

관 인 생 략

출 원 번 호 통 지 서

출 원 일 자 2016.07.04

특 기 사 항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(1060580)

출 원 번 호 10-2016-0084318 (접수번호 1-1-2016-0646425-19)

출 원 인 명 칭 대한민국(농촌진흥청장)(2-1998-005031-4) 외 1명

대 리 인 성 명 특허법인이룸리온(9-2016-100061-5)

발 명 자 성 명 박지영 한상익 이유영 이병원 최용환 김욱한 권영업 김용노 노신정 홍정선

발 명 의 명 칭 도담쌀을 이용한 환형아밀로오스의 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [출원인코드 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr>-특허마당-PCT/마드리드
※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
※ 특허출원 10-2010-00000000, 상표등록출원 40-2010-00000000
7. 종업원이 직무수행과정에서 개발한 발명을 사용자(기업)가 명확하게 승계하지 않은 경우, 특허법 제62조에 따라 심사단계에서 특허거절결정되거나 특허법 제133조에 따라 등록이후에 특허무효사유가 될 수 있습니다.
8. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【참조번호】	1060580
【출원구분】	특허출원
【출원인】	
【명칭】	대한민국(농촌진흥청장)
【출원인코드】	2-1998-005031-4
【출원인】	
【명칭】	서울대학교 산학협력단
【출원인코드】	1-2007-050924-2
【대리인】	
【명칭】	특허법인이름리온
【대리인코드】	9-2016-100061-5
【지정된변리사】	양석주
【포괄위임등록번호】	2016-044151-1
【발명의 국문명칭】	도담쌀을 이용한 환형아밀로오스의 제조방법
【발명의 영문명칭】	Method for production of cycloamylose from Dodam rice
【발명자】	
【성명】	박지영
【성명의 영문표기】	Park, Ji-Young
【주민등록번호】	831106-2XXXXXX
【우편번호】	16613

【주소】 경기도 수원시 권선구 서호로 54

【국적】 KR

【발명자】

【성명】 한상익

【성명의 영문표기】 Han, Sang-Ik

【주민등록번호】 660318-1XXXXXX

【우편번호】 42267

【주소】 대구시 수성구 천을로23길 21

【국적】 KR

【발명자】

【성명】 이유영

【성명의 영문표기】 Lee, Yu-Young

【주민등록번호】 760601-2XXXXXX

【우편번호】 16613

【주소】 경기도 수원시 권선구 서호로 54

【국적】 KR

【발명자】

【성명】 이병원

【성명의 영문표기】 Lee, Byung-Won

【주민등록번호】 731122-1XXXXXX

【우편번호】 16613

【주소】 경기도 수원시 권선구 서호로 54

【국적】 KR

【발명자】

【성명】 최용환

【성명의 영문표기】 Choi , Yong Hwan

【주민등록번호】 570712-1XXXXXX

【우편번호】 16613

【주소】 경기도 수원시 권선구 서호로 54

【국적】 KR

【발명자】

【성명】 김옥한

【성명의 영문표기】 Kim, Uk Han

【주민등록번호】 621007-1XXXXXX

【우편번호】 16429

【주소】 경기도 수원시 권선구 수인로 126 (서둔동)

【국적】 KR

【발명자】

【성명】 권영업

【성명의 영문표기】 Kwon, Young-up

【주민등록번호】 590109-1XXXXXX

【우편번호】 16329

【주소】 경기도 수원시 장안구 만석로 29

【국적】 KR

【발명자】

【성명】 김용노

【성명의 영문표기】 Kim, Yong-Ro

【주민등록번호】 681026-1XXXXXX

【우편번호】 14106

【주소】 경기도 안양시 동안구 흥안대로 223번길 47, 102동 1601호
(호계동, 샘마을대우아파트)

【국적】 KR

【발명자】

【성명】 노신정

【성명의 영문표기】 Rho, Shin-Joung

【주민등록번호】 770803-2XXXXXX

【우편번호】 22783

【주소】 인천광역시 서구 율도로 107번길 4-1

【국적】 KR

【발명자】

【성명】 홍정선

【성명의 영문표기】 Hong, Jung Sun

【주민등록번호】 830401-2XXXXXX

【우편번호】 08787

【주소】 서울시 관악구 관악로 15길 23-12 서울대역 해담채 304호

【국적】 KR

【출원언어】 국어

【심사청구】 청구

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 PJ011241

【부처명】 농촌진흥청

【연구관리 전문기관】 농촌진흥청

【연구사업명】 농업공동연구

【연구과제명】 고아밀로스 벼 및 유색미 이용 향산화 기능강화 변형전분
식품소재 개발

【기여율】 1/1

【주관기관】 국립식량과학원

【연구기간】 2015.01.01 ~ 2017.12.31

【취지】 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

대리인 특허법인이룸리온 (서명 또는 인)

【수수료】

【출원료】 0 면 46,000 원

【가산출원료】 28 면 0 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 11 항 627,000 원

【합계】 673,000 원

【감면사유】 국가[1], 전담조직(50%감면)[1]

【감면후 수수료】 168,300 원

【발명의 설명】

【발명의 명칭】

도담쌀을 이용한 환형아밀로오스의 제조방법{Method for production of cycloamylose from Dodam rice}

【기술분야】

【0001】 본 발명은 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법 및 이 방법으로 수득된 환형 아밀로오스를 포함하는 체중감량용 조성물에 관한 것으로, 보다 자세하게는 (a) 도담쌀 전분의 탈분지 단계; (b) 고리화 단계; (c) 글루코아밀레이즈(Glucoamylase) 효소 처리하는 단계; 및 (d) 불순물을 제거하는 단계를 포함하는 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법에 관한 것이다.

【발명의 배경이 되는 기술】

【0002】 환형 아밀로오스(cycloamylose)는 천연성분 및 향기성분의 포집, 단백질의 재접힘 효과 등 식품 및 의약분야에 널리 사용되고 있는 기능성 당류이다. 환형 아밀로오스는 글루코오스 분자수 6개 내지 50개 이상이 중합된 환상 당류 등을 포함한다.

【0003】 상기 환형 아밀로오스를 제조하는 종래 방법은 미생물에서 유래한 알파 글루카노트랜스퍼라제를 선형 아밀로오스가 함유된 기질, 특히 밀가루 전분 등에 처리하여 제조하는 것이었다. 그러나 상기 방법으로 제조하는 경우 수율이 현저히 저조한 문제점이 있었다. 구체적으로 그 원인을 분석해 보면, 글루카노트랜스

퍼라제를 선형 아밀로오스가 함유된 기질에 처리하는 경우, 반응 과정에서 글루코오스가 생성된다. 상기 생성된 글루코오스가 당전이 및 분배반응에서 수용체로 작용하여 짧은 사슬이 생성되는데, 상기와 같이 짧은 길이의 선형 아밀로오스로는 환상 아밀로오스를 제조할 수 없기 때문이다.

