



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2009년05월12일
(11) 등록번호 10-0896170
(24) 등록일자 2009년04월28일

(51) Int. Cl.

C08B 37/08 (2006.01) C08B 37/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0049642

(22) 출원일자 2007년05월22일

심사청구일자 2007년05월22일

(65) 공개번호 10-2008-0102769

(43) 공개일자 2008년11월26일

(56) 선행기술조사문헌

JP10101704 A*

KR1020000072318 A

KR1019990023496 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

한국원자력연구원

대전 유성구 덕진동 150-1

전남대학교산학협력단

광주 북구 용봉동 300

(72) 발명자

유승호

경기도 수원시 영통구 매탄2동 196-130

이면주

대전 유성구 어은동 99 한빛아파트 105-1304

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

권오식, 김종관, 박창희

전체 청구항 수 : 총 3 항

심사관 : 이시근

(54) 방사선 조사 또는 라디칼 스캐빈저를 이용한키토산올리고당의 제조 방법

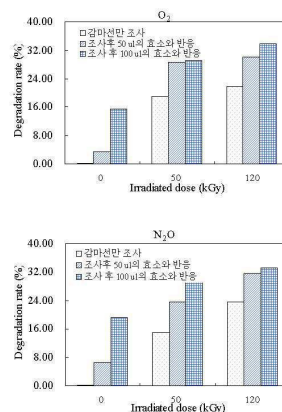
(57) 요약

본 발명은 저비용 및 고수율로 키토산올리고당을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 키토산 또는 키토산 용액에 키토산아제를 첨가하여 효소 반응에 의해 키토산올리고당을 제조하는 방법에 있어서 상기 효소 반응 전 전처리 단계로서 상기 키토산 또는 키토산 용액에 방사선을 조사하거나, 라디칼 스캐빈저(radical scavenger)로 작용할 수 있는 가스를 주입하는 방법 또는 두 가지를 병용하는 전처리 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

또한, 본 발명은 키토산으로부터 키토산올리고당을 경제적이며 효율적으로 회수하는 방법으로서 라디칼 스캐빈저 주입 후 방사선을 조사하는 것을 특징으로 하는 키토산올리고당 제조방법을 제공한다.

또한, 본 발명은 키토산을 분해하여 키토산올리고당을 제조하는 방법에 있어서, 오존(O₃)을 사용하는 것을 특징으로 하는 키토산올리고당 제조방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김택현

전북 정읍시 상동 183-11 대우드림채아파트
101-406

김태훈

광주 북구 동림동 645 삼익아파트 110-1802

박노동

광주 북구 신안동 213-1 모아타운 1-203

고성애

광주 북구 용봉동 남양빌 202호

김영주

울산 동구 전하1동 현대홈타운 102동 2302호

오경택

광주 북구 문흥동 우미2차 101-1209

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 M1-0302-00-0100/2005-04450

부처명 과학재단/과학기술부

연구사업명 국가 지정연구실 사업/원자력연구개발사업

연구과제명 생물학적 처리에 의한 클루코사민당류의 생산기술개발/방사선이용 환경처리기술개발

주관기관 전남대학교/한국원자력연구소

연구기간 2003년 06월 25일 ~ 2008년 06월 24일/2003년 04월 ~ 2007년 02월

특허청구의 범위

청구항 1

키티ن 또는 키토산 용액에 O_2 , N_2O 또는 O_3 로부터 선택되는 1종 이상의 가스를 충전시키는 단계;

키티ن 또는 키토산 용액에 방사선을 조사하는 단계; 및

방사선 조사 후 상기 키티ن 또는 키토산 용액에 키토산아제를 첨가 반응시켜 키토산올리고당을 제조하는 단계;
를 포함하는 키토산올리고당의 제조방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

제 1항에 있어서,

방사선 조사량은 방사선 흡수선량 기준으로 1 kGy 내지 20 MGy인 것을 특징으로 하는 키토산올리고당의 제조방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 방사선은 Co^{60} , Co^{56} , Sc^{46} , Na^{22} 또는 Cs^{134} 로부터 발생하는 감마선, 또는 전자선 가속기로부터 발생하는 전자선인 것을 특징으로 하는 키토산올리고당의 제조방법.

