

흑마늘 가공 중 이화학적 성분 및 항산화 활성의 변화

신정혜 · 최덕주¹ · 이수정² · 차지영² · 김정균³ · 성낙주^{2*}

남해대학 호텔조리제빵과, ¹재능대학 호텔조리외식과, ²경상대학교 식품영양학과 · 농업생명과학연구원, ³경상대학교 해양생물이용학부

Received May 30, 2008 / Accepted August 25, 2008

Changes of Physicochemical Components and Antioxidant Activity of Garlic During its Processing.

Jung-Hye Shin, Duck-Joo Choi¹, Soo-Jung Lee², Ji-Young Cha², Jeong-Gyun Kim³ and Nak-Ju Sung^{2*}.

Dept. of Hotel Culinary Arts & Bakery, Namhae College, Namhae 668-801, Korea, ¹Dept. of Hotel Culinary Arts Jaineung College, Incheon, 401-714, Korea, ²Dept. of Food Science and Nutrition, Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea, ³Faculty of Marine Bioscience, Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea - This study was performed to confirm of biological function of black garlic, it heated for 11 days at 40~90°C (first step: heat for 2 days at 90°C, second step: heated for 4 days at 80°C, third step: heated for 4 days at 60°C and fourth step: heated for 1 day at 40°C). Samples were analyzed physico-chemical characteristics and antioxidant activity. Hunter L, a and b values were decreased during processing, and then inner part Hunter values were highly decreased at the second step. The moisture contents were decreased to 58.48±0.41 g/100 g at fourth step. pH was also acidified to pH 4.22±0.02, but O.D. value at 420 nm was increased during processing of black garlic. At fourth step, total phenolics and flavonoids contents were increased about 1.9 and 2.6 folds than first step sample. Also, total pyruvate and thiosulfinate contents were increased about 1.6 and 5.8 folds as change of total phenolic and flavonoid contents, respectively. Fructose contents were the highest level among free sugars and its contents increased to 2,454.45±4.20 mg/100 g. Contents of sucrose and maltose were decreased during processing of black garlic. The contents of total minerals were the highest at fourth step (1,009.20±6.91 mg/100 g) during its processing. Contents of glutamic acid, proline and aspartic acid were detected higher than other composition amino acids. Taurine and ethanolamine were not detected in the first step sample, but they were detected 0.88±0.6 0~1.06±0.04 and 0.28±0.4~0.5±0.09 mg/100 g in next processing step, respectively. DPPH radical scavenging ability of water and ethanol extracts from black garlic was increased during its processing. Abilities of DPPH radical scavenging were the highest in fourth step sample, its abilities were 67.40±0.21% in 1,000 µg/ml of water extracts. Reducing power was also significantly higher in water extract than ethanol extract on the whole.

Key words : Black garlic, free sugar, amino acid, antioxidant activity

서 론

우리의 주요 조미채소인 마늘은 6월에서 8월경에 출하되어 일부는 생채로 이용되고 나머지는 저온 저장되어 이듬해 봄까지 보관하게 되는데, 저장 중 건조, 부패 및 발아 등으로 인하여 영양학적으로 볼 때 상당한 손실을 입게 되며 작황조건에 따라 가격 변동이 심한 대표적인 농산물 중의 하나이다 [2]. 또 마늘은, 재배 시 많은 노동력이 요구되므로 마늘 최대 생산국인 중국산 마늘과는 가격 경쟁력에서 우위를 점할 수 없고, 미국과의 FTA문제, 향후 중국과의 자유무역 협정 논의 등으로 국내산 마늘의 균형 있는 수급이 절실히 필요한 시점에 이르렀다. 이러한 제 문제를 해결하기 위해서는 다양한 가공품을 개발하여 부가가치를 높이는 것이 최상의 대안이다. 그러나 지금까지 마늘 가공품은 주로 산 또는 염류를 이

용한 장아찌, 분말, 과립제, 다진 마늘, 추출액 제품 등의 단순 가공품이 주종을 이루고 있다.

마늘의 가공 중 가장 큰문제로 지적되고 있는 것은 효소에 의한 산화와 변색 및 향미의 변화 등이다[7]. 마늘의 변색은 갈변과 녹변으로 대별할 수 있다. 녹변은 주로 저온 저장한 마늘을 가공할 때 발생되는데 그 원인은 휴면기가 지난 마늘이 물리적인 작용을 받을 경우 대사작용이 억제되었다가 온도상승, 빛, 금속 등 갑작스런 외부의 영향으로 allinase 가 작용하여 pigment precursor가 마늘에 함유된 탄수화물과 반응하여 녹변이 일어나는 것으로 보고되어 있다[11]. 마늘 가공품에서의 갈변은 카라멜 반응, 마이알 반응 등의 비효소적 갈변과 polyphenoloxidase (PPO) 의한 효소적 갈변 등으로 분류된다. 마늘 가공시 높은 온도에서는 아미노산의 peptide, 단백질의 α -amino group과 당과의 반응에 의한 비효소적 갈변 반응이 주로 일어난다[3]. 이러한 마늘의 갈변은 온도, 수분함량 및 환원당에 의해 크게 좌우되므로[13] 마늘의 가공 중 갈변의 억제를 위한 다양한 연구들이 진행되어

*Corresponding author

Tel : +82-55-751-5975, Fax : +82-55-751-5971

E-mail : snakju@gsnu.ac.kr

왔다[1,15].

흑마늘을 고온 항온기에 일정시간 숙성시킬 경우 마늘의 자체 성분과 효소 등에 의해 마늘 인편이 내부까지 모두 흑색으로 변화하게 되는데 이것을 시중에서 소위 “흑마늘”이라 부르며, 흑마늘의 특징은 진한 흑갈색을 띠며, 마늘의 매운맛이 감소되는 반면 점도가 높아지고, 또, 달콤하고도 새콤한 맛이 조화를 이루기 때문에 음료, 사탕 및 아이스크림 등 다양한 가공품을 제조할 수 있는 좋은 소재로 부상하고 있다. 그러나 국내의 흑마늘 관련 연구는 아직 미흡한 실정으로 흑마늘 가공 중 이화학적 성분 변화와 기능성 물질의 생성 등을 분석하여 흑마늘의 최적가공 적성을 밝히고 나아가 2차 가공을 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 흑마늘은 경남 남해군에서 재배 수확된 통마늘의 뿌리부분을 제거하고 꼭지부분은 위로 1~2 cm 가량 남긴 상태로 온도조절이 가능한 가열 숙성기에 뚜껑이 있는 스테인레스스틸 용기에 담아 50°C~90°C까지 온도를 변화시키면서 약 200시간 숙성시켰다. 흑마늘 제조공정에 따른 시료는 도울농산영농조합법인의 특허방법(특허출원번호 : 10-2007-0070551)에 따라 숙성온도와 시간에 따라 3단계로 구분하여 시료를 채취하고, 또 숙성 및 건조 단계에서 1회, 총 4회 시료를 채취하였다. 각 시료는 껍질을 제거한 다음 색도를 측정하고 나머지는 미서(HMF-1000, Hanil, Seoul, Korea)로 완전히 분쇄하여 폴레에틸렌 팩에 넣어 -20°C 이하에서 보관해 두고 실험에 사용하였다.

