



- (51) 국제특허분류:
A23L 1/221 (2006.01) A61K 36/906 (2006.01)
C11B 1/10 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/000437
- (22) 국제출원일: 2012년 1월 18일 (18.01.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2011-0008991 2011년 1월 28일 (28.01.2011) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 한국
보건산업진흥원 (KOREA HEALTH INDUSTRY DE-
VELOPMENT INSTITUTE(KHIDI)) [KR/KR]; 충청북
도 청원군 강외면 연제리 643 번지, 363-951 Chun-
gcheongbukdo (KR). 계명대학교 산학협력단 (IN-
DUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDA-
TION KEIMYUNG UNIVERSITY) [KR/KR]; 대구광역
시 달서구 달구벌대로 1095 계명대학교 성서캠퍼스
대학원 300 호, 704-701 Daegu (KR).
- (72) 발명자: 권
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 양선아 (YANG, Seun
Ah) [KR/KR]; 대구광역시 달성군 다사읍 죽곡리 대실
역 e-편한세상아파트 103 동 409 호, 711-782 Daegu
(KR). 최희돈 (CHOI, Hee Don) [KR/KR]; 서울특별시

송파구 신천동 20 번지 파크리오아파트 225 동 2504
호, 138-240 Seoul (KR). 이은주 (LEE, Eun Ju)
[KR/KR]; 대구광역시 북구 매천동 휴먼시아아파트
211 동 705 호, 702-964 Daegu (KR). 정연섭 (JEONG,
Yeon Seop) [KR/KR]; 대구광역시 달성군 다사읍 박곡
리 159 번지, 711-811 Daegu (KR). 임효권 (IM, Hyo
Gwon) [KR/KR]; 대구광역시 달성군 다사읍 죽곡리 대
실역 e-편한세상아파트 103 동 1810 호, 711-782 Daegu
(KR). 이삼빈 (LEE, Sam Pin) [KR/KR]; 대구광역시 달
서구 이곡동 무지개타운 102 동 306 호, 704-140 Daegu
(KR). 김민주 (KIM, Min Ju) [KR/KR]; 대구광역시 달
서구 신당동 1706-13 번지, 704-921 Daegu (KR). 김형대
(KIM, Hyung Dae) [KR/KR]; 대구광역시 달성군 가창
면 정대 2 리 911 번지(비슬청록농장), 711-864 Daegu
(KR).

(74) 대리인: 이문섭 (LEE, Moon-Sup); 서울특별시 관악구
인현동 1659-2 청동빌딩 301 호, 151-832 Seoul (KR).

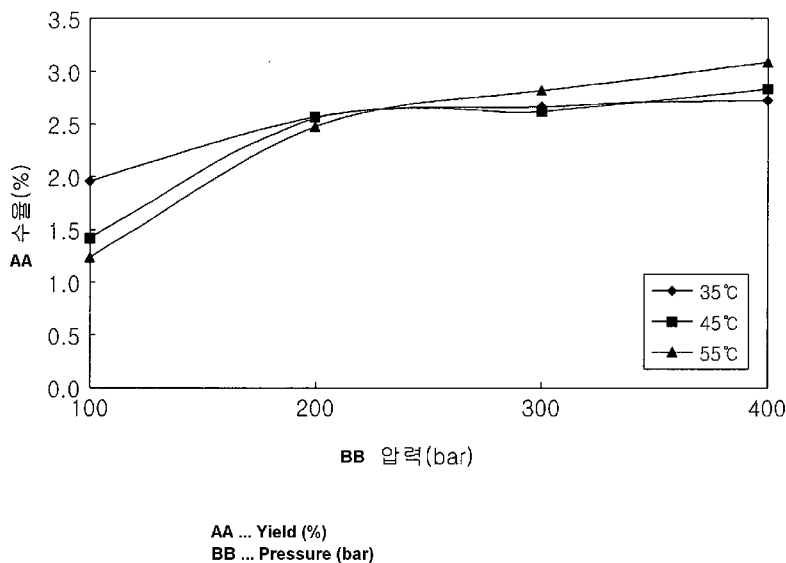
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR,
HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA,
LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE,
PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: GINGER EXTRACT PRODUCTION METHOD AND GINGER EXTRACT OBTAINED THEREBY

(54) 발명의 명칭: 생강 추출물 제조방법 및 이에 따른 생강 추출물

Fig. 1



(57) 요약서:

(57) Abstract: The present invention relates to a supercritical extraction method and to a method for producing ginger extract which has a potent anti-inflammatory effect by using the lees which remain after the extraction and to a ginger extract obtained thereby. More specifically, a method is provided for obtaining an extract with a high gingerol content while not only making it possible to either remove or complement the specific taste and smell of ginger but also affording a high extraction yield in a short time, by subjecting ginger powder to supercritical extraction at a temperature of between 35 and 55°C and a pressure of between 100 and 400 bar at a flow rate of between 1 and 3 mL/min for between 1 and 3 hours, using supercritical carbon dioxide. Also, provided is a method for obtaining a ginger extract having potent anti-inflammatory and anti-allergy activity through the use of ginger lees, by adding 60 to 90% alcohol to the lees which remain after the supercritical extraction, in an amount of between 5 and 15 times (w/v) the weight of the ginger lees, and allowing to stand for between 6 and 36 hours at room temperature.

[다음 쪽 계속]



SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

- (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, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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,

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를
별도 공개함 (규칙 48.2(g))

본 발명은 초임계 추출방법 및 추출후 남은 박을 이용하여 항염 효과가 높은 생강 추출물을 제조하는 방법 및 이에 따
른 생강 추출물에 관한 것으로, 구체적으로는 생강 분말을 초임계 이산화탄소를 이용하여 35~55°C의 온도, 100~400
bar의 압력에서 1~3 mL/min의 유속으로 1~3 시간 동안 초임계 추출함으로써, 생강 특유의 맛과 향기를 제거하거나
보완할 수 있을 뿐 아니라 짧은 시간 안에 추출 수율을 높으면서도 진저롤(gingerol)의 함량이 높은 추출물을 얻는 방법
을 제공한다. 또한, 본 발명은 상기 초임계 추출 후 남은 박을 생강 박 무게에 대하여 5~15 배(w/v)의 60~90% 주정을
가하고 실온에서 6~36 시간 동안 정치시킴으로써, 생강박을 활용하여 항염 및 항알러지 활성이 높은 생강 추출물을
얻는 방법을 제공한다.

【명세서】

【발명의 명칭】

생강 추출물 제조방법 및 이에 따른 생강 추출물

5 【기술분야】

본 발명은 초임계 추출방법 및 추출후 남은 박을 이용하여 항염 및 항알러지 효과가 높은 생강 추출물을 제조하는 방법 및 이에 따른 생강 추출물에 대한 것이다.

10 【배경기술】

생강은 우리나라뿐 아니라 세계적으로 널리 이용되고 있는 향신료의 하나이며 식품의 관능성을 향상시키기 위해 첨가하는 조미성분의 하나로 널리 이용되고 있다. 또한, 생강은 인체에 유익한 여러 가지 성분이 함유되어 있어 차(tea)나 약재로 널리 쓰여 왔다.

15 생강은 생강과에 속하는 아열대 및 열대성 다년생 식물로서 근경을 주로 이용하여, 특유의 향과 매운 맛이 있어서 오랫동안 향신료로 사용되어 왔다. 한방에서는 생강의 뿌리줄기 말린 것을 건강이라는 약재로 쓰고 있다. 건강은 소화불량 구토설사에 효과가 있고, 혈액순환을 촉진하며 항염증과 진통효과가 있다.

20 생강의 4분의 3정도는 수분이며 전체 고형분의 40~60%는 전분이 차지하고 있다. 정유성분으로는 진기베롤(zingiberol), 진기베렌(zingiberene) 등이 함유되어 있으며, 특히 성분으로는 6-진저롤(gingerol, 0.1~0.3%), 8-진저롤(gingerol), 10-진저롤(gingerol), 진저론(zingerone), 6-쇼가올(6-shogaol, 0.04%), 감마-아미노부티르산(gamma-aminobutyric
25 acid) 등이 있다.

초임계 유체에 의한 천연물의 추출은 많은 관심의 대상이 되고 있다. 초임계 유체를 이용하는 추출 및 분리기술은 임계점 부근 또는 임계점을 초월하는 영역에서 초임계 유체의 특이한 물리적 특성을 이용하여 혼합성분
30 중 특정성분을 선택적으로 추출하는 분리기술의 하나이다.

혼합물에서 특정성분을 분리하는 방법에는 구성성분의 휘발도 차이를

이용하는 증류법과 특정 용매에 대한 용해도 차이를 이용하는 용매추출법 등이 있다. 증류법은 높은 비점에서 조작됨으로 천연물의 증류에서는 고온에 의한 유효성분의 분해와 파괴 등이 문제가 된다. 용매추출법은 적절한 유기용제의 선정, 추출상에 유기용제의 잔존 및 제거공정의 필요, 낮은 분리효과 등의 어려움이 수반된다. 그러나 초임계 유체 추출법은 증류법에 비하여 임계온도 부근의 저온에서 조작이 가능하므로 저에너지 소비공정이며 천연물과 같이 열에 민감한 물질에 적용하기 좋다. 또 용매추출법과 비교하여 불 때 초임계 유체는 확산계수가 크고 점도가 낮아 추출속도가 빠르며 상분리가 용이하여 용매추출법처럼 잔존용매의 제거공정이 필요 없다.

생강은 여러 기능성을 나타내지만 이를 활용한 다양한 기능성 식품이나 염증 치료용 약학 조성물을 개발하고자 할 때 기호적으로 양호하지 않은 맛과 특유의 향기 특성을 나타내기 때문에 제약이 따른다.

따라서 생강 특유의 맛과 향기를 제거하거나 보완할 수 있을 뿐 아니라 짧은 시간 안에 추출 수율을 높으면서도 항염 활성성분 중 하나인 진저롤(gingerol)의 함량이 높은 추출물을 얻는 추출방법의 개발이 필요한 실정이다. 또한, 생강 추출물뿐 아니라 생강을 초임계 추출하고 남은 생강박의 활용방법에 대한 개발이 필요하다.

이에 본 발명자들은 종래기술의 문제점을 해결하기 위해 예의 연구한 결과, 초임계 추출법을 이용하면 진저롤의 함량의 높은 생강 추출물을 제조할 수 있을뿐만 아니라, 초임계 생강 추출물과 남은 생강박의 추출물이 높은 항염 및 항알러지 활성을 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

본 발명은 생강 분말을 초임계 이산화탄소를 이용하여 35 ~ 55℃의 온도, 100~ 400 bar의 압력에서 1 ~ 3 mL/min의 유속으로 1 ~ 3 시간 동안 초임계 추출하여 생강유를 얻는 것을 특징으로 하는 생강 추출물 제조방법을 제공한다.