【0004】 따라서, 상기 당전이 및 분배반응에서 생성된 글루코오스를 효과적으로 제거하고, 고수율로 환상 아밀로오스를 제조하는 방법이 절실히 요구된다.

【발명의 내용】

【해결하고자 하는 과제】

【0005】 이에 본 발명자들은 적은 비용, 높은 수율로 환형 아밀로오스를 수득할 수 있는 방법을 개발하여 본 발명을 완성하였다.

【0006】 따라서, 본 발명의 목적은 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

【0007】 본 발명의 또 다른 목적은, 도담쌀로부터 제조된 환형 아밀로오스를 제공하는 것이다.

【0008】 본 발명의 또 다른 목적은, 도담쌀 유래 환형 아밀로오스를 유효성분으로 포함하는 체중감량용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

【0009】 본 발명의 또 다른 목적은, 도담쌀 유래 환형 아밀로오스를 유효성분으로 포함하는 체중감량용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

【0010】 본 발명의 또 다른 목적은, 중합도 6 내지 36의 환형 아밀로오스를 제조하기 위한 도담쌀의 사용 방법을 제공하는 것이다.

【과제의 해결 수단】

【0011】 상기의 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 (a) 도담쌀 전분을 탈분지시키는 단계; (b) 탈분지된 전분을 고리화시키는 단계; (c) 글루코아밀레이즈(Glucoamylase) 효소를 처리하여 잔가지를 제거하는 단계; 및 (d) 알코올을 처리하고, 원심분리하여 고수율의 환형 아밀로오스를 수득하는 단계를 포함하는 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법을 제공한다.

【0012】 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 (a)단계의 탈분지는 슈도모나스 아밀로데라모사(*Pseudomonas amyloclavata*)에서 유래된 이소아밀레이즈(isoamylase) 탈분지 효소를 35 내지 45 °C의 온도조건에서 2 내지 8 U/g의 농도로 처리하여 5 내지 10시간동안 수행되는 것일 수 있다.

【0013】 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 (b)단계의 고리화는 테르무스 아쿠아티쿠스(*Thermus aquaticus*)에서 유래된 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈(4- α -glucanotransferase) 또는 테르무스 테르모필루스(*thermus thermophilus*)에서 유래된 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈(4- α -glucanotransferase) 고리화 효소를 60 내지 80 °C 온도조건에서 5 내지 15 U/g의 농도로 처리하여 수행되는 것일 수 있다.

【0014】 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 (c) 단계의 글루코아밀레이즈 효소는 35 내지 45 °C 온도조건에서 50 내지 150 U/g의 농도로 4 내지 10 시간동안 처리되는 것일 수 있다.

【0015】 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 (d) 단계의 알코올은 식용으로 사용할 수 있는 것이라면 제한없이 사용할 수 있으며, 바람직하게는 에탄올을 사용할 수 있고, 원심분리기로 2500 내지 3500 rpm에서 5 내지 15분간 원심분리하여, 상등액을 제거하는 것 일 수 있다.

【0016】 본 발명의 바람직한 또 다른 일실시예에 따르면, 상기 환형 아밀로오스는 중합도 6 내지 36인 것일 수 있다.

【0017】 본 발명은 또한, 상기 방법으로 제조된 환형 아밀로오스를 포함한다.

【0018】 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 도담쌀 유래 환형 아밀로오스를 유효성분으로 포함하는 체중감량용 식품 조성물을 제공한다.

【0019】 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 도담쌀 유래 환형 아밀로오스를 유효성분으로 포함하는 체중감량용 약학적 조성물을 제공한다.

【0020】 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 중합도 6 내지 36의 환형 아밀로오스를 제조하기 위한 도담쌀의 사용 방법을 제공한다.

【발명의 효과】

【0021】 따라서 본 발명은 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법 및 이 방법으로 수득된 환형 아밀로오스를 포함하는 체중감량용 조성물을 제공한다. 본 발명에 따른 환형 아밀로오스의 제조 방법은 최적화된 조건으로 값비싼 아밀로오스 대신 값싼 쌀전분을 이용하여 환형아밀로스 생산 가능하며, 대량생산의 용이성 뿐 아니라 비용절감 효과를 가진다. 또한 도담쌀의 아밀로펙틴 체인 분포에서 보듯이 밀가루, 고구마, 감자 전분과 비교해 중합도가 높은 체인이 많이 있고, 다른 쌀과 비교해서도 중합도가 높게 분포하고 있어 균일한 크기의 환형 아밀로스 제조에 효과적이다.

【도면의 간단한 설명】

【0022】 도 1은 일반미, 고아미, 미면 또는 도담쌀 전분의 X-선 회절기를 이용한 결정성 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 2는 일반미 전분과 밀가루 전분의 체인 분포를 나타낸 그래프이다.

도 3은 고아미 전분과 일반미 전분의 체인 분포를 나타낸 그래프이다.

도 4는 도담쌀 전분과 일반미 전분의 체인 분포를 나타낸 그래프이다.

도 5는 도담쌀 전분을 이용하여 환형 아밀로오스를 제조하는 방법을 나타낸 모식도이다.

도 6은 도담쌀, 일반미 또는 고아미 전분의 환원당 함량을 나타내는 그래프이다.

도 7의 (a)는 전분의 효소처리 시간별 분자량의 분포를 나타낸 그래프이며, (b)는 효소 종류(TA α GTase 또는 TT α GTase)에 따른 분자량의 분포를 나타낸 그래프이다.

【발명을 실시하기 위한 구체적인 내용】

【0023】 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

【0024】 상술한 바와 같이, 환원당을 효과적으로 제거하고, 저렴한 비용으로 고수율의 환상 아밀로오스를 제조하는 방법이 절실히 요구되어 왔다.

【0025】 본 발명은 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법 및 이 방법으로 수득된 환형 아밀로오스를 포함하는 체중감량용 조성물을 제공한다. 본 발명에 따른 환형 아밀로오스의 제조 방법은 최적화된 조건으로 값비싼 아밀로오스 대신 값싼 쌀전분을 이용하여 환형아밀로스 생산 가능하며, 대량생산의 용이성 뿐 아니라 비용절감 효과를 가진다. 또한 도담쌀의 아밀로텍틴 체인 분포에서 보듯이 밀가루, 고구마, 감자 전분과 비교해 중합도가 높은 체인이 많이 있고, 다른 쌀과 비교해서도 중합도가 높게 분포하고 있어 균일한 크기의 환형 아밀로스 제조에 효과적이다.

