

투석막으로 분리한 가공마늘 갈변물질의 생리활성

신정혜¹ · 강민정¹ · 김라정² · 류지현² · 김미주² · 이수정² · 성낙주^{1,2*}

¹(재)남해마늘연구소

²경상대학교 식품영양학과 · 농업생명과학연구원

Biological Activity of Browning Compounds from Processed Garlics Separated by Dialysis Membrane

Jung-Hye Shin¹, Min-Jung Kang¹, Ra-Jeong Kim², Ji-Hyun Ryu²,
Mi-Ju Kim², Soo-Jung Lee², and Nak-Ju Sung^{1,2*}

¹Namhae Garlic Research Institute, Gyeongnam 668-812, Korea

²Dept. of Food Science and Nutrition, Institute of Agriculture and Life Science,
Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-701, Korea

Abstract

This study was conducted to compare biological activity of browning compounds from fresh, red and black garlic. Water soluble browning compounds were separated from fresh, red and black garlic by dialysis membrane. Antioxidation and other biological activities of freeze dried inner and outer parts from garlics were compared. pH of fresh and red garlic dialysis solutions were higher in inner part of membrane, but black garlic dialysis solution showed reverse tendency. Browning intensities of all tested samples were higher in outer part of dialysis solutions. In inner part dialysis solutions, contents of total phenol compounds were the lowest in red garlic while their contents were the highest in black garlic and thereafter, were the highest in inner part of dialysis solution made from red garlic. Flavonoids content was the highest in inner part of red garlic dialysis solution. Total pyruvate content was higher in outer part of fresh and red garlic dialysis solution which showed the opposite results in black garlic. Total thiosulfate content was the highest in black garlic, red garlic and fresh garlic in order. Antioxidant activities have some similarities among garlic products. DPPH radical scavenging activity was higher in inner part of fresh and black garlic and outer part of red garlic. Tyrosinase inhibition activity was higher in browning compounds of red garlic than fresh and black garlic. α -glucosidase inhibition activity of tested samples were higher in inner part of dialysis solution than outer part, and showed higher activity in red garlic than fresh garlic at low sample concentrations.

Key words: red garlic, black garlic, browning compounds, dialysis, antioxidant activity

서 론

마늘은 유기황화합물을 함유하고 있어 특유의 향과 항산화, 항암, 면역증진 등 다양한 생리활성을 나타내므로 한국, 중국 및 인도 등 아시아 지역을 포함한 세계 각국에서 오래 전부터 식용 또는 약용으로 이용되어 왔다(1). 그러나 마늘은 기능성을 발현하는 황화합물에 의한 매운맛, 강한 향과 자극성으로 인하여(2) 생으로 일정량 이상을 지속적으로 섭취하는 데는 많은 어려움이 있다. 마늘의 이러한 단점을 보완하여 섭취의 편의를 도모하고자 우리나라에서는 식초, 소금물, 간장을 이용하여 숙성시켜 장아찌로 만들어 식용하였으며, 외국의 경우 마늘의 냄새를 제거하고자 실온에서 에탄올에 침지시켜 6개월 이상 장기간 숙성해 제조한 숙성 마늘 추출액(aged garlic extract, AGE)으로 이용되고 있다(3). 최

근 국내에서는 생마늘을 40~100°C의 범위에서 20~50일 정도 장기간 숙성시킴으로써 갈변이 강하게 진행되어 마늘 내부까지 검은색을 띠는 원리를 이용한 가공품인 흑마늘 및 추출액이 대표적인 마늘 가공품으로 자리 잡고 있다.

열처리 또는 장기간의 숙성을 거치는 가공 마늘의 경우 생마늘과 비교할 때 생리활성에서 다소의 차이를 나타내는데, 흑마늘은 생마늘에 존재하지 않던 S-allylcysteine(SAC)이 새로이 생성되어 동맥경화 개선, 심장질환 예방(4), 항산화 활성(5) 및 혈중 콜레스테롤을 포함한 지질 개선 효과(6)가 더 향상됨이 규명되어 있다. 대표적인 마늘 가공품인 AGE는 간 보호, 면역증진, 항암, 화학적 방어활성 및 항산화 활성을 가지는 반면 생마늘과 가열된 마늘은 오히려 산화를 촉진한다고 보고되어 있으며(7), Ide 등(8)은 숙성마늘 추출액으로부터 분리한 fructosyl arginine 갈변물질과 SAC는

*Corresponding author. E-mail: snakju@gnu.ac.kr
Phone: 82-55-751-5975, Fax: 82-55-751-5971

Cu²⁺에 의해 유도되는 LDL 산화를 억제하지만 생마늘의 allicin은 효과가 없다고 보고한 바 있다. 마늘의 지용성 황화합물은 지질감소 효과가 있으나 세포로부터 LDH(lactate dehydrogenase)의 유리를 증가시킴으로써 간세포독성을 나타내지만 SAC를 포함하는 많은 수용성 황화합물은 세포독성이 없으며, 알코올성 간세포 독성을 감소시킨다(9). 이처럼 마늘과 가공품은 처리조건이나 함유된 성분의 차이에 의하여 그 생리활성에 차이를 가진다고 알려져 있으며(7), 가공형태나 조건 및 성분의 특성에 따라서 활성도 상이하므로 이에 대한 다양한 연구의 진행이 요구되고 있다.

흑마늘은 섭취의 용이성과 더불어 가열 가공 중에 생성되는 갈변물질에 기인하는 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있으나 아직까지 흑마늘의 갈변물질에 대한 구체적인 확인이나 특성에 대한 연구는 미흡한 실정이며, 가공에 많은 시간이 소요되는 단점을 가지고 있다. 따라서 본 연구에서는 장시간 소요되는 흑마늘 가공상의 단점을 보완하고, 적절한 갈변물질의 생성으로 생마늘에 비해 생리활성은 증진된 새로운 마늘 가공품을 제안하고자 한다. 즉, 가열에 의한 비효소적 갈변반응을 응용하여 갈변정도를 조절함으로써 내부까지 적갈색이 되는 홍마늘을 제조하고, 그 생리활성을 규명하기 위하여 홍마늘의 수용성 갈변물질을 분자량에 따라 분리한 후 생마늘 및 흑마늘과 비교하였다.

