

흑마늘의 항산화 활성

신정혜¹ · 최덕주² · 이수정³ · 차지영³ · 성낙주^{3*}

¹남해대학 호텔조리제빵과, ²재능대학 호텔조리외식과

³경상대학교 식품영양학과 · 농업생명과학연구원

Antioxidant Activity of Black Garlic (*Allium sativum* L.)

Jung-Hye Shin¹, Duck-Joo Choi², Soo-Jung Lee³,
Ji-Young Cha³, and Nak-Ju Sung^{3*}

¹Dept. of Hotel Culinary Arts & Bakery, Namhae College, Namhae 668-801, Korea

²Dept. of Hotel Culinary Arts Jaeneung College, Incheon 401-714, Korea

³Dept. of Food Science and Nutrition, Institute of Agriculture and Life Sciences,
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

The antioxidant activities of hot water and ethanol extracts from fresh, steamed and black garlic were compared. The levels of phenolic compounds of extracts from fresh, steamed and black garlic were 0.81~0.99 mg/100 g and their contents were not significantly different. The contents of flavonoids in ethanol extracts, 0.96±0.05~1.06±0.09 mg/100 g, was higher than hot water extracts. DPPH radical scavenging activity was higher in ethanol extract. Although the highest level was 69.40±0.13% in concentration of 10 mg/mL from black garlic ethanol extract, ethanol extracts showed 50.55±1.40% in concentration of 15 mg/mL. Reducing power was significantly higher in black garlic extract and higher in the order of black garlic > fresh garlic > steamed garlic in ethanol extract. Hydroxyl radical scavenging activity was higher in ethanol extract, showing over 60% in concentration of 5 mg/mL. In oil emulsion, TBA value was significantly lower in hot water extracts from black garlic, however ethanol extracts were not significantly different. TBA value of ethanol extract were 1.49±0.08~2.11±0.16 MA mg/kg and 1.33±0.18~1.62±0.19 MA mg/kg from steamed and black garlic, respectively. Antioxidant activity to the linoleic acid was 72.71±2.17~88.74±3.70% in 1-day storage, but its level was increased at 4-day storage to 86.67±3.76~92.50±0.87%.

Key words: black garlic, DPPH radical scavenging activity, hydroxyl radical scavenging activity, TBA value

서 론

현대의학과 문명의 발달로 인간의 평균 수명은 점차 증가되고 있으나 대기, 수질 등 환경의 오염과 사회생활에 따른 다양한 스트레스 및 과영양화 또는 영양편중으로 인해 야기되는 인체 내외의 많은 요인들은 건강을 위협하는 요소가 되고 있어 건강 장수를 위한 관심은 더 고조되고 있다. 이러한 관심의 대표적인 대상 중 하나가 쉽게 접할 수 있고, 거부감이 적은 건강보조식품 또는 기능성식품으로 대표되는 다양한 식품군이다. 기능성식품의 범위는 유해물질의 중화, 해독 배설, 혈압, 혈당 및 콜레스테롤 저하, 비만예방, 다이어트 효과를 가지는 식품에서 더 나아가 생체방어, 면역, 질병의 예방 및 치료, 회복, 노화억제 등의 생체조절 역할까지로 점차 확대되고 있다(1). 식품의 대표적인 기능성으로 지적되고 있는 항산화 활성은 생체 내에서 DNA 손상, 암유발, 노화

등 다양한 질병의 원인과 관련성이 있는 유리 자유기에 의한 손상을 방지함으로써 생체를 보호하는 중요한 기능성으로 주목받고 있다(2,3). 과거로부터 식용되어 온 천연식물류들은 안전성이 확인된 대표적인 항산화활성 식품으로 주 연구의 대상이 되고 있는데, 한약재를 포함한 약용식물(4), 버섯류(5), 다류원료 식물류(6), 미나리과 채소(7), 오미자(8) 등 항산화 효과가 풍부한 식품들의 섭취를 통하여 생체조절 기능 효과를 더불어 얻고자 하고 있다.

