

흑 마늘 첨가에 따른 마늘 젖산 발효물의 물성 및 기능성평가

손세진 · 이삼빈[†]

계명대학교 식품가공학과, 전통 미생물자원개발 및 산업화 연구센터

Effects of Black Garlic on the Rheological and Functional Properties of Garlic Fermented by *Leuconostoc mesenteroides*

Se-Jin Son and Sam-Pin Lee[†]

Dept. of Food Science and Technology and The Center for Traditional Microorganism Resources (TMR),
Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Abstract

White and black garlic pastes were fermented by *Leuconostoc mesenteroides* and evaluated for its rheological and functional properties such as consistency, antioxidant and angiotensin converting enzyme inhibitory activity. The pH, acidity and solid content of black garlic paste were 4.60, 1.23%, 22.63%, respectively. The viable cell counts and consistency of fermented garlic was decreased by adding higher amounts of black garlic paste. Fermentation of white garlic (40%)/black garlic (10%) showed viable cell counts of 1.6×10^{11} , fluid consistency of $9.31 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$. Water and 70% ethanol extract from fermented garlic showed the polyphenol content of 6.29 mg/mL and 5.99 mg/mL, respectively. Also, water extract indicated the DPPH radical scavenging effects and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity with IC_{50} 1.03 mg/mL and IC_{50} 68.54 mg/mL, respectively. ACE inhibitory activity was increased with adding black garlic paste. Conversion of sucrose into dextran polymer in fermented garlic was drastically decreased by the addition of black garlic paste, indicating from 85% (0% black garlic) to 20% (20% black garlic) conversion yield. Garlic paste fermented with 10% black/40% white garlic showed the decrease in consistency and viable cell counts during both cold and freezing storages. In particular, consistency of fermented garlic was lower during freezing storage than cold storage, and the viable cell counts was drastically decreased after storage for 2 weeks.

Key words: black garlic, dextran, *Leuconostoc mesenteroides*, bioactive compounds, viable cell counts

서 론

마늘(*Allium sativum* L.)은 전통적으로 동양 요리를 비롯한 그 밖의 여러 가지 요리에서 양념으로 사용되어 오고 있는 향신료로서 다양한 생리활성 및 약리적인 기능이 잘 알려져 있다(1). 마늘의 유용성분으로 다양한 유허화합물이 존재하며, 특히 마늘에는 alliin이 있어서 이것이 마늘 조직의 손상에 따른 allinase라는 효소의 작용에 의해 allicin으로 변하여 마늘의 독특한 풍미와 맛, 유익한 작용이 일어나게 된다(2).

흑 마늘은 유백색의 생마늘과는 달리 충분히 숙성된 마늘은 검은색을 나타내며, 생마늘에는 존재하지 않는 S-아릴시스테인이라는 수용성의 유허아미노산이 생성된다. 또한 흑 마늘은 항산화력이 상승하고, 암 예방, 콜레스테롤 저하, 동맥경화 개선, 심장질환의 예방 등의 효과가 생마늘보다 증가하는 것이 밝혀졌다(3). 따라서 마늘 성분이 질병의 개선 및 건강유지, 건강 증진과도 밀접한 관련이 있다는 것이 규명되

고 있어, 각종 성인병에 대한 다양한 생리활성 물질을 함유한 마늘소재에 관한 연구는 기능성식품으로서의 이용 가능성 측면에서 의미가 크다고 할 수 있다(4).

마늘 가공품에서의 갈변은 카라멜 반응, 마이알 반응 등의 비효소적 갈변과 polyphenoloxidase(PPO)에 의한 효소적 갈변 등으로 분류되는데, 마늘 가공 시 높은 온도에서는 아미노산의 peptide, 단백질의 α -amino group과 당과의 반응에 의한 비효소적 갈변 반응이 주로 일어난다(5). 이러한 마늘의 갈변은 온도, 수분함량 및 환원당에 의해 크게 좌우되므로(6) 마늘 가공 중 갈변 억제를 위한 다양한 연구들이 진행되어 왔다(7,8). 갈변반응 생성물에 대한 긍정적인 연구로는 다양한 생리활성을 갖는다는 것이다. 즉 갈변반응 생성물이 reductone의 수소공여능에 의한 지질의 항산화 활성(9), 갈변반응 분획물의 항돌연변이원성 및 항산화작용에 관한 연구 등을 들 수 있다(10). 갈변반응으로 생성된 melanoidin은 중성 pH에서 강한 항산화작용을 가지며 환원성 성분에 의한 라디칼 소거작용, 과산화물 분해 작용 및 중합물의 급

[†]Corresponding author. E-mail: splee@kmu.ac.kr
Phone: 82-53-580-5554, Fax: 82-53-580-5554

속봉쇄작용 등의 기능성이 인정되고 있다(11).

흑 마늘은 마늘의 매운맛을 감소시키며 점도가 높아지고, 달콤하고도 새콤한 맛이 조화를 이루기 때문에 최근 흑 마늘의 제조법이 알려지기 시작하면서 엑기스, 음료, 사탕, 젤리 및 가공품을 제조할 수 있는 좋은 소재로 부상하고 있다(12). 하지만 흑 마늘의 품질 특성이나 기능성 및 발효에 대한 연구 결과 및 자료는 거의 없는 실정이다.

최근 건강지향적인 식품에 대한 관심이 집중되면서 다양한 생리활성 성분을 함유하고 있는 인삼, 매실, 쑥, 녹차, 클로렐라, 오디 등의 천연 소재를 요구르트에 첨가하여 기존의 요구르트의 기능성뿐만 아니라 새로운 생리활성이 강화된 요구르트를 제조하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다(13,14).

김치의 주된 숙성 젖산균인 *Leuconostoc* 균주는 젖산 생산이 약하며, 탄소원으로 sucrose의 존재 하에서 세포의 효소인 dextransucrase에 의해서 고분자 다당류 dextran을 생산하는 특성을 가지고 있다(15). Dextran은 glucose의 중합체인 homopolysaccharide로 점착성, 흡습성 및 열안정성을 가지면서 식품의 물성조절에 중요하다(16-18)고 보고되어 있다.

