

## 마늘의 저장 및 효소처리 조건에 따른 함황화합물의 변화

신 동 빈  
한국식품연구원

### 요약

마늘은(*Allium sativum* L.) 백합과(*Liliaceae*)에 속하는 대표적인 *Allium*속 식물로 독특한 향미와 다양한 생리활성을 지니고 있다. 최근의 연구결과에 의하면 마늘의 다양한 생리활성을 나타내는 화합물들은 마늘 중에 존재하는 -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteines, S-alk(en)yl-L-cysteines 및 S-alk(en)yl cysteine sulfoxide와 마늘조직이 손상되면 생성되는 dialk(en)yl thiosulfinate들이 있다. 또한 dialk(en)yl thiosulfinate의 분해 및 분해물들의 화학적 반응에 의하여 생성되는 diallyl disulfide, diallyl trisulfide 및 diallyl sulfide와 같은 휘발성 황화합물들도 암세포성장억제 및 항균효과가 탁월한 것으로 나타냈다(1-4).

-glutamyl-S-allyl-L-cysteine의 합성 및 분해과정에 나타나는 S-allyl-L-cysteine은 간 장해예방효과, methylhydrazine으로 유도되는 대장암예방, 사람 신경아 세포종양 증식저해 작용, 항산화작용 등 다양한 생리활성이 있는 것으로 보고하고 있다. Diallyl sulfide는 aflatoxin B1, benzo(a)pyrene, nitrosoamine, dimethylhydrazine 등이 화학 발암제의 활성화에 의하여 유도되는 암을 cytochrome P 450-2 E1을 불활성화 시킴으로서 예방한다고 보고되었다. Ajoene이나 allyl methyl trisulfide는 혈소판 응집 억제작용이

있으며, allyl methyl sulfide는 항산화 작용에 관여하는 것으로 보고되고 있다(1,2).

마늘의 생리활성과 향미에 중요한 영향을 미치는 성분인 -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteines, S-alk(en)yl-L-cysteines 및 S-alk(en)yl cysteine sulfoxide은 마늘 저장 중 -glutamyl transpeptidase등의 효소작용에 의하여 변화하는 것으로 나타났다. 이러한 변화는 또한 마늘의 조직을 파쇄하면서 생성되는 dialk(en)yl thiosulfinate과 휘발성황화합물은 조성에도 영향을 줄 것으로 예측된다. 마늘을 이용한 기능성 식품을 개발함에 있어서 생리활성에 관여하는 물질의 변화를 먼저 규명하고 이를 근거로 하여 제품을 생산하여야 기능성 식품으로서 그 효능을 충분히 인정받을 수 있을 것으로 사료된다(5).

따라서 본문에서는 마늘의 저장 중 생리활성과 향미에 중요한 영향을 미치는 성분인 -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteines, S-alk(en)yl-L-cysteines 및 S-alk(en)yl cysteine sulfoxide의 저장 중 성분변화를 발표된 논문을 중심으로 정리하여 살펴보았다. 또한 마늘의 냄새를 최소화하고 생리활성을 극대화할 수 있는 기능성식품의 소재개발 타당성을 살펴보기 위하여 열처리(blanching)하여 마늘 중의 효소를 모두 불활성화시킨 후, 이에 마늘로부터 추출한 alliinase를 가하여 반응조건에 따른 alk(en)yl thiosulfinate 생성 및 이들의 분해산물인 휘발성 황함유화합물의 함량변화

를 측정하여 그 결과를 얻었다.

1.  $\gamma$ -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteines, S-alk(en)yl-L-cysteines 및 S-alk(en)yl cysteine sulfoxides 화합물의 생성 및 변화

1964년 Suzuki등은 마늘로부터 최초로 몇몇  $\gamma$ -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteine을 분리, 보고하였다. 그 후 Virtanen등에 의하여 수종의 유사화합물이 더 보고되었다. 마늘에는  $\gamma$ -glutamyl-S-(2-propenyl)-L-cysteine),  $\gamma$ -glutamyl-S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine 및  $\gamma$ -glutamyl-S-methyl-L-cysteine이 존재하는 것으로 알려져 있다. 이러한  $\gamma$ -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteine은 alk(en)yl cysteine과 alk(en)yl cysteine sulfoxides로 부터 transpeptidation 작용에 의하여 형성되는 것으로 알려져 있다. Matsuura등은 성장기의 마늘에는  $\gamma$ -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteine이 거의 존재하지 않으나, 마늘지상부가 시들기 1개월 전부터 함량이 현저히 증가한다고 보고하였다.  $\gamma$ -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteine은 지금까지 알려진 바로는 마늘의 저장성분인 것은 확실하나 질소대사과정에 있어서의 그 중요성은 아직 분명하게 밝혀져 있지 않다(6).

저장중의 마늘에 있어서는  $\gamma$ -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteine에  $\gamma$ -glutamyl trans-peptidase가 작용하면 S-allyl cysteine, trans-1-propenyl cysteine 및 S-methyl

cysteine가 생성된다. 마늘의 향기 및 생리활성 전구물질로 너무도 잘 알려진 alliin(S-Allyl-L-cysteine sulfoxide)과 methiin (S-methyl-L-cysteine), Isoalliin[S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine sulfoxide])은 그림 1에서 보는 바와 같이 각각 S-allyl cysteine, S-methyl cysteine 및 trans-1-propenyl cysteine에 oxidase가 작용하여 생성한다.

최근의 연구결과에 의하면 마늘을 저온저장 할 경우  $\gamma$ -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteine이 분해되어 alliin, methiin 및 isoalliin이 생성되며, alliin등의 생성정도는 저장온도에 의하여 영향을 받는 것으로 나타났다. Ichikawa등(5)은 마늘을 각각 -3, 4 및 23°C에 150일간 저장하면서 마늘 중의 이들의 변화를 측정한 결과 모든 저장온도에서  $\gamma$ -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteine이 분해되어 감소하는 경향을 나타낸 반면 S-alk(en)yl-L-cysteine(alliin, methiin 및 isoalliin)은 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 감소 및 증가 경향은 -3°C 및 25°C보다 4°C에 저장한 마늘에 있어서 가장 큰 것으로 나타났다. 즉 저장 전 건조함량기준으로 마늘 1g당  $\gamma$ -glutamyl-S-(2-propenyl)-L-cysteine (GSAC)함량이 51.2  $\mu$ mole인 마늘을 4°C에서 저장한 결과 60일 만에 66%가 감소한 17.2  $\mu$ mole를 나타내었고 저장 90일 까지도 지속적으로 감소하는 것으로 나타났다. 반면 alliin은 저장 90일 까지 지속적으로

