



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년03월30일

(11) 등록번호 10-1506591

(24) 등록일자 2015년03월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 1/0522 (2006.01) A23L 1/10 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0142898

(22) 출원일자 2013년11월22일

심사청구일자 2013년11월22일

(56) 선행기술조사문헌

김선영 외 1인, '보리겨 β -glucan의 추출 및 이화학적 특성', 한국조리과학회지 제19권제5호, 616-623쪽, 2003.10월.*

US4311714 A*

CN101617787 A

KR1019890003736 B1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

홍순택

대전 서구 복수동로 21-19, 107동 802호 (복수동, 조록마을1단지)

정용선

대전 서구 탄방로 65, 115동 102호 (탄방동, 주공아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 하혜경

(54) 발명의 명칭 국내산 보리로부터 베타글루칸, 단백질 및 전분의 동시 추출 방법

(57) 요약

본 발명은 보리의 유용성분인 베타글루칸, 단백질 및 전분을 동시에 추출할 수 있는 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 분쇄보리의 전처리 공정, 분쇄보리의 습식 제분 공정, 베타글루칸 및 단백질 용출을 위한 알칼리 추출 공정, 단백질 및 베타글루칸 분리 공정, 및 전분 추출 공정을 포함하는 베타글루칸, 단백질 및 전분의 동시 추출법에 관한 것이다.

대표도 - 도5



(72) 발명자

김정원

충남 서산시 예천1로 23, 107동 606호 (예천동, 예천동주공1단지아파트)

이의석

대전 유성구 유성대로821번길 24-10, 103호 (장대동, 마당빌라)

길나영

대전 서구 변동로 21-20, (변동)

김산성

대전광역시 동구 가양1동 430-1번지 대림빌라 A동 302호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ0082422013

부처명 맥류부

연구관리전문기관 바이오에너지작물센터

연구사업명 공동연구사업

연구과제명 보리 전분 추출 정제 기술 개발 및 구조분석을 통한 용도 개발

기 여 율 1/1

주관기관 국립식량과학원

연구기간 2011.06.01 ~ 2013.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

a) 보리의 전처리 과정 및 분쇄보리 제조 공정;

b) 분쇄보리의 습식제분 공정;

c) 베타글루칸 및 단백질 용출을 위한 알칼리 추출 공정으로서,

pH 11.5 내지 12의 범위로 조절한 후 원심분리하는 단계를 포함하는 공정;

d) 단백질 및 베타글루칸 분리 공정으로서,

단백질 침전시 추출액의 pH를 4.3 내지 4.8의 범위로 조절한 후 원심분리하는 단계, 및 베타글루칸 침전시 추출액에 에탄올 또는 에탄올 수용액을 첨가한 후 원심분리하는 단계를 포함하는 공정; 및

e) 전분 추출 공정으로서,

베타글루카나제(β -glucanase)를 0.2 내지 2 중량%의 범위로 첨가한 후, pH 5.5 내지 pH 7.5의 범위로 조절한 후 1 내지 10시간 반응시킨 다음, 원심분리하는 단계를 포함하는 공정;

을 포함하는 베타글루칸, 단백질 및 전분의 동시 추출 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 a) 공정은

i) 보리를 15 내지 25℃의 수돗물에 5 내지 20시간 동안 수침하는 단계;

ii) 침지 후 20 내지 40℃, 상대습도 50 내지 80% 조건에서 30분 내지 2시간 건조하는 단계; 및

iii) 롤 밀(roll mill)을 이용하여 1 내지 5회 분쇄하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 베타글루칸, 단백질 및 전분의 동시 추출 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 b) 공정은

i) 분쇄보리를 침지액에 10 내지 55℃의 조건에서 침지하는 단계; 및

ii) 습식제분을 1 내지 3회 반복하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 베타글루칸, 단백질 및 전분의 동시 추출 방법.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

- a) 보리를 물에 수침한 후 건조시키는 단계;
 - b) 건조된 보리를 분쇄한 후 건조시키는 단계;
 - c) 분쇄된 보리를 산에 침지시키는 단계;
 - d) 침지된 보리를 습식 제분한 후 여과 및 세척하는 단계;
 - e) 상기 단계 d)에서 여과 후 여과액을 원심분리하여 상등액(S1)과 침전물(P2)을 분리하는 단계;
 - f) 상기 단계 d)에서 여과 후 잔여물(P1)에 물을 첨가한 후 pH 11.5 내지 12의 범위로 조절한 다음, 원심분리하여 상등액(S2)과 침전물(P3)을 분리하는 단계;
 - g) 상기 단계 e)의 상등액(S1)과 상기 단계 f)의 상등액(S2)을 pH를 4.3 내지 4.8의 범위로 조절한 후 원심분리하여 상등액과 침전물을 분리하는 단계;
 - h) 상기 단계 g)의 침전물을 건조하여 단백질을 획득하는 단계;
 - i) 상기 단계 g)의 상등액에 에탄올 또는 에탄올 수용액을 첨가한 후 방치한 다음 원심분리하여 분리한 침전물을 건조하여 베타글루칸을 획득하는 단계;
 - j) 상기 단계 f)의 침전물(P3)에 베타글루카나제를 첨가한 후 0.2 내지 2 중량%의 범위로 pH 5.5 내지 pH 7.5의 범위로 조절한 다음, 1 내지 10시간 반응시킨 다음, 여과 및 세척하는 단계;
 - k) 상기 단계 j)의 여과액과 상기 단계 e)의 침전물에 물을 첨가한 후 pH 11 내지 pH 12의 범위로 조절한 다음, 여과 및 세척하는 단계;
 - l) 상기 단계 k)의 여과액을 원심분리하여 백색층 침전물을 분리하는 단계; 및
 - m) 상기 단계 l)의 백색층 침전물에 물을 첨가한 다음, pH 5.5 내지 pH 7.5의 범위로 조절한 후, 건조하여 전분을 획득하는 단계;
- 를 포함하는 것을 특징으로 하는 베타글루칸, 단백질 및 전분의 동시 추출 방법.

명세서

기술분야

[0001]

본 발명은 보리로부터 유용성분인 베타글루칸, 단백질 및 전분을 동시에 추출하는 방법에 관한 것으로서, 구체적으로 분쇄보리의 전처리 공정; 분쇄보리의 습식 제분 공정; 베타글루칸 및 단백질 용출을 위한 알칼리 추출 공정; 단백질 및 베타글루칸 분리 공정; 및 전분 추출 공정;을 포함하는 베타글루칸, 단백질 및 전분의 동시 추출법에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

보리는 생산량 규모(세계 기준)로 보면 밀, 쌀, 옥수수 다음으로 큰 4대 주요 곡물이며, 화학적 구성 성분은 전분 65-68%, 단백질 10-17%, 베타글루칸(β -glucan) 4-9%를 함유하고 있고, 수분, 섬유질 등 기타 성분이 약 20%로 이루어져 있다. 전 세계적으로 보리의 대부분은 별도의 가공처리를 거치지 않고 사료로 소비되고 있으며, 일부를 양조에 이용하고 극히 소량만이 식품용으로 이용된다. 이는 상대적으로 가격이 저렴하고 생산량이 풍부한 밀, 쌀, 옥수수 등이 산업용 식품 소재로 이용되고 있기 때문이다.

[0003]

최근 보리의 건강 기능성이 부각되면서 그 관심이 증대되고 있으며, 특히 베타글루칸의 콜레스테롤 저하 등의 생리기능성이 밝혀지면서 “21세기 미래 식량 작물”로 간주되고 있다. 또한, 보리는 균형 있는 아미노산(amino acid)으로 구성된 단백질의 급원이며, 비타민 E 및 항산화 성분(polyphenols)을 많이 함유하고 있어 앞으로 이러한 관심은 더욱 부각될 전망이다. 그러나 현재 보리에 대한 가공식품에의 응용은 미비한 실정이며, 주로 쌀과 혼식 형태로 소비되고 있다. 또한, 국내에서 보리의 생산 면적 및 생산량은 꾸준히 감소하고 있는 추세이다. 이러한 현상은 급속한 경제성장에 따른 가족의 단일화와 여성의 사회진출 등으로 인하여 혼식으로서의 보리 소비가 한계에 다다르고 있음을 나타내고 있으며, 보리의 소비가 다른 형태로 이루어져야 함을 강력하게

시사하고 있다.

