

마늘 추출물의 약리적 특성 및 분석

성기천[†]

[†]대진대학교 공과대학 화학공학과
(2007년 4월 15일 접수 ; 2007년 9월 10일 접수)

Pharmaceutical Characteristics and Analysis of Garlic Extract

Ki-Chun Sung[†]

[†]Department of Chemical Engineering, Daejin University, Pochun 487-711, Korea
(Received April 15, 2007 ; Accepted September 10, 2007)

Abstract : From the experiment result on pharmaceutical characteristics and analysis of Garlic extract, some conclusions were obtained as follows. From the results on extract experiment of Garlic, extraction ratio was about 6.0%, and after dried with dry oven from Garlic extract, it obtained about 50%-Garlic extract of solid state. From results on antimicrobial experiment of Garlic extract, number of staphylococcus and fungus in microbe decreased more and more according to time passage. This phenomenon showed that Garlic extract keeps antimicrobial effect. From results on antioxidation experiment of Garlic extract, DPPH scavenging activity of free radical showed that Garlic extract appears more remarkable reduction ability than reference samples. This phenomenon means that antioxidation of Garlic extract appears higher than Vitamin-C and BHA. From results on instrument analysis, inorganic components of K, Na, Ca, Si, Mg, Zn etc from Garlic extract were detected with ICP/OES and the fatty and aromatic components of trimethyl sulfide, diallyl disulfide, diallyl trisulfide, 2-mercaptobenzothiazole etc from Garlic extract were detected with GC/MS.

Keywords : Garlic extract, extraction ratio, antimicrobial effect, antioxidation, DPPH scavenging activity.

1. 서론

백합과(Liliaceae)에 속하는 마늘(Garlic : 蒜)은 학명이 *Allium Sativum* L. 로 기록되어 있으며, 예로부터 건강식품이나 한방의약품 및 한방화장품의 기능성 재료로 사용되어 왔다[1]. 역사적으로 마늘은 BC 1,500년경 피라미드 건설에 동원된 이집트인이나 유태인들이 사용한

적이 있으며, BC 460-370년경 Hippocrates는 감염증을 비롯한 질병치료에 마늘을 사용한 기록이 전해 오고 있다[2]. 한나라시대 장건은 마늘을 서역에서 들여와 대산(大蒜) 또는 호산(胡蒜)이라 하였다. 단군신화에서 마늘은 일반 식용이나 약용식물로 사용한 기록이 전해지고 있다. Schweitzer는 아프리카에서 콜레라와 장티푸스의 질병치료에 마늘을 사용한 적이 있었고, 제2차 세계대전 중 러시아에서는 마늘을 상처 치료에 사용하였다. 마늘의 원산지는 중앙아시아

[†]주저자(e-mail : kcsung@daejin.ac.kr)

아와 지중해연안으로 전해오고 있으며, 그 이후 유럽, 아프리카, 북미, 인도, 중국, 일본이나 한반도 등의 지역에서 광범위하게 재배하여 왔다 [3]. 마늘은 한해살이 식물로 잎과 줄기가 있고, 잎은 연한 녹색을 띄며, 60cm크기의 잎과 줄기에는 5-6쪽의 마늘이 연한 황색이나 흰색의 껍질로 싸여져 있다. 일반적으로 국내에서 마늘의 재배는 10월 중순에 파종하여, 그 다음해 5월 중순에 수확을 하며, 재배지형에 따라 난지형과 한지형이 있다. 따뜻한 해안이나 저위도 지역에서 재배되는 마늘은 난지형으로 서천종, 남해종, 고흥종이 있고, 내륙이나 고위도 지역에서 재배되는 마늘은 한지형으로 삼척종, 단양종, 의성종이 있다. 특히 마늘은 천연의 냄새(odor)와 맛(taste), 그리고 약리적 특성(pharmaceutical characteristics)을 가지며, 마늘을 분석한 자료에 의하면 마늘은 수분, 탄수화물, 섬유소, 단백질, 아미노산, 비타민, 무기 및 유기물질 등의 성분이 Table 1에서와 같이 함유되어 있고, 마늘성분의 특징은 다른 약용식물에 비교하여 수분함량이 낮고, 황화합물의 함량이 비교적 높은 것으로 나타나 있다.

