

Antioxidants Activity of Aged Red Garlic

Soo-Jung Lee¹, Jung-Hye Shin², Min-Jung Kang², Woo-Jae Jung², Ji-Hyun Ryu¹, Ra-Jeong Kim¹ and Nak-Ju Sung^{1,2*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

²Namhae Garlic Research Institute, Namhae 668-812, Korea

Received April 20, 2010 / Accepted May 19, 2010

The antioxidant activities of hot water extracts from fresh, red and black garlic processed in low temperatures were compared. The chromaticity value of browning garlic was between that of fresh and black garlic. Red garlic was similar in browning intensity to fresh garlic. Also, total phenol, flavonoids, total pyruvate and thiosulfate contents were similar between fresh and black garlic. DPPH, ABTs, NO radical scavenging activity and reducing power of red garlic were significantly higher than fresh garlic, but lower than those of black garlic. α -Glucosidase inhibitory activity in red garlic was similar to that in black garlic. Antioxidant activities of red garlic were higher than fresh garlic but lower than black garlic, and it was confirmed that antioxidant activity by production of browning material through the thermal process was the main parameter of the biological activity in the aged red garlic.

Key words : Red garlic, antioxidant activity, α -Glucosidase

서 론

마늘은 항균, 항암, 면역 증강, 노화 억제, 생활습관병 예방 및 항산화 등의 생리적 활성이 밝혀짐에 따라 기능성 식품 및 의약품의 재료로 폭넓게 이용되고 있다[15,17]. 이러한 마늘의 생리활성 기능은 플라보노이드를 포함한 폴리페놀 화합물과 함황화합물에 기인되므로[29], 기능성 물질을 얻기 위해 주로 생마늘이 이용되어 왔으나, 생마늘의 강한 자극취와 매운 맛, 저장에 따른 갈변 등의 이유로 다량 섭취 및 장기 저장이 불가능하여 마늘의 기능성을 유지시키면서 저장성을 증대할 다양한 가공품이 상업화되어 유통되고 있다. 최근에는 생마늘의 직접적인 이용에 따른 매운 맛과 특유의 자극취를 해소하기 위하여 흑마늘로 가공함으로써 마늘의 섭취량을 증대시키고 있으며, 흑마늘은 생마늘에 비해 생리활성이 우수하며, 매운 맛과 자극취가 감소된 장점이 있어 급속도로 산업화되어 왔으나, 10~40일 정도의 장시간 가공 기간에 따른 높은 가공비용으로 소비 계층이 한정되며 진한 흑색의 발현으로 타 식품에 대한 혼합 첨가에는 한계가 있으며, 또한 점도가 높아 2차 가공의 폭이 넓지 않은 단점이 있다.

갈변화 반응은 식품의 가공이나 저장 중 식품 자체의 색이 점차 갈색으로 나타나는 일련의 반응을 일컫는데, 반응의 진행 정도에 따라 생성된 갈색 물질은 식품의 품질에 직접적 또는 간접적인 영향을 주며[19], 특히 항산화능[39] 등의 생리활

성이 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 갈변반응은 크게 마이알 반응에 의한 비효소적 갈변과 polyphenol oxidase 활성에 의한 효소적 갈변으로 이루어진다. 흑마늘은 생마늘을 80~90°C의 온도에서 장시간 숙성시키는 과정 중 비효소적 갈변 반응에 의해 진한 흑색으로 나타나는데, 이때 생성된 갈색화 물질은 항산화 활성이 높으며[35], 고온에서 가열될수록 항산화 활성은 더 높아지는 것으로 보고되어 있다[33]. 이는 홍삼과 백삼의 경우에서도 같은 경향으로 홍삼과 백삼의 갈색도와 항산화 활성은 비례적인 것으로 보고되어 있다[16]. 이러한 기작은 갈색 물질인 melanoidins의 환원성 성분에 의해 유리 라디칼의 제거 및 합질소 화합물에 의한 질소 원자의 유리전자대로부터 proton의 이동작용에 따른다고 보고된 바 있다[20].

이와 같이 열처리 공정을 거친 식품의 항산화 활성은 페놀 화합물의 분해 및 공정 중 갈색 물질의 생성 정도에 영향을 받는데[41], 특히 흑마늘의 항산화 활성은 고온에서 장시간 노출되어 마이알 반응에 의해 생성된 갈색 물질에 기인되는 것으로 알려져 있다[34,35,40]. 일본에서는 melanoidins을 천연 항산화제로 사용하고 있다는 보고도 있다[39]. 본 연구에서는 마늘의 생리활성은 유지시키면서 고온에 의해 발현된 흑마늘의 진한 흑색을 완화시켜 타 식품에 첨가할 수 있는 천연 항산화제의 개발을 위한 연구로 저온에서 반복적인 열처리과정을 거쳐 적갈색을 띠는 중간숙성 마늘을 제조하여 “홍마늘”로 명명하고, 홍마늘의 생리활성 규명을 위하여 생마늘 및 흑마늘과 비교 분석하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-55-751-5975, Fax : +82-55-751-5971

