(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0009879
(43) 공개일자 2019년01월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 7/104 (2017.01) *A23L 33/00* (2016.01)
A23L 7/10 (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 7/104 (2016.08)
A23L 33/00 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2017-0091706
(22) 출원일자 2017년07월19일
심사청구일자 2018년07월24일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
강동호
서울특별시 마포구 광성로6길 16(신수동)
홍빛나
경기도 성남시 분당구 판교원로82번길 30 1304동 901호 (운중동,산운마을13단지아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
손민

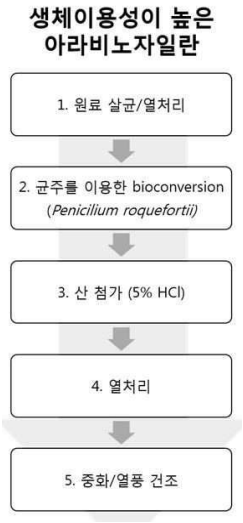
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 제조 방법**

(57) 요 약

본 발명은 페니실리움 로퀘포르티 (*Penicillium roqueforti*) 균주를 이용하여 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물을 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 미강 추출물은 종래의 추출법으로 얻어진 미강 추출물에 비하여 증가된 아라비노자일란을 갖기 때문에, 건강 기능 식품에 보다 유리하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23L 7/115 (2016.08)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2250/21 (2013.01)
A23V 2250/602 (2013.01)
A23V 2250/638 (2013.01)
A23V 2300/28 (2013.01)
(72) 발명자
지민근
서울특별시 성동구 뚝섬로3길 6 101동 604호 (성수동1가,현대그린아파트)
이영로
경기도 수원시 영통구 영일로21번길 8-8, 203호 (영통동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 C0268459
부처명 중소기업청
연구관리전문기관 중소기업기술정보진흥원
연구사업명 기업부설연구소 신규설치과제
연구과제명 글로벌 고기능성 면역증강 식품 소재 개발
기 여 율 1/1
주관기관 경희대학교 산학협력단
연구기간 2015.06.01 ~ 2017.05.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

미강을 포함하는 배지에, 페니실리움 로퀘포르티 (*Penicillium roqueforti*) 균주를 접종하여 배양하는 단계를 포함하는, 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 배양시 산(acid)을 첨가하여 가수분해시키는 단계를 추가로 포함하는, 제조 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 산의 첨가 후 가수분해를 위하여 가열하는 단계를 추가로 포함하는, 제조 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 중화 및 건조하는 단계를 추가로 포함하는, 제조 방법.

청구항 5

제2항에 있어서, 상기 산은 염산인 것인, 제조 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 염산은 5% 내지 10%의 농도를 가지는 것인, 제조 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 아라비노자일란은 아라비노오스 및 자일로오스로 구성된 것인, 제조 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 미강 추출물은, 균주를 접종하지 않고 제조된 미강 추출물에 비해 아라비노자일란의 함량이 증가된 것인, 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 페니실리움 로퀘포르티 (Penicillium roqueforti) 균주를 이용하여 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 미강은 현미를 백미로 정미하는 과정에서 발생하는 부산물로서 쌀겨와 쌀눈으로 이루어진 분말을 말한다. 쌀의 영양성분의 거의 대부분은 미강에 포함되어 있는 것으로 알려져 있다. 보다 구체적으로, 상기 미강에는 풍부한 양의 지질, 비타민 B군 및 양질의 단백질이 포함되어 있고, 섬유질과 인 등의 미네랄도 풍부하게 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. 그러나, 상기와 같은 우수한 영양학적 가치에도 불구하고 미강은 미강유나 사료 및 비료등으로만 사용되거나 농산 폐기물로 처리되고 있어 미강의 보다 폭넓은 산업적 이용방법에 대한 연구가 요구되고 있다.

[0004] 또한, 최근에 상기 미강에 면역증강 활성, 항당뇨 활성 또는 항암 활성과 같은 생리활성을 가지고 있는 생리활성물질이 존재함이 보고된 바 있다. 상기 미강에 함유되어 있는 생리활성물질 중 하나인 아라비노자일란(arabinoxylan)은 헤미셀룰로오스(hemicellulose)를 분해하여 만든 아라비노오스와 자일로오스의 혼합물을 말한다.

