

감잎, 녹차, 솔잎의 건분 및 에탄올추출물이 흰쥐의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향*

김 은 성 · 김 미 경

이화여자대학교 식품영양학과

Effect of Dried Leaf Powders and Ethanol Extracts of Persimmon, Green Tea and Pine Needle on Lipid Metabolism and Antioxidative Capacity in Rats

Kim, Eun Sung · Kim, Mi Kyung

Department of Foods and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

ABSTRACT

The effects of dried leaf powders and ethanol extracts of persimmon, green tea and pine needle on lipid metabolism, lipid peroxidation and antioxidative activity were investigated in rats. Forty-nine male Sprague-Dawley rats weighing 107.8 ± 1.8 g were blocked into seven groups according to body weight. Rats were raised for four weeks with diets containing either 5%(w/w) dried leaf powders of one of three different Korean traditional teas, persimmon(*Diospyros kaki* Thunb), green tea(*Camellia Sinensis* O. Ktzc) or pine needle(*pinus Koraiensis* Sieb. Et Zucc), or ethanol extracts from equal amounts of each dried tea powder. Food intake, weight gain, food efficiency ratio, and weights of liver, kidney and epididymal fat were significantly higher in the green-tea-powder group, and significantly lower in the pine-needle-powder and pine-needle-extract groups. Persimmon-leaf powder was found to decrease plasma total lipid, triglyceride and cholesterol concentrations by increasing fecal total lipid, triglyceride and cholesterol excretions. Liver cholesterol concentration was significantly lower in the green-tea and pine-needle-extract groups. Red-blood-cell superoxide dismutase(SOD) and glutathione peroxidase(GSH-px) activities were significantly increased in rats fed green-tea extract. Liver SOD activity was increased in rats fed pine-needle powder or extract, and liver GSH-px activity was increased in rats fed green-tea powder. Plasma and liver thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) concentrations were both decreased in rats fed dried leaf powders or extracts of persimmon or green tea. It is believed that high vitamin E levels in persimmon leaf, and high flavonoid, beta-carotene and vitamin C levels in green tea effectively inhibited lipid peroxidation. In conclusion, persimmon and green tea leaves were effective in lowering lipid levels and inhibiting lipid peroxidation in animal tissue, while pine needles were effective in lowering body weight gain. From these results, persimmon and green tea leaves can be recommended in the treatment and prevention of chronic disorders such as cardiovascular disease, cancer and aging. As ethanol extracts from these teas were also effective in lowering tissue lipid levels and inhibiting lipid peroxidation, we recommend the use of discarded tea grounds for this. (*Korean J Nutrition* 32(4) : 337~352, 1999)

KEY WORDS : persimmon leaf · green tea · pine needle · lipid metabolism · antioxidative capacity.

서 론

고도의 경제성장과 소득증대로 국민의 전반적인 생활수준이 향상되었고, 식생활 역시 변화하여 곡류와 채소류의 섭취는 감소한 반면, 지방, 육류 및 가공식품의 섭취는 증가하여 한국인의 영양소 섭취 현황을 보면 칼슘과 비타민 A를 제외한 대부분의 영양소를 부족함 없이 섭취하게 되었다¹⁾.

채택일 : 1999년 2월 5일

*This research was supported by a grant from the Korea Research Foundation.

이러한 식생활의 변화로 질병의 양상도 바뀌어 과거 영양부족으로 인한 질환은 감소하였으나 비만, 관상동맥질환, 당뇨병, 암과 같은 영양과잉이나 영양불균형에서 오는 만성 퇴행성질환은 지속적으로 증가하여 '96년의 사망원인 통계²⁾를 살펴보면 고혈압성 질환, 뇌혈관 질환, 허혈성 심장질환, 동맥경화증 등을 포함한 순환기계 질환에 의한 사망이 전체 사망의 24.6%로 1위였고, 암이 21.7%로 2위를 차지하였다.

또한 평균수명도 증가하여 '80년대에 65.8세이던 것이 '95년에는 73.5세로 약 8세가 증가하였고, 2020년에는 78.1세에 달할 것으로 예상된다. 이에 따라 65세 이상의 노인 인구도 증가하여 '60년에는 73만명으로 전체인구의 2.9%

를 차지하던 것이 '95년에 5.9%로 증가하였고, 2020년에는 13.2%까지 급격히 증가할 것으로 추산되고 있어 노인 인구에 대한 대책도 시급합니다.³⁾

최근에 free radical이 노화 및 뇌혈관질환, 심혈관계질환, 암과 같은 만성질환의 원인이 된다고 밝혀짐에 따라 항산화 효과를 가지는 식품의 섭취를 통해 이러한 질병을 예방하고 치료하며, 노화를 지연시키고자 하는 노력이 증가하고 있다.

건강에 대한 관심증가와 다류의 혈중 콜레스테롤 및 지방 저하효과, 항산화효과, 항암성과 같은 기능성이 널리 알려짐에 따라 매년 녹차, 홍차 등의 다류 소비가 증가하여 국내의 순수 다류제품 시장은 94년도에 다류음료를 포함하여 576억원의 시장을 형성하였다⁴⁾. 다류는 생명유지에 필요한 영양소를 공급하는 식품의 1차 기능과 맛과 향을 감지하게 하여 맛있게 먹을 수 있도록 하는 미각기능인 2차 기능뿐 아니라 생리리듬의 조절이나 질병의 예방과 회복, 노화억제 등 신체의 기능을 조절하는 생체조절성의 3차 기능을 다 가지고 있어 현대인의 영양과잉과 불균형에 의한 동맥경화, 고혈압, 암과 같은 질병의 예방 및 치료와 노화의 지연에 효과적으로 사용될 수 있을 것이다.

본 연구에서는 우리나라 전통차 중에서 선행연구에서 flavonoids의 함량이 높다고 밝혀진 감잎, 녹차, 솔잎을 선정하여 이들의 생리효과를 규명하고자 하였다.

감(학명 : Diospyros kaki Thunb)잎은 고혈압, 동맥경화, 심장병 등의 성인병과 위궤양, 심이지장궤양, 당뇨병 같은 만성질환에 효과가 있다고 알려져 왔고⁵⁾, 일본에서도 고혈압의 전통적인 치료법으로 이용되어 왔다⁶⁾. 감잎의 성분으로는 astragalín, myricitrin과 같은 flavonoid 배당체, tannin, polyphenol류, 수지, coumarin류 화합물, betulinic acid, oleanolic acid, ursolic acid와 같은 유기산 및 엽록소가 있고, 비타민 C, carotene이 풍부하며, 비타민 B₁, 엽산, 판토텐산을 함유한다고 알려져 있다⁷⁾. 감잎에 대한 연구는 감잎에서 분리된 flavonoid의 angiotensin-converting enzyme 활성 저해작용⁸⁾, 매탄올추출물 및 hexane 분획의 항변이원성⁹⁾, 열수추출물 및 탄닌의 항돌연변이 효과¹⁰⁾, 항암효과¹⁰⁾와 같은 생리적 기능에 대한 연구와 함께 성분에 대한 연구¹¹⁾가 진행되어 왔다.

녹차(학명 : Camellia Sinensis O. Ktze)는 머리를 맑게 해주고 오장의 기를 돌우어 주고, 간을 강하게 하며 열을 내리고 체내의 노폐물을 빨리 씻어 주며, 소화작용과 갈증을 해소하는 약효가 있다고 전해진다¹²⁾. 최근에 녹차에 대한 관심이 집중되면서 차의 성분과 약리효과에 대한 연구가 활발히 진행되어 다른 다류에 비해 많은 연구결과가 보고되

었다. 녹차에 대한 연구로는 혈중의 콜레스테롤 및 지방저하 효과¹³⁻¹⁵⁾, 항산화 효과¹²⁾¹⁶⁾, xanthine oxidase 저해에 의한 항산화 및 통풍예방 효과¹⁷⁾¹⁸⁾, 카드몼 제거작용¹⁹⁾, 항돌연변이성²⁰⁾, 항균성²¹⁾, 항돌연변이성과 항암성²²⁾, 항십이지장궤양²³⁾과 같은 생리효과에 대한 연구와 녹차의 성분에 대한 연구가 발표되어 있다. 녹차의 성분에는 단백질, 전분, 섬유소, caffeine, 엽록소, 안토시아닌 등의 식물색소, 지질, 정유, 비타민, 무기질과 catechin, kaempferol, quercetin, myricetin등의 flavonoid류가 있다²⁴⁾.

솔잎(학명 : Pinus koraiensis Sieb. et Zucc)의 성분으로는 α-pinene, β-pinene, camphene 등의 정유성분, quercetin, kaempferol 등의 flavonoid류, 수지, 당류, carotene, 비타민 C가 있다⁷⁾. 솔잎은 간장질환, 위장질환, 신경계질환, 순환기계질환, 피부질환 등의 치료에 효과가 있다고 알려져 있으며⁷⁾, 솔잎의 기능성에 대한 연구로는 지방대사에 미치는 영향²⁵⁻²⁸⁾, 추출물의 항변이원성 및 항산화 효과²⁹⁾, 효소활성 및 간조직에 미치는 영향³⁰⁾, 솔잎에서 항미생물 활성을 갖는 성분의 분리 및 동정³¹⁾ 등이 있고, 그의 솔잎의 성분³²⁾에 대한 연구가 보고되었다.

이들 다류에서 생리활성을 나타낼 수 있는 성분으로는 식이섬유와 항산화 비타민 및 flavonoids를 비롯한 polyphenol류를 들 수 있다. 식이섬유는 인간의 소화효소에 의해 소화되지 않는 난소화성 다당류의 총체로서 크게 수용성과 불용성으로 나뉘며, 이들이 인체에서 나타내는 생리작용도 다르다. 수용성 식이섬유는 소화기관에서 수화되면서 점성이 증가되고 gel matrix를 형성하여 각종 영양소의 흡수율을 감소시키고, 식이 콜레스테롤이나 bile acid와 결합하여 변으로 배설시킴으로써 혈청 콜레스테롤을 저하시켜 관상동맥 질환을 예방한다고 알려져 있고³³⁻³⁵⁾, 불용성 식이섬유는 물을 흡수하여 팽창하며, 대장내 미생물의 작용을 적게 받아 이들의 발효에 의해 분해되지 않으므로 대변의 부피와 무게를 증가시킨다.

Beta-carotene, 비타민 C, 비타민 E와 같은 항산화 비타민은 free radical을 제거함으로써 관상동맥질환, 암, 백내장을 예방한다고 알려져 있으며, 노화의 지연에도 상당한 작용을 하리라 생각된다³⁶⁻³⁹⁾.

Flavonoids는 담황색 또는 노란색을 띠는 색소화합물로 일일 섭취량은 0.023~1.1g으로 다양하게 알려져 있다⁴⁰⁾. Superoxide anion radical, hydroxyl radical, peroxy radical과 peroxy nitrite의 scavenging⁴¹⁻⁴⁴⁾, Fe와 Cu의 chelating⁴⁵⁾ 뿐 아니라 항산화 효소의 활성을 증가시킴¹³⁾¹⁶⁾¹⁹⁾으로써 지질과산화와 Low Density Lipoprotein(LDL)의 산화를 방지하고⁴⁶⁾, cyclo-oxygenase와 lipoxigenase의

활성을 저해함으로써 혈소판의 응집을 억제⁴⁷⁾하여 관상심장 질환, 동맥경화증, 혈전증, 고혈압을 예방한다. 그의 항암성, 항돌연변이성, 항염성, 항알레르기성, 항바이러스성을 가진다고 보고되어 있다⁴⁸⁾.

