

결명자의 유효성분을 활용한 고부가가치
가공제품화 기술개발

A study on new product development with *Cassia tora* L. seed
for functional food.

연구기관
한국식품개발연구원

농 립 부

결명자의 유효성분을 활용한 고부가가치
가공제품화 기술개발

A study on new product development with *Cassia tora* L. seed
for functional food.

연구기관
한국식품개발연구원

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “결명자의 유효성분을 활용한 고부가가치 가공제품화 기술개발”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2002. 11. 23

주관연구기관명: 한국식품개발연구원

총괄연구책임자: 하 태 열

연 구 원: 이 상 호

연 구 원: 이 현 유

연 구 원: 금 준 석

연 구 원: 김 성 수

연 구 원: 성 기 승

연 구 원: 도 정 룡

연 구 원: 양 승 룡

연 구 원: 조 일 진

위탁연구기관명: 대구카톨릭대학

위탁연구책임자: 조 성 희

요 약 문

I. 제목: 결명자의 유효성분을 활용한 고부가가치 가공제품화 기술개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

결명자는 콩과에 속하는 일년초로서 인체에 다양한 효능이 있는 것으로 전해져 예로부터 일반가정에서는 결명자차로서 음용되어 왔고 한방에서는 약재로 이용되어 오고 있다. 결명자의 한방 임상으로서는 눈을 밝게 하고 간장과 신장의 강장효과가 있으며 고혈압, 변비개선, 콜레스테롤 개선 등의 작용이 있어 심혈관 질환, 동맥경화등에도 효과적인 것으로 알려져 있다.

이러한 결명자의 성분으로서는 chrysophanol, emodin, rhein, obstusin, rubro-fusarin gentiobioside, anthraquinon glucosides등이 보고되고 있다. 그 중에서도 특히 emodin, rhein등은 콜레스테롤 저하효과, 혈압강하효과등이 있고 anthraquinon glycosides는 간기능 장애에 효과적인 성분으로 알려져 있으며 실제 한방으로 이용하고 있으므로 결명자로부터 고지혈증, 간기능 조절용 식품소재의 개발가능성은 매우 높다. 그러나 현재, 결명자의 이용도는 단순히 볶아서 보리차 처럼 가정에서 끓여먹거나 tea bag으로 이용하는 수준이며 결명자의 가공, 이용에 관해서는 인스턴트차 제조에 관한 연구가 보고되어 있을 뿐 거의 연구가 미비한 실정이다. 이와 같이 우리고유의 특용작물인 결명자는 예로부터 가정에서도 안전하게 섭취하고 있고 음료 등으로의 상품성이 좋은 소재임에도 불구하고, 식품으로서의 이용도 개발이 되어 있지 않아 수요확대가 되지 않고 있어 이에 대한 연구가 절실히 요청된다.

따라서 본 연구에서는 다양한 인체효능을 가진 결명자의 유효성분을 최대한 활용하여 고부가가치의 고지혈증, 간기능 조절용 가공식품을 개발하는 데 그 목적이 있다

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 결명자 유효성분의 추출 및 이화학적 특성
2. 결명자 유효성분의 효능 검증 (*in vivo*)
3. 제품개발
4. 임상시험을 통한 효능검정

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 결명자 유효성분의 추출 및 이화학적 특성

결명자로부터 유효성분을 추출하기 위한 전처리 조건, 추출용매, 시간등을 검토하였고 추출물의 이화학적 특성 및 관능적 특성을 분석하였다. 또한 결명자로부터 수용성 식이섬유를 추출하여 이화학적 특성을 조사한 결과 결명자 식이섬유의 점도는 xanthan gum보다는 높고 guar gum 보다는 낮았다. 분자량 분포를 조사한 결과 약 80%가 500kD 이상의 고분자로 나타났고 구성당은 xylose-mannose와 galactose가 주된 당이었으며 uronic acid는 거의 검출되지 않았다.

2. 결명자 유효성분의 효능검정

결명자의 에탄올 추출물이 사염화탄소를 투여한 흰쥐의 간손상에 미치는 영향을 알아보기 위하여 결명자 에탄올 추출물을 농도별로 공급하여 사육한 후 혈청 중 간기능관련 효소의 활성변화, 혈청 및 간장의 지질 및 지질과산화물의 함량등을 분석하였다. 그 결과 사염화탄소의 투여로 인해 높아진 혈청중의 간기능 관련 각종 효소활성 및 지질과산화물의 함량이 결명자 에탄올 추출물을 투여함으로써 감소되었으며 추출물의 첨가농도가 증가함에 따라 그 효과가 뚜렷한 것으로 보아 결명자 에탄올 추출물이 흰쥐에 있어서 사염화탄소 처리로 인한 간 손상을 감소시키는 효과가 있는 것으로 판단되었다.

결명자의 에탄올 추출물이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐에게 결명자 에탄올 추출물을 공급하여 사육한 뒤 혈청 및 간장의 지질함량, glucose-6-phosphate dehydrogenase와 malic enzyme 활성변화, 혈청 AST, ALT활성 및 지질과산화

물의 함량의 변화를 조사하였다. 결명자 추출물군의 혈청 지질의 함량은 대조군에 비하여 감소하였고 간장중의 지질함량은 유의하게 감소하였으며 G6PDH와 malic enzyme 활성도 유의하게 감소하였다. 또한 결명자로부터 수용성 식이섬유를 분리하여 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐에게 공급한 결과 고콜레스테롤 식이로 간장이 비대해지는 것을 거의 정상군에 가까운 수준으로 억제하였다. 결명자 식이섬유 첨가에 의하여 혈청 total cholesterol 수준은 유의하게 감소한 반면 HDL-cholesterol은 증가하였고 TBARS의 수준도 정상군과 유사한 수준을 나타내었으며 간장중의 축적되는 TG와 cholesterol을 유의하게 감소시켜 결명자 식이섬유는 체내 지질대사개선에 매우 효과적인 것으로 나타났다.

3. 제품개발

결명자 에탄올 추출물과 식이섬유에 당, 산미, 향미 등의 관련 각종 부재료를 첨가하여 배합비를 결정하여 음료제품을 개발하였다. 또한 쌀 첨가 식빵 제조에 있어서 결명자 수용성 식이섬유가 제품의 품질 특성에 미치는 영향을 hydroxypropyl methyl cellulose(HPMC), xanthan gum 과 비교 검토한 결과 식빵의 부피는 결명자 식이섬유 첨가구가 가장 좋게 나타났고 색상에 있어서 L값이 식이섬유 첨가구가 가장 낮았으나 색상에 대한 관능검사 결과 유의차는 없는 것으로 나타났다. Texture Analyzer를 이용하여 조직감을 측정된 결과 결명자 식이섬유 첨가구에서 gummness, hardness, chewness가 가장 낮았고 조직감에 대한 관능검사 결과 식이섬유 첨가구가 가장 좋게 평가되었으며 종합적인 기호도도 대조군에 비하여 유의차가 없었다.

4. 임상시험

본 연구는 결명자 보충제가 고지혈증 환자의 혈중 지질 수준에 미치는 영향을 조사한 결과, 결명자 보충제 투여군이 위약 투여군보다 triglyceride와 cholesterol 이 더 많이 감소했고, HDL-cholesterol과 apo A1은 더 높아졌고 LDL-cholesterol 과 apo B는 감소하였다. 결명자 보충제 투여군의 ALT와 AST 활성에는 변화가

없었으나 FBS는 위약 투여군에 비하여 큰 폭으로 감소하였고 혈청 retinol은 결명자 보충제와 위약 투여 후 유의적으로 감소하였으나 α -tocopherol은 투여 후 위약 투여군에서 유의적으로 감소한 반면 결명자 보충제 투여군에서는 유의적으로 상승하였다. 이상의 결과로 볼 때 결명자의 수용성 섬유소 보충제는 고지혈증 환자의 혈중 triglyceride, cholesterol을 낮춰주며 항산화영양소의 수준을 높여주고 AST, ALT의 변화를 주지 않는 제품으로 고지혈증 환자의 혈중 지질 수준 개선에 도움을 줄 수 있다고 생각된다.

SUMMARY

I. Title

A study on new product development with *Cassia tora* L. seed for functional food.

II. Objective and Significance of Research

Cassia tora L. is an annual herb plant in family of Leguminosae, its seed has been used as chinese herbal medicine. Also It has a merit of good harvest with well growing up even in barren soil. The seed of *Cassia tora* L. has been well known to improve various disease such as acute conjunctivitis, night blindness, glaucoma, hypertension, habitual constipation, hypercholesterolemia, arteriosclerosis and fungal infection of the skin. Major components isolated from *Cassia tora* L. seed include chrysophanol, emodin, rhein, obtusin, rubro-fusarin gentiobioside, physcion and anthraquinon glucosides. It was reported that emodin and rhein had regulating effect of hypercholesterolemia and hypertension, anthraquinon glycosides have hepatoprotective effect. Therefore, *Cassia tora* L. seed will be a good food source for preventing of hyperlipidemia and hepatotoxicity.

On the other hand, Koreans used to enjoy drinking beverages made from the roasted *Cassia tora* L seed. As a study about the utilization of *Cassia tora* L., only the development a type of instant tea was reported and the development of processed food from *Cassia tora* L seed is very limited although *Cassia tora* L. seed is a good food source for functional food. The purpose of this study was to develop processed food with the hypocholesterolemic and hepatoprotective effect from *Cassia tora* L. seed

III. Scope and Contents of Research

1. Extraction of active components from *Cassia tora* L. seed and its physicochemical properties
2. Effect of the extracts of *Cassia tora* L. seed on hepatotoxicity and hypercholesterolemia in rat.
3. Development of processed food
4. Effect of *Cassia tora* L. seed supplement on the levels of serum lipid and other indices of hyperlipidemic patients

IV. Results

1. For extraction of active materials from *Cassia tora* L. seed, extraction condition such as extraction time and solvent volume were examined. The contents of rhein and emodin were determined in extracts and optimal extraction condition was established. It was also extracted soluble dietary fiber and its physicochemical properties were examined. The viscosity of dietary fiber of *Cassia tora* L. seed was lower than that of guar gum, but higher than xanthan gum. Molecular weight range of fiber analysed by gel filtration chromatography was 500kD over. Major sugar of fiber was xylose-mannose and galactose, but uronic acid was not detected in dietary fiber of *Cassia tora* L. seed.

2. *Cassia tora* L. seed ethanol extracts on carbon tetrachloride(CCl_4)-induced hepatotoxicity in rats was investigated. *Cassia tora* L. seed ethanol extracts significantly decreased the activities of serum ALT, AST and γ -GTP elevated by CCl_4 treatment in dose-dependent manner, and significantly reduced CCl_4 -induced elevation of liver TBARS contents. Activities of superoxide dismutase and catalase were decreased by CCl_4 treatment, however by the

supplement of *Cassia tora* L. seed ethanol extracts slightly increased activities of SOD and catalase. The activity of glutathione peroxidase in groups fed diets containing *Cassia tora* L. seed ethanol extracts was significantly decreased compared to that of the control group. These results suggest that *Cassia tora* L. seed ethanol extracts may exert protective effect against CCl₄-induced liver injury through the prevention of lipid peroxidation.

Effect of *Cassia tora* L. seed ethanol extract on the lipid levels in serum and liver of rats fed high cholesterol diet was examined. The concentrations of serum total cholesterol, free cholesterol, triglyceride and free fatty acid were tended to be decreased in *Cassia tora* L. seed ethanol groups compared with control group. HDL-cholesterol concentration was significantly decreased in high cholesterol diet group and slightly increased by *Cassia tora* L. seed ethanol extract feeding. The contents of liver cholesterol and triglyceride were higher in high cholesterol diet group than normal group, but significantly decreased by feeding of *Cassia tora* L. seed ethanol extract. Supplementation of 0.5% *Cassia tora* L. seed ethanol extract decreased significantly the activities of hepatic G6PDH and ME. Activities of serum AST, ALT and contents of liver TBARS reduced by *Cassia tora* L. seed ethanol extract supplementation but had not significance. These results suggest that *Cassia tora* L. seed ethanol extract may exert a lipid lowering effect in serum and liver of rats.

Effect of soluble dietary fiber extracted from *Cassia tora* L. seed(fiber)on the lipid levels in serum and liver of rats fed high cholesterol diet was examined. Fiber reduced the weight of liver elevated by cholesterol supplementation. The cholesterol levels of serum and liver were significantly decreased by addition of Fiber. It was also observed that the fiber increased significantly fecal sterol excretion. The results of this study indicate that

soluble dietary fiber from the *Cassia tora L.* seed may exert their hypocholesterolemic effect by increasing excretion of fecal cholesterol.

3. Beverage using ethanol extract and soluble dietary fiber of *Cassia tora L.* seed was developed by examination of combination formula, quality properties and sensory evaluation. The effect of dietary fiber purified from *Cassia Tora L.* seed on the quality characteristics of the bread with rice flour was investigated compared to hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC), and xanthan gum(XG). Dietary fiber of *Cassia Tora* (Fiber) showed the highest volume expansion and the value of lightness in the bread with fiber was the lowest. There was no significant difference in the score of sensory evaluation about color. As a result of texture measuring by Texture Analyzer, springiness and cohesiveness were not affected by the addition of fiber. But, the significant decrease of gumminess, hardness and chewiness was observed in the bread containing fiber. Overall acceptance scores by sensory evaluation of baked bread with fiber were not significantly different from those of control.

4. This study was carried out to find out effects of *Cassia tora* supplement on the levels of serum lipid and other indices of hyperlipidemic patients

The patients with hyperlipidemia were selected from diabetic subjects who were admitted to Daegu Catholic University Hospital from May to Oct., and were randomly divided into two groups; *Cassia tora* supplement group and Placebo group. After taking supplement or placebo, Serum cholesterol and triglyceride levels of *Cassia tora* supplementation group was more lower than those of placebo group. HDL-cholesterol levels in the placebo group was reduced, but those in *Cassia tora* supplementation group increased slightly. The levels of Apo A1 was also increased in the *Cassia tora* supplementation group.

The α -tocopherol content of the *Cassia tora* supplementation group increased significantly ($p < 0.001$) while that of the placebo group decreased ($p < 0.01$). The reduced level of lipid peroxide measured as TBARS was also observed in the *Cassia tora* supplement group. In summary, the *Cassia tora* supplementation can be lower the levels of blood sugar, total cholesterol and lipid peroxide, while increase the levels of HDL-cholesterol and antioxidant vitamin. It is suggested that *Cassia tora* supplementation can help improve serum lipid status and therefore prevent atherosclerosis in hyperlipidemic subjects including type II diabetic patients.

CONTENTS

I. Introduction

II. The extraction of active components from *Cassia tora* L. seed

1. Physicochemical properties of extracts

A. Materials and methods

- 1) Preparation of sample
- 2) Analysis of proximate composition
- 3) Determination of rhein and emodin

B. Results and discussion

- 1) Proximate composition
- 2) Filtration speed
- 3) Color of extract
- 4) Extract yield
- 5) The contents of rhein and emodin

2. The extraction of soluble dietary fiber from *Cassia tora* L. seed and its physicochemical properties

A. Materials and methods

- 1) Extraction of soluble dietary fiber
- 2) Analysis of viscosity
- 3) Analysis of molecular weight distribution
- 4) Ion exchange chromatography
- 5) Determination of sugar and uronic acid

B. Results and discussion

- 1) Viscosity
- 2) Molecular weight distribution

3) Ion exchange chromatogram

4) Composition of sugar

References

III. Effect of ethanol extract of *Cassia tora* L. seed on the liver injury in rats

1. Induction of liver injury in rats

A. Materials and methods

1) Ethanol-induced liver injury

2) CCL₄-induced liver injury

3) D-galactosamine-induced liver injury

4) Analysis of serum lipid and enzyme activity

B. Results and discussion

2. Effect of ethanol extract of *Cassia tora* L. seed on the CCL₄-induced liver injury in rats

A. Materials and methods

1) Materials

2) Preparation of ethanol extract

3) Animal feeding and sample preparation

4) Analysis of serum lipids and enzyme activity

5) Analysis of liver enzyme activity

6) Analysis of liver lipids and TBARS

7) Protein assay

8) Statistical analysis

B. Results and discussion

1) Body weight and organ weight

- 2) Lipids of serum and liver
- 3) Activities of serum AST, ALT, γ -GTP and ALP
- 4) Liver TBARS
- 5) Anitoxidative enzyme activities of liver

3. Effect of ethanol extract of *Cassi tora* L. seed on the D-Galactosamine induced liver injury in rats

A. Materials and methods

B. Results and discussion

- 1) Body weight, organ weight and FER
- 2) Serum lipids
- 3) Activities of serum AST, ALT, γ -GTP and ALP
- 4) Liver lipids and TBARS
- 5) Anitoxidative enzyme activities of liver

References

IV. Effect of *Cassia tora* L. seed on lipid metabolism in rats

1. Effect of ethanol extracts of *Cassia tora* L. seed on lipid metabolism in rats.

A. Materials and methods

B. Results and discussion

- 1) Body weight, organ weight and FER
- 2) Serum and liver lipids
- 3) Activities of liver G6PDH and malic enzyme
- 3) Activities of serum AST, ALT, γ -GTP and ALP
- 4) Serum AST, ALT and liver TBARS
- 5) Anitoxidative enzyme activities of liver

2. Effect of husk and endosperm of *Cassia tora* L. seed on lipid metabolism in rats.

A. Materials and methods

B. Results and discussion

- 1) Body weight, organ weight and FER
- 2) Serum lipids and TBARS
- 3) Activities of serum AST, ALT, γ -GTP and ALP
- 4) Liver lipids and TBARS
- 5) Activities of liver G6PDH and malic enzyme
- 6) Excretion of fecal lipids and bile acid

3. Effect of soluble dietary fiber of *Cassia tora* L. seed on lipid metabolism in rats.

A. Materials and methods

B. Results and discussion

- 1) Body weight, organ weight and FER
- 2) Serum lipids and TBARS
- 3) Activities of serum AST, ALT, γ -GTP and ALP
- 4) Liver lipids and TBARS
- 5) Activities of liver G6PDH and malic enzyme
- 6) Excretion of fecal lipids and bile acid

4. Effect of soluble dietary fiber of *Cassia tora* L. seed, guar gum and pectin on lipid metabolism in rats.

○ High-cholesterol diet model

A. Materials and methods

B. Results and discussion

- 1) Body weight, organ weight and FER
 - 2) Serum lipids and TBARS
 - 3) Activities of serum AST, ALT, γ -GTP and ALP
 - 4) Liver lipids and TBARS
 - 5) Activities of liver G6PDH and malic enzyme
 - 6) Excretion of fecal lipids and bile acid
- High-fat diet model
- A. Materials and methods
 - B. Results and discussion
 - 1) Body weight, organ weight and FER
 - 2) Serum lipids and TBARS
 - 3) Activities of serum AST, ALT, γ -GTP and ALP
 - 4) Liver lipids and TBARS
 - 5) Activities of liver G6PDH and malic enzyme
 - 6) Excretion of fecal lipids and bile acid
- References

V. Development of processed food from *Cassia tora* L. seed

1. Development of beverage and granular product
 - A. Materials and Methods
 - 1) Materials
 - 2) Preparation of extract
 - 3) Sensory evaluation
 - 4) Determination of submaterial and formula
 - B. Result and discussion
 - 1) Beverage product
 - 2) Granular product

2. Effect of soluble dietary fiber of *Cassia tora* L. seed on the quality characteristics of the bread with rice flour

A. Materials and methods

- 1) Materials
- 2) Preparation of rice flour
- 3) Extraction of soluble dietary fiber
- 4) Amylograph
- 5) Baking of bread
- 6) Measurement of dough volume and weight
- 7) Measurement of bread volume and weight
- 8) Measurement of color and texture
- 9) Sensory evaluation

B. Results and methods

- 1) Amylogram
- 2) Volume and weight of dough and bread
- 3) Color of bread
- 4) Texture of bread
- 5) Sensory characteristics

References

VI. Effects of *Cassia tora* L. seed fiber supplement on the levels of serum lipid and other indices of hyperlipidemic patients

1. Materials and methods

- A. Preparation of fiber supplement
- B. Frame of study design
- C. Contents of study
- D. Analysis methods

2. Results and methods

A. Characteristics of study subjects at base line

- 1) General characteristics
- 2) Health related life style
- 3) Anthropometric characteristics

B. Changes in characteristics of study subjects after taking "fiber supplement"

- 1) Anthropometric characteristics
- 2) Food habit and food frequency score
- 3) Dietary nutrient intakes
- 4) Serum lipid profiles
- 5) Serum glucose, HbA1c, BUN, creatinine, AST and ALT
- 6) Serum tocopherol and TBARS

References

목 차

제 1장 서론

제 2장 결명자 유효성분의 추출

제 1절 결명자 추출물의 이화학적 특성

1. 실험재료 및 방법
 - 가. 분석시료의 제조
 - 나. 일반성분, 총식이섬유 환원당 분석
 - 다. Rhein과 Emodin의 정량
 - 라. 추출물의 유리당 분석
2. 결과 및 고찰
 - 가. 일반성분
 - 나. 추출액의 여과속도
 - 다. 추출액의 색도
 - 라. 수율
 - 마. Rhein, Emodin 함량

제 2절 결명자 식이섬유의 추출 및 이화학적 특성 분석

1. 재료 및 방법
 - 가. 결명자 식이섬유의 추출
 - 나. 점도측정
 - 다. 분자량 분포분석
 - 라. Ion exchange chromatography 분석
 - 마. 당과 uronic acid 분석
2. 결과 및 고찰
 - 가. 점도
 - 나. 분자량 분포

다. Ion exchange chromatography에 의한 SDF의 특성

라. 구성당

참고문헌

제 3장 결명자 추출물이 간기능에 미치는 영향

제 1절 간기능 손상 모델 검토

1. 실험재료 및 방법

가. Ethanol에 의한 간 손상 유발

나. CCL₄에 의한 간 손상 유발

다. D-galactosamine에 의한 간 손상 유발

라. 혈청 지질 및 효소활성 분석

2. 결과 및 고찰

제 2절 결명자 에탄올 추출물이 사염화탄소 유발 간손상에 미치는 영향

1. 실험재료 및 방법

가. 실험재료

나. 추출물의 조제

다. 실험동물의 사육 및 시료의 채취

라. 혈청 지질 및 효소활성 분석

마. 간장 효소활성의 분석

바. 간조직 중의 과산화지질 및 지질함량 측정

사. 단백질 정량

아. 통계처리

2. 결과 및 고찰

가. 체중증가량 및 간무게의 변화

나. 혈청 및 간장의 지질함량

다. 혈청중 AST, ALT, γ -GTP 및 ALP의 활성

라. 간 조직중의 TBARS의 함량

마. 간조직중의 항산화효소 활성변화

제 3절 결명자 에탄올 추출물이 D-Galactosamine투여에 의한 흰쥐의 간 손상에 미치는 영향

1. 실험 재료 및 방법

2. 결과 및 고찰

가. 실험동물의 체중변화, 장기중량, 사료섭취량 및 FER

나. 혈청지질함량

다. 혈청중 각 효소의 효소활성

라. 간장 조직중의 지질함량 및 지질과산화물 함량

마. 간조직 중의 항산화계 효소의 활성변화

참고문헌

제 4장 결명자가 흰쥐의 체내 지질대사에 미치는 영향

제 1절 결명자 에탄올 추출물이 흰쥐체내 지질함량에 미치는 영향

1. 실험재료 및 방법

2. 결과 및 고찰

가. 체중변화, 장기중량, 사료섭취량 및 식이효율

나. 혈청 및 간장의 지질함량

다. 간 조직 중의 G6PDH, ME활성

라. 혈청 AST, ALT활성 및 간장 TBARS함량 변화

제 2절 결명자 부위별(껍질, 속) 추출물이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐의 체내 지질함량에 미치는 영향

1. 실험재료 및 방법

2. 결과 및 고찰

- 가. 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량
- 나. 혈청지질함량 및 TBARS 함량변화
- 다. 혈청중 각종 효소활성의 변화
- 라. 간조직중의 지질 및 지질과산화물 함량의 변화
- 마. 간조직 중의 glucose-6-phosphate dehydrogenase 및 malic enzyme
활성
- 바. 분변중 지질 및 담즙산 배설량의 변화

제 3절 결명자로 부터 추출한 식이섬유가 고콜레스테롤 식이를 섭취한
흰쥐의 체내 지질함량에 미치는 영향

1. 실험재료 및 방법
2. 결과 및 고찰
 - 가. 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량
 - 나. 혈청중 각종 지질 및 지질과산화물의 함량
 - 다. 혈청내 각종 효소활성의 변화
 - 라. 간조직중의 지질 및 지질과산화물의 함량변화
 - 마. 간 조직중 G6PDH와 ME 활성의 변화
 - 바. 분변중의 지질 및 담즙산량의 변화

제 4절 결명자 식이섬유 및 Guar gum, pectin이 고콜레스테롤 식이를 섭취한
흰쥐의 체내 지질함량에 미치는 영향

<High-cholesterol diet model >

1. 실험방법
2. 결과 및 고찰
 - 가. 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량
 - 나. 혈청중 각종 지질 및 지질과산화물의 함량

- 다. 혈청내 AST, ALT 효소활성의 변화
- 라. 간조직중의 지질 및 지질과산화물의 함량변화
- 마. 간 조직중 G6PDH 및 ME활성의 변화
- 바. 분변중의 지질 및 담즙산량의 변화

<High-fat diet model >

1. 실험방법
2. 결과 및 고찰
 - 가. 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량
 - 나. 혈청중 각종 지질 및 지질과산화물의 함량
 - 다. 혈청내 각종 효소활성의 변화
 - 라. 간조직중의 지질 및 지질과산화물의 함량변화
 - 마. 간 조직중 G6PDH, ME 활성의 변화
 - 바. 분변중의 지질 및 담즙산량의 변화

참고문헌

제 5 장 결명자를 이용한 제품화 실험

제 1 절 결명자 추출물을 이용한 음료제품화 시험

1. 실험재료 및 방법
 - 가. 실험재료
 - 나. 결명자 추출물의 제조
 - 다. 추출물의 관능특성조사
 - 라. 부재료의 농도 배합비 결정시험

2. 결과 및 고찰

- 가. 음료제품
- 나. 과립화 제품

제 2 절 결명자 식이섬유의 제빵특성

1. 실험재료 및 방법

가. 실험재료

나. 쌀가루 제조

다. 결명자 식이섬유 추출물의 제조

라. 아밀로그래ムの 측정

마. 식빵의 제조

바. Dough의 무게와 부피 측정

사. 식빵의 무게와 부피 및 굽기 손실율의 측정

아. 식빵의 색도 및 조직감 측정

자. 식빵의 관능검사

2. 결과 및 고찰

가. 아밀로그래ム

나. Dough 및 식빵의 무게와 부피

다. 식빵의 색도

라. 식빵의 조직감

마. 식빵의 관능적 특성

참고문헌

제 6장 결명자 추출물(식이섬유조성물)이 고지혈증 환자의 혈중 지질함량에 미치는 영향

I. 실험재료 및 방법

1. 결명자 식이섬유 보충제

2. 연구 대상자 선정

3. 연구내용

가. 설문조사

나. 신체계측조사

다. 혈액검사

라. 혈액 생화학검사

마. 투여

바. 투여 후 평가조사

4. 분석방법

가. 혈청 retinol과 혈청 α -tocopherol 함량

나. 혈청 과산화지질 분석

5. 통계분석

II. 결과 및 고찰

1. 연구대상자의 특성

가. 일반적인 특성

나. 생활습관

다. 신체계측조사

2. 결명자 보충제 섭취후의 변화

가. 신체계측치

나. 식습관 및 식품섭취빈도

다. 영양소 섭취량

라. 혈청 지질 및 지단백질의 변화

마. 혈당 및 기타 혈청 지표의 변화

사. 혈청 토코페롤과 지질과산화물의 변화

참고문헌

부록

제 1장 서론

결명자는 콩과에 속하는 일년초로서 인체에 다양한 효능이 있는 것으로 전해져 예로부터 일반가정에서는 결명자차로서 음용되어 왔고 한방에서는 약재로 이용되어 오고 있다. 결명자의 한방 임상으로서는 눈을 밝게하고 눈의 충혈과 통증, 눈물 흐름 치료 등에 효과적이고 간장과 신장의 강장효과가 있으며 고혈압, 변비개선, 콜레스테롤 개선 등의 작용이 있어 심혈관 질환, 동맥경화등에도 효과적인 것으로 알려져 있다. 지금까지 보고된 결명자의 효능 및 가공이용에 관한 보고를 보면

도는 *in vitro*에서 전통기호음료의 소재 종류별 기능특성을 조사한 결과 다른 소재에 비하여 결명자의 메탄올 추출은 아질산염 소거작용 및 항산화 활성이 현저하게 높았으며 다시 극성이 다른 용매별로 분획하여 검토한 결과 에틸아세테이트 회분에서 ascorbic acid보다도 월등히 높은 아질산염 소거작용이 있음을 확인한 바 있다. 한편 김은 결명자를 탈지한 다음 메탄올로 처리한 잔사에서 *in vitro* 수용액중의 cholic acid와 cholesterol과의 강한 흡착능을 나타내었다고 보고하였다. 장등은 결명자 에탄올 추출물을 사염화탄소에 의하여 유발되는 흰쥐의 간기능장애를 미치는 영향을 검토한 결과 결명자는 영지보다 간기능효능이 우수하였다고 보고하였으며 Choi등은 *in vitro*에서 결명자 메탄올 추출물 및 그 용매분획물의 항돌연변이원성을 검토한 결과 결명자 메탄올 추출물은 Aflatoxin B₁에 대한 돌연변이를 유의하게 감소시켰고 이를 용매분획하여 분획별로 검토한 결과 CH₂Cl₂, Butanol 회분에서 강한 활성을 나타내었으며 H₂O 회분에서는 활성이 없는 것으로 나타났다. Wong등은 결명자메탄올 추출물로부터 anthrquinone glucoside를 분리하여 초대배양(primary culture)한 hepatocytes를 이용하여 검토한 결과 CCl₄독성에 대한 보호효과가 있는 것으로 확인하였다. 결명자의 추출방법 및 추출용매를 달리하여 흰쥐의 혈압강하에 미치는 영향을 검토한 결과(Koo등) 모든 추출물에서 혈압강하효과가 나타났으나 특히 껍질부위보다는 배유부분에서 더 활성이 높았고 그 활성성분은 주로 배당체의 형태였다고 보고하였다.

김등은 결명자로부터 손쉽게 음용할 수 있는 인스턴트 차로로서의 개발가능성을 검토한 결과 ethanol추출물의 동결건조제품은 관능검사 결과 인스턴트차로서의 개발가능성이 있다고 보고 하였다. 또한 결명자의 볶음조건에 따른 향기성분의 변화를 조사한 결과 볶음온도와 볶음시간이 증가함에 따라 pyrazine류나 furan류가 현저히 증가하여 볶음처리함에 따라 기호도가 증가하였으나 지나친 볶음처리시는 쓴맛과 탄맛에 의해 기호도가 감소한다고 보고하였다(김등). 또한 생약재 추출성분의 기호특성에 관하여 검토한 결과, 특히 결명자에서 볶음처리, 말아처리 등의 적절한 전처리를 할 경우 음료로서의 개발가능성이 매우 높은 것으로 확인하였다.

한편, Kaneda등은 결명자로부터 다양한 화학적 성분을 분리, 정제, 동정하여 보고하고 있으며 결명자의 주요 성분으로서는 chrysophanol, emodin, rhein, obstusin, rubro-fusarin gentiobioside, anthraquinon glucosides등이 보고되고 있다. 그 중에서도 특히 emodin, rhein등은 콜레스테롤 저하효과, 혈압강하효과등이 있고 anthraquinon glycosides는 간기능 장애에 효과적인 성분으로 알려져 있으며 실제 한방으로 이용하고 있으므로 결명자로부터 고지혈증, 간기능 조절용 식품소재의 개발가능성은 매우 높다. 그러나 현재, 결명자의 이용도는 단순히 볶아서 보리차처럼 가정에서 끓여먹거나 tea bag으로 이용하는 수준이며 결명자의 가공, 이용에 관해서는 인스턴트차 제조에 관한 연구가 보고되어 있을 뿐 거의 연구가 미비한 실정이다. 이와 같이 우리고유의 특용작물인 결명자는 예로부터 가정에서도 안전하게 섭취하고 있고 음료 등으로의 상품성이 좋은 소재임에도 불구하고, 식품으로서의 이용도 개발이 되어 있지 않아 수요확대가 되지 않고 있어 이에 대한 연구가 절실히 요청된다. 따라서 다양한 유효성분을 함유하고 있는 결명자로부터 편의성과 기호성, 기능성이 부여된 고부가가치의 가공 제품을 제조할 수 있는 기술을 개발하여 제시한다면 결명자는 새로운 고소득 작물로 보급, 정착될 것이며 국민건강에도 기여될 것으로 기대된다.

본 연구에서는 다양한 인체효능을 가진 결명자의 유효성분을 최대한 활용하여 고부가가치의 고지혈증, 간기능 조절용 가공식품을 개발하는 데 그 목적이 있다

제 2 장 결명자 유효성분의 추출

제 1절 결명자 추출물의 이화학적 특성

1. 실험재료 및 방법

가. 분석시료의 제조

각종 성분 분석을 위하여 결명자를 40mesh로 분쇄한 후 일반성분 및 TDF, 환원당 분석을 위한 시료로 사용하였으며, 색도, 수율측정 및 유효성분 분석을 위해서 결명자를 수세, 건조하여 2-4절, 10mesh, 40mesh로 분쇄한 후, 각 시료 25g에 100%, 70%, 50% ethanol 용액을 500ml 가하여 상온 및 가열추출 하였다. 상온추출의 경우 capping하여 shaker에서 24시간 추출하였으며, 열수추출은 heating mantle에서 2시간동안 가열추출 하였고 콘덴서를 연결하여 용매의 증발을 방지하였다. 추출이 끝나면 바로 Toyo No.2 filter paper로 여과하여 이 여액을 색도와 수율측정 및 rhein, emodin의 분석용 시료로써 사용하였다.

나. 일반성분, 총식이섬유 및 환원당 분석

결명자 일반성분은 A.O.A.C방법에 따라 정량하였고 총 식이섬유는 Prosky법을 이용하여 분석하였으며 환원당은 Somogy-Nelson법에 의하여 측정하였다.

다. Rhein과 Emodin의 정량

Rhein과 Emodin의 정량은 HPLC를 이용하였으며, 분석용 시료는 분쇄한 결명자 25g에 각 용매 50ml을 넣어 상온 및 열수추출한 후, membrane filter(milipore, pore size 0.45 μ m)로 여과한 것을 사용하였으며 rhein, emodin 표준품은 Sigma사

의 것을 사용하였으며 100% ethanol에 녹여 사용하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 일반성분

결명자 시료의 일반성분 분석결과를 Table 2-1에 나타내었다. 건조된 결명자는 수분이 4-6%, 회분이 4-5%, 조단백질이 15-16%, 조섬유가 약 4%등으로 다른 곡류에 비하여 회분과 조단백 및 조섬유소의 함량이 비교적 높게 나타났다.

Table 2-1. Proximate composition of *Cassia tora*

	Moisture (%)	Crude fat (%)	Crude protein (%)	Ash (%)	Crude fiber (%)
A	6.62	4.68	14.84	4.48	3.98
B	4.60	6.21	16.35	5.22	4.12

나. 추출액의 여과속도

추출조건별 추출액의 여과속도를 비교해보면, 100% ethanol추출물은 분쇄도, 추출온도와 상관없이 여과가 매우 잘 되었고, 70%로 ethanol의 비율이 낮아질수록 여과속도가 느려졌으며 상온추출물 보다 가열추출물의 여과속도가 느렸다. 50% ethanol추출물의 경우에는 상온, 가열추출액 모두 여과속도가 매우 느렸으며, 특히 열수추출액은 거의 여과가 되지 않았다 (Table 2-2).

Table 2-2. Filtration speed

	통결명자	2-4절	10mesh	40mesh
100% ethanol 상온24hr	E ¹⁾⁺⁺⁺	E ⁺⁺⁺	E ⁺⁺⁺	E ⁺⁺
70% ethanol 상온24hr	E ⁺⁺	E ⁺⁺	E ⁺⁺	E ⁺
50% ethanol 상온24hr	E ⁻	D ²⁾⁺	D ⁺	D
100% ethanol 가열2hr	E ⁺⁺⁺	E ⁺⁺⁺	-	E ⁺⁺
70% ethanol 가열2hr	E ⁺	E ⁺	-	E
50% ethanol 가열2hr	D	D ⁻	-	D ⁻
DW 가열2hr	D ⁻	-	-	-

¹⁾E: easy ²⁾D: difficult

다. 추출액의 색도

24시간 상온추출액의 L값을 보면, 100% ethanol추출액은 71.86에서 89.37의 범위로 측정되어 50% ethanol추출액의 L값 11.31에서 42.63의 범위 보다 높았으며, 100% >70% >50% ethanol 추출액의 순으로 높았다. 또한 분쇄 정도에 따른 차이를 보면 통결명자가 42.63에서 89.37로 가장 높았고, 40mesh추출액은 11.31에서 71.86으로 가장 낮게 나타났으며 분쇄정도에 따른 L값은 통결명자 >2-4절 >10mesh >40mesh의 순으로 높았다. a값은 100% ethanol추출액의 경우 -6.85에서 2.75, 50% ethanol추출액은 23.94에서 44.94의 범위였으며 100% <70% <50% ethanol 추출액의 순으로 높았다. 분쇄도에 따른 차이를 보면 통결명자가 -6.85에서 10.94로 가장 낮았고, 40mesh추출액은 2.75에서 31.83으로 가장 높게 나타났으며 분쇄도에 따라 통결명자 <2-4절 <10mesh <40mesh의 순으로 높았다. b값은 용매별로 보면 100% >70% >50% ethanol 추출액의 순으로 높은 경향을 보였고, 분쇄도에 따라서는 100% ethanol추출액의 경우에는 통결명자의 b값이 가장 낮

왔고, 나머지 시료는 높게 나타났다. 그러나 70%, 50%의 경우에는 오히려 통결명자 추출액의 b값이 높게 나타났다. 2시간 가열추출액의 L값은 100% ethanol추출액이 가장 높았고, 분쇄도가 커질수록 낮았으며 a값은 70%ethanol 통결명자 추출액이 가장 높았고, 100% ethanol 통결명자 추출액이 가장 낮았다. b값은 100% ethanol추출액이 37.81에서 46.43으로 가장 높았고, 50% ethanol추출액은 1.38에서 5.86으로 가장 낮았으며 용매에 관계없이 통결명자의 b값이 가장 높았다 (Table 2-3).

