정도의 아스타크산틴이 포함되어 있다. 따라서, 본 발명의 건조 균체를 사료로 사용함으로써 급사한 가금으로부터 얻어지는 알의 난황 중의 카로티노이드 농도, 특히 아스타크산틴 농도가 증대하여 색감이 강화된다.

[0058] 일 실시 형태에서 본 발명은 카로티노이드 생성 미생물의 건조 균체 분말을 첨가하는 공정을 포함하는 양가금 사료 제조 방법을 제공한다. 이 사료를 가금에 급사하여 가금류를 생육하고 채난하는 것으로 색감의 강화된 난황을 가진 달걀을 얻을 수 있다. 카로티노이드 생성 미생물 중의 아스타크산틴을 양가금 사료 100g 당 0.1 mg 이상 0.4 mg 이상 0.8 mg 이상, 1 mg 이상, 예를 들면 0.4~50 mg, 예를 들면 0.4~20 mg 첨가할 수 있도록 카로티노이드 생성 미생물의 건조 균체 분말을 양가금 사료에 첨가한다. 상기 건조 균체 분말은 예를 들면 양가금에 사용되는 사료에 혼합할 수 있다. 양가금 사료의 건조 균체 분말의 양은 해당 건조 균체에 포함되는 아스타크산틴의 함량에 의하나, 예를 들면 중량으로 바람직하게는 0.01% 이상 0.05% 이상, 예를 들면 0.01%~5%로 할 수 있다.

[0059] 본 발명의 건조 균체 분말은 가금 사료에 혼합하여 급사할 수 있는데, 비타민류 등과 함께 프리 믹스(premix) 중에 미리 혼합하여 급사해도 좋다.

[0060] 난황의 색감에는 여러 가지 카로티노이드 화합물이 기여하나, 일부의 실시 형태에서는 카로티노이드를 대표하는 것으로서 아스타크산틴에 주목하고 본 발명을 설명하였다. 그러나, 본 발명의 색감 강화 작용은 아스타크산틴에 따른 것에 한정되지 않고, 카로티노이드 생성 미생물, 예를 들면 파라코쿠스 균체 중에 포함되는 아스타크산틴의 대사산물이나 아스타크산틴의 전구 물질 등을 포함하는 모든 카로티노이드 화합물의 기여의 총합에 의한 것이다.

[0061] 본 발명의 건조 균체 분말을 포함하는 사료를 급사한 가금은 카로티노이드의 부유화된 달걀을 생산한다. 본 방법에 따르면 예를 들면 난황 100 g 당 0.1 mg 이상, 0.2 mg 이상, 0.3 mg 이상, 예를 들면 0.2 mg ~ 10 mg, 0.2 mg ~ 5 mg으로 난황 중에 아스타크산틴을 함유하는 색감 강화된 가금란을 얻을 수 있다.

[0062] 본 발명의 건조 균체 분말은 스프레이 건조와 같은 열풍 수열식 건조 기구가 아니라 드럼 건조와 같은 전열 수열 건조 기구에 의해 건조시킨 것이다. 본 명세서에서 스프레이 건조를 사용하여 얻은 건조 균체 분말을 스프레이 건조품이라고 하는 것이 있다. 또한, 드럼 건조를 사용하여 얻은 건조 균체 분말을 드럼 건조품이라고 하는 것이 있다. 더욱이 드럼 건조품을 체트 분쇄기에서 파쇄한 것을 드럼 건조 미분쇄품이라고 하는 것이 있다. 건조 방식의 차이를 반영하여, 본 발명에 관한 전열 수열에 의해 건조시킨 건조 균체 분말은 스프레이 건조품과 형상이 현저히 다를 뿐만 아니라 물성이 다르다.

[0063] 본 발명의 드럼 건조품 및 미분쇄품은 형상이 시트형인 것 및 100℃을 넘는 고온 건조시킨 것으로부터 얻을 수 있는 분말이 함유된 아스타크산틴이 외부로 확산되기 쉽고, 생체에 흡수되기 쉽다고 생각한다. 이에 대해서 스프레이 건조품은 형상이 주로 구상이며, 단 시간에 급격하게 건조되면서 표면의 구멍이 급속히 축소하는 표면 경화가 생기고 있다고 생각한다. 따라서, 종래의 스프레이 건조품은 이 구조가 아스타크산틴 확산의 장벽이 되고, 함유 아스타크산틴이 상대적으로 생체에 흡수되기는 어렵다고 생각된다.

[0064] 이러한 차이는 예를 들면, 본 발명에 관한 전열 수열에 의해 건조시킨 건조 균체 분말, 예를 들면 드럼 건조품에 포함되는 아스타크산틴을 용매 추출(예를 들면 에탄올 추출) 해서 평가할 수 있고, 본 발명의 전열 수열에 의해 건조시킨 건조 균체 분말, 드럼 건조품이나 미분쇄품을 에탄올 추출에 제공할 경우의 아스타크산틴 추출 속도를 스프레이 건조품의 아스타크산틴 추출 속도와 비교할 수 있다. 용매 추출 속도는 온도에 의존하는 것으로 알려졌으나, 온도 의존 관계에서 건조물 내에서 카로티노이드류가 확산 방출될 때의 경로 도중에 특별한 장벽이 있는지 없는지를 결정할 수 있다.