우리나라 식생활에 있어서 필수불가결한 조미료로서 우리나라 국민 1인당 일 년에 약 7~9 kg을 소비하고 있는 마늘은(9), 산화스트레스를 중화시키는 대표적인 자연 항산화제로 ROS(reactive oxygen species)를 제거하고, 지질과산화물 형성과 LDL 산화를 억제하며 항산화 체계를 증대시키는 것으로 알려져 있다(10). 또한, 마늘은 운동에 의한 산화스트레스를 감소시켜 뚜렷한 혈중지질 저하 효과와 더불어 항산

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

화 효소계를 강화함으로써 지질과산화물의 형성을 억제하는 항산화작용이 있어 지질저하작용 뿐 아니라 운동을 비롯한 산화스트레스를 증가시키는 상황에서 산화스트레스를 억제하도록 항산화작용을 발휘하는 천연기능성 물질로서 충분한 활용성이 인정되고 있다(11). 그러나 민간요법에서 약용으로 사용되는 마늘은 기관지 수축, 구토, 설사, 저혈당 및 접촉피부염 등의 부작용을 일으킬 수도 있으며(12), 강한 냄새와 매운 맛으로 인하여 다양한 생리활성을 나타내기에 충분한 양을 지속적으로 섭취하기는 어렵다. 마늘의 특징적인 냄새와 향을 감소시키기 위한 가장 손쉬운 방법이 열처리법인데, 조리하거나 굵게 되면 마늘은 풍미가 달콤하고 견과류와 유사한 맛이 나와 자극적인 냄새가 없어지고 부드럽게 느껴지며, 단백질, 지질 및 당질은 allicin을 감싸서 냄새를 감소시키는 역할을 하게 된다(13).

현재 마늘에 관해서는 다양한 연구들이 진행되어 있으나 *in vitro* 상에서 마늘의 항산화 활성을 다양한 방법으로 평가한 시도는 많지 않으며, 특히 최근 개발된 흑마늘과 관련한 연구는 전무한 실정이다. 이에 본 연구에서는 마늘의 매운 맛과 향을 감소시켜 섭취가 용이하도록 가열 숙성하여 제조된 흑마늘의 항산화 활성을 생마늘 및 찢마늘과 비교 평가함으로써 마늘의 전처리 방법에 따른 항산화 효능을 확인하고자 각각의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 항산화 활성을 측정하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료의 제조

실험에 사용된 통마늘, 간마늘 및 흑마늘은 경남 남해군에서 재배 수확된 것을 도울농산영농조합법인으로부터 제공받아 실험에 사용하였다. 통마늘은 뿌리부분을 제거하고 꼭지부분은 위로 1~2 cm 가량 남긴 상태로 사용하였으며 간마늘은 자동 박피하여 크기에 따른 등급 분류한 최상품을 사용하였다.

간마늘의 경우 실험실에서 꼭지부분을 제거하고 흐르는 물에 2회 세척한 다음 자연 건조하여 물기를 제거하였고 찢마늘은 세척·건조된 생마늘을 2중 찢술을 이용하여 100°C에서 20분간 가열하였다. 흑마늘은 도울농산영농조합법인에서 가열 숙성기에서 스테인레스스틸 용기에 담아 50~90°C까지 온도를 변화시키면서 약 200시간 숙성시킨 것을 제공받아 사용하였다.

각 시료는 두께 5 mm 정도로 슬라이스하여 진공동결건조기를 이용해 동결건조 시킨 다음 분쇄기로 분말화 시켰다. 여기에 3차 증류수를 가하여 일정 농도로 만들어 linoleic acid emulsion에 의한 항산화 활성을 측정하였으며, 각 시료 열수 및 에탄올 추출물 제조를 위한 시료로 사용하였다.

열수 및 에탄올 추출물의 제조

각 시료의 열수 추출물은 동결건조 시료 100 g에 탈이온

수 300 mL를 가하여 90°C 수욕상에서 환류냉각 시키면서 5시간씩 2회 반복 추출하였고, 에탄올 추출물은 열수추출물과 동일한 방법으로 60°C 수욕상에서 반복 추출한 다음 여과한 여액을 회전식진공농축기를 이용하여 완전건고 시킨 다음 증류수를 이용하여 일정한 농도로 희석해 항산화 실험에 사용하였다. 이때 추출에 사용한 시료와 완전건고 후 시료의 무게를 측정하여 추출수율을 계산하였다.

총 페놀 및 플라보노이드

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(14)에 따라 각 추출물 1 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 및 10% Na₂CO₃용액을 각 1 mL씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 정치한 후 700 nm에서 흡광도(Optizen 2120UV, Mecasys Co. Ltd, Korea)를 측정하였다. Caffeic acid(Sigma Co., USA)를 0~100 µg/mL의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 총 페놀 함량을 산출하였다.