재료 및 방법

홍마늘의 제조

실험에 사용된 생마늘과 흑마늘은 새남해농협가공사업소로부터 제공받아 사용하였으며, 홍마늘은 본 연구진에 의해 개발된 특허 1-2010-0036798법의 홍마늘 제조방법에 따라 통마늘을 쪽분리하여 90~60°C까지 온도와 숙성기간을 변화시키면서 내부까지 홍갈색이 되도록 숙성시켜 실험에 사용하였다.

갈변물질의 분리

조분쇄한 마늘 100 g에 1 L의 증류수를 가한 후 4°C에서 24시간씩 3회 반복 추출하였다. 반투막 투과법을 활용하여 마늘 추출물 중의 갈변물질을 분자량에 따라 분리하기 위하여 분자량 2,500을 기준으로 투석막을 이용하여 분리하였다. 즉, 추출액을 모두 모아 동결건조 한 다음 분말 일정량을 탈이온수에 녹여 dialysis membrane(MW cut-off 2,500, Thermo, Waltham, MA, USA)을 사용하여 4°C에서 5시간씩 5회 투석하여 투석내액과 외액으로 분리하였다. 이들 각각을 모두 모아 동결건조기를 이용하여 분말화 한 다음 -20°C에서 냉동 보관해 두고 실험 직전에 증류수로 일정농도로 조절하여 실험에 사용하였다. 이때 동일한 과정을 거쳐 생마늘 및 흑마늘 갈변물질을 얻어 비교 측정하였다.

시료의 pH 및 갈색도 측정

시료액의 농도를 조정된 후 pH 및 갈색도를 측정하였다. pH는 pH meter(model 720, Thermo Orion, Waltham, MA, USA)로 측정하였으며, 갈색도는 UV spectrophotometer (GB/UV310, Biochrom, Cambridge, UK)로 280 nm와 420 nm에서 각각 측정하여 흡광도 값으로 나타내었다.

총 페놀 및 플라보노이드 정량

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(10)에 따라 시료액 1 mL에 Foline-Ciocalteau 시약 및 10% Na₂CO₃ 용액을 각 1 mL씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 정치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로 gallic acid를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 페놀 함량을 산출하였다.

플라보노이드 함량은 시료액 1 mL에 10% aluminum nitrate 및 1 M potassium acetate 각 0.1 mL, ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 정치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다(11). Quercetin을 표준물질로 하여 얻은 검량선으로부터 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

Total pyruvate 정량

마늘 중의 pyruvate는 마늘이 외부의 자극으로 파쇄될 때 allinase의 작용에 의해 생성되므로 마늘에 함유되어 있는 allicin의 함량에 비례하게 되어(12), allicin의 함유 정도를 간접 확인할 수 있다. Total pyruvate의 함량은 Schwimmer와 Weston(13)의 방법에 따라 시료 1 g에 10% trichloroacetic acid 20 mL를 첨가하여 진탕혼합한 후 실온에 1시간 방치한 후 여과지(Whatman No. 7)로 여과하였다. 여과액 1 mL에 0.0125% dinitrophenylhydrazine 1 mL를 가하여 잘 혼합하고 37°C에서 10분간 반응시킨 다음, 0.6 N NaOH 용액 5 mL를 가해 잘 혼합하고 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준용액으로 sodium pyruvate(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 상기와 동일한 방법으로 얻은 표준검량곡선으로부터 총 pyruvate 함량을 산출하였다.

Total thiosulfinate 정량

Alliin의 분해 생성물인 thiosulfinate의 정량은 Freeman과 Mcbreen(14)의 방법에 따라 2 mM cysteine이 함유된 pH 7.5의 50 mM HEPES[N-(2-hydroxyethyl) piperazine-N'-2-ethane sulfonic acid] 용액 0.5 mL에 마늘 추출액 0.1 mL를 첨가하였다. 50 mM HEPES를 가하여 총 반응용액의 부피를 5 mL로 한 다음 27°C에서 10분간 반응시켰으며, 이 반응액 1 mL를 취하여 50 mM HEPES로 제조한 0.4 mM DTNB[5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)] 1 mL를 가하여 잘 혼합한 다음 다시 27°C에서 10분간 반응시킨 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. 50 mM HEPES로 제조한 0.05~0.3 mM의 L-cysteine(Sigma-Aldrich Co.) 용액을 표

준물질로 하였으며, 상기와 동일한 조건에서 흡광도를 측정하여 표준검량곡선을 작성하여 마늘 중의 total thiosulfinate 함량을 산출하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Blois(15)의 방법에 따라 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여능으로 시료의 환원력을 측정하였다. 메탄올에 5 mg/100 mL의 농도로 용해한 DPPH 용액에 농도별 시료액을 2:1의 비로 가하고, 충분히 혼합한 다음 상온에서 20분간 반응시켜 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

환원력 측정

Oyaizu(16)의 방법에 따라 시료액 1 mL에 200 mM의 phosphate buffer(pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide 각 1 mL를 차례로 가한 다음 50°C의 수욕 상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA 용액을 1 mL 가하고 5,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 얻은 상층액 1 mL에 증류수 및 0.1% ferric chloride 각 1 mL를 가하여 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력은 흡광도의 값으로 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS[2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonate)] 라디칼 소거 활성은 Re 등(17)의 방법에 따라 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 첨가한 7 mM ABTS 용액을 다음 암실에서 12~16시간 동안 반응시킨 다음 414 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정하여 ABTS 용액을 사용하여 라디칼 소거활성을 측정하였다. ABTS 용액 1 mL에 농도별 시료액 0.5 mL를 가하여 잘 혼합한 후 실온에서 5분간 반응시키고 414 nm에서 흡광도를 측정하여 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

Nitric oxide 소거능 측정

Song과 Moon(18)의 방법에 따라 시료액 0.5 mL에 5 mM sodium nitroprusside 용액 0.5 mL를 가하여 25°C에서 150분간 반응시켰다. 여기에 1 mL의 Griess reagent를 가한 후 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. Griess reagent는 2% sulfanilamide를 함유하는 4% 인산용액과 0.2% naphthyl-

ethylene-diamide 용액을 사용직전에 1:1(v/v)로 혼합하여 사용하였다. Nitric oxide 소거능은 $[1 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$ 으로 나타내었다.

Tyrosinase 활성 저해능 측정

Tyrosinase 활성 저해능은 Yagi 등(19)의 방법에 따라 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하였다. 즉, pH 6.5의 0.2 M potassium phosphate buffer 2.3 mL에 2 mM L-tyrosine 용액 0.4 mL, 시료액 0.2 mL 및 tyrosinase(220 unit/mL, Sigma-Aldrich Co.) 0.1 mL를 차례로 가한 다음 37°C에서 30분간 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신에 증류수를 첨가하여 측정한 흡광도를 대조구로 하여 시료액 첨가구에 대한 tyrosinase 저해능(%)을 산출하였다.