본 발명은 또한, 상기 생강유를 얻은 후 남은 박을 생강 박 무게에 대하여 5 ~ 15배(w/v)의 60 ~ 90% 주정을 가하고 실온에서 6 ~ 36시간 동안 정치하는 것을 특징으로 하는 생강 추출물 제조방법을 제공한다.

5 본 발명은 생강 특유의 맛과 향기를 제거하거나 보완할 수 있을 뿐 아니라 짧은 시간 안에 추출 수율이 높으면서도 진저롤(gingerol)의 함량이 높은 추출물을 얻을 수 있는 생강 추출물 제조방법을 제공한다.

10 본 발명은 생강을 초임계 추출하고 남은 생강박을 활용하여 항염 및 항알러지 활성이 높은 생강 추출물, 또는 이를 이용한 항염 및 항알러지 용도를 제공한다.

【기술적 해결방법】

15 이에 본 발명은 바람직한 제1구현예로서 (S1) 생강 분말을 준비하는 단계; 및 (S2) 생강 분말을 초임계 이산화탄소를 이용하여 35 ~ 55℃의 온도, 100~ 400 bar의 압력에서 1 ~ 3 mL/min의 유속으로 1 ~ 3 시간 동안 초임계 추출법으로 추출하여 생강유를 얻는 단계;를 포함하는 생강 추출물 제조방법을 제공한다.

20 상기 구현예에 의한 생강 초임계 추출물 제조방법에서, (S1) 단계에서의 생강 분말은 평균 입도가 50 ~ 500 μm 인 생강 추출물 제조방법을 제공한다.

25 상기 구현예에 의한 생강 초임계 추출물 제조방법에서, 추출 수율이 2.5 ~ 3.0중량%인 생강 추출물 제조방법을 제공한다.

30 상기 구현예에 의한 생강 초임계 추출물 제조방법에서, (S2) 단계 이후에 (S3) 생강유를 얻은 후 남은 박을 생강 박 무게에 대하여 5 ~ 15배(w/v)의 60 ~ 90% 주정을 가하고 실온에서 6 ~ 36시간 동안 정치하는 단계; 및 (S4) 여과 및 농축하는 단계;를 더 포함하는 생강 추출물 제조방법을 제공한다.

본 발명은 바람직한 제2구현예로서 상기의 제조방법에 따라 제조된 생강 추출물을 제공한다.

상기 제2구현예에 의한 생강 초임계 추출물에서, 진저롤(gingerol)의 함량이 21 ~ 25중량%인 생강 추출물을 제공한다.

상기 제2구현예에 의한 생강 추출물에서, 10 ~ 100 μ g/mL의 농도에서 NO(Nitric Oxide) 생성 억제 효과가 50 ~ 98%인 생강 추출물을 제공한다.

본 발명은 바람직한 제3구현예로서 상기 생강 추출물을 포함하는 항염증 조성물을 제공한다.

본 발명은 바람직한 제4구현예로서 상기 생강 추출물을 포함하는 항알러지 조성물을 제공한다.

이하, 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

본 발명은 초임계 추출방법을 이용하여 항염 효과가 높은 생강 추출물을 제조하는 방법 및 이에 따른 생강 추출물을 제공하는 것으로, 특히 생강 분말을 초임계 이산화탄소를 이용하여 35 ~ 55 $^{\circ}$ C의 온도, 100~400 bar의 압력에서 1 ~ 3 mL/min의 유속으로 1 ~ 3 시간 동안 초임계 추출함으로써, 생강 특유의 맛과 향기를 제거하거나 보완할 수 있을 뿐 아니라 짧은 시간 안에 추출 수율이 높으면서도 진저롤(gingerol)의 함량이 높은 추출물을 얻는 방법을 제공한다. 상기 각각의 조건들이 범위를 벗어날 경우, 추출 수율이 낮아지거나 추출 수율이 더 이상 증가하지 않아 경제적으로 바람직하지 못하다.

또한, 본 발명은 상기 초임계 추출 후 남은 생강 박을 박 무게에 대하여 5 ~ 15배(w/v)의 60 ~ 90% 주정을 가하고 실온에서 6 ~ 36시간 동안 정치시킴으로써, 생강박을 활용하여 항염 활성이 높은 생강 추출물을 얻는 방법을 제공한다. 여기서, 주정은 에탄올(Ethanol) 또는 에틸알코올(Ethyle Alcohol)과 동일한 의미로 사용되며, 주정은 곡물을

원료로 미생물이나 효소에 의해 발효하여 증류 생산한 발효주정과 석유나 석탄에서 얻은 에틸렌을 원료로 하여 생산한 합성주정으로 구분될 수 있다.

이를 위하여 본 발명은 (S1) 생강 분말을 준비하는 단계; 및 (S2) 생강 분말을 초임계 이산화탄소를 이용하여 35 ~ 55℃의 온도, 100 ~ 400 bar의 압력에서 1 ~ 3 mL/min의 유속으로 1 ~ 3 시간 동안 초임계 추출법으로 추출하여 생강유를 얻는 단계;를 포함하는 생강 추출물 제조방법을 제공한다.

먼저, (S1) 단계에서는 생강 분말을 준비한다. 생강 분말은 평균 입도가 50 ~ 500 μm 인 것이 추출속도가 높으므로 바람직하다.

(S2) 단계에서는 상기 생강 분말을 초임계 이산화탄소를 이용하여 35 ~ 55℃의 온도, 100 ~ 400 bar의 압력에서 1 ~ 3 mL/min의 유속으로 1 ~ 3 시간 동안 초임계 추출법으로 추출한다.

상기 추출방법에 의하면 생강유(생강 초임계 추출물)를 짧은 시간 안에 2.5 ~ 3.0중량%의 수율로 얻을 수 있다.

그리고, 상기 추출방법에 의하면 항염 활성성분 중 하나인 진저롤(gingerol)의 함량이 21 ~ 25중량%인 생강 추출물을 얻을 수 있다. 즉, 상기 조건으로 생강 분말을 초임계 추출하는 경우 생강 특유의 맛과 향기를 제거하거나 보완할 수 있을 뿐 아니라 짧은 시간 안에 추출 수율을 높으면서도 진저롤(gingerol)의 함량이 높은 추출물(생강유)을 얻을 수 있다.

또한, 본 발명의 생강 추출물 제조방법은 상기 (S2) 단계 이후에, (S3) 생강유를 얻은 후 남은 박을 생강 박 무게에 대하여 5 ~ 15배(w/v)의 60 ~ 90% 주정을 가하고 실온에서 6 ~ 36시간 동안 정치하는 단계; 및 (S4) 여과 및 농축하는 단계;를 더 포함할 수 있다.

그리고, 상기 방법에 의하면 생강을 초임계 추출하고 생강박을 활용하여 10 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 NO(Nitric Oxide) 생성 억제 효과가 50 ~ 98%인 생강 추출물을 얻을 수 있다. 즉, 상기 추출방법에 의하면 생강을

초임계 추출하고 남은 생강박을 활용하여 항염 및 항알러지 활성이 높은 생강 추출물을 얻을 수 있다.

염증반응이 일어나면 여러 가지 염증인자들(proinflammatory mediators)이 만들어지는데, 염증인자에는 inducible nitric oxide synthase(iNOS)에 의해서 만들어지는 NO(Nitric Oxide)와 cyclooxygenase-2(COX-2)에 의해서 만들어지는 prostaglandin E₂(PGE₂) 등이 있다. 이러한 염증 인자는 염증반응의 전사인자인 nuclear factor- κ B(NF- κ B)를 활성화시키며, 그 결과 과량의 NO와 PGE₂를 생성하여 염증을 일으킨다. 따라서, NO(Nitric Oxide)의 생성을 억제하면 염증 반응을 억제할 수 있게 된다.

제 1형 과민반응은 비만세포에 의해 매개되는 알러지 반응으로서, 예기치 못한 알러젠에 의해 비만세포가 활성화 되어 탈 과립 되면서 히스타민등과 같은 여러 가지 매개체들을 분비하면서 과도하게 면역반응을 유도하게 된다. 본 발명에서는 생강 추출물을 이용하여 비만세포에서의 탈과립 억제 효과를 측정하였다. 그 결과 본 발명에 따른 생강 추출물이 탈과립의 표지인 β -hexosaminidase의 방출량을 농도 의존적으로 억제하는 것을 관찰하였다. 이러한 결과는 본 발명에 따른 생강 추출물 항 알러지 약물의 개발에 잠재적인 후보물질이 될 수 있음을 시사한다.

다음으로, 본 발명은 상기한 생강 추출물 제조방법에 따른 생강 추출물을 포함하는 항염증 조성물을 제공한다. 본 발명의 실시예에서는 본 발명에 따른 생강 추출물이 염증인자인 NO(Nitric Oxide) 생성 억제 효과 및 항염증성 단백질인 heme oxygenase(HO)-1의 발현 증가 효과가 우수함을 입증하였다.

다음으로, 본 발명은 상기한 생강 추출물 제조방법에 따른 생강 추출물을 포함하는 항알러지 조성물을 제공한다. 본 발명의 실시예에서는 본 발명에 따른 생강 추출물이 알러지 반응을 일으키는 비만세포 탈과립의 마커 효소인 β -hexosaminidase의 방출 억제 효과가 우수함을 입증하였다.

상기 항염증 또는 항알러지 조성물은 기능성 화장품 조성물, 약학 조성물, 식품 조성물 등 다양한 산업 분야에 활용될 수 있어 매우 유용한 발명이다.

5 본 발명의 기능성 화장품 조성물에 포함되는 성분은 유효 성분으로서의 생강 추출물 이외에 화장품 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함하며, 예컨대 용매, 안정화제, 용해화제, 유화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함할 수 있다.

10 본 발명의 화장품 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으나, 바람직하게는, 화장수, 영양로션, 영양크림, 맛사지크림, 영양에센스, 팩, 메이크업베이스, 파운데이션, 바디오일, 헤어오일, 샴푸, 린스로 구성된 군에서 선택된 제형으로 제조되는 것을 특징으로 한다. 이러한 화장품 조성물의 제형예에 상관없이 본 발명의 생강 추출물을 함유하는 한 본 발명의 항염증효과 및 항알러지효과를
15 가지며, 피부에 발생한 자유라디칼을 소거하고 세포내 항산화계 보호효과가 있어 자유라디칼 등의 작용에 의한 산화에 의하여 발생하는 피부 노화의 예방 및 지연 효과를 발휘할 수 있다.

20 본 발명의 약학적 조성물은 정제, 발포성 정제, 캡슐제, 과립제, 산제, 서방성 정제, 서방성 캡슐제(단독 및 복합 단위 제제), 정맥 내 및 근육 내 주사용 앰플제 형태의 주사제, 현탁액, 좌제, 또는 기타 적합한 약제학적 형태로 투여할 수 있다.

