

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2015년 10월 22일 (22.10.2015)



(10) 국제공개번호
WO 2015/160124 A1

- (51) 국제특허분류:
A23B 7/015 (2006.01) A61K 8/97 (2006.01)
A23K 1/14 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2015/003340
- (22) 국제출원일: 2015년 4월 3일 (03.04.2015)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2014-0044150 2014년 4월 14일 (14.04.2014) KR
10-2015-0046670 2015년 4월 2일 (02.04.2015) KR
- (71) 출원인: 주식회사 비케이바이오 (BK BIO CO., LTD.)
[KR/KR]; 462-120 경기도 성남시 중원구 둔촌대로 400, 405호, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 최혁준 (CHOI, Hyuk Joon); 463-736 경기도 성남시 분당구 탄천로 35, 507-804, Gyeonggi-do (KR). 최경숙 (CHOI, Kyoungsook); 138-788 서울시 송파구 양재대로 1218, 109-501, Seoul (KR). 정중기 (JEONG, Jung-Ky); 136-847 서울시 성북구 보국문로 34길 22, 402호, Seoul (KR). 김건 (KIM, Geon); 404-260 인천시 서구 검단로 487 번안길 11-14, 102-505, Incheon (KR). 이동언 (LEE, Dong-Un); 156-718 서울시 동작구 만양호 26, 102-109, Seoul (KR).

(74) 대리인: 특허법인 충현 (CHUNG HYUN PATENT & LAW FIRM); 137-130 서울시 서초구 바우피로 225 한마음빌딩 4층, 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, 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.

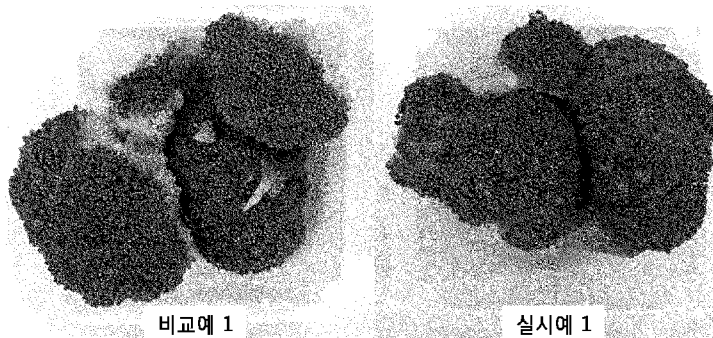
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS,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

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING BROCCOLI HAVING INCREASED SULFORAPHANE CONTENT AND USE OF BROCCOLI PRODUCED THEREFROM

(54) 발명의 명칭: 설폰라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법 및 그로부터 제조된 브로콜리의 이용



비교예 1

AA

실시예 1

BB

AA ... Comparative example
BB ... Example

(57) Abstract: The present invention relates to a method for producing broccoli having increased sulforaphane content by using high voltage pulsed electric field treatment, which enables the consumption of broccoli having increased sulforaphane content in a form of an original material or a cut material cut into a proper size without pulverizing the broccoli and enables the extraction of sulforaphane from the broccoli, as a material, having increased sulforaphane content. The broccoli having increased sulforaphane content and sulforaphane extracted therefrom can be utilized as active ingredients for food, feed, or cosmetic compositions so as to exhibit functions of sulforaphane, such as antioxidative and anti-inflammatory properties.

(57) 요약서: 본 발명은 고전압 펄스 전기장 처리를 이용한 설폰라판

[다음 쪽 계속]



WO 2015/160124 A1



함량이 증가된 브로콜리의 제조방법에 관한 것으로, 브로콜리를 분쇄하지 않고 원물 또는 적당한 크기로 자른 절단물의 형태로 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 섭취할 수 있도록 하고, 또한 상기 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 재료로 설포라판을 추출할 수 있게 한다. 상기 설포라판 함량이 증가된 브로콜리 및 그로부터 추출된 설포라판은 식품 조성물, 사료 조성물 또는 화장품 조성물의 항산화, 항염증, 항산화 등의 설포라판의 기능성을 발휘하기 위한 유효성분으로 활용될 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법 및 그로부터 제조된 브로콜리의 이용

기술분야

- [1] 본 발명은 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법, 그로부터 제조된 브로콜리, 그 브로콜리를 포함하는 식품 조성물, 사료조성물 또는 화장료 조성물에 관한 것이다.
- [2] 또한 본 발명은 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법으로부터 제조된 브로콜리로부터 설포라판을 제조하는 방법, 그로부터 제조된 설포라판을 포함하는 식품조성물, 사료 조성물 또는 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [3] 설포라판(Sulforaphane)은 십자화과 채소에 존재하는 항암, 항산화 물질로서, 십자화과 채소에 존재하는 2차 대사산물인 글루코시놀레이트(glucosinolate)가 효소에 의해 가수분해됨으로써 얻어지는 이소티오시아네이트(isothiocyanate)의 일종이다.
- [4] 신선한 브로콜리에는 글루코시놀레이트의 함량이 높고 설포라판의 함량은 상대적으로 매우 낮다. 그러나 신선한 브로콜리를 분쇄하게 되면 글루코시놀레이트가 설포라판으로 생물전환되어 함으로써 그 분쇄물에는 설포라판의 함량이 현저히 증가된다. 따라서 브로콜리를 분쇄한 후 추출한 브로콜리 추출물에도 설포라판 함량이 신선한 브로콜리에 비해 현저히 증가되어, 이러한 브로콜리 추출물은 항산화 효소의 발현 유도로 산화적 손상에 의한 유전자 변형을 억제하며, 위암의 발병의 한 원인으로 알려져 있는 헬리코박터 파이로리균의 성장을 억제하고, 동물실험에서 발암물질에 의한 위암의 생성을 저해하는 것으로 알려져 있다.
- [5] 브로콜리는 일부 가공식품의 원재료로서 사용되기도 하지만 대부분 샐러드의 형태로 섭취되는 채소로서, 상기 브로콜리를 이용하여 샐러드를 제조할 경우 브로콜리의 씹는 질감을 부드럽게 하기 위하여 수증기 또는 끓는 물에 데치는 것이 일반적이다. 그러나 신선한 브로콜리에 열이 가해질 경우 글루코시놀레이트가 분해되어 함량이 현저히 감소되고, 나아가 설포라판 함량도 감소하게 된다.
- [6] 고전압 펄스 전기장 처리는 변패 작용을 하는 미생물의 비열 살균 방법의 하나로서 품질에 영향을 덜 주면서도 저장성을 늘릴 수 있는 방법으로 알려져 있으며(한국공개특허 특2000-0016830호), 추출 수율을 증진시키기 위한 전처리

방법의 하나로서 알려져 있으나(한국공개특허 제10-2010-0052065호), 이를 브로콜리의 가공에 이용하여 설포라판을 증대시키는 효과에 대해서는 보고된 바 없었다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 발명은 브로콜리를 분쇄하지 않고 원물 또는 적당한 크기로 자른 절단물의 형태로 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 섭취할 수 있도록 하는 고전압 펄스 전기장 처리를 이용한 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법, 그로부터 제조된 브로콜리, 그 브로콜리를 포함하는 식품 조성물, 사료조성물 또는 화장료 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [8] 또한 본 발명은 고전압 펄스 전기장 처리를 이용한 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법으로부터 제조된 브로콜리로부터 설포라판을 제조하는 방법, 그로부터 제조된 설포라판을 포함하는 식품조성물, 사료 조성물 또는 화장료 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