라. 수율

각 추출조건별 추출물의 수율은 Table 2-4와 같다. 24간 상온추출물의 경우 100% ethanol추출물의 수율이 70%, 50% ethanol보다 50%정도 낮았고, 70%와 50% ethanol추출물의 경우, 통결명자 추출물의 경우에만 50% ethanol추출물의 수율이 높아졌을 뿐, 그 외에는 각각 10%내외로 비슷하였다. 분쇄도에 따른 차이를 보면 용매의 종류와 관계없이 모두 통결명자 상태로 추출하였을때 수율이 가장 낮았고, 분쇄도가 증가할수록 높아지는 경향이었으나 10mesh와 40mesh간에는 큰 차이는 없었다. 2시간 가열추출물의 경우 용매종류별 수율은 100% ethanol < 70% ethaol < 50% ethanol 순으로 높아졌으며, 100% ethanol추출물의 수율은 매우 낮았다. 또한 분쇄도별로 비교하여 보면 통결명자와 2-4절 사이의 차이는 매우 컸으나, 2-4절과 40mesh추출물간의 수율의 차이는 적은 편이었다.

Table 2-3. Changes of color in *Cassia tora* extraction

추출조건	Hunter		
	L	a	b
24시간 상온 추출			
100% EtOH 통결명자	89.37	-6.85	25.21
100% EtOH 2-4절	78.93	-4.26	48.89
100% EtOH 10mesh	79.20	-3.24	49.63
100% EtOH 40mesh	71.86	2.75	46.02
70% EtOH 통결명자	76.27	-1.47	37.56
70% EtOH 2-4절	16.57	30.62	10.70
70% EtOH 10mesh	16.61	31.30	10.72
70% EtOH 40mesh	19.23	27.51	12.46
50% EtOH 통결명자	42.63	10.94	27.69
50% EtOH 2-4절	18.28	32.33	11.88
50% EtOH 10mesh	16.57	30.83	10.72
50% EtOH 40mesh	11.31	23.94	7.14
2시간 가열 추출			
Water, 통결명자	28.82	24.96	18.66
100% EtOH 통결명자	87.74	-12.55	46.43
100% EtOH 2-4절	71.36	8.10	45.94
100% EtOH 40mesh	58.46	6.86	37.81
70% EtOH 통결명자	31.85	40.18	20.73
70% EtOH 2-4절	0.49	1.27	0.33
70% EtOH 40mesh	2.12	5.23	1.41
50% EtOH 통결명자	9.25	20.55	5.86
50% EtOH 2-4절	2.07	5.15	1.38
50% EtOH 40mesh	6.56	14.74	4.20

Table 2-4. The contents of soluble solid in *Cassia tora* extract

추출조건	고형분량(%)	추출조건	고형분량(%)
24시간 상온 추출		2시간 가열 추출	
100% EtOH 통결명자	0.008	100% EtOH 통결명자	0.100
100% EtOH 2-4절	3.952	100% EtOH 2-4절	6.900
100% EtOH 10mesh	4.608	-	-
100% EtOH 40mesh	4.364	100% EtOH 40mesh	7.512
70% EtOH 통결명자	0.172	70% EtOH 통결명자	3.696
70% EtOH 2-4절	9.280	70% EtOH 2-4절	8.280
70% EtOH 10mesh	8.464	-	-
70% EtOH 40mesh	11.28	70% EtOH 40mesh	10.68
50% EtOH 통결명자	1.488	50% EtOH 통결명자	7.608
50% EtOH 2-4절	8.272	50% EtOH 2-4절	7.956
50% EtOH 10mesh	9.040	-	-
50% EtOH 40mesh	12.54	50% EtOH 40mesh	7.728

마. Rhein, Emodin 함량

각 추출조건별 추출액의 rhein함량을 Table2-5에 나타내었다. 용매별로 보면 100% ethanol 추출액의 rhein함량이 가장 낮았고, 분쇄도와 용매의 종류에 관계없이 가열추출액 보다 상온추출액의 rhein함량이 비슷하거나 약간 높은 경향이였다. 또한 Table 2-6에 나타낸 바와 같이 emodin함량의 경우, 70% ethanol 상온24시간 추출물이 2-4절, 40mesh 각각 150.39, 169.77로 가장 높은것으로 나타났으며 2-4절로 분쇄한 시료를 2시간 가열추출 했을 때의 함량이 가장 낮았고, rhein의 경우와 마찬가지로 가열추출액보다 상온추출액의 emodin함량이 높은 경향이였다. rhein의 경우에는 70%, 50% ethanol추출액의 함량이 비슷하였으나, emodin의 경우 70% ethanol추출액의 함량이 비교적 높은 경향이였다. 가열시간별로 rhein과 emodin의 함량을 비교해 보면(Table 2-7), 가열하였을 때 보다 실온에서 추출했을

때 rhein, emodin 모두 함량이 가장 높게 나타났다.

Table 2-5. The effect of extract condition on rhein contents

추출용매	(µg/g)			
	2-4절		40mesh	
	가열(2hr)	상온(24hr)	가열(2hr)	상온(24hr)
100% Ethanol	12.44	3.98	21.40	24.73
70% Ethanol	25.14	65.52	36.81	38.47
50% Ethanol	20.85	78.80	36.26	51.65

Table 2-6. The effect of extract condition on emodin contents

추출용매	(µg/g)			
	2-4절		40mesh	
	가열(2hr)	상온(24hr)	가열(2hr)	상온(24hr)
100% Ethanol	43.87	17.99	111.36	118.38
70% Ethanol	60.47	150.39	112.75	169.77
50% Ethanol	60.49	121.10	90.54	108.98

Table 2-7. The effect of extract time on the contents of emodin and rhein

가열시간	(µg/g)	
	Rhein	Emodin
실온24hr	70.83	176.92
가열 2hr	51.63	131.00
가열 4hr	40.00	110.56
가열 6hr	33.38	154.22

제 2절 결명자 식이섬유의 추출 및 이화학적 특성 분석

1. 실험재료 및 방법

가. 결명자 식이섬유의 추출

결명자를 수세하여 food mixer로 분쇄하여 65°C의 증류수로 추출한 다음 95% 무수 에탄올을 가하여 식이섬유를 침전시켰다. 이렇게 하여 얻어진 식이섬유 추출물을 40°C 열풍건조기에서 24시간 건조시킨 다음, ball mill로 분쇄하였다.

나. 점도측정

결명자 식이섬유의 농도에 따른 점도의 변화 및 다른 수용성 식이섬유와의 점도 차이를 측정하였다. 각 시료의 유동 특성은 원통형 점도계(Haake Viscometer RV20, Germany)에 NV probe를 사용하여 측정하였다. 시료로는 결명자 식이섬유 0.25, 0.5, 1%와 xanthan gum, locust bean gum, guar gum, pectin 0.5%(w/v)용액으로 제조하여 냉장보관 하면서 사용하였다. 일반적인 유동특성을 측정하기 위하여 10ml의 시료를 20°C에서 전단속도를 0 sec⁻¹에서 1000sec⁻¹까지 변화시키면서 전단응력을 측정하였다. 점조도 지수(Pas⁻ⁿ)는 Power law model을 이용하여 구하였다.

다. 분자량 분포분석

결명자 수용성 식이섬유의 분자량 분포 분석은 Gel filtration chromatography를 사용하였으며, column은 Pharmacia 26K(26cm×100cm)를, resin은 Sepharose CL-6B를 사용하였다. 결명자 수용성 식이섬유 0.01g을 증류수 4ml에 녹여 그중 2ml를 column에 loading하고 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.0)의 유속을 0.5 ml/min로 조절하여 9 ml씩 분획하고 total sugar는 Phenol-H₂SO₄법으로, uronic acid는 m-hydroxydiphenyl법으로 측정하였다. 분자량 측정을 위하여 dextran 표준품 (분자량 2백만, 50만, 5만, 1만) 및 glucose를 시료와 동일한 조건

으로 분석하였다.

라. Ion exchange chromatography 분석

Ion exchange chromatography는 시료 0.1g을 증류수(0.1g/40ml)로 하루동안 (24hr) 녹인후, filter paper No 6.(Toyo Roshi kaisha, Ltd.)를 이용하여 감압여과한 다음 분석하였다. Column은 Pharmacia 26K(26cm×70cm)를, resin은 DEAE sepharose CL-6B를 사용하여 ammonium acetate buffer (pH 6.0) 농도를 0.05 M에서 3 M까지 단계적으로 변화시키면서 분리하였다. 수용성 식이섬유는 0.05 M ammonium acetate buffer (pH 6.0) 여과된 수용성분 2ml를 주입하고 buffer의 flow 유속을 1 ml/min로 조절하여 분획물을 10 ml씩 받아서 분석하였다.

마. 당과 uronic acid의 분석

Total neutral sugar는 각각의 sugar 10mg(arabinose, rhamnose, glucose, mannose, xylose, fructose, glucuronic acid, galacuronic acid)을 증류수에 녹여서 standard 용액을 조제하여 Phenol-H₂SO₄법으로 표준곡선을 구하였고, total uronic acid는 각각의 uronic acid 10mg(glucuronic acid, galacuronic acid)을 증류수 200ml에 녹여 standard 용액을 조제하여 m-hydroxydiphenyl법을 이용하여 표준곡선을 구하였다. 또한 개개의 중성당은 Bio-LC(DX 500, Dionex Co., Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 결명자식이섬유 0.005g에 12 M H₂SO₄ 2ml를 첨가하고 Shaking water bath에서 35℃에서 1시간 교반하여 1차분해 시킨 후, 증류수 10ml를 넣고 100℃에서 1시간 동안 교반하여 2차분해시킨다음 25ml로 정용하였다. 전처리된 산가수분해물을 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 2배 희석하여 10 μl씩 주입하여 분석하였다. HPLC 분석조건은 펌프는 gradient pump(Dionex)를, 컬럼은 PA1 column을 검출기는 pulsed amperometric detector를 그리고 eluent는 16mM NaOH를 사용하였다. 당표준품으로는 fucose, rhamnose, arabinose, xylose, galactose, glucose, mannose 1%용액을 2 mg/L로 희석하여 검량선을 작성하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 점도

결명자 식이섬유 및 다른 수용성 식이섬유의 점도를 측정된 결과는 fig. 2-1과 같다.결명자 식이섬유의 농도별 점도는 0.25% 용액일 때 $11.2 \text{ pas} \cdot 10^{-3}$ 의 점도를 나타내었고, 0.5, 1.0으로 농도가 증가함에 따라 33, 103 $\text{pas} \cdot 10^{-3}$ 으로 점도가 증가하였다. 0.5% 용액일 때 xanthan gum은 26.9, locust bean gum은 41.9, guar gum은 64.1, pectin은 $7.4 \text{ pas} \cdot 10^{-3}$ 의 점도를 나타내었다. 두가지 종류의 식이섬유를 각각 0.5% 의 농도로 혼합한 용액의 점도의 경우 결명자 식이섬유와 다른 식이섬유를 혼합하였을 때 식이섬유의 종류와 관계없이 비슷한 점도를 나타내었고, locust bean gum과 xanthan gum혼합액의 점도가 가장 높았다.

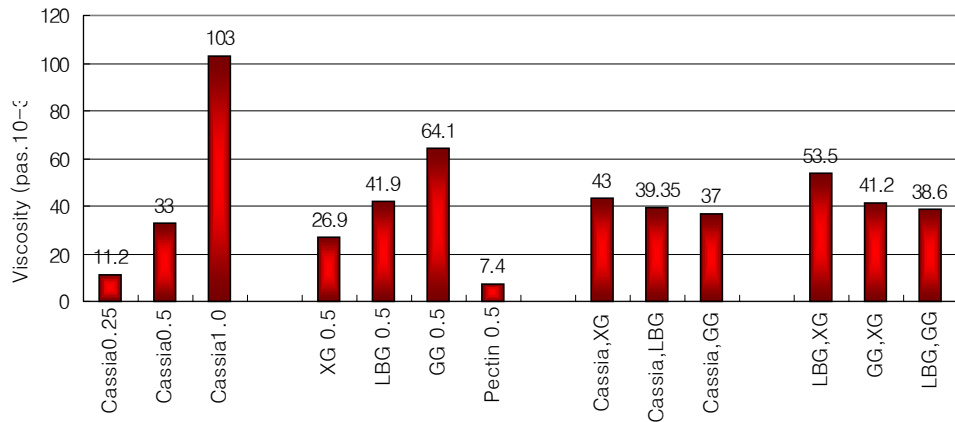


Fig. 2-1 Viscosity of *Cassia tora* fiber and other fibers

나. 분자량 분포

결명자식이섬유의 수용성 분획물의 분자량 분포를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. Dextran marker(200백만, 50만, 5만)와 glucose를 기준으로 분석한 결과 결명자식이섬유의 수용성 분획물은 주로 2,000~50 kDa의 고분자 (80%)로 이루어져 있음이 확인되었다. 한편 Table 2-8에 나타난 바와 같이 모든 분자량영역에서 uronic acid는 검출되지 않았다.

Table 2-8 Molecular weight distribution ratio

M.W. range	total sugar (%)	uronic acid (%)
2,000~500kDa	55.953	0.000
500~50kDa	24.351	0.000
50kDa~glucose	19.696	0.000
total	100	0

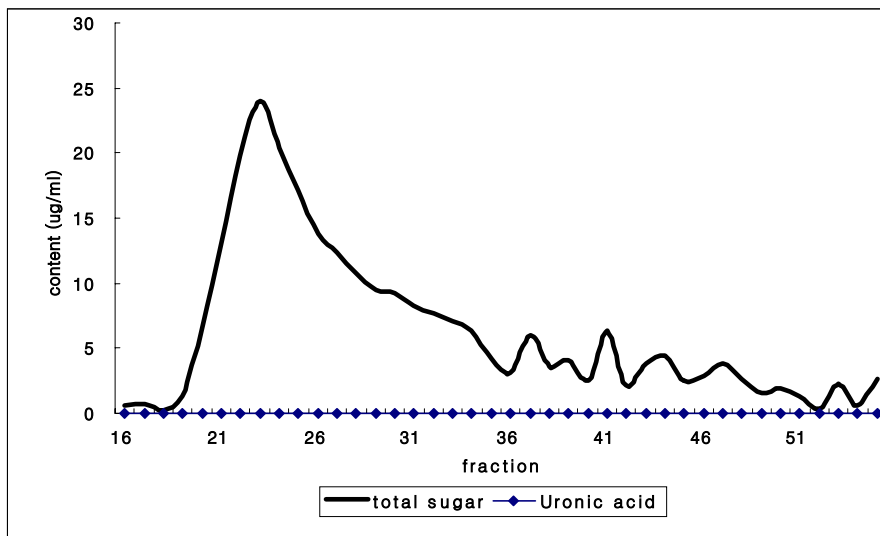


Fig. 2-2. Molecular weight distribution by gel filtration chromatography on sepharose CL-6B. (2,000~500kDa: fraction number 16~28, 500~50kDa: fraction number 29~37, 50kDa~glucose: fraction number 38~55)

다. Ion exchange chromatography에 의한 SDF의 특성

Ammonium acetate buffer (pH 6.0)와 음이온 교환수지(DEAE sepharose CL-6B)를 이용하여 buffer의 이온농도를 달리하여 결명자식이섬유의 수용성 분획물을 분리한 결과는 Table 2-9, Fig. 2-3과 같다. 수용성 분획물은 buffer의 이온 농도 0.05 M에서 모두 용출되었으며 그 이상의 농도에서는 검출되지 않았다. 이와같이 낮은 이온농도에서 한 개의 분획물로 용출된 결과는 gel filtration에서 산성당인 uronic acid가 검출되지 않은 것과 일치하는 것으로 결명자식이섬유의 수용성 분획물은 대부분 중성당으로 구성되어 있는 것으로 생각되어 진다.

Table 2-9. Proportions of total sugar, neutral sugar and uronic acid measured with ionic exchange chromatography on DEAE sepharose CL-6B.

buffer	total sugar (%)	uronic acid (%)
0.05 M	100	0
0.1 M	0	0
0.2 M	0	0
0.3 M	0	0
0.4 M	0	0
0.5 M	0	0
1 M	0	0
2 M	0	0
3 M	0	0
total	100	0

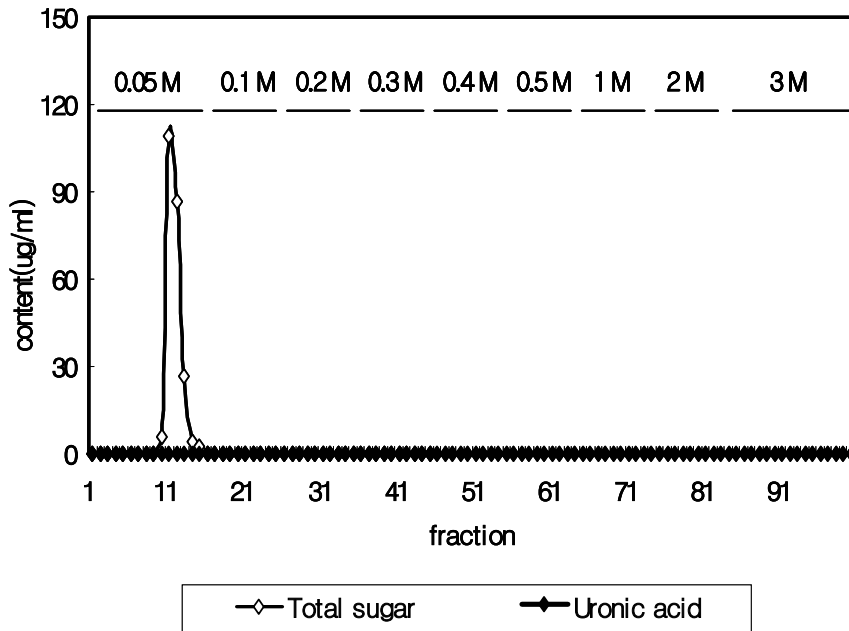


Fig. 2-3 Ionic exchange chromatography on DEAE sepharose CL-6B

라. 구성당

결명자식이섬유의 total neutral sugar와 total uronic acid 함량 (Table. 2-10) 을 분석한 결과 각각 $358 \mu\text{g/mg}$, $9.6 \mu\text{g/mg}$ 으로 neutral sugar가 대부분을 차지 하여 위의 결과(분자량분포, 이온 교환)들과 유사한 결과를 나타내었다. 또한 결명 자식이섬유를 가수분해시켜 구성당을 분석한 결과 (Table 2-11), xylose + mannose와 galactose가 주된 구성당으로 이루어져 있었다.

Table 2-10. Total neutral sugar and uronic acid content

	total neutral sugar ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	total uronic acid ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
content	358	9.6

Table 2-11. individual sugar contents

	Fucose	Arabinose	Galactose	Glucose	Xylose+mannose	Total
Content	0.0025	0.0065	0.167	0.046	0.2875	0.5095

Unit : mg / g

참 고 문 헌

1. Dietschy, J. M. : Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. *J. Nutr.*, **128**, 444-448 (1998)
2. Moon, S. J. : Nutritional problems of Korean. *Korean J. Nutr.*, **29**, 371-380 (1996)
3. Lee, H. K. : Korean disease pattern and nutrition. *Korean J. Nutr.*, **29**, 381-383 (1996)
4. Lipid Research Clinics Program. The Lipid Research Clinic Primary Prevention Trial results. II. The relationship of reduction of incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA*, **251**, 365-374 (1984)
5. Cho, S. Y., Park, J. Y., Jang, J. Y. : Effect of dandelion leaf extracts on lipid metabolism in rats fed high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 676-682 (2000)
6. National Institutes of Health consensus development conference statement. Lowering blood cholesterol to prevent heart disease. *JAMA*, **253**, 2080-2086 (1985)
7. Martin, M. J., Hully, S. B., Browner, W. S. : Serum cholesterol, blood pressure, and mortality :Implications for a cohort of 361622men. *Lancet* **2**, 933-936 (1986)
8. Dwyer, J. : Overview of dietary approaches for reducing cardiovascular disease risks. *J. Nutr.*, **125**, 656S-665S (1995)
9. American heart association. Committee on Nutrition. Rationale of the diet heart statement of the American heart association. *Circulation*, **65**, 839A (1982)
10. Sirtory, C. R. : Pharmacology and mechanism of action of the new HMG-CoA reductase inhibitors. *Pharm. Res.*, **22**, 555-562 (1990)

11. Quresh, A. A., Abuirmeleh, N., Din, Z.Z. : Inhibition of cholesterol and fatty acid biosynthesis in liver enzymes and chicken hepatocytes by polar fraction of galic. *Lipids*, **18**, 343-348 (1983)
12. Qureshi, A. A., Burger, W. C. Peterson, K. M. : Suppression of cholesterolgenesis by plant constituents: review of wisconsin contributions to NC-167. *Lipids*, **20**, 817-814 (1985)
13. Qureshi, A. A., Burger, W. C. Peterson, K. M. : The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley. *J. Biol. Chem.*, **261**, 10544-10550 (1986)
14. Lee, Y. H., Shin, Y. M., Lee, J. E., Choi, Y. S. and Lee. S. Y. : *In vitro* screening of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase from plant extracts (in Korean). *Korea J.Biotechnol. Bioeng.*, **6**, 55-61 (1991)

제 3 장 결명자 추출물이 간기능에 미치는 영향

결명자(*Cassia tora* L.)는 콩과에 속하는 일년초로서 인체에 다양한 효능이 있는 것으로 전해져 예로부터 가정에서는 결명자 차로 음용되어 왔고, 한방에서는 약재로 이용되어오고 있다. 결명자는 한방에서 눈을 밝게 하고 간장과 신장의 보호효과가 있으며 고혈압, 변비개선, 혈중 콜레스테롤의 저하등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 결명자의 성분으로서는 chrysophanol, emodin, rhein, obstusin, rubro-fusarin gentiobioside, anthraquinone glycosides 등이 보고되고 있다. 결명자의 효능에 관한 *in vivo* 연구에서는 각종 용매 분획물을 이용하여 SHR쥐를 이용한 혈압강하효과, streptozotocin유발 당뇨병쥐의 혈당강하효과등이 보고되어 있다. *In vitro* 연구로서는 Choi등이 결명자 메탄올 추출물에는 항돌연변이 효과가 있으며 그 주성분은 anthraquinone aglycones naphthopyrone glycosides라고 보고하고 있고, 그 외 결명자 추출물의 산화적 스트레스 억제효과, free radical 소거작용, 결명자의 메탄올 추출물의 아질산염 소거작용등도 보고되어 있다. Wagner등은 결명자 메탄올 추출물이 초대배양한 간세포에서 사염화탄소 독성에 대한 보호효과가 있는 것으로 보고하였으며 장 등은 결명자 추출물의 미약한 간독성 보호효과를 보고하였다. 한편, 사염화탄소는 유지, 고무 등의 용제에 이용되는 xenobiotics의 하나로서 microsomal mixed function oxidase에 의해 생성되는 trichloromethyl radical이 막의 지질과산화 반응 촉진 및 막 구조와 기능 파괴등을 초래하여 간손상을 유발시키는 것으로 알려져 있다. 따라서 간의 단백질 합성 억제 및 혈중으로의 aspartate aminotransferase(AST) 및 alanine aminotransferase(ALT) 의 이탈을 일으키고 간세포의 괴사 및 섬유화 등을 일으킨다고 알려져 있다. 본 실험에서는 민간 및 한방에서 애용되고 있는 결명자의 효능을 검증하고 소재화 하는 연구의 일환으로 결명자가 간기능에 미치는 영향을 검토하고자 결명자 에탄올 추출물이 사염화탄소로 간손상을 유발한 흰쥐에 있어서 간기능 관련 효소활성도 및 과산화 지질함량에 미치는 영향을 조사하였다.

제 1절 간기능 손상 모델 검토

1. 실험재료 및 방법

가. Ethanol에 의한 간 손상 유발

SD계 수컷 흰쥐를 사용하였으며, 각 군 모두 일반사료를 공급하였다. 실험군은 10% ethanol을 매일 음료로 공급해 주는 group과, 50% ethanol을 1주에 3회 경구 투여하는 group으로 나누었으며, 대조군은 각 실험군과 동일한 열량의 sucrose를 ethanol대신 음료로 공급하는 group과 경구투여하는 group으로 나누어 7주간 사육하였다.

나. CCl₄에 의한 간 손상 유발

SD계 수컷 흰쥐를 사용하였으며, 각 군 모두 일반사료를 공급하였다. 실험군에는 olive oil:CCl₄를 1:1로 혼합한 용액을 1ml/kg.bw.day 농도로 1일 간격으로 2회 복강투여 하였으며, 대조군에는 동량의 olive oil을 같은 방법으로 투여하였고, 사료를 계속 공급하면서 마지막 투여 24시간 후 ether 마취하에서 해부하였다.

라. D-galactosamine에 의한 간 손상 유발

SD계 수컷 흰쥐를 사용하였으며, 각 군 모두 일반사료를 공급하였다. 실험군에는 멸균 증류수에 녹여 조제한 D-galactosamine을 800mg/kg bw 농도로 해부 20시간 전에 복강내 주사하였으며, 투여 전후 4시간씩 절식시켰다.

마. 혈청지질 및 효소활성 분석

혈액은 채혈 후 1시간 이내에 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청중 지질함량 및 AST, ALT, γ -GTP 및 ALP활성의 측정은 (주)신양화학의 kit을 이용하여 분석하였다.

2. 결과 및 고찰

○ Ethanol에 의한 간 손상

혈청 cholesterol, TG 함량 및 효소활성도를 측정한 결과는 Table 3-1, 3-2와 같다. 혈청지질함량은 각 군 모두 유의한 차이가 없었으며, AST, ALT, ALP활성도 역시 큰 차이가 없었으나, γ -GTP의 경우 alcohol을 섭취한 실험군의 활성치가 유의하게 높게 나타난 것으로 보아 alcohol의 섭취에 의한 간의 손상이 약간 발생한 것으로 생각되었다.

Table 3-1. The effect of ethanol treatment on the contents of serum triglyceride and total cholesterol

	TG	Cholesterol
	mg/dl	mg/dl
A	84.1±3.11 ^{ns}	42.8±1.33 ^{ns}
B	61.5±13.7	45.0±4.12
C	69.5±9.31	41.2±4.80
D	65.2±11.4	41.7±3.44

A: 실험군과 동일한 열량의 sucrose를 ethanol대신 음료로 공급

B: 실험군과 동일한 열량의 sucrose를 경구투여

C: 10% ethanol을 매일 음료로 공급

D: 50% ethanol을 1주에 3회 경구투여

Table 3-2. The effect of ethanol treatment on the activity of serum AST, ALT, ALP and γ -GTP

	AST	ALT	ALP	γ -GTP
	karmen단위	karmen단위	K-A-Unit	mU/ml
A	85.5±5.75 ^a	27.5±2.46 ^{ns}	3.9±0.47 ^{ns}	3.57±0.14 ^c
B	74.6±3.59 ^{ab}	27.9±3.91	2.9±0.48	4.20±0.17 ^{bc}
C	69.1±4.03 ^b	24.4±1.49	3.3±0.39	4.34±0.17 ^{ab}
D	65.4±6.27 ^b	28.3±2.40	3.6±0.56	4.91±0.28 ^a

A: 실험군과 동일한 열량의 sucrose를 ethanol대신 음료로 공급

B: 실험군과 동일한 열량의 sucrose를 경구투여

C: 10% ethanol을 매일 음료로 공급

D: 50% ethanol을 1주에 3회 경구투여

○ CCl₄에 의한 간 손상

CCl₄를 복강투여한 실험동물의 혈청지질함량 및 효소활성도는 Table 3-3, 3-4에 나타내었다. 혈청cholesterol과 TG는 사염화 탄소처리에 의하여 약간 감소하는 경향이였다. 혈청 효소활성도를 측정한 결과 AST, ALT, γ -GTP모두 CCl₄를 투여한 군의 효소활성치가 모두 증가하는 경향을 보여 CCl₄ 투여에 의해 간 손상이 유발된 것으로 사료된다.

Table 3-3. The effect of CCl₄ treatment on the contents of serum triglyceride and total cholesterol

	TG	Cholesterol
	mg/dl	mg/dl
Control	220.6±12.7 ^{ns}	71.7±4.94 ^a
CCl ₄	176.9±32.9	53.4±2.47 ^b

Table 3-4. The effect of CCl₄ treatment on the activity of serum AST, ALT and γ -GTP

	AST	ALT	γ -GTP
	karmen단위	karmen단위	mU/ml
Control	94.0±8.39 ^{ns}	30.42±1.31 ^{ns}	6.65±0.27 ^{ns}
CCl ₄	105.6±10.3	34.8±1.52	7.65±0.41

○ D-galactosamine에 의한 간 손상

D-galactosamin(D-galN)을 투여한 군의 장기중량을 보면 liver, spleen, kidney 모두 대조군에 비해 유의하게 증가되었으며 장기 적출시 liver가 매우 심하게 손상되어있음을 볼 수 있었다. 간의 손상정도를 알 수 있는 효소활성도 측정결과, AST의 경우 대조군에 비해 2배 가까이 증가하였고, ALT는 7배가 증가하였으며 γ -GTP의 경우도 현저하게 증가됨을 볼 수 있었다. 이상의 결과로 보아 D-galN의 투여가 실험동물의 간에 매우 심한 손상을 주는 것으로 판단되었다(Table 3-5, 3-6).

Table 3-5. The effect of galactosamin treatment on the contents of serum triglyceride and total cholesterol

	TG	Cholesterol
	mg/dl	mg/dl
Control	90.8±20.1 ^b	61.4±2.08 ^{ns}
GalN투여군	211.3±14.0 ^a	48.6±5.74

Table 3-6. The effect of galactosamin treatment on the activity of serum AST, ALT and γ -GTP

	AST	ALT	γ -GTP
	karmen단위	karmen단위	mU/ml
Control	88.2±0.74 ^b	25.3±0.94 ^b	7.25±0.33 ^b
GalN투여군	146.8±10.3 ^a	183.8±18.6 ^a	11.7±0.52 ^a

제 2절 결명자 에탄올 추출물이 사염화탄소 유발 간손상에 미치는 영향

1. 실험재료 및 방법

가. 실험재료

실험재료로 사용한 결명자는 1998년 경북 고령산을 구입하였다. β -NADPH, glutathione reductase, CDNB는 sigma사로부터 구입하였고, 혈청지질 및 효소활성 측정에 사용한 kit는 (주)신양화학으로부터 구입하여 사용하였으며 나머지 시약은 일급이상의 것을 사용하였다.

나. 추출물의 조제

결명자는 이물질을 골라내고, 물로 씻어 30℃ 건조기에서 건조시킨 후, 40mesh로 분쇄하여 70% 에탄올 용액을 시료중량의 10배를 가하여 16시간동안 shaking한 다음 Toyo No.2 여지를 사용하여 여과하였다. 여액은 감압농축 시킨 후 동결건조하여 추출물 시료로 사용하였으며 추출물의 수율은 약 11.3% 이었다.

다. 실험동물의 사육 및 시료의 채취

실험동물은 6주령된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐를 대한바이오링크(주)로부터 구입하여 1주일간 기본식으로 적응시킨 후, 난괴법에 의해 정상군, 사염화탄소 투여 대조군, 0.25%추출물 투여군, 0.5%추출물 투여군으로 나누어 5주간 사육하였으며 물과 실험식은 자유롭게 공급하였다. 본 실험에 사용한 식이는 AIN-76 diet 조성(corn starch 45%, casein 20%, sucrose 20%, corn oil 5%, cellulose 5%, mineral mix 3.5%, vitamin mix 1%, methionine 0.3%, choline chloride 0.2%)에 준하여 결명자 에탄올 추출물을 각각 0.25%, 0.5%되게 기본식에 더하여 공급하였고 식이 섭취량은 격일에 한 번 측정하였으며 체중은 매주 측정하였다. 실험군에는 사염화탄소:올리브유를 1:1의 비율로 혼합한 용액을 1ml/kg.bw.day 씩 1일 간격으로 2회 복강내로 투여하였고 대조군에는 동량의 올리브유를 동일한 방법으로 투여하였다. 실험동물은 처치전 12시간동안 물만주고 금식시켰으며 마지막 사염화탄소투여 24시간후 에테르 마취하에 개복한후 복부대동맥으로부터 채혈하고 간, 심장, 신장, 비장을 적출하여 식염수로 씻은후 trimming하여 무게를 측정후 측정시까지 -70℃에서 보관하였다. 채취한 혈청은 실온에서 1시간 이내로 방치시킨 다음 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 분석전까지 -70℃에서 보관하였다.

라. 혈청 지질 및 효소활성 분석

혈청중 총콜레스테롤과 중성지방함량 측정 및 AST, ALT, alkaline phosphatase(ALP), γ -GTP활성측정은 (주)신양화학의 kit을 이용하여 분석하였다. 즉, 총콜레스테롤은 Cholestezyme-V, 중성지방은 Triglyzyme-V를 이용하여 측정하였으며, AST, ALT활성측정은 Reitman-Frankel법에 준한 혈청지오티 지피티측정세트로, ALP는 King-king법을 변경 개량한 뉴-케어-포스로, γ -GTP는 γ -Glutamyl-p-nitroanilide기질법에 의한 γ -GTP-S를 사용하여 활성을 측정하였다.

마. 간장효소 활성의 분석

간조직 1g당 15ml의 0.25M sucrose/0.5M EDTA를 가하여 빙냉하에서 Teflon Potter-Elvehjem homogenizer로 마쇄하여 얻은 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 catalase활성측정의 효소원으로 사용하였다. 이 상층액을 다시 10,000×g에서 30분간 원심분리하여 post mitochondrial fraction을 얻어 이를 superoxide dismutase, glutathione peroxidase활성측정에 사용하였으며, 이를 다시 105,000×g에서 1시간 동안 원심분리하여 얻은 cytosolic fraction은 glutathione S-transferase활성측정에 사용하였다. 조제된 시료는 분석시까지 -70℃에서 냉동보관하였다. Catalase의 활성측정은 기질인 hydroxide peroxide가 분해되는 정도를 측정하는 Abei의 방법에 준하였고, superoxide dismutase활성도는 Marklund와 Marklund의 방법, glutathione peroxidase는 Lawrence와 Burk의 방법에 의하여 측정하였다.

바. 간조직중의 과산화지질 및 지질함량 측정

간 1g에 1.15% KCl 9ml을 가하여 Teflon Potter-Elvehjem homogenizer로 마쇄한후 600×g에서 10분간 원심분리하여 그 상층액을 과산화지질분석을 위한 시료로 사용하였다. 과산화지질의 분석은 Ohkawa등의 방법에 따라 분석하였으며 표

준물질로서는 1,1,3,3,-tetraethoxypropane을 사용하였다. 간조직중의 지질은 Folch 법으로 추출한 후 분석kit을 사용하여 cholesterol과 triglyceride의 함량을 측정하였다.

사. 단백질 정량

각 효소원의 단백질량은 Lowry법에 의해 정량하였고 표준단백질로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

아. 통계처리

실험결과는 SAS를 이용하여 실험군당 평균±표준오차로 나타내었으며 각군의 유의차 검정은 분산분석을 한 후 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan의 다중비교법에 의해 검증하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 체중증가량 및 간무게의 변화

사염화탄소 처리한 실험동물의 체중증가량, 사료섭취량 및 간중량에 미치는 결명자 에탄올 추출물들의 영향을 Table 3-7에 나타내었다. 우선 체중증가량을 보면 사염화탄소투여 대조군은 정상군에 비하여 크게 감소하였고 결명자 추출물군은 대조군에 비하여 높은 값을 나타내었으나 통계적 유의차는 없었다. 식이섭취량도 유의차는 없었으나 사염화탄소투여 대조군에서 낮은 값을 나타내었고 결명자 추출물군은 정상군과 비슷한 수준이었다. 간중량의 경우 사염화탄소 투여 대조군에서 정상군에 비해 간중량이 약 20% 정도로 증가하였다. 이러한 결과는 사염화탄

소에 의하여 간독성이 유발된 흰쥐군의 체중당 간의 중량비가 정상군에 비해 유의하게 증가되었다고 보고한 김 등의 본 실험결과와 일치하였다. 간중량의 증가는 사염화탄소에 의해 간의 세포막이 손상됨에 따라 투과성이 증가하여 부종 및 지방의 변성으로 인하여 간장이 비대해지기 때문인 것으로 알려져 있으며 본 실험 조건하에서 결명자 추출물은 간 중량에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 사료되었다.