25 상기 약학적 조성물을 함유하는 약제학적 제제를 제조하기 위해서, 생강 추출물은 생리학적으로 내성이 있는 부형제 및/또는 희석제 및/또는 보조제와 함께 바람직한 방식으로 지시된 양으로 제형화될 수 있다. 적합한 부형제 및 보조제의 예는 다음 문헌을 참조할 수 있다(Dr. H.P. Fiedler "Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete" [Encyclopaedia of auxiliaries for pharmacy, cosmetics and related fields]).

30 본 발명의 약학적 조성물은 항염 및 항알러지의 치료 또는 예방을 필요로 하는 개체에 약학적 유효량으로 투여될 수 있으며, 상기 유효량은

바람직하게는 상기 활성성분인 생강 추출물을 기준으로 성인에게 1 μ g/kg/일 내지 400mg/kg/일 투여할 수 있으며, 질병의 심각정도에 따라 증감할 수 있다.

5 【유리한 효과】

본 발명은 생강을 특정 조건으로 초임계 추출함으로써 생강 특유의 맛과 향기를 제거하거나 보완할 수 있을 뿐 아니라 짧은 시간 안에 추출 수율을 높으면서도 진저롤(gingerol)의 함량이 높은 추출물을 얻을 수 있어 식품산업에 매우 유용한 발명이다. 또한, 본 발명은 상기 초임계 추출 후
10 남은 생강박을 활용하여 항염 및 항알러지 활성이 높은 생강 추출물을 얻을 수 있다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따라 생강의 초임계 추출
15 온도와 압력별 수율 변화를 나타내는 그래프이다.

도 2는 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따라 35℃의 온도에서 압력을 달리하여 추출한 생강 추출물의 외관을 나타내는 사진이다.

도 3은 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따라 초임계 추출 온도와 압력을 달리하여 추출한 생강 추출물의 항산화 활성을 비교하여 나타낸
20 그래프이다. 이때, 도 3a는 35℃에서 초임계 추출한 생강 추출물의 항산화 활성을 나타낸 것이고, 도 3b는 45℃, 도 3c는 55℃에서 초임계 추출한 생강 추출물의 항산화 활성을 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따른 생강 초임계 추출물의 세포독성 및 NO 소거능을 나타내는 그래프이다. 구체적으로, 도 4a는 생강
25 초임계 추출물의 세포독성을 나타내는 그래프이고, 도 4b는 생강 초임계 추출물의 NO 소거능을 나타내는 그래프이다.

도 5는 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따른 생강 초임계 박추출물의 세포독성 및 NO 소거능을 나타내는 그래프이다. 구체적으로, 도 5a는 생강 초임계 박추출물의 세포독성을 나타내는 그래프이고, 도 5b는
30 생강 초임계 박추출물의 NO 소거능을 나타내는 그래프이다.

도 6은 본 발명의 바람직한 비교예에 따른 생강 에탄올 추출물의

세포독성 및 NO 소거능을 나타내는 그래프이다. 구체적으로, 도 6a는 생강 에탄올 추출물의 세포독성을 나타내는 그래프이고, 도 6b는 생강 에탄올 추출물의 NO 소거능을 나타내는 그래프이다.

도 7은 진저롤(gingerol)의 세포독성 및 NO 소거능을 나타내는 그래프이다. 구체적으로, 도 7a는 진저롤의 세포독성을 나타내는 그래프이고, 도 7b는 진저롤의 NO 소거능을 나타내는 그래프이다.

도 8은 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따른 생강 초임계 박추출물의 heme oxygenase(HO)-1 발현 증가 효과를 나타내는 그래프이다.

도 9은 본 발명의 바람직한 일 실시예에 따른 생강 초임계 추출물 및 박추출물의 beta-hexosaminidase 방출 억제 효과를 나타내는 그래프이다. 구체적으로, 도 9a는 생강 초임계 추출물의 beta-hexosaminidase 방출 억제 효과를 나타내는 그래프이고, 도 9b는 생강 초임계 박추출물의 beta-hexosaminidase 방출 억제 효과를 나타내는 그래프이다.

15 【발명의 실시를 위한 최선의 형태】

이하, 본 발명의 구성을 실시예를 통하여 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 실시예로 한정되는 것은 아니다.

[실시예]

20

실시예 1

초임계유체추출장치(SFT-100XW, Supercritical Fluid Technologies, Inc., Newark, DE, USA)를 사용하였고, 평균입도가 50 ~ 500 μm 인 생강 분말 18g을 100 mL의 용량의 추출조에 넣어 추출하였다. 시료의 추출조건은 35, 45, 55 $^{\circ}\text{C}$ 온도에서 100, 200, 300, 400 bar로 압력을 변화시키며 실시하였고, 이산화탄소의 유속은 2 mL/min로 다이내믹 모드에서 2시간동안 추출하여 추출물을 곧바로 용기(vial)에 받아내었다.

실시예 2

30 실시예 1에서 생강 초임계 추출물(생강유)을 얻고 남은 부산물인 생강박의 무게에 대하여 10배(w/v)의 70% 주정을 가하고 실온에서 24시간

동안 정치하여 생강(박) 추출물을 얻었다.

비교예

5 평균입도가 50 ~ 500 μm 인 생강 분말에 상기 생강 분말 무게에 대하여 10배(w/v)의 70% 주정(에탄올)을 가하고 실온에서 24시간 동안 정치하여 생강 추출물을 얻었다.

[실험예]

10 실험예 1: 생강의 초임계 추출 수율

생강의 초임계 추출 수율은 도 1에 나타낸 바와 같이 동일한 온도에서는 압력이 증가할수록 증가하는 것으로 나타났으며, 100 bar에서는 온도가 35℃에서 55℃로 증가할수록 수율이 1.91%에서 1.07%로 감소한 반면 200~400 bar에서는 온도가 증가할수록 추출수율이 증가하여 55℃의 경우 15 각각 2.41, 2.92, 3.00%를 나타내었다.

실험예 2: 생강 추출물의 색도 및 외관

색도는 color and color difference meter(Color QUEST II, Hunter Lab, USA)를 이용하여 L(lightness), a(redness/greenness), 20 b(yellowness/blueness)값을 측정하였으며, 이때 표준 백색판은 L=92.68, a=-0.81, b=0.86의 값을 가진 것을 사용하였다.

도 2는 35℃에서 압력을 달리하여 추출한 생강 추출물의 외관을 나타낸 것으로, 100 bar에서는 노란색을 나타내었고 압력이 증가할수록 생강 고유의 색소성분이 많이 추출되어 색이 진하여지면서 400 bar에서는 25 붉은 계통의 적갈색을 나타내었다. 또한, 초임계 추출조건에 따른 생강 추출물의 색도 측정 결과 하기 표 1에서 나타낸 바와 같이 모든 온도조건에서 압력이 증가함에 따라 L 값과 b 값이 크게 감소하였으며 특히 b 값의 감소가 큰 것으로 나타나 생강의 색소 추출과 b 값의 관련성이 가장 큰 것을 알 수 있었다.

【표 1】

초임계 추출 온도와 압력별 생강 추출물의 색도

온도(℃)	압력(bar)	색도(Color value)		
		L	a	b
35	100	38.8±1.5	6.6±1.0	26.7±2.3
	200	29.4±0.6	10.0±1.7	10.2±1.9
	300	28.6±0.9	16.7±2.4	9.2±1.9
	400	24.4±1.4	5.0±1.1	0.2±0.9
45	100	44.4±0.9	-0.9±0.3	33.0±1.8
	200	34.0±1.3	14.4±1.0	18.7±2.6
	300	27.7±0.8	14.7±0.7	8.5±1.1
	400	24.7±0.5	6.9±0.7	1.2±0.7
55	100	45.3±3.0	-2.0±0.3	30.9±4.6
	200	35.7±1.2	12.6±0.7	21.8±1.8
	300	24.1±0.7	7.9±1.2	2.8±1.0
	400	21.8±0.7	5.0±0.2	0.6±0.1

실험예 3: 생강 추출물의 진저롤(gingerol) 함량

- 5 생강 초임계 추출물에 함유된 6-진저롤(6-gingerol), 8-진저롤(8-gingerol), 10-진저롤(10-gingerol), 6-쇼가올(6-shogaol) 등의 진저롤(gingerol)의 함량을 HPLC(Jasco Co., Japan)를 이용하여 정량하였다. 컬럼은 Waters symmetry C-8 reversed phase column (150 × 3.9 mm, Cat. No. WATO 54235)을 이용하였고, 이동상은 methanol-water(46:35, v/v)를 10 mL/min의 속도로 용출하였으며, 시료의 검출은 UV detector로 282 nm에서 측정하였다. 분석표준물질인 6-진저롤, 8-진저롤, 10-진저롤, 6-쇼가올은 크로마텍스(Chromadex)사에서 구입하여 사용하였다. 실시예 1의 생강 추출물을 5 mg/mL 농도로 메탄올에 녹인 후 0.45 μm syringe filter(Millipore)로 여과하여 제조하였고 이를 분석용 시료로 사용하였다.

초임계 추출 온도와 압력별 생강 추출물의 진저롤 함량 변화를 측정 한 결과는 하기 표 2에 나타내었다. 진저롤 함량 분포는 6-진저롤이 가장 높은 함량을 나타내었고(10.78~17.17%) 8-진저롤 (2.38~4.08%), 10-진저롤 (1.01~3.07%), 6-쇼가올 (0.64~1.09%)의 순으로 나타났다.

5 추출온도와 상관없이 100 bar에서 가장 낮은 진저롤 함량을 나타내었고 추출온도가 증가할수록 각각 20.00, 18.02, 15.13%로 낮아지는 경향이였다. 반면 200~400 bar의 범위에서는 21.46~24.48%로서 큰 차이가 없는 진저롤(gingerol) 함량을 나타내었다.

10 【표 2】

초임계 추출 온도와 압력별 생강추출물의 진저롤 함량 변화

온도 (℃)	압력 (bar)	진저롤(Gingerol) 함량 (%)				
		6-진저롤	6-쇼가올	8-진저롤	10-진저롤	합계
35	100	15.01	0.71	2.47	1.81	20.00
	200	16.02	1.05	3.67	2.75	23.49
	300	17.17	0.98	4.08	2.25	24.48
	400	16.43	1.09	3.40	2.57	23.49
45	100	12.35	0.88	3.01	1.78	18.02
	200	16.01	0.75	3.19	2.52	22.47
	300	15.33	0.64	3.02	2.47	21.46
	400	15.37	0.66	3.17	2.69	21.89
55	100	10.78	0.96	2.38	1.01	15.13
	200	16.37	0.91	3.62	2.90	23.80
	300	16.21	0.68	3.08	2.54	22.51
	400	15.69	0.76	3.58	3.07	23.10

또한, 실시예2에 따른 생강박 추출물에 함유된 진저롤(gingerol)류의 함량과 비교예에 따른 생강 에탄올 추출물을 극성에 따라 5가지 분획으로

15 분리함 후 각 분획에 함유된 진저롤(gingerol)류의 함량을 HPLC(Jasco Co.,

Japan)를 이용하여 정량하였다. 실험방법은 상기와 동일하게 하였다. 함량 분석 결과는 다음과 같다.

