บทความวิจารณ์

กระเทียมดำ: งานวิจารณ์ว่าด้วยการผลิต การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และการประยุกต์ใช้

Shunsuke Kimura [a,1], Yen-Chen Tung [b,1], Min-Hsiung Pan [b], Nan-Wei Su [c], Ying-Jang Lai [d,*], Kuan-Chen Cheng [a,b,e,*]

[a] สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแห่งชาติไต้หวัน ไทเป ไต้หวัน สาธารณรัฐจีน

[b] สถาบันบัณฑิตศึกษาวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยแห่งชาติไต้หวัน ไทเป ไต้หวัน สาธารณรัฐจีน

[c] ภาควิชาเคมีเกษตรกรรม มหาวิทยาลัยแห่งชาติไต้หวัน ไทเป ไต้หวัน สาธารณรัฐจีน

[d] ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยแห่งชาติจินเหมิน เขตจินเหมิน ไต้หวัน สาธารณรัฐจีน

[e] ภาควิชาการวิจัยทางการแพทย์ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยการแพทย์จีน มหาวิทยาลัยการแพทย์จีน เมืองไถจง ไต้หวัน สาธารณรัฐจีน

ข้อมูลบทความ

ประวัติบทความ:
ได้รับเมื่อ 29 กันยายน 2016
ได้รับฉบับแก้ไขเมื่อ 7 พฤศจิกายน 2016
ตอบรับเมื่อ7 พฤศจิกายน 2016
ตีพิมพ์ออนไลน์เมื่อ 5 ธันวาคม 2016

คำสำคัญ:
กระเทียมดำ
การประยุกต์ใช้กระเทียมดำ
การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเทียมดำ
การผลิตกระเทียมดำ
การหมัก

บทคัดย่อ

กระเทียมดำได้มาจากกระเทียมสด (Allium sativum L.) ที่ผ่านการหมักในระยะเวลาหนึ่งด้วยอุณหภูมิสูง(60-90องศาเซลเซียส) และความชื้นสูง (ร้อยละ 80-90%) ภายใต้การควบคุม เมื่อนำมาเทียบกับกระเทียมสด กระเทียมดำไม่ให้รสชาติฉุนแรงเนื่องจากปริมาณสารอัลลิซินที่ลดลง การออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูงขึ้นของกระเทียมดำเมื่อเทียบกับกระเทียมสดเกิดจากความเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ มีการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับข้อค้นพบพื้นฐานของกระเทียมดำ อย่างเช่นการผลิต การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และการนำไปใช้ ผลิตภัณฑ์กระเทียมดำหลากหลายรูปแบบมีจำหน่ายในตลาด โดยมีปริมาณการขายพอสมควร บทความนี้ได้สรุปความรู้ในปัจจุบันเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบ การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ การผลิต และการประยุกต์ใช้กระเทียมดำ รวมทั้งความเป็นไปได้ในการนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพในอนาคต

Copyright © 2016, Food and Drug Administration, Taiwan. Published by Elsevier Taiwan LLC. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

1. บทนำ

กระเทียมดำคือกระเทียมสด (Allium sativum L.) ที่ผ่านการหมักในระยะเวลาหนึ่งด้วยอุณหภูมิสูงและความชื้นสูง ภายใต้การควบคุม กระบวนการนี้เปลี่ยนกลีบกระเทียมให้มีสีเข้ม ให้รสชาติหวาน และเปลี่ยนความเหนียวข้นให้หนึบและเหมือนเยลลี่ (Figure 1). ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักแตกต่างกันไปตามวัฒนธรรม การผลิตและวัตถุประสงค์การใช้งาน [1]

ประวัติศาสตร์อันยาวนานของการใช้กระเทียมในอาหาร และแม้จะมีการศึกษาเกี่ยวกับการสูดดมกระเทียมอย่างเข้มข้นและยาวนานจำนวนน้อยแต่การศึกษาดังกล่าวก็ไม่ได้แสดงให้เห็นว่ากระเทียมให้ผลเสียในทางชีววิทยา แหล่งกำเนิดที่ชัดเจนของกระเทียมดำไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดและมีความขัดแย้งกัน อย่างไรก็ตาม กระเทียมดำถูกบริโภคในเกาหลีใต้ ญี่ปุ่น และประเทศไทยนับศตวรรษ และเข้าสู่ไต้หวันและประเทศอื่นๆ เมื่อประมาณสิบปีที่ผ่านมา ในช่วงสองสามปีที่ผ่านมา พ่อครัวร้านอาหารชั้นสูงทำให้กระเทียมดำเป็นที่น่าสนใจโดยใช้มันปรุงรสไก่ ปลา ซุป และข้าวริซอตโต [2]

เมื่อเทียบกับกระเทียมสด กระเทียมดำไม่ให้รสรุนแรงอันไม่พึงประสงค์เนื่องมาจากการลดลงของสารอัลลิซิน ซึ่งถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบต้านอนุมูลอิสระอย่างเช่นสารแอลคาลอยด์และฟลาโวนอยด์ระหว่างกระบวนการบ่ม [1]. การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์นี่เองที่เป็นเหตุผลสำคัญของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เพิ่มขึ้นของกระเทียมดำเมื่อเทียบกับกระเทียมสด นอกเหนือจากการบริโภคในชีวิตประจำวัน การศึกษาหลายชิ้นรายงานว่าสารสกัดกระเทียมดำแสดงให้เห็นถึงหน้าที่ต่างๆ เช่น มีผลในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านภูมิแพ้ ต้านเบาหวาน ต้านการอักเสบและต้านการก่อมะเร็ง [3-7] ในปี 1990, โครงการ Designer Foods Program ได้จัดให้กระเทียมเป็นอันดับหนึ่งในการต่อสู้กับมะเร็ง [8] แม้ว่าโครงการนี้จะไม่มีอีกแล้ว แต่นักวิทยาศาสตร์ยังคงเสาะหาองค์ประกบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของอาหารประเภทต่างๆ อยู่

จุดสนใจของการศึกษาชิ้นนี้คือเพื่อสรุปความรู้ปัจจุบันเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบ การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ การผลิต และการประยุกต์ใช้กระเทียมดำ รวมทั้งเพื่อเสนอความเป็นไปได้ในการใช้กระเทียมดำเป็นอาหารเพื่อสุขภาพในอนาคต

2. ส่วนประกอบด้านโภชนาการของกระเทียม

การออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เพิ่มขึ้นของกระเทียมดำเมื่อเทียบกับกระเทียมสดเกิดขึ้นจากการเปลี่ยนองค์ประกอบทางเคมีฟิสิกส์ระหว่างกระบวนการหมัก ในส่วนต่อไปนี้ จะเป็นการสรุปการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบระหว่างกระเทียมสดและกระเทียมดำ

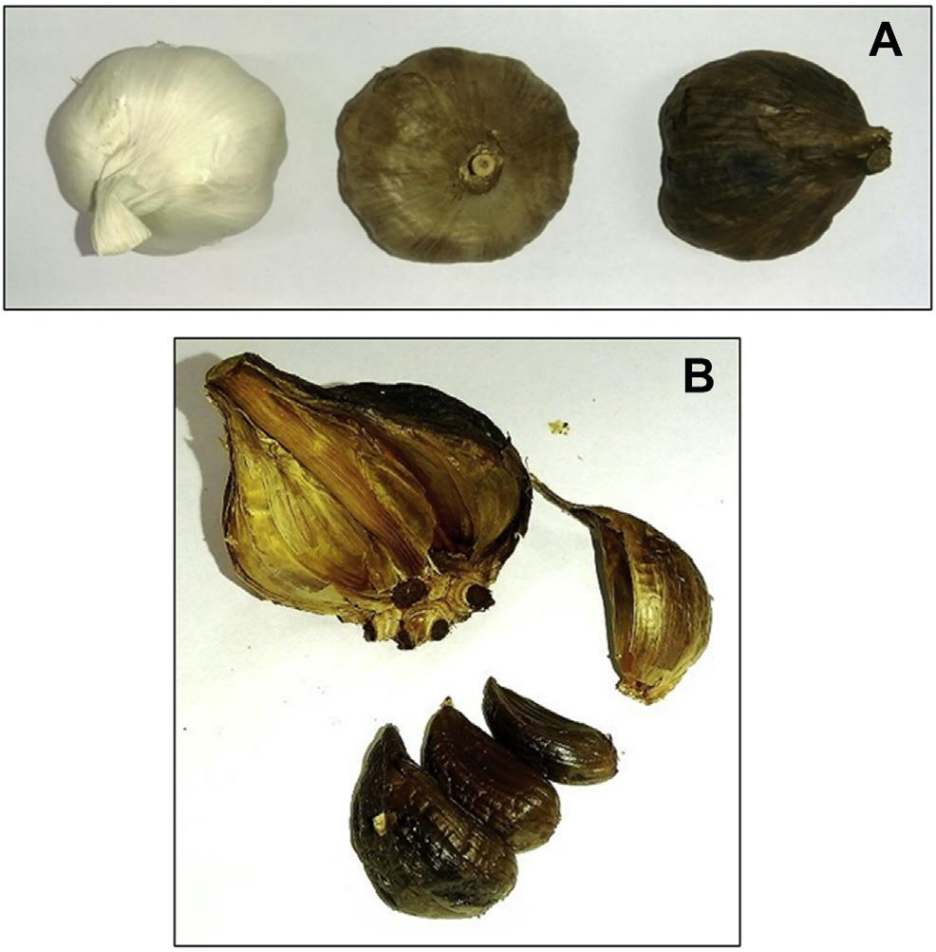
2.1. การเปรียบเทียบองค์ประกอบระหว่างกระเทียมสดและกระเทียมดำ

