(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년04월29일
(11) 등록번호 10-1257797
(24) 등록일자 2013년04월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/33 (2006.01) *A61P 9/12* (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0059250
(22) 출원일자 2012년06월01일
심사청구일자 2012년06월01일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020110058555 A
KR100975278 B1

(73) 특허권자
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
에이치엘바이오 주식회사
강원도 춘천시 동면 소양강로 86
(72) 발명자
심재훈
강원도 춘천시 지석로 63 현진에버빌2차 210동 201호
강일준
서울특별시 송파구 올림픽로33길 17 미성아파트 4동 406호
신재준
서울특별시 서초구 강남대로8길 23-11 현빌라 301호
(74) 대리인
특허법인태동

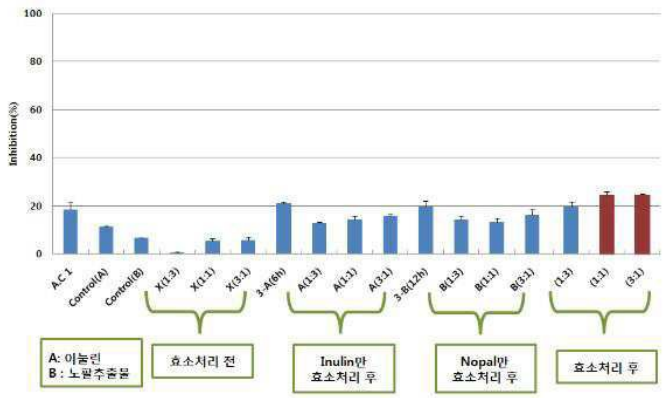
전체 청구항 수 : 총 3 항 심사관 : 김미화

(54) 발명의 명칭 **효소처리된 노팔 추출물을 함유하는 혈당조절용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 효소처리된 노팔 추출물을 이용하여 노팔 추출물의 쓴맛과 이취를 감소시키고 혈당조절능을 대폭 향상시킨 혈당조절용 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도4



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	C721211-2012-0032
부처명	지식경제부
연구사업명	이공계전문가기술지원서포터즈사업
연구과제명	효소처리를 이용한 혈당조절 소재의 기능성 향상 및 제품개발
주관기관	한림대학교산학협력단
연구기간	2011.10.01 ~ 2012.06.30

특허청구의 범위

청구항 1

글루코아밀레이즈(Glucoamylase), 비스코자임(Viscozyme) 또는 셀룰클라스트(Celluclast)로 효소처리된 노팔 추출물을 포함하는 것을 특징으로 하는 혈당강하용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

글루코아밀레이즈(Glucoamylase), 비스코자임(Viscozyme) 또는 셀룰클라스트(Celluclast)로 효소처리된 이눌린을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 혈당강하용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 효소처리된 노팔 추출물과 상기 효소처리된 이눌린이 1 : 1 또는 1 : 3의 중량비로 혼합된 것을 특징으로 하는 혈당강하용 조성물.

청구항 4

삭제

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 혈당조절용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 효소처리된 노팔 추출물을 이용하여 노팔 추출물의 쓴맛과 이취를 감소시키고 혈당조절능을 대폭 향상시킨 혈당조절용 조성물에 관한 것이다.

[0002]

배 경 기 술

[0003] 대한당뇨병학회는 '한국인의 당뇨병 발생현황' 보고서를 통해 우리나라 성인의 당뇨병 유병률은 10%선으로 최소 300만명에서 최대 500만명 정도가 당뇨병환자로 추산되고 있다. 지난 20여 년 전에 비교하면 약 10배 이상의 증가를 보이고 있으며, 해마다 26만 명이 새롭게 당뇨병에 걸리는 등 현재에도 급속히 증가하는 추세로 심각한 사회적 문제로 대두되고 있다.

