Oleoresin Content and Functional Characteristics of Fresh Garlic by Microwave-assisted Extraction

Hyun-Ku Kim, Young-Joo Kwon, Hee-Jin Kwak and Joong-Ho Kwon*
Korea Food Research Institute,
*Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

Abstract

The yield of oleoresin content and functionality of fresh garlic were compared according to varying extraction conditions by microwave-assisted extraction (MAE) and conventional extraction (CE) methods. When different extracting conditions were applied, there was no significant difference of extraction methods in the oleoresin content. However, in the case of the CE, the optimum extraction time was two hours, while the other was about five minutes which meant that the extraction time was shortened drastically. The electron donating abilities showed a similar level which was 64% by both methods, using water. And, in the case of ethanol extraction, it resulted 63% and 51% by CE and MAE, respectively. The nitrite scavenging effect diminished while pH was increasing and especially, in the case of pH 1.2, it showed a high elimination effect of more than 90%. There was no difference of extraction methods. The tyrosinase inhibitory effect was 47% and 60% by CE and MAE, respectively in the case of the water extract. The ethanol extract showed similar or a slight lower inhibition of 45% and 39%. The angiotensin I-converting enzyme inhibitory effect showed more powerful activity in the case of MAE extract than CE extract, but there was not an increase relating to reaction time of enzyme. Also, pyruvic acid content was 44.8 and 36.0 μmoles per one gram of a garlic by CE and MAE, respectively when water was used, and was 28.6 and 32.0 μmoles by CE and MAE when ethanol was used. Again, there was no big difference between CE and MAE methods.

Key words: microwave-assisted extraction, conventional extraction, oleoresin, functionality

서 론

마늘은 우리 나라의 대표적인 향신료이며 독특한 향과 매운맛으로 오래 전부터 조리할 때에 널리 사용되어 왔다. 마늘은 향신료로 이용되었을 뿐만 아니라 예로부터 한방에서 약재로도 사용되었으며 현재 항균 작용, 항산화 작용, 항암 작용 등 여러 생리활성 을 가진다고 알려져 있어 더욱 관심이 되고 있다. 우리나라에서 마늘은 연간 생산량이 40여 만 톤에 이르며 (5) 이 중 일부만이 절임용과 건조가공용으로 소비될 뿐이며 대부분은 생채 그대로 사용되고 있어 별가피하게 저장을 요구하지만 수분함량이 높아 저장에 어려움이 있으며 건조하면 장기간 저장할 수 있는 반면 향신료 본래의 맛, 향 및 영양소의 손실을 가져올 수 있다. 최근에는 이러한 문제점을 해결하고 마늘의 고유한 맛과 향을 보존하기 위한 저장법으로 마늘 등의 향신료를 올레오레진으로 가공하는 방법이 연구되고 있다(6-8).

올레오레진의 보관법은 상온에서도 숙창을 일반적으로 올레오레진이란 마늘과 같은 식물 원료로부터 응메를 사용하여 추출해 냉동축으로서 분쇄, 추출, 용매 제거 등의 과정을 거쳐서 생산되며 향신료의 풍질 균일화가 가능한 제품으로 원료보다 품질과 보존이 용이하고 장기간 보관할 수 있는 임점이 있다(6-8). 그러나 기존의 올레오레진 추출과정에서는 응매의 에너지의 과량 사용, 저장기간 추출 등 추출 효율성에서 문제점을

Corresponding author: Hyun-Ku Kim, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-ku, Songnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea
가지고 있어 올레오레진 생산을 위해서는 추출 효율을 높일 수 있는 방법이 강구되어야 한다. 한편, 마이크로웨이브 추출공정(microwave-assisted extraction, MAE)은 기존의 추출방법과 비교하여 적은 용매와 에너지를 이용하여 단시간에 목적하는 성분을 추출할 수 있으므로(10) 올레오레진 추출시 MAE의 사용으로 효율성분의 추출효율이 향상될 것으로 기대된다.

본 연구에서는 마늘 올레오레진을 생산하는데 있어 마이크로웨이브 추출공정의 이용가능성을 알아보고자 하였다. 그러하여 식품에서의 사용이 허용되어 있는 물과 에탄올을 추출용액으로 하여 마이크로웨이브 추출과 기존의 추출방법 등 추출조건에 따른 올레오레진 함량의 변화를 알아보고 두 가지 추출방법으로 얻은 마늘 올레오레진의 전자공여 작용, 아질산염 소거작용, tyrosinase 저해작용, ACE (angiotensin I-converting enzyme) 저해작용 등의 가능성을 고려하여 마늘 대용량의 지표가 되는 pyruvic acid 함량을 측정하여 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 마늘(Allium Sativum, L.)은 경북 의성군 6축 마늘로서 가락시장에서 구입하여 마늘의 접근을 제거하고 blender로 마쇄하여 사용하였다.

