

마늘 에탄올 추출물의 이화학적 특성에 대한 추출조건의 모니터링

이진만^{1,2†} · 차태양³ · 김성호⁴ · 권택규⁵ · 권중호⁶ · 이상한⁶

¹호서대학교 식품생물공학과, ²호서대학교 식품기능안전센터, ³(주)김정문알로에 생명과학연구소
⁴경북과학대학 바이오식품과, ⁵계명대학교 의과대학 면역학교실, ⁶경북대학교 식품공학과

Monitoring on Extraction Conditions for Physicochemical Qualities of Ethanol Extract from Garlic

Jin Man Lee^{1,2†}, Tae Yang Cha³, Seong Ho Kim⁴, Taeg Kyu Kwon⁵,
Joong-Ho Kwon⁶ and Sang-Han Lee⁶

¹Dept. of Food and Biotechnology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

²Center for Food Function and Safety, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

³R&D Center, Kim Jeong Moon Aloe Co. LTD., Cheonan 330-882, Korea

⁴Dept. of Bio-food Science, Kyungbuk College of Science, Chilgok 718-851, Korea

⁵School of Medicine, Keimyung University, Daegu 700-712, Korea

⁶Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

This study was carried out to find the optimal conditions for the extraction of the effective ingredients based on central composite by monitoring the extraction characteristics of each ingredient with a response surface methodology. The optimal condition for the effective component alliin was extract temperature of 60.86°C, extract time of 3.77 hr, and ethanol concentration of 50.68%, and that for allicin was 65.11°C, 2.79 hr, and 13.62%, respectively, with the maximum extraction of 16.72 mg%. The maximum value of extracted total phenolics was 16.72 mg%, the optimal condition for electron donating ability was 93.35°C, 3.22 hr and 10.38%. The optimal conditions for pH 1.2 and 3.0 nitrite-scavenging ability was extract temperature of 79.77°C and 76.46°C, extract time of 3.22 hr and 3.31 hr, and the ethanol concentration of 10.38% and 1.12%, respectively. With this optimal condition, the obtained maximum values for nitrite-scavenging activities at pH 1.2 and 3.0 were 94.85% and 63.22%, respectively.

Key words: garlic, response surface methodology, effective ingredients, antioxidant, ethanol extract

서 론

식품은 사람의 영양 및 기호기능 외에 생체방어, 신체리듬 조절, 노화억제, 만성질환 억제 및 회복 등 생체조절 기능을 갖는다(1). 마늘은 향신료로서의 역할 뿐만 아니라 생체기능을 조절하는 유용한 성분을 함유하고 있어서 건강유지에 유익한 식품으로 알려져 있다.

마늘은 한국의 전통 식생활에 있어서 조미료, 향신료 및 의약품으로 이용되어 온 채소의 일종으로서, 고추 다음으로 큰 재배면적을 나타내고 있다. 마늘은 단순한 식품으로서의 역할도 중요하지만, 의약품의 원료 및 기능성 식품으로서 전 세계적으로 관심 깊게 연구되어져 왔다. 마늘의 기능성은 alliin(diallyl thiosulfinate), methyl allyl, 1-propenyl allyl, allyl 1-propenyl, 1-propenyl methyl, dimethyl thiosulfinate 등의 thiosulfinate 화합물이 가장 큰 역할을 하며, 이들은

항혈전작용(2), 항암작용(3), 혈압강화작용(4), 콜레스테롤 저하 및 노화방지 작용(5) 등이 있다. Thiosulfates 화합물의 주요 성분인 alliin($C_3H_5-S-S(O)-C_3H_5$)은 마늘이 갖는 항균작용(6,7), 세포대사 억제(8) 등의 많은 중요한 생화학적 활성을 갖는 가장 잘 알려진 황화합물로서 총 thiosulfates 중 60~80%를 차지한다(9). Alliin은 매우 불안정한 화합물로서, 마늘에는 직접 존재하지 않으나 마늘을 절단하거나 으갠 때 alliinase라는 효소에 의해 전구체인 alliin(S -allyl-L-cysteine sulfoxide)으로부터 만들어지고 다른 저급 sulfide 화합물들인 diallyl mono-, di- 그리고 oligo-sulfides, vinylthiols, ajoenes 등 30여종으로 분해되고 이중 diallyl disulfide와 diallyl sulfide 함량이 75% 이상이라고 하였다(10).