그러나 감잎, 녹차, 솔잎의 생리활성에 대한 *in vivo* 연구는 단편적으로 진행되어 왔고, 에탄올추출물을 이용한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 감잎, 녹차, 솔잎이 지방대사와 항산화능에 미치는 영향을 비교함으로써 만성퇴행성 질환의 예방과 노화의 지연 가능성을 알아보고, 나아가 다량의 건분과 에탄올추출물의 효과를 비교하여 생리활성을 나타내는 성분을 검색하고자 하였다.

실험 재료 및 방법

1. 동물사육 실험

1) 시료 및 에탄올추출물의 준비

감잎(경남 김해산)과 녹차(전남 보성산)는 가락동 농수산물 시장에서 건조된 것을 구입하여 fitz mill(The Fitz Patrick Company, No. DASO6)로 40 mesh를 통과할 수 있도록 분말화하였고, 솔잎(강원도 설악산산)은 건조후 분말화 된 것을 구입하여 그대로 실험에 이용하였다. 건분은 각각 식이무게의 5% 수준에 해당하는 건분을 식이에 섞어 공급하였다.

각 시료의 에탄올추출물은 장 등의 방법²⁵⁾²⁸⁾을 변형하여 준비하였다. 건분군과 동량인 실험식이의 5%에 해당하는 감잎, 녹차, 솔잎 건분을 각각 95% 에탄올에 현탁시켜 80℃에서 1시간동안 환류추출하였다. 이 액을 여과하고 잔사는 95% 에탄올로 2회 반복하여 추출한 후 여과액을 얻고, 여과액 전량을 모아 30분간 10,000rpm에서 원심분리한 후 그 상층액을 감압농축한 것을 에탄올추출물로 하여 실험식이에 섞어 사용하였다.

2) 실험동물의 사육 및 식이

생후 4주된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 49마리를 구입하여 실험 시작 전 1주일간 고형배합사료(삼양사료)로 적응시켰다. 적응기간 후 체중이 107.8±1.8g인 쥐들을 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 7마리씩 7군으로 분류하여 4주간 사육하였다. 실험 동물은 한 마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였고, 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

실험에 사용한 식이의 구성성분은 Table 1과 같았다. 식이의 탄수화물 급원으로는 옥수수전분(corn starch, 신동방)을, 지방 급원으로는 옥수수유(corn oil, 해표)를 사용하

Table 1. Composition of experimental diets (g/ kg diet)

Ingredients	Groups ¹⁾						
	C	GP	NP	SP	GE	NE	SE
Corn starch	698	648	648	648	648	648	648
Casein	150	150	150	150	150	150	150
Corn oil	100	100	100	100	100	100	100
Salt mixture ²⁾	40	40	40	40	40	40	40
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2	2	2	2
Plant powder	0	50	50	50	0	0	0
Plant extract and starch	0	0	0	0	50	50	50

1) C : Control group

GP : Powder of Gamyip(Diospyros kaki Thunb)

NP : Powder of Nokchaip(Camellia Sinensis O. Ktze)

SP : Powder of Solip(Pinus koraiensis Sieb. et Zucc)

GE : Ethanol Extract of Gamyip(Diospyros kaki Thunb)

NE : Ethanol Extract of Nokchip(Camellia Sinensis O. Ktze)

SE : Ethanol Extract of Solip(Pinus koraiensis Sieb. et Zucc)

2) AIN salt mixture(g/kg mixture) : Calcium phosphate, dibasic(Ca-HPO₄·2H₂O) 500, Sodium chloride(NaCl) 74, Potassium citrate, monohydrate(K₃C₆H₅O₇·H₂O) 220, Potassium sulfate(K₂SO₄) 52, Magnesium oxide(MgO) 24, Manganous carbonate(45 - 48%, Mn) 3.5, Ferric citrate(16 - 17% Fe) 6, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6, Cupric carbonate(53 - 55% Cu) 0.3, Potassium iodate(KIO₃) 0.01, Sodium selenite(Na₂SeO₃·5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate(CrK(SO₄)₂·12H₂O) 0.55, Sucrose finely powdered, to make 1000 gram.

3) AIN vitamin mixture(mg/kg mixture) : Thiamine HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine HCl 700, Nicotinic acid 3000, D-Calcium Pantothenate 1600, Folic acid 200, D-Biotin 20, Cyanocobalamin(vitamin B₁₂) 1, Retinyl palmitate(vitamin A) 120,000 retinol equivalents, DL-α-Tocopheryl acetate(vitamin E) 5,000IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5(100,000 IU, powder form), Menadione(vitamin K) 5.0, Sucrose finely powdered, to make 1,000gram.

였으며, 단백질 급원으로는 casein(edible acid casein, Murry Goulburn Co-operative Co., Australia)을 사용하였다. 무기질과 비타민은 시약급을 사용하여 혼합한 것을 각각 식이무게의 4%와 1% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다.

식이섭취량은 일주일에 3회 일정한 시각에 측정하였고, 체중은 일주일에 1회 같은 시각에 측정하였다. 이때 식이섭취에서 오는 갑작스런 체중의 변화를 막기 위하여 체중 측정 2시간 전에 식이그릇을 빼주었다. 사육기간동안의 일일 평균 식이섭취량, 체중증가량을 측정하였고, 사육기간의 체중증가량을 같은 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군들의 식이효율(food efficiency ratio, F.E.R.)을 계산하였다.

3) 변, 혈액과 장기의 채취

실험동물들을 희생하기 4일전부터 대사장(metabolic cage)에서 24시간동안의 변을 채취하였는데, 이때 식이에 의해 변의 성분이 오염되는 것을 막기 위하여 식이그릇을 넣

어주지 않았다. 처음 1일에는 오후 8시부터 오전 8시까지 대사장에서 변을 채취하였고, 그날 오전 8시부터 다음날 오전 8시까지는 다시 본래의 사육장에서 식이를 섭취하도록 한 후 시료 채취 3일째에는 오전 8시부터 오후 8시까지 다시 12시간동안 대사장에서 변을 채취하였다. 12시간씩 두 번 채취한 변을 합쳐 1일간의 변으로 간주하였다. 이 기간 중 물은 제한없이 공급하였고, 채취한 변은 무게를 측정 한 후 -20°C 에서 냉동하였다.

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 개복한 후 10ml 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 이때 주사기는 3.8% sodium citrate 용액 0.1ml로 내부를 coating하여 사용하였다. 채취된 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위해 EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetate)가 들어있는 polystyrene 원심분리관에 담아 ice bath에 20분간 방치한 후 원심분리기(Sorvall, RT 6000B)로 2,800rpm, 4°C 에서 30분간 원심분리하여 아래층의 red blood cell(RBC)과 혈장을 분리하고, 혈장은 혈장내 지질과산화물양과 지방수준을 측정하기 위해 -70°C deep freezer에 보관하였다.

아래층의 RBC는 ice cold saline을 첨가하여 원심분리기로 2,800rpm, 4°C 에서 10분간 원심분리하는 세척과정을 세차례 반복하여 washed RBC를 얻었다. 이 RBC를 cell 과 0.9% NaCl 용액의 부피비가 1 : 1이 되도록 희석하여 50% hematocrit suspension(RBC suspension)을 만든 후 항산화효소의 활성을 측정하기 전까지 -70°C deep freezer에 보관하였다.

혈액을 채취한 후 ice bath위에서 즉시 간을 떼어 ice cold saline에 넣어 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 바로 -70°C deep freezer에 보관하여 과산화물양과 효소활성 측정에 사용하였다. 그의 신장, 비장, 부고환지방을 떼어서 무게를 측정하였다.

4) 생화학적 분석

(1) 혈장, 간, 변의 지방함량

혈장의 총지방 농도는 Frings법⁴⁹⁾을 이용하여 spectrophotometer(Spectronic 301, Milton Roy)로 파장 540nm 측정하였고, 간과 변의 총지방 농도는 Bligh와 Dyer법⁵⁰⁾을 이용하였다. 혈장, 간, 변의 중성지방 농도는 GPO-PAP법을 이용한 kit(영동제약)로 측정하였고, 콜레스테롤 농도는 효소법을 이용한 kit(영동제약)를 이용하여 측정하였다. 혈장의 HDL-콜레스테롤 농도는 LDL(Low Density Lipoprotein) 및 VLDL(Very Low Density

Lipoprotein)을 침전시킨 후 효소법으로 HDL-콜레스테롤의 농도를 측정하는 kit(아산제약)로 측정하였다.

(2) 혈장과 간의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance 함량

혈장의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance(TBARS) 함량은 1,1,4,4-tetramethoxypropane을 표준용액으로 하여 luminescence spectrometer(Perkin Elmer, LS50)로 excitation 515nm, emission 553nm에서 정량하는 Yagi⁵¹⁾의 방법을 이용하여 측정하였다.

간의 TBARS 함량은 Buckingham법⁵²⁾을 이용하여 spectrophotometer로 532nm에서 비색정량하였다.

(3) 적혈구와 간의 항산화계 효소 활성

항산화계 효소중에서 본 실험에서는 superoxide anion을 제거하는 superoxide dismutase(SOD)와 hydroxyl radical을 제거하는 효소인 catalase와 glutathione peroxidase(GSH-px)의 활성을 적혈구 현탁액과 간에서 측정하였다.

적혈구 catalase 활성은 Johnsson과 Hkan Borg법⁵³⁾에 의하여 spectrophotometer로 550nm에서 흡광도를 측정 한 후 formaldehyde를 표준용액으로 하여 얻은 표준곡선으로부터 활성을 계산하였다.

간 catalase 활성을 측정하기 위하여 먼저 간 0.2g을 20배의 25mM KH_2PO_4 -NaOH buffer(pH 7.0)에 넣고 균질화시키고 이 homogenate를 같은 buffer로 60배 희석한 후 ice bath 상태에서 ultrasonicator(Heat System-Ultrasonics, Inc., Ultrasonic Propessor W-385)로 15 초씩 2회 반복하여 sonication한 후 적혈구에서와 같은 방법으로 catalase 활성을 측정하였다.

적혈구 SOD 활성은 Floh 등의 방법⁵⁴⁾으로 측정하였다. 이 방법은 xanthine이 xanthine oxidase에 의해 superoxide를 생성하고, 이 superoxide가 ferricytochrome c (Fe^{+++})를 ferrouscytochrome c(Fe^{++})로 환원시키는데 이때 SOD가 존재하면 SOD가 superoxide에 대해 경쟁하여 cytochrome c의 환원속도가 감소된다는 원리를 이용한 것이다. 본 실험에서는 ferricytochrome c의 환원이 방해되는 정도를 550nm에서 30초 간격으로 3분간 비색정량한 후 ferricytochrome c의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1unit으로 하여 분당 활성정도를 나타내었다.

간 SOD 활성은 효소원을 제조한 후 적혈구에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

적혈구 GSH-px 활성은 Floh의 방법⁵⁵⁾을 이용하였는데,

이는 glutathione(GSH)과 H₂O₂의 반응을 촉진시켜 환원형 GSH를 산화형 glutathione(GSSG)으로 전환시키고, GSSG는 glutathione reductase의 작용으로 NADPH의 H를 받아 다시 환원형인 GSH로 되는데, 이때 형광을 띠는 NADPH는 H를 빼앗겨 형광을 띠지 않는 산화형 NADP가 된다는 원리를 이용한 것이다. GSH-px의 활성은 Spectrophotometer로 365nm에서 30초 간격으로 3분간 GSH-px의 활성을 측정하여 unit단위로 나타내었고, 여기에서 1unit은 1분동안 1.0μM의 GSH가 H₂O₂의 작용으로 GSSG로 산화되는 것을 측매한다.

간 GSH-px 활성 측정은 간 SOD 활성 측정시 제조하여 보관한 효소원을 이용하여 적혈구와 동일한 방법으로 측정하였는데, 간의 경우는 적혈구와 달리 t-butyl hydroperoxide 대신 H₂O₂를 사용하였고, catalase의 작용을 억제하기 위하여 1mM sodium azide를 첨가하였다.

