



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0010067
(43) 공개일자 2018년01월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/305 (2006.01) A23K 10/20 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/18 (2016.08)
A23K 10/20 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2016-0092174
(22) 출원일자 2016년07월20일
심사청구일자 2016년07월20일

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)
(주) 에이티바이오
경기도 포천시 내촌면 오림포길 54-3
(72) 발명자
임순성
강원도 춘천시 후석로 325, 105동 301호 (후평동,
춘천더샵아파트)
박찬의
경기도 남양주시 진접읍 광릉내로 12-6, 203호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 정안

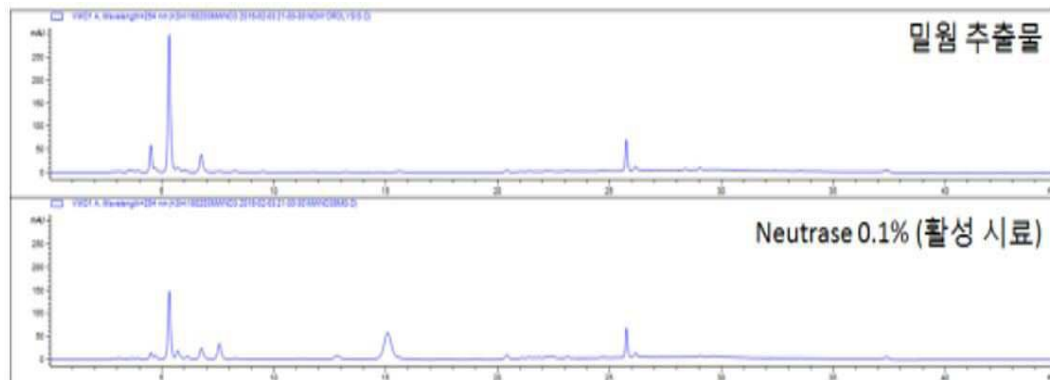
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **항산화용 밀원 가수분해물**

(57) 요약

본 발명은 항산화용 밀원 가수분해물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 밀원을 단백질 분해효소로 분해한 가수분해물의 제조방법과 이를 유효성분으로 함유하는 항산화용 조성물에 관한 것이다. 밀원 가수분해물은 항산화 효능을 가지는 조성물로서 항산화 건강기능식품 소재 또는 더 넓게는 항산화용 동물용 사료 첨가제에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/30 (2013.01)
A23V 2250/204 (2013.01)
A23V 2300/24 (2013.01)
A23V 2300/38 (2013.01)

(72) 발명자

정형학

서울특별시 영등포구 문래로20길 14, 2동 307호 (문래동3가, 문래공원한신아파트)

권신화

경기도 남양주시 호평로 149, 1907동 1006호 (호평동, 호평마을중흥에스클레스아파트)

황승환

경기도 남양주시 경춘로885번길 10-7, 40동 301호 (금곡동)

이수경

강원도 춘천시 우석로85번길 1 (석사동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C0352725

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 (사)한국산학연합회

연구사업명 산학협력 기술개발사업(첫걸음기술개발사업)

연구과제명 곤충자원의 단백질 가수분해물을 이용한 반려동물(개, 고양이)의 피부, 모질 개선용 기능성 사료첨가제 및 사료 개발

기 여 율 1/1

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2015.11.12 ~ 2016.11.11

명세서

청구범위

청구항 1

밀웜을 절식시키는 단계;

용매로 세척하는 단계;

열처리하는 단계;

분쇄하는 단계; 및

효소의 종류, 효소의 농도 및 반응시간으로 구분하여 가수분해를 진행하는 단계를 포함하는 밀웜 가수분해물의 제조방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 절식은 1일 내지 3일간 이루어지는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 용매는 물인 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 열처리는 100℃ 내지 140℃에서 15 내지 30분간 이루어지는 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 효소의 종류가 알카레이즈, 누트라제, 플라보르자임, 프로타벡스 및 이들의 혼합물로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 효소의 농도가 0.1% 또는 0.2%인 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 반응시간이 5시간 또는 15시간인 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 8

제 5항에 있어서,

상기 효소가 누트라제인 경우에, 농도는 0.1%이고 반응시간은 5시간인 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 9

제 5항에 있어서,

상기 혼합물이 알카레이즈:누트라제, 알카레이즈:플라보르자임, 알카레이즈:프로타맥스, 누트라제:플라보르자임, 누트라제:프로타맥스 및 플라보르자임:프로타맥스를 각각 1:1로 혼합하여 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 혼합물이 플라보르자임:프로타맥스인 경우에, 농도는 0.1%이고 반응시간은 15시간인 것을 특징으로 하는, 제조방법.