따라서 본 연구에서는 열처리된 냄새 없는 흰 마늘과 마늘을 숙성시켜 제조한 흑 마늘을 주원료로 사용하고, 이를 *Leuconostoc mesenteroides* 균주로 젖산 발효시켜 제조한 발효물의 품질, 물성 및 기능성을 평가하며, 냉장 및 냉동 저장 중에 마늘 발효물의 생균수 및 점도를 평가함으로써 가공식품 원료뿐 아니라 다양한 식품 소스로 활용이 가능한 기초 배이스를 개발하고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 마늘은 의성에서 2009년 생산되었으며, 흑 마늘은 의성에서 구입한 마늘을 건조, 숙성 과정을 거쳐 제조하여 사용하였다. HPLC 분석에 사용된 시약들은 HPLC 급 시약을 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 당은 식품용 정백당으로 백설탕을 (주)CJ(Incheon, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

흰 마늘 제조

마늘 100 g을 4분 동안 microwave(1,400 W/hr) 처리한 것을 믹서(Hanil, Seoul, Korea)로 강도 약으로 3분 동안 분쇄하고, 일신랩 진공 동결건조기(PVTFD 20R, Programmable Freeze Dryer Series, Ilshinbiobase, Yangju, Korea)를 이용하여 분말화하여 사용하였다.

흑 마늘 제조

마늘 100 g을 4분 동안 microwave 처리한 후 열처리된 마늘을 스테인리스 망이 있는 내열성 플라스틱 밀폐 용기에 담고, 열풍건조기(DR-1102, Daeryun Science, Seoul, Korea)를 사용하여 90°C에서 12시간 동안 80°C에서 48시간 고

온에서 숙성시켰다. 고온 발효과정에서 생성되는 가스를 제거하기 위하여 12시간 단위로 환기 및 수분공급을 실시하였다. 본 실험에서 사용한 흑 마늘의 수분함량은 약 30%다.

마늘의 습식분쇄물 제조

Microwave로 4분 동안 처리한 흰 마늘과 흑 마늘을 각각 용기에 담은 다음 물을 첨가한 후(2.5~3배) 믹서로 강도 약으로 3분 동안 혼합하고, 습식분쇄기(HKPS, Hankook powder system, Seoul, Korea)를 이용하여 mesh 0.9, 0.6과 0.3 mm까지 각각의 단계에서 5분씩 습식분쇄 하는 공정을 실시하였다. 습식분쇄 한 마늘의 paste 농도는 흰 마늘이 17%, 흑 마늘은 22.63%이다.

Starter 제조

당근 생즙에서 분리한 *Leuconostoc mesenteroides* 균주를 실험에 사용하였고(19), 이 균주를 Difco™ *Lactobacilli* MRS(Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) agar 배지에 도말하여 25°C 항온배양기(BI-600M, Jeio tech Co., Ltd, Deajeon, Korea)에서 24시간 배양한 후 배양된 균주의 단일 colony를 취하여 기본배지(sucrose 2%, yeast extract 0.5%, tryptone 0.25%, K₂HPO₄ 0.25%)에 접종하여 25°C에서 24시간 정치배양 한 후 starter로 사용하였다.

마늘 발효액 제조

250 mL 삼각플라스크에 마늘 혼합액 50 mL을 넣고, 50% sucrose 용액을 0~30%(w/v)의 범위로 첨가한 다음 멸균된 증류수를 이용하여 100 mL로 제조하였다. 제조된 배지에 *L. mesenteroides* starter 배양액을 3% 수준(생균수 10⁸ cfu/mL)으로 접종하여 25°C의 항온 배양기에서 24시간 동안 정치배양 하였다.

pH 및 적정산도 측정

pH는 pH meter(model 420A⁺, Thermo Orion, Batavia, USA)를 이용하여 측정하였고, 적정산도는 시료 1 mL에 증류수 4 mL을 첨가하여 pH meter로 pH가 8.3에 도달할 때까지 0.1 N-NaOH로 적정에 사용된 소비량을 lactic acid 함량(% , v/v)으로 환산하였다.

생균수 측정

발효액 0.1 mL을 멸균 증류수 0.9 mL에 혼합하여 10⁵, 10⁶배로 단계별 희석하여 Difco™ *Lactobacilli* MRS broth agar 배지에 20 µL 도말한 후, 25°C 항온배양기(BI-600M, Jeio tech.)에서 24시간 배양한 후의 생균수를 cfu(colony forming unit)/mL로 나타내었다.

점도 및 점탄성 분석

발효물의 점조도는 Rheometer System(HAAKE Rheo-Stress 1, Thermo Haake, Karlsruhe, Germany)에 cone plate device(Platte PP35 Ti, 3.5 cm diameter)를 장착하여 측정하였다. 시료 1.2 mL을 plate에 올려 구간 당 10초 동안의 평균값이 측정되어 얻은 값을 shear rate(1/sec)와 shear

stress(Pa)로 나타내어 점조도가 높아짐에 따라 층밀립 변형력이 높아지는 효과를 측정하였다. 측정온도 20°C에서 전단속도($\dot{\gamma}$)는 1~100 sec⁻¹의 범위로 유동특성을 알아보았고, 점조도지수와 유동지수 값은 power law model($\tau=ar^b$)로 측정하였다(20).

Power law model: $\sigma=K\cdot\dot{\gamma}^n$

동적 점탄성(dynamic viscoelasticity) 측정은 변형력과 변형률 사이에 선형관계가 나타나는 구간을 결정하기 위하여 frequency sweep로부터 결정된 진동수(frequency, ω) 6.2832 rad/s에서 측정하여 탄성률(elastic modulus G')과 점성률(viscous modulus G'')을 측정하였다.