마늘은 절임용과 건조 가공용 등으로 일부 소비되고 있고, 90% 이상이 생체 조미 부식용으로 사용되고 있다(11). 그러

†Corresponding author. E-mail: jmlee@hoseo.edu
Phone: 82-41-540-5645, Fax: 82-41-544-4151

나 최근에 마늘은 paste, 분말 또는 과립형으로 가공되어 식품의 중간 소재로 개발되고 있으나 소득 수준 및 식문화 수준이 향상됨에 따라서 마늘의 제품도 고급화, 다양화되고 있는 추세이다(12). 또한 마늘의 생산 및 소비의 불균형은 2~3년을 주기로 발생하여 국내 생산농가 및 소비자에게 많은 경제적 손실을 주고 있다. 따라서 마늘의 이러한 가격 파동은 20% 정도의 마늘을 장기 저장하든지 또는 장기유통이 가능한 가공 제품을 개발한다면 해결될 수 있을 것으로 사료된다(6).

따라서 본 연구에서는 마늘을 가공제품 소재로 활용하기 위하여 중심합성계획에 의한 반응표면분석법을 이용하여 마늘의 유효성분 함량을 다량 추출할 수 있는 최적추출조건을 모니터링하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 마늘(*Allium sativum* L.)은 2003년과 2004년에 창녕에서 생산한 것을 사용하였다. 마늘은 포대에 담아 상온에서 보관하였으며, 실험 시에는 박피 세척시키고 탈수시킨 다음 분쇄기(Kaiser KA-2600, Seoul, Korea)로 분쇄한 후 시료로 사용하였다.

일반성분 분석

마늘의 일반성분으로서 수분과 회분 함량은 AOAC법(13)에 준하여 105°C 상압건조법과 직접회화법을 각각 사용하여 측정하였다. 조단백질은 자동질소분해증류장치(Kjedahl Automatic Distillation Unit, J.P. Selecta. s.a. Co., Spain)에 의해, 조지방은 용매자동회수지방추출장치(Del-gras, J.P. Selecta. s.a. Co., Spain)를 사용하여 측정하였다.

추출조건 설정을 위한 실험계획

본 실험에서는 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(14)을 이용하여 최적 추출조건의 예측과 추출조건에 따른 최적물의 이화학적 특성을 모니터링하였다. 추출조건의 최적화를 위한 실험계획은 중심합성계획법(15)에 의하여 추출공정에 중요한 독립변수(X_i)로 고려되는 인자 즉, 추출온도(X_1), 추출시간(X_2) 및 에탄올 농도(X_3)에 대한 실험범위를 설정하여 각각을 5단계 부호화하였으며(Table 1), 중심합성계획에 따라 Table 2와 같이 16구로 설정하여 추출실험을 하였다. 또한, 이들 독립변수에 영향을 받는 종속변수(Y_n) 즉, 추출물의 품질인자로서는 alliin 함량(Y_1), allicin 함량(Y_2), 총 thiosulfinate 함량(Y_3), 총 페놀성 화합물 함량(Y_4), 전자공여능(Y_5) 및 아질산염 소거능(Y_6)을 측정하여 그 값을 회귀분석에 사용하였다. 또한 열수 추출에 있어서 추출조건이 마늘 추출물의 유효성분 및 항산화적 추출특성에 미치는 영향을 예측된 모델식을 바탕으로 Mathematica program(16)을 이용하여 4차원 반응표면분석으로 해석하였

Table 1. Experimental design of ethanol extraction conditions for garlic

Extraction conditions	-2	-1	0	1	2
X_1 Temperature (°C)	60	70	80	90	100
X_2 Time (hr)	1	2	3	4	5
X_3 Ethanol concentration (%)	0	20	40	60	80

Table 2. Central composite design for the optimization of extraction condition for garlic

Experiment number ¹⁾	Extraction condition		
	Temperature (°C)	Time (hr)	Ethanol concentration (%)
1	70 (-1)	2 (-1)	20 (-1)
2	70 (-1)	4 (-1)	60 (1)
3	70 (-1)	2 (1)	20 (-1)
4	70 (-1)	4 (1)	60 (1)
5	90 (1)	2 (-1)	20 (-1)
6	90 (1)	4 (-1)	60 (1)
7	90 (1)	2 (1)	20 (-1)
8	90 (1)	4 (1)	60 (1)
9	80 (0)	3 (0)	40 (0)
10	80 (0)	3 (0)	40 (0)
11	60 (-2)	3 (0)	40 (0)
12	100 (2)	3 (0)	40 (0)
13	80 (0)	1 (-2)	40 (0)
14	80 (0)	5 (2)	40 (0)
15	80 (0)	3 (0)	0 (-2)
16	80 (0)	3 (0)	80 (2)

¹⁾The number of experimental condition by central composite design.

다. 회귀분석 결과, 임계점(critical point)이 최대점(maximum)이거나 최소점(minimum)이 아니고 안장점(saddle point)일 경우 능선분석(ridge analysis)을 하여 최적점을 구하였다.

시료 추출

마늘의 추출은 각각의 실험조건에 따라 1 L bottle을 이용하여 분쇄한 시료 200 g에 용매 5 mL/g을 가하여 실시하였다.

