



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년03월19일  
(11) 등록번호 10-1242580  
(24) 등록일자 2013년03월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A23L 1/221 (2006.01) A23L 1/29 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2011-0024970  
(22) 출원일자 2011년03월21일  
심사청구일자 2011년05월25일  
(65) 공개번호 10-2012-0107338  
(43) 공개일자 2012년10월02일  
(56) 선행기술조사문헌  
JP06043323 B2  
JP2006076960 A  
KR100691805 B1

(73) 특허권자  
숙명여자대학교산학협력단  
서울특별시 용산구 청파로47길 100 (청파동2가, 숙명여자대학교)  
(72) 발명자  
류재하  
서울특별시 양천구 목동동로 430, 목동아파트 601-402호 (목동)  
김상건  
서울특별시 용산구 이촌동 402번지 강촌아파트 102-206  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
이원희

전체 청구항 수 : 총 7 항

심사관 : 장은경

(54) 발명의 명칭 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법

(57) 요약

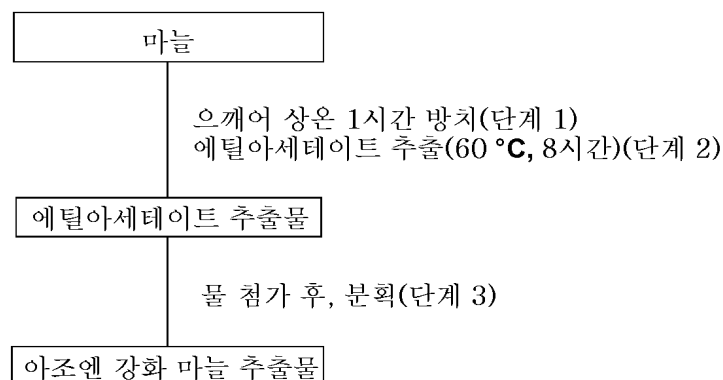
본 발명은 마늘 추출물의 아조엔 함량 증진방법에 관한 것이다. 구체적으로 본 발명은

으깬 마늘을 상온에서 30분~2시간 동안 방치하는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 제조된 으깬 마늘에 에틸아세테이트(EtOAc)를 첨가하고, 45~75 °C의 온도에서 0.5~10시간 동안 추출하여 에틸아세테이트 추출물을 얻는 단계(단계 2); 및

상기 단계 2에서 제조된 에틸아세테이트 추출물에 물을 첨가하여 분획한 후, 아조엔 강화 마늘 추출물을 얻는 단계(단계 3)를 포함하는 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법을 제공한다. 본 발명에 따른 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법은 종래 추출방법으로 얻을 수 있는 마늘 추출물 내의 아조엔 함량보다 매우 우수한 수율의 아조엔을 얻을 수 있으며, 제조단계가 간단하여 생산 단가를 절감할 수 있으므로, 아조엔 함량이 증가된 마늘 추출물의 제조시 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

**전라옥**

서울특별시 강남구 남부순환로 2914, 개포우성아파트 3동 1105호 (대치동)

**정재연**

충남 천안시 서북구 직산읍 청림아파트 105-508

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

으깬 마늘을 상온에서 10분~18시간 동안 방치하는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 제조된 으깬 마늘에 에틸아세테이트(EtOAc)를 첨가하고, 45~75 °C의 온도에서 0.5~10시간 동안 추출하여 에틸아세테이트 추출물을 얻는 단계(단계 2); 및

상기 단계 2에서 제조된 에틸아세테이트 추출물에 물을 첨가하여 분획한 후, 아조엔 강화 마늘 추출물을 얻는 단계(단계 3)를 포함하는 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 단계 1의 방치시간은 30분~2시간 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 단계 1의 방치시간은 1시간 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법.

### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 단계 2의 추출온도는 50~65 °C인 것을 특징으로 하는 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법.

### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 단계 2의 추출온도는 60 °C인 것을 특징으로 하는 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법.

### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 단계 2의 추출시간은 7~9시간인 것을 특징으로 하는 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법.

### 청구항 7

제1항에 있어서, 상기 단계 2의 추출시간은 8시간인 것을 특징으로 하는 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법.

## 명세서

## 기술 분야

[0001] 본 발명은 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0002] 마늘(*Allium sativum*)은 백합과(Liliaceae) 파속(*Allium*)에 속하는 다년생 식물로, 지구상에서 5천 년 이상 재배되어온 인류의 대표적 경작식물 중 하나이다. 마늘의 1차 기원지는 중앙아시아이며, 2차 기원지로는 지중해 지역인 것으로 알려져 있고, 이곳으로부터 전세계로 보급되어 식품으로뿐만 아니라 민간의약품으로 이용되어오고 있다. 마늘은 약 60%의 수분을 함유하고 있으며 탄수화물 28%(주로 프락탄), 유기황화합물 2.3%, 단백질 2%(주로 알리나제), 유기아미노산 1.2%(주로 아르기닌), 섬유소 1.5%, 지방 0.15%, 소량의 피친산(phytic acid, 0.08%), 사포닌 0.07% 그리고 시토스테롤 0.0015% 등이 함유되어있다. 또한 비타민 A, B1, B2, C등의 비타민류와 칼슘, 칼륨, 구리, 아연, 게르마늄, 철, 마그네슘, 망간, 인, 황, 셀레늄 등의 무기물도 미량 함유되어 있다고 알려져 있다.