당 분석

마늘 발효물의 sucrose 전환율 및 생성된 monosaccharide 분석은 발효액 0.5 mL에 증류수 동량을 취하여 혼합한 후 15,000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 상층액만을 회수하였다. 이 회수한 용액을 0.45 μ m syringe filter(Minisart RC 15, Sartorius, Goettingen, Germany)로 여과한 다음, 여액 20 μ L를 high performance liquid chromatography(HPLC) 분석용 시료로 사용하였다. 분석용 column은 Asahipak NH2P 50(Shodex, Kawasaki, Japan)을 사용하였으며, 75% acetonitrile을 분당 1.0 mL로 흘리면서 시료의 검출을 RI detector(Knauer Co., Berlin, Germany)로 측정하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

폴리페놀 함량은 AOAC법에 의하여 측정하였다(21). 물과 70% EtOH 추출물을 농도별로 희석한 용액 1 mL을 취하여 2%(w/v) Na₂CO₃ 용액 1 mL을 가하여 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL을 가하여 반응시켜 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 증류수로 gallic acid 0.1%(w/v)를 제조한 후 최종농도가 0, 20, 40, 60, 80, 100 μ g/mL 용액이 되도록 조제하고 이를 일정량 취하여 위와 같은 방법으로 750 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

DPPH에 의한 수소공여능 측정

전자공여능(electron donating ability, EDA)은 Blois(22)의 방법을 변형하여 측정하였다. 마늘 발효물의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼에 대한 소거활성은 Kwon 등의 방법(23)에 따라 측정하였다. 시료를 농도별로 희석한 sample 160 μ L에 에탄올에 녹인 0.15 mM DPPH 용액 40 μ L를 가하여 실온에서 빛에 접촉을 방지하기 위해 은박지를 이용해 빛을 차단하고 30분 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 IC₅₀ 값으로 나타내었다.

Angiotensin converting enzyme inhibitory activity

ACE 저해활성 측정은 Cushman과 Cheung의 방법(24)을

응용하여 ACE 조효소액을 제조하여 수행하였다. 0.1 M borate buffer(pH 8.3)에 녹인 기질 5 mM HHL(hippuryl-L-histidyl-L-leucine)용액 100 μ L와 ACE 조효소액(0.2 unit/g) 100 μ L 및 시료 50 μ L를 혼합하였으며, 대조구는 시료 대신 증류수 50 μ L를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고 1 N HCl 250 μ L를 첨가하여 반응을 중지시켰다. Blank는 ACE 조효소액을 첨가하기 전에 먼저 1 N HCl 250 μ L를 첨가하여 반응을 중지시킨 후 ACE를 첨가하였다. 반응용액에 1.5 mL의 ethyl acetate를 첨가하여 vortex로 강하게 15초간 교반한 후 혼합하여 3,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상등액 1 mL을 105°C 건조기에서 30분간 완전히 건조시킨 후 1 mL의 증류수를 첨가하여 효소에 의해 기질로부터 분리되어 추출된 hippuric acid를 228 nm에서 흡광도를 분광광도계로 측정하여 저해율을 계산하였다.

저장성 평가

25°C 항온배양기(BI-600M, Jeio tech.)에서 24시간 배양된 마늘 발효물(흑 마늘 10%/흰 마늘 40%)을 이용하여 4°C 냉장 및 -20°C의 냉동고에 보관하면서 4주 동안 생균수 및 점도 변화를 측정하였으며, 실험구당 3회 반복 측정하여 그 평균값을 나타내었다.

통계처리

각 실험은 3회 이상 반복실험을 통하여 결과를 얻어 SPSS 12.0을 사용하여 통계처리 하였으며, 각각의 시료에 대해 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 각 시료군에 대한 유의차 검정은 분산분석을 한 후 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

흑 마늘 농도에 따른 이화학적 특성 분석

흑 마늘의 첨가에 따른 젖산 발효를 평가하기 위해서 열처리에 의해서 마늘 특유의 냄새가 없으면서 젖산발효가 잘 일어나는 흰 마늘과 흑 마늘을 혼합하여 발효를 수행하였다. 일반적으로 생마늘의 경우 13가지, 구운 마늘의 경우 11가지의 휘발성 유기화합물이 존재하며, 대부분이 sulfide다. 특히 methyl allyldisulfide, diallyl sulfide 및 diallyl disulfide가 상대적으로 많이 검출되었으며 마늘의 악취 원인 성분으로 볼 수 있다. 하지만 마늘이 구워지면 이들 성분의 90% 이상 제거됨을 확인할 수 있으며 관능적으로도 마늘 냄새가 저감됨을 느낄 수 있었다(25). 17%의 고형분을 함유하는 흰 마늘 습식분쇄물은 pH 6.88, acidity 0.22%였으며, 22.63% 고형분을 함유하는 흑 마늘 습식분쇄물은 pH 4.60, acidity 1.23%였다.

마늘 혼합물의 제조를 위한 흑 마늘과 흰 마늘의 혼합 비율은 50:0, 40:10, 30:20, 20:30, 10:40, 0:50과 같이 흑 마늘을 줄이면 흰 마늘이 많이 첨가되는 방식으로 총 50%를 맞추어

Table 1. Comparison of pH, acidity and viable cell counts in the garlic fermented with different concentrations of black garlic paste

		Content of garlic paste (%)					
		B ¹⁾ 50	B40+W ²⁾ 10	B30+W20	B20+W30	B10+W40	W50
Before	pH	4.65	4.77	5.14	5.50	6.13	6.88
	A ³⁾	0.70	0.61	0.43	0.34	0.25	0.22
After ⁵⁾	pH	4.67	4.67	4.65	4.51	4.45	4.34
	A	0.52	0.61	0.68	0.86	0.89	0.92
	V ⁴⁾	1.2×10^{10}	1.9×10^{10}	2.1×10^{10}	3.8×10^{10}	1.6×10^{11}	3.6×10^{11}

¹⁾Black garlic. ²⁾White garlic. ³⁾Acidity (%). ⁴⁾Viable cell count (CFU/mL). ⁵⁾Lactic acid fermentation is performed for 24 hr.

발효하였다.