[0006] 상기 헤미셀룰로오스를 이루는 물질은 식물의 종류에 따라 다르나, 주로 자일로오스로 이루어지고, 그 밖에 아라비노스(arbionse), 자일로오스(xylose), 람노오스(rhamnose), 갈락토오스(galatose), 만노오스(mannose) 또는 글루코오스(glulose) 등이 포함된다.

[0007] 상기 아라비노자일란은 헤미셀룰로오스의 구성성분으로, 상기 헤미셀룰로오스로부터 수득될 수 있으며, 상기한 바와 같이 다양한 생리활성을 가지는 것으로 보고되어 있다.

[0008] 상기한 바와 같이 미강에는 우수한 생리활성을 갖는 물질이 다량 포함되어 있으나, 상기 미강에 포함된 생리활성물질은 대부분이 식물 세포벽과 강하게 결합되어 있는 불용성 형태로 존재하기 때문에 생체에 이용되기 어렵다는 한계가 있다. 따라서, 상기 미강 내의 생리활성물질을 이용하기 위해서는 상기 생리활성물질이 생체에서 이용될 수 있도록 생체이용성을 높히는 과정이 필요하다.

[0009] 이와 관련하여, 대한민국특허 제0379587호에는 압출성형과 복합효소처리방법으로 생리활성물질을 제조하는 방법이 개시되어 있다. 또한, 대한민국특허 공개공보 제2004-0026917호에는 보리 겨에 함유되어 있는 헤미셀루로오스를 헤미셀루라아제로 분해하여 아라비녹실란을 제조하는 방법이 개시되어 있다. 또한 대한민국특허 등록특허 제10-1345729호에서는 효소처리를 통한 아라비노자일란 함량을 높힌 공정이 개시되어 있다. 대한민국 등록특허 제10-1677022호에서는 미강 추출 과정 중 알카리를 처리하여 아라비노자일란의 순도와 함량을 높힌 공정이 개시되어 있다.

[0010] 그러나 상기 선행기술의 방법들은 미강으로부터 아라비노자일란을 추출하는 순도 및 수율이 낮고 효소의 비용 문제로 인한 경제성이 없고 알카리의 생체 이용에 대한 문제점이 지적되어 왔다. 따라서 아라비노자일란 함량이 증가한 미강 추출 공정에 대한 연구의 필요성이 증가하고 있는 실정이다.

[0011] 상기와 같은 과제를 해결하기 위해 예의 노력한 결과, 본 발명자들은 페니실리움 로퀘포르티 (Penicillium roqueforti) 균주를 이용하여 생물전환 공정을 거치는 경우, 종래의 추출방법으로 얻어진 미강 추출물에 비하여, 아라비노자일란의 함량이 유의적으로 높은 것을 확인하였고 동물 실험을 통해 생체이용성이 높은 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 하나의 목적은, 미강을 포함하는 배지에, 페니실리움 로퀘포르티 (Penicillium roqueforti) 균주를 접종하여 배양하는 단계를 포함하는, 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 제조 방법을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제조 방법에 있어서, 상기 배양시 산(acid)을 첨가하여 가수분해시키는 단계를 추가로 포함함으로써, 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 제조 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0017] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 미강을 포함하는 배지에, 페니실리움 로퀘포르티(Penicillium roqueforti) 균주를 접종하여 배양하는 단계를 포함하는, 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 제조 방법을 제공한다.

[0018] 이하, 본 발명에서의 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 제조 방법을 구체적으로 설명한다.

[0020] 본 발명에서 사용하는 용어, "미강"은 쌀의 도정과정에서 쌀겨를 제거하여 생산되는 현미의 외피 부분을 의미한다. 곡류의 외피는 일반적으로 브랜층(bran layer)를 주성분으로 하고, 때론 생산과정에서 씨눈(germ)이 포함되기도 한다. 본 발명의 목적은, 상기 미강으로부터 미강 추출물을 제조함에 있어서, 아라비노자일란의 함량을 증가시키고자 하는 것이다.