마늘의 약리적 특성은 항균 및 살균작용, 항암작용, 항산화작용, 고혈압 강하작용, 인체소화 촉진작용, 당뇨 개선작용, 항알러지작용, 인체해독작용, 피부노화 및 질환 억제작용 등이 있으며[4-7], 특히 유기 및 무기 성분으로 알리신(allicin), 게르마늄(germanium), 셀레늄(selenium), 시스테인(cysteine)등의 함유로 인하여 항미생물작용, 암세포 성장 억제작용, 항알러지작용이 있는 것으로 알려져 있다[8,9]. 마늘에 대한 연구는 1844년 독일의 Theodor Werthein은 마늘을 유기용매로 추출하여, 마늘의 유효성분을 분리하였고, 마늘성분 중 알리신이라는 물질은 강력한 항균력을 갖는 동시에

자극성 냄새를 갖는다고 하였다. 1936년경 Walton은 상처 난 마늘에서 미생물의 성장을 억제하는 물질이 존재하며, 이 물질을 알리신(allicin)이라고 밝혔다.

1944년 Cavallito와 Bailey[10]는 마늘에서 최초 항미생물 활성을 나타내는 주성분을 분리하였다. 영국 옥스퍼드대학 식품연구소에서 연구한 자료에 의하면 마늘을 섭취한 후 수시간 내에 진한 농도의 혈액이 낮은 농도의 혈액으로 용해되는 현상이 확인되었고, 이러한 현상은 2-4주후 인체 내 심근경색이나 뇌경색과 관련된 혈소판 응집이 저하되는 현상을 밝혔다. 일본 동경대학 의학부에서 야마구찌 교수는 20대 여성 15명에게 4일간 마늘을 복용한 결과 혈소판 응집현상이 15-20%정도 감소한다는 결과를 얻었다. 이러한 현상들은 마늘이 고혈압 강하작용에도 영향이 있음을 알 수 있다. 1991년 Stoll과 Seebeak[11]은 생마늘에서 무취, 무미의 알린(alliin)이 공기중에서 분해될 경우 마늘내에 존재하는 알린아제(allinase)에 의해 알리신(allicin)으로 화학적 구조가 Fig.1에서와 같이 변화되는데 자극성 냄새와 매운 맛이 나타나는 것으로 알려져 있다.

일반적으로 마늘내에 존재하는 알린의 함유량은 마늘의 품종에 따라 다르고, 같은 품종의 경우 마늘의 산지에 따라 다르게 나타나 있다. 국내산 의성종의 경우 1.0g의 마늘에 대략 2.8-7.7mg의 알린이 함유되어 있다. Block등[12]은 마늘의 성분에서 얻어진 thiosulfinates의 경우 아릴기와 메틸기의 구성비율에 대해서는 재배된 기후조건에 따라 차이가 있으며, 추운 지역에서 재배된 마늘이 따뜻한 지역에서 재배된 마늘보다 아릴기의 비율이 높다고 하였다. 이러한 아릴기의 배합비율에 대한 차이는 마늘의 특성에도 영향이 있는 것으로 알려져 있다.

Table 1. General Composition of Garlic Component

Component	Composition(%)	Component	Composition(%)
water	60.0-65.0	organosulfur compounds	1.0-3.0
carbohydrates	20.0-25.0	alkyl cysteine sulfoxide	0.6-1.0
fiber	1.5	glutamyl cysteine	0.5-1.5
protein	1.5-2.0	sulfur	0.2-0.3
amino acid	1.0-1.5	nitrogen	0.6-1.2
alkyl cysteine	0.001-0.003	others	p,q

단, p,q ; proper quantity(적량).