[0004] 당뇨병 치료제 연구는 당뇨병 환자의 90%이상을 차지하는 제2형 당뇨병 치료제를 중심으로 기술개발이 활발히 이루어지고 있다. 현재 시장에 나와 있는 경구혈당강하제는 작용기전에 따라 ① 인슐린 분비를 증가시키는 설폰요소제제 (Sulfonylurea), ② 간에서의 포도당 생성 억제를 주된 기전으로 하는 메트포르민 (Metformin) ③ 장에서 탄수화물의 흡수를 저해하는 α-글루코시데이즈 (α-glucosidase)억제제 ④ 말초조직의 포도당 이용 증가를 주된 기전으로 하는 글리타존계 (Glitazone)약물 및 ⑤ 레파글리나이드 (Repaglinide), 나테글리나이드 (Nateglinide) 등의 비설폰요소 인슐린분비자극제 등으로 나눌 수 있다.

[0005] 그 동안 수많은 약제들이 개발되어 왔으나, 대부분은 독제의 약성이나, 유효성 혹은 안전성이 문제되어 현재 임상에 사용되고 있는 약제는 소수에 불과하다. 그러나 최근에는 biaguanide계인 metroformin과 α-glucosidase 억제제가 임상에서 활발하게 이용되고 있으며, 또한 인슐린감작제로 알려진 thiazolidine-dione계 약제도 임상에서 사용되기 시작하였고, 이외에 기존의 단점들을 개선한 새로운 설폰요소제를 비롯하여 insulin-like growth factor-1, glucagon- like peptide-1 등의 새로운 약재도 소개되고 있다.

[0006] 현재 2형 당뇨병의 경우 재평가된 metformin과 thioazolidinedione (TZD) 계열의 약물이 상당한 유용성을 보이고 있으나, 인슐린 저항성 발생 등 당뇨병의 근본적 원인치료에는 이르지 못하고 있으며 여러 부작용 또한 보고되고 있어 인슐린 저항성을 획기적이며 근본적으로 해결할 수 있는 보다 효능이 우수하고 안전한 약물의 개발이 필요시 되고 있다.

[0007] 이와 관련하여 독성과 부작용이 없는 천연물을 중심으로 연구가 진행되고 있으며, 현재까지 식약청으로부터 혈당조절 개별인정형 원료로 승인된 소재로는 바나바주정추출물, 구아바, 탈지달맞이꽃종자주정추출물, 솔잎 증류농축액 등이 있다.

[0008] 한편, 노팔(Opuntia ficus-indica)은 선인장과(cactaceae) 선인장속(opuntia)에 속하는 다년초로서, 열대나 아열대지방에서 주로 자라는 식물로 멕시코가 원산지로 알려져 있으며, 손바닥 선인장이라고도 불린다. 멕시코에서는 열매(prickly pear)와 줄기(nopalitos)를 오래전부터 다양한 민간요법으로 사용되고 있으며 현재 변비치료, 이뇨효과, 장 운동의 활성화, 콜레스테롤의 수치를 낮추어 고혈압을 예방하는 효과 등이 보고되고 있다.

[0009] 노팔을 혈당강하용 소재로 이용한 예로는 대한민국 등록특허 제10-1142154호(노팔 뿌리 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 또는 당뇨합병증 예방 또는 치료용 조성물)이 있다. 그러나 노팔 추출물은 쓴맛과 이취가 강하여 소비자에게 거부감을 불러일으켜 그 선호도가 매우 약하다는 문제점이 있었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 상기 종래기술의 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명은 감미성분을 증가시켜 노팔 추출물의 쓴맛, 이취가 개선된 혈당강하용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0011] 또한, 본 발명은 노팔 추출물의 맛 개선뿐만 아니라 혈당조절능까지 대폭 향상시킨 혈당조절용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0012]

과제의 해결 수단

[0013] 상기 기술적 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 효소처리된 노팔 추출물을 포함하는 것을 특징으로 하는 혈당강하용 조성물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 효소처리된 이눌린을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 혈당강하용 조성물을 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 효소처리된 노팔 추출물과 상기 효소처리된 이눌린이 1 : 1 또는 1 : 3의 중량비로 혼합된 것을 특징으로 하는 혈당강하용 조성물을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 상기 효소처리가 글루코아밀레이즈(Glucoamylase), 비스코자임(Viscozyme) 및 셀룰클라스트(Celluclast)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 효소로 효소반응시키는 것을 특징으로 하는 혈당강하용 조성물을 제공한다.