- [9] 본 발명은 상기 과제해결을 위하여, 브로콜리를 액상 매질이 담긴 회분식 또는 연속식 처리 용기에 넣는 단계; 및 상기 액상 매질에 전기장 0.1 내지 200 kV/cm 및 주파수 1 내지 100 Hz에서 0.1 내지 300초 동안 고전압 펄스 전기장 처리를 1 내지 50 회 수행하는 단계;를 포함하는 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법을 제공한다.
- [10] 상기 고전압 펄스 전기장 처리는 0.2 내지 20 kV/cm에서 1 내지 50초 동안 수행하는 것이 바람직하다.
- [11] 상기 처리 용기에 넣는 단계의 브로콜리는 분쇄 또는 마쇄공정을 거치지 않은 원물 또는 그 절단물인 것이 바람직하다.
- [12] 상기 액상 매질은 물, 에탄올 또는 이들의 혼합액인 것이 바람직하다.
- [13] 상기 액상 매질에는 아세트산, 구연산, 젖산 등의 유기산이나 소금 등의 무기염류가 더 첨가될 수 있다.
- [14] 상기 고전압 펄스 전기장 처리를 수행하는 단계 후에 건조 공정, 분쇄 공정, 건조 후 분쇄 공정 또는 분쇄 후 건조 공정을 거치는 것이 바람직하다.
- [15]
- [16] 본 발명은 상기 방법으로 제조되고, 상기 고전압 펄스 전기장 처리 전의 브로콜리에 비하여 설포라판 함량이 30 % 이상, 바람직하게는 50 % 이상, 더욱 바람직하게는 100 % 내지 1000 % 증가된 것을 특징으로 하는 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 제공한다.
- [17] 고전압 펄스 전기장 처리하지 않은 신선한 브로콜리에 포함된 통상의 설포라판 함량은 일반적으로 브로콜리 건조중량 100 g당 30 mg 내지 70 mg이고 평균 40 mg 정도 이지만, 식용으로 섭취하기 전 가장 보편적인 전처리 공정인 데치기를

통해 브로콜리중의 설포라판 함량이 대부분 소실된다. 그러나 본 발명의 고저압 펄스 전기장 처리를 통해서 브로콜리 원물의 설포라판 함량은 브로콜리 건조중량 100 g당 100 mg 내지 200 mg 으로 처리 전의 브로콜리 원물에 비해 1.5 내지 8 배 정도 설포라판 함량이 현저히 증가한다.

[18]

[19] 본 발명은 상기 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 재료로 설포라판을 추출하는 것을 특징으로 하는 설포라판 추출물의 제조방법을 제공한다.

[20] 상기 설포라판 추출물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물을 추출 용매로서 이용하여 추출된 것일 수 있다. 이 때 사용되는 유기용매의 종류나 물과 유기용매의 혼합 비율은 특별히 제한되지 않는다.

[21] 예를 들어, 상기 유기용매는 저급 알코올, 헥산, 아세톤, 에틸 아세테이트, 클로로포름, 및 디에틸에테르로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 용매일 수 있다. 상기 저급 알코올은 탄소수 1 내지 6의 알코올일 수 있다. 예를 들어, 저급 알코올로는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 노말-프로판올, 이소-프로판올, 노말-부탄올, 1-펜탄올, 2-부톡시에탄올 또는 에틸렌글리콜 등을 이용할 수 있다. 유기용매는 이 외에도 아세트산, DMFO(dimethyl-formamide), DMSO(dimethyl sulfoxide) 등의 극성 용매, 아세토나이트릴, 에틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 플루오로알칸, 펜탄, 2,2,4-트리메틸펜탄, 데칸, 사이클로헥산, 사이클로펜탄, 디이소부틸렌, 1-펜텐, 1-클로로부탄, 1-클로로펜탄, o-자일렌, 디이소프로필 에테르, 2-클로로프로판, 톨루엔, 1-클로로프로판, 클로로벤젠, 벤젠, 디에틸 에테르, 디에틸 설파이드, 클로로포름, 디클로로메탄, 1,2-디클로로에탄, 어닐린, 디에틸아민, 에테르, 사염화탄소 및 THF(Tetrahydrofuran) 등의 비극성 용매를 사용할 수도 있다.

[22] 상기 설포라판 추출물은 물 추출물, 에탄올 추출물, 메탄올 추출물, 또는 물, 에탄올 및 메탄올 중에서 선택되는 어느 2 이상의 용매의 혼합용매에 의한 추출물일 수 있다.

[23] 상기 물 추출물의 제조는 본 발명의 방법으로 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 40 ~ 100°C의 물로 2 ~ 48시간 동안 추출하여 제조할 수 있고, 또한 바람직하게는 물 추출에 따른 수용성 성분의 추출 효율을 증대시키기 위하여 셀룰라아제, 비스코자임, 알칼라아제 및 펙신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 효소를 첨가한 물로 40 ~ 55°C에서 2 ~ 24시간 동안 추출하여 제조할 수 있다.

[24] 상기 에탄올 추출물 또는 에탄올 수용액 추출물의 제조는 본 발명의 방법으로 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 에탄올 또는 35 ~ 75 부피%의 에탄올 수용액으로 20 ~ 60°C에서 2 ~ 36 시간, 바람직하게는 40 ~ 50°C에서 2.5 ~ 6 시간 동안 추출하여 제조할 수 있고, 보다 바람직하게는 70 부피%의 에탄올 수용액으로 45°C에서 3시간 동안 추출하여 제조한다.

[25] 본 명세서에서 사용되는 용어 '추출물'은 추출물을 추가적으로

분획(fractionation)한 분획물도 포함한다. 즉, 설포라판 추출물은 상술한 추출용매를 이용하여 얻은 것뿐만 아니라, 여기에 정제과정을 추가적으로 적용하여 설포라판을 농축시켜 얻은 것도 포함한다. 또한 상기 추출물이나 분획물을 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 통과시켜 얻은 분획, 다양한 크로마토그래피 (크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 본 발명의 설포라판 추출물에 포함된다.

[26]

[27] 본 발명은 상기 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 포함하는 식품 조성물 또는 상기 방법으로 제조된 설포라판 추출물을 포함하는 식품 조성물을 제공한다.

[28] 본 발명에 따른 설포라판 함량이 증가된 브로콜리 또는 그로부터 추출된 설포라판 추출물을 건강기능식품 또는 일반 식품의 유효성분 첨가물로 사용하는 경우 본 발명에 따른 상기 브로콜리 또는 설포라판 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 예방, 건강 또는 치료 등의 각 사용 목적에 따라 적합하게 결정할 수 있다.

[29] 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 발명에 따른 상기 브로콜리 또는 설포라판 추출물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가할 수 있다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 또한 본 발명은 천연물 또는 그로부터의 추출물을 이용하는 점에서 안전성 면에서 문제가 없으므로 상기 범위 이상의 양으로도 사용할 수 있다.

[30] 상기 식품의 종류에는 특별히 제한은 없고, 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함할 수 있다.

[31] 본 발명에 따른 건강기능식품 중 음료 식품은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스, 알룰로스, 디사카라이드 및 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜일 수 있다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명에 따른 기능성 식품 100 mL당 약 0.01 ~ 0.04 g, 바람직하게는 약 0.02 ~ 0.03 g일 수 있다.