[0003] 주로 알려진 마늘의 생리활성물질은 유기황화합물로, S-(+)-알킬-L-시스테인 설폭사이드가 주요화합물이다. 마늘을 자르거나 분쇄하여 조직에 상처를 가하면 액포에 저장된 알리나제(allinase)가 방출되어 알린이 알리신으로 전환되어 마늘 특유의 자극적인 냄새가 나게 된다. 이때 알리신 뿐만 아니라 알릴 메틸 티오설피네이트 화합물들도 생성되며, 티로설피네이트 화합물들 역시 마늘이 가공될 때 빠른 속도로 다양한 황화합물로 전환된다. 알리신은 매우 불안정한 화합물로, 저급 황 함유 화합물들인 디알릴 모노-, 디-, 그리고 올리고설피이드, 비닐다이친, 아조엔 등 30여 종으로 전환되고 이중 디알릴 설피이드 류의 함량이 75% 이상이다.

[0004] 아조엔(ajoene)은 E-형과 Z-형(E- 및 Z-4,5,9-트리티아도데카-1,6,11-트리엔 9-옥사이드)의 구조이성질체로 존재한다. 아조엔은 생마늘이나 생마늘 추출물에서는 발견되지 않으나 으깬 마늘을 가열하거나, 오일 또는 알코올에 침출시키면 알린이 알리신을 거쳐 비교적 안정한 형태의 아조엔이 형성되는 것으로 알려져 있다.

[0005] 상기 아조엔의 활성으로는 항종양, 항균, 혈소판응집억제, 면역력 강화, 뇌기능강화, 숙취제거 효과, 지방간 개선효과 등 다양한 생리활성이 보고되었다.

[0006] 최근, 상기 아조엔의 다양한 약리 효능으로 인하여 아조엔의 함량이 증가 된 추출물을 얻는 방법이 연구되고 있다. 일반적으로 아조엔 함량을 증가시키기 위하여 아조엔이 지용성이라는 특징을 활용하여 마늘을 식용유와 함께 가열하여 추출물을 얻는 방법을 주로 사용하였다. 그러나 이 방법은 추출물이 대량의 기름을 함유하게 되고 아조엔의 함량도 충분하지 않으므로 추출물 형태로 응용이 매우 제한적이다. 따라서 아조엔의 약리효능을 활용한 의약품 또는 기능성 식품의 재료로 활용하기 위해서는, 마늘의 성분만을 포함하면서 아조엔 함량이 높은 추출물의 제법이 절실하게 요구된다.

[0007] 종래 아조엔의 제조방법으로 대한민국 등록특허 제10-0691805호에서는 마늘을 으갠 후, 메탄올로 추출하고, 감압 농축하여 물에 녹인 후, 에틸아세테이트 용매로 분획하여 얻은 아조엔을 사용하였으나, 아조엔의 수율이 높지 않은 단점이 있다.

[0008] 이에, 본 발명자들은 아조엔 함량을 높이기 위한 추출 방법을 찾던 중, 으갠 마늘의 방치 시간, 추출 용매, 추출온도 및 추출시간을 변화시킴으로써 마늘 추출물 내의 아조엔의 함량이 현저하게 증가함을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법을 제공하는 데 있다.

### 과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은

[0011] 으깬 마늘을 상온에서 6분~18시간 동안 방치하는 단계(단계 1);

[0012] 상기 단계 1에서 제조된 으깬 마늘에 에틸아세테이트(EtOAc)를 첨가하고, 45~75 °C의 온도에서 0.5~10시간 동안 추출하여 에틸아세테이트 추출물을 얻는 단계(단계 2); 및

[0013] 상기 단계 2에서 제조된 에틸아세테이트 추출물에 물을 첨가하여 분획한 후, 아조엔 강화 마늘 추출물을 얻는 단계(단계 3)를 포함하는 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법을 제공한다.

### 발명의 효과

[0014] 본 발명에 따른 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법은 종래 추출방법으로 얻을 수 있는 마늘 추출물 내의 아조엔 함량보다 매우 우수한 수율의 아조엔을 얻을 수 있으며, 제조단계가 간단하여 생산 단가를 절감할 수 있으므로, 아조엔 함량이 증가된 마늘 추출물의 제조시 유용하게 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 본 발명에 따른 일실시예의 흐름도를 나타내는 도면이다.

도 2는 본 발명에 따른 일실시예의 방법으로 제조된 마늘 추출물의 HPLC 결과를 나타내는 도면이다.

도 3은 본 발명에 따른 일실시예의 추출용매에 따른 추출물 중의 아조엔 함량변화를 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명에 따른 일실시예의 알리나제 작용 시간에 따른 추출물 중의 아조엔 함량변화를 나타낸 그래프이다.

도 5는 본 발명에 따른 일실시예의 추출 온도에 따른 추출물 중의 아조엔 함량변화를 나타낸 그래프이다.

