



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년06월29일
(11) 등록번호 10-1872622
(24) 등록일자 2018년06월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 33/10 (2016.01) A23L 2/38 (2006.01)
A23L 33/105 (2016.01) A23L 5/00 (2016.01)
- (52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2016.08)
A23L 2/38 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-0174278
(22) 출원일자 2016년12월20일
심사청구일자 2016년12월20일
- (56) 선행기술조사문헌
JP2010540572 A
KR101602679 B1*
KR1020110057104 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
세종대학교산학협력단
서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)
- (72) 발명자
심순미
경기도 성남시 분당구 동판교로 156 금호어울림 909동 902호
송지훈
경기도 파주시 파주읍 성현안길 204 (향양리)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인이상

전체 청구항 수 : 총 13 항

심사관 : 한지혜

(54) 발명의 명칭 니코틴 독성 해독용 그라비올라 추출물 제조방법 및 이 추출물을 함유하는 해독용 음료 조성물

(57) 요약

니코틴 해독능 및 생체이용률이 증진된 그라비올라 추출물 제조방법을 제공한다. 본 발명의 니코틴 독성 해독용 그라비올라 추출물 제조방법은, 그라비올라 잎을 준비하는 단계, 그라비올라 잎을 물과 함께 가열하여 그라비올라 열수 추출물을 얻는 단계 및 그라비올라 열수 추출물을 농축하여 수분이 줄어든 농축액을 얻는 단계를 포함할 수 있다. 본 발명에 따르면, 그라비올라 추출물을 제공함으로써, 항산화능, 구체적으로는 니코틴 독성에 기인한 간세포 보호능 및 해독능에 탁월한 효과를 발휘할 수 있다. 나아가, 십자화과 추출물을 포함하는 그라비올라 추출물은 항산화 물질의 생체이용률 및 관능적 기호도를 향상시킴으로써, 천연물질 유래 건강 기능성 식품으로의 제조에 기여할 수 있다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A23L 5/51 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/334 (2013.01)

A23V 2250/21 (2013.01)

A23V 2300/14 (2013.01)

A23V 2300/50 (2013.01)

(72) 발명자

최은혜

서울특별시 서초구 강남대로30길 77-3 현대빌라
202호

서승범

인천광역시 연수구 먼우금로 149 풍림연수3차아파
트 103동 201호

손유라

서울특별시 광진구 능동로15길 22 채움하우스 A동
402호

이다연

서울특별시 송파구 동남로 160 현대아파트 14동
1005호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014R1A2A2A01007627

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 중견연구자지원

연구과제명 십자화과 식물 유래 S-methylmethionine 의 생체이용률 증진을 통한 소화기관계 질환 예방
효능

기 여 율 1/1

주관기관 세종대학교

연구기간 2015.05.01 ~ 2016.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

그라비올라 잎을 준비하는 단계;

상기 그라비올라 잎을 물과 함께 가열하여 그라비올라 열수 추출물을 얻는 단계; 및

상기 그라비올라 열수 추출물을 농축하여 수분이 줄어든 농축액을 얻는 단계;

십자화과 식물을 준비하는 단계;

물을 사용하여 십자화과 식물로부터 십자화과 식물 수추출물을 얻는 단계;

상기 십자화과 식물 수추출물을 농축하여 십자화과 식물 농축액을 얻는 단계; 및

상기 그라비올라 농축액 및 십자화과 식물 농축액을 혼합하는 단계를 포함하는, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 그라비올라 및 십자화과 식물 복합추출물 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 그라비올라 열수 추출물을 얻는 단계는,

상기 그라비올라 잎을 숙성하는 단계; 및

상기 숙성된 그라비올라 잎에 물을 첨가하고 열처리를 수행하는 단계인 것인, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 그라비올라 및 십자화과 식물 복합추출물 제조방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 그라비올라 열수 추출물은 루틴(Rutin), 캠페롤-루티노사이드(Kaempferol-rutinoside, K.R) 또는 설페 메틸-메티오닌(SMM, Sulfur Methyl-methionine, Vitamin U)을 유효성분으로서 함유하는 것인 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 그라비올라 및 십자화과 식물 복합추출물 제조방법.

청구항 4

삭제

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 십자화과 식물은 잎채소 또는 꽃채소인 것인, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 그라비올라 및 십자화과 식물 복합추출물 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 농축액들을 혼합하는 단계는,

상기 그라비올라 농축액 및 십자화과 식물 농축액의 혼합물에 비타민 C를 더 첨가하는 것인, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 그라비올라 및 십자화과 식물 복합추출물 제조방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 농축액들을 혼합하는 단계는,

상기 농축액들을 희석하여 혼합하되,

상기 그라비올라 농축액 및 십자화과 농축액은 각각 10ppm 내지 50ppm의 농도로 희석되는 것인, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 그라비올라 및 십자화과 식물 복합추출물 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 그라비올라 농축액은 40ppm 내지 50ppm, 상기 십자화과 식물 농축액은 10ppm 내지 20ppm의 농도로 희석되어 혼합되는 것인, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 그라비올라 및 십자화과 식물 복합추출물 제조방법.

청구항 9

그라비올라 열수 추출물을 함유하는, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 음료 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 조성물은 십자화과 식물 수 추출물을 더 포함하는 것인, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 음료 조성물.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 해독은 니코틴을 코티닌으로 전환하는 것인, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 음료 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 십자화과 식물 수 추출물은 상기 그라비올라 열수 추출물 100 중량부 대비 20 내지 40의 중량 비율로 혼합되는 것인, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 음료 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 십자화과 식물은 잎채소 또는 꽃채소인 것인, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 음료 조성물.

청구항 14

제9항에 있어서,

상기 그라비올라 열수 추출물은, 루틴(Rutin), 캠페롤-루티노사이드(Kaempferol-rutinoside, K.R) 또는 설퍼메틸-메티오닌(SMM, Sulfur Methyl-methionine, Vitamin U)을 유효성분으로서 함유하는 것인, 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 음료 조성물.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 추출물 제조방법 및 이 추출물을 함유하는 음료 조성물에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 그라비올라 추출물 제조방법 및 이 추출물을 함유하는 해독용 음료 조성물에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 흡연은 여러가지 질병을 발생시키는 발병의 원인이 되며, 담배는 흡연시 약 4,000여종의 화학적 성분이 생산되어 인체로 흡입된다. 최근 흡연인구가 증가되고 특히 그 연령층이 점차 낮아지고 있고, 여성흡연자들의 인구도 빠른 속도로 증가되고 있는 실정이다. 이에 따른 피해사례들이 자주 발표되고 있는데 그 중 주된 원인 물질은 직간접적인 흡연에 의한 니코틴과 그 대사산물들이다. 이들 물질들은 상부위장관암, 요로계암, 췌장암 등 여러 장기의 암성질환의 원인이 되고 있고, 또한 이에 못지않은 나쁜 영향으로서는 폐조직 고유의 탄력성을 감소시켜 폐기종의 원인이 되고 있다. 또 심장질환의 원인이 되는 화학물질로서 니코틴이 주원인 물질로서 지목되고 있다. 또한 흡연시 발생하는 유리라디칼에 의한 항산화시스템의 약화로 인해 혈중콜레스테롤의 증가, 비타민 E와 비타민 C의 감소 등이 보고되고 있다.
- [0003] 한편, 우리나라의 알코올 섭취량은 세계 4위를 기록하고 있을 정도로 알코올의 과다섭취가 문제되고 있다. 인체에 흡수된 알코올은 주로 알콜 탈수소효소(alcohol dehydrogenase; ADH)에 의해 세포질 내에서 아세트알데히드로 전환된 후, 알데히드 탈수소효소(aldehyde dehydrogenase; ALDH)에 의해 아세틸-CoA로 바뀐 후, 아세테이트로 변환되어 분해되는데, 알코올의 과다섭취시 간에 손상을 주는 간 독성물질인 아세트알데히드가 다량으로 발생하게 되어 간에 손상을 주며, 알코올의 대사과정에서 비롯되는 NADH의 증가는 간의 산소소모를 향진시켜 간 조직에 손상을 입히게 된다.
- [0004] 그라비올라(Graviola)는 브라질을 포함한 아마존 일대와 남미, 북미의 열대에 자생하고 있는 5cm 내지 6cm 정도의 작은 상록수로, 단맛이 있는 타원형의 열매는 가시가 있으며, 짙은 녹색 또는 황록색의 껍질에는 흰 과육이 있다.
- [0005] 그라비올라는 열매 뿐만 아니라, 잎, 줄기, 뿌리 및 씨앗에도 여러가지 생리활성 물질들, 특히 항산화, 항암 작용에 뛰어난 유효성분들인 아세토제닌, 아노아세오스, 파이토케미컬 등이 다량 함유되어 있으며, 그 중에서도 그라비올라의 항암 효능은 방사선에 비해 10,000배에 달하는 뛰어난 효과를 발휘하는 것으로 알려져 있다. 이에 따라, 그라비올라를 약용 또는 식용으로의 활용을 위한 많은 연구가 현재 진행중에 있다.
- [0006] 그라비올라는 각 부위별로 예를 들어, 차나 주스, 캡슐 형태, 추출물 또는 생으로 섭취할 수 있는데, 식품 소재로서 그라비올라의 활용에 대한 연구는 아직 그다지 활발하지 못하며, 특히, 그라비올라의 추출물을 음용하기에는 기호도가 떨어진다는 문제점이 있어 관능적 보완의 필요성이 있다. 또한, 그라비올라의 항산화, 항암의 효능을 한층 더 강화할 수 있는 방안에 대한 더 구체적인 연구가 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제10-2016-0076539호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 항산화능, 구체적으로는 니코틴 독성에 기인한 간세포 보호능 및 해독능을 갖는 해독용 식물 추출물을 제공할 수 있다.
- [0009] 또한, 항산화 물질의 생체이용률과, 관능적 기호도가 향상된 건강 기능성 식품용 식물 추출물을 제공할 수 있다.