[0065] 이하 본 발명의 아스타크산틴 함유 건조 파라코쿠스 균체 분말의 에탄올 추출에 의한 아스타크산틴 확산 계수 D의 25℃ 및 35℃와의 온도 변화비(b_{25}/b_{35})에 대해서 설명한다.

[0066] 건조 균체 분말로부터 에탄올을 이용하여 아스타크산틴을 추출할 때의 추출율을 $E=C/C_e$ 으로 한다. 식 중, C는 외액(에탄올) 중의 추출물 아스타크산틴 농도(A480)이며, C_e 는 평형 농도이다.

[0067] 표면 농도 일정의 확산 탈착 과정은 확산 일정한 경우, 이하의 급수식으로 나타난다.

[0068] [수 1]

$$1 - E = 1 - \frac{\bar{C}_S}{C_{S0}} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4R^2} Dt \right] \quad (1)$$

[0069]

[0070] 식 중, D는 추출물의 고체 내 확산 계수, R은 추출물의 반경이다. 고상 내부의 농도를 C_S 로 하여 그 평균 농도를

[0071] [수 2]

$$\bar{C}_S$$

[0072]

[0073] 으로 하고, 초기 농도(= 전추출 농도)을 C_{S0} 으로 한다. 외부 매체가 충분히 크고, 최종 평형 농도 C_e 가 낮은 경우에는 표면 농도 일정의 가정은 충분히 만족된다. (1-E)을 무차원 시간 tD/R^2 에 대해서 반로그 플롯 하면, (1-E)<0.8에서는 직선이 된다. 이것은 식(1)의 급수항에 있어서 제1항만이 지배적이 되는, 식 (2)로 되기 때문이다.

[0074] [수 3]

$$1 - E = 1 - \frac{C_S}{C_{S0}} = 1 - \frac{C}{C_e} \approx \frac{8}{\pi^2} \exp \left[-\frac{\pi^2}{4} \frac{Dt}{R^2} \right] \quad (2)$$

[0075]

[0076] 따라서, (1-E) vs t의 반로그 플롯의 기울기로부터 확산 계수 D를 결정할 수 있다. 본 명세서에서는 편의상 (1-E) vs t의 반로그 플롯의 기울기를 b로 하여, 25℃의 b를 b_{25} 로 나타내고, 35℃의 b를 b_{35} 로 나타낸다.

[0077] 본 명세서에는 상기 기울기 b가 총괄 물질 이동 계수 $K_S=D/R^2$ 에 대응한다고 고려하여 해석한다. K_S 는 확산 계수 D에 비례하므로 온도가 변화해도, 확산 지배 기구라면 확산 계수의 온도 의존성만으로 K_S 가 추정할 수 있다고 여겨진다.

[0078] 용액 중의 확산 계수 D는 절대 온도 T에 대해서 이하의 관계가 성립한다.

[0079] D_n/T =일정

[0080] [식 중, n 은 용액(물은 용액에서는 용매)의 점도이다]

[0081] 이상적인 조건 하에서는 $n=0.914 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ (35℃, 308K)이며, $n=1.096 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ (25℃, 298K)이므로, D_n/T =일정의 관계로부터 도출되는 b_{25}/b_{35} 의 계산 값은 $(0.914/308)/(1.096/298)=0.807$ 로 된다.

[0082] 즉, 본 명세서에서 에탄올 추출에 의한 아스타크산틴 확산 계수 D의 25℃ 및 35℃과 온도 변화비(b_{25}/b_{35})는

[0083] 추출율 $E=C/C_e$

[0084] [식 중, C는 에탄올 중의 아스타크산틴 추출물 농도, C_e 는 평형 농도를 나타낸다.]

[0085] 로 한 경우의 (1-E) 및 시간 t와의 반로그 플롯의 기울기를 b로 하고,

[0086] b_{25} 는 에탄올 추출을 25℃에서 수행한 경우의 b를 나타내며,

[0087] b_{35} 는 에탄올 추출을 35℃에서 수행한 경우의 b를 나타내는 경우에,

[0088] D_n/T =일정

[0089] [식 중, D는 확산 계수, n 는 용액의 점도, T는 절대 온도이다]