도 6은 본 발명에 따른 일실시예의 추출 시간에 따른 추출물 중의 아조엔 함량변화를 나타낸 그래프이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 본 명세서에서 “아조엔 강화 마늘 추출물”은 에틸아세테이트 마늘 추출물에 물을 첨가하여 분획한 에틸아세테이트 분획물을 의미한다.

[0017] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0018] 으깬 마늘을 상온에서 6분~18시간 동안 방치하는 단계(단계 1);

[0019] 상기 단계 1에서 제조된 으깬 마늘에 에틸아세테이트(EtOAc)를 첨가하고, 45~75 °C의 온도에서 0.5~10시간 동안 추출하여 에틸아세테이트 추출물을 얻는 단계(단계 2); 및

[0020] 상기 단계 2에서 제조된 에틸아세테이트 추출물에 물을 첨가하여 분획한 후, 아조엔 강화 마늘 추출물을 얻는 단계(단계 3)를 포함하는 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법을 제공한다.

[0021] 이하, 본 발명의 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법을 살펴본다(도 1 참조).

- [0022] 상기 단계 1은 으깬 마늘을 상온에서 6분~18시간 동안 방치하는 단계이다.
- [0023] 상기 단계에서 마늘을 으깨어 사용하는 것이 바람직하다. 그 이유로는 마늘을 자르거나 분쇄하여 조직에 상처를 가하는 경우, 액포에 저장된 알리나제 효소가 방출되어 다양한 화합물을 생성하게 되는 데 이때, 아조엔의 전구체에 해당하는 알리신이 생성되기 때문이다.
- [0024] 상기 으깬 마늘을 상온에서 방치함으로써 알리나제 효소반응을 진행시켜 최종 추출물 내의 아조엔의 함량을 증가시킬 수 있다.
- [0025] 이때, 방치시간은 6분~18시간이 바람직하고, 30분~2시간 동안 방치하는 것이 더욱 바람직하며, 1시간 동안 방치하는 것이 가장 바람직하다.
- [0026] 상기 범위를 벗어나는 경우, 마늘 추출물 내의 아조엔 함량이 감소하는 문제점이 있다(도 4 참조).
- [0027] 상기 단계 2는 상기 단계 1을 수행한 으깬 마늘에 에틸아세테이트를 첨가하고, 45~75 °C의 온도에서 0.5~10시간 동안 추출하여 마늘 에틸아세테이트 추출물을 얻는 단계이다.
- [0028] 상기 단계에 있어서, 상기 으깬 마늘은 에틸아세테이트를 사용하여 추출하는 것이 바람직하다.
- [0029] 상기 에틸아세테이트 외에 물, C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>의 알코올, 헥산 등을 사용하는 경우, 마늘 추출물에서 얻을 수 있는 아조엔 함량이 감소하는 문제점이 있다(도 3 참조).
- [0030] 또한, 마늘 추출물을 얻기 위한 추출온도는 45~75 °C인 것이 바람직하고, 50~65 °C인 것이 더욱 바람직하며, 60 °C인 것이 가장 바람직하다.
- [0031] 나아가, 마늘 추출물을 얻기 위한 추출시간은 0.5~10 시간인 것이 바람직하고, 7~9 시간인 것이 더욱 바람직하며, 8시간인 것이 가장 바람직하다.
- [0032] 상기 범위를 벗어나는 경우, 마늘 추출물에서 얻을 수 있는 아조엔 함량이 감소하는 문제점이 있다(도 5 및 6 참조).
- [0033] 또한, 상기 단계 3은 단계 2에서 제조된 에틸아세테이트 추출물에 물을 첨가하여 분획한 후, 아조엔 강화 마늘 추출물을 얻는 단계이다.
- [0034] 상기 단계 3은 아조엔 강화 마늘 추출물을 얻기 위하여 에틸아세테이트 추출물에 물을 첨가하여 에틸아세테이트 추출물 내의 수용성 물질을 제거함으로써 아조엔의 함량을 강화하기 위한 단계이다.
- [0035] 나아가, 본 발명은 마늘 추출물은 상기 2단계 또는 단계 3에서 제조된 아조엔 강화 마늘 추출물로부터 컬럼크로마토그래피를 통해 아조엔을 순수하게 분리하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0036] 구체적으로, 상기 단계 3에서 제조된 마늘 추출물을 컬럼크로마토그래피를 수행하여 순수한 아조엔을 얻을 수 있다.
- [0037] 본 발명에 따른 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법은 종래 추출방법으로 얻을 수 있는 마늘 추출물 내의 아조엔 함량보다 매우 우수한 수율의 아조엔을 얻을 수 있으며, 제조단계가 간단하여 생산 단가를 절감할 수 있으므로, 아조엔 함량이 증가 된 마늘 추출물의 제조시 유용하게 사용될 수 있다.
- [0038] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세하게 설명한다.
- [0039] 단, 하기 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 범위가 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0040] <실시예 1> 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조

[0041] 껍질을 벗긴 알마늘 1 kg 을 물로 세척하여 이물질을 제거하고 으깨어 실온에서 1시간 동안 방치한 후, 에틸아세테이트 1.5 ℓ 를 가하여 60 ℃에서 8시간 가열하였다.