각 효소들의 활성측정을 위해 사용된 적혈구와 간의 단백질 함량은 bovine serum albumin(Sigma)을 표준용액으로 하는 Lowry법⁵⁰⁾으로 측정하였다.

2. Flavonoids의 정량분석

Flavonoids의 함량은 강 등의 방법²⁰⁾³⁰⁾을 이용하여 정량하였다. 건조시료내에 함유되어 있는 flavonoids의 함량 측정을 위하여 시료 1g에 50% 메탄올 60ml를 가하여 80℃에서 1시간동안 환류추출하였고, 냉각 후 50% 메탄올로 100ml로 정용하여 여과지로 여과한 것을 시료용액으로 하였다. 시험관에 diethylene glycol 10ml와 시료용액 1ml를 취해 잘 혼합한 후 여기에 1N NaOH 1ml를 가하여 다시 잘 혼합하고 37℃에서 1시간동안 방치한 후 420nm에서 흡광도를 측정하였고, blank는 시료용액 대신에 50% 메탄올 용액을 이용하였다. 에탄올추출물내에 함유된 flavonoids 함량은 실험식이를 위해 제조하였던 에탄올 추출물을 동결건조시켜 분말화한 후 건조시료와 동일한 방법으로 측정하였다.

3. 항산화 비타민 정량분석

Beta-carotene(β-carotene)은 Nilis의 방법⁵⁷⁾으로 고성능액체크로마토그래피를 이용하여 분석하였고, 비타민 C의 함량은 비색법에 의하여 측정하였다⁵⁸⁾. 비타민 E는 AOAC에서 승인된 방법⁵⁹⁾으로 고성능액체크로마토그래피를 이용하여 측정한 후 α-tocopherol equivalent(α-T.E.=1×α-tocopherol+0.5×β-tocopherol+0.1×γ-tocopherol)로 환산하여 나타내었다.

4. 통계처리

본 연구의 동물사육 실험결과는 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 α=0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다. Flavonoids와 항산화 비타민의 함량 측정결과는 duplicate한 값의 평균을 구하여 나타내었다.

실험결과

1. 에탄올추출물의 수율 및 flavonoids, 항산화 비타민 함량

본 실험에서 사용한 감잎, 녹차, 솔잎 에탄올추출물의 추출수율 및 세가지 다류내에 함유된 flavonoids와 항산화 비타민인 beta-carotene, 비타민 C, 비타민 E, 조섬유의 함량은 Table 2에 나타내었다.

에탄올추출물의 추출수율은 감잎이 22.17%, 녹차 22.60%, 솔잎 21.35%로 세가지 다류의 수율이 비슷하였다.

각 건조시료 1g에 함유되어 있는 총 flavonoids의 양은 감잎건분이 15.9mg, 녹차건분이 31.3mg, 솔잎건분이 13.9mg이었고, 추출물은 감잎추출물이 5.83mg, 녹차추출물이 10.01mg, 솔잎추출물은 3.74mg으로 녹차건분군의 flavonoids의 함량이 가장 높았고, 추출물 중에서도 녹차추출물의 flavonoids 함량이 가장 높았다. 각 시료내의 총 flavonoids 중에서 에탄올에 녹는 flavonoids의 비율을 계산하면 감잎은 총 flavonoids의 36.67%가 에탄올에 녹는

Table 2. Extraction yields of ethanol extracts, contents of flavonoids, beta-carotene, vitamin C, vitamin E and crude fiber in plant powders

Constituent	Groups					
	GP	NP	SP	GE	NE	SE
Extraction yields(%)	-	-	-	22.17	22.6	21.35
Total flavonoids(mg/g plant powder)	15.9	31.3	13.9	5.83	10.01	3.74
Beta-carotene(μg/100g)	3280.23	10045.97	3796.13	-	-	-
Vitamin C(mg/100g)	17.27	135.40	136.5	-	-	-
Vitamin E(α-T.E./100g) ¹⁾	58.02	20.87	7.94	-	-	-
Crude fiber(%)	12.0 ²⁾	8.06 ²⁾	10.6 ³⁾	-	-	-

1) α-T.E. : α-tocopherol equivalent=1×α-tocopherol+0.5×β-tocopherol+0.1×γ-tocopherol

2) Data were adopted from 『The data of Nutrient content in Foods』⁶⁰⁾.

3) Datum was adopted from Gang et al⁵⁹⁾.

flavonoids였으며, 녹차와 솔잎은 각각 총 flavonoids의 31.98%와 26.91%가 에탄올에 녹는 flavonoids로 나타났다. 따라서 에탄올추출물에는 에탄올에만 녹는 flavonoids만 있고, 건분에는 에탄올에 녹는 flavonoids(26.91~36.67%) 뿐 아니라 에탄올에 녹지 않는 flavonoids(63.33~73.09%)도 포함하게 되는 것이다.

항산화 비타민의 함량을 알아보기 위해 건분시료내의 beta-carotene, 비타민 C, 비타민 E의 함량을 측정하였다. Beta-carotene 함량은 건조시료 100g당 감잎이 3280.23µg, 녹차가 10045.97µg, 솔잎이 3796.13µg으로 beta-carotene은 녹차가 가장 높았다. 비타민 C의 함량은 건조시료 100g당 감잎이 17.27mg, 녹차가 135.40mg, 솔잎이 136.5mg으로 녹차가 가장 비타민 C 함량이 높았다. 비타민 E의 함량은 건조시료 100g당 감잎이 58.02α-T.E., 녹차는 20.87α-T.E., 솔잎은 7.94α-T.E.으로 감잎이 가장 비타민 E를 많이 함유하였다.

조섬유의 함량은 감잎이 12.0%로 가장 높았고, 그 다음으로 솔잎이 10.6%, 녹차가 8.06%로 보고되었다.

전체적으로 감잎은 비타민 E와 조섬유를 가장 많이 함유하였고, 녹차는 total flavonoids와 α-carotene, 비타민 C가 높았으며, 솔잎은 비타민 C의 함량이 높았다.

2. 실험동물의 성장

1) 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

실험동물의 하루 평균 식이섭취량, 실험기간동안의 체중증가량과 이들로부터 계산된 식이효율은 Table 3에 나타내었다.

하루 평균 식이섭취량을 보면 감잎군과 녹차군은 대조군과 유의적인 차이가 없었으나, 솔잎군의 경우는 건분군과 추출군이 모두 대조군보다 유의적으로 낮았다. 건분군과 추출군을 비교했을 때도 감잎군과 녹차군은 서로 차이가 나지 않았으나, 솔잎군은 추출군이 건분군보다도 더 낮은 섭취량을

Table 3. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio

Groups	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/4 weeks)	Food efficiency ratio
C	16.17±0.46 ^{a2)}	129.55±3.67 ^b	0.30±0.01 ^b
GP	15.60±0.49 ^a	138.53±9.21 ^b	0.32±0.01 ^{ab}
NP	16.51±0.58 ^a	163.87±8.08 ^a	0.35±0.01 ^a
SP	13.37±0.46 ^b	104.62±3.92 ^c	0.28±0.01 ^b
GE	15.53±0.42 ^a	129.03±5.48 ^{bc}	0.30±0.01 ^b
NE	15.45±0.80 ^a	126.10±9.43 ^b	0.29±0.02 ^b
SE	11.63±0.72 ^c	78.00±7.59 ^d	0.24±0.01 ^c

1) Mean±Standard Error(n=7).

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

보여 전체적으로 솔잎추출군이 가장 식이섭취량이 낮았다.

실험기간동안의 체중증가량은 녹차건분군이 대조군보다 유의적으로 높았고, 솔잎군들은 건분군과 추출군이 모두 대조군보다 유의적으로 낮은 수준이었다. 감잎군은 건분군과 추출군간에 차이가 없었으나, 녹차건분군과 솔잎건분군은 각각의 추출군보다 유의적으로 체중증가량이 컸으며, 전체적으로 녹차건분군이 체중증가량이 가장 크고, 솔잎추출군이 가장 적었다.

식이효율은 녹차건분군이 대조군보다 유의적으로 높았고, 솔잎추출군은 낮았다. 건분군과 추출군간의 차이를 보면 감잎군은 유의적 차이가 없었던 반면에 녹차와 솔잎은 건분군이 추출군보다 유의적으로 높았다.

2) 장기무게

간, 신장, 비장, 부고환지방은 다류의 섭취에 의해 영향을 받았으며 결과는 Table 4와 같았다. 간과 신장의 무게는 녹차건분군이 다소 높았고, 솔잎건분군과 추출군은 낮았으며, 비장의 무게는 감잎건분군이 가장 크고, 솔잎추출군은 가장 적어 이 두군간에는 유의적인 차이가 있었다. 부고환지방의 무게는 녹차건분군이 대조군보다 유의적으로 높았으며, 솔잎추출군은 유의적으로 낮았다.

3. 지방대사

1) 혈장내 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도

혈장의 지방대사를 알아보기 위해 측정된 총지방, 중성지방, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 Table 5에 나타내었다.

혈장의 총지방 농도는 모든 군이 대조군보다 낮았고, 특히 감잎건분군이 가장 낮은 수준을 보였다. 각 건분군과 추출군을 비교하면 감잎군과 솔잎군은 건분군이, 녹차군은 추출군이 낮은 경향이었고, 특히 솔잎군의 건분군과 추출군의 차이는 유의적이었다. 건분군 중에서는 감잎이 가장 혈장의 총지방을 많이 낮추었고, 추출군중에서도 감잎이 가장 효과적이었다.

혈장의 중성지방 농도는 녹차건분군을 제외하고는 모두 대조군보다 낮은 경향을 보였고, 그중 감잎건분군이 가장 낮았다. 각 건분군과 추출군간에는 유의적 차이가 없었으며, 각 실험군들을 비교하면 혈장의 중성지방 농도가 가장 높은 녹차건분군과 가장 낮은 감잎건분군간에 유의적 차이가 있었다. 건분군중에서는 감잎군이, 추출군중에서도 감잎군이 혈장의 중성지방을 가장 많이 낮추는 것을 알 수 있었다.

혈장의 총콜레스테롤 농도는 실험군들간에 유의적인 차

Table 4. Organ weights

Groups	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Epididymal fat (g)
C	¹⁾ 7.26±0.10 ^{ab2)}	1.78±0.08 ^a	0.50±0.04 ^{abc}	3.02±0.20 ^{bc}
GP	7.59±0.45 ^{ab}	1.75±0.08 ^a	0.51±0.01 ^a	3.31±0.46 ^{ab}
NP	8.01±0.42 ^a	1.79±0.06 ^a	0.50±0.03 ^{ab}	4.07±0.26 ^a
SP	6.25±0.17 ^c	1.51±0.03 ^b	0.45±0.02 ^{abc}	2.44±0.26 ^{cd}
GE	7.24±0.25 ^{ab}	1.71±0.06 ^{ab}	0.45±0.02 ^{abc}	2.78±0.20 ^{bcd}
NE	6.66±0.31 ^{bc}	1.64±0.10 ^{ab}	0.49±0.02 ^{abc}	2.70±0.19 ^{bcd}
SE	6.05±0.27 ^c	1.50±0.08 ^b	0.42±0.02 ^c	2.14±0.21 ^d

1)-2) See Table 3.

