

마늘과 한약재 복합물의 항산화 활성 및 고콜레스테롤 급이 흰쥐의 간장 지질 함량에 미치는 영향

이수정¹ · 신정혜² · 강민정² · 양승미¹ · 주종찬³ · 성낙주^{1,2*}

¹경상대학교 식품영양학과, ²(재)남해마늘연구소, ³창신대학 호텔조리제빵과

Received September 4, 2009 / Accepted October 8, 2009

Effect of Garlic and Medicinal Plants Composites on Antioxidant Activity and Lipid Levels of Liver in Hypercholesterolemic Rats. Soo-Jung Lee¹, Jung-Hye Shin², Min-Jung Kang², Seung-Mi Yang¹, Jong-Chan Ju³ and Nak-Ju Sung^{1,2*}. ¹Dept. of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea, ²Namhae Garlic Research Institute, Namhae 668-812, Korea, ³Dept. of Hotel Curinary & Bakery, Changshin College, Masan 630-520, Korea - The effects of combined garlic and medicinal plant extracts such as Gyeolmyeongja (*Cassia obtusifolia* Linne), Hasuo (*Polygoni multiflora* Radix), Youngji (*Ganoderma lucium*) and Sansayuk (*Crataegus pinnatifida* Bunge) on the antioxidant activity and lipid levels in the livers of rats fed a high cholesterol diet were analyzed. Total phenol and flavonoid contents were the highest in the Gyeolmyeongja by 151.02±5.20 mg/100 g and 43.69±5.58 mg/100 g. Electron donating ability, reducing power and hydroxyl radical scavenging activity were significantly increased when over 0.3% garlic extract was added. The antioxidant activity of linoleic acid in β -carotene increased in a dose dependant manner in response to the concentration of garlic extract. In livers of rats, the content of total lipids was significantly decreased by feeding garlic and medicinal plants composites; in particular, the group in which 0.7% garlic extract was added was the lowest. Total cholesterol was 14.95 mg/g in the control group; its level was lower in the groups fed garlic and medicinal plants composites, ranging from 11.47 to 11.86 mg/g. Triglyceride concentration was significantly decreased in the group fed 0.7% garlic extracts, with 46.42 mg/g compared to groups fed 0.3% and 0.5%. TBARS content showed a 15.8~17.6% decrease in groups fed 0.5~0.7% garlic extract and medicinal plants composites. Antioxidant activity was significantly increased in groups fed over 0.5% garlic extract compared to the control group. This study shows that garlic and medicinal plant composites intake is able to reduce the levels of liver lipids in hypercholesterolemic rats.

Key words : Garlic, medicinal plants, antioxidant, liver lipids

서 론

동물성 지방의 섭취량이 많아짐에 따라 고지혈증 발생 빈도가 증가하고 있는데, 동맥경화, 고혈압 및 지방간 등이 이와 관련된 대표적인 생활습관병으로 알려져 있다[4]. 특히 동물성 식품 중 콜레스테롤은 섭취량에 따라 체내 생합성이 조절되어 일정하게 유지되나 과다 섭취시에는 다량 축적되어 동맥경화, 협심증, 심근경색 및 뇌경색 등 각종 대사성 질환을 유발하게 된다[36]. 이러한 질병은 치료보다 예방이, 약물보다는 식생활의 변화가 더 절실히 요구되기 때문에 현대인은 식품 선택에 있어서 기능성 식품을 추구하려는 경향이 높다. 최근에는 한방이나 민간요법에 근거하여 체내 콜레스테롤 및 중성지질의 수준을 효율적으로 저하시킬 수 있는 식물 성분의 추출과 효능에 관하여 식물류간 항산화 효과를 비교한 연구가 수행되어져 오고 있는데[13-16,20,21,33], 이러한 측면에서 볼 때 장기간 복용하여도 부작용이 적으며, 항산화 효과를 갖는 식물류나 한약재의 발굴 및 이들의 섭취가 생체에 미치는 생물학적 영

향을 밝히는 것은 큰 의미가 있다고 본다.

본 실험에서 복합조성물로 선택한 마늘과 한약재의 기능성을 종합해보면, 마늘 중 함황 화합물인 allicin은 분해되어 ajoene으로 전환되어 강력한 항혈전 효력을 갖게 된다[35]. 또한 allicin, diallyl disulfide 등의 반응 생성물인 thiosulfinate가 -SH기와 반응하므로써 여러 가지 생리활성 작용을 나타내는데, diallyl sulfides는 체내에서 acetyl CoA 또는 3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA reductase를 저해하기 때문에 혈중 지질 농도를 감소시키며[8,39], 그 외 마늘에 함유된 페놀 화합물, 플라보노이드류도 체내 지질함량 저하에 효과적이라고 보고되어 있다[15,33]. Lee와 Son [23]은 하수오(*Polygoni multiflora* Radix)의 증류액이 간 보호 및 간장 허약증에 효능이 있으며, 중성지방의 축적을 방지하는 등의 고지혈증 흰쥐에 대한 체내 지질대사 개선에 효과적인 것으로 보고하였다. 영지의 물추출물은 고지혈증 흰쥐에 급이하였을 때 혈중 지질 농도를 저하시키고[20], 결명자는 항산화 활성[28] 및 고콜레스테롤 급이 흰쥐에 있어서 체내 지질 개선에 효과가 있는 것으로 보고[11]된 바 있다.

