



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0064356  
(43) 공개일자 2022년05월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A23L 7/10 (2016.01) A23L 33/00 (2016.01)  
A23L 33/105 (2016.01) C12N 1/20 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A23L 7/198 (2016.08)  
A23L 33/105 (2016.08)  
(21) 출원번호 10-2022-0055359(분할)  
(22) 출원일자 2022년05월04일  
심사청구일자 2022년05월04일  
(62) 원출원 특허 10-2019-0138615  
원출원일자 2019년11월01일  
심사청구일자 2019년11월01일

(71) 출원인  
경희대학교 산학협력단  
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경  
희대학교 국제캠퍼스내)  
(72) 발명자  
장윤혁  
서울특별시 강남구 학동로 432, 101동 101호(삼성  
동, 삼성동롯데아파트)  
이윤경  
경기도 성남시 중원구 황송로 77, 102동 1703호(  
금광동, 래미안금광아파트)  
권우희  
서울특별시 강동구 명일로 293, 503동 201호(  
길동, 삼익파크)  
(74) 대리인  
특허법인 하나

전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 맵쌀가루 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 맵쌀가루에 가르시니아 추출물을 첨가하여 제조한 에스테르화 맵쌀가루, 이의 용도 및 제조방법에 관  
한 것이다.

(52) CPC특허분류

**A23L 33/30** (2016.08)

**C12N 1/20** (2021.05)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/32 (2013.01)

A23V 2200/3202 (2013.01)

A23V 2250/2118 (2013.01)

A23Y 2220/73 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                              |
|-------------|----------------------------------------------|
| 과제고유번호      | 1395060675                                   |
| 과제번호        | PJ013471032019                               |
| 부처명         | 농촌진흥청                                        |
| 과제관리(전문)기관명 | 국립농업과학원                                      |
| 연구사업명       | 농축산물 수확후 융·복합 실용화 기술 개발_빅데이터 기반의 농식품성분 DB 구축 |
| 연구과제명       | 비만 개선 성분 증진을 위한 물질전환 기술 개발 연구                |
| 기 여 율       | 1/1                                          |
| 과제수행기관명     | 국립농업과학원                                      |
| 연구기간        | 2018.01.01 ~ 2020.12.31                      |

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

가르시니아 추출물을 처리하여 멍쌀가루 내 전분의 하이드록실기(hydroxyl group)가 에스테르기(ester group)로 변형된, 장내 균총 개선용 에스테르화 변형된 멍쌀가루.

#### 청구항 2

제1항의 에스테르화 변형된 멍쌀가루를 포함하는, 프리바이오틱스 조성물.

#### 청구항 3

제2항에 있어서,

상기 프리바이오틱스는 장내 균총을 개선시키는 것인, 프리바이오틱스 조성물.

#### 청구항 4

제3항에 있어서,

상기 균총은 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*) 또는 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*)인 것인, 프리바이오틱스 조성물.

#### 청구항 5

제2항에 있어서,

상기 프리바이오틱스는 장 질환의 예방 또는 개선 용도인 것인, 프리바이오틱스 조성물.

#### 청구항 6

제5항에 있어서,

상기 장 질환은 크론병(Chron's disease), 궤양성 대장염(ulcerative colitis), 장형 베체트병(intestinal Behcet's disease), 장결핵(intestinal tuberculosis) 및 장염(enteritis)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 프리바이오틱스 조성물.

#### 청구항 7

제2항의 프리바이오틱스 조성물을 포함하는, 식품 조성물.

#### 청구항 8

제7항에 있어서,

상기 식품 조성물은 장 질환의 예방 또는 개선 용도인 것인, 식품 조성물.

#### 청구항 9

제8항에 있어서,

상기 장 질환은 크론병(Chron's disease), 궤양성 대장염(ulcerative colitis), 장형 베체트병(intestinal Behcet's disease), 장결핵(intestinal tuberculosis) 및 장염(enteritis)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것인, 식품 조성물.

#### 청구항 10

제7항에 있어서,

상기 식품 조성물은 체중 조절용인 것인, 식품 조성물.