[0021] 본 발명에서 미강은 당업계에 공지된 모든 방법을 통해 수득한 것일 수 있으며, 바람직하게는 미강 원료를 살균 및 열처리하여 시료를 준비할 수 있다. 구체적으로, 미강 시료를 분리하여 일부를 사용할 수 있으며, 본 발명의 일실시예에서는 mash NO.7, 10, 20의 3개의 채로 층을 분리 한 후, mash NO.10에 분리된 껍질을 시료로 사용하였다.

[0022] 본 발명에서 사용되는 용어, "아라비노자일란"은 생리활성물질 중 하나로, 헤미셀룰로오스(hemicellulose)를 분해하여 만든 아라비노오스(arabinose)와 자일로오스(xylose)로 구성되어 있다. 자일로오스를 주쇄로하여 측쇄에 아라비노오스를 갖는 아라비노자일란은 자일로스가 알파-(1-4)결합으로 이루어진 중합체에 5탄당인 아라비노오스가 부분적으로 결합되어있는 구조이다.

[0023] 본 발명의 아라비노자일란은 단독 자체의 아라비노자일란, 액체에 아라비노자일란이 녹아 있는 추출액 또는 상기 아라비노자일란이 녹아 있는 추출액의 건조물 등 다양한 형태를 모두 사용할 수 있다.

[0025] 본 발명에서, 상기 미강으로부터 미강 추출물을 제조함에 있어서, 아라비노자일란의 함량을 증가시키기 위하여 페니실리움 로퀘포르티 (Penicillium roqueforti) 균주를 이용하였다. 구체적으로, 시료인 미강을 포함하는 배지에, 페니실리움 로퀘포르티 (Penicillium roqueforti) 균주를 접종하여 배양하는 단계를 수행하여 생물전환(bioconversion)시킴으로써, 아라비노자일란이 고함량으로 포함되도록 할 수 있다.

[0026] 본 발명에서 제조된 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물은 '아라비노자일란 고함량 미강 추출물' 또는 '아라비노자일란 고함유 미강 추출물'이라는 용어와 혼용될 수 있다.

[0027] 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 미강 추출물은, 균주를 접종하지 않고 제조된 미강 추출물에 비해 아라비노자일란의 함량이 증가된 것일 수 있다. 또한, 비교 균주인 플루로터스 오스트레투스(Pleurotus ostreatus) 또는 아스퍼질러스 오리재 (Aspergillus oryzae) 균주를 접종한 경우보다도 아라비노자일란의 함량이 증가된 것일 수 있다.

[0028] 본 발명의 일실시예에서는, 다양한 균주를 접종하여 미강 추출물을 제조하고 각각의 아라비노자일란 함량을 측정한 결과, 페니실리움 로퀘포르티를 처리한 경우에 가장 높은 아라비노자일란 함량을 나타내는 것을 확인하였다 (표 4).

[0029] 이 때, 아라비노자일란의 함량은 2% 이상일 수 있으며, 구체적으로는 2.5% 이상, 더욱 구체적으로는 2.9% 이상일 수 있다. 이 때, 아라비노오스의 함량은 1% 이상일 수 있으며, 구체적으로는 1.3% 이상, 더욱 구체적으로는 1.5% 이상일 수 있다. 또한, 자일로오스의 함량은 1% 이상일 수 있으며, 구체적으로는 1.5% 이상, 더욱 구체적으로는 1.8% 이상일 수 있다.

[0030] 또한, 본 발명의 다른 일실시예에서는, 균주를 접종하지 않고 제조한 미강 추출물과의 아라비노자일란 함량 비교를 수행하였으며, 그 결과 본 발명의 제조 방법에 의해 제조된 미강 추출물의 아라비노자일란 함량이 현저하게 높아지는 것을 확인하였다 (도 2).

[0032] 본 발명에서, 상기 배양시 산(acid)을 첨가하여 가수분해시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 상기 산의 첨가 후 가수분해를 위하여 가열하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 가열하는 단계에 있어서, 가열 후

반응물을 냉각하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0033] 상기 산은 강산을 사용할 수 있으며, 구체적으로는 염산을 사용할 수 있다. 상기 염산의 농도는 이에 제한되지는 않으나, 구체적으로는 5% 내지 10% 가 바람직하며, 보다 구체적으로는 5% 염산일 수 있다.