【표 3】

5 생강 에탄올추출물 및 분획물의 주요성분함량 분석

Sample	Content (%)				
	6-gingerol	curcumin	6-shogaol	8-gingerol	10-gingerol
EtOH	1.67	0.15	0.12	0.3	0.19
SFE marc	0.25	-	0.01	0.012	0.03
n-Hexane	24.97	0.9	3.54	6.23	4.76
CHCl ₃	3.74	1.49	0.14	0.37	0.23
EtOAc	0.46	N.D.	0.02	N.D.	N.D.
BuOH	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
H ₂ O	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

SFE marc: 실시예2에 따른 생강박 추출물

N.D.: not detected

표 3의 결과와 같이 헥산층에 진저롤류의 함량이 가장 높았으며, 6-진저롤이 24.97%로 주요 성분임을 알 수 있다. 또한, 생강박 추출물에는
 10 진저롤, 쇼가올류가 매우 낮게 검출되어 초임계 생강유로 효율적으로 추출된 것으로 보인다.

실험예 4: 생강 추출물의 항산화 활성

15 DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) 라디칼 소거능

추출물의 항산화력은 Moreno 등의 방법을 변형한 DPPH 라디칼 소거활성으로 측정하였다. 시료의 free radical 소거활성은 stable radical인 2,20-diphenylpicrylhydrazyl(DPPH)에 대한 환원력을 측정한 것으로 99% 메탄올에 각 시료를 녹여 농도 별로 희석한 희석액 800 μ L와
 20 메탄올에 녹인 0.15 mM DPPH용액 200 μ L를 가하여 30분 방치한 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리 라디칼 소거활성은

시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원 시키는데 필요한 시료의 농도인 RC50값으로 나타내었다. 이때 활성비교를 위하여 BHA를 사용하였다.

5 ABTS 라디칼 소거능

추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 Re 등의 방법을 변형한 방법으로 측정하였다. 2,2'-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS) radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS cation decolorization assay 법에 의해 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를
 10 최종농도로 1:1로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 동안 방치하여 ABTS radical을 형성시키고 732 nm에서 흡광도 값이 0.7 ± 0.02 가 되도록 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.4)로 희석하여 사용하였다. 희석된 시료 990 μ L에 ABTS radical 10 μ L를 넣고 1분 동안 방치한 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리 라디칼 소거활성은 시료를
 15 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC50값으로 나타내었다. 이때 활성비교를 위하여 Trolox를 사용하였다.

20 Linoleic acid와 β -carotene의 coupled oxidation에 대한 항산화 활성

Linoleic acid 60 mg, β -carotene 10 mg 그리고 Tween 80 200 mg과 chloroform 10 mL를 혼합하여 농축시킨 후 증류수 50 mL에 용해하여 용액으로 사용하였다. 혼합용액 1 mL와 증류수 2 mL, 그리고 생강 추출물(20 mg/mL EtOH) 0.05 mL를 혼합한 후 40°C water bath에서 24시간
 25 유지하면서 꺼내어 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. 제조 직후의 흡광도 값을 100으로 하여 측정된 흡광도 값으로부터 항산화 활성을 산출하였다. 이때 생강 추출물 대신 증류수를 0.05 mL 처리한 것을 대조구로 하였다.

초임계 추출 온도와 압력별 생강추출물의 DPPH와 ABTS 라디칼 소거
 30 활성을 측정한 결과는 하기 표 4에 나타낸 바와 같다. 초임계 추출물(생강오일)은 에탄올 추출물과 비교하여 모든 초임계 추출조건에서 매우

낮은 RC50 값(0.24~0.68)을 나타내어 강한 항산화 활성을 갖는 것으로 나타났다. 특히 45℃, 300 bar에서는 각각 RC50 값이 0.09, 0.55 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 높은 항산화 활성을 나타내었다. 또한, 생강 박 추출물의 DPPH와 ABTS 라디칼 소거 활성도 온도와 압력에 따른 항산화 활성의 경향은 뚜렷하지

5 않았으나, 55℃, 100 bar에서 각각 22.87, 20.17 $\mu\text{g/mL}$ 으로 가장 높은 활성을 나타냈다. 한편, Linoleic acid와 β -carotene의 coupled oxidation에 대한 항산화 활성을 측정한 결과는 도 3에 나타낸 바와 같다. 생강 추출물을 첨가하지 않은 대조구의 경우 2시간 경과시 71.1%의 항산화 활성을 갖는 것으로 나타나 짧은 시간에 급격히 산화가 일어남을 알 수

10 있었다. 생강 추출물을 첨가할 경우 처리구에 따라 차이가 있지만 84.4~99.3%의 활성을 나타내어 대조구에 비해 산화가 크게 억제됨을 알 수 있었다. 또한 24시간 경과시에도 대조구가 52.5%의 항산화 활성을 나타내는 반면 생강 추출물 처리시에는 57.3~77.8%의 항산화 활성을 나타내는 것으로 나타났다. DPPH와 ABTS 라디칼 소거 활성과 마찬가지로

15 추출온도에 상관없이 100 bar에서 가장 낮은 항산화 활성을 나타내고 200~400 bar의 범위에서는 큰 차이가 나지 않는 항산화 활성을 갖는 것으로 나타났다. 이와 같은 항산화 활성 결과는 앞에서 기술한 추출물의 진저롤 함량의 경향과 거의 유사한 경향인 것으로 생강 추출물의 항산화 활성이 진저롤 함량과 매우 큰 상관관계가 있음을 알 수 있었다.

20

【표 4】

생강 에탄올 추출물 및 초임계 추출물의 초임계 추출 온도와 압력별 항산화 활성

Extraction condition		DPPH RC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	ABTs RC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
EtOH		43.95 $\pm$ 3.07	74.16 $\pm$ 3.25
35℃	100bar	0.37 $\pm$ 0.65	0.48 $\pm$ 0.05
	200bar	0.55 $\pm$ 0.36	0.40 $\pm$ 0.06
	300bar	0.24 $\pm$ 0.10	0.37 $\pm$ 0.05
	400bar	0.30 $\pm$ 0.17	0.38 $\pm$ 0.07
45℃	100bar	0.61 $\pm$ 0.09	0.58 $\pm$ 0.05

	200bar	0.30±0.10	0.37±0.06
	300bar	0.09±0.03	0.55±0.35
	400bar	0.19±0.03	0.53±0.45
55℃	100bar	0.68±0.03	0.62±0.05
	200bar	0.18±0.01	0.41±0.07
	300bar	0.20±0.03	0.35±0.10
	400bar	0.14±0.02	0.35±0.09
BHA		2.53±1.06	
Trolox			6.12±2.06

EtOH: 비교예에 따른 생강 에탄올 추출물

나머지 추출물: 실시예1에 따른 생강 초임계 추출물

【표 5】

5 생강 초임계 박 추출물의 항산화 활성

Extraction condition		DPPH RC_{50} (μ g/mL)	ABTs RC_{50} (μ g/mL)
35℃	100bar	55.20±22.11	41.77±0.47
	200bar	68.90±5.88	48.71±0.83
	300bar	62.54±14.24	44.53±0.31
	400bar	62.52±12.79	46.60±0.11
45℃	100bar	30.67±6.13	25.31±0.31
	200bar	42.82±4.14	38.92±1.24
	300bar	43.76±3.94	43.36±0.65
	400bar	71.32±6.36	50.44±1.41
55℃	100bar	22.87±3.02	20.17±0.83
	200bar	60.67±13.92	42.79±1.25
	300bar	64.39±13.48	42.92±0.72
	400bar	65.09±13.86	49.51±0.73
BHA		1.62±0.66	
Trolox			5.86±1.83

표 4, 5와 같이, 생강 에탄올 추출물(비교예)과 비교하여 생강 오일(실시예1)의 DPPH-, ABTS- 라디컬 소거능은 매우 높았으며, 박 추출물(실시예2)에서도 100 bar에서 추출한 경우, 특히 항염, 항알러지 실험에 사용한 55℃ 100 bar 추출물에서 가장 높은 라디컬 소거능을

5 확인하였다.

실험예 5: 생강 추출물의 항염증 및 항알러지 효과

(1) 실험방법

1) 세포배양 및 세포 독성 측정

대식세포 계열(murine macrophage cell line)인 RAW 264.7 세포주를 한국 세포주 은행(KCLB, Seoul, Korea)으로부터 분양받았으며, 10% FBS(fetal bovine serum)와 1% 항생제(penicillin/streptomycin)를 첨가한

15 DMEM 배지를 이용하여 5% CO₂가 존재하는 37℃ 인큐베이터에서 1주일에 2~3회 계대 배양하였다.

세포 독성을 MTT 법으로 측정하기 위하여, RAW 264.7 세포 1×10^5 cells/well을 96 well plate에 분주하고, 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 24시간 동안 배양하였다. 배양한 세포를 세럼 프리(serum free) 배지로

20 교체한 후 LPS (100 ng/mL)와 시료(실시예 1, 실시예 2, 비교예)를 각각 처리하여 24시간 배양하여 5 mg/mL의 MTT 용액 10 μ L를 각 well에 넣고 인큐베이터에서 4시간 동안 배양하였다. 배양 종료 후 상등액을 제거하고 각 well에 100 μ L의 DMSO를 첨가하여 생성된 formazan 결정을 용해시켜

25 마이크로플레이트 판독기(microplate reader)로 550 nm에서 흡광도를 측정하였고, 세포독성은 시료의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타내었다.

Rat 유래의 비만세포주(RBL-2H3)에 대한 세포독성능도 MTT 법으로 실험하였다. 본 실험에 사용한 세포주 RBL-2H3 cell은 한국 세포주 은행(Seoul, Korea)을 통해서 분양 받아 계대배양하면서 실험하였다.

30 세포배양에 사용된 배지는 10% FBS (fetal bovine serum)와 1% 항생제(penicillin/streptomycin)를 첨가한 MEM 배지를 이용하여 37℃에서

5% CO₂ 인큐베이터에서 2~3일간 배양한 후 사용하였다.

2) NO(Nitric Oxide) 생성량 측정

시료의 NO(Nitric Oxide) 생성 억제능을 측정하기 위하여, 각
 5 시료(실시에 1, 실시에 2, 비교예)의 추출물 혹은 LPS를 처리한 상기 RAW
 264.7 세포주 배양액을 nitrite 측정을 위해 100 μ L를 96 well plate에
 취하였다. 여기에 동량의 Griess 시약을 넣어 10분간 반응시킨 후
 마이크로플레이트 판독기(microplate reader)를 이용하여 540 nm에서
 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 농도는 질산나트륨(NaNO_2)을 사용하여
 10 얻은 표준 직선과 비교하여 산출하였다.