색도 측정

각 시료는 껍질을 제거한 표면부와 세로로 중심부를 절단한 내부의 색을 색차계(CR 301 Chroma meter, Minolta Co., Osaka, Japan)로 5회 이상 반복 측정하였다. 마늘의 색도는 명도(lightness)를 나타내는 L값, 적색도(redness)를 나타내는 a값과 황색도(yellowness)를 나타내는 b값을 측정하였으며 이때 사용한 표준색판의 L값은 96.21, a값은 0.82, b값은 0.66이었다.

일반성분, pH 및 갈변물질의 함량

일반성분은 상법에 따라 수분은 105°C 상압가열 건조법, 회분은 550°C 직접회화법, 조지방은 soxhlet추출법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법, 총당은 황산페놀법으로 분석하였다.

각 용매 추출물은 10 g/100 ml 정도의 농도로 만들어 pH meter (Model 720, Thermo Orion, Beverly, USA)를 이용하여 pH를 측정하였으며, 갈변반응에 의한 갈색화 물질은 spectrophotometer (Optizen 2120UV, Macasys C. Ltd.,

Korea)를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다[19].

총 페놀화합물 및 플라보노이드

총 페놀화합물의 함량은 Folin-Denis법[9]에 따라 각 추출물 1 ml에 Folin-Ciocalteau 시약 및 10% Na₂CO₃용액을 각각 1 ml씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 정치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. Caffeic acid (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA)를 0~100 µg/ml의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 총 페놀 함량을 산출하였다.

총 플라보노이드는 Moreno 등[21]의 방법에 따라 추출물 0.5 ml에 10% aluminum nitrate 0.1 ml, 1 M potassium acetate 0.1 ml 및 ethanol 4.3 ml를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 정치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였으며, quercetin (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA)을 표준물질로 하여 0~100 µg/ml 농도 범위에서 얻어진 표준 검량선으로부터 추출물의 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

Total pyruvate 및 thiosulfate의 함량

Schwimmer 등[23]의 방법에 따라 각 추출물 시료 0.5 g에 10% trichloroacetic acid를 5 ml 첨가한 다음 1시간 방치하였다가 여과지로 여과하였다. 그 여액 1 ml에 0.0125% dinitriphenyl-hydrazine 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 0.20 µM/ml 범위로 조정하여 동일한 방법으로 실험하여 얻은 표준검량곡선으로부터 정량하였다.

Alliin의 분해 생성물인 thiosulfate는 Freeman과 McBreen의 방법[8]에 따라 각 시료 분쇄물 1 g에 3배의 냉각수를 가하여 신속히 마쇄, 추출, 여과 하였다. 이 여액 2 ml에 2배량의 흡광분석용 hexane을 가하여 2분간 진탕 추출한 다음 hexane층을 취하여 254 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 g 당 상대적인 함량으로 표시하였다.

유리당의 정량

시료 10 g에 에탄올 30 ml를 가하여 균질화한 후 에탄올로 최종농도가 80%가 되도록 조정하고 환류냉각관을 부착한 80°C 수욕상에서 2시간 가온한 다음 방냉하여 원심분리(8,000× g, 30 min)하였다. 상기의 조작을 2회 반복하여 얻은 후 상등액을 모두 모아 감압농축한 다음 3차 중류수를 사용하여 25 ml로 만든 후 0.45 µm membrane filter 및 sep-pak C₁₈ cartridges에 차례로 통과시킨 다음 Bio-LC (DX-2500 system, Dionex, Sunnyvale, USA)로 측정하였다. 분석시 칼럼은 carbopac PA10 (4 mm× 250 mm), 검출기는 ED 40, detector는 pulsed amperometry, electrode cell은 Au를 사용하였다. 용매는 eluent generator를 이용하여 arabinose, gal-

actose, glucose는 3 mM KOH/H₂O, fructose와 sucrose는 52 mM KOH/H₂O, maltose는 100 mM KOH/H₂O를, 유속은 0.8 ml/min으로 유지하였다.

무기물의 정량

무기물의 분석은 Chung 등[6]의 방법을 응용하여 분해용 플라스크에 시료 2 g을 취하여 전한 황산과 전한 질산을 각각 10 ml씩 차례로 가한 다음 hot plate 상에서 무색으로 변할 때까지 분해하여 100 ml로 정용·여과하여 Inductively Coupled Plasma (ICP, Optima 3300DV, Perkin-Elmer Co., Massachusetts, USA)로 분석하였다. 이때, RF generator는 27.12 MHz, RF power는 1,300 W, Plasma argon 15 l/min, auxiliary argon flow rate 0.5 l/min, nebulizer argon flow rate 0.8 l/min, sample up take는 1.5 ml/min으로 하였다.

아미노산 정량

구성아미노산은 분쇄한 마늘 각 5 g에 6 N-HCl 3 ml를 가지고 질소가스를 7분간 충진시킨 후 110±1°C의 heating block에서 24시간 가수분해한 다음 여과 (Whatman No. 6) 하여 회전진공증발기로 감압 농축하였다. 이것을 pH 2.2 구연산 완충액으로 10 ml로 만들어 일정량을 membrane filter (0.2 μm) 및 sep-pak C₁₈ cartridges에 차례로 통과시킨 다음 아미노산 자동 분석기(Amino acid analyzer 835, Hitachi)로 씨 분석하였다.