청구항 8

삭제

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<6> 본 발명은 수산폐기물의 일종인 게껍질 등으로부터 건강기능식품으로 사용될 수 있는 유용한 자원을 회수/이용하는 것을 목적으로 하며, 방사선을 이용하여 키토산으로부터 고부가가치의 키토산올리고당을 효율적이며 경제적으로 회수하는 방법을 제공하고자 한다.

<7> 키토산은 천연(갑각류: 게, 오징어, 새우껍질 등)에 존재하는 키티를 탈아세틸화시킨 물질로서 글루코사민이 결합된 천연고분자 다당류이다. 이러한 키토산은 여러 가지 생리활성에도 불구하고 그 분자량이 매우 크고 우리 몸에 이를 분해하는 효소가 존재하지 않아서 그 응용폭이 제한되고 그대로 섭취하더라도 대부분 흡수되지 않고 체외로 배출된다. 또한, 자연에 존재하는 키티는 부분적으로 탈아세틸화되어 있는 것이 보통인데 이러한 키티의

단량체에서 아세틸기가 떨어져 나간형태가 바로 키토산이다. D-글루코사민이 5,000개 이상이 반복적으로 결합하고 분자량이 100만 이상인 탄수화물을 키토산이라 하며, 키토산은 약산에 용해되며 분자내 (+)이온을 가지고 있고 특히 항균성이 높은 것으로 알려져 있어 천연 보존제로서 일반식품에 많이 사용된다. 키토산의 분해물인 키토산올리고당은 우리 몸에서 흡수가 잘 되며 물에 잘 녹기 때문에 어떤 식품에도 첨가 및 주성분원료로 사용이 용이하다. 또한 높은 수용성으로 체내 흡수율이 뛰어나 면역증강, 항균작용, 콜레스테롤조절, 칼슘흡수촉진 등의 광범위한 고기능성 생리활성물질로 밝혀짐으로서 관심이 집중되는 생리기능성 신소재이다.

- <8> 현재 키틴 및 키토산으로부터 올리고당 및 글루코사민을 회수하는 공정은 주로 강산을 사용하는 화학적 방법, 미생물 공정, 초음파 또는 마이크로파에 의한 처리공정, 염산열분해공정 등이 있다. 이 중 미생물에 의한 처리공정은 장기간의 반응시간을 요하며, 반응조건에 따른 생물학적 반응조의 민감성으로 현장의 운전이 어려운 단점이 있고, 키틴 및 키토산의 분해효소 또는 분해균주가 고가이므로 운전비용이 큰 단점이 있다. 또한 장기간의 반응시간을 요하므로 반응조의 건설비용이 과다 지출되며, 처리 후 멸균과정을 거쳐야 비로소 제품으로 이용가능한 단점이 있다. 초음파 또는 마이크로파에 의한 처리공정은 아직 초기 연구단계에 머물고 있으며, 매우 높은 고주파수를 적용하여야 하고, 진동자의 잦은 교체로 인하여 운전비용이 매우 높다는 단점이 있다. 염산열분해공정은 미생물에 의한 처리공정에 비하여 비교적 반응시간은 짧으나, 글루코사민 생성율이 낮고, 80℃ 이상의 온도를 8시간 이상 지속함에 따른 운전비용의 증가 등이 문제점으로 지적되고 있다.
- <9> 한편, 대한민국 등록특허 제396833호에서는 바실러스 속 HSB-21균주가 생산하는 키토산아제를 이용하여 키토산으로부터 키토산올리고당을 제조하는 방법이 공지되어 있으나, 고가인 키토산아제의 사용량이 많아 경제적이기 못할 뿐만아니라 반응시간이 오래 걸리는 단점이 있다.
- <10> 또한, 대한민국 등록특허 제582593호에서는 방사선 조사를 이용하여 키토산으로부터 글루코사민을 제조하는 방법이 개시되어 있고 방사선 조사 후 글루코사민을 회수하는 공정으로 열분해 단계를 추가적으로 진행하는 방법이 공지되어 있으나 글루코사민 회수율이 높지 않은 단점이 있다.
- <11> 따라서 키토산올리고당 제조를 위한 보다 효과적이고 경제적인 방법의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