또한, 비만세포주 RBL-2H3을 1 ml(2×10^5 cells, 24 well plate)에
 anti-DNP IgE($0.45 \mu\text{g/ml}$)로 16시간 감작시키고, DNP-BSA($10 \mu\text{g/mL}$)로
 활성화시키기 전에 30분 동안 37°C에서 농도별 시료를 20 ml 처리하였다.
 반응이 끝난 후 4°C에서 10분간 400 xg에서 원침하여 얻은 상등액 25 μ L를
 15 기질 p-nitrophenyl-N-acetyl-b-D-glucosaminide 25 μ L와 37°C에서 1시간
 반응시킨 후 stop solution(0.1 M NaCO/NaHCO , pH 10) 200 μ L를 가하여
 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하여 b-헥소사미니다제(b-
 hexosaminidase)의 양을 계산하였다.

20 3) Heme oxygenase(HO)-1의 발현량 측정

생강 박 추출물의 항염증성 단백질인 heme oxygenase(HO)-1의 발현에
 대한 효과를 알아보기 위하여, 시료를 농도별로 전 처리 한 RAW 264.7
 cell에 LPS로 염증을 유도하여 항염증 효과가 HO-1의 발현에 의한 것인지
 알아보았다. HO-1항체를 이용하여 western blot 방법으로 분석하였다.

25

4) 베타-헥소사미니다제(beta-hexosaminidase)의 방출량 측정

초임계 박을 사용하여 항 알러지 비만세포주 RBL-2H3을 1 ml($2 \times$
 10cells, 24 well plate)에 anti-DNP IgE($0.45 \mu\text{g/ml}$)로 16시간 감작시키고,
 DNP-BSA($10 \mu\text{g/mL}$)로 활성화시키기 전에 30분 동안 37°C에서 농도별 시료를
 30 20 ml 처리하여 반응이 끝난 후 4°C에서 10분간 400°C에서 원침하여 얻은
 상등액 25 μ L를 기질 p-nitrophenyl-N-acetyl-b -D-glucosaminide 25 μ L와

37℃에서 1시간 반응시킨 후 stop solution(0.1 M NaCO/NaHCO, pH 10) 200 μ l를 가하여 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하여 베타-헥소사미니다제(beta-hexosaminidase)의 양을 계산하였다.

5 (2) 실험 결과

1) 초임계 추출물(생강유)의 세포독성 및 NO 생성 억제 활성 측정

생강의 초임계 추출물(생강유)의 항염증 효과를 측정하기 위해, 100 bar의 압력에서 35, 45, 55℃에서 추출된 생강유(실시예 1)의 NO 소거 활성을 측정하였다. 그 결과, 55℃의 100 μ g/mL 농도에서 약간의 독성이 나타났으며, 추출온도가 높아지면 NO 생성 억제능이 낮아지는 경향을 나타내어 고온에서는 활성을 억제하는 성분도 유출되는 것으로 사료되나, 온도에 의한 유의적인 차는 없었다(도 4). 이와 같이, 35-55℃, 100 bar의 마일드한 조건에서 추출된 생강 초임계 오일에서도 높은 NO 소거능이 나타났다.

2) 초임계 박의 세포독성 측정 및 NO 생성 억제 활성 측정

실시예 2의 생강 추출물의 NO 생성에 대한 억제 효과를 실험하였다. 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이 추출 온도에 비례하여 고농도에서 세포 독성이 나타났으며, NO 소거능도 온도 상승과 함께 증가하는 경향을 나타내어 실시예 1의 생강 추출물과 일치하는 좋은 상관관계를 나타냈다. 10-50 μ g/mL의 농도 구간에서 농도 의존적으로 높은 억제율을 나타내므로, 실시예 1의 생강 추출물과 함께 실시예 2의 초임계 박도 항염증에 높은 효과가 있을 것으로 기대된다.

3) 생강 추출물의 세포독성 및 NO 생성 억제능 측정

비교예의 생강 추출물의 NO 생성에 대한 억제 효과를 실험하였다. 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이 세포 독성은 나타나지 않았으며, NO 소거능은 농도 의존적으로 함께 증가하는 경향을 나타내었다(도 6).

4) 진저롤(Gingerol)의 세포독성 측정 및 NO 생성 억제 활성 측정

생강의 활성 성분으로 알려진 진저롤(gingerol)의 NO 생성에 대한 억제 효과를 테스트 한 결과, 100 $\mu\text{g/mL}$ 까지는 세포 독성이 없었으며 10 $\mu\text{g/mL}$ 에서 50% 정도의 NO 억제능을 나타냈다(도 7).

5 5) Heme oxygenase(HO)-1의 발현량 측정

항염증성 단백질인 heme oxygenase(HO)-1의 발현량을 측정한 결과, 도 8에서 보여지듯이 생강박 추출물은 낮은 농도 구간에서도 항산화, 항알러지 단백질로 알려진 HO-1을 농도 의존적으로 발현시키는 것을 알 수 있다.

10

6) 베타-헥소사미니다제(beta-hexosaminidase)의 방출량 측정

알러지 반응을 일으키는 비만세포 탈과립의 마커 효소인 beta-hexosaminidase의 방출량을 측정한 결과, 도 9a, 9b와 같이, 생강 초임계 추출물과 생강박 추출물의 비만세포 활성 억제 효과를 에탄올 추출물
15 활성과 비교하면 생강 초임계 추출물, 특히 생강박 추출물에서 농도 의존적으로 비만세포 탈과립의 마커 효소인 beta-hexosaminidase의 방출을 유의적으로 억제하는 것을 알 수 있다.

【산업상 이용가능성】

20 이상 살펴본 바와 같이 본 발명은 생강을 특정 조건으로 초임계 추출함으로써 생강 특유의 맛과 향기를 제거하거나 보완할 수 있을 뿐 아니라 짧은 시간 안에 추출 수율을 높으면서도 진저롤(gingerol)의 함량이 높은 추출물을 얻을 수 있어 식품산업에 매우 유용한 발명이다.

또한, 본 발명은 상기 초임계 추출 후 남은 생강박을 활용하여 항염
25 및 항알러지 활성이 높은 생강 추출물을 얻을 수 있다.

이상에서 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 도시하고 또한 설명하였으나, 본 발명은 상기한 실시예에 한정되지 않고, 이하 청구범위에서 청구하는 본 발명의 요지를 벗어남이 없이 당해 발명의
30 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 누구든지 다양한 변형실시가 가능한 물론이며, 그와 같은 변형은 청구범위의 기재 범위 내에 있게 된다.

【청구의 범위】**【청구항 1】**

(S1) 생강 분말을 준비하는 단계; 및

- 5 (S2) 생강 분말을 초임계 이산화탄소를 이용하여 35 ~ 55℃의 온도, 100 ~ 400 bar의 압력에서 1 ~ 3 mL/min의 유속으로 1 ~ 3 시간 동안 초임계 추출법으로 추출하여 생강유를 얻는 단계;를 포함하는 생강 추출물 제조방법.

10 **【청구항 2】**

제1항에 있어서,

(S1) 단계에서의 생강 분말은 평균 입도가 50 ~ 500 μm 인 생강 추출물 제조방법.

15 **【청구항 3】**

제1항에 있어서,

추출 수율이 2.5 ~ 3.0중량%인 생강 추출물 제조방법.

20 **【청구항 4】**

제1항에 있어서, (S2) 단계 이후에

(S3) 생강유를 얻은 후 남은 박을 생강 박 무게에 대하여 5 ~ 15배(w/v)의 60 ~ 90% 주정을 가하고 실온에서 6 ~ 36시간 동안 정치하는 단계; 및

(S4) 여과 및 농축하는 단계;를 더 포함하는 생강 추출물 제조방법.

25

【청구항 5】

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 방법에 따라 제조된 생강 추출물.

【청구항 6】

30

제5항에 있어서,

진저롤(gingerol)의 함량이 21 ~ 25중량%인 생강 추출물.

【청구항 7】

제5항에 있어서,

10 ~ 100 μ g/mL의 농도에서 NO(Nitric Oxide) 생성 억제 효과가 50 ~

5 98%인 생강 추출물.

【청구항 8】

제5항의 생강 추출물을 포함하는 항염증 조성물.

10 **【청구항 9】**

제5항의 생강 추출물을 포함하는 항알러지 조성물.