유리아미노산은 Sung 등[24]의 방법에 따라 시료 10 g에 에탄올 150 ml를 가하여 균질화한 다음 원심분리(6,000×g, 10 min)하였다. 잔사에 80% 에탄올 75 ml를 가하여 2회 반복 추출한 후 상등액을 모아 농축한 후 에테르로 탈지하여 50 ml로 정용하였다. 이 액을 일정량 취하여 농축한 다음 pH 2.2 구연산 완충용액으로 10 ml로 만들어 membrane filter로 여과하여 아미노산 자동분석기(Amino acid analyzer 835, Hitachi)로 분석하였다.

물과 에탄올 추출물의 항산화 활성

각 시료의 물추출물 및 에탄올 추출물은 마늘 100 g에 추출용매 300 ml를 가하여 잘 교반한 다음 상온에서 24시간 이상 추출한 후 여과지로 여과한 여액을 회전식진공농축기를 이용하여 완전건고시키고, 증류수를 이용하여 일정한 농도로 희석하여 항산화 실험용 시료로 사용하였고, 이때 추출에 사용한 시료무게와 완전건고 후의 시료 무게를 추출수율로 계산하였다.

물추출물 및 에탄올 추출물의 항산화 활성은 시료의 농도를 100, 500 및 1,000 μg/ml로 만들어 Blois [4]의 방법을 변형한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)에 대한 전자공여 효과를 측정하였으며, Oyaizu [22]의 방법에 따라 환원력을 측정하여 흡광도 값으로 나타내었다.

통계 처리

각 시료에 대하여 5회 이상 반복 실험한 결과를 SPSS 12.0을 사용하여 통계처리 하였으며, 각각의 시료에 대해 평균±표준편차로 나타내었다. 각 시료군에 대한 유의차 검정은 분산분석을 한 후 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

색도의 변화

흑마늘 가공 공정에 따른 색도의 변화를 분석한 결과는 Table 1과 같다. 마늘의 외부색은 흑마늘의 제조 단계에 따라 L, a 및 b값 모두가 유의적으로 감소하여 L값은 27.47±0.28에서 21.80±0.84로 a값은 8.10±0.02에서 3.30±0.18, b값은 7.97±0.65에서 2.30±0.27로 낮아졌다. 내부색은 1단계와 2단계 간에는 유의적인 감소가 있었으나 나머지 단계에서는 유의적인 차이가 없어 L값은 30.59±1.18에서 24.55±0.23, a값과 b값은 각각 8.60±0.29에서 5.93±0.33과 11.47±0.36에서 5.79±0.37로 감소한 이후에는 유의적인 차이가 없이 미량 감소하였다. 흑마늘은 제조 공정의 완료 후 마늘의 내부까지 흑색을 띠게 되는데, 내부 색의 변화는 주로 1단계에서 2단계로 이행되는 초기단계에서 흑변이 일어남을 확인할 수 있었다. 외부색에 비하여 내부색이 a 및 b값 모두가 더 높게 측정되었으나 L값은 대차가 없었다.

일반성분, pH 및 갈색도의 변화

흑마늘의 일반성분을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 흑마늘 제조 과정 중 수분은 지속적으로 감소하여 1단계에서 65.54±0.24 g/100 g였던 것이 4단계에서는 58.48±0.41 g/100 g이었다. 조지방은 0.56~0.64 g/100 g의 범위로 가공 단계에 따른 유의적인 차이는 없었다. 조단백질과 총당은 흑마늘의 제조 공정에 따라 그 함량이 증가하였는데 조단백질의 경우 1단계에서 0.58±0.02 g/100 g 였으나 4단계에서는 0.98±0.06 g/100 g으로, 총당은 4.62±0.02 g/100 g에서 6.02±0.04 g/100 g으로 증가하였다. 이처럼 조단백질과 총당의 함량이 증가한

Table 1. Colorimetric characteristics of garlic during its processing

		Step 1	Step 2	Step 3	Step 4
Extra part	L	27.47±0.28 ^d	24.34±0.10 ^c	23.11±0.67 ^b	21.80±0.84 ^a
	a	8.10±0.02 ^c	4.06±0.28 ^b	4.38±0.11 ^b	3.30±0.18 ^a
	b	7.97±0.65 ^c	3.41±0.19 ^b	3.86±0.28 ^b	2.30±0.27 ^a
Inner part	L	30.59±1.18 ^b	24.55±0.23 ^a	24.11±0.75 ^a	23.70±0.19 ^a
	a	8.60±0.29 ^b	5.93±0.33 ^a	6.06±0.42 ^a	5.90±0.14 ^a
	b	11.47±0.36 ^b	5.79±0.37 ^a	5.81±0.53 ^a	5.58±0.22 ^a

^{a~d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

Table 2. General composites of garlic during its processing (g/100 g)

	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4
Moisture	65.54±0.24 ^d	63.60±0.79 ^c	62.34±0.61 ^b	58.48±0.41 ^a
Crude lipid	0.64±0.05 ^a	0.61±0.09 ^a	0.58±0.03 ^a	0.56±0.01 ^a
Crude protein	0.58±0.02 ^a	0.73±0.01 ^b	0.72±0.02 ^b	0.98±0.06 ^c
Total sugar	4.62±0.02 ^a	4.71±0.02 ^b	5.70±0.02 ^c	6.02±0.04 ^d

^{a~d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.

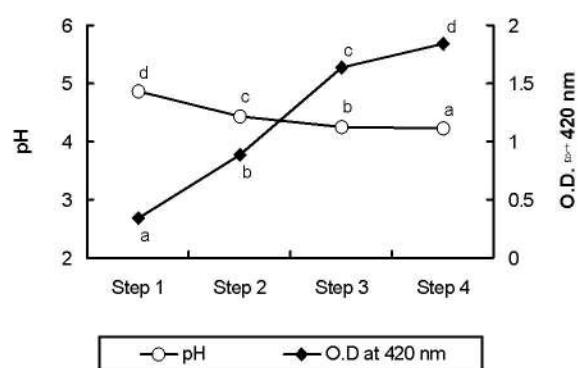


Fig 1. pH and browning contensity of garlic during its processing

^{a~d}Means with different superscripts in the same line are significantly different at $p<0.05$.

것은 수분의 감소 때문이라 여겨진다.

