

Effects of Aged Black Garlic Extract on Lipid Improvement in Rats Fed with High Fat-Cholesterol Diet

Hyun Sook Lee¹, Seung Taek Yang¹ and Beung Ho Ryu^{2*}¹Department of Food Science and Biotechnology, Kyungsoong University, Busan 608-736, Korea²Doul Farming Corporation, Namhae Gohyun chamyeon 704, Kyungnam 158-885, Korea

Received May 23, 2011 / Accepted June 1, 2011

This study was performed to investigate the increase of S-allylcysteine content, a biomarker of black garlic, during its aging period, as well as the serum lipid-lowering effects of black garlic extract in high fat diet fed rats. The highest content of S-allylcysteine was observed on the 15th day of the aging period. Sensory evaluation was also estimated to be extremely good on the 15th day of the aging period. High fat diet rats with induced hyperlipidemia were fed diets containing black garlic extract of low, medium, and high doses for 6 weeks. No significant difference in body weight gain and food efficiency was observed between normal, placebo and black garlic fed groups. Liver weight was significantly higher in black garlic fed groups than in the normal group. Total serum cholesterol and triglyceride were significantly lower in low, medium, and high dose groups than in the normal group. Also, HDL-cholesterol was significantly higher and LDL-cholesterol was significantly lower in black garlic diet fed groups than in the normal group. Hepatic levels including total lipid and cholesterol were especially decreased in the black garlic diet fed group than in the placebo group. These results suggest that black garlic intake reduces the levels of serum and hepatic cholesterol in high fat diet fed rats. In conclusion, black garlic has a potential to be used as a functional health food ingredient with beneficial effects on lowering cholesterol and triglyceride levels.

Key words : Black garlic extract, hyperlipidemic rat, cholesterol

서 론

현대 사회는 의학의 발달로 인간의 평균수명이 늘어나고 있으나 주요 사망원인이 되는 질병은 변하고 있다. 우리나라는 수년간 눈부신 경제성장으로 생활양식이 편리해지고 식생활이 서구화 되면서 각종 만성병이 증가하고 있으며 고혈압, 동맥경화 등 혈액순환기계 질환이 주요 사망 원인이 된다. 혈액순환기계 질환의 원인은 고혈압, 당뇨병, 비만과 함께 고지혈증을 들 수 있으며 그 중에서도 콜레스테롤의 농도가 주요한 위험인자로 알려져 있다[29]. 실제로 콜레스테롤의 수치와 건강과의 관계를 연구한 보고를 보면 혈액 중 콜레스테롤의 수치가 1 mmol/l 증가 할 때 마다 허혈성 뇌졸중으로 인한 사망률은 20%, 심근경색으로 인한 사망률은 48% 증가한다고 보고 하였다[10,35]. 혈청 콜레스테롤과 중성지방 농도는 시대적 변화에 따라 나라별, 연령별, 성별, 지역별로 다르게 나타나지만 특히 경제 성장이 빠른 우리나라의 경우 혈청 콜레스테롤과 중성지방 농도의 폭은 매우 넓으며, 그 평균치가 해마다 높아지고 있다. 통계에 의하면 우리나라 남자의 경우 중성지방과다가 이상 소견 순위에서 1위를 나타내어 혈청 콜레스테롤과 중성지방이 많이 늘어난 것을 암시하고 있다[26]. 따라서

고지혈증과 관련하여 식품 섭취를 통한 고콜레스테롤을 조절하거나 혈청 콜레스테롤을 저하시키는 식품성분 중의 기능성이 있는 식품의 섭취가 바람직하다.

마늘은 특유의 냄새와 독특한 맛으로 인하여 예로부터 향신료와 민간약으로 널리 사용되어 왔으며 최근 들어 높은 사망률을 나타내는 여러 종류의 암[1,9]이나 고혈압[8], 동맥경화[6], 혈중지질 및 콜레스테롤 저하효과[3,4,37], 항혈전[18]의 예방과 치료에 효능이 있다고 알려지면서 많은 연구가 진행되고 있다. 마늘의 유효성분인 allicin은 마늘 특유의 휘발성 향기 성분으로 마늘조직이 파괴될 때 allinase에 의하여 생성되며 allicin이 분해되면 diallyl sulfide, diallyl disulfide, dithiin, ajoene 등의 휘발성 성분과 S-allylcysteine (SAC), S-allylmercaptocysteine 등의 수용성 유황화합물로 분해되어 효능을 나타낸다[23]. 마늘은 기능성은 좋으나 특유의 거북스런 냄새 때문에 즐겨먹지 못하였으나 요즘 마늘의 화학적 성분의 특성을 살린 흑마늘이 인기리에 팔리고 있다.

흑마늘은 생마늘을 높은 온도와 습도에서 장시간 동안 숙성시키면 생마늘 특유의 거북한 냄새는 사라지고 신맛, 단맛, 쓴맛, 매운 맛이 어우러져 먹기 좋은 새콤 달콤 매콤한 맛이 난다. 흑마늘은 겉은 통마늘과 같은 모양 그대로 유지하고 있으나 속이 검다고 하여 붙여진 이름이다. 흑마늘은 오랜 숙성기간을 거치면서 마늘의 당 성분과 아미노산이 비효소적 갈변반응을 일으켜 melanoidins이 생성되고 휘발성 물질

***Corresponding author**

Tel : +82-55-863-2166, Fax : +82-55-863-2478

E-mail : bhryu@ks.ac.kr

은 거의 소실되며 총 phenol, 플라보노이드가 증가하고 수용성 성분인 S-allylcysteine (SAC), S-allyl melcaptocystein (SAMC) 등이 생성되어 다른 기능성을 갖는다[27]. 흑마늘의 대표적인 수용성 유효화합물인 SAC는 항산화[16,31], 암세포 증식억제[38], 인지기능향상[31], 간보호[28,29] 등의 기능성이 보고되었다.