## 청구항 11

- a) 가르시니아 추출물을 제조하는 단계; 및
- b) 멧쌀가루에 멧쌀가루의 1 내지 40중량%에 해당하는 가르시니아 추출물을 첨가하는 단계를 포함하는, 에스테르화 변형된 멧쌀가루의 제조방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

- [0001] 본 발명은 멧쌀가루에 가르시니아 추출물을 첨가하여 제조한 에스테르화 멧쌀가루, 이의 용도 및 제조방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

- [0002] 최근식이섬유 등을 이용한 기능성 저칼로리 식품에 대한 요구가 높아짐에 따라, 인체 내에서 소화 흡수되지 않으며 불용성 식이섬유로 분류되는 저항전분에 대한 관심이 높아지고 있다.
- [0003] 저항전분(resistant starch)은 섭취 시 식이섬유와 같이 소장에서 소화되지 않고 대장에서 발효되어 단쇄지방산을 생성하는 전분을 말하며, 효소의 접근이 어려운 RS1, 감자, 바나나와 같은 B형의 결정구조를 갖는 전분인 RS2, 노화된 전분인 RS3, 화학적 변성 전분인 RS4가 포함된다.
- [0004] 대부분의 천연전분은 장기간 가열 조건, 높은 전단 속도 또는 높은 pH 환경에서 구조가 파괴되는 경향을 가지고, 호화 및 노화 과정이 불안정하여 식품에 적용하기 어려운 문제가 존재한다.
- [0005] 이러한 문제점을 극복하기 위해 천연전분에 물리적, 화학적 또는 효소적 처리를 하여 전분 입자 또는 분자구조를 변화시킨 변성전분이 이용되고 있으며, 전분의 화학적 변성방법 중 하나인 가교화는 전분의 수산기를 에스테르화 또는 에스테르화 하여 다른 기능성 그룹으로 치환시키거나 전분 분자 사이에 가교를 형성하여 사슬의 결합을 강화시키는 방법을 의미한다.
- [0006] 쌀은 오래전부터 한국인의 주식으로 우리 식생활에서 큰 비중을 차지하고 있으며, 대표적인 식물성 탄수화물로 매우 중요한 소재이지만 탄수화물의 과다 섭취는 비만의 원인이 된다.
- [0007] 가르시니아는 *Guttiferae*과에 속하는 관목으로 (-)-하이드록시 시트르산((-)-Hydroxy citric acid)을 함유하고 있다. (-)-하이드록시 시트르산은 시트르산 분해효소(citrate lyase)의 강력한 저해제로 체내에서 탄수화물이 지방으로 합성되는 것을 억제하여 체지방 감소에 도움을 주는 건강기능식품 소재이다.
- [0008] 현재까지 가교화를 통한 변성전분의 제조에 관한 연구는 주로 옥수수전분, 감자전분, 고구마전분 위주로 이루어졌으며, 가르시니아를 처리하여 멧쌀가루의 전분을 가교화한 변성전분에 대한 연구는 미비한 실정이다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

- [0009] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-0415308호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0010] 본 발명의 목적은 가르시니아 추출물을 처리하여 멧쌀가루 내 전분의 하이드록실기(hydroxyl group)가 에스테르기(ester group)로 변형된 것인, 에스테르화 변형된 멧쌀가루를 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 목적은 상기 에스테르화 변형된 멧쌀가루를 포함하는 프리바이오틱스 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 프리바이오틱스 조성물을 포함하는 식품조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 에스테르화 변형된 뭉쌀가루의 제조방법을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0014] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 측면은 뭉쌀가루 내 전분의 하이드록실기(hydroxyl group)가 에스테르기(ester group)로 변형된 것인, 에스테르화 변형된 뭉쌀가루를 제공한다.

[0015] 구체적으로, 상기 에스테르화 변형은 가르시니아 추출물을 처리하여 이루어진 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0016] 본 발명에서 상기 “뭉쌀(nonglutinous rice)”은 일반적으로 밥으로 지어 섭취하는 쌀을 말하며, 찰쌀과 대비되는 용어로 통칭되기도 한다. 뭉쌀전분에서는 아밀로오스가 약 20%, 아밀로펙틴이 약 80%의 비율로 있는데 찰쌀전분은 구성 성분 대부분이 아밀로펙틴으로 뭉쌀과 큰 차이를 보인다.

[0017] 본 발명에서 상기 “가르시니아”는 가르시니아 캄보지아(*Garcinia cambogia*)를 뜻하는 것으로서, 주로 인도를 비롯한 동남아시아에서 자생하는 *Guttiferae*과의 열대성 과일나무이다.

[0018] 가르시니아는 (-)-히드록시 시트르산((-)-Hydroxycitric acid)을 함유하고 있으며, 이는 아데노신 트리포스페이트-시트레이트 리아제(Adenosine thiphosphate-citrate lyase; ATP citrate lyase)의 경쟁적인 저해제로 체내 지방합성 경로를 차단하고 글리코겐(Glycogen)합성으로 전환시켜 에너지 생산을 증가시킴으로써 체중감량(다이어트)효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.