[0034] 본 발명의 일실시예에서는, 균주를 접종하기 이전의 예비 실험을 통해 산 처리만을 수행하여 미강 추출물을 제조하였다. 그 결과, 아세트산을 처리한 경우에 비하여 염산을 처리한 경우에 현저하게 증가된 아라비노자일란 함량을 보임을 알 수 있었고, 그 중에서도 5% 내지 10% 염산을 처리한 경우에 가장 우수한 수준의 아라비노자일란 함량을 가짐을 알 수 있었다 (표 2).

[0036] 본 발명에서, 미강 추출물을 제조하는 과정에서 페니실리움 로퀘포르티 균주를 접종하기 위한 배지는, 미강으로부터 아라비노자일란 함량이 증가된 미강 추출물을 제조하기 위한 본 발명의 목적을 달성할 수 있는 한 제한되지 않으며, 당업계에 공지된 모든 배지를 사용할 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 미강을 생물전환 시키는 단계에서 배지는 감자 추출 배지(PDB)를 사용하는 것일 수 있으며, 배양은 20℃ 내지 30℃, 구체적으로 22℃ 내지 26℃, 더욱 구체적으로 24℃의 교반 배양기에서 3일 내지 5일, 구체적으로 4일 내지 5일, 더욱 구체적으로 4일간 배양하는 것일 수 있다.

[0037] 한편, 미강 추출물을 제조하기 위한 최종 단계로서, 산 첨가에 의해 산성화된 배지의 중화를 위하여 알칼리 용액을 첨가하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 알칼리 용액은 수산화나트륨, 수산화칼륨, 탄산나트륨, 탄산칼륨일 수 있고, 구체적으로는 수산화나트륨일 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0038] 상기 중화 단계에 의해 pH를 6 내지 7, 구체적으로는 6.5 내지 6.8로 맞춰줄 수 있다.

[0039] 또한, 중화 후 건조하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0040] 상기 건조하는 단계는 당업계에 알려진 통상의 기술을 이용하여 건조할 수 있으며, 이에 제한되지는 않으나, 구체적으로, 상기 가수분해 결과물 중 고형분은 건조기를 통해 건조하고 액상부분은 고체 배지에 뿌려 건조시킨 후, 건조된 추출물을 막자사발을 이용하여 곱게 가는 방법으로 수행할 수 있다.

[0042] 본 발명의 제조 방법으로 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물을 제조하게 되면, 아라비노자일란의 유용성으로 인해 생체이용성 역시 높아질 수 있으며, 각종 식품 및 약제에 적절히 적용할 수 있다.

발명의 효과

[0044] 본 발명에 따른 제조방법에 의하면, 아라비노자일란이 현저하게 증가된 미강 추출물을 제공할 수 있다. 또한, 본 발명의 미강 추출물은 종래의 추출법으로 얻어진 미강 추출물에 비하여 증가된 아라비노자일란을 갖기 때문에, 건강 기능 식품에 보다 유리하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0046] 도 1은 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 공정 개발 과정을 나타낸다.

도 2는 미강추출물과 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 함량과 크로마토그램을 나타낸다.

도 3은 미강추출물과 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 강제수영부하 테스트 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0047] 이하, 본 발명을 실시예를 통하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0049] **실시예 1. 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 제조를 위한 미강 원시료의 산 가수분해 공정**

[0050] 미강을 mash NO.7, 10, 20의 3개의 채로 층을 분리 한 후, mash NO.10에서 분리된 미강을 시료로 사용하였다. 미강 1g씩 코니칼 튜브(conical tube)에 투입 한 후, 표 1에 개시된 것과 같은 구성의 산 가수 용액 (25, 50, 75% 아세트산, 5, 10, 20% 염산)을 50 ml 각각 첨가하고 수조 (Water bath)에서 3시간 동안 아세트산의 경우 98℃, 염산의 경우 90℃로 가열하였다. 가열 후 상온에서 식히고 상층액을 분리하였다. 상층액 여과 후 1.4 N 수산화나트륨을 이용하여 pH를 6.5-6.8로 조절하고, 50℃에서 농축하였다.