본 연구는 흑마늘 숙성기간에 따른 S-allylcysteine의 함량을 조사함과 동시에 흰쥐에 고지방 콜레스테롤 식이를 급여하여 고지혈증을 유발시켜 흑마늘을 저농도, 중농도, 고농도로 구분하여 급여한 후 혈중 지질 개선효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용한 마늘은 2010년 6월에 경남 남해에서 난지형 마늘을 구매하여 실험에 사용하였다.

흑마늘의 제조

통마늘을 흐르는 물에 한 번 씻은 다음 스텐레스 제 밀폐 용기에 담은 후 온도 70℃, 상대습도 90% 상태로 조절된 항온항습 숙성실(Asung Co. Seoul, Korea)에 옮겨 10일, 15일, 20일 동안 숙성시켰다. 흑마늘 150 g에 물 375 ml를 넣은 후 환류 냉각기가 부착된 추출기에서 100℃에서 15시간 추출한 후 여과한 다음 추출액 농도를 12 Brix로 조절한 후 실험에 사용하였다.

HPLC에 의한 S-allylcysteine (SAC)의 분석

흑마늘 추출액의 전처리

흑마늘에 동량의 증류수를 넣어 분쇄 하고 착즙한 후 착즙액을 17,600× g에서 10,000 rpm으로 30분간 원심분리(HMR-2001V, Hanil Industrial Co., Inchon, Korea)하여 상층액을 취하여 최종농도가 70%가 되도록 에탄올을 가하여 침전을 시킨 후 상층액을 농축하여 에탄올을 제거하였다. 그 후 methylene chloride를 넣은 다음 약 20분간 교반한 후 10,000 rpm에서 15분간 원심분리(HMR-2001V, Hanil Industrial Co., Inchon, Korea)하여 물층과 methylene chloride층을 분리하였으며 물층을 rotary vacuum evaporator (N-H Series, Eyela, Japan)로 농축하여 methylene chloride층을 완전히 제거하였다. 분석 시 0.2 μl nylon membrane filter로 여과하여 사용하였다.

분석조건은 HPLC 분석방법[2]으로 이동상은 A용매[20 mM sodium phosphate monobasic dihydrate + 10 mM sodium 1-heptane-sulfonic acid, pH 2.1 (adjusted with orthophosphoric acid 85%)]와 B용매[A+acetonitrile (50:50, v/v)]로 하여 컬럼오븐의 온도는 38℃, 이동상의 유속은 분당 0.4 ml이고 UV 흡광도 208 nm에서 alliin, deoxyalliin, alliin,

dipeptide와 같은 마늘 성분의 표준물질을 분석하였다.

사육 및 식이

실험동물은 대한 바이오 코리아에 구입하여 동일한 환경에서 고형배합사료(Rat chow, 삼양사)로써 사육한 체중증가가 비슷한 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐로, 동물사육실은 온도 22±1℃, 습도 45% 내외로 유지시켰으며, lighting cycle은 12 시간 주기로 개인별 cage로 자유롭게 물과 표준식을 먹도록 하였다. 실험식이 공급 전날 체중에 따른 난괴법으로 7마리씩 마우스를 5 group으로 나누어 AIN-76 기본식이에 고지방식을 공급하였고, 고지방식이의 동물실험군은 정상군(normal) 고지방식이와 유사 흑마늘 농축액(2% 카라멜 색소용액)만 급여한 위약군(placebo), 그리고 고지방식이와 흑마늘 추출물의 양에 따라 저농도군(low dose), 중농도군(medium dose), 고농도군(high dose)으로 나누었다(Table 1).

흑마늘 추출물은 자연스럽게 자발적으로 섭취를 유도하기 위해서 동물이 매일 먹는 물을 통해서 공급하였다. 먼저 정확한 공급량 계산을 위해서, 실험동물의 1주일간의 평균 물 섭취량을 측정(ml/day)한 후, 이 물을 매개체로 흑마늘 엑스분의 공급량을 계산하였다. 투여량은 사람-동물 체표면적[body surface area (BSA), m²] 비로 계산하였다[14]. 즉, 성인(70 kg 몸무게와 키 173 cm를 기준)의 평균 BSA은 약 1.844 m²이고, 300 g 흰쥐의 BSA가 약 0.040 m²인 것을 기준하여 계산된 사람과 흰쥐의 BSA비가 약 46이었다. 사람의 경우 매일 음료는 흑마늘 추출액 2포(150 ml)를 섭취한다고 가정하여, 46비율에 해당되는 3.26 ml가 동물 섭취 당량(animal intake equivalent)이 된다. 이 실험에서는 흑마늘 추출물을 사람이 음료 형식으로 마실 수 있는 양을 기호에 따라 3 그룹으로 나누었다. 사람의 75 ml에 해당하는 양(1.63 ml/rat), 150 ml에 해당하는 양(3.26 ml/rat), 그리고 300 ml에 해당하는 양(6.52 ml/rat)을 각각 저농도군(low dose), 중농도군(medium dose), 고농도군(high dose)로 구분하여 해당 동물에 6주간 매일 신선하게 공급하였다. 1주일간 실험동물의 하루 평균 물 섭취량이 약 25 ml이었고 매일 섭취하는 물 25 ml당 상기된 해당 흑마늘 추출물을 희석하여 공급하였다.

식이섭취량 및 식이효율

실험기간 동안 식이섭취량은 매일 일정시각에 측정하였고 체중은 1주일에 1회 일정 시각에 측정하였다. 체중 증가량(g)은 같은 기간 동안의 총 식이섭취량(g)으로 나누어 식이효율을 구하였다.