Table 3-7. Body weight gain, total diet intake and liver weight of rats fed experimental diets for 5 weeks

	NOR ³⁾	CCL ⁴⁾	CLA ⁵⁾	CLB ⁶⁾
IBW ¹⁾ (g)	196.2±7.72 ^a	195.6±4.17 ^a	195.3±8.80 ^a	195.3±4.57 ^a
FBW ²⁾ (g)	345.7±21.23 ^a	338.5±11.94 ^a	349.3±19.27 ^a	350.0±8.43 ^a
Weight gain(g)	149.4±14.29 ^a	142.9±8.91 ^a	154.0±16.75 ^a	154.7±5.90 ^a
Total diet intake(g)	567.8±37.90 ^a	455.7±106.44 ^a	533.7±23.51 ^a	565.4±12.51 ^a
Liver weight(g)	10.50±0.89 ^b	12.88±0.74 ^a	12.94±0.69 ^a	12.73±0.68 ^a

Values are mean±S.E(n=8) and those in the same row not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

¹⁾Initial body weight, ²⁾Final body weight, ³⁾Normal, ⁴⁾CCl₄, ⁵⁾0.25% *C.tora* 70% ethanol extract+CCl₄, ⁶⁾0.5% *C.tora* 70% ethanol extract+CCl₄

나. 혈청 및 간장의 지질함량

사염화탄소 등으로 인한 간 손상시 간장조직의 지질함량의 변동을 초래함과 동시에 혈청지질함량에도 영향을 미칠 것으로 사료되어 혈청 및 간장의 지질함량을 측정하여 그 결과를 Table 3-8에 나타내었다. 우선 혈청지질함량을 보면,

cholesterol함량은 통계적 유의차는 없었으나 정상군에 비해 약간 낮은 경향을 나타내었고 결명자 추출물 투여군은 대조군과 거의 차이가 없었다. Triglyceride함량의 경우에도 cholesterol과 마찬가지로 사염화탄소 처리 및 결명자 추출물을 첨가함에 따른 통계적 유의차는 없었다. 간장중 지질함량도 혈청과 비슷한 결과를 나타내었으며 결명자 추출물의 첨가에 따른 영향은 없었다. 사염화탄소로 인한 간손상시 체내 지질대사에 관한 연구로서는 간손상으로 인하여 간장조직에 지방이 침착된다는 보고가 있는 반면, 사염화탄소처리시 혈중 콜레스테롤 함량이 감소하고, lecithin: cholesterol acyltransferase, HDL apoprotein의 합성이 저하된다는 보고도 있다. 또한 윤 등은 사염화탄소 처리시 혈청 콜레스테롤 함량이 감소하며 α -lipoprotein의 분획비도 저하 하였다고 보고하고 있다. 이러한 점등을 종합해볼 때, 사염화탄소 처리시 체내 지질함량은 흰쥐의 사육상태, 사염화탄소 처리조건등 실험조건에 따라 영향을 받으며 결명자 추출물은 본 실험조건하에서의 체내 지질함량에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 사료되었다.

Table 3-8. The effect of *Cassia tora* ethanol extract on the concentration of serum and liver cholesterol, triglyceride in experimental rats

Group	Serum		Liver	
	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Cholesterol (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)
NOR ¹⁾	68.0±3.51 ^a	104.0±7.58 ^a	3.78±0.13 ^a	24.5±1.21 ^a
CCL ²⁾	62.0±4.75 ^a	107.8±9.91 ^a	2.23±0.05 ^b	27.5±4.39 ^a
CLA ³⁾	62.0±7.52 ^a	101.0±14.54 ^a	2.21±0.03 ^b	20.5±1.56 ^a
CLB ⁴⁾	62.0±3.00 ^a	102.9±2.15 ^a	2.27±0.09 ^b	21.0±1.64 ^a

¹⁾Normal, ²⁾CCL₄, ³⁾0.25% *C.tora* 70% ethanol extract+CCL₄, ⁴⁾0.5% *C.tora* 70% ethanol extract+CCL₄, Values are mean±S.E(n=8) and those in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

다. 혈청중 AST, ALT, γ -GTP 및 ALP의 활성

사염화탄소처리 흰쥐에 있어서 결명자 추출물의 투여가 간질환 유무를 판단하는 지표효소들인 혈청 AST, ALT, γ -GTP 및 ALP 활성에 미치는 영향을 Figure 3-1 에 나타내었다. 우선 혈청중의 AST, ALT활성을 보면, 정상군에 비해 사염화탄소투여 대조군에서 유의하게 증가하였고, 추출물 첨가군에서는 사염화탄소 처리로 인하여 증가된 활성을 유의하게 감소시켜 정상군과 거의 비슷한 값을 유지하였으며 이러한 효과는 추출물의 첨가농도가 높을수록 높게 나타났다. 사염화탄소 처리등 급성 간손상시는 혈중 AST, ALT활성도가 급격하게 증가하며, 또한 심한 바이러스성간염, 독성물질에 의한 간손상, 등과 같이 상당한 간괴사가 있는 경우에 혈액중으로 유리되어 높은 활성을 나타내게 된다. 또한 ALT, AST와 함께 간, 담도계 질환의 지표효소로 알려진 ALP 활성도 사염화탄소 처리로 유의하게 증가하였고 결명자 추출물 첨가시 증가된 활성이 감소하여 0.5% 첨가군에서는 거의 정상군 수준으로 회복되었다. γ -GTP도 침윤성 간질환 및 알코올에 의한 간손상 지표효소의 하나로서 이러한 병변시 유의하게 증가하는 것으로 알려져 있는데 본 실험에서도 사염화탄소에 의하여 유의하게 증가하였고 결명자 추출물의 첨가농도에 따라 유의하게 감소하여 농도의존성을 나타내었으나 0.5% 첨가수준에서도 정상군까지는 회복되지 못하였다. 이상과 같이 결명자 에탄올 추출물은 사염화탄소에 의하여 증가된 간질환 관련 효소들의 활성을 유의하게 감소시킨 것으로 보아 사염화탄소에 의해 유발되는 간조직의 손상을 억제하는 작용이 뚜렷한 것으로 판단되었다. 또한 본 연구팀에서 결명자추출물에는 강한 항산화 작용이 있는 것을 확인한 바 있으며(data 생략), Choi 등도 결명자 메탄올 추출물에서 강한 radical scavenging 활성이 있는 것으로 보고한 점등을 미루어 볼 때, 결명자 에탄올 추출물이 사염화탄소와 같은 xenobiotics에 의하여 생성되는 free radical의 scavenging 작용도 이러한 효과를 나타내는 한 요인으로 사료되며 이에 대한 자세한 연구가 요구된다.

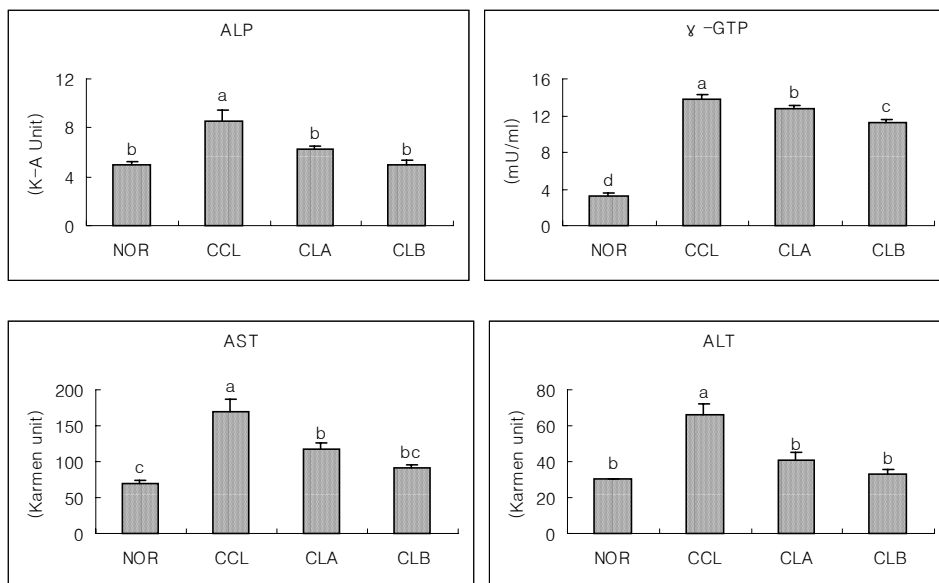


Figure 3-1. The effect of *Cassia tora* ethanol extract on the serum γ -GTP, ALP, AST and ALT activity in experimental rats

NOR:Normal, CCL:CCl₄, CLA:0.25% *C.tora* 70% ethanol extract+CCL₄, CLB:0.5% *C.tora* 70% ethanol extract+CCL₄. Values are mean±S.E(n=8) and those on the bar not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

라. 간 조직중의 TBARS의 함량

Figure 3-2 에는 결명자 추출물이 사염화탄소로 처리한 흰쥐 간장의 TBARS 함량에 미치는 영향을 나타내었다. 과산화지질의 지표로서 TBARS량을 측정된 결과 사염화탄소로 간손상을 유발시켰을 때 정상군에 비해 150%정도 증가하였다. 이는 사염화탄소를 투여함으로써 간조직의 지질과산화물함량이 현저하게 증가했다고 보고한 Noll 등의 연구결과와도 일치하였다. 일반적으로 사염화탄소와 같은 xenobiotics의 대사시 약물대사 효소계로부터 생성된 여러 free radical들이 생체막의 지질과산화를 초래하여 혈액 및 조직내 과산화지질함량을 증가시키는 것으로 알려져 있는데, 결명자 추출물을 공급하였을 때는 0.25%, 0.5% 추출물 첨가군 모두 사염화탄소 투여 대조군에 비해 TBARS함량이 유의하게 감소하였다. 이러한 점으로 미루어 볼 때, 결명자 에탄올 추출물에는 간장조직의 과산화 지질 생성을 억제하는 뚜렷한 역할이 있는 것으로 판단되었다.

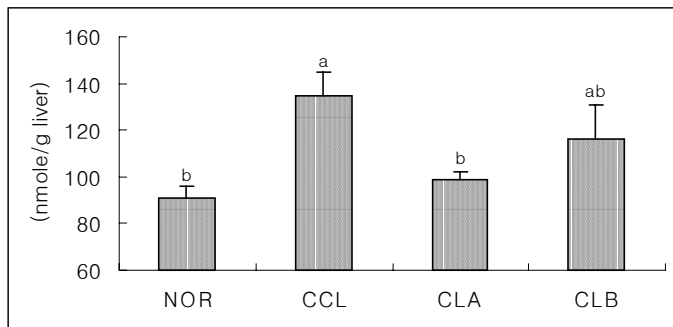


Figure 3-2. The contents of thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) in liver of experimental rats

NOR:Normal, CCL:CCl₄, CLA:0.25% *C.tora* 70% ethanol extract+CCl₄, CLB:0.5% *C.tora* 70% ethanol extract+CCl₄. Values are mean±S.E(n=8) and those on the bar not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple

range test.

마. 간조직중의 항산화효소 활성변화

Table 3-9에는 간조직중의 catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase 활성변화를 나타내었다. Catalase는 간에 가장 많이 존재하며, 체내에서 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생긴 H_2O_2 를 분해하여 무독화 시키는 free radical scavenging 효소중의 하나이다. 사염화탄소 투여대조군의 catalase활성은 정상군에 비해 유의하게 감소하였고 이는 Rex 등의 연구결과와 일치하며, 사염화탄소 처리시 결명자 추출물에 의하여 catalase활성이 증가하는 경향을 보였다. SOD활성 역시 사염화탄소 투여에 의해 유의성은 없었으나 활성이 감소하는 경향을 보였는데 이는 사염화탄소 투여에 의해 SOD 활성이 감소하였다는 윤 등의 보고와 일치하는 결과이다. SOD는 구리와 아연, 철, 망간 과 같은 금속을 함유하고 있으며 그중 구리와 아연, 망간을 함유하는 SOD는 동물의 거의 모든 조직에 존재하고 있다. 그 중 간장에 가장 많이 존재하며 효소내부의 이러한 금속의 산화 환원작용으로 인하여 superoxide radical에 전자를 전달하여 독성을 가지는 superoxide radical을 H_2O_2 로 전환시켜 해독하는 역할을 한다. 결명자추출물 첨가군의 경우, 사염탄소투여 대조군에 비해 SOD 활성이 증가하는 경향을 나타내었으며 통계적 유의차는 없었다. GSH-Px는 selenium을 가진 항산화계 효소로서 체내에 존재하는 glutathione(GSH)을 기질로 하여 과산화지질과 H_2O_2 의 무독화에 관여하며, catalase와 기능은 유사하나 생체내 분포부위가 다르고, 철분, 비타민 E, 필수지방산의 결핍시 그 활성이 감소되고, 산화적 스트레스에 의해 활성이 증가하는 것으로 보고되어있다. 본 실험에서 사염화탄소 단독 투여군의 GSH-Px는 정상군보다 높았으며, 결명자 추출물을 공급한 군은 사염화탄소 단독 투여군보다 유의하게 감소되었는데 이는 결명자 추출물이 사염화 탄소에 의한 free radical의 생성을 저하시킨 것으로 추측된다. 이와 같이 사염화탄소 투여시 생체내에서 효소적 항산화계를 담당하는 catalase, SOD, GSH-Px의 변화를 검토한 결과 catalase와 SOD는 감소한 반면 GSH-Px는 증가하는 경향을 나타내었는데 이는 사염화탄소를 투여한 흰쥐의 항산화계 효소활성도를 조사한 한과조의 연구결과와 유사하다. Rodriguez등도 quinolinic acid를 투여한 흰쥐의 뇌에서 Mn-SOD 활성은 변화가 없는 반면 Cu-Zn SOD는 유의하게 감소하였다고 보고하고 있다.

이러한 점으로 미루어 볼 때 체내 효소적 항산화계는 산화적 스트레스 유도물질의 종류와 농도, 조직에 따라 각 효소의 반응이 다르게 나타난다고 사료된다.

Table 3-9. Changes of hepatic catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase activity of experimental rats

	Catalase	Superoxide dismutase	Glutathione peroxidase
	unit/min mg protein	unit/min mg protein	nmoles/min mg protein
NOR ¹⁾	203.0±4.49 ^a	9.12±0.25 ^a	0.71±0.01 ^{ab}
CCL ²⁾	159.0±3.86 ^b	8.67±0.19 ^a	0.74±0.08 ^a
CLA ³⁾	161.4±6.29 ^b	9.15±0.61 ^a	0.61±0.03 ^b
CLB ⁴⁾	173.9±24.35 ^{ab}	9.31±0.92 ^a	0.59±0.02 ^b

¹⁾Normal, ²⁾CCl₄, ³⁾0.25% *C.tora* 70% ethanol extract+CCl₄, ⁴⁾0.5% *C.tora* 70% ethanol extract+CCl₄

Values are mean±S.E(n=8) and those in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

제 3절 결명자 에탄올 추출물이 D-Galactosamine투여에 의한 흰쥐의 간손상에 미치는 영향

1. 실험재료 및 방법

○ 실험재료 및 추출물의 조제는 제 2절과 동일하게 조제하였다.

○ 실험군 및 동물사육

실험동물은 6주령된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐를 대한바이오링크(주)로부터 구입하여 1주일간 기본식으로 적응시킨후, 난괴법에 의해 정상군, 갈락토사민 투여 대조군, 0.25%추출물 투여군, 0.5%추출물 투여군으로 나누어 5주간 사육하였으며 물과 실험식은 자유롭게 공급하였다. 대조군과 실험군에는 멸균증류수에 녹여 조제한 D-Galactosamine을 800mg/kg bw의 농도로 해부 20시간 전에 복강내 주사하였으며, 투여 전후 4시간씩 절식시켰다. 본 실험에 사용한 식이는 AIN-76 diet조성 (corn starch 45%, casein 20%, sucrose 20%, corn oil 5%, cellulose 5%, mineral mix 3.5%, vitamin mix 1%, methionine 0.3%, choline chloride 0.2%)에 준하여 결명자 에탄올 추출물을 각각 0.25%, 0.5%되게 기본식에 더하여 공급하였고 식이 섭취량은 격일에 한 번 측정하였으며 체중은 매주 측정하였다.

○ 시료의 채취 및 각 성분의 분석은 제 2 절과 동일한 방법으로 하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 실험동물의 체중변화, 장기중량, 사료섭취량 및 FER

Table 3-10 에서 보는바와 같이 각 군간의 체중 및 장기중량은 큰 차이가 없었다

Table 3-10. Body weight gain, total diet intake and liver weight of rats fed experimental diets for 5 weeks

	Normal	GalN-con	GalN+0.25% ext	GalN+0.5% ext
Initial BW (g)	196.17±7.72 ^{ns}	195.14±4.03	196.29±6.52	196.29±3.01
Final BW (g)	345.66±21.23 ^{ns}	349.03±18.38	334.33±13.97	356.62±12.14
Weight gain (g)	149.42±14.29 ^{ns}	153.89±16.62	138.04±9.50	160.33±10.98
Total diet intake (g)	567.83±37.90 ^b	613.86±25.93 ^b	753.86±26.55 ^a	741.86±30.27 ^a
FER	0.26±0.02 ^a	0.25±0.02 ^a	0.18±0.01 ^b	0.22±0.02 ^{ab}
Liver(g)	10.50±0.89 ^{ns}	11.77±0.87	11.16±0.40	11.53±0.51
Spleen(g)	0.78±0.05 ^{ns}	0.88±0.06	0.90±0.08	0.93±0.09
Kidney(g)	2.33±0.14 ^{ns}	2.33±0.10	2.44±0.14	2.31±0.08

나. 혈청지질함량

혈청 cholesterol, triglyceride는 galactosamine을 투여한 대조군이 정상군에 비해 매우 낮아졌다. 혈청cholesterol 및 triglyceride 함량의 감소는 중증 간실질 장애와 같은 간장장애가 발생하였을 때 발생한다고 보고되어있으며, 결명자 에탄올 추출물을 공급하였을 때 대조군에 비하여 약간 증가되는 경향을 볼 수 있었다 (Table 3-11).

Table 3-11. The effect of *Cassia tora* ethanol extract on the concentration of serum and liver cholesterol, triglyceride in experimental rats

	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)
Normal	68.0±3.51 ^a	106.0±7.58 ^a
Galactosamine control	20.4±1.45 ^b	27.7±2.18 ^c
GalN+0.25% ext.	21.6±2.45 ^b	36.9±1.93 ^b
GalN+ 0.5% ext.	23.1±1.54 ^b	40.6±1.82 ^b

다. 혈청중 각 효소의 효소활성

혈청중 각 효소들의 활성은 Table 3-12와 같다. 대조군의 경우, 간 손상으로 인해 효소의 활성이 모두 유의하게 증가하였으며, AST, ALT활성의 경우에는 추출물 첨가군의 활성이 유의하게 감소되어 galactosamine에 의한 간 손상을 감소시키는 효과가 있는 것으로 생각되었다. 알칼리성 포스파타제(ALP)의 경우 역시 실험군의 활성이 낮아지는 경향을 볼 수 있었다.

Table 3-12. The effect of *Cassia tora* ethanol extract on the serum v-GTP, ALP, AST and ALT activity in experimental rats

	v-GTP (mU/ml)	ALP (K-A Unit)	AST (karmen단위)	ALT (karmen단위)
Normal	3.31±0.27 ^c	5.03±0.25 ^b	70.05±4.69 ^d	30.12±0.50 ^c
GalN-control	6.16±0.45 ^b	10.2±0.66 ^a	2144.3±137.4 ^a	1798.3±96.8 ^a
GalN+0.25% ext.	6.40±0.04 ^{ab}	9.42±0.45 ^a	1587.0±153.7 ^b	1107.8±256.0 ^b
GalN+ 0.5% ext.	7.58±0.42 ^a	9.52±0.43 ^a	953.3±110.6 ^c	1054.7±116.3 ^b

라. 간 조직중의 지질함량 및 지질과산화물 함량

간 조직 중의 cholesterol 및 triglyceride 함량은 혈중 지질과 마찬가지로 대조군에서 유의하게 감소하였으나 추출물을 공급한 군에서 증가하는 경향이였다. 지질과산화물의 경우 대조군에 비해 실험군의 함량이 감소하는 것으로 나타나, 추출물의 공급이 간 손상으로 인한 지질과산화물 생성 억제에 관여한 것으로 생각되었다(Table 3-13).

Table 3-13. The effect of *C. tora* ethanol extracts on the contents of cholesterol, triglyceride and TBARS in liver of experimental rats

	Cholesterol (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)	TBARS (MDA nmole/g liver)
Normal	3.78±0.13 ^a	24.48±1.21 ^a	90.7±5.20 ^b
GalN-control	2.33±0.13 ^c	7.82±1.14 ^b	139.7±7.25 ^a
GalN+0.25% ext.	2.82±0.03 ^b	9.91±1.20 ^b	118.4±11.35 ^a
GalN+ 0.5% ext.	2.73±0.11 ^b	11.12±1.61 ^b	118.2±4.48 ^a

마. 간조직 중의 항산화계 효소의 활성변화

SOD의 경우 간 손상으로 인해 감소한 활성이 추출물을 공급함에 따라 점차 정상군의 활성치에 가깝게 증가됨을 볼 수 있었으며 이는 추출물이 SOD의 직접적인 손상 또는 단백질합성의 저해를 억제하였기 때문인 것으로 생각된다. Catalase 활성 역시 실험군에서 유의하게 증가하였다. Glutathione peroxidase(GPx)는 Se을 함유하는 항산화계 효소으로써 과산화 지질과 H₂O₂의 무독화를 촉매하며, 산화적 스트레스에 의해 활성이 증가하는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서는 정상군에 비해 galactosamine투여군의 활성이 증가하였으며 추출물을 공급함으로써 활성이 유

의하게 감소하였다(Table 3-14).

Table 3-14. Changes of hepatic catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase activity of experimental rats

	Catalase (unit/min mg protein)	SOD (unit/min mg protein)	GPx (nmoles/min mg protein)
Normal	203.0±4.49 ^{ns}	9.12±0.25 ^a	0.707±0.01 ^a
GalN-control	179.1±2.46	6.45±0.28 ^c	0.721±0.01 ^a
GalN+0.25% ext.	190.5±5.25	7.75±0.14 ^b	0.593±0.03 ^b
GalN+ 0.5% ext.	197.6±14.35	8.57±0.53 ^{ab}	0.574±0.04 ^b

참 고 문 헌

1. Takahashi, P. and Takido, M. Studies on the constituents of the seeds of *Cassia tora* L. II. On the purgative crude drugs. The structure of the new naphtho- α -pyrene derivative, tolerance. *Yakugaku Zasshi*, 93: 261-267 (1973)
2. Kaneda, M., Morishita, E. and Shibata, S. Chemical studies on the oriental plant drugs. The constituents of *Cassia tora* L. A glycoside of rubrofusarin. *Chem. Pharm. Bull.* 17: 458-461 (1969)
3. Yoshikawa, M., Murakami, T., Ueda, T., Yoshizumi, S., Ninomiya, K., Murakami, N., Matsuda, H., Saito, M., Fujii, W., Tanaka, T. and Yamahara, J. Bioactive constituents of Chinese natural medicines. III. Absolute stereostructures of new dihydroflavonols, hovennitins I, II and III, isolated from *Hoveniae Semen Seu Fructus*, the seed and fruit of *Hovenia dulcis* thunb.(*Rhamnaceae*): Inhibitory effect on alcohol on alcohol-induced muscular relaxation and hepatoprotective activity. *Yakugaku Zasshi*, 117: 108-117 (1997)
4. Shibata S., Morishita, E., Kaneda, M., Kimura, Y., Takide, M. and Takahashi, S. Chemical studies on the oriental plant drugs. The constituents of *Cassia tora* L. The structure of torachryson. *Chem. Pharm. Bull.* 17: 454-457 (1969)
5. Choi, J. S., Jung, J. H., Lee, H. J., Lee, J. H. and Kang, S. S. A naphthalene glycoside from *Cassia tora*. *Phytochemistry*. 40: 997-999 (1995)
6. Anthony Koo, Wang, J.C.C. and Li, K. M. Extraction of hypotensive principles from seeds of *Cassia tora*. *Am. J. Chin. Med.* 4: 245-248 (1976)
7. Samuel, H. H., Chan, B. Sc., Anthony Koo, M. B. and Li, K. M. The involvement of medullary reticular formation in the hypotensive effect of

- extracts from seeds of *Cassia tora*. Am. J. Chin. Med. 4: 383-389 (1976)
8. Lim, S. J. and Han, H. K. : Hypoglycemic effect of fractions of *Cassia tora* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J. Soc. Food Sci. 13: 23-29 (1997)
9. Kim, S. H., Choi, J. S. and Heo, M. Y. Antioxidative activity and anticlastogenicity of *Cassia tora L.* seeds extract and its major component, norrubrofusarin-6- β -D-glucoside. J. Food Hyg. Saf. 13: 394-399 (1998)
10. Choi, J. S., Lee, H. J., Park, K. Y., Ha, J. O. and Kang, S. S. In vitro antimutagenic effects of anthraquinone aglycones and naphthopyrone glycosides from *Cassia tora*. Planta Med. 63: 11-14 (1997)
11. Choi, J. S., Lee, H. J. and Kang, S. S. Alaternin, cassiaside and rubrofusarin gentiobioside, radical scavenging principles from the seed of *Cassia tora* on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. Arch. Pharm. Res. 17: 462-469 (1994)
12. Do, J. R., Kim, S. B., Park, Y. H., Park, Y. B., Choi, J. S. and Kim, D. S. The nitro-scavenging effects by the component of *Cassiae torae semen*. Korean J. Food Sci. Technol. 25: 526-529 (1993)
13. Park, Y. B., Lee, T.G., Kim, O. K., Do, J. R., Yeo, S. G., Park, Y. H. and Kim, S. B. Characteristics of nitrate scavenger derived from seeds of *Cassia tora L.* Korea J. Food Sci. Technol. 27: 124-128 (1995)
14. Wong, S. M., Wong, M. M., Seligmann, O. and Wagner, H. Anthraquinone glycosides from the seeds of *Cassia tora*. Phytochemistry, 28: 211-214 (1989)
15. Jang, D. J., Joo, H. K. and Cho, Y. J. The protective effect of the seeds of *Cassia tora L.* against carbon tetrachloride-induced hepatic injury on rats. J. Korean Soc. Anal. Sci. 2: 331-335 (1989)
16. McCay, P. B., Lai, E. K., Poyer, J. L., Dubose, C. M. and Janzen, E. G. Oxygen and carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride

- metabolism. *J. Biol. Chem.*, 259: 2135-2139 (1984)
17. Recknagel, R. O. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.*, 19: 145-164 (1976)
 18. Abei, H. Catalase. In "Methods of enzymatic analysis" Bergmeyer, H. U. (ed.), Academic Press, New York, 2: 673-679 (1974)
 19. Marklund, S. and Marklund, C. T. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase *Eur. J. Biochem.*, 47: 469-473 (1974)
 20. Lawrence R. A. and Burk R. F. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 71: 952-961 (1976)
 21. Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95: 35-41 (1979)
 22. Folch, J., Lees, M. and Sloane, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509 (1957)
 23. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J. and Farr, A. L. and Randall, R. J. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275 (1951)
 24. Kim, S. Y., Kim, H. P., Lee, M. K. and Byun, S. J. The effect of betaine on the CCl₄-induced hepatotoxicity in rats. *Yakhak Hoeji* 37: 538-541 (1993)
 25. Menson, I. S., Kendal, R. Y., Dewar, H. A. and Newell, K. J. Effect of onions on blood fibrinolytic activity. *Br. Med. J.*, 3: 351-362 (1968)
 26. Kim, K. H. and Han, H. K. The effect of mushroom extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 326-332 (1998)
 27. Wakasugi, J. W., Katami, K., Ikeda, T. and Tomikawa, M. Action of malotilate on reduced serum cholesterol level in rats with carbon tetrachloride-induced liver damage. *Japan J. Pharmacol.*, 38: 391-398 (1985)

28. Kuller, L. H., Hully, S. B., Neaton, J. and Dai, W. S. Environmental determinants, liver function, and high density lipoprotein cholesterol levels. *Am. J. Epidemiol.*, 117: 406-412 (1983)
29. Chung, T. H. Changes in lipids and apoprotein moieties of serum high density lipoprotein in patients with liver cirrhosis. *Keimyung Univ. Med. J.*, 4: 28-36 (1985)
30. Lee, H. J., Yoon, C. K., Lee and S. I. Effect of dietary protein on the changes of lipoprotein fractions in carbon tetrachloride-treated rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 22: 127-131 (1993)
31. Noll, T. and Groot, H. The critical steady state hypoxic conditions in carbon tetrachloride induced lipid peroxidation in rat liver microsomes. *Biochem. Biophys. Acta*, 795: 356-361 (1984)
32. Rex, M. and Christine, C. W. Reduced glutathione in combination with superoxide dismutase as an important biological antioxidant defence mechanism. *Biochem. Pharmacology*, 38: 4349-4352 (1989)
33. Yoon, C. G., Park, H. S. and Lee, S. I. Effect of dietary tungstate on the liver damage in CCl₄-treated rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 22: 678-684 (1993)
34. Mates, J. M., Perez, C. and Castro. I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.* 32: 595-603 (1999)
35. Aykac, G. The effect of chronic ethanol infestation on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicol.*, 35: 71-79 (1985)
36. Mutanen, M. L. and Mukkanene, H. M. Effect of dietary fat on plasma glutathione peroxidase levels and intestinal absorption of ⁷⁵Se-labeled sodium selenite in chicks. *J. Nutr.*, 114: 829-836 (1984)

37. Han, E. G. and Cho, S. Y. Effect of *Codonopsis lanceolata* water extract on the activities of antioxidative enzymes in carbon tetrachloride treated rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 1181-1186 (1997)
38. Rodriguez, E., Camacho, A., Maldonado, P., Pedraza, J., Santamaria, D., Galvan, S. and Santamaria, A. Effect of quinolinic acid on endogenous antioxidants in rat corpus striatum. Brain Res. 858: 436-439 (2000)

제 4장 결명자가 흰쥐의 체내 지질대사에 미치는 영향

최근 우리나라에서는 식생활이 서구화됨에 따라 지방의 섭취가 증가하고 있으며, 그에 비례하여 동맥경화, 관상동맥질환과 같은 심혈관계질환 및 당뇨병, 비만 등의 만성퇴행성질환의 발병율이 높아지고 있다. 특히 관상동맥질환의 발병은 고지혈증 중에서도 고콜레스테롤 혈증이 주요한 원인중의 하나로 작용하는 것으로 알려져 있으며 고콜레스테롤 혈증은 열량과 지방섭취 및 동물성 식품섭취의 증가 등에 의해서도 영향을 받는다. 이러한 성인병의 주요한 위험인자이기도한 콜레스테롤은 세포막의 구성요소이며 담즙산, steroid hormone과 vitamin D의 전구물질로서 생체내의 필수성분중의 하나이며, 혈액중의 농도는 섭취량에 따라 체내에서 생합성과 분해의 두과정에 의해 조절되어 일정하게 유지되나, 장기간 과량 섭취시 혈중 농도가 높아지고 체내에 축적되어 고지혈증, 동맥경화증, 심장질환 및 담석증 등 각종 순환기계 질환을 유발하게 되는 것으로 알려져 있다. 특히 혈중 콜레스테롤 농도의 증가는 유전적 이상에 의한 경우도 있으나, 고지방 식이의 섭취등과 같은 식이요인에 의해 크게 영향을 받는 것으로 알려져 있으며, 최근에는 천연물로부터 이러한 혈중 콜레스테롤농도를 감소시킬 수 있는 소재개발에 관심이 집중되고 있다. 한편, 결명자(*Cassia tora L.*)는 콩과에 속하는 일년초로서, 예로부터 가정에서 결명자차로 음용되어 왔고, 한방에서는 약재로 이용되어오고 있다. 결명자는 한방에서 눈을 밝게 하고 간장과 신장의 보호효과가 있으며 고혈압, 혈중 콜레스테롤의 저하 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있고, 주성분으로서는 chrysophanol, emodin, rhein, obstusin, rubro-fusarin gentiobioside, anthraquinon glycosides등이 보고되고 있다. 결명자의 효능에 관한 연구로서 혈압강하효과, 혈당강하효과, free radical 소거작용등이 보고되고 있으나, 체내 지질대사에 미치는 영향에 관해서는 거의 연구가 되어 있지 않는 실정이다. 이에 본 장에서는 결명자 추출물이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐의 체내 지질함량에 어떠한 영향을 미

치는지에 관해 조사하였다.

제 1절 결명자 에탄올 추출물이 흰쥐체내 지질함량에 미치는 영향

1. 실험재료 및 방법

가. 실험재료 및 추출물의 조제

본 실험에 사용한 실험재료 및 추출물의 조제는 제 3장 2절과 동일한 방법으로 하였다

나. 실험동물의 사육 및 시료의 채취

실험동물은 6주령된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐를 대한바이오링크(주)로부터 구입하여 1주일간 기본식으로 적응시킨후, 난괴법에 의해 각 군당 8마리씩 정상군, 1% cholesterol 첨가군, 0.25% 추출물 투여군, 0.5% 추출물 투여군으로 나누어 4주간 사육하였으며, 물과 실험식은 자유롭게 공급하였다. 본 실험에 사용한 식이 (Table 4-1)는 AIN-76 diet조성에 준하여 결명자 에탄올 추출물을 각각 0.25%, 0.5%되게 첨가하여 공급하였고, 체중은 매주 측정하였으며, 식이섭취량은 격일에 한번 측정하였다. 실험동물은 처치전 12시간동안 물만 주고 금식시켰으며, 에테르 마취하에 개복한후 복부대동맥으로부터 채혈하고 간을 적출하여 식염수로 씻은후 trimming하여 무게를 측정한후 측정시까지 -70℃에서 보관하였다. 채취한 혈액은 실온에서 1시간 이내로 방치시킨 다음 1000×g에서 10분간 원심분리하여 혈청을 얻어 분석에 사용하였다.

Table 4-1. Composition of experimental diet

(unit : g/kg diet)

Ingredients	Group			
	Normal	High cholesterol control	0.25% <i>C.tora</i> ethanol extract	0.5% <i>C.tora</i> ethanol extract
Casein	200	200	200	200
Corn oil	50	50	50	50
Mineral mix. ¹⁾	35	35	35	35
Vitamin mix. ²⁾	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2
Methionine	3	3	3	3
Cellulose	50	50	50	50
Sucrose	200	200	200	200
Corn starch	450	440	440	440
Cholesterol	-	10	10	10
<i>C. tora</i> ethanol ext.	-	-	2.5	5

¹⁾AIN-76 mineral mixture, ²⁾AIN-76 vitamin mixture.

다. 혈청지질함량 및 ALT, AST의 분석

혈청중 지질함량 및 ALT, AST활성의 측정은 제 3장 2절과 동일한 방법으로 하였다.

라. 효소원의 조제 및 G6PDH와 ME 활성 측정

간조직 2g당 15ml의 0.25M sucrose/0.5M EDTA를 가하여 빙냉하에서 Teflon Potter-Elvehjem homogenizer로 마쇄하여 얻은 균질액을 4℃,20,000×g에서 10분간 원심분리하여 postmitochondrial supernatant를 얻어 이를 Glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH)와 malic enzyme(ME)활성측정을 위한 효소원으로 사용하였다. G6PDH활성은 NADP가 glucose-6-phosphate를 산화시켜 생성

된 NADPH의 양을 측정하는 Bergmeyer의 방법에 준하였으며, ME활성은 효소에 의해 환원된 NADPH의 생성율을 측정하는 Ochoa의 방법에 따라 분석하였다.

바. 간조직중의 과산화지질 및 지질함량 측정

간조직중의 과산화지질 및 지질함량 측정은 제 3장 2절과 동일한 방법으로 하였다.

사. 단백질 정량

각 효소원의 단백질량은 Lowry법에 의해 정량하였고, 표준품으로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

아. 통계처리

실험결과는 SAS를 이용하여 실험군당 평균±표준오차로 나타내었으며 각 군의 유의차 검정은 분산분석을 한 후 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan의 다중비교법에 의해 검증하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 체중변화, 장기중량, 사료섭취량 및 식이효율

4주간 실험식이를 급여한 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 간중량을 Table 4-2에 나타내었다. 체중증가량은 군간의 통계적 유의차는 없었으나 결명자 추출물군이 가장 높았고 정상군과 고콜레스테롤 대조군은 비슷한 값을 나타내었다. 총 식이섭취량은 정상군에 비하여 고콜레스테롤 대조군이 약간 높은 경향이었으며 결명자 추출물군은 대조군에 비하여 유의하게 높게 나타났다. 사료섭취량에 대한 체중증가량으로 환산한 식이효율은 각 군 거의 비슷한 값을 나타내었고 0.5% 추출물군에서는 오히려 낮은 값을 나타내어 결명자 추출물군에서 체중증가

량이 높은 경향을 보였던 것은 사료섭취량의 증가에 의한 것으로 판단되었다. 일반적으로 고콜레스테롤식이를 섭취한 흰쥐에서는 간장중에 중성지질 및 콜레스테롤 등이 축적되어 간중량의 증가를 초래하며 또한 과량의 콜레스테롤이 간장으로 유입되었으나 지질수용체와 결합하여 lipoprotein의 형태로 배출되지 못하면 간에 축적되어 지방간을 유발시킬수 있다. 본 실험에서도 간조직의 중량은 정상군에 비하여 고콜레스테롤 대조군에서 크게 증가하였고 결명자 추출물군에서도 높은 값을 나타내었으나 체중에 대한 간중량비는 4군 모두 거의 비슷하였다. 따라서 본 실험조건에서 나타난 결명자 추출물 투여에 따른 체중증가 및 간중량의 증가는 사료섭취량의 증가에 기인한 것으로 판단되며 향후 paired-fed 실험이 필요하다고 사료된다.

Table 4-2. Body weight gain, food intake, food efficiency ratio and liver weight of rats fed experimental diets for 4 weeks

Group	Normal	High cholesterol control	0.25% <i>C.tora</i> ethanol extract	0.5% <i>C.tora</i> ethanol extract
IBW ¹⁾ (g)	196.2±7.7 ^{NS4)}	195.3±2.4	195.4±5.5	196.0±9.9
FBW ²⁾ (g)	345.7±21.2 ^{NS}	344.3±10.0	378.5±3.3	362.4±10.9
Weight gain (g/4w)	149.4±14.3 ^{NS}	149.0±9.7	180.5±8.4	167.8±7.3
Food intake (g/4w)	567.8±37.9 ^{b5)}	597.8±16.1 ^b	718.4±12.8 ^a	695.6±13.7 ^a
FER ³⁾	0.26±0.02 ^{ns}	0.25±0.01	0.25±0.01	0.24±0.01
Liver(g)	10.5±0.9 ^b	11.3±0.5 ^{ab}	13.3±0.5 ^a	13.0±0.7 ^a

¹⁾Initial body weight, ²⁾Final body weight.

³⁾FER: food efficiency ratio; body weight gain/food intake.

⁴⁾NS: not significant.

