(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2019 년 1 월 24 일 (24.01.2019)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2019/017602 A1

(51) 국제특허분류:
A23L 33/00 (2016.01) *A23L 19/00* (2016.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2018/007071

(22) 국제출원일: 2018 년 6 월 22 일 (22.06.2018)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2017-0091469 2017 년 7 월 19 일 (19.07.2017) KR

(71) 출원인: 이화여자대학교 산학협력단 **(EWHA UNIVERSITY-INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION)** [KR/KR]; 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR).

(72) 발명자: 정명수 **(CHUNG, Myong Soo)**; 02751 서울시 성북구 화랑로 76, 102동 1404호, Seoul (KR). 강혜지 **(KANG, Hye Ji)**; 51001 경상남도 김해시 장유로 362, 203동 206호, Gyeongsangnam-do (KR). 고민정 **(KO, Min Jung)**; 04595 서울시 중구 다산로 32, 10동 1001호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 김순웅 **(KIM, Soon Woong)**; 08380 서울시 구로구 디지털로 31길 20 (구로동) 601호, Seoul (KR).

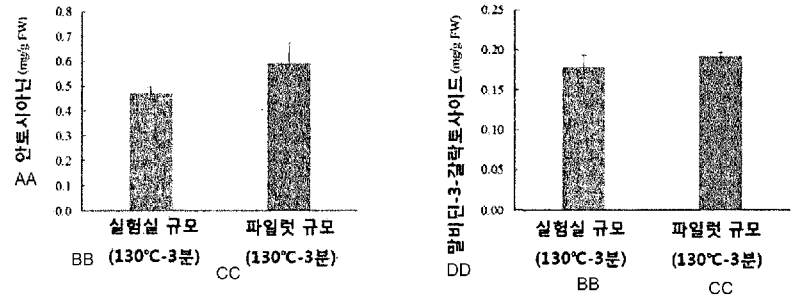
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: MASS-EXTRACTING METHOD OF ANTHOCYANIN USING SUBCRITICAL EXTRACTION METHOD

(54) 발명의 명칭: 아임계 추출법을 이용한 안토시아닌의 대량 추출 방법

[도 5]



AA ... Anthocyanin
BB ... Laboratory scale (130℃-3 min)
CC ... Pilot scale (130℃-3 min)
DD ... Malvidin-3-galactoside

(57) Abstract: The present invention relates to a mass-extracting method of anthocyanin, the method comprising the steps of: supplying 50 g or more of an object to be extracted to an extractor; supplying water heated to a preheating temperature to the extractor; and extracting the anthocyanin for within 5 minutes under a pressure of 1500-1900 psi while maintaining and stirring at the extractor temperature of 110 to 150 ℃. The present invention has advantages of an excellent extraction efficiency of anthocyanin compared to an existing juice extraction or hot water extraction and of being able to extract anthocyanin in a large amount compared to an existing subcritical extraction method.

(57) 요약서: 본 발명은 50g 이상의 추출 대상을 추출기에 공급하는 단계; 예열온도로 가열한 물을 추출기에 공급하는 단계; 및 추출기 온도를 110 내지 150℃로 유지 및 교반하면서 1500 내지 1900psi 압력 하에서 5분 이내의 시간 동안 안토시아닌을 추출하는 단계; 를 포함하는 안토시아닌의 대량 추출 방법에 관한 것으로, 기존의 착즙 또는 열수 추출과 비교하여 안토시아닌의 추출 효율이 월등하고, 기존의 아임계 추출법과 비교하여 대량으로 추출 가능하다는 장점이 있다.

[다음 쪽 계속]

WO 2019/017602 A1

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

— 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

명세서

발명의 명칭: 아임계 추출법을 이용한 안토시아닌의 대량 추출 방법

기술분야

[1] 본 발명은 최적 시간 및 온도 조건에서 아임계 추출법을 이용하여 안토시아닌을 포함하는 시료로부터 안토시아닌을 대량으로 추출하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[2] 안토시아닌(Anthocyanin)은 페놀계 화합물(phenolic compound)에 속하며, 그 중에서도 플라보노이드(flavonoid)에 속하는 물질이다. 안토시아닌은 기본적으로 3개의 고리로 구성된 물질로, 단일 고리에 결합한 작용기에 따라 안토시아닌의 종류가 구분되며, 그 안정성도 달라진다. 안토시아닌은 체내에서 신경세포의 노화방지 효과 및 심혈관 건강 효과를 나타냄이 밝혀져 있으며, 그 외에도 높은 항산화능을 가지는 특성이 있다.