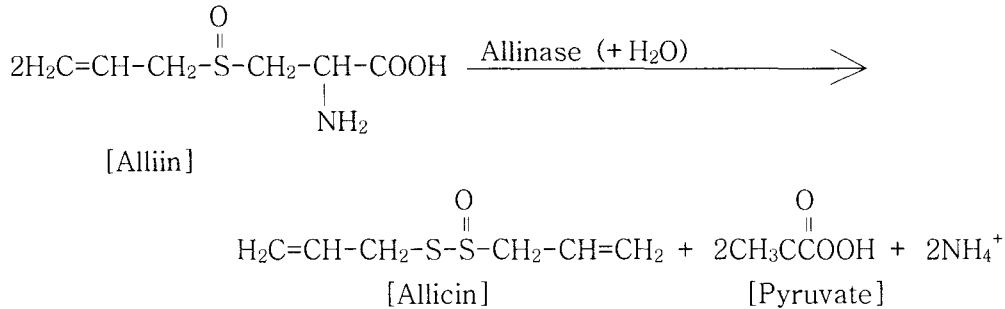


Fig. 1. Chemical structure of allicin from alliin by allinase.

Yu와 Mu등[13]의 보고에 의하면 마늘을 분쇄할 경우 알리신에 의해 분해되어 생성된 알리신은 매우 불안정하여 상온에서 약 4일정도 경과하면 그 효능이 소실된다고 하였고, Ogawa등[14]은 마늘의 성분중 함유된 diallyl disulfide 의 항 미생물 활성은 황의 함량에 따라 그 효능이 변화한다고 하였다.

본 연구는 천연의 마늘을 용매인 에탄올로 추출하여 얻어진 마늘 성분을 회전식 진공 증발기와 건조기를 사용하여 마늘 추출물을 분리하였고, 마늘 추출물의 약리적 특성으로 항균실험과 항산화실험을 하였으며, 기기분석으로 무기 및 유기성분을 확인하고자 실험하였다.

2. 실험

2.1. 재료 및 기기

본 실험에서 마늘(*Allium Sativum L.*)은 경북 의성군에서 재배한 마늘을 물로 세척한 다음 소립자 상태로 분쇄하여, 이를 실험재료로 사용하였고, 추출실험에서 유기용매는 93%-에탄올(Korea)을 사용하였다. 건조실험은 유체상태의 마늘을 Dry Oven(model No. TWD-550, Korea)으로 사용하였다.

본 특성실험은 마늘의 항균실험과 항산화실험에 관해서 검토하였다. 항균실험에 사용된 균주는 *staphylococcus(KCCM-01)*과 *fungus(KCCM-02)*균으로 한국 미생물 보존센터(KCCM)에서 구입, 사용하였다. 미생물 실험에서 천연 배지는 시약용으로 beef extract(Difco. Lab., USA) 0.3g, peptone(Difco. Lab., USA) 0.5g, agar(Difco. Lab., USA) 1.5g과 NaCl(Dae

Jung Co., Korea) 0.8g에 증류수(distilled water, Korea)를 가하여 전체용액을 100.0mL로 만들어, 이를 액체배지로 사용하였다. 항산화실험에서 시약은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl ; Sigma Co., USA)와 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 사용하였고, 비교실험에는 Vitamin-C(Korea)와 BHA(Korea)를 사용하였다. 마늘의 추출기기는 natural extraction equipment(Korea)와 rotary vaccum evaporator(model No. NE-101S Eyela Co., Japan)를 사용하였고, 미생물 측정기기는 Shaking incubator(LMI-3004, PL. Labtec. Co., Korea), Colony counter(CC-109, Dong Yang SCi. Co., Korea)를 각각 사용하였다.

마늘의 분석에 사용된 분석기기는 Gas chromatography/Mass spectrometry(model No. HP-6890, Hewlet Packard Co., USA)와 Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry(model No. Optimar-2000, DV., Perkin Etmar Co., USA)을 각각 유기 및 무기 분석에 사용하였다.

