

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0119908

(43) 공개일자 2021년10월06일

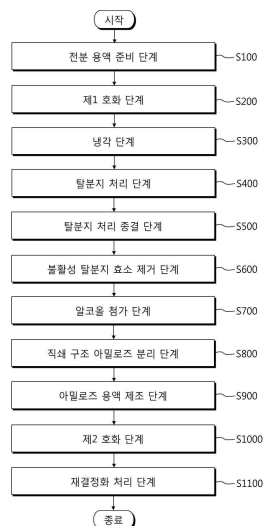
(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08B 30/18 (2006.01) *C08B 30/06* (2006.01)
 (52) CPC특허분류
C08B 30/18 (2013.01)
C08B 30/06 (2013.01)
 (21) 출원번호 10-2021-0037903
 (22) 출원일자 2021년03월24일
 심사청구일자 2021년03월24일
 (30) 우선권주장
 1020200036257 2020년03월25일 대한민국(KR)

(71) 출원인
 고려대학교 산학협력단
 서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
 (72) 발명자
 임승택
 서울특별시 도봉구 해동로 32, 106동 303호
 이동진
 경기도 하남시 신장로64번길 7, 4층
 김준모
 서울특별시 노원구 공릉로46길 19, 103동 1404호
 (74) 대리인
 정은열, 김태훈

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **탈분지, 알코올 침전 및 재결정화를 이용한 난소화성 텍스트린의 제조방법****(57) 요약**

본 발명은 난소화성 텍스트린의 제조방법에 관한 것으로, 전분 입자에 대한 효소처리(탈분지)을 통하여 전분 아밀로펙틴의 α -1,6 glycosidic linkage를 끊어 직쇄상 아밀로즈(탈분지 텍스트린)를 생성하고, 알코올 침전을 이용해 서로 다른 분자량(사슬 길이)를 가진 직쇄상 아밀로즈를 분리한 후, 이에 대한 재결정화 처리를 통해 자가조립(self-assembly)을 유도함으로써, 고수율로 저항 전분(RS) 함량이 높고, 열 및 효소 안정성이 우수하며, 고결정성을 갖는 난소화성 텍스트린을 제조할 수 있다.

대표도 - 도1

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711114354
과제번호	2020R1A2C1011489
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	탈분지 아밀로펙틴 나노 결정화에 의한 난소화성 텍스트린의 제조 및 활용 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	고려대학교
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

- (a) 전분이 분산된 전분 용액을 준비하는 단계;
- (b) 상기 전분 용액을 제1 호화시키는 단계;
- (c) 호화된 상기 전분 용액을 냉각시키는 단계;
- (d) 직쇄상 아밀로즈(amylose)가 생성되도록, 냉각된 상기 전분 용액에, 상기 전분의 α -1,6 글리코시드 결합(glycosidic linkage)을 제거하는 탈분지 효소를 첨가하여 탈분지 처리하는 단계;
- (e) 상기 탈분지 효소의 불활성화를 유도하여 상기 탈분지 처리를 종결시키는 단계;
- (f) 상기 전분 용액으로부터, 불활성화된 상기 탈분지 효소를 제거하는 단계;
- (g) 상기 직쇄상 아밀로즈가 침전되도록, 상기 탈분지 효소가 제거된 상기 전분 용액에 알코올을 첨가하는 단계;
- (h) 상기 알코올이 첨가된 상기 전분 용액으로부터 상기 직쇄상 아밀로즈를 분리하는 단계;
- (i) 분리된 상기 직쇄상 아밀로즈를 용매에 분산시켜 아밀로즈 용액을 제조하는 단계;
- (j) 상기 아밀로즈 용액을 제2 호화시키는 단계; 및
- (k) 상기 직쇄상 아밀로즈(amylose)가 이중 나선구조로 자가조립되어 재결정화되도록, 상기 아밀로즈 용액을 소정의 반응 온도에서 방치하여 재결정화 처리하는 단계;를 포함하는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 (a) 단계는,

완충 용액 또는 수용액에, 0.1 ~ 40%(w/w)의 농도로 상기 전분을 분산시켜 상기 전분 용액을 제조하는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 (b) 단계는,

상기 전분 용액을 80 ~ 140℃로 가열하여 호화시키는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 (c) 단계는,

상기 전분 용액을 40 ~ 60℃로 냉각하는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 탈분지 효소는,

이소아밀라아제(isoamylase), 및 풀루라나아제(pullulanase)로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나 이상을 포함하는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서,

상기 (d) 단계에서, 상기 탈분지 효소는,

0.01 ~ 50%(w/w)의 농도로 첨가되는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서,

상기 (e) 단계는,

탈분지 처리된 상기 전분 용액을 80 ~ 140℃로 가열하여, 상기 탈분지 효소의 불활성화를 유도하는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 8

청구항 1에 있어서,

상기 (f) 단계는,

상기 전분 용액을 원심분리하여, 불활성화된 상기 탈분지 효소를 제거하는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 9

청구항 1에 있어서,

상기 (d) 단계에서, 분자량이 서로 다른 상기 직쇄상 아밀로즈가 다수 생성되고,

상기 (g) 단계에서, 상기 직쇄상 아밀로즈는, 상기 알코올의 농도가 높아질수록, 상대적으로 상기 분자량이 큰 순서대로 먼저 침전되는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 10

청구항 9에 있어서,

상기 (g) 단계에서, 상기 알코올의 농도는,

30 ~ 90%인 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 11

청구항 9에 있어서,

상기 (g) 단계, 및 상기 (h) 단계를 순차적으로 적어도 2회 이상 반복하여, 상기 직쇄상 아밀로스를 상기 분자량에 따라 분리하는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 12

청구항 1에 있어서,

상기 (j) 단계는,

상기 아밀로스 용액을 80 ~ 140℃로 가열하여 호화시키는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 13

청구항 1에 있어서,

상기 (k) 단계에서, 상기 반응 온도는,

4 ~ 90℃인 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 14

청구항 1에 있어서,

상기 (k) 단계는,

적어도 24시간 이상 상기 아밀로스 용액을 방치하는 난소화성 텍스트린 제조방법.

청구항 15

청구항 1에 있어서,

(1) 재결정화 처리된 상기 아밀로스 용액으로부터, 텍스트린을 분리하고, 세척한 후, 건조하는 단계;를 더 포함하는 난소화성 텍스트린 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 난소화성 텍스트린의 제조방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 전분 입자에 대한 탈분지(debranching)을 통해 직쇄상 아밀로스(탈분지 텍스트린)를 생성하고, 알코올 침전(alcohol precipitation)을 이용해 서로 다른 분자량(사슬 길이)를 가진 직쇄상 아밀로스를 분리한 후, 이에 대한 재결정화(recrystallization) 공정을 수행하여 나노 크기의 난소화성 텍스트린을 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 전분은 α -1,4-D-glycosidic linkage에 의해 연결된 D-glucose 단위가 거의 선형이며 유연한 폴리머인 아밀로스(amylose), 및 α -1,6-D-glycosidic linkage에 의해 연결된 선형 사슬이 가지화된 폴리머인 아밀로펙틴(amylopectin)의 두 가지 유형의 다당체(polysaccharide) 분자로 구성된다.

[0004] 또한, 전분은 식물체에 존재하는 탄수화물로, 인간에게는 주요 에너지 공급원으로 이용되며, 입, 위, 장에서 인체 내 소화 효소 및 산에 의해 분해되어 포도당으로 방출 및 흡수된다. 이러한 전분은 입, 위, 장관에서 흡수되는 속도에 따라 빠르게 소화되는 전분(RDS), 천천히 소화되는 전분(SDS) 및 소화 효소에 의해 소화되지 않는 저

항 전분(RS)으로 나뉜다.

[0005] 최근, 특정 영양소의 과잉섭취로 인한 비만과 순환계 관련 성인병이 급속하게 증가하면서 이를 예방하는 기능성 소재에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그 중 1980년 초에 식이섬유와 거의 비슷한 역할을 하는 난소화성 전분이 알려졌고, 1990년 유럽의 EURESTA에서는 효소 저항 전분에 대한 정의를 내리고 본격적인 연구가 진행되어오고 있다. 저항 전분이란 인간의 소장에서 흡수되지 않는 전분이나 전분의 분해산물을 의미한다. 저항 전분은 특히, 체내 소화 효소에 의해 분해 및 흡수가 되지 않고 식이섬유와 유사하게 대장에서 미생물 발효에 의해 분해되어 단쇄 지방산을 생성하고, 대장의 pH를 낮출 뿐 아니라 유해균의 증식 억제 및 유익균의 증식에 도움을 주어 분변량 증가 및 대장암 예방 등 장내 환경을 개선한다고 알려져 있다.

[0006] 현재까지 전분 내 저항 전분(RS)의 함량을 높이기 위해 화학적, 물리적, 효소적 처리를 이용한 연구들이 보고되고 있다. 현재까지 저항 전분의 종류는 5가지로 분류되고 있다. RS type 1은 효소와 만나기 어려운 전분, RS type 2는 감자, 바나나, 고아밀로즈 옥수수전분과 같은 B type의 결정성을 가진 천연전분을 의미하며, 입자 형태를 유지하고 있지만 가열하면 효소에 대한 저항성이 소실되므로 조리나 가공 식품과 같이 가열 처리하는 식품에 사용할 수 없는 형태이다. 반면 RS type 3은 가열에 의해 호화된 전분이 노화된 것으로 아밀로즈 함량이 높을수록 RS의 수율이 증가한다고 알려져 있다. RS type 4는 화학적 변성에 의해 만들어진 전분으로 효소에 대한 저항성을 가진다. 화학적 변성은 가교결합(Cross-linking), 에스테르화(Esterification), 에테르화(Eterification), 린트너리제이션(Lintnerization), 컨버전(Conversion)등의 처리를 통해 이루어질 수 있다. 전분 뿐 아니라 전분을 포함하는 곡물 내의 저항 전분의 함량을 증가시키기 위한 연구들이 보고되고 있지만, 여러 문제로 인해 상업적 이용가능성이 떨어지고 있다. 예를 들면, 제조된 저항 전분의 산 및 열 안정성, 효소활성, 수율 등 여러 문제점으로 인해 상업적으로 활용이 어려운 상황이다.