표 1

[0052]

NO.	실험 조건
실험군1	25% 아세트산 처리
실험군2	50% 아세트산 처리
실험군3	75% 아세트산 처리
실험군4	5% 염산 처리
실험군5	10% 염산 처리
실험군6	20% 염산 처리

[0055] 이후 농축된 6종류의 추출물에 대해 고성능액체크로마토그래피(HPLC, Shimadzu LC-20A HPLC instrument, Shimadzu, Japan)를 이용하여 아라비노자일란의 함량을 분석하였다. 컬럼은 역상 컬럼 (Shimadzu VP?ODS, 250L x 4.6, 5㎛), 검출기는 UV 디텍터 (245 nm)를 사용하였다. 이동상은 인산나트륨 완충액(40mM) 79% 와 아세토나이트릴 21%를 사용하였고 유속은 0.7 ml/min로 하였다. 실험에 사용한 아라비노스와 자일로스 표준품은 유도체 1-페닐-3-메틸-5-피라졸론(PMP)를 이용하여 분석에 사용하였다. 표준품 1 mg씩 정량하여 물에 용해시켜 100 ul를 취한 후에 0.3 M NaOH와 0.5 M PMP를 각각 100 ul씩 더하였다. 혼합액은 70 ℃에서 30분간 반응시키고, 식힌 후에 0.3 M HCl 100 ul를 넣어 반응을 정지시켰다. 클로로포름 200 ul를 넣고 섞어 원심분리 한 후에 상층액 100 ul만 취하였고 이를 2번 더 반복하였다. 0.22 um 멤브레인으로 여과 후에 표준품 및 10 ul씩 주입하여 분석 실험을 실시하였고, 아라비노스 및 자일로스의 함량을 토대로 아라비노자일란의 함량을 분석하였다 (Zheng, X., Li, L., & Wang, X. (2011). Molecules, 16(4), 2743-2753.).

[0056] 그 결과, 표 2에 나타난 바와 같이, 5% 및 10%의 농도를 가지는 염산 조건에서 아라비노스와 자일로스의 함량이 높게 나타난 것을 확인하였으며, 그 중에서도 5%의 염산이 가장 높은 함량을 나타낸바, 이후의 실험에서는 5% 염산을 최적의 산 가수 용액으로 사용하였다.

표 2

[0058]

NO.	아라비노스 함량 (%)	자일로스 함량 (%)	아라비노자일란[a] 함량 (%)
실험군1	0.035	0.004	0.034
실험군2	0.014	0.002	0.014
실험군3	0.015	0.003	0.016
실험군4	0.753	0.942	1.492
실험군5	0.708	0.903	1.418
실험군6	0.271	0.260	0.467

[0059] [a]total arabinoxylan= 0.88*(% arabinose + % xylose)

[0061] **실시예 2. 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 제조를 위한 미강 생물전환 공정**

[0062] 미강을 mash NO.7, 10, 20의 3개의 채로 층을 분리 한 후, mash NO.10에서 분리된 미강을 시료로 사용하였다. 미강 10 g을 250ml 삼각 플라스크에 넣고, 감자 추출 배지(PDB) 20 ml를 넣고 고압증기멸균기(autoclave)를 이

용해 멸균 하였다. 완성된 미강 배지를 상온에서 충분히 식힌 후에 배양해놓은 100ϕ 페트리 접시의 균주 플루로터스 오스트레투스 (Pleurotus ostreatus, 16855), 페니실리움 로퀘포르티 (Penicillium roqueforti, 11269) 및 아스퍼질러스 오리재 (Aspergillus oryzae, 11896) 3종을 각각 분산시켰다 (표 3). 교반 배양기(24℃)에서 4일간 배양하고, 표면이 완전하게 균주로 차면, 염산(5%) 20 ml를 넣고 수조(Water bath) 100℃에 넣고 6시간 가열시킨다. 상온에서 충분하게 식힌 후, 수산화나트륨(1.4N)를 20 ml 넣어 중화하고 pH를 6.5 내지 6.8로 맞춰준 후, 여과하였다. 고형분을 페트리 접시에 옮긴 후 건조기(55℃)에서 건조하였다. 액상부분은 적절히 농축 후 페트리 접시의 고체 배지에 잘 뿌려서 건조시켰다. 건조된 추출물은 막자 사발을 이용하여 곱게 간 후, 무게를 측정하여 수율을 구하고 -20℃에 보관하였다. 건조된 추출물은 실시예 1에 개시한 HPLC 측정법을 이용해 아라비노자일란을 함량을 분석하였다.