흑 마늘 paste의 초기 pH는 흰 마늘 첨가농도가 10~50%로 증가함에 따라서 4.77~6.88로 증가하였으며, 산도는 0.61~0.22%로 감소하는 경향을 보였다. 흑 마늘과 흰 마늘의 혼합물에서 흰 마늘이 20% 수준으로 첨가된 경우에 산도 0.68% 및 생균수 2.1×10^{10} cfu/mL로 발효가 진행되는 것을 알 수 있었다. 흑 마늘에 흰 마늘 10% 이하로 첨가되는 경우에 생균수는 감소되면서 발효가 진행되는 것으로 판단되나, 산생성에서 감소하는 경향을 보이면서 일반적인 젖산발효와 다른 양상을 보였다. 이는 마늘에 산성을 나타내는 유기산이 휘발성 성분으로 일부 구성되어 발효 초기에 소실되는 것으로 사료된다. 그러나 흰 마늘이 20% 이상으로 첨가되면서 산도와 생균수는 모두 증가되었으며, 흰 마늘만 발효시킨 발효물은 산도 0.92% 및 생균수 3.6×10^{11} cfu/mL로 가장 높은 값을 보였다(Table 1). 따라서 흑 마늘만 발효하는 경우보다 흰 마늘을 첨가하여 젖산발효 할 경우 적당한 산도와 높은 생균수를 함유한 마늘 발효물을 제조할 수 있다고 추측된다.

흑 마늘 농도에 따른 점탄성 변화

흑 마늘과 흰 마늘의 혼합 비율에 따라 마늘 발효물의 점조도 차이를 확인하기 위하여 각각 발효물의 점탄성을 측정하였다.

흑 마늘 첨가량에 따른 발효물의 탄성률(elastic modulus G')을 측정해 본 결과 흑 마늘이 가장 적게 첨가된 흑 마늘 10%/흰 마늘 40% 혼합물의 발효물은 140 G', 흑 마늘이 가장 많이 함유된 흑 마늘 50% 발효물에서는 5 G'로 두 발효물은 상반된 탄성 값을 나타내었으며, 흑 마늘이 많이 첨가된 발효물에서는 확연한 차이를 볼 수 없었고 유사한 값을 나타냈다(Fig. 1).

점성률(viscous modulus G'')에 대한 결과는 흑 마늘 10%/흰 마늘 40% 혼합물의 발효물과 흑 마늘 50% 발효물에서 각각 54 G'', 3 G'' 값을 나타냈다. 흑 마늘이 적게 첨가된 마늘 발효물에서 dextran 생성이 용이하여 점성과 탄성이 유의적으로 증가하는 경향을 보이는 것으로 추측된다.

흑 마늘 농도에 따른 발효 시간별 생균수 변화

흑 마늘과 흰 마늘 혼합 비율에 따라 젖산발효 12시간 이후 2시간 간격으로 24시간 동안 발효 시간에 따른 생균수

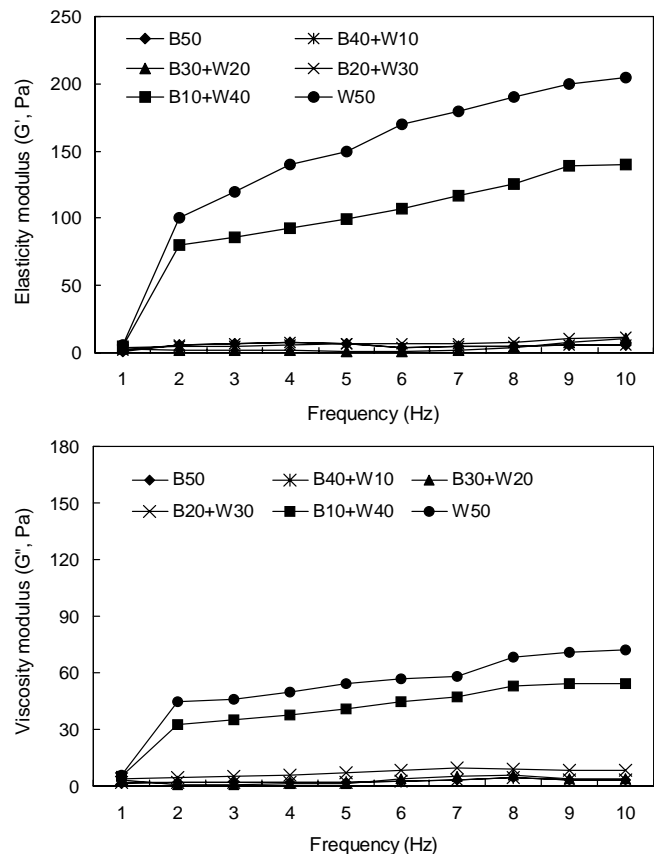


Fig. 1. Comparison of elasticity (G') and viscosity (G'') in the garlic fermented with different contents of black garlic paste.

변화를 측정하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 흰 마늘 함량이 증가할수록 2.6×10^7 cfu/mL에서 발효 12시간 후 약 5×10^{10} cfu/mL까지 증가하였으며, 흑 마늘 첨가 함량이 많을수록 2.6×10^7 cfu/mL에서 발효 12시간 후 약 3×10^8 cfu/mL로 흰 마늘 함량이 많이 첨가된 발효물에 비해 생균수는 낮은 것으로 나타났다. Thiosulfonates 화합물의 주요성분인 allicin은 마늘이 갖는 항균작용, 세포대사 억제 등의 많은 중요한 생화학적 활성을 갖는 가장 잘 알려진 황화합물(26)이지만, 열처리되어 alliinase 효소가 불활성화 된 흰 마늘의 경우에는 항균작용이 없는 것으로 나타났다. 그러나 흑 마늘에는 alliin의 고온 숙성과정에서 생성되는 다양한 유황화합물의 항균작용에 기여하는 것으로 사료되며, 흑 마늘이 많이

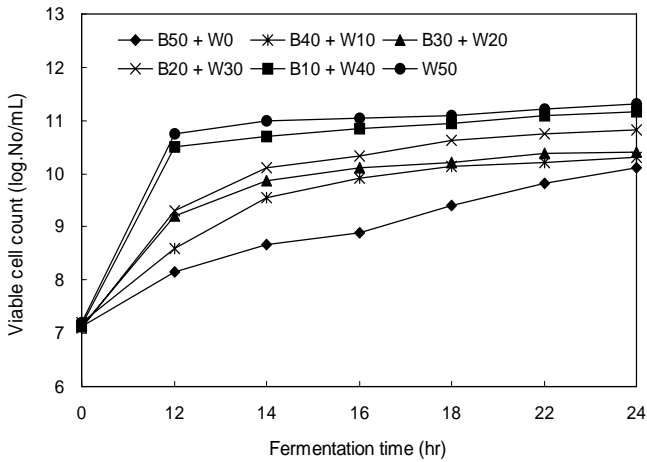


Fig. 2. Comparison of viable cell counts in the garlic fermented with different contents of black garlic paste.