[0007] 또한, 소비자들의 식품 소재에 대한 이해가 높아짐에 따라 화학적 처리에 대한 거부감이 증가하고 있어, 물리적 처리 또는 효소적 처리를 활용한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 물리적 처리는 처리방법이 비교적 간단하고 특별한 첨가물이 없으며, 효소적 처리는 친환경적이고 원하는 특이적 반응 수행이 가능하며 부산물이 적고 처리 후 사용을 위한 정제가 용이한 장점이 있다. 그러나 물리적 처리와 효소적 처리를 각각 단독으로 사용하는 경우에는 지소화성, 난소화성 전분을 증진시키는 효과가 충분하지 못한 단점을 가지고 있다.

[0008] 이에 종래 저항 전분 함량 증진 기술의 문제점을 해결하기 위한 방안이 절실히 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) KR 1999-009598 A

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명은 전술한 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 일측면은 전분 입자에 대한 효소처리(탈분지)을 통하여 전분 아밀로펙틴의 α -1,6 glycosidic linkage를 끊어 직쇄상 아밀로즈(탈분지 텍스트린)를 생성하고, 알코올 침전을 이용해 서로 다른 분자량(사슬 길이)를 가진 직쇄상 아밀로즈를 분리한 후, 이에 대한 재결정화 처리를 통해 자가조립(self-assembly)을 유도하는 난소화성 텍스트린의 제조방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법은 (a) 전분이 분산된 전분 용액을 준비하는 단계; (b) 상기 전분 용액을 제1 호화시키는 단계; (c) 호화된 상기 전분 용액을 냉각시키는 단계; (d) 직쇄상 아밀로즈(amylose)가 생성되도록, 냉각된 상기 전분 용액에, 상기 전분의 α -1,6 글리코시드 결합(glycosidic linkage)을 제거하는 탈분지 효소를 첨가하여 탈분지 처리하는 단계; (e) 상기 탈분지 효소의 불활성화를 유도하여 상기 탈분지 처리를 종결시키는 단계; (f) 상기 전분 용액으로부터, 불활성화된 상기 탈분지 효소를 제거하는 단계; (g) 상기 직

쇄상 아밀로즈가 침전되도록, 상기 탈분지 효소가 제거된 상기 전분 용액에 알코올을 첨가하는 단계; (h) 상기 알코올이 첨가된 상기 전분 용액으로부터 상기 직쇄상 아밀로즈를 분리하는 단계; (i) 분리된 상기 직쇄상 아밀로즈를 용매에 분산시켜 아밀로즈 용액을 제조하는 단계; (j) 상기 아밀로즈 용액을 제2 호화시키는 단계; 및 (k) 상기 직쇄상 아밀로즈(amylose)가 이중 나선구조로 자가조립되어 재결정화되도록, 상기 아밀로즈 용액을 소정의 반응 온도에서 방치하여 재결정화 처리하는 단계;를 포함한다.

- [0014] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (a) 단계는, 완충 용액 또는 수용액에, 0.1 ~ 40%(w/w)의 농도로 상기 전분을 분산시켜 상기 전분 용액을 제조할 수 있다.
- [0015] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (b) 단계는, 상기 전분 용액을 80 ~ 140℃로 가열하여 호화시킬 수 있다.
- [0016] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (c) 단계는, 상기 전분 용액을 40 ~ 60℃로 냉각할 수 있다.
- [0017] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 탈분지 효소는, 이소아밀라아제(isoamylase), 및 풀루라나아제(pullulanase)로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0018] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (d) 단계에서, 상기 탈분지 효소는, 0.01 ~ 50%(w/w)의 농도로 첨가될 수 있다.
- [0019] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (e) 단계는, 탈분지 처리된 상기 전분 용액을 80 ~ 140℃로 가열하여, 상기 탈분지 효소의 불활성화를 유도할 수 있다.
- [0020] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (f) 단계는, 상기 전분 용액을 원심분리하여, 불활성화된 상기 탈분지 효소를 제거할 수 있다.
- [0021] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (d) 단계에서, 분자량이 서로 다른 상기 직쇄상 아밀로즈가 다수 생성되고, 상기 (g) 단계에서, 상기 직쇄상 아밀로즈는, 상기 알코올의 농도가 높아질수록, 상대적으로 상기 분자량이 큰 순서대로 먼저 침전될 수 있다.
- [0022] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (g) 단계에서, 상기 알코올의 농도는, 30 ~ 90%일 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (g) 단계, 및 상기 (h) 단계를 순차적으로 적어도 2회 이상 반복하여, 상기 직쇄상 아밀로즈를 상기 분자량에 따라 분리할 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (j) 단계는, 상기 아밀로즈 용액을 80 ~ 140℃로 가열하여 호화시킬 수 있다.
- [0025] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (k) 단계에서, 상기 반응 온도는, 4 ~ 90℃일 수 있다.
- [0026] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, 상기 (k) 단계는, 적어도 24시간 이상 상기 아밀로즈 용액을 방치할 수 있다.
- [0027] 또한, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법에 있어서, (1) 재결정화 처리된 상기 아밀로즈 용액으로부터, 텍스트린을 분리하고, 세척한 후, 건조하는 단계;를 더 포함할 수 있다.

[0029] 본 발명의 특징 및 이점들은 첨부도면에 의거한 다음의 상세한 설명으로 더욱 명백해질 것이다.

[0030] 이에 앞서 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이고 사전적인 의미로 해석되어서는 아니 되며, 발명자가 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.

발명의 효과

[0032] 본 발명에 따르면, 전분 입자에 대한 탈분지, 알코올 첨가, 및 재결정화처리를 통하여 고수율로 저항 전분(RS) 함량이 높고, 열 및 효소 안정성이 우수하며, 고결정성을 갖는 난소화성 텍스트린을 제조할 수 있다.

[0033] 또한, 본 발명에 따라 제조한 난소화성 텍스트린은식이섬유, 지방대체제, 코팅제, 보강제 등 의약, 화장품, 식품 신소재, 식품 첨가물 및 화학제품 등 다양한 분야에서 효과적으로 활용될 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린의 제조방법의 순서도이다.

도 2는 탈분지 및 다양한 알코올 농도에 따라 분리된 탈분지 텍스트린의 수율을 나타낸 것이다(50% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린, 60% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 60%에 침전된 탈분지 텍스트린, 70% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 70%에 침전된 탈분지 텍스트린, 80% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린).

도 3은 탈분지 및 다양한 알코올 농도에 따라 분리된 탈분지 텍스트린의 분자량 분포를 나타낸 것이다(50% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린, 60% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 60%에 침전된 탈분지 텍스트린, 70% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 70%에 침전된 탈분지 텍스트린, 80% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린, De WCS : 완전히 탈분지된 찰옥수수전분).

도 4는 탈분지 및 다양한 알코올 농도에 따라 분리된 탈분지 텍스트린의 X-선 회절 분석기(XRD)를 이용한 결정성을 나타낸 것이다(50% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린, 60% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 60%에 침전된 탈분지 텍스트린, 70% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 70%에 침전된 탈분지 텍스트린, 80% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린).

도 5는 탈분지 및 다양한 알코올 농도에 따라 분리된 탈분지 텍스트린의 시차주사열량계(DSC)를 이용한 열적특성을 나타낸 것이다(50% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린, 60% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 60%에 침전된 탈분지 텍스트린, 70% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 70%에 침전된 탈분지 텍스트린, 80% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린).

도 6은 탈분지 및 다양한 알코올 농도로 분리된 탈분지 텍스트린의 재결정화처리에 따른 결정성을 X-선 회절 분석기(XRD)를 이용해 나타낸 것이다(50% : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 재결정화처리, 60% : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 60%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 재결정화처리, 70% : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 70%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 재결정화처리, 80% : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 재결정화처리).

도 7은 탈분지 및 다양한 알코올 농도로 분리된 탈분지 텍스트린의 재결정화처리에 따른 열적특성을 시차주사열량계(DSC)를 이용해 나타낸 것이다(50% : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 재결정화처리, 60% : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 60%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 재결정화처리, 70% : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 70%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 재결정화처리, 80% : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 재결정화처리).

도 8은 재결정화시 탈분지 텍스트린의 분자량, 농도 및 온도에 따른 결정성을 X-선 회절 분석기(XRD)를 이용해 나타낸 것이다(50% PPT-R4℃ : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 4℃ 재결정화처리한 텍스트린, 50% PPT-R50℃ : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 50℃ 재결정화처리한 텍스트린, 80% PPT-R4℃ : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 4℃ 재결정화처리한 텍스트린, 80% PPT-R50℃ : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린 -> 50℃ 재결정화처리한 텍스트린).

도 9는 재결정화시 탈분지 텍스트린의 분자량, 농도 및 온도에 따른 투과 전자 현미경(TEM) 이미지를 나타낸 것이다(50% PPTs(4℃) : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 4℃ 재결정화처리한 텍스트린, 50% PPTs(50℃) : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 50℃ 재결정화처리한 텍스트린, 80% PPTs(4℃) : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 4℃ 재결정화처리한 텍스트린, 80% PPTs(50℃) : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 50℃ 재결정화처리한 텍스트린).

도 10은 재결정화시 탈분지 텍스트린의 분자량, 농도 및 온도에 따른 입자 크기를 나타낸 것이다

(50% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린, 50% 4C : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 4℃ 재결정화처리한 텍스트린, 50% 50C : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 50℃ 재결정화처리한 텍스트린, 80% PPTs : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린, 80% 4C : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 4℃ 재결정화처리한 텍스트린, 80% 50C : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 80%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 50℃ 재결정화처리한 텍스트린).

도 11은 재결정화시 탈분지 텍스트린(50%)의 농도 및 온도에 따른 수율을 나타낸 것이다((5%-50℃ : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 재결정화 (텍스트린 농도 - 5%, 재결정화 온도 50℃), 5%-70℃ : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 재결정화 (텍스트린 농도 - 5%, 재결정화 온도 70℃), 5%-90℃ : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 재결정화 (텍스트린 농도 - 5%, 재결정화 온도 90℃), 10%-50℃ : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 재결정화 (텍스트린 농도 - 10%, 재결정화 온도 50℃), 10%-70℃ : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 재결정화 (텍스트린 농도 - 10%, 재결정화 온도 70℃), 10%-90℃ : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 재결정화 (텍스트린 농도 - 10%, 재결정화 온도 90℃).

도 12는 재결정화시 탈분지 텍스트린(50%)의 농도 및 온도에 따른 결정성을 X-선 회절 분석기(XRD)를 이용해 나타낸 것이다(5%-50P : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 재결정화 (텍스트린 농도 - 5%), 10%-50P : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 재결정화 (텍스트린 농도 - 10%), 50℃ : 재결정화시 재결정화 온도 50℃, 70℃ : 재결정화시 재결정화 온도 70℃, 90℃ : 재결정화시 재결정화 온도 90℃, WCS : 천연 왁스수전분).