E-mail : snakju@gnu.ac.kr

재료 및 방법

재료 및 추출물의 제조

마늘은 경남 남해군에서 재배된 것을 사용하였으며, 생마늘과 흑마늘은 경남 남해군 새남해농협 흑마늘가공사업소로부터 제공받아 사용하였다. 홍마늘은 쪽 분리한 피마늘을 숙성 홍마늘의 제조방법 특허(출원번호; 10-2010-0036798)에 따라 5단계로 구분하여 온도와 습도 조건을 달리하여 제조하였다. 즉, 1단계에서 90°C, 60%의 습도 조건에서 24시간 처리한 다음, 2단계~5단계는 5~70°C의 온도 범위 내에서 총 192시간 동안 연속적으로 숙성시켰다.

홍마늘은 껍질을 제거한 후 시료 100 g에 10배의 증류수를 가하여 70°C 수욕조에서 6시간 동안 환류냉각하면서 4회 반복 추출하였으며, 추출물은 여과 후 진공 동결건조시켜 분말을 얻어 생리활성 측정용 시료로 사용하였다.

추출물의 색도, 갈색도 및 pH 측정

마늘 추출물의 색도, 갈색도 및 pH 측정은 마늘 10 g에 증류수를 가하여 100 ml로 만든 후 충분히 혼합한 다음 여과지로 여과한 액을 일정량 취하여 실험에 사용하였다. 추출물의 색을 색차계(Ultrascan VIS, Hunter Lab., USA)로 측정하여 L, a, b, ΔE 값으로 나타내었다. 이때 표준 색판의 L값은 99.4, a값은 -0.12, b값은 0.04였으며, 5회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다. 갈색도는 분광광도계(Optizen 2120UV, Mecasys Co. Ltd., Korea)로 420 nm에서 증류수를 대조로 하여 측정된 여액의 흡광도 값으로 나타내었다[14]. pH는 여액을 pH meter (Model 720, Thermo Orion, Beverly, USA)로 측정하였다.

Total pyruvate 및 thiosulfate 정량

Schwimmer와 Weston [32]의 방법에 따라 분쇄한 마늘 0.2 g에 10% trichloroacetic acid 용액 5 ml를 넣고 균질화하여 1시간 정치한 후 여과지로 여과하였다. 여액 1 ml에 0.0125% dinitriphenylhydrazine 1 ml를 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 0.6 N NaOH 용액 5 ml를 가하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. Thiosulfate는 Freeman과 Mcbreen의 방법 [11]에 따라 분쇄한 마늘에 10배량의 10% trichloroacetic acid를 가하여 추출한 후 여과한 여액 2 ml에 2배량의 hexane을 넣고 2분간 진탕 추출한 다음 hexane층을 취하여 254 nm에서 흡광도를 측정하였다. Total pyruvate 및 thiosulfate의 정량은 각각 sodium pyruvate (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA) 및 L-cystein (Sigma Co., St. Louis, USA)을 표준물질로 하여 작성한 검량선으로부터 산출하였다.

총 페놀 및 플라보노이드 정량

총 페놀 함량은 Folin-Denis법[13]에 따라 1,000 µg/ml로 조정된 마늘 열수 추출물 1 ml에 Foline-Ciocalteau 시약 및

10% Na₂CO₃용액을 각 1 ml씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 정치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid (Sigma Co., USA)를 사용하여 얻은 표준검량선으로부터 총 페놀 함량을 산출하였다. 총 플라보노이드는 Moreno 등[27]의 방법에 따라 정량하였으며, quercetin (Sigma Co., USA)을 표준물질로 하여 얻은 표준검량선으로부터 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Blois [4]의 방법에 따라, 일정 농도별 마늘 추출물에 DPPH 용액(5 mg/100 ml methanol)을 가하여 혼합한 다음 실온에서 20분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 소거능은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

ABTs 라디칼 소거능 측정

ABTs 라디칼 소거능은 Re 등[31]의 방법에 따라 7 mM ABTs 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12~16시간 동안 반응시킨 후 이를 414 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정하여 사용하였다. 농도 조정된 ABTs 용액 3 ml에 농도별 마늘 추출물 각 1 ml를 가하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 414 nm에서 흡광도를 측정하여 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

환원력 측정

Oyaizu [30]의 방법에 따라 마늘 추출물 1 ml에 200 mM의 인산 완충액(pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide 1 ml를 차례로 가한 다음 50°C의 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA용액 1 ml를 가하여 반응을 정지시킨 다음 5,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 얻은 상정액 1 ml에 증류수 및 ferric chloride 용액을 각 1 ml씩 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력은 흡광도의 값으로 나타내었다.

