

## 황마늘 추출물의 생리활성

강재란<sup>1</sup> · 황초롱<sup>1</sup> · 심혜진<sup>1</sup> · 강민정<sup>1</sup> · 강상태<sup>2</sup> · 신정혜<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(재)남해마늘연구소  
<sup>2</sup>초록보물섬 영농조합법인

## Biological Activities of Yellow Garlic Extract

Jae Ran Kang<sup>1</sup>, Cho Rong Hwang<sup>1</sup>, Hye Jin Sim<sup>1</sup>, Min Jung Kang<sup>1</sup>,  
Sang Tae Kang<sup>2</sup>, and Jung Hye Shin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Namhae Garlic Research Institute

<sup>2</sup>Green Treasure Island

**ABSTRACT** This study investigated the quality characteristics and biological activities, such as antioxidant, whitening, anti-diabetes, and anti-inflammatory activities, of yellow garlic, by simplify processing time and manufacturing process compared with black garlic. Extracts were prepared various ratios of water and ethanol solvent [water : ethanol (v/v)= 100:0, 70:30, 50:50, 30:70, 0:100] from yellow garlic. Alliin content of yellow garlic showed no difference compared with fresh garlic, whereas S-allyl cysteine content of yellow garlic was higher than that of fresh garlic. Alliin content of yellow garlic extracts increased in an ethanol concentration-dependent manner. Total phenol and flavonoid contents were highest in 100% ethanol extract. DPPH and ABTS radical scavenging abilities did not show significant differences among 0~70% ethanol extracts, whereas 100% ethanol extract showed the highest contents of 93.45% and 91.46%, respectively. Tyrosinase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities were also highest in 100% ethanol extract, but did not show significant differences among the extract solvents. Water and ethanol extracts from yellow garlic showed anti-inflammatory effects by modulating production of NO and cytokines at a concentration of 100  $\mu$ g/mL. We suggest that yellow garlic has antioxidant, whitening, anti-diabetes, and anti-inflammatory activities and can be used as a functional material similar to black garlic.

**Key words:** yellow garlic, aged garlic, alliin, biological activities, anti-inflammation

## 서 론

백합과(Liliaceae) 과 속(*Allium*)에 속하는 인경작물인 마늘(*Allium sativum* L.)은 오랜 재배 역사와 더불어 식용 및 의약품 등으로 널리 이용되어 왔으며(1), 항균, 항암, 혈행 개선 및 류머티즘 예방 등 여러 생리활성을 나타내면서 지속적으로 소비가 증가하고 있다(2). 마늘의 다양한 생리활성을 발현하는 주요 지표인자는 함황 아미노산의 일종인 alliin으로(3) alliinase에 의해 분해된 후 마늘 특유의 자극성 신미 성분인 allicin(diallyl thiosulfinate)을 생성하며, allicin이 분해되어 생성되는 thiosulfinate 화합물은 마늘의 기능성에 큰 기여를 하는 것으로 알려져 있다(4,5).

다량의 유기 황 화합물은 마늘의 생리활성 발현에 관여하지만 동시에 강한 향과 매운맛을 유발하는 주요 물질이기도 하다(6). 생마늘을 섭취할 경우 그 특유의 냄새로 거부감을

줄 수 있고 과량 섭취 시에는 위벽을 자극하는 부작용이 생기기도 하며(6), 수확 후 저장 시에는 호흡작용에 의하여 발아와 중량 감소 등의 변화가 일어나므로 보관상의 어려움이 따르기도 한다(1). 이러한 이유로 마늘이 가지는 주요 생리활성은 유지시키면서 강한 향미와 같은 단점은 보완하고 저장성을 증대시키기 위한 여러 가공 방안이 연구·개발되고 있는데, 그 대표적인 산물로 열처리 및 고온숙성 방법을 활용한 흑마늘과 홍마늘이 있다. 이들 마늘 가공품은 일정한 온도에서 숙성시키는 과정을 거치면서 마늘에 함유되어 있는 아미노산과 당류의 갈변반응을 통해 가공되는데, 숙성 정도와 온도를 조절함으로써 원하는 색의 가공 마늘을 얻을 수 있다(6). 가공 정도에 따라 색깔만 아니라 물성, 풍미, 생리활성에서도 차이가 있으며, 가공시간과 생산비 등의 경제성에서도 차이가 발생한다. 생마늘, 흑마늘 및 홍마늘의 항산화 활성은 흑마늘, 홍마늘, 생마늘의 순으로 높으며(7), 홍마늘 물 추출물은 생마늘이나 흑마늘 물 추출물에 비해 항염증 활성이 우수하다고 보고되어 있다(8).

이처럼 마늘은 숙성 공정만으로도 특성이 상이한 가공품으로 변형이 가능한데 고온 숙성 과정은 장기간의 제조시간

Received 11 March 2015; Accepted 23 April 2015

Corresponding author: Jung-Hye Shin, Namhae Garlic Research Institute, Namhae, Gyeongnam 668-812, Korea  
E-mail: whanbee@hanmail.net, Phone: +82-55-860-8947

과 비용이 투입되어 생산비가 높아지는 단점이 있으므로 마늘 가공품 시장의 확대와 경제성 향상을 위해서는 새로운 가공품을 개발하기 위한 연구개발이 지속적으로 요구되고 있다. 이러한 차원에서 (재)남해마늘연구소에서는 흑마늘에 비해 가공 공정이 짧고 생마늘과 흑마늘의 중간 활성을 가지며, 항염증 활성(9) 및 항비만 활성(10)이 우수한 홍마늘을 개발(11)한 바 있다. 본 연구에서는 가공 공정이 홍마늘보다 더 단순화되고 색이 황색에 가까워 황마늘이라 명명한 가공마늘의 물과 에탄올 추출물을 제조한 후 유효 성분을 분석하고 항산화, 항당뇨, 미백 및 항염증 활성과 관련한 연구를 수행함으로써 황마늘의 전반적인 생리활성을 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 추출물의 제조

황마늘 제조는 깎마늘(Saenamhae Nonghyup, Namhae, Korea)을 구입하여 세척하고 30분간 자연건조 하여 물기를 제거한 후 스테인리스 용기에 일정량을 담아 뚜껑을 덮고 80°C 항온항습기(JSTH-500CPL, JSR, Gongju, Korea)에서 12시간 숙성한 다음 상온에서 24시간 자연건조를 실시하였다. 이후 뚜껑이 없는 스테인리스 용기에 시료를 넣고 70°C의 항온항습기에서 6시간 숙성한 다음 상온에서 건조하여 완성한 황마늘을 분석 시료로 사용하였다.

황마늘 추출물 제조는 마쇄한 시료 각 300 g에 900 mL의 물과 주정용 에탄올의 비율을 100:0, 70:30, 50:50, 30:70, 0:100(v/v)으로 조정하여 가하고, 50°C로 조절된 진탕배양기(JSSI-300, JSR)에서 24시간씩 2회 반복하여 추출하였다. 각각의 추출여액을 모두 합하여 물 추출물은 동결건조하였으며, 그 밖의 추출물들은 회전증발농축기(N-1200 AVW, EYELA, Tokyo, Japan)로 완전 건조시킨 후 실험에 사용하였다. 추출물의 수율은 추출 전 시료에 대한 추출물의 완전 건조 후 중량 백분율로 계산하였다.

