

한국산 마늘에 의한 *Aspergillus parasiticus*의 성장 억제 효과

박정영 · 김종규[†]

계명대학교 공중보건학과

(2009. 3. 5. 접수/2009. 3. 17. 수정/2009. 4. 3. 채택)

Inhibitory Effect of Garlic on the Growth of *Aspergillus parasiticus*

Jeong-Yeong Park · Jong-Gyu Kim[†]

Department of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

(Received March 5, 2009/Revised March 17, 2009/Accepted April 3, 2009)

ABSTRACT

This study was performed to investigate the possible effect of garlic produced in Korea on the inhibition/reduction of growth of *A. parasiticus*, a toxicogenic strain. The effect was studied using different concentrations of freeze-dried garlic in potato-dextrose agar (PDA) and/or in yeast-extract sucrose (YES) broth at 25°C for 15 days. While inhibition of the fungal growth due to increasing the concentration of garlic was observed, the more remarkable effect was observed on the ninth day. Reduction of fungal diameter as a result of addition of garlic on PDA was observed to range between 3.4% to 20.1% while reduction of mycelial weight in YES broth ranged from 9.9% to 30.5%. The 0.5% and 1.0% concentrations of garlic significantly reduced fungal diameter in PDA on the 9th day, while 0.1%, 0.5%, and 1.0% concentrations of garlic significantly reduced the mycelial weight in YES broth ($p<0.05$). Dose-response relationships were observed between the concentration of garlic and inhibition of growth both in solid culture and in liquid culture. This study indicates that garlic could be an effective inhibitor at a human consumption level of the growth of *A. parasiticus*. More research is needed to study the inhibitory effects of the main active component of garlic.

Keywords: Garlic, *A. parasiticus*, PDA, YES broth

I. 서 론

자연계에 광범위하게 퍼져 있는 누룩곰팡이(*Aspergillus* sp.)는 우리나라 전통식품에서도 다양하게 활용되고 있다. 그러나 *Aspergillus* sp. 중에는 인간과 동·식물에 유해한 것도 있어서 이들은 대개 농작물을 수확하기 전이나 수확 중에 오염되어 결국 인간과 자연계에 위해를 일으킨다. 그 대표적인 것으로 *Aspergillus parasiticus* 가 있으며, 이는 인간 발암물질인 아플라톡신(aflatoxin)을 생산하는 균주이다.¹⁻³⁾ *A. parasiticus*는 수분 16% 이상, 온도 25~30°C, 상대습도 80~85%, 수분활성도 0.80 정도에서 aflatoxin을 생산하며 탄수화물이 풍부한 쌀, 보리, 밀, 옥수수 등의 곡류를 기질로 한다.¹⁻⁵⁾

곰팡이의 성장을 일반적으로 합성 항생물질에 의해 억제되지만 천연의 항생물질도 중요한 항진균 도구로서의 가능성이 제시되어, 그동안 항생물질 및 항진균제 제로 선정된 식물 추출물의 aflatoxin 생산 균주에 대한 제어효능을 판정하기 위한 시도가 있었다. 몇몇 연구자들이 aflatoxin 생산 균주의 생육 또는 aflatoxin 생성을 저지하기 위하여 계피, 정향나무 기름, 알로에, 인삼 등을 이용하였다. 그리고 oleuropein과 올리브나무 경결 조직의 에탄올 추출물에 의해서 aflatoxin 생성이 매우 감소되며 카페인산과 o-coumaric acid도 역시 aflatoxin의 생성을 억제한다는 보고가 있다.⁶⁾ 여러 종류의 식물 중에서 마늘, 계피 등은 향신료로서 뿐만 아니라 보존료로서의 기능을 가지며, 특히 세균보다 곰팡이에 더 효과적인 항균작용이 있다는 보고가 있다.⁷⁾ 그러나 이 기준의 연구들은 대개 식물이나 식품의 유기용매 추출물을 이용하여 이러한 항세균작용 또는 항진균작용을 관찰하여 보고하였던 바, 인간이 상용하는 수준 또는

*Corresponding author : Department of Public Health, Keimyung University
Tel: 82-53-580-5469, Fax: 82-53-586-5469
E-mail : jgkim@kmu.ac.kr

일상적 섭취량에 맞지 않아 그 활용이나 적용이 어려운 측면이 있다.