총 플라보노이드는 Moreno 등(15)의 방법에 따라 추출물 0.5 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 정치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin(Sigma Co., USA)을 표준물질로 하여 0~100 µg/mL 농도 범위에서 얻어진 표준 검량선으로부터 추출물의 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

전자공여능 측정

전자공여능은 Blois(16)의 방법을 변형하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여 효과로 시료의 환원력을 측정하였다. 즉 일정농도의 시료 추출에 DPPH 용액을 가하여 10초간 잘 혼합한 다음 실온에서 20분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

환원력 측정

Oyaizu(17)의 방법에 따라 측정하였으며 시료 1 mL에 pH 6.6의 200 mM 인산 완충액 및 1%의 potassium ferricyanide를 각 1 mL씩 차례로 가하여 교반한 후 50°C의 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA(trichloroacetic acid) 용액을 1 mL 가하여 13,500×g에서 15분간 원심분리하여 얻은 상정액 1 mL에 증류수 및 ferric chloride 각 1 mL를 가하여 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 환원력은 흡광도의 값으로 나타내었다.

Hydroxyl radical 소거능 측정

Gutteridge(18)의 방법에 따라 시험관에 1 mM FeSO₄/EDTA 용액 0.2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 시료 0.2 mL, 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 1.2 mL 및 10 mM H₂O₂ 0.2 mL를 차례로 가한 다음 37°C에서 1시간 반응시킨 후 2.8% TCA용액 1 mL를 가하고 95°C 수욕상에서 10분간

가열한 다음 급냉시킨 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 hydroxyl 라디칼 소거능은 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{Hydroxyl radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A-O}{B-O}\right) \times 100$$

O: Absorbance of no treatment at 532 nm
 A: Absorbance of sample treatment at 532 nm
 B: Absorbance of control treatment at 532 nm

Thiocyanate법에 의한 항산화 활성 측정

Buege와 Aust(19)의 방법에 따라 pH 6.5의 maleic acid buffer, Tween-20 및 0.1 N HCl로 사용 직전에 제조한 oil emulsion 0.5 mL, 50 ppm CuSO₄ 0.1 mL 그리고 시료액 0.5 mL를 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 여기에 7.2% butylated hydroxytoluene(BHT) 50 µL와 trichloroacetic acid/thiobarbituric acid(TCA/TBA) 용액을 2 mL 가 하고 90°C 수욕상에서 15분간 가열한 다음 빙수 중에서 냉각 하였다. 이어서 2,000×g에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 531 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 흡광도를 TBA값으로 표시하고, TEP(1,1,3,3-tetraethoxypropane, Sigma-Aldrich Co. Ltd.) 표준물질을 이용한 표준 검량곡선에 의하여 산출하였다.

Linoleic acid emulsion에 의한 항산화 활성 측정

각 마늘 동결건조물을 5, 10, 50 및 100 mg/mL의 농도로 만들어 Osawa(20)와 Kim 등(21)의 방법에 따라 thiocyanate법으로 측정하였다. 시료 1 mL에 linoleic acid emulsion 및 0.2 M phosphate buffer(pH 7.0) 각 2 mL를 혼합하여 37°C에서 저장하면서 1일 및 4일째에 각 0.1 mL를 취하여 75% 에탄올 4.7 mL, 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL를 첨가한 후 1분간 실온에 정치시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신에 linoleic acid emulsion을 첨가하였으며, 항산화 활성은 시료 첨가 전후의 흡광도 비로 나타내었다.

통계처리

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

결과 및 고찰

추출물 중 총 페놀, 플라보노이드 함량 및 수율

생마늘, 찢마늘 및 흑마늘의 열수와 에탄올 추출물 중 페놀화합물과 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 1 과 같다. 총 페놀의 함량은 0.81~0.99 mg/100 g의 범위였으나 시료간 및 추출 용매간에 유의적인 함량 차이는 없었

Table 1. Contents of total phenol and flavonoids of various garlic and extracts from different processings (mg/100 g)

	Extract solvent	Fresh garlic	Steamed garlic	Black garlic
Total phenol	Water	0.81±0.18	0.87±0.13	0.88±0.08
	Ethanol	0.87±0.15	0.80±0.09	0.99±0.06
Flavonoids	Water	0.22±0.08	0.56±0.07	0.55±0.08
	Ethanol	0.96±0.05	1.06±0.09	1.02±0.04

All data's have no significantly different at p<0.05.

다. 플라보노이드는 물 추출물보다는 에탄올 추출물에서 더 높은 함량으로 생마늘의 경우 물 추출물에서 0.22±0.08 mg/100 g이었으나 에탄올 추출물에서는 0.96±0.05 mg/100 g으로 약 4.5배 더 높게 정량되었다. 이는 찢마늘이나 흑마늘에서도 유사한 경향으로 약 1.8배씩 더 높게 정량되었다. 그러나 각 추출물별 시료간의 함량에는 유의적인 차이가 없었다.