Table 5. Plasma total lipid, triglyceride(TG), total cholesterol, HDL-cholesterol concentrations and HDL : total cholesterol ratio

Groups	Plasma total lipid (mg/100ml)	Plasma TG (mg/100ml)	Plasma total cholesterol (mg/100ml)	Plasma HDL-cholesterol (mg/100ml)	HDL : total cholesterol ratio
C	¹⁾ 345.76±26.78 ^{a2)}	97.78± 5.54 ^{ab}	70.89±4.75 ^{N.53)}	22.10±3.07 ^{ab}	0.32±0.03 ^{N.5}
GP	253.05±13.71 ^c	73.19± 9.40 ^b	54.26±6.81	23.82±1.28 ^{ab}	0.42±0.05
NP	282.46±19.89 ^{bc}	106.42± 9.04 ^a	65.69±6.03	32.64±6.28 ^a	0.48±0.12
SP	266.08±11.37 ^c	91.70± 4.46 ^{ab}	55.61±4.44	20.41±1.74 ^b	0.38±0.05
GE	267.57±14.77 ^c	75.54± 5.98 ^{ab}	54.90±5.13	24.12±0.77 ^{ab}	0.48±0.06
NE	269.06± 8.32 ^c	80.12± 7.94 ^{ab}	59.38±3.32	24.97±1.95 ^{ab}	0.38±0.06
SE	322.31±10.15 ^{ab}	96.99±19.04 ^{ab}	61.10±6.81	32.14±8.52 ^a	0.52±0.12

1)-2) See Table 3. 3) Not significant at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

이가 없었으나, 대조군에 비하여 나머지 군들이 낮은 경향을 보였고, 중성지방 농도에서와 같이 감잎건분군과 추출군이 혈장의 콜레스테롤을 낮추는데 좋은 효과를 보였다.

혈장의 HDL-콜레스테롤 농도는 솔잎건분군을 제외하고는 모두 대조군보다 높았으나 그 차이가 유의적이지는 않았고, 그중 녹차건분군과 솔잎추출군이 가장 높았다. 각 건분군과 추출군을 비교하면 솔잎추출군이 건분군보다 유의적으로 HDL-콜레스테롤이 높았다.

혈장의 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 군들간에 유의적인 차이가 없었으나, 솔잎추출군이 가장 높았다.

따라서, 혈장의 총지방, 중성지방 및 콜레스테롤 수준을 저하시키는 데는 감잎의 건분군과 추출군이 가장 효과적이었다.

2) 간의 총지방, 중성지방 및 콜레스테롤 농도

간의 지방대사를 알아보기 위해 측정된 총지방, 중성지방 및 총콜레스테롤 농도는 Table 6과 같았다.

간의 총지방 농도는 각 실험군간에 유의적인 차이가 없었으나, 감잎건분군이 높고, 솔잎추출군이 낮은 경향을 보였다. 각 건분군과 추출군간의 비교에 있어서는 유의적이지는 않았으나 감잎과 솔잎은 추출군이, 녹차는 건분군이 더 낮은 경향이였다.

간의 중성지방 농도는 모든 군이 대조군보다 낮았고, 특

Table 6. Liver total lipid, triglyceride(TG) and cholesterol concentrations

Groups	Liver total lipid (mg/g wet weight)	Liver TG (mg/g wet weight)	Liver cholesterol (mg/g wet weight)
C	¹⁾ 53.33±9.89 ^{N.52)}	8.60±0.96 ^a	2.56±0.14 ^{a3)}
GP	60.00±7.30	5.70±1.18 ^{ab}	2.12±0.22 ^{ab}
NP	43.33±9.55	6.18±1.24 ^{ab}	2.08±0.19 ^{ab}
SP	56.67±8.03	6.33±0.94 ^{ab}	2.08±0.17 ^{ab}
GE	50.00±6.83	5.93±0.86 ^{ab}	1.98±0.25 ^{ab}
NE	50.00±6.83	5.32±0.89 ^{ab}	1.87±0.23 ^b
SE	36.67±3.33	4.63±0.92 ^b	1.66±0.18 ^b

1)-3) See Table 5.

히 솔잎추출군은 대조군보다 유의적으로 낮았다. 각 다류의 건분군과 추출군을 비교하면 감잎과 녹차는 차이가 없었으나, 솔잎은 추출군이 건분군에 비하여 낮은 경향을 보였다.

간의 총콜레스테롤 농도는 모든 군이 대조군보다 낮은 경향이였고, 녹차추출군과 솔잎추출군은 대조군보다 유의적으로 낮았다. 각 다류의 건분군과 추출군을 비교하면 감잎은 차이가 없었으나, 녹차와 솔잎은 추출군이 건분군보다 다소 낮았다.

3) 변의 무게 및 변의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 배설량

일일 평균 변의 무게와 변의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤의 배설량은 Table 7에 나타내었다.

일일 평균 변무게는 세가지 건분군이 모두 대조군보다 유

Table 7. Feces weight, fecal total lipid, triglyceride(TG) and cholesterol excretions

Groups	Fecal weight (g dry weight/day)	Fecal total lipid (mg/day)	Fecal TG (mg/day)	Fecal cholesterol (mg/day)
C	¹ 0.34±0.04 ²⁾	29.13± 3.71 ^c	0.24±0.03 ^a	2.29±0.29 ^d
GP	1.01±0.17 ^a	82.33±24.90 ^a	3.10±0.40 ^a	10.02±1.68 ^a
NP	0.96±0.10 ^a	96.17± 9.55 ^a	1.78±0.20 ^b	6.03±0.63 ^b
SP	0.78±0.07 ^a	65.30± 3.22 ^{ab}	1.51±0.23 ^{bc}	5.18±0.38 ^{bc}
GE	0.46±0.03 ^b	62.83± 5.38 ^{abc}	1.14±0.11 ^{cd}	6.25±0.49 ^b
NE	0.43±0.06 ^b	43.07± 5.94 ^{bc}	0.71±0.15 ^{de}	3.28±0.53 ^{cd}
SE	0.40±0.06 ^b	47.20± 4.35 ^{bc}	0.70±0.13 ^{de}	3.22±0.56 ^{cd}

1)-2) See Table 3.

의적으로 높았고, 각각의 추출군보다도 유의적으로 높았다. 전체적으로 볼 때 감염건분군이 가장 높았고, 추출군중에서도 감염추출군이 가장 높은 수준이었다.

일일 총지방 배설량 역시 모든 군들이 대조군보다 높았고, 그중에서 건분군들은 유의적으로 높은 수준이었다. 건분군들 중에서는 감염과 녹차건분군이 가장 높았고, 추출군 중에서는 감염추출군이 가장 높았다. 모든 건분군들이 각각의 추출군보다 많은 양의 지방을 배설하였고, 특히 녹차건분군은 녹차추출군보다 유의적으로 높았다.

변의 중성지방 배설량도 모든 다류 건분군과 추출군이 대조군보다 높은 수준이었다. 실험군 중에서도 세가지 건분군들과 감염추출군이 효과적으로 체내의 중성지방을 배설함을 알 수 있었다. 각 건분군과 추출군을 비교하면 모든 건분군이 각각의 추출군보다 유의적으로 중성지방을 많이 배설하였다.

변의 콜레스테롤 배설량도 모든 다류 건분군과 추출군이 대조군보다 높았고, 특히 세가지 건분군들은 유의적으로 높았다. 감염건분군이 가장 많은 콜레스테롤을 배설하였고, 감염건분군과 녹차건분군은 각각의 추출군보다 유의적으로 높은 수준이었다. 추출군중에서 감염추출군은 다른 추출군들과 달리 많은 양의 콜레스테롤을 배설시켜 대조군보다 유의적으로 높은 수준이었다.

전체적으로 변의 무게 및 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 배설량이 실험군에 따라 비슷한 양상을 나타내었고, 감염건분군이 총지방과 중성지방, 콜레스테롤 배설에 가장 효과적인 임을 알 수 있었다.

4. 항산화능

1) 혈장과 간의 지질과산화물 함량

혈장과 간의 지질의 과산화 정도를 알아보기 위해 지질과산화물 함량(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS values)을 측정된 결과는 Table 8과 같았다.

혈장의 지질과산화물 함량은 세가지 다류의 섭취에 의해 영향을 받아 모든 군이 대조군보다 낮은 수준이었고, 특히

Table 8. Plasma and liver Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) levels

Groups	Plasma TBARS (nmol/100ml plasma)	Liver TBARS (nmol/g wet liver)
C	¹ 30.79±4.33 ²⁾	4.81±0.58 ^a
GP	20.32±1.71 ^b	3.51±0.22 ^b
NP	23.55±1.57 ^{ab}	3.66±0.14 ^b
SP	22.09±1.59 ^{ab}	4.12±0.20 ^{ab}
GE	20.92±2.19 ^b	3.51±0.16 ^b
NE	22.59±1.52 ^{ab}	3.70±0.20 ^b
SE	22.56±1.03 ^{ab}	5.04±0.62 ^a

1)-2) See Table 3.

감염건분군과 감염추출군은 유의적으로 대조군보다 낮았다. 각 다류의 건분군과 추출군을 비교하면 세가지 다류 모두 혈장의 지질 과산화 억제효과는 건분군과 추출군간에 유의한 차이가 없었다.

간의 지질과산화물 함량은 감염건분군과 추출군, 녹차건분군과 추출군은 대조군보다 유의적으로 낮았고, 솔잎건분군과 추출군은 대조군과 비슷한 수준이었다. 각 다류의 건분군과 추출군간에는 혈장에서와 같이 유의적 차이가 없었다.

따라서 혈장의 과산화지질 함량은 감염건분군과 추출군이 가장 낮았고, 간의 과산화지질 함량은 감염건분군과 추출군 뿐 아니라 녹차건분군과 추출군도 대조군보다 유의적으로 낮아 감염과 녹차가 체내의 지질 과산화를 효과적으로 억제함을 알 수 있었고, 솔잎추출군은 간의 지질 과산화 억제에 유의적인 효과가 없었다.

2) 적혈구의 항산화 효소들의 활성

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아보기 위해 대표적인 항산화 효소인 catalase와 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-px)의 활성을 측정된 결과는 Table 9에 나타내었다.

적혈구의 catalase 활성은 모든 실험군들간에 유의적 차이가 없었으나, 녹차건분군이 가장 높은 경향을 보였다. 건

Table 9. Antioxidative enzyme activities of erythrocyte

Groups	RBC catalase	RBC SOD	RBC GSH-px
C	¹⁾ 1387.5±149.13 ^{N,52)}	10.73±1.63 ^{3a)}	0.086±0.010 ^b
GP	1535.9± 34.34	13.07±2.52 ^{ab}	0.099±0.007 ^{ab}
NP	2064.7±473.70	12.89±2.04 ^{ab}	0.107±0.009 ^{ab}
SP	1515.8±102.20	13.62±1.93 ^{ab}	0.098±0.006 ^{ab}
GE	1799.5±378.37	13.94±1.38 ^{ab}	0.100±0.009 ^{ab}
NE	1705.9±382.60	17.58±2.81 ^a	0.123±0.016 ^a
SE	1412.5±258.94	11.46±1.31 ^{ab}	0.111±0.006 ^{ab}

1)-3) See Table 5.

4) Catalase activities are expressed as nmole formaldehyde utilized as standard per mg protein. Superoxide dismutase(SOD) activities are expressed as Units per minute per mg protein(1 unit will inhibit the rate of reduced of cytochrome c by 50% in a coupled system with xanthine oxidase at pH 7.8 and 25℃ in a 3.0ml reaction volume). Glutathione peroxidase(GSH-px) activities are expressed as unit per mg protein(1 unit will catalyze the oxidation by H₂O₂ of 1.0μml of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25℃).

분군과 추출군의 비교에 있어서는 유의적은 아니나 감잎은 추출군이, 녹차와 솔잎은 건분군이 다소 높았다.

적혈구의 SOD 활성은 다류섭취에 의해 영향을 받아 모든 다류군이 대조군보다 높았고, 특히 녹차추출군이 유의적이었다. 각 건분군과 추출군을 비교하면 감잎과 솔잎군은 별 차이가 없었고, 녹차의 경우에는 유의적이지는 않으나 추출군이 건분군에 비하여 다소 높았다.

