

발간 등록번호
---------

11-1541000-001436-01
----------------------

**수출 전략형 신수요 창출을 위한 홍마늘 및  
바이오 식품 개발**

(Development of red-garlic and its bio-food for  
create new market demand and develop of  
export items)

**경상대학교**

**농림수산식품부**

# 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “수출 전략형 신수요 창출을 위한 홍마늘 및 바이오 식품 개발” 과제  
(제 1 세부과제 “홍마늘 품질특성 및 생리활성 규명”  
제 2 세부과제 “홍마늘의 항비만 및 항염증 활성 메카니즘 규명”  
제 1 협동과제 “홍마늘의 유용물질 분리 및 바이오 푸드 개발”  
제 2 협동과제 “홍마늘의 가공조건 설정 및 생산공정 개발”)의 최종보고서로 제출합  
니다.

2012년 4월 9일

주관연구기관명 : 경상대학교

주관연구책임자 : 성 낙 주

세부연구책임자 : 강 다 원

협동연구기관명 : (재)남해마늘연구소

협동연구책임자 : 신 정 혜

협동연구기관명 : 새남해협동조합

협동연구책임자 : 박 종 일

## 요 약 문

### I. 수출 전략형 신수요 창출을 위한 홍마늘 및 바이오 식품 개발

### II. 연구개발의 목적 및 필요성

생활수준의 향상과 식생활의 다양화로 현대사회는 서구화된 식습관, 식생활의 불균형, 정제된 간편식의 애용으로 만성질환의 발생이 점차 증가되고 있다. 이로 인한 고지혈증, 심장질환, 암, 당뇨병 및 고혈압성 질환 등과 같은 대사성 질환이 사회문제로 대두되고 있으며, 현대인에게 주요 사인으로 지적되고 있다. 대사성 질환의 대표적인 원인인 되는 것으로 체내 지질 수준을 들 수 있는데, 체내 지질의 과다 축적으로 발생하는 비만은 외형상의 문제 뿐 아니라 상기에 나열된 각종 질병을 유발할 수 있는 인자로 전 세계적으로 많은 관심이 모아지고 있으며, WHO에서는 건강을 해치는 단순위험 인자로 영양문제로 접근하기보다는 치료해야 할 질병으로 인식하고 있다. 더욱이 국제비만대책위원회(International Obesity Task Force; IOTF)에 따르면 전 세계 인구의 25%인 17억이 체중감량이 필요하며, 미국 국립보건 통계센터(National Cancer for Health Statics : NCHS)는 미국 성인의 61%를 과체중으로 26%를 비만으로 분류하고 있어 오늘날 비만은 우리나라 뿐만 아니라 전 세계적으로 심각한 질환으로 인식되고 있는 실정이다. 따라서 비만의 치료를 위하여 운동이나 식이요법을 통한 생활습관의 개선, 약물요법, 수술을 통한 치료법 등이 활용되고 있으며, 현재 항비만 치료약은 미국에서만 100여종 이상이 개발·판매되고 있으며 비만 인구의 증가와 더불어 그 시장은 점차 더 커질 전망이다. 그러나, 비만 치료용 약제는 혈압을 높이므로 심혈관 질환자에게는 위험을 증가시키거나 복부팽만감, 소화기 장애, 지방변, 어지러움, 구갈, 변비, 배변실금, 지용성비타민의 흡수 방해 등의 부작용을 유도한다는 보고도 있다.

따라서 과거로부터 섭취하여 안정성이 입증된 천연식품을 소재로 하는 비만 치료제의 개발은 소비자뿐만 아니라 많은 연구자들의 주요 관심이 되고 있는데, 현재까지 비만의 예방 및 치료를 위하여 식품에 함유된 일부 영양소, 식이섬유, phytochemical 등을 소재로 하는 저열량 식사대용품, 다이어트보조용 영양보충식품, one-food diet, 열량 감소용 대체감미료 및 대체지방이 개발되어 사용되고 있다. 항비만 효과가 있는 천연 식품소재의 예를 보면 식욕억제에 관여하는 물질로는 hydroxycitric acid(HCA), olibra, 치커리, 이눌린 등이 있으며, 열발생 유도로서 지방축적을 억제하는 물질로서 고추의 capsaicin, 녹차의 catechin,

레티노익산 등, 지방의 소화와 흡수를 저해하는 물질로서 chitosan, flavonoids 등, 지질대사를 조절하는 conjugated linoleic acid(CLA) 등, 이외 천연소재를 혼합한 복합물의 상승효과와 관련한 보고가 있다.

마늘은 체내 노폐물의 배설을 촉진하고, 고지혈증의 예방과 완화 효과를 갖는다는 연구 보고들로 미루어 볼 때 체지방 감소 및 지방의 흡수 억제 효능이 있기 때문에 비만 증상의 완화 효과를 나타낼 것으로 판단된다. 또한 염증, 류마티즘에 유효하며 면역조절 작용을 갖는다고 보고되어 있어 비만과 관절 염증을 밀접한 상관성이 있으므로 항염증 효과는 비만으로 인하여 야기되는 2차 질병인 관절염 증상을 완화하는 효과도 있을 것으로 생각된다. 특히 마늘은 식품으로서의 가치뿐만 아니라 안전성이 이미 확보되어 있으며 다양한 약리적 효능이 잘 알려져 있어 건강지향적인 현대인의 성향과 대체의학과 자가 치료에 대한 관심이 증대되고 있는 사회적인 경향에 부합하는 기능성 식품으로 널리 애용되고 있다. 마늘에 함유되어 있는 주요 황화합물인 alliin과 diallyl disulfide, S-allyl-L-cysteine 등은 강력한 살균작용, 성장작용, 피로회복, 이뇨작용, 말초혈행개선, 항동맥경화, 항고혈압, 항산화작용, 항노화, 면역기능 조절 및 항암 등 다양한 생리활성을 발현하며, 비 황화합물인 spirostanol 형의 saponin, fructan, F-4 등의 기능성 발현물질은 생마늘, 열수 추출 및 용매별 추출, 가열처리 등 다양한 형태와 방법으로 가공이 가능하므로 마늘은 식품소재산업, 의약산업 등에 활용가능하고 타 식품과도 융합이 가능한 우수한 기능성 식품이라고 판단된다.

국내의 농산업은 노동력부족, 수입시장의 개방 등으로 인하여 기존의 농업을 대신할 수 있는 고소득 특화 작물의 재배 및 고부가가치 창출을 위한 상품화와 판로개척을 통한 경쟁력 확보가 절실하다. 기존 국내 마늘의 생리활성에 관한 연구가 고지혈증과 동맥경화, 항산화, 피로회복 등에 국한되어 있음을 감안 할 때 마늘의 새로운 생리활성을 규명하기 위한 연구도 필요하리라 생각된다. 현재 마늘의 대표적인 가공품으로 흑마늘을 들 수 있는데, 그 생리활성은 우수하나, 장시간의 가공공정으로 인한 생산비용이 높으며, 진한 흑색으로 타 식품과의 융합이 어렵다는 단점이 있다.

따라서 본 연구에서는 갈변반응을 통하여 새로운 기능성 물질이 생성되는 홍마늘을 개발하고, 이에 대한 품질특성 및 생리활성에 대한 객관화된 자료를 얻어 국내외 신수요 확대를 위한 경쟁력의 확보 및 수출을 위한 전략상품으로 제안하고자 하였다. 또한 지속적이고 안정적인 농업소득기반 확충을 위해서는 식품산업을 고부가가치 산업으로 육성하여, 식품산업 관련 인프라의 확충과 육성에 중점 지원함으로써 산지가공 산업이 활성화되어 지역기반 농산물로부터 안전한 고품질 식품을 생산하여 수입농산물의 차별화 및 경쟁력을 확보하고자 하였다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

#### □ 홍마늘의 품질특성 및 생리활성 규명

- 홍마늘의 생리활성 스크리닝
  - 홍마늘의 주된 생리활성을 확인하고자 *in vitro* 상에서 항산화, 미백 및 항비만에 대한 활성을 생마늘 및 흑마늘과 비교 분석함.
  - 홍마늘 제조공정 단계별 이화학적 특성 분석
  - 최적 조건에서 생산된 홍마늘 열수 추출물의 생리활성 분석
  - 홍마늘 용매별 추출물의 생리 활성 연구
- 실험동물을 통한 *in vivo* 항비만 활성 및 안전성 시험
  - 홍마늘 동결건조 분말 혼합 급이가 비만유발 흰쥐의 체내 지질조성에 미치는 영향 분석
  - 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 동결건조 분말간의 항비만 활성 비교 분석
  - 홍마늘 열수추출물의 농도별 급이가 비만쥐의 혈액, 장기조직 및 분변지질 조성에 미치는 영향 분석
  - 항비만 홍마늘 조성물의 혼합 급이가 비만유발 흰쥐의 혈청 지질조성에 미치는 영향 분석
  - 홍마늘 추출물과 조성물과의 안전성 비교 분석
  - 항비만 홍마늘 조성물의 혼합 급이의 안전성 분석

#### □ 홍마늘의 항비만 및 항염증 활성 메카니즘 규명

- 지방세포를 활용한 홍마늘의 항비만 및 항염증 활성 평가
  - 홍마늘 유용물질의 전구 지방세포와 지방줄기 세포 분화조절 가능성 및 증식 억제능력평가
  - 지방세포 증식 억제에 있어서 홍마늘의 유용물질과 여타마늘과의 비교분석
  - 홍마늘 유용물질에 의한 지방세포의 비만 관련 유전자 및 단백질 발현 변화 조사
  - 홍마늘의 유용물질에 의해 활성화된 비만 관련 이온통로 단백질의 발현조사
  - 홍마늘 유용물질의 AMPK 활성화 기능 조사
  - 세포, 조직 및 개체에 대한 독성시험
- 지방세포를 이용한 항비만 활성 메카니즘 연구
  - 비만 관련 유전자 및 단백질 변화에 따른 항비만 기전 분석
  - 이온통로조절에 의한 항비만 기전 분석
  - 홍마늘의 항비만 조절 신호전달체계 구축
- 비만 쥐에서 홍마늘 유용물질에 대한 비만 관련 호르몬 및 성스테로이드 호르몬 농도 변화 측정

## □ 홍마늘의 유용물질 분리 및 바이오 푸드 개발

- 홍마늘 유용물질의 분리 분석
  - 홍마늘 용매별 및 용매 분획별 추출물을 이용한 합항화합물의 스크리닝 및 HPLC 분석
  - 투석막을 이용한 홍마늘 갈변물질의 분리 및 이화학적 특성과 항산화활성을 중심으로 한 생리활성 분석
  - 홍마늘 제조방법의 개선 및 새로운 공정에 따른 홍마늘 제조과정 중 품질특성 및 이화학적 변화(생마늘, 흑마늘) 분석
- 홍마늘 제품의 기능성 강화를 위한 조성물 개발
  - 문헌검색을 통한 홍마늘과 시너지 효과 창출이 가능한 천연식물류 선별
  - 선별된 천연식물류의 항산화활성, 소화효소 저해활성 및 비만세포에 대한 지방 축적 억제율 비교
  - 홍마늘의 항비만 효과 및 기능성 강화를 위한 최종 천연식물(녹차) 선정
  - 홍마늘과 녹차와의 혼합 비율에 따른 생리활성, 소화효소 저해활성 및 비만세포에 대한 지방 축적 억제율 비교
  - 홍마늘과 녹차 추출물 조성물의 최적 혼합 비율 확정 및 생리활성 분석
- 홍마늘 및 기능성 강화 시제품 개발을 위한 조건 설정
  - 홍마늘과 녹차 함유 항비만 조성물을 이용한 미과립 분말제품 제조를 위한 제조공정 개발 및 시제품 1종 개발
  - 홍마늘과 녹차 함유 항비만 조성물을 이용한 타블렛 제조를 위한 제조공정 개발 및 시제품 1종 개발

## □ 홍마늘의 가공조건 설정 및 생산공정 개발

- 홍마늘 제조를 위한 최적 온도, 습도 및 시간
  - 온도, 습도 및 시간 조건별 홍마늘의 이화학적 특성 분석
  - 간마늘을 이용한 홍마늘 제조 조건의 최적화
  - 연구결과를 활용한 홍마늘 제조방법 특허 출원
- 홍마늘의 산업화를 위한 제형화 방법 확립
  - 건조 방법을 달리한 홍마늘 분말 제조 조건 및 공정개발
  - 추출 방법을 달리한 액상형 제품 제조 조건 및 공정개발
  - 홍마늘 및 녹차 추출물 혼합 병음료의 제조 조건, 공정개발 및 상품화를 위한 디자인 개발
- 마늘 가공품의 시장성 분석
  - 국내외 마늘 생산 현황 및 관련 산업 시장 동향 분석
  - 마늘의 가공 유통 실태조사
  - 국내외 마늘 가공품 개발 현황 및 제품조사를 통한 시장 분석

## IV. 연구개발 결과

### □ 홍마늘 품질특성 및 생리활성 규명

- 홍마늘 제조과정 중 각 단계별 시료 중 수분은 홍마늘의 제조 과정의 진행과 더불어 감소하였고 조단백질 및 회분 함량은 최종 단계에서 가장 높았다. 최종 단계 시료는 갈변 물질과 total thiosulfate 함량이 다른 단계에 비해 높았으며, total pyruvate의 함량은 가장 낮았다. 각 단계별 홍마늘 시료의 항산화 활성은 전반적으로 제조과정의 진행과 더불어 활성이 증가하였으며, 최종 단계 시료에서 가장 높은 활성을 나타내었다.
- 홍마늘 열수추출물의 갈변 물질 함량 및 pH는 생마늘보다 높았으며 흑마늘보다는 다소 낮았다. 총 페놀, 플라보노이드 함량은 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘간에 유의적인 차이를 보였으나, 홍마늘과 흑마늘간에는 비슷한 함량이었다.
- 3종의 마늘 열수추출물의 항산화 활성은 시료의 농도가 증가됨에 따라 활성이 상승되었으며, DPPH, ABTs 라디칼 소거능, 환원력 및 nitric oxide 라디칼 소거능은 생마늘보다 홍마늘 추출물에서 유의적으로 활성이 더 높았다.  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성은 홍마늘이 생마늘보다 유의적으로 높았으며, 흑마늘과는 유의차가 없어, 홍마늘은 흑마늘과 유사한 수준의 생리활성을 갖는 것으로 판단되었다.
- 홍마늘 용매별 분획물의 생리활성을 측정한 결과, 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 hexane 및 chloroform 분획물에서 가장 높았으며, 갈변도는 chloroform 분획물에서 월등히 높았다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능과 FRAP법에 의한 항산화능은 chloroform 분획물에서 높았으며, tyrosinase 및  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 hexane 분획물에서 유의적으로 높았다. 이러한 현상은 기존의 흑마늘 용매별 분획물의 생리활성과 유사한 경향이었으며, 홍마늘의 생리활성에 관여하는 유용물질은 총 페놀, 플라보노이드류와 가공과정 중에 생성된 갈변 물질과 관련성이 높은 것으로 판단되었다.
- 홍마늘, 생마늘 및 흑마늘 분말을 고지방식으로 유도된 비만쥐에 3%의 수준으로 첨가급이한 결과, 식이효율은 마늘 분말 급이군이 대조군에 비하여 낮았으나 유의차는 없었다. 혈청 중 총 지질 함량은 대조군에 비해 7.0~20.9% 범위로 감소하였으며, 중성지질 함량은 대조군에 비해 홍마늘 및 흑마늘 분말 급이군에서 각각 42.08%, 40.80%정도의 유의적인 감소를 보였다.
- 간조직의 총 지질은 대조군에 비해 홍마늘과 흑마늘 급이군이 30%이상 감소되었다. 분변의 지질 함량은 마늘 분말의 급이 기간이 길어질수록 분변 중 지질 배출량이 높았으며, 홍마늘 분말 급이군에서 총 콜레스테롤 및 중성지방의 배출이 유의적으로 증가되었다.
- 혈청과 간조직의 TBARS 함량은 대조군에 비하여 홍마늘과 흑마늘 급이군에서 유의적으로 감소되었다. 혈액 중 항산화능은 홍마늘 급이군에서만 68.05%로 대조군에 비하여 유의적으로 상승되었다. 따라서 고지방식으로 인한 비만 유도 흰쥐에게 홍마늘 분말의 급

이는 체지방 증가 억제, 체내 지질 배출 증가 등의 지질개선 효과를 보였으며, 이러한 현상은 흑마늘과 유사한 수준이었다.

- 고지방식이로 유도된 비만쥐에 15 brix의 홍마늘 열수추출물을 1%, 3%, 5% 및 7%로 식이 중에 첨가급이하하여 항비만 효과 및 체내 지질 함량을 측정된 결과, 비만지수와 체지방량은 3% 이상의 홍마늘 추출물 급이시 대조군에 비해 유의적으로 감소되었으나, 내장 지방 및 부고환 주변지방 함량은 홍마늘 추출물의 급이에 따른 유의차가 없었다. 혈청 중의 총 지질 및 중성지방은 추출물의 첨가량이 증가됨에 따라 유의적으로 감소하였으며, 동맥경화지수와 심혈관질환 위험지수도 감소되었다.
- 간조직 중 총 지질 함량은 5~7%의 홍마늘 추출물 급이군에서 유의적으로 감소되었으며, 홍마늘 추출물의 5%이상 급이시 분변 중에 총 콜레스테롤 및 중성지방의 배설이 증가되었다. 혈청 중 지질 과산화물 함량은 5~7%의 홍마늘 추출물 급이군에서 유의적으로 감소되었으며, 항산화 활성은 7% 급이군에서 유의적으로 상승되었다. 따라서 홍마늘 추출물은 분변으로 콜레스테롤 및 중성지방의 배출을 증가시킴으로써 항비만 효과와 체내 지질 저하 작용을 나타내는 것으로 사료되며, 이러한 홍마늘 열수추출물의 급이량은 5% 이상이 효과적인 것으로 판단되었다.
- 홍마늘을 이용한 제품개발을 위하여 홍마늘 추출물과 녹차, 식이섬유를 혼합하여 제조한 조성물(녹차 조성물, R+T; 식이섬유 조성물, R+F; 녹차·식이섬유 조성물, R+TF)을 고지방-콜레스테롤 식이 급이군(대조군)에 대해 1%로 첨가급이한 결과 식이효율은 대조군과 유의차가 없었다. 간조직의 중량은 정상군에 비해 대조군이 약 2배 정도 증가되었으며, R+T급이군(HR+T군)과 R+TF 급이군(HR+TF군)에서 유의적으로 감소하였다. 내장지방과 부고환 주변지방 함량은 홍마늘 조성물 급이군이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 비만지수는 대조군에 비해 HR+TF군에서만 유의적으로 감소하였다.
- 총 지질, 총 콜레스테롤, 중성지질, LDL- 및 VLDL-콜레스테롤 등의 혈중 지질성분과 동맥경화 지수, 심혈관 질환 위험지수는 대조군에 비해 홍마늘 추출물 및 조성물 급이군에서 유의적으로 감소하였으나, HR+T군, R+F 급이군(HR+F군) 및 HR+TF군간에는 비슷한 수준이었다. GPT 활성은 홍마늘 조성물 첨가군간에는 유의차가 없었으나, 홍마늘 추출물 첨가군보다는 유의적으로 낮은 활성이었다. 지질과산화물 함량은 대조군에 비해 홍마늘 추출물과 조성물 첨가군에서 유의적으로 감소되었으며, 항산화 활성은 HR+T군에서만 유의적으로 증가하였다.
- 항비만 활성이 있는 최적 조성물을 선정하여 C57BL/6 및 ICR 마우스를 대상으로 조성물의 섭취에 따른 단회 독성검사와 장기 독성검사로 구분하여 안전성을 평가하였다. 3주령의 C57BL/6 및 ICR 마우스에 홍마늘 추출물과 조성물(2000 mg/kg과 4000 mg/kg)에 대한 단회 독성 및 장기 독성검사 결과 이상행동, 사망률, 외형 이상 및 부검 후 장기 등의 육안적 병변은 전혀 없었다. 홍마늘 조성물 급이군은 정상군 및 홍마늘 추출물 급이군에 비해 GOT 및 GPT 활성도가 오히려 낮은 경향을 보여 긍정적으로 평가된다.



## □ 홍마늘의 항비만 및 항염증 활성 메카니즘 규명

- 홍마늘 추출물은 활성산소의 생성을 억제시키고, HO-1의 발현을 증가시켜 항산화, 항염증효과에 기여하고, PPAR $\gamma$ 와 LXR $\alpha/\beta$ 를 억제시켜 항비만 효과를 나타내었다.
- 이온통로 조절에 의한 항비만 효과는 지방세포로 분화 후 칼륨통로 및 이온통로의 발현 변화(TASK-1, TRAAK 통로의 유의한 발현 증가, TASK-2 통로의 유의한 발현 감소)와 칼륨통로의 활성제 처리 후 지방세포로의 분화 억제가 관찰되었다.
- 홍마늘의 항염증효과에 있어서, 담배추출물, LPS에 의한 산화 및 염증스트레스로 인해 생성된 활성산소 및 산화질소(NO)는 염증유도물질을 분비하는데 홍마늘 추출물은 HO-1의 생성을 촉진시켜 염증물질, 활성산소 및 산화질소의 생성을 감소시켰다.
- 홍마늘의 항비만 효과는 지방세포 및 비만동물에서 증가된 렙틴호르몬을 홍마늘 추출물이 PPAR $\gamma$ 와 LXR $\alpha/\beta$  전사인자의 발현을 억제시켜 렙틴호르몬 및 다양한 지방관련 분자들의 발현을 억제시켰다.
- 홍마늘 유용물질은 항비만 활성에서 렙틴 농도 뿐만 아니라 에스트로겐의 농도 조절에도 기여하는 것으로 생각되었다. 그러나 cytokine의 농도 조절에는 직접적인 영향이 없었다.

## □ 홍마늘의 유용물질 분리 및 바이오 푸드 개발

- 홍마늘 추출물의 갈변물질 특성과 생리활성을 규명하고자 제 2협동 과제와 연계하여 개발된 홍마늘, 흑마늘 및 생마늘 물추출물을 제조하고 투석막을 이용하여 세포 내액과 외액으로 분리한 후 동결 건조한 시료를 사용하여 항산화활성을 비교 분석하였다.
- 투석액의 pH는 생마늘 및 홍마늘은 외액이 다소 산성화된 경향이었으나, 흑마늘은 외액이 다소 알칼리화 경향을 보였고, 갈변물질은 투석외액의 함량이 더 높았다. 홍마늘 투석액 중 총페놀, 플라보노이드 화합물 및 total pyruvate의 함량은 투석외액에서 더 높았으며, total thiosulfate 함량은 홍마늘의 경우 투석내·외액간에 유의차가 없었다.
- 항산화 활성은 전반적으로 생마늘 < 홍마늘 < 흑마늘의 순이었으며, DPPH 라디칼 소거능은 생마늘 및 흑마늘은 투석내액이, 홍마늘은 외액에서 더 높은 활성을 보였고, tyrosinase 저해활성은 홍마늘 투석액이 생마늘 및 흑마늘에 비해 높은 것으로 나타났다.  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 투석내액이 외액보다 높았으며, 저농도에서 홍마늘은 생마늘보다 높은 활성을 보였다.
- 홍마늘의 주된 물질의 분석방법을 확립하기 위하여 추출용매별 및 분획 용매별 함황화합물의 HPLC 패턴을 분석하고, 이때 최적 분석 조건 설정도 병행하여 실시하였다.
- 홍마늘의 가공단계를 4단계로 구분하고, 숙성과정에 따른 색도, 조직감, 일반성분, pH, 산도, 갈변도, 환원당, 총페놀, total thiosulfate, total pyruvate, 유기산, 유리아미노산 및 S-allyl cysteine(SAC)의 함량을 분석한 결과 홍마늘은 생마늘과 흑마늘의 중간특성을 가지며, 유기산, 유리아미노산의 함량은 생마늘 및 흑마늘보다 높은 함량이었다.
- 홍마늘의 항비만 활성을 강화하고 다양한 기능성 부여를 위한 방안으로 천연식물류가 첨

- 가된 홍마늘 가공품 개발을 위한 기초 연구의 일환으로 연구논문 및 특허 등 문헌조사를 통하여 항비만과 관련 있는 기능성 천연식물류를 조사하였으며, 그 빈도수를 분석하여 천연 식물 소재로 마황, 숙지황, 진피, 구기자, 의이인, 녹차, 창출 및 백출을 선정하였다.
- 천연식물 열수 추출물의 *in vitro*상에서 lipase, amylase, trypsin 및 chymotrypsin에 대한 저해활성 및 비만 세포주에 대한 세포독성과 세포내 지방 축적율을 평가한 결과 홍마늘과 시너지 효과를 발현할 수 있는 천연식물류로 녹차를 선정하였다.
  - 홍마늘과 녹차 추출물을 각각 제조하고, 관능평가 결과에 기초하여 정제수에 재용해한 10% 홍마늘 추출액 : 녹차 분말 = 99~100 : 0.1~0.7의 비율로 5종의 혼합시료를 제조한 후 250, 500, 1000, 2500 및 5000 µg/mL의 농도로 조절하여 항산화활성을 분석하였다.
  - 10% 홍마늘 추출액의 단독 항산화활성 보다는 녹차 추출분말을 첨가함으로써 유의적으로 DPPH, ABTS 라디칼 소거활성이 증가하였으며, ferric-reducing antioxidant power(FRAP) 측정결과에서도 녹차 추출물과 홍마늘 추출물을 혼합한 시료에서 시너지 효과가 높아짐을 확인할 수 있었다.
  - β-caroteine linoleic acid에 대한 항산화활성도 여타 항산화활성 측정 결과와 동일한 경향이었으며, 이상의 항산화활성 결과를 종합하여 볼 때 항산화 활성에 농도 및 녹차 추출물의 첨가량에 따른 차이가 적어지는 최대 혼합비는 10% 홍마늘 추출물 : 녹차 추출분말 = 99.7 : 0.3의 비율이었다.
  - 최종 선정된 홍마늘 및 녹차 추출물 혼합물의 생리활성을 규명하고자 α-amylase, trypsin, chymotrypsin 및 lipase에 대한 저해활성 평가, 콜레스테롤 흡착활성 및 3T3-L1 세포에 대한 세포독성, 지방 축적율을 확인하여 최종 선정된 99.7 : 0.3 혼합물이 항비만 활성을 나타냄을 확인하였다.
  - 연구결과에 기반한 시제품 개발은 2차년도에는 당분이 많고 상대적으로 추출물의 점성이 높은 홍마늘의 특성으로 인하여 분말화를 위한 가공 공정은 먼저 열수 추출물을 제조하고, 15 brix 정도로 농축한 후 유동층 과립기를 활용하여 홍마늘 분말 시제품을 제작하였다.
  - 분말화 공정의 용이성 및 항비만 기능성 강화를 위하여 씨드 부형제로 Citri-fiber를 사용하였으며, 여기에 홍마늘을 코팅하고, 이여 표면에는 유당분말을 코팅함으로써 적절한 크기의 입자를 갖는 홍마늘 분말 시제품을 제조하였다.
  - 3차년도에는 홍마늘 분말 및 홍마늘의 항비만 활성을 강화한 홍마늘과 녹차 추출물 함유 코팅 타블렛 시제품을 제조하였다.

## □ 홍마늘의 가공조건 설정 및 생산공정 개발

- 10회 이상의 반복 실험을 통하여 홍마늘 제조를 위한 온도 범위를 확정하였으며, 홍마늘 제조를 위한 물성 및 외관 성상은 원하는 목표치를 달성하였으나 마늘 자체의 매운 맛이 강하여 이를 감소시킬 수 있는 방안을 모색하고자 계속 반복실험을 수행하였다.

- 마늘의 매운 맛 제거를 위한 최종 방법으로 마이크로웨이브를 활용한 전처리를 실시하였으며, 온도 조건은 고온과 저온으로 반복 조정하여 매운맛을 감소시켰으며, 특유의 씹힘 맛을 갖는 홍마늘의 제조 조건을 확립하였다.
- 홍마늘을 3~4일 이내에 제조하고, 마늘의 매운맛을 제거하기 위해서는 가공 초기에 90℃ 이상으로 가열하여 매운맛을 휘발시키고 이후 40~70℃ 부근으로 감온시켜 간헐 가열함이 적합한 것으로 판단되었다.
- 제조된 최종 홍마늘 시료를 공동연구팀에 제공하였으며, 홍마늘의 품질특성을 위하여 색, 전단가, pH 외에 추출액의 색, 갈변도 및 당도를 측정하여 계획대비 더 명확한 결과를 얻고자 하였다.
- 연구결과를 활용하여 홍마늘의 숙성 및 제조방법, 진액, 음료, 분말의 제조를 위한 공정을 최적화 하였으며, 홍마늘의 항비만 효과를 강화하고자 천연식물류 중 녹차를 혼합한 추출음료 시제품 개발을 추진하였다.
- 본 과제를 통하여 개발된 제품의 홍보 및 마케팅 전략을 수립하고자, 마늘 산업 및 마늘 가공제품에 대한 시장조사를 실시하였으며, 홍마늘이나 이들 가공품은 국내외 어디에도 시판되고 있지 않았다. 따라서 이들 가공품이 새로운 시장에 용이하게 진입할 수 있도록 기존 제품 제형과 유사한 제품으로 만들어 먼저 소비자에게 친밀도를 높이고, 2~3차 가공으로 제형을 변형하는 것이 적합할 것으로 판단되었다.

## V. 연구성과 및 성과 활용계획

### 1) 연구성과

#### (1) 지적 재산권 확보

- 본 과제를 통하여 개발된 깐마늘을 이용한 “숙성 홍마늘의 제조방법” 특허 출원 중.
- 이를 근거로 하여 제조된 홍마늘을 이용하여 생체 내·외 생리활성 분석과 관련된 연구를 통하여 특허 출원 3건(PCT 1건 중복 포함)을 출원 중에 있음.
  
- **숙성 홍마늘의 제조방법(10-2010-0036708, 2010)**
  - 숙성 홍마늘의 제조방법에 관한 특허는 기존에 생마늘을 이용하여 숙성 마늘인 흑마늘을 제조하였으나 흑마늘은 고온에서 장시간 숙성시키기 때문에 제조비용이 높고 고온에서 장시간 숙성하는 단점을 갖고 있으므로 이를 보완한 홍마늘을 제조하고 이에 대해 숙성 홍마늘의 제조방법 특허를 출원하였음
  - 숙성 홍마늘 제조 방법은 생마늘에 적절한 갈변반응을 유도하여 갈변물질로 인한 기능성 물질 증대로 마늘을 활용한 가공제품 개발에 용이하게 사용될 수 있으며 흑마늘 보다 가공 시간이 짧고 제조 비용이 낮아 마늘가공품의 산업화에 기여할 수 있을 것으로 기대됨
  
- **홍마늘 추출물을 포함하는 호흡기 세포 사멸에 의해 유도되는 질환의 예방 및 치료용 조성물(10-2010-0103571, 2010)**
  - 홍마늘 추출물이 호흡기 세포 사멸에 의해 유도되는 질환에 효능을 입증한 결과를 출원한 특허로 호흡기 질환의 예방 및 치료용 조성물로 호흡기 세포사멸에 도움이 됨을 확인하였음
  - 흡연층이 많은 남성에 포커스를 맞추고 호흡기 질환 예방 음료를 개발하는데 다양하게 활용될수 있음
  - 또한 홍마늘 추출물을 포함하는 호흡기 세포사멸에 의해 유도되는 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 특허를 PCT에 등록(PCT/KR2011/007898, 2011)하였으므로 향후 중국, 일본 등 수출을 위한 제품개발에도 적극 활용될수 있을 것으로 기대됨
  
- **홍마늘 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물(10-2011-0094652, 2011)**
  - 홍마늘 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 조성물로 다양한 염증성 질병 예방에 효능이 있어 식품, 준의약품 등 다양한 분야에 적극 활용될수 있음
  - 현대인의 만성퇴성행성 질환, 환경호르몬 및 잘못된 식습관으로 인한 피부 알러지 및 트러블에 관계되는 염증반응을 완화할 수 있는 제품 개발에 적극 활용될 수 있을 것으로 기대 됨.

## (2) 연구논문

- 국내·외 연구논문 6편 투고, 학계 세미나 발표 11건이 완료된 상태이며, 연구논문 3편이 투고 중에 있음.
- **숙성 홍마늘의 생리활성(2010, 생명과학회지)**
  - 숙성홍마늘의 생리활성을 다양한 방법으로 분석한 논문으로 숙성홍마늘의 생리활성 물질에 관한 효능을 분석하여 향후 홍마늘을 이용한 제품개발에 활용될 것임
- **생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 분말이 고지방식으로 유도된 비만 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향(2010, 농업생명과학연구원)**
  - 현대사회는 고 지방식이의 식생활로 인해 비만 인구가 점차증가하고 있는 실정으로 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘이 고지방식으로 유도된 비만 흰쥐의 지질 대사에 미치는 영향을 실험하였음
  - 본 연구에서 수행한 기초 연구를 바탕으로 마늘을 이용한 비만 관련 제품개발에 과학적인 근거자료로 활용하고자 함
  - 또한 이와 연계하여 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘에 대한 지질대사에 미치는 영향 조사로 지질저하에 효능이 있는 제품의 개발에 기초자료로도 활용하고자 함
- **Effect of the red garlic extract for anti-obesity and hypolipidemic in obese rats induced high fat diet(2011, 생명과학회지)**
  - 고지방식으로 유도된 비만 흰쥐에 대한 항비만 및 지질 대사에 홍마늘이 미치는 영향에 대한 연구 결과임
  - 홍마늘이 항비만에 효능이 있다는 사실을 과학적으로 증명된바, 향후 홍마늘을 활용한 항비만 제품 개발의 기초자료로 활용될 것임
  - 향후 건강기능식품으로 인증받기 위한 전 임상단계의 기초 실험으로 홍마늘의 건강기능식품인증 획득에 활용코자 함
- **투석막을 분리한 가공마늘 갈변물질의 생리활성(2011, 한국식품영양과학회지)**
  - 숙성 홍마늘의 생리활성 규명을 위하여 투석막을 이용하여 갈변물질을 분리하고, 항산화 활성을 중심으로 생마늘 및 홍마늘과 생리활성을 비교 분석하였음
- **고지방-콜레스테롤 식이성 흰쥐에서 홍마늘 복합물의 항비만 효과(2012, 생명과학회지)**
  - 고지방-콜레스테롤로 비만 유도된 흰쥐에서 홍마늘 복합물(홍마늘+녹차, 홍마늘+식이섬유, 홍마늘+녹차+식이섬유)의 항비만 효과를 홍마늘과 비교하였음.
  - 홍마늘+녹차 복합물 급이시 혈액의 항산화 활성이 높았으며, 홍마늘+녹차+식이섬유

급이군에서 혈청 지질개선 및 항비만 효과를 보였음.

■ **Aged red garlic extract reduces cigarette smoke extract-induced cell death in human bronchial smooth muscle cells by increasing intracellular glutathione levels(2012, Phytotherapy)**

• 숙성된 홍마늘 추출물이 세포내 글루타치온 수준을 증가시켜 담배연기로 인한 산화적 스트레스 발생시 사람의 기관지 평활근 세포의 사멸을 감소시킨다는 실험 결과를 보고함

■ **Aged red garlic extract reduces lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in Raw 264.7 macrophages and acute pulmonary inflammation through heme oxygenase-1 induction(2012, Acta Physiologica)**

• 홍마늘 추출물은 염증유발물질 LPS에 의해 유발된 대식세포의 염증반응 및 급성 폐손상 모델에서 HO-1의 발현을 증가시켜 염증반응을 억제시키는데, 이는 LPS에 의해 유도된 산화질소의 생성에 있어 홍마늘 추출물의 처리는 iNOS의 발현을 억제하고, HO-1의 활성을 증가시켜 산화질소의 생성을 억제시킴으로써 염증으로부터 세포를 보호한다는 연구 결과임

## 2) 성과 활용계획

### (1) 개발 기술의 기업 이전

■ **숙성 홍마늘 개발**

• 마늘을 활용한 가공품은 단순 가공품에 한정되어 있었으나 최근 블랙 푸드의 열풍으로 마늘을 고온에서 장시간 숙성된 흑마늘이 선풍적인 인기를 얻었음

• 흑마늘은 높은 제조비용과 장시간 가공하는 단점이 있어 이를 해결한 ‘홍마늘’을 제조함으로써 홍마늘 자체로써 제품화가 가능함

• 생리활성물질이 최적화된 홍마늘 가공제조방법 확립으로 현재 남해군 새남해농협에서 대량생산 조건을 확립하였으며, 향후 다른 기업의 수요가 높아지면 기술이전 가능함

■ **홍마늘을 활용한 바이오 푸드 개발**

• 홍마늘의 생리활성 물질 및 효능에 대한 연구로 항염증, 항비만, 지질저하효과가 입증되어 이와 관련된 시제품을 개발하였음

• 홍마늘의 바이오 식품 소재 개발로써 홍마늘 추출물, 홍마늘 농축액, 홍마늘 추출물(분말 및 액상제제) 등의 기초 소재로 활용이 가능함

• 상품화 시제품 홍마늘제품 2종(액상 파우치 제품, 홍마늘 분말제제) 홍마늘 첨가 조성물 제품 3종(액상제품, 분말제품, 타블렛)으로 항비만에 효능이 있는 제품 5종을 개발하여 참여기업인 새남해농협에 대량생산 공정체계를 확립하였으며 향후 기능성 식품으로서의 깊이 있는 연구를 통하여 다른 업체로 기술 이전하여 활용할 수 있음

## SUMMARY

The antioxidant activities of hot water extracts made from fresh, red and black garlic were analyzed. Effects of fresh garlic powder (FGP), red garlic powder (RGP) and black garlic powder (BGP) on serum lipid metabolism in obese rats induced high fat diet were analyzed. The anti-obesity and hypolipidemic effects from red garlic extract of 15 brix (1, 3, 5 and 7% ratio in diet) were tested. Three kinds of dietary composites such as R+T, R+F and R+TF were combined green tea (T), dietary fiber (F) and green tea·dietary fiber mixture (TF) to red garlic extract (RG), respectively. Effect of their diets on the anti-obesity were investigated in the obese rats induced high fat-cholesterol. Finally, safety evaluation from red garlic was tested in the C57BL/6 and ICR mice.

The chromaticity value of red garlic was between fresh and black garlic. Red garlic was similar in browning intensity to fresh garlic. Also, total phenol, flavonoids, total pyruvate and thiosulfate contents were similar between fresh and black garlic. DPPH, ABTs, NO radical scavenging activity and reducing power of red garlic were significantly higher than fresh garlic, but lower than those of black garlic.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity in red garlic was similar to black garlic. Antioxidant activities of red garlic were higher than fresh garlic but lower than black garlic, and it was confirmed that antioxidant activity by production of browning material through the thermal process was the main parameter of the biological activity in the aged red garlic.

Triglyceride content decreased from 40.80% (BGP) to 42.08% (RGP) group as compared to the high fat control group. There was no significant difference in HDL-cholesterol content between groups fed garlic powder and normal group. LDL-C contents of the experimental groups were lower than the control group, but has not showed significant difference compared to control group. Total lipid content was significantly increased in liver compared to the control group, but decreased over 30% in RGP and BGP groups to the control group. The lipid level in feces was increased by feeding periods of garlic powder, while total cholesterol and triglyceride were significantly increased in feces of the group fed RGP. TBARS content in serum and liver of the groups fed RGP and BGP was significantly decreased than the control group. Antioxidant activity of serum was 68.05% in the group fed RGP, which was significantly higher than the control group.

The obesity index and body fat content significantly decreased by feeding over 3% red garlic extract compared to the high fat control group. The weight of visceral and

epididymal fat are not showed significant difference by the feeding red garlic extract. The total lipid and triglyceride level in serum were significantly decreased in a dose-dependent manner, and the atherogenic index (AI) and cardiac risk factor (CRF) also fell. The glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) activities in groups fed red garlic extract were decreased compared to the control group. The total lipid level in liver tissue of the groups fed 5-7% red garlic extract exhibited a significant decrease compared to the control group. The total cholesterol and triglyceride level in feces were significantly increased by feeding over 5% red garlic extract. Lipid peroxide level was significantly decreased in the groups fed 5-7% of red garlic and antioxidant activity in serum was significantly increased in the group fed 7% red garlic extract to the control group.

Male Sprague-Dawley rats were divided into 6 groups (Normal, HFC, HRG, HR+T, HR+F and HR+TF), and then HRG, HR+T, HR+F and HR+TF groups were supplemented with 1% of RG and its dietary composites (R+T, R+F, and R+TF) for 4 weeks, respectively. Final body weight of the HRG, HR+T, HR+F and HR+TF groups was decreased significantly compared to the group fed high fat-cholesterol (HFC), but food efficiency ratio was not significantly different to the HFC group. Liver weight of the HFC group was increased by 2.0 times compared to the normal group, that of HR+T and HR+TF groups was decreased significantly. Weight of visceral and epididymal fat was decreased significantly in the groups fed the composites compared to the HFC group. Obesity index of HR+TF group was only decreased significantly compared to the HFC group. Serum lipid profile such as total lipid, cholesterol, triglyceride, and LDL-, and VLDL-cholesterol and atherogenic index and cardiac risk factor were decreased drastically in all experimental groups compared to the HFC group, and the levels of HR+T, HR+F and HR+TF groups were a similar trend. GPT activity was not significantly different among the groups fed the composites, and it was decreased significantly than the HRG group. The content of the lipid peroxide level was decreased significantly in the HRG group and the groups fed the composites compared to the HFC group. Antioxidant activity of serum was the highest in the HR+T group. We suggest that hypolipidemic and anti-obesity effect for the composites of red garlic extract by mixing green tea extract and/or dietary fiber were due to their total phenolic content and total cholesterol adsorption effect. Total lipid level of liver was significantly decreased in the HR+TF and HRF group compared to the control group. Total cholesterol and triglyceride levels were not significantly different among the groups fed red garlic composites. After 4 weeks, total lipid and total cholesterol levels of feces were



increased in the HR+F and HR+TF groups.

It is known that garlic has anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-obesity properties. However, the consumption of fresh garlic (FG) is often associated with several health hazards, such as stomach and digestion problems. In addition, FG has intense taste and smell. In this study, red garlic (RG), a new garlic formulation, was produced to reduce the intense taste and smell of FRG and to reduce that processing time for aged black garlic (BG). To identify the effect of RG on oxidative stress, inflammation, and adipogenesis in human bronchial smooth muscle cells (HBSMC), Raw 264.7 cells, and 3T3L1 cells and obese mice, respectively. Treatment with RG extract (RGE) reduced CSE-induced death of HBSMC. The combination of ARGE with CSE attenuated the CSE-induced reduction in glutathione (GSH) content and generation of reactive oxygen species (ROS) compared with CSE treatment without ARGE. ARGE treatment markedly reduced lipopolysaccharide (LPS)-induced nitrite production and inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in RAW 264.7 macrophages. Intracellular lipid accumulation was significantly decreased in preadipocytes differentiated in the presence of RGE compared to control as judged by Oil Red O staining. ARGE treatment decreased peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ), an adipogenic transcription factor, expression and activity. RGE treatment also reduced liver X receptor (LXR), a member of the nuclear receptor family of transcription factors, in obese mice induced by high-fat diet (HFD). RGE administration reduced body weight in HFD-induced obese mice. These results suggest that RGE may have potential effects on prevention and treatment of oxidative diseases, inflammation, and obesity.

Water extracts made from fresh, red and black garlicks were separated using dialysis membrane for estimation biological activity. In outer membrane material solution, pH was acidified and browning compound contents were higher than inner part. Total phenol, flavonoids and total pyruvate contents were similar tendency, but total thiosulfate contents not shown significantly difference between inner and outer membrane solution. Antioxidant activity was higher in order black garlic>red garlic>fresh garlic. Organic acids contents of membrane solution were higher in outer part of red garlic than the others. Specially, succinic acid detected  $78.13 \pm 0.08$  mg/100 g only in outer part of red garlic.

In our study, processing of red garlic were divided 4 step for analysis of its physicochemical quality. Hunter color, share force, general composition, pH, acidity, browning density, reducing sugar, total phenol, total thiosulfate, total pyruvate, organic acid, free amino acid and S-allyl cysteine (SAC) were analyzed by processing step of red

garlic, fresh garlic and black garlic. Quality and characteristics of red garlic were between fresh and black garlic. Exceptionally, organic acid and free amino acid contents were higher than fresh and black garlic.

We also performed reference research to select synergist of anti-obesity with red garlic from natural plants. Finally 8 kinds of natural plants selected, they has relatively high frequently in use of anti-obesity and its related activity. Hot water extracts made from these natural plants were tested inhibition activity of digestive enzymes such as,  $\alpha$ -amylase, trypsin, chymotrypsin, lipase and anti-obesity activity in 3T3-L1 pre-adiposites. Green tea among tested natural plants was finally selected the best synergist to red garlic. Ten percentage of red garlic extract solution and green tea extract powder were mixed with 99.3~100 : 0.1~0.7 (v/w) ratio. These 5 kinds of mixture (red garlic only, red garlic extract ; RGE : powder of green tea extract (TE) =99.9 : 0.1, 99.7 : 0.3, 99.5 : 0.5, 99.3 : 0.7) were analyzed antioxidant, inhibition of digestive enzymes and anti-obesity activity. Put all of analyzed results together, the optimum mixture ratio was 10% red garlic extract : of powder green tea extract=99.7 : 0.3.

For the red garlic manufacture, temperature range was set by more than 10 times in experiments. Physical properties and appearance were achieved the expected targets. but we were continuously repeated the experiment in order to find a way on reducing hot taste of garlic. So pre-treated treatments were tried by microwave for the removal of hot taste and then established manufacturing condition of red garlic which have a unique texture and reduced hot taste. Red garlic was treated as a repeated high and low temperatures consulting the traditional drying method. In order to manufacture for red garlic within 3 to 4 days and remove its hot taste, It was the best way that hot taste of red garlic was evaporated by more than 90°C of the heating and then red garlic was heated intermittently through decreased temperature at 40°C to 70°C. Specific conditions are not mentioned in the report due to protection of intellectual property rights.

The final products of red garlic was offered to our co-workers. For evaluation of the characteristic quality of red garlic, the color, shearing strength, pH, browning intensity and sugar contents from its extracts were analyzed to get more obvious results than plans. The aging method of red garlic and processing for manufacture of sap, drink and powder of red garlic were optimized, and then promoted to develop trial product drink containing natural plants (green tea) for enhance the anti-obesity. For promotion and marketing of products developed by this study. Market survey was conducted on processed garlic and garlic industry. Now, Nobody did not carve out market for red garlic and its processing goods. Therefore, we suggested that it is suitable to modify

product type and consumer's familiarity was increased though similar products against existing products type.

# CONTENTS

<b>Chapter 1. Introduction of the research project .....</b>	<b>24</b>
<b>Chapter 2. Art status of domestic and abroad .....</b>	<b>27</b>
<b>Chapter 3. Results of the research project .....</b>	<b>28</b>
<b>Section 1. Quality properties and Biological activities of red garlic .....</b>	<b>28</b>
1. Introduction .....	28
2. Materials and methods .....	28
3. Results and discussion .....	41
1) Physicochemical characteristics by manufacturing process of red garlic .....	41
2) Biological activity of red garlic hot-water extract made by optimum condition .....	48
3) Biological activity of red garlic made from different solvent fraction .....	53
4) Anti obesity and lipid lowering effect of red garlic powder .....	60
5) Anti obesity and lipid lowering effect of red garlic water extract .....	69
6) Effect of red garlic composites on anti obesity and lipid metabolism .....	79
7) Safety assessment in accordance with red garlic intake .....	90
<b>Section 2. Mechanism study for anti-obesity and anti-inflammatory effects of red garlic     extracts .....</b>	<b>93</b>
1. Introduction .....	93
2. Materials and methods .....	93
3. Results and discussion .....	99
1) Reveal of regulatory mechanisms and signal pathways in anti-oxidant and anti- inflammatory effects of red garlic extracts .....	99
2) Anti-inflammatory effect of red garlic extracts .....	104
3) Reveal of regulatory mechanisms and signal pathways of red garlic extracts in obesity .....	114
<b>Section 3. Separation of useful materials and development of biofood from red garlic     .....</b>	<b>121</b>
1. Introduction .....	121
2. Materials and methods .....	121
3. Results and discussion .....	134
1) Separation of browning compounds and estimation of biological activity from red garlic .....	134
2) Establishment of sulfur compounds analysis condition from red garlic .....	143

3) Changes of physicochemical quality during processing of red garlic .....	152
4) Results of reference research to select natural plants .....	166
5) Inhibition activity digestive enzymes of in hat water extracts made from selected natural plants .....	169
6) Antiobesity activity of water extracts made from red garlic and natural plants in 3T3-L1 preadipocytes .....	174
7) Analysis of biological activity by mixing ration of water extracts from red garlic and green tea .....	177
8) Biological activity comparison of red garlic and green tea mixture for test product .....	187
9) Manufacture of test products from red garlic .....	192
<b>Section 4. Establishment of processing conditions and development of red garlic products .....</b>	<b>196</b>
1. Introduction .....	196
2. Materials and methods .....	196
3. Results and discussion .....	200
1) Establishment of temperature and time to manufacture red garlic from peeled garlic .....	200
2) Conditions of temperature and humidity for processing time of red garlic .....	202
3) Characteristics of red garlic products manufactured from different pre-treatment condition .....	203
4) Physicochemical characteristics of red garlic products manufactured from final condition .....	208
4. Processing drawing for red garlic products .....	213
5. Commercialization of red garlic products .....	217
6. Analysis of market for garlic products .....	221
<b>Chapter 4. Accomplised degree of purpose and contributory degree in garlic related fields .....</b>	<b>238</b>
<b>Chapter 5. Applicatory plans of results .....</b>	<b>243</b>
Section 1. Necessity of additional research and improvement .....	243
Section 2. Application in other fields and post-effects .....	244
Section 3. Research achievement .....	245
<b>Chapter 6. Situation of external information collected in this project ...</b>	<b>249</b>
<b>Chapter 7. References .....</b>	<b>249</b>

# 목 차

<b>제 1 장 연구개발과제의 개요</b> .....	<b>2</b>
<b>제 2 장 국내외 기술개발 현황</b> .....	<b>2</b>
<b>제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과</b> .....	<b>2</b>
<b>제 1 절 홍마늘 품질특성 및 생리활성 규명(제 1세부과제)</b> .....	<b>2</b>
1. 개요 .....	28
2. 재료 및 방법 .....	28
3. 결과 및 고찰 .....	41
1) 홍마늘 제조 공정 개발에 따른 이화학적 특성분석 .....	41
2) 최적 조건에서 제조된 홍마늘 열수 추출물의 생리활성 분석 .....	48
3) 홍마늘 용매별 분획물의 제조 및 생리활성 분석 .....	53
4) 홍마늘 분말이 비만 흰쥐의 항비만 및 지질저하에 미치는 영향 .....	60
5) 홍마늘 열수추출물이 비만 흰쥐의 항비만 및 지질저하에 미치는 영향 .....	69
6) 홍마늘 조성물이 항비만 및 체내 지질 개선에 미치는 영향 .....	79
7) 홍마늘 급이에 따른 안전성 평가 .....	90
<b>제 2 절 홍마늘의 항비만 및 항염증 활성 및 메카니즘 규명 (제 2세부과제)</b> .....	<b>9</b>
1. 개요 .....	93
2. 재료 및 방법 .....	93
1) 실험재료 및 시료 준비 .....	93
2) 실험방법 .....	95
3. 결과 및 고찰 .....	99
1) 홍마늘 추출물의 항산화·항염증효과 기전 규명 및 신호전달 체계 구축 .....	99
2) 홍마늘 추출물의 항염증 효과 .....	104
3) 홍마늘 추출물의 항비만 기전 및 비만조절 신호전달체계 구축 .....	114
<b>제 3절 홍마늘의 유용물질 분리 및 바이오 푸드 개발 (제 1협동과제)</b> .....	<b>2</b>
1. 개요 .....	121
2. 재료 및 방법 .....	121

1) 홍마늘 중 갈변물질의 분리 및 생리활성 평가 .....	121
2) 홍마늘 중 함황화합물의 분석조건 확립 .....	124
3) 홍마늘의 제조과정 중 이화학적 품질특성의 변화 .....	125
4) 천연식물류 열수 추출물의 소화효소 저해활성 비교 .....	128
5) 홍마늘 및 천연식물류 추출물의 3T3-L1 세포에 대한 항비만 활성 검증 .....	130
6) 홍마늘과 녹차 추출물의 혼합비율에 따른 생리활성 분석 .....	131
7) 홍마늘과 녹차 추출 가공 시제품 제작을 위한 조성물의 생리활성 .....	133
8) 통계 처리 .....	133
3. 결과 및 고찰 .....	134
1) 홍마늘 중 갈변물질의 분리 및 생리활성 평가 .....	134
2) 홍마늘 중 함황화합물의 분석조건 확립 .....	143
3) 홍마늘의 제조과정 중 이화학적 품질특성의 변화 .....	152
4) 천연식물류 선정을 위한 문헌검색 결과 .....	166
5) 선정된 천연식물류 열수추출물의 소화효소 저해활성 비교 .....	169
6) 홍마늘 및 천연식물류 추출물의 3T3-L1 세포에 대한 항비만 활성 검증 .....	174
7) 홍마늘과 녹차 추출물의 혼합비율에 따른 생리활성 분석 .....	177
8) 홍마늘과 녹차 추출물로 만든 시제품 조성물의 생리활성 비교 .....	187
9) 홍마늘 시제품의 제조 .....	192

**제 4 절 홍마늘의 가공조건 설정 및 생산공정 개발 (제 2협동과제) ..... 196**

1. 개요 .....	196
2. 재료 및 방법 .....	196
3. 결과 및 고찰 .....	200
1) 깎마늘을 이용한 홍마늘 제조 온도 및 시간 설정 .....	200
2) 가공 조건 확립을 위한 온도 및 습도 조건 .....	202
3) 전처리 방법을 달리하여 제조한 홍마늘의 특성 분석 .....	203
4) 최종 조건 설정에 따라 생산된 홍마늘의 이화학적 특성 분석 .....	208
4. 홍마늘 가공품의 제조 공정도 .....	213
1) 숙성 홍마늘의 제조 공정도 .....	213
2) 홍마늘 진액 제조 공정도 .....	214
3) 홍마늘 음료 제조 공정도 .....	215
4) 홍마늘 분말 제조 공정도 .....	216
5. 상품화 추진 .....	217

6. 마늘 가공품의 시장성 분석 .....	221
<b>제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....</b>	<b>3</b>
<b>제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 .....</b>	<b>23</b>
제 1 절 연구개발 결과의 활용방안 .....	243
제 2 절 기대성과 .....	244
제 3 절 연구성과 .....	245
<b>제 6 장 연구개발 과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....</b>	<b>2</b>
<b>제 7 장 참고문헌 .....</b>	<b>29</b>



## 제 1 장 연구개발과제의 개요

의학과 생명과학의 발달은 평균수명을 지속적으로 연장시키는데 기여하여 1997년 기대수명은 74.4세였으나 2007년에는 79.6세로 높아졌고 이러한 기대수명의 증가는 1970년 이후 OECD 30개국 중 터키를 제외하면 가장 빠른 속도로 증가하고 있는 추세임(통계청 2007년 생명표 작성결과).

- 동시에 잘못된 생활습관이나 서구화된 식습관, 정제된 간편식의 애용으로 인하여 야기되는 만성질환은 점차 증가되고 있어 암, 당뇨병, 고혈압성 질환 및 심장질환 등은 현대인의 주요 사인으로 지적되고 있음.
- 고혈압, 고지혈증, 동맥경화, 심장질환, 인슐린 비의존형 당뇨병, 유방암, 자궁암 및 대장암 등 주요 질병들의 발병률을 증가시키는 요인으로 지적되고 있는 것 중 하나로 비만을 들 수 있음.
- 단순히 볼 때 비만은 체내에 지방이 과다하게 축적된 상태로 볼 수 있는데, 외형상의 문제 뿐 아니라 상기에 나열된 각종 질병을 유발할 수 있는 인자로 전 세계적으로 많은 관심이 모아지고 있으며, WHO에서는 건강을 해치는 단순위험 인자이므로 영양문제로 접근하기 보다는 치료해야 할 질병으로 인식되고 있음.
- 2005년 국민 건강 영양조사에 의하면 우리나라 20세 이상 인구 중 31.8%가 비만으로 10년 전인 1995년도의 14.8%에 비해 2배 이상 증가하였고, 이에 따른 사회 경제적 손실도 2001년 1조 7천억원에서 매년 증가하고 있어 국민건강 증진종합계획을 통하여 2010년까지 성인 비만율을 30% 수준으로 유지하는 것을 목표로 하고 있음.
- 국제비만대책위원회(International Obesity Task Force; IOTF)에 따르면 전 세계 인구의 25%인 17억이 체중감량이 필요하며, 미국 국립보건 통계센터(National Cancer for Health Statics : NCHS)는 미국 성인의 61%를 과체중으로 26%를 비만으로 분류하고 있어 비만은 우리나라 뿐만 아니라 전 세계적으로 심각한 질환으로 인식되고 있음.
- 비만의 치료를 위하여 운동이나 식이요법을 통한 생활습관의 개선, 약물요법, 수술을 통한 치료법 등이 활용되고 있는데, 19세기 말 갑상선 호르몬과 관련한 연구와 더불어 항비만 약품의 개발은 현재까지 꾸준히 진행되고 있음.
- 항비만 치료약은 미국에서만 100여종 이상이 개발·판매되고 있으며 비만 인구의 증가와 더불어 그 시장은 점차 더 커질 전망이다.
- 현재 사용량이 가장 많은 항비만 약품으로는 식욕억제 효과를 나타내는 sibutramine (reductil)과 지방의 소화흡수 억제 효과가 있는 orlistat(xenical) 등이 FDA 승인을 얻어 시판되고 있음.
- 이들 약품은 혈압을 높이므로 심혈관 질환자에게는 위험을 증가시키거나 복부팽만감, 소화기 장애, 지방변, 어지러움, 구갈, 변비, 배변실금, 지용성비타민의 흡수 방해 등의

부작용을 유도한다고 보고되어 있음.

- 따라서 과거로부터 섭취하여 그 안정성이 입증되어 있는 천연식품을 소재로 하는 비만 치료제의 개발은 소비자뿐만 아니라 많은 연구자들의 주요 관심이 되고 있는데, 현재까지 비만의 예방 및 치료를 위하여 식품에 함유된 일부 영양소, 식이섬유, phytochemical 등을 소재로 하는 저열량 식사대용품, 다이어트보조용 영양보충식품, one-food diet, 열량 감소용 대체감미료 및 대체지방이 개발되어 사용되고 있음.
- 한편으로 이들 식품소재의 체중조절 기전을 밝히는 연구가 활발히 진행되고 있어 당류 흡수억제, 체지방합성 억제, 지방흡수억제, 식욕조절의 순으로 많은 특허가 출원되어 있음.
- 항비만 효과가 있는 천연 식품소재의 예를 보면 식욕억제에 관여하는 물질로는 hydroxycitric acid(HCA), olibra, 치커리, 이눌린 등이 있으며, 열발생 유도로 지방축적을 억제하는 물질로서 고추의 capsaicin, 녹차의 catechin, 레티노익산 등, 지방의 소화와 흡수를 저해하는 물질로서 chitosan, flavonoids 등, 지질대사를 조절하는 conjugated linoleic acid(CLA) 등이 보고되어 있으며, 천연소재를 혼합한 복합물의 상승효과와 관련한 보고도 있음.
- 비만 세포는 염증과 조직 재구성에 있어서 일련의 강력한 매개물질들을 분비하는데 이 물질들이 염증세포와 면역세포를 유도하고 활성화하여 조직을 파괴하는 염증유발성 물질을 분비하게 됨.
- 따라서 비만환자의 활액막 조직에서 비만 세포가 매우 증가되어 있으며 비만세포의 산물인 tryptase나 histamine이 발견되어 비만세포의 활성화는 류마티스성 관절염이나 골관절염 및 염증유발성 물질들과 상관성이 있는 것으로 보도되어 있음.
- 마늘은 체내 노폐물의 배설을 촉진하고, 고지혈증의 예방과 완화 효과를 가진다는 연구 보고들로 미루어 볼 때 체지방 감소 및 지방의 흡수 억제 효능이 있기 때문에 비만 증상의 완화 효과를 나타낼 것으로 판단됨.
- 한편으로 마늘은 염증, 류마티즘에 유효하며 면역조정 작용을 갖는다고 보고되어 있는데, 비만과 관절 염증은 밀접한 상관성이 있으므로 항염증 효과는 비만으로 인하여 야기되는 2차 질병인 관절염 증상을 완화하는 효과도 있을 것으로 추정됨.
- 마늘은 우리나라 국민의 90.7%가 1일 1회 이상 섭취하여 백미 다음으로 섭취빈도가 높은 식품이며 일일 섭취량은 6.5 g에 달하는 주요 향신 조미채소임(2005년도 국민건강영양조사, 보건복지부 · 한국보건산업진흥원).
- 2005년 전국의 마늘 생산량은 31,800 ha에서 375천톤이며 재배 농가수는 2001년 기준으로 538천호로 추정되며 전체 농가의 39.7%를 차지하였음.
- 2001년 기준 국내 채소류 중 재배면적은 4위이며 생산액은 5,382억원으로 전체 농산물 생산액 중 8위를 차지하는 주요 농산채소임.
- 2001년산 마늘의 용도별 소비량은 생마늘 및 다진 마늘이 전체의 95.2%에 달하고 가정

- 용이나 요식업소에서 주로 소비하였고 가공업체에서 소비된 양은 전체의 15%에 불과함.
- 마늘은 식품으로서의 가치뿐만 아니라 안전성이 이미 확보되어 있으며 다양한 약리적 효능이 잘 알려져 있어 건강지향적인 현대인의 성향과 대체의학과 자가 치료에 대한 관심이 증대되고 있는 사회적인 경향에 부합하는 기능성 식품임.
  - 타 채소류에 비하여 수분의 함량이 적고 당질, 무기질, 비타민 등의 성분이 높고, 또 다른 채소에 적은 비타민 B<sub>1</sub>을 다량 함유하고 있으며, 0.3% 정도 함유되어 있는 황화합물은 마늘의 기능성 발현의 주요 성분으로 인정되고 있음.
  - 마늘 중에 함유되어 있는 주요 황화합물인 alliin과 diallyl disulfide, S-allyl-L-cysteine 등은 강력한 살균작용, 정장작용, 피로회복, 이노작용, 말초혈행개선, 항동맥경화, 항고혈압, 항산화작용, 항노화, 면역기능 조절 및 항암 등 다양한 생리활성을 발현하며, 비 황화합물인 spirostanol 형의 saponin, fructan, F-4 등의 기능성 발현물질은 생마늘, 열수 및 용매 추출, 가열처리 등 다양한 형태와 방법으로 가공이 가능하므로 마늘은 식품소재산업, 의약산업 등에 활용가능하고 타 산업과도 융합이 가능한 우수한 기능성 식품임.
  - 국내의 마늘 제품은 단순 가공하여 조미 향신료로, 추출물이나 garlic oil의 형태로 의약품 소재로 활용하거나 마늘식초, 엑기스, 환 등의 2차 가공제품들이 주체를 이루고 있어 식이 및 식품 보충제와 의약품 소재로 다양하게 활용하고 있는 미국, 일본, 유럽 등의 예로 볼 때 다양한 형태의 식품개발 가능성과 시장성을 확인할 수 있음.
  - 국내의 농산업은 노동력부족, 수입시장의 개방 등으로 인하여 기존의 농업을 대신할 수 있는 고소득 특화 작물의 재배 및 고부가가치 창출을 위한 상품화와 판로개척을 통한 경쟁력 확보가 절실함.
  - 기존 국내 마늘의 생리활성에 관한 연구가 고지혈증과 동맥경화, 항산화, 피로회복 등에 국한되어 있음을 감안 할 때 마늘의 새로운 생리활성을 규명하기 위한 연구가 요구되고 있음.
  - 수출을 위한 전략상품으로서 마늘 가공품을 개발함에 있어 갈변반응을 통하여 새로운 기능성 물질이 생성되는 홍마늘을 개발하고, 이에 대한 품질특성 및 생리활성에 대한 객관화된 자료를 얻어 국내외 신수요 확대를 위한 경쟁력을 확보하고자 함.
  - 지속적이고 안정적인 농업소득기반 확충을 위해서는 식품산업을 고부가가치 산업으로 육성하여야 하며, 식품산업 관련 인프라의 확충과 육성에 중점 지원함으로써 산지가공산업이 활성화되어 지역기반 농산물로부터 안전한 고품질 식품을 생산하여 수입농산물의 차별화 및 경쟁력을 확보하고자 함.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

1970년 이후의 국내에서 연구 보고된 마늘 연구로는 재배, 품질 특성 및 생리활성을 포함한 전 분야에서 총 815여건의 연구가 보고된 바 있다. 대부분의 연구가 생마늘에 관한 것으로 생리활성 유효물질이 allicin으로 밝혀진 바 있다.

최근에는 마늘의 섭취를 증가시켜 그 약리효과를 높이기 위하여 새로운 마늘 가공품이 등장하고 있는데, 그 대표적인 가공품으로 생마늘을 고온으로 장시간 숙성시켜 진한 흑색을 띠는 흑마늘이 있다. 흑마늘은 생마늘의 매운맛이 감소되고 오히려 단맛이 증가되어 마늘의 섭취량을 높일 수 있어 이를 이용한 다양한 가공품의 생산이 가속화 되고 있다. 반면에 고온 장시간 숙성과정으로 제조비용이 높고, 진한 흑색으로 인해 타 식품의 첨가시 바람직하지 못한 착색효과를 내므로 이에 대한 대안이 필요하게 되었다. 따라서 본 연구는 흑마늘의 강한 흑색의 단점을 보완하면서 생리활성을 유지시킬 수 있는 새로운 마늘가공품을 개발하고자 하였다.

본 연구개발에서 성취코자 하는 홍마늘과 관련한 연구는 전무한 실정이며, 현재에도 본 연구자 이외의 연구자들에 의한 연구결과는 거의 없다. 최근까지 본 연구사업의 일환으로 수행되어 온 홍마늘과 관련된 연구로 홍마늘 제조방법에 관하여 특허가 출원 중에 있다. 또한 홍마늘의 열수 추출물을 대상으로 생마늘 및 흑마늘의 이화학적 특성과 항산화 활성을 비교한 결과, 홍마늘은 생마늘과 흑마늘의 중간 정도의 활성을 갖는 것으로 나타났으며, 특히 생마늘보다는 유의적으로 높은 활성이었으며, 흑마늘과 유사한 활성을 보이는 경향도 있었다(Lee SJ 등 2010). 투석막을 이용하여 홍마늘의 유용성분을 투석내·외액으로 분리한 후 생리활성을 분석한 결과에서는 홍마늘 투석외액의 총 페놀 화합물 함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, 이에 따른 항산화 활성도 투석외액에서 증대되었으나, 흑마늘은 오히려 투석내액의 활성이 높은 것으로 보고되어 있다(Shin 등 2011).

홍마늘의 항비만 활성을 알아보기 위하여 생마늘 및 흑마늘 분말과 비교한 결과에서 홍마늘 분말을 고지방 식이 흰쥐에게 혼합 급이한 결과 흑마늘 분말과 유사한 활성으로 체지방 증가 억제, 체내 지질 배출 증가 등의 체내 지질 개선효과를 보였다(Kim 등 2010). 홍마늘 열수추출물은 1, 3, 5, 및 7% 수준으로 고지방 식이에 혼합 급이하였을 때 3% 이상 급이시 대조군과 유의적인 차이를 볼 수 있었다(Lee 등 2011).

국외 연구로는 본 연구개발기술과 같이 통마늘을 직접 열처리 가공하는 기술과 관련된 직접적인 연구는 전무하며, 일부 연구자들에 의하여 microwave 건조법을 이용한 마늘의 수분 이동이나 적절한 건조 조건을 설정하기 위한 연구가 일부 보고되어 있다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 홍마늘 품질특성 및 생리활성 규명(제 1세부과제)

#### 1. 개요

- 생마늘과 흑마늘의 단점을 보완한 새로운 마늘 가공품으로써 홍마늘을 개발하고 가공에 따른 품질특성, 생리활성 분석, 유효성분의 분리 등을 통하여 항비만 기능성을 갖는 바이오 식품을 개발하고자 하였다.
- 홍마늘의 품질특성 및 주요 생리활성을 *in vitro*에서 분석함으로써 새로이 개발되는 홍마늘에 대한 품질기준, 영양학적 특성, 이화화적인 특성, 기능성을 밝혀 향후 제품의 기능성 확보를 위한 기초자료를 확보하고자 하였다.
- 홍마늘의 주요 생리활성을 체계적으로 분석하기 위하여 다양한 용매를 사용하여 홍마늘의 용매별 분획물을 제조하여 *in vitro*에서 분획물의 생리활성을 분석함으로써 홍마늘 유용물질의 특성을 알아보하고자 하였다.
- 홍마늘의 항비만과 관련된 생리활성 메커니즘을 *in vivo*에서 밝히고자 고지방 식이로 비만이 유도된 흰쥐에 동결건조시킨 홍마늘 분말을 급이함으로써 항비만 효과 및 체내 지질 개선에 미치는 영향을 분석하였고, 또 생마늘 및 흑마늘도 동일하게 처리하여 생리활성을 비교·분석하였다.
- 홍마늘의 생리활성 검증을 위하여 열수추출물을 제조한 후, 이를 고지방식으로 비만을 유도한 흰쥐에 급이함으로써 항비만 및 체내 지질 개선에 가장 효과적인 최적농도를 규명하였다.
- 홍마늘의 고지방 식이 급이에 대한 항비만 및 체내 지질 개선효과가 밝혀짐에 따라 홍마늘에 녹차 및 식이섬유를 혼합한 조성물(R+T, R+F 및 R+TF)을 제조하여 고지방-콜레스테롤 식이 유도성 비만 흰쥐에 급이하였을 때 항비만 및 체내 지질 개선에 대한 시너지 효과를 시험하였다.
- 홍마늘 및 홍마늘 조성물을 이용한 제품 개발에 앞서 최대 안전 급이량을 설정하기 위하여 단회 급성독성 및 장기 독성검사를 평가함으로써 제품의 효능평가, 안전 섭취량의 설정 및 제품 홍보에 활용코자 하였다.

#### 2. 재료 및 방법

##### 1) 실험 재료

###### (1) 홍마늘의 제조조건 설정

다양한 조건에서 제조된 홍마늘은 참여기업인 새남해농협으로부터 제공받아 사용하였다. 즉, 생마늘을 step 0, 마이크로웨이브로 가열한 것을 step 1로 하고 온도를 변화시키면서 제

조기간별로 시료를 각각 취하였다(step 2~6번).

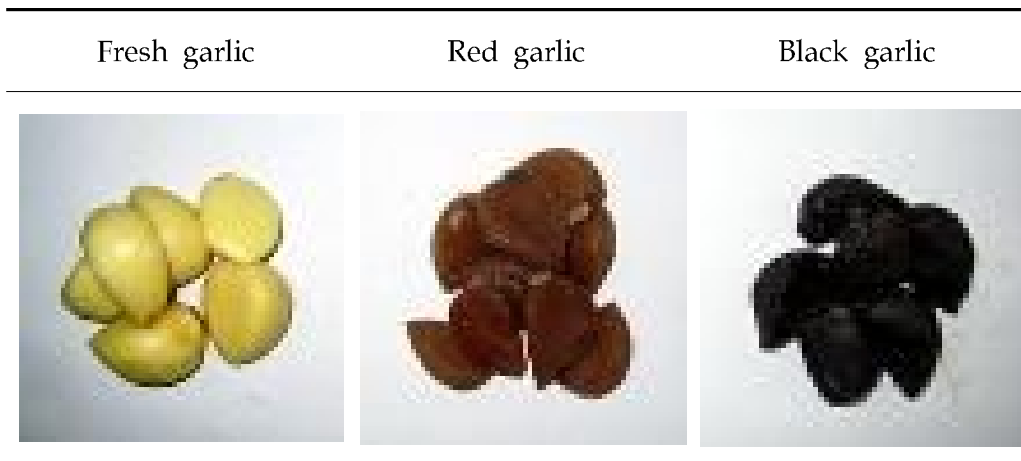
**(2) 홍마늘 열수추출 분말의 제조**

최종 단계의 홍마늘을 이용하여 시료 중량에 대해 10배량의 증류수를 가하여 70℃의 수욕 상에서 환류냉각하여 8시간씩 3회 반복 추출하였다. 추출물을 모두 합하여 진공 동결건조기로 건조시킨 분말을 -40℃에 밀봉하여 보관해 두고 분석용 시료로 사용하였다. 이때 생마늘 및 흑마늘로 동일한 조건으로 처리하여 비교하였다.

**(3) 숙성 홍마늘의 제조방법 특허(출원번호; 10-2010-0036798)에 따른 홍마늘을 제조**

5단계로 구분하여 온도와 습도를 달리하여 제조한 홍마늘은 Photo 1과 같다. 마늘은 경남 남해군에서 재배된 것을 시료로 사용하였으며, 생마늘과 흑마늘은 경남 남해군 새남해농협 흑마늘 가공사업소로부터 제공받았다.

Photo. 1. Fresh, red and black garlic



**(4) 홍마늘 열수추출물의 제조**

껍질을 제거한 홍마늘 1 kg에 물 10 L를 가하여 120℃에서 3시간 동안 추출하는 과정을 2회 반복한 후 추출물을 모두 모아 15 brix가 되도록 농축하였다(Photo 2).

**(5) 홍마늘 용매분획물의 제조**

Fig. 1과 같이 홍마늘 시료에 약 10배의 메탄올을 가하여 60℃의 수욕상에서 환류냉각하면서 2회 반복 추출하여 메탄올 조추출물을 얻었다. 이것을 회전식 진공증발기로 추출용매를 제거한 다음 메탄올과 물 혼합액(1:9, v/v)에 재용해하고, 여기에 순차적으로 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol을 각각 가하여 2회 반복 추출하여 용매 분획물을 얻었으며, 잔사를 물분획물로 하였다. 5종의 용매분획물은 회전식 진공증발기로 완전건고 시킨 다음 일정량을 취하여 항산화 활성 측정용 시료로 사용하였다.

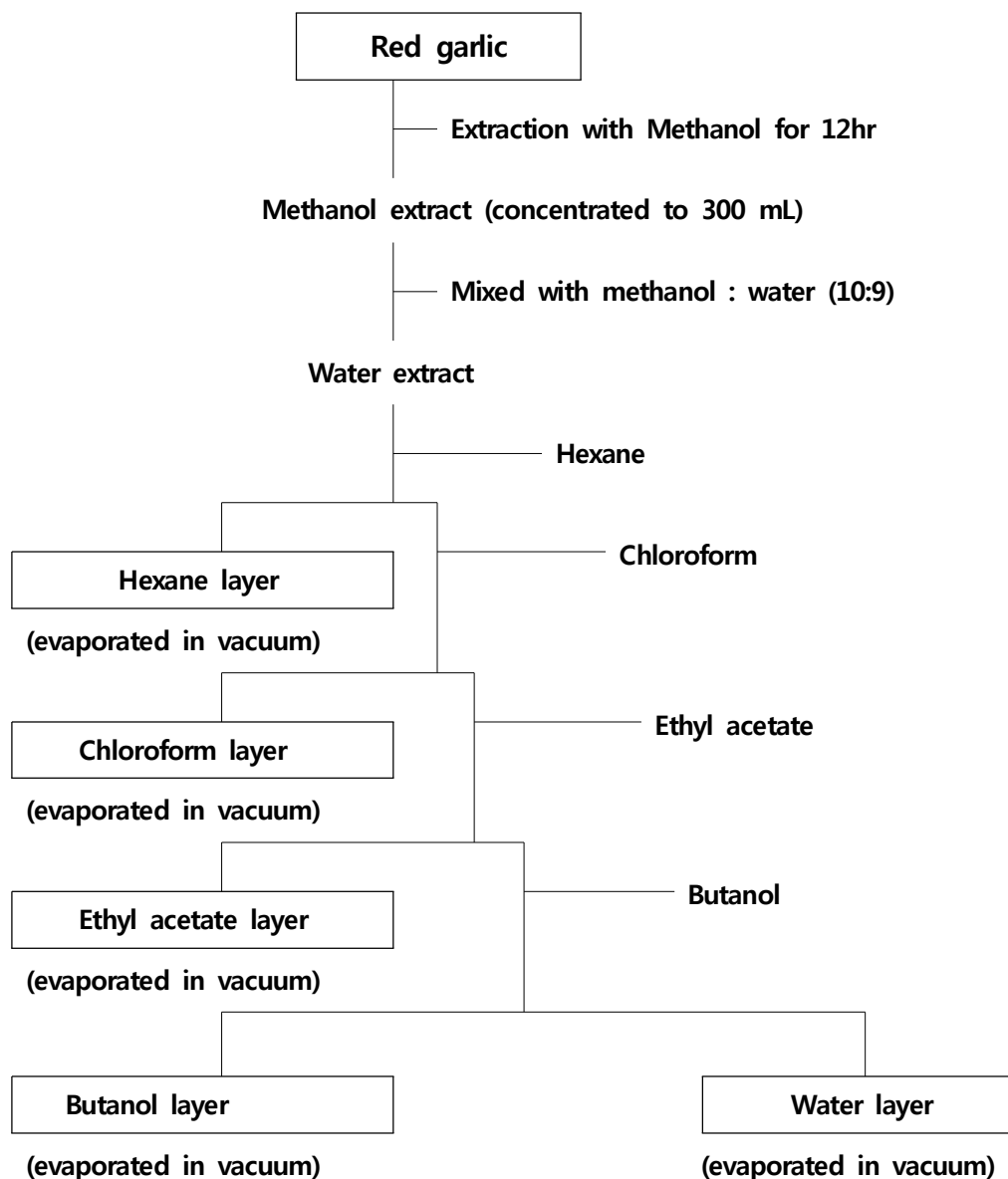


Fig. 1. The scheme for preparation of solvent fraction from red garlic.

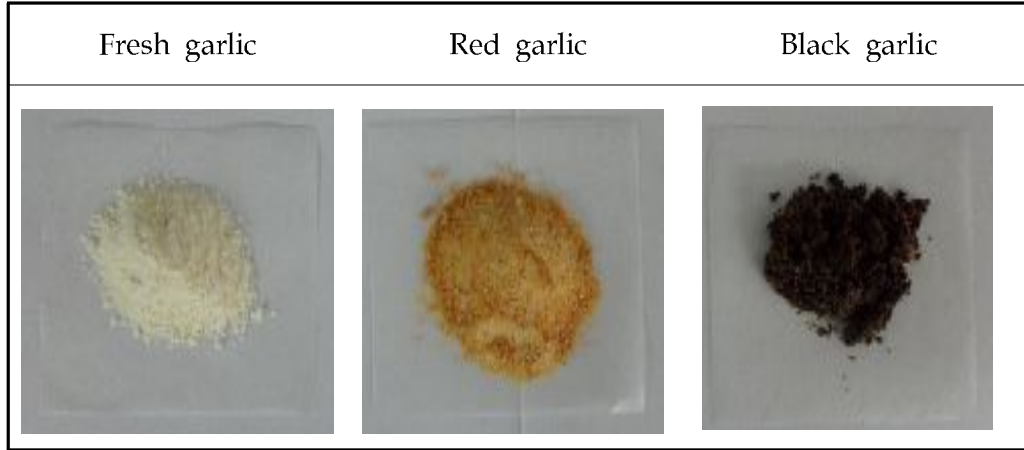
Photo 2. Red garlic extract (15 brix)



## (6) 동결건조 분말의 제조

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘의 껍질을 제거한 후 진공 동결건조 시켜 분말화 하였다(Photo 3).

Photo 3. Photo of lyophilized powder from fresh, red and black garlic



## (7) 홍마늘 조성물의 제조

홍마늘 조성물은 제 1 협동연구기관인 (재)남해마늘 연구소에서 제조한 것을 제공받았다. 홍마늘은 시료 중량에 대해 10배의 물을 가하여 진공 추출기(COSMOS 660, Kyungseo Machine Co., Incheon, Korea)로 추출하였고, 녹차는 화개농협에서 작설차(우전)을 구입하여 홍마늘과 동일한 방법으로 추출한 후 동결건조시켜 분말화하였으며, 감귤 식이섬유(Citri-fi 100FG, Fiberstar Inc., Willmar, Minnesota, USA)는 시판품을 구입하여 사용하였다.

## 2) 이화학적 특성 분석

### (1) 일반성분

수분 함량은 분쇄한 마늘 시료 약 2 g을 취하여 적외선 수분측정기(MB25, OHAUS, Switzerland)를 이용하여 정량하였다. 이외, 일반성분은 A.O.A.C.법(Association of Official Analytical Chemists, 1990)에 따라 회분은 550℃ 직접회화법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법으로 정량하였다.

### (2) 추출 수율

홍마늘 용매분획물의 추출수율은 건조 및 추출 전·후의 시료 중량을 측정하여 건조수율 및 추출수율을 계산하였다

### (3) 추출물의 갈색도 측정

마늘 추출물의 갈색도는 마늘 10 g에 증류수를 가하여 100 mL로 만든 후 충분히 혼합한 다음 여과지로 여과한 액을 일정량 취하여 실험에 사용하였다. 갈색도는 분광광도계 (Optizen 2120UV, Mecasys Co. Ltd., Korea)로 420 nm에서 증류수를 대조로 하여 측정된 흡광도 값으로 나타내었다.



#### (4) pH 및 갈변물질의 함량

pH는 각 시료 10 g을 균질화하여 탈이온수를 가해 100 mL로 만든 다음 원심분리한 상층액을 pH meter(Model 720, Thermo Orion, USA)로 측정하였으며, 항산화 효과를 나타내는 갈색화 반응물의 용출 정도를 평가하기 위하여 spectrophotometer를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### (5) Total pyruvate 정량

각 시료 1 g에 10% trichloroacetic acid 20 mL를 첨가하여 1시간 방치한 후 여과지(Whatman No. 7)로 여과하였다. 여과액 1 mL에 0.0125% dinitrophenylhydrazine 1 mL를 가하여 잘 혼합한 다음 37°C에서 10분간 반응시키고, 0.6 N NaOH 용액 5 mL를 가하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준용액으로 sodium pyruvate를 사용하였으며, 상기와 동일한 방법으로 얻은 표준검량곡선으로부터 총 pyruvate 함량을 산출하였다.

#### (6) Total thiosulfate 정량

Alliin의 분해 생성물인 thiosulfate의 정량은 2 mM cysteine이 함유된 pH 7.5의 50 mM HEPES[N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N'-2-ethane sulfonic acid] 용액 0.5 mL에 마늘 추출액 0.1 mL를 첨가하였다. 50 mM HEPES를 가하여 총 반응용액의 부피를 5 mL로 한 다음 27°C에서 10분간 반응시켰으며, 이 반응액 1 mL를 취하여 50 mM HEPES로 제조한 0.4 mM DTNB[5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)] 1 mL를 가하여 잘 혼합한 다음 다시 27°C에서 10분간 반응시킨 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. 50 mM HEPES로 제조한 0.05~0.3 mM의 L-cysteine 용액을 표준물질로 하여, 상기와 동일한 조건에서 실험한 표준검량곡선으로부터 마늘 중의 total thiosulfate 함량을 산출하였다.

#### (7) 총 페놀 및 플라보노이드 정량

총 페놀 함량은 Folin-Denis법에 따라 각 추출물 1 mL에 Foline-Ciocalteau 시약 및 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액을 각 1 mL씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 정치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로 caffeic acid(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 페놀 함량을 산출하였다. 플라보노이드 함량은 Moreno 등의 방법에 따라 추출물 0.5 mL에 10% aluminum nitrate 및 1 M potassium acetate 각각 0.1 mL, ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 정치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 표준물질로 하여 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

### 3) 생리활성 분석

#### (1) DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여 효과로 측정하였다. 96 well plate에 2 mg/100 mL ethanol의 DPPH 용액 100 µL에 일정농도의 시료액 50 µL를 가한 후 상온에서 10초간 plate shaker(MX2, FINEPCR, Seoul, Korea)로 혼합한

후 20분간 반응시켜 ELISA reader를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

### (2) ABTs 라디칼 소거능 측정

ABTs[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] 라디칼 소거능은 ABTs 용액을 7 mM ABTs 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12~16 시간 동안 반응시킨 후 414 nm에서 흡광도 값이 약 1.5가 되도록 증류수로 조정하여 사용하였다. 즉, 이 용액에 일정농도의 시료액을 가하여 10초간 잘 혼합한 다음 실온에서 10분간 반응시켜 414 nm에서 흡광도를 측정하였으며, ABTs 라디칼 소거능은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

### (3) 환원력 측정

시료 1 mL에 200 mM 인산 완충액(pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide 각 1 mL를 차례로 가하여 교반한 후 50°C의 수욕상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA (trichloroacetic acid) 용액을 1 mL를 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.

### (4) FRAP법에 의한 항산화능

시료의 FRAP(ferric reducing antioxidant power)측정은 300 mM acetate buffer (pH 3.6), 40 mM HCl에 용해한 10 mM TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 용액 및 20 mM FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 미리 혼합한 다음 37°C의 수욕상에서 가온한 뒤 FRAP 측정용 기질로 사용하였다. 즉, 96 well plate에 시료액 40 µL, FRAP 기질액 100 µL 및 증류수 200 µL를 차례로 혼합하여 37°C에서 4분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였으며, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O를 표준물질로 하여 얻은 표준검량선으로부터 계산하였다.

### (5) Nitric oxide (NO) 소거능 측정

Nitric oxide 소거능은 시료액 0.5 mL에 5 mM sodium nitroprusside 용액 0.5 mL를 가하여 25°C에서 150분간 반응시켰다. 여기에 1 mL의 Griess reagent를 가한 후 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. Griess reagent는 2% sulfanilamide를 함유하는 4% 인산용액과 0.2% naphthylethyl-enediamide 용액을 사용직전에 1:1(v/v)로 혼합하여 사용하였다. Nitric oxide 소거능은  $[1 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$ 으로 나타내었다.

### (6) α-Glucosidase 저해활성 측정

α-glucosidase 저해활성은 *in vitro*에서 기질과의 반응역학 분석방법으로 억제율을 측정하였다. 즉, synthetic substrate인 2.5 mM p-nitrophenyl α-D-glucopyranoside를 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.8)에 첨가한 후 α-glucosidase와 시료액을 넣고 그 혼합액에 enzyme solution을 첨가한 후 37°C에서 20분간 반응시키고 0.1 M NaOH 100 µL를 가하여 반응을 정지시켜 substrate인 p-nitrophenyl α-D-glucopyranoside로부터 유리된 반응 생성물인 p-nitrophenol을 405 nm에서 측정하여 α-glucosidase 활성의 억제정도를 측정하였다.

#### (7) Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성은 0.2 M phosphate 완충용액(pH 6.5) 2.3 mL에 2 mM L-tyrosine 용액 0.4 mL, 시료 추출물 0.2 mL 및 tyrosinase(220 unit/mL, Sigma Co.) 0.1 mL를 차례로 혼합한 후 37°C에서 30분간 반응시켜 470 nm에서 흡광도(S<sub>OD</sub>)를 측정하였다. 각 효소의 저해활성은 효소액을 첨가하지 않은 실험구의 흡광도(B<sub>OD</sub>) 및 시료 무첨가구의 흡광도(C<sub>OD</sub>)를 각각 측정하여 다음의 식에 따라 저해활성을 계산하였다.

$$\text{Inhibition activity (\%)} = \left(1 - \frac{S_{OD} - B_{OD}}{C_{OD}}\right) \times 100$$

#### 4) 항비만 활성 측정

홍마늘의 항비만 활성을 알아보기 위한 동물 실험은 모두 3차례에 걸쳐 진행하였으며, 첫 번째 실험은 홍마늘 분말이 비만 유발 흰쥐의 지질개선에 미치는 영향을 생마늘 및 흑마늘 분말과 비교하였으며, 두 번째 실험은 홍마늘 열수추출물을 제조하여 농도를 달리하여 급이한 후 비만 유발 흰쥐의 지질개선에 미치는 영향을 분석하였다. 세 번째는 홍마늘 추출물에, 녹차 및 식이섬유를 첨가한 홍마늘 조성물을 제조하여 항비만 활성을 측정하였다.

##### (1) 실험동물의 사육조건 및 식이조성

실험동물은 생후 4주된 100±10 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 (주)샘타코 (Osan, Korea)로부터 분양받아, 온도 22±2°C, 습도 50±5%, 명암주기 12시간 (07:00~19:00)으로 자동 설정된 동물실험실에서 사육하였다. 사육기간 중 첫 1주간은 시판 고형사료(삼양사)로 적응시켰으며, 2주째는 AIN 93G에 따른 기본 식이로 1주간 적응시켰다. 난괴법으로 각 그룹별 7마리씩 구분하였으며, 사육 상자에 한 마리씩 넣어 4주간 실험사육하였다.

Part 1은 7마리씩 5그룹으로 나누어 시판 옥수수유와 라드를 이용하여 고지방 식이를 제조하여 급이하였다. 이때 실험식이군은 정상군 (Normal, 5% 옥수수유), 대조군 (Control, 5% 옥수수유+15% 돈지) 및 실험군으로 나누어 총열량의 지방급원이 정상군은 12.40%, 대조군은 40.54%로 각각 조성하였다. 각 실험군은 대조군의 식이에 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 분말을 3%씩 첨가하였으며, 각 실험군의 식이조성은 Table 1과 같다.

Part 2는 상기의 고지방 식이에 홍마늘 열수추출물 (15 brix)을 식이의 1, 3, 5 및 7%로 각각 혼합 급이하였으며, 각 실험군의 식이조성은 Table 2와 같다.

Part 3은 Table 3에 나타난 바와 같이 정상군 식이에 1% 콜레스테롤과 15%의 돈지를 첨가한 고지방+콜레스테롤식으로 비만을 유도하였으며, 실험군은 대조군(HFC)의 식이에 각각 1%의 홍마늘 추출물(RG), 녹차 복합물(R+T), 식이섬유 복합물(R+F) 및 녹차·식이섬유 복합물(R+TF)를 첨가하였다. 모든 실험에서 사육기간 동안 물과 사료는 자유급이 하였다.

Table 1. Compositions of experimental diets

Diet composition	Normal <sup>1)</sup>	Control <sup>2)</sup>	Experimental group <sup>5)</sup>		
			FGP	RGP	BGP
Casein	200	200	200	200	200
L-cystein	3	3	3	3	3
Dextrin	132	132	132	132	132
Corn starch	417.5	267.5	267.5	267.5	267.5
Sucrose	100	100	100	100	100
Soybean oil	50	50	50	50	50
Lard	0	150	150	150	150
Cellulose	50	50	50	50	50
Vitamin mixture <sup>3)</sup>	10	10	10	10	10
Mineral mixture <sup>4)</sup>	35	35	35	35	35
Choline bitartate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Fresh garlic powder	-	-	30	-	-
Red garlic powder	-	-	-	30	-
Black garlic powder	-	-	-	-	30
Energy (kcal)	3629.66	4439.66	4439.66	4439.66	4439.66
Fat energy (%)	12.4	40.54	40.54	40.54	40.54

<sup>1)</sup>Modified AIN-93G diet <sup>2)</sup>Control : High fat diet

<sup>3)</sup>AIN-93 vitamin mixture <sup>4)</sup>AIN-93 mineral mixture

<sup>5)</sup>FGP : Supplemented group with 3% fresh garlic powder

RGP : Supplemented group with 3% red garlic powder

BGP : Supplemented group with 3% black garlic powder

Table 2. Compositions of experimental diets

Diet composition	Normal <sup>1)</sup>	Control <sup>2)</sup>	(g/kg diet)			
			Experimental group <sup>5)</sup>			
			RG-1	RG-3	RG-5	RG-7
Casein	200	200	200	200	200	200
L-cystein	3	3	3	3	3	3
Dextrin	132	132	132	132	132	132
Corn starch	417.5	267.5	267.5	267.5	267.5	267.5
Sucrose	100	100	100	100	100	100
Soybean oil	50	50	50	50	50	50
Lard	0	150	150	150	150	150
Cellulose	50	50	50	50	50	50
Vitamin mixture <sup>3)</sup>	10	10	10	10	10	10
Mineral mixture <sup>4)</sup>	35	35	35	35	35	35
Choline bitartate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Red garlic extracts	-	-	10	30	50	70
Energy (kcal)	3629.66	4439.66	4439.66	4439.66	4439.66	4439.66
Fat energy (%)	12.4	40.54	40.54	40.54	40.54	40.54

<sup>1)</sup>Modified AIN-93G diet <sup>2)</sup>Control : High fat diet

<sup>3)</sup>AIN-93 vitamin mixture <sup>4)</sup>AIN-93 mineral mixture

<sup>5)</sup>RG-1 : Supplemented with 1% red garlic extract of 15 brix concentration

RG-3 : Supplemented with 3% red garlic extract of 15 brix concentration

RG-5 : Supplemented with 5% red garlic extract of 15 brix concentration

RG-7 : Supplemented with 7% red garlic extract of 15 brix concentration

Table 3. Diet compositions in experimental groups

		(g/100 g diet)	
Ingredients		Normal diet	HFC
Corn starch		39.8	29.8
Casein		20	20
Dextrin		13.2	13.2
Cellulose		5	5
Sucrose		10	10
Vitamin mix. <sup>1)</sup>		1	1
Mineral mix. <sup>2)</sup>		3.5	3.5
L-cysteine		0.3	0.3
Choline bitartrate		0.2	0.2
Soybean oil		7	7
Lard		-	15
Cholesterol		-	1
Sodium cholate		-	0.25
Total energy (kcal)		3379.5	4819.5
Fat energy ratio (%)		16.8	43.0
Experimental design			
Control	Normal diet		
HFC	1% cholesterol and 15% lard fed group to the normal diet		
HRG	1% RG <sup>3)</sup> supplemented group to HFC diet		
HR+T	1% R+T <sup>4)</sup> composite supplemented group to HFC diet		
HR+F	1% R+F <sup>5)</sup> composite supplemented group to HFC diet		
HR+TF	1% R+TF <sup>6)</sup> composite supplemented group to HFC diet		

<sup>1)</sup>AIN-93 Vitamin mixture

<sup>2)</sup>AIN-93 Mineral mixture

<sup>3)</sup>RG: red garlic extract

<sup>4)</sup>R+T: red garlic extract+green tea extract by 87.5:12.5 ratio

<sup>5)</sup>R+F: red garlic extract+citrus dietary fiber by 87.5:12.5 ratio

<sup>6)</sup>R+TF: red garlic extract+green tea extract+citrus dietary fiber by 87.5:6.25:6.25 ratio

## (2) 비만도 평가

실험사육이 끝난 후 실험동물의 체장과 체중을 측정하여 Röhler index, Lee index, T.M. index 및 체지방 함량을 산출하여 비만도를 측정하였다. 체장은 흰쥐의 코끝에서 항문까지를 길이로 하였다(Photo 4).

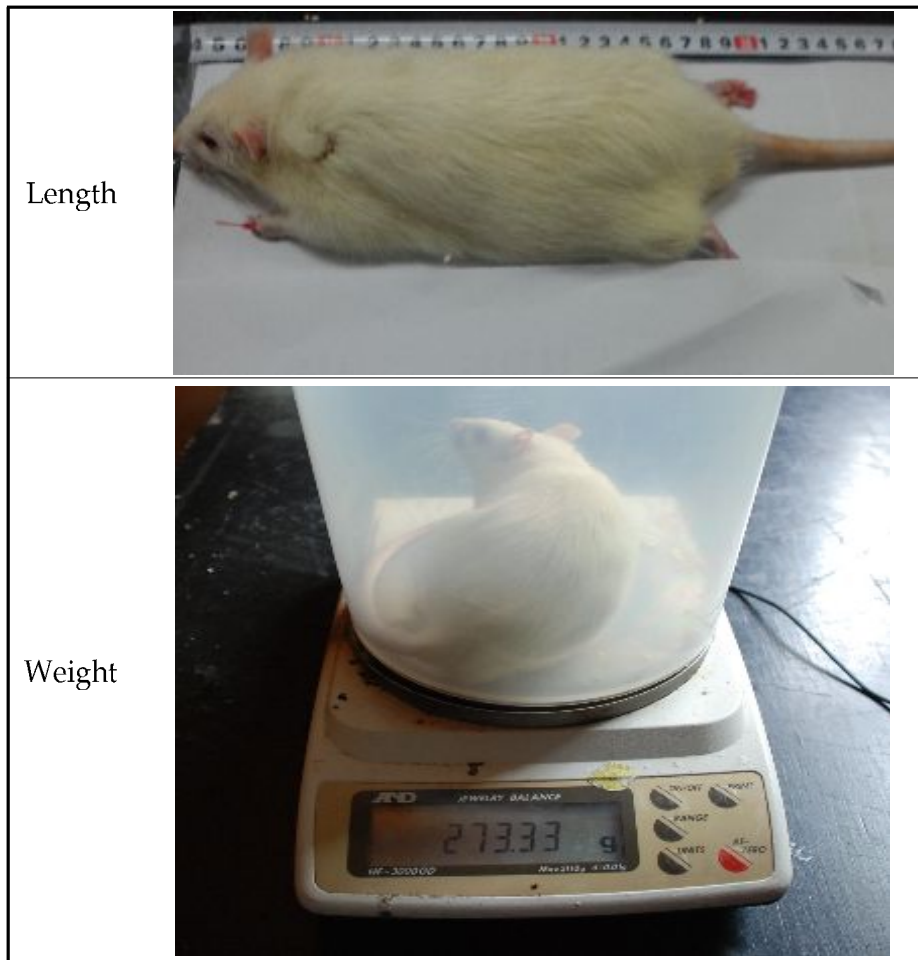
$$\text{Röhler index} = [\text{weight (g)}/\text{length (cm)}^3] \times 10^3$$

$$\text{Lee index} = [\text{weight (g)}^{1/3}/\text{length (cm)}] \times 10^3$$

$$\text{T.M. index} = [\text{weight (g)}/\text{length (cm)}^{2.823}] \times 10^3$$

$$\text{Body fat content} = 0.581 \times \text{T.M. index} - 22.03$$

Photo 4. Measurement for body length and weight of obese rat



## (3) 식이섭취량, 식이효율 및 체중측정

실험기간 동안 식이는 매일 오후 5시에 급이하였고, 다음날 오전 10경에 잔량을 조사하여 식이섭취량을 산출하였으며, 이때 식이섭취량의 오차를 최소화하고자 손실량을 보정하였다. 물은 수도수를 매일 신선하게 공급하였다. 체중은 1주일에 한번씩 일정한 시간에 측정하였으며, 실험사육 4주간의 총 체중증가량(g)을 실험일수로 나누어 1일 평균체중 증가량을 산출

하였으며, 다음 식을 이용하여 식이효율(food efficiency ratio, FER)을 구하였다.

$$FER(\%) = [\text{Body weight gain (g)}/\text{Total food intake (g)}] \times 100$$

#### (4) 실험동물의 처리

실험사육 후 최종일에 16시간 절식시킨 다음 에테르로 가볍게 마취시켜 심장에서 채혈하였다. 채혈된 혈액은 빙수 중에서 30분간 응고시킨 후 원심분리기(Mega 17R, HANIL, Korea)로 4,000 rpm에서 10분간 원심분리시켜 혈청을 얻어 -70℃의 냉동고에 보관해두고 분석용 시료로 사용하였다. 간, 심장, 신장, 비장 및 고환을 적출하여 생리식염수로 혈액을 제거 후 흡수지로 물기를 제거하고 중량을 측정하였다. 분변은 실험 식이를 급이한 1주 및 4주 후 분변을 회수하여 60℃의 항온건조기에서 수분을 제거한 후 분석에 사용하였다.