추출 조건에 따른 올레오레진 함량 변화

마찰한 마늘의 추출조건을 달리하면서 기존에 사용되었던 추출(conventional extraction, CE) 및 마이크로웨이브 추출(microwave-assisted extraction, MAE) 방법을 이용하여 추출시간 및 용매 질량비에 따른 올레오레진 함량 변화를 살펴보았다. 이때 CE는 25℃의 수욕상에서 수행하였고 MAE는 Soxwave-100 (prolabo, France)을 사용하여 150 W의 power에서 실시하였으며 물과 에탄올을 추출용액으로 하였다. CE의 경우 추출시간은 1시간에서 24시간으로 달리 하였고, MAE의 경우는 1분에서 8분으로 변화시키면서 추출하여 얻은 추출액을 회전 강압 증발기로 강압 농축하고 105℃에서 진조한 후 그 수용을 측정하였다. 또한 CE와 MAE 방법 별로 선정된 추출시간으로 추출시간을 고정하고 각각의 방법으로 마늘로부터 시료 대용매 비율 1:1에서 1:8로 변화시키면서 추출하여 강압 농축하고 105℃에서 진조하여 추출물을 측정하였다.

마늘 추출물의 제조

마늘로부터 CE와 MAE 방법으로 얻은 올레오레진의 생리활동성을 비교하기 위하여 두 가지 추출방법으로 올레오레진을 추출하였으며 각 추출물의 제조는 물 추출물과 에탄올 추출물로 나누어 실시하였다. CE의 경우 물 추출물은 마찰한 마늘 75 g에 225 mL의 물을 가고 25℃의 수욕상에서 2시간 동안 2회 반복하여 추출한 후 얻은 액체액을 40℃ 이상에서 강압 농축하고 물로 50 mL가 되도록 정량하여 얻었다. 에탄올 추출물은 물 추출물의 제조와 같았으며 에탄올을 모두 제거하고 물로 50 mL가 되도록 정량하였다.

MAE에 의한 각 시료의 추출물 제조는 마이크로웨이브 추출장치를 이용하여 25 g의 시료를 추출용VESSEL에 넣고 50 mL의 물 및 에탄올을 가하여 150 watts에서 추출하였다. 이때, 추출시간은 물 추출물의 경우 6분이었고 에탄올 추출물의 경우는 4분이었으며 추출은 2회 반복하였고 CE에서와 같은 농도가 되도록 시료액을 제조하였다.

전자공여 작용

전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 최 등(11)의 방법에 따라 각 추출물의 DPPH(α, α-diphenyl-picrylhydrazyl)에 대한 전자 공여효과로 추출물의 환원력을 측정하였다. 즉, 추출물 0.2 mL에 4×10^4 M DPPH 용액(99.9% 에탄올을 용해) 0.8 mL, 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5) 4 mL와 99.9% 에탄올 2 mL을 가하여 vortex mixer로 10초간 진탕하고 10분 후에 분광광도계(UV/VIS spectrophotometer, Jasco, Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 아래와 같이 추출물을 첨가하지 않은 대조군에 대한 추출물 첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

\[ EDA(%) = \left( 1 - \frac{A}{B} \right) \times 100 \]

A: 추출물 첨가구의 흡광도  
B: 추출물 무첨가구의 흡광도

아질산염 소거작용

아질산염 소거작용(nitrite-scavenging effect)은 Gray 등(22)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO2 용액 1 mL에 추출물 2 mL를 가한 후 여기에 0.1 N HCl (pH 1.2)과 0.2 M 구연산 완충액(pH 3.0, 4.2 및 6.0)을 사용하여 반응 용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2, 그리고 6.0으로 조정하고 최종 반응용액의 부피를 10 mL로
하였다. 이 혈합액을 37℃에서 1시간 동안 반응시킨 후 각각 1 mL씩 반응용액을 취하고 여기에 2% 초산염 5 mL, Griess 시약 0.4 mL를 첨가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 15분간 반응시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 Griess 시약대신 중류수 0.4 mL를 가하여 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다. 각 추출물의 아질산염 소거효과는 아래와 같이 추출물을 첨가하지 않은 대조군에 대한 추출물 첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

\[
N(\%) = \left( 1 - \frac{A - C}{B} \right) \times 100
\]