- <12> 본 발명의 목적은 키토산올리고당을 제조하는 종래 기술의 단점을 해결하여 경제적이고 효율적인 키토산올리고당 제조방법을 제공하는 데 있다. 즉, 효소반응 방법을 사용하는 경우의 비용과 반응시간의 증가 문제를 해결하기 위해 노력한 결과 효소 반응 전에 방사선 조사 또는 라디칼 스캐빈저 처리를 하는 경우 효소 반응의 시간이 현저히 감소되고 적은 양의 효소를 사용하더라도 높은 수율로 키토산올리고당을 제조할 수 있음을 발견하게 되어 본 발명을 완성하기에 이르렀으며, 방사선 조사 및 라디칼 스캐빈저 처리를 동시에 하는 경우 보다 높은 수율로 키토산올리고당을 제조할 수 있었다.
- <13> 본 발명은 방사선 조사공정 또는/및 라디칼 스캐빈저 주입을 전처리공정으로 적용하고 미생물 효소 반응을 진행하여, 갑각류 껍질과 연체동물의 뼈 등의 폐수산자원으로부터 고가의 물질, 즉 키토산으로부터 키토산올리고당을 경제적이거나 효율적으로 회수하는 방법을 제공하려는 데 목적이 있다. 또한, 본 발명은 키토산으로부터 키토산올리고당을 경제적이거나 효율적으로 회수하는 방법으로서 효소 반응방법 대신에 라디칼 스캐빈저 주입 및 방사선 조사공정을 병용하는 방법을 제공하는 데 또 다른 목적이 있다. 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 키토산으로부터 키토산올리고당을 경제적이거나 효율적으로 회수하는 방법으로서 오존(O₃)을 이용하는 방법을 제공하는데 목적이 있다.

발명의 구성 및 작용

- <14> 본 발명은 저비용 및 고수율로 키토산올리고당을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 키틴 또는 키토산 용액에 키토산아제를 첨가하여 효소 반응에 의해 키토산올리고당을 제조하는 방법에 있어서 상기 효소 반응 전 전처리 단계로서 상기 키틴 또는 키토산 용액에 방사선을 조사하거나, 라디칼 스캐빈저(radical scavenger)로 작용할 수 있는 가스를 주입하는 방법 또는 두 가지를 병용하는 전 처리 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- <15> 또한, 본 발명은 키토산으로부터 키토산올리고당을 경제적이거나 효율적으로 회수하는 방법으로서 라디칼 스캐빈저 주입 후 방사선을 조사하는 것을 특징으로 하는 키토산올리고당 제조방법을 제공한다.
- <16> 또한, 본 발명은 키토산을 분해하여 키토산올리고당을 제조하는 방법에 있어서, 오존(O₃)을 사용하는 것을 특징으로 하는 키토산올리고당 제조방법을 제공한다.