2.2. 추출실험

본 실험은 마늘 500.0g에 유기용매인 에탄올 2500.0mL를 천연물 추출장치에 넣고 추출온도 78°C, 추출시간 약 3시간동안 water bath내에서 농축시켜 3회 반복 추출하였다. 천연물 추출장치 내에서 추출된 마늘 추출액은 여과장치를 사용하여, 고형의 마늘 성분을 제거한 후 얻어진 마늘 추출액을 회전식 진공증발기(rotary vaccum evaporator)를 사용하였고, 휘발성 에탄올 성분을 증발시켜, 유체상태의 마늘 추출물 약 180.0g을 얻었다.

2.3. 건조실험

본 마늘의 추출실험에서 얻어진 유체상태의 마늘 추출물을 건조기 내에서 건조온도 100℃, 건조시간 60분경과 후 수분을 증발시켜 분말상태의 마늘 추출물 약 90.0g을 얻었다.

2.4. 항균실험

본 실험은 마늘 추출물 1.0g에 증류수 100.0mL를 희석시켜, 이를 1% 시료용액으로 하고, 다시 천연배지 100.0mL를 120℃가열하여 액체상태로 용해한 다음 시료용액 1.0g과 천연배지 10.0mL씩을 취하여 42℃에서 혼합하고, 여기에 staphylococcus(KCCM-01)균과 fungus(KCCM-02)균을 각각 10.0×20 CFU/mL씩을 혼합, 접종시켜 이미 멸균시킨 petri-dish내에 넣고, 상온에서 이를 고형화시킨다. 본 배양실험은 배양온도 36℃, 배양시간 120hrs(5일)동안 항온조 내에서 마늘의 시료용액이 시간경과에 따른 미생물의 생균수를 측정한다. 여기서, 대조군은 시료용액에 마늘 추출물을 첨가하지 않고 증류수만을 사용하여 실험한 건본이다.

그리고 CFU는 Colony Formation Unit로 균 집형성 단위의 약어이다.

2.5. 항산화실험

마늘의 항산화실험은 Blois 측정방법[15]에 의해 마늘 추출물의 DMSO용액과 DPPH를 이용한 자유기(free radical)의 소거력(scavenging activity)를 측정하는 실험방법이다. 마늘추출물 1,

10, 100, 1000μg을 용매인 DMSO 1mL에 용해시킨 마늘 추출물의 DMSO용액과 에탄올 3.0×10⁴M에 1×10⁴M-DPPH를 가하여 만든 300 μm-DPPH에탄올 용액을 혼합하고, 36℃에서 30분간 반응시킨 후 515nm에서 흡광도를 측정한다. 같은 방법으로 마늘 추출물, Vitamin-C와 BHA를 비교, 실험하였다.

2.6. 기기분석

2.6.1. ICP/OES 측정

마늘의 무기성분을 확인하기 위하여 마늘 추출물 1.0g에 용매인 증류수 1,000mL를 가하여

용해시킨 시료용액을 다음과 같은 ICP/OES 분석기기(유도 결합 플라즈마 분광기)를 사용하여 측정하였다. 본 분석기기는 28종의 표준원소인 Ag, Al, As, B, Ba, Be, Ca, Co, Cd, Cr, Cu, K, Li, Fe, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Si, Sr, Ti, Tl, V, Zn를 사용하여 측정하였다.

2.6.2. GC/MS 측정

마늘의 유기성분을 확인하기 위하여 마늘 추출물 1.0g에 용매인 에탄올 1,000mL를 가하여 용해시킨 시료용액을 다음과 같은 GC/MS분석기기를 사용하여 측정하였다. GC/MS분석기기의 검출기는 HPmass-59873, Column은 HP-5MS(30m×0.25mm×0.25mm), 운반기체는 He-gas(1mL/min, 유압 7.6psi)를 사용하였고, 시료의 분사온도는 250℃, 검출기온도는 280℃에서 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 추출실험 결과

마늘 추출실험에서 회전식 진공증발기로 에탄올을 분리시킨 결과 마늘추출물은 약 180.0g을 얻었다. 마늘 추출에서 추출조건은 추출온도 78℃, 추출시간 약 3시간 실험 후 아래식(1)에 의거 마늘추출물의 추출 수율은 약 6.0%를 얻을 수 있다.

$$\text{마늘 추출물의 추출수율(\%)} = \frac{\text{마늘 추출물의 무게(g)}}{\text{마늘의 에탄올 용액의 무게(g)}} \times 100 \quad (1)$$

3.2. 건조실험 결과

유체상태의 마늘 추출물 약 180.0g을 건조기(Dry oven)로 건조온도 100℃, 건조시간 약 60분 경과 후 황금색을 띠는 고체상태의 마늘 추출물 약 90.0g을 얻었으며, 마늘 추출물의 건조수율은 50%를 나타내었다.