[0019] 천연 전분에 존재하는 단점 및 한계점을 극복하거나 특정 목적에 적합한 새로운 성질을 부여하기 위하여 천연 전분을 물리적, 화학적 또는 효소적으로 처리하여 전분의 입자 또는 분자구조를 변화시킨 변성전분이 이용되고 있다. 최근에는 특히 인체 내에서 소화, 흡수되지 않을 뿐만 아니라 불용성 식이섬유로 분류되는 저항전분(resistant starch)에 대한 관심이 높아지고 있는 추세이나, 옥수수 전분 등과 달리 뭉쌀가루의 변성전분에 대한 연구는 불충분한 실정이며, 특히 가르시니아 추출물을 뭉쌀가루에 첨가하여 뭉쌀가루를 에스테르화 하는 방법에 대해서는 연구된 바 없다.

[0020] 상기 “에스테르화”는 전분의 화학적 변성방법 중 하나로, 뭉쌀가루 내의 전분의 수산기(hydroxyl group)를 다른 기능성 그룹으로 치환시키거나, 전분 분자사이에 가교를 형성하여 사슬의 결합을 강화시키는 방법이다. 전분을 구성하는 무수 포도당은 3개의 수산기를 가지고 있으므로 수산기와 에스테르 결합을 할 수 있는 기능기를 하나 이상 가진 물질을 처리하여 화학적 변형 전분을 제조한다.

[0021] 상기 가르시니아가 함유하고 있는 (-)-히드록시 시트르산((-)-Hydroxycitric acid)는 4개의 카르복실기(carboxyl group)를 가지고 있다. 가르시니아 추출물을 뭉쌀가루와 혼합하여 교반 및 건조과정을 거친 다음, 추가적인 가열처리를 통해 가르시니아 추출물의 탈수현상이 일어나 가르시니아 추출물의 카르복실기와 뭉쌀가루의 수산기가 반응하여 에스테르 결합을 형성하게 된다.

[0022] 본 발명의 일 실시예에서는 뭉쌀가루의 5 내지 30%에 해당하는 가르시니아 추출물을 첨가하여 에스테르화 변형된 뭉쌀가루를 제조하였으며, 상기 에스테르화 변형된 뭉쌀가루의 이화학적 특성, 저항 전분의 소화율 측정 및 프리바이오틱 활성을 측정하였고, 이로부터 본 발명의 에스테르화 변형된 뭉쌀가루는 높은 저항전분 함량과 프리바이오틱 활성을 가지는 것을 확인하여 식이섬유로서의 새로운 식품소재 가능성을 확인하였다(표 1 내지 4).

[0023] 본 발명의 다른 일 측면은 상기 에스테르화 변형된 뭉쌀가루를 포함하는, 프리바이오틱스 조성물을 제공한다.

[0024] 본 발명에서 상기 프리바이오틱스 조성물은 프리바이오틱 특성을 가지는 모든형태의 조성물을 말하며, “프리바이오틱(prebiotic)”이란 프로바이오틱스 기능을 갖는 장내 유익한 박테리아의 성장을 돕는 탄소화성 성분을 의미하는 것으로서, 프로바이오틱스의 영양원이 되어 장내 환경을 개선하는 데 도움을 주는 물질을 말한다. 대표적으로 이눌린 또는 이눌린을 이용하여 만든 프락토올리고당 등이 식이섬유 등이 풍부한 프리바이오틱스로 알려져 있다. 프리바이오틱스는 올리고당과 같이 탄수화물로 이루어져 있는 경우가 많고, 대부분이 식이섬유의 형태로 존재한다.