[0042] 상기 에틸아세테이트 추출물을 회수하여 동일 부피의 증류수를 가하여 분획한 후 에틸아세테이트 층을 농축하여 아조엔 강화 추출물 4.5 g을 얻었다(도 1 참조).

[0043] 추출물이 함유한 아조엔의 함량을 HPLC로 정량하였으며, 대표적인 HPLC 크로마토그래피 결과를 도 2에 나타내었다.

[0044] HPLC 컬럼은 Waters Spherisorb Silica(4.6 × 250 mm, 5 mm)를 사용하였으며, 이동상은 n-Hexane/EtOAc/i-PrOH=67:30:3을 사용하고 유속은 1.0 ml/min, UV 254 nm에서 검출하였다. 순수하게 분리한 E-아조엔과 Z-아조엔 표준품을 이용하여 검량선을 제작하여 아조엔 함량을 정량하였다.

[0045] 도 2에 나타난 바와 같이, 아조엔 강화 마늘 추출물 4.5 g을 정량한 결과, Z-아조엔은 504 mg, E-아조엔은 137 mg이 함유된 것으로 분석되었고, 이는 최종 에틸아세테이트 추출물 중 Z-아조엔 11.2%, E-아조엔 3.0% 함유하는 것으로 확인되었다.

[0046] <실험예 1> 추출용매에 따른 추출물 중 아조엔의 함량변화

[0047] 본 발명의 추출 용매에 따른 마늘 추출물 중 아조엔의 함량변화를 확인하기 위하여 하기 실험을 수행하였다.

[0048] 껍질을 벗긴 알마늘을 물로 세척하여 이물질을 제거하고 으갠 5 g 마늘을 에탄올, 메탄올, 에틸아세테이트, 헥산, 물을 각각 10 ml 가하여 75 ℃에서 1시간 동안 추출하였다. 각 추출물을 농축하여 용매를 제거하고 물과 에틸아세테이트 각각 10 ml로 분획하여 수용성 물질을 제거하고 에틸아세테이트 층을 얻은 다음 에틸아세테이트 층으로 이행된 아조엔을 HPLC 법으로 정량하였다. 그 결과를 하기 표 1 및 도 3에 나타내었다.

표 1

[0049]

|                      | 마늘<br>EtOAc 분획물<br>함량<br>(mg/g garlic) | 아조엔 함량<br>(μg/g garlic) |       |
|----------------------|----------------------------------------|-------------------------|-------|
|                      |                                        | Z-아조엔                   | E-아조엔 |
| H <sub>2</sub> O 추출물 | 3.50                                   | 9.0                     | 23.2  |
| EtOAc 추출물            | 4.12                                   | 345.6                   | 80.6  |
| EtOH 추출물             | 0.64                                   | 7.2                     | 6.1   |
| MeOH 추출물             | 0.42                                   | 5.1                     | 2.2   |
| Hexane 추출물           | 0.24                                   | 67.0                    | 7.8   |

[0050] 표 1 및 도 3에 나타난 바와 같이, 마늘을 물과 에틸아세테이트로 분획한 결과, 마늘 1 g으로부터 얻어진 에틸아세테이트 분획물의 함량은 0.24 mg~4.12 mg 으로 나타났고, 이중 마늘의 에틸아세테이트 추출물을 분획한 에틸아세테이트 분획물 함량이 4.12 mg으로 가장 우수하였다. 아조엔 함량의 경우, 마늘 1 g으로부터 얻어진 추출물 중의 Z-아조엔 함량은 5.1~345.6 μg으로 나타났고, E-아조엔 함량은 2.2~80.6 μg으로 나타났다. 이중 에틸아세테이트를 추출용매로 사용한 경우 최종 에틸아세테이트 분획물의 회수율이 4.12 mg으로 가장 높았으며, Z-아조엔 함량은 345.6 μg, E-아조엔 함량은 80.6 μg으로 가장 우수한 것으로 나타났다.

[0051] 따라서, 본 발명의 아조엔 함량은 에틸아세테이트로 추출할 때, 가장 우수한 수율로 얻을 수 있으므로, 아조엔 추출 수율을 높이는데 유용하다.

[0052] <실험예 2> 알리나제 작용 시간에 따른 추출물 중 아조엔의 함량변화

[0053] 본 발명의 으갠 마늘의 방치 시간(알리나제 적용 시간)에 따른 마늘 추출물 중 아조엔의 함량변화를 확인하기

위하여 하기 실험을 수행하였다.

[0054] 아조엔을 생성하는 전구물질인 알리신을 생성하기 위한 적절한 알리나제 작용시간을 결정하기 위하여, 마늘(5 g)을 으갠 후 실온에서 0.1, 1, 6 및 18시간 방치하여 알리나제 효소반응을 진행하게 한 후, 에틸아세테이트 10 ml를 가하여 75 ℃에서 1시간 동안 추출하였다. 에틸아세테이트 추출액에 10 ml의 물을 가하여 분획하고 에틸아세테이트 층에 함유된 아조엔을 HPLC-UV를 사용하여 정량하였다. 그 결과를 하기 표 2 및 도 4에 나타내었다.