- [0090] 의 관계로부터 인도된 비를 말한다. 어떤 측정 시료에 대해서 b_{25}/b_{35} 가 0.807에 가까운 값이 되는 것은 추출의 확산 계수에 특별한 장벽(저항)이 없는 경우이다.
- [0091] 일 실시 형태에서 본 발명의 아스타크산틴 함유 건조 파라콕쿠스 균체 분말은 체적 입자 지름 D50이 7~12 μm 인 경우 에탄올 추출로 추출되는 아스타크산틴의 확산 계수 D의 25℃ 및 35℃과 온도 변화비(b_{25}/b_{35})가 0.807±0.05, 예를 들면 0.807±0.04, 예를 들면 0.807±0.03, 예를 들면 0.807±0.02, 예를 들면 0.807±0.01, 예를 들면 0.807±0.005, 예를 들면 0.807±0.004, 예를 들면 0.807±0.003, 예를 들면 0.807±0.002, 예를 들면 0.805~0.809, 예를 들면 0.807~0.809이다.
- [0092] 다음으로, 본 발명을 실시예를 참조하는 것에 의해 설명한다. 본 발명의 기술적 범위는 다음의 실시예에 의해서 한정되지 않는다.
- [0093] [실시예]
- [0094] 카로티노이드류의 정량은 고속 액체 크로마토그래피(HPLC)을 이용하여 다음과 같이 하였다.
- [0095] 컬럼은 Inertsil SIL-100A, 5 μm (ϕ 4.6×250mm)(GL 사이언스 제)를 2개 연결하여 사용하였다. 용출은 이동상인 n-헥산/테트라하이드로퓨란/메탄올 혼합액(40:20:1)을 실온 부근 일정의 온도에서 매분 1.0 mL 흐르는 것으로 하였다. 측정에서는 샘플을 테트라하이드로퓨란에서 용해하여 이동상에서 적당히 희석한 액 20 μL 을 주입량으로 하고, 컬럼 용리액의 검출은 파장 470nm에서 하였다. 또한, 정량을 위한 표준품으로서는, 시그마 사제 아스타크산틴(Cat.No.A9335)을 이용하였다. 아스타크산틴 표준품의 정량은 분광 광도계에 의한 흡광(477 nm)과 HPLC(470 nm)의 면적 비율(순도)로부터 산출하였다. 표준 용액의 477 nm의 흡광도(A) 및 상기 조건으로 HPLC 분석을 하는 경우의 아스타크산틴 면적 백분율(B)을 측정한 후에 이하의 식을 이용하여 농도의 계산하였다.
- [0096] [수 4]
- [0097] 아스타크산틴의 농도(mg/L)=A ÷ 2150 × B × 100
- [0098] 또한, n-헥산/테트라하이드로퓨란/메탄올 혼합액(40:20:1)에서의 아스타크산틴의 비흡광 계수는 다음과 같다.
- [0099] [수 5]
- [0100] $E_{1\text{cm}}^{1\%}(477\text{ nm})=2150$
- [0101] 실시예의 평균 입경(체적 입자 지름 D50)의 측정은, 광산란식 입경 분포 측정 장치(주식 회사 세이신 기업 제 LMS-2000e)을 이용하여 하였다.
- [0102] **실시예 1** 계란 염색(redying) (건조 방법에 의한 차이)
- [0103] 카로티노이드류를 생산하는 파라콕쿠스 균체로서, *Paracoccus carotinifaciens* E-396주(FERM BP-4283)의 니트로소구아니딘 변이주를 사용하였다. 이것을 시드(seed)용 플라스크 배지에서 먼저 배양하고, 다음으로 본 배양용 배지에서 균체 농도가 최대가 될 때까지 28℃에서 호기 조건으로 배양하였다. 다음으로, 이를 원심 분리기에서 집균하여 회수하였다.
- [0104] 스프레이 건조는, 일반적으로 생기는 건조 분말이 미소한 입자로 된다. 한편, 드럼 건조는 생기는 건조 분말이 비교적 크다. 따라서, 스프레이 건조품과 드럼 건조품을 비교하기 위해, 여기에서는 조립형 스프레이 건조품을 이용하였다. 조립형 스프레이 건조품은 회수한 파라콕쿠스 균체를 그대로 조립형 분무 건조기에서 건조하고 제조하였다. 조립형 스프레이 건조품의 평균 입경(체적 입자 지름 D50)은 385 μm 이다.
- [0105] 드럼 건조품은 회수한 파라콕쿠스 균체를 직접 더블 드럼 건조기에서 건조하고 제조하였다. 운전 조건은 드럼 회전수 3.5 rpm, 드럼 온도 140℃로 하는 것이었다. 드럼 건조품의 평균 입경(체적 입자 지름 D50)은 대략 100~125 μm 이다.
- [0106] 드럼 건조품, 제트 분쇄기(주식 회사 세이신 기업사 제)을 이용하여 평균 입경(D50)이 9 μm 로 되도록 미분화(분쇄)하였다. 이를 드럼 건조식 미분쇄품으로 하였다.
- [0107] 증부 사료 주식 회사 제의 기초 사료(레이어 S7)에 각 건조 균체를 첨가하여 사료 중 아스타크산틴 농도가 약 0.8 mg/100 g이 되도록 사료를 제조하였다.
- [0108] 산란계 3 마리씩 3개 구로 나누고, 조립형 스프레이 건조품 첨가 구, 드럼 건조품 첨가 구, 드럼 건조 미분쇄품

(평균 입경 D50 9 μm) 첨가 구로 4주 사육하였다. 사육량은 100g/하루로 하였다.