도 13은 재결정화시 탈분지 텍스트린(50%)의 농도 및 온도에 따른 열적특성을 시차주사열량계(DSC)를 이용해 나타낸 것이다(5%-50P : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 재결정화 (텍스트린 농도 - 5%), 10%-50P : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합물의 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린 → 재결정화 (텍스트린 농도 - 10%), 50℃ : 재결정화시 재결정화 온도 50℃, 70℃ : 재결정화시 재결정화 온도 70℃, 90℃ : 재결정화시 재결정화 온도 90℃).

도 14는 탈분지 및 알코올 농도 구배 분별법(Gradient Fractionation)을 이용하여 분리된 탈분지 텍스트린의 분자량 분포를 나타낸 것이다(40% G : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 0%→40%에서 침전되는 텍스트린, 50% G : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 40%→50%에서 침전되는 텍스트린, 60% G : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 50%→60%에서 침전되는 텍스트린, 70% G : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 60%→70%에서 침전되는 텍스트린, 80% G : 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 70%→80%에서 침전되는 텍스트린).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술 분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

[0038] 도 1은 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린의 제조방법의 순서도이다.

[0039] 도 1에 도시된 바와 같이, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린 제조방법은 전분이 분산된 전분 용액을 준비하는

단계(S100), 전분 용액을 제1 호화시키는 단계(S200), 호화된 전분 용액을 냉각시키는 단계(S300), 직쇄상 아밀로즈(amylose)가 생성되도록, 냉각된 전분 용액에, 전분의 α -1,6 글리코시드 결합(glycosidic linkage)을 제거하는 탈분지 효소를 첨가하여 탈분지 처리하는 단계(S400), 탈분지 효소의 불활성화를 유도하여 탈분지 처리를 종결시키는 단계(S500), 전분 용액으로부터, 불활성화된 탈분지 효소를 제거하는 단계(S600), 직쇄상 아밀로즈가 침전되도록, 탈분지 효소가 제거된 전분 용액에 알코올을 첨가하는 단계(S700), 알코올이 첨가된 전분 용액으로부터 직쇄상 아밀로즈를 분리하는 단계(S800), 분리된 직쇄상 아밀로즈를 용매에 분산시켜 아밀로즈 용액을 제조하는 단계(S900), 아밀로즈 용액을 제2 호화시키는 단계(S1000), 및 직쇄상 아밀로즈(amylose)가 이중 나선 구조로 자가조립되어 재결정화되도록, 아밀로즈 용액을 소정의 반응 온도에서 방치하여 재결정화 처리하는 단계(S1100)를 포함한다.

[0041] 본 발명은 전분 입자 대한 탈분지, 알코올 첨가, 및 전분 사슬의 재결정화를 이용해 난소화성 텍스트린을 제조하는 방법에 관한 것으로, 전분 입자에 대한 효소처리(탈분지)를 통하여 전분 아밀로펙틴의 α -1,6 glycosidic linkage를 끊어 직쇄상 아밀로즈(탈분지 텍스트린)를 생성하고, 알코올 침전을 이용해 서로 다른 분자량(사슬 길이)를 가진 직쇄상 아밀로즈를 분리한 후, 이에 대한 재결정화 처리를 통해 자가조립(self-assembly)을 유도하여 난소화성 텍스트린을 제조한다.

[0042] 구체적으로, 본 발명에 따른 난소화성 텍스트린의 제조방법은, 전분 용액 준비 단계(S100), 제1 호화 단계(S200), 냉각 단계(S300), 탈분지 처리 단계(S400), 탈분지 처리 종결 단계(S500), 불활성 탈분지 효소 제거 단계(S600), 알코올 첨가 단계(S700), 직쇄상 아밀로즈 분리 단계(S800), 아밀로즈 용액 제조 단계(S900), 제2 호화 단계(S1000), 및 재결정화 처리 단계(S1100)를 포함한다.

[0044] 전분 용액 준비 단계(S100)에서는 전분이 분산된 전분 용액을 준비한다. 여기서, 전분은 일반 옥수수 전분, 찰옥수수 전분, 고아밀로즈 옥수수 전분, 쌀 전분, 찹쌀 전분, 고아밀로즈 쌀 전분, 감자 전분, 찹감자 전분, 고구마 전분, 보리 전분, 찰보리 전분, 콩 전분, 밀 전분, 찰밀 전분, 사고 전분, 아마란스 전분, 타피오카 전분, 수수 전분, 찰수수 전분, 바나나 전분, 녹두 전분, 동부 전분 및 쿠즈 전분으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 이러한 전분을 완충 용액 또는 수용액에 분산시켜 전분 용액을 제조할 수 있다. 이때, 완충 용액의 pH는 3.5 ~ 6.0일 수 있다. 또한, 전분 용액에서 전분의 농도는 0.1 ~ 40%(w/w)일 수 있다.

[0046] 제1 호화 단계(S200)는 전분 용액을 가열하여 그 성질 내지 구조를 변화시키는 공정이다. 여기서, 전분 용액을 80 ~ 140℃로 가열하여 호화시킬 수 있다.

[0048] 냉각 단계(S300)는 가열된 상기 전분 용액을 냉각시키는 공정으로서, 일례로 전분 용액을 40 ~ 60℃로 냉각할 수 있다.

[0050] 탈분지 처리 단계(S400)는 호화되고 냉각된 전분 용액에 탈분지 효소를 첨가하는 공정이다. 탈분지 효소의 첨가에 의해 전분, 특히 그 주요 성분인 아밀로펙틴(amylopectin)의 α -1,6 글리코시드 결합(glycosidic linkage)이 제거되고, 이에 의해 직쇄상 아밀로즈(amylose), 즉 탈분지 텍스트린이 생성된다. 여기서, 생성되는 직쇄상 아밀로즈는 다수 개로, 그 길이에 따라 서로 다른 분자량을 가질 수 있다.

[0051] 탈분지 효소는 이소아밀라아제(isoamylase), 및 풀루라나아제(pullulanase)로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나 이상을 포함할 수 있다. 또한, 탈분지 효소는 0.01 ~ 50%(w/w)의 농도로 첨가될 수 있다. 탈분지 효소의 첨가에 따른 효소가수분해 반응은 대략 1 ~ 72시간 정도 진행될 수 있다.

[0053] 탈분지 처리 종결 단계(S500)는 상기 효소가수분해 반응을 종료시키는 공정으로서, 탈분지 효소의 불활성화를 유도하여 탈분지 처리를 종결한다. 여기서, 탈분지 효소는 고온 처리를 통해 불활성화될 수 있고, 일례로 전분 용액을 80 ~ 140℃로 가열하여 탈분지 처리를 종결할 수 있다.

- [0055] 불활성 탈분지 효소 제거 단계(S600)에서는 탈분지 처리가 종결되어 불활성화된 탈분지 효소를 제거한다. 일례로, 전분 용액을 원심분리하여, 불활성화된 탈분지 효소를 제거할 수 있다. 다만, 탈분지 효소의 제거방법이 반드시 원심분리에 한정되는 것은 아니고, 모든 공지의 수단을 통해서 탈분지 효소를 제거해도 무방하다.
- [0057] 알코올 첨가 단계(S700)는 탈분지 효소가 제거된 전분 용액에 알코올을 첨가하는 공정이다. 여기서, 직쇄상 아밀로즈(탈분지 텍스트린)가 전분 용액 내에 침전된다. 직쇄상 아밀로즈는 그 길이(분자량)에 따라, 알코올의 농도에 대한 용해도가 상이하다. 즉, 분자량이 상대적으로 큰 직쇄상 아밀로즈는 저농도의 알코올에 대한 용해도가 낮아서 침전되고, 분자량이 작은 직쇄상 아밀로즈는 고농도의 알코올에 대한 용해도가 낮아서 침전된다. 결국, 직쇄상 아밀로즈는, 알코올의 농도가 높아질수록, 상대적으로 분자량이 큰 순서대로 먼저 침전될 수 있다. 여기서, 탈분지 효소가 제거되고 직쇄상 아밀로즈가 함유된 전분 용액 내 알코올의 농도는 30 ~ 90%일 수 있다.
- [0059] 직쇄상 아밀로즈 분리 단계(S800)는 탈분지 텍스트린을 분리하는 공정으로서, 알코올이 첨가된 전분 용액으로부터 침전된 직쇄상 아밀로즈를 분리 수득한다. 일례로, 알코올이 첨가된 전분 용액을 원심분리하여 직쇄상 아밀로즈, 즉 탈분지 텍스트린을 분리할 수 있다. 직쇄상 아밀로즈가 분리되면, 이를 알코올, 아세톤 등으로 세척하고, 건조할 수 있다.
- [0060] 여기서, 알코올 첨가 단계(S700), 및 직쇄상 아밀로즈 분리 단계(S800)를 순차적으로 적어도 2회 이상 반복할 수 있다. 이때, 반복되는 알코올 첨가 단계(S700)에 의해 알코올의 농도는 높아지게 되므로, 1회의 알코올 첨가 단계(S700), 및 직쇄상 아밀로즈 분리 단계(S800)를 통해 상대적으로 분자량이 큰 직쇄상 아밀로즈가 분리 수득되고, 그 다음 회의 알코올 첨가 단계(S700), 및 직쇄상 아밀로즈 분리 단계(S800)를 통해 1회 때보다 상대적으로 분자량이 작은 직쇄상 아밀로즈가 분리 수득될 수 있다. 결국, 알코올 농도 구배분별법을 통해 서로 다른 분자량을 가지는 탈분지 텍스트린끼리 분별하여 수득할 수 있다.
- [0062] 아밀로즈 용액 제조 단계(S900)는 분리 수득된 직쇄상 아밀로즈를 용매에 분산시키는 공정이다. 사용 가능한 용매로서, 증류수를 예로 들 수 있지만, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0064] 제2 호화 단계(S1000)는 아밀로즈 용액을 가열하여 호화시키는 공정으로서, 80 ~ 140℃로 가열하여 호화시킬 수 있다. 이때, 호화에 소요되는 시간은 10 ~ 30분일 수 있지만, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0066] 재결정화 처리 단계(S1100)는 직쇄상 아밀로즈의 재결정을 유도하는 공정이다. 여기서, 아밀로즈 용액을 소정의 반응 온도에서 방치한다. 이때, 반응 온도는 4 ~ 90℃일 수 있다. 또한, 재결정화 처리 기간은 적어도 24시간 이상, 바람직하게는 1일 내지 30일이 적합하다. 결정화 과정에서, 직쇄상 아밀로즈들이 이중 나선구조로 자기조립되어 재결정화된다.
- [0068] 한편, 재결정화 처리 단계(S1100)이후에는, 재결정화 처리된 아밀로즈 용액으로부터 원심분리 등의 방법으로 텍스트린을 분리할 수 있다. 또한, 분리된 텍스트린을 증류수 등을 이용해 수회에 걸쳐 세척함으로써, 재결정화에 참여하지 않은 전분 사슬, 및 탈분지 효소 등을 제거할 수 있다. 세척 후에는 건조 단계를 추가적으로 진행할 수 있다. 건조 방법의 예로, 열풍건조, 동결건조, 감압건조, 자연건조, 진공건조, 매물건조, 스프레이건조법 등을 들 수 있다.
- [0070] 전술한 탈분지, 알코올의 농도, 재결정화시 탈분지 텍스트린의 분자량·농도·온도 등에 의해 수율, 저항 전분(RS) 함량, 결정성, 열 안정성 등이 결정되는데, 이에 대해서는 실시예를 통해 상세하게 설명한다.
- [0071] 이하에서는 실시예 및 실험예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명