Glucosidase 활성 저해능 측정

α -glucosidase 활성 저해능은 Choe 등(20)의 방법에 따라 반응기질인 2.5 mM *p*-nitrophenyl α -D-glucopyranoside를 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.8)에 첨가한 후 α -glucosidase와 시료액을 가한 후 효소용액을 첨가한 다음 37°C에서 20분간 반응시켰다. 0.1 M NaOH를 가하여 반응을 정지시키고 기질인 *p*-nitrophenyl α -D-glucopyranoside로부터 유리되어 나오는 반응 생성물인 *p*-nitrophenol을 405 nm에서 측정하여 α -glucosidase 활성의 억제능을 측정하였다.

통계처리

각 실험은 5회 이상 반복하여 얻은 결과를 SPSS 12.0 package로 통계처리 하였으며, 각 시료에 대한 평균±표준편차로 나타내었다. 각 시료에 대한 유의성 검정은 분산분석을 한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

홍마늘 투석액의 pH 및 갈변물질의 함량

투석막을 이용하여 분리된 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘의 갈변물질을 각각 투석 내액 및 외액으로 구분하여 pH를 측정하였으며, 갈변물질의 함량을 예측하기 위하여 280과 420 nm에서 흡광도를 측정한 결과는 Table 1과 같다.

Table 1. pH and browning intensity of the water soluble browning reaction products from garlic

Garlics		pH	Browning intensity (O. D value)	
			280 nm	420 nm
Fresh	Inner	6.79±0.01 ^A	0.100±0.001 ^A	0.012±0.002 ^A
	Extra	6.73±0.01 ^B	0.113±0.002 ^B	0.031±0.001 ^B
Red	Inner	6.62±0.01 ^C	0.401±0.004 ^C	0.071±0.001 ^C
	Extra	6.46±0.02 ^D	0.849±0.005 ^D	0.141±0 ^D
Black	Inner	5.09±0.02 ^F	1.001±0.002 ^E	0.428±0 ^E
	Extra	6.01±0.01 ^E	1.750±0.013 ^F	0.648±0.004 ^F

Means with different superscripts (A-F) in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

생마늘 투석액의 pH는 내액이 6.79, 외액이 6.73으로 투석 내외액 간의 pH 차가 거의 없었으나 갈변도가 증가함에 따라 투석 내외액 간의 pH에 차이가 있었으며, 이는 갈변 정도에 따라 서로 상이한 경향이였다. 즉, 홍마늘 투석액의 pH는 내액에 비해 외액에서 더 낮았으며, 흑마늘 투석액은 내액의 pH가 더 낮았다. 마늘의 갈변정도에 따라 산성물질의 생성이 증가하되 갈변이 많이 진행될수록 산성물질의 분자량이 커짐을 알 수 있었다.

흑마늘 제조 중 pH는 숙성이 진행됨에 따라 점차 산성화되며(21), 홍삼 제조 시에도 갈변물질의 생성과 더불어 pH는 산성화되는데, 가공 온도가 높을수록 pH의 산성화 정도가 더 심화되는 경향이라는 보고(22)는 본 실험과 유사한 결과였다.

280 nm에서 생마늘 투석내액의 흡광도는 0.100 ± 0.001 이였으며, 투석외액은 0.113 ± 0.002 이었다. 홍마늘의 투석내액과 외액의 흡광도는 각각 0.401 ± 0.004 와 0.849 ± 0.005 였으며, 흑마늘은 투석내액이 1.001 ± 0.002 , 외액이 1.750 ± 0.013 이었다. 420 nm에서도 280 nm와 동일한 경향이였으며, 흡광도 값이 유의적으로 높아 숙성기간이 증가할수록 갈변화가 더 많이 진행되며, 투석내액에 비해 외액에 갈변물질의 함량이 더 높은 것으로 판단된다. 가공마늘에서 색의 변화는 온도조건에 주로 영향을 받는데, 숙성 온도가 높을수록, 숙성기간이 경과할수록 갈변물질의 생성량은 증가하며 이는 시료중의 수분함량과 상관관계가 있다는 Shin 등(23)의 보고는 본 실험의 결과와 일치하였다.

총 페놀 및 플라보노이드 함량

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액 중 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. 마늘과 가공품의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 갈변이 많이 진행될수록 그 함량이 증가하는 경향이였다. 총 페놀 함량은 흑마늘 투석내액에서 가장 높아 25.53 ± 0.33 mg/g이었으며, 홍마늘의 투석내액에서 15.28 ± 0.06 mg/g으로 가장 낮은 함량이었다.

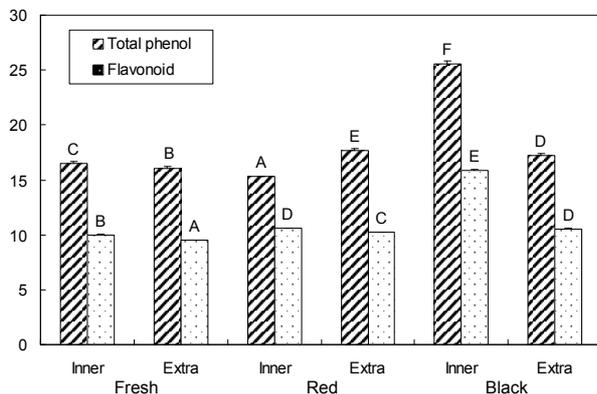


Fig. 1. Total phenol and flavonoid contents of the water soluble browning reaction products from garlics. Means with different letters (A-F) in the analytical item are significantly different at $p < 0.05$.

플라보노이드 함량은 $9.49 \pm 0.02 \sim 15.90 \pm 0.04$ mg/g의 범위로 흑마늘 투석내액에서 가장 높았고 생마늘 투석 내·외액에서 유의적으로 낮은 함량이었다.

숙성 온도를 달리한 마늘의 숙성 기간별 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 숙성 온도가 높을수록, 숙성기간이 경과할수록 더 높아 60°C 에서 숙성시킬 경우 3~6일, 90°C 에서는 1~3일에 그 함량이 급격히 증가한다는 보고(23)는 본 실험의 결과와도 일치하는 경향이였다. 흑마늘에서 생마늘에 비해 페놀화합물과 플라보노이드 함량이 증가하는 것은 고온 열처리로 인해 페놀화합물의 생성과 추출이 용이해지고, 가공 중 수분함량이 감소되기 때문이라고 보고되어 있다(21).