- [0109] 급사 4주 후, 각 시험구에서 채취하고 얻은 계란의 난황 중 아스타크산틴량을 고속 액체 크로마토그래피에 의해 측정하였다.
- [0110] 결과를 도 1에 정리하였다. 도 1은 사료 중 아스타크산틴 농도 약 0.8 mg/100 g 경우의 계란 난황의 증가한 아스타크산틴 양을 나타낸다. 조립형 스프레이 건조품 보다 드립 건조기 건조품 및 드립 건조 건조 분쇄품 쪽이 난황 속에 아스타크산틴 이행량이 많았다.
- [0111] **실시예 2** 에탄올 추출에 의한 건조 균체 물성의 파악
- [0112] (실험 방법)
- [0113] 시료
- [0114] A 미분쇄품(드립 건조 미분쇄품)
- [0115] B 드립 건조품
- [0116] C 스프레이 건조품
- [0117] D 조립형 스프레이 건조품
- [0118] A-D는 실시예 1의 방법과 마찬가지로 만들었다. A의 드립 건식 마광품 체적 입자 지름 D50은 9 μm 이다. B의 드립 건조품 체적 입자 지름 D50은 125 μm 이다.
- [0119] 추출 용매
- [0120] 에탄올(99.5%) C₂H₅OH(분자량 46.07) 와코순약(카탈로그 번호 052-03343)
- [0121] 단시간의 추출 거동을 마이크로 플레이트를 이용한 실험에 의해 해석하였다.
- [0122] 순서
- [0123] i) 농도 1 mg(건조 균체 중량)/mL(EtOH)의 각 A-D 샘플액을 2 mL 제작하였다(24웰 플레이트 상, 플레이트는 멀티 웰 셀 컬처 플레이트 353047(팔콘)을 사용).
- [0124] ii) 진동 인큐베이터(S1-300C)를 이용하여 플레이트마다 진동시켰다(25℃, 300 rpm).
- [0125] iii) 진동 개시부터 3분 후부터 분취를 개시하여 거기부터 5분마다 상등액을 채취하고 0.45 μm 필터로 여과하였다.
- [0126] iv) 샘플에 에탄올을 첨가하여 2배 희석하여(샘플 0.1 mL + 100% EtOH 0.1 mL), 각 샘플의 흡수도를 측정한다(1웰의 최종 용량은 0.2 mL이 된다). 또한, 24웰 플레이트로 샘플 용량을 0.2 mL로 고정하면 물방울 부분이 렌즈 모양을 이루고 그 폭이 측정되는 광로의 길이에 필적한다.
- [0127] 결과를 도 2에 나타낸다. 18분까지 추출 속도는 A 미분쇄품 > B드립 건조품 > C 스프레이 건조품 > D조립형 스프레이 건조품이라는 순이었다.
- [0128] 에탄올 추출 온도 의존성 측정과 추출 특성 평가
- [0129] 여기에서는 건조 균체량 당의 아스타크산틴 추출량(A480으로 측정)은 평균값을 이용하여 추출 평형값으로 하였다. 추출 실험은 차광병을 이용하여 25℃ 및 35℃에서 실시하였다.
- [0130] 순서
- [0131] i) 농도 0.1 mg(건조 균체 중량)/mL(EtOH)의 각 A-D의 샘플액을 30 mL 제조하였다(차광병).
- [0132] ii) 항온기(EYELA NTT-2000, SS1000) 중에서 진동시켰다(speed controller 메모리 3). 이때, 측정 전에 용매를 측정 온도에 도달시키고 실험을 시작하였다.
- [0133] iii) 규정 시간마다 상등액을 채취하였다. 진동 개시 5분 후부터 분취를 시작하였다.
- [0134] iv) 채취한 샘플을 에탄올 희석하여(샘플 0.1 mL + 100% EtOH 0.2mL), 각 샘플의 흡수도를 측정하였다(24웰 플레이트, 1웰 0.2 mL).

[0135] 추출율은 $E=C/C_e$ 으로 하였다. 식 중, C는 외액(에탄올) 중의 추출물 농도(A480)이며, C_e 는 평형 농도(35℃, 21시간 후 B 샘플 A480 값으로 하였다)이다.

[0136] 확산 모델에 의한 해석

[0137] 표면 농도 일정의 확산 탈착 과정은 확산 일정의 경우, 이하의 급수식에서 나타난다.

[0138] [수 6]

$$1 - E = 1 - \frac{\bar{C}_S}{C_{S0}} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4R^2} Dt \right] \quad (1)$$

[0139]

[0140] 식 중, D는 추출물의 고체 내 확산 계수, R은 추출물의 반경이다. 고상 내부의 농도를 C_S 로 하여 그 평균 농도를

[0141] [수 7]

$$\bar{C}_S$$

[0142]

[0143] 으로 하고, 초기 농도(= 전추출 농도)을 C_{S0} 으로 한다. 외부 매체가 충분히 크고, 최종 평형 농도 C_e 가 낮은 경우에는 표면 농도 일정의 가정은 충분히 만족된다. (1-E)을 무차원 시간 tD/R^2 에 대해서 반로그 플롯 하면, (1-E)<0.8에서는 직선이 된다. 이것은 식(1)의 급수항에 있어서 제1항만이 지배적이 되는, 식 (2)로 되기 때문이다.