각 용매 추출물의 수율은 Fig. 1과 같이 열수 추출물의 수율이 에탄올 추출물에 비하여 월등히 높았는데 생마늘과 찢마늘의 경우 에탄올 추출물의 수율은 각각 4.6%와 4.41%였지만 열수추출물은 각각 24.88%와 26.18%로 약 5배 이상으로 수율이 높았다. 그러나 흑마늘은 이와 상반되는 결과를 보여 열수추출물의 수율은 15.5%였으나 에탄올 추출물의 수율은 28.34%로 더 높았다. Woo 등(22)은 감초를 열처리하였을 때 추출수율이 더 증가하였는데 이는 열처리로 인하여 불용성 성분들이 가용성화 되었기 때문으로 추정하였는데 본 실험의 결과 흑마늘 에탄올 추출물의 추출수율이 높은 것은 흑마늘 제조과정의 열처리 과정을 통하여 에탄올 가용 성분이 증가되었기 때문으로 판단된다.

전자공여능

처리방법을 달리한 마늘의 열수 및 에탄올 추출물의 DPPH에 대한 전자공여능을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 생마늘과 찢마늘 추출물의 경우 열수 추출물에 비하여 에탄

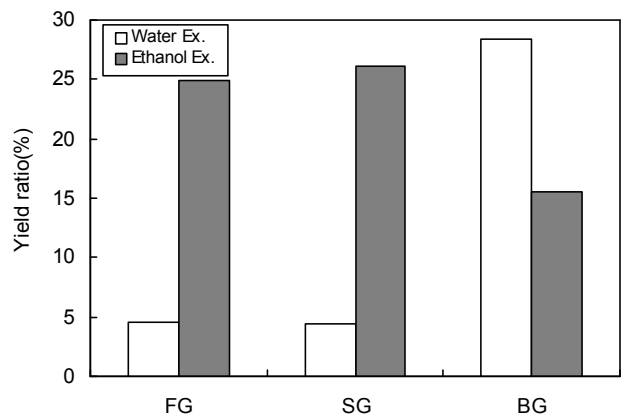


Fig. 1. Extract yield of hot water and ethanol from differently processed garlicks. FG: fresh garlic, SG: steamed garlic, BG: black garlic.

Table 2. DPPH radical scavenging ability of hot water and ethanol extracts from differently processed garlics (%)

Extract solvent	Sample concentrations (mg/mL)	Fresh garlic	Steamed garlic	Black garlic
Hot water	1	1.40±0.58 ^{aA}	0.28±0.07 ^{aA}	11.38±1.11 ^{aB}
	5	3.14±1.26 ^{aB}	0.85±0.49 ^{abA}	42.61±0.39 ^{bC}
	10	5.09±1.30 ^{bB}	1.84±1.21 ^{bA}	69.40±0.13 ^{cC}
	15	7.27±0.46 ^{cA}	4.09±0.62 ^{cA}	83.52±0.75 ^{dB}
	20	10.22±1.09 ^{dB}	6.59±1.00 ^{dA}	88.42±0.17 ^{cC}
Ethanol	1	4.23±2.57 ^{aA}	3.91±1.09 ^{aA}	11.54±0.94 ^{aB}
	5	14.98±0.29 ^{bB}	9.84±0.95 ^{bA}	12.70±1.60 ^{aC}
	10	22.05±1.02 ^{cB}	16.81±0.21 ^{cA}	45.73±1.24 ^{bC}
	15	31.89±0.71 ^{dB}	22.83±0.45 ^{dA}	50.55±1.40 ^{cB}
	20	36.97±0.44 ^{dB}	27.05±0.33 ^{eA}	84.01±0.40 ^{dC}

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

을 추출물에서 활성이 더 높았는데, 생마늘 열수 추출물은 20 mg/mL 농도에서 10.22±1.09%로 전자공여능이 낮았으나 에탄올 추출물에서는 5 mg/mL 농도에서 14.98±0.29%의 활성을 나타내었다. 찢마늘의 열수추출물은 7% 미만, 에탄올 추출물은 30% 미만으로 활성이 낮아 생마늘보다도 더 낮은 활성을 나타내었는데, 일부 농도에서는 유의적인 차이는 없었다. 가장 높은 활성을 나타낸 흑마늘의 경우 에탄올 추출물에 비하여 열수 추출물에서 전자공여효과가 더 우수하여 열수 추출물은 10 mg/mL 농도에서 69.40±0.13%의 활성을 나타내었으나 에탄올 추출물은 15 mg/mL 농도에서 50.55±1.40%의 활성을 나타내었다.

Kim 등(23)은 백삼과 홍삼 70% 에탄올 추출물의 전자공여능을 평가한 결과 백삼 추출물은 전자공여효과가 거의 없었으나 홍삼 추출물은 BHT와 유사한 정도로 강한 수소공여효과를 나타낸다고 보고한 바 있는데, 이는 본 실험의 결과와 유사한 경향이였다.