표 2

[0055]

|        | 마늘<br>EtOAc 분획물<br>함량<br>(mg/g garlic) | 아조엔 함량<br>( $\mu$ g/g garlic) |       |
|--------|----------------------------------------|-------------------------------|-------|
|        |                                        | Z-아조엔                         | E-아조엔 |
| 0.1 시간 | 4.0                                    | 284.4                         | 78.7  |
| 1 시간   | 4.3                                    | 356.6                         | 80.0  |
| 6 시간   | 5.2                                    | 290.8                         | 67.0  |
| 18 시간  | 4.2                                    | 219.5                         | 47.9  |

[0056] 표 2 및 도 4에 나타난 바와 같이, 으갠 마늘의 방치시간을 6분 내지 18시간 동안 진행한 후, 에틸아세테이트로 추출 및 분획한 결과, 마늘 1 g으로부터 얻어진 에틸아세테이트 분획물의 회수량은 4.2~5.2 mg 이었고, 분획물 중의 Z-아조엔 함량은 219.5~356.6  $\mu$ g, E-아조엔 함량은 47.9~80.0  $\mu$ g이었다. 이중 으갠 마늘을 1시간 동안 방치한 경우의 아조엔 함량이 가장 높았으며, Z-아조엔 함량은 356.6  $\mu$ g, E-아조엔 함량은 80.0  $\mu$ g으로 가장 우수하였다. 또한, 추출시간에 따른 추출물의 회수량은 큰 변화가 없는 것으로 확인되었다.

[0057] 따라서, 본 발명의 아조엔 함량은 알리나제 효소반응을 1시간 동안 진행할 때, 가장 우수한 수율로 얻을 수 있으므로, 아조엔 추출 수율을 높이는데 유용하다.

[0058] <실험예 3> 추출 온도에 따른 추출물 중 아조엔의 함량변화

[0059] 본 발명의 추출 온도에 따른 마늘 추출물 중 아조엔의 함량변화를 확인하기 위하여 하기 실험을 수행하였다.

[0060] 껍질을 벗긴 알마늘 5g을 물로 세척하여 이물질을 제거하여 으개 실온에서 1시간 동안 알리나제 작용한 후, 에틸아세테이트 10 ml를 가한 후 40 ℃, 60 ℃, 75 ℃ 하에서 1시간 동안 추출하였다. 추출물은 물 10 ml로 분획하고 에틸아세테이트 층에 함유된 아조엔을 HPLC-UV로 정량하였다. 그 결과를 하기 표 3 및 도 5에 나타내었다.

표 3

[0061]

|      | 마늘<br>EtOAc 분획물<br>함량<br>(mg/g garlic) | 아조엔 함량<br>( $\mu$ g/g garlic) |       |
|------|----------------------------------------|-------------------------------|-------|
|      |                                        | Z-아조엔                         | E-아조엔 |
| 40 ℃ | 2.9                                    | 204.8                         | 32.2  |
| 60 ℃ | 3.6                                    | 342.4                         | 71.5  |
| 75 ℃ | 4.0                                    | 274.9                         | 36.1  |

[0062] 표 3 및 도 5에 나타난 바와 같이, 추출 온도에 따른 추출물 중 아조엔의 함량변화는 40 ℃ 내지 75 ℃의 온도에서 에틸아세테이트로 추출하고, 분획한 결과, 마늘 1 g으로부터 얻어진 에틸아세테이트 분획물의 회수량은 2.9~4.0 mg이었고, 분획물 중의 Z-아조엔 함량은 204.8~342.4  $\mu$ g, E-아조엔 함량은 32.2~71.5  $\mu$ g이었다. 이중 60 ℃에서 에틸아세테이트로 추출한 결과, 아조엔 함량이 가장 높았으며, Z-아조엔 함량은 342.4  $\mu$ g, E-아조엔 함량은 71.5  $\mu$ g으로 가장 우수한 것으로 확인되었다.

[0063] 따라서, 본 발명의 아조엔 함량은 60 ℃에서 에틸아세테이트로 추출할 때, 가장 우수한 수율로 얻을 수 있으므로, 아조엔 추출 수율을 높이는데 유용하다.

[0064] <실험예 4> 추출 시간에 따른 추출물 중 아조엔의 함량변화

[0065] 본 발명의 추출 시간에 따른 마늘 추출물 중 아조엔의 함량변화를 확인하기 위하여 하기 실험을 수행하였다.

[0066] 껍질을 벗긴 알마늘 5 g을 물로 세척하여 이물질을 제거하고, 으깨어 실온에서 1시간 동안 알리나제 작용한 후, 에틸아세테이트 10 ml를 가하여 60 ℃에서 0.5, 1, 6, 8, 10시간 동안 추출하였다. 추출물을 물 10 ml로 분획한 후 에틸아세테이트에 함유된 아조엔을 HPLC-UV를 사용하여 정량하였다. 그 결과를 하기 표 4 및 도 6에 나타내었다.