청구항 11

제 1항의 제조방법에 따라 제조된 밀웜 가수분해물을 유효성분으로 포함하는, 향산화용 조성물.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 조성물은 식품 조성물 또는 사료 조성물로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는, 향산화용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 향산화용 밀웜 가수분해물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 밀웜 가수분해물의 제조방법과 이를 유효성분으로 함유하는 향산화용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 갈색거저리(Tenebrio molitor)는 곤충분류학상 딱정벌레목 거저리과(Tenebrionidae) 곡물거저리속(Tenebrio)에 속하는 곤충으로써 갈색쌀거저리라고도 한다. 몸길이는 약 15mm 정도이며, 몸빛깔이 구룡충(구룡거저리)과 비슷해 어두운 갈색이며 광택이 난다. 머리에 점들이 있으나 촘촘히 나 있지 않으며, 촉각(더듬이)의 끝마디는 길이와 나비가 같다. 앞가슴등판은 정사각형이고, 세로홈은 뚜렷하며, 복판은 너비가 넓은 오각형이다. 딱지날개는 갈색으로 8줄의 세로홈이 있고 간실은 불룩하며 작은 점들이 촘촘히 있다. 갈색거저리 성충은 주로 곡류 속에 알에 낳는데, 알은 점액질로 되어있고 크기가 매우 작으며 1~2주일 후 부화한다. 유충 기간은 약 12주 정도이다.

[0003] 갈색거저리의 유충인 밀웜은 동물 중에서 단백질 함량이 제일 높고 성장이 빠르며, 번식률이 아주 높고, 유충의 허물은 갑각소 생산에 필요한 우수한 원료로 이용될 수 있으며, 칼슘의 함량이 새우나 게 껍질보다 낮아서 가공하기가 쉽고, 갑각소는 기능식품, 의약품, 보건의약품, 환경재료, 방직 생산 등 광범위한 응용 가능성이 있다. 또한, 최근에 밀웜을 대량 생산하는 기술의 발달로 재배가 원활히 이루어지고 있어, 건강기능식품으로 개발된다면, 그 소비량이 급상승할 것으로 예상되어 식량자원으로 각광을 받고 있다.

[0004] 최근 곤충 단백질 가수분해를 통해 생리활성 펩타이드를 생산하여 그 기능을 많이 이용하고 있다. 펩타이드는 단백질보다 크기가 작아 생체 내로 쉽게 흡수될 수 있으며 생리활성 펩타이드는 미네랄 운송, 항고혈압, 항혈전, 항균활성 등 다양한 기능을 가지고 있으며 그 밖에 피부개선, 항균활성, 항고혈압 등의 다양한 효능을 기대할 수 있다.

[0005] 이에 따라, 종래에 밀웜을 이용한 다양한 발명들이 개시되고 있으며, 이와 관련된 특허로는 한국공개특허 제10-1510260호 또는 한국공개특허 제10-1493916호에 밀웜의 식용화와 관련하여 개시되어 있으며, 또한 한국공개특허 제1998-084978호, 한국공개특허 제10-2014-0060426호 또는 한국공개특허 제10-2014-0065489호에 밀웜의 체액 등의 추출물을 이용하는 발명이 개시되고 있다.

