

*Lactobacillus plantarum*를 이용한 유산균 발효 및 열처리가 마늘의 향기성분 및 항산화 활성에 미치는 영향

김의수¹ · 송지혜¹ · 정하열² · 정현상³ · 장해동¹ · 김교남*

¹한남대학교 식품영양학과, ²한경대학교 식품생물공학과 및 식품생물산업연구소,
³충북대학교 식품공학과, 경남대학교 식품생명학과

Effect of Fermentation with *Lactobacillus plantarum* and Heat Processing on the Anti-oxidant Activity and Volatile Composition of Garlic

Eui-Su Kim¹, Ji-Hye Song¹, Ha-Yull Chung², Heon-Sang Jeong³,
Hae-Dong Jang¹, and Gyo-Nam Kim*

¹Department of Food and Nutrition, Hannam University

²Department of Food Science & Biotechnology and Food & Biotechnology Research Center,
Hankyong National University

³Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National University
Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University

Abstract

Garlic (*Allium sativum* L.) has been used as a spicy and folk medicine in many Asian countries. Although it is known to possess various beneficial functions in biological system, there are some limitations in food industries since its pungent flavor derived from sulfur containing-volatile components such as allyl methyl sulfide, allyl sulfide, and diallyl disulfide. Here, we prepared both fermented garlic (FG) with *Lactobacillus plantarum* and FG with heat processing at 100 for 2 h (FG-H). We analyzed the contents of allyl methyl sulfide, allyl sulfide, and diallyl disulfide in dried garlic (G), FG, and FG-H. We also demonstrated the scavenging activities of G, FG, and FG-H against peroxy and hydroxyl radical as judged by ORAC (oxygen radical absorbance capacity). The scavenging activities of G, FG and FG-H against peroxy and hydroxyl radicals were 2.96, 1.46, 2.28 and 0.18, 1.36, 3.43 TE (Trolox equivalents), respectively. We elucidated that the scavenging activities of FG and FG-H against hydroxyl radicals are mediated by their reduction capacities and metal chelating activities. Taken together, these results indicated that fermentation with *Lactobacillus plantarum* and heat processing could contribute to the alleviation of pungent flavor in garlic and its anti-oxidant activity. These results provide the scientific evidences for the development of functional foods using garlic which has anti-oxidant function.

Key words: garlic, *Lactobacillus plantarum*, fermentation, anti-oxidant activity, nutri-cosmetics

서 론

마늘(*Allium sativum* L.)은 우리나라에서 매우 중요한 부분을 차지하고 있는 향신료로서 원산지는 중앙아시아나 이집트로 추정하고 있다(Byun et al., 2001; Sohn et al., 1996). 마늘은 백합과(Liliaceae) 파속(*Allium*)의 인경작물로

서 국내 채소 중 배추 및 무, 고추와 함께 농가 소득의 주요 작물로 한방에서는 대산(大蒜)이라 칭한다. 우리나라에서 재배되고 있는 마늘은 생태형에 따라 한지형과 난지형으로 구분된다. 난지형 마늘은 겨울철 따뜻한 지방에 적응된 것으로 휴면기간이 후자에 비하여 짧고 무안, 신안, 해남, 고흥, 창녕, 남해, 제주 등 남해연안에서 주로 재배되며, 한지형은 내륙의 서산, 의성, 단양, 태안, 영천, 군위 지방에서 재배되고 있다(Shin et al., 2000).

마늘의 독특한 향미는 마늘 중의 alliin이 alliinase에 의하여 alliin과 pyruvic acid로 분해되고 alliin이 다시 diallyl thiosulfinate와 diallyl disulfide로 분해되며 이들은 다시 alliin의 분해과정 중 생성된 pyruvic acid와 서로 작용하여 저급 황 화합물 및 carbonyl 화합물을 생성함으로써 발생

*Corresponding author: Gyo-Nam Kim, Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, 11(Woryeong-dong) Woryeongbuk 16-gil, Masanhappo-gu, Changwon-si, Gyeongsangnam-do 631-701, Korea
Tel: +82-55-249-6330; Fax: +82-505-999-2171
E-mail: gnkim@kyungnam.ac.kr

Received September 6, 2012; revised November 12, 2012; accepted November 14, 2012