Alliin 함량 측정

Alliin 분석(17)은 각각의 조건에 추출된 추출물을 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 Table 3의 조건에 따라 HPLC를 사용하여 분석하였다. Alliin(Fluka, Germany) 동정은 표준품의 retention time과 비교하여 동정하였고, 함량은 자동 분석기에 의해서 계산된 함량으로 나타내었다.

Table 3. Operating conditions of HPLC for analysis of alliin

Specification	Condition
Instrument	Shimadzu LC-10AT
Column	µ Bondapak TM C ₁₈ column (3.9×300 mm, pore size: 10 µm)
Detector	UV 210 nm
Flow rate	0.7 mL/min
Mobile phase	Acetonitrile : water = 45 : 55

Table 4. Operating conditions of HPLC for analysis of allicin

Specification	Condition
Instrument	Shimadzu LC-10AT
Column	Shim-pack ODS column (4.6×250 mm, pore size: 5 µm)
Detector	UV 280 nm
Flow rate	1.0 mL/min
Mobile phase	Acetonitrile : water : methanol = 41 : 50 : 9

Allicin 함량 측정

Allicin 분석(18)은 각각의 조건에 따라 추출된 추출물을 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 Table 4의 조건으로 HPLC를 사용하여 분석하였다. Allicin(Wako, Japan) 동정은 표준품의 retention time과 비교하여 동정하였고, 함량은 자동분석기에 의해서 계산된 함량으로 나타내었다.

총 thiosulfinate 함량 측정

총 thiosulfinate 함량은 Han 등(19)의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 2 mM cysteine이 함유된 50 mM HEPES(N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethane sulfonic acid], pH 7.5) 용액 0.5 mL에 추출물 0.1 mL를 첨가하였고, 여기에 50 mM HEPES 용액 4.4 mL를 넣어 총 반응용액의 부피를 5 mL로 하였다. 이 반응 용액을 27°C에서 10분간 반응시킨 후, 반응액 1 mL를 취하여 50 mM HEPES buffer로 조제한 0.4 mM DTNB[5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)] 1 mL를 가하여 잘 혼합한 다음 27°C에서 10분간 반응시킨 후 분광광도계 412 nm에서 흡광도를 측정하였고 표준품의 정량 곡선을 이용하여 계산하였다. 정량 곡선은 50 mM HEPES buffer(pH 7.5)로 조제한 0.05~0.30 mM의 cysteine용액 1 mL에 0.4 mM DTNB용액 1 mL를 첨가하여 10분간 반응시킨 후 분광광도계를 사용하였고 412 nm에서 흡광도를 측정하여 구하였다.

총 페놀성 화합물 함량 측정

각 추출물의 총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법(20)에 따라 비색 정량하였다. 즉, 추출물 2 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 2 mL를 가하여 혼합하고 3분 후 10% Na₂CO₃ 2 mL를 넣어 진탕하고 1시간 실온에서 방치하여 UV-1601 PC spectrophotometer(Shimadzu Co., Japan)를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 검액 대신 증류수를 넣어 동일하게 처리하였다. 이 때 표준물질로는 tannic acid를 5~50 µg/mL의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다.

전자공여능 측정

시험용액의 전자공여능(electron donating ability, EDA) 시험은 α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)을 사용한 방법으로 측정하였다(21). 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후 증류수 100 mL를 가하고 50% ethanol 용액을 blank로 하여 517 nm에서 DPPH 용액의 흡

광도를 약 1.0으로 조정한 후 이 용액 4 mL를 취하여 추출물 1 mL와 혼합한 후 상온에서 10분간 방치시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였고 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 표시하여 전자공여능으로 하였다.

$$\text{EDA} (\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{공시험의 흡광도}}\right) \times 100$$

아질산염 소거능 측정

Kato 등(22)의 방법으로 520 nm에서 비색정량하였다. 즉, 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 마늘 추출물 1 mL를 첨가하고, 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.2 M 구연산 완충 용액(pH 3.0)을 사용하여 pH를 각각 1.2 및 3.0으로 조정한 buffer 용액을 첨가하여 반응용액을 10 mL로 정용하였다. 반응용액은 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 1 mL를 취해 2% 초산 용액 5 mL를 첨가한 다음, Griess 시약(30% acetic acid로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1비로 혼합한 것, 사용직전 조제) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 실온에서 15분간 방치시킨 후, 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 아래 식에 의하여 아질산염 소거율을 구하였다. 공시험은 Griess시약 대신 증류수를 0.4 mL 가하여 상기와 같은 방법으로 실시하였다.

$$\text{N} (\%) = \left(1 - \frac{\text{A} - \text{C}}{\text{B}}\right) \times 100$$

N: 아질산염 소거율

A: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 방치 후의 흡광도

B: NaNO₂ 용액의 흡광도

C: 시료 자체의 흡광도

결과 및 고찰**일반성분**

마늘 시료의 일반성분 분석결과는 Table 5와 같이 수분 64.73%, 조단백질 4.69%, 조지방 0.46% 및 회분 1.18%로 각각 나타났다. 마늘의 일반성분은 산지와 품종, 수확시기에 따라 다소 차이가 있으나 Jeong(23)의 보고에서는 수분 64.6%, 지방 0.3% 및 탄수화물 26%로 보고하여 본 연구 결과와 큰 차이가 없었으나, 단백질 함량은 7.8%로 본 결과와는 약 2배의 차이를 보였다.