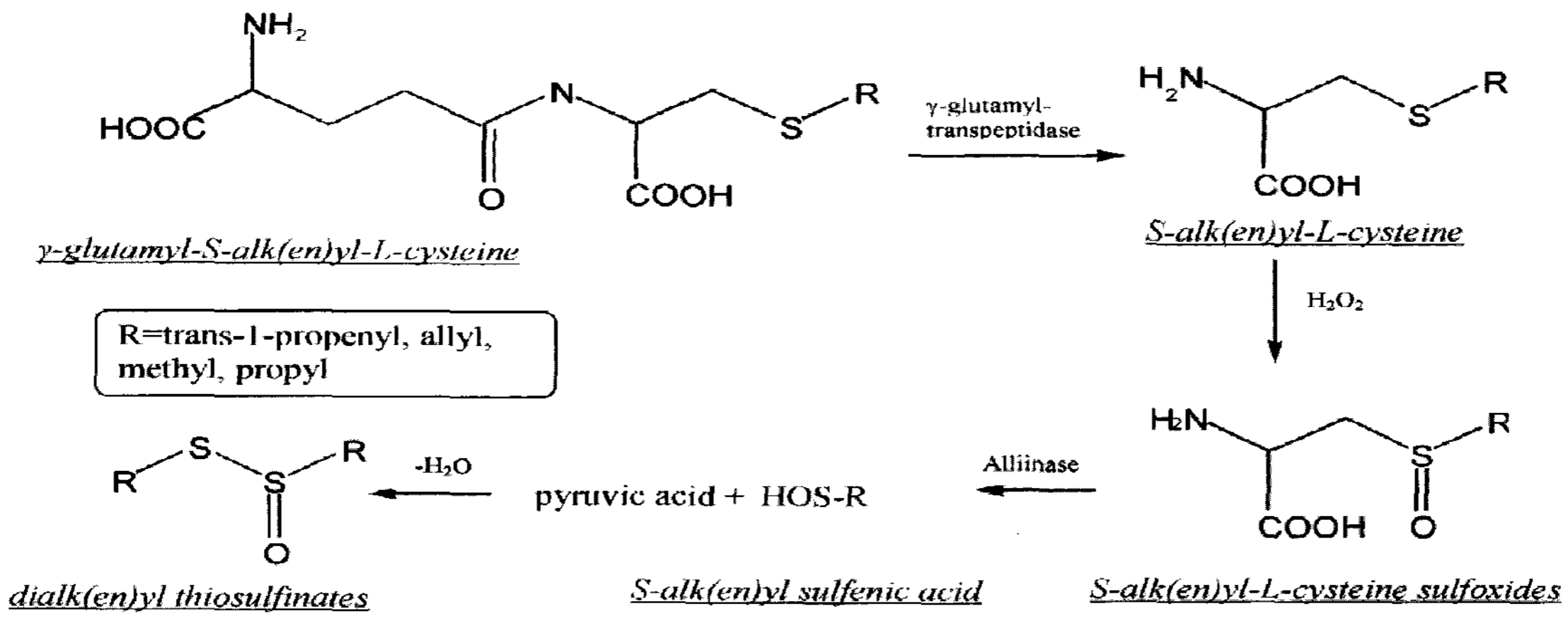


그림 1. S-allyl-  $\gamma$ -glutamylcysteine로 부터 alliin 및 S-allyl cysteine의 합성경로

로 증가하였고 150일 까지도 유의적 변화는 없는 것으로 나타났다(그림2 참조).

47% 감소하였다. 4°C에서는 10일에서 60일 사이에 급격히 감소하여 저장 60일 및 150일에는 각각 66%

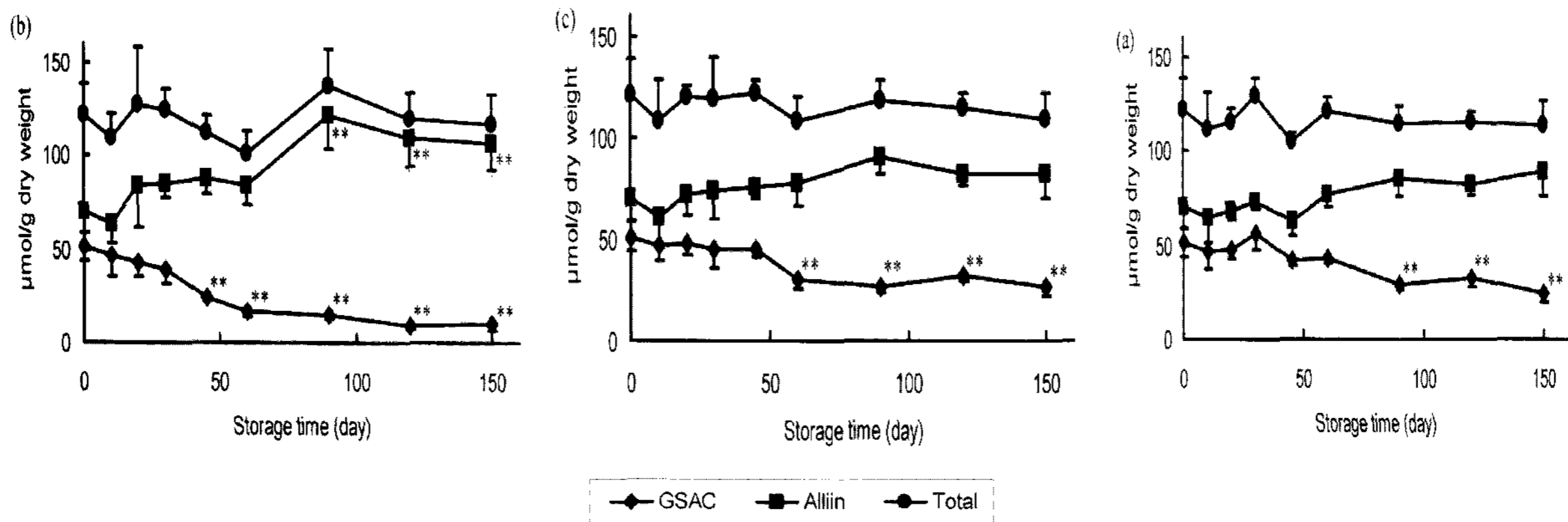


그림2. - 3(a), 4(b) 및 23°C(c) 저장 마늘의 GSAC 및 alliin의 함량변화

-glutamyl-S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine는 -3°C에서 저장한 경우 저장 60일까지는 변화가 없었으나 그 후부터는 점점 감소하여 약 47% 감소하였다. 4°C에서는 10일에서 60일 사이에 급격히 감소하여 저장 60일 및 150일에는 각각 66% 및 81%가 감소하는 것으로 나타났다. 반면 23°C에 저장한 마늘은 저장 90일까지는 완만히 감소하여 약 23  $\mu\text{mole}$ 에 도달하였다. -glutamyl-S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine의 효소적 분해 작용에 의하여 생성된 isoalliin은 -3 및 4°C에서 -glutamyl-S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine에 반비례하여 증가하는 경향을 나타내어 저장 150일 후에는 각각 14배 및 32배가 증가한 것으로 나타났다(저장 전  $0.8 \pm 0.1$ 에서 각각  $11.2 \pm 4.5$  및  $25.7 \pm 2.9$   $\mu\text{mole}$ 로 증가함). 23°C에 저장한 마늘의 isoalliin함량은 저장 150일의 경우 약 4배 증가한 3.4  $\mu\text{mole}$ 를 나타내었으나, cycloalliin 함량은 -3 및 4°C보다 4.4배 높은  $7.5 \pm 3.5$   $\mu\text{mole}$ 를 나타내었다.

-glutamyl-S-methyl-L-cysteine는 4°C에서 150일간 저장한 경우 39% 감소하였으나 -3 및 23°C에서는 약간 감소하는 하는 것으로 나타났다. 60일까지는 변화가 없다가 그 이후부터는 점점 감소하여 약

및 81%가 감소하는 것으로 나타났다. 반면 23°C에 저장한 마늘은 저장 90일까지는 완만히 감소하여 약 23  $\mu\text{mole}$ 에 도달하였다. -glutamyl-S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine의 효소적 분해 및 작용에 의하여 생성된 isoalliin은 -3 및 4°C에서 -glutamyl-S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine에 반비례하여 증가하는 경향을 나타내어 저장 150일 후에는 각각 14배 및 32배가 증가한 것으로 나타났다(저장 전  $0.8 \pm 0.1$ 에서 각각  $11.2 \pm 4.5$  및  $25.7 \pm 2.9$   $\mu\text{mole}$ 로 증가함). 23°C에 저장한 마늘의 isoalliin함량은 저장 150일의 경우 약 4배 증가한 3.4  $\mu\text{mole}$ 를 나타내었으나, cycloalliin 함량은 -3°C 및 4°C보다 높은 4.4배 높은  $7.5 \pm 3.5$   $\mu\text{mole}$ 를 나타내었다.