### 조직감 측정

황마늘의 조직감은 texture analyzer(TAXT Plus, Stable Micro Systems, Surrey, UK)를 이용하여 측정하였다. 황마늘을 2×2×1 cm의 크기로 절단하고 ø 4 cm core를 이용하여 측정하였으며, 기기 조건으로 test speed는 5.0 mm/s, post-test speed 5.0 mm/s, pre-test speed 1.0 mm/s, time 5.0 mm/s, distent 2.0 mm, trigger force 50.0 g으로 TPA(texture profile analysis) 테스트를 통하여 각 시료의 hardness, springiness, chewiness, cohesive-ness, gumminess를 측정하였다.

### 색도 측정

황마늘을 반으로 절단하여 안쪽과 바깥쪽의 표면색을 색차계(Ultra Scan VIS, Hunter Associates Laboratory Inc.,

Reston, VA, USA)로 측정하였다. 이때 표준 백판의 L (brightness), a(redness) 및 b(yellowness) 표시 값은 각각 99.43, -0.1, 0.06이었다. 각 시료는 5점 이상을 측정하여 평균값으로 나타내었다.

### Alliin 및 S-allyl cysteine(SAC) 함량 분석

황마늘 및 각 용매별 추출물의 alliin 및 SAC 함량 분석은 시료 각 0.5 g에 20 mL의 25% 에탄올을 가하여 실온에서 1시간 동안 초음파 추출한 다음 원심분리(3,000×g, 10 min) 한 후 상층액을 취하여 여과하고 HPLC-PDA-MS/MS(TSQ Quantum LC-MS/MS, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 정량분석 하였으며 기기 조건은 Table 1과 2에 나타내었다.

### 추출물 중 총 페놀 및 플라보노이드 함량 측정

총 페놀 함량은 Gutfinger(12)의 방법을 변형하여 test tube에 1 mg/mL의 농도로 추출물을 증류수에 용해한 시료액 1 mL와 Foline-Ciocalteu 시약 1 mL를 넣고 3분 후 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 1 mL를 혼합하여 실온의 암실에서 1시간 정치한 다음 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 페놀 함량을 계산하였다.

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등(13)의 방법에 따라 실험하였다. 즉 추출물을 1 mg/mL의 농도로 증류수에 용해한 시료액 1 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가한 후 혼합하여 실온의 암실에서 40분간 정치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin(Sigma-Aldrich Co.)을 표준물질로 하여 얻은 검량선으로부터 총 플라보노

**Table 1.** HPLC-PDA conditions for sulfur compound analysis of yellow garlic

Items	HPLC-PDA
Column	C18, 300×4.6 mm, 5.0 μm
Column temp.	35°C
Mobile phase	Water, acetonitrile
Flow rate	0.7 mL/min
Detector (ESI mass)	SRM
Injection volume	1.0 μL

**Table 2.** Mass spectrometer conditions for alliin and SAC analysis of yellow garlic

Items	Mass spectrometer
Spray voltage	3,000 V
Vaporizer temp.	350°C
Capillary temp.	380°C
Ionization mode	ESI POSITIVE
SRM	Alliin: 177.9 < 88.1 SAC: 161.8 < 73.2
Collision energy	20 V

이드 함량을 계산하였다.

#### DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성 측정

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거 활성은 DPPH에 대한 전자공여 활성으로 나타내었다. 즉 10 mg/mL의 농도로 추출물을 용해한 시료액과 DPPH 용액(5 mg/100 mL methanol)을 동량으로 혼합한 다음 실온에서 20분간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다(14).

ABTS[2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] 라디칼 소거 활성은 7 mM의 ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12~16시간 동안 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정된 ABTS 용액을 사용하였으며, ABTS 용액에 동량의 시료액을 혼합하여 실온에서 10분간 반응시켜 415 nm에서 흡광도를 측정하였다(15).

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성은 시료 무첨가구에 대한 시료첨가구의 흡광도비로 계산하여 나타내었다.

#### Tyrosinase 및 $\alpha$ -glucosidase 저해 활성 측정

황마늘 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 Hwang 등(16)의 방법에 따라 0.2 M phosphate 완충용액(pH 6.5) 100  $\mu$ L에 2 mM L-tyrosine 용액 50  $\mu$ L, 10 mg/mL 농도의 시료액 20  $\mu$ L 및 tyrosinase(220 unit/mL, Sigma-Aldrich Co.) 10  $\mu$ L를 차례로 혼합한 다음 37°C에서 30분간 반응시켜 470 nm에서 흡광도를 측정 후 시료 무첨가구에 대한 시료첨가구의 흡광도비로 환산하였다.

$\alpha$ -Glucosidase 저해 활성은 Ryu 등(17)의 방법을 변형하여 시료액 10  $\mu$ L를 0.7 unit/mL 농도의  $\alpha$ -glucosidase 효소액 50  $\mu$ L와 혼합하여 405 nm에서 반응 전의 흡광도를 측정하였다. 그 후 5분간 실온에 방치하고 기질액 5 mM pNPG(p-nitrophenyl- $\alpha$ -glucopyranoside) 50  $\mu$ L를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 다음, 다시 405 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 변화로부터 효소 저해 활성을 계산하였다.

#### RAW 264.7 대식세포에 대한 항염증 활성

**세포 배양:** RAW 264.7 마우스 대식세포는 한국세포주은행(KCLB, Korea Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. RAW 264.7 대식세포는 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco, Rockville, MD, USA) 및 1% penicillin(250 units/mL)을 포함하는 DMEM(Gibco) 배지를 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건의 배양기에서 배양하였다.

**세포독성 측정:** 세포독성은 CCK-8 assay(Cell Counting Kit-8, Dojindo Molecular Technologies Inc., Gaithersburg, MD, USA)를 이용한 발색 분석법을 사용하였다. 96 well plate에 RAW 264.7 세포를 5 $\times$ 10<sup>4</sup> cells/well 농도로 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 24시간 배양한 후 각 시료 추출물을 농도별(50~500  $\mu$ g/mL)로 처리하여 24시간

동안 다시 배양하였다. 그 후 CCK-8 용액을 10  $\mu$ L씩 가한 다음 37°C에서 3시간 배양하고, ELISA reader(Epoch, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**Nitric oxide(NO) 함량 측정:** RAW 264.7 대식세포를 1 $\times$ 10<sup>6</sup> cells/well의 농도로 96-well plate에 분주하여 24시간 배양한 후에 각 추출물을 50  $\mu$ g/mL와 100  $\mu$ g/mL로 처리한 다음, LPS(lipopolysaccharide, 1  $\mu$ g/mL)를 처리하여 24시간 배양하였다. 이후 세포 배양액을 회수하고 Griess reagent system kit(Promega, Madison, WI, USA)을 이용하여 측정하였다.

**Cytokine 함량 측정:** Cytokine인 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ , IL-6 함량 측정은 RAW 264.7 세포를 24 well plate에 1 $\times$ 10<sup>6</sup> cell/well의 농도로 분주하여 24시간 배양한 후 각 추출물(50, 100  $\mu$ g/mL)을 처리한 다음 LPS(1  $\mu$ g/mL)를 처리하였다. 이를 다시 24시간 배양한 후 세포의 상층액을 모아서 각각의 ELISA kit(Invitrogen Corporation, Camarillo, CA, USA)을 이용하여 측정하였다.

#### 통계 처리

측정값은 각 분석항목에 대하여 3회 반복 측정하였으며, SPSS(Statistical Package for Social Science, IBM Corporation, Endicott, NY, USA) 통계 package를 이용하여 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였고, 평균값의 통계적 유의성은  $P < 0.05$  수준에서 t-test, Duncan's multiple range test 및 Tukey's multiple comparison test에 의해 검정하였다.