을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[0073] 실시예. 탈분지 및 다양한 알코올 농도로 침전된 탈분지 텍스트린의 분리

[0074] 다양한 전분을 탈분지 및 다양한 농도로 알코올 침전하여 다양한 분자량을 가진 전분의 사슬을 분리하였다. 탈분지에 사용한 효소는 이소아밀라아제(α-amylase) 및 풀루라나아제(pullulanase)를 사용하였다. 아밀로즈함량이 거의 없는 찹옥수수전분을 사용하여 호화 및 탈분지 후 알코올 침전법을 이용하여 서로 다른 분자량을 가진 탈분지 텍스트린을 분리하였다. 전분의 탈분지에 사용된 효소는 이소아밀라아제(α-amylase)이며, 탈분지된 전분 텍스트린 용액은 알코올(99%)을 이용하여 다양한 농도의 전분 텍스트린-알코올 혼합물(알코올 농도 : 50 ~ 80%)을 제조하여 탈분지된 텍스트린 사슬을 분리하였다.

[0076] 실시예 1. 탈분지 및 다양한 알코올 농도로 분리된 탈분지 텍스트린의 제조

[0077] 찹옥수수전분 (waxy maize starch, samyang genex, korea) 10g을 pH가 4.5인 0.01M의 아세트산나트륨완충용액 200mL로 전분 슬러리를 제조하였다. 상기 슬러리를 100℃의 온도에서 충분히 호화시키고, 호화된 전분 슬러리는 40℃로 진탕항온수조에서 탈분지 효소반응을 진행하였다. 이소아밀라아제(α-amylase)는 전분중량대비 1% (150 Unit/mL)를 첨가하여 탈분지 효소 반응을 유도하였고, 탈분지 효소처리반응은 24시간 동안 진행하여 직쇄상 아밀로즈(탈분지 텍스트린)의 생성을 최대화시켰다. 상기 반응 후, 탈분지 효소 처리한 전분 텍스트린 용액은 효소처리반응을 종결시키기위해 중탕가열하여 효소 불활성화를 유도하고, 이후 3,500rpm에서 10분간 원심분리하여 불활성화된 효소를 제거하였다. 이후, 탈분지 효소 반응으로 생성된 탈분지 텍스트린 용액을 알코올 침전법을 이용하여 다양한 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도(50% ~ 80%)로 침전시켰다. 다양한 알코올 농도에서 침전된 탈분지 텍스트린-알코올 현탁액을 3500rpm에서 10분간 원심분리하고 알코올과 아세톤으로 세척 및 건조하여 침전된 탈분지 텍스트린을 수득하였다.

[0079] 시험예 1-1. 탈분지 및 다양한 알코올 농도로 분리된 탈분지 텍스트린의 수율

[0080] 상기 실시예 1과 같이 제조하여 수득한 탈분지 텍스트린의 수율은 아래와 같이 나타내었다. 탈분지 및 다양한 알코올 농도에 따라 침전된 텍스트린의 수율은 수득된 건물 중량을 초기 천연 찹옥수수전분 10g에 대한 건물 중량값으로 수율을 나타내었다.

Fractionated debranched dextrin weight

X 100 = Yields (%)

Initial starch weight

[0082] 탈분지 및 다양한 알코올 농도에 따라 침전하여 분리된 탈분지 텍스트린의 수율은 도 2 및 하기 표 1에 나타내었다. 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도 50%에서 24.44%에서 60%(43.33%), 70%(78.89%) 및 80%(92.78%)로 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 증가함에 따라 수득된 탈분지 텍스트린의 양이 증가하였다. 이는 탈분지 텍스트린(직쇄상 아밀로즈)의 길이(분자량)에 따라 알코올 농도에 따른 용해도가 달라지는 것으로 사료된다.

표 1

Yields (%)	
50% PPTs	24.44 ± 1.57
60% PPTs	43.33 ± 1.08
70% PPTs	78.89 ± 1.38
80% PPTs	92.78 ± 0.79

[0083]

[0085] 시험예 1-2. 탈분지 및 다양한 알코올 농도로 분리된 탈분지 텍스트린의 크로마토그램

[0086] 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도에 따라 침전된 탈분지 텍스트린의 분자량은 HPSEC-RI (Agilent 1260)를 이용하여 확인하였다. 컬럼은 TSK gel 3000을 사용하였고, 이동상은 0.15M NaNO₃를 사용하여 0.5mL/min의 속도로 흘려주었다. 컬럼의 온도는 50도 RI detector의 온도는 35도에서 분리, 분석하였다. 분자량 측정을 위해 사용한 표준물질로는 풀루란(Pullulan standard, 47,300, 22,800, 11,800, 5,900, 667)을 사용하였다.

[0087] 도 3에서 실시예 1에 따라 제조된 탈분지 텍스트린의 HPSEC-RI 크로마토그램을 나타내었다. 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 증가함에 따라 상대적으로 분자량이 큰 Fr. I의 부분은 감소하고, 분자량이 작은 분포를 가지는 Fr. II의 부분은 증가하는 경향을 보였다. 상기 결과는 탈분지 텍스트린의 분자량이 클수록 낮은 농도의 알코올에 대한 용해도가 낮아져 침전되고, 알코올의 농도가 증가함에 따라 분자량이 작은 탈분지 텍스트린의 용해도가 낮아져 알코올에 의해 침전된 것으로 상기 시험예 1-1.의 수율 결과와 상관관계가 있다고 사료된다.

[0089] 시험예 1-3. 탈분지 및 다양한 알코올 농도로 분리된 탈분지 텍스트린의 결정성

[0090] X-선 회절 분석기(XRD)를 이용하여 탈분지 및 알코올 침전에 의해 분리된 탈분지 텍스트린의 결정성을 측정하였다. 40kV, 30mA의 조건에서 1.5°C/min의 속도로 5°에서 35°까지 측정하였다.

[0091] 상기 실시예 1에 따라 제조된 탈분지 텍스트린의 결정성을 도 4에 나타내었다. 알코올 침전법을 이용하여 침전시킨 탈분지 텍스트린의 경우 전형적인 V-type의 결정성을 나타내었고, V-type의 결정성은 탈분지된 텍스트린(직쇄상 아밀로즈)이 알코올과의 amylose-alcohol complexation 반응을 통해 생성된 것으로 사료된다. 알코올 침전법에 의해 생성된 탈분지 텍스트린-알코올 침전된 탈분지 텍스트린의 V-type의 결정은 RS 5형으로 분류되고 있다.

[0093] 시험예 1-4. 탈분지 및 다양한 알코올 농도로 분리된 탈분지 텍스트린의 열적특성

[0094] 탈분지 및 알코올 침전에 의해 분리된 텍스트린의 열적특성은 시차주사열량계(DSC, seico)를 이용하여 측정하였다. 시료 3.0mg을 DSC 팬(pan)에 담은 후 증류수 7.0mg을 가하여 밀봉하였다. 밀봉된 팬은 4°C 냉장고에서 12시간 이상 방치하여 수분과 시료 사이에 평형을 이루게 하였다. DSC 분석 조건은 20 ~ 150°C, 5°C/min이었다.

[0095] 도 5에서는 탈분지 및 다양한 알코올 농도에 따라 침전된 텍스트린의 열적특성을 DSC를 이용하여 확인하였다. 탈분지 텍스트린-알코올 용액의 알코올 농도가 증가할수록 To(호화시작온도), Tp(호화피크온도) 및 Tc(호화종결온도)가 낮아짐을 확인하였다. 이는 상기 시험예 1-1 및 1-2.에서 알코올 농도가 증가할수록 탈분지 텍스트린의 수율 증가 및 탈분지 텍스트린의 평균 분자량(평균 사슬길이)은 작아지는 경향과 상관관계가 있다고 생각되며, 탈분지 텍스트린의 평균 분자량이 작아질수록(알코올 농도가 증가) DSC에서 열에 대한 안정성이 낮아지는 것을 확인하였다. Amylose-alcohol complexation에 의해 열적특성이 매우 높아진 것으로 생각되며, 이러한 열적특성은 시험예 1-2의 결과와 같이 분리된 탈분지 텍스트린의 분자량과 매우 높은 연관성을 나타냄을 확인하였다.

[0097] **실시예 2. 탈분지 및 다양한 알코올 농도로 분리된 탈분지 텍스트린의 재결정화**

[0098] 상기 실시예 1에서 제조된 탈분지 텍스트린을 재결정화(recrystallization) 하였다. 재결정화시 탈분지 텍스트린의 농도는 5% 및 50℃ 온도 조건에서 5일간 진행하였다. 상기 실시예 1에서 다양한 알코올 농도로 분리한 탈분지 텍스트린을 증류수에 분산시키고, 가압멸균처리기(autoclave)를 이용하여 132℃에서 20분간 처리하여 완전히 호화시켰고, 50℃의 중탕수조(water-bath)에서 탈분지 텍스트린의 자가조립(self-assembly)을 통해 이중나선 구조(double helix)로의 재결정화 반응을 5일간 유도하였다. 재결정화된 탈분지 텍스트린은 원심분리를 이용하여 재결정화 탈분지 텍스트린을 분리하고 증류수로 세척하고 냉각하여 동결건조하였다.