[0025] 구체적으로, 본 발명의 상기 프리바이오틱스는 장내 균총을 개선시키는 것일 수 있으며, 더욱 구체적으로 상기 균총은 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*) 또는 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0026] 본 발명 일 실시예에서는 에스테르화 변형된 뱀살가루의 프로바이오틱스 성장 효과를 확인하였고, 그 결과 가르시니아 추출물의 첨가량이 많을수록, 즉 에스테르화 변형된 전분의 함유량 높을수록 장내 유익균인 비피도박테리움 롱검 및 락토바실러스 람노서스의 생장이 촉진되는 것을 확인하였다(표 3).
- [0027] 장내 유익균이 증가할수록 장내 염증에 대한 항염증 기능이 강화되어 장 질환에 대한 개선 효과를 나타낼 수 있는 바, 본 발명의 프리바이오틱스 조성물은 장 질환의 예방 또는 개선 용도로 활용될 수 있다.
- [0028] 구체적으로, 상기 장 질환은 염증성 장 질환일 수 있으며, 더욱 구체적으로 상기 장 질환은 크론병(Chron's disease), 궤양성 대장염(ulcerative colitis), 장형 베체트병(intestinal Behcet's disease), 장결핵(intestinal tuberculosis) 및 장염(enteritis)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0029] 본 발명의 에스테르화 변형된 뱀살가루를 포함하는 프리바이오틱스 조성물은 장내 미생물의 활성 및 성장을 크게 촉진시킴으로써, 장내 미생물의 대사 산물임과 동시에 대장세포 대사에 중요한 영양소로 알려진 아세트산 및 부티르산 등의 단쇄지방산의 생성량을 크게 증가시킬 수 있어 장 질환의 예방 및 치료에 중요한 역할을 할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 또 다른 일 측면은 상기 프리바이오틱스 조성물을 포함하는 식품 조성물에 관한 것이다.
- [0031] 구체적으로 상기 식품 조성물은 장내 균총을 개선시키는 것일 수 있으며, 또한 구체적으로, 상기 식품 조성물은 장 질환의 예방 또는 개선 용도인 것일 수 있다.
- [0032] 더욱 구체적으로, 상기 장 질환은 크론병(Chron's disease), 궤양성 대장염(ulcerative colitis), 장형 베체트병(intestinal Behcet's disease), 장결핵(intestinal tuberculosis) 및 장염(enteritis)으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0033] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 본 발명의 에스테르화 변형된 뱀살가루를 포함할 수 있는 식품은 소세지, 육류, 빵, 초콜릿류, 스낵류, 캔디류, 과자류, 라면, 피자, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있다. 음료수로 제형화할 경우에 본 발명의 에스테르화 변형된 뱀살가루 외에 첨가되는 액체 성분으로는 이에 한정되지는 않으나, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예, 포도당, 과당 등), 디사카라이드(예, 말토오스, 수크로오스 등) 및 폴리사카라이드(예, 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당), 및 자일리톨, 소르비톨, 에리스리톨 등의 당 알코올일 수 있다.
- [0034] 상기 식품의 종류는 구체적으로 건강기능식품일 수 있다. 상기 건강기능 식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 점증제, pH 조절제, 안정화제, 보존제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 건강기능 식품은 과일 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 단독으로 또는 조합으로 사용될 수 있으며, 이러한 첨가제의 비율은 조성물 전체 중량당 0.001 내지 50 중량부의 범위에서 선택될 수 있다.
- [0035] 상기 건강기능식품은 식품의 생체 조절 기능을 강조한 식품으로 물리적, 생화학적, 생물공학적인 방법을 이용하여 특정 목적에 작용 및 발현하도록 부가가치를 부여한 식품이다. 이러한 건강기능식품의 성분은 생체 방어와 신체 리듬의 조절, 질환의 방지 및 회복에 관계하는 신체 조절 기능을 생체에 대하여 충분히 발휘하도록 설계하여 가공하게 되며, 식품으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제, 감미료 또는 기능성 원료를 함유할 수 있다.
- [0036] 본 발명의 에스테르화 변형된 뱀살가루를 건강기능식품(또는 건강기능 음료 첨가물)에 포함하여 사용할 경우, 상기 에스테르화 변형된 뱀살가루를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용하고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 상기 에스테르화 변형된 뱀살가루의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 개선, 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 또 다른 일 측면은 상기 프리바이오틱스 조성물을 포함하는 체중 조절용 식품 조성물에 관한 것이다.
- [0038] 본 발명의 에스테르화 변형된 뱀살가루는 높은 저항전분 함량을 가지는 바, 생체에서 소화되지 않아 칼로리 섭취를 줄일 수 있으며, 식이섬유로서 기능성을 나타내어 배변활동을 원활하게 할 수 있다.
- [0039] 본 발명의 또 다른 일 측면은 a) 가르시니아 추출물을 제조하는 단계; 및 b) 뱀살가루의 1 내지 40중량%에 해당

하는 가르시니아 추출물을 첨가하는 단계를 포함하는, 에스테르화 변형된 뱀살가루의 제조방법을 제공한다.