⁵⁾Values are means±SE (n=8) and those in the same row not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

나. 혈청 및 간장의 지질함량

고콜레스테롤 식이와 동시에 결명자 에탄올 추출물을 섭취한 흰쥐의 혈청내의 각종 지질함량을 Table 4-3에 나타내었다. 고콜레스테롤 대조군의 혈청 총콜레스테롤 함량은 정상군에 비하여 약간 증가하였고, 결명자 에탄올 추출물군에서 감소하는 경향이었으며, 특히 0.5% 추출물군은 정상군의 함량과 비슷한 수준으로 감소하였으나 통계적 유의차는 없었다. 혈청 유리콜레스테롤은 고콜레스테롤 식이를 섭취함에 따라 유의하게 증가하였고 결명자 추출물군에서는 대조군에 비하여 유의하게 감소하였으며, 결명자 에탄올 추출물의 첨가량이 증가할수록 감소하여 dose response를 나타내었다. 유리지방산도 유리콜레스테롤과 유사한 경향을 나타내었으나 통계적 유의차는 없었으며 혈청 중성지방 함량도 결명자 추출물을 첨가함에 따라 대조군에 비하여 감소하는 경향이었고 0.5% 추출물 첨가군은 21% 감소하였다. 한편, HDL-콜레스테롤은 항동맥경화의 지표로서 콜레스테롤을 말초혈관으로부터 간으로 운반하여 동맥경화를 막는 방향으로 콜레스테롤을 이동시켜 관상동맥 질환에 대한 방어 작용을 한다고 알려져 있다. 고콜레스테롤 대조군의 HDL-콜레스테롤 함량은 정상군에 비하여 약 50%정도 감소하였으나 결명자 추출물을 첨가함으로써 대조군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었다. Table 4-4에는 간장중의 총 콜레스테롤과 중성지방의 함량을 나타내었다. 고콜레스테롤 식이 대조군의 간장 총 콜레스테롤 함량은 정상군에 비하여 유의하게 증가하였으나, 결명자 추출물을 0.25% 첨가함으로써 유의하게 감소하였다. 중성지방 함량도 총 콜레스테롤과 마찬가지로 0.25%, 0.5% 결명자 추출물군 모두 대조군에 비하여 유의하게 감소하였으나 추출물의 첨가 농도에 따른 영향은 나타나지 않았다. 천연물의 polyphenol 화합물은 혈중 콜레스테롤 및 중성지방의 함량을 감소시킨다는 보고가 있으며, 특히 식물성 sterols는 콜레스테롤 합성계의 중요한 효소인 HMG-CoA reductase 활성을 저해함으로써 생체내 지질함량을 감소시킨다고 알려져 있다. Kim은 결명자 추출물의 잔사가 cholic acid 및 cholesterol의 결합능이 있다고 보고 하고 있으며, Samuel등은 결명자 추출물의 혈압강하 효과를 보고하였다. 이러

한 점으로 미루어 볼 때 결명자에는 체내 지질함량을 조절하는 성분이 존재할 것으로 사료되며, 이미 유효성분으로서 알려져 있는 rhein, emodin, anthraquinone glycosides, β -sitosterol등을 포함한 새로운 성분 탐색 및 이들 성분의 작용기작에 관한 지속적인 연구가 필요하다.

Table 4-3. The effect of *C. tora* ethanol extracts on the concentrations of serum total cholesterol, free cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol and free fatty acid in experimental rats

Group	Normal	High cholesterol control	0.25% <i>C.tora</i> ethanol extract	0.5% <i>C.tora</i> ethanol extract
Total cholesterol (mg/dL)	67.3±4.5 ^{ns1)}	73.4±4.8	71.6±4.7	63.0±4.9
Free cholesterol (mg/dL)	13.0±0.8 ^{b2)}	28.0±7.6 ^a	16.4±1.3 ^{b)}	12.2±0.6 ^b
Triglyceride (mg/dL)	100.1±14.2 ^{ns}	127.9±11.8	115.8±7.7	101.0±7.6
HDL cholesterol (mg/dL)	50.5±3.9 ^a	25.4±3.5 ^b	30.9±3.0 ^b	31.1±3.0 ^b
Free fatty acid (μ Eq/L)	573.5±32.3 ^{ns}	653.6±56.0	729.3±54.5	594.8±52.6

¹⁾not significant

²⁾Values are means±SE (n=8) and those in the same row not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 4-4. The effect of *C. tora* ethanol extracts on the contents of cholesterol and triglyceride in liver of experimental rats

Group	Total cholesterol (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)
Normal	4.1±0.20 ^{c1)}	24.5±1.21 ^c
High cholesterol control	31.1±1.10 ^a	50.4±2.09 ^a
0.25% <i>C.tora</i> ethanol extract	21.1±0.80 ^b	31.5±1.89 ^b
0.5% <i>C.tora</i> ethanol extract	28.4±0.93 ^{ab}	36.9±1.81 ^b

¹⁾Values are means±SE (n=8) and those in the same row not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

다. 간 조직 중의 G6PDH, ME활성

간의 peroxisome에서 지방산의 β-산화와 지방산의 합성에 관여하는 효소인 glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH), malic enzyme (ME)을 측정된 결과는 Table 4-5와 같다. 0.5% 결명자 추출물을 투여한 군의 ME활성은 고콜레스테롤 대조군에 비하여 유의하게 감소하여 정상식이군과 비슷하였다. G6PDH활성 역시 결명자 에탄올 추출물 첨가군에서 고콜레스테롤 식이 대조군에 비하여 유의하게 감소되었으며, G6PDH와 ME 모두 추출물의 첨가농도가 높을수록 활성이 더 낮은 것으로 나타났다. Cho등은 고콜레스테롤식 및 고지방식을 섭취한 흰쥐에서 기장 메탄올 추출물이 G6PDH와 ME의 활성을 유의하게 감소시켰으며, 기장의 이러한 활성은 식이섭유가 아닌 다른 유효화합물에 기인할 것으로 추측하였다. G6PDH와 ME는 탄수화물 대사와 지질대사를 연결하는데 있어 중요한 역할을 담당하며 따라서 혈액내 지방량을 조절하는데 있어서 중요한 요소가 된다. 즉 간조직 중의 G6PDH나 ME의 활성을 낮추는 인자는 비정상적인 지방대사와 관련된 위험인자를 줄이게 되는 것이다. 본 실험결과 결명자에는 고콜레스테롤 식이섭취시 G6PDH와 ME의 활성을 억제하는 유효성분이 존재하며, 결명자에탄올 추출물

에 의한 이들 효소활성의 감소가 혈액 및 간장의 지질함량저하에도 관여하였을 것으로 생각된다.

Table 4-5. The effect of *C. tora* ethanol extracts on activities of hepatic G6PDH and ME of experimental rats

Group	G6PDH (nmoles/ min mg protein)	Malic enzyme (nmoles/ min mg protein)
Normal	1.04±0.22 ^{ab1)}	0.53±0.04 ^{ab}
High cholesterol control	1.34±0.12 ^a	0.62±0.02 ^a
0.25% <i>C.tora</i> ethanol extract	0.94±0.10 ^b	0.53±0.03 ^{ab}
0.5% <i>C.tora</i> ethanol extract	0.78±0.04 ^b	0.48±0.05 ^b

¹⁾Values are means±SE (n=8) and those in the same row not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

라. 혈청 AST, ALT활성 및 간장 TBARS함량 변화

실험동물의 혈청 AST와 ALT활성을 측정된 결과는 Table 4-6과 같다. AST활성의 경우 정상군은 64.5 Karmen unit이었으나 고콜레스테롤을 급여한 대조군은 74.3 Karmen unit로 높아졌다. 그러나 0.25% 결명자 에탄올 추출물을 공급하였을 때에 AST활성은 대조군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었고, 0.5% 추출물 투여군에서는 정상식이군과 거의 동일한 수준으로 감소하였다. ALT활성도 통계적 유의차는 없었으나 AST활성과 동일한 경향을 나타내었다. AST와 ALT활성은 고지방식이나 알콜 등으로 지방간이 유발되었거나 간 독성 물질에 의해 간세포가 손상되어 이들 효소가 방출되어 혈중의 효소활성도가 높아지게 되는데 본 실험의 결과로 볼 때 고콜레스테롤 식이로 인한 간의 손상을 결명자 에탄올 추출물이 완화시켜주는 역할을 하는 것으로 사료된다. 실제 결명자 에탄올 추출물은 사염화탄소로 독성을 유발시킨 흰쥐에 있어서 간장내 증가된 ALT, AST, ALP,

γ-GTP등 간기능관련 효소활성을 현저하게 감소시킴으로서 사염화 탄소 유발 독성을 감소시키는 것으로 보고되어 있다. 간 조직중의 지질과산화물의 함량을 보면 고콜레스테롤식이 대조군은 정상식이군에 비하여 15% 정도 증가하였으나, 결명자 에탄올 추출물의 급여로 인하여 감소하여 정상식이군보다도 오히려 낮은 값을 나타내었다. Choi 등은 결명자의 메탄올 추출물에서 free radical 소거 작용이 있음을 보고하였고, Kim 등은 결명자 에탄올추출물과 nor-rubrofusarin이 free radical 소거작용 및 reactive oxygen radical에 의한 산화적 스트레스 억제활성이 있다고 보고하였다. 이러한 점을 고려해볼 때 결명자의 항산화 효과가 결명자 추출물에 의한 과산화지질 생성을 감소시키고 AST 및 ALT활성을 감소시키는 한 요인으로 작용한 것으로 판단되었다.

Table 4-6. The effect of *C. tora* ethanol extracts on the activities of serum AST, ALT and contents of liver TBARS in experimental rats

Group	AST (karmen unit)	ALT (karmen unit)	TBARS (MDA nmoles/g liver)
Normal	64.5±9.0 ^{ns1)}	30.1±0.5 ^{ns}	92.8±5.2 ^{ns}
High cholesterol control	74.3±5.4	32.8±1.5	109.8±6.3
0.25% <i>C.tora</i> ethanol extract	71.9±4.1	29.1±1.8	85.0±17.8
0.5% <i>C.tora</i> ethanol extract	63.2±4.6	27.4±2.2	89.1±7.9

¹⁾not significant

제 2절 결명자 부위별(껍질, 속) 추출물이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐의 체내 지질함량에 미치는 영향

1. 실험재료 및 방법

가. 결명자 추출물조제

결명자는 수세, 건조시켜 분쇄한 후 체에 쳐서 껍질과 속을 분리하였다. 결명자 껍질과 속의 70% 에탄올 추출물은 분리한 결명자 껍질과 속에 각각 10배의 70% 에탄올을 가하여 진탕기에서 16시간동안 상온 추출하여 얻었으며, 물추출물은 각각의 시료에 30배의 물을 가하여 2시간동안 끓여 각각의 추출액으로 사용하였다. 추출액은 Toyo No. 2 여과지로 여과한 후 농축, 동결건조하여 추출물 시료로써 사용하였다.

나. 실험동물사육 및 시료채취

실험동물은 6주령된 SD계 수컷 흰쥐를 사용하였으며, 난피법에 의해 군당 8-9마리를 배정하여 해당 조제 식이를 주어 사육하였다. 실험에 사용한 식이는 Table 4-7과 같으며, AIN-76 diet조성에 준하여 1% cholesterol과 0.25%, 0.5% 추출물을 첨가하여 공급한 후 5주간 사육하였다.

체중은 매주 1회 측정하였으며 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 사료섭취량은 이틀에 한 번 측정하였다.

해부 1일전 절식시킨 후 ether마취하에 개복하여 복부대동맥으로부터 채혈한 다음 각 장기를 적출 하였다. 혈액은 채혈 후 1시간이내에 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였고, 적출한 간, 신장 및 비장은 saline으로 세척한 후 trimming하여 무게를 측정하였으며 모든 시료는 분석전까지 -70℃에 보관하였다.

Table 4-7. Composition of experimental diet

(unit : g/kg diet)

Group Ingredients	Normal	High cholesterol control	Husk & endosperm ethanol ext.	Husk & endosperm water ext.	Germ ethanol ext.	Germ water ext.
Casein	200	200	200	200	200	200
Corn oil	50	50	50	50	50	50
Mineral mix. ¹⁾	35	35	35	35	35	35
Vitamin mix. ²⁾	10	10	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2	2	2
Methionine	3	3	3	3	3	3
Cellulose	50	50	50	50	50	50
Sucrose	200	200	200	200	200	200
Corn starch	450	438.75	438.75	438.75	438.75	438.75
Cholesterol	-	10	10	10	10	10
Taurocholic acid	-	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
<i>C.tora</i> husk & endosperm ethanol ext.	-	-	5	-	-	-
<i>C.tora</i> husk & endosperm water ext.	-	-	-	5	-	-
<i>C. tora</i> germ ethanol ext.	-	-	-	-	5	-5
<i>C. tora</i> germ water ext.	-	-	-	-	-	-

¹⁾AIN-76 mineral mixture, ²⁾AIN-76 vitamin mixture.

다. 혈청 및 간장 지질함량, 효소활성 분석

제 3장 2절 및 제 4장 1절과 동일한 방법으로 분석하였다.

라. 분변중 지질 및 담즙산의 분석

분변은 해부 4일전 케이지를 교환한 후 해부시 까지 4일간 모인 것을 채집하여 시료로 사용하였으며 무게를 측정후 -70℃에서 동결하여 동결건조 시킨다음 분쇄하여 지질함량 측정및 bile acid농도의 측정에 사용하였다. 분변중의 지질함량은 Folch법에 의해 추출한 후 분석용 kit으로 측정하였으며 bile acid함량은 4% KOH를 가하여 autoclave에서 120℃로 3시간 동안 검화시킨 후 diethyl ether를 첨가하여 중성 steroid부분을 제거한 다음 염산을 가하여 산성화 시킨후 다시 diethyl ether를 가하여 bile acid를 추출하여 이를 농축시킨 후 분석용 kit(Kyokudo, Tokyo, Japan)을 사용하여 bile acid의 함량을 측정하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량

실험동물의 체중변화, 사료섭취량 및 식이효율은 Table 4-8과 같다. 체중증가량은 정상군이 123.4g으로 가장 적었으며 결명자 속 물추출물을 공급한 군이 146.5g으로 가장 높았고 식이섭취량은 각 군간의 통계적 유의차는 없었으나 껍질물추출물군이 416.4g으로 가장 높았다. 식이효율의 경우 정상군이 0.29로 가장 낮게 나타났았으며 결명자 껍질 에탄올 추출물 첨가군과 결명자 속의 물추출물이 가장 높았는데 이는 사료섭취량은 각 군 비슷하였으나 체중증가량에 차이가 있었기 때문인 것으로 생각되었다. Table 4-9의 장기무게를 보면, 간 중량의 경우 정상군이 9.29g 이었으나 1% 콜레스테롤 대조군은 14.34g으로 약 50%가량 증가하였으나 결명자 껍질과 속의 에탄올 추출물을 투여하였을 때 대조군에 비해 간중량이 각각 11.96, 12.27g으로 유의하게 감소하였으며, 물 추출물 공급군에서는 감소하지 않았다. 고콜레스테롤 섭취에 의해 유발된 간중량의 급격한 증가는 콜레스테롤의 섭취로 인하여 간장중에 중성지질, 콜레스테롤등의 축적 및 과량의 콜레스테롤이 간장으로 유입되었으나 lipoprotein의 형태로 배출되지 못하여 일어난 것으

로 알려져 있다. 한편, 정소상체 지방조직은 고지방 식이에 의해 조직의 무게 및 지방세포의 수가 매우 증가하는 것으로 알려져 있다. 이에 본 연구에서는 정소상체 지방조직의 무게를 측정하여 보았으며 그 결과 정상군에 비하여 고콜레스테롤 식이를 섭취한 군의 조직무게가 증가하는 것을 확인할 수 있었으며 결명자 껍질의 에탄올 추출물을 공급함에 따라 조직중량이 감소하는 경향을 보였으나 물 추출물 군에서는 차이가 없었다. 신장의 중량 역시 고콜레스테롤 대조군에서 높게 나타났으며 껍질의 에탄올 추출물 공급군에서 약간 낮아지는 경향이었고 물추출물 공급군은 변화가 없었다. 이러한 결명자 껍질의 에탄올 추출물군의 신장 및 정소상체 지방조직 무게의 감소 경향은 간중량의 감소형태와 거의 일치하였는데 이 결과로 보아 결명자 껍질의 에탄올 추출물의 공급이 흰쥐의 체내 지질축적을 감소시키는 역할을 한 것으로 사료된다.

Table 4-8. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats fed experimental diets for 5 week

	IBW	FBW	Weight gain (g)	Diet intake	FER
A	205.2±6.74 ^{ns}	328.6±12.45 ^{ns}	123.4±10.05 ^b	422.5±4.75 ^{ns}	0.29±0.02 ^b
B	205.1±4.77	342.8±6.36	138.1±6.97 ^{ab}	411.9±4.18	0.34±0.02 ^{ab}
C	205.2±5.86	343.2±6.77	141.4±6.09 ^{ab}	410.1±13.03	0.35±0.02 ^a
D	205.0±3.62	350.1±4.72	144.8±5.17 ^{ab}	436.7±3.05	0.33±0.01 ^{ab}
E	205.6±3.92	336.9±5.35	131.3±7.40 ^{ab}	420.1±10.16	0.31±0.02 ^{ab}
F	205.3±5.01	350.6±7.90	146.5±6.28 ^a	416.4±12.20	0.35±0.01 ^a

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 0.5% 껍질 ethanol ext.

D: 1% Cholesterol + 0.5% 껍질 water ext.

E: 1% Cholesterol + 0.5% 속 ethanol ext.

F: 1% Cholesterol + 0.5% 속 water ext.

Table 4-9. Effect of extracts on organ weights of experimental rats

	Epididymal fat pad	Liver	Kidney	Spleen
(g)				
A	3.12±0.28 ^b	9.29±0.57 ^c	2.05±0.08 ^b	0.85±0.08 ^{ns}
B	3.49±0.19 ^{ab}	14.34±0.52 ^a	2.32±0.07 ^a	0.80±0.08
C	3.00±0.40 ^b	11.96±0.96 ^b	2.18±0.09 ^{ab}	0.80±0.04
D	4.02±0.20 ^a	12.89±0.34 ^{ab}	2.28±0.07 ^a	0.81±0.05
E	3.22±0.14 ^b	12.27±0.59 ^b	2.24±0.03 ^{ab}	0.91±0.04
F	3.45±0.22 ^{ab}	13.12±0.53 ^{ab}	2.34±0.07 ^a	0.88±0.05

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 0.5% 껌질 ethanol ext.

D: 1% Cholesterol + 0.5% 껌질 water ext.

E: 1% Cholesterol + 0.5% 속 ethanol ext.

F: 1% Cholesterol + 0.5% 속 water ext.

나. 혈청지질함량 및 TBARS 함량변화

결명자 추출물을 섭취한 흰쥐의 혈청내의 각종 지질함량을 Table 4-10 에 나타내었다. 혈청 중성지방의 함량의 경우 정상군에 비해 고콜레스테롤 대조군에서 높아지는 경향을 보였으나 유의성은 없었으며 추출물군과도 유의적인 차이를 보이지 않았다. free cholesterol 함량은 정상군과 대조군간의 유의차가 없었으며 결명자 껌질 에탄올 추출물군이 8.56mg/dl 로 가장 낮았으며 결명자 속 물추출물군이 가장 높았다. 고콜레스테롤 대조군의 혈청 총 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 크게 증가하였으며 껌질과 속의 에탄올 추출물군에서 유의하게 감소하였으며 물추출군의 경우에도 통계적으로 유의하지는 않았으나 대조군에 비하여 약간 낮아지

는 경향을 보였다. 유리지방산은 정상군에 비해 대조군의 함량이 크게 증가하였으며 결명자 껍질 에탄올 추출물군에서 낮아지는 경향을 보인 반면 대조군의 HDL-cholesterol 함량은 정상군의 50%에 불과하였으며 결명자 속 에탄올 추출물을 제외한 군에서 유의차는 없었으나 약간 증가하는 경향이였다. 혈청중 지질과산화물의 함량을 측정한 결과 대조군은 정상식이군에 비해 유의하게 증가하였으나 추출물 투여군에서 그 종류와 관계 없이 모두 감소하는 것을 볼 수 있었으며 특히, 결명자 속 물추출물군이 61.23nmole/ml로 가장 낮았다. 이상의 결과로 볼 때 결명자 추출물이 고콜레스테롤 식이 섭취에 의한 혈청지질 함량을 억제하는 효과를 가지는 것으로 생각되어지며 이러한 경향은 물추출물 보다는 결명자 껍질의 에탄올 추출물을 공급한 군에서 더 크게 나타났다.

Table 4-10. The effect of extracts on the concentrations of serum total cholesterol, free cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol and free fatty acid in experimental rats

	Triglyceride	Total cholesterol	Free cholesterol	HDL cholesterol	Free fatty acid	TBARS
		(mg/dl)			(μ Eq/L)	(nmole/ml)
A	47.97 \pm 4.2 ^{ns}	93.0 \pm 1.4 ^b	10.20 \pm 0.97 ^{ab}	66.68 \pm 0.53 ^a	685.1 \pm 88.9 ^b	61.93 \pm 3.11 ^{bc}
B	61.83 \pm 7.9	142.7 \pm 6.8 ^a	11.37 \pm 0.88 ^{ab}	30.10 \pm 2.38 ^{cd}	890.4 \pm 68.5 ^a	84.06 \pm 7.01 ^a
C	61.59 \pm 10.5	114.4 \pm 7.8 ^b	8.56 \pm 0.57 ^b	37.30 \pm 1.51 ^b	707.4 \pm 64.8 ^{ab}	69.61 \pm 2.60 ^{bc}
D	68.14 \pm 7.0	120.5 \pm 11.1 ^{ab}	11.09 \pm 1.78 ^{ab}	34.96 \pm 2.56 ^{bc}	795.9 \pm 55.7 ^{ab}	73.33 \pm 3.07 ^b
E	64.50 \pm 3.8	111.7 \pm 9.5 ^b	11.98 \pm 1.48 ^{ab}	28.63 \pm 1.78 ^d	737.5 \pm 53.0 ^{ab}	67.36 \pm 2.17 ^{bc}
F	68.01 \pm 3.6	116.5 \pm 10.8 ^{ab}	13.04 \pm 0.77 ^a	31.44 \pm 2.18 ^{bcd}	764.0 \pm 40.7 ^{ab}	61.23 \pm 1.38 ^c

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 0.5% 껍질 ethanol ext.

D: 1% Cholesterol + 0.5% 껍질 water ext.

E: 1% Cholesterol + 0.5% 속 ethanol ext.

F: 1% Cholesterol + 0.5% 속 water ext.

다. 혈청중 각종 효소활성의 변화

혈청 AST, ALT 및 γ -GTP, ALP활성의 변화는 Table 4-11에 나타내었다. 혈청중의 AST와 ALT의 활성을 보면, 정상군에 비해 고콜레스테롤 대조군이 크게 증가하였으며 결명자 껍질 에탄올 추출물 첨가군에서는 고콜레스테롤 섭취로 증가된 활성이 유의하게 감소되어 정상군과 거의 비슷한 값을 나타내었다. 추출물군에서의 이와같은 효소활성의 감소는 ALP 활성 측정결과에서도 비슷한 양상이었다. 대조군의 ALP활성은 정상군의 3.5배정도로 현저하게 증가되었으며 결명자 껍질의 에탄올 추출물군의 활성은 정상군의 수준으로 감소함을 볼 수 있었다. 그러나 γ -GTP활성은 추출물군에서 감소하지 않고 약간 높아지는 경향을 보였다. 이상과 같이 간손상의 지표효소인 ALT 및 AST효소활성이 대조군에서 크게 증가한 것은 다량의 콜레스테롤의 섭취로 인해 간장중에 중성지방, 콜레스테롤등이 축적되어 지방간이 유발되어 간세포의 손상이 일어나 이들 효소가 혈중으로 방출되었기 때문이며, 본 실험의 결과로 볼 때 결명자 추출물, 특히 껍질의 에탄올 추출물을 투여함으로써 간지질의 축적이 감소되어 그 결과 간손상을 억제하는 효과를 가져온 것으로 사료된다.

Table 4-11. The effect of *C. tora* extracts on activities of serum AST, ALT, and ALP

	AST	ALT	v-GTP	ALP
	(Karmen unit)		(mU/ml)	(K-A-unit)
A	69.60±8.5 ^{ab}	32.80±2.7 ^{ab}	118.6±11.94 ^b	8.42±1.35 ^b
B	103.00±16.7 ^a	37.67±1.9 ^a	137.1±10.25 ^{ab}	29.27±3.95 ^a
C	62.64±6.1 ^b	31.43±0.7 ^b	148.6±8.06 ^b	5.24±1.23 ^b
D	80.36±9.6 ^{ab}	34.29±1.5 ^{ab}	150.8±9.07 ^b	8.44±2.24 ^b
E	63.64±11.8 ^b	33.00±1.6 ^{ab}	145.6±6.42 ^b	7.58±1.37 ^b
F	64.50±10.4 ^b	31.86±1.4 ^b	185.4±16.52 ^a	9.00±1.87 ^b

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 0.5% 껍질 ethanol ext.

D: 1% Cholesterol + 0.5% 껍질 water ext.

E: 1% Cholesterol + 0.5% 속 ethanol ext.

F: 1% Cholesterol + 0.5% 속 water ext.

라. 간조직중의 지질 및 지질과산화물 함량의 변화

간장중의 총 지질 함량을 보면(Table4-12) 정상군에 비해 대조군이 3배 가까이 증가하였으며 결명자 껍질과 속의 에탄올 추출물군에서 각각 122, 138mg으로 감소되었으나 물추출물 군에서는 감소되지 않았다. 또한 간장중의 중성지방 함량은 대조군에서 2배 이상 증가하였으며 결명자 껍질의 에탄올 추출물을 투여하였을 때 통계적인 유의차는 없었으나 약간 감소하는 경향을 보였으며 콜레스테롤 함량의 경우 대조군이 정상군에 비해 30배 가까이 증가되었으며 결명자 껍질의 에탄올 추출물군에서 콜레스테롤 함량이 약간 감소하는 경향이었고 물 추출물군에서는 감소하지 않았다. 한편 지질과산화물의 함량의 경우에도 대조군이 가장 높았는데 이것은 지질의 함량의 증가에 따른 결과로 보여지며 결명자 껍질 에탄올 및 물 추출물 첨가군에서는 유의하게 낮아짐을 볼 수 있었다. 이상의 결과에서 총 지질,

중성지방, 콜레스테롤 모두 고콜레스테롤 식이로 인해 함량이 현저하게 증가하였으며 추출물중에서도 결명자 껍질의 에탄올 추출물을 공급하였을 때 간장중의 지질함량이 대조군에 비해 약간 감소하는 경향을 보였으나 물추출물 공급군에서는 큰 변화가 나타나지 않는 것으로 볼 때 결명자의 껍질의 에탄올 추출물이 간장중의 지질상승억제에 효과적인 것으로 생각되었다.

마. 간조직 중의 glucose-6-phosphate dehydrogenase 및 malic enzyme활성 변화

G6PDH와 ME는 지방산 합성에 관여하며 체내에서 NADPH를 생성하여 지방 및 cholesterol합성에 필요한 reducing equivalent를 공급해 주는 lipogenic enzyme 중의 하나이며 탄수화물 대사와 지질대사를 연결하는데 있어 중요한 역할을 담당하므로 혈액내의 지질량을 조절하는데 있어서 중요한 요인이 된다. Table 4-13의 G6PDH활성을 보면 정상군에 비해 대조군의 활성이 50%이하로 감소됨을 볼 수 있으며 추출물군과 대조군간의 활성의 차이는 거의 없었고, ME의 경우에도 고콜레스테롤 섭취식이로 인해 활성이 감소되었으며 추출물 공급에 의한 유의한 변화는 나타나지 않았다. 고콜레스테롤 섭취에 의한 지방합성관련효소의 활성저하는 체내 지질량의 homeostasis를 유지하기 위하여 지질 합성이 감소되었기 때문일 것으로 생각된다.

Table 4-12. The effect of *C. tora* extracts on the contents of total lipid, cholesterol, triglyceride and TBARS in liver of experimental rats

	Total lipid	Triglyceride (mg/g liver)	Tot.Cholesterol	TBARS (nmole/g liver)
A	50.86±3.01 ^c	16.43±0.90 ^b	3.65±0.24 ^c	93.84±9.86 ^b
B	151.18±6.26 ^{ab}	40.03±2.93 ^a	38.80±2.50 ^{ab}	119.32±10.11 ^a
C	122.78±6.76 ^b	33.02±1.86 ^a	27.97±3.34 ^b	83.83±14.10 ^b
D	172.41±16.12 ^a	39.36±4.19 ^a	39.88±5.15 ^a	80.87±5.32 ^b
E	138.45±9.51 ^{ab}	36.57±4.86 ^a	32.21±2.53 ^{ab}	116.78±5.48 ^a
F	149.55±11.95 ^{ab}	38.08±2.73 ^a	37.37±3.16 ^{ab}	92.85±8.80 ^b

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 0.5% 껌질 ethanol ext.

D: 1% Cholesterol + 0.5% 껌질 water ext.

E: 1% Cholesterol + 0.5% 속 ethanol ext.

F: 1% Cholesterol + 0.5% 속 water ext.

Table 4-13. The effect of *C. tora* ethanol extracts on activities of hepatic G6PDH and ME of experimental rats

	G6PDH	Malic enzyme
	(nmoles/min mg protein)	
A	1.51±0.08 ^a	3.28±0.08 ^a
B	0.61±0.06 ^{bc}	2.20±0.24 ^b
C	0.49±0.08 ^c	2.14±0.37 ^b
D	0.74±0.07 ^b	2.32±0.24 ^b
E	0.62±0.05 ^{bc}	2.47±0.19 ^b
F	0.61±0.06 ^{bc}	2.05±0.09 ^b

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 0.5% 껌질 ethanol ext.

D: 1% Cholesterol + 0.5% 껌질 water ext.

E: 1% Cholesterol + 0.5% 속 ethanol ext.

F: 1% Cholesterol + 0.5% 속 water ext.

바. 분변중 지질 및 담즙산 배설량의 변화

분변중의 지질 및 담즙산 함량은 Table 4-14, 15과 같다. 총지질 함량을 보면 정상군에 비해 고콜레스테롤 섭취군에서 유의하게 증가되었으며 결명자 속의 에탄올 추출물군에서는 감소된 반면 결명자 껌질 에탄올 추출물 군에서 대조군에 비해 유의하게 증가되었으며 다른 추출물군은 차이가 없었다. 중성지방량은 정상군과 대조군간의 차이가 없었으며 결명자 껌질 에탄올 추출물에서 만 유의하게 증가되었고 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 대조군에서 약 7배 가량 크게 증가하였으며 중성지방에서와 마찬가지로 결명자 껌질 에탄올 추출물군의 분변중 콜레스테롤 함량이 유의하게 높았다. 위의 결과로 볼 때 고콜레스테롤 섭취에 의해

분변으로 배설되는 지질함량이 높아졌으며 콜레스테롤과 중성지방의 분변중 배설량은 결명자 껍질 에탄올 추출물군에서 가장 많았으며 이것은 혈청 및 간장중의 지질상승 억제효과와 관련이 있는것으로 생각되었다. Table 8의 분변량을 보면 결명자 껍질 에탄올 추출물 군에서 가장높았으며 결명자 속 에탄올 추출물의 량이 가장 적었다. 그리고 고콜레스테롤 군의 담즙산의 배설량은 크게 증가하였으며 결명자 속 에탄올 추출물에서 유의적으로 가장 낮았고 결명자 껍질 에탄올 추출물에서 함량이 가장 높은 경향이였다. 담즙산 및 콜레스테롤의 배설증가는 간콜레스테롤에서 담즙산 합성을 촉진시키게 되므로 간장중의 콜레스테롤 함량이 감소하게 된다. 본 실험결과에서 일부 추출물군에서 분변중의 지질과 담즙산의 배설량이 증가되었는데 이는 추출물 중의 식물성 sterol등의 작용에 의하여 소장에서 콜레스테롤과 담즙산의 흡수가 저해되어 일어난 것으로 생각된다.

Table 4-14. Fecal excretion of lipids on experimental rats

	Total lipid	Triglyceride (mg/day)	Cholesterol
A	75.58±3.75 ^c	13.32±0.27 ^c	21.90±0.24 ^c
B	315.52±19.15 ^b	13.33±0.30 ^c	146.01±10.64 ^b
C	537.96±77.96 ^a	17.30±0.60 ^a	166.04±4.39 ^a
D	278.74±27.12 ^{bc}	14.21±0.21 ^{bc}	137.47±8.04 ^b
E	242.94±30.78 ^{bc}	13.12±0.22 ^c	137.28±2.94 ^b
F	407.87±46.89 ^{ab}	14.65±0.36 ^b	150.78±1.63 ^{ab}

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 0.5% 껍질 ethanol ext.

D: 1% Cholesterol + 0.5% 껍질 water ext.

E: 1% Cholesterol + 0.5% 속 ethanol ext.

F: 1% Cholesterol + 0.5% 속 water ext.

Table 4-15. Fecal excretion of bile acid and fecal weight on experimental rats

	Fecal weight (g/day)	bile acid (μ mol/day)
A	2.68 \pm 0.06 ^a	31.07 \pm 0.87 ^d
B	2.47 \pm 0.07 ^{ab}	75.93 \pm 0.55 ^a
C	2.75 \pm 0.15 ^a	80.98 \pm 3.42 ^a
D	2.40 \pm 0.11 ^{ab}	71.36 \pm 8.53 ^{ab}
E	2.19 \pm 0.09 ^b	53.57 \pm 1.48 ^c
F	2.46 \pm 0.18 ^{ab}	59.54 \pm 2.30 ^{bc}

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 0.5% 껌질 ethanol ext.

D: 1% Cholesterol + 0.5% 껌질 water ext.

E: 1% Cholesterol + 0.5% 속 ethanol ext.

F: 1% Cholesterol + 0.5% 속 water ext.

제 3절 결명자로 부터 추출한 식이섬유가 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐의 체내 지질함량에 미치는 영향

1. 실험재료 및 방법

가. 식이섬유 시료의 조제

제 2장 2절과 동일한 방법으로 조제하였다.

나. 실험군의 설정 및 식이

실험동물은 6주령된 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐를 대한실험동물센터로 부터 구입하여 사용하였으며, 실험군은 정상군, 고콜레스테롤 대조군, 5% 결명자 식이섬유군으로 나누었다. 실험에 사용한 식이는 AIN-76 diet조성에 준하여 1% cholesterol과 5% 결명자 식이섬유를 첨가하여 공급한 후 5주간 사육하였다.(Table 4-16) 이하 동물사육 및 사육후 시료채취는 제 3장과 동일한 방법으로 하였다.

다. 지질함량, 각종 효소활성도 및 분변 지질의 배설량 분석

제 2장 2절 및 제 4장 2절과 동일한 방법으로 분석하였다.

Table 4-16. Composition of experimental diet

(unit : g/kg diet)

Group Ingredients	Normal	High cholesterol control	<i>C.tora</i> fiber
Casein	200	200	200
Corn oil	50	50	50
Mineral mix. ¹⁾	35	35	35
Vitamin mix. ²⁾	10	10	10
Choline chloride	2	2	2
Methionine	3	3	3
Cellulose	50	50	50
Sucrose	200	200	200
Corn starch	450	438.75	438.75
Cholesterol	-	10	10
Taurocholic acid	-	1.25	1.25
<i>C. tora</i> fiber	-	-	50

¹⁾AIN-76 mineral mixture, ²⁾AIN-76 vitamin mixture.

2. 결과 및 고찰

가. 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량

결명자 식이섬유를 식이로 공급한 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량을 Table 4-17, 18에 나타내었다. 체중증가량은 정상군에 비해 대조군과 식이섬유 공급군에서 약간 높았으나 유의차는 없었으며 식이 섭취량은 식이섬유군이 정상군보다 낮은 경향이었고, 식이효율은 유의하지는 않았으나 정상군이 0.29로 가장 낮았으며 대조군과 식이섬유군이 각각 0.34, 0.33로 약간 증가하였다.

Table 4-18의 장기무게중 정소상체 지방조직은 통계적 유의차는 없었으나 고콜레스테롤 식이에 의해 증가된 조직무게가 결명자 식이섬유를 공급함으로써 감소되는 경향을 볼 수 있었으며 이는 식이섬유 섭취에 의해 정소상체 지방조직의 수와 크기가 감소하였다는 한등의 결과와도 일치하였다. 신장중량도 대조군에서 증가하였으나 식이섬유 군에서 감소하는 경향을 나타내었고 지라의 중량은 각 군간 차이가 없었다. 간의 경우 고콜레스테롤 식이로 인해 지방이 축적되어 간중량이 정상군에 비해 50% 가까이 증가하였으며 식이섬유군에서는 유의하게 감소되었다.