[32] 상기 외에 항산화 활성을 가지고 염증 또는 암의 개선이나 예방을 위한, 식품

조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제를 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 제한되지 않으나 본 발명의 조성물 100중량부 대비 0.01 ~ 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[33]

[34] 본 발명은 상기 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 포함하는 사료 조성물 또는 상기 방법으로 제조된 설포라판 추출물을 포함하는 사료 조성물을 제공한다. 상기 사료 조성물은 사료 또는 사료 첨가제일 수 있다.

[35] 상기 사료 조성물은 구연산, 후발산, 아디픽산, 젖산, 사과산 등의 유기산이나 인산나트륨, 인산칼륨, 산성피로인산염, 폴리인산염(중합인산염) 등의 인산염이나 폴리페놀, 카테킨(catechin), 알파-토코페롤, 로즈마리 추출물(rosemary extract), 비타민 C, 녹차 추출물, 감초 추출물, 키토산, 탄닌산, 피틴산 등의 천연 항산화제 중 어느 하나 또는 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다.

[36] 상기 사료 조성물의 보조성분으로 아미노산, 무기염류, 비타민, 항생물질, 항균물질, 항산화, 항곰팡이 효소, 살아있는 미생물 제제 등과 같은 각종보조제가 곡물, 예를 들면 분쇄 또는 파쇄된 밀, 귀리, 보리, 옥수수 및 쌀; 식물성 단백질 사료, 예를 들면 평지, 콩 및 해바라기를 주성분으로 하는 것; 동물성 단백질 사료, 예를 들면 혈분, 육분, 골분 및 생선분; 당분 및 유제품, 예를 들면 각종 분유 및 유장 분말로 이루어지는 건조성분, 건조 첨가제를 모두 혼합한 후, 액체 성분과, 가열 후에 액체가 되는 성분, 즉, 지질, 예를 들면 가열에 의해 임의로 액화시킨 동물성 지방 및 식물성 지방 등과 같은 주성분 이외에 영양보충제, 소화 및 흡수향상제, 성장촉진제, 질병예방제 등과 같은 물질과 함께 사용될 수 있다.

[37] 상기 사료 조성물은 동물에게 단독으로 식용 담체 중에서 다른 사료 첨가제와 조합되어 투여될 수 있다.

[38] 상기 사료 조성물은 탑 드레싱으로서 또는 이들을 동물 사료에 직접 혼합하거나 또는 사료와 별도로, 별도의 경구 제형으로, 주사 또는 경피로 또는 다른 성분과 조합하여 쉽게 투여할 수 있다. 통상적으로, 당업계에 잘 알려진 바와 같이 단독 일일 투여량 또는 분할 일일 투여량을 사용할 수 있다.

[39] 상기 사료 조성물은 동물 사료와 별도로 투여할 경우, 당업계에 잘 알려진 바와 같이 조성물의 투여 형태는 이들의 비-독성 제약상 허용 가능한 식용 담체와 조합하여 즉석 방출 또는 서방성 제형으로 제조할 수 있다. 이러한 식용 담체는 고체 또는 액체, 예를 들어 옥수수 전분, 락토오스, 수크로스, 콩 플레이크, 땅콩유, 올리브유, 참깨유 및 프로필렌 글리콜일 수 있다. 고체 담체가 사용될

경우, 화합물의 투여형은 정제, 캡슐제, 산제, 토로키제 또는 함당정제 또는 미분산성 형태의 탑 드레싱일 수 있다. 액체 담체가 사용될 경우, 연젤라틴 캡슐제, 또는 시럽제 또는 액체 현탁액제, 에멀전제 또는 용액제의 투여 형태일 수 있다. 또한, 투여 형태는 보조제, 예를 들어 보존제, 안정화제, 습윤제 또는 유화제, 용액 촉진제 등을 함유할 수 있다.

[40] 상기 사료 조성물은 침지, 분무 또는 혼합하여 상기 동물사료에 첨가하여 이용될 수 있다.

[41] 상기 사료 조성물은 포유류, 가금 및 어류를 포함하는 다수의 동물 식이에 적용할 수 있다. 보다 상세하게, 식이는 상업상 중요한 포유류, 예를 들어 돼지, 소, 양, 염소, 실험용 설치 동물(랫트, 마우스, 햄스터 및 게르빌루스쥐), 모피 소유 동물(예, 밍크 및 여우), 및 동물원 동물(예, 원숭이 및 꼬리 없는 원숭이), 뿐만 아니라 가축(예, 고양이 및 개)에게 사용할 수 있다. 통상적으로 상업상 중요한 가금에는 닭, 터키, 오리, 거위, 꿩 및 메추라기가 포함된다. 송어와 같은 상업적으로 사육되는 어류도 포함될 수 있다.

[42] 상기 사료 조성물을 포함한 동물용 사료 배합 방법은, 상기 조성물을 동물 사료에 건조 중량 기준으로 사료 1kg당 약 1g 내지 100g의 양으로 혼합한다. 또한 사료 혼합물은 완전히 혼합한 후, 성분들의 분쇄 정도에 따라 경점성의 조립 또는 과립 물질이 얻어진다. 이것을 메시로서 공급하거나, 또는 추가 가공 및 포장을 위해 원하는 분리된 형상으로 형성한다. 이 때, 저장중에 분리되는 것을 방지하기 위해, 동물 사료에 물을 첨가하고, 이어서 통상의 펠릿화, 팽창화, 또는 압출 공정을 거치는 것이 바람직하다. 과잉의 물은 건조 제거될 수 있다.

[43]

[44] 본 발명은 상기 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 포함하는 화장료 조성물 또는 상기 방법으로 제조된 설포라판 추출물을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.

[45] 본 발명의 화장료 조성물은 화장수(스킨), 로션, 에센스, 크림, 팩 등의 제제 형태로 제조될 수 있다.

[46] 상기 제제에서 본 발명에 따른 설포라판 함량이 증가된 브로콜리 또는 그로부터 추출된 설포라판 추출물을 0.1 중량% 이상, 바람직하게는 0.2 ~ 50 중량%, 더 바람직하게는 0.3 ~ 30 중량%, 가장 바람직하게는 0.5 ~ 10 중량% 사용될 수 있다

[47] 상기 화장료 조성물에는 화장품의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.

[48] 상기 담체, 부형제 또는 희석제로는 정제수, 오일, 왁스, 지방산, 지방산 알콜, 지방산 에스테르, 계면활성제, 흡습제(humectant), 증점제(thickening agent), 향산화제, 점도 안정화제(viscosity stabilizer), 킬레이팅제, 완충제, 저급 알콜 등이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 필요에 따라 미백제, 보습제, 비타민, 자외선 차단제, 향수, 염료, 향균제가 더 포함될 수 있다.