[0004] 보리 이용성의 증대를 위해서는 더 이상 식용 자체가 아닌 보리의 주요 성분인 베타글루칸, 전분, 단백질 등을 분리하여 산업용 식품 소재로 이용해야 한다. 하지만 이와 같은 유용 성분들은 보리 곡물 중 불균일하게 분포하고 있기 때문에 이들의 분리 및 추출은 용이하지 않다. 일반적으로 보리 배유부 외층의 구성물질은 70-75%의 베타글루칸, 20-25%의 아라비노자일란(arabinoxylan), 3-5%의 단백질, 2% 정도의 만난(mannan) 등이 겹겹이 쌓여있는 매트릭스(matrix) 형태를 형성하고 있다. 또한 배유부 내에서는 큰 전분 입자와 작은 전분 입자가 단백질에 불규칙적인 형태로 둘러싸여 있는 모양이다. 따라서 보리에서 전분을 분리하기 위해서는 배유부 외층의 베타글루칸을 베타글루카나아제(β -glucanase)를 사용해 분해시킨 뒤, 배유부 내에서 전분을 둘러싸고 있는 단백질 미들라멜라(protein middle-lamella)를 제거해야 한다. 하지만 이와 같은 방법으로 높은 전분 추출 수율을 기대할 수 있지만 베타글루칸은 효소에 분해되어 획득할 수 없는 문제점을 지니고 있다. 또한 보리에서 베타글루칸을 분리하기 위한 방법으로 건식제분(dry milling) 및 체거름(sieving)법, 용매 추출법(solvent extraction) 등이 이용되고 있지만, 이와 같은 방법으로는 전분 획득 수율이 낮을 뿐만 아니라, 물리적으로 손상되거나 이화학적 성질이 변화되는 문제가 있다.

[0005] 이러한 문제를 해결하기 위한 시도가 종래에 있었다. Zheng & Bhatti (1998)는 상기한 보리 세포벽의 구성 물질을 분해하는 다양한 효소를 사용하여 베타글루칸, 전분, 단백질을 얻을 수 있었으나, 효소에 의해 베타글루칸이 분해되어 상업적으로 이용하기에 여전히 낮은 수율을 보였다.

[0006] 이에, 본 발명자들은 이런 문제점을 해결하기 위하여, 분쇄보리의 전처리 공정; 분쇄보리의 습식 제분 공정; 베타글루칸 및 단백질 용출을 위한 알칼리 추출 공정; 단백질 및 베타글루칸 분리 공정; 및 전분 추출 공정;을 통해 보리의 유용 성분(전분, 베타글루칸, 단백질 등)을 동시에 효율적으로 추출할 수 있는 방법을 개발함으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 보리 유용 성분들을 효율적으로 추출하고, 이를 산업용 식품 소재로 이용하여 보리의 상업적 이용 및 부가가치의 증대에 기여하기 위해, 보리로부터 유용성분인 베타글루칸, 단백질 및 전분을 동시에 효율적으로 추출하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 a) 보리의 전처리 과정 및 분쇄보리 제조 공정; b) 분쇄보리의 습식 제분 공정; c) 베타글루칸 및 단백질 용출을 위한 알칼리 추출 공정; d) 단백질 및 베타글루칸 분리 공정; 및 e) 전분 추출 공정;을 포함하는 베타글루칸, 단백질 및 전분의 동시 추출 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본 발명의 추출 방법에 의해 획득한 베타글루칸, 단백질 및 전분은 높은 추출수율과 순도를 보유하며, 이들 베타글루칸, 단백질 및 전분을 동시에 추출할 수 있어 효율적이며, 이들 베타글루칸, 단백질 및 전분은 산업용 식품 소재로 이용할 수 있고, 보리의 부가가치 증대에 기여할 수 있으므로 그 산업적 효과가 매우 크다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 보리의 전처리 과정(수침, 건조)과 분쇄보리 제조 방법에 관한 흐름도이다.
도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 분쇄보리의 습식제분 방법에 관한 흐름도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 베타글루칸 및 단백질 용출을 위한 알칼리 추출 방법에 관한 흐름도이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 단백질 및 베타글루칸의 분리 방법에 관한 흐름도이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 베타글루칸을 이용한 전분 추출 방법에 관한 흐름도이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 기존의 전분 추출 방법에 관한 흐름도이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따라 기존의 전분 추출법에 따른 전분 및 잔여물들의 중량을 나타낸 그래프이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따라 동시 추출법에 따른 베타글루칸, 단백질, 전분, 잔여물들의 중량을 나타낸 그래프이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따라 기존의 전분 추출법에 따른 전분 및 잔여물들의 베타글루칸 함량을 나타낸 그래프이다.

도 10은 본 발명의 일 실시예에 따라 동시 추출법에 따른 베타글루칸, 단백질, 전분, 잔여물들의 베타글루칸 함량 및 순도를 나타낸 그래프이다.

도 11은 본 발명의 일 실시예에 따라 기존의 전분 추출법에 따른 전분 및 잔여물들의 단백질 함량을 나타낸 그래프이다.

도 12는 본 발명의 일 실시예에 따라 동시 추출법에 따른 베타글루칸, 단백질, 전분, 잔여물들의 단백질 함량 및 순도를 나타낸 그래프이다.

도 13은 본 발명의 일 실시예에 따라 기존의 전분 추출법에 따른 전분 및 잔여물들의 전분함량 및 순도를 나타낸 그래프이다.

도 14는 본 발명의 일 실시예에 따라 동시 추출법에 따른 베타글루칸, 단백질, 전분, 잔여물들의 전분함량 및 순도를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명은 보리의 베타글루칸, 단백질, 전분을 동시에 추출하는 단계를 포함하는 추출 방법을 제공한다.

상기 방법은

a) 보리의 전처리 과정 및 분쇄보리 제조 공정;

b) 분쇄보리의 습식제분 공정;

c) 베타글루칸 및 단백질 용출을 위한 알칼리 추출 공정;

d) 단백질 및 베타글루칸 분리 공정; 및

e) 전분 추출 공정;을 포함하는 것이 바람직하다.

상기 방법에 있어서, 상기 a) 공정은

i) 보리를 15 내지 25℃의 수돗물에 5 내지 20시간 동안 수침하는 단계;

ii) 침지 후 20 내지 40℃, 상대습도 50 내지 80% 조건에서 30분 내지 2시간 건조하는 단계; 및

iii) 롤 밀(roll mill)을 이용하여 1 내지 5회 분쇄하는 단계;를 포함할 수 있다.

상기 방법에 있어서, 상기 b) 공정은

i) 분쇄보리를 침지액에 10 내지 55℃의 조건에서 침지하는 단계;

ii) 옴니 믹서(omni-mixer) 설정값 2.5 내지 5 범위의 조건으로 설정한 후 3 내지 10분간 습식제분하는 단계;

iii) 상기 습식제분을 1 내지 3회 반복하는 단계;를 포함할 수 있다.