[3] 이러한 안토시아닌은 각종 과일 및 채소에 함유되어 있으며, 블루베리, 아로니아 등에 특히 많은 안토시아닌이 함유되어 있음이 밝혀져 있다. 이 중 블루베리는 슈퍼푸드라고 불릴 만큼 건강에 좋은 식품으로 알려져 있으며, 높은 항산화 활성, 높은 체내 흡수율을 가진다. 또한, 블루베리는 산화된 LDL 콜레스테롤 수치를 낮춰 심혈관계 질환을 예방할 수 있는 효과도 갖는다.

[4] 이러한 안토시아닌의 좋은 효과로 인해 안토시아닌을 블루베리 등으로부터 추출하여 활용하기 위해 많은 추출방법이 고려되어 왔다. 이 중 대량 추출에 상용화된 방법은 착즙 또는 열수 추출 방법이다. 착즙은 말 그대로 압력을 가하여 추출 대상으로부터 과즙을 짜내는 방법이며, 열수 추출은 물에 추출 대상을 넣고 열을 가하여 추출하는 방법이다. 이러한 기존의 상용화된 방법은 대량으로 추출할 수 있다는 장점은 있으나, 추출 효율면에서는 떨어지는 단점이 존재한다. 이에 추출 대상으로부터 안토시아닌을 대량으로 추출할 수 있으면서도, 높은 효율로 추출할 수 있는 추출 방법에 대한 많은 연구가 있어 왔다.

[5] 한편, 아임계 추출법은 압력 및 온도를 조절하여 물을 임계점 이하인 아임계 상태로 만들고, 그 결과 유전율이 낮아진 물을 이용하여 추출하고자 하는 물질을 추출하는 방법이다. 대기압에서 100℃ 이하의 물은 전기적 특성을 나타내는 상대유전율이 높아 극성 화합물의 추출에 용이하나, 비극성 페놀계 화합물이나 플라보노이드의 추출에는 효과적이지 않으므로, 이러한 화합물의 추출을 위해 아임계 추출법이 효과적일 수 있다. 다만 아임계 추출법은 높은 압력 및 온도가 요구되고, 추출 방법의 특성상 대량으로 추출할 수 없다는 문제점이 존재한다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[6] 본 발명의 목적은 안토시아닌의 추출 효율이 높고 대량 추출이 가능한 안토시아닌의 대량 추출 방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

[7] 이에 본 발명의 발명자들은 아임계 추출법을 이용하여 추출 효율이 높고, 대량으로 안토시아닌을 추출할 수 있는 본 방법을 완성하였다.

[8] 본 발명은 50g 이상의 추출 대상을 추출기에 공급하는 단계;

[9] 예열온도로 가열한 물을 추출기에 공급하는 단계; 및

[10] 추출기 온도를 110 내지 150℃로 유지 및 교반하면서 1500 내지 1900psi 압력 하에서 5분 이내의 시간 동안 안토시아닌을 추출하는 단계; 를 포함하는 안토시아닌의 대량 추출 방법을 제공한다.

[11] 또한, 본 발명은 블루베리, 아사이베리, 복분자, 라즈베리, 포도, 딸기, 크랜베리 또는 아로니아로부터 안토시아닌을 대량으로 추출하는 방법을 제공한다.

[12] 또한, 본 발명은 산성 수용액을 이용한 아임계 추출법을 사용하여 추출 대상으로부터 안토시아닌을 대량으로 추출하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[13] 본 발명의 안토시아닌 대량 추출 방법은 기존의 열수 추출 방법이나 착즙 추출 방법에 비해 수율이 월등하다. 또한, 종래의 아임계 추출법이 적은 규모로만 물질을 추출할 수 있었던 반면, 본 발명은 안토시아닌을 대량으로 추출할 수 있다는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

[14] 도1은 pH 감별을 이용한 아임계 추출물의 안토시아닌 함량 측정 결과를 나타낸 도이다.

[15] 도2는 HPLC를 이용한 아임계 추출물의 안토시아닌 함량 측정 결과를 나타낸 도이다.

[16] 도3은 아임계 추출법, 착즙 추출법 및 열수 추출법을 이용하여 블루베리로부터 추출한 안토시아닌 함량의 양을 비교한 것이다.

[17] 도4는 아임계 추출 시 물 용매와 1% 시트르산 용매를 사용하였을 때의 안토시아닌 추출 효율을 비교한 것이다.

[18] 도5는 블루베리의 실험실 규모 아임계 추출과 파일럿 규모 아임계 추출의 안토시아닌 추출 효율을 비교한 것이다.