- [49] 상기 오일로서 수소화 식물성유, 파마자유, 면실유, 올리브유, 야자인유, 호호바유, 아보카도유가 이용될 수 있으며, 왁스로는 밀랍, 경랍, 카르나우바, 칸델릴라, 몬탄, 세레신, 액체 파라핀, 라놀린이 이용될 수 있다. 지방산으로는 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 올레산이 이용될 수 있고 지방산 알콜로는 세틸 알콜, 옥틸 도데칸올, 올레일 알콜, 판텐올, 라놀린 알콜, 스테아릴 알콜, 헥사데칸올이 이용될 수 있으며 지방산 에스테르로는 이소프로필 미리스테이트, 이소프로필 팔미테이트, 부틸 스테아레이트가 이용될 수 있다. 계면 활성제의 예에는 소듐 스테아레이트, 소듐 세틸설페이트, 폴리옥시에틸렌 라우릴에테르 포스페이트, 소듐 N-아실 글루타메이트와 같은 음이온 계면활성제; 스테아릴디메틸벤질암모늄 클로라이드 및 스테아릴트리메틸암모늄 클로라이드와 같은 양이온 계면활성제; 알킬아미노에틸글리신 하이드로클로라이드 및 레시틴과 같은 양성 계면활성제; 글리세린 모노스테아레이트, 소르비탄 모노스테아레이트, 수크로오스 지방산 에스테르, 프로필렌 글리콜 모노스테아레이트, 폴리옥시에틸렌 올레일에테르, 폴리에틸렌 글리콜 모노스테아레이트, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노팔미테이트, 폴리옥시에틸렌 코코넛 지방산 모노에탄올아르니드(monoethanol amide), 폴리옥시프로필렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 캐스터유, 폴리옥시에틸렌 라놀린과 같은 비이온성 계면활성제 등이 포함된다. 흡습제에는 글리세린, 1,3-부틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜이 이용될 수 있으며 저급 알콜로는 에탄올, 이소프로판올이 이용 가능하다. 증점제의 예에는 알긴산 나트륨, 카제인산 나트륨, 젤라틴 한천, 크산탄 고무, 전분, 셀룰로오스 에테르(예, 하이드록시에틸 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 카르복시메틸 셀룰로오스, 하이드록시 프로필메틸 셀룰로오스), 폴리비닐피롤리돈, 폴리비닐알콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스 등이 포함된다. 항산화제로는 부틸레이티드 하이드록시톨루엔, 부틸레이티드 하이드록시아니솔, 프로필 갈레이트, 시트르산, 에톡시퀸(ethoxyquin)이 이용 가능하고, 킬레이팅제로는 디소듐 에데테이트, 에탄하이드록시 디포스페이트가 이용 가능하며, 완충제로는 시트르산, 소듐 시트레이트, 붕산, 보렉스(borax), 디소듐 하이드로젠 포스페이트가 이용 가능하다.

발명의 효과

- [50] 본 발명의 고전압 펄스 전기장 처리를 이용한 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법을 통하여, 브로콜리를 분쇄하지 않고 원물 또는 적당한 크기로 자른 절단물의 형태로 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 섭취할 수 있도록 하고, 또한 상기 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 재료로 설포라판을 추출할 수 있다. 상기 고전압 펄스 전기장 처리장치는 고압압력용기를 구비할 필요가 없고, 처리시간이 수초 또는 수분 미만으로 매우 짧으며, 회분식은 물론

연속식으로 작동하는 것이 가능하여 지금까지 공지된 기술에 비하여 상용화에 유리하다. 또한 상기 설포라판 함량이 증가된 브로콜리 및 그로부터 추출된 설포라판은 식품 조성물, 사료 조성물 또는 화장료 조성물의 향산화, 항염증, 향산화 등의 설포라판의 기능성을 발휘하기 위한 유효성분으로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [51] 도 1a는 고전압 펄스 전기장 처리 직후 찍은 비교예 1(좌측) 및 실시예 1(우측)의 브로콜리의 사진이다.
- [52] 도 1b는 고전압 펄스 전기장 처리 후 실온 1일 보관 후 찍은 비교예 1(좌측) 및 실시예 1(우측)의 브로콜리의 사진이다.
- [53] 도 1c는 고전압 펄스 전기장 처리 후 실온 3일 보관 후 찍은 비교예 1(좌측) 및 실시예 1(우측)의 브로콜리의 사진이다.
- [54] 도 1d는 고전압 펄스 전기장 처리 후 실온 4일 보관 후 찍은 비교예 1(좌측) 및 실시예 1(우측)의 브로콜리의 사진이다.
- [55] 도 1e는 고전압 펄스 전기장 처리 후 냉장 6일 보관 후 찍은 비교예 1(좌측) 및 실시예 1(우측)의 브로콜리의 사진이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [56] 본 발명은 상기 과제해결을 위하여, 브로콜리를 액상 매질이 담긴 회분식 또는 연속식 처리 용기에 넣는 단계; 및 상기 액상 매질에 전기장 0.1 내지 200 kV/cm 및 주파수 1 내지 100 Hz에서 0.1 내지 300초 동안 고전압 펄스 전기장 처리를 1 내지 50 회 수행하는 단계;를 포함하는 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법을 제공한다.

발명의 실시를 위한 형태

- [57] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되는 것은 아니다.
- [58] 브로콜리는 제주도 재배지에서 수확한 신선한 것을, 순무는 강화에서 재배한 신선한 것을 구매하여 시료로 사용하였다. 고전압 펄스 전기장 처리장치는 German Institute of Food Technology사(독일)의 모델명 ELCRACK HVP5를 사용하였다.
- [59] 실험예 1: 십자화과 채소의 설포라판 함량 분석
- [60] 십자화과의 무, 순무, 양배추, 적양배추, 방울양배추, 브로콜리 및 컬리플라워 원물에 포함된 설포라판 함량을 다음과 같이 분석하였다.
- [61] 설포라판 표준품(90%, Sigma)으로 표준용액을 제조하여 UPLC-MS/MS(제조사 Waters)로 분석하여 표준정량선을 작성하고, 시료 1g (건조중량)을 물 10ml를 넣어 믹서기로 갈고 2시간 침지하여 마이로시나제에 의해 글루코라판닌이 설포라판으로 전환되도록 하였다. 2시간 반응후 메탄올 90ml를 첨가하여 교반, 추출한 후 추출액(100ml)의 1ml를 10배 희석하여 UPLC-MS/MS로 설포라판

함량을 분석하였다. UPLC system은 Acquity UPLC system (Waters corporation, milford, MA), Binary solvent manager, Sample manager로 된 시스템이며, MS system은 Waters Quattro Premier XE Tandem MS (Micromass UK limited), Software는 Masslynx V4.1을 이용하였다.

[62] 표 1

[표1]

구분	무	순무	양배추	적양배추	브로콜리
함량(mg/100g건조중량)	0.7	1.5	1.9	18.6	37.4

[63] 상기 결과를 통해 십자화과 채소 중에서 설포라판의 공급원으로 이용되기 적합한 채소는 적양배추와 브로콜리임을 알 수 있었다.

[64] 실험에 2: 브로콜리 및 적양배추에서 설포라판 전구체의 함량 분석

[65] 실험에 1에서 설포라판 함량이 높았던 적양배추와 브로콜리에서 설포라판의 전구체가 되는 글루코라파닌의 함량을 확인하기 위하여, 설포라판 및 글루코라파닌의 동시분석법을 다음과 같이 확립하였다.