에탄올 추출조건에 따른 추출물의 이화학적 특성 모니터링

마늘로부터 최적 추출조건을 설정하기 위해 추출온도, 추

Table 5. Proximate composition of garlic (unit, %)

Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	Carbohydrate
64.73	4.69	0.46	1.18	28.94

Table 6. Experimental data on alliin, allicin and total thiosulfinate content of garlic under different conditions based on central composite design by response surface analysis

Experiment No. ¹⁾	Alliin content (mg%)	Allicin content (mg%)	Total thiosulfinate content (mM)
1	22.98	7.23	0.159
2	32.57	2.46	0.191
3	22.41	6.09	0.173
4	37.23	2.34	0.198
5	25.82	4.27	0.178
6	35.68	3.76	0.198
7	23.33	6.28	0.183
8	30.30	4.03	0.191
9	35.45	5.87	0.203
10	35.45	5.87	0.203
11	50.79	6.39	0.147
12	29.79	6.83	0.183
13	27.88	3.97	0.187
14	24.83	4.87	0.192
15	17.12	6.45	0.184
16	30.54	2.59	0.190

¹⁾The number of experimental condition by central composite design.

출시간 및 에탄올 농도를 독립변수로 하여 중심합성계획에 의해 설계된 16구의 추출조건에서 얻어진 추출물의 총 추출 수율, 알린 함량, 알리신 함량 및 항산화적 특성 등의 결과는 Table 6, 7과 같다.

각각의 결과를 이용하여 반응표면 회귀분석을 실시하고 각 종속변수 즉, 유효성분 함량, 총 페놀성 화합물 함량, 전자 공여능 및 아질산염 소거능에 대한 회귀식을 얻었다. 또한 변수별 최적 추출조건과 추출물의 특성 값을 예측하여 Table 8에 나타내었으며, 이들의 4차원 반응표면은 추출 온도, 추출시간 및 에탄올 농도를 독립변수로 하여 Fig. 1~7에 나타내었다.

Alliin 함량에 대한 추출조건의 영향

HPLC로 분석한 각각의 추출물의 alliin 함량을 Table 6에 나타내었으며, 4차 반응표면은 Fig. 1에 나타내었고, 결과에 대한 회귀식은 다음과 같다.

$$Y_{\text{ALLIIN}} = 88.781250 - 2.142125X_1 + 12.337500X_2 + 1.102438X_3 + 0.012100X_1^2 + 0.013000X_1X_2 - 2.273750X_2^2 - 0.002862X_1X_3 - 0.029125X_2X_3 - 0.007291X_3^2$$

Table 7. Experimental data on total phenolics content, electron donating ability and nitrite-scavenging ability of garlic under different conditions based on central composite design by response surface analysis

Experiment No. ¹⁾	Total phenolics content (mg%)	Electron donating ability (%)	Nitrite-scavenging ability (%)	
			pH 1.2	pH 3.0
1	11.78	11.91	92.55	55.71
2	9.88	8.98	79.57	51.97
3	12.55	15.44	92.76	57.79
4	10.11	12.34	82.62	51.77
5	15.35	19.48	92.98	55.30
6	11.48	14.21	86.38	53.01
7	15.82	17.53	91.70	52.18
8	12.43	12.50	85.45	46.15
9	14.36	14.46	88.51	52.80
10	14.36	14.46	88.51	52.80
11	12.06	10.17	78.72	50.31
12	14.41	10.06	85.81	45.53
13	13.86	18.67	87.02	53.01
14	13.62	15.42	84.25	50.72
15	15.90	30.74	94.68	64.24
16	9.84	15.81	66.38	47.82

¹⁾The number of experimental condition by central composite design.

추출조건별 추출물의 alliin 함량에 대한 회귀식의 R^2 는 0.8565로 10% 이내의 유의성이 인정되었다. 추출조건에 따른 예측된 정상점은 안장점을 나타내었고, alliin 함량은 추출 온도 60.86°C, 추출시간 2.77 hr 및 에탄올 농도 50.68%에서 46.37 mg%로 예측되었다(Table 8). Alliin의 반응표면(Fig. 1)은 추출조건 모두에서 영향을 받는 것으로 나타났으며, 온도가 낮을수록 증가하는 것으로 나타났다.