Nitric oxide 소거능 측정

Nitric oxide 소거능은 Song과 Moon [36]의 방법에 따라 마늘 추출물 0.5 ml에 10 mM sodium nitroprusside 용액 0.5 ml를 가하여 상온에서 150분간 반응시켰다. 여기에 1 ml의 Griess reagent (2% sulfanilamide를 함유하는 4% 인산용액 + 0.2% naphthylethylenediamide 용액, 1:1)를 가한 후 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitric oxide 소거능은 $[1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} - \text{시료 대조구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$ 로 나타내었다.

α-Glucosidase 활성 저해능 측정

α-Glucosidase 활성 저해능은 Choe 등[7]의 방법에 따라 2.5

mM p-nitrophenyl α-D-glucopyranoside를 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.8)에 첨가하여 반응기질로 하고 α-Glucosidase와 시료 추출물을 차례로 가한 후 효소액을 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시킨 후, 0.1 M NaOH 100 μl로 반응을 정지시켰다. 이때 반응 생성물인 p-nitrophenol을 405 nm에서 분광광도계로 측정하여 α-Glucosidase 활성의 저해정도로 나타내었다.

통계처리

각 실험은 5회 이상 반복실험을 통하여 결과를 얻어 SPSS 12.0을 사용하여 통계처리하였으며, 각각의 시료에 대해 평균 ±표준편차로 나타내었다. 각 시료군에 대한 유의차 검정은 분산분석을 한 후 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

마늘 추출물의 색도, 갈색도 및 pH

마늘 추출물의 색도, 갈색도 및 pH를 측정한 결과는 Table 1과 같다. 홍마늘 추출물의 색도를 명도(L), 적색도(a), 황색도(b) 및 총 색도(ΔE) 값으로 나타낸 결과 L값은 생마늘과 흑마늘의 중간 수준이었고, a값은 홍마늘이 생마늘보다는 다소간 적색을 띄었으나, 흑마늘에 비해서는 50% 이하의 수준이었다. b값은 생마늘에 비해 홍마늘에서 유의적으로 높았으며, 흑마늘은 오히려 진한 흑색에 기인하여 b값이 낮은 것으로 생각되었다. 홍마늘의 총 색도는 전반적으로 생마늘과 흑마늘의 중간 값을 보였다.

이는 마늘을 60°C와 90°C에서 3일간 숙성하였을 때 저온숙성이 고온에 비해 L값은 약 2배, a값은 약 4배, b값은 약 13배 정도 높다고 한 Shin 등[33]의 보고와 유사한 결과로 흑마늘에서 진한 흑색화는 60°C이상의 가열처리에 기인된 결과로 보고된 바 있다[21].

마늘 추출물의 갈색도를 420 nm의 파장에서 측정한 결과, 시료간에 유의적인 차이가 있었으며, 마늘 추출물의 pH는 생

Table 1. Color, red intensity and pH in hot water extracts from fresh, red and black garlics

	Fresh garlic	Red garlic	Black garlic
Color value			
L	45.48±4.45 ^C	35.21±0.16 ^B	24.25±0.08 ^A
a	-0.48±0.25 ^A	0.95±0.05 ^B	2.10±0.05 ^C
b	5.55±0.24 ^B	11.63±1.52 ^C	0.87±0.04 ^A
ΔE	45.82±4.45 ^C	37.11±0.63 ^B	24.36±0.09 ^A
Red intensity (420 nm)	0.06±0.01 ^A	0.14±0.01 ^B	1.15±0.01 ^C
pH	6.39±0.01 ^C	5.90±0.01 ^B	4.64±0.01 ^A

^{A-C}Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

마늘에서 흑마늘로 진행됨에 따라 마늘의 pH가 산성화된다는 기존의 연구보고[8,33]와 일치한 것으로 홍마늘은 흑마늘에 비해 pH가 더 높았다.

가열처리된 마늘에서 pH의 변화는 고온일 경우 가열초기부터 산성화가 진행되며, pH가 산성화될수록 갈변반응이 촉진되는 것으로 보고되어 있다[9]. 마늘은 열에 의한 건조과정 중 40~60°C에서는 L값이 감소되고, a값이 증가되며, b값은 50°C에서는 증가되나 60°C에서는 감소되었다는 보고[33]는 본 실험 결과와 유사하였다.

마늘의 갈변화 반응은 가열 초기에 주로 발생되며, 90°C의 고온에서는 급격한 변화를 보이는데, polyphenol oxidase가 50~70°C에서 활성을 잃기 때문에 흑마늘의 갈변과정은 비효소적 반응이라고 한 보고[1]로 볼 때 본 실험에서 사용된 홍마늘의 변색도 가열 초기 90°C에서 24시간의 열처리 및 이후의 숙성기간 동안 비효소적 갈변현상이 주 요인인 것으로 판단된다.

총 페놀 및 플라보노이드 함량

마늘 열수추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 Table 2와 같다. 총 페놀 함량은 20.29±0.39~31.36±0.11 mg gallic acid/g이었으며, 플라보노이드 함량은 9.99±0.04~14.88±0.20 mg quercetin/g이었으며, 마늘 추출물의 갈색도가 증가됨에 따라 유의적으로 높았다.