Table 4-17. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats fed experimental diets for 5 week

	IBW	FBW	Weight gain (g)	Diet intake	FER
A	205.2±6.7 ^{ns}	328.6±12.5 ^{ns}	123.4±10.1 ^{ns}	422.5±4.8 ^a	0.29±0.02 ^{ns}
B	205.1±4.8	342.8±6.4	138.1±7.0	411.9±4.2 ^{ab}	0.34±0.02
C	205.6±2.9	341.0±4.9	134.1±4.4	409.6±3.2 ^b	0.33±0.01

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 5% 결명자 식이섬유

Table 4-18. Effect of fibers on organ weights of experimental rats

	Epididymal fat pad	Liver	Kidney	Spleen
	(g)			
A	3.12±0.28 ^{ns}	9.29±0.57 ^c	2.05±0.08 ^b	0.85±0.08 ^{ns}
B	3.49±0.19	14.34±0.52 ^a	2.32±0.07 ^a	0.80±0.08
C	3.05±0.16	11.23±0.59 ^b	2.14±0.03 ^{ab}	0.81±0.02

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 5% 결명자 식이섬유

나. 혈청중 각종 지질 및 지질과산화물의 함량

고콜레스테롤식이와 결명자 식이섭유를 섭취한 흰쥐의 각종 지질 및 지질과산화물의 농도는 Table 4-19과 같다. 혈청 총 콜레스테롤 농도를 보면 정상군에 비해 고콜레스테롤 군의 값이 현저히 증가하였으나 식이섭유 군에서 정상군 수준으로 크게 감소함을 볼 수 있었고, 유리지방산 함량도 통계적으로 유의하지는 않았으나 대조군에서 30%정도 증가하였다가 식이섭유 투여군에서 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 반면 HDL콜레스테롤 함량은 정상군이 약 66mg정도인데 비해 고콜레스테롤 섭취군은 30mg정도로 현저하게 낮아졌으며 식이섭유 섭취군에서 유의하게 증가하였으며 유리콜레스테롤 함량은 대조군이 약간 높았으나 각 군간 유의차가 없었으며 혈청 중성지질함량은 정상식이군이 약 46mg이었으나 대조군이 61mg으로 유의성은 없었으나 증가하는 경향이었으며 식이섭유 섭취군에서는 대조군보다 더 증가였다. 한편, HDL콜레스테롤은 항동맥경화의 지표로서 콜레스테롤을 말초혈관으로부터 간으로 운반하여 동맥경화를 막는 방향으로 콜레스테롤을 이동시켜 관상동맥 질환에 대한 방어작용을 한다고 알려져 있으며, 이상의 결과와 같이 결명자 식이섭유를 섭취한 흰쥐의 총콜레스테롤, 유리 지방산 및 유리 콜레스테롤이 유의하게 감소하는 반면 HDL콜레스테롤 함량은 증가되는 것을 볼 때 결명자의 식이섭유가 콜레스테롤 급여로 인해 유발되는 혈청지질 상승을 억제하는 효과를 가지는 것으로 생각된다. 또한 고콜레스테롤 급여로 인해 증가된 혈청내의 지질과산화물이 결명자 식이섭유 급여로 유의하게 감소되어 거의 정상군의 수준이 되었으며 이는 결명자 식이섭유가 흰쥐에서 고콜레스테롤 섭취로 인해 생성된 혈청중 과량의 지질과산화물 생성을 억제하는 역할을 한 것으로 사료되었다.

Table 4-19. The effect of *C. tora* fiber on the concentrations of serum total cholesterol, free cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, free fatty acid and TBARS in experimental rats

	Triglyceride	Total cholesterol (mg/dl)	Free cholesterol (mg/dl)	HDL cholesterol (mg/dl)	Free fatty acid (μ Eq/L)	TBARS (nmole/dl)
A	46.97 \pm 4.21 ^b	93.03 \pm 1.41 ^b	10.20 \pm 0.97 ^{ns}	66.68 \pm 0.53 ^a	685.1 \pm 88.9 ^{ns}	61.93 \pm 3.11 ^b
B	61.83 \pm 7.94 ^b	142.65 \pm 6.84 ^a	11.37 \pm 0.88	30.10 \pm 2.38 ^c	890.4 \pm 68.5	84.06 \pm 7.01 ^a
C	84.00 \pm 3.33 ^a	92.23 \pm 3.45 ^b	10.57 \pm 0.86	37.89 \pm 1.56 ^b	828.8 \pm 41.8	62.27 \pm 1.94 ^b

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 5% 결명자 식이섬유

다. 혈청내 각종 효소활성의 변화

결명자 식이섬유를 섭취한 흰쥐 혈청내의 각종 효소활성을 Table 4-20에 나타내었다. AST활성의 경우 대조군에서의 활성이 정상군 보다 30%정도 증가하였으며 결명자 식이섬유 섭취군에서는 정상군 수준으로 활성이 감소되었다. ALT의 경우에도 유의차는 없었으나 대조군에서 약간 증가되었으며 식이섬유 섭취군에서 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 그러나 γ -GTP와 ALP활성은 식이섬유 섭취군의 활성이 대조군보다 높았다. 일반적으로 AST, ALT활성은 고지방식, 알코올섭취 등으로 지방간이 유발되거나 간 유해물질에 의해 간 실질세포가 손상되어 혈액속으로 AST, ALT가 대량으로 유리되어 혈청중 효소활성도가 높아진다. 고지방식에 식이섬유를 첨가하여 공급하였을 때 AST와 ALT활성이 저하되었다고 박 등의 보고하였으며 특히 수용성 식이섬유가 이들 효소의 활성을 감소시킨다는 Nomura등의 보고와도 본 연구의 결과가 일치하는 것으로 보아 결명자 식이섬유가 고콜레스테롤 섭취로 인한 간손상을 억제하는 효과가 있을 것으로 생각되며

이러한 간보호 효과는 결명자 식이섬유의 혈청 및 간 지질상승 억제효과와 관련이 있는 것으로 사료된다.

Table 4-20. The effect of *C. tora* fiber on activities of serum AST, ALT, and ALP

	AST	ALT	v-GTP	ALP
	(Karmen unit)		(mU/ml)	(K-A-unit)
A	69.60±8.53 ^{ab}	32.80±2.65 ^{ns}	118.57±11.94 ^b	8.42±1.35 ^b
B	103.00±16.74 ^a	37.67±1.93	137.07±10.25 ^b	29.27±3.95 ^a
C	63.79±4.33 ^b	33.21±1.84	182.60±13.81 ^a	40.59±7.52 ^a

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 5% 결명자 식이섬유

라. 간조직중의 지질 및 지질과산화물의 함량변화

간장중의 지질함량은 Table 4-21와 같다. 먼저 총 지질함량을 보면 정상군과 비교하여 고콜레스테롤군에서 약 3배 증가하였으며 결명자 식이섬유 공급으로 유의하게 감소한 것을 볼 수 있다. 또한 중성지방 함량 역시 대조군에서 2배 이상 크게 증가 하였으나 식이섬유 섭취군에서 유의하게 감소하였으며 콜레스테롤량은 대조군이 정상군보다 30배 이상 증가한 것을 확인하였으며 식이섬유 섭취군에서 1/2로 감소하여 대조군과 유의한 차이를 보였다. 간조직중의 지질과산화물의 함량을 살펴보면 정상군에 비해 대조군이 유의하게 높아졌고 식이섬유 섭취로 인해 약간 낮아지는 경향이였다. 식이섬유를 급여한 흰쥐의 간조직에서 콜레스테롤의 함량이 감소된 것은 간장에서 콜레스테롤이 담즙산으로의 전환속도가 빠르기 때문이라는 Thomas등이 보고가 있으며 본 연구의 결과를 볼 때 결명자에서 추출한 식이섬유가 고콜레스테롤 섭취로 인한 간내의 지질축적을 억제하며 다량의 지질

축적으로 유발되는 지질과산화물의 생성을 억제하는 효과가 있는 것으로 생각되었다.

Table 4-21. The effect of *C. tora* fiber on the contents of total lipid, cholesterol, triglyceride and TBARS in liver of experimental rats

	Total lipid	Triglyceride (mg/g liver)	Cholesterol	TBARS (nmole/g liver)
A	50.86±3.01 ^c	16.43±0.90 ^c	3.65±0.24 ^c	93.84±9.96 ^b
B	151.18±6.26 ^a	40.03±2.93 ^a	38.80±2.50 ^a	119.32±10.11 ^a
C	96.65±6.38 ^b	30.85±2.68 ^b	19.19±2.74 ^b	113.93±13.14 ^{ab}

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 5% 결명자 식이섭유

마. 간 조직중 G6PDH와 ME 활성의 변화

간의 peroxisome에서 지방산의 β-산화와 지방산의 합성에 관여하는 효소인 G6PDH와 ME의 활성을 측정한 결과는 Table 4-22과 같다. 먼저 G6PDH활성의 경우 정상군에 비해 고콜레스테롤 섭취군에서 50%이상 감소하였으며 결명자 식이섭유를 섭취한 군의 활성은 대조군에 비해 유의하게 증가하였고 ME활성 역시 대조군에서 유의하게 감소하였으나 결명자 식이섭유 섭취로 인한 활성의 증가는 보이지 않았다. 이러한 고콜레스테롤 섭취에 의한 지방합성관련효소의 활성저하는 체내 지질량의 homeostasis를 유지하기 위하여 지질 합성이 감소되었기 때문일 것으로 생각되며 G6PDH에 있어서 결명자 식이섭유 급여군의 효소활성 증가는 식이섭유 섭취로 인한 혈청 및 간조직중 지질함량의 감소와 연관할 것으로 사료된다.

Table 4-22. The effect of *C. tora* fiber on activities of hepatic G6PDH and ME of experimental rats

	G6PDH	Malic enzyme
	(nmoles/min mg protein)	
A	1.51±0.08 ^a	3.28±0.08 ^a
B	0.61±0.06 ^c	2.20±0.24 ^b
C	0.84±0.05 ^b	2.19±0.16 ^b

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 5% 결명자 식이섬유

바. 분변중의 지질 및 담즙산량의 변화

분변중의 총지질, 총콜레스테롤, 중성지방 및 담즙산의 함량은 Table 23, 24와 같다. 분변중의 총 지질량은 고콜레스테롤 대조군이 정상군에 비해 4배 정도 크게 증가하였으며 결명자 식이섬유 섭취군에서 최대값을 보였으며 중성지방함량은 정상군과 대조군간에는 차이가 없었으나 식이섬유를 섭취한 군에서 유의하게 증가되었다. 또한 콜레스테롤 함량은 정상군에 비해 고콜레스테롤 군에서 크게 증가하였으며 식이섬유섭취군에서는 대조군보다 유의하게 증가하였다. 한편 분변중의 담즙산 함량역시 대조군이 정상군에 비해 유의하게 증가하였고 식이섬유군에서 대조군에 비해 증가하였으며 분변량 역시 통계적 유의차는 없었으나 대조군에 비해 식이섬유군에서 증가하는 경향이였다. 이상의 결과로 볼 때 결명자 식이섬유가 지질의 배설을 증가시키는 것을 알 수 있었으며 이러한 작용은 결명자 식이섬유의

혈청 및 간중의 지질상승 억제효과와 관련이 있는 것으로 생각되었다.

Table 4-23. Fecal excretion of lipids on experimental rats

	Total lipid	Triglyceride (mg/day)	Cholesterol
A	78.58±3.75 ^c	13.37±0.27 ^b	14.37±1.10 ^c
B	315.52±19.15 ^b	13.33±0.30 ^b	100.02±5.94 ^b
C	626.74±49.04 ^a	16.95±0.49 ^a	151.12±10.85 ^a

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 5% 결명자 식이섬유소

Table 4-24. Fecal excretion of bile acid and fecal weight on experimental rats

	Fecal weight (g/day)	bile acid (μmol/day)
A	2.68±0.06 ^{ns}	31.07±0.87 ^c
B	2.47±0.07	75.93±0.55 ^b
C	2.88±0.26	88.84±2.61 ^a

A: Normal

B: 1% Cholesterol control

C: 1% Cholesterol + 5% 결명자 식이섬유소

제 4절 결명자 식이섬유 및 Guar gum, pectin이 고콜레스테롤 식이를 섭취한
흰쥐의 체내 지질함량에 미치는 영향

<High-cholesterol diet model>

1. 실험방법

가. 실험군 및 식이조성

실험군은 총 5군으로 나누었다. 실험에 사용한 식이는 AIN-76 diet조성에 준하여 1% cholesterol과 5% 결명자 식이섬유 및 Guar gum, pectin을 첨가하여 공급한 후 4주간 사육하였다.(Table 4-25).

Table 4-25. Composition of experimental diet

(unit : g/kg diet)

Group Ingredients	High cholesterol (+cellulose)	High cholesterol (-cellulose)	High cholesterol (-cellulose) <i>C.tora</i> fiber	High cholesterol (-cellulose) Guar gum	High cholesterol (-cellulose) Pectin
Casein	200	200	200	200	200
Corn oil	50	50	50	50	50
Mineral mix. ¹⁾	35	35	35	35	35
Vitamin mix. ²⁾	10	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2	2
Methionine	3	3	3	3	3
Cellulose	50	-	-	-	-
Sucrose	200	200	200	200	200
Corn starch	438.75	488.75	438.75	438.75	438.75
Cholesterol	10	10	10	10	10
Taurocholic acid	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
<i>C. tora</i> fiber	-	-	50	-	-
Guar gum	-	-	-	50	-
Pectin	-	-	-	-	50

¹⁾AIN-76 mineral mixture, ²⁾AIN-76 vitamin mixture.

나. 시료분석

지질함량, 각종 효소활성도 및 분변 지질의 배설량은 제 2장 2절 및 제 4장 2절과 동일한 방법으로 분석하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량

결명자 식이섬유를 식이로 공급한 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량을 Table 4-26, 27에 나타내었다. 결명자 식이섬유군과 구아검 공급군의 경우, 식이 섭취량은 고콜레스테롤 대조군 391.5g에 비해 각각 418, 417g으로 많았으나 체중증가량은 유의차는 없었지만 오히려 낮은 경향을 보였다. 따라서 결명자 식이섬유군과 구아검군의 식이효율은 0.34로 0.41인 cellulose대조군에 비해 유의하게 감소하였다. Table 4-27의 장기무게중 간 중량의 경우 cellulose대조군이 약 13g인 반면, 결명자 식이섬유군은 8.69g으로 유의하게 감소되었다. 구아검 및 펙틴군의 경우에도 유의차는 없었지만 감소하는 경향이였다. 신장중량 역시 통계적으로 유의하지는 않았으나 고콜레스테롤 대조군에 비해 식이섬유군에서 감소하는 경향을 나타내었고 지라 및 심장의 중량은 각 군간 큰 차이가 없었다.

Table 4-26. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats fed experimental diets for 4 weeks

	IBW	FBW	Weight gain (g)	Diet intake	FER
A	138.4±6.74 ^{ns}	299.7±12.58 ^{ns}	161.25±10.5 ^a	391.5±4.57 ^{ns}	0.41±0.02 ^a
B	138.81±4.85	300.56±6.85	161.75±6.09 ^a	396.2±5.26	0.41±0.03 ^a
C	138.13±5.68	282.16±4.82	144.03±10.3 ^{ab}	418.4±5.99	0.34±0.01 ^b
D	138.00±4.83	276.99±8.23	138.99±3.89 ^b	417.1±9.10	0.33±0.04 ^b
E	138.38±5.01	283.24±5.13	144.86±11.36 ^{ab}	428.2±10.3	0.34±0.01 ^b

A: 1% Cholesterol control(+ cellulose)

B: 1% Cholesterol control(- cellulose)

C: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% 결명자 식이섭유

D: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% guar gum

E: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% pectin

Table 4-27. Effect of fibers on organ weights of experimental rats

	Heart	Liver	Kidney	Spleen
	(g)			
A	0.98±0.28 ^{ns}	12.86±0.57 ^a	2.14±0.08 ^{ns}	0.85±0.08 ^{ns}
B	1.01±0.19	13.11±0.52 ^a	2.17±0.07	0.88±0.08
C	0.90±0.16	8.69±0.59 ^b	1.99±0.03	0.90±0.02
D	0.92±0.30	9.38±0.60 ^{ab}	1.94±0.08	0.92±0.05
E	0.96±0.13	10.15±1.01 ^{ab}	2.10±0.05	0.96±0.06

나. 혈청중 각종 지질 및 지질과산화물의 함량

고콜레스테롤식이와 결명자 식이섬유 및 구아검, 펙틴을 섭취한 흰쥐의 각종 지질 및 지질과산화물의 농도는 Table 4-28과 같다. 혈청 총 콜레스테롤 농도를 보면 대조군의 콜레스테롤 농도가 127mg인데 비해 결명자 식이섬유군은 80mg 으로 현저히 감소한 것을 볼 수 있었고, 유리콜레스테롤 농도도 약 40% 가까이 감소하였다. 유리 지방산 함량은 결명자 식이섬유 군에서 감소하는 경향이었으나 유의차는 없었다. 또한 중성지질과 HDL콜레스테롤 농도는 각 군간 별 차이가 없었다. 구아검군의 경우를 보면, 총 콜레스테롤 및 유리 콜레스테롤 함량에서 대조군보다 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았으며, 펙틴군의 경우에는 변화가 없었다.

Table 4-28. The effect of fibers on the concentrations of serum total cholesterol, free cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, free fatty acid and TBARS in experimental rats

	Triglyceride	Total cholesterol	Free cholesterol	HDL cholesterol	Free fatty acid
	(mg/dl)				(μ Eq/L)
A	78.9 \pm 4.21 ^{ns}	127.1 \pm 4.82 ^a	15.24 \pm 0.97 ^a	43.52 \pm 0.53 ^{ns}	842.7 \pm 88.9 ^{ns}
B	77.5 \pm 7.94	124.4 \pm 6.84 ^a	14.67 \pm 0.88 ^a	41.45 \pm 0.83	818.8 \pm 68.5
C	71.5 \pm 3.33	80.3 \pm 3.45 ^b	9.95 \pm 0.86 ^b	45.55 \pm 1.56	781.6 \pm 61.0
D	77.67 \pm 4.22	101.4 \pm 5.23 ^{ab}	11.37 \pm 0.65 ^{ab}	46.56 \pm 0.96	994.4 \pm 50.8
E	82.69 \pm 3.48	106.93 \pm 4.01 ^{ab}	12.51 \pm 0.87 ^{ab}	45.06 \pm 0.98	1131.5 \pm 86.5

A: 1% Cholesterol control(+ cellulose)

B: 1% Cholesterol control(- cellulose)

C: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% 결명자 식이섬유

D: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% guar gum

E: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% pectin

다. 혈청내 AST, ALT 효소활성의 변화

결명자 식이섬유 및 구아검, 펙틴을 섭취한 흰쥐 혈청내의 AST, ALT 효소활성을 Table 4-29에 나타내었다. AST활성의 경우 대조군이 114unit이었으나 결명자 식이섬유를 섭취한 군에서 그 활성이 86unit으로 40%가량 감소함을 볼 수 있었고, ALP활성도 약 45% 감소하였으나 ALT의 경우에는 변화가 없었다. 그러나 구아검 및 펙틴군에서는 AST, ALT활성의 변화가 없었으며, ALP활성만 약간 감소하는 경향을 보였다.

Table 4-29. The effect of fibers on activities of serum AST, ALT, and ALP

	AST	ALT	ALP
	(Karmen unit)		(K-A-unit)
A	114.7±8.53 ^{ab}	31.94±2.65 ^b	33.32±1.35 ^a
B	110.7±16.74 ^{ab}	30.87±1.93 ^b	32.93±3.95 ^a
C	86.9 4.33 ^b	33.19±1.84 ^{ab}	18.41±7.52 ^b
D	134.8 8.66 ^a	38.75±2.01 ^a	21.73±4.63 ^{ab}
E	128.1±11.98 ^a	33.69±1.68 ^{ab}	14.69±4.00 ^b

A: 1% Cholesterol control(+ cellulose)

B: 1% Cholesterol control(- cellulose)

C: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% 결명자 식이섬유

D: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% guar gum

E: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% pectin

라. 간조직중의 지질 및 지질과산화물의 함량변화

간장중의 지질함량은 Table 4-30과 같다. 먼저 총 지질함량을 보면 고콜레스테

를 대조군의 경우 약130mg정도로 매우 높았으나 결명자 식이섬유군과 구아검, 펙틴군 모두 현저하게 감소하였다. 중성지방 함량역시 결명자 식이섬유군 및 구아검군에서 60%나 감소하였으며, 펙틴군 역시 감소하는 경향이였다. 콜레스테롤 농도를 보면, 수용성 식이섬유를 첨가하지 않은 고콜레스테롤 대조군이 35mg이나 되는 반면, 결명자 식이섬유군은 5.45mg, 구아검 군은 8.71mg으로 크게 감소하였으며 펙틴군도 22mg으로 감소하였다. 중성지방의 농도는 고콜레스테롤 대조군과 비교하여 결명자 식이섬유군은 7배, 구아검 군은 약 4배가량 감소하였으며 펙틴군도 40%정도 낮아졌다. 지질과산화물농도는 수용성 식이섬유를 공급한 군에서 오히려 증가하였다.

Table 4-30. The effect of fibers on the contents of total lipid, cholesterol, triglyceride and TBARS in liver of experimental rats

	Total lipid	Triglyceride (mg/g liver)	Cholesterol	TBARS (nmole/g liver)
A	123.6±3.01 ^{ab}	36.21±0.90 ^a	35.28±0.24 ^a	60.33±9.96 ^b
B	130.0±6.26 ^a	45.82±2.93 ^a	31.92±2.50 ^a	65.63±10.11 ^b
C	65.50±6.38 ^c	14.50±2.68 ^c	5.45±1.01 ^c	112.43±13.14 ^a
D	67.38±5.31 ^b	11.37±1.98 ^c	8.71±1.13 ^{bc}	124.11±16.02 ^a
E	88.5±7.01 ^b	27.24±2.31 ^{ab}	22.23±0.87 ^b	123.27±11.03 ^a

A: 1% Cholesterol control(+ cellulose)

B: 1% Cholesterol control(- cellulose)

C: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% 결명자 식이섬유

D: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% guar gum

E: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% pectin

마. 간 조직중 G6PDH 및 ME활성의 변화

간의 peroxisome에서 지방산의 β-산화와 지방산의 합성에 관여하는 효소인

glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH)와 malic enzyme(ME)의 활성을 측정
 한 결과는 Table 4-31과 같다. 먼저 G6PDH활성의 경우 각 군간 유의한 차이는
 볼 수 없었으며, ME활성의 경우, 결명자 식이섭유 및 구아검 군에서 감소하는 경
 향을 보였으나 펙틴군은 변화가 없었다.

Table 4-31. The effect of fibers on the contents of total lipid, cholesterol,
 triglyceride and TBARS in liver of experimental rats

	G6PDH	Malic enzyme
	(nmoles/min mg protein)	
A	0.84±0.08 ^{ns}	2.87±0.08 ^{ab}
B	0.90±0.06	3.10±0.24 ^a
C	0.81±0.05	2.55±0.16 ^b
D	0.80±0.03	2.49±0.20 ^b
E	0.71±0.07	3.20±0.09 ^a

A: 1% Cholesterol control(+ cellulose)

B: 1% Cholesterol control(- cellulose)

C: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% 결명자 식이섭유

D: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% guar gum

E: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% pectin

바. 분변중의 지질 및 담즙산량의 변화

분변중의 총지질, 총콜레스테롤, 중성지방 및 담즙산 함량은 Table 4-32, 33과
 같다. 분변중의 총지질량은 대조군 중에서도 -cellulose고콜레스테롤 대조군에서
 감소하는 경향이었으나 유의하지는 않았고, 중성지방 및 콜레스테롤 농도도 역시
 -cellulose고콜레스테롤 대조군에서 유의하게 감소하였으며, 결명자 식이섭유, 구아
 검, 펙틴을 첨가함에 따라 분변중으로 배설되는 지질량이 많아지는 것으로 확인되
 었다. 이상의 결과로 볼 때 결명자 식이섭유가 지질의 배설을 증가시키는 것을 알

수 있었으며 이러한 작용은 결명자 식이섬유의 혈청 및 간중의 지질상승 억제효과와 관련이 있는 것으로 생각되었다.

분변량 및 분변중의 담즙산 함량은 각 군간 차이가 없었다.

Table 4-32. Fecal excretion of lipids on experimental rats

	Total lipid	Triglyceride (mg/day)	Cholesterol
A	176.6±3.75 ^{ns}	10.82±0.27 ^b	132.8±0.24 ^c
B	148.5±19.1	3.91±0.30 ^c	125.0±5.64 ^b
C	172.7±49.04	8.88±0.49 ^b	147.7±2.29 ^a
D	176.5±21.01	14.88±0.50 ^a	147.8±5.97 ^a
E	147.5±12.85	12.63±0.42 ^{ab}	115.6±8.90 ^{ab}

A: 1% Cholesterol control(+ cellulose)

B: 1% Cholesterol control(- cellulose)

C: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% 결명자 식이섬유

D: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% guar gum

E: 1% Cholesterol(- cellulose) + 5% pectin

Table 4-33. Fecal excretion of bile acid and fecal weight on experimental rats

	Fecal weight (g/day)	bile acid (μ mol/day)
A	1.75±0.06 ^{ns}	27.26±0.87 ^{ns}
B	1.46±0.07	28.03±0.55
C	1.80±0.26	28.72±2.61
D	1.74±0.09	28.05±1.89
E	1.87±0.10	21.35±1.90

< High-fat diet model >

1. 실험방법

가. 실험국 및 식이 조성

실험동물은 5주령된 SD계 수컷 흰쥐를 사용하였으며, 일주일간 일반 고형사료로 적응시킨 후 체중에 따라 난피법으로 5군으로 나누었다. 실험에 사용한 식이는 AIN-76 diet조성에 준하여 1% cholesterol과 5% 결명자 식이섬유 및 Guar gum, pectin을 첨가하여 공급한 후 4주간 사육하였으며 식이조성은 Table 4-34와 같다. 체중은 매주 1회, 사료섭취량은 이틀에 측정하였으며 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

Table 4-34. Composition of experimental diet

(unit : g/kg diet)

Group Ingredients	High fat (+cellulose)	High fat (-cellulose)	High fat (-cellulose) <i>C.tora</i> fiber	High fat (-cellulose) Guar gum	High fat (-cellulose) Pectin
Casein	200	200	200	200	200
Corn oil	50	50	50	50	50
Mineral mix. ¹⁾	35	35	35	35	35
Vitamin mix. ²⁾	10	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2	2
Methionine	3	3	3	3	3
Cellulose	50	-	-	-	-
Sucrose	200	200	200	200	200
Corn starch	350	400	350	350	350
Lard	50	50	50	50	50
Beef tallow	50	50	50	50	50
<i>C. tora</i> fiber	-	-	50	-	-
Guar gum	-	-	-	50	-
Pectin	-	-	-	-	50

¹⁾AIN-76 mineral mixture, ²⁾AIN-76 vitamin mixture.

나. 시료분석

지질함량, 각종 효소활성도 및 분변 지질의 배설량은 제 2장 2절 및 제 4장 2절과 동일한 방법으로 분석하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량

결명자 식이섬유를 식이로 공급한 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기중량을 Table 4-35, 36에 나타내었다. 식이섭취가 결명자 식이섬유, 구아검, 펙틴군에서 각각 고지방 대조군 보다 많은 경향이었으나 실험기간 동안의 체중 증가는 각 군간 차이가 없었다. 따라서 고지방 대조군의 식이효율이 0.44인데 비해 결명자 식이섬유, 구아검, 펙틴군은 각각 0.36, 0.37, 0.39로 유의하게 감소하였다. 각 실험군의 장기중량을 살펴보면, 심장, 비장, 신장의 중량에는 각 군간 유의한 차이가 없었으나, 간장의 경우, 결명자 식이섬유, 구아검, 펙틴군 모두 유의하게 감소하였으며, 부고환 지방 무게 역시 고지방 대조군이 3.2g인데 비해 결명자 식이섬유군이 2.47g, 구아검군이 2.64g으로 유의하게 감소하였으며, 펙틴군의 경우도 3.01g으로 약간 감소하는 경향이였다.

Table 4-35. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats fed experimental diets for 4 weeks

	IBW	FBW	Weight gain (g)	Diet intake	FER
A	140.1±5.74 ^{ns}	303.6±11.58 ^{ns}	163.52±11.2 ^{ns}	530.2±4.57 ^{ns}	0.44±0.02 ^a
B	140.4±4.35	291.9±8.37	151.28±5.90	515.2±5.26	0.43±0.03 ^a
C	140.7±4.68	290.8±5.01	150.16±9.03	563.6±5.99	0.36±0.01 ^b
D	140.5±4.03	285.7±4.23	145.20±4.01	552.5±9.10	0.37±0.04 ^b
E	140.5±4.01	298.4±4.99	157.92±10.55	564.1±10.3	0.39±0.01 ^{ab}

A: High fat(+cellulose) B: High fat(-cellulose)

C: High fat(-cellulose) + 5% 결명자 식이섬유

D: High fat(-cellulose) + 5% Guar gum E: High fat(-cellulose) + 5% pectin

Table 4-36. Effect of fibers on organ weights of experimental rats

	Heart	Liver	Kidney	Spleen	Epididymal fat pad
	(g)				
A	1.03±0.20 ^{ns}	9.32±0.47 ^a	2.01±0.07 ^{ns}	0.75±0.08 ^{ns}	3.04±0.02 ^{ab}
B	1.01±0.15	8.68±0.50 ^b	2.06±0.06	0.76±0.05	3.20±0.21 ^a
C	1.00±0.14	8.00±0.39 ^b	2.05±0.02	0.72±0.02	2.47±0.18 ^b
D	0.91±0.25	8.56±0.51 ^b	1.96±0.09	0.72±0.05	2.64±0.22 ^b
E	1.01±0.13	8.38±1.01 ^b	2.18±0.05	0.77±0.03	3.01±0.15 ^{ab}

나. 혈청중 각종 지질 및 지질과산화물의 함량

고콜레스테롤식이와 결명자 식이섭유를 섭취한 흰쥐의 각종 지질 및 지질과산화물의 농도는 Table 4-37과 같다. 혈청중의 총 콜레스테롤 및 유리콜레스테롤 농도는 각 군간 차이가 없었으며 중성지방과 HDL-콜레스테롤, 유리 지방산의 경우 +cellulose 고지방 대조군에 비해 결명자 식이섭유, 구아검, 펙틴군에서 약간 감소하였다.

Table 4-37. The effect of fibers on the concentrations of serum total cholesterol, free cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol and free fatty acid in experimental rats

	Triglyceride	Tot.cholesterol	Free cholesterol	HDL-cholesterol	Free fatty acid
	(mg/dl)				(μ Eq/L)
A	81.8 \pm 3.21 ^a	95.8 \pm 4.35 ^{ns}	10.08 \pm 0.87 ^{ns}	65.11 \pm 0.43 ^a	925.5 \pm 80.9 ^a
B	61.9 \pm 6.94 ^b	89.7 \pm 5.84	12.22 \pm 0.68	58.05 \pm 0.78 ^{ab}	669.3 \pm 65.5 ^b
C	67.6 \pm 3.53 ^{ab}	93.2 \pm 3.45	13.74 \pm 0.89	59.46 \pm 1.01 ^{ab}	854.4 \pm 60.0 ^{ab}
D	75.3 \pm 4.00 ^a	98.5 \pm 5.01	13.73 \pm 0.63	63.62 \pm 0.99 ^a	854.3 \pm 57.8 ^{ab}
E	67.6 \pm 3.01 ^{ab}	82.5 \pm 3.48	12.69 \pm 0.88	52.57 \pm 0.68 ^b	886.9 \pm 88.5 ^{ab}

A: High fat(+cellulose) B: High fat(-cellulose)

C: High fat(-cellulose) + 5% 결명자 식이섭유

D: High fat(-cellulose) + 5% Guar gum E: High fat(-cellulose) + 5% pectin

다. 혈청내 각종 효소활성의 변화

결명자 식이섭유를 섭취한 흰쥐 혈청내의 각종 효소활성을 Table 4-38에 나타내었다. AST활성의 경우 고지방 대조군의 활성이 99unit인데 반해, 결명자 식이섭유군과 펙틴군의 경우, 각각 85, 87unit으로 감소하였으나 유의하지는 않았다. ALT 활성은 각 군간 차이가 없었다. 결명자 식이섭유 및 구아검, 펙틴을 섭취한 흰쥐 혈청내의 AST, ALT 효소활성을 Table 4에 나타내었다. AST활성의 경우

대조군이 114unit이었으나 결명자 식이섬유를 섭취한 군에서 그 활성이 86unit으로 40%가량 감소함을 볼 수 있었고, ALP활성도 약 45% 감소하였으나 ALT의 경우에는 변화가 없었다. 그러나 구아검 및 펙틴군에서는 AST, ALT활성의 변화가 없었으며, ALP활성만 약간 감소하는 경향을 보였다.

Table 4-38. The effect of fibers on activities of serum AST, ALT, and ALP

	AST	ALT
	(Karmen unit)	
A	93.9±6.35 ^{ns}	36.5±5.23 ^{ns}
B	99.1±18.89	34.5±2.98
C	85.7±5.63	37.75±8.01
D	97.7±7.01	43.00±10.98
E	87.8±10.98	34.93±4.68

A: High fat(+cellulose) B: High fat(-cellulose)
 C: High fat(-cellulose) + 5% 결명자 식이섬유
 D: High fat(-cellulose) + 5% Guar gum E: High fat(-cellulose) + 5% pectin

라. 간조직중의 지질 및 지질과산화물의 함량변화

간장중의 지질함량은 Table 4-39와 같다. 총 지질, 중성지질, 콜레스테롤, 지질과산화물 함량 모두 각 군간 유의한 차이가 없었다.

마. 간 조직중 G6PDH, ME 활성의 변화

간 조직중의 G6PDH, ME활성은 Table 4-40과 같다. glucose-6-phosphate dehydrogenase활성의 경우 각 군간 차이가 없었으며, malic enzyme활성은 고지방 대조군에 비해 결명자 식이섬유군 및 구아검 군에서 약간 활성이 낮아지는 경향

이었다.

Table 4-39. The effect of fibers on the contents of total lipid, cholesterol, triglyceride and TBARS in liver of experimental rats

	Total lipid	Triglyceride (mg/g liver)	Cholesterol	TBARS (nmole/g liver)
A	42.88±2.99 ^{ns}	14.95±0.85 ^{ns}	33.04±0.18 ^{ns}	83.65±8.96 ^{ns}
B	41.88±5.96	11.63±2.03	35.35±2.05	73.23±10.00
C	44.13±5.05	14.62±2.09 ^c	31.46±1.81	98.54±10.14
D	44.13±5.89	12.31±1.99	29.73±1.54	99.49±14.02
E	43.88±7.00	10.95±2.54	29.45±0.90	63.54±15.03

A: High fat(+cellulose) B: High fat(-cellulose)l

C: High fat(-cellulose) + 5% 결명자 식이섬유

D: High fat(-cellulose) + 5% Guar gum E: High fat(-cellulose) + 5% pectin

Table 4-40. The effect of fibres on the contents of total lipid, cholesterol, triglyceride and TBARS in liver of experimental rats

	G6PDH (nmoles/min mg protein)	Malic enzyme
A	0.93±0.08 ^{ns}	3.32±0.08 ^a
B	1.03±0.06	3.18±0.24 ^a
C	0.87±0.05	2.90±0.16 ^{ab}
D	0.97±0.10	2.73±0.09 ^b
E	1.08±0.03	3.10±0.19 ^a

바. 분변중의 지질 및 담즙산량의 변화

분변중의 총지질, 총콜레스테롤, 중성지방 및 담즙산의 함량은 Table 4-41, 42와 같다. 분변중의 총 지질함량은 -cellulose 고지방 대조군과 결명자 식이섬유군, 구아검군에서 유의하게 높았다. 그러나 중성지질 및 콜레스테롤 함량은 오히려 그 반대로 +cellulose 고지방 대조군이 가장 높았으며 -cellulose대조군 및 펙틴군이 각각 2.52, 2.04로 가장 낮았으며 결명자 식이섬유군과 구아검 군에서 높았다. 분변량은 +cellulose 고지방 대조군이 1.44g/day로 가장 많았고 펙틴군이 0.97g으로 가장 적었다. 분변중의 bile acid 함량은 결명자 식이섬유군과 펙틴군이 20 μ mol/day로 가장 많았다.