【0026】 따라서, 본 발명은 (a) 도담쌀 전분을 탈분지 시키는 단계; (b) 탈분지된 전분을 고리화 시키는 단계; (c) 글루코아밀레이즈(Glucoamylase) 효소를 처리하여 잔가지를 제거하는 단계; 및 (d) 알코올을 처리하고, 원심분리하여 고수율의 환형 아밀로오스를 수득하는 단계를 포함하는 도담쌀로부터 환형 아밀로오스

를 제조하는 방법을 제공한다.

【0027】 본 발명에서 용어, ‘도담쌀’은 쌀가루를 만들기 좋은 전분 구조를 갖는 쌀 품종 중의 하나로서, 아밀로스 함량이 높을 뿐만 아니라, 식이섬유와 저항 전분의 함량이 높은 특징을 나타낸다. 상기 도담쌀의 수량은 10a당 529kg 정도이고, 출수기는 8월 10일경인 중생종이다. 상기 중생종은 성숙기가 이르지도 늦지도 아니한 중간 정도에 속하는 품종을 의미한다.

【0028】 본 발명에 있어서, 상기 도담쌀은 특별히 이에 제한되지 않으나, 도담쌀의 종자, 현미 또는 백미가 될 수 있다. 도담쌀은 다른 품종의 쌀에 비하여 높은 아밀로오스 함량을 가진다는 것이 특징이다.

【0029】 본 발명에서 용어, ‘고수율’은 구체적으로 45 %이상의 수율을 의미하는 것일 수 있으며, 바람직하게는 47% 이상의 수율을 의미하는 것일 수 있고, 가장 바람직하게는 49% 이상의 수율을 의미하는 것일 수 있다.

【0030】 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 (a)단계의 탈분지는 슈도모나스 아밀로데라모사(*Pseudomonas amyloclavata*)에서 유래된 이소아밀레이즈(isoamylase) 탈분지 효소를 35 내지 45 °C의 온도조건에서 2 내지 8 U/g의 농도로 처리하여 5 내지 10시간동안 수행되는 것일 수 있다.

【0031】 만약 35°C 보다 낮거나 45°C 보다 높은 온도조건에서 탈분지 과정이 수행된다면, 효소 활성이 충분하지 않아 탈분지 과정이 적절히 이루어지지 않을 수 있다. 따라서, 바람직한 탈분지 효소 처리 온도는 35 내지 45°C일 수 있다. 가장

바람직하게는 40℃일 수 있다.

【0032】 만약 2 U/g의 농도보다 낮은 탈분지 효소를 처리한다면, 탈분지 반응에 필요로되는 효소량에 미치지 않아, 효과적으로 탈분지 과정이 수행되기 어려우며, 8U/g의 농도보다 높게 탈분지 효소를 처리한다면 필요 이상의 높은 농도의 효소 처리에 의한 비효율성의 문제점이 있을 수 있다.

【0033】 만약, 상기 탈분지 효소를 5 시간보다 적게 처리할 경우, 효소 반응 시간이 충분하지 않아 탈분지가 적절히 이루어지지 않을 수 있으며, 10 시간보다 길게 처리할 경우 탈분지화 이후의 환원당이 일부 증가할 가능성이 있어 수율이 감소할 가능성 등의 문제점이 있다.

【0034】 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 (b)단계의 고리화는 테르무스 아쿠아티쿠스(*Thermus aquaticus*)에서 유래된 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈(4- α -glucanotransferase) 또는 테르무스 테르모필루스(*thermus thermophilus*)에서 유래된 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈(4- α -glucanotransferase) 고리화 효소를 60 내지 80 ℃ 온도조건에서 5 내지 15 U/g의 농도로 처리하여 수행되는 것일 수 있다.

【0035】 본 발명의 고리화과정은 테르무스 아쿠아티쿠스 또는 테르무스 테르모필루스에서 유래한 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈를 사용한다. 상기 두 균주에서 유래한 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈는 도담쌀 전분의 아밀로오스로부터 효과적으로 환형 아밀로오스를 생산할 수 있고, 다른 균주 유래 효소에 비해 안정성이 높다.

【0036】 만약 60℃ 보다 낮거나 80℃ 보다 높은 온도조건에서 고리화 과정이 수행된다면, 효소 활성이 충분하지 않아 고리화 과정이 적절히 이루어지지 않을 수 있다. 따라서, 바람직한 고리화 효소 처리 온도는 60 내지 80℃ 일 수 있다. 가장 바람직하게는 70 ℃ 일 수 있다.

【0037】 만약 5 U/g의 농도보다 낮게 고리화 효소를 처리한다면, 고리화 반응에 필요로되는 효소량에 미치지 않아, 효과적으로 고리화 과정이 수행되기 어려우며, 15U/g의 농도보다 높게 탈분지 효소를 처리한다면 필요 이상의 높은 농도의 효소 처리에 의한 비효율성의 문제점이 있을 수 있다.

【0038】 만약, 상기 고리화 효소를 8 시간보다 적게 처리할 경우, 효소 반응 시간이 충분하지 않아 고리화가 적절히 이루어지지 않을 수 있으며, 12 시간보다 길게 처리할 경우 수율이 감소할 가능성이 높은 문제점이 있을 수 있다.

【0039】 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 (c) 단계의 글루코아밀레이즈 효소는 35 내지 45 ℃ 온도조건에서 50 내지 150 U/g의 농도로 4 내지 10 시간동안 처리되는 것일 수 있다.

【0040】 만약 35℃ 보다 낮거나 45℃ 보다 높은 온도조건에서 효소가 처리된다면, 효소 활성이 충분하지 않아 단당을 제거하는 과정이 적절히 이루어지지 않을 수 있다. 따라서, 바람직한 효소 처리 온도는 35 내지 45℃ 일 수 있다. 가장 바람직하게는 50 ℃ 일 수 있다.

【0041】 만약 50 U/g의 농도보다 낮은 농도로 효소를 처리한다면, 단당을 제거하는 반응에 필요로되는 효소량에 미치지 않아, 효과적으로 단당이 제거되지 않을 수 있으며, 150U/g의 농도보다 높게 효소를 처리한다면 필요 이상의 높은 농도의 효소 처리에 의한 비효율성의 문제점이 있을 수 있다.

【0042】 만약, 상기 효소를 4 시간보다 적게 처리할 경우, 효소 반응 시간이 충분하지 않아 단당의 제거가 적절히 이루어지지 않을 수 있으며, 10 시간보다 길게 처리할 경우 수율이 감소할 가능성이 높은 문제점이 있을 수 있다.

【0043】 본 발명의 바람직한 다른 일실시예에 따르면, 상기 (d) 단계의 알코올은 에탄올이며, 원심분리기로 2500 내지 3500 rpm에서 5 내지 15분간 원심분리하여, 상등액을 제거하는 것 일 수 있다.