한다(Sohn et al., 1996; Jo & Choi, 2002). 마늘에서 동정된 휘발성 유기성분은 총 42 종이며 그 중 25 종이 황 화합물로 보고되었다. 특히 이들 25 종은 휘발성 유기성분의 98.7%를 차지하여 마늘의 독특한 냄새와 맛의 원인이 되는 성분이며, 대표적으로 allyl methyl sulfide, allyl sulfide, 그리고 diallyl disulfide를 들 수 있다(Kim et al., 2005; Jeon et al., 2012). 마늘의 독특한 냄새와 맛의 원인이 되는 휘발성 황 화합물은 열처리에 의해 감소된다고 보고되었다. 즉, 삶은 마늘은 생마늘에 비하여 diallyl disulfide은 18.29%, diallyl sulfide은 0.65%, allyl methyl sulfide 0.54%, methyl allyl ether 4.85%, trisulfide methyl 2-propenyl 1.2% 및 2-vinyl-1,3-dithi인 1.72% 정도의 함량을 나타냈으며, 구운 마늘은 각각 26.22%, 0.50%, 0.87%, 2.89%, 1.52% 및 1.97%의 함량을 보였고, 전자레인지로 가열한 경우 각각 25.03%, 1.32%, 0.73%, 3.26%, 2.55% 및 2.38% 정도의 함량을 보여 생마늘과 비교하였을 때 열처리한 마늘의 향기성분 함량이 감소된다고 보고하였다(Kim et al., 2005). 또한 마늘과 인삼을 열처리함으로써 흑마늘과 흑삼 등 새로운 제품을 개발하였고, 이들에 대한 다양한 생리활성도 보고되었다(Kim et al., 2010).

식품에 있어 열처리 가공은 일반적으로 저장 수명을 연장하고 식품의 품질을 향상시키기 위하여 사용하고 있지만 열처리 가공 중 영양소의 파괴 및 생리활성물질의 손실 등의 문제점들을 가지고 있다. 그러나 최근 연구에서는 과채류 등을 열처리할 경우 다양한 이화학적 변화에 의해 생리활성물질이 증가한다는 연구 결과가 발표되면서 이와 관련된 많은 연구가 진행되고 있다(Kim et al., 2008). Shin et al.(2008)은 열처리 온도를 달리하여 숙성한 마늘의 항산화 활성을 측정하는 연구에서 숙성 시 온도가 높을수록 그리고 숙성 기간이 경과할수록 갈변화 물질의 생성이 많아지고, 이에 따라 total polyphenol 함량과 flavonoids 함량이 증가하는 것을 확인하였다. Kwon et al.(2006)의 연구에서도 고온고압처리 시 온도와 시간이 증가할수록 항산화 활성이 증가하는 것으로 나타났다.

최근 발효 식품 및 발효 화장품이 웰빙의 핵심 키워드로 주목받고 있음은 물론 소비자는 발효 제품에 대해 긍정적으로 인식하고 있다. 또한 발효과정은 생리활성 성분의 함량증가 및 새로운 성분이 생성됨을 기대할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 대표적인 김치 발효균인 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104를 이용하여 마늘을 유산 발효시키고, 발효 마늘을 다시 적정 온도로 가열 처리함으로써 발효와 열처리가 마늘의 자극적 향미에 어떠한 영향을 미치는지 평가하였으며, 마늘의 항산화 활성에 어떻게 기여하는지 검토하였다. 마늘은 향미생물 효과가 있으나 사용된 유산균 *L. plantarum*의 경우 김치 발효에 있어서 대표적인 유산균으로 김치에 함유된 마늘에도 생육에 큰 영향을 받지 않는 것을 확인할 수 있어 발효 균주로 선정하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 마늘은 국내산으로 충남 서산 지역에서 재배된 한지형 마늘로 경기도 안성에서 구입하였다. Dextrin(Max-1000)은 한국마쓰다니(주)(Seongnam, Korea)에서 구입하여 사용하였다. Fluorescein 및 trolox, cupric sulfate, hydrogen peroxide, potassium phosphate, neocuproine은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사로부터, acetic acid 및 acetone, sodium hydroxide은 Junsei Chemical(Tokyo, Japan)사로부터 구입하였으며 2,2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride(AAPH)은 Wako Pure Chemical(Osaka, Japan)로부터 구입하여 사용하였다. 분양 균주의 활성화 및 배양에 사용된 유산균 배지(Difco™ Lactobacilli MRS broth)는 Becton Dickinson(BD, Franklin Lakes, NJ, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 분석기기로는 Agilent 6890 GC system 및 gas chromatography(GC) HP-5890, mass spectroscopy(MS) HP-5973, APK 2100 Thermal Desorber는 Donam Instruments Inc.(Seongnam, Korea), Thermal Desorption Unit은 Supelco Analytical Co.(Bellefonte, PA, USA), Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) reader 및 fluorescence reader는 Tecan(Salzburg, Austria)의 기기를 사용하였다.