적혈구의 GSH-px 활성은 적혈구의 SOD 활성과 비슷한 양상을 띠어 녹차추출군이 대조군보다 유의적으로 높았고, 다른 군들은 대조군보다는 높았으나 유의적인 차이는 없었다. 각 건분군과 추출군의 비교시 감잎, 녹차, 솔잎 모두 건분군보다 추출군의 활성이 더 높은 경향을 보였다.

즉, 적혈구의 항산화 효소들의 활성을 보면 catalase는 녹차건분군이, SOD와 GSH-px는 녹차추출군이 가장 높아 녹차가 적혈구의 항산화 효소들의 활성을 높는데 가장 효과적이었다고 할 수 있겠다.

3) 간의 항산화 효소들의 활성

간의 항산화 효소인 catalase, SOD, GSH-px의 활성을 측정한 결과는 Table 10과 같았다.

간의 catalase 활성은 모든 실험군들간에 유의적 차이가 없었으나, 다류군들이 대조군보다 높은 경향이였다. 각 건분군과 추출군을 비교하면 감잎과 솔잎은 별 차이가 없었으나 녹차는 건분군에 비하여 추출군이 다소 높았다.

간의 SOD 활성은 다류의 섭취에 의해 영향을 받아 모든 군이 대조군보다 높은 수준이였고, 특히 솔잎건분군과 솔잎추출군이 대조군보다 유의적으로 높았다. 각 건분군과 추출군을 비교하면 감잎은 별 차이가 없었으나, 녹차와 솔잎은

Table 10. Antioxidative enzyme activities of liver

Groups	Liver catalase	Liver SOD	Liver GSH-px
C	¹⁾ 5774±1141.33 ^{N,52)}	11.89±10.97 ^{a)}	0.3125±0.02 ^b
GP	6364±1238.01	26.63± 3.77 ^{bc}	0.3480±0.02 ^{ab}
NP	6348± 596.77	15.30± 3.77 ^{bc}	0.3845±0.03 ^a
SP	6150±1052.07	40.22± 5.95 ^{ab}	0.2947±0.02 ^b
GE	6309± 933.97	24.17± 5.29 ^{bc}	0.3165±0.01 ^b
NE	7831±1142.75	35.24±10.09 ^{bc}	0.3035±0.02 ^b
SE	6642± 791.85	60.69±13.00 ^a	0.3042±0.03 ^b

1)-4) See Table 9.

추출군의 활성이 높은 경향이였다.

간의 GSH-px 활성은 녹차건분군이 대조군에 비하여 유의적으로 높았고, 나머지 다류군들은 대조군과 유의적 차이가 없었다. 각 건분군과 추출군을 비교했을 때 감잎과 녹차는 건분군이 추출군보다 높은 활성을 보였고, 솔잎은 차이가 없었다.

간의 항산화 효소들의 활성은 catalase와 GSH-px는 녹차추출군과 건분군이 각각 높게 나타나 녹차가 이들의 활성을 증가시키는데 효과적임을 알 수 있었으나, SOD의 활성은 솔잎건분군과 솔잎추출군에서 높았다.

고 찰

1. 흰쥐의 성장에 미치는 영향

식이섭취량, 체중증가량 및 이틀로부터 계산한 식이효율은 다류의 섭취에 의해 영향을 받아 녹차건분군은 대조군보다 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율이 높은 수준이였고, 솔잎건분군과 솔잎추출군은 대조군보다 낮았으며, 특히 솔잎추출군이 큰 영향을 받아 다른 실험군들보다도 유의적으로 낮았다.

녹차 물추출액은 위액의 펩신 분비를 촉진시켜 식욕을 증진시킨다.¹⁶⁾고 알려져 본 실험에서의 녹차건분군의 높은 식이섭취를 뒷받침하지만, 정 등¹³⁾과 신 등¹⁴⁾의 연구에서는 녹차물추출을 섭취한 흰쥐의 식이섭취량과 체중증가량이 감소하였다고 하여 본 실험과는 반대의 결과를 보였다.

솔잎건분군과 추출군은 식이섭취량과 체중증가량이 대조군보다 유의적으로 낮았고, 특히 솔잎추출군이 이러한 효과가 더 컸다. 솔잎은 『學圃軒集』葉救荒說에 따르면 “위장에 위해가 없고 배고픔을 잊게 하며 음식을 절약하고 수명을 연장한다.”고 하며, 『東醫寶鑑』에서는 “오장을 편히하여 주리지 않게 한다.”고 하였다²⁰⁾. 따라서 솔잎에는 식욕을 억제시키거나 포만감을 주어 식이섭취량을 떨어뜨리고 이로인해 체중을 감소시키는 성분이 있다고 볼 수 있었다. 김 등²¹⁾의 연구에서 솔잎분말 5% 첨가군에서 식이효율이 대조군

보다 유의적으로 낮았고, 강 등²⁶⁾의 연구에서도 6% 솔잎 열수추출물 급여군이 대조군보다 체중증가량과 식이효율도 유의적으로 낮았다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하였다. 솔잎에서 식이섬유량이 감소한 것은 솔잎에 함유된 정유성분의 자극적인 이취와 솔잎특유의 짙은 맛이나 이미, 솔잎에 함유된 식이섬유에 의한 것으로 사료된다. 식이섬유는 일반적으로 음식물의 점성을 증가시킴으로써 gastric emptying rate를 지연시켜 포만감을 주고, 각종 영양소의 흡수 및 소화를 지연시켜 식이섭취량 및 식이효율을 저하시킨다³⁰⁾. 따라서 솔잎은 영양과잉으로 인한 비만의 치료나 다이어트 식품으로의 이용할 수 있을 것이다.

장기들의 무게도 다류의 섭취에 따라 차이를 보여 간, 신장, 부고환 지방의 무게가 녹차건분군이 대조군보다 높았고, 반대로 솔잎건분군과 솔잎추출군은 낮았다. 각 다류의 건분군과 추출군을 비교하면 녹차건분군이 추출군보다 간과 부고환지방의 무게가 유의적으로 컸다.

강 등²⁶⁾의 연구에서는 솔잎 열수추출물 및 아세톤추출물 투여로 간의 무게가 낮아졌다고 보고하여 본 실험과 일치하였다. 그러나 본 연구와 강 등²⁶⁾의 연구에서는 간무게 뿐 아니라 전체 체중 또한 솔잎첨가로 감소하였으므로 이는 다류의 섭취에 의한 직접적인 영향이라기 보다는 체중의 감소로 인한 이차적인 결과로 생각되며, 녹차건분군에서의 장기무게 증가도 같은 이유로 설명될 수 있겠다.

다른 장기들과는 구별되게 감잎군의 비장무게가 가장 높은 수준이었고, 솔잎추출군보다는 유의적으로 높았다. 감잎의 항암효과에 대한 문 등¹⁰⁾의 연구에서도 감잎의 hexane 및 chloroform 획분과 탄닌의 투여로 비장의 무게가 대조군에 비하여 약간 증가하는 것으로 나타났고, 이러한 비장의 무게 증가를 비장의 splenic macrophage 등 면역계에 관련된 세포들의 활성증가로 추정하여 감잎의 면역계 활성화에 의한 항암성의 가능성을 제시하였다.

2. 지방대사

혈장의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 농도가 세가지 다류 모두 건분 및 에탄올추출물의 섭취로 대조군보다 낮은 경향을 보였고, 감잎건분군과 추출군이 혈장의 지방질을 낮추는데 가장 효과적이었다. 간의 중성지방과 콜레스테롤의 농도도 다류섭취에 의해 영향을 받아 모든 다류군이 대조군보다 낮았고, 특히 녹차추출군과 솔잎추출군이 간의 지방축적을 효과적으로 억제하였다. 변무게와 변의 총지방, 중성지방 및 콜레스테롤 배설량은 세가지 다류의 건분 섭취로 대조군보다 유의적으로 높았으며, 추출군중에서는 감잎추출군이 대조군보다 중성지방과 콜레스테롤 배설량이 유의

적으로 많았다.

정 등¹⁰⁾의 연구에서 녹차 물추출물을 섭취한 흰쥐의 혈청과 간의 콜레스테롤이 유의적이지는 않으나 대조군보다 낮게 나타났고, 중성지방 수준도 낮았다. 신 등¹⁴⁾의 연구에서도 녹차 물추출물을 음용한 흰쥐의 혈청 중성지방과 콜레스테롤이 대조군보다 감소하였고, HDL-콜레스테롤이 증가하였으며 간의 총지방도 낮아졌다. 고지방 식이를 먹인 쥐에게 솔잎 열수추출물 및 아세톤추출물을 투여한 강 등²⁶⁾의 연구에서는 이들 추출물이 혈장 중성지방과 콜레스테롤을 낮추었고 HDL-콜레스테롤을 증가시켰으며, 간의 총지방과 중성지방, 콜레스테롤을 낮추었다. 본 연구에서는 녹차 추출군과 솔잎추출군이 혈장의 지방수준보다는 간의 지방축적 억제에 더 효과적이었다.

감잎, 녹차, 솔잎의 섭취가 체내 지방수준을 낮추는 기전은 먼저 지방의 흡수를 저하시킴으로써 변으로의 배설을 촉진시켜 혈액과 간의 지방수준을 저하시키는 것을 생각해 볼 수 있고, 두번째로 콜레스테롤의 합성에 관여하는 효소인 3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA(HMG-CoA) reductase와 같이 지방의 합성에 관여하는 효소의 활성을 억제하여 지방의 수준을 낮추는 경우를 들 수 있다.

이와같이 감잎과 녹차의 체내 지방수준 저하 효과를 설명할 수 있는 성분으로는 이들 다류에 함유되어 식이섬유와 flavonoids, phenolic acid와 같은 polyphenol을 생각해 볼 수 있다. 식이섬유, 특히 수용성 식이섬유는 콜레스테롤 수준을 낮추는데 효과적이라고 알려져 있다. 먼저 수용성 식이섬유는 소화기관에서 수화되면서 장내용물의 점성을 증가시키고 gel matrix를 형성하여 지방의 흡수를 억제하고 변의 지방 배설량을 증가시킨다. 또한 소장에서 담즙산, 콜레스테롤과 결합하여 micelle의 형성을 방해하고, 효소의 작용을 적게 받도록 함으로써 소장내 지방의 소화와 흡수를 방해하여 혈액과 간의 지방수준을 낮추고, 담즙산과 결합하여 담즙산의 배설량을 증가시키며, 혈중 콜레스테롤이 간의 담즙산 재합성에 이용되도록 함으로써 혈중 콜레스테롤을 저하시킬 수 있고, insulin의 분비를 감소시켜 간내 콜레스테롤 및 지방산의 합성을 감소시킨다³¹⁻³³⁾⁷⁾ 뿐만 아니라 대장에서의 식이섬유 발효 부산물인 short-chain fatty acid도 콜레스테롤 합성능을 감소시켜 콜레스테롤 농도를 낮춘다고 알려져 있고, 특히 propionate가 HMG-CoA reductase의 inhibitor로 작용하여 콜레스테롤을 낮춘다고 보고되었다³⁴⁾. 불용성 식이섬유 또한 대장에서 미생물의 작용을 적게 받아 비발효 잔사로 남게 되고, 그 물리적 구조를 유지함으로써 지방의 배설량을 증가시켜 지방저하 효과를 발휘할 수 있다. 본 연구에서 사용한 세가지 다류중

에서 섬유질의 함량이 가장 높은 감잎건분군은 변무게와 변으로의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 배설량이 가장 많았으며, 혈장 지방저하 효과도 가장 크게 나타나 감잎건분군의 체내 지방저하 효과를 식이섬유에 의한 것으로 생각할 수 있다. 그러나 감잎추출군도 혈장 총지방, 중성지방, 콜레스테롤을 효과적으로 낮춘 것으로 볼 때 감잎의 식이섬유 뿐 아니라 에탄올에 녹는 다른 성분에 의한 효과도 생각할 수 있다. 일반적으로 물, 메탄올, 아세톤과 같은 용매에 추출될 수 있는 저분자·중분자 polyphenol은 소화관에서 흡수되어 혈장내 성장호르몬을 증가시키고, 흡수된 아미노산이나 지방의 대사이용률을 떨어뜨린다고 알려져 있다. Bravo 등⁶¹⁾의 연구에서는 이와같이 추출될 수 있는 polyphenol 중에서 가장 기본적인 구조를 가진 tannic acid는 변무게 뿐 아니라 물, 지방과 질소배설량을 유의적으로 증가시켰고, catechin은 지방배설량을 증가시켰다고 하였다. 따라서 감잎추출군에 함유된 추출될 수 있는 polyphenol이 콜레스테롤의 흡수를 감소시키고 변으로의 지방배설량을 증가시키므로써 혈장의 지방수준을 낮추었다고 사료된다.