- [0027] 상기 방법에 있어서, 상기 c) 공정은
- [0028] 알칼리 추출시 전분의 알칼리에 의한 호화가 발생됨이 없이 분쇄보리를 pH 11.5 내지 12의 범위로 조절하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0029] 상기 방법에 있어서, 상기 d) 공정은
- [0030] i) 단백질 침전시 추출액의 pH를 4.3 내지 4.8의 범위로 조절하는 단계; 및
- [0031] ii) 베타글루칸 침전시 추출액에 90 내지 100% 범위의 에탄올을 첨가하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0032] 구체적으로, 본 발명은
- [0033] a) 보리를 물에 수침한 후 건조시키는 단계;
- [0034] b) 건조된 보리를 분쇄한 후 건조시키는 단계;
- [0035] c) 분쇄된 보리를 산에 침지시키는 단계;
- [0036] d) 침지된 보리를 옴니 믹서(omni-mixer)로 습식 제분한 후 여과 및 세척하는 단계;
- [0037] e) 상기 단계 d)에서 여과 후 여과액을 원심분리하여 상등액(S1)과 침전물(P2)을 분리하는 단계;
- [0038] f) 상기 단계 d)에서 여과 후 잔여물(P1)에 물을 첨가한 후 pH 11.5 내지 12의 범위로 조절한 다음, 원심분리하여 상등액(S2)과 침전물(P3)을 분리하는 단계;
- [0039] g) 상기 단계 e)의 상등액(S1)과 상기 단계 f)의 상등액(S2)을 pH를 4.3 내지 4.8의 범위로 조절한 후 원심분리하여 상등액과 침전물을 분리하는 단계;
- [0040] h) 상기 단계 g)의 침전물을 건조하여 단백질을 획득하는 단계;
- [0041] i) 상기 단계 g)의 상등액에 에탄올 또는 에탄올 수용액을 첨가한 후 방치한 다음 원심분리하여 분리한 침전물을 건조하여 베타글루칸을 획득하는 단계;
- [0042] j) 상기 단계 f)의 침전물(P3)에 베타글루카나제를 첨가한 후 pH 5.5 내지 pH 7.5의 범위로 조절한 다음, 여과 및 세척하는 단계;
- [0043] k) 상기 단계 j)의 여과액과 상기 단계 e)의 침전물에 물을 첨가한 후 pH 11 내지 pH 12의 범위로 조절한 다음, 여과 및 세척하는 단계;
- [0044] l) 상기 단계 k)의 여과액을 원심분리하여 백색층 침전물을 분리하는 단계; 및
- [0045] m) 상기 단계 l)의 백색층 침전물에 물을 첨가한 다음, pH 5.5 내지 pH 7.5의 범위로 조절한 후, 건조하여 전분을 획득하는 단계;를 포함하는 방법으로 수행될 수 있다.
- [0046] 기존의 공지된 추출 방법은, 보리에서 베타글루칸 또는 전분 중 하나 밖에 획득할 수 없는 제한성이 있을 뿐만 아니라, 그 추출 수율은 산업용 식품 소재로 이용되기에 낮은 문제점이 있다.
- [0047] 반면, 본 발명은 보리에서 베타글루칸, 단백질 및 전분 등 보리의 유용 성분을 동시에 추출하여 획득할 수 있을 뿐만 아니라, 본 발명에 의해 획득한 베타글루칸, 단백질 및 전분의 추출 수율 및 순도가 기존 기술 보다 월등이 높아 산업용 식품 소재로 이용 가능하다.
- [0048] 기존의 공지된 효소를 이용한 추출 방법은 베타글루카나아제를 사용해 높은 전분 추출 수율을 얻었지만, 베타글루칸은 효소에 분해되어 획득할 수 없는 문제점을 지니고 있으며, 또한 보리에서 베타글루칸을 분리하기 위한 기존의 방법은 전분 획득 수율이 낮을 뿐만 아니라, 물리적으로 손상되거나 이화학적 성질이 변화되는 문제가 있다.
- [0049] 반면, 본 발명은 (1) 보리 전처리(수침, 건조) 과정과 분쇄보리 제조시 롤 밀(roll-mill) 횡수를 조절하여 전분 손상도를 낮출 수 있고, (2) 기존 전분 추출 공정 초기의 잔사(residue)에 알칼리 처리시 pH 범위를 조정하여

전분의 알칼리 호화를 방지함과 동시에 베타글루칸 및 단백질을 동시에 추출할 수 있으며, (3) 전분의 효율적 추출을 위하여 베타글루칸과 단백질을 추출을 하고 남은 잔사(residue)에 베타글루카나아제를 가하여 전분 추출 수율과 순도를 크게 상승시키는 효과를 가진다.

[0050] 이하에서는 본 발명의 실시예 및 실험예를 통해 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

[0051] 다만, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명에 대한 이해를 돕기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 하기 실시예 및 실험예로 제한되는 것은 아니다.

[0052] <실시예 1> 본 발명에 따른 보리로부터 베타글루칸, 단백질 및 전분의 동시 추출

[0053] <1-1> 보리의 전처리(수침, 건조) 및 분쇄보리의 제조 공정

[0054] 보리 1 kg을 5 배(w/w)의 15 내지 20℃ 수돗물에 5 내지 20시간 침지시킨 후, 체(Standard testing sieve, Chung gye sang gong sa, Korea)에 걸러 물기를 제거한 다음, 온도 20 내지 40℃ 및 상대습도 50 내지 80% 조건에서 30분 내지 2시간 동안 건조시킨 후, 롤 제분(Roll milling; DK104, 동광기계)(롤 간극: 1 mm)하여 1회 내지 5회 보리를 분쇄시킨 다음, 45℃ 건조기(HB-502LP, Hanbaek Co, Korea)에서 수분함량 10% 이하까지 건조시켜 분쇄보리를 제조하여, 1 kg의 분쇄보리를 수득하였다.

[0055] <1-2> 분쇄보리의 습식제분 공정

[0056] 분쇄 보리 50 g에 5배(w/w)의 0.03M HCl을 첨가한 후, 10 내지 55℃에서 16시간 침지시킨 다음, 옴니 믹서(omni-mixer)('2.5 내지 5', 3 내지 10분으로 세팅)로 습식제분(wet milling)한 후 여과 및 세척(75 um)하고, 이때 잔여물(P1)은 습식제분, 여과 및 세척 단계를 1회 내지 3회 반복하고 남은 잔여물을 수득하였고, 나머지 여과액은 원심분리기(Supra 22K, Hanil, Korea)를 이용해 원심분리(3,000 X g, 5분)하여 2900 g의 상등액(S1)과 100 g(wet base)의 침전물(P1)을 분리하였다.

[0057] <1-3> 베타글루칸 및 단백질 용출을 위한 알칼리 추출 공정

[0058] 잔여물(P1)에 20배(w/w)의 수돗물을 첨가한 후 1N NaOH를 사용하여 pH 11.5 내지 12로 조절한 다음, 45℃에서 30분간 교반한 후 원심분리(10,000 X g, 30분)하여 침전물(P3)과 상등액(S2)을 분리하였다. 이때, 새싹보리의 경우, 23.28 g(dry base)의 잔여물(P1)에 465.6 g(20배, w/w)의 수돗물을 첨가하였고, 흰찰보리의 경우, 20.18g(dry base)의 잔여물(P1)에 403.6 g(20배, w/w)의 수돗물을 첨가하였다.

[0059] <1-4> 단백질 및 베타글루칸의 분리 공정

[0060] 2900 g의 상등액(S1) 및 새싹보리의 경우 485 g, 흰찰보리의 경우 420 g의 상등액(S2)를 혼합한 후 pH 4.3 내지 4.8로 조절한 다음, 원심분리(10,000 X g, 30분)하여 획득한 침전물을 pH 7.0으로 조절한 후 동결건조기(Clean vac 8B, Hanil Science, Korea)를 이용해 동결건조하여 새싹보리의 경우 2.53 g, 흰찰보리의 경우 2.41 g의 단백질을 획득하였다. 또한, 상기 원심분리하여 획득한 상등액에 2배의 90 내지 100% 에탄올을 첨가한 후 진탕한 다음 4℃에서 12시간 방치한 후 원심분리(5,000 X g, 30분)하여 7000 g의 상등액(R2)을 분리하고, 45℃에서 건조하여 새싹보리의 경우 4.3 ~ 5.3 g, 흰찰보리의 경우 6.7 ~ 7.7 g 범위의 상등액(R2)을 수득하였다. 또한, 상기 원심분리하여 분리된 침전물을 45℃에서 건조하여 새싹보리의 경우 1.08 g, 흰찰보리의 경우 1.84 g의 베타글루칸을 획득하였다. 획득한 단백질의 함량은 AOAC법(1990)의 Micro-Kjeldahl법으로 측정하였다. 추출해서 동결건조 시킨 약 0.5 g의 시료와 25 ml의 진한 황산, 1g의 촉매제($\text{CuSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4 = 1:9$)를 켈달분석기(Turbotherm TT625, CM corporation Ltd, Germany)의 분해 플라스크(flask)에 넣은 다음, 시료의 색이 옅은 청색이 될 때까지 분해하고 실온에서 냉각시켰다. 온도는 세팅(setting)값 2(100℃ 이상)에서 1시간, 3(300℃ 이상)에서 1시간, 3.5(380℃ 이상)에서 5시간 이상 가열하여 분해시켰다. 분해 시료를 각각의 시험관에 1st D.W 100 ml 씩 넣어 희석시킨 뒤, 반자동 증류기(Vapodest 10s, CM corporation Ltd, Germany)를 이용해서 세팅(setting)값 3으로 조절하여 증류과정을 거쳤다. 증류과정을 거쳐 발생한 2NH_3 기체를 100 g의 붕산(boric acid)(4% w/w)에