3.3. 항균실험 결과

본 항균실험은 평판배양법[16]에 따라 마늘의 시료용액에 미생물인 staphylococcus균(KCCM-01)과 fungus균(KCCM-02)을 접종, 배양하였다. 미생물 시험은 이들 균의 배양조건과

배양시간에 따른 미생물의 생균수의 변화관계를 측정된 결과이다. 여기서, 대조군은 시료용액에 마늘 추출물을 첨가하지 않고 증류수만을 사용한 실험내용이다. 다음의 Table 2는 마늘 추출물이 배양시간에 따라 미생물의 변화관계를 나타낸 도표이다.

Table 2에서 staphylococcus균을 첨가한 KCCM-01의 경우 초기미생물의 농도가 20.0×10 CFU/mL에서 120hrs 경과시 1.0×10 CFU/mL로 균의 감소현상이 나타났다. 그러나 Control-01의 경우 초기미생물의 농도가 20.0×10 CFU/mL에서 120hrs경과시에는 120.0×10 CFU/mL로 균의 증가현상이 나타남을 알 수 있다. 그리고 fungus균을 첨가한 KCCM-02의 경우 초기미생물의 농도가 20.0×10 CFU/mL에서 120hrs경과시에는 균의 생성이 나타나지 않았다. 그러나 Control-02의 경우 초기미생물의 농도가 20.0×10 CFU/mL에서 120hrs경과시에는 110.0×10 CFU/mL로 균의 증가현상이 나타남을 알 수 있다.

Fig.2는 Table 2의 KCCM-01에 대한 실험 결과를 그림으로 나타낸 것으로 반응시간이 증가함에 따라 미생물의 생균수가 점점 감소됨을 알 수 있다.

Fig.3은 마늘 추출물을 첨가하지 않고, 증류수만을 첨가한 Table 2의 control-01에 대한 실험결과를 그림으로 나타낸 것으로 반응시간이 경과함에 따라 미생물의 생균수가 점점 증가함을 알 수 있다.

Fig.4는 Table 2의 KCCM-02에 대한 실험결과를 그림으로 나타낸 것으로 반응시간이 경과함에 따라 미생물의 생균수가 점점 감소됨을

알 수 있다.

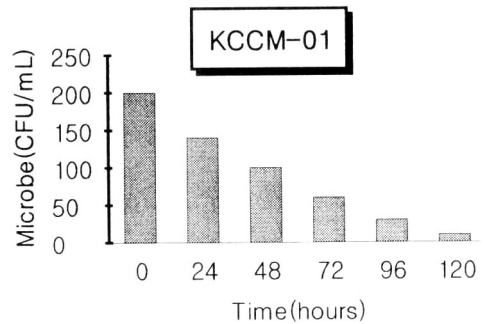


Fig. 2. Antimicrobial effect of staphylococcus according to concentration and reaction time of Garlic extract (1,000ppm).

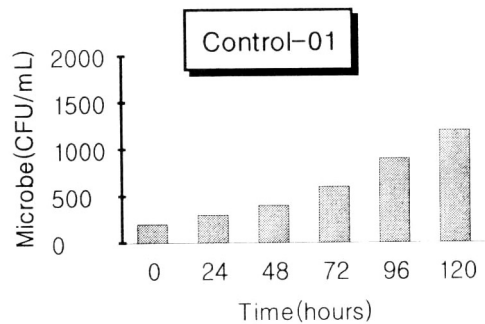


Fig. 3. Antimicrobial effect of staphylococcus according to concentration and reaction time of Garlic extract(0ppm).