#### (5) 혈중 지질 함량 측정

혈청의 총 지질(total lipid)의 함량은 혈청 20 µL에 phospho-vanillin 시약을 가하여 37℃에서 15분간 배양한 후 시료 무첨가구를 대조구로 하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 콜레스테롤(total cholesterol) 함량은 총 콜레스테롤 측정용 kit시약(AM 202-k, Asan, Korea)을 사용하였으며, 중성지방 (triglyceride)함량은 중성지방 측정용 kit시약(AM 157S-k, Asan, Korea), HDL-C(High density lipoprotein cholesterol) 함량의 측정은 HDL-C 측정용 kit시약(AM 203-k, Asan, Korea)으로 각각 측정하였으며, 혈중 함량은 표준검량선에 의해 산출하였다. LDL-C(Low density lipoprotein cholesterol) 및 VLDL-C(Very low density lipoprotein cholesterol) 함량, 동맥경화지수(atherogenic index, AI) 및 심혈관질환 위험지수(cardiac risk factor, CRF)는 다음의 식에 따라 계산하였다.

$$LDL-C \text{ (mg/dL)} = \text{Total cholesterol} - (\text{HDL-C} + \text{Triglyceride}/5)$$

$$VLDL-C \text{ (mg/dL)} = \text{Total cholesterol} - (\text{HDL-C} + \text{LDL-C})$$

$$\text{Atherogenic index (AI)} = [(\text{Total cholesterol}) - (\text{HDL-C})]/\text{HDL-C}$$

$$\text{Cardiac risk factor (CRF)} = \text{Total cholesterol}/\text{HDL-C}$$

#### (6) 혈당, 총 단백질 및 알부민 함량 측정

혈청 중 혈당, 총 단백질 및 알부민 함량은 AM kit (Asan, Korea)시약으로 각각 측정하였다.

#### (7) 혈중 GOT, GPT 및 ALP 측정

혈청의 GOT(glutamic oxaloacetic acid transaminase) 및 GPT(glutamic pyruvic acid transaminase) 활성도는 GOT 및 GPT 측정용 kit(Asan, Korea)시약으로 분석하였으며, 혈청 1 mL당 Karmen unit로 표시하였다. ALP(alkaline phosphatase) 활성도는 AM kit(Asan Pharm. Co., Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다.

#### (8) 조직 및 분변 중 지질 분석

간 및 심장 조직과 분변 중의 지질 함량은 일정량의 조직 및 분변을 취하여 chloroform :



methanol (C : M=2 : 1, v/v)의 혼합액을 가하여 Poter-Elvehjem tissue grinder(DAIHAN WOS01010, Korea)로 마쇄한 후 냉암소에서 24시간 동안 지질을 추출하여 여과한 여액을 건조시킨 다음 상기의 총 지질, 총 콜레스테롤 및 중성지방 분석 방법에 따라 측정하였다.

#### (9) 혈청 및 간조직의 항산화활성 측정

혈청의 항산화 활성은 혈청 100  $\mu$ L에 tris-HCl 완충액(100 mM, pH 7.4)을 1 mL을 가하여 혼합한 후 0.5 mM DPPH 용액 1 mL을 가한 다음 37°C의 암실에서 15분간 반응시켰다. 여기에 chloroform 2 mL을 가하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 시킨 다음 하층부의 chloroform을 취하여 517 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 항산화 활성은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다. 간조직의 항산화 활성은 간조직 1 g에 1.5% KCl 용액으로 10% 균질액을 제조한 다음 이를 100  $\mu$ L를 취하여 상기와 동일한 방법에 따라 측정하였다.

#### (10) 혈청 및 간조직의 지질과산화물 측정

혈청 중 지질과산화물 함량은 혈청 100  $\mu$ L에 1/12 N 황산 및 10% phosphotungstic acid를 차례로 가한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 시켰다. 잔사에 증류수 및 TBA (thiobarbituric acid) 시약을 1 mL 가하고, 95°C의 수욕상에서 60분간 반응시킨 후 생성된 지질과산화물을 butanol에 이행시켜 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 간 조직에 1.5% KCl 용액을 가하여 10% 균질액을 만든 후 지질과산화물 측정용 시료로 사용하였다. 지질과산화물 측정은 균질액 0.5 mL를 취하여 1% phosphoric acid 3 mL와 0.6% TBA시약 1 mL를 가하여 잘 혼합한 후 95°C 수욕상에서 45분간 가열한 다음 butanol로 추출하였다. 표준물질로 1,1,3,3-tetraethoxypropane(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하여 mmol MDA/dL로 나타내었다.

### 5) 홍마늘의 안전성 평가

마늘은 항균 작용, 뇌졸중, 심장병 등의 원인으로 작용하는 혈전과 동맥경화증의 예방에 효과적인 것으로 알려져 있으나, 과량 복용시 부작용이 발생할 수 있다는 연구결과도 보고되고 있다.

개발된 홍마늘은 항비만 및 체내 지질 개선에 효과적인 것으로 확인되어, 이를 이용한 제품의 개발을 위하여 인체에 대한 복용량의 안전성을 평가하기 위한 자료의 확보가 요구된다. 따라서 홍마늘 추출물과 제조된 조성물을 이용하여 비만쥐에 대한 안전성 평가를 실시하였다.

#### (1) 홍마늘 시료

안전성 평가를 위한 홍마늘 시료는 항비만 및 체내 지질 개선에 가장 효과적인 것으로 확인된 홍마늘 조성물(홍마늘 추출물+녹차+식이섬유)을 사용하였으며, 홍마늘 추출물 급이군과 비교하였다. 이들 시료는 각각 정수물에 용해시켜 2000 mg/kg bw 및 4000 mg/kg bw

의 농도를 사용하였다.

## (2) 투여용량 및 실험군의 구성

시료의 안전성 평가를 위하여 실험동물로 C57BL/6 및 ICR 마우스를 사용하였으며, 단회 독성 검사 및 장기 독성 검사를 위하여 실험군은 대조군, 홍마늘 투여군, 홍마늘 조성물 투여군으로 구분하였다. 실험동물의 단회 경구독성 투여 한계용량은 2000 mg/kg으로 설정되어 있어(OECD, 2000; Glaser와 Hecker 1996), 본 연구에서도 이에 준하여 농도를 설정하였다. 또한 식품의약품안전청의 의약품 독성시험기준(식품의약품안전청, 1999)은 시험물질의 독성이 극히 약하여 치사량을 구하기 어려운 경우 기술적으로 투여할 수 있는 한계량의 투여를 상한선으로 하는 것이 권장되고 있는데, 본 연구에서는 단회 경구독성 투여 한계용량인 2000 mg/kg의 2배에 해당되는 4000 mg/kg을 경구투여하여 시료의 급이에 대한 최대량을 알아보려고 하였다. 이때 경구투여를 위한 시료의 부피는 0.5 mL로 하였다.

장기 독성검사로 3주령의 C57BL/6 마우스 및 ICR 마우스를 대상으로 고지방식이에 홍마늘 추출물 및 조성물을 2000 mg/kg으로 5일간 급이하면서 이상행동을 관찰하였다.

단회 경구투여 독성검사로 2000 mg/kg 및 4000 mg/kg 농도에 대하여 실시하였으며, 각 시료를 1회 오전 10시에 경구투여한 후 당일은 매 2시간 간격으로 8시간까지 관찰하였다. 2일째부터 5일까지는 매일 2회씩(오전 10시, 오후 4시) 이상행동의 유무에 대해 관찰하였다. 모든 실험동물은 구입 후 1주 동안 사육실에서 순화과정을 거친 다음 사용하였으며, 순화기간동안 일반적인 증상이나 식이섭취, 이상행동의 소견은 보이지 않았다. 이때 대조군은 동일한 양의 물을 경구투여 하였다.

## (3) 관찰 항목 및 검사 항목

외관상 보이는 일반증상의 변화, 독성 증상 및 사망 동물의 유무, 이상 행동의 발현 등을 육안으로 관찰하였다.

시험에 사용된 모든 동물에 대해 투여 전 및 투여 후 체중변화를 측정하였다. 부검은 실험 최종일에 절식 후 에테르 마취하여 개복한 후 심장채혈하여 혈액을 얻은 후, 모든 내부장기의 이상 유무를 육안 검사하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 1) 홍마늘 제조 공정 개발에 따른 이화학적 특성분석

#### (1) 수분, 조단백질 및 회분 함량

홍마늘 가공 공정에 따른 수분, 조단백질 및 회분 함량을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 수분 함량은 step 0(생마늘)에서  $58.07 \pm 0.22\%$  이던 것이 가공 공정에 따라 점차 감소하는 경향을 보여 step 2에서는  $50.75 \pm 0.13\%$ 로 감소하였으나 이후 다시  $54.99 \pm 0.34\%$ 까지 증가하였다가 최종 단계인 step 6에서는  $49.62 \pm 0.98\%$ 로 감소하였다. 조단백질은 step 0에서 5.20%였고, step 1~4에서 조단백질의 함량이 점차 감소하는 경향(6.12~5.09%)을 보였으며, 마지막 단계인 step 6에서는 6.54%로 step 0의 5.20%에 비해 약 1.3배 정도 높은 함량이었다. 홍마늘

가공 중 회분의 함량은 매우 불규칙한 결과를 보였으며, step 0에서 1.16%로 가장 낮은 함량이었고, 마지막 단계인 step 6에서는 2.72%로 step 0에 비해 약 2.3배 증가하였다. Kim 등 (2005)은 마늘을 끓이거나, 프라이팬에서 볶거나, 전자레인지로 가열하였을 때 일반성분 중 수분, 회분 등은 열처리에 따른 함량의 변화가 거의 없었으나 조단백질은 열처리함으로써 다소 감소하는 것으로 보고되어 본 실험의 결과와는 다소 상이하였다. 그러나 홍마늘 제조 시 최종단계에서 수분의 탈수로 인하여 시료 중의 조단백질 및 회분 함량이 증가된 것으로 추정된다.

Table 4. General composition of garlic during red garlic processing

Sample	Moisture	Crude protein	Ash
Step 0	58.07±0.22	5.20±0.00	1.16±0.14
Step 1	55.85±0.28	6.12±0.00	1.62±0.01
Step 2	50.75±0.13	5.59±0.61	1.62±0.00
Step 3	54.99±0.34	5.19±0.00	1.67±0.01
Step 4	54.48±0.16	5.09±0.18	1.17±0.01
Step 5	52.75±0.68	5.43±0.31	1.77±0.01
Step 6	49.62±0.98	9.54±0.00	2.72±0.05

## (2) 갈변물질의 함량

홍마늘 가공 공정에 따른 갈변물질의 함량 변화를 측정한 결과는 Table 5와 같다. 갈변물질의 함량을 예측할 수 있는 흡광도 수치(420 nm)는 step 0의 O.D. 값인 0.03과 비교할 때, 홍마늘 가공 중 단계별 시료(step 2~6)에서 0.12~0.17의 범위로 유의적으로 증가하였으며, step 0에 비해 홍마늘 가공의 마지막 공정인 step 6에서는 O.D. 값이 0.17로 가장 높았다. 이와 같이 가공 공정의 최종단계에서 홍마늘의 갈색도가 높아지는 것으로 생마늘이 홍마늘로 가공되는 과정에서 마늘에 함유된 당과 아미노산이 상호반응하여 갈변물질의 생성을 촉진시킨 결과로 해석된다. 갈변반응에서 pH가 낮아지면 반응은 오히려 촉진되는데 이는 당이 열처리에 의해 환원당인 aldohexose의 aldehyde기가 산화되어 생성된 carbonyl기에 의한 것이거나(Choi 등, 1981), 당과 염기성 아미노산의 결합에 의하여 가용성 염기성 아미노산의 감소 및 산성물질의 생성으로 pH가 저하된다고 알려져 있다(Kim 등 1981).

Table 5. Browning intensity of garlic during red garlic processing

Sample	Browning intensity (420 nm)
Step 0	0.03±0.00 <sup>A</sup>
Step 1	0.03±0.00 <sup>A</sup>
Step 2	0.13±0.00 <sup>C</sup>
Step 3	0.14±0.00 <sup>D</sup>
Step 4	0.14±0.00 <sup>D</sup>
Step 5	0.12±0.00 <sup>B</sup>
Step 6	0.17±0.00 <sup>E</sup>

<sup>A-E</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

### (3) Total pyruvate 및 total thiosulfate의 함량

Total pyruvate의 함량과 total thiosulfate의 함량을 분석한 결과는 Table 6과 같다. Pyruvate의 함량은 step 0에서 15.60 mM/g으로 가장 높았으며, step 6에서 6.95 mM/g로 가장 낮았다. step 1~6의 시료의 pyruvate 함량을 비교할 때, step 5에서 10.16 mM/g으로 가장 높게 정량되었으며, step 1~5에서는 홍마늘 제조 공정의 진행과 더불어 유의적으로 증가하였다(7.39~10.16 mM/g).

Table 6. Contents of total pyruvate and total thiosulfate in garlic during red garlic processing

Sample	Total pyruvate	Total thiosulfate
Step 0	15.60±0.02 <sup>F</sup>	0.66±0.01 <sup>A</sup>
Step 1	7.39±0.02 <sup>B</sup>	0.68±0.01 <sup>A</sup>
Step 2	8.44±0.09 <sup>C</sup>	1.09±0.01 <sup>C</sup>
Step 3	8.45±0.04 <sup>C</sup>	1.62±0.02 <sup>E</sup>
Step 4	9.24±0.05 <sup>D</sup>	1.13±0.02 <sup>D</sup>
Step 5	10.16±0.04 <sup>E</sup>	1.06±0.02 <sup>B</sup>
Step 6	6.95±0.01 <sup>A</sup>	1.14±0.01 <sup>D</sup>

<sup>A-F</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

마늘 성분 중 pyruvate의 함량은 마늘의 향이나 매운맛과 관련이 있어 pyruvate의 함량이 높을수록 마늘의 향과 매운맛이 높은 것으로 알려져 있다(Kim 등, 1999). 마늘 중의 alliin은 조직이 파괴될 때 alliinase에 의해 마늘의 주요 향기성분이 되는 diallyl thiosulfate 즉, allicin과 안정한 pyruvate로 전환되고, alliin은 매우 불안정하여 곧 비효소적 반응으로 diallyl disulfide 등으로 분해되어 마늘 특유의 향기성분을 생성하게 된다(Whitaker, 1976).

Total thiosulfate의 경우 step 0에서 0.66 mM/g였던 것이 홍마늘 가공 중 단계별 시료(step 1~6)에서 0.68~1.14 mM/g으로 유의적으로 증가하였고, step 3에서 1.62 mM/g로 가장 높게 정량되었으며, 그 다음이 step 6 (1.14 mM/g)이었다.

Thiosulfate는 생마늘 내의 alliinase에 의하여 cysteine sulfoxide가 분해되어 생성되는 것으로 매우 불안정하고 용매, 온도 및 농도에 매우 의존적인 성분이다(Rose 등, 2001). Byun 등 (2001)은 마늘의 총 thiosulfate 함량은 숙성 온도에 따라 큰 차이를 보여, 25℃ 이상에서 빠르게 감소하고, 20℃에서는 10 일 후, 50℃에서는 1일 후 검출되지 않았다고 보고하였다.

#### (4) DPPH 라디칼 소거능

DPPH는 비교적 안정한 라디칼을 갖는 물질로 항산화 활성이 있는 물질과 반응하면 라디칼이 소거되어 탈색되는 점을 이용하여 항산화 활성을 검정하는데 널리 사용되고 있다. 홍마늘 가공 과정 중 단계별 시료의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한결과는 Table 7과 같다.

Table 7. DPPH radical scavenging ability of garlic during red garlic processing

Sample	Concentrations (mg/mL)			
	10	25	50	100
Step 0	33.26±1.22 <sup>aC</sup>	55.32±2.06 <sup>bC</sup>	61.85±1.70 <sup>cB</sup>	88.53±0.87 <sup>dBC</sup>
Step 1	45.22±2.68 <sup>aE</sup>	44.34±7.80 <sup>aB</sup>	58.76±2.95 <sup>bB</sup>	70.40±2.25 <sup>cA</sup>
Step 2	49.01±1.88 <sup>aF</sup>	72.49±4.03 <sup>bD</sup>	90.97±1.08 <sup>cE</sup>	93.23±1.09 <sup>cDE</sup>
Step 3	39.35±3.19 <sup>aD</sup>	60.68±3.43 <sup>bC</sup>	84.83±0.56 <sup>cD</sup>	93.45±1.93 <sup>dDE</sup>
Step 4	23.87±1.64 <sup>aB</sup>	43.86±3.45 <sup>bB</sup>	72.79±1.71 <sup>cC</sup>	91.63±1.72 <sup>dCD</sup>
Step 5	19.89±1.44 <sup>aA</sup>	33.40±1.07 <sup>bA</sup>	46.85±3.25 <sup>cA</sup>	85.07±3.87 <sup>dB</sup>
Step 6	32.95±2.26 <sup>aC</sup>	77.98±1.85 <sup>bD</sup>	88.61±0.61 <sup>cE</sup>	96.16±0.67 <sup>dE</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

<sup>A-F</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

각 시료액의 농도가 증가할수록 소거능은 유의적으로 증가하였는데, 이는 Shin 등(2008)의 흑마늘 가공 중 항산화 활성의 변화 측정에서 마늘의 숙성이 진행될수록, 시료의 첨가 농도를 높일수록 항산화 활성이 증가된 결과와 유사하였다. 시료액의 농도가 10 mg/mL 일 때, step 0은  $33.26 \pm 1.22\%$ 로 step 6의  $32.95 \pm 2.26\%$ 과 비교할 때, 유의차가 없었지만, 시료액이 25~100 mg/mL 농도 범위일 때는 step 0과 step 6간에 전자공여능이 유의성 있게 증가하였다. 홍마늘 가공의 모든 단계에서 시료액이 50 mg/mL 농도일 때, 전자공여능은 50% 이상이었으며, 특히, step 6에서는 25 mg/mL 이상에서부터 다른 단계에 비해 유의적으로 높아, 100 mg/mL의 농도에서는 96.16%로 시험된 시료 중 가장 높은 항산화 활성을 보였다. 홍마늘 가공의 마지막 공정인 step 6에서 다른 단계에 비해 DPPH 라디칼 소거능이 우수한 것은 갈변반응 중 새로이 생성된 물질과 고분자의 melanoidin 화합물이 다량 축적된 결과로 해석된다.

Kim 등(1981)은 백삼과 홍삼 70% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 백삼 추출물은 소거능이 거의 없었으나 홍삼 추출물은 BHT와 유사한 정도로 강한 항산화 효과를 나타낸다고 보고한 바 있는데, 이는 본 실험의 step 0에 비해 step 1~6의 항산화력이 더 우수한 결과와 유사한 경향이였다.

마늘 중의 대표적인 항산화 물질인 flavonoid를 비롯하여 페놀화합물과 diallyl sulfide, diallyl disulfide, diallyl trisulfide 및 allyl-cystein과 같은 함황화합물이 항산화 기능을 갖는 주체로 보고되어 있다(Nuttakaan, 2006). 또한 마늘 중의 갈변 반응 물질들도 항산화 활성을 나타내는데, Moreno 등(2006)은 상온에서 10개월 이상 숙성해서 얻어진 숙성마늘 추출물의 Maillard 반응의 첫 번째 단계에서 얻어진 amadori 화합물이 항산화 효과를 지닌다고 하였다.

##### (5) ABTs 라디칼 소거능

ABTs는 유리기들(hydroxyl, peroxy, alkoxy, inorganic radical)과 반응하여 안정한 ABTs<sup>+</sup>를 형성한다(Lee 등, 2008). ABTs는 DPPH와 같은 라디칼이지만 DPPH는 자유 라디칼이며 ABTs는 양이온 라디칼이라는 점에서 차이가 나며 항산화 물질에 따라 두 라디칼에 결합하여 제거하는 능력이 차이가 생긴다(Wang 등 1998).

ABTs 라디칼 소거능은 DPPH에 의한 전자공여능에서 처럼 시료 농도에 의존적으로 활성이 증대되었다(Table 8). 25 mg/mL의 step 2~6 범위에서 ABTs 라디칼 소거능은 모두 50% 이상이었으며, step 0~6 범위에서는 시료액의 농도가 50 mg/mL 이상일 때 모두 60% 이상의 소거능을 보였다. 100 mg/mL에서는 단계별 시료에 따른 유의적인 차이가 없었지만 88.70~97.81%의 범위로 항산화능이 높았다. 또한 step 1~6의 범위 중 step 3의 10 mg/mL 농도를 제외한 모든 시료는 가공 공정을 거치지 않은 step 0과 비교할 때, 유의적으로 높은 항산화 활성을 나타내었다. 특히, 마지막 단계인 step 6은 10 및 20 mg/mL의 농도에서 다른 단계에 비해 유의적으로 높은 항산화 활성을 나타내었다. ABTs 라디칼 소거능은 전자공

여능과 상관관계가 높으며 그 활성에는 페놀화합물과 같은 항산화 물질이 관여하는 것으로 보고된 바 있다(Choi 등 2003).

Table 8. ABTs radical scavenging ability of garlic during red garlic processing

(%)

Sample	Concentrations (mg/mL)			
	10	25	50	100
Step 0	27.67±2.75 <sup>ab</sup>	40.14±1.79 <sup>ba</sup>	65.45±0.95 <sup>ca</sup>	91.24±2.35 <sup>daB</sup>
Step 1	31.37±0.59 <sup>abc</sup>	45.88±4.32 <sup>bb</sup>	65.59±1.03 <sup>ca</sup>	88.70±2.24 <sup>da</sup>
Step 2	36.92±1.80 <sup>ad</sup>	60.06±1.84 <sup>bc</sup>	88.53±1.59 <sup>cc</sup>	93.60±1.63 <sup>dbc</sup>
Step 3	21.12±1.20 <sup>aa</sup>	59.51±1.41 <sup>bc</sup>	86.83±1.05 <sup>cc</sup>	90.37±0.75 <sup>daB</sup>
Step 4	38.44±4.74 <sup>ad</sup>	68.47±2.55 <sup>bd</sup>	94.85±1.89 <sup>cd</sup>	95.46±2.30 <sup>cd</sup>
Step 5	35.11±0.91 <sup>acd</sup>	60.20±0.61 <sup>bc</sup>	76.48±1.40 <sup>cb</sup>	97.81±1.58 <sup>dd</sup>
Step 6	46.89±0.40 <sup>ae</sup>	71.97±1.37 <sup>bd</sup>	93.03±1.00 <sup>cd</sup>	93.39±3.62 <sup>dcd</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

<sup>A-E</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

### (6) 환원력

항산화 작용의 여러 가지 기작 중에서 활성 산소종 및 유리기에 전자를 공여하는 능력이 환원력이므로 이를 측정하여 항산화 활성을 검정하는 수단으로 이용될 수 있으며, 환원력이 클수록 녹색에 가깝게 발색되므로 항산화 활성이 큰 물질일수록 높은 흡광도 값을 나타낸다 (Kim 등, 2003).

홍마늘 가공 중 단계별로 시료를 채취하여 환원력을 측정한 결과를 Table 9에 나타내었다. 각 시료에서 시료액의 첨가농도가 증가함에 따라 환원력이 유의적으로 증가하였고, step 1과 2를 제외한 모든 시료에서 홍마늘 제조 공정의 진행과 더불어 유의적으로 증가하였다. 10, 50 및 100 mg/mL의 농도범위에서 step 6는 환원력이 우수하여 흡광도 값이 각각 0.14, 0.32 및 0.56으로 다른 단계에서보다 유의적으로 높았으며, 특히 100 mg/mL 농도에서는 흡광도 값이 0.56으로 시험된 시료 중 가장 높은 환원력을 나타내었다.

Shin 등(2008)의 생마늘, 찢마늘 및 흑마늘의 열수 및 에탄올 추출물의 환원력을 측정한 결과 열수 및 에탄올 추출물 모두 흑마늘이 생마늘과 찢마늘에 비해 환원력이 높은 것으로 보고하였는데, 이는 흑마늘 제조 과정 중에 새로이 생성된 갈변물질에 의하여 항산화 활성이 생마늘에 비하여 더 높게 나타나는 것으로 판단된다고 하였고, 이는 본 실험의 홍마늘과

도 유사한 결과였다.

Table 9. Reducing power of garlic during red garlic processing

(700 nm, absorbance value)

Sample	Concentrations (mg/mL)			
	10	25	50	100
Step 0	0.10±0.00 <sup>aB</sup>	0.14±0.00 <sup>bB</sup>	0.22±0.01 <sup>cB</sup>	0.32±0.00 <sup>dB</sup>
Step 1	0.09±0.01 <sup>aA</sup>	0.12±0.00 <sup>bA</sup>	0.14±0.00 <sup>cA</sup>	0.17±0.01 <sup>dA</sup>
Step 2	0.09±0.00 <sup>aA</sup>	0.11±0.01 <sup>bA</sup>	0.25±0.01 <sup>cCD</sup>	0.38±0.01 <sup>dD</sup>
Step 3	0.11±0.00 <sup>aC</sup>	0.18±0.01 <sup>bC</sup>	0.27±0.00 <sup>cC</sup>	0.40±0.01 <sup>dE</sup>
Step 4	0.13±0.00 <sup>aD</sup>	0.24±0.02 <sup>bE</sup>	0.26±0.01 <sup>bCD</sup>	0.40±0.01 <sup>cE</sup>
Step 5	0.14±0.01 <sup>aE</sup>	0.19±0.00 <sup>bC</sup>	0.24±0.03 <sup>BC</sup>	0.35±0.00 <sup>dC</sup>
Step 6	0.14±0.00 <sup>aE</sup>	0.21±0.01 <sup>bD</sup>	0.32±0.00 <sup>cE</sup>	0.56±0.00 <sup>dF</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

<sup>A-F</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

### (7) α-Glucosidase 저해활성

α-glucosidase는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 존재하며, 탄수화물 분해속도 조절효소로 작용한다(Bertozzi와 Kiessling, 2001). 즉, 소장점막에서 이당류와 다당류의 분해속도를 지연시켜 탄수화물의 흡수를 저해하고, 식후 혈당 상승을 억제하게 됨으로써(Bell, 2004) 당뇨, 비만, 과지방혈증 등의 탄수화물 관련 질병에 영향을 미치게 된다(de Melo 등, 2006).

홍마늘 가공 중 단계별 시료의 α-glucosidase에 대한 저해 활성 결과를 Table 10에 나타내었다. 각 시료액의 농도가 증가할수록 α-glucosidase 저해 활성이 유의적으로 증가하였으며, 홍마늘 제조 공정 단계에 따른 유의차가 없었지만 stop 0에 비해 step 1~6에서 유의적으로 높은 활성을 보였다. 또한 마지막 공정인 step 6은 모든 농도에서 다른 단계에 비해 유의적으로 높은 활성을 나타내었으며(22.40~50.97%), 특히 100 mg/mL의 농도에서는 50.97%로 시험된 시료 중 가장 높은 α-glucosidase 저해 활성을 나타내었다. 본 실험 결과에서 홍마늘은 탄수화물의 소화 과정에서 α-glucosidase에 의한 단당류 생성을 저해하고 체내 탄수화물의 소화와 흡수를 지연시킴으로써 식사 후 혈당이 급격히 상승하는 등의 당뇨 개선에 영향을 줄 것으로 사료된다.



Table 10.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of garlic during red garlic processing

(%)

Sample	Concentrations (mg/mL)			
	10	25	50	100
Step 0	8.43±0.90 <sup>aA</sup>	13.89±0.25 <sup>bA</sup>	18.65±1.92 <sup>cA</sup>	26.56±2.32 <sup>dA</sup>
Step 1	10.26±0.57 <sup>aAB</sup>	16.55±1.89 <sup>bAB</sup>	24.50±1.57 <sup>cC</sup>	34.53±0.91 <sup>dB</sup>
Step 2	15.17±2.27 <sup>aC</sup>	17.40±1.53 <sup>aB</sup>	21.67±0.95 <sup>bB</sup>	37.13±2.15 <sup>cB</sup>
Step 3	20.50±0.46 <sup>aD</sup>	24.07±3.19 <sup>bD</sup>	31.00±0.88 <sup>cE</sup>	36.40±0.33 <sup>dB</sup>
Step 4	10.88±0.26 <sup>aB</sup>	20.99±0.15 <sup>bC</sup>	28.07±2.91 <sup>cD</sup>	41.45±1.69 <sup>dC</sup>
Step 5	11.74±1.72 <sup>aB</sup>	23.75±1.04 <sup>bCD</sup>	25.39±0.30 <sup>bCD</sup>	37.30±3.03 <sup>cB</sup>
Step 6	22.40±1.60 <sup>aD</sup>	37.49±0.65 <sup>bE</sup>	43.53±0.12 <sup>cF</sup>	50.97±0.47 <sup>dD</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>A-E</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

## 2) 최적 조건에서 제조된 홍마늘 열수 추출물의 생리활성 분석

최적 조건에서 홍마늘을 제조한 후 열수 추출하여 얻은 추출물의 생리활성을 측정하였으며, 이때 생마늘 및 흑마늘 열수추출물과 비교 분석하였다.

### (1) 마늘 추출물의 갈변물질 함량 및 pH

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 열수 추출물 중의 갈변물질 함량은 420 nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다. 2000  $\mu\text{g/mL}$  농도의 시료 추출액의 흡광도를 측정한 결과 Table 11과 같다. 생마늘은 0.06이었으며, 홍마늘은 0.14, 흑마늘은 1.15로 마늘의 색에 따라 갈변물질의 함량이 증가되었는데, 흡광도로 비교해 볼 때 홍마늘은 흑마늘에 비해 낮은 함량이었다.

Table 11. Browning intensity and pH in hot water extracts made from fresh, red and black garlies

Garlies	Browning compounds (420 nm)	pH
Fresh	0.06±0.01 <sup>A</sup>	5.05
Red	0.14±0.01 <sup>B</sup>	5.01
Black	1.15±0.01 <sup>C</sup>	4.94

<sup>A-C</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

pH는 생마늘이 5.05였는데, 홍마늘은 5.01, 흑마늘은 4.94로 마늘의 갈변화가 진행될수록 pH가 산성화되는 경향으로 나타나, 생마늘이 흑마늘로 될 경우 갈변물질의 생성이 증가됨과 동시에 pH가 낮아진다는 기존의 연구결과와 같은 경향이였다. 홍마늘의 pH가 생마늘과 차이가 작은 것으로 보아 홍마늘은 오히려 생마늘과 유사한 성질을 가질 것으로 추정된다.

### (2) 마늘 추출물의 총 페놀, 플라보노이드 및 O-di-phenol 함량

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 열수추출물의 총 페놀, 플라보노이드 및 O-di-phenol 함량을 측정한 결과는 Table 12와 같다. 총 페놀 함량은 20.29~31.35 mg gallic acid/g이었으며, 플라보노이드 함량은 9.99~14.88 mg quercetin/g, o-di-phenol 함량은 4.57~13.83 mg caffeic acid/g으로 생마늘 < 홍마늘 < 흑마늘의 순으로 유의적으로 높았다.

생마늘에 비해 열처리가 이루어진 홍마늘 및 흑마늘의 함량이 높은 것은 열처리 공정에 의해 마늘 중 일부 화합물이 페놀성 물질로 전환되었거나, 열처리로 조직이 연화되었으며, 이때 시료의 내부에 강하게 결합되어 있던 폴리페놀 화합물이 유리되며 저분자 폴리페놀 화합물의 농도가 증가되어 추출이 용이해진 결과로 추정된다. 이 결과는 Choi 등(2008)의 보고와도 유사한 패턴이었다.

Table 12. The contents of total phenols, flavonoids and O-diphenol in hot water extracts made from fresh, red and black garlics

Garlics	(mg/g dried extracts)		
	Total phenol	Flavonoids	O-Diphenol
Fresh	20.29±0.39 <sup>A</sup>	9.99±0.04 <sup>A</sup>	4.57±0.03 <sup>A</sup>
Red	27.15±0.07 <sup>B</sup>	12.06±0.38 <sup>B</sup>	4.79±0.02 <sup>B</sup>
Black	31.36±0.11 <sup>C</sup>	14.88±0.20 <sup>C</sup>	13.83±0.07 <sup>C</sup>

<sup>A-C</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

### (3) 마늘 추출물의 DPPH 라디칼 소거능

마늘 열수추출물을 250, 500, 1000 및 2000 µg/mL의 농도로 조정하여 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Table 13과 같다. 시료액의 농도가 증가됨에 따라 소거능은 유의적으로 상승되었다. 생마늘은 9.52~58.22%의 범위로 DPPH 라디칼 소거능을 보였는데, 홍마늘은 250 µg/mL농도에서 26.42%였으며, 1000 µg/mL 이상에서는 50% 이상의 소거능을 보였다. 흑마늘은 500 µg/mL이상의 농도에서 50% 이상의 소거능을 보여 홍마늘보다 유의적으로 높은 항산화 활성을 보였으나, 홍마늘도 생마늘에 비해서는 유의적으로 높은 항산화 활성이 있는 것으로 확인되었다.

Table 13. The activity of DPPH radical scavenging in hot water extracts made from fresh, red and black garlics

Garlics	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			
	250	500	1000	2000
Fresh	9.52 $\pm$ 1.40 <sup>aA</sup>	21.64 $\pm$ 2.18 <sup>bA</sup>	46.99 $\pm$ 1.78 <sup>cA</sup>	58.22 $\pm$ 1.68 <sup>dA</sup>
Red	26.42 $\pm$ 1.50 <sup>aB</sup>	32.29 $\pm$ 1.37 <sup>bB</sup>	53.00 $\pm$ 1.12 <sup>cB</sup>	59.26 $\pm$ 0.51 <sup>dA</sup>
Black	22.26 $\pm$ 5.64 <sup>aB</sup>	50.52 $\pm$ 1.40 <sup>bC</sup>	77.64 $\pm$ 1.12 <sup>cC</sup>	88.63 $\pm$ 0.82 <sup>dB</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>A-C</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

#### (4) 마늘 추출물의 ABTs 라디칼 소거능

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 열수추출물의 농도를 250, 500, 1000 및 2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 하여 ABTs 라디칼 소거능을 측정한 결과 Table 14에 나타낸 바와 같다.

Table 14. The activity of ABTs radical scavenging in hot water extracts made from fresh, red and black garlics

Garlics	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			
	250	500	1000	2000
Fresh	10.27 $\pm$ 0.25 <sup>aA</sup>	25.29 $\pm$ 0.60 <sup>bA</sup>	26.17 $\pm$ 1.75 <sup>bA</sup>	34.83 $\pm$ 2.60 <sup>cA</sup>
Red	16.58 $\pm$ 1.30 <sup>aB</sup>	24.99 $\pm$ 3.06 <sup>bA</sup>	49.69 $\pm$ 0.28 <sup>cB</sup>	56.10 $\pm$ 0.30 <sup>dB</sup>
Black	30.95 $\pm$ 0.65 <sup>aC</sup>	61.86 $\pm$ 0.15 <sup>bB</sup>	89.17 $\pm$ 0.82 <sup>cC</sup>	91.07 $\pm$ 0.83 <sup>dC</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>A-C</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

시료액의 농도가 증가함에 따라 생마늘 < 홍마늘 < 흑마늘의 순으로 ABTs 라디칼 소거능은 유의적으로 상승되었다. 생마늘 및 홍마늘은 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 20% 미만의 활성을 보였는데, 흑마늘은 30.95%의 소거능을 나타내었다. 생마늘은 2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서도 34.83%로 50% 미만이었는 데 비해 홍마늘은 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 49.69%, 2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농

도에서 56.10%로 생마늘에 비해 유의적으로 높은 ABTs 라디칼 소거능을 보였다. 흑마늘은 500 µg/mL 농도에서 61.86%로 홍마늘이 흑마늘에 비해서는 활성이 낮았으나, 생마늘에 비해서는 높은 라디칼 소거능을 보여 생마늘을 이용하여 홍마늘로 가공되어질 때 생리활성 물질도 충분히 함유할 것으로 예상된다.

### (5) 마늘 추출물의 환원력

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 열수추출물의 농도를 달리하였을 때 금속이온을 환원시키는 환원력을 흡광도 값으로 측정한 결과는 Table 15와 같다. 시료액의 환원력은 reductones가 제공하는 수소원자가 유리 라디칼의 사슬을 분해함으로써 개시되는데, 이때 시료액의 흡광도가 환원력을 나타내게 된다(Gordon 1990).

Table 15. Reducing power of hot water extracts made from fresh, red and black garlics (700 nm, absorbance value)

Garlics	Concentration (µg/mL)			
	250	500	1000	2000
Fresh	0.08±0 <sup>aa</sup>	0.09±0.01 <sup>aa</sup>	0.12±0.01 <sup>ba</sup>	0.15±0.01 <sup>ca</sup>
Black	0.13±0.01 <sup>ac</sup>	0.12±0 <sup>bb</sup>	0.14±0.01 <sup>bb</sup>	0.17±0.01 <sup>cb</sup>
Black	0.11±0 <sup>ab</sup>	0.19±0 <sup>bc</sup>	0.32±0 <sup>cc</sup>	0.56±0.01 <sup>dc</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

<sup>A-C</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

생마늘의 환원력은 250~500 µg/mL 농도에서 유의차가 없었으나, 농도가 증가함에 따라 유의적으로 환원력이 상승되었다. 홍마늘은 500~1000 µg/mL 농도 범위에서 유의차가 없었으나, 2000 µg/mL 농도에서는 0.17로 1000 µg/mL 농도에 비해서 유의적으로 높았다. 흑마늘은 250 µg/mL 농도에서 홍마늘보다 낮은 환원력을 보였으나, 500 µg/mL 이상에서 홍마늘보다 유의적으로 높은 환원력을 나타내었다.

Maillard 반응에 의해 생성된 물질의 환원력은 세포 기질내의 hydroxyl기와 수소 원자를 공격함으로써 라디칼 반응을 조절할 수 있는 환원성 물질에 기인하는 것으로 알려져 있다 (Lertittikul 등, 2007). 따라서 홍마늘이 흑마늘에 비해서는 환원력이 낮았으나, 생마늘에 비해서 높은 환원력을 보여 이 또한 마늘의 갈변물질에 의한 것으로 사료되며, 홍마늘이 생마늘의 기능성을 상승시킬 수 있을 것으로 예상된다.

### (6) Nitric oxide 라디칼 소거능

Nitric oxide (NO·)는 생체 내에서 NO synthase의 촉매작용에 의해 L-arginine으로부터 생성되는 반응성이 강한 자유 라디칼로 세포독성이 강하며 다량이 생성될 경우 염증반응, 면역 체계이상 등의 산화반응을 일으키는 것으로 알려져 있다(Ding 등, 1988). 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 열수추출물의 NO 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Table 16과 같다.

마늘 열수추출물의 NO 라디칼 소거능은 시료액의 농도가 증가함에 따라 상승하였으나, 모든 실험 조건에서 50% 미만이었다. 생마늘은 250~500 µg/mL 농도에서 10% 미만으로 소거능이 낮았으나, 2000 µg/mL 농도에서는 21.47%였다. 홍마늘 및 흑마늘은 250 µg/mL 농도에서 각각 14.55% 및 13.99%로 홍마늘 및 흑마늘간의 유의차는 없었다. 홍마늘의 NO 라디칼 소거능도 여타의 항산화 활성과 마찬가지로 흑마늘에 비해서는 활성이 다소 작았으나, 생마늘에 비해서는 항산화 활성이 높은 것으로 확인되었다.

Table 16. The activity of NO radical scavenging in hot water extracts made from fresh, red and black garlics

Garlics	Concentration (µg/mL)			
	250	500	1000	2000
Fresh	6.56±0.91 <sup>aA</sup>	9.45±1.14 <sup>aA</sup>	17.34±1.82 <sup>bA</sup>	21.47±2.22 <sup>cA</sup>
Red	14.55±0.61 <sup>aB</sup>	17.40±1.43 <sup>bB</sup>	21.54±1.49 <sup>cB</sup>	24.46±0.76 <sup>dB</sup>
Black	13.99±1.82 <sup>aB</sup>	20.76±0.68 <sup>bC</sup>	35.97±2.78 <sup>cC</sup>	45.39±0.25 <sup>dC</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

<sup>A-C</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

### (7) α-Glucosidase 저해 활성

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 열수추출물에 대한 항당뇨 활성 측정의 일환으로 *in vitro*에서 α-glucosidase 저해 활성을 측정한 결과는 Table 17과 같다. 마늘 열수추출물의 α-glucosidase 저해활성이 시료의 농도 증가에 따라 유의적으로 상승되었으나, 2000 µg/mL 농도에서도 약 30%로 비교적 활성이 낮은 편이었다. 생마늘 및 홍마늘은 250 µg/mL 농도에서 11.64~14.90%로 유의차가 없었으나, 흑마늘은 21.53%로 α-glucosidase 저해활성이 다소 높았다. 1000 µg/mL 농도에서는 홍마늘 및 흑마늘 간의 α-glucosidase 저해활성이 유의차가 없어, 홍마늘은 흑마늘 수준의 α-glucosidase 저해활성을 나타내는 것으로 확인되었다.

Table 17. The activity of  $\alpha$ -Glucosidase inhibition in hot water extracts made from fresh, red and black garlics

Garlics	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			
	250	500	1000	2000
Fresh	14.90 $\pm$ 0.47 <sup>aA</sup>	17.51 $\pm$ 0.23 <sup>bA</sup>	18.76 $\pm$ 0.88 <sup>bA</sup>	24.39 $\pm$ 2.01 <sup>cA</sup>
Red	11.64 $\pm$ 3.19 <sup>aA</sup>	13.83 $\pm$ 1.74 <sup>aB</sup>	22.94 $\pm$ 0.93 <sup>bB</sup>	28.35 $\pm$ 2.23 <sup>cB</sup>
Black	21.53 $\pm$ 0.80 <sup>aB</sup>	26.68 $\pm$ 0.70 <sup>bC</sup>	24.31 $\pm$ 0.13 <sup>cB</sup>	30.60 $\pm$ 0.71 <sup>dB</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>A-C</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

### 3) 홍마늘 용매별 분획물의 제조 및 생리활성 분석

최적 조건에서 제조된 홍마늘을 이용하여 순차 용매 분획에 따라 홍마늘 용매별 분획물을 제조하여 생리활성을 분석하였다.

#### (1) 추출 수율 및 갈변 물질 함량

홍마늘 용매별 분획물의 추출 수율은 butanol 분획물이 8.21%로 가장 많았으며, 그 외 hexane, chloroform, ethyl acetate 및 물 분획물은 각각 0.29, 0.38, 0.1 및 0.83%로 모두 1% 이하였다. 분획물의 갈변물질 함량을 420 nm에서 흡광도 값으로 나타낸 결과는 Fig. 2와 같으며, chloroform 분획물이 0.80으로 타 분획물에 비해 유의적으로 높았으며, hexane 분획물 (0.46)과 물 분획물(0.45)에 비해 약 1.7배 정도 높은 함량이었다. Ethyl acetate 및 butanol 분획물은 0.3 이하의 수준이었다.

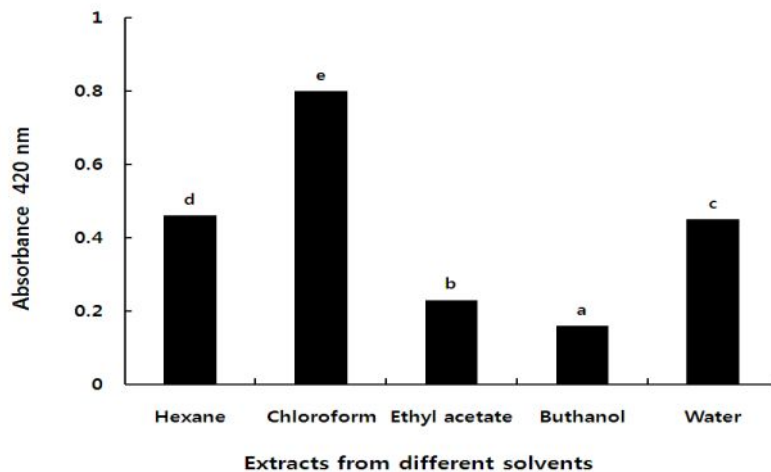


Fig. 2. Browning intensity of solvent extracts made from red garlic.

## (2) 총 페놀 및 플라보노이드 함량

홍마늘 용매별 분획물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 총 페놀 함량은 hexane 분획물에서 132.39 mg/g으로 가장 높았으며, 다음으로 chloroform 분획물이었으며, butanol 분획물의 함량이 35.13 mg/g으로 가장 낮았다. 플라보노이드 함량도 hexane 분획물에서 16.22 mg/g으로 가장 높았으며, 다음으로 chloroform 분획물로 10.69 mg/g이었으며, 그 외 분획물에서는 10 mg/g 이하였다.

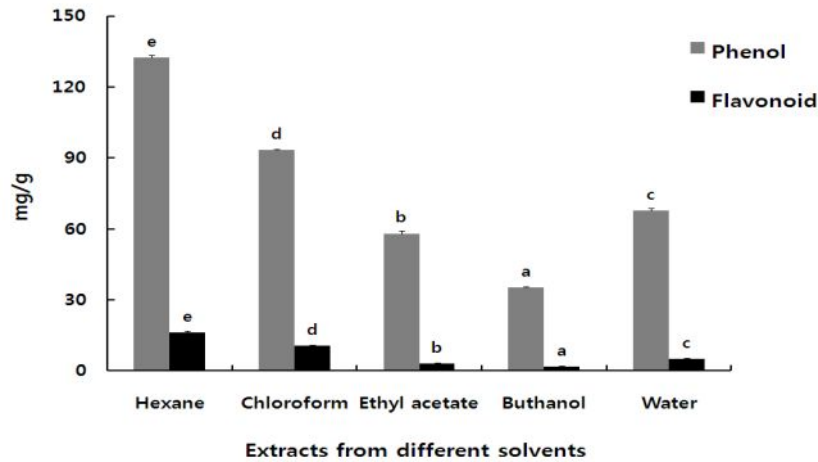


Fig. 3. Total phenol and flavonoid contents of solvent extracts made from red garlic

Shin 등(2010)의 흑마늘 용매별 분획물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 chloroform 분획물에서 가장 함량이 높아 시료 중의 페놀 화합물이 비극성 물질이라고 추정할 바 있는데, 홍마늘 분획물도 이와 유사한 경향이었으며, 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 높은 비극성의 용매 분획물에서 항산화능이 높을 것으로 예상되었다.

## (3) DPPH 라디칼 소거능

홍마늘 용매별 분획물의 DPPH 라디칼 소거능을 62.5~1000  $\mu\text{g/mL}$  범위의 농도조건에서 측정한 결과는 Table 18과 같다. 시료의 첨가농도가 많아질수록 항산화능은 증가되었는데, 물 분획물을 제외한 분획물에서 62.5  $\mu\text{g/mL}$  및 125  $\mu\text{g/mL}$  농도에서는 유의차가 없었으며, 250  $\mu\text{g/mL}$  이상의 농도에서는 유의적인 상승효과를 보였다. 시료 분획물의 종류에 따라서는 chloroform 분획물에서 활성이 가장 높아 1000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 48.64%, 다음으로 ethyl acetate 분획물이 43.34%, 물 분획물이 41.14%였으며, 그 외 분획물에서는 30% 이하였다. 흑마늘 용매별 분획물의 경우에도 chloroform 분획물에서 DPPH 라디칼 소거능이 가장 높아 1000  $\mu\text{g/mL}$  첨가시 91.56%였으며, 다음으로 ethyl acetate 분획물이 87.08%인 것으로 보고되어 DPPH 라디칼 소거능이 높은 흑마늘 용매분획물이 비극성 용매에 친화성이 강한 성분이라고 추정된 바 있는데, 홍마늘도 이와 유사한 것으로 판단된다. 더욱이 홍마늘 열수추출

물의 DPPH 라디칼 소거능은 흑마늘에 비해서는 유의적으로 낮았으나, 생마늘에 비해 높은 것으로 보고되어 있는데, 홍마늘이 흑마늘에 비해 갈색도가 낮은 것을 고려해 볼 때 홍마늘이 흑마늘에 비해 DPPH 라디칼 소거능이 낮은 것은 숙성에 따른 갈변물질의 생성 정도와 밀접한 상관성이 있는 것으로 추정된다.

Table 18. The activity of DPPH radical scavenging in solvent extract made from red garlic

	Concentration (µg/mL)				
	62.5	125	250	500	1000
Hexane	6.59±0.51 <sup>aA</sup>	7.19±1.17 <sup>aA</sup>	11.49±0.76 <sup>bB</sup>	0.17±0.60 <sup>cB</sup>	28.87±0.45 <sup>dB</sup>
Chloroform	11.44±0.88 <sup>aB</sup>	11.65±0.22 <sup>aB</sup>	18.19±0.42 <sup>bC</sup>	29.91±0.22 <sup>cE</sup>	48.64±0.32 <sup>dE</sup>
Ethyl acetate	11.90±0.17 <sup>aB</sup>	12.21±1.40 <sup>aB</sup>	16.72±2.55 <sup>bC</sup>	28.09±1.49 <sup>cD</sup>	43.34±1.52 <sup>dD</sup>
Butanol	7.01±0.74 <sup>aA</sup>	6.96±0.56 <sup>aA</sup>	8.17±0.96 <sup>bA</sup>	9.87±0.37 <sup>cA</sup>	12.74±0.52 <sup>dA</sup>
Water	13.37±0.96 <sup>aC</sup>	16.25±0.36 <sup>bC</sup>	17.40±0.69 <sup>cC</sup>	26.83±0.66 <sup>dC</sup>	41.14±0.55 <sup>eC</sup>

Each value represents mean±SD (n=3)

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p<0.05$ .

<sup>A-E</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at  $p<0.05$ .

#### (4) ABTs 라디칼 소거능

홍마늘 용매별 분획물의 ABTs 라디칼 소거능은 Table 19와 같다. 시료의 첨가 농도가 증가함에 따라 ABTS 라디칼 소거능은 유의적으로 상승하였으며, 1000 µg/mL 첨가시 chloroform, ethylacetate 및 물 분획물에서 70% 이상의 소거능을 보였으나, hexane 및 butanol 분획물의 경우에는 50% 미만이었다. 특히 chloroform 분획물의 경우, 본 실험에서 사용한 농도인 62.5~500 µg/mL의 농도범위에서 타 분획물에 비해 유의적으로 높은 소거능을 보였으며, 다음으로 물 분획물의 순이었다.

라디칼 소거능의 비교에서 ABTs법은 양이온을 소거한다는 점에서 유리라디칼을 소거하는 DPPH법에 비해 다소간 활성이 높은 것으로 알려져 있다. 이러한 결과는 본 실험과도 유사하였으며, 홍마늘 chloroform 분획물이 타 분획물보다 ABTs 소거능이 높았던 것은 흑마늘의 용매별 분획물과도 잘 일치하는 결과였다. 홍마늘 열수추출물의 ABTs 라디칼 소거능은 생마늘에 비해서는 높고 흑마늘에 비해서는 낮은 것으로 보고되어 열처리에 의한 숙성 기간과 정도에 따라 갈변물질의 생성이 다르기 때문에 라디칼 소거능에도 차이를 보이는 것으로 생각된다.



Table 19. The activity of ABTs radical scavenging in solvent extract made from red garlic

(%)

	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	62.5	125	250	500	1000
Hexane	8.31 $\pm$ 0.69 <sup>aB</sup>	12.94 $\pm$ 0.57 <sup>bB</sup>	81.58 $\pm$ 0.45 <sup>cB</sup>	32.14 $\pm$ 1.29 <sup>dB</sup>	47.30 $\pm$ 1.02 <sup>eB</sup>
Chloroform	25.15 $\pm$ 0.63 <sup>aD</sup>	36.77 $\pm$ 1.63 <sup>bE</sup>	51.27 $\pm$ 1.37 <sup>cE</sup>	70.01 $\pm$ 0.75 <sup>dE</sup>	72.62 $\pm$ 0.49 <sup>eC</sup>
Ethyl acetate	8.39 $\pm$ 0.73 <sup>aB</sup>	17.45 $\pm$ 1.06 <sup>bC</sup>	31.70 $\pm$ 0.67 <sup>cC</sup>	56.13 $\pm$ 1.50 <sup>dC</sup>	76.62 $\pm$ 0.60 <sup>eD</sup>
Butanol	3.82 $\pm$ 0.57 <sup>aA</sup>	2.68 $\pm$ 1.01 <sup>aA</sup>	6.57 $\pm$ 1.05 <sup>bA</sup>	16.35 $\pm$ 0.99 <sup>cA</sup>	32.80 $\pm$ 0.37 <sup>dA</sup>
Water	10.66 $\pm$ 0.32 <sup>aC</sup>	33.78 $\pm$ 1.42 <sup>bD</sup>	33.61 $\pm$ 0.79 <sup>bD</sup>	57.94 $\pm$ 0.55 <sup>cD</sup>	77.68 $\pm$ 0.66 <sup>dE</sup>

Each value represents mean $\pm$ SD (n=3)

<sup>a-e</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p<0.05$ .

<sup>A-E</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at  $p<0.05$ .

#### (5) FRAP법에 의한 항산화능

홍마늘 용매별 분획물의 항산화능을 측정하여 FeSO<sub>4</sub> 당량으로 나타낸 결과는 Table 20과 같다.

Table 20. Ferric reducing antioxidant power of solvent extract made from red garlic

(FeSO<sub>4</sub> eq  $\mu\text{M}$ )

	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	62.5	125	250	500	1000
Hexane	13.33 $\pm$ 1.67 <sup>aB</sup>	38.40 $\pm$ 2.95 <sup>bC</sup>	125.55 $\pm$ 2.55 <sup>cC</sup>	342.96 $\pm$ 2.24 <sup>dD</sup>	892.07 $\pm$ 3.59 <sup>eD</sup>
Chloroform	33.33 $\pm$ 1.67 <sup>aE</sup>	92.34 $\pm$ 0.88 <sup>bD</sup>	244.44 $\pm$ 3.47 <sup>cE</sup>	488.56 $\pm$ 3.36 <sup>dE</sup>	934.44 $\pm$ 5.36 <sup>eE</sup>
Ethyl acetate	17.18 $\pm$ 1.89 <sup>aD</sup>	96.11 $\pm$ 0.96 <sup>bE</sup>	175.56 $\pm$ 1.93 <sup>cD</sup>	338.33 $\pm$ 6.67 <sup>dC</sup>	562.22 $\pm$ 4.81 <sup>eC</sup>
Butanol	- <sup>aA</sup>	- <sup>bA</sup>	- <sup>cA</sup>	15.11 $\pm$ 2.79 <sup>dA</sup>	37.22 $\pm$ 0.96 <sup>eA</sup>
Water	16.11 $\pm$ 0.96 <sup>aC</sup>	25.55 $\pm$ 2.55 <sup>bB</sup>	116.11 $\pm$ 4.19 <sup>cB</sup>	272.22 $\pm$ 1.92 <sup>dB</sup>	522.78 $\pm$ 4.81 <sup>eB</sup>

Each value represents mean $\pm$ SD (n=3)

<sup>a-e</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p<0.05$ .

<sup>A-E</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at  $p<0.05$ .

시료의 첨가 농도에 의존적으로 항산화능이 증가하였으며, 특히 chloroform 분획물이 가장 높은 항산화능을 보였고, 다음으로는 hexane 분획물이었다. Butanol 분획물의 경우에는 62.5~250 µg/mL의 농도범위에서 항산화능이 나타나지 않았으며, 1000 µg/mL의 농도에서도 37.22 µM로 가장 활성이 낮았다. Chloroform 분획물은 butanol 분획물에 비해서는 약 25배 정도 높은 활성을 보였다.

홍마늘 분획물의 항산화능은 전반적으로 chloroform, hexane 분획물에서 높게 나타났는데, chloroform 분획물은 hexane 분획물에 비해 갈변물질의 함량이 약 1.7배 정도 높았으며, hexane 분획물은 chloroform 분획물에 비해 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 유의적으로 높았다.

### (6) Tyrosinase 저해능

홍마늘 용매별 분획물의 tyrosinase 저해능을 측정한 결과는 Table 21과 같다. 250~1000 µg/mL의 농도범위에서 tyrosinase 저해능은 60~70% 정도로 시료의 종류 및 농도의 증가에 통계적인 유의차가 없었다. 따라서 본 실험은 250 µg/mL 미만의 농도로 7.8~125 µg/mL의 농도범위에서 측정되었다. 7.8 µg/mL의 농도에서 홍마늘 분획물의 tyrosinase 저해능은 ethyl acetate 분획물에서 17.47%로 가장 높았으며, 다음으로 물 > chloroform > hexane 분획물의 순이었으며, butanol 분획물은 4.62%로 가장 낮은 활성이었다. 반면에 125 µg/mL의 농도에서는 hexane 및 물 분획물의 활성이 가장 높았으며, chloroform, ethyl acetate 및 butanol 분획물은 서로 유사한 수준이었다.

Table 21. The activity of tyrosinase inhibition in solvent extract made from red garlic (%)

	Concentration (µg/mL)				
	7.8	15.6	31.2	62.5	125
Hexane	9.53±0.66 <sup>ab</sup>	18.15±0.70 <sup>bb</sup>	33.94±0.66 <sup>cc</sup>	51.41±1.15 <sup>dc</sup>	54.08±1.34 <sup>ec</sup>
Chloroform	10.22±0.68 <sup>ac</sup>	18.49±0.42 <sup>bb</sup>	30.11±1.78 <sup>cb</sup>	44.89±0.64 <sup>db</sup>	47.87±1.64 <sup>eb</sup>
Ethyl acetate	17.47±1.24 <sup>ae</sup>	23.2±1.53 <sup>bc</sup>	32.06±0.48 <sup>cBC</sup>	42.69±0.24 <sup>dA</sup>	46.74±0.22 <sup>eAB</sup>
Butanol	4.62±0.48 <sup>aA</sup>	7.04±0.12 <sup>aA</sup>	26.93±1.57 <sup>cA</sup>	40.80±0.72 <sup>dA</sup>	45.07±0.25 <sup>eA</sup>
Water	13.60±1.00 <sup>ad</sup>	17.41±0.38 <sup>bb</sup>	32.43±0.35 <sup>cC</sup>	46.53±1.20 <sup>dB</sup>	52.49±1.58 <sup>ec</sup>

Each value represents mean±SD (n=3)

<sup>a-e</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p<0.05$ .

<sup>A-C</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at  $p<0.05$ .

**(7) α-Glucosidase 저해능**

홍마늘 용매별 분획물의 α-glucosidase 저해능은 Table 22와 같다. 시료에 62.5~125 μg/mL 농도에서 α-glucosidase 저해능이 나타나지 않았는데, chloroform 분획물은 125~1000 μg/mL 농도범위에서 27.28~80.54%, hexane 및 ethyl acetate 분획물은 250~1000 μg/mL 농도에서 각각 27.71~69.17%, 16.01~64.91%의 저해능을 보였다. 반면에 butanol 및 물 분획물의 경우에는 500~1000 μg/mL 농도에서만 저해능을 보였으며, 활성도 타 시료에 비해 낮았다. Hexane 및 chloroform 분획물은 1000 μg/mL 농도보다 오히려 500 μg/mL의 농도에서 α-glucosidase 저해능이 유의적으로 높게 나타나 시료의 농도가 너무 높아 반응이 감소되어진 결과라 해석된다.

Table 22. The activity of α-Glucosidase inhibition in solvent extract made from red garlic (%)

	Concentration (μg/mL)				
	62.5	125	250	500	1000
Hexane	- aC	- bB	27.71±0.28 <sup>cD</sup>	73.83±0.42 <sup>eD</sup>	69.17±1.05 <sup>dE</sup>
Chloroform	- aA	27.28±1.88 <sup>bD</sup>	50.36±1.33 <sup>cE</sup>	80.54±0.31 <sup>eE</sup>	59.32±1.06 <sup>dC</sup>
Ethyl acetate	- aB	- bC	16.01±0.87 <sup>cC</sup>	27.08±1.86 <sup>dC</sup>	64.91±0.78 <sup>eD</sup>
Butanol	- aE	- bB	- cA	7.16±0.55 <sup>dA</sup>	19.15±1.67 <sup>eA</sup>
Water	- aD	- bA	- cB	17.39±0.18 <sup>dB</sup>	51.67±1.58 <sup>eB</sup>

Each value represents mean±SD (n=3)

<sup>a-e</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p<0.05$ .

<sup>A-E</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at  $p<0.05$ .

상기의 홍마늘 용매별 분획물에서 항산화 활성을 측정한 결과 주로 hexane 및 chloroform 분획물에서 활성이 높았는데, 이는 홍마늘 용매별 분획물의 항산화능과도 유사한 결과였다. 일반적으로 페놀성 물질은 수소공여체나 금속이온의 킬레이터로 작용함으로써 항산화능을 나타내며, 페놀 화합물의 함량이 높을수록 항산화능이 증가하는 것으로 보고되어 있다.

식물로부터 추출된 페놀 화합물은 항산화능을 포함한 다양한 생물학적 효능을 나타낸다고 하였으며, 이들의 효능이 주로 산화 환원력에 기인된다는 것으로 볼 때, 홍마늘의 항산화능도 총 페놀 및 플라보노이드 함량과 관련성이 높은 것으로 판단된다. 또한 마이알 반응에 의해 생성된 갈색 물질은 세포 기질내의 hydroxyl기와 수소 원자를 공격함으로써 라디칼 반응을 조절할 수 있는 환원성 물질에 의해 환원력을 나타내는 것으로 알려져 있으므로 홍

마늘의 항산화능은 홍마늘 중의 갈변 물질 함량과도 관련성이 있을 것으로 사료된다. 따라서 본 실험 결과 홍마늘 용매별 분획물간에 총 페놀, 플라보노이드 및 갈변 물질의 함량에 유의적인 차이를 보이는 것으로 보아 홍마늘 분획물의 항산화능은 이들 물질의 상호작용에 의한 결과라고 판단된다.

#### (8) 홍마늘 열수추출물 중 유효 생리활성 물질의 분석

홍마늘 열수추출물을 제조하여 15 brix의 농도로 조정하였다. 이로부터 총 페놀 과 플라보노이드 함량, 방향족 화합물 및 갈변 물질 함량을 측정하였다 (Table 23). 제조된 홍마늘 추출물 중 총 페놀 함량은 235.41  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 였으며, 플라보노이드 함량은 162.81  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로, 이는 총 페놀 함량에 대해 약 69.2%를 차지하였다. 280 nm에서 흡광도는 항산화성 물질 및 방향족 화합물의 존재를 추정할 수 있는 것으로 홍마늘 추출물의 흡광도는 0.549였다. 420 nm에서 흡광도는 갈색반응 물질의 존재를 알 수 있는 것으로 흡광도가 1.149였다.

Table 23. Total phenol, flavonoids and browning index of red garlic extract

	Red garlic extract
Total phenol content ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	235.41 $\pm$ 7.38
Flavonoid content ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	162.81 $\pm$ 2.81
Browning index in 280 nm	0.549
Browning index in 420 nm	1.149

#### (9) 홍마늘 열수추출물의 항산화 활성

홍마늘 추출물의 생리활성을 알아보기 위하여 DPPH 및 ABTs 라디칼 소거능과 FRAP법에 의한 항산화능을 측정하였다. 홍마늘 추출물은 15 brix 농도를 100%로 기준하여 증류수를 가하여 1, 3, 5, 10 및 20% 농도로 조정하여 측정한 결과는 Table 24와 같다. 시료의 농도가 증가될수록 항산화 효과가 유의적으로 상승되었다.

DPPH 라디칼 소거능은 1% 농도에서 10.50%였으며, 20% 농도에서 60.71%까지 증가되었다. ABTs 라디칼 소거능은 측정된 모든 농도에서 DPPH 라디칼 소거능보다 우수하였다. 일반적으로 ABTs 라디칼 소거능과 DPPH 라디칼 소거능은 상호 라디칼의 종류가 다르기 때문에 ABTs 라디칼의 소거능이 더 높게 측정된다는 학설과 잘 일치하였다. FRAP법에 의한 항산화능은 20% 농도에서 567.50  $\mu\text{M}$ 의 활성을 보였는데, 이는 홍마늘 용매별 분획물 중 ethyl acetate 분획물(1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )의 활성인 562.22  $\mu\text{M}$ 과 유사한 수준이었다. 따라서 본 연구에 사용된 홍마늘 추출물의 농도가 최고 20%인 것을 고려하면, 홍마늘 15 brix 100% 농도의 경우 생리활성이 월등히 높을 것으로 추정되며, 이러한 홍마늘 추출물을 이용하여 기능성 식품 소재로 이용한다면 그 기능성을 상승시킬 수 있을 것으로 기대된다.

Table 24. Antioxidant activities of red garlic extract

Concentration (%)	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTs radical scavenging activity (%)	FRAP assay (FeSO <sub>4</sub> eq μM)
1	10.50±2.31 <sup>a</sup>	18.50±1.75 <sup>a</sup>	90.42±6.72 <sup>a</sup>
3	24.17±2.00 <sup>b</sup>	45.80±0.71 <sup>b</sup>	263.34±3.04 <sup>b</sup>
5	36.57±1.15 <sup>c</sup>	53.30±2.28 <sup>c</sup>	297.92±5.67 <sup>c</sup>
10	59.01±1.31 <sup>d</sup>	73.39±1.93 <sup>d</sup>	399.17±6.45 <sup>d</sup>
20	63.71±0.34 <sup>e</sup>	78.96±1.19 <sup>e</sup>	567.50±14.99 <sup>e</sup>

<sup>a-e</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

#### 4) 홍마늘 분말이 비만 흰쥐의 항비만 및 지질저하에 미치는 영향

##### (1) 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

고지방식이에 3%의 마늘 분말을 급여 하였을 때 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율에 미치는 영향은 Table 25와 같다.

Table 25. Effects of various garlic powders on body weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER) in obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	Total body weight gain (g/4 weeks)	Food intake (g/day)	Total food intake (g/4 weeks)	FER (%)
Normal	160.80±9.26 <sup>a2)</sup>	19.10±1.87 <sup>b</sup>	534.72±52.54 <sup>b</sup>	30.33±3.68 <sup>a</sup>
Control	183.20±14.17 <sup>bc</sup>	16.99±0.84 <sup>a</sup>	475.80±23.55 <sup>a</sup>	38.46±1.07 <sup>c</sup>
FGP	169.80±9.58 <sup>ab</sup>	17.98±0.90 <sup>ab</sup>	503.44±25.31 <sup>ab</sup>	33.73±1.02 <sup>b</sup>
RGP	187.80±8.13 <sup>c</sup>	18.86±0.63 <sup>b</sup>	528.14±17.73 <sup>b</sup>	35.61±2.29 <sup>b</sup>
BGP	177.80±11.39 <sup>bc</sup>	19.03±0.53 <sup>b</sup>	532.90±15.03 <sup>b</sup>	33.34±1.37 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 1

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

체중증가량은 정상군(160.80 g/4 weeks)보다 고지방식으로 비만을 유발한 대조군(183.20 g/4 weeks)과 홍마늘 급여군(RGP)이 187.80 g/4 weeks로 높았는데 이는 식이섭취량의 차

이와 체지방 함량에 의한 것으로 추정된다. 식이효율은 대조군이 홍마늘 급이군에 비하여 유의적으로 높았고 마늘 분말 급이군은 대조군보다 유의적으로 낮았다.

고지방 식이로 유도된 비만 흰쥐에서 식이 섭취량은 정상군에 비해 낮았으나 식이효율은 증가되었는데(Lee 등, 1999; Lee 등, 2008), 이는 고지방 식이의 열량이 높기 때문이다(Lee 등, 2008). 본 실험 결과도 이와 유사한 경향이였으며, 지방은 탄수화물 및 단백질에 비해 위와 장에 체류시간이 길기 때문에 전반적인 식이 섭취량에 영향을 준 결과라 생각된다. 마늘 분말의 섭취는 지방의 과잉섭취시 식이효율을 낮추는데 효과적인 것으로 판단된다.

## (2) 장기 및 체지방 중량

비만이 유발된 흰쥐에 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 분말을 각각 식이의 3%로 급이하여 4주간 사육한 후 장기 중량을 측정된 결과는 Table 26과 같다. 심장, 신장, 고환 및 비장의 중량은 정상군, 대조군 및 실험군간에 유의차가 없어, 고지방식이나 마늘의 첨가가 이들 장기의 중량 변화에 영향을 미치지 않는 것으로 추정된다. 간장의 중량은 비만을 유발한 대조군에서 3.48 g/100 g으로 가장 높았고, 마늘 분말을 급이한 실험군은 대조군에 비해 감소하였는데, 특히 생마늘 급이군은 정상군과 유사한 수준이었다. 내장지방의 중량은 모든 실험군간에 통계적인 차이가 없었으나, 고환 주변지방은 비만이 유발된 대조군이 2.01 g/100 g으로 정상군에 비해 유의적으로 증가되었으나, 마늘 분말 급이군에서 유의적인 감소는 보이지 않았다.

## (3) 비만도

고지방 식이로 비만을 유도한 비만 흰쥐에 3% 수준으로 마늘 분말을 급이한 후 비만도를 평가한 결과는 Table 27과 같다. 정상군, 대조군 및 실험군 모두 구강에서 항문까지 체장 측정값은 유사하였고, Röhrer index, Lee index 및 TM index 모두 비만을 유도한 대조군이 정상군에 비해 유의적으로 높아 현저한 비만 현상을 보였다. 홍마늘분말 급이군과 대조군간의 비만도지수 평가에 유의차가 나타나 홍마늘 분말 급이군이 고지방 식이에 의한 비만방지에 가장 효과적인 것으로 판단된다.

지방비율이 높은 식이를 장기간 섭취할 경우 Röhrer 지수가 높아지며, 비만도의 평가는 콜레스테롤 또는 고지방 식이 등 비만의 유도 과정에 이용된 지방의 종류에 따라 차이가 있는 것으로 추정된다.

Table 26. Effects of garlic powders on organ weight and fat contents in obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	Normal	Control	FGP	RGP	BGP
Organ weight (g/100 g B.W.)					
Liver	3.06±0.36 <sup>a2)</sup>	3.48±0.25 <sup>b</sup>	3.09±0.17 <sup>a</sup>	3.24±0.23 <sup>ab</sup>	3.19±0.25 <sup>ab</sup>
Heart	0.32±0.03 <sup>NS</sup>	0.34±0.02	0.33±0.02	0.31±0.03	0.31±0.02
Kidney	0.61±0.04 <sup>NS</sup>	0.65±0.03	0.65±0.04	0.62±0.04	0.61±0.05
Spleen	0.17±0.03 <sup>NS</sup>	0.20±0.02	0.18±0.02	0.17±0.02	0.17±0.02
Testis	0.98±0.08 <sup>NS</sup>	0.96±0.07	0.99±0.08	0.94±0.06	1.01±0.03
Fat content in body (g/100 g B.W.)					
Body fat	9.92±2.17 <sup>a</sup>	15.02±1.09 <sup>b</sup>	14.48±1.15 <sup>b</sup>	12.19±1.84 <sup>ab</sup>	14.01±3.11 <sup>b</sup>
Visceral fat	0.94±0.51 <sup>NS</sup>	1.41±0.27	1.18±0.13	1.13±0.20	1.16±0.23
Epididymal fat	1.48±0.38 <sup>a</sup>	2.01±0.34 <sup>b</sup>	1.96±0.22 <sup>b</sup>	1.81±0.10 <sup>ab</sup>	1.87±0.20 <sup>ab</sup>

<sup>a-b</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p<0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 1

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

NS : Not significant

Table 27. Effect of garlic powder on obesity index in obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	Röhrer index	Lee index	T.M. index
Normal	31.98±2.30 <sup>a2)</sup>	311.26±7.41 <sup>a</sup>	54.99±3.74 <sup>a</sup>
Control	37.47±1.20 <sup>c</sup>	328.25±3.53 <sup>c</sup>	63.77±1.88 <sup>b</sup>
FGP	36.86±1.32 <sup>bc</sup>	326.45±3.94 <sup>bc</sup>	62.85±1.97 <sup>b</sup>
RGP	34.31±2.00 <sup>ab</sup>	318.64±6.13 <sup>a</sup>	58.90±3.17 <sup>ab</sup>
BGP	36.26±3.26 <sup>bc</sup>	324.45±9.54 <sup>bc</sup>	62.04±5.35 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p<0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 1

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

#### (4) 혈청 총 지질, 총 콜레스테롤 및 중성지방의 함량

비만을 유도한 쥐에게 식이의 3%수준으로 마늘분말을 급여한 후 혈청의 총 지질, 총 콜레스테롤 및 중성지방의 함량을 측정된 결과는 Table 28과 같다. 총 지질은 대조군에서 약 26% 정도 증가하였으며, 생마늘 급여군(FGP)은 대조군에 비해 감소하였으나 통계적인 차이는 없었다. 홍마늘 및 흑마늘 급여군은 각각 227.67 mg/dL, 242.67 mg/dL로 정상군(227.74 mg/dL)과 유사한 수준까지 회복되었다. 총 콜레스테롤 함량은 모든 실험군간에 유의차가 없었다. 중성지방은 총 지질 함량과 마찬가지로 대조군에 비해 실험군에서 유의적으로 감소하였으며, 생마늘 급여군은 정상군과 유사한 수준이었다. 특히, 홍마늘 급여군과 흑마늘 급여군은 정상군보다 약 33%, 31%가 각각 감소하였으며, 두 실험군간에 유의차는 없었다. 홍마늘을 급여 하였을 때 총 지질 함량과 중성지방이 가장 많이 감소한 것으로 보아 홍마늘이 혈중 지질의 축적 현상을 감소시키는 것으로 판단된다.

본 연구에서는 고지방 식이에 의한 고지혈증이 유발된 결과로 총 콜레스테롤의 함량은 변화가 없으나, 홍마늘 및 흑마늘 분말 급여시 혈청 중 중성지방의 감소 효과가 두드러진 것으로 나타났으며, 이와 같이 혈청 중의 중성지방 함량의 감소는 모세혈관 벽의 lipoprotein lipase에 의해 킬로미크론과 VLDL-C의 분해가 촉진된 결과로 해석되며(Kim 등, 2003), 고지방 식이에 의한 비만 유도 흰쥐의 경우 혈청 콜레스테롤보다는 중성지방의 농도 감소에 유의적인 것으로 나타났다.

Table 28. Effect of garlic powder on total lipid, total cholesterol and triglyceride level on serum in obese rats induced by high fat diet

	(mg/dL)		
Group <sup>1)</sup>	Total lipid	Total cholesterol	Triglyceride
Normal	227.74±5.28 <sup>a2)</sup>	58.82±5.49 <sup>NS</sup>	54.29±5.96 <sup>b</sup>
Control	287.67±15.87 <sup>b</sup>	60.79±5.94	62.64±2.09 <sup>c</sup>
FGP	267.67±19.81 <sup>b</sup>	58.42±0.94	48.80±5.45 <sup>b</sup>
RGP	227.67±8.17 <sup>a</sup>	56.91±1.91	36.28±3.04 <sup>a</sup>
BGP	242.67±21.86 <sup>a</sup>	57.44±4.88	37.08±3.15 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 1

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

NS : Not significant



**(5) 혈청 HDL-C, LDL-C, VLDL-C, 동맥경화지수 및 심혈관질환 위험지수**

체내 지질대사의 이상지표로 볼 수 있는 콜레스테롤농도와 동맥경화지수 및 심혈관질환 위험지수를 분석한 결과를 Table 29에 나타내었다. HDL-콜레스테롤은 대조군이 가장 낮았으며, 4주간의 마늘 분말의 급이로 정상군과 유사한 수준으로 회복되었다. LDL-콜레스테롤 함량은 대조군이 9.68 mg/dL로 가장 높았으며, 홍마늘 급이군이 가장 낮았지만 마늘 분말 급이군간의 통계적인 유의차는 없었다. 실험군에서 유의적으로 LDL-콜레스테롤의 함량이 감소하였지만, 정상군보다 높은 함량인 것은 4주간의 고지방식이 때문인 것으로 생각된다. VLDL-콜레스테롤은 마늘을 급이한 실험군에서 정상군과 대조군에 유의적으로 낮은 함량이 었다. 동맥경화지수와 심혈관질환 위험지수 모두 대조군이 정상군과 실험군에 유의적으로 높았으며, 마늘 분말의 급이로 정상군과 유사한 수준으로 회복되었다.

본 연구에서 고지방 식이로 인한 비만 유발 쥐에게 혈청 중 LDL-콜레스테롤과 VLDL-콜레스테롤의 형성과 동맥경화 등의 심혈관 질환을 예방하는데 마늘이 효과적인 것으로 사료된다.

Table 29. Effect of garlic powder on HDL-, LDL-, VLDL-C level, AI and CRF on serum in obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	HDL-C	LDL-C	VLDL-C	AI	CRF
	(mg/dL)				
Normal	42.26±2.23 <sup>b2)</sup>	4.66±0.49 <sup>a</sup>	10.91±1.45 <sup>b</sup>	0.40±0.04 <sup>a</sup>	1.34±0.07 <sup>a</sup>
Control	34.78±5.21 <sup>a</sup>	9.68±2.00 <sup>b</sup>	13.01±1.00 <sup>b</sup>	0.77±0.23 <sup>b</sup>	1.77±0.23 <sup>b</sup>
FGP	44.29±2.37 <sup>b</sup>	8.26±4.87 <sup>ab</sup>	6.42±2.05 <sup>a</sup>	0.37±0.11 <sup>a</sup>	1.37±0.11 <sup>a</sup>
RGP	45.65±5.19 <sup>b</sup>	5.66±0.91 <sup>ab</sup>	6.82±2.50 <sup>a</sup>	0.31±0.03 <sup>a</sup>	1.15±0.17 <sup>a</sup>
BGP	41.30±4.63 <sup>b</sup>	7.92±1.18 <sup>ab</sup>	6.54±0.10 <sup>a</sup>	0.37±0.05 <sup>a</sup>	1.37±0.05 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 1 <sup>2)</sup>Values are mean±SD (n=7)

**(6) 혈청 GOT, GPT 및 ALP 활성**

고지방 식이에 의한 비만 유도 흰쥐에 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 동결건조 분말을 식이에 3% 첨가급이 시킨 후 혈액의 간 손상 지표로 사용하는 GOT, GPT 및 ALP 효소 활성을 측정된 결과는 Table 30과 같다. GOT 활성은 고지방 식이를 급이한 대조군 (181.07 Karmen unit/mL)이 정상군 (153.21 Karmen unit/mL)에 비해서 약 1.2배 증가하였으며, 마늘 분말 급이군은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. GPT 활성도 대조군이 62.55 Karmen unit/mL으로 정상군에 비해 약 1.2배 증가하였으며, 생마늘 급이군은 대조군에 비해 다소 감소하였으나 통계적 차이는 없었고, 홍마늘 및 흑마늘 급이군은 정상군과 유사한 수준으로

감소되었다.

ALP 활성의 증가는 간염, 간경변, 폐쇄성 황달, 간암, 골질환, 만성 신부전 등에서 나타나고, 급성 황색 간 왜축증, 만성 신염일 때 감소하며, 흰쥐의 정상치는 16~48 u/L로 알려져 있다. 정상군에 비해 대조군이 높았으며, 마늘 분말을 급이하였을 때 정상군보다 감소되는 현상을 보였다.

본 실험결과 고지방 식이에 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘의 동결건조 분말의 첨가에 따라 고지방 식이로 인해 증가된 GOT, GPT 및 ALP 활성이 감소하는 것으로 보아 마늘 및 마늘의 열처리 가공품이 간과 신장의 기능의 정상화에 효과적인 것으로 여겨진다.

Table 30. Effect of garlic powder on GOT, GPT and ALP activities on serum of obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	GOT	GPT	ALP
	(Karmen unit/mL)		(K-A unit/mL)
Normal	153.21±2.74 <sup>ab2)</sup>	52.09±5.04 <sup>a</sup>	25.90±3.19 <sup>bc</sup>
Control	181.07±2.80 <sup>c</sup>	62.55±5.83 <sup>b</sup>	27.55±1.83 <sup>c</sup>
FGP	157.14±4.46 <sup>b</sup>	59.94±1.31 <sup>b</sup>	23.67±2.09 <sup>ab</sup>
RGP	147.50±5.74 <sup>a</sup>	50.62±3.31 <sup>a</sup>	20.67±1.81 <sup>a</sup>
BGP	153.04±4.87 <sup>ab</sup>	51.30±2.53 <sup>a</sup>	21.10±2.56 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 1

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

### (7) 혈청 glucose, total protein 및 albumin 함량

고지방 식이에 마늘 분말을 첨가하여 4주간 실험사육한 후 혈당, 총 단백질 및 알부민 함량을 측정된 결과는 Table 31과 같다. 혈당은 모든 실험군간에 유의차가 없었다. 총 단백질 함량은 정상군에서 5.21 mg/dL였는데, 마늘 분말 급이시 5.29~5.91 mg/dL로 정상군과는 유의적인 차이가 없었다. 알부민 함량은 모든 실험군간에 유의차를 보이지 않았다.

양파와 마늘 같은 allium속 식물류는 고당질 식이의 섭취시 인슐린 분비 증가와 혈당 감소에 효과적이라고 보고되어 있으며(Chang와 Johnson, 1980), 반면에 고지혈증 유발 흰쥐에 마늘분말을 1% 및 3% 수준으로 첨가한 경우에는 대조군에 비해 혈당이 감소되었으나 유의성은 없었다는 보고도 있다(Lee, 1991). 또한 Ali 등(1995) 및 Jain 등(1993)은 임상실험에서 마늘투여로 인한 혈당의 증가는 관찰할 수 없다고 보고하였는데, 이같은 내용은 본 연구와 유사한 결과였다.

Table 31. Effect of garlic powder on glucose, total protein and albumin level of serum in obese rats induced by high fat diet

(mg/dL)

Group <sup>1)</sup>	Glucose	Total protein	Albumin
Normal	115.12±11.07 <sup>NS2)</sup>	5.21±0.18 <sup>a</sup>	4.68±0.06 <sup>NS</sup>
Control	115.50±11.26	6.20±0.61 <sup>b</sup>	4.68±0.30
FGP	114.60±58.49	5.91±0.90 <sup>ab</sup>	4.81±0.17
RGP	112.19±13.44	5.88±0.33 <sup>ab</sup>	4.80±0.24
BGP	115.69±12.31	5.29±0.16 <sup>a</sup>	4.92±0.61

<sup>a-b</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 1

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

NS : Not significant

#### (8) 간 및 심장조직의 지질 함량

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘의 동결건조 분말을 4주간 급이한 비만 유발 흰쥐의 간 및 심장 조직 중 총 지질, 총 콜레스테롤 및 중성지방의 함량을 측정된 결과는 Table 32와 같다.

총 지질 함량은 비만이 유도된 대조군이 38.90 mg/g으로 가장 높았으며, 각 실험군은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 특히 흑마늘 급이군은 대조군에 비해 약 34%정도 감소하여 정상군과 유사한 수준이었다. 총 콜레스테롤 함량은 혈청의 총 콜레스테롤 함량 (Table 28)과 유사한 경향으로, 대조군에서 가장 많이 증가하였고 실험군에서 다소 감소하였지만 정상군, 대조군 및 실험군간에 유의차는 없었다. 중성지방은 대조군은 17.22±1.44 mg/g, 정상군은 12.50 mg/g 이었으며, 생마늘 급이군은 11.22 mg/g, 홍마늘 급이군은 12.37 mg/g, 흑마늘 급이군은 12.81 mg/g로 확연히 감소하였으며, 실험군간에 통계적 차이는 없었다.

심장 조직의 총 지질 함량은 정상군이 19.13 mg/g이었는데, 대조군이 24.88 mg/g으로 상승하였으며, 마늘 분말 급이시 21.41~22.75 mg/g의 범위였으며, 홍마늘 분말 급이군에서 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다. 총 콜레스테롤 함량은 대조군이 2.01 mg/g이었으며, 홍마늘과 흑마늘 분말 급이시 정상군과 유사한 수준이었다. 중성지방은 대조군이 정상군에 비하여 약 2배 정도 증가하였으며, 마늘 분말 급이시 대조군에 비하여 다소 감소하였으나 유의차는 없었다.

고지혈증 흰쥐에서 지질 개선에 유효한 마늘 분말의 적정 함량은 3~5%범위로 보고되어 있다(Chun와 Paik 1997; Kendler 1987). 또한 식물류 중의 총 페놀 화합물은 간 조직의 콜

레스테롤 함량을 감소시키는데(Igarashi와 Ohmuma 1995), 이는 중성지방의 함량 감소와도 연관성이 높다고 보고되어 있다(Yoon와 Park 2010). 마늘의 함유화합물인 allicin은 체내 지질 함량을 저하시키는 주된 물질인 것으로 알려져 있으며(Yu와 Shaw 1994), 생마늘을 열처리하여 홍마늘 및 흑마늘로 가공할 경우 총 페놀 화합물의 함량이 증가된다고 한 보고도 있는데(Lee, 2010; Shin 등 2008), 이들 분말의 급이에 의한 체내 지질 감소도 이와 유사한 기작에 의한 것으로 추정된다.

Table 32. Effect of garlic powder on total lipid, total cholesterol and triglyceride level of liver and heart in obese rats induced by high fat diet

(mg/g wet liver)			
Group <sup>1)</sup>	Total lipid	Total cholesterol	Triglyceride
Liver			
Normal	22.62±2.31 <sup>a2)</sup>	1.99±0.40 <sup>NS</sup>	12.50±1.21 <sup>a</sup>
Control	38.90±4.05 <sup>c</sup>	2.25±0.16	17.22±1.44 <sup>b</sup>
FGP	30.36±3.91 <sup>b</sup>	2.10±0.14	11.22±0.88 <sup>a</sup>
RGP	26.08±1.20 <sup>ab</sup>	2.18±0.22	12.37±1.70 <sup>a</sup>
BGP	25.46±1.91 <sup>a</sup>	2.16±0.26	12.81±1.53 <sup>a</sup>
Heart			
Normal	19.13±2.37 <sup>a</sup>	1.34±0.21 <sup>a</sup>	3.15±0.66 <sup>a</sup>
Control	24.88±2.35 <sup>c</sup>	2.01±0.11 <sup>c</sup>	7.18±0.72 <sup>b</sup>
FGP	22.75±1.94 <sup>bc</sup>	1.75±0.10 <sup>b</sup>	6.56±0.51 <sup>b</sup>
RGP	21.41±0.87 <sup>ab</sup>	1.45±0.24 <sup>a</sup>	6.50±0.21 <sup>b</sup>
BGP	22.06±1.31 <sup>abc</sup>	1.47±0.15 <sup>a</sup>	6.60±1.23 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 1

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

NS : Not significant

### (9) 혈청과 간 조직의 지질과산화 및 항산화능

혈청과 간 조직의 지질과산화 및 항산화능을 측정하는데 유용한 지표로써 이용되는 TBARS 함량 및 DPPH 라디칼 소거능에 의한 항산화능을 측정한 결과는 Table 33과 같다.

혈청 중의 TBARS 함량은 대조군에 비해 마늘 분말 급이시 감소되었으나, 홍마늘 및 흑마늘 분말 급이시에 유의적인 감소를 보였다. 간 조직에서도 대조군에 비해 마늘 분말 급이군

에서 유의적으로 감소되었으며, 특히 홍마늘 분말 급이군의 경우 대조군보다 약 33.7%정도 감소되었다.

Table 33. Effect of garlic powder on TBARS contents and antioxidant activity of serum and liver in obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	Serum		Liver	
	TBARS content (mmol/mL)	Antioxidant activity (%)	TBARS content (mmol/g)	Antioxidant activity (%)
Normal	32.49±1.86 <sup>a2)</sup>	55.89±2.82 <sup>b</sup>	206.05±8.00 <sup>ab</sup>	32.74±3.45 <sup>b</sup>
Control	45.83±6.39 <sup>c</sup>	49.43±0.04 <sup>a</sup>	296.25±23.80 <sup>c</sup>	27.41±2.24 <sup>a</sup>
FGP	41.38±3.80 <sup>bc</sup>	50.50±2.07 <sup>a</sup>	223.42±10.37 <sup>b</sup>	34.82±0.68 <sup>bc</sup>
RGP	36.40±0.82 <sup>ab</sup>	68.05±2.63 <sup>c</sup>	184.49±17.53 <sup>a</sup>	35.00±1.55 <sup>c</sup>
BGP	36.44±0.75 <sup>ab</sup>	52.38±1.85 <sup>ab</sup>	222.52±3.40 <sup>b</sup>	38.93±3.96 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 1

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

항산화능은 정상군에 비해 대조군에서 유의적으로 감소되었으나, 홍마늘 분말 급이군에서 68.05%로 가장 높은 항산화능을 보였다. 반면에 간 조직에서는 마늘 분말 급이군이 대조군 보다는 유의적으로 우수하였으나, 마늘 분말 급이군간에는 유의차가 없었다. 따라서 이는 비만 및 고지혈증 흰쥐에서 체내 조직의 산화스트레스가 증가되었을 때 마늘의 섭취로 지질과 산화물의 생성을 감소시키고 항산화능을 증가시킬 수 있을 것으로 예상된다.

#### (10) 분변의 지질 함량

고지방 식이에 혼합 급이된 마늘 분말이 체내 지질 배설에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험 식이 급이 1주 및 4주째의 분변을 채취하여 지질 함량을 분석한 결과는 Table 34와 같다.

분변 중의 총 지질 함량은 정상군에 비해 대조군 및 마늘 분말 급이군에서 유의적으로 증가하였으며, 마늘 분말 급이 1주 후에는 대조군과 마늘 분말 급이군간의 유의차가 없었으나, 4주 후에는 대조군보다 생마늘 및 홍마늘 급이군의 총 지질 배설량이 다소 증가되는 경향이 있었다. 총 콜레스테롤 함량도 마늘 분말 급이 4주 후 생마늘 및 홍마늘 급이군이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 특히 홍마늘 분말 급이군의 경우 1주 후보다 4주 후에 유의적인 증가를 보였다. 중성지방 함량은 마늘 분말 급이 4주 후 모든 실험군에서 대조군보다

유의적으로 높은 함량을 보여 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 분말은 체내 중성지방의 체외 배출을 증가시킴으로써 비만 억제 효과에 기여하는 것으로 추정된다.

이는 식이성 고지방으로 유도된 비만 흰쥐에 산마늘 추출물을 혼합 급여하였을 때 분변 중 지질 배설량이 증가되었으며, 신선물일수록 효과가 우수하였다는 보고(Choi 등, 2005), 마늘 건조 분말은 마늘 껍질에 비해 노령쥐에게 급여한 경우, 분변 중 중성지질의 함량이 증가하였다는 보고(Shin와 Kim, 2004)와 유사한 결과였다. 또한 식이섬유소는 담즙산 및 식이성 지질과 결합하여 배설 및 합성을 촉진시키므로써 체내 지질 함량을 감소시키는데 마늘 분말도 이와 유사한 기작에 의해 항비만 효과를 나타내는 것으로 생각된다.

Table 34. Effect of garlic powder on total lipid, total cholesterol and triglyceride level of feces in obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	(mg/g)					
	Total lipid		Total cholesterol		Triglyceride	
	1 week	4 weeks	1 week	4 weeks	1 week	4 weeks
Normal	16.69±3.46 <sup>a2)</sup>	16.75±0.59 <sup>a</sup>	1.37±0.16 <sup>a</sup>	1.33±0.49 <sup>a</sup>	0.21±0.02 <sup>a</sup>	0.21±0.02 <sup>a</sup>
Control	30.57±3.26 <sup>b</sup>	26.99±2.15 <sup>bc</sup>	2.57±0.35 <sup>b</sup>	2.58±0.17 <sup>b</sup>	0.57±0.09 <sup>bc</sup>	0.49±0.07 <sup>b</sup>
FGP	32.01±2.22 <sup>b</sup>	31.12±3.93 <sup>c</sup>	3.01±0.23 <sup>b</sup>	4.11±0.83 <sup>c</sup>	0.75±0.20 <sup>c</sup>	0.82±0.10 <sup>c</sup>
RGP	29.55±2.87 <sup>b</sup>	31.06±2.37 <sup>c</sup>	2.80±0.13 <sup>b</sup>	3.87±0.29 <sup>c</sup>	0.42±0.23 <sup>ab</sup>	0.89±0.15 <sup>c</sup>
BGP	27.92±5.14 <sup>b</sup>	24.56±2.71 <sup>b</sup>	2.97±0.37 <sup>b</sup>	2.94±0.44 <sup>b</sup>	0.56±0.18 <sup>bc</sup>	0.84±0.22 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 1

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

## 5) 홍마늘 열수추출물이 비만 흰쥐의 항비만 및 지질저하에 미치는 영향

### (1) 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

고지방 식이로 비만 유도 흰쥐에 홍마늘 열수추출물의 첨가 급여하였을 때 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율에 미치는 영향을 측정한 결과는 Table 35와 같다.

체중증가량은 비만이 유발된 대조군이 186.75 g/4 weeks으로 정상군(157.75 g/4 weeks)에 비해 약 1.2배 높았다. 실험군의 경우에는 홍마늘 추출물 1, 3 및 5% 급여군에서는 대조군보다 다소 높은 경향이였으나 통계적인 유의차는 없었으며, 7%급여군에서 체중증가량이 대조군에 유의적으로 감소하였다. 식이섭취량은 대조군이 정상군에 비해 적었지만 식이효율은 높았다. 이는 고지방식이가 정상식에 비해 식이열량이 높아서 나타난 결과로 추정된다. 식

이효율은 대조군에 비하여 1, 3 및 5% 급이군에서 오히려 약 2.5~5.5% 범위로 증가하는 경향을 보였지만, 홍마늘 추출물 7%를 급이하었을 때, 대조군보다 감소하였다. 위 결과로 보아 현대인의 고지방 식이로 인한 체중 관리에 홍마늘 열수추출물의 7% 수준의 급이가 효과적인 것으로 판단된다.

Table 35. Effects of red garlic extract on body weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER) of obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	Total body weight gain (g/4 weeks)	Food intake (g/day)	Total food intake (g/4 weeks)	FER (%)
Normal	157.75±7.23 <sup>a2)</sup>	20.00±0.09 <sup>b</sup>	560.00±1.63 <sup>b</sup>	28.84±1.81 <sup>a</sup>
Control	186.75±13.55 <sup>b</sup>	18.74±1.03 <sup>a</sup>	524.65±28.71 <sup>a</sup>	38.77±0.94 <sup>bc</sup>
RG-1	200.75±11.32 <sup>b</sup>	18.21±0.43 <sup>a</sup>	509.75±11.99 <sup>a</sup>	39.80±1.75 <sup>c</sup>
RG-3	192.00±25.10 <sup>b</sup>	18.61±0.71 <sup>a</sup>	521.10±19.84 <sup>a</sup>	41.06±1.72 <sup>c</sup>
RG-5	198.25±24.70 <sup>b</sup>	19.19±0.58 <sup>ab</sup>	536.95±16.47 <sup>ab</sup>	40.27±1.93 <sup>c</sup>
RG-7	179.75±17.17 <sup>ab</sup>	19.15±0.35 <sup>ab</sup>	536.88±9.69 <sup>ab</sup>	37.03±2.13 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 2

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

본 연구에서 고지방식은 총 열량의 40.54%가 지방으로 구성되어 정상군(12.40%)에 비해 높은 지방 함량을 가지는 것으로서 이로 인한 전반적인 식이 섭취량은 감소되었으나, 식이효율은 높았다. 일반적으로 고지방식을 이용하여 비만을 유도한 흰쥐에서 식이 섭취량은 정상군에 비해 낮으나, 식이효율은 증가되었다는 보고가 있는데(Lee 등 2008, Yoon과 Park 2010), 본 실험 결과도 이와 유사한 경향이었으며, 이러한 현상은 고지방식의 열량이 높기 때문이라고 보고된 바 있다(Lee 등 2008).

## (2) 장기 및 체지방 중량

홍마늘 열수추출물의 식이첨가가 고지방 식이로 인한 비만 유발 흰쥐의 간, 심장, 신장, 비장, 고환, 내장지방, 고환주변지방 및 체지방 중량에 미치는 영향을 Table 36에 나타내었다.