1/9

Fig. 1

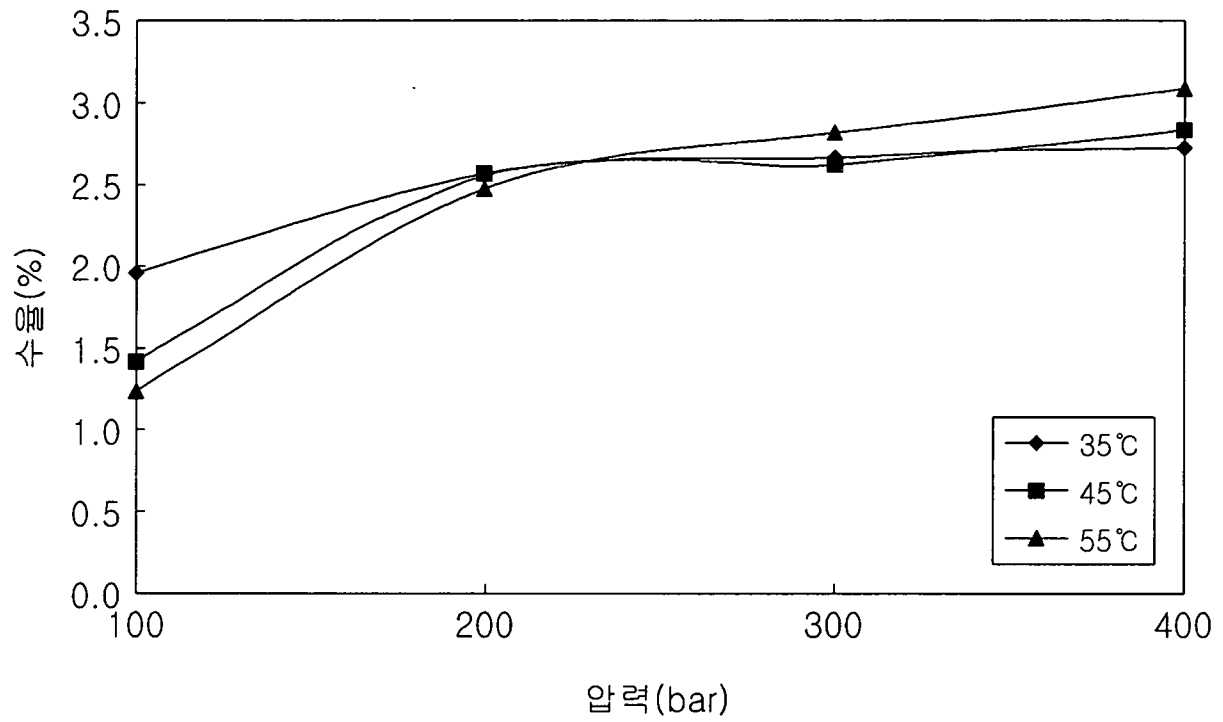
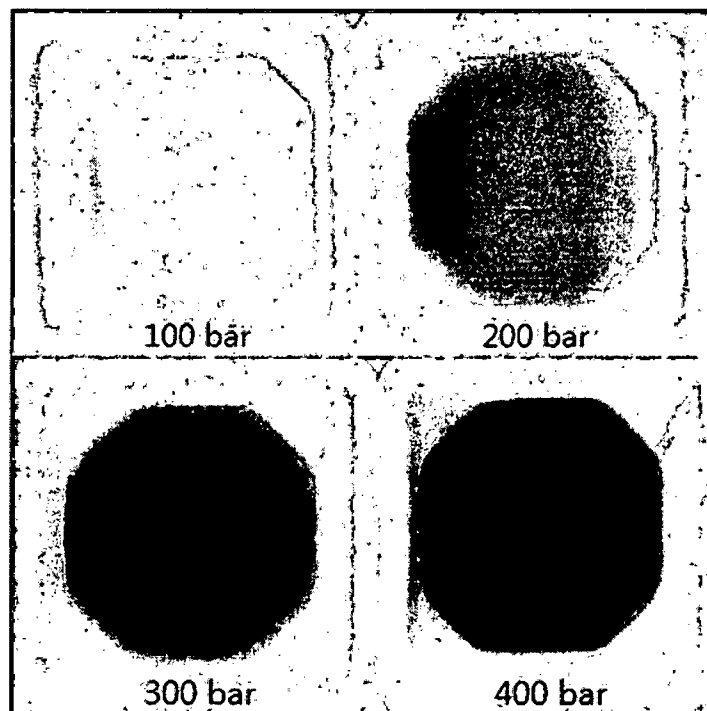
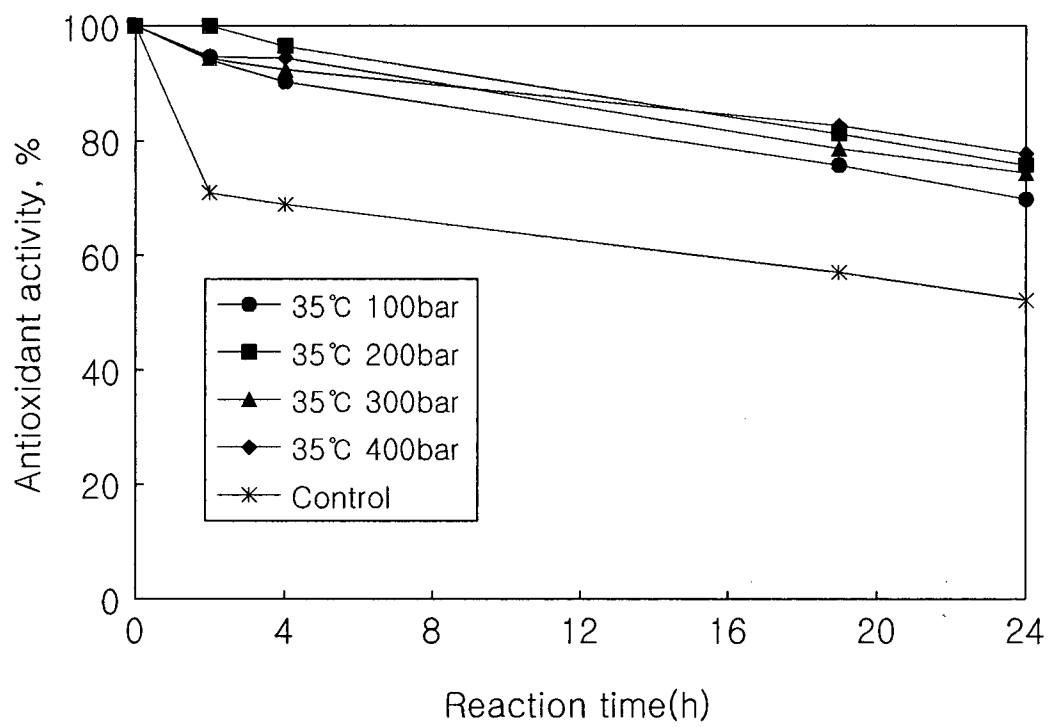
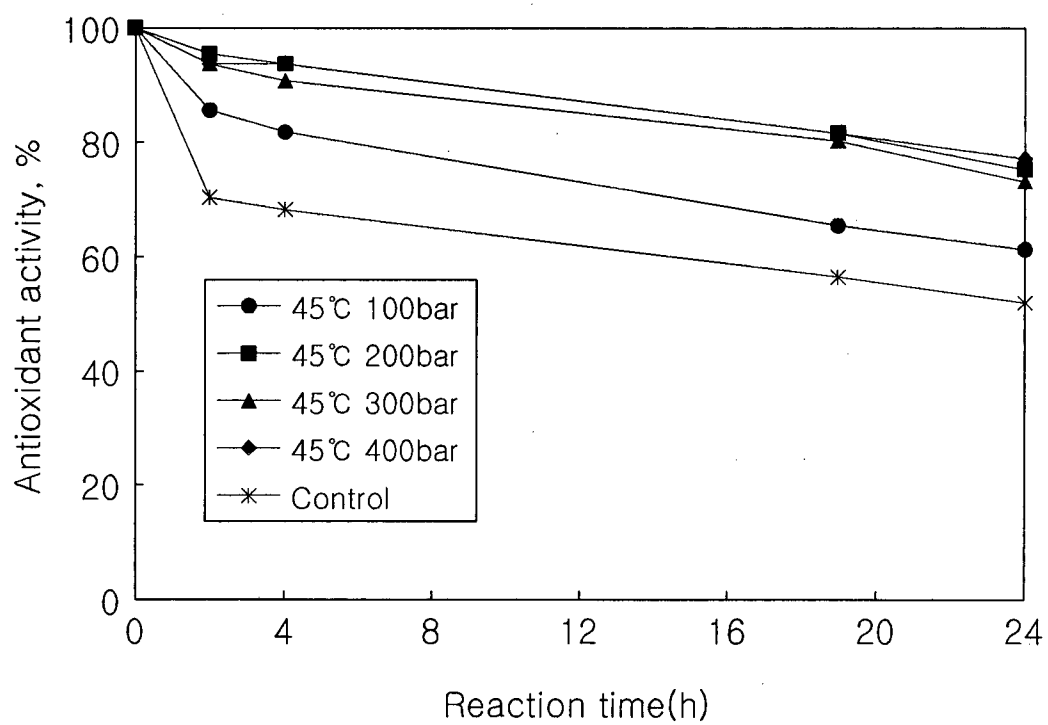


Fig. 2



2/9

Fig. 3a**Fig. 3b**

3/9

Fig. 3c

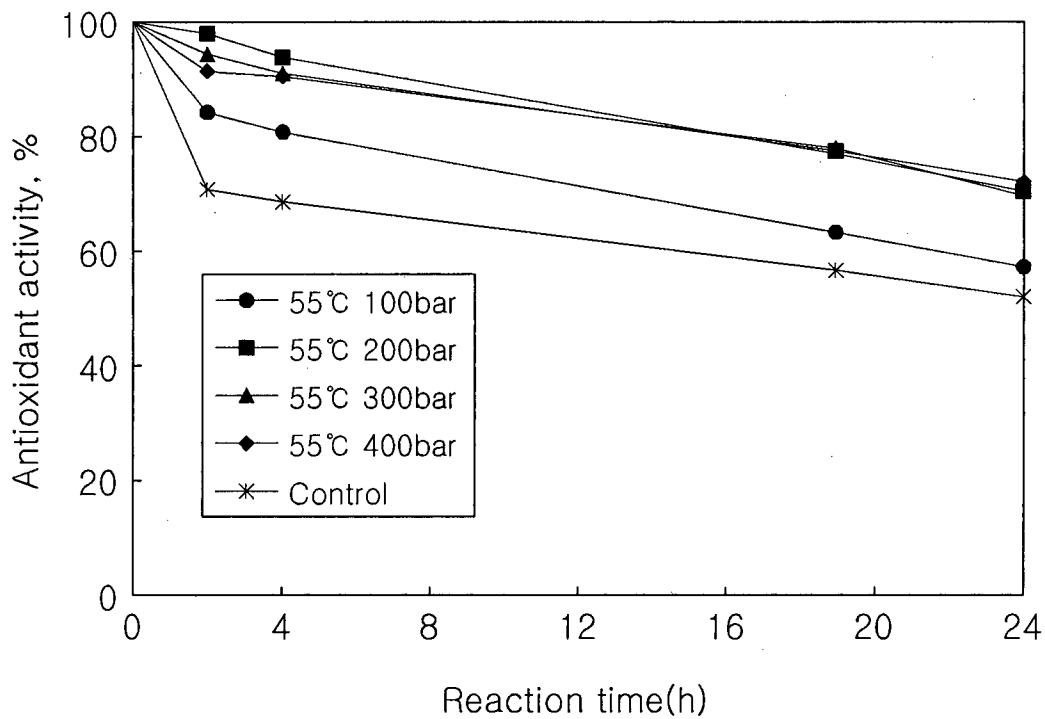
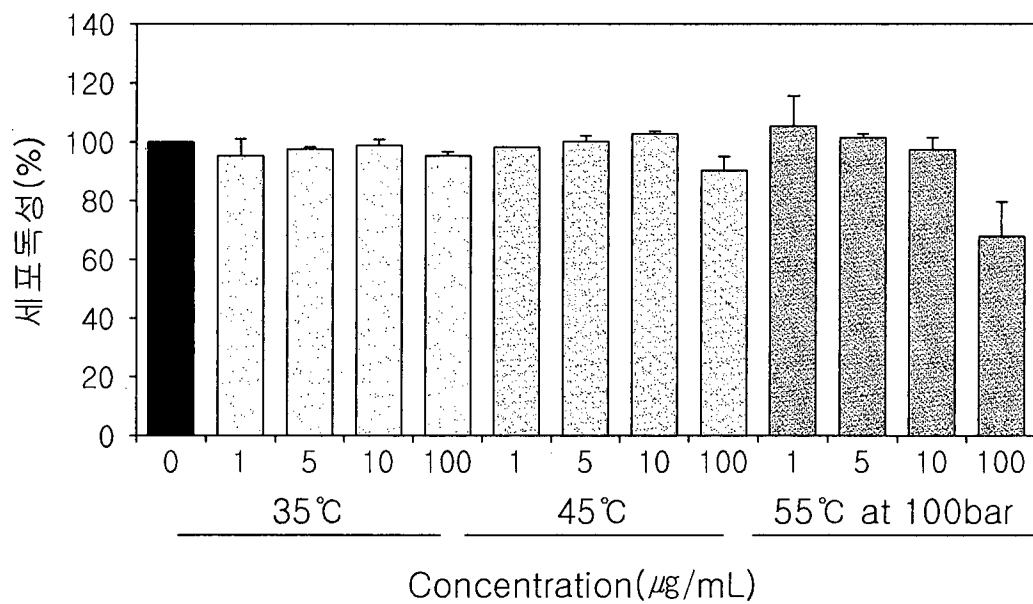