[0006] 이와 같이, 밀웜을 이용한 다양한 발명들이 시도되고 있으나, 밀웜의 단백질 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 향산화용 조성물에 관하여는 전혀 개시된 바가 없다. 이에 따라, 본 발명자들은 밀웜 가수분해물의 제조방법과 이를 유효성분으로 함유하는 향산화용 조성물을 개발하고자 하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명의 목적은 밀웜을 단백질 분해효소로 분해한 밀웜 가수분해물의 제조방법을 제공하기 위한 것이다.
- [0008] 본 발명의 다른 목적은 밀웜 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 향산화용 조성물을 제공하기 위한 것이다.
- [0009] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 조성물을 유효성분으로 함유하는 식품 조성물 또는 사료 조성물을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명은 밀웜을 단백질 분해효소로 분해한 밀웜 가수분해물의 제조방법에 관한 것이다.
- [0011] 본 발명의 일 구체예에서, 밀웜을 절식시키는 단계; 용매로 세척하는 단계; 열처리하는 단계; 분쇄하는 단계; 및 효소의 종류, 효소의 농도 및 반응시간으로 구분하여 가수분해를 진행하는 단계를 포함하는 밀웜 가수분해물의 제조방법을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 일 구체예에서, 본 발명에 따른 절식은 1일 내지 3일간 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0013] 본 발명의 일 구체예에서, 본 발명에 따른 용매는 물인 것을 특징으로 한다.
- [0014] 본 발명의 일 구체예에서, 본 발명에 따른 열처리는 100℃ 내지 140℃에서 15 내지 30분간 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0015] 본 발명의 일 구체예에서, 본 발명에 따른 단백질 분해효소가 효소의 종류가 알카레이즈, 누트라제, 플라보르자임, 프로타맥스 및 이들의 혼합물로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 한다.
- [0016] 본 발명의 일 구체예에서, 본 발명에 따른 단백질 분해효소의 농도가 0.1% 또는 0.2%인 것을 특징으로 한다.
- [0017] 본 발명의 일 구체예에서, 본 발명에 따른 단백질 분해효소로 가수분해하는 반응시간이 5시간 또는 15시간인 것을 특징으로 한다.
- [0018] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 효소가 누트라제인 경우에, 농도는 0.1%이고 반응시간은 5시간인 것을 특징으로 한다.
- [0019] 본 발명의 일 구체예에서, 본 발명에 따른 혼합물이 알카레이즈:누트라제, 알카레이즈:플라보르자임, 알카레이즈:프로타맥스, 누트라제:플라보르자임, 누트라제:프로타맥스 및 플라보르자임:프로타맥스를 각각 1:1로 혼합하여 이루어진 군으로부터 선택된 것을 특징으로 한다.
- [0020] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 혼합물이 플라보르자임:프로타맥스인 경우에, 농도는 0.1%이고 반응시간은 15시간인 것을 특징으로 한다.
- [0021] 본 발명은 본 발명에 따른 제조방법에 따라 제조된 밀웜 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 향산화용 조성물에 관한 것이다.
- [0022] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 조성물은 식품 조성물 또는 사료 조성물로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 한다.
- [0023] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.
- [0024] 본 발명에 따른 조성물에 사용되는 밀웜(Melandrium Firmum)은 갈색거저리 유충으로서, 번데기가 되기까지 먹이와 온도에 따라 9~20번 탈피한다. 번데기가 되고 1~2주가 지나면 성충으로 우화하며, 처음으로 우화할 때에는 연한 갈색이나 점차 검게 변한다. 성충은 야행성으로 낮에는 구멍 속에 숨어 지내다가 밤에 활동한다. 주로 인가 근처의 곡식부대 속에서 유충으로 월동하다가 봄에 번데기와 성충으로 변태한다. 곡식의 해충으로 유명하며 최근 동물원에서 새나 고슴도치와 같은 작은 동물의 먹이로 많이 기르고 있으며, 한국을 비롯하여 전 세계에 분포한다. 밀웜은 먹이 곤충으로서의 용도뿐만 아니라, 간 기능 개선 효과, 염증성 질환 치료용, 치매 예방 또는 치료용 등 다양한 질환에서 사용 가능성이 있다.
- [0025] 본 발명은 현재 국내에서 식품으로 등록된 곤충인 밀웜의 특이 단백질 분해 효소를 이용한 펩타이드성 물질을

도출하여 HPLC를 통하여 물질 변화를 확인하였으며, 가수분해 전과 가수분해 후의 항산화 효능을 확인하였다.