[0100] **시험예 2-1. 재결정화된 탈분지 텍스트린의 결정성 (XRD)**

[0101] X-선 회절 분석기(XRD)를 이용하여 탈분지 및 다양한 알코올 농도로 침전된 탈분지 텍스트린의 결정성을 측정하였다. 40kV, 30mA 의 조건에서 1.5℃/min 의 속도로 5° 에서 35° 까지 측정하였다.

[0102] 도 6에 상기 실시예 2의 방법에 따라 제조된 재결정화 탈분지 텍스트린의 결정성을 나타내었다. 알코올 농도 50%~80%에서 침전된 탈분지 텍스트린을 5%의 농도로 50℃에서 재결정화시 다양한 결정 패턴을 보였다. 재결정화시 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도 50%에서 침전된 텍스트린의 경우 전형적인 B-type의 결정성을 나타내었으며, 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 높아짐에 따라 침전된 텍스트린의 결정성이 A-type으로 변화함을 확인하였다. 상기 시험예 1-2에서 확인했듯이 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도에 따라 침전된 탈분지 텍스트린(직쇄상 아밀로즈)의 분자량 분포가 달라 재결정화시 참여하는 탈분지 텍스트린의 분자량(사슬길이)이 재결정화의 결정패턴에 영향을 준 것으로 사료된다.

[0104] **시험예 2-2. 재결정화된 탈분지 텍스트린의 열적특성 (DSC)**

[0105] 재결정화 탈분지 텍스트린의 열적특성은 시차주사열량계(DSC, seico)를 이용하여 측정하였다. 시료 3.0mg을 DSC 팬(pan)에 담은 후 증류수 7.0mg을 가하여 밀봉하였다. 밀봉된 팬은 4℃ 냉장고에서 12시간 이상 방치하여 수분과 시료 사이에 평형을 이루게 하였다. DSC 분석 조건은 20 ~ 150℃, 5℃/min 이었다.

[0106] 도 7에 상기 실시예 2의 방법에 따라 제조된 재결정화 탈분지 텍스트린의 열적특성을 나타내었다. 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도 50%로 침전된 탈분지 텍스트린을 재결정화시 To(호화개시온도)가 110℃ 이상인 높은 열안정성을 보였고, 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 높아질수록 To(호화개시온도)가 낮아지는 경향을 보였다. 탈분지 텍스트린을 침전시 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올의 농도가 상기 시험예 1-2에서 확인했듯이 분자량 분포와 상관관계가 있고, 재결정화시 결정성 및 열적특성과도 연관이 있음을 확인하였다. 또한, 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 증가함에 따라 To(호화개시온도), Tp(호화피크온도) 및 Tc(호화종결온도)가 낮아짐을 확인하였다. 이는 탈분지 텍스트린의 자가조립을 통해 이중결합나선으로 재결정화시 열적특성은 재결정화에 참여하는 탈분지 텍스트린의 분자량과 깊은 상관관계가 있다고 사료된다.

[0108] **실시예 3. 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도(50 및 80%)로 분리된 탈분지 텍스트린의 재결정화**

[0109] 실시예 1에서 제조된 탈분지 텍스트린 중 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도(50 및 80%)에서 침전된 탈분지 텍스트린을 재결정화 하였다. 재결정화시 탈분지 및 알코올농도 (50% 및 80%)로 침전된 탈분지 텍스트린의 농도(10% 및 30%) 및 온도 (4 및 50℃) 조건에서 진행하였다. 탈분지 및 알코올 농도에서 침전된 탈분지 텍스트린을 증류수에 분산시키고, 가압멸균처리기를 이용하여 132℃에서 20분간 처리하였다. 처리한 시료는 4 및 50℃의 중탕수조에서 재결정화 반응을 5일간 유도하였다. 재결정화된 탈분지 텍스트린은 원심분리를 이용하여 재결정화 탈분지 텍스트린을 분리하고 증류수로 세척하고 냉각하여 동결건조하였다.

[0111] **시험예 3-1. 재결정화시 탈분지 텍스트린의 분자량, 농도 및 온도에 따른 결정성 (XRD)**

[0112] X-선 회절 분석기(XRD)를 이용하여 상기 실시예 3.의 방법에 따라 재결정화된 탈분지 텍스트린의 결정성을 측정

하였다. 재결정화된 탈분지 텍스트린은 40kV, 30mA 의 조건에서 1.5℃/min 의 속도로 5° 에서 35° 까지 측정하였다.

[0113] 도 8에 재결정화시 탈분지 텍스트린의 평균 분자량(50 및 80%), 탈분지 텍스트린의 농도(10 및 30%) 및 재결정화 온도(4 및 50℃)에 따른 결정성을 나타내었다. 재결정화시 탈분지 텍스트린의 농도(10 및 30%)에 따른 결정성의 패턴(알코올 농도 50% : B-type 및 알코올 농도 80% : A-type)은 일치하였지만, 탈분지 텍스트린의 분자량(50 및 80%)에 따라 제조한 재결정 텍스트린의 결정성의 패턴은 상이하였다. 탈분지 텍스트린을 50% 알코올 농도로 침전된 텍스트린의 경우에는 전형적인 B-type의 결정성을 나타내었지만, 80% 알코올 농도로 침전된 텍스트린의 경우에는 전형적인 A-type의 결정성을 나타내었고, 탈분지 텍스트린의 농도 및 재결정화 온도가 높아짐에 따라 상대적인 결정성(relative crystallinity)가 증가하는 경향을 보였다. 재결정화시 참여하는 탈분지 텍스트린의 사슬길이가 길어질수록(평균분자량이 클수록) 자가조립하여 이중나선구조를 이룰 때 느슨하게 결합(loosely packed)하여 B-type의 결정성을 보이며, 반대의 경우엔 뭉뭉하게 결합(densely packed)하여 A-type의 결정성을 보이는 것으로 사료된다.

[0115] 시험예 3-2. 재결정화시 탈분지 텍스트린의 분자량, 농도 및 온도에 따른 열적특성 (DSC)

[0116] 상기 실시예 3의 방법에 따라 재결정화된 탈분지 텍스트린의 열적특성은 시차주사열량계(DSC, seico)를 이용하여 측정하였다. 시료 3.0mg을 DSC 팬(pan)에 담은 후 증류수 7.0mg을 가하여 밀봉하였다. 밀봉된 팬은 4℃ 냉장고에서 12시간 이상 방치하여 수분과 시료 사이에 평형을 이루게 하였다. DSC 분석 조건은 20 ~ 150℃, 5℃/min 이었다. 하기 표 2에 재결정화시 탈분지 텍스트린의 분자량, 농도 및 온도에 따른 DSC 열적특성을 나타내었다. 알코올 농도 50%에서 침전된 탈분지 텍스트린의 경우 재결정화 온도에 따른 To(호화개시온도), Tp(호화피크온도), Tc(호화종결온도)가 알코올 농도 80%에서 침전된 탈분지 텍스트린보다 높은 열적 특성을 보였다. 50% 알코올 농도로 침전된 탈분지 텍스트린의 재결정화 온도(4 및 50℃)에 따른 열적특성은 큰 차이를 보이지 않았지만, 80% 알코올 농도로 침전된 탈분지 텍스트린의 경우에는 50℃에서 재결정화시 높은 열적 특성(To, Tp, Tc)을 보였다. 이는 상기 시험예 1-2의 결과에서 확인했듯이, 탈분지 텍스트린의 사슬구조에 따라(분자량) 열적특성이 변화하는 것으로 사료되며, 시험예 2-2와 같은 경향성을 보였다.

표 2

Samples						
EtOH	Starch Concentration (%)	Recrystallization Temperature (°C)	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH (J/g)
50% PPTs	50% PPTs		99.50 ± 0.80 ^d	111.55 ± 0.25 ^c	123.55 ± 0.55 ^c	9.41 ± 0.17 ^e
	10	4	106.2 ± 1.10 ^e	122.25 ± 0.25 ^f	135.40 ± 0.20 ^f	9.33 ± 0.28 ^c
		50	112.25 ± 5.65 ^b	125.80 ± 0.10 ^b	135.30 ± 0.20 ^f	8.01 ± 0.24 ^b
		4	111.25 ± 0.75 ^e	125.75 ± 0.15 ^b	133.20 ± 0.20 ^e	4.30 ± 0.31 ^a
		50	111.90 ± 0.10 ^{ab}	124.65 ± 0.15 ^a	134.85 ± 0.55 ^f	3.94 ± 0.32 ^a
	80% PPTs		71.40 ± 0.60 ^b	89.15 ± 0.35 ^b	101.85 ± 0.65 ^a	17.7 ± 0.83 ^a
	10	4	65.10 ± 0.50 ^a	85.85 ± 0.25 ^a	104.65 ± 0.65 ^b	13.23 ± 0.17 ^c
		50	109.62 ± 0.41 ^f	118.20 ± 0.20 ^e	132.35 ± 0.25 ^d	4.39 ± 0.01 ^a
80% PPTs	30	4	65.05 ± 0.25 ^a	86.15 ± 0.15 ^a	102.35 ± 0.05 ^a	12.47 ± 0.11 ^d
		50	96.10 ± 0.40 ^c	115.05 ± 0.35 ^d	136.45 ± 0.15 ^a	16.10 ± 0.04 ^f

[0117]

[0119] 시험예 3-3. 재결정화시 탈분지 텍스트린의 농도 및 온도에 따른 소화특성

[0120] Englyst 등의 방법 (Classification and measurement of nutritionally important starch fraction, Eur J Clin Nutr. 1992, 46, Suppl 2:S33-50)을 약간 수정하여 RDS, SDS, RS 함량을 측정하였다. 재결정화 탈분지 텍스트린 분산액을 37℃ 항온 수조에서 판크레아틴(pancreatin)과 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase)를 사용하여 총 120분까지 소화시켰다. 소화과정 중 20분, 120분에 일정량의 시료를 취한 후 에탄올을 첨가하여 소화효소를 불활성화시켰다. GOD-POD 키트를 사용하여 상기 용액의 포도당 농도를 측정하였다. RDS는 20분 소화 후

방출되는 포도당 함량, SDS: 20~120분 동안 방출되는 포도당 함량, RS는 총당-RDS-SDS을 의미한다.