[66] Glucoraphanin 표준품(90%, PhytoLab)으로 표준용액을 제조하여 UPLC-MS/MS(제조사 Waters)로 분석하여 표준정량선을 작성하고, 시료 1g (건조중량)을 물 10ml를 넣어 믹서기로 갈고 2시간 침지하여 마이로시나제에 의해 글루코라파닌이 설포라판으로 전환되도록 하였다. 2시간 반응후 메탄올 대신 글루코라파닌과 설포라판의 동시 추출을 위하여 주정 90ml를 첨가하여 교반, 추출한 후 추출액(100ml)의 1ml를 10배 희석하여 UPLC-MS/MS로 글루코라파닌 및 설포라판 함량을 분석하였다. UPLC system은 실험에 1과 동일하고, MS/MS Method는 Sulforaphane (MS 178 m/z -> Daughter 113.9 m/z)을 Positive ion mode로 Scan하였으며, Glucoraphanin은 ((MS 436 m/z -> Daughter 372, 96.9 m/z) Negative ion mode로 Scan 하였다.

[67] 표 2

[표2]

구분	적양배추	브로콜리
글루코라파닌 함량(mg/100g건조중량)	22.2	235.2
설포라판 함량(mg/100g건조중량)	18.6	37.4

[68] 상기 결과로부터 적양배추는 설포라판 함량에 있어서는 브로콜리의 절반 정도되지만, 설포라판의 전구체인 글루코라파닌 함량은 1/10 미만임을 알 수 있었다. 또한 브로콜리의 경우는 글루코라파닌을 설포라판으로 전환시킴으로써 설포라판 함량을 현저히 증대시킬 수 있을 것으로 예측되었다.

[69] 실시예 1:

[70] 신선한 브로콜리를 비가식부위를 제거하고 꽃 부분을 50 g씩 절단하여 고전압 펄스 전기장 처리장치의 물이 담긴 회분식 처리용기에 넣고 전기장 2 kV/cm, 주파수 10 Hz 및 처리시간 10 초의 처리조건에서 1회 브로콜리를 처리하였다.

[71] 실시예 2:

[72] 실시예 1과 동일하되, 전기장 2 kV/cm, 주파수 20 Hz 및 처리시간 10 초의 처리조건에서 1회 브로콜리를 처리하였다.

[73] 비교예 1:

[74] 고전압 펄스 전기장 처리한 브로콜리와 비교를 위해 대조군으로 신선한 브로콜리를 비가식부위를 제거하고 50 g씩 절단하여 비교예 1로 하였다.

[75] 비교예 2:

[76] 신선한 브로콜리를 비가식부위를 제거하고 꽃 부분을 50 g씩 절단하여 100 °C의 끓는 물에서 1분 동안 데친 브로콜리를 비교예 2로 하였다.

[77] 비교예 3:

[78] 신선한 브로콜리를 비가식부위를 제거하고 꽃 부분을 50 g씩 절단한 후 믹서기로 2분 동안 분쇄한 분쇄물을 비교예 3으로 하였다.

[79] 실험예 3: 설포라판 함량 분석

[80] 실시예 1, 2 및 비교예 1 내지 3의 브로콜리에 포함된 설포라판 함량을 분석하기 위하여, 설포라판 표준품(90%, Sigma)으로 표준용액을 제조하여 UPLC-MS/MS(제조사 Waters) 로 분석하여 표준정량선과 시료 중의 설포라판을 분석하여 그 결과를 표 3에 나타내었다. 상기 설포라판 분석은 실험예 1과 동일하게 실시하였다.

[81] 표 3

[표3]

구분	비교예1	비교예2	비교예3	실시예1	실시예2
함량(mg/100g건조중량)	37.4	1.75	65.6	118.6	138.8
상대비율(%)	100.0	4.7	175.4	317.1	371.1

[82] 실험예 4:

[83] 실시예 1, 2 및 비교예 1, 2의 브로콜리에 포함된 일반세균수를 식품공전의 일반세균수 시험법에 따라 실험하여 그 결과를 표 4에 나타내었다. 시료는 세척에 의해 미생물의 잔존 가능성이 높은 브로콜리의 꽃 부분에서 채취하였다.

[84] 표 4

[표4]

구분	비교예1	비교예2	실시예1	실시예2
CFU/g	2.7x10 ³	0.97x10 ¹	2.05x10 ¹	1.05x10 ¹

- [85] 끓는 물에 데친 브로콜리(비교예2)는 신선한 브로콜리(비교예 1)의 일반세균을 99% 이상 감소시켰고, 고전압 펄스 전기장 처리한 실시예 1 및 2에서도 비교예 2와 동등한 살균효과를 나타내었다.
- [86] 실험예 5:
- [87] 고전압 펄스 전기장 처리 브로콜리의 보존 조건 및 유통기한을 예측하기 위하여 실시예 1 및 비교예 1의 브로콜리의 실온(25 °C) 및 냉장(5 °C)에서 보존하면서 색깔 변화를 확인하였고, 그 때의 사진은 도 1a 내지 도 1e에 나타내었다.
- [88] 신선한 브로콜리(비교예 1)나 고전압 펄스 전기장 처리 브로콜리(실시예 1) 모두 실온에서 3일 동안은 갈변이 나타나지 않았으나, 4일째까지는 갈변이 나타났다. 특히 비교예 1에서는 4일째부터는 브로콜리의 꽃부분이 부스러졌다.
- [89] 그러나 신선한 브로콜리(비교예 1)나 고전압 펄스 전기장 처리 브로콜리(실시예 1) 모두 냉장 조건에서는 6일째까지도 갈변이 나타나지 않았다.
- [90] 따라서 고전압 펄스 전기장 처리 브로콜리의 유통기한은 신선한 브로콜리와 적어도 동등하거나 그보다 길 것으로 예측할 수 있었다.
- [91] 실시예 3:
- [92] 실시예 1의 브로콜리 50 g을 40 °C의 열풍으로 열풍건조한 후 분쇄하여 브로콜리 분말을 제조하였다.
- [93] 실시예 4:
- [94] 실시예 1의 브로콜리 50 g에 70 중량% 에탄올 수용액 250 ml를 첨가한 후 호모게나이저로 3분 동안 분쇄한 후 20 °C에서 12 시간 교반하면서 추출한 후, 감압 농축한 후 동결건조하여 설포라판 추출물 분말을 제조하였다.
- [95] 실시예 5:
- [96] 실시예 1의 브로콜리 꽃 부분 50 g에 에틸아세테이트 250 ml를 첨가한 후 호모게나이저로 3분 동안 분쇄한 후 20 °C에서 1 시간 교반하면서 추출하여 에틸아세테이트 층을 얻고, 상기 에틸아세테이트 층을 감압 농축 후 동결건조하여 설포라판 추출물 분말을 제조하였다.
- [97] 실험예 6: 설포라판 함량 분석
- [98] 실시예 3 내지 5의 브로콜리 분말 또는 설포라판 추출물 분말에 포함된 설포라판 함량을 실험예 1의 방법으로 분석하여 표 5에 나타내었다.
- [99] 표 5
- [표5]

구분	실시예1	실시예3	실시예4	실시예5
함량(mg/고형분100g)	1,210	445	1,830	3,580

- [100] 실험예 7:
- [101] 각각의 신선한 브로콜리 꽃 부분을 고전압 펄스 전기장 처리장치의 물이 담긴 회분식 처리용기에 넣고 전기장, 주파수, 처리시간 및 처리횟수를 변경시키면서

브로콜리를 처리하였고, 이때의 설포라판 함량과 관능평가를 실시하였다.

[102] 관능평가는 숙련된 패널 20명을 대상으로 비교예 1의 신선한 브로콜리를 가장 좋은 9점으로 하고, 그에 대한 상대적인 점수를 9점 평점법으로 나타내었다.