표 4

|        | 마늘<br>EtOAc 분획물<br>함량<br>(mg/g garlic) | 아조엔 함량<br>( $\mu$ g/g garlic) |       |
|--------|----------------------------------------|-------------------------------|-------|
|        |                                        | Z-아조엔                         | E-아조엔 |
| 0.5 시간 | 2.0                                    | 260.3                         | 57.6  |
| 1 시간   | 2.7                                    | 335.6                         | 75.8  |
| 6 시간   | 4.1                                    | 309.8                         | 85.1  |
| 8 시간   | 5.8                                    | 499.2                         | 129.0 |
| 10 시간  | 4.2                                    | 363.7                         | 114.3 |

[0068] 표 4 및 도 6에 나타낸 바와 같이, 추출 시간에 따른 에틸아세테이트 분획물 중 아조엔의 함량변화를 0.5시간 내지 10시간 동안 에틸아세테이트로 추출하고, 분획한 결과, 마늘 1 g으로부터 얻어진 에틸아세테이트 분획물의 회수량은 2.0~5.8 mg이었고, 분획물 중의 Z-아조엔 함량은 260.3~499.2  $\mu$ g, E-아조엔 함량은 57.6~129.0  $\mu$ g 이었다. 이중 8시간 동안 에틸아세테이트로 추출한 결과, 아조엔 함량이 가장 높았으며, Z-아조엔 함량은 499.2  $\mu$ g, E-아조엔 함량은 129.0  $\mu$ g으로 가장 우수하였다.

[0069] 따라서, 본 발명의 마늘 추출물 중의 아조엔 함량은 8시간 동안 에틸아세테이트로 추출할 때, 가장 우수한 수율로 얻을 수 있으므로, 아조엔 추출 수율을 높이는데 유용하다.

[0070] <비교예 1~3> 종래기술에 따라 제조된 마늘 추출물의 아조엔 함량 측정

[0071] 본 발명에 따른 방법이 마늘 추출물 내의 아조엔 함량을 증가시킴을 확인하기 위해 본 발명에 따른 제조방법으로 제조된 마늘 추출물 내의 아조엔 함량과 대한민국 등록특허 제10-0691805호에 개시된 실시예 1 및 3의 방법으로 제조된 마늘 추출물 중의 아조엔 함량을 비교하여 하기 표 5에 나타내었다.

[0072] <비교예 1>

[0073] 마늘 50 g을 으깨어 1일 동안 방치하고 메탄올 50 ml를 가하고 상온에서 12시간 추출한 후 메탄올을 제거하여 추출물을 얻었다. 이를 물 50 ml 에 분산하고 에틸아세테이트 50 ml 로 추출하여 농축하고 에틸아세테이트 분획에 함유된 아조엔을 HPLC로 정량하였다.

[0074] <비교예 2>

[0075] 마늘 50 g을 으깨어 1일 동안 방치하고 메탄올 50 ml로 환류 냉각 조건에서 2시간 추출한 후 메탄올을 제거하여 추출물을 얻었다. 이를 물 50 ml 에 분산하고 에틸아세테이트 50 ml 로 분획하여 농축하고 에틸아세테이트 분획에 함유된 아조엔을 HPLC로 정량하였다.

[0076] <비교예 3>

[0077] 마늘 100 g을 으깨어 1일 동안 방치하고 마늘 즙을 5 g 얻은 다음 물 50 ml 에 분산하고 에틸아세테이트 50 ml 로 추출하여 농축하고 에틸아세테이트 추출물을 얻고, 아조엔을 HPLC로 정량하였다.

표 5

[0078]

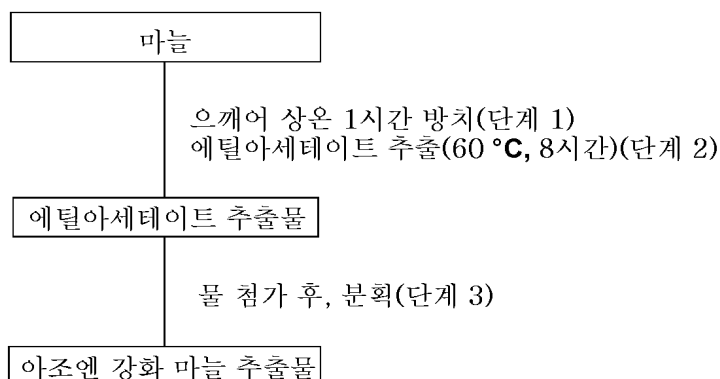
| 추출방법  | 사용된<br>마늘의 무게<br>(g) | 추출물<br>(마늘즙)<br>(g) | EtOAc<br>분획물<br>(mg) | 재료마늘 g당<br>아조엔 회수량(μg) |       |
|-------|----------------------|---------------------|----------------------|------------------------|-------|
|       |                      |                     |                      | Z-아조엔                  | E-아조엔 |
| 실시예 1 | 1000                 | 7.4                 | 4500                 | 504                    | 137   |
| 비교예 1 | 50                   | 19.6                | 15                   | 18                     | 6     |
| 비교예 2 | 50                   | 21.7                | 38                   | <1                     | 5     |
| 비교예 3 | 100                  | 5.2                 | 27                   | 20                     | 8     |