[0121] 하기 표 3 및 표 4에 천연 찹옥수수전분, 알코올 침전된 탈분지 텍스트린, 재결정화 탈분지 텍스트린의 소화특성을 나타내었다(표 3은 10% 농도 재결정 소화특성, 표 4는 30% 농도 재결정 소화특성). 평균 분자량이 다른 탈분지 텍스트린(50 및 80℃), 재결정화 탈분지 텍스트린 농도(10 및 30%) 및 재결정화 온도(4 및 50℃)에 따른 소화특성을 나타내었다. 천연 찹옥수수전분의 경우 53.45%의 RDS, 44.25%의 SDS 및 2.30%의 RS의 소화특성을 나타내었다. 평균분자량이 다른 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 50% 및 80% 농도로 침전된 탈분지 텍스트린(RS 5형)의 경우에는 각각 36.25%, 57.14%의 RDS, 40.58%, 38.86%의 SDS, 23.16%, 4.00%의 RS를 나타내었다. 재결정화시 RDS 및 SDS의 함량은 낮아지고 RS의 함량이 높아지는데, RS의 함량 증가는 재결정화 온도 및 탈분지 텍스트린의 농도가 증가 및 재결정화에 참여하는 탈분지 텍스트린의 분자량이 높아짐에 따라 RS의 함량이 높은 경향을 보였다.

표 3

Sample	Recrystallization Temperatures	RDS (%)	SDS (%)	RS (%)
WCS	-	53.45 ± 0.71	44.25 ± 2.21	2.30 ± 2.11
50P	-	36.25 ± 2.54	40.58 ± 0.19	23.16 ± 2.35
50P-10%	4	3.16 ± 0.88	10.38 ± 0.09	86.46 ± 0.98
50P-10%	50	1.03 ± 0.07	6.55 ± 1.54	92.42 ± 1.48
80P	-	57.14 ± 2.30	38.86 ± 1.16	4.00 ± 1.14
80P-10%	4	26.48 ± 1.16	23.62 ± 0.14	49.90 ± 1.30
80P-10%	50	22.59 ± 0.51	32.11 ± 1.94	45.30 ± 2.46

[0122]

표 4

Sample	Recrystallization Temperatures	RDS (%)	SDS (%)	RS (%)
WCS	-	53.45 ± 0.71	44.25 ± 2.21	2.30 ± 2.11
50P	-	36.25 ± 2.54	40.58 ± 0.19	23.16 ± 2.35
50P-30%	4	0.64 ± 0.09	3.03 ± 0.12	96.33 ± 0.21
50P-30%	50	0.63 ± 0.02	1.58 ± 0.17	97.79 ± 0.19
80P	-	57.14 ± 2.30	38.86 ± 1.16	4.00 ± 1.14
80P-30%	4	18.30 ± 1.09	21.64 ± 1.46	60.06 ± 2.55
80P-30%	50	9.82 ± 1.90	9.82 ± 0.09	80.36 ± 1.99

[0123]

[0125] 시험예 3-4. 재결정화된 탈분지 텍스트린의 입자 형태 및 크기

[0126] 입자 분석기 (Malvern instrument Ltd. Worcestershire, UK.)를 이용하여 실시예 3에서 제조한 재결정화 탈분지 텍스트린의 입자 사이즈를 측정하였고, 투과전자현미경 (Philips, Tecnai 12)을 이용하여 재결정화 탈분지 텍스트린의 입자 형태를 관찰하였다. 상기 실시예 3에 따라 제조된 재결정화 탈분지 텍스트린을 우라닐 아세테이트로 염색한 후 관찰하였다.

[0127] 도 9 및 도 10에 재결정화 탈분지 텍스트린의 입자 형태 및 입자 크기를 나타내었다. 탈분지 텍스트린의 분자량 및 재결정화 온도에 따라 재결정 탈분지 텍스트린의 형태는 큰 차이를 보이지 않았고, 입자 크기는 200~300nm의 크기를 가진 불균일한 입자로 확인하였다.

[0129] 실시예 4. 탈분지 및 알코올 농도(50%)로 분리된 탈분지 텍스트린의 재결정화

[0130] 탈분지 및 알코올 농도(50%)에서 침전된 탈분지 텍스트린을 재결정화 하였다. 재결정화시 탈분지 및 알코올 농도(50%)로 침전된 탈분지 텍스트린의 농도(5% 및 10%) 및 온도 (50, 70 및 90℃) 조건에서 진행하였다. 탈분지 및 알코올 농도(50%)에서 침전된 탈분지 텍스트린을 증류수에 분산시키고, 가압멸균처리를 이용하여 132℃에서 20분간 처리하였다. 처리한 시료는 50, 70 및 90℃의 중탕수조에서 재결정화 반응을 5일간 유도하였다. 재결정화된 탈분지 텍스트린은 원심분리를 이용하여 재결정화 탈분지 텍스트린을 분리하고 증류수로 세척하고 냉각하여 동결건조하였다.

[0132] 시험예 4-1. 탈분지 및 알코올 농도(50%)로 분리된 탈분지 텍스트린의 재결정화의 수율

[0133] 상기 실시예 4와 같이 제조하여 수득한 재결정화 텍스트린의 수율은 아래와 같이 나타내었다. 탈분지 및 알코올 농도(50%)에 침전된 텍스트린의 재결정화 수율은 수득된 건물 중량을 초기 알코올 농도 50%에 침전된 탈분지 텍스트린에 대한 건물 중량값으로 수율을 나타내었다.

$$\frac{\text{Recrystallized fractionated debranched dextrin}}{\text{Fractionated debranched dextrins}} \times 100 = \text{Yields (\%)}$$

[0134]

[0135] 도 11 및 표 5에 탈분지 및 50% 알코올 농도로 탈분지 텍스트린을 분리하고, 분리한 탈분지 텍스트린의 농도를 5% 및 10%로 재결정화 온도는 50, 70 및 90℃에서 재결정화한 텍스트린의 수율을 나타내었다. 분리한 텍스트린의 농도 5%로 50, 70 및 90℃에서 재결정화시 50℃에서 92.85%, 70℃에서 63.19% 및 90℃에서 34.59%의 수율을 나타내었으며, 재결정화 온도가 50℃→90℃로 높아짐에 따라 수율은 감소하는 경향을 보였으며, 재결정화시 탈분지 텍스트린의 농도 10%에서도 비슷한 경향을 나타내었다. 재결정화시 탈분지 텍스트린의 농도 10%의 경우, 50℃에서 97.50%, 70℃에서 94.46%, 90℃에서 43.53%의 수율을 나타내었으며, 분리한 탈분지 텍스트린의 농도가 높아짐에 따라 재결정화되어 수득되는 텍스트린의 양이 증가함을 확인하였다.

표 5

Samples	Yields
5%-50°C	92.85 ± 1.13
5%-70°C	63.19 ± 2.22
5%-90°C	34.59 ± 0.47
10%-50°C	97.50 ± 0.26
10%-70°C	94.46 ± 0.35
10%-90°C	43.53 ± 0.69

[0136]

[0138] 시험예 4-2. 재결정화 탈분지 텍스트린의 농도 및 온도에 따른 결정성 (XRD)

[0139] X-선 회절 분석기(XRD)를 이용하여 재결정화 탈분지 텍스트린의 결정성을 측정하였다. 40kV, 30mA 의 조건에서 1.5℃/min 의 속도로 5° 에서 35° 까지 측정하였다.

[0140] 도 12에 실시예 4에 따라 제조된 재결정화 탈분지 텍스트린의 농도 및 온도에 따른 결정성을 나타내었다. 재결정화처리 후 텍스트린의 결정성은 재결정화 온도에 따라 A-type(70℃) 또는 B-type(50 및 90℃)의 결정성을 확인하였다. 50℃ 및 90℃ 재결정화시 전형적인 B-type의 결정성을 보였으며, 70℃에서 재결정화시 A-type의 결정성을 보였다. 또한, 상대적인 결정성(relative crystallinity)에서도 5%의 농도에서 10%의 농도보다 더 높은 결정성을 나타내었다.

[0142] **시험예 4-3. 재결정화시 탈분지 텍스트린의 농도 및 온도에 따른 열적특성 (DSC)**

[0143] 실시예 4에 따라 제조된 재결정화 탈분지 텍스트린의 열적특성은 시차주사열량계(DSC, seico)를 이용하여 측정하였다. 시료 3.0mg을 DSC 팬(pan)에 담은 후 증류수 7.0mg을 가하여 밀봉하였다. 밀봉된 팬은 4℃ 냉장고에서 12시간 이상 방치하여 수분과 시료 사이에 평형을 이루게 하였다. DSC 분석 조건은 20 ~ 150℃, 5℃/min 이었다.

[0144] 도 13에 재결정화 탈분지 텍스트린의 농도 및 재결정화 온도에 따른 열적특성을 나타내었다. 재결정화 텍스트린의 열적특성은 재결정화 온도(50, 70 및 90℃)에 따라 차이를 보였다. 재결정화 온도 50 및 70℃에서 재결정화한 알코올 농도 50%에서 침전된 탈분지 텍스트린의 열안정성은 호화개시온도(T_0)가 120℃ 이상으로 측정된 반면, 90℃에서 재결정화시 100℃ 이하에서 호화개시온도(T_0)가 측정됨을 확인하였다. 이는 70℃에서 재결정화시 열에 매우 안정한 형태를 보였으며, 70℃에서 재결정화시 탈분지 텍스트린이 자가조립(self-assembly)에 의해 뻥뻥한 이중나선구조(double helix)를 통해 결정을 생성하여 높은 열안정성을 보이는 것으로 사료된다.

[0146] **시험예 4-4. 재결정화시 탈분지 텍스트린의 농도 및 온도에 따른 소화특성**

[0147] Englyst 등의 방법 (Classification and measurement of nutritionally important starch fraction, Eur J Clin Nutr. 1992, 46, Suppl 2:S33-50)을 약간 수정하여 RDS, SDS, RS 함량을 측정하였다. 전분의 호화는 소화율에 큰 영향을 미치기 때문에 호화되지 않은 시료(탈분지, 알코올 침전 및 재결정화 처리하여 제조된 텍스트린)의 소화율과 호화한 후의 소화율을 분석하였다. 실험을 위해 시료를 완충용액에 분산하였고, 상기 분산액을 100℃에서 15분간 열처리한 것과 하지 않은 것 모두 분석하였다. 상기 100℃에서 15분간 열처리한 전분 분산액과 열처리 하지 않은 전분 분산액을 37℃ 항온 수조에서 판크레아틴(pancreatin)과 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase)를 사용하여 총 120분까지 소화시켰다. 소화과정 중 20분, 120분에 일정량의 시료를 취한 후 에탄올을 첨가하여 소화 효소를 불활성화시켰다. GOD-POD 키트를 사용하여 상기 용액의 포도당 농도를 측정하였다. RDS는 20분 소화 후 방출되는 포도당 함량, SDS: 20~120분 동안 방출되는 포도당 함량, RS는 총당-RDS-SDS를 의미한다.

