

추출조건이 마늘 추출액의 기능성에 미치는 영향

변평화 · 김우정¹ · 윤석권*

동덕여자대학교 식품영양학과, 세종대학교 식품공학과

Effects of Extraction Conditions on the Functional Properties of Garlic Extracts

Pyung-Hwa Byun, Woo-Jung Kim¹ and Suk-Kwon Yoon*

Department of Food and Nutrition, Dongduk Women's University

¹Department of Food Science and Technology, Sejong University

An effective extraction methods of a garlic were investigated in order to improve the functional properties of the extracts. The solid yield, electron donating ability (EDA), nitrite-scavenging effects (NSE), peroxide value (POV) and total thiosulfates contents of garlic extracts were determined. In order to improve the functional properties of extracts prepared with several organic solvents and acids, concentration and pH adjustment of the selected solvent and addition of acids and salts to solvents were also examined. Among the solvents tested, the methanol and ethanol extracts were found to be the most effective on the base of functionality and solid yields. The highest EDA, NSE and thiosulfate value were obtained with 50% ethanol. The pH control of solvent and addition of citric acid, NaCl and phosphates to 50% ethanol did not affect on the functionality of the extracts. Therefore the optimal solvent for the best functional properties of garlic extract was 50% ethanol.

Key words: garlic extract, functional properties, extraction solvents

서 론

식품은 사람의 영양 및 기호기능외에 생체방어, 신체리듬 조절, 노화억제, 만성질환억제 및 회복 등 생체조절기능을 갖는다⁽¹⁾. 마늘은 향신료로서의 역할뿐만 아니라 생체기능을 조절하는 유용한 성분을 함유하고 있어서 건강유지에 유익한 식품으로 알려져 있다. 마늘의 기능성은 allicin(diallyl thiosulfinate), methyl allyl, 1-propenyl allyl, allyl 1-propenyl, 1-propenyl methyl, dimehyl thiosulfinate 등의 thiosulfates 화합물이 가장 큰 역할을 하며 이들은 항혈전작용⁽²⁾, 항암작용⁽³⁾, 혈압강하 작용⁽⁴⁾, 콜레스테롤 저하 및 노화방지 작용⁽⁵⁾ 등이 있다. Thiosulfates 화합물의 주요 성분인 allicin (C₃H₅-S(O)-C₃H₅)은 마늘이 갖는 항균작용^(6,7), 세포대사 억제⁽⁸⁾ 등의 많은 중요한 생화학적 활성을 갖는 가장 잘 알려진 황화합물로서 총thiosulfates 중 60~80%를 차지한다⁽⁹⁾. Allicin은 매우 불안정한 화합물로서, 마늘에는 직접 존재하지 않으나 마늘을 절단하거나 으갠 때 alliinase라는 효소에 의해 전구

체인 alliin(S-allyl-L- cysteine sulfoxide) 으로부터 만들어지고 다른 저급 sulfides 화합물들인 diallyl mono-, di-, 그리고 oligo-sulfides, vinylidithiins, ajoenes 등 30여종으로 분해되고 이중 diallyl disulfide와 diallyl sulfide 함량이 75% 이상이라고 하였다⁽¹⁰⁾.

식품의 가공 및 저장 중에 일어나는 지방질의 산화는 식품에 있어서 영양가의 저하 등 품질저하 요인뿐만 아니라 산화에 의해 생성되는 각종 산화 생성물은 DNA를 손상시키거나 암을 유발하며 인간의 노화에도 관계가 있는 것으로 알려져 있다⁽¹¹⁾. 이러한 지방의 산화에 대하여 마늘의 추출물과 정유는 항산화 효과가 있고⁽¹²⁾ 마늘추출물은 DNA손상 억제 작용과 linoleic acid의 산화 과정 중 생성된 superoxide anion과 과산화수소의 소거능, 항산화력, 과산화물 생성에 관여하는 각종 유리기의 소거작용이 있는 것이 밝혀졌다⁽¹³⁾. 이러한 항산화력 측정시 전자공여능 측정은 지질과산화의 연쇄반응에 관여하는 산화성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있다.

육제품의 품질향상 및 *Clostridium botulinum*에 항균 작용⁽¹⁴⁾을 갖는 질산염이나 아질산염은 amine류와 반응하여 nitrosamine을 생성한다⁽¹⁵⁾. 이러한 nitrosamine 생성을 억제하기 위한 연구로 식품 성분간의 반응 생성물에 의한 억제효과로서 Maillard 반응 생성물인 melanoidine이 nitrosamine 억제효과가 있다 하였고⁽¹⁶⁾ guaiacol, resorcinol 등의 페놀성 물

*Corresponding author : Suk-Kwon Yoon, Department of Food and Nutrition, Dongduk Women's University, Weolgo-dong, Seong-buggu, Seoul 136-714, Korea
 Tel: 82-02-940-4461
 Fax: 82-02-940-4193
 E-mail: sky@dongduk.ac.kr

질은 nitroso화 반응을 강력하게 억제한다고⁽¹⁷⁾ 하였으며, 이외에도 많은 천연식품의 추출물에 대한 아질산염 소거작용을 조사^(18,19)하여 보고되었다.