กระเทียมสดประกอบด้วยน้ำประมาณร้อยละ 63 คาร์โบไฮเดรต (ฟรุกแตน) ร้อยละ 28 สารประกอบกำมะถินอินทรีย์ (organosulfur) ร้อยละ 2.3 โปรตีน (เอนไซม์อัลลิเนส) ร้อยละ 2 กรดอะมิโนอิสระ(อาร์จีนีน) ร้อยละ 1.2 และไฟเบอร์ ร้อยละ 1.5 [9] กระเทียมสดที่ไม่ผ่านกระบวนการยังมีปริมาณ γ-glutamylcysteines สูงอีกด้วย [10 สารประกอบเหล่านี้สามารถไฮโดรไลซ์และออกซิไดซ์เพื่อสร้างสารอัลลิอิน (alliin) ซึ่งจะเพิ่มขึ้นตามธรรมชาติระหว่างการเก็บรักษากระเทียมในอุณภูมิที่เย็น หลังจากผ่านกระบวนการ อย่างเช่น การตัด บด เคี้ยวหรือขจัดน้ำออก สาร alliinase จะสลายตัวอย่างรวดเร็วให้ cytotoxic cysteine sulfoxides (อัลลิอิน) เพื่อสร้างสารจำพวก alkyl alkane-thiosulfinates ที่เป็นพิษต่อเซลล์และให้กลิ่น อย่างเช่น อัลลิซิน (allicin) [11]. อัลลิซินเป็นสารที่ก่อให้เกิดกลิ่นและรสชาติอันเป็นเอกลักษณ์ของกระเทียม อัลลิซินและสารไธโอซัลฟิเนทอื่นๆ จะแตกตัวเป็นสารประกอบอื่นทันที อย่างเช่น ไดแอลลิลซัลไฟด์ (diallyl sulfide) ไดแอลลิลไดซัลไฟด์ (diallyl disulfide) และ ไดแอลลิลไทรซัลไฟด์ (diallyl trisulfide) ไดธิอิน (dithiins) และอะโฮ

อิน (ajoene) [11,12] ขณะเดียวกัน γ -glutamylcysteines จะถูกเปลี่ยนเป็น SAC ผ่านวิถีการทำลายที่ไม่ใช่วิถีอัลลิอิน-อัลลิซิน [13] SAC มีส่วนช่วยในด้านคุณประโยชน์ต่อสุขภาพของกระเทียม อย่างเช่นการออกฤทธิ์ต้านเบาหวาน ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ [14-16]

สำหรับกระเทียมดำ ในระหว่างกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน สารประกอบทางเคมีบางอย่างจากกระเทียม

ดำถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบ Amadori/Heyns ซึ่งเป็นระบบที่เกิดสารประกอบที่สำคัญของปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) [1] Tสารประกอบทางเคมีของกระเทียมดำที่ผ่านการบ่มมีความซับซ้อน และคุณภาพของ



รูปที่ 1 - กระเทียมดำ (A)กระเทียมที่อยู่ระหว่างกระบวนการหมัก (จากซ้ายไปขวา) (B) กลีบของกระเทียมดำ

ผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต อย่างไรก็ตามกระเทียมดำประกอบด้วยสารประกอบที่ออกฤทธิ์ได้อย่างเช่น SAC มากกว่ากระเทียมสด

ปริมาณของสารประกอบเคมีของกระเทียมดำขึ้นอยู่กับสภาวะระหว่างกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน นักวิจัยบางคนรายงานว่าองค์ประกอบที่มีคุณค่าหลายอย่างภายในกระเทียมดำที่ต่อต้านโรคต่างๆ นั้นเพิ่มขึ้นระหว่างกระบวนการบ่ม โดยเฉพาะสารโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์และสารสื่อกลางบางตัวของปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งเป็นที่รู้จักกันว่าเป็นตัวกระทำการต้านอนุมูลอิสระ [13,17] นอกจากนี้ การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกระเทียมยังแตกต่างกันออกไปตามภูมิภาคต่างๆ [18] แต่อย่างไรก็ตาม กระเทียมดำแสดงให้เห็นว่ามีการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อย่างเช่นคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ มากกว่ากระเทียมสด [19]

การศึกษาหลายชิ้นรายงานว่า น้ำตาลที่ละลายในน้ำ กรดอะมิโน สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ เพิ่มขึ้นหรือลดลงระหว่างกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน (Table 1) [13,20,21] สารประกอบ Amadori 3 ชนิด และ Heyns 3 ชนิด ในกระเทียมดำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญถึง 40-100 เท่ามากกว่าที่มีอยู่ในกระเทียมสด ในทางตรงกันข้าม จากกระบวนการบ่มเพื่อเปลี่ยนกระเทียมสดเป็นกระเทียมดำ ปริมาณของฟรุกแตนลดลงด้วยพร้อมกัน เนื่องมาจากว่าฟรุกโตสและกลูโคสพร้อมด้วยกรดอะมิโนบางตัวมีบทบาทสำคัญในปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่เกิดขึ้นในการแปรสภาพกระเทียม

3. การแปรสภาพกระเทียมดำ

3.1. ผลของอุณหภูมิในการบ่มต่อคุณภาพของกระเทียมดำ

เป็นที่รู้กันดีว่าระยะเวลาในการบ่มกระเทียมจะสั้นกว่าในอุณหภูมิที่สูงกว่า [22] ในกรณีของการบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสนั้น ความเร็วของการบ่มจะเร็วเป็นสองเท่าของอุณหภูมิ 60องศาเซลเซียส [23]. ในส่วนของการประเมินทางประสาทสัมผัสนั้น คุณภาพของกระเทียมดำจะดีกว่าและสีดำมีความสม่ำเสมอมากกว่าที่อุณหภูมิระหว่าง 70 และ 80องศาเซลเซียส [23] แม้ว่าการผลิตกระเทียมดำจะทำได้เร็วกว่าที่ 90องศาเซลเซียส แต่รสชาติที่ได้จะไม่ดีนัก นั่นคือจะขมและเปรี้ยว [23] ในการบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สีของกระเทียมจะไม่ดำสนิท ดังนั้น อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจึงไม่ใช่สภาวะที่ดีที่สุดสำหรับกระบวนการบ่ม

เมื่อปริมาณความชื้นของกระเทียมถึง 400-500 กรัม/กก. กระเทียมดำเหมาะแก่การรับประทานเนื่องจากมีความนิ่มและยืดหยุ่น หากปริมาณความชื้นอยู่ที่ประมาณ 350-400กรัม/กก. กระเทียมดำจะแห้งกว่าและความยืดหยุ่นจะน้อยลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อความชื้นลดลงต่ำกว่า 350 กรัม/กก. กระเทียมดำจะแข็งเกินกว่าจะรับประทานได้ [23] นอกจากนี้ ความเร็วในการบ่มกระเทียมสดให้เป็นกระเทียมดำจะช้าอย่างเห็นได้ชัดเมื่อแปรรูปที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และแม้ว่า การแปรสภาพจะเป็นไปอย่างราบรื่นที่อุณหภูมิ 80 และ 90องศาเซลเซียส แต่เป็นการยากที่จะหาสภาวะที่ดีพอ อันเนื่องมาจากปริมาณสารฟีนอลและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ไม่แน่นอน [23]

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญระหว่างกระบวนการบ่ม ทั้งนี้น้ำตาลและกรดอะมิโนบางชนิดจำเป็นสำหรับปฏิกิริยาเมลลาร์ด [24] ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส ระหว่างกระบวนการ ซึ่งหมายความว่าที่อุณหภูมิดังกล่าวอัตราการก่อรูปของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเร็วกว่าอัตราการใช้ แม้ว่าปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิสูง แต่ในการแปรสภาพที่อุณหภูมิ 80 และ 90 องศาเซลเซียส กระเทียมดำไม่มีกลิ่นรสที่หวานพอเหมาะเนื่องมาจากการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณที่มากในสภาวะอุณหภูมิที่สูง [23] นอกจากนี้ การลดลงของกรดอะมิโนยังถูกเร่งวึ่งเป็นไปตามความก้าวหน้าของปฏิกิริยาเมลลาร์ด [23]

สารประกอบต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญตัวหนึ่งในกระเทียมดำคือ 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) ซึ่งเป็นผลผลิตขั้นกลางที่สำคัญในปฏิกิริยาเมลลาร์ดด้วย [23] ไม่ว่าอุณหภูมิจะเป็นเท่าใด ปริมาณของสาร 5-HMF จะเพิ่มขึ้นระหว่ากระบวนการบ่ม อย่างไรก็ตาม ในกรณีของการแปรสภาพที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ปริมาณสาร5-HMF เพิ่มขึ้นช้ามากระหว่างกระบวนการทั้งหมด

ตารางที่ 1 – การเปรียบเทียบองค์ประกอบของกระเทียมดำและกระเทียมสด

	องค์ประกอบของกระเทียมดำเมื่อเทียบกับกระเทียมสด	ความเข้มข้นดั้งเดิม
น้ำตาลที่ละลายน้ำได้	เพิ่มขึ้น 1.88-7.91-เท่า [1]	450 มก/กรัม
Polyphenol	เพิ่มขึ้น 4.19-เท่า [13]	13.91 มก GAE/กรัม
Flavonoid	เพิ่มขึ้น 4.77-เท่า [13]	3.22 มก RE/กรัม
Amadori & Heyns	เพิ่มขึ้น 40-100-เท่า [1]	10 ไมโครกรัม/กรัม
Fructan	ลดลง 0.15-0.01-เท่า [1]	580 มก/กรัม
Leucine	เพิ่มขึ้น 1.06-เท่า [13]	58.62 มก/100 กรัม
Isoleucine	เพิ่มขึ้น 1.67-เท่า [13]	50.04 มก/100 กรัม
Cysteine	ลดลง 0.58-เท่า [13]	81.06 มก/100 กรัม
Phenylalanine	เพิ่มขึ้น 2.43-เท่า [13]	55.64 มก/100 กรัม
Tyrosine	ลดลง 0.18-เท่า [13]	449.95 มก/100 กรัม