과제의 해결 수단

- [0010] 상기 과제를 이루기 위하여 본 발명의 일 측면은 니코틴에 기인한 간세포 독성을 해독하는, 해독용 그라비올라 추출물 제조방법을 제공한다. 상기 해독용 그라비올라 추출물 제조방법은, 그라비올라 잎을 준비하는 단계, 상기 그라비올라 잎을 물과 함께 가열하여 그라비올라 열수 추출물을 얻는 단계 및 상기 그라비올라 열수 추출물을 농축하여 수분이 줄어든 농축액을 얻는 단계를 포함할 수 있다.
- [0011] 상기 그라비올라 열수 추출물을 얻는 단계는, 상기 그라비올라 잎을 숙성하는 단계 및 상기 숙성된 그라비올라

앞에 물을 첨가하고 열처리를 수행하는 단계인 것일 수 있다. 상기 그라비올라 열수 추출물은 루틴(Rutin), 캠페롤-루티노사이드(Kaempferol-rutinoside, K.R) 또는 설퍼 메틸-메티오닌(SMM, Sulfur Methyl-methionine, Vitamin U)을 유효성분으로서 함유하는 것일 수 있다.

[0012] 그라비올라 농축액을 준비하는 단계, 십자화과 식물을 준비하는 단계, 물을 사용하여 십자화과 식물로부터 십자화과 식물 수추출물을 얻는 단계, 상기 십자화과 식물 수추출물을 농축하여 십자화과 식물 농축액을 얻는 단계 및 상기 그라비올라 농축액 및 십자화과 식물 농축액을 혼합하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 십자화과 식물은 잎채소 또는 꽃채소인 것일 수 있다.

[0013] 상기 농축액들을 혼합하는 단계는, 상기 그라비올라 농축액 및 십자화과 식물 농축액의 혼합물에 비타민 C를 더 첨가하는 것일 수 있다. 상기 농축액들을 혼합하는 단계는, 상기 농축액들을 희석하여 혼합되되, 상기 그라비올라 농축액 및 십자화과 농축액은 각각 10ppm 내지 50ppm의 농도로 희석되는 것일 수 있다. 상기 그라비올라 농축액은 40ppm 내지 50ppm, 상기 십자화과 식물 농축액은 10ppm 내지 20ppm의 농도로 희석되어 혼합되는 것일 수 있다.

[0014] 상기 과제를 이루기 위하여 본 발명의 다른 측면은 니코틴에 기인한 간세포 독성 해독용 음료 조성물을 제공한다. 상기 해독용 음료 조성물은, 그라비올라 열수 추출물을 함유할 수 있다. 상기 조성물은 십자화과 식물 수추출물을 더 포함하는 것일 수 있다. 상기 해독은 니코틴을 코티닌으로 전환하는 것일 수 있다.

[0015] 상기 십자화과 식물 수추출물은 상기 그라비올라 열수 추출물 100 중량부 대비 20 내지 40의 중량 비율로 혼합되는 것일 수 있다. 상기 십자화과 식물은 잎채소 또는 꽃채소일 수 있다. 상기 그라비올라 열수 추출물은, 루틴(Rutin), 캠페롤-루티노사이드(Kaempferol-rutinoside, K.R) 또는 설퍼 메틸-메티오닌(SMM, Sulfur Methyl-methionine, Vitamin U)을 유효성분으로서 함유하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0016] 본 발명에 따르면, 그라비올라 추출물을 제공함으로써, 항산화능, 구체적으로는 니코틴 독성에 기인한 간세포 보호능 및 해독능에 탁월한 효과를 발휘할 수 있다.

[0017] 나아가, 십자화과 추출물을 포함하는 그라비올라 추출물은 항산화 물질의 생체이용률 및 관능적 기호도를 향상 시킴으로써, 천연물질 유래 건강 기능성 식품으로의 제조에 기여할 수 있다.

[0018] 본 발명의 기술적 효과들은 이상에서 언급한 것들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 기술적 효과들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1a는 본 발명의 제1 실시예에 따른 그라비올라 추출물의 제조방법을 나타낸 순서도이다.

도 1b는 본 발명의 제2 실시예에 따른 그라비올라 추출물의 제조방법을 나타낸 순서도이다.

도 2a 및 도 2b는 본 발명의 실험예 1에 따른 결과를 나타낸 그래프들이다.

도 3은 본 발명의 실험예 3에 따른 결과를 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명의 실험예 4에 따른 결과를 나타낸 그래프이다.

도 5a 및 도 5b는 본 발명의 실험예 5에 따른 결과를 나타낸 그래프들이다.

도 6a 내지 도 6c는 본 발명의 실험예 5-1에 따른 결과를 나타낸 그래프들이다.

도 7a 내지 도 7e는 본 발명의 실험예 5-2에 따른 결과를 나타낸 그래프들이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위하여 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 첨부된 도면을 참조하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되어지는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다.

[0021] 본 명세서에서, 본 발명에서 '그라비올라 추출물'은 그라비올라 잎 추출물만을 함유하는 단일 추출물이거나, 기타 식물 추출물, 구체적으로는 십자화과 식물 추출물을 더 함유하는 복합 추출물을 의미할 수 있다.