따라서 본 연구에서는 결명자, 하수오, 영지 및 산사육 추출물에 마늘 열수추출물을 혼합하여 복합물을 제조하여 항산화

*Corresponding author

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

E-mail : snakju@gnu.ac.kr

능 및 고콜레스테롤 급이 흰쥐에 있어서 간장 조직 중 지질 조성에 미치는 시너지효과를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

한약재는 문헌고찰을 통하여 약리적으로 체내 지질개선 및 동맥경화 저해활성이 있는 것으로 알려진 결명자 (*Gyeolmyeongja*, *Cassia obtusifolia* Linne), 하수오 (*Hasuo*, *Polygoni multiflori* Radix), 영지 (*Youngji*, *Ganoderma lucium*) 및 산사육 (*Sansayuk*, *Crataegus pinnatifida* Bunge) 4종을 선정하였으며, 경남 진주시 소재 한약방에서 건조된 형태로 시판되는 것을 구입하였다. 마늘은 경남 남해군에서 생산된 것을 산지로부터 구입하여 박피 후 세척하여 실험에 사용하였다.

시료의 제조

마늘 및 4종의 한약재는 각각 100 g에 대하여 10배의 증류수를 넣어 95°C 수욕조상에서 4시간 동안 환류냉각하면서 2회 반복 추출하였다. 추출물을 진공동결건조하여 분말을 얻어 -40°C에 밀봉하여 보관해 두고 항산화능 측정 및 흰쥐의 사육 시 식이 첨가물로 사용하였다. 시료의 추출 수율은 추출 전 시료에 대한 추출물의 건조 후 증량백분율로 계산하였다.

마늘과 한약재 복합물의 제조는 각 4종의 한약재 추출물을 250 µg씩 혼합하여 최종농도를 1,000 µg/ml로 한 다음, 여기에 마늘 열수추출물을 0, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5 및 1% 농도가 되도록 용해시켰으며, 복합물은 제조한 즉시 실험에 사용하였다.

항산화능의 측정

총 페놀 함량은 Folin-Denis법[9]에 따라 측정하여 caffeic acid (Sigma Co., St. Louis, Mo, USA)로부터 얻은 검량선으로부터 총 페놀 함량을 산출하였다. 플라보노이드 함량은 Moreno 등[27]의 방법에 따라 측정하여 quercetin (Sigma Co.)으로부터 얻은 검량선으로부터 총 플라보노이드 함량을 계산하였다. 전자공여능은 Blois [2]의 방법을 변형하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)에 대한 전자공여 효과로 나타내었다. 환원력은 Oyaizu [30]의 방법에 따라 측정하여 흡광도 값으로 나타내었다. Hydroxyl radical 소거능은 Gutteridge [10]의 방법에 따라 측정하였으며, 대조구에 대한 시료 첨가구의 소거능으로 산출하였다. β -carotene linoleic acid계에서 항산화능 측정은 β -carotene과 linoleic acid를 혼합한 기질액을 이용하여 대조구에 대한 시료 첨가구의 항산화능으로 계산하였다[37].

실험동물의 사육 및 식이조성

5주령의 150±10 g인 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 (주)샘타코(오산, Korea)로부터 분양받아, 동물실험실(온도 22±2°C,

습도 50±5%, 명암주기 07:00~19:00)에서 사육하였으며, 시판 고형사료(삼양사, Korea)로 1주간 적응 및 콜레스테롤을 첨가하지 않은 기본식으로 1주간 예비사육 후 난괴법으로 7마리씩 5그룹으로 나누어 4주간 실험 사육하였다. 실험식이군은 정상군(Normal), 대조군(Control) 및 실험군으로 분류하였으며, 실험군은 한약재 혼합물을 식이에 1% 농도로 동일하게 첨가하고 여기에 각각 마늘추출물 0.3% 첨가군(G-0.3%), 마늘추출물 0.5% 첨가군(G-0.5%), 마늘추출물 0.7% 첨가군(G-0.7%)으로 구성하였으며, 각 실험군의 식이조성은 Table 1과 같다.

실험동물의 처리

실험사육 최종일에 16시간 절식 후 에테르로 마취하여 심장으로부터 혈액을 제거시킨 후 장기(간장, 심장, 신장, 비장, 폐, 고환)를 적출하여 중량을 측정하였으며, 적출된 간장은 생리식염수로 씻어 흡수지로 물기를 제거한 후 실험에 사용하였다.

간장 조직의 지질 성분 분석

간장 조직 0.5 g을 취하여 chloroform:methanol (C:M=2:1, v/v)을 가하여 tissue grinder (Daihan WOS01010, Korea)로 마쇄하여 30 ml로 정용한 다음 냉암소에 하룻밤 정치시켜 지질을 추출한 다음 일정량을 취해 완전 건조시킨 것을 간장 조직 중 지질 분석용 시료로 사용하였다[6]. 총지질(total lipids)은 sulfophospho-vanillin 법[31]에 따라 지질추출액에 진한 황산 및 phospho-vanillin 시약을 첨가한 후 37°C에서 15분간 반응시켜 시료 무첨가구를 대조로 하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 콜레스테롤(total cholesterol)은 총 콜레스테롤 측정용 kit시약(AM 202-k, Asan, Korea), 중성지방(triglyceride)은 중성지방 측정용 kit시약(AM 157S-k, Asan, Korea), 인지질은 인지질 측정용 kit시약(SICDIA L PL, Eiken, Japan)으로 측정하였으며 표준검량선에 의해 산출하였다.

간장 조직의 지질과산화물 함량 및 항산화능 측정

지질과산화물 함량은 간장 조직 1 g에 1.5% KCl 용액을 가하여 균질화한 후 균질액 0.5 ml를 취하여 3 ml의 1% phosphoric acid와 1 ml의 0.6% TBA를 넣어 잘 혼합하였다. 이것을 95°C 수욕조상에서 45분간 가열한 후 butanol로 발색물질 추출한 다음 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 간장 조직의 지질과산화물 함량은 1,1,3,3-tetraethoxypropane으로부터 얻은 검량선으로부터 TBARS 값을 산출하였다[38].