생마늘에 비해 열처리한 홍마늘 및 흑마늘의 총 페놀과 플라보노이드 함량이 높은 것은 열처리 공정에 의해 마늘 중 일부 화합물이 페놀성 물질로 전환되었거나, 열처리로 조직이 연화되어 시료 내부에 강하게 결합되어 있던 폴리페놀 화합물이 유리되어 저분자 폴리페놀 화합물의 농도 증가나 추출이 용이해진 결과로 추정된다. Shin 등[33]은 숙성온도에 따른 마늘 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 측정한 결과 60°C보다 90°C에서 숙성한 마늘에서 이들 물질의 증가량이 많았으며, 60°C에서는 숙성 후반기, 90°C에서는 숙성 초기에 그 함량이 급격히 증가하는 현상으로 보인다고 하였다.

Total pyruvate 및 thiosulfate 함량

마늘 열수추출물의 total pyruvate 및 thiosulfate 함량은 Table 3과 같이 숙성정도에 따라 유의적으로 증가하는 경향이

Table 2. Total phenol compounds and flavonoids contents in hot water extracts from fresh, red and black garlics (mg/g dried extract)

Garlics	Phenol compounds	Flavonoids
Fresh	20.29±0.39 ^A	9.99±0.04 ^A
Red	27.15±0.07 ^B	12.06±0.38 ^B
Black	31.36±0.11 ^C	14.88±0.20 ^C

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

Table 3. Total pyruvate and thiosulfate contents in hot water extracts from fresh, red and black garlics (mmol/g dried extract)

Garlics	Total pyruvate	Thiosulfate
Fresh	139.61±2.04 ^A	29.79±3.04 ^A
Red	239.83±4.74 ^B	44.33±2.38 ^B
Black	532.55±3.56 ^C	78.98±3.20 ^C

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

었다. 즉, total pyruvate의 경우 홍마늘은 생마늘에 비해 약 1.72배, 흑마늘은 약 3.82배 증가하였고, thiosulfate의 함량도 생마늘에 비해 홍마늘과 흑마늘에서 각각 1.49배와 2.66배 정도씩 증가하였다.

마늘 중 pyruvate와 thiosulfate는 마늘의 파쇄 시 생성되는 물질로 pyruvate는 allinase의 작용에 의해 생성되며, 이는 마늘 중 allicin의 함량과 비례적인 것으로 보고된 바 있다[6]. Thiosulfate는 황화합물로, 60~80%가 allicin인 것으로 알려져 있다[18]. 이들 물질은 마늘을 고온으로 처리할 경우 생성량이 증가되는데, Shin 등[34]은 90°C에서 열처리한 마늘에서도 total pyruvate의 함량이 증가되었으므로 allinase 이외에 고온에 의한 당의 분해산물 등 다른 요소들도 영향을 미치는 것으로 추정된 바 있다.

흑마늘 제조시 가공공정의 진행과 더불어 thiosulfate의 함량은 유의적으로 증가하는 경향을 보이는데, 이는 저급 황화합물의 생성증가와 수분 감소에 따른 상대적인 고형분 증가에 의한 것으로 추정되고 있는데[34], 본 실험의 결과 홍마늘에서 thiosulfate의 함량이 흑마늘에 비해 낮은 것은 숙성 온도나 시간이 상대적으로 더 짧기 때문인 것으로 판단된다. 또한, 홍마늘 및 흑마늘의 함량이 생마늘에 비해 높은 것은 열처리로 인한 시료 중의 수분 함량에 기인된 상대적인 함량 증가도 영향을 미친 것으로 생각된다[8].

DPPH 라디칼 소거능

마늘 열수추출물을 250, 500, 1,000 및 2,000 µg/ml의 농도로 조정하여 홍마늘의 DPPH 라디칼 소거능을 생마늘, 흑마늘과 비교한 결과는 Table 4와 같다. 추출물의 농도가 증가됨에 따라 소거능은 유의적으로 상승되었다. 250 µg/ml의 농도에서 홍마늘 및 흑마늘의 DPPH 라디칼 소거능은 각각 26.42±1.50% 및 22.26±5.64%로 생마늘(9.52±1.40%)에 비해 유의적으로 활성이 높았다. 2000 µg/ml의 고농도에서는 생마늘과 홍마늘간에는 유의차가 없었으나, 흑마늘은 88.63±0.82%로 소거능이 가장 높았다.