첨가될수록 항균작용이 커지게 되어 마늘 발효물의 생균수가 감소하는 경향을 나타냈다고 추측된다.

흑 마늘 10%/흰 마늘 40% 혼합물의 발효물에서는 흰 마늘 50% 발효물과 유사한 생균수 양상을 보이면서, 발효 12시간까지 5×10^{10} cfu/mL, 7.6×10^{10} cfu/mL로 가장 급격하게 생균수가 증가하였고, 12시간 이후로는 완만하게 조금씩 증가하는 경향을 보였다. 특히 흰 마늘 함량이 높을수록 발효가 더 활성화하게 진행되는 것을 알 수 있었다. 따라서 흰 마늘 젖산 발효 시 흑 마늘 첨가에 따라서 발효양상을 조절할 수 있을 것이라고 추측된다.

흑 마늘 농도에 따른 점도 및 당 전환율 변화

마늘 발효물의 점도가 증가하는 것은 기질로 첨가된 sucrose에 절대적으로 의존하며, *Leuconostoc* 균주가 당을 이용하여 dextran이 생성에 기인한 것으로 사료되어 마늘 발효물의 점도와 당 전환율의 연관성을 평가하였다.

흑 마늘 50% 발효물은 발효 후 액체와 같은 물성을 가지면서 점도가 매우 낮았다. 반면에 흑 마늘 10%/흰 마늘 40% 혼합물의 발효물에서 커드형 요구르트와 유사한 물성을 가진 마늘 발효물을 얻을 수 있었다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 흑 마늘 50% 발효물의 점도는 $0.2 \sim 0.3 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$, 흑 마늘 10%/흰 마늘 40% 혼합물의 발효물은 $9.3 \sim 9.5 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$, 흰 마늘 50% 발효물은 $12 \sim 12.5 \text{ Pa} \cdot \text{s}^n$ 로 흑 마늘 함량이 적을수록 점도가 증가하였고, 당 전환율 역시 흑 마늘 50% 발효물에서는 dextran 생성이 낮아 액체 상태의 발효물을 나타내며 당 전환율 역시 1~2.5%로 대부분이 전환되지 않았음을 알 수 있었다. 그러나 흑 마늘 10%/흰 마늘 40% 발효물은 65% 이상의 sucrose 전환율을 나타내면서 젖산균이 분비하는 dextransucrase 효소에 의해서 sucrose로부터 고분자 다당류 dextran을 많이 생산하여 커드형의 발효물을 얻을 수 있는 것으로 추측된다.

따라서 흑 마늘 함량이 적은 발효물일수록 커드형의 호상 발효에 적합함을 알 수 있었다. 이는 흑 마늘만으로 발효할

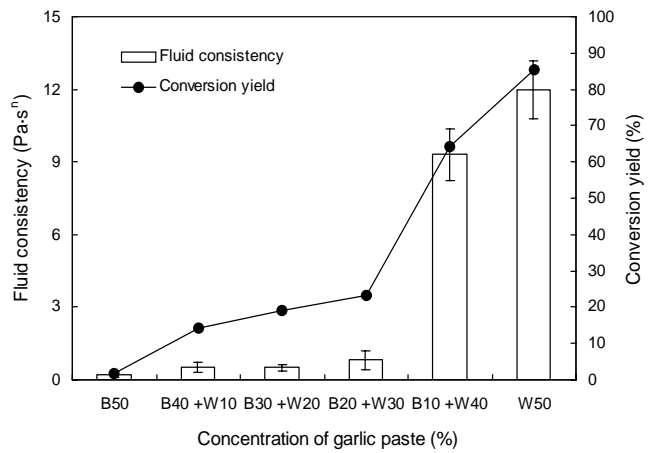


Fig. 3. Comparison of fluid consistency and conversion yield of sucrose in the garlic fermented with different contents of black garlic paste.

경우 당 전환이 잘 이루어 지지 않는다는 단점을 흰 마늘을 첨가하여 sucrose 전환율을 증가시키는 것과 동시에 점도를 높이면서 단점을 보완한 것이라고 생각된다.

흑 마늘 농도에 따른 total polyphenol 함량

흰 마늘/흑 마늘 혼합물의 젖산 발효물에 존재하는 페놀 화합물의 농도를 측정하기 위해서 물과 70% EtOH 추출물을 얻어 분석하였다. 식물성 식품 속에 함유되어 있는 많은 생리활성 물질 중 페놀화합물은 많이 함유되어 있으며, 또한 높은 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있다. 식품소재의 전자공여능은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 인체의 노화 억제 작용과 식품중의 지방질 산화를 억제시키는 척도로 사용되어지며, 항산화 물질의 항산화능 측정 시 주로 사용되어지는 방법이다(27). Table 2에서와 같이 추출 용매에 따른 폴리페놀 함량에서 물 추출물에서는 흑 마늘이 많이 첨가된 발효물일수록 2.52~6.29 mg/mL로 폴리페놀 함량이 증가함을 볼 수 있었고, 70% EtOH 추출보다는 물 추출한 발효물에서 폴리페놀 함량이 더 높은 함량이 나타났다. 이는 흑 마늘이 장시간 열처리 과정을 거치면서 일부 마늘 내 화합물의 구조적 전환 및 성분의 용출이 용이해지고 수분의 감소에 따른 상대적인 성분의 농축이 이루어졌기 때문으로 보고하였다(28).

Table 2. Total Polyphenol content of the garlic fermented with different contents of black garlic paste

Garlic paste	Water extract (mg/mL)	70% EtOH extract (mg/mL)
B50	6.29 ± 0.14 ^(c1)	5.99 ± 0.08 ^(f)
B40 + W10	6.23 ± 0.09 ^(c)	5.28 ± 0.23 ^(e)
B30 + W20	5.02 ± 0.05 ^(c)	4.29 ± 0.05 ^(d)
B20 + W30	3.29 ± 0.03 ^(b)	2.87 ± 0.11 ^(c)
B10 + W40	1.88 ± 0.11 ^(ab)	1.82 ± 0.09 ^(b)
W50	2.52 ± 1.58 ^(a)	0.43 ± 0.02 ^(a)

¹⁾Mean values with different superscripts in the same column are significantly different (p<0.05).

