J Korean Soc Food Sci Nutr
40(5), 660~664(2011)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2011.40.5.660

효소 처리와 유산균 배양에 의한 흑마늘의 항산화 활성 향상

채희정[1,2] · 박동일[1] · 이성철[1] · 오철환[3] · 오남순[3] · 김동청[4] · 원선임[4] · 인만진[4†]

[1]호서대학교 식품생물공학과, [2]내추럴초이스(주), [3]공주대학교 식품공학과
[4]청운대학교 식품영양학과 및 국제 바이오 · 건강과학연구소

Improvement of Antioxidative Activity by Enzyme Treatment and Lactic Acid Bacteria Cultivation in Black Garlic

Hee Jeong Chae[1,2], Dong-Il Park[1], Sung-Chul Lee[1], Chul-Hwan Oh[3], Nam-Soon Oh[3], Dong Chung Kim[4], Sun Im Won[4], and Man-Jin In[4†]

[1]Dept. of Food and Biotechnology, Hoseo University, Chungnam 336-795, Korea
[2]Natural Choice Co., Ltd., Chungnam 336-795, Korea
[3]Dept. of Food Science and Technology, Kongju National University, Chungnam 340-801, Korea
[4]Dept. of Human Nutrition and Food Science and International Institute of Bio and Health Science, Chungwoon University, Chungnam 350-701, Korea

Abstract

We investigated the improvement of the antioxidative activity of black garlic with enzymatic treatment and lactic acid bacteria cultivation conditions. Celluclast, a commercially-available polysaccharide hydrolyase, was selected to obtain high total polyphenol content in a black garlic suspension. A lactic acid bacterial strain showing fast growth and high acid production in a black garlic suspension was isolated from *Kimchi*. This strain was identified as *Lactobacillus pentosus* 310-7. Enzymatically hydrolyzed black garlic was fermented using the *L. pentosus* 310-7 strain at 30°C for 15 hr. The pH and titratable acidity achieved were 4.24 and 0.35%, respectively, after 15 hr fermentation. The viable cell population of *L. pentosus* 310-7 slowly increased to 7.54 log CFU/g. The polyphenolic compound content, known antioxidants, in black garlic was enhanced with Celluclast treatment and *L. pentosus* 310-7 cultivation. Total polyphenolic compounds were increased to approximately 60% of the initial concentration, and electron donating ability was also improved, from 39.8 to 65.9%.

Key words: antioxidative activity, black garlic, Celluclast, *Lactobacillus pentsus*

서 론

백합과에 속하는 1년생 초본 작물인 마늘(*Allium sativum* L.)은 우리나라의 대표적인 향신료의 하나로 단순한 양념뿐만 아니라 다양한 생리적인 기능성 성분이 함유되어 국민건강을 지키는데 중요한 역할을 하는 식품재료이다. 마늘의 일반성분은 수분 60.4%, 단백질 3%, 지질 0.5%, 당질 34%, 섬유소 0.8%, 무기질 1.3%이며, 그밖에 미량성분으로 마늘 특유의 냄새와 매운 맛 성분인 allicin, 체내 신진대사를 촉진시키는 scordinine, 항암 및 혈전의 생성을 예방하는 효과가 있는 ajoene 등이 대표적인 특수성분이다. 마늘의 중요한 생리활성으로는 항균, 항암, 항바이러스, 항산화, 면역증강, 혈액응고 억제, 스테미나 증강, 체질개선, 성인병 예방, 간기능 회복, 피부미용, 혈당치 감소 작용, 고지혈증 및 동맥경화증 개선, 뇌기능 향상 등이 알려져 있다(1-4). 마늘은 다양한 생리활성 성분을 함유하고 있으나 특유의 자극적인 냄새와 맛이 있어 다양한 생리활성을 나타내기에 충분한 양을 지속적으로 섭취하기 어려운 단점이 있으며, 거부감 없이 범용적으로 소비될 수 있는 마늘 가공식품은 크게 부족한 실정이다. 최근, 가열과 숙성으로 마늘의 자극적인 향과 맛을 제거함과 동시에 내부까지 모두 흑색으로 변화시킨 '흑마늘'이 개발되어 다양한 가공식품과 화장품을 제조할 수 있는 소재로 주목받고 있다(5-7). 흑마늘은 열처리 및 숙성과정에서 마늘에 함유된 성분 간의 Maillard 반응에 의해 갈변물질이 생성되어 점차 검게 변한 것으로 감미는 증가되며, 마늘의 매운 맛과 향은 감소되어 마늘을 쉽게 섭취할 수 있도록 가공한 것이다(8). 생마늘이 흑마늘로 전환되는 과정에서 생마늘의 불안정하고 향이 강한 성분들이 보다 안정하고 냄새가 없는 물질(S-allylcysteine, S-allylmercaptocystein, tetrahydro-β-carboline, diallyl sulfide, diallyl disulfide, diallyl polysulfide, triallyl sulfide 등)로 변화되어 생마늘보다 항산화 활성이 향상되며(9,10), 산화적 스트레스 예방 효과, 항염