본 연구에서는 마늘의 기능성 성분을 효율적으로 추출할 수 있는 방법을 조사하기 위하여 6종류의 유기용매와 4종류의 산으로 마늘을 추출한 추출물의 아질산염 소거작용, 전자공여능 및 총 thiosulfinate 함량 측정, 항산화성 등의 생리활성을 조사하여 최적 용매를 선정하고 추출시 용매의 pH, 산과 염의 첨가영향을 조사하여 마늘의 기능성성분의 최적 추출 방법에 대한 기초자료를 얻고자 본 실험을 행하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 마늘은 1998년 7월 경북 의성 지역에서 수확된 마늘을 가락시장에서 구입하여 $-20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 의 냉동고에 저장하면서 사용하였다.

마늘추출액의 제조

박피한 생마늘 10 g에 용매 50 mL를 가하여 4°C 로 조절된 homogenizer(MA-10, Nissei)로 10,000 rpm에서 5분간 마쇄시킨 다음 상온에서 30분 동안 shaker(Isuzu, BY-0, Seisakusho Co. LTD)로 교반하였다. 마쇄된 마늘액은 4°C 에서 30분 동안 $800 \times \text{g}$ 로 원심분리(Model J2-21, Beckman)하고 상정액을 취하여 whatman No. 2 여과지에 여과시킨 것을 마늘추출액으로 하였으며 -64°C 의 냉동고에 저장하면서 사용하였다. 본 실험에 사용된 용매는 petroleum ether, benzene, chloroform, ethyl acetate, methanol, ethanol 유기용액과 유기 및 무기산의 추출효과 비교를 위하여 0.03 M의 acetic acid, citric acid, phosphoric acid, tartaric acid 용액으로 추출하였다.

전자공여능의 측정

전자공여능(Electron donating abilities, EDA)의 측정은 최 등⁽²⁰⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, DPPH(α, α -diphenyl- β -picryl hydrazyl) 8 mg을 ethanol 300 mL에 용해한 후 여지(Whatman No. 2)로 여과하였다. 각 추출시료 0.5 mL에 준비된 DPPH용액 5 mL를 가한 후 vortex mixer로 10초간 진탕하고 $3,500 \times \text{g}$ 로 3분 동안 원심 분리시키고 상정액은 시료를 첨가한 후 정확히 10분이 되었을 때 분광광도계(UV-1201, Shimadzu)로 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료 첨가구와 미첨가구의 흡광도비를 백분율로 나타내었다.

아질산염 소거작용의 측정

마늘 추출액의 아질산염 소거작용은 Kato 등⁽¹⁶⁾과 김 등⁽¹⁸⁾의 방법에 의하여 측정하였다. 1 mM NaNO_2 용액 1 mL에 마늘추출액 1 mL를 첨가하고, 0.1 N HCl과 0.1 M 구연산 완충 용액을 사용하여 pH를 1.2, 3.0, 4.2, 6.0으로 조정된 buffer용액을 첨가하여 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 반응용액은 37°C 에서 1시간 동안 반응시킨 다음 1 mL를 취하여 여기에 2% 초산 용액 5 mL를 첨가하고 Griss시약(30% 초산으로 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 각각 조제하여 1:1 비율로 사용직전 혼합한 것) 0.4 mL를 가하여

실온에서 15분간 방치시킨 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 소거되는 아질산염을 백분율(%)로 나타내었다. 공시험은 Griss시약 대신 증류수를 0.4 mL 가하여 상기와 같은 방법으로 실시하였다.

총 thiosulfinate 함량의 측정

총 thiosulfinate 함량은 Han 등⁽²¹⁾의 방법에 의하여 측정하였다. 즉 2 mM cysteine이 함유된 50 mM HEPES(N-[2-Hydroxyethyl]piperazine- N' -[2-ethane sulfonic acid], pH 7.5) 용액 0.5 mL에 추출액 0.1 mL를 첨가하고, 여기에 50 mM HEPES용액 4.4 mL를 넣어 총 반응용액의 부피를 5 mL로 하였다. 이 반응 용액을 27°C 에서 10분간 반응시킨 후, 1 mL 취하여 50 mM HEPES buffer로 조제한 0.4 mM DTNB[5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)] 1 mL를 가하여 잘 혼합한 다음 27°C 에서 10분간 반응시킨 후 분광광도계로 412 nm에서 흡광도를 측정하고 standard curve를 이용하여 계산하였다. Standard curve는 50 mM HEPES buffer(pH 7.5)로 조제한 0.05~0.3 mM의 cysteine용액 1 mL에 0.4 mM DTNB용액 1 mL를 첨가하여 10분간 반응시킨 후 분광광도계를 사용하여 412 nm에서 흡광도를 측정하여 구하였다.

과산화물가의 측정

과산화물가는 AOAC Cd 8-53 방법⁽²²⁾에 의하여 본 실험실에서 n-hexane으로 직접 추출한 들기름 5 g에 petroleum ether 10 mL와 celite545 10 g을 혼합한 다음, 마늘 추출물과 항산화제인 butylated hydroxyanisole(BHA) 및 tocopherol을 각각 0.05% 첨가하여 30°C 항온기에서 저장하면서 0~8일 동안 과산화물가의 변화를 조사하였다.