[0017] 이하 본 발명의 혈당강하용 조성물에 대하여 자세히 설명하겠다.

[0018] 본 발명의 혈당강하용 조성물은 효소처리된 노팔 추출물을 함유하는 것을 특징으로 한다.

[0019] 본 발명의 노팔 추출물은 멕시코산 손바닥 선인장을 추출한 것으로 원재료(Opuntia ficus indica)인 노팔(nopal)을 열수추출한 후 분말화한 것이다. 그런데 이와 같이 열수추출공정을 거쳐 수득된 노팔 추출물은 쓴맛이 많이 나며 α-글루코시데이즈(α-glucosidase)의 저해능을 지니고는 있으나 그 효과가 약하다는 단점이 있다.

[0020] 이에 본 발명은 노팔 추출물을 효소처리하여 노팔 추출물에 함유된 탄수화물을 가수분해함에 따라 감미 성분을

증가시켜 쓴맛을 감소시킬 수 있으며, 고분자 부유물을 감소시키는 효과도 있다.

[0021] 또한, 본 발명은 고분자인 노팔 추출물을 효소처리하여 α-글루코시데이즈의 저해제(inhibitor)로 잘 알려진 아카보스(acabose)와 같은 저분자 물질로 부분적 가수분해함에 따라 α-글루시데이즈의 활성저해가능 분자수를 증가시켜 혈당조절능을 탁월하게 향상시킬 수 있다.

[0022] 본 발명의 혈당강하용 조성물의 당뇨 치료 활성은 α-글루코시데이즈(α-glucosidase) 활성 억제능을 통하여 시험하였다. α-글루코시데이즈(α-glucosidase)는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 존재하는 효소로서 이당류나 다당류를 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다. α-글루코시데이즈에 대한 저해능은 탄수화물 식이 후 혈당상승을 억제할 수 있어 항당뇨 활성 측정법으로 이용된다. 하기의 도 2에 의하면, 본 발명의 효소 처리된 노팔 추출물은 효소처리되지 않은 노팔 추출물에 비하여 α-글루코시데이즈에 대해서 높은 억제 효과를 보일 수 있음이 확인되었다.

[0023] 이때, 효소처리는 글루코아밀레이즈(Glucoamylase), 비스코자임(Viscozyme) 및 셀룰클라스트(Celluclast)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 효소로 효소반응시키는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 글루코아밀레이즈를 이용한다. 하기의 도 2에 의하면, 본 발명의 노팔 추출물은 글루코아밀레이즈로 효소처리하는 경우 효소처리 전에 비하여 α-글루코시데이즈의 활성저해능이 대폭 향상될 수 있음을 알 수 있다.

[0024] 또한, 본 발명의 혈당강하용 조성물은 효소처리된 이눌린을 더욱 포함하는 것이 바람직하다.

[0025] 본 발명은 노팔 추출물의 쓴맛을 개선하기 위하여 첨가제로서 이눌린을 더욱 첨가할 수 있다. 이눌린은 국화과의 땅속줄기나 달리아의 알뿌리 등에 저장되어 있는 다당류의 일종으로, 주로 D-과당(약 98%)으로 구성된 β2→1결합의 과당중합체이고, 말단기는 α-글루코오스가 수크로오스결합하고 있다. 생체 내에서 특이한 막투과성을 이용하여 세포외액이나 신(腎)정화값 측정에 이용하거나 과당의 제조원료가 되기도 하며, 이눌린가수분해효소, 묽은 산 등으로 쉽게 가수분해된다. 포도당에 과당이 3~9개 결합된 이눌로올리고당은 저칼로리감미료로 주목받고 있다.

[0026] 본 발명에서 이눌린은 감미료로서 노팔 추출물의 쓴맛을 개선할 수 있을 뿐만 아니라 α-글루코시데이즈의 활성저해능이 있어 혈당강하효과를 더욱 상승시킬 수 있다. 하기의 도 1에 의하면, 이눌린은 노팔 추출물과 마찬가지로 α-글루코시데이즈의 활성저해능이 있으며, 이눌린과 노팔 추출물을 혼합하는 경우 α-글루코시데이즈의 활성저해능이 더욱 상승됨을 알 수 있다.