발명의 실시를 위한 형태

[19] 본 발명은 50g 이상의 추출 대상을 추출기에 공급하는 단계;

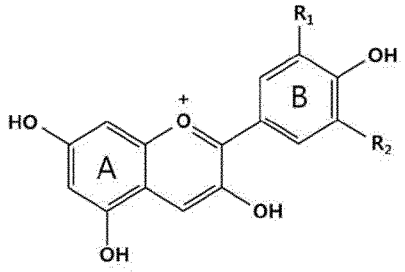
[20] 예열온도로 가열한 물을 추출기에 공급하는 단계; 및

[21] 추출기 온도를 110 내지 150℃로 유지 및 교반하면서 1500 내지 1900psi 압력 하에서 5분 이내의 시간 동안 안토시아닌을 추출하는 단계; 를 포함하는 안토시아닌의 대량 추출 방법을 제공한다.

[22] 안토시아닌은 하기 화학식 1의 화학 구조를 갖는 화합물로, 항산화효과를 가짐이 널리 알려져 있다.

[23] [화학식 1]

[24]



[25] 본 발명에 있어서, 상기 추출 대상은 50g 이상인 것이 바람직하다. 기존의 아임계 추출법이 매우 적은 양의 시료를 사용하여 추출하였던 것과 달리 본원 발명에서는 대량의 시료로부터 추출이 가능하다.

[26] 본 발명에서는 산성 수용액을 사용하여 아임계 추출을 수행할 수 있다. 이는 안토시아닌이 산 조건에서 안정한 특성을 갖기 때문이며, pH 1 내지 4의 산성 수용액을 사용하는 것이 바람직하다. 본 발명에서 추출되는 안토시아닌이 식용으로 사용된다는 점을 고려할 때, pH는 2 내지 4인 것이 더욱 바람직하다. 산성 수용액을 사용한 경우 물만을 사용한 경우에 비해 더 좋은 수율을 나타내었다.

[27] 본 발명에서 상기 예열온도는 60 내지 80℃인 것이 바람직하다. 예열온도로 가열한 물을 사용하는 이유는 시료와 용매가 만난 후에 용매의 온도를 상승시키면 시료가 열에 영향을 받아 추출 효율에 영향을 줄 수 있기 때문이다.

[28] 본 발명에서 사용될 수 있는 산은 말산, 타타르산, 아세트산, 포름산 및 시트르산과 같은 약한 산성을 가지면서 식용 가능한 산인 것이 바람직하다. 강한 산성 용액을 사용하는 경우 안토시아닌 화합물 자체의 변성을 유발할 수 있고, 중화하기가 어렵다는 단점이 있으며, 차후 추가적인 분리 단계를 줄이기 위해 식용 가능한 산을 사용하는 것이 경제적이다.

[29] 본 발명에 있어서, 추출 대상은 안토시아닌을 함유한다고 알려진 과일 혹은 채소를 포함할 수 있다. 안토시아닌을 함유하고 있는 과일 혹은 채소의 예로는 블루베리, 아사이베리, 복분자, 라즈베리, 포도, 딸기, 크랜베리 및 아로니아등이 있으며, 이외에 안토시아닌을 함유한 어떠한 과일 혹은 채소도 사용할 수 있다.

[30] 본 발명에 있어서, 추출이 수행되는 온도는 110 내지 150℃의 온도인 것이 바람직하며, 특히 120 내지 140℃인 것이 바람직하다.

[31] 본 발명에 있어서, 추출이 수행되는 시간은 5분 이내인 것이 바람직하며, 특히 2분 내지 4분인 것이 바람직하다. 추출 시간이 지나치게 짧은 경우 안토시아닌이 충분히 추출되지 못하는 문제점이 있을 수 있고, 추출 시간이 길어지는 경우, 가해지는 열로 안토시아닌이 변성되고 추출 비용이 상승한다는 문제점이 있을 수 있다.

[32] 본 발명에 있어서, 추출과 동시에 추출 대상 및 용매를 교반 시켜주어야 한다. 이는 많은 양의 시료가 잘 섞이게 하기 위함이며, 교반 속도는 20 내지 40 rpm이 바람직하다.

[33] 본 발명에 의해 대량으로 추출된 안토시아닌은 약학적 조성물, 화장품 조성물 및 식품 조성물 등에 사용될 수 있다.

[34]

[35] 실시예

[36] 이하에서 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 실험예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예 및 실험예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[37]

[38] 재료

[39] 추출의 대상이 되는 과일로 블루베리를 사용하였으며, 품종은 듀크, 블루크롭, 산지는 평택인 블루베리를 사용하였다. 블루베리는 영하 18℃ 암실 조건에서 저장하였으며, 사용 전 믹서기에 갈아서 은박접시에 넣은 후 영하 80℃ 딥 프리저(deep freezer)에 12시간 동안 보관 후 동결건조기를 이용하여 24시간 동안 건조시켰다. 그 후 건조된 블루베리를 믹서기에 다시 갈아서 20망(mesh) 채에 걸러 추출 시료로 사용하였다.