마늘(*Allium sativum* L.)은 많은 양의 유기황을 함유하고 있어 독특한 향미를 지니므로 예로부터 우리나라 식생활에서 필수적인 양념 및 강장식품으로 애용되어 왔으며 육가공품, 통조림 등 가공식품의 향신료로도 각광받고 있다.^{8,9)} 국내에서도 마늘과 보건위생 관련 연구로 마늘의 항균작용이 보고되었다.¹⁰⁾ 그리고 한국 전통 김치가 *A. parasiticus*의 성장을 억제 및 감소시켰으며 이러한 효과는 김치 부재료 중 마늘이 주효한 역할을 하는 것으로 제시되기도 하였다.¹¹⁾

본 연구에서는 한국인에서 일상적으로 섭취되는 식품 중 하나인 마늘이 aflatoxin 생성 균주인 *A. parasiticus*의 성장을 억제하는 효과를 인체 섭취 수준에서 알아보고자 한다. 나아가 본 연구는 천연물/식품을 이용하여 *Aspergillus* sp.의 성장을 억제 또는 제어할 수 있는 방안의 하나를 제시함으로써 인간과 동·식물계에 미치는 위해를 줄이는데 기여하고자 한다.

II. 연구방법

1. 재료

본 연구에서 사용한 마늘은 경북 의성에서 생산된 마늘로서 생마늘을 갈아 동결건조하여 사용하였다. 마늘 동건품의 수율은 38.4%였다.

2. 균주

본 연구에서 사용한 균주는 aflatoxin 생성 곰팡이로서 *Aspergillus parasiticus* ATCC 15517이었다. 이를 American Type Culture Collection에서 분양받아 사용하였다.

3. 배지 및 조제

본 연구에서는 곰팡이의 활성화를 위해서 potato-dextrose agar(PDA) 배지(Difco Lab.)를 사용하였다. 고체 배양을 위해서 PDA 배지를 사용하였으며, 액체 배양을 위해서는 Kim 등의 방법¹²⁾에 따라 yeast-extract sucrose(YES) 배지를 조제하여 사용하였다. 공시 균주의 성장을 최적화하기 위하여 배지의 pH를 5.5로 조정하였다.

4. 곰팡이 활성화 및 포자현탁액의 조제

*A. parasiticus*를 PDA 사면배지에 접종하여 25°C에서 10일 동안 3회 연속 계대배양시켜 충분히 활성화시켰다. 활성화된 균주를 PDA 평판 배지에 접종하여

25°C에서 7일 동안 배양한 후, 형성된 포자에 멸균된 0.025% tween 80 용액 1mL와 멸균수 5mL를 가하고 혼들어 포자를 씻어내는 조작을 3회 반복하였다. 멸균수를 더 가하여 hemacytometer와 현미경으로 검정하면서 포자수를 10⁶~10⁷/mL으로 조절하여 포자현탁액을 조제하여 배양에 사용하였다.

5. 배양방법

1) 고체 배양

페트리디시(Petri dish) (90×15 mm)에 PDA 20mL를 분주하고 동결건조된 마늘을 농도별(0.1%, 0.5% 및 1.0%) (w/v)로 첨가하여 굳혔다. 건고된 각 평판에 *A. parasiticus* 포자현탁액을 5μL씩 3접종하여 25°C에서 15일간 배양하였다. 동일한 조건으로 마늘이 첨가되지 않은 대조군을 배양하였다.

2) 액체 배양

배양 튜브(culture tube) (16×100 mm)에 yeast-extract sucrose(YES) broth 5mL를 넣고 동결 건조된 마늘을 농도별(0.1%, 0.5% 및 1.0%) (w/v)로 첨가하였다. 각 culture tube에 *A. parasiticus* 포자현탁액을 50μL 접종하여 25°C에서 15일간 배양하였다. 동일한 조건으로 마늘이 첨가되지 않은 대조군을 배양하였다.

6. 균체의 성장 정도 측정방법

1) 고체 배양

고체 배양에서는 각 균별로 성장하는 *A. parasiticus* 접착의 직경(mm)을 3일 간격으로 15일 동안 측정하였다.