포집한 후 0.1N의 H_2SO_4 용액으로 역적정하여 소비량(ml)을 구하여 최종적으로 보리 단백질의 질소계수 5.83을 곱하여 단백질 함량을 구하였다. 획득한 베타글루칸의 함량은 AOAC 995.16 방법(McCleary and Codd, 1991)에 따른 Megazyme β -glucan assay kit(Megazyme Pty. Ltd., Australia)를 사용하여 측정하였다. 즉 β -glucan 500 mg에 50%(v/v) 에탄올 1 ml를 첨가 및 교반한 후 20 mM sodium phosphate buffer(pH6.5) 4.0 mL을 가하고 100℃에서 6분간 반응하였다. 추출액에 리체나아제(lichenase)(10 unit) 0.2 ml를 첨가한 후 40℃에서 1시간 효소처리 한 후, 증류수를 이용해 30 mL 정용하여 원심분리(1,000 × g, 10 min)하여 상등액을 취하였다. 상등액 0.1 mL을 각각 3개의 시험관에 담고 하나의 시험관에는 50 mM 아세트산나트륨 완충용액(sodium acetate buffer)(pH 4.0) 0.1 mL, 나머지 두 개의 시험관에는 베타글루코시다제(β -glucosidase) 0.1 mL을 가한 후 40℃에서 15분 반응하였다. 반응액에 GOPOD reagent 3 mL을 가하고 40℃에서 20분간 반응 후 510 nm에서 흡광도를 측정하여 최종적으로 베타글루칸 함량을 구하였다.

[0061]

<1-5> 전분 추출 공정

[0062]

새쌀보리의 경우 22.28 ~ 24.38 g, 흰찰보리의 경우 19.18 ~ 21.18 g인 침전물(P3)에 베타글루카나제(β -glucanase)를 첨가(분쇄보리의 0.2 내지 2% w/v)(가수량 2 내지 5배)한 후, 45℃, pH 5.5 내지 7.5 조건에서 1 내지 10시간 반응한 다음, 여과 및 세척(75 μ m)하여 잔여물(R1)을 분리하여 새쌀보리의 경우 3.57 ~ 4.57 g, 흰찰보리의 경우 3.19 ~ 4.19 g을 수득하고, 나머지 여과액 및 침전물(P2)를 총 1L가 되도록 수돗물을 첨가한 후, pH 11.5에서 30분 동안 교반한 다음, 여과 및 세척(25 μ m)하여 잔여물(R3)을 분리하여 새쌀보리의 경우 0.81~1.41 g, 흰찰보리의 경우 0.84 ~ 1.24 g을 수득하고, 나머지 여과액을 원심분리(3,000 X g, 5분)하여 상등액(R4)을 분리하여 새쌀보리의 경우 3.01 ~ 4.01 g, 흰찰보리의 경우 3.64 ~ 4.64 g을 수득하고, 또한 갈색층(R5)을 분리하여 새쌀보리의 경우 2.40 ~ 3.00 g, 흰찰보리의 경우 2.08 ~ 2.68 g을 수득하였으며, 나머지 분리된 백색층은 5배의 수돗물을 첨가하였으며, 이를 원심분리를 통한 상등액, 갈색층 및 백색층 분리 과정을 총 2회 반복한 후, pH 7.0으로 조절한 후 45℃에서 건조하여 새쌀보리의 경우 24.88~25.88 g, 흰찰보리의 경우 25.98~26.98 g의 전분을 획득하였다. 추출한 전분의 함량을 측정하기 위한 실험 방법으로 AOAC방법의 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase)/알파아밀라아제(α -amylase) 방법(method)을 이용한 kit(K-TSTA, Megazyme International Ireland Ltd, Bray, Ireland)를 사용하여 분석하였다. 전분 100 mg에 80%(v/v) 에탄올 0.2 mL을 첨가 및 교반한 후 내열성 알파아밀라아제(thermostable α -amylase)를 100 mM 아세트산나트륨 완충용액(sodium acetate buffer)에 1 : 30으로 희석한 용액을 3 mL 가하고 100℃에서 6분간 반응하였다. 반응이 끝나면 50℃까지 냉각하여 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase)를 0.1 mL 가하여 50℃ 진탕수조(shaking water bath)에서 30분간 진탕한 뒤, 100 mL 정용플라스크에 옮겨 100 mL로 정용하고, 일부분을 취해 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 시험관 3개를 준비하여 하나의 시험관에는 상등액 0.1 mL을 담고, 나머지 두 개의 시험관에는 각각 증류수와 D-글루코즈(D-glucose)를 0.1 mL씩 담아 각각의 시험관에 GOPOD reagent 3 mL을 가하고 50℃에서 20분간 반응 후 510 nm에서 흡광도를 측정하여 최종적으로 전분 함량을 구하였다.

[0063]

<비교예 1> 기존의 전분 추출 공정

[0064]

분쇄보리 50 g에 5배(w/w)의 0.03M HCl를 첨가한 후, 45℃에서 16시간 동안 침지한 다음, 옴니 믹서(omni-mixer)('2.5', 5분으로 세팅)로 습식제분(wet milling)한 후 여과 및 세척(75 μ m)하여 잔여물(R1)을 분리하고, 여과액을 원심분리(3,000 X g, 5분)하여 상등액(R2)을 분리하고, 나머지 침전물에 총 1L가 되도록 수돗물을 첨가한 후, pH 11.5에서 30분 동안 교반한 다음, 여과 및 세척(25 μ m)하여 잔여물(R3)을 분리하고, 나머지 여과액을 원심분리(3,000 X g, 5분)하여 상등액(R4)을 분리하고, 또한 갈색층(R5)을 분리하였으며, 나머지 분리된 백색층은 5배의 수돗물을 첨가하였으며, 이를 원심분리를 통한 상등액, 갈색층 및 백색층 분리 과정을 총 2회 반복한 후, pH 7.0으로 조절한 후 45℃에서 건조하여 전분을 획득하였다.

[0065]

<실험예 1> 본 발명의 추출법 및 기존의 전분 추출법에 따른 추출량 비교

[0066]

상기 <실시예 1>의 추출법과 <비교예 1>의 추출법에 따른 추출물들의 건물량(중량) 및 유용성분의 함량을 측정 후 비교하였다.

[0067]

추출물들의 건물량(dry base)은 추출물들을 45℃에서 건조한 후 무게(g)를 측정하고 수분함량(%)을 측정하여 하

기 [수학식 1]을 통해 구하였다. 추출수율(%)은 하기 [수학식 2]를 통해 구하였다.

수학식 1

$$\text{건물량(g)} = \text{추출물(g)} \times \{(100 - \text{수분함량}(\%)) \times 0.01\}$$

수학식 2

$$\text{추출수율}(\%) = \frac{\text{추출된성분의건물량(g)} \times \text{추출된각성분의순도}(\%)}{\text{분쇄보리의건물량(g)} \times \text{분쇄보리의각성분의순도}(\%)} \times 100$$

추출물들의 유용성분 함량은 다음과 같이 측정하였다.

구체적으로, 추출물들의 단백질의 함량은 AOAC 방법(1990)의 Micro-Kjeldahl법으로 측정하였다. 약 0.5 g의 시료와 25 ml의 진한황산, 1g의 촉매제($\text{CuSO}_4:\text{K}_2\text{SO}_4=1:9$)를 켈달분석기(Turbotherm TT625, CM corporation Ltd, Germany)의 분해 플라스크에 넣은 다음, 시료의 색이 옅은 청색이 될 때까지 분해하고 실온에서 냉각시켰다. 온도는 세팅값 2(100℃ 이상)에서 1시간, 3(300℃ 이상)에서 1시간, 3.5(380℃ 이상)에서 5시간 이상 가열하여 분해시켰다. 분해 시료를 각각의 시험관에 1st D.W 100ml 씩 넣어 회석시킨 뒤, 반자동 증류기(Vapodest 10s, CM corporation Ltd, Germany)를 이용해서 세팅값 3으로 조절하여 증류과정을 거쳤다. 증류과정을 거쳐 발생한 2NH_3 기체를 100g의 붕산(boric acid)(4%, w/w)에 포집한 후 0.1N의 H_2SO_4 용액으로 역적정하여 소비량(ml)을 구하여 최종적으로 보리 단백질의 질소계수 5.83을 곱하여 단백질 함량을 구하였다.