Lancaster등(7) 및 Ceci등(8)은 발아하는 마늘은 휴면기의 마늘 보다 -glutamyl transpeptidase의 활성이 높다고 보고하였다. Ichikawa등(5)은 그들의 연구결과에서 -3°C 및 25°C보다는 4°C에 저장한 경우 -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteine의 감소 현상이 큰 것은 4°C에 저장하는 동안 휴면기가 타파되면서 수반되는 -glutamyl transpeptidase 활성증가에 기인하는 것이라고 하였다. 이전의 연구자들도 -glutamyl peptide가 alliin과 같은 sulfoxides로 변화하는 것은

발아의 최적온도인 4°C의 저장온도와 밀접한 관계가 있다고 보고하였다(6).

마늘 중의 -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteines 및 S-alk(en)yl cysteine sulfoxides 함량은 마늘 품종, 기후 및 토양 조건에 따라 차이가 있는 것으로 나타나고 있다. 마늘 중의 함황화합물의 함량을 높이기 위해서는 유향비료를 어느 정도 사용하면 가능한 것으로 나타났다. Arnault 등(10)은 마늘밭에 황 비료를 1ha 당 100, 200, 300 및 400kg씩 각각 시비한 결과 200kg까지는 alliin 함량이 그림 3에서 보는 바와 같이 약 1.6배 증가하는 것으로 보고하였다(그림 3).

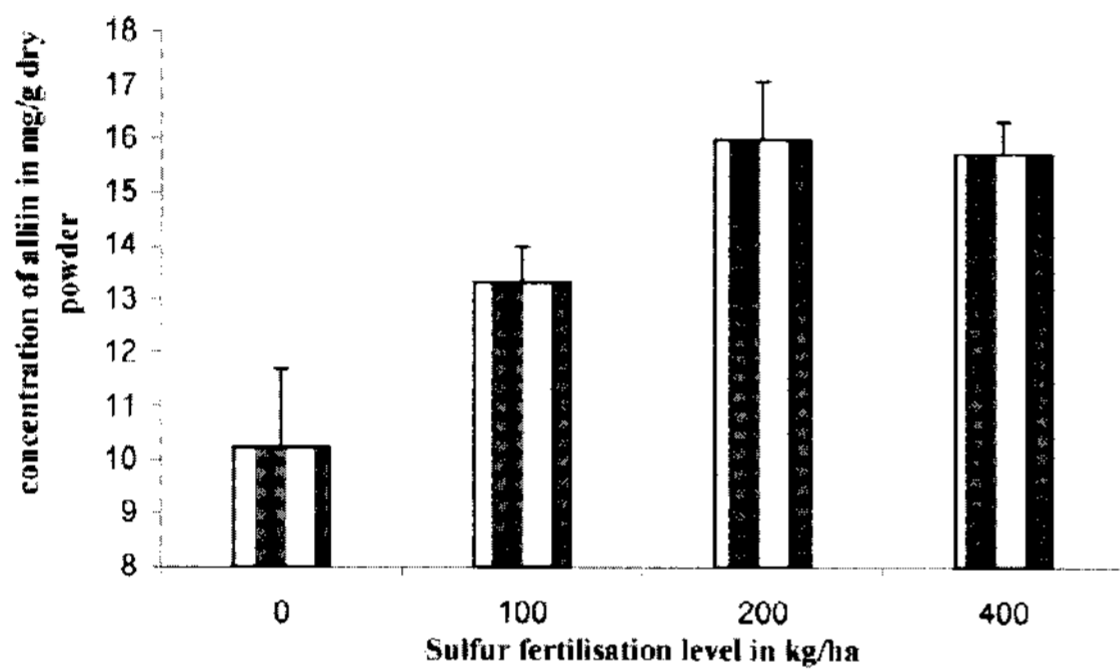


그림 3. 황화합물 시비조건에 따른 마늘 중의 alliin 함량변화

## 2. Dialk(en)yl thiosulfinate 화합물의 생성 및 변화

수확 저장중의 마늘에는 3종류의 -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteine과 3종류의 S-alk(en)yl cysteine sulfoxides인 alliin, methiin 및 isoalliin이 존재하고 있다. S-alk(en)-yl cysteine sulfoxides은 마늘의 잎살저장세포(mesophyll storage cell)내에 존재하고 있다. 한편 마늘의 유관세포(vascular bundle sheath cell)속에는 alliinase라는 효소가 존재한다(1).

Alliin, methiin 및 isoalliin은 마늘냄새를 나타내는 전구물질로서 마늘조직이 손상되지 않고 이들 세포 속에 서로 격리되어 있는 상태에서는 아무 냄새도 내지를 않는다. 그러나 마늘을 파쇄하면 유관세포 속에 격리되어 있던 alliinase가 alliin, methiin 및 isoalliin과 서로 접촉 작용하여 allyl-S(O)S-allyl (allicin)을 비롯한 8개의 thiosulfinates 즉 allyl-SS(O)-propenyl-(E), allyl-S(O)S-propenyl-(Z), allyl-S(O)S-propenyl-(E), allyl-S(O)S-methyl, methyl-S(O)S-propenyl(e), allyl-SS(O)-methyl, methyl-S(O)S-methyl가 생성된다(9).

마늘의 alliinase 작용으로부터 생성되는 thiosulfinates량은 마늘 중에 존재하는 기질인 S-alk(en)yl-L-cysteine함량, alliinase함량 및 활성에 따라 다를 수