통계처리

모든 실험측정은 3반복 측정하여 평균치와 표준오차를 계산하였고, 각 군간 차이의 통계적 유의성은 SAS(Statistic Analysis System)를 이용하여 Duncan's multiple range test ($\alpha = 0.05$)로 검증하였다⁽²³⁾.

결과 및 고찰

유기용매의 영향

생마늘에 극성이 다른 다섯 가지 용매, petroleum ether, benzene, chloroform, ethyl acetate, methanol을 5배량 가하여 마늘성분을 추출한 다음 고형분의 추출 수율을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 가장 높은 수율을 보인 것은 methanol로 8.35%가 추출되어 다른 용매에 비해 유의성 있게 높았다. 이러한 용매간의 수율차이는 용매의 극성이 가장 큰 영향을 주었다고 생각된다. 생마늘은 수분 함량이 64%이고⁽²⁴⁾ 그 외 고형분의 대부분이 탄수화물인 점을 감안한다면 친수성 성분들을 많이 함유하는 마늘성분을 추출하는데는 극성이 비교적 강한 methanol이 적합할 것으로 판단된다.

다섯가지 다른 마늘 추출액의 DPPH에 대한 전자공여능은 methanol이 26.06%로 다른 유기용매 추출액보다 0.2~2배 정도 높은 것으로 나타나 마늘에는 환원력을 가지는 성분을 가지고 있으며 이 성분은 methanol로 추출하는 것이 가장 효

Table 1. Effects of the various organic solvents on the solid yields, electron donating abilities(EDA) and nitrite-scavenging effects(NSE) of garlic extracts

| Solvents (polarity index) | Yields (%) | EDA (%) | NSE (%) | | | |
|------------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----|
| | | | pH of buffer | | | |
| | | | 1.2 | 3.0 | 4.2 | 6.0 |
| Petroleum ether (0.1) | 0.58 ± 0.04 ^(c1) | 19.63 ± 1.85 ^b | 1.06 ± 0.09 ^c | 1.64 ± 0.32 ^b | 0.10 ± 0.03 ^b | 0 |
| Benzene (2.7) | 0.50 ± 0.00 ^c | 20.22 ± 0.10 ^b | 0.43 ± 0.07 ^c | 0 ^b | 0 ^b | 0 |
| Chloroform (4.1) | 0.78 ± 0.04 ^b | 13.14 ± 2.26 ^c | 0.54 ± 0.06 ^c | 0 ^b | 0 ^b | 0 |
| Ethyl acetate (4.4) | 0.50 ± 0.00 ^c | 19.22 ± 2.51 ^b | 23.35 ± 1.85 ^b | 0.56 ± 0.13 ^b | 0.56 ± 0.13 ^b | 0 |
| Methanol (5.1) | 8.35 ± 1.08 ^a | 26.06 ± 0.21 ^a | 63.19 ± 1.39 ^a | 39.15 ± 1.39 ^a | 22.53 ± 1.55 ^a | 0 |

¹⁾Means followed by the same letter in column are not significantly different (p<0.05)

을 적임을 알 수 있다.

마늘 추출액들의 아질산염 소거작용은 전반적으로 인체 위장의 pH와 유사한 pH 1.2에서 아질산염 소거작용이 높았고 다음은 pH 3.0이었으며 pH 4.2와 pH 6.0에서는 매우 낮거나 측정되지 않았다. 따라서 유기용매에 의한 마늘 추출액의 아질산염 소거작용은 pH 의존성이 매우 큰 것으로 나타났다. 그 중 methanol에 의한 마늘 추출액이 pH 1.2에서 63.19%, pH 3.0에서 39.15%로 나타나 다른 추출액보다 큰 차이를 보였다. 그러나 pH 4.2에서 급격히 감소하고, pH 6.0에서는 전혀 나타나지 않았다. Fox와 Ackerman⁽²⁵⁾은 ascorbic acid, cysteine, nicotinamide adenine dinucleotide와 같은 환원성 물질을 산성 조건하에서 반응시키면 아질산염은 이들 환원성 물질에 의해 nitric oxide로 전환되고 이때의 반응속도는 아질산염 농도에 대해서는 1차, 환원성 물질에 대해서는 0.5차, 수소이온농도에 의해서는 1.5차에 비례하여 진행된다고 밝히고 있다. 아질산염은 낮은 pH에서 protonate form인 nitrous acid(pKa = 3.4)로 되어 있어, 2급, 3급 amine과 반응하여 nitrosamine이 용이하게 생성되므로⁽¹⁵⁾ 본 실험에서와 같이 강산성 조건하에서 아질산염 소거작용이 효과를 나타내

는 것으로 볼 수 있으며 마늘이 생체 내 특히 위장 내에서 발암성 nitrosamine의 생성억제에 크게 기여할 것으로 생각된다. 따라서 이후 아질산염 소거 작용에 관한 실험은 pH 1.2 및 pH 3.0에서만 조사하였다.