- [0023] 도 1a는 본 발명의 제1 실시예에 따른 그라비올라 추출물 제조방법을 나타낸 순서도이다.
- [0024] 그라비올라 추출물(단일 추출물) 제조방법
- [0025] 도 1a를 참조하면, 그라비올라 잎을 준비한다(S10). 상기 그라비올라 잎은 수확 후, 세척하여 건조된 것일 수 있다. 세척은 증류수를 사용할 수 있고, 건조는 자연건조 또는 동결건조법을 사용할 수 있다. 또한, 상기 그라비올라 잎은 예를 들어, 150 메쉬 내지 250 메쉬 크기의 분말 형태로 분쇄된 것일 수도 있으며, 상기 분말 형태의 그라비올라 잎은 영하의 온도에서 보관될 수 있다.
- [0026] 이 후, 상기 그라비올라 잎으로부터 그라비올라 열수 추출물을 얻는다(S20). 구체적으로는, 상기 그라비올라 잎을 물과 함께 가열하여 그라비올라 잎 열수 추출물을 얻는다. 이를 위하여, 먼저, 상기 그라비올라 건잎을 숙성시킬 수 있다. 상기 숙성은 고온, 예를 들어, 130℃ 내지 150℃, 5시간 내지 7시간의 조건에서 수행될 수 있다. 그런 다음, 발효된 상기 그라비올라 잎에 100배 중량의 물을 혼합한 후, 열처리, 구체적으로 스팀(steam) 열처리를 수행할 수 있다. 상기 열처리는 상기 숙성 수행시의 온도보다 낮은 온도에서 수행될 수 있다. 예를 들어, 상기 열처리의 온도는 100℃ 이하, 구체적으로는 90℃ 내지 100℃일 수 있으며, 상기 열처리 시간은 1시간 내지 3시간, 일 예로는 2시간일 수 있다.
- [0027] 이러한 열수 추출 조건은 그라비올라 잎 내의 유효 성분, 구체적으로는 항산화 물질의 추출 효율을 향상시키면서 상기 유효 성분의 함량을 안정하게 유지할 수 있다. 예컨대, 상기 항산화 물질은 루틴(Rutin), 캠페롤-루티노사이드(Kaempferol-rutinoside, K.R) 또는 설퍼 메틸-메티오닌(SMM, Sulfur Methyl-methionine, Vitamin U)을 포함할 수 있다.
- [0028] 이 후, 상기 그라비올라 열수 추출물을 농축하여 그라비올라 농축액을 얻는다(S30). 구체적으로는, 상기 그라비올라 열수 추출물에서 잔류하는 그라비올라 잎을 제거한 다음, 상기 추출물을 농축하여 수분을 제거할 수 있다. 예컨대, 상기 농축은 감압농축법, 구체적으로는 가열 감압농축법을 사용할 수 있다. 이때, 가열 감압농축은 약 40℃ 내지 80℃의 온도에서 수행할 수 있다.
- [0029] 상기 농축액은 상기 농축 후에 건조 과정을 거쳐 그라비올라 추출물 분말을 만들거나 또는 상기 농축액을 물에 희석하여 적절한 추출물 희석액을 만들 수도 있다. 상기 건조는 동결건조 또는 분무건조일 수 있다. 상기 물은 증류수일 수 있다. 한편, 상기 그라비올라 추출물 분말은 영하의 온도, 일 예로 -20℃에서 냉동 보관될 수 있다.
- [0031] 도 1b는 본 발명의 제2 실시예에 따른 그라비올라 추출물 제조방법을 나타낸 순서도이다.
- [0032] 그라비올라 추출물(복합 추출물) 제조방법
- [0033] 도 1b를 참조하면, 그라비올라 추출물을 제조한다(S10, S20, S30). 상기 그라비올라 추출물은 전술된 도 1a와 동일한 방법을 사용할 수 있다.
- [0034] 한편, 십자화과 식물을 준비한다(S11). 구체적으로, 상기 십자화과 식물은 십자화과, 즉, 배추과 또는 겨자과 식물 중에서도 식용이 가능한 작물일 수 있으며, 예를 들어, 상기 십자화과 식물은 배추, 양배추, 무, 브로콜리, 케일, 컬리플라워, 방울양배추, 카놀라(유채씨), 와사비, 근대 또는 미나리 등을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다. 더 구체적으로, 상기 십자화과 식물은 잎채소(leaf vegetables) 또는 꽃채소(flowers vegetable)일 수 있다. 예컨대, 상기 잎채소의 십자화과 식물은 배추, 양배추, 케일일 수 있다. 상기 꽃채소의 십자화과 식물은 브로콜리일 수 있다.
- [0035] 상기 십자화과 식물은 수확 후, 세척하여 건조된 것일 수 있다. 세척은 증류수를 사용할 수 있고, 건조는 자연건조 또는 동결건조법을 사용할 수 있다.
- [0036] 상기 십자화과 식물로부터 십자화과 식물 추출물을 얻는다. 구체적으로는, 상기 십자화과 식물을 물과 함께 교반하여 십자화과 식물 수추출물을 얻는다(S21). 이를 위하여, 상기 십자화과 식물을 20배 중량의 증류수에 혼합하고, 배양기에서 중온, 예를 들어, 약 50℃ 내지 60℃의 온도, 일 예로, 55℃의 온도에서, 20시간 내지 28시간, 일 예로, 24시간 동안, 60rpm 내지 80rpm, 일 예로, 70rpm의 속도로 교반할 수 있다.
- [0037] 이 후, 상기 추출물을 여과하여, 잔류 십자화과 식물 고형물 및 불순물들을 제거할 수 있다. 상기 여과는 필터지, 일 예로는, 기공 8μm 크기의 필터지를 사용할 수 있다. 그런 다음, 여과된 추출물을 농축하여 십자화과 식물 농축액을 얻는다(S31). 상기 농축 이후 건조 과정을 거쳐 십자화과 식물 추출물 분말 또는 십자화과 식물 농축액을 제조한다. 상기 농축 및 건조 과정은 전술된 도 1a와 동일한 방법을 사용할 수 있다.

- [0038] 한편, 상기 그라비올라 추출물 및 십자화과 식물 추출물을 혼합하여 그라비올라 복합 추출물을 제조한다(S40). 예를 들어, 상기 십자화과 식물 추출물은 상기 그라비올라 추출물 100 중량부 대비 20 내지 40, 일 예로는, 30의 중량비율로 혼합될 수 있다.
- [0039] 구체적으로는, 상기 그라비올라 추출물과 십자화과 식물 추출물을 혼합한 다음, 비타민 C를 더 포함하여 그라비올라 복합 추출물을 제조할 수 있다. 예를 들어, 상기 비타민 C는 합성 비타민 C이거나, 오렌지, 자몽종자, 레몬 등을 포함하는 과채류에서 추출된 것을 사용할 수 있다. 상기 비타민 C는 상기 추출물들의 보존성을 높여 저장기간을 연장시킬 수 있으면서, 상기 추출물 내에서 산성조건에서 용출이 되는 성분의 안정성을 높일 수 있다. 또한, 상기 추출물의 향미 증진 효과도 발휘할 수 있다. 일 예로, 상기 그라비올라 추출물, 십자화과 식물 추출물 및 비타민 C는 100: 30: 1(wt%)의 중량비율로 혼합될 수 있다.
- [0040] 상기 복합 추출물에서 상기 추출물들은 농축액 상태로 혼합되거나, 상기 농축액들을 각각 일정 농도로 희석하여 혼합될 수도 있다. 예를 들어, 상기 그라비올라 농축액과 십자화과 식물 농축액은 각각 0.5ppm 내지 100ppm, 구체적으로는 10ppm 내지 50ppm으로 희석하여 혼합될 수 있다. 예컨대, 상기 그라비올라 농축액은 40ppm 내지 50ppm, 일 예로는, 50ppm의 농도로 희석될 수 있다. 상기 십자화과 식물 농축액은 10ppm 내지 20ppm, 일 예로는 15ppm의 농도로 희석될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 실시예들에 따른 그라비올라 추출물은, 상기 추출물 내에 함유된 유효성분, 구체적으로, 루틴(Rutin), 캠페롤-루티노사이드(Kaempferol-rutinoside, K.R) 또는 설파 메틸-메티오닌(SMM, Sulfur Methyl-methionine, Vitamin U)은 항산화, 항암, 항염증, 항노화, 해독 작용 등의 기능성에 있어 탁월한 효과를 발휘할 수 있다. 또한, 상기 추출물은 상기 유효성분들 중, 설파 메틸-메티오닌(SMM)의 생체이용률(소화성, bioaccessibility)에서 우수한 효과를 발휘할 수 있다.
- [0043] 특히, 상기 그라비올라 추출물은, 해독 작용, 구체적으로는, 니코틴에 기인한 간세포 보호능, 더 구체적으로는, 니코틴에 기인한 간세포의 해독능과 산화적 손상물(활성산소, reactive oxygen species, ROS) 생성 억제 효과 및 니코틴에서 코티닌으로의 전환능 등에 있어 우수한 효과를 발휘할 수 있다.
- [0044] 한편, 그라비올라 복합 추출물에 함유된 상기 십자화과 식물, 구체적으로는 식용 가능한 잎채소 및 꽃채소들 또한, 항산화 및 니코틴 해독 등과 같은 기능성을 발휘할 수 있다. 예컨대, 상기 십자화과 식물 중, 양배추, 배추, 브로콜리 및 케일, 일 예로, 케일은 니코틴의 코티닌 해독능에 있어 뛰어난 효과를 발휘할 수 있다.
- [0045] 상기 십자화과 식물 추출물은 그라비올라 추출물의 관능적 기호도를 높이는 효과를 발휘할 수 있다. 일 예로, 그라비올라 복합 추출물의 관능평가를 실시한 결과, 상기 십자화과 식물들 중에서도, 케일은 단맛을 함유하여 상기 그라비올라 추출물과의 혼합물이 가장 높은 관능적 선호도를 보였다. 또한, 상기 십자화과 식물 추출물은 상기 그라비올라 추출물 내의 항산화 물질, 일 예로, 설파 메틸-메티오닌(SMM)의 생체이용률에 있어 시너지를 발휘할 수 있다.
- [0046] 상기 그라비올라 추출물들의 전술된 기능성에 대하여는 후술될 실험예들을 통하여 더 구체적으로 서술될 것이다.
- [0047] 나아가, 본 발명의 실시예들에 따른 그라비올라 추출물들은, 항산화 물질의 생체이용률 및 니코틴에 기인한 간세포 보호능 등에 있어 탁월한 기능성을 가지면서도, 십자화과 식물에 의한 관능적 기호도를 높여 뛰어난 음용 효과를 발휘함으로써, 천연식물 유래 안전한 해독음료 등과 같은 건강기능식품으로의 제조에 상당한 기여를 할 것으로 예상된다.
- [0049] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실험예(example)를 제시한다. 다만, 하기의 실험예는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것일 뿐, 본 발명이 하기의 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0051] <제조예 1: 그라비올라 추출물(단일 추출물) 제조>
- [0052] 필리핀에서 수확되어 건조된 형태로 한국 ㈜그라비올라앤네이처 회사로 수입된 그라비올라 잎을 준비한다. 상기 그라비올라 건잎 20kg을 141℃, 6시간 동안 숙성한 후, 100℃이하에서 2시간 동안 2톤의 물과 함께 끓여 그라비올라 열수 추출물을 얻는다. 그런 다음, 상기 추출물에서 고형의 잔여 잎을 제거하고, 55℃ 감압농축으로 수분을 제거하고 동결 및 분쇄하여 -20℃에서 냉동보관 한다.
- [0054] <제조예 2: 십자화과 식물 추출물 제조>
- [0055] 15g의 동결건조된 케일과 20배 중량의 증류수를 배양기에 55℃, 70rpm의 조건으로 24시간 동안 교반하여 추출한

다. 상기 추출물을 8 μ m 필터지에 여과하고, 감압농축과 동결건조로 수분을 제거한다. 그런 다음, 상기 여과된 추출물을 가루형태로 만든 후, -20℃에서 냉동보관 한다.