GAE = ค่าเทียบเท่ากับกรดแกลลิค (gallic acid equivalents); RE = ค่าเทียบเท่าสารรูติน (rutin equivalents)

3.2. ผลของสภาวะในการบ่มต่อคุณภาพของกระเทียมดำ

ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว คุณภาพของกระเทียมดำอันได้แก่การออกฤทธิ์ทางชีวภาพและเนื้อสัมผัสนั้นขึ้นอยู่กับอุณหภูมิระหว่างการแปรสภาพด้วยความร้อน อย่างไรก็ตาม จากการค้นพบของ Jung และคณะ [25] กระเทียมดำหมักแสดงการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพมากกว่ากระเทียมดำบ่ม ซึ่งในส่วนต่อไปนี้จะเป็นการสรุปถึงคุณภาพของกระเทียมดำหมักและศักยภาพในการต้านโรคต่างๆ

การออกฤทธิ์ที่ดีขึ้นในการต้านอนุมูลอิสระจะช่วยป้องกันโรคเบาหวานและอาการแทรกซ้อนอื่นๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ [26,27] การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเทียมอย่างเช่นการออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและผลในการลดน้ำตาลในเลือดเป็นที่รู้กันดีอยู่แล้ว และการออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกระเทียมสามารถเพิ่มขึ้นได้โดยนำกระเทียมไปผ่านกระบวนการ ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา Hien-Trung และคณะ [28] ค้นพบว่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโสมสามารถเพิ่มขึ้นโดยการหมักโดยยีสต์ พวกเขาจึงตั้งสมมติฐานว่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเทียมดำอาจจะเพิ่มขึ้นได้ด้วยการหมักยีสต์เช่นเดียวกัน

จากการศึกษาของ Jung ยังและคณะ [25] กระเทียมดำที่ผ่านการหมักโดยยีสต์แสดงการออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีกว่ากระเทียมดำบ่มในการต้านกลุ่มอาการ อย่างเช่น โรคอ้วน ภาวะไขมันในเลือดสูง ตัวอย่างเช่น หนูที่ได้รับกระเทียมหมักยีสต์แสดงออกว่ามีน้ำหนักตัว น้ำหนักไขมันรอบรังไข่ เส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ไขมัน ความหนาของแผ่นไขมันช่องท้องสะสม คอเลสเตอรอลรวมในเซรั่ม ไตรกลีเซอไรด์ ระดับลิโพโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (LDL) ระดับลิโพโปรตีนความหนาแน่นสูง (HDL) เอนไซม์ aspartate transaminase (AST) เอนไซม์ alanine transaminase (ALT) ไขมันสะสมในตับ ภาวะเซล์ตับโต ระดับไนโตรเจนในรูปของยูเรียในเลือด (BUN) และจำนวนหลอดไตที่ผิดปกติดีกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารไขมันสูง นอกจากนี้ กระเทียมดำหมัก 400 มก/กก. และ 200 มก/กก. ยังให้ผลดีกว่ากระเทียมดำบ่ม 400 มก/กก. อย่างมีนัยสำคัญ กล่าวอีกอย่างหนึ่งคือ กระเทียมดำหมักมีการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านโรคอ้วนจากอาหารไขมันสูง ภาวะไขมันในเลือดสูง โรคไต และโรคตับอย่างมีประสิทธิภาพมากกว่ากระเทียมดำบ่ม [25] ดังนั้น จึงสามารถเพิ่มการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเทียมดำได้ด้วยการหมักยีสต์ และกระเทียมดำหมักยีสต์นี้อาจมีคุณสมบัติเหมาะกว่าในการแก้โรคเบาหวานและอาการแทรกซ้อนที่เกี่ยวข้อง ด้วยเหตุผลที่ว่ามานี้ สารประกอบของกระเทียมดำหมักอาจจะแตกต่างจากกระเทียมดำบ่ม แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการตรวจสอบความแตกต่างของสารประกอบในกระเทียมดำบ่มและกระเทียมดำหมัก จึงควรต้องมีการวิเคราะห์สารประกอบดังกล่าวต่อไป

กล่าวโดยสรุป ระยะเวลาในการบ่มกระเทียมดำจะสั้นกว่าในอุณหภูมิที่สูง อย่างไรก็ตามการควบคุมปริมาณสารประกอบบางตัวอาจทำได้ยากที่อุณหภูมิสูงเนื่องจากส่วนประกอบจะเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วระหว่างกระบวนการบ่ม จากผลการทดสอบที่กล่าวมาก่อนหน้านี้ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสถือว่าเป็นสภาวะที่ดีที่สุดในการแปรรูปกระเทียม แต่กระนั้นก็ตาม คุณภาพของกระเทียมดำไม่มีผลจากอุณหภูมิเพียงอย่างเดียว แต่ยังรวมถึงปัจจัยอื่นๆ อย่างเช่นความชื้นและการหมักด้วย[23,25] ฉะนั้น จึงต้องมีการตรวจสอบอย่างละเอียดต่อไป

4. การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเทียมดำ

กระเทียมถูกใช้เพิ่มรสชาติให้แก่อาหาร โดยเฉพาะในประเทศแถบเอเชีย และมีคุณประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย [29] อย่างไรก็ตาม รสชาติและกลิ่นที่ฉุนแรงของกระเทียมสดเป็นสิ่งที่ทำให้คนส่วนใหญ่ชื่นชอบกระเทียมได้ยาก [30] ดังนั้น จึงมีการพัฒนากระเทียมในสูตรต่างๆ ขึ้นมา กระเทียมดำบ่มเป็นกระเทียมประเภทที่ไม่มีกลิ่น ผลิตโดยการหมักกระเทียมสดทั้งหัวที่อุณหภูมิสูงและความชื้นสูงภายใต้การควบคุม [4,31] ตารางที่2 สรุปชี้ให้เห็นอค้นพบล่าสุดของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเทียมดำ

ตารางที่ 2 -การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเทียมดำ

ฤทธิ์ทางชีววิทยา	ผลทางชีววิทยา	เอกสารอ้างอิง
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	↓ อนุมูลอิสระ (จกการทดสอบ trolox equivalent antioxidant capacity [TEAC], EDA, DPPH, และ ABTS) ในห้องทดลอง ↑ SOD-like activity ในห้องทดลอง ↓ ระดับของ TBARS ในหนู ↑ SOD, GSH-Px, and CAT activity	[3,19,25,32,34-36]
ฤทธิ์ต้านมะเร็ง	↑ Apoptosis ในเซลล์ human leukemic U937 s ↑ พิษต่อเซลล์มะเร็งในเซลล์ carcinoma A549 (มะเร็งปอด) MCF-7 (มะเร็งเต้านม) AGS (มะเร็งกระเพาะอาหาร) และ HepG2 (มะเร็งตับ) ↓ ปริมาตรและน้ำหนักของเซลล์มะเร็งในกระเพาะอาหาร T SGC-7901 ในมนุษย์ ↑ Apoptosis และการหยุดวงจรชีวิตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT29	[4,35-37]
ฤทธิ์ต้านโรคอ้วน	↓ น้ำหนักตัว น้ำหนักไขมันในช่องท้อง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไขมันในช่องท้อง และความหนาของแผ่นไขมันในช่องท้อง ไตรกลีเซอรไรด์ ระดับ LDL และ ↑ ระดับ HDL ในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง ↓ การเพิ่มน้ำหนักและน้ำหนักเนื้อเยื่อไขมันบริเวณอัณฑะ ไตรกลีเซอรไรด์ และระดับ HDL HDL ในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง	[5,25]
ฤทธิ์ป้องกันการบาดเจ็บของตับ	↓ ระดับ AST, ALT, ALP, และระดับ LDH ↑ การแสดงออกของเอนไซม์ CYP2E1, glutathione S-transferase, quinone reductase, GSH-Px, glutathione reductase (GR), และฤทธิ์ของ CAT ในความเสียหายของตับจากออกซิเดชั่นที่เกิดจากเอธานอลในหนู ↓ ลดระดับ ALT และ AST ในโมเดลความเสียหายของตับที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ carbon tetrachloride- และ Dgalactosamine ในหนู และในตับที่มีไขมันอันเกิดจากอาหารไขมันสูงและในโมเดลความเสียหายของตับในหนูไมซ์ C57BL/6 ที่ถูกทำการศึกษาต่อมาด้วย	[38,39]
ฤทธิ์ต้านการอักเสบ	↓ การสร้าง ROS, VCAM-1, The human monocytic cell line (THP-1) monocyte adhesion, ICAM-1, และ NF-kB ในเซลล์ผนังชั้นในของสายสะดือมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดย TNF ↓ กระบวนการแบ่งตัวและการเจริญเติบโตของเซลล์, ความก้าวหน้าของวัฏจักรเซลล์, ICAM-1, VCAM-1, NF-kB, และตัวกระตุ้นโปรตีน -1 (AP-1) ในเซลล์ผนังชั้นในของสายสะดือมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดย TNF ↓ NO, TNF-α, prostaglandin E2 (PGE_2), NO synthase, cyclooxygenase-2,และ NF-KB ในมาโครฟาจRAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ↓ TNF-α และ IL-6 ในเซรั่มต่อต้านการช็อคถึงแก่ชีวิตที่เกิดจาก LPS ในหนู C57BL/6	[6,40-41,47-48]
ฤทธิ์ต้านภูมิแพ้	↓ β-Hexosaminidase, TNF-α, PGE_2, cyclooxygenase-2, และ 5-LO ในเซลล์ RBL-2H3 ↓ ปฏิกิริยา PCA ในปฏิกิริยา IgE-mediated passive cutaneous anaphylaxis ในหนู	[7]
บรรเทาภาวะไขมันผิดปกติในเลือด	↑ ระดับคอเลสเตอรอล HDL ↓ apo B	[54]

ABTS = 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid); ALP = alkaline phosphatase; ALT = alanine transaminase; AST = aspartate transaminase; CAT = catalase; DPPH = 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; EDA = electron-donating ability; GSH-Px = glutathione peroxidase; HDL = high-density lipoprotein; HDL-c = high-density lipoprotein cholesterol; HESC = human endometrial stromal cell; HFD = high-fat diet; HUVEC = human umbilical vein endothelial cell; ICAM-1 = intercellular cell adhesion molecule-1; IgE = immunoglobulin E; LDH = lactate dehydrogenase; LDL = low-density lipoprotein; 5-LO = 5-lipoxygenase; LPS = lipopolysaccharide; NF-ϰB = nuclear factor kB; PCA ¼=passive cutaneous anaphylaxis; SOD = superoxide dismutase; TBARS = thiobarbituric acid reactive substances; TNF-α = tumor necrosis factor-α; VCAM-1 = vascular cell adhesion molecule-1.