표 3

[0064]

NO.	실험 조건
실험군7	균주 플루로터스 오스트레투스 (*Pleurotus ostreatus*) 처리 + 5% 염산 처리
실험군8	균주 페니실리움 로퀘포르티 (*Penicillium roqueforti*) 처리 + 5% 염산 처리
실험군9	균주 아스퍼질러스 오리재 (*Aspergillus oryzae*) 처리 + 5% 염산 처리

[0067] 그 결과, 표 4에 나타난 바와 같이, 페니실리움 로퀘포르티(Penicillium roqueforti, 11269) 균주를 이용한 실험군 8에서 아라비노스와 자일로스 함량이 가장 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과를 통해, 페니실리움 로퀘포르티 균주에 의한 생물전환 공정을 이용하는 것이 아라비노자일란 함량 증가에 가장 적합한 것을 확인하였다.

표 4

[0069]

NO.	아라비노스 함량 (%)	자일로스 함량 (%)	아라비노자일란[a] 함량 (%)
실험군7	0.980	1.030	1.769
실험군8	1.510	1.810	2.922
실험군9	1.130	1.050	1.918

[0070] [a]total arabinoxylan= 0.88*(% arabinose + % xylose)

[0072] **실시예 3. 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물과 기존 미강 추출물 간의 아라비노자일란 함량 비교**

[0073] 본 발명의 아라비노자일란의 함량이 증가한 것을 확인하기 위해, 기존의 미강 추출물과 본 발명의 제조방법으로 제조된 미강 추출물의 아라비노자일란 함량을 비교하였다.

[0074] 비교군으로서 기존의 미강 추출물을 제조하기 위해, 미강을 mash NO.7, 10, 20의 3개의 채로 층을 분리 한 후, mash NO.10에서 분리된 미강을 시료로 사용하였다. 미강 1g씩 코니칼 튜브(conical tube)에 투입 한 후 50 ml의 증류수를 넣고 90℃로 가열한 후에 50℃에서 농축한 시료를 미강 추출물로 하였다.

[0075] 상기 미강 추출물을 본 발명의 제조 방법으로 제조된 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물과 아라비노스 및 자일로스의 함량 비교를 위해 실시예 1에 개시된 HPLC 측증법을 통해 분석하였다.

[0076] 그 결과, 미강 추출물과 비교했을 때 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 아라비노스 및 자일로스 함량이 현저히 높음을 확인하여 본 발명의 제조 방법이 아라비노자일란의 함량을 현저하게 증가시키는 것을 확인할 수 있었다 (도 2).

[0078] **실시예 4. 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물의 강제수영부하 테스트**

[0079] 강제수영부하실험은 실험동물을 강제로 수영부하할 경우, 물에서 움직임이 없이 부동상태로 유지된 시간을 측정하여 비교하는 실험이다. 본 실험은 실험동물을 이용한 생체내 실험으로 체력 혹은 인내력 증강에 의한 면역증진 효과를 검증해볼 수 있고, 피로관련물질 등 여러 체액 성분들의 변화 관찰에 의한 실제적 면역증진 효과를 파악해 볼 수 있는 좋은 모델로 활용되고 있다. 실험 결과에서 부동시간의 감소는 면역증진 효과에 의한 것으로 해석된다.

[0080] 7주령 흰쥐 (ICR mice)를 온도 23-25℃, 물의 높이 16cm 가량 들어있는 원형실린더에 넣고 6분동안 관찰하였다. 경구투여(oral administration)를 하기 전 사전수영검사(pre-swimming test)를 6분동안 진행하였다. 이후 100mg/kg의 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물 또는 미강 추출물을 경구투여한 뒤 24시간 후 원형 실린더에 넣고 6분동안 강제수영부하실험을 진행하였다. 관찰 6분 중 2분이 경과한 후 4분 동안만 부동시간으로 기록하여 분석하였다.