간장 조직의 항산화능은 Lim 등[24]의 방법에 따라 상기의 균질액 100 µl에 tris-HCl 완충액(100 mM, pH 7.4) 및 DPPH (2.5 mg/100 ml ethanol) 용액 각 2 ml를 가한 다음 실온의 암실에서 15분간 반응시켰다. 여기에 chloroform을 가하여 발색물질을 추출하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients ¹⁾	Groups (%)					
	Normal	Control	G-0.3% ⁵⁾	G-0.5% ⁶⁾	G-0.7% ⁷⁾	
Starch	39.74	39.74	39.74	39.74	39.74	
Casein	20	20	20	20	20	
Dextrin	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2	
Cellulose	5	5	5	5	5	
Sucrose	10	10	10	10	10	
Vitamin Mix. ²⁾	1	1	1	1	1	
Mineral Mix. ³⁾	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	
L-Cystein	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Soybean oil	7	7	7	7	7	
Cholesterol	-	1	1	1	1	
Sodium cholate	-	0.25	0.25	0.25	0.25	
Water extract of medicinal plants mixture ⁴⁾	-	-	1	1	1	
Water extract of garlic	-	-	0.3	0.5	0.7	

¹⁾AIN-96™ diet composition, ²⁾AIN-76™ Vitamin mixture, ³⁾AIN-76™ Mineral mixture.

⁴⁾plants mixture : the mixture of *Cassia obtusifolia* Linne 0.25% + *Polygoni multiflori* Radix 0.25% + *Ganoderma lucium* 0.25% + *Crataegus pinnatifida* Bunge 0.25%.

⁵⁾G-0.3%: fed the composites of 1% medicinal plants mixture and 0.3% garlic extract.

⁶⁾G-0.5%: fed the composites of 1% medicinal plants mixture and 0.5% garlic extract.

⁷⁾G-0.7%: fed the composites of 1% medicinal plants mixture and 0.7% garlic extract.

통계처리

실험으로부터 얻은 결과는 SPSS package를 이용하여 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검정은 일원배치 분산분석을 한 후 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 비교분석하였다.

결과 및 고찰

추출 수율, 총 페놀 및 플라보노이드 함량

한약재로써 결명자, 하수오, 영지 및 산사육 열수추출물의 수율, 총 페놀 및 플라보노이드의 함량은 Table 2와 같다. 추출 수율은 산사육이 21.4%로 가장 높았고 다음으로 하수오가 17.0%였으며, 결명자와 영지는 10% 미만이었다. Ju 등[13]은 수종의 한약재를 열수추출한 결과 추출 수율은 산사육에서

12.2%, 결명자에서 14.8%라고 보고하였다. 이 결과는 본 실험 결과와 상당한 함량차를 보였는데 이는 추출 용매와 시료와의 비, 추출 온도 및 시간 등의 조건 차이에 의한 것이라 생각된다 [17]. 총 페놀 함량은 결명자에서 151.02 mg/100 g으로 가장 높았으며, 다음으로 산사육, 영지, 하수오의 순서였으며, 시료 간에 함량차이가 매우 컸다. 플라보노이드 함량은 결명자가 43.69 mg/100 g으로 가장 높았으나, 그 외 시료에서는 10 mg/100 g 미만이었다. 결명자와 산사육의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 Ju 등[13]이 보고한 결과와 비교해 볼 때, 추출 수율이 낮은 것에 반해 월등히 높은 함량이었으나, 하수오의 총 페놀 함량이 6.49 mg/g, 플라보노이드가 1.02 mg/g이라고 한 보고[16]에 비해서는 낮은 함량이었다. 민들레 추출물 중의 페놀 및 플라보노이드 함량은 추출시간이나 용매 조건보다는 추출 온도에 영향을 많이 받으며, 추출 온도가 높을수록 페놀 및 플라보노이드 함량이 증가된다고 한 보고[19]로 볼 때 본 결과도 이와 유사한 것으로 생각된다. 더욱이 식물류의 물추출물로부터 정량된 페놀 및 플라보노이드 함량은 대부분 플라보노이드보다 페놀의 함량이 높으며, 그 차이가 클수록 항산화능도 우수한 것으로 평가되어 폴리 페놀성 물질의 함량과 항산화능이 비례적이라고 보고되어 있다[16]. 따라서 본 실험에 사용된 한약재도 페놀 함량이 플라보노이드에 비해 월등히 높게 정량되어 항산화능이 높을 것으로 추정되었다.

Table 2. Extraction yield, total phenol and flavonoids contents of the hot water extracts from the medicinal plants

Scientific name	Yield (%)	Total phenol	Flavonoids
		(mg/100 g)	
<i>Cassia obtusifolia</i> Linne	7.6	151.02±5.20 ^D	43.69±5.58 ^C
<i>Polygoni multiflori</i> Radix	17.0	10.62±0.25 ^A	4.56±0.17 ^A
<i>Ganoderma lucium</i>	1.8	54.03±2.24 ^B	9.33±0.15 ^B
<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge	21.4	92.75±0.69 ^C	6.14±0.23 ^{AB}

*Yield of hot water extract from raw garlic: 24.88% [32]

*Total phenolic compounds and flavonoids contents of garlic extract: 0.81±0.18 mg/100 g and 0.22±0.08 mg/100 g [32]

한약재 열수추출물의 항산화능

4종의 한약재 열수추출물에 대한 전자공여능은 Table 3과

Table 3. Electron donating ability of hot water extracts from the medicinal plants (%)

Scientific name	Sample concentration (µg/ml)			
	100	250	500	1000
<i>Cassia obtusifolia</i> Linne	21.50±1.02 ^{aC}	45.97±1.00 ^{bD}	75.81±1.48 ^{cD}	86.78±0.14 ^{dC}
<i>Polygoni multiflori</i> Radix	0.59±0.08 ^{aA}	0.84±0.11 ^{bA}	1.76±0.38 ^{cA}	5.13±0.35 ^{dA}
<i>Ganoderma lucium</i>	7.23±0.78 ^{aB}	17.00±0.75 ^{bB}	32.69±0.72 ^{cB}	58.10±1.08 ^{dB}
<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge	20.56±0.78 ^{aC}	41.26±0.90 ^{bC}	67.03±1.42 ^{cC}	92.03±0.13 ^{dD}

Means with different superscripts in the same column (A-D) and the same row (a-d) are significantly different at $p < 0.05$.