Flavonoids와 phenolic acid 같은 polyphenol도 콜레스테롤을 낮춘다고 알려져 있다. 고지방 식이를 먹인 흰쥐에게 flavonoids를 0.1% 수준으로 투여한 이 등⁶²⁾의 연구에서 혈장과 간의 총콜레스테롤이 대조군보다 유의적으로 낮았고, HMG-CoA reductase의 활성도 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 또한 flavonoid인 quercetin과 catechin이 콜레스테롤 및 어유를 섭취한 흰쥐의 혈청과 간의 콜레스테롤과 중성지방 수준을 저하시켰다고 보고되었다⁶³⁻⁶⁶⁾. 본 연구에서 flavonoids의 함량이 가장 높았던 녹차건분군은 체내 지방저하 효과가 나타나지 않았으나, 녹차추출군이 간의 지방축적을 억제한 것으로 보아 녹차내의 에탄올에 녹는 flavonoids가 흰쥐의 간의 지방축적을 억제한다고 생각된다. 녹차잎이나 곡류의 세포벽 성분에 결합되어 있는 phenolic acid도 흰쥐의 혈청 콜레스테롤 농도를 저하시키고, 콜레스테롤 생합성 초기단계에 작용하는 효소 mevalonate pyrophosphate decarboxylase를 저해한다⁶⁷⁾고 알려져 있으므로 녹차 에탄올추출물내의 phenolic acid에 의한 영향도 고려할 수 있다.

이상과 같이 감잎, 녹차, 솔잎의 건분 및 에탄올추출물이 지방대사에 미치는 영향을 살펴본 결과 섬유질이 가장 풍부한 감잎건분군은 변으로 중성지방과 콜레스테롤을 비롯한 총지방을 많이 배설시킴으로써 혈장의 지방수준을 현저히 저하시켰고, 감잎추출군도 변으로의 지방배설을 대조군보다 유의적으로 증가시킴으로써 혈장의 지방수준을 낮추었다. 이는 감잎내의 식이섬유와 에탄올에 녹는 polyphenol

에 의한 효과로 사료된다. 녹차추출군은 변으로의 지방배설량은 많지 않았으나 간의 지방축적을 유의적으로 억제하였다. 이는 녹차내에 풍부하게 함유되어 있는 catechin이나 quercetin과 같은 에탄올에 녹는 flavonoids와 phenolic acid 같은 polyphenol에 의한 효과라고 생각된다. 솔잎추출군은 변으로의 지방 배설량이 적고 혈장에서는 건분군보다 높은 수준이었으나, 간의 지방수준이 낮았다. 솔잎추출물이 *in vitro*에서 HMG-CoA reductase 활성을 저해한 이 등³⁰⁾의 연구를 보아 솔잎추출물이 간에서의 지방합성을 억제함으로써 간의 지방축적을 방해하는 기전을 들 수 있고, 솔잎추출군의 체중저하로 인한 이차적인 결과로 지방대사 규모 자체가 작았던 것으로도 파악할 수 있겠다.

다류에는 식이섬유와 flavonoids, phenolic acid와 같은 다양한 polyphenol류가 함유되어 있으므로 혈장 지방수준 저하 효과가 이중 어느 특정성분에 의한 효과라고 단정할 수는 없다. 그러나, 혈중내 콜레스테롤 농도가 관상동맥질환의 위험을 판정하는 인자라는 점을 감안할 때 감잎과 녹차, 솔잎의 섭취는 관상동맥질환의 예방과 치료에 유용하게 사용될 수 있고, 에탄올추출물도 체내 지방저하 효과가 컸으므로 수침액을 이용하고 폐기되는 차찌꺼기도 이용해야 할 것이다.

3. 항산화능

감잎건분군과 추출군의 혈장과 간의 TBARS 함량은 대조군보다 유의적으로 낮았으나, 적혈구와 간의 세가지 항산화 효소활성은 모두 변함이 없었다. 녹차건분군과 추출군의 간내 TBARS 함량은 대조군보다 유의적으로 낮았고, 녹차추출군에서는 적혈구 SOD와 GSH-px 활성이, 녹차건분군에서는 간의 GSH-px 활성이 대조군보다 유의적으로 높았다. 솔잎건분군과 추출군은 적혈구 SOD 활성을 유의적으로 증가시켰으나, 혈장과 간의 지질과산화 억제에서는 유의적인 효과가 없었다.

본 연구에서 SOD와 GSH-px와 달리 catalase의 활성은 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 본 연구에서 catalase의 활성을 측정하기 위해 사용한 방법은 catalase의 peroxidic activity를 이용한 것으로 이는 H₂O₂의 농도가 낮을 때 뚜렷한 활성을 나타낸다⁵⁸⁾. 따라서 본 연구에서 사용한 흰쥐의 적혈구와 간에는 H₂O₂가 과량 함유되어 있었다고 유추할 수 있고, 일반적으로 GSH-px의 활성은 철분, 비타민 E, 필수지방산의 결핍시 감소하고 산화적 스트레스에 의해 증가한다고 알려져 있다⁶⁷⁾. 실험동물의 체내에서 다량의 H₂O₂에 의한 산화적 스트레스에 대해 녹차추출군은 적혈구의 GSH-px의 활성을 향상시키고, 녹차건분군은 간

의 GSH-px를 증가시킴으로써 혈장과 간의 지질과산화를 억제함을 볼 수 있었다. 류 등¹⁰⁾의 연구에서는 자외선 조사에 의해 억제되었던 쥐표피의 catalase 활성이 녹차 열수추출물로 농도에 비례하여 증가하였고, 정 등¹³⁾의 연구에서는 녹차물추출물 투여로 SOD와 GSH-px 활성이 유의적이지는 않으나 대조군보다 높게 나타났으며, 이 등¹⁹⁾은 한국산 녹차, 우롱차 및 홍차 중에서 catechin 함량이 가장 높은 녹차가 카드뮴 중독으로 인해 저하된 간의 SOD, GSH-px의 활성을 유의적으로 증가시켰다고 보고하였다. Graham⁷⁰⁾은 녹차의 메탄올추출물과 polyphenol 분획이 비타민 C나 E보다 더 우수하게 superoxide anion이나 hydrogen peroxide를 scavenging하고, 항산화 비타민은 hydroxyl radical을 더 효과적으로 scavenging한다고 하였다.

감잎에는 myricitrin, astragalín, isoquercitrin 같은 flavonoid 배당체 형태가 함유되어 있고, 녹차에는 kaempferol, quercetin, myricetin, catechin이 있으며, 솔잎에는 녹차에도 함유되어 있는 flavonoids인 quercetin과 kaempferol이 있다고 알려져 있다⁷³⁾.

Flavonoids는 free radical damage를 촉진하는 free 상태의 Fe, Cu ion 등과 안정적인 금속이온 복합체를 형성하고 superoxide anion, hydroxyl radical, peroxy radical과 같은 free radical을 직접 scavenging하며, 항산화 효소의 활성증가 및 free radical 생성에 관여하는 xanthine oxidase의 활성을 저하시킴으로써 항산화 효과를 나타낸다고 알려져 있다⁴⁵⁾⁴¹⁻⁴³⁾¹⁹⁾¹⁷⁾. 또한 flavonoids는 peroxy radical에 hydrogen donor로 작용함으로써 radical 연쇄반응을 종결시켰다⁴³⁾. Heanen 등⁴⁴⁾은 flavonoids가 peroxy radical의 scavenger로 작용하여 관상동맥질환의 발생을 낮출 수 있다고 하였으며, 어유섭취와 당뇨로 인해 증가하였던 지질과산화를 catechin이 감소시켰고¹⁶⁾⁶⁶⁾, quercetin도 간의 TBARS 함량을 감소시켰다⁶⁴⁾는 연구도 보고되었다. Flavonoids의 기본구조는 Fig. 1과 같고, 이러한 항산화 효과는 구조에 따라 차이를 보여 지질과산화를 효과적으로 억제하기 위해서는 일반적으로 C ring의 탄소-3(C-3) 위치에 hydroxyl group이 있어야 하고, C ring의 C-2와 3 사이에 이중결합이 있어야 하며 A와 B ring의 hydroxyl group의 수가 4개 이상이어야 존재하고, flavonoid glycoside 형태보다는 aglycone 형태로 존재하여야 한다⁶⁸⁾. 또한 B ring에 치환된 hydroxyl group이 많을수록 hydroxyl radical scavenging이 크고⁴²⁾, B ring과 C-3의 hydroxyl group이 peroxy radical scavenging에 있어 가장 중요한 작용을 한다⁴⁴⁾. Superoxide radical을 생성하는 xanthine oxidase에 대한 저해효과는 flavono-

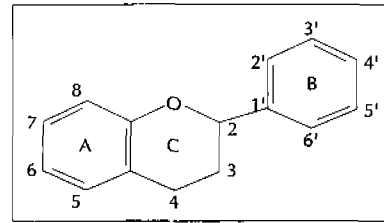


Fig. 1. Basic structure and numbering system of flavonoids.

ids 구조내의 hydroxyl기 위치에 따라 다르고, galloyl기를 함유한 flavonoid 화합물이 xanthine oxidase 저해효과가 우수하였다고 알려져 있다¹⁷⁾. Flavonoids의 항산화능은 구조적 차이뿐 아니라 이들의 흡수와 대사정도에 따라 달라지는데, 흡수와 대사는 glycosylation, acylation 정도, 기본 구조, 다른 phenolics와의 conjugation, 분자크기, polymerization의 정도, 용해도 등에 따라 결정된다⁴⁰⁾.

Beta-carotene, 비타민 C, 비타민 E와 같은 항산화 비타민은 free radical을 제거한다고 알려져 있다. Beta-carotene은 singlet oxygen(¹O₂)에 의한 산화억제에 우수한 효과를 가지며, carotenoid의 복합 이중결합이 증가할수록 항산화 효과가 증가한다고 알려져 있다³⁷⁾. 비타민 C는 수용성 항산화제로 산소제거제나 수소공여체로 작용하여 superoxide나 hydroxyl radical과 빠르게 반응한다³⁶⁾³⁷⁾. 또한 ascorbic acid는 다른 free radical을 환원시켜 자신은 산화된 flavonoids를 환원시켜 phenolic 항산화제의 synergist로 작용한다⁷⁹⁾. Tocopherol은 수소공여체로 작용하여 항산화 작용을 하며, 이러한 항산화 효과는 구조에 따라 다르다고 한다³⁶⁾. 또한 tocopherol은 singlet oxygen과 반응하여 생체막을 효과적으로 보호할 수 있고 hydroxyl radical과도 빠르게 반응하며, 생체막에서 peroxy radical이나 alkoxy radical과 반응하여 수소원자를 제공함으로써 지질 과산화의 연쇄반응을 종결시킨다³⁶⁾. Buring 등³⁸⁾은 비타민 E를 보충시킨 닭의 혈장 peroxide의 농도가 감소하였다고 하였고, Charleux⁶⁹⁾는 심혈관계 질환의 위험요인으로 알려져 있는 LDL 산화의 susceptibility를 낮추어 주고 lag phase를 지연시키며 산화속도를 낮춘다고 하였다.