간장 중량은 대조군이 정상군에 비해 현저히 증가하였으며, 홍마늘 열수추출물의 첨가량 증가에 따라 유의적으로 감소하였고, 7%급이군은 정상군과 유사한 수준이었다. 간 이외에 심장, 비장 및 고환의 중량은 실험군이 정상군에 비해 유의적으로 첨가량의 증가에 따라 감소하여 홍마늘 열수추출물의 급이가 장기의 중량을 감소하는데 영향을 미치는 것으로 생각

된다.

체지방의 중량은 대조군이 정상군에 비하여 약 39% 증가하였으며, 실험군에서 약 9.6~32.5%의 범위로 감소하였다. 내장지방 중량도 비만이 유발된 대조군이 정상군보다 33% 더 높았고, 실험군에서 유의적으로 감소하는 경향을 보였으나, 고환주변 지방은 실험군간에 통계적인 차이가 없었다.

Table 36. Effects of red garlic extract on organ weight and fat contents of obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	Normal	Control	RG-1	RG-3	RG-5	RG-7
Organ weight (g/100 g B.W.)						
Liver	2.98±0.36 <sup>a2)</sup>	3.56±0.21 <sup>c</sup>	3.30±0.21 <sup>abc</sup>	3.41±0.08 <sup>bc</sup>	3.08±0.20 <sup>ab</sup>	3.03±0.05 <sup>a</sup>
Heart	0.31±0.02 <sup>b</sup>	0.35±0.02 <sup>c</sup>	0.30±0.01 <sup>b</sup>	0.29±0.01 <sup>ab</sup>	0.28±0.01 <sup>a</sup>	0.31±0.01 <sup>b</sup>
Kidney	0.61±0.05 <sup>NS</sup>	0.66±0.02	0.64±0.03	0.61±0.03	0.62±0.04	0.66±0.07
Spleen	0.17±0.03 <sup>a</sup>	0.21±0.01 <sup>b</sup>	0.17±0.01 <sup>a</sup>	0.18±0.02 <sup>ab</sup>	0.17±0.02 <sup>a</sup>	0.16±0.02 <sup>a</sup>
Testis	0.95±0.06 <sup>bc</sup>	0.98±0.06 <sup>c</sup>	0.85±0.03 <sup>a</sup>	0.88±0.06 <sup>ab</sup>	0.91±0.03 <sup>abc</sup>	0.90±0.08 <sup>abc</sup>
Fat content in body (g/100 g B.W.)						
Body fat	9.36±0.70 <sup>a</sup>	15.34±0.97 <sup>b</sup>	13.86±0.77 <sup>b</sup>	11.10±2.49 <sup>a</sup>	10.36±1.41 <sup>a</sup>	11.00±0.63 <sup>a</sup>
Visceral fat	1.48±0.38 <sup>a</sup>	2.21±0.47 <sup>b</sup>	1.96±0.37 <sup>ab</sup>	2.09±0.24 <sup>b</sup>	1.93±0.50 <sup>ab</sup>	1.91±0.07 <sup>ab</sup>
Epididymal fat	0.94±0.51 <sup>NS</sup>	1.41±0.27	1.18±0.41	1.16±0.14	1.12±0.11	1.15±0.14

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 2 <sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

NS : Not significant

고지방식이나 고콜레스테롤 식이를 급이한 경우 간 조직내에 콜레스테롤 및 중성지질의 축적으로 인해 간 중량이 증가된다고 알려져 있으며(Kim와 Lee, 2010; Sung 등, 1998), 고지방식으로 비만을 유발한 흰쥐에게 산마늘 추출물을 급이한 결과 대조군에 비해 복강 지방조직, 부고환 주변 지방조직의 중량이 감소되었다는 보고도 있다(Choi 등, 2005). 본 연구에서는 홍마늘 열수추출물의 급이가 고지방 식이로 인한 장기와 지방함량 증가 억제에 긍정적인 영향을 준다고 판단된다.



### (3) 비만도

비만도를 Röhler, Lee 및 T.M. 지수를 이용하여 평가한 결과는 Table 37와 같다. 체장은 모든 실험군에서 20.69 cm로 대차가 없었다.

Röhler 지수는 고지방식이만을 급이한 대조군이 정상군에 비해 약 17.1% 높았으며, 홍마늘 추출물을 급이한 실험군은 추출물의 첨가량이 증가됨에 따라 감소되어 홍마늘 추출물의 5%급이군은 정상군과 유사수준이었다. Lee 지수는 대조군이 329.39로 가장 높았으며, 모든 실험군에서 314.46~323.45 범위로 감소하였다. 흰쥐에서 T.M. index는 55 이상일 때 비만이라고 판정하였는데, 고지방식이군은 64.31로 정상군 및 실험군에 비해 높은 비만지수를 나타내었으며, 홍마늘 추출물을 급이하었을 때 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 T.M. 지수가 감소하였다. 특히, 홍마늘 추출물 5% 및 7%급이군은 정상군과 유사한 수준으로 감소하여 홍마늘 추출물의 급이가 비만개선에 다소간 효과가 있는 것으로 보였다.

흰쥐의 T.M. 지수는 55 이상일 때, Röhler 지수는 30이상인 경우에 비만으로 판정되는데, 본 연구에서 고지방식을 급이한 대조군은 모두 비만인 것으로 판정할 수 있으며, 정상군도 다소간의 비만 경향을 보였으나 대조군에 비해서는 유의적으로 낮은 경향이었다. 비만지수에 의한 비만도 평가는 비만 유도시 사용된 지질의 종류에 따라 차이가 나타나는 것으로 콜레스테롤보다 고지방식에 의한 비만 유도시 비만지수가 다소 높아지는 것으로 생각된다. 3% 이상의 홍마늘 추출물의 혼합 급이는 고지방으로 유도된 비만 흰쥐의 비만도를 감소시키는 것으로 나타났다.

Table 37. Effect of red garlic extract on obesity index of obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	Röhler index	Lee index	T.M. index
Normal	31.37±2.12 <sup>a2)</sup>	309.29±6.86 <sup>a</sup>	53.98±3.44 <sup>a</sup>
Control	37.85±0.99 <sup>d</sup>	329.39±2.85 <sup>c</sup>	64.31±1.67 <sup>b</sup>
RG-1	35.83±0.94 <sup>cd</sup>	323.45±2.58 <sup>bc</sup>	61.66±1.45 <sup>b</sup>
RG-3	34.58±1.95 <sup>bc</sup>	319.37±6.05 <sup>b</sup>	57.03±4.28 <sup>a</sup>
RG-5	32.14±1.52 <sup>a</sup>	318.82±10.73 <sup>b</sup>	55.76±2.42 <sup>a</sup>
RG-7	32.97±0.74 <sup>ab</sup>	314.46±2.39 <sup>ab</sup>	56.85±1.08 <sup>a</sup>

<sup>a-d</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 2

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

**(4) 혈청 총 지질, 총 콜레스테롤 및 중성지방의 함량**

고지방 식이와 홍마늘 열수추출물의 첨가수준을 달리하여 4주간 급여한 흰쥐의 혈청 중 총 지질, 총 콜레스테롤 및 중성지방의 함량을 측정한 결과는 Table 38과 같다.

총 지질 함량은 대조군에서 가장 높은 함량을 나타내었으며, 식이에 홍마늘 추출물을 급여한 실험군은 첨가량이 증가할수록 유의적으로 감소하였으며, 정상군에 비해서도 약 9~30%범위로 감소하였다. 총 콜레스테롤은 대조군에서 가장 높았으며, 홍마늘 추출물의 첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 감소하였다. 중성지방의 함량도 유사한 경향으로 대조군이 정상군에 비해 32% 증가하였으며, 실험군은 추출물의 첨가량에 의존적으로 정상군에 비해 약 3.5~29.6% 감소하였다.

Table 38. Effect of red garlic extract on total lipid, total cholesterol and triglyceride level on serum of obese rats induced by high fat diet

(mg/dL)			
Group <sup>1)</sup>	Total lipid	Total cholesterol	Triglyceride
Normal	208.95±8.30 <sup>d2)</sup>	53.03±3.52 <sup>a</sup>	43.81±2.09 <sup>c</sup>
Control	267.72±6.87 <sup>e</sup>	61.38±5.67 <sup>b</sup>	64.56±1.62 <sup>d</sup>
RG-1	190.17±9.95 <sup>c</sup>	59.12±2.09 <sup>ab</sup>	42.30±5.74 <sup>bc</sup>
RG-3	176.42±9.76 <sup>b</sup>	59.75±5.79 <sup>ab</sup>	38.84±2.55 <sup>ab</sup>
RG-5	156.84±7.88 <sup>a</sup>	59.51±2.66 <sup>ab</sup>	38.07±2.35 <sup>ab</sup>
RG-7	146.99±9.28 <sup>a</sup>	58.19±6.26 <sup>ab</sup>	34.31±2.73 <sup>a</sup>

<sup>a-e</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 2 <sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

**(5) 혈청 HDL-C, LDL-C, VLDL-C, 동맥경화지수 및 심혈관질환 위험지수**

고지방 식이와 홍마늘 추출물의 첨가수준을 달리하여 4주간 급여한 흰쥐의 혈청 중 HDL-C, LDL-C, VLDL-C, 동맥경화지수 및 심혈관질환 위험지수는 Table 39와 같다. HDL-C는 고지방 식이를 급여한 대조군이 정상군에 비하여 약 16%정도 감소하였으며, 실험군에서는 홍마늘 추출물의 첨가량이 증가할수록 HDL-C의 함량이 유의적으로 증가하여, 정상군과 유사한 수준이었다. LDL-C의 함량은 대조군이 정상식이군보다 약 34.7%정도 증가하였고, 고지방 식이와 홍마늘 추출물 첨가군은 첨가량이 증가할수록 대조군에 비하여 5~24% 범위로 감소하였으나, 실험군간에 통계적 차이는 없었다. VLDL-C의 함량도 대조군에서 12.91 mg/dL로 가장 높았으며, 실험군은 정상군보다도 확연히 낮은 함량을 나타내었고, 추출물의 첨가량 증가에 의존적으로 감소하였다.

고지방 식이의 급이에 따른 동맥경화지수 및 심혈관질환 위험지수는 정상군에 비해 유의적으로 증가되었으나, 홍마늘 추출물의 급이시 감소되는 경향이였다. 홍마늘 추출물의 급이량에 따른 유의차는 적었으나, 5%이상 혼합 급이시 대조군에 비해 동맥경화지수는 28~31.4%, 심혈관질환 위험지수는 15.1~17% 정도의 감소율을 보였다.

고지혈증이 유발된 흰쥐에게 마늘을 1~2%수준으로 보충급이하였을 때, 혈중 총 콜레스테롤과 중성지방 함량이 감소된다고 보고되어 있으며, Choi 등(2005)의 연구에서는 6주간 고지방식이를 하여 비만을 유도한 흰쥐에게 2주간 산마늘을 경구투여하여 혈청 지질 농도를 측정 한 결과 총 콜레스테롤, LDL-C 및 중성지방이 현저히 감소하였다. 또, 콜레스테롤 식이에 3%의 마늘분말을 급이하였을때 HDL-C은 증가하고 LDL-C은 감소된다고 보고한 바 있다 (Kang 등 2008).

본 연구 결과에서 홍마늘 추출물의 급이로 인한 HDL-C의 증가와 LDL-C과 VLDL-C의 감소 등이 복합적으로 작용하여 동맥경화질환과 심혈관질환의 위험성이 낮아진 것으로 생각된다.

Table 39. Effect of red garlic extract on HDL-, LDL-, VLDL-C level, AI and CRF of serum in obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	HDL-C	LDL-C	VLDL-C	AI	CRF
	(mg/dL)				
Normal	31.57±0.63 <sup>bc2)</sup>	14.46±3.14 <sup>a</sup>	8.76±0.42 <sup>c</sup>	0.68±0.14 <sup>a</sup>	1.68±0.14 <sup>a</sup>
Control	28.17±0.98 <sup>a</sup>	22.15±4.73 <sup>b</sup>	12.91±0.32 <sup>d</sup>	1.18±0.18 <sup>c</sup>	2.18±0.18 <sup>c</sup>
RG-1	30.67±0.47 <sup>b</sup>	21.01±1.49 <sup>ab</sup>	8.46±1.15 <sup>bc</sup>	0.93±0.08 <sup>b</sup>	1.93±0.08 <sup>b</sup>
RG-3	30.27±1.42 <sup>b</sup>	19.82±4.40 <sup>ab</sup>	7.77±0.51 <sup>ab</sup>	0.97±0.13 <sup>b</sup>	1.97±0.13 <sup>b</sup>
RG-5	32.21±0.97 <sup>c</sup>	18.87±2.38 <sup>ab</sup>	7.61±0.47 <sup>ab</sup>	0.85±0.08 <sup>ab</sup>	1.85±0.08 <sup>ab</sup>
RG-7	32.21±0.72 <sup>c</sup>	16.84±3.66 <sup>ab</sup>	6.86±0.55 <sup>a</sup>	0.81±0.18 <sup>ab</sup>	1.81±0.18 <sup>ab</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 2

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

### (6) 혈청 GOT, GPT 및 ALP 활성

간 기능의 이상 유무를 나타내는 지표인 GOT, GPT 활성과, 담도계 및 신장 기능의 이상 유무를 나타내는 지표인 ALP의 활성을 측정한 결과는 Table 40과 같다. GOT 활성은 정상군에 비해 고지방 식이로 인해 비만이 유발된 대조군에서 약 14.5% 증가하였고, 홍마늘추출물을 3, 5 및 7% 급이시 대조군에 유의하게 약 10~11%범위로 감소하였으며, 정상군과 유사한 활성을 나타내었다. GPT 활성 또한 GOT 활성과 유사한 경향으로 대조군이 56.98

Karmen unit/mL로, 정상군 46.31 Karmen unit/mL에 비하여 약 19% 더 높았으며, 홍마늘 추출물을 급이한 모든 실험군에서 43.34~48.00 Karmen unit/mL 범위로 감소하였으며, 특히, 7% 급이군은 정상군보다도 낮은 활성을 나타내었다.

일반적으로 시료의 항산화능이 높으면 GOT, GPT 활성이 감소하는데(Mun 2004), 생마늘에 비해 홍마늘은 총 페놀, 플라보노이드 및 thiosulfate 등의 함량이 높아 홍마늘의 항산화능이 생마늘보다 높고, 흑마늘보다는 낮지만 유사한 수준이라고 보고된 바 있다(Lee 등 2010). 본 실험에서 GOT, GPT 활성이 정상군에 가깝게 감소한 것이 홍마늘의 항산화능에 기인한 결과로 생각된다.

Table 40. Effect of red garlic extract on GOT, GPT and ALP activities on serum of obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	GOT	GPT	ALP
	(Karmen unit/mL)		(K-A unit)
Normal	148.21±2.87 <sup>a2)</sup>	46.31±4.13 <sup>a</sup>	3.58±0.07 <sup>ab</sup>
Control	173.22±5.31 <sup>b</sup>	56.98±0.94 <sup>b</sup>	3.46±0.13 <sup>a</sup>
RG-1	169.29±9.00 <sup>b</sup>	48.00±2.12 <sup>a</sup>	3.58±0.28 <sup>ab</sup>
RG-3	155.89±8.50 <sup>a</sup>	44.36±5.26 <sup>a</sup>	4.01±0.59 <sup>abc</sup>
RG-5	154.46±6.27 <sup>a</sup>	46.75±4.87 <sup>a</sup>	4.14±0.67 <sup>bc</sup>
RG-7	156.25±3.89 <sup>a</sup>	43.34±4.43 <sup>a</sup>	4.39±0.52 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 2 <sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

### (7) 혈청 glucose, total protein 및 albumin 함량

홍마늘 추출물이 고지방 식이로 비만을 유발한 흰쥐의 혈당, 총 단백질함량 및 알부민 함량에 미치는 영향은 Table 41과 같다. 혈당 함량은 정상군과 대조군은 107.47~108.27 mg/dL 범위로 유의차가 없었으며, 홍마늘 추출물 급이시 119.51~135.07 mg/dL 범위로 상승하였고, 실험군 간에는 추출물의 증가에 의존적으로 유의성 있게 감소하였다. 총 단백질 함량은 홍마늘 추출물 1, 3 및 5% 급이시 정상군에 비해 상승하였으며, 7% 급이시 감소하였다. 혈중 알부민 함량은 정상군에 비하여 대조군이 37.85 mg/dL로 크게 상승하였으며, 홍마늘 추출물 급이시 대조군에 비해 감소하였지만, 정상군에 비해서는 유의적으로 상승하였다.

흰쥐의 경우 공복상태에서 혈당은 98~152 mg/dL이며, Shin 등(2010)은 고콜레스테롤 식이에 식물류 혼합물과 마늘 추출물을 첨가하여 4주간 실험 사육한 결과 9.56~10.05 mg/dL로 정상군에 비해 유의적으로 증가되었는데, 본 실험에서도 유사한 결과였다.

Table 41. Effect of red garlic extract on glucose, total protein and albumin level on serum of obese rats induced by high fat diet

(mg/dL)			
Group <sup>1)</sup>	Glucose	Total protein	Albumin
Normal	108.27±5.08 <sup>a2)</sup>	5.17±0.18 <sup>a</sup>	31.37±2.12 <sup>a</sup>
Control	107.47±4.69 <sup>a</sup>	6.07±0.62 <sup>b</sup>	37.85±0.99 <sup>d</sup>
RG-1	135.07±5.34 <sup>c</sup>	6.11±0.20 <sup>b</sup>	35.83±0.94 <sup>cd</sup>
RG-3	132.70±7.71 <sup>c</sup>	5.71±0.58 <sup>ab</sup>	34.58±1.95 <sup>bc</sup>
RG-5	123.91±2.89 <sup>b</sup>	5.19±0.57 <sup>a</sup>	32.14±1.52 <sup>a</sup>
RG-7	119.51±5.46 <sup>b</sup>	5.15±0.66 <sup>a</sup>	32.97±0.74 <sup>ab</sup>

<sup>a-d</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 2

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

#### (8) 간 및 심장조직의 지질 함량

고지방 식이와 홍마늘 추출물의 혼합 급이에 따른 간 및 심장조직의 지질함량을 측정한 결과는 Table 42와 같다. 간조직의 총 지질은 정상군이 27.12 mg/g (wet liver)이었으며, 대조군에서는 37.06 mg/g으로 약 1.4배 높았다. 홍마늘 추출물급이군은 첨가량이 증가함에 따라 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 7%급이군에서 가장 낮은 함량을 보였다. 총 콜레스테롤은 정상군에서 2.04 mg/g이었는데, 대조군에서 2.55 mg/g으로 1.25배 증가되었다. 홍마늘 추출물 급이군이 대조군에 비해 다소 감소하였지만 유의적인 차이는 없었다. 중성지방의 함량은 정상군이 2.04 mg/g이었으며, 대조군 및 실험군에서 2.41~2.55 mg/g으로 유의차를 보이지 않았다.

심장조직의 총 지질 함량은 대조군이 25.82 mg/g으로 가장 높았으며, 정상군 (19.38 mg/g)의 약 1.3배 었다. 홍마늘 추출물을 급이한 실험군은 첨가량이 증가함에 따라 감소하였는데, 특히 5%급이군은 20.91 mg/g으로 가장 낮았다. 총 콜레스테롤 함량은 고지방식을 급이한 대조군에서 가장 높았으며, 모든 실험식이군에서 유의적으로 감소하여 정상군과 유사한 수준이었다. 중성지방 함량은 정상군이 3.30 mg/g, 대조군이 7.94 mg/g이었으며, 실험군과 대조군간에 유의차이가 없었다. 실험 결과 홍마늘 추출물 급이에 따른 심장의 총 지질농도의 감소는 총 콜레스테롤의 감소에 기인한 것이라 생각되며, 중성지방의 농도에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Yoon 등(2005)은 고지방 식이에 의한 비만 흰쥐에 향신료(고추가루, 마늘 및 생강)를 급이한 결과 마늘이 고추가루에 비해 지방 조직 및 혈액내 지질개선에 효과적이었다고 하였다.

식물류 중의 총 페놀 화합물은 혈액(Woo 등 2009) 및 간장 조직(Igarashi와 Ohmuma 1995)의 지질 함량을 감소시킴으로써 심혈관질환의 발병을 저하시키는 것으로 알려져 있다. 특히 allicin은 체내 지질 함량을 낮추는 주된 물질로 생마늘을 열처리하여 홍마늘 및 흑마늘로 가공할 경우 총 페놀 화합물의 함량이 증가되는 것으로 알려져 있는데, 홍마늘 추출물에 의한 체내 지질 감소도 이와 유사한 것으로 추정된다.

Table 42. Effect of red garlic extract on total lipid, total cholesterol and triglyceride level of liver and heart in obese rats induced by high fat diet

(mg/g wet liver)			
Group <sup>1)</sup>	Total lipid	Total cholesterol	Triglyceride
Liver			
Normal	27.12±1.31 <sup>a2)</sup>	2.04±0.11 <sup>a</sup>	2.04±0.11 <sup>a</sup>
Control	37.06±1.84 <sup>d</sup>	2.55±0.15 <sup>b</sup>	2.55±0.15 <sup>b</sup>
RG-1	35.80±3.56 <sup>cd</sup>	2.45±0.43 <sup>b</sup>	2.45±0.43 <sup>b</sup>
RG-3	34.14±2.13 <sup>acd</sup>	2.47±0.26 <sup>b</sup>	2.47±0.26 <sup>b</sup>
RG-5	33.19±2.06 <sup>ac</sup>	2.41±0.24 <sup>b</sup>	2.41±0.24 <sup>b</sup>
RG-7	32.11±1.47 <sup>a</sup>	2.43±0.08 <sup>b</sup>	2.43±0.08 <sup>b</sup>
Heart			
Normal	19.38±2.44 <sup>a</sup>	1.34±0.21 <sup>a</sup>	3.30±0.67 <sup>a</sup>
Control	25.82±1.96 <sup>c</sup>	2.01±0.11 <sup>b</sup>	7.94±0.27 <sup>b</sup>
RG-1	24.57±2.37 <sup>bc</sup>	1.57±0.51 <sup>a</sup>	7.44±0.97 <sup>b</sup>
RG-3	22.38±1.31 <sup>abc</sup>	1.44±0.21 <sup>a</sup>	7.01±0.13 <sup>b</sup>
RG-5	20.91±3.14 <sup>a</sup>	1.44±0.19 <sup>a</sup>	6.82±0.92 <sup>b</sup>
RG-7	21.17±1.51 <sup>ab</sup>	1.23±0.25 <sup>a</sup>	6.86±1.25 <sup>b</sup>

<sup>a-d</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 2

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

### (9) 혈청과 간 조직의 지질과산화물

고지방 식이로 비만을 유발시킨 흰쥐의 혈청과 간조직에 대하여 홍마늘 추출물이 지질과산화물의 생성에 미치는 영향을 실험한 결과는 Table 43과 같다.

혈청의 지질과산화물 함량은 정상군이 29.59 mg/mL이었고, 대조군이 40.95 mg/mL로 가장 높았으며, 홍마늘 추출물 급이시 유의적으로 감소하였다. 특히, 홍마늘 추출물 5 및 7% 급이시 8.05~8.30 mg/mL 범위로 크게 감소하였다. 간 조직의 지질과산화물 함량은 정상군

에서 204.51 mg/mL이었으나, 대조군에서는 266.53 mg/mL로 상승하였다. 홍마늘 추출물 급이시 추출물의 증가량에 의존적이고, 또 유의적으로 감소하였다.

Allium속 식품류에 함유된 플라보노이드는 체내 과산화지질의 생성을 억제함으로써 조직을 보호하는 것으로 알려져 있는데, 본 연구에서도 홍마늘 중의 플라보노이드류와 관련성이 있을 것으로 추정된다.

Table 43. Effect of red garlic extract on TBARS contents of serum and liver in obese rats induced by high fat diet

Group <sup>1)</sup>	TBARS contents in serum (mmol/mL)	TBARS contents in liver (mmol/g)
Normal	29.59±1.51 <sup>c2)</sup>	204.51±7.61 <sup>c</sup>
Control	40.95±1.89 <sup>d</sup>	266.53±4.26 <sup>f</sup>
RG-1	13.23±1.54 <sup>b</sup>	234.50±2.74 <sup>e</sup>
RG-3	12.00±2.96 <sup>b</sup>	221.56±3.16 <sup>d</sup>
RG-5	8.05±1.14 <sup>a</sup>	185.76±6.13 <sup>b</sup>
RG-7	8.30±0.74 <sup>a</sup>	175.68±3.91 <sup>a</sup>

<sup>a-f</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 2

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

### (10) 분변의 지질 함량

분변은 실험식이 급이한 1주 후 및 4주 후에 각각 채취하여 분변 중의 지질 함량을 측정하였다(Table 44).

총 지질 함량은 1주 후, 4주 후 모두 대조군과 실험식이 간에 차이가 없었지만, 홍마늘 추출물 7%급이군은 실험식이의 4주 급이 후에 분변 중 총 지질의 배출량이 증가하였다. 총 콜레스테롤의 함량은 4주 후 분변에서 홍마늘 추출물 증가에 의존적으로 배출량이 유의적으로 증가하였으며, 3, 5 및 7% 급이군에서 실험식이 1주 후보다 4주 후에 배출량이 각각 약 27%, 28%, 22% 정도 증가하였다. 중성지방의 함량은 홍마늘 추출물 5% 및 7%급이군에서 실험식이 1주 후보다 4주 후에 배출량이 약 1.5배 증가하였으며, 4주 후 홍마늘 추출물 7%급이군은 대조군에 비해 약 1.9배 증가하였다. 홍마늘 추출물의 급이가 식이지방의 흡수를 억제시킴과 동시에 분변으로 지질의 배출을 촉진시킨 결과로 해석되며, 또 이는 홍마늘 추출물 급이에 의해 혈청 중의 지질의 함량이 유의적으로 감소된 결과와도 일치하였다.

Choi 등(2005)의 연구에서 식이성 고지혈증을 유발한 쥐에게 산마늘 추출물을 급이하였을 때, 비만흰쥐의 분변으로 지질 배설을 증가시키는 것으로 나타났다. Lee(1985)와 Shimomura

등(1990)은 다량의 지방을 섭취하더라도 배설량은 일정하므로 고지방식이 섭취군에서 지질 흡수율이 높게 나타난다고 하였는데, 본 실험에서 비만 흰쥐에 홍마늘 추출물의 급이는 식이성 지방의 흡수를 억제시킴과 동시에 분변으로의 지질 배출을 증가시킴으로써 체내 지질 함량의 저하를 초래하는 것으로 생각된다. 본 실험에서 비만 흰쥐에 홍마늘 추출물의 급이는 식이성 지방의 흡수를 억제시킴과 동시에 분변으로의 지질 배출을 증가시킴으로써 체내 지질 함량의 저하를 초래하는 것으로 생각된다.

Table 44. Effect of red garlic extract on total lipid, total cholesterol and triglyceride level of feces in obese rats induced by high fat diet

(mg/g)

Group <sup>1)</sup>	Total lipid		Total cholesterol		Triglyceride	
	1 week	4 weeks	1 week	4 weeks	1 week	4 weeks
Normal	15.43±1.11 <sup>a2)</sup>	15.85±0.37 <sup>a</sup>	1.58±0.18 <sup>a</sup>	1.61±0.09 <sup>a</sup>	0.23±0.02 <sup>a</sup>	0.24±0.02 <sup>a</sup>
Control	29.75±2.23 <sup>b</sup>	27.56±1.39 <sup>b</sup>	2.57±0.08 <sup>b</sup>	2.56±0.11 <sup>b</sup>	0.61±0.06 <sup>a</sup>	0.57±0.02 <sup>b</sup>
RG-1	27.92±2.78 <sup>b</sup>	27.78±3.09 <sup>b</sup>	2.46±0.08 <sup>b</sup>	2.44±0.26 <sup>b</sup>	0.67±0.10 <sup>ab</sup>	0.69±0.34 <sup>b</sup>
RG-3	30.05±0.80 <sup>b</sup>	29.85±3.08 <sup>b</sup>	2.73±0.11 <sup>b</sup>	3.70±0.71 <sup>c</sup>	0.86±0.18 <sup>b</sup>	0.87±0.13 <sup>bc</sup>
RG-5	29.74±0.82 <sup>b</sup>	29.25±0.54 <sup>b</sup>	2.71±0.33 <sup>b</sup>	3.78±0.59 <sup>c</sup>	0.68±0.05 <sup>ab</sup>	1.02±0.24 <sup>c</sup>
RG-7	28.20±1.73 <sup>b</sup>	30.02±1.08 <sup>b</sup>	2.75±0.03 <sup>b</sup>	3.54±0.06 <sup>c</sup>	0.67±0.16 <sup>ab</sup>	1.08±0.04 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 2

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

## 6) 홍마늘 조성물이 항비만 및 체내 지질 개선에 미치는 영향

### (1) 체중 변화 및 식이효율

고지방-콜레스테롤 식이를 급이한 흰쥐를 대조군(HFC)으로 하여 홍마늘 추출물, 녹차 복합물(R+T), 식이섬유 복합물(R+F) 및 녹차·식이섬유 복합물(R+TF)을 각각 1% 수준으로 보충급이하하여 4주간 실험사육한 후 체중 변화와 식이효율을 분석한 결과는 Table 45와 같다.

실험사육 4주 후 최종 체중은 대조군이 318.57 g이었으며, 실험군은 288.57~306.43 g의 범위로 녹차·식이섬유 복합물 첨가군(HR+TF)에서 유의적으로 낮았다. 이는 4주 동안 체중 증가량이 식이섬유 복합물 첨가군(HR+F)과 HR+TF군에서 대조군보다 유의적으로 작았던 것과 유사한 경향이었다. 1일 식이섭취량은 정상군과 HRG군이 대조군에 비해 유의적으로 높았으나, 그 외 실험군에서는 유의차가 없었다. 식이효율은 대조군을 비롯한 모든 실험군에서 31.51~33.11%의 범위로 유의차가 없었다.



3%의 마늘 동결건조 분말이 고지방식이에 첨가되었을 때 대조군에 비해 식이효율이 유의적으로 감소되었으나(Lee 등, 2011), 콜레스테롤을 급이한 흰쥐에서는 유의차가 없었다고 보고된 바 있다(Kang 등, 2008). 고지방 식이로 비만이 유도된 흰쥐에서 식이섭취량은 정상군보다 작으나, 식이효율은 증가되는데(Yang, 2007), 이는 본 연구와 유사한 경향이였다. 따라서 본 연구결과 고지방-콜레스테롤 식이에 의한 높은 열량으로 식이섭취량이 다소간 감소되기는 하나 유의적인 차이가 없어 홍마늘 추출물 및 복합물의 보충급이가 고지방-콜레스테롤 식이 흰쥐의 식이효율에는 영향을 주지 않는 것으로 판단된다.

Table 45. Changes of the body weight, food intake and food efficiency ratio of rats fed by garlic extract and composites supplementation

Group <sup>1)</sup>	Final body weight (g)	Food intake (g/day)	Total body weight gain (g/4 weeks)	FER (%) <sup>3)</sup>
Normal	277.85±8.59 <sup>a2)</sup>	19.93±0.15 <sup>b</sup>	146.25±2.50 <sup>a</sup>	27.18±1.27 <sup>a</sup>
HFC	318.57±4.76 <sup>d</sup>	19.16±0.46 <sup>a</sup>	173.75±12.50 <sup>d</sup>	31.51±2.40 <sup>b</sup>
HRG	306.43±8.99 <sup>c</sup>	19.80±0.28 <sup>b</sup>	168.75±11.09 <sup>cd</sup>	33.11±0.83 <sup>b</sup>
HR+T	301.43±11.44 <sup>c</sup>	19.59±0.61 <sup>ab</sup>	161.25±4.79 <sup>bcd</sup>	33.03±1.14 <sup>b</sup>
HR+F	303.57±6.90 <sup>c</sup>	19.48±0.33 <sup>ab</sup>	160.00±4.08 <sup>bc</sup>	32.41±0.89 <sup>b</sup>
HR+TF	288.57±9.00 <sup>b</sup>	19.71±0.12 <sup>ab</sup>	152.50±10.41 <sup>ab</sup>	32.28±0.93 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3

<sup>2)</sup>Values are mean±SD (n=7)

<sup>3)</sup>Food efficiency ratio = Total body weight gain(g/4 weeks)/food intake(g/4 weeks) ×100

## (2) 장기 중량

고지방-콜레스테롤 식이 흰쥐에 홍마늘 추출물과 복합물을 1% 농도로 첨가급이하여 4주간 실험사육한 후 장기 조직 및 지방 조직 중량을 측정된 결과는 Table 46, 47과 같다. 간장의 중량은 정상군에 비해 대조군이 약 2배정도 증가되었으며, 실험군에서는 다소 감소되었으나, HR+T군과 HR+TF군에서 유의적인 감소를 보였다. 심장의 중량은 대조군과 실험군간에 유의차가 적었다. 고환은 HR+TF군이 대조군에 비해 유의적인 감소를 보였다. 그 외 신장과 지라의 중량은 모든 실험군간에 유의차가 없었다(Table 46).

체지방 중 내장지방의 중량은 홍마늘 추출물 첨가군(HRG)에서 다소 낮았으나, 대조군에 비해 유의차가 적었으며, 부고환 주변지방의 중량은 대조군에 비해 모든 실험군에서 유의적으로 낮았다(Table 47). 고지방 식이에 홍마늘 추출물을 첨가하였을 때 고환의 중량이 대조군에 비해 유의적인 감소를 보였는데(Lee 등, 2011), 이는 본 연구와 일치하는 결과였다.

Table 46. The weight of organs and body fat of the rats fed high fat-cholesterol by the red garlic extract and composites supplementation

Group <sup>1)</sup>	Organ weight (g/100 g body weight)				
	Liver	Heart	Kidney	Spleen	Testis
Normal	2.62±0.06 <sup>a2)</sup>	0.31±0.01 <sup>a</sup>	0.72±0.01 <sup>NS</sup>	0.22±0.01 <sup>NS</sup>	1.04±0.04 <sup>b</sup>
HFC	5.11±0.23 <sup>c</sup>	0.34±0.01 <sup>b</sup>	0.73±0.05	0.23±0.02	1.06±0.05 <sup>b</sup>
HRG	4.89±0.24 <sup>bc</sup>	0.34±0.01 <sup>b</sup>	0.70±0.03	0.22±0.01	1.08±0.03 <sup>b</sup>
HR+T	4.71±0.22 <sup>b</sup>	0.33±0.02 <sup>ab</sup>	0.70±0.02	0.22±0.03	1.04±0.05 <sup>b</sup>
HR+F	4.91±0.15 <sup>bc</sup>	0.33±0.02 <sup>ab</sup>	0.68±0.04	0.21±0.02	1.02±0.04 <sup>ab</sup>
HR+TF	4.82±0.09 <sup>b</sup>	0.34±0.01 <sup>b</sup>	0.69±0.02	0.20±0.02	0.97±0.02 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a row sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

NS : Not significant

Table 47. The weight of the body fat of the rats fed high fat-cholesterol by the red garlic extract and composites supplementation

Group <sup>1)</sup>	Fat weight (g/100 g bw)	
	Visceral	Epididymal
Normal	0.87±0.23 <sup>b2)</sup>	1.37±0.05 <sup>a</sup>
HFC	1.20±0.20 <sup>b</sup>	1.67±0.10 <sup>b</sup>
HRG	0.97±0.23 <sup>ab</sup>	1.43±0.11 <sup>a</sup>
HR+T	0.83±0.12 <sup>a</sup>	1.41±0.09 <sup>a</sup>
HR+F	0.84±0.04 <sup>a</sup>	1.42±0.02 <sup>a</sup>
HR+TF	0.82±0.17 <sup>a</sup>	1.36±0.10 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a row sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

고지방 식이에 의해 간 조직은 유입된 콜레스테롤의 정상적인 배출이 이루어지지 않아 간 조직내에 축적되어 지방간 등의 간비대를 일으키므로 장기 중량이 증가되는 경향이 있다

(Rhee, 1984). 고지방 식이에 홍마늘 추출물의 농도를 달리하여 보충급이한 결과 5%이상의 농도에서 간장의 중량이 유의적으로 감소되었으며(Lee 등, 2011), 고지방 식이에 녹차 추출물과 식이섬유의 혼합물을 급이한 경우 간장 및 지라의 중량이 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다는 보고가 있는데(Kim 등, 2010), 본 연구에서도 홍마늘 추출물의 일부를 녹차 또는 식이섬유로 대체할 경우 이와 유사한 효능을 내는 것으로 확인되었다.

### (3) 비만도

고지방-콜레스테롤 식이에 홍마늘 추출물 및 복합물을 1% 농도로 첨가하여 4주간 실험사육하여 체중과 키를 측정하여 비만지수를 분석한 결과는 Table 48과 같다. 흰쥐의 경우 Röhler 지수는 30이상(Choi 2009), Lee 지수는 300 이상(Kim 등 2001), T. M. 지수는 55이상(Kim 등 2001)일 때 비만으로 간주되는데, 본 연구에서 대조군(HFC)은 모두 비만인 것으로 확인되었으며, 홍마늘 추출물 및 복합물 급이시 비만도가 감소되기는 하였으나, 녹차·식이섬유 복합물 첨가군(HR+TF)에서만 유의적인 감소를 보였다. 고지방 식이에 홍마늘 추출물을 1% 첨가시 대조군에 비해 비만도가 감소되지는 않았으나, 3% 이상 첨가시에는 유의적으로 감소하였는데(Lee 등 2011), 이는 본 연구결과와 유사하며, 특히 HR+TF군은 대조군에 비해 비만도 및 체지방량이 유의적으로 감소되어 홍마늘 추출물의 일부를 녹차와 식이섬유로 대체할 경우 홍마늘의 비만도 감소 효과를 높여 지방 섭취량이 증가되는 현대인의 식사에서 비만 예방에 도움이 될 것으로 기대된다.

Table 48. Obesity index of the rats fed high fat-cholesterol by the red garlic extract and composites supplementation

Group <sup>1)</sup>	Röhler index	Lee index	T.M. index	Body fat content (%)
Normal	30.01±0.72 <sup>a2)</sup>	304.99±2.42 <sup>a</sup>	51.45±1.24 <sup>a</sup>	7.86±0.72 <sup>a</sup>
HFC	34.01±1.21 <sup>c</sup>	317.82±3.73 <sup>b</sup>	58.30±2.07 <sup>c</sup>	11.84±1.20 <sup>c</sup>
HRG	33.36±1.04 <sup>c</sup>	315.81±3.26 <sup>b</sup>	57.19±1.78 <sup>c</sup>	11.20±1.03 <sup>c</sup>
HR+T	32.93±1.91 <sup>bc</sup>	314.39±3.13 <sup>b</sup>	56.45±3.27 <sup>bc</sup>	10.77±1.90 <sup>bc</sup>
HR+F	32.93±0.76 <sup>bc</sup>	314.47±2.42 <sup>b</sup>	56.45±1.30 <sup>bc</sup>	10.77±0.76 <sup>bc</sup>
HR+TF	31.31±1.57 <sup>ab</sup>	309.22±5.13 <sup>a</sup>	53.68±2.70 <sup>ab</sup>	9.16±1.57 <sup>ab</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

#### (4) 혈중 지질 함량

고지방-콜레스테롤 식이에 의한 비만 유도 흰쥐에 홍마늘 추출물과 복합물을 보충급여하 여 사육한 후 혈청의 지질 함량을 분석한 결과는 Table 49와 같다. 총 지질 함량은 정상군 에 비해 대조군이 1.6배 증가하였으며, 홍마늘 추출물과 복합물을 급여한 실험군에서는 유 의적으로 감소하였다. 특히 HR+TF군은 대조군에 비해 약 24.3% 감소된 현상을 보였다. 총 콜레스테롤도 총 지질 함량과 유사한 경향으로 대조군에 비해 실험군에서 유의적으로 감소되 었다. 식이섬유 복합물 첨가군(HR+F)에서 유의적으로 가장 낮은 함량을 보였으나, 이는 HR+TF군과 비슷한 경향이였다. 중성지방 함량은 HRG군 및 HR+T군에서 정상군과 비슷한 수준으로 감소되었으며, HR+F군 및 HR+TF군은 정상군보다 유의적으로 낮은 경향이였다. LDL-콜레스테롤은 홍마늘 추출물 및 복합물 첨가군이 대조군에 비해 유의적으로 감소되었 으며, HR+T 및 HR+TF군이 비슷한 수준이였다. 동맥경화 지수 및 심혈관 질환 위험지수는 정상군에 비해 대조군이 약 5.8배 및 3.3배 높았으나, 실험군은 대조군에 비해 유의적으로 감소되었으며, 특히, HR+F군과 HR+TF군에서 가장 낮았다.

Table 49. Lipid profiles in serum of the rats fed high fat-cholesterol by the red garlic extract and composites supplementation

	(mg/dL)					
Group <sup>1)</sup>	Normal	HFC	HRG	HR+T	HR+F	HR+TF
Total lipid	209.88 ±6.57 <sup>a2)</sup>	335.50 ±11.99 <sup>e</sup>	295.50 ±8.29 <sup>d</sup>	274.22 ±3.58 <sup>c</sup>	266.22 ±6.48 <sup>c</sup>	254.00 ±4.86 <sup>b</sup>
Total cholesterol	54.78 ±4.87 <sup>a</sup>	117.84 ±2.53 <sup>e</sup>	110.11 ±5.51 <sup>d</sup>	100.76 ±2.31 <sup>c</sup>	93.23 ±2.56 <sup>b</sup>	97.89 ±1.53 <sup>bc</sup>
Triglyceride	34.91 ±3.29 <sup>bc</sup>	56.56 ±1.54 <sup>d</sup>	37.32 ±1.89 <sup>c</sup>	34.19 ±1.57 <sup>b</sup>	28.52 ±0.95 <sup>a</sup>	25.95 ±1.83 <sup>a</sup>
HDL-C	28.79 ±2.40 <sup>c</sup>	18.68 ±0.74 <sup>a</sup>	23.14 ±0.78 <sup>b</sup>	20.80 ±0.99 <sup>ab</sup>	21.51 ±0.76 <sup>b</sup>	22.10 ±2.01 <sup>b</sup>
LDL-C	19.02 ±3.53 <sup>a</sup>	87.85 ±2.46 <sup>e</sup>	79.50 ±4.36 <sup>d</sup>	73.13 ±1.16 <sup>c</sup>	66.02 ±1.72 <sup>b</sup>	70.60 ±1.39 <sup>c</sup>
VLDL-C	6.99 ±0.66 <sup>bc</sup>	11.31 ±0.30 <sup>d</sup>	7.46 ±0.38 <sup>c</sup>	6.84 ±0.32 <sup>b</sup>	5.70 ±0.19 <sup>a</sup>	5.19 ±0.37 <sup>a</sup>
AI <sup>3)</sup>	0.91 ±0.14 <sup>a</sup>	5.32 ±0.31 <sup>e</sup>	3.76 ±0.08 <sup>cd</sup>	3.85 ±0.14 <sup>d</sup>	3.34 ±0.07 <sup>b</sup>	3.46 ±0.40 <sup>bc</sup>
CRF <sup>4)</sup>	1.91 ±0.14 <sup>a</sup>	6.32 ±0.31 <sup>e</sup>	4.76 ±0.08 <sup>d</sup>	4.85 ±0.14 <sup>cd</sup>	4.34 ±0.07 <sup>b</sup>	4.46 ±0.40 <sup>bc</sup>

<sup>a-d</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

<sup>3)</sup>Atherogenic index = (Total cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol

<sup>4)</sup>Cardiac risk factor = Total cholesterol/HDL-cholesterol

흰쥐에 대한 방사선 동위원소 추적실험에서 마늘 추출물은 콜레스테롤 합성을 37~64% 정도 억제하는데, 마늘 중의 황화합물에 의한다는 보고가 있다(Yu와 Shaw 1994). 고지방식으로 비만이 유도한 흰쥐에 홍마늘 추출물을 1~7% 농도로 첨가 급이한 결과 시료의 첨가량이 많아짐에 따라 중성지방의 함량이 감소되는데, 3% 이상 급이시 유의적이었으며, 이는 HDL-콜레스테롤 수준의 증가에도 도움이 되는 것으로 보고되어 있다(Lee 등 2011). 흑마늘은 콜레스테롤 식이 흰쥐에 보충급이 되었을 때 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 수준을 저하시켰으나, 첨가량에 따른 유의차는 없는 것으로 보고되어 있다(Lee 등 2011). 그러나, Lee 등(2011)은 성인의 보편적인 1일 섭취량보다 높은 함량의 흑마늘을 흰쥐에게 급이한 경우 HDL-콜레스테롤 수준이 증가하였는데, 흑마늘의 수용성 유기 황화합물인 S-allylcysteine이 주된 유효성분이라고 보고하였다. 그러나, 고지방식이에 마늘즙을 첨가하여 흰쥐에 급이하였을 때 대조군에 비해 마늘즙 첨가군에서 HDL-콜레스테롤 수준의 감소가 유의적이지 않다는 보고도 있다(Shin 등 2010). 즉, 마늘은 혈중 VLDL-콜레스테롤 수준을 감소시킴으로써 혈중 총 콜레스테롤 함량을 낮추게 되어 동맥경화 발병을 감소시키는데(Chi 등 1982), 혈중 중성지방 함량의 감소는 모세혈관 벽의 lipoprotein lipase에 의해 킬로미크론과 VLDL-콜레스테롤의 분해가 촉진된 결과로(Kim 등 2003), 마늘의 혈중 지질 개선이 수용성의 마늘 성분이 혈액 내 지질 성분과 emulsion 형성이 용이하게 일어나기 때문이라고 추정되고 있다(Aziz 등 2010).

본 연구에서 고지방-콜레스테롤 식이에 홍마늘 추출물을 보충 급이한 결과 혈중 중성지방의 감소 및 HDL-콜레스테롤 함량의 증가에 유의적인 현상을 보였는데, HR+TF군은 HRG군보다 더 효과적이었다. 즉, 본 실험에서 녹차 추출물이나 식이섬유가 총 사료량에 대해 약 0.125% 수준으로 혼합되어진 것을 고려해 본다면, 홍마늘 복합물의 혈중 지질 감소는 시료 중의 유효성분과 홍마늘과의 상호작용에 기인된 것으로 사료된다.

##### (5) GOT, GPT 및 ALP 활성

고지방-콜레스테롤 식이로 비만을 유도한 흰쥐에 홍마늘 복합물을 보충급이하여 GOT, GPT 및 ALP 활성을 측정한 결과 Table 50과 같다. 간 기능 효소활성은 정상군에 비해 대조군에서 유의적으로 상승하였으며, 홍마늘 추출물 및 복합물 첨가군이 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다. GOT 활성은 HR+F군과 HR+TF군이 비슷였으며, GPT 활성은 HR+T군, HR+F군 및 HR+TF군에서 통계적인 유의차 없이 상호 비슷한 수준이었으며, HRG군보다 활성이 낮았다. ALP 활성은 전반적으로 실험군간에 유의차가 적었다.

고지방 식이에 의한 간 중량의 증가는 혈중 GOT 및 GPT 활성 증가와도 (+)의 상관성이 있으며(Lee 등 2000), 이때 사료에 첨가되는 시료의 항산화 활성이 높으면 GOT 및 GPT 활성은 감소된다고 보고되어 있다(Mun 2004). 마늘과 식물류의 혼합물을 고콜레스테롤식이 흰쥐에게 혼합급이시 마늘 추출물의 농도가 증가됨에 따라 GOT 활성은 증가되었으며, GPT 활성은 유의차가 없는 것으로 보아 마늘 추출물이 GOT 및 GPT 활성의 감소에 큰 효과를

보이지 않았다(Shin 등 2010). 따라서 본 연구결과, 홍마늘 추출물의 GOT 및 GPT 활성이 대조군에 비해 유의적으로 감소된 것은 생마늘보다 홍마늘에서 항산화 활성이 높기 때문인 것으로 추정된다(Lee 등 2010). 또한 녹차 복합물(R+T) 및 녹차·식이섬유 복합물(R+TF)의 총 페놀 함량이 홍마늘 추출물보다 높았기 때문에 이들 물질도 GOT 및 GPT 활성 감소에 기여하는 것으로 여겨진다.

Table 50. GOT, GPT and ALP activities in serum of the rats fed high fat-cholesterol by the red garlic extract and composites supplementation

Group <sup>1)</sup>	GOT	GPT	ALP
	(Karmen unit/mL)		(K-A unit/mL)
Normal	54.00±1.63 <sup>a2)</sup>	17.88±0.85 <sup>a</sup>	18.66±1.82 <sup>a</sup>
HFC	72.25±1.26 <sup>e</sup>	26.75±3.40 <sup>c</sup>	32.51±1.72 <sup>d</sup>
HRG	66.75±1.71 <sup>d</sup>	23.05±0.74 <sup>b</sup>	25.06±3.94 <sup>c</sup>
HR+T	62.00±1.83 <sup>c</sup>	20.00±2.45 <sup>a</sup>	20.46±0.89 <sup>ab</sup>
HR+F	59.13±1.65 <sup>b</sup>	19.50±1.91 <sup>a</sup>	21.88±1.10 <sup>abc</sup>
HR+TF	57.50±1.29 <sup>b</sup>	18.63±1.11 <sup>a</sup>	23.21±2.18 <sup>bc</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

NS : not significant

### (6) 간장 및 심장 조직 중의 지질 함량

고지방-콜레스테롤 식이로 비만을 유도한 흰쥐에 홍마늘 조성물을 보충급이하였을 때 가장 및 심장 조직의 총 지질, 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량은 Table 51, 52와 같다. 대조군의 간장 및 심장 조직 중 지질함량은 고지방-콜레스테롤 식이에 의해 정상군에 비해 유의적으로 증가되었다. 간장 조직의 총 지질 함량은 대조군에 비해 홍마늘 추출물 및 조성물의 급이시 유의적으로 감소되었는데, 식이섬유 조성물 급이군(HR+F군)과 녹차·식이섬유 조성물 급이군(HR+TF군)간에는 유의차가 없었다. 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량은 홍마늘 조성물 급이군이 대조군에 비해 유의적으로 감소되었으나, 실험군간에는 유의차가 없었다(Table 51).

심장 조직에서는 총 지질, 총 콜레스테롤 및 중성지방의 함량이 대조군에 비해 실험군에서 유의적으로 감소되었으나, 조성물의 종류에 따른 실험군간의 유의차는 작았으며, 홍마늘 추출물 급이군에 비해서는 조성물의 급이시 다소 감소효과가 큰 것으로 판단되었다(Table 52).

Table 51. Lipid profiles in liver tissue of the rats fed high fat-cholesterol by the red garlic extract and composites supplementation

(mg/g, liver tissue)

Group <sup>1)</sup>	In liver		
	Total lipids	Total cholesterol	Triglyceride
Normal	30.55±2.24 <sup>a2)</sup>	2.33±0.27 <sup>a</sup>	18.27±0.80 <sup>a</sup>
HFC	127.77±2.71 <sup>e</sup>	6.76±1.47 <sup>c</sup>	27.25±1.49 <sup>c</sup>
HRG	121.53±1.83 <sup>d</sup>	5.60±0.21 <sup>b</sup>	24.42±0.98 <sup>b</sup>
HR+T	115.47±3.63 <sup>c</sup>	5.40±0.52 <sup>b</sup>	23.23±1.34 <sup>b</sup>
HR+F	108.50±6.35 <sup>b</sup>	5.30±0.61 <sup>b</sup>	22.70±1.30 <sup>b</sup>
HR+TF	110.20±2.03 <sup>b</sup>	5.04±0.44 <sup>b</sup>	22.74±1.16 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

Table 52. Lipid profiles in heart tissue of the rats fed high fat-cholesterol by the red garlic extract and composites supplementation

(mg/g, heart tissue)

Group <sup>1)</sup>	In heart		
	Total lipids	Total cholesterol	Triglyceride
Normal	6.90±0.80 <sup>a2)</sup>	0.95±0.09 <sup>a</sup>	3.46±0.27 <sup>b</sup>
HFC	10.70±1.18 <sup>b</sup>	1.50±0.15 <sup>b</sup>	5.15±0.13 <sup>c</sup>
HRG	7.27±1.60 <sup>a</sup>	1.36±0.04 <sup>b</sup>	3.49±0.42 <sup>b</sup>
HR+T	7.72±1.52 <sup>a</sup>	1.32±0.16 <sup>b</sup>	2.93±0.08 <sup>a</sup>
HR+F	6.97±0.88 <sup>a</sup>	1.33±0.06 <sup>b</sup>	2.66±0.13 <sup>a</sup>
HR+TF	7.10±0.63 <sup>a</sup>	1.31±0.17 <sup>b</sup>	2.77±0.43 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

고지방 식이는 가장 간장 조직의 콜레스테롤 함량을 증가시키는 것으로 알려져 있는데 (Ghasi 등, 2000) 본 연구에서도 같은 결과를 얻었다. 또한 고칼로리 섭취와 포화지방산, 콜레스테롤을 다량 함유하는 고지방 식이는 혈액 내 콜레스테롤 수준을 증가시킴으로써 동맥 내 플라그의 형성을 촉진하여 심혈관 질환의 발생을 증가시키게 된다(Wu 등, 1993). 따라서 홍마늘 조성물의 급이로 간장 및 심장 조직 중의 콜레스테롤 및 중성지방의 수준이 감소되었는데, 이는 혈청 지질 성분의 감소와도 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다.

### (7) 분변 중의 지질함량

고지방-콜레스테롤 식이로 비만을 유도한 흰쥐에 첨가 급이한 홍마늘 조성물에 의해 분변 중 지질 배설 정도를 알아보기 위하여 홍마늘 추출물과 조성물을 급이하여 1주 및 4주 후에 각각 분변을 수집하여 지질 성분을 분석한 결과는 Table 53과 같다.

Table 53. Fecal lipid profiles in the rats fed high fat-cholesterol by the red garlic extract and composites supplementation

Group <sup>1)</sup>	Total lipids		Total cholesterol		Triglyceride	
	1 week	4 weeks	1 week	4 weeks	1 week	4 weeks
Normal	7.30±0.35 <sup>a2)</sup>	7.51±1.36 <sup>a</sup>	1.23±0.12 <sup>a</sup>	1.92±0.15 <sup>a</sup>	0.44±0.03 <sup>a</sup>	0.48±0.04 <sup>a</sup>
HFC	20.86±1.44 <sup>cd</sup>	22.74±1.96 <sup>bc</sup>	17.21±2.35 <sup>b</sup>	22.61±1.33 <sup>b</sup>	1.13±0.11 <sup>b</sup>	1.31±0.04 <sup>b</sup>
HRG	18.85±1.08 <sup>b</sup>	21.37±0.83 <sup>b</sup>	19.26±3.27 <sup>bc</sup>	24.58±3.90 <sup>bc</sup>	1.28±0.13 <sup>bc</sup>	2.13±0.10 <sup>c</sup>
HR+T	20.12±0.92 <sup>bc</sup>	23.04±0.78 <sup>bc</sup>	21.76±2.07 <sup>cd</sup>	24.69±1.42 <sup>bc</sup>	1.27±0.06 <sup>bc</sup>	2.21±0.09 <sup>c</sup>
HR+F	23.21±0.87 <sup>e</sup>	25.59±1.13 <sup>d</sup>	22.64±0.62 <sup>d</sup>	27.43±1.57 <sup>c</sup>	1.41±0.11 <sup>c</sup>	2.37±0.07 <sup>c</sup>
HR+TF	22.21±1.49 <sup>de</sup>	23.85±1.57 <sup>cd</sup>	23.55±1.55 <sup>d</sup>	25.19±1.97 <sup>bc</sup>	1.33±0.13 <sup>c</sup>	2.34±0.60 <sup>c</sup>

<sup>a-d</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

고지방 식이를 급이한 대조군은 정상군에 비해 지질의 배설량이 유의적으로 증가되었으며, 1주간의 식이 섭취보다 4주간의 식이 섭취 후에 지질 배설량은 더 증가되는 경향이였다. 총 지질 및 총 콜레스테롤 함량은 실험식이의 급이 4주 후에 대조군에 비해 홍마늘 추출물과 녹차 조성물 급이군에서는 유의차가 작았으나, 식이섬유 조성물 급이군(HR+F군)에서는 유의적인 감소를 보였다. 중성지방 함량은 대조군에 비해 모든 실험군에서 유의적인 감소를 보였다. Jang 등(2008)은 콜레스테롤 식이 흰쥐에 무청 분말을 첨가급이한 경우 분변 중의 지질 배설량이 증가되었는데, 시료 중의 식이섬유소와 플라보노이드성 물질에 기인한 것으로



로 보고한 바 있다. 펙틴 등의 식이섬유소는 흰쥐의 소장에서 콜레스테롤과 담즙산의 재흡수를 저해하여 이들의 배설을 촉진한다고 알려져 있다. 따라서 홍마늘 추출물에 혼합된 녹차나 식이섬유는 이들의 상호작용에 의해 체내 지질 배설이 증가된 것으로 사료된다.

### (8) 혈청 지질과산화물 함량 및 항산화 활성

홍마늘 조성물을 고지방-콜레스테롤 식이에 의한 비만 유도 흰쥐에게 급이하여 혈액 및 간장 조직 중 지질과산화물 함량과 항산화 활성을 분석한 결과는 Table 54와 같다. 혈청 지질과산화물 함량은 대조군에 비해 홍마늘 추출물과 조성물 첨가군에서 유의적으로 감소되었으며, 실험군간에 유의차는 적었다. 항산화 활성은 대조군이 정상군에 비해 유의적으로 낮았고, HR+T군에서만 유의적인 증가를 보였으나 그 외 실험군은 대조군과 유의차를 보이지 않았다. 간장 조직 중 지질과산화물 함량은 혈청 중 지질과산화물 함량과 비교해 볼 때 대조군에 비해 실험군에서 유의적으로 감소되었으며, 홍마늘 추출물 급이군은 약 25%로 가장 큰폭으로 감소하였다. 더욱이 홍마늘 조성물에서는 녹차 첨가시 지질과산화물의 함량이 유의적으로 낮았다. 항산화 활성은 대조군이 정상군에 비해 유의적으로 낮았으며, 홍마늘 조성물 급이군이 대조군에 비해 유의적으로 높은 활성이었으나, 실험군간에 유의차는 없었다.

Table 54. TBARS content and antioxidant activity in serum and liver tissue of the rats fed high fat-cholesterol by the red garlic extract and composites supplementation

Group <sup>1)</sup>	In serum		In liver	
	TBARS content (mmol/mL)	Antioxidant activity (%)	TBARS content (mmol/g)	Antioxidant activity (%)
Normal	17.27±1.14 <sup>a2)</sup>	50.53±4.12 <sup>b</sup>	208.74±5.41 <sup>a</sup>	54.88±0.57 <sup>c</sup>
HFC	23.76±0.78 <sup>c</sup>	41.75±4.11 <sup>a</sup>	297.63±8.41 <sup>f</sup>	37.33±2.88 <sup>a</sup>
HRG	20.11±1.05 <sup>b</sup>	42.55±2.17 <sup>a</sup>	223.26±10.65 <sup>b</sup>	39.62±1.21 <sup>ab</sup>
HR+T	19.37±0.99 <sup>ab</sup>	48.33±2.29 <sup>b</sup>	249.66±7.84 <sup>c</sup>	42.79±3.26 <sup>b</sup>
HR+F	21.16±2.25 <sup>b</sup>	42.29±3.48 <sup>a</sup>	279.31±5.98 <sup>e</sup>	41.29±2.27 <sup>b</sup>
HR+TF	20.30±1.99 <sup>b</sup>	43.10±2.31 <sup>a</sup>	261.62±2.90 <sup>d</sup>	41.05±1.57 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ )

고지방 식이는 체내에서 쉽게 산화되어 유리 라디칼을 생성하게 되며, 식물류의 페놀 화합물은 체내에서 지질과산화에 의한 malondialdehyde의 생성을 감소시키는데 효과적이다 (Azuma 등 1999). 마늘과 식물류 혼합물의 섭취는 고콜레스테롤 급이 흰쥐에서 혈중 지질

과산화물 함량을 감소시키며, 항산화 활성을 증가시키나 마늘 추출물의 첨가량에 따른 유의차는 없는 것으로 보고되어 있다(Shin 등 2010). 본 연구에서도 HR+T군에서 지질과산화물 함량이 가장 낮았고 항산화 활성이 유의적으로 높은 것을 볼 때, 홍마늘 추출물의 일부를 녹차로 대체할 경우 체내 항산화계의 유지에 효과적일 것으로 예상된다.

### (9) 간조직의 항산화 효소 활성

Table 55는 고지방-콜레스테롤식을 급이한 흰쥐에게 홍마늘 및 홍마늘 조성물을 첨가급이한 후 간조직의 항산화 효소(catalase, SOD 및 glutathion peroxidase(GSH-px)의 활성을 측정된 결과이다. Catalase, SOD 및 GSH-px 공통적으로 고지방-콜레스테롤식을 급이한 HFC군의 활성이 유의적으로 가장 낮았다. 반면에 홍마늘 급이군(HRG)과 홍마늘의 조성물을 보충급이한 실험군(HR+T, HR+F, HR+TF)의 경우에는 항산화 효소원의 활성이 대조군보다 유의적으로 높았으며, 특히 홍마늘 외 혼합물을 보충 급이한 실험군의 경우에는 대부분의 항산화 효소의 활성이 정상군보다도 높은 경향을 보였다. 그 중에서도 녹차를 보충 급이한 실험군이 가장 높은 활성을 보였으나 통계적으로는 HR+F 및 HR+TF군과 유의적 차이가 없거나 그 차이가 작았다.

Table 55. Antioxidant activities in liver tissue of the rats fed high fat-cholesterol by the red garlic extract and composites supplementation

Group <sup>1)</sup>	Catalase ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg protein}$ )		SOD ( $\text{U}/\text{min}/\text{mg protein}$ )	GSH-px ( $\text{nmol}/\text{min}/\text{mg protein}$ )
	Mitochondrial fr.	Microsomal fr.	Cytosolic fr.	Cytosolic fr.
Normal	1.03±0.11 <sup>1)ab2)</sup>	2.16±0.65 <sup>ab</sup>	56.29±4.12 <sup>c</sup>	371.23±29.78 <sup>cd</sup>
HFC	0.92±0.14 <sup>a</sup>	1.36±0.28 <sup>a</sup>	42.45±2.94 <sup>a</sup>	282.93±28.53 <sup>a</sup>
HRG	1.09±0.34 <sup>ab</sup>	2.33±0.13 <sup>b</sup>	49.78±1.48 <sup>b</sup>	323.81±44.95 <sup>ab</sup>
HR+T	1.32±0.23 <sup>b</sup>	2.97±0.38 <sup>b</sup>	58.14±1.55 <sup>c</sup>	407.90±14.51 <sup>d</sup>
HR+F	1.13±0.12 <sup>ab</sup>	2.76±1.11 <sup>b</sup>	55.51±1.83 <sup>c</sup>	341.99±19.93 <sup>bc</sup>
HR+TF	1.14±0.13 <sup>ab</sup>	2.91±0.27 <sup>b</sup>	57.43±3.01 <sup>c</sup>	372.70±24.95 <sup>cd</sup>

<sup>a-d</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$

<sup>1)</sup>Refer to the Table 3.

<sup>2)</sup>Values are mean±SD ( $n=7$ ).

Yoon(2007)이 운동을 통하여 유발시킨 쥐에 마늘을 급이시켜 catalase 및 SOD의 활성을 측정된 결과, 마늘 급이군의 catalase 활성이 마늘을 급이하지 않은 운동군보다 높았고, SOD

활성의 경우에는 운동군 뿐만 아니라 정상군보다 높은 결과를 보였다고 보고하여 마늘이 체내 항산화 효소원의 활성화에 긍정적인 영향을 미친다는 사실을 입증하였다.

또한, 제2형 당뇨병을 대상으로 동결 건조한 마늘과 홍마늘을 섭취시킨 결과, 항산화 효소의 활성이 증가하였다고 보고된 바 있어(Lee 등 2009) 숙성마늘 또한 체내 항산화계에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 추정된다.

본 연구의 실험결과를 종합해볼 때, 고지혈증 쥐에 홍마늘을 보충 급이시킬 경우 항산화 효소의 활성은 증가하여 정상군과 비슷한 수준의 활성을 나타내는 것으로 판단되는데, allicin을 함유하고 있는 물질을 섭취시켰을 때 MDA와 같은 지질 과산화물의 생성은 억제되고 SOD, catalase, GSH-px 등의 항산화 효소의 활성은 증가시켰다는 연구결과(Duda 등 2008)를 비추어 마늘 중의 allicin과 같은 황화합물이 체내 항산화 효소의 활성을 촉진시키는 주된 성분인 것으로 생각된다. 또한 홍마늘에 폴리페놀 화합물이 다량 존재하는 녹차나 식이섬유를 혼합 급이 시킬 경우에는 항산화 효소의 활성이 더욱 증가하여 생체내의 항산화계에 시너지 효과를 낼 수 있을 것으로 기대된다.

## 7) 홍마늘 급이에 따른 안전성 평가

### (1) 사망 및 임상 증상의 관찰

C57BL/6 및 ICR mouse를 대상으로 단회 투여 최대 용량인 2000 mg/kg의 홍마늘 추출물 및 조성물을 경구투여한 후 5일 동안 나타나는 반응을 관찰한 결과 Table 56, 57과 같다. 실험 전 기간 동안 시료의 투여에 대한 특이할만한 증상은 관찰되지 않았고, 폐사 및 빈사 동물도 없었다.

Table 56. Changes of the clinical signs in C57BL/6 and ICR mouse after single oral administration (2000 mg/kg bw) of red garlic and composite for 5 days

		In 1 day after treatment (hr)					Day after treatment (day)				Final mortality
		0	2	4	6	8	2	3	4	5	
	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
C57BL/6	Red garlic extract	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
	Red garlic composite	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
ICR	Red garlic extract	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
	Red garlic composite	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%

Table 57. Changes of the clinical signs in C57BL/6 and ICR mouse after single oral administration (4000 mg/kg bw) of red garlic and composite for 5 days

		In 1 day after treatment (hr)					Day after treatment (day)				Final mortality
		0	2	4	6	8	2	3	4	5	
	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
C57BL/6	Red garlic extract	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
	Red garlic composite	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
	Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
ICR	Red garlic extract	-	-	+	-	-	-	-	-	-	0%
	Red garlic composite	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%

따라서 단회 최대 용량의 2배에 해당되는 4000 mg/kg 농도를 경구투여한 결과, 상기의 결과와 마찬가지로 하여 폐사 및 빈사 동물은 없었다. 반면에 홍마늘 추출물 급이군에서 경구투여 4시간 경과 후 앞발로 배 부위를 긁는 행동을 보이기는 하였으나, 일부 동물에서만 관찰되었으며, 6시간 경과 후부터는 이러한 현상이 나타나지 않아 시료 물질 때문이라고 단정 짓기는 어려웠다. 또한 이러한 현상이 홍마늘 조성물 급이군에서는 전혀 나타나지 않았다.

실험 전 기간 동안 실험동물의 체중을 측정하고 시험동물의 투여에 의한 체중감소는 없었으며, 실험 전 기간 동안 털 빠짐, 긁는 행동, 식이 섭취의 이상 등 실험동물의 외관에 대한 육안적 이상 소견은 보이지 않았다.

## (2) 장기 중량

2000 mg/kg 및 4000 mg/kg의 단회 경구투여에 의한 이상 증상이 발견되지 않아 2000 mg/kg으로 5일간 연속 장기 경구투여에 의한 안전성 평가를 실시한 결과 상기와 마찬가지로 육안적인 이상행동은 관찰되지 않았다. 따라서 실험 종료일에 부검하여 간장, 심장, 신장, 지라 및 고환의 중량을 측정하고 결과는 Table 58에 나타내었다. 전반적으로 C57BL/6 마우스의 장기 중량이 ICR 마우스보다 다소 높았다. 간장 중량은 정상군이 가장 높았으며, 다음으로 홍마늘 조성물 급이군이었으며, 홍마늘 추출물 급이군의 간장 중량이 가장 작았다. 신장 및 고환의 중량은 홍마늘 조성물 급이군이 정상군보다 다소 높았다. 부검결과 장기의 병변에 대한 육안적인 이상 소견은 보이지 않았다.

Table 58. Organ weight of the C57BL/6 and ICR mouse after long time administration (2000 mg/kg bw) of red garlic and composite after 5 days

		Organ weight (g)				
		Liver	Heart	Kidney	Spleen	Testis
	Control	1.19±0.06	0.18±0.02	0.36±0.03	0.07±0.03	0.18±0.06
C57BL/6	Red garlic extract	1.09±0.06	0.15±0.01	0.41±0.03	0.06±0.03	0.19±0.04
	Red garlic composite	0.16±0.04	0.14±0.02	0.43±0.03	0.08±0.03	0.22±0.02
	Control	1.16±0.07	0.14±0.01	0.34±0.06	0.04±0.02	0.18±0.06
ICR	Red garlic extract	1.06±0.09	0.14±0.01	0.39±0.03	0.05±0.01	0.19±0.04
	Red garlic composite	0.14±0.09	0.15±0	0.40±0.03	0.06±0.02	0.21±0.01

## (2) 간독성 검사

2000 mg/kg의 농도로 5일간의 연속적인 장기 경구투여 후 혈청 GOT 및 GPT 활성도를 분석한 결과는 Table 59와 같다. C57BL/6 마우스의 GOT 및 GPT 활성도는 ICR 마우스보다 다소 높았으며, 정상군이 홍마늘 추출물 및 조성물 급이군보다 다소간 높았다. 홍마늘 조성물 급이군은 홍마늘 추출물 급이군보다 낮은 활성을 보였는데, 이러한 결과는 SD계 rat를 사용한 항비만 활성과도 유사한 결과였다. 따라서 홍마늘 추출물 및 홍마늘 조성물은 마우스를 이용한 급이에 대한 안전성 평가 결과, 이상 행동 및 간 독성이 없는 것으로 나타나 체내 안전한 물질인 것으로 사료된다.

Table 59. GOT and GPT activities in the C57BL/6 and ICR mouse after long time administration (2000 mg/kg bw) of red garlic and composite after 5 days

		Activities (Karmen unit/L)	
		GOT	GPT
	Control	88.50±1.29 <sup>c</sup>	45.00±0.82 <sup>c</sup>
C57BL/6	Red garlic extract	75.25±0.96 <sup>b</sup>	42.25±1.26 <sup>b</sup>
	Red garlic composite	70.25±1.50 <sup>a</sup>	38.00±0.82 <sup>a</sup>
	Control	71.50±1.29 <sup>b</sup>	41.50±0.58 <sup>c</sup>
ICR	Red garlic extract	68.00±0.82 <sup>a</sup>	37.50±1.29 <sup>b</sup>
	Red garlic composite	66.75±0.96 <sup>a</sup>	32.25±1.26 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup>Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at  $p < 0.05$ .

## 제 2 절 홍마늘의 항비만 및 항염증 활성 및 메카니즘 규명 (제 2세부과제)

### 1. 개요

- 홍마늘의 고부가가치 창출을 위한 기능성 규명 연구의 일환으로 마늘의 항비만 활성 및 항염증 효과를 규명하고자 하였다.
- 3T3-L1 지방전구세포의 사멸, 지방세포로의 분화에 있어서 마늘의 효과를 밝혔고, 마늘의 항염증 효과를 규명하기 위해서는 염증유도물질 LPS를 이용하여 다양한 세포에 염증을 유발시킨 후 홍마늘 유용물질의 효과를 세포에서 변화되는 염증관련 유전자 및 단백질의 발현변화로써 확인하였다.
- 홍마늘 유용물질의 항비만 효과를 분석하기 위해 렙틴 농도를 측정하였으며, 비만쥐에서 홍마늘 유용물질의 지방세포 증식 억제효과는 홍마늘 추출물이 PPAR $\gamma$ 의 발현을 억제시켜 지방세포 분화를 억제시키는 것으로 생각되었다.
- 홍마늘 추출물의 항비만, 항염증 효과의 기전을 규명하고, 이온 통로에 의한 항비만 기전을 분석하고자 하였다. 또한 항비만·항염증 조절 신호전달체계 구축으로 항비만 및 항염증효과를 분석하였다.
- 본 연구에서는 칼륨통로를 중점적으로 이온통로 조절에 의한 항비만 기전을 분석하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 1) 실험재료 및 시료 준비

##### (1) 시약

본 연구에 사용된 모든 시약은 Sigma(St. Louis, MO, USA) 회사에서 구입하였다. GSH (100mM), N acetylcysteine(NAC; 500mM) 그리고 L buthioninesulfoximine(L BSO; 100mM)은 물에 녹여 보관하였으며, hemin(5mM)과 zinc protoporphyrin(ZnPP, 40mM)은 각각 0.1 N NaOH와 dimethylformamide(DMF)에 녹여서 사용하였다. 마늘과 담배연기는 세포배양액에 희석하여 사용하였다. NaOH 또는 DMF가 용매로 사용되는 실험에서는 같은 농도의 용액을 대조군으로 사용하였다.

##### (2) 세포배양

인간기관지평활근세포(Normal HBSMCs)는 PromoCell GmbH(Heidelberg, Germany)로부터 구입하였다. HBSMCs는 제조자(PromoCell)의 추천방법에 따라 0.5 ng/mL epidermal growth factor, 2 ng/mL basic fibroblast growth factor, 5  $\mu$ g/mL insulin, 5% fetal calf serum, 50  $\mu$ g/mL amphotericin B and 50 ng/mL gentamycin를 포함하는 smooth muscle cell basal medium에 배양하였다. 세포는 5% CO $_2$ 가 공급되고 37 $^{\circ}$ C가 유지되는 배양기에서 배양하였다. 배양액은 이틀마다 새로운 배양액으로 바꾸었다. 대식세포주로는 Raw 264.7 세포를, 지방분화 실험을 위해서는 3T3-L1 세포를 준비하여 각각의 세포에 적합한 배양액에

배양한 후 실험에 사용하였다.

### (3) 담배연기추출물 준비

담배연기추출물(cigarette smoke extract, CSE) 준비는 기존 발표된 논문에 따라 준비되었다(Nana-Sinkam et al., 2007). 간단히 말하면, 필터가 없는 Camel cigarette (R. J. Reynolds, Winston-Salem, NC, USA) 한 개를 진공펌프를 이용하여 phosphate buffered saline (PBS) 10 mL에 녹여 사용하였으며, 그것을 100% CSE로 산출하였다. 100% CSE는 0.2 $\mu$ m pore filter (Minisart®, Sartorius, Goettingen, Germany)로 필터한 후 10분 이내에 세포에 첨가하였다.

### (4) 마늘추출물의 제조

경남, 남해군에서 경작·수확된 마늘을 시료로 사용하였다. 생마늘과 흑마늘은 새남해농협으로부터 제공받았으며, 홍마늘은 생마늘로부터 특허화된 제조방법(Patent No. 10-2010-0036798)에 따라 제작하였다. 홍마늘 제조방법을 간략히 설명하면, 생마늘을 온도와 시간을 조절할 수 있는 챔버에 넣어 적갈색으로 변화되도록 숙성시켰다. 홍마늘의 전처리과정은 다음과 같다. 마늘 조각을 전자레인지에 넣어 5분간 400~600 W의 열을 가한 후 배양기 안으로 옮겨 4 cm 높이의 챔버에 마늘을 올려놓고 60% 습도, 90 $^{\circ}$ C 온도를 유지하면서 24 시간 동안 배양하였다. 배양 후, 습도와 온도를 즉시 50%, 50 $^{\circ}$ C로 낮추어 30 시간 동안 배양하였다. 다시 마늘조각은 70 $^{\circ}$ C에서 36 시간 동안 배양되었다. 온도를 30분 이내에 40 $^{\circ}$ C로 떨어뜨려 30 시간 동안 추가 배양하였다.

### (5) 마늘 열수추출물 제조

마늘 조각은 껍질을 벗겨 분쇄한 다음 생마늘, 흑마늘, 홍마늘을 10배의 물(100 g/1000 mL)에 부유시킨 후, 70 $^{\circ}$ C 항온수조에서 8 시간 동안 추출하였다. 나머지 잔사는 같은 방법으로 3 회 재추출 하였다. 열수추출물은 Whatman filter paper(Grade No. 2, Whatman International Ltd, Kent, UK)를 통해 필터한 후 동결건조시켜 분말로 하였으며, 분석 시까지 -40  $^{\circ}$ C에 보관하였다. 실험 당시, 동결 건조된 마늘가루는 지정 농도로 물에 녹여 사용하였다. 홍마늘 역시 생마늘, 흑마늘처럼 phenolics, flavonoids, pyruvate 그리고 thiosulfate와 같은 phytochemical 성분을 포함하는데, 홍마늘의 phytochemical 성분 농도는 생마늘과 흑마늘의 중간 함량 또는 범위였다(Lee 등 2010).

### (6) 홍마늘 추출물(aged red garlic extract ; ARGE)의 분리

물에 녹여진 홍마늘 추출물을 2500 Da의 분자량을 가진 투석주머니에 넣어 4 $^{\circ}$ C에서 5 시간 동안 투석시켰다(Thermo Scientific, Hudson, NH, USA). 추출물은 5 회 투석되었고, 투석물은 inner membrane(IM) fractions과 outer membrane(OM) fractions으로 분획하였다. 각 추출물은 동결건조 한 후 분말로 만들어 사용 시까지 -20 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

## 2) 실험방법

### (1) 세포생존력 분석

세포생존력은 3-(4,5-dimethylthiazole 2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) reagent를 사용하여 비색법으로 측정되었다(Duchefa, Haarlem, Netherlands). 세포는 24well plate에 배양되었다( $4 \times 10^4$  cells/mL). 24 시간 후에 추출물이나 시약을 처리하였고, 5 mg/mL MTT solution 20  $\mu$ L를 각 well (0.1 mg/mL)에 더하였고 4 시간 동안 배양하였다. 상층액을 제거하고, 각 well에서 formazan crystals은 37°C에서 30분 동안 200  $\mu$ L dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹였고, microplate reader를 이용하여 570nm에서 흡광도를 측정하였다 (Bio Rad, Hercules, CA, USA).

### (2) Caspase 활성화 측정

Caspase(FLICA) apoptosis detection kit의 fluorochrome inhibitor는 활성화된 caspases를 측정하는데 사용하였다(Immunochemistry Technologies, Bloomington, MN, USA). 녹색형광을 발현하는 FAM-VAD-FMK는 caspase 활성화의 강력한 억제제이다.

희석된 FAM-VAD-FMK(1:30, 10  $\mu$ L)를 각 시료(300  $\mu$ L)에 첨가한 후  $1 \times 10^6$  cells/mL의 농도로 배양하였다. 세포는 37°C에서 60분 동안 FAM-VAD-FMK와 함께 배양된 후 3회 세척하였다. Caspase 활성화도는 녹색형광(H2DCFDA)의 488과 518 nm 파장대에서 측정하였다.

### (3) 세포내 글루타치온 농도 측정

세포 내 글루타치온(glutathione, GSH) 농도는 dithionitrobenzoic acid glutathione disulfide(DTNB GSSG) 환원효소 recycling assay system을 이용하는 total GSH detection kit(Assay Designs, Ann Arbor, MI, USA)를 사용하여 측정하였다. 세포는 37°C에서 24 시간 동안 ARGE, BSO, GSH와 CSE의 혼합 처리, 그리고 CSE 단독 처리로 배양하였다. 분해된 세포의 상층액을 microplate로 옮겨 GSH 환원효소와 함께 혼합하였다. GSH 농도는 plate reader(Infinite® F200, Tecan, Männedorf, Switzerland)를 사용하여 405nm의 파장대에서 1분 간격으로 10회 측정되었다. Reduced GSH 농도는 전체 GSH 농도에서 4-vinylpyridine를 처리하여 얻어진 oxidized GSH (GSSG) 농도를 감하여 얻었다(환원GSH=total GSH-산화GSH).

### (4) 활성산소의 측정

세포는 10% CSE에 4 시간 동안 노출되면서 3 mM NAC 및 1% ARGE와 함께 배양하였다. 세포는 암실에서 30분 동안 5  $\mu$ M dichlorodihydrofluorescein(H2DCFDA, Calbiochem, San Diego, CA, USA)과 함께 배양되었다. 배양 후 세포는 PBS로 3회 세척하였고, 형광시스템이 장착된 공초점현미경(confocal laser scanning microscope, IX70 Fluoview, Olympus, Tokyo, Japan)로 즉시 분석하였다. 녹색형광(H2DCFDA)은 488과 518 nm 파장대에서 측정하였다.

### (5) 단백질 분석

단백질 분석을 위해 100 mm 세포배양 용기에 배양중인 세포를 D-PBS로 씻은 뒤 cell



scraper로 긁어서 1.5ml 튜브에 넣은 뒤 800 rpm 으로 5분간 원심분리 한 후 침전된 세포를 protein extraction solution(50 mM Tris-Cl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 1 mM dithiothreitol, 0.5% nonyl phenoxy polyethoxy ethanol, 1% TritonX-100, 1% deoxycholate, 0.1% sodium dodecyl sulfate(SDS), 1 mM ethylenediaminetetra acetic acid, 1 μM leupeptin, 1 μM pepstatin A, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride 및 0.1 μM aprotininprotein (PRO-PREP™, iNtRON Biotechnology Inc, Seongnam, Korea)이 담긴 1.5ml 튜브에 세포를 옮긴 후 4℃에서 튜브를 30분 정도 방치한 후 4℃에서 13,000 rpm(16609 g, Micro 17TR, Hanil, Incheon, Korea) 으로 20분 원심분리한 후 상층액을 따서 새로운 1.5 ml 튜브로 옮겼다. 튜브에 있는 추출된 단백질을 8~10% SDS-PAGE에 넣고 전기영동한 후 polyvinylidene difluoride(PVDF) membrane에 전기영동한 단백질을 transfer시킨 후, blocking 용액, 1차 항체, 2차 항체를 처리하였다. Membrane을 세척한 후 암실에서 Amersham ECL™ Western Blotting Detections Reagent(GE Healthcare, UK)를 샘플에 2ml 첨가하여 특정단백질을 증폭시켜서 존재를 확인하였다.

#### (6) RNA 추출 및 mRNA 분석

Total RNA는 TRIzol(invitrogen, USA)을 사용하여 각 세포에서 추출하였다. 추출된 total RNA는 Superscript preamplification system(Invitrogen, USA)과 oligo(dT)를 이용하여 cDNA로 합성시킨다. 합성된 cDNA는 특정 유전자의 primer를 이용하여 증폭하였다. 증폭 산물은 염기서열 분석을 통하여 확인하고 정량적 분석을 위해서는 Fast-Start DNA Master SYBR Green I kit(Roche Diagnostics, Germany)를 이용하여 real-time PCR을 수행하였다.

#### - 비만쥐에서 adipogenic transcription factor와 adipokine의 발현 변화

정상쥐와 비만쥐의 지방조직으로부터 TRIzol 용액을 이용하여 total RNA를 분리 정제한 다음 DiaStar™ RT Kit(SolGent, Cat. No. DR13-R10k)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. RNA 3 μg에 oligo-dT 프라이머 1 μL를 첨가하여 65 °C에서 5분간 열 변성시키고 4℃에서 2분간 방치한 후 5X RT Reaction buffer 4 μL, 0.1 M DTT 1 μL, DiaStar™ RTase 1 μL의 혼합액에 첨가하여 최종 20 μL로 조정하였다. 이를 50℃에서 50분 동안 반응시킨 다음 70 °C에서 10분 동안 열 변성시켜 cDNA를 합성하였다. 지방세포와 연관된 전사인자인 PPARγ, AQP7, leptin, SREBP1c primer를 이용, RT-PCR을 수행하여 정상쥐와 비만쥐의 지방조직에서의 발현변화를 확인하였다.

#### (7) 면역염색

각 세포에서 특정 단백질의 존재를 확인하기 위하여 면역세포화학염색 방법을 이용하였다. 특정 단백질의 일차항체(primary antibody)로는 상업적으로 판매되고 있는 항체를 사용하였다. 4% paraformaldehyde가 들어 있는 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.3)을 사용하여 세포를 실온에서 30분간 고정시킨 후 PBS로 세포를 5분간 3번 세척하였다. 비특이적 반응의 억제를 위해 1시간 30분 동안 실온에서 Triton X-100을 포함한 normal goat serum으로 세포를 전 처리하였다. 세포들은 세척 없이 일차항체에 4℃에서 16시간

동안 노출시키고, 대조군은 일차항체 대신 일차항체 희석용액에 노출시켰다. 16시간 후 일차항체를 PBS로 세척하고 이차항체(secondary antibody)를 1시간 30분 동안 실온에서 처리한 후 세포를 PBS로 3번 이상 세척하여 공초점 현미경(Olympus, Tokyo, Japan)으로 단백질의 발현 및 분포 영역을 조사하였다.

#### (8) 렙틴호르몬 분석(면역화학분석법 및 단백질 정량)

- Mouse Leptin ELISA Kit(Koma, Seoul, Korea)를 사용하여 정상쥐, 비만쥐 및 마늘 유용물질 처리쥐에서 적출한 지방 조직 단백질과 혈액에서 leptin의 함량을 측정하였다. Pre-coating된 96 well plate를 PBST로 4회 세척하였다. 표준물질과 단백질, 혈액을 각각 100  $\mu$ L씩 넣고 덮개를 씌워 실온에서 2시간 동안 배양 후 PBST로 4회 세척하고 mouse anti-leptin(1  $\mu$ g/mL) 100  $\mu$ L를 넣고 실온에서 2시간 동안 배양하였다. PBST로 4회 세척한 후에 1 : 200으로 희석한 100  $\mu$ L의 color development enzyme을 넣고 커버를 씌워 실온에서 30분 동안 incubation 하였다. PBST로 4회 세척한 후에 100  $\mu$ L의 color development solution을 넣고 실온에서 수분간 incubation 한 후 100  $\mu$ L의 stop solution을 넣는다. 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

- 정상쥐와 비만쥐의 지방조직 단백질에서 leptin의 발현변화를 확인하였다. 지방조직에 300  $\mu$ L의 lysis buffer를 넣고 homogenization 하였다. 30분간 얼음에 방치한 후, 13,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C, 30분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 정량은 BSA를 표준시료로 사용하여 BCA protein assay로 농도를 결정하였다. 지방조직에서 추출한 단백질을 13% SDS-polyacrylamide 에서 전기영동을 시행하였다. 이후 단백질을 nitrocellulose 막으로 이동시킨 후 항체와 단백질의 비특이적인 결합을 방지하기 위하여 3% skim milk가 포함된 TBST에서 1시간 동안 반응시켰다. Primary antibody는 leptin (Chemicon) 1 : 500 으로 희석하여 4 $^{\circ}$ C, overnight 하였고, TBST로 3회 세척한 후 secondary antibody, goat anti-chicken IgG (Santa cruz)를 1 : 1,000으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. TBST로 3회 wash 후 ECL western blotting kit를 이용하여 X-ray 필름에 감광시켜 immunoreactive band를 확인하였다. 동량의 단백질로 western blot을 시행한 것을 확인하기 위하여 monoclonal anti- $\alpha$ -tubulin(Sigma-Adrich)를 1 : 10,000 으로 희석하여 사용하였다.

#### - 비만으로 유도되는 염증 유발성 cytokine 활성 측정

정상쥐와 비만쥐의 지방조직 단백질에서 IL-1 $\beta$ (eBioscience, Cat. No. 88-7013-22)와 TNF $\alpha$  (eBioscience, Cat. No. 88-7324)의 함량 변화를 kit를 사용하여 확인하였다. 지방조직에 300  $\mu$ L의 lysis buffer를 넣고 homogenization 하였다. 30분간 얼음에 방치한 후, 13,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C, 30분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 정량은 BSA를 표준시료로 사용하여 BCA protein assay로 농도를 결정하였다. Pre-coating된 96 well plate standard와 sample 단백질을 각각 100  $\mu$ L씩 넣었다. 덮개를 씌워 상온에서 2시간 동안 반응시켰다. Wash buffer로 5회 세척하였다. IL-1 $\beta$ 와 TNF $\alpha$ 를 각각 1 : 250으로 희석하여 100  $\mu$ L씩 넣고 상온에서 1시간 동안 반응시켰다. Wash buffer로 5회 세척한 후에 Avidin-HRP를 1 : 200으로 희석하여 100

μL씩 넣었다. 상온에서 30분간 반응시킨 후 wash buffer로 7회 세척하였다. 100 μL의 substrate 용액을 넣고 상온에서 15분간 반응시켰다. 여기에 50 μL의 stop 용액을 넣고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### (9) 17β-estradiol Enzyme Immunoassay 측정

정상쥐와 비만쥐, 그리고 생마늘, 홍마늘, 흑마늘을 각각 먹인 쥐의 serum을 이용하여 17 β-estradiol Enzyme Immunoassay를 실험하였다.

#### (10) 총 콜레스테롤, 중성지방 및 HDL-콜레스테롤 측정

아산제약주식회사의 kit를 사용하여 총 콜레스테롤, 중성지방 및 HDL-콜레스테롤의 함량을 각각 측정하였다. 총 콜레스테롤의 측정은 혈청 0.02 mL에 효소시액 3.0 mL를 잘 혼합하여 37 °C에서 5분간 방치시킨 후 60분 이내에 시약블랭크를 대조로 파장 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산법은 (검체 흡광도/표준액흡광도)×표준액 농도(300 mg/dL)로 계산하였다. 중성지방의 측정은 혈청 0.02 mL에 효소시액 3.0 mL를 잘 혼합하여 37 °C에서 10분간 방치시킨 후 60분 이내에 시약블랭크를 대조로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산법은 (검체의 흡광도/표준의 흡광도)×표준액 중성지방량(300 mg/dL)으로 계산하였다. HDL-콜레스테롤의 측정은 검체 0.2 mL에 분리시액 0.2 mL를 잘 혼합하여 10분간 실온에 방치 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리를 하였다. 상층액 0.1 mL에 표준액 0.1 mL, 효소시액 3.0 mL를 잘 혼합하여 37 °C에서 5분간 방치시키고 60분 이내에 시약블랭크를 대조로 하여 파장 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산법은 (검체의 흡광도/표준액의 흡광도)×50×2로 계산하였다.

#### (11) 포도당부하 검사

정상쥐와 비만쥐 혈액에서 glucose tolerance를 측정하였다. 정상쥐와 비만쥐 각각 3마리씩 실험에 사용하였다. 체중 kg당 2 g의 D-glucose(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 30 gauge needles의 1 mL syringes를 이용하여 복강 내 주입하였고, 0분, 30분, 60분, 90분, 120분, 220분까지 30분 간격으로 꼬리에서 혈액을 채취하여 glucometer를 이용하여 glucose의 양을 측정하였다.

#### (12) 산화질소 측정

Nitric oxide의 측정은 96 well plate에 세포를  $2 \times 10^5$  cells/well로 넣고 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 배양 조건 하에서 배양한 후 0.1 μg/mL LPS를 처리하였다. 다시 24시간 배양 후에 상층액 100 μL를 새로운 96 well plate에 옮기고 0.1% naphthyl ethylene diamine dihydrochloride와 5% phosphoric acid에 1% sulfanilamide를 용해한 시약을 1 : 1로 잘 혼합하여 100 μL 넣고 약하게 vortex 한 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### (13) 지방세포 분화도 측정

홍마늘 추출물의 지방세포 분화에 대한 영향을 조사하기 위하여 3T3-L1 세포는 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)에 10% fetal calf serum(FCS), 1% penicillin-streptomycin을 공급하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양 조건 하에서 세포가 85%로 될 때까지

지 배양하였다. 3T3-L1 지방전구세포를 지방세포로 분화를 유도하는 방법은 6 well plate에  $0.8 \times 10^5$  cells/well이 되게 세포를 넣고 100% confluence하게 될 때까지 배양하였다. 세포를 confluence하게 배양한 2일 후 분화 유도 물질을 세포에 공급하였다. 분화 유도 물질 1  $\mu$ M dexamethasone(DEX), 0.5mM methylisobutylxanthine(IBMX), 10 $\mu$ g/ml insulin(INS)과 10% FCS가 포함된 DMEM에서 세포를 3일 동안 배양하였다. 분화 유도 물질을 공급할 때 각각 0.1%의 생마늘, 흑마늘 그리고 홍마늘 추출물을 함께 처리하였다. 분화 유도 3일째에 10% FCS와 10  $\mu$ g/mL의 insulin 배양액으로 추가 배양을 실시하였으며, 배지는 2일에 한번 씩 교체하였다. 분화 유도 물질을 세포에 공급한지 6일 후 Oil Red O 염색을 통하여 구형 모양의 지방세포로 분화된 것을 확인하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 1) 홍마늘 추출물의 항산화·항염증효과 기전 규명 및 신호전달 체계 구축

ARGE는 담배연기추출물(CSE)에 노출된 인간기관지평활근세포(HBSMC)의 사멸을 세포 내 글루타치온(GSH) 농도를 증가시켜 억제시킴(Aged Red Garlic Extract Reduces Cigarette Smoke Extract-induced Cell Death in Human Bronchial Smooth Muscle Cells by Increasing Intracellular Glutathione Levels, *Phytotherapy Research*, 2012, 26:18-25)

항산화효과를 가진 식품의 활용은 다양한 인자에 의해 유발되어지는 질병을 예방하는데 유용한 전략이다(Graf 등 2005). 본 연구에서는 담배연기에 의한 폐손상과 관련하여 홍마늘 추출물의 항산화·항염증효과를 증명하고자 하였다. 인간기관지평활근세포(human bronchial smooth muscle cells, HBSMCs)는 기관지천식, 만성기관지염 및 폐질환에서 호흡에 있어서 중요한 기능을 하는 세포이다.

자극인자로써는 담배연기추출물(cigarette smoke extract, CSE)을 사용하여 기관지평활근세포의 세포사멸을 억제하는지를 조사하였다. 담배연기는 4000개 이상의 화합물의 혼합물로 폐에 심각한 산화스트레스를 유발한다(Cheng 등, 2010; Pryor과 Stone 1993). 특히, 담배연기의 물 추출물에는 오래 동안 지속되는 활성산소가 있어 세포 독성의 원인이 되고 세포내의 DNA와 단백질의 손상을 가져와 결국 폐손상으로 이어진다(Banerjee 등 2008). 그리고 담배연기에 의한 활성산소의 생성은 면역기능 및 염증반응에 관여한다(van der Vaart 등 2004). 이러한 변화는 기관지천식, 만성폐쇄성폐질환과 같은 호흡기 질환을 유발하게 될 것이다.

마늘추출물은 생마늘(fresh raw garlic, FRG), 흑마늘(aged black garlic, ABG) 및 홍마늘(aged red garlic, ARG)로 준비하여 비교·분석하였다.

#### (1) 홍마늘 추출물의 담배연기에 노출된 인간 기관지 평활근 세포의 사멸을 억제효과

먼저 MTT assay를 하여 HBSMCs에서 CSE의 세포독성을 조사하였다. HBSMCs는 다양한 농도(0.1~10%)의 CSE의 존재에서 배양되었다. 1%, 3%, 5% 그리고 10%의 CSE를 24 시간 동안 처리하였을 때 세포 생존력은 대조군과 비교하여 각각 13%, 18%, 18% 그리고 30%로

유의하게 감소하였다. 반면에 0.1%에서 0.5%의 CSE의 처리는 세포사멸을 거의 유도하지 않았다(Fig. 1A, n=5). 이 후 실험부터는 10% CSE를 사용하였다. CSE 처리 세포에서 apoptotic 세포는 FLICA로 염색되었는데 대조군과 비교하여 유의하게 증가하였다(Fig. 1B).

마늘추출물이 CSE에 의한 세포사멸을 어떻게 조절하는지를 확인하고자 HBSMC에 FRGE, ABGE 또는 ARGE를 10% CSE와 함께 혼합 처리하였다. Fig. 1C에서 보는바와 같이, FRGE, ABGE 또는 ARGE의 단독 처리는 HBSMC에서 세포 증식에 유의한 변화를 유도하지 않았다. 그러나 1% ARGE 처리는 대조군에 비해 세포증식을 유의하게 증가시켰다( $p < 0.05$ ). 그 결과, HBSMC에 CSE를 1% ARGE와 혼합 처리하였을 때 CSE에 의한 세포사멸이 유의하게 감소되었다(세포생존력:  $54.2 \pm 4.8\%$  in CSE alone;  $79.0 \pm 10.9\%$  in 1.0% ARG+ CSE;  $p < 0.05$ ) (Fig. 1D). 투석법에 의해 IM과 OM 용액으로 분획하여 CSE에 의한 세포생존력을 조사하였다. 0.3%와 1%의 ARG IM 용액은 CSE에 의한 세포사멸에 있어서 보호 효과를 보였다(Fig. 1E). 0.1%와 1%의 ARG OM 용액은 CSE에 의한 세포사멸의 회복뿐만 아니라 증식을 유도하였다(Fig. 1F). 추가적인 실험은 평균적인 효과를 가지는 투석전의 ARGE를 가지고 실험하였다. 왜냐하면 IM과 OM 용액의 활성이 ARGE보다 각각 더 낮거나 더 높았기 때문이다.

## (2) 홍마늘 추출물의 담배연기에 노출된 인간 기관지 평활근 세포에서 활성산소의 감소 및 글루타치온 농도의 증가 효과

10% CSE에 노출된 HBSMC의 GSH 농도는 대조군과 비교하여 유의하게 감소되었고, 1% ARGE는 CSE에 의한 GSH 농도 감소를 억제하였다(Fig. 2A). 1% ARGE와 GSH 합성 억제제인 100  $\mu$ M의 L-BSO를 혼합 처리하였을 때 CSE에 의한 GSH 농도의 감소가 회복되지 않았다. 그러나, 5 mM의 GSH와 100  $\mu$ M의 L-BSO를 혼합 처리하였을 때는 CSE에 GSH 농도 감소가 억제되었다. 이는 HBSMC에서 ARGE가 GSH를 생성에는 관여하지 않음을 시사한다.

Fig. 2B에서 보는 바와 같이, CSE는 대조군과 비교하여 2배 이상의 활성산소(ROS)의 생성을 유도하였다. CSE에 의한 ROS의 생성은 ROS scavenger인 3 mM의 NAC의 전처리에 의해 감소되었다. NAC과 마찬가지로, CSE와 ARGE의 혼합 처리는 CSE 단독 처리와 비교하여 ROS 생성을 감소시켰다(Fig. 2B).