같다. 시료의 첨가량이 많아질수록 전자공여능이 유의적으로 증가되었다. 100 µg/ml의 시료 첨가 시 결명자와 산사육이 각각 21.50%, 20.56%로 그 활성이 가장 높았으며, 영지와 하수오는 10% 미만의 활성을 보였다. 1,000 µg/ml 첨가 시에는 시료 간에 5.13~92.03%의 범위로 산사육이 92.03%로 가장 높았으나, 하수오는 5.13%에 불과하였다. 환원력은 Table 4와 같이 흡광도 값으로 나타낸 결과, 전자공여능과 마찬가지로 시료의 첨가량이 많아짐에 따라 환원력이 유의적으로 상승하였다. 결명자와 산사육은 100~250 µg/ml 첨가 시 유의차가 없었으나, 500 µg/ml 이상 첨가되었을 때 결명자의 환원력이 산사육보다 유의적으로 높았다.

본 실험에 사용된 4종의 한약재는 시료간에 페놀 및 플라보노이드 함량차에 따라 비례적으로 항산화능에 두드러진 차이를 보였다. 이러한 차이는 20여 종의 식물류에 대한 항산화능을 비교한 결과 11종의 시료에서 70% 이상의 활성이 있었으며 [16], 180여종의 허브추출물 중 44종에서 강력한 항산화 활성이 있었다는 보고[18]로 볼 때 식물류의 항산화능은 시료의 성분

조성, 종류 및 함량에 따라 상이하기 때문이라고 생각된다.

마늘과 한약재 복합물의 항산화능

한약재 혼합물에 마늘 추출물을 0, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5 및 1% 농도로 첨가하여 제조한 복합물의 항산화능은 Table 5에 나타내었다. 전자공여능은 마늘을 첨가하지 않은 한약재 혼합물에서 53.59%로 0.05%의 마늘 추출물 첨가구와는 유의차가 없었으나, 마늘 추출물을 0.3% 첨가했을 때 0.05~0.1% 첨가구에 비해 전자공여능이 유의적으로 증가되었으나, 0.3% 이상 첨가구에서는 약 59%정도로 마늘 추출물의 첨가량 증가에 따른 유의차가 없었다. 환원력은 0.05~0.1%의 마늘 추출물 첨가 시 유의적으로 증가되었으나, 0.1~1% 첨가구간에는 0.43~0.44 범위의 흡광도 값을 보여 마늘 추출물의 첨가량 증가에 따른 유의차가 없었다. Hydroxyl radical 소거능은 한약재 혼합물에 마늘 추출물을 0~0.1% 첨가되었을 때 13.20~14.78%의 범위로 유의차가 없었다. 그러나 0.3~1% 농도로 첨가 시 20.25~31.34%의 범위로 마늘 추출물의 첨가량이 증가됨에 따라

Table 4. Reducing power of hot water extracts from the medicinal plants (O.D value at 700 nm)

Scientific name	Sample concentration (µg/ml)			
	100	250	500	1,000
<i>Cassia obtusifolia</i> Linne	0.16±0.00 ^{aC}	0.29±0.00 ^{bC}	0.47±0.00 ^{cD}	0.79±0.02 ^{dD}
<i>Polygoni multiflori</i> Radix	0.07±0.00 ^{aA}	0.08±0.00 ^{bA}	0.12±0.00 ^{cA}	0.16±0.00 ^{dA}
<i>Ganoderma lucium</i>	0.10±0.00 ^{aB}	0.17±0.00 ^{bB}	0.26±0.00 ^{cB}	0.44±0.00 ^{dB}
<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge	0.15±0.00 ^{aC}	0.26±0.00 ^{bC}	0.43±0.00 ^{cC}	0.68±0.01 ^{dC}

Means with different superscripts in the same column (A-D) and the same row (a-d) are significantly different at $p < 0.05$.

Table 5. Antioxidative effect of the composites made from hot water extracts of garlic and medicinal plants composites

Concentration* (%)	Electron donating ability (%)	Reducing power (O.D value)	OH radical scavenging effect (%)	Antioxidant of β-carotene in linoleate system
0	53.59±1.16 ^a	0.41±0.00 ^a	14.75±1.42 ^a	13.00±1.65 ^a
0.05	54.40±2.55 ^{ab}	0.40±0.00 ^a	13.20±1.36 ^a	26.63±2.56 ^b
0.1	56.44±1.02 ^b	0.43±0.01 ^b	14.78±1.10 ^a	37.78±3.66 ^c
0.3	59.53±0.68 ^c	0.43±0.01 ^b	20.25±1.36 ^b	52.76±3.70 ^d
0.5	59.54±1.17 ^c	0.43±0.01 ^b	23.17±0.42 ^c	69.02±2.96 ^e
1	59.77±0.58 ^c	0.44±0.01 ^b	31.34±1.70 ^d	77.32±4.98 ^f

* Added amount of garlic extract in the 1,000 µg/ml of plants mixture

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

라디칼 소거능이 유의적으로 증가하였다. β -carotene 존재 시 linoleic acid에 대한 항산화능은 마늘 추출물이 첨가되지 않은 한약재 혼합물에서는 13.0%였는데, 마늘 추출물의 첨가량이 증가됨에 따라 유의적으로 증가하여 1%의 마늘 추출물 첨가구에서는 77.32%의 항산화능을 보였다.