[103] 브로콜리의 처리조건 및 설포라판 함량은 표 6에 나타내었다.

[104] 표 6

[표6]

구분	전기장 (kV/cm)	주파수(Hz)	처리시간(초)	처리횟수(회)	설포라판(mg/100g)	관능평가(9 점평가)
비교예1	-	-	-	-	37.4	9
1-1	0.1	20	10	1	77.1	9
1-2	1.0	20	10	1	82.4	9
1-3	2.0	20	10	1	138.8	9
1-4	5.0	20	10	1	132.1	8
1-5	10.0	20	10	1	145.1	6
1-6	100.0	20	10	1	107.0	3
2-1	2.0	0.5	10	1	90.5	9
2-2	2.0	5	10	1	119.2	9
2-3	2.0	50	10	1	151.4	6
2-4	2.0	100	10	1	155.0	4
3-1	2.0	5	0.5	1	66.3	9
3-2	2.0	5	5	1	58.2	9
3-3	2.0	5	50	1	121.1	7
3-4	2.0	5	300	1	103.5	4
3-5	2.0	5	600	1	99.8	2
4-1	2.0	5	5	2	49.4	9
4-2	2.0	5	5	10	88.2	8
4-3	2.0	5	5	30	82.1	6
4-4	2.0	5	5	60	56.2	4

[105] 실험예 8:

[106] 각각의 신선한 브로콜리 꽃 부분을 고전압 펄스 전기장 처리장치에서 전기장 2 kV/cm, 주파수 5 Hz 및 처리시간 5 초의 처리조건에서 1회 처리하되, 액상매질의 종류를 에탄올 50 부피% 함유 수용액, 에탄올 20 중량% 함유 수용액, 0.5 중량%

소금물이 담긴 회분식 처리용기에 넣고 고전압 펄스 전기장 처리하였고, 이때의 설포라판 함량을 분석하여 표 7에 나타내었다.

[107] 표 7

[표7]

구분	제제예3-2	에탄올50%	에탄올20%	0.5% 소금물
설포라판 함량(mg/100g)	58.2	32.2	42.1	65.5.

[108]

[109] 아래에 본 발명의 설포라판 함량이 증가된 브로콜리, 또는 그로부터 추출한 설포라판 추출물을 함유하는 식품 조성물의 제제예를 예시한다. 아래 제제예의 조성비는 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

[110] 제제예 1: 정제의 제조

[111] 실시예 3의 브로콜리 분말 10 mg

[112] 옥수수전분 100 mg

[113] 유당 100 mg

[114] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[115] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[116] 제제예 2: 캡슐제의 제조

[117] 실시예 4의 설포라판 추출물 분말 10 mg

[118] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[119] 락토오스 14.8 mg

[120] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

[121] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[122] 제제예 3: 분말 건강기능식품의 제조

[123] 실시예 3의 브로콜리 분말 1,000 mg

[124] 비타민 혼합물 적량

[125] 비타민 A 아세테이트 70 μ g

[126] 비타민 E 1.0 mg

[127] 비타민 B1 0.13 mg

[128] 비타민 B2 0.15 mg

[129] 비타민 B6 0.5 mg

[130] 비타민 B12 0.2 μ g

[131] 비타민 C 10 mg

[132] 비오틴 10 μ g

- [133] 니코틴산아미드 1.7 mg
- [134] 엽산 50 μ g
- [135] 판토텐산 칼슘 0.5 mg
- [136] 무기질 혼합물 적량
- [137] 황산제1철 1.75 mg
- [138] 산화아연 0.82 mg
- [139] 탄산마그네슘 25.3 mg
- [140] 제1인산칼륨 15 mg
- [141] 제2인산칼슘 55 mg
- [142] 구연산칼륨 90 mg
- [143] 탄산칼슘 100 mg
- [144] 염화마그네슘 24.8 mg
- [145] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강기능식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.
- [146] 제제예 4: 음료의 제조
- [147] 실시예 4의 설포라판 추출물 분말 1,000 mg
- [148] 구연산 1,000 mg
- [149] 올리고당 100 g
- [150] 매실농축액 2 g
- [151] 타우린 1 g
- [152] 정제수를 가하여 전체 900 mL
- [153] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85 °C에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 기능성 음료 조성물 제조에 사용한다.
- [154]
- [155] 아래에 본 발명의 설포라판 함량이 증가된 브로콜리, 또는 그로부터 추출한 설포라판 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 제제예를 예시한다. 아래 제제예의 조성비는 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.
- [156] 제제예 5: 비누의 제조
- [157] 실시예 4의 설포라판 추출물 분말 5 중량%
- [158] 유지 75 중량%
- [159] 수산화나트륨 5 중량%
- [160] 향료 10 중량%

- [161] 정제수 잔량
- [162] 통상의 비누 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하여 비누를 제조한다.
- [163] 제제예 6: 로션의 제조
- [164] 실시예 4의 설포라판 추출물 분말 3 중량%
- [165] L-아스코르빈산-2-인산마그네슘염 1 중량%
- [166] 수용성 콜라겐 (1% 수용액) 1 중량%
- [167] 시트르산나트륨 0.1 중량%
- [168] 시트르산 0.05 중량%
- [169] 감초 엑기스 0.2 중량%
- [170] 1,3-부틸렌글리콜 3 중량%
- [171] 정제수 잔량
- [172] 통상의 로션의 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하여 로션을 제조한다.
- [173] 제제예 7: 크림의 제조
- [174] 실시예 4의 설포라판 추출물 분말 3 중량%
- [175] 폴리에틸렌글리콜모노스테아레이트 2 중량%
- [176] 자기유화형 모노스테아르산글리세린 5 중량%
- [177] 세틸알코올 4 중량%
- [178] 스쿠알렌 6 중량%
- [179] 트리2-에틸헥산글리세릴 6 중량%
- [180] 스펅고당지질 1 중량%
- [181] 1,3-부틸렌글리콜 7 중량%
- [182] 정제수 잔량
- [183] 통상의 크림의 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하여 크림을 제조한다.
- [184]
- [185] 제제예 8: 팩의 제조
- [186] 실시예 3의 브로콜리 분말 2 중량%
- [187] 폴리비닐알코올 13 중량%
- [188] L-아스코르빈산-2-인산마그네슘염 1 중량%
- [189] 라우로일히드록시프롤린 1 중량%
- [190] 수용성 콜라겐 (1% 수용액) 2 중량%
- [191] 1,3-부틸렌글리콜 3 중량%
- [192] 에탄올 5 중량%
- [193] 정제수 잔량
- [194] 통상의 팩 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하여 팩을 제조한다.