혈장, 간 및 변의 지질 농도

혈장의 총 지방 농도는 Frings법[13]으로 측정하였으며, 혈장의 중성지방 농도는 glycerol-3-phosphate oxidase (GPO)-PAP법[12,24]을 이용한 분석 kit (영동제약)로 546 nm

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredient	Amount (g/100 g)		
	Normal diet	Placebo diet	Experimental diet
Corn starch	70.0	64.0	70.0
Casein	15.0	15.0	15
Corn oil	6.0	6.0	6.0
Cellulase	5.0	5.0	5.0
Soybean oil	4.0	4.0	4.0
Mineral mix ¹	3.5	3.5	3.5
vitaminmix ²	1.0	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
DL-methionine	0.3	0.3	0.3
Lard	-	5.0	5.0
Cholesterol	-	110	1.0
2% caramel pigment (ml/rat)	-	1.63	-
Black garlic extract (low dose, ml/rat)			1.63
Black garlic extract (medium dose, ml/rat)			3.26
Black garlic extract (high dose, ml/rat)			6.52

¹AIN-76TM mineral mixture, ²AIN-76TM mineral mixture

에서 흡광도를 측정(Genesys 10, spectronic, USA)하였다. 혈장의 콜레스테롤 농도는 효소법[24,33]을 이용한 분석 kit (영동 제약)를 이용하여 spectrophotometer (Genesys 10, spectronic, USA)로 500 nm에서 비색정량 하였고, HDL-콜레스테롤 농도는 LDL (Low-Density Lipoprotein) 및 VLDL (Very Low Density Lipoprotein)을 침전시킨 후 효소법[22,32]로 측정하는 분석 kit (아산제약)를 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정 (Genesys 10, spectronic, USA)하였다.

간의 총 지방 농도는 Bligh와 Dyer법[5]으로 측정하였으며, 간의 중성지방과 콜레스테롤 농도는 위에서 추출한 총 지방을 methanol로 녹여 혈장에서와 같은 방법으로 kit를 이용하여 측정하였다.

통계처리

자료의 통계처리는 SPSS (Statistical Package for the Social Science)를 이용하여 각 실험군의 평균값±표준편차로 나타냈으며 one-way ANOVA로 처리한 후 Duncan's new multiple test에 의해 실험군 간의 차이를 검증하고, p 값이 0.05 이하일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

흑마늘의 제조

생마늘을 흑마늘로 숙성시킬 때 자동 숙성품의 온도 70°C 에서 상대습도 90%로 조절하여 숙성하였다. 숙성하는 동안 마늘 중의 휘발성성분은 소실되고, 마늘에 함유된 당분과 아미노산의 반응으로 갈변화가 일어나 시간 경과에 따라 흑갈색으로 변화하였다.

본 실험에서는 숙성기간에 따른 풍미를 조사하여 제품의 규격기준의 표준화를 위하여 생마늘을 10일 15일 및 20일 숙성 기간을 달리하여 흑마늘을 제조하였을 때 관능검사를 실시하였다. 마늘 숙성 시 숙성기간을 달리한 숙성 흑마늘의 색(color), 풍미(flavor), 외관(appearance) 및 종합적 기호도(overall acceptability)를 흑마늘 숙성을 10일, 15일 및 20일 숙성기간에 따른 관능평가를 실시한 결과 생마늘과 흑마늘 사이의 색, 외관은 유의적 차이가 있었으나 숙성기간에 따른 변화는 거의 비슷한 경향을 나타내었다(Table 2). 풍미에서는 숙성 10일, 15일 및 20일 등 숙성기간이 길어질수록 더 좋았으며, 종합적 기호도에서도 숙성기간이 길어질수록 관능평가가

Table 2. Sensory evaluation of aged black garlic according to aging periods

Sensory evaluation	Raw garlic	Black garlic (aged days)		
		10	15	20
Color	7.58±0.27 ^{a1}	4.78±0.59 ^b	4.28±0.41 ^{bc}	3.08±0.02 ^c
Appearance	7.45±0.68 ^a	4.96±0.56 ^b	4.53±0.58 ^c	4.50±0.58 ^c
Flavor	3.65±0.54 ^c	4.67±0.19 ^b	4.65±0.16 ^b	5.11±0.18 ^a
Overall accetability	4.06±0.05 ^c	5.00±0.88 ^b	4.93±0.17 ^b	5.38±0.96 ^a

¹Mean±SD.

²Values with different superscripts in the same row are significantly different at p<0.05.

1=dislike extremely, 9=like extremely.

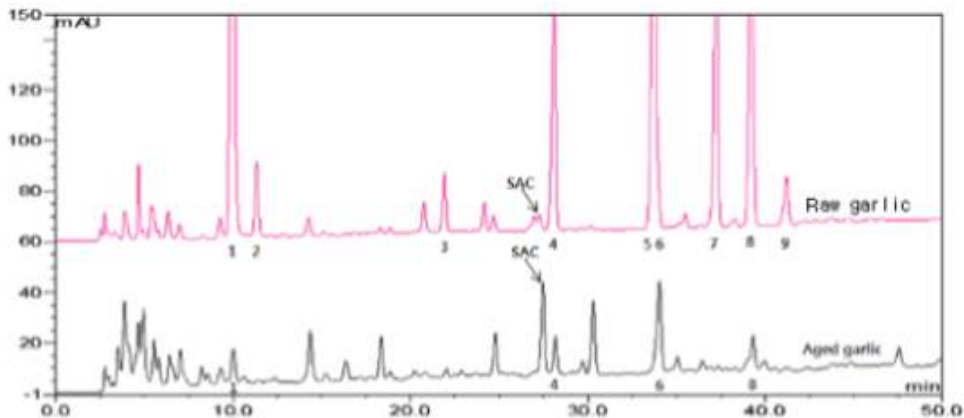


Fig. 1. Comparison chromatograms of S-allylcysteine (SAC) in raw garlic and aged black garlic.

좋았다. 그러나 실제적으로 숙성 15일과 숙성 20일 시켰을 때 기호도는 비슷하였으나 실제 생산 공장에서는 경제적 생산을 위하여 숙성 15일째 흑마늘이 가장 적당하다고 생각된다.

생마늘과 흑마늘의 S-allylcysteine (SAC)의 함량 비교

생마늘을 고온으로 숙성시킬 때 높은 온도에 의하여 휘발성 유황화합물은 거의 대부분 소실되고 비휘발성 성분만 남게 된다. 흑마늘의 비휘발성 성분에는 페놀성 화합물, 멜라노이딘 색소, 사포닌, 무기염류 등이 있으나 흑마늘의 기능적 특성을 가지는 대표적인 지표성분이 SAC 이라고 할 수 있다 [20,27].