한약재 혼합물의 전자공여능 및 환원력은 각각 53.59%, 0.41로 나타났는데, 이는 각 한약재 추출물의 항산화능(Table 2 및 3)과 비교해 볼 때, 250 μ g/ml 첨가구에 비해서는 높은 항산화능을 보여 한약재 혼합물에서 시료간의 시너지 효과라고 생각되나, 1,000 μ g/ml 첨가구에 비해서는 항산화능이 낮은 것으로 보아 결명자 및 산사육의 높은 항산화능에 대해 하수오에 의한 활성의 상쇄작용도 나타난 것으로 추정된다. 한약재 혼합물은 마늘 추출물이 첨가됨으로써 항산화능이 증가되기는 하였으나, 0.3% 이상 첨가되어야 첨가량에 따른 유의차가 있었다.

Hydroxyl radical 소거능은 지질과산화 과정의 진행을 직접적으로 방해하거나 활성화된 산소종을 소거함으로써 연쇄 반응을 저해하며[25], linoleic acid에 대한 항산화능은 시료내에 존재하는 수소공여체로 작용하는 물질의 양과 상관성이 있는 것으로 알려져 있다[22]. 본 실험결과 한약재 혼합물과 마늘 추출물의 복합물에서 항산화능은 마늘 열수추출물의 첨가량이 증가됨에 따라 유의적으로 상승되었는데, 마늘의 항산화능이 페놀 화합물 및 diallyl sulfide 함량과 관계가 있을 것으로 생각되나[29], 마늘 추출물은 10 mg/ml의 농도에서 전자공여능이 5.09%에 불과하였으나, β -carotene 존재 시 linoleic

acid의 항산화능은 86.23%였다는 보고[32]로 볼 때 마늘 추출물의 항산화능은 반응기질의 종류에 따라 차이를 보이는 것으로 짐작된다.

장기의 중량

콜레스테롤 급이로 식이성 고지혈증을 유도한 흰쥐에서 마늘과 한약재 복합물을 급이하였을 때 체중에 대한 장기의 중량비를 분석한 결과는 Table 6과 같다. 간장의 중량은 정상군에서 3.22 g/100 g b.w.였으며, 대조군은 5.53 g/100 g b.w., 실험군은 5.36~5.47 g/100 g b.w.로 대조군과 실험군간에 유의차가 없었으며, 마늘 추출물의 첨가량에 따른 유의차도 없었다. 고환의 중량은 정상군이 1.15 g/100 g b.w.이었는데, 대조군 및 실험군은 0.99~1.05 g/100 g b.w.의 범위로 정상군에 비해 유의적으로 감소되었으나, 대조군과 실험군간의 유의차는 없었다. 그 외 심장, 신장, 지라 및 폐의 중량도 정상군, 대조군 및 실험군간의 유의차가 없어 마늘과 한약재 복합물의 급이는 고콜레스테롤 급이 흰쥐의 장기 중량변화에 영향을 주지 않는 것으로 사료되었다.

간장 조직의 지질 함량

콜레스테롤을 급이한 흰쥐에 마늘과 한약재 복합물을 급이하였을 때 간장 조직의 총 지질, 총 콜레스테롤, 중성지방 및 인지질의 함량을 측정된 결과는 Table 7과 같다. 총 지질은 정상군이 31.97 mg/g이었는데, 대조군에서는 150.41 mg/g으로 정상군에 비해 약 4.7배 높았다. 마늘과 한약재 복합물 급이

Table 6. The organs weight of hypercholesterolemic rats fed the composites made from hot water extracts of garlic and medicinal plants (tissue g/100 g body weight)

Groups ¹⁾	Liver	Heart	Kidney	Spleen	Lung	Testis
Normal	3.22±0.38 ^{A2)}	0.36±0.02 ^{NS}	0.75±0.04 ^{NS}	0.21±0.03 ^{NS}	0.47±0.07 ^{NS}	1.15±0.08 ^B
Control	5.53±0.63 ^B	0.35±0.03	0.74±0.07	0.20±0.02	0.47±0.06	1.05±0.06 ^A
G-0.3%	5.47±0.44 ^B	0.33±0.04	0.72±0.06	0.20±0.02	0.47±0.07	0.99±0.12 ^A
G-0.5%	5.36±0.36 ^B	0.35±0.02	0.74±0.04	0.22±0.04	0.44±0.04	1.02±0.05 ^A
G-0.7%	5.43±0.62 ^B	0.33±0.02	0.76±0.04	0.20±0.02	0.45±0.04	1.02±0.06 ^A

^{A-B}Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at $p < 0.05$.

¹⁾Refer to the Table 1. ²⁾Values are mean±SD (n=7). NS: not significant

Table 7. Effect of the composites of garlic and medicinal plants on total lipids, total cholesterol and triglyceride in liver of hypercholesterolemic rats (mg/g wet liver)

Groups ¹⁾	Total lipids	Total cholesterol	Triglyceride	Phospholipids
Normal	31.97±6.86 ^{A2)}	2.70±0.32 ^A	11.60±3.96 ^A	12.31±0.59 ^{NS}
Control	150.41±11.69 ^D	14.95±2.90 ^C	59.93±6.19 ^D	11.78±1.37
G-0.3%	138.21±6.02 ^C	11.86±1.88 ^{BC}	52.88±3.33 ^C	11.06±1.41
G-0.5%	136.88±5.57 ^C	11.84±0.92 ^B	52.21±2.41 ^C	10.67±2.46
G-0.7%	109.85±6.73 ^B	11.47±1.47 ^B	46.42±1.91 ^B	11.46±1.42

^{A-D}Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at $p < 0.05$.