4.1. การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกระเทียมเป็นผลมาจากวิธีการแปรรูป [42] สารอัลลิอินเป็นสารประกอบที่ไม่เสถียรในกระเทียมสด ซึ่งจะถูกเปลี่ยนให้เป็นสารประกอบที่เสถียรคือ SAC ระหว่างกระบวนการบ่ม และจะแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ [11,31,32] Lee และคณะ [32] รายงานว่าการลดลงของจำนวนอนุมูลอิสระในกระเทียมดำบ่ม (59.2 ± 0.8 ไมโครโมล/กรัมของน้ำหนักสด) มีสูงกว่าในกระเทียมธรรมดา (13.3 ± 0.5 ไมโครโมลl/กรัมของน้ำหนักสด) ซึ่งเห็นได้ในรูปของ trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) ที่ทำในห้องทดลอง [32] การศึกษาอีกชิ้นหนึ่งแสดงให้เห็นว่ากระเทียมหมักยีสต์ปริมาณ 10 มก/มล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าในกระเทียมดำ จากการทดลองโดยใช้การวิเคราะห์ความสามารถในการถ่ายทอดอิเลคตรอน [25] กระเทียมสดใช้เวลา 40 วันในการหมักที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธิ์ร้อยละ 85-95 เพื่อสร้างกระเทียมดำ สารสกัดกระเทียมดำเพิ่มกิจกรรมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase-like activity) และฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระต่อไฮโดรเจนเปอรอกไซด์ 10 เท่า เมื่อเทียบกับสารสกัดกระเทียม [19] Kimและคณะ [34] แสดงให้เห็นว่าสูตรผสมที่มีสารสกัดกระเทียมดำร้อยละ 10 มีฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระสูงกว่าสูตรผสมที่มีสารสกัดกระเทียม 10 (v/v) เมื่อทดสอบด้วย 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) และ2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ในห้องทดลอง กระเทียมดำบ่มได้จากกระเทียมดำสดที่ถูกหมักที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-90 ชั่วโมง ที่ 70-80องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-60 ชั่วโมง จากนั้นที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72-120 ชั่วโมง และสุดท้ายที่อุณหภูมิ 55- 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72-120 ชั่วโมง กระเทียมดำบ่มแสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่ากระเทียมสด เมื่อใช้ทดสอบโดยใช้ DPPH และ 2,2-azino-bis-(3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) [3] สารสกัดกระเทียมดำโดยเอธานอลร้อยละเจ็ดสิบของมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดจากเอธานอลร้อยละ 70 และ90 จากกระเทียมสด และมากกว่าสารสกัดจากเอธานอลร้อยละ 90 ของกระเทียมดำ [35]

4.1.1. สารสกัดระหว่างกระเทียมสดและกระเทียมดำ

กระเทียมและกระเทียมดำบ่มถูกปอกเปลือก นำไปผสมกับน้ำ 10 เท่า และนำไปปั่น ทั้งกระเทียมและกระเทียมดำนำไปสกัดด้วยน้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และนำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงที่ 14,000g เป็นเวลา 15 นาที [32] ส่วนกระเทียมดำหมักยีสต์ถูกสกัดโดยการให้ความร้อนด้วยน้ำสองรอบแบบไหลย้อนกลับที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และอัตราผลตอบแทนตั้งต้นอยู่ที่ร้อยละ 12.8 หลังจากนั้น กระเทียมดำถูกนำไปหมักด้วยสาร

Saccharomyces cerevisiae (KCTC 7910) หลังจากการหมัก สารละลายดังกล่าวจะถูกสกัดด้วยความร้อนหลังจากแยกเซลล์ออกไปแล้ว [25] กระเทียมดำที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 40 วันจะถูกทำแห้งแบบเยือกแข็งและป่นเป็นผงในสารละลายเอธานอลร้อยละ 80 ของเหลวผ่านการกรองที่ได้คือสารสกัด [19] สูตรผสมกระเทียมดำร้อยละ 10 ได้มาจากกระเทียมดำที่นำไปปั่นผสมกับน้ำปริมาตร 10 เท่าจากนั้นนำไปสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง [34]กระเทียมดำบ่มได้มาจากกระเทียมสดที่ถูกบ่มในอุณหภูมิต่างๆ ในระยะเวลาที่ต่างกัน จากนั้นกระเทียมดำบ่มจะถูกนำไปแขวนลอยในน้ำกลั่น 5 เท่า กระเทียมดำบ่มที่แขวนลอยนี้ถูกสกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 80-100องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-6 ชั่วโมง [3] สารสกัดกระเทียมดำด้วยเอธานอลได้จากการหมักกระเทียมสดที่อุณหภูมิ 75องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 70 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ กระเทียมดำถูกสกัดด้วยเอธานอลร้อยละ 70 หรือ 90 สองครั้งเป็นเวลา 6 ชั่วโมง หรือ 12 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 50 หรือ 90องศาเซลเซียส [35]

4.1.2. การศึกษาในสัตว์

หนูไมซ์ db/db (þ/þ) C57BL/KsL ตัวผู้ถูกแบ่งออกเป็นสามกลุ่ม กลุ่มควบคุมถูกป้อนอาหาร AIN-93G และ AIN-93G ที่มีกระเทียมฟรีซดรายหรือกระเทียมดำบ่มร้อยละ 5 เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ในตอนท้ายของการทดลอง ตับของหนูถูกรวบรวมเพื่อนำไปประเมินฤทธิ์ต้านอมูลอิสระของกระเทียมและกระเทียมบ่ม การวิเคราะห์กระทำโดยวัด lipid peroxides และเอนไซม์ต้านออกซิดิชั่นในตับ ทั้งนี้ ทั้งกระเทียมและกระเทียมดำบ่มลดระดับสาร thiobarbituric acid reactive substance และช่วยเพิ่มฤทธิ์ของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) และกลูทาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่กระเทียมดำบ่มยังเพิ่มสมรรถนะของเอนไซม์ catalase (CAT) ด้วย [33]

4.2. การยับยั้งการเติบโตของเซลล์ไลน์จากเซลล์มะเร็ง

ลักษณะเด่นของเซลล์มะเร็งระหว่างพัฒนาการในขั้นตอนต่างๆ ของเนื้องอกในมนุษย์ประกอบไปด้วย(1)สามารถรักษาสัญญาณการเจริญเติบโตไวตลอด (2)สามารถหลบเลี่ยงการยังยั้งการเจริญเติบโต (3) สามารถต้านทานการเกิดเซลล์ตาย (4)สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ที่เป็นอมตะ (5) สามารถกระตุ้นการสร้างเส้นเลือดใหม่ และ (6) สามารถลุกลามและกระจายไปอวัยวะอื่นๆ ดังนั้น อาหารเพื่อสุขภาพน่าจะสามารถต่อต้านลักษณะทั้งหกประการได้เนื่องจากมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง [43]

สารสกัดกระเทียมดำบ่มด้วยเฮกเซน (HEABG) แสดงฤทธิ์ในการต้านมะเร็งต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว U937 ในมนุษย์ (human leukemic U937 cells) ทั้งนี้ HEABG (2.5 ไมโครกรัม/มล, 5 ไมโครกรัม/มล, 7 ไมโครกรัม/มล, และ 10 ไมโครกรัม/มล) ยับยั้งการเติบโตของเซลล์โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโตซิสจากการกระตุ้นภายในเซลล์ผ่านการปรับเพิ่มจำนวนของตัวรับการตาย 4 และ Fas ligand และเพิ่มอัตราส่วนการแสดงออกของโปรตีน Bax/Bcl-2 สารสกัดกระเทียมดำบ่มด้วยเฮกเซนยังกระตุ้นให้เอนไซม์ caspase-9 และ caspase-3 ทำงาน รวมทั้งลดค่า poly(ADPribose)- polymerase ตามความเข้มข้นของสารและตามเวลา การเจริญเติบโตของเซลล์ที่มีสารสกัดกระเทียมดำบ่มด้วยเฮกเซนเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอพโตซิสจากกการกระตุ้นภายนอกเซลล์ผ่านเอนไซม์ caspase-8 ที่ถูกกระตุ้นส่งผลให้เกิด truncated Bid ที่แสดงออกมา สารสกัดกระเทียมดำบ่มด้วยเฮกเซนแสดงให้เห็นว่ามี

ศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยทำให้เกิดอะพอพโตซิสที่เหนี่ยวนำโดยเอนไซม์ caspase ผ่านทั้งการกระตุ้นจากทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว U937 ในมนุษย์ [4]