【0044】 본 발명의 바람직한 또 다른 일실시예에 따르면, 상기 환형 아밀로오스는 중합도(degree of polymerization) 6 내지 36인 것일 수 있다.

【0045】 본 발명의 도 4에 따르면, 일반미보다 도담에서 환형아밀로오스 중합도가 높게 나타나 오른쪽으로 쉬프트 되어있을 것을 확인할 수 있다. 도면에 따르면, 본 발명의 환형 아밀로오스는 중합도 6 내지 36인 것일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 중합도 13 내지 24인 것일 수 있다.

【0046】 본 발명은 또한, 상기 방법으로 제조된 환형 아밀로오스를 포함한다.

【0047】 상기 방법으로 제조된 환형 아밀로오스는 값비싼 아밀로오스 대신 값싼 도담쌀 전분을 이용하여 환형아밀로스 생산 가능하며, 대량생산의 용이하고, 비용절감 효과를 가진다. 덧붙여, 도담쌀의 아밀로펙틴 체인 분포에서 보듯이 밀가루, 고구마, 감자 전분과 비교해 중합도가 높은 체인이 많이 있고(표 3 참조), 다른 쌀과 비교해서도 중합도가 높게 분포하고 있어 균일한 크기의 환형 아밀로스 제조에 효과적이다.

【0048】 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 도담쌀 유래 환형 아밀로오스를 유효성분으로 포함하는 체중감량용 식품 조성물을 제공한다.

【0049】 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈와 같이 전분의 아밀로오스/아밀로펙틴의 길이를 변화시키거나, 아밀로펙틴에 새로운 가지 사슬을 만들고, 환형의 아밀로오스를 생성하여, 아밀로오스와 아밀로펙틴의 구조를 변화시키는 효소는 전분 사슬의 구조를 변화시키므로, 소화 효소의 작용을 어렵게 함으로써 소화를 느리게 하거나 불가능하게 하여 환형아밀로스를 식이섬유로서의 생리기능성을 나타내는 효과가 있다. 또한 전분의 가지 구조의 변화는 이화학적 특성 및 물성에 크게 영향을 미치므로 노화 지연, 냉해동 안정, 열가역성 및 물성의 변화 등의 식품 기능성 면에서도 강점이 있는 식품 소재의 제조를 가능하게 한다.

【0050】 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 도담쌀 유래 환형 아밀로오스를 유효성분으로 포함하는 체중감량용 약학적 조성물을 제공한다.

【0051】 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 중합도 6 내지 36의 환형 아밀로오스를 제조하기 위한 도담쌀의 사용 방법을 제공한다.

【0052】 상기 도담쌀의 사용 방법은 탈분지된 도담쌀 전분을 고리화시킴에 의해 환형 아밀로오스를 제조하기 위한 도담쌀의 사용 방법인 것일 수 있다.

【0053】 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

【실시예 1】

【0055】 쌀 전분 분리 및 함량 분석

【0056】 쌀에서 전분을 분리하기 위해 쌀가루에 0.2% NaOH 용액을 1:5(w/v) 비율로 넣고 초기 10분간 교반기를 통하여 교반한 후 그대로 48시간 방치하였다. 전분이 충분히 가라앉으면 상등액이 노란빛을 띄는데, 이를 제거하였다. 가라앉은 전분의 표면은 노란색을 띄며 이때 0.2% NaOH으로 세척하여 표면을 제거하였다. 이 과정을 상등액이 노란색을 띄지 않을 때까지 약 4회 정도 반복하였다. 알칼리 처리에 의한 중화를 위해 다시 증류수를 1:5(w/v) 비율로 가하고 지속적으로 교반을 하면서 1N HCl로 pH 7.0~7.5 상태가 될 때까지 중화시켰다. 중화시킨 전분에 증류수를 1:5(w/v) 비율로 가하여 10분간 교반한 후 방치하고 전분을 가라앉히고 상등액

을 제거하였다. 이 과정을 3회 반복하였다. 원심분리기를 이용하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 제거한 후 전분만을 추출하여 건조하여 사용하였다. 그 결과, 표 1에 보이는 바와 같이, 전분 추출에 영향을 미치는 단백질 함량은 도담쌀이 7.17%로써 가장 높았고, 일반미인 일미가 5.87%로 가장 낮음을 보였다. 전분함량은 일반미가 65.6%인 반면 고아미가 63.4%로 가장 낮음을 보였고, 도담쌀이 68.2%로 가장 높음을 보였다.

【0058】 【표 1】

쌀 품종별 단백질과 전분 함량비율

품종	일반미	고아미	도담쌀
단백질(%)	5.87	6.39	7.17
전분(%)	65.6	63.4	68.2

【실시예 2】

【0060】 쌀 전분의 X-선 회절기를 이용한 결정성 분석

【0061】 전분 입자의 구조를 판정하기 위해 결정성과 결정 강도는 X선 회절기를 이용하여 회절빔과 투과빔 사이의 회절각도(2θ)를 5° 부터 30° 까지 회절시켜 나타나는 피크의 위치와 높이로써 비교하였다.

【0063】 【표 2】

X-ray 회절도 기기 분석 조건

기기모델명(제조사)	D8 ADVANCE with DAVINCI(BRUKER, German)
검출기	LYNXEYE XE
Generator	40kV, 40mA
2theta range (2θ)	3-50 degree
step	0.02
scanspeed	0.5sec/step
wavelength (λ)	Cu $k\alpha 1$ - 1.5418Å

【0064】 분석결과 도 1에 나타낸 것과 같이 일반미와 고아미, 미면의 경우는 회절각도(2θ)= 15° , $17\sim 18^\circ$, $22\sim 23^\circ$ 근처에서 나타나는 구조가 치밀하고 수분이 적은 구조로 알려져 있는 전형적인 A형태의 X-RD pattern을 나타낸 반면 도담쌀은 17° 근처에서 치밀함을 보여 B타입 전분 형태를 나타내었다. 또한 결정도 분석에서는 일반미가 43.5%의 결정성을 보였고, 도담쌀은 43.2%의 결정성을 보인 반면, 미면은 46.6%로써 가장 결정성이 높음을 보였다.

【0065】 도담쌀의 결정성 값은 일반미와 유사하여 그 구조도 비슷할 것으로 여겨졌으나 패턴 분석에서 완전히 다른 양상을 보여 구조적으로 차이가 많이 난다는 것을 확인할 수 있었고, 반면 미면은 결정도가 차이가 많이 나서 구조적으로 다를 것으로 추측이 되었으나 일반미와 유사한 패턴을 보인다는 것을 도 1을 통해 확인할 수 있었다.