- [0026] 본 발명의 밀웜 가수분해물 제조방법은 밀웜을 절식시키는 단계; 용매로 세척하는 단계; 열처리하는 단계; 분쇄하는 단계; 및 효소의 종류, 효소의 농도 및 반응시간으로 구분하여 가수분해를 진행한다.
- [0027] 본 발명에 따른 절식은 1일 내지 3일간 이루어지며, 2일 동안 절식시키는 것이 바람직하지만 밀웜이 먹은 음식물을 제거하기 위함이라면 제한이 없다.
- [0028] 본 발명에 따른 용매는 밀웜을 세척할 수 있는 용매라면 어느 것이나 본 발명의 범위에 포함되지만, 물로 세척하는 것이 가장 바람직하다.
- [0029] 본 발명에 따른 열처리는 잘 세척된 밀웜의 멸균을 위하여 수행되며, 시료는 120℃에서 20분간 열처리를 시키는 것이 바람직하다.
- [0030] 본 발명에 따른 열처리 후 시료를 분쇄하며, 분쇄된 밀웜을 완충액에 채운 후, 본 발명에 따른 단백질 분해효소로 가수분해를 진행한다.
- [0031] 본 발명의 가수분해는 10종류의 효소, 2가지의 효소 농도 및 2가지의 반응시간으로 구분 진행하여 총 40가지의 가수분해물을 대상으로 항산화 효능 실험을 진행하여 가장 우수한 효능을 가지는 밀웜의 항산화 효과를 기대할 수 있는 최적의 가수분해 효소의 종류와 조건을 도출하였다.
- [0032] 본 발명에 따른 효소는 단백질 분해효소, 예컨대 펩신, 트립신, 팍티데이스, 파파인, 브로멜라인, 피신, 액티니딘, 알카레이즈, 누트라제, 플라보르자임 및 프로타맥스로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것이 바람직하다. 더욱 바람직하게는 알카레이즈, 누트라제, 플라보르자임 및 프로타맥스로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것이 바람직하며, 누트라제인 것이 가장 바람직하다. 또한, 알카레이즈, 누트라제, 플라보르자임 및 프로타맥스로 이루어진 군으로부터 선택되는 2종의 효소를 각각 1:1로 혼합한 혼합 효소가 바람직하며, 플라보르자임 및 프로타맥스를 혼합한 혼합 효소가 가장 바람직하다. 그러나, 본 발명의 특징은 밀웜을 가수분해하여 항산화용 가수분해물을 제조하는 데 있는바, 이러한 특징을 갖도록 밀웜을 가수분해하는 단백질 분해효소라면 본 발명의 어느 것이나 본 발명의 범위에 포함된다 할 것이다.
- [0033] 또한, 본 발명에 따른 효소의 농도를 0.1% 또는 0.2%로 하며, 반응시간은 5시간 또는 15시간으로 한다.
- [0034] 본 발명에 따른 효소가 누트라제인 경우에, 농도는 0.1%이고 반응시간은 5시간인 것이 바람직하며, 본 발명에 따른 효소가 플라보르자임 및 프로타맥스를 1:1로 혼합한 혼합 효소인 경우에, 농도는 0.1%이고 반응시간은 15시간인 것이 바람직하다.
- [0035] 본 발명에 따른 밀웜 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 항산화용 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 ABTS 또는 DPPH 라디칼의 소거 활성을 나타내는 항산화 효과를 갖는다.
- [0036] 본 발명에 있어서, DPPH는 1,1-디페닐-2-피크릴히드라질이며, 화학적으로 안정화된 자유 라디칼을 가지고 있는 수용성 물질로, 515nm 내지 520nm 부근에서 최대 흡광도를 가진다. 이는 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 전자를 내어주면서 라디칼이 소멸되어 색깔이 변하게 된다. ABTS는 2,2'-아지노-비스-3-에틸벤조-티아졸린-6-설폰산으로, DPPH 라디칼 소거 활성과 동일한 원리를 가진다.
- [0037] 본 발명은 밀웜을 단백질 분해효소로 분해한 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물을 제공한다. 상기 식품이란 건강보조식품, 건강기능식품, 기능성 식품 등이나 이에 제한되는 것은 아니며, 천연식품, 가공식품, 일반적인 식자재 등에 본 발명의 가수분해물을 첨가한 것도 포함된다.
- [0038] 본 발명의 식품 조성물은, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 조성물과 함께 사용될 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0039] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물은 정제, 경질 또는 연질 캡슐제, 액제, 현탁제 등과 같은 경구투여용 제제의 형태로 이용될 수 있으며, 이들 제제는 허용가능한 통상의 담체, 예를 들어 경구투여용 제제의 경우에는 부형제, 결합제, 붕해제, 활택제, 가용화제, 현탁화제, 보존제 또는 증량제 등을 사용하여 조제할 수 있다.
- [0040] 상기 가수분해물을 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 비

타민 복합제 등을 들 수 있으나 이들 종류의 식품으로 제한되는 것은 아니다.