[0057] <제조예 3: 그라비올라 추출물(복합 추출물)제조>

[0058] 전술된 제조예 1의 그라비올라 추출물과 제조예 2의 십자화과 식물 추출물 및 비타민 C를 각각 100:30:1(wt%) 비율로 혼합하여 그라비올라 및 십자화과 식물 추출 혼합물을 제조하였다.

[0060] <실험예 1: 제조예 1 및 제조예 3의 추출물들의 생체이용률 측정>

[0061] 실험군으로, 전술된 제조예 1 및 제조예 3에서, 그라비올라의 각 지표물질들(루틴(Rutin), 캠페롤-루티노사이드(Kaempferol-rutinoside, K.R) 및 설퍼 메틸-메티오닌(SMM, Sulfur Methyl-methionine, Vitamin U))의 생체이용률, 구체적으로, 인체 내 소화적 안정성(bioaccessibility)을 측정하였다.

[0062] 이를 위하여, 인체 소화 기관인 입, 위, 소장의 생화학적 조건을 모방한 인 비트로(in vitro) 생체 소화 모델 시스템인 인공 소화액에서 상기 지표물질들을 각각 배양한 다음, 상기 제조예 1 및 제조예 3의 추출물들을 첨가한 후, 소화 안정도(bioaccessibility,%)를 측정하였다.

[0063] 보다 구체적인 실험방법으로는, 먼저, 상기 지표물질들, 제조예 1 및 3을 인산 버퍼에 녹이고, 입 안의 조건을 위하여 아밀라아제를 첨가한 후, 37℃에서 5분간 배양하였다. 이후, 위 내의 조건을 위하여, 펩신 용액을 첨가하고 염산으로 pH를 2로 조정 한 뒤, 37℃에서 30분간 배양하였다. 이때, 탄산수소나트륨(NaHCO₃)을 넣어 상기 산을 중화하여 pH를 다시 5.3으로 조정하였다. 그 다음, 소장의 조건을 위하여, 담즙산, 리파아제(lipase) 및 판크레아틴(pancreatin)의 혼합액을 넣고, NaOH 용액을 이용하여 pH를 7로 조절하였다.

[0064] 그런 다음, 다시 37℃에서 1시간 배양하고, 원심 분리하여 상등액을 분리한 다음, 초 실험 액체 색층 분석(UPLC/MS/MSn(Ultra performance liquid chromatography/MS/MSn))을 사용하여 소화안정도(bioaccessibility, %)를 측정하였다.

[0065] 대조군으로, 제조예 1 및 3의 추출물을 제외한 상기 지표물질들만을 전술된 바와 동일한 조건으로 상기 인공 소화액에서 배양한 다음, 소화안정도(bioaccessibility, %)를 구하였다.

[0067] 도 2a 및 도 2b는 본 발명의 실험예 1에 따른 결과를 나타낸 그래프들이다.

[0068] 도 2a를 참조하면, 대조군, 즉, 각 지표물질들의 인체 내 소화적 안정도는 루틴이 약 6.18%, K.R이 약 1.49%, SMM이 6.55%로 상당히 낮게 나타남을 알 수 있다.

[0069] 도 2b를 참조하면, 제조예 1 및 제조예 3의 경우, 소화적 안정도가 모두 약 10% 이상의 값을 나타낸 것으로 보아 대조군에 비해 소화적 안정도가 상당량 증가함을 알 수 있다. 그 중에서도 SMM의 경우, 다른 지표물질들에 비해 수용성이 높고, 그라비올라 내의 다양한 메트릭스에 의한 영향으로 소화적 안정도가 20%이상으로 더욱 증가하였음을 알 수 있다.

[0070] 제조예 3, 즉, 그라비올라 복합 추출물의 경우, 제조예 1, 즉, 그라비올라 단일 추출물에 비하여, SMM의 소화적 안정도가 약 1.4배 더 높음을 알 수 있다. 이는 상기 십자화과 추출물이 상기 지표물질들, 구체적으로는 SMM의 생체이용률에 있어 상기 그라비올라 추출물과 시너지를 발휘함을 나타낸다.

[0072] <실험예 2: 제조예 1 및 제조예 3의 추출물들의 소장 세포 축적률(cellular uptake)측정>

[0073] 실험군으로 전술된 제조예 1 및 제조예 3에서의, 상기 지표물질들 루틴(Rutin), 캠페롤-루티노사이드(Kaempferol-rutinoside, K.R) 및 설퍼 메틸-메티오닌(Sulfur Methyl-methionine(SMM), Vitamin U)의 세포내 축적률(cellular uptake)을 측정하였다.

[0074] 이를 위하여, 소장세포(Caco-2)를 모노-웰(mono-well)에 일정시간 배양하여 인체 소장과 유사한 환경을 조성하였다. 그 다음에, 전술된 제조예 1과 제조예 3에 각각 상기 지표물질들을 첨가한 후, 37℃에서 4시간 배양한 뒤, 초 실험 액체 색층 분석(UPLC/MS/MSn(Ultra performance liquid chromatography/MS/MSn))으로 소장 세포 축적률(cellular uptake) 분석하였다.

[0076] 하기의 표 1은 전술된 실험예 2의 결과를 나타낸 것이다.

표 1

[0077]

	Caco-2 cellular uptake(μmol/mg protein)		
	루틴(Rutin)	K.R	SMM
제조예 1	N/D	N/D	0.0123
제조예 3	N/D	N/D	0.0133

[0078]

표 1을 참조하면, 제조예 1 및 제조예 3에서 모두 루틴과 K.R이 불검출 되었다. 이는, 루틴과 K.R은 글리코사이드(glycoside) 형태의 플라보노이드(flavonoid)로 소장에서는 대사 및 흡수가 거의 되지 않고, 소장을 지나 대장에서 장내 미생물에 의해 대사 및 흡수가 되는 것을 보여주는 것이다.

[0079]

단, SMM의 경우, 제조예 1에서 0.0123 μmol/mg protein의 SMM이 검출되었고, 제조예 3에서는 0.0133 μmol/mg protein의 SMM이 검출되었다. 즉, 제조예 3의 추출 혼합물이 제조예 1의 추출물보다 세포내 축적률이 약 1.08배 높음을 알 수 있다.

[0080]

이를 통하여, 십자화과 식물 추출물이 상기 지표물질들, 구체적으로는 SMM의 세포내 축적률에 있어 상기 그라비올라 추출물과 시너지를 발휘함을 알 수 있다.

[0082]

<실험예 3: 제조예 1 및 제조예 3에 따른 추출물의 니코틴 독성에 대한 간세포 보호능 측정>

[0083]

실험군으로, 전술된 제조예 1 및 제조예 3의 추출물들의 니코틴 독성에 대한 간세포 보호능을 각각 측정하였다. 측정 방법으로는 세포독성 실험(MTT 분석)을 이용하였다. 세포독성 실험(MTT 분석)이란, 살아있는 세포에 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide)라는 물질을 처리하면, 세포 내 미토콘드리아에 있는 환원효소(reductase)에 의해 환원되어 포르마잔(formazan)이라 불리는 결정(crystal)을 형성하게 되는데, 상기 결정을 디메틸 설펝사이드(dimethyl sulfoxide, DMSO)로 녹여서 분광학적으로 그 양을 측정하는 것이다.