총 flavonoids 뿐 아니라 β-carotene, 비타민 C가 풍부하게 함유되어 있는 녹차는 이러한 항산화제에 의한 항산화 작용과 함께 항산화 효소의 활성을 증가시키는 효소적 방법으로 지질과산화를 억제한다고 사료되고, 특히 녹차내의 quercetin은 항산화능을 나타내기 위한 구조적 특징을 가지고 있다고 알려져 있다.

강 등³⁰⁾의 연구에서는 6% 솔잎 아세톤추출물이 간의 catalase와 SOD 활성을 현저히 높였고, TBARS도 낮은 경

향을 보였으며, 다른 연구²⁰⁾에서는 솔잎 열추출물과 아세톤추출물의 전자 공여작용(Electron donating ability)이 우수하였다는 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 솔잎건분군과 추출군이 적혈구 SOD의 활성을 증가시켰으나, 혈장과 간의 지질과산화 억제효과는 없었다. Ahmad 등⁷⁰⁾은 효소적 방법에 의한 유해산소 조절기전을 알아보기 위한 연구에서 superoxide radical을 빠르게 제거하는 SOD는 식이내의 산화제에의 노출에 대한 주요 반응효소이고, catalase는 H₂O₂의 지나친 축적을 막는데 있어 중요하다고 하였다. 즉, 솔잎은 외부의 산화제에 대한 반응으로 SOD 활성을 증가시켜 superoxide anion을 H₂O₂로 효과적으로 전환시킬 수 있었지만, catalase와 GSH-px의 활성을 증가시키지는 못함으로써 H₂O₂나 과산화물이 효과적으로 제거되지 못하여 간의 지질과산화 억제효과가 부족하였고 할 수 있다.

감잎은 적혈구와 간의 항산화 효소들의 활성이 대조군보다 유의적으로 높이지 않았으나 혈장과 간의 과산화지질 함량을 현저하게 낮춘 것으로 볼 때 감잎은 항산화 효소에 의한 항산화 작용보다는 감잎내의 flavonoids나 비타민 E와 같은 항산화제의 작용을 통해 지질과산화를 억제한다고 볼 수 있다. Galvez 등⁷¹⁾의 연구에서도 catechin, kaempferol, quercetin등의 flavonoids가 GSH-px와 같은 glutathione 관련효소의 활성을 변화시키지 않고 지질과산화를 억제하였고, Igarashi 등⁶⁰⁾의 연구에서는 isorhamnetin, rhamnetin, quercetin이 간의 catalase, SOD 활성에는 영향을 주지 않고 TBARS 함량을 감소시켰다. Ozturk 등⁷²⁾의 연구에서는 항생물질인 gentamicin과 함께 비타민 E를 guinea pig에 투여한 결과 심장조직의 SOD 활성이 증가하였고, malondialdehyde(MDA) 수준은 낮았다고 하여 비타민 E가 free radical에 의한 손상으로부터 보호작용을 할 수 있다고 하였다. 본 연구에서 사용한 감잎에는 세포막에서 가장 효과적인 항산화 비타민인 비타민 E가 가장 많이 함유되어 있었고, 감잎의 건분군과 함께 에탄올추출군에서도 지질과산화물 함량이 낮았던 것으로 보아 감잎은 비타민 E를 통한 항산화 기전에 의하여 지질의 과산화를 효과적으로 억제하였다고 사료된다. 또한 감잎에는 SOD처럼 superoxide anion을 제거하는 작용을 하는 물질인 SOD 유사활성 물질이 함유되어 있고¹¹⁾, 식이섭유도 xanthine oxidase의 활성을 저해한다⁷³⁾고 알려져 있어 이들에 의한 효과도 생각할 수 있다.

항산화 비타민과 flavonoids 뿐 아니라 식사내의 chlorogenic acid와 caffeic acid 같은 phenolic acid 역시 항산화제로 알려져 있고, Yagi 등⁷⁴⁾의 연구에서는 이 두가지

phenolic acid의 항산화능을 살펴본 결과 chlorogenic acid는 peroxy radical을 scavenging 함으로써 지질과산화의 연쇄반응의 개시를 방해하였다. 따라서 지질과산화 억제에 효과적이었던 감잎과 녹차에 함유되어 있는 phenolic acid에 의한 효과도 고려할 수 있다.

비타민 C가 없는 guinea pig의 간과 폐에서 비타민 E의 함량이 감소함을 발견함으로써 이들 비타민이 서로 협동적으로 작용한다고 하였고³⁷⁾, Jacques 등³⁹⁾의 Cross-Sectional Survey 결과 비타민 C, 비타민 E 또는 β-carotene의 섭취가 하나 또는 두개의 다른 항산화 비타민들의 혈중농도를 증가시킨다고 하였다. Viana 등⁷⁵⁾의 연구에서는 CuCl₂로 LDL을 산화시킬 때 medium내에 flavonoids를 넣으면 비타민 E가 소비되는 것을 지연시키면서 LDL의 산화를 억제하였으나, 비타민 E가 소모되고 난 후에는 이러한 효과가 없었다고 하여 flavonoids와 비타민 E간의 상호작용을 제시하였다. Mabile 등⁷⁶⁾도 alpha-tocopherol, ascorbic acid와 flavonoids인 rutin이 상호작용을 통해 Cu에 의한 LDL 산화를 억제한다고 하였다. 따라서 다류는 항산화 작용을 한다고 알려진 flavonoids, phenolic acid 등의 polyphenol과 항산화 비타민을 복합적으로 함유하고, 이들 항산화제간의 상호작용도 존재할 뿐 아니라 flavonoids는 구조에 따라 항산화능이 다르므로 다류의 항산화능을 어떤 특정한 성분에 의한 효과라고 단정하기는 어렵다.

이상과 같이 본 연구에서는 뛰어난 항산화제인 비타민 E가 풍부하게 함유되어 있는 감잎은 항산화 효소를 통한 효소적 항산화 작용 없이, 직접 적혈구와 간의 지질과산화를 억제하였고, flavonoids와 phenolic acid, β-carotene, 비타민 C와 같은 항산화제가 다량 함유되어 있는 녹차는 이들의 비효소적 방법에 의한 항산화 작용 뿐 아니라 항산화 효소의 활성도 증가시켜 간을 지질과산화로부터 보호하였다.

요약 및 결론

본 연구에서는 우리나라 전통차가 지방대사와 항산화능에 미치는 영향을 알아보고, 나아가 이러한 효과를 나타내는 성분의 검색을 위하여 감잎, 녹차, 솔잎의 건분 및 에탄올추출물을 비교하였다. 혈장과 간, 변의 총지방 및 중성지방, 콜레스테롤을 분석하여 지방대사를 알아보고, 혈장과 간의 TBARS 함량 및 적혈구와 간의 catalase, SOD, GSH-px의 활성을 측정함으로써 항산화능에 미치는 영향을 살펴보았다.

식이섭취량, 실험기간 동안의 체중증가량 및 식이효율은 녹차건분군이 대조군에 비하여 높았고, 솔잎건분군과 추출

군은 유의적으로 낮았으며, 간과 신장, 부고환지방의 무게도 같은 양상을 보였다. 비장무게는 감잎건분군이 높고, 솔잎추출군은 낮아 두군간에는 유의적인 차이를 보였다.

지방대사에서는 혈장의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 농도가 다류의 건분 및 에탄올추출물의 섭취로 대조군보다 낮은 경향을 보였고, 특히 감잎건분군과 추출군이 혈장의 지방질을 낮추는데 효과적이었다. 간의 중성지방과 콜레스테롤의 농도도 다류섭취에 의해 영향을 받아 모든 실험군이 대조군보다 낮았다. 특히 총지방과 중성지방은 솔잎추출군이 낮았으며, 콜레스테롤은 녹차추출군과 솔잎추출군이 대조군보다 유의적으로 낮아 녹차추출군과 솔잎추출군이 간의 지방축적을 효과적으로 억제하였다. 변무게와 변의 총지방, 중성지방 및 콜레스테롤 배설량은 세가지 다류의 건분군 섭취로 인해 대조군보다 유의적으로 높았으며, 추출군보다도 유의적으로 높았다. 추출군중에서 감잎추출군이 대조군보다 중성지방과 콜레스테롤 배설량이 유의적으로 많았다. 체내 지방저하 효과는 전체적으로 감잎군의 효과가 가장 컸다. 감잎과 녹차는 변으로의 지방배설량을 증가시킴으로써 각각 혈장과 간의 지방 축적을 억제하였고, 솔잎은 변으로의 지방배설량은 적었으나 간의 지방수준이 적었던 것으로 볼 때, 솔잎의 직접적인 효과라기 보다는 식이섭취량과 체중증가량이 적어 이에 의한 이차적인 결과로 사료된다.

혈장의 TBARS 수준은 모든 실험군이 대조군보다 낮은 경향을 보였으며, 특히 감잎건분군과 추출군이 대조군보다 유의적으로 낮았고, 간의 TBARS는 감잎건분군과 추출군, 녹차건분군과 추출군이 대조군에 비하여 유의적으로 낮았다. 적혈구와 간의 catalase 활성은 모든 실험군간에 유의적 차이가 없었으나, SOD와 GSH-px의 활성은 녹차추출군이 대조군보다 유의적으로 높았다. 간의 SOD는 솔잎건분군과 추출군이 높았으며, GSH-px 활성은 녹차건분군이 대조군보다 유의적으로 높았다. 따라서 혈장과 간의 과산화 지질의 수준이 가장 낮았던 감잎 건분군 및 추출군은 항산화 효소 활성을 증가시키지는 않았으나, 감잎내에 다량 함유되어 있는 비타민 E와 같은 항산화제가 직접 free radical scavenger로 작용함으로써 지질과산화물을 억제하는 것을 알 수 있었고, 감잎추출군에서도 지질과산화가 효과적으로 억제되는 것으로 볼 때 이는 에탄올에 녹는 물질에 의한 효과라고 할 수 있겠다. 녹차는 녹차내에 풍부하게 함유되어 있는 flavonoids와 β -carotene, 비타민 C, 비타민 E와 같은 항산화제에 의한 직접적인 효과뿐만 아니라 적혈구 SOD와 GSH-px 활성 및 간의 GSH-px와 같은 항산화 효소의 활성을 증가시킴으로써 지질과산화를 억제함을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 보면 감잎은 건분뿐 아니라 에탄올추출물도 체내 지방수준 저하에 큰 효과를 보였고, 녹차는 에탄올추출물이 간의 지방축적을 억제하였다. 또한 감잎 건분과 에탄올추출물은 혈장과 간의 지질과산화도 효과적으로 억제하였으며, 녹차 건분과 에탄올추출물은 간의 지질과산화를 억제하였다. 감잎과 녹차의 건분뿐 아니라 이들의 에탄올추출물도 항산화 효과가 큰 것으로 볼 때 에탄올에 녹는 물질에 의한 효과에 기인한다고 할 수 있겠다. 따라서 감잎과 녹차는 체내 지방저하 효과와 항산화 효과를 가짐으로써 동맥경화, 암과 같은 성인병 예방에 효과적으로 사용될 수 있으며, 아울러 노화의 예방에도 크게 기여할 것으로 사료된다. 솔잎은 이러한 효과보다는 체중저하 효과가 큰 것으로 볼 때 다이어트 식품으로의 개발 가능성을 시사하였다. 지방대사와 항산화능에서 각 다류의 에탄올추출물도 상당한 효과를 보인 것으로 보아 후속연구에서는 수침액을 응용한 후 폐기하는 차찌꺼기의 이용에 대한 연구와 감잎, 녹차, 솔잎의 물추출물에 대한 연구가 이루어져야 하겠다.