흑마늘의 주요 성분으로 알려져 있고, 기능성도 잘 알려진 SAC를 지표물질로 지정하고 제품의 표준화를 위하여 흑마늘 숙성기간에 따른 SAC의 함량변화를 비교하였다. Fig. 1은 생마늘 및 흑마늘에 들어 있는 SAC의 chromatograms을 나타낸 것으로 생마늘의 SAC peak 보다 흑마늘에서의 SAC peak가 높은 것으로 나타났다.

생마늘과 흑마늘 숙성기간인 10일, 15일 및 20일 동안 숙성 시 각종 흑마늘의 성분 중, 유기 유황화합물의 지표물질로 알려진 SAC의 함량을 Fig. 2에 나타내었다. SAC의 함량을 보면 생마늘일 때 30 ppm 이었으나, 숙성 10일, 15일, 20일째는 각각 952 ppm, 1140 ppm, 746 ppm으로 나타났다.

생마늘에서는 SAC가 미량이었으나 숙성 과정을 거치면서 숙성 10일, 15일째까지 급격히 증가하다가 숙성 20일째는 감소하였다. 이와 같이 숙성기간 중 SAC의 함량 변화가 있는 것은 숙성기간에 따른 마늘의 유기유황성분 중 휘발성 성분은 소실되고 수용성 성분인 SAC가 증가하다가 숙성기간이 길어지면 그 성분도 장기간 고온에서 불안정하여 소실되는 것으로 사료된다. 따라서 흑마늘을 가공할 때 15일 동안 숙성하는 것이 관능검사 결과가 가장 좋았고, SAC 함량도 가장 높았으므로 15일째 숙성 흑마늘을 동물실험에 사용하였다. 마늘의 주 성분인 allicin은 마늘을 다지거나 조리가공할 때 allinase에

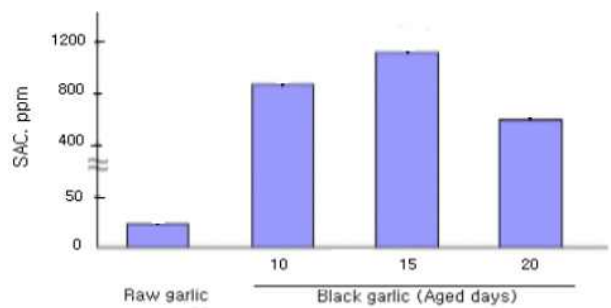


Fig. 2. Changes of S-allylcysteine (SAC) contents according to different conditions of aging periods of garlic.

의하여 매우 불안정하고 휘발성이 강한 allicin이 생성된다 [23]. Allicin은 수용성 성분인 SAC, S-allylmercaptocystein (SAMC) 등이 생성되고, 휘발성 성분인 diallylsulfide, diallyldisulfide, diallyltrisulfide 등은 거의 소실되고 흔적 정도로 남게 된다[27].

흑마늘에 많이 들어있는 수용성 성분인 SAC는 항산화[16] 항암[38], 인지기능향상[31] 등에 효능이 뛰어난 것으로 보고 하였다.

그리고 SAC는 열, pH, 빛에 안정하며 인체실험에서도 혈중 농도가 24시간 이상 지속 될 정도로 지속성 유기 유황화합물로 알려져[20,27] 흑마늘의 기능성을 높이는데 큰 역할을 할 것으로 생각된다.

따라서 흑마늘 중에 높은 함량이 들어있는 SAC는 흑마늘의 주요 기능성을 갖는 대표적인 성분으로 숙성 흑마늘 제품의 건강 기능성 지표물질로 이용이 가능하다.

체중 및 장기의 증량변화

고지방 식이로 고지혈증을 유도시킨 흰쥐에 15일 숙성한 흑마늘 첨가식이를 6주 급이 하는 동안 체중 변화를 Table 3에 나타내었다. 정상군, 위약군 및 실험군 등 모든 실험 동물군에서 6주 동안 실험 종료시점까지 지속적으로 체중이

Table 3. Effects of black garlic extract on organ weight of body in rat fed cholesterol diet¹

	Normal	Placebo ³	Low dose ⁴	Medium dose ⁵	High dose ⁶
Food intake (g/day)	15.35±0.51 ²	15.24±0.35	15.25±0.30	15.24±0.62	15.49±0.46
Body weight gain (g/day)	3.85±0.32 ^{b2}	4.13±0.45 ^b	4.12±0.48 ^b	4.13±0.47 ^b	4.17±0.38 ^a
FER	0.26±0.02	0.27±0.03 ^b	0.27±0.03 ^b	0.27±0.03 ^b	0.26±0.02 ^a
Organ weight (g)					
Liver	3.25±0.65 ^{b2}	5.35±1.05 ^a	4.56±1.25 ^a	4.68±2.15 ^a	4.60±2.01 ^a
Heart	1.25±0.12 ^b	1.28±0.14 ^{ab}	1.25±0.15	1.28±0.17	1.28±0.23
Kidney	2.21±0.14 ^b	2.24±0.12	2.28±0.11	2.27±0.14	2.28±0.27

¹Values are mean±SD, n=7.