[0079] 표 5에 나타난 바와 같이, 마늘의 에틸아세테이트 분획물 내의 아조엔 함량을 비교한 결과, 마늘재료 1 g당 추출된 아조엔의 양은 종래의 방법으로 제조된 경우, Z-아조엔의 함량은 2~18 μg, E-아조엔의 함량은 5~8 μg이었으며, 비교예 3과 같이 마늘즙을 얻은 경우 마늘즙 내의 Z-아조엔의 함량은 0.04 %, E-아조엔의 함량은 0.016%로 확인되었고, 본 발명의 실시예 1에 따른 방법의 경우 마늘 재료 1 g으로부터 얻어지는 에틸아세테이트 분획물 중 E-아조엔 회수량은 504 μg, Z-아조엔 회수량은 137 μg으로 종래의 방법보다 아조엔 추출효율이 25 배로 증가됨을 확인하였다.

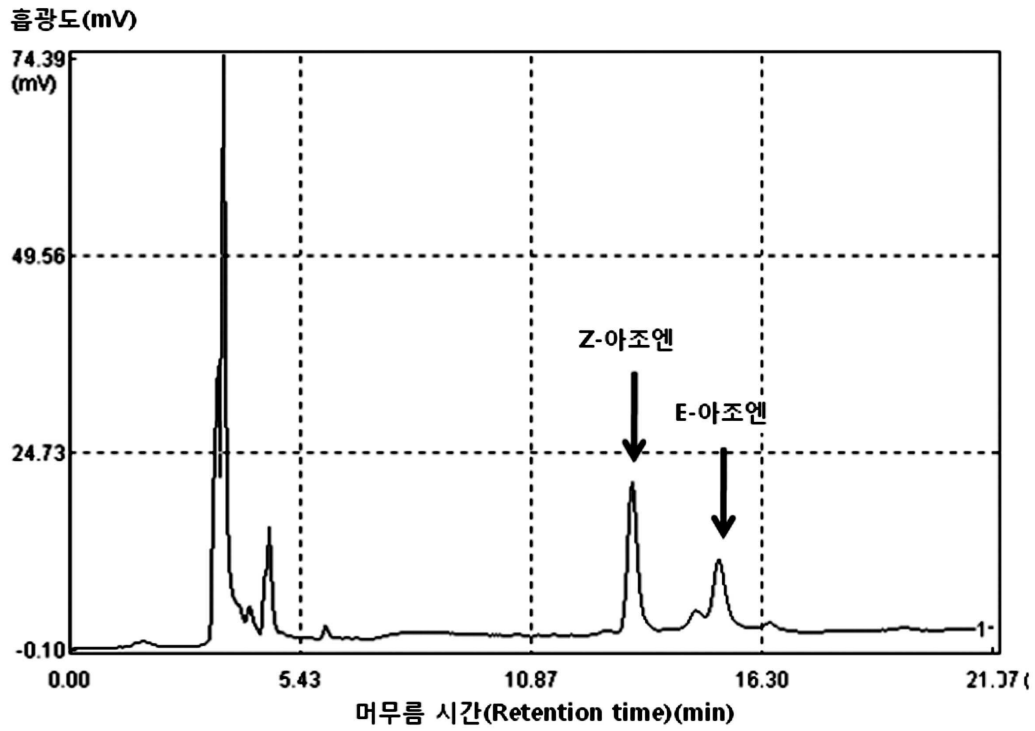
[0080] 본 발명에 따른 아조엔 함량이 강화된 마늘 추출물의 제조방법은 종래 추출방법으로 얻을 수 있는 마늘 추출물 내의 아조엔 함량보다 매우 우수한 수율의 아조엔을 얻을 수 있으며, 제조단계가 간단하여 생산 단가를 절감할 수 있으므로, 아조엔 함량이 증가 된 마늘 추출물의 제조시 유용하게 사용될 수 있다.