## 결과 및 고찰

#### 조직감 및 색도

황마늘의 조직감을 측정할 결과는 Table 3과 같다. Hardness는 1,160.08 g, springiness 0.93 g, chewiness 568.21 g, gumminess 618.57 g, cohesiveness는 0.55 g이었다. 생마늘, 흑마늘 및 홍마늘의 조직감을 측정할 결과 생마늘의 hardness는 752.73으로 가장 높았고 흑마늘은 109.43으로 가장 낮은 반면, Kang 등(18)은 홍마늘의 경우 711.60이라고 보고하였으며, Shin 등(19)은 마늘 숙성 시 열에 의해 마늘의 육질부가 물러지고 마늘의 숙성기간이 경과함에 따라 수분이 감소되어 경도가 증가한다고 하였다. 이러한 선행 연구의 보고를 미루어볼 때 황마늘의 높은 경도는 여타 숙성 마늘에 비해 가공 열처리 온도가 낮고, 저장 중 수분 함량이 감소됨에 따라 표면의 건조로 인해 젤리형의 물성을 가지기 때문에 상대적으로 경도가 높아진 것으로 판단된다.

**Table 3.** Texture of yellow garlic (g)

Hardness	Springiness	Chewiness	Gumminess	Cohesiveness
1,160.08 $\pm$ 33.51 <sup>1)</sup>	0.93 $\pm$ 0.06	568.21 $\pm$ 38.29	618.57 $\pm$ 12.21	0.55 $\pm$ 0.03

<sup>1)</sup>Each value represents mean $\pm$ SD, n=5.

**Table 4.** The color value of yellow garlic

Hunter's color value <sup>1)</sup>	Inner part	Outer part
L	45.37±2.28 <sup>2)</sup>	42.15±1.11
a	1.60±0.60	2.71±0.40
b	18.07±2.15	18.10±3.07

<sup>1)</sup>L, brightness; a, redness; b, yellowness.

<sup>2)</sup>Each value represents mean±SD, n=5.

황마늘의 중심단면을 기준으로 절단한 뒤 내부와 외부로 나누어 표면의 색도를 측정된 결과(Table 4) 명도(L)는 내부 및 외부의 값이 각각 45.37 및 42.15로 나타났고, 적색도(a)는 각각 1.60 및 2.71로 마늘 외부와 내부의 명도는 차이가 없었고 적색도는 차이가 있었다. 황색도(b) 또한 내부와 외부가 각각 18.07 및 18.10으로 유사하였다. 흑마늘 가공 공정에 따른 마늘의 외부 및 내부의 색도를 분석한 결과 외부색의 L, a, b 값은 각각 21.80~27.47, 3.30~8.10, 2.30~7.97이었으며, 내부색은 24.55~30.59, 5.93~8.60, 5.93~11.47로 외부색에 비하여 내부색의 a값과 b값이 더 높게 측정되었다고 보고되어 있다(20). 또한 흑마늘보다 숙성 및 열처리 시간이 짧은 홍마늘 외부색의 L값과 b값은 각각 41.58 및 16.90으로 내부색에 비해 더 낮고, b값은 20.87로 외부색보다 높았다는 보고도 있다(18). 이들 보고와 본 연구의 황마늘과의 색을 비교해 보면 L값은 홍마늘과 유사하며 b값은 홍마늘 내 외부 색의 중간 범위였는데, 이는 홍마늘이나 흑마늘보다 숙성도가 더 낮았기 때문으로 생각된다.

#### 추출물의 수율

0, 30, 50, 70 및 100% 에탄올을 추출용매로 하여 황마늘 추출물을 제조하고 수율을 측정된 결과(data not shown), 30% 에탄올 추출물의 수율이 40.2%로 가장 높았고, 다음으로 물 추출물(0%)의 수율은 37.5%였다. 50% 에탄올 추출물의 수율은 27.4%, 70% 에탄올 추출물의 수율은 22.8%였으며, 100% 에탄올 추출물은 0.8% 미만으로 수율이 가장 낮았다.

#### Alliin 및 SAC 함량

황마늘의 alliin 함량은 15.1 mg/g으로 생마늘과 유의차가 없었으나 SAC 함량은 2.6 mg/g으로 생마늘(0.05 mg/g)에 비해 월등히 높았다(Table 5). Lee 등(21)은 단양, 의성 및 태안 등 산지별 마늘의 alliin 함량을 분석한 결과 단양 마늘에서 9.2 mg/g으로 가장 높았고 의성 마늘이 8.5 mg/g으로 가장 낮은 것으로 보고하였다. 본 실험에 사용된 황마

**Table 5.** Alliin and S-allyl cysteine (SAC) content of yellow garlic and fresh garlic (mg/g)

Sample	Alliin	SAC
Yellow garlic	15.1±0.78 <sup>1)</sup>	2.60±0.19 <sup>**</sup>
Fresh garlic	15.3±0.52	0.05±0.00

<sup>1)</sup>Each value represents mean±SD, n=3.

<sup>\*\*</sup>P<0.01, versus fresh garlic.

늘과 생마늘의 경우 이들 보고의 alliin 함량보다 더 높게 측정되었는데, 이는 마늘의 재배환경 및 마늘의 특성에 따른 차이에서 기인된 것으로 추측된다.

마늘의 열처리 및 장기간 숙성 중 생성되는 SAC는 숙성 온도 및 시간이 증가함에 따라 그 함량이 증가하는 것으로 알려져 있는데, Kang 등(18)은 홍마늘의 숙성 단계별 SAC 함량을 측정된 결과 13.96~18.05 mg/100 g으로 생마늘과 흑마늘의 중간 범위인 것으로 보고하였다. 본 연구에 사용된 황마늘의 경우 alliin과 SAC 함량을 기준으로 숙성 정도는 생마늘과 홍마늘의 중간단계이면서 생마늘보다 SAC 함량이 높은 특성을 나타내었다.

에탄올 혼합비율을 달리한 황마늘 에탄올 추출물의 alliin 및 SAC 함량을 측정된 결과(Table 6) 추출용매 중 에탄올의 비율이 높을수록 alliin 함량이 높아 100% 에탄올 추출물에서는 6.3 mg/g, 70% 에탄올 추출물은 3.5 mg/g으로 정량되었다. 반면 물 추출물은 1.8 mg/g으로 함량이 가장 낮았는데 이는 100% 에탄올 추출물 중 alliin 함량의 약 29%에 불과하였다. SAC 함량 역시 100% 에탄올 추출물에서 1.7 mg/g으로 가장 높고 전반적으로 에탄올의 비율이 증가할수록 그 함량 역시 증가하는 경향이었으나 alliin 함량과는 달리 SAC 함량은 물 추출물 중에서 0.43 mg/g으로 30% 에탄올 추출물에 비해서는 더 높고 50% 에탄올 추출물과는 유사한 함량을 나타내었다.

Lee 등(22)은 반응표면분석법을 이용하여 추출조건을 달리한 마늘의 alliin 함량을 측정된 결과 추출온도가 60°C, 추출시간이 3시간, 에탄올의 농도가 60%일 때 50.79 mg/100 g으로 가장 높게 정량되어 마늘의 alliin 함량은 추출시간, 추출온도 및 에탄올의 농도에 따라 차이를 보이는 것으로 보고하였다. 마늘의 다양한 생리활성은 마늘 중에 존재하는 여러 함황 화합물에 의한 것으로 보고되고 있는데 이들은 미생물 생육억제 작용뿐만 아니라 암세포 생육억제 작용에도 관여하는 것으로 보고된 바 있다(23-25). 따라서 황마늘이 생체 내로 유입 시 생마늘보다 생리활성 기능에 긍정적으로 작용할 것으로 기대된다.