[0027] 또한, 본 발명의 이눌린은 상기 노팔 추출물과 마찬가지로 효소처리하는 것이 바람직하며, 이 경우 앞에서 설명한 바와 같이 감미 성분이 증가되어 맛이 탁월하게 좋아지며 저분자 물질로 부분적 가수분해되어 α-글루코시데이즈 할성저해가능 분자수가 증가되어 혈당조절능이 탁월하게 향상될 수 있다. 하기의 도 3에 의하면 본 발명의 효소처리된 이눌린은 효소처리되지 않은 이눌린에 비하여 α-글루코시데이즈에 대해서 높은 억제 효과를 보일 수 있음이 확인되었다.

[0028] 이때, 효소처리는 글루코아밀레이즈(Glucoamylase), 비스코자임(Viscozyme) 및 셀룰클라스트(Celluclast)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 효소로 효소반응시키는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 글루코아밀레이즈를 이용한다. 하기의 도 3에 의하면, 본 발명의 이눌린은 글루코아밀레이즈로 효소처리하는 경우 효소처리 전에 비하여 α-글루코시데이즈의 활성저해능이 대폭 향상될 수 있음을 알 수 있다.

[0029] 또한, 본 발명의 혈당강하용 조성물은 상기 효소처리된 노팔 추출물과 상기 효소처리된 이눌린이 1 : 1 또는 1 : 3의 중량비로 혼합된 것이 바람직하다. 하기의 도 4에 의하면, 효소처리된 노팔 추출물과 효소처리된 이눌린을 혼합하는 경우에는 효소처리되지 않은 각각의 노팔 추출물, 이눌린과 효소처리되지 않은 노팔 추출물과 이눌린을 혼합한 경우에 비하여 α-글루코시데이즈에 대해서 높은 억제 효과를 보이며, 특히 효소처리된 노팔 추출물과 효소처리된 이눌린이 1 : 1 또는 1 : 3의 중량비로 혼합되는 경우에는 α-글루코시데이즈의 활성저해능이 탁월하게 향상됨을 알 수 있다.

[0030] 한편, 본 발명의 혈당강하용 조성물은 약학조성물로 이용될 수 있으며, 이때에는 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있으며, 통상의 방법에 따라 산제, 과립제,

정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액 등의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0031] 또한, 본 발명의 혈당강하용 약학조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 적어도 한 가지 이상의 부형제 및/또는 윤활제 등을 포함할 수 있다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다.

[0032] 본 발명의 혈당강하용 약학 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 보다 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 조성물의 투여량은 유효성분을 기준으로 1일 0.1 ㎎/㎏ 내지 20 ㎎/㎏으로 하는 것이 좋으나 이에 제한되는 것은 아니다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수 있다. 본 발명의 조성물은 동물, 바람직하게는 인간을 포함하는 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 정맥, 근육, 피하주사 등에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물의 약학적 투여 형태는 유효성분의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

[0033] 한편, 본 발명의 혈당강하용 조성물은 식품 조성물로 이용될 수 있으며, 이 경우 당뇨 및/또는 당뇨합병증의 예방 및/또는 개선용 식품으로 제공될 수 있다.

[0034] 본 발명에서 식품은 영양소를 한 가지 또는 그 이상 함유하고 있는 천연물 또는 가공품을 의미하며, 바람직하게는 어느 정도의 가공 공정을 거쳐 직접 먹을 수 있는 상태가 된 것을 의미하며, 통상적인 의미로서, 각종 식품, 건강기능 식품, 음료, 식품 첨가제 및 음료 첨가제를 모두 포함하는 의미로 사용된다.

[0035] 상기 식품의 예로서 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 추가로, 본 발명에서 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영,유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스넥류), 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과실,채소류 음료, 두유류, 발효음료류, 아이스크림류 등), 천연조미료(예, 라면 스프 등), 비타민복합제, 알코올 음료, 주류 및 그 밖의 건강보조식품류를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 건강기능식품, 음료, 식품첨가제 또는 음료첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.