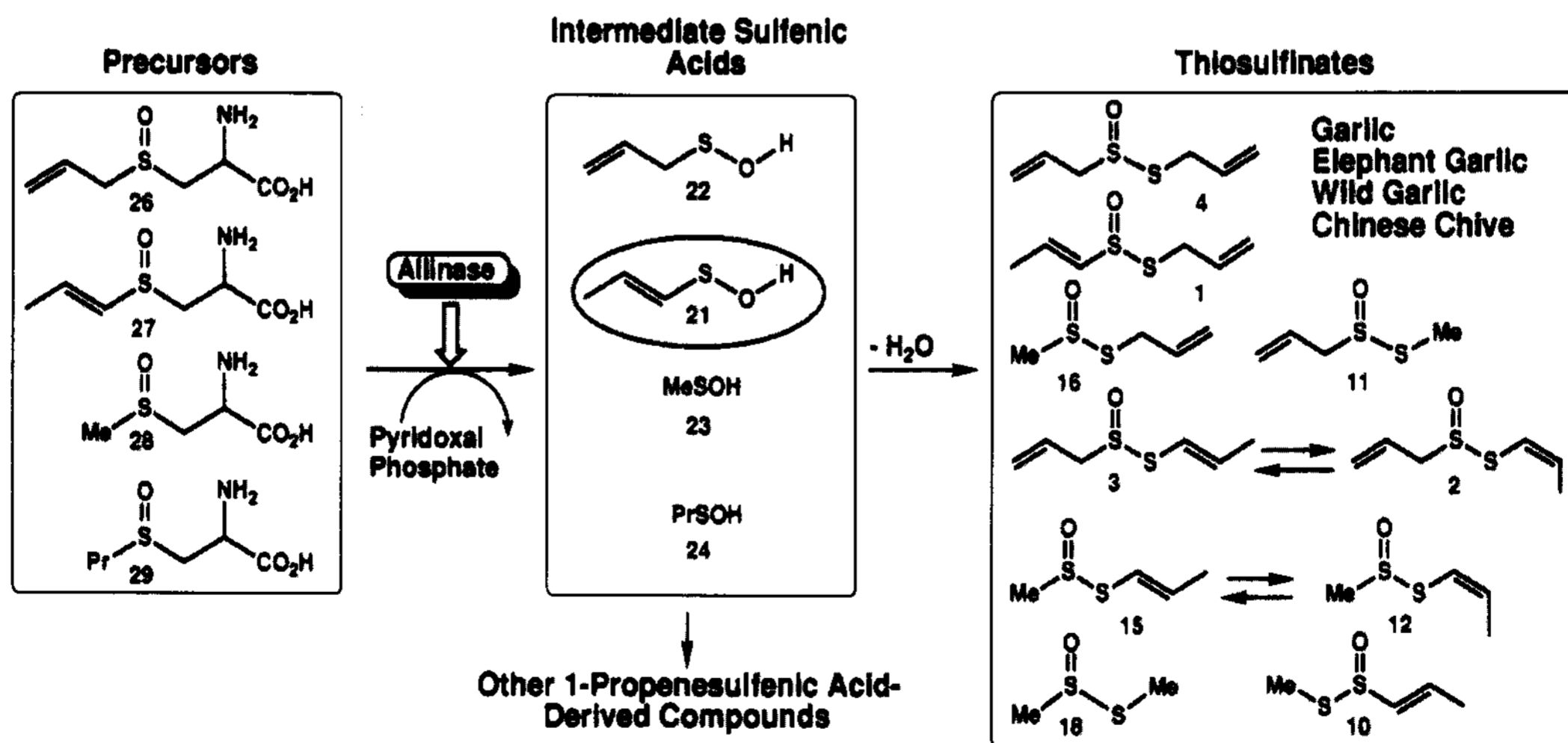


그림 4. 마늘의 dialk(en)yl thiosulfinate 화합물 생성경로

있는데 이들의 함량 및 효소활성은 마늘의 품종, 토양조건, 기후환경, 저장 조건 및 가공조건에 따라 차이가 있다.

마늘에 존재하는 alliinase는 448개의 아미노산과 당으로 구성되어 있으며 분자량은 약 54 kD의 polypeptide로 그 함량은 마늘 총단백질 함량의 10%에 상당하는 것으로 알려져 있다(생마늘 1g당 약 10mg임). Alliinase의 작용기질은 (-)-L-cysteine으로부터 유래된 것이며 cysteine의 S원자는 ethyl, propyl, isopropyl, allyl or butyl기와 같은 지방족기질(aliphatic group)과 결합되어 있어야 한다. 또한 cysteine유도체의 S원자는 sulfoxide형태로 존재하여야 한다. 따라서 S-alk(en)yl-L-cysteines은 기질이 아니다. Alliinase의 최적 pH는 5~8로 비교적 넓으며 최적 온도는 37°C이다. pH 3이하에서 alliinase는 실활하며, 실활된 효소는 pH 3이상에서 다시 활성이 살아나지 않는다(6).

또한 500g의 마늘을 방사자루에 넣고 1ℓ 정도의 100°C 물에서 5분간 가열하면 효소가 완전히 실활되는 것으로 나타났다(11, 12). 마늘의 alliin, methiin 및 isoalliin에 alliinase가 작용하여 생성되는 thiosulfinate는 35 °C에서 30초 이내에 이루어지며, 6초 이내에 50%이상이 전환되는 것으로 알려져 있다(13).

Block등(9)은 마늘을 냉장저장하면 1-propenyl함유 thiosulfates가 증가하는 것으로 나타났다. 즉 실온 저장마늘(sample 1), 냉장저장마늘(sample 3), 뉴욕에서 수확한 저장초기 마늘(sample 2), 뉴욕에서 수확하여 냉장 저장마늘(sample 4) 4종의 allyl/methyl/1-propenyl 함유 thiosulfates의 비율을 측정된 결과 각각 80:16:4, 78:11:11, 94:2:3 및 90:3:8인 것으로 나타났다(표 1 및 그림5 참조).

## 2. Alliinase 첨가에 의한 열처리 마늘로부터의 thiosulfates의 재생성

마늘의 향미 및 생리활성에 주요한 역할을 하는 thiosulfates의 생성을 인위적으로 조절하기 위한 연구를 수행하였다. 이를 위해 껍질을 벗기지 않은 통마늘을 100°C에서 5분간 열처리하여 마늘 중의 alliinase를 완전히 실활시킨 후 마늘로부터 추출, 정제한 alliinase를 첨가하여 효소첨가량 및 반응시간에 따른 thiosulfates의 종류와 최대생성조건을 규명하였다. 열처리한 마늘펄프에 마늘로부터 추출, 정제한 alliinase를 100, 200, 300, 및 400 unit씩 가하여 37 °C에서 5, 10 및 15분씩 각각 반응시킨 후 HPLC로 thio- sulfates를 분석한 결과 그림 6과 같은 크로마토그램을 얻었다. 그림 6의 크로마토그램

표 1. 냉장저장 마늘의 thiosulfates 함량변화

Peak No	Thiosulfates	Garlic stored at room tem.		Garlic stored at refrigerator	
		sample 1	sample 2	sample 1	sample 2
1	AllSS(O)Propenyl-(E)	2.1	1.6	1.6	3.1
2,3	AllS(O)SPropenyl-(Z, E)	5.9	5.3	18	13
4	AllS(O)SAlI	62	89	59	79
11	AllS(O)SMe	8.1	1.4	7.5	1.6
15	MeS(O)SPropenyl-(E)	1.2	-	1.9	-
16	AllSS(O)Me	18	2.9	11	3.9
18	MeS(O)SMe	2.2	-	0.9	-
	total MeS(%)	16	2	11	3
	total AllS(%)	80	94	78	89
	total 1-propenylS(%)	4	3	11	8
	total thiosulfates <sup>a)</sup>	25.6	14.3	20.7	22.1

<sup>a)</sup>Unit : μmole/g wet weight.

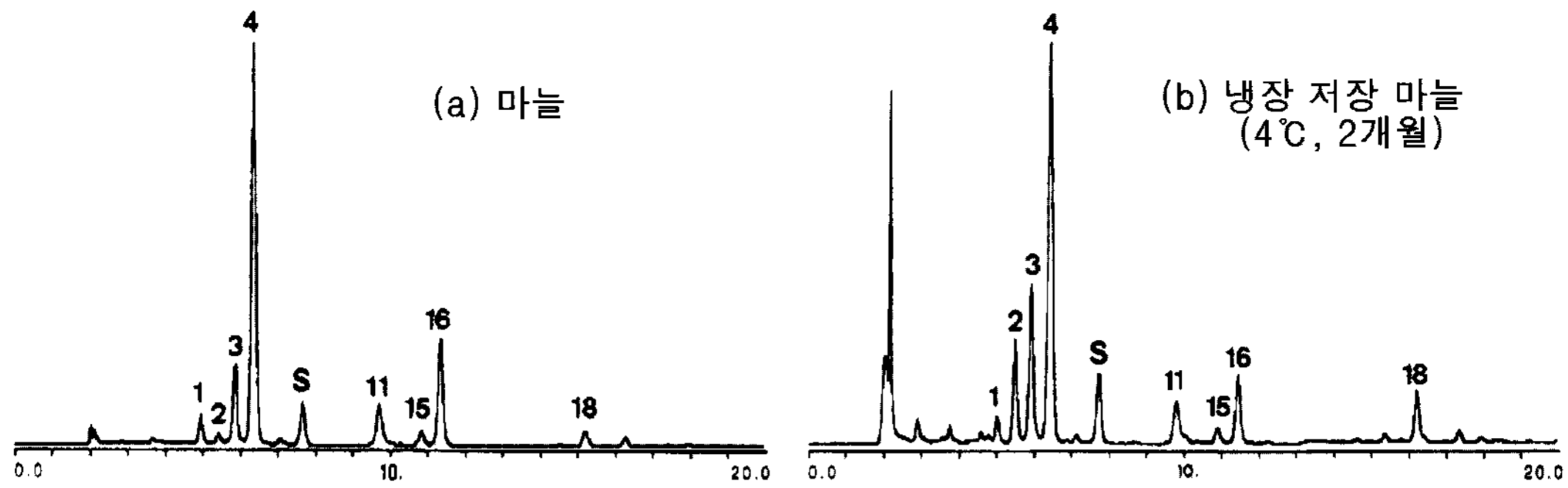


그림 5. 마늘 및 냉장 저장마늘의 thiosulfinates 분리 HPLC크로마토그램.