Byun 등[5]은 가열처리 온도를 달리한 마늘 추출물의 저장기간에 따른 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 50°C 이하의 온도보다 100°C 이상의 고온에서 열처리한 마늘 추출물에서 저장기간의 경과에 따른 라디칼 소거능의 감소폭이 적었다고

Table 4. DPPH radical scavenging activity in hot water extracts from fresh, red and black garlics (%)

Garlics	Concentration (µg/ml)			
	250	500	1000	2000
Fresh	9.52±1.40 ^{aA}	21.64±2.18 ^{bA}	46.99±1.78 ^{cA}	58.22±1.68 ^{dA}
Red	26.42±1.50 ^{aB}	32.29±1.37 ^{bB}	53.00±1.12 ^{cB}	59.26±0.51 ^{dA}
Black	22.26±5.64 ^{aB}	50.52±1.40 ^{bC}	77.64±1.12 ^{cC}	88.63±0.82 ^{dB}

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

하였는데, 이는 고온으로 열처리하는 동안 생성된 마이알 반응의 중간 생성물이 라디칼 소거능에 기여한 결과인 것으로 보고하였다. 또한 50°C에서 14일간 숙성된 마늘 추출물의 항산화능은 마이알 반응의 첫 단계에서 생성되는 amadori 화합물에 의한다는 보고도 있다[28].

본 실험의 결과 홍마늘은 흑마늘에 비하여 갈변물질의 생성 정도가 약하기 때문에 고농도에서는 DPPH 라디칼 소거능이 상대적으로 약한 것으로 추정되며, 마늘의 DPPH 라디칼 소거능은 숙성에 따른 갈변물질의 생성 정도와 밀접한 상관성이 있는 것으로 판단된다.

ABTs 라디칼 소거능

ABTs와 DPPH는 라디칼의 일종이나, DPPH는 자유 라디칼이며 ABTs는 양이온 라디칼이라는 점에서 차이가 나며 항산화 물질의 종류에 따라 각각의 라디칼에 대한 결합정도가 다르므로 항산화능에 차이를 보이게 된다[38].

Table 5와 같이 홍마늘의 ABTs 라디칼 소거능은 DPPH에 의한 라디칼 소거능과 마찬가지로 추출물의 농도 의존적으로 상승하였다. 홍마늘은 2,000 µg/ml의 농도에서 56.10±0.30%, 흑마늘은 500 µg/ml의 농도에서 61.86±0.15%로 50% 이상의 ABTs 라디칼 소거능을 보였으나, 생마늘은 2,000 µg/ml의 농도에서도 34.83±2.60%로 홍마늘 및 흑마늘에 비해서 라디칼 소거능이 낮았다. 즉, 생마늘에 비해 열처리한 마늘에서 항산화능이 상승되었으나, 숙성 기간과 정도에 따라 ABTs 라디칼

Table 5. ABTs radical scavenging activity in hot water extracts from fresh, red and black garlics (%)

Garlics	Concentration (µg/ml)			
	250	500	1000	2000
Fresh	10.27±0.25 ^{aA}	25.29±0.60 ^{bA}	26.17±1.75 ^{bA}	34.83±2.60 ^{cA}
Red	16.58±1.30 ^{aB}	24.99±3.06 ^{bA}	49.69±0.28 ^{bB}	56.10±0.30 ^{dB}
Black	30.95±0.65 ^{aC}	61.86±0.15 ^{bB}	89.17±0.82 ^{cC}	91.07±0.83 ^{dC}

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

소거능은 차이가 나며, 갈변물질의 생성이 많아질수록 활성이 더 증가함을 확인할 수 있었다.

환원력

마늘 열수추출물의 농도를 달리하였을 때 Fe²⁺이온을 환원시키는 환원력을 흡광도 값[12]으로 나타낸 결과는 Table 6과 같다. 추출물의 농도를 250, 500, 1,000 및 2,000 µg/ml로 하였을 때 생마늘의 환원력은 250~500 µg/ml 농도에서는 유의차가 없었으나, 500 µg/ml 이상의 농도에서 유의적으로 상승하였다. 홍마늘 및 흑마늘은 생마늘에 비해 환원력이 유의적으로 높았으나, 생마늘과는 차이가 없었다.

마이알 반응에 의해 생성된 갈색 물질은 세포 기질내의 hydroxyl기와 수소 원자를 공격함으로써 라디칼 반응을 조절할 수 있는 환원성 물질에 의해 환원력을 나타내는 것으로 알려져 있다[24]. 따라서 홍마늘의 환원력이 생마늘과 대차를 보이지 않는 것은 Table 1에 나타낸 바와 같이 홍마늘 중의 갈색도와 관련성이 있을 것으로 사료된다.