N: 아질산염 소거율
A: 추출물 첨가구의 흡광도
B: 추출물을 첨가하지 않은 NaNO₂의 흡광도
C: 시료 자체의 흡광도

Tyrosinase 저해작용

Tyrosinase 활성은 Wong 등(19)의 방법대로 측정하였으며, tyrosinase 조소액은 tyrosinase (Sigma, T7755) 를 50 mM sodium phosphate pH 7.0에 용해하여 사용하였다. 효소활성의 측정은 10 mM catechol 용액 2.8 mL에 tyrosinase 조소액 0.2 mL, 추출액 0.1 mL를 가하고 분광광도계를 사용하여 420 nm에서 흡광도 변화를 측정하여 효소 1 mL가 1분간에 0.001의 흡광도를 변화시키는 것을 효소 1 unit로 나타내었다. Tyrosinase에 대한 각 추출물의 효소활성 저해효과는 추출물을 첨가하지 않은 대조군의 활성 unit 대비를 저해 백분율로 나타내었다.

ACE (angiotensin I-converting enzyme) 저해작용

ACE 저해작용은 Cushman과 Cheung(20)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 추출물 50 µL에 450 mM NaCl을 함유하는 100 mM sodium borate buffer (pH 8.3) 100 µL를 가하고 5 mM hippuryl-histidyl-leucine 용액(300 mM NaCl을 함유하는 100 mM sodium borate buffer (pH 8.3)에 용해) 50 µL를 가한 후 37℃에서 10분간 préincubation 하였다. 이 반응액에 rabbit lung acetone powder (Sigma, L-7075)로부터 100 mM sodium borate buffer로 추출한 ACE 조소액 50 µL을 가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 후 1.75 N HCl 100 µL을 가하여 반응을 종료시켰다. 여기에 ethyl acetate 1 mL를 가하여 진탕한 후 방동액 0.5 mL을 취하여 전조시키고 중류수 1 mL을 가하여 용해시킨 다음 228 nm에서 흡광도를 측정하여 아래와 같이 계산하였다. 이때 공식은 추출물 대신에 중류수 50 µL를 가하였고 대조군은 1.75 N HCl 100 µL를 가한 후 ACE 조소액 50 µL를 첨가하였다.

\[
ACE 저해율(%) = \left( 1 - \frac{A}{B} \right) \times 100
\]

A: 추출물 첨가구의 흡광도
B: 추출물 무첨가구의 흡광도

만 A, B 모두 대조구의 흡광도를 제외한 수치임

Pyruvic acid 함량

각 추출물로부터 pyruvic acid 함량의 측정은 Schwimmer와 Weston(21)의 방법을 변형하여 다음과 같이 실시하였다. 각각의 마늘 추출물 1 mL씩을 100 mL volumetric flask에 넣고 중류수로 채워 시료액으로 하고 각 시료액 1 mL에 0.0125% 2,4-dinitrophenyl hydrazine 용액 1 mL과 증류수 1 mL를 가하여 37℃에서 10분간 반응시켰다. 이 반응액에 0.6N NaOH 용액 5 mL를 가하여 반응을 정지시킨 후, 420 nm에서 흡광도를 측정하고 미리 작성한 pyruvic acid 표준 곡선으로부터 pyruvic acid 함량을 구하였다.

결과 및 고찰

추출조건에 따른 올레오레인 함량 변화

CE와 MAE 방법으로 각각 추출시간을 달리 했을 때 얻어지는 올레오레인 함량의 변화는 Fig. 1과 같다. CE의 경우 추출용액을 몰아 했을 때 추출시간이 1시간에서 2시간으로 증가시킬 때 따라 올레오레인 함량이 22.31%에서 23.35%로 증가하였으나 그 이후로 추출 시간을 증가시켜도 올레오레인 함량의 큰 변화는 없었다. 또한, 에탄올로 추출하였을 때 1시간에서 2시간으로 추출시간을 증가시킬 때 따라 올레오레인 함량은 3.10%에서 3.37%로 증가하였으나 그 이후로는 3.34-3.39%의 범위로 변화가 거의 없었다. MAE에서 물을 추출 용액으로 했을 때 6분의 추출으로 23.41%의 올레오레인을 얻었고 그 이상 추출시간을 증가시켜도 올레오레인 함량의 증가는 거의 없었다. 그리고 에탄올로 추출하였을 때는 4분 동안의 추출으로 3.51%의 올레오레인을 얻었고 추출시간을 6분 이상으로 증가시켜도 올레오레인 함량은 3.50%로 유지되었다. 따라서 CE에서는 최적 추출시간이 2시간이 반면 MAE에서는 최적 추출시간이 추출용액에 따라 변하는 경우가 6분, 에탄올인 경우 4분으로 추출시간이 1/20 이상으로 크
게 단축되였을 수 있었다.