†Corresponding author. E-mail: manjin@chungwoon.ac.kr
Phone: 82-41-630-3278, Fax: 82-41-632-3278

증 및 항암 활성, 숙취 제거효과 등이 있음이 보고되어 있다(11-13).

동·서양의 전통 발효식품에서 중요한 역할을 담당한 유산균은 정장, 항암, 면역증진, 항균 등 다양한 생리활성이 알려져 있으며, 다양한 발효식품으로 또는 생균제의 형태로 섭취되어 우리 몸에 유익한 작용을 하는 probiotics의 대표적인 미생물이다(14). 최근에는 유산균을 이용한 발효식품으로 요구르트와 같은 동물성 발효식품뿐만 아니라 곡류, 과채류를 발효시킨 식물성 probiotic food까지 관심이 집중되고 있다(15).

따라서 기능성 향상을 통하여 식품 및 화장품 분야에서 흑마늘의 활용도를 확장시키고 흑마늘을 식물성 probiotic food로 개발하기 위하여 흑마늘 현탁액에서 빠른 생육을 보이며 유산균의 고유 특성인 젖산의 생성이 우수한 균주를 김치로부터 분리, 동정하였다. 또한 분리한 유산균을 이용하여 흑마늘 효소분해물에 배양하면서 생육특성을 조사하는 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

유산균의 분리에 사용한 배추김치는 홍성의 대형마트에서 구입하였으며, 마늘은 2009년 수확한 충남 서산산 육쪽마늘을 사용하였다. 흑마늘은 기존의 제조방법(7)을 변형하여 제조하였다. 세척한 깐마늘을 수증기 오븐(Ocoo Co. Ltd., Anyang, Korea)에 넣어 80°C에서 70%의 상대습도를 유지하면서 10시간 숙성시킨 후 70°C 열풍건조기에서 건조시켜 흑마늘 분말을 제조하였다. 흑마늘 분해에 사용한 효소 Celluclast, Pectinex, Ceremix, Inulinase는 Novozyme (Bagsvaerd, Denmark), 미생물 분리, 배양 및 보존에 사용된 배지는 모두 Difco사(Detroit, MI, USA)의 제품이었다.

효소처리

흑마늘 분말을 증류수에 5%(w/w) 농도로 현탁하고 0.1 N NaOH 혹은 HCl을 사용하여 각 효소의 반응 최적 pH로 조정하였다. 효소를 흑마늘 중량 기준으로 1%(w/w) 첨가한 후 각 효소의 반응 최적온도에서 4시간 반응시킨 다음 가열하여 효소반응을 정지시키고 3,000×*g*로 10분간 원심분리하여 상등액을 얻고 이를 분석에 사용하였다.

유산균 분리 및 동정

김치 국물을 멸균 식염수에 혼합하여 10진법으로 적절하게 희석한 후 0.3% $CaCO_3$를 함유한 Lactobacilli MRS agar 평판에 도말하고 30°C에서 36시간 배양하였다(16). 산 생성이 우수하여 투명환을 크게 생성하는 colony를 1차로 선발하였으며, 선발된 균주를 흑마늘 효소분해액에 접종하여 30°C에서 15시간 진탕배양 후 적정산도가 높고 배양액의 맛과 향이 우수한 균주를 2차로 선발하였다. 최종 선발된 균주는 MRS agar 사면 배지에 보관하였으며 API 50 CHL kit (bioMerieux Inc., Marcy I'Etoile, France)와 16S rRNA의 염기서열 분석을 통하여 동정하였다(17).