[0148] 하기 표 6 및 표 7에 50% 알코올 침전된 탈분지 텍스트린을 재결정화처리 온도 및 농도에 따른 소화특성을 나타내었다(표 6은 열처리 하지 않은 경우, 표 7은 열처리한 경우). 열처리한 텍스트린의 경우 재결정화 온도 및 농도에 따라 큰 차이를 보이지 않았고, RS함량은 96.69% ~ 99.09%로 매우 높은 RS의 함량을 보였다. 또한, 재결정화 텍스트린을 100℃에서 15분간 열처리 후 측정된 소화특성에서도 94.61 ~ 96.06%의 높은 RS 함량을 보였다. 이는 상기 시험예 1-2 및 4-3과 상관관계가 있다고 생각된다.

표 6

Sample Conc.	Recrystallization Temp.	RDS (%)	SDS (%)	RS (%)
5%	50℃	0.19 ± 0.01	0.90 ± 0.08	98.91 ± 0.10
	70℃	0.30 ± 0.04	1.62 ± 0.16	98.08 ± 0.21
	90℃	0.23 ± 0.05	0.68 ± 0.02	99.09 ± 0.04
10%	50℃	0.40 ± 0.06	1.35 ± 0.03	98.25 ± 0.03
	70℃	0.95 ± 0.07	2.36 ± 0.20	96.69 ± 0.13
	90℃	0.31 ± 0.02	1.46 ± 0.27	98.24 ± 0.29

[0149]

표 7

Sample Conc.	Recrystallization Temp.	RDS (%)	SDS (%)	RS (%)
5%	50°C	0.92 ± 0.24	3.40 ± 0.22	95.68 ± 0.46
	70°C	1.98 ± 0.30	2.67 ± 0.27	95.35 ± 0.57
	90°C	2.27 ± 0.51	2.11 ± 0.03	95.63 ± 0.49
10%	50°C	2.19 ± 0.09	3.19 ± 0.25	94.61 ± 0.33
	70°C	1.70 ± 0.05	2.24 ± 0.01	96.06 ± 0.04
	90°C	1.46 ± 0.17	2.78 ± 0.16	95.76 ± 0.01

[0150]

[0152] 실시예 5. 탈분지 및 다양한 알코올 농도 구배분별법(gradient fractionation)을 이용하여 분리된 탈분지 텍스트린

[0153] 찰옥수수전분 (waxy maize starch, samyang genex, korea) 10g을 pH가 4.5인 0.01M의 아세트산나트륨완충용액 200mL으로 전분 슬러리를 제조하였다. 상기 슬러리를 100°C의 온도에서 충분히 호화시키고, 호화된 전분 슬러리는 40°C로 진탕항온수조에서 탈분지 효소반응을 진행하였다. 이소아밀라아제는 전분중량대비 1% (150 Unit/mL)를 첨가하여 탈분지 효소 반응을 유도하였고, 탈분지 효소처리반응은 24시간 동안 진행하여 직쇄상 아밀로즈(탈분지 텍스트린)의 생성을 최대화시켰다. 상기 반응 후, 탈분지 효소 처리한 전분 텍스트린 용액은 효소처리반응을 종결시키기위해 중탕가열하여 효소 불활성화를 유도하고, 이후 3,500rpm에서 10분간 원심분리하여 불활성화된 효소를 제거하였다. 이후, 탈분지 효소 반응으로 생성된 탈분지 텍스트린 용액은 알코올 농도 구배분별법을 이용하여 분리하였다. 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도가 0%→40%(40% G)에서 침전되는 침전물을 분리하였다. 분리하고 남은 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도를 40%→50%(50% G)로 높여 침전되는 침전물을 분리하였고, 같은 방법으로 50%→60%(60% G), 60%→70%(70% G), 70%→80%(80% G)로 탈분지 텍스트린-알코올 혼합액의 알코올 농도를 높여가며 탈분지 텍스트린을 분리하였다. 알코올 농도 구배분별법으로 분리한 탈분지 텍스트린은 알코올로 세척하여 건조하였다.

[0155] 시험예 5-1. 탈분지 및 다양한 알코올 농도 구배분별법(gradient fractionation)을 이용하여 분리된 탈분지 텍스트린의 크로마토그램

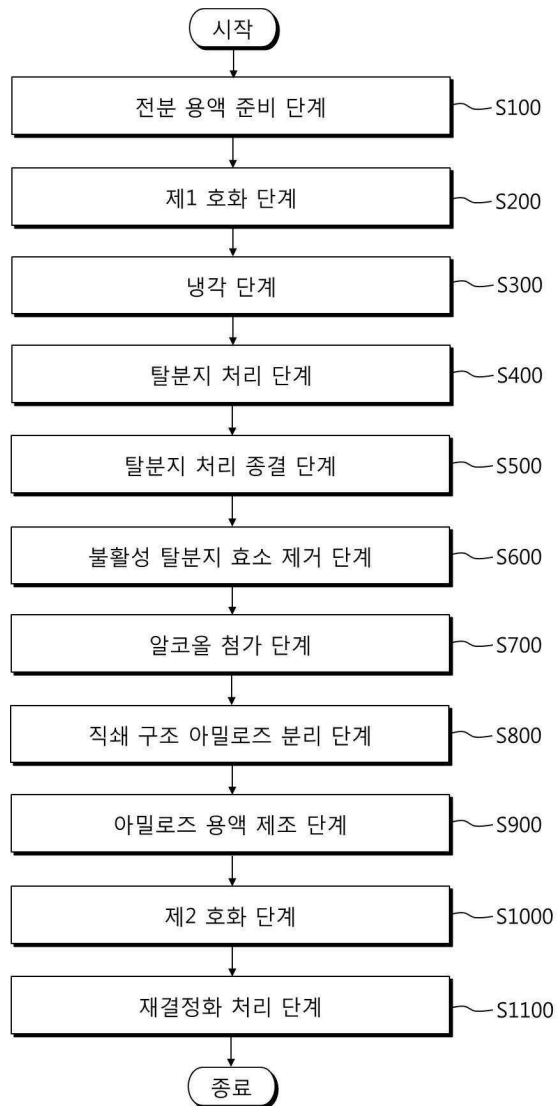
[0156] 탈분지 텍스트린 용액을 알코올 농도 구배분별법을 이용하여 침전된 탈분지 텍스트린의 분자량은 HPSEC-RI (Agilent 1260)를 이용하여 확인하였다. 컬럼은 TSK gel 3000을 사용하였고, 이동상은 0.15M NaNO₃를 사용하여 0.5mL/min의 속도로 흘려주었다. 컬럼의 온도는 50도 RI detector의 온도는 35도에서 분리, 분석하였다. 분자량 측정을 위해 사용한 표준물질로는 풀루란(Pullulan standard, 47,300, 22,800, 11,800, 5,900, 667)을 사용하였다.

[0157] 도 14에 탈분지 텍스트린 용액을 알코올 농도 구배분별법을 이용하여 분리한 탈분지 텍스트린의 분자량 분포를 나타내었다. 알코올의 농도가 증가함에 따라 분자량이 작아지는 경향을 나타내었다. 알코올 농도에 따른 용해도에 따라 알코올 농도 구배분별법을 통해 다양한 분자량을 갖는 탈분지 텍스트린의 분리가 가능하다.

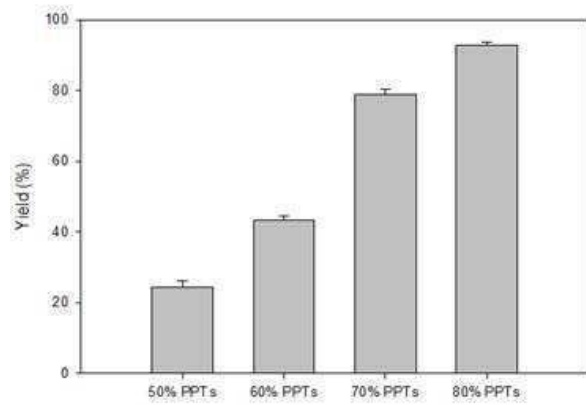
[0159] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시형태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