²Values with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

³Placebo: fed 2% caramel solution

⁴Low dose: fed 1.36 ml/rat black garlic extract

⁵Medium dose: fed 3.26 ml/rat black garlic extract

⁶High dose: fed 6.52 ml/rat black garlic extract

증가하였다. 실험 시작한 날부터 6주째 동안 최종 몸무게를 보면 정상군은 3.85±0.32 g/day 이었으나, 정상군에 비하여 위약군은 4.13±0.45 g/day 증가하였으며, 흑마늘 추출물 저농도군에서는 4.12±0.48 g/day, 중농도군이 4.13±0.47 g/day, 고농도군이 4.17±0.38 g/day으로 각각 증가하였다. 그러나 흑마늘의 저농도군, 중농도군, 고농도군 간에는 차이는 없었다. 연구보고에 의하면 생마늘과 익힌 마늘은 각각 3% 수준으로 첨가한 식이 실험에서 체중과 마늘 섭취량에 있어 대조군과의 유의적 차이가 없었다고 하였고[7] 또한 흰쥐의 식이에 있어 생마늘과 가열마늘 급여군 간에도 유의적 차이가 없었다고 한 보고[8]와 유사한 경향을 나타내었다. 본 연구에서는 실험 기간 동안 모든 실험 동물군에서 체중이 지속적으로 증가하였고 실험군 간의 비교에서는 대조군에 비해 실험군의 평균체중이 약간 증가하는 경향이었으나 유의적 차이는 찾아 볼 수 없었다. 고지혈증을 유도한 흰쥐에 흑마늘을 첨가하여 급여한 흰쥐의 간, 심장, 신장의 중량을 측정 한 결과를 Table 3에 나타내었다. 간장의 경우 정상군에 비하여 위약군에서 증가하였으며 저농도, 중농도, 고농도로 급여한 흰쥐의 간장에서는 유의적 차이가 없었으며 심

장 및 신장의 무게도 대조군에 비하여 약간씩 증가하였으나, 큰 차이는 없었다. 정상군이나 위약군에 비하여 흑마늘 추출물의 급여군의 장기 무게의 변화는 거의 없었다.

혈청 중의 지질의 함량변화

흑마늘 추출물을 저농도군, 중농도군, 고농도군 등 첨가량을 달리하여 6주간 급여 한 후 흰쥐의 혈청의 중성지방, 총콜레스테롤, HDL-cholesterol, LDL cholesterol 함량을 측정 한 결과는 Table 4와 같다. 중성지방의 함량은 위약군이 74.62±21.56 mg/dl, 정상군의 34.05±22.75 mg/dl에 비하여 높았고 흑마늘 추출물의 급여 시 저농도군 45.21±4.37 mg/dl, 중농도군 45.38±18.35 mg/dl, 고농도군 43.49±17.6 8 mg/dl로 위약군에 비하여 상당히 낮았으나 첨가농도에 따른 함량 변화는 거의 없었다.

중성지질의 농도는 마늘을 첨가한 고콜레스테롤 식이에 혈중 중성지질의 함량이 유의적으로 저하하였다는 연구[7]와 고지혈증 환자에게 건조마늘을 급여하였을 때 대조군에 비하여 중성지질 농도를 저하시킨다는 보고[36]와 본 연구는 비슷한 경향을 나타내었다. 고콜레스테롤 혈증을 유발하는 흰쥐에 마

Table 4. Effects of black garlic extract on the serum of triglyceride (TG), total cholesterol (T-C) HDL-cholesterol (HDL-C) and LDL-cholesterol in rats fed a high fat diet¹

Lipids	Normal	Placebo ³	Low dose ⁴	Medium dose ⁵	High dose ⁶
TG	34.05±2.27 ^{a2}	74.62±2.15 ^a	45.21±4.37 ^a	45.38±1.83 ^a	43.49±1.76 ^a
TC	103.41±2.86 ^c	182.51±2.74 ^c	143.47±2.81 ^a	136.54±2.60 ^b	130.05±2.84 ^b
HDL-C	31.28±4.41 ^c	22.53±4.69 ^b	34.23±1.58 ^b	36.87±2.23 ^a	39.83±1.27 ^a
LDL-C	65.43±2.47 ^b	149.51±8.02 ^b	127.21±2.86 ^a	124.31±2.57 ^a	124.65±2.75 ^a

¹Values are mean±SD, n=7.

²Values with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

³Placebo: fed 2% caramel solution

⁴Low dose: fed 1.36 ml/rat black garlic extract

⁵Medium dose: fed 3.26 ml/rat black garlic extract

⁶High dose: fed 6.52 ml/rat black garlic extract

늘음을 1% 및 2% 급이한 경우 유의적 감소를 나타내었다고 하였다[34]. 그러나 마늘 첨가량과 마늘의 열처리에 의하여 혈중 지질함량은 감소할 뿐 유의성은 없다는 보고[25,35]도 있다. 본 실험에서는 고지방식으로 급이한 흰쥐의 중성지질이 증가하였으나 흑마늘 추출물을 저농도, 중농도 및 고농도의 모든 급이군에서 중성지질의 감소하는 경향으로 나타났으므로 흑마늘 추출물이 혈중 지질함량을 저하시키는 것으로 사료된다.

총 콜레스테롤의 농도는 정상군이 103.41 ± 28.67 mg/dl, 위약군은 182.51 ± 27.48 mg/dl로 대조군에 비하여 약 1.4배 증가하였으나 흑마늘 추출물을 저농도, 중농도, 고농도의 단계별 급이군에서는 각각 143.47 ± 28.15 mg/dl, 136.54 ± 26.06 mg/dl 및 130.05 ± 28.47 mg/dl이었다. 이러한 결과는 총 콜레스테롤의 농도가 위약군의 경우 고지방 급이에 의하여 증가되었으나, 고지방식이와 함께 급이된 흑마늘 추출물의 첨가가 농도에 따라 감소되었음을 알 수 있었다.

혈청중의 HDL-콜레스테롤의 농도는 대조군에 비하여 흑마늘의 저농도군, 중농도군 및 고농도군에서 유의성 있게 증가하였다. 특히 위약군에서 22.53 ± 4.69 mg/dl로 정상군의 31.28 ± 4.41 mg/dl 약 1.4배 감소하였으나 흑마늘 추출물의 모든 첨가군에서 상당히 높은 함량을 나타내어 흑마늘 추출물이 나쁜 콜레스테롤인 LDL의 혈관 막힘을 막아주는 역할을 하는 것으로 판단된다.

그리고 본 실험에서 LDL-콜레스테롤의 농도는 정상군의 65.43 ± 24.76 mg/dl에 비하여 위약군의 149.51 ± 8.02 mg/dl로 증가하였으나, 흑마늘 추출물을 저농도군, 중농도군 및 고농도군에서는 각각 127.21 ± 28.65 mg/dl, 124.31 ± 25.76 mg/dl 및 124.65 ± 27.53 mg/dl로 위약군에 비하여 상당한 수준으로 감소하여 흑마늘 추출물의 첨가식에 따라 LDL이 낮아지는 것을 알 수 있었다.