유산균 배양

본 배양용 starter는 보관 중인 *L. pentosus* 310-7 균주를 Lactobacilli MRS broth(Difco Laboratories, Detroit, MI, UAS)에 1백금이 접종하여 30°C에서 15시간 동안 진탕 배양하여 준비하였다. 흑마늘 현탁액[4%(w/w)]에 Celluclast을 1.0%(w/w) 첨가하고 50°C에서 3시간 반응시킨 후 멸균하여 제조한 본배양 배지(흑마늘 효소분해물)에 미리 준비한 starter를 5%(v/v) 접종하고 30°C에서 150 rpm으로 진탕 배양하였다. 효소처리하지 않은 흑마늘 4%(w/w) 현탁액을 대조군으로 사용하였다. 발효액의 pH는 pH-meter(model 720P, istek, Seoul, Korea)를 이용하여 직접 측정하였다. 적정산도는 발효액 5 g에 멸균 증류수 45 g을 가하여 잘 혼합한 후 10 mL를 취하여 0.01 N NaOH로 적정하고 NaOH 소모량을 젖산으로 환산하여 나타내었다. 젖산균수는 평판에서 희석한 배양액 1 mL에 멸균한 MRS agar(Difco Laboratories) 배지를 부어 혼합하고 30°C에서 36시간 배양하여 형성된 colony를 계측하였다. 젖산균수를 시료 g당 colony forming units(CFU/g)로 나타내었다.

총당, 총 폴리페놀 함량 및 항산화 활성 측정

총당 함량은 포도당을 표준물질로 phenol-sulfuric acid법으로 측정하였다(18). 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법을 변형하여 측정하였다(10). 원심분리(3,000×*g*, 10분)로 불용성 물질을 제거한 후 10배 희석한 발효액 1.0 mL와 0.2 N Folin-Ciocalteu 시약 1.0 mL를 혼합하고 25°C에서 5분간 반응시킨 다음 6% $NaHCO_3$용액 1.0 mL를 가하였다. 90분 후 반응액의 흡광도를 725 nm에서 측정하였고, 표준물질로는 chlorogenic acid를 사용하였다. 총 폴리페놀 함량은 고형분 g당 μg chlorogenic acid 함량으로 나타내었다. 발효액의 항산화 활성은 DPPH radical의 소거활성을 Blois의 방법(19)을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 50배 희석한 발효액 0.2 mL에 0.2 mM DPPH 용액 0.4 mL와 에탄올 1.4 mL를 가하고 30분 후 517 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하였다. 발효액의 전자공여능은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였다.

통계처리

통계 분석은 Student's *t*-test를 이용하였고, 대조군에 대한 통계적 유의성은 $p<0.05$ 수준에서 각 실험군의 평균값으로 검증하였다.

결과 및 고찰

효소처리

흑마늘 현탁액에 다른 배지 성분을 추가하지 않고 마늘에

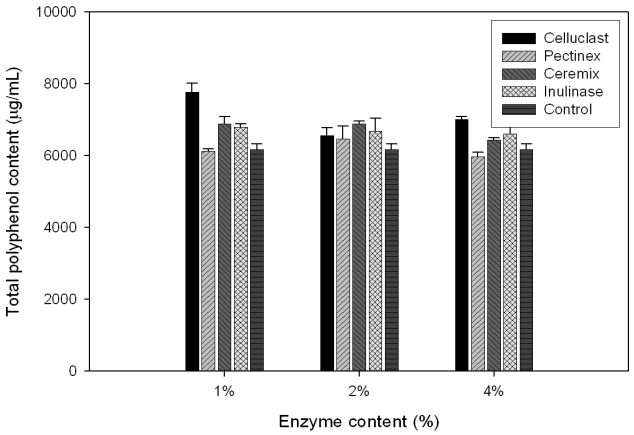

Fig. 1. Effect of enzyme concentration on total polyphenol content of garlic extract.

가장 많이 함유된 당류를 이용하여 유산균을 배양하기 위하여 흑마늘을 탄수화물 분해효소로 분해시켰다. 먼저 적합한 효소를 선별하기 위하여 5%(w/w) 흑마늘 현탁액에 상업용 탄수화물 효소를 고형분 기준으로 1% 첨가한 후 각 효소의 최적 반응조건에서 반응시키고 상등액의 총당과 총 폴리페놀 함량을 분석하였다. 그 결과 총당은 Celluclast>Ceremix >Inulinase>Pectinex>control의 순이었으며 또한 Celluclast를 흑마늘의 1%로 첨가하여 4시간 반응시킨 경우 총 폴리페놀 함량이 효소처리 전보다 약 26% 증가하였다(Fig. 1). 마늘 추출물을 제조하는 경우 Celluclast를 처리하면 추출수율이 향상되었다는 보고(20)와 잘 일치하였으며 흑마늘에서도 동일한 효과를 나타내었다. 이는 다른 상업용 탄수화물 분해효소에 비하여 Celluclast가 *Trichoderma reesei* 기원의 cellulase이므로 흑마늘의 세포벽 성분 중 cellulose를 가용성의 포도당, cellobiose 등으로 분해시킨 결과로 판단된다. 또한 효소처리에 의한 총 폴리페놀 함량의 증가는 고분자 성분(다당류, 단백질 등)과 결합한 페놀성 화합물이 효소처리 과정에서 분해되어 저분자 페놀성 화합물로 전환되었기 때문(21)인 것으로 사료된다.

유산균 배양

흑마늘 효소분해물에서 starter로 사용할 유산균을 선발, 동정하였다. 선발된 균주를 흑마늘 효소분해물에서 배양한 결과 배양액은 pH 3.94, 적정산도 0.39%였으며 신맛과 단맛이 조화되어 관능적으로도 우수하였다. 선발된 균주를 API 50 CHL kit와 16S rRNA의 염기서열 분석을 통하여 동정하였다. API 50 CHL에 의한 탄수화물 발효성 실험 결과를 (Table 1) ATB identification program으로 분석하고 16S rRNA의 염기서열 분석을 수행한 결과(Fig. 2), 본 연구에서 분리한 균주는 *Lactobacillus pentosus*와 99% 유사한 것으로 판명되어 *L. pentosus* 310-7로 명명하였다.

흑마늘 현탁액에 Celluclast을 1.0%(w/w) 첨가하고 50°C에서 3시간 반응시킨 후 멸균하여 흑마늘 효소분해물을 준비하고 *L. pentosus* 310-7을 접종하고 30°C에서 진탕 배양하면서 3시간 간격으로 젖산균수, 적정산도와 pH의 변화를 측정하였다(Fig. 3). 이때 효소처리 하지 않은 흑마늘 현탁액을 대조군으로 사용하여 비교하였다. 발효시간에 따른 배양액의 pH는 배양 15시간까지 지속적으로 감소하였으며(pH 5.24→pH 4.24), 대조군에서도 유사한 경향을 보였으나 15시간 후 pH는 4.42로 소폭 감소하였다. 적정산도는 pH의 변화 경향과 유사하여 배양 과정에서 지속적으로 증가하여 배양 15시간에 0.35%를 기록하여 균주 선발시의 결과와 유사하였다. 대조군은 배양 15시간 이후 0.31%로 큰 차이가 없었다. 흑마늘 효소분해물과 대조군에서 *L. pentosus* 310-7 균주의 젖산균수는 유사하게 접종 후 7.08 log CFU/g에서 15시간에 7.54 log CFU/g까지 유사하게 지속적으로 증가하였다. 흑마늘 배지에서 *L. pentosus* 310-7 균주의 젖산균수는 *L. plantarum*을 마늘에 24시간 배양한 결과(22)보다 다소 낮으나 본 연구는 특별한 배지 성분의 추가 없이 증식한 것으로 마늘에 yeast extract를 첨가한 경우 젖산균수가 증가한 *L. casei* KFRI 704 균주와 같이(22) *L. pentosus* 310-7 균주도 흑마늘에서 젖산균수를 높이기 위한 추가성분에 관한 연구가 필요하다.

Table 1. Carbohydrate fermentation of the strain 310-7 isolated from *Kimchi*

Carbohydrate	Reaction	Carbohydrate	Reaction
Control	−	Esculine	+
Glycerol	−	Salicine	+
Erythritol	−	Cellobiose	+
D-Arabinose	−	Maltose	+
L-Arabinose	+	Lactose	+
Ribose	+	Melibiose	−
D-Xylose	−	Saccharose	−
L-Xylose	−	Trehalose	+
Adonitol	−	Inuline	−
Methyl-β-xyloside	−	Melezitose	+
D-Galactose	+	D-Raffinose	−
D-Glucose	+	Amidon	−
D-Fructose	+	Glycogene	−
D-Mannose	+	Xylitol	−
L-Sorbose	−	β-Gentiobiose	+
Rhamnose	−	D-Turanose	−
Dulcitol	−	D-Lyxose	−
Inositol	−	D-Tagatose	−
Mannitol	+	D-Fucose	−
Sorbitol	+	L-Fucose	−
Ethyl-α-D-mannoside	−	D-Arabitol	−
Methyl-α-D-glucoside	+	L-Arabitol	−
N-Acetylglucosamine	+	Gluconate	−
Amygdaline	+	2-Keto-gluconate	−
Arbutine	−	5-Keto-gluconate	−

+: positive reaction, −: negative reaction.

흑마늘 발효액의 항산화 활성

흑마늘과 흑마늘 효소처리물에서 유산균 발효에 의한 생리적인 기능성의 차이를 확인하기 위하여 각각의 총 폴리페놀 함량과 항산화 활성을 측정하였다. 항산화 활성은 DPPH

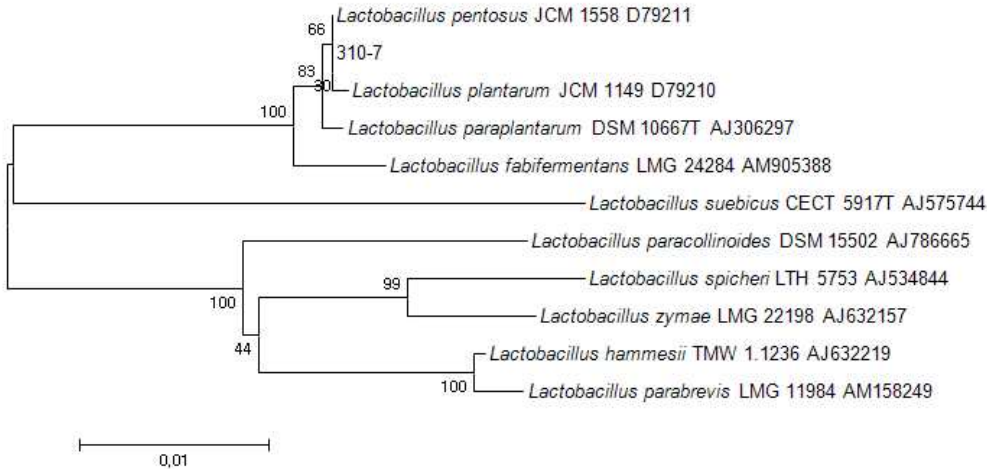

Fig. 2. Phylogenetic tree based on 16S rRNA sequences showing the positions of *Lactobacillus pentosus* 310-7, *Lactobacillus* species and some other related taxa.

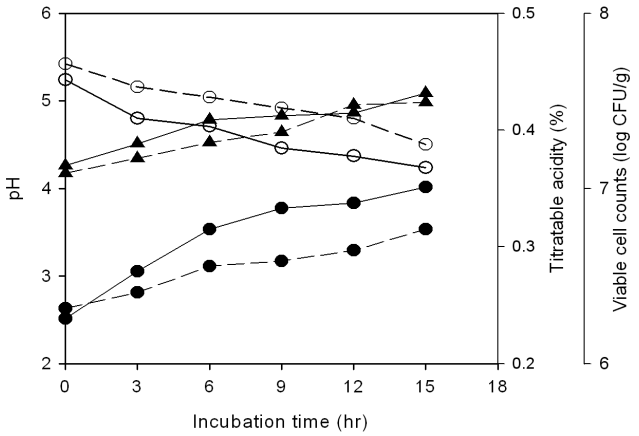

Fig. 3. Changes of growth (▲) of *Lactobacillus pentosus* 310-7 and in the titratable acidity (●) and pH (○) of the enzymatic hydrolyzed-black garlic suspension (solid line) and black garlic suspension (broken line) during lactic acid fermentation at 30°C.