[40]

[41] 아임계 추출을 위한 기기로는 ASE 350(Dionex, Sunnyvale, CA, USA) 및 자체 제작한 파일럿 규모(pilot scale)의 아임계 추출기를 사용하였다. 상기 파일럿 규모의 아임계 추출기는 실험실 규모(lab scale) 기기에 비해 약 300배의 용량을 가졌으며 최대 8L의 추출물을 얻을 수 있는 기기이다.

[42]

[43] 실시예 1. 물을 용매로 사용하여 실험실 규모에서 안토시아닌 추출

[44] 전처리를 거친 블루베리 시료 1g과 규조토(ASE® Prep DE, DIONEX) 2g을 섞어 22ml의 셀(cell)에 넣고 셀을 기기에 장착시킨 후 물을 용매로 하여 추출하였다. 온도조건 110℃, 130℃, 150℃ 및 170℃, 추출 시간조건 1분, 3분, 5분 및 10분으로 총 16개의 조건을 설정하여 추출을 수행하였다.

[45]

[46] 실시예 2. 산성 수용액을 용매로 사용하여 실험실 규모에서 안토시아닌 추출

[47] 실시예 1에서 최적의 효율을 나타낸 조건을 선택하고, 1% 시트르산 용액을 추출 용매로 사용하여 실시예 1과 동일한 단계를 거쳐 추출을 수행하였다.

[48]

[49] 실시예 3. 파일럿 규모에서 안토시아닌 추출

[50] 전처리를 거친 시료 50g을 1100ml의 물과 함께 셀에 넣고 기기에 장착시킨 후 추출하였다. 온도 및 시간 조건은 실험실 규모에서 최적의 효율을 나타낸 130℃

및 3분을 선택하였다. 추출 시 추출기 내부에 있는 교반기에 30rpm의 회전 속도를 주어 시료가 지속적으로 섞일 수 있도록 하였다.

[51]

[52] 비교실험예 1. 블루베리의 착즙 추출

[53] 냉동 보관한 블루베리를 상온에서 해동 후 압력을 가하여 압착 후 면보로 걸러져 나온 즙을 얻는 방식으로 착즙 추출을 수행하였다.

[54]

[55] 비교실험예 2. 블루베리의 열수 추출

[56] 1g의 블루베리 시료와 22ml의 증류수를 섞은 후 60℃를 유지하는 수조에서 1시간 동안 추출하였으며, 추출은 암실조건에서 수행되었다.

[57]

[58] 실험예 1. 추출물의 분석 전 전처리

[59] 실시예 1의 추출물 및 비교실험예 1 및 2의 추출물은 추출 후 곧바로 은박접시로 옮겨 영하 80℃ 딥 프리저에 12시간 이상 보관 후 동결건조 기기를 이용하여 24시간 동안 추출물 내에 있는 수분을 건조시켰다. 건조가 완료된 추출물 전체를 15ml의 메탄올에 녹인 후 와동(vortexing)시켜 잘 섞이도록 하였으며, 그 후 원심분리(4000rpm, 20분)하여 고형분과 상층액을 구분하였다. 상층액은 0.45㎛ 필터(Syringe Filter, Whatman™)를 통과시킨 후 통과한 용액을 분석에 사용하였다.

[60]

[61] 실험예 2. 아임계 추출법을 이용한 추출물의 pH 감별 방법(pH differential method)을 통한 분석

[62] 안토시아닌이 pH에 따라 다른 색을 나타내는 성질을 이용하여 pH 감별 방법을 통해 추출물을 분석하였다. 안토시아닌은 pH 1.0 부근에서는 붉은 빛, 2 내지 4에서는 푸른 빛, 5 이상에서는 무색을 나타낸다. HCl, KCl을 이용하여 pH 1.0 완충액을 제조하였으며, HCl과 아세트산나트륨을 이용하여 pH 4.5 완충액을 제조하였다. 각 완충액 1.4ml에 시료를 0.1ml씩 넣고 와동시킨 후 510nm와 700nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 후 흡광도 값 차이를 계산하여 안토시아닌의 함량을 계산하였다. 이를 계산하기 위한 식은 하기와 같다.

[63] $$Anthocyanin\ pigment = \frac{A * MW * DF * 10^3}{\varepsilon * l}$$

[64] $$A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH4.5}$$

[65] MW(molecular weight) = 463.3g/mol for malvidin-3-galactoside

[66] DF=dilution factor

[67] l=pathlength(cm)

[68] ε=28000 molar extinction coefficient, in L x mol^{-1} x cm^{-1}, for mal-3-gal

[69] 10^3=factor for conversion from g to mg

[70]

[71] 그 결과 안토시아닌의 함량이 110℃ 및 130℃에서는 3분까지 증가하다가 더 긴 시간에서는 감소하는 경향을 보였으며, 150℃와 170℃에서는 시간이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 그 결과를 막대 그래프로 도 1로 도시하였다.