[0036] 본 발명의 혈당강하용 식품 조성물은 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 포함할 수 있으며, 기능성 식품의 제조에 통상적으로 사용되는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더욱 포함할 수 있다.

[0037] 또한, 상기 식품에 있어서, 본 발명의 혈당강하용 조성물의 양은 전체 식품 중량의 0.00001 중량% 내지 50 중량%로 포함될 수 있으며, 상기 식품이 음료인 경우에는 식품 전체의 부피 100 ㎖ 를 기준으로 0.001 g 내지 50 g, 바람직하게는 0.01 g 내지 10 g의 비율로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0038] 본 발명의 혈당강하용 조성물은 효소처리에 의하여 노팔 추출물의 쓴맛이 감소되어 소비자의 기호도를 탁월하게 만족시킬 수 있다.

[0039] 또한, 본 발명의 혈당강하용 조성물은 효소처리에 의하여 α-글루코시데이즈의 활성저해능이 탁월하게 향상되어 혈당조절능이 대폭 향상될 수 있다.

[0040] 또한, 본 발명의 혈당강하용 조성물은 효소처리에 의하여 고분자부유물을 감소시킬 수 있고, 점도, 수용성, 추출능까지 탁월하게 향상시킬 수 있다.

[0041] 또한, 본 발명의 혈당강하용 조성물은 감미료로서 효소처리된 이눌린을 첨가함에 따라 노팔 추출물의 쓴맛 개선

뿐만 아니라 α-글루코시데이즈의 활성저해능까지 복합적으로 상승시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1은 노팔 추출물, 이눌린 또는 그 혼합물의 α-글루코시데이즈의 활성저해능을 나타내는 그래프이다.

도 2는 노팔 추출물의 각 효소별 가수분해산물의 α-글루코시데이즈의 활성저해능을 나타내는 그래프이다.

도 3은 이눌린의 각 효소별 가수분해산물의 α-글루코시데이즈의 활성저해능을 나타내는 그래프이다.

도 4는 효소처리된 노팔추출물과 효소처리된 이눌린의 혼합물의 α-글루코시데이즈의 활성저해능을 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 이하, 본 발명의 내용에 대해 하기 실시예에서 더욱 상세히 설명하지만, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에만 한정되는 것은 아니고, 이와 등가의 기술적 사상의 변형까지를 포함한다.

[0044] **실시예 1 : 노팔 추출물, 이눌린 또는 그 혼합물의 α-글루코시데이즈의 활성저해능**

[0045] 본 실시예에서는 노팔(Nopal) 추출물, 이눌린(inulin) 또는 그 혼합물의 혈당조절능을 확인하기 위하여 α-글루코시데이즈의 활성저해능(α-glucosidase의 inhibition)을 확인하였다.

[0046] 하기의 방법으로 시료를 준비하여 흡광도를 측정하여 α-글루코시데이즈의 활성저해능을 측정하였다.

[0047] - 시료 : 10 ㎕

[0048] - α-글루코시데이즈(0.62 U/mL) : 60 ㎕

[0049] - PBS 버퍼(100mM, pH 7) : 100 ㎕

[0050] - pNPG(2.46mM) : 30㎕

[0051] - 총 부피 : 200㎕

[0052] 여기서, 시료는 1% 이눌린 또는 0.5% 노팔 추출물을 5분간 열처리(boling)하여 전처리한 것을 사용하였다. 이때, 흡광도는 405nm에서 측정하였다.

[0053] α-글루코시데이즈의 활성저해능(inhibition)은 아래의 식을 사용하여 계산하였으며, 그 결과는 도 1에 나타내었다.

수학식 1

[0054]
$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{대조구 흡광도} - \text{시료 첨가구 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

[0055] 도 1에 의하면, 본 발명에서 노팔 추출물의 쓴맛을 개선하기 위하여 첨가되는 다당류인 이눌린은 노팔 추출물과 마찬가지로 α-글루코시데이즈의 활성저해능이 있음을 알 수 있었다. 또한, 이눌린과 노팔 추출물이 1 : 1의 비율로 혼합된 혼합물의 경우에는 α-글루코시데이즈의 활성저해능이 37% 가량 상승하였음을 알 수 있었다.