- <17> 따라서, 본 발명은 키토산올리고당 제조방법의 제1 양태로서 하기의 단계를 포함하는 제조방법을 제공한다.
- <18> 키토 또는 키토산 용액에 방사선을 조사하는 단계; 및
- <19> 방사선 조사 후 상기 키토 또는 키토산 용액에 키토산아제를 첨가 반응시켜 키토산올리고당을 제조하는 단계.
- <20> 또한, 본 발명은 키토산올리고당 제조방법의 제2 양태로서 하기의 단계를 포함하는 제조방법을 제공한다.
- <21> 키토 또는 키토산 용액에 O_2 , N_2O 또는 O_3 로부터 선택되는 1종 이상의 가스를 충전시키는 단계; 및
- <22> 가스 충전 후 상기 키토 또는 키토산 용액에 키토산아제를 첨가 반응시켜 키토산올리고당을 제조하는 단계.
- <23> 또한, 본 발명은 키토산올리고당 제조방법의 제3 양태로서 하기의 단계를 포함하는 제조방법을 제공한다.
- <24> 키토 또는 키토산 용액에 O_2 , N_2O 또는 O_3 로부터 선택되는 1종 이상의 가스를 충전시키는 단계;
- <25> 가스 충전 후 상기 키토 또는 키토산 용액에 방사선을 조사하는 단계; 및
- <26> 방사선 조사 후 상기 키토 또는 키토산 용액에 키토산아제를 첨가 반응시켜 키토산올리고당을 제조하는 단계.
- <27> 또한, 본 발명은 키토산올리고당 제조방법의 제4 양태로서 하기의 단계를 포함하는 제조방법을 제공한다.
- <28> 키토 또는 키토산 용액에 O_2 , N_2O 또는 O_3 로부터 선택되는 1종 이상의 가스를 충전시키는 단계; 및
- <29> 가스 충전 후 상기 키토 또는 키토산 용액에 방사선을 조사하여 키토산올리고당을 제조하는 단계.
- <30> 또한, 본 발명은 키토산올리고당 제조방법의 제5 양태로서 키토 또는 키토산 용액에 오존(O_3)을 주입하여 키토 또는 키토산을 분해하는 것을 특징으로 하는 키토산올리고당의 제조방법을 제공한다.
- <31> 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.
- <32> 이때, 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가진다.
- <33> 또한, 종래와 동일한 기술적 구성 및 작용에 대한 반복되는 설명은 생략하기로 한다.
- <34> 우선, 상기 키토는 N-아세틸글루코사민이 β -1,4 결합으로 중합된 물질로서 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용할 수 있으며, 또는 수산폐기물로부터 키토를 제조하여 사용할 수 있다. 상기 수산폐기물은 조개, 게 및 새우 등과 같은 갑각류의 껍질, 오징어 등과 같은 연체동물의 뼈 또는 각종 생선의 뼈와 같이 수산업 활동 중 발생한 더 이상 산업 활동에 쓰이지 않는 것을 의미한다. 키토를 수산폐기물로부터 제조할 경우, 통상적인 방법을 이용하여 제조할 수 있으며, 보다 상세하게는 새우나 게의 껍질 등의 수산폐기물을 세척하고 파쇄한 후, 염산에 담그고 탄산칼슘을 녹여낸 다음, 알칼리와 함께 끓여 단백질을 제거하고, 남은 침전을 잘 씻은 후에 건조시켜 키토를 대량으로 얻을 수 있다.
- <35> 상기 키토산은 키토에서 아세틸기가 떨어져 나간 단위체인 D-글루코사민이 β -1,4 결합으로 연결된 무색, 무취의 천연고분자 다 당체로서 젖산, 구연산, 초산 등의 유기산에 용해되어 천연 다당류 중 유일하게 양전하를 가지며, 키토를 강알칼리나 효소 처리에 의한 방법으로 탈아세틸화 하여 생산된다.
- <36> 또한, 상기 키토 또는 키토산 용액은 키토 또는 키토산의 수용액으로서 키토산의 가수분해를 촉진하기 위해 산 또는 염기를 첨가하여 제조되는 것이 바람직하다. 상기 산으로는 염산, 황산, 질산, 초산, 과산화수소 등의 산을 사용할 수 있으며, 염기로는 가성소다수 등을 사용할 수 있으며, 방사선을 조사할 경우 pH가 낮을수록 많은 방사선 조사에 효과적이며, 일반적으로 1% 키토산 1 L를 제조할 경우 1 M의 초산 90 ml을 넣는데 이 경우 pH가 4 정도가 되므로 초산을 첨가하여 수행하는 것이 바람직하다.
- <37> 상기 키토 또는 키토산 용액의 농도에는 제한을 둘 필요는 없으나 용액 내 농도가 0.5 내지 4 중량%가 바람직하며, 0.5 중량% 미만일 경우 방사선 조사에 따른 영향이 크나 키토산올리고당 수율이 비효율적일 수 있으며, 상기 기농도가 2.3%를 초과하는 경우 키토산의 점도가 높아 가스주입이 어렵다.
- <38> 본 발명에 따른 제조방법에서 키토 또는 키토산 용액에 조사되는 방사선은 조사량은 방사선 흡수선량 기준으로 1 kGy 내지 20 MGy인 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 1kGy 내지 500kGy이다. 방사선 조사량이 1kGy에 미치지 않으면 방사선 조사에 따른 효과가 미미하고, 상기 방사선 조사량이 20 MGy를 초과하여 과도하게 진행되는

경우 키토산올리고당의 수율이 저하되는 문제가 생길 수 있다.