[0041] 본 발명의 밀웜을 단백질 분해효소로 분해한 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 사료 조성물은 통상적인 사료와 함께 배식할 수 있으며, 본 발명의 사료 조성물을 통상적인 사료 조성물에 첨가하여 기능성 사료 조성물을 제조하여 이용할 수도 있다. 또한 본 발명의 사료 조성물은 본 발명의 가수분해물 외 기능성 성분을 추가로 포함할 수도 있다.

[0042] 본 발명의 사료 조성물은 가축 또는 가금을 대상으로 한다. 상기 가축 또는 가금은 소, 돼지, 닭, 말, 양, 당나귀, 노새, 멧돼지, 토끼, 메추라기, 집오리, 장닭, 투계용 닭, 비둘기, 칠면조, 개, 고양이, 원숭이, 햄스터, 생쥐, 래트, 구관조, 앵무새, 잉꼬, 카나리아 등이나 이들에 제한되는 것은 아니며 가정 내에서 사육 가능한 인간 이외의 포유동물 또는 조류이면 본 발명의 사료 조성물의 대상이라 할 것이다.

발명의 효과

[0043] 본 발명에 따른 밀웜의 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 조성물을 적용할 경우, 항산화 효과에 탁월한 효능을 보이며, ABTS 또는 DPPH 라디칼 소거에 우수한 효과를 가진다.

[0044] 따라서, 밀웜의 가수분해물은 항산화 효능을 가지는 조성물로서 항산화 건강기능식품 소재 또는 더 넓게는 항산화용 동물용 사료 첨가제에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0045] 도 1는 밀웜 가수분해물의 ABTS 라디칼 소거 활성 결과를 나타낸 것이다.

도 2은 밀웜 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거 활성 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 밀웜 가수분해 전과 누트라제를 0.1%의 농도로 실시한 밀웜 가수분해물의 HPLC 결과를 나타낸 것이다.

도 4은 누트라제를 0.1% 농도로 실시한 밀웜 가수분해물에 대한 Off-DPPH HPLC 항산화 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046] 이하 본 발명을 하기의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것을 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0047] 실시예 1: 밀웜(단백질) 시료 준비 및 단백질 가수분해 방법

[0048] 살아있는 밀웜이 먹은 음식물의 제거를 위해, 2일간 절식시킨 후, 흐르는 물에 세척하였다. 잘 세척된 밀웜의 멸균을 위하여 시료를 120℃에서 20분간 열처리한 후 시료를 분쇄하였다. 분쇄된 밀웜을 10g씩 나눠 담은 후, 5배인 50ml의 양의 완충액을 채웠다(완충액의 pH는 효소 최적의 pH로 한다). 총 10가지의 효소(효소 4가지와 혼합한 효소 6가지)를 0.1 및 0.2%의 농도로 나누어 가수분해를 진행하였다. 효소의 종류는 하기 표 1에 기재한 것과 같다. 가수분해는 온도를 동일하게 50℃로 맞추어서 진행하였으며, 시간은 5시간 또는 15시간으로 나누어서 진행하였다.

[0049] 20가지의 다른 효소 종류별 및 농도별에 따라 2가지 시간으로 가수분해를 진행하여 총 40가지 실험(효소 종류별, 농도별 20가지×시간 2가지=총 40가지)을 진행하였으며, 이 외 효소 가수분해를 하지 않은 대조군 또한 5시간 또는 15시간으로 실시하여 2가지의 실험을 진행하였다.