Allicin 함량에 대한 추출조건의 영향

마늘로부터 최적 추출물을 얻기 위해 각각의 조건에서 추출한 추출물의 allicin 함량은 Table 6과 같다. 이러한 결과를 이용하여 추출조건과 추출물의 allicin 함량에 대한 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{\text{ALLICIN}} = 35.595000 - 0.565875X_1 - 1.008750X_2 - 0.266375X_3 + 0.001850X_1^2 + 0.044250X_1X_2 - 0.362500X_2^2 + 0.003600X_1X_3 - 0.004500X_2X_3 - 0.000844X_3^2$$

마늘 추출물의 allicin 함량에 대한 추출물의 회귀식의 R^2 는 0.8914이고 유의성은 5% 이내의 수준에서 인정되었다.

Table 8. Predicted levels of extraction conditions of garlic for the maximum responses of variables by the ridge analysis

Responses	R^2	Pro>F	$X_1^{1)}$ (°C)	$X_2^{2)}$ (hr)	$X_3^{3)}$ (%)	Maximum	Morphology
Alliin content (mg%)	0.8565	0.0543	60.86	2.77	50.68	46.37	Saddle point
Allicin content (mg%)	0.8914	0.0256	65.11	2.79	13.62	8.23	Saddle point
Total thiosulfinate content (mM)	0.8620	0.0482	82.10	2.90	55.30	0.20	Saddle point
Total phenolics content (mg%)	0.8702	0.0411	93.25	3.22	10.38	16.72	Maximum
Electron donating ability (%)	0.8717	0.0399	82.64	2.88	0.43	28.24	Saddle point
Nitrite-scavenging ability pH 1.2 (%)	0.8824	0.0316	79.77	3.22	10.38	94.85	Maximum
Nitrite-scavenging ability pH 3.0 (%)	0.9425	0.0044	76.46	3.31	1.12	63.22	Saddle point

¹⁾ X_1 : extraction temperature (°C). ²⁾ X_2 : extraction time (hr). ³⁾ X_3 : ethanol concentration (%).

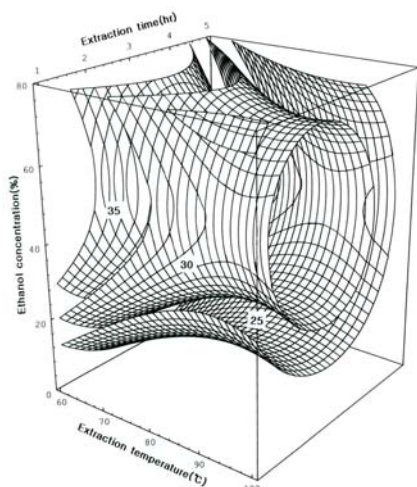


Fig. 1. Response surface for alliin content in extracts at constant values (alliin: 25, 30, 35 mg%) as a function of extraction temperature, time and ethanol concentration of garlic.

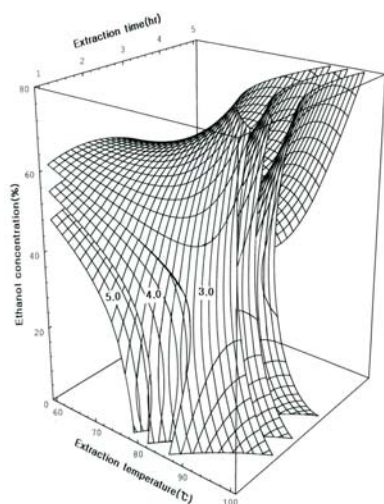


Fig. 2. Response surface for allicin content in extracts at constant values (allicin: 3.0, 4.0, 5.0 mg%) as a function of extraction temperature, time and ethanol concentration of garlic.

마늘 추출물의 allicin 함량의 예측된 정상점은 안장점이고, 최대값은 8.23 mg%로 예측되었다. 이때의 추출조건은 추출 온도 65.11°C, 추출시간 2.79 hr 및 에탄올 농도 13.62%이었다(Table 8). Allicin 함량에 대한 4차원 반응표면을 분석하여 본 결과 추출온도 및 에탄올 농도가 낮을수록 allicin의 함량이 증가하는 경향을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

총 thiosulfinate 함량에 대한 추출조건의 영향

추출조건별 추출물의 총 thiosulfinate 함량은 Table 6에 나타내었고, 이를 회귀분석하여 본 결과 회귀식의 R^2 는 0.8620으로 5% 이내의 수준으로 유의성이 인정되었고, 회귀식은 아래와 같다.