마늘을 130°C에서 2시간 동안 열처리한 다음 추출한 향기성분의 DPPH에 대한 라디칼 소거활성을 측정한 결과 열처리를 마늘의 항산화 활성이 무처리 마늘에 비하여 증가하였으며 이는 allyl mercaptan 및 methyl pyrazine 등 열처리로 인하여 새로이 생성된 향기성분과 allyl methyl sulfide 및 allyl alcohol 등 열처리로 인하여 함량이 증가된 성분들의

영향일 것으로 추정된 Jeong 등(24)의 보고가 있다. 본 실험의 결과에서 흑마늘의 항산화 활성이 찢마늘이나 생마늘에 비하여 더 높아진 것도 갈변반응 동안 새로이 생성된 물질에 기인하는 바가 클 것으로 추정된다.

환원력

생마늘, 찢마늘 및 흑마늘 열수 및 에탄올 추출물의 환원력을 측정하여 흡광도 값으로 나타낸 결과는 Table 3과 같다. 열수 추출물에서는 생마늘과 찢마늘 간의 환원력에 유의적인 차이는 없었으며, 흑마늘 추출물에서만 유의적으로 높은 환원력을 나타내었고 에탄올 추출물에서는 흑마늘>생마늘>찢마늘 순으로 환원력이 높았다. 모든 시료에서 농도가 증가함에 따라 환원력도 증가하였는데, 흑마늘 열수 추출물 20 mg/mL 농도에서 1.87±0.58로 가장 높은 흡광도를 나타내었다. 생마늘과 찢마늘의 경우 열수추출물에 비하여 에탄올 추출물에서 환원력이 더 높아 20 mg/mL 농도에서 각각 0.14±0.02와 0.12±0.00의 흡광도를 나타내었으나 에탄올 추출물에서는 각각 0.86±0.01과 0.39±0.00으로 흡광도 값이 더 높았다.

흑마늘은 50~90°C의 고온에서 장시간 저장하면서 제조되어 마늘 전체가 갈변화되므로 갈색화 반응은 주로 amino-carbonyl 반응에 의한 것으로, 흑마늘의 제조 공정을 거치는 동안 새로이 생성된 갈변물질에 의하여 항산화 활성이

Table 3. Reducing power of hot water and ethanol extracts from differently processed garlics (O.D. value)

Extract solvent	Sample concentrations (mg/mL)	Fresh garlic	Steamed garlic	Black garlic
Hot water	1	0.07±0.01 ^{aA}	0.07±0.00 ^{aA}	0.25±0.01 ^{aB}
	5	0.09±0.01 ^{aA}	0.09±0.01 ^{bA}	0.89±0.02 ^{bB}
	10	0.09±0.05 ^{aA}	0.09±0.00 ^{bA}	1.43±0.03 ^{cB}
	15	0.11±0.00 ^{aA}	0.10±0.00 ^{cA}	1.67±0.12 ^{cB}
	20	0.14±0.02 ^{aA}	0.12±0.00 ^{dA}	1.87±0.58 ^{cB}
Ethanol	1	0.11±0.00 ^{ab}	0.09±0.01 ^{aA}	0.22±0.01 ^{aC}
	5	0.30±0.00 ^{bB}	0.16±0.00 ^{bA}	0.67±0.01 ^{bC}
	10	0.49±0.00 ^{dB}	0.25±0.00 ^{cA}	1.19±0.01 ^{cC}
	15	0.72±0.01 ^{dB}	0.33±0.01 ^{dA}	1.42±0.02 ^{dC}
	20	0.86±0.01 ^{eB}	0.39±0.00 ^{eA}	1.65±0.01 ^{eC}

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

생마늘에 비하여 더 높게 나타나는 것으로 판단된다. Maillard 반응 물질의 환원력은 기질 내 hydroxyl기와 수소 원자를 공여함으로써 라디칼 반응을 제어할 수 있는 환원물질에 기인한다고 보고되어 있다(25).

Hydroxyl radical 소거활성

Hydroxyl radical 소거활성은 물 추출물의 경우 생마늘과 찢마늘에서 최고 11.09% 정도로 매우 낮았으며 흑마늘은 5 mg/mL 농도에서 18.68±0.49%, 20 mg/mL 농도에서는 45.33±0.37%의 활성을 나타내었다(Table 4). 반면 에탄올 추출물의 hydroxyl radical 소거활성은 물 추출물에 비하여 월등히 높아 1 mg/mL 농도에서도 33.60~37.47% 범위의 활성을 나타내었으며 5 mg/mL 이상의 농도에서는 60% 이상으로 활성이 높았다. 특히, 찢마늘 에탄올 추출물 5~15 mg/mL 농도에서 70.00±0.41~75.32±0.43%로 생마늘 및 흑마늘 추출물에 비해 유의적으로 활성이 높았다.