[0081] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 본 발명의 제조 방법으로 제조된 미강 추출물 처리군의 부동시간이 미강 추출물 처리군에 비해 유의적으로 감소한 것으로 나타났다. 따라서, 본 발명의 제조 방법으로 제조된 미강 추출물이 미강 추출물에 비해 면역 증강 효과가 우수함을 확인할 수 있었다 (도 3).

[0083] **제제예 1. 정제의 제조**

[0084] 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물 200 ㎎

[0085] 유당 100 ㎎

[0086] 전분 100 ㎎

[0087] 스테아린산 마그네슘 적량

[0088] 통상의 정제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 타정하여 정제를 제조하였다.

[0090] **제제예 2. 액제의 제조**

[0091] 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물 1000 ㎎

[0092] CMC-Na 20 g

[0093] 이성화당 20 g

[0094] 레몬향 적량

[0095] 정제수를 가하여 전체 1000 ㎖로 맞추었다. 통상의 액제의 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 갈색병에 충전하고 멸균시켜 액제를 제조하였다.

[0097] **제제예 3. 캡슐제의 제조**

[0098] 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물 300 ㎎

[0099] 결정성 셀룰로오스 3 ㎎

[0100] 락토오스 14.8 ㎎

[0101] 마그네슘 스테아레이트 0.2 ㎎

[0102] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0104] **제제예 4. 주사제의 제조**

[0105] 아라비노자일란이 증가된 미강 추출물 300 ㎎

[0106] 만니톨 180 mg

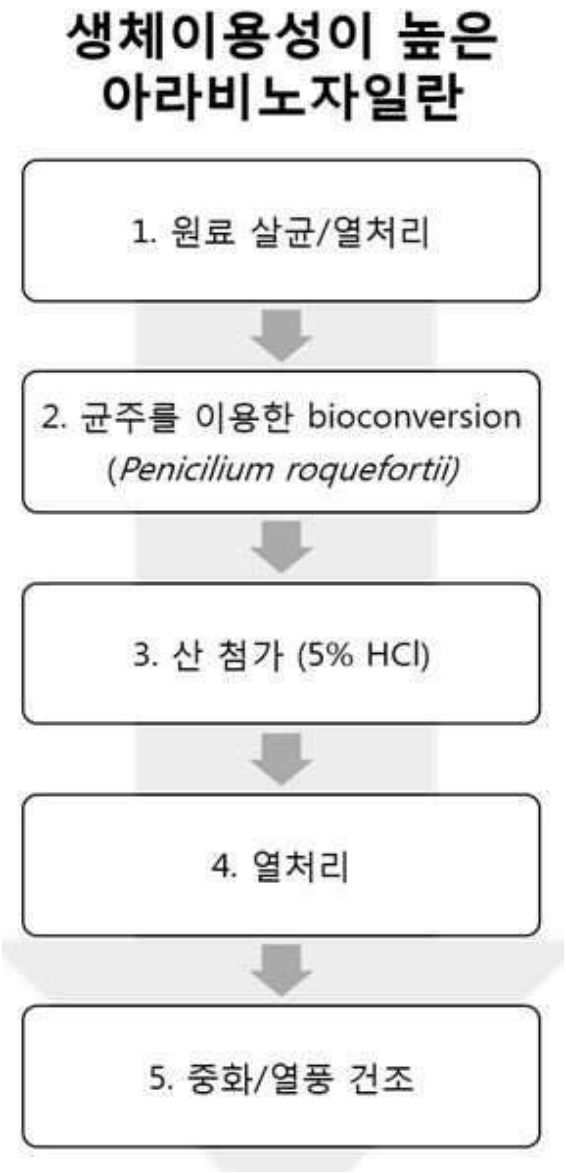
[0107] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[0108] Na2HPO412H2O 26 mg