Fig. 2C에서 보는바와 같이, CSE는 HO-1의 발현 수준을 시간 의존적으로 증가시켰다(Fig. 2Ca). NAC은 CSE에 의한 HO-1 발현 수준을 감소시켰다(Fig. 2Cb). ARGE 또한 CSE에 의한 HO-1 발현 증가를 감소시켰다(Fig. 2Cb). 이는 CSE에 의한 세포사멸에 대항하기 위해 작용하는 HO-1의 발현이 충분하기 때문에 ARGE 첨가 후 HO-1의 추가적인 도움을 필요로 하지 않을 것으로 생각된다. ARGE는 HO-1의 역할을 대신 할지도 모른다.

Fig. 2Cc는 CSE, ARGE, NAC에 의한 HO-1의 발현 수준을 요약 정리하였다. Fig. 2D에서 보는 것처럼, ARGE와 L-BOS를 혼합 처리하였을 때 CSE에 의한 세포사멸을 줄이는 데에는 실패했다. 그러나 GSH는 CSE에 의한 세포사멸에서 L-BOS와 혼합 처리에도 불구하고 GSH

의 세포사멸 억제 효과를 유지하였다. 이러한 결과는 ARG가 GSH 합성에는 관여하지 않음을 보여준다.

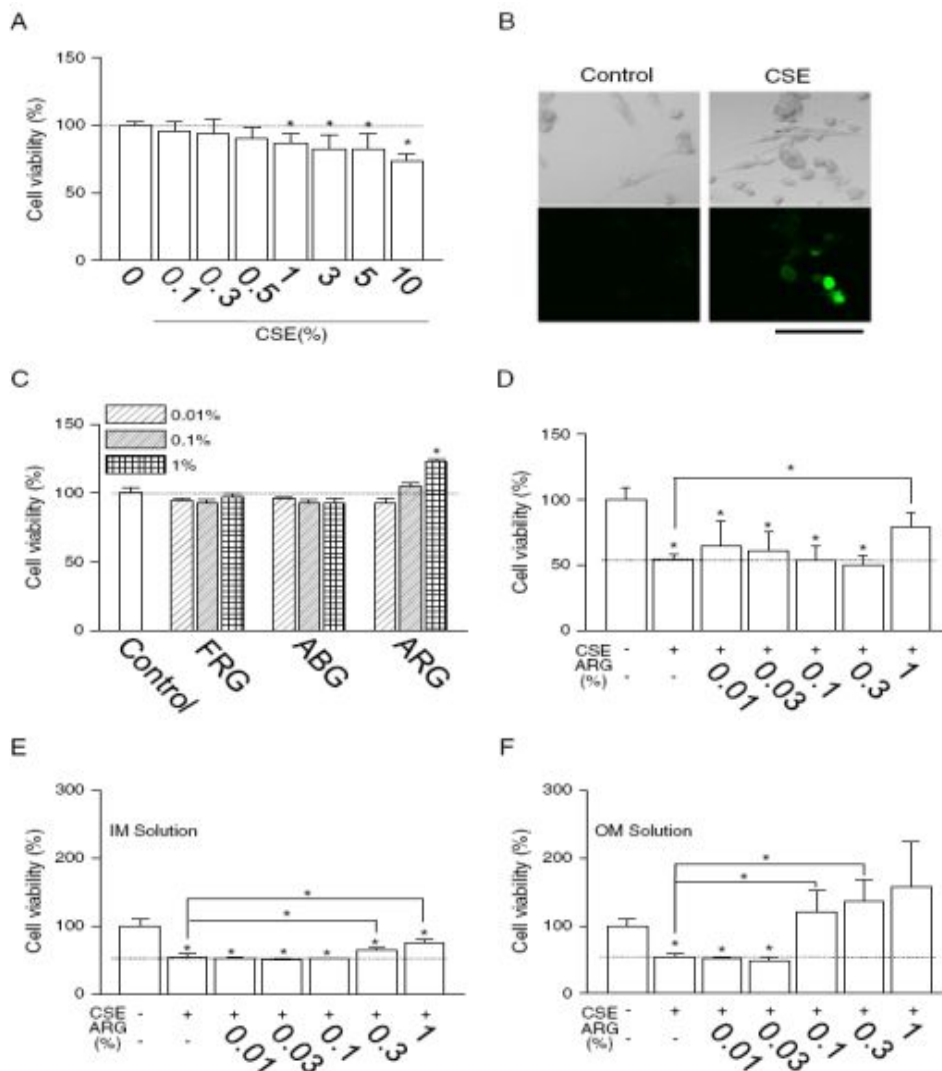


Fig. 1. ARG extract protects against CSE induced cell death in HBSMCs.

(A) The effect of CSE on HBSMC viability. HBSMCs were exposed to 0 to 10% CSE for 24 h. (B) CSE induced caspase activation in HBSMCs. Representative photomicrographs of HBSMCs labeled with FAM VAD FMK fluorescent dye (bottom panels) and phase contrast (upper panels) after exposure of the cells to 10% CSE for 12 h. Scale bar represents 100  $\mu$ m. (C) The effect of garlic extracts on HBSMC viability. HBSMCs were exposed to FRG, ABG and ARG at 0.01% to 1% for 24 h. (D) The effect of ARG extract on CSE induced cell death. (E and F) The effects of the IM and OM solutions isolated from ARG extracts on CSE induced cell death. These experiments were performed with 10% CSE. Each bar represents the mean  $\pm$ SD of four or five repeated experiments. Asterisks (\*) indicate a significant difference with respect to the corresponding control ( $p < 0.05$ ).

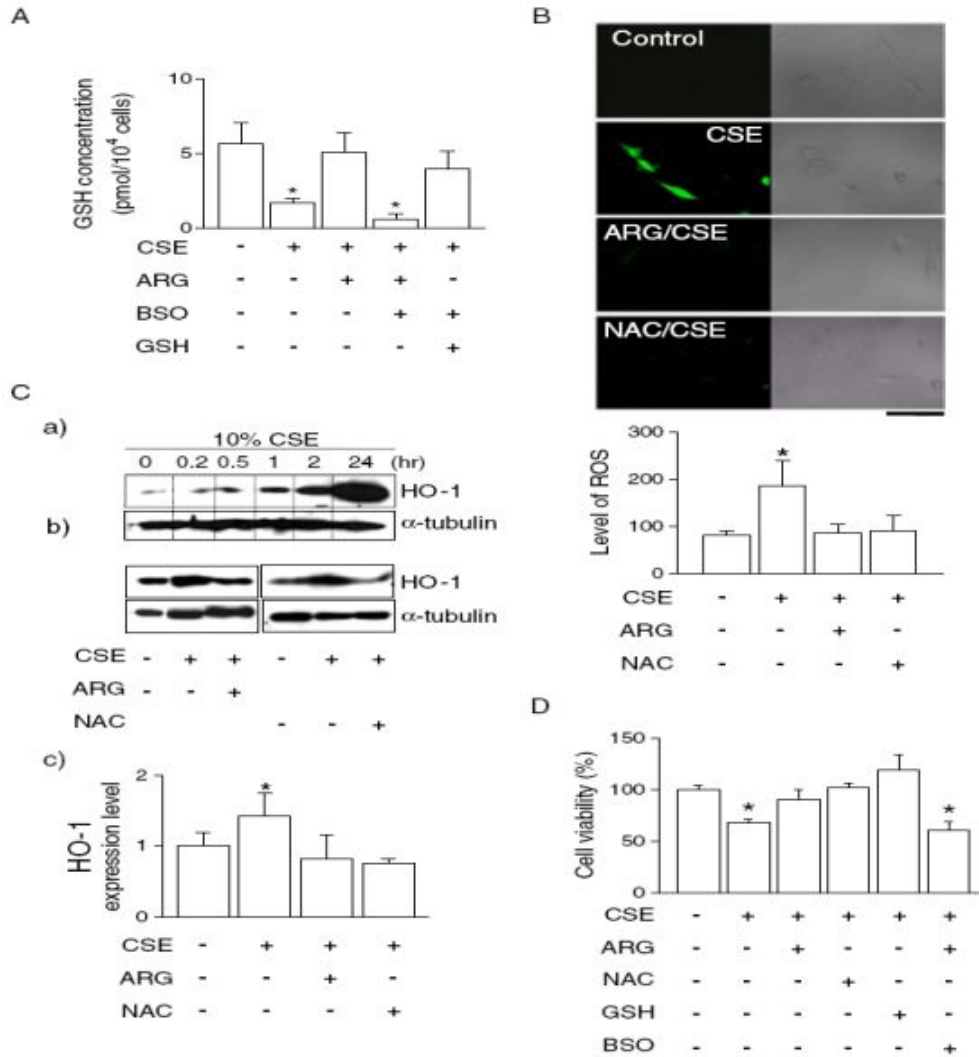


Fig. 2. Reduction of CSE induced decrease in GSH content by ARG extract. (A) ARG rescues the CSE induced decrease in GSH levels. The GSH concentrations of HBSMCs were measured after 4 h of extract treatment. The 10% CSE, 1% ARG, 100  $\mu$ M BSO and 5mM GSH were added to HBSMCs. (B) The reduction of ROS in HBSMCs by ARG extract. HBSMCs were stained with H2DCFDA to evaluate ROS generation. The ROS levels in the cells were quantified by fluorescence microscopy after 4 h of extract treatment. The 10% CSE, 1% ARG and 3mM NAC were added to HBSMCs. Scale bar represents 100  $\mu$ m. (C) The offset of CSE induced HO 1 expression by ARG extract. (a) CSE induced up regulation in HO 1 expression in a time +dependent manner. (b) The reduction of CSE induced up regulation in HO 1 expression by both ARG (1%) and NAC (3mM). (c) The bar graph shows normalized protein levels of HO 1 after extract and chemical treatments. The expression levels were normalized to  $\alpha$  tubulin. (D) Summary of effects of ARG and antioxidants on CSE induced cell death. The plus and minus signs(+ and -) represent treatment conditions with and without each extract, respectively. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of four repeated experiments. Asterisks (\*)indicate a significant difference with respect to the corresponding control ( $p < 0.05$ ).

### (3) HO-1 활성, CSE 처리 및 ARGE 처리와의 관련성

ARGE 효과가 HO-1 활성 조절에 어떤 관련이 있는지를 확인하기 위하여 CSE에 의한 세포사멸과 caspase 활성을 HO-1의 강력한 활성 유도 인자인 hemin과 HO-1의 활성 억제제인 ZnPP의 효과를 조사하였다. HBSMC는 hemin (1~50  $\mu$ M), 또는 ZnPP (1~50  $\mu$ M)의 다양한 농도에서 배양되었다. Fig. 3A에서 보는 것처럼, 24 시간 동안 hemin과 ZnPP를 단독 처리하였을 때 HBSMC의 생존성에는 유의하게 영향을 주지 않았다. 그러나 CSE와 hemin 또는 ZnPP와 함께 배양하였을 경우 hemin은 CSE에 의한 세포사멸을 다소 억제시키는 효과를 보였고, ZnPP는 그러한 효과를 보이지 않았다. Hemin과 ZnPP는 CSE에 의한 caspase 활성화에도 유의적인 변화를 보이지는 않았으나(Fig. 3B), hemin 처리는 CSE에 의한 세포사멸과 caspase 활성을 줄이는 경향을 보였다.

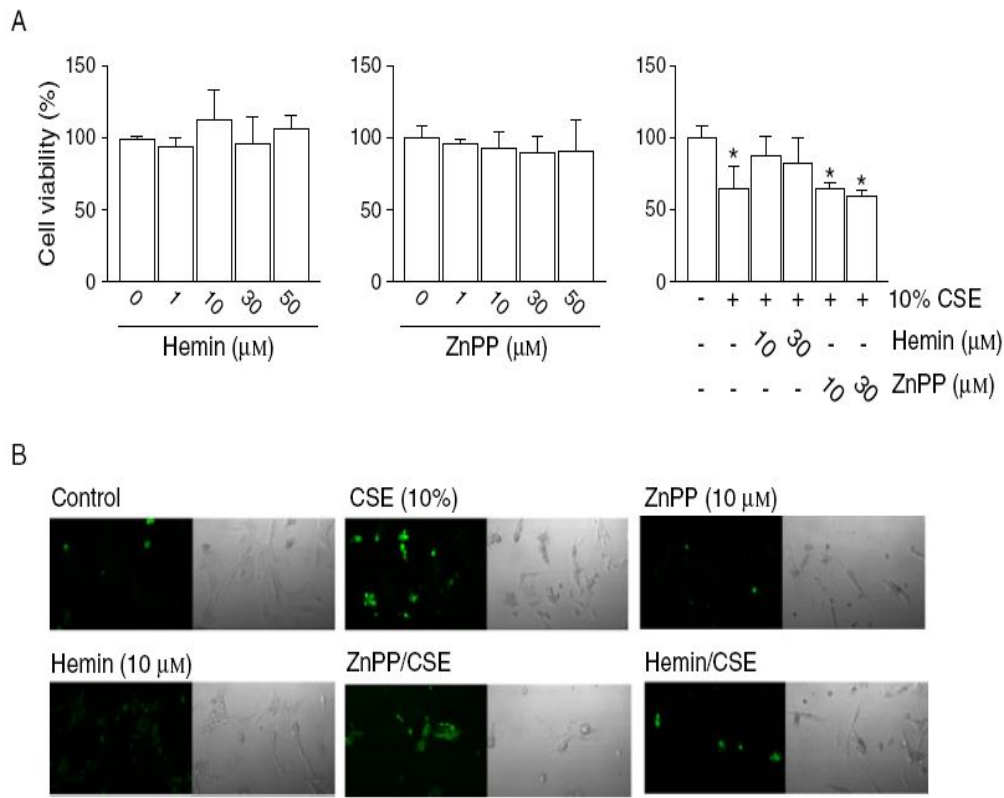


Fig. 3. No effect of hemin and ZnPP on CSE induced cell death and caspase activation. (A) The effect of hemin and ZnPP on HBSMC viability. HBSMCs were exposed to 0~50  $\mu$ M hemin or ZnPP for 24 h. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of four repeated experiments. Asterisks (\*) indicate a significant difference with respect to the corresponding control ( $p < 0.05$ ). (B) The effect of hemin and ZnPP on CSE induced caspase activation in HBSMCs. Representative photomicrographs of HBSMCs labeled with FAM VAD MK fluorescent dye (left panels) and phase contrast images (right panels) after exposure of the cells to 10  $\mu$ M hemin or 10  $\mu$ M ZnPP and/or 10% CSE for 12 h. The scale bar represents 100  $\mu$ m.



Fig. 1~3의 대조군 결과들은 Fig. 4에서 보여준다. 대조군 실험에서는 각각의 약물의 세포 생존력(Fig. 4A), caspase 활성정도(Fig. 4B), ROS의 생성(Fig. 4C), HO-1의 발현수준(Fig. 4D)을 보여준다.

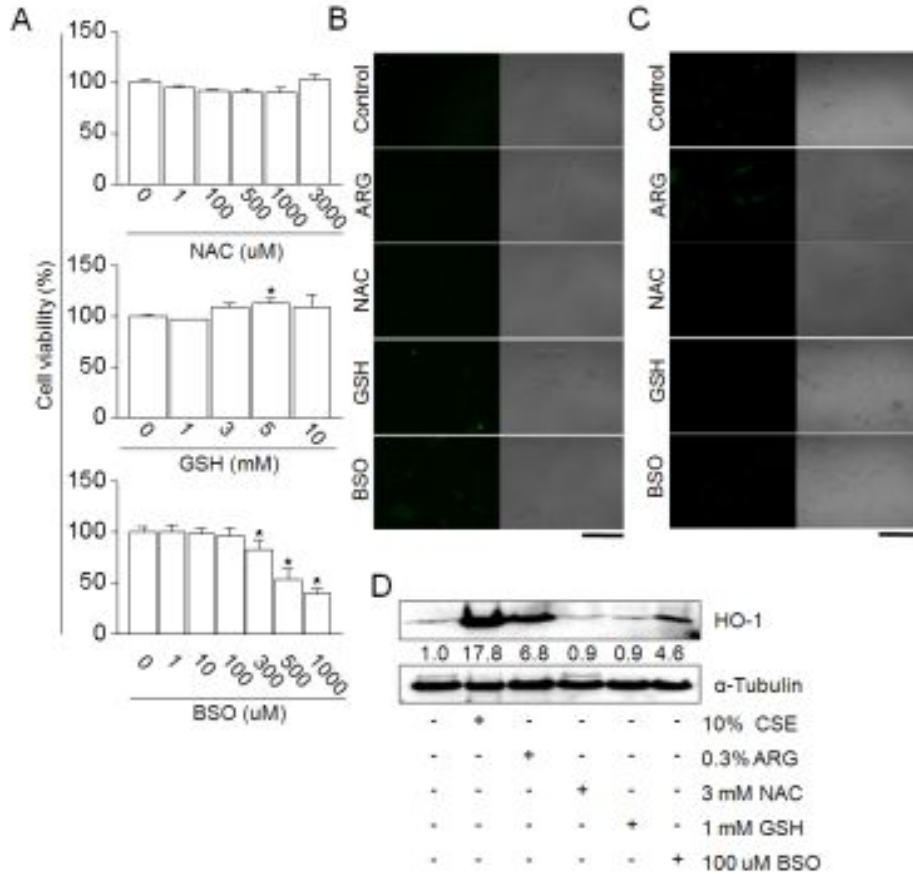


Fig. 4. Control experiments.

## 2) 홍마늘 추출물의 항염증 효과

홍마늘 추출물은 대식세포 및 급성폐손상 동물에서 염증유발인자 LPS 에 의해 생성된 산화질소의 생성을 HO-1의 활성을 증가시켜 억제시킨다(Aged red garlic extract reduces lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in Raw 264.7 macrophages and acute pulmonary inflammation through heme oxygenase-1 induction, Acta Physiologica, 2012, Epub (Feb 21)).

마늘의 항산화·항염증효과는 잘 알려져 있다. 앞선 연구에서 홍마늘의 항산화효과가 더욱 부각되었다. 본 연구에서는 홍마늘 추출물의 항염증효과를 중점적으로 연구하였다.

### (1) 대식세포에서 염증유발물질 LPS에 의한 산화질소의 생성에 있어서 홍마늘 추출물의 억제효과

Raw 264.7 세포에 MTT assay를 이용하여 LPS와 ARG의 세포독성을 조사하였다. 다양

한 농도(0.001 to 10  $\mu\text{g/ml}$ )의 LPS를 세포에 처리하였다. 24 시간 동안 0.001에서 10  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리되었을 때, 세포생존력은 LPS에 의해 영향 받지 않았다(Fig. 5A, n=4).

FRGE, ABGE, 그리고 ARGE의 Raw 264.7 세포에 대한 세포독성을 조사하였다. 마늘추출물은 Raw 264.7 세포의 생존성에 직접 영향을 주지 않았다(Fig. 5B).

이 후 실험부터는 1  $\mu\text{g/mL}$ 의 LPS를 사용하였다. LPS 처리는 NO의 생성을 유의하게 증가시켰고(Fig. 5C), 마늘 추출물 단독 처리는 NO 생성에 직접적으로 영향을 주지 않았다. 마늘 추출물들이 LPS에 의한 NO 생성을 감소시키는지 확인하기 위해 LPS를 FRGE, ABGE, 그리고 ARGE 혼합하여 처리하였다. Fig. 5C에서 보는 것처럼, 1% ABGE, 1% ARGE 처리는 LPS 단독 처리 세포와 비교하여 NO 생성이 유의하게 감소하였다( $p < 0.05$ , n=5).

NO의 억제제인 DPI는 LPS에 의한 NO의 생성을 유의하게 감소시켰다. iNOS의 단백발현 역시 LPS에 의한 iNOS의 발현증가와 비교하여 ARGE 처리 시 감소하였다(Fig. 5D).

## (2) 홍마늘 추출물의 HO-1 발현 증가

LPS(1  $\mu\text{g/ml}$ )에 노출된 Raw 264.7 세포의 HO-1의 발현은 약간 증가하였고(Fig. 6A), ARGE(0.3%, 1%)의 처리 또한 농도, 시간 의존적으로 HO-1의 발현을 증가시켰다(Fig. 6B and 6C). 이후 실험부터는 1% 농도의 ARGE를 사용하였다. LPS와 ARGE 처리 시간을 8 시간으로 고정하였는데 이는 HO-1과 iNOS의 발현수준에서 LPS와 ARGE 둘 다의 효과가 있을 것으로 예상되었다.

ARGE는 HO-1의 mRNA와 단백질 발현 모두에서 LPS에 의한 발현 증가를 향상시켰다 ( $p < 0.05$ , Fig. 6Da와 6Db). 이러한 HO-1의 발현은 ARGE 처리에 의해 활성화된 Nrf-2(세포질에서 핵으로 이동)에 의해 증가되었다(Fig. 6E).

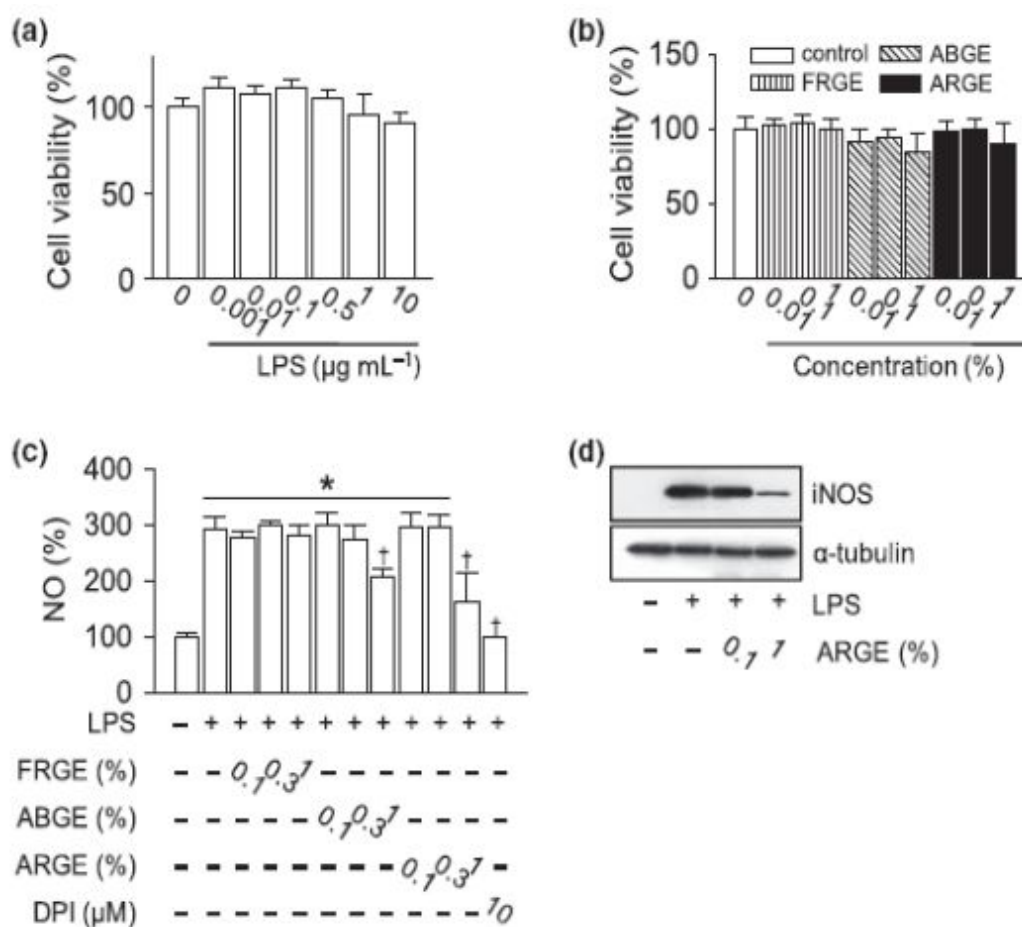


Fig. 5. Effect of ARGE on LPS-induced NO production in Raw 264.7 macrophages.

(A and B) Effect of LPS and garlic extracts on macrophage viability. Cells were exposed to LPS(0.001 to 10  $\mu\text{g/mL}$ ) and FRGE, ABGE, and ARGE at concentrations ranging from 0.01 to 1% for 24 h. Each bar represents the mean $\pm$ SD of five independent experiments. (C) Inhibition of LPS-induced NO production by ARGE. Cells were pretreated for 2 h with the indicated concentrations of ARGE before being stimulated with LPS(1  $\mu\text{g/mL}$ ) for 24 h. Media were collected, and nitrite levels were measured as an indicator of NO production. DPI was used to suppress NO production as a positive control. Each bar represents the mean $\pm$ SD of five independent experiments. \* $P < 0.05$  compared with control without LPS and garlic extracts. †  $P < 0.05$  compared with LPS treatment. The plus and minus signs(+ and -) represent treatment conditions with and without each extract, respectively. (D) Inhibitory effect of ARGE on LPS-induced iNOS up-regulation. Whole-cell extracts were prepared, and iNOS protein expression levels were analyzed by western blot analysis. Images are representative of three independent experiments.

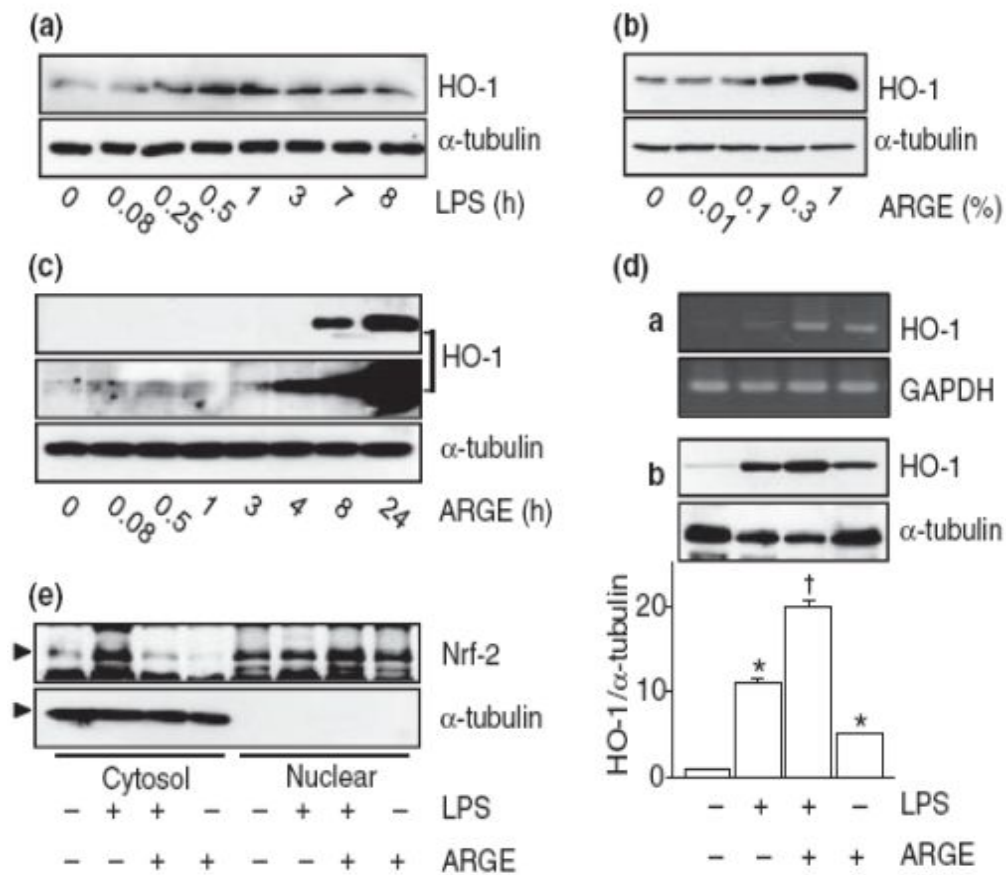


Fig. 6. Effect of ARGE on LPS-induced HO-1 induction in Raw 264.7 macrophages. (A) LPS induced HO-1 induction. Cells were exposed to LPS(1  $\mu$ g/mL) for the indicated time. (B) HO-1 induction by ARGE treatment in a dose-dependent manner. Cells were exposed to ARGE at concentrations ranging from 0.01 to 1% for 8 h like in LPS. (C) HO-1 induction by ARGE treatment in a time-dependent manner. Cells were exposed to 1% ARGE for the indicated time. (D) Up-regulation of LPS-induced HO-1 induction by ARGE treatment. Changes in HO-1 mRNA expression(a) and protein expression (b) in the presence and absence of LPS and ARGE were measured using RT-PCR analysis and western blot analysis, respectively. Cells were exposed to LPS(1  $\mu$ g/mL) and/or ARGE (1%) for 8 h. The plus and minus signs (+ and -) represent treatment conditions with and without each treatment, respectively. Each bar represents the mean  $\pm$  SD of five independent experiments. \*P < 0.05 compared with control without LPS and ARGE treatments. †P < 0.05 compared with LPS. (E) Nrf-2 activation by ARGE treatment. Cells were pretreated for 2 h with the ARGE(1%) before being stimulated with LPS(1  $\mu$ g/mL) for 8 h. Nucleus and cytosol fractions were extracted and subjected to western blot analysis using anti-Nrf-2 antibody

### (3) 홍마늘 추출물에 의한 산화질소의 생성 억제 활성

ARGE 처리에 의해서 LPS에 의한 NO의 생성이 감소하는데 있어서 HO-1의 활성이 어떠한 역할을 하는지를 조사하고자 HO-1 활성제인 hemin과 억제제인 ZnPP를 LPS 및 ARGE와 함께 혼합 처리하였다. LPS에 의해 생성된 NO의 양을 hemin 처리는 NO의 생성을 억제하는 반면 ZnPP 처리는 NO 생성을 약간 증가시켰다. ZnPP와 ARGE의 혼합 처리는 LPS에 의한 NO의 생성을 감소시켰다(Fig. 7A). 또한, ZnPP와 ARGE 혼합 처리는 LPS에 의해 증가된 iNOS 발현을 ARGE 단독처리보다 적게 감소시켰다(Fig. 7B). HO-1 활성정도를 activity는 화합물과 혼합 처리한 후 Raw 264.7 세포에서 측정하였다. ARGE 처리는 hemin처럼 HO-1의 활성도를 증가시켰다(Fig. 7C). 이상의 실험 결과를 통하여 홍마늘 추출물의 산화질소 생성 억제 활성은 HO-1의 활성을 증가시킴으로서 나타남을 확인할 수 있었다.

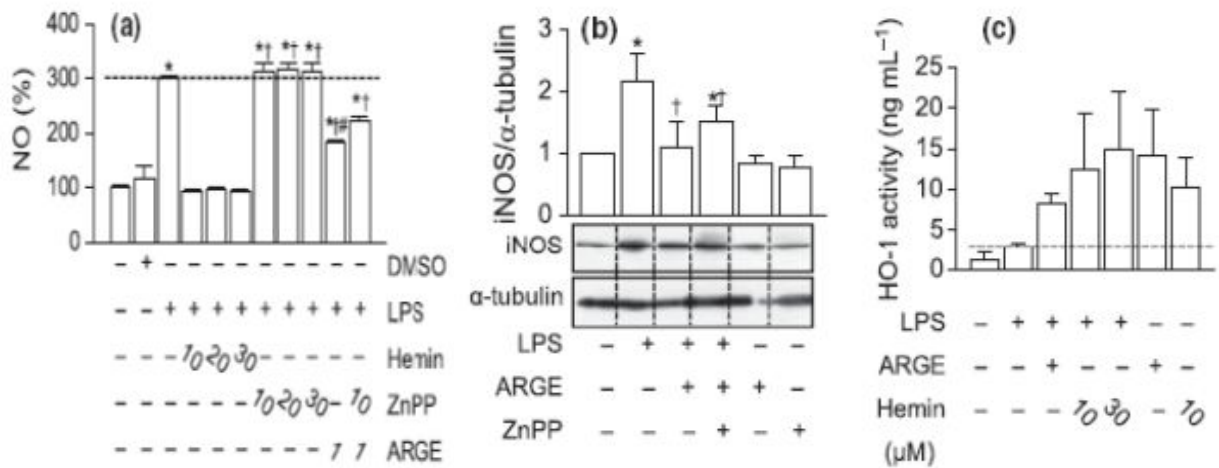


Fig. 7. Alteration in LPS-induced NO production by regulation of HO-1 activity. (A) Down-regulation of LPS-induced NO production by ARGE-induced HO-1 activation. Cells were pretreated for 2 h with the indicated concentrations of hemin, ZnPP, and ARGE before being stimulated with LPS(1  $\mu$ g/mL) for 8 h. Media were collected, and nitrite levels were measured as an indicator of NO production. (B) Reduction of LPS-induced iNOS expression by ARGE treatment. Down-regulation of HO-1 activity by ZnPP treatment reduced the inhibitory effect of ARGE in LPS-induced iNOS expression. (C) Increase in HO-1 activity by ARGE treatment. HO-1 activity was measured using an ELISA kit. Hemin and ARGE were pretreated for 2 h prior to LPS treatment for 8 h. The plus and minus signs(+ and -) represent conditions with and without each treatment, respectively. Each bar represents the mean $\pm$ SD of five independent experiments. \*P < 0.05 compared with control without some treatments. † P < 0.05 compared with LPS treatment.

#### (4) Raw 264.7 세포에서 확인된 ARGE 항염증효과의 LPS에 의한 급성 폐염증 모델에서 재확인

폐조직을 saline(대조군), LPS, LPS/ARGE 및 LPS/ARGE/ZnPP 처리 생쥐로부터 분리하여, H&E 염색, 면역염색, 단백질 분석을 실시하였다. 이미지는 LPS, ARGE, and/or ZnPP의 처리 후 8 시간에 조직으로부터 얻어졌다. H&E 염색은 LPS 처리 생쥐에서 염증성 세포의 증가를 보여준다. ARGE 처리는 그 염증 정도를 낮추었다. ZnPP와 혼합 처리는 LPS에 의한 염증성 세포 침투의 ARGE 억제 효과를 감소시켰다. LPS 처리에 따라 monocyte/macrophage의 지표인 CD68을 발현하는 세포가 증가하였고, 염증 과정의 지표인 COX-2의 발현이 증가하였다. H & E 염색과 동일하게 면역염색에서도 LPS에 의한 CD68과 COX-2의 발현 증가는 ARGE 처리에 의해 감소되었다(Fig. 8A). LPS/ARGE/ZnPP 처리 생쥐에서 CD68과 COX-2의 발현 수준은 LPS/ARGE 처리 생쥐와 비교하여 더 높게 나타났다. LPS에 의해 증가된 COX-2의 발현 역시 ARGE 처리에 의해 감소되었다. ARGE 처리에 의한 COX-2 발현 감소는 ZnPP 처리에 의해 억제되었다(Fig. 8B). LPS에 의한 iNOS 생성 역시 폐조직에서 ARGE 처리에 의해 감소되었다(Fig. 8C). HO-1의 발현은 LPS/ARGE 처리 생쥐에서 유의하게 증가되었다( $p < 0.05$ , Fig. 8D). ARGE 처리에 의한 HO-1의 발현 증가는 ZnPP와 ARGE 혼합 처리 시 억제되었다.

본 연구는 대식세포에서 ARGE의 항염증 효과는 HO-1 발현 및 활성 증가를 통해 LPS에 의해 유도된 NO의 생산을 감소시킨다는 것을 보여준다. 선행 연구들에서 NF- $\kappa$ B와 같은 염증매개 전사인자의 직접적인 억제(Ban 등 2009) 혹은 HO-1과 같이 세포보호 유전자의 유도에 의해 NO의 조절을 통한 마늘 추출물의 효과가 보고되어 있다(Guo 등 2011). NF- $\kappa$ B는 LPS나 hemin과 같은 다양한 자극의 반응에서 HO-1의 발현 유도와 연관되어 있다. 본 연구에서는 ARGE가 LPS에 의해 유도된 NF- $\kappa$ B의 활성을 유의하게 감소시키지 못하였으나 LPS에 의해 유도된 HO-1의 발현은 유의하게 증가하였다. LPS는 그람양성 박테리아의 세포벽 구성물이며 면역체계의 강력한 활성인자이다.

대식세포는 대부분 LPS의 표적세포이다. 일반적으로 LPS는 NF- $\kappa$ B와/혹은 AP-1를 활성화할 뿐 아니라 MyD89 의존적 그리고 TRIF 의존적 신호전달의 활성을 유도하는 Toll-like receptor 4를 활성화한다. 그 결과 활성화된 iNOS는 NO 생산을 촉진시킨다. 그리고 LPS에 유도된 NO의 생산은 HO-1 활성화에 의해 감소되어질 수 있다(Jin 등 2010). 대식세포에서의 HO-1의 발현은 LPS와 같은 염증 자극의 반응에 의해 증가되며, Nrf-2가 핵 속으로 이동이 일어나는 활성과정에 의해 증가된다. HO-1의 활성화는 NO 생산을 감소시켰다. ARGE에 존재하는 polyphenolic 그리고/혹은 organosulphur 합성물은 Nrf-2의 활성화를 통하여 HO-1 활성을 유도할 수 있다(Velmurugan 등 2009). 하지만 열처리된 마늘에서 분리된 알리신과 황화합물은 I $\kappa$ B의 억제제를 통해 NF- $\kappa$ B 활성화를 억제시켰다. 이러한 결과는 NF- $\kappa$ B의 억제가 HO-1 활성화의 감소를 초래할 지도 모른다는 것을 제시하였다(Wilson & Demmig-Adams 2007, Ban 등 2009).

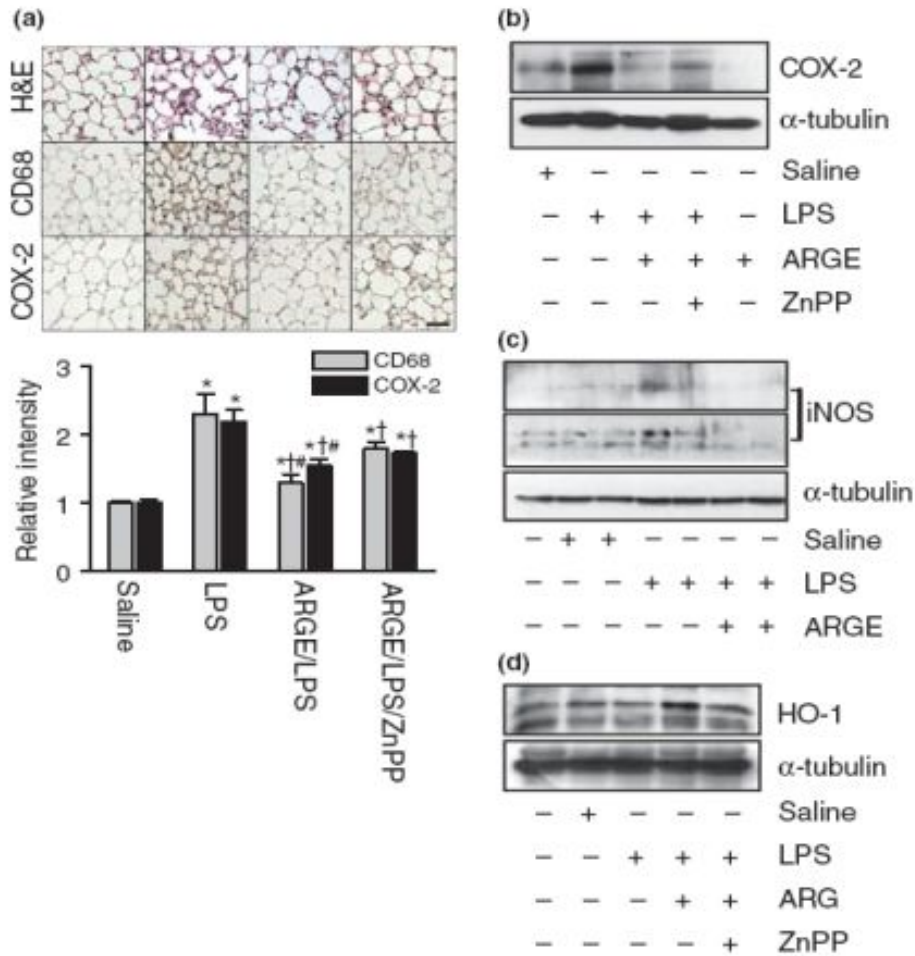


Fig. 8. Effect of ARGE on LPS-induced acute lung injured mice.

(A) Photomicrographs of H&E stained and CD68- and COX-2-immunostained lung sections. The lung sections were isolated from saline-, LPS-, LPS/ARGE-, and LPS/ARGE/ZnPP-treated mice. Bar graphs showed relative intensities of CD68 and COX-2 immunoreactivity. Each bar represents the mean $\pm$ SD of three independent experiments. \*P < 0.05 compared with saline-treated group. <sup>†</sup>P < 0.05 compared with LPS. <sup>#</sup>P < 0.05 compared with LPS/ARGE/ZnPP. Scale bar = 50  $\mu$ m. (B) Suppression of LPS induced up-regulation of COX-2 protein expression by ARGE treatment. Total proteins were isolated from lung tissue. (C and D) Changes in iNOS and HO-1 expression in saline-, LPS-, LPS/ARGE-, and LPS/ARGE/ZnPP-treated mice. Total proteins were isolated from lung tissue. The lung tissues were isolated from mice injected with saline, LPS, ARGE, or ZnPP and applied to western blot analysis for iNOS (C) or HO-1 (D) detection. The plus and minus signs (+ and -) represent conditions with and without each treatment, respectively. Each bar represents the mean $\pm$ SD of four independent experiments. \*P < 0.05 compared with saline-treated group. <sup>†</sup>P < 0.05 compared with LPS. <sup>#</sup>P < 0.05 compared with LPS/ARGE/ZnPP.

마늘 추출물은 산화스트레스 및 염증자극이 동시에 작용하는 시점에서 HO-1 활성화에 있어서 다른 효과를 나타낼 수 있다. HO-1 발현에 있어서 마늘의 이러한 서로 다른 효과는 서로 다른 유기황 구조에 의해 전자성이 다른 alkyl side chain의 길이에 기인하는 것으로 보인다(Prawan 등 2005). ARGE의 단독처리는 HBSMC와 Raw 264.7 세포에서 HO-1 발현을 유도하였다. 더구나 Raw 264.7 세포에서 LPS와 ARGE의 병합처리는 LPS 단독 처리시와 비교했을 때 훨씬 더 높은 HO-1의 발현이 나타났으며, ARGE를 처리하였을 때 HO-1의 세포 보호 기능은 더욱 증가하였다.

그러나 ARGE의 처리는 HBSMC에서의 CSE에 유도된 HO-1의 발현을 감소시켰다(Jeong 등 2012). CSE와 LPS에 의해 유도되어지는 HO-1의 활성화에 있어서는 서로 다른 메커니즘이 존재할 것으로 생각된다. CSE는 염증보다는 ROS 발생에 더 큰 기능을 하는 것으로 생각된다. 본 연구에서 조사한 결과에 의하면 CSE는 NO를 발생시키지 않았다. ARGE는 산화스트레스 및 염증 조건에서 각각 ROS 발생의 억제제 또는 HO-1 유도의 증폭제(또는 NO 생산의 억제제)로 작용할 것이다. HO-1의 유도는 스트레스 조건과 스트레스 조건으로부터의 방어를 나타낸다. LPS에 유도된 스트레스 환경은 CSE에 의해 유도된 스트레스 환경보다 더 심각하다. 왜냐하면 ARGE의 병합처리에서 LPS로 유도된 조건에 비해 훨씬 더 HO-1의 유도가 증가되었기 때문이다. NO는 복잡한 병리학적 과정을 통해 염증 반응에 관여한다. NO의 염증유발 또는 항염증 효과는 NO 농도에 의해 서로 다르다. 대식세포를 포함한 활성화된 다양한 세포들이 분비하는 NO는 염증성 질병의 치료에 있어서 대표적인 잠재적 타겟이다(Clancy 등 1998).

염증성 사이토카인에 반응하여 생산되는 과도한 NO의 생성을 억제하는 방법은 NO의 생리학적 방어작용을 잘 활용할 수 있는 방법이다. 그러나 NO 생성에 있어서 마늘의 효과는 논란이 많다(Ban 등 2009). 선행연구들에서 마늘은 NO의 감소를 통해 항염증 효과를 보여주었다. 그러나 다른 연구들은 마늘이 iNOS를 활성화시킨다는 보고를 하였다(Morihara 등 2002, Rahman 2007).

본 연구에서는 ARGE가 LPS 반응에서 HO-1 유도의 증가를 통해 NO 발생을 감소시켰다. 스트레스에 노출된 세포에서 HO-1의 유도는 아마도 NO와 ARGE의 생리학적 기능일 것이다. ARGE는 항염증 성분으로서 HO-1 유도를 직접적으로 조절하는 것으로 보여진다. ARGE는 본 연구에서 체외 대식세포 실험과 LPS로 유도한 급성 폐 손상 모델에 의한 실험을 통해 확실한 항염증 효과를 보여주었다.

현재까지 이러한 질병에 대한 효과적인 치료법들이 개발되지 않았다. 폐에서 관찰된 항염증 효과는 신체 전체적인 효과를 보여준다. 음식으로부터 파생된 화합물은 아마도 만성 폐색성 폐질환 및 천식과 같은 염증성 질환의 치료제로 응용될 수 있을 것이다. 그리고 숙성 마늘 가공품들은 아마도 새로운 잠재적 치료제로 논의될 수 있을 것이다(Imai 등 1994, Luz Sanz 등 2007). ARGE의 페놀화합물, 플라보노이드, pyruvate, thiosulphate와 같은 phytochemical 화합물의 농도는 ARGE와 ABGE의 중간 정도를 보인다(Lee 등 2010). ARGE



에서 phytochemical 화합물의 농도의 차이는 마늘들의 항산화, 항염증 효과의 차이를 설명할 수 있을 것이다.

본 연구에서 1% ABGE와 1% ARGE의 처리가 LPS에 의해 유도되어진 NO 생성을 억제하는 효과를 보였다. 그러나 ARGE는 공정 시간이 ABGE에 비해 단축된다는 큰 장점이 있다. 짧은 공정에도 비슷한 효과를 만들어 낼 수 있다는 것은 매우 큰 장점이다. 앞으로의 연구에서는 LPS에 의해 유도된 염증에 있어서 ARGE의 항염증 효과를 나타내는 단일물질들을 찾는 것이 필요하다. ARGE를 포함한 숙성마늘 가공품은 염증성 폐질환의 예방 및 치료에 활용할 수 있는 하나의 후보물질이 될 것이다.

### (5) 홍마늘 추출물의 염증물질 LPS에 의해 증가된 산화질소 생성억제활성

NF- $\kappa$ B의 활성화는 LPS에 의한 산화질소의 생성을 매개한다.

I $\kappa$ B $\alpha$  활성 억제제인 Bay11-7085의 처리에 의해 LPS에 의한 NO의 생성이 감소하는지 확인하기 위해 LPS, Bay11-7085를 단독 혹은 혼합 처리한 후 24 시간 동안 배양하였다. 1  $\mu$ g/mL LPS와 Bay11-7085를 혼합 처리하였을 때 LPS에 의한 NO의 생성이 유의적으로 감소하였다(Fig. 9A). 이러한 NO의 유의한 감소가 Bay11-7085에 의해 유발되어지는 세포독성에 의해 기인할 수 있다는 생각 하에 Raw 264.7 세포에서 LPS와 Bay11-7085를 처리한 후 MTT assay를 통하여 세포독성을 조사하였다. 세포는 1  $\mu$ g/mL의 LPS와 다양한 농도(1~10  $\mu$ M)의 Bay11-7085가 처리되었다.

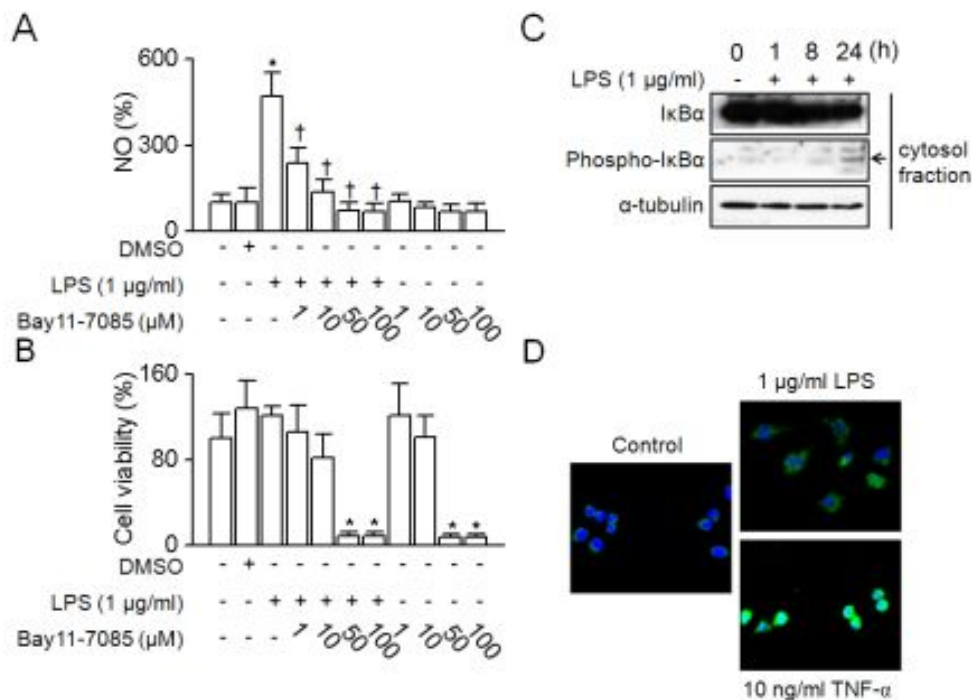


Fig. 9. LPS-induced NO production by NF- $\kappa$ B activation.

Bay11-7085가 24 시간 동안 1에서 10  $\mu\text{M}$ 의 농도로 처리되었을 때, 10  $\mu\text{M}$ 의 농도에서 22%, 50  $\mu\text{M}$ 과 100  $\mu\text{M}$ 의 농도에서는 80% 이상의 세포가 사멸을 보였다(Fig. 9B). 추가적인 실험에서는 10  $\mu\text{M}$  농도의 Bay11-7085를 사용하였다. Raw 264.7 세포에 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS를 시간별로 처리하여 I $\kappa$ B 활성을 단백질수준에서 조사하였다. 시간이 지남에 따라 total-I $\kappa$ B의 발현은 감소하고 활성화된 I $\kappa$ B의 발현이 증가하는 것을 확인하였다(Fig. 9C). NF- $\kappa$ B의 활성정도가 LPS와 TNF- $\alpha$  처리한 세포에서 핵에서의 확인되었다(Fig. 9D).

**(6) 홍마늘 추출물은 LPS에 의해 활성화된 NF- $\kappa$ B 기능을 억제한다.**

선행연구에서 ARGE가 NF- $\kappa$ B의 활성 억제에 영향을 주지않는다는 연구결과를 보고하였다(Park 등 2012). 그러나 그때 사용했던 NF- $\kappa$ B 측정방법은 total 단백질에서 활성화 형태를 검출할 수 있는 phospho-NF- $\kappa$ B 항체를 사용하였다. 본 연구에서는 NF- $\kappa$ B의 발현 변화를 핵부분과 세포질부분으로 분획을 나누어 재 실험을 수행하고자 한다.

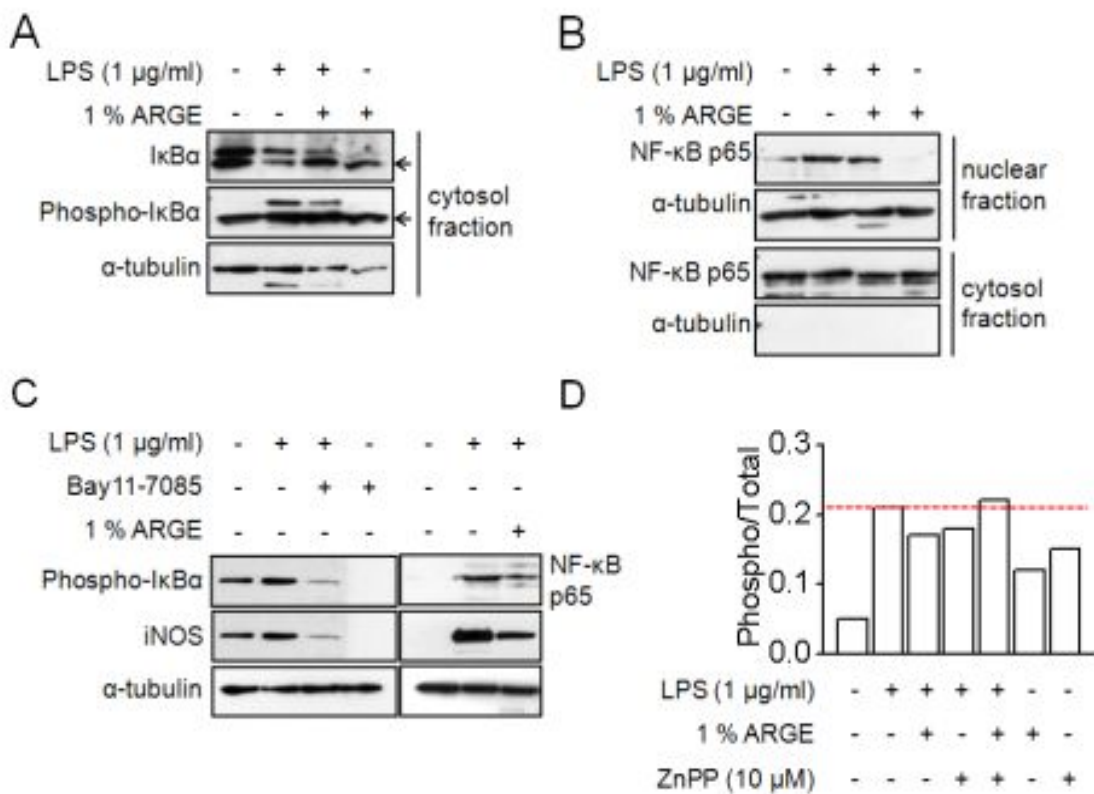


Fig. 10. Suppression of LPS-induced NF- $\kappa$ B activation by ARGE treatment.

Raw 264.7 세포에 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS와 1% ARGE를 혼합 처리한 후 세포를 분리하여 세포질 부분과 핵부분을 나누어 단백질을 추출하였다. 세포질 부분에서 I $\kappa$ B $\alpha$ 의 단백질발현이 LPS에 의해 감소하였고 ARGE와 혼합 처리한 그룹에서 그 감소가 억제되었다. I $\kappa$ B $\alpha$ 의 활성화 형태는 LPS에 의해 증가되고 그 증가는 ARGE 처리에 의해 약하게 감소하였다(Fig. 10A). 핵

부분에서는 NF- $\kappa$ B 활성도를 조사하였다. LPS에 의한 NF- $\kappa$ B의 증가가 LPS와 ARGE의 혼합 처리에 의해 감소하였다(Fig. 10B). LPS와 Bay11-7085의 혼합 처리는 LPS에 의한 iNOS의 증가를 감소시켰고 활성화된 I $\kappa$ B $\alpha$ 의 발현도 억제하였다. ARGE 역시 NF- $\kappa$ B의 발현과 iNOS의 발현을 감소시켰다(Fig. 10C). NF- $\kappa$ B p65 (Total/Phospho) ELISA Kit을 사용하여 LPS에 의한 NF- $\kappa$ B의 활성 증가가 ARGE 혼합 처리에서 감소하는 것을 확인하였고, HO-1 활성억제제인 ZnPP와 혼합 처리에서는 ARGE의 감소 효과가 억제되는 것을 확인하였다(Fig. 10D).

### 3) 홍마늘 추출물의 항비만 기전 및 비만조절 신호전달체계 구축

#### (1) 홍마늘 추출물의 PPAR- $\gamma$ 전사인자를 억제를 통한 지방세포로의 분화 억제

비만은 지방세포 크기의 증가뿐만 아니라, 지방세포 수의 증가로부터 유도된다. 이것은 에너지 섭취와 에너지 소비 사이의 불균형을 초래하는데 지방세포 크기의 증가는 주로 지방세포(adipocyte)에서 많은 양의 지방이 축적됨으로써 영향을 받는다.

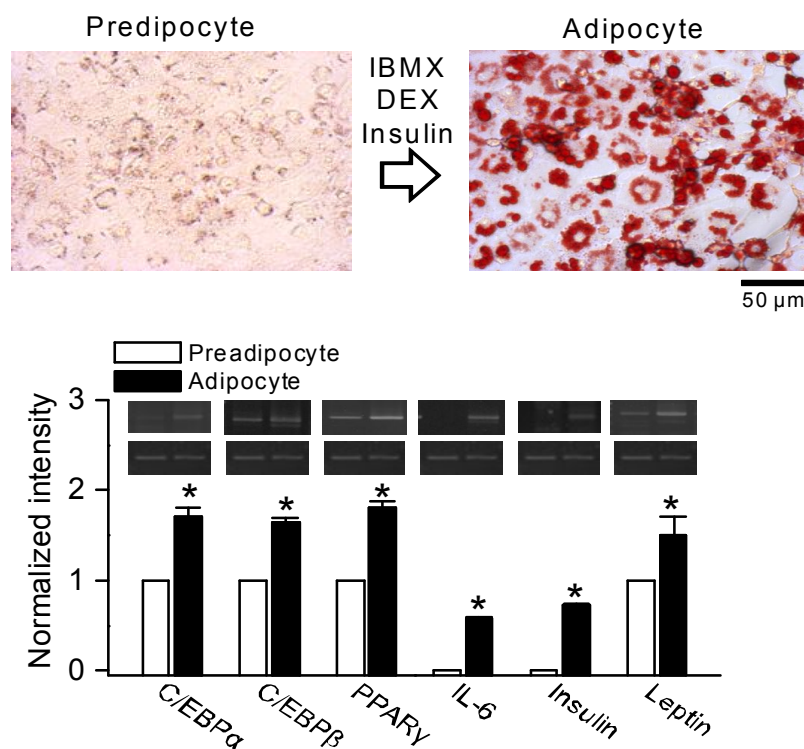


Fig. 11. Expression of adipogenic transcription factors and adipokines in 3T3-L1 preadipocytes treated with IBMX, DEX, and Insulin for 7 days. Upper panel, adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells. Oil Red O staining showed lipid accumulation. Lower panel, Gene expression of adipose transcriptional factors (C/EBP $\alpha$ , C/EBP $\beta$ , and PPAR $\gamma$ ) and adipokines (leptin and IL-6).

3T3-L1 세포를 48 시간동안 배양한 후 9일 동안 IBMX, insulin, 그리고 dexametaxon (DEX)를 처리하여 분화시켰다. 지방 전구 세포가 지방 세포로 분화되는 것은 Oil Red O 염색법에 의해 형태변화로 관찰하였다. 지방세포는 지질 축적이 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ , Fig. 11 upper panel). 지방전구세포와 지방세포에서 RT-PCR을 이용하여 mRNA 발현 변화를 확인하였다. Adipogenic transcription factor인 C/EBP $\alpha$ , C/EBP $\beta$ , PPAR $\gamma$ , IL-6, Insulin, 그리고 leptin 유전자의 발현이 지방세포에서 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ , Fig. 11 lower panel).

ARGE와 FRGE의 지방세포 분화억제 효과를 확인하기 위하여 지방전구세포 3T3-L1 세포에 1%의 ARGE와 FRGE를 처리한 후 지방세포로 유도하였다. 분화 9일째에 세포 내 지질 축적은 Oil Red O 염색법으로 분석하였다. 마늘 추출액 처리군에서 세포 내 lipid droplets의 수와 크기가 감소되었다(Fig. 12 upper panel). ARGE와 FRGE 처리에서 지질 축적의 감소가 지방 분화 인자의 억제에 의한 것인지를 확인하기 위하여 adipogenic markers의 발현을 조사하였다. PPAR $\gamma$ 는 지방세포분화의 중요한 전사조절인자로 RT-PCR의 결과에서 유의하게 감소하였다(Fig. 12 lower pannel). PPAR $\gamma$  뿐만 아니라 다양한 인자들(CD36, aP2, IL-6, SREBP1c, C/EBP $\alpha$ , C/EBP $\delta$ , Hsd-3 $\beta$ 1, Hsd-11 $\beta$ 1, Hsd-17 $\beta$ 1)의 감소를 보였다(Fig. 12 lower pannel). 특히, 복부비만과 관련된 유전자인 HSD 발현 감소가 흥미롭다.

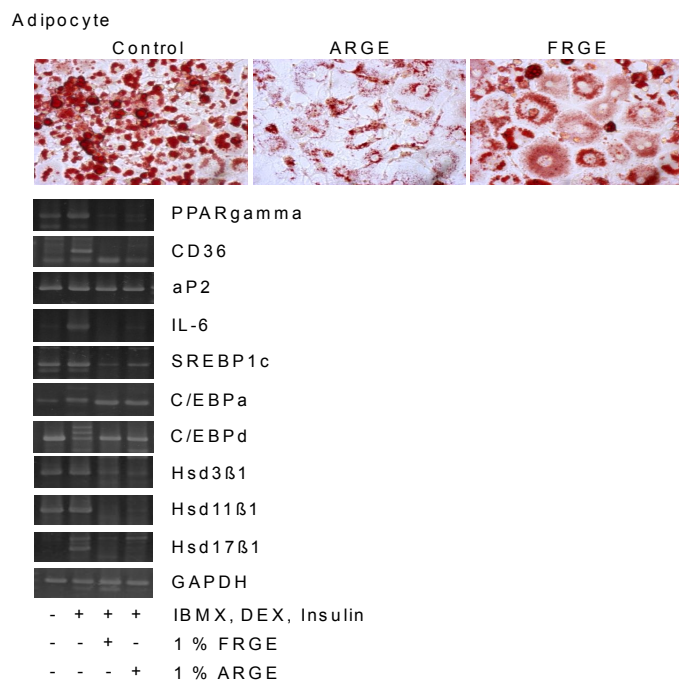


Fig. 12. Effect of ARGE and FRGE on adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells. Upper panel, intracellular lipid was stained with Oil Red O. Inhibitory effect of ARGE on the lipid accumulation in adipocytes. Lower panel, suppression on adipogenic markers by treatment with ARGE and FRGE.

홍마늘 추출물 내의 단일성분 효과를 확인해보고자 allylsulfide, DATS를 처리한 후 PPAR $\gamma$  발현변화를 조사하였다. 겨자에서 추출된 AITC의 효과와 비교하였다. 실험 전 약물들의 세포독성을 확인하였는데 1에서 100  $\mu$ M의 약물처리 후 세포사멸이 유도되지 않아 각 약물의 농도는 10  $\mu$ M로 고정하였다(Fig. 13).

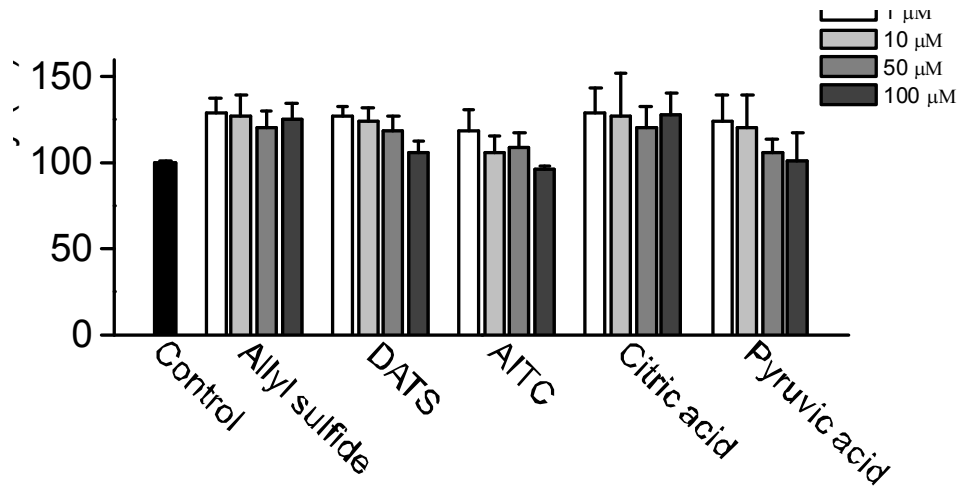


Fig. 13. The effect of Allyl sulfide, DATS, AITC, Citric acid, and Pyruvic acid on preadipocyte 3T3-L1 cells viability.

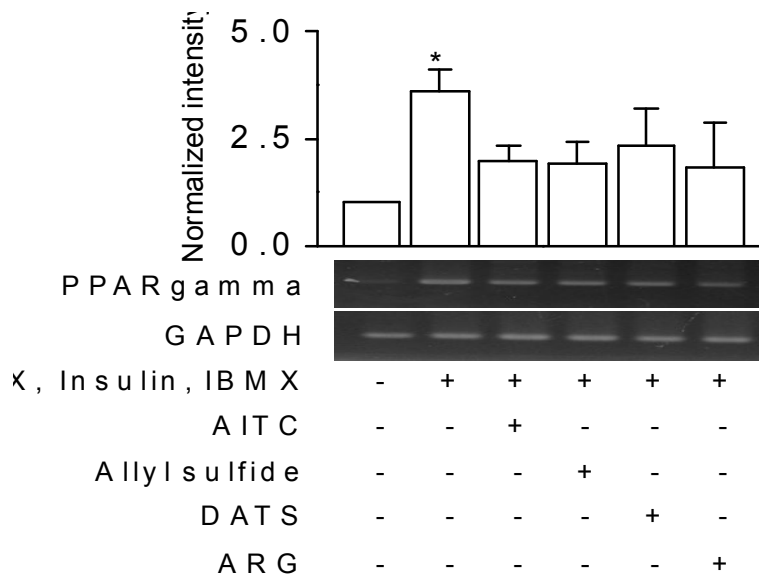


Fig. 14. AITC, Allyl sulfide, DATS and ARGE reduces adipogenesis of 3T3-L1 cells. Total RNA was extracted from 3T3-L1 cells differentiated for 9 days in the absence or presence of AITC, Allyl sulfide, DATS and ARGE, and the expression level of adipogenic markers was analyzed by quantitative PCR.

홍마늘 추출물 내에는 citric acid와 pyruvic acid의 농도가 생마늘과 흑마늘 추출물에서 보다 높게 유지되었다. AITC, Allyl sulfide, DATS, ARGE 추출물 역시 PPAR $\gamma$ 의 발현을 감소시켰다. ARGE 처리군에서 PPAR $\gamma$ 의 발현률은 현저히 감소하였다(Fig. 14).

ARGE와 FRGE는 단일물질이 아닌 혼합물질이기 때문에 allyl sulfide, DATS, SAC 등의 단일물질과 ROS scavenger인 NAC, NF- $\kappa$ B 활성 억제제 Bay11-7085, HO-1 활성 억제제 SnPP, HO-1 활성 촉진제 hemin, 산화질소 생성자 SNP, COX-2 억제제 celecoxib를 IBMX, Insulin, DEX과 혼합 처리하여 분화를 유도하였다. 3T3-L1 세포가 지방세포로 분화가 유도 되는 동안 세포 내 지질 축적은 Oil Red O 염색법을 통하여 확인되었다. 염색 후 흡광도 측정을 통하여 그 결과를 재확인하였다. 각 약물들은 흡광도의 결과에 의하면 지방세포 분화를 억제시킨 것으로 보이나 염색사진과 함께 비교를 해보면 ARGE, allylsulfide, SAC, NAC, Bay11-7085, hemin, SNP, celecoxib 처리군에서만 지방세포의 형성이 줄어들었다(Fig. 15). 이러한 결과는 지방세포의 형성과정에 활성산소 및 염증 과정이 포함되는 것으로 생각된다.

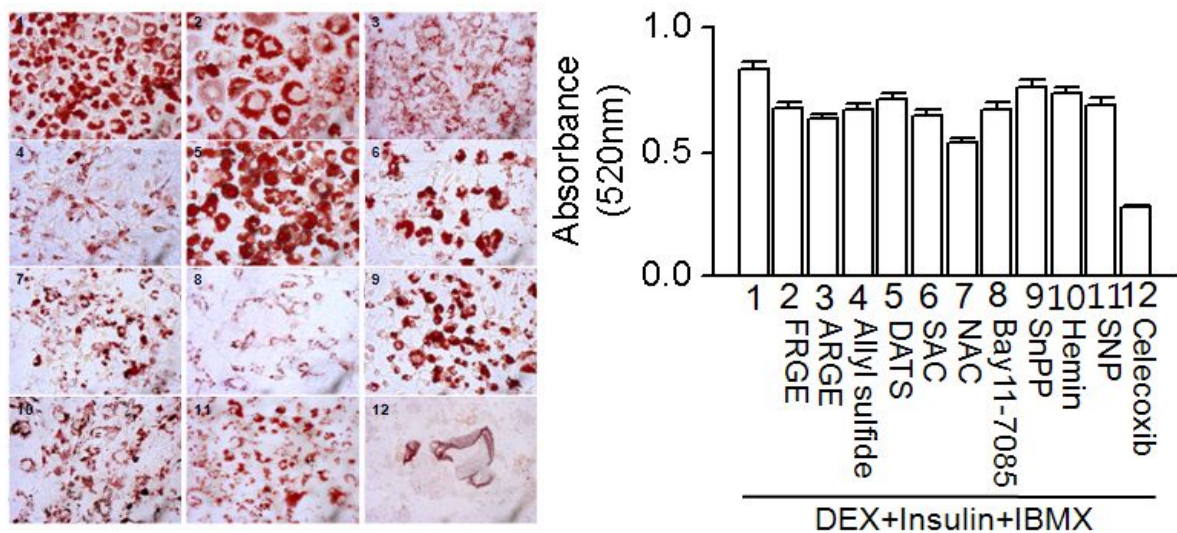


Fig. 15. Effect of various chemicals on intracellular lipid accumulation during adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells.

세포들의 분화에 있어서 이온통로들의 역할이 잘 알려져 있다. 이온통로들의 여단힘 조절은 세포막의 전압을 조절하여 세포의 흥분성을 조절한다. 지방전구세포와 지방세포에서 각 이온통로의 mRNA 발현변화를 조사하였다. 다양한 이온통로 중 현저한 변화를 보이는 것은 K<sub>ATP</sub>, TASK-1, TASK-2, TRAAK 통로를 들 수 있다. K<sub>ATP</sub> 통로는 이미 leptin에 의해 조절되는 이온통로로 잘 알려져 있다. TASK-1, TASK-2, TRAAK 통로의 유의한 발현차이와 지방세포로의 분화와의 관련성은 이후 연구에서 계속 수행해야 할 것이다(Fig. 16).

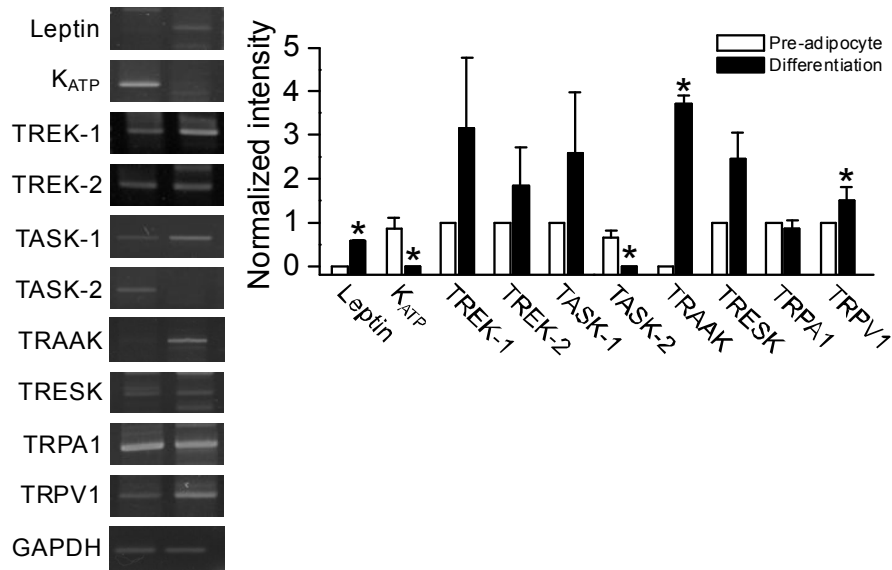


Fig. 16. Changes in ion channel expression mRNA levels by adipocyte differentiation

Fig. 17에서 보는바와 같이 칼륨통로의 활성제를 처리한 경우 지방세포로의 분화가 현저히 감소하였다. 흡광도에서 25 mM의 칼륨이 지방세포로의 분화를 감소시키는 것으로 나타났다. 염색사진에 의하면 지방과립의 형성이 대조군에 비해 뚜렷하게 나타난다. 흡광도 조사는 비색법의 한계가 있을 것이다.

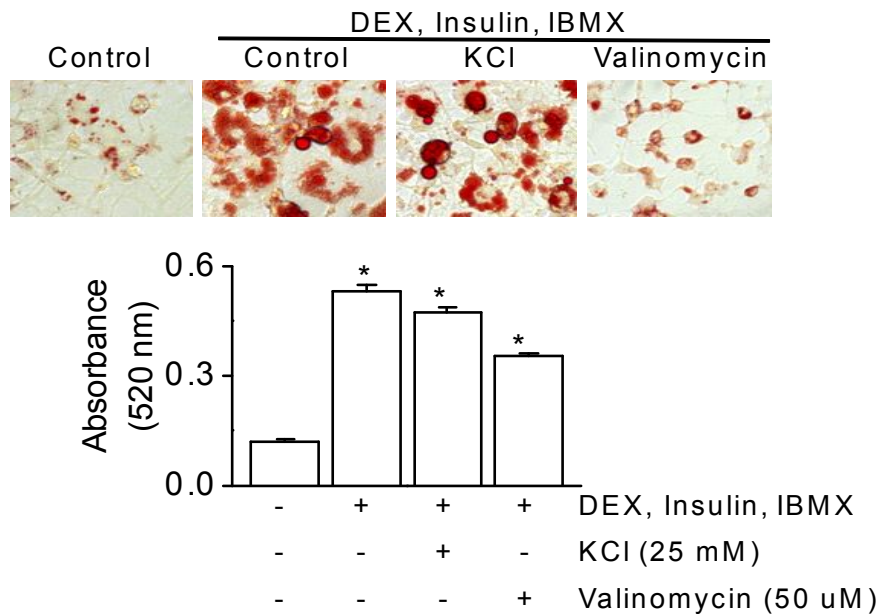


Fig. 17. Effect of K<sup>+</sup> channel activity on adipocyte differentiation.

(2) 비만유도 마우스 모델을 통한 홍마늘 및 생마늘 추출물의 항비만 활성 측정

ARGE와 FRGE가 비만모델에서 항비만 효과를 보이는 지를 확인하기 위해서 C57BL/6J

생쥐에게 9주 동안 1%의 ARGE와 FRGE를 경구투여 하였다. ARGE와 FRGE를 처리한 생쥐의 몸무게는 60% high fat diet 그룹과 비교하였을 때 각각 4.3 g, 4.9 g 더 낮게 나타났다.식이섭취에는 유의한 차이를 보이지 않았다. ARGE와 FRGE를 처리한 생쥐에서 체중의 감소가 지방 축적의 감소와 관련성이 있는지를 확인하기 위하여 부고환지방체(내장지방), 간, 폐 및 뇌의 무게를 측정 한 결과 고지방식이군에 비해 ARGE와 FRGE를 처리한 군에서 간과 내장지방의 무게가 유의적으로 감소하였다(Fig. 18).

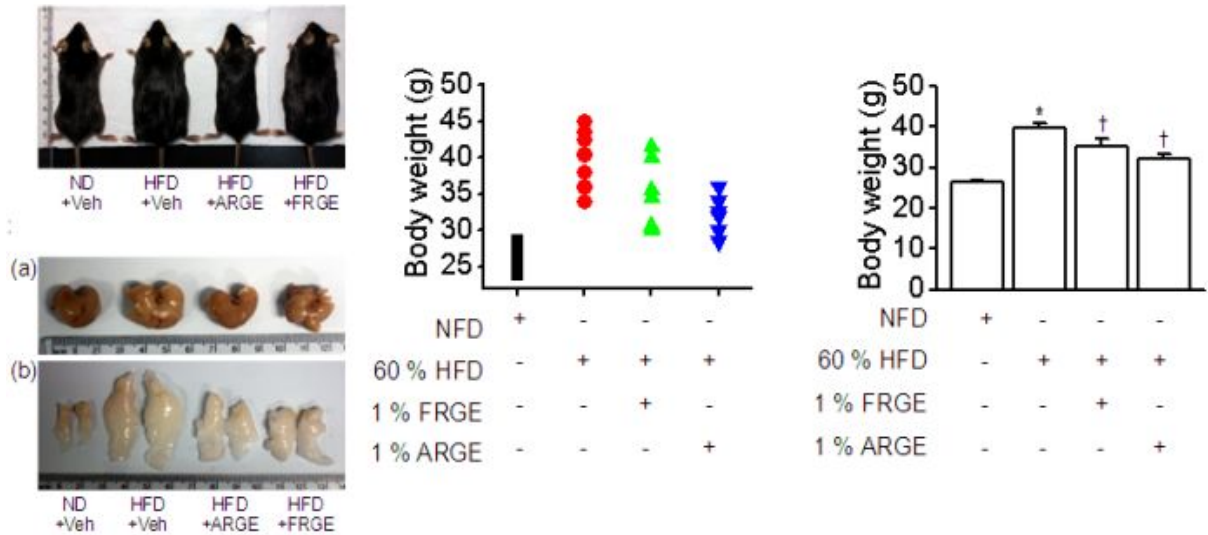


Fig. 18. Reduction of high-fat diet-induced increase in body weight by ARGE administration. Normal and high-fat diet mice (n = 6 to 9 per group) were orally administered with vehicle, ARGE, or FRGE (1%/kg/day) with HFD (60% fat) for 9 weeks and normal diet (ND, 10% fat) fed mice were administered with vehicle).

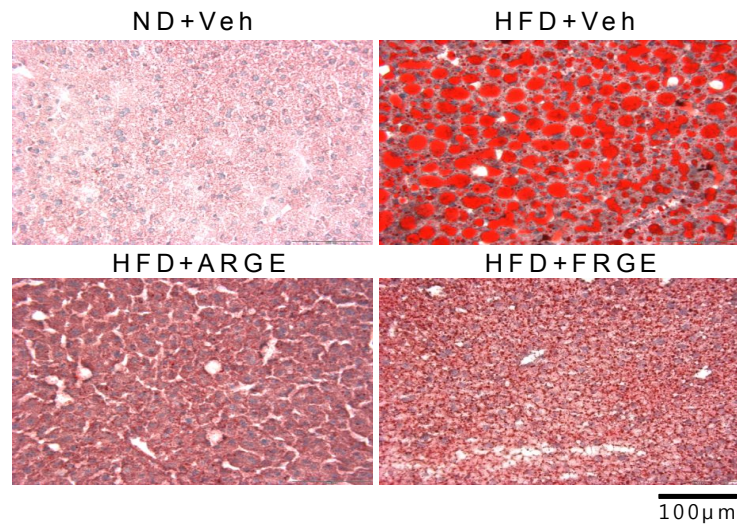


Fig. 19. Liver sections stained with Oil-red O.



간의 무게가 고지방식 단독 처리(HFD) 비만쥐에 비해 마늘 추출물 처리군에서 현저히 감소하였다. 간의 지질 축적 정도를 Oil red O 염색법을 통해 확인하였다. 고지방식 그룹에서는 지질 방울의 크기와 수가 증가한 반면, ARGE와 FRGE를 처리한 그룹에서는 지질방울의 수가 감소하였다(Fig. 19).

ARGE와 FRGE 경구투여 생쥐에서 몸무게의 감소 및 지질 축적이 감소하였다. 비만쥐에서 마늘 추출물이 지방세포분화를 억제시켜 항비만 효과를 나타내는지를 확인하고자 과불포화지방산(내장지방)에서 adipogenic markers의 발현을 조사하였다. 지방세포분화의 중요한 전사인자, PPAR $\gamma$ , 지방조직에서 기원하였고, 식욕과 신진 대사를 포함하여 에너지 섭취 및 소비를 조절하는데 중요한 역할을 하는 leptin 호르몬의 발현은 60% 고지방 식의 생쥐에서 유의적으로 증가하였다(Fig. 20).

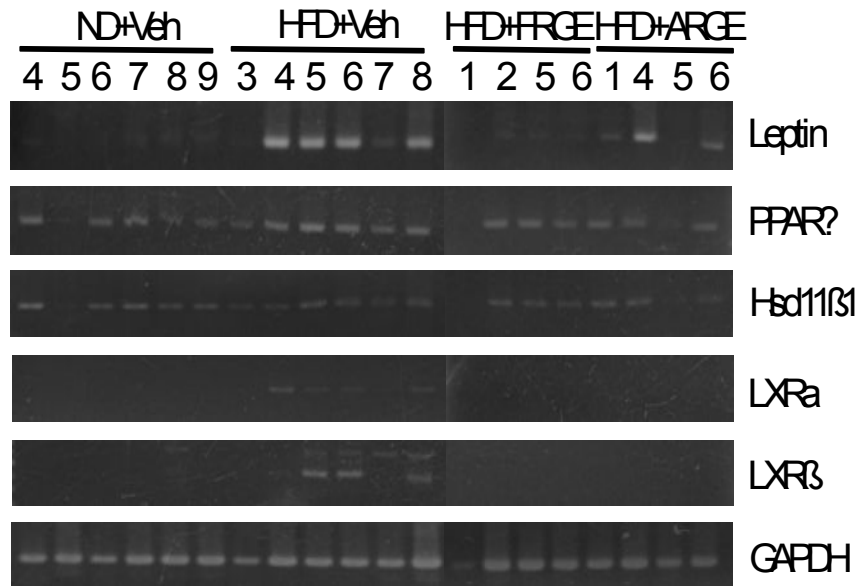


Fig. 20. Changes in adipogenic factors by ARGE and FRGE HFD-fed obese mice.

ARGE와 FRGE 처리군에 있어서는 leptin과 PPAR $\gamma$ 의 발현을 감소시켰다. HSD-11 $\beta$ 와 LXR $\alpha$ , LXR $\beta$  역시 마늘 처리군에서 mRNA 발현율이 감소하였다. HSD-11 $\beta$ 는 활성 cortisol에서 비활성 11 keto-products(cortisone)의 전환을 촉매시키는 효소이다. PPAR $\gamma$ 와 같이 핵 전사인자의 하나인 LXR $\alpha$ 와 LXR $\beta$ 는 간조직 뿐만 아니라 지방조직에서 높은 발현을 보인다.

이상의 결과들로부터 홍마늘 추출물은 항산화, 항염증 및 항비만 효과를 나타내는 유용물질의 하나로 생각되며 추후연구에서는 홍마늘 추출물에서 이러한 효과를 나타내는 단일물질을 찾는 연구가 수행되어야한다.

## 제 3 절 홍마늘의 유용물질 분리 및 바이오 푸드 개발 (제 1협동과제)

### 1. 개요

- 개발된 홍마늘 내 주요 생리활성물질을 규명하기 위하여 주요 함황화합물의 분리 및 분석 조건을 확립하고자 하였다.
- 홍마늘의 기능성 규명을 통하여 바이오 푸드 개발을 위한 기초 자료를 확보함과 동시에 생마늘 및 흑마늘과 차별화되는 특성을 규명하고, 홍마늘 가공품의 품질 지표선정을 위한 기초 자료를 확보하고자 하였다.
- 홍마늘의 *in vitro* 항비만 활성을 평가하며, 그 기능성을 강화시킬 수 있는 천연식물 소재를 탐색하고, 이들의 혼합조건을 최적화함으로써 홍마늘 바이오 푸드 개발을 위한 전처리 조건을 확립하고자 하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 1) 홍마늘 중 갈변물질의 분리 및 생리활성 평가

##### (1) 홍마늘 시료

홍마늘 중 갈변물질의 분리 및 생리활성 평가를 위한 시료는 참여기업인 새남해농협으로부터 제공받아 사용하였다.

##### (2) 투석막을 통한 갈변물질의 분리

조분쇄한 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 100 g에 1 L의 증류수를 가한 후 4℃에서 24시간씩 3회 반복 추출하였다. 추출액을 모두 모아 동결건조 한 다음 분말 일정량을 탈이온수에 녹여 dialysis membrane(Thermo MW cut-off 2,500)을 사용하여 4℃에서 5시간씩 5회 투석하여 투석내액과 외액으로 분리하였다. 이들 각각을 모두 모아 동결건조기를 이용하여 분말화 한 다음 -20℃에서 냉동 보관해 두고 실험 직전에 증류수를 이용해 일정농도로 조절하여 실험에 사용하였다.

##### (3) 시료의 pH 및 갈색도 측정

시료액의 농도를 조정한 후 pH 및 갈색도를 측정하였다. pH는 pH meter로 측정하였으며, 갈색도는 UV spectrophotometer(GB/UV310, Biochrom, Cambridge, UK)로 280 nm와 420 nm에서 각각 측정하여 흡광도 값으로 나타내었다.

##### (4) 총 페놀 및 플라보노이드 정량

총 페놀 함량은 Folin-Denis(Gutfinger T 1981)법에 따라 시료액 1 mL에 Foline-Ciocalteu 시약 및 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액을 각 1 mL씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 정치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로 gallic acid(Sigma Co., St Louis, MO, USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 페놀 함량을 산출하였다. 플라보노이드 함량은 시료액 1 mL에 10% aluminum nitrate 및 1 M potassium acetate 각

0.1 mL, ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 정치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin을 표준물질로 하여 얻은 검량선으로부터 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

#### (5) Total pyruvate 정량

Shwimmer와 Weston의 방법(1961)에 따라 각 시료 추출액 1 mL에 10% trichloroacetic acid 5 mL를 첨가한 다음 1시간 방치하였다가 여과지로 여과하였다. 이 여액 1 mL에 0.0125% dinitriphenylhydrazine 1 mL를 가하여 잘 혼합한 다음 37°C에서 10분간 반응시키고, 0.6 N NaOH 용액 5 mL를 가하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준용액은 sodium pyruvate를 사용하였으며, 상기와 동일한 방법으로 얻은 표준검량곡선으로부터 산출하였다.

#### (6) Thiosulfinate의 정량

홍마늘의 thiosulfinate함량은 Han 등(1995)의 방법에 따라 2 mM cysteine이 함유된 pH 7.5의 50 mM HEPES(N-[2-Hydroxyethyl]piperazine-N'-2-ethane sulfonic acid) 용액 0.5 mL에 마늘 착즙액 0.1 mL를 첨가하였다. 50 mM HEPES를 가하여 총 반응용액의 부피를 5 mL로 한 다음 27°C에서 10분간 반응시켰다. 이 반응액 1 mL를 취하여 50 mM HEPES로 제조한 0.4 mM DTNB(5,5'-dithio-bis[2-nitrobenzoic acid]) 1 mL를 가하여 잘 혼합한 다음 다시 27°C에서 10분간 반응시킨 다음 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. 50 mM HEPES로 제조한 0.05~0.3 mM의 cysteine 용액을 표준물질로 하여 0.4 mM DTNB 용액을 첨가해 10분간 반응시킨 다음 동일한 조건에서 흡광도를 측정하여 작성한 표준검량곡선으로부터 마늘 중의 total thiosulfate 함량을 산출하였다.

#### (7) 유기산 함량분석

일정량의 시료에 3차 증류수를 가하여 10배 희석한 후 진탕 추출한 여액을 0.45 µm filter를 이용하여 여과한 액을 HPLC(Agilent 1260)로 분석하였다. 이때 칼럼은 XBridge™ C18(5 µm, 4.6 mm X 150 mm, Waters)을 이용하였고, 칼럼 온도는 30°C로 유지하였다. 이동상 용매는 20 mM aqueous phosphate buffer pH 2.0 : acetonitrile = 99 : 1(v/v)을 사용하였으며, 0.38 mL/min의 유속을 유지하였다. 시료액은 10 µL를 주입하였으며, 210 nm에서 UV 검출기를 이용하여 검출하였다. 각 유기산의 함량은 25~200 ppm의 범위로 제조된 각각의 표준물질을 동일한 조건에서 분석하여 작성한 표준검량곡선으로부터 정량하였으며, 표준품과 머무름 시간 비교를 통하여 확인하였다. 각각의 시료는 3회 이상 반복하여 실험을 실시하였다.

#### (8) DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여능으로 시료의 환원력을 측정하였다. 96 well plate에 일정농도의 DPPH 용액 100 µL에 시료액 50 µL를 첨가하여 상온에서 10초간 plate shaker (MX2, FINEPCR, Seoul, Korea)에서 혼합한 후 20분간 반응시켜 ELISA reader를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

### (9) 환원력 측정

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

### (10) ABTs 라디칼 소거능 측정

ABTs 라디칼 소거능 측정은 7 mM ABTs 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12~16시간 동안 반응시켰다. 이를 414 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정하였다. 96 well plate에 ABTs 용액 100  $\mu$ L를 넣고 시료액을 50  $\mu$ L 가하여 plate shaker를 이용하여 잘 혼합한 후 실온에서 5분간 반응시켜 ELISA reader를 이용하여 414 nm에서 흡광도를 측정하여 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

### (11) Nitric oxide 소거능 측정

Nitric oxide 소거능은 시료액 0.5 mL에 5 mM sodium nitroprusside 용액 0.5 mL를 가하여 25°C에서 150분간 반응시켰다. 여기에 1 mL의 Griess reagent를 가한 후 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. Griess reagent는 2% sulfanilamide를 함유하는 4% 인산용액과 0.2% naphthylethylene-diamide 용액을 사용직전에 1:1(v/v)로 혼합하여 사용하였다. Nitric oxide 소거능은  $[1 - (\text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$ 으로 나타내었다.

### (12) Tyrosinase 활성 저해능 측정

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

### (13) Glucosidase 활성 저해능 측정

$\alpha$ -glucosidase 활성 저해능은 96 well plate에 반응기질인 2.5 mM  $p$ -nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside를 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.8)에 첨가한 후  $\alpha$ -glucosidase와 시료액을 넣고 그 혼합액에 효소용액을 첨가한 후 37°C에서 20분간 반응시키고 0.1 M NaOH로 반응을 정지시키고 기질인  $p$ -nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside로 부터 유리되어 나오는 반응 생성물인  $p$ -nitrophenol을 405 nm에서 측정하여  $\alpha$ -glucosidase 활성의 억제능을 측정하였다.

## 2) 홍마늘 중 함황화합물의 분석조건 확립

### (1) 추출용매별 홍마늘 추출물의 제조

실험 직전에 믹서기를 이용하여 홍마늘을 마쇄한 다음 시료 5 g을 취하고 추출용매 30 mL을 가하여 shakre에서 70 rpm의 속도로 24시간 진탕 추출하였다. 추출물은 여과지로 여과한 다음 0.45  $\mu\text{m}$  membrane syringe filter로 여과한 후 냉장보관 하면서 HPLC 및 UV scanning 시료로 사용하였다. 이때 추출용매로는 hexane, chloroform, ethylacetate, acetone, methanol, 50% methanol 및 물을 사용하였다.

### (2) 분획용매 조건별 홍마늘 추출물의 제조

분쇄한 홍마늘 시료를 상온에서 2일간 메탄올에 추출한 후 감압 농축하여 메탄올 분획을 얻었으며, 이를 일정량 취하여 hexane, chloroform, ethylacetate, buthanol 및 물을 각각 시료량의 10배를 가하여 분획한 것을 0.45  $\mu\text{m}$  membrane syringe filter로 여과한 후 냉장보관 하면서 HPLC 및 UV scanning 시료로 사용하였다.

### (3) UV scanning

각 추출용매별 및 분획용매별 시료는 spectrophotometer를 이용하여 200~800 nm 범위에서 최대 흡수파장 확인을 위한 scanning을 실시하였다.

### (4) HPLC 분석 조건

홍마늘 중 함황화합물 분리 및 분석을 위한 HPLC 조건은 Table 1과 같고, 함황화합물의 확인을 위하여 사용한 표준물질은 Table 2와 같다.

Table 1. Analysis conditions of HPLC for sulfur compounds in red garlic

Items	Conditions
HPLC	Agilent Technologies 1200 Series
Column	Symmetry C18 5 $\mu\text{m}$ 4.6 mm ID X 150 mm, Waters
Elution solvent	0.1% Acetic acid (A), Acetonitrile(B)
Elution condition	A:B (95:5, v/v) 0 min $\rightarrow$ A:B (90:10, v/v) 15 min. $\rightarrow$ A:B (60:40, v/v) 30 min. $\rightarrow$ A:B (20:80, v/v) 40 min. $\rightarrow$ A:B (0:100, v/v) 50 Min
Flow rate	0.5 mL/Min
Wave length	210, 254, 280, 320 nm
Temperature, Injection volume	30 $^{\circ}\text{C}$ , 20 $\mu\text{L}$

Table 2. Standard compounds list of sulfur compounds

Sulfur compounds	Purity and company
Alliin	MP Biomedicals, Inc.,
DMS(Dimethyl Sulfiide)	99.0%, Sigma-Aldrich
Allicin	LKT Laboratories, Inc.
DMDS(Dimethyl disulfide)	99.0%, Aldrich
DES(Diethyl sulfide)	98%, Aldrich
DAS(Diallyl sulfide)	97%, Aldrich
DEDS(Diethyl disulfide)	99%, Aldrich
DADS(Diallyl disulfide)	80%, Aldrich
DPS(Dipropyl sulfide)	97%, Aldrich
DATS(Diallyl trisulfide)	MP Biomedicals, LLC
DPDS(Dipropyl disulfide)	98%, Aldrich
DMTS(Dinethyl trisulfide)	98.5%, Fluka

### 3) 홍마늘의 제조과정 중 이화학적 품질특성의 변화

#### (1) 실험재료

실험에 사용된 생마늘은 깎마늘 상태로 최상품을 사용하였으며, 홍마늘 및 흑마늘 제조용 마늘은 2010년 남해산 마늘을 통마늘 형태로 구입하여 실험에 사용하였다. 홍마늘 및 흑마늘은 향온향습기를 이용하여 별도로 제조하여 사용하였다.

#### (2) 홍마늘의 제조

홍마늘의 제조 조건은 Table 3과 같이 생마늘을 -80℃에서 24시간 동결건조 시킨 것을 step 1으로 하고 동결된 마늘을 즉시 향온향습기로 옮겨 뚜껑이 있고 밀폐가 되는 용기에 넣어 80℃에서 36시간 숙성시켰다. 이어 step 2에서 온도를 60℃로 낮추고 습도를 60%에서 12시간 숙성시킨 것을 step 3로 하고 마지막 단계로 step 4에서는 뚜껑을 제거하고 밀면의 용기를 천공용기를 사용하여 온도 60℃에서 5시간동안 건조시켜 아래와 같은 성상의 홍마늘을 제조하였다. 각 단계별 홍마늘 시료는 500 g씩 수거하여 분석에 사용하였다.

Table 3. Conditions of red garlic production

Step	Condition	Temp. (℃)	Humidity(%)	Time(h)	Try type
1	Freezer	-80	-	24	Closed Test
2	Aging	80	-	36	Closed Test
3	Aging	60	60	12	Closed Test
4	Aging	60	-	5	Open Test



<생마늘>

<홍마늘>

<흑마늘>

**(3) 색도 측정**

홍마늘의 제조 과정중의 색도 변화는 내부색과 표면색을 나누어 색차계(Hunter Lab, Ultrascan VIS, USA)를 이용하여 L\*(명도), a\*(적색도), b\*(황색도) 값을 측정하였으며, 이때 사용된 표준 백판의 L값은 99.41, a 값은 -0.13, b값은 0.05였다.

**(4) 조직감 측정**

일정한 두께로 슬라이스 한 홍마늘을 texture analyzer(Model TAXT express, Stable Micro Systems, England)를 이용하여 각 시료 군별로 10개 이상 시료의 전단가를 측정하였으며, 이때 texture analyzer의 조건은 Table 4와 같다.

Table 4. Analysis conditions for share force by texture analyzer

Items	Conditions
Instrument	Model TAXT express, Stable Micro Systems, England
Prove	Φ 4 cm cutting prove
pre-Test speed	1.0 mm/s
Trigger force	50.0 g
Test speed	5.0 mm/s
Return speed	5.0 mm/s
Test distance	20.0 mm
Test cycle	1.0

**(5) 일반성분**

수분함량은 분쇄한 시료를 약 1.0 g 정도를 취하여 적외선 수분측정기(MB25, OHAUS, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 이외의 일반성분은 A.O.A.C법(Association of Official Analytical Chemists, 1990)에 따라 조지방 함량은 soxhlet법, 조단백질은 micro-Kjeldahl법, 회분은 550℃ 직접 회화법으로 각각의 시료를 3회 이상 반복하였다.

**(6) pH 및 산도 측정**

pH는 각 시료 10 g에 탈이온수를 가하여 100 mL로 만든 다음 원심분리한 상층액을 pH

meter(Model 720, Thermo, USA)를 이용하여 5회 반복 측정하였다. 산도는 마쇄한 시료 10 g에 증류수를 가하여 50 mL로 만든 다음 원심분리하여 여과지로 여과한 여액 10 mL에 0.1 N NaOH를 가하여 pH 8.4까지 적정한 다음 소비된 0.1 N NaOH의 양으로부터 환산하여 lactic acid 함량으로 나타내었다.

#### (7) 환원당의 정량

환원당은 DNS법(Miller 1959)에 따라 시료 5 g을 취하여 50 mL로 정용한 다음 진탕혼합하고 원심분리를 거쳐 여과지로 여과한 여액을 시료액으로 하였다. 시료액은 분석을 위한 적정농도로 만들기 위하여 다시 증류수를 가해 10배 희석한 후 1 mL를 취하고 여기에 DNS시약 3 mL을 가한 후 끓는 물에서 15분간 중탕 가열 한 다음 찬물에서 냉각하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Glucose를 표준물질로 하여 0.2~2.0 mg/mL 농도범위에서 작성한 검량곡선에 따라 정량하였다.

#### (8) 갈변도 및 총 페놀의 정량

갈색화 반응물의 용출 정도를 평가하기 위하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 Foline-Denis법에 따라 상기 1)-(4)와 동일한 방법으로 정량하였다.