#### 총 페놀 및 플라보노이드 함량

물과 에탄올의 혼합비율을 달리하여 제조한 황마늘 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 측정된 결과는 Table

**Table 6.** Alliin and S-allyl cysteine (SAC) content of solvent extracts from yellow garlic (mg/g)

Extraction solvent (EtOH ratio, %)	Alliin	SAC
0	1.8±0.12 <sup>a1)2)</sup>	0.43±0.02 <sup>b</sup>
30	2.8±0.13 <sup>b</sup>	0.37±0.03 <sup>a</sup>
50	2.7±0.19 <sup>b</sup>	0.42±0.03 <sup>b</sup>
70	3.5±0.27 <sup>c</sup>	0.57±0.03 <sup>c</sup>
100	6.3±0.51 <sup>d</sup>	1.70±0.01 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>Each value represents mean±SD, n=3.

<sup>2)</sup>Means with different letters (a-d) in the same column are significantly different at P<0.05.

**Table 7.** Total phenol and flavonoid contents of solvent extracts from yellow garlic (mg/100 g)

Extraction solvent (EtOH ratio, %)	Total phenol	Flavonoid
0	150.93±0.97 <sup>1)2)</sup>	1.11±0.00 <sup>a</sup>
30	167.18±1.38 <sup>a</sup>	1.39±0.00 <sup>a</sup>
50	190.98±1.02 <sup>b</sup>	6.94±0.00 <sup>b</sup>
70	204.80±1.02 <sup>b</sup>	9.72±0.00 <sup>c</sup>
100	452.40±26.47 <sup>c</sup>	39.35±1.60 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>Each value represents mean±SD, n=3.

<sup>2)</sup>Means with different letters (a-d) in the same column are significantly different at *P*<0.05.

7과 같다. 추출용매 중 에탄올의 비율이 증가할수록 총 페놀과 플라보노이드의 함량 모두 증가하는 경향으로 물 추출물의 총 페놀과 플라보노이드 함량은 각각 150.93 mg/100 g과 1.11 mg/100 g이었으나 100% 에탄올 추출물에서는 이보다 각각 3배와 35배가량 높은 452.40 mg/100 g과 39.35 mg/100 g이었다.

페놀계 화합물들은 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl(OH)기를 가진 방향족 화합물들을 가리키는데 식물체에 있어 특수한 색깔을 부여하면서 산화-환원 반응의 기질로 작용하며, 페놀계 화합물 중 플라보노이드와 탄닌은 항산화, 항암, 고혈압 등의 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있다(26).

마늘을 열처리하여 숙성 및 가공한 홍마늘과 흑마늘 추출물의 총 페놀 화합물 함량을 측정한 결과 각각 27.15 mg/g 및 31.36 mg/g으로 생마늘에 비해 그 함량이 더 높은 것으로 보고되어 있다(11). 이와 같이 숙성 및 가공 처리된 마늘의 총 페놀 화합물 함량이 증가하는 것은 마늘을 열처리 및 숙성할 경우 마늘 내 화합물들은 폴리페놀 화합물로 전환되거나 유리되어 폴리페놀의 추출이 용이해졌기 때문이라고 추정되고 있다(9). Shin 등(27)은 흑마늘의 물과 에탄올 추출물 중 총 페놀 화합물 함량은 각각 88 mg/g 및 99 mg/g으로 물 추출물보다는 에탄올 추출물에서 더 높은 함량이라고 보고하였고, 흑마늘을 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물로 용매 분획한 시료의 총 페놀 화합물 함량은 3.57~47.30 mg/g의 범위로 추출용매에 따라 총 페놀 화합물 함량에 차이가 있다는 보고(28)도 있다. 상기 보고들과 본 연구의 결과로부터 마늘 가공품 중 총 페놀 및 플라보노이드 화합물은 마늘의 숙성 정도와 추출용매 등의 조건에 따라 그 함량에 차이가 있는 것으로 판단된다.

**황마늘 추출물의 항산화 활성**

황마늘 추출물의 항산화 활성 수준을 알기 위하여 항산화 활성 측정에 많이 이용되는 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정하였고 그 결과를 Table 8에 나타내었다. 10 mg/mL의 농도로 시료를 처리한 후 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과 100% 에탄올 추출물은 90% 이상의 높은 소거 활성을 나타내었으나 0, 30, 50 및 70% 에탄올 추출물

**Table 8.** Antioxidant activities of solvent extracts from yellow garlic

Extraction solvent (EtOH ratio, %)	Radical scavenging activities (%)	
	DPPH	ABTS
0	28.76±0.70 <sup>c1)-3)</sup>	36.89±0.70 <sup>c</sup>
30	22.39±0.58 <sup>a</sup>	28.36±1.01 <sup>b</sup>
50	25.71±0.29 <sup>b</sup>	27.42±0.19 <sup>a</sup>
70	22.97±0.36 <sup>a</sup>	35.82±0.83 <sup>c</sup>
100	93.45±1.37 <sup>d</sup>	91.46±1.03 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>Treatment concentration of sample: 10 mg/mL.

<sup>2)</sup>Each value represents mean±SD, n=3.

<sup>3)</sup>Means with different letters (a-d) in the same column are significantly different at *P*<0.05.

들은 모두 30% 미만으로 활성이 낮았다. ABTS 라디칼 소거 활성을 측정한 결과에서도 DPPH 소거 활성 측정 결과와 유사한 경향을 나타내어 100% 에탄올 추출물은 90% 이상의 높은 활성을 보였으나 나머지 추출물들은 27~37%로 그 활성이 낮았다.

Shin 등(19)은 온도를 달리하여 숙성한 마늘의 물 및 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과 숙성온도가 높을수록 그 활성이 우수하였으며 물 추출물에 비해 에탄올 추출물이 더 높은 항산화 효과를 보인다고 보고하였는데 이는 본 연구의 결과와 유사하였다. Shin 등(29)은 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정한 결과 총 페놀 함량이 높았던 시료에서 라디칼 소거 활성도 높았다고 보고하였으며, 본 실험에서도 총 페놀 화합물 함량이 높았던 추출물에서 항산화 활성도 높았는데 이는 상기의 연구보고와 일치하는 결과로 플라보노이드류를 포함하는 페놀계 화합물이 항산화 활성을 높이는 데 기여하는 것으로 추측된다.

**황마늘 추출물의 tyrosinase 및 α-glucosidase 저해 활성**

황마늘 추출물의 미백 효과와 항당뇨 효과를 확인하고자 tyrosinase 저해 활성과 α-glucosidase 저해 활성을 각각 측정한 후 그 결과를 Table 9에 나타내었다. 황마늘 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 15~37%의 범위였는데, 추출용매의 에탄올 비율이 높아질수록 tyrosinase 저해 활성이 높아지는 경향이였다. 즉 물 추출물은 15.76%의 활성을 보인

**Table 9.** Tyrosinase and α-glucosidase inhibition activities of solvent extracts from yellow garlic

Extraction solvent (EtOH ratio, %)	Inhibition activities (%)	
	Tyrosinase	α-Glucosidase
0	15.76±1.30 <sup>a1)-3)</sup>	26.46±0.53 <sup>b</sup>
30	19.35±0.84 <sup>b</sup>	28.73±0.19 <sup>b</sup>
50	28.88±0.29 <sup>c</sup>	19.29±0.41 <sup>a</sup>
70	27.87±0.64 <sup>c</sup>	11.64±1.00 <sup>a</sup>
100	36.52±1.36 <sup>d</sup>	48.55±1.02 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Treatment concentration of sample: 10 mg/mL.

<sup>2)</sup>Each value represents mean±SD, n=3.

<sup>3)</sup>Means with different letters (a-d) in the same column are significantly different at *P*<0.05.

반면 100% 에탄올 추출물은 약 2.3배 높은 36.52%의 tyrosinase 저해 활성을 보였다.