유산균 발효 마늘 제조 및 가열 처리조건

발효를 통하여 마늘의 자극적 향미를 개선시키기 위해 김치 유래 유산균인 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104를 한국생명공학연구원 생물자원센터 유전자은행(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)로부터 분양 받아 사용하였다. 미리 준비된 균주가 배양된 평판배지에서 1개의 콜로니를 취해 121°C에서 20분간 멸균된 MRS broth에 접종하고 37°C에서 24시간 동안 정치 배양하여 종균 배양액을 얻었다. 이렇게 얻은 종균 배양액을 3%(w/w)가 되도록 멸균 배양액에 접종한 후 동일 조건 하에서 배양하여 starter를 제조하였다. 발효용 배지에 사용된 원료의 비율은 마늘 10%(w/w), dextrin 5%(w/w), 효모 추출물 0.5%(w/w), 그리고 정제수 84.5%(w/w)였다. 제조된 유산균 발효 마늘은 100°C에서 2시간 열처리 하였다. 유산균 발효 마늘 제조 및 열처리 과정은 Fig. 1에 도식화 하였다. 발효 및 열처리 과정을 거치지 않은 동결건조 마늘시료는 G, 발효과정을 거친 마늘시료는 FG, 발효과정을 거친 FG를 100°C에서 2시간 열처리 한 마늘시료를 FG-H로 이후 표기하였다.

휘발성 향기성분 분석

마늘의 휘발성 향기 성분은 APK 2100 Thermal Desorber를 이용하여 Table 1의 조건으로 nitrogen pure and trap (NPT)방법으로 포집하였다. 즉, G 및 FG, FG-H 시료를 각

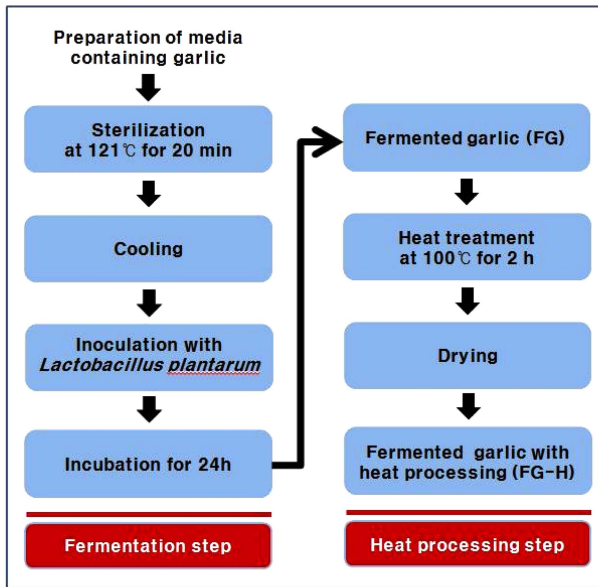


Figure 1. Flow diagram of prepared FG and FG-H.

Table 1. Purge and trap conditions for analysis of volatile components.

External standard	Air sample (200 mL)
Desorb time	5 min
Desorb flow	20 mL/min
Trap temperature	-20°C
Trap desorb temperature	330°C
Trap desorb time	5 min
Valve temperature	200°C
TR line temperature	200°C

각 20 ml strip vial에 넣고 40°C에서 10분간 예열한 후 관을 통하여 질소를 220 mL/min의 속도로 시료 속으로 흘러보냈다. 시료로부터 빠져 나온 휘발성 성분을 200 mg의 Tenax-TA(KnR Co., Ltd., Seongnam, Korea)로 채워진 유리 튜브(150×4 mm)로 40°C에서 3분간 통과시켜 포집하였고, 포집 후 Tenax 튜브의 수증기를 제거하기 위하여 튜브를 70°C로 2분간 가열하였다. Tenax 튜브는 Thermal Desorption Unit에 위치시켜 포집되었던 휘발성 성분을 250°C에서 탈착시키고 20 mL/min 속도의 헬륨 가스와 함께 200°C로 미리 가열된 스테인레스 스틸선을 통하여 GC에 직접 주입하여 분석하였으며 분석조건은 Table 2와 같다.

ORAC 분석법을 이용한 peroxy radical 소거활성 (ORAC_{ROO·})

마늘시료 G 및 FG 그리고 FG-H의 peroxy radical 소거활성은 ORAC 방법을 이용하여 평가하였으며, Kurihara 등의 방법을 일부 변형하여 사용하였다(Kurihara et al., 2004). 분석에는 형광의 간섭을 최소화하기 위하여 96-well black

Table 2. Analysis condition of GC/MS for volatile components.