[0144] [수 8]

$$1 - E = 1 - \frac{C_S}{C_{S0}} = 1 - \frac{C}{C_e} \approx \frac{8}{\pi^2} \exp \left[-\frac{\pi^2}{4} \frac{Dt}{R^2} \right] \quad (2)$$

[0145]

[0146] 따라서, (1-E) vs t의 반로그 플롯의 기울기로부터 확산 계수 D를 결정할 수 있다. 본 명세서에서는 편의상 (1-E) vs t의 반로그 플롯의 기울기를 b로 하여, 25℃의 b를 b_{25} 로 나타내고, 35℃의 b를 b_{35} 로 나타낸다.

[0147] 본 실험계에서는 상기 경향이 총괄 물질 이동 계수 $K_S=D/R^2$ 에 대응한다고 고려하여 해석한다. K_S 는 확산 계수 D에 비례하므로 온도가 변화해도, 확산 지배 기구라면 확산 계수의 온도 의존성만으로 K_S 가 추정할 수 있다고 여겨진다.

[0148] 도 3~5에 샘플 추출 실험에서 (1-E)을 t에 대해서 반로그 플롯 한 결과를 나타낸다. 직선 근사 가능한 영역이 존재하고 있어, 최소 제곱법의 결과를 도에 나타냈다. 용액 중의 확산 계수 D는 절대 온도 T에 대해서 이하의 관계가 성립된다.

[0149] D_n/T =일정

[0150] [식 중, η 은 용액(물은 용액에서 용매)의 점도이다]

[0151] $\eta=0.914 \text{ mPa} \cdot \text{s}(35^\circ\text{C}, 308\text{K})$ 이며 $\eta=1.096 \text{ mPa} \cdot \text{s}(25^\circ\text{C}, 298\text{K})$ 이므로, D_n/T =일정의 관계로부터 유도되는 기울기의 비 b_{25}/b_{35} 의 계산값은 $(0.914/308)/(1.096/298)=0.807$ 이 된다. 도 3의 기울기의 비(b_{25}/b_{35})는 $0.00267/0.00330=0.809$ 인 실측치가 거의 계산 값에 대응한다. 이 관계가 성립하는 것은 추출의 확산 계수에 특별한 장벽(저항)이 없는 경우이다.

[0152] 다른 샘플(스프레이 건조품 C, 조립형 스프레이 건조품 D)에 대해서는 반드시 이 관계가 성립되지 않는다. 또한, 기울기 자체는 추출 속도를 나타내고 있으며, 온도가 높아지면 추출 속도는 커짐과 동시에 B 드럼 건조품 > C 스프레이 건조품 > D조립형 스프레이 건조품의 순으로 되어 있다. A 드럼 건조 미분쇄품은 추출 속도가 매우 빠르고, 데이터의 편차가 크기 때문에 기울기의 비를 산출하는 해석에는 사용하지 않았다. 그러나, 드럼 건

조품 B는 상기 기울기의 비(b_{25}/b_{35})가 0.809인 이상치에 매우 가깝지만 B 보다도 추출 속도가 매우 빠른 A 드럼 건조 미분쇄품은 상기 기울기의 비가 더 이상치에 가깝다고 생각된다. 따라서, A 드럼 건조 미분쇄품의 상기 기울기의 비(b_{25}/b_{35})는 0.807과 0.809 사이에 있다고 생각된다.

표 1

[0153]

T(°C)	샘플 B	샘플 C	샘플D
25	0.00267	0.00137	0.00096
35	0.0033	0.00288	0.00192
b_{25}/b_{35}^*	0.809	0.476	0.500

[0154]

* D_n/T =일정의 관계로부터 계산된 b_{25}/b_{35} 는 0.807이다.

[0155]

추출의 확산 계수에 대한 특별한 장벽으로는 입자의 표면에 껍질 같은 불균일층이 있는 경우에 그 껍질을 통과 하는 경우에 그 불균일층의 저항을 받는 것을 말한다. 반대로 특별한 장벽이 없음은 입자 표면이 다공질로 고액 계면에 불균일 계층이 없는 경우를 말한다. 도 3~5 및 표 1의 결과에서는 샘플 B는 특별한 장벽이 없는 것으로 나타나고, 샘플 C 및 D에는 특별한 장벽이 있음을 알 수 있다. 그러므로 샘플 B는 샘플 C 및 D와는 물성이 다르다. 또한, 샘플 A는 추출 속도가 매우 빠른 샘플 B를 더 미분쇄한 것이어서 샘플 B와 마찬가지로 추출의 확산 계수에 특별한 장벽이 아닌 개연성이 높다. 따라서, 샘플 A 또한 샘플 C 및 D와는 물성이 다르다고 생각된다.