Tyrosinase에 의해 생성되는 멜라닌은 자외선증 피부자극에 대해 저항성을 높이기도 하지만 과도한 멜라닌의 합성은 기미, 주근깨 등의 색소 침착을 유발하므로 tyrosinase의 활성을 저해하는 능력은 피부 미백 효과를 나타내는 지표가 된다(30). 투석막으로 분리한 홍마늘과 흑마늘 추출물을 250~2,000 µg/mL의 농도로 처리하였을 때 각각 22.62~34.30% 및 18.06~30.09%의 tyrosinase 저해 활성을 나타낸다고 보고(29)되어 있으며, 흑마늘을 화장품으로 제조하여 tyrosinase 저해 활성을 측정된 결과 대조군에 비해 2배 이상 높은 활성을 나타낸다는 보고(31)도 있다. 황마늘 추출물의 tyrosinase 저해 활성을 홍마늘 및 흑마늘 추출물과 비교할 때 활성은 유사한 범위였고, 특히 100% 에탄올 추출물의 경우에는 오히려 그보다 높은 tyrosinase 저해 활성을 보임으로써 피부의 미백 효과를 가지는 화장품 개발에 가공비가 높은 흑마늘을 대체할 소재로서 충분히 가치가 있을 것으로 사료된다.

$\alpha$ -Glucosidase는 소장의 brush-border membrane에 존재하여  $\alpha$ -amylase에 의해 분해된 당질 중 엿당을 최종적으로 단당류인 포도당으로 전환시키는 효소로(32),  $\alpha$ -glucosidase 활성을 저해시킬 경우 당질의 가수분해와 흡수과정을 지연시켜 식후 혈당 농도를 조절할 수 있다(33). 또한 포도당의 자가산화 및 단백질의 당화 등에 의해 자유라디칼을 생성하거나 산화스트레스에 의한 조직의 산화적 손상이 유발되는데, 이때 시료의 항산화 활성과  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성이 동시에 높을 때 당뇨성 질환에 더 효과적이라 할 수 있다(34).

황마늘 추출물의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성은 물 추출물이 26.46%의 효소 활성을 보였고, 100% 에탄올 추출물은 이보다 월등히 높은 48.55%의 활성을 나타내었다. 반면 50% 및 70% 에탄올 추출물의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성은 20% 미만으로 물 추출물보다 그 활성이 더 낮았다.

마늘은 그 속에 존재하는 diallyl trisulfide와 같은 유기황 화합물의 영향으로 혈당을 효과적으로 감소시키는 것으로 보고된 바 있는데(35), 본 실험의 황마늘 추출물 역시 함황 화합물의 함량이 가장 많았던 100% 에탄올 추출물의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성이 모든 시료군 중에서 가장 높았다. 그러나 0~70% 에탄올 추출물들의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성은 함황 화합물의 함량과 비례하지 않았는데, Lee 등(11)도 함황 화합물의 함량과 홍마늘 열수 추출물의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성은 정의 상관성이 없어 함황 화합물 외에 다른 물질도  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성에 영향을 주는 것으로 추정하였고, Liu 등(36)도 garlic oil의 항당뇨 활성에 diallyl disulfide 이외의 다른 물질이 관여한다고 보고한 바 있다. 이상의 결과들과 본 연구 결과를 종합하여 볼 때 황마늘 추출물의  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성은 주로 함황 화합물의 영향을 받지만 그 외 다른 마늘 내 여러 성분이 복합

적으로 영향을 미치는 것으로 추정된다.

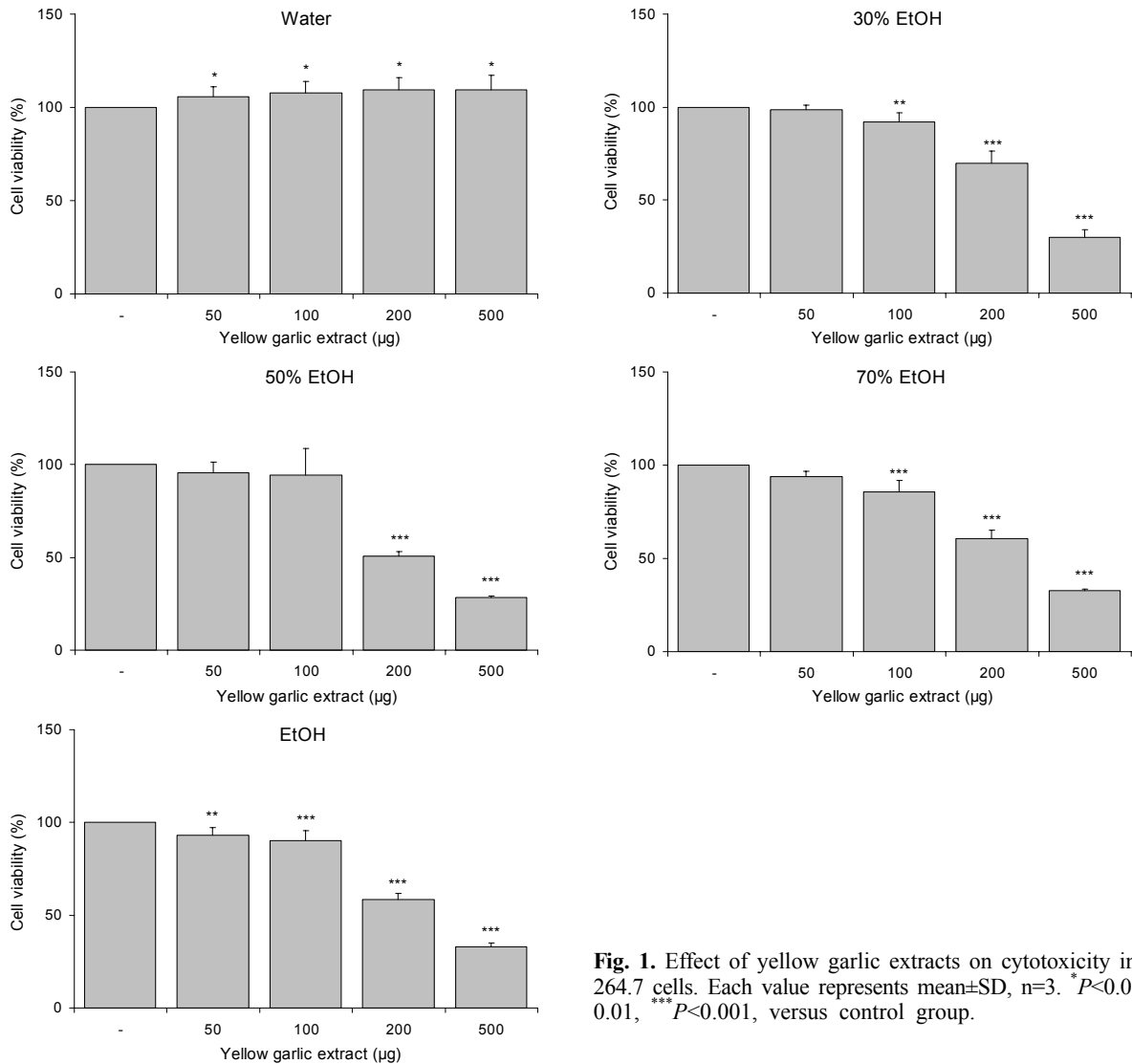
### 황마늘 추출물의 RAW 264.7 대식세포에 대한 세포독성 및 NO 생성량

RAW 264.7 세포에 대한 황마늘 추출물의 독성 유무를 확인하기 위하여 황마늘 추출물을 농도별로 처리한 후 24시간 뒤 세포의 생존율을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 물 추출물을 제외한 비율별 에탄올 추출물을 200 및 500 µg/mL의 농도로 처리 시 세포 생존율은 유의적으로 감소하였다. 한편 50 µg/mL의 농도 처리 시에는 100% 에탄올 추출물을 제외하고는 세포에 대하여 독성을 보이지 않았으며, 100% 에탄올 추출물 처리군도 생존율은 93%였다. 또한 100 µg/mL 처리 시에도 70% 에탄올 추출물을 제외한 여타 추출물 처리군의 세포생존율은 90% 이상이었다. 물 추출물을 제외한 황마늘 에탄올 추출물들은 200 µg/mL 이상의 고농도로 처리 시에는 높은 수준의 세포독성을 나타내므로 RAW 264.7 세포에 대한 황마늘 추출물의 생리활성 연구를 위한 적정 농도 범위는 100 µg/mL 이하로 설정하였다.