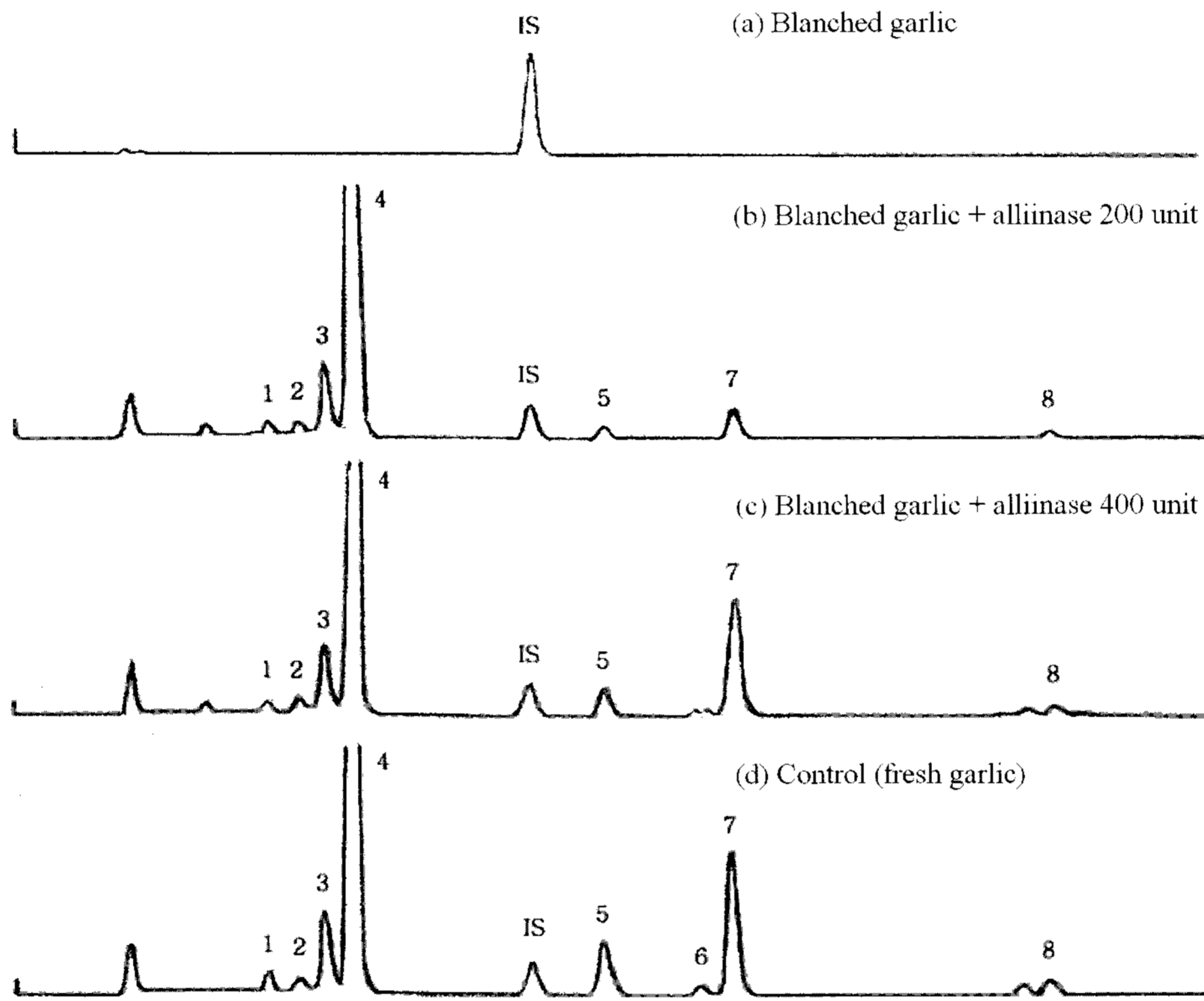


그림 6. Alliinase반응조건에 따른 열처리 마늘로부터 생성된 thiosulfinates 크로마토그램.

(d)는 열처리하지 않은 생마늘(대조구)의 크로마토그램으로 Block등(9)이 보고한 alliin 이외의 7개의 thiosulfinates 피크가 모두 나타났으나, 열처리하여 alliinase를 가하지 않은 마늘펄프의 크로마토그램 (a)는 내부표준물질로 사용한 benzyl alcohol 이외에는 다른 피크가 전혀 나타나지 않았다. 반면 alliinase

를 200 및 400 unit를 각각 가하여 15분간 반응시킨 크로마토그램(b) 및 (c)는 alliinase의 첨가량이 증가할수록 피크의 수 및 각 피크의 면적이 증가하였다. 크로마토그램(a)에서 thiosulfinates 피크가 없다는 사실은 마늘 중의 alliinase가 완전히 실패되었다는 것을 나타내는 것이다(13).

효소첨가량 및 반응시간에 따른 thiosulfinates 생성량을 대조구를 100%로 하여 비교한 결과는 표2와 같았다. 표2에서 보는 바와 같이 본 실험조건에 의하여 열처리한 마늘펄프에 alliinase를 가하여 반응시키면 생마늘로 부터 생성된 thiosulfinates의 약 80%가 생성되었으며, 이들의 상대적 생성량은 효소첨가량 및 반응시간의 증가와 함께 증가하는 것으로 나타났다. 즉 alliinase를 100, 200, 300 및 400 unit 씩 가하여 5분 반응시킨 결과 thiosulfinates 전체 생성량은 대조구의 피크 총면적을 100%로 볼 때 각각 33.8, 62.8, 72.2 및 73.6%가 생성 되었으며, 10분간 반응시킨 처리구에서는 각각 35.0, 65.3, 77.6 및 80.2%가 생성 되었다. 15분간 반응시킨 경우에는 각각 36.9, 67.9, 77.3 및 80.5%가 생성 되는 것으로 나타났다. 한편 반응시간 및 효소첨가량에 따른 thiosulfinates의 생성량은 thiosulfinate의 종류에 따라 차이가 있는 것으로 나타났다. 마늘의 전체 thiosulfinate중 60%이상을 차지하는 것으로 나타난 allicin은 alliinase 300 unit 이상을 가하여 5분간

반응시키면 거의 최대치인 85%정도 생성되었으며 그 후 15분까지 약 3%정도 상승하였다. allyl1-S(O)S-1-propenyl(Z), allyl1-S(O)S-1-propenyl(E) 은 각각 200 unit 이상의 효소를 가하여 5분간 반응시키면 약 50 및 70%가 생성되었으며 그 이후에는 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 그러나 allyl1-SS(O)-1-propenyl(E)는 5분 반응시킨 시료에서 최대 70%정도 생성되었으며 10 및 15분간 반응한 시료에서는 오히려 감소하는 경향을 나타내었다. Allyl-S(O)S-methyl 및 allyl-SS(O)-methyl는 효소첨가량의 증가와 함께 증가하였으며, 반응시간 5분 이후에도 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 가장 낮은 생성율을 나타낸 methyl-S(O)S-methyl는 반응시간 15분까지 증가하는 것으로 나타내었다.