산업상 이용가능성

- [195] 본 발명의 고전압 펄스 전기장 처리를 이용한 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법을 통하여, 브로콜리를 분쇄하지 않고 원물 또는 적당한

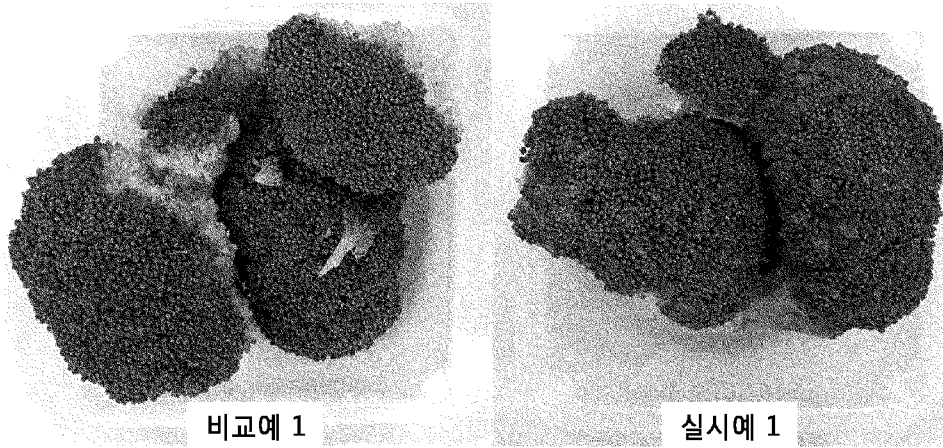
크기로 자른 절단물의 형태로 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 섭취할 수 있도록 하고, 또한 상기 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 재료로 설포라판을 추출할 수 있다. 상기 설포라판 함량이 증가된 브로콜리 및 그로부터 추출된 설포라판은 식품 조성물, 사료 조성물 또는 화장료 조성물의 항산화, 항염증, 항산화 등의 설포라판의 기능성을 발휘하기 위한 유효성분으로 활용될 수 있다.

청구범위

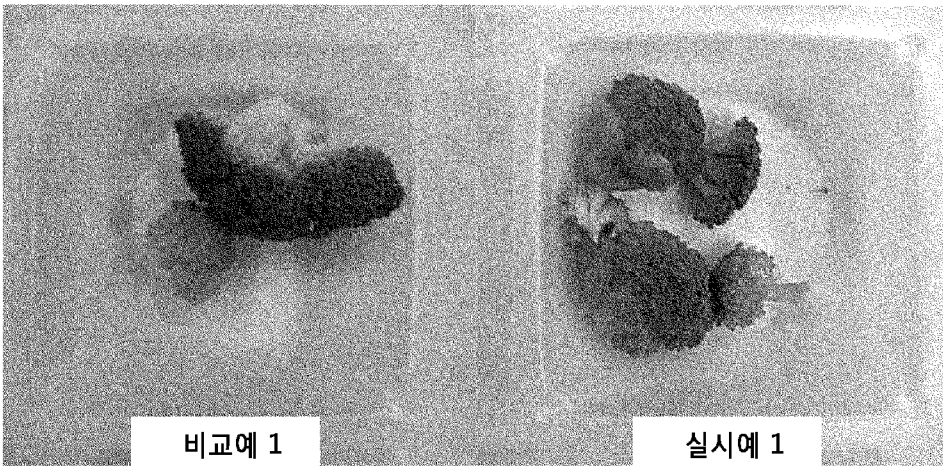
- [청구항 1] 브로콜리를 액상 매질이 담긴 회분식 또는 연속식 처리 용기에 넣는 단계; 및 상기 액상 매질에 전기장 0.1 내지 200 kV/cm 및 주파수 1 내지 100 Hz에서 0.1초 내지 300초 동안 고전압 펄스 전기장 처리를 1 내지 100 회 수행하는 단계;를 포함하는 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법.
- [청구항 2] 제 1 항에 있어서, 상기 고전압 펄스 전기장 처리는 0.2 내지 20 kV/cm에서 1 내지 50초 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법.
- [청구항 3] 제 1 항에 있어서, 상기 처리 용기에 넣는 단계의 브로콜리는 분쇄 또는 마쇄공정을 거치지 않은 원물 또는 그 절단물인 것을 특징으로 하는 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법.
- [청구항 4] 제 1 항에 있어서, 상기 액상 매질은 물, 주정 또는 이들의 혼합액인 것을 특징으로 하는 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법.
- [청구항 5] 제 1 항에 있어서, 상기 고전압 펄스 전기장 처리를 수행하는 단계 후에 건조 공정, 분쇄 공정, 건조 후 분쇄 공정 또는 분쇄 후 건조 공정을 거치는 것을 특징으로 하는 설포라판 함량이 증가된 브로콜리의 제조방법.
- [청구항 6] 청구항 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 방법으로 제조되고, 상기 고전압 펄스 전기장 처리 전의 브로콜리에 비하여 설포라판 함량이 30 % 이상 증가된 것을 특징으로 하는 설포라판 함량이 증가된 브로콜리.
- [청구항 7] 청구항 제6항의 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 포함하는 식품 조성물.
- [청구항 8] 청구항 제6항의 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 포함하는 사료 조성물.
- [청구항 9] 청구항 제6항의 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 포함하는 화장료 조성물.
- [청구항 10] 청구항 제6항의 설포라판 함량이 증가된 브로콜리를 재료로 설포라판을 추출하는 것을 특징으로 하는 설포라판 추출물의 제조방법.
- [청구항 11] 청구항 제10항의 방법으로 제조된 설포라판 추출물을 포함하는 식품 조성물.
- [청구항 12] 청구항 제10항의 방법으로 제조된 설포라판 추출물을 포함하는 사료 조성물.
- [청구항 13] 청구항 제10항의 방법으로 제조된 설포라판 추출물을 포함하는

화장료 조성물.

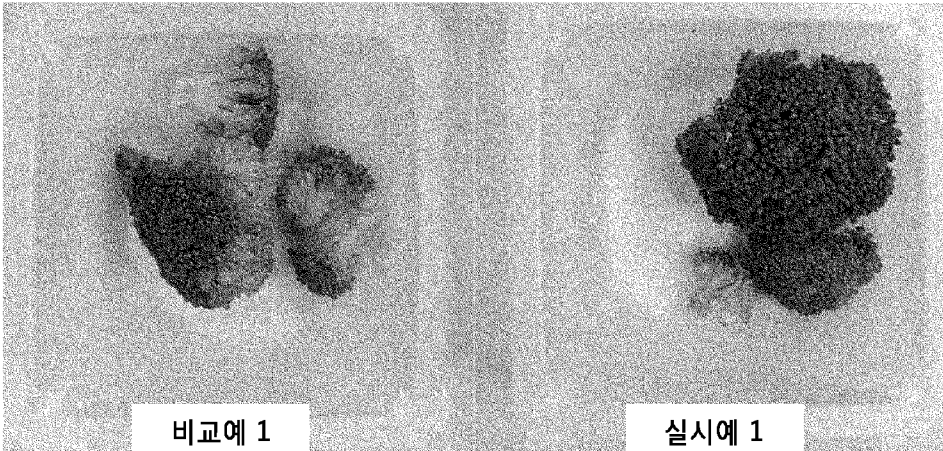
[도 1a]