Instrument	GC : HP 5890 MS : HP 5973
Column	HP-5, 60 m×0.25 mm(I.D.), 0.25 μm
Transfer line temperature	250°C
Injector temperature	250°C
Flow rate	Helium 5 mL/min
Column temperature	Programmed from 35°C to 240°C, 10°C/mL 240°C to 300°C, 20°C/mL Initially hold up at 35°C for 5 min Finally hold up at 300°C for 4 min
Ionization	EI(70 eV)

microplate(flat bottom type)를 사용하였다. 75 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 녹인 100 μL의 40 nM fluorescein을 plate에 넣은 뒤 같은 buffer에 녹인 각각의 시료 G 및 FG 그리고 FG-H를 50 μL씩 plate에 넣었다. 그 후 바로 peroxy radical을 생성하는 50 μL의 20 mM AAPH를 넣어 혼합해 주었다. AAPH와 대조군으로 사용된 수용성 비타민 E 유도체인 trolox는 매 실험에서 새로 만들어 사용하였다. 형광분석기(Tecan)는 측정 전 reaction mixture가 담긴 96-well plate를 10 초 동안 shaking 한 후 5 초 동안 안정화하도록 설정하였다. 시료는 총 200 분 동안 형광을 측정하도록 설정되었으며, fluorescein은 excitation wavelength 485 nm, emission wavelength 535 nm에서 측정하였다. 최종 결과는 측정시료의 형광값과 blank의 형광값 간의 넓이 차이로 계산하였으며 모든 결과는 trolox 당량(TE, Trolox Equivalents, μM)로 환산하여 나타났다.

ORAC 분석법을 이용한 hydroxyl radical 소거활성 (ORAC_{HO·})

마늘시료 G 및 FG 그리고 FG-H의 hydroxyl radical 소거활성은 Cao 등의 방법을 일부 변형하여 사용하였다(Cao et al., 1997). 75 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 녹인 50 μL의 80 nM fluorescein을 plate에 넣은 뒤 같은 buffer에 녹인 각각의 시료 G 및 FG 그리고 FG-H를 50 μL씩 plate에 넣었다. 그 후 바로 hydroxyl radical 100 μL의 Cu²⁺-H₂O₂(CuSO₄, 5 μM, H₂O₂ 0.75%)를 넣어 혼합해 주었다. 그 외 형광분석기 설정과 최종결과의 계산법은 peroxy radical 소거활성 분석법과 동일한 방법으로 측정하였다.

환원력(Reduction capacity)

시료의 환원력은 Cu⁺²로부터 첨가된 시료에 의해 생성되는 Cu⁺¹이온을 측정함으로써 분석하였다. 즉, 10 mM phosphate buffer(pH 7.4)에 용해시킨 100 μM CuCl₂용액 20 μL와 동일한 buffer에 용해시킨 250 μM neocuproine용액 80 μL를 혼합한 다음 측정시료 40 μL를 첨가하고 실온에서 1 시간 반응시키고 반응액 200 μL를 96 well microplate로

Table 3. Sulfur containing-volatile contents in garlic samples.

Compounds	Peak area		
	G ¹⁾	FG ²⁾	FG-H ³⁾
Allyl methyl sulfide	162,983	137,635	18,237
Allyl sulfide	1,841,891	1,453,073	276,441
Diallyl disulfide	10,655,672	1,077,794	291,767
Total	12,660,546	2,668,502	568,208

¹⁾G: Freeze dried garlic

²⁾FG: Fermented garlic with *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104

³⁾FG-H: FG with heat processing at 100°C for 2 h

흡거 454 nm에서 ELISA로 흡광도를 측정하였다. Sample blank로는 CuCl₂ 용액 대신에 10 mM phosphate를 사용하였으며, 시료의 환원력은 Cu⁺/neocuproine의 extinction coefficient (7.95×10³ M⁻¹cm⁻¹)를 사용하여 흡광도로부터 계산된 Cu⁺의 농도로서 표시하였다.

Metal chelating 활성

마늘시료 G 및 FG, FG-H의 metal chelating 활성은 2가 금속이온 센서로 잘 알려진 calcein을 이용하여 Argirova 등의 방법을 일부 변형하여 사용하였다(Argirova et al., 2003). 먼저 100 µL에 0.4 µM CuSO₄ 용액과 0.2 µM calcein을 잘 혼합한 후 혼합한 용액 100 µL와 준비된 시료 100 µL 잘 섞어준 후 96-well black plate에 넣고 형광분석기에서 calcein의 형광 강도를 excitation wavelength 485 nm, emission wavelength 535 nm에서 측정하였다. CuSO₄를 첨가하지 않은 군을 control로 하여 fluorescence intensity(% of control)를 계산하였다.

통계분석

모든 데이터는 평균±표준편차로 표현하였으며, 통계처리는 Statistical Package for Social Science(SPSS, Chicago, USA)을 이용하여 분석하였다. 신뢰수준 $p < 0.05$ 에서 평균값들에 대한 유의성을 검증하였으며 각 항목은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA) 하였고, 각 구간의 유의성 차이는 t -test로 검증하였다(* < 0.05 , ** < 0.01 , 그리고 *** < 0.001).