[0040] 구체적으로, 상기 제조방법은 b) 단계의 가르시니아 추출물 첨가 이후에 c) 16시간 상온에서 교반하고, 45℃ 오븐에서 수분함량이 5 내지 10%가 되도록 조절한 다음 분쇄하여 140℃ 드라이오븐에서 4시간 반응시키는 단계; 및 d) 에스테르화 뱀살가루를 증류수에 현탁하여 3,500rpm에서 15분간 원심분리를 하고, 수세를 반복하여 반응하지 않은 가르시니아 추출물을 제거한 후, 45℃의 오븐에서 24시간 건조한 후 분쇄하여 150um 체를 통과시키는 단계를 추가로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않고 필요에 따라 적절히 변경하여 적용할 수 있다.

### 발명의 효과

[0041] 본 발명의 에스테르화 뱀살가루는 뱀살가루 모양을 그대로 유지할 수 있으며, 저항전분으로서 소화되지 않아 혈당 및 체중 조절용 식품으로 사용이 가능하고, 대장에서 발효되어 장 질환 예방 및 치료효과를 갖는 단쇄지방산을 생성하는 프리바이오틱 활성을 나타낸다.

[0042] 따라서, 본 발명의 에스테르화 뱀살가루는 식품에 첨가하였을 때, 기능성 저칼로리 가공식품의 소재로 활용 범위를 넓힐 수 있다.

[0043] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

#### [0045] 제조예 1. 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 뱀살가루의 제조 방법

[0046] 가르시니아(*Garcinia cambogia*) 추출물의 농도를 달리하여 적용하면서 에스테르화 뱀살가루를 제조하기 위한 최적 조건을 확인하였다. 가르시니아 추출물은 ES 식품원료(대한민국)에서 구매하여 사용하였다.

[0047] 구체적으로, 먼저 뱀살가루의 수분 함량을 낮추기 위하여 뱀살가루 50g을 45℃ 오븐에서 건조하였고, 가르시니아 추출물 첨가량에 따른 에스테르화 뱀살가루의 차이를 비교하기 위하여 전체 뱀살가루 양의 5%, 10%, 20% 및 30%에 해당하는 2.5g(실시예 1), 5g(실시예 2), 10g(실시예 3) 및 15g(실시예 4)의 가르시니아 추출물을 첨가한 후, 각각의 용액을 아세트 산을 사용하여 pH 3.5로 조정하고, 증류수로 최종 부피를 10mL로 적정하여 실시예 1 내지 4를 제조하였다.

[0048] 상기 실시예 1 내지 4의 용액을 뱀살가루에 넣고 16시간 상온에서 교반하였다. 이후 45℃ 오븐에서 수분함량이 5 내지 10%가 되도록 조절한 다음 분쇄하여 140℃ 드라이오븐에서 4시간 반응시켰다. 제조된 에스테르화 뱀살가루를 증류수에 현탁하여 3,500rpm에서 15분간 원심분리를 하고, 수세를 반복하여 반응하지 않은 가르시니아 추출물을 제거하였다. 수세한 전분은 45℃의 오븐에서 24시간 건조한 후 분쇄하여 150um 체를 통과시켜 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 뱀살가루를 수득하였고, 이를 사용하기 전에 냉동보관 하였다.

#### [0049] 실험예 1. 뱀살가루의 일반성분 분석

[0050] 에스테르화 반응 전 뱀살가루의 일반성분인 수분, 조단백, 조지방, 조회분의 함량을 AOAC(Association of Official Analytical Chemists, 1995) 방법으로 분석하였다. 그 결과, 수분은 11.11% 조회분은 0.39% 조단백질은 7.02% 조지방은 0.47%이며, 아밀로스 함량은 20.05%, 아밀로펙틴 함량은 79.95%임을 확인하였다.

#### [0051] 실험예 2. 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 뱀살가루의 이화학적 특성 분석

[0052] 상기 제조예 1에서 제조한 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 뱀살가루의 이화학적 특성을 분석하기 위하여, 치환도(Degree of substitution), 광투과도 및 팽윤력(Swelling factor)을 분석하였다.

[0053] 구체적으로, 치환도(Degree of substitution)를 측정하기 위해 뱀살가루 및 실시예 1 내지 4의 에스테르화 뱀살가루 1g을 50ml 증류수에 10분간 분산시킨 다음, 0.5M NaOH 25ml 첨가하여 30분간 300rpm으로 분산시켰다. 이후 0.1% 페놀프탈레인 용액을 지시약으로 사용하여 HCl로 적정하여 치환도를 측정하였다.