Nitric oxide 라디칼 소거능

마늘 열수추출물의 NO 라디칼 소거능을 측정된 결과는 Table 7과 같다. Nitric oxide (NO·)는 생체 내에서 NO synthase의 촉매작용에 의해 L-arginine으로부터 생성되는 반응성이 강한 자유 라디칼로 세포독성이 강하며 다량이 생성될 경우 염증반응, 면역 체계이상 등의 산화반응을 일으키는 것

Table 6. Reducing power in hot water extracts from fresh, red and black garlics (Absorbance at 700 nm)

Garlics	Concentration (µg/ml)			
	250	500	1000	2000
Fresh	0.08±0.01 ^{aA}	0.09±0.01 ^{aA}	0.12±0.01 ^{bA}	0.15±0.01 ^{cA}
Red	0.13±0.01 ^{aC}	0.12±0.01 ^{bb}	0.14±0.01 ^{bb}	0.17±0.01 ^{cB}
Black	0.11±0.01 ^{aB}	0.19±0.01 ^{bC}	0.32±0.01 ^{cC}	0.56±0.01 ^{dC}

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

Table 7. NO radical scavenging activity in hot water extracts from fresh, red and black garlics (%)

Garlics	Concentration (µg/ml)			
	250	500	1000	2000
Fresh	6.56±0.91 ^{aA}	9.45±1.14 ^{aA}	17.34±1.82 ^{bA}	21.47±2.22 ^{cA}
Red	14.55±0.61 ^{aB}	17.40±1.43 ^{bb}	21.54±1.49 ^{cB}	24.46±0.76 ^{dB}
Black	13.99±1.82 ^{aB}	20.76±0.68 ^{bC}	35.97±2.78 ^{cC}	45.39±0.25 ^{dC}

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

으로 알려져 있다[10].

마늘 열수추출물의 NO 라디칼 소거능은 시료액의 농도가 증가함에 따라 상승하였으나, 2,000 µg/ml의 농도에서도 50% 미만이었다. 홍마늘의 NO 라디칼 소거능은 여타의 항산화능과 유사한 경향으로 흑마늘에 비해서는 활성이 다소 낮았으나, 생마늘에 비해서는 항산화 활성이 높은 것으로 확인되었다.

식물류의 NO 라디칼 소거능은 페놀 화합물이나 플라보노이드류의 함량에 의존적인 것으로 보고되고 있는데[23], 마늘 추출물에서도 같은 경향을 보였다. 또한 마늘 추출물의 산소 라디칼 저해능은 420 nm에서 측정된 시료의 갈색도와 양의 상관관계($r^2=0.87$)가 있는 것으로 보고되어[28], 본 실험에서 홍마늘 추출물의 NO 라디칼 소거능은 페놀 화합물 및 갈색 물질의 함량에 기인된 것으로 추정된다.

α-Glucosidase 저해 활성

홍마늘 열수추출물의 α-Glucosidase 저해 활성을 생마늘 및 흑마늘 추출물과 비교한 결과는 Table 8과 같다. 마늘 열수추출물의 α-Glucosidase 저해활성은 추출물의 농도가 증가됨에 따라 농도 의존적으로 상승하여 유의적인 차이가 인정되었다. 한편, 생마늘은 250~500 µg/ml의 농도에서는 유의차가 없었다. 홍마늘의 α-Glucosidase 저해활성은 생마늘에 비해서는 유의적으로 높았고, 흑마늘과 비슷한 수준까지 α-Glucosidase 저해활성을 보여 마늘의 갈색 물질이 항당뇨 활성에 효과적인 것으로 짐작할 수 있었다.

α-Glucosidase는 당질 분해속도를 조절하는 효소로 작용함으로써[3], 소장에서 탄수화물의 흡수 저해 및 혈당 상승을 억제하는 것으로 알려져 있는데[2], 마늘 중의 성분은 가공조건에 따라 달라지며[37], 마늘 중 diallyl trisulfide와 같은 유기 황화합물이 혈당 강하에 효과적인 것으로 보고된 바 있다[25]. 본 실험에서 홍마늘의 황화합물은 Table 3과 같이 흑마늘에 비해 유의적인 차이를 보였으나, α-Glucosidase 저해활성이 흑마늘과 유사한 것으로 보아 황화합물 이외에 다른 물질도 관련된 것으로 추정된다. 이는 garlic oil의 항당뇨 활성에 diallyl disulfide 이외의 다른 물질이 관여한다고 한 Liu 등[26]의

Table 8. α-Glucosidase inhibition activity in hot water extracts from fresh, red and black garlics (%)

Garlics	Concentration (µg/ml)			
	250	500	1000	2000
Fresh	11.72±1.05 ^{aA}	12.67±0.40 ^{aA}	17.12±0.66 ^{bA}	19.68±0.47 ^{cA}
Red	18.13±0.85 ^{aB}	22.71±0.62 ^{bb}	25.13±0.78 ^{cB}	29.34±0.89 ^{dB}
Black	19.47±0.63 ^{aB}	23.99±0.90 ^{bb}	25.85±0.79 ^{cB}	30.37±0.63 ^{dB}

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-B}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

보고에서도 짐작해 볼 수 있다.