Table 3. DPPH radical scavenging effects of the garlic fermented with different contents of black garlic paste

Garlic paste	IC ₅₀ (mg/mL)	
	Water extract	70% EtOH extract
B50	1.03±0.10 ^{a1)}	1.07±0.08 ^a
B40+W10	1.12±0.12 ^{ab}	1.23±0.17 ^a
B30+W20	1.15±0.10 ^{ab}	1.24±0.16 ^a
B20+W30	1.19±0.12 ^{ab}	1.74±0.19 ^{ab}
B10+W40	1.31±0.24 ^b	2.31±0.04 ^b
W50	1.86±0.01 ^c	4.93±1.58 ^c

¹⁾Mean values with different superscripts in the same column are significantly different (p<0.05).

흑 마늘 농도에 따른 DPPH radical scavenging effect

DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 색이 탈색되는데 이것은 다양한 천연소재로부터 항산화물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다.

전자공여능 측정 결과 폴리페놀과 동일하게 Table 3과 같이 물 추출한 시료가 70% EtOH 추출한 시료보다 IC₅₀값이 더 높게 나타났으며, 물 추출에서는 1.03~1.86 mg/mL로 큰 차이가 없었지만 70% EtOH 추출한 시료에서 IC₅₀ 값이 1.07~4.93 mg/mL로 흑 마늘 첨가가 적어질수록 큰 차이를 나타냈다.

흑 마늘이 많이 첨가된 발효물에서 항산화성이 높은 이유는 maillard 반응생성물 중 저분자의 reductan류는 항산화 활성이 없고, 최종 생성물인 melanoidin 물질이 항산화 활성을 갖는데 melanoidin은 탈색을 시켜도 항산화 활성을 가진다는 보고가 있다(29). 본 실험 결과 마늘이 숙성과정에서 형성되는 총 폴리페놀 함량 및 비효소적 반응에 의한 갈변물질 등에 기인한 효과로 추측된다.

흑 마늘 농도에 따른 angiotensin converting enzyme inhibitory activity

고혈압 유발물질인 angiotensin I converting enzyme (ACE)은 angiotensin I에서 angiotensin II를 합성하는 단계에 관여하는 효소이다. Angiotensin II는 동맥과 소동맥을 수축시키고 부신피질을 흥분시켜 알도스테론의 유리를 촉진시켜 결과적으로 혈압의 증가를 가져온다. 따라서 ACE 저해물질은 ACE의 활성을 억제함으로써 고혈압을 직접적으로 억제할 수 있다(30-32).

각 추출물의 ACE 저해활성을 IC₅₀ value로 나타낸 결과 (Table 4), 전반적으로 70% EtOH 추출물보다 물 추출물의 ACE 저해활성이 강한 것으로 나타났으며, 물 추출물의 경우 흑 마늘만 첨가된 시료의 저해활성이 68.54 mg/mL, 흰 마늘만 첨가된 시료의 활성이 177.07 mg/mL로 나타나 흑 마늘에서 ACE 저해물질의 활성이 높은 것으로 나타났다.

이 결과는 Kunio(33) 연구에 따르면 마늘 추출물에서 분리한 peptide의 ACE 저해활성이 7.8 µg/mL의 농도에서 50%의 ACE 저해율을 나타낸 결과에 비교해 보면 마늘발효

Table 4. Angiotensin converting enzyme inhibitory effects of the garlic fermented with different contents of black garlic paste

Garlic paste	IC ₅₀ (mg/mL)	
	Water extract	70% EtOH extract
B50	68.54±2.44 ^{a1)}	72.78±1.61 ^{a)}
B40+W10	70.96±5.30 ^a	77.39±5.12 ^a
B30+W20	77.67±4.12 ^a	79.19±3.83 ^{ab}
B20+W30	87.46±9.73 ^{ab}	93.36±7.27 ^{ab}
B10+W40	106.54±9.28 ^{ab}	110.49±10.81 ^{bc}
W50	177.07±16.97 ^c	141.98±10.14 ^c

¹⁾Mean values with different superscripts in the same column are significantly different (p<0.05).

물의 추출물이 복합성분을 구성된 조성물이기 때문에 낮은 ACE활성을 보이는 것으로 추측된다(34).

마늘 발효물의 저장기간에 따른 점도 및 생균수 변화

저장성 test는 폴리페놀, 항산화, ACE 활성이 높으면서 당 전환과 점도가 높게 나타나는 흑 마늘 10%/흰 마늘 40% 혼합물을 최종 발효물로 선택하였다. 이 발효물을 냉장 및 냉동조건에서 저장기간에 따른 마늘 발효물의 점도를 분석한 결과, Fig. 4에서와 같이 발효 직후 마늘 발효물의 점도는 9.52 Pa·sⁿ로 호상형태의 물성을 가지고 있었으며, 저장 시간이 길어질수록 저장 온도에 관계없이 점도가 낮아지는 경향을 나타냈다. 그러나 냉장 저장한 마늘 발효물이 냉동 저장한 마늘 발효물에 비해 더 완만하게 점조도가 감소하는 경향을 보였다. 냉장저장 4°C의 경우 9.52 Pa·sⁿ에서 저장 4주 후 7.21 Pa·sⁿ로 점도가 떨어졌으며, 냉동저장 -20°C의 경우에는 9.52 Pa·sⁿ에서 저장 4주 후에 5.81 Pa·sⁿ로 초기의 60% 수준으로 점조도가 감소하는 것을 알 수 있었다.