【실시예 3】

【0067】 전분 구조 분석

【0068】 전분 구조를 파악하기 위해 쌀을 포함한 곡물의 대부분을 차지하는 아밀로펙틴의 가지 분포를 조사하였다. 표 3에 나타난 것과 같이 중합도(DP)를 기준으로한 분류에서 일반미와 밀가루, 고아미는 평균 체인 길이에서 유의차를 보이지 않았고, 도담쌀만 평균길이가 21.3으로 가장 김을 보였다. 중합도 분류에서도 도담쌀은 중합도 13~24까지의 범위에서 가장 함량이 높음을 보였고, 가장 길이가 짧은 A 체인에서 그 함량이 14.0%로 가장 낮았다. 이것은 기존에 보고된 감자나 옥수수 전분의 구조가 일반미와 유사함을 보이는 것에 비해 도담쌀과는 서로 다름을 보이고 있다. 반면 고구마 전분의 경우는 중합도가 가장 낮은 짧은 체인의 함량이 가장 높음을 보이고 있다. 효소에 의해 탈분지된(debranching) 사슬의 경우 환형 아밀로스로 제작이 가능하다. 따라서 A 체인의 함량이 가장 낮은 것이 고수율의 환형 아밀로스 제작에 유리할 것으로 사료된다. 이런면에서 보면 A 체인의 함량이 가장 높은 고구마를 이용한 환형 아밀로스 제조 효율이 가장 낮을 것으로 여겨지고, 쌀에서는 도담쌀의 효율이 가장 높을 것으로 사료된다.

【0069】 도 2 내지 4는 일반미와 비교하여 밀가루, 고아미, 도담쌀의 체인 분포를 서로 비교한 것으로 표에서 보는 것과 같이 고아밀로스 품종인 고아미는 일반미와 유사한 분포를 보이고 있고, 도담쌀이 중합도가 높은 체인이 전반적으로 많이 분포하고 있음을 확인할 수 있다.

【0071】 【표 3】

샘플별 평균 체인길이 및 아밀로펙틴 체인 분포

샘플	평균 체인 길이 [글루코스 단위]	아밀로펙틴 체인 길이 분포[relative peak area, %]			
		A 체인 (DP 6-12)	B1a 체인 (DP 13-24)	B1b 체인 (DP 25-36)	B2 체인 (DP 37-66)
일반미	20.73 ^{ab}	21.87 ^c	52.37 ^a	12.33 ^{ab}	13.47 ^a
밀가루	20.53 ^{ab}	19.80 ^b	54.23 ^a	15.27 ^c	10.66 ^a
고아미	19.47 ^a	24.60 ^d	53.03 ^a	11.83 ^a	10.53 ^a
도담쌀	21.33 ^b	14.03 ^a	59.23 ^b	14.43 ^{bc}	12.31 ^a
감자	20.49	23.24	51.14	15.42	10.20
옥수수	20.72	23.01	49.81	17.15	10.02
고구마		39.3	36.9	10.1	4.1

【0072】 * M.C. N´unez-Santiago et al./ Revista Mexicana de Ingenier´ıa Qu´ımica Vol. 10, No. 3 (2011) 501-512

【0073】 * 백혜림, 서울대학교 석사 학위논문 자료 인용(2013),
Characterization of Korean sweet potato starches: physicochemical, pasting,
and digestion properties

【실시예 4】

【0075】 쌀 전분을 이용한 환형 아밀로스 제조

【0076】 쌀 전분에서 환형 아밀로스 제조를 위한 제조 공정은 도 5와 같은
순서에 따라 진행하였다. 전분의 탈분지를 위해 50mM 소듐 아세테이트 버퍼(pH4.
5)에 쌀 전분 1%(w/v)를 넣고 완전히 용해시킨 후 아이소아밀레이즈(*Pseudomonas*

sp., 280 U/mg, Megazyme)를 처리하여 탈분지시켰다. 아이소아밀레이즈의 농도는 5U/g으로 고정하고, 40℃에서 반응 시간을 달리하여 조건을 최적화하였다. 환형아밀로스 생산에는 테르무스 아쿠아티쿠스(*Thermus aquaticus*) 유래의 4- α -glucanotransferase (TA α GTase)와 테르무스 테르모필루스(*thermus thermophilus*) 유래의 4- α -glucanotransferase (TT α GTase) 효소를 사용하여 비교하였다. 탈분지된 전분에 효소를 100 U/g 처리하여 70℃에서 반응시간을 달리하여 조건을 최적화하였다. 회수한 환형아밀로스를 분리하기 위하여 글루코아밀레이즈(*Hormoconis resinae*, 64 U/mg, Megazyme) 10 U/g을 40℃에서 반응시간을 달리하여 조건을 최적화 하여 non-cyclic glucan이나 glucose 단위의 잔가지를 제거하였다. 10배가량의 에탄올을 처리하여 원심분리하였으며, 적당량의 증류수를 가한 후 동결건조시켜 환형 아밀로오스를 생산하였다.

【실시예 5】

【0078】 쌀 전분 효소 처리에 의한 탈분지 정도 분석

【0079】 쌀 전분을 이용한 환형 아밀로스 생산을 위해 전분 구조분석 결과 도담쌀을 제외한 다른 쌀의 경우 구조적으로 유사함을 보여 일반미와 고아밀로스 자원에서는 고아미와 도담쌀을 선정하여 분석을 진행하였다. 전분에 아이소아밀레이즈를 처리하기전의 아밀로스 함량(겉보기 아밀로스, apparent amylose)은 일반미가 20.7%인데 반해 고아미 32.7%와 도담쌀은 50.9%로서 가장 높음을 보였다. 또한

도담쌀의 아밀로스 함량은 옥수수, 감자, 고구마 등의 아밀로스 함량이 20 ~ 30%에 비해서도 매우 높음을 보였다.