Hydroxyl radical은 DNA의 핵산과 결합함으로써 손상을 일으켜 발암성, 돌연변이 및 세포독성을 유발하게 되며, 지질과산화 과정에서 빠른 개시제로서 작용하게 되는데 hydroxyl radical 소거활성은 지질과산화 과정의 진행을 직접적으로 방해하거나 활성화된 산소종을 소거함으로써 연쇄 반응을 저해하기 때문이라고 보고되어 있다(26).

Thiocyanate법에 의한 항산화 활성 측정

CuSO₄를 함유한 반응계에서 마늘 열수 및 에탄올 추출물의 항산화 활성을 측정된 결과는 Table 5와 같다. Oil emulsion 상에서 TBA(thiobarbituric acid) 생성량은 열수추출물의 경우 흑마늘 추출물이 유의적으로 낮았으며, 에탄올 추출물은 시료간의 유의적인 차이가 미미하였다. 생마늘 열수추출물의 경우 20 mg/mL 농도에서만 유의적으로 TBA 생성량이 낮았고, 에탄올 추출물에서는 1 mg/mL 농도에서만 유의적으로 생성량이 많았다. 찢마늘과 흑마늘 에탄올 추출물에서 TBA 생성량은 각각 1.49±0.08~2.11±0.16 MA mg/kg과 1.33±0.18~1.62±0.19 MA mg/kg으로 시료의 첨가농도에 따른 유의적인 차이가 없었다.

팽이버섯, 마늘, 녹차 및 한약재 열수 및 에탄올 추출물의 TBA 측정을 통한 항산화력 평가 결과 에탄올 추출물에서 금속이온에 대한 binding 능력이 더 우수하였으나 유의적인 차이는 없었다고 한 보고(27)는 본 실험의 결과와 유사한 경향이였다.

Linoleic acid emulsion에 의한 항산화 활성 측정

Linoleic acid emulsion 상에서 처리방법을 달리한 마늘 동결건조물의 항산화 활성을 1일과 4일에 각각 측정된 결과는 Table 6과 같다. 저장 1일에는 생마늘 시료의 항산화 활성

Table 4. OH radical scavenging activity of hot water and ethanol extracts from differently processed garlics (%)

Extract solvent	Sample concentrations (mg/mL)	Fresh garlic	Steamed garlic	Black garlic
Hot water	1	0.80±0.20 ^{aA}	2.62±0.18 ^{aB}	3.14±0.29 ^{aC}
	5	3.84±0.71 ^{bA}	3.32±0.41 ^{aA}	18.68±0.49 ^{bB}
	10	6.90±0.82 ^{cB}	5.00±0.37 ^{bA}	33.68±0.23 ^{cC}
	15	8.43±0.25 ^{dA}	8.97±0.56 ^{cA}	41.63±0.30 ^{dB}
	20	10.22±0.11 ^{eA}	11.09±0.43 ^{dB}	45.33±0.37 ^{eC}
Ethanol	1	33.60±0.30 ^{aA}	37.47±0.88 ^{aB}	36.30±0.92 ^{aB}
	5	60.60±0.46 ^{bA}	70.00±0.41 ^{bC}	68.75±0.57 ^{bB}
	10	65.62±1.02 ^{cA}	73.26±0.51 ^{cC}	71.18±0.90 ^{cB}
	15	67.53±0.13 ^{dA}	75.32±0.43 ^{dC}	72.47±0.29 ^{dB}
	20	68.92±0.18 ^{eA}	78.50±1.15 ^{eB}	77.61±1.20 ^{eB}

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

Table 5. Thiobarbituric acid values of hot water and ethanol extracts from differently processed garlics on lipid oxidation of oil emulsion containing CuSO₄ (MA mg/kg)

Extract solvent	Sample concentrations (mg/mL)	Fresh garlic	Steamed garlic	Black garlic
Hot water	1	2.89±0.17 ^{bB}	2.90±0.10 ^{cB}	2.47±0.06 ^{bA}
	5	2.87±0.02 ^{bB}	2.80±0.26 ^{cB}	2.05±0.12 ^{aA}
	10	2.81±0.29 ^{bB}	2.69±0.27 ^{bcB}	2.03±0.05 ^{aA}
	15	2.69±0.03 ^{bB}	2.38±0.31 ^{abAB}	1.94±0.27 ^{aA}
	20	2.33±0.01 ^{aC}	2.05±0.04 ^{aB}	1.81±0.11 ^{aA}
Ethanol	1	2.13±0.16 ^{bB}	2.11±0.16 ^B	1.62±0.19 ^A
	5	1.88±0.04 ^a	1.67±0.51	1.60±0.16
	10	1.85±0.12 ^a	1.62±0.02	1.40±0.48
	15	1.79±0.11 ^{ab}	1.55±0.02 ^A	1.33±0.16 ^A
	20	1.70±0.06 ^{ab}	1.49±0.08 ^{AB}	1.33±0.18 ^A