CE와 MAE 두 가지 추출방법으로 각각 마늘에서 해당 용매비를 달려하였을 때 올레오레인지 함량의 변화는 Fig. 2와 같다. 마늘 시료에 대한 물의 비를 달려하였을 때 CE에서는 마늘 대 용매 비율 1:1에서 1:2로 증가시킴에 따라 올레오레인지 함량이 23.19%에서 23.47%로 증가하였으나 그 이상으로 물의 양을 증가시켜도 올레오레인지 함량의 증가는 나타나지 않았다. MAE에서도 마늘 대 용매 비가 1:2 을 때 올레오레인지 함량이 24.22% 이었고, 그 이상으로 시료에 대한 용매 비율 증가시켜도 올레오레인지 함량에는 큰 변화가 없어 1:2가 적합한 시료 대 용매 비 일 것으로 나타났다. 마늘에 대한 에탄올의 비를 변화시켰을 때도 물을 용매로 하였을 때와 마찬가지로 1:2가 적합한 것으로 나타났다.

전자공여작용

CE 및 MAE 방법으로 마늘로부터 물과 에탄올 추출물을 얻고 전자공여작용을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 물 추출물의 경우 CE 및 MAE 추출물에서 모두 64%의 전자공여 효과를 보였으며 에탄올 추출물에서도 CE와 MAE에서 각각 63% 및 51%로 물 추출물에

arithmetic

Table 1. Electron donating ability of water and ethyl alcohol extracts from garlic by the method of CE and MAE

<table>
<thead>
<tr>
<th>Extraction method</th>
<th>Water ext.</th>
<th>Ethyl alcohol ext.</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>CE(^1)</td>
<td>64</td>
<td>63</td>
</tr>
<tr>
<td>MAE(^2)</td>
<td>64</td>
<td>51</td>
</tr>
</tbody>
</table>

\(^{1}\)Conventional extraction.

\(^{2}\)Microwave-assisted extraction.

서와 비슷한 수준이었다. 마늘 추출물의 전자공여효과에 있어서는 추출용매나 추출 방법에 따른 차이는 거의 나타나지 않았다. 이와 같은 결과는 두층, 박물, 산수유, 시호, 작약, 항균 등 생약류에서 추출한 수용성 성분의 전자공여작용이 9.4%에서 86.6%로 나타난 결과\(^{3}\)과 비교해 볼 때, 본 실험 CE 및 MAE 물 추출물의 경우는 중간 정도의 효과를 나타냈으나, MAE의 에탄올 추출물의 경우 그 효과가 높은 것이 특징이었다.

아질산염 소거작용

두 가지 추출방법으로 얻은 마늘의 물 및 에탄올 추출물에서 아질산염 소거작용을 측정한 결과는 Fig. 3 및 4에 나타낸 바와 같다. 물 추출물의 경우 CE 및 MAE 모두에서 pH가 낮을수록 아질산염 소거작용이 커서 pH 1.2에서는 대체로 90% 수준의 높은 소거작용

Fig. 2. Changes in yield of garlic oleoresin according to garlic-solvent ratio. *CE-W: conventional extraction with water, MAE-W: microwave-assisted extraction with water, CE-E: conventional extraction with ethyl alcohol, MAE-E: microwave-assisted extraction with ethyl alcohol.
Fig. 3. Nitrite-scavenging effect of water extract from garlic by the method of CE and MAE. *Abbreviation see Fig. 1.

Fig. 4. Nitrite-scavenging effect of ethyl alcohol extract from garlic by the method of CE and MAE. *Abbreviation see Fig. 1.