การศึกษาอีกชิ้นหนึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระเทียมดำด้วยเอธานอลร้อยละ 70 (500 ไมโครกรัม/มล) ทำให้เกิดพิษต่อเซลล์มะเร็งในเซลล์ carcinoma A549 (มะเร็งปอด) MCF-7 (มะเร็งเต้านม) AGS (มะเร็งกระเพาะอาหาร) และ HepG2 (มะเร็งตับ) ในมนุษย์ตามขนาดยาภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง [35]

4.2.1. มะเร็งกระเพาะอาหารในมนุษย์

สารสกัดกระเทียมดำบ่ม (ABGE) ถูกนำไปสัมผัสกับ SGC-7901 10 มก/มล, 50 มก/มล, และ 100 มก/มลในเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารในมนุษย์ สารสกัดกระเทียมดำบ่ม 100 มก/มลสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดอะพอพโตซิสในเซลล์ได้ [36] ผู้เขียนได้แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ในการต้านมะเร็งในโมเดลของหนูที่มีเนื้องอกมะเร็ง โดยผู้เขียนใช้หนูไมซ์คุนหมิงเพศผู้ที่ถูกบ่มด้วยเซลล์กระเพาะส่วนหน้าของหนูเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นได้รับสารสกัดกระเทียมดำบ่ม 200 mg/kg, 400 มก/กก. และand 800 มก/กก.โดยการฉีดเข้าช่องท้อง ผลที่ได้แสดงว่าสารสกัดกระเทียมดำบ่มลดปริมาตรและน้ำหนักของเนื้องอก และยังเพิ่มเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutases) และกลูทาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ในซีรั่มในโมเดลหนูที่มีเนื้องอกมะเร็ง ทั้งนี้ฤทธิ์ในการต้านมะเร็งของสารสกัดกระเทียมดำบ่มอาจแตกต่างออกไปจากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ [36]

4.2.2. มะเร็งลำไส้ใหญ่

สารสกัดกระเทียมดำบ่ม(20 มก/มล, 50 มก/มล, และ 100 มก/มล) ยังแสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT29 โดยสารสกัดกระเทียมดำบ่มยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ HT29 ผ่านอะพอพโตซิสและการหยุดวงจรชีวิตของเซลล์ โดยผ่านวิถีการแปรสัญญาณโดยตรง phosphatidylinositol 3-kinaseprotein kinase B (PI3KAkt) สารสกัดกระเทียมดำบ่มเพิ่มการแสดงออกของ PTEN และควบคุมการแสดงออก Akt และ p-Akt รวมทั้งกดระดับของ mRNA และระดับโปรตีน 70-kDa ribosomal protein S6 kinase 1 [37].

4.3. ฤทธิ์ต้านโรคอ้วน

โรคอ้วนเป็นตัวการของโรคอื่นๆ อย่างเช่นเบาหวานประเภทที่ 2 โรคหัวใจ โรคตับ และความเสียหายของตับอื่นๆ ซึ่งรวมถึงภาวะไขมันในเลือดสูง [44] การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตับและระดับ AST และ ALT ในเซรั่ม [45]

หนูเพศเมียจากสถาบันวิจัยมะเร็ง (Institute for Cancer Research -ICR) ได้รับอาหารไขมันสูง (HFD) ร้อยละ 45/kcal เป็นเวลา 28 วัน จากนั้นหนูได้รับกระเทียมดำปริมาณ 400 มก/กก.และกระเทียมดำหมักยีสต์ปริมาณ100 มก/กก. 200 มก/กก. และ 400 มก/กก.เป็นเวลา 63 วัน กระเทียมดำและกระเทียมดำหมักยีสต์ลดน้ำหนักตัว น้ำหนักไขมันในช่องท้อง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ไขมันในช่องท้อง และความหนาของแผ่นไขมันในช่องท้อง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้อาหารไขมันสูง กระเทียมดำและกระเทียมดำหมักยีสต์ยังลดเซรั่ม riacylglyceride และระดับ LDL รวมทั้งเพิ่มระดับ HDL ในเซรั่มเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมัน กระเทียมดำและกระเทียมดำหมักยีสต์ลด AST, ALT ในเซรั่ม ภาวะไขมันสะสมในตับ steatohepatitis และเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ตับเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง [25]

หนูแรท Spraguee -Dawley ตัวผู้ถูกแบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือได้รับอาหารธรรมดา อาหารไขมันสูง และอาหารไขมันสูงบวกสารสกัดกระเทียมดำร้อยละ 0.5 หรือ 1.5 เป็นเวลา 5 สัปดาห์ ผลการทดลองแสดงว่าหนูแรทจากกลุ่มที่ได้รับสารสกัดกระเทียมดำร้อยละ 1.5 มีการเพิ่มน้ำหนักและน้ำหนักเนื้อเยื่อไขมันบริเวณอัณฑะน้อยกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง สารสกัดกระเทียมดำร้อยละ1.5 (w/v) ยังลดระดับ triacylglyceride ในเซรั่มและตับ รวมทั้งเพิ่มระดับ HDL ในเซรั่มด้วย [5]

4.4. การทำงานในการปกป้องตับจากสารพิษ

หนูแรท Sprague-Dawley ตัวผู้ได้รับสารเอธานอลพื่อเร่งความเสียหายของตับจากออกซิ หนูยังได้รับกระเทียมดำบ่มปริมาณ 100 มก/กก.ทางหลอดสวน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากระเทียมดำบ่มลดน้ำหนักตัวและน้ำหนักรวมของแผ่นไขมัน ตัวบ่งชี้ในพลาสมาของการทำงานและการบาดเจ็บของตับ อันได้แก่ ระดับ AST, ALT, ALP, และ LDH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญจากกระเทียมดำบ่มเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเฉพาะสารเอธานอลเพียงอย่างเดียว กระเทียมดำบ่มยังเพิ่มการแสดงออกของเอนไซม์ CYP2E1 และการออกฤทธิ์ของเอนไซม์ glutathione S-transferase และเอนไซม์ quinone reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ phase II ที่ถูกเปลี่ยนแปลงสภาพด้วยยา รวมทั้งยังฟื้นฟูสาร thiobarbituric acid reactive substances ระดับ glutathione ฤทธิ์ของเอนไซม์ the glutathione peroxidase, GR, และ catalase ในตับด้วย [38]

การศึกษาอีกชิ้นหนึ่งแสดงว่ากระเทียมดำบ่ม 200 มก/กก.ลดระดับ ALT และ AST ในตับในโมเดลความเสียหายของตับที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ carbon tetrachloride- และ Dgalactosamine ในหนูแรท Sprague-Dawley กระเทียมดำบ่มยังลดระดับ ALT และ AST ในตับที่มีไขมันอันเกิดจากอาหารไขมันสูงและในโมเดลความเสียหายของตับในหนูไมซ์ C57BL/6 ที่ถูกทำการศึกษาต่อมาด้วย [39]

4.5. ผลในการปรับเปลี่ยนระบบภูมิคุ้มกัน

ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งเป็นการอักเสบเรื้อรังของผนังหลอดเลือดแดงอันเกิดจากความผิดปกติของผนังชั้นในการอักเสบของหลอดเลือดและการสร้างตัวของพลากขึ้นเกาะผนังหลอดเลือดชั้นใน ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งยังเกี่ยวข้องกับความเครียดจากออกซิเดชั่นที่เกิดจากการอักเสบของหลอดเลือดด้วยไซโตไคน์ต่างๆ อันได้แก่ tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin (IL)-1β, และ interferon-γ ซึ่งทำให้ผนังด้านในหลอดเลือด ถูกกระตุ้นผ่านการสร้างอนุมูลอิสระและเพิ่มระดับการแสดงออกของ cell adhesion molecules ที่อยู่บนผนังชั้นใน [41,46]

งานวิจัยที่มีมาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่ากระเทียมดำมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ [31,32]. คณะของดร. Yoon ได้ค้นคว้าผลกระทบของวิธีการต่างๆ ในการสกัดกระเทียมดำบ่มในโมเดลเซลล์ผนังชั้นในของสายสะดือมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดย TNF (HUVE) สารสกัดกระเทียมดำบ่มจากคลอโรฟอร์ม (30 μก/มล.) ถูกเตรียมใน TNF-α-stimulated HUVECs สารสกัดกระเทียมดำนี้ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระและการแสดงออกของ mRNA ของ

cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) และลด THP-1 monocyte adhesion ที่มีต่อ TNF-α-stimulated HUVECs สารสกัดกระเทียมดำบ่มจากคลอโรฟอร์มยังยับยั้งการกระตุ้นโปรตีนควบคุม (transcription factor) nuclear factor kappa B (NF-κB) ในเซลล์ผนังชั้นในของสายสะดือมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดย TNF ด้วย [40]

สารประกอบ 5-HMF ถูกพบในสารสกัดกระเทียมดำบ่มจากคลอโรฟอร์มและถูกปรับสภาพใน TNF-α-stimulated HUVECs สารประกอบดังกล่าวกดโปรตีนรวมและการแสดงออกของ mRNA ของ VCAM-1 และ intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) ในผิวหน้าของเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำโดย TNF-α- มันยังช่วยยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ ลด THP-1 monocyte adhesion และลดการกระตุ้น NF-kB transcriptional factor ใน TNF-α-stimulated HUVECs [41] สารสกัดHEABG (50 ไมโครกรัม/มล.) กดกระบวนการแบ่งตัวและการเจริญเติบโตของเซลล์และความก้าวหน้าของวัฏจักรเซลล์ผ่านเอนไซม์ kinase ที่รับสัญญาณจากภายนอกเซลล์ (extracellular signal-regulated kinase, ERK) และวิถีของเอนไซม์ c-Jun N-terminal kinase (JNK) ในเซลล์สตรอมอลในเยื่อบุมดลูกของมนุษย์ที่ตัดออกจากคนไข้ที่มีเยื่อบุโพรงมดลูกเจริญผิดที่ (endometriosis) สารสกัดกระเทียมดำบ่มด้วยเฮกเซนยังมีศักยภาพในการกด TNF-α-induced ICAM-1 และ VCAM-1 transcripts และการแสดงออกของโปรตีนผ่านการยับยั้งการกระตุ้น NF-ΚB และ AP-1 transcription factors [47]