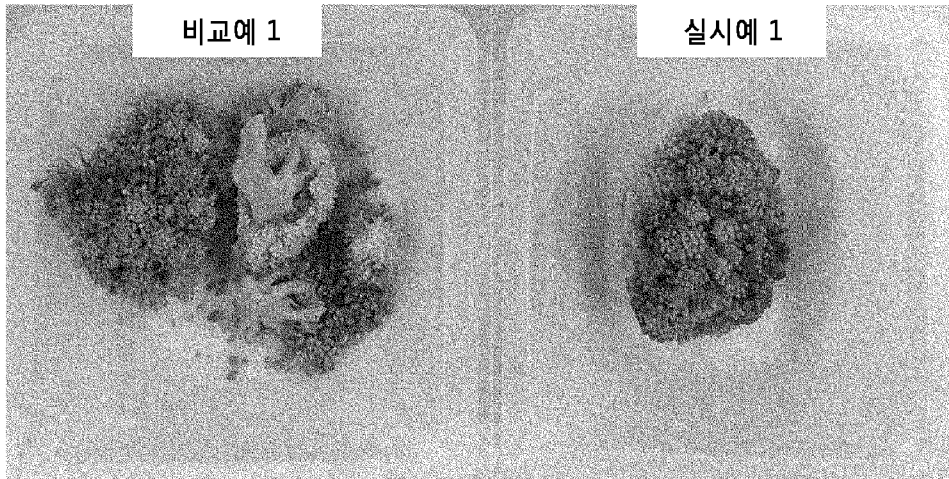
[도 1b]



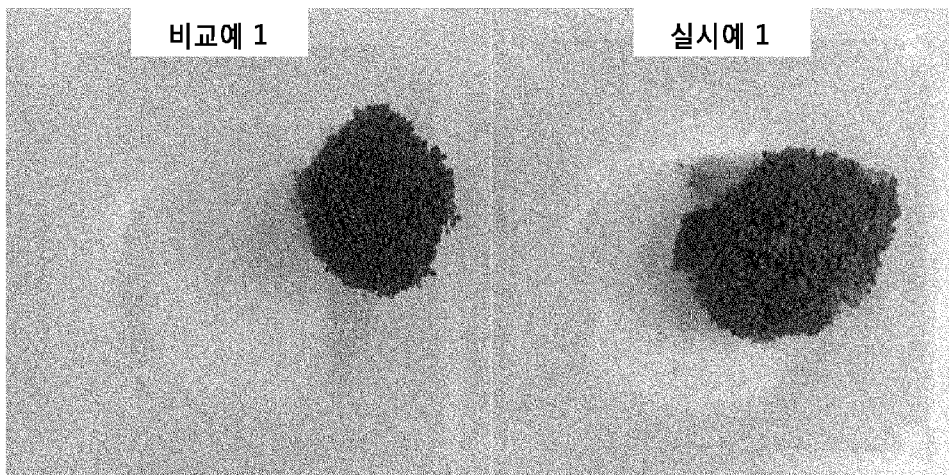
[도 1c]



[도1d]



[도1e]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2015/003340**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****A23B 7/015(2006.01)i, A23K 1/14(2006.01)i, A61K 8/97(2006.01)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)

A23B 7/015; A01G 7/04; A01G 7/06; A23B 7/01; A23L 1/212; A01N 65/00; A23B 7/00; A23B 7/14; A23K 1/14; A61K 8/97

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: broccoli, sulforaphane, liquid medium, high-voltage pulse electric field**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-0946727 B1 (KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 12 March 2010 See claim 1.	1-13
A	KR 10-0846215 B1 (FOTOFRESH LIMITED) 15 July 2008 See claims 1, 14-17 and paragraph [0006].	1-13
A	KR 10-2010-0116759 A (KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 02 November 2010 See claims 1-3 and paragraphs [0002]-[0003].	1-13
A	FRANSEN et al., "Effects of novel processing techniques on glucosinolates and membrane associated myrosinases in broccoli" Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, Vol. 64, No. 1, pp. 17-25 (13 February 2014) See the entire document.	1-13
A	US 8147879 B2 (NGADI et al.) 03 April 2012 See claims 1, 5, 9 and column 1, line 66 - column 2, line 3.	1-13



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

"I" 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

09 JUNE 2015 (09.06.2015)

Date of mailing of the international search report

09 JUNE 2015 (09.06.2015)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2015/003340

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-0946727 B1	12/03/2010	KR 10-2009-0099805 A	23/09/2009
KR 10-0846215 B1	15/07/2008	AT 464784 T	15/05/2010
		DE 602004026717 D1	02/06/2010
		EP 1626620 A1	22/02/2006
		EP 1626620 B1	21/04/2010
		EP 2090154 A2	19/08/2009
		EP 2090154 A3	26/08/2009
		EP 2181582 A1	05/05/2010
		GB 0411581 D0	23/06/2004
		GB 2402037 A	01/12/2004
		GB 2402037 B	01/03/2006
		JP 2007-511202 A	10/05/2007
		KR 10-2006-0019555 A	03/03/2006
		KR 10-2007-0086651 A	27/08/2007
		US 2007-0151149 A1	05/07/2007
		WO 2004-103060 A1	02/12/2004
KR 10-2010-0116759 A	02/11/2010	NONE	
US 8147879 B2	03/04/2012	CA 2666104 A1	27/03/2008
		CA 2666104 C	25/11/2014
		US 2009-0314630 A1	24/12/2009
		WO 2008-034228 A1	27/03/2008

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A23B 7/015(2006.01)i, A23K 1/14(2006.01)i, A61K 8/97(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A23B 7/015; A01G 7/04; A01G 7/06; A23B 7/01; A23L 1/212; A01N 65/00; A23B 7/00; A23B 7/14; A23K 1/14; A61K 8/97

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: 브로콜리, 셀포라판, 액상 매질, 고전압 펄스 전기장

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-0946727 B1 (한국과학기술연구원) 2010.03.12 청구항 1 참조.	1-13
A	KR 10-0846215 B1 (포토프레쉬 리미티드) 2008.07.15 청구항 1, 14-17 및 문단 [0006] 참조.	1-13
A	KR 10-2010-0116759 A (한국과학기술연구원) 2010.11.02 청구항 1-3 및 문단 [0002]-[0003] 참조.	1-13
A	FRANDSEN 외, 'Effects of novel processing techniques on glucosinolates and membrane associated myrosinases in broccoli' Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, Vol.64, No.1, pp.17-25 (2014.02.13) 전체 문헌 참조.	1-13
A	US 8147879 B2 (NGADI 외) 2012.04.03 청구항 1, 5, 9 및 컬럼 1, 라인 66 - 컬럼 2, 라인 3 참조.	1-13

☐ 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

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

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

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

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

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

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

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2015년 06월 09일 (09.06.2015)

국제조사보고서 발송일

2015년 06월 09일 (09.06.2015)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관

김승범

전화번호 +82-42-481-3371



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-0946727 B1	2010/03/12	KR 10-2009-0099805 A	2009/09/23
KR 10-0846215 B1	2008/07/15	AT 464784 T	2010/05/15
		DE 602004026717 D1	2010/06/02
		EP 1626620 A1	2006/02/22
		EP 1626620 B1	2010/04/21
		EP 2090154 A2	2009/08/19
		EP 2090154 A3	2009/08/26
		EP 2181582 A1	2010/05/05
		GB 0411581 D0	2004/06/23
		GB 2402037 A	2004/12/01
		GB 2402037 B	2006/03/01
		JP 2007-511202 A	2007/05/10
		KR 10-2006-0019555 A	2006/03/03
		KR 10-2007-0086651 A	2007/08/27
		US 2007-0151149 A1	2007/07/05
		WO 2004-103060 A1	2004/12/02
KR 10-2010-0116759 A	2010/11/02	없음	
US 8147879 B2	2012/04/03	CA 2666104 A1	2008/03/27
		CA 2666104 C	2014/11/25
		US 2009-0314630 A1	2009/12/24
		WO 2008-034228 A1	2008/03/27