커피를 볶는 동안 생성되는 Maillard 갈변물질은 생두에 존재하는 chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid 및 p-coumaric acid와 같은 천연 페놀화합물과 더불어 항산화 활성을 더 증가시킨다는 보고(24)로 미루어 볼 때 숙성마늘 중의 페놀화합물 및 플라보노이드 화합물도 갈변물질과 더불어 항산화 활성 향상에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

마늘 중의 황성분과 페놀화합물은 항균, 항진균 및 항산화 효과를 가지며 이러한 효과는 가열 등의 가공공정, 첨가물의 존재, 영양소 상호간의 반응 등 여러 인자의 영향을 받는데, 그 예로써 튀김과 같은 조리 공정을 거친 마늘은 총 페놀화합물의 함량의 증가로 인하여 라디칼 소거활성이 증가하였다고 보고(25)되어 있다.

Total pyruvate 및 thiosulfinate의 함량

생마늘 및 가공마늘 투석 내·외액 중 total pyruvate 및 thiosulfinate의 함량은 Fig. 2와 같다. 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 total pyruvate 함량은 생마늘 투석외액에서 19.54 ± 0.12 $\mu\text{M/g}$ 으로 투석내액에 비해 9.3배 정도 더 높았다. 홍마늘은 투석외액이 24.18 ± 2.72 $\mu\text{M/g}$ 로 투석내액에 비해 약 11배 정도 높았으나, 흑마늘은 투석 내·외액 간에 유의적인 차이가 없었으며, 투석외액 중의 total pyruvate 함량도 11.14 ± 0.11 $\mu\text{M/g}$ 로 생마늘이나 홍마늘에 비해 낮았다.

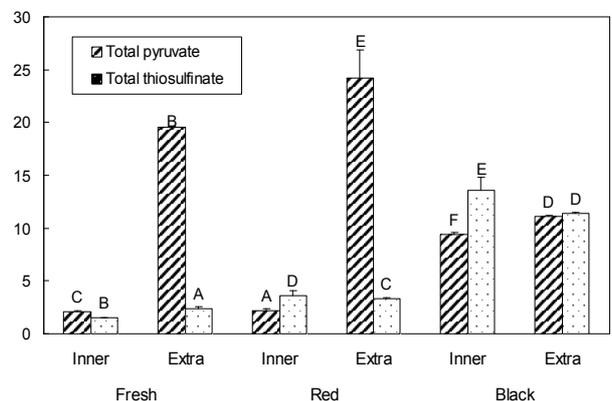


Fig. 2. Contents of total pyruvate and thiosulfate of the water soluble browning reaction products from garlics. Means with different letters (A-F) in the same analytical item are significantly different at $p < 0.05$.

Shin 등(21)은 흑마늘의 가공 중 total pyruvate의 함량은 가공단계를 거치면서 점차 증가하여 최종 단계에서는 약 1.6 배 정도 더 증가하였는데, 이는 고온의 숙성과정을 고려할 때 고온에 의한 당의 분해산물도 영향을 미쳤기 때문으로 추정하였으며, 숙성 온도를 달리한 마늘 가공품 중 total pyruvate 함량은 70°C 미만에서 숙성할 경우 그 함량은 감소 하지만 80°C 이상에서는 오히려 그 함량이 증가한다는 보고도 있다(23). 본 실험의 결과에서도 홍마늘과 흑마늘 중의 total pyruvate 함량 차이는 숙성온도 조건이 서로 상이하기 때문으로 판단된다.

Total thiosulfinate 함량은 생마늘 투석 내·외액에서 각각 1.48 ± 0.02 와 $2.34 \pm 0.22 \mu\text{M/g}$ 로 가장 낮았으며, 내외액 간의 함량차도 미미하였으나 흑마늘에서는 투석내액에서 $11.39 \pm 0.12 \mu\text{M/g}$ 로 가장 높은 함량이었다.

Lee 등(26)은 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 열수 추출물 중의 thiosulfinate 함량은 갈변도가 진행될수록 더 증가하는 경향이었는데, 이는 마늘 가공에 따른 수분감소로 상대적 함량 증가와 숙성기간이 상이하기 때문이라고 하였는데, 본 실험의 결과도 이와 유사한 경향이였다.

DPPH 라디칼 소거능

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 투석액의 농도를 250, 500, 1,000 및 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 로 달리하였을 때 마늘 투석액의 DPPH 라디칼 소거능은 시료액의 농도가 증가됨에 따라 유의적으로 상승하였다. 생마늘과 홍마늘은 250~500 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 투석 내·외액 간에 활성 차이가 없었으나 흑마늘은 세포내액에서 유의적으로 활성이 높았다. 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 DPPH 라디칼 소거활성은 흑마늘>홍마늘>생마늘의

순이었는데 생마늘과 흑마늘은 세포내액에서, 홍마늘은 세포외액의 소거능이 더 높아 갈변정도에 따라 갈변물질의 특성이나 생리활성에 변화가 있음을 추정할 수 있었다. 가장 높은 활성을 가지는 흑마늘 갈변물질의 경우 세포내액은 $90.60 \pm 1.99\%$ 로 가장 활성이 높았으며, 세포외액의 활성은 $65.01 \pm 3.82\%$ 로 낮았다.

숙성 마늘의 전자공여 활성은 숙성온도가 높고 시료의 첨가 농도가 높을수록 우수하며(23), 흑마늘 제조 공정의 진행과 더불어 갈변화가 진행될수록 갈변물질의 함량이 증가함으로 인하여 전자공여 활성도 증가한다는 보고(21), 마늘을 100~120°C에서 1~3시간까지 처리한 후 향기성분을 분리하여 전자공여활성을 평가하였을 때 온도가 높을수록, 열처리 시간이 길수록 활성이 더 높다는 보고(27) 및 인삼의 경우도 백삼 추출물은 전자공여 활성이 거의 없었으나 갈변화된 홍삼 추출물은 BHT와 유사한 범위의 강한 전자공여 활성을 나타낸다는 보고(28)는 본 실험의 결과와도 일치하는 경향이였다.