สารพวกลิโพพอลิแซ็กคาร์ไรด์ (Lipopolysaccharide -LPS) เป็นสารพิษที่เหนี่ยวนำไซโตไคน์หลายชนิดอย่างเช่น TNF-α, IL-1β, และ IL-6, ซึ่งเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการอักเสบหลายอย่าง [48] งานวิจัยอีกชิ้นหนึ่งซึ่งการทดสอบ MTT แสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระเทียมดิบมีความเป็นพิษต่อเซลล์สูงที่ความเข้มข้นมากกว่า 250 μก/มล. ทั้งที่มีและไม่มี LPS ในเซลล์ RAW 264.7 สารสกัดกระเทียมดำบ่มจากน้ำ (WEAGE) ในปริมาณที่ไม่เกิน 2000 μก/มล. ไม่แสดงว่ามีความเป็นพิษ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระเทียมดำบ่มจากน้ำมีความเป็นพิษน้อยกว่าสารสกัดกระเทียมสด เมื่อใส่สารสกัดกระเทียมดำบ่มจากน้ำไปอีก15ชั่วโมงก่อนใส่ LPSลงไปในเซลล์ ผลที่ได้คือ สารสกัดกระเทียมดำบ่มจากน้ำลดการผลิต nitric oxide (NO), TNF-α, และ prostaglandin-E2 ลงตามขนาดยาในมาโครฟาจ RAW 264.7 ที่กระตุ้นด้วย LPS ผ่านการควบคุมการสร้างเอนไซม์ NO synthase และการแสดงออกของ TNF-α mRNA รวมทั้งการแสดงออกของโปรตีน cyclooxygenase-2 ด้วย นอกจากนั้น กลไกการต้านการอักเสบของสารสกัดกระเทียมดำบ่มจากน้ำยังลดปฏิกิริยาฟอสโฟรีเลชั่น (phosphorylation) ของ JNK และ p38MAPK ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ LPS และยับยั้งการทำงานของ NF-ΚB และปฏิกิริยาฟอสโฟรีเลชั่นที่เกิดขึ้นเพื่อตอบสนองเซลล์ RAW 264.7 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย LPS ผู้เขียนป้อนสารสกัดกระเทียมดำบ่มจากน้ำ และสารสกัดกระเทียมสดปริมาณ 120 มก/กก.ให้แก่หนู C57BL/6 ด้วยการสวนหลอดก่อนจะฉีด LPS ปริมาณ 20 มก/กก. ให้ (ทำให้เกิดภาวะเอ็นโดท๊อกซีเมียจากสาร LPS) สารสกัดกระเทียมดำจากน้ำลดระดับของ TNF-α และ IL-6 ในเซรั่มต่อต้านการช็อคถึงแก่ชีวิตที่เกิดจาก LPS ในหนู C57BL/6 [6]

4.6. การแสดงฤทธิ์ต้านภูมิแพ้

มีหลักฐานเพิ่มขึ้นที่แสดงให้เห็นว่าโรคภูมิแพ้ได้รับอิทธิพลจากปัจจัยแวดล้อมอย่างเช่น อุปนิสัยการกิน ความเครียดและสิ่งแวดล้อมของที่อยู่อาศัย ในความเป็นจริงนั้น จำนวนผู้ป่วยโรคภูมิแพ้เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ในหลายประเทศ [49]

ภูมิแพ้เกี่ยวข้องกับแอนติบอดี้ immunoglobulin E (IgE) และการที่มาสท์เซลล์ต้องตอบสนองต่อพยาธิสรีระของอนาฟัยแล็กซิส(anaphylaxis) และปฏิกิริยาภูมิแพ้เฉียบพลันอื่นๆ พยานหลักฐานจำนวนมากชี้ให้เห็นว่า IgE และมาสท์เซลล์มีบทบาทสำคัญในการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นใหม่ซึ่งเชื่อมโยงกับการอักเสบเรื้อรังในโรคหอบหืด ภูมิแพ้ถูกจัดออกเป็น 5 ประเภท โดยภูมิแพ้ประเภทที่ 1 จะตอบสนองโดยอาการแพ้แบบอนาฟัยแลคซิสจะถูกกระตุ้นจากตัวรับ IgE receptor (FcεRI receptor) บนเนื้อเยื่อพลาสมาของมาสท์เซลล์และบาโซฟิลเซลล์ เป็นสารสื่อกลางบนพื้นผิวอย่างเช่นฮิสตามีน (histamine) arachidonic acid metabolites, proteases, serotonin และ heparin และสามารถปล่อย β-hexosaminidase ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้การปล่อยสาร ดังนั้น มาสท์เซลล์จึงมีบทบาทสำคัญในปฏิกิริยาภูมิแพ้ [50,51] เซลล์ RBL-2H3 ถูกใช้เป็นโมเดลในการคัดกรองปฏิกิริยาภูมิแพ้ในห้องทดลอง และใช้วิธี passive cutaneous anaphylaxis เป็นโมเดลการทดลองในสัตว์ เพื่อคัดกรองการตอบสนองภูมิแพ้ที่เกิดจาก IgE [52,53] สารสกัดกระเทียมดำที่สกัดโดยเอธิลอะซิเตท (2 มก/มล.) ยับยั้งการปล่อย β-hexosaminidase และ TNF-α ซึ่งยับยั้งการตอบสนองภูมิแพ้ที่เกิดจาก Ign ในเซลล์ RBL-2H3 ยิ่งไปกว่านั้น BG10 ซึ่งเป็นสารแปรรูปของสารสกัดกระเทียมดำที่สกัดโดยเอธิอะซิเตทแสดงให้เห็นว่ามีการยับยั้งการปล่อย β-hexosaminidase และ TNF-α อย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับสารแปรรูปอื่นๆ นอกจากนี้ BG10 ปริมาณ 50 ไมโครกรัม/มล. ยังยับยั้งการสร้าง prostaglandin E2 และ leukotriene B4 รวมทั้งปฏิกิริยาฟอสโฟรีเลชั่นของ Syk ด้วย BG10 ยังลดปฏิกิริยาฟอสโฟรีเลชั่นของ cytosolic phospholipase A2 และ 5-lipoxygenase รวมทั้งการแสดงออกของ cyclooxygenase-2 ในเซลล์ RBL-2H3 ด้วย BG10 (66.7 มก/กก.) ที่ป้อนให้แก่หนูด้วยหลอดสวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ลดปฏิกิริยา passive cutaneous anaphylaxisในปฏิกิริยา IgE-mediated passive cutaneous anaphylaxis ในหนู [7]

4.7. การลดไขมันในเลือด

งานวิจัยก่อนหน้านี้ชี้ให้เห็นว่ากระเทียมดำทำให้ระดับไขมันในเลือดอย่างเช่นคอเลสเตอรอลรวม ไตรกลีเซอไรด์ LDL และ HDL ในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงดีขึ้น [25]

Jung และคณะ [54] แสดงให้เห็นว่ากระเทียมดำบ่มสามารถทำให้ระดับไขมันในเลือดของผู้ป่วยที่มีภาวะไขมันในเลือดสูงดีขึ้น โดยแบ่งอาสาสมัคร 60 คนออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มหนึ่งได้รับกระเทียมดำ 6 กรัมและอีกกลุ่มได้รับยาหลอก โดยให้กินวันละสองครั้งก่อนอาหารเช้าและเย็นเป็นเวลา 12 สัปดาห์ แม้ว่ากลุ่มที่ได้รับกระเทียมดำจะไม่แสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างของระดับ triglyceride LDL คอเลสเตอรอลรวมหรือกรดไขมันอิสระเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอก แต่กลุ่มที่ได้รับกระเทียมดำมีระดับคอเลสเตอรอล HDL เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเมื่อสิ้นสุดการทดลอง [54] ทั้งนี้ Serum apo B (atherogenic lipoprotein) ในเซรั่มเป็นปัจจัยเสี่ยงที่เป็นและคาดเดาได้สูงสำหรับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ [55] โดยสรุปแล้ว อาหารเสริมกระเทียมดำช่วยลด serum apo B ในเซรั่มได้อย่างเห็นได้ชัด [54]

4.8. อิทธิพลต่อความจำและระบบประสาท

โมโนโซเดียมกลูตาเมท (Monosodium glutamate -MSG) หรือผงชูรสเป็นที่รู้จักกันดีและถูกใช้ทั่วโลกเพื่อปรุงแต่งอาหารเนื่องจากรสชาติที่กลมกล่อม [56] อย่างไรก็ตาม นักวิจัยบางคนรายงานว่าผงชูรสอาจมีผลเสียต่ออวัยวะต่างๆ ซึ่งรวมถึงเซลล์เพอกินจี (Purkinje cells) ในสมองส่วนซีรีเบลลัมและฮิปโปแคมปัส [57,58] ซีรีเบลลัมและฮิปโปแคมปัสมีบทบาทสำคัญต่อระบบประสาทและระบบความจำตามลำดับ เมื่อเป็นเช่นนี้ สมองจึงเป็นหนึ่งในอวัยวะที่อ่อนไหวที่สุดต่อผลของผงชูรสเนื่องจากการที่มันมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน(polyunsaturated fatty acids) ในปริมาณสูง มีกระบวนการเมตาบอลิซึ่มสูง และมีการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ รวมทั้งมีลักษณะเฉพาะของเซลล์ประสาทที่ยากจะเลียนแบบ [59-61]