결과 및 고찰

휘발성 향기성분

Allyl methyl sulfide, allyl sulfide, 그리고 diallyl disulfide는 마늘의 대표적인 자극적 향기성분으로 잘 알려져 있다(Kim et al., 2005; Jeon et al., 2012). 마늘 시료의 휘발성 황 화합물을 분석한 결과는 Table 3과 같이 *L. plantarum*으로 유산균 발효시킨 FG의 경우 무처리한 마늘 시료 G에 비하여 allyl methyl sulfide 및 allyl sulfide, diallyl disulfide가 각각 15.6%, 21.1%, 89.9%씩 휘발성 황 화합물이 감소하였다. FG를 100°C에서 2 시간 동안 열처리한 FG-H의 경우 G 시

료 대비 allyl methyl sulfide 및 allyl sulfide, 그리고 diallyl disulfide가 각각 100.0%, 85.0%, 97.3%씩 감소하였다. 이 결과는 유산균 발효를 통해서 마늘의 자극적 향미를 개선할 수 있다는 것을 나타내며, 발효와 열처리 방법을 병행할 시 휘발성 황 화합물로 인한 자극적 향미는 대부분 소실됨을 확인시켜 준다.

ORAC을 이용한 항산화 활성 분석

다음으로 마늘의 유산균 발효 및 열처리가 항산화 활성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 하였다. 많은 연구자들에 의해 항산화 활성을 분석하는 다양한 방법들이 보고되어 있으며 그 중 oxygen radical absorbance capacity (ORAC) 분석법은 Ghiselli와 Glazer 연구팀에 의해 최초 시도 되었고, 현재의 ORAC 분석법은 Cao 연구팀이 발전시킨 분석방법이 널리 이용되고 있다(Prior et al., 2005). ORAC 분석법은 식품성분은 물론 다양한 식물소재, 생물체의 조직 및 혈액까지 분석이 가능하여 활용도가 크며, 유럽 식품안전청 EFSA, European Food Safety Authority)과 미국 농무성 USDA(United States Department of Agriculture)에서 대표적인 항산화 지표로서 ORAC value를 제시하고 있다. 현재 AAPH를 peroxy radical generator로 사용하여 항산화 활성을 측정하는 ORAC_{ROO·} 방법과 전이금속이온(Cu²⁺, Fe²⁺ 등)+H₂O₂ 혼합물을 hydroxyl radical generator로 사용하여 항산화 활성을 측정하는 ORAC_{HO·} 방법이 가장 널리 사용되고 있다. Peroxy radical의 생성은 특히 지방 산화를 촉진하는 reactive oxygen species(ROS)로 잘 알려져 있으며, 피부의 지질막 손상과도 연관이 있다. Hydroxyl radical은 생성시간이 지극히 짧고 가장 반응성이 큰 ROS로 알려져 있으며, 특히 생물체의 DNA를 손상시킬 수 있는 것으로 보고되고 있어 피부암을 비롯한 암의 발생과 밀접한 관련이 있을 것으로 생각된다(Valko et al., 2006).

Peroxy radical 소거활성

동결건조 마늘 G는 50 µg/mL이 분석에 사용되었으며, 발효처리만 거친 FG와 FG에 열처리를 한 FG-H 시료는 50 그리고 100 µg/mL의 농도가 항산화 분석에 사용되었다. 그 이유는 FG와 FG-H 시료에 포함된 순수 마늘함량은 FG와 FG-H 총량의 50%이기 때문에 100 µg/mL의 FG와 FG-H에 포함된 마늘함량은 G의 50 µg/mL과 같기 때문이다. G 및 FG, 그리고 FG-H의 peroxy radical 소거활성을 측정한 결과 Fig. 2와 같다. 50 µg/mL 농도에서 각각 2.96, 1.46, 그리고 2.28 TE의 peroxy radical 소거활성을 나타냈으며, 100 µg/mL의 FG와 FG-H는 각각 2.59 그리고 4.44 TE의 peroxy radical 소거활성을 나타냈다. FG와 FG-H는 50 그리고 100 µg/mL의 농도에서 AAPH에 대해 농도 의존적인 peroxy radical 소거활성을 나타냈으며, G 시료와 비교하여 50 µg/mL의 농도의 FG는 유의적으로 peroxy

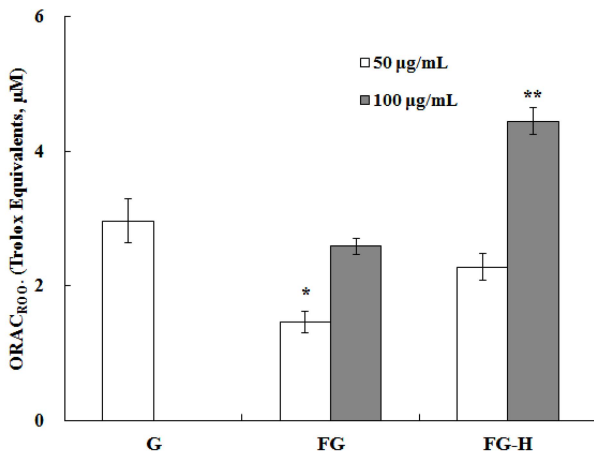


Fig. 2. Anti-oxidant activities of G, FG, and FG-H against peroxy radicals. The results represent the mean with standard deviation (n=9) obtained from three individual experiments. Different letters above bar indicate significant differences G vs FG or FG-H by *t*-test (*<0.05, **<0.01). G: Freeze dried garlic, FG: Fermented garlic with *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104, FG-H: FG with heat processing at 100°C for 2 h.