Literature cited

- 1) Shin HG. The development of functional food and research trends. *Food Sci and Industry* 30(1) : 2-13, 1997
- 2) Annual report on the cause of death statistics. National Statistical Office, Republic of Korea, 1996
- 3) The expectancy of future population. National Statistical Office, Republic of Korea, 1996
- 4) Kim JT. The prospect of tea beverage industry. *Bulletin of Food Technology* 8(3) : 46-53, 1995
- 5) Moon SH, Park KY. Antimutagenic effects of boiled water extract and tannin from persimmon leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 24(6) : 880-886, 1995
- 6) Kenji K, Takeshi T, Hiromichi O, Yoshuyuki K. Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin - Converting enzyme activity. *Journal of Natural Products* 50(4) : 680-683, 1987
- 7) Chung BS, Shin MK. The great dictionary of traditional and crude medicine. YoungLim Press, 1990
- 8) Moon SH, Kim JO, Rhee SH, Park KY, Kim KY, Rhew TH. Antimutagenic effects and compounds identified from hexane fraction of persimmon leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 22(3) : 307-312, 1993
- 9) Song HS, Lee HK, Jang HD, Kim JI, Park OJ, Lee MS, Kang MH. Antimutagenic effects of persimmon leaf tea extracts in sister chromatid exchange(SCE) assay system. *J Korean Soc Food Nutr* 25(2) : 232-239, 1996
- 10) Moon SH, Kim KH, Park KY. Antitumor effect of persimmon leaves in vivo using sarcoma-180 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25(5) : 865-870, 1996
- 11) Park YJ, Kang MH, Kim JI, Park OJ, Lee MS, Jang HD. Changes of Vitamin C and superoxide dismutase(SOD)-like activity of persimmon leaf tea by processing method and extraction condition. *Korean J Food Sci Technol* 27(3) : 281-285, 1995
- 12) Park CO, Jin SH, Ryu BH. Antioxidant activity of green tea extracts toward human low density lipoprotein. *Korea J Food Sci Technol*

- 28(5) : 850-858, 1996
- 13) Chung CH, Yoo YS. Effects of aqueous green tea extracts with α -tocopherol and lecithin on the lipid metabolism in serum and liver of rats. *Korean J Nutrition* 28(1) : 15-22, 1995
 - 14) Sin MK, Han SH, Han GJ. The effects of green tea on the serum lipid and liver tissue of cholesterol fed rats. *Korean J Food Sci Technol* 29(6) : 1255-1263, 1997
 - 15) Cho YS, Kim CK. Effect of fed of phenolic acids in plant on serum cholesterol concentration in rats. *Korean J Food Sci Technol* 22(7) : 824-827, 1990
 - 16) Ryu BH, Park CO. Antioxidant effect of green tea extracts on enzymatic activities of hairless mice skin induced by ultraviolet B light. *Korean J Food Sci Technol* 29(2) : 355-361, 1997
 - 17) Yeo SG, Park YB, Kim IS, Kim SB, Park YH. Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24(1) : 154-159, 1995
 - 18) Park GY, Lee SJ, Im JG. Effects of green tea catechin on cytochrome P₄₅₀, xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26(5) : 901-907, 1997
 - 19) Rhee SJ, Kim MJ, Youn YH. Effects of korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the removal of cadmium and antioxidative detoxification in cadmium administered rats. The 3rd international symposium on green tea, Seoul, Korea pp21-38, 1995
 - 20) Yeo SG, Kim IS, Ahn CW, Kim SB, Park YH. Desmutagenicity of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24(1) : 160-168, 1995
 - 21) Yeo SG, Ahn CW, Kim IS, Park YB, Park YH, Kim SB. Antimicrobial effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24(2) : 293-298, 1995
 - 22) Mukhtar H, Wang ZY, Katiyar SK, Agarwal R. Tea components : antimutagenic and anticarcinogenic effects. *Preventive Medicine* 21 : 351-360, 1992
 - 23) Choi SH, Kim SH, Lee BH. Effect of green tea on the anti-duodenal ulcer in cysteamine-administrated rats. *J Korean Soc Food Nutr* 22(4) : 374-380, 1993
 - 24) Shin MK. The science of green tea. *Korean J Dietary Culture* 9(4) : 433-445, 1994
 - 25) Kim JD, Yoon TH, Choe M, Im KJ, Ju JS, Lee SY. Effect of dietary supplementation with pine leaf on lipid parameters in rats. *Kor J Gerontol* 1(1) : 47-50, 1991
 - 26) Kang YH, Park YK, Ha TY, Moon KD. Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3) : 367-373, 1996
 - 27) Lee YH, Choi YS, Lee SY. The cholesterol-lowering effects of the extract from pinus strobus in chickens. *J Korean Soc Food Nutr* 25(2) : 188-192, 1996
 - 28) Lee YH, Shin YM, Cha SH, Choi YS, Lee SY. Development of the health foods containing the extract from pinus strobus leave. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3) : 379-383, 1996
 - 29) Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J Food Sci Technol* 27(6) : 978-984, 1995
 - 30) Kang YH, Park YK, Ha TY, Moon KD. Effects of pine needle extracts on enzyme activities of serum and liver, and liver morphology in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3) : 374-378, 1996
 - 31) Kuk JH, Ma SJ, Park KH. Isolation and characterization of benzoic acid with antimicrobial activity from needle of pinus densiflora. *Korean J Food Sci Technol* 29(2) : 204-210, 1997
 - 32) Chung HJ, Hwang GH, Yoo MJ, Rhee SJ. Chemical composition of pine sprouts and pine needles for the production of pine sprout tea. *Korean J Dietary Culture* 11(5) : 635-641, 1996
 - 33) Torsdottir I, Alpsten M, Holm G, Sandberg A-S, Tölli J. A small dose of soluble alginate-fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes. *J Nutr* 121 : 795-799, 1991
 - 34) Yang JL, Suh MJ, Song YS. Effects of dietary fiber on cholesterol metabolism in cholesterol-fed rats. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3) : 392-398, 1996
 - 35) Arjmandi BH, Ahn J, Nathani S, Reeves RD. Dietary soluble fiber and cholesterol affect serum cholesterol concentration, hepatic portal venous short-chain fatty acid concentrations and fecal sterol excretion in rats. *J Nutr* 122 : 246-253, 1992
 - 36) Shin DH. The research and prospect of natural antioxidants. *Bulletin of Food Technology* 8(2) : 28-33, 1995
 - 37) Kim YJ. The protect the living organ from free radicals and the failure of protection : age-related disease. *Bulletin of Food Technology* 10(2) : 4-26, 1997
 - 38) Buring JE, Hennekens CH. Antioxidant vitamins and cardiovascular disease. *Nutrition Reviews* 55(1) : S53-S60, 1997
 - 39) Jacques PF, Halpner AD, Blumberg JB. Influence of combined antioxidant nutrient intake on their plasma concentrations in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 62 : 1228-1233, 1995
 - 40) Bravo L. Polyphenols : chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Reviews* 56(11) : 317-333, 1998
 - 41) Robak J, Gryglewski RJ. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical Pharmacology* 37(5) : 837-841, 1988
 - 42) Husain SR, Cillard J, Cillard P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry* 26(9) : 2489-2491, 1987
 - 43) Torel J, Cillard J, Cillard P. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxyl radical. *Phytochemistry* 25(2) : 383-385, 1986
 - 44) Haenen GR, Paquay JB, Korthouwer RE, Bast A. Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 236(3) : 591-3, 1997
 - 45) Morel I, Lescoat G, Cogrel P, Sergent O, Pasdeloup N, Brissot P, Cillard P, Cillard J. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem Pharmacol* 45 : 13-19, 1993
 - 46) Ishikawa T, Suzukawa M, Ito T, Yoshida H, Ayaori M, Nishiwaki M, Yonemura A, Hera Y, Nakamura H. Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Am J Clin Nutr* 66(2) : 261-266, 1997
 - 47) Anna P, Milena B, Marco S, Nadia P, Gian FM, Clandio G. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Res* 78 : 151-160, 1995
 - 48) Chung HY, Takako Y. Studies on antioxidative and antimutagenic mechanism of epicatechin 3-O-gallate isolated from green tea. The 3rd international symposium on green tea, Seoul, Korea pp65-81, 1995
 - 49) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipid based on the sulfuric-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Nutr* 53 : 89, 1970
 - 50) Blish EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37 : 911-917, 1959
 - 51) Yagi K. Assay for blood plasma or serum. *Methods in enzymology academic press inc. NY vol 105 pp328-331, 1984*
 - 52) Buckingham KW. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J Nutr* 115 : 1425-1435, 1985
 - 53) Johnsson LH, Håkan Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Analytical Biochemistry* 174 : 331-336, 1988
 - 54) Flohé L, Becker R, Brigelius R, Lengfelder E, Ötting F. Convenient assays for superoxide dismutase. *CRC Handbook of free Radicals and*

- Antioxidants in Biomedicine p287-293, 1992
- 55) Flohé L. Determination of glutathione peroxidase. CRC Handbook of Free Radicals and Antioxidations in Biomedicine pp281-286, 1992
 - 56) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
 - 57) Nilis HJCF. Isocratic nonaqueous reversed-phase liquid chromatography of carotenoids. *Anal Chem* 55 : 270-275, 1983
 - 58) The Guide to Hygienic Experimental Method. Japan Drug Association. Kumwon Press, Japan, 1995
 - 59) Official methods of analysis. 16th Ed. AOAC international USA, 1995
 - 60) The data of Nutrient content in Foods. Korean Nutrition Association, 1998
 - 61) Bravo L, Abia R, Eastwood MA, Saura-Calixto F. Degradation of polyphenols(catechin and tannic acid) in the rat intestinal tract. Effect on colonic fermentation and faecal output. *British Journal of Nutrition* 71 : 933-946, 1994
 - 62) Lee SH, Park YB, Choi MS. The effect of dietary citrus flavonoid supplementation on cholesterol biosynthesis control in rats. The Autumnal Symposium of Korean Nutr Associ pp79, 1998
 - 63) Choi YS, Sur JH, Kim CH, Kim YM, Ham SS, Lee SY. Effects of dietary buckwheat vegetables on lipid metabolism in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 23(2) : 212-218, 1994
 - 64) Igarashi K, Ohmura M. Effects of isorhamnetin, rhamnetin, and quercetin on the concentrations of cholesterol and lipoperoxide in the serum and liver and on the blood and liver antioxidative enzyme activities or rats. *Biosci Biotech Biochem* 59(4) : 595-601, 1995
 - 65) Matsuda H, Chisaka T, Kubomura Y, Yamahara J, Sawada I, Fujimura H, Kimura H. Effect of crude drugs on experimental hypercholesterolemia. I. Tea and its active principles. *J Ethnopharmacology* 17 : 213, 1986
 - 66) Kwon MN, Choi JS, Byun DS. Effect of flavonoid(+)-catechin as stabilizer in rat fed fresh and peroxidized fish oil. *J Korean Soc Food Nutr* 22(4) : 381-391, 1993
 - 67) Han EG, Cho SY. Effect of codonopsis lanceolata water extracts on the activities of antioxidative enzymes in carbon tetrachloride treated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26(6) : 1181-1186, 1997
 - 68) Sohn JS, Kim MK. Effects of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. *Korean J Nutrition* 31(4) : 687-696, 1998
 - 69) