



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년06월15일
(11) 등록번호 10-1741763
(24) 등록일자 2017년05월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23J 1/04 (2006.01) A23J 3/34 (2006.01)
A23L 17/40 (2016.01) A23L 5/20 (2016.01)
(21) 출원번호 10-2011-7008381
(22) 출원일자(국제) 2009년09월14일
심사청구일자 2014년07월01일
(85) 번역문제출일자 2011년04월12일
(65) 공개번호 10-2011-0084878
(43) 공개일자 2011년07월26일
(86) 국제출원번호 PCT/NO2009/000322
(87) 국제공개번호 WO 2010/030193
국제공개일자 2010년03월18일
(30) 우선권주장
20083906 2008년09월12일 노르웨이(NO)
(56) 선행기술조사문헌
JP03020274B2*

(73) 특허권자
림프로스트 테크놀로지스 에이에스
노르웨이 6099 포스나바그 피.오.박스 234
(72) 발명자
얀손 크라그, 스티그, 토레
노르웨이 엔-7353 뵈르사 트롬본. 2
에르비크, 욘, 레이다르
노르웨이 엔-6014 올레순 레르스타토펜 6
그림스모, 레이프
노르웨이 엔-7058 야콥슬리 헤우스티엔 5
(74) 대리인
특허법인에이아이피

전체 청구항 수 : 총 15 항

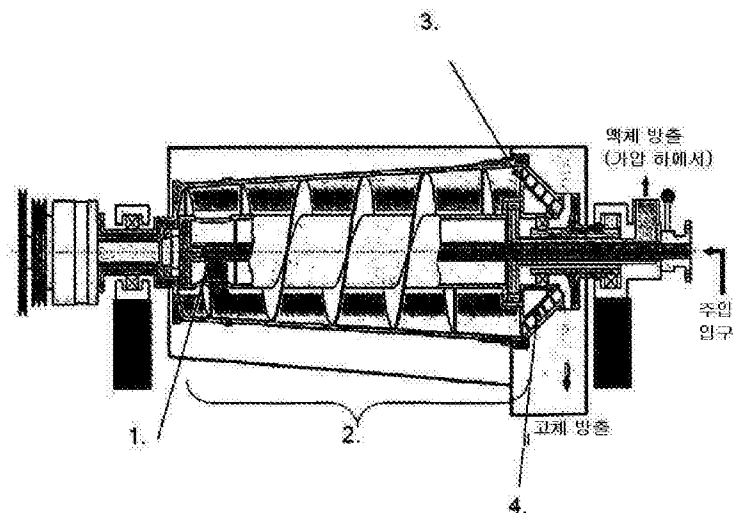
심사관 : 김현주

(54) 발명의 명칭 크릴새우로부터 단백질성 농축물을 제조시 불소 함량을 감소시키는 방법

(57) 요약

갑각류, 특히 크릴새우의 외골격에 존재하는 불소는 음식, 사료, 음식 첨가제 및/또는 사료 첨가제의 공급원으로 부터 크릴새우를 사용함에 있어서의 문제점을 대표한다. 상기 불소를 크릴새우 물질로부터 제거하는 방법이 개 발되었으며, 상기 방법은 크릴새우를 분해시키고, 외골격 입자의 제거 전에 또는 이와 동시에 효소적 가수분해 과정을 통해 불소-제거된 생성물을 수득하는 것을 포함한다. 본 방법에 있어서 극성 지질 고함량의 크릴새우 물 질을 우수한 품질, 낮은 불소 함유량을 가지며 음식 및 사료뿐 아니라 약제, 약효식품, 미용제약품 및 미용품의 용도에도 적합한 것으로 가공시키는 능력은 내재되어 있다.

도 1



(56) 선행기술조사문헌

JP1995194314A*

WO20080072563A1*

JP07194314 A*

JP3020274 B2*

WO2008072563 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명세서

청구범위

청구항 1

갑각류를 물에서 낚아 올린 직후 온도 -2°C 내지 10°C 에서 더 작은 입자들로 분해시키는 단계;

상기 분해된 물질을 담수에 첨가하고, 단백질 분해 효소 또는 효소 조성물 첨가에 대해 최적화된 온도인 55°C 내지 60°C 의 온도로 가열하고, 가수분해하여 가수분해된 물질을 생성하는 단계;

상기 가수분해된 물질을, 당해 가수분해된 물질로부터 고체를 분리하기 위해 분리 장치에 공급하는 단계; 및

상기 고체 분획의 제거를 통해 남아있는 단백질성 물질 내 불소 함량을 85% 이상 감소시키는 단계를 포함하며,

여기서, 상기 단백질 분해 효소 또는 효소 조성물은 상기 더 작은 입자들로 분해시키는 단계 전, 동안에 또는 이후에 첨가되고,

상기 가수분해된 물질로부터 고체 분획을 제거하기 전, 제거 동안 또는 제거 이후에, 상기 단백질 분해 효소 또는 효소 조성물을 불활성화시키는, 갑각류 어획물로부터 불소를 제거하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 갑각류 어획물이 인지질과 같은 고함량의 극성 지질을 포함하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 갑각류가 25mm 이하의 크기를 갖는 입자로 분해되는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 분해된 갑각류 물질이, 가공되지 않은 갑각류 물질의 중량을 기준으로 0.5 내지 1.5 용적 비율의 담수에 첨가되는 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 갑각류의 분해 단계에 이용된 물의 온도가 0°C 내지 $+3^{\circ}\text{C}$ 인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 갑각류 물질이 0.5-10 mm의 입자 크기로 분해되는 방법.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 더 작은 입자들로 분해시키는 단계 후의 담수의 첨가가 상기 더 작은 입자들로 분해시키는 단계로부터 20초 이내에 실시되는 방법.

청구항 8

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 분리 장치가 고중력 분리력을 통해 작동되는 방법.

청구항 9

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 단백질분해 효소 또는 효소 조성물이 상기 분해된 물질의 중량 기준으로 0.05 중량% 내지 0.5 중량%의 양으로 첨가되는 방법.

청구항 10

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 고체가, 고중력, 및 세디칸터(sedicanter)와 같은 정화/분리 존을 가진 디칸터에 의해 분리되고 이로써 에멀전화 없이 인지질이 풍부한 단백질성 물질과 서행(slow) 침전

물을 분리시키는 방법.

청구항 11

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 가열 단계의 온도가 상기 더 작은 입자들로 분해시키는 단계 이후에 1-300초 이내 상승하는 방법.

청구항 12

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 단백질분해 효소 또는 효소 조성물이 알칼라제, 뉴트라제, 미생물 유래 효소 및 식물중 유래 효소로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 효소를 포함하는 방법.

청구항 13

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 단백질분해 효소 또는 효소 조성물이 당해 단백질분해 효소 또는 효소 조성물의 첨가로부터 계산했을 때 60분 이내에 불활성화되는 방법.

청구항 14

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 단백질분해 효소 또는 효소 조성물이 90℃ 이상의 온도로 가열함으로써, 온도 상승을 통해 불활성화되는 방법.

청구항 15

제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 갑각류가 크릴새우인 방법.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 갑각류 내 함유된 불소 및 원치않는 미량 원소를 제거하기 위한 산업적 방법에 관한 것이다. 상기 방법은, 쉘 및 껍질의 양을 실질적으로 감소시키고, 갑각류로부터 특정 분획물을 형성함으로써, 그 중에서도 불소-저감된 지질성 및 단백질성 에멀전을 형성함으로써, 크릴새우로부터 불소를 실질적으로 감소시키기에 특히 유리하고 효과적이다. 본 발명은 또한 고지질 함량, 특히, 인지질과 같은 지질을 함유한 극성이 높은 지질 함량에 의해 야기되는 상기한 에멀전과 관련된 가공 문제를 해결한다. 본 발명에 따른 방법에 의해 수득된 생산된 최종 제품은 그 자체로 음식 또는 사료로, 음식/사료 첨가제로, 약효식품, 미용제약품/미용품 또는 약제로서 사용될 수 있거나, 추가적 다운스트림 공정의 출발 물질로 사용될 수 있다.

배경 기술

[0002] 선행 기술에서 충분히 다루고 있진 않는 문제는 갑각류의 쉘(shell), 껍질(carapace) 및 크러스트(crust) 내 포함된 불소와 원치않는 미량 원소 함량이다. 본원에서, 아래 용어 '크릴새우'가 사용되며, 이 때 크릴새우는 갑각류의 한 종류로, 본원에서 다루는 문제는 특히 이 크릴새우에서 강조되지만 또한 다른 유형의 갑각류도 본 발명과 관계가 있다. 크릴새우, 특히 남극 크릴새우와 관련된 또 다른 문제는 물고기잡이 시즌의 후반기(second half) 동안 고함량의 극성 지질이다.

[0003] 상기한 바와 같이 남극 크릴새우(*Euphausia superba*)를 가공시 잘 알려진 문제점은 지질 함량이며, 특히 인지질과 같은 극성 지질 함량은 4월/5월 내지 6월/7월인 시즌의 후반기 동안 매우 높을 수 있다.

- [0004] 일반적으로 대부분의 알려진 동물 종들은 인지질과 같은 극성 지질의 함량이 거의 일정하고 총 지질 함량에 있어서의 변동은 트리글리세리드와 같은 중성 지질의 함량에서의 변동에 의해 야기된다. 이러한 지질 함량의 매우 높은 변동에도 불구하고 트리글리세리드와 인지질 사이의 비는 남극 크릴새우에 있어 거의 일정하다. 또한, 지질, 특히 인지질이 강한 에멀전의 형성을 야기한다는 것은 익히 알려져 있다. 이러한 에멀전은, 지질성 분획과 단백질성 분획의 분리를 포함하여, 가수분해와 같은 공정 중의 분획물 분리에 있어 문제 발생의 원인이 된다. 본 발명에 따라 개발된 공정은 또한 당해 공정 중 최종 분리 단계 전과 당해 단계 동안에 불용성 단백질 및 인지질의 응집물을 생성시킴으로써 에멀전 문제를 해결한다.
- [0005] 크릴새우는 생물학적 물질의 광대한 재료를 대표한다. 남극해에 서식하는 남극 크릴새우(*Euphausia superba*)의 양은 그 계산법과 조사에 따라 달라질 수 있지만 대략 1 내지 2×10^9 톤이고, 가능한 어획량은 5 내지 7×10^6 톤이다. 남극 주위의 냉수에서 서식하는 상기 작은 갑각류는 단백질, 지질(예: 인지질), 폴리-불포화지방산 등, 키틴/키토산, 아스타크산틴(astaxanthin) 및 기타 카로테노이드, 효소 및 기타 물질의 공급원으로서 관심 대상이 되며, 상기한 물질들을 분리하기 위한 몇몇의 방법들이 개발되어 왔다.
- [0006] 본 발명의 배경기술은 크릴새우가 이의 셸 내 불소를 축적시키며, 이러한 셸 부분에서의 함입을 통해, 불소가 추출 단계를 통해 최종 물질로 이동하는 것을 고려하지 않은 추출 공정을 통해, 유리 불소 또는 느슨하게 결합된 불소가 셸 물질로부터 및 추가 가공된 물질 내로 확산될 수 있는 시간-소모적 공정을 통해 모든 생산된 물질에서 불소 함량이 증가되어, 이로써 불소 이온 또는 불소화된 화합물 함량이 많은 최종 제품을 생산하게 되는 환경에 있다.
- [0007] 불소 원자가 유기체의 뼈 구조 내로 진입하여 불소침착증(뼈 구조가 약화되는 것은 골다공증과 효과 면에서 유사하나, 이는 영향을 받는 대상이 뼈 구조 자체이지 골의 다공성은 아니므로 상이하다)을 일으키는 경향이 있기 때문에, 불소는 고농도에서 모든 종류의 어류, 갑각류 및 특히 민물고기종 뿐 아니라 육지에 거주하는 동물의 건강에 해로운 화합물이다. 골격 불소침착증은 골격의 비정상 및 관절의 통증이 특징적인 상태이다. 이는 조골세포(osteoblast)에 대한 불소의 미토겐성 작용(유사 분열 촉진 작용)으로 인한 병리학적 골 형성이 원인이다. 이의 더욱 심각한 형태에서, 골격 불소침착증은 척추후만증, 심한 손상 및 병약함을 야기한다. 신경근증을 수반하거나 수반하지 않는 골수증(myelopathy)의 형태에서 2차 신경계 합병증이 또한 발생할 수 있다. 또한, 고함량의 불소 섭취는 랫트 실험에서 수컷의 생식기 계통에 독성인 것으로 보고되었고, 인간에서 고함량 불소 섭취 및 골격 불소침착증의 증상은 감소된 혈청 테스토스테론 수치와 관련이 있다.
- [0008] 결과적으로, 크릴새우 물질이 음식 또는 사료 제품의 출발 물질로 사용된다면 가공 단계를 통해 불소를 제거하라고 경고해야 한다. 그러나, 불소의 확산 및 미비한 크릴새우 셸 물질의 존재가 산업적 규모로 크릴새우 물질을 가공시 극복해야 할 가장 어려운 문제이다.
- [0009] 추가적으로, 포획으로부터 제조된 단백질성 물질에서 미량 원소를 포함한 애쉬(ash) 함량을 감소시키는 데 이룰 수 있다.
- [0010] 따라서, 크릴새우로부터 단백질성 물질 및 지질을 제조함에 있어 불소 함량이 유의하게 감소된 제품을 제조하기 위해 불소가 비용-효과적으로 제거된 산업적 제조 방법을 개발할 필요가 있다.
- [0011] 인지질과 같은 극성 지질은 세포막에 필수 성분이며 또한 막 지질로도 불리운다. 일반적으로 어류 및 다른 수생 및 육생 동물에서 총지질 함량은 연간 사료 접근성이 달라지기 때문에 변한다. 상기 변화는 일반적으로 유기체 내 비극성 지질 함량에서의 변화가 원인으로, 상기 비극성 지질은 저장되어 사료량이 낮거나 사료에의 접근이 없는 기간 동안 에너지 보유고로 사용된다. 반면, 인지질 함량은 비교적 일정하다. 그러나, 남극 크릴새우에서는 이것이 상이한데, 그 이유는 또한 이들 중에서 지방 함량이 물고기잡이/수확 시즌 동안 2% 내지 10%로 달라질 때 트리글리세리드와 인지질의 상대적 함량이 거의 일정하게 유지되기 때문이다. 이는 가공하지 않은(raw) 남극 크릴새우에서의 인지질 함량이 5% 이하일 수 있음을 의미한다. 지질, 및 특히 인지질과 같은 극성 지질은 종래 기술에 따른 산업적 가공(이는 가수분해 공정과 같은 가열-, 교반- 및 분리 단계를 포함한다)에서 강한 에멀전을 형성하는 것으로 알려져 있다. 이 에멀전은 일반적으로 지질- 및 단백질 분획을 분리함에 있어 문제를 일으킬 것이다.
- [0012] 따라서, 크릴새우로부터 단백질성 농축물을 제조함에 있어 에멀전에 의해 생길 수 있는 분리 문제를 제거하는 산업적 방법에 대한 요구가 또한 존재한다.
- [0013] 또한, 가공된 크릴새우 물질로부터 불소의 제거 및 크릴새우 물질 중의 다양한 함량의 극성 지질의 제거 모두를

해결하는 다방면의 산업적 방법에 대한 요구가 존재한다.

- [0014] 선행 문헌
- [0015] 프랑스 특허 제2835703호(출원인: Techniagro, 발명자: Fanni, J. 등., 2002년 3월 15일)는 살코기 폐기물(filleting discard)과 같은 해양 자원 및 기타 해양 폐기 물질(기타 조개류 중에서)로부터 단백질 가수분해물을 수득하는 분리 방법을 개시한다. 상기 특허는 으깨는 단계, 가수분해 단계, 여과 및 원심분리 단계를 포함하나, 크릴새우의 가공화에 특히 적합하지 않고, 당해 방법 자체는 분명하게 상기 물질로부터 불소를 제거하는 문제에 관한 것이 아니다.
- [0016] 모든 공정 방법에서 단계의 순서는 또한 최종 제품의 질 및 조성에 영향을 미친다. 따라서, 상기한 팡니(Fanni)에 따른 방법은 상기 가공된 물질로부터 불소를 제거하지도 않고, 이에 적합하지도 않다.
- [0017] 또한, 상기 팡니에 따른 방법은 가공된 물질 중의 고극성 지질 함량의 문제를 언급하고 있지 않고, 이 문제에 대한 어떠한 해결책도 제시하지 못한다.
- [0018] 유럽 특허 제1 417 211 B1호(Neptune Technologies & Bioresources, Inc.)에서는 특정 인지질 및 특정 플라보노이드를 함유하는 조성물, 및 다수의 질환을 치료 또는 예방하는 데 적합한 의약품을 생산하는 데 있어 상기 조성물의 용도를 개시한다. 상기 조성물은 천연 해산물 또는 수생 공급원, 특히 크릴새우(*Euphausia superba*, 남극 크릴새우, 및 *Euphausia pacifica*, 대서양 크릴새우) 뿐 아니라 인도양, 모리셔스섬(Mauritius Island), 및/또는 마다가스카르의 리유니언 섬, 캐나다 서부 연안, 일본 연안, 세인트로렌스만 및 펀디베이(Bay of Fundy) 및 기타 크릴새우 서식지로부터의 크릴새우로부터 수득된다. 관련 인지질 및 플라보노이드를 추출하는 방법은 초기 밀링/으깨는 단계 후 연속적인 아세톤 및 알코올 처리에 의해 수행되는 방법인 것으로 기술된다. 상기 특허에는 상기 물질로부터 불소를 제거하기 위해 취해지는 어떠한 예방책도 제시하고 있지 않고 비록 지정된 인지질 및 플라보노이드를 함유하긴 하지만 실제 생산된 제품은, 적어도 본 과정은 아세톤이나 알코올 추출을 포함하고 있지 않고, 또한 초기 크릴새우 메스(mass)로부터 고체 크릴새우 물질을 제거하기 위해 다수의 기계적 단계를 포함하고 있는 이유로 본 발명에 따른 제품과 조성 면에서 결코 동일하지 않다.
- [0019] 영국 특허 제2 240 786호(한국 음식 연구 협회)에서, 크릴새우의 고함량 불소로 인한 문제점을 인식하고 있으나, 으깨진 크릴새우 성분으로부터 미립자를 실제로 제거하는 데 있어 문제점은 고려하지 않은 채 알루미늄 전극을 사용하여 불소를 제거하기 위해 분상의 크릴새우에 전류를 통과시킬 것을 제안하고 있으며, 이로써 유리 불소를 제거하는 것은 가능할지도 모르나 대신 미립자의 제거와 관련된 다른 문제를 야기하고, 또한 전기분해물 내에 잔류하는 미비한 셀 입자 내 여전히 존재하는 다소 많은 양의 결합된 불소는 고려하지 않고 있다.
- [0020] 미국 특허 제5 053 234호(앤더슨 등)에서는 밀링 단계, 단백질 분해 효소를 사용한 가수분해 단계, 물질의 가열을 포함하는 불활성화 단계 및 이와 동시에 가열을 통해 오일을 생성하는 단계, 생성물로부터 물을 제거하기 위해 스크리닝하는 단계, 및 오일을 제거하기 위한 후속적 오일-분리 단계를 통해 최종 제품을 수득하는 단계를 포함하는 공정을 통해 제조된 단백질성 제품을 기술하고 있다. 상기 특허 역시 상기 물질로부터 불소를 제거하는 것에 대해서는 언급하고 있지 않다.

도면의 간단한 설명

- [0021] 도 1은 연장된 분리 통로를 가진 특별히 디자인된 디칸터를 도시한다. 상기 실시예는 FLOTTWEG SEDICANTER[®] 수평형 디칸터 원심분리기이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0022] 본 발명의 일반적 기술
- [0023] 본 발명은 크러스트, 껍질(carapace) 및 셸을 매우 일찍이 실질적으로 완전히 제거하고, 이로써 상기 크릴새우 물질로부터 불소를 실질적으로 제거하는 다수의 단계를 포함하는 크릴새우 어획물을 가공하기 위한 산업적 방법을 제공한다. 상기 방법은 또한 인지질을 고함량으로 포함하는 원료를 가공함에 있어 에멀전에 의해 발생되는 분리 문제를 방지한다.
- [0024] 본 발명에 따른 방법은 크릴새우 어획물을 갑판에 위치시킨 이후 즉시 개시된다. 불소가 크러스트 및 껍질로부터 즉시 죽은 크릴새우의 살과 액즙으로 새어나가고/확산되기 시작하기 때문에 크릴새우 어획물이 갑판에 위치

한 후 가능한 빨리 본 발명에 따른 방법을 개시하는 것이 중요하다.