- <39> 상기 방사선은 Co^{60} , Co^{56} , Sc^{46} , Na^{22} 또는 Cs^{134} 로부터 발생되는 감마선, 또는 전자선 가속기로부터 발생되는 전자선 또는 플라즈마이거나 2종 이상을 혼합하여 조사할 수도 있다.
- <40> 상기 방사선을 수용액에 조사하였을 때 수화학적 분해에 의하여 하이드록실 라디칼, 수소 원자, 수화전자 등의 이온성 물질이 생성되게 된다. 따라서 이러한 이온성 물질에 의하여 효소인 키토산아제의 반응이 촉진되는 것으로 인식되며, 본 발명에 따른 키토산올리고당의 제조방법에서 전처리 단계에서 O_2 , N_2O 또는 O_3 로부터 선택되는 1종 이상의 가스를 사용하는 경우에 방사선으로 키토산 용액을 조사함으로써 고분자 키토산중합체가 저분자로 변화됨으로 인하여 효소반응이 용이함에 따라 키토산올리고당 형성을 촉진시키는 효과가 있다.
- <41> 상기 O_2 , N_2O 또는 O_3 로부터 선택되는 1종 이상의 가스를 키토산 또는 키토산 용액에 충전한 후 방사선을 조사하는 경우에는 키토산올리고당의 생성율에 있어서 더욱 현저한 효과를 나타낸다.
- <42> 충전 가스로서 O_2 를 사용하는 경우를 예로 들어 설명하면, O_2 를 수용액에 첨가하고 방사선을 조사하였을 경우 수소원자와 수화전자는 각각 $\text{HO}_2 \cdot$ 와 $\text{O}_2 \cdot^-$ 로 전환되어 산화제 역할을 하게 되어 고분자 다당체인 키토산을 저분자로 만드는데 기여를 하게 된다(반응식 1, 2참조).
- <43>
$$\cdot \text{H} + \text{O}_2 \rightarrow \text{HO}_2 \cdot \quad (1)$$
- <44>
$$\text{e}_{\text{aq}}^- + \text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 \cdot^- \quad (2)$$
- <45> 또한, 충전 가스로서 N_2O 를 사용하는 경우를 예로 들어 설명하면, N_2O 를 수용액에 첨가하고 방사선을 조사하였을 경우 수소원자와 수화전자는 모두 강력한 산화라디칼인 $\cdot \text{OH}$ 로 전환되어 고분자 다당체인 키토산을 저분자로 만드는데 기여를 하게 된다(반응식 3, 4참조).
- <46>
$$\text{H} + \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{OH} + \text{N}_2 \quad (3)$$
- <47>
$$\text{e}_{\text{aq}}^- + \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{OH}^- + \text{OH} + \text{N}_2 \quad (4)$$
- <48> 또한, 충전 가스로서 O_3 를 사용하는 경우에도 키토산을 저분자로 만들어 키토산올리고당의 회수율이 증가하게 된다. 특히 O_3 를 사용하는 경우에는 도 2에 나타난 바와 같이 감마선을 조사하지 않고 효소 반응 단계를 거치더라도 O_3 단독으로 처리하여도 높은 수준의 키토산올리고당 생성율을 나타내었다.
- <49> 이하 본 발명을 실시예를 들어 보다 상세히 설명하나, 하기의 실시예에 의하여 본 발명이 한정되는 것이 아니다.
- <50> [실시예 1]
- <51> 1% 키토산 용액(태훈바이오, D.A. 98.18% 점도 (687.5 cps, 1% soluble chitosan 기준, Brookfield synchroelectric viscometer (Model LVT, Spindle number 18. U.S.A.))을 제조한 후, 상기 키토산 용액에 감마선의 조사량을 0 kGy, 50 kGy, 120 kGy로 변화시키면서 감마선을 조사하였고, 본 실시예 1의 조건에서 시료는 헤드스페이스(head space) 없이 60 mL 플라스틱튜브에 채워져 밀폐되었으며, 조사율은 조사거리를 각각 달리함으로써 총 조사량을 조절하는 방법을 채용하였으며, 조사시간은 8시간으로 고정하였다. 감마선 조사 후 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*) D-11에서 생산된 키토산아제(chitosanase)와 반응시켜 다음의 절차를 거쳐 키토산의 가수분해율(%)을 측정하였다.
- <52> 방사선 조사된 1% 키토산 용액 기질 0.9 mL에 3.5 U/mL의 효소 0.1 mL를 첨가하여 30분 반응하고 1 N의 NaOH 200 μL 를 넣어 효소반응을 정지시켰다. 정지시킨 반응액을 5분간 10,000 rpm에서 원심분리한 후 그 상등액 0.5 mL에 디니트로살리실산(Dinitrosalicylic acid; DNS) 시약 1.5 mL를 넣고 5분간 끓는 물에서 반응시킨 후 흡광광도계를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 측정값을 환원당으로 환산하였다 (Miller, 1959). 효소 1 Unit는 37°C에서 1분당 생성하는 1 μmol 의 글루코사민 양으로 정의하였다.