[0156]

본 발명의 드럼 건조품 B 및 미분쇄품 A는 전자 현미경 관찰하면 건조 균체 분말의 형상이 시트형 또는 겔이 굳 어진 듯한 형상이다. B는 상기와 같이 추출시의 카로티노이드류의 확산 과정 상에 특별한 장벽이 없는 물성으로 되어 있다. 즉, 입자 내가 다공질 또는 불균일층을 형성하지 않은 상태이기 때문에 생체 내에서 소화되기 쉽고, 생체에 흡수되기 쉽다고 생각한다. A에 대해서도 마찬가지로 생각된다. 이는 도 1과 같이 미분쇄품의 생체에 대한 아스타크산틴 흡수가 좋은 것으로부터도 뒷받침된다. 이에 대해서 C 및 D는 상기와 같이 카로티노이드류의 추출시의 확산 과정 상에 특별한 장벽이 보였다. 그 원인으로 스프레이 건조품 C 및 D는 전자 현미경 관찰하면 형상이 주로 구상이며, 또한, 단기간에 급격히 스프레이 건조되는 것부터 구의 표면의 구멍이 급속히 축소하는 표면 경화가 빚어지고 있다고 생각할 수 있다. 그 결과, 생체 중에서 소화가 늦을 수 있는 드럼 건조품과 비교 하여 카로티노이드류(아스타크산틴)가 생체에 흡수되기는 어렵다고 생각된다.

[0157]

실시예 3 계란 재염색(건조 균체 분말의 곡선과 난황 재염색 사이의 상관 관계)

[0158]

드럼 건조 건조품을 체트 분쇄기(주식 회사 세이신 기업 사 제)에서 분쇄하여, 평균 입경의 상이한 드럼 건조 미분쇄품을 몇 가지 얻었다.

[0159]

중부 사료 주식 회사 제의 기초 사료(멀티 레이어 RG)에 얻어진 건조 균체를 첨가하여 사료 중 아스타크산틴 농도가 0.4 mg/100 g 및 0.8 mg/100 g이 되도록 사료를 제조하였다.

[0160]

산란계 5마리씩 10구로 나누어 4주 사육하였다. 표 2에 나타내었다. 사육량은 100g/하루로 하였다.

표 2

[0161]

시험구	샘플	색소첨가농도 [mg/100g]	
1	드럼 건조 미분쇄품	아스타크산틴	0.4
2	7 μm		0.8
3	드럼 건조 미분쇄품		0.4
4	9 μm		0.8
5	드럼 건조 미분쇄품		0.4
6	12 μm		0.8
7	드럼 건조 미분쇄품		0.4
8	20 μm		0.8
9	드럼 건조품		0.4
10	100 μm		0.8

[0162]

급사 4주 후 각 시험구에서 채취하고 얻은 계란의 난황 중 아스타크산틴량을 고속 액체 크로마토 그래피에 의한

측정하였다. 결과를 도 6에 나타낸다.

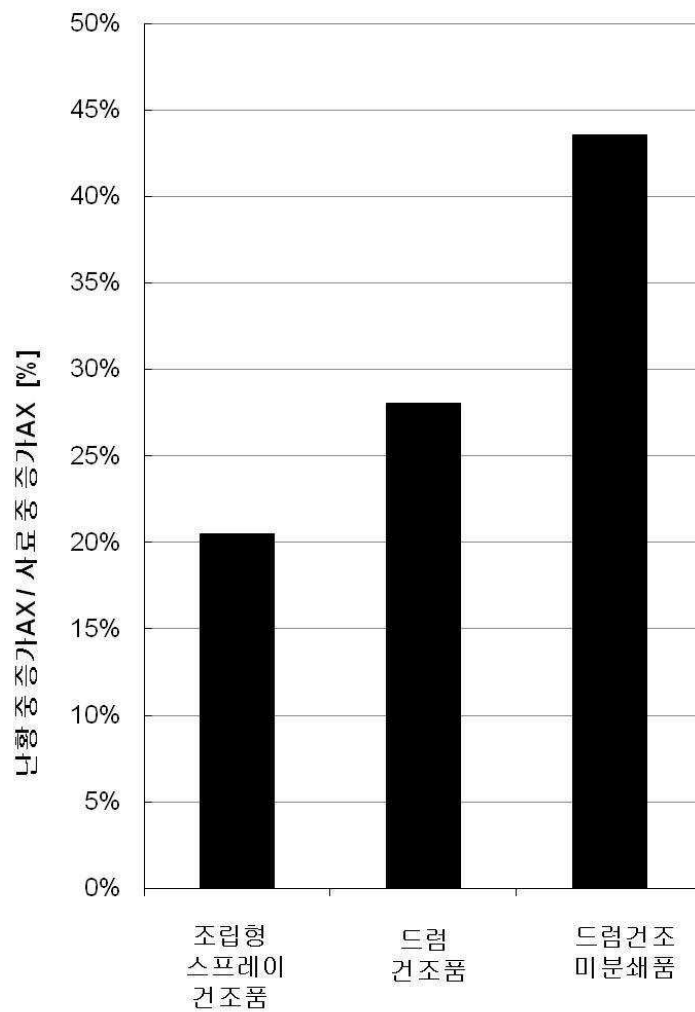
산업상 이용가능성

[0163] 본 발명의 제조 방법으로 얻을 수 있는 카로티노이드 함유 건조 균체 분말은 가금의 난황의 색감 강화로 인하여 양가금 사료에 쓸 수 있다.