[0084]

이를 위한 구체적인 실험방법으로는, 한국세포주은행에서 분주 받은 HepG2 (passage # 34) 세포를 계대한 후, 96 웰 플레이트(well plate)에 1×10^4 cell의 밀도로 분주하여 24시간 동안 5%의 CO₂, 37 °C의 조건에서 배양하였다. 그런 다음, 실험군으로, 제조예 1 및 제조예 3의 추출물을 각각 0.5ppm, 1ppm, 5ppm, 10ppm, 50ppm, 및 100ppm로 농도를 달리하여 준비한 후, 상기 세포 배지에 상기 각 농도의 추출물들을 처리하였다. 이때, 배양 시간은 4시간이었으며, 5%의 CO₂, 37°C의 조건에서 수행되었다. 대조군으로는 1mM의 니코틴만 처리된 배지를 준비하였다.

[0085]

그 다음에, 1 mM의 니코틴을 상기 각 실험군들과 대조군에 각각 처리하고 24시간 동안 배양한 후, 배지를 제거한 다음 MTT 시약(3-(4,5 dimethylthiazol-2,5 diphenyletrazolium bromide)을 처리하여 4시간 동안 배양하였다. 그 후, 배지를 제거하고 디메틸설펝사이드(DMSO) 시약을 처리하고, 570nm 파장에서 흡광도를 멀티마이크로플레이트 리더(multimicroplate reader, Thermo scientific)로 측정하였다.

[0086]

이 후, 상기 측정된 흡광도를 하기 수학적식을 이용하여 세포 생존도 (cell viability)를 구하였다.

[0087]

세포 생존도(% of cell viability) = 대조군의 평균 흡광도 값(average of control(OD))- 실험군의 평균 흡광도 값(average of test(OD))/ 실험군의 평균 흡광도 값(average of test(OD))-블랭크 값(average of blank(OD))*100

[0089]

도 3은 본 발명의 실험예 3에 따른 결과를 나타낸 그래프이다.

[0090]

도 3을 참조하면, 전술된 실험예 3의 MTT 시험법에 따른 실험군들 및 대조군에서의 세포 생존도를 나타낸 그래프에서, 니코틴으로만 처리된 대조군에 비해 실험군들, 즉, 제조예 1 및 제조예 3에서의 세포 생존율이 높음을 알 수 있다. 즉, 그라비올라 추출물이 니코틴을 처리한 간세포의 생존율을 높였고, 최대 90%까지 상승한 것을 알 수 있다. 다시 말해서, 상기 그라비올라 추출물이 니코틴으로 인한 세포 독성의 보호 효과를 발휘함을 알 수 있다.

[0091]

그 중에서도, 제조예 3, 즉, 그라비올라 복합 추출물의 경우, 제조예 1, 즉, 그라비올라 단일 추출물만을 사용한 경우보다 상대적으로 최대 약 1.5배 가량 높은 세포 생존율을 보인 것으로 보아, 그라비올라 추출물 및 케일 추출물이 모두 세포독성 보호 효과를 발휘함을 알 수 있다.

- [0093] <실험예 4: 제조예 1 및 제조예 3에 따른 추출물의 니코틴에 기인한 산화적 손상물(활성산소, reactive oxygen species, ROS)생성 억제 효능 평가>
- [0094] 실험군으로 전술된 제조예 1 및 제조예 3의 추출물에서 니코틴에 의한 간세포의 산화적 손상물 생성 억제 효능을 측정하기 위하여, DCFH-DA 시약을 이용하여 활성산소(ROS, Reactive oxygens species) 분석을 실시하였다.
- [0095] DCFH-DA 시약을 이용한 활성산소(ROS, Reactive oxygens species) 분석이란, 비극성이고 전하를 띄지 않는 DCFH-DA는 세포막을 쉽게 통과하여 세포질로 들어갈 수 있다. 상기 DCFH-DA는 세포 내에서 세포 내 효소인 에스테라아제(esterase)에 의해 형광을 내지 않는 2'7'-디클로로플루오레세인(dichlorofluorscein, DCFH))으로 변화하고, 상기 DCFH는 세포 내에서 발생하는 다양한 활성 산소에 의해 산화되어 형광을 내는 2', 7'-디클로로플루오레세인(dichlorofluorscein, DCF)으로 다시 변화하게 되는데, 이때, 측정된 형광의 수준으로 세포 내 산화 정도를 알 수 있다.
- [0096] 보다 구체적인 실험방법으로는, 한국세포주은행에서 분주 받은 HepG2 (passage # 36) 세포를 계대 배양한 후, 96 웰 플레이트에 1×10^5 셀(cell)의 밀도로 분주하여 24시간 동안 5% CO₂, 37℃의 조건에서 배양한 후, 배지를 제거하였다.
- [0097] 그런 다음, 실험군으로 제조예 1 및 제조예 3의 추출물들을 0.5ppm, 1ppm, 5ppm, 10ppm, 50ppm 및 100ppm으로 각각 희석하여 상기 세포에 각각 처리하였다. 이때, 배양 시간은 4시간이며, 5% CO₂, 37℃의 조건에서 수행되었다. 한편, 1 mM의 니코틴만을 처리한 배지를 대조군으로 설정하였다.
- [0098] 그 다음에, 1 mM 니코틴 농도를 각 실험군과 대조군에 처리하고 24시간 동안 배양시킨 후, 트립신(trypsin) EDTA를 분주하여 세포를 떼어내고 5μM DCFH-DA 시약을 처리하였다. 이 후, 30분 뒤에 488 nm(여기, excitation) 및 525 nm(발광, emission) 파장에서 멀티마이크로플레이트 리더 (Thermo scientific)로 형광을 측정하였다.
- [0100] 도 4는 본 발명의 실험예 4에 따른 결과를 나타낸 그래프이다.
- [0101] 도 4를 참조하면, 대조군에 비해 제조예 1 및 제조예 3의 실험군들에서, 상대적으로 디클로로플루오레세인(dichlorofluorscein, DCF)의 형광정도가 낮음을 확인할 수 있었다. 이는 니코틴으로 인한 산화적 손상물 생성을 그라비올라 추출물이 억제하는 효과를 발휘함을 보여준다. 그 중에서도, 제조예 3, 즉, 그라비올라 복합 추출물의 경우, 제조예 1, 즉, 그라비올라 단일 추출물과 비교했을 때, 상대적으로 낮은 산화적 손상물 생성을 나타내는 것으로 보아, 상기 그라비올라 복합 추출물은 니코틴으로 인한 세포 손상을 최대 1.2배 더 줄여줄 수 있음을 알 수 있다.
- [0103] <실험예 5: 제조예 1 및 제조예 3에 따른 추출물의 니코틴에서 코티닌으로의 전환률 평가>
- [0104] 전술된 제조예 1 및 제조예 3의 추출물에서의 니코틴에서 코티닌으로의 전환률 평가로 코티닌 정량법을 실시하였다.
- [0105] 보다 구체적인 실험방법으로는, 한국세포주은행에서 분주 받은 HepG2 (passage # 34-37) 세포를 계대 배양한 후, 24 웰 플레이트에 분주하여 100% 컨플루언시(confluency)에 이르기까지 5% CO₂, 37℃의 조건에서 배양한 후, 배지를 제거하였다. 그 후, HepG2 세포에 1 mM 니코틴이 함유된 배지를 사용하여 1일간 배양하였다.
- [0106] 실험군으로, 제조예 1, 즉, 그라비올라 추출물을 1ppm, 5ppm, 10ppm, 50ppm 및 100 ppm의 농도로 각각 준비하고, 제조예 3, 즉, 그라비올라 추출물 및 케일 추출물을 포함하는 그라비올라 복합 추출물 또한, 각각 1ppm, 5ppm, 10ppm, 50ppm 및 100 ppm의 농도로 각각 준비하였다. 대조군으로, 니코틴만 처리한 군을 준비하였다.
- [0107] 그런 다음, 니코틴의 반감기가 2시간임을 고려하여, 실험 시간을 최대 120분으로 정하였고, 각각 10분, 30분, 60분, 90분 및 120분의 시간이 경과할 때 마다 코티닌 함량을 측정하였다. 그 후, 트립신(trypsin) 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)을 분주하여 세포를 떼어내고, 원심분리를 이용하여 세포를 수거한 후, 인산 완충 용액(Phosphate buffered saline, PBS) 100 μl를 넣고 초음파 분쇄기를 이용하여 30초간 파쇄하였다. 파쇄된 세포에 100 μl의 4 M 소듐 아세테이트 버퍼 (Sodium acetate buffer, pH 4.7), 40 μl의 1.5 M 시안화 칼륨(Potassium cyanide), 40 μl의 0.4 M 클로라민 T (Chloramine T), 200 μl의 78 mM 바르비투르산(barbituric acid, in acetone/water (50/50, w:w))를 순서대로 넣고 10초 동안 혼합한 후, 상온에서 15분 동안 반응시켰다. 그 후, 40 μl의 1 M 메타중아황산나트륨(Sodium metabisulfite)를 넣어 반응을 중지시키고, 490