[0054] 광투과도를 측정하기 위하여, 뱀살가루 및 실시예 1 내지 4의 에스테르화 뱀살가루 0.05g을 5ml 증류수에 분산시켜 30분간 90℃의 진탕 향온 수조(shaking water bath)에서 혼합하였다. 이를 실온에서 충분히 식혀준 다음 650nm에서 흡광도를 측정하여 광투과도를 분석하였다.

[0055] 팽윤력(Swelling factor)을 측정하기 위하여, 맷쌀가루 및 실시예 1 내지 4의 에스테르화 맷쌀가루 0.1g을 5ml 증류수에 분산시킨 다음, 30분간 90℃의 진탕 항온 수조(shaking water bath)에서 혼합하였다. 이를 실온으로 식힌 후 0.5mg/mL 블루 텍스트란(Blue dextran) 용액 0.5mL를 시료에 넣어 완전히 혼합시켰다. 이를 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액을 취하여 620nm에서 흡광도를 측정함으로써 팽윤력을 측정하였다.

[0056] 상기한 실험방법을 통해 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 맷쌀가루의 이화학적 특성을 측정한 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

| 구분    | 치환도          | 광투과도 (%T)    | 팽윤력          |
|-------|--------------|--------------|--------------|
| 맷쌀가루  | -            | 19.14 ± 0.46 | 11.78 ± 0.65 |
| 실시예 1 | 0.022 ± 0.00 | 15.05 ± 0.60 | 8.12 ± 0.17  |
| 실시예 2 | 0.028 ± 0.01 | 14.39 ± 0.33 | 7.96 ± 0.26  |
| 실시예 3 | 0.030 ± 0.00 | 14.02 ± 0.59 | 7.44 ± 0.30  |
| 실시예 4 | 0.062 ± 0.00 | 13.73 ± 0.04 | 7.24 ± 0.26  |

[0058] 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 실험결과 가르시니아 추출물의 처리 농도가 증가함에 따라 유의적으로 치환도가 증가하였으며, 이로부터 가르시니아 추출물과 맷쌀가루 간의 에스테르화 결합이 형성되었음을 확인하였다. 반면, 광투과도와 팽윤력은 가르시니아 추출물 처리 농도가 증가함에 따라 감소하는 결과를 나타내었다. 이는 맷쌀가루의 에스테르화로 인해 맷쌀가루 입자 사이의 결합이 강해져 수분의 흡수가 감소되며 빛을 투과시키기 보다는 반사시켜 투명도를 감소시키기 때문인 것으로 보인다.

### [0059] 실험예 3. 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 맷쌀가루의 소화흡수율 분석

[0060] 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 맷쌀가루의 저항전분 함량을 확인하기 위하여 소화흡수율을 분석하였다.

[0061] 구체적으로, 맷쌀가루와 실시예 1 내지 4의 에스테르화 맷쌀가루 30mg과 소듐 아세테이트(sodium acetate) 완충액(0.1 M, pH 5.2) 0.75ml를 마이크로마그네틱바와 함께 2ml의 마이크로튜브(microtube)에 넣고 혼합시킨 다음 10분 동안 37° C에서 보관하였다.

[0062] *in vitro*에서의 전분 소화능력을 확인하기 위하여, 돼지의 이자에서 유래한 판크레아틴(Pancreatin from porcine pancreas) 2g을 증류수 24ml에 넣고 10분간 교반한 다음 1,500g에서 10분간 원심분리 시킨 후 상층액 20ml를 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase) 0.4ml, 증류수 3.6ml와 혼합하여 효소 용액을 제조하였다. 효소 용액은 37° C에서 10분 동안 보관하여 평형에 이르게 한 후에 사용하였다.

[0063] 상기 효소 용액 0.75ml를 시료가 들어 있는 마이크로튜브에 넣고 37° C의 진탕 항온 수조에서 20분 및 120분간 반응시킨 다음, 10분 동안 끓는 물에 넣어 효소 반응을 정지시켰다. 이를 마이크로 원심분리기에서 5,000g로 10분간 원심분리한 다음 전분으로부터 가수분해된 상층액의 글루코스 양을 DNS 방법을 이용하여 측정하였다.