- [0025] 본 발명에 따른 공정을 개시하는 것과 관련하여 용어 '즉시'의 사용은 크릴새우 어획물을 갑판에 위치시키는 것으로부터 상기 크릴새우를 초기 분해(아래 참조)시키는 데까지 걸리는 기간과 관련이 있다. 이 시간의 기간은 최소로 유지되어야 하며, 바람직하게는 60분을 초과하지 않아야 하며, 더욱 바람직하게는 30분을 초과하지 않아야 하며, 더욱 특히 바람직하게는 15분을 초과하지 않아야 한다. 또한, 크릴새우 어획물을 저인망(trawl) 백/네트(net)로부터 적합한 분해기(disintegrator)로 직접 이동시키는 것을 포함해야 한다. 상기 크릴새우 물질의 분해기는 일반적인 펄핑(pulping), 밀링, 그라인딩(grinding) 또는 쉼레딩(shredding) 기계일 수 있다.
- [0026] 크릴새우 어획물은 예를 들어 펄핑/밀링/그라인딩/쉼레딩을 통해 원료를 분해시키기 위한 장치 내로 초기에 적재(loading)된다. 상기 분해 공정의 온도는 대략 물의 주위 온도, 즉, -2 내지 +10℃, 바람직하게는 약 +0 내지 6℃이며, 임의의 편리한 분해 방법으로 실시될 수 있다. 상기 분해 방법은 또한 이미 공지된 제조 방법에 의해 통상적으로 실시될 수 있으며, 이 방법은 밀링된 물질과 혼합된 크릴새우로부터 유래된 다량의 셸 및 크러스트 잔해가 산출되고 고함량의 불소를 포함한 분해된 페이스트가 산출되기 때문에 선행 기술에 따른 여러 장애물 중 하나를 나타낸다. 그러나, 상기 고함량 불소는, 선행기술에 따라 가공된 크릴새우 물질의 적용이 제한되는 이유 및 예를 들어, 원양성 어류(pelagic fish)와 같은 기타 해양 원료 물질에 비해 음식, 사료 또는 상용하는 음식 또는 사료 첨가제 용도에 있어 적합성이 떨어지는 이유 중 하나이다.
- [0027] 본 발명에 있어서 크릴새우 물질은 후속적인 가공 단계가 개입되지 않는 추가의 분리 단계에 적합한 입자 크기로 분할된다. 분해된 갑각류 물질, 구체적으로 크릴새우 물질은 이후 가공되지 않은 갑각류 물질, 즉, 분해되기 전 갑각류 물질의 중량을 기준으로 0.5 내지 1.5 용적 비율의 물, 구체적으로 담수에 첨가될 수 있다. 상기 물, 구체적으로 담수의 첨가는 상기 분해 단계로부터 20초 이내에 실시될 수 있다.
- [0028] 상기 분해 공정은 계속적으로 실시됨으로써 이를 통해 입자 크기가 25mm 이하, 바람직하게는 0.5 내지 10mm, 및 더욱 바람직하게는 1.0-8mm가 된다. 불소는 밀링된 물질로부터 새어 나와 나머지 원료와 혼합되는 경향이 있기 때문에 상기 입자 크기 분포는 본 발명의 한 측면을 나타낸다. 그러나, 상기 가수분해 단계가 시간 및 최적 또는 최적에 가까운 조건(예: pH), 온도 및 임의로 사용된 효소에 따라 특이적 이온과 같은 공동인자(co-factor)의 첨가와 관련된 특이적 파라미터 내에서 실시되는 경우, 상기 새어나오는 과정은 시간이 소요되고 후속하는 효소 가수분해 단계를 예방할 만큼 신속하지 않다.
- [0029] 본 발명에 따른 분해된 물질의 온도는 후속하는 효소 가수분해에 적합한 온도로 가온되어야 한다. 공정 시간을 감소시켜 불소의 확산을 방지하기 위해 상기 분해 단계 이후에 가능한 신속하게 상기 온도를 상승시켜(수초 내(예: 1-300 초, 더욱 바람직하게는 1-100초, 더욱 특히 바람직하게는 1-60초, 가장 바람직하게는 1-10초)), 효소 가수분해 단계를 위해 상기 물질을 준비해야 한다.
- [0030] 본 발명에 있어서, 효소는 상기 분해 과정의 전, 도중 또는 이후에, 상기 분해된 물질에 직접 첨가되거나 첨가수를 통해 첨가되거나, 상기한 2개 방법 모두를 통해 첨가될 수 있다.
- [0031] 본 발명에 있어서, 외인성 단백질분해성 효소(예: 알칼라제, 뉴트라제, 및 미생물(바실러스 서브틸리스, 아스페길러스 나이저 등) 유래 효소 또는 식물종)는 상기 분해 전, 도중 또는 이후, 및 상기 분해된 물질의 가열 전, 도중 또는 이후에 첨가된다. 상기 첨가된 효소(들)는 하나의 단일 효소이거나 효소들의 혼합물 형태일 수 있다. 상기 가수분해 조건은 첨가된 효소(들)에 대한 최적화된 가수분해 조건과 일치하고 선택된 외인성 가수분해 효소(들)에 대한 최적 조건의 선택은 당업자에게 알려져 있다. 한 예로서, 최적 pH가 약 8이고, 최적 온도가 60℃이며, 가수분해 시간은 40-120분인 외인성 효소 알칼라제를 들 수 있다. 상기 선택된 효소, 또는 효소들의 조합은 또한 원료 물질 중 고함량의 인지질로 인해 야기되는 에멀전을 감소시키기 위해 선택되어야 한다.
- [0032] 단백질 분해 효소(들)의 유효한 양은 공정- 및 생산 최적화가 이루어진 후에 정해 질 것이고, 또한 특별히 선택된 상업적 효소 또는 효소 혼합물의 효율에 의존할 것이다. 분해된 원재료(raw material)의 중량에 대한 비로써, 상업적 효소의 일반적 중량은, 바람직하게는 0.5% 내지 0.05%, 보다 바람직하게는 0.3% 내지 0.07%이고, 가장 바람직하게는 0.2% 내지 0.09%이다. 갓 잡은 크릴새우는 내인성(자연 발생적)효소에 의해 급속하고 통제 불가능하게 자기 분해 된다고 알려져 있다.
- [0033] 외인성 효소를 첨가하는 이유는 상기에서 언급된 셸, 껍질 및 크러스트로부터 불소의 누출을 회피/선행하기 위하여 물질(하기에서 보여지는)의 가수 분해의 촉진/가속화를 도와줄 뿐만 아니라 분해된 물질 안의 단백질성 물

질의 붕괴를 통제하고 관리하기 위함이다. 또한 효소 또는 효소들의 조합은 상기 생산 공정에서 에멀전을 감소시키기 위하여 조심스럽게 선택되어야 한다. 효소는 외인성 및/또는 내인성 펩티다아제에서 선택될 수 있다. 효소 혼합물이 사용되는 경우, 이러한 혼합물은 또한 추가의 다운스트림 공정에 보다 잘 수용될 수 있는 후속적으로 키틴-포함 분획물을 만들기 위하여 하나 이상의 키틴나제(chitinases)를 포함할 수 있다. 키틴나제가 사용되면 크릴새우의 셸/크러스트/껍질로부터 다른 분획물로 불소의 누출이 증가하지 않도록 주의할 기울여야 한다. 그러나, 이러한 불소 누출은 시간이 걸리기 때문에, 상기에서 지시한 시간 파라미터의 범위 안에서 이러한 효소적 처리를 수행하는 것이 가능하다. 초기 가수분해 단계의 효소 혼합에 키틴나제를 포함시키는 것보다 편리한 대안은, 상기 분리 단계에 후속적으로, 분리된 키틴-포함 분획물을 가공하는 것일 것이다.