흑마늘의 제조 중 pH는 점차 산성화 되는 경향이었는데 (Fig. 1), 1단계에서는 pH 4.86±0.02이던 것이 마지막 공정에서는 pH 4.22±0.02로 산성화 되었다. 흑삼 제조 시에도 갈변물질의 생성과 더불어 pH가 저하하는데 온도가 높을수록 pH는 더 많이 감소하며[18], 열처리한 흑삼 액기스에서도 pH는 온도가 높을수록 저장 시간이 경과할수록 산성화 된다는 보고[5]는 본 실험의 결과와 잘 일치하였다.

Table 3. Contents of total phenol and flavonoids in garlic during its processing (mg/100 g)

	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4
Total phenol	0.80±0.01 ^a	1.20±0.01 ^b	1.24±0.05 ^b	1.48±0.01 ^c
Flavonoids	0.26±0.03 ^a	0.45±0.03 ^b	0.55±0.03 ^c	0.68±0.03 ^d

^{a~d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.

Table 4. Contents of total pyruvate and total thiosulfate in garlic during its processing

	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4
Total pyruvate (μmol/ml)	189.73±2.84 ^a	244.14±2.87 ^b	270.63±1.22 ^c	306.13±2.19 ^d
Total thiosulfate (O.D./g)	0.05±0.00 ^a	0.06±0.00 ^b	0.35±0.01 ^c	0.39±0.00 ^d

^{a,b,c,d,e} Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.

갈변물질의 함량을 예측할 수 있는 흡광도 수치(420 nm)는 제조 공정의 진행과 더불어 유의적으로 상승하여 2단계에 비해 3단계에서(O.D. 1.64) 약 1.80배 증가하였으며, 마지막 4단계에서 O.D. 값은 1.84로 증가하였다. Kim과 Kim [14]은 마늘의 열풍건조 중 갈변화 물질 생성율과 관련한 온도의 영향은 Q_{10} 값과도 상관성이 있으며, 온도가 높을수록 갈변화 반응은 촉진된다고 보고한 바 있다.

총 페놀화합물 및 플라보노이드의 함량 변화

흑마늘의 제조 공정별 페놀화합물 및 플라보노이드의 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 총 페놀화합물과 플라보노이드 함량 모두 제조 공정의 진행과 더불어 점차 증가하는 경향을 나타내었다. 총 페놀화합물의 경우 1단계에서는 0.80±0.01 mg/100 g였던 것이 4단계에서는 1.48±0.01 mg/100 g으로 약 1.9배 증가하였고, 플라보노이드는 1단계에 비하여 4단계에서는 약 2.6배(0.68±0.03 mg/100 g) 증가하였다.

Kwon 등[16]은 마늘의 총 페놀과 플라보노이드 함량은 고온고압 처리조건에 따라 다소 상이하기는 하지만 생마늘에 비해 각각 7배와 16배 정도 증가하는데 이는 고온고압 처리에 의해 여러 화합물이 폴리페놀화합물로 전환되었거나, 추출이 더 용이해졌기 때문이라고 고찰하였다. 본 실험 결과에서도 페놀화합물과 플라보노이드의 함량이 증가한 것은 고온 열처리로 인하여 페놀화합물의 생성과 추출이 용이해졌고, 또 가공 중 수분 함량이 감소된 결과로 해석된다.

Total pyruvate 및 thiosulfinate의 변화

Total pyruvate의 함량과 thiosulfinate의 함량은 Table 4에서 보는 바와 같이 흑마늘 제조 공정의 진행과 더불어 유의적으로 증가하였다. Total pyruvate는 각 단계별로 1.1~1.3배 정도씩 증가하여 1단계에서 189.73±2.84 μmol/ml였던 것이 4단계에서는 306.13±2.19 μmol/ml로 증가하였다. 마늘 중의 total pyruvate는 allinase에 alliin이 분해되면서 allicin, 암모니아와 더불어 생성되는 것으로 알려져 있는데[20], allicin을 함유한 마늘이나 양파는 조리를 하거나[23], 상온보다 더 높은 온도에서 저장할 경우 더 많은 함량이 정량된다는 보고가 있다[10]. 본 실험에서 total pyruvate의 함량이 증가된 것은 제조 과정 중 90°C 까지 승온 시킨 것을 고려할 때 allinase의 작용만으로 보기에는 어려우며, 고온에 의한 당의 분해산물이 더해진 것으로 추정되나 이에 대한 관련 기작은 추후 더 연구해야 할 과제이다.

Table 5. Contents of free sugars in garlic during its processing

(mg/100 g)

Free sugars	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4
Arabinose	- ^a	0.85±0.13 ^b	1.28±0.14 ^c	1.68±0.10 ^d
Galactose	10.64±0.10 ^c	16.70±0.07 ^b	19.46±0.08 ^c	20.41±0.33 ^d
Glucose	155.39±1.23 ^a	228.51±1.66 ^b	248.49±1.21 ^c	276.97±3.52 ^d
Fructose	1403.03±6.24 ^a	2137.87±12.45 ^b	2281.93±8.85 ^c	2454.45±4.20 ^d
Sucrose	1091.11±1.89 ^d	102.92±0.16 ^c	94.19±1.87 ^b	84.83±3.04 ^a
Maltose	12.70±0.81 ^d	10.20±0.42 ^c	7.54±0.58 ^b	5.00±0.50 ^a

^{a-d}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.

Thiosulfinate의 경우 2단계에서 0.06 ± 0.00 O.D./g였던 것이 3단계에서는 0.35 ± 0.01 O.D./g으로 약 5.8배 증가하였다. 마늘의 총 thiosulfate의 주요 성분은 allicin이며, allicin이 분해되어 생성되는 diallyl disulfide와 diallyl sulfide가 대부분을 차지한다고 알려져 있는데[25], 본 실험의 결과에서 흑마늘 제조 과정 중 thiosulfinate의 함량이 증가한 것은 allicin 보다는 저급 황화합물의 생성이 증가하였고, 수분이 감소함에 따라 상대적으로 고형분의 함량이 증가된 결과라 생각된다.