กระเทียมเป็นที่รู้จักกันดีไม่เฉพาะเป็นสิ่งเพิ่มรสชาติอาหาร แต่ยังเป็นอาหารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง กล่าวโดยเฉพาะ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกระเทียมดำสูงกว่า($p < 0.05$) ในกระเทียมสดอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องมาจากระดับของโพลีฟีนอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่า[56,62] นักวิจัยบางคนได้ค้นคว้าเกี่ยวกับผลกระทบของกระเทียมดำที่ได้จากการสกัดโดยเอธานอลที่มีต่อระบบประสาทและความจำ โดยใช้โมเดลหนู Wistar ซึ่งได้รับผงชูรส [63,64] จากการศึกษาของ Hermawati และคณะ [63] หนูที่ได้รับกระเทียมดำใช้เวลาในการหาแผ่นรอง (escape latencies) และความยาวของทางเดินสั้นกว่าหนูในกลุ่มควบคุมทั้งที่ได้รับและไม่ได้รับผงชูรส ในการทดสอบแผ่นรองที่มองไม่เห็นจากกระบวนการ Morris Water Maze (MWM) นอกจากนี้ แม้ว่าขนาดโดสของผงชูรสอาจไม่เพียงพอที่จะแสดงให้เห็นถึงการลดลงของจำนวนเซลล์เพอร์กินจีอย่างชัดเจน แต่การใช้สารสกัดกระเทียมดำและผงชูรสช่วยให้การลดจำนวนเซลล์เพอร์กินจีดีขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้ผงชูรสเพียงอย่างเดียว [64]

กล่าวโดยสรุป กระเทียมดำอาจมีบทบาทสำคัญในการบรรเทาโรคบางโรคและช่วยให้การทำงานของระบบความจำและประสาทดีขึ้นเนื่องจากฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตาม ขนาดของผงชูรสที่ใช้อาจไม่สามารถลดจำนวนเซลล์เพอร์กินจีในซีรีเบลลัมของหนูได้อย่างมีนัยสำคัญ ฉะนั้น จำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไปเพื่อหาว่าการใช้ผงชูรสในขนาดที่มากขึ้นจะส่งผลกระทบต่อจำนวนของเซลล์เพอร์กินจีหรือไม่

4.9. อิทธิพลของกระเทียมดำต่อโรคการอักเสบที่เกี่ยวข้องกับ TNF-α

การสะสมของโมโนไซต์ในผนังหลอดเลือดเกิดขึ้นจาก cell adhesion molecules บางประเภทเช่น VCAM-1, ICAM-1, และ endothelial cell selection [40] กล่าวโดยเจาะจงคือ VCAM-1 ถูกกระตุ้นโดยไซโตไคน์เช่น TNF-α และ IL-1 ในเอนโดธีเลียมหรือเยื่อบุภายใน (endothelium) ปรากฏการณ์นี้มีส่วนทำให้เกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) ผ่านการยึดเกาะของโมโนไซต์ในเยื่อบุด้านในหลอดเลือด นอกจากนี้ cell adhesion molecules ยังส่งผลให้เกิดโรคเยื่อบุมดลูกเจริญผิดที่ (endometriosis) [42] เหล่านี้เกิดจากการแสดงออกของไซโตไคน์และเคโมไคน์

แม้ว่าจะรู้กันดีว่า TNF-α เป็นตัวเหนี่ยวนำการแสดงออกของ cell adhesion molecule แต่มันยังเกี่ยวข้องอย่างลึกซึ้งกับปฏิกิริยาการอักเสบในมนุษย์อีกด้วย ในส่วนถัดไปจะกล่าวถึงอิทธิพลของสารสกัดกระเทียมดำที่มีต่อโรคที่เกี่ยวข้องกับ TNF-α

สารสกัดกระเทียมดำด้วยคลอโรฟอร์มสามารถกด cell adhesion molecules ซึ่งถูกเร่งกระตุ้นโดย TNF-α. การผลิตสารออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา ส่วนการทำงานของ NF-ΚB และการเกาะตัวกับโมโนไซต์ล้วนแต่ดีขึ้น [40]. นอกจากนี้ 5-HMFซึ่งเป็นสารบริสุทธ์จากกระเทียมดำยังสามารถกด cell adhesion molecules ซ่งถูกกระตุ้นโดย TNF-α ได้ [41] ยิ่งไปกว่านั้นสารสกัดกระเทียมดำด้วยเฮกเซนยังสามารถลดการแสดงออกของ cell adhesion molecules อย่างเช่น ICAM-1 และ VCAM-1 ในเซลล์สตรอมอลในเยื่อบุมดลูกของมนุษย์ที่ถูกระตุ้นด้วย TNF-α- ได้

โดยสรุปสารสกัดกระเทียมดำด้วยเฮกเซนอาจมีประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาโรคเยื่อบุมดลูกเจริญผิดที่ในมนุษย์ได้ นอกจากนี้ สารสกัดกระเทียมดำด้วยคลอโรฟอร์มและสาร 5-HMF ยังอาจมีประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาโรคหลอดเลือดแดงแข็ง อย่างไรก็ดี ยังไม่มีการค้นคว้าเกี่ยวกับสารประกอบเคมีที่ถูกต้องแน่นอน ฉะนั้นจึงต้องทำการวิเคราะห์สารประกอบในสารกสกัดดังกล่าวนี้ต่อไป

5. สรุป

เป็นที่แน่ชัดว่ากระเทียมดำมีข้อได้เปรียบหลายประการเมื่อเทียบกับกระเทียมสด เนื่องจากกระเทียมถูกบริโภคในสังคมมนุษย์มานานและถือว่าเป็นอาหารประเภทหนึ่งที่มีความปลอดภัย ในอนาคตจึงไม่น่าจะมีอุปสรรคในการสร้างสรรค์ผลิตภัณฑ์กระเทียมดำในฐานะอาหารเพื่อสุขภาพ อาหารเสริม รวมทั้งวัตถุประสงค์ในการใช้เป็นยา กระบวนการที่เป้นระบบและมีประสิทธิภาพในการผลิตกระเทียมดำมีความสำคัญเนื่องจากมันจำเป็นในการควบคุมความเปลี่ยนแปลงในระดับเมตาโบไลท์ระหว่างกระบวนการหมักสำหรับการผลิตในเชิงอุตสาหกรรมขนาดใหญ่

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนทุกท่านยืนยันว่าไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสภาวิทยาศาสตร์แห่งชาติ ประเทศไต้หวัน (No. 104-2221-E-002-125-MY3). ผู้เขียนขอขอบคุณคุณ Mrs Qian-Wen Shang บัณฑิตสาขาวิชาภาษาอังกฤษจากมหาวิทยาลัยแห่งชาติเจิ้งจื้อสำหรับการตรวจแก้ภาษาอังกฤษ

เอกสารอ้างอิง

[1] Yuan H, Sun L, Chen M, Wang J. The comparison of the contents of sugar, Amadori, and Heyns compounds in fresh and black garlic. J Food Sci 2016;81:C1662-8.

[2] Bradley C. New black magic: black garlic is new food sensation. Herald Times. Retrieved 2009-03-01,http://archive.is/http://www.heraldtimesonline.com/stories/2009/02/25/recipe.qp-1681035.sto.

[3] Jeong YY, Ryu JH, Shin JH, Kang MJ, Kang JR, Han J, Kang D. Comparison of anti-oxidant and anti-inflammatory effects between fresh and aged black garlic extracts. Molecules 2016;21:430.

[4] Park C, Park S, Chung YH, Kim GY, Choi YW, Kim BW, Choi YH. Induction of apoptosis by a hexane extract of aged black garlic in the human leukemic U937 cells. Nutr Res Pract 2014;8:132-7.

[5] Ha AW, Ying T, Kim WK. The effects of black garlic (Allium sativum) extracts on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. Nutr Res Pract 2015;9:30-6.

[6] Kim MJ, Yoo YC, Kim HJ, Shin SK, Sohn EJ, Min AY, Sung NY, Kim MR. Aged black garlic exerts anti-inflammatory effects by decreasing no and proinflammatory cytokine production with less cytotoxicity in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages and LPS-induced septicemia mice. J Med Food 2014;17:1057-63.

[7] Yoo JM, Sok DE, Kim MR. Anti-allergic action of aged black garlic extract in RBL-2H3 cells and passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice. J Med Food 2014;17:92-102.

[8] Theisen C. What ever happened to…? Looking back to years. J Natl Cancer Inst 2001;93:1049-50.

[9] Santhosha SG, Jamuna P, Prabhavathi SN. Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: a review. Food Biosci 2013;3:59-74.

[10] Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. Intake of garlic and its bioactive components. J Nutr 2001;131:955S-62S.

[11] Corzo-Martinez M, Corso N, Villamiel M. Biological properties of onions and garlic. Trends Food Sci Technol 2007;18:609-25.

[12] Amagase H. Clarifying the real bioactive constituents of garlic. J Nutr 2006;131:955s-62s.

[13] Choi S, Cha HS, Lee YS. Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. Molecules 2014;19:16811-23.

[14] Saravanan G, Ponmurugan P. SAC improves streptozotocin induced alterations of blood glucose, liver cytochrome P450 2E1, plasma antioxidant system, and adipocytes hormones in diabetic rats. Int J Endocrinol Metab 2013;11:e10927.

[15] Colin GAL, Santana RA, Silva ICA, Chanez CME, Santamaria A, Maldonad PD. The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract- and S-allylcystein induced protection. Oxid Med Cell Longev 2012;2012:1-16.

[16] Colin GAL, Ali SF, Tune I, Santamaria A. On the antioxidant, neuroprotective and anti-inflammatory properties of S-allyl cysteine: an update. Neurochem Int 2015;89:83-91.

[17] Hwang IG, Kim HY, Woo KS, Lee J, Jeong HS. Biological activities of Maillard reaction products (MRPs) in a sugareamino acid model system. J Food Chem 2011;126:221-7.