Fig. 4a



4/9

Fig. 4b

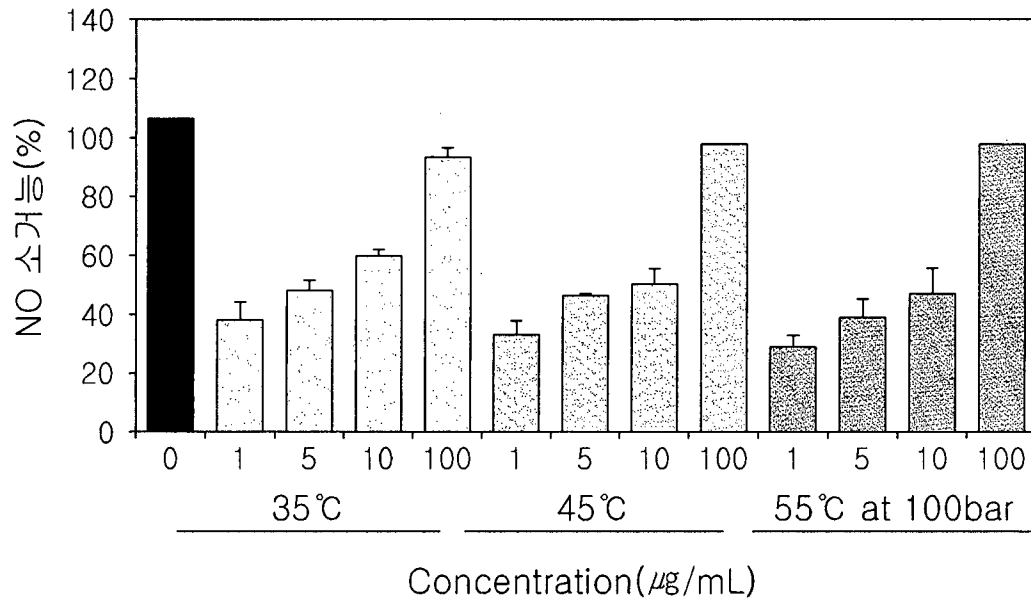
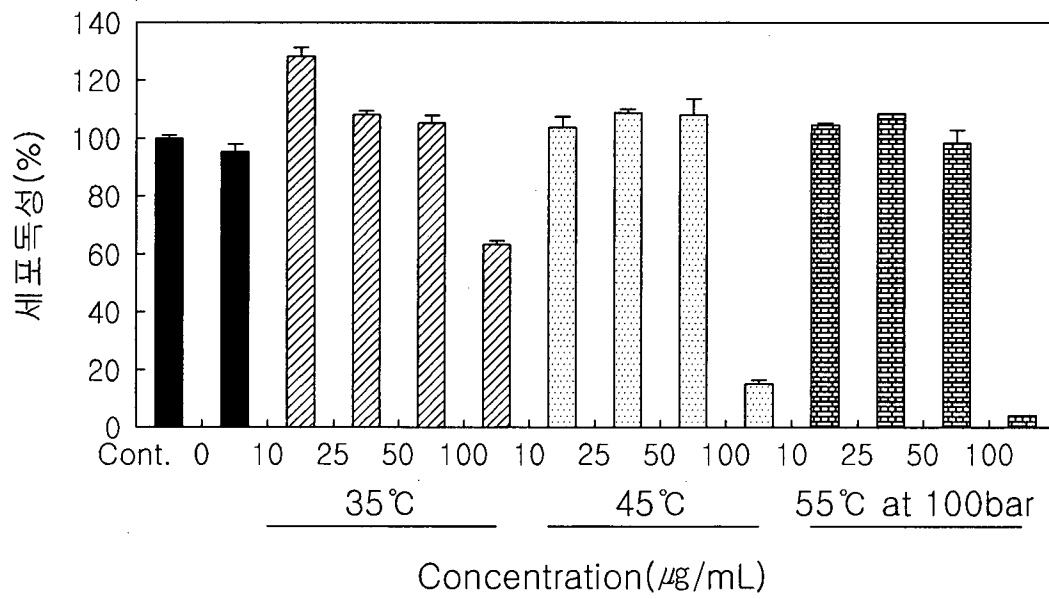
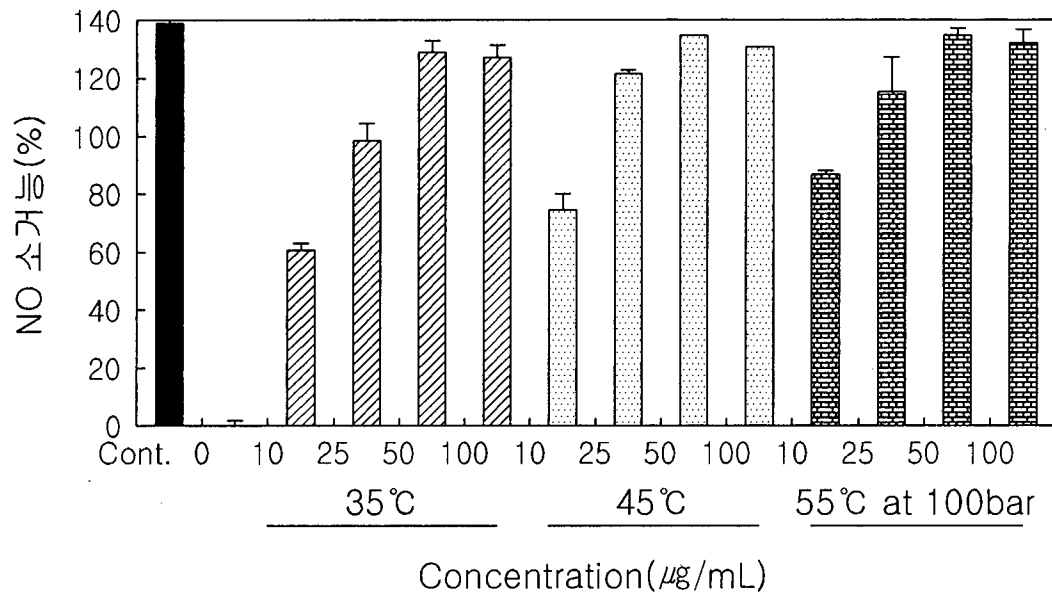
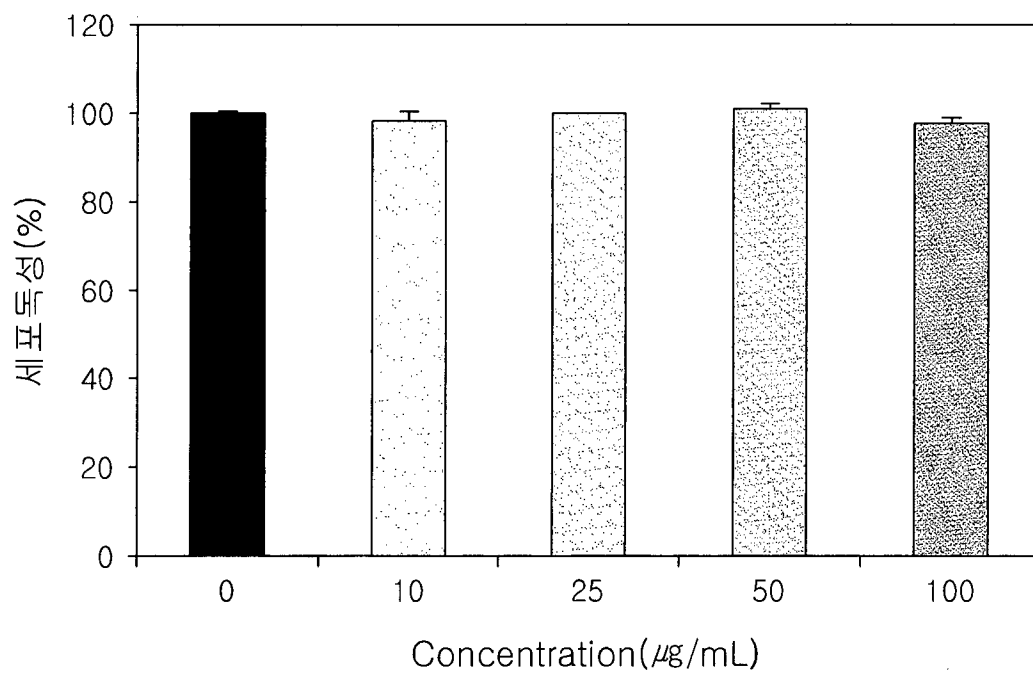