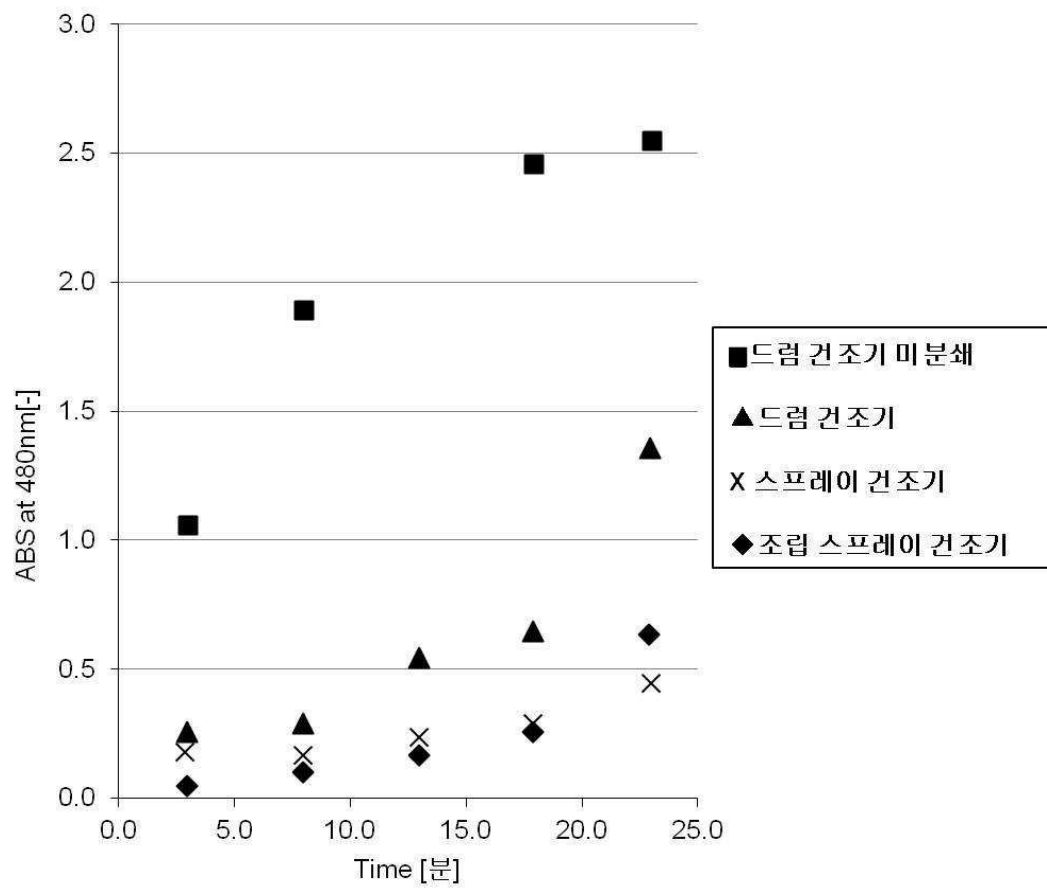
[0164] 본 명세서에서 인용한 모든 간행물, 특허 및 특허 출원을 그대로 참고로 본 명세서에 적용한다.