마늘추출액의 항산화효과를 조사하기 위하여 100% 들기름에 여러 용매로 추출한 마늘 추출액과 항산화제인 BHA 및 tocopherol을 0.05% 첨가하여 저장하면서 과산화물가의 변화를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 저장기간이 경과함에 따라 모든 실험구의 과산화물가는 증가하는 경향을 나타내었다. 저장기간 동안 유기용매에 의한 마늘추출액을 첨가한 실험구는 항산화제인 BHA와 tocopherol을 첨가한 실험구에 비해 과산화물가가 높았지만 대조구에 비하여 마늘추출액 모두 낮은 값을 나타내었다. Tocopherol은 linoleic acid나 linolenic acid가 많은 식물성 지방에서는 항산화 효과가 적다는 보고⁽²⁶⁾와 같이 본 실험에서도 BHA보다 항산화력이 적었다. 추출용매별 항산화효과는 methanol, chloroform, ethyl acetate, petroleum ether, benzene의 순이었다. 저장기간 동안 BHA와 tocopherol 첨가구 외에는 6일 근처에서 최고점에 달했다가 그 후 과산화물가가 빠르게 감소하는 경향을 나타내었는데 이는 지방의 산화로 인하여 생성된 과산화물이 2차 산화물로 분해되었기 때문으로 생각된다⁽²⁷⁾.

산의 영향

마늘은 극성이 높은 methanol에서 추출수율이 높았으므로 해리할 수 있는 acetic acid, citric acid, phosphoric acid 및 tartaric acid로 추출한 추출액의 고형분 수율과 전자공여능, 아질산염 소거작용의 조사결과는 Table 2와 같다. 고형분 수율은 citric acid 추출액이 28.72%로 다른 산 추출액에 비해 높게 측정되었으나 산종류별 유의적인 차이는 나타나지 않았고 유기용매보다는 높은 추출율을 보였다. 이들 산에 의한 마늘 추출액의 전자공여능은 수율과는 달리 acetic acid에 의한 추출액이 19.18%로 가장 높게 나타나 다른 산추출액과의 사이에 유의적인 차이를 보였다. 유기용매별 추출액의 전자공여능과 비교해 볼 때 acetic acid는 methanol보다 낮았지만 그외의 유기용매 추출액과는 비슷한 값을 보였다. 아질산염 소거작용은 tartaric acid에 의한 마늘 추출액이 pH 1.2에서 다른 추출액보다 현저히 높았지만 pH 3.0에서는 citric acid가 제일 낮고 나머지는 약 14~16% 범위이었다. Citric acid에 의한 추출액은 각 pH 영역에서 다른 산추출액들에 비해

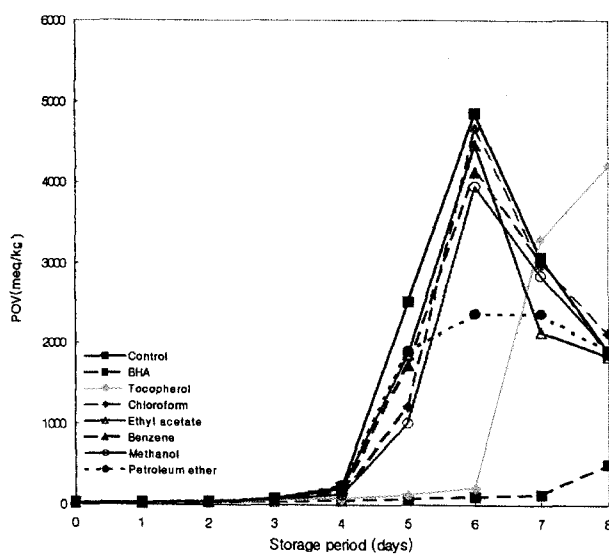


Fig. 1. Changes in peroxide value(POV) of perilla oil including 0.05% garlic extracts by various organic solvents during storage at 30°C.

Table 2. Effects of the various acids on the solid yields, electron donating abilities(EDA) and nitrite-scavenging effects(NSE) of garlic extracts

| Acids | Yields (%) | EDA (%) | NSE (%) | |
|-----------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | | | pH of buffer | |
| | | | 1.2 | 3.0 |
| Acetic acid | 26.90 ± 0.18 ^{NS} | 19.18 ± 0.51 ^{a1)} | 38.76 ± 1.85 ^{b)} | 15.83 ± 0.56 ^a |
| Citric acid | 28.72 ± 1.06 | 12.78 ± 1.44 ^b | 29.87 ± 1.00 ^d | 7.14 ± 0.15 ^b |
| Phosphoric acid | 23.47 ± 1.77 | 14.52 ± 2.23 ^b | 34.33 ± 0.95 ^{bc} | 14.41 ± 1.10 ^a |
| Tartaric acid | 25.97 ± 2.39 | 13.37 ± 0.60 ^b | 50.08 ± 1.50 ^a | 14.29 ± 1.18 ^a |

¹⁾Means followed by the same letter in column are not significantly different ($p < 0.05$)

낮은 값을 나타내어 유의적인 차이를 보였다. 유기용매에 의한 추출액과 비교해 볼 때 tartaric acid의 추출액의 값은 methanol의 추출액의 값보다 낮게 나타났다.

산에 의해 추출된 마늘 추출액의 항산화효과는 Fig. 2와 같이 저장 중 대조구와 함께 산추출액도 저장 4일 후 빠르게 증가하여 최고점에 도달한 후 감소하는 경향을 보여주었다. 그러나 산에 의해 추출된 추출액은 항산화제인 BHA와 tocopherol을 첨가한 실험구보다 현저히 떨어지거나 전반적으로 대조구보다는 낮은 값을 보여 항산화효과가 약간 있었다. 항산화능이 가장 높았던 추출액은 phosphoric acid추출액이었으며 다음은 citric acid, acetic acid, tartaric acid의 순이었다.