[18] Vokk R, Tedersoo E, Lougas T, Valgma K, Rosend J. Comparative study on anti-oxidant activity of garlic grown in different regions. Agro Res 2014;12:821-4.

[19] Sato E, Kohno M, Hamano H, Niwano Y. Increased antioxidative potency of garlic by spontaneous short-term fermentation. Plant Foods Hum Nutr 2006;61:157-60.

[20] Gorinstein S, Leontowicz H, Leontowicz M, Namiesnik J, Najman K, Drzewiecki J, Cvikrova M, Martincova O, Katrich E, Trakhtenberg S. Comparison of the main bioactive compounds and antioxidant activities in garlic and white and red onions after treatment protocols. J Agric Food Chem 2008;56:4418-26.

[21] Ioannou I, Hafsa I, Hamdi S, Charbonnel C, Ghoul M. Review of the effects of food processing and formulation on flavonol and anthocyanin behavior. J Food Eng 2012;111:208-17.

[22] Toledano-Medina MA, Perez-Aparicio J, Moreno-Rojas R, Merinas-Amo T. Evolution of some physicochemical and antioxidant properties of black garlic whole bulbs and peeled cloves. J Food Chem 2016;199:135-9.

[23] Zhang X, Li N, Lu X, Liu P, Qiao X. Effects of temperature on the quality of black garlic. J Sci Food Agric 2015;96:2366-72.

[24] Hodge JE. Dehydrated foods, chemistry of browning reactions in model systems. J Agric Food Chem 1953;1:928-43.

[25] Jung YM, Lee SH, Lee DS, You MJ, Chung IK, Cheon WH, Kwon YS, Lee YJ, Ku SK. Fermented garlic protects diabetic, obese mice when fed a high-fat diet by antioxidant effects. Nutr Res 2011;31:387-96.
[26] Lean ME, Noroozi M, Kelly I, Burns J, Talwar D, Sattar N. Dietary flavonols protect diabetic human lymphocytes against oxidative damage to DNA. Diabetes 1999;48:176-81.
[27] Sinclair AJ, Girling AJ, Gray L, Lunec J, Barnett AH. An investigation of the relationship between free radical activity and vitamin C metabolism in elderly diabetic subjects with retinopathy. J Gerontol 1992;38:268-74.
[28] Hien-Trung T, Han SJ, Kim SW, Lee YC, Kim DH. Bifidus fermentation increases hypolipidemic and hypoglycemic effects of red ginseng. J Microbial Biotechnol 2007;17:1127-33.
[29] Thomson M, Ali M. Garlic [Allium sativum]: a review of its potential use as an anti-cancer agent. Curr Cancer Drug Tar 2003;3:67-81.
[30] Butt MS, Sultan MT, Butt MS, Iqbal J. Garlic: nature's protection against physiological threats. Crit Rev Food Sci Nutr 2009;49:538-51.
[31] Imai J, Ide N, Nagae S, Moriguchi T, Matsuura H, Itakura Y. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. Planta Med 1994;60:417-20.
[32] Lee YM, Gweon OC, Seo YJ, Im J, Kang MJ, Kim MJ, Kim JI. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. Nutr Res Pract 2009;3:156-61.
[33] Sato E, Kohno M, Niwano Y. Increased level of tetrahydro-bcarbokine derivatives in short-term fermented garlic. Plant Food Hum J Nutr 2006;61:175-8.
[34] Kim SH, Jung EY, Kang DH, Chang UJ, Hong YH, Suh HJ. Physical stability, antioxidative properties, and photoprotective effects of a functionalized formulation containing black garlic extract. J Photochem Photobiol B 2012;117:104-10.
[35] Purev U, Chung MJ, Oh DH. Individual differences on immunostimulatory activity of raw and black garlic extract in human primary immune cells. Immunopharmacol Immunotoxicol 2012;34:651-60.
[36] Wang X, Jiao F, Wang QW, Wang J, Yang K, Hu RR, Liu HC, Wang HY, Wang YS. Aged black garlic extract induces inhibition of gastric cancer cell growth in vitro and in vivo. Mol Med Rep 2012;5:66-72.
[37] Dong M, Yang G, Liu H, Liu X, Lin S, Sun D, Wang Y. Aged black garlic extract inhibits HT29 colon cancer cell growth via the PI3K/Akt signaling pathway. Biomed Rep 2014;2:2:50-4.
[38] Kim MH, Kim MJ, Lee JH, Han JI, Kim JH, Sok DE, Kim MR. Hepatoprotective effect of aged black garlic on chronic alcohol-induced liver injury in rats. J Med Food 2011;14:732-8.
[39] Shin JH, Lee CW, Oh SJ, Yun J, Kang MR, Han SB, Park H, Jung JC, Chung YH, Kang JS. Hepatoprotective effect of aged black garlic extract in rodents. Toxicol Res 2014;30:49-54.
[40] Lee EN, Choi YW, Kim HK, Park JK, Kim HJ, Kim MJ, Lee HW, Kim KH, Bae SS, Kim BS, Yoon S. Chloroform extract of aged black garlic attenuates TNF-a-induced ROS generation, VCAM-1 expression, NF-kB activation and adhesiveness for monocytes in human umbilical vein endothelial cells. Phytother Res 2011;25:92-100.
[41] Kim HK, Choi YW, Lee EN, Park JK, Kim SG, Park DJ, Kim BS, Lim YT, Yoon S. 5-Hydroxymethylfurfural from black garlic extract prevents TNF-a-induced monocytic cell adhesion to HUVECs by suppression of vascular cell adhesion molecule-1 expression, reactive oxygen species generation and NF-kb activation. Phytother Res 2011;25:965-74.
[42] Queiroz YS, Ishimoto EY, Bastos DH, Sampaio GR, Torres EA. Garlic (Allium sativum L.) and ready-to-eat garlic products: in vitro antioxidant activity. Food Chem 2009;115:371-4.
[43] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 2011;144:646-74.
[44] Yanovski SZ, Yanovski JA. Obesity. N Engl J Med 2002;346:591-602.
[45] Mukai M, Ozasa K, Hayashi K, Kawai K. Various S-GOT/S-GPT ratios in nonviral liver disorders and related physical conditions and life-style. Dig Dis Sci 2002;47:549-55.
[46] Lusis AJ. Atherosclerosis. Nature 2000;407:233-41.
[47] Kim KH, Park JK, Choi YW, Kim YH, Lee EN, Lee JR, Kim HS, Baek SY, KimBS, Lee KS, Yoon S. Hexane extract of aged black garlic reduces cell proliferation and attenuates the expression of ICAM-1 and VCAM-1 in TNF-a-activated human endometrial stromal cells. Int J Mol Med 2013;32:67-78.
[48] Bae GS, Kim MS, Jung WS, Seo SW, Yun SW, Kim SG, Park RK, Kim EC, Song HJ, Park SJ. Inhibition of lipopolysaccharide induced inflammatory responses by piperine. Eur J Pharmacol 2010;642:154-62.
[49] Wang DY. Risk factors of allergic rhinitis: genetic or environmental? Ther Clin Risk Manag 2005;1:115-23.

[50] Itoh T, Ohguchi K, Iinuma M, Nozawa Y, Akao Y. Inhibitory effect of xanthones isolated from the pericarp of Garcinia mangostana L. on rat basophilic leukemia RBL-2H3 cell degranulation. Bioorg Med Chem 2008;16:4500-8.
[51] Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. Nat Med 2012;18:693-704.
[52] Kemp SF, Lockey RF. Anaphylaxis: a review of causes and mechanisms. J Allergy Clin Immun 2002;110:341e8.
[53] Justus DE, Saelinger C. Comparison of mouse strain skin sensitivities to anaphylactic mediators and susceptibility to passive cutaneous anaphylactic reactions. Infect Immun 1976;13:413-6.
[54] Jung ES, Park SH, Choi EK, Ryu BH, Park BH, Kim DS, Kim YG, Chae SW. Reduction of blood lipid parameters by a 12-wk supplementation of aged black garlic: a randomized controlled trial. J Nutr 2014;30:1034-9.
[55] Davidson MH. Apolipoprotein measurements: is more widespread use clinically indicated? Clin Cardiol 2009;32:482-6.
[56] Farombi EO, Onyema OO. Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. Hum Exp Toxicol 2006;25:251-9.
[57] Eweka AO, Om'Iniabohs FAE. Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the cerebellum of adult Wistar rats. Internet J Neurol 2007;8:1-5.
[58] Hashem HE, El-Din Safwat MD, Algaidi S. The effect of monosodium glutamate on the cerebellar cortex of male albino rats and the protective role of vitamin C (histological and immunohistochemical study). J Mol Histol 2012;43:179-86.
[59] Blaylock RL. Excitotoxin: the taste that kills. Santa Fe: Health Press; 1997.
[60] Singh P, Mann KA, Mangat HK, Kaur G. Prolonged glutamate excitotoxicity: effects on mitochondrial antioxidants and antioxidant enzymes. Mol Cell Biochem 2003;243:139-45.
[61] Noor N, Mourad I. Evaluation of antioxidant effect of Nigella sativa oil on monosodium glutamate-induced oxidative stress in rat brain. J Am Sci 2010;6:13-9.
[62] Kim J, Kang O, Gweon O. Comparison of phenolic acids and flavonoids in black garlic at different thermal processing steps. J Funct Foods 2013;5:80-6.
[63] Hermawati E, Sari DCR, Partadiredja G. The effects of black garlic ethanol extract on the spatial memory and estimated total number of pyramidal cells of the hippocampus of monosodium glutamate-exposed adolescent male Wistar rats. Anat Sci Int 2015;90:275-86.
[64] Aminuddin M, Partadiredja G, Sari DCR. The effects of black garlic (Allium sativum L.) ethanol extract on the estimated total number of Purkinje cells and motor coordination of male adolescent Wistar rats treated with monosodium glutamate. Anat Sci Int 2015;90:75-81.