흑마늘은 고온으로 열처리를 하는 동안에 마늘 자체 성분인 당과 아미노산에 의해 갈색화 및 흑색화가 진행되는데, 흑색화는 대부분이 고온에 의한 비효소적 갈변반응에 의한 것으로 보고되고 있다[8]. 홍삼의 갈색화 반응도 50~80°C의 온도에서는 효소적 갈변반응이 관여하며, 80°C 이상의 온도에서는 비효소적 갈변반응에 의존적이며, 100°C에서 60~90분간 가열시 갈색화가 크게 촉진된다고 보고된 바 있다[22]. 따라서 마늘의 갈색화 및 흑색화에 의한 항산화 물질의 생성은 저온보다 고온 숙성에서 효율적으로 생성되나, 본 실험 결과 저온 숙성에 의한 홍마늘은 α -Glucosidase 저해 활성에 가장 유효한 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업(109137-03-1-HO110)의 연구과제로 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

References

- Bae, S. K. and M. R. Lim. 2002. Effects of sodium metabisulfite and adipic acid on red of garlic juice concentrate during storage. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* **18**, 73-80.
- Bell, D. S. 2004. Type 2 diabetes mellitus: What in the optimal treatment regimen? *Am. J. Med.* **116**, 23S-29S.
- Bertozzi, C. R. and L. L. Kiessling. 2001. Chemical glycobiology. *Science* **23**, 2357-2364.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
- Byun, P. H., W. J. Kim and S. K. Yoon. 2001. Changes of functional properties of garlic extracts during storage. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**, 301-306.
- Cavagnaro, P. F., D. Senalik, C. R. Galmarini, and P. W. Simon. 2005. Correlation of pungency, thiosulfinates, anti-platelet activity and total soluble solids in two garlic families. American Society for Horticultural Sciences Annual Conference, Las Vegas, Nevada, *Hortscience* **40**, p. 1019.
- Choe, M., D. J. Kim, H. J. Lee, J. K. You, D. J. Seo, J. H. Lee, and M. J. Chung. 2008. A study on the glucose regulating enzymes and antioxidant activities of water extracts from medicinal herbs. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 542-547.
- Choi, D. J., S. J. Lee, M. J. Kang, H. S. Cho, N. J. Sung, and J. H. Shin. 2008. Physicochemical characteristics of black garlic (*Allium sativum* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 465-471.
- Choi, J. H., W. J. Kim, J. W. Yang, H. S. Sung, and S. K. Hong. 1981. Quality changes in red ginseng extract during high temperature storage. *J. Korean Agric. Chem Soc.* **24**, 50-58.
- Ding, A. H., C. F. Nathan, and D. J. Stuhr. 1988. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. *J. Immunol.* **141**, 2407-2412.
- Freeman, G. G. and F. Mcbreen. 1973. A rapid spectrophotometric methods of determination of thiosulfinate in onion and its significance in flavor studies. *Biochem. Soc. Trans.* **1**, 1150-1154.
- Gordon, M. H. 1990. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In Food Antioxidant. pp. 1-18, In Hudson, B. J. F. (ed.), Elsevier Applied Science, London/New York.
- Gutfinger, T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J. A. O. C. S.* **58**, 966-967.
- Kang, Y. H., Y. K. Park, S. R. Oh, and K. D. Moon. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 978-984.
- Katsuzi, N, M. H. Park, S. D. Ha, and G. H. Kim. 2000. Effects of garlic extract for protecting the infection of influenza virus. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **29**, 128-133.
- Kim, S. D., J. H. Do, and H. I. Oh. 1981. Antioxidant activity of *Panax ginseng* red products. *J. Korean Agric. Chem Soc.* **24**, 161-166.
- Kim, H. K., H. J. Kwak, and K. H. Kim. 2002. Physiological activity and antioxidative effect of garlic (*Allium sativum* L.) extract. *Food Sci. Biotechnol.* **11**, 500-506.
- Lawson, L. D., S. G. Wood, and B. G. Hughes. 1991. HPLC analysis of allicin and other thiosulfinates in garlic glove homogenates. *Planta Med.* **57**, 263-270.
- Lee, J. W., H. R. Ko, and K. H. Shim. 1998. Structural characteristics of the water soluble red reaction products isolated from Korean red ginseng. *Korean J. Food & Nutr.* **11**, 499-505.
- Lee, J. W. and J. H. Do. 2006. Current studies on red reaction products and acidic polysaccharide in Korean red ginseng. *J. Ginseng Res.* **30**, 41-48.
- Lee, J. H. and H. K. Koh. 1996. Drying characteristics of garlic. *J. Biosystems. Eng.* **21**, 72-83.
- Lee, J. W., S. K. Lee, J. H. Do, H. S. Sung, and K. H. Shim. 1995. Red reaction of fresh ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) as affected by heating temperature. *Korean J. Ginseng Sci.* **19**, 249-253.
- Lee, S. J., N. J. Sung, H. G. Jeong, J. H. Shin, Y. C. Chung, and J. K. Seo. 2008. Antioxidant activities of methanol extracts from *Prunella vulgaris*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**: 1535-1541.
- Lertittikul, W., S. Benjakul, and M. Tanaka. 2007. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH. *Food Chem.* **100**, 669-677.
- Liu, C. T., H. Hse, C. K. Lii, P. S. Chen, and L. Y. Sheen. 2005. Effects of garlic oil and diallyl trisulfide on glycemic control in diabetic rats. *Eur. J. Pharmacol.* **516**, 165-173.
- Liu, C. T., P. L. Wong, C. K. Lii, H. Hse, and L. Y. Sheen. 2006. Antidiabetic effect of garlic oil but not diallyl disulfide in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Food Chem Toxicol.* **44**, 1377-1384.