<53> [표 1]

	kGy	0	50	120
가수분해율 (%)	감마선만 조사	0	13.7±0.17	21.57±0.51
	감마선 조사 후 효소반응	5.01±0.26	21.86±0.87	23.72±0.17

<54>

<55> 표 1에서 보는바와 같이 감마선 조사량이 증가함에 따라 가수분해 효과가 증대되었으며, 감마선 조사후 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*) D-11에서 생산된 키토산아제(chitosanase)와 반응하였을 경우 가수분해율은 최대 23.72%까지 증가되는 것을 알 수 있었다. 감마선 조사없이 효소 반응만을 시킨 후의 가수분해율(5.01%)과 비교하였을 때 감마선의 가수분해 효과는 4.5배 이상인 것으로 나타났다. 또한 50 kGy 방사선 조사 후 효소처리 하였을 때와 120 kGy 방사선 조사 하였을 때 같은 가수분해율을 보여 적은 조사량으로도 극대의 효과를 나타냈다. 따라서 키토산올리고당을 생산하기 위해서 방사선 조사 후 효소반응을 거쳤을 경우 키토산 가수분해 효율의 증대를 관찰할 수 있었다.

<56> [실시예 2]

<57> 실시예 1과 동일한 키토산을 사용하여 2.3% 키토산용액(soluble chitosan)(pH=4.5)을 제조한 후, 상기 키토산 용액에 감마선의 조사량을 0 kGy, 50 kGy, 120 kGy로 변화시키면서 키토산의 가수분해율(%)을 측정하였다. 감마선 조사 전에 제조된 키토산 용액에 O₂와 N₂O 가스를 충전(가스는 40분동안 키토산용액에 직접 폭기시켜 각각의 가스용해도 조건을 만들었음)시킨 후 감마선 조사를 실시하였다. 그 외 실험 및 감마선 조사조건은 실시예 1과 동일하다.

<58> [표 2]

	주입 가스	O ₂			N ₂ O		
		0	50	120	0	50	120
가수분해율 (%)	감마선만 조사	0	3.48	15.44	0	6.43	19.38
	감마선 조사 후 100 μl의 효소반응	21.99	30.08	33.06	23.51	31.58	33.27

<59>

<60> 표 2와 도 1에서 보는 바와 같이 모든 조건에서 감마선 조사량이 증가함에 따라 가수분해율이 증대되는 것을 알 수 있었다. 감마선 조사 후 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*) D-11에서 생산된 키토산아제(chitosanase)와 반응하였을 경우 가수분해율은 N₂O 조건에서 최대 33.27%까지 증가되는 것을 알 수 있었다. O₂와 N₂O 조건은 가수분해율에서 큰 차이는 없었으나 실시예 1과 비교하였을 시, 상기 가스 주입 후 효소반응을 하였을 시에는 가수분해율이 월등히 증가되는 것을 알 수 있었다.

<61> [실시예 3]

<62> 실시예 1과 동일한 키토산을 사용하여 2.0% 키토산 용액(soluble chitosan)(pH=4.5)을 제조한 후, 상기 키토산 용액에 감마선의 조사량을 0 kGy, 25 kGy, 50 kGy, 100 kGy, 150 kGy로 변화시키면서 키토산의 가수분해율(%)을 측정하였다. 감마선 조사 전에 제조된 키토산용액에 O₃, O₂ 와 N₂O 가스를 충전시킨 후 감마선 조사를 실시하였으며, 감마선 조사 후 실시예 1과 동일한 효소를 넣고 동일방법으로 환원당측정법을 이용하여 환원당의 양을 측정하였다.