Table 4-41. Fecal excretion of lipids on experimental rats

	Total lipid	Triglyceride (mg/day)	Cholesterol
A	43.5 \pm 1.55 ^b	7.45 \pm 0.13 ^a	15.05 \pm 0.08 ^a
B	62.5 \pm 1.89 ^a	2.52 \pm 0.15 ^b	5.05 \pm 0.09 ^b
C	69.5 \pm 2.90 ^a	4.50 \pm 0.20 ^{ab}	8.78 \pm 0.08 ^{ab}
D	65.5 \pm 3.01 ^a	2.04 \pm 0.14 ^b	8.67 \pm 0.11 ^{ab}
E	48.7 \pm 2.95 ^b	1.37 \pm 0.16 ^b	4.82 \pm 0.70 ^b

Table 4-42. Fecal excretion of bile acid and fecal weight on experimental rats

	Fecal weight (g/day)	bile acid (μ mol/day)
A	1.44 \pm 0.05 ^a	11.93 \pm 0.36 ^b
B	1.24 \pm 0.03 ^{ab}	11.78 \pm 0.25 ^b
C	1.30 \pm 0.13 ^a	20.14 \pm 1.20 ^a
D	1.36 \pm 0.10 ^a	11.93 \pm 0.95 ^b
E	0.97 \pm 0.08 ^b	20.35 \pm 0.87 ^a

A: High fat(+cellulose), B: High fat(-cellulose), C: High fat(-cellulose) + 5% 결명자 식이섬유
D: High fat(-cellulose) + 5% Guar gum, E: High fat(-cellulose) + 5% pectin

참 고 문 헌

1. Dietschy, J. M. : Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. *J. Nutr.*, **128**, 444-448 (1998)
2. Moon, S. J. : Nutritional problems of Korean. *Korean J. Nutr.*, **29**, 371-380 (1996)
3. Lee, H. K. : Korean disease pattern and nutrition. *Korean J. Nutr.*, **29**, 381-383 (1996)
4. Lipid Research Clinics Program. The Lipid Research Clinic Primary Prevention Trial results. II. The relationship of reduction of incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA*, **251**, 365-374 (1984)
5. Cho, S. Y., Park, J. Y., Jang, J. Y. : Effect of dandelion leaf extracts on lipid metabolism in rats fed high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 676-682 (2000)
6. National Institutes of Health consensus development conference statement. Lowering blood cholesterol to prevent heart disease. *JAMA*, **253**, 2080-2086 (1985)
7. Martin, M. J., Hully, S. B., Browner, W. S. : Serum cholesterol, blood pressure, and mortality :Implications for a cohort of 361622men. *Lancet* **2**, 933-936 (1986)
8. Dwyer, J. : Overview of dietary approaches for reducing cardiovascular disease risks. *J. Nutr.*, **125**, 656S-665S (1995)
9. American heart association. Committee on Nutrition. Rationale of the diet heart statement of the American heart association. *Circulation*, **65**, 839A (1982)
10. Sirtory, C. R. : Pharmacology and mechanism of action of the new HMG-CoA reductase inhibitors. *Pharm. Res.*, **22**, 555-562 (1990)
11. Quresh, A. A., Abuirmeleh, N., Din, Z.Z. : Inhibition of cholesterol and fatty

acid biosynthesis in liver enzymes and chicken hepatocytes by polar fraction of galic. *Lipids*, **18**, 343-348 (1983)

12. Qureshi, A. A., Burger, W. C. Peterson, K. M. : Suppression of cholesterolgenesis by plant constituents: review of wisconsin contributions to NC-167. *Lipids*, **20**, 817-814 (1985)

13. Qureshi, A. A., Burger, W. C. Peterson, K. M. : The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley. *J. Biol. Chem.*, **261**, 10544-10550 (1986)

14. Lee, Y. H., Shin, Y. M., Lee, J. E., Choi, Y. S. and Lee. S. Y. : *In vitro* screening of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase from plant extracts (in Korean). *Korea J. Biotechnol. Bioeng.*, **6**, 55-61 (1991)

15. Reitman, S., Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 56-75 (1957)

16. Berbmeyer, H. U., *In methods of enzymetic analysis*. 2nd English Ed., Academic press, Inc., New York and London, **1**, 458-459 (1974)

17. Ochoa, S., *In methods in Enzymology* (Lewenstein, J. M., ed.). Academic press, Inc., New York, **13**, 230-231 (1969)

18. Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K., : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem*, **95**, 35-42 (1979)

19. Folch, J., Lees, M., Sloane, G. H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509 (1957)

20. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr. A. L. an Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-271 (1951)

21. Lim, S. S., Jung, H. O., Jung, B. M. : Effect of *Ixeris sonchifolia* H. on serum lipid metabolism in hyperlipidemic rats. *Korean J. Nutr.*, **30**, 889-894

(1997)

22. Sung, N. J., Lee, S. J., Shin, J. H., Chung, M. J., Lim, S. S. : Effects of *Houttuynia cordata* Thunb powder and juice on lipid consumption of liver, brain and kidney in dietary hypercholesterolemic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 1230-1235 (1998)
23. Park, Y. S., Song, J. Y., and Chung, T. J. : Changes of lipids and apoprotein during lipolysis of high density lipoprotein in the serum of liver necrosis patients. *Kyemyung Medical Bulletin*, **4**, 28-57 (1985)
24. Gordon, T., Casfelli, W. P., Hjortland, M. C., Kennel, W. B and Dawher, T. R. : High density lipoprotein as a protective factor aganst coronary heart diseases, the Framingham study. *Am. J. Med.*, **62**, 707-716 (1977)
25. Rhoades, G. G., Gulbrandson, C. L. and Kkagan, A. : Serum lipoproteins and coronary heart disease in a population study of Hawaii Japanese men. *New Eng. J. Med.*, **294**, 293-302 (1976)
26. Miller, N. E., Forde, O. H., Telle, D. S. and Mjos, O. D. : The tromoso heart study. High density lipoprotein and coronary heart disease: a prospective case. *Lekarstennie sredstava Iz rasteniy*, **8**, 378 (1962)
27. Barr, D. B., Russ, E. M. and Eder, H. A. : Protein-lipid relationship in human plasma: In atherosclerosis and related conditions. *Am. J. Med.*, **11**, 480-493 (1951)
28. Rifkind, B.M., Tamir, I., Heiss, G. : Distribution of high density and other lipoproteins in selected LRC prevalence study populations: a brief survey. *Lipids*, **14**, 105-112 (1979)
29. Yuganari, T., Tan, B. K., Suzuki, H. : Effects of polyphenol natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. *Lipids*, **27**, 181-186 (1992)
30. Lee, H. J., Choi, M. S. : Measurement of inhibitory activities on

Hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and Acyl-CoA : Cholesterol acyltransferase by various plant extracts in vitro. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 958-962 (1999)

31. Kim, J. S. : Studies of adsorption of cholic acid and cholesterol in aqueous solution by Cassia semen, Ms.Thesis, *Won-Kwang University* (1988)

32. Samuel, H. H., Chan, B. S. : The involvement of medullary reticular formation in the hypotensive effect of extracts from seeds of *Cassia tora*. *Am. J. Chin. Med.*, **4**, 383-389 (1976)

33. Cho, S. H., Jung, S. E., Lee, H. K., Ha, T. Y. : Effects of methanol extract of prosomillet on cholesterol and fatty acid metabolism in rat. *J. Food Sci. Nutr.*, **4**, 188-192 (1999)

34. Cho, S. H., Jung, S. E., Lee, H. K., Ha, T. Y. : Effects of dietary prosomillet on cholesterol and fatty acid metabolism in rats fed high cholesterol diet. *Nutr. Sci.*, **3**, 25-30 (2000)

35. Kim, W. K., Lee, K. A., Kim, S. H. : Effect of different sources of carbohydrate and N-3 fatty acid on lipid metabolism in hypertriglyceridemic rats. *Korean J. Nutr.*, **29**, 925-933 (1996)

36. Egashira, Y., Takahashi, M., Ohta, T., Sanada, H. : Effect of several dietary proteins on D-galactosamine hepatitis and cirrhosis of the liver induced by carbon tetrachloride in rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, **48**, 291-297 (1995)

37. Ha, T. Y., Cho, I. J., Lee, H. Y. : Effect of *Cassia tora* ethanol extracts on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* (in press)

38. Choi, J. S., Lee, H. J., Kang, S. S. : Alaternin, cassiaside and rubrofusarin gentiobioside, radical scavenging principles from the seed of *Cassia tora* on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical. *Arch. Pharm. Res.* **17**, 462-466

(1994)

39. Kim, S. H., Choi, J. S., Heo, M. Y. : Antioxidative activity and anticlastogenicity of *Cassia tora* L. seeds extract and its major component, nor-rubrofusarin-6- β -D-glucoside. *J. Food Hygiene an safety*, **13**, 394-399

(1998)

제 5 장 결명자를 이용한 제품화 실험

제 1 절 결명자 추출물을 이용한 음료와 과립제품 개발

1. 실험재료 및 방법

가. 실험재료

실험재료로 사용한 결명자는 2000년 경북 고령산을 구입하였다. 설탕, 올리고당은 제일제당의 것을 구입하였고 구연산, 과일농축액은 식품첨가용으로 구입하였다.

나. 결명자 추출물의 제조

통결명자를 수세, 건조한 다음 40 메쉬로 분쇄하고 시료중량에 대한 10배의 70% 에탄올을 첨가하여 16시간 진탕 추출하였다. 추출액은 Toyo No. 2로 여과하고 감압 농축하였다 (17 Brix). 결명자 식이섬유 추출물은 제 2장과 동일하게 추출하였다.

다. 추출물의 관능특성조사

추출, 농축된 시료를 각각 거의 맛을 느끼지 못할 정도까지 2배 단위로 계속 희석하여 그 희석물에 대하여 최소감미농도를 조사하였으며 동시에 적정음용농도도 조사하였다. 또한 시료별 관능특성은 관능검사요원들에게 향, 맛, 색깔에 대하여 자유롭게 느낌을 표현하도록 하여 그 결과를 종합하였다.

라. 부재료의 농도 배합비 결정시험

추출물의 적정 음료농도를 결정한 다음 맛과 품질을 고려하여 각종 부재료의 종류 및 배합비를 결정하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 음료 제품

1) 결명자 에탄올 추출물 이용 음료제조시험

① 추출물의 관능특성 조사

결명자를 70% 에탄올로 추출하여 추출물을 17. Brix로 농축한 후 관능적 최소감미농도(recognition threshold)와 적정음용농도(palatable concentration)을 조사하였다. 그 결과, 결명자 추출물은 전체적인 맛과 향미가 비교적 온화하였으며 인삼, 생강 등 다른 한방소재에 비하여 자극적인 풍미와 맛을 나타내지는 않았다. 그러나 최소감미농도도는 0.1~0.2% 정도로 인삼 0.2~0.4% 보다는 낮게 나타났으며, 생강 0.02~0.04에 비하여 높게 나타났으며 이는 결명자 특유의 향과 맛 때문인 것으로 생각된다. 또한 적정 음용농도는 0.5-1%로 적당한 것으로 나타났다.

결명자 추출물을 적정음용농도로 희석하여 관능요원들에게 관능특성에 대하여 묘사하도록 하여 결명자 추출물에 대한 관능적 특성을 조사해 본 결과, 약간의 비린 맛과 향이 있어 음료 소재로 사용하기 위해서는 향미와 맛의 개선이 필요하다고 생각되었다. (Table 5-1)

Table 5-1. 결명자 추출물의 관능특성 묘사

색깔	연한 적갈색을 나타내며 투명하다. 음료로서 기호에 나쁘지는 않다. 좀 더 진하면 콜라와 같은 색깔
향	약간의 비린내, 약간의 자극취, 음료로서 상쾌한 풍미는 아님
맛	약간의 비린 맛, 약간의 구수한 맛, 달작지근한 맛, 약간의 쓴맛, 약간의 뚝은 맛

결명자 추출물의 희석배율별로 향미와 색상에 대한 기호도를 평가한 결과, 0.3% 첨가시는 맛이 매우 약하여 밋밋하였으며, 1.0% 첨가시는 쓴맛이 약간 강한 것으로 나타났다. 결명자 추출물의 첨가량은 0.5%가 가장 적당하였으며, 0.5%와 1.0%에 대해 다음 실험을 하였다.

② 배합비 결정시험

결명자 Ext. 1.0% 첨가시는 당의 함량이 많을수록 기호도가 높은 것은 단맛이 강한 것이 결명자 특유의 쓴맛을 감소시키는 효과에 의한 것으로 사료됨. 반면, 0.5% 첨가시는 당도 11%가 가장 기호도가 높은 것으로 나타났다.(Table 5-2) 따라서 결명자 1.0% 첨가시는 당도 12%로, 0.5% 첨가시는 당도 11%로하여 산미료 첨가 실험을 하였다. 구연산 함량 0.2%에서 매우 신맛을 느꼈으며, 기호도가 좋지 않은 것으로 나타났다.(Table 5-3) 신맛의 경우 산도 0.1%가 가장 적절한 것으로 나타났다. 따라서, 결명자 추출액 0.5% 첨가시료에 있어서는 구연산 함량을 0.05%와 0.1%에 대해서만 실험하였다. 결명자 추출물의 함량이 작을 경우는 구연산 함량에 관계없이 신맛에 대한 유의차는 없는 것으로 나타났으나, 0.05% 첨가시료에 있어서 기호도가 약간 높게 나타났다.

Table 5-2. 당 첨가비율별 단맛의 기호도 변화

포도당:올리고당	결명자 Ext.	Brix	단맛의 기호도
6:5	1.0	10.0	3.0
7:5	1.0	11.0	3.6
8:5	1.0	12.0	5.6
6:5	0.5	10.0	3.8
7:5	0.5	11.0	5.0
8:5	0.5	12.0	4.0

Table 5-3. 산미료 첨가 비율별 신맛기호도의 변화

포도당:올리고당	결명자 Ext.	구연산	Brix	산도(%)	신맛의 기호도
8:5	1.0	0.06	12.0	0.068	3.8
		0.12	12.4	0.132	4.2
		0.23	12.6	0.218	2.0
7:5	0.5	0.06	11.0	0.051	4.4
		0.12	11.2	0.102	4.1

③ 과실농축액 첨가 시험

사과농축액과 배농축액을 혼합하여 사용하였을 때 보다 사과농축액만을 사용하였을 때 기호도가 높게 나타났다.(Table 5-4,5,6) 단맛에 대한 기호도 평가 결과 단맛이 다른 맛과 조화가 되지 않고 튀는 경향이 있다는 의견이 있었으며, 전반적으로 단맛이 매우 강하여 기호도가 좋지 못한 것으로 나타났다. 결명자 향미가 거의 없고 신맛은 적당한 것으로 나타났다.

Table 5-4. 사과농축액(50. Bx, 산도 1.55%)의 첨가가 맛의 기호도에 미치는 영향

	#1	#2
포도당	7.5	7.0
올리고당	5.0	5.0
결명자 Ex.	1.0	1.0
구연산	0.12	0.12
사과농축액	1.0	2.0
당도	12.4	12.4
산도(% , 구연산으로)	0.14	0.17
단맛의 기호도	6.6	5.4
신맛의 기호도	5.2	6.4

Table 5-5. 배농축액 사용(71. Bx, 산도 1.05%)

	#1	#2
포도당	7.0	6.5
올리고당	5.0	5.0
결명자 Ex.	1.0	1.0
구연산	0.1	0.1
배농축액	1.0	2.0
당도	12.0	12.2
산도(% , 구연산으로)	0.13	0.14
단맛의 기호도	5.2	4.4
신맛의 기호도	4.8	4.6
종합 기호도	5.0	4.8

Table 5-6. 사과와 배 농축액 혼합 첨가가 맛의 기호도에 미치는 영향

	#1	#2	#3
포도당	7.5	7.2	7.0
올리고당	5.0	5.0	5.0
결명자 Ex.	1.0	1.0	1.0
구연산	0.1	0.1	0.1
사과농축액	2.0	1.5	-
배농축액	-	0.5	1.5
당도	12.6	12.8	12.0
산도(% , 구연산으로)	0.15	0.14	0.14
단맛의 기호도	5.0	3.8	3.4
신맛의 기호도	5.8	4.8	3.4
종합 기호도	5.4	4.4	3.8

④ 당류의 변화

○ 당 배합비별 품질특성

단맛의 종류를 설탕과 과당으로 대체 사용하여 관능검사를 실시하였다. 단맛에 대한 기호도에서 설탕과 포도당을 1:1로 혼합하였을 때 가장 기호도가 좋았으며, 종합적 기호도도 좋게 나타났다.(Table5-7)

Table 5-7. 당 배합비별 맛의 기호도에 미치는 영향

	#1	#2	#3
백설탕	6.0	-	5.5
고과당	6.0	6.0	-
결정포도당	-	6.0	5.5
결명자 Ex.	1.0	1.0	1.0
구연산	0.1	0.1	0.1
사과농축액	1.0	1.0	1.0
당도	11.4	11.6	11.6
산도(% , 구연산으로)	0.12	0.13	0.13
pH	2.88	2.95	2.83
단맛기호도	5.4	5.9	7.0
종합적 기호도	5.8	5.6	6.7

전반적인 당도를 줄이기 위해 포도당의량을 고정시키고 설탕의 함량을 줄이는 대신 과당을 첨가하는 방향으로 하여 당의 배합비별 관능평가를 시행하였다. 또한, 결명자의 향미를 강하게 하기 위해 결명자 추출물의 양을 1.5%로 늘렸다.

또한 당 배합비를 백설탕과 고과당을 1:1로 혼합하였을 경우 단맛의 기호도가 가장 좋은 것으로 나타났다.(Table 5-8)

Table 5-8. 과당의 첨가가 맛의 기호도에 미치는 영향

	#1	#2	#3
백설탕	3.0	4.0	5.0
고과당	3.0	2.0	1.0
결정포도당	5.0	5.0	5.0
결명자 Ex.	1.5	1.5	1.5
구연산	0.1	0.1	0.1
사과농축액	1.0	1.0	1.0
당도	11.4	11.4	11.8
산도(% , 구연산으로)	0.14	0.13	0.14
pH	2.96	2.94	2.97
단맛기호도	5.8	4.4	4.6
종합적 기호도	5.0	3.8	4.8

결명자 Ex.의 량을 1.5%로 증가시켰을 때 쓴맛에 대한 거부감으로 종합적 기호도가 떨어진 것으로 나타났다. 전반적으로 당도와 산도를 조금 낮추기 위해 사과농축액의 량을 0.8%로 낮춘 후 다음과 같은 배합비로 관능평가를 시행하였다.

⑤ 결명자추출물 배합비 시험

사과농축액을 낮출 경우 결명자 추출물을 1.3% 첨가하여도 전반적이 기호도에 영향을 미치지 않는 것으로 평가되었으나,(Table 5-9) 음용감에서 뒷맛에 쓴맛이 잔재하여 약간의 거부감을 주는 것으로 나타났다. 따라서 다음 항에서 향 첨가 실험을 하였다.

Table 5-9. 결명자 추출물의 첨가량이 음료의 품질특성에 미치는 영향

	#1	#2	#3
백설탕	3.0	3.0	3.0
고과당	3.0	3.0	3.0
결정포도당	5.0	5.0	5.0
결명자 Ex.	1.0	1.3	1.5
구연산	0.1	0.1	0.1
사과농축액	0.8	0.8	0.8
당도	10.6	11.0	11.2
산도(% , 구연산으로)	0.11	0.13	0.13
pH	2.84	2.81	2.79
종합적 기호도	5.4	6.6	5.6

⑥ 향 첨가 시험

첨가한 향으로 3종류를 사용한 결과 과일향을 첨가하였을 때 기호도가 가장 우수한 것으로 나타났다. (Table 5-10)

Table 5-10. 향 첨가가 음료의 기호도에 미치는 영향

	#1	#2	#3
백설탕	3.0	3.0	3.0
고과당	3.0	3.0	3.0
결정포도당	5.0	5.0	5.0
결명자 Ex.	1.3	1.3	1.3
구연산	0.1	0.1	0.1
사과농축액	0.8	0.8	0.8
레몬향	0.01		
과일향		0.01	
헤즐넛향			0.01
종합적 기호도	6.0	6.7	4.5

이상의 결과를 종합하여 다음 3종의 배합비를 가지고 최종 관능평가를 시행하였다.

⑦ 결명자 추출물 첨가 음료 최종배합비

최종 제품에 대한 관능평가 결과 단맛과 신맛에 대한 기호도는 #3이 가장 좋았으나, 전반적인 기호도는 #2가 가장 좋은 것으로 나타났다.(Table 5-11)

Table 5-11. 결명자 추출물 첨가 음료 최종배합비

	#1	#2	#3
백설탕	3.0	3.0	3.0
고과당	3.0	3.0	3.0
결정포도당	5.0	5.0	5.0
결명자 Ex.	1.3	1.3	1.0
구연산	0.1	0.08	0.08
사과농축액	0.8	0.8	0.8
과일향	0.01	0.01	0.01
당도	11.4	11.4	11.2
산도(% , 구연산으로)	0.18	0.14	0.16
pH	3.00	3.09	3.06
색상	5.6	5.7	5.6
결명자 향	5.4	5.5	5.4
단맛의 기호도*	4.5 ^b	4.9 ^{ab}	5.8 ^a
신맛의 기호도*	4.1 ^b	5.2 ^a	5.6 ^a
종합적 기호도	4.3 ^b	5.7 ^a	5.2 ^{ab}

2) 결명자 식이섬유 음료 제조시험

① 시판 식이섬유 음료 평가

시중에 판매되고 있는 두가지 종류의 식이섬유 음료의 성분 및 당도, 산도, pH를 조사하였다. (Table 5-12)

Table 5-12. 시판 식이섬유 음료의 성분 및 당도, 산도, pH

제품명	미에로화이바 (Miero Fiber)	화이브미니(Fibe-mini)
제조사	현대약품(주)식품사업부	동아오츠카(주)
식품의 유형	혼합음료	착향탄산음료
원료명	액상과당, 텍스트린(식이 백설탕, 폴리텍스트로스(식이섬유 함유50%) 4.71%, 비타민 4g), 액상과당, 탄산가스, 비타민C, 결정구연산, 오렌지향 구연산	
첨가물	안식향산나트륨 (합성보존료)	
영양성분	열량 45kcal, 탄수화물 15g(식이섬유 4g), 단백질 0g, 지방 0g, 나트륨 10mg, 비타민C 300mg	
용량	100ml	100ml
기타	식이섬유의 영양소 기준치는 25g이므로 다른 식품으로부터의 섭취를 고려하여 1일 1병 정도를 직접 음용하십시오.	
당도	15.0	14.8
산도 (%, 구연산으로)	0.30	0.32
pH	2.89	3.07

② 결명자 식이섬유 함량별 평가

결명자 fiber분말 1g을 뜨거운물 99g에 용해시켜(1% fiber용액, Brix. 1.0.)

각각의 농도로 희석하여 음용감을 평가하였으며 그 결과는 Table 5-13과 같다. 즉, fiber함량이 증가되면 물성이 높고, 입안에서 음용감이 미끈거리고 끈적거렸으며, 0.2% 첨가액도 식감이 약간 이상하며, 음용 후 잔존감이 있었다. 또한, fiber가 물에 잘 용해되지 않고 분산상태로 부유하여 외관상 좋지 않은 결과를 보였으나 0.1% 미만의 경우 거의 느끼지 못하여 오히려 기호도가 좋지 않았다.

Table 5-13. 결명자 식이섬유 함량별 음용감의 변화

총 fiber함량	0.05%	0.1%	0.15%	0.2%	0.3%
음용감	-	+	+++	++	-

따라서 fiber함량 0.15%에서 폴리텍스트로스를 첨가하고 가당 Test를 하였다.

③ 당첨가 시험

Table 5-14는 백설탕과 고과당의 비율에 따른 음용감의 평가 결과이다. 당의 종류로 설탕만 사용하였을 때 단맛의 기호도가 가장 좋게 나타났으나, 전반적으로 단맛의 강도가 매우 강한 것으로 나타났다.

Table 5-14. 백설탕과 고과당의 비율에 따른 기호도 변화

	#1	#2	#3
1% fiber 희석액	15.0	15.0	15.0
폴리텍스트로스	10.0	10.0	10.0
백설탕	6.0	-	10.0
고과당	6.0	13.5	-
당도	20.6	20.4	20.0
단맛의 기호도	5.2	5.6	6.2
음용감	4.0	4.8	5.2

따라서, 설탕의 함량을 반으로 줄이고 폴리텍스트로스의 함량에 따른 기호도를

평가하였다

폴리텍스트로스의 함량을 달리 했을 때 전체적인 단맛과 신맛에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 폴리텍스트로스 함량이 증가할수록 산도가 높아지고 pH가 낮아졌다. 기호도 평가 결과 폴리텍스트로스를 10% 첨가하였을 때 기호도가 가장 좋은 것으로 나타났다.(Table 5-15)

Table 5-15. 폴리텍스트로스의 함량별 단맛과 신맛의 기호도

	#1	#2	#3
1% fiber 희석액	15.0	15.0	15.0
폴리텍스트로스	2.5	5.0	10.0
백설탕	5.0	5.0	5.0
당도	7.6	10.0	15.2
산도(% , 구연산으로)	0.03	0.05	0.10
pH	3.28	2.92	2.61
단맛의 기호도	4.8	3.6	6.0
신맛의 기호도	3.2	4.0	6.4

④ 산미료 첨가 시험

감미도 조절을 위해 말토텍스트린을 첨가해 보았다.(Table 5-16) 당도는 높아지나, 단맛에 영향을 미치지 않는 것으로 보이며, 오히려 말토텍스트린의 경우 점성을 형성하는 성질이 있으므로 결명자의 식이섬유 음료에 적합하지 않는 것으로 사료된다. 또한, 구연산 첨가에 따라 전체적으로 단맛에 대한 기호도가 증가하였으며, 구연산 첨가량에 따른 관능평가에서는 0.1%의 구연산을 첨가하였을 때 기호도가 가장 좋은 것으로 나타났다.

Table 5-16. 산미료 첨가에 따른 기호도의 변화

	#1	#2	#3
1% fiber 희석액	15.0	15.0	15.0
폴리텍스트로스	10.0	10.0	10.0
백설탕	5.0	5.0	5.0
말토텍스트린	2.0	2.0	2.0
구연산	0.08	0.10	0.13
당도	17.2	17.0	17.2
산도(% , 구연산으로)	0.21	0.22	0.24
pH	2.50	2.45	2.44
단맛의 기호도	5.0	6.8	5.8
신맛의 기호도	5.0	5.0	4.2
음용감	5.0	6.0	5.2

⑤ 과실농축액 첨가 시험

과실농축액 사용에 따라 당도 조절을 위해 폴리텍스트로스의 함량을 줄여서 실험하였다.(Table 5-17) 그 결과 당도는 낮아졌으나, 단맛에 대한 기호도가 약간 떨어지는 것으로 나타났으며, 신맛에 있어서는 배농축액을 사용하였을 때 기호도가 가장 좋은 것으로 나타났다, 또한, 오렌지엑기스를 첨가할 경우는 신맛이 매우 강하여 오히려 단맛에 대한 기호도도 낮았으며, 종합적 평가가 좋지 않은 것으로 나타났다.

Table 5-17 과실농축액 첨가에 따른 음료의 기호도

	#1	#2	#3	#4
1% fiber 희석액	15.0	15.0	15.0	15.0
폴리텍스트로스	5.0	5.0	5.0	5.0
백설탕	5.0	5.0	5.0	5.0
구연산	0.1	0.1	0.1	0.1
사과농축액(Bx. 50.)	1.0			
포도과즙(Bx. 26.)		1.5		
배농축액(Bx. 71.)			0.8	
오렌지엑기스(Bx. 62.)				0.9
당도	12.6	12.6	12.6	12.2
산도(% , 구연산으로)	0.21	0.22	0.22	0.22
pH	2.70	2.63	2.87	2.47
단맛의 기호도	6.0	4.2	5.6	4.6
신맛의 기호도	4.2	5.4	6.4	4.6
종합 기호도	4.8	4.8	5.8	3.8

⑦ 향 첨가 시험

Table 5-18. 향 첨가에 따른 음료의 기호도

	#1	#2	#3	#4
1% fiber 희석액	15.0	15.0	15.0	15.0
폴리텍스트로스	10.0	10.0	10.0	10.0
백설탕	5.0	5.0	5.0	5.0
구연산	0.1	0.08	0.1	0.08
배농축액(Bx. 71.)	0.8	0.8	0.8	0.8
레몬향	0.01			0.01
과일향		0.01	0.01	
당도				
산도(% , 구연산으로)				
pH				
단맛의 기호도				
신맛의 기호도				
종합 기호도				

나. 과립화 제품

결명자 식이섬유를 주성분으로 하는 과립화 제품을 개발하였으며 과립의 조성

은 결명자 식이섬유, maltodextrin, vitamin C, α -tocopherol으로 하였다. 즉, 결명자 식이섬유분말에 말토덱스트린과 비타민 C를 정량만큼 계량하여 mixer로 혼합한 후, 분량의 α -토코페롤에 물:에탄올=8:7 혼합액을 섞어준다. 혼합된 시료를 과립제조기를 통과시켜 길이 2mm의 과립상태로 만든 후 35℃ 열풍 건조기에서 24시간 건조시킨다. 건조된 과립은 3.2g씩 알루미늄팩에 담아 상부를 실링하여 밀봉하였다. 이와 동시에 식이섬유분말을 옥수수전분으로 대체하여 카라멜 색소를 첨가하여 placebo 시료로 제조하였다. 완성된 과립은 Figure 5-1과 같다.

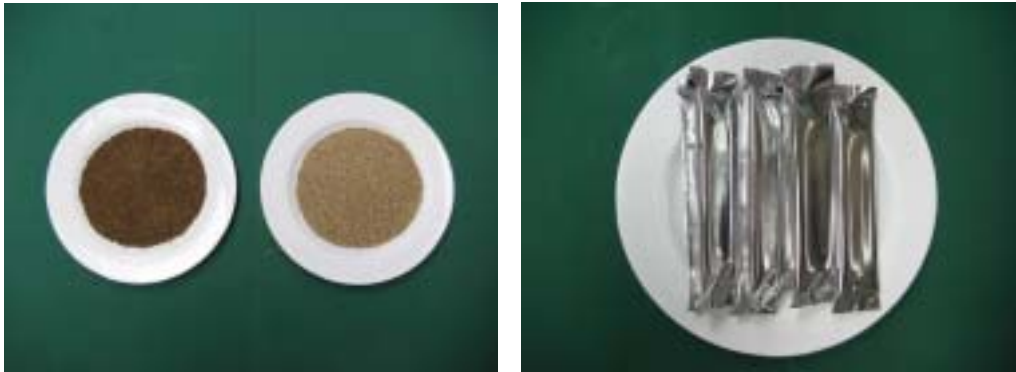


Figure5-2. 결명자 fiber 과립제품

제 2 절 결명자 식이섬유의 제빵특성

쌀은 우리나라 농업의 기간작물 중 하나이며 주로 밥으로서 소비되고 있으며, 술, 떡, 과자 등과 같이 가공식품의 형태로 소비되는 양은 전체 쌀 소비량의 약 5% 정도에 불과하다. 또한, 우리의 미각이 서구화되어 가고 있는 요즈음 밥 다음으로 선호하는 주식 대용품이 빵이나, 밀의 gluten에 알러지를 나타내는 사람들은 빵의 섭취가 쉽지 않다. 반면, 쌀은 gluten을 함유하고 있지 않으며, soduim, 단백질, 지방의 함량이 낮고 소화성 당류를 다량 함유하고 있기 때문에, 쌀가루를 이용하여 빵을 만들고자 하는 시도는 밀빵에 대해 알러지성을 나타내는 사람들을 위하여 일찍부터 검토되었었다. 그러나, 쌀은 밀의 gluten과 같이 제빵 과정에서 반죽의 망상구조를 형성시키지 못하므로 쌀빵을 제조하기 위해서는 gluten 대체 재료가 반드시 첨가되어야 한다, 이러한 문제점을 보완하기 위하여 쌀빵 제조시 사용하는 개량제로 carboxymethylcellulose, guar gum, methyl cellulose, xanthan gum, locust bean gum, hydroxypropyl-methylcellulose 등의 gum질을 첨가함으로써 빵과 유사한 조직감을 가지는 발효 쌀빵의 제조가 가능하였다. 식이섬유는 cellulose, hemicellulose, pectin, gum류, mucilages 등의 식물성 다당류와 lignin, chitin, chitic acid등 동물성 급원의 난소화성 다당류까지 포함시키고 있으며.그 기능적 효용성과 대사적 효과로 인해 최근 고식이 섬유 보강식품이 급진적인 속도로 증가하게 되었다. 특히, 제빵 과정 중 식이 섬유를 첨가하는 것은 식이 섬유의 함량을 증가시킴과 동시에 칼로리를 낮추는 목적으로 사용되며, cellulose, oat bran, rice bran, wheat bran등을 첨가할 경우 제품의 품질특성에 미치는 영향에 대한 연구가 있었다. 그러나, 이러한 식물성 식이섬유의 첨가에 대한 연구는 대부분이 식이섬유 강화제품에 대한 것이며, 곡류 등을 직접 첨가하기 때문에 외관, 향, 조직감 등 제품의 품질에 좋지 않은 영향을 미치게 된다, 본 연구는 쌀가루를 일정비율로 섞은 식빵에 결명자 식이섬유를 첨가하였을 때 제빵 특성에 미치는 영향을 hydroxypropyl-methylcellulose 및 xanthan gum 과 비교 검토하였다.

1. 실험재료 및 방법

가. 실험재료

제빵용 밀가루는 시판되는 1등급 무표백 강력분(대한제분)을 구입하여 사용하였고, 기타 원 부재료로 한주 소금, 정백당(제일제당), saf-instant yeast(S.I.Lesaffre 社, France)를 시중에서 구입하여 실험에 이용하였으며, Hydroxylpropyl methyl cellulose(HPMC)는 삼성정밀화학 HPMC-2910의 것을, xantan gum은 대흥약품의 것을 사용하였다.

나. 쌀가루 제조

실험에 사용한 쌀가루는 강 등의 방법을 참고로 하여 제조하였다. 먼저, 쌀을 상온에서 약 24시간 동안 수침한 후, roller mill로 제분시킨 다음 45℃ 열풍건조기에서 1일간 충분히 건조시켜 다시 food mixer(한일 food mixer FM-681)로 재 분쇄하여 100mesh의 체를 통과시킨 분말을 쌀가루 시료로 사용하였다.

다. 결명자 식이섬유 추출물의 제조

실험에 사용한 결명자의 식이섬유 추출은 김 등의 방법을 응용하였다. 먼저, 결명자를 수세하여 food mixer로 분쇄하여 65℃의 증류수로 추출한 다음 95% 무수 에탄올을 가하여 식이섬유를 침전시켰다. 이렇게 하여 얻어진 식이섬유 추출물을 40℃ 열풍건조기에서 24시간 건조시킨 다음, food mixer로 분쇄하여 60mesh의 체를 통과시킨 분말을 실험에 사용하였다.

라. 아밀로그래프 측정

식빵 제조에 사용한 각각의 flour의 아밀로그래프 특성은 Brabender Visco/Amylo graph (duisburg, Germany)를 사용하여 측정하였다. 즉, 밀가루와 쌀가루를 75:25로 혼합한 flour에 결명자 식이섬유(이하 fiber), HPMC(이하 HPMC), 그리고 xanthan gum(이하 XG)을 각각 3% 첨가하여 조제한 뒤 고형분 12%의 수용액을 제조하여 35℃에서 95℃까지 1.5℃/min.의 속도로 가열하고 95℃에서 15분간 유지시킨 다음 다시 동일한 속도로 50℃까지 냉각하여 측정하였으며, 각 시료는 2회 반복하여 측정하였다.

마. 식빵의 제조

쌀빵 제조에 사용한 recipe는 예비실험을 거쳐 밀가루와 쌀가루의 함량이 75:25로 하였으며, 기타 부원료의 첨가량은 Lee의 배합비를 적용하였다. 즉, flour의 중량대비 소금 2.0%, 설탕 7.5%, 이스트 3.0%를 첨가하였으며, 실험에 사용한 oil로는 쌀빵 제조시는 refined vegetable oil을 사용하는 것이 가장 좋은 효과를 보였다는 보고에 따라 해표 정제 대두유((주)신동방)를 시중에서 구입하여 사용하였다. 식빵 제조시 첨가한 결명자 식이섬유 추출분말, HPMC 및 xanthan gum은 참고문헌을 참조하여 각각 3.0%를 첨가하였다. 쌀가루와 밀가루를 충분히 섞은 후 기타 부원료를 첨가하여 Kitchen Aid Mixer (Kitchen Aid Inc. Model K5SS, St. Joseph, Michigan, USA)에서 약 30분간 mixing하여 dough를 얻었다. 얻어진 dough는 온도 40℃로 고정된 fermentation cabinet(대영공업사)에서 약 2시간동안 발효시켰으며, 처음 55분간의 1차 발효 후에 1차 punching을 한 다음 40분간 2차 발효를 하였다. 2차 발효가 끝난 dough는 sheeting과 moulding을 한 후 식빵틀에 넣고 55분간 3차 발효(proofing)를 거친 다음 baking oven(대영공업사)에 넣고 200℃에서 40분간 baking하였다.

바. Dough의 무게와 부피 측정

Dough의 무게는 반죽이 완료된 시점에서 무게를 측정하였으며, mixing 직후의 dough에서 10g을 채취하여 실험조작이 용이하도록 덧가루를 바르고, 50mL measuring cylinder에 넣어 식빵 제조용 dough와 함께 1차 발효하여 발효가 끝난 직후 등갈게 올라온 dough 윗 부분을 평평하게 하여 부피를 측정하였다.

사. 식빵의 무게와 부피 및 굽기 손실율의 측정

Loaf의 무게와 부피는 baking한 loaf를 1시간 동안 실온에 방치하여 냉각시킨 후 측정하였으며, 부피는 종자치환법으로 측정하였다. Baking이 끝난 식빵의 굽기 손실율은 김의 방법으로 측정하였다.

아. 식빵의 색도 및 조직감 측정

식빵의 색도는 CR-200 Chroma meter(Minolta Inc., Japan)를 사용하여 crust와 crumb 의 L(명도), a(적색도), b(황색도)의 값을 3회 반복 측정하였으며, 이 때 표준 백판의 L, a, b값은 각각 96.86, -0.07, 2.02이었다. 식빵의 조직감은 baking 1시간 후 식빵을 동일한 크기로 잘라 TA-XT2 Texture analyzer(Texture technologies Corp., Scardale, NY)를 사용하여 측정하였으며, force-time 곡선의 Texture profile analysis(TPA) parameter로부터 springness, cohesiveness, gumminess, hardness, chewiness등을 산출하였다. 이 때 모든 측정조건은 pre-test speed 5.0 mm/sec, test speed 0.5mm/sec, post test speed 10mm/sec, distance 10mm, trigger force 20g이었으며, 지름 25.4mm의 원통 probe를 사용하여 측정하였다.

자. 식빵의 관능검사

제조한 식빵에 대한 관능검사는 훈련된 패널 20명을 대상으로 실시하였다. 즉, 각각의 처리구별로 식빵을 제조한 후 외관, 색상, 향, 맛, 조직감, 전반적인 기호도에 대하여 1(대단히 나쁘다)에서 9(대단히 좋다)까지의 점수를 사용하여 평가하였으며, 그 결과는 SAS(Statistical Analysis System)통계 package를 사용하여 분산 분석 및 Duncan의 다범위 검증을 실시하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 아밀로그래프

Table 5-19에는 25% 쌀가루를 첨가한 밀가루 혼합분에 결명자 식이섬유, HPMC, xanthan gum(XG)을 각각 첨가하였을 때 아밀로그래프상의 호화 특성을 조사한 결과를 나타내었다. 호화개시온도의 경우 XG가 가장 낮은 55℃였으며, HPMC가 59℃, fiber가 63.5℃로 fiber가 가장 높은 것으로 나타났다. 최고점도는 fiber가 820 B.U.로 가장 낮았고, XG가 1160 B.U.로 XG가 가장 높았다. 95℃에서 15분간 유지한 후의 점도는 fiber가 490 B.U.로 가장 낮은 반면, XG는 885 B.U.로 fiber의 약 2배였다. 최종점도는 대조군이 1010 B.U., fiber가 900 B.U., HPMC가 880 B.U., XG가 980 B.U.로 나타났다. Christianson *et al.*은 밀가루 전분에 xanthan gum을 첨가하여 아밀로그래프를 측정할 경우 초기점도의 시작시점이 빨라졌으며, 최종점도도 증가하였는데, 이는 swelling 효과에 의한 것이라고 하였다. 본 실험에 사용한 첨가제 중에서는 xanthan gum을 첨가할 경우 호화개시온도가 55℃로 가장 빠른 것으로 나타나 이와 유사한 경향이었으나, 최종점도는 대조군이 가장 높은 것으로 나타났다. 김 등은 미강 식이섬유의 높은 보수력으로 호화개

시온도가 증가한다고 하였는데, 본 실험에서도 fiber첨가군이 호화개시온도가 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 Lee는 HPMC첨가시 호화개시온도가 낮아지는 것은 쌀가루 호화와 HPMC의 호화가 결합하는 현상(‘온도의 전이’라고 함)으로 쌀가루의 호화온도보다 HPMC의 호화온도가 낮기 때문이라고 하였다. 본 실험에서도 HPMC, XG는 대조구에 비해 호화개시온도가 낮았으나, fiber는 대조구에 비해 약간 증가하였으며, 이는 식이섬유의 보수력에 의한 것으로 사료된다. 또한, 노화특성에 관계되는 set back의 경우 대조구가 -120으로 가장 낮았는데, 이는 첨가제에 의한 영향으로 노화가 지연되기 때문인 것으로 사료된다. 이 등은 식이섬유 첨가에 의해 노화가 지연되는 이유는 식이섬유가 전분입자 사이에 끼어 들어 전분의 배열을 불규칙하게 만들고 회합을 방해하며, 아밀로오스 및 아밀로펙틴의 일부와 결합해서 호화된 전분 분자들이 다시 수소 결합하는 것을 막기 때문이라고 하였으며 강등도 식이섬유첨가로 호화도의 감소를 억제시켰다고 보고하였다.