#### (9) Total pyruvate 정량

Shwimmer와 Weston의 방법(1961)에 따라 상기 1)-(5)의 방법에 따라 정량하였다.

#### (10) Thiosulfinate의 정량

홍마늘의 thiosulfinate 함량은 Han 등(1995)의 방법에 따라 상기 1)-(6)의 방법에 따라 정량하였다.

#### (11) 유기산 함량분석

일정량의 시료에 3차 증류수를 가하여 10배 희석한 후 진탕 추출한 여액을 0.45  $\mu$ m filter를 이용하여 여과한 액을 HPLC(Agilent 1260)로 분석하였으며, 분석조건 및 정량조건은 상기 1)-(7)과 동일하게 하였다.

#### (12) 유리아미노산 정량

유리아미노산은 Sung 등(1997)의 방법에 따라 시료 0.1 g에 에탄올 150 mL를 가하여 균질화한 다음 원심분리(6,000 $\times$ g, 10 min)하였다. 잔사에 80% 에탄올 75 mL를 가하여 2회 반복 추출한 후 상층액을 취하여 농축한 후 에테르로 탈지하여 50 mL로 정용하였다. 이 액을 일정량 취하여 농축한 다음 pH 2.2 lithium citrate 완충용액으로 10 mL로 정용하고, membrane filter로 여과하여 아미노산 자동분석기(Biochrom 30<sup>+</sup> amino acid analyzer, Biochrom Ltd., Cambridge, England)로 분석하였다.

#### (13) S-allylcysteine(SAC) 함량 분석

분쇄한 마늘 시료에 3차 증류수를 가하여 10배로 희석한 후 교반하면서 1시간 동안 추출한 후 원심분리 한 상층액을 시료액으로 하였다. 시료액 2 mL에 증류수, 메탄올 및 triethylamine의 1:1:1 혼합액을 가하고 진공농축기로 완전건고 시킨 다음 유도체화를 위하여 phenylisothiocyanate(PITC) : 증류수 : 메탄올 : triethylamine = 0.1 : 2 : 5 : 0.9로 혼합한 용



액을 10 mL 가하여 충분히 교반하였다. 이를 다시 진공농축기로 완전건고 시킨 후 30% acetonitrile용액 10 mL에 재용해시킨 다음 0.45  $\mu\text{m}$  filter로 여과하여 HPLC(Agilent 1260)로 분석하였다.

HPLC 분석을 위한 칼럼은 Watchers 120 ODS-BP(5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm X 250 mm, Watchers)을 이용하였다. 이동용매는 acetonitrile과 0.1% acetic acid 혼합액을 비율별로 조절하면서 사용하였고, 칼럼 온도는 30°C로 유지하였으며, 254 nm에서 UV검출기를 이용하여 확인하였다. 시료 중 SAC 성분은 표준물질과의 머무름시간 비교 및 동시주입을 통하여 확인하였으며, 함량은 7.8~1000 ppm의 농도범위로 제조한 표준용액을 시료와 동일한 조건에서 분석하여 작성한 표준검량곡선으로부터 정량하였다(Fig. 1). 모든 시료는 3회 이상 반복하여 분석하였다.

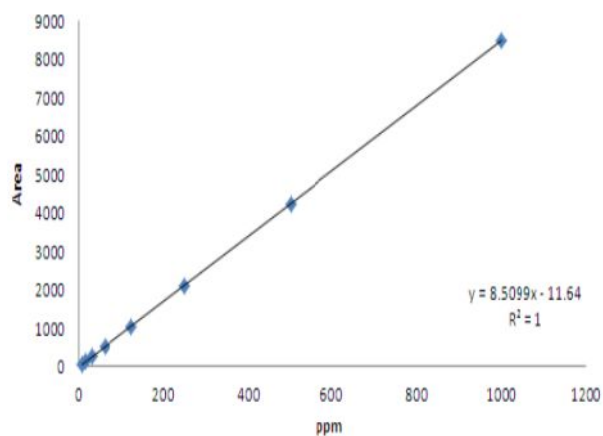


Fig. 1. Standard curve of S-allyl cysteine.

#### (14) DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 라디칼 소거 활성은 Blois (1958)의 방법을 개량하여 DPPH 라디칼의 전자공여 활성으로 나타내었으며, 실험은 상기 1-(8)과 동일한 방법으로 수행하였다.

#### (15) ABTs 라디칼 소거능 측정

ABTs[2,2'-azinobis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonate)] 라디칼 소거능 측정은 Re R 등 (1999)의 방법에 준하여 상기 1)-(10)의 방법에 따라 414 nm에서 흡광도를 측정한 후 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

### 4) 천연식물류 열수 추출물의 소화효소 저해활성 비교

#### (1) 천연식물류의 선정

항비만 활성 강화를 위한 천연식물류는 국내 연구논문 및 특허자료 분석을 통하여 이용 빈도가 높은 것을 선정하였다. 즉, 체중 및 체지방 감소, 지방세포 발현억제, 혈중 지질감소, 소화효소 억제활성 등을 검색어로 하여 문헌을 검색하고, 검색된 문헌에 사용된 재료 중 사용빈

도가 높은 재료를 선정하였다.

## (2) 실험재료

선정된 천연식물류는 숙지황, 진피, 마황, 구기자, 의이인, 녹차, 창출 및 백출로 총 8종을 진주시내 한약 재료상에서 구입하였으며, 녹차는 하계농협에서 생산된 2010년산 중작을 구입하여 시료로 사용하였다.

## (3) 시료 추출물의 제조

소화효소 저해활성 평가를 위한 시료는 무게에 대하여 각각 10배의 증류수를 가해 환류냉각장치를 이용하여 120°C에서 2시간 추출하였다. 추출된 시료는 각각 압착하여 여과한 다음 동결건조한 후 다시 일정 농도로 3차 증류수에 녹여 분석용 시료로 사용하였다.

## (4) $\alpha$ -Amylase 저해효과 측정

$\alpha$ -Amylase 저해효과는 Lim 등(2005)의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 농도별 시료 20  $\mu$ L에 1 unit/mL porcine pancreas 기원의  $\alpha$ -amylase 5  $\mu$ L와 50 mM potassium phosphate buffer(pH 6.9) 25  $\mu$ L를 혼합하여 37°C에서 20분간 전 처리한 후 0.5% starch를 25  $\mu$ L 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 그 반응액에 48 mM 3,5-dinitrosalicylic acid(DNS) 발색시약을 100  $\mu$ L 넣고 100°C에서 10분간 끓여 발색시킨 후 충분히 냉각시켰다. 이 반응액에 1 mL 물을 가하고 잘 교반한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.  $\alpha$ -Amylase 저해효과(%)는  $\{1 - (\text{시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도} - \text{시료를 첨가한 반응군의 흡광도}) / \text{시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도}\} \times 100$  식으로부터 구하였다.

## (5) Trypsin 저해효과 측정

각 천연식물류 추출물이 trypsin의 활성화에 미치는 영향은 Jang과 Jeong(2010)의 방법을 변형하여 측정하였다. 0.01%가 되도록 10 mM sodium acetate buffer(pH 7.5)에 용해한 trypsin 0.015 mL에 각 추출액 0.185 mL을 혼합하여 37°C에서 10분간 전 처리하였다. 3% 농도가 되도록 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 용해한 azocasein 0.8 mL을 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 뒤 110 mM trichloroacetic acid(TCA) 1.0 mL을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 상온에서 15분간 반응액을 정지하여 단백질을 침전시키고 10,000 $\times$ g에서 20분간 원심분리한 뒤 상등액 1.2 mL에 1 N NaOH 1.4 mL을 혼합하여 440 nm에서 흡광도를 측정하였다. Trypsin 저해효과(%)는  $\{1 - (\text{시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도} - \text{시료를 첨가한 반응군의 흡광도}) / \text{시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도}\} \times 100$  식으로부터 구하였다.

## (6) $\alpha$ -Chymotrypsin 저해효과 측정

농도별로 제조한 각 천연식물류 추출물이  $\alpha$ -chymotrypsin의 활성화에 미치는 영향은 Jang과 Jeong(2010)의 방법을 변형하여 측정하였다. 0.01%가 되도록 10 mM sodium acetate buffer(pH 7.5)에 용해한  $\alpha$ -chymotrypsin 0.04 mL에 각 추출액 0.16 mL을 혼합하여 37°C에서 10분간 전 처리하였다. 3% 농도가 되도록 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 용해한 azocasein 0.8 mL을 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 뒤 110 mM TCA 용액

1.0 mL을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 상온에서 15분간 반응액을 정지하여 단백질을 침전시키고 10,000×g에서 20분간 원심분리한 뒤 상등액 1.2 mL에 1 N NaOH 1.4 mL을 혼합하여 440 nm에서 흡광도를 측정하였다. Chymotrypsin 저해효과(%)는  $\{1 - (\text{시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도} - \text{시료를 첨가한 반응군의 흡광도}) / \text{시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도}\} \times 100$  식으로부터 구하였다.

#### (7) Lipase 저해효과 측정

Lipase 저해효과 측정은 Saisuburamaniyan 등(2004)의 방법을 변형하여 사용하였다. 각 천연식물류 추출물 0.25 mL, 800 unit/mL lipase 0.5 mL, 0.05 M potassium phosphate buffer(pH 6.5) 0.5 mL을 차례로 가한 후 혼합하였다. 37°C에서 15분간 전 처리한 후 10% isooctane에 용해시킨 olive oil 1.25 mL을 첨가하여 37°C에서 20분간 진탕배양 하였다. Acetone 5 mL로 반응을 정지시킨 후 5% cuperic acetate 1 mL을 첨가하여 혼합한 뒤 상온에서 정지하여 상층액 1 mL을 720 nm에서 흡광도를 측정하였다. Lipase 저해효과(%)는  $\{1 - (\text{시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도} - \text{시료를 첨가한 반응군의 흡광도}) / \text{시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도}\} \times 100$  식으로부터 산출하였다.

### 5) 홍마늘 및 천연식물류 추출물의 3T3-L1 세포에 대한 항비만 활성 검증

#### (1) 홍마늘 용매 분획물의 제조

분쇄한 홍마늘 시료에 약 10배의 메탄올을 가하여 60°C의 수욕상에서 환류냉각하면서 2회 반복 추출하여 메탄올 조추출물을 얻었다. 이것을 회전식 진공증발기로 추출용매를 제거한 다음 메탄올과 물 혼합액(1:9, v/v)에 재용해하고, 순차적으로 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol을 각각 가하여 2회씩 반복 추출해 각각의 용매 분획물을 얻었으며, 잔사를 물분획물로 하였다. 5종의 용매분획물은 회전식 진공증발기로 완전건고 시킨 다음 일정량을 취하여 항산화 활성 측정용 시료로 사용하였다.

#### (2) 천연식물류 추출물의 제조

상기 4)-(2)와 (3)에 기술된 방법에 따라 제조된 시료를 사용하였다.

#### (3) 세포 배양

실험에 사용한 3T3-L1 전지방세포는 한국세포주은행(KCLB)으로부터 분양 받았으며, 10% BS(bovine serum, GIBCO, Rockville, MD, USA)이 포함된 DMEM(Dulbecco's modified Eagle medium, GIBCO, Rockville, MD, USA)과 1% P/S(penicillin, streptomycin)를 첨가한 후 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건의 incubator(3517-02, Shellab Co., Cornelius, USA)에서 배양하였다.

#### (4) 세포독성 평가

배양중인 3T3-L1 전지방세포를 5×10<sup>4</sup> cell/mL이 되도록 현탁하여 96 well plate에 90 μL 씩 분주하고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건의 incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 배지를 모두 제거하고 혈청이 포함되지 않은 배지를 90 μL/well 씩 첨가하였고 배양액에 희석한 시료를 10 μL/well 씩 첨가한 뒤 24시간 동안 배양하였다. 그 후, CCK-8(Colorimetric Cell

Counting kit-8, Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japan) 용액을 10  $\mu$ L씩 분주하여 3시간 동안 배양한 후 ELISA reader를 이용하여 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였으며, 각 실험은 독립적으로 3회 반복 실행하여 평균치를 구하였다.

#### (5) 세포분화 유도

3T3-L1 전지방세포를  $1 \times 10^4$  cell/mL인 suspension 용액을 만들어 6-well plate에 분주한 후 배양하였다. 2일에 한번씩 10% BS 및 1% P/S가 포함된 새로운 DMEM/F12 배양액으로 바꿔주었으며, 세포가 confluent 하게 되면 adipocyte로 분화시키기 위하여 이를 더 배양 후에 DMEM/F12, 10% FBS(fetal bovine serum), 1% P/S, 10  $\mu$ g/mL insulin, 1  $\mu$ M dexamethasone 및 0.5 mM Isobuthylmethylxanthine이 첨가된 differentiation medium으로 바꿔준 뒤, 시료 추출물을 처리한 후, 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건의 incubator에서 2일간 배양하였다. 그 후, 분화유지 배지(DMEM, 10% FBS, 1% P/S, 10  $\mu$ g/mL insulin)로 교체하고 시료 추출물을 처리하였다. 다시 이를 뒤에 DMEM, 10% FBS, 1% P/S 및 시료추출물을 함유한 배지로 교환한 후 2일 간격으로 8일 동안 배양하였다.

#### (6) Oil red O 염색 및 지방축적 측정

최종 배양 후 배지를 제거하고, 세포를 고정시키기 위해 10% formaldehyde를 500  $\mu$ L씩 각 well에 넣고 4°C에서 1시간 동안 배양하였다. 그 후에 formaldehyde를 버리고 PBS로 세 번 씻어낸 후 Oil red O(Sigma, St. Louis, MO, USA) 0.25 g을 isopropyl alcohol 50 mL에 녹인 용액을 증류수와 3:2의 비율로 혼합한 후 0.45  $\mu$ m filter로 여과하여 제조한 Oil red O 염색시약을 500  $\mu$ L씩 가하여 상온에서 1시간 동안 염색하였다. 염색된 세포는 PBS로 3번 세척한 후 현미경(IX71, Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하였으며, 지방에 염색된 염색시약을 isopropyl alcohol로 추출하여 spectrophotometer로 595 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 지방 축적율은 시료를 처리하지 않은 대조군의 흡광도 값에 대한 시료 처리군의 흡광도 값의 비로 나타내었다.

### 6) 홍마늘과 녹차 추출물의 혼합비율에 따른 생리활성 분석

#### (1) 홍마늘 및 녹차 추출물의 제조

홍마늘과 녹차는 분쇄한 시료 부피 대비 10배의 물을 가하고, 80°C에서 3시간 추출한 후 추출물을 모두 모아 동결건조기로 건조한 후 분말을 제조하였다. 제조된 홍마늘 분말을 다시 정제수에 녹여 시판 추출음료의 농도 범위인 7~15 brix 범위에서 관능적인 특성을 평가하면서, 최종 농도를 10 brix로 설정하였다. 이 농도를 만들기 위하여 사용된 홍마늘 추출 분말의 농도는 부피 대비 10% 였다. 10% 홍마늘 분말용해액을 홍마늘 추출액으로 하고, 여기에 녹차 추출분말을 비율에 따라 혼합하였다. 즉, 녹차 추출액은 쓴맛이 강하므로 관능특성을 고려하면서 쓴맛이 많이 느껴지지 않는 최대 범위로 0.7%를 설정하였으며, 홍마늘 추출액 대비 0, 0.1, 0.3, 0.5 및 0.7%씩을 각각 가하여 첨가 혼합한 것을 생리활성 분석용 시료로 사용하였다.

Table 5. Composite of water extract mixture made from red garlic and green tea

	A	B	C	D	E
10% red garlic extract (solution)	100	99.9	99.7	99.5	99.3
Green tea extract (powder)	0	0.1	0.3	0.5	0.7

**(2) DPPH 및 ABTs 라디칼 소거능 측정**

혼합 비율별 시료를 250, 500, 1000, 2500 및 5000 µg/mL 농도로 조절한 후 상기 1)-(8) 및 (10)의 방법에 준하여 분석하였다.

**(3) FRAP법에 의한 항산화능**

혼합 비율별 홍마늘 및 녹차 혼합물의 FRAP(ferric reducing antioxidant power) 측정은 pH 3.6의 300 mM acetate buffer, 40 mM HCl에 용해한 10 mM TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 용액 및 20 mM FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 미리 혼합한 다음 37°C의 수욕상에서 가온한 뒤 FRAP 측정용 기질로 사용하였다. 96 well plate에 시료액 40 µL, FRAP 기질액 100 µL 및 증류수 200 µL를 차례로 혼합하여 37°C에서 4분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였으며, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O를 표준물질로 하여 얻은 표준검량선으로부터 계산하였다.

**(4) β-carotene-linoleic acid 계에서 항산화능 측정**

1 mg의 β-carotene을 2 mL의 chloroform으로 용해한 후 10 µL의 linoleic acid 및 400 mg의 Tween 40를 첨가하여 진탕한 다음 회전식 진공증발기에서 chloroform을 제거한 후 증류수를 가하여 100 mL로 정용한 것을 기질로 사용하였다. 기질용액 2.5 mL에 농도별 시료액 0.5 mL를 가하여 50°C water bath에서 1시간 동안 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였다(Miller HE 1971).

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = \frac{C-S}{C} \times 100$$

C : 대조구의 흡광도 감소율

S : 실험구의 흡광도 감소율

**(5) 소화효소 저해활성**

상기 4)-(4)~(7)의 방법에 따라 소화효소에 대한 저해활성을 평가하였다.

**(6) 3T3-L1 세포에 대한 항비만 활성 검증**

상기 5)의 홍마늘 및 천연식물류 추출물의 3T3-L1 세포에 대한 항비만 활성 검증에서와 동일한 방법에 따라 실험하였다.

## 7) 홍마늘과 녹차 추출 가공 시제품 제작을 위한 조성물의 생리활성

### (1) 실험재료

홍마늘은 남해군에서 생산된 마늘을 이용하여 본 연구진이 개발한 홍마늘 제조방법 특허(1-2010-0036798)에 따라 제조된 것을 실험에 사용하였다. 홍마늘은 시료 중량에 대해 10배의 물을 가하여 진공 추출기(COSMOS 660, Kyungseo Machine Co., Incheon, Korea)로 추출하였고, 녹차는 시판 녹차를 홍마늘과 동일한 방법으로 추출한 후 동결건조시켜 분말화하였고, 감귤 식이섬유는 시판품을 구입하여 사용하였다.

### (2) 홍마늘 복합물의 제조

홍마늘 복합물을 제조하기 위하여 홍마늘 추출물에 대한 녹차 추출물은 혼합비율을 달리 하여 관능평가한 결과 홍마늘의 맛과 향을 크게 변화시키지 않는 배합비인 87.5%:12.5%(7:1, w/w)의 비로 설정하였다. 홍마늘 추출물에 대한 식이섬유 복합물(R+F)과 녹차·식이섬유 복합물(R+TF)은 녹차 복합물(R+T)의 배합비를 기준으로 각각 제조하였다.

### (3) 총 페놀 함량 측정

홍마늘 추출물과 복합물을 일정농도로 조정한 후 Folin-Denis법에 따라 gallic acid를 표준 물질로 하여 상기 1)-(4)와 동일한 방법으로 실험하였다.

### (4) 항산화 활성 측정

홍마늘 추출물 및 복합물의 항산화 활성은 상기 1)-(8) 및 (10)의 방법에 준하여 각각 DPPH 및 ABTs 라디칼 소거활성을 분석하였으며, 환원력은 상기 1)-(9)의 방법에 따라 실험하였다.

### (5) *In vitro*에서 콜레스테롤 흡착 활성

홍마늘 추출물 및 복합물을 2.5 mg/mL의 농도로 조정한 후 콜레스테롤과의 반응력을 *in vitro*에서 효소법에 의한 kit시약(AM 202-k, Asan, Korea)으로 측정하였다(Soh HS 등 2003). 시료액 1 mL에 콜레스테롤 30 µg을 가하여 25°C에서 20분간 반응시킨 다음 0.1 M hexadecyltrimethylammonium bromide(Sigma Co., St Louis, MO, USA) 50 µL를 가하여 25000 ×g에서 15분간 원심분리 시켰다. 상층액 200 µL를 취하여 효소액 1.5 mL를 혼합하여 37°C에서 5분간 반응시켜 500 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료 무침가구에 대한 시료의 콜레스테롤 흡착 활성(%)으로 나타내었다.

## 8) 통계 처리

실험으로부터 얻은 결과는 SPSS package 12.0을 이용하여 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검정은 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후  $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 시행하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 1) 홍마늘 중 갈변물질의 분리 및 생리활성 평가

##### (1) 홍마늘 투석액의 pH

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘로부터 투석막을 이용하여 갈변물질을 얻었으며, 이를 각각 투석내액 및 투석외액으로 하여 pH를 측정한 결과는 Table 6과 같다.

Table 6. pH of water soluble in browning compounds from garlic and its products after browning reaction

Garlics		pH
Fresh	Inner	6.79
	Extra	6.73
Red	Inner	6.62
	Extra	6.46
Black	Inner	5.09
	Extra	6.01

생마늘 투석액의 pH는 내액이 6.79, 외액이 6.73이었으며, 홍마늘 투석액의 pH는 내액이 6.62, 외액이 6.46으로, 생마늘 및 홍마늘은 내액에 비해 외액에서 다소 산성화된 경향이 있었다. 흑마늘 투석액은 내액이 5.09, 외액이 6.01로 외액에서 다소 알칼리성의 경향을 보였다. 생마늘에 비해 고온에서 가열 숙성시키는 과정을 거친 홍마늘과 흑마늘 중 갈변물질의 pH가 산성화 경향을 보였으며, 특히 분자량이 큰 내액의 pH가 외액에 비해 산성영역인 것으로 나타났다.

홍마늘 및 흑마늘 투석액의 pH가 생마늘에 비해 더 산성화 경향을 보이는 것은 홍삼 제조시, 갈변물질의 생성과 더불어 pH가 산성화되며, 온도가 높을수록 pH는 더욱 산성화되는 경향이며(Lee 등 1995), 가열처리한 홍삼 엑기스의 pH도 시료 온도가 높고 저장 시간이 경과할수록 산성화된다는 보고(Choi 등 1981)와도 유사한 결과였다.

##### (2) 갈변물질 함량

갈변물질의 함량을 예측하기 위하여 마늘 투석액을 280 nm 및 420 nm에서 흡광도를 측정한 결과는 Table 7과 같다. 280 nm에서 생마늘의 투석내액의 흡광도는 0.100이었으며, 투석외액은 0.113이었다. 홍마늘 투석내액의 흡광도는 0.401, 외액은 0.849였으며, 흑마늘은 투석내액이 1.001, 외액이 1.750이었다. 420 nm에서도 280 nm와 동일한 경향으로 투석내액에 비해 외액에서 유의적으로 흡광도 값이 높았다. 즉, 마늘의 갈변화가 진행됨에 따라 갈변물질의 함량이 증가된 경향이었으며, 투석내액에 비해서는 외액에 갈변물질의 함량이 더 높은 것으로 예상되었다.

Table 7. Browning intensity of water soluble browning compounds from garlic and its products after browning reaction

(O. D value)

Garlics		Browning intensity	
		280 nm	420 nm
Fresh	Inner	0.100±0.001 <sup>A</sup>	0.012±0.002 <sup>A</sup>
	Extra	0.113±0.002 <sup>B</sup>	0.031±0.001 <sup>B</sup>
Red	Inner	0.401±0.004 <sup>C</sup>	0.071±0.001 <sup>C</sup>
	Extra	0.849±0.005 <sup>D</sup>	0.141±0 <sup>D</sup>
Black	Inner	1.001±0.002 <sup>E</sup>	0.428±0 <sup>E</sup>
	Extra	1.750±0.013 <sup>F</sup>	0.648±0.004 <sup>F</sup>

<sup>A-F</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

### (3) 총 페놀 및 플라보노이드 함량

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 다음 Table 8과 같다. 생마늘 및 흑마늘의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 투석내액에 비해 외액에서 유의적으로 낮게 정량되었으나, 홍마늘은 상반된 경향이였다. 총 페놀 함량은 생마늘 투석내액이 16.51 mg/g, 외액이 16.05 mg/g이었으며, 홍마늘은 투석내액이 15.28 mg/g, 외액이 17.69 mg/g으로 외액의 함량이 더 높았다. 흑마늘은 투석내액이 25.53 mg/g, 외액이 17.25 mg/g이었다.

Table 8. Total phenol and flavonoid contents of water soluble browning compounds from garlic and its products after browning reaction

(mg/g)

Garlics		Total phenol	Flavonoid
Fresh	Inner	16.51±0.13 <sup>C</sup>	9.94±0.12 <sup>B</sup>
	Extra	16.05±0.17 <sup>B</sup>	9.49±0.02 <sup>A</sup>
Red	Inner	15.28±0.06 <sup>A</sup>	10.61±0.02 <sup>D</sup>
	Extra	17.69±0.16 <sup>E</sup>	10.24±0.03 <sup>C</sup>
Black	Inner	25.53±0.33 <sup>F</sup>	15.90±0.04 <sup>E</sup>
	Extra	17.25±0.17 <sup>D</sup>	10.54±0.02 <sup>D</sup>

<sup>A-F</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

플라보노이드 함량은 생마늘 투석내액이 9.94 mg/g, 외액이 9.49 mg/g이었으며, 홍마늘



은 투석내액이 10.61 mg/g, 외액이 10.24 mg/g, 흑마늘은 투석내액이 15.90 mg/g, 외액이 10.54 mg/g이었다. 이와같이 마늘 투석내·외액의 총 페놀 및 플라보노이드 함량차는 마늘의 갈변화가 진행되어짐에 따라 커지는 것으로 나타났다.

#### (4) Total pyruvate 및 thiosulfate의 함량

Total pyruvate 및 total thiosulfate의 함량은 Table 9와 같다. 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 total pyruvate 함량은 생마늘 투석내액이 2.09  $\mu\text{M/g}$ , 외액이 19.54  $\mu\text{M/g}$ 으로 외액은 내액에 비해 약 9.3배 정도 더 높았다. 홍마늘은 내액이 2.22  $\mu\text{M/g}$ , 외액이 24.18  $\mu\text{M/g}$ 로 약 11배 정도 높았으나, 흑마늘의 투석내액은 9.38  $\mu\text{M/g}$ , 외액은 11.14  $\mu\text{M/g}$ 으로 유의차가 없었다.

Table 9. Contents of total pyruvate and thiosulfate of water soluble browning compounds from garlic and its products after browning reaction

Garlics		Total pyruvate	Total thiosulfate
Fresh	Inner	2.09±0.06 <sup>A</sup>	1.48±0.02 <sup>A</sup>
	Extra	19.54±0.12 <sup>C</sup>	2.34±0.22 <sup>AB</sup>
Red	Inner	2.22±0.12 <sup>A</sup>	3.62±0.44 <sup>C</sup>
	Extra	24.18±2.72 <sup>D</sup>	3.29±0.16 <sup>BC</sup>
Black	Inner	9.38±0.18 <sup>B</sup>	13.56±1.26 <sup>E</sup>
	Extra	11.14±0.11 <sup>B</sup>	11.39±0.12 <sup>D</sup>

<sup>A-D</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

Total thiosulfate 함량은 생마늘 투석내액이 1.48  $\mu\text{M/g}$ , 외액이 2.34  $\mu\text{M/g}$ 으로 유의차가 적었는데, 홍마늘은 투석내액이 3.62  $\mu\text{M/g}$ , 외액이 3.29  $\mu\text{M/g}$ , 흑마늘은 투석내액이 2151.30  $\mu\text{M/g}$ , 외액은 1875.74  $\mu\text{M/g}$ 으로 생마늘 및 홍마늘은 투석외액에서 total thiosulfate 함량이 높았으나, 흑마늘은 상반된 경향이였다.

마늘 성분 중의 pyruvate 함량은 마늘의 향기나 매운맛과 관련이 있어 pyruvate 함량이 높을수록 마늘의 향과 매운 맛이 높은 것으로 Shin 등(1999)에 의해 알려져 있다.

마늘의 총 thiosulfate의 주요 성분은 allicin이며, allicin이 분해되어 생성되는 diallyl disulfide 및 dially sulfide가 대부분을 차지한다고 Yu 등(1989)이 보고한 바 있는데, 본 실험 결과 생마늘의 투석액에 비해 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 total pyruvate 및 thiosulfate의 함량이 높은 것은 allicin보다는 저급 황화합물의 생성이 증가하고, 수분이 감소됨에 따라 상대적인 고형분의 함량이 증가했기 때문이라고 추정된다.

### (5) 유기산의 함량

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석 내·외액의 유기산 함량을 분석하였다. 표준물질의 크로마토그램 및 홍마늘 외액의 유기산 분석 크로마토그램은 각각 Fig. 2 및 3과 같고, 정량 결과는 Table 10에 나타내었다.

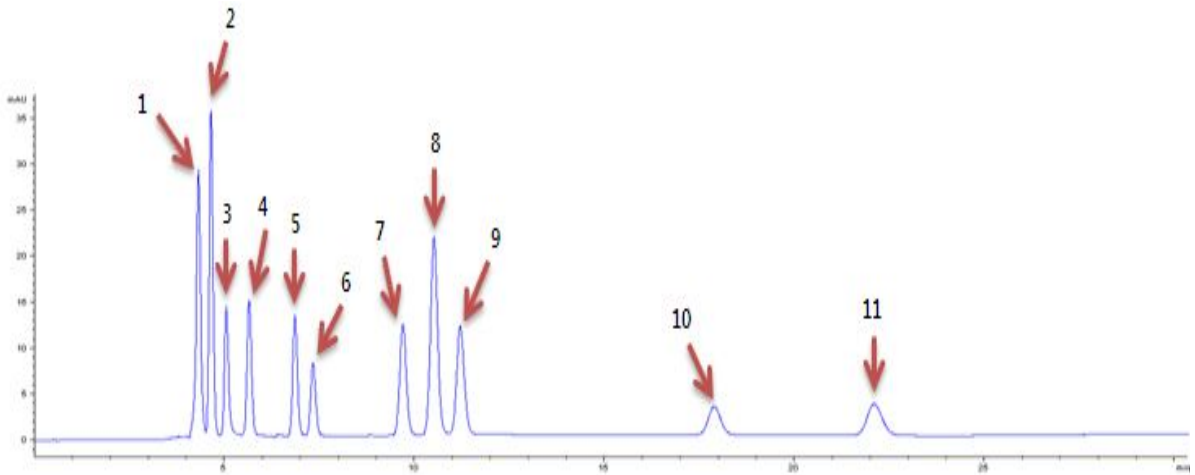


Fig. 2. HPLC chromatogram of standard organic acid.

- 1) Oxalic acid, 2) Tartaric acid, 3) Formic acid, 4) Malic acid, 5) Lactic acid, 6) Acetic acid, 7) Citric acid, 8) Fumaric acid, 9) Succinic acid, 10) Propionic acid, 11) Glutaric acid

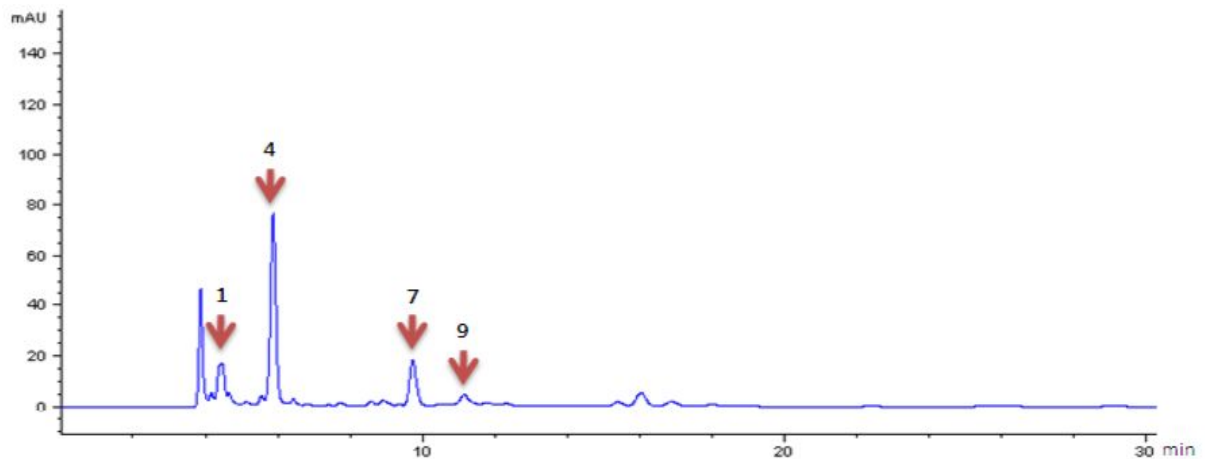


Fig. 3. HPLC chromatogram of organic acid from red garlic.

- 1) Oxalic acid, 4) Malic acid, 7) Citric acid, 9) Succinic acid

분석된 총 11종의 유기산 중 oxalic acid, malic acid, citric acid 및 succinic acid 4종만이 검출되었는데, 홍마늘 투석외액에서는 이들 4종이 모두 검출되었으나, 생마늘 및 흑마늘 투석외액에서는 succinic acid를 제외한 3종만이 검출되었고, 투석내액에서는 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 시료에서 모두 동일하게 oxalic acid만이 검출되었다. 모든 시료에서 검출된 oxalic acid 함량은 투석 내액에서  $3.92 \pm 0.06 \sim 6.52 \pm 0.17$  mg/100 g의 범위였으며, 투석 외액

에서는  $2.87\pm 0.15\sim 14.56\pm 0.12$  mg/100 g의 범위로 마늘의 종류에 따라 그 함량 패턴이 서로 상이하였다.

투석외액 중 유기산은 citric acid의 함량이 가장 높았는데 생마늘에서는  $38.01\pm 0.05$  mg/100 g, 흑마늘에서는  $73.06\pm 0.13$  mg/100 g이었으며, 홍마늘에서  $142.07\pm 0.09$  mg/100 g으로 가장 높은 함량이었다. 또, 상기 마늘 중의 유기산 함량 분석 결과와 유사한 경향으로 투석액에서도 succinic acid의 함량은 홍마늘에서 가장 높았다.

Table 10. Contents of organic acid in fresh, red and black garlic

Organic acid	Fresh garlic		Red garlic		Black garlic	
	Inner part	Outer part	Inner part	Outer part	Inner part	Outer part
Oxalic acid	$4.91\pm 0.04^c$	$9.13\pm 0.06^e$	$3.92\pm 0.06^b$	$2.87\pm 0.15^a$	$6.52\pm 0.17^d$	$14.56\pm 0.12^f$
Malic acid	-	$14.51\pm 0.13^a$	-	$18.14\pm 0.07^b$	-	$15.32\pm 0.06^c$
Citric acid	-	$38.01\pm 0.05^a$	-	$142.07\pm 0.09^d$	-	$73.06\pm 0.13^b$
Succinic acid	-	-	-	$78.13\pm 0.08^c$	-	-

Values are mean $\pm$ SD ( $n=3$ ).

Values in a row sharing the same superscript letter are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

### (6) DPPH 라디칼 소거능

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Table 11과 같다. 투석액의 농도를 250, 500, 1000 및 2000  $\mu\text{g/mL}$ 로 달리하였을 때 마늘 투석액의 DPPH 라디칼 소거능은 시료액의 농도가 증가됨에 따라 유의적으로 상승하였다. 생마늘 투석액은 내액에서 23.65~44.84%였으며, 외액은 23.45~29.52%로 투석내액의 소거능이 유의적으로 높았다. 홍마늘은 투석내액에서 24.38~45.73%의 범위였으며, 외액은 27.73~58.14%로 내액 및 외에서 250~1000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서는 유의차가 없었으나, 2000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 외액이 내액에 비해 유의적으로 높은 경향이였다. 흑마늘은 250  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 41.55%였으며, 500  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 50%이상이었으며, 2000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서는 90.60%의 소거능을 보였다. 외액은 250  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 28.00%였으며, 1000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 50%이상이었으며, 2000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서는 65.01%였다.

Kim 등(1981)은 백삼과 홍삼 70% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 백삼 추출물은 소거능이 거의 없었으나 갈변화된 홍삼 추출물은 BHT와 유사한 정도로 강한 수소공여효과를 나타낸다고 보고한 바 있는데, 이는 본 실험의 결과와 유사한 경향이였다. 또한 마늘을 130 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 동안 열처리한 다음 추출한 향기성분의 DPPH에 대한 라

디칼 소거능은 열처리한 마늘이 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 영향이라고 한 보고(Jeong 등, 2007)도 있다. 따라서, 생마늘 및 흑마늘 투석액이 생마늘에 비해 DPPH 라디칼 소거능이 뛰어난 것도 갈변반응 동안 새로이 생성된 물질에 기인하는 바가 크며, 이 또한 분자량이 큰 갈변물질의 영향이 더 클 것으로 사료된다.

Table 11. DPPH radical scavenging ability of water soluble browning compounds from garlic and its products after browning reaction

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

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>A-E</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

### (7) 환원력

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 환원력을 측정한 결과는 Table 12와 같다. 시료의 환원력은 700 nm에서 흡광도 값으로 나타내었으며, 시료의 농도가 증가됨에 따라 환원력은 유의적으로 상승되었다. 생마늘 투석내액의 흡광도는 0.143~0.160의 범위였으며, 외액은 0.146~0.197의 범위로 외액의 환원력이 다소 높았다. 홍마늘도 투석내액이 0.137~0.165, 외액이 0.147~0.212의 흡광도 범위로 생마늘과 마찬가지로 외액의 환원력이 높았다. 반면에 흑마늘은 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 투석내·외액의 유의차가 없었는데, 농도가 증가됨에 따라 투석내액의 환원력이 유의적으로 증가되었다.

본 실험은 갈변반응 동안 Maillard 반응물질의 환원력이 기질 내 hydroxyl기와 수소원자를 공여함으로써 라디칼 반응을 제어할 수 있는 환원 물질에 기인한다는 Lertittikul 등 (2007)의 보고를 바탕으로하여 가열 숙성되어 갈변화 된 흑마늘의 투석 내·외액과 생마늘의 투석 내·외액의 성분차이가 있을 것으로 예상되었다. 즉, 흑마늘은 50~90 $^{\circ}\text{C}$ 의 고온에서 장시간 저장하면서 제조되어 마늘 전체가 갈변화되므로 갈색화 반응은 주로 amino-carbonyl

반응에 의한 것으로, 흑마늘이 됨에 따라 새로이 생성된 갈변물질에 의하여 항산화 활성이 생마늘에 비하여 더 높게 나타나는 것으로 판단된다고 Shin 등(2008)에 보고된 바 있다.

Table 12. Reducing power of water soluble browning compounds from garlic and its products after browning reaction

(O.D. value)

Garlics		Sample concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			
		250	500	1000	2000
Fresh	Inner	0.143 $\pm$ 0.002 <sup>aB</sup>	0.135 $\pm$ 0.001 <sup>bA</sup>	0.160 $\pm$ 0.004 <sup>cA</sup>	0.160 $\pm$ 0.004 <sup>cA</sup>
	Extra	0.146 $\pm$ 0.002 <sup>aC</sup>	0.152 $\pm$ 0.001 <sup>bC</sup>	0.190 $\pm$ 0.001 <sup>cB</sup>	0.197 $\pm$ 0.001 <sup>dB</sup>
Red	Inner	0.137 $\pm$ 0.001 <sup>aA</sup>	0.143 $\pm$ 0.000 <sup>bB</sup>	0.161 $\pm$ 0.000 <sup>cA</sup>	0.165 $\pm$ 0.000 <sup>dA</sup>
	Extra	0.147 $\pm$ 0.00 <sup>aC</sup>	0.157 $\pm$ 0.000 <sup>bD</sup>	0.201 $\pm$ 0.000 <sup>cC</sup>	0.212 $\pm$ 0.000 <sup>dC</sup>
Black	Inner	0.173 $\pm$ 0.001 <sup>aD</sup>	0.220 $\pm$ 0.001 <sup>bF</sup>	0.298 $\pm$ 0.001 <sup>cE</sup>	0.458 $\pm$ 0.006 <sup>dE</sup>
	Extra	0.175 $\pm$ 0.001 <sup>aD</sup>	0.198 $\pm$ 0.002 <sup>bE</sup>	0.259 $\pm$ 0.002 <sup>cD</sup>	0.372 $\pm$ 0.005 <sup>dD</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>A-F</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

### (8) ABTs 라디칼 소거능

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 ABTs 라디칼 소거능을 측정 한 결과는 Table 13에 나타내었다.

Table 13. ABTs radical scavenging ability of water soluble browning compounds from garlic and its products after browning reaction

(%)

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

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>A-D</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

반응기질에 시료의 첨가농도가 높아질수록 라디칼 소거능은 유의적으로 상승되었다. 생마늘 투석내액의 흡광도는 7.37~15.38%의 범위였으며, 외액은 9.33~22.63%의 범위로 투석내액에 비해 외액이 유의적으로 소거능이 높았다. 홍마늘은 투석내액에서 14.45~30.66%였으며, 외액은 16.23~53.33%의 범위로 외액의 소거능이 내액에 비해 유의적으로 높았는데, 특히, 2000 µg/mL 농도에서 홍마늘 투석외액은 50% 이상의 소거능을 보였으며, 생마늘에 비해서도 ABTs 라디칼 소거능이 유의적으로 높았다. 흑마늘은 투석내액이 14.15~49.17%였으며, 외액은 10.74~40.46%로 생마늘 및 홍마늘에 비해 투석외액의 소거능이 다소 낮았다.

### (9) NO 라디칼 소거능

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 NO 라디칼 소거능을 측정한 결과는 다음 Table 14와 같다. 시료의 첨가량이 증가됨에 따라 NO 라디칼 소거능은 유의적으로 상승되는 경향이 있었다. 생마늘 투석내액은 3.68~19.77%였으며, 외액은 2.34~13.50%로 내액의 소거능이 더 높았다. 홍마늘 투석내액은 10.14~21.53%였으며, 외액은 6.51~24.60%로 내액의 활성이 더 높았는데, 2000 µg/mL 농도에서는 투석내·외액간에 유의차가 적었다. 흑마늘도 생마늘 및 홍마늘과 마찬가지로 경향으로 투석내액에서 4.98~47.69%, 외액에서 3.25~27.53%로 내액에서 NO 라디칼 소거능이 유의적으로 높았다. 따라서 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘의 투석내액은 외액보다 NO 라디칼 소거능이 높았는데, 투석내액의 분자량이 큰 것을 고려해 볼 때 시료의 항산화 활성이 물질의 분자량과도 관련성이 높을 것으로 사료된다.

Table 14. Nitric oxide scavenging ability of water soluble browning compounds from garlic and its products after browning reaction

Garlics		Sample concentration (µg/mL)			
		250	500	1000	2000
Fresh	Inner	3.68±0.71 <sup>aAB</sup>	4.59±2.02 <sup>aAB</sup>	16.34±0.59 <sup>bb</sup>	19.77±1.05 <sup>cb</sup>
	Extra	2.34±0.52 <sup>aA</sup>	2.90±0.19 <sup>aA</sup>	8.88±0.83 <sup>ba</sup>	13.50±2.17 <sup>cA</sup>
Red	Inner	10.14±0.22 <sup>aD</sup>	11.87±1.55 <sup>bc</sup>	19.04±1.58 <sup>cb</sup>	21.53±0.97 <sup>dBC</sup>
	Extra	6.51±0.77 <sup>aC</sup>	10.22±0.94 <sup>aC</sup>	16.63±5.81 <sup>cb</sup>	23.60±0.95 <sup>dC</sup>
Black	Inner	4.98±0.87 <sup>aB</sup>	11.84±0.98 <sup>bc</sup>	25.06±1.74 <sup>cC</sup>	47.59±0.20 <sup>dE</sup>
	Extra	3.25±0.80 <sup>aA</sup>	6.32±0.77 <sup>ab</sup>	15.47±2.19 <sup>bb</sup>	27.53±2.21 <sup>cd</sup>

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

<sup>A-D</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

### (10) Tyrosinase 저해 활성

마늘 투석액의 tyrosinase 저해활성을 측정한 결과는 Table 15와 같다. 시료의 농도가 증가됨에 따라 활성이 유의적으로 증가되었는데, 홍마늘 투석내액은 250~2000 µg/mL 농도에서 시료량에 따른 유의차가 없었다. 생마늘 투석내액은 17.06~28.52%였으며, 외액은 16.48~24.33%로 내·외액간에 유의차가 적었다. 홍마늘 및 흑마늘도 생마늘과 같은 경향이 었다.

Table 15. Tyrosinase inhibitory activity of water soluble browning compounds from garlic and its products after browning reaction

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

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

<sup>A-D</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

### (11) α-Glucosidase 저해 활성

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석액의 해당효 활성을 *in vitro*에서 측정한 결과는 Table 16과 같다. 시료의 첨가 농도가 높을수록 마늘의 투석액의 α-glucosidase 저해활성은 유의적으로 증가되었다. 생마늘 투석내액은 250~2000 µg/mL농도 범위에서 8.56~21.23%였으며, 외액은 6.05~18.92%로 내액의 활성이 다소 높았다. 홍마늘은 투석내액이 7.05~21.54%, 외액이 12.12~15.69%로 2000 µg/mL 농도에서 내액이 외액에 비해 높은 활성을 보였다. 흑마늘은 투석내·외간에 유의차가 적었으나, 이 또한 2000 µg/mL의 농도에서는 내액의 활성이 더 높았다.

Table 16. α-Glucosidase inhibitory activity of water soluble browning compounds from garlic and its products after browning reaction

(%)

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

<sup>a-d</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

<sup>A-D</sup>Means with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

## 2) 홍마늘 중 함황화합물의 분석조건 확립

### (1) UV Scanning

홍마늘 추출용매별 시료의 UV scanning 결과는 Fig. 4와 같다. Hexane, chloroform, ethyl acetate와 methanol을 추출한 시료는 200~250 nm에서 가장 큰 흡광도 값을 가졌으며, 300~400 nm에서는 흡광도 값을 나타내지 않았으나, acetone, 50% methanol 및 water 추출 시료에서는 350 nm 이상에서 점진적으로 흡광도 값이 낮아짐을 확인 할 수 있었다.

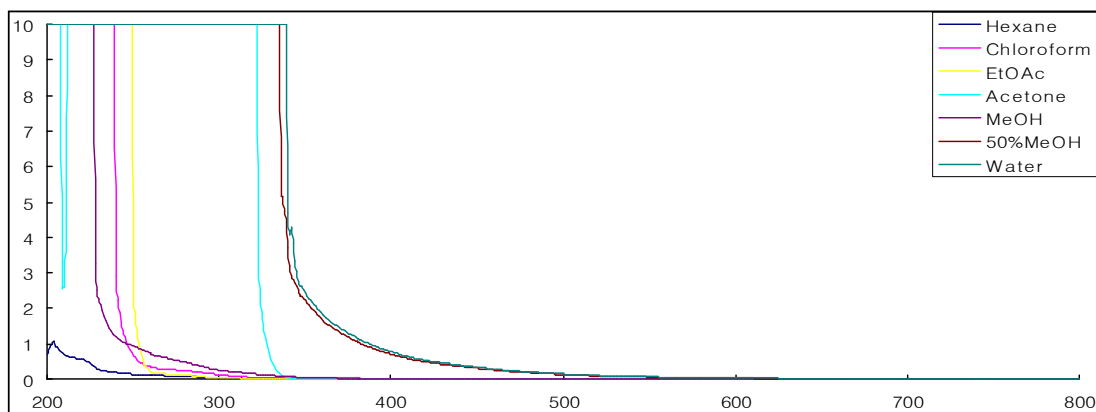


Fig. 4. UV-Scanning chromatogram of red garlic extracts made from different solvent.

용매 분획물의 UV scanning 결과는 Fig. 5와 같다. Hexane, chloroform과 ethylacetate 분획물의 흡광도 파장대를 분석한 결과 280 nm 부근에서 특이적으로 흡광도가 높아지는 것을 확인하였고 그 이후 일괄적으로 흡광도 값이 높아지는 것을 확인하였다. 전체적으로



300~350 nm 부근에서 1~2정도의 값을 가지다 250 nm 부근에서 10이상의 높은 값을 가지는 것을 확인 하였다.

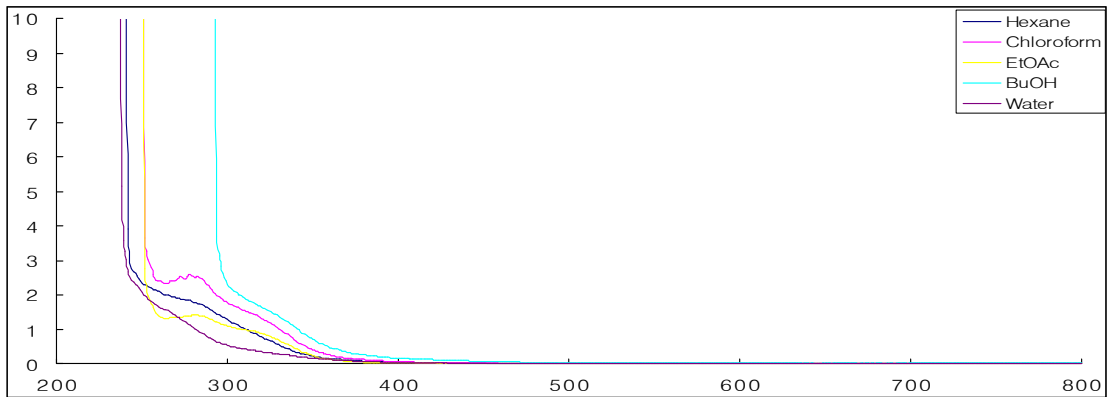


Fig. 5. UV-Scanning chromatogram of red garlic fractions made from different solvent.

## (2) 분석조건 확립을 위한 sulfide 화합물 표준품의 분석결과

각각의 표준품을 62.5, 125, 250, 50 및 1000  $\mu\text{g/g}$  농도로 제조하고 UV 파장 210, 254, 280 및 320 nm에서 HPLC로 분석하여 최적의 분석 조건을 확립하고자 하였다. 각각의 표준 물질에 대한 분석결과 및 검량곡선은 Fig. 6~14와 같다.

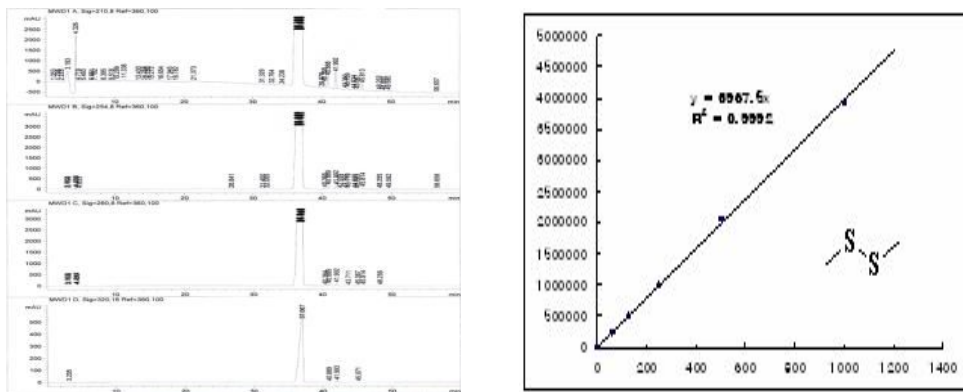


Fig. 6. HPLC chromatogram and calculation curve of DMS.

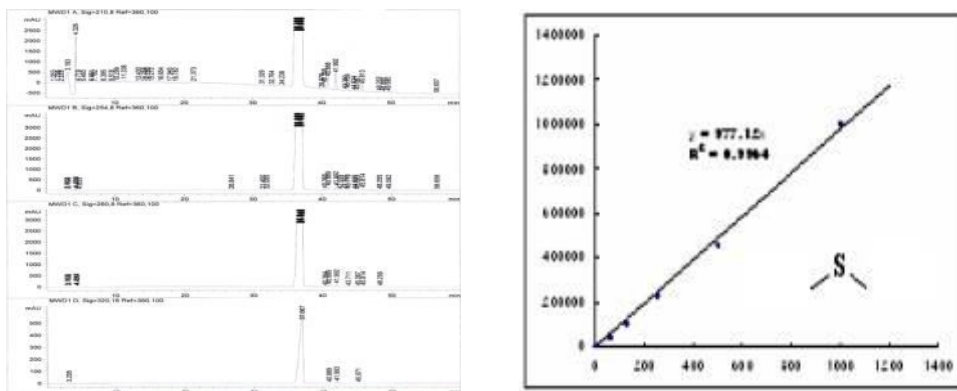


Fig. 7. HPLC chromatogram and calculation curve of DMS.

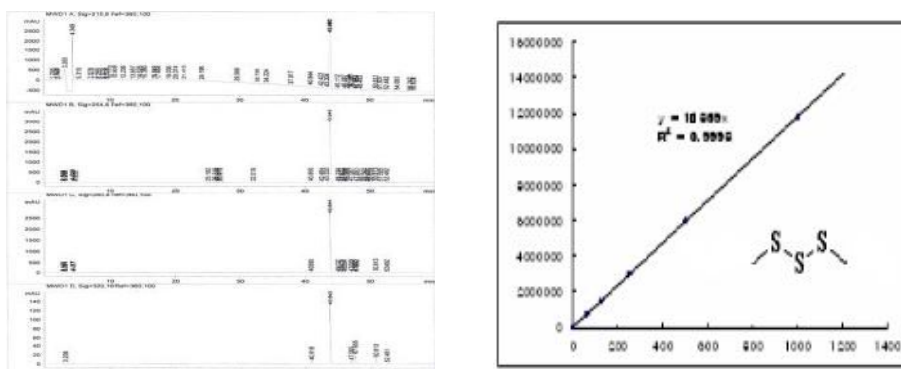


Fig. 8. HPLC chromatogram and calculation curve of DEDS.

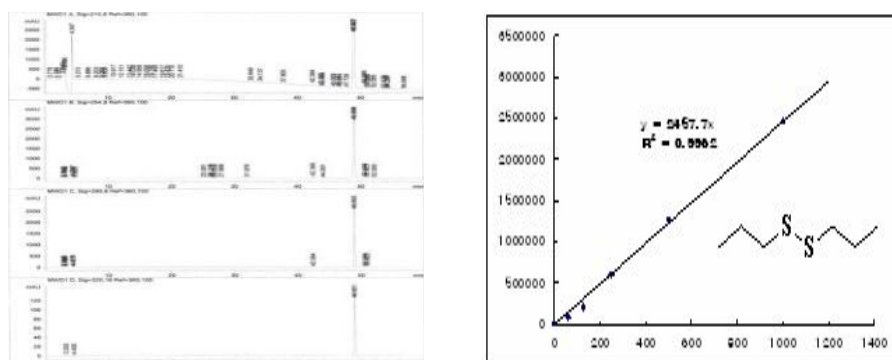


Fig. 9. HPLC chromatogram and calculation curve of DPDS.

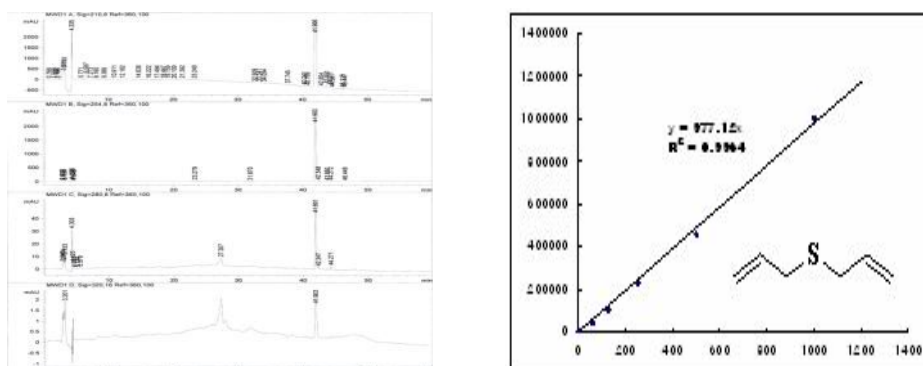


Fig. 10. HPLC chromatogram and calculation curve of DAS.

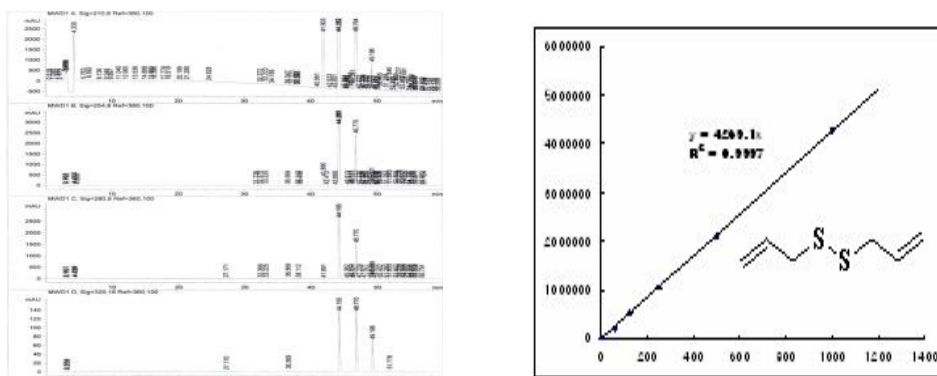


Fig. 11. HPLC chromatogram and calculation curve of DADS.



Table 17. Results of 12 kinds compounds

Standard compounds	Retention time	Standard compounds	Retention time
DPDS(11)	48.85 min	DMS(2)	17.25 min
DATS(10)	46.78 min	Alliin(1)	2.68 min
DEDS(7)	43.84 min	DES(5)	37.60 min
DPS(9)	45.63 min	DADS(8)	44.19 min
Allicin(3)	24.38 min	DAS(6)	41.90 min
DMTS(12)	41.97 min	DMS(4)	37.06 min

### (3) 추출용매별 HPLC 분석

Hexane 추출물을 각각의 활성 지표물질을 분석한 결과(Fig. 15) DATS와 DPDS의 retention time과 동일한 시간에서 peak를 확인 할 수 있었다. 그 외 254 nm에서 27.93, 32.67, 42.84분에 다른 물질의 peak를 확인 할 수 있었다.

Chloroform 추출물을 210 nm의 파장에서 HPLC로 분석한 결과 머무름시간 35~39분대에 아주 큰 peak를 확인 할 수 있었다. 그 외 254 nm에서 26.05, 27.70, 31.86, 35.86 및 42.84분에서 다른 물질의 peak를 확인 할 수 있었다(Fig. 16)

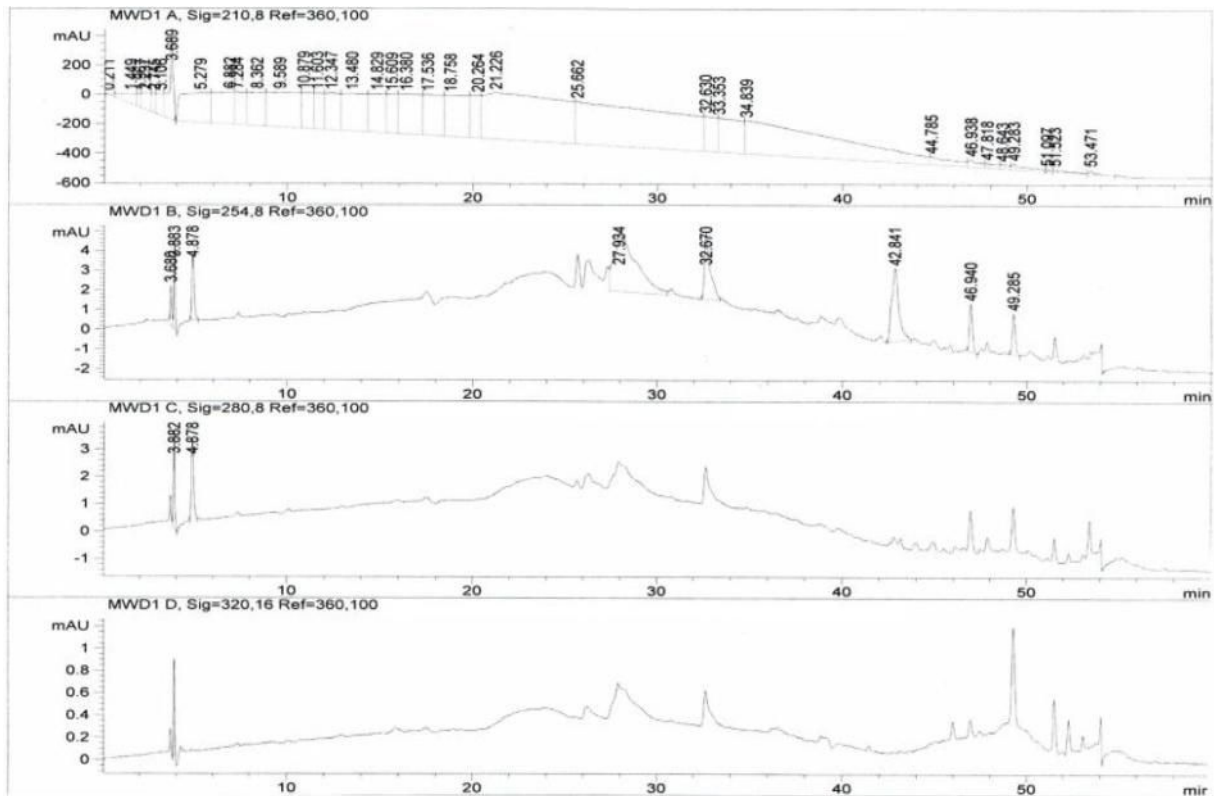


Fig. 15. HPLC chromatogram of hexane extract made from red garlic.

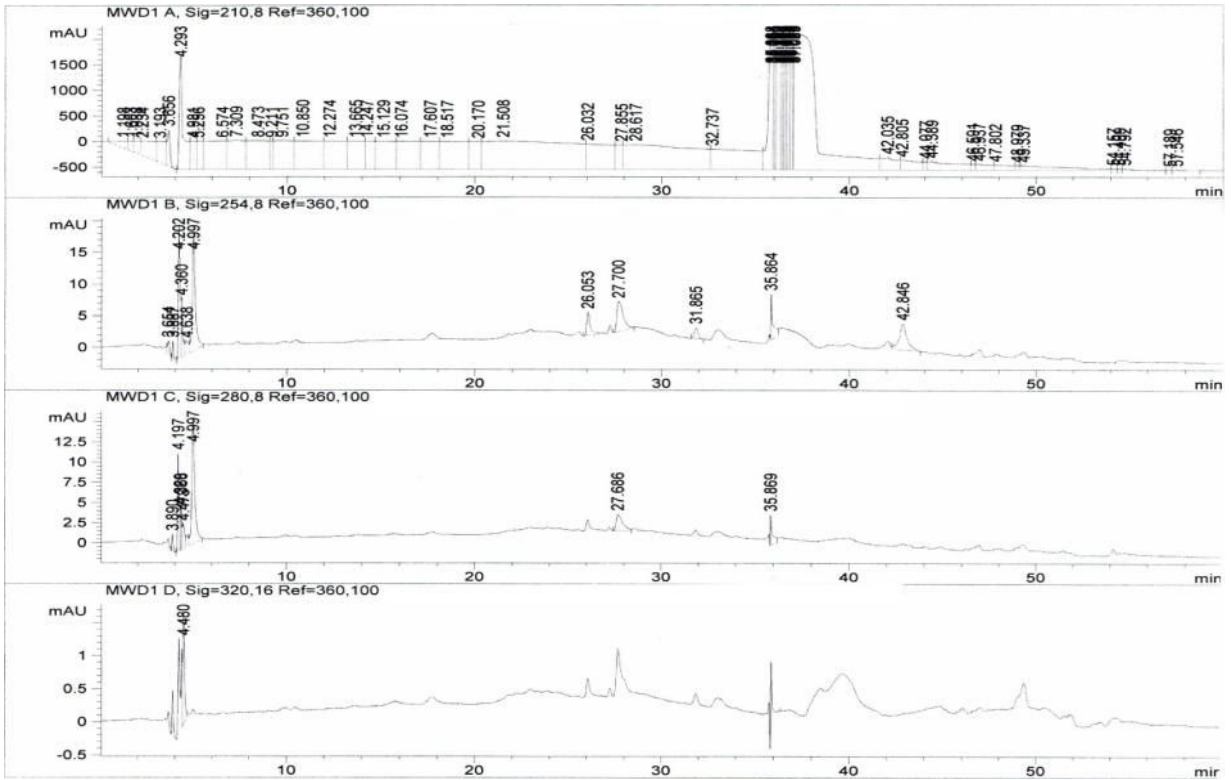


Fig. 16. HPLC chromatogram of chloroform extract made from red garlic.

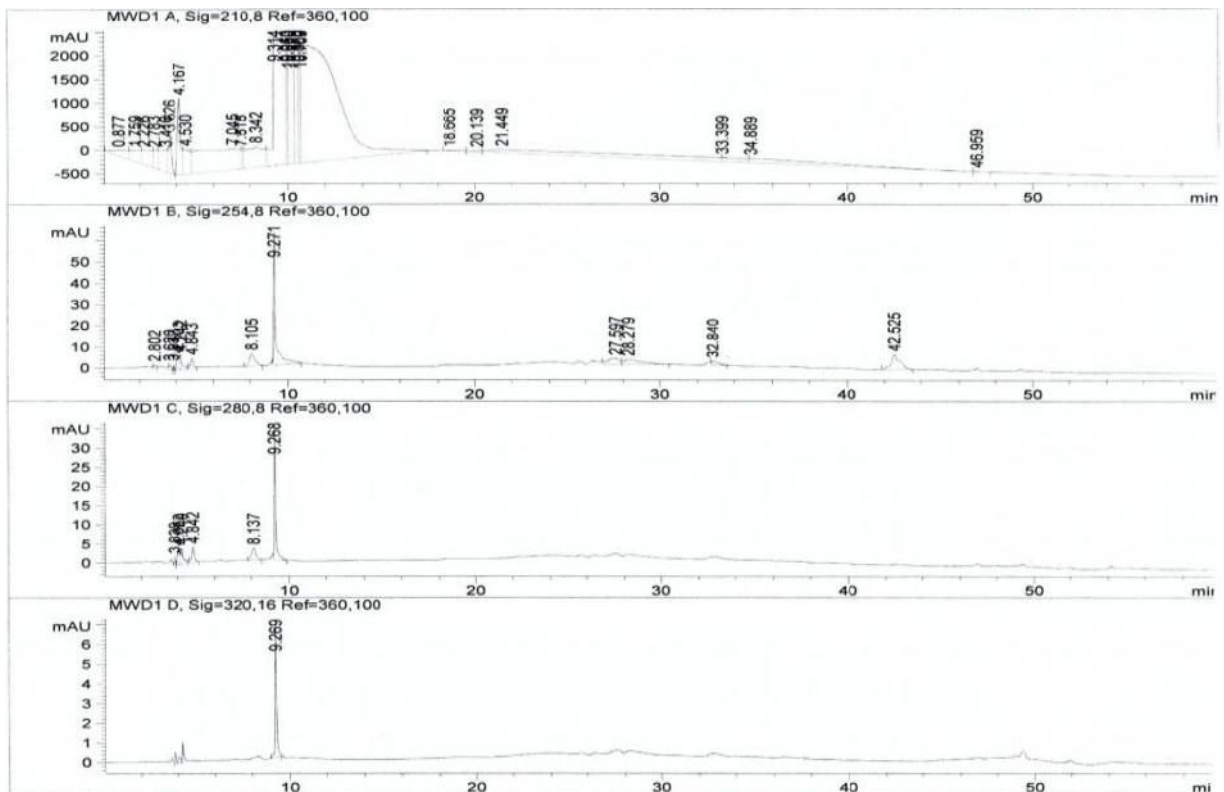


Fig. 17. HPLC chromatogram of ethyl acetate extract made from red garlic.

Ethyl acetate 추출물에서는(Fig. 17) 210 nm에서 분석하였을 때 머무름시간 9~14분대에 아주 큰 peak를 확인 할 수 있었다. 그 외 254, 280 및 320 nm에서 8.10과 9.27분에 다른

물질의 peak을 확인 할 수 있었다. 그리고 hexane과 chloroform이 동일하게 254 nm에서 27.59, 32.84 및 42.52분에 공통적인 peak을 확인할 수 있었다. Acetone 추출물에서는 모든 파장대에서 머무름시간 3.26 및 4.29분에 peak를 확인 할 수 있었다(Fig. 18).

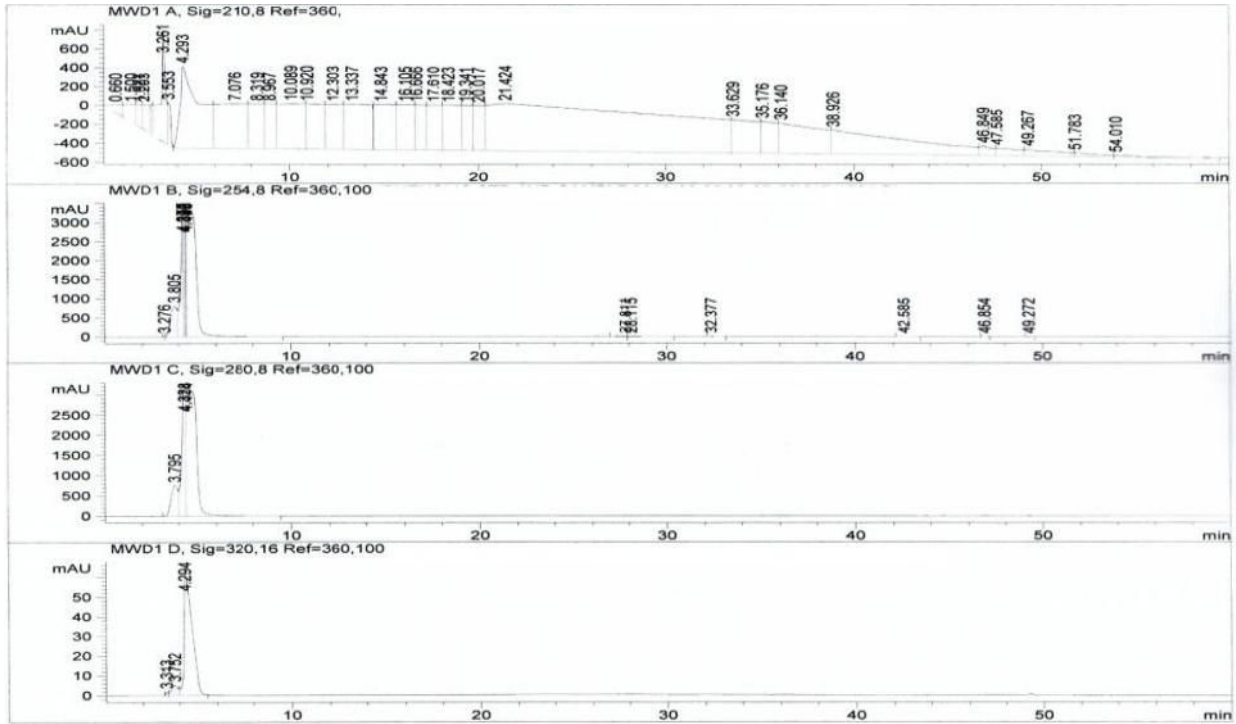


Fig. 18. HPLC chromatogram of acetone extract made from red garlic.

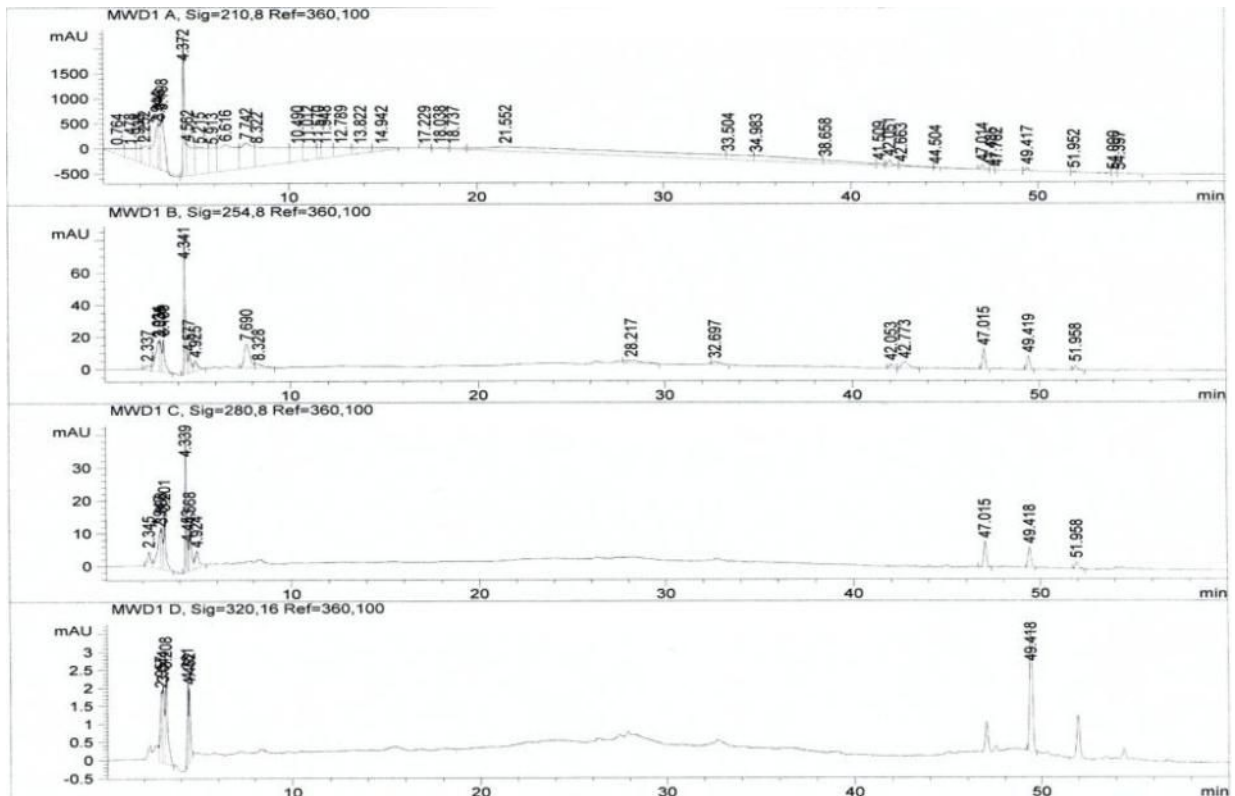
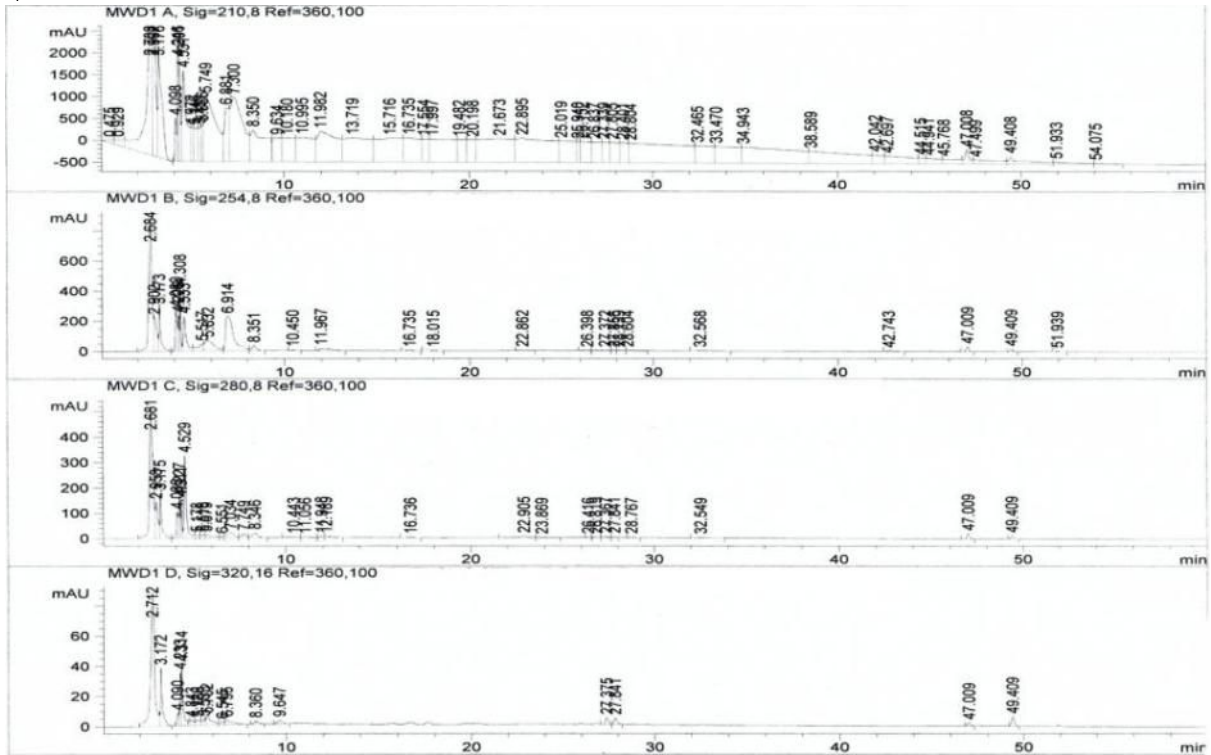


Fig. 19. HPLC chromatogram of methanol extract made from red garlic.

Methanol 추출물에서는 머무름시간 2~7분대, 47.02, 49.42 및 51.96분에 함황화합물의 peak를 확인 할 수 있었다(Fig. 19).

(A)



(B)

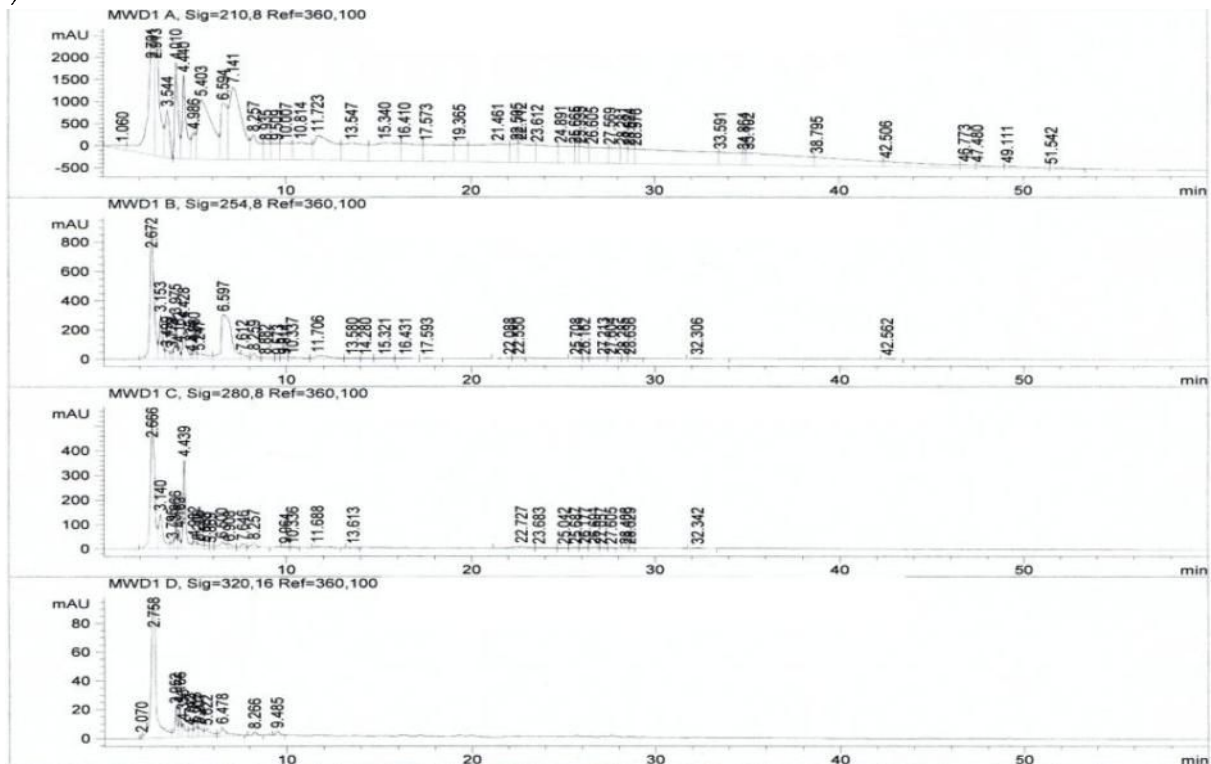


Fig. 20. HPLC chromatogram of 50% methanol(A) and water(B) extract made from red garlic.

50% methanol과 water 추출물에서 각각의 활성 지표물질을 분석한 결과를 이용하여 정성·정량분석한 결과는 각각 Fig. 20 (A) 및 (B)와 같다. UV 값이 낮은 210 nm에서 가장 많은 양의 화합물이 검출됨을 확인할 수 있었으며, alliin peak는 2.68분 정도에서 검출되었다. Allicin은 210 nm에서 뿐만 아니라 254, 280 및 320 nm에서도 약하게 peak이 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

추출용매를 달리하여 추출한 후 홍마늘의 함황화합물을 HPLC 분석한 결과 hexane과 같이 낮은 용매 추출물에서는 극성이 낮은 함황화합물 및 그 외 비극성 화합물이 검출되었고 methanol나 water와 같이 극성이 큰 용매에서는 alliin이나 혹은 배당체를 중심으로 한 극성이 높은 화합물이 분석되는 것을 확인할 수 있었다.

#### (4) 용매분획물의 HPLC 분석

홍마늘 methanol 추출물로부터 hexane, chloroform, ethylacetate 및 buthanol을 순차적으로 가하여 용매별 fraction을 분리하고 최종 fraction을 water fraction으로 하여 HPLC 주입을 통해 활성 지표물질을 분석한 결과는 Fig. 21 및 22와 같다.

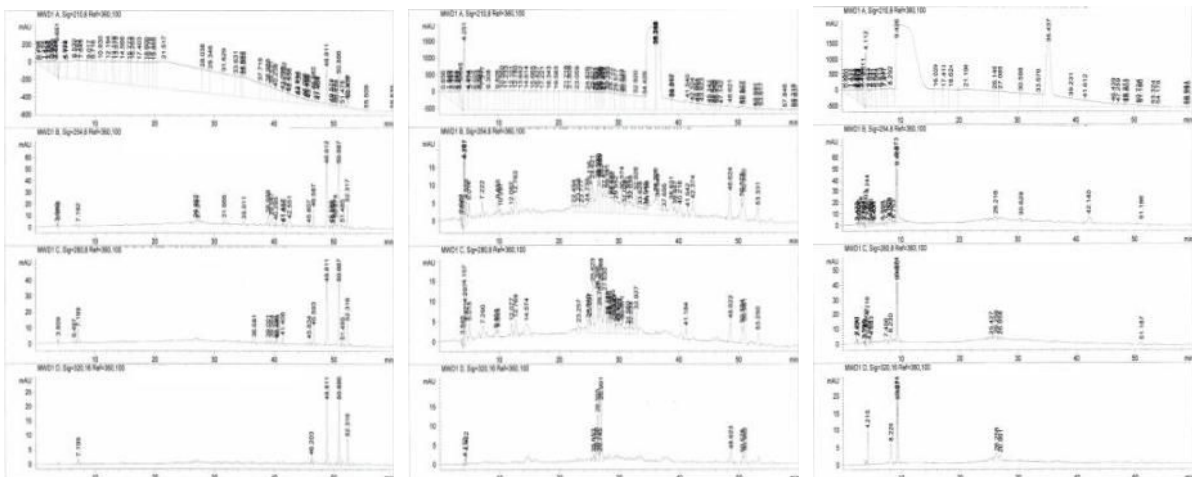


Fig. 21. HPLC chromatogram of hexane, CHCl<sub>3</sub> and EtOAc fraction made from red garlic.

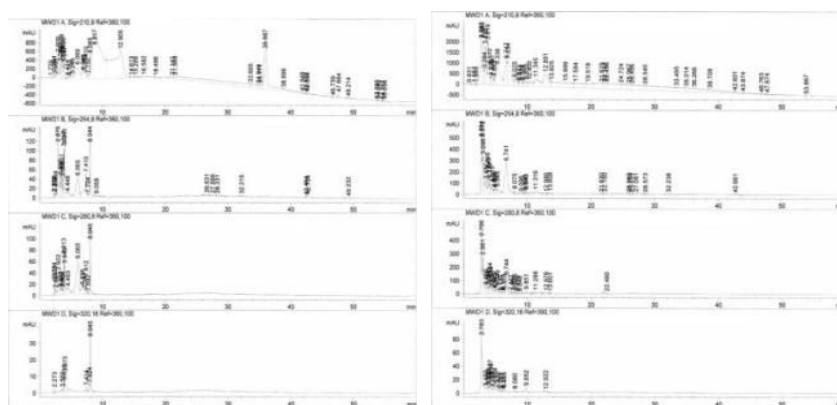


Fig. 22. HPLC chromatogram of BuOH and water fraction made from red garlic.



Hexane, chloroform 및 ethylacetate fraction에서는 DPS, DATS와 DPDS가 검출됨을 확인할 수 있었으나 그 함량은 1 ppm 정도의 미량이었으므로 별도의 data는 제시하지 않았다.

Bnthanol과 water fraction의 분석 결과 alliin이 검출됨을 확인할 수 있었으며 그 외 모든 분석조건에서 극성이 높은 화합물들의 peak을 확인 할 수 있었는데, 그 함량이 미량이므로 홍마늘의 지표물질 선정을 위해서는 좀 더 연구가 진행되어야 할 것으로 판단된다.

홍마늘 중의 함량 화합물 분석을 위해서는 극성 용매 보다는 비극성 용매를 이용하여 함량화합물을 분리한 후 UV 파장 210 또는 280 nm에서 분석함이 가장 적절할 것으로 확인되었다.

### 3) 홍마늘의 제조과정 중 이화학적 품질특성의 변화

기존의 생마늘 및 흑마늘과 차별화 되는 홍마늘의 품질특성 규명을 위하여 제조 공정상의 각 단계에서 얻은 홍마늘 및 생마늘과 흑마늘의 이화학적 특성과 생리활성을 비교·분석하였다.

#### (1) 색도의 변화

생마늘, 숙성단계별 홍마늘 및 흑마늘을 마늘 중심단면을 기준으로 절단한 뒤 외부와 내부로 나누고 색도를 분석한 결과는 각각 Table 18 및 19와 같다.

Table 18. Hunt color value of outer part from fresh, red(processing step 1-4) and black garlic

Condition	Hunt color value			
	L*	a*	b*	
Fresh garlic	79.84±3.36e	-1.63±0.32 <sup>a</sup>	23.25±1.69 <sup>bc</sup>	
Red garlic	Step 1	65.94±3.43 <sup>d</sup>	0.85±0.46 <sup>b</sup>	23.12±1.99 <sup>bc</sup>
	Step 2	55.95±2.80 <sup>c</sup>	10.09±0.50 <sup>c</sup>	28.55±3.30 <sup>d</sup>
	Step 3	55.56±2.28 <sup>c</sup>	9.14±0.68 <sup>c</sup>	25.51±2.23 <sup>cd</sup>
	Step 4	41.58±0.71 <sup>b</sup>	16.90±1.53 <sup>d</sup>	20.87±4.18 <sup>b</sup>
Black garlic	23.04±1.29 <sup>a</sup>	1.18±0.44 <sup>b</sup>	1.02±0.60 <sup>a</sup>	

Refer to the Table 3.

Values are mean±SD (n=3).

Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

마늘 겉면의 명도(L\*)는 생마늘은 79.84±3.36였으나 홍마늘은 숙성기간이 증가됨에 따라 유의적으로 감소하여 최종 단계에서(Step 4)는 생마늘에 비해 약 48% 감소하였으며, 흑마늘은 생마늘에 비해 71% 더 낮았다.

적색도(a\*)는 생마늘의 경우 붉은색보다는 약한 녹색도가 측정된  $-1.63 \pm 0.32$ 인 반면 홍마늘은  $0.85 \pm 0.46 \sim 16.90 \pm 1.53$ 의 범위로 숙성 단계를 거치면서 점차 증가하여 Step 4에서 가장 진한 적색을 띠었다. 흑마늘의 적색도는  $1.18 \pm 0.44$ 로 생마늘 보다는 높았으나 홍마늘 보다는 확연히 낮아 홍마늘과는 뚜렷한 차별성이 있었다.

황색도(b\*)는 적색도와 상반된 결과를 보였는데, 생마늘( $23.25 \pm 1.69$ )에 비해 동결 처리된 step 1의 홍마늘은 유의차가 없었고 step 2에서  $28.55 \pm 3.30$ 로 다소 증가하였다가 이후부터는 유의적으로 감소하여 step 4에서는  $20.87 \pm 4.18$ 로 생마늘에 비해 10.2%나 낮았다. 흑마늘은  $1.02 \pm 0.60$ 로 전 실험군 중 가장 낮았다.

마늘 내부 색도(Table 19) 역시 외부색의 변화와 유사한 경향이었고 생마늘에 비해 홍마늘이 숙성단계를 거치면서 명도는 감소하고 적색도 및 황색도는 증가하였다. 홍마늘의 내부의 명도는 숙성단계가 진행될수록 낮아지는 경향이었으며, step 4에서 적색도는 외부보다 내부가  $10.67 \pm 0.95$ 으로 낮게 측정되었고, 황색도는 홍마늘 숙성 전 단계에서  $29.81 \pm 10.16 \sim 32.47 \pm 2.07$ 의 범위로 외부 색보다 높았다.

Table 19. Hunt color value of inner part from fresh, red(processing step 1-4) and black garlic

Condition	Hunt color value		
	L*	a*	b*
Fresh garlic	$83.77 \pm 1.50$	$-2.72 \pm 0.70^a$	$19.02 \pm 3.00^b$
Red garlic	Step 1	$67.53 \pm 3.30$	$0.79 \pm 0.52^b$
	Step 2	$64.42 \pm 4.91$	$6.97 \pm 0.75^c$
	Step 3	$60.78 \pm 5.84$	$9.53 \pm 0.79^d$
	Step 4	$62.21 \pm 3.81$	$10.67 \pm 0.95^e$
Black garlic	$23.61 \pm 0.49$	$1.23 \pm 0.51^b$	$0.54 \pm 0.54^a$

Refer to the Table 3.

Values are mean $\pm$ SD ( $n=3$ ).

Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

## (2) 조직감의 변화

생마늘, 흑마늘 및 숙성기간별 홍마늘의 조직감의 변화를 분석한 결과는 Table 20과 같다.

생마늘의 경도가  $752.73 \pm 50.69$  cm/kg<sup>2</sup>으로 가장 높았고, 흑마늘이  $109.43 \pm 8.73$  cm/kg<sup>2</sup>으로 가장 낮은 반면 홍마늘은 숙성단계가 진행됨에 따라 경도는 점차 단단해지는 경향이 있었다. Step 1에서는 냉동처리에 의해 마늘의 경도는 생마늘에 비해 40.9%나 감소하였고, step 2에서 고온 숙성시  $430.10 \pm 131.54$  cm/kg<sup>2</sup>으로 미미한 감소를 보였으나 유의차는 없었다. 그 이후 경도는 점차 증가하여 step 4는  $711.60 \pm 75.19$  cm/kg<sup>2</sup>으로 실험군 중 가장 단단하였다.

이는 여러 차례에 걸친 홍마늘 제조공정 개발의 결과 수분의 함량이 높으면 선홍색의 붉은 색을 유지하기가 어려워 제조 공정에서 수분을 상당량 제거함에 따라 홍마늘로 숙성되면서 점차 마늘이 건조되고 이에 따라 상대적인 수분 감소로 경도가 높아진 결과로 판단된다.

Table 20. Share force value of fresh, red(processing step 1-4) and black garlic

		(cm/kg <sup>2</sup> )
Condition		Share force
Fresh garlic		752.73±50.69 <sup>c</sup>
Red garlic	Step 1	444.83±40.49 <sup>b</sup>
	Step 2	430.10±131.54 <sup>b</sup>
	Step 3	509.03±70.08 <sup>b</sup>
	Step 4	711.60±75.19 <sup>c</sup>
Black garlic		109.43±8.73 <sup>a</sup>

Refer to the Table 3.

Values are mean±SD (*n*=3).

Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at *p*<0.05 by Duncan's multiple range test.

### (3) 일반성분의 함량

홍마늘의 제조 단계별 수분, 조지방, 조단백 및 회분 함량 변화를 생마늘 및 흑마늘과 비교한 결과는 Table 21에 나타내었다.

Table 21. General composition of fresh, red(processing step 1-4) and black garlic

					(g/100 g)
Condition	Moisture	Crude lipid	Crude protein	Ash	
Fresh garlic	62.63±2.15 <sup>f</sup>	2.37±0.66 <sup>a</sup>	6.08±0.13 <sup>b</sup>	1.32±0.49 <sup>a</sup>	
Red garlic	Step 1	60.17±0.52 <sup>e</sup>	2.40±0.35 <sup>a</sup>	5.96±0.07 <sup>b</sup>	1.80±0.09 <sup>ab</sup>
	Step 2	46.12±0.08 <sup>c</sup>	2.42±0.47 <sup>a</sup>	6.40±0.01 <sup>c</sup>	2.43±0.24 <sup>ab</sup>
	Step 3	42.17±0.83 <sup>b</sup>	2.53±0.19 <sup>a</sup>	6.45±0.28 <sup>c</sup>	2.20±0.94 <sup>ab</sup>
	Step 4	12.52±1.52 <sup>a</sup>	2.83±0.28 <sup>b</sup>	9.98±0.00 <sup>d</sup>	2.98±0.82 <sup>b</sup>
Black garlic	53.42±0.62 <sup>d</sup>	4.33±0.38 <sup>c</sup>	4.97±0.00 <sup>a</sup>	1.78±0.02 <sup>ab</sup>	

Refer to the Table 3.

Values are mean±SD (*n*=3).

Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at *p*<0.05 by Duncan's multiple range test.

수분 함량은 생마늘이  $62.63 \pm 2.15$  g/100 g으로 가장 높았고 홍마늘은 숙성 단계가 진행됨에 따라 급격히 감소하여 step 4의 시료는 생마늘에 비해 80%나 낮아  $12.52 \pm 1.52$  g/100 g이었고, 흑마늘은  $53.42 \pm 0.62$  g/100 g으로 생마늘의 수분 함량과 유사한 범위였다. 홍마늘 숙성 중의 step 1은 생마늘을 냉동 처리한 시료로 생마늘의 수분 함량과 유의차는 없었고, step 2와 step 3는 밀폐형 용기를 사용함에 따라 수분의 변화가 있었으나 두 시료군 사이에는 유의차가 없었다. 반면 step 4는 수분 함량이 가장 낮았는데 이는 상기에서 언급한 바와 같이 홍마늘 특유의 붉은색 발현을 위하여 천공 된 용기를 사용하여 수분을 제거함에 따라 수분의 감소가 급격히 진행되었기 때문이다.

조지방 함량은 생마늘은  $2.37 \pm 0.66$  g/100 g, 홍마늘은  $2.40 \pm 0.35 \sim 2.83 \pm 0.28$  g/100 g의 범위였고, 흑마늘은  $4.33 \pm 0.38$  g/100 g이었다. 홍마늘은 step 1~3까지는 생마늘과 조지방 함량에서 유의적인 차이가 없었으나 마지막 step 4에서 유의적으로 증가하였으며, 흑마늘의 조지방 함량이 유의적으로 높은 것으로 보아 홍마늘 및 흑마늘의 조지방 함량은 지용성 갈변물질의 용출이 증가하면서 그 함량도 높게 정량된 것으로 판단된다.

조단백의 함량은 생마늘에서  $6.08 \pm 0.13$  g/100 g이었는데 홍마늘로 숙성되면서 그 함량이 점차 증가하였다. Step 1에서는 생마늘과 유의차가 없었으나 step 2~3에서는 유의적으로 증가하였고, step 4에서는  $9.98 \pm 0.00$  g/100 g으로 가장 높은 함량이었다. 흑마늘에서는  $4.97 \pm 0.00$  g/100 g으로 생마늘보다 오히려 더 함량이 높았다.

회분의 함량은 생마늘이  $1.32 \pm 0.49$  g/100 g으로 가장 낮았으며, 생마늘에 비해 홍마늘 가공단계를 거치면서 그 함량이 다소 증가하였으며, 흑마늘은 홍마늘의 숙성 초기단계에서와 유사한 함량범위였다. 그러나 회분의 함량은 3.0 g/100 g 미만이었으며, 함량 변화에 대한 통계적인 유의차는 미미한 수준이었다.

#### (4) pH 및 산도

생마늘, 숙성 단계별 홍마늘 및 흑마늘의 pH와 산도를 측정된 결과는 Table 22에 나타내었다. 생마늘의 pH는  $6.65 \pm 0.02$  였으며 홍마늘 제조시  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 냉동처리를 한 step 1에서는  $6.78 \pm 0.02$ 로 생마늘 보다 높았고 그 이후부터는  $6.19 \pm 0.01 \sim 6.02 \pm 0.02$ 의 범위로 유의적으로 약산성화되는 경향이였다. 흑마늘의 pH는  $4.09 \pm 0.01$ 로 마늘의 갈변화가 진행될수록 pH가 산성화 되는 정도가 높았다. 홍마늘의 pH는 생마늘과 차이가 적었으나 숙성기간에 따라 갈색물질의 생성이 진행되면서 미미한 산성화를 보였고 흑마늘의 pH가 강산성에 가까운 것으로 보아 숙성 마늘의 pH 저하는 숙성과정에서 생성되는 갈변물질에 기인하는 것으로 추정된다.

유사한 반응 기작에 의한 홍삼 제조시에도 갈변물질의 생성과 더불어 pH가 산성화되는데 온도가 높을수록 산성화가 더 빨리 일어났으며(Lee 등 1998), 열처리한 홍삼 엑기스에서도 pH는 온도가 높을수록 숙성 시간이 경과할수록 산성화 된다고 보고(Choi 등 1981)되어 있다. 홍삼의 갈변시 pH 저하는 제조과정 중에 생성되는 지방산이 주요 원인이 되며, pH가

낮아지면 분자량이 커지고, 갈변반응은 더욱 촉진되는데 이는 유기산의 전구물질인 당이 열처리에 의해 aldohexose의 aldehyde기가 산화되어 생성된 carbonyl기에 기인하는 것으로 추정되고 있다(Lee 등 1998).