[0034] 밀링된 물질로부터 불소의 누출을 피하는 것이 중요한 것처럼, 어느 정도의 상기 누출은 상기 분해 단계를 통해 이루어진 표면적의 증가와 관련되어 있기 때문에, 상기 효소적 가수분해 단계는 내인성 효소(들)의 첨가로부터 계산하여 100분, 바람직하게는 60분, 가장 바람직하게는 45분의 시간 범위 안에 완결되어야 한다. 상기 첨가된 효소(들)의 양은 사용된 효소 제품의 종류와 관련되어 있다. 예를 들어 상기 알칼라제 효소(enzyme alkalase)는 상기 원재료의 0.1 - 0.5%(w/w)의 양으로 첨가되어야 한다고 말할 수 있다. 이는 상기 추가적인 효소의 첨가는 가수분해 단계의 시간 범위를 감소시킬 수 있기 때문에 첨가된 내인성 효소의 상황에 맞게 행하여져야 한다. 상기 언급된 상기 가수분해 단계의 시간은, 가수분해 시간이 짧으면 셸, 껍질 및 크러스트 입자로부터 불소의 확산 시간이 감소되기 때문에 본 공정에서 중요한 특징 중 하나이다. 상기 가수분해적 효소 공정 단계는 상기 크릴새우의 연부조직(soft tissue)과 상기 갑각류의 바깥 셸, 크러스트 및 껍질 사이의 결합을 제거하기 위해 의도된 것이다.

[0035] 상기 가수분해적 공정 단계 이후 또는 이와 함께, 크릴새우 물질을 디칸터(decanter)와 같이 중력을 통해 작동하는 입자 제거 장치에 통과시킨다. 이 분리 단계는 가수분해된 또는 가수분해 중인 크릴새우 물질로부터 상당량의 불소를 포함하는 미세 입자를 제거한다. 상기 디칸터를 1,000 내지 1,800g, 보다 바람직하게는 1,200 내지 1,600g, 가장 바람직하게는 1,300 내지 1,500g의 중력(g force)으로 작동시킨다. 상기 입자 제거 단계를 통하여 상기 단백질성 크릴새우 분획물로부터 많은 양의 불소가 제거된다. 건조 중량에 기초한 상기 불소의 감소는, 1,500 p.p.m의 일반적인 불소 함량을 보이는 전형적인 크릴새우 가루와 비교하여 볼 때, 80% 이하, 보다 바람직하게는 85% 이하, 가장 바람직하게는 95% 이하일 수 있다.

[0036] 상기 가수분해 기간이 상기 제시된 범위 내에 있는 한, 상기 효소적 가수분해는 상기 분리 단계 전, 진행 중 또는 그 후에, 상기 가수분해 물질을 90℃ 이상, 바람직하게는 92-98℃, 가장 바람직하게는 92-95℃의 온도로 가열함(배양)으로써 완결될 수 있다. 상기 가수분해는 상기 미세 입자 제거 단계 전이나 진행 중 또는 그 후에, 가장 바람직하게는 상기 미세 입자 제거 단계 후에 완결된다. 하나의 구체예에서 상기 디칸터 입자 제거 단계의 상기 온도는, 상기 효소의 최적 활성 온도에 의존한다(이 경우 상기 효소적 가수분해 단계는 상기 미세 입자 분리 단계 이후 가열함으로써 완결된다).

[0037] 상기 언급된 바와 같이, 상기 선행 기술에 의해 가공된 크릴새우 단백질 물질 내의 불소 함량으로 인해 응용 범위가 제한되고, 음식, 사료, 또는 이에 상응하는 음식 또는 사료 첨가제의 용도로 보다 덜 적합하다. 그러나 상기 제거된 셸 물질의 상기 불소 함량은 상기 분획물의 추가적 분리/정제를 통해서 방지되지 않는다. 따라서 키틴, 키토산 및 아스타크산틴과 같은 물질은 상기 분리된(separated) 셸 물질로부터 분리될(isolated) 수 있다. 이러한 분리(isolation) 공정은 당해 기술 분야에 알려져 있다. 상기 분리된 셸 물질로부터 상기 불소를 제거하기 위하여, 예컨대 투석, 나노 여과(nanofiltration)를 통한 단계들, 전기 영동 또는 다른 적절한 기술을 통한 단계들이 또한 행해질 수 있다.

[0038] 상기 가수분해 효소(들)는 불활성화된다. 이러한 불활성화는 억제제 첨가, 공동인자의 제거(예컨대, 투석을 통한 중요한 이온의 제거), 열적 불활성화 또는 임의의 다른 불활성화 수단과 같은 다른 방식으로 수행될 수 있다. 상기 언급된 바와 같은 상기 열적 불활성화 중에서, 상기 가수분해 효소가 변성되고 불활성화되는 온도까지 상기 단백질성 물질을 가열하는 방법이 바람직하다. 그러나, 관련된 천연 단백질이 변성되지 않은 생성물을 원한다면, 상기 가수분해 효소의 불활성화를 위해 가열 이외의 다른 수단을 선택해야 한다.

[0039] 상기 디칸터를 빠져나온 단백질성 물질은 불소-제거된 배양물을 형성하고, 인지질/펩티드 복합체(Phospholipids/Peptide Complex, PPC), 음식 또는 사료 첨가제로써 기름기가 적은 가수분해물 분획물 및 주로 중성 지질로 이루어진 지질 분획물의 형태로 분리될 수 있다.

[0040] 상기 PPC는 입자가 없는 부드러운 크림(smooth cream)과 같이 지질이 풍부하며, 상기 단백질성 물질 내에서 잘 부유된다. 이는 상기 물질 안에서 작은 밀도의 차이를 주어, 통상의 원심분리기 및 디칸터를 가지고 분리하기

어렵게 만든다. 이는 특히 물고기잡이 시즌의 후반기 동안의 크릴새우 어획물에서 두드러진다.