2) 액체 배양

액체 배양에서 *A. parasiticus*의 성장 정도는 진조균체측정법에 의해 실시하였다. 즉 배양액을 고압증기멸균한 후 균체를 취하고 여과지로 여과한 다음 균체를 회수하여 탈이온수로 반복 세척하였고, 이를 50°C 건조기에서 24시간 동안 건조시키고 데시케이터에서 방냉한 후 무게(mg)를 측정하였다. 건조균체 무게는 3일 간격으로 15일 동안 측정하였다.

7. 자료의 처리 및 분석

각 실험군별 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 평균치들 간의 차이 검정을 위해 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 수행하여 분석하고 Duncan's multiple range test로 사후분석을 실시하였다. 통계분석에는 SPSS 14.0 for Windows(SPSS Inc., USA)를 이용하였다.

III. 결과 및 고찰

본 연구에서 곰팡이 균주 *Aspergillus parasiticus* ATCC 15517을 Petri dish에서 마늘이 첨가된 PDA 배지에 접종하여 15일간 성장한 바를 접락의 직경으로 측정한 결과는 Table 1과 같다. 배양기간이 경과하면서 대조군과 실험군 모두 *A. parasiticus*의 성장이 일어났으며 실험군(마늘첨가군)에서는 전반적으로 대조군에 비해 접락의 성장이 억제되는 것이 관찰되었다. 배양 3일 후에는 대조군에 비해 1.0% 마늘첨가군에서 매우 유의한 감소를 나타내었다($p<0.01$). 배양 6일 후에는 대조군에 비해 0.5% 및 1.0% 마늘첨가군에서 매우 유의한 감소를 나타내었다($p<0.01$). 배양 9일 후에도 대조군에 비해 0.5% 및 1.0% 마늘첨가군에서 매우 유의한 감소를 나타내었다($p<0.01$). 그러나 12일 이후에는 더 이상의 유의한 감소가 일어나지 않았다. 가장 많은 감소를 보인 배양 9일 후 *A. parasiticus*의 성장 억제 정도는 0.1%, 0.5% 및 1.0% 마늘첨가군에서 각각 3.4%, 14.1%($p<0.01$) 및 20.1%($p<0.01$)로 나타나 고체 배지에서 마늘의 농도가 증가할수록 *A. parasiticus*의 성장은 감소되었다.

곰팡이 균주 *Aspergillus parasiticus* ATCC 15517을 culture tube에서 마늘이 첨가된 YES broth 배지에 접종하여 15일간 성장한 균체를 건조균체량으로 측정한 결과는 Table 2와 같다. 배양기간이 경과하면서 대조군과 실험군 모두 *A. parasiticus*의 균체가 증가하였으며

실험군(마늘첨가군)에서는 전반적으로 대조군에 비해 균체의 성장이 억제되는 것이 관찰되었다.

배양 3일 후에는 대조군에 비해 0.5% 마늘첨가군에서 유의한 감소를($p<0.05$), 그리고 1.0% 마늘첨가군에서 매우 유의한 감소를 나타내었다($p<0.01$). 배양 6일 후에는 대조군에 비해 0.5% 및 1.0% 마늘첨가군에서 매우 유의한 감소를 나타내었다($p<0.01$). 배양 9일 후에는 대조군에 비해 모든 마늘첨가군에서 유의한 감소를 나타내었다($p<0.05$). 배양 12일 후에는 대조군에 비해 0.5% 및 1.0% 마늘첨가군에서 유의한 감소를 나타내었다($p<0.05$). 배양 15일 후에도 같은 양상을 보였다. 그러나 배양 12일 후부터는 그 이전 시기에 비해 감소의 정도가 적었다. 가장 많은 감소를 보인 배양 9일 후 *A. parasiticus*의 성장 억제 정도는 0.1%, 0.5% 및 1.0% 마늘첨가군에서 각각 9.9%($p<0.05$), 26.9%($p<0.01$) 및 30.5%($p<0.001$)로 나타나 액체 배지에서도 마늘의 농도가 증가할수록 *A. parasiticus*의 성장을 감소되었다.