<63> 도 2에서 보는바와 같이 O₃를 키토산 수용액에 충전 시킴과 동시에 가수분해가 일어나 감마선 0 kGy에서 9 μmol/mL의 가수분해가 일어났으며 감마선 조사량의 증가와 더불어 환원당 생성율도 증가되었다. 환원당 생성율에 있어서 O₃가 제일 높았으며 N₂O가 보다 O₂약간 더 높은 것을 알 수 있었다.

<64> 도 3은 실시예 2에서 키토산 용액에 가스를 주입한 후 방사선을 조사한 후의 TLC(thin layer chromatography) 결과를 글루코사민의 표준물질($(\text{GlcN})_{1-7}$)과 비교하여 나타낸 것으로 도3의 S_{1-7} 은 글루코사민의 7가지 표준물질($(\text{GlcN})_{1-7}$)의 TLC 결과로서 글루코사민의 7가지 표준물질은 S_1 (standard of glucosamine monomer), S_2 (standard of glucosamine dimer), S_3 (standard of glucosamine trimer), S_4 (standard of glucosamine tetramer), S_5 (standard of glucosamine pentamer), S_6 (standard of glucosamine hexamer) 및 S_7 (standard of glucosamine heptamer)를 의미한다. 도 3의 1은 실시예 2에서 O_2 기체 주입 후 방사선 강도가 50 kGy로 조사된 키토산의 결과이고, 도 3의 2는 O_2 기체 주입 후 방사선 강도가 120 kGy 로 조사된 키토산의 결과이고, 도3의 3은 N_2O 기체 주입 후 방사선 강도가 50 kGy 로 조사된 키토산의 결과이며, 도3의 4는 N_2O 기체 주입 후 방사선 강도가 120 kGy 로 조사된 키토산의 결과이다.

<65> 도 4는 글루코사민 표준 물질의 HPLC(High performance liquid chromatography) 결과이고, 도 5는 실시예 2에서 N_2O 기체 주입 후 방사선 강도가 120 kGy 로 조사된 키토산의 HPLC 결과이다.

<66> 도 3 내지 5의 TLC와 HPLC 결과에서 나타나는 바와 같이 상기 실시예에서 방사선을 이용한 키토산의 가수분해결과 얻어진 환원당이 키토산올리고당이라 것을 확인할 수 있었다.

<67>

발명의 효과

<68> 본 발명은 키토산을 분해하여 키토산올리고당을 제조하는 방법에 관한 것으로 키토산 분해를 위해 방사선 조사 또는 라디칼 스캐빈저 주입 또는 이 두 가지를 모두 사용하는 방법을 통해 키토산올리고당을 저비용 및 고수율로 제조할 수 있는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