Table 5-19. The effect of *Cassia tora* fiber, HPMC and xanthan gum on the amylogram characteristics of wheat flour/rice flour

	control	fiber	HPMC	xanthan gum
Gelatinization Temperature(°C)	61.0	63.5	59.0	55.0
Peak viscosity(B.U.)	890	820	825	1160
Temperature at peak viscosity(°C)	92.9	89.0	88.8	92.5
15-min height(B.U.)	555	490	515	885
Final viscosity(B.U.)	1010	900	880	980
Set back	-120	-80	-55	180

나. Dough 및 식빵의 무게와 부피

쌀가루와 밀가루의 혼합분에 각각의 첨가제를 첨가하여 구운 식빵의 특성을 Table 5-20과 Figure 5-1에 나타내었다. 1차 발효 후 반죽의 부피는 fiber가 많이 팽창하였으며, baking후 제품의 부피도 fiber가 대조구 및 다른 처리구에 비하여 상당히 큰 것으로 나타났다. XG의 경우 제품의 부피가 가장 작았으며, 비용적도 $1.67\text{cm}^3/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 그러나, fiber 첨가시는 제품의 중량 대비 부피비가 다른 처리구에 비해 가장 높은 것으로 나타났다. 김 등은 미강 식이섬유를 밀가루빵에 첨가시 식빵의 무게 증가와 부피의 감소를 보였으며, Skurray *et al.*은 wholemeal flour에 wheat bran, rice bran을 첨가하였을 때 대조구에 비해 부피의 감소를 보였다고 하였다. 또한, 보리가루 첨가시 수분흡수율은 증가하였으나 부피는 감소하였다는 보고도 있으며, 육 등은 명계껍질 섬유소를 밀가루에 첨가할 경우 반죽의 가스보유력과 발효내구력이 대조구에 비해 저하되는 물성을 보였으며, 반죽이 약하고 가스 수용력이 낮아 제빵적성을 저하시킨다고 하였다. D'Appolonia *et al.* 은 밀가루에 oat bran과 wheat bran 첨가시 제품의 부피가 감소하였다고 하였으며, Pomeranz *et al.* 은 밀가루에 cellulose와 wheat bran 및 oat hulls를 첨가하여 실험한 결과 제품의 부피를 감소시켰으며, 이는 gluten희석효과와 가스보유력의 감소에 의한 것이라고 하였다. 그러나, Chen *et al.* 은 밀가루에 apple fiber와 cellulose를 첨가하여 물성을 측정된 결과 첨가량이 증가할수록 제품의 높이가 감소한 원인이 전적으로 gluten 희석효과에 의한 것이라고는 설명할 수 없다고 하였다. 반면, fiber 첨가로 제품의 부피가 증가한 보고도 있는데, Ang *et al*은 yellow layer cake에 cellulose 첨가시 부피가 4% 증가한 것은 baking후 냉각시키는 과정에서 cellulose첨가가 부피의 감소를 최소화시키기 때문이라고 하였으며, blueberry 머핀 제조시 cellulose첨가가 부피증가에 효과가 있는 것은 반죽내의 공기결합이 용이하여 반죽의 점성을 잘 유지시켜 주기 때문이라고 하였다. 한편, Nishita *et al.* 과 쌀가루로 제조한 식빵에 HPMC를 첨가하였을 때 대조구($1.5\text{cm}^3/\text{g}$)에 비해 상당한 부피($5.0\text{cm}^3/\text{g}$)의 증가를 보였는데, 이는 다른 gum류에 비해 HPMC가 반죽의 가스 보유력을 향상시키는데 가장 적당하기 때문이며, 첨가제는

가스보유력과 수분흡수력에 의해 결정되어야 한다고 하였다. 본 실험에서도 HPMC가 XG보다는 높은 부피 증가를 보였으나, fiber첨가구에 비해서는 낮게 나타났다. Mathewson은 초기 발효시 반죽이 많이 팽창하더라도, 가스 보유력이 부족하면 제품의 부피를 감소시킨다고 하였다. 또한, 반죽의 점성은 이상적인 식빵의 모양을 결정하는 중요한 인자로서 낮은 점성은 굽는 과정에서 가스 보유력이 약하고, 점성이 너무 높으면 제품의 팽창정도가 부적합하다고 하였다. 육 등은 멧게 껍질 섬유소를 20% 이상 첨가하는 섬유소의 높은 보수력에 의한 글루텐의 불완전한 수화 작용으로 반죽의 발달이 저하되었다고 보고하였다. 본 실험에서 fiber 첨가구의 부피가 가장 좋았던 것은 쌀가루와 밀가루의 혼합분에 결명자 식이섬유를 첨가함으로써 수분보수력과 가스 보유력이 좋아지고, 반죽의 점성이 식빵 제조에 가장 적합하였기 때문으로 사료된다.

Table 5-20. The effect of *Cassia tora* fiber, HPMC and xanthan gum on the bread making of wheat flour/rice flour

	control	fiber	HPMC	xanthan gum
Expansion ratio of dough(%)	1.9	201	2.0	1.8
Loaf wt.(g)	568.7	561.9	549.4	562.4
Baking loss ratio (%)	14.3	17.5	18.8	17.2
Loaf vol.(cm ³)	1120	1440	1160	940
Specific vol. (cm ³ /g)	1.97	2.56	2.11	1.67

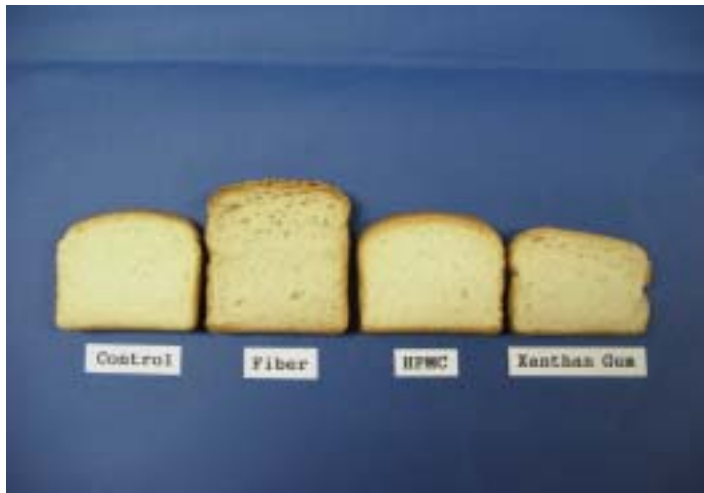


Figure 5-2. Effect of *Cassia tora* fiber, HPMC and xanthan gum on the appearance of bread

다. 식빵의 색도

Table 5-21에 식빵의 crust와 crumb에 대한 색도 측정결과를 나타내었다. 처리 구별로 색도의 차이가 있었으며, crust의 경우 XG는 L값이 65.4로 가장 높았고 a 값은 가장 낮은 것으로 나타났다. 반면 fiber는 L값이 50.8로 가장 낮았고, a값은 12.6으로 가장 높은 것으로 나타나 fiber첨가가 식빵의 색상을 어둡게 하는 경향이 있음을 알 수 있었다. 또한, crumb의 색도 측정결과 L값의 경우 XG가 78.1로 가장 밝은 반면, fiber는 72.3으로 가장 어두운 것으로 나타나, crust 색도와 같은 경향을 나타내었다. 김 등은 미강 식이섬유 추출물을 식빵에 첨가할 경우 어두운 색을 나타내는 경향을 보였으며, Marconi et al.은 고식이섬유 pasta 제조시 보리가루 첨가가 제품의 색상을 어둡게 하고 b값을 낮추었다고 하였다. Arzu et al.과

Sharp *et al.*의 연구에서도 barley bran과 rice bran 첨가가 제품의 색상을 어둡게 하였다. Pomeranz *et al.*은 fiber첨가에 따른 제품의 색상 측정결과 bran은 crust와 crumb의 색상을 어둡게 하였으나, cellulose 첨가시는 crust의 색상이 밝아졌다고 하였다. Sosulski *et al.*은 wheat bran첨가시 L값은 낮아지고 b값은 높아졌으나, corn bran 첨가시는 반대의 경향을 보였다고 하였다. 김 등은 밀가루에 미강 식이섬유를 첨가하여 국수를 제조할 경우 L값이 급격히 감소하였으며, 이것이 품질저해 요인으로 작용한다고 하였다. 본 연구에서 fiber 첨가시 색상이 어두워진 것은 fiber 자체의 색상으로 인한 영향으로 보인다.

Table 5-21. Color value of baked bread containing *Cassia tora* fiber, HPMC or xanthan gum

	control	fiber	HPMC	xanthan gum
crust				
L ^{**1)}	58.91±3.11 ^{b2)}	50.82±3.17 ^c	56.69±2.36 ^b	65.39±2.13 ^a
a ^{**}	11.5±1.18 ^a	12.66±0.63 ^a	11.79±1.14 ^a	9.00±0.45 ^b
b ^{**}	30.72±1.50 ^a	25.75±1.88 ^b	30.40±0.51 ^a	31.98±0.18 ^a
crumb				
L ^{***}	75.67±0.15 ^b	72.28±1.27 ^c	77.30±0.53 ^a	78.13±0.49 ^a
a ^{**}	-1.69±0.09 ^c	-1.01±0.12 ^a	-1.56±0.16 ^c	-1.20±0.03 ^b
b [*]	14.77±0.44 ^b	14.55±0.81 ^b	14.76±0.39 ^b	16.10±0.20 ^a

1) *, **, *** means significant at p<0.05, 0.01, 0.001 level, respectively

2) Mean value of Scores with same alphabet were not significantly different

라. 식빵의 조직감 측정

Fiber와 HPMC, XG첨가에 따른 식빵의 조직감 측정결과를 Table 5-22 에 나타

내었다. Springness와 cohesiveness는 처리구별로 유의차가 없는 것으로 나타났으나, gumminess, hardness, chewiness의 경우는 fiber가 가장 작고, XG가 가장 큰 것으로 나타났다. Gumminess의 경우 fiber는 396.7로 가장 낮고 XG가 1426.7로 XG가 가장 높았으며, hardness의 경우도 fiber가 836.7로 가장 낮았고 다음은 HPMC였으며 XG가 2822.9로 XG가 가장 높았다. 또한 chewiness도 gumminess, hardness와 동일한 경향을 나타냈다. 김 등은 솔잎추출물을 이용한 제빵에서 부피가 가장 큰 첨가구에서 hardness가 가장 낮은 경향을 보였다고 하였으나, 김 등은 미강 식이섬유의 첨가에 의해 국수의 hardness, gumminess, chewiness가 증가한다고 보고하였다. 본 실험에서는 전반적인 조직감에서 fiber가 가장 낮은 hardness, gumminess, chewiness를 보였는데, 이는 제빵 시 fiber 첨가군에서 부피 증가율이 가장 좋았던 것과 연관이 있는 결과라고 사료된다.

Table 5-22. Texture profile analysis of baked bread containing *Cassia tora* fiber, HPMC or xanthan gum

	control	fiber	HPMC	xanthan gum
Springness	0.87 ^{ns}	0.89	0.87	0.89
Gumminess ^{***}	829.48 ^{b1)}	396.68 ^c	727.05 ^b	1426.68 ^a
Cohesiveness	0.47 ^{ns}	0.47	0.47	0.51
Hardness ^{***}	1797.7 ^b	836.7 ^c	1555.3 ^b	2822.9 ^a
Chewiness ^{***}	716.99 ^b	354.16 ^c	624.92 ^b	1278.07 ^a

1) The values with same alphabet were not significantly different at $p < 0.001$

5. 식빵의 관능검사

Table 5-23은 쌀가루 첨가 식빵에 대한 각 처리구별 관능검사 결과를 나타낸

것이다. 외관의 경우 대조구가 가장 좋았고, HPMC, Fiber, XG의 순으로 XG의 외관 가장 낮은 점수를 나타내었다. 제품의 색상도 대조구>HPMC>fiber>XG순이었으나, 처리구별 유의차는 없는 것으로 나타났다. 반면 맛에 있어서는 대조구>fiber>XG>HPMC의 순으로 HPMC 첨가시 맛에 대한 기호도가 떨어짐을 알 수 있었다. 제품의 향과 조직감의 경우 fiber 첨가시 대조구에 비해 좋은 것으로 나타났으며, 특히 조직감에 있어서는 다른 처리구에 비해 월등히 높은 기호도를 보였다. 강 등은 부피 증가율이 큰 쌀빵 반죽일수록 폭신함 감이 있는 쌀빵 특성을 나타내었고, 촉촉한 정도가 큰 쌀빵 일수록 경도와 씹힘성이 낮은 부드럽고 응집력이 큰 쌀빵 특성을 나타낸다고 보고하였다. 본 실험결과 fiber첨가시는 hardness와 chewiness가 낮은 것이 제품의 부드럽고 촉촉한 정도를 증가시킨 것으로 사료된다. 쌀식빵에 HPMC를 3% 첨가할 경우 반죽의 충분한 수분함량으로 조직감이 우수한 제품을 만들었다는 보고가 있으며 Nishita 등은 호화 개시온도가 낮고, 최종 점도가 낮을수록 쌀식빵의 품질이 좋다고 하였으나, 본 실험에서는 HPMC 첨가시 개시온도가 낮고 최종점도가 낮은 반면 식빵의 품질은 fiber에 비해 좋지 못한 것으로 나타났다. fiber 첨가로 제품의 조직이 거칠고 단단해졌다는 보고와 oat bran 첨가시 빵겉질이 짙고 표면이 거칠어지며 부피가 감소하였다는 보고, rice bran 첨가시 색상이 어둡고 조직이 거칠고 견고해진다는 보고 등이 있는 반면 D'appolonia *et al.*은 oat bran 첨가시 밀가루식빵에 비해 맛과 향에서 더 좋은 기호도를 보였다고 하였다. 그러나, 곡류관련 식이섬유 소재는 곡류나 식물성 원료에 함유되어 있는 5% 이하의 식이섬유는 정제하기가 어려워 곡류 등을 직접 첨가하기 때문에 제품의 품질에 영향을 주는 것이라고 하였다. 즉, 이들 곡류를 직접 첨가할 경우 제품의 맛과 향에 대한 특성은 개선되더라도 조직과 색상에 영향을 미쳐 기호도가 낮게 나타나는 것으로 사료된다. 본 실험에 사용된 결명자 식이섬유는 결명자 중 식이섬유만을 추출하여 첨가한 시도로 종합적인 관능검사 결과 쌀가루 첨가 식빵에 결명자 식이섬유를 첨가할 경우 HPMC나 XG를 첨가할 때보다 우수하였으며, 대조구에 비해 유의차가 없는 것으로 나타나 결명자의 식이섬유는 쌀첨가 식빵의 품질을 증진시킬 뿐 아니라 제품의 식이섬유 강화를 위해서도 유

효한 것으로 판단되었다.

Table 5-23. The effect of *Cassia tora* fiber, HPMC and xanthan gum on sensory evaluation score of baked bread

	control	fiber	HPMC	xanthan gum
Appearance	6.28 ^{a1)}	5.25 ^{ab}	5.38 ^{ab}	4.25 ^b
Color	6.25 ^{ns}	5.25	5.88	5.00
Flavor	5.63 ^{ns}	5.88	4.75	5.00
Taste	6.13 ^{ns}	6.00	4.50	5.38
Texture	5.63 ^{††}	6.63 ^a	4.50 ^b	4.25 ^b
Overall acceptability*	6.75 ^a	6.00 ^{ab}	4.63 ^b	4.63 ^b

^{a1)} Mean value of scores with same alphabet were not significantly different

참 고 문 헌

1. Kang M. Y., Choi Y. H. and Choi H. C.. Effects of gums, fats and glutens adding on processing and quality of milled rice bread. Korean J. Food Sci. Technol. 29:700-704(1997)
2. Kang M. Y., Choi Y. H. and Choi H. C.. Compositions of some characteristics relevant to rice bread processing between brown and milled rice. Korean J. Soc. Food Sci. 13:64-69(1997)
3. Nisita K. D., Roberts R. L. and Bean M. M.. Development of a yeast-leavened rice-bread formula. Cereal Chem. 53:626-635(1976)
4. Lee Y. T.. Formula optimization for rice bread with soy flour substitution. Foods and Biotechnol. 3:226-232(1994)
5. Kim S. S. and Kim Y. J.. Characteristics of rice muffins containing various combinations of nonwaxy/waxy rice flour. Foods and Biotechnol. 2:117-122(1993)
6. Nishita K. D. and Bean M. M.. Physicochemical properties of rice in relation to rice bread. Cereal Chem. 56:185-189(1979)
7. Stauffer C. E.. Dietary fiber:analysis, physiology and calorie reduction pp. 386-391. In : Advances in baking technology. Blackie Academic & Professional. UK(1993)
8. Pomeranz Y. Shogren M. D., Finney K. F. and Bechtel D. B.. Fiber breadmaking-effects on functional properties. Cereal Chem. 54:25-41(1977)
9. Ang J. F. and Miller W. B.. Multiple functions of powdered cellulose as a food ingredient. Cereal Foods World. 36:558-564(1991)
10. Ang J. F.. Powdered cellulose and the development of new generation healthier foods. Cereal Foods World. 46:107-111(2001)
11. D'appolonia B. L. and Youngs V. L.. Effect of bran and high-protein

concentrate from oats on dough properties and bread quality. *Cereal Chem.* 55:736-743(1978)

12. Hudson C. A., Chiu M. M. and Knuckles B. E.. Development and characteristics of high-fiber muffins whit bran, rice bran, or barley fiber fractions. *Cereal Foods World.* 37:373-378(1992)

13. Sosulski F. W. and Wu K. K.. High-fiber breads containing field pea hulls, wheat, corn and wild oat brans. *Cereal Chem.* 65:186-191(1988)

14. Kim Y. S., Ha T. Y., Lee S. H. and Lee H. Y.. Properties of dietary fiber extract from rice bran and application in bread-making. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29:502-508(1997)

15. Skurray G. R., Wooldrige D. A. and Nguyen Minh. Rice bran as a source of dietary fibre in bread. *J. Food Technol.* 21:727-730(1986)

16. Sharp C. Q. and Kitchens K. J.. Using rice bran in yeast bread in a home baker. *Cereal Foods World.* 35:1021-1023(1990)

17. Arzu Bařman and Hamit Kksel. Properties and composition of Turkish flat bread(Bazlama) supplementes with barley flour and wheat bran. *Cereal Chem.* 76:506-511(1999)

18. Kim E. J. and Kim S. M.. Bread properties utilizing extracts of pine needle according to preparation method. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30:542-547(1998)

19. Christianson D. D., Hodge J. E., Osborne D. and Detroy R. W.. Gelatinization of wheat starch as modified by xanthan gum, guar gum, and cellulose gum. *Cereal Chem.* 58:513-517(1981)

20. Kim Y. S., Ha T. Y., Lee S. H. and Lee H. Y.. Effects of rice bran dietary fiber on flour rheology and quality of wet noodles. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29:90-95(1997)

21. Lee Y. H. and Moon T. W.. Composition, water-holding capacity and effect on starch retrogradation of rice bran dietary fiber. *Korean J. Food Sci.*

Technol. 26:288-294(1994)

22. Kang K. C., Baek S. B. and Rhee K. S.. Effect of the addition of dietary fiber on staling of cakes. Korean J. Food Sci. Technol. 22:19-25(1995)

23. Cho M. K. and Lee W. J.. Preparation of high-fiber bread with barley flour. Korean J. Food Sci. Technol. 28:702-706(1996)

24. Yook H. S., Kim Y. H., Ahn H. J., Kim D. H., Kim J. O. and Byun M. W.. Rheological properties of wheat flour dough and qualities of bread prepared with dietary fiber purified from ascidian(*Halocynthia roretzi*) tunic. Korean J. Food Sci. Technol. 32:387-395(2000)

25. Chen F., Rubenthaler G. L. and Schanus E. G.. Effect of apple fiber and cellulose on the physical properties of wheat flour. J. Food Sci. 52:304-305(1998)

26. Mathewson P. R.. Enzymatic activity during bread baking. Cereal Foods World. 45:98-101(2000)

27. Marconi E., Graziano M. and Cubadda R.. Composition and utilization of barley pearling by-product for making functional pastas rich in dietary fiber and β -glucans. Cereal Chem. 77:133-139(2000)

제6장 결명자 추출물(식이섬유조성물)이 고지혈증 환자의 혈중 지질함량에 미치는 영향

고지혈증은 혈장내 cholesterol이나 LDL-Cholesterol, triglyceride가 상승하거나 HDL-cholesterol이 감소하여 나타나는 것으로 인종이나 성별 등의 유전적 원인이거나 환경적 요인 등이 작용하여 나타나는 것이다. 고지혈증은 식생활이 서구화되면서 지방의 섭취가 증가함과 비례하여 늘어나고 있는 동맥경화, 관상동맥질환 같은 심혈관계 질환의 독립적인 위험인자로 알려져 있고 최근에는 고지혈증뿐이던 환자에게서 고혈압이나 당뇨병이 합병되는 경우가 늘어나는 등 건강한 생활의 위험요인이 되고 있다. 때문에 고지혈증 치료를 위한 여러 연구들이 있어왔고 그 중 식이와 관련한 것으로 섬유소에 관한 많은 연구가 있어왔다. 섬유소 중 수용성 섬유소가 콜레스테롤을 낮추어 준다는 알려져 있으며 섬유소의 종류에 따라 체내 지질 대사에 다양한 효과들이 있음이 보고되고 있고 최근에는 천연물에서 체내 지질 수준을 개선할 수 있는 소재 개발에 관심이 높아지고 있다. 이와 더불어 항산화 비타민 또한 심혈관계질환의 위험인자인 oxidized LDL-cholesterol의 생성을 막아 심혈관계질환의 예방 및 치료제로 주목을 받고 있는 것으로 이런 항산화 비타민과 새로운 식품 소재로서 결명자의 수용성 섬유를 함께 고지혈증 환자에게 보충제로 섭취하도록 하였을 때 고지혈증 환자의 혈중 지질 수준에 어떤 영향을 미치는지 알아보고자 하였다. 이를 위해 연구 대상자를 당뇨병 환자 중 고지혈증 환자로 하였으며 대조군과 결명자 보충제를 먹는 환자군의 식생활, 생활습관, 식품 섭취빈도, 식품섭취량 및 혈청 지질, 항산화 비타민, 혈당, 혈청 지질과산화물을 비교 조사하였다.

1. 실험재료 및 방법

가. 결명자 식이섬유 보충제

실험에 사용한 결명자 식이섬유 보충제는 제 5장에 언급한 과립화 제품을 이용하였는데, 즉 결명자 수용성 식이섬유 추출물에 항산화 비타민을 첨가하여 조제하였고 총 3g을 1회분으로 개별 포장하였다. 대조군에게 투여할 위약은 maltodextrin 2.7g에 부형제 0.3g을 섞어 과립형태로 만들었고 제조시 갈색 식용색소를 첨가하여 결명자 보충제와 비슷한 색이 나도록 하였다. 위약도 결명자 보충제와 마찬가지로 1회분씩 개별 포장하였다.

나. 연구 대상자 선정

연구대상자는 2002년 5월부터 10월까지 대구가톨릭대학병원 내분비내과에서 당뇨병 치료를 받는 환자 중 고지혈증 환자 50명(남자 20명, 여자 30명)으로 하였다. 대상자에게 연구에 참여하겠다는 동의서를 받은 후 나이와 성을 고려한 무작위할당과정을 거쳐 24명을 결명자 투여군으로 26명을 위약투여군으로 정하였다. 2개월 동안의 투여기간 중 결명자 투여군에서 2명이 탈락하여 22명(91.7%)이, 위약 투여군에서는 7명이 탈락하여 19명(73.1%)이 임상시험을 마쳤다. 탈락사유는 위장장애를 호소한 사람이 결명자 투여군 1명, 위약 투여군 4명으로 총 5명이었고 자진탈락이 위약 투여군에서 2명이었으며 다른 질병으로 인한 탈락이 위약 투여군에서 1명, 사고로 인한 탈락이 결명자 투여군에서 1명이었다.

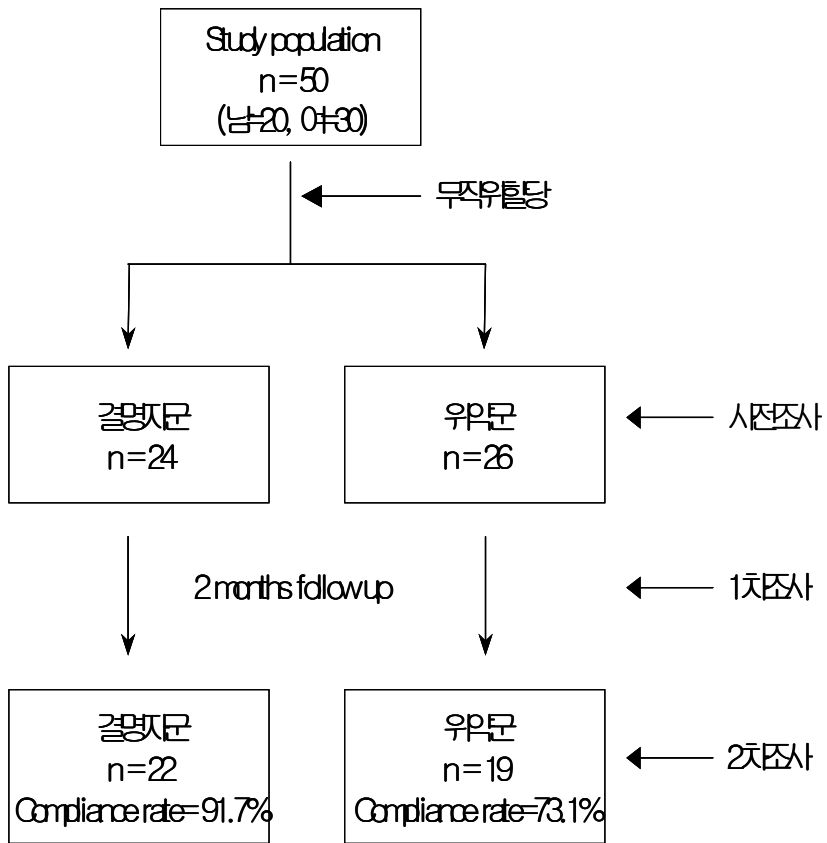


Fig 6-1. Frame of study design

다. 연구내용

연구대상자에게 결명자 보충제와 위약을 투여하기 전에 기초 설문조사, 신체계측 조사, 혈액검사, 혈액 생화학검사를 하였고 1개월 투여 후와 2개월 투여 후 각각 설문조사와 신체검사, 혈액검사, 혈액 생화학검사를 하였다.

1) 설문조사

설문조사지는 대상자의 일반적 특성(연령, 성별, 직업, 진단병명, 유병기간, 가족 관계, 교육수준, 합병증 및 동반질환), 생활습관(음주, 흡연, 운동, 영양제 복용, 건강식품 섭취, 스트레스), 식습관, 식품섭취빈도, 24시간 회상법을 이용한 식품섭취량조사지로 구성되었다.

식습관조사는 식사량, 식사의 규칙성, 식품의 배합, 음식의 간을 묻는 4개 항목으로 구성하였고 항목당 1~3점을 주어 총 12점으로 하였다.

식품섭취빈도는 18종의 식품군에 대해 주 1회 미만 또는 전혀의 경우 0점, 주 1회는 1점, 주 2~3회는 2점, 주 4~5회는 3점, 하루 1~2회는 4점, 하루 3회는 5점을 주어 제한식품과 권장식품의 섭취정도를 파악하였다.

24시간 회상법을 이용한 식품섭취량조사는 조사 전날 하루동안 섭취한 모든 식품의 종류와 양을 조사하고 이것을 CAN-pro(v. 1.0)를 이용하여 영양소섭취량을 산출하였다. 식품섭취량조사는 사전에 훈련을 받은 조사자가 직접 면담으로 실시하였고 분량에 대한 기억을 돕기 위해 실제크기의 식품 모형과 음식사진을 사용하였다.

2) 신체계측조사

신장, 체중, 허리둘레, 엉덩이둘레를 조사하여 body mass index [BMI : 체중(kg)/신장(m)²] 와 waist hip ratio [WHR : 허리둘레(cm)/엉덩이둘레(cm)를 계산

하였다. 신장은 비만도측정기(Fanics)를 사용하여 측정하였고 체중은 체성분검사기(Inbody 3.0, 바이오스페이스)에서 측정한 값을 사용하였다. 허리둘레와 엉덩이 둘레는 훈련받은 조사자가 줄자로 직접 측정하였다. 혈압은 대상자가 조사를 위해 병원을 방문한 당일의 혈압을 전자식혈압계(BP705 메스메드시스템)를 사용하여 측정하였다.

3) 혈액검사

대구가톨릭대학병원 임상병리실에서 자동분석기(HIDACHI Japan, INTEGRA, Swiss)를 사용하여 측정한 Triglyceride, Cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Apo A1, Apo B, glucose, HbA1c, AST, ALT, BUN, Creatinine 자료를 사용하였다.

4) 혈액 생화학검사

혈청 retinol과 α -tocopherol을 HPLC를 이용하여 분석하였고 혈청 과산화지질은 형광법으로 측정하였다. 실험에 사용한 혈청은 분석 때까지 -70°C 에서 보관하였다가 retinol, α -tocopherol, 혈청 과산화지질(TBARS) 측정에 사용하였다.

5) 투여

결명자 보충제나 위약은 매달 진료를 위해 병원을 방문할 때 설문조사와 혈액 검사를 한 후 1달분씩 2차례 배부하였고 하루에 2회씩 섭취하도록 하였다. 투여 확인을 위해 1달에 2~3회씩 정기적으로 전화를 하여 투여 여부를 점검하였으며 다음 조사시 잔량을 확인하여 투여상태를 재확인하였다. 결명자 보충제의 효과에 대한 다른 요인들의 영향을 최소화하기 위해 시험기간 동안 대상자의 식습관이나

생활습관, 영양제 및 건강식품 섭취, 병원에서 처방한 약의 복용이 변화하지 않도록 하였다.

6) 투여 후 평가조사

결명자 보충제나 위약은 2개월(60일)간 투여하였으며 투여 후 1달·2달에 기초 설문조사(일반적 특성, 식습관, 식품섭취빈도, 24시간 회상법을 이용한 식품섭취량 조사, 신체계측조사, 혈액검사, 생화학검사를 반복 실시하였다.

라. 분석방법

1) 혈청 retinol과 혈청 α -tocopherol 함량

혈청 retinol, α -tocopherol은 Bieri의 방법에 따라 retinol과 α -tocopherol을 동시에 정량하였다. 혈청 150 μ l에 internal standard로 retinyl acetate 50 μ l와 tocopheryl acetate 50 μ l를 가하여 잘 섞은 후 300 μ l hexane으로 추출하고, 0.45 μ m membrane filter(HAMILTON, USA)로 여과한 후 질소 가스로 건조시켰다. 건조된 지질 추출물은 methanol-diethyl ether 혼합액(60 μ l:20 μ l)으로 용해시키고 그중 20 μ l를 취해 HPLC에 주입하여 292nm에서 분석하였다. 용매는 methanol:H₂O (97:3)을, column은 Bondapak C₁₈(waters, USA)을 사용하였다. 분석에 사용한 시약은 Sigma와 Merck 제품을 사용하였다.

2) 혈청 과산화지질 분석

혈청과산화지질은 Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)를 측정하는 Yagi법에 따라 측정하였다. 혈청 0.1ml에 1/12N H₂SO₄ 4ml와 10% phosphotungstic acid 0.5ml를 가한 후 실온에서 5분간 반응시킨 다음 4,000rpm에

서 10분간 원심분리하여 상층액은 제거하고 침전물에 다시 1/12N H₂SO₄ 2ml와 10% phosphotungstic acid 0.3ml를 가하여 반응시킨다. 이것을 다시 4,000rpm에서 10분간 원심분리하고 상층액을 제거한 후 침전물에 1/12N H₂SO₄ 4ml와 0.67% thiobarbituric acid 1ml를 가한다. 이것을 95℃ 수조에서 1시간 반응시킨 후 즉시 냉각시켜 n-butanol 5ml을 가하고 4,000rpm에서 15분간 원심분리하여 n-butanol층을 취해서 excitation 515nm, emission 553nm에서 spectrophotofluorometer (Farrand, MK2, USA)를 사용하여 형광을 측정하였다. 표준품은 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 사용하였다.

3) 통계분석

본 시험결과는 SAS를 사용하여 평균치와 표준 오차를 산출하였으며 P<0.05수준에서 유의성을 검증하였다. 결명자 보충제 투여군과 위약 투여군의 투약 전·후의 비교는 paired t-test를, 일반적인 특성은 chi-square를 사용하였고 결명자 보충제 투여 전의 두 집단간의 기초조사의 차이를 보정하기 위해 공분산분석 (ANOCOVA : Analysis of covariance)을 실시하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 연구대상자의 특성

1) 일반적인 특성

결명자 보충제 투여군과 위약 투여군의 투여전의 각종 특성들을 비교한 결과는 Table 6-1과 같다. 두 군의 평균연령은 결명자 보충제 투여군이 56.1 ± 2.8 세이고 위약 투여군이 57.1 ± 2.3 세로 비슷하였으며 두 군의 남자 비율도 결명자 보충제 투여군은 40.9%(n=9), 위약 투여군은 42.1%(n=8)로 비슷하였다. 교육수준은 무학이 위약 투여군에서 5.3%(n=1), 결명자 보충제 투여군에서 13.6%(n=3)이었고 초등학교 졸업이 위약 투여군에서 26.3%(n=5), 결명자 보충제 투여군에서 9.1%(n=2), 고등학교 졸업이 위약 투여군에서 31.6%(n=6), 결명자 보충제 투여군에서 22.7%(n=5), 전문대 졸업 이상이 위약 투여군에서 15.8%(n=3), 결명자 보충제 투여군에서 31.8%(n=7)로 약간의 차이가 있었으나 유의적 차이는 아니었다. 가족구성에서도 결명자 보충제 투여군에서 배우자와 사는 비율이 22.7%(n=5)로 위약 투여군의 15.8%(n=3)보다 약간 높았으나 유의한 차이는 아니었으며 다른 항목은 두 군 모두 비슷하였다. 합병증 및 동반질환을 가진 경우의 비율은 위약 투여군이 36.8%(n=7)이었고 결명자 보충제 투여군에서는 59.1%(n=13)로 다소 차이가 있었지만 유의적 차이는 아니었다.

Table 6-1. General characteristics of study subjects at baseline level

	Placebo		Cassia Tora		P value ¹⁾
	No	%	No	%	
Age(years)					
50 -	15	79.0	16	72.7	0.6437
< 50	4	21.1	6	27.3	
Mean±SE	57.1 ± 2.3		56.1 ± 2.8		0.2090
Gender					
Male	8	42.1	9	40.9	0.9382
Female	11	57.9	13	59.1	
Educational level					
Illiterate	1	5.3	3	13.6	0.4212
Graduate elementary school	5	26.3	2	9.1	
Graduate middle school	4	21.1	5	22.7	
Graduate high school	6	31.6	5	22.7	
College and above	3	15.8	7	31.8	
Family type					
Alone	2	10.5	2	9.1	0.7995
with spouse	3	15.8	5	22.7	
with children	2	10.5	3	13.6	
with spouse and children	10	52.6	9	40.9	
with parent, spouse and children	2	10.5	2	9.1	
the others	0	0.0	1	4.6	
Complication					
Yes	7	36.8	13	59.1	0.1553
No	12	63.2	9	40.9	

1) P value by Chi-square

Placebo n=19, Cassia.Tora n=22

2) 생활습관

생활습관 비교는 Table 6-2와 같다. 위약 투여군의 현재 흡주율은 31.6%(n=6)이고 결명자 보충제 투여군의 현재 흡주율은 27.3%(n=6)로 비슷하였으며 현재 흡연율도 위약 투여군이 15.8%(n=3), 결명자 보충제 투여군은 13.6%(n=3)으로 비슷하였다. 주 3회 이상 운동하는 사람의 비율은 위약 투여군이 63.2%(n=12)이고 결명자 보충제 투여군은 50.0%(n=11)이었으며 주 1~2회 운동하는 사람의 비율은 위약 투여군이 10.5%(n=2), 결명자 보충제 투여군이 18.2%(n=4)로 약간의 차이는 있었으나 유의적 차이는 없었다. 영양제를 섭취하는 비율도 위약 투여군이 26.3%(n=5), 결명자 보충제 투여군이 36.4%(n=8)로 결명자 보충제 투여군에서 영양제를 먹는 비율이 높았으나 유의적 차이는 아니었다. 건강식품을 섭취하는 비율은 위약 투여군이 66.7%(n=14), 결명자 보충제 투여군이 36.4%(n=8)로 위약 투여군에서 건강식품 섭취가 많았다. 섭취하는 건강식품 중 가장 많은 비율을 차지한 것은 누에환(16.2%)이었고 그 다음은 홍삼(13.5%), 다시마과립(10.8%), 키토산(8.1%), 오가피(2.5%) 순 이었다. 스트레스는 가끔 스트레스를 받는 사람이 위약 투여군에서 47.4%(n=9), 결명자 보충제 투여군에서 54.6%(n=12)였으며 늘 스트레스가 있는 사람의 비율이 위약 투여군에서는 5.3%(n=1), 결명자 보충제 투여군에서는 18.2%(n=4)로 다소 차이가 있었으나 유의적인 차이는 아니었다.