## 도면

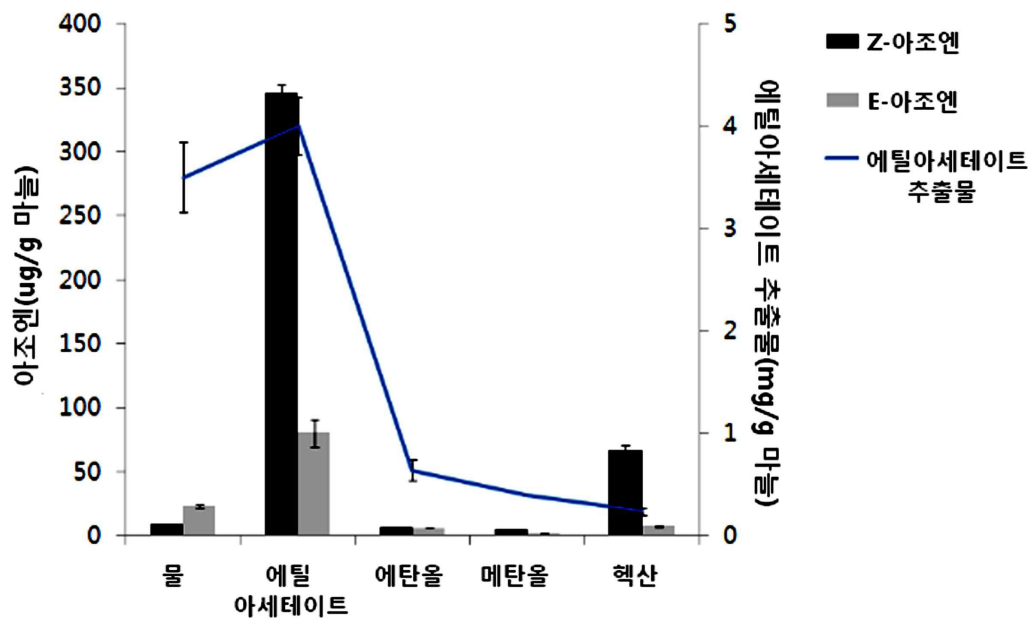
### 도면1



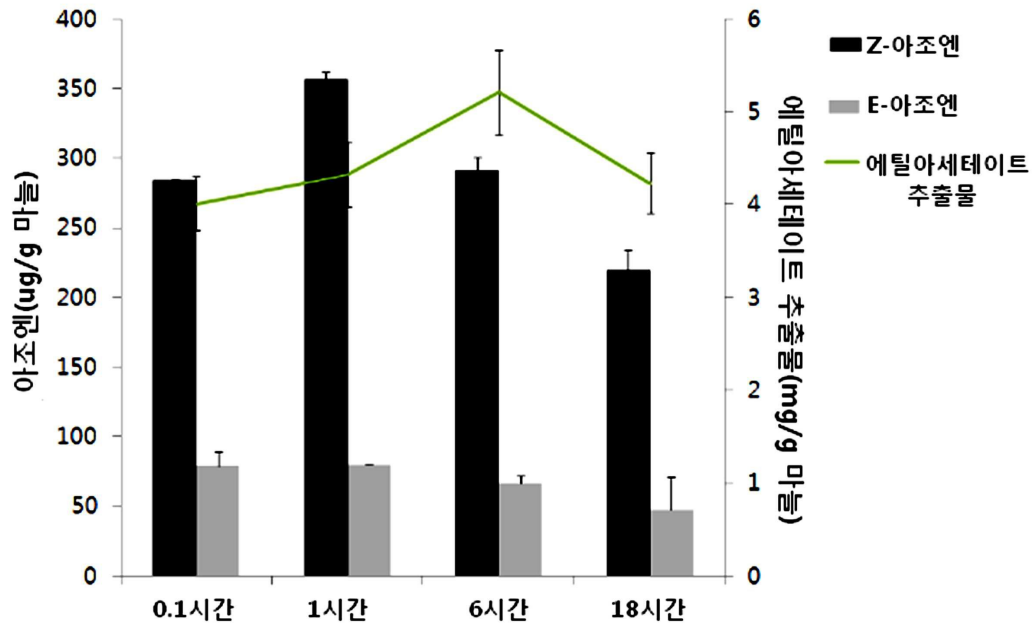
도면2



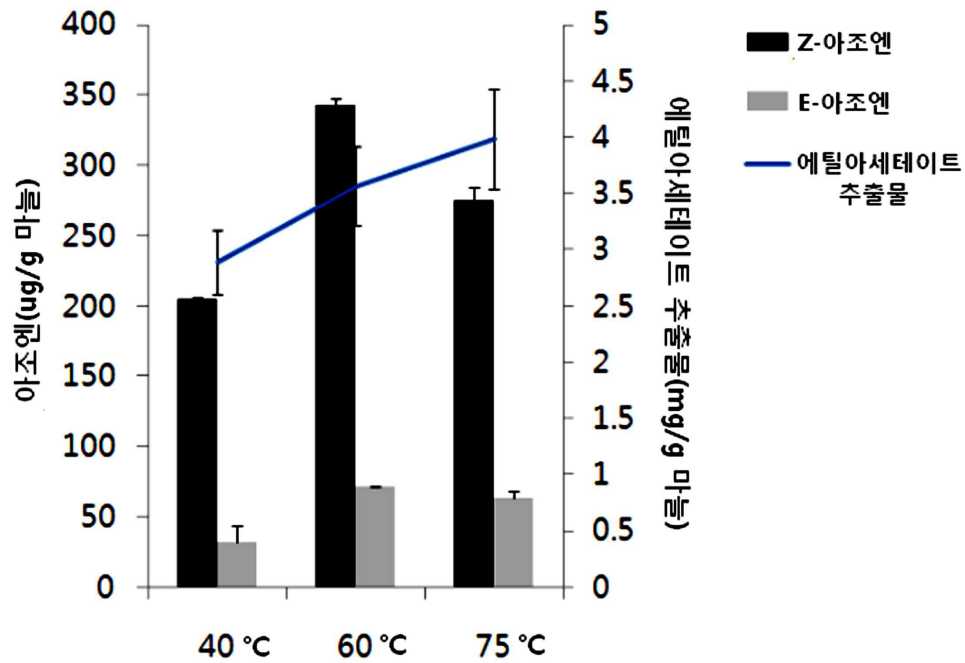
도면3



도면4



도면5



도면6