<1> 도 1은 O_2 와 N_2O 를 충전 시킨 후 방사선을 조사하거나, 방사선 조사 후 효소를 이용하여 가수분해 효과를 비교한 결과이고,

<2> 도 2는 O_3 , O_2 , N_2O 를 충전 시킨 후 방사선 조사 후 환원당 가수분해율 측정 결과를 나타낸 그래프이며,

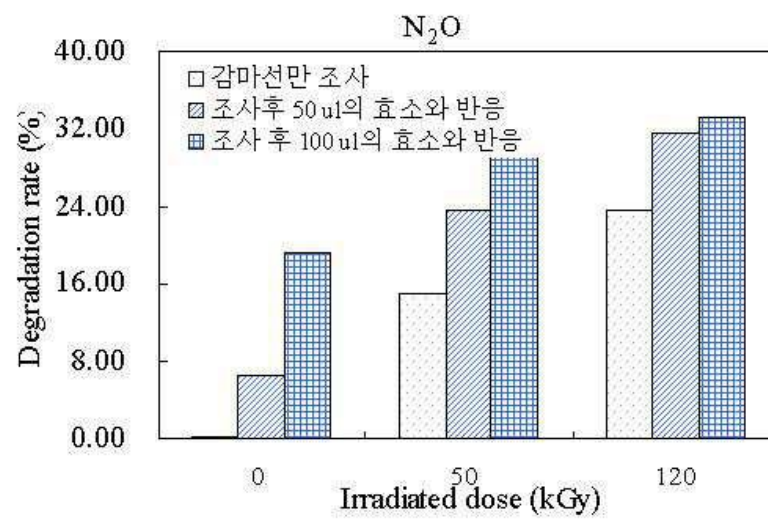
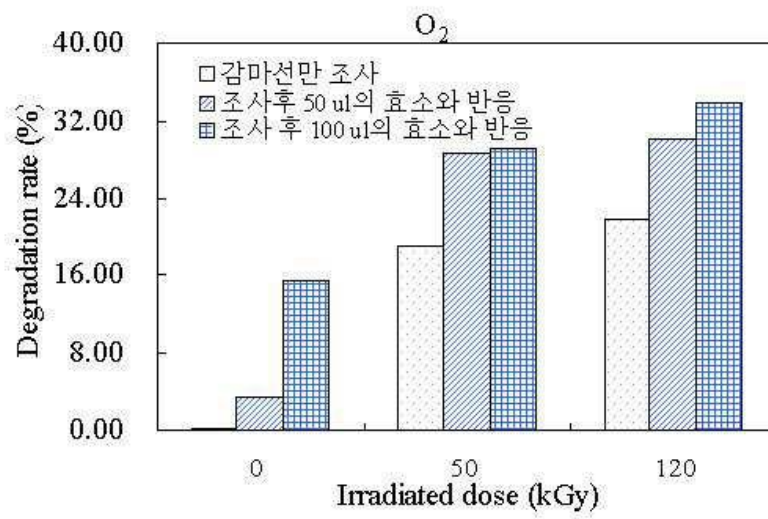
<3> 도 3은 TLC를 이용한 키토산올리고당 분석결과이다.

<4> 도 4는 HPLC에서 나타난 키토산올리고당 스탠다드의 결과이다.

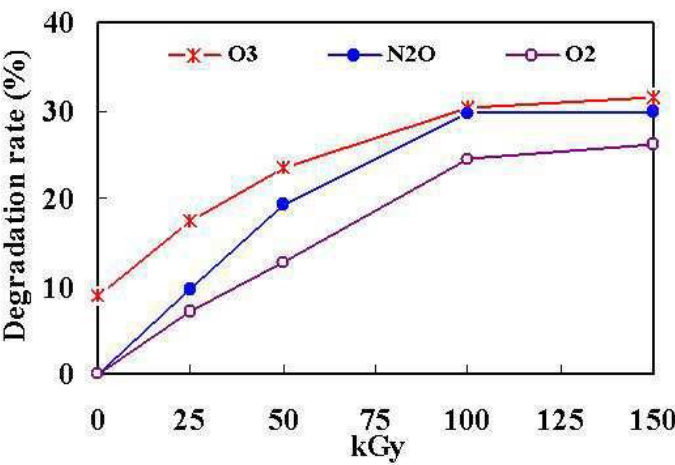
<5> 도 5는 HPLC를 이용한 키토산올리고당 분석결과이다.

도면

도면1



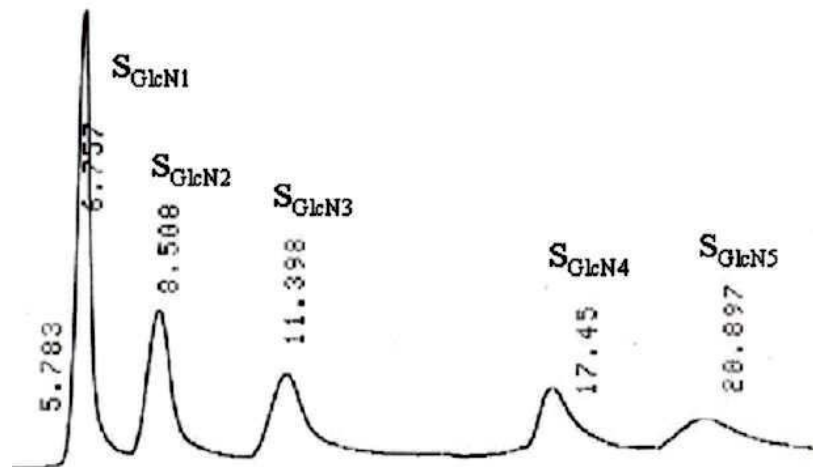
도면2



도면3



도면4



도면5