3) 신체계측조사

두 군의 조사시작 시점에서의 신체계측 결과 비교는 Table 6-3과 같다. 결명자 보충제 투여군이나 위약 투여군에서 키, 체중, BMI, WHR은 모두 비슷하였으며 결명자 보충제 투여군의 수축기 혈압과 확장기 혈압이 다소 높았으나 유의적 차이는 없었다.

Table 6-2. Health related characteristics of study subjects
at baseline level

	Placebo		Cassia Tora		P value ¹⁾
	No	%	No	%	
Alcohol drinking					
Current	6	31.6	6	27.3	0.4518
Quit	1	5.3	4	18.2	
Never	12	63.2	12	54.6	
Smoking					
Current	3	15.8	3	13.6	0.9554
Quit	3	15.8	3	13.6	
Never	13	68.4	16	72.7	
Exercise					
≥ 3 times/week	12	63.2	11	50.0	0.6609
1~2 times/week	2	10.5	4	18.2	
Little or none	5	26.3	7	31.8	
Taking nutrient supplementation					
Yes	5	26.3	8	36.4	0.4905
No	14	73.7	14	63.6	
Taking healthy food					
Yes	14	66.7	8	36.4	0.0469
No	7	33.3	14	63.6	
Stress					
Never	0	0.0	1	4.6	0.2928
Occasionally	9	47.4	12	54.6	
Often	5	26.3	4	18.2	
Almost always	4	21.1	1	4.6	
Always	1	5.3	4	18.2	

1) P value by Chi-square

Placebo n=19, Cassia.Tora n=22

나. 결명자 보충제 섭취후의 변화

1) 신체계측치

키, 체중, BMI, WHR 및 혈압은 위약 투여군과 결명자 보충제 투여군 사이에 실험시작에서 차이가 없었으며 위약이나 결명자 보충제 투여 전 후의 신체계측조사 결과에서도 차이가 없었다 (Table 6-3).

Table 6-3. The change of anthropometric indices in study subjects

	Before	After ¹⁾	difference	P value ²⁾	P value ³⁾
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE		
Height (m)					
Placebo	1.596±0.01	1.604±0.01	0.002±0.00	0.1677	0.1679
C.Tora	1.609±0.02	1.607±0.02	-0.002±0.00	0.3919	
Weight (kg)					
Placebo	59.4±1.6	60.1±1.7	-0.2±0.3	0.5847	0.4413
C.Tora	62.3±1.8	62.5±2.0	0.2±0.3	0.4053	
BMI (kg/m²)					
Placebo	23.4±0.5	23.3±0.5	-0.1±0.1	0.2926	0.1308
C.Tora	24.0±0.4	24.1±0.4	0.1±0.1	0.3777	
WHR					
Placebo	0.88±0.01	0.88±0.01	0.00±0.01	0.8622	0.3365
C.Tora	0.89±0.01	0.90±0.01	0.01±0.01	0.3406	
DBP (mmHg)					
Placebo	69.1±2.8	69.4±2.2	0.4±2.6	0.8878	0.1643
C.Tora	75.6±2.9	78.9±3.7	2.8±4.4	0.5298	
SBP (mmHg)					
Placebo	127.2±4.4	125.9±4.7	-3.9±3.5	0.2777	0.2288
C.Tora	133.7±3.7	133.9±3.1	-0.1±3.8	0.9706	

1) 2 months after

2) P value by paired t-test 3) p value by ANOCOVA(analysis of covariance)

나. 식습관 및 식품섭취빈도

위약군 및 결명자 보충제 투여군에서 실험 전과 후의 식습관과 식품섭취빈도의 변화는 Table 6-4와 같다. 위약 투여군과 결명자 보충제 투여군 모두 투여 전 후에 식습관의 변화는 거의 없었으며 2개월 후에 두 군간의 식습관 점수도 유사했다. 위약 투여군의 식품섭취빈도 점수는 유의한 차이는 아니었으나 조사전보다 약간 높아졌으며 2개월 후 두 군간의 식품섭취빈도 점수도 유의한 차이는(<0.05) 아니었으나 위약 투여군이 높았다.

Table 6-4. The change of food habit score and food frequency score in study subjects

	Before	After ¹⁾	difference	P value ²⁾	P value ³⁾
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE		
Food habit score					
Placebo	8.6±0.4	8.5±0.5	0.0±0.2	1.0000	0.9568
C.Tora	8.7±0.4	8.6±0.4	-0.1±0.3	0.8829	
Food frequency score					
Placebo	28.5±2.7	33.7±1.9	3.7±2.3	0.1333	0.0711
C.Tora	28.7±0.9	29.2±1.5	0.5±1.5	0.7443	

1) 2 months after, 2) P value by paired t-test

3) p value by ANOCOVA(analysis of covariance)

2) 영양소 섭취량

위약과 결명자 보충제 투여 전 후의 영양소 섭취량 변화는 Table 6-5와 같다. 두 군은 실험 시작 전에 차이가 없었다. 위약 투여군과 결명자 보충제 투여군 모두 투여 전보다 열량을 비롯한 달량 영양소의 섭취가 많아지고, Ca, Fe, 비타민 A와 C 등이 모두 감소하는 경향이었으나 유의한 차이는 아니었다.

Table 6-5. The change of daily mean dietary nutrient intakes
in study subjects

	Before	After¹⁾	difference	P value²⁾	P value³⁾
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE		
Energy (kcal)					
Placebo	1653.3±143.9	1752.6±99.3	99.3±168.0	0.5633	0.0968
C.Tora	1439.1±72.5	1520.7±72.5	81.7±95.4	0.4014	
Protein (g)					
Placebo	64.9±5.5	70.0±5.8	5.0±6.7	0.4636	0.1494
C.Tora	56.1±5.0	58.2±3.9	2.1±5.7	0.7239	
Fat (g)					
Placebo	32.7±3.9	37.8±4.4	5.1±5.7	0.3899	0.2307
C.Tora	28.2±2.4	31.1±3.0	2.8±3.7	0.4561	
Carbohydrate (g)					
Placebo	269.7±27.6	277.8±13.0	8.1±31.6	0.8017	0.1127
C.Tora	240.7±12.9	247.5±11.5	6.8±14.9	0.6527	
Fiber (g)					
Placebo	6.88±0.91	6.17±0.67	-0.71±1.18	0.5551	0.9672
C.Tora	5.27±0.54	6.03±0.47	0.76±0.61	0.2217	
Ca (mg)					
Placebo	587.6±90.0	568.9±100.7	-18.8±135.1	0.8915	0.3940
C.Tora	485.1±79.1	468.9±64.3	-16.2±101.8	0.8759	
P (mg)					
Placebo	1107.7±106.3	1109.6±102.4	1.9±144.3	0.9897	0.1952
C.Tora	928.8±82.4	937.7±68.3	9.5±103.0	0.9272	
Fe (mg)					
Placebo	13.79±1.77	11.51±1.16	-2.28±1.68	0.1943	0.6925
C.Tora	11.17±1.22	10.29±0.81	-0.87±1.16	0.4619	
Na (mg)					
Placebo	4057.9±554.7	3903.5±519.2	-154.4±548.7	0.7822	0.9375
C.Tora	3682.2±327.3	3753.3±357.4	71.1±481.6	0.8841	

	Before	After ¹⁾	difference	P value ²⁾	P value ³⁾
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE		
K (mg)					
Placebo	3075.0±354.7	2946.6±381.1	-128.4±438.7	0.7738	0.2917
C.tora	2335.9±188.5	2317.0±155.1	-18.9±196.9	0.9244	
Vitamin A (R.E)					
Placebo	1081.5±457.2	515.0±106.0	-566.4±469.4	0.2462	0.4394
C.tora	663.8±126.8	428.6±64.0	-235.2±157.1	0.1493	
Vitamin B₁ (mg)					
Placebo	1.241±0.164	1.061±0.103	-0.180±0.196	0.3722	0.7066
C.tora	0.870±0.062	1.084±0.127	0.215±0.123	0.0950	
Vitamin B₂ (mg)					
Placebo	0.928±0.100	1.023±0.115	0.095±0.170	0.5836	0.0514
C.tora	0.744±0.082	0.747±0.083	0.003±0.113	0.9809	
Niacin (mg)					
Placebo	15.9±1.2	17.3±2.4	1.4±2.8	0.6239	0.2443
C.tora	12.5±1.1	14.0±1.3	1.5±1.6	0.3611	
Vitamin C (mg)					
Placebo	107.1±17.3	82.9±13.6	-24.2±21.6	0.2811	0.8498
C.tora	86.0±13.7	77.7±9.5	-8.4±14.7	0.5753	
Cholesterol (mg)					
Placebo	102.3±25.0	187.6±37.8	85.3±45.8	0.0854	0.0981
C.tora	114.8±22.3	116.9±22.3	2.12±30.2	0.9448	

1) 2 months after

2) P value by paired t-test

3) p value by ANOCOVA(analysis of covariance)

섭유소와 나트륨 섭취가 결명자 보충제 투여군은 약간 높아졌지만 역시 투여 전과 큰 차이는 없었다. 기타 미량 영양소에서 섭취의 다소 변동이 있었으나 모두 통계적인 유의성은 없었다.

3) 혈청 지질 및 지단백질의 변화

결명자 보충제 투여군과 위약 투여군의 투여 전, 후 혈청 지질의 변화는 Table 6-6 및 Fig. 6-2와 6-3에 나타나 있다.

실험시작 전 위약군의 혈청 triglyceride가 결명자군에 비하여 평균적으로 높았으며 p값은 0.072였다. 그러나 그 외의 혈청지표들은 실험시작 전에 위약군과 결명자군은 거의 유사하였다. 결명자 투여로 2달 후 혈청 triglyceride가 50 mg/dl 감소하였고, 이러한 감소는 $p=0.1$ 정도의 수준이었다. 위약군도 감소하였으나 그 정도는 적었다.

혈청 cholesterol은 두 군 모두 1개월 후, 2개월 후 계속적으로 감소하였고 결명자 보충제 투여군이 위약 투여군보다 많이 감소하였다. (Fig. 6-2)

HDL-cholesterol은 투여 2달 후, 위약 투여군이 다소 감소하는 경향을 보이는 반면 결명자 보충제 투여군은 상승하는 경향을 보였고, 결명자군에서 Apo A1이 위약군에 비하여 증가한 것과 같은 변화였다. Apo A1이 HDL에 함유된 대표적인 apolipoprotein이라는 점을 고려하고 실제로 본 결과에서 건대 결명자군에서 HDL의 증가가 확실하다고 생각된다. 이것은 본 결과의 HDL-cholesterol과 Apo A1의 수준간의 높은 상관성(상관관계 계수 $r=0.90146$)에서도 확인할 수 있었다. 반면 LDL-cholesterol도 두 군 모두 감소하였으나 위약 투여군에서는 처음 1개월에 감소했다가 다시 상승한 반면 결명자 보충제 투여군에서는 계속 감소했다. LDL-cholesterol의 apolipoprotein인 Apo B도 두 군 모두 투여 전보다 유의적으로 감소하였는데($p<0.05$) 결명자 보충제 투여군에서 더 많이 낮아져 결명자 보충제 투여로 LDLdml 감소를 이중으로 확인하였다고 보겠다.

Table 6-6. The change of concentration of serum lipid in study subjects

	Before	After¹⁾	difference	P value²⁾	P value³⁾
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE		
Triglyceride (mg/dl)					
Placebo	177.8±9.7	158.0±9.0	-17.7±19.8	0.3888	0.9210
C.Tora	248.9±35.6	198.1±29.5	-50.7±29.0	0.1018	
Cholesterol (mg/dl)					
Placebo	225.8±10.4	217.0±7.6	-1.0±5.8	0.8660	0.0905
C.Tora	223.1±12.3	204.9±7.3	-18.2±9.6	0.0800	
HDL-cholesterol (mg/dl)					
Placebo	46.8±2.5	45.8±2.7	-1.0±1.4	0.4756	0.5079
C.Tora	41.6±1.8	41.9±2.4	0.3±1.4	0.8093	
LDL-cholesterol (mg/dl)					
Placebo	146.5±5.5	134.3±6.0	-7.9±5.4	0.1658	0.8924
C.Tora	142.6±10.1	133.6±7.3	-9.0±6.7	0.1994	
Apo A1 (mg/dl)					
Placebo	137.2±5.6	127.9±4.5	-7.6±2.9	0.0240	0.1875
C.Tora	121.8±7.5	127.0±5.8	5.1±5.2	0.3410	
Apo B (mg/dl)					
Placebo	120.2±3.7	103.6±4.3	-13.8±4.7	0.0121	0.9673
C.Tora	121.2±6.8	104.7±4.7	-16.4±5.9	0.0144	

1) 2 months after

2) p value by paired t-test

3) p value by ANOCOVA(analysis of covariance)

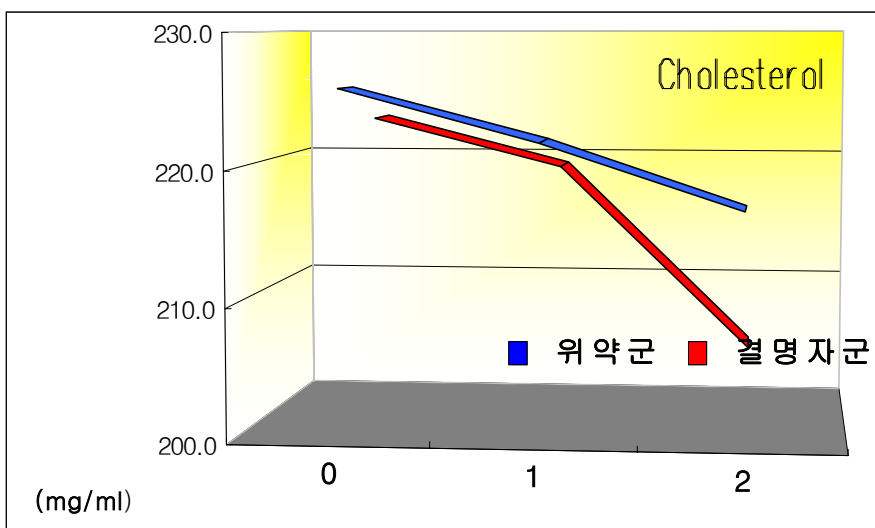
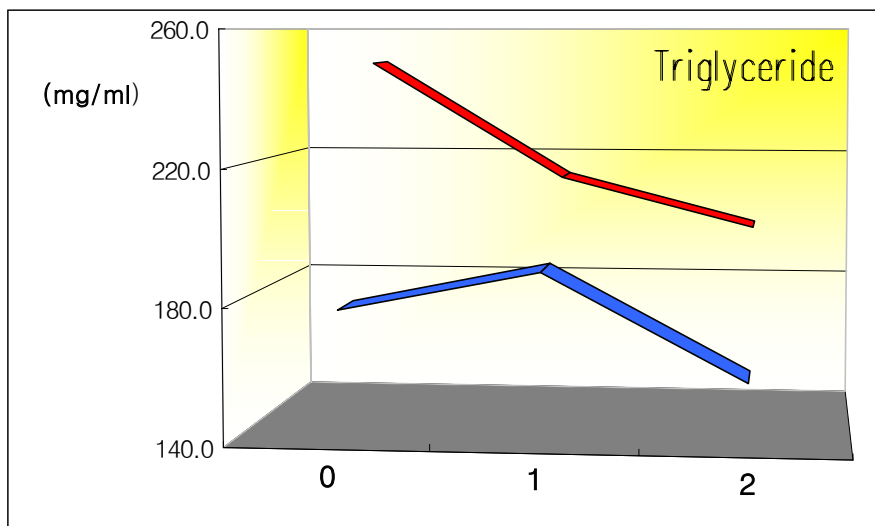


Fig. 6-2 The change of serum levels of triglyceride and cholesterol in hyperlipidemic patients

4) 혈당 및 기타 혈청 지표의 변화

위약과 결명자 보충제 투여 전 후의 공복시 혈당(FBS), HbA1c, BUN, Creatinine, AST, ALT의 변화는 Table 6-7과 같다. 공복시 혈당은 두 군 모두 투여전 보다 감소하였으나 결명자 보충제 투여군에서 더 큰 폭으로 감소하였다. HbA1c도 두 군 모두 투여 전보다 감소하였지만 유의적인 차이는 없었다. BUN은 두 군 모두 감소하고 Creatinine은 모두 약간 증가하였지만 유의적인 차이는 없었다. AST와 ALT도 유의적인 변화가 없었다.

Table 6-7. The change of concentration of serum glucose, HbA1c, BUN, Creatinine, AST, ALT in study subjects

	Before	After ¹⁾	difference	P value ²⁾	P value ³⁾
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE		
FBS (mg/dl)					
Placebo	225.8±10.4	217.0±7.6	-1.0±5.8	0.8660	0.1163
C.Tora	219.3±12.1	204.5±6.8	-14.8±9.7	0.1475	
HbA1c (%)					
Placebo	7.8±0.4	7.4±0.3	-0.3±0.2	0.1254	0.3731
C.Tora	7.8±0.4	7.7±0.4	-0.1±0.2	0.7739	
BUN (mg/dl)					
Placebo	16.1±0.7	15.2±0.9	-1.1±0.9	0.2200	0.5814
C.Tora	13.5±1.5	12.8±1.3	-0.7±1.0	0.4865	
Creatinine (mg/dl)					
Placebo	0.87±0.04	0.92±0.03	0.05±0.04	0.2735	0.6656
C.Tora	0.96±0.06	1.01±0.07	0.05±0.04	0.1911	
AST (IU/l)					
Placebo	22.3±1.5	21.7±0.9	-0.9±1.5	0.5595	0.5310
C.Tora	24.6±1.8	25.8±3.7	1.2±3.0	0.6965	
ALT (IU/l)					
Placebo	31.4±4.8	26.6±2.4	-4.1±4.0	0.3288	0.4824
C.Tora	31.6±3.7	30.3±4.7	-1.3±3.4	0.7014	

- 1) 2 months after
- 2) P value by paired t-test
- 3) p value by ANOCOVA(analysis of covariance)
- 5) 혈청 토코페롤과 지질과산화물의 변화

혈청 retinol과 α -tocopherol의 결명자 보충제 투여 전 후의 변화는 Table 6-8과 같다. 혈청 retinol은 두 군 모두 투여 후 유의적으로 감소하였지만 두 군 간에 유의적인 차이는 없었다.

Alpha-tocopherol은 위약 투여군에서는 유의적으로 감소하였지만($p < 0.01$) 결명자 보충제 투여군에서는 매우 높이 증가하여 보충제에 포함된 비타민 E가 혈청 수준을 확실히 증가시키는 효과가 있음을 보여 주었다($p < 0.001$). 반면 혈청 TBARS는 결명자보충제 투여군에서 위약군에 비하여 확실히 감소하는 경향을 보여 주고 있다. 본 과제에서 사용한 결명자 보충제 섭취로 인한 혈청 지질과산화물의 감소는 혈청 지질상태의 개선과 아울러 동맥경화 예방에 좋은 효과로 작용할 것으로 생각한다.

Table 6-8. The change of concentration of serum antioxidant vitamins in study subjects

	Before	After ¹⁾	difference	P value ²⁾	P value ³⁾
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE		
Retinol ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)					
Placebo	0.78±0.07	0.56±0.04	-0.19±0.06	0.0084	0.5729
C.Tora	0.81±0.06	0.55±0.04	-0.24±0.04	0.0001	
α-tocopherol ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)					
Placebo	17.93±0.86	12.67±1.17	-4.46±1.48	0.0092	0.0001
C.Tora	19.45±2.28	28.03±3.42	8.41±1.75	0.0001	
TBARS (nmol/mℓ)					
Placebo	1.26±0.12	1.18±0.11	-0.08±0.08	0.3778	0.2330
C.Tora	1.28±0.13	1.07±0.13	-0.21±0.07	0.0121	

- 1) 2 months after
- 2) P value by paired t-test
- 3) p value by ANOCOVA(analysis of covariance)

결명자의 수용성 섬유소 추출물에 항산화 비타민을 첨가하여 제조한 결명자 보충제가 고지혈증 환자의 혈중 지질 상태 개선에 효과가 있는지 알기 위해 본 임상연구가 시도되었다.

다른 요인의 영향을 피하고 결명자의 수용성 추출물과 항산화 비타민의 효과를 알기 위해 다른 임상연구에서의 예와 같이 연구 대상자의 나이와 성을 고려한 무작위할당과정을 통해 결명자 보충제 투여군과 위약 투여군을 정하였다. 본 연구의 결과 결명자 보충제 투여군의 혈청 triglyceride와 cholesterol, LDL-cholesterol이 감소하였는데 위약 투여군에서도 혈청 triglyceride, cholesterol, LDL-cholesterol이 감소하였지만 결명자 보충제 투여군보다 그 감소 폭이 적었다. 결명자 보충제 투여군의 혈청 cholesterol과 LDL-cholesterol이 감소한 것은 수용성 섬유소의 효과로 이는 여러 연구들을 통해 알려져 있는 것과 일치하며 수용성 섬유소가 총 cholesterol과 LDL-cholesterol은 낮추지만 HDL-cholesterol에는 별 변화를 가져오지 않았다는 Anderson 등의 연구와도 일치한다. 위약 투여군에서 혈청 cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride가 약간 감소한 것은 위약투여군의 건강 식품섭취가 결명자 보충제 투여군보다 많았기 때문이거나 placebo effect 때문으로 생각된다. 왜냐하면 결명자 보충제 투여군의 감소가 일관된 반면 위약 투여군은 투여 1개월 후, 2개월 후의 변화가 일관되지 않기 때문이다. 결명자 보충제 투여군의 공복시 혈당이 감소한 것 또한 수용성 섬유소의 효과로 이미 보고된 다른 연구결과와 동일하다.

두 군의 HDL-cholesterol과 apo A1의 변화와 LDL-cholesterol과 apo B의 변화는 높은 상관관계를 보였는데 이것은 apo A1이 HDL-cholesterol의 주 아포단백질이며 apo B가 LDL-cholesterol의 주 아포단백질임을 생각하면 당연한 결과이며 본 연구의 신뢰성을 높여주는 결과라 생각된다.

결명자 보충제 투여군과 위약 투여군 모두 혈청 retinol이 감소했는데 이것은 결명자 보충제에는 retinol이 들어있지 않았음을 입증하는 것이다. 결명자 보충제

투여군에서 혈청 α -tocopherol이 증가하고 위약 투여군에서 감소한 것은 항산화 영양소를 투여한 혈청 항산화 비타민의 수준을 연구한 다른 보고들의 결과와 같다.

본 연구에서 결명자 섬유소 추출물과 항산화 비타민을 동시에 고지혈증 환자에게 투여한 것은 항산화 비타민이 수용성 섬유소의 효과를 더 높여주어 혈청 지질 수준을 낮추는데 더 큰 효과가 있기를 기대했기 때문이다. 하지만 혈청 cholesterol이나 triglyceride 수준이 위약 투여군보다 낮아지긴 했지만 유의한 차이를 보이지 않았다. 이는 연구 대상자들이 섭취하는 건강식품에 대한 통제를 하지 않았고 cholesterol 수준이 높은 대상자를 확보하기 어려웠기 때문이라 생각된다 따라서 혈중 cholesterol이나 triglyceride가 높은 환자를 대상으로 한 추후 연구가 필요하다고 생각된다.

3. 요약 및 결론

본 연구는 결명자 보충제가 고지혈증 환자의 혈중 지질 수준에 미치는 영향을 알아보고자 수행하였으며 이를 위해 혈청 지질, 혈당, HbA1c, 및 AST, ALT, BUN, Creatinine, 항산화비타민, 혈청 지질과산화물 등을 대조군과 비교하여 조사한 것으로 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 두 군의 평균연령은 결명자 보충제 투여군이 56.1 ± 2.8 세이고 위약 투여군이 57.1 ± 2.3 세로 비슷하였으며 두 군의 남자 비율도 결명자 보충제 투여군은 40.9%(n=9) , 위약 투여군은 42.1%(n=8)로 비슷하였다.

2) 결명자 보충제 투여군이나 위약 투여군에서 키, 체중, BMI, WHR은 모두 비슷하였으며 혈압도 두 군 사이에 유의적 차이가 없었다.

3) 두 군의 현재 음주비율, 현재 흡연 비율, 영양제 섭취, 스트레스에는 유의적 차이가 없었으나 건강식품을 섭취하는 비율은 위약 투여군이 유의적으로 높았다.($p < 0.05$) 결명자 보충제와 위약 투여 전 후에도 현재 음주 비율, 현재 흡연 비율, 영양제 섭취 비율, 건강식품 섭취 비율, 스트레스에는 차이가 없었으며 건강식

품 섭취를 제외한 다른 사항에서 두 군간 유의한 차이가 없었다.

4) 식습관 점수 및 식품섭취빈도 점수는 조사 시작 시점에서 두 군간 유의한 차이가 없었으며 결명자 보충제나 위약 투여 후의 조사에서 식습관 점수는 그 전과 비슷했으나 식품섭취빈도 점수는 위약 투여군에서 약간 높아졌다. 하지만 두 군간 유의적 차이는 없었다.

5) 결명자 보충제와 위약 투여된 두 군의 영양소 섭취량은 비타민 B₁과 니아신을 제외하고는 유의적 차이가 없었다. 위약 투여군의 비타민 B₁, 니아신의 섭취가 결명자 보충제 투여군보다 많았다. 하지만 결명자 보충제와 위약 투여 후 두 군간 영양소 섭취량에는 유의적 차이가 없었으며 투여 전 후에도 각 군에서 차이가 없었다.

6) 연구시작 시점에서 혈청 triglyceride, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Apo A1, Apo B는 두 군간 유의적 차이가 없었으나 결명자 보충제와 위약 투여 후 결명자 보충제 투여군이 위약 투여군보다 triglyceride와 cholesterol이 더 많이 감소했고, HDL-cholesterol과 apo A1은 더 높아졌다. LDL-cholesterol과 apo B는 두 군 모두 감소했다.

7) 두 군의 FBS, HbA1c, AST, ALT, BUN, creatinine은 연구시작시점에서 유의적인 차이가 없었으나 투여후 결명자 보충제 투여군에서 FBS가 위약 투여군보다 큰 폭으로 감소하였다.

8) 혈청 retinol은 결명자 보충제와 위약 투여 후 유의적으로 감소하였으나 ($p < 0.05$) α -tocopherol은 투여 후 위약 투여군에서 유의적으로 감소한 반면 ($p < 0.01$) 결명자 보충제 투여군에서는 유의적으로 상승하였다. ($p < 0.001$)

본 연구의 결과로 볼 때 결명자의 수용성 섬유소 추출물과 항산화 비타민인 비타민 C, 비타민 E를 혼합하여 제조한 결명자 보충제는 고지혈증 환자의 혈중 triglyceride, cholesterol을 낮춰주며 항산화영양소의 수준을 높여주고 AST, ALT의 변화를 주지 않는 안전한 제품으로 고지혈증 환자의 혈중 지질 수준 개선에 도움을 줄 수 있다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. 김태정, 신재용 : 우리 약초로 지키는 생활한방, 도서출판 이유, 2001
2. 정동효, 식품의 생리활성, 선진문화사, 287-291, 1998
3. 한방의학대사전(중국약학사전) 청담사, 199-203
4. 박근형, 김선재, 현규환, 결명자의 brassinosteroid 활성물질, J. Korean Agri Chem Soc 36(2), 99-104, 1993
5. 주혜경 등, 결명자로부터 aurantio-obtusin의 분리 및 함량분석, Kor. J. Phamacogn, 32(2) : 157-162, 2001
6. Kitanaka, S., Lomura, F. and Takido, M. studies on the Constituents of the Seeds of Cassia obtusifolia L. The structure of Two new Anthraquinone Glycosides, Chem Pharm . Bull. 33(3): 1274-1276, 1985
7. Wong, S. M., Wong M. M., Seligmann, O. and Wagner, H., Anthraquinone Glycosides from the Seeds of Cassia tora. Phytochemistry 28(1): 211-214, 1989
8. Choi, J. S., Lee, H. J., Park, K. Y., Ha, J. O. and Kang, S. S., In vivo Antimutagenic effect of Anthraquinone Aglycones and Naphthopyrone Glycosides from Cassia tora. Planta Med, 63:11-14, 1997
9. 하태열, 조일진, 성기승, 이상효, 결명자 에탄올 추출물이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐의 체내 지질함량에 미치는 영향, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30(6), 1171-1173, 2001
10. 도정룡, 김선봉, 박영효, 박영범, 최재수, 김동수, 결명자의 아질산염 소거작용, Korean. J. Food Sci. Technol. 25(5). pp526-529, 1993
11. 김주신, 결명자에 의한 수용액중 Cholic acid 및 Cholesterol 흡착에 관한 연구, 원광대학교, 1988
12. 장대자, 주현규, 조영자, 결명자가 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간장해에 미치

- 는 방어효과,, Journal of Korean Society of Analytical science, 2(2), 1989
13. 임숙자, 한혜경, 결명자 분획물이 당뇨 유발 흰쥐의 혈당에 미치는 영향, Korean J. Soc. Food. Sci. vol 13. no 1 february, 1997
 14. Lusi, A. J. : Genetic factors affecting blood lipoproteins, J. Lipid res., 29, 397-429,1988
 15. Green, M. S., Heiss, G., Rifkind, B. M., Cooper, G. R., Williams, O. D. and Tyroler, H. A., The ratio of plasma high density lipoprotein cholesterol to total and low density lipoprotein cholesterol-age related changes and race and sex difference in selected North American populations, Circulation, 72, 93-104, 1985
 16. Atherosclerosis study group : Optimal resources for primary prevention of atherosclerotic disease. Circulation, 70, 157-205, 1984
 17. Hauner, H., Stangl, D., Schmatz, C, Burger, K., Blomer, H. and Pfeiffer, E. F. : Body fat distribution in men with angiographically confirmed coronary artery disease, Atherosclerosis, 85, 203-210, 1990
 18. Monn, S. J. : Nutritional problems of Korean, Korean J. Nutr., 29, 371-380, 1996
 19. Lee, H. K. : Korean disease pattern and nutrition, Korean J. Nutr., 29, 381-383, 1996
 20. 사이토 야스시, 고혈압과 당뇨병이 합병된 고지혈증 치료, 진단과 치료, 18(5), 509-511, 1998
 21. Dong S.K. and Beung H.R. : Antitumor effect of polysaccharide produced from a mutant of *Acetobacter pasteunanus* IFO 13751-5. Kor. J. Food Sci. Technol. 23 : 405,1991
 22. Jenkins D. T. A., Leeds, A. R., Newton, C., Cummings, J. H., effects of pectin, guar gum, and wheat fiber on serum cholesterol, Lancet 1 : 1116, 1975
 23. Story, J. A., Kritchevsky, D., Dietary fiber and lipid metabolism In : Spiller, G. A., Amen, R. J., eds. Fiber in human nutrition Plenum press, New York,

171-184, 1976

24. Quresh, A. A., Abuirmeleh, N. and Din, Z. Z., Inhibition of cholesterol and fatty acid biosynthesis in liver enzymes and chicken hepatocytes by polar fraction of galic, *Lipids*, 18, 343-348, 1983

25. Qureshi, A. A., Burger, W. C. and Peterson, K. M., The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley, *J. Biol. Chem.*, 261, 10544-10550, 1986

26. Anderson, J. W., Allgood, L. D., Lawrence, A., Altringer, L. A., Jerdack, G. R., Hengehold, D. A. and Morel, J. G. cholesterol-lowering effects of psyllium intake adjunctive to diet therapy in men and women with hypercholesterolemia:meta-analysis of 8 controlled trials , *Am. J. Clin Nutr.*, 71:472-9, 2000

27. Anderson, J. W., Allgood, L. D., Turner, J., Oeltgen, P. R., Daggy, B. P., Effects of psyllium on glucose and serum lipid responses in men with type 2 diabetes and hypercholesterolemia, *Am. J. Clin Nutr.*, 70:466-73, 1999

28. 전재은, 정효지, 천병렬, 최영선, 박의현, 채성철, 송경은, 조성희, 항산화영양제 보충이 관상동맥질환 환자의 지질산화정도와 항산화계 효소의 활성도에 미치는 영향, *The Korean Circulation Journal*, 30(4), 2000

29. 조성희, 최영선, 고지혈증의 식사요법, *한국지질학회지*, 4:109-118, 1994

30. 대한영양사회, 심장순환기계질환 및 비만의 영양상담 자료 분석, *국민영양* 7-8 호, pp20-30, 1987

31. 한국 식품공업협회 식품연구소, 식품섭취 실태조사를 위한 식품 및 음식의 눈대중량, 1988

32. 대한영양사회, 사진으로 보는 음식의 눈대중량, 1999

33. Kohlmeier, L., Hastings, S. B., epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention, *Am J Clin Nutr* 62:1370s-1376s, 1995

34. Porkkala-Sarataho EK, Nyssonen MK, Kaikkomen JE, Poulsen HE, Haya

- EM, Salonen RM, Salonen JT. A randomized, single-blind, placebo-controlled trial of the effects of 200mg α -tocopherol on the oxidation resistance of atherogenic lipoproteins, *Am J Clin Nutr* 68:1034-1041, 1998
35. Bieri, G., Tolliver, J. J., Catignani, G. L., Simultaneous determination of alpha-tocopherol and retinol in plasma or red blood cells by high pressure liquid chromatography, *Am J Clin Nutr* 32:2143-9, 1979
36. Yagi, K., A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma, *Biochem Med* 15:212-6, 1976
37. Ostuda, M., Kurota, T. Suzuki, E., Arakawa, N., Inagaki, C., Seperative determination of ascorbic acid and erythroic acid in animal tissue by high performance liquid chromatography, *J. Nutr Sci Vitaminol*, 27: 9-15, 1981
38. 이명숙, 아포지단백질 대사, 도서출판 효일, 2000

부록 II

식 습 관 조 사

1. 식사는 늘 배가 부르도록 먹습니까?	① 만복이 될 때까지 먹는 일이 많다 ② 많이 먹을 때도 적게 먹을 때도 있다 ③ 항상 8부 정도를 먹는다	
2. 식사시에는 식품의 배합을 생각하며 먹습니까?	① 별로 관심이 없이 먹는다 ② 때로 배합을 생각하여 먹는다 ③ 항상 균형을 생각하며 먹는다	
3. 1일 3끼의 식사 중 거르는 일이 있습니까?	① 거의 매일 한끼는 거른다 ② 주 2-3회 거르는 편이다 ③ 거의 거르지 않는다	
4. 음식의 간은 어느 정도로 합니까?	① 짜게 먹는 편이다 ② 보통으로 먹는다 ③ 싱겁게 먹는다	

부록 III

생활습관조사

음 주	① 현재도 마신다 ② 전에는 마시다 지금은 끊었다 ③ 거의 마시지 않는다 - 술을 과거에 마셨거나 현재 마신다면 어느 정도 하십니까? 일주일에 평균 () 회 - 음주시작 연령 (만 세), - 음주 중단 연령 (만 세) - 1회 평균 음주량 : ()	
흡 연	① 현재도 피운다 ② 전에는 피우다 지금은 끊었다 ③ 피우지 않는다 - 담배를 과거에 피웠거나 현재도 피운다면 어느 정도 하십니까? 하루에 평균 () 개피 - 흡연시작 연령 (만 세), - 흡연 중단 연령 (만 세)	
규칙적인 운동	① 1주일에 3회 이상 한다 ② 1주일에 1-2회 한다 ③ 거의 하지 않는다 - 운동을 규칙적으로 하신다면 어느 정도 입니까? 1회 운동시간 : (분) - 주로 하는 운동의 종류 : ()	
영양제의 복용	① 현재 복용하고 있다 ② 현재 복용하지 않는다 - 영양제의 종류 : () - 횟수 : (알/일) - 복용시작일 : (년 월 일) - 복용중단일 : (년 월 일)	
건강식품 섭취	① 현재 복용하고 있다 ② 현재 복용하지 않는다 - 건강식품의 종류 : () - 횟수 : (/일) - 복용시작일 : (년 월 일) - 복용중단일 : (년 월 일)	
스트레스	- 평상시 일상생활에서는 어느 정도 스트레스를 받았습니까? ① 전혀 받지 않았다 ② 간혹 받았다 ③ 종종 여러 번 받았다 ④ 거의 매번 받았다 ⑤ 언제나 항상 받았다	

부록 IV 식품 섭취 빈도 조사

진찰권번호	이름	점수	식품 섭취 빈도			
식품	하루 3회	하루 1-2회	주 4-5회	주 2-3회	주 1회	주 1회 미만 또는 전혀
	채소류(시금치, 당근, 콩나물등)					
잡곡밥						
과일류(사과, 배, 귤, 딸기등)						
해조류(다시마, 미역, 김등)						
콩류(두부, 순두부, 콩, 비지밀)						
감자류(감자, 고구마)						
우유류(우유, 요쿠르트, 요플레)						
등푸른 생선(고등어, 삼치등)						
생선류(갈치, 명태, 굴, 조개등)						
견과류(땅콩, 잣, 호두)						
육류(쇠고기, 돼지고기, 닭고기)						
기름류(튀김, 전등)						
난류(달걀, 메추리알등)						
갑각류(새우, 오징어, 소라)						
간(쇠간, 내장류)						
경화유(버터, 마아가린, 마요네즈)						
과자류(사탕, 초코렛, 케익)						
가공류(라면, 인스턴트식품)						

부록 V

식 품 섭 취 량 조 사

구분	음식의 종류	음식의 양	식품의 구성	식품재료의 양	식사장소
아침					
간식					
점심					
간식					
저녁					
간식					