유리당의 함량 변화

흑마늘 제조 과정 중 유리당의 함량 변화는 Table 5와 같다. 흑마늘에서는 총 6종의 유리당이 검출되었는데 arabinose의 경우 1단계에서는 검출되지 않았으나 가공단계를 거치면서 점차 그 함량이 증가하여 4단계에서는 1.68 ± 0.10 mg/100 g으로 증가하였다. Galactose, glucose 및 fructose의 함량도 이와 유사한 경향으로 가공 중 그 함량이 유의적으로 증가하였다. 특히, 가장 함량이 높았던 fructose의 경우 1단계에서는 $1,403.03\pm6.24$ mg/100 g였던 것이 4단계에서는 $2,454.45\pm4.20$ mg/100 g으로 증가하였다. 반면에 이당류인 sucrose와 maltose는 흑마늘의 숙성과 더불어 그 함량이 감소하는데 1단계에서 각각 $1,091.11\pm1.89$ mg/100 g과 12.70 ± 0.81 mg/100 g였던 것이 4단계에서는 각각 84.83 ± 3.04 mg/100 g 및 5.00 ± 0.50 mg/100 g에 불과하였다. 따라서 1단계에서는 fructose의 함량이 가장 높고 다음으로 sucrose와 glucose의 순이었으나 4단계에서는 fructose, glucose 및 sucrose의 순이었다.

흑마늘의 제조 과정 중 색소의 변화는 마늘의 자체 성분에 의한 갈변 반응으로 추정되는데, 본 실험의 결과 이당류들의 감소와 단당류인 fructose의 함량 증가로 볼 때 흑마늘로 가공되는 과정 중 마늘 내의 이당류는 점차 분해되고 상대적으로 단당류의 함량이 증가됨으로서 단당류가 갈변반응에 관여하는 것으로 추정된다. 또 관능적으로도 감미가 증가되는 이유역시 fructose의 함량이 증가(약 1.7배)한 때문이라 생각된다.

무기물의 함량 변화

흑마늘의 각 제조 단계별 무기물의 함량을 분석한 결과는

Table 6과 같다. 무기물 중 칼륨의 함량이 가장 높아 $633.25\pm6.01\sim793.85\pm34.86$ mg/100 g 이었으며 다음으로 인, 마그네슘, 칼슘 및 나트륨의 순이었고 그 외의 무기물은 5 mg/100 g 미만이었다. 대체로 보아 무기물의 총량은 숙성 중 점차 증가하여 4단계에서 $1,009.20\pm6.91$ mg/100 g으로 가장 높았는데 이는 수분의 감소에 따라 상대적으로 그 농도가 증가된 결과로 간주된다.

아미노산의 함량 변화

흑마늘의 구성아미노산 및 유리아미노산의 함량을 분석한 결과는 Table 7 및 8과 같다. 구성아미노산은 glutamic acid의 함량이 가장 높았고, 다음으로 proline과 aspartic acid의 순이었다. 구성아미노산의 함량은 2단계와 3단계 사이에서 다소 감소하였으나 4단계에서는 다시 증가하여 가공이 완료된 후에는 약 1.1~1.4배 증가하였다. 아미노산의 총량도 약 1.3배 증가하여 1단계에서 $2,315.74\pm250.03$ mg/100 g 이던 것이 최종 단계를 거친 후에는 $2,994.06\pm146.98$ mg/100 g으로 증가하였다. 이처럼 가공초기에 구성아미노산이 감소한 것은 가열에 의해 구성아미노산의 일부가 분해된 결과이고, 마지막 단계에서 다시 증가한 것은 수분이 감소한 결과라 생각된다.

총 유리아미노산의 함량은 1단계에서 110.73 ± 7.39 mg/100 g으로 가장 낮은 함량이었으나 2단계에서는 약 1.3배

Table 6. Contents of minerals in garlic during its processing
(mg/100 g)

Minerals	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4
Al	0.86±0.01	1.36±0.01	1.86±0.09	1.10±0.01
Ca	11.52±0.35	10.66±0.18	10.54±0.03	13.63±0.01
Cu	0.39±0.02	0.32±0.01	0.45±0.01	0.37±0.04
Fe	2.68±0.64	2.16±0.04	2.90±0.01	2.60±0.01
K	643.05±2.48	633.25±6.01	793.85±34.86	792.40±6.79
Mg	20.89±0.47	21.55±0.21	20.37±0.45	25.82±0.04
Mn	0.54±0.01	0.49±0.01	0.57±0.01	0.54±0.01
Na	8.89±0.12	6.86±0.09	8.47±0.21	7.52±0.06
Zn	0.98±0.03	1.11±0.02	1.25±0.01	1.13±0.02
P	143.17±4.71	132.50±2.45	142.73±0.57	164.11±0.15
Total	832.96±3.30	810.24±8.99	982.98±33.50	1009.20±6.91

Table 7. Contents of composite amino acids in garlic during its processing (mg/100 g)

Amino acids	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4
Aspartic acid	235.88±15.50	265.02±4.18	255.16±7.88	317.46±3.94
Threonine	152.88±13.65	145.89±2.23	137.12±6.80	171.20±3.01
Serine	106.34±10.20	112.74±3.32	103.48±6.59	141.96±3.06
Glutamic acid	436.77±21.23	463.18±4.17	489.98±16.45	523.38±9.33
Proline	220.26±12.37	264.26±26.52	338.27±87.76	378.57±91.74
Glycine	108.13±11.23	116.39±1.41	110.55±6.71	140.81±6.16
Alanine	105.09±13.17	119.15±1.08	117.44±7.16	143.21±3.55
Cystine	94.43±11.64	96.44±1.13	104.76±7.39	110.29±4.91
Valine	117.57±15.43	124.47±2.34	120.97±5.66	150.79±2.48
Methionine	44.12±14.76	57.09±2.57	50.39±6.58	58.58±2.72
Isoleucine	75.05±17.23	80.48±1.54	75.18±3.67	101.57±2.03
Leucine	113.22±20.66	127.63±1.63	113.30±4.83	154.88±3.03
Tyrosine	70.35±26.82	91.64±2.58	75.76±2.19	91.37±2.87
Phenylalanine	148.93±21.01	154.15±1.15	159.54±1.12	179.69±0.01
Histidine	69.28±7.52	66.93±2.85	58.48±5.00	89.11±0.81
Lysine	159.79±14.35	148.52±3.95	152.53±5.49	177.88±0.84
Ammonia	57.68±3.25	56.88±0.14	61.63±0.28	63.35±0.19
Total	2315.74±250.03	2490.83±49.42	2524.49±181.56	2994.06±146.98

Table 8. Contents of free amino acids in and amine derivatives garlic during its processing (mg/100 g)