Table 2. Effect of enzyme treatment and *Lactobacillus pentosus* 310-7 fermentation on antioxidative activity and total polyphenol content in black garlic

	Total polyphenol content (μg/g)	Electron donating ability (%)
Control[1)]	7.23±1.37[2)]	39.78±2.54
Enzyme treatment	10.60±0.048*	49.49±11.82
Fermentation	9.31±0.77	49.81±6.71
Enzyme treatment →Fermentation	11.47±0.78*	65.86±10.05*

[1)]Fresh black garlic.
[2)]Means±SD. *$p<0.05$

radical 소거활성 방법으로 분석하였다. 그 결과(Table 2), 흑마늘의 총 폴리페놀 함량은 7.23 μg/g, 효소처리에 의하여 10.60 μg/g으로 47% 증가하였으며, 효소처리 후 *L. pentosus* 310-7 균주로 15시간 발효시킨 결과 11.47 μg/g으로 59% 증가하였다. 그러나 효소처리 없이 *L. pentosus* 310-7 균주만으로 발효시키면 총 폴리페놀 함량은 29%만 증가하였다. 이러한 증가는 효소처리와 유산균 발효에 의하여 저분자 폴리페놀 화합물의 증가(21)는 기인하는 것이며, 배 파쇄물에서 *L. mesenteroides* KACC 91495P 균주의 배양으로 총 폴리페놀 함량이 증가하였다는 보고(23)와 일치하는 결과이다. 동시에 흑마늘 효소처리 발효액의 DPPH radical 소거활성은 총 폴리페놀 함량의 증가에 비례하여 39.78%에서 65.86%로 유의성 있게 향상되었다. 이상의 결과는 페놀성 화합물은 항산화 작용을 하는 대표적인 성분이므로 총 폴리페놀 함량과 항산화 활성이 비례한다는 기존의 보고(21,24)와 잘 일치하며, 효소처리와 *L. pentosus* 310-7 유산균의 배양으로 흑마늘의 생리활성이 향상됨을 의미한다. 일반적으로 미생물의 생육을 억제하는 마늘의 항균효과가 알려져 있으나 마늘에서 유산균 발효가 마늘의 저장성을 향상시킨다는 보고(25)와 본 연구결과를 고려하면 흑마늘의 유산균 발효도 심도 있는 연구가 필요한 분야라고 사료된다.

요 약

마늘에 가장 많이 함유된 당류를 이용하여 유산균을 배양하기 위하여 흑마늘을 분해하여 당과 폴리페놀 함량을 최대로 증가시키는 상업용 탄수화물 분해효소로 Celluclast를 선별하였다. 또한 김치로부터 흑마늘 효소분해물에서 생육과 산 생성이 우수한 유산균을 선발하였다. 선발된 균주는 *Lactobacillus pentosus*로 동정되었으며, *L. pentosus* 310-7로 명명하였다. *L. pentosus* 310-7 균주를 흑마늘 효소분해물에 접종한 후 pH, 적정산도, 젖산균수의 변화를 경시적으로 분석하였다. 배양액의 pH는 배양 15시간까지 pH 4.24로 지속적으로 감소하였으며, 적정산도는 배양 15시간에 0.35%까지 지속적으로 증가하였다. 젖산균수는 접종 후 7.08 log CFU/g에서 15시간에 7.54 log CFU/g까지 완만하게 증가하였으며 효소처리가 유산균의 증식에는 효과가 없었다. 그러

나 효소처리 후 *L. pentosus* 310-7 균주로 15시간 발효시킨 발효액의 총 폴리페놀 함량은 7.23 μg/g에서 11.47 μg/g으로 약 60% 증가하였으며 따라서 DPPH radical 소거활성도 향상되었다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부와 한국산업기술진흥원의 지역산업기술개발사업 및 2011년 청운대학교 학술연구조성비의 지원으로 수행된 연구결과입니다.