[72]

[73] 실험예 3. 아임계 추출법을 이용한 추출물의 HPLC(High Performance Liquid Chromatography) 분석

[74] 안토시아닌 중 말비딘갈락토사이드의 농도를 HPLC을 이용하여 측정하였다. Solvent Delivery Pump (Model M930D), Absorbance Detector (Model M730D), Column Oven (Model CTS30) 및 Solvent Degassor lamp; Valve Module (Model SDB30 plus)로 구성되어 있는 HPLC 시스템(1200 series, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)을 사용하였다. 또한 분석 칼럼은 Zorbax C_{18}column(4.6mm× 150 mm, 5 μm pore size)을 사용하였고, 구체적인 사양으로는 분석 안지름 4.6 mm, 길이 150 mm인 스테인레스 강관에 5 μm의 C_{18}로 충전된 제품이며, 컬럼의 온도는 상온으로 설정하였다. 이동상으로는 증류수에 포름산을 5% 농도로 첨가한 용액과 메탄올을 사용하였으며, 이동상의 유속은 1.5ml/분, 이동시간은 50분으로 설정하였다. 시료의 투입 부피(injection volume)은 50㎕로, 분리된 말비딘갈락토사이드의 검출은 측정 파장 520nm에서 수행되었다. 비교를 위한 말비딘갈락토사이드 표준 물질은 Sigma-Aldrich에서 구입하였다.

[75]

[76] 그 결과 pH 감별 방법으로 분석한 결과와 유사한 경향을 가짐을 확인하였다. 110℃ 및 130℃에서 3분까지 함량이 증가하다가, 추출시간이 길어질수록 감소하였으며, 150℃ 와 170℃에서는 시간이 증가함에 따라 안토시아닌의 함량이 감소하는 경향을 보였다. 이를 막대 그래프로 도2에 도시하였다.

[77]

[78] 실험예 4. 기존 추출법과의 비교

[79] 기존의 착즙 추출법과 열수 추출법을 이용하여 얻어진 추출물에 대해서도 상기 동일한 분석을 수행하였고, 그 결과를 비교하였다. 어느 분석법을 통하더라도 아임계 추출이 착즙 추출과 열수 추출에 비해 더 높은 함량의 안토시아닌이 추출된다는 점을 확인할 수 있었다.

[80] pH 감별 방법으로 분석한 결과 아임계 추출법의 최적 조건에서는 착즙추출에 비해 약 3.89배, 열수 추출에 비해 약 1.35배 많은 안토시아닌이 추출되었다.

[81] HPLC로 분석한 결과 아임계 추출법의 최적 조건에서는 착즙 추출에 비해 약 4.49배, 열수 추출에 비해 약 1.46배 많은 안토시아닌이 추출되었다.

[82] 그 결과를 도3으로 나타내었다.

[83]

[84] 실험예 5. 1% 시트르산 용액 용매 추출 결과

[85] 실시예 2에 따라 1% 시트르산 용액을 추출 용매로 하여 추출한 결과 순수한

물을 사용하였을 때에 비해 더 높은 안토시아닌 추출 효율을 가지고 있음을 확인하였다. pH 감별 방법으로 분석한 결과 약 1.17배, HPLC로 분석한 결과 약 1.13배 많은 안토시아닌이 추출된 것을 확인할 수 있었다. 그 결과를 도4로 나타내었다.

[86]

[87] 실험예 6. 파일럿 규모 추출 결과 분석

[88] 실시예 3에 따라 파일럿 규모로 추출한 결과 실험실 규모 장비를 이용하였을 때에 비하여 더 높은 안토시아닌 추출 효율을 얻을 수 있음을 확인하였다. pH 감별 방법과 HPLC로 분석한 결과 모두에서 추출 효율이 증대되었음을 확인하였다. 그 결과를 도5로 나타내었다.

[89]

청구범위

[청구항 1] 50g 이상의 추출 대상을 추출기에 공급하는 단계;
예열온도로 가열한 물을 추출기에 공급하는 단계; 및
추출기 온도를 110 내지 150℃로 유지 및 교반하면서 1500 내지 1900psi 압력 하에서 5분 이내의 시간 동안 안토시아닌을 추출하는 단계; 를 포함하는 안토시아닌의 대량 추출 방법.

[청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 물은 pH 2 내지 4의 산성을 갖는 수용액인 안토시아닌의 대량 추출 방법.

[청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 예열온도는 60 내지 80℃인 안토시아닌의 대량 추출 방법.

[청구항 4] 제2항에 있어서, 상기 수용액은 말산, 타타르산, 아세트산, 포름산 및 시트르산으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 산을 포함하는 것인 안토시아닌의 대량 추출 방법.