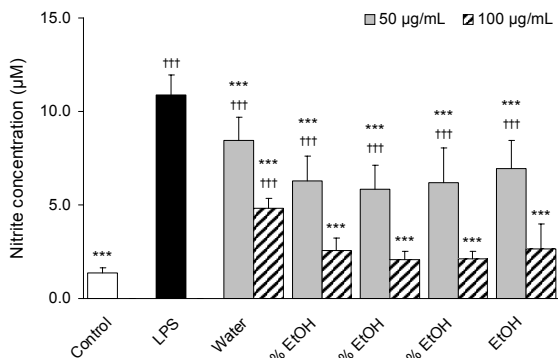
염증반응에 관여하는 주요 세포는 macrophage로 알려져 있는데 이는 여러 자극이나 면역세포들이 분비하는 사이토카인 등에 의해 활성화된 후 NO, proinflammatory cytokine 및 prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)를 생성하여 통증, 열, 부종 등의 염증을 유발하고, 염증 부위로 면역세포의 이동을 촉진시키는 것으로 알려져 있다(37). 이 중 NO는 반응성이 높은 물질로 NO synthase(NOS)에 의해 L-arginine으로부터 생성되며 NOS는 constitutive NOS와 inducible NOS(iNOS)로 나누어지는데, iNOS의 경우에는 외부자극이나 proinflammatory cytokine 등에 의해 자극받게 되면 hepatocytes, smooth muscle cells, bone marrow cells, monocytes, macrophages 등 다양한 세포에서 발견되어 다량의 NO를 생산한다고 보고된 바 있다(38).

황마늘 추출물의 RAW 264.7 세포에 대한 NO 생성량을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. LPS 처리 시 NO의 생성은 대조군에 비해 증가하여 10.87 µM이었다. 하지만 황마늘 추출물을 전처리한 후 LPS를 처리한 경우에는 모든 실험군이 LPS 단독 처리군과 비교하여 NO의 생성이 유의적으로 낮았으며, 시료의 처리농도가 높을수록 NO 생성량은 더 적었다. 물 추출물보다는 에탄올 추출물이 NO의 생성을 억제하는 데 더 효과적이었는데 50% 에탄올 추출물은 50 µg/mL 처리 시 NO 생성량이 5.82 µM이었고, 100 µg/mL를 처리할 때는 2.09 µM로 NO 생성억제에 가장 효과적이었다.

Kim 등(39)은 유황 화합물이 생체 내 대사 과정에서 산화, 환원 반응에 깊이 관여하여 라디칼에 의한 세포 손상을 저지하는 것으로 보고하였는데, 유황 화합물을 함유하고 있는 대표적인 작물인 마늘과 양파의 추출물을 대사증후군을 가진 동물모델에 투여하였을 때 산화 스트레스 및 내피세포 염증 인자의 발현은 감소하고 eNOS 활성을 증가하여 항산화 및 항염증 효과를 나타내는 것으로 밝혀진 바 있다



**Fig. 1.** Effect of yellow garlic extracts on cytotoxicity in RAW 264.7 cells. Each value represents mean±SD, n=3. \* $P$ <0.05, \*\* $P$ <0.01, \*\*\* $P$ <0.001, versus control group.



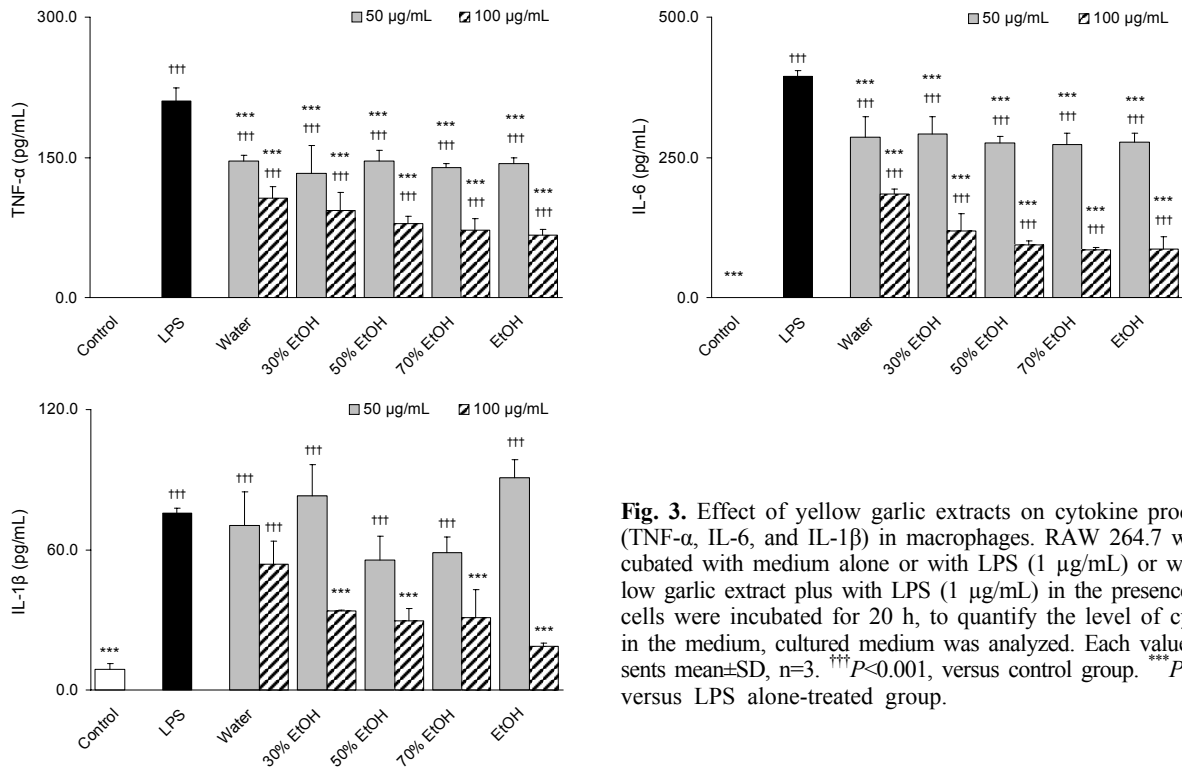
**Fig. 2.** Effect of yellow garlic extracts on nitric oxide (NO) production in macrophages. RAW 264.7 were incubated with medium alone or with LPS (1 µg/mL) or with yellow garlic extract plus with LPS (1 µg/mL) in the presence. After cells were incubated for 20 h, to quantify the level of NO in the medium, cultured medium was analyzed. Each value represents mean±SD, n=3. ††† $P$ <0.001, versus control group. \*\*\*\* $P$ <0.001, versus LPS alone-treated group.