Buchanan과 Ayres¹³⁾는 마늘과 계피가 곰팡이에 대한 항균작용이 있어 *Aspergillus*, *Alternaria* 및 *Penicillium* 등의 생육을 저해할 수 있음을 제시하여 본 연구의 결과를 뒷받침한다. 마늘 추출물이 0.1%~1%의 농도에서 항진균 효과를 가진다는 보고가 있다.¹⁴⁾ 그리고 마늘 추출물의 농도 0.3~0.4%일 때 *A. parasiticus*의 균체 성장이 억제된다는 보고가 있다.¹⁵⁾ 또 마늘 추출물을 1.5 g/25 ml(6.0%) 첨가하였을 경우 *A. parasiticus*의 균

Table 1. Growth of *A. parasiticus* in potato-dextrose agar containing garlic incubated for 15 days

Conc. of garlic	Diameter (mm)				
	3 days	6 days	9 days	12 days	15 days
Control	22.2±1.0 ^{a,b}	46.4±2.1 ^a	46.7±1.6 ^a	46.7±1.6 ^a	46.7±1.6 ^a
0.1%	22.8±2.6 ^a	44.6±1.5 ^a	45.1±0.8 ^{a,b}	45.1±0.8 ^{a,b}	45.1±0.8 ^{a,b}
0.5%	20.7±0.6 ^{b,c}	39.4±2.0 ^b	40.1±1.7 ^b	40.1±1.7 ^b	40.1±1.7 ^b
1.0%	19.5±0.7 ^c	34.9±1.2 ^c	37.3±2.2 ^b	37.3±2.2 ^b	37.3±2.2 ^b

All values represent the mean±S.D. of six samples.

Values with different superscript letters in a column are significantly different ($p<0.05$).

Table 2. Growth of *A. parasiticus* in YES broth containing garlic incubated for 15 days

Conc. of garlic	Mycelial weight (mg)				
	3 days	6 days	9 days	12 days	15 days
Control	22.9±1.3 ^a	59.0±4.4 ^a	88.8±1.7 ^a	100.2±2.7 ^a	114.2±3.5 ^a
0.1%	22.3±1.1 ^{a,b}	54.1±4.7 ^{a,b}	80.0±5.8 ^b	100.2±5.5 ^a	112.7±7.7 ^a
0.5%	20.6±1.5 ^b	34.6±4.2 ^c	64.9±3.1 ^c	83.6±2.7 ^b	92.6±2.5 ^b
1.0%	12.1±1.9 ^c	32.9±1.8 ^c	61.7±6.2 ^c	83.0±2.5 ^b	92.3±1.5 ^b

All values represent the mean±S.D. of six samples.

Values with different superscript letters in a column are significantly different ($p<0.05$).

체 성장이 완전히 억제되었다는 보고도 있다.¹⁶⁾ 또한 마늘즙이 *A. flavus* 및 *A. parasiticus* 성장을 효과적으로 억제하여 aflatoxin을 억제한다는 보고가 있다.¹⁷⁾ 마늘 중에 0.3~0.4% 존재하는 allicin은 그람음성균과 그람양성균 모두에 대하여 항균작용을 가지며, 곰팡이 포자의 발아 그리고 균사의 성장을 방지하는 작용이 있다는 것이 제시된 바 있다.¹⁸⁾ 마늘즙 또는 마늘 추출물(액기스)을 사용한 상기 다른 연구자들의 결과와 생마늘을 동결건조켜 사용한 본 연구 결과와 비교하였을 때, 동결건조한 마늘에 비해 마늘즙 또는 마늘 추출물에서 곰팡이 성장 억제 효과가 크게 나타났다. 이들의 보고는 마늘을 농축한 것으로 우리가 일상생활에서 섭취하는 수준보다 매우 높은 농도였다. 그러므로 항진균작용을 하는 allicin의 함량도 많아 이러한 결과가 나왔을 것이라 생각된다. 이들 연구에 비해 본 연구에서는 동결건조 마늘을 단지 0.5% 및 1.0%의 농도로 첨가했을 때 *A. parasiticus* 성장 억제에 유의한 효과가 있는 것으로 관찰되었다. 한국인은 마늘 섭취량이 비교적 많은 국민으로 나타나고 있다. 우리나라 국민의 마늘 섭취량은 1인 1일당 7.3 g이며, 총 식품섭취량은 1인 1일당 1,291.4 g으로 나타나 있어¹⁹⁾ 결국 마늘 섭취량은 0.57%에 달하고 있다. 즉, 본 연구를 통해서 선행연구들과 달리 마늘이 일상적 섭취수준 농도에서도 유해 곰팡이의 성장을 억제시킬 수 있음을 알 수 있다. 또 본 연구에서는 고체 배양과 액체 배양에서 모두 이러한 억제적 영향이 나타나 우리가 마늘을 섭취/활용하는 방식에 관계없이 효과를 기대할 수 있음을 시사한다. 그러나 이러한 가정을 적용하려면 대단위 인구를 대상으로 마늘 섭취에 따른 영향을 평가하는 인체 연구가 필요하다.