표 1

No.	효소	농도 (%)
1	알카레이즈	0.1
2	알카레이즈	0.2
3	누트라제	0.1
4	누트라제	0.2
5	플라보르자임	0.1
6	플라보르자임	0.2
7	프로타멕스	0.1
8	프로타멕스	0.2
9	알카레이즈:누트라제=1:1	0.1
10	알카레이즈:누트라제=1:1	0.2
11	알카레이즈:플라보르자임=1:1	0.1
12	알카레이즈:플라보르자임=1:1	0.2
13	알카레이즈:프로타멕스=1:1	0.1
14	알카레이즈:프로타멕스=1:1	0.2
15	누트라제:플라보르자임=1:1	0.1
16	누트라제:플라보르자임=1:1	0.2
17	누트라제:프로타멕스=1:1	0.1
18	누트라제:프로타멕스=1:1	0.2
19	플라보르자임:프로타멕스=1:1	0.1
20	플라보르자임:프로타멕스=1:1	0.2

[0050]

[0051] 표 1에 기재된 효소 외의 단백질 분해효소로는 펩신, 트립신, 파파인, 브로멜라인 등을 사용할 수 있다.

[0052] **실험예 1: 항산화 실험 방법**

[0053] **실험예 1-1: 밀웜 가수분해물의 ABTS 라디칼 소거 활성 검정**

[0054] 밀웜 가수분해물의 ABTS(2,2'-아지노-비스-3-에틸벤조-티아졸린-6-설폰산) 라디칼의 소거 활성을 측정하였다. ABTS는 2mM의 농도로 3.5mM의 포타슘 퍼셀레이트와 혼합하여 3차 증류수에 30배 희석시킨 후, 밤새 보관하여 ABTS 라디칼 생성을 유도하였다. 밀웜 가수분해물 시료 10 μ l와 ABTS 라디칼 용액 290 μ l를 넣어 실온에서 10분간 반응시킨 후 750nm에서 흡광도를 측정하였으며, 양성 대조물로는 트롤록스(Trolox)를 이용하였다.

[0055] **실험예 1-2: 밀웜 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거 활성 검정**

[0056] 밀웜 가수분해물의 DPPH(1,1-디페닐-2-피크릴히드라질) 라디칼의 소거 활성을 측정하였다. DPPH를 0.32mM의 농도(2.5mg/20ml)로 HPLC급 메탄올에 용해시켰다. 밀웜 가수분해물 시료 30 μ l와 DPPH 용액 180 μ l을 넣고 실온(암실)에서 20분간 반응시킨 후 흡광도를 측정하였으며, 대조물로는 아스코르브산 및 BHT를 사용하였다.

[0057] **실험결과 1: 밀웜 가수분해물의 항산화 효능 확인**

[0058] **1-1: ABTS 라디칼 소거 활성 검정**

[0059] 밀웜 가수분해물에 대한 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정한 결과를 도 2에 나타내었다. 5시간 동안 진행한 밀웜 가수분해물의 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정한 결과, 누트라제를 0.1% 농도로 가수분해한 시료에서 78.85%로 가장 높은 억제율을 보였다. 또한, 15시간 동안 진행한 밀웜 가수분해물의 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정한 결과,

플라보르자임 및 프로타맥스를 1:1로 0.1%의 농도로 가수분해한 시료에서 62.37%로 가장 높은 억제율을 나타내었다.

[0060] 1-2: DPPH 라디칼 소거 활성 검정

[0061] 밀웜 가수분해물에 대한 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과를 도 3에 나타내었다. 5시간 동안 진행한 밀웜 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과, 누트라제를 0.1% 농도로 가수분해한 시료에서 70.89%로 가장 높은 억제율을 보였다. 또한, 15시간 동안 진행한 밀웜 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과, 플라보르자임 및 프로타맥스를 1:1로 0.1%의 농도로 가수분해한 시료에서 64.47%로 가장 높은 억제율을 나타내었다.

[0062] 실험결과 2: 밀웜 가수분해 전과 누트라제를 0.1%의 농도로 실시한 밀웜 가수분해물의 HPLC 결과

[0063] HPLC는 에질런트 1200(Aglient 1200)을 사용하였으며, 컬럼은 써모 하이퍼실 골드(Thermo Hypersil GOLD) 4.6x150mm를 사용하였다. HPLC 방법은 하기 표 2에 기재된 바와 같으며, 유량(Flow rate)은 0.7ml/분, 컬럼 온도는 30℃, 주입량은 10 μ l, UV 디텍터는 280nm로 하였다.