문 헌

1. Kim HK, Kwak HJ, Kim KH. 2002. Physiological activity and antioxidative effect of garlic (*Allium sativum* L.) extract. *Food Sci Biotechnol* 11: 500-506.
2. Song K, Milner JA. 2001. The influence of heating on the anticancer properties of garlic. *J Nutr* 131: 1054S-1057S.
3. Nakagawa H, Tsuta K, Kiuchi K, Senzaki H, Tanaka K, Hioki K, Tsubura A. 2001. Growth inhibitory effects of diallyl disulfide on human breast cancer cell lines. *Carcinogenesis* 22: 891-897.
4. Kyung KH. 2006. Growth inhibitory activity of sulfur compounds of garlic against pathogenic microorganisms. *J Fd Hyg Safety* 21: 145-152.
5. Kwak ES, Kim HR, Lee K, Kim MR. 2009. Antioxidant activities and quality characteristics of fermented and aged garlic yanggeng. *Korean J Food Cookery Sci* 25: 739-746.
6. Shin J, Joo N. 2010. Processing optimization of chocolate with fermented and aged garlic extract. *Korean J Food Culture* 25: 216-224.
7. Jung EY, Hong YH, Kin SH, Suh HJ. 2010. Physiological effects of formulations added with black garlic extract on skin care: oxidative stress, tyrosinase and elastase activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 662-668.
8. Choi DJ, Lee SJ, Kang MJ, Cho HS, Sung NJ, Shin JH. 2008. Physicochemical characteristics of black garlic (*Allium sativum* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 465-471.
9. Sato E, Kohno M, Hamano H, Niwano Y. 2006. Increased anti-oxidative potency of garlic by spontaneous short-term fermentation. *Plant Foods Human Nutr* 61: 157-160.
10. Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Sung NJ. 2008. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 965-971.
11. Pedraza-Chaverri J, Medina-Campos ON, Segoviano-Murillo S. 2007. Effect of heating on peroxynitrite scavenging capacity of garlic. *Food Chem Toxicol* 45: 622-627.
12. Lee SJ, Nam H, Kim MM, Jang HJ, Park JA, Kim BW, Chung KT. 2010. *In vitro* inhibitory effect of aged black garlic extract with antioxidant activity on MMP-2 and MMP-9 related to metastasis. *J Life Sci* 20: 760-767.
13. Yang ST. 2010. Effects of aged black garlic extract on ethanol induced hangover in rats. *J Life Sci* 20: 225-230.
14. Goldin BR. 1998. Health benefits of probiotics. *Br J Nutr* 80: 203-207.
15. Blandino A, Al-Aseeri ME, Pandiella SS, Cantero D, Webb C. 2003. Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Res Int* 36: 527-543.
16. Lim SM, Im DS. 2009. Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods. *J Microbiol Biotechnol* 19: 178-186.
17. Yoon JH, Lee ST, Park YH. 1998. Inter- and intraspecific phylogenetic analysis of the genus *Nocardioides* and related taxa based on 16S rDNA sequences. *Int J Syst Bacteriol* 48: 187-194.
18. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28: 350-356.
19. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1203.
20. Cho JS, Kim DH, Kim WJ. 1999. Effects of salts, acidulants and carbohydrolase on extraction yield and color change of garlic. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1211-1215.
21. Hwang IG, Woo KS, Kim TM, Kim DJ, Yang MH, Jeong HS. 2006. Change of physicochemical characteristics of Korean pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) juice with heat treatment conditions. *Korean J Food Sci Technol* 38: 342-347.
22. Kim YS, Baek HH, Chung IM, Kwon B, Ji GE. 2009. Garlic fermentation by lactic acid bacteria. *Food Sci Biotechnol* 18: 1279-1283.
23. In MJ, Kim HM, Jin HJ, Kim DC, Oh NS, Chae HJ. 2010. Production of a fermented Korean pear puree using a new strain *Leuconostoc mesenteroides* KACC 91495P isolated from *Kimchi*. *J Appl Biol Chem* 53: 51-55.
24. Zhang YB, Bae MJ, An BJ, Choi HJ, Bae JH, Kim S, Choi C. 2003. Effect of antioxidant activity and change in quality of chemical composition and polyphenol compound during long-term storage. *Korean J Food Sci Technol* 35: 115-120.
25. de Castro A, Montano A, Sanchez H, Rejano L. 1998. Lactic acid fermentation and storage of blanched garlic. *Int J Food Microbiol* 39: 205-211.

(2011년 3월 16일 접수; 2011년 4월 14일 채택)