산에 의한 추출액들은 methanol의 추출액에 비해 고형분 함량은 높았으나 기능성 성분의 효과는 전반적으로 낮은 값을 보였다. 전자공여능은 산에 의한 추출액들이 methanol의 추출액에 비해 약 1/2 정도 낮았고, 아질산염 소거능은 methanol의 추출액이 각 pH 영역에서 63.19%와 39.15%를 보인 반면, 산에 의한 추출액들은 각각 50.08~29.87%와 15.83~7.14%를 나타내었다. 한편, 과산화물 생성억제도 methanol 추출액이 효과가 더 높았다. 따라서 마늘의 기능성 성분의 추출은 methanol에 의한 추출이 산에 의한 추출보다 효과적임을 알 수 있었다.

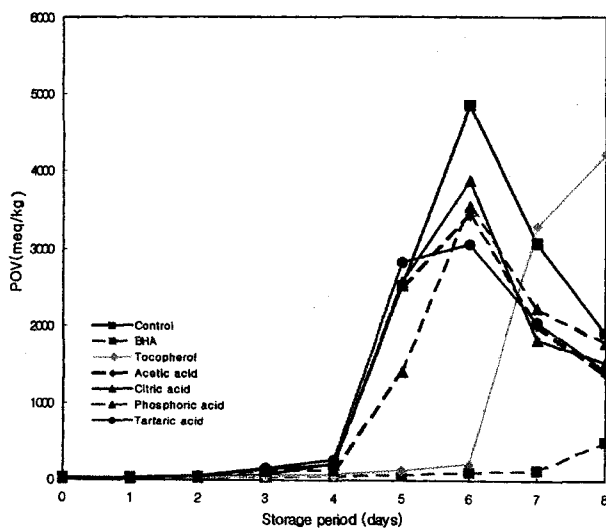


Fig. 2. Changes in peroxide value(POV) of perilla oil including 0.05% garlic extracts by various acids during storage at 30°C.

Ethanol 농도의 영향

마늘의 추출물을 식품에 이용하고자 할 때 앞의 결과에서 기능성 성분의 추출이 우수했던 methanol은 잔유량이 문제가 될 수 있으므로 methanol과 극성이 비슷한 ethanol로 이의 농도를 0, 25, 50, 75, 100%로 추출하여 기능성성질을 조사하였다(Table 3). 마늘 추출액의 DPPH에 대한 전자공여능은 50% ethanol 농도에서 최고치인 40.81%를 보여 100% methanol로 추출할 때 보다 훨씬 높았으며 100% ethanol로 추출하였을 때에는 26.6%으로 100% methanol과 거의 같은 값이었다.

Ethanol 농도별 마늘 추출액의 아질산염 소거작용은 전반적으로 pH 1.2에서 pH 3.0에서 보다 현저히 높았으며 ethanol 농도별로는 100% ethanol농도에 의한 추출액이 가장 낮은 값을 보였고 50% ethanol농도가 가장 높은 값을 나타내었다. 이러한 경향은 전자공여능의 결과와 같은 경향으로 마늘의 추출은 50% ethanol농도가 전자공여능과 아질산염 소거능을 가진 물질의 추출에 가장 적합함을 알 수 있었다.

항균성과 항돌연변이성이 있는 유기황화합물로 알려진^(6,9) thiosulfinates는 0~50%의 ethanol에서 4.0 mM이상이 추출되었으나 그 이상의 농도에서는 ethanol농도가 높아지면서 현저히 감소하여 100% ethanol농도에서는 1.0 mM정도로 50% ethanol농도에 의한 추출액의 약 1/4정도로 나타났다. Thiosulfinates의 주요성분인 allicin은 유기 용매에 불안정하다고 보고^(28,29) 되어있는데 본 실험의 결과에서도 50% 이상의 ethanol농도에서는 thiosulfinates가 분해되거나 ethanol이 alliinase의 활성을 감소시켜 allicin의 생성을 저해한 것으로 추정되었다.

이상과 같이 마늘을 6종류의 유기용매와 4종류의 산에서 추출하였을 때 기능성물질의 추출은 methanol이 적합하였으나 methanol의 완전 제거 문제로 인하여 ethanol로 대체하였을 때 methanol의 추출효과와 비슷하였으며 ethanol을 농도를 달리하여 추출하였을 때 50% ethanol농도가 전자공여능, 아질산염 소거작용과 총 thiosulfinates함량 추출에 가장 효과적이었다. 따라서 마늘의 기능성 성분의 추출은 추출액을 식품용용에 고려할 때 50% ethanol농도가 가장 적합한 것으로 판단되었다.