[0056] 이로부터, 본 발명에서 노팔 추출물의 쓴맛을 개선하기 위하여 첨가되는 다당류인 이눌린은 쓴맛 개선 효과뿐만 아니라 α-글루코시데이즈의 활성저해능까지 증대시킬 수 있음을 알 수 있었다.

[0057] **실시예 2 : 노팔 추출물 또는 이눌린의 가수분해산물의 α-글루코시데이즈의 활성저해능**

[0058] 본 실시예에서는 노팔 추출물과 이눌린의 산업적 가수분해에 적용할 수 있는 탄수화물 관련 효소들을 선별하기 위하여 각 효소별로 노팔 추출물과 이눌린의 가수분해산물의 α-글루코시데이즈의 활성저해능을 측정하였다.

[0059] 본 실시예에서 사용한 효소는 다음과 같다.

표 1

	Enzymes					
	Viscozyme	Celludast	Glucoamylase	Lactozyme	Toruzyme	MAase
Enzyme number	1	2	3	4	5	6
Opt. Temp. (℃)	37	55	55	37	55	55
Opt. pH	4.5	4.5	4.5	6.0	6.0	6.0

[0060]

[0061] 상기 각각의 효소(1U/mg,기질)들을 노팔 추출물과 이눌린에 각각 반응시킨 후 시간대별로 샘플링하여 가수분해산물을 얻고, 이를 저해제로 하여 상기 실시예 1의 방법과 마찬가지로 α-글루코시데이즈의 활성저해능을 측정하였다.

[0062] 이때, 노팔 추출물과 이눌린의 가수분해산물의 생산 조건은 다음과 같다.

표 2

효소 6개; A-Inulin; B-Nopal							
A: Control (Inulin) Inulin 100 μL+ Buffer 900 μL				B: Control (Nopal) Nopal 100μL+ Buffer 900 μL			
Control: Enzyme 1~6 (Enzyme 10 μL + Buffer 990 μL)							
각각의 효소와 Inulin이 1h 후, 3h 후 , 6h후 , 12h 후의 sample				각각의 효소와 Nopal이 1h 후, 3h 후 , 6h후 , 12h 후의 sample			
1-A 1h	1-A 3h	1-A 6h	1-A 12h	1-B 1h	1-B 3h	1-B 6h	1-B 12h
2-A 1h	2-A 3h	2-A 6h	2-A 12h	2-B 1h	2-B 3h	2-B 6h	2-B 12h
3-A 1h	3-A 3h	3-A 6h	3-A 12h	3-B 1h	3-B 3h	3-B 6h	3-B 12h
4-A 1h	4-A 3h	4-A 6h	4-A 12h	4-B 1h	4-B 3h	4-B 6h	4-B 12h
5-A 1h	5-A 3h	5-A 6h	5-A 12h	5-B 1h	5-B 3h	5-B 6h	5-B 12h
6-A 1h	6-A 3h	6-A 6h	6-A 12h	6-B 1h	6-B 3h	6-B 6h	6-B 12h

[0063]

[0064] 또한, 양성대조군으로는 기존에 α-글루코시데이즈 억제제로 알려진 아카보오스(acarbose, Sigma, USA)를 사용하였다.

[0065] 도 2, 3은 각각의 효소들로 생산된 노팔 추출물과 이눌린의 가수분해산물을 사용하여 α-글루코시데이즈의 활성저해능을 측정한 결과를 나타낸다.

[0066] 도 2, 3에 의하면, 4 내지 6번의 효소에서는 효과가 없거나 오히려 저해능을 상실하였고, 3번 효소(글루코아밀레이즈) 처리구에서 가장 우수한 저해능이 발견되었다. 구체적으로, 노팔추출물은 글루코아밀레이즈(glucoamylase) 처리 30분에서 1시간 후에 매우 탁월하게 저해능이 향상(기존대비 100% 향상)되었으며, 이눌린은 12시간 동안 글루코아밀레이즈를 처리하였을 때 기존 이눌린 대비 49% 가량 저해능이 향상되었음을 알 수 있었다.