점조도가 저장 온도가 낮은 조건에서 저장시간이 증가함에 따라 점조도가 감소하는 이유는 고분자 다당류인 dex-

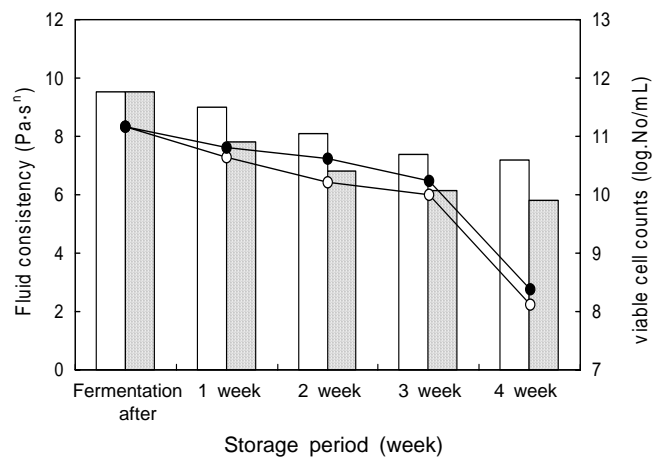


Fig. 4. Effects of storage temperature and period on the fluid consistency and viable cell counts of the garlic fermented with white/black garlic mixture. Lactic acid fermentation is performed for 24 hr using black garlic 10% and white garlic 40%. Fluid consistency: □ 4°C, ▣ -20°C. Viable cell count: ○ 4°C, ● -20°C.

tran의 물성변화에 기인하는 것으로 사료되며, 다당류에 관련된 발효물은 열처리 후에 열처리 전보다 큰 물성 변화를 나타낸다고 보고되어 있으며, 이는 가역적인 젤 형성능을 갖는 미생물 다당류가 열처리 후에 agar처럼 고형상태의 젤을 형성한다는 보고(35)가 있다. 또한 냉장 저장시간이 더 오래될수록 신맛과 신 냄새가 증가하면서 일부 젖산발효가 지속적으로 진행되는 것으로 추측된다. 따라서 마늘 발효물을 장기간 저장하면서 맛 등의 품질을 유지시키기 위해서는 냉동저장이 더 바람직한 것으로 사료된다.

마늘 발효물의 저장기간 중에 생균수를 1주일 간격으로 측정하였으며, Fig. 4에서 나타내는 것처럼 젖산균의 생균수는 냉동 저장한 발효물에서 냉장 저장한 발효물에 비해 더 완만하게 감소하는 경향을 나타내었으며, 저장 2주 후부터는 생균수가 급격하게 감소하는 경향을 보였다. 특히 냉장저장의 경우에는 발효물은 저장이 시작되면서부터 생균수가 감소하기 시작하였으며, 저장 1주 후부터는 1.6×10^{11} cfu/mL에서 6.5×10^{10} cfu/mL로 감소하였고 저장 2주부터 급격히 감소하면서 1.30×10^{10} cfu/mL을 나타내며, 4주 후에는 3.80×10^8 cfu/mL로 생균수가 감소하는 경향을 보였다. 이는 유산균 수의 감소는 유산균의 대사과정에서 생성된 유산의 축적에 의한 적정산도의 증가와 밀접한 관계가 있거나, 냉장 저장 중 일부 젖산균의 생육과정에서 영양분의 결핍 등으로 사멸속도가 증가되는 것으로 추측된다. 다른 보고(36)에 의하면 마늘을 실온(20°C), 저온(0°C), 빙점근접(-4°C)으로 저장한 결과 저장기간이 길어질수록 중량감소율, 맹아율, 병충해율 모두 빙점근접과 같이 저온에서 저장할 경우 낮은 감소율을 보였으며, 특히 CO₂에 의한 호흡양상과 에틸렌 생성량 역시 저온저장에서 매우 적은 양상을 보였다.

따라서 흰 마늘과 흑 마늘 혼합물을 김치 젖산균을 이용하여 젖산 발효시킨 발효물의 냉장 및 냉동 저장은 2주까지 높은 생균수와 점도를 유지할 수 있으며, 특히 냉동저장의 경우에는 발효물 점도의 감소를 최소화 및 적정산도 등이 유지되면서 발효물의 기호성을 유지시키면서 2주 이상 저장이 가능하며, 앞으로 다양한 동결보호제의 첨가를 통해서 기호성과 생균수를 개선시키는 것이 가능할 것으로 판단된다.

요 약

흰 마늘/흑 마늘 첨가에 따른 김치 젖산균을 이용한 발효물을 제조하여 품질 및 기능성 평가를 수행하였다. 고형분 함량은 17% 흰 마늘 습식분쇄물과 22.63% 흑 마늘 습식분쇄물이다. 마늘 혼합물에 *Leuconostoc mesenteroides* 균주를 이용하여 24시간 동안 젖산 발효시킨 발효물의 생균수와 점도는 흑 마늘의 첨가농도가 증가함에 따라 감소하였으며, 흑 마늘을 10% 수준으로 첨가한 경우에 생균수는 1.6×10^{11} cfu/mL, 점도는 9.31 Pa·sⁿ를 나타내었다. 마늘 발효물의 물과 70% EtOH 추출물의 polyphenol 함량은 각각 6.29

mg/mL, 5.99 mg/mL이며, DPPH 소거 활성은 IC₅₀ 값이 1.03 mg/mL, 1.07 mg/mL, ACE 저해 활성의 IC₅₀값은 68.54 mg/mL과 72.78 mg/mL이다. ACE 저해활성은 흑 마늘이 많이 첨가될수록 높게 나타났으며 그중에서 70% EtOH 추출보다 물 추출에서 높은 활성을 나타내는 것으로 나타났다. 마늘 발효물의 sucrose 전환율은 흑 마늘 첨가 농도가 낮을수록 급격하게 증가하면서 흑 마늘 20%, 10%, 0% 첨가에서 각각 20%, 65%, 85%를 보였다. 흑 마늘 10% 함유 발효물의 저장 중 점도는 완만하게 감소하였으며, 생균수는 냉장저장 1주 후 1.6×10^{11} cfu/mL에서 6.5×10^{10} cfu/mL로 감소하였으며, 냉동저장이 냉장저장보다 높은 생균수를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 계명대학교 대학원 학생 학술 연구 장학금 및 지식경제부 지정 계명대학교 전통미생물자원 개발 및 산업화연구센터의 지원과 중소기업청의 중소기업 기술혁신개발 사업의 지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