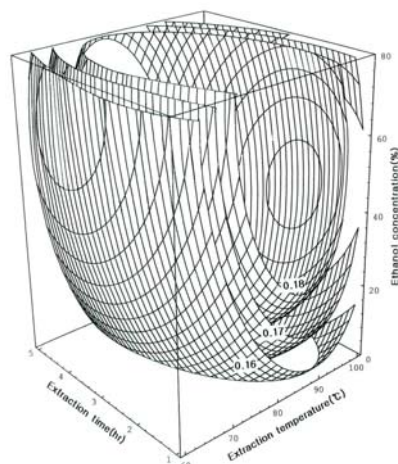


Fig. 3. Response surface for total thiosulfinate content in extracts at constant values (total thiosulfinate: 0.16, 0.17, 0.18 mM) as a function of extraction temperature, time and ethanol concentration of garlic.

$$Y_{TSC} = -0.661813 + 0.017419X_1 + 0.049813X_2 + 0.002909X_3 \\ - 0.000095000X_1^2 - 0.000288X_1X_2 - 0.003375X_2^2 \\ - 0.000018125X_1X_3 + 0.000119X_2X_3 + 0.000010000X_3^2$$

또한 온도, 시간, 에탄올 농도의 추출조건에 따른 총 thio-sulfinate 함량의 4차원 반응표면 분석에서(Fig. 3) 예측된 정상점은 안장점으로 총 thiosulfinate 함량의 최대값은 0.20 mM이었고, 이때의 추출조건은 추출온도 82.10°C, 추출시간 2.90 hr 및 에탄올 농도 55.30%이었다(Table 8). 총 thio-sulfinate 함량의 추출특성에 따른 4차원 반응표면에서 볼 때 추출온도가 높을수록 함량이 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 3).

총 페놀성 화합물의 함량에 대한 추출조건의 영향

각각의 추출물에 대한 총 페놀성 화합물의 함량은 Table 7에 나타내었으며, 4차원 반응표면은 Fig. 4에 나타내었고, 회귀식은 다음과 같다.

$$Y_{TPC} = -16.841875 + 0.603875X_1 + 0.646250X_2 + 0.147500X_3 \\ - 0.002813X_1^2 + 0.005250X_1X_2 - 0.155000X_2^2 \\ - 0.001825X_1X_3 - 0.000375X_2X_3 - 0.000931X_3^2$$

마늘의 총 페놀성 화합물 함량에 대한 추출물의 회귀식의 R^2 는 0.8702이고 유의성은 5% 이내의 수준에서 인정되었다. Table 8과 같이 마늘 추출물의 총 페놀성 화합물 함량에 대한 최적 예측 조건은 추출온도 93.25°C, 추출시간 3.22 hr 및 에탄올 농도 10.38%로 나타났으며, 최대값은 16.72 mg%로 예측되었다. 마늘의 추출조건에 따른 총 페놀성 화합물의 함량에 대한 추출특성은 Fig. 4와 같이 추출온도가 높을수록 증가하였다.

전자공여능에 대한 추출조건의 영향

마늘의 각 추출물에 대한 전자공여능을 측정한 결과는

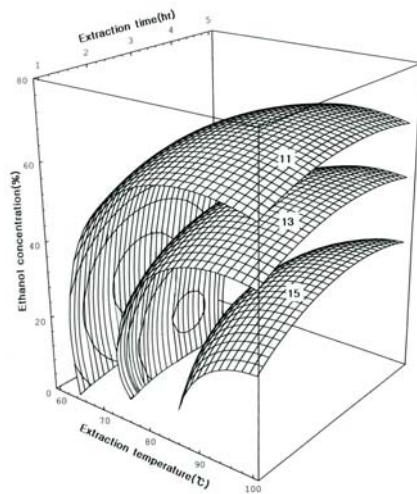


Fig. 4. Response surface for total phenolics content in extracts at constant values (total phenolics: 11, 13, 15 mg%) as a function of extraction temperature, time and ethanol concentration of garlic.

Table 7과 같다. 이 결과를 이용하여 추출조건과 전자공여능에 대한 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{EDA} = -82.681875 + 2.333063X_1 + 6.450625X_2 - 0.372906X_3 \\ - 0.010863X_1^2 - 0.131875X_1X_2 + 0.646250X_2^2 \\ - 0.002669X_1X_3 + 0.000438X_2X_3 + 0.005509X_3^2$$

이 때 추출물의 전자공여능에 대한 R^2 는 0.8717로 5% 이내의 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점이고, 이 예측값을 추출할 수 있는 조건들은 추출온도 82.64°C, 추출시간 2.88 hr 및 에탄올 농도 0.43%이었고, 이 때의 최대값은 28.24%이었다(Table 8). 실험 조건에 따라 얻은 추출물의 전자공여능에 대한 반응표면은 Fig. 5에 나타내었다. 추출물

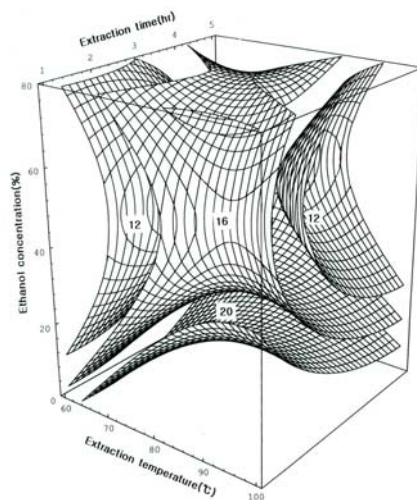


Fig. 5. Response surface for electron donating ability in extracts at constant values (electron donating ability: 12, 16, 20%) as a function of extraction temperature, time and ethanol concentration of garlic.