¹⁾Refer to the Table 1. ²⁾Values are mean±SD (n=7). NS: not significant

군(G-0.3%, G-0.5%, G-0.7%)에서 총 지질의 함량은 대조군에 비해 유의적으로 감소되었으며, 마늘 추출물의 0.7% 첨가군(G-0.7%)에서 가장 낮은 함량을 보였다. 총 콜레스테롤은 정상군에서 2.70 mg/g이었는데, 대조군에서는 14.95 mg/g으로 약 5.5배 증가되었다. 마늘과 한약재 복합물 급이군에서는 11.47~11.86 mg/g으로 대조군에 비해 20.7~23.3% 정도 감소되었으며, 특히 마늘 추출물이 0.5% 및 0.7% 첨가된 실험군에서 대조군에 비해 유의차가 인정되었다. 중성지방은 대조군이 59.93 mg/g으로 정상군에 비해 유의적으로 높았는데, 마늘과 한약재 복합물의 급이로 대조군에 비해 유의적으로 감소되었으며, 특히 마늘 추출물이 0.7%로 첨가되었을 때(G-0.7%) 46.42 mg/g으로 0.3% 및 0.5%의 마늘 추출물 급이군에 비해 12.2% 및 11.1% 정도 감소된 것으로 나타났다. 인지질 함량은 모든 실험군에서 10.67~12.31 mg/g의 범위로 대조군 및 실험군간에 유의차가 없었다.

마늘 물추출물이 흰쥐의 간장조직 세포배양에 첨가될 경우 콜레스테롤 합성을 20~25% 정도 감소시켰는데, 마늘이 HMG-Co A reductase를 저해시켰기 때문인 것으로 보고되어 있다[8]. 즉, 마늘은 이러한 효소활성을 저해하여 간장에서 지방산 합성을 감소시킴으로써 간장에 지질 축적 및 혈중 중성지방의 함량을 감소시키는 것으로 제안되고 있다[3]. Kang 등[15]은 식이에 3%의 마늘 동결건조 분말이 첨가 급이됨에 따라 간장 중의 총 지질 함량이 대조군에 비해 19%정도 감소되었으나, 중성지방의 함량에는 변화를 주지 않았다고 보고한 바 있는데, 본 실험결과와 비교해 보아 마늘 동결건조 분말보다는 마늘 열수추출물이 간장 조직의 지질 축적 저해에 더 유효한 것으로 추정된다. 본 실험에서는 한약재와 0.7%의 마늘 추출물이 혼합 급이됨으로써 대조군에 비해 총 지질 함량이 약 27%정도 감소되었으며, 이때 중성지방도 약 23%의 감소를 보여 마늘과 한약재의 상호작용에 의해 체내 지질 함량이 감소된 것으로 사료된다. 또한 마늘 열수추출물 급이가 고콜레스테롤 급이 흰쥐의 간장조직 내 지질함량을 유의적으로 감소시켰다고 한 보고[33]는 본 실험결과와도 유사한 것으로 나타났다.

하수오[23], 영지[20] 및 결명자[11]는 고콜레스테롤 급이 흰쥐의 혈청 콜레스테롤 및 중성지방 수준을 저하시킴으로써 심혈관계 질환 및 동맥경화 발병을 지연시켰는데, 이는 시료 중 폴리페놀이 항혈전 작용[1], 고지혈증 억제[26] 및 지방간 생성저해작용[40] 등에 영향을 주기 때문인 것으로 보고되어 있다.

따라서 본 실험에서 고콜레스테롤 급이 흰쥐의 간장조직에서 지질함량 저하효과는 마늘과 한약재 복합물 중 페놀 화합물 및 플라보노이드류의 상호작용에 기인된 결과라고 사료되며, 이는 *allium*속 식물 중 다량의 플라보노이드류가 혈중 중성지방 및 혈압의 저하에 효과적이라는 보고[39]와도 유사한 것으로 생각된다.

Table 8. Effect of the composites of garlic and medicinal plants on TBARS contents and antioxidant activity in liver of hypercholesterolemic rats

Groups ¹⁾	TBARS (mmol/g wet liver)	Antioxidant activity (%)
Normal	136.38±9.78 ^A	70.71±5.03 ^C
Control	245.16±10.32 ^D	55.45±2.70 ^A
G-0.3%	223.15±10.12 ^C	58.64±6.01 ^{AB}
G-0.5%	206.47±8.02 ^B	60.62±3.61 ^{BC}
G-0.7%	201.93±5.84 ^B	67.27±5.69 ^{BC}

^{A-D}Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different at $p < 0.05$.

¹⁾Refer to the Table 1. ²⁾Values are mean±SD (n=7).

간장조직의 TBARS 함량 및 항산화능

콜레스테롤 급이 흰쥐에 마늘과 한약재 복합물을 급이하였을 때 간장 조직 중 TBARS 함량 및 DPPH에 의한 항산화능을 측정된 결과는 Table 8과 같다. 정상군에서 TBARS 함량은 136.38 mmol/g이었는데, 대조군에서는 245.16 mmol/g으로 약 1.8배 증가되었으나, 마늘과 한약재 복합물 급이군에서 TBARS 함량이 감소되었는데, 대조군에 비해 0.3%의 마늘 추출물 급이군에서는 9% 정도, 0.5~0.7%의 마늘 추출물 급이군에서는 약 15.8~17.6% 정도 감소되었다. 항산화능은 정상군이 70.71%였으나, 대조군에서는 55.45%였으며, 실험군에서는 마늘 추출물을 0.5% 이상 첨가 시 60.62~67.27%로 대조군과는 유의적인 차이를 보였으나, 정상군과는 차이가 미미하여 마늘과 한약재 복합물의 혼합 급이로 간장조직의 항산화능이 정상군 수준으로 회복할 가능성이 있을 것으로 판단되었다.