Table 2. Experiment Result of Microbe according to Time change of Garlic Extract

Time(hrs)	Mirobe(CFU/mL)	staphylococcus		fungus	
		KCCM-01	Control-01	KCCM-02	Control-02
0		20.0×10	20.0×10	20.0×10	20.0×10
24		14.0×10	30.0×10	12.0×10	30.0×10
48		10.0×10	40.0×10	8.0×10	40.0×10
72		6.0×10	60.0×10	4.0×10	60.0×10
96		3.0×10	90.0×10	1.0×10	80.0×10
120		1.0×10	120.0×10	-	110.0×10

(Example) KCCM-01, 02 : This added microbe to Garlic extract.

Control-01, 02 : This did not add Garlic extract but added only microbe to distilled water.

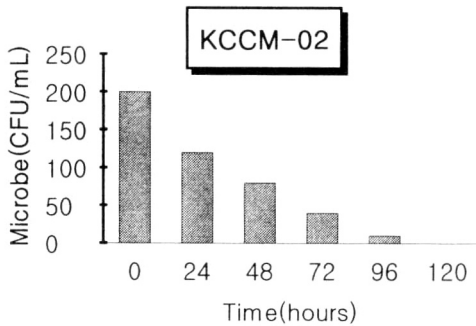


Fig. 4. Antimicrobial effect of fungus according to concentration and reaction time of Garlic extract(1,000ppm).

Fig.5는 마늘 추출물을 첨가하지 않고, 증류수만을 첨가하여 Table 2의 Control-02에 대한 실험결과를 그림으로 나타낸 것으로 반응시간이 경과함에 따라 미생물의 생균수가 점점 증가함을 알 수 있다.

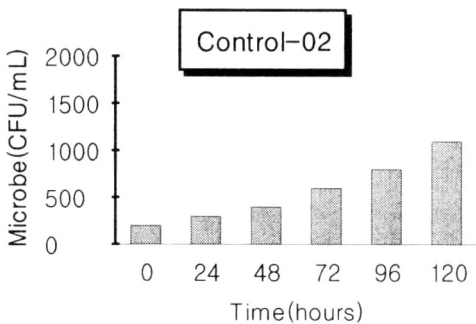


Fig. 5. Antimicrobial effect of fungus according to concentration and reaction time of Garlic extract(0ppm).

본 실험결과 마늘 추출물을 첨가한 KCCM-01과 KCCM-02의 경우 미생물의 생균수가 현저히 감소하였고, 마늘 추출물을 첨가하지 않은 Control-01과 Control-02의 경우 미생물의 생균수가 점점 증가하였다. 이는 마늘 추출물이 항균효과가 있음을 알 수 있다.

3.4. 항산화실험 결과

본 항산화실험은 마늘 추출물에 용매인 DMSO를 용해시켜, 시료의 농도가 1, 10, 100, 1000 µg/mL가 되게 하고, 여기에 300 µm-DPPH에탄올 용액을 각각 혼합시켜, 마늘-DPPH용액에 대한 UV/VIS-Spectrophotometer로 흡광도를 515nm에서 측정한 다음 Scavenging activity(%)를 아래식 (2)에서 구하면 Table 3과 같다.

Scavenging activity(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{Abs. 시료군}}{\text{Abs. 대조군}}\right) \times 100 \text{ ———— (2)}$$

Table 3의 Garlic extract, Vitamin-C, BHA의 항산화제에 대한 농도변화와 자유기의 DPPH 소거력(Scavenging activity)과의 관계를 도표로 나타내면, Fig.6과 같다.

본 실험결과 항산화력은 자유기의 소거력(scavenging activity)이 높을수록 항산화력이 있으며, Fig.6에서는 Vitamin-C, BHA, Garlic extract의 순으로 높게 나타남을 알 수 있다.