이와 유사한 연구에서 돈지로 고콜레스테롤을 유도한 흰쥐에서 혈중 콜레스테롤 함량은 121.3 ± 15.3 mg/dl 및 103.4 mg/dl로 유의적 감소를 나타내었다고 하였고[35] 또한 처리 조건을 달리한 마늘의 첨가 급이에도 혈청 콜레스테롤의 저하에 유의적 효과가 있었다[18]고 보고하였다. 또한 고지혈증을

유도한 흰쥐에 고온에서 가열처리한 마늘과 생마늘을 급이한 경우를 비교한 실험에서 가열처리한 마늘을 급이한 경우 혈중 콜레스테롤의 함량이 낮다고 보고한[19] 바와 같이 본 실험결과에서도 마늘을 장기간 가열, 숙성하여 만든 흑마늘도 혈중 콜레스테롤의 저하를 확인한 바 숙성기간 따른 상관성이 있는 것으로 판단된다.

LDL-콜레스테롤 농도는 대조군에 비하여 흑마늘 추출물 급이군에서 감소되기는 하였으나, 흑마늘 추출물의 첨가량에 따른 유의적 차이는 없었다. 여러 연구자들의 마늘을 이용한 다양한 실험에서 마늘이 고지혈증 개선작용이 있다고 보고하였다[3]. 본 연구의 흑마늘의 중성지방이나 콜레스테롤 감소 현상은 다른 연구자들의 실험결과와 유사한 경향을 나타낸다고 판단된다. 본 실험에서는 흑마늘 추출물을 급이한 실험군에서는 정상군과 비슷한 경향으로 증가한 것으로 나타나 마늘의 숙성 중 마늘성분의 화학적 변화를 일으켜 다른 새로운 성분이 많이 생성된 것으로 생각된다. 고지혈증 관련 양파를 이용한 실험에서 양파의 주요 생리활성성분인 S-methylcysteine-sulfoxide를 체중 kg당 200 mg을 10% 고콜레스테롤 식이를 급이한 결과 고지혈증이 개선되었다고 하였으며, 특히 이러한 개선효과는 지방조직의 lipoprotein lipase의 활성을 억제하거나, free fatty acid의 감소에 구실을 할 것으로 보고하였다[21]. 또 대표적인 지방합성 효소인 glucose 6-phosphate dehydrogenase, HMG CoA reductase의 활성을 억제하는 것으로 보고하였다[21]. 마늘에도 S-methylcysteine sulfoxide 등 수 많은 유기 유효화합물이 많이 들어있어 마늘의 고지혈증 개선효과가 있는 것으로 판단된다.

간의 지질변화

흑마늘 추출물을 저농도, 중농도 및 고농도로 6주간 급이하여 고지혈증을 유발시킨 흰쥐의 간 조직 중의 총지질, 총콜레스테롤, 중성지방에 미치는 영향을 Table 5와 같다. 간 조직의 총지방의 함량은 대조군에서 32.34 ± 9.59 mg/g으로 위약군에서는 140.43 ± 23.27 mg/g으로 약 6.3배 정도 높은 함량을 나타내었으나, 흑마늘 급이군인 저농도, 중농도 및

Table 5. Effects of black garlic extract on total lipid, total cholesterol and triglyceride in liver of rats fed high fat diet¹ (mg/g, wet liver)

Lipid	Normal	Placebo ³	Low dose ⁴	Medium dose ⁵	High dose ⁶
Total lipid	32.34 ± 9.59^{a2}	140.43 ± 23.27^c	116.51 ± 2.80^b	108.56 ± 3.04^a	106.27 ± 2.94^b
Total cholesterol	3.92 ± 0.24^a	12.65 ± 0.63^{bc}	9.43 ± 0.27^a	9.40 ± 0.43^b	9.40 ± 0.28^a
Triglyceride	18.51 ± 2.58^a	33.45 ± 4.50^a	29.65 ± 5.18^a	28.47 ± 4.24^b	28.05 ± 5.84^b

¹Values are mean \pm SD, n=7.

²Values with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

³Placebo: fed 2% caramel solution

⁴Low dose: fed 1.36 ml/rat black garlic extract

⁵Medium dose: fed 3.26 ml/rat black garlic extract

⁶High dose: fed 6.52 ml/rat black garlic extract

고농도에서는 각각 116.51 ± 28.03 mg/g, 108.56 ± 30.41 mg/g, 106.27 ± 29.46 mg/g으로 위약군에 비하여 상당히 감소하였다. 총 콜레스테롤은 정상군은 3.92 ± 0.24 mg/g이었으나 위약군을 12.65 ± 0.63 mg/g으로 약 3.2배 정도 증가 하다가 흑마늘 추출물의 첨가식이 농도인 저농도, 중농도 및 고농도에서는 각각 9.43 ± 0.43 mg/g~ 9.40 ± 0.28 mg/g 범위로 유의적 감소를 나타내었으나 흑마늘 첨가식이 농도간의 차이는 없었다. 이와 같은 결과는 흑마늘 급여로 인한 체내 지질 축적 억제와 더불어 식이성 고콜레스테롤의 흡수는 방해하는 2가지 효과가 있는 것으로 추정된다. 마늘과 고 콜레스테롤의 식이에 관한 연구에서도 마늘 첨가군이 대조군에 비해서 간조직 중의 중성지방과 총 콜레스테롤은 낮았으나 유의적 차이가 없었다고 보고하였다[17].