(40,41). 황마늘 추출물도 황마늘에 함유되어 있는 유황 화합물의 활성으로 인해 RAW 264.7 대식세포에서 NO 생성을 감소시킴으로써 염증유발을 감소하는 데 기여하는 것으로 판단되며, 물 추출물보다는 에탄올 추출물이 염증유발의 감소에 더 도움이 될 것으로 생각된다.

**황마늘 추출물의 RAW 264.7 대식세포에 대한 cytokine 생성량**

인체에서 염증반응이 진행되기 위해서는 NO 및 PGE<sub>2</sub>와 같은 염증 매개물 이외에 면역 반응에서 필연적으로 염증성 사이토카인의 생성이 동반되는데, 대표적인 사이토카인으로서는 tumor necrosis factor-α(TNF-α), interleukin-6 (IL-6)와 interleukin-1β(IL-1β) 등이 있다(42). 이들은 활성화된 대식세포로부터 생성되는 주요 사이토카인으로, 특히 여러 종류의 알레르기 반응과 자가면역 질환의 발병과 진행에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(43,44).

Fig. 3은 황마늘 추출물이 RAW 264.7 세포에 대하여 염



**Fig. 3.** Effect of yellow garlic extracts on cytokine production (TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-1 $\beta$ ) in macrophages. RAW 264.7 were incubated with medium alone or with LPS (1  $\mu$ g/mL) or with yellow garlic extract plus with LPS (1  $\mu$ g/mL) in the presence. After cells were incubated for 20 h, to quantify the level of cytokine in the medium, cultured medium was analyzed. Each value represents mean $\pm$ SD, n=3. †††P<0.001, versus control group. \*\*\*\*P<0.001, versus LPS alone-treated group.

중성 사이토카인의 생성에 미치는 영향을 확인하고자 TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-1 $\beta$ 를 측정된 결과이다. TNF- $\alpha$ 는 LPS 단독 처리군에서는 209.87 $\pm$ 14.09 pg/mL였지만 황마늘 추출물을 처리함으로써 유의적으로 생성량이 감소하는 것을 확인할 수 있었으며, 모든 추출물 투여군에서 50  $\mu$ g/mL 처리 시보다는 100  $\mu$ g/mL를 처리하였을 때 더 효과적이었다. 50  $\mu$ g/mL 처리 시에는 추출용매에 따른 TNF- $\alpha$ 의 생성량에 유의차가 크지 않았으나, 100  $\mu$ g/mL 처리 시에는 추출용매 중의 에탄올 비율이 증가할수록 TNF- $\alpha$ 의 생성량은 감소하는 경향을 보였다. 특히 100% 에탄올 추출물은 100  $\mu$ g/mL 처리 시 LPS 단독 처리군보다 TNF- $\alpha$ 의 생성량이 약 68.28% 감소한 66.58 $\pm$ 6.38 pg/mL였다.

IL-6의 생성량도 TNF- $\alpha$ 의 결과와 유사한 경향이었는데 LPS 처리 시 생성량은 394.64 $\pm$ 10.39 pg/mL로 크게 상승하였다. 또한 황마늘 추출물 100  $\mu$ g/mL 처리군의 경우에는 50, 70 그리고 100% 에탄올 추출물에서 IL-6의 생성량이 각각 94.23, 85.16 및 86.57 pg/mL로 LPS 단독 처리군의 약 21.58~23.88% 수준이었다.

대조군의 IL-1 $\beta$  생성량은 8.75 $\pm$ 2.67 pg/mL였으나 LPS 단독 처리군의 IL-1 $\beta$  생성량은 75.80 $\pm$ 1.80 pg/mL로 대조군과 비교하여 크게 증가하였다. 황마늘 추출물을 50  $\mu$ g/mL 농도로 처리하였을 때 IL-1 $\beta$  생성량은 TNF- $\alpha$ 나 IL-6의 생성량과 다소 차이를 보였는데, 30 및 100% 에탄올 추출물의 경우에는 LPS 단독 처리군보다 IL-1 $\beta$ 의 생성량이 더 높게 정량되었다. 100  $\mu$ g/mL 처리 시에는 모든 추출물이 LPS 단독 처리군과 비교하여 IL-1 $\beta$ 의 생성량이 유의적으

로 적었으며, 물 추출물보다는 100% 에탄올 추출물 처리 시 더 생성억제 활성이 높았다.

IL-1 $\beta$ 는 TNF- $\alpha$ 와 더불어 대표적인 전 염증성 사이토카인이나 IL-1 $\beta$ 의 수용체는 TNF- $\alpha$ 의 수용체와 명확히 다른 구조를 가지고 있다(45). 또한 IL-1 $\beta$ 는 생체에서 매우 낮은 농도로 작용하는데 낮은 농도에서는 세포 성장이나 체내 항상성 유지에 필요하지만 염증 반응이나 상처 또는 면역학적 자극을 주었을 때는 대량으로 생산되어 인체 질환을 악화시키는 것으로 알려져 있다(45).

마늘의 주요 성분인 SAC는 세포 내 glutathione의 고갈 방지와 peroxide 제거에 의해 산화된 LDL로부터 동맥내피 세포를 보호하고 TNF- $\alpha$ 와 hydrogen peroxide에 의해 활성화된 NF- $\kappa$ B를 억제하는 것으로 밝혀진 바 있는데(46), 본 실험 결과에서 황마늘 추출물은 RAW 264.7 대식세포에서 LPS에 의해 유도되는 염증 인자인 NO 및 cytokine의 생성을 효과적으로 저해함으로써 향후 염증성 질환을 예방하거나 치료할 수 있는 치료제로 활용될 수 있을 것이라 예상되며, 항염증 반응에 대한 황마늘 추출물의 작용기전에 관해서는 향후 더욱 깊이 있는 연구가 진행되어야 할 것으로 판단된다.

### 요 약

본 연구에서는 새로이 개발한 마늘 가공품인 황마늘의 품질 특성과 물, 30, 50, 70 및 100% 에탄올 추출물의 항산화, 미백, 항당뇨 및 항염증 활성을 검증하였다. 황마늘은 생마



늘에 비해 alliin 함량은 차이가 없었으나, S-allyl cysteine (SAC)의 함량이 월등히 높아 2.6 mg/g이었다. 용매별 추출물을 제조하였을 때 alliin과 SAC 함량은 추출용매 중의 에탄올 비율이 높아질수록 더 증가하였다. 총 페놀 및 플라보노이드 화합물의 함량도 동일한 경향으로 100% 에탄올 추출물에서 가장 많이 함유된 것으로 분석되었다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성은 100% 에탄올 추출물에서 가장 높았는데, 10 mg/mL로 농도를 동일하게 하여 추출물 간의 활성을 비교할 때 0~70% 에탄올 추출물의 경우 시료 간의 유의차가 없었으나 100% 에탄올 추출물에서는 각각 93.45%와 91.46%로 가장 높았다. 미백 및 항당뇨 효과를 확인하고자 tyrosinase 저해 활성과  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성을 비교한 결과 추출용매에 따른 일정한 경향은 없었으며, 100% 에탄올 추출물의 활성이 각각 36.52%와 48.55%로 유의적으로 높았다. RAW 264.7 대식세포를 대상으로 항염증 효과를 확인한 결과 황마늘 추출물은 100  $\mu$ g/mL 처리 시 LPS에 의해 유도되는 염증 인자인 NO 및 cytokine의 생성을 효과적으로 저해하였다. 황마늘 추출물은 항산화, 미백, 항당뇨 및 항염증 활성을 가지고 있으며, 물 추출물보다는 에탄올 추출물에서 더 활성이 높은 것으로 확인되었고 흑마늘 못지않은 건강기능성 소재가 될 것으로 예상된다.