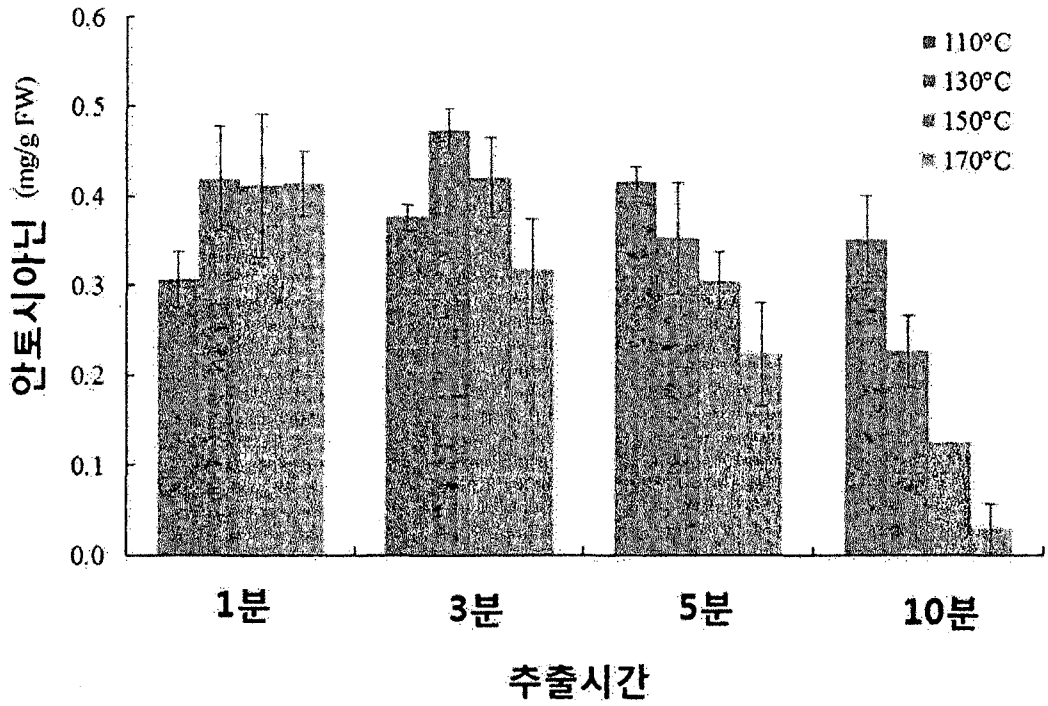
[청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 추출 대상은 블루베리, 아사이베리, 복분자, 라즈베리, 포도, 딸기, 크랜베리 및 아로니아로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것인 안토시아닌의 대량 추출 방법.

[청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 온도는 120℃ 내지 140℃인 것인 안토시아닌의 대량 추출 방법.

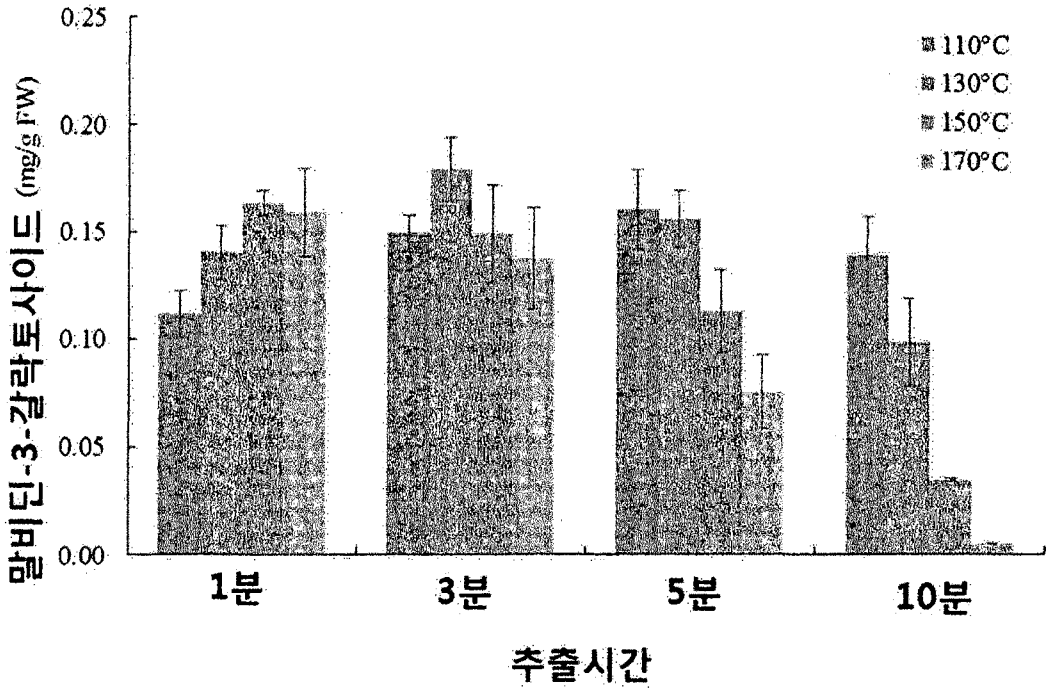
[청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 시간은 2분 내지 4분인 것인 안토시아닌의 대량 추출 방법