[0064] 도 3에 기재된 HPLC 결과는 가수분해를 하지 않았을 때와 누트라제 0.1% 농도로 가수분해를 하였을 때의 차이를 확인한 것이다. 5분 때의 메인 피크가 감소함을 확인할 수 있었고 다른 정체시간(retention time)에 위치한 피크가 새로 생성된 것(15분)으로 보인다.

[0065] 실험결과 3: 밀웜의 누트라제 0.1% 단백질 가수분해 후 Off-DPPH HPLC 결과

[0066] 안정화된 자유 라디칼인 DPPH 화합물과 밀웜 가수분해물을 섞는 스파이크 테스트(spike test)를 하여 항산화 효능을 측정하였다. DPPH를 0.32mM의 농도(2.5mg/20ml)로 HPLC급 메탄올에 용해시켰다. 밀웜 가수분해물 시료 30 μ l와 DPPH 용액 180 μ l을 넣고 실온(암실)에서 20분간 반응시킨 후 HPLC로 측정하였다. HPLC는 에질런트 1200(Aglient 1200)을 사용하였으며, 컬럼은 써모 하이퍼실 골드(Thermo Hypersil GOLD) 4.6x150mm를 사용하였다. HPLC 방법은 하기 표 2에 기재된 바와 같으며, 유량(Flow rate)은 0.7ml/분, 컬럼 온도는 30℃, 주입량은 10 μ l, UV 디텍터는 280nm로 하였다.

표 2

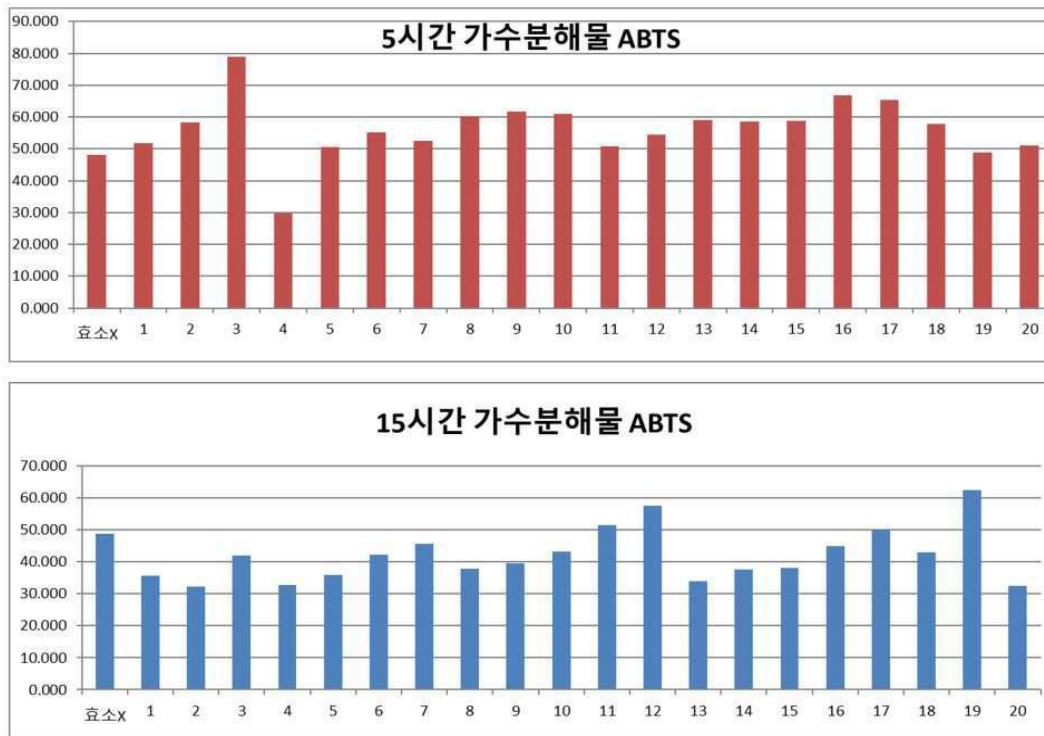
시간	%A	%B
	물 (+0.1% TFA)	MeOH
0	100	0
15	100	0
25	50	50
33	0	100
35	100	0
45	100	0

[0067]