## REFERENCES

- Chang Y, Kim J. 2011. Effects of pretreatment and drying methods on the quality and physiological activities of garlic powders. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1680-1687.
- You BR, Kim HR, Kim MJ, Kim MR. 2011. Comparison of the quality characteristics and antioxidant activities of the commercial black garlic and lab-prepared fermented and aged black garlic. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 366-371.
- Stoll A, Seebeck E. 1951. Chemical investigations on alliin, the specific principle of garlic. *Adv Enzymol* 11: 377-400.
- Park MH, Kim JP, Kwon DJ. 1988. Physico-chemical characteristics of components and their effects on freezing point depression of garlic bulbs. *Korean J Food Sci Technol* 20: 205-212.
- Small LD, Bailey JH, Cavallito CJ. 1949. Comparison of some properties of thiosulfonates and thiosulfates. *J Am Chem Soc* 71: 3565-3566.
- Choi DJ, Lee SJ, Kang MJ, Cho HS, Sung NJ, Shin JH. 2008. Physicochemical characteristics of black garlic (*Allium sativum* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 465-471.
- Park HJ, Jeon BT, Kim HC, Roh GS, Shin JH, Sung NJ, Han J, Kang D. 2012. Aged red garlic extract reduces lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages and acute pulmonary inflammation through haeme oxygenase-1 induction. *Acta Physiol* 205: 61-70.
- Shin JH, Ryu JH, Kang MJ, Hwang CR, Han J, Kang D. 2013. Short-term heating reduces the anti-inflammatory effects of fresh raw garlic extracts on the LPS-induced production of NO and pro-inflammatory cytokines by down-regulating allicin activity in RAW 264.7 macrophages. *Food Chem Toxicol* 58: 545-551.
- Jeong YY, Park HJ, Cho YW, Kim EJ, Kim GT, Mun YJ, Lee JD, Shin JH, Sung NJ, Kang D, Han J. 2012. Aged red garlic extract reduces cigarette smoke extract-induced cell death in human bronchial smooth muscle cells by increasing intracellular glutathione levels. *Phytother Res* 26: 18-25.
- Hwang CR, Shin JH, Kang MJ, Lee SJ, Sung NJ. 2012. Antioxidant and antiobesity activity of solvent fractions from red garlic. *J Life Sci* 22: 950-957.
- Lee SJ, Shin JH, Kang MJ, Jung WJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ. 2010. Antioxidants activity of aged red garlic. *J Life Sci* 20: 775-781.
- Gutfinger T. 1981. Polyphenol in olive oils. *JAOCs* 58: 966-968.
- Moreno MI, 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.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, 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.
- Hwang CR, Seo WT, Bae WY, Kang MJ, Shin JH. 2014. Physicochemical characteristics and biological activities of *Artemisia Argyi* H. *J Life Sci* 24: 377-385.
- Ryu HW, Lee BW, Curtis-Long MJ, Jung S, Ryu YB, Lee WS, Park KH. 2010. Polyphenols from *Broussonetia papyrifera* displaying potent  $\alpha$ -glucosidase inhibition. *J Agric Food Chem* 58: 202-208.
- Kang MJ, Yoon HS, Jeong SH, Sung NJ, Shin JH. 2011. Physicochemical characteristics of red garlic during processing. *Korean J Food Preserv* 18: 898-906.
- 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.
- Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Kim GJ, Sung NJ. 2008. Changes of physicochemical components and antioxidant activity of garlic during its processing. *J Life Sci* 18: 1123-1131.
- Lee YK, Sin HM, Woo KS, Hwang IG, Kang TS, Jeong HS. 2008. Relationship between functional quality of garlic and soil composition. *Korean J Food Sci Technol* 40: 31-35.
- Lee JM, Cha TY, Kim SH, Kwon TK, Kwon JH, Lee SH. 2007. Monitoring on extraction conditions for physicochemical qualities of ethanol extract from garlic. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1198-1204.
- Park SY, Kim JY, Park KW, Kang KS, Park KH, Seo KI. 2009. Effects of thiosulfates isolated from *Allium tuberosum* L. on the growth of human cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1003-1007.
- Kwon SK. 2003. Organosulfur compounds from *Allium sativum* and physiological activities. *J Appl Pharmacol* 11: 8-32.
- Jeang DY, Jeang SU. 2005. *Garlic science*. World Science, Seoul, Korea. p 93-103.
- Dröge W. 2001. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47-95.
- Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Sung NJ. 2008. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 965-971.
- Shin JH, Lee HG, Kang MJ, Lee SJ, Sung NJ. 2010. Antioxidant activity of solvent fraction from black garlic. *J Korean*

- Soc Food Sci Nutr* 39: 933-940.
29. Shin JH, Kang MJ, Kim RJ, Ryu JH, Kim MJ, Lee SJ, Sung NJ. 2011. Biological activity of browning compounds from processed garlicks separated by dialysis membrane. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 357-365.
  30. 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.
  31. 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.
  32. Lee BB, Park SR, Han CS, Han D, Park EJ, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidant activity and inhibition activity against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 405-409.
  33. Shinde J, Taldone T, Barletta M, Kunaparaju N, Hu B, Kumar S, Placido J, Zito SW. 2008.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel in vitro and in Goto-Kakizaki (GK) rats. *Carbohydr Res* 343: 1278-1281.
  34. Baynes JW, Thorpe SR. 1999. Role of oxidative stress in diabetes complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 48: 1-9.
  35. Liu CT, Hse H, Lii CK, Chen PS, Sheen LY. 2005. Effects of garlic oil and diallyl trisulfide on glycemic control in diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 516: 165-173.
  36. Liu CT, Wong PL, Lii CK, Hse H, Sheen LY. 2006. Antidiabetic effect of garlic oil but not diallyl disulfide in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Food Chem Toxicol* 44: 1377-1384.
  37. Lee ES, Ju HK, Moon TC, Lee E, Jahng Y, Lee SH, Son JK, Baek SH, Chang HW. 2004. Inhibition of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) production by propenone compound through blockade of nuclear factor (NF)- $\kappa$ B activation in cultured murine macrophages. *Biol Pharm Bull* 27: 617-620.
  38. Lee TH, Kwak HB, Kim HH, Lee ZH, Chung DK, Baek NI, Kim J. 2007. Methanol extracts of *Stewartia koreana* inhibit cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene expression by blocking NF- $\kappa$ B transactivation in LPS-activated RAW 264.7 cells. *Mol Cells* 23: 398-404.
  39. Kim KH, Kim HJ, Byun MW, Yook HS. 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extract from six vegetables containing different sulfur compounds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 577-583.
  40. Banerjee SK, Maulik SK. 2002. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutr J* 1: 4.
  41. Kim CH, Lee MA, Kim TW, Jang JY, Kim HJ. 2012. Anti-inflammatory effect of *Allium hookeri* root methanol extract in LPS-induced RAW264.7 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1645-1648.
  42. Kim DH, Hwang EY, Son JH. 2013. Anti-inflammatory activity of *Carthamus tinctorius* seed extracts in Raw 264.7 cells. *J Life Sci* 23: 55-62.
  43. Meydani SN. 1990. Dietary modulation of cytokine production and biologic functions. *Nutr Rev* 48: 361-369.
  44. Miossec P. 1997. Cytokine-induced autoimmune disorders. *Drug Saf* 17: 93-104.
  45. Zhang HL, Nagatsu A, Watanabe T, Sakakibara J, Okuyama H. 1997. Antioxidative compounds isolated from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) oil cake. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 45: 1910-1914.
  46. Nathan C. 1992. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 6: 3051-3064.