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

Table 6. Changes of total antioxidant activity of hot water extracts from differently processed garlics on the oxidation of linoleic acid system (%)

Storage days	Samples	Sample concentration (mg/mL)			
		5	10	50	100
1	Fresh garlic	85.20±2.87 ^b	86.23±3.44	87.46±2.40	88.74±3.70
	Steamed garlic	72.71±2.17 ^a	80.19±2.50	82.45±2.07	83.23±1.48
	Black garlic	77.52±2.07 ^{abA}	78.09±2.69 ^A	85.66±1.55 ^B	87.34±2.47 ^B
4	Fresh Garlic	88.75±2.50	89.67±0.19	90.25±0.58	92.13±3.21
	Steamed garlic	86.67±3.76	88.21±1.22	91.67±2.67	92.25±1.12
	Black garlic	88.09±2.66	88.21±1.49	91.46±0.40	92.50±0.87

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

이 가장 높아 5 mg/mL 농도에서도 85% 이상의 활성을 보였으며, 흑마늘은 50 mg/mL 이상의 농도에서 85% 이상의 활성을 나타내었다. 찐마늘은 100 mg/mL 농도에서도 항산화 활성은 83%에 불과하여 활성이 가장 낮았으나 시료간 및 시료의 첨가 농도가 항산화 활성에서 통계적인 유의차는 없었다. 저장 4일에는 저장 1일의 $72.71 \pm 2.17 \sim 88.74 \pm 3.70\%$ 에 비하여 $86.67 \pm 3.76 \sim 92.50 \pm 0.87\%$ 로 항산화 활성이 오히려 더 증가하였으며 시료의 첨가농도가 높아질수록 항산화 활성도 더 높아졌으나 유의적인 차이는 없었다.

박하 추출물의 linoleic acid 산화 저해능은 저농도보다는 고농도에서 더 효과적이라는 보고(28)와 본 실험의 결과는 일치하는 경향이었으나, 본 실험에서는 통계적인 유의성은 없었다. Linoleic acid에 대한 항산화력은 추출물 내에 존재하는 수소공여체로 작용하는 물질의 양과 상관성이 있는데 (29), 마늘의 항산화 활성은 대부분이 페놀 화합물과 diallyl sulfide에 기인하는 바가 크다고 알려져 있다(30).

요 약

마늘의 매운 맛과 향을 감소시켜 섭취가 용이하도록 가열 숙성하여 제조된 흑마늘의 항산화 활성을 생마늘 및 찐마늘과 비교 평가함으로써 마늘의 전처리 방법에 따른 항산화 효능을 확인하고자 각각의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 항산화 활성을 측정하였다. 생마늘, 찐마늘 및 흑마늘의 열수와 에탄올 추출물 총 페놀의 함량은 0.81~0.99 mg/100 g의 범위였으나 시료간 및 추출 용매간에 유의적인 함량 차이는 없었다. 플라보노이드 함량은 에탄올 추출물에서 $0.96 \pm 0.05 \sim 1.06 \pm 0.09$ mg/100 g으로 더 높게 정량되었다. 전자공여능은 생마늘과 찐마늘 추출물의 경우 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물에서 활성이 더 높았고, 활성이 가장 높았던 흑마늘의 경우 열수 추출물 10 mg/mL 농도에서 $69.40 \pm 0.13\%$ 의 활성을 나타내었으나 에탄올 추출물은 15 mg/mL 농도에서도 $50.55 \pm 1.40\%$ 의 활성을 나타내었다. 흑마늘 추출물에서만 유의적으로 높은 환원력을 나타내었고 에탄올 추출물에서는 흑마늘>생마늘>찐마늘 순으로 환원력이 높았다. Hydroxyl radical 소거활성은 물추출물에 비해

여 에탄올 추출물에서 월등히 높아 5 mg/mL 이상의 농도에서는 60% 이상의 높은 활성을 나타내었다. Oil emulsion 상에서 TBA 생성량은 열수추출물의 경우 흑마늘 추출물이 유의적으로 낮았으며, 에탄올 추출물은 시료간의 유의적인 차이가 미미하였다. 찐마늘과 흑마늘 에탄올 추출물에서 TBA 생성량은 각각 $1.49 \pm 0.08 \sim 2.11 \pm 0.16$ MA mg/kg과 $1.33 \pm 0.18 \sim 1.62 \pm 0.19$ MA mg/kg으로 시료의 첨가농도에 따른 유의적인 차이가 없었다. Linoleic acid에 대한 항산화능은 저장 1일의 $72.71 \pm 2.17 \sim 88.74 \pm 3.70\%$ 에 비하여 저장 4일에는 $86.67 \pm 3.76 \sim 92.50 \pm 0.87\%$ 로 항산화 활성이 오히려 더 증가하였다.