Allyl-SS(O)-methyl(E)는 10 및 15분 처리구에서 감소하는 경향을 나타낸 것은 이 물질이 효소작용에 의하여 5분 이내에 최대 생성율에 도달하여 그 이후부터는 분해되는 것이며, methyl-S(O)S-methyl가 15분 까지도 증가한 것으로 나타난 것은 다른 thiosul-

표 2. Alliinase 첨가량 및 반응시간에 따른 thiosulfinates 함량변화

(Unit : peak area percent<sup>2)</sup>)

PN <sup>1)</sup>	Compound <sup>3)</sup>	Addition concentration (alliinase)											
		100 unit <sup>4)</sup>			200 unit			300 unit			400 unit		
		5 min	10 min	15 min	5 min	10 min	15 min	5 min	10 min	15 min	5 min	10 min	15 min
1	AllSS(O)Propenyl-(E)	56.1	44.1	42.8	59.6	43.2	48.5	69.0	52.2	48.0	51.77	45.60	52.8
2	AllS(O)SPropenyl-(Z)	27.0	35.3	28.3	51.7	50.5	62.3	48.3	60.0	62.5	50.89	47.55	53.8
3	AllS(O)SPropenyl-(E)	44.8	44.9	40.4	73.3	74.1	79.6	71.7	72.9	58.5	64.38	68.47	70.7
4	AllS(O)SAll	43.2	45.3	47.0	80.1	82.6	84.8	85.4	88.8	85.6	83.16	88.46	87.5
5	AllS(O)SMe	6.1	7.1	7.0	15.6	18.3	20.1	32.8	31.7	38.5	41.59	48.00	48.3
7	AllSS(O)Me	4.9	5.3	5.3	14.7	18.1	17.8	60.5	65.9	68.8	73.05	87.21	76.1
8	MeS(O)SMe	0.7	0.9	0.0	16.8	33.7	19.0	15.0	17.3	16.3	15.60	6.17	26.3
	Total	33.8	35.0	36.9	62.8	65.3	67.9	72.2	77.6	77.3	73.6	80.2	80.5

주) <sup>1)</sup> PN: 피크번호.

<sup>2)</sup> 열처리하지 않은 마늘의 피크면적을 100%로 하여 비교한 면적비임.

<sup>3)</sup> 1 unit는 1분에 1 μmole의 pyruvate를 생산하는 alliinase의 양.

finates에 비하여 비교적 늦게 생성되기 때문인 것으로 사료된다. Law와 Hughes(14)은 마늘로부터 생성되는 thiosulfates의 특성을 연구한 결과 생마늘을 파쇄하면 allicin 및 allyl propenyl thiosulfates 화합물은 23 °C에서 0.5분 이내에 최대 생성율을 나타내었으나, methyl기를 함유한 thiosulfates는 이보다 10배 정도 늦은 5분후에야 최대 생성율에 도달하였으며, 이들 모두 100분까지는 안정성을 유지하였다. 그러나 allyl 1- propenyl thiosulfate는 thiosulfates 중 가장 불안정한 물질로 5분 후부터 감소하기 시작하였다고 보고하였다. Pruthi 등(12)은 효소를 실험시킨 마늘분말에 alliinase를 가하여 반응시키면 allicin과 allyl sulphide를 재생성 시킬 수 있었으며, 열처리에 의하여 마늘중의 peroxidase 및 catalase와 같은 갈변을 야기하는 효소도 실험시키므로 마늘분말제품의 경우 갈변을 방지할 수 있다고 하였다.

### 3. 마늘 중의 휘발성 황화합물의 확인

생마늘과 열처리한 마늘 펄프에 효소를 가하여 반응조건에 따른 시료들의 휘발성 향기성분을 확인

하고자 하였다. 이를 위하여 용매추출법에 의하여 추출, 농축한 향기성분을 GC/MSD에 주입하여 분석한 결과 그림 7과 같은 Total Ion Chromatogram(TIC)을 얻었다. 그림 7에서 보는 바와 같이 분리된 36개의 피크에 대하여 각각의 mass spectrum, 표준물질을 이용한 retention time등에 근거로 하여 각 피크에 대한 성분을 확인한 결과 28개의 피크에 대하여 성분확인이 가능한 것으로 나타났다. 확인된 28개의 휘발성 성분은 황 화합물 23종, 산류 2종이었으며 이외에 2-propen-1-ol, cyclopentane 및 1,5-hexadiene이 존재하는 것으로 나타났다(표 3참조). 23종의 sulfide류 화합물은 allicin의 실온분해산물로 알려진 diallyl disulfide, diallyl sulfide, diallyl trisulfide 및 이산화황이 확인되었고, allicin의 GC/MSD 분석과정 중 분해산물로 알려진 3,4-dihydro-3-vinyl-1,2-dithiin 및 2-vinyl-4H-1,3-dithiin도 확인되었다. 또한 마늘의 주요 향기성분으로 보고된 dimethyl disulfide, allyl methyl sulfide, trans-propenyl methyl disulfide, cis-propenyl methyl disulfide, dimethyl trisulfide, allyl methyl trisulfide들도 확인되었다(15,16). 식품의 향기

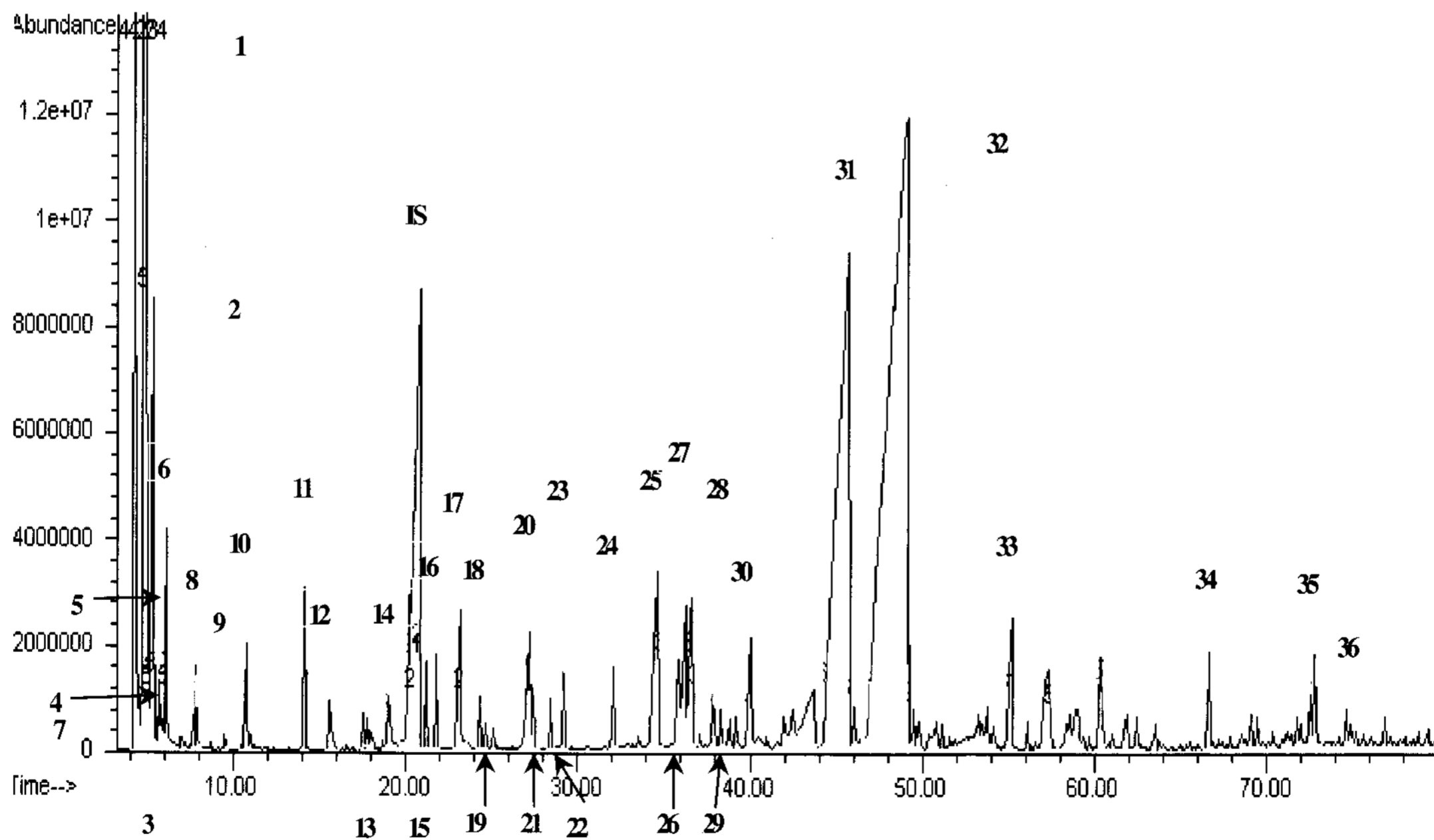


그림 7. 신선 마늘의 휘발성황화합물에 대한 GC/MSD 크로마토그램.