27. Moreno, M. I. N., M. I. Isla, A. R. Sampietro, and M. A. Vattuone. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* **71**, 109-114.
28. Moreno, F. J., M. Corzo-martinez, M. D. Castillo, and M. Villamiel. 2006. Changes in antioxidant activity of dehydrated onion and garlic during storage. *Food Res. Int.* **39**, 891-897.
29. Nuttakaan, L., R. Viboon, C. Nantaya, and M. G. Janusz. 2006. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparation. *Nutrition* **22**, 266-274.
30. Oyaizu, M. 1986. Studies on products of red reactions: antioxidative activities of products of red reaction prepared from glucosamine. *Japanese J. Nutr.* **44**, 307-315.
31. Re, R., N. Pellegrini, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTs radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
32. Schwimmer, S. and W. J. Weston. 1961. Onion flavor and odor, enzymatic development of pyruvic acid in onion as a measure of pungency. *J. Anal. Food Chem.* **9**, 301-304.
33. Shin, J. H., D. J. Choi, M. J. Chung, M. J. Kang, and N. J. Sung. 2008. Changes of physicochemical components and antioxidant activity of aged garlic at different temperatures. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 1174-1181.
34. Shin, J. H., D. J. Choi, S. J. Lee, J. Y. Cha, J. K. Kim, and N. J. Sung. 2008. Changes of physicochemical components and antioxidant activity of garlic during its processing. *J. Life Sci.* **18**, 1123-1131.
35. Shin, J. H., D. J. Choi, S. J. Lee, J. Y. Cha, and N. J. Sung. 2008. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 965-971.
36. Song, H. S. and K. Y. Moon. 2006. *In vitro* antioxidant activity profiles of β -glucans isolated from yeast *Saccharomyces cerevisiae* and mutant *Saccharomyces cerevisiae* IS2. *Food Sci. Biotechnol.* **15**, 437-440.
37. Staba, E. J., L. Lash, and J. E. Staba. 2001. A commentary on the effects of garlic extraction and formulation on product composition. *J. Nutr.* **131**, 1118-1119.
38. Wang, M. F., Y. Shao, J. G. Yi, N. Q. Zhu, M. Rngarajan, E. J. Lavoic, and C. T. Ho. 1998. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J. Agric. Food Chem.* **46**, 4869-4873.
39. Yamaguchi, N. and Y. Koyama. 1967. Studies on the red reaction products yields by reducing sugars and amino acid. *Japan J. Food Sci. Technol.* **14**, 110-113.
40. Yang, S. T. 2007. Antioxidative activity of extracts of aged black garlic on oxidation of human low density lipoprotein. *J. Life Sci.* **17**, 1330-1335.
41. Yilmaz, Y. and R. Toledo. 2005. Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products. *Food Chem.* **93**, 273-278.

초록 : 숙성 홍마늘의 생리활성

이수정¹ · 신정혜² · 강민정² · 정우재² · 류지현¹ · 김리정¹ · 성낙주^{1,2*}

(¹경상대학교 식품영양학과·농업생명과학연구원, ²(재)남해마늘연구소)

홍마늘의 진한 흑색을 완화시키고 동시에 생마늘보다는 생리활성이 높은 마늘 가공품의 개발을 위한 연구의 일환으로 적갈색 마늘(홍마늘)을 제조하여 열수추출물의 생리활성을 생마늘 및 흑마늘과 비교하였다. 홍마늘의 색도는 생마늘과 흑마늘의 중간 색도를 보였으며, 갈색도는 흑마늘보다는 생마늘과 비슷한 수준이었다. 홍마늘의 총 페놀, 플라보노이드, total pyruvate 및 thiosulfate 함량도 생마늘과 흑마늘의 중간수준이었다. DPPH, ABTs 및 NO 라디칼 소거능과 환원력의 측정 결과 홍마늘은 생마늘보다 유의적으로 높았으나, 흑마늘보다는 낮은 활성을 보였다. α -Glucosidase 저해 활성은 홍마늘과 흑마늘이 비슷한 활성으로 보였다. 항산화 활성을 중심으로 한 생리활성의 측정에서 홍마늘은 생마늘에 비해 더 높았으나 흑마늘에 비해서는 더 낮아 열처리를 통한 갈변물질의 생성정도가 숙성마늘의 생리활성 발현의 주요 인자임을 확인할 수 있었다.