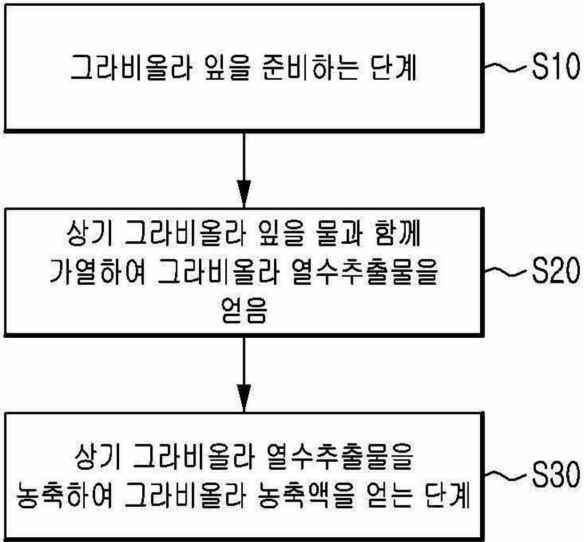
nm의 파장에서 흡광도를 멀티마이크로플레이트 리더 (Thermo scientific)로 측정하여 코티닌 시료의 표준곡선과 비교하여 정량한 후 단백질 정량법 (Bradford assay)을 이용하여 값을 보정하였다.

- [0109] 도 5a 및 도 5b는 본 발명의 실험에 5에 따른 결과를 나타낸 그래프들이다.
- [0110] 도 5a 및 도 5b를 참조하면, 대조군에 비해 실험군들의 배양시간에 따른 코티닌 전환율이 증가하는 것을 알 수 있다. 그 중에서도, 실험군들 중 복합 추출물인 제조예 3의 경우, 10ppm 내지 100ppm, 더 구체적으로는 10ppm 내지 50ppm의 농도 범위에서, 120분 내의 배양시간 동안에 코티닌의 함량이 모두 약 0.17 $\mu\text{g}/\text{mg protein}$ 이상의 값을 나타내는 것을 알 수 있다. 특히, 제조예 3의 10ppm 내지 50ppm의 농도의 추출 혼합물은 120분에서 0.2 $\mu\text{g}/\text{mg protein}$ 를 상회하는 높은 코티닌 함량을 나타냄을 알 수 있다.
- [0111] 이는 제조예 1에서의 그라비올라 추출물에 농도 의존적인 코티닌 함량의 증가율보다 케일의 추출물을 혼합한 경우(제조예 3)의 코티닌 함량 증가율이 1.3배 더 높은 것을 나타내어 코티닌 전환 능력이 더욱 향상되었음을 보여준다.
- [0113] <실험예 5-1: 제조예 1 및 제조예 3의 추출물들의 각 농도에 따른 니코틴에서 코티닌으로의 전환률 평가>
- [0114] 진술된 실험예 5와 같이, 코티닌 정량법으로 니코틴에서 코티닌으로의 전환률을 측정하되,
- [0115] 실험군으로, 제조예 3의 복합 추출물과 케일 외의 십자화과 식물들 중, 배추, 양배추 및 브로콜리의 단일 추출물들을 각각 준비하며, 각 추출물들의 농도는 1ppm, 10ppm 및 50ppm 으로 달리하였다.
- [0116] 그 다음에, 상기 실험군들의 추출물들에서 배양 시간 10분, 30분, 60분, 90분 및 120분 시간대별로 코티닌으로의 전환율을 측정하였다.
- [0118] 도 6a 내지 도 6c는 본 발명의 실험예 5-1에 따른 결과를 나타낸 그래프들이다.
- [0119] 도 6a를 참조하면, 낮은 농도(1ppm)에서의 제조예 3, 즉, 그라비올라 복합 추출물은 다른 십자화과 식물 추출물들에 비해 비교적 낮은 코티닌 전환률을 보이는 것을 알 수 있다.
- [0120] 도 6b 및 도 6c를 참조하면, 중간 농도(10ppm, 50ppm)에서의 제조예 3은 각 십자화과 식물들(배추, 양배추, 브로콜리)에 비해서 10, 30, 60, 90, 120분 각 시간대에서 농도 경향적으로 안정적인 코티닌 전환률을 보이는 것을 알 수 있다.
- [0121] 이로써, 상기 십자화과 식물 단일 추출물들에 비하여, 상기 그라비올라 복합 추출물이 10ppm 내지 50ppm의 범위에서 농도 의존적으로 안정적인 코티닌 전환율을 나타냄을 알 수 있다.
- [0123] <실험예 5-2: 세포 배양시간에 따른 제조예 1 및 제조예 3에서의 니코틴에서 코티닌으로의 전환률 평가>
- [0124] 진술된 실험예 5와 같이, 코티닌 정량법으로 니코틴에서 코티닌으로의 전환률을 측정하되,
- [0125] 실험군으로, 배추, 양배추, 케일 및 브로콜리 추출물들을 15ppm씩 각각 준비한 다음, 상기 각각의 십자화과 식물들에 그라비올라 추출물 50ppm을 혼합하였으며, 대조군으로는, 15ppm의 배추, 양배추, 케일 및 브로콜리 단일 추출물을 각각 준비하였다.
- [0126] 그 다음에, 상기 실험군들 및 대조군의 추출물들을 배양 시간 10분, 30분, 60분, 90분 및 120분의 시간대별로 코티닌으로의 전환율을 측정하였다.
- [0128] 도 7a 내지 도 7d는 본 발명의 실험예 5-2에 따른 결과를 나타낸 그래프들이다.
- [0129] 도 7a 내지 도 7d를 참조하면, 십자화과 식물들의 단일 추출물을 15ppm씩 처리한 경우보다, 50ppm의 그라비올라와 각각의 15ppm의 십자화과 식물들의 복합 추출물의 경우, 배양시간 10분에서 90분 사이에서 코티닌 전환율이 상승된 것을 알 수 있다.
- [0130] 단, 배양시간 120분에서는 그라비올라 50ppm과 케일 15ppm의 복합 추출물이 가장 안정적이고 높은 코티닌 전환률을 보이는 것을 알 수 있다.
- [0131] 즉, 십자화과 식물들 중 케일 15ppm과 그라비올라 50ppm의 복합 추출물의 경우, 시간이 지남에 따라 가장 안정적이고 높은 코티닌 전환률을 보이는 것을 알 수 있다.
- [0133] 한편, 본 명세서와 도면에 개시된 본 발명의 실시 예들은 이해를 돕기 위해 특정 예를 제시한 것에 지나지 않으며, 본 발명의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니다. 여기에 개시된 실시 예들 이외에도 본 발명의 기술적 사상

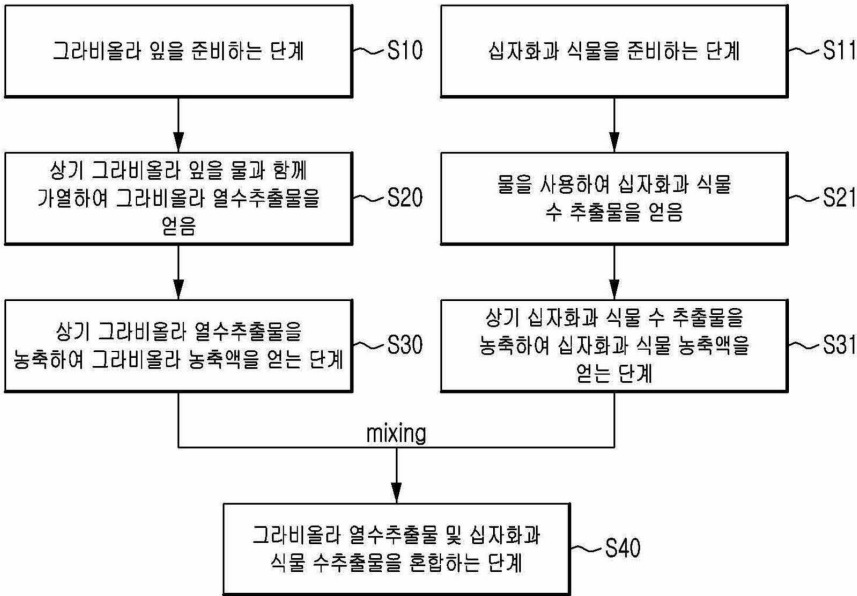
에 바탕을 둔 다른 변형 예들이 실시 가능하다는 것은, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명한 것이다.