Jang 등(29)은 생마늘에 비해 흑마늘의 전자공여능이 더 우수하여 동일 농도에서 4~14배 이상 전자공여능이 더 높았는데 이는 마늘의 숙성 과정에서 형성되는 총 폴리페놀 함량 및 갈변물질에 기인한 효과라고 추정하였다. 본 실험의 결과에서도 홍마늘 및 흑마늘 투석액이 생마늘에 비해 DPPH 라디칼 소거능이 뛰어난 것은 갈변반응 동안 새로이 생성된 물질에 기인하는 바가 크며, 이중 분자량이 큰 갈변물질의 영향이 더 클 것으로 판단된다.

환원력

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 환원력을 측정하여 700 nm에서 흡광도 값으로 나타낸 결과는 Table 3과 같이

Table 2. DPPH radical scavenging ability of the water soluble browning reaction products from garlics (%)

Garlics		Sample concentration ($\mu\text{g/mL}$)			
		250	500	1000	2000
Fresh	Inner	23.65 ± 2.71^{aA}	32.35 ± 1.22^{bB}	38.06 ± 3.16^{cB}	44.84 ± 3.33^{dB}
	Extra	23.45 ± 1.22^{aA}	27.19 ± 0.30^{bA}	26.79 ± 0.18^{bA}	29.52 ± 1.15^{cA}
Red	Inner	24.38 ± 0.91^{aA}	29.03 ± 2.32^{bAB}	42.46 ± 1.44^{cC}	45.73 ± 3.67^{cB}
	Extra	27.73 ± 3.74^{aA}	30.92 ± 2.08^{aB}	43.67 ± 3.53^{bC}	58.14 ± 3.16^{cC}
Black	Inner	41.55 ± 2.32^{aB}	53.48 ± 3.19^{bD}	69.01 ± 2.43^{cE}	90.60 ± 1.99^{dE}
	Extra	28.00 ± 4.04^{aA}	37.86 ± 0.35^{bC}	50.80 ± 1.50^{cD}	65.01 ± 3.82^{dD}

Means with different superscripts in the same row (a-d) and column (A-E) are significantly different at $p < 0.05$.

Table 3. Reducing power of the water soluble browning reaction products from garlics (O.D. value)

Garlics		Sample concentration ($\mu\text{g/mL}$)			
		250	500	1000	2000
Fresh	Inner	0.143 ± 0.002^{aB}	0.153 ± 0.001^{bB}	0.160 ± 0.004^{cA}	0.160 ± 0.004^{cA}
	Extra	0.146 ± 0.002^{aC}	0.152 ± 0.001^{bB}	0.190 ± 0.001^{cB}	0.197 ± 0.001^{dB}
Red	Inner	0.137 ± 0.001^{aA}	0.143 ± 0.000^{bA}	0.161 ± 0.000^{cA}	0.165 ± 0.000^{dA}
	Extra	0.147 ± 0.00^{aC}	0.157 ± 0.000^{bC}	0.201 ± 0.000^{cC}	0.212 ± 0.000^{dC}
Black	Inner	0.173 ± 0.001^{aD}	0.220 ± 0.001^{bE}	0.298 ± 0.001^{cE}	0.458 ± 0.006^{dE}
	Extra	0.175 ± 0.001^{aD}	0.198 ± 0.002^{bD}	0.259 ± 0.002^{cD}	0.372 ± 0.005^{dD}

Means with different superscripts in the same row (a-d) and column (A-F) are significantly different at $p < 0.05$.

시료의 농도가 증가됨에 따라 환원력은 유의적으로 증가하였다. 생마늘 투석내액의 흡광도는 $0.143 \pm 0.002 \sim 0.160 \pm 0.004$ 의 범위였으며, 외액은 $0.146 \pm 0.002 \sim 0.197 \pm 0.001$ 의 범위로 환원력이 더 높았다. 홍마늘도 투석외액의 흡광도가 $0.147 \sim 0.212$ 의 범위로 생마늘과 동일한 경향이였다. 반면, 흑마늘은 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서는 투석 내·외액의 유의차가 없었으나, 농도가 증가됨에 따라 투석내액의 환원력이 유의적으로 더 높았다.

갈변반응으로 생성된 Maillard 반응물질의 환원력은 기질 내 hydroxyl기와 수소원자를 공여함으로써 라디칼 반응을 제어할 수 있는 환원 물질에 기인한다는 Lertittikul 등(30)의 보고로 미루어 볼 때 생마늘에 비해 홍마늘 및 흑마늘의 환원력이 더 높은 것은 숙성 동안 생성된 갈변물질의 환원력에 기인하는 것으로 판단된다.

ABTS 라디칼 소거능

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 ABTS 라디칼 소거능을 측정된 결과는 Table 4에 나타내었다. 반응기질에 시료의 첨가농도가 높아질수록 라디칼 소거능은 유의적으로 상승되었는데, 최고 농도인 2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 생마늘의 활성이 가장 낮았고 세포외액이 $22.63 \pm 0.51\%$ 로 세포내액에 비해 1.47배 정도 더 높았다. 홍마늘 투석액도 세포외액의 활성이 내액에 비해 1.74배 더 높아 $53.33 \pm 1.22\%$ 로 가장 높았으나 흑마늘 투석 내외액의 활성은 각각 $49.17 \pm 1.38\%$ 와 $40.46 \pm 0.65\%$ 로 투석내액의 활성이 유의적으로 더 높았다.

양파를 120~140°C에서 2시간 가열하였을 때 가열온도가 높을수록 ABTS 라디칼 소거활성이 높아졌는데 이는 열처리를 통하여 폴리페놀 함량이 증가하였기 때문이라고 보고되어 있다(31). 한편으로, 식품의 가공 또는 저장 중에 일어

나는 환원당과 단백질, 펩타이드 또는 아미노산 사이의 갈변 반응은 항산화 활성을 증가시키며(32), 비효소적 갈변반응의 최종산물인 melanoidine은 활성산소종의 강력한 scavenger인데(33), fructosyl arginine은 숙성마늘의 주요 항산화물질로 알려져 있다(8). 본 실험의 결과에서도 숙성이 진행될수록 ABTS 라디칼 소거활성이 상승하는 것도 숙성의 결과로 증가된 폴리페놀과 갈변물질에 기인하는 것으로 생각된다.