radical 소거활성이 낮았으며, FG에 열처리를 한 FG-H시료는 G시료와 차이가 없었다. 그러나 같은 마늘함량을 가진 100 μg/mL의 FG-H는 G 시료와 비교하여 유의적으로 높은 peroxy radical 소거활성을 보였으며, 100 μg/mL의 FG와 50 μg/mL의 G 시료 간 유의적인 차이는 없었다. ORAC_{ROO} 분석법은 시료의 수소이온 전이활성에 기반을 둔 분석법으로 AAPH에 의해 생성된 peroxy radical ROO·은 항산화제(AH)의 수소이온 전이에 의해 안정화 된다(1st: ROO·+AH → ROOH+A·, 2nd: ROO·+A· → ROOA). 따라서 본 결과가 의미하는 바는 발효과정은 마늘의 수소이온 전이활성에 크게 영향을 미치지 못하지만 발효 후 열처리는 마늘의 수소이온 전이활성을 향상시킨다는 것을 알 수 있었으며, 증가된 수소이온 전이활성은 peroxy radical 소거활성을 증가시키는 것으로 생각된다.

Hydroxyl radical 소거활성

시료 G, FG 그리고 FG-H의 hydroxyl radical 소거활성을 측정된 결과 Fig. 3과 같이 50 μg/mL 농도에서 각각 0.18, 1.36, 그리고 3.43 TE의 hydroxyl radical 소거활성을 나타냈으며, 100 μg/mL의 FG와 FG-H는 각각 2.94 그리고 8.37 TE의 hydroxyl radical 소거활성을 나타냈다. FG와 FG-H는 50 그리고 100 μg/mL의 농도에서 Cu²⁺-H₂O₂에 의해 생성된 hydroxyl radical에 대하여 농도 의존적인 소거활성을 나타냈다. 또한 50 그리고 100 μg/mL 농도에서의 FG와 FG-H는 모두 G 시료와 비교하여 유의적으로 높은 hydroxyl radical 소거활성을 나타냈다. Hydroxyl radical 소거활성에 기여하는 주요한 2 가지 인자로서 전자공여능(electron donating activity)과 metal chelating 활성이 잘 알려져 있다. Hydroxyl

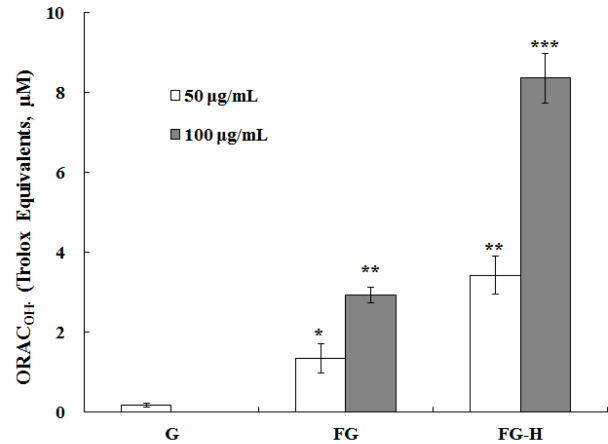


Fig. 3. Anti-oxidant activities of G, FG, and FG-H against hydroxyl radicals. The results represent the mean with standard deviation (n=9) obtained from three individual experiments. Different letters above bar indicate significant differences G vs FG or FG-H by *t*-test (*<0.05, **<0.01, and ***<0.001). G: Freeze dried garlic, FG: Fermented garlic with *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104, FG-H: FG with heat processing at 100°C for 2 h.

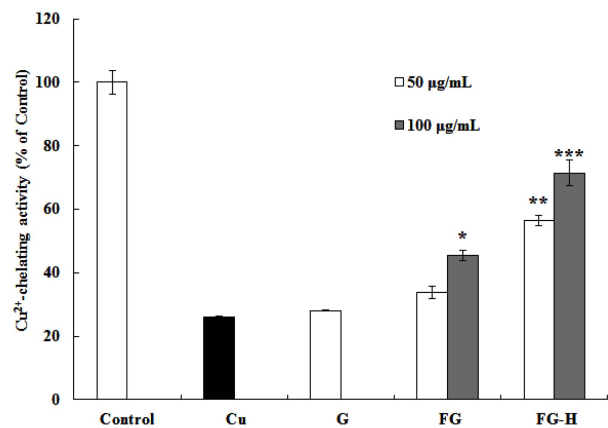


Fig. 4. Reduction capacities of G, FG, and FG-H. The results represent the mean with standard deviation (n=9) obtained from three individual experiments. Different letters above bar indicate significant differences by *t*-test (*<0.05, **<0.01, and ***<0.001). G: Freeze dried garlic, FG: Fermented garlic with *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104, FG-H: FG with heat processing at 100°C for 2 h.