여러 연구자들에 의해 갈변용액과 pH의 변화와의 상관성이 연구되었는데, pH는 갈변반응의 중요 영향 요인으로 pH 4.7~5.6의 범위에서 2배 이상이 촉진되고 pH가 낮아질수록 갈변용액은 고분자화 되며, pH 7 이상에서는 탈색되기 시작하는데 pH가 높아지면 반응물의 분자량은 작아진다고 보고되어 있다(Lee 등 1998).

산도는 pH의 변화와는 상반되는 경향으로 흑마늘이 2.52±0.02%로 가장 높은 반면 홍마늘은 이보다 낮은 0.62±0.01~1.15±0.00%의 범위였고, 숙성과정을 거치면서 점차 증가하다. 상기 pH의 변화와 연관지어 볼 때 pH와 산도의 변화는 동일한 경향이였다.

Table 22. pH and acidity of fresh, red(processing step 1-4) and black garlic

Condition	pH	Acidity(%)
Fresh garlic	6.65±0.02 <sup>e</sup>	0.69±0.03 <sup>b</sup>
Red garlic	Step 1	0.62±0.01 <sup>a</sup>
	Step 2	0.76±0.03 <sup>c</sup>
	Step 3	1.03±0.02 <sup>d</sup>
	Step 4	1.15±0.00 <sup>e</sup>
Black garlic	4.09±0.01 <sup>a</sup>	2.52±0.02 <sup>f</sup>

Refer to the Table 3.

Values are mean±SD (*n*=3).

Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at *p*<0.05 by Duncan's multiple range test.

### (5) 환원당의 함량

생마늘, 숙성단계별 홍마늘 및 흑마늘의 환원당 함량은 Table 23에 나타내었다. 생마늘의 환원당 함량은 53.52±0.26 mg/100 g으로 가장 낮았고, 홍마늘로 숙성되는 과정을 거치면서 유의적으로 증가하여 63.22±3.17~68.13±3.31 mg/100 g의 범위였다. 홍마늘은 step 1에서는 생마늘에 비해 환원당 함량이 유의적으로 높았으나 step 2~4간에는 유의적인 차이가 없었다. 흑마늘의 환원당 함량은 월등히 높은 함량으로 133.69±1.96 mg/100 g이었으며, 이는 생마늘보다 2.4배나 더 높은 함량이었다. 홍마늘은 숙성단계의 증가에 따라 생마늘 보다 15.3~21% 정도로 흑마늘의 약 50% 수준에 불과하였는데, 이로써 마늘은 숙성되면서 갈변화와 더불어 점차 환원당의 함량이 증가됨을 알 수 있었다.

식품성분 중 감미를 나타내는 당질의 대부분은 환원성을 가진 물질이므로 환원당을 정량

함으로서 감미의 정도를 간접 평가할 수 있으며, 마늘의 숙성 중 색의 변화는 마늘 자체 성분에서 있는 당과 아미노기간의 반응으로 이 반응에는 환원당만이 참여하고 있고 비환원당은 충분히 분해되어 환원당이 되지 않으면 갈변반응은 일어나지 않는다. 이러한 관점에서 볼 때 마늘의 숙성 중 환원당의 함량이 증가하는 것은 마늘 중에 있던 비환원성 당류가 분해되어 환원당으로 변화되고, 또 이렇게 분해된 환원당이 갈변반응에 참여하고 있음을 알 수 있으며, 환원성 당류가 감미를 나타내므로 갈변반응이 진행될수록 마늘의 감미도 증가함을 확인할 수 있다.

Table 23. Contents of reducing sugar in fresh, red(processing step 1-4) and black garlic (mg/100 g)

Condition	Contents	
Fresh garlic	53.52±0.26 <sup>a</sup>	
Red garlic	Step 1	63.22±3.17 <sup>b</sup>
	Step 2	65.42±2.37 <sup>c</sup>
	Step 3	67.44±5.64 <sup>c</sup>
	Step 4	68.13±3.31 <sup>c</sup>
	Black garlic	133.69±1.96 <sup>d</sup>

Refer to the Table 3.

Values are mean±SD (n=3).

Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

#### (6) 갈변도 및 총 페놀 함량

홍마늘의 숙성단계에 따른 갈변도 및 총페놀의 함량을 측정한 결과는 Table 24와 같다. 갈변도는 420 nm에서 흡광도 값으로 표시하였는데, 생마늘의 갈변도는 0.035±0.002으로 가장 낮았다. 홍마늘의 숙성 단계에 따라 갈변도는 유의적으로 증가하여 step 1에서는 0.05±0.002이던 것이 step 4에서는 0.166±0.001로 증가하였고, 흑마늘의 흡광도는 급격히 증가하여 홍마늘 보다 약 9배 더 높은 109.62±0.001이었다.

마늘 숙성중의 갈변 반응은 가열 초기에 주로 발생되며 90°C의 고온에서는 급격한 변화를 보이며, polyphenol oxidase가 50~70°C에서 활성을 잃기 때문에 흑마늘의 갈변과정은 비효소적 반응이 주요 요인이라고 보고(Bae와 Lim 2002) 되어 있다.

Maillard형 갈색화 반응액에서 형성되는 갈색색소의 양(Y)는 온도가 일정할 때 환원당의 농도(S)에 비례하고 유리아미노기를 가진 질소화합물의 농도(A)와 경과시간(T)의 제곱에 각각 비례하여  $Y = K \times (S)(A)^2(T)^2$ 와 같은 식으로 표시될 수 있다고 보고(Choi와 Kim 1981)되어 있어, 갈색색소의 형성에는 환원당과 질소화합물의 농도, 시간 및 온도인자가 상호영향을 미치게 된다.

Table 24. Browning intensity and total phenol content of fresh, red (processing step 1-4) and black garlic

Condition	Browning intensity (at 420 nm)	Total Phenol (mg/100 g)
Fresh garlic	0.035±0.002 <sup>a</sup>	77.62±0.52 <sup>a</sup>
Red garlic	Step 1	0.050±0.002 <sup>b</sup>
	Step 2	0.105±0.001 <sup>c</sup>
	Step 3	0.121±0.001 <sup>d</sup>
	Step 4	0.166±0.001 <sup>e</sup>
Black garlic	1.537±0.002 <sup>f</sup>	109.62±2.07 <sup>d</sup>

Refer to the Table 3.

Values are mean±SD (*n*=3).

Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at *p*<0.05 by Duncan's multiple range test.

식물계에 널리 분포되어 있는 페놀성 물질은 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이것들의 페놀성 수산기가 단백질과 같은 거대분자와 결합하여 항산화, 항균, 항암 등의 생리기능을 가진다. 생마늘의 총 페놀의 함량은 77.62±0.52 mg/100 g이었고, 홍마늘은 숙성 2단계까지는 생마늘과 총페놀 함량에 유의적인 차이가 없었다. 홍마늘 숙성 과정 중 step 3와 4에서 총페놀 함량은 각각 85.01±1.14 mg/100 g과 99.57±0.20 mg/100 g으로 유의적으로 증가하였으며, 흑마늘에서는 더 증가하여 109.62±2.07 mg/100 g이었다.

생마늘에 비해 열처리한 홍마늘 및 흑마늘의 총 페놀 함량이 높은 것은 열처리 공정에 의해 마늘 중 일부 화합물이 페놀성 물질로 전환되었거나, 열처리로 조직이 연화되어 시료내부에 강하게 결합되어 있던 폴리페놀 화합물이 유리되어 저분자 폴리페놀 화합물의 농도 증가나 추출이 용이해진 결과로 추정된다(Kim 2011).

#### (7) Total pyruvate 및 thiosulfinate의 함량

마늘 중 pyruvate와 thiosulfinate는 마늘의 파쇄 시 생성되는 물질로 pyruvate는 allinase의 작용에 의해 생성되며, 이는 마늘 중 alliin의 함량과 비례적인 것으로 보고된 바 있다(Cavagnaro 2005). Thiosulfinate는 황화합물로, 60~80%가 alliin인 것으로 알려져 있다(Lawson 등 1991). 이들 물질은 마늘을 고온으로 처리할 경우 생성량이 증가되는데, Shin 등(2008)은 90℃에서 열처리한 마늘에서도 total pyruvate의 함량이 증가되었으므로 allinase 이외에 고온에 의한 당의 분해산물 등 다른 요소들도 영향을 미치는 것으로 추정된 바 있다.

생마늘, 숙성단계별 홍마늘 및 흑마늘의 total pyruvate 및 thiosulfinate 함량을 분석한 결과는 Table 25와 같다.

홍마늘의 숙성 단계별 총 pyruvate의 함량은 step 1에서 63.22±3.17 mM/100 g로 생마늘 (53.52±0.26 mM/100 g)에 비해 유의적으로 높았으나 step 2~4에서는 65.42±2.37~68.13±3.31 mM/100 g으로 유의적인 차이가 없었다. 흑마늘에서는 133.69±1.96 mM/100 g으로 가장 높은 함량이었다.

홍마늘의 총 thiosulfinate 함량도 총 pyruvate 함량과 유사한 경향이었다. 즉 생마늘의 총 thiosulfinate 함량은 312.22±23.59 mM/100 g이던 것이 홍마늘 숙성 중 340.55±9.76~685.55±11.34 mM/100 g으로 증가한 후 흑마늘에서는 급격히 함량이 증가하였다. 흑마늘의 총 thiosulfinate 함량은 홍마늘 보다 6배 더 높은 3466.11±6.73 mM/100 g이었다.

Shin 등(2008)에 의하면 흑마늘 제조시 가공공정의 진행과 더불어 thiosulfate의 함량은 유의적으로 증가하는 경향을 보이는데, 이는 저급 황화합물의 생성증가와 수분 감소에 따른 상대적인 고형분 증가에 의한 것으로 추정된다고 하였다. 본 연구에서 홍마늘의 총 thiosulfate 함량이 흑마늘의 비해 훨씬 낮은 것은 흑마늘과 숙성시간 및 온도 등의 조건이 서로 상이하기 때문인 것으로 판단된다.

Table 25. Contents of total pyruvate and total thiosulfate in fresh, red(processing step 1-4) and black garlic

(mM/100g)		
Condition	Total pyruvate	Total thiosulfinate
Fresh garlic	53.52±0.26 <sup>a</sup>	312.22±23.59 <sup>a</sup>
Red garlic	Step 1	340.55±9.76 <sup>b</sup>
	Step 2	535.00±21.66 <sup>d</sup>
	Step 3	552.77±10.04 <sup>d</sup>
	Step 4	685.55±11.34 <sup>e</sup>
Black garlic	133.69±1.96 <sup>d</sup>	3466.11±6.73 <sup>f</sup>

Refer to the Table 3.

Values are mean±SD (n=3).

Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

마늘 중의  $\gamma$ -glutamyl-S-alkenyl-L-cysteine이  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase에 의해 분해되면 S-alkenyl-L-cysteine이 생성되고, S-alkenyl-L-cysteine에 oxidase가 작용하여 alliin을 비롯한 S-alkenyl-L-cysteine sulfoxide가 생성된다(Shin DS 2001). S-alkenyl-L-cysteine sulfoxide에



alliinase가 작용하면 allicin을 비롯한 8종의 thiosulfates가 생성되는데 이의 생성정도는 마늘의 냄새 및 생리활성에 중요한 역할을 한다(Arnault A 등 2003). Total thiosulfate는 생마늘 내의 alliinase에 의하여 cysteine sulfoxide가 분해되어 생성되는데, 그 전환 속도가 매우 빨라 10~60초의 자가반응 화합물로서 매우 불안정하고 용매, 온도 및 농도에 의존적인 성분이다(Oh CY 등 2002).

### (8) 유기산 정량

생마늘, 숙성단계별 홍마늘 및 흑마늘의 유기산 함량을 분석한 결과는 Table 26과 같으며, 총 11종의 유기산을 분석한 결과 7종의 유기산이 정량되었다. 생마늘에는 7종의 유기산이 모두 정량되었고 홍마늘은 step 1~3까지는 7종이 정량되었으나 step 4에서는 malic acid는 검출되지 않아 6종이 검출되었고 흑마늘은 acetic acid 및 citric acid의 2종만이 검출되어 마늘을 장기간 숙성시 일부 소실되는 유기산이 있음을 확인할 수 있었다. 마늘에서 분석된 유기산 중 citric acid의 함량이 가장 높았으며, 다음으로 lactic acid와 acetic acid의 순이었다.

Table 26. Contents of organic acid in fresh, red(processing step 1-4) and black garlic

(mg/100 g)

Condition	Malic acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid	Fumaric acid	Succinic acid
Fresh garlic	204.94±1.00 <sup>c</sup>	538.79±0.25 <sup>b</sup>	591.55±3.53 <sup>b</sup>	661.88±2.24 <sup>d</sup>	6.33±0.01 <sup>a</sup>	0.67±0.00 <sup>a</sup>
Step 1	221.18±4.20 <sup>d</sup>	381.81±0.05 <sup>a</sup>	226.32±10.70 <sup>a</sup>	983.45±30.50 <sup>f</sup>	10.92±0.21 <sup>c</sup>	0.67±0.00 <sup>a</sup>
Red Step 2	173.96±2.09 <sup>b</sup>	1352.26±1.55 <sup>e</sup>	1194.42±7.78 <sup>e</sup>	427.25±1.41 <sup>a</sup>	4.77±0.06 <sup>b</sup>	166.39±2.41 <sup>d</sup>
garlic Step 3	158.64±1.02 <sup>a</sup>	1260.86±0.45 <sup>d</sup>	1129.60±0.25 <sup>d</sup>	538.39±2.53 <sup>c</sup>	18.12±0.01 <sup>e</sup>	161.56±1.52 <sup>c</sup>
Step 4	ND	1200.54±0.78 <sup>c</sup>	767.20±2.41 <sup>c</sup>	467.11±1.91 <sup>b</sup>	14.05±0.01 <sup>d</sup>	98.77±2.60 <sup>b</sup>
Black garlic	ND	ND	2347.23±14.12 <sup>f</sup>	918.64±0.31 <sup>e</sup>	ND	ND

Refer to the Table 3.

Values are mean±SD (n=3).

Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

마늘 숙성 중 succinic acid는 생마늘 및 홍마늘 step 1에서는 동일하게 0.67 mg/100 g로 적은 양이 검출되었으나 홍마늘 숙성 2, 3단계에서는 각각 161.56±1.52 mg/100 g과 166.39±2.41 mg/100 g으로 급격히 증가한 후 step 4에서는 98.77±2.60 mg/100 g으로 유의적으로 감소하였다. 또한 장기간의 숙성기간이 요구되는 흑마늘에서는 succinic acid는 검출

되지 않았다. 이러한 경향은 lactic acid도 동일하였는데 이후 더 여러 차례에 걸친 반복이 요구되지만, 이들 두 유기산은 생마늘, 흑마늘 및 홍마늘 간에 가장 유의적인 차이를 가지는 성분이므로 마늘의 숙성 단계를 확인하는 주요 성분지표로 활용 가능할 것으로 판단된다.

Lee 등(1998)과 Shin 등(2000)은 냉동저장중의 마늘 품질변화 중 유기산의 변화를 추적한 결과  $-40^{\circ}\text{C}$  및  $-18^{\circ}\text{C}$ 에서 15개월간 저장하였을 때 유기산의 변화는 없다고 보고하였고, Shin 등(2001)은 산지별 마늘의 품질특성에서 서산산 마늘과 난지형 그리고 수입산 마늘간의 유기산 함량을 조사한 결과 100 g당 각각 158.3, 167.0, 171.3 mg/100 g이 함유되어 있다고 보고하였다. Kim 등(1990)은 녹변마늘의 유기산을 HPLC로 분석한 결과 lactic acid, pyruvic, oxalic, succinic, citric acids와 pyruvic acid가 주요 유기산이었고 이들 산은 각각 560.2, 375.8, 162.6 mg/100 g이 함유되어 있다고 하였다. 본 연구의 결과 생마늘에서 검출된 유기산의 총량은 2,004.16 mg/100 g, 홍마늘(Step 4)은 2,547.67 mg/100 g 및 흑마늘은 3,265.87 mg/100 g으로 생마늘 보다는 숙성 마늘에서 유기산 종류는 감소하지만 총 함량은 증가함을 확인할 수 있었다.

#### (9) 유리아미노산의 정량

숙성기간별 홍마늘의 유리아미노산 함량을 분석한 결과 16종이 검출되었다(Table 27). 홍마늘(step 4)의 유리아미노산 총 함량은 23520.48  $\mu\text{g/g}$ 으로 생마늘(12075.10  $\mu\text{g/g}$ )에 비해 48.6%더 높았다. 또한 흑마늘은 9092.35  $\mu\text{g/g}$ 으로 생마늘에 비해 더 낮은 함량이었다.

마늘 중의 유리아미노산은 arginine, alanine 및 proline이 비교적 높은 함량이었는 데, 생마늘에서 가장 높은 함량이었던 arginine은  $4617.05 \pm 247.64 \mu\text{g/g}$ 이던 것이 홍마늘 숙성과 더불어 step 3까지는 감소하였다가 step 4에서  $7720.26 \pm 10.99 \mu\text{g/g}$ 으로 더 증가하였으며, 흑마늘에서는  $2452.23 \pm 55.31 \mu\text{g/g}$ 으로 홍마늘에 비해 오히려 그 함량이 감소하였다. 이러한 경향은 alanine이나 proline에서도 유사한 경향이였다. 생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 중의 아미노산 함량은 아미노산에 따라 그 증감의 패턴이 서로 상이하였는 데 aspartic acid와 glutamic acid 등과 같은 아미노산은 생마늘에서 높은 함량이다가 홍마늘로 숙성되면서 그 함량이 감소한 후 흑마늘에서는 더 감소하는 경향이였다. 마늘 중의 주요 함황아미노산인 methionine의 경우 생마늘과 홍마늘에서는 100  $\mu\text{g/g}$  이상의 함량이었으나 흑마늘에서는  $39.36 \pm 1.18 \mu\text{g/g}$ 으로 큰 폭으로 감소하였다. 또, valine, isoleucine, threonine 등의 아미노산도 생마늘에서 홍마늘로 가공되면서 그 함량이 월등히 증가하지만 흑마늘까지 숙성되는 동안 그 함량이 오히려 감소하여 흑마늘 중의 함량이 생마늘에 비해 더 낮았다. 이처럼 아미노산의 변화 패턴이 서로 상이한 것은 갈변반응에 참여하는 아미노산의 종류가 서로 상이하기 때문으로 추정된다. 즉, 갈변반응에 참여하여 기질로 작용하는 아미노산류는 홍마늘까지 되면서 그 함량이 증가하지만 더 많은 갈변반응이 진행된 흑마늘에서는 그 함량이 오히려 감소하기 때문이며, 가공과정 동안 이들 아미노산의 분해 속도가 서로 상이하므로 갈변반응에 주로 참여하는 아미노산의 종류에 차이가 발생한 것으로 생각된다.

Kim 등(2005)이 열처리 방법에 따른 마늘의 성분을 분석 중 유리아미노산 함량을 측정한 결과 생마늘은 총 유리아미노산 함량이 3122.76 mg%이며, 그 중 필수아미노산은 1030.86 mg%로 총 유리아미노산의 33.3%를 차지하며 생마늘의 유리아미노산 중 arginine 함량이 1209.3 mg%로 같은 생마늘의 구성 아미노산보다 높은 수치를 나타내었으며 lysine은 385.26 mg%, glycine 310.74 mg%, histidine 249.42 mg%, proline은 123.24 mg%의 함량 순이었다고 하였는데 이는 본 연구의 결과와 유사한 경향이였다.

Granroth B 등(1970)은 마늘 중의 아미노산은 향기의 전구물질 생합성에도 중요한 역할을 하는 것으로 보고하였다. 즉, allyl-L-cysteine sulfoxide 및 methyl-L-cysteine sulfoxide 화합물의 생합성에 serine, cysteine 및 valine이 관여한다고 하였다.

#### (10) S-allyl cysteine(SAC)의 정량

마늘의 처리 방법에 따라서 생물학적 유용성을 나타내는 지표물질 및 기능성이 다른 형태로 존재하게 된다. 이 중 aged garlic extract(AGE)는 S-allyl cysteine를 포함하고 있으며, SAC는 라디칼을 제거(scavenger)하는 작용을 하므로 과산화수소에 의한 세포 손상과 지질 과산화 등을 감소시킨다(Amagase 등 2001).

생마늘 및 흑마늘의 S-allyl cysteine의 함량(Table 28)은 각각  $14.11 \pm 0.30$  mg/100 g 및  $19.43 \pm 0.50$  mg/100 g으로 정량되었고 숙성 단계별 홍마늘은 생마늘과 흑마늘의 중간 범위인  $13.96 \pm 0.45 \sim 18.05 \pm 0.53$  mg/100 g의 범위로 측정되었다. 홍마늘 숙성 중 step 1과 2의 S-allyl cysteine 함량은 생마늘과 유의적인 차이가 없었으나 그 이후부터는 유의적으로 증가하여 S-allyl cysteine이 생마늘에도 함유되어 있으나 홍마늘과 흑마늘처럼 갈변반응을 거치면서 그 함량이 점차 증가함을 확인할 수 있었다.

생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 투석 내액과 외액 중의 SAC 함량을 분석하였으나 이들 모두에서 극미량으로 불검출 수준이었으며, 따라서 별도의 Table로 나타내지 않았다. 홍마늘이나 흑마늘 중에 18 mg/100 g 이상이 함유되어 있었으므로 투석액 중에도 일정량 이상 함유되어 있을 것으로 추정되었으나 추출 된 동결건조 분말의 용해성을 고려하여 일정농도 이상으로 진한 시료를 제조하지 못하므로 시료용액 중의 함량은 검출한계 미만이 된 것으로 판단된다.

동물 모델계에서 ajoene, diallyl sulfide류 및 S-allyl cysteine 등은 여러가지 발암원에 의해 유발되는 암 발생을 억제하며, 지질대사를 조절하여 혈중 콜레스테롤 수준을 저하시키며, 혈소판 활성화 저해를 경유한 혈전 생성 억제 작용이 있어 결과적으로 심혈관계 질환에 대한 예방 효과가 있으며 S-allyl cysteine은 또한 노화 관련 증상을 완화하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Kim과 Chun 1999).

Table 27. Contents of free amino acids in fresh, red and black garlic

Amino acids	Fresh garlic	Red garlic				Black garlic
		Step 1	Step 2	Step 3	Step 4	
L-Aspartic acid	1.82±0.13	0.80±0.02	12.78±1.47	1.11±0.01	0.79±0.00	0.02±0.00
L-Threonine	404.45±12.54	175.95±6.21	191.04±241.48	198.63±0.15	199.97±21.87	244.75±10.54
L-Serine	1.07±0.12	10.96±1.22	217.83±214.21	153.37±0.21	113.47±0.99	0.52±0.00
L-Glutamic acid	999.05±0.15	1006.16±13.45	1017.46±214.15	649.96±24.41	752.18±10.44	76.30±0.01
L-Proline	1089.02±24.89	954.50±15.59	1709.54±64.24	1496.18±28.31	3378.04±71.18	1710.47±50.24
Glycine	415.10±34.11	367.19±17.48	297.62±13.21	192.77±13.33	427.79±9.54	217.65±12.46
L-Alanine	1322.44±24.12	600.42±52.26	433.78±7.24	24.00±0.48	1153.03±111.22	1212.34±77.87
L-Valine	719.90±12.67	625.11±32.11	495.04±9.45	450.51±6.77	853.42±10.28	768.07±10.54
L-Methionine	120.14±0.27	71.67±3.24	180.17±12.11	117.92±12.15	147.53±9.87	39.36±1.18
L-Isoleucine	156.11±8.34	131.25±12.45	135.66±14.54	77.38±2.48	773.98±70.31	183.83±12.22
L-Leucine	348.24±15.68	305.00±21.47	327.98±20.10	265.05±13.24	1389.40±200.13	347.73±4.78
L-Tyrosine	663.66±34.11	436.30±46.24	642.37±8.19	398.40±17.15	1316.62±27.48	374.09±8.54
L-Phenylalanine	768.81±61.12	571.25±21.17	583.14±2.64	415.08±10.15	269.55±10.28	776.71±89.10
L-Lysine	259.62±27.15	190.84±3.66	454.41±0.25	318.55±18.21	433.85±31.85	520.04±10.10
L-Histidine	188.62±12.57	126.25±3.15	339.15±12.54	240.70±4.34	4590.61±6.12	168.25±1.25
L-Arginine	4617.05±247.64	3284.23±115.45	3037.02±12.48	1994.34±105.67	7720.26±10.99	2452.23±55.31
Total	12075.10	8857.88	11794.00	6993.95	23520.48	9092.35

Refer to the Table 3.

Table 28. Contents of S-allyl cysteine in fresh, red and black garlic

(mg/100 g)

Condition		S-allyl cysteine
Fresh garlic		14.11±0.30 <sup>a</sup>
Red garlic	Step 1	13.96±0.45 <sup>a</sup>
	Step 2	14.43±0.45 <sup>a</sup>
	Step 3	15.71±0.59 <sup>b</sup>
	Step 4	18.05±0.53 <sup>c</sup>
Black garlic		19.43±0.50 <sup>d</sup>

Refer to the Table 3.

Values are mean±SD ( $n=3$ ).Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.**(11) DPPH 및 ABTs 라디칼 소거 활성 측정**

숙성과정 중의 마늘의 항산화능을 측정하기 위하여 DPPH 및 ABTs 저해 활성을 측정한 결과는 Table 29와 같다. 생마늘, 숙성 단계별 홍마늘, 흑마늘을 비교한 결과 생마늘에 비해 홍마늘 숙성기간이 진행됨에 따라 DPPH 소거능은 증가하는 경향이었으나 유의차는 없었고 흑마늘의 활성이 가장 높아 31.38±4.18%였다.

Table 29. DPPH and ABTs radical scavenging ability of fresh, red and black garlic

(%)

Condition		DPPH	ABTs
Fresh garlic		20.68±0.65 <sup>a</sup>	55.18±0.29 <sup>d</sup>
Red garlic	Step 1	22.60±2.62 <sup>a</sup>	50.54±0.95 <sup>c</sup>
	Step 2	23.68±0.99 <sup>a</sup>	42.96±0.20 <sup>a</sup>
	Step 3	23.53±1.55 <sup>a</sup>	46.89±1.43 <sup>b</sup>
	Step 4	24.57±1.21 <sup>a</sup>	71.48±4.52 <sup>e</sup>
Black garlic		31.38±4.18 <sup>b</sup>	89.03±0.12 <sup>f</sup>

Refer to the Table 3.

Values are mean±SD ( $n=3$ ).Values in a column sharing the same superscript letter are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

Kim 등(2011)은 생마늘, 홍마늘, 흑마늘 열수 추출물의 농도를 달리하여 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 생마늘은  $9.52\pm 1.40\%$ 의 소거능을 보인 반면 홍마늘 및 흑마늘에서는  $26.42\pm 1.50\%$ 와  $22.26\pm 1.64\%$ 로 두 시료간에는 유의차 없이 생마늘 보다 유의적으로 높은 소거능을 보였고 2000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는 생마늘 및 홍마늘이  $58.22\pm 1.68\%$  및  $59.26\pm 0.51\%$ 로 유의차가 없었으나 흑마늘은  $88.63\pm 0.82\%$ 로 유의적으로 높게 측정되었다고 보고하였는데 이는 본 실험의 결과와 유사한 경향이였다.  $50^\circ\text{C}$ 에서 14일간 숙성된 마늘 추출물의 항산화능은 마이알 반응의 첫단계에서 생성되는 amadori 화합물에 의한다고 한 Moreno 등(2006)의 보고로 미루어 볼 때 홍마늘 및 흑마늘의 항산화능은 숙성 중 생성된 마이알 반응의 결과물에 기인하는 것으로 추정된다.

마늘의 ABTs 라디칼 소거활성은 DPPH 라디칼 소거활성보다 더 높아 40% 이상이었는데 홍마늘로 가공되는 step 3까지는 생마늘( $55.18\pm 0.29\%$ )에 비해 오히려 활성이 더 낮았으나 최종 단계인 step 4에서는  $71.48\pm 4.52\%$ 로 활성이 증가하였다. 그러나 활성이  $89.03\pm 0.12\%$ 로 가장 높은 흑마늘의 ABTs 라디칼 소거활성 보다는 더 활성이 낮았다.

#### 4) 천연식물류 선정을 위한 문헌검색 결과

##### (1) 연구논문 분석을 통한 천연식물류 검색

과학기술정보통합서비스([www.NDSL.kr](http://www.NDSL.kr))와 각 전문 학술지 홈페이지를 통하여 소화효소 저해, 체중 및 지방감소, 항비만을 검색어로 하여 문헌조사를 실시한 결과는 다음과 같다.

생약재 명	기능	출처	비고
정향, 대북피, 백자인, 계피, 강황, 향유, 감초, 계혈등, 오배자, 복분자	pancreatic lipase 저해 활성	<i>J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.</i> 49(3) : 221-226 (2006)	MeOH 추출물
옥수수 수염, 팔삭, 표고버섯, 청고추	체중, 지방조직무게, 지방세포크기, 혈장지질 농도 감소	<i>J Korean Soc Food Sci Nutr</i> , 38(11): 1522-1527 (2009)	열수 추출물 (혼합)
지유, 옥밭, 적하수오, 삼백초	지방조직무게, 지방세포크기, 혈장지질, 콜레스테롤 농도 감소, 지방축적 관여효소 GPDH활성억제	<i>J Korean Soc Food Sci Nutr</i> , 38(1):32-38(2009)	열수 추출물 (혼합)
백복령, 천남성, 지각, 진피, 반하, 향부자, 자초, 목단피, 청피, 생강, 감초	체중, 복부지방 감소	<i>J Appl Biol Chem</i> 53(1): 44-50 (2010)	열수 추출물 (혼합)
인삼, 보이차	체중, 혈중지질 생성 억제, 콜레스테롤, 중성지방 감소	<i>J Korean Soc Food Sci Nutr</i> 37(4): 437-444 (2008)	열수 추출물 (혼합)
구기자	인간타액태지체장유래 $\alpha$ -amylase, $\alpha$ -glucosidase 효소저해, 지방세포, leptin, 중성지방농도감소	<i>J Korean Soc Food Sci Nutr</i> , 38(11): 1528-1534 (2009)	EtOH, MeOH, 열수 추출물
눈꽃동충하초	CTSS 억제 활성, 체중, 혈장지질 등 감소	<i>Koran J Food Sci Technol</i> 41(4) : 446-451 (2009)	열수 추출물
인진쑈	체중, 혈당, leptin, adiponectin 조절, 지방조직감소	<i>J Vet Clin</i> 27(4): 348-365 (2010)	열수 추출물
뽕잎	체중, 혈청 지질, 지방조직 감소	<i>Korean J Oriental Physiology &amp; Pathology</i> 23(4) : 831-836(2009)	열수 추출물
홍차, 녹차	체중, 지방감소, Lipase 억제효과	<i>J Korean Soc Appl Biol Chem</i> 48(4): 375-381 (2005)	열수 추출물 (혼합)
녹차	체중, 혈청 지질, 지방조직, 지방세포 감소	<i>Koran J Food Sci Technol</i> 42(1) :103-108 (2010) <i>Koran J Nutr</i> 41(7) : 602-611 (2008)	열수 추출물
진피	체중, 혈청 지질, 지방조직 감소	<i>J Toxicol Pub Health</i> 19(3) :189-195 (2003)	열수 추출물
능이 버섯	비만지수, 혈청 지질, 장기무게 감소	<i>J Life Sci</i> 19(9) :1265-1270 (2009)	분말

(2) 국내 특허자료 분석을 통한 천연식물류 선정

국내 출원 및 등록 특허를 체중, 체지방 감소, 혈중 지질농도 감소 및 지방세포를 검색어로 하여 분석한 결과는 다음과 같다.

생약재 명	기능	출처(특허번호)	비고
영릉향	체중 및 체지방 감소	10-2007-0056192	EtOH, MeOH 추출물
구기자, 숙지황, 의이인, 홍화, 복령, 당귀, 연자, 산약, 지각	체중, 혈중지질 감소	10-2004-0039234	열수 추출물 (혼합)
하엽, 계지, 생강, 의이인, 적하수오, 적소두, 함초, 건울, 면실자, 나복자, 창출, 백출, 건강, 산사, 감초	$\alpha$ -amylase, lipase 저해 활성	10-2007-0086301	열수, EtOH 추출물 (혼합)
차전자, 창출, 의이인, 산사, 백출, 맥아, 감초, 곽향, 포공영, 인삼, 백복령, 삼백초, 백모근	체중, 혈중총콜레스테롤, 저밀도콜레스테롤, 고밀도콜레스테롤 감소	10-2003-0049206	물, EtOH 추출물 (혼합)
향부자, 활석, 택란, 당귀, 천궁, 백작약, 방풍, 연교, 박하, 마황, 대황, 망초, 석고, 계지, 길경, 황금, 백출, 치자, 형개, 생강, 감초	복강내 지방 중량, 혈중 지질 감소	10-2006-0121546	물, EtOH 추출물
길경, 굴피, 백모근, 맥문동	체중 감량, 지방세포 발현억제, 혈중 지질 감소	10-2004-0006785	열수 추출물 (혼합)
하수오, 택사, 산사, 의이인, 보리, 흑두, 곤포, 교맥	체중, 체지방 감소	10-2003-0051995	열수 추출물, 분말 (혼합)
황금, 길경	지방세포 발현억제, 지방조직, 혈당, 혈중지질 감소	10-2008-0102610	열수 추출물 (혼합)
삼백초, 옥발, 적하수오, 지유	지방세포 발현억제, 지방조직, 혈중지질 감소	10-2009-0006980	열수 추출물 (혼합)
솔잎, 오갈피, 구기자, 인삼	체중, 중성지방 감소	10-2000-0049369	열수 추출물 (혼합)
연자육, 동규자, 괴각, 적하수오, 진호로, 초결명, 택사, 대황, 옥수수수염, 산사육, 소태나무, 상엽, 녹차	체중, 혈중지질 감소	10-2000-0006766	분말
멜리사엽, 인진쑥, 뽕나무잎	체중, 혈중지질 감소	10-2005-0093577	열수 추출물
맥문동	체중 감량, 지방세포 발현억제, 혈중 지질 감소	10-2004-0006788	열수 추출물



생약재 명	기능	출처(특허번호)	비고
인삼	지방세포 분화 억제	10-2007-0109949	EtOH 추출물
육두구	체중, 장지방 중량, 지방세포 크기 감소	10-2008-0123461	EtOH 추출물
익지인	체중, lipase 저해 활성, 혈중 지질 감소	10-2005-0042961	물, EtOH, MeOH 추출물
오배자	지방세포 분화 억제, 혈중 지질 감소	10-2008-0104394	MeOH 추출물
와송	체중, 조직 및 혈중 지질 감소	10-2008-0003650	MeOH 추출물
사인	체중, lipase 저해 활성, 혈중 지질 감소	10-2005-0042960	MeOH 추출물
홍삼 사포닌, 의이인	체중, 식이섭취, 장기 지방량 감소	10-2004-0050994	MeOH 추출물
감잎, 메밀잎, 구기자잎	체중, 혈중 지질 감소	10-2003-0026980	열수 추출물 (혼합)
마황, 마우	체중, 장지방 중량, 혈중 지질 감소	10-2008-0059161	물추출물
의이인, 건울, 라복자, 마황, 길경, 맥문동, 오미자, 석창포, 원지, 천문동, 산조인, 용안육(탕)	체중, 체지방 감소	10-2002-0075632	열수 추출물 (혼합)
측백엽, 백자인, 노간주나무, 참취	체중 감량, 지방세포 발현억제, 혈중 지질 감소	10-2008-0120118	EtOH 추출물 (혼합)
마황, 곤포, 대황	체중, 혈중 지질 감소	10-2007-0038134	열수 추출물
인삼, 진피, 상엽, 의이인, 복령, 저령, 오가피, 두충, 숙지황, 구기자, 당귀, 동과자, 송엽	체중, 혈중 지질 감소	10-2004-0006947	열수 추출물

### (3) 분석연구 논문 및 특허 자료의 취합 결과

연구논문 및 특허자료를 분석한 결과 항비만과 관련이 있는 주요 기능으로 lipase 저해활성, amylase 저해활성, 체중감소, 지방조직감소, 지방세포 분화억제 및 혈중지질 생성억제 효과를 선정하였고 일정 빈도 이상 언급되는 천연식물류들의 이들 기능성에 대한 효과를 비교 분석하여 아래에 나타내었다.

최종 분석 결과에 기초하여 숙지황, 진피, 마황, 구기자, 의이인, 녹차, 창출 및 백출의 총 8종을 선정하였다.

	lipase 저해	$\alpha$ -amylase 저해	체중 감소	지방조직 감소	지방세포 분화 억제	혈중 지질 생성	지질 억제
숙지황			○	○			○
진피			○		○		○
마황			○	○			○
구기자		○	○		○		○
의이인	○	○	○				○
녹차			○	○	○		○
창출	○	○	○				
백출	○	○	○				○

## 5) 선정된 천연식물류 열수추출물의 소화효소 저해활성 비교

### (1) 천연식물류 열수추출물의 $\alpha$ -amylase 저해활성

비만이란 신체에서 소비하는 에너지 량보다 많은 양의 영양을 섭취함으로써 과잉 섭취된 에너지가 체지방 형태로 인체에 축적되고 체중이 증가되는 영양불량 상태를 말하는데 비만의 증가는 그 자체로도 미용측면에서 문제시 되고 있지만 고지혈증, 당뇨병, 고혈압 및 관상동맥질환과 같은 소위 비만관련 질환들의 발병을 및 이로 인한 사망률을 증가시키므로 문제시 되고 있다(Yoon 등 2002). 이러한 비만을 치료하기 위한 방법의 하나가 탄수화물, 지방, 단백질과 같은 에너지원의 소화 흡수를 억제하는 기전으로  $\alpha$ -amylase는 녹말이나 글리코겐과 같이  $\alpha$ -결합의 glucose로 되어 있는 다당류에 작용하여 포도당과 엿당으로 분해하는 소화효소이다.  $\alpha$ -Amylase와 더불어  $\alpha$ -glucosidase는  $\alpha$ -amylase에 의해 분해된 당질 중 엿당을 최종적으로 단당류인 포도당으로 전환시키며, 이들 효소의 활성저해는 당질의 가수분해와 흡수과정을 지연시킴으로서 식후 당 농도를 제한하는 효과를 가지게 된다(Jang과 Jeong 2010).

마황, 숙지황, 진피, 구기자, 의이인, 녹차, 창출 및 백출 열수추출물을 동결건조 한 후 3차 증류수에 재용해하여 100, 250, 500 및 1000  $\mu\text{g/g}$ 으로 농도를 조절한 것을 시료로 하여  $\alpha$ -amylase 저해활성에 미치는 영향을 분석한 결과는 Fig. 24와 같다.

모든 시료에서 시료 첨가농도가 증가할수록  $\alpha$ -amylase 저해활성도 증가하는 경향이었는데 가장 낮은 농도인 100  $\mu\text{g/g}$ 에서는 의이인, 창출 및 백출을 제외한 시료의  $\alpha$ -amylase 저해활성은 15% 미만에 불과하였으며, 250  $\mu\text{g/g}$  농도에서는 활성이 증가하여 마황과 숙지황을 제외한 시료의 활성은 20% 이상이었다. 500  $\mu\text{g/g}$  농도에서는 의이인과 녹차의  $\alpha$ -amylase 저해활성이 각각 36%와 40%로 35% 이상으로 활성이 높았고, 최고 농도인 1000  $\mu\text{g/g}$ 에서는 34~53%의 활성을 나타내었다.

Kim 등(2007)은 phenol성 물질이  $\alpha$ -amylase 저해활성을 가짐을 보고한 바 있으며, Park 등(2010)도 동일한 식물체일지라도 phenol성 물질의 함량이 높은 부위의  $\alpha$ -amylase 저해활

성이 더 높음을 보고한 바 있는데, 활성이 높았던 구기자, 의이인 및 녹차 중의 phenol성 물질이  $\alpha$ -amylase 저해활성에 기여하는 것으로 추정된다.

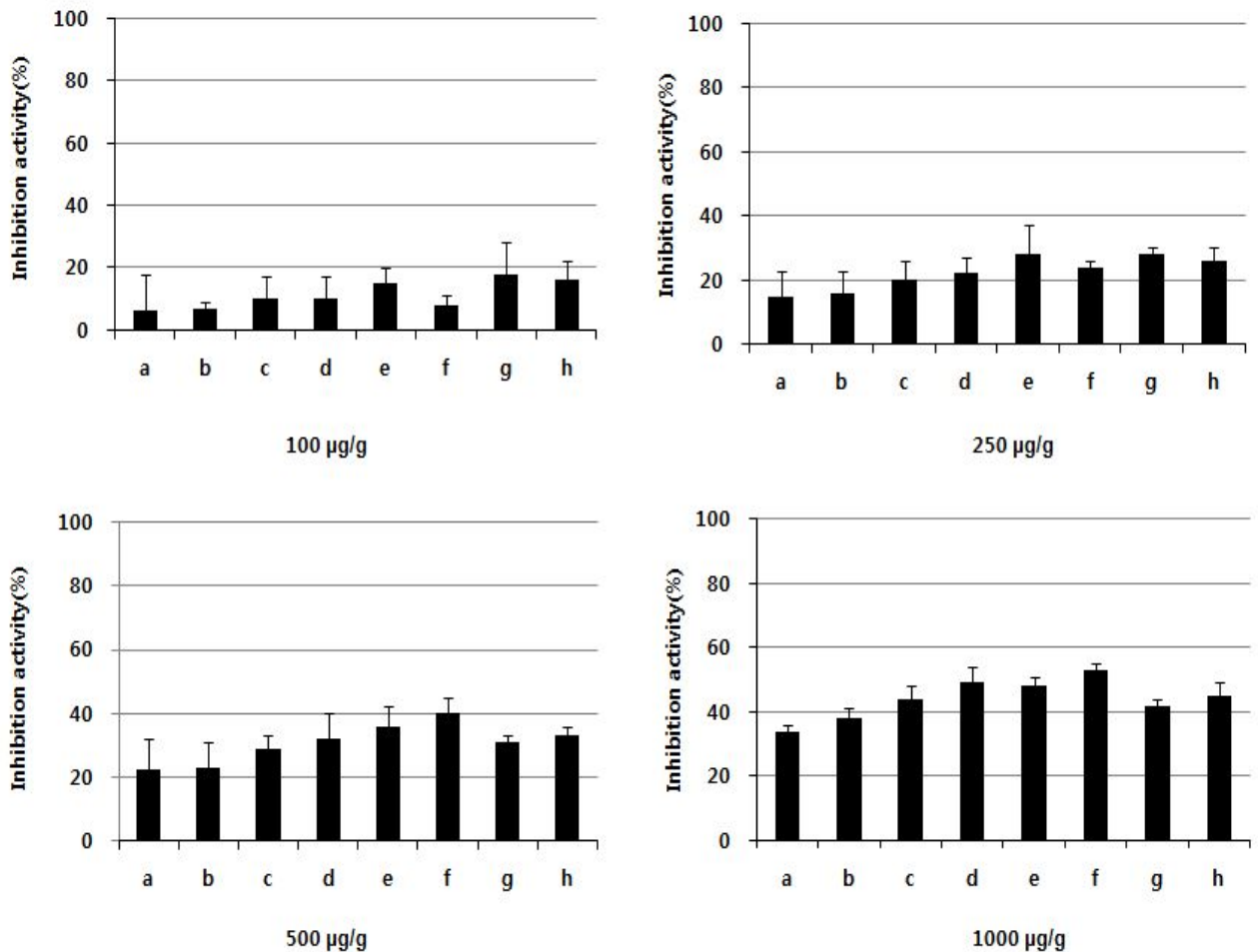


Fig. 23. Inhibition activity of  $\alpha$ -amylase by herbal medicine extracts.

a: digitalis folium, b: *radix rehmanniae preparata*, c: orange(*citrus*) peels, d: chinese matrimony vine, e: adlay, f: green tea, g: *A. lancea* DC., h: *A. macrocephala* Koidz.

## (2) 천연식물류 열수추출물의 trypsin 저해활성

단백질 분해 효소인 trypsin은 이자에서 활성이 없는 전구물질인 trypsinogen 형태로 만들어져 이자액 속에 분비된 후 소장으로 운반되어 entreokinase 또는 trypsin 자체에 의해 활성화되어 단백질을 분해하게 된다.  $\alpha$ -Chymotrypsin 또한 활성이 없는 전구물질 형태로 이자에서 소장으로 분비되며 전구물질인 chymotrypsinogen은 trypsin이나 chymotrypsin 자체에 의하여 활성화되어 단백질을 분해하게 된다. 비만과 관련한 단백질분해 효소의 활성 저해는 체내에서 분해되는 단백질의 양을 감소시켜, 과잉으로 흡수되는 단백질의 양을 제한함으로써 상대적인 에너지 흡수를 방해하므로 체중조절 및 비만 방지에 영향을 줄 것으로 추정되고 있다(Jang과 Jeong 2010). 이외에도 단백질 분해효소 저해제는 암, 감염증, 고지혈증,

당뇨병, 자기면역 질환증 및 노인성 치매 등의 치료제로도 활용되고 있다(Kim 1998).

100, 250, 500 및 1000  $\mu\text{g/g}$ 으로 농도를 조절된 마황, 숙지황, 진피, 구기자, 의이인, 녹차, 창출 및 백출 열수추출물이 trypsin 저해활성에 미치는 영향을 분석한 결과는 Fig. 24와 같다.

Trypsin 저해활성은 저농도인 100  $\mu\text{g/g}$ 에서도 비교적 높아 마황과 숙지황을 제외한 시료들의 활성은 20% 이상이었다. 천연식물류 추출물의 trypsin 저해활성도 시료의 농도가 증가함에 따라 활성도 증가하는 경향을 나타내었다. 가장 높은 농도인 1000  $\mu\text{g/g}$ 에서 trypsin 저해활성은 모든 시료에서 50% 이상으로 증가하였으며, 55~63%의 범위로 시료간의 차이는 크지 않았다.

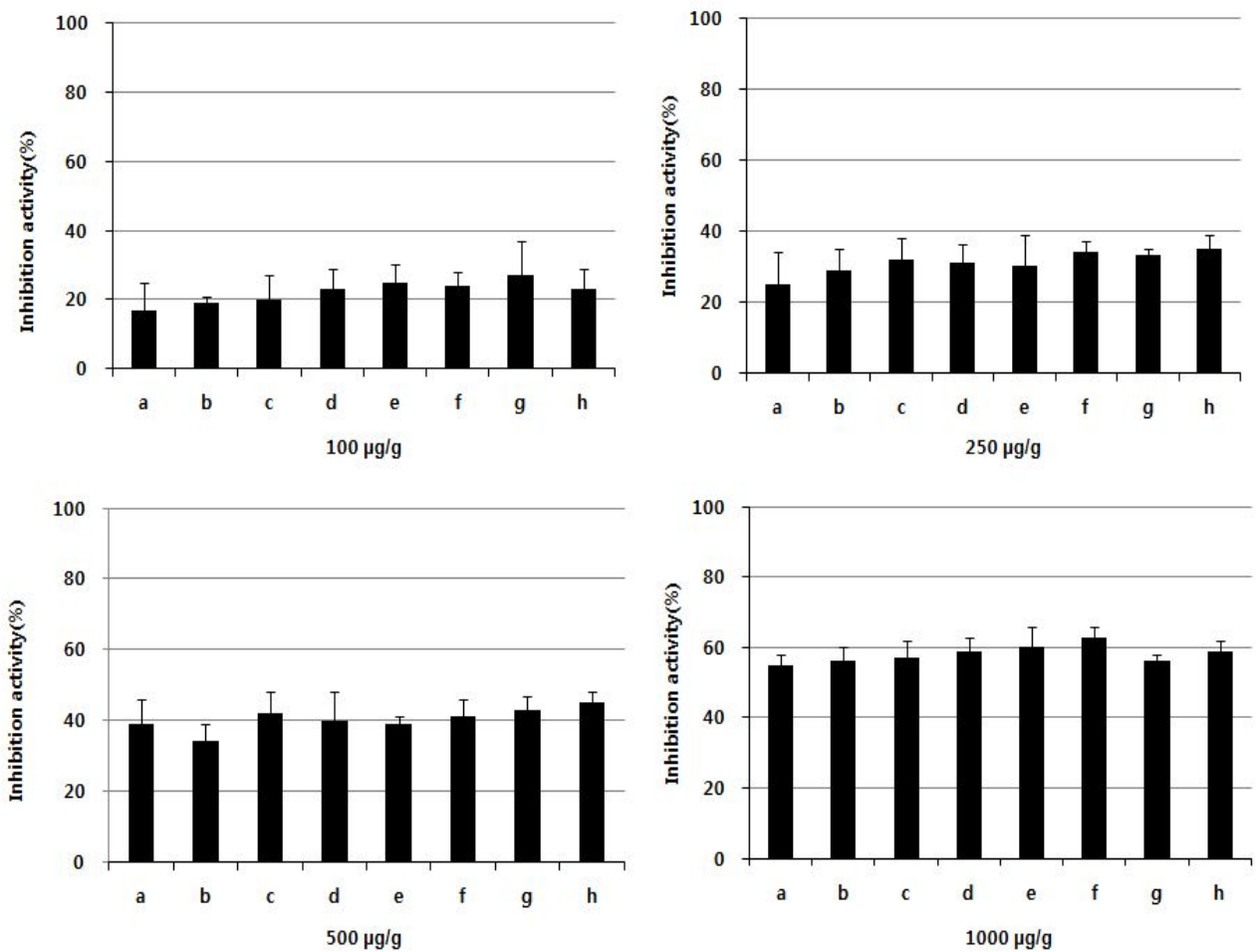


Fig. 24. Inhibition activity of trypsin by herbal medicine extracts.

a: digitalis folium, b: *radix rehmanniae preparata*, c: orange(*citrus*) peels, d: chinese matrimony vine, e: adlay, f: green tea, g: *A. lancea* DC., h: *A. macrocephala* Koidz.

마황은 한방에서 중풍, 상한, 두통, 발한, 해열, 진해 및 항염증에 널리 쓰이는 약재로서 (Lee 2009), 교감신경계 흥분작용이 있어 식욕억제, 열생산 및 대사량 증가, 운동수행능력 향

상 등의 효과를 기대하여 비만치료에 많이 사용되어 왔으며 한의계에서도 비만 치료시 단미로 많이 활용되고 있다(Kim 등 2007). 또한, 생약명 의이인으로 불리는 울무는 식용·약용으로 널리 이용되고 있으며, 항염증 작용, 항진통 효과, 항암효과, 혈당강하 작용, 체중증가 억제효과, 콜레스테롤 감소효과, 돌연변이 억제효과 및 항산화효과 등 다양한 생리활성을 지니고 있다(Lee 등 2009).

### (3) 천연식물류 열수추출물의 α-chymotrypsin 저해활성

마황, 숙지황, 진피, 구기자, 의이인, 녹차, 창출 및 백출 열수추출물 분말을 재용해하여 100, 250, 500 및 1000 µg/g으로 농도를 조절한 후 α-chymotrypsin 저해활성을 분석한 결과는 Fig. 25에 나타난 바와 같다.

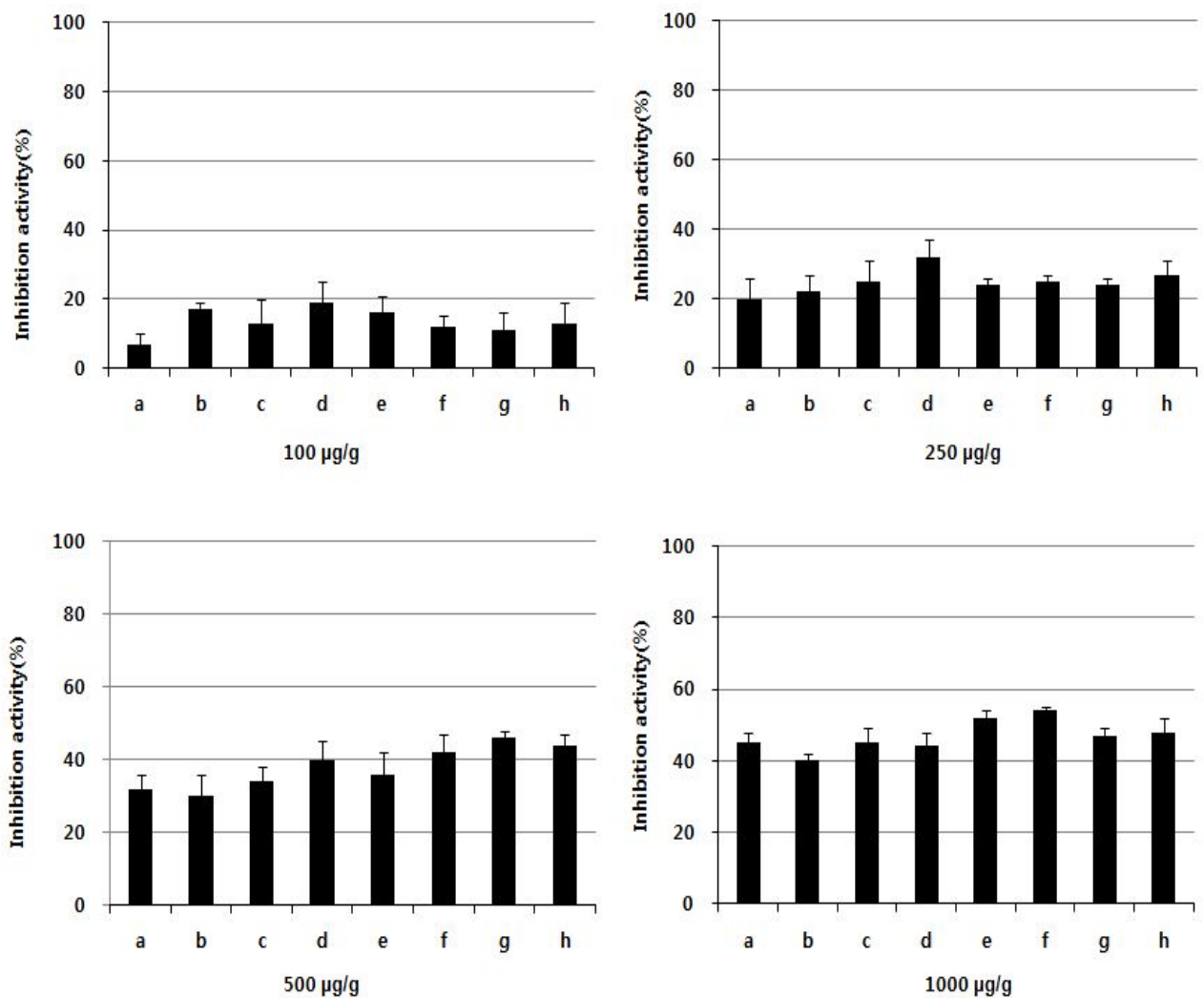


Fig. 25. Inhibition activity of α-chymotrypsin by herbal medicine extracts.

a: digitalis folium, b: *radix rehmanniae preparata*, c: orange(*citrus*) peels, d: chinese matrimony vine, e: adlay, f: green tea, g: *A. lancea* DC., h: *A. macrocephala* Koidz.

$\alpha$ -chymotrypsin 저해활성은 상기 trypsin 저해활성에 비해 비교적 활성이 낮았는데, 가장 낮은 농도인 100  $\mu\text{g/g}$  농도에서 활성은 20% 미만이었다. 100  $\mu\text{g/g}$  농도에서 구기자는 19%, 숙지황은 17%, 의이인은 16%로 타 시료에 비해 활성이 높았다. 시료들의  $\alpha$ -chymotrypsin 저해활성도 시료의 농도가 증가함에 따라 점차 증가하여 500  $\mu\text{g/g}$  농도까지는 30% 이상으로, 1000  $\mu\text{g/g}$  농도에서는 40% 이상으로 활성이 증가하였다. 1000  $\mu\text{g/g}$  농도에서는 녹차 추출물이 54%로 가장 활성이 높았고, 다음으로 의이인이 52%로 활성이 높았다.

Ikeda 등(1989)의 연구에 의하면 여러 정제된 식이섬유들이 trypsin과 chymotrypsin 활성을 감소시켰으나 glucose acid의 경우  $\alpha$ -amylase 활성을 증가시켜 특정 시료가 모든 소화효소의 활성을 일률적으로 저해하지는 않음을 알 수 있는데 이는 본 연구의 결과에서도 동일한 경향이였다. 또, 본 연구의 결과 시료마다 일정 비율 이상의 저해활성을 나타내는 농도의 변화 패턴이 서로 상이한 것으로 보다 천연식물류 추출물은 그 성분의 특성에 따라 활성의 임계농도도 서로 상이한 것으로 판단된다.

#### (4) 천연식물류 열수추출물의 lipase 저해활성

최근 우리 국민의 지방섭취와 관련하여 지방소화 억제를 통한 비만 방지가 체중조절의 한 방법으로 사용되고 있는데, 대표적인 lipase 저해제로는 phosphatidyl choline, saponin, tannin 등이 각종 식물로부터 분리되었고, 미생물 기원의 lipase 저해제로는 *Streptomyces toxytricini*로부터 생산한 lipase 저해활성 물질을 xenical(olostat)이라는 시제품으로 개발하여 비만 치료제로써 응용하고 있다(Bray 등 1999). Orlistat는 xenical(R)이라는 상품명으로 시판되는 장관 내 lipase 저해제로서 위장과 소장의 관강 내에서 위와 췌장의 지방분해효소의 활성부위인 serine과의 공유결합을 형성하여 lipase를 불활성화시킴으로써 항비만약제 기능을 하는 것으로 알려져 있으며, 부작용은 주로 지방변과 같은 소화기계 증상이 나타난다(Ballinger와 Peikin 2002). 따라서 이들 약제들의 부작용을 최소화하고자 천연물로부터 상시 섭취 가능한 지방소화 억제제의 탐색이 필요한 실정이다(Kim 등 2008).

본 연구에서도 이러한 관점에서 천연식물류 추출물의 농도를 달리하여 제조한 마황, 숙지황, 진피, 구기자, 의이인, 녹차, 창출 및 백출의 lipase 저해활성을 분석한 결과는 Fig. 26에 나타낸 바와 같다. Lipase 저해활성은 여타 소화효소 저해활성에 비해 비교적 낮아 250  $\mu\text{g/g}$  농도까지도 활성은 25% 미만에 불과하였으며, 최고 농도인 1000  $\mu\text{g/g}$  농도에서 활성은 33~55%의 범위였다.

식이로 섭취된 지방의 분해 및 흡수는 장내 낮은 pH에 의한 물리, 화학적인 지방의 변화와 아울러 여러 가지 효소작용이 동반되는 매우 복잡한 경로를 거쳐 진행된다. 이들 여러 가지 효소 중에 pancreatic lipase는 triacylglycerol을 2-monoacylglycerol과 두 분자의 fatty acid로 분해하는 핵심적인 반응을 진행시키는 효소로 작용하므로 pancreatic lipase는 섭취된 지방의 체내흡수에 영향을 미치는 주요 인자이다(Bitou 등 1999). 따라서 지방소화 효소의 활성 저해 효과가 있는 천연식물류는 지방의 체내 흡수를 방해하므로 비만의 증가 억제에도

기여할 것으로 판단된다.

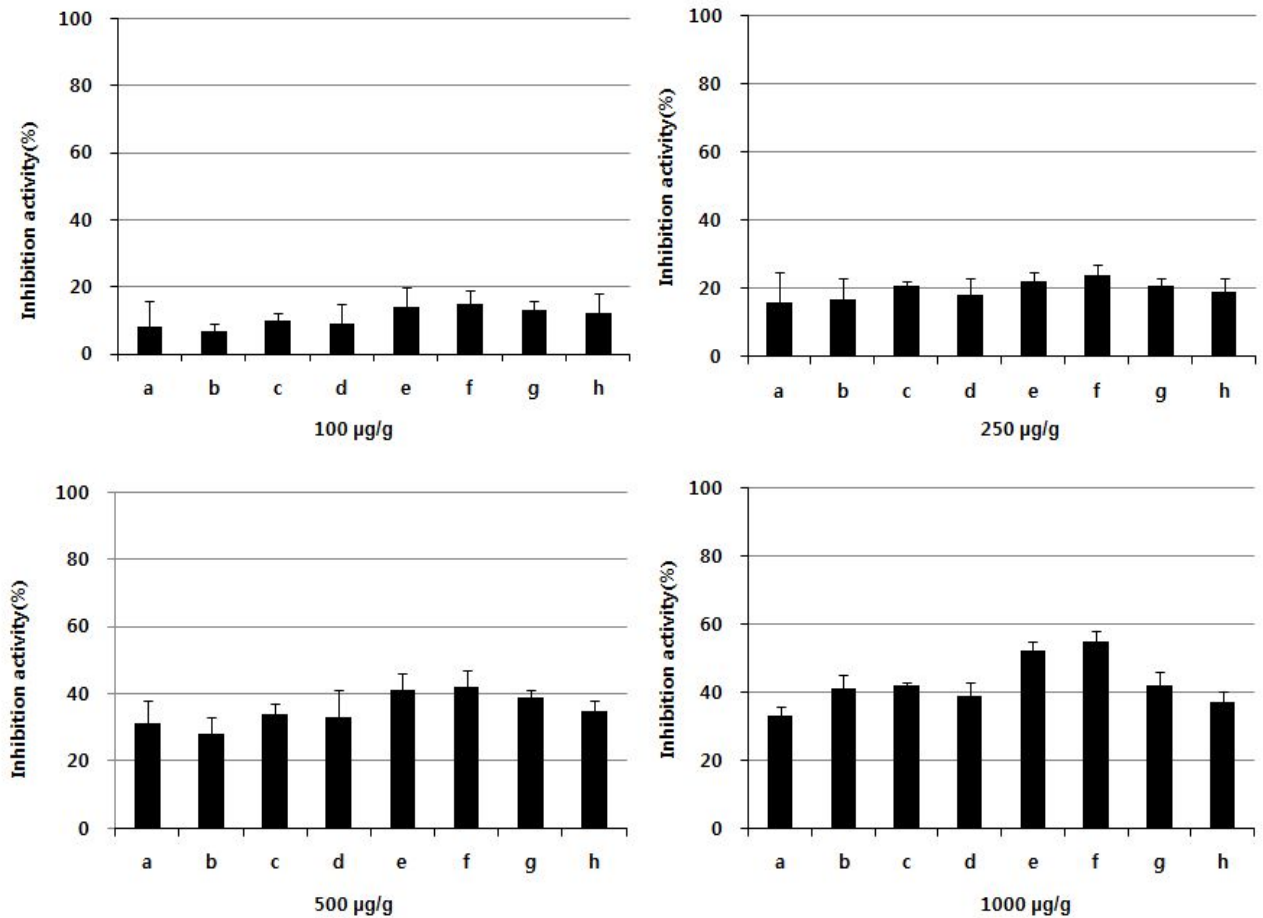


Fig. 26. Inhibition activity of pancreatic lipase by herbal medicine extracts.

a: digitalis folium, b: *radix rehmanniae preparata*, c: orange(*citrus*) peels, d: chinese matrimony vine, e: adlay, f: green tea, g: *A. lancea* DC., h: *A. macrocephala* Koidz.

## 6) 홍마늘 및 천연식물류 추출물의 3T3-L1 세포에 대한 항비만 활성 검증

### (1) 홍마늘 용매 분획물의 세포독성 및 지방축적율

홍마늘의 hexane, buthanol, chloroform, ethylacetate 및 물 추출물을 시료로 하여, 100 µg/mL 이하의 농도 범위에서 비만전구 세포인 3T3-L1 세포에 대한 세포독성을 평가한 결과 (Fig. 27) 실험된 범위의 농도에서는 세포독성이 나타나지 않았다.

Fig. 28은 홍마늘 용매별 추출물을 독성을 나타내지 않는 최고 농도인 100 µg/mL를 3T3-L1 세포에 처리하고, 지방세포로 분화시킨 후 세포내에 축적된 지질을 분리하고 그 함량을 측정된 결과이다. 항비만 활성은 비극성 용매 추출물 보다는 극성 용매 추출물에서 더 효과적이었는데, hexane 추출물은 92.75%, chloroform 추출물은 84.06%로 지방 축적율이 높아 대조군 대비 각각 7.25%와 15.94%로 활성이 낮았다. 가장 지방 축적율이 낮아 항비만 활성이 높은 물추출물의 지방 축적 억제율은 49.76%였다.

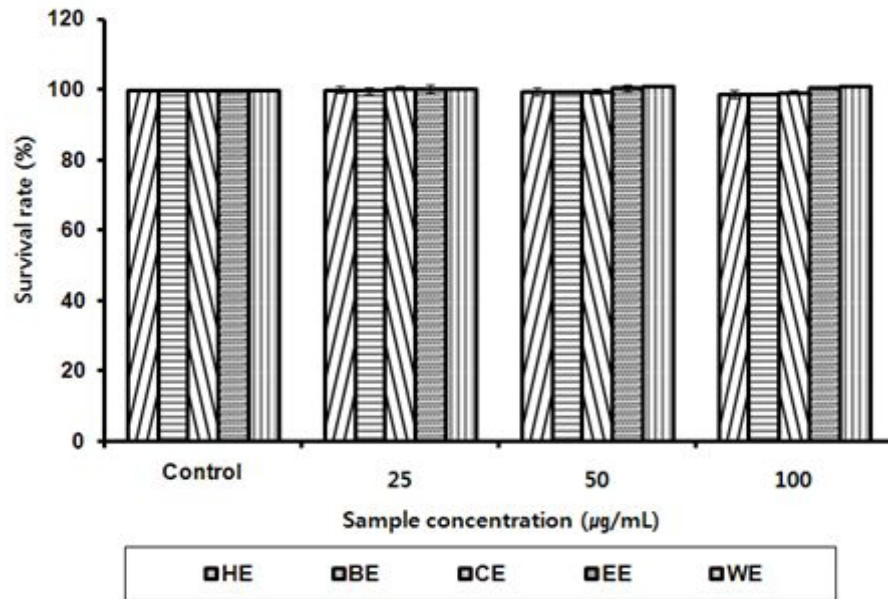


Fig. 27. Effect of solvent extract made from red garlic on 3T3-L1 preadipocytes proliferation.

HE : hexane extract, BE : buthanol extract, CE : chloroform extract, EE : ethylacetate extract, WE : water extract.

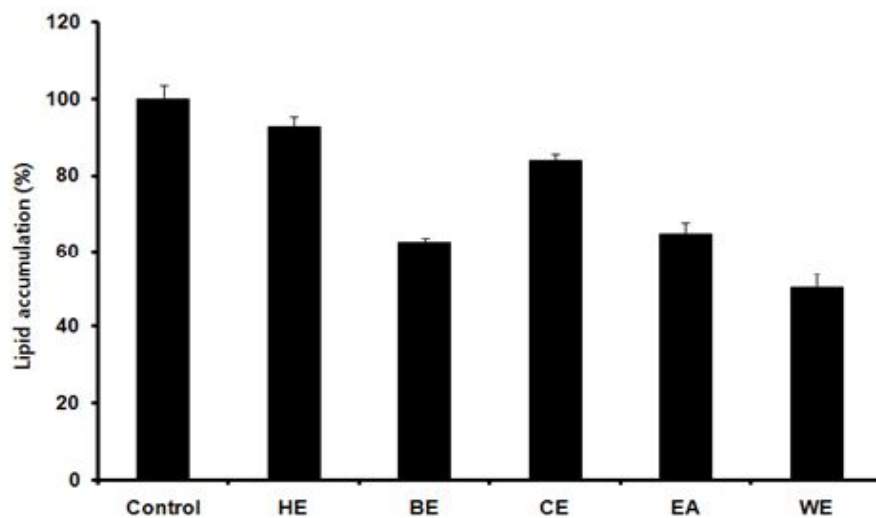


Fig. 28. Effect of solvent extract made from red garlic on the lipid content in 3T3-L1 adipocytes.

HE : hexane extract, BE : buthanol extract, CE : chloroform extract, EE : ethylacetate extract, WE : water extract.

## (2) 천연식물류 열수 추출물의 세포독성 및 지방축적을

마황, 숙지황, 진피, 구기자, 의이인, 녹차, 창출 및 백출 열수추출물을 시료로 하여 5, 10 및 20 µg/mL 농도에서 지방전구 세포인 3T3-L1의 생존에 미치는 영향으로 세포독성을 평



가한 결과(Fig. 29) 실험된 농도 범위에서는 세포의 생육을 저해하지 않음을 확인하였다.

세포 독성 실험 결과에 기초하여 시료를 최고 농도인 20 µg/mL에서 비만세포의 분화 후 지방축적율을 평가한 결과는 Fig. 30과 같다.

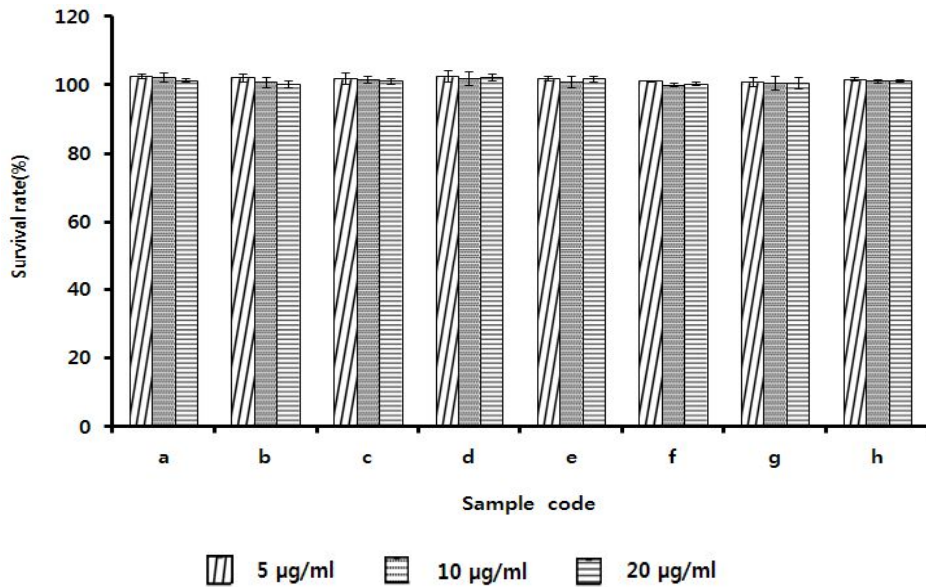


Fig. 29. Effect of solvent extract made from red garlic on 3T3-L1 preadipocytes proliferation.

a: digitalis folium, b: *radix rehmanniae preparata*, c: orange(*citrus*) peels, d: chinese matrimony vine, e: adlay, f: green tea, g: *A. lancea* DC., h: *A. macrocephala* Koidz.

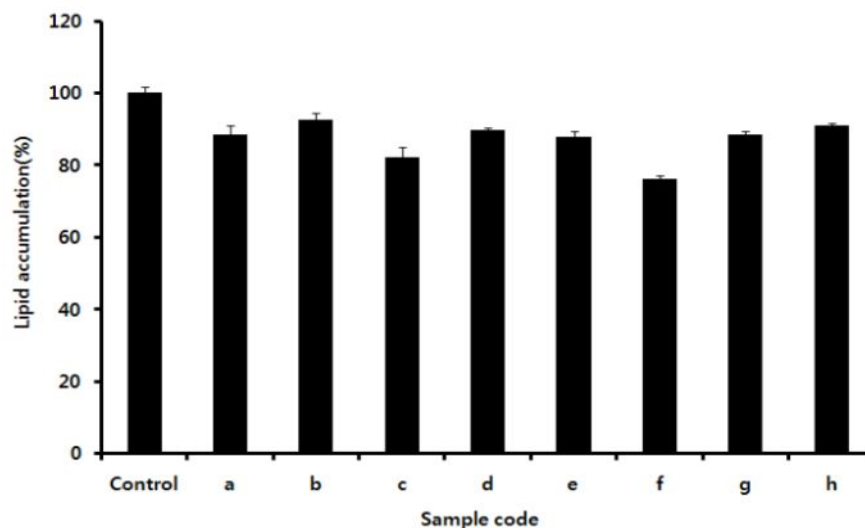


Fig. 30. Effect of solvent extract made from red garlic on the lipid content in 3T3-L1 adipocytes.

a: digitalis folium, b: *radix rehmanniae preparata*, c: orange(*citrus*) peels, d: chinese matrimony vine, e: adlay, f: green tea, g: *A. lancea* DC., h: *A. macrocephala* Koidz.

시료를 처리하지 않은 대조군의 지방 축적율을 100%로 하였을 때 천연식물류 추출물 처리군의 지방 축적율은 76~93%의 범위였다. 녹차 추출물은 대조군 대비 지방 축적율이 24% 더 낮아 시료 중 지방 축적율이 가장 낮았다.

비만을 억제하기 위해서는 음식물의 섭취를 줄이고, 운동 등을 통하여 에너지 소비를 늘려서 지방의 체내 축적을 억제하는 것이 필요하다. 억제된 식이요법이 체중감량을 유도할 수 있다는 것은 잘 알려져 있지만, 화학적 식욕 감퇴제의 섭취를 동반하지 않는 한 음식 섭취욕구를 효과적으로 감소시키지 못하므로, 많은 경우에 장기적인 체중감소를 촉진하지는 못한다. 따라서 음식물 섭취의 감소보다는 에너지 소모를 증가시키는 것이 비만증 억제에 보다 효과적이다. 그러나 지속적으로 운동을 하기 어려운 현대사회의 특성으로 인해, 비만 억제를 위한 주된 노력은 비만 억제 효과를 갖는 약물과 보조식품의 섭취에 초점이 맞추어져 있는 실정이다. 의약품으로 개발되어 현재 국제적으로 공인된 비만치료제는 식욕 억제제인 리덕틸(원재료명 : 시부트라민)과 지방의 소화를 억제하는 제니칼(원재료명 : 오를리스타트) 등이 있다. 이들은 모두 부작용이 있을 수 있다는 점에서 일반 소비자가 예방 목적으로 복용하는 것은 곤란하며 또한 위험하므로 부작용의 우려 없이 안전하게 예방·치료제로서 사용할 수 있는 식물소재 및 물질의 탐색은 지속적으로 이루어지고 있다.

이러한 차원에서 본 연구결과에서와 같이 천연식물류를 소재로 항비만 관련한 인자들을 중심으로 활성을 검증하기 위한 연구는 지속적으로 이루어져야 할 것이며, 본 연구 결과에서는 이상의 소화효소 저해활성 및 지방 세포내 지방 축적율을 실험한 결과에 기초하여 비교적 활성이 높았던 녹차를 홍마늘과 시너지 효과를 창출하기 위한 최종 시료로 선택하였다.

## 7) 홍마늘과 녹차 추출물의 혼합비율에 따른 생리활성 분석

본 연구결과 홍마늘의 항비만 효능을 강화하고, 관능적 특성을 개선할 수 있는 식품소재로서 녹차를 최종 선정하였는데, 차는 동서양에 걸쳐서 오랫동안 성인병 예방 및 치료에 관하여 관심과 연구의 대상이었다. 이 중 녹차에는 다양한 생리활성을 나타내는 여러 종류의 폴리페놀 화합물이 함유되어 있어 항산화 효과뿐만 아니라 비만을 비롯한 각종 성인병에 관한 비교적 많은 연구가 보고되어 있다.

녹차의 항비만 효과는 비교적 잘 알려져 있으며 녹차의 주성분은 epicatechin, epicatechin gallate, epigallocatechin을 함유하고 있으며 이들 카테킨이 항비만 효과를 나타내는 주성분인 것으로 알려져 있다. 이들 카테킨 등은 췌장  $\alpha$ -amylase나 lipase의 활성을 저해하여 탄수화물과 지방의 소화와 흡수 억제로 인한 칼로리 섭취량 제한 효과로 항비만 효과를 가진다고 알려져 있다. 그 외에 카페인도 교감신경을 흥분시켜 지방의 체내 사용을 증가시켜 항비만 효과를 가질 수 있다(Jeon JR 등 2005)

### (1) DPPH 라디칼 소거능 측정

10% 홍마늘 물추출에 녹차 물추출물 분말을 0~0.7%가 되도록 농도를 조절하여 시료를 나

는 후 홍마늘 추출물 분말의 농도를 250~5000 µg/mL 범위로 단계별로 희석하여 활성을 평가한 결과는 Table 30과 같다.

DPPH 라디칼 소거능은 시료의 농도가 높아질수록 유의적으로 증가하였으며 녹차 추출물 분말의 첨가량이 증가할수록 유의적으로 증가하였다. 홍마늘 추출물만 첨가하였을 때 250 µg/mL 농도에서는 19.57±0.09%로 농도로 활성이 낮았으나 5000 µg/mL 농도에서는 70.33±0.80%로 활성이 증가하였다. 그러나 녹차추출물 분말을 0.3%첨가하여 제조한 혼합추출물 C는 홍마늘 추출물의 농도가 250 µg/mL에서는 41.02±0.31%로 활성이 더 높았으며, 500 µg/mL의 농도에서는 55.66±1.26%로 홍마늘 추출물 단독 시료(36.13±0.35%)에 비해 활성이 더 높았다.

홍삼과 녹차 추출물을 2:3으로 혼합한 다음 DPPH에 대한 라디칼 소거활성을 측정한 결과 홍삼과 녹차 각각의 활성치로부터 이들 혼합물의 활성치를 이론적으로 계산하였을 때는 65% 정도이지만 실제 혼합물의 활성치는 94% 정도로 활성치가 더 높았고, 녹차와 홍삼이 혼합됨으로서 항산화활성에 상승효과가 나타났다고 보고되어 있다(Choi SH와 Hyun SK, 2007). 본 연구결과에서도 이와 동일한 경향으로 첨가된 녹차의 비율에 비해 DPPH 라디칼 소거활성은 큰 폭으로 증가하였다.

Table 30. DPPH radical scavenging ability from the mixture of red garlic and green tea extract

Sample code	Concentration (µg/mL)				
	250	500	1000	2500	5000
A	19.57±0.09	36.13±0.35	49.13±0.24	57.01±0.68	70.33±0.80
B	29.26±0.56	42.27±0.32	51.98±0.18	69.26±0.64	84.02±0.74
C	41.02±0.31	55.66±1.26	65.75±1.32	83.98±0.61	86.82±0.70
D	<b>57.50±0.49</b>	51.05±0.73	79.71±0.64	87.51±0.83	93.37±0.29
E	66.00±0.75	91.90±0.13	92.68±0.03	92.11±0.82	93.37±0.25

A : red garlic extract solution

B : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.9 : 0.1

C : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.7 : 0.3

D : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.5 : 0.5

E : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.3 : 0.7

DPPH법은 tocopherol, ascobate, flavonoid 화합물, 방향족 아민류, Maillard형 갈변생성물질, peptide 등의 항산화 활성을 나타내는 생리활성 물질에 의해 환원됨으로서 짙은 자색이 탈색되는 정도에 따라 항산화 효과를 측정하는 방법으로 항산화 물질 탐색에서 가장 일반적

으로 사용되는 항산화 측정 방법으로 알려져 있으며 DPPH는 짙은 자주색을 나타내며 그 자체가 질소 중심의 라디칼로서 라디칼 전자의 비 편재화에 의해 안정화된 상태로 존재한다. 녹차의 화학적 성분으로 카테킨류는 flavan-3 ol 구조의 phenolic 화합물로서 무색, 수용성이며 강한 항산화능을 가지고 있는데 이는 녹차 특유의 수렴성 쓴맛을 제공한다. 차의 주된 카테킨은 epicatechin 형태로서 epigallocatechin gallate가 전체 무게의 9~13%로 가장 많고 epigallocatechin과 epicatechin gallate가 각 3~6%, epicatechin이 1~3%이며, 그 외 catechin, galocatechin이 각각 1~2%정도 함유되어 있다.

## (2) ABTs 라디칼 소거능 측정

홍마늘과 녹차 추출분말 조성물의 ABTs 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Table 31과 같다. 홍마늘 단독 추출물은 1000 µg/mL 이상의 농도에서 50% 이상의 효능이 있었는데, 녹차 추출분말을 혼합함으로써 활성은 크게 증가하여 500 µg/mL 이상의 농도에서 55% 이상의 높은 활성을 나타내었다. 녹차 추출분말의 첨가량이 많을수록 라디칼 소거활성도 높아지는 경향으로 500 µg/mL 농도에서는 녹차의 혼합 비율이 0.7%일 때 ABTs 라디칼 소거활성은 99%에 달하였다.

Table 31. ABTs radical scavenging ability from the mixture of red garlic and green tea extract

Sample code	Concentration (µg/mL)				
	250	500	1000	2500	5000
A	22.64±0.29	36.13±1.64	58.50±0.75	86.02±0.87	99.58±0.04
B	33.22±0.24	55.01±0.78	80.01±0.95	99.76±0.08	99.70±0.15
C	52.12±1.53	78.41±0.29	98.72±0.23	99.64±0.06	99.63±0.13
D	66.33±0.25	94.57±0.90	96.88±0.21	99.56±0.13	99.71±0.14
E	77.82±0.76	99.19±0.03	99.45±0.16	99.71±0.18	99.43±0.12

A : red garlic extract solution

B : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.9 : 0.1

C : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.7 : 0.3

D : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.5 : 0.5

E : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.3 : 0.7

열처리 또는 장기간의 숙성을 거치는 가공 마늘의 경우 생마늘과 비교할 때 생리활성에서 다소의 차이를 나타내는 데, 흑마늘은 생마늘에 비해 SAC 함량이 증가되어 동맥경화 개선, 심장질환 예방, 항산화 활성 및 혈중 콜레스테롤을 포함한 지질 개선 효과가 더 향상됨이 규명되어 있다.

대표적인 마늘 가공품인 AGE는 간 보호, 면역증진, 항암, 화학적 방어활성 및 항산화 활성을 가진다고 한 보고(Kang MJ 등 2008)가 있는데, 홍마늘 추출물도 ABTs 라디칼 소거능이 높았으며, 녹차 추출분말을 소량 첨가하였음에도 불구하고, 큰 시너지 효과를 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

### (3) Ferric-reducing antioxidant power(FRAP) 측정

환원제에 의해 ferric tripyridyltriazine( $Fe^{3+}$ -TPTZ) 복합체가 ferrous tripyridyltriazine( $Fe^{2+}$ -TPTZ)으로 환원되는 원리를 이용한 것으로 시료의 환원력을 측정하여 항산화 활성으로 나타내는 점에 착안하여 고안되어진 방법이다(Benzie IFF와 Strain JJ 1996). 환원력은 시료에 존재하는 reductones가 제공하는 수소 원자가 활성산소 사슬을 분해함으로써 항산화 활성을 나타내는 것으로 항산화 활성과 직접적으로 연관되어 있는 것으로 알려져 있다.

홍마늘 추출물 및 녹차 추출분말의 혼합비율을 달리하여 FRAP법으로 혼합물의 환원력을 측정한 결과는 Table 32와 같다. 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 홍마늘 추출물 환원력은 없었으나 녹차 물 추출물을 0.3% 첨가 한 조성물(C)의 환원력은  $82.67 \pm 4.31 \mu\text{M}$ 로 측정되었으며 녹차 추출물의 농도가 증가될수록 활성도 높아져 녹차 추출물 0.7% 첨가 조성물의 활성은  $283.19 \pm 2.06 \mu\text{M}$ 로 증가하였다. 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 홍마늘 추출물 단독 시료의 환원력은  $133.72 \pm 2.36 \mu\text{M}$ 이었으나 녹차 추출물을 0.5% 첨가하였을 때는  $960.91 \pm 6.02 \mu\text{M}$ 로 홍마늘 단독 추출물의 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도와 유사한 범위로 활성이 증가하였다.

Table 32. Ferric-reducing antioxidant power(FRAP) ability from the mixture of red garlic and green tea extract

Sample code	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )				
	250	500	1000	2500	5000
A	ND <sup>1)</sup>	$6.46 \pm 0.31$	$133.72 \pm 2.36$	$495.52 \pm 5.92$	$1069.59 \pm 12.02$
B	ND	$104.39 \pm 1.62$	$327.96 \pm 1.04$	$945.93 \pm 22.27$	$1742.85 \pm 17.26$
C	$82.67 \pm 4.31$	$277.71 \pm 1.99$	$647.05 \pm 4.92$	$1566.07 \pm 17.18$	$2706.61 \pm 1.33$
D	$181.42 \pm 3.09$	$453.40 \pm 7.67$	$960.91 \pm 6.02$	$2209.55 \pm 4.02$	$3225.48 \pm 1.79$
E	$283.19 \pm 2.06$	$656.74 \pm 18.44$	$1346.80 \pm 4.25$	$2787.15 \pm 6.91$	$3221.88 \pm 17.60$

1) Not Detect

A : red garlic extract solution,

B : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.9 : 0.1

C : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.7 : 0.3

D : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.5 : 0.5

E : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.3 : 0.7

**(4)  $\beta$ -carotene-linoleic acid계에서 항산화 활성 측정**

$\beta$ -carotene-linoleic acid 측정 방법은  $\beta$ -carotene의 황색이 lipid peroxy radical의 첨가에 의하여 탈색화되는 정도를 측정하는 방법(Choi JI 등 2009)으로 홍마늘 조성물의  $\beta$ -carotene-linoleic acid의 소거활성을 측정한 결과는 Table 33과 같다.

홍마늘 및 홍마늘 녹차조성물의  $\beta$ -carotene-linoleic acid 소거 활성은 조성물의 농도가 증가할수록, 녹차 추출물의 첨가량이 증가할수록 소거능도 증가하였다. 홍마늘 추출물의 250±0.16 µg/mL의 농도는 23.03%로 활성이 낮았으나 1000 µg/mL의 농도에서는 54.18±1.20%로 높았다. 녹차 추출물을 0.1% 첨가한 B 시료는 소거활성이 14% 증가하였으나, 0.3%(C) 및 0.5%(D)첨가 조성물에서는 7.6% 및 2.6% 증가하여 녹차 추출 분말의 첨가비에 따라 활성이 양의 상관관계로 증가하지 않음을 확인하였다. 따라서 홍마늘 녹차 조성물을 제조할 경우 녹차의 쓴맛으로 인해 녹차의 첨가량이 제한적이었으며 항산화 활성 또한 녹차 첨가에 따라 항산화능도 높아지나 첨가량에 비례하지는 않아 녹차의 첨가량을 0.3%로 조정하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

Table 33. Antioxidant activity in  $\beta$ -carotene-linoleic acid system from the mixture of red garlic and green tea extract

Sample code	Concentration (µg/mL)				
	250	500	1000	2500	5000
A	23.03±0.16	41.97±1.46	54.18±1.20	70.98±0.43	82.43±0.30
B	36.98±0.34	53.31±0.38	68.39±0.62	82.01±0.88	87.49±0.84
C	44.73±1.08	63.99±0.29	75.99±0.57	85.56±0.60	91.15±1.05
D	50.48±0.75	66.02±0.38	78.63±1.93	88.57±0.81	93.11±2.27
E	59.60±0.25	72.90±1.01	89.10±0.78	93.18±1.23	97.67±0.88

A : red garlic extract solution

B : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.9 : 0.1

C : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.7 : 0.3

D : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.5 : 0.5

E : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.3 : 0.7

항산화 활성의 결과를 바탕으로 녹차 추출 분말이 0.7% 첨가된 조성물군은 제외하고 홍마늘 및 녹차 0.1, 0.3 및 0.5%를 첨가 제조한 혼합물을 250, 500 및 1000 µg/mL 농도로 조절하여 소화효소 저해활성을 실험하였다.

**(5) 홍마늘 녹차 조성물의  $\alpha$ -amylase 저해활성**

홍마늘 녹차 조성물의  $\alpha$ -amylase 저해활성을 실험한 결과는 Table 34와 같다.  $\alpha$ -amylase 저해활성은 전반적으로 활성이 낮았으나 농도가 증가할수록 높아지는 경향이였다. 250  $\mu$ g/mL의 농도에서는 홍마늘 추출물의  $\alpha$ -amylase 저해활성은 5.97%로 낮았으며, 최고 농도인 1000  $\mu$ g/mL의 농도에서도 22.43% 였다. 반면 녹차 추출 분말을 0.1% 첨가한 조성물 B의  $\alpha$ -amylase 저해활성은 홍마늘만 첨가하였을 때보다 2배 이상 증가하여 250  $\mu$ g/mL에서는 10.31 $\pm$ 0.38% 였다. 반면 녹차 분말 0.3%와 0.5% 첨가군 간에는 녹차 분말의 첨가량에 따른 활성의 차이가 크지 않아 최고 농도인 1000  $\mu$ g/mL에서 각각 41.15 $\pm$ 1.05%와 43.11 $\pm$ 2.27%로 활성에 차이가 적었다.

페놀성 물질은  $\alpha$ -amylase저해활성을 나타내는데, 비타민 나무의 경우 페놀성 화합물의 함량이 높은 부위에서  $\alpha$ -amylase 저해활성이 더 높았다고 보고되어 있다(Park YH 등 2010). 본 연구에서도 녹차 추출 분말이 소량 첨가되면서 활성이 크게 증가한 것은 녹차 중에 함유되어 있는 페놀성 화합물이 작용하여 홍마늘과 시너지 효과를 나타내었기 때문으로 추정된다.

일반적으로 식사로 섭취된 전분은  $\alpha$ -amylase에 의해 소당류로 분해되고 소장 점막의 brush border에 있는  $\alpha$ -glucosidase에 의해 포도당으로 분해된 후 흡수되어 식후의 혈당을 상승시킨다(Hwang JY과 Han JS 2007). 식물체에서 정제한  $\alpha$ -amylase 저해물질은 포유동물의  $\alpha$ -amylase에 대해서는 저해활성도를 나타내지 않는 즉, 기원 특이성이 있어 검정콩, 쌀보리 및 옥수수 중의  $\alpha$ -amylase 저해물질은 human saliva와 porcine pancreatic의  $\alpha$ -amylase에 대해서는 저해활성이 있으나 맥아 및 미생물에서 유래하는  $\alpha$ -amylase에 대해서는 저해활성도가 낮았다고 보고되어 있다(Moon JS 등 1998).

Table 34. Inhibition activity of  $\alpha$ -amylase by the mixture of red garlic and green tea extract

Sample code	Concentration ( $\mu$ g/mL)		
	250	500	1000
A	5.97 $\pm$ 1.46	14.18 $\pm$ 1.20	22.43 $\pm$ 0.30
B	10.31 $\pm$ 0.38	28.39 $\pm$ 0.62	37.49 $\pm$ 0.84
C	13.99 $\pm$ 0.29	25.99 $\pm$ 0.57	41.15 $\pm$ 1.05
D	14.02 $\pm$ 0.38	28.63 $\pm$ 1.93	43.11 $\pm$ 2.27

A : red garlic extract solution

B : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.9 : 0.1

C : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.7 : 0.3

D : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.5 : 0.5

**(6) 홍마늘 녹차 조성물의 trypsin 저해활성**

홍마늘 녹차 조성물의 trypsin의 저해활성을 측정한 결과는 Table 35와 같으며 trypsin의 저해활성은 α-amylase의 저해활성보다 높은 경향이였다. 홍마늘의 trypsin 저해활성은 11%~42.23%의 범위였으며 녹차 추출분말 0.1~0.5% 첨가시 1000 µg/mL의 농도에서 54.49~63.11%의 범위로 효소 저해활성이 증가하였다. 저농도에서는 홍마늘 단독 추출물에 비해 녹차 추출물을 0.1% 혼합함으로써 활성은 2배 이상 증가하였으나, 0.3% 첨가시는 0.1% 첨가시와 유사한 범위로 두 시료간 차이가 없었다.

단백질 분해에 관여하는 효소인 trypsin은 이자에서 활성이 없는 전구물질인 trypsinogen 형태로 만들어져 이자액 속에 분비된 후 소장 에 운반되어 enterokinase 또는 trypsin 자체에 의해 활성화되어 단백질을 분해하게 된다. 단백질 분해효소 저해제는 암, 감염증, 고지혈증, 당뇨병, 자기면역 질환증, 노인성 치매 등의 치료제로도 개발되고 있다(Kim JB. 1998).

Table 35. Inhibition activity of trypsin by the mixture of red garlic and green tea extract (%)

Sample code	Concentration (µg/mL)		
	250	500	1000
A	11.97±1.46	20.39±0.80	42.23±0.33
B	23.31±0.38	31.22±0.58	51.49±0.84
C	23.99±0.29	33.14±0.32	57.15±2.24
D	26.02±0.38	36.23±0.60	63.11±1.21

A : red garlic extract solution

B : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.9 : 0.1

C : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.7 : 0.3

D : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.5 : 0.5

**(7) 홍마늘 녹차 조성물의 α-chymotrypsin 저해활성**

홍마늘 및 녹차 추출분말 혼합 조성물의 α-chymotrypsin의 저해활성을 실험한 결과는 Table 36과 같다. α-chymotrypsin의 저해활성은 trypsin의 저해활성에 비해 상대적으로 낮은 범위로 1000 µg/mL의 농도에서 녹차 추출분말 0.3% 및 0.5% 첨가군을 50% 미만의 낮은 활성을 보였다. 500 µg/mL의 농도에서 홍마늘 단독의 활성은 25.34%인 반면 0.1% 녹차 추출분말 첨가 조성물은 38.25%로 α-chymotrypsin의 저해활성이 크게 증가한 반면 녹차 추출분말을 0.3% 첨가한 조성물과는 39.41%로 큰 차이를 볼 수 없었으며 0.5% 첨가시에도 유사한 경향이였다. 또, 1000 µg/mL의 농도에서는 녹차 추출분말 0.1% 첨가시보다 0.3% 첨가된 조성물의 활성은 평균 4.83%가 증가한 반면 0.5% 첨가 조성물에서는 0.82%만이 증가하



여 홍마늘 녹차 조성물 제조시 녹차 추출분말의 첨가량의 유효농도는 0.3%가 적절할 것으로 판단된다. 이는 상기의  $\alpha$ -amylase나 trypsin 저해활성에서도 동일한 경향이였다.

$\alpha$ -chymotrypsin 역시 이차에서 활성이 없는 전구물질인 chymotrypsinogen의 형태로 소장에서 분비되고, trypsin이나 chymotrypsin 자체에 의하여 활성화되어 단백질을 분해한다. 단백질 분해효소를 저해함으로써 체내에서 분해되는 단백질의 양을 감소시켜 과잉으로 흡수되는 단백질의 양을 제한하여 체중조절 및 비만방지에 영향을 미치게 된다(Jang YS, Jeong JM. 2010).

Table 36. Inhibition activity of  $\alpha$ -chymotrypsin by the mixture of red garlic and green tea extract

Sample code	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
	250	500	1000
A	8.67 $\pm$ 1.46	25.34 $\pm$ 0.13	35.23 $\pm$ 0.23
B	13.31 $\pm$ 0.22	38.25 $\pm$ 1.55	45.43 $\pm$ 0.15
C	19.39 $\pm$ 0.14	39.41 $\pm$ 2.10	50.81 $\pm$ 1.11
D	23.72 $\pm$ 0.15	40.93 $\pm$ 1.20	51.63 $\pm$ 2.21

A : red garlic extract solution

B : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.9 : 0.1

C : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.7 : 0.3

D : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.5 : 0.5

#### (8) 홍마늘 녹차 조성물의 lipase 저해활성

홍마늘 녹차 조성물의 lipase 저해활성을 측정한 결과는 Table 37과 같다. Lipase 저해활성은 타 효소 활성에 비해 상대적 활성이 더 높아 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 홍마늘 추출물의 lipase 저해활성은 34.18 $\pm$ 1.20%였고, 녹차 추출분말을 0.1% 이상 첨가함으로써 50% 이상으로 활성이 증가하였다. 시료의 농도 증가에 따른 lipase 저해활성을 중심으로 살펴보면 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에 비해 농도가 2배 증가된 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 21~29% 정도 저해활성이 증가하여 25.99 $\pm$ 0.57~32.63 $\pm$ 1.93%의 저해활성을 나타내었다. 반면, 이에 비해 농도가 2배 더 증가한 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서는 43%~57% 정도 활성이 증가되어 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도가 lipase 저해활성에 영향력이 있을 것으로 추정된다.

식이로 섭취된 지방의 분해 및 흡수는 장내 낮은 pH에 의한 물리 화학적인 지방의 변화와 아울러 여러 가지 효소 작용이 동반되는 매우 복잡한 경로를 거쳐 진행된다. 이들 여러 가지 효소 중에 pancreatic lipase은 triacylglycerol을 2-monoacylglycerol과 두 분자의 fatty

acid로 분해하는 핵심적인 반응을 진행시키는 효소로 작용한다(Bitou N 등 1999).

Jeong 등(2005)은 솔잎, 홍차 및 녹차 추출물 함유 조성물의 항비만 효과에 대한 연구에서 녹차와는 달리 발효과정에서 80% 이상의 카테킨이 파괴된 홍차가 우수한 항비만 효과를 나타내었는데, 고자당 식이 비만쥐에서 홍차 추출물의 항비만 효과의 결과와 유사한 것으로 홍차의 항비만 효과는 주로 슈가블락 효과, 즉 체장  $\alpha$ -amylase의 활성화도 억제에 의한 탄수화물의 위장관내 소화를 억제하여 체내 섭취를 억제한 결과로 생각되지만 췌장의 lipase 활성 억제에 의한 효과도 있을 것으로 추정된 바 있다. 또한 체중과 체지방의 감소 기전은 칼로리 섭취량뿐 아니라 에너지의 사용량도 중요한 역할을 담당하므로 녹차와 홍차 추출물의 항비만 효과는 녹차와 홍차에 다량 포함되어 있는 카페인에 의한 열량소모 효과에도 기여할 것으로 보고하였다.