산염 소가작용을 보였는데 pH 1.2와 3.0에서는 소가 작용이 늦었으나 pH 4.2와 6.0에서는 매우 빨라 보고하였다. 위장 내의 낮은 pH 조건에서 nitrosamine이 쉽게 형성되므로 낮은 pH에서 아질산염 소가작용이 큰 것은 nitrosamine 형성을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 판단된다. 엄청난 양의 대화물에서도 물 추출물에서와 마찬가지로 pH가 낮을수록 아질산염 소가작용은 커지는 경향을 보였고 두 추출 방법 모두에서 물 추출물보다 아질산염 소가작용이 더해질 것으로 나타났다. 또한 CE와 비교했을 때 MAE 추출물은 비슷하거나 약간 낮은 아질산염 소가효과를 보였다.

Tyrosinase 저해작용

CE 및 MAE 방법으로 마늘을 물과 에탄올로 추출한 추출물의 tyrosinase 저해작용을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 물 추출물에서는 CE의 경우 47% 이었으나 MAE의 경우는 60%의 저해작용을 나타내어 MAE에서 더 높은 활성을 나타내었다. 그러나 에탄올로 추출물을 마는 CE의 경우 45% 이었고 MAE에서는 39%로 MAE에서 저해작용이 약간 더 높았으며 두 방법 모두에서 에탄올 추출물보다 물 추출물에서 더 높은 tyrosinase 저해작용을 나타내었다.

ACE 저해작용

두 가지 추출 방법에 의하여 얻은 마늘의 물 추출물과 에탄올 추출물의 ACE 저해작용을 측정한 결과는 Table 3에 나타난 바와 같다. 물 추출물의 경우 CE와 MAE 추출물에서 46% 및 88%의 저해작용을 나타내었다.

Table 2. Tyrosinase inhibitory effect of water and ethyl alcohol extracts from garlic by the method of CE and MAE

<table>
<thead>
<tr>
<th>Extraction method</th>
<th>Inhibition (%)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>Water ext.</td>
</tr>
<tr>
<td>CE(1)</td>
<td>47</td>
</tr>
<tr>
<td>MAE(2)</td>
<td>60</td>
</tr>
</tbody>
</table>

(1,2) Refer the foot note of Table 1.

Table 3. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory effect of water and ethyl alcohol extracts from garlic by the method of CE and MAE

<table>
<thead>
<tr>
<th>Extraction method</th>
<th>Inhibition (%)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>Water ext.</td>
</tr>
<tr>
<td>CE(1)</td>
<td>46</td>
</tr>
<tr>
<td>MAE(2)</td>
<td>88</td>
</tr>
</tbody>
</table>

(1,2) Refer the foot note of Table 1.
Table 4. Pyruvic acid content in water and ethyl alcohol extracts from garlic by the method of CE and MAE

<table>
<thead>
<tr>
<th>Extraction method</th>
<th>Pyruvic acid content (μmoles/g)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>Water ext.</td>
</tr>
<tr>
<td>CE(1)</td>
<td>44.8</td>
</tr>
<tr>
<td>MAE(2)</td>
<td>36.0</td>
</tr>
</tbody>
</table>

(1,2) Refer the foot note of Table 1.

양 양

물 추출물의 경우 26% 및 51%의 ACE 저해 효과를 보였다. 이와 같이 ACE 저해작용에서 MAE의 추출물의 경우 더 높은 저해작용을 나타내었으나 효소와의 반응시간과 증가시에는 비례적으로 저해 작용이 증가하는 경향을 보이지는 않았다.

Pyruvic acid 함량

Pyruvic acid 함량은 마늘의 flavor의 매운맛과 관련이 있으며 pyruvic acid 함량이 높을수록 마늘의 flavor의 매운맛이 높은 것으로 알려져 있다(9, 10). 마늘로부터 MAE 방법과 CE 방법에 의하여 각각 물과 에탄올로 추출하고 pyruvic acid 함량을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 물 추출물의 경우 CE와 MAE 각각 마늘 1g당 44.8 및 36.0 μmoles이었고 에탄올 추출물에서는 이보다 낮은 28.6과 32.0 μmoles인 것으로 나타났다. Pyruvic acid 함량에서도 두 가지 추출방법에 의한 차이는 거의 없는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 마늘 추출물의 pyruvate 함량이 40-48 μmoles이라고 보고한 조 등(9, 10)의 결과와 대체로 유사한 경향을 보였다.

감사의 글

이 연구는 농림과학개발연구구제(청단기술개발)로 수행한 결과의 일부로 이에 감사의 드립니다.

문헌


(1998년 12월 24일 접수)