- [0041] 일반적인 디스크 원심분리기(disc centrifugal separators)의 경우, 비우기 및 물로 이루어지는 필수적인 클리닝 사이클이 분리 존을 방해할 것이고, 고 인지질 함량의 생산물 내에 에멀전을 야기할 것이며, 그 결과 PPC의 건조 물질 농도가 낮아질 것이기 때문에 적절히 작동되지 않을 것이다. 표준 디캔터의 경우, 낮은 중력, 짧은 분리 존 및 상기 기계로부터 중질 상(heavy phase)의 방출구(discharge)에서 경질 상과 중질 상의 혼합 때문에 분리시킬 가능성이 없을 것이다. 따라서 상기 단백질성 물질의 하위-분획물로의 분리는 도 1에서 보여지는 바와 같이, 연장된 분리 통로를 가진 특별히 디자인된 수평형 디캔터 원심분리기에 의해 바람직하게 수행될 것이다.
- [0042] 상기 특별히 디자인된 디캔터는 본질적으로 몇 가지 새로운 차이점을 갖는 디캔터 원심분리기이다. 일반적인 디캔터의 경우, 상기 사료를 상기 분리 존의 가운데에서 중심에 위치한 사료 파이프를 통해 볼(bowl)에 넣는다. 상기 특별한 디캔터에서는, 상기 사료를 상기 말단 및 상기 출구의 상기 반대편(1) 쪽에 넣는다. 이는 일반적인 디캔터보다 상당히 더 긴 정화/분리 존을 갖는 특징이 있어, 상기 기계의 총 이용가능한 분리 길이(2)로 활용된다. 상기 가동은 높은 중력을 제공할 수 있다 : 에멀전화 없이 매우 순도 높고, 느리게 침전하는 PPC의 분리를 촉진하도록, 작은 기계에 대하여 10,000g 및 고 용량 기계에 대하여 5,000 내지 6,000g. 상기 농축된 PPC는 배플(baffle)(3) 아래로 들어가기 직전에 최고 중력을 받아야 할 것이다. PPC로부터의 다른 액체층들은 서서히 농축되고 상기 PPC는 중력에 의한 압력을 받아 상기 기계(4)에 의해 밀쳐져 나아가, 상기 배플 아래에서 완전히 벗어날 수 있게 된다. 상기 PPC의 약 27-30% 건조 물질 농도는 작동성/강건성(robustness)의 관점에서 볼 때, 그리고 또한 PPC를 가루로 건조시키기 위한 수율과 비용 모두를 경제적으로 고려해 볼 때, 다운스트림 공정을 효율적으로 만든다. 또한 증발에 의해 최종 농도가 60% 이상이 되게 상기 가수분해물을 농축시킬 수 있는, 휘발하는 고분자를 함유하지 않는 기름기 적은 가수분해물을 얻기 위해 상기 단계에서 분리가 잘 이루어지는 것이 중요하다.
- [0043] 건조 물질에 기초한 상기 PPC 내의 지질 및 인지질 함량에는 상기 원물질 내의 상기 지질 및 인지질 함량의 계절적 변이가 반영되고, 전형적으로 50% 부근이다. 건조 중량에 기초하여 상업적 크릴새우 가루와 비교해 볼 때, 상기 PPC 내의 상기 불소의 감소는, 바람직하게는 70% 이상, 보다 바람직하게는 75% 이상 및 가장 바람직하게는 80% 이상이다.
- [0044] 분리 후 및 증발 후의 상기 농축된 가수분해물 분획물(Concentrated Hydrolysate Fraction, CHF) 내의 상기 건조 물질 함량은, 바람직하게는 45% 이상, 보다 바람직하게는 50% 이상 및 가장 바람직하게는 55% 이상이다. 건조 물질에 기초한 상기 CHF 내의 지질 함량은, 바람직하게는 5% 이하, 보다 바람직하게는 4% 이하 및 가장 바람직하게는 3% 이하이다. 건조 중량에 기초하여 상업적 크릴새우 가루와 비교하여 볼 때, 상기 CHF 내의 상기 불소의 감소는, 바람직하게는 85% 이상, 보다 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 96% 이상이다.
- [0045] 상기 CHF가 낮은 지질 함량 및 낮은 수분 활성도($a_w < 0.79$)를 갖는 경우, 상기 분획물은 4℃ 이하의 온도에서 12개월 이상, 상당한 양의 미생물 성장 또는 상기 생성물의 다른 변성없이 저장이 가능하다.
- [0046] 해양성 지질 내의 상기 지질 산화는 냉장 보관 동안에도 또한 비교적 신속하게 진행되기 때문에, 본 발명에 따른 상기 공정이 어선에 적체된 갓 잡은 물질에 처리되어야 하는 이유가 된다. 상기 PPC는 동결될 수 있으나, 저장-안정적인 제품을 제공하기 위한 가장 산업적이고 비용 효율적인 방법은 상기 PPC를 건조시키는 것인데, 바람직하게는 낮은 온도(0-15℃, 예컨대 1-10℃ 또는 2-8℃)로 부드러운 건조 공정 하에서 및 비활성 조건 하에서 건조시키는 것이다. 이는 상기 긴-사슬 폴리-불포화된 오메가-3 지방산(long-chaine poly-unsaturated omega-3 fatty acids, n-3 LCPUFA)에서 산화 스트레스를 감소시킨다. 동결 건조 공정은 상기 생성물의 과-가열(over-heating)을 피할 수 있기 때문에 또한 적합하다. 더욱이, 개선했된 생성물은 진공(압력 mmHg) 및 낮은 온도(상기의 범위 내의)에서 얻어질 수 있고, 상기 PPC의 건조된 표면에서 모아질 수 있을 것이다.
- [0047] 상기 특이하게 불소를 낮은 양으로 포함하는 건조된 PPC 생성물은 인간이 소비하는 기능성 식품과 같은 제약 제품, 일반적으로 인간이 소비하는 식품 재료 및 사료의 특별한 재료들에 적합하다.
- [0048] 상기 건조된 PPC는 특히 수분이 제거되었기 때문에, 관심 물질에서 분리된 물질의 추가의 다운스트림 공정에 적합하다. 가공하지 않은/해동시킨 물질의 추출과 비교하여 볼 때, 이는 계속되는 추출 공정을 상당히 더 간단하고 더욱 비용 효율적으로 만든다.
- [0049] 상기 PPC 가루의 저장 안정성은, 갓 잡은 것 내에 존재하는 산화 생성물의 초기값이 낮기 때문에 상당히 좋다. 상기 PPC 가루는 비활성 환경에서 생산하고, 비활성 환경 하에서 상기 저장 수명 기간을 상당히 연장시키는, 산

소가 잘 차단되는 용기 안에 포장하는 것이 바람직하다.