Table 37. Inhibition activity of lipase by the mixture of red garlic and green tea extract (%)

Sample code	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
	250	500	1000
A	13.87 $\pm$ 0.28	19.18 $\pm$ 1.20	34.18 $\pm$ 1.20
B	18.39 $\pm$ 0.62	25.99 $\pm$ 0.57	55.92 $\pm$ 0.53
C	21.68 $\pm$ 0.60	28.39 $\pm$ 0.62	58.39 $\pm$ 0.22
D	25.72 $\pm$ 0.53	32.63 $\pm$ 1.93	62.61 $\pm$ 1.22

A : red garlic extract solution

B : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.9 : 0.1

C : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.7 : 0.3

D : mixture solution of A : green tea extract powder = 99.5 : 0.5

### (9) 3T3-L1 세포를 이용한 홍마늘 및 녹차 조성물의 항비만 활성

홍마늘과 녹차 추출물을 베이스로 하고, 조성물 제조를 위한 부재료로 감귤 식이섬유를 첨가하여 시제품 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 홍마늘, 식이섬유 및 녹차 추출물의 혼합 조성물을 시료로 하여 비만전구 세포인 3T3-L1 세포에서의 세포독성과 지방 축적율을 실험한 결과는 각각 Fig. 31 및 32와 같다.

식이섬유 및 녹차 추출물을 각각 홍마늘 추출물에 대해 0.3%씩 첨가하고, 이를 5, 10, 20 및 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 농도 조절하여 세포독성을 실험한 결과 실험된 농도 범위에서는 독성이 확인되지 않았다.

따라서 최고 농도인 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 비만세포에 대한 지방 축적율을 실험하였다. 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 낮은 농도에서는 홍마늘 추출물 단독으로는 대조군 대비 지방 축적 저해활성이 5%

미만으로 낮았으며, 홍마늘과 녹차를 혼합하였을 때 지방 축적율을 90%로 대조군에 비해 10% 더 지방 축적율이 낮았으며, 홍마늘, 녹차 및 식이섬유를 모두 혼합하였을 때 지방 축적율이 가장 낮아 대조군 대비 85%였다.

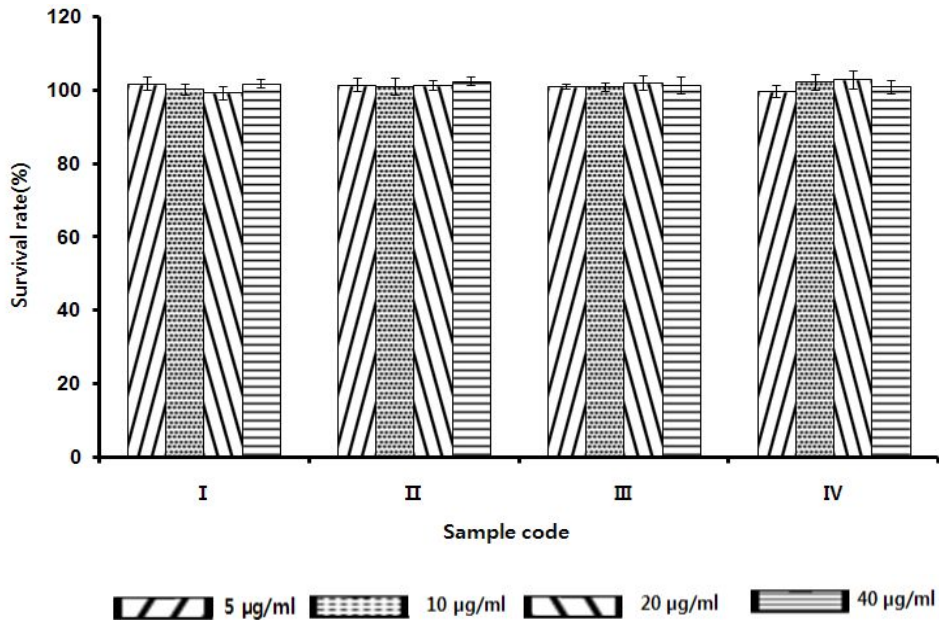


Fig. 31. Effect of solvent extract made from red garlic on 3T3-L1 preadipocytes proliferation.

I : red garlic extract, II : red garlic extract+citrus powder, III : red garlic extract+green tea extract, IV : red garlic extract+citrus powder+green tea extract.

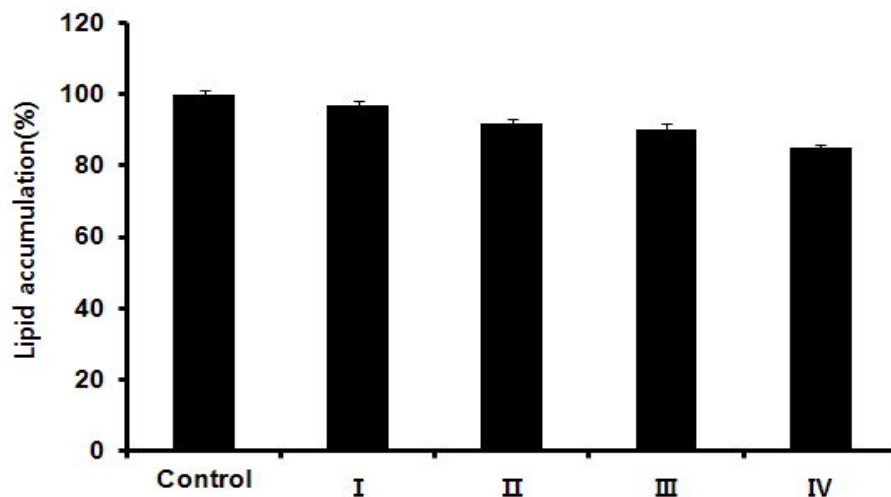


Fig. 32. Effect of solvent extract made from red garlic on the lipid content in 3T3-L1 adipocytes.

I : red garlic extract, II : red garlic extract+citrus powder, III : red garlic extract+green tea extract, IV : red garlic extract+citrus powder+green tea extract.

## 8) 홍마늘과 녹차 추출물로 만든 시제품 조성물의 생리활성 비교

홍마늘과 녹차 추출물을 혼합 베이스로 하고, 연구결과를 종합하고, 관능평가 결과를 중심으로 기호도를 만족시킬 농도 범위를 1차 설정하였다. 여기에 첨가 부재료로 식이섬유를 혼합하여 이들의 조성에 따른 생리활성을 상호 비교함으로써 최종 제품의 품질특성을 규명하기 위한 자료로 활용하고자 하였다.

### (1) 홍마늘 추출물 함유 복합 조성물의 총 페놀 함량

홍마늘 추출물과 복합물의 총 페놀 함량은 홍마늘 추출물(RG)은 8.08 mg/g이었다. 녹차 복합물(R+T) 및 녹차·식이섬유 복합물(R+TF)은 16.35 mg/g 및 15.53 mg/g으로 약 2배 정도 높았으며, 식이섬유 복합물(R+F)은 홍마늘 추출물과 비슷한 함량이었다(Fig. 33).

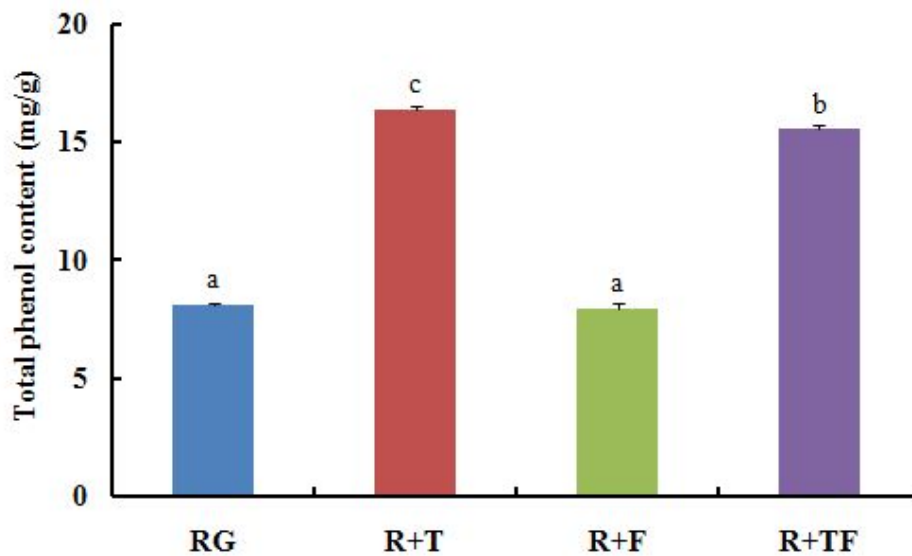


Fig. 33. Total phenol content of red garlic extract and their composite.

<sup>a-c</sup>Different superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

RG: red garlic extract

R+T: red garlic extract+green tea extract by 87.5:12.5 ratio

R+F: red garlic extract+citrus dietary fiber by 87.5:12.5 ratio

R+TF: red garlic extract+green tea extract+citrus dietary fiber by 87.5:6.25:6.25 ratio.

홍마늘 열수추출물의 총 페놀 함량은 27.15 mg/g으로 생마늘보다 높으며 흑마늘 보다는 다소 낮은 함량인 것으로 보고된 바 있으며(Lee SJ 등 2010), 투석 처리한 홍마늘 추출물은 투석막 외액에서 총 페놀 함량이 15~20 mg/g 범위로 생마늘이나 흑마늘보다 높았는데, 이는 항산화 활성과 (+)상관관계인 것으로 보고되어 있다(Shin JH 등 2011). 본 연구에서 홍마늘 추출물의 총 페놀 함량은 상기 보고와 다소 차이가 있는데, 식물류의 가공에서 원료의 상태, 품종, 제조공정상의 차이, 추출과정 등에 따라 유용성분의 용출이 다를 수 있기 때문

이라 사료된다.

녹차 열수추출물 중 총 페놀 함량은 6.62 mg/100 g(Son GM 등 2005), 35.7~46.8 mg/100 g으로(Shon MY 등 2004) 시료의 종류나 상태, 측정방법 등에 따라 상당한 차이를 보이나, 녹차와 유사한 보이차, 우롱차, 홍차와 비교시 녹차의 총 페놀 함량이 가장 높으며, 특히 녹차의 카테킨류로 EGCG (epigallocatechin gallate)의 함량이 가장 높아 이들 성분이 비례적으로 항산화 활성을 증가시킨다는 보고가 있다(Jeong CH 등 2009).

## (2) 홍마늘 추출물 함유 복합 조성물의 항산화 활성

홍마늘 및 복합 조성물의 DPPH와 ABTs 라디칼 소거활성 및 환원력을 측정하여 항산화 활성을 분석한 결과는 각각 Table 38, 39 및 40과 같다.

DPPH 라디칼 소거활성은 홍마늘 단독 시료에 비해 식이섬유와 혼합함으로써 오히려 낮아졌는데, 1000 µg/mL 농도에서 홍마늘 추출물의 라디칼 소거활성은 20.68±2.95% 였으나 식이섬유와 혼합하였을 때는 14.77±1.80%로 상대적인 활성이 더 낮았다. 반면 녹차 추출물 혼합 조성물에서는 46.13±1.48%로 홍마늘 추출물 단독 추출물에 비해 활성은 2배 이상 증가하였다. 5000 µg/mL 농도에서 홍마늘, 녹차 및 식이섬유를 모두 혼합하였을 때 (56.68±2.11%)는 녹차 추출물만 혼합한 경우(63.50±1.67%) 및 홍마늘 추출물(59.35±2.35)에 비해 활성이 오히려 감소하여 식이섬유의 첨가는 항산화 활성의 증가에 오히려 방해가 됨을 확인할 수 있었다.

Table 38. DPPH radical scavenging activity of red garlic extract and their composite

Sample code	Concentration (µg/mL)				
	250	500	1000	2500	5000
RG	11.04±2.64 <sup>aA</sup>	10.83±1.53 <sup>aA</sup>	20.68±2.95 <sup>bB</sup>	42.26±1.84 <sup>cA</sup>	59.35±2.35 <sup>dA</sup>
R+T	24.82±3.83 <sup>aB</sup>	40.30±1.38 <sup>bC</sup>	46.13±1.48 <sup>cC</sup>	58.58±0.99 <sup>dC</sup>	63.50±1.67 <sup>eB</sup>
R+F	8.02±1.17 <sup>aA</sup>	9.35±1.20 <sup>aA</sup>	14.77±1.80 <sup>bA</sup>	39.24±2.43 <sup>cA</sup>	55.77±1.44 <sup>eA</sup>
R+TF	23.49±0.12 <sup>aB</sup>	32.00±0.85 <sup>bB</sup>	48.24±1.04 <sup>cC</sup>	53.52±0.53 <sup>dB</sup>	56.68±2.11 <sup>dA</sup>

RG: red garlic extract

R+T: red garlic extract+green tea extract by 87.5:12.5 ratio

R+F: red garlic extract+citrus dietary fiber by 87.5:12.5 ratio

R+TF: red garlic extract+green tea extract+citrus dietary fiber by 87.5:6.25:6.25 ratio.

ABTs 라디칼 소거활성은 시료의 첨가농도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었는데, 250 µg/mL 농도에서는 20% 미만으로 활성이 낮았으나 1000 µg/mL 이상의 농도에서는 홍마늘과 녹차 복합 조성물, 홍마늘, 녹차 및 식이섬유를 모두 혼합한 복합 조성

물에서는 55% 이상의 높은 활성을 나타내었다. 2500 µg/mL까지의 농도에서는 활성이 낮은 홍마늘 추출물 및 홍마늘 식이섬유 복합 조성물에 비해 활성이 높은 홍마늘과 녹차, 홍마늘, 녹차 및 식이섬유 복합 조성물의 활성이 약 2배 이상 높았다. 그러나 최고 농도인 5000 µg/mL 농도에서는 이러한 차이가 10% 미만으로 낮아져 유효농도 이상에서는 활성이 낮았던 복합 조성물의 활성도 크게 증가하는 경향을 확인할 수 있었다.

Table 39. ABTs radical scavenging activity of red garlic extract and their composite

Sample code	Concentration (µg/mL)				
	250	500	1000	2500	5000
RG	6.50±0.57 <sup>aA</sup>	11.63±0.75 <sup>bA</sup>	22.06±0.38 <sup>cB</sup>	48.52±0.37 <sup>dB</sup>	70.21±0.12 <sup>eA</sup>
R+T	17.07±0.22 <sup>aB</sup>	31.53±0.55 <sup>bB</sup>	56.91±0.58 <sup>cC</sup>	85.09±0.38 <sup>dC</sup>	87.22±0.55 <sup>eC</sup>
R+F	6.21±0.79 <sup>aA</sup>	11.03±0.71 <sup>bA</sup>	20.63±0.41 <sup>cA</sup>	45.63±0.47 <sup>dA</sup>	72.93±0.81 <sup>eB</sup>
R+TF	16.79±0.91 <sup>aB</sup>	31.93±0.64 <sup>bB</sup>	56.57±0.77 <sup>cC</sup>	85.45±0.60 <sup>dC</sup>	86.39±0.78 <sup>dC</sup>

RG: red garlic extract

R+T: red garlic extract+green tea extract by 87.5:12.5 ratio

R+F: red garlic extract+citrus dietary fiber by 87.5:12.5 ratio

R+TF: red garlic extract+green tea extract+citrus dietary fiber by 87.5:6.25:6.25 ratio.

Table 40. Reducing power of red garlic extract and their composite

(O.D. value in 700 nm)

Sample code	Concentration (µg/mL)				
	250	500	1000	2500	5000
RG	0.16±0.0 <sup>aA</sup>	0.22±0.0 <sup>bA</sup>	0.30±0.0 <sup>cA</sup>	0.54±0.0 <sup>dA</sup>	0.92±0.01 <sup>eB</sup>
R+T	0.21±0.0 <sup>aC</sup>	0.30±0.0 <sup>bC</sup>	0.47±0.0 <sup>cC</sup>	0.90±0.01 <sup>dC</sup>	1.54±0.09 <sup>eD</sup>
R+F	0.16±0.01 <sup>aA</sup>	0.22±0.0 <sup>bA</sup>	0.30±0.0 <sup>cA</sup>	0.55±0.01 <sup>dA</sup>	0.83±0.0 <sup>eA</sup>
R+TF	0.20±0.0 <sup>aB</sup>	0.29±0.0 <sup>bB</sup>	0.45±0.0 <sup>cB</sup>	0.82±0.02 <sup>dB</sup>	1.32±0.02 <sup>eC</sup>

RG: red garlic extract

R+T: red garlic extract+green tea extract by 87.5:12.5 ratio

R+F: red garlic extract+citrus dietary fiber by 87.5:12.5 ratio

R+TF: red garlic extract+green tea extract+citrus dietary fiber by 87.5:6.25:6.25 ratio.

복합 조성물의 환원력(Table 40)도 여타 항산화 활성 실험 결과와 동일한 경향으로 시료의 농도가 높아질수록 활성도 증가하였으며, 홍마늘과 녹차를 혼합하였을 때 가장 활성이 높았다. 홍마늘 및 홍마늘과 식이섬유 혼합 복합 조성물 간에는 2500 µg/mL 이하의 농도에서는 시료의 농도 증가에 따른 활성의 차이가 없었고, 홍마늘과 녹차 추출물을 혼합한 복합 조성물의 활성이 가장 높아 5000 µg/mL 농도에서 흡광도 값은  $1.54 \pm 0.09$ 였다.

### (3) 홍마늘 추출물 함유 복합 조성물의 콜레스테롤 흡착 활성

홍마늘 추출물과 복합물의 콜레스테롤에 대한 흡착 활성을 *in vitro*에서 측정한 결과는 Fig. 34와 같다. 2.5 mg/mL의 농도에서 비교한 결과, 홍마늘 추출물(RG)의 콜레스테롤 흡착 활성(3.85%)에 비해 녹차 복합물(R+T)은 약 9.5배, 녹차·식이섬유 복합물(R+TF)은 약 11.5배 증가되었다.

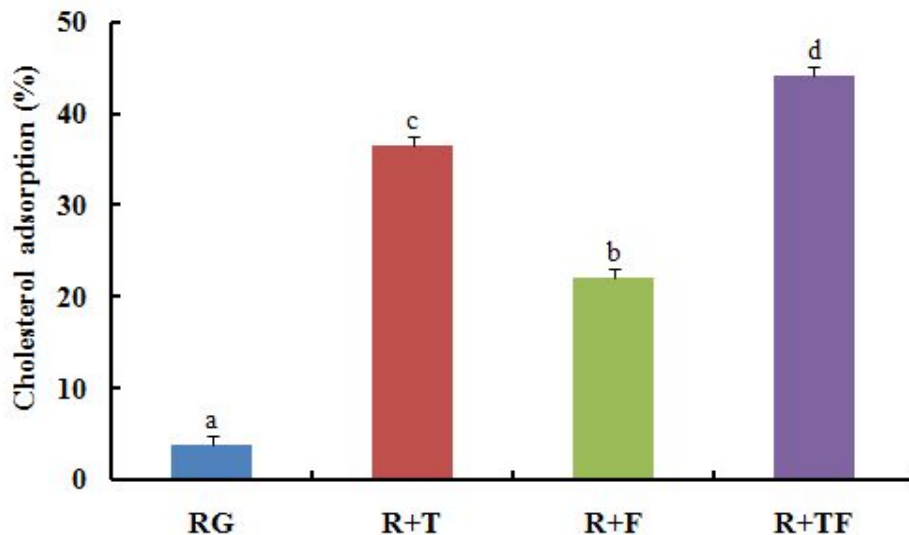


Fig. 34. Cholesterol adsorption activity of red garlic extract and their composite.

<sup>a-d</sup>Different superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

RG: red garlic extract

R+T: red garlic extract+green tea extract by 87.5:12.5 ratio

R+F: red garlic extract+citrus dietary fiber by 87.5:12.5 ratio

R+TF: red garlic extract+green tea extract+citrus dietary fiber by 87.5:6.25:6.25 ratio.

실험동물에 녹차를 급이한 결과 혈중 콜레스테롤 수준이 감소되었는데, 이는 녹차가 콜레스테롤 흡수를 억제하였거나 담즙산 형태로 배출이 촉진되었기 때문인데(Muramastu K 등 1986), 이와 같은 결과는 녹차 중의 카테킨 성분인 EGCG의 효과가 지배적이라는 보고가 있다(Jin HH 등 2004). 식이섬유 중 펙틴은 순환기계 질환을 포함한 만성 퇴행성 질환의 예방

에 효과적이며(Shinnick FL 등 1988), 고콜레스테롤혈증 유도 흰쥐에게 셀룰로오스와 펙틴을 각각 급이한 경우 펙틴 급이군에서 혈중 콜레스테롤 수준이 유의적으로 감소하였다는 보고가 있다(Jung JY 등 1998). 본 연구에서 녹차·식이섬유 복합물(R+TF)은 홍마늘 추출물에 비해 콜레스테롤 흡착 활성이 월등히 높아 고지방-콜레스테롤 식이에 첨가할 경우 체내 지질 수준의 감소에 유용할 것으로 예상된다.



## 9) 홍마늘 시제품의 제조

### (1) 유동층 미과립 홍마늘 분말의 시제품

- 원료 : 홍마늘 농축액(6 Brix), Citrus Fiber, 유당
- 설비 : 유동층 설비
- 시료 A : 홍마늘 24% 분말



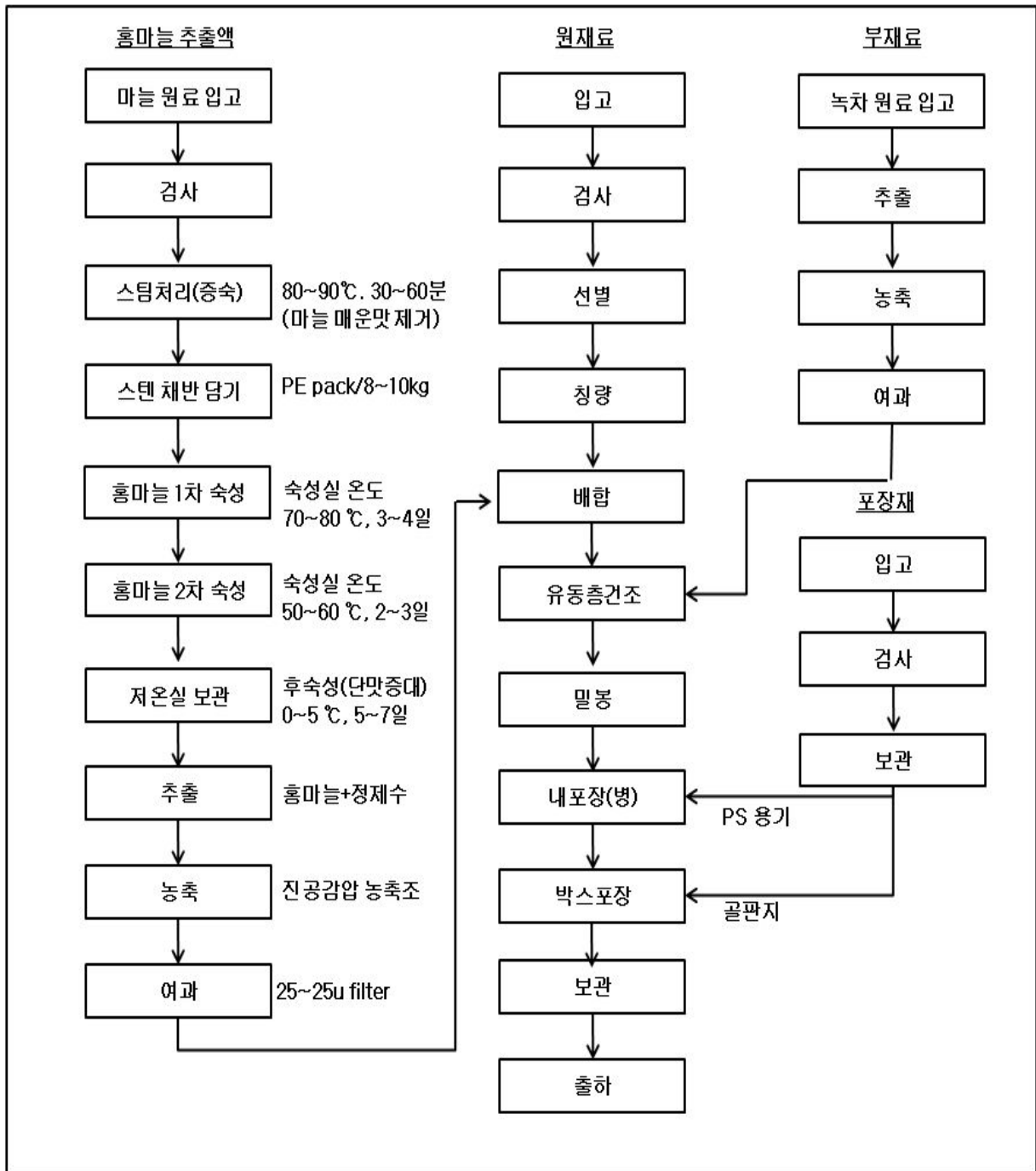
- 시료 B : 홍마늘 36%, 유당코팅 13% 분말



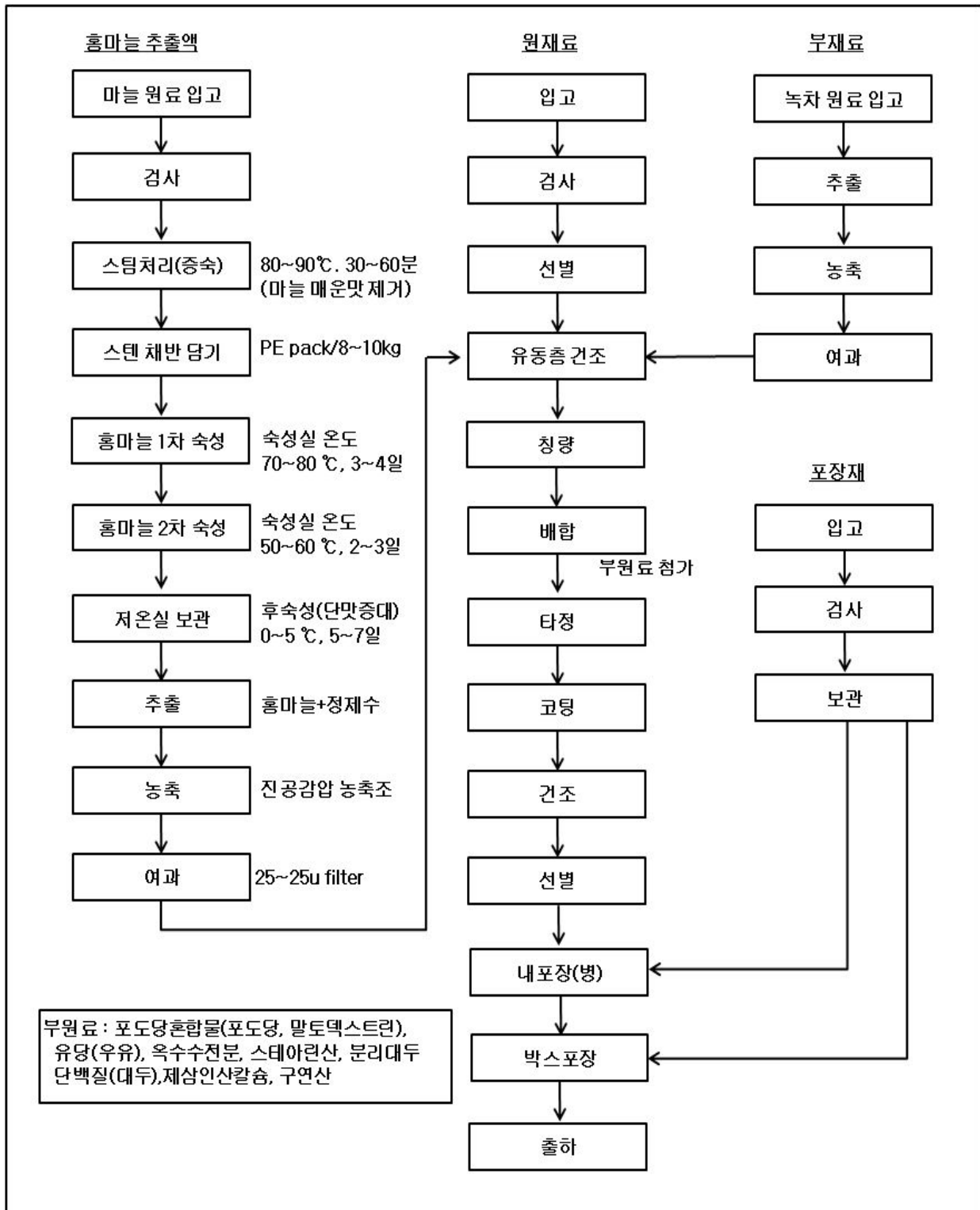
- 시료 C : 홍마늘 56%, 유당코팅 9% 분말



(2) 홍마늘과 녹차 혼합 분말의 제조 공정도



(3) 홍마늘 타블렛의 제조 공정도



(4) 홍마늘 분말 및 타블렛 시제품 사진



<홍마늘 조성물 분말제제 시제품>



<홍마늘 조성물 함유 타블렛 시제품>

## 제 4 절 홍마늘의 가공조건 설정 및 생산공정 개발 (제 2협동과제)

### 1. 개요

- 생마늘과 흑마늘로 이분화되어 있는 마늘 가공품 시장을 개척하고 신수요 창출 및 수출을 위한 전략상품으로써 마늘의 매운 맛과 강한 자극치를 줄이고, 또 갈변물질의 생성으로 기능성이 강화된 홍마늘을 개발하고자 하였다.
- 개발된 홍마늘의 상품화, 고급 가공품의 생산 및 상품화를 위하여 대량생산 공정을 확립함으로써 기업의 산업화에 직접 활용 가능한 기술을 개발하고자 하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 1) 홍마늘 시료의 제조

##### (1) 깎마늘을 이용한 홍마늘 제조 온도 및 시간 설정

깎마늘을 시료로 하여 50℃에서 건조 유무에 따라 A, B로 구분하여 65℃에서 72시간 가열 후 65℃ 10시간 가열 후 다시 14시간 상온 보관한 것을 각각 C와 D로 조건을 달리하였다. 이후 65℃ 10시간 가열 후 14시간 상온 보관을 4회 반복한 것을 각각 E와 F로 구분하였으며, 이때 세부 가온 조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Manufacture conditions of red garlic under different temperature and time

Temp.(℃)	50	80	77	65	65	65	65	65
Time(hr)	12	1	16	72	10	10	10	5
A	○	○		○	○			
B	×	○		○	○			
C	○	○		○	○	○		
D	×	○		○	○	○		
E	○	○		○	○	○	○	○
F	×	○	○	○	○	○	○	○

##### (2) 최적 가공 조건 확립을 위한 온도 및 습도

홍마늘 가공에 온도 및 습도가 미치는 영향을 분석하고자 Table 2와 같이 조건을 달리하여 홍마늘을 제조하였다.

##### (3) 전처리 방법을 달리하여 제조한 홍마늘의 특성 분석

상기 (1) 및 (2)의 조건 설정 및 예비 실험 결과 홍마늘 제조에 7~9일 정도의 시간이 소요될 경우 80℃ 이상에서 80% 정도의 습도하에 1~5시간 정도 유지하는 것이 마늘의 갈변 유발에 더 효과적이었음을 확인 하였으나, 숙성기간이 경과함에 따라 마늘의 매운맛이 감소되

었다가 재생되는 문제점이 발견되었다. 따라서, 마늘의 전처리 조건으로 마이크로웨이브 가열을 실시하였으며, 이때 마늘은 깎마늘과 쪽 분리한 피마늘로 나누었다. 생마늘을 대조군으로 하여 무처리 및 예비처리만 거친 시료를 각 시료 코드에 대해 1번으로 하고, 홍마늘 제조 공정을 거친 시료를 2번으로 구분하였다. 마늘의 예비 처리 조건은 Table 3과 같으며, 홍마늘 제조 조건은 Table 4와 같다.

Table 2. Manufacture conditions of red garlic under different temperature, humidity and time

Step	Condition 1			Condition 2			Condition 3			Condition 4		
	Temp. (°C)	Hum. (%)	Time (hr)	Temp. (°C)	Hum. (%)	Time (hr)	Temp. (°C)	Hum. (%)	Time (hr)	Temp. (°C)	Hum. (%)	Time (hr)
1	50	0	12	80	-	0.2	90	-	0.3	90	-	0.3
2	80	0	0.3	80	50	5	90	-	12	90	-	24
3	80	70	2	70	-	0.2	80	-	0.3	80	-	0.3
4	90	30	0.3	70	-	24	80	-	12	80	-	24
5	90	30	5	90	30	5	65	-	0.3	65	-	0.3
6	60	0	0.3	60	-	0.3	65	-	48	65	-	48
7	60	0	72	60	-	72	55	-	0.3	50	-	48
8	-	-	-	-	-	-	55	-	48	-	-	-

Table 3. Precondition and sample code of red garlic

Sample code	Peel present or not of garlic nuts	Microwave treat
FG 1	Not	Not
FG 2	Not	Not
MWG 1	Not	Treat
MWG 2	Not	Treat
PMG 1	Present	Treat
PMG 2	Present	Treat

Table 4. Manufacture conditions of red garlic under different temperature and time

Temperature(°C)	Time(hr)
Microwave	5 min
90	10
50	12
5	12
50	12
5	12
50	12

#### (4) 홍마늘 제조를 위한 최종 조건 설정

상기 실험 결과 습도조건 보다는 마이크로웨이브 가열조건이 마늘의 매운맛 제거에 더 효과적이었으며, 간헐 가열의 효과를 위하여 50~70°C의 고온과 5°C의 저온 유지를 실시하여 홍마늘 최종 제품 생산을 위한 조건을 설정하였다. 이때 조건은 Table 5와 같고, 각 단계별 시료의 품질특성 규명(제 1세부과제)을 실시하였으며, 최종 PMG-6 시료를 홍마늘 갈변물질 분리(제 1협동과제)를 위한 시료로 제공하였다.

Table 5. Manufacture conditions of red garlic under different temperature and time

Sample code	Temperature(°C)	Time(hr)
Fresh garlic	-	-
PMG-0	Microwave	5 min
PMG-1	90	20
PMG-2	50	12
PMG-3	5	12
PMG-4	60→5	24
PMG-5	50→5	24
PMG-6	70	12

## 2) 이화학적 특성 분석

### (1) 전단가 측정

각 시료군당 홍마늘을 각각 10개씩 취하여 두께 7 mm 정도로 슬라이스 한 후 texture analyzer(TA XT express, Stable microsystems Ltd., UK)를 이용해 Table 6과 같은 조건에서 전단가를 측정하였다.

Table 6. The conditions for texture analysis of red garlic

Mode	Compression
Pre-test speed	0.5 mm/s
Trigger force	200 g
Test speed	2.0 mm/s
Return speed	7.0 mm/s
Test distance	5.0 mm/s
Test cycle	1

### (2) 추출액의 색 측정

분쇄기를 이용하여 분쇄한 시료 10 g에 증류수를 가하여 50 mL로 만든 다음 진탕 혼합 후 여과지로 여과한 액을 시료로 하여 색차계로써 L, a, b값을 측정하였다. 각 시료는 3회 이상 반복측정 하였으며, 이때 표준 백판의 L값은 99.4, a값은 -0.12, b값은 0.04였다.

### (3) 탁도 및 갈변도 측정

홍마늘 추출액의 탁도는 분광광도계(Libra S35, Biochrom Ltd., England)를 이용하여 660 nm에서 투과도를 측정한 다음 transmittance %로 표시하였다.

홍마늘 추출액의 갈변도는 UV scanning 결과 가장 높은 흡광도를 보인 290 및 490 nm에서 각각 흡광도를 측정한 값으로 나타내었다.

### (4) 당도, pH 및 산도 측정

분쇄한 시료 10 g에 탈이온수를 가하여 50 mL로 만든 다음 진탕 혼합한 후 여과지로 여과한 여액을 시료로 사용하였다. 당도는 굴절당도계(PR-201a, Atago, Japan)를 이용하여, pH는 pH meter를 이용하여 측정하였으며, 산도는 여액 10 mL를 취하여 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4까지 적정한 다음 젓산 함량으로 계산하였다.

### (5) 환원당 및 총당의 정량

환원당은 DNS법(Miller GL 1959)에 따라 시료 추출액 1 mL에 DNS시약 1 mL을 가한 후 끓는 물에서 15분간 중탕 가열 한 다음 찬물에서 냉각하여 570 nm에서 흡광도를 측정하고, 포도당을 표준물질로 하여 0.2~2.0 mg/mL 농도범위에서 작성한 검량곡선에 따라 정량하였다.

총당의 함량은 황산페놀법(Hodge JE와 Hofreiter BT 1962)으로 정량하였다. 즉, 시료 추출액 1 mL, 5% 페놀 용액 1 mL 및 진한 황산 5 mL를 차례로 가하여 30분간 실온에서 정치시킨 후 470 nm에서 비색 정량하여 총당 함량을 구하였다. 표준당으로는 맥아당을 사용하여 표준검량곡선을 작성하고 이에 따라 총당의 함량을 산출하였다.



### 3. 결과 및 고찰

#### 1) 깻마늘을 이용한 홍마늘 제조 온도 및 시간 설정

##### (1) 홍마늘의 전단가

50℃에서 예비가열 여부와 가공 온도 조건별 홍마늘의 전단가를 분석한 결과는 Table 7과 같다. A와 B 조건은 6일, C와 D 조건에서는 8일, E와 F 조건에서는 9~10일 정도가 소비되며 가온 조건을 65℃ 정도로 유지하였다. A와 B를 비교할 때 전단가는 예비가열을 거친 A 조건에서  $2521.79 \pm 579.10 \text{ cm/kg}^2$ 로 B 조건에 비해 약 59% 수준으로 전단가가 낮았다. 이는 C와 D를 비교할 때도 동일한 경향으로 예비 가열을 하였을 때 이후 홍마늘의 전단가가 더 높음을 확인할 수 있었다. 본 조건에서 가공된 최종 제품의 색은 연한 홍색을 띄었으며, 흑마늘의 전단가와 비교할 때 모든 홍마늘 시료의 전단가가 더 높아 가온시 온도를 조금 더 낮추거나 숙성 온도를 조절할 필요성이 확인되었다.

Table 7. Share force of red and black garlic

Sample code	Share force ( $\text{cm/kg}^2$ )
A	$2521.79 \pm 579.10$
B	$4308.13 \pm 689.60$
C	$3596.69 \pm 482.69$
D	$5165.68 \pm 774.88$
E	$5878.09 \pm 821.51$
F	$5774.21 \pm 896.30$
Black garlic	$1495.96 \pm 238.26$

##### (2) 홍마늘 추출액의 색

홍마늘 추출액의 색을 측정한 결과는 Table 8과 같다. 조건별 홍마늘의 명도값은  $50.29 \pm 0.01 \sim 64.54 \pm 0.01$ , 적색도는  $1.73 \pm 0.01 \sim 9.05 \pm 0.00$ , 황색도는  $21.39 \pm 0.01 \sim 40.66 \pm 0.18$ 의 범위로 온도 및 시간에 따라 차이가 컸다. 특히 적색도를 나타내는 a값의 경우 예비가열을 거치고 가온 시간이 비교적 짧은 A와 C 시료의 경우 적색도는 2.0 미만으로 예비가열을 거치지 않았던 B와 D 시료에 비해 낮았다. 또, 가온 시간이 길수록 적색도와 황색도는 모두 낮아져 E와 F 시료의 경우 타 시료와 비교할 때 명도는 비슷한 범위였으나 적색도와 황색도는 월등히 높은 범위였다.

흑마늘과 홍마늘의 색을 비교해 보면 명도는 흑마늘이  $24.25 \pm 0.08$ 로 홍마늘에 비해 50% 미만으로 낮은 값이었고, 적색도는  $2.10 \pm 0.05$ 로 A~C 조건과 유사한 범위, 황색도는 흑마늘이  $0.87 \pm 0.04$ 로 홍마늘에 비해 확연히 낮은 값이었다.

Table 8. Hunter color of water extract made from red and black garlic

Sample code	L	a	b
A	50.29±0.01	1.85±0.01	21.39±0.01
B	59.28±0.08	2.82±0.02	33.06±0.06
C	64.54±0.01	1.73±0.01	34.33±0.01
D	60.35±0.03	4.57±0.03	37.61±0.02
E	55.78±0.15	8.22±0.00	40.25±0.19
F	57.16±0.04	9.05±0.00	40.66±0.18
Black garlic	24.25±0.08	2.10±0.05	0.87±0.04

### (3) 홍마늘의 pH 및 산도

홍마늘의 pH는 6.01±0.01~6.50±0.00의 범위로 제조 조건에 따른 차이는 미미하였다(Table 9).

Choi 등(2008)이 생마늘, 증숙마늘, 흑마늘의 이화학적 특성을 조사한 보고에 의하면 생마늘의 pH가 6.84±0.01, 증숙마늘이 6.54±0.02, 흑마늘은 4.36±0.06라고 보고하였는데, 본 실험의 결과 흑마늘의 pH는 4.64±0.01로 이들의 결과와 유사한 범위였고, 홍마늘의 pH는 증숙마늘과 유사한 범위임을 확인할 수 있었다.

홍마늘의 산도는 가장 높았던 A 시료(2.13±0.06 g/100g)를 제외한 시료에서 1.29±0.02~1.76±0.01 g/100g의 범위였으며, 흑마늘(6.07±0.16 g/100g)의 산도는 약 3.4~4.7배 더 높았다.

Table 9. pH and total acidity of red and black garlic

Sample code	pH	Total acidity(g/100g)
A	6.01±0.01	2.13±0.06
B	6.50±0.00	1.29±0.02
C	6.35±0.01	1.61±0.05
D	6.22±0.02	1.74±0.03
E	6.22±0.01	1.76±0.01
F	6.33±0.00	1.58±0.04
Black garlic	4.64±0.01	6.07±0.16

#### (4) 홍마늘의 환원당 및 총당 함량

처리 조건을 달리한 흑마늘의 환원당 및 총당의 함량을 분석한 결과는 Table 10과 같다. 홍마늘과 같이 비교적 낮은 온도에서 진행되는 비효소적 갈변반응에서 갈색물질의 생성은 환원당과 아미노산이 상호 반응하기 때문이며 반응이 진행됨에 따라 아민과 당류가 탈수되면서 당류의 모든 탄소가 그대로 유지된 채 부가되어 갈변물질이 생성되는 것으로 추정되고 있다. 이 때 비환원당은 충분히 가수분해하여 환원당으로 분해되지 않는 한 갈변반응에 참여하기 어려우므로 환원당의 경시적 변화를 통하여 갈변반응의 진행을 확인할 수 있다.

홍마늘의 환원당 함량은 가온 시간이 길수록 오히려 증가하는 경향을 나타내었으며 총당의 함량도 이와 유사한 경향이었다. 즉, A와 B 조건에서 환원당의 함량이 각각  $0.80 \pm 0.06$  g/100g과  $0.71 \pm 0.05$  g/100g인 반면 가온 시간이 가장 길었던 E와 F 조건에서는 약 17~20배 더 증가하였다. 그러나 이는 흑마늘의 환원당 함량( $46.93 \pm 0.39$  g/100g)에 비해서는 약 30% 정도의 낮은 함량이었다. 총당의 함량은 예비가열을 거치지 않은 시료 즉, B, D 및 F 시료에서 더 높아 환원당의 함량과는 상반되는 경향이었고 모든 홍마늘의 총당 함량은 흑마늘의 총당 함량에 비해 더 높았다.

홍마늘과 흑마늘 중의 환원당 및 총당 함량이 차이가 큰 것은 갈변반응의 정도에 따라 반응에 참여하는 당의 양이 서로 상이하기 때문이며, 흑마늘의 감미가 홍마늘에 비해 월등히 높은 점을 고려할 때 환원당의 생성이 더 많아 질 수 있는 조건의 선택이 필요할 것으로 생각된다.

Table 10. Contents of reducing and total sugar of red and black garlic

Sample code	Reducing sugar	Total sugar
A	$0.80 \pm 0.06$	$991.57 \pm 10.98$
B	$0.71 \pm 0.05$	$1043.08 \pm 20.44$
C	$4.46 \pm 0.03$	$1021.83 \pm 15.33$
D	$3.58 \pm 0.11$	$1046.46 \pm 16.43$
E	$14.08 \pm 0.10$	$1017.32 \pm 37.27$
F	$13.49 \pm 0.15$	$1060.46 \pm 14.58$
Black garlic	$46.93 \pm 0.39$	$917.94 \pm 9.53$

## 2) 가공 조건 확립을 위한 온도 및 습도 조건

### (1) 수분의 함량 및 조직감

가공 조건을 달리하여 홍마늘을 제조한 후 각 조건 별 시료의 수분 함량 및 조직감을 생마늘과 비교 측정된 결과는 Table 11과 같다. 수분 함량은 생마늘에서 61.17%였는데, 조건을

달리하여 제조한 홍마늘에서는 생마늘보다 감소되었다. 조건 1에서는 58.64%였으며, 조건 2는 60.47%, 조건 3은 59.30%, 조건 4는 57.51%로 홍마늘 중의 수분 함량은 가공 조건 중 습도의 변화에 따라 비례적인 경향을 보였다.

조직감은 생마늘에서 2501.01 cm/kg<sup>2</sup>이었는데, 가공된 홍마늘은 생마늘에 비해 조직감이 낮음을 알 수 있었다. 조건 1은 593.83 cm/kg<sup>2</sup>으로 생마늘에 비해 약 76%정도 감소되었다. 조건 2는 431.19 cm/kg<sup>2</sup>, 조건 3은 341.06 cm/kg<sup>2</sup>, 조건 4는 404.83 cm/kg<sup>2</sup>으로 저온에서 장시간 저장될수록 조직이 무른 것으로 나타났다.

Table 11. Moisture content and share force value of red garlic under different temperature, humidity and time

Sample code	Moisture (g/100g)	Share force (cm/kg <sup>2</sup> )
Fresh garlic	61.17±0.01	2501.01±296.74
Condition 1	58.64±0.12	593.83±190.60
Condition 2	60.47±0.30	431.19±51.52
Condition 3	59.30±0.29	341.06±61.75
Condition 4	57.51±0.29	404.83±153.10

## (2) 추출액의 색

가공 조건을 달리한 홍마늘의 물 추출물을 제조하여 색도를 명도(L), 적색도(a) 및 황색도(b)로 측정된 결과는 Table 12와 같다. 명도는 생마늘에서 87.63이었는데, 홍마늘은 조건 1에서 35.53이였으며, 조건 2는 34.22, 조건 3은 30.12, 조건 4는 34.86으로 홍마늘로 가공됨에 따라 명도가 급격하게 낮아지는 경향이였으며, 모든 조건에서 홍마늘의 명도는 상호 비슷한 값을 보였다. 적색도는 생마늘에서 -2.49였는데, 홍마늘에서는 2.09~3.21의 범위로 적색도가 증가되었으며, 특히 조건 3에서 3.21로 가장 높은 값을 보였다. 황색도는 생마늘에서 26.24였는데, 홍마늘은 10.03~12.67의 범위였으며, 조건 2와 4의 값, 조건 1과 3의 값이 각각 비슷하였다. 조건을 달리하여 홍마늘을 제조하였을 때 온도, 습도 및 시간의 차이가 홍마늘의 색도에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

## 3) 전처리 방법을 달리하여 제조한 홍마늘의 특성 분석

### (1) 전단가

처리방법을 달리하여 제조한 홍마늘의 전단가를 Table 13에 나타내었다. 처리조건을 달리하여 숙성 최종단계에 전단가를 측정된 결과 예비 숙성 단계를 거친 생마늘 FG 1의 전단가는 807.04±137.65 cm/kg<sup>2</sup>로 여러 단계를 거친 FG 2에 비해 다소 낮았다. 또한 홍마늘 숙성

단계를 거친 FG 2는 예비숙성단계에 비해 1.6배나 높은 경도를 보여 숙성 시간이 지남에 따라 수분의 탈수로 조직이 더 단단해 짐을 알 수 있었다.

Table 12. Color value of red garlic under different temperature, humidity and time

Sample code	L	a	b
Fresh garlic	87.63±2.34	-2.49±0.42	26.24±1.11
Condition 1	35.53±0.22	2.09±0.21	12.67±0.88
Condition 2	34.22±0.16	2.71±0.54	10.03±0.17
Condition 3	30.12±0.15	3.21±0.17	11.77±0.22
Condition 4	34.86±0.30	2.66±0.32	10.03±0.34

Table 13. Share force of red garlic under different pre-treatment

Sample code	Share force (cm/kg <sup>2</sup> )
FG 1	807.04±137.65
FG 2	1302.01±198.77
MWG 1	643.80±120.25
MWG 2	6437.48±188.23
PMG 1	741.58±165.68
PMG 2	1936.00±402.43

또한 깎마늘을 마이크로웨이브로 5분간 처리 한 후(MWG 1) 전단가는 643.80±120.25 cm/kg<sup>2</sup>로 마이크로웨이브를 처리하지 않은 FG 1보다 낮았다. 그러나 깎마늘을 마이크로웨이브 처리 후 홍마늘로 가공한 시료(MWG 2)의 전단가는 6437.48±188.23 cm/kg<sup>2</sup>로 MWG 1에 비해 약 10배, 마이크로웨이브 처리를 거치지 않은 FG 2보다 6배나 더 경도가 높았다. 반면 통마늘의 쪽을 분리한 후 껍질을 제거하지 않은 상태로 마이크로웨이브로 5분간 처리한 시료(PMG 1)는 MWG 1에 비해 경도가 더 높았으나 홍마늘로 가공처리한 후의 경도는 1936.00±402.43 cm/kg<sup>2</sup>로 MWG 2에 비해 3.3배 더 낮았다. 이는 마늘의 껍질이 마이크로웨이브 가열 동안 수분의 증발을 억제하고, 또 홍마늘의 제조 과정 중에도 보호막 역할을 하여 수분의 조절에 기여하기 때문이라 생각된다. 이와같은 현상으로 고온과 저온을 반복하는 홍마늘의 가공 조건은 적당한 식감을 유지하여 최종 제품의 물성을 개선하는데 큰 도움이 되었다.

### (2) 추출액의 색

전처리 방법을 달리하여 가공한 후 추출액의 색도를 측정한 결과는 Table 14와 같다. 처리조건별 홍마늘 추출액의 색은 전처리 조건에 따라 상이하였다. 즉, 시료 1에 비해 2가 명도 값이 더 낮고, 적색도는 더 높았다. 황색도는 생마늘의 경우 가공을 거치기 전후 차이가 미미하였으나 마이크로웨이브 처리를 거친 시료에서는 생마늘에 비해 더 낮은 범위였고, 홍마늘로 가공되면서 그 함량이 현저히 감소함을 확인할 수 있었다.

Table 14. Hunter color value of red garlic extracts made by different pre-treatment

Sample code	L	a	b
FG1	47.21±0.41	0.87±0.15	24.99±0.34
FG2	45.33±0.73	2.67±0.81	25.65±0.52
MWG 1	38.79±0.37	3.05±0.18	16.79±0.19
MWG 2	30.81±0.57	3.21±0.17	6.77±0.71
PMG 1	37.37±1.62	1.09±0.30	12.67±0.92
PMG 2	30.55±0.35	2.71±0.54	6.03±0.24

### (3) 홍마늘의 표면색

전처리 방법을 달리하여 숙성시킨 홍마늘을 반으로 나누어 내부와 외부의 표면색을 측정한 결과는 Table 15와 같다. 예비처리(조건 1)와 홍마늘 제조 과정(조건 2)을 거친 홍마늘의 색도는 예비처리를 거친 조건 1이 조건 2보다 명도값이 높았으며, 황색도도 예비처리를 거친 시료가 다소 높게 측정 되었다. 홍마늘로 제조공정을 거친 조건 2에서 처리방법에 따른 색도는 내부의 경우 명도값이 FG 2가 47.45±1.58로 가장 높았으며 그 다음으로 MWG 2, PMG 2 순이었다. 홍마늘의 적색도는 FG 2 > PMG 2 > MWG 2 순으로 생마늘에서 가장 높았고, 마이크로웨이브 전처리를 거칠 경우 피마늘이 깎마늘에 비해 적색도가 더 높았다.

홍마늘 가공시 외부로부터 갈변이 진행되어 내부까지 색의 변화가 일어나는데 홍마늘의 내부와 외부색을 비교할 때 큰 차이는 없었으나 외부의 명도, 적색도 및 황색도가 내부에 비해 더 높았다.

Table 15. Hunter color value of red garlic(inner and outer part) made by different pre-treatment

	Sample code	L	a	b
Inner part	FG 1	52.96±2.18	9.11±1.25	29.46±2.77
	FG 2	47.45±1.58	10.82±1.58	27.74±0.97
	MWG 1	48.32±3.66	7.34±0.48	23.52±1.67
	MWG 2	38.69±1.34	7.87±1.13	17.45±1.21
	PMG 1	43.71±3.77	7.94±0.67	21.74±12.59
	PMG 2	36.58±1.67	9.33±1.14	13.46±1.83
Outer part	FG 1	53.95±0.93	8.74±1.09	28.74±1.59
	FG 2	46.51±1.75	11.75±1.82	25.74±0.85
	MWG 1	41.72±1.48	8.37±0.61	17.60±1.17
	MWG 2	36.78±0.98	9.31±1.14	15.85±1.10
	PMG 1	46.21±1.04	9.26±1.92	21.82±1.26
	PMG 2	37.65±2.48	10.40±0.93	15.52±2.05

#### (4) 홍마늘의 pH, 당도 및 산도

가공 처리 조건별 홍마늘의 pH, 당도 및 산도를 측정한 결과를 Table 16에 나타내었다.

Table 16. pH, brix and total acidity of red garlic made by different pre-treatment

Sample code	pH	Brix	Total acidity (g/100 g)
FG 1	5.62±0.02	8.77±0.23	1.94±0.05
FG 2	5.64±0.01	8.90±0.82	1.91±0.04
MWG 1	6.86±1.73	8.83±1.53	1.34±0.01
MWG 2	5.93±0.01	10.97±1.27	1.58±0.04
PMG 1	6.03±0.01	9.37±0.91	1.18±0.18
PMG 2	6.07±0.00	10.70±0.35	1.18±1.02

pH는 예비처리(조건 1) 및 홍마늘 가공공정(조건 2)을 거친 시료간 차이는 적었으나, 생마늘의 경우 산도가 6.0이하로 다소 낮았고, 여타 시료에서는 5.93~6.86의 범위였다. 당도는 생마늘(FG 1)이 8.77 brix로 마이크로웨이브 처리를 거친 MWG 1 및 전처리 과정을 거치지

않고 제조한 홍마늘(FG 2)와 큰 차이가 없었다. 전처리 과정을 거치지 않고 가공한 홍마늘보다 마이크로웨이브를 거친 홍마늘의 당도가 더 높았다.

산도는 pH의 측정 결과와 유사한 경향으로 pH가 낮았던 FG 1과 2에서 각각  $1.94 \pm 0.05$  g/100g과  $1.91 \pm 0.04$  g/100g으로 다소 높았고, 전처리 및 껍질의 존재 유무에 따른 차이는 적었다.

### (5) 탁도 및 갈변도

전처리 및 껍질 유무에 따른 홍마늘 추출액의 탁도를 290과 490 nm에서 측정한 갈변도는 Table 17과 같다. 탁도는 생마늘을 전처리 없이 가공한 홍마늘(FG 2)보다 마이크로웨이브를 처리한 시료들에서 월등히 높았으며, 특히 MWG 2가  $1.08 \pm 0.40\%$ 로 가장 높은 탁도를 보였다. 깎마늘 FG 1, 2는 처리조건에 상관없이 탁도가 유사하였으며 깎마늘을 마이크로웨이브 처리 후 예비처리만 한 조건 1에서  $32.90 \pm 5.10\%$ 로 측정되었는데 조건 2는 이보다 훨씬 높은 탁도를 보였다.

Table 17. Transmittance and browning compound of red garlic made by different pre-treatment

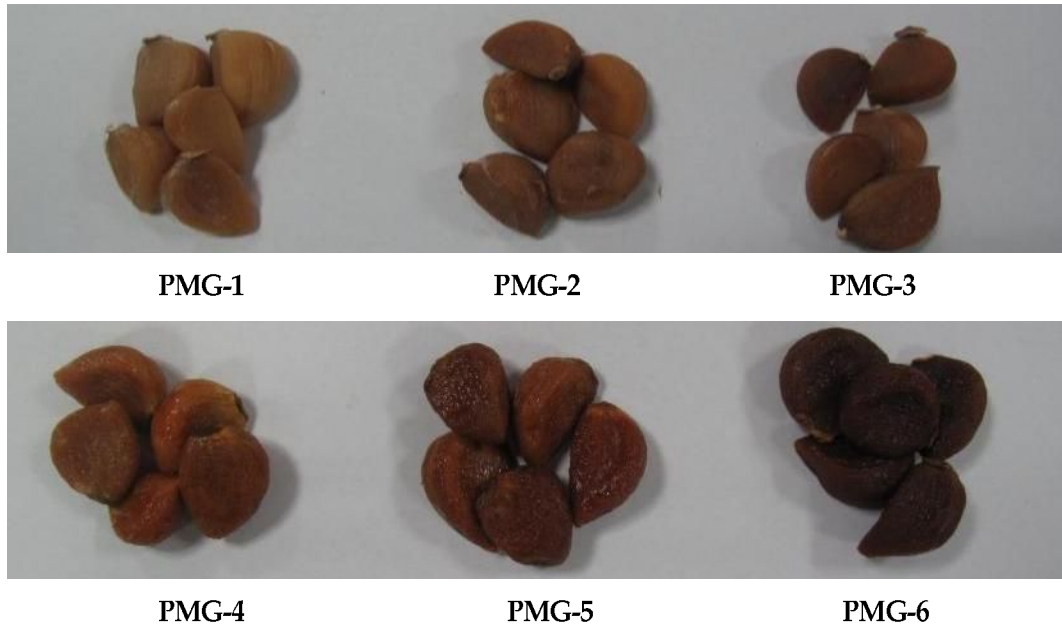
Sample code	Transmittance(%)	Browning compound (O.D value)	
		290 nm	490 nm
FG 1	$83.10 \pm 9.42$	$1.85 \pm 0.04$	$0.29 \pm 0.02$
FG 2	$71.20 \pm 4.26$	$1.95 \pm 0.03$	$0.47 \pm 0.09$
MWG 1	$32.90 \pm 5.10$	$2.02 \pm 0.04$	$0.94 \pm 0.10$
MWG 2	$1.08 \pm 0.40$	$2.49 \pm 0.27$	$2.67 \pm 0.13$
PMG 1	$8.20 \pm 0.44$	$2.16 \pm 0.05$	$1.61 \pm 0.04$
PMG 2	$14.14 \pm 1.92$	$2.39 \pm 0.22$	$1.92 \pm 0.40$

290 nm의 파장에서 갈변도는 전처리 과정을 거치지 않은 홍마늘 시료(FG 2)보다 마이크로웨이브를 처리한 후 가공한 홍마늘에서 더 높게 측정되었으며, 490 nm에서도 전처리 과정 없이 가공한 홍마늘 FG 2( $0.47 \pm 0.09$ )보다 마이크로웨이브 처리한 MWG 2가 5.68배나 더 높은 갈변물질이 측정되었다. 이들 결과로 미루어 볼 때 마이크로웨이브 전처리 과정이 갈변물질의 생성에 기여하는 바가 큼을 알 수 있다. 또한 마이크로웨이브 처리시 껍질의 유무에 따른 결과는 예비처리(조건 1)에서는 껍질이 있는 경우 갈변물질이 더 높게 측정되었다.



#### 4) 최종 조건 설정에 따라 생산된 홍마늘의 이화학적 특성 분석

상기 제조 조건별 홍마늘 특성을 분석한 결과에 기초하여 최종 홍마늘 제조 온도를 설정하고 이에 따라 홍마늘을 제조하였을 때 각 가공 단계별 가공품의 사진은 아래와 같다.



##### (1) 가공 단계별 마늘의 조직감

홍마늘의 조직감을 측정한 결과는 Table 18과 같다.

Table 18. Share force of garlic during red garlic processing

Sample code	Share force (cm/kg <sup>2</sup> )
Fresh garlic	2325.52±121.68
PMG-0	1471.40±261.27
PMG-1	215.43±39.71
PMG-2	152.44±12.43
PMG-3	553.00±212.60
PMG-4	950.30±149.43
PMG-5	213.53±25.36
PMG-6	1399.17±375.14

생마늘에서 전단가는 2325.52 cm/kg<sup>2</sup> 이었고, PMG-0~6에서는 152.44~1471.40 cm/kg<sup>2</sup>의 범위였다. 홍마늘 제조 공정 중 PMG-1~5에서는 152.44~950.30 cm/kg<sup>2</sup>의 범위로 급격히 감

소되었지만 PMG-6에서 1399.17 cm/kg<sup>2</sup>로 다시 증가되었다. 이는 숙성 초기에 고온으로 인해 마늘의 육질부가 물러지는 현상을 보이다가 숙성 기간이 경과함에 따라 점차 수분이 감소됨으로써 육질이 단단해진 결과라 생각된다.

### (2) 가공 단계별 마늘 추출액의 색도

생마늘 및 홍마늘 가공 단계별 시료 추출액의 색도를 측정한 결과는 Table 19와 같다. 명도를 나타내는 L값은 생마늘에서 45.48±4.45였던 것이 홍마늘로 진행됨에 따라 점차 감소하여 PMG-6에서는 35.21±0.16로 낮아졌다. 적색도는 불규칙한 증감을 보이면서 점차 증가하여 PMG-6에서 0.95로 가장 높았다. 황색도는 명도와 상반되는 경향으로 홍마늘 가공과 더불어 점차 증가하는 경향이었으며, PMG-4~5 사이에는 차이가 미미하였고, PMG-6에서 가장 높아 11.63±1.52이었다.

Table 19. Hunter color value of garlic during red garlic processing

Sample code	L	a	b
Fresh garlic	45.48±4.45	-0.48±0.25	5.55±0.24
PMG-0	40.27±6.68	-0.32±0.23	2.89±0.65
PMG-1	46.26±1.75	-0.54±0.63	7.77±3.64
PMG-2	46.42±0.49	-0.75±0.07	8.61±0.18
PMG-3	44.17±1.62	-0.59±0.30	9.23±1.67
PMG-4	42.90±3.69	-0.55±0.27	10.48±0.1
PMG-5	37.33±6.10	-1.16±1.35	10.66±5.94
PMG-6	35.21±0.16	0.95±0.05	11.63±1.52

### (3) 가공 단계별 마늘의 표면색

식품의 이화학적 성질 중에서 색도는 눈으로 감지되는 것으로 몇몇 요인들에 의해 복합적으로 이루어지며 소비자들에게는 상품을 판단하는 구매조건이 되므로 좋은 색을 가지는 것이 매우 중요하다. 생마늘 및 홍마늘 가공 단계별 시료에서 마늘의 내부와 외부의 색도를 각각 측정한 결과를 Table 20에 나타내었다.

마늘의 내부색은 홍마늘의 제조 단계에 따라 L값(명도값)은 생마늘에 비하여 홍마늘 가공이 진행될수록 감소되어 홍마늘 가공의 마지막 단계인 PMG-6에서는 43.76로 가장 어두운 색을 띠었다. a값은 생마늘에서 홍마늘로 가공됨에 따라 -1.06에서 8.03으로, b값은 10.16에서 21.79로 높아졌다. 마늘의 외부색은 홍마늘로 가공되었을 때 내부색에 비해 41.99로 명도가 더 낮아 어두운 색을 띠었으며, 적색도(a)도 10.14로 더 진한 색을 띠었다. 반면 b(황색

도)는 내부색에 비해 외부색이 더 밝은 것을 알 수 있었다. 내부색과 외부색 모두 PMG-0에서 PMG-1단계로 진행됨에 따라 명도가 크게 낮아지고, 적색도 및 황색도는 높아져 마늘의 전체적인 색이 진해지는 것을 확인할 수 있었다. 이는 홍마늘 가공의 초기단계에서 갈변이 일어난 결과로 해석된다. 또한 PMG-5에서 PMG-6단계로 진행되면서 내부색, 외부색 모두 적색이 진해지고 황색이 얼어졌다.

Table 20. Hunter color value of garlic during red garlic processing

	Sample code	L	a	b
Inner part	Fresh garlic	76.27±1.23	- 1.06±1.34	10.16±1.01
	PMG-0	67.23±0.69	- 2.25±0.14	10.34±0.13
	PMG-1	54.89±2.64	3.32±0.74	21.97±0.85
	PMG-2	51.92±3.41	6.66±1.42	24.28±2.42
	PMG-3	54.80±1.51	6.13±0.10	25.94±1.89
	PMG-4	53.24±3.04	6.23±1.66	25.67±1.21
	PMG-5	58.50±2.08	5.34±2.69	27.11±5.72
	PMG-6	43.76±6.52	8.03±0.42	21.79±3.19
Outer part	Fresh garlic	80.16±2.45	- 1.35±0.24	10.70±1.68
	PMG-0	68.89±6.03	- 2.44±0.57	12.26±1.21
	PMG-1	55.38±4.26	3.15±1.59	22.73±1.45
	PMG-2	56.36±2.50	5.46±1.38	23.83±1.27
	PMG-3	55.49±2.25	9.13±1.39	29.54±1.15
	PMG-4	58.86±2.70	6.30±1.59	29.59±3.81
	PMG-5	62.18±1.83	5.04±1.79	26.71±3.20
	PMG-6	41.99±2.06	10.14±1.13	18.51±3.24

#### (4) 가공 단계별 마늘의 pH, 당도 및 총 산도

홍마늘 가공 공정에 따른 pH, 총 산도 및 가용성 고형물 함량의 변화를 측정한 결과는 Table 21과 같다. 홍마늘 제조 중 pH는 PMG-4를 제외한 시료에서 점차 산성화되는 경향(pH 6.39~5.90)이었는데, 생마늘에서 pH 6.39로 가장 높았고, PMG-0에서는 pH 6.03이던 것이 마지막 공정인 PMG-6에서는 pH 5.90으로 약산성화되었다.

홍마늘의 가용성 고형물 함량은 3.77~6.73 brix의 범위였는데, 생마늘에서 3.77 brix로 가장 낮았고 홍마늘 제조 공정이 진행되면서 점차 증가되어 PMG-6에서는 6.73 brix로 가장

높았다.

총 산도는 생마늘에서 0.54 g/100 g이었고, PMG-0~6에서는 1.03~1.76 g/100 g의 범위로 증가하였다. 마지막 단계인 PMG-6는 1.76 g/100 g으로 가장 높게 측정되었다.

Table 21. pH, brix and total acidity of garlic during red garlic processing

Sample code	pH	Brix	Total acidity (g/100 g)
Fresh garlic	6.39±0.01	3.77±0.12	0.54±0.01
PMG-0	6.30±0.01	4.27±0.12	1.03±0.01
PMG-1	5.96±0.01	4.70±0.10	1.13±0.01
PMG-2	5.96±0.00	4.73±0.06	1.04±0.01
PMG-3	5.96±0.00	4.10±0.00	1.08±0.01
PMG-4	5.98±0.01	4.70±0.10	1.04±0.01
PMG-5	5.95±0.01	4.77±0.06	1.24±0.01
PMG-6	5.90±0.01	6.73±0.06	1.76±0.09

(5) 단계별 홍마늘의 탁도 및 갈변물질 함량

홍마늘 가공 공정에 따른 탁도 및 갈변물질의 함량을 측정한 결과는 Table 22와 같다.

Table 22. Transmittance and browning compound of garlic during red garlic processing

Sample code	Transmittance(%)	Browning compound (O.D value)	
		290 nm	490 nm
Fresh garlic	61.97±4.40	1.60±0.07	0.42±0.04
PMG-0	39.26±0.10	1.72±0.10	1.46±0.38
PMG-1	47.07±1.06	1.69±0.15	0.53±0.01
PMG-2	43.93±1.91	1.73±0.04	0.58±0.03
PMG-3	37.38±6.01	1.66±0.04	0.58±0.11
PMG-4	29.38±1.98	1.69±0.01	0.86±0.05
PMG-5	27.72±1.93	1.80±0.05	0.82±0.04
PMG-6	0.84±0.10	1.77±0.03	2.64±0.31

탁도는 생마늘에서 61.97%로 가장 높았고, PMG-0~5에서는 27.72~47.07%의 범위로 감소되었다. PMG-6는 0.84%로 생마늘에 비해 약 73배 낮았으며, PMG-0과 비교할 때 약 47배 감소되었다.

갈변물질의 함량을 예측할 수 있는 흡광도 수치(290, 490 nm)는 290 nm에서 측정하였는데, 생마늘은 흡광도값이 1.60으로 가장 낮았고, PMG-0~6에서는 1.66~1.80의 범위로 증가되었으며, PMG-5는 1.80으로 가장 높은 수치를 보였다. 490 nm에서 생마늘은 0.42로 290 nm에서처럼 가장 낮았고, PMG-0~5에서 0.53~1.46의 범위로 증가되었으며, 마지막 공정인 PMG-6에서 2.64로 가장 높은 흡광도 수치를 보였다. 생마늘에 비해 홍마늘에서 갈변물질의 함량이 많게 나타난 것은 항산화 효과를 나타내는 갈색화 반응물의 용출에 따른 차이라고 생각된다.

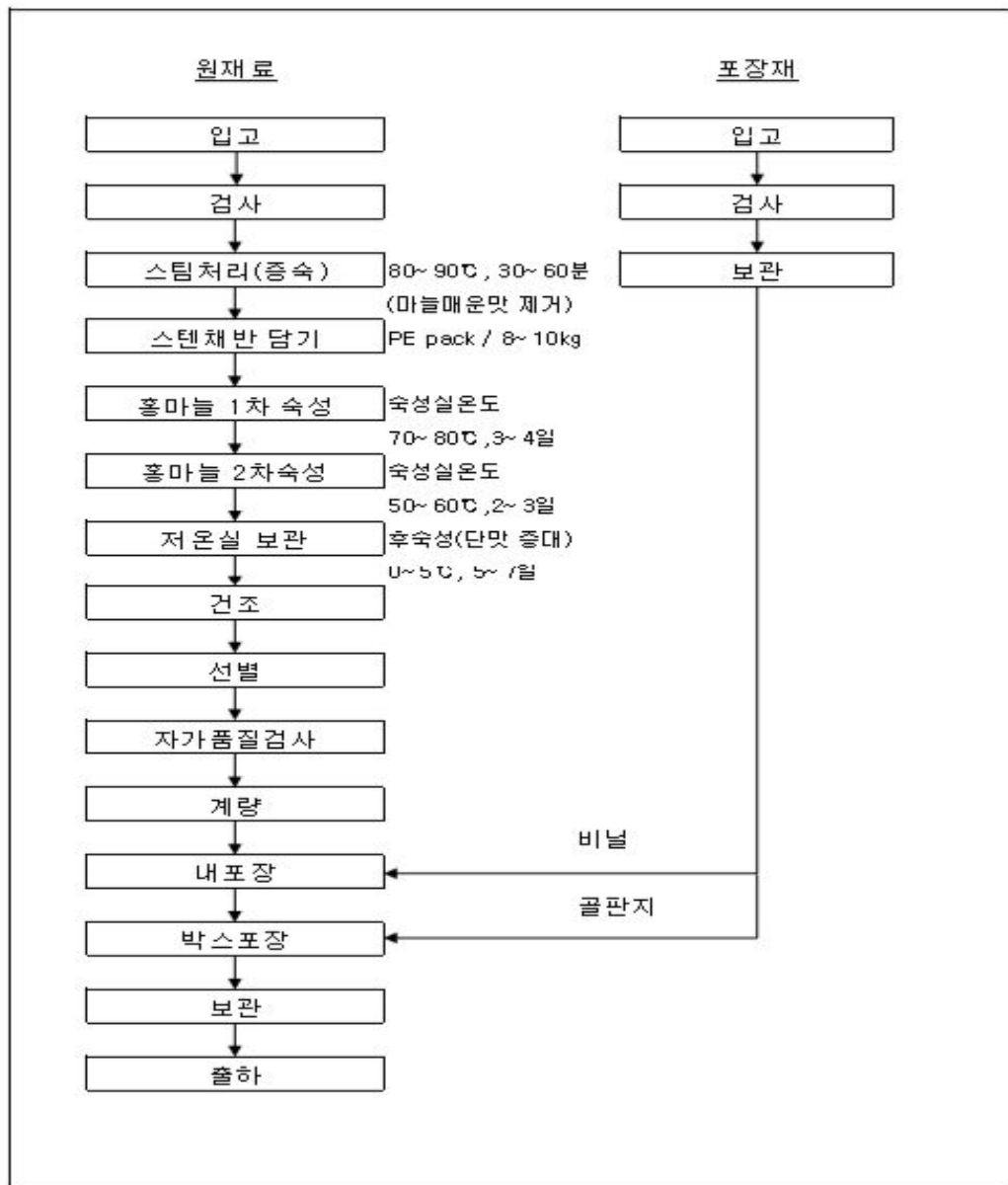
#### 4. 홍마늘 가공품의 제조 공정도

##### 1) 숙성 홍마늘의 제조 공정도

홍마늘 제조는 간마늘을 90℃에서 60분간 스팀처리 하여 매운맛을 제거함. 이때 제조 온도 및 시간은 아래의 공정도에 제시한 바와 같이 80~90℃범위 및 30~60분이나 마늘의 저장 기간, 저장 온도, 생산지에 따라 시간을 달리하여 조절함.

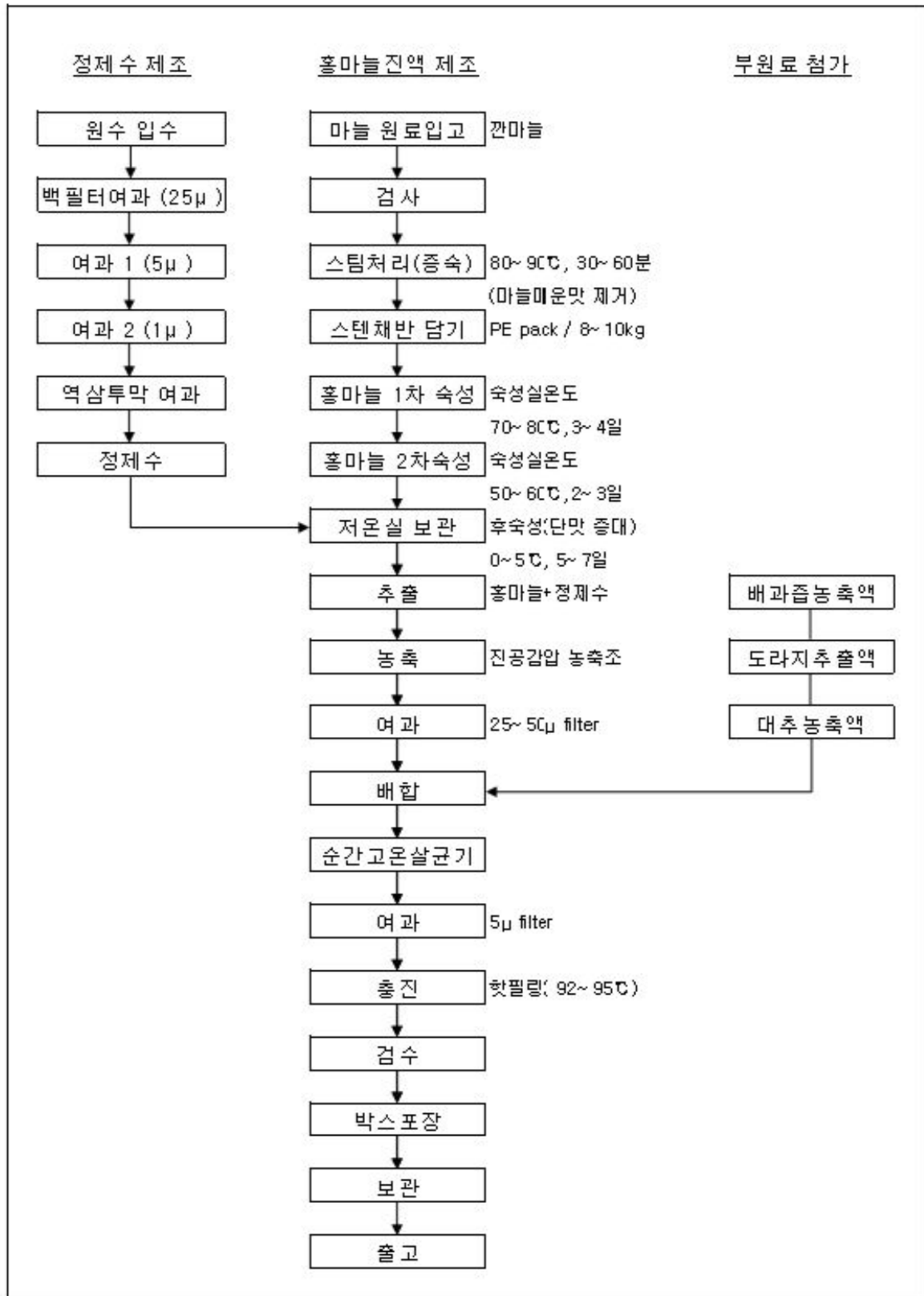
홍마늘 제조의 1차 숙성은 온도 70~80℃에서 3~4일간 숙성시키고 이어서 2차 숙성으로 50~60℃에서 2~3일 동안 숙성시킴. 이 과정을 거치면서 마늘의 수분이 증발되면서 갈변화가 진행되어 홍색이 되며 이 때 저온실에 보관시 단맛이 증가하게 됨.

좀더 선명한 붉은색을 얻기 위해서는 하기 공정도에서 제시된 공정 중 2차 숙성 시간을 짧게하고 온도를 더 상승하여 90℃에서 6시간정도 숙성하면서 수분을 충분히 제거하면 밝은 선홍색의 홍마늘을 제조할 수 있음.



## 2) 홍마늘 진액 제조 공정도

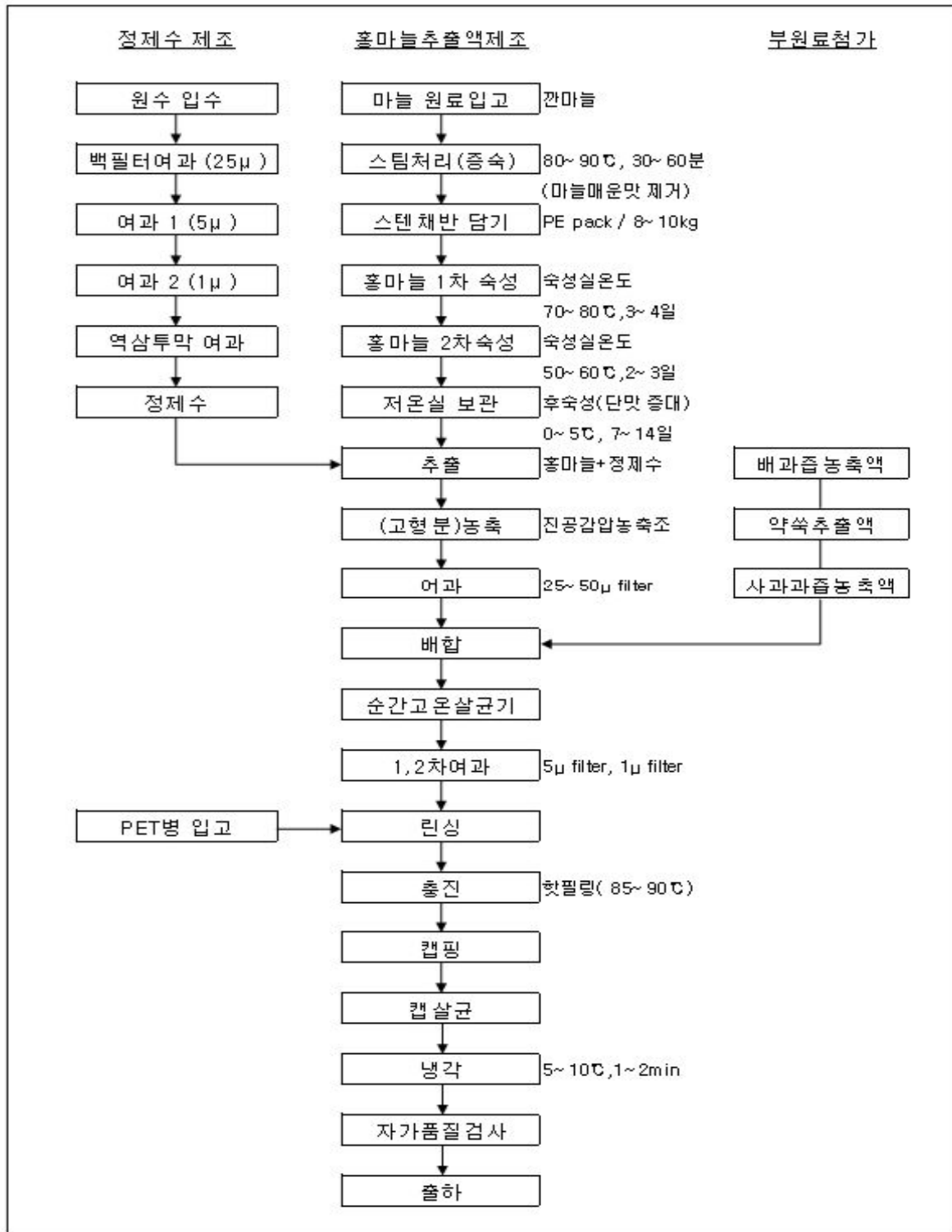
상기에서 제조된 홍마늘로 진액을 제조시 홍마늘에 10배의 의 정제수를 가하여 90℃에서 최대 20시간까지 추출 후 감압농축하여 유효성분이 증대된 홍마늘 진액을 제조함.



### 3) 홍마늘 음료 제조 공정도

홍마늘 음료는 홍마늘 진액보다 섭취의 편의성과 기호성을 높인 제품으로 고형분의 함량을 10 brix이하로 낮춘 제품임(진액 15 brix). 홍마늘 음료는 단순히 농도를 낮춘 제품이 아니라 제조 과정 중 추출, 농축 후 필터를 2번 거쳐 맑게 제조한 음료임.

홍마늘 음료의 포장 방법은 섭취하기 불편한 파우치 포장을 탈피하여 병음료로 제조하였음.



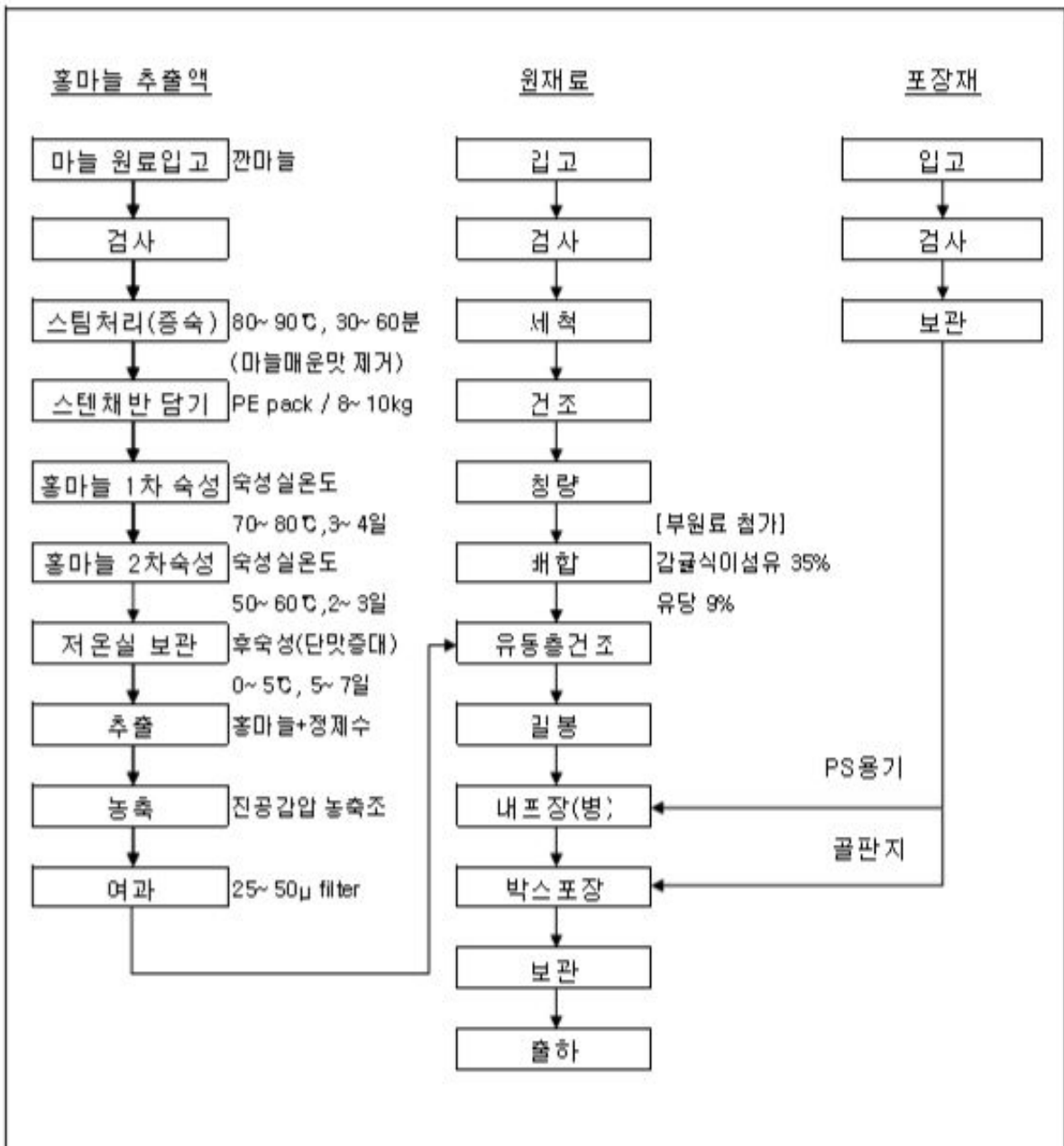


#### 4) 홍마늘 분말 제조 공정도

홍마늘 분말은 상기의 방법에 따라 제조된 홍마늘을 추출, 농축 및 여과한 후 추출액을 유동층과립기로 과립화한 제품임.

홍마늘 추출물을 과립화하기 위하여 유동층과립기에 식이섬유인 감귤식이섬유를 씨드로 부유시키고 홍마늘 추출물을 분사하여 과립화한 후 소비자의 기호도를 증진시키기 위하여 유당으로 코팅하여 제품을 완성하였음.

이때 유동층과립기의 기기 조건은 inlet temp. 50~60℃, product temp. 45~55℃, outlet temp.는 40~45℃, nozzle pressure는 1.0~1.5, 분무속도는 10~15 mL/분이며, bottom type으로 연속적 코팅하였음.



## 5. 상품화 추진

### 1) 개발 제품의 포장 디자인

#### (1) 홍마늘 진액

- 기존의 새남해농협외의 홍마늘 진액과 유사한 디자인으로 기업 제품과 동질성 부여
- 홍마늘과 차별화되도록 홍마늘의 붉은색 이미지를 강조하는 디자인
- 액상 추출음료로서 스탠드형 파우치 포장



(2) 홍마늘 음료

- 홍마늘 추출음료의 관능적 및 기능적 특성의 향상을 고려하여 홍마늘 추출액 95%, 약썩추출물, 사과과즙농축액, 배과즙농축액을 혼합한 추출음료
- 기존의 파우치 음료와 차별화 되도록 저용량의 PET 병 음료로 제작함

- 제품명 : 해두름 홍마늘 음료
- 식품의 유형 : **추출음료** • 내용량 : 140ml
- 원재료명 및 함량 : 홍마늘추출액(남해군 마늘, 고형분 7%이상)95%, 약썩추출액(국산, 고형분0.2%), 사과과즙농축액(국산), 배과즙농축액(국산)
- 포장재질 : 용기 - 폴리에틸렌테레프탈레이트(PET), 뚜껑 - 폴리프로필렌(PP)
- 유통기한 : **무경 또는 제품상단 별도표기일까지**
- 섭취방법 : 성인 1회 1~3회 1회 1병 드십시오.
- 보관방법 : 직사광선을 피해 서늘한 곳에 보관하시고, 개봉후에는 빨리 드시기 바랍니다. 온장고 및 냉동실 보관은 하지 마십시오. 용기의 평창 손상이나 내용물 변질 시 이용하지 마시고 즉시 고객상담사로 문의 바랍니다.
- 제조원 : **새남애농업목마늘가공공장**  
경남 남해군 고현면 포성리 594-3
- 소비자상담실 : **새남애농업**  
☎ 080-001-2530, 055-863-2530
- 상담·문의 : 농협중앙회 ☎1566-1882
- 원료의 고유 성분때문에 의해 침전물이 생길 수 있으나 품질에는 이상이 없으므로 잘 흔들어 드십시오.
- 본 제품은 공정거래 위원회고시 소비자 분쟁해결 기준에 의거 제품교환 또는 보상 받을 수 있습니다.
- www.새남애농업.kr

남해마늘을 숙성 발효한  
**홍마늘추출액 95%**



140 ml(45kcal)

활찬 허클을 위하여  
한국의 신화학은  
**홍마늘 성艾약썩**

영양성분		
1회 제공량(140ml)	총 1회 제공량(140ml)	
1회 제공량당 함량	%영양소기준치	
열량	45kcal	
탄수화물	8g	2%
당류	8g	-
단백질	1g	2%
지방	1.1g	2%
포화지방	0g	0%
트랜스지방	0g	-
콜레스테롤	0mg	0%
나트륨	0mg	0%

%영양소기준치 \*1일 영양소기준치에 대한 비율

부정·불량식품 신고 국번없이 1399





(3) 홍마늘 미과립 분말

- 제 1협동과제의 연구 결과에 기반한 홍마늘 2차 가공품
- 제조된 시제품의 관능특성 비교 결과에 기초하여, 최종 시제품은 10% 홍마늘 농축액 56%, 감귤류 식이섬유 35% 및 유당 9% 비율로 혼합한 분말 제품





## 6. 마늘 가공품의 시장성 분석

### 1) 조사범위

- 국내외 마늘가공식품에 대한 트렌드 조사 및 업계동향 분석
- 지리적, 경제적 입지여건에 대한 대응방안, 전략적 대책수립
  - 고객 시각에서의 지리적, 경제적 입지조사
  - 입지 여건 조사와 이에 따른 전략적 대응방안 제시
  - 국내외 마케팅 사업 추진 방안 제시

### 2) 주요내용

#### (1) 국내 마늘관련 산업 시장동향

##### □ 마늘 시장개요

마늘은 대한민국 성인 1인당 연평균 8.7 kg을 소비하고 한국 식단에서 빠질 수 없는 음식재료이며 양념이나 가공식품으로 개발이 가속화되고 있다. 2000년 6월 중국산 냉동마늘과 초산조제 마늘의 관세율을 30%에서 315%로 대폭 올리는 세이프가드 조치를 취한 한중 마늘분쟁을 시작으로 현재까지 중국산 마늘의 수입이 계속 증가함에 따라 일반 소비자는 물론 학교 급식업체나 김치공장 등에서도 가격이 저렴한 중국 마늘을 선호하게 되면서 우리 마늘이 큰 타격을 받고 있다.

마늘 생산량 및 수입량 추이(2007년)

구분	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
생산량(A)	474,388	406,385	394,482	378,846	357,824	374,980	331,379
수입량(B)	23,234	26,476	30,598	42,861	65,855	56,510	54,838
B/A	4.9	6.5	7.8	11.3	18.4	15.1	16.5
계	497,622	432,861	425,080	421,707	423,679	431,490	386,217

자료 : 한국농촌경제연구원, 농업전망 2007, pp.581

농산물 생산비 통계(2005년)

항목	직접생산비				간접생산비	계
	종구비	노동비	기타	소계		
금액	373,039	587,111	254,301	1,214,451	208,708	1,423,161
비중	26.2	41.3	17.9	85.3	14.7	100.0

자료 : 통계청, '농산물생산비통계 2005' 2006, pp.98~103

우리나라에서 마늘은 대표적인 환금성 작물로서 다수의 영세 농가가 소량씩 재배, 출하하고 있어 원가 경쟁력이 낮고 그에 따라 상품화도 원활히 추진되지 못하고 있다. 마늘 생산비중 가

장 큰 비중을 차지하는 종구비는 아직 매우 높은 수준을 보이고 있고 노동비 또한 매우 높은 수준이다.

우리나라 마늘 생산농가의 평균 경작 면적은 700평 정도로 중국에 비해 협소하며 기계화가 이루어지지 않은 것이 과도한 생산비의 원인이 되고 있다. 2002년 이후 추진된 마늘 산업 발전 대책에서도 기계화는 생산의 영세성 때문에 큰 효과를 보이지 못하고 있는 상황이다.

□ 남해마늘의 특성

남해의 기후는 마늘을 재배하기에 적합한 해양성 기후로 겨울은 온난하고 여름은 서늘하여 병해충의 발생이 적어 마늘재배에 알맞은 기후조건을 갖추고 있다. 사면이 바다인 섬지방으로 남해마늘의 가장 큰 특징은 풍부한 해풍을 먹고 자라는 강점이 있다. 청정 남해바다의 해풍속에는 나트륨이 실려 있어 마늘의 영양소 이동을 좋게 하여 남해마늘만의 독특한 맛을 형성하게 된다. 따라서 남해에서 자란 마늘에는 알리신, 스콜지닌, 게르마늄 등 우리 몸에 이로운 약리작용을 하는 성분이 많이 함유되어 있다.

남해 마늘은 국내에서 재배되는 대표적인 난지형 마늘로서 한지형 마늘과는 달리 8쪽 이상이 특징이다. 쪽대를 중심으로 단단하게 뭉쳐져 있으며, 껍질이 조금 더 분홍색이다. 단단하게 뭉쳐진 것이 특징이나, 중심 외부로는 약간 벌어져 있다. 발육이 상당히 빠르고 크기가 한지형 마늘에 비하여 크다. 한지형 마늘과 달리 매운 맛을 내는 성분이 적어 맛이 맵지 않다. 또한 한지형 마늘과는 달리 게르마늄 등이 풍부하다. 그러나 이러한 재배의 특성에도 불구하고 다양한 제품의 개발과 지역인지도에 대한 홍보가 부족하여 의성에 비하여 대중적인 인지도가 낮은 것이 현실이다.

마늘 생산지 및 브랜드 인지도(2005년)

마늘 생산지 인지 Top 10		
순위	생산지명	%
1	의성	30.6
2	남해	5.9
3	서산	5.7
4	단양	5.2
5	무안	2.2
6	음성	1.9
7	해남	1.5
8	고흥	1.3
9	괴산	0.7
9	담양	0.7
9	공주	0.7
비인지		30.6

마늘 브랜드 인지 Top 10		
순위	브랜드명	%
1	의성마늘	12.0
2	서산마늘	2.5
3	단양마늘	1.5
4	남해마늘	1.0
5	해남마늘	0.4
6	고산마늘	0.3
7	담양마늘	0.3
7	진산마늘	0.3
9	고창마늘, 남도마늘	0.2
9	당진마늘, 태안마늘	0.2
9	상주마늘, 창녕마늘	0.2
비인지		79.1

\* 인지 생산지에서 '전라도', '경상도' 등 막연한 도 지명 인지는 순위에서 제외함

출처: 농산물유통공사, 주요 농산물 소비 유통 패턴 분석(2005)

□ 마늘 재배면적의 변화

통계청 자료조사 결과 2008년에서 2009년도 사이에 경상북도의 마늘 재배면적은 51헥타르 정도 늘었으며 경상남도는 226헥타르 정도 감소하였다. 이러한 추세는 마늘의 재배 특성에 달려 있다. 마늘은 논마늘과 밭마늘로 나누어지는데 논마늘의 생산량과 품질이 밭마늘에 비해 좋다. 또한 재배시 농약의 사용이나 비료의 사용 등 기타 추가 비용의 절감으로도 이어질 수 있다. 따라서 논마늘의 재배면적은 증가하나, 밭마늘의 재배면적이 감소하는 추세이다.

경상도의 마늘재배 면적 현황

단위 : 헥타르

구분	경작지별	2008	2009	구분	경작지별	2008	2009
경상남도	합계	5,403	5,177	경상북도	합계	3,441	3,492
	논	3,609	3,695		논	2,418	2,450
	밭	1,794	1,482		밭	1,023	1,042

경상도의 마늘생산량

마늘 생산량 (kg)

소득항목별	2004	2005	2006	2007	2008	2009
	농가당	농가당	농가당	농가당	농가당	농가당
주산물(kg)	3,356	3,728	3,591	3,829	3,238	3,186
부산물(kg)	297	202	138	150	122	86

2008년에서 2009년 사이 주산물의 농가당 생산량은 감소폭이 크지 않아 재배면적 감소량이 농가당 마늘 총 생산량에는 크게 영향을 주지 않았다. 이는 결국 바꾸어 말하면, 현재 마늘농가는 재배방법의 혁신을 꾀하고 있는 것으로 보인다.

□ 마늘의 수입동향

마늘은 1992년 한중수교 이후 1993년에 처음으로 수입되었는데, 수입량은 단순히 양념용 깎마늘에 한정되어 이루어지다가, 국내 재배량이 많아지는 1999년을 기점으로 점차 감소하는 경향이였다.

국내 마늘 자급률은 2008년 기준으로 90%에 달하며 고추 등 특용작물과 함께 가장 높은 자급률을 기록하고 있다. 하지만, 가격에서 상당한 경쟁력을 갖춘 중국산 마늘이 저가공세를 통해 2001년부터 다시 수입이 되기 시작했다.

2006년에 마늘 수입량이 증가하였다가 2007년을 기준점으로 수입량이 감소하였지만, 2009년에는 마늘 수입량 자체가 증가하게 된다. 이는 국내에서 소모되는 마늘의 양이 증가하여 자급률의 범위를 넘어서기 때문인데, 결과적으로 국내의 마늘 소모량이 늘어난 셈이다.