【0081】 【표 4】

품종	일반미	고아미	도담쌀
겉보기 아밀로스(%)	20.7	32.7	50.9

【0082】 쌀 전분에 아이소아밀레이즈의 반응시간에 따른 탈분지 정도는 환원당과 아밀로오스 함량으로 확인하였다. 효소반응시간은 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15 시간으로 하였으며 반응 후 100 ℃에서 10분간 처리하여 효소반응을 정지시켜 DNS 법으로 환원당을 측정하였다. 측정 결과, 환원당은 아이소아밀레이즈를 6시간을 처리하는 동안 빠르게 증가한 후 천천히 안정기에 도달하였다. 환원당이 최고로 도달한 탈분지 시간은 8시간으로 완벽하게 탈분지 되었음을 알 수 있었다. 아이소아밀레이즈의 처리시간이 높을수록 아밀로오스 함량은 점차적으로 증가하였다. 이는 아이소아밀레이즈에 의해 전분의 α -1,6-가지가 잘리면서 아이오딘 분자와 복합체를 형성할 수 있는 선형 α -1,4-글루칸이 더 많이 생겼기 때문이다. 아이소아밀레이즈 처리 8시간까지 빠르게 가수분해가 진행되다가 더 오랫동안 처리할수록 아밀로오스 함량이 감소하거나 안정기에 도달하였다. 이는 효소처리시간이 8시간이 지나면 조금 변화가 진행되기 때문이며 이 결과는 탈분지 후 형성된 환원당 함량 결과와 일치하였다. 또한 도 6에서 보는 것과 같이 일반미의 환원당 형성이 가장 높은 것은 아밀로스 함량에 비해 아밀로텍틴의 함량이 높은 일반미의 체인이 절단되어 요오드

반응에 의한 발색으로 환원당 함량이 높게 측정된 것으로 사료되며 아밀로펙틴 길이를 나타내는 중합도에서 알 수 있듯이 고아미와 일반미의 중합도가 비슷하여 8시간 이후에는 환원당 함량에서 유의차가 없음을 보이고 있다. 반면 도담쌀의 경우 아밀로펙틴 중합도가 다른 쌀에 비해 높고 아밀로스 함량도 높아 탈분지에 의해 체인의 길이가 상대적으로 큰 체인이 많이 생성되어 환원당 함량이 낮게 나온 것으로 사료된다.

【실시예 6】

【0083】 환형 아밀로스 생산

【0084】 쌀 전분을 이용한 기능성 탄수화물 소재인 환형아밀로스는 전분활성 효소인 TA α GTase와 TT α GTase를 이용하여 제조하였다. 아이소아밀레이즈를 처리하여 선형의 글루칸을 생산하고 여기에 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈를 처리할 경우 분자내 글리코실전이반응(cyclization)을 촉매하여 환형 α -1,4-글루칸(환형아밀로스)의 생산이 가능하다. 전분에서 효소적 촉매에 의해 생산된 환형아밀로스의 중합도를 HPAEC를 이용하여 분석한 결과 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈 100U/g을 8시간 반응 처리하였을 경우 환형 아밀로오스에 비해 중합도가 낮은 글루칸을 더 많이 생성한다는 것을 알 수 있었다. 아이소아밀레이즈 처리 시간을 달리하여 중합도를 비교한 결과 효소반응 2시간을 제외하고 중합도 분포도는 동일하였으나 수율의 차이만을 나타내었다. 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈 역시 처리 시간을 달리하였을 경우 중합도 분포도의 차이는 보이지 않았다.

【실시예 7】

【0086】 환형 아밀로스 정제

【0087】 순수한 환형아밀로스를 분리하기 위하여 글루코아밀레이즈 (Hormoconis resinae, 64 U/mg, Megazyme) 10 U/g을 40℃에서 조건을 최적화하였다. 글루코아밀레이즈를 처리하였을 경우 비-환형 글루칸이나 글루코오스 단위의 잔가지가 제거되어 순수하게 얻을 수 있었다. 글루코아밀레이즈 처리 조건은 혹시 남아 있을 아밀로펙틴 클러스터를 고려하여 10 U/g을 40℃에서 6시간 정도 처리하여 순수한 환형아밀로스를 얻었으며, 동결건조 후 파우더 형태로 대량생산하였다. 환형아밀로스의 생산 수율을 분석하기 위하여 HPSEC를 이용하여 정량하였다. 환형아밀로스 생산 수율 분석 결과 도담쌀이 49.24%로 가장 수율이 높았고, 고아미가 44.35%, 그리고 일반미가 31.86%의 수율을 보였다. 특히 도담쌀의 경우는 표준 아밀로오스로부터 생산된 CA 생산수율 (49.2%)보다 높은 경향을 나타내었다. 따라서 최적화된 조건으로 값비싼 아밀로오스 대신 값싼 쌀전분을 이용하여 환형아밀로스 생산 가능하였으며, 대량생산의 용이성 뿐 아니라 비용절감 효과도 가능할 것으로 보인다. 또한 도담쌀의 아밀로펙틴 체인 분포에서 보듯이 밀가루, 고구마, 감자 전분과 비교해 중합도가 높은 체인이 많이 있고, 다른 쌀과 비교해서도 중합도가 높게 분포하고 있어 균일한 크기의 환형 아밀로스 제조에 유리할 것으로 사료된다.

【0089】 【표 5】

쌀 품종별 환형 아밀로오스 수율

품종	아밀로오스(대조군)	일반미	고아미	도담쌀
환형 아밀로스 수 율(CA %)	49.2	31.86±1.06	44.35±1.26	49.24±1.89

【특허청구범위】

【청구항 1】

- (a) 도담쌀 전분을 탈분지 시키는 단계;
- (b) 탈분지된 전분을 고리화 시키는 단계;
- (c) 글루코아밀레이즈(Glucoamylase) 효소를 처리하여 잔가지를 제거하는 단계; 및
- (d) 알코올을 처리하고, 원심분리하여 고수율의 환형 아밀로오스를 수득하는 단계를 포함하는 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 (a)단계의 탈분지는 슈도모나스 아밀로테라모사 (*Pseudomonas amyloclavata*)에서 유래된 이소아밀레이즈(isoamylase) 탈분지 효소를 35 내지 45 °C의 온도조건에서 2 내지 8 U/g의 농도로 처리하여 5 내지 10시간 동안 수행되는 것임을 특징으로 하는 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 (b)단계의 고리화는 테르무스 아쿠아티쿠스(*Thermus aquaticus*)에서 유래된 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈(4- α -glucanotransferase) 또

는 테르무스 테르모필루스(*thermus thermophilus*)에서 유래된 4- α -글루카노트랜스퍼레이즈(4- α -glucanotransferase) 고리화 효소를 60 내지 80 °C 온도조건에서 5 내지 15 U/g의 농도로 처리하여 6 내지 12시간 동안 수행되는 것임을 특징으로 하는 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 상기 (c) 단계의 글루코아밀레이즈 효소는 35 내지 45 °C 온도조건에서 50 내지 150 U/g의 농도로 4 내지 10 시간동안 처리되는 것을 특징으로 하는 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법.

【청구항 5】

제1항에 있어서, 상기 (d) 단계의 알코올은 에탄올이며, 원심분리기로 2500 내지 3500 rpm에서 5 내지 15분간 원심분리하여, 상등액을 제거하는 것을 특징으로 하는 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법.

【청구항 6】

제1항에 있어서, 상기 환형 아밀로오스는 중합도 6 내지 36인 것을 특징으로 하는 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법.

【청구항 7】

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 환형 아밀로오스.