[0050] 실시예 :

[0051] 남극 크릴새우의 10톤 어획량으로부터 500kg의 분획물을 1-2℃의 온도에서 즉시(잡은 후 최대 20분) 커터 칼을 사용해 3-6mm의 입자 크기로 조각내고, 그 후 즉시 습윤 중량 0.2%(w/w)인 상기 크릴새우에 500리터의 담수 및 알칼라제를 첨가한 다음, 그리고 나서 55-60℃의 온도까지 가열하였다.

[0052] 상기 효소를 상기 언급한 온도에서 45분 동안 기능하도록 하였다. 그 후 상기 물질을 하기의 조건에서 작동되는 디캔터에 주입하였다 : 불소-포함 미세 입자와 상기 디캔터에서 빠져나온 지질 단백질성 분획물의 분리를 야기 하는 것으로, 온도 : 90℃, 중력 1,400g 및 시간당 크릴새우/물/효소 현탁액 1.2톤의 주입속도. 그 다음 상기 효소적 가수분해를 완결시키고, 하기의 분리를 위해 상기 불용성 단백질을 극성 지질과 함께 변성/응집시키기 위하여 상기 물질을 93℃의 온도까지 가열하였다. 그 다음, 상기 지질 단백질성 분획물을 상기 언급한, 특별히 디자인된 디캔터(세디칸터, sedicanter)를 통하여, 상기 가수분해물로부터 불용성 단백질과 극성 지방 농축물(PPC)을 포함하는 상기 고체상을 분리하는 분리 단계로 즉시 옮겼다.

[0053] 그 다음에 상기 PPC를 식품-등급 케이킹-방지제(food-grade anti-caking agent)와 함께 혼합하고, 얇은 막 진공 건조기에서 건조시키고, 질소 공기 하에서 밀폐 백에 포장하였다. 상기 수성 수용성 단백질(가수분해물) 및 중성 지질 상을, 상기 가수분해물로부터 상기 중성 지질 상을 분리하는 분리기에 주입하였다. 상기 기름을 질소 공기 하에서 밀폐 용기에 저장하였다.

[0054] 상기 가수분해물을, 52% 초과, 구체적으로 55-70%의 건조 물질 함량을 가진 농축된 가수분해물 분획물(CHF)이 되도록 탈수/농축하기 위하여 연속적으로 플래쉬 증발기(flash evaporator)안에 주입하였고, 질소 공기 하에서 밀폐 용기에 저장하였다.

[0055] 가공하지 않은 기름기 적은 남극 크릴새우의 공정을 위한 전형적인 중량 평형을 하기 표 1에 나타내었다.

[0056] 표 1. 가공하지 않은 기름기 적은 남극 크릴새우의 공정을 위한 중량 평형

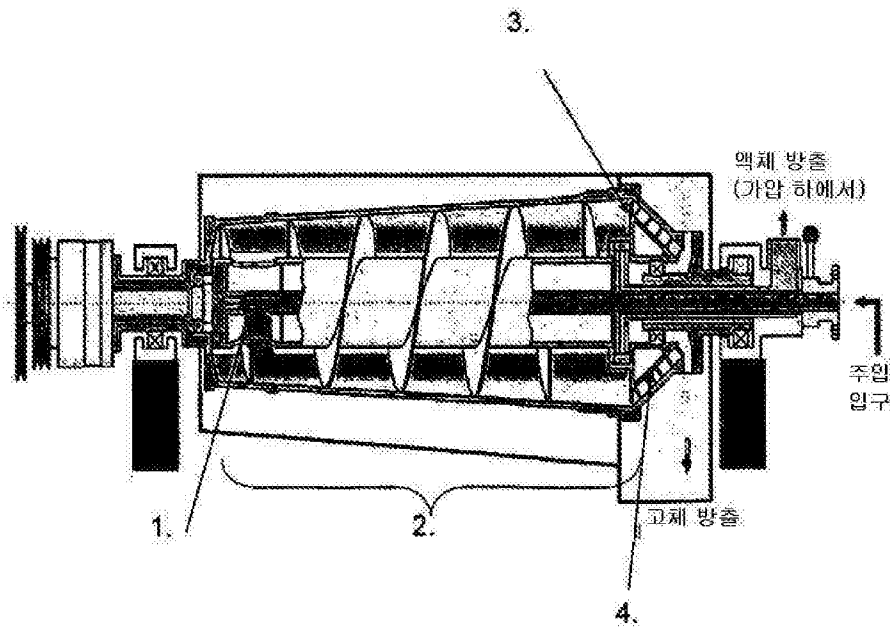
표 1

[0057]

분획물	가공하지 않은 크릴새우 500kg으로부터	분획물의 건조 중량
PPC(인지질/펩티드 복합체)	80kg	28%
건조된 PPC(케이킹-방지제 첨가)	25kg	97%
가수분해물	770kg	6.1%
CHF(농축된 가수분해물 분획물)	78kg	60%
불소-포함 미세 입자(셀 및 껍질 조각)	45kg	40%
중성 기름	< 5kg	100%

도면

도면1



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 1의 10행

【변경전】

상기 분해 단계

【변경후】

상기 더 작은 입자들로 분해시키는 단계

【직권보정 2】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 11의 1 내지 2행

【변경전】

상기 분해 단계

【변경후】

상기 더 작은 입자들로 분해시키는 단계

【직권보정 3】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 7의 2행

【변경전】

상기 분해 단계

【변경후】

상기 더 작은 입자들로 분해시키는 단계

【직권보정 4】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 7의 1행

【변경전】

상기 분해 단계

【변경후】

상기 더 작은 입자들로 분해시키는 단계