의 전자공여능은 온도, 시간, 에탄올 농도 등 추출조건 모두에서 영향을 받는 것으로 나타났으며, 에탄올 농도가 낮을수록 증가하는 경향을 나타내었다.

아질산염 소거능에 대한 추출조건의 영향

각 추출물의 아질산염 소거능은 Table 7에 나타내었고, 추출조건에 따른 추출물의 아질산염 소거능에 대한 회귀식은 다음과 같다.

$$Y_{pH1.2} = -16.635000 + 2.591313X_1 + 8.704375X_2 - 0.463594X_3 \\ - 0.015613X_1^2 - 0.068375X_1X_2 - 0.718750X_2^2 \\ + 0.006419X_1X_3 + 0.019938X_2X_3 - 0.004988X_3^2$$

$$Y_{pH3.0} = -42.130625 + 2.234750X_1 + 13.975000X_2 - 0.279750X_3 \\ - 0.012200X_1^2 - 0.148250X_1X_2 - 0.233750X_2^2 \\ - 0.000900X_1X_3 - 0.037625X_2X_3 + 0.002019X_3^2$$

pH 1.2 및 3.0에 따른 아질산염 소거능에 대한 추출물의 회귀식의 R^2 는 각각 0.8824 및 0.9425이고 pH 1.2는 5% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었으며, pH 3.0은 1% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었다. Table 8에 최적 예측 조건을 나타내었으며, pH 1.2 아질산염 소거능의 예측된 정상점은 최대점이었다고, 이때의 추출조건은 추출온도 79.77°C, 추출시간 3.22 hr 및 에탄올 농도 10.38%일 때 최대값은 94.85%이었다. pH 3.0 아질산염 소거능의 예측된 정상점은 안장점으로 나타나 능선분석을 실시하였다. 이 때 최대값은 63.22%이었다고, 최적 예측조건은 추출온도 76.46°C, 추출시간 3.31 hr 및 에탄올 농도 1.12%이었다. pH 1.2 및 3.0의 아질산염 소거능에 대한 4차원 반응표면은 에탄올 농도가 낮을수록 아질산염 소거능이 증가하는 것으로 나타났다 (Fig. 6, 7).

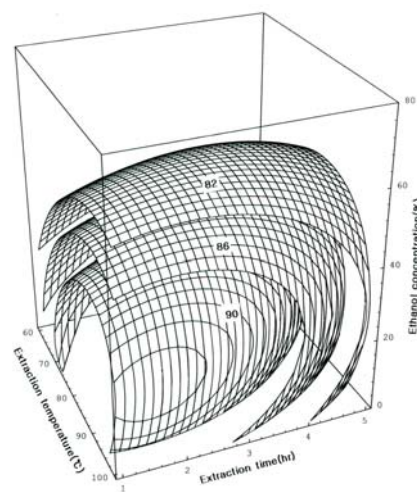


Fig. 6. Response surface for nitrite-scavenging ability pH 1.2 in extracts at constant values (NSA: 82, 86, 90%) as a function of extraction temperature, time and ethanol concentration of garlic.

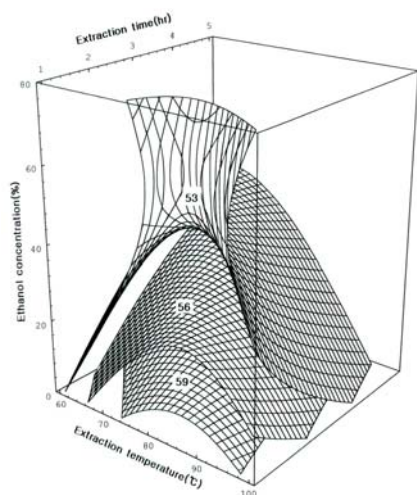


Fig. 7. Response surface for nitrite-scavenging ability pH 3.0 in extracts at constant values (NSA: 53, 56, 59%) as a function of extraction temperature, time and ethanol concentration of garlic.