NO 라디칼 소거능

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 NO 라디칼 소거능을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 시료의 첨가량이 증가됨에 따라 NO 라디칼 소거능은 유의적으로 상승되는 경향이였다. 생마늘 투석내액의 활성은 $3.68 \pm 0.71 \sim 19.77 \pm 1.05\%$ 였으며, 외액은 $2.34 \pm 0.52 \sim 13.50 \pm 2.17\%$ 로 내액의 NO 라디칼 소거능이 더 높았다. 홍마늘 투석 내액과 외액의 NO 라디칼 소거능은 각각 $10.14 \pm 0.22 \sim 21.53 \pm 0.97\%$ 와 $6.51 \pm 0.77 \sim 23.60 \pm 0.95\%$ 였는데, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 농도에서는 투석 내·외액 간의 활성에 유의차가 없었다. 흑마늘은 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상 농도에서 투석외액의 활성이 타 시료에 비해 유의적으로 높았는데, 2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서는 $47.59 \pm 0.20\%$ 로 월등히 높았다. 마늘 갈변물질의 NO 라디칼 소거활성은 투석외액보다 내액에서 더 높은 경향을 나타내었는데 투석내액의 분자량이 더 큰 것을 고려해 볼 때, 갈변물질의 NO 라디칼 소거활성은 물질의 분자량과도 관련성이 높을 것으로 생각된다.

마늘 열수 추출물의 NO 라디칼 소거활성은 흑마늘>홍마늘>생마늘의 순으로 활성이 높았고, 시료액의 농도가 증가함에 따라 활성도 증가하는 경향이였으나 2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도

Table 4. ABTS radical scavenging ability of the water soluble browning reaction products from garlics (%)

Garlics		Sample concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			
		250	500	1000	2000
Fresh	Inner	$7.37 \pm 1.10^{\text{aA}}$	$9.42 \pm 0.30^{\text{bA}}$	$11.73 \pm 0.18^{\text{cA}}$	$15.38 \pm 0.06^{\text{dA}}$
	Extra	$9.33 \pm 0.69^{\text{aAB}}$	$11.77 \pm 0.40^{\text{bB}}$	$14.65 \pm 0.65^{\text{cB}}$	$22.63 \pm 0.51^{\text{dB}}$
Red	Inner	$14.45 \pm 1.81^{\text{aC}}$	$17.24 \pm 0.53^{\text{bC}}$	$21.33 \pm 0.48^{\text{cC}}$	$30.66 \pm 1.24^{\text{dC}}$
	Extra	$16.23 \pm 1.50^{\text{aC}}$	$20.45 \pm 1.13^{\text{bD}}$	$33.28 \pm 0.55^{\text{cF}}$	$53.33 \pm 1.22^{\text{dF}}$
Black	Inner	$14.15 \pm 0.28^{\text{aC}}$	$20.86 \pm 0.67^{\text{bD}}$	$31.31 \pm 0.72^{\text{cE}}$	$49.17 \pm 1.38^{\text{dE}}$
	Extra	$10.74 \pm 1.14^{\text{aB}}$	$16.62 \pm 0.53^{\text{bC}}$	$24.47 \pm 0.81^{\text{cD}}$	$40.46 \pm 0.65^{\text{dD}}$

Means with different superscripts in the same row (a-d) and column (A-F) are significantly different at $p < 0.05$.

Table 5. Nitric oxide scavenging ability of the water soluble browning reaction products from garlics (%)

Garlics		Sample concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			
		250	500	1000	2000
Fresh	Inner	$3.68 \pm 0.71^{\text{aAB}}$	$4.59 \pm 2.02^{\text{aAB}}$	$16.34 \pm 0.59^{\text{bB}}$	$19.77 \pm 1.05^{\text{cB}}$
	Extra	$2.34 \pm 0.52^{\text{aA}}$	$2.90 \pm 0.19^{\text{aA}}$	$8.88 \pm 0.83^{\text{bA}}$	$13.50 \pm 2.17^{\text{cA}}$
Red	Inner	$10.14 \pm 0.22^{\text{aD}}$	$11.87 \pm 1.55^{\text{bC}}$	$19.04 \pm 1.58^{\text{cB}}$	$21.53 \pm 0.97^{\text{dBC}}$
	Extra	$6.51 \pm 0.77^{\text{aC}}$	$10.22 \pm 0.94^{\text{aC}}$	$16.63 \pm 5.81^{\text{cB}}$	$23.60 \pm 0.95^{\text{dC}}$
Black	Inner	$4.98 \pm 0.87^{\text{aB}}$	$11.84 \pm 0.98^{\text{bC}}$	$25.06 \pm 1.74^{\text{cC}}$	$47.59 \pm 0.20^{\text{dE}}$
	Extra	$3.25 \pm 0.80^{\text{aA}}$	$6.32 \pm 0.77^{\text{aB}}$	$15.47 \pm 2.19^{\text{bB}}$	$27.53 \pm 2.21^{\text{cD}}$

Means with different superscripts in the same row (a-d) and column (A-E) are significantly different at $p < 0.05$.

에서도 활성은 50% 미만이라는 보고(26)는 본 실험의 결과와 잘 일치하는 경향이였다.

가열온도와 시간을 달리한 마늘의 휘발성 향기성분은 가열온도가 높고 시간이 많을수록 항산화 활성이 더 높아지는데 이는 가열을 통하여 세포벽이 파괴되면서 수용성 중합물과 결합하고 있는 항산화물질들이 분리되며, 가열 동안 항산화 활성을 증가시키는 물질이 새로이 생성되기 때문이라는 Woo 등(27)의 보고가 있다.

Tyrosinase 저해활성

마늘 투석액의 tyrosinase 저해활성을 측정한 결과는 Table 6과 같다. 시료의 농도가 증가됨에 따라 활성이 유의적으로 증가되었는데, 생마늘 투석내액과 외액의 tyrosinase 저해활성은 각각 17.06±1.80~28.52±2.33%였으며, 외액은 16.48±5.80~24.33±2.68%로 내·외액 간에 유의차가 적었다. 홍마늘도 투석내액의 활성이 다소 높은 경향이였으나 1,000 µg/mL 이상의 농도에서는 내·외액 간에 유의차가 없었고, 흑마늘은 시료 농도에 관계없이 투석 내·외액 간에 활성 차이가 없었다.

마늘 추출물은 59% 정도로 높은 tyrosinase 저해활성을 나타낸다고 보고되어 있으며(34), Jung 등(35)은 흑마늘의 미백관련 기능성을 응용하여 화장품을 제조하고 tyrosinase 저해활성을 실험한 결과 대조군에 비해 2배 이상의 높은 활성을 나타내었음을 보고한 바 있다.