3.5. 기기분석 결과

3.5.1. ICP/OES 분석

마늘 추출물과 용매인 증류수를 1:1,000의 비율로 희석, 투명하게 용해시킨 후 이를 ICP/OES로 기기 분석한 결과를 Fig.7에 나타

Table 3. Scavenging Activity according to Concentration Change of Garlic extract, Vitamin-C, BHA

Concentration(µg/mL) \ Scavenging activity(%)	Garlic extract	Vitamin-C	BHA
1	6.0	22.1	22.0
10	42.5	80.8	74.8
100	85.0	101.1	95.0
1,000	90.5	103.0	100.2

내었다.

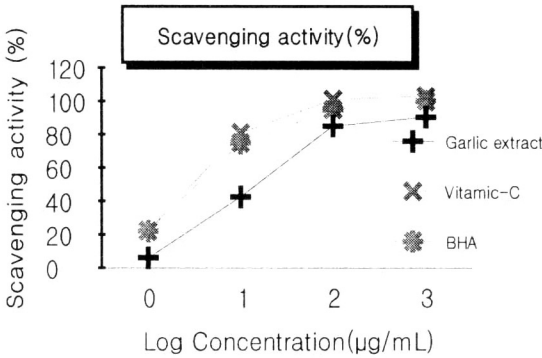


Fig. 6. Scavenging activity according to concentration change of Garlic extract, Vitamin-C, BHA.

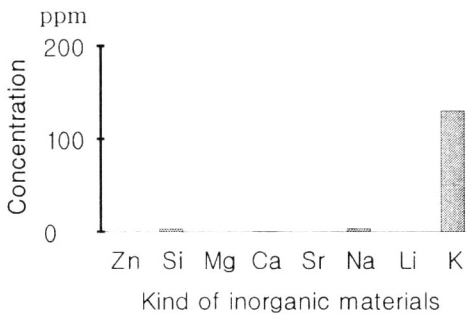


Fig. 7. Concentration of inorganic materials in Garlic component(1,000ppm).

Fig.7은 마늘 추출물을 기기분석한 결과 K(130ppm), Na(3.510ppm), Ca(0.456ppm), Si(2.970ppm), Mg(0.120ppm), Zn(0.019ppm)등의 무기성분들이 검출되었다.

3.5.2. GC/MS 분석

마늘 추출물과 용매인 에탄올을 1:1,000의 비율로 희석, 투명하게 용해시킨 후 이를 GC/MS로 기기 분석한 결과를 Fig.8에 나타내었다.

Fig.8는 마늘 추출물을 용매인 에탄올에 희석시켜 기기분석한 결과 trimethyl sulfide(2.03), acetaldehyde and phenyl acetic aldehyde(7.78), diallyl disulfide(8.67), 2-furancarboxyaldehyde (10.61), diallyl trisulfide(11.64), 2-mercapto-

benzothiazole(19.32)등의 다양한 유기성분들이 검출되었고, 특히 마늘에서 천연의 냄새와 약리적 특성을 나타내는 diallyl disulfide와 diallyl trisulfide가 Fig.8에서와 같이 8.67분과 11.64분대에서 검출, 확인되었다.

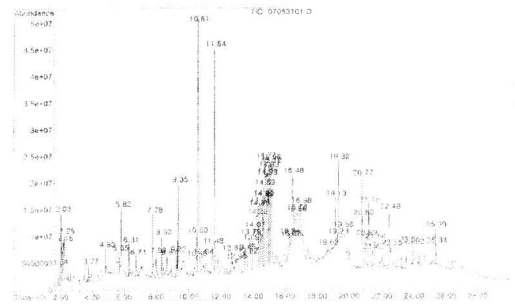


Fig. 8. Analysis result of organic materials in Garlic component(1,000ppm).