Amino acids	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4
O-Phospho-L-serine	1.73±0.04	2.02±0.01	1.80±0.16	1.69±0.10
Taurine	ND	1.06±0.04	0.88±0.60	1.00±0.69
O-Phosphoethanolamine	0.18±0.25	0.93±0.04	0.46±0.65	0.43±0.61
Urea	10.39±5.52	43.27±0.57	39.75±14.33	40.53±12.94
L-Aspartic Acid	0.48±0.03	1.27±0.33	0.87±0.01	1.03±0.01
Hydroxy-L-proline	0.69±0.98	ND	ND	ND
L-Threonine	0.9±0.01	1.31±0.04	1.44±0.02	1.4±0.04
L-Serine	0.89±0.04	1.09±0.02	1.01±0.02	1.12±0.01
L-Asparagine	3.16±0.04	6.42±0.02	4.22±0.06	4.30±0.05
L-Glutamic acid	4.55±0.02	4.67±0.02	4.47±0.09	4.07±0.05
L- α -Aminoadipic acid	1.97±0.04	2.02±0.03	2.02±0.02	1.56±0.12
L-Proline	5.18±0.01	5.85±0.14	5.57±0.09	5.67±0.11
Glycine	0.62±0.71	0.97±0.01	0.86±0.02	0.81±0.01
L-Alanine	8.72±0.13	9.64±0.06	10.03±0.17	9.06±0.02
L-Citrulline	1.69±0.22	2.3±0.05	2.66±0.06	2.41±0.01
L-Valine	13.75±0.18	11.99±0.01	11.79±0.24	9.8±0.11
L-Cystine	7.56±0.18	7.58±0.01	6.94±0.06	6.1±0.11
L-Methionine	0.98±0.05	0.94±0.11	0.78±0.01	0.76±0.01
Cystathione	7.27±0.06	3.96±0.06	3.01±0.10	2.25±0.11
L-Isoleucine	0.82±0.01	1.05±0.01	1.20±0.01	1.01±0.04
L-Leucine	0.99±0.01	0.95±0.02	1.08±0.05	0.83±0.02
L-Tyrosine	1.23±0.15	1.49±0.32	1.21±0.06	0.96±0.06
L-Phenylalanine	7.42±0.18	8.62±0.04	8.57±0.21	7.23±0.06
L-Homocystine	ND	0.12±0.16	0.11±0.16	ND
γ -Amino-n-butyric acid	0.2±0.01	0.37±0.19	0.4±0.24	0.21±0.06
Ethanolamine	ND	0.5±0.09	0.28±0.40	0.31±0.26
Ammonium Chloride	10.28±0.09	11.22±0.11	10.96±0.50	9.83±0.30
δ -Hydroxylysine	ND	ND	0.14±0.19	0.68±0.96
L-Lysine	1.15±0.01	1.54±0.01	1.08±0.04	0.53±0.75
L-Histidine	0.11±0.15	ND	ND	ND
L-Arginine	17.89±0.01	21.34±0.06	14.88±0.20	16.45±0.18
total	110.73±7.39	154.41±0.29	138.41±18.73	131.96±15.78

(154.41 ± 0.29 mg/100 g) 증가하였다가 4단계에서는 다시 감소하는 경향을 보였다. 흑마늘의 가공 중 유리아미노산의 함량변화는 매우 불규칙한 결과를 보였다. 즉, hydroxy-L-prloine과 L-histidine은 1단계 시료에서 미량 검출되었으나 2단계이후에는 검출되지 않았다. 반면에 taurine, L-homocysteine 및 δ -hydroxylsine은 1단계 혹은 2단계 시료에서 검출되지 않았으나 2단계 혹은 3단계 이후 시료에서 미량 검출되었다. 또 속성 중 계속해서 감소하는 아미노산은 L-valine, L-cystine, L-methionine, cystathione, L-lysine 및 L-arginine이며, 계속해서 증가하는 아미노산은 L-aspartic acid, L-serine, L-arginine, L-alanine 및 L-citrulline, 증감이 불규칙한 아미노산은 L-glutamic acid, L-proline, L-phenylalanine 및 γ -amino-n-butryric acid였다. 이처럼 아미노산의 증감이 불규칙한 것은 단백질의 일부가 분해되면서 유리아미노산이 생성되기도 하고, 반면에 일부의 아미노산은 갈변반응에 관여하며 감소되기도 하며, 이와 같은 반응으로 인해 또 탈탄산반응 및 탈 아미노산 반응이 유발되기 때문이라 생각되며, 그 부산물로 phosphoethanolamine, urea, ethanolamine 및 ammonium chloride와 같은 아민유도체가 생성된다고 판단된다.

항산화 활성의 변화

흑마늘 가공 중 물추출물과 에탄올 추출물의 수율은 Fig. 2와 같으며, DPPH에 대한 전자공여능 및 환원력을 시험한 결과는 Table 9 및 10과 같다. 마늘의 속성이 진행됨에 따라 수율은 점차 증가하여 물추출물은 1단계 시료에서 36.78%였으나 4단계 시료에서는 51.30%, 에탄올 추출물은 31.70%(1단계 시료)에서 38.08%(4단계 시료)로 증가하였으며 수율은 물추출물이 더 높았다.

전자공여능은 추출 수율과 유사한 경향으로 속성이 진행될수록 시료의 첨가 농도를 높일수록 점차 증가하였다(Table 9). 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 물추출물의 전자공여능이 에탄올 추출물보다 활성이 낮았으나 첨가시료의 농도가 높아질수록

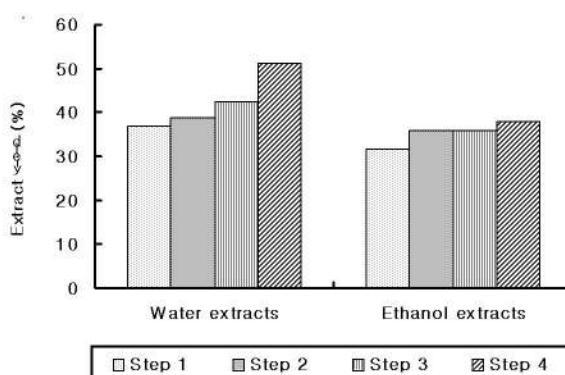


Fig. 2. Extract Yield of garlic during its processing.