radical은 Fenton reaction(2 가 전이금속+H₂O₂→ HO·)을 통해 생성되는 것으로 알려져 있는데 전자공여능은 생성된 HO·에 전자를 주어 HO·를 안정시키는데 기여할 수 있으며, metal chelating 활성은 2 가 전이금속이 H₂O₂와 반응하는 것을 차단 또는 지연시킴으로써 HO· 생성을 억제시킬 수 있다. 따라서 마늘 시료의 hydroxyl radical 소거활성에 어떠한 인자가 기여하는지 알아보기 위하여 환원력과 metal chelating 활성을 분석하였다.

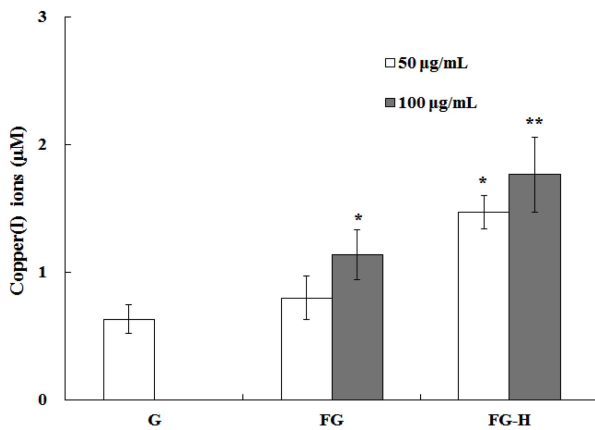


Fig. 5. Metal chelating activities of G, FG, and FG-H. The results represent the mean with standard deviation (n=9) obtained from three individual experiments. Different letters above bar indicate significant differences by *t*-test (*<0.05, **<0.01, and ***<0.001). G: Freeze dried garlic, FG: Fermented garlic with *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104, FG-H: FG with heat processing at 100°C for 2 h.

환원력 측정 (Reduction capacity)

각 시료의 전자공여능은 환원력으로 평가하였으며 환원력 측정은 ORAC_{HO} 시험과 같이 Cu²⁺을 사용하였고, Cu²⁺ 이온을 시료가 Cu⁺ 이온으로 환원시키는 능력을 측정하여 평가하였다. 마늘 시료의 환원력을 측정한 결과, Fig. 4와 같이 FG와 FG-H는 모두 농도 의존적으로 환원력이 증가하였다. 50 µg/mL의 G는 발효처리를 한 FG와 유의적인 환원력의 차이를 나타내지 않았지만, 발효와 열처리를 함께 한 FG-H는 G에 비하여 유의적으로 환원력이 증가하였다. 이 결과는 열처리가 마늘 시료의 환원력 증가를 통한 생성된 HO₂를 안정화 시키는데 기여할 수 있다는 가능성을 보여준다. 또한 50 µg/mL의 G 시료에 비하여 같은 마늘함량을 가진 100 µg/mL의 FG와 FG-H는 모두 G에 비하여 유의적으로 높은 환원력을 나타냈다. 흥미롭게도 G 및 FG, FG-H의 환원력 결과는 시료의 hydroxyl radical 소거활성과 유사한 패턴을 나타냈다.

Metal chelating 활성

시료 G 및 FG, FG-H의 metal chelating 활성을 측정하여 각 시료가 H₂O₂와의 Fenton reaction을 억제 또는 차단할 수 있는지의 가능성을 평가하였다. 시료의 metal chelating 활성을 측정한 결과 Fig. 5와 같이 환원력 결과와 유사하게도 50 µg/mL의 G는 발효처리를 한 FG와 유의적인 metal chelating 활성의 차이를 나타내지 않았지만, 발효와 열처리를 함께 한 FG-H는 G에 비하여 유의적으로 metal chelating 활성이 증가하였다. 또한 FG와 FG-H는 농도 의존적인 metal chelating 활성을 나타냈다. 반면 아무것도 처리하지 않은 G 시료는 Cu²⁺만 첨가한 군과 차이를 보이지 않았다.

Metal chelating에 관여하는 활성물질은 발효와 열처리 과정을 통해 새로이 생성되는 물질로 추측되며, FG와 FG-H의 hydroxyl radical 소거활성에 환원력과 metal chelating이 복합적으로 작용하여 기여하는 것으로 추측된다.