마늘은 2-4% 첨가 고콜레스테롤 식이로 사육한 흰쥐의 간의 콜레스테롤 함량을 30% 저하시켰다고 보고[7]하고 있으나 콜레스테롤 급여 시 마늘을 1%(17) 및 3%(18) 첨가한 경우 간의 총콜레스테롤과 중성지방의 함량에는 차이가 없었다고 보고하였다. 토끼의 경우 마늘첨가로 간 조직중의 콜레스테롤 감소가 일어난다 하더라도 간의 콜레스테롤 합성 저하보다는 neutral 또는 acidic sterol로의 전환과 관련이 있으며 이는 간의 콜레스테롤 함량을 반영하지 않는다고 하였다[6]. 또 흰쥐를 대상으로 마늘가루가 지방생합성에 미치는 영향을 알아보기 위해 ^{14}C 가 label된 acetate를 사용하여 radioactivity를 측정 한 결과 간 지질로부터 incorporation된 ^{14}C 가 대조군보다 마늘 첨가군에서 유의적으로 낮았으며 이 결과는 마늘이 hepatic lipogenesis를 억제하는 효과가 있음을 암시한다고 추정하였다[25]. 이와 같이 마늘급여에 의한 간의 지질 감소효과에 대하여 여러 선행연구에서 비슷한 결과를 보이고 있다.

이상의 결과를 종합해 보면 흑마늘 추출물 급여에 의해서 간의 지질농도의 변화는 혈액의 지질 농도의 변화만큼 큰 차이가 나타나지 않음을 알 수 있었다. 직접적인 원인은 알려져 있지 않으나 소장의 지방소화와 흡수경로에서 흑마늘의 유기유황화합물이 지방의 분해효소의 활성을 억제하거나, 지방의 배설을 촉진할 수 있다는 가능성에 대한 연구가 진행되어야 할 것이다. 결론적으로 본 실험에서 흰쥐를 6주 동안 고지방식이와 함께 흑마늘을 첨가하여 공급하였을 때 혈액의 지질의 농도가 크게 개선되었음을 확인할 수 있었다. 그리고 실험조건에서 흑마늘 급여량을 비례적으로 차이를 두어 급여했음에도 불구하고 각 농도에 따른 급여군들 간에 차이는 없었다. 따라서 흑마늘에 의한 고지혈증 개선작용은 간 조직의 지방합성을 억제함으로써 혈중 지질농도를 저하시킨다고 판단되며, 흑마늘을 액상형태로 지질대사에 어떠한 영향을 미치는 것에 대한 연구는 앞으로 흑마늘의 가능성 식품의 개발을 위한 새로운 시도라고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 농림수산식품평가원의 지원으로 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

References

- Amagase, H. and J. A. Milner. 1993. Impact of various sources of garlic and their constituents on 7,12-dimethyl-benz[a]anthracene binding to mammary cell DNA. *Carcinogenesis* **14**, 1627-1631.
- Arnault, I., J. P. Christidesa, N. Mandona, T. Haffner, R. Kahane, and J. Auger. 2003. High-performance ion-pair chromatography method for simultaneous analysis of alliin, deoxyalliin, allicin and dipeptide precursors in garlic products using multiple mass spectrometry and UV detection. *J. Chromatogr. A* **991**, 69-75.
- Augusti, K. T. and P. T. Mathew. 1974. Lipid lowering effect of allicin (diallyl disulphide) on long term feeding to normal rats. *Experientia* **30**, 468-470.
- Augusti, K. T. 1997. Hypocholesterolemic effect of garlic (*Allium sativum* Linn). *Ind. J. Exp. Biol.* **15**, 489-490.
- Bligh, E. G. and W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and putrifaction. *Can. J. Biochem. Physiol.* **67**, 911-917.
- Bordia, A. and H. C. Bansal. 1973. Essential oil of garlic in prevention of atherosclerosis. *Lancet* **2**, 1491-1492.
- Chi, M. S., E. T. Koh, and T. J. Stewart. 1982. Effect of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol or lard. *J. Nutr.* **112**, 241-248.
- Chun, H. J. and J. E. Paik. 1993. Effect of heat treatment on garlic added diet on the blood of spontaneously hypertensive rat. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 103-108.
- Dwivedi, C. 1992. Chemoprevention of chemically induced skin tumor development by diallyl sulfide and diallyl disulfide. *Pharm. Res.* **9**, 1668-1674.
- Ebrahim, S., J. H. Sung, Y. M. Song, R. L. Ferrer, A. L. Debbie, and G. D. Smith. 2006. Serum cholesterol, haemorrhagic stroke, ischaemic stroke, and myocardial infarction: Korean national health system prospective cohort study. *Br. Med. J.* **333**, 22-27.
- Ernst, E., T. H. Welhmayr, and A. Matrai. 1985. Garlic and blood lipids. *Br. Med. J.* **291**, 139-152.
- Fossati, P. and L. Prencipe. 1982. Serum glycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin. Chem.* **28**, 2077-2080.
- Frings, C. S. and R. T. Cuan. 1970. A colorimetric method for determination of total serum lipid based on the sulfuric-phospho-vanillin reaction. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**, 89.
- Hammarlund, M. M. and L. K. Paalzow. 1982. Dose dependent pharmacokinetics of furosemide in the rat. *Biopharm. Drug Dispos.* **3**, 345-359.
- Hopkins, P. N. and R. R. A. Williams. 1981. Survey of 246