[0067] 이는 글루코아밀레이즈에 의한 부분적 가수분해를 통하여 고분자물질들의 분자량 감소와 더불어 효소저해 관련 부분들의 출현빈도가 증가하였기 때문인 것으로 판단되었다.

[0068] **실시예 3 : 노팔 추출물과 이눌린의 가수분해산물의 최적 배합비**

[0069] 본 실시예에서는 α-글루코시데이즈의 활성저해능을 효과적으로 상승을 시키기 위한 노팔 추출물과 이눌린의 가

수분해산물의 최적 배합비를 알아보고자 하였다.

[0070] 하기와 같이 시험구를 준비한 후, 상기 실시예 1, 2의 방법과 마찬가지로 α-글루코시데이즈의 활성저해능을 측정하였다.

표 3

[0071]

A.C 1	아카보오스(acarbose)
Control(A)	이눌린
Control(B)	노팔 추출물
X(1 : 3)	이눌린와 노팔추출물이 1 : 3으로 혼합
X(1 : 1)	이눌린와 노팔추출물이 1 : 1로 혼합
X(3 : 1)	이눌린와 노팔추출물이 3 : 1로 혼합
3-A(6h)	글루코아밀레이즈로 효소처리된 이눌린(6hr, 0.1unit/mg, 기질)
A(1 : 3)	효소처리된 이눌린과 효소처리되지 않은 노팔추출물이 1 : 3으로 혼합
A(1 : 1)	효소처리된 이눌린과 효소처리되지 않은 노팔추출물이 1 : 1로 혼합
A(3 : 1)	효소처리된 이눌린과 효소처리되지 않은 노팔추출물이 3 : 1로 혼합
3-B(12h)	글루코아밀레이즈로 효소처리된 노팔 추출물(12hr, 0.1unit/mg, 기질)
B(1 : 3)	효소처리되지 않은 이눌린과 효소처리된 노팔추출물이 1 : 3으로 혼합
B(1 : 1)	효소처리되지 않은 이눌린과 효소처리된 노팔추출물이 1 : 1로 혼합
B(3 : 1)	효소처리되지 않은 이눌린과 효소처리된 노팔추출물이 3 : 1로 혼합
(1 : 3)	효소처리된 이눌린과 효소처리된 노팔추출물이 1 : 3으로 혼합
(1 : 1)	효소처리된 이눌린과 효소처리된 노팔추출물이 1 : 1로 혼합
(3 : 1)	효소처리된 이눌린과 효소처리된 노팔추출물이 3 : 1로 혼합

[0072] 도 4에 그 결과를 나타내었는데, 효소처리된 이눌린과 효소처리된 노팔추출물이 1 : 1 또는 3 : 1로 혼합된 경우 α-글루코시데이즈의 활성저해능이 매우 탁월하게 높음을 알 수 있었다.

[0073] **실시예 4 : 관능검사**

[0074] 관능검사는 훈련된 10명의 관능요원에게 평가하게 하였고, 평가 방법은 9점 척도법(1점 가장 나쁘다, 2점 매우 나쁘다, 3점 나쁘다, 4점 조금 나쁘다, 5점 보통이다, 6점 조금 좋다, 7점 좋다, 8점 매우 좋다, 9점 가장 좋다)으로 하였다. 평가 항목은 맛, 종합적인 기호도로 하여 측정하였다. 시험구는 상기 표 3과 마찬가지로 준비하였다.