또한, 추출물들의 베타글루칸의 함량은 AOAC 995.16 방법(McCleary and Codd, 1991)에 따른 Megazyme β -glucan assay kit(Megazyme Pty. Ltd., Australia)를 사용하여 측정하였다. 즉 시료 500 mg에 50%(v/v) 에탄올 1 ml를 첨가 및 교반한 후 20 mM 인산나트륨 완충용액(sodium phosphate buffer)(pH6.5) 4.0 mL을 가하고 100℃에서 6분간 반응하였다. 추출액에 리체나아제(lichenase)(10 unit) 0.2 ml를 첨가한 후 40℃에서 1시간 효소처리 한 후, 증류수를 이용해 30 mL 정용하여 원심분리(1,000 × g, 10 min)하여 상등액을 취하였다. 상등액 0.1 mL을 각각 3개의 시험관에 담고 하나의 시험관에는 50 mM 아세트산나트륨 완충용액(sodium acetate buffer)(pH 4.0) 0.1 mL, 나머지 두 개의 시험관에는 베타글루코시다아제(β -glucosidase) 0.1 mL을 가한 후 40℃에서 15분 반응하였다. 반응액에 GOPOD reagent 3 mL을 가하고 40℃에서 20분간 반응 후 510 nm에서 흡광도를 측정하여 최종적으로 베타글루칸 함량을 구하였다.

또한, 추출물들의 전분의 함량을 측정하기 위한 실험 방법으로 AOAC 방법의 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase)/알파아밀라아제(α -amylase) 방법을한 kit(K-TSTA, Megazyme International Ireland Ltd, Bray, Ireland)를 사용하여 분석하였다. 시료 100 mg에 80%(v/v) 에탄올 0.2 ml를 첨가 및 교반한 후 thermostable α -amylase를 100 mM sodium acetate buffer에 1 : 30으로 희석한 용액을 3 ml 가하고 100℃에서 6분간 반응하였다. 반응이 끝나면 50℃까지 냉각하여 아밀로글루코시다아제(amyloglucosidase)를 0.1 ml 가하여 50℃ 진탕수조(shaking water bath)에서 30분간 진탕한 뒤, 100 ml 정용플라스크에 옮겨 100 ml로 정용하고, 일부분을 취해 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 시험관 3개를 준비하여 하나의 시험관에는 상등액 0.1 ml를 담고, 나머지 두 개의 시험관에는 각각 증류수와 D-글루코즈(D-glucose)를 0.1 ml씩 담아 각각의 시험관에 GOPOD reagent 3 mL을 가하고 50℃에서 20분간 반응 후 510 nm에서 흡광도를 측정하여 최종적으로 전분 함량을 구하였다.

분석 결과, 기존의 전분 추출법에 의해 추출된 경우, 전분은 약 17 내지 19 g 추출되고 R1 및 R2의 잔여물이 20 g 이상 상당히 많이 추출되었으며(도 7), 이런 R1 및 R2의 잔여물에는 베타글루칸 함량이 약 1.0 이상 포함되어 있는 것으로 나타났다(도 9).

반면, 본 발명의 추출법에 의해 추출된 경우, 전분, 단백질 및 베타글루칸이 모두 동시에 추출되었으며, 전분은 약 27 내지 28 g 추출되어서 기존의 전분 추출법에 비해 추출 효율이 높은 것으로 나타났으며(도 8), 추출된 베타

타글루칸의 순도가 높고, 나머지 잔여물에는 베타글루칸이 거의 없는 것으로 나타내었다(도 10).

[0076] 또한, 기존의 전분 추출법에 의해 추출된 경우, 단백질이 추출되지는 않았으나 R1 및 R2 등의 잔여물에 각각 약 3.0 내지 4.0 g, 약 1.0 내지 1.5 g을 포함하고 있는 것으로 나타냈다(도 11).

[0077] 반면, 본 발명의 추출법에 의해 추출된 경우, 단백질에는 약 2.5 내지 2.7 g 함량을 나타내고, 나머지 잔여물에 약 1.0 g 이하의 미량의 단백질을 포함하고 있는 것으로 나타냈다(도 12).

[0078] 또한, 기존의 전분 추출법에 의해 추출된 경우, R1의 잔여물에 전분이 약 10 g 이상 포함하고 있으며, 분리된 전분에 전분 함량이 약 16 내지 18 g인 것으로 나타냈다(도 13).

[0079] 반면, 본 발명의 추출법에 의해 추출된 경우, 대부분의 잔여물들에 전분 함량이 1 g 이하로 미량 포함하고 있으며, 분리된 전분에 전분 함량이 약 25 g 이상인 것으로 나타냈다(도 14).

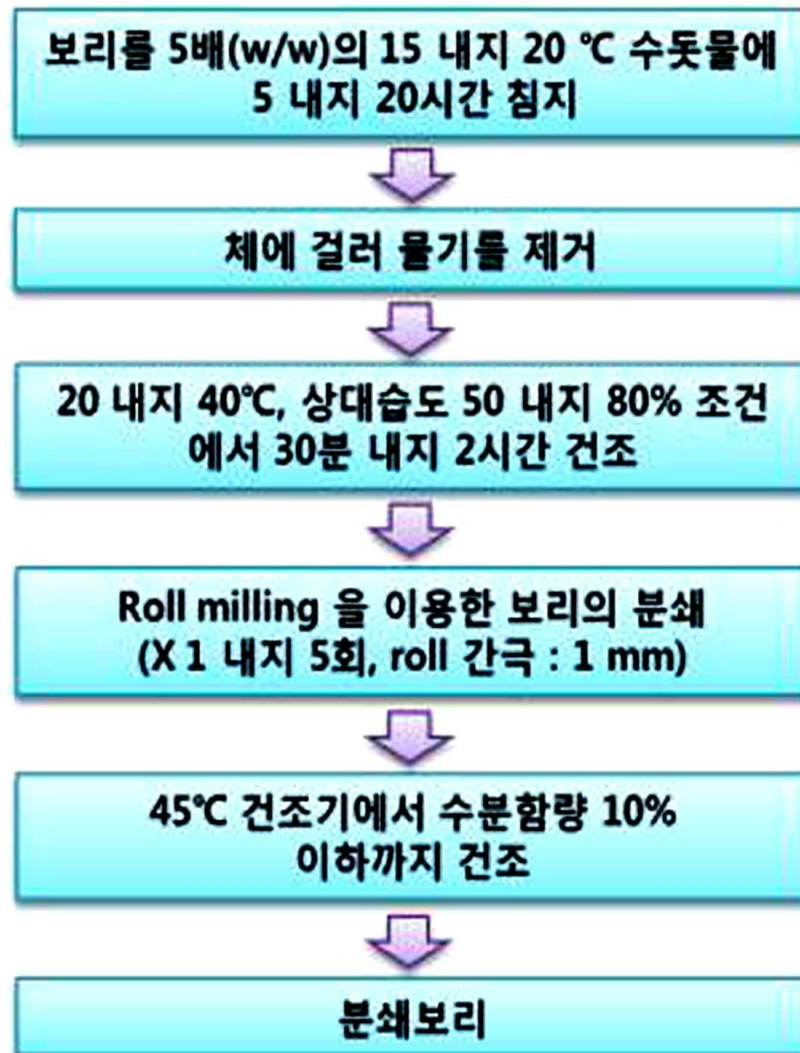
[0080] 본 발명은 기재된 실시예에 한정되는 것은 아니고, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다양하게 수정 및 변형할 수 있음은 이 기술의 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명하다. 따라서 그러한 변형예 또는 수정예들은 본 발명의 특허청구범위에 속한다 해야 할 것이다.

산업상 이용가능성

[0081] 본 발명은 보리의 유용성분인 베타글루칸, 단백질 및 전분을 동시에 추출할 수 있으므로 경제적이고, 상기 추출법에 의해 획득한 베타글루칸, 단백질 및 전분의 추출 수율 및 순도가 상당히 높아서, 기능성 식품, 전분당 산업 및 단백질 강화 식품(예를 들면, 에너지바) 등의 산업용 식품 소재 개발에 유용하게 사용될 수 있다.