[청구항 8] 제1항에 있어서, 상기 교반은 20 내지 40rpm으로 수행되는 것인 안토시아닌의 대량 추출 방법.

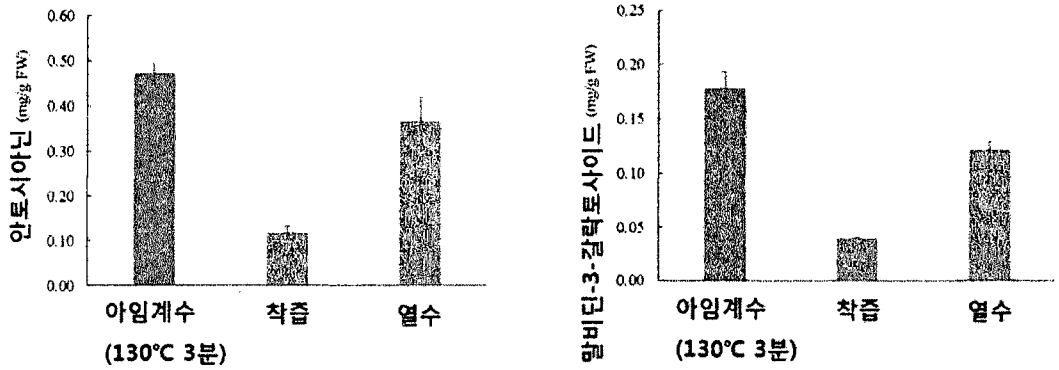
[도 1]


0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
안토시아닌 (mg/g FW)
110°C
130°C
150°C
170°C
1분
3분
5분
10분
추출시간

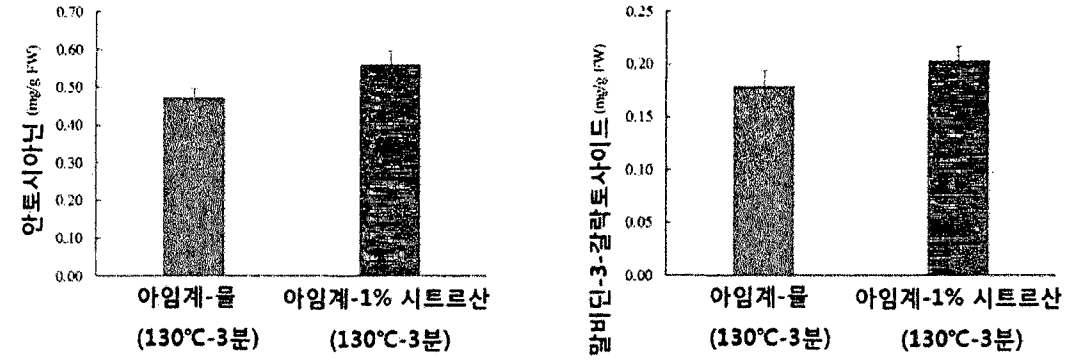
[도 2]


0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
말비딘-3-갈락토사이드 (mg/g FW)
110°C
130°C
150°C
170°C
1분
3분
5분
10분
추출시간

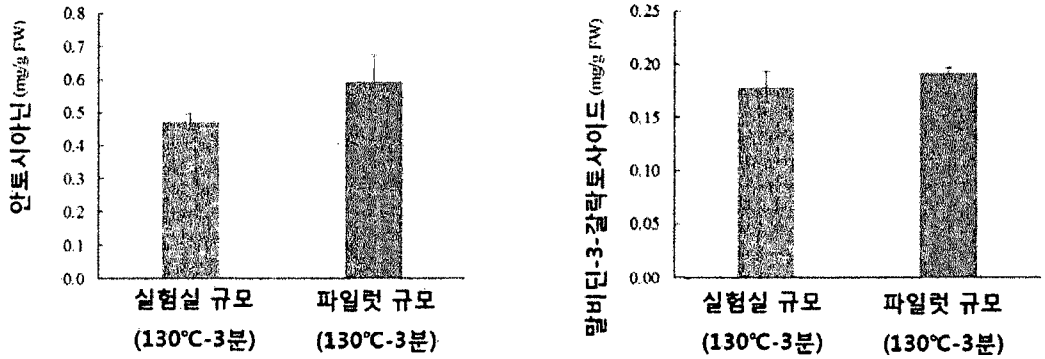
[도 3]