도면

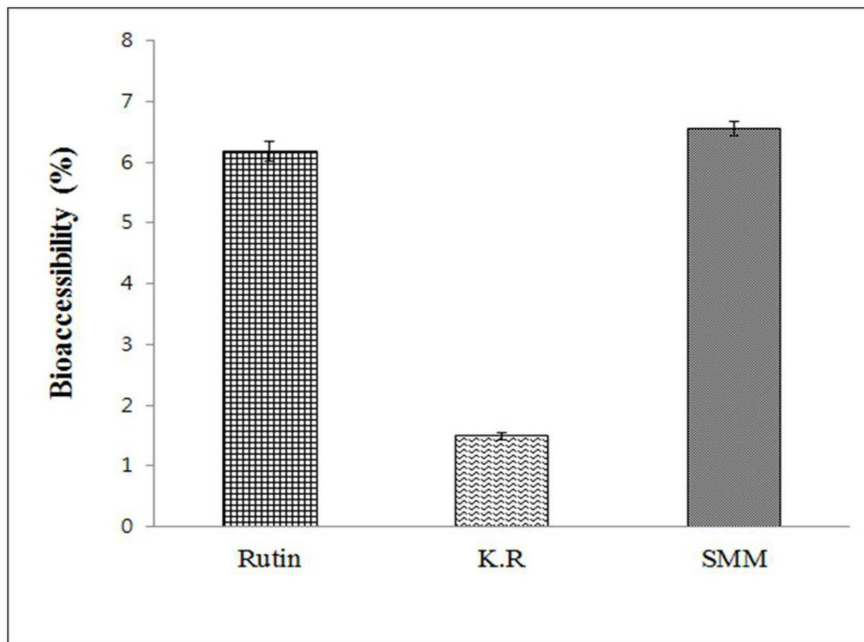
도면1a



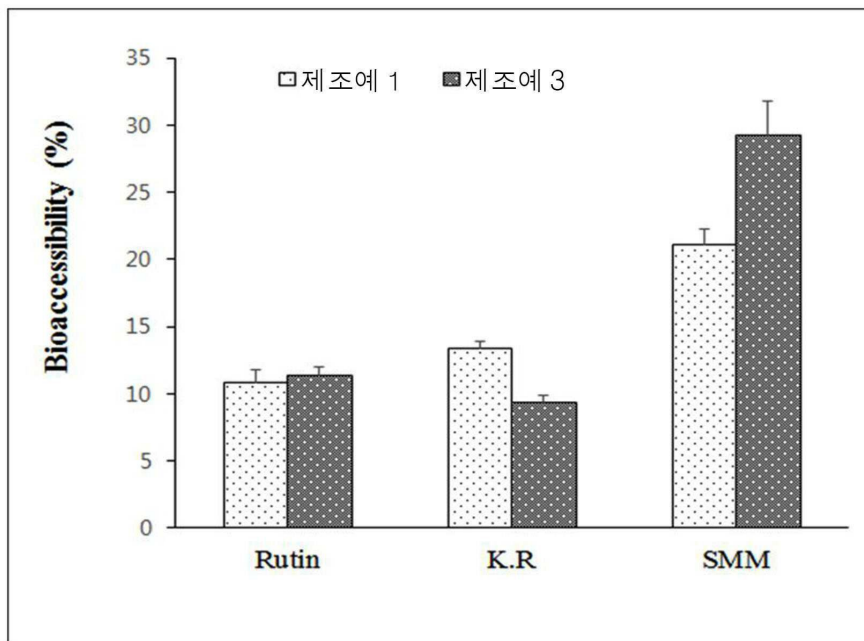
도면1b



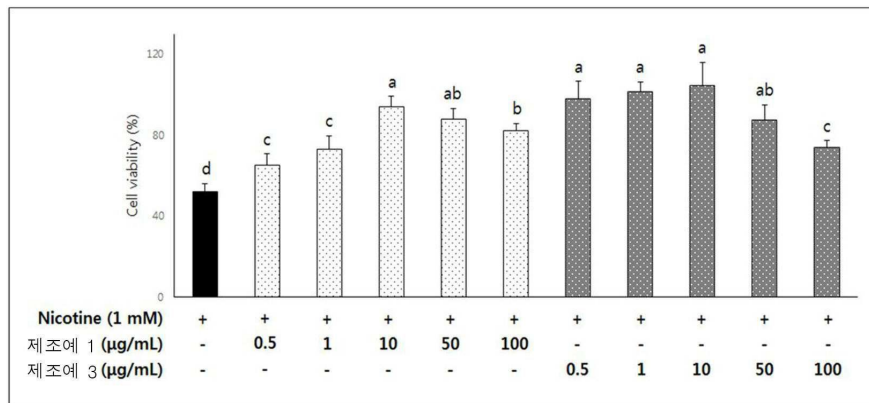
도면2a



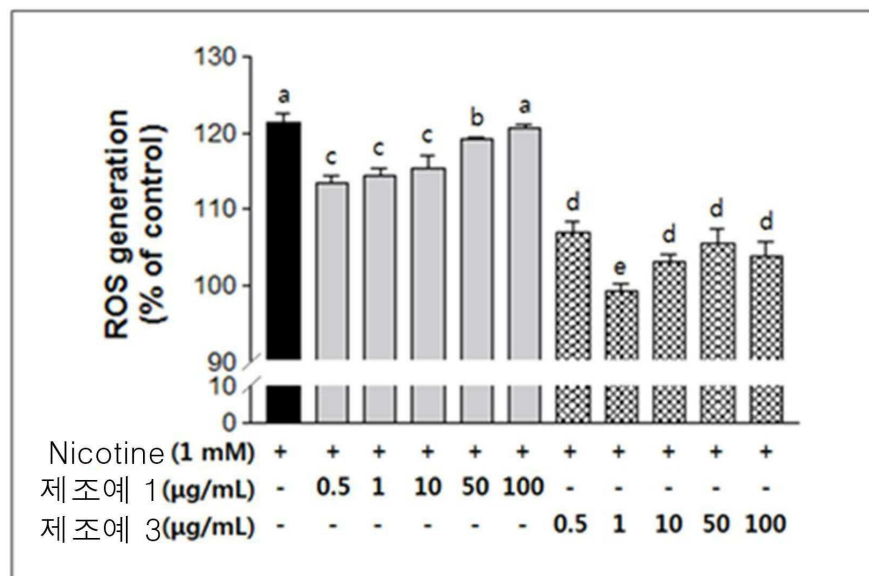
도면2b



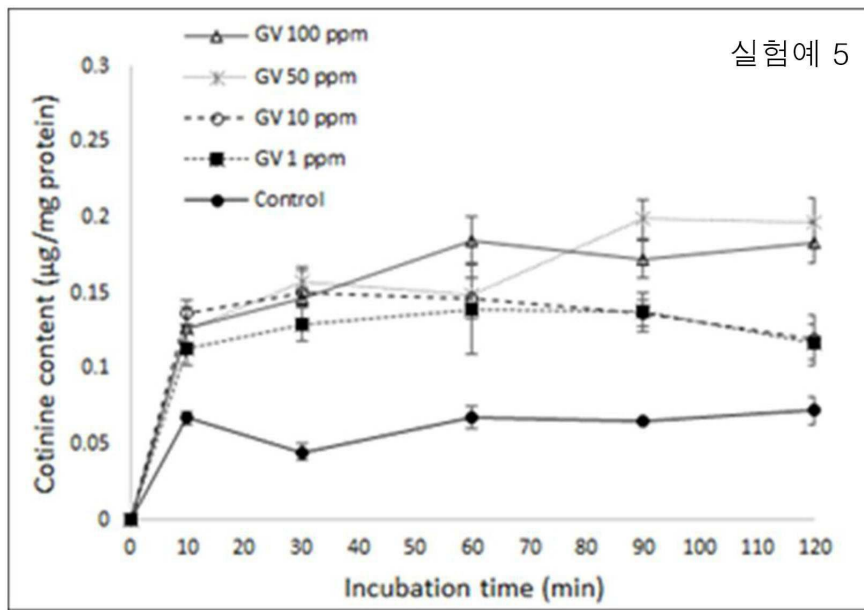
도면3



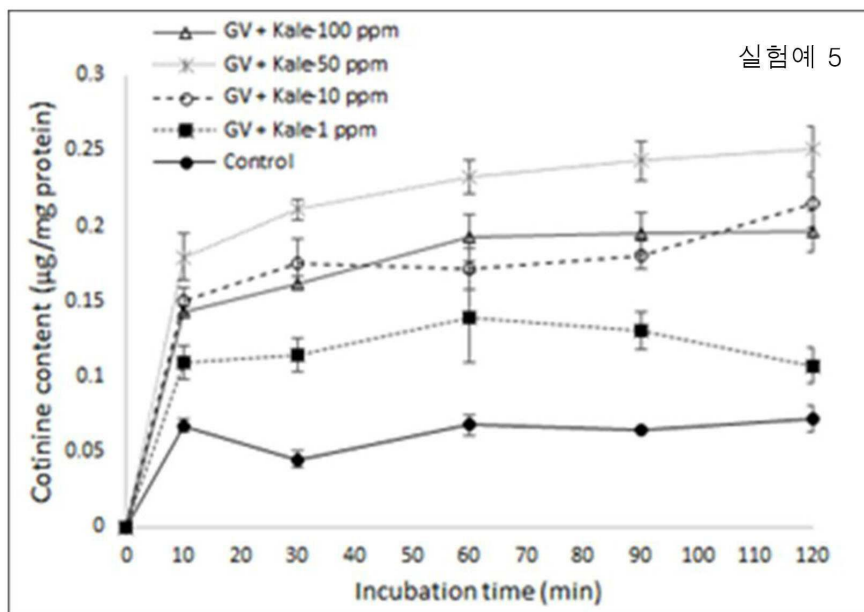
도면4