도면

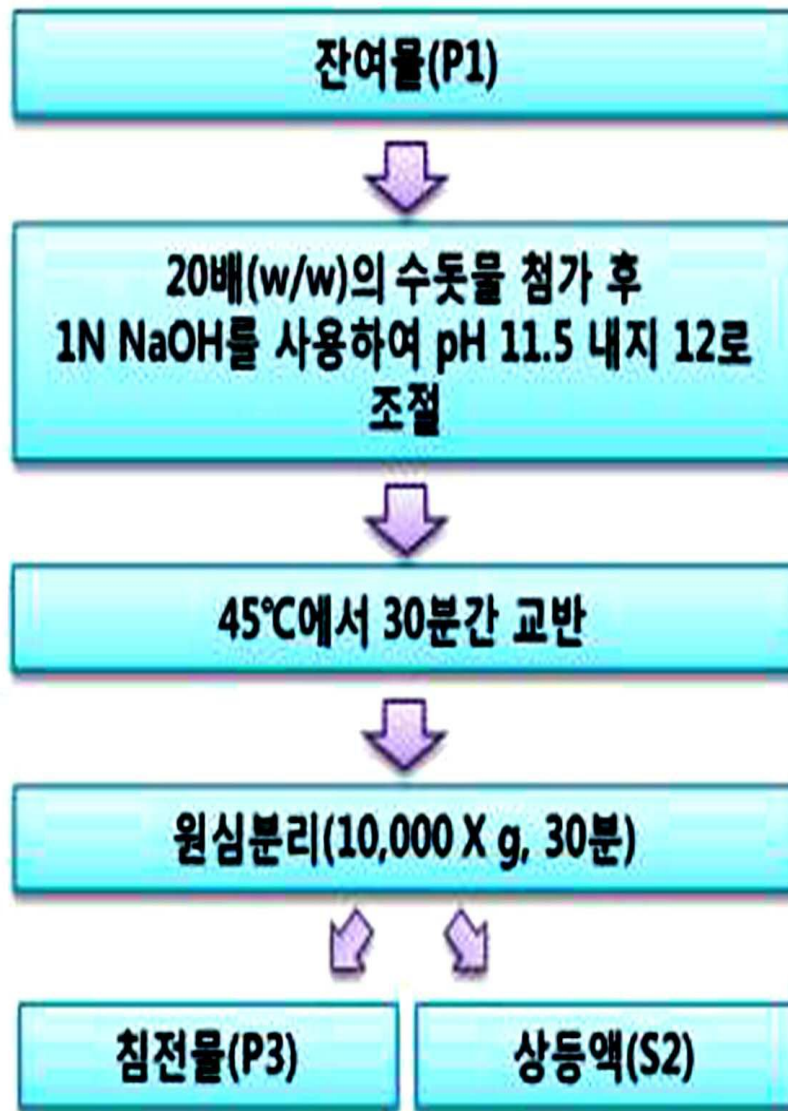
도면1



도면2



도면3



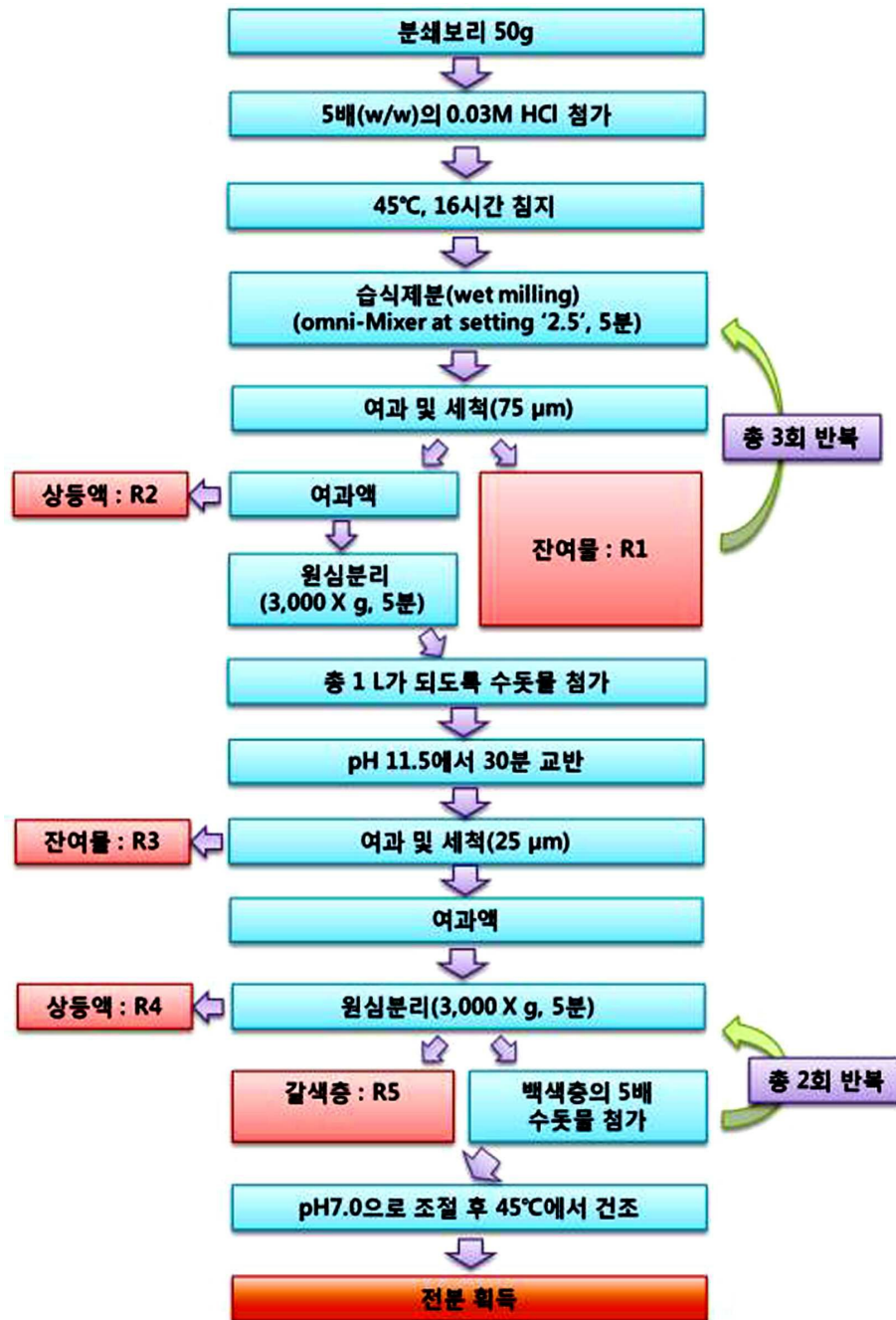
도면4



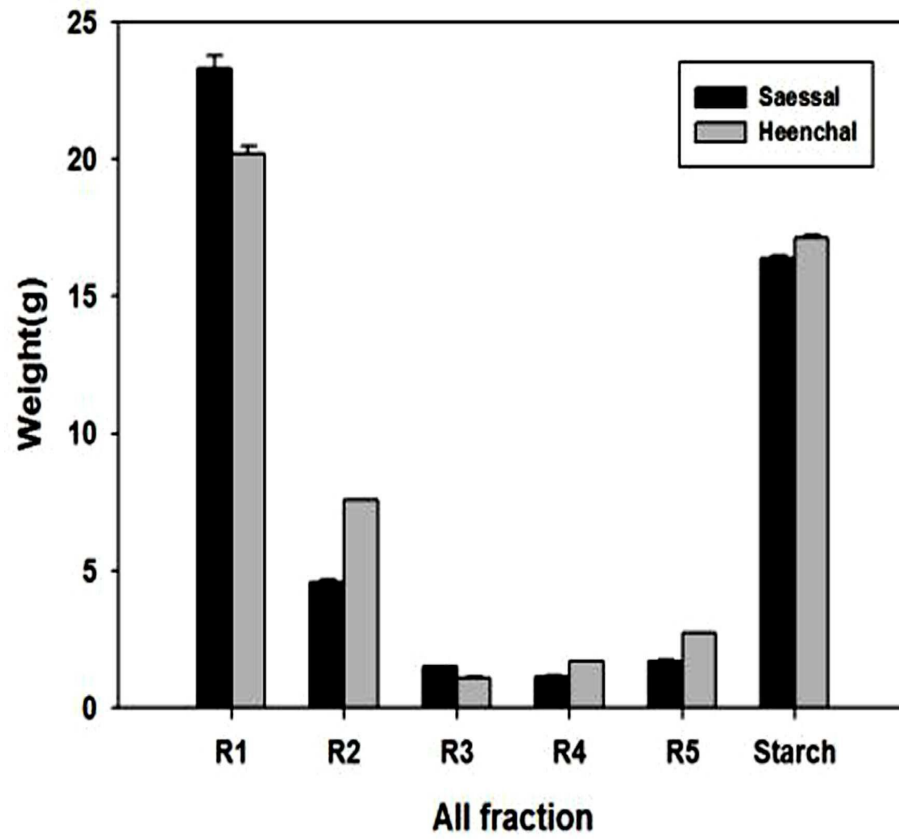