1994년 한중수교 후 처음으로 마늘의 수입을 통해 다소간 이득을 보았으나, 그 후로 계속해서 감소와 소폭증가를 거듭하여 5000~10000 (천 달러) 정도 수준을 유지하였다. 1996년부터 다시 소폭 증가세를 보이던 마늘의 수입량은 1998년을 기준점으로 2000년까지 감소를 거듭하였으며, 2000년 당시 한중 마늘 무역마찰이 발생하는 바람에 수입량 자체가 감소하게 되었다. 마늘 분쟁은 우루과이라운드에 따라 우리나라는 중국산 마늘에 대해서는 깎마늘은 50%와 초산제조용 냉동마늘은 30% 관세를 부과하는 조약을 체결하였다. 하지만, 수입업자들이 초산제조용 냉동마늘을 1998년부터 점진적으로 저관세를 노려 수입량을 늘여가자, 1999년 가을 우리 정부에서 긴급 마늘 수입제한조치를 발동하게 되었다. 이로 인해 중국은 한국산 디스플레이와 폴리에틸렌에 대한 수입을 차단하게 되었고, 이러한 무역분쟁은 약 6개월 정도 지속되어 당해 마늘의 수입은 중단되었다. 따라서 당시 마늘값이 2배정도 폭등하는 사태가 발생하였고, 그로인해 2001년 다시금 예년 수준으로 마늘 수입량이 회복되었다. 이후 정부는 마늘 등 특용작물에 대한 국내 자급률 확보에 나서며 마늘의 수입량은 다시금 안정적 추세로 돌아서게 되었다. 우리나라 마늘은 결국 2009년 신종플루 현상에 의해 값이 폭등하였으므로 당연히 수입량 자체가 많아져야 하지만, 2009년 중국 또한 신종플루로 인하여 자국 내 마늘 값이 10배 이상 폭등하는 바람에 수입 자체가 힘들어졌다.

#### 마늘 수입량 변화표

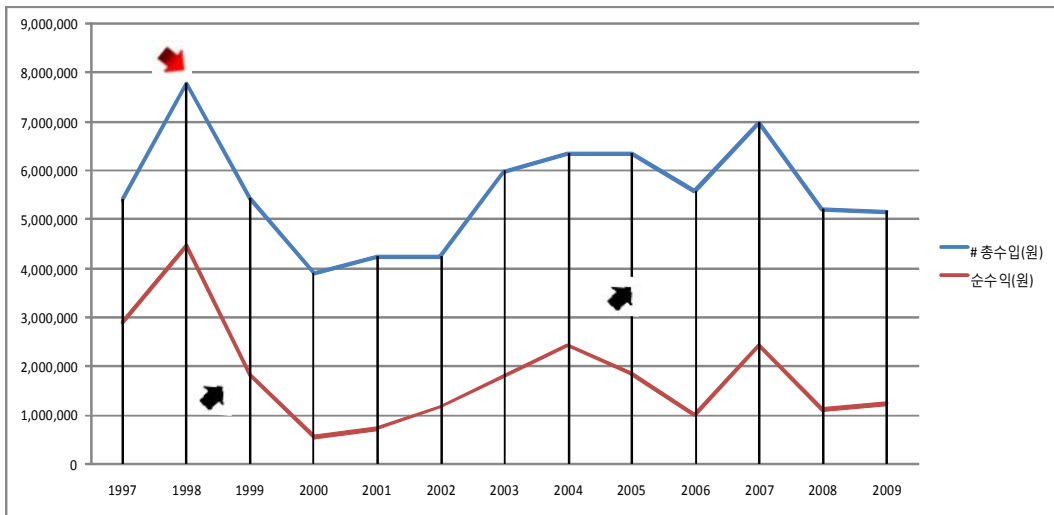
년도	금액 (천달러)	증가율(%)	년도	금액 (천달러)	증가율(%)
1993	512	-	2002	6,996	-14
1994	26,599	5,100.00	2003	3,889	-44.4
1995	5,744	-78.4	2004	9,786	151.6
1996	6,150	7.1	2005	7,931	-18.9
1997	8,156	32.6	2006	10,273	29.5
1998	10,533	29.2	2007	6,828	-33.5
1999	5,939	-43.6	2008	2,794	-59.1
2000	111	-98.1	2009	3,808	37.9
2001	8,135	7,204.20			

#### □ 마늘 소득량 변화

마늘 소득량은 1998년도 가장 높았다. 이때는 자국 내의 마늘수요가 급증해서인지 중국으로부터 마늘 수입량도 많았고, 그와 동시에 자국내 마늘 값도 올라갔다. 이 쌍두마차를 바탕으로 마늘 소득량이 가장 많이 증가하였다. 1998년 순수익이 가장 높았음은 마늘 가격이 높았다는 것을 반증하는 자료이다.

#### 마늘 소득량 변화표 (1997년 ~ 2009년)

	1997	1998	1999	2000	2001	2002
소득(원)	5,403,801	7,767,268	5,432,845	3,905,141	4,242,072	4,245,219
순수익(원)	2,890,261	4,460,340	1,804,639	549,871	716,954	1,155,934
2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
5,979,358	6,344,904	6,339,904	5,560,009	6,977,411	5,218,938	5,168,357
1,788,749	2,418,077	1,843,650	989,565	2,413,873	1,108,859	1,231,885



마늘 소득량 변화 그래프 (1997~2009년)

붉은 화살표로 나타낸 1998년은 단순 소득량도 가장 높았고, 그와 동시에 순수익이 가장 높았던 지점이다. 비율상으로는 판매액의 57% 정도가 순수익으로 남았을 정도로 수익이 좋았다. 2000년의 경우 한중 마늘분쟁으로 인해 국내 마늘 값이 대폭으로 상승하면서, 전체적으로 마늘의 수요량이 감소했다.

1998년부터 2000년까지 순수익 감소가 눈에 보이는 것은 마늘 수입량 그래프에서 보듯이 수입량이 증가했기에, 국내 마늘 값이 하락한 것으로 보인다. 2006년의 경우 마늘 수입량은 전년대비 29.5% 증가하였으나, 순수익은 감소하였다.

2009년 순수익 자체의 증가추세는 신종플루의 영향으로 말미암아 기초 면역계를 강화시키는 마늘의 효과가 입증되어, 판매가 증가한 것으로 보인다. 그 외의 요인으로 2006년부터 증가한 순수익은 마늘 자체가 아닌, 마늘 부산물의 소득이 증가하였기 때문으로 보인다.

## (2) 국외 마늘관련 산업 시장동향

세계의 마늘 생산량은 300만톤을 넘는데 중국, 한국, 인도를 포함한 아시아 지역 생산량이 세계 생산량의 65%정도로 아시아가 생산을 주도하였다. 이중 30%가 중국에서 생산되며, 과거 25년 동안 마늘의 생산 실적을 보면 스페인은 2배, 이집트, 멕시코, 브라질은 3배, 미국은 4배 정도 증가하였다.

□ 영국

최대 소매업체인 테스코는 5월부터 영국 전역 매장에서 흑마늘 판매를 시작한다고 밝혔다. 또한 스페인은 중국산 마늘과의 경쟁에서 우위를 점하기 위해 마늘 회사 및 협회, 그리고 자치 공동체가 ‘스페인의 마늘(Spanish Garlic)’이라는 공동브랜드를 사용하고 있다.

영국의 흑마늘 제품은 영국 최대 소매업체인 테스코를 5월부터 영국에서 일반 판매 될 예정으로 테스코가 흑마늘을 출시함에 따라 다른 영국의 대표적인 대형 소매업체들도 연달아 흑마늘을 판매할 것으로 업계 관계자들은 예상하고 있다. 흑마늘의 홍보 판매자인 테스코는 흑마늘이 기존 생마늘보다 건강에 더 좋고, 나쁜 입냄새를 풍기지 않으며 기존 마늘보다 더 강한 단맛을 낸다고 강조하고 있다.

또한 조리되지 않은 생마늘로 먹더라도 기존에 마늘을 날 것으로 먹었을 때 느낄 수 있는 타는 듯한 느낌이 없다고 설명하면서 이러한 맛과 더불어 흑마늘이 생마늘보다 두 배 이상의 항산화 성분이 함유되어 있으며 심장질환에 좋고 천연의 설탕 성분과 아미노산의 함량이 매우 높으며 지방 함량은 낮다고 덧붙였다. 흑마늘의 활용방법에 대해서는 일반 구이와 이탈리아의 쌀로 만든 음식 중 하나인 리조또, 그리고 파스타에 넣어 조리하면 맛이 한층 증가되기 때문에 어느 음식에나 넣을 수 있는 훌륭한 향신료로 소개하고 있다.

#### □ 스페인

스페인의 20개의 회사 및 협회, 그리고 5개 자치 공동체들이 ‘스페인의 마늘(Spanish Garlic)’이라는 공동브랜드를 사용하기로 발표하였다. 이러한 조치로 인해 여기에 참여한 회사 및 협회, 자치 공동체 외에도 스페인 내 모든 생산업체들이 이 브랜드를 스페인산 마늘의 원산지 보호하고 저가, 저품질의 수입산 마늘과 차별화하기 시작하였다.

스페인의 마늘생산은 주로 발레라도(Vallelado) 주변의 세고비아(Segovia) 지방에서 생산되고 있다. 상기의 조치로 품질과 가격 면에서 경쟁력이 있을 것으로 생산업체들은 예상하고 있다. 스페인에서 마늘의 수요는 스페인산 마늘보다 커서 프랑스, 이탈리아와 같은 인근 유럽 연합 국가뿐만 아니라 중국, 칠레, 아르헨티나와 같은 비 유럽 연합 국가에서도 수입을 하고 있는 실정이다.

#### 스페인의 마늘 수출입 현황(2010년)

구분	수입		수출	
	물량(톤)	금액(euro/kg)	물량(톤)	금액(euro/kg)
2010	13,000	1.88	55,000~61,000	2.45

#### □ 유럽의 마늘 수요 전망

유럽에서의 마늘소비가 증가하면서 수요가 꾸준히 증가하고 있으나 유럽 내에서 공급이 부족해 유럽 연합 외 지역에서의 수입이 증가할 것으로 예상된다. 또한 흑마늘이 유통되기 시작하고, 동시에 흑마늘이 조리용으로 편리할 뿐만아니라 건강에 이롭다는 것이 널리 홍보 될 경우 한국산 흑마늘 제품이 유럽시장에 진출할 수 있는 여지가 있을 것으로 판단된다.

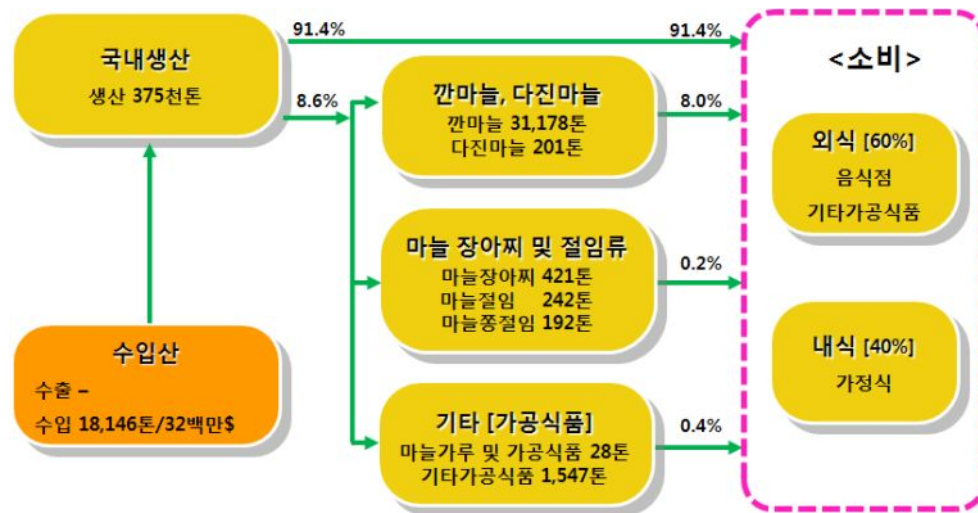
### (3) 마늘 가공품의 유통 실태조사

#### □ 마늘 및 가공품의 value chain

2008년을 기준으로 가공마늘의 양은 33,809톤이며, 이 중 깐마늘이 92.10%에 달하고, 다진마늘이 0.59%, 그 외 가공마늘은 2.85%, 마늘 추출액 및 흑마늘 가공품 등이 4.46% 정도이다. 깐마늘 외 가공품의 생산은 7.9%로 아주 미미한 수준이며, 이 중 마늘 추출액과 흑마늘 가공품의 비중이 약 46%를 차지하고 있다.

마늘 가공산업이 활성화 되지 못한 이유는 유통 단계에서 한지형은 대부분 통마늘로 3~4단계로 유통되나, 난지형 마늘은 68%가 깐마늘로 32%는 통마늘로 유통되는데, 5~6단계의 유통단계로 매우 복잡한 유통망을 가지고 있다. 또, 조정 출하시 저장비용(180원/kg)과 10% 내외의 자연감소가 발생하여 저장에 따른 손실이 크며, 수확기와 단경기 가격차가 적어 저장 출하에 따른 위험요인이 상존하고 있다.

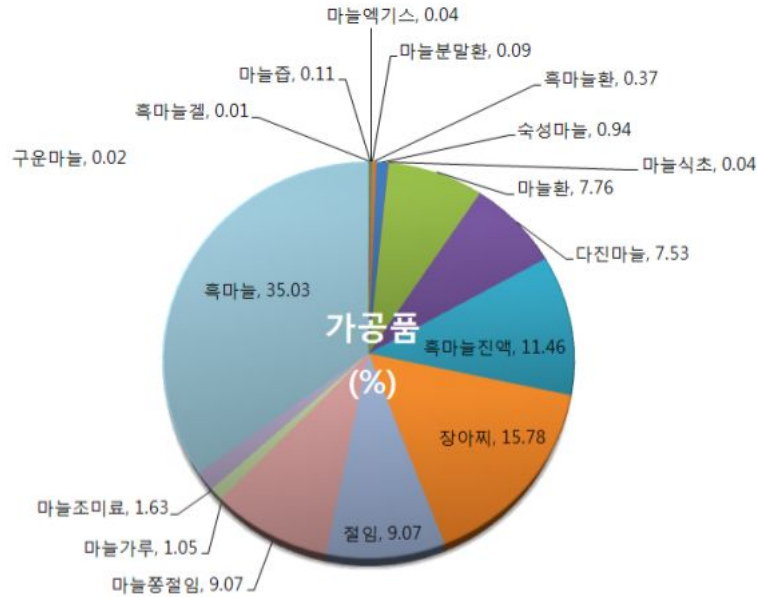
가공단계에서는 마늘 가공산업이 활성화 되지 못하는 주요 원인으로 2~3년 주기로 반복되는 가격파동 및 가공용 물량의 안정적 공급이 이루어지지 못하는 것이 주된 요인이다.



#### □ 마늘의 가공식품 중 비교 우위를 점하고 있는 흑마늘의 제조 특성 및 유통현황

흑마늘의 보편적인 제조법은 숙성 흑마늘법과 발효 숙성 흑마늘법의 2가지가 국내에 많이 알려져 있다. 이 2가지 종류의 흑마늘은 개발 국가가 다르다. 숙성 흑마늘법은 일본에서 독자적인 숙성기술로 '아오모리현의 가와무라'가 상품화 하였다. 이 기술은 아오모리현이 개발하여 특허출원 된 기술로, 따뜻한 온도에서 일정시간 저장한 후 숙성시키는 방법이다.

남해에서 생성되는 대부분의 흑마늘은 40~90℃의 온도 범위에서 약 15~30일간 숙성함으로써 마늘에 함유되어 있는 자체성분이 서로 반응하여 갈변물질을 생성하게 된다. 숙성시키는 온도 및 수분의 함량에 따라 색의 발현 시기와 가공된 마늘의 물성이 차이를 나타내게 되므로 그 숙성 정도가 중요한 인자이다.

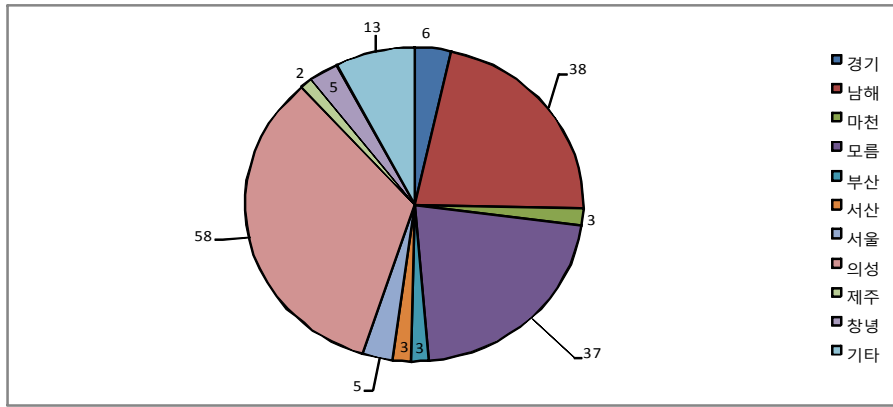


2008년 흑마늘 가공제품 생산현황

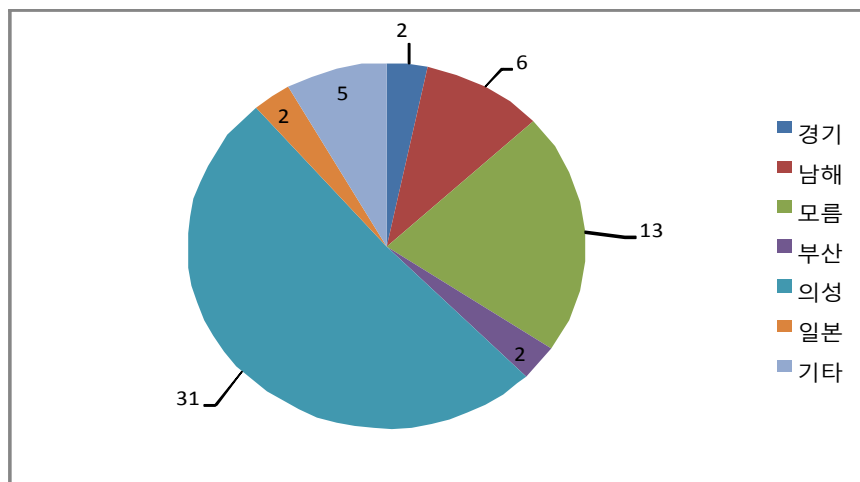
현재 시중에 출시된 흑마늘 제품의 대부분은 마실 수 있는 액상의 추출차 형태이다. 액상차는 식품공전에 등재되어 있으며 식물성 물질을 주원료로 하여 그대로 착즙하거나 추출한 것을 가공한 것 또는 이에 다른 식품이나 식품첨가물을 가하여 고형 또는 액상 등으로 가공한 기호성 식품을 말한다. 추출차는 고형 추출차와 액상 추출차로 구분할 수 있는데, 고형 추출차는 추출액을 그대로 또는 이에 다른 식품이나 식품첨가물을 첨가하여 분말 또는 과립 상태로 가공한 것을 말하며, 액상 추출차는 위와 같은 물질들을 농축하거나 시럽상 또는 액상으로 가공한 것이다.

□ 마늘 음료(추출차) 유통현황

액상차는 액상의 형태로 단위는 ml 단위로 포장 단위는 60 ml 70 ml, 80 ml가 각각 주류를 이루며 가장 많은 것은 80 ml 단위이다. 생산지역별 제품 중 의성산 마늘을 사용한 제품이 58종으로 약 33.5%로 가장 높고, 다음은 남해산 마늘 제품이 21.9%를 차지하였다. 또한, 국산으로만 표기하고 생산지를 모르는 마늘 제품이 약 21.7%로 의외로 많이 출하되고 있다. 또한, 생산지와 본사의 위치가 동일한 제품이 36.9%로 생산지에서 바로 가공하여 판매하는 제품도 비교적 많은 편이다.



□ 마늘환 유통현황



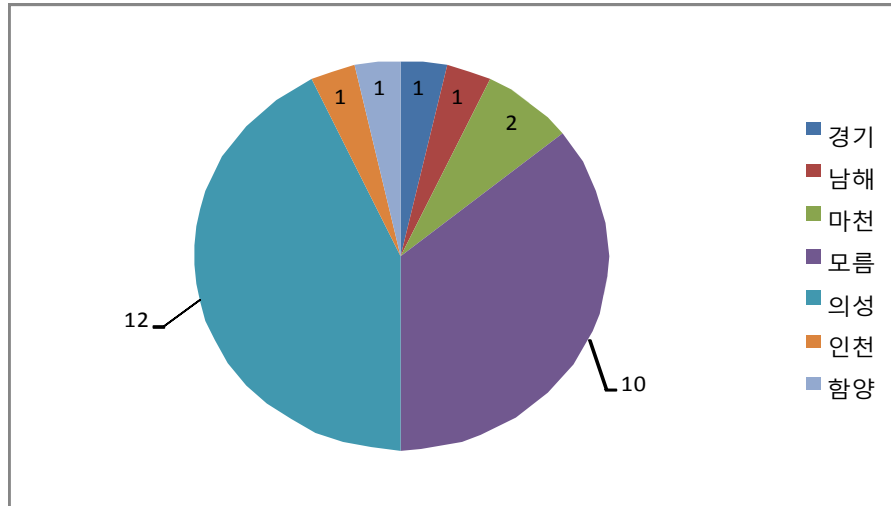
61개 제품군중 31개의 제품이 의성산 마늘로써 전체의 50.8%를 차지하고 있다. 남해산 마늘 가공품은 10%에 불과하다. 특이한 점은 국내산이 아닌 일본산 마늘을 이용한 『효성 우메켄』이라는 제품이 유통되고 있으며, 또 국내산 마늘을 사용하지만, 산지가 불분명한 마늘이 13개 제품군 21.3%를 차지하였다.

그리고 산지와 본사의 위치가 같은 경우가 24개 제품군 39.3%에 달했다. 상대적으로 의성산 마늘이 그중 15개 제품군 62.5%, 남해산 마늘은 2개 제품군 약 8%를 차지하였다.

□ 페이스트(NCI보고서 인용)

28개 제품군중 12개의 제품이 의성산 마늘을 사용하고 있었고, 특이하게 마늘의 주산지가 아닌 인천산 마늘을 이용한 제품인 『유기농 흑마늘 엑기스』가 유통되고 있다. 마늘의 주산지이며, 마늘 가공 산업이 활발히 이루어지고 있는 남해산 마늘제품은 상대적으로 그 수가 적어 1개 제품군 3.5%이었다.

일본산 마늘을 이용한 제품은 없었는데, 국내산 마늘에 비해 상대적으로 고가인 일본산 마늘을 이용하여 페이스트 제품을 만드는 것은 부가가치 향상에 큰 도움이 되지 않아 제품군이 없는 것으로 생각된다.



산지와 본사의 위치가 같은 경우가 7개 제품군 25%였다. 페이스트제품은 특히, 생산지 및 본사가 제각각이었다. 또한 산지를 모르는 경우도 35.7%로 많았으며, 의성산 마늘이 서울이나 인천 등 수도권 지역에서 제조 판매되는 경우도 많았다.

이상 마늘제품 시장을 살펴보면 액상 추출차가 대부분이며, 그나마 가공되고 있는 제형은 환이나 페이스트로써 부가가치가 크게 높지 않은 제품이었다. 남해산 마늘도 액상 추출차를 제외하면 다른 제형으로는 거의 가공되고 있지 않음을 알 수 있다.

본 연구에서 소재화 하고자 하는 홍마늘의 경우 가공되어 판매되는 경우는 거의 전무한 실정이며, 현재 흑마늘 가공품 시장에 새로운 활력을 제공할 수 있는 신가공품으로 활용할 수 있을 것으로 기대된다. 이러한 측면에서, 본 과제에서는 시장 진입이 용이하도록 소비자에게 익숙한 제형인 액상 추출차 형태의 제품 개발로 개발 제품에 대한 소비자 친밀도를 높이고, 고부가가치화를 위한 제형으로 유동층과립기를 이용하여 미세 과립환을 개발하였다.

#### □ 현재 생산 유통 중인 마늘 성분 유래 의약품 현황

마늘은 추출액이나 garlic oil의 형태로 의약품 소재로 널리 활용되고 있는데, 마늘 추출액을 이용한 현재 시판 중인 제품은 총 26개며(표 31) 이들의 효능은 자양강장, 피로회복, 근육통, 영양보충(비타민 B군), 말초혈행장애 등이고, garlic oil 제품은 39개이며(표 32) 혈액순환장애(동맥경화)에 의한 제 증상, 기억력감퇴, 무기력증, 집중력약화, 현기증, 만성피로개선을 위한 제품으로 주로 판매되고 있다.

국내에서 생산 유통 중인 garlic 복합제품

제품명	판매회사	성분 및 함량	제품명	판매회사	성분 및 함량
게리틴 연질캡셀	조아제약	garlic extract 150mg	콘도라 연질캡셀	극동제약	garlic extract 10mg
귀보 액	유한양행	garlic ex 50mg	쎄트 연질캡셀	한국넬슨제약	garlic extract (100→1)10mg
나추럴-이 연질캡셀	신일제약	garlic extract 10mg	아이젠 에스 연질캡셀	삼천당제약	garlic ext. (100→1) 20mg
루마비타 연질캡셀	한미약품	garlic extract 10mg	에너지 연질캡셀	삼성정밀화학 / 의약사업부	garlic extract 100mg
마노렉스 캡셀	삼익제약	garlic extract	올프라임 연질캡셀	삼성정밀화학 / 의약사업부	garlic 10mg
마론 연질캡셀	롯데제약	garlic extract	오딘비타 정	동성제약	garlic extract 25mg
메가본 연질캡셀	수도약품공업	garlic extract (100→1)10mg	오버디 연질캡셀	근화제약	garlic extract (100→1) 10mg
미라비타 연질캡셀	에스케이케미칼 생명과학부문	garlic extract	옥시큐텐 연질캡셀	고려제약	garlic Ex. 20mg
비타쉬리 연질캡셀	삼성제약공업	garlic extract	젠트 연질캡셀	영일제약	garlic extract 10mg
케토본 연질캡셀	삼성제약공업	garlic extract 10mg	젠티 연질캡셀	한국휴텍스제약 (주)	garlic extract 10mg
비타콘틴 연질캡셀	코오롱제약	garlic extract 10mg	조인탑 연질캡셀	일양약품	garlic extract 10mg
신키톤 연질캡셀	삼천리제약	garlic extract 10mg	카바맥스 연질캡셀	제일약품	garlic extract (100→1) 10mg
테마를 연질캡셀	삼천리제약	garlic extract 40mg	포스톤 지 액	초당약품	garlic extract (100→1) 25mg
헬비트 연질캡셀	한국이텍스	garlic fluid extract 1000mcg			
펜넬 캡셀	파마킹주식회사	garlic oil 50mg	씨라민 연질캡셀	청계제약	garlic oil 150mg
가롤 연질캡셀	알파제약	garlic oil 300mg	씨링 연질캡셀	보람제약	garlic oil 150mg
노블 연질캡셀	삼천리제약	garlic oil 100mg	씨브론 연질캡셀	삼성정밀화학 / 의약사업부	garlic oil 150mg
도나큐 연질캡셀	삼성제약공업	garlic oil	씨비텐 연질캡셀	조아제약	garlic oil 150mg
도네오 연질캡셀	녹십자	garlic oil 150mg	씨카를 연질캡셀	진양제약	garlic oil 150mg
두리방 연질캡셀	초당약품	garlic oil 300mg	씨카루 연질캡셀	신일제약	garlic oil 150mg
라버랄 연질캡셀	서울제약	garlic oil 150mg (0.15mg as allicin)	토코갈 연질캡셀	아남제약	garlic oil 300mg (allicin 으로서 0.3mg)



국내에서 생산 유통 중인 garlic oil 복합제품

제품명	판매회사	성분 및 함량	제품명	판매회사	성분 및 함량
리리몬 연질캡셀	영풍제약	garlic oil	씨크린 연질캡셀	안국약품	garlic oil 150mg
리펄스 연질캡셀	삼진제약	garlic oil 150mg	씨키드 연질캡셀	동구제약	garlic oil 150mg
맥스크린 연질캡셀	보령제약	garlic oil 150mg	알리움 연질캡셀	삼희약품	garlic oil
메이프란 연질캡셀	위더스 메디팜(주)	garlic oil 150mg	에레판 연질캡셀	셀라트팜코리아	garlic oil 300mg
바소큐 연질캡셀	동성제약	garlic oil 150mg	유니몬 연질캡셀	넥스팜코리아	garlic oil
박페란 연질캡셀	영풍제약	garlic oil	제리팍스 연질캡셀	미래제약	garlic oil
산사멜 연질캡셀	동화약품공업	garlic oil	지티엘 연질캡셀	영풍제약	garlic oil
셀그린 연질캡셀	한국넬슨제약	garlic oil 150mg	카디알 연질캡셀	부광약품	garlic oil 150mg
슈페란 연질캡셀	알파제약	garlic oil 150mg	큐렉스 연질캡셀	구주제약	garlic oil 150mg
크라타 연질캡셀	태극약품	garlic oil 150mg	큐시란 연질캡셀	경남제약	garlic oil 150mg
씨큐란 연질캡셀	동아제약	garlic oil 150mg	큐푸란 연질캡셀	셀라트팜코리아	garlic oil 150mg
하이로 연질캡셀	한국휴텍스제약 (주)	garlic oil 150mg			

마늘과 관련된 건강식품 시장은 1,000 억원대로 추정되고 있으며 이 중 생마늘 액상제품을 주로 생산하는 (주)천호식품이 약 50% 정도를 점유하고 있고, 최근 들어 흑마늘 및 가공품을 중심으로 한 제품의 개발이 활발히 진행되고 있으며, 현재 단순 간마늘을 제외하고 마늘 가공품을 생산하며 활발한 영업활동을 하는 업체는 총 14개 정도이며, 이중 흑마늘 중심의 제품을 생산하는 곳은 약 8개소 정도이다.

생산 유통 중인 마늘 및 흑마늘 가공업체 현황

지역	업체명	제품	지역	업체명	제품
부산시	천호식품	생마늘 농축액	신안군	성지식품산업	마늘 및 채소
의성군	의성영농조합법인	마늘환,	남해군	마늘사랑	흑마늘 진액
	솔나라	마늘환		인조이내추럴	흑마늘, 진액
	의성흑마늘	통흑마늘, 진액		도울농산영농조합법인	흑마늘, 진액
	(주)메나리	통흑마늘, 진액		덕산식품	흑마늘, 진액
	의성흑마늘영농조합법인	농축액, 통흑마늘		화전농산영농조합법인	흑마늘, 진액
서산시	서산6쪽마늘나라	마늘주		새남해농협	마늘 홍삼 환
	동양냉장	마늘생강다짐		해노래	마늘 진액

최근 흑마늘 및 그 가공품의 제품이 증가하고 가격 경쟁이 치열해짐에 따라 초기 약 4~5 배 이상의 부가가치를 형성하던 흑마늘과 가공품 시장은 점차 축소되고 있으며, 흑마늘의 기능성에 대한 과학적 근거를 규명하기 보다는 기존의 건강식품과 차별화 되지 않는 방법의 진액제조 및 환 등의 제품개발에 그치고 있다. 일부 기업을 중심으로 마늘의 기능성에 대한 개별인증을 위한 연구가 진행되고 있으나 이 또한 사업 초기 단계로서 3~5년 정도가 소요되므로 개별 인증획득까지는 많은 시간이 요구되어 현재 1개 제품만이 개별인증을 위한 임상실험을 완료하여 인증 등록 단계에 있다.

□ 홍보현황

흑마늘 및 가공품에 대한 언론사의 홍보 기사 현황(표 34)을 보면 06~07년도 부분과 08~09년도 부분에서 특징을 찾아 볼 수 있다. 06~07년에는 일본산 흑마늘 제품이 국내에 도입될 시기로 도입할 당시 흑마늘에 대해서는 거의 알려진 바 없이 일부 기업에서만 흑마늘 제품을 생산하였다. 또한, 당시는 웰빙이나 블랙푸드 열풍이 불기 시작한지 얼마 되지 않아서 흑마늘에 대한 국민적 인지도와 언론사의 관심도 낮았고, 제품에 대한 홍보도 미진하였다. 기사의 숫자가 증가하기 시작하는 시기인 07~08년도에는 블랙푸드 열풍이 막바지에 다다르면서 검은 쌀, 검은콩, 검은깨 등 이미 알려진 블랙푸드에서 흑마늘 등 새로운 블랙푸드로 관심이 이동하는 단계였다.

언론별 흑마늘 관련기사 현황

	06~07년	07~08년	08~09년	09~09년12월	계
조선일보	0	2	29	54	85
중앙일보	4	13	13	104	134
동아일보	1	6	5	30	42
한겨레신문	0	4	0	3	7
경향신문	0	2	2	4	8
한국일보	1	22	13	37	73
매일신문	2	4	11	18	35
문화일보	0	3	4	14	21
서울신문	0	4	1	7	12
세계신문	0	0	0	26	26
연합뉴스	0	0	0	26	26
계	8	60	78	323	469
누적	8	68	146	469	

일상적인 유행 사이클에 의하며 08~09년에는 07~08년보다 상대적으로 그 검색이나 관련 기사의 수가 비약적으로 상승해야 하지만, 130%정도 상승하는데 그쳤다. 이는 블랙푸드 열

풍이 그 이전에 불어왔던 매실이나, 가시오가피 열풍에 비하여 흑마늘에까지 미치는 영향이 적었기 때문으로 추정된다. 2009년도의 가장 큰 이슈인 ‘신종플루’는 마늘 뿐만아니라 흑마늘에 대한 관심도 증폭시켰다. 산업적으로도 본래 마늘이 가지고 있던 면역력 증가라는 명제를 흑마늘 제품이 그대로 계승하여 종래의 구운 마늘환에서 흑마늘 제품으로의 변화를 꾀하게 되면서 광고, 홍보 및 언론에의 노출 숫자 또한 증가하게 되어 414%에 이를 정도로 관련 기사의 숫자가 비약적으로 증가하였다.

#### (4) 국외 마늘 가공품 개발 현황

##### □ 국외의 마늘 가공 제품군



세계적으로 마늘의 생산이 증가되는 이유는 소비 증가에 따른 것으로 이는 생마늘 뿐 아니라 건강식품으로써 가공품이 증가하였기 때문으로 풀이된다. 인터넷 사이트를 통하여 생산·유통 중인 해외 마늘 건강식품의 현황을 조사하였다.

마늘 가공품의 경우 구미지역에서는 허브류의 건강기능식품에 속하며 매출규모는 소화기계 질환개선 소재로써 4위, 면역증진 소재로써 5위, 심혈관계질환 개선 소재로써 7위이며 연간 약 2천만불 이상의 매출을 올리고 있다.

싱가포르의 경우 1987년에 11곳에 불과하였던 건강식품 취급점이 1997년에는 155개로 급팽창하였으며, 2006년에도 4~6% 정도 성장하여 건강식품 수요가 지속적으로 팽창되고 있으며, 일본에서 마늘 제품은 건강기능식품보다는 다양한 식품형태로 주로 판매되고 있으며, 숙성 흑마늘 가공품을 포함하여 1,000억 이상 판매되고 있다.

□ 미국, 일본에서 개발·시판되고 있는 마늘 건강식품류

종류	성분 및 조성	효능
자양강장 Drink (의약품)	(내용물 500mL중) : 1일 1회 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 마늘추출성분(Oxoamidine) 100mg</li> <li>• 조선인삼 extract 45mg</li> <li>• Vit B<sub>1</sub> 엽산염 10mg</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 자양강장</li> <li>• 허약체질보강</li> <li>• 체력증강</li> </ul>
자양강장제 (의약품)	(내용물 60ml중) : 1일 1mL <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vit B<sub>1</sub> 엽산염 20mg</li> <li>• Vit B<sub>2</sub> 2g</li> <li>• 간장분해 extract 100g</li> <li>• 마늘추출액 1.73mg</li> </ul>	
농축액(식품)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 마늘 extract</li> <li>• 쌀배아추출농축물(천연 Vit. B그룹)</li> <li>• Mucopolysaccharide(뮤코다당) - Chondroitin함유</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 영양보조식품</li> </ul>
식용류 가공식품 (영양소 식품)	(내용액 : 90粒) <ul style="list-style-type: none"> <li>• 천연 비타민 E(식물류 추출물)</li> <li>• lecithin</li> <li>• Safflower(잇꽃) 油</li> <li>• 무취마늘분말</li> <li>• 밀랍 (벌집)</li> <li>• 쌀배아 油</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 건강유지</li> <li>• 영양보급</li> </ul>
마늘 extract粒 (마늘 미배아 가공식품)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 마늘 엑기스</li> <li>• 쌀배아 엑기스</li> <li>• Muco다당류</li> <li>• Vit B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C, E</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 마늘에 있는 allicin과 비타민 B<sub>1</sub>은 알리티아민이라고 이들은 지속적으로 흡수되어지는 것으로 알려져 있음</li> </ul>
무취마늘 粒	• 무취마늘분말, 비타민 C	Good assistant of healthy life
마늘 粒 (당의)		무취마늘 粒과 동일

□ 생산 유통 중인 해외 마늘 건강식품 현황

제품명	사진	유형	첨가형태	용도	회사명	제조국
메가맨 비타민 무기질 보충용		타블렛	무취마늘 분말	영양보충제	GNC	미국
우먼스울트라메가 비타민 무기질 보충용		타블렛	무취마늘 분말	영양보충제	GNC	미국
프리미엄 갈릭오일 캡슐		캡슐	garlic oil	감기완화, 혈액순환, 면역강화	네이처스 오운	호주
무취 아리조나 갈릭 1000 mg		타블렛	분말 1000 mg	면역, 호흡질환개선, 알러지, 비염	네이처스 오운	호주
Garlic 1000		타블렛	무취마늘 분말 1000 mg	체력증강, 강장효과, 피로회복	GNC	미국
Odor control garlic		타블렛	무취마늘 농축액 500 mg	콜레스테롤, 심장혈관개선	Natural Made	미국
Garlique		타블렛	마늘 분말 400 mg	영양보충제	herbs MD	미국
Kyolic liquid & gelatin caps		캡슐	Aged garlic extract 300 mg/1mL	혈행개선, 스트레스, 피로회복	Wakunaga of America Co. Ltd.	미국
Kyolic formula 102		타블렛	숙성마늘 추출물분말 700 mg	동맥경화, 면역증강	Wakunaga of America Co. Ltd.	미국
Kyolic 103		캡슐	숙성마늘 추출물 404 mg	면역증강	Wakunaga of America Co. Ltd.	미국

□ 일본의 건강식품으로서 마늘의 이용현황

종 류	분 류	형 태	주 성분
자양강장 Drink	의약품	500ml/병	마늘추출물(Oxoamidine )외 6종
자양강장제	의약품	Capsule	마늘추출액 외 3종
농축액	식품	Capsule	마늘추출물, 쌀배아추출물 외2종
식용유 가공식품	영양소식품	Capsule	마늘분말, 밀랍 외 18종
마늘 extract 粒	건강식품	Tablet	마늘추출물 외 5종
무취 마늘 粒	마늘가공식품	Tablet	무취마늘분말 외 8종
마늘 粒	건강식품	Tablet	무취마늘분말 외 8종
마늘 末 가공식품	영양보조식품	Tablet	무취마늘末 외 8종
Ginkgolic		Capsule	숙성마늘추출물 외 4종
Kyolic		Tablet	숙성마늘추출물 외 4종

국외의 마늘 가공품은 액상 제품보다는 캡슐이나 타블렛이 주종을 이루고 있어 국내의 마늘 가공산업을 활성화하고, 해외시장 개척을 위해서는 흑마늘이나 홍마늘처럼 마늘 특유의 자극취가 감소된 마늘 가공품을 주재료로 하여 캡슐이나 타블렛으로 가공하는 것이 적합할 것으로 판단된다.

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### - 1차년도

세부연구목표	평가 착안점	달성도(%)	연구개발 수행내용
▪ 홍마늘 제조 공정 개발에 따른 이화학적 특성 분석	-홍마늘의 제조공정 확립 여부 -이화학적 성분 분석 여부	100	홍마늘 제조공정을 5단계로 나누고 숙성단계에 따른 마늘내 유용물질의 함량 변화를 분석한 결과 매운맛 성분인 pyruvate 성분이 상당량 감소하였음
▪ 최적 조건에서 생산된 홍마늘 열수 추출물의 항산화 활성 분석	-항산화 활성도 분석 여부	100	홍마늘 열수추출물을 제조하고 농도별로 제조하여 항산화활성을 비교 분석한 결과 생마늘과 흑마늘의 중간정도 활성이 있었음
▪ 최적 조건에서 생산된 홍마늘 열수 추출물의 항당뇨 활성 분석	-항당뇨 활성도 측정 여부	100	<i>In vitro</i> 상에서 홍마늘 열수추출물의 항당뇨 활성을 분석하기 위하여 $\alpha$ -glucosidase에 대한 농도별 시료의 활성을 비교 분석한 결과 1000~2000 $\mu$ g/mL의 농도에서 흑마늘과 비슷한 효능이 있었음
▪ 홍마늘 유용물질의 항비만 효과 검증	-세포를 이용한 항비만 효과 측정 여부	100	홍마늘 추출물의 전구 지방세포 사멸 유도효과 검증 결과 홍마늘은 생마늘과 유사한 수준, 흑마늘 보다는 높은 항비만 효과가 있음
▪ 홍마늘 유용물질의 항염증 활성 검증	-항염증 활성도 측정 여부	100	홍마늘 추출물이 A549와 U373MG에서 LPS에 의해 유도되어진 TNF- $\alpha$ 와 COX-2를 감소시키고, HO-1발현을 증가시켜 염증반응의 치유과정에 활성이 있음을 확인함
▪ 투석막을 이용한 수용성 갈변물질의 분리	-투석막을 이용한 갈변물질의 분리 및 활성 측정 여부	100	투석막을 이용하여 홍마늘의 수용성 갈변물질을 분리하고, 생마늘 및 흑마늘과 비교한 결과 투석내외액 간의 pH 및 항산화활성이 상이함을 확인하였음
▪ 용매별 유용물질의 특성 분석	-홍마늘 유용물질의 분리여부	100	추출용매별, 용매 분획별 홍마늘 추출액중 함황화합물은 비극성 용매에서 더 확인이 용이함을 확인하였고, DPS, DADS 및 DPDS를 검출함
▪ 홍마늘의 유용물질 분석 조건 설정	-홍마늘 함황물질의 분석 조건 설정 여부	100	비극성 용매를 이용하여 함황화합물을 추출한 후 HPLC를 이용하여 210 또는 280 nm에서 분석할 수 있도록 홍마늘의 함황화합물 분석 조건을 설정함
▪ 깎마늘을 이용한 홍마늘 제조 온도 조건 설정	-홍마늘 제조의 온도 조건 확립 여부	100	흑마늘 제조 온도에 기초하여 50~80 $^{\circ}$ C 범위에서 조건을 달리하여 제조 조건을 설정함으로써 습도조건 및 발색을 위한 고온조건의 필요성을 확인함
▪ 가공조건 설정을 위한 온도 및 습도 조건 설정	-홍마늘 가공을 위한 온·습도 조건설정 여부	100	50~90 $^{\circ}$ C, 30~70% 범위의 온습도 조건에서 홍마늘의 적정 색이 발현되는 조건을 설정하였음
▪ 홍마늘 제조를 위한 전처리 조건 및 온도 조건 설정	-홍마늘 가공을 위한 전처리 조건 설정	100	마이크로웨이브 전처리 조건과 5~90 $^{\circ}$ C범위에서 온도를 변화시키면서 매운맛이 제거된 홍마늘을 제조할 수 있는 조건을 설정하였음
▪ 가공 조건별 홍마늘의 색도, texture, pH 분석	-가공조건별 홍마늘의 특성 분석여부	100	각 시험생산시마다 홍마늘의 색상변화, 전단가, 갈변도를 분석하여 홍마늘 제조조건 설정에 활용하였음

- 2차년도

세부연구목표	평가 착안점	달성도(%)	연구개발 수행내용
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 용매별 분획물의 제조 및 생리활성 분석</li> </ul>	-홍마늘 분획물의 생리활성 분석 여부	100	- 홍마늘 용매별 분획물을 5종류 분획하여 생리활성을 비교하고 유효성분의 함량과 특성을 확인한 결과 지용성의 분획물에서 활성이 우수하여 기준이 흑마늘과 유사한 경향인 것으로 확인되었음
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 동결건조 분말의 제조 및 고지방식에 의한 비만쥐에서 항비만 효과 분석</li> </ul>	-홍마늘 동결건조 분말의 항비만 활성 측정 여부	100	- 홍마늘 동결건조분말을 3% 수준으로 비만쥐에서 급이 하였으며, 생마늘과 흑마늘 동결건조분말 급이군과 상호 비교하여 항비만 효과, 혈액, 간 및 심장조직의 지질 함량과 분변 중의 지질 배출 정도, 체내 지질 과산화물 함량과 항산화능을 비교한 결과 홍마늘과 흑마늘분말간에 유사하였으며 항산화능은 홍마늘 급이군이 더 우수하였음
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 열수추출물의 고지방 식이에 의한 항비만과 체내지질 저하작용 분석 및 유효 섭취량의 확인</li> </ul>	-홍마늘 열수추출물의 항비만 활성 측정 여부	100	- 홍마늘 열수추출물의 유효물질이 페놀 및 플라보노이드류이며, 갈색화 물질도 생리활성의 증가에 관련성이 높은 것으로 확인됨. - 홍마늘 추출물의 농도를 달리하여 비만쥐에서 급이하여 비만도 평가 및 체내 지질 개선정도를 분석하므로써 홍마늘 추출물의 5% 이상이 적정 급이 수준인 것으로 판단되었음
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 유용물질의 항비만 효과(지방세포 증식 억제) 검증</li> </ul>	-홍마늘 추출물의 지방세포 분화도 측정 여부	100	- 홍마늘 추출물을 급이한 비만쥐에서 지방세포 분화 억제효과가 확인되었음 - 비만쥐에서도 홍마늘 추출물의 항비만 효과는 있으나 렙틴호르몬의 변화보다는 에스트로겐의 농도변화에 큰 차이를 보임
<ul style="list-style-type: none"> <li>비만으로 유도되는 염증 유발성 cytokine 활성 제어 연구</li> </ul>	-Cytokine 활성제어 관련 측정 여부	100	- 홍마늘 추출물은 비만에 따른 IL-1과 TNF-a 농도 변화에 영향을 주지 않았음.



- 2차년도

세부연구목표	평가 착안점	달성도(%)	연구개발 수행내용
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 제품의 표준화 및 활성물질 규명</li> </ul>	-홍마늘의 주요 성분 분석을 통한 제품생산에 따른 표준화 기준 마련 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘의 유기산 및 S-allyl cysteine 함량을 비교분석하여 주요 기준 설정 기초 자료를 확보하였음</li> <li>홍마늘의 주요 영양성분 및 항산화 활성을 생마늘 및 흑마늘과 비교 분석하였음</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 바이오 푸드 시제품 제작</li> </ul>	-홍마늘 분말 시제품의 제작 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>유동층 과립기를 활용하여 홍마늘 분말 시제품(1건)을 제작하였으며, 항비만 기능성 분말 시제품으로 Citri-fiber 및 유당분말을 활용한 미립분말 시제품(1종)을 제조하였음</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 함유 항비만 조성물 개발</li> </ul>	-홍마늘 항비만 활성 강화를 위한 조성물의 선정 및 제조 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>문헌조사를 통하여 홍마늘의 항비만 기능성 강화를 위한 천연 식물 소재로 마황, 숙지황, 진피, 구기자, 의이인, 녹차, 창출 및 백출을 선정하였음</li> <li>선정된 천연식물 열수 추출물 후 동결건조 분말의 <i>in vitro</i>상에서 lipase, amylase, trypsin 및 chymotrypsin에 대한 저해활성을 평가하고 그 활성을 비교하였음</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 가공품 개발을 위한 최적 공정개발</li> </ul>	-홍마늘 상품의 디자인 개발 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘, 홍마늘 진액의 제조공정을 확립하고, 홍마늘 진액의 상품화를 위한 상품 디자인을 완성하였음 (진액 시제품 1건)</li> <li>제1협동과제의 결과 정립된 분말의 상품화를 위한 제조 공정도 및 포장 디자인 완성 (홍마늘 분말 시제품 1건)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 조성물의 최적 배합비 설정 및 제조조건 설정</li> </ul>	-홍마늘 추출음료의 최적 배합비 결정 및 시제품 제작 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 추출음료의 관능특성 및 기능성 향상을 위하여 배와 사과과즙 및 약썩 추출액을 첨가한 홍마늘 추출음료 시제품 1건을 제작함</li> <li>관능평가를 통하여 그 조성비율을 선정하였으며, 이들이 첨가된 홍마늘 음료의 제조공정, 포장용기 및 디자인을 확정하였음</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘 분말 및 액상 각 1종에 대한 제조조건 확립</li> </ul>	-홍마늘 분말 및 액상 제품의 시제품 제작 여부	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>액상 제품 1종, 분말 제품 1종의 제조조건 확립, 대량생산 공정도 완성 및 포장 디자인 확정으로 테스트 마케팅용 시제품 제작 완료</li> </ul>

- 3차년도

세부연구목표	평가 착안점	달성도(%)	연구개발 수행내용
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 홍마늘 조성물의 항비만 활성화</li> </ul>	<p>-홍마늘 조성물의 비만쥐를 이용한 항비만 활성화 측정 여부</p>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 홍마늘 추출물에 녹차 추출물 및 식이섬유를 혼합하여 제조한 조성물을 고지방 콜레스테롤 식이성 비만유발 환경에 급이한 결과 홍마늘과 녹차, 식이섬유 조성물 급이군에서 홍마늘 추출물 급이군에 비해 내장지방의 함량이 낮았음.</li> <li>- 혈액 내 지질 수준, 동맥경화 지수, 심혈관 질환 위험지수도 대조군에 비해 유의적으로 감소됨. 따라서 녹차와 식이섬유소의 혼합 조성이 홍마늘의 항비만 활성화에 시너지 효과를 낼 수 있는 조성물인 것이 확인됨.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 홍마늘 추출물 및 조성물의 안전성 평가</li> </ul>	<p>-홍마늘 추출물 및 조성물의 다량 섭취에 대한 생체내 안전성 평가 측정 여부</p>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 홍마늘 조성물을 C57BL/6 및 ICR 마우스를 대상으로 2000 및 4000 mg/kg bw의 농도로 단회 경구투여와 2000 mg/kg의 농도로 5일 연속 장기 투여 시 사망, 외관적 병변, 이상행동, 식사섭취 상태의 변화, 체중의 변화 등 이상 소견이 발견되지 않음.</li> <li>- 홍마늘 추출물 급이군과 비교시 홍마늘 조성물 급이군에서 GOT 및 GPT 활성도가 다소 낮았으며, 홍마늘 조성물은 생체내 투여시 안전한 것으로 판단됨.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 홍마늘 추출물의 항비만·항염증 효과 기전 규명</li> </ul>	<p>-홍마늘 추출물의 항산화, 항염증 효과 확인 여부</p>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 홍마늘 추출물은 활성산소의 생성을 억제시키고, HO-1의 발현을 증가시켜 항산화, 항염증효과에 기여함.</li> <li>- 홍마늘 추출물은 PPAR<math>\gamma</math>와 LXRA/<math>\beta</math>를 억제시켜 항비만 효과를 나타냄.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 이온통로 조절에 의한 항비만 기전 분석(본 연구에서는 칼륨통로를 중점적으로 조사)</li> </ul>	<p>-홍마늘의 항비만 활성 기전 분석의 여부</p>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 지방세포로 분화 후 칼륨통로 및 이온통로의 발현변화(TASK-1, TRAAK 통로의 유의한 발현 증가, TASK-2 통로의 유의한 발현 감소).</li> <li>- 칼륨통로의 활성화제 처리 후 지방세포로의 분화 억제.</li> <li>- 홍마늘 추출물의 칼륨통로의 활성 변화 유무 확인.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 홍마늘의 항비만·항염증 조절 신호전달체계 분석을 통한 항비만, 항염증 활성화의 확인 여부</li> </ul>	<p>-항비만·항염증 조절과 관련된 신호전달체계 분석을 통한 항비만, 항염증 활성화의 확인 여부</p>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 항염증효과 : 담배추추출물, LPS에 의한 산화 및 염증스트레스는 활성산소 및 산화질소(NO)의 생성을 증가시키고 염증유도 물질을 분비하는데 홍마늘 추출물은 HO-1의 생성을 촉진시켜 염증물질, 활성산소 및 산화질소의 생성을 감소시킴.</li> <li>- 항비만효과 : 지방세포 및 비만동물에서 증가된 렙틴호르몬을 홍마늘 추출물은 PPAR<math>\gamma</math>와 LXRA/<math>\beta</math>의 전사효소의 발현을 억제시켜 렙틴호르몬 및 다양한 지방관련 분자들의 발현을 억제시킴.</li> </ul>

- 3차년도

세부연구목표	평가의 착안점	달성도(%)	연구개발 수행내용
<ul style="list-style-type: none"> <li>항비만 홍마늘 함유 조성물의 최적 비율 설정</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-천연식물류간의 활성 비교 및 활성이 우수한 한약재 선정</li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 선정된 항비만 천연식품류간의 최적 혼합 비율에 따른 활성을 비교하였음</li> <li>- 천연식물류간의 혼합 비율에 따른 소화 효소에 대한 활성을 amylase, lipase, trypsin 및 chymotrypsin활성 저해 실험을 통하여 항비만에 효과가 있는 한약재 중 녹차를 선정하였음</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>홍마늘과 조성물간의 최적 혼합 비율설정</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-홍마늘과 조성물의 최적 혼합비율 선정 여부</li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 홍마늘과 조성물간의 최적 혼합 비율 설정을 위해 홍마늘과 천연식물류와의 혼합비율에 따른 생리활성의 변화를 분석</li> <li>- 홍마늘과 조성물간의 최적 혼합 비율 설정을 위해 항산화 활성 실험으로 홍마늘과 녹차함유 최적 비율을 선정하였음</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>항비만 홍마늘 함유 조성물을 이용한 상품화 추진</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-홍마늘과 천연식물류 조성물의 시제품 제조를 위한 최적 조성비 선정 여부 및 활성</li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 홍마늘과 식물류 조성물의 혼합 음료, 분말 및 타블렛 제조를 위한 적정 조성비를 확립하였음</li> <li>- 부형재료의 혼합비 설정 및 혼합 조성물의 생리활성 비교</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>제 1협동 과제와 연계하여 개발 제품의 대량 생산 공정 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-홍마늘 조성물의 분말 타블렛 제품의 최적 공정도 확보 여부</li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 홍마늘 조성물을 활용한 홍마늘 조성물 분말 및 홍마늘 조성물 타블렛의 대량 생산 공정 개발 및 공정도를 개발하였음</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>개발 제품의 상품화 추진 및 시장 분석</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-개발 시제품의 포장 디자인 개발 여부</li> <li>-마늘 가공품의 국내 및 국외의시장 분석 및 동향 조사 여부</li> </ul>	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 홍마늘 진액, 홍마늘 음료, 홍마늘 미파립 분말에 대한 개발 제품의 포장 디자인을 개발하였음</li> <li>- 홍마늘·녹차 음료에 대한 포장 디자인을 개발 하였음</li> <li>- 마늘 가공품의 시장성분석을 조사하였으며 조사범위는 국내 및 국외까지 포함하였음</li> <li>- 주요내용은 국내 및 국외 마늘관련 산업 시장 동향 및 마늘 가공품의 유통실태를 자세히 분석하였음</li> <li>- 국외 마늘 가공품 개발 현황을 조사하여 세계 마늘가공품 시장의 변화 및 시장성을 분석하였음</li> </ul>

# 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

## 제 1 절 연구개발 결과의 활용방안

### 1. 특허, 논문 등의 지식재산권 확보

“숙성 홍마늘의 제조방법”특허가 현재 출원 중에 있으며, 이를 근거로 하여 제조된 홍마늘을 이용하여 생체 내·외 생리활성을 분석하여 특허 출원 4건(PCT 1건 중복 포함), 국내·외 연구논문 8편 투고, 학계 세미나 발표 8건이 완료된 상태이며, 연구논문 3편이 투고 중에 있음.

### 2. 개발 기술의 기업 이전

본 연구의 참여기업이 가공공정 개발, 대량생산 공정확립, 시장성 확인에 적극 참여함으로써 개발된 기술을 기업에 활용이 용이하도록 연구를 진행하였으며, 이를 기반으로 기업은 상품화를 위한 연구개발 경쟁력을 기 확보함으로써 개발 기술을 적극 활용한 새로운 가공품의 상품화가 가능하며, 나아가 지역 경제 활성화에도 기여할 것임.

### 3. 천연물 소재를 활용한 기능성 제품의 개발

생리활성이 알려진 마늘, 녹차, 식이섬유 등을 함유한 홍마늘 가공제품을 통하여 기존의 항비만 제품들에서 문제되는 부작용을 최소화하고, 생리활성을 발현할 수 있는 제품을 개발함으로써 보다 안전하고, 기능성이 확보된 상품으로 활용할 수 있음.

### 4. 지역특화 작물을 활용한 가공품의 다변화 및 시장 확대에 기여

기존의 마늘 가공품은 생마늘 및 흑마늘에만 치중하고 있고, 주로 추출액을 이용하거나 부가가치가 낮은 환으로 가공되고 있는 실정이었는데, 본 과제를 통하여 새로운 마늘 가공품인 홍마늘을 개발하고, 그 품질특성을 규명하였음. 나아가, 항비만 활성과 더불어 항염증 활성에 대한 연구 결과를 도출함으로써 이를 활용하여 여성용 및 남성용 제품으로 제품의 다변화가 기대되며, 타겟 소비층을 확대할 수 있는 새로운 마늘 가공품의 상품화를 위한 자료로 활용하고자 함.

### 5. 참여기업의 제품개발 자료로 활용

참여기업은 현재 HACCP 인증을 위하여 공장을 재 설비 중에 있으며, 이러한 과정이 마무리되는 2012년 연말경에는 본 과제를 통하여 개발된 제품 중 홍마늘 추출액 또는 분말을 상품화하기 위한 계획을 가지고 있으므로, 본 과제의 결과를 상품화를 위한 주요 자료로 활용될 것임.

## 제 2 절 기대성과

1. 과거로부터 기능성과 안정성이 입증된 마늘을 홍마늘로 가공함으로써 마늘의 주요 기능성 물질은 최대한 보존하되 생마늘의 강한 향과 매운맛을 감소시켜 먹기 좋은 제품의 개발이 가능함.
2. 현재 개발·시판되고 있는 흑마늘과 유사한 제품으로 볼 수 있으나 흑마늘이 고온가열로 인하여 탄 맛이 나며, 갈변반응이 지나치게 진행되어 신맛이 증가하는 점 등으로 인해 가공적성이 떨어지며, 유해물질의 생성가능성이 높아 소비자로부터 안전성에 대한 신뢰 확보가 어렵다는 점을 보완한 새로운 제품으로서의 홍마늘이 인식됨.
3. 홍마늘은 제조과정 중 갈변물질이 생성되어 기능성이 강화되는 흑마늘의 장점은 살리고, 생마늘 및 흑마늘의 단점은 최소화하며, 가공 시간이나 품질면에서 확연히 차별화 된 제품으로서의 가능성이 높음.
4. 기존의 생마늘과 흑마늘 제품에 대한 인지도 상승과 홍삼에 대한 인지도로 인하여 홍마늘 제품에 대한 건강식품으로서의 이미지 구축이 유리할 것으로 판단되며, 과학적 연구 결과에 대한 제품의 효능 규명은 소비자로부터 신뢰를 확보하는 주 인자로 작용하여 신 수요 창출이 보다 유리할 것으로 기대됨.
5. 홍마늘 분말, 열수 추출물, 복합 조성물 등을 이용한 항비만 활성이 실험동물을 통해 확인된 바, 홍마늘 제품 개발 및 판매시 홍보 효과를 증진시킬 수 있음.
6. 홍마늘과 그 가공품은 최근 건강상 가장 문제시 되고 있는 비만이나 관절염 등 염증성 질환의 개선을 목표로 하며 그와 관련된 기능성을 규명함으로써 시장 타겟을 명확히 하여 국내 신수요 창출 및 해외 시장 개척에 주력하고자 함.

### 제 3 절 연구 성과

#### 1. 특허 성과

출원된 특허의 경우					출원된 특허의 경우				
출원연도	특허명	출원인	출원국	출원번호	출원연도	특허명	출원인	출원국	출원번호
2010	숙성 홍마늘의 제조방법	(재)남해 마늘 연구소	한국	10-2010-0036708	2010	홍마늘 추출물을 포함하는 호흡기세포 사멸에 의해 유도되는 질환의 예방 및 치료용 조성물	경상대학교 산학협력단 (발명자: 강다원, 한재희, 성낙주, 신정혜)	대한민국	10-2010-0103571
2011	홍마늘 추출물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 조성물	경상대학교 산학협력단 (발명자: 강다원, 한재희, 성낙주, 신정혜)	대한민국	10-2011-0094652	2011	홍마늘 추출물을 포함하는 호흡기세포 사멸에 의해 유도되는 질환의 예방 및 치료용 조성물	경상대학교 산학협력단 (발명자: 강다원, 성낙주, 신정혜, 한재희)	PCT	PCT/KR 2011/007898

#### 2. 논문게재 성과

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2010	숙성홍마늘의 생리활성	이수정	성낙주	신정혜, 강민정, 정우재, 류지현, 김라정	생명과학회지	20(5)	국내	비SCI
2010	생마늘, 홍마늘 및 흑마늘 분말이 고지방식이로 유도된 비만 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향	김라정	성낙주	이수정, 김미주, 황초롱, 강재란, 정우재	농업생명과학연구	44(6)	국내	비SCI
2011	Effect of the red garlic extract for anti-obesity and hypolipidemic in obese rats induced high fat diet	이수정	성낙주	김라정, 류지현, 신정혜, 강민정, 김인수	한국생명과학회지	21(2)	국내	비SCI

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2012	Aged red garlic extract reduces cigarette smoke extract-induced cell death in human bronchial smooth muscle cells by increasing intracellular glutathione levels	정이영	강다원/ 한재희	박혜진, 조영우, 김은진, 김규태, 문윤자, 이종덕, 신정혜, 성낙주	Phytotherapy	26	국외	SCI
2011	투석막을 분리한 가공마늘 갈변물질의 생리활성	신정혜	성낙주	강민정, 김라정, 류지현, 김미주, 이수정	한국식품 영양 과학회지	40(3)	국내	비SCI
2012	Aged red garlic extract reduces lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in Raw 264.7 macrophages and acute pulmonary inflammation through heme oxygenase-1 induction	박혜진	강다원	전병탁, 김호철, 노구섭, 신정혜, 성낙주, 한재희	Acta Physiologica	Epub (Feb 21)	국외	SCI
2012	고지방-콜레스테롤 식이성 흰쥐에서 홍마늘 복합물의 항비만 효과	이수정	성낙주	황초롱, 강재란, 신정혜, 강민정	한국생명 과학회지	22(5)	국내	비SCI
2012	Aged Red Garlic Extract Reduces Lipopolysaccharide-Induced Nitric Oxide Production in Raw 264.7 Macrophages through Inhibition of NF-κB Nuclear Translocation	박혜진	강다원	신정혜, 성낙주, 한재희	Korean Journal of Physiology & Pharmacology	투고중	국내	SCIE
2012	Aged red garlic extract inhibits adipogenesis of 3T3-L1 cells by suppressing PPAR $\gamma$ expression through anti-oxidative and anti-inflammatory effects	박혜진	강다원	김은진, 조영우, 신정혜, 이수정, 성낙주, 한재희	Acta Physiologica	투고중	국외	SCI

### 3. 학술발표 성과

발표날짜	논문명	저자			학술대회명	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자		
2010-06-17	투석막으로부터 분리한 홍마늘 분획물의 생리활성	신정혜	성낙주	강민정, 김경민, 류지현, 이수정	2010한국식품과학회 제77차학술대회및 정기총회	국내
2010-10-28	Aged red garlic extract reduces cigarette smoke extract-induced cell death in human bronchial smooth muscle cells by increasing intracellular glutathione level	박혜진	강다원/ 한재희	조영우, 김은진, 김규태, 문윤자, 신정혜, 성낙주,	2010 제 62회 대한생리학회	국내
2010-12-16	마늘분말이 고지방식으로 유도된 비만쥐의 체지방 및 간 지질에 미치는 영향	김미주	성낙주	김라정, 강재란, 강민정, 신정혜	2010 한국식품영양학회 한국친환경급식현황과 발전방안	국내
2010-12-16	Effect of hot-water extract made from red garlic on serum lipids in rats fed a hyperlipidemic diet	김라정	성낙주	류지현, 강재란, 신정혜, 김인수	2010 한국식품영양학회 한국친환경급식현황과 발전방안	국내
2010-12-16	Effect of garlic powder in serum lipid levels in obese rat induced by high fat diet	류지현	성낙주	김라정, 황초롱, 정우재, 이수정, 강민정	2010 한국식품영양학회 한국친환경급식현황과 발전방안	국내
2010-12-16	Effect of hot-water extract made from red garlic on obesity and liver, heart and fecal lipids levels in high-fat diet induced obese rats	이수정	성낙주	김라정, 김미주, 황초롱, 정우재	2010 한국식품영양학회 한국친환경급식현황과 발전방안	국내
2011-05-13	Aged red garlic extract reduces lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in raw 264.7 macrophages through heme oxygenase-1 induction	박혜진	강다원	조영우, 김은진, 문윤자, 신정혜, 성낙주, 한재희	2011 제 19회 기초의학학술대회	국내



발표날짜	논문명	저자			학술대회명	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자		
2011-09-13	Aged red garlic extract inhibits adipogenesis of 3t3-L1 cells by suppressing PPAR $\gamma$ expression	박혜진	강다원	김은진, 조영우, 문윤자, 신정혜, 이수정, 성낙주, 한재희	2011 FAOPS Congress	국외
2011-11-01	Biological activities on different solvent fractions of red-garlic	권효진	성낙주	이수정, 황초롱, 신정혜, 강민정, 김인수	2011 한국식품영양과학회 국제학술대회	국내
2011-11-01	Protective role of red garlic extract against oxidative stress, inflammation, and adipogenesis	박혜진	강다원	신정혜, 이수정, 성낙주, 한재희	2011 한국식품영양과학회 국제학술대회	국내
2011-11-01	Physicochemical and physiological activity of red garlic during its processing	윤환식	성낙주	신정혜, 강민정, 정성훈, 김윤아	2011 한국식품영양과학회 국제학술대회	국내
2012-04-27	Aged red garlic extract reduces lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in raw 264.7 macrophages through inhibition of NF- $\kappa$ B nuclear translocation	박혜진	강다원	신정혜, 성낙주, 한재희	2012 제 20회 기초의학학술대회	국내

#### 4. 학위논문 성과

발표연도	논문명	저자	학위명
2011	홍마늘의 생리활성과 항비만 효과	김라정	석사

## 제 6 장 연구개발 과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 해당사항 없음

## 제 7 장 참고문헌

- 김재범, 박지영. 2002. 지방세포 분화와 지방세포 분비물질들의 기능. 대한내분비학회지 7, 1-9.
- 식품의약품안전청. 1999. 의약품 등의 독성시험기준. 식품의약품안전청 고시 제 1999-61호, 서울, 대한민국.
- Ali M, Thomson M. 1995. Consumption of a garlic clove a day could be beneficial in prevention thrombosis. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 53, 211-212.
- Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. 2001. Intake of garlic and its bioactive components. J Nutr 131, 955S-962S.
- Arnault A, Christides JP, Mandon N, Haffner T, Kahane R, Auger J. 2003. High-performance ion-pair chromatography method for simultaneous analysis of alliin, deoxyalliin, allicin and dipeptide precursors in garlic products using multiple mass spectrometry and UV detection. J Chromatogr A 991, 69-75.
- Aziz HA, Tan YTF, Peh KK, Yam MF. 2010. Direct effect of khat and garlic extracts on blood lipids contents: Preliminary *in vitro* study. Obes Res Clin Pract 4, e247-e252.
- Azuma K, Nasayoshi M, Koshioka M, Ippoushi K, Yamaguchi Y, Kohata K, Yamauchi Y, Ito H, Higashio H. 1999. Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. J Agric Food Chem 47, 3963-3966.
- Baglole CJ, Sime PJ, Phipps RP. 2008. Cigarette smoke-induced expression of heme oxygenase-1 in human lung fibroblasts is regulated by intracellular glutathione. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 295, L624-L636.
- Ballinger A, Peikin SR. 2002. Orlistat: its current status as an anti-obesity drug. Eur J Pharmacol 440, 109-117.
- Ban JO, Cho JS, Hwang IG, Hwang IG, Noh JW, Kim WJ, Lee US, Moon DC, Jeong HS, Lee HS, Hwang BY, Jung JK, Han SB, Hong JT. 2009. Anti-cancer effect of the combination of thiacremonone and docetaxel by inactivation of NF- $\kappa$ B in human cancer cells. Biomol Ther 17, 403-411.
- Ban JO, Oh JH, Kim TM, Kim DJ, Jeong HS, Han SB, Hong JT. 2009. Anti-inflammatory and arthritic effects of thiacremonone, a novel sulfur compound isolated from garlic via inhibition of NF- $\kappa$ B. Arthritis Res Ther 11, R145.
- Banerjee S, Chattopadhyay R, Ghosh A. 2008. Cellular and molecular mechanisms of

- cigarette smoke induced lung damage and prevention by vitamin C. *J Inflamm Lond* 5, 21.
- Bell DS. 2004. Type 2 diabetes mellitus: What in the optimal treatment regimen? *Am J Med* 116, 23S-29S.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power" : The FRAP assay. *Anal Biochem* 239, 70-76.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1999. Ferric reducing/ antioxidant power assay : Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*, 299, 15-27.
- Bertozzi CR, Kiessling LL. 2001. Chemical glycobiology. *Science* 23, 2357-2364.
- Bitou N, Nimomiya M, Tsjita T, Okuda H. 1999. Screening of lipase inhibitors from marine algae. *Lipids* 34, 441-445.
- Borek, C. 2001. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *J Nutr* 131, 1010S-1015S.
- Butt MS, Sultan MT, Butt MS, Iqbal J. 2009. Garlic: nature's protection against physiological threats. *Crit Rev Food Sci Nutr* 49, 538-551.
- Bray GA, Blackburn GL, Ferguson JM, Greenway FL, Jain AK, Mendel CM, Mendels J, Ryan D, Schwartz SL, Scheinbaum ML, Seaton TB. 1999. Sibutramine produces dose-related weight loss. *Obesity Research* 7, 189-198.
- Butt MS, Sultan MT, Butt MS, Iqbal J. 2009. Garlic: nature's protection against physiological threats. *Crit Rev Food Sci Nutr* 49, 538-551.
- Butt MS, Sultan MT. 2009. Levels of trans fats in diets consumed in developing economies. *J AOAC Int* 92, 1277-1283.
- Byun PH, Kim WJ, Yoon SK. 2001. Changes of functional properties of garlic extracts during storage. *Korean J Food Sci Technol* 33, 310-306.
- Cavagnaro PF, Senalik D, Galmarini CR, Simon PW. 2005. Correlation of pungency, thiosulfonates, antiplatelet activity and total soluble solids in two garlic families. *American Society for Horticultural Sciences Annual Conference, Las Vegas, Nevada, Hortscience* 40, p. 1019
- Chang ML, Johnson MA. 1980. Effect of garlic on carbohydrate metabolism and lipid synthesis in rats. *J Nutr* 110, 931-963.
- Chauhan NB. 2006. Effect of aged garlic extract on APP processing and tau phosphorylation in Alzheimer's transgenic model Tg2576. *J Ethnopharmacol* 108, 385-394.
- Chen C, Pung D, Leong V, Hebbar V, Shen G, Nair S, Li W, Kong T. 2004a. Induction of detoxifying enzymes by garlic organosulfur compounds through transcription factor Nrf2: effect of chemical structure and stress signals. *Free Radic Biol Med* 37,

1578-1590.

- Chen GG, Liu ZM, Vlantis AC, Tse GM, Leung BC, van Hasselt CA. 2004b. Heme oxygenase 1 protects against apoptosis induced by tumor necrosis factor alpha and cycloheximide in papillary thyroid carcinoma cells. *J Cell Biochem* 92, 1246-1256.
- Cheng SE, Lee IT, Lin CC, Kou YR, Yang CM. 2010. Cigarette smoke particle phase extract induces HO 1 expression in human tracheal smooth muscle cells: role of the c Src/NADPH oxidase/MAPK/Nrf2 signaling pathway. *Free Radic Biol Med* 48, 1410-1422.
- Chi MS, Koh ET, Stewart TJ. 1982. Effect of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol or lard. *J Nutr* 112, 241-248.
- Choi JH, Kim WJ, Yang JW, Sung HS, Hong SK. 1981. Quality changes in red ginseng extract during high temperature storage. *J Korean Agric Chem Soc* 24, 50-58.
- Choi JI, Kim YJ, Kim JH, Song BS, Yoon Y, Byun MW, Kwon JH, Chun SS, Lee JW. 2009. Antioxidant activities of the extract fractions from *Suaeda japonica*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38, 131-135.
- Choi JW, Lee KT, Kim WB, Park KK, Jung WY, Lee JH, Lim SC, Jung HJ, Park HJ. 2005. Effect of *Allium victorialis* var. *platyhyllum* Leaves on triton WR-1339-induced and poloxamer-407-induced hyperlipidemic rats and on diet-induced obesity rats. *Kor J Pharmacogn* 36, 109-115.
- Choi KJ, Kim DH. 1981. The characteristics and antioxidant activity of non-enzymatic browning products from fresh ginseng extracts and those with arginine or glucose. *Korean J Ginseng Sci* 5, 8-23.
- Choi SH, Hyun SK. 2007. Sensory evaluation and antioxidant activity of a new red ginseng marc-added green tea. *J Kor Tea Soc* 13, 123-130.
- Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32, 723-727.
- Chun HJ, Paik JE. 1997. Effect of heart treatment of garlic added diet on the blood of spontaneously hypertention rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26, 103-108.
- Circu ML, Stringer S, Rhoads CA, Moyer MP, Aw TY. 2009. The role of GSH efflux in staurosporine induced apoptosis in colonic epithelial cells. *Biochem Pharmacol* 77, 76-85.
- Clancy, R. M., Amin, A. R. & Abramson, S. B. 1998. The role of nitric oxide in inflammation and immunity. *Arthritis Rheum* 41, 1141-1151.
- de Melo EB, da Silveira Gomes A, Carvalho I. 2006.  $\alpha$ - and  $\beta$ -glucosidase inhibitors: Chemical structure and biological activity. *Tetrahedron* 62, 10277-10302.

- Ding AH, Nathan CF, Stuhr DJ. 1988. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. *J Immunol* 141, 2407-2412.
- Duda G, Suliburska J, Pupek-Musialik D. 2008. Effects of short-term garlic supplementation on lipid metabolism and antioxidant status in hypertensive adults. *Pharmacol Rep* 60, 163-170.
- Ewing JF, Maines MD. 1993. Glutathione depletion induces heme oxygenase-1 (HSP32) mRNA and protein in rat brain. *J Neurochem* 60, 1512 - 1519.
- Fratelli M, Goodwin LO, Orom UA et al. 2005. Gene expression profiling reveals a signaling role of glutathione in redox regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 102, 13998 - 14003.
- Ghasi S, Nwobodo E, Ofili JO. 2000. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed wister rats. *J Ethnopharmacol* 69, 21-25.
- Glaser S. and Hecker H. 1996. Maximum likelihood classification rule for assessing acute toxicity. *ALTEX* 13, 88-94.
- Gong P, Hu B, Cederbaum AI. 2004. Diallyl sulfide induces heme oxygenase-1 through MAPK pathway. *Arch Biochem Biophys* 432, 252-260.
- Gordon MH. 1990. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In *Food Antioxidant*. Hudson, B.J.F. ed. Elsevier Applied Science, London/New York p. 1-18.
- Graf BA, Milbury PE, Blumberg JB. 2005. Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. *J Med Food* 8, 281 - 290.
- Granroth B. 1970. Biosynthesis and decomposition of cysteine derivatives in onion and other *Allium* species. *Ann Acad Sci Fenn Ser* 154, 1-71.
- Guo, Y., Zhang, K., Wang, Q., Li, Z., Yin, Y., Xu, Q., Duan, W. & Li, C. 2011. Neuroprotective effects of diallyl trisulfide in SOD1-G93A transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Res* 1374, 110-115.
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 58, 966-968.
- Hug H, Enari M, Nagata S. 1994. No requirement of reactive oxygen intermediates in Fas-mediated apoptosis. *FEBS Lett* 351, 311-313.
- Hwang JY, Han JS. 2007. Inhibitory effects of *Sasa borealis* leaves extracts on carbohydrate digestive enzymes and postprandial hyperglycemia. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36, 989-994.
- Igarashi K, Ohmuma M. 1995. Effect of isorhamnetin, rhamnetin and quercetin on the concentration of cholesterol and lipoperoxide in the serum and liver and on the blood and liver antioxidative enzyme activities of rats. *Biosci Biotech Biochem* 59, 595-598.

- Ikeda K, Kusano T. 1989. *In vitro* inhibition of digestive enzymes by indigestible polysaccharides. *Cereal Chem* 60, 260.
- 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. *Planta Med* 60, 417-420.
- Jain AK, Vargas R, Cotzkowsky S, McMahon FG. 1993. Can garlic reduce levels of serum lipids? A controlled clinical study. *Am J Med* 94, 632-635.
- Jang HS, Ahn JM, Ku KH, Rhee SJ, Kang SK, Choi JH. 2008. Effect of radish leaves powder on the gastrointestinal function and fecal triglyceride, and sterol excretion in rats fed a hypercholesterolemic diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37, 1258-1263.
- Jang JY, Lee MK, Kim MJ, Cho SY. 1998. Effect of fiber on serum lipid metabolism in rats with diet-induced cholesterolemia. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27, 1211-1216.
- Jang YS, Jeong JM. 2010. Antioxidative effect and digestive enzyme inhibition of grape seed extract (GSE). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39, 783-788.
- Jeon JR, Kim JY, Lee KM, Cho DH. 2005. Anti-Obese effect of mixture contained pineneedle black tea and green tea extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48, 375-381.
- Jeon JR, Park GS. 1999 Korean green tea Korean green tea by Ku Jeung Ju Po's 1. Analysis of general compositions and chemical composition. *Korean J Soc Food Sci* 15, 95-101.
- Jeong CH, Kang ST, Joo OS, Lee SC, Shin YH, Shim KH, Cho SH, Choi SG, Heo HJ. 2009. Phenolic content, antioxidant effect and acetylcholinesterase inhibitory activity of Korean commercial green, puer, oolong and black tea. *Korean J Food Preserv* 16, 230-237.
- 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.
- 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.
- Jin CH, Lee HJ, Park YD, Choi DS, Kim DS, Kang SY, Seo KI, Jeong IY. 2010. Isoeugenol inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages through the heme oxygenase-1 induction and inhibition of the interferon-beta-STAT-1 pathway. *J Agric Food Chem* 58, 860-867.
- Jin HH, Yang JL, Chung JH, Kim Y. 2004. Hypocholesterolemic effects of green tea in cholesterol-fed rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33, 47-51.
- Johnson PR, Burgess JK, Underwood PA, Au W, Poniris MH, Tamm M, Ge Q, Roth M,

- Black JL. 2004. Extracellular matrix proteins modulate asthmatic airway smooth muscle cell proliferation via an autocrine mechanism. *J Allergy Clin Immunol* 113, 690 - 696.
- Jun MS., Ha YM, Kim HS, Jang HJ, Kim YM, Lee YS, Kim HJ, Seo HG, Lee JH, Lee SH, Chang KC. 2011. Anti-inflammatory action of methanol extract of *Carthamus tinctorius* involves in heme oxygenase-1 induction. *J Ethnopharmacol* 133, 524-530.
- Jung MJ, Heo SI, Wang MH. 2007. Comparative studies for component analysis in acorn powders from Korea and China. *Korean J Pharmacogn*, 38, 90-94.
- Kamp DW, Greenberger MJ, Sbalchierro JS, Preusen SE, Weitzman SA. 1998. Cigarette smoke augments asbestos-induced alveolar epithelial cell injury: role of free radicals. *Free Radic Biol Med* 25, 728-739.
- Kang MJ, Lee SJ, Shin JH, Kang SK, Kim JG, Sung NJ. 2008. Effect of garlic with different processing on lipid metabolism in 1% cholesterol fed rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37, 162-169.
- Kendler BS. 1987. Garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*); A review of their relationship to cardiovascular disease. *Prev Med* 16, 670-685.
- Kim DM, Kim KH. 1990. On the development of flash greening of the stored garlic. *Korean J Food Sci Technol* 22, 50-55.
- Kim HJ, Chun HS. 1999. Biological functions of organosulfur compound in *Allium* vegetables. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28, 1412-1423.
- Kim HJ, Han CH, Lee EJ, Song YK, Shin BC, Kim YK. 2007. A clinical practice guideline for Ma-huang(*Ephedra sinica*) prescription in obesity. *J Soc Kor Medi Obe Res* 7, 27-37.
- Kim HK, Kwon YJ, Kwak HJ, Kwon JH. 1999. Oleoresin content and functional characteristics of fresh garlic by microwave-assisted extraction. *Korean J Food Sci Technol* 31, 329-335.
- Kim JB. 1998. Purification and properties of protease inhibitor from *Streptomyces* sp. SK-862. *Korean J Food & Nutr* 11, 678-682.
- Kim JD, Lee BI, Jeon YH, Bak JP, Kim HL, Lim BO. 2010. Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of green tea mixture and dietary fiber on liver of high fat diet-induced obese rats. *Korean J Medicinal Crop Sci* 18, 224-230.
- Kim JH, Kim JK, Kang WW, Ha YS, Choi SW, Moon KD. 2003. Chemical composition and DPPH radical scavenging activity in different sections of safflower. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32, 733-738.
- Kim JH, Son IK, Kim JS, Kim JH, Kwon CS. 2008. Lipase-Inhibitory and anti-oxidantive activity of the methanol extract and the powder of *Phellinus linteus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37, 154-161.

- Kim SD, Do JH, Oh HI. 1981. Antioxidant activity of *Panax ginseng* browning products. J Korean Agric Chem Soc 24, 161-166.
- Kim SO, Lee MY. 2001. Effects of ethylacetate fraction of onion on lipid metabolism in high cholesterol-fed rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 30, 673-678.
- Kim SY, Kim HS, Kim SH, Su IS, Chung SY. 2003. Effects of the feeding *Platycodon grandiflorum* and *Codonopsis lanceolata* on the fatty acid composition of serum and liver in rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 27, 1211-1216.
- 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.
- Langer C, Jurgensmeier JM, Bauer G. 1996. Reactive oxygen species act at both TGF $\beta$  dependent and independent steps during induction of apoptosis of transformed cells by normal cells. Exp Cell Res 222, 117-124.
- Lawson LD, Wood SG, Hughes BG. 1991. HPLC analysis of allicin and other thiosulfinates in garlic glove homogenates. Planta Med 57, 263-270.
- Lee CH, Chio BK, Lee WC, Park CI, Yuziro F, Kimura S. 1992. Effect of dietary protein levels, caffeine and green tea on body fat deposition in Wistar Rats. J Korean Soc Food Nutr 21, 590-600.
- Lee E. 2009. Effect of ephedrae herba on immunomodulatory activity in lipopolysaccharide-exposed rats and Raw 264.7 cells. Korean J Plant Res 22, 431-437.
- Lee HJ, Chung MJ, Kim DJ, Choe M. 2009. Effects of *Oenanthe javanica*, *Coicis lachryma-jabi* L. var., and *Plantaginis asiatica* L water extracts on activities of key enzymes on lipid metabolism. J Korean Soc Food Sci Nutr 37, 1516-1521.
- Lee HS, Kim HD, Ryu BH. 2000. Effects of soybean germ on the lipid composition of serum in cholesterol fed rats. Korean J Food Nutr 13, 312-318.
- Lee HS, Yang ST, Ryu BH. 2011. Effects of aged black garlic extract on lipid improvement in rats fed with high fat-cholesterol diet. J Life Sci 21, 884-892.
- Lee JS, Lee KH, Jeong JH. 1999. Effect of extract of *Pueraria radix* on lipid metabolism in rats fed high fat diet. J Korean Soc Food Sci Nutr 28, 218-224.
- Lee JS. 1985. Effect of age on the lipid metabolism in the rats fed diets with different levels of dietary fat. MS. Thesis, Ewha Women University, Seoul, Korea.
- Lee JW, Lee SK, Do JH, Shim KH. 1998. Characteristics of the water soluble browning reaction of Korean red ginseng as affected by heating treatment. J Ginseng Res 22, 193-199.
- Lee JW, Lee SK, Do JH, Sung HS, Shim KH. 1995. Browning reaction of fresh ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) as affected by heating temperature. Korean J Ginseng Sci 19, 249-253.



- Lee SJ, Kim, RJ, Ryu JH, Shin JH, Kang MJ, Kim IS, Sung NJ. 2011. Effects of the red garlic extract for anti-obesity and hypolipidemic in obese rats induced high fat diet. *J Life Sci* 21, 211-220.
- Lee SJ, Shin JH, Kang MJ, Jung WJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ. 2010. Antioxidant activity of red garlic. *J Life Sci* 20, 1145-1151.
- 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.
- Lee SK, So SH, Hwang EI, Koo BS, Han GH, Ko SB, Kim NM. 2008. Effect of ginseng and herbal plant mixtures on anti-obesity in obese SD rat induced by high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37, 437-444.
- Lee SO, Kim MJ, Kim DG, Choi HJ. 2008. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34, 139-147.
- Lee YC, Shin DB, Hwang JB, Kim KT, Kim MN, Kim DH, Kim JH, Kim D, Hwaer WD, Ha JH, Koo MS, Kim YS, Lee BJ, Han CW. 1998. Development of New Processing Methods for garlic and identification of new processing methods for garlic and identification of flavor compounds. Chung-Ang University, Ansung, Korea.
- Lee YC. 1991. Hypercholesterolemia in Korea and nutritional factors. *Korean Soc Lipidol Atheroscler* 1, 111-122.
- Lee YM, Gweon OC, Seo YJ, Im JE, Kang MJ, Kim MJ, Kim JI. 2009. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res Pract* 3, 156-161.
- Lee, YM, Gweon, OC, Seo YJ, Im J, Kang MJ, Kim MJ, Kim JI. 2009. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res Pract* 3, 156-161.
- 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.
- Lim CS, Li CY, Kim YM, Lee WY, Rhee HI. 2005. The inhibitory effect of *Cornus walteri* extract against  $\alpha$ -amylase. *J Korea Soc Appl Biol Chem* 48, 103-108.
- Liu JD, Tsai SH, Lin SY. 2004a. Thiol antioxidant and thiolreducing agents attenuate 15-deoxy-delta 12,14-prostaglandin J2-induced heme oxygenase-1 expression. *Life Sci* 74, 2451-2463.
- Liu ZM, Chen GG, Ng EK, Leung WK, Sung JJ, Chung SC. 2004b. Upregulation of heme oxygenase-1 and p21 confers resistance to apoptosis in humangastric cancer cells. *Oncogene* 23, 503-513.

- Luz Sanz M, Corzo-Martinez M, Rastall RA, Olano A, Moreno FJ. 2007. Characterization and *in vitro* digestibility of bovine beta-lactoglobulin glycosylated with galactooligosaccharides. *J Agric Food Chem* 55, 7916-7925.
- Maines MD. 1988. Heme oxygenase: function, multiplicity, regulatory mechanisms, and clinical applications. *FASEB J* 2, 2557-2568.
- Moon JS, Bae YI, Shim KH. 1998. The physicochemical properties of  $\alpha$ -amylase inhibitors from bean and naked barley in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27, 367-375.
- Moreno FJ, Corzo-Martinez M, Castillo MD, Villamiel M. 2006. Changes in antioxidant activity of dehydrated onion and garlic during storage. *Food Res Int* 39, 891-897.
- Morihara N, Sumioka I, Moriguchi T, Uda N, Kyo E. 2002. Aged garlic extract enhances production of nitric oxide. *Life Sci* 71, 509-517.
- Motterlini R, Foresti R, Bassi R, Green CJ. 2000. Curcumin, an antioxidant and anti-inflammatory agent, induces heme oxygenase-1 and protects endothelial cells against oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 28, 1303-1312.
- Mun JH. 2004. The risk factors of Metabolic syndrome and the association between Metabolic syndrome and  $\gamma$ -GPT. Ph. D. Thesis, Graduate School of Chungang University, Seoul, Korea.
- Muramatsu K, Fukuyama M, Hara Y. 1986. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 2, 613-622.
- Nana-Sinkam SP, Lee JD, Sotto-Santiago S. 2007. Prostacyclin prevents pulmonary endothelial cell apoptosis induced by cigarette smoke. *Am J Respir Crit Care Med* 175, 676-685.
- Nathan C, Xie QW. 1994. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell* 78, 915-918.
- Nuttakaan L, Viboon R, Nantaya C, Janusz MG. 2006. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *Nutrition* 22, 266-274.
- OECD. 2000. Guidelines for the testing of chemicals revised draft guideline 423: Acute oral toxicity.
- Oh CY, Hong EB, Yoon KB, Lee YC, Kim KS. 2002. Comparison of antimicrobial activities of the garlic extracts prepared with various organic solvents. *Food Engineering Progress* 6, 248-255.
- Otterbein LE, Soares MP, Yamashita K, Bach FH. 2003. Heme oxygenase-1: unleashing the protective properties of heme. *Trends Immunol* 24, 449-455.
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. 2007. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 87, 315-424.
- Pan CH, Kim ES, Jung SH, Nho CW, Lee JK. 2008. Tectorigenin inhibits

- IFN-gamma/LPS-induced inflammatory responses in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Arch Pharm Res* 31, 1447-1456.
- Park PH, Kim HS, Jin XY, Jin F, Hur J, Ko G, Sohn DH. 2009. KB-34, a newly synthesized chalcone derivative, inhibits lipopolysaccharide-stimulated nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages via heme oxygenase-1 induction and blockade of activator protein-1. *Eur J Pharmacol* 606, 215-224.
- Park YH, Lim SH, Ham HJ, Jeong HN, Lee KJ, Kim KH, Kim SM. 2010. Comparison of biological activities of extracts from different parts of seabuckthorn(*Hippophae rhamnoides* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39, 975-979.
- Poss KD, Tonegawa S. 1997. Reduced stress defense in heme oxygenase 1-deficient cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 94, 10925-10930.
- Prawan A, Kundu JK, Surh YJ. 2005. Molecular basis of heme oxygenase-1 induction: implications for chemoprevention and chemoprotection. *Antioxid Redox Signal* 7, 1688-1703.
- Pryor WA, Stone K. 1993. Oxidants in cigarette smoke. Radicals, hydrogen peroxide, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite. *Ann NY Acad Sci* 686, 12-27.
- Rahman I, MacNee W. 1999. Lung glutathione and oxidative stress: implications in cigarette smoke induced airway disease. *Am J Physiol* 277: L1067-L1088.
- Rahman K. 2007. Effects of garlic on platelet biochemistry and physiology. *Mol Nutr Food Res* 51, 1335-1344.
- Rhee SJ, Park HK. 1984. Changes of lipid concentration and histochemical observation in liver of rats fed high fat diet. *Korean J Nutr* 17, 113-125.
- Ross ZM, O'Gara EA, Hill DJ, Sleightholme HV, Maslin DJ. 2001. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic power. *Appl Environ Microbiol* 67, 475-480.
- Saisubramaniyan N, Krithika L, Dileena KP, Sivasubramanian S, Puvanakrishnan R. 2004. Lipase assay in soils by copper soap colorimetry. *Anal Biochem* 33, 70-73.
- Sato E, Kohno M, Hamano H, Niwano Y. 2006. Increased anti-oxidative potency of garlic by spontaneous short-term fermentation. *Foods Human Nutr* 61, 157-160.
- Shin DB, Lee YC, Kim JH. 2000. Changes in quality of garlic during frozen storage. *Korea J Food Sci Technol* 32, 102-110.
- Shin DB, Seog HM, Kim JH, Lee YC. 1999. Flavor composition of garlic from different area. *Korean J Food Sci Technol* 31, 293-300.
- Shin DS. 2001. Effect of food components and processing condition on antimicrobial of garlic--alliinase reaction compounds. MS thesis, Chung-Ang University, Seoul, Korea.
- Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Kim JG, Sung NK. 2008. Changes of physicochemical

- components and antioxidant activity of garlic during its processing. J Life Sci 18, 1123-1131.
- Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Sung NK. 2008. Antioxidant activity of black garlic(*Allium sativum* L.). J Korean Soc Food Sci Nutr 37, 965-971.
- Shin JH, Kang MJ, Kim RJ, Ryu JH, Kim MJ, Lee SJ, Sung NJ. 2011. Biological activity of browning compounds from processed garlics separated by dialysis membrane. J Korean Soc Food Sci Nutr 40, 357-36.
- 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.
- Shin JH, Lee SJ, Jung WJ, Seo JK, Sung NJ. 2010. Effect of the plants mixture and garlic composition on serum lipid level of hypercholesterolemic rats. J Life Sci 20, 396-402.
- Shin SH, Kim MK. 2004. Effect of dried powders or ethanol extracts of garlic flesh and peel on lipid metabolism and antithrombogenic capacity in 16-month-old rats. Korean J Nutr 37, 515-524.
- Shinnick FL, Longacre MJ, Ink SL, Marlett JA. 1988. Oat fiber: Composition versus physiological function in rats. J Nutr 118, 144-151.
- Shishodia S, Potdar P, Gairola CG, Aggarwal BB. 2003. Curcumin (diferuloylmethane) down regulates cigarette smoke induced NF-kappaB activation through inhibition of IkappaBalpha kinase in human lung epithelial cells: correlation with suppression of COX-2, MMP-9 and cyclin D1. Carcinogenesis 24, 1269-1279.
- Shon MY, Kim SH, Nam SH, Park SK, Sung NJ. 2004. Antioxidant activity of Korean green and fermented tea extracts. J Life Sci 14, 920-924.
- Sin MK, Jung WH. 2000. The effect on rats serum lipid of treadmill exercise and green tea extract intake with high fat diet. J Koran Soc Food Nutr 29, 683-690.
- Soh HS, Kim CS, Lee SP. 2003. A new *in vitro* assay of cholesterol adsorption by food and microbial polysaccharides. J Med Food 6, 225-230.
- Son GM, Bae SM, Chung JY, Shin DJ, Sung TS. 2005. Antioxidative effect on the green tea and puer tea extracts. Korean J Food & Nutr 18, 219-224.
- Sung NJ, Kim JG, Lee SJ, Chung MJ. 1997. Changes in amino acids contents of low-salt fermented small shrimp during the fermentation. J Inst Agric & Fishery Develop Gyeongsang Nat'l Univ 16, 1-10.
- Sung NJ, Lee SJ, Shin JH, Chung MJ, Lim SS. 1998. Effects of *houltuynia cordata* Thumb powder and juice on lipid consumption of liver, brain and kidney in dietary hypercholesterolemic rat. J Korean Soc Food Sci Nutr 27, 1230-1235.
- Tsoyi K, Kim HJ, Shin JS, Kim DH, Cho HJ, Lee SS, Ahn SK, Yun-Choi HS, Lee JH, Seo HG, Chang KC. 2008. HO-1 and JAK-2/STAT-1 signals are involved in preferential

- inhibition of iNOS over COX-2 gene expression by newly synthesized tetrahydroisoquinoline alkaloid, CKD712, in cells activated with lipopolysaccharide. *Cell Signal* 20, 1839-1847.
- van der Vaart H, Postma DS, Timens W, TenHaken NH. 2004. Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. *Thorax* 59, 713 - 721.
- Velmurugan K, Alam J, McCord JM, Pugazhenti S. 2009. Synergistic induction of heme oxygenase-1 by the components of the antioxidant supplement Protandim. *Free Radic Biol Med* 46, 430-440.
- Wang MF, Shao Y, Yi JG, Zhu NQ, Rngarajan M, Lavoic EJ, Ho CT. 1998. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem* 46, 4869-4873.
- Whitaker JR. 1976. Development of flavor, odor and pungency onion and garlic. *Adv Food Res* 22, 73.
- Wilson EA, Demmig .Adams B. 2007. Antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties of garlic and onions. *Nutr Food Sci* 37, 178-183.
- Woo MN, Bok SH, Choi MS. 2009. Hypolipidemic and body fat-lowering effects of Fatclean in rats fed a high-fat diet. *Food Chem Toxicol* 47, 2076-2082.
- Wu JH, Kao JT, Wen MS. 1993. Coronary artery disease risk predicted by plasma concentration of HDL cholesterol, apolipoprotein AI, apolipoprotein B, and lipoprotein(a) in a general Chinese population. *Clin Chem* 39, 209-215.
- Yang ST. 2007. Antioxidative activity of extracts of aged black garlic on oxidation of human low density lipoprotein. *J Life Sci* 17, 1330-1335.
- Yoon GA. 2007. Antioxidant effect of garlic supplement against exercise-induced oxidative stress in rats. *Korean J Nutr* 40, 701-707.
- Yoon HJ, Park YS. 2010. Effects of *Scutellaria baicalensis* water extract on lipid metabolism and antioxidant defense system in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39, 219-226.
- Yoon JY, Jung KO, Kil JH, Park KY. 2005. Antiobesity effect of major Korean spices (red pepper powder, garlic and ginger) in rats fed high diet. *J Food Sci Nutr* 10, 58-63.
- Yoshimura S, Banno Y, Nakashima S et al. 1999. Inhibition of neutral sphingomyelinase activation and ceramide formation by glutathione in hypoxic PC12 cell death. *J Neurochem* 73, 675-683.
- Yu T, Wu CM, Liou YC. 1989. Volatile compounds from garlic. *J Agric Food Chem* 37, 725-730.
- Yu YY, Shaw MY. 1994. Garlic reduces plasma lipids by inhibiting hepatic cholesterol and triacylglycerol synthesis. *Lipids* 29, 189-193.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.