4. 결론

천연의 마늘을 추출, 여과, 건조시킨 마늘 추출물의 약리적 특성 및 기기분석 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 본 마늘의 추출실험 결과 유체상태의 마늘 추출물 약 180g을 얻었고, 추출수율은 약 6.0%를 나타내었으며, 건조실험 결과 고체상태의 마늘 추출물 약 90g을 얻었고, 건조수율은 약 50%를 나타내었다.
2. 본 마늘 추출물의 항균실험 결과 미생물인 staphylococcus균과 fungus균의 생균수는 배양시간이 경과함에 따라 점점 감소현상을 나타내었고, 이는 마늘성분이 미생물에 대한 항균효과가 있음을 의미한다.
3. 본 마늘 추출물의 항산화실험 결과 마늘의 농도가 증가함에 따라 자유기의 소거력이 증가현상을 나타낸 바, 이는 마늘성분이 비교군과 유사하게 항산화력이 있음을 알 수 있다.
4. 본 마늘성분의 기기분석 결과 ICP/OES측정에서 K(130ppm), Na(3.510ppm), Ca(0.456ppm), Si(2.970ppm), Mg(0.120ppm), Zn(0.019ppm)등의 순으로 무기성분들이 검출되었고, GC/MS측정에서 trimethyl sulfide(2.03), acetaldehyde and phenyl

acetic aldehyde(7.78), diallyl disulfide (8.67), 2-furancarboxyaldehyde(10.61), diallyl trisulfide(11.64), 2-mercaptobenzo-thiazole(19.32)등의 유기성분들이 검출, 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 대전대학교 2007년도 교내 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. B. Reghavan and K. O. Abraham, *J. Scient. Ind. Res.*, **42**, 401 (1983).
2. L. D. Lawson and R. Bauer, *Phytomedicines of Europe : The Chemistry & Biological Activity*, *ACS Symposium Series*, **691**, p.p 176-209 (1998).
3. D. B. Shin, H. M. Seong, J. H. Kim, and Y. C. Lee, Flaver Composition of Garlic from Different Area, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31(2)**, p.p 293-300 (1999).
4. K. N. Shashikanth, S. C. Basappa, and V. S. Murthy, Studies on the Antimicrobial and Stimulatory Factor of Garlic, *J. Food Sci. Technol.*, **118**, 44 (1981).
5. M. H. Cheng and T. C. Jung, Effect of Allithiamine on Sacroma-180 Tumor, *Tai-wan I Husuch Hui Tsa Chief.*, **80(4)**, p.p 385-392 (1981).
6. K. K. Sharma, Effect of Onion and Garlic on Serum Cholesterol on Normal Subjects, *Mediscope*, **22(7)**, 134 (1979).
7. R. C. Jain and C. R. Vyas, Garlic in Alloxan-Induced Diabetic Rabbits, *Am. J. Clin. Nutr.*, **28(7)**, p.p 681-684 (1975).
8. L. Walton, M. Herbold, C. C. Lindegren, Bactericidal Effects of Vapors from Crushed Garlic, *Food Res.*, **1**, p.p 163-169 (1936).
9. E. Block, The Chemistry of Garlic and Onion, *Sci. Am.*, **252**, p.p 94-99 (1985).
10. C. J. Cavallito and J. H. Bailey, Allicin ; The Antibacterial principle of *Allium Sativum L.*, Isolation : Physical Properties and Antimicrobial Action, *J. Amer. Chem. Soc.*, **66**, p.p 1950-1951 (1944).
11. A. Stoll and E. Seebeck, Chemical Investigation of Allicin, The Specific Principle of Garlic, *Adv. Enzymol.*, **11**, p.p 377-400 (1951).
12. E. Block, S. Naganathan, D. Putman, and S. H. Zhao, *Allium Chemistry : HPLC Analysis of Thiosulfonates from Onion, Garlic, Wild Garlic, Leek, Scallion, Shallot, Elephant Garlic, Chive and Chinese Chive*, *J. Agric. Food Chem.*, **40**, p.p 2418-2430 (1992).
13. T. J. Yu and C. M. Mu, Stability of Allicin in Garlic Juice, *J. Food Sci.*, **54**, p.p 977-980 (1989).
14. E. A. Ogawa, D. J. Hill and D. J. Maslin, Activities of Garlic Oil, Garlic Powder, and Their Diallyl Constituents against *Helicobacter, Pylori*. *Appl. Environ. Microbial.*, **66**, p.p 2269-2273 (2000).
15. M. S. Blois, *Nature*, **181**, p.p 1199-1200 (1958).
16. G. S. Lee, *Practice of Microbiology, Bureau of Publication*, **329** (1992).