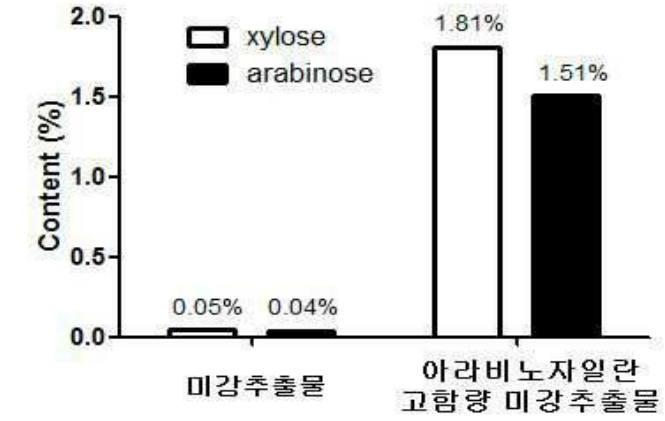
[0109] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조하였다.

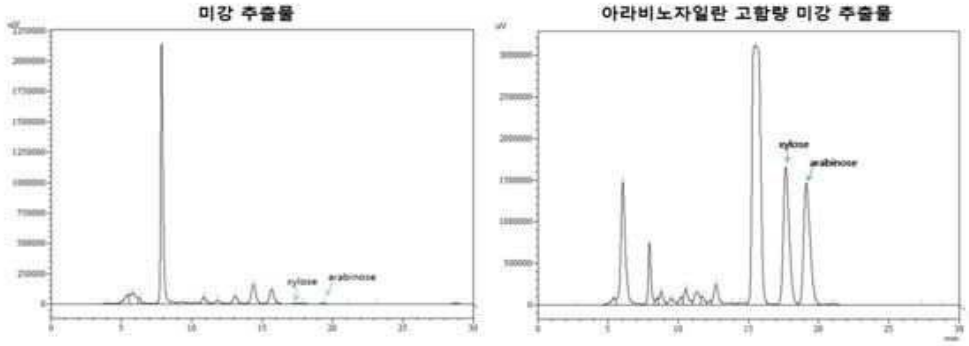
도면

도면1

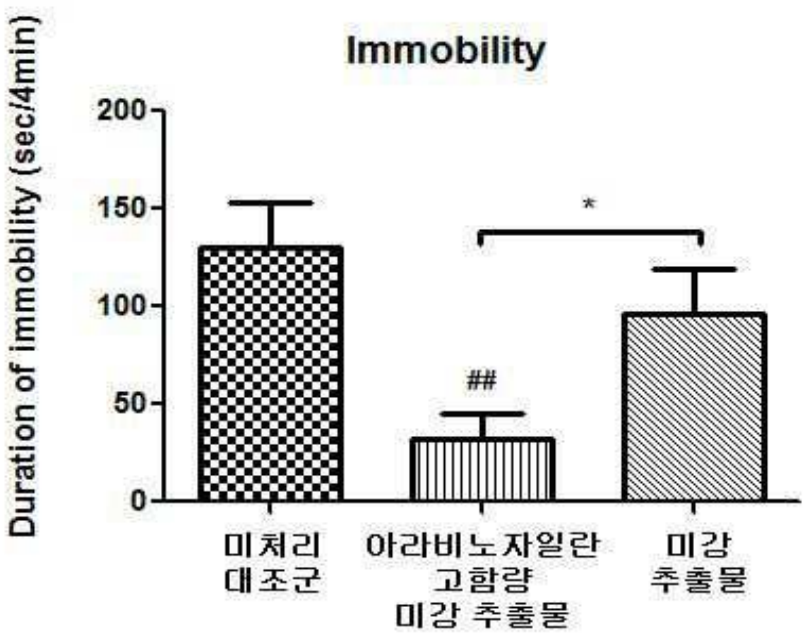


도면2


2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Content (%)
xylose
arabinose
1.81%
1.51%
0.05%
0.04%
미강추출물
아라비노자일란
고함량 미강추출물


미강 추출물
아라비노자일란 고함량 미강 추출물

도면3


Immobility
Duration of immobility (sec/4min)
200
150
100
50
0
*
##
미처리
대조군
아라비노자일란
고함량
미강 추출물
미강
추출물