문 헌

- Kim JP, Chon IJ, Cho HK, Ham IH, Whang WK. 2004. The antioxidant and the antidiabetic effects of ethanol extract from biofunctional foods prescriptions. *Kor J Pharmacogn* 35: 98-103.
- Dean RT, Gieseg Davies MJ. 1993. Reactive species and their accumulation on radical damaged proteins. *Trends Biochem Sci* 18: 437-441.
- Jung SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Beak NI. 2004. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 135-140.
- Lee SE, Seong NS, Bang JK, Park CG. 2003. Antioxidative activities of Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Corp Sci* 11: 127-134.
- Lee GD, Chang HG, Kim HK. 1997. Antioxidative and nitrite-scavenging activity of edible mushrooms. *Korean J Food Sci Technol* 29: 432-436.
- Kim MK, Kim MC, Park JS, Kim JW, Lee JO. 2001. The antioxidative effects of the water-soluble extracts of plants used as tea materials. *Korean J Food Sci Technol* 33: 12-18.
- Heo SJ, Yang MO, Cho EJ. 2001. Analysis of *Umbelliferaeae* wild plants and antioxidative activity of pork meat products added with wild plants. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 17: 456-463.
- Kim HK, Na GM, Ye SH, Han HS. 2004. Extraction characteristics and antioxidative activity of *Schizandra chinensis* extracts. *Korean J Food Culture* 19: 484-490.
- Kim YP, Lee GW, Oh HI. 2006. Optimization of extraction conditions for garlic oleoresin and changes in the quality characteristics of oleoresin during storage. *Korean J Food & Nutr* 19: 219-226.

10. Imai J, Ide N, Nagae S, Moriguchi T, Matsuura H, Itakura Y. 1994. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Plant Med* 60: 417-420.
11. Yoo GA. 2006. Effect of garlic supplement and exercise on plasma lipid and antioxidant enzyme system in rats. *Korean J Nutrition* 39: 3-10.
12. Cho SH, Bae EY, Lee CN, You CE, Lee JD. 2003. A case of irritant contact dermatitis due to garlic. *Korean J Dermatology* 41: 385-387.
13. 박홍현, 이영남, 이경희, 김태희. 2004. 마늘의 세계. 효일출판사, 서울. p 91-94.
14. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *JAOCS* 58: 966-967.
15. Moreno MIN, Isla MIN, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacology* 71: 109-114.
16. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
17. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr* 44: 307-315.
18. Gutteridge JM. 1984. Reactivity of hydroxyl and hydroxyl like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate. *Biochem J* 224: 761-767.
19. Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 52: 302-310.
20. Osawa T. 1981. A novel type of antioxidant isolated from leaf was of Eucalyptus leaves. *Agric Biol Chem* 45: 735-739.
21. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36: 333-338.
22. Woo KS, Hwang IG, Noh YH, Jeong HS. 2007. Antioxidant activity of heated licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) extracts in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 689-695.
23. Kim SD, Do JH, Oh HI. 1981. Antioxidant activity of *Panax ginseng* browning products. *J Korean Agric Chem Soc* 24: 161-166.
24. Jeong JY, Woo KS, Hwang IG, Yoon HS, Lee YR, Jeong HS. 2007. Effects of heat treatment and antioxidant activity of aroma on garlic harvested in different cultivation areas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1637-1642.
25. Lertittikul W, Benjakul S, Tanaka M. 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.
26. Manian R, Anusuya N, Siddhyraju P, Manian S. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chem* 107: 1000-1007.
27. Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
28. Lee SE, Han HS, Jang IB, Kim GS, Shin YS, Son YD, Park CB, Seong NS. 2005. In vitro antioxidant activity of *Mentha viridis* L. and *Mentha piperita* L. *Korean J Medicinal Crop Sci* 13: 255-260.
29. Lee SO, Kim MJ, Kim DG, Choi HJ. 2005. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 139-147.
30. Nuttakaan L, Viboon R, Nantaya C, Janusz MG. 2006. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *Nutrition* 22: 266-274.

(2008년 6월 2일 접수; 2008년 7월 2일 채택)