문 헌

- Kim YD, Seo JS, Kim KJ, Kim KM, Hur CK, Cho IK. 2005. Component analysis by different heat treatments of garlic. *Korean J Food Preserv* 12: 161-165.
- Kim KJ, Do JR, Kim HK. 2005. Antimicrobial, antihypertensive and anticancer activities of garlic extracts. *Korean J Food Sci Technol* 37: 228-232.
- Hwang IG, Woo KS, Kim DJ, Hong JT, Hwang BY, Lee YR. 2007. Isolation and identification of an antioxidant substance from heated garlic. *Food Sci Biotechnol* 16: 963-966.
- Cho JR, Kim JH, In MJ. 2007. Effect of garlic powder on preparation and quality characteristics of yogurt. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 50: 48-52.
- Bas SK, Kim MR. 2002. Effects of sodium metabisulfite and adipic acid on browning of garlic juice concentrate during storage. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18: 73-80.
- Kim HK, Jo KS, Shin DB, Kim IH. 1987. Effects of phosphate complex treatment on the quality of dried garlic flakes. *Korean J Food Sci Technol* 19: 75-80.
- Kim YA. 1998. Effects of antibrowning agents on the browning reaction of enzymatic garlic hydrolyzate. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 201-206.
- Bae RN, Lee SK. 1990. Factors affecting browning and its control methods in chopped garlic. *J Kor Soc Hort Sci* 31: 213-218.
- Yamaguchi N, Tokoo Y, Koyama Y. 1964. Studies on the browning reaction product yielded by reducing sugar and amino acid. Part 1. Effect of browning reaction products on the stability of fats contained in biscuits and cookies. *J Food Sci Technol Japan* 11: 184-189.
- Wattenberg LW. 1980. Inhibitors of chemical carcinogenesis. *J Environ Pathol Toxicol* 3: 35-52.
- Lee JW, Do JH. 2006. Current studies on browning reaction products and acidic polysaccharide in Korean red ginseng. *J Ginseng Res* 30: 41-48.
- Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Kim JG, Sung NJ. 2008. Changes of physicochemical components and antioxidant

- activity of garlic during its processing. *Journal of Life Science* 18: 1123-1131.
13. Lee EH, Nam ES, Park SI. 2002. Characteristics of curd yogurt from milk added with maesil (*Prunus mume*). *Korean J Food Sci Technol* 34: 419-424.
 14. Lee IS, Park KY. 2003. Preparation and quality characteristics of yogurt added with cultured ginseng. *Korean J Food Sci Technol* 35: 235-241.
 15. Yoon MH, Koo YM. 1994. Mechanism of dextran synthesis by dextransucrase. *Korean J Biotechnol Bioeng* 9: 1-7.
 16. Santos M, Teixeira J, Rodrigues A. 2000. Production of dextransucrase, dextran and fructose from sucrose using *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B412(f). *Biochem Eng* 4: 177-188.
 17. Kim D, Thomas S, Fogler H. 2000. Effects of pH and trace minerals on long-term starvation of *Leuconostoc mesenteroides*. *Appl Environ Microbiol* 66: 976-981.
 18. Son MJ, Jang EK, Kwon OS, Seo JH, Kim IJ, Lee IS, Park SC, Lee SP. 2008. Characterization of dextran produced from *Leuconostoc citreum* S5 strain isolated from Korean fermented vegetable. *Eur Food Res Technol* 226: 697-706.
 19. Jo SJ, Oh SM, Jang EK, Hwang K, Lee SP. 2008. Physicochemical properties of carrot juice fermented by *Leuconostoc mesenteroides* SM. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 210-216.
 20. Oh SM. 2006. Optimization of production of bioactive compounds of the fermented soybean curd residue by *Bacillus* sp. *MS Thesis*. Keimyung University, Daegu, Korea.
 21. AOAC. 2000. *Official method of analysis*. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA. p 17.
 22. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 23. Kwon GS, Joo HK, Oh TK. 1992. Isolation of exopolysaccharide producing *Bacillus polymyxa* KS-1 and some properties of exopolysaccharide. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 20: 34-39.
 24. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
 25. Kim BS, Yang SB. 1998. Heat effects for the volatile organic compounds emitted from garlic and kimchee. *J Korean Env Sci Soc* 7: 615-622.
 26. Jeong CH, Bae YI, Lee JH, Shim JH, Roh JG, Shin CS, Chol JS. 2009. Chemical components and antimicrobial activity of garlincs from different cultivated area. *J Agric Life Sci* 43: 51-59.
 27. Shon MY, Seo JK, Kim HJ, Sung NJ. 2001. Chemical composition and physiological activities of doraji (*Platycodon grandiflorum*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 717-720.
 28. Kwon OC, Woo KS, Kim TM, Kim DJ, Hong JT, Jeong HS. 2006. Physicochemical characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) on the high temperature and pressure treatment. *Korean J Food Sci Technol* 38: 331-336.
 29. Lee JW, Do JH, Shim KH. 1999. Antioxidant activity of the water soluble browning reaction products isolated from Korean red ginseng, 1. DPPH radical and hydrogen peroxide scavenging. *J Ginseng Res* 23: 176-181.
 30. Ma SJ. 2000. Inhibitory effect of onion seasoning on angiotensin converting enzyme. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 395-400.
 31. Vermeirssena V, Campb JV, Verstraetea W. 2002. Optimization and validation of an angiotensin-converting enzyme inhibition assay for the screening of bioactive peptides. *J Biochem Bioph Meth* 51: 75-87.
 32. Erdos EG, Skidgel RA. 1987. The angiotensin I-converting enzyme. *Lab Inverst* 56: 345-348.
 33. Kunio S. 1998. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitor dipeptides derived from *Allium sativum* L. (garlic). *J Nutr Biochem* 9: 415-419.
 34. Jang EK, Seo JH, Lee SP. 2008. Physiological activity and antioxidative effects of aged black garlic (*Allium sativum* L.) extract. *Korean J Food Sci Technol* 40: 443-448.
 35. Kwon HS, Koo SJ. 1988. Comparative studies on rheological characterization of gellan gum and agar. *Korean J Soc Food Sci* 4: 17-26.
 36. Bae RN, Choi SY, Hong YP. 2008. The qualities of northern and southern ecotype garlic bulbs at different storage temperature. *Korean J Food Preserv* 15: 635-641.

(2010년 2월 24일 접수; 2010년 4월 12일 채택)