식이지방의 섭취량이 많아짐에 따라 체내 유리 라디칼의 생성이 증가되어 이를 방어하는 체내 항산화계에서는 과량의 유리기 제거로 그 기능이 저하되어 결국 지질과산화물의 체내 축적이 발생하게 된다. 지질과산화물은 세포막 중 다가 불포화지방산이 유리 라디칼에 의해 산화되어 발생하는 물질로써 이를 소거할 수 있는 식물류의 섭취로 체내 산화적 스트레스를 억제시키고 지질과산화물의 축적을 감소시킬 수 있다[5]. Ha 등[11]은 결명자 에탄올 추출물을 고콜레스테롤혈증 유발 흰쥐에 급이하였을 때 간장 조직의 지질과산화물 함량이 감소된 이유로 시료의 유리 라디칼 소거능과 관련이 있다고 보고하였는데, 본 실험 결과와도 유사한 패턴이었다.

*Allium*속 식물 중 플라보노이드는 항산화 효소 활성의 증가나 유리 라디칼의 직접적인 제거제로 작용하므로써 체내 과산화지질 생성을 억제하는 것으로 알려져 있다[12]. 마늘은 시료 중 총 페놀, 플라보노이드, 항산화 비타민 등의 상호작용에 의해 항산화 활성을 나타내는 것으로 보고되어 있는데[34], Kang 등[15]은 콜레스테롤을 급이한 흰쥐에 마늘 동결건조 분말의 혼합 급이시 간장 조직의 TBARS 함량 변화에는 유의성이 없었으나, 항산화능은 유의적인 증가를 보였다고 하였

다. 지질과산화는 활성산소 라디칼 매개체가 세포 자체의 국소적인 방어 기전을 초과함으로써 발생하는 세포손상의 주된 형태로서 $\cdot O_2$, H_2O_2 , $\cdot OH$ 등이 지질과산화를 유발시키는 것으로 보고되어 있다[7]. 따라서 본 실험 결과 마늘과 한약재 복합물은 반응기질 중 β -carotene이 존재하는 linoleic acid 기질에서 항산화능이 높게 나타난 것으로 보아(Table 5) 간장조직에서 지질과산화 억제능도 이와 관련성이 있는 것으로 사료된다.

요 약

마늘과 한약재(결명자, 하수오, 영지 및 산사육) 복합물의 항산화능과 콜레스테롤을 급이한 흰쥐에 이를 급이하었을 때 간장 조직 중 지질 함량에 미치는 영향을 분석하였다. 한약재의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 151.02 mg/100 g 및 43.69 mg/g으로 결명자에서 가장 높았다. 마늘과 한약재 복합물의 전자공여능, 환원력 및 hydroxyl radical 소거능은 마늘 추출물 첨가량이 0.3% 이상일 때 첨가량에 따른 유의적인 차이를 보였다. β -carotene 존재 시 linoleic acid에 대한 항산화능은 마늘 추출물의 첨가량에 의존적으로 증가되었다. 콜레스테롤을 급이한 흰쥐에 마늘과 한약재 복합물을 급이하었을 때 총 지질의 함량은 대조군에 비해 유의적으로 감소되었으며, 마늘 추출물의 0.7% 첨가군(G-0.7%)에서 가장 낮았다. 총 콜레스테롤은 대조군에서는 14.95 mg/g이었는데, 마늘과 한약재 복합물 급이 후 11.47~11.86 mg/g으로 대조군에 비해 감소되었다. 중성지방은 마늘 추출물의 0.7% 첨가군에서 46.42 mg/g으로 0.3% 및 0.5%의 마늘 추출물 급이군에 비해 유의적으로 낮은 함량이었다. 마늘과 한약재 복합물 급이군에서 TBARS 함량은 0.5~0.7%의 마늘 추출물 급이시 대조군에 비해 약 15.8~17.6% 감소되었다. 항산화능은 마늘 추출물을 0.5% 이상 첨가한 실험군에서 대조군에 비해 유의적으로 높았다. 본 실험결과로 볼 때 마늘과 한약재 복합물의 급이는 콜레스테롤 급이 흰쥐의 간장조직의 지질 축적 저하에 효과적이라고 생각되어진다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부의 지자체연구소육성사업의 일환으로 추진 중인 남해마늘연구소 설립사업의 일부로 추진되었습니다.