도면5



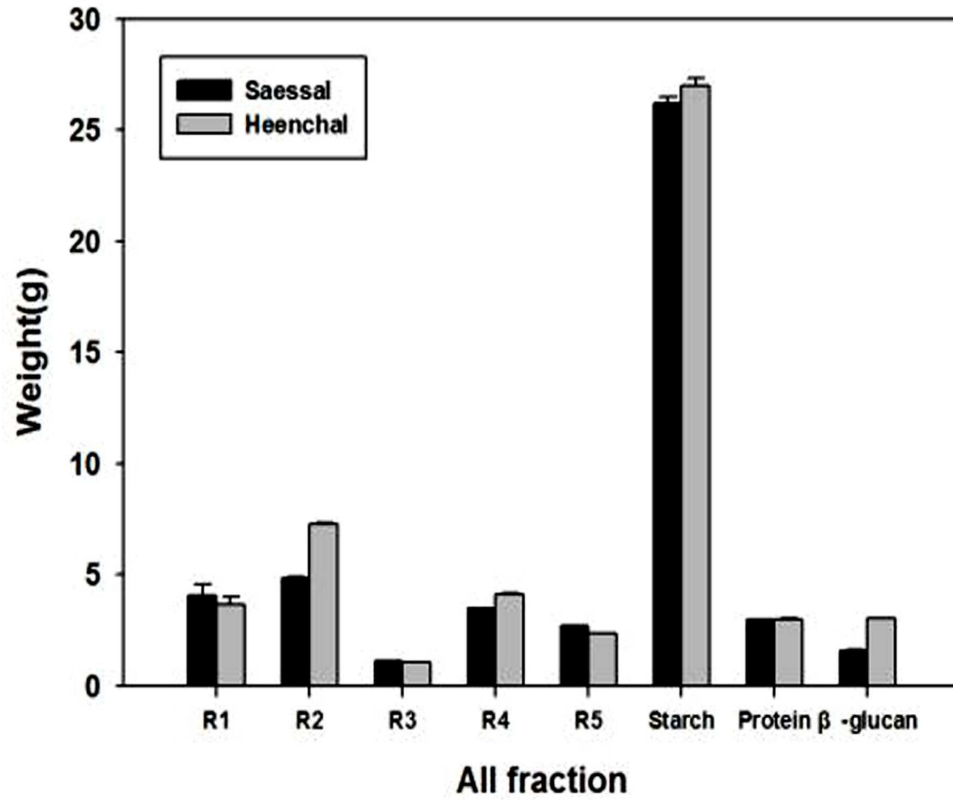
도면6



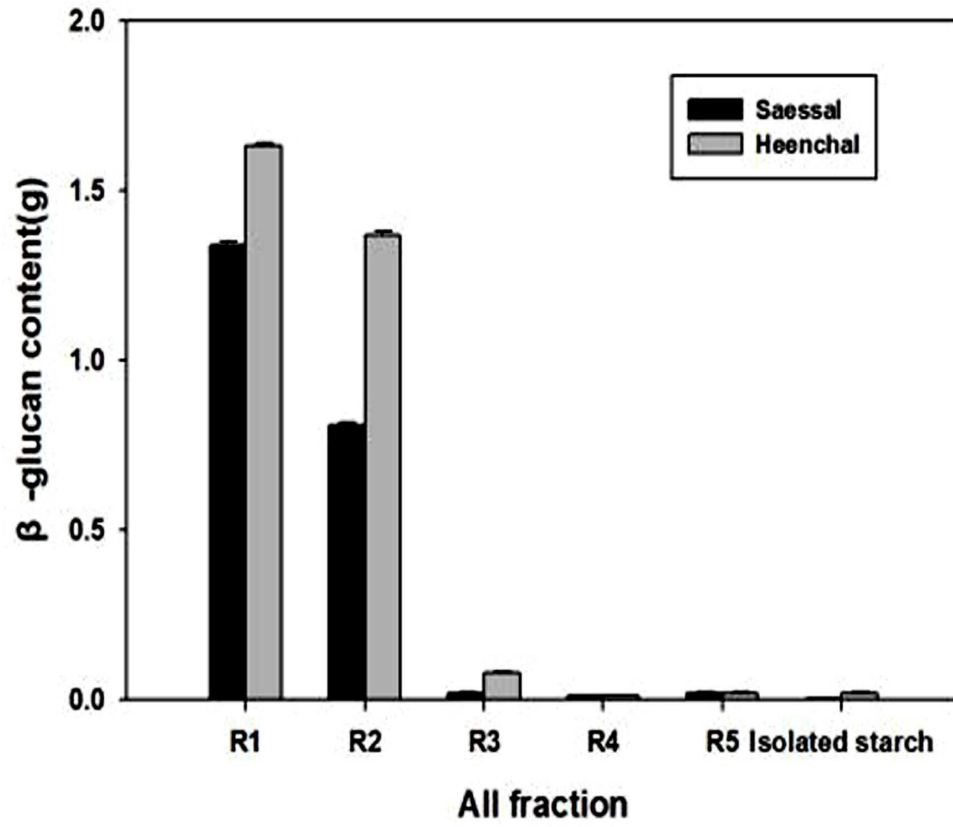
도면7



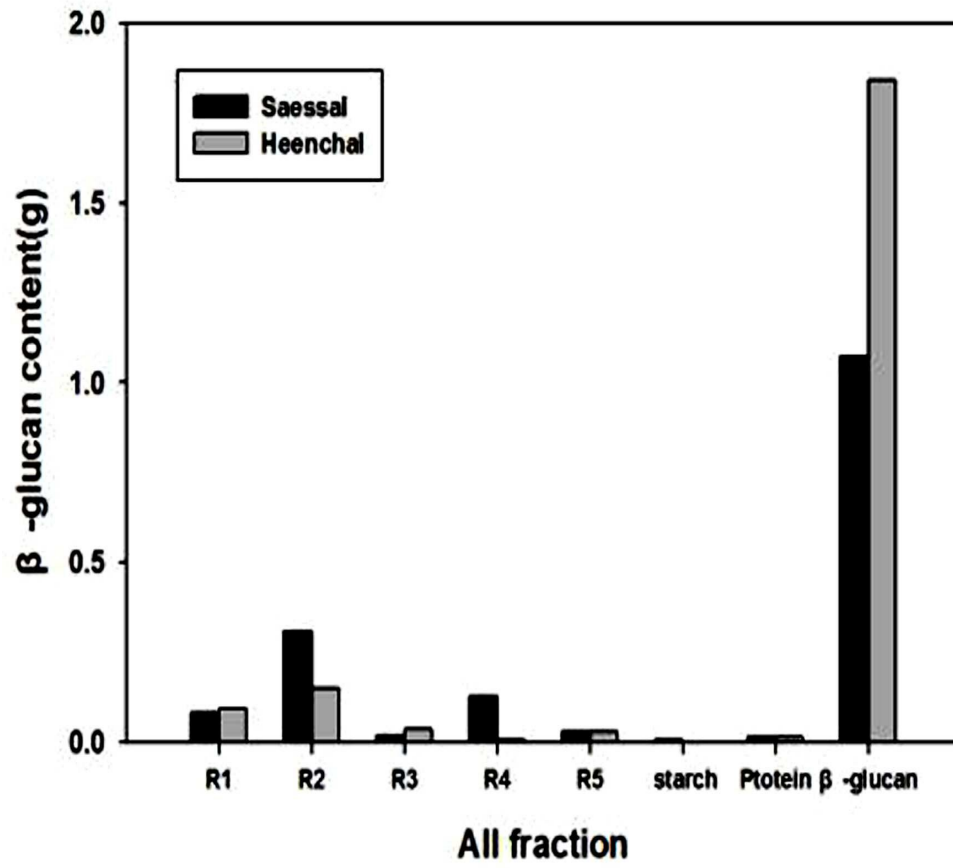
도면8