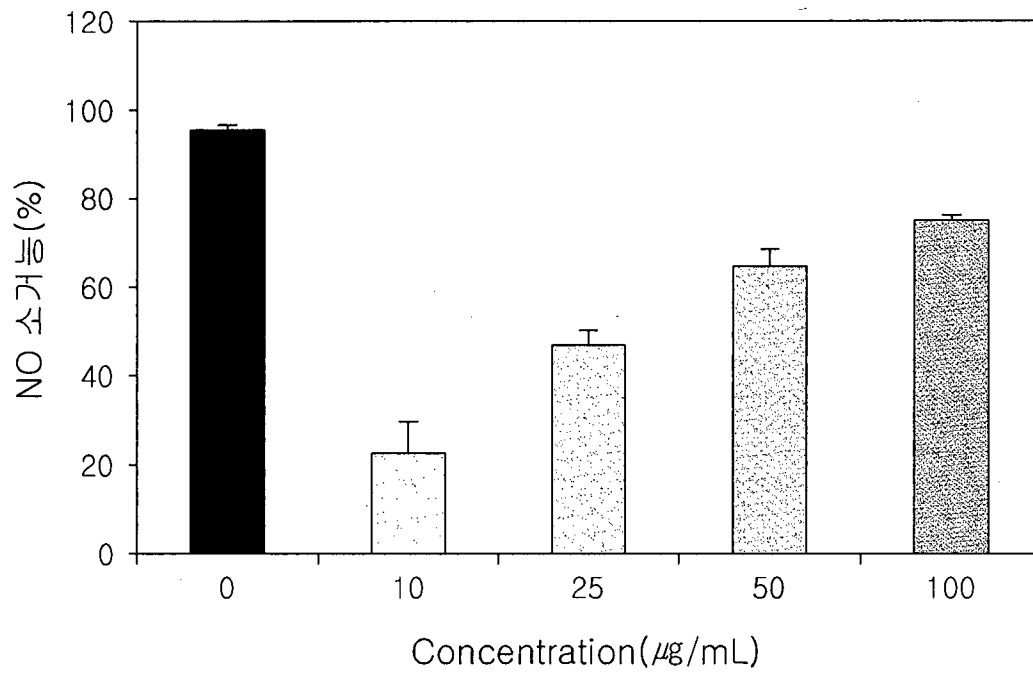
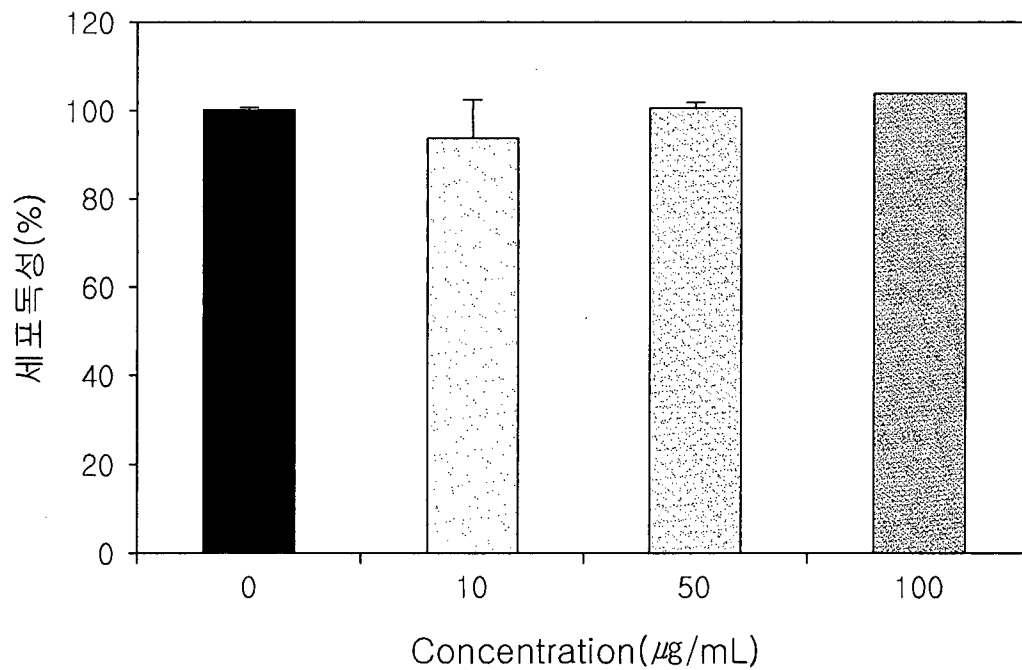
Fig. 5a



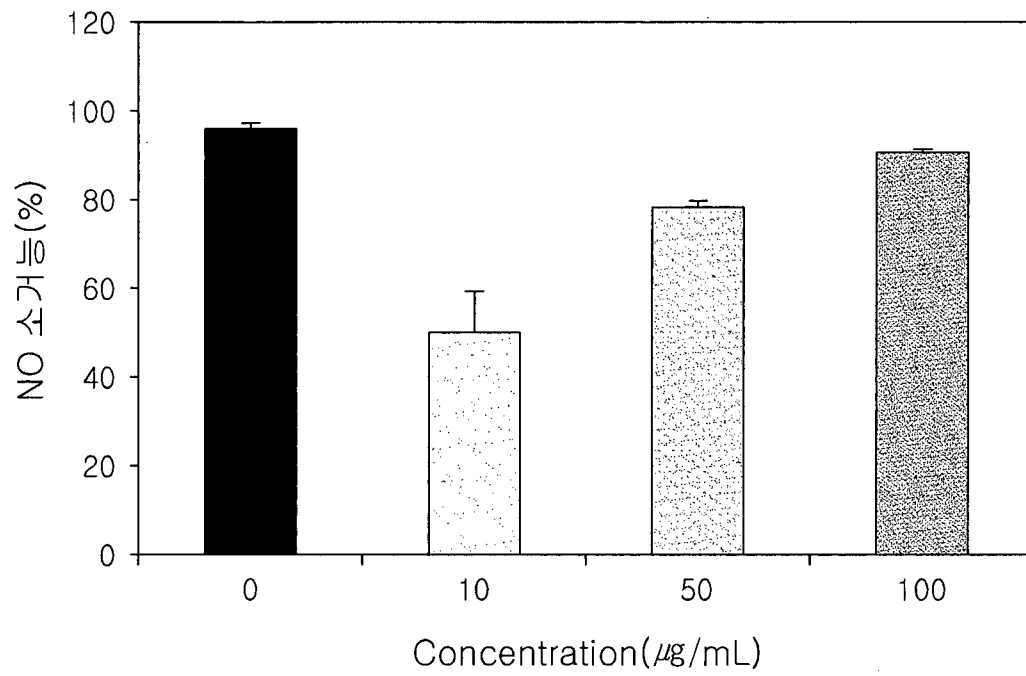
5/9

Fig. 5b**Fig. 6a**

6/9

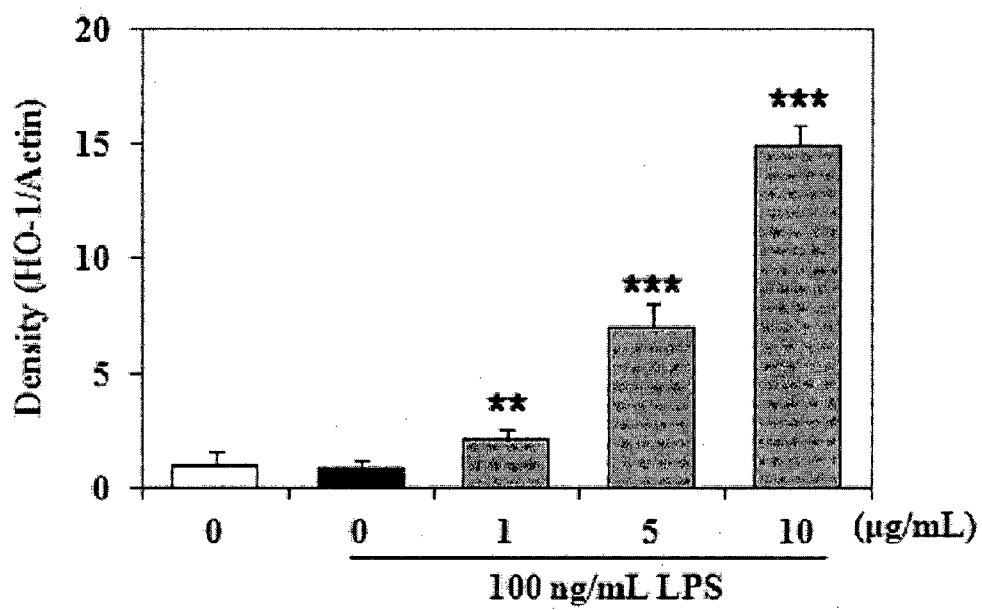
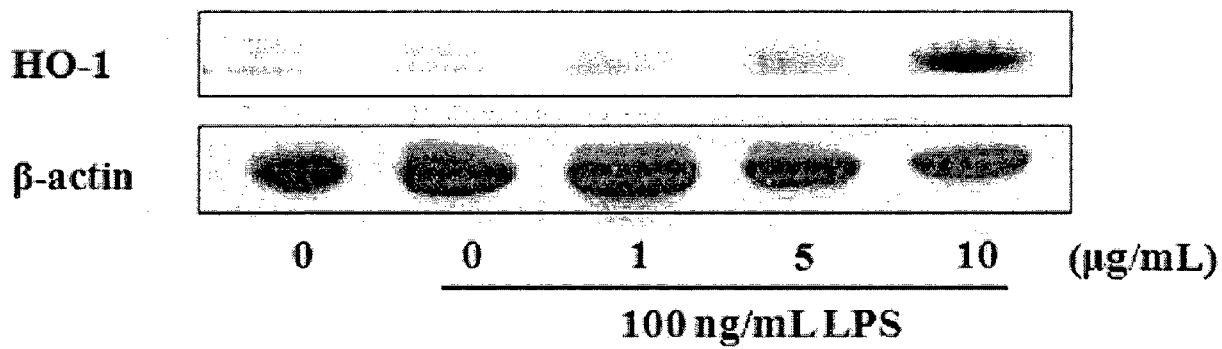
Fig. 6b**Fig. 7a**

7/9

Fig. 7b

8/9

Fig. 8



9/9

Fig. 9a

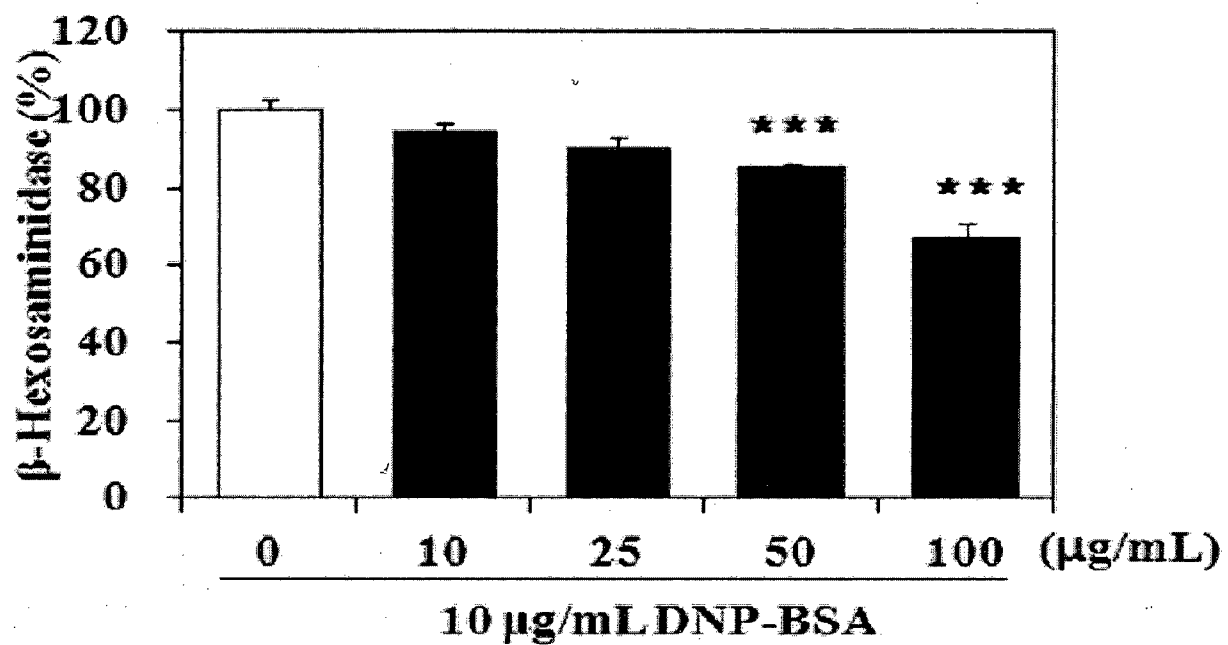


Fig. 9b