요 약

마늘은 향신료로서 역할뿐만 아니라 생체기능을 조절하는 유용한 성분을 함유하고 있어서 건강 유지에 유익한 식품으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 마늘을 가공식품 소재로 활용하기 위하여 중심합성계획에 의한 반응표면분석법을 이용하여 마늘의 유효성분 함량을 다량 추출할 수 있는 최적추출조건을 모니터링하였다. Alliin 함량은 추출온도 60.86°C, 추출시간 3.77 hr, 에탄올 농도 50.68%에서 최적 이었고, allicin은 추출온도 65.11°C, 추출시간 2.79 hr, 에탄올 농도 13.62%에서 최대값 8.23 mg%로 예측되었다. 총 페놀성 화합물 함량은 최대값 16.72 mg%로 예측되었으며 이 때 추출조건은 추출온도 93.35°C, 추출시간 3.22 hr 및 에탄올 농도 10.38%로 나타났고, 전자공여능은 추출온도 82.64°C, 추출시간 2.88 hr 및 에탄올 농도 0.43%에서 최적이었다. pH 1.2 및 3.0 아질산염 소거능은 추출온도 79.77°C, 76.46°C, 추출시간 3.22 hr, 3.31 hr 및 에탄올농도 10.38%, 1.12%일 때 최대값은 94.85%, 63.22%이었다.

감사의 글

본 연구는 창녕군 농업기술센터의 연구지원으로 수행된 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

문 헌

- Kawabata T, Shazuki H, Ishibishi T. 1974. Effect of ascorbic acid on the formation of N-nitrosodimethyl amine in vitro. *Bull Japan Soc Sci* 40: 1251-1256.
- Nishimura H, Hanny W, Mizutani J. 1988. Volatile flavor components and antithrombotic agent: vinylidithiins from *Allium victorialis* L. *J Agric Food Chem* 36: 563-566.
- Kim ES, Chun HJ. 1993. The anticarcinogenic effect of garlic juice against DMBA induced carcinoma on the hamster buccal pouch. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 398-404.
- Ruffin J, Hunter SA. 1983. An evaluation of the side effect of garlic as an antihypertensive agent. *Cytobios* 37: 85-90.
- Kamanna VS, Chandrasekhara N. 1983. Biochemical and physiological effects of garlic (*Allium sativum* Linn). *J Sci Industrial Res* 42: 353-359.
- Cavallito CJ, Bailey JH. 1944. Alliin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties, and antibacterial action. *J Am Chem Soc* 66: 1950-1956.
- Dewit JC, Notermans S, Gorin N, Kampelmacher EH. 1979. Effect of garlic oil or toxin production by *Clostridium botulinum* in meat slurry. *J Food Protect* 42: 222-227.
- Small LD, Bailey JH, Cavallito CJ. 1947. Allkyl thiosulfonates. *J Am Chem Soc* 69: 1710-1716.
- Small LD, Bailey JH, Cavallito CJ. 1949. Comparison of some properties of thiosulfonates and thiosulfonates. *J Am Chem Soc* 71: 3565-3571.
- Yu TH, Wu CM, Liou YC. 1949. Volatile compounds from garlic. *J Agric Food Chem* 37: 725-730.
- Kim HK, Jo KS, Kang TS, Sin HS. 1987. Browning and sorption characteristics of dried garlic flakes with relative humidity and storage temperature. *Korean J Food Sci Technol* 19: 176-180.
- Kim BS, Park NH, Park MH, Han BH, Bae TJ. 1990. Manufacture of garlic juice and prediction of its boiling point rise. *Korean J Food Sci Technol* 22: 486-491.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
- Myers RH. 1971. *Response surface methodology*. Allyn and Bacon Inc., Boston. p 127-139.
- Wamasindara PKJPD, Shahidi F. 1996. Optimization of hexameta-phosphate-assisted extraction of flaxseed proteins using response surface methodology. *J Food Sci* 61: 604-607.
- Martha LA, James PB. 1992. *The mathematica handbook, compatible with mathematica version 2.0*. An imprint of academic press. Inc. Harcourt Brace & Co., Massachusetts. p 15-511.
- Lee EH, Chang KS, Kwon YA, Lee EM. 1997. Optimization of the alliins extraction in the garlic by supercritical carbon dioxide. *Food Engineering Progress* 1: 149-153.
- Sohn KH, Lim JK, Kong UY, Park JY, Akinori N. 1996. High pressure inactivation of allinase and its effects on flavor of garlic. *Korean J Food Sci Technol* 28: 593-599.
- Han J, Lawson L, Han G, Han PA. 1995. A spectrophotometric method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulfonates. *Anal Biochem* 225: 157-160.
- Amerine MA, Ough CS. 1980. *Methods for analyses of musts and wine*. Wiley & Sons, New York. p 176-180.
- Blios MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
- Jeong JH. 1998. Quality changes of fresh garlic paste during storage. *Korean J Food & Nutr* 11: 278-282.

(2007년 6월 19일 접수; 2007년 8월 6일 채택)