한편 본 연구에서 가장 많은 감소를 보인 배양 9일 후 PDA 배지에서 *A. parasiticus*의 성장 억제 정도는 0.1%, 0.5% 및 1.0% 마늘첨가군이 각각 3.4%, 14.1% 및 20.1%였다. 또 YES 배지에서 *A. parasiticus*의 성장 억제 정도는 0.1%, 0.5% 및 1.0% 마늘첨가군이 각각 9.9%, 26.9% 및 30.5%였다(Fig. 1). 즉, 고체 배양 뿐만 아니라 액체 배양에서도 마늘의 농도가 증가할수록 *A. parasiticus*의 성장이 감소되어, 마늘은 *A. parasiticus*의 성장에 대해 농도 의존적 억제 효과를 나타낼을 알 수 있다. 다만, 마늘이 *A. parasiticus*에 미치는 작용이 특이적인지를 정확히 밝히기 위해서는 다른 *Aspergillus* 곰팡이들에 대한 탐구가 더 필요하다고 본다. 나이가 마늘에 의한 공시균주의 발암물질 생산 억제 효과를 판단하려면 앞으로 aflatoxin 정량도 필요하겠다.

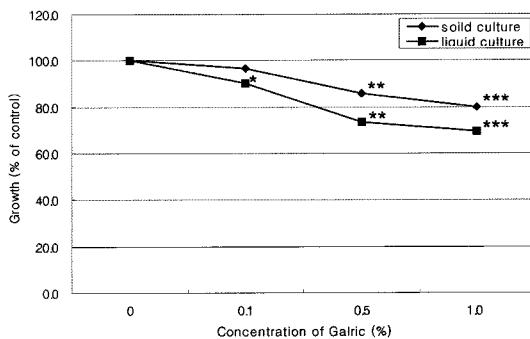


Fig. 1. Effect of garlic on the growth of *A. parasiticus* at a 9-day incubation period. Each point represents the mean±S.D. of six samples. * $P<0.05$ compared to control, ** $P<0.01$ compared to control, *** $P<0.001$ compared to control.

동결건조 마늘과 생마늘 사이에는 휘발성 유기성분의 조성에 큰 차이가 없으며 diallyl disulfide, diallyl trisulfide 등 생리활성을 나타내는 주요 황화물의 함량에도 큰 차이가 없어 동결건조가 마늘 특유의 향미에 영향을 미치지 않을 것이라는 보고가 있다.²⁰⁾ 본 연구에서 마늘첨가군 농도별로 *A. parasiticus*의 성장 억제가 비례적으로 관찰되므로 마늘의 동결건조가 이 곰팡이 균주의 성장을 억제하는데 영향을 미쳤을 것이라고 생각되지는 않는다.

본 연구에서는 합성 항생물질이 아닌 우리가 일상적으로 섭취하는 식품을 이용하여 유해 곰팡이인 *A. parasiticus*의 성장 억제효과를 관찰하였다. 그러나 완전한 억제 효과를 관찰하기 위해서 앞으로 마늘의 주성분 등을 이용한 더 자세한 연구가 필요하며 이에 대해서는 향후의 연구에 기대한다.

IV. 결 론

이 연구는 마늘이 유해곰팡이(*A. parasiticus*)의 성장에 미치는 억제 효과를 알아보기 위해 수행되었다. 동결건조(수율 38.4%)한 마늘(경북 의성산)을 농도별(0.1%, 0.5% 및 1.0%)로 첨가한 고체 배지(potato-dextrose agar)와 액체 배지(yeast-extract sucrose broth)에 *A. parasiticus*를 접종하여 25°C에서 15일간 배양하였다. *A. parasiticus*의 성장은 9일 후 가장 많이 억제되었으며, 고체 배양에서는 0.5% 및 1.0% 마늘첨가군에서 유의한 감소를($p<0.01$), 그리고 액체 배양에서는 0.1%, 0.5% 및 1.0% 마늘첨가군에서 유의한 감소를 보였다($p<0.05$). 고체 배양 및 액체 배양 모두 농도의존적 억제 효과를 나타내었다. 이로부터 마늘은 인체 섭취 수

준의 양에서도 *A. parasiticus*의 성장 억제에 효과적임을 알 수 있다. 마늘의 주효 성분을 이용한 자세한 연구가 더 필요하다.