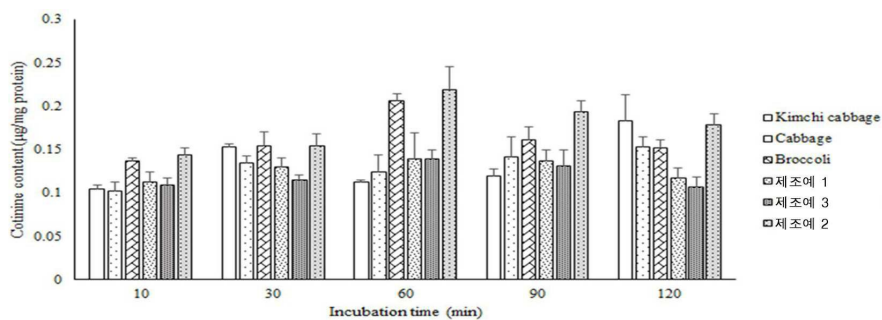
도면5a



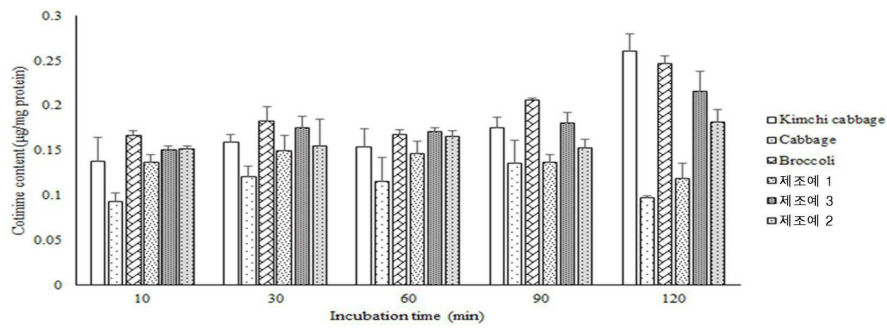
도면5b



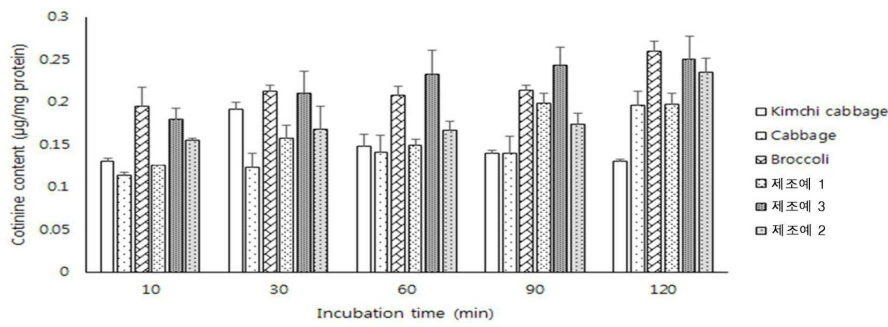
도면6a



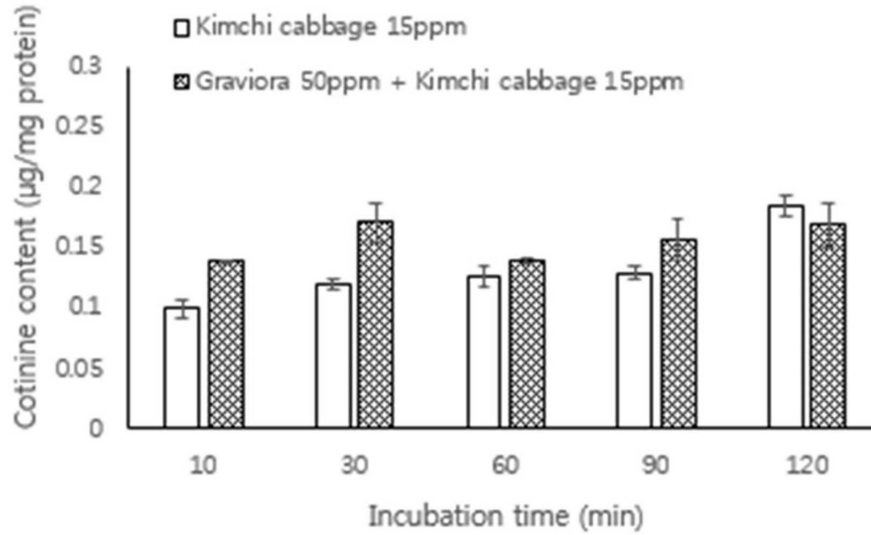
도면6b



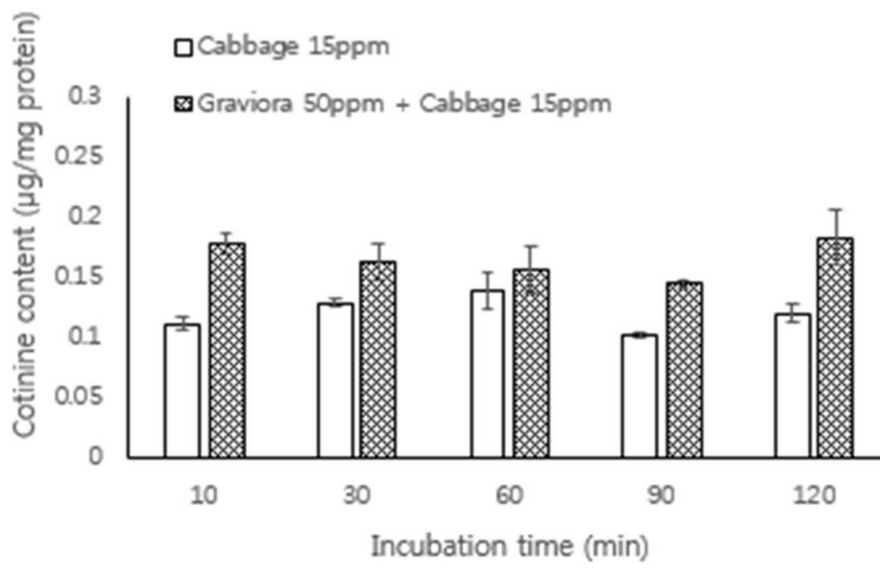
도면6c



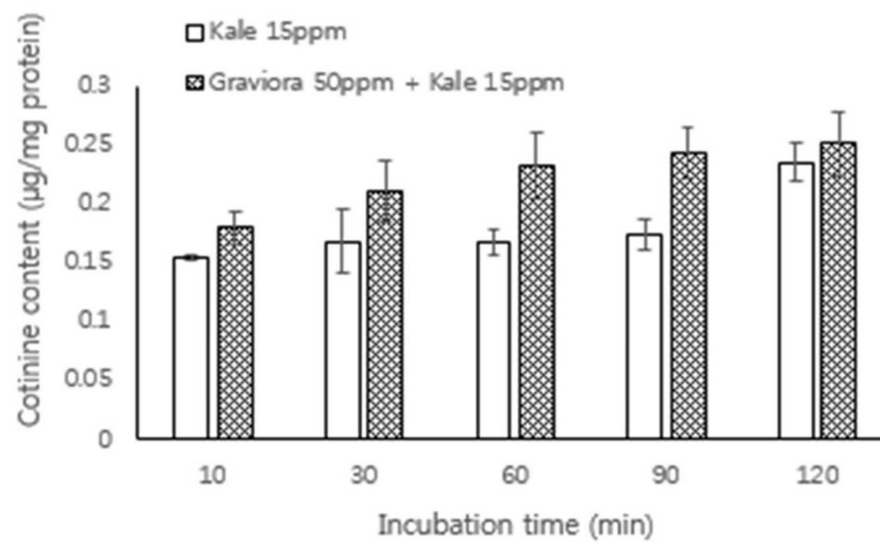
도면7a



도면7b



도면7c



도면7d