[0064] 실험 결과 20분 이내 소화되는 전분을 RDS(rapidly digestible starch, 급속히 소화되는 전분), 20분과 120분 사이에 소화되는 전분을 SDS(slowly digestible starch, 천천히 소화되는 전분), 120분 이후에도 소화되지 않는 전분을 RS(resistant starch, 저항 전분)으로 분류하고, 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

| 구분    | 급속히 소화되는 전분(%) | 천천히 소화되는 전분(%) | 저항 전분(%)     |
|-------|----------------|----------------|--------------|
| 맷쌀가루  | 67.91 ± 0.04   | 19.32 ± 0.30   | 12.77 ± 1.14 |
| 실시예 1 | 63.98 ± 2.08   | 11.15 ± 0.25   | 24.87 ± 1.83 |
| 실시예 2 | 61.71 ± 2.35   | 11.52 ± 0.11   | 26.77 ± 0.45 |
| 실시예 3 | 58.85 ± 1.46   | 13.65 ± 0.74   | 27.50 ± 1.07 |
| 실시예 4 | 58.64 ± 1.63   | 13.43 ± 0.88   | 27.93 ± 2.12 |

[0066] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 가르시니아 추출물의 함량이 증가함에 따라 에스테르화가 많이 이루어진 경우일 수록 맷쌀가루에 함유된 소화 전분(RDS 및 SDS)의 함량이 유의적으로 감소하였으며, 저항 전분(RS)의 함량은 유의적으로 증가한 것을 확인하였다. 이러한 결과는 가르시니아 추출물 처리에 의해 생성된 맷쌀가루의 전분 입자 간의 에스테르 결합은 α-아밀라아제(α-amylase) 등과 같은 전분 가수분해 효소에 의해 분해될 수 없으며, 에

스테르결합의 결과로 생성된 입체적 장애로 인해 효소들의 기질 내 반응이 억제되기 때문이다.

#### [0067] 실험예 4. 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 뱀살가루의 프리바이오틱 특성 평가

[0068] 제조예 1에서 제조한 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 뱀살가루의 프리바이오틱 특성을 평가하였다.

[0069] 구체적으로, 한국미생물보존센터로부터 분양 받은 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus. rhamnosus*) ATCC 7469, 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium. longum*) ATCC 15705를 이용하여 에스테르화 뱀살가루의 *in-vitro* 발효를 진행하였으며, 프로바이오틱스의 성장촉진 능력 및 단쇄지방산 생성 능력을 확인하였다.

#### [0070] 실험예 4-1. 가르시니아 추출물 처리 에스테르화 뱀살가루의 프리바이오틱 활성 측정

[0071] *in-vitro* 발효를 위해 락토바실러스 람노서스 ATCC 7469(*Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469) 균은 Man Rogosa Sharp(MRS) 배지를 사용하였고, 비피도박테리움 롱검 ATCC 15705(*Bifidobacterium longum* ATCC 15705)은 Reinforced Clostridial Medium(RCM) 배지를 사용하여 37℃에서 각각 24 및 48시간 동안 전배양 하였다. 이후 멸균된 테스트 튜브에 발효 배지 9mL와 시료 0.1g을 넣고  $10^6$ 의 전배양한 균을 접종하여 37℃에서 24시간 발효 하였다. 발효 이후 도말을 위해 펠트리디쉬에 *Lactobacillus. rhamnosus* ATCC 7469은 MRS agar 배지, *Bifidobacterium. longum* ATCC 1505은 Reinforced Clostridial agar Media를 부어 말렸다. 발효한 시료를  $10^6$ 까지 희석하여 100  $\mu$ L를 스프레더를 이용하여 도말한 후 24시간동안 배양하고 그 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

| 미생물                           | 이눌린(Inulin)<br>(Log CFU/mL) | 실시예 1<br>(Log CFU/mL) | 실시예 2<br>(Log CFU/mL) | 실시예 3<br>(Log CFU/mL) | 실시예 4<br>(Log CFU/mL) |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <i>L. rhamnosus</i> ATCC 7469 | 6.56 $\pm$ 0.24             | 7.59 $\pm$ 0.06       | 7.72 $\pm$ 0.07       | 7.76 $\pm$ 0.04       | 8.42 $\pm$ 0.01       |
| <i>B. longum</i> ATCC 15705   | 7.62 $\pm$ 0.19             | 7.76 $\pm$ 0.63       | 7.84 $\pm$ 0.66       | 7.99 $\pm$ 0.64       | 8.00 $\pm$ 0.71       |

[0073] 표 3에 나타난 바와 같이, 장내 미생물인 락토바실러스 람노서스와 비피도박테리움 롱검의 생균 수가 뱀살가루에 가르시니아 추출물 처리농도에 따라 유의적으로 증가하여 에스테르화 결합이 많이 형성된 뱀살가루가 더 좋은 프리바이오틱 활성을 나타내는 것을 확인하였다. 또한, 대표적인 식이섬유이자 시판 프리바이오틱스인 이눌린과 비교했을 때, 에스테르화 뱀살가루의 균 성장수가 높은 것을 확인하였다.