Table 9. DPPH radical scavenging ability of water and ethanol extracts from garlic during its processing (%)

Extract solvent	Sample	Sample concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
		100	500	1000
Water	Step 1	0.46 \pm 0.04 ^{aA}	17.22 \pm 0.38 ^{bA}	35.66 \pm 0.61 ^{cA*}
	Step 2	4.74 \pm 0.18 ^{aB}	30.10 \pm 0.30 ^{bB*}	56.21 \pm 0.22 ^{cB*}
	Step 3	5.04 \pm 0.08 ^{aC}	35.97 \pm 0.26 ^{bC*}	65.40 \pm 0.19 ^{cC*}
	Step 4	5.95 \pm 0.23 ^{aD}	37.08 \pm 0.19 ^{bD*}	67.40 \pm 0.21 ^{cD*}
Ethanol	Step 1	6.09 \pm 0.20 ^{aA*}	19.82 \pm 0.14 ^{bA*}	32.55 \pm 0.20 ^{cA}
	Step 2	6.54 \pm 0.33 ^{aA*}	20.70 \pm 0.24 ^{bB}	37.38 \pm 1.04 ^{cB}
	Step 3	7.52 \pm 0.38 ^{aB*}	21.65 \pm 0.69 ^{bC}	39.05 \pm 0.53 ^{cC}
	Step 4	8.31 \pm 0.30 ^{aC*}	25.25 \pm 0.53 ^{bD}	45.63 \pm 0.43 ^{cD}

^{a,b,c}Means with different superscripts in the same raw are significantly different at $p<0.05$.

^{A,B,C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

*Means with different superscripts in the different solvent at t-test.

Table 10. Reducing power of water and ethanol extracts from garlic during its processing

Extract solvent	Sample	Sample concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
		100	500	1000
Water	Step 1	0.075 \pm 0.004 ^{aA}	0.115 \pm 0.001 ^{bA}	0.172 \pm 0.002 ^{cA*}
	Step 2	0.084 \pm 0.002 ^{aB}	0.153 \pm 0.002 ^{bB}	0.222 \pm 0.002 ^{cB*}
	Step 3	0.107 \pm 0.001 ^{aC}	0.162 \pm 0.002 ^{bC*}	0.238 \pm 0.004 ^{cC*}
	Step 4	0.118 \pm 0.003 ^{aD}	0.165 \pm 0.002 ^{bC*}	0.250 \pm 0.002 ^{cD*}
Ethanol	Step 1	0.103 \pm 0.003 ^{aB*}	0.139 \pm 0.002 ^{bA*}	0.167 \pm 0.003 ^{cA}
	Step 2	0.113 \pm 0.003 ^{aC*}	0.157 \pm 0.005 ^{bB}	0.197 \pm 0.002 ^{cB}
	Step 3	0.101 \pm 0.003 ^{aB}	0.167 \pm 0.007 ^{bC}	0.202 \pm 0.003 ^{cB}
	Step 4	0.094 \pm 0.003 ^{aA}	0.137 \pm 0.001 ^{bA}	0.214 \pm 0.004 ^{cC}

^{a,b,c}Means with different superscripts in the same raw are significantly different at $p<0.05$.

^{A,B,C}Means with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

*Means with different superscripts in the different solvent at t-test.

오히려 물추출물의 전자공여 활성이 더 높아, 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도(4단계 시료)에서 에탄올 추출물의 전자공여능은 45.63 \pm 0.43%였으나, 물추출물은 67.40 \pm 0.21%로 시험된 시료 중 가장 높은 활성을 보였다.

환원력(Table 10)은 물추출물의 경우 속성이 진행될수록 시료의 농도가 높아질수록 유의적으로 증가하여 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 4단계 시료에서 흡광도 값이 0.250으로 가장 높았다. 에탄올 추출물에서는 100 및 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 경우 마지막 4단계 시료의 흡광도 값이 각각 0.094와 0.137로 다른 단계 시료의 값보다 더 낮았으나 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 속성이 진행 될수록 환원력도 증가하였다. 추출용매에 따른 환

원력은 100 및 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 1, 2단계 시료를 제외한 모든 시료에서 물추출물이 에탄올 추출물 보다 유의적으로 높았다.

Maillard 반응생성물 중 저분자의 reductan류는 항산화 활성이 없고, 최종 생성물인 melanoidin 물질이 항산화활성을 갖는데 melanoidin은 탈색을 시켜도 항산화활성을 가진다는 보고가 있는데[17], 본 실험의 결과 흑마늘 제조 과정의 진행과 더불어 전자공여능 및 환원력이 증가하는 것도 각 가공 단계마다 갈변물질의 생성량이 점진적으로 증가하게 되고 최종 단계에 이르러서는 고분자의 melanoidin 화합물이 더 많이 축적된 결과로 해석된다.

숙성마늘로부터 분리된 대표적인 항산화 물질은 S-allylcysteine이며, 갈변화합물로는 fructosyl-arginine이 있는데, fructosyl-arginine은 간에서 TBARS의 생성을 억제하며, 산화된 LDL에 의한 세포 손상을 억제한다고 보고되어 있다[12].