감사의 글

이 연구는 계명대학교 대학원 학술연구논문장학금에 의한 것이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Mishra, H. N. and Das, C. : A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **43**, 245-264, 2003.
- Smith, J. E. and Moss, M. O. : Mycotoxins, formation, analysis and significance, John Wiley & Sons, New York, 60-65, 1985.
- Kim, J. G. : Food hygiene and sanitation, Sihinkwang Publishing Co., Seoul, 210-214, 2006 (Korean).
- Kim, J. G. and Lee, Y. W. : Grain development and aflatoxin B1 accumulation in preharvest rice inoculated with *Aspergillus parasiticus*. *Journal of Food Protection* **59**(12), 1318-1321, 1996.
- Kim, J. G. : Occurrence of aflatoxins in rice and rice products and by-products of rice: a review. *Korean Journal of Environmental Health*, **32**(5), 515-521, 2006.
- Wilson, C. L. and Droby, S. : Microbial food contamination, CRC Press, New York, 151-154, 2001.
- Bachmann, F. M. : The inhibiting action of certain spices on the growth of microorganism. *The Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **7**(8), 620-623, 1916.
- Cavallito, C. J., Buck, J. S. and Suter, C. M. : Alliin, the antibacterial principle of *Allium sativum*, II. Determination of the chemical structure. *Journal of the American Chemical Society*, **66**, 1952-1954, 1944.
- Jeong, D. H. and Jeong, S. W. : The science of garlic, World Science, Seoul, 52, 2005 (Korean).
- Sheo, H. J. : The antibacterial action of garlic, onion, and red pepper juice. *Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition*, **28**(1), 94-99, 1999 (Korean).
- Kim, J. G. and Lee, K. M. : Inhibitory effect of Korean fermented vegetable (kimchi) on the growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* Part 1. *Journal of Environmental Health Sciences* **33**(3), 190-194, 2007.
- Kim, J. G., Lee, Y. W., Kim, P. G., Roh, W. S. and Shintani, H. : Reduction of aflatoxins by Korean soybean paste and its effect on cytotoxicity and reproductive toxicity-part 1. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by Korean soybean paste (doen-jang) and identification of the active component. *Journal of Food Protection*, **63**, 1295-1298, 2000.
- Buchanan, R. L. and Ayres, J. C. : Effect of initial pH on aflatoxin production. *Applied Microbiology*, **30**(6), 1050-1051, 1975.
- Gowda, N. K. S., Malathi, V. and Suganthi, R. U. : Effect of some chemical and herbal compounds on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production. *Animal Feed Science and Technology*, **116**, 281-291, 2004.
- Graham, H. D. and Graham, E. J. F. : Inhibition of *Aspergillus parasiticus* growth and toxin production by garlic. *Journal of Food Safety*, **8**(2), 101-108, 1987.
- Woo, Y. S. and Chung, D. H. : The effects of garlic (*Allium sativum* L.) extract on growth, lipid and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* R-716. *Korean Journal of Environmental Health*, **10**(2), 89-97, 1984 (Korean).
- Garcia, R. P. and Garcia, M. I. : Laboratory evaluation of plant extracts for the control of *Aspergillus* growth and aflatoxin formation. *Proceedings of the Japanese Association of Mycotoxicology Supplement*, **1**, 190-193, 1988.
- Yamata, Y. and Azuma, K. : Evaluation of the in vitro antifungal activity of allicin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **11**(4), 743-749, 1977.
- Korea Ministry of Health and Welfare/Korea Health Industry Development Institute: The Third national Health & Nutrition Examination Survey, 123-134, 2005.
- Kim, Y. S., Seo, H. Y., No, K. M., Shim, S. L., Yang, S. H., Park, E. R. and Kim, K. S. : Comparison of volatile organic components in fresh and freeze dried garlic. *Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition*, **34**(6), 885-891, 2005 (Korean).