50% Ethanol 추출시 pH조절 영향

50% ethanol농도보다 더욱 효과적인 추출 조건을 찾기 위해 50% ethanol농도의 pH를 0.5 N의 HCl과 NaOH로 3~8로

Table 3. Effects of ethanol concentrations on the electron donating abilities (EDA), nitrite-scavenging effects(NSE) and the contents of total thiosulfinates of garlic extracts

| Ethanol (%) | EDA (%) | NSE (%) | | Thiosulfinates (mM) |
|-------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| | | pH of buffer | | |
| | | 1.2 | 3.0 | |
| 0 | 30.90 ± 1.15 ^b | 60.94 ± 1.19 ^{a)1)} | 27.13 ± 1.18 ^b | 4.31 ± 0.16 ^{a)1)} |
| 25 | 38.62 ± 0.42 ^a | 62.47 ± 0.65 ^a | 28.70 ± 0.39 ^b | 4.16 ± 0.07 ^a |
| 50 | 40.81 ± 1.93 ^a | 64.24 ± 0.27 ^a | 34.06 ± 1.11 ^a | 4.26 ± 0.23 ^a |
| 87 | 31.78 ± 1.79 ^b | 61.30 ± 1.26 ^a | 34.62 ± 0.39 ^a | 2.32 ± 0.21 ^b |
| 100 | 26.58 ± 0.11 ^c | 37.94 ± 2.38 ^b | 26.22 ± 0.53 ^b | 1.00 ± 0.04 ^c |

¹⁾Means followed by the same letter in column are not significantly different(p<0.05)

Table 4. Effects of the different pH of ethanol solution on the electron donating abilities(EDA) nitrite-scavenging effects(NSE) and the contents of total thiosulfinates of garlic extracts

| pH | EDA (%) | NSE (%) | | Thiosulfinates (mM) |
|----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | | pH of buffer | | |
| | | 1.2 | 3.0 | |
| 3 | 33.87 ± 3.30 ^{NS} | 65.14 ± 1.58 ^{NS} | 32.00 ± 2.57 ^{NS} | 4.24 ± 0.07 ^{b)1)} |
| 4 | 34.78 ± 2.26 | 65.79 ± 1.64 | 33.04 ± 3.51 | 4.17 ± 0.16 ^b |
| 5 | 35.62 ± 2.85 | 67.01 ± 1.42 | 35.24 ± 2.38 | 4.33 ± 0.14 ^{ab} |
| 6 | 36.10 ± 1.87 | 67.18 ± 2.75 | 34.37 ± 2.41 | 4.65 ± 0.09 ^a |
| 7 | 38.02 ± 2.44 | 66.19 ± 1.07 | 36.98 ± 2.62 | 4.64 ± 0.11 ^a |
| 8 | 38.44 ± 3.49 | 68.27 ± 1.51 | 37.04 ± 2.47 | 4.48 ± 0.02 ^{ab} |

¹⁾Means followed by the same letter in column are not significantly different(p<0.05)

Table 5. Effects of the addition of citric acid, sodium chloride and sodium phosphates addition to 50% ethanol solution on the electron donating abilities(EDA), nitrite-scavenging effects (NSE) and the contents of total thiosulfinates of garlic extracts

| Kinds of Addition | Concentrations (%) | EDA (%) | NSE (%) | | Thiosulfinates (mM) |
|----------------------------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|---------------------|
| | | | pH of buffer | | |
| | | | 1.2 | 3.0 | |
| Control | 0 | 40.81 ± 1.93 | 64.24 ± 0.27 | 34.06 ± 2.11 | 4.26 ± 0.15 |
| Citric acid | 1 | 32.59 ± 2.86 | 62.63 ± 3.56 | 32.19 ± 1.72 | 3.33 ± 0.09 |
| | 2 | 29.76 ± 2.44 | 63.07 ± 2.45 | 32.04 ± 0.66 | 2.43 ± 0.11 |
| NaCl | 1 | 37.76 ± 1.16 | 66.90 ± 2.19 | 31.40 ± 0.84 | 4.21 ± 0.01 |
| | 2 | 33.94 ± 0.51 | 67.68 ± 0.18 | 34.13 ± 0.33 | 4.35 ± 0.11 |
| NaH ₂ PO ₄ | 1 | 38.31 ± 0.12 | 64.47 ± 1.59 | 34.72 ± 2.97 | 4.15 ± 0.12 |
| | 2 | 40.25 ± 1.45 | 62.99 ± 3.01 | 32.05 ± 1.95 | 4.56 ± 0.01 |
| Na ₂ HPO ₄ | 1 | 34.83 ± 1.27 | 65.62 ± 1.90 | 35.06 ± 2.63 | 3.79 ± 0.01 |
| | 2 | 33.63 ± 1.82 | 63.83 ± 1.88 | 31.50 ± 3.60 | 4.16 ± 0.03 |

조절한 다음 마늘을 추출하였을 때 추출물의 기능성을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 전자공여능은 50% ethanol농도의 pH가 증가할수록 전자공여능이 점차적으로 증가하였으나 그 증가폭은 매우 적어 유의적인 차이를 보이지 않았다. 한편 아질산염 소거작용은 buffer의 pH 1.2와 pH 3.0에서 모두 50% ethanol농도의 pH가 증가할수록 아질산염 소거작용은 약간 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다. 총 thiosulfinates 함량은 pH 6과 pH 7에서 높은 값을 보였는데 이는 alliinase의 활성에 대한 적정 pH가 6.5 근처라고 보고한 Yu 등⁽²⁸⁾의 결과와 alliinase가 S-methyl-L-cysteine sulfoxide에 대해서는 최적 pH가 6.5이었다고 보고한 Mazelis와 Crews⁽³¹⁾결

과와 유사함을 나타내었다.