【청구항 8】

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 도담쌀 유래 환형 아밀로오스를 유효성분으로 포함하는 체중감량용 식품 조성물.

【청구항 9】

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 도담쌀 유래 환형 아밀로오스를 유효성분으로 포함하는 체중감량용 약학적 조성물.

【청구항 10】

중합도 6 내지 36의 환형 아밀로오스를 제조하기 위한 도담쌀의 사용 방법.

【청구항 11】

제10항에 있어서, 탈분지된 도담쌀 전분을 고리화시킴에 의해 환형 아밀로오스를 제조하기 위한 도담쌀의 사용 방법.

【요약서】**【요약】**

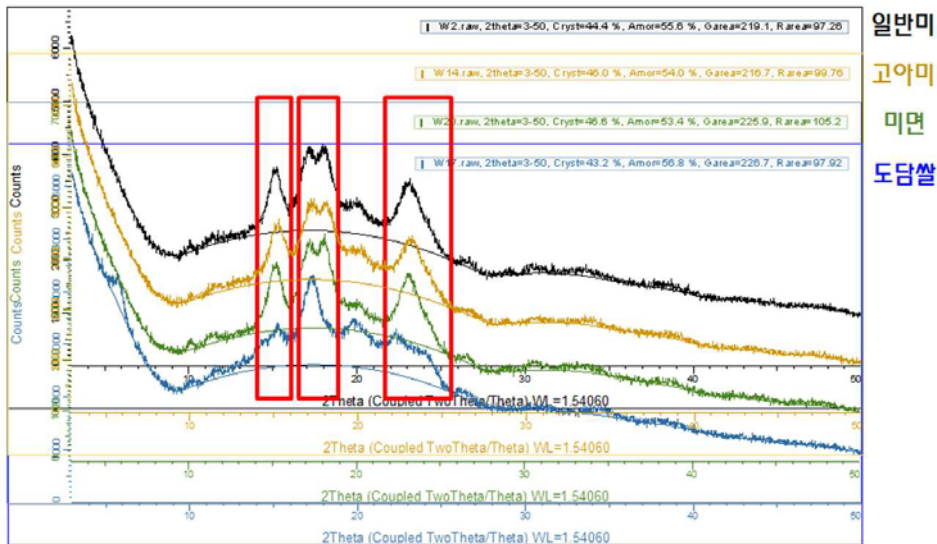
본 발명은 도담쌀로부터 환형 아밀로오스를 제조하는 방법 및 이 방법으로 수득된 환형 아밀로오스를 포함하는 체중감량용 조성물을 제공한다. 본 발명에 따른 환형 아밀로오스의 제조 방법은 도담쌀로부터 고수율의 환형 아밀로오스를 생산할 수 있어 경제적이며, 이는 기능성 당류로 식품 및 의약분야에 널리 사용될 수 있다.