표 3. Alliinase 첨가량에 따른 열처리 마늘의 휘발성황화합물의 재생성량 비교

(Unit : Area count/10,000)

PN <sup>2)</sup>	RT	Compound	Alliinase concentrations(unit <sup>3)</sup> )				
			Control <sup>1)</sup>	100	200	300	400
1	4.21	Sulfur dioxide	5914.6	916.7	2033.5	2787.6	3227.5
2	5.29	2-propen-1-ol	2983.7	623.4	1304.3	578.4	2469.2
3	5.36	Cyclopentane	615.4	502.0	550.5	578.4	737.1
4	5.52	1,5-Hexadiene	205.8	137.0	166.5	65.7	114.0
5	6.03	2-propen-1-thiol	623.7	223.5	353.8	502.9	360.8
6	6.07	Propylene sulfide	1239.7	452.5	730.2	766.0	569.2
7	7.63	Propanoic acid	196.7	56.8	130.0	219.3	255.6
8	7.81	Allyl methyl sulfide	1260.6	10.8	80.4	214.1	600.0
9	9.50	Dimethyl disulfide	112.5	3.0	9.9	39.7	142.5
10	10.74	2-Butenoic acid	964.9	491.3	545.8	626.2	698.0
11	14.12	Methyl ethyl disulfide	1096.4	277.7	388.4	690.7	1759.9
12	15.59	Diallyl sulfide	673.9	92.4	218.2	250.0	311.6
13	18.02	3-methyl-2-cyclopenten-1-thione	227.6	45.6	161.1	183.4	161.2
14	19.02	3,4-Dimethylthiophene	872.6	80.1	200.7	259.5	178.7
15	21.18	<i>Trans</i> -propenyl methyl disulfide	474.4	28.4	45.2	92.1	103.8
16	21.81	<i>Cis</i> -propenyl methyl disulfide	661.2	28.8	66.7	91.1	106.2
17	23.14	Unknown	2239.0	955.8	1383.4	1467.6	1251.9
18	24.29	Dimethyl trisulfide	313.2	6.2	12.0	64.3	309.8
19	24.63	S-methyl methanethiosulphinate	223.0	146.7	181.7	180.3	211.5
20	27.21	Unknown	2089.2	101.8	124.3	806.9	916.2
21	27.40	2,3-dimethylthiophene	396.8	71.2	117.6	141.3	194.7
22	28.44	2-Methyl-1,3-dithiane	339.5	14.4	9.0	111.1	265.0
23	29.19	Unknown	557.5	8.1	21.3	161.5	313.8
24	32.09	Unknown	723.4	83.1	162.7	297.5	839.1
25	34.62	Diallyl disulfide	3601.6	533.6	914.5	2674.3	3513.5
26	35.85	Unknown	1456.5	331.4	722.1	994.2	753.3
27	36.25	Unknown	2203.6	131.8	267.9	811.3	1818.7
28	36.59	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> S <sub>2</sub>	2992.5	472.3	855.9	1035.1	858.2
29	38.32	4-mercapto-3-methyl-crotonic acid	286.6	64.0	90.5	54.1	94.4
30	40.01	Allyl methyl trisulfide	1592.8	412.5	1034.5	1553.9	2009.4
31	45.71	3,4-dihydro-3-vinyl-1,2-dithiin	34647.6	9141.0	17797.7	26197.9	32285.7
32	49.08	2-vinyl-4H-1,3-dithiin	58038.8	16432.2	15629.4	40611.4	40712.7
33	55.18	Diallyl trisulfide	3938.1	900.4	1255.8	2165.6	3253.2
34	66.68	Unknown	1029.5	62.4	126.6	662.2	660.6
35	72.78	Unknown	941.4	557.9	734.7	932.3	1023.1
36	74.91	Diallyl tetrasulphide	304.2	95.5	132.3	211.2	260.5
Total			136038.4	34492.5	48558.9	89079.1	103340.8

<sup>1)</sup> 대조구는 생마늘임.

<sup>2)</sup> 및 <sup>3)</sup>은 표 2 참조.

성분은 추출방법에 따라 차이가 있는 것으로 보고되고 있다. Leahy와 Reineccius (17)의 연구에 의하면 pentane으로 추출할 경우에는 ethanol, propanol 및 butanol과 같은 알코올류는 추출되지 않는 반면 purge and trap concentrator를 이용할 경우에는 이와 같은 알코올류는 흡착관에 잘 흡착되어 검출되는 것으로 보고되었다. Tenax GC가 장착된 purge and trap concentrator를 이용하여 마늘의 향기성분을 분석한 결과에서는 1-hexanol, 2-butanal 및 hexanal이 검출되었다(15). 그러나 Likens-Nikerson장치를 이용하여 마늘의 향기성분을 포집한 후 농축하여 분석한 Yu 등(16)의 연구에서는 1-hexanol은 검출되었으나 2-butanal 및 hexanal은 검출되지 않은 것으로 보고하였다. 이와 같이 용매추출 및 증류추출장치에서 2-butanal 및 hexanal이 검출되지 않은 것은 두 방법 모두 용매에 흡착시켜 분석하는 원리를 이용하는 것이지만 농축과정에서 손실되는 것으로도 추정할 수 있다. 마늘 중의 알데하이드 및 알코올류는 alliin, methiin 및 isoalliin이 분해되어 생성된 sulfenic acid들이 물과 작용하여 알코올을 생성하고, 생성된 알코올로부터 해당 알데하이드 물질이 생성된다고 Spare와 Virtanin(18)은 보고하였다. 마늘 essential oil에서는 diallyl disulfide가 주성분이며 diallyl trisulfide와 diallyl tetrasulfide도 함유되어 있다고 보고하였다(19). 또한 Brodnitz 등(20)은 allicin이 분해되면 각종 monosulfide, disulfide, trisulfide이외에도 이산화황이 생성된다고 보고하였다.

#### 4. Alliinase 첨가에 의한 열처리 마늘로부터 휘발성황화합물의 재생성 비교

열처리 마늘펄프에 alliinase를 가하여 thiosulfinates의 생성량을 측정한 결과 15분 동안 반응시켰을 때 thiosulfinates의 생성량이 최대치에 도달하는 것으로 나타났다. 따라서 alliinase를 열처리 마늘펄프에 100, 200, 300 및 400 unit씩 첨가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 시료들과 생마늘에 대한 휘발성 향기

성분의 생성량을 비교하기 위하여 GC/MSD로 분석한 결과는 표3과 같았다. 표3에서 보는 바와 같이 생마늘의 휘발성 향기성분의 총 피크면적을 100%로 하여 비교할 때 alliinase를 열처리 마늘펄프에 100, 200, 300 및 400 unit씩 첨가한 시료들의 휘발성 향기성분의 전체 생성율은 각각 25.4, 35.7, 65.5 및 76.0%이었다. 마늘의 주요 향미성분이며 생리활성을 나타내는 것으로 알려진 diallyl disulfide, diallyl trisulfide, diallyl sulfide등과 같은 함황 휘발성성분의 전체 생성율은 각각 25.4, 35.3, 67.5 및 76.3%이었으며, 함황 휘발성물질 총 피크면적의 77.3%를 차지하는 것으로 나타난 allicin 열분해산물인 3,4-dihydro-3-vinyl-1,2 -dithiin 및 2-vinyl-4H-1,3-dithiin화합물은 각각 27.6, 36.1, 72.1 및 78.8%가 생성되는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 HPLC를 이용하여 이들 시료의 thiosulfinates 총 함량 생성율을 측정한 결과와 유사한 경향을 나타내고 있었다.