- suggested coronary risk factor. *Arteriosclerosis* **40**, 1-52.
16. Ide, N. and B. H. S. Lau. 1999. S-Allylcysteine attenuates oxidative stress in endothelial cells. *Drug Dew. Ind. Pharm* **25**, 619-624.
 17. Jo, H. J. and M. J. Choi. 2002. Effects of 1% garlic powder on serum and liver lipid and plasma amino acid concentration in rats fed cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 98-103.
 18. 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 diet. *Korean J. Nutr.* **30**. 132-138.
 19. 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 lipid metabolism in 1% cholesterol fed rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**. 162-169.
 20. Kodera, Y., A. Suzuku, O. Imada, S. Kasuga, I. Sumioka, A. Kanezawa, N. Taru, M. Fujikawa, T. Nagae, S. Masamoto, K. Maeshigae, and K. Ono. 2002. Physical, chemical, and biological properties of S-allylcysteine, an amino acid derived from garlic. *J. Agric. Food Chem* **50**, 622-632.
 21. Kumari, K. and K. T. Augusti. 2007. Lipid lowering effect of S-methyl cysteine sulfoxide from *Allium cepa* Linn in high cholesterol diet fed rats. *J. Ethnopharmacol.* **109**, 367-371.
 22. Lolekha, P. H. and J. Yaovalak. 1992. A superior source for cholesterol oxidase used in serum cholesterol assay. *J. Clin. Lab* **6**, 405-409.
 23. Mayeux, P. R., K. C. Agrawal, and J. S. Tou. 1988. The pharmacological effects of alicin, a constituent of garlic oil. *Agents Actions* **25**, 182-190.
 24. McGowan, M. W., J. D. Artiss, D. R. Strandbergh, and Z. A. Bennie. 1983. Peroxidase-coupled method for colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem* **29**, 538-541.
 25. Melling, W. C. and M. A. Johnson. 1980. Effect of garlic on carbohydrate metabolism and lipid synthesis in rats. *J. Nutr.* **110**, 931-936.
 26. Nagae, S., M. Ushijima, S. Hatono, J. Imai, S. Kasuga, H. Matsuura, Y. Itakura, and Y. Higashi. 1994. Pharmacokinetics of the garlic compound S-allylcysteine. *Planta Med* **60**, 214-217.
 27. Nakagawa, S., S. Kasuga, and H. Matsuura. 1989. Prevention of liver damage by aged garlic extract and its components in mice. *Phytotherapy Res.* **3**, 50-53.
 28. Nakagawa, S., S. Yoshida, Y. Hirao, S. Kasuga, and T. Fuwa. 1985. Cytoprotective activity of compound of garlic, ginseng and ciuwjia on hepatocyte injury induced carbon-tetrachloride *in vitro*. *Hirohima Med. Sci.* **34**, 303-309.
 29. National Institutes of Health. 1985. Lowering blood cholesterol to prevent heart disease. *J. Am. Med. Assoc.* **253**, 2080-2092.
 30. Niahayama, N., T. Moriguchi, N. Morihara, and H. Sailo. 2001. Ameliorative effect of S-allylcysteine, a major thioallyl constituent in aged garlic extract on learning deficits in senescent mice. *J. Nutr.* **131**, 1093s-1095s.
 31. Numagami, Y. and S. T. Ohnishi. 2001. S-Allylcysteine inhibits free radical production, lipid peroxidation and neuronal damage in rat brain ischemia. *J. Nutr.* **131**, 1100-1105.
 32. Russell, G. W., N. Thuy, and A. Algria. 1985. Comparison of improved precipitation method for quantification of high density lipoprotein cholesterol. *Clin. Chem* **31**, 217-222.
 33. Samuel, P. C., R. Gerald, S. Cooper, S. Jay, and L. M. Gary. 1998. Assessment of current national cholesterol education program guidelines for total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, and LDL-cholesterol measurements. *Clin. Chem* **44**, 1650-1658.
 34. Seo, H. J. 1990. Effects of garlic on the blood lipids and other serum components in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1339-1348.
 35. Tyrovolas, S. and D. B. Panaqiotakos. 2009. The role Mediterranean type of diet on the development of cancer and cardiovascular disease, in the elderly: A systematic review. *Maturitas.* **163**, 1461-1462.
 36. Warshafsky, S., R. S. Karner, and S. L. Sivak. 1993. Effect of garlic on total serum cholesterol. *Ann. Intern. Med.* **119**, 599-605.
 37. Weloh, C., L. Wuann, and N. Sidell. 1992. Antiproliferative effect of the garlic compound S-allylcysteine on human neuroblastoma cell *in vitro*. *Cancer Lett.* **63**, 211-219.

초록 : 흑마늘 추출물에 의한 고콜레스테롤혈증 유발 흰쥐의 지질대사의 개선효과이현숙¹ · 양승택¹ · 류병호^{2*}(¹경성대학교 식품생명공학과, ²도농농산)

본 연구는 흑마늘 숙성기간 중의 흑마늘의 지표물질이라 할 수 있는 S-allylcysteine (SAC)의 함량을 측정한다. 다음 흑마늘 추출물이 고지방식으로 유발된 흰쥐에 미치는 영향을 조사하였다. 흑마늘을 10일, 15일 및 20일 숙성 중 S-allylcysteine의 함량은 15일 일 때가 가장 높았으며, 관능검사 결과도 숙성 15일째가 좋았다. 고지방 식이만 공급된 동물군을 정상군, 위약군 그리고 고지방식이에 흑마늘 추출물의 첨가 농도에 따라 저농도군, 중농도군 및 고농도군으로 5그룹으로 나누어 6주간 사육하였다. 정상군, 실험군 모두 체중은 지속적으로 증가하였으나 그룹 간의 유의적 차이는 없었고 흑마늘 추출물 첨가 급이군이 정상군에 비하여 체중 및 식이 효율에 유의적 차이는 없었다. 혈중 총지질은 흑마늘 추출물의 첨가 농도에 관계없이 감소하였으며, 총 콜레스테롤 및 중성지방도 흑마늘 추출물의 첨가 농도가 높을수록 유의적으로 감소하였다. 흑마늘 추출물 급이에서도 정상군에 비하여 HDL-콜레스테롤이 유의적으로 증가하였고 LDL-콜레스테롤은 감소하였다. 간의 총지방, 총 콜레스테롤 및 중성지방의 함량은 정상군에 비하여 흑마늘 추출물을 급이한 저농도, 중농도, 고농도 군에서 모두 감소되는 경향을 나타내었다. 이상의 실험결과를 보면, 6주 동안 고지방식으로 유도된 고 콜레스테롤혈증은 동물 실험에서 흑마늘 추출물 첨가가 저농도, 중농도 및 고농도에서 혈액과 간의 중성 지방과 총콜레스테롤을 감소하는 효과가 있었으므로 체내지질 개선효과를 갖는 식품 소재로서의 가능성이 있음을 확인할 수 있었다.