도면

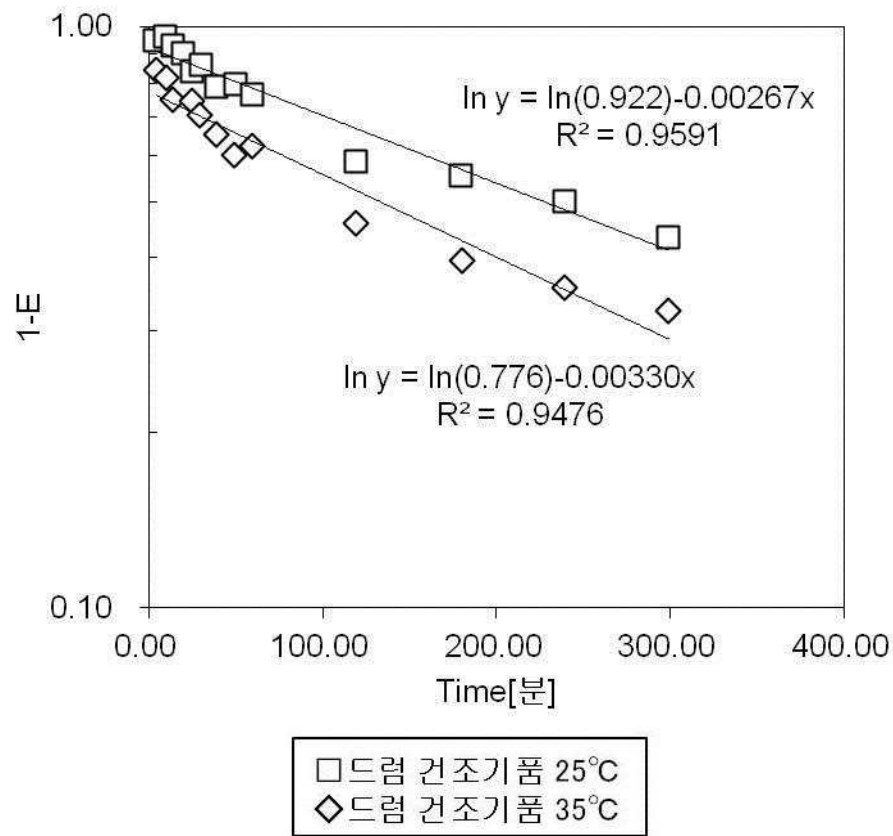
도면1



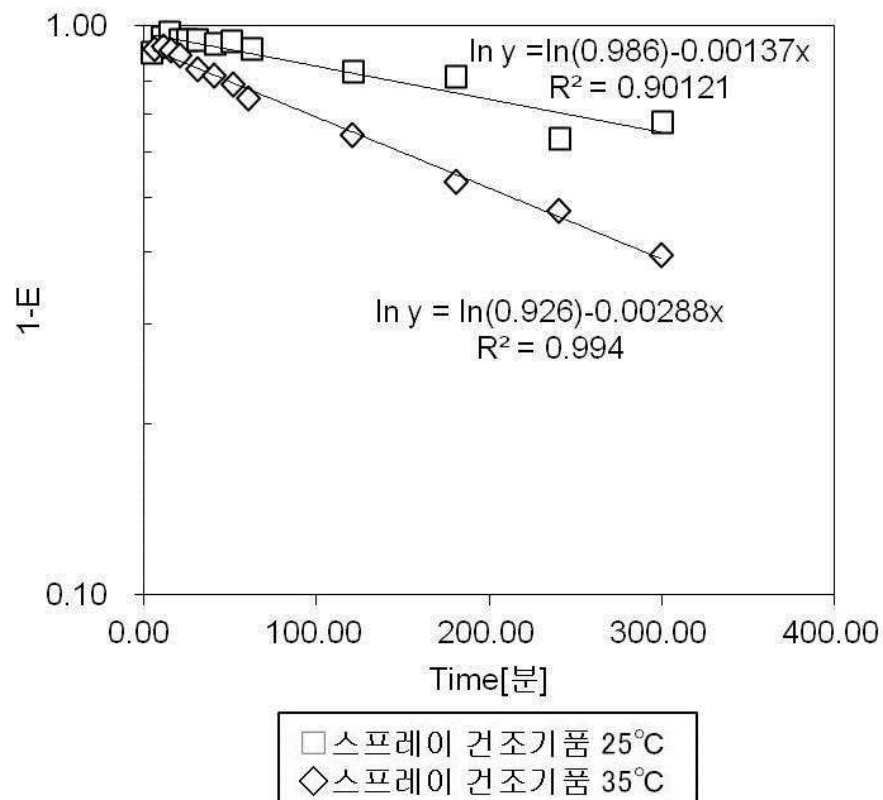
도면2



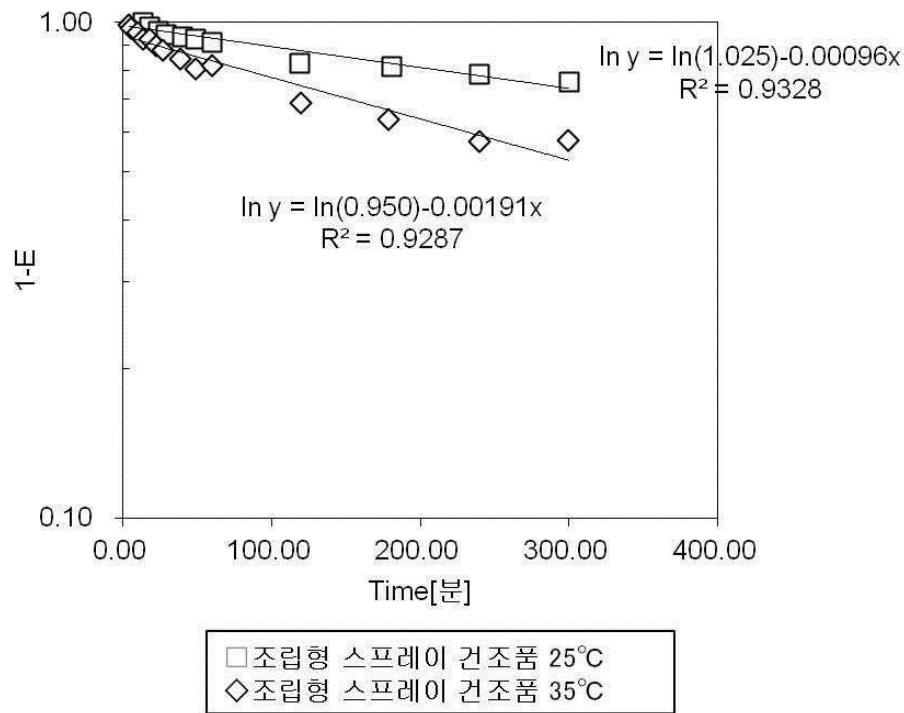
도면3



도면4



도면5



도면6