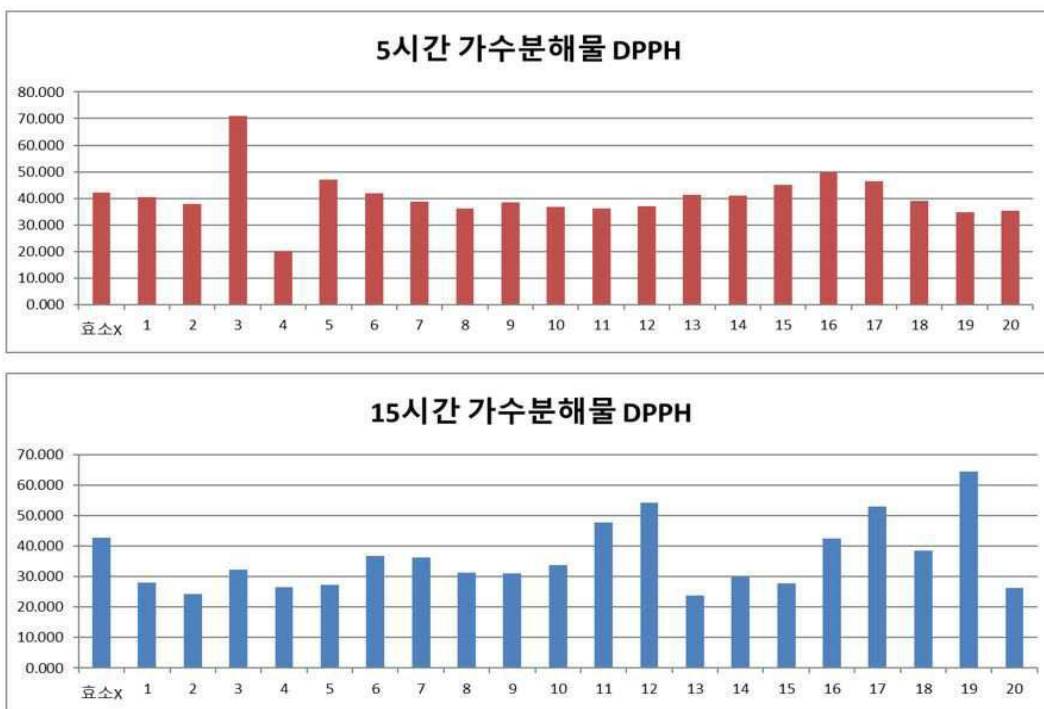
[0068] 도 4에 기재된 HPLC 결과는 가수분해를 하지 않았을 때와 누트라제 0.1% 농도로 가수분해를 하였을 때의 차이를 확인한 것이다. 파란색이 효소 가수분해 처리를 하지 않았을 때이고, 빨간색이 효소 가수분해 후의 결과이다. 빨간색의 피크가 감소함은 항산화능이 있는 것으로 확인할 수 있었다.

도면

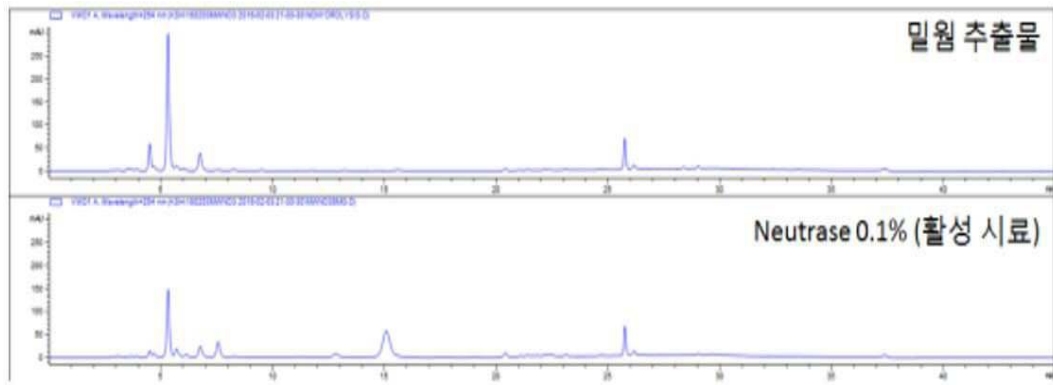
도면1



도면2



도면3



도면4