#### [0074] 실험예 4-2. 프리바이오틱스의 단쇄지방산 생성능력 측정

[0075] 상기 발효한 시료를 3,500rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 상층액을 기체 크로마토그래피(G3440B, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 단쇄지방산(short chain fatty acids, SCFAs) 함량을 분석하였다.

[0076] 구체적으로, 2ml 마이크로튜브에 상기 상층액 0.5ml, 1M 인산(phosphoric acid) 0.2ml, NaCl 0.4g을 넣어 혼합한 다음 에틸에테르 0.5ml를 첨가하여 10,000g에서 3분간 원심분리 하였다. 원심분리 후 에테르층 1 $\mu$ L를 취하여 시료 주입구에 주입 후 측정하였다.

[0077] 장내 미생물 발효에 의하여 생성되는 주요 단쇄지방산에는 아세트산(acetic acid, AA), 프로피온산(propionic acid, PA), 부티르산(butyric acid, BA) 등이 있으며, 상기 분석 결과에서도 아세트산, 프리피온산, 부티르산이 주요 단쇄지방산으로 확인되었으며, 그 구체적인 분석 결과를 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

| 미생물                           | 단쇄지방산   | 이눌린(Inulin)      | 실시예 1            | 실시예 2            | 실시예 3            | 실시예 4            |
|-------------------------------|---------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| <i>L. rhamnosus</i> ATCC 7469 | 총량(Mm)  | 36.46 $\pm$ 0.59 | 39.29 $\pm$ 0.41 | 39.95 $\pm$ 0.60 | 42.41 $\pm$ 4.62 | 42.64 $\pm$ 0.33 |
|                               | AA (Mm) | 26.32 $\pm$ 0.59 | 29.63 $\pm$ 0.41 | 30.29 $\pm$ 0.60 | 32.75 $\pm$ 4.62 | 32.98 $\pm$ 0.33 |
|                               | PA (Mm) | 9.60 $\pm$ 0.00  | 9.60 $\pm$ 0.00  | 9.60 $\pm$ 0.00  | 9.60 $\pm$ 0.00  | 9.60 $\pm$ 0.00  |
|                               | BA (Mm) | 0.06 $\pm$ 0.00  | 0.06 $\pm$ 0.00  | 0.06 $\pm$ 0.00  | 0.06 $\pm$ 0.00  | 0.06 $\pm$ 0.00  |

|                                |         |              |              |              |              |              |
|--------------------------------|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <i>B. longum</i><br>ATCC 15705 | 총량 (Mm) | 29.13 ± 0.39 | 29.72 ± 0.52 | 30.17 ± 0.12 | 33.39 ± 0.20 | 36.80 ± 0.18 |
|                                | AA (Mm) | 19.13 ± 0.39 | 20.08 ± 0.52 | 20.53 ± 0.12 | 23.75 ± 0.20 | 27.15 ± 0.18 |
|                                | PA (Mm) | 9.60 ± 0.00  | 9.60 ± 0.00  | 9.60 ± 0.00  | 9.60 ± 0.00  | 9.60 ± 0.00  |
|                                | BA (Mm) | 0.06 ± 0.00  | 0.06 ± 0.00  | 0.06 ± 0.00  | 0.06 ± 0.00  | 0.06 ± 0.00  |

- [0079] 상기 표 4에 나타난 바와 같이, 뱀살가루에 가르시니아 추출물 처리 농도가 높아짐에 따라 장내 미생물에 의해 발효되어 생성된 단쇄지방산(short chain fatty acids, SCFAs) 함량이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다. 발효를 통해 생성된 단쇄 지방산 중 아세트산이 주된 생성물이었으며, 아세트산 및 총 단쇄지방산의 함량은 이눌린과 비교하였을 때 유의적으로 높은 것을 확인하였다. 상기 단쇄지방산은 대장세포 대사에서 가장 중요한 성분으로서, 장질환의 예방 및 치료에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있어, 본 발명의 에스테르화 뱀살가루가 장 질환의 예방 또는 개선 효과를 나타낼 수 있음을 확인하였다.
- [0080] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.
- [0081] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.