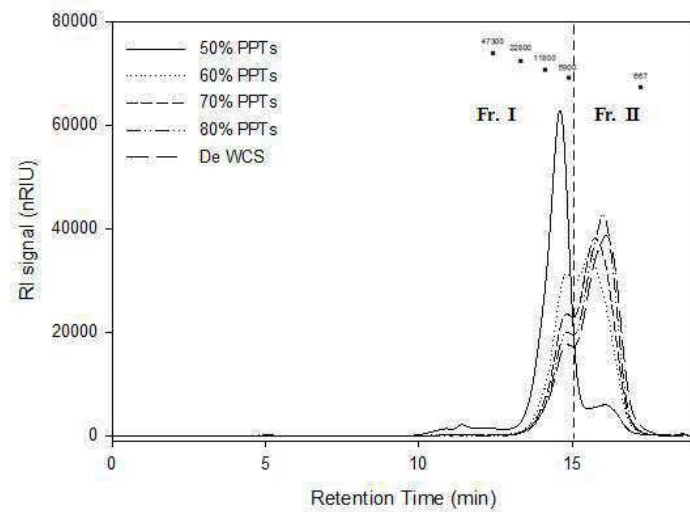
도면1



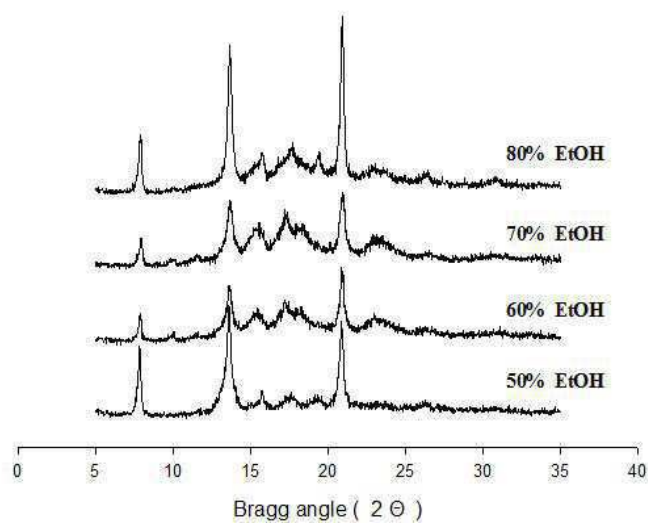
도면2



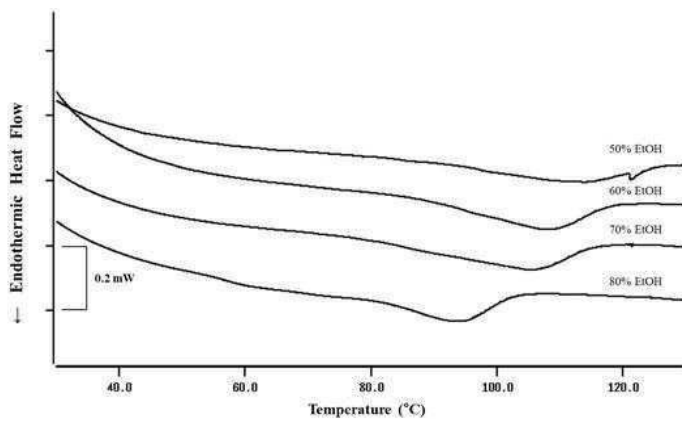
도면3



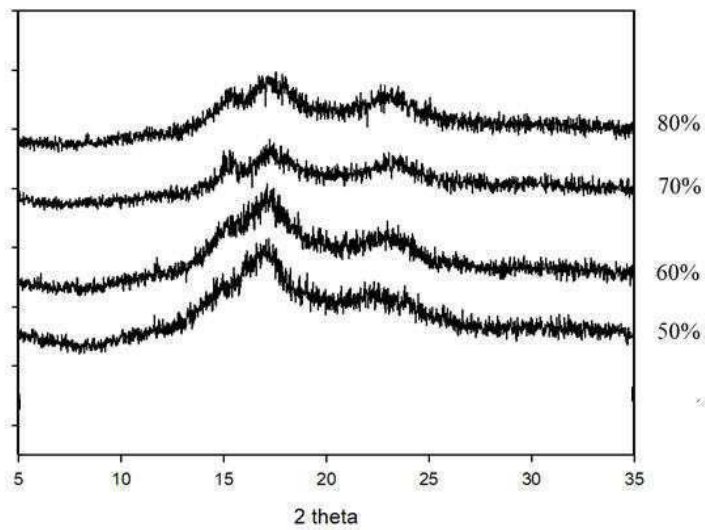
도면4



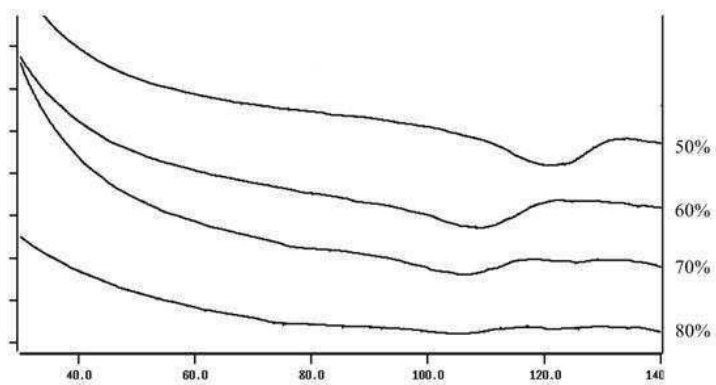
도면5



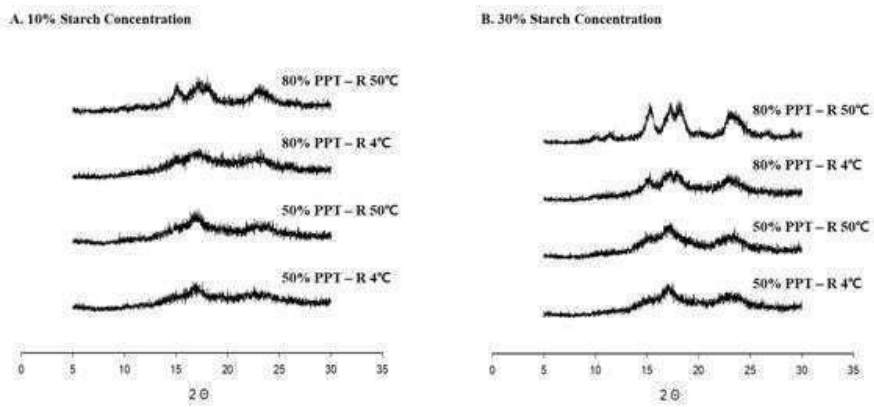
도면6



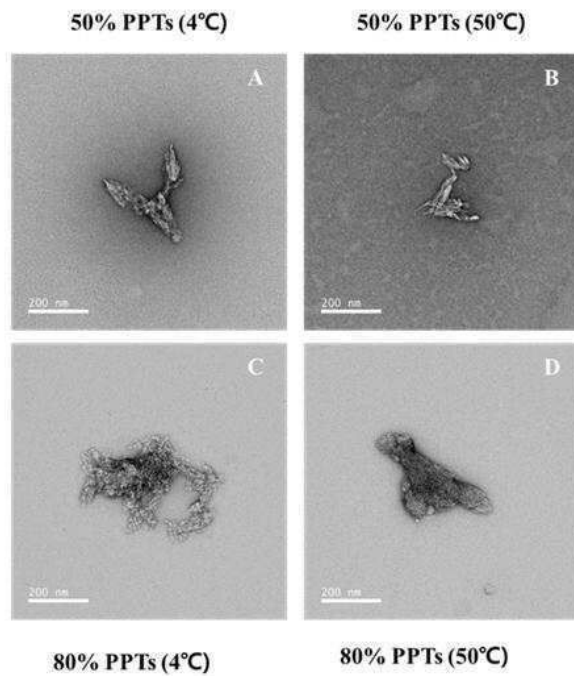
도면7



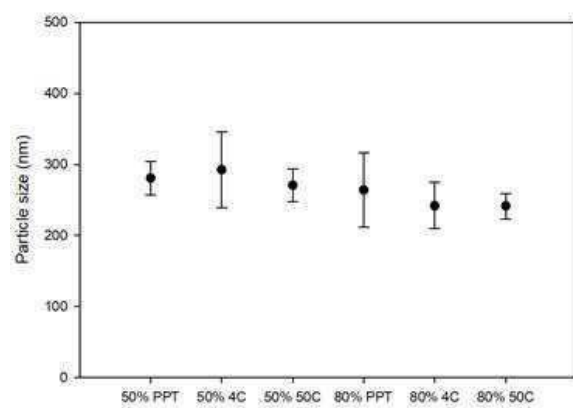
도면8



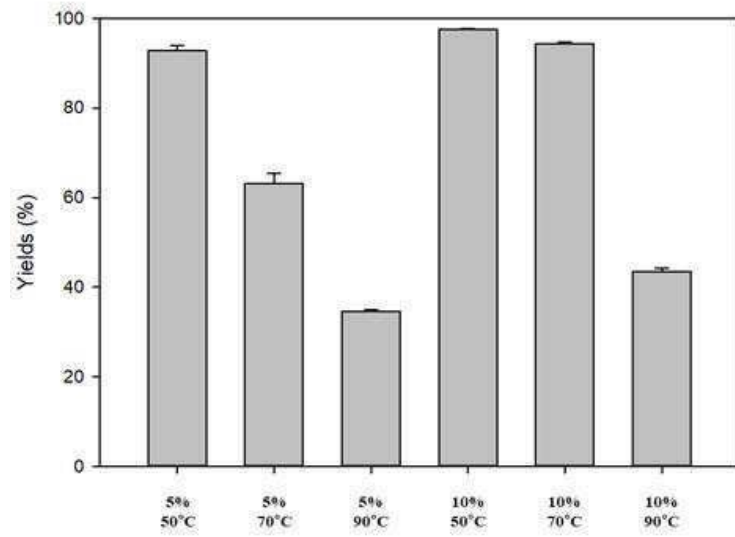
도면9



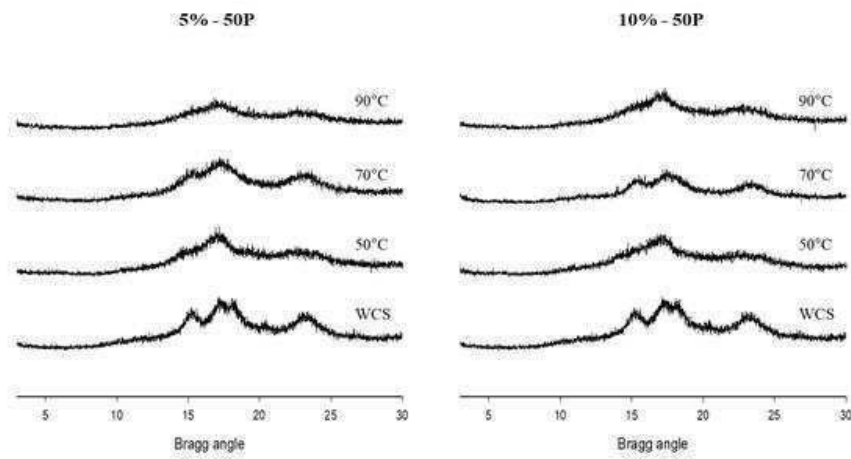
도면10



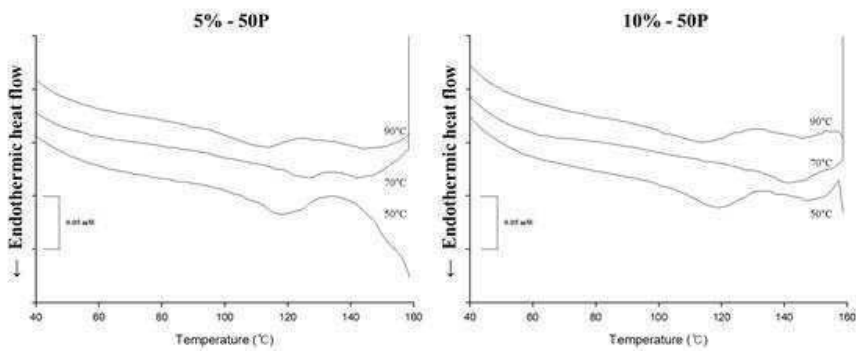
도면11



도면12



도면13



도면14