안토시아닌 (mg/g FW)
0.60
0.50
0.40
0.30
0.20
0.10
0.00
아임계수 (130℃ 3분)
착즙
열수
말비딘-3-갈락토사이드 (mg/g FW)
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
아임계수 (130℃ 3분)
착즙
열수

[도 4]


안토시아닌 (mg/g FW)
0.70
0.60
0.50
0.40
0.30
0.20
0.10
0.00
아임계-물 (130℃-3분)
아임계-1% 시트르산 (130℃-3분)
말비딘-3-갈락토사이드 (mg/g FW)
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
아임계-물 (130℃-3분)
아임계-1% 시트르산 (130℃-3분)

[도 5]


안토시아닌 (mg/g FW)
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
실험실 규모 (130℃-3분)
파일럿 규모 (130℃-3분)
말비딘-3-갈락토사이드 (mg/g FW)
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
실험실 규모 (130℃-3분)
파일럿 규모 (130℃-3분)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2018/007071

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23L 33/00(2016.01)i, A23L 19/00(2016.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23L 33/00; A23L 27/10; A61K 31/12; A61K 36/9066; A23L 19/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: anthocyanin, subcritical, organic acid, high pressure, high temperature

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SCHLAKE, R. et al., "Scale-up of Subcritical Water Extraction of Polyphenol Compounds from Fruit Waste Material", 25 May 2015, Retrieved from the Internet:<URL:https://www.eposters.net/poster/scale-up-of-subcritical-water-extraction-of-polyphenolic-compounds-from-fruit-waste-material-> See Extraction Conditions.	1-8
Y	KR 10-2014-0127122 A (NEWTREE CO., LTD.) 03 November 2014 See paragraph [0001]; examples 1-3; and figure 1.	1-8
Y	ALIAKBRIAN, B. et al., "Extraction of Antioxidants from Winery Wastes Using Subcritical Water", Journal of Supercritical Fluids, 2012, vol. 65, pages 18-24 See abstract; and 2.8. of page 20.	1-8
Y	KR 10-2006-0037739 A (CHONG-UP CITY) 03 May 2006 See paragraphs [0018], [0027], [0036], [0071].	2,4
Y	SRINIVAS, K. et al., "Pressurized Solvent Extraction of Flavonoids from Grape Pomace Utilizing Organic Acid Additives", Italian Journal of Food Science, 2011, vol. 23, pages 91-105 See pages 92, 93, 101; and figure 3(a).	1-8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
19 NOVEMBER 2018 (19.11.2018)	**19 NOVEMBER 2018 (19.11.2018)**
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2018/007071

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2014-0127122 A	03/11/2014	KR 10-1588438 B1	25/01/2016
KR 10-2006-0037739 A	03/05/2006	KR 10-0639394 B1	26/10/2006

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2018/007071

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A23L 33/00(2016.01)i, A23L 19/00(2016.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
A23L 33/00; A23L 27/10; A61K 31/12; A61K 36/9066; A23L 19/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드:안토시아닌, 아임계, 유기산, 고압, 고온

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	SCHLAKE, R. et el., "Scale-up of subcritical water extraction of polyphenol compounds from fruit waste material", 2015.05.25., Retrieved from the Internet:<URL:https://www.eposters.net/poster/scale-up-of-subcritical-water-extraction-of-polyphenolic-compounds-from-fruit-waste-material-> Extraction Conditions 참조.	1-8
Y	KR 10-2014-0127122 A ((주)뉴트리) 2014.11.03 단락 [0001]; 실시예 1-3; 및 도 1 참조.	1-8
Y	ALIAKBRIAN, B. et el., "Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water", Journal of Supercritical Fluids, 2012, 제65권, 페이지 18-24 초록; 및 페이지 20의 2.8. 참조.	1-8
Y	KR 10-2006-0037739 A (정읍시) 2006.05.03 단락 [0018], [0027], [0036], [0071] 참조.	2,4
Y	SRINIVAS, K. et el., "Pressurized solvent extration of flavonoids from grape pomace utilizing organic acid additives", Italian Journal of Food Science, 2011, 제23권, 페이지 91-105 페이지 92, 93, 101; 및 도 3(a) 참조.	1-8

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2018년 11월 19일 (19.11.2018)	2018년 11월 19일 (19.11.2018)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
이기철
전화번호 +82-42-481-3353

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2018/007071

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2014-0127122 A	2014/11/03	KR 10-1588438 B1	2016/01/25
KR 10-2006-0037739 A	2006/05/03	KR 10-0639394 B1	2006/10/26