#### 요약

마늘의 저장 중 생리활성과 향미에 중요한 영향을 미치는 성분의 변화를 발표된 논문을 중심으로 정리하여 살펴보았다. 또한 마늘의 냄새를 최소화하고 생리활성을 극대화할 수 있는 기능성식품의 소재개발 타당성을 살펴보기 위하여 열처리(blanching)로 마늘 중의 효소를 모두 불활성화 시킨 후, 이에 마늘로부터 추출한 alliinase를 가하여 반응조건에 따른 alk(en)yl thiosulfinates 생성 및 이들의 분해산물인 휘발성 황함유화합물의 함량변화를 측정하였다.

수확한 마늘의 최종 저장물질로 알려진 -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteines는 마늘중에 존재하는 -glutamyl-transpeptidase 및 oxidase의 작용에 의하여 감소한 반면 S-alk(en)yl cysteine sulfoxide는 감소한 만큼 증가하였으며, 이는 -3°C 및 실온(23°C)에

서 보다는 냉장온도(4°C)에서 가장 많이 변화하는 것으로 나타났다. 이러한 감소 및 증가현상은 -glutamyl-S-(2-propenyl)-L-cysteine이 -glutamyl-S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine이나 -glutamyl-S-methyl-L-cysteine보다 더 컸다. -glutamyl-S-(2-propenyl)-L-cysteine은 4°C에서 저장 60일 만에 66%가 감소한 반면 이로부터 생성된 S-(2-propenyl)-L-cysteine sulfoxide는 그 만큼 증가하였다. -glutamyl-S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine 및 -glutamyl-S-methyl-L-cysteine도 4°C에서 150일간 저장한 경우 각각 81% 및 39%가 감소하고, 이들로부터 각각 생성된 S-(trans-1-propenyl)-L-cysteine sulfoxides 및 S-methyl-L-cysteine sulfoxide는 증가하였다. 한편 열처리 마늘에 alliinase를 가하여 함황화합물을 재생성 시킨 결과 8종의 S-alk(en)yl cysteine sulfoxides를 확인할 수 있었다. S-(2-propenyl)-L-cysteine sulfoxide은 전체 thiosulfinates함량의 약 60%를 차지하는 것으로 나타났다. 100, 200, 300 및 400 unit의 alliinase를 첨가하여 15분간 반응시킨 결과 총 thiosulfinates는 생마늘(대조구)에 비하여 각각 37, 68, 77 및 80%가 생성되는 것으로 나타났다. GC/MSD를 이용하여 대조구 및 효소를 첨가하여 반응시킨 시료의 휘발성 향기성분을 분석한 결과 alliinase를 100, 200, 300 및 400 unit 첨가하여 15분간 반응시키면 각각 마늘의 휘발성 향기성분이 25, 36, 66 및 76% 씩 재 생성되는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 마늘을 이용한 제품개발이나 연구를 할 경우 마늘의 저장조건에 따른 생리활성물질의 분석결과를 근거로 하여 이루어져야 하며, 또한 효소를 이용하여 적절히 반응시키면 마늘 냄새를 30~80% 범위 내에서 조절이 가능한 것으로 나타났다.

**참고문헌**

1. Kamel A, Saleh M. Recent studies on the chemistry

and biological activities of the organosulfur compounds of garlic(*Allium sativum*). Vol. 23, pp. 455-485. In: Studies in Natural Products Chemistry. Rahman A (ed). Elsevier, New York, NY, USA (2000)

2. Jeang DY, Jeang SU. Garlic science. World Science, Seoul, Korea. pp. 93-103 (2005)

3. Ichikawa M, Ide N, Yoshida J, Yamaguchi H, Ono K. Determination of seven organosulfur compounds in garlic by high-performance liquid chromatography. J. Agr. Food Chem. 54:1535-1540 (2006)

4. Choi MK, Chae KY, Lee JY, Kyung KH. Antimicrobial activity of chemical substance derived from s-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxide(alliin) in garlic, *allium sativum* L. Food Sci. Biotechnol. 16:1-7 (2007)

5. Ichikawa M, Ide N, Yoshida J, Ono K. changes in organosulfur compounds in garlic cloves during storage. J. Agr. Food Chem. 54:4849- 4854 (2006)

6. Whitaker JR. development of flavor, odor and pungency in onion and garlic. Vol. 22, pp. 731-727. In: Advance in food research. Chichester CO. Academic press, New York, USA (1976)

7. Lancaster JE, Shaw ML. Metabolism of -glutamyl peptides during development, storage and sprouting of onion bulbs. Phytochemistry 30:2857-2859 (1991)

8. Ceci L, Curzio OA, Pomilio AB. -glutamyl transpeptidase/ -glutamyl peptidase in sprouted *Allium sativum*. Phytochemistry 31:441-444 (1992)

9. Block E, Naganathan S, Putman D, Zhao SH. *Allium* chemistry : HPLC analysis of thiosulfinates from onion, garlic, wild garlic (Ramsons), leek, scallion, shallot, elephant(great-headed) garlic, chive, and Chinese chive. J. Agr. Food Chem. 40:2418-2430 (1992)

10. Arnault A, Christides JP, Mandon N, Haffner T,

- kahane R, Auger J. High- performance ion-pair chromatography method for simultaneous analysis of alliin, deoxyalliin, allicin and dipeptide precursors in garlic products using multiple mass spectrometry and UV detection. *J. Chromatogr. A.* 991:69-75 (2003)
11. Choi YH, Shim YS, Kim CT, Lee C, Shin DB. Characteristic of thiosulfinates and volatil sulfur compounds from blanched garlic reacted with alliinase. *J Food Sci. Techno. Korea.* 39:600- 607 (2007)
12. Pruthi JS, Singh LJ, Girdhari L. Thermal stability of alliinase and enzymatic regeneration of flavour in odourless garlic powder. *Curr. Sci. India* 28:403-404 (1959)
13. Chi MS, Koh ET, Stewart TJ. Effects of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol or lard. *J. Nutr.* 112:241-248 (1982)
14. Lawson LD, Hughes BG. Characterization of the formation of allicin and other thiosulfinates from garlic. *Planta Med.* 58:345-350 (1992)
15. Shin DB. Effect of extraction and dehydration methods on flavor compounds of garlic powder. PhD thesis, Chung-Ang University, Seoul, Korea (1995)
16. YU TH, WU CM, Liou YC. Volatile compounds from garlic. *J. Food Sci.*, 54:977-981 (1989)
17. Leahy MM, Reineccius GA. Comparison of methods for the isolation of volatile compounds from aqueous model system. pp. 19-47. In: *Analysis of volatiles.* Schreier P. Walter de Gruyter, Berlin, Germany (1984)
18. Spare CG, Virtanin AI. On the lachrymatory factor in onion(*Allium cepa*) vapors and its precursor. *Acta Chem. Scand.* 17:641-650 (1963)
19. Lawson LD, Wang ZJ, Hughes BG. Identification and HPLC quantitation of the sulfides and dialk(en)yl thiosulfinates in commercial garlic products. *Planta Med.* 78:363-370 (1992)
20. Brodnitz MH, Pascale JV, Derslice LV. Flavor components of garlic extracts. *J. Agr. Food Chem.* 19:273-275 (1971)