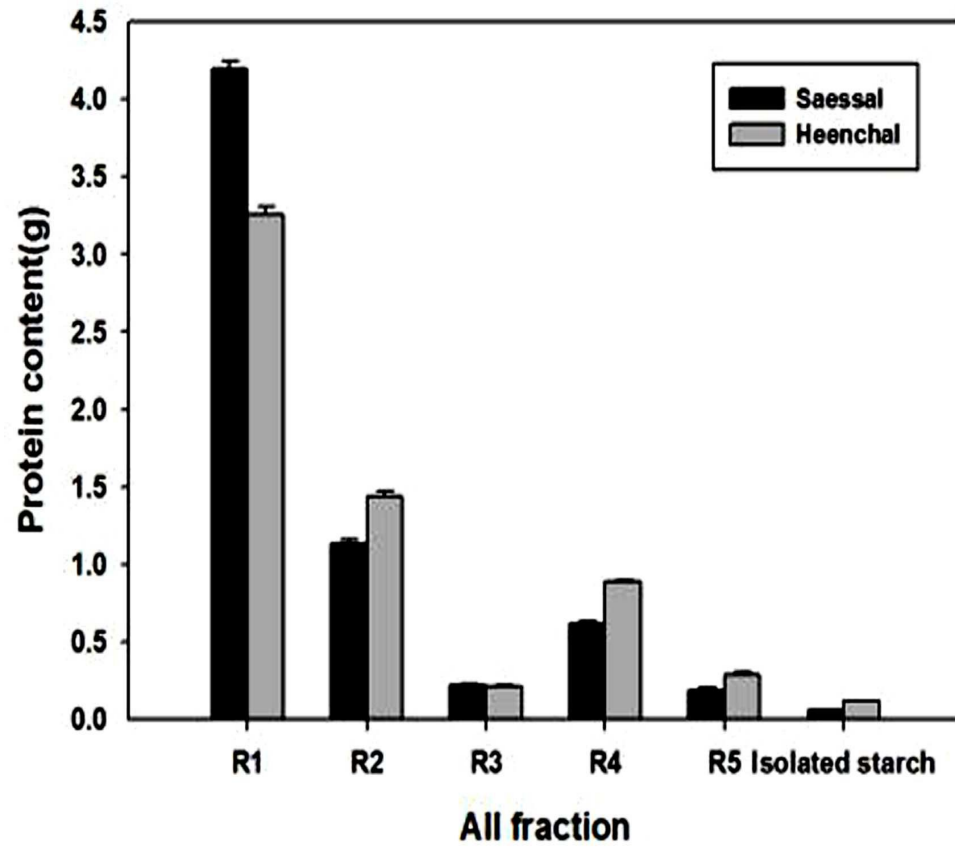
도면9



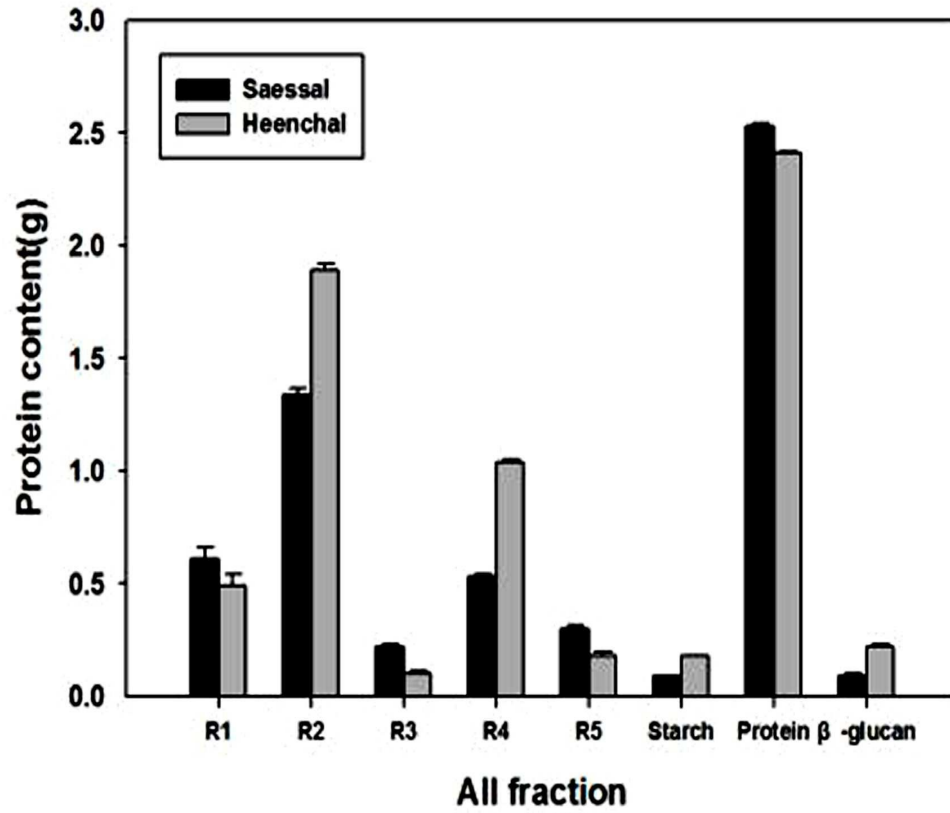
도면10



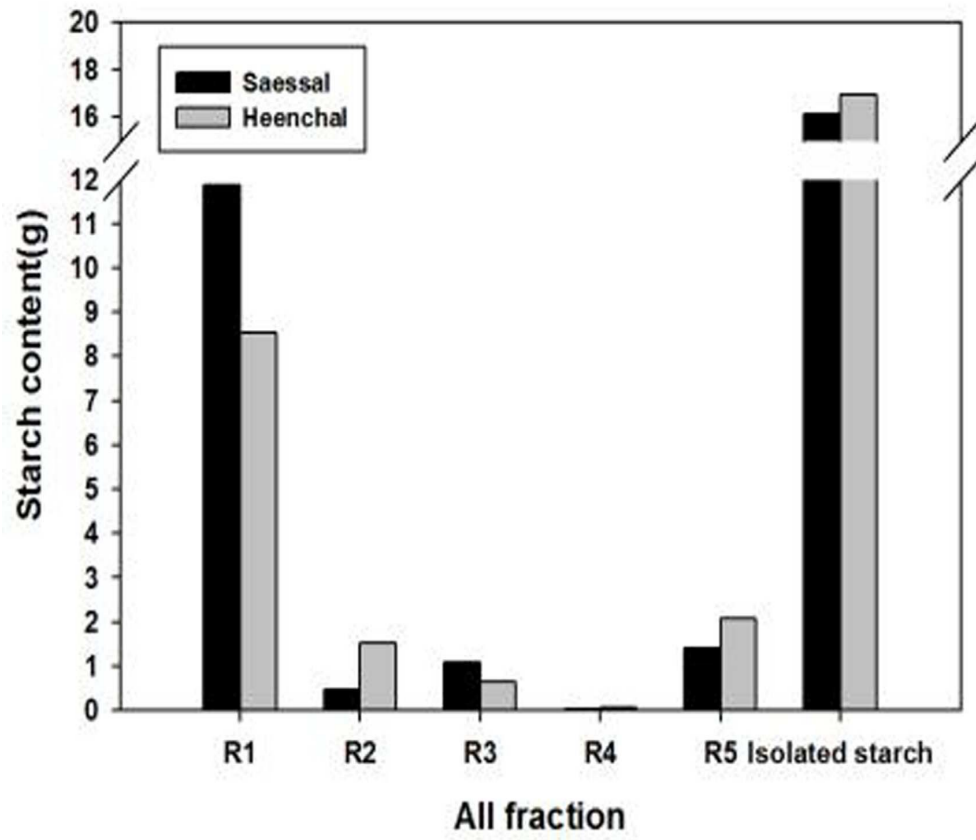
도면11



도면12



도면13



도면14