요 약

마늘의 다양한 생리활성 기능은 잘 알려져 있음에도 불구하고 휘발성 황 화합물을 비롯한 마늘의 독특한 향과 맛으로 인해 가공식품 및 건강기능식품으로 활용하는데 있어 제한점이 많다. 따라서 본 연구에서는 대표적인 김치 발효 균인 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104를 이용하여 마늘을 유산 발효시키고, 발효 마늘을 다시 적정 온도로 가열 처리함으로써 발효과정과 열처리가 마늘의 휘발성 황 화합물과 항산화 활성에 어떠한 영향을 미치는지 평가하고자 하였다. 본 연구의 결과를 요약하자면 다음과 같다. (i) 마늘에 존재하는 주요 휘발성 황 화합물인 allyl methyl sulfide 및 allyl sulfide, diallyl disulfide는 발효과정과 발효와 열처리 병행과정에서 감소하였으며 특히 열처리는 마늘의 자극적 향미성분을 감소시키는데 크게 기여하였다. (ii) 무처리한 G와 발효를 한 FG, 그리고 발효와 열처리를 병행한 FG-H 간에 유의적인 peroxy radical 소거활성은 차이는 없었다. (iii) 발효와 열처리를 병행한 FG-H는 마늘시료 G에 비하여 hydroxyl radical 소거활성이 증가하였으며 이 증가된 hydroxyl radical 소거활성은 발효 및 열처리를 통해 새로이 생성된 물질에 의한 환원력 및 metal chelating 활성 증가에 기인된 것으로 추측된다. 이상의 연구결과는 발효 및 열처리를 통해 마늘의 자극적 향미를 개선할 수 있다는 가능성을 제시할 뿐만 아니라, 발효 및 열처리 마늘은 항산화 활성, 특히 hydroxyl radical 소거활성이 증가된 식품개발에 기초자료로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

Argirova MD, Ortwerth BJ. 2003. Activation of protein-bound copper ions during early glycation: study on two proteins. Arch. Biochem. Biophys. 420: 176-184.
 Byun PH, Kim WJ, Yoon SK. 2001. Effect of extraction conditions on the functional properties of garlic extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 507-513.
 Cao G, Sofic E, Prior RN. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. Free Radical Bio. Med. 22: 749-760.
 Cardelle-Cobas A, Moreno FJ, Corzo N, Olano A, Villamiel M. 2005. Assessment of initial stages of Maillard reaction in dehydrated onion and garlic samples. J. Agri. Food Chem. 53: 9078-9082.
 Jeon SY, Baek JH, Jeong EJ, Cha YJ. 2012. Volatile flavor compounds in commercial black garlic extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 116-122.

- Jo HJ, Choi MJ. 2002. Effect of 1% garlic powder on serum and liver lipid and plasma amino acid concentration in rats fed cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 98-103.
- Kim GN, Lee JS, Song JH, Oh CH, Kwon YI, Jang HD. 2010. Heat processing decreases Amadori products and increases total phenolic content and antioxidant activity of Korean red ginseng. *J. Med. Food.* 13: 1478-1484.
- Kim HY, Woo KS, Hwang IG, Lee YR, Jeong HS. 2008. Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 166-170.
- Kim YD, Seo JS, Kim KJ, Kim KM, Hur CK, Cho IK. 2005. Component analysis by different heat treatments of garlic (*Allium sativum* L.). *Korean J. Food Preserv.* 12: 161-165.
- Kim YS, Seo HY, No KM, Shim SL, Yang SH, Park ER, Kim KS. 2005. Comparison of volatile organic components in fresh and freeze dried garlic. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 885-891.
- Kurihara H, Fukami H, Asami S, Toyoda Y, Nakai M, Shibata H, Yao XS. 2004. Effects of oolong tea on plasma antioxidative capacity in mice loaded with restraint stress assessed using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Biol. Pharm. Bull.* 27: 1093-1098.
- Kwon OC, Woo KS, Kim TM, Kim DJ, Hong JT, Jeong HS. 2006. Physicochemical characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) on the high temperature and pressure treatment. *Korean J. Food Sci. Tech.* 38: 331-336.
- Lee JS, Kim GN, Lee SH, Kim ES, Ha KS, Kwon YI, Jeong HS, Jang HD. 2009. In vitro and cellular antioxidant activity of arginyl-fructose and arginyl-fructosyl-glucose. *Food Sci. Biotechnol.* 18: 1505-1510.
- Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53: 4290-4302.
- Shin DB, Lee YC, Kim JH. 2000. Changes in quality of garlic during frozen storage. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 102-110.
- 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.
- Sohn KH, Lim JK, Kong UY, Park J, Noguchi A. 1996. High pressure inactivation of Alliinase and its effects on flavor of garlic. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 593-599.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem-biol. Interact.* 160: 1-40.