50% Ethanol추출시 Citric acid, NaCl, 인산염의 첨가 영향

50% ethanol 용액에 추출수율을 향상시켰던 citric acid를 1~2% 첨가하고 추출용매의 이온강도의 영향을 보기 위하여 NaCl, NaH₂PO₄와 Na₂HPO₄의 첨가효과를 Table 5에 나타내었다. Citric acid의 첨가는 첨가량이 많을수록 전자공여능은 점차적으로 감소하였고 각 추출액의 아질산염 소거작용도 약간씩 감소하였다. 마늘추출액의 총 thiosulfinates 함량은 첨가 농도가 증가할수록 크게 감소하여 citric acid 5% 첨가시 무

첨가보다 약 1/3로 되었다(자료미제시). 이는 allicin의 형성에 관여하는 allinase의 적정 pH가 6.5 부근이라는 보고와⁽³⁰⁻³²⁾ 관계가 있는 것으로 추정된다. Citric acid의 첨가는 전자공여능, 아질산염 소거능, 총 thiosulfates 함량 모두 감소시켜 기능성 성분의 추출에 효과가 없었다.

한편 NaCl의 첨가는 전자공여능을 점차적으로 감소시켰지만 마늘 추출액의 아질산염 소거작용과 총 thiosulfates 함량은 NaCl의 첨가 농도가 높아질수록 유의성은 없었지만 약간씩 증가하는 경향을 나타내었다. NaH_2PO_4 와 Na_2HPO_4 를 1, 2% 첨가한 ethanol 50% 마늘 추출액의 전자공여능은 NaH_2PO_4 에 의해서는 영향이 별로 없었으나 Na_2HPO_4 는 뚜렷한 감소를 보였다. 아질산염 소거작용에의 영향은 pH 1.2와 3.0에서 모두 약간씩 감소하는 경향이였다. 마늘 추출액의 총 thiosulfates 함량에서도 전반적인 차이는 거의 없었으나 NaH_2PO_4 와 Na_2HPO_4 모두 1% 첨가수준에서 낮은 값을 보여 주었다. 이상의 결과를 종합하면 50% ethanol에 산이나 염의 첨가는 마늘 추출액의 기능성 향상에 도움을 주지 못하는 것으로 밝혀졌다.

요 약

마늘의 이용성 증진과 마늘의 기능성 성분을 효율적으로 추출할 수 있는 최적용매에 대한 기초자료를 얻기 위해 마늘을 5종류의 유기용매와 4종류의 산을 사용하여 추출하고 추출수율과 기능성을 조사하여 최적 용매를 선정하였다. 선정된 용매의 농도를 0, 25, 50, 75, 100%로 조절하여 적정농도를 조사하고 적정용매의 pH 조절, 산 및 염의 첨가 시 추출율 및 아질산염 소거작용, 전자공여효과 및 총 thiosulfates 함량 측정, 항산화성 등의 생리활성을 조사하였다. 마늘의 기능성 성분의 최적추출조건은 극성이 큰 methanol에 의한 추출이 효과적이었다. Citric acid를 비롯하여 유기산 및 무기산(acetic acid, phosphoric acid, tartaric acid)으로 추출할 때 고형분 수율은 높았으나 기능성에서 methanol 보다 효율성이 낮은 값을 보여 전자공여능은 약 1/2 정도 낮았다. 아질산염 소거능은 완충액의 모든 pH 영역에서 낮게 나타났고, 항산화효과인 과산화물 생성억제도 methanol 추출액이 약간 효과가 더 높았다. Methanol과 ethanol의 기능성 성분의 추출효과는 비슷하므로 식품용용을 고려할 때 ethanol이 보다 효과적임을 알 수 있었다. Ethanol의 농도를 달리하여 추출한 결과 50% ethanol 농도에서 가장 추출이 용이하였고 고형분수율 및 기능성도 가장 효과적이었다. 50% ethanol 용매보다 더 효율적인 추출조건을 찾기 위해 50% ethanol 용액의 pH조절과 NaCl, citric acid, NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 를 농도별로 첨가하여 추출하였을 때 고형분수율 및 기능성에서 큰 변화를 보이지 않았다. 따라서 마늘 성분의 추출은 50% ethanol 농도가 마늘의 기능성성분들의 효과적인 추출 방법으로 판단된다.

문 헌

1. Kawabata, T., Shazuki, H. and Ishibishi, T. Effect of ascorbic acid and on the formation of N-nitrosodimethyl amine *in vitro*. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 40(12): 1251-1256(1974)

2. Nishimura, H., Hanny, W. and Mizutani, J. Volatile flavor components and antithrombotic agent: Vinylidithiins from *Allium victorialis*. J. Agric. Food Chem., 36: 563-568(1988)

3. Kim, E.S. and Chun, H.J. The Anticarcinogenic effect of garlic juice against DMBA induced carcinoma on the hamster buccal pouch. (in Korean) J. Kor. Soc. Food Nutr. 22(4): 398-404(1993)

4. Ruffin, J. and Hunter, S.A. An evaluation of the side effect of garlic as an antihypertensive agent. Cytobios. 37: 85-90(1983)

5. Kamanna, V.S. and Chandrasekhara, N. Biochemical and physiological effects of garlic(*Allium sativum* Linn.). J. Sci. and Industrial Res. 42(6): 353-359(1983)

6. Cavallito, C.J. and Bailey, J.H. *Alliin*, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties, and antibacterial action. J. Am. Chem. Soc. 66: 1950-1956(1944)

7. Dewit, J.C., Notermans, S., Gorin, N. and Kampelmacher, E.H. Effect of garlic oil or toxin production by *Clostridium Botulium* in meat slurry. J. Food Protect. 42(3): 222-227(1979)

8. Small, L.D., Bailey, J.H. and Cavallito, C.J. Alkyl thiosulfates. J. Am. Chem. Soc., 69: 1710-1716(1947)

9. Small, L.D., Bailey, J.H. and Cavallito, C.J. Comparison of some properties of thiosulfonates and thiosulfates. J. Am. Chem. Soc., 71, 3565-3571(1949)

10. Yu, T.H. Wu, C.M. and Liou, Y.C. Volatile compounds from garlic. J. Agric. Food Chem. 37 : 725-730(1989)

11. Holliwel, B. and Gulleridge, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. In: Oxygen radicals in biological systems. Packer, L. and Glazer, A.N.(ed.) Academic Press, New York, 1-85(1993)

12. Chun, H.J. and Lee, S.W. Studies on antioxidative action of garlic components isolated from garlic (*Allium Stivum*. L). (in Korean) Kor. Hom. Eco. Ass., 24(1): 43-51(1986)

13. Kang, J.H., Ahn, B.W., Lee, D.H., Byun H.S., Kim, S.B. and Park, Y.H. Inhibitory effects of ginger and garlic extracts on the DNA damage. (in Korean) Kor. J. Food. Sci. Technol. 20(3): 287-292 (1988)

14. Pivnicl, H., Rubin, J., Barnartt, H.W., Nordin, H.R., Ferguson, P.A. and Perrin, H. Effect of sodium nitrite and temperature on toxinogenesis by *Clostridium botulinum* in perishable cooked meats vacuum packed in air-impermeable plastic pouches. Food Tech. 21: 100-106(1967)

15. Crosby, N.T. and Sawyer, R. N-nitrosamines: A review of chemical and biological properties and their estimation in foodstuffs. In: *Advances in Food Research*, Academic Press. 21: 1-100(1976)

16. Kato, H., Lee, I.E., Cheyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F. Inhibitory of nitrosamine of formation by nondialyzable melanoidins. Agric. Biol. Chem. 51(5): 1333-1339(1987)

17. Cooney, R.V. and Ross, P.D. N-nitrosation and nonnitrosation of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution: Effects of vanillin and related phenols. J. Agric. Food Chem., 35: 789-795(1978)

18. Kim, D.S., Ahn, B.W., Yeun, D.M., Lee, D.H., Kim, S.B. and Park, Y.H. 1. Nitrite-scavenging effects of vegetable extracts. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components.(in Korean) Bull. Kor. Fish Soc. 20(5): 463-468(1987)

19. Lee, G.D., Chang, H.G. and Kim, H.K. A antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. (in Korean) Kor. J. Food. Sci. Technol. 29(3): 432-436 (1997)

20. Choi, J.H. and Oh, S.K. Studies on the anti-aging action of Korean ginseng. (in Korean) Kor. J. Food. Sci. Technol. 12(4): 323-335(1983)

21. Han, J., Lawson, L., Han, G. and Han, P. A spectrophotometric method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulfates. Analytical Biochemistry 225: 157-160(1995)

22. AOAC: Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., USA(1990)

23. Cary, N.C. Statistical Analysis System Institute Inc. SAS user's guide: Release, 6.03. ; SAS Instituent Inc.(1988)

24. National Rural Living Science Institute. Food composition table, 5th Edition. National rural living science institute, R.D.A. p99(1996)
 25. Fox, J.B. and Ackerman, S.A. Formation of nitric oxide myoglobin: mechanism of the reaction with various reductants. J. Food Sci. 33: 364-370 (1987)
 26. Gunstone, F.D. and Norris, F.A. Lipids in foods. Chemistry, biochemistry and technology. Pergamon Press Inc. p58-120(1983)
 27. Dugan, L.R. Natural antioxidants. In: Autoxidation in food and biological systems. Simic, M, G.(ed.) Plenum Press, New York. p267(1980)
 28. Lawson, L.D., Wang, Z.Y. and Hughes, B.G. Identification and HPLC quantitation of the sulfides and dialk(en)yl thiosulfates in commercial garlic products. Planta Med. 57: 363-370(1991)
 29. Lawson, L.D. and Hughes, B.G. Characterization of the formation of allicin and other thiosulfates from garlic. Planta Med. 58: 330-335(1992)
 30. Yu, T.H. Wu, C.M. and Liou, Y.C. Effects of pH adjustment and subsequent heat treatment on the formation of volatile compounds of garlic. J. of Food Sci. 54(3): 632-635(1989)
 31. Mazelis, M. and Crews, L. Purification of the alliin lyase of garlic, *Allium sativum* L. Biochem. J. 108 : 725-731(1968)
 32. Stoll, A. and Seebach, E. Chemical investigation on alliin, the specific principle of garlic. Advan. Enzymol. 11 : 377-382(1951)
-

(2000년 12월 30일 접수)