【대표도】

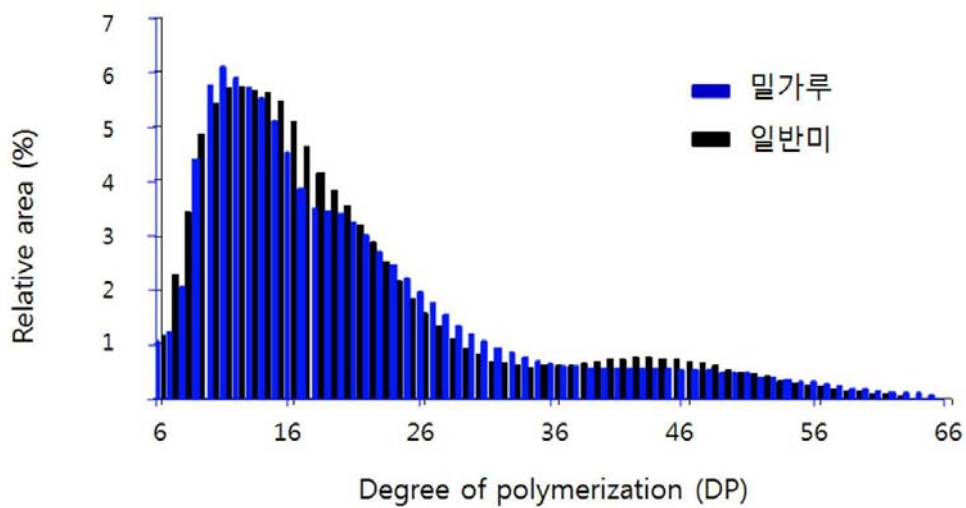
도 5

【도면】

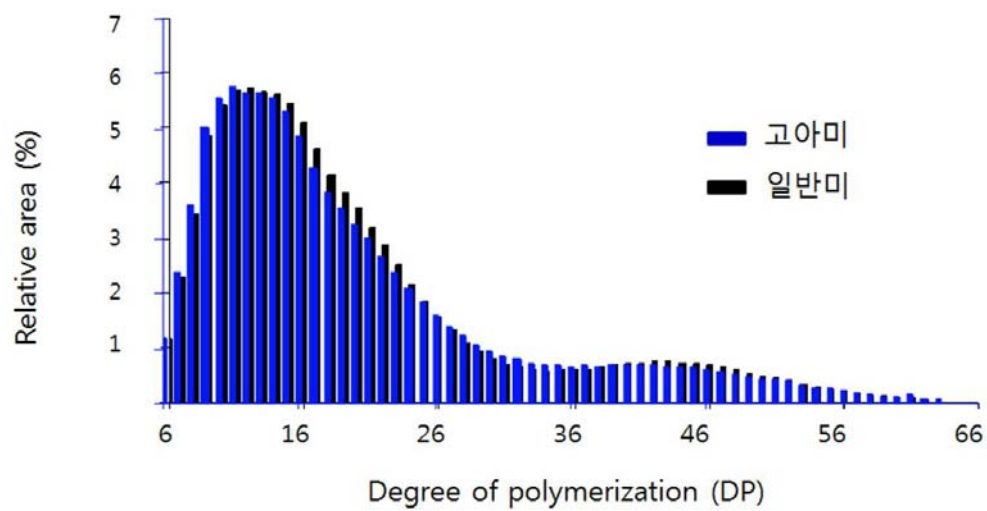
【도 1】



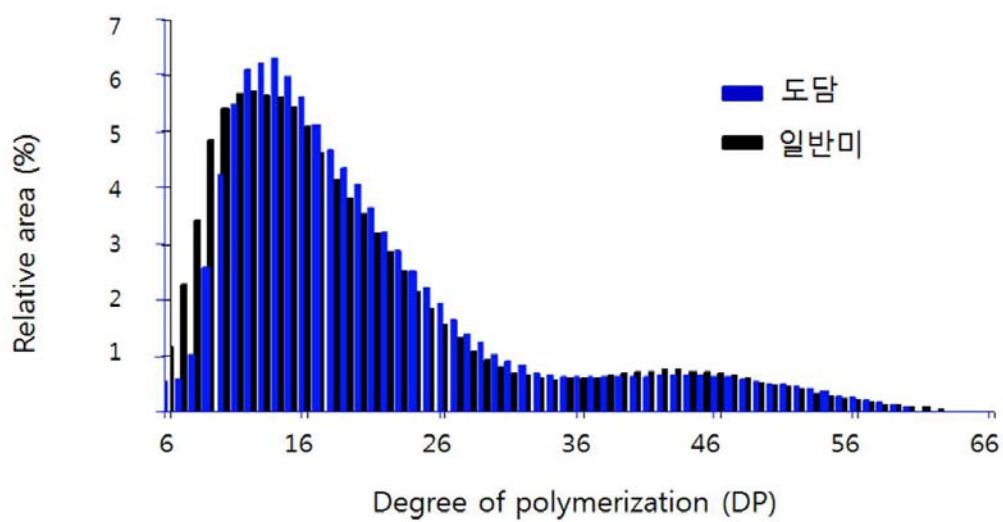
【도 2】



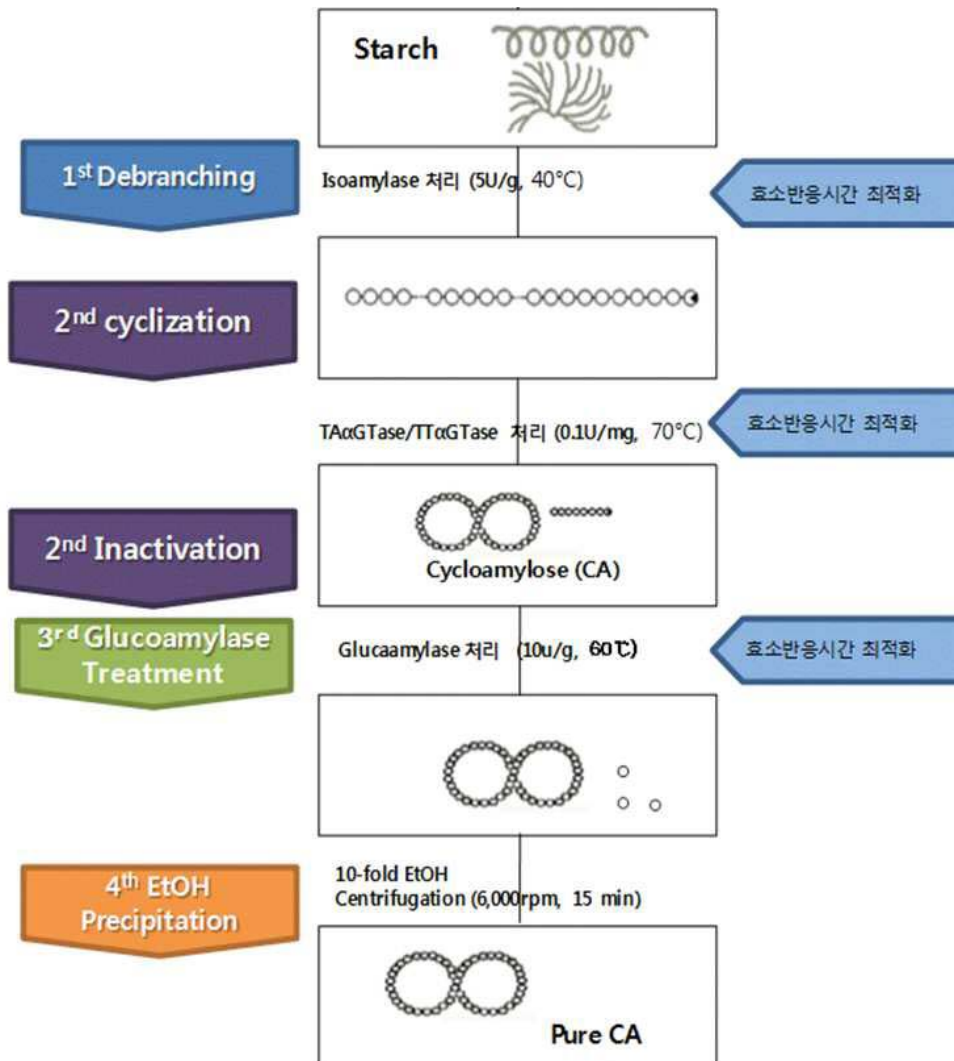
【도 3】



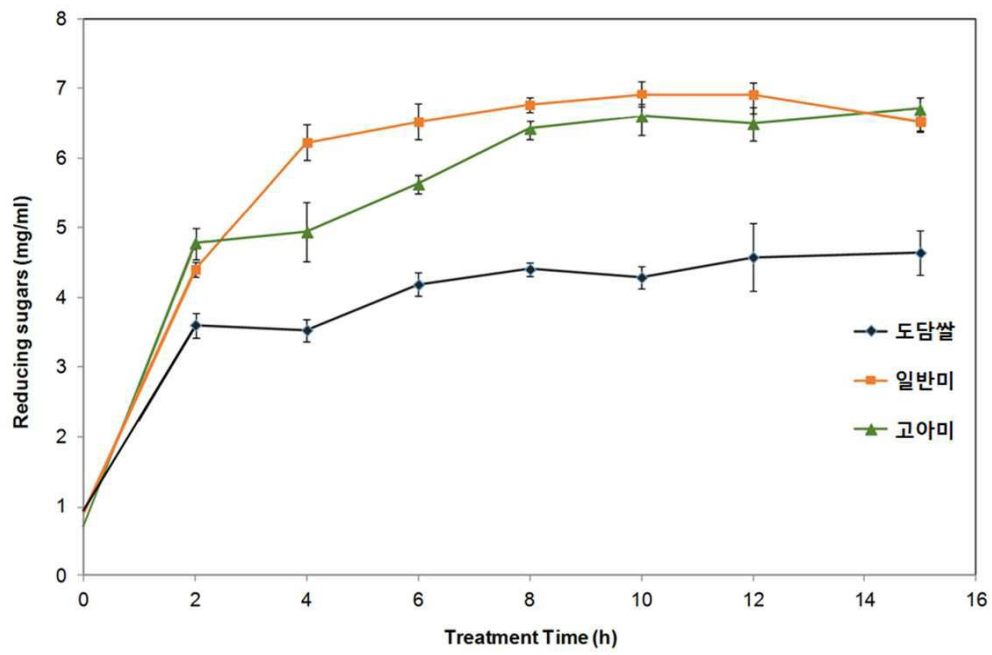
【도 4】



【도 5】



【도 6】



【도 7】