References

- Basarkar, P. W. and N. Nath. 1981. Cholesterol lowering action of vitamin P-like compounds in rats. *Indian J. Exp. Biol.* **19**, 787-789.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
- Chang, M. L. and M. A. Johnson. 1980. Effect of garlic on carbohydrate metabolism and lipid synthesis in rats. *J. Nutr.* **110**, 931-936.
- Choi, H. S., Y. H. Kim, J. H. Han, and S. H. Park. 2008. Effects of *Eleutherococcus senticosus* and several oriental medicinal herbs extracts on serum lipid concentrations. *Korean J. Food & Nutr.* **21**, 210-217.
- Cook, N. C. and S. Samman. 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardiovascular effects and dietary sources. *Nutr. Biochem.* **7**, 66-76.
- Folch, J., M. Lees, and G. H. Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497-502.
- Fridovich, I. 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Adv. Enzymol.* **58**, 62-66.
- Gebhardt, R. 1991. Inhibition of cholesterol biosynthesis by a water-soluble garlic extract in primary cultures of rat hepatocytes. *Arzneimittelforschung* **41**, 800-804.
- Gutfinger, T. 1958. Polyphenols in olive oil. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **58**, 966-968.
- Gutteridge, J. M. 1984. Reactivity of hydroxyl and hydroxyl-like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid reactive material from deoxy sugars, nucleosides and benzoate. *Biochem. J.* **224**, 761-767.
- Ha, T. Y., I. J. Cho, K. S. Seong, and S. H. Lee. 2001. Effect of *Cassia tora* ethanol extract on the lipid levels of serum and liver in rats fed high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 1171-1176.
- Haenen, G. R., J. B. Paquay, R. E. Korthouwer, and A. Bast. 1997. Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochem. Bioph. Res. Co.* **236**, 591-593.
- Ju, J. C., J. H. Shin, S. J. Lee, H. S. Cho, and N. J. Sung. 2006. Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 7-14.
- Kang, J. A. and J. S. Kang. 1997. Effect of garlic and onion on plasma and liver cholesterol and triglyceride and platelet aggregation in rats fed basal or cholesterol supplemented diets. *Korean J. Nutr.* **30**, 132-138.
- Kang, M. J., S. J. Lee, J. H. Shin, S. K. Kang, J. G. Kim, and N. J. Sung. 2008. Effect of garlic with different processing on lipid metabolism in 1% cholesterol fed rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 162-169.
- Kim, E. Y., I. H. Baik, J. H. Kim, S. R. Kim, and M. R. Rhyu. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 333-338.
- Kim, H. K., K. M. Na, S. H. Ye, and H. S. Han. 2004. Extraction characteristics and antioxidative activity of *Lycium chinense* extracts. *Korean J. Food Preserv.* **11**, 352-357.
- Kim, S. Y., J. H. Kim, S. K. Ki, M. J. Oh, and M. Y. Jung. 1994. Antioxidant activities of selected oriental herb extracts. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **71**, 633-640.
- Koh, Y. J., D. S. Cha, H. D. Choi, Y. K. Park, and I. W. Choi. 2008. Hot water extraction optimization of dandelion leaves to increase antioxidant activity. *Korean J. Food Sci. Technol.* **40**, 283-289.

20. Lee, J. M., S. H. Lee, and H. M. Kim. 2000. Use of oriental herbs as medical food. *Food Industry and Nutrition* **5**, 50-56.
21. Lee, S. E., N. S. Seong, J. K. Bang, C. G. Park, J. S. Seong, and J. Song. 2003. Antioxidative activity of Korean medicinal plant. *Korean J. Med. Crop. Sci.* **11**, 127-134.
22. Lee, S. O., M. J. Kim, D. G. Kim, and H. J. Choi. 2005. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 139-147.
23. Lee, Y. J. and Y. J. Son. 1999. The effects of *Polygoni multiflori* Radix and *Cynanchi wilforghii* Radix on the blood lipids and enzymes of hypercholesterolemic rats. *Kor. J. Herbology* **14**, 69-77.
24. Lim, B. O., T. W. Seo, H. M. Shin, D. K. Park, S. U. Kim, K. H. Cho, and H. C. Kim. 2000. Effect of *Betulae Platyphyllae* Cortex on free radical in diabetic rats induced by streptozotocin. *Kor. J. Herbology* **15**, 69-77.
25. Manian, R., N. Anusuya, P. Siddhyraju, and S. Manian. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chem.* **107**, 1000-1007.
26. Matsumoto, N., K. Okushio, and Y. Hara. 1998. Effect of black tea polyphenols on plasma lipids in cholesterol fed rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **44**, 337-342.
27. Moreno, M. I. N., M. I. N. Isla, A. R. Sampietro, and M. A. Vattuone. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* **71**, 109-114.
28. Na, G. M., H. S. Han, S. H. Ye, and H. K. Kim. 2004. Extraction characteristics and antioxidative activity of *Cassia ora* L. extracts. *Korean J. Food Culture* **19**, 499-505.
29. Nuttakaan, L., R. Viboon, V. Nantaya, and M. G. Janusz. 2006. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *Nutrition* **22**, 266-274.
30. Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J. Nutr.* **44**, 307-315.
31. Saifer, A. and N. I. Feldman. 1971. The photometric determination of gangliosides with the sulfophospho-vanillin reaction. *J. Lipid Res.* **12**, 112-115.
32. Shin, J. H., D. J. Choi, S. J. Lee, J. Y. Cha and N. J. Sung. 2008. Antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 965-971.
33. Shin, J. H., S. J. Lee, J. K. Seo, I. S. Kim, S. K. Moon, and N. J. Sung. 2008. Effect of garlic hot-water extracts on the lipid metabolism in rats fed hyperlipidemic diet. The 49th International Symposium of Korean Society of Life Science. October 10-11. Daejeon, Korea.
34. Shin, S. H. and M. K. Kim. 2004. Effect of dried powders or ethanol extracts of garlic flesh and peel on antioxidative capacity in 16-month-old rats. *Korean J. Nutr.* **37**, 633-644.
35. Srivastava, K. C., A. Bordia, and S. K. Verma. 1995. Garlic (*Allium sativum*) for disease prevention. *South African J. Sci.* **91**, 68-77.
36. Summary of the second report of the national cholesterol education program (NCEP). 1993. Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment panel II). *JAMA* **269**, 3015-3023.
37. Taga, M. S., E. E. Miller, and D. E. Pratt. 1984. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidant. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **61**, 928-931.
38. Uchiyama, M. and M. Mihara. 1978. Determination of malondialdehyde precursor in tissues by TBA test. *Anal. Biochem.* **86**, 271-278.
39. Yeh, Y. Y. and S. M. Yeh. 1994. Garlic reduces plasma lipids by inhibiting hepatic cholesterol and triacylglycerol synthesis. *Lipids* **29**, 189-193.
40. Yugarani, T., B. K. H. Tan, M. The, and N. P. Das. 1992. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. *Lipids* **27**, 181-186.