표 4

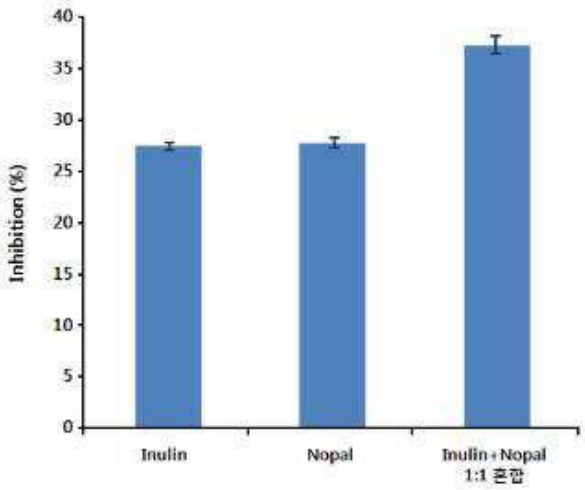
[0075]

	맛	종합적인 기호도
A.C 1	4.1	4.2
Control(A)	3.9	4.1
Control(B)	3.1	3.3
X(1 : 3)	5.9	6.1
X(1 : 1)	6.1	6.1
X(3 : 1)	6.1	6.2
3-A(6h)	4.4	4.3
A(1 : 3)	6.2	6.1
A(1 : 1)	6.1	6.1
A(3 : 1)	6.1	6.2
3-B(12h)	5.3	5.5
B(1 : 3)	6.1	6.2
B(1 : 1)	6.3	6.5
B(3 : 1)	6.1	6.3
(1 : 3)	8.2	8.1
(1 : 1)	8.2	8.1
(3 : 1)	8.3	8.2

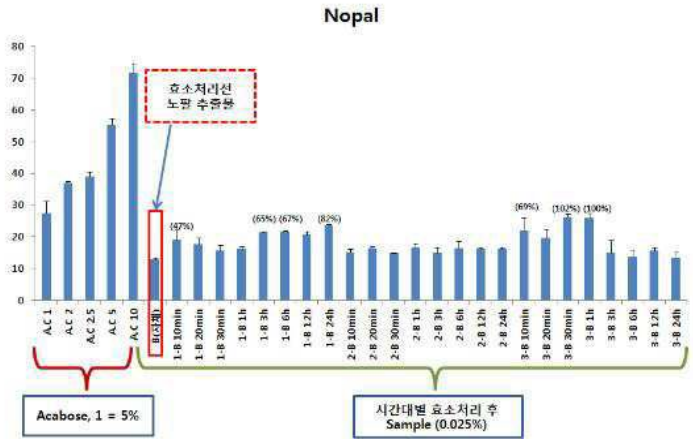
[0076] 상기 표 4에 의하면, 효소처리된 이눌린과 효소처리된 노팔추출물이 혼합된 경우 나머지 경우에 비하여 맛, 종합적인 기호도가 높아 소비자의 만족도를 매우 만족시킬 수 있음을 알 수 있었다.

도면

도면1



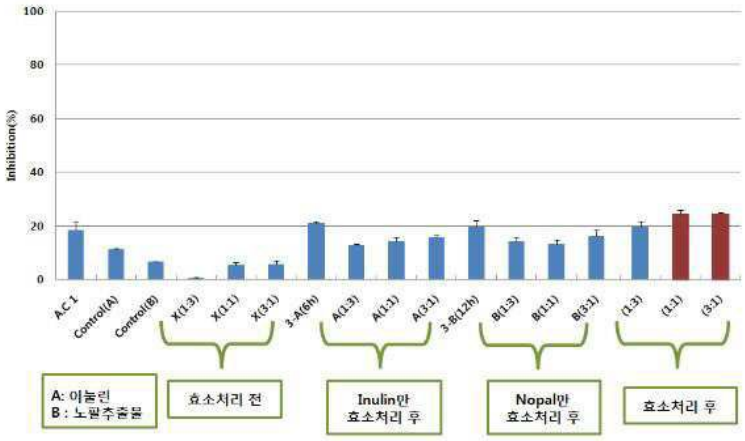
도면2



도면3



도면4


100
80
60
40
20
0
Inhibition(%)
A.C.1
Control(A)
Control(B)
X(1:3)
X(1:1)
X(3:1)
3-A(6h)
A(1:3)
A(1:1)
A(3:1)
3-B(12h)
B(1:3)
B(1:1)
B(3:1)
(1:3)
(1:1)
(3:1)
A: 이눌린
B : 노팔추출물
효소처리 전
Inulin만
효소처리 후
Nopal만
효소처리 후
효소처리 후