Tyrosinase에 의해 체내에서 생성되는 멜라닌은 자외선 증 피부자극에 대해 저항력을 높이기도 하지만 과도한 멜라닌의 합성은 기미, 주근깨 등의 색소 침착을 유발하므로 tyrosinase의 활성 저해 능력은 피부 미백효과를 나타내는 지표가 되며, 천연물로부터 분리된 페놀성 화합물, 플라보노

이드, 알부틴, ferulic acid 등은 대표적인 tyrosinase 활성 저해물질로 알려져 있다(36).

α-Glucosidase 저해활성

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 항당뇨 활성을 *in vitro*에서 측정한 결과는 Table 7과 같이 시료의 첨가 농도가 높을수록 마늘 투석액의 α-glucosidase 저해활성도 유의적으로 증가되었다. 생마늘과 홍마늘 투석내액은 2,000 µg/mL 농도에서 각각 21.23±1.55%와 21.54±1.08%로 활성에 차이가 없었다. 흑마늘 투석 내액과 외액의 α-glucosidase 저해활성은 각각 37.84±1.80%와 34.28±0.56%로 생마늘 및 홍마늘에 비해 더 활성이 높았으며, 홍마늘과 흑마늘은 투석 외액보다 내액의 활성이 더 높았다.

Shin 등(37)은 80°C에서 30시간 열풍건조 하여 제조한 중간 갈변 마늘 열수추출물의 α-glucosidase 저해활성이 2,500 µg/mL 미만 농도에서는 농도 변화에 따른 활성의 차이가 없었으나 그 이상의 농도에서는 첨가 시료의 농도가 높을수록 활성도 유의적으로 증가하였으며, 최고 22.22±1.29%의 활성을 보인다고 보고한 바 있다.

α-glucosidase 저해제는 탄수화물의 소화와 흡수를 지연시켜 고인슐린 혈증이나 저혈당을 유발하지 않으면서 인슐린 분비를 촉진시키고, 소장에서는 glucagon-like peptide-1의 분비를 촉진하여 글루카곤의 분비를 억제하는 역할을 한다(38). 한편으로 당뇨병에서는 포도당의 자가산화, 단백질의 당화 등에 의해 자유라디칼을 생성하거나 다양한 산화적 스트레스와 조직의 산화적 손상이 유발될 수 있다(39). 따라서 α-glucosidase 저해활성과 항산화 활성이 동시에 높을 때 당뇨병 질환 완화에 더 효과적이라고 추정해 볼 수 있는데, 본 실험의 결과 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘은 α-glucosidase

Table 6. Tyrosinase inhibitory activity of the water soluble browning reaction products from garlics (%)

Garlics		Sample concentration (µg/mL)			
		250	500	1000	2000
Fresh	Inner	17.06±1.80 ^{aA}	21.52±0.87 ^{aC}	18.70±4.52 ^{aA}	28.52±2.33 ^{bAB}
	Extra	16.48±5.80 ^{aA}	18.00±0.44 ^{abA}	18.15±4.07 ^{abA}	24.33±2.68 ^{bA}
Red	Inner	28.87±5.58 ^{aB}	29.32±1.44 ^{aD}	32.59±3.35 ^{aC}	33.48±2.04 ^{aC}
	Extra	22.62±2.11 ^{aAB}	20.39±2.37 ^{aAB}	29.02±1.94 ^{bBC}	34.30±2.91 ^{cC}
Black	Inner	18.06±1.51 ^{aA}	23.94±1.60 ^{bC}	26.55±2.37 ^{bcB}	30.09±2.69 ^{cBC}
	Extra	18.71±1.15 ^{aA}	23.87±2.06 ^{bC}	24.85±1.33 ^{bb}	25.53±2.59 ^{bAB}

Means with different superscripts in the same row (a-d) and column (A-D) are significantly different at p<0.05.

Table 7. α-Glucosidase inhibitory activity of the water soluble browning reaction products from garlics (%)

Garlics		Sample concentration (µg/mL)			
		250	500	1000	2000
Fresh	Inner	8.56±0.34 ^{aB}	13.01±0.39 ^{bB}	17.24±0.79 ^{cB}	21.23±1.55 ^{dB}
	Extra	6.05±1.02 ^{aA}	10.04±0.14 ^{bA}	14.76±0.59 ^{cA}	18.92±0.99 ^{dB}
Red	Inner	7.05±2.20 ^{aAB}	13.42±2.81 ^{bB}	17.38±0.56 ^{cB}	21.54±1.08 ^{dB}
	Extra	12.12±1.63 ^{aC}	14.78±0.90 ^{ab}	14.80±1.33 ^{aA}	15.69±2.22 ^{dA}
Black	Inner	13.35±0.21 ^{aC}	18.03±1.69 ^{bC}	27.53±0.55 ^{cC}	37.84±1.80 ^{dD}
	Extra	16.49±0.92 ^{aD}	18.34±0.73 ^{bC}	27.98±0.21 ^{cC}	34.28±0.56 ^{dC}

Means with different superscripts in the same row (a-d) and column (A-D) are significantly different at p<0.05.

sidase 저해활성은 그리 높지 않지만 항산화 활성은 우수하므로 당뇨병 질환의 완화에 간접적으로 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

마늘 및 숙성을 통한 가공마늘 갈변물질의 생리활성을 규명하고자 생마늘, 중간숙성 마늘인 홍마늘 및 흑마늘의 수용성 갈변물질을 투석막을 이용하여 투석내액 및 외액으로 분리한 다음 동결 건조하여 항산화활성을 중심으로 생리활성을 비교분석하였다. 생마늘 및 홍마늘 투석액의 pH는 내액에서 더 높았으나 흑마늘은 이와 상반되게 투석외액의 pH가 더 높았고, 갈변물질은 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 모두 투석외액에서 더 높은 함량이었다. 총 페놀 화합물의 함량은 투석내액의 경우 홍마늘에서 가장 낮았고 흑마늘에서 가장 높았으나, 투석외액에서는 홍마늘에서 가장 높은 함량이었다. 플라보노이드 화합물의 함량은 흑마늘 투석내액에서 가장 높았으며, total pyruvate의 함량은 생마늘과 홍마늘의 경우 투석외액에서 더 높았으나 흑마늘은 이와 상반된 결과였다. Total thiosulfinate의 함량은 흑마늘에서 가장 높았고, 다음으로 홍마늘, 생마늘의 순서였다. DPPH 라디칼 소거활성은 생마늘과 흑마늘의 경우 투석내액이, 홍마늘은 외액에서 더 활성이 높았고, tyrosinase 저해활성은 홍마늘 투석액이 생마늘 및 흑마늘에 비해 더 활성이 높았다. α -Glucosidase 저해활성은 투석내액이 외액보다 높았으며, 저농도에서 홍마늘은 생마늘보다 활성이 더 높았다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 생마늘과 홍마늘의 항산화 활성은 투석외액에서 더 높으며, tyrosinase 및 α -glucosidase 저해활성은 투석내액에서 더 높았고, 이들에 비해 갈변 반응이 더 많이 진행된 흑마늘의 경우 투석내액의 생리활성이 더 높아 마늘의 갈변 정도에 따라 생리활성에 기여하는 갈변물질의 분자 크기가 상이함을 확인할 수 있었다.