요 약

최근 개발된 마늘 가공품의 일종인 흑마늘의 생리활성 규명을 위한 연구의 일환으로 흑마늘의 제조공정을 4단계로 나누어 각 단계마다 시료를 채취하여 이화학적 성분의 변화 및 항산화 활성을 비교하였다. 흑마늘의 색은 제조공정을 거치면서 L, a 및 b값이 모두 감소하였는데 내부색의 경우 가공 초기에 크게 감소하였다. 수분은 1단계에서 $65.54 \pm 0.24\text{ g}/100\text{ g}$ 였던 것이 4단계 시료에서는 $58.48 \pm 0.41\text{ g}/100\text{ g}$ 까지 감소하였고, pH도 점차 산성화되어 4단계 시료에서 4.22 ± 0.02 , 반면에 숙성이 진행될수록 서서히 증가하는 경향이었다. 총 폐놀화합물과 플라보노이드는 1단계시료에 비해 최종 단계에서 각각 약 1.9배, 2.6배 증가하였다. Total pyruvate와 thiosulfinate도 비슷한 폐턴으로 각각 약 1.6배, 5.8배 증가하였다. 유리당 중 가장 함량이 높은 fructose는 1단계에서는 $1,403.03 \pm 6.24\text{ mg}/100\text{ g}$ 였던 것이 4단계에서는 $2,454.45 \pm 4.20\text{ mg}/100\text{ g}$ 으로 증가하였으나, 반면에 이당류인 sucrose 와 maltose는 흑마늘의 숙성과 더불어 서서히 감소하는 경향이다. 흑마늘의 제조 단계별 무기물의 총량은 4단계시료에서 $1,009.20 \pm 6.91\text{ mg}/100\text{ g}$ 으로 가장 많았고, 흑마늘 중 무기물은 칼륨, 인, 마그네슘 및 칼슘의 순으로 높게 검출되었다. 흑마늘의 구성아미노산은 glutamic acid의 함량이 가장 많았고, 다음으로 proline과 aspartic acid였으며, 유리아미노산은 taurine, homocysteine 및 δ -hydroxylysine은 1단계 혹은 2단계 시료에서는 검출되지 않았으나, 2단계 혹은 3단계 이후 시료에서 미량 검출되었다. 흑마늘 가공 중 물추출물과 에탄올 추출물의 DPPH에 대한 전자공여능은 수성이 진행될수록, 추출물의 첨가 농도를 높일수록 점차 증가하여 4단계시료의 $1,000\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 에탄올 추출물은 $45.63 \pm 0.43\%$, 물추출물은 $67.40 \pm 0.21\%$ 로 시험된 시료 중 가장 높은 활성을

보였다. 환원력은 100 및 $500\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 1, 2단계 시료를 제외한 모든 시료에서 물추출물이 에탄올 추출물 보다 높은 활성을 보였다.

References

- Bae, R. N. and S. K. Lee. 1990. Factors affecting browning and its control methods in chopped garlic. *J Kor. Soc. Hort. Sci.* **31**, 213-218.
- Bae, S. K. and M. R. Kim. 1998. Changed of browning, microbiological and sensory characteristics of concentrated garlic juices during storage. *Korean J. Soc. Food Sci.* **14**, 394-399.
- Bas, S. K. and M. R. Kim. 2002. Effects of sodium metabisulfite and adipic acid on browning of garlic juice concentrate during storage. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* **18**, 73-80.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1200.
- Choi, J. H., W. J. Kim, J. W. Yang, H. S. Sung and S. K. Hong. 1981. Quality changes in red ginseng extract during high temperature storage. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **24**, 50-58.
- Chung, M. J., J. H. Shin, S. J. Lee, S. K. Hong, H. J. Kang and N. J. Sung. 1998. Chemical compounds of wild and cultivated Horned Rampion, *Phyteuma Japonicum* Miq. *Korean J. Food & Nutr.* **11**, 437-443.
- Cruess, W. V. 1944. Experiments on garlic and onion extracts. *Fruit products J.* **23**, 305-313.
- Freeman, G. G. and F. Mcbreen. 1973. A rapid spectrophotometric methods of determination of thiosulfinate in onion and its significance in flavor studies. *Biochem. Soc. Trans* **1**, 1150-1154.
- Gutfinger, T. 1981. Polyphenols in olive oils. *JAOCs* **58**, 966-967.
- Hwang, J. B., J. H. Ha, W. S. Park and Y. C. Lee. 2004. Changed of component on green discolored garlic. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 1-8.
- Hwang, J. B. 2002. Control of green discoloration in low temperature stored garlic. Ph D thesis, Chung-Ang University, Ansan, Korea.
- Ide, N., B. H. S. Lau, K. Ryu, H. Matsuura and Y. Itakura. 1999. Antioxidant effects of fructosyl arginine, a Maillard reaction product in aged garlic extract. *J. Nutr. Biochem.* **10**, 372-376.
- Kim, H. K., K. S. JO, D. B. Shin and I. H. Kim. 1987. Effects of phosphate complex treatment on the quality of dried garlic flakes. *Korean J. Food Sci. Technol.* **19**, 75-80.
- Kim, M. H. and B. Y. Kim. 1990. Development of optimum processing conditions in air dried garlics using response surface methodology. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **19**, 234-238.
- Kim, Y. A. 1998. Effects of antibrowning agents on the browning reaction of enzymatic garlic hydrolyzate. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 201-206.

16. Kwon, O. C., K. S. Woo, T. M. Kim, D. J. Kim, J. T. Hong and H. S. Jeong. 2006. Physicochemical characteristics of garlic (*Allium Sativum L.*) on the high temperature and pressure treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 331-336.
17. Lee, J. W., J. H. Do and K. H. Shim. 1999. Antioxidant activity of the water soluble browning reaction products isolated from Korean red ginseng. 1. DPPH radical and hydrogen peroxide scavenging. *J. Ginseng Res.* **23**, 176-181.
18. Lee, J. W., S. K. Lee, J. H. Do and K. H. Shim. 1998. Characteristicd of the water soluble browning reaction of Korean red ginseng as affected by heating treatment. *J. Ginseng Res.* **22**, 193-199.
19. Lee, J. W., S. K. Lee, J. H. Do, H. S. Sung and K. H. Shim. 1995. Browning reaction of fresh ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) as affected by heating temperature. *Korean J. Ginseng Sci.* **19**, 249-253.
20. Miron, T., I. Shin, G. Feigenblat, L. Weiner, D. Mirelman, M. Wilchek and A. Rabinkov. 2002. A spectrophotometric assay for allicin, alliin, and alliinase with a chromogenic thiol: Reaction of 4-mercaptopypyridine with thiosulfinate. *Analytical Biochemistry* **307**, 76-83.
21. Moreno, M. I. N., M. I. N. Isla, A. R. Sampietro and M. A. Vattuone. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J. Ethnopharmacology* **71**, 109-114.
22. Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J. Nutr.* **44**, 307-315.
23. Schwimmer, S. and W. J. Weston. 1961. Onion flavor and odor, Enzymatic development of pyruvic acid in onion as a measure of pungency. *JAFC* **9**, 301-304.
24. Sung, N. J., J. G. Kim, S. J. Lee and M. J. Chung. 1997. Changes in amino acids contents of low-salt fermented small shrimp during the fermentation. *J. Inst. Agri. & Fishery Develop. Gyeongsang Nat'l. Univ.* **16**, 1-10.
25. Yu, T. H., C. M. Wu and Y. C. Liou. 1989. Volatile compounds from garlic. *J. Agric. Food Chem.* **37**, 725-730.