문 헌

- Borek C. 2001. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *J Nutr* 131: 1010S-1015S.
- Heber D. 1997. The stinking rose: organosulfur compounds and cancer. *J Clin Nutr* 66: 425-426.
- Moriguchi T, Saito H, Nishiyama N. 1997. Anti-aging effect of aged garlic extract in the inbred brain atrophy mouse model. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 24: 235-242.
- Son SJ, Lee SP. 2010. Effects of black garlic on the rheological and functional properties of garlic fermented by *Leuconostoc mesenteroides*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 864-871.
- Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Che JY, Sung NJ. 2008. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 965-971.
- Kang MJ, Lee SJ, Shin JH, Kang SK, Kim JG, Sung NJ. 2008. Effect of garlic with different processing on lipid metabolism in 1% cholesterol fed rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 162-169.
- Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. 2001. Intake of garlic and its bioactivity components. *JN* 131: 955S-962S.
- Ide N, Lau B HS, Ryu K, Matsuura H, Itakura Y. 1999. Antioxidant effects of fructosyl arginine, a Maillard reaction product in aged garlic extract. *J Nutr Biochem* 10: 372-376.
- Liu L, Yeh YY. 2001. Water-soluble organosulfur compounds of garlic inhibit fatty acid and triglyceride synthesis in cultured rat hepatocytes. *Lipids* 36: 395-400.
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *JAOCS* 58: 966-968.
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109-114.
- Cavagnaro PF, Senalik D, Galmarini CR, Simon PW. 2005. Correlation of pungency, thiosulfinates, antiplatelet activity and total soluble solids in two garlic families. American Society for Horticultural Sciences Annual Conference, Las Vegas, NV, USA. p 1019.
- Schwimmer S, Weston WJ. 1961. Onion flavor and odor, enzymatic development of pyruvic acid in onion as a measure of pungency. *J Anal Food Chem* 9: 301-304.
- Freeman GG, Mcbreen F. 1973. A rapid spectrophotometric method of determination of thiosulfinate in onion and its significance in flavor studies. *Biochem Soc Trans* 1: 1150-1154.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
- Re R, Pellegrini N, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
- Song HS, Moon KY. 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.
- Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Med* 39: 517-519.
- Choe M, Kim DJ, Lee HJ, You JK, Seo DJ, Lee JH, Chung MJ. 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.
- 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. *J Life Sci* 18: 1123-1131.
- Lee JW, Lee SK, Do JH, Sung HS, Shim KH. 1995. Browning reaction of fresh ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) as affected by heating temperature. *Korean J Ginseng Sci* 19: 249-253.
- Shin JH, Choi DJ, Chung MJ, Kang MJ, Sung NJ. 2008. Changes of physicochemical components and antioxidant activity of aged garlic at different temperatures. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1174-1181.
- Delgado-Andrade C, Rufian-Henares JA, Morales FJ. 2005. Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *J Agric Food Chem* 53: 7832-7836.
- Queiroz YS, Ishimoto EY, Bastos DHM, Sampaio GR, Torres

- EAFS. 2009. Garlic (*Allium sativum*) and ready-to-eat garlic products: In vitro antioxidant activity. *Food Chem* 115: 371-374.
26. Lee SJ, Shin JH, Kang MJ, Jung WJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ. 2010. Antioxidant activity of aged red garlic. *J Life Sci* 20: 775-781.
27. Woo KS, Yoon HS, Lee YR, Lee JS, Kim DJ, Hong JT, Jeong HS. 2007. Characteristics and antioxidative activity of volatile compounds in heated garlic (*Allium sativum*). *Food Sci Biotechnol* 16: 822-827.
28. Kim SD, Do JH, Oh HI. 1981. Antioxidant activity of *Panax ginseng* browning products. *J Korean Agric Chem Soc* 24: 161-166.
29. Jang EK, Seo JH, Lee SP. 2008. Physiological activity and antioxidative effects of aged black garlic (*Allium sativum*) extract. *Korean J Food Technol* 40: 443-448.
30. Lertittikul W, Benjakul S, Tanaka M. 2007. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH. *Food Chem* 100: 669-677.
31. Lee YR, Hwang IG, Woo KS, Kim DJ, Hong JT, Jeong HS. 2007. Antioxidative activities of the ethyl acetate fraction from heated onion (*Allium cepa*). *Food Sci Biotechnol* 16: 1041-1045.
32. Somoza V. 2005. Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: An update. *Mol Nutr Food Res* 49: 663-672.
33. Moreno FJ, Corzo-Martinez M, Dolores del Castillo M, Villamiel M. 2006. Changes in antioxidant activity of dehydrated onion and garlic during storage. *Food Res Int* 39: 891-897.
34. Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han DS. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 891-896.
35. Jung EY, Hong YH, Kim SH, Suh HJ. 2010. Physiological effects of formulations added with black garlic extract on skin care: oxidative stress, tyrosinase and elastase activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 662-668.
36. Cha JY, Yang HJ, Jeong JJ, Seo WS, Park JS, Ok M, Cho YS. 2010. Tyrosinase inhibition activity and antioxidant capacity by fermented products of some medicinal plants. *J Life Sci* 20: 940-947.
37. Shin JH, Kang MJ, Lee SJ, Yang SM, Ryu JH, Sung NJ. 2009. Biological activity of dried garlic, red ginseng and their mixture. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1633-1639.
38. Mooradian AD, Thurman JE. 1999. Drug therapy of post prandial hyperglycemia. *Drugs* 57: 19-29.
39. Baynes JW, Thorpe SR. 1999. Role of oxidative stress in diabetes complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 48: 1-9.

(2010년 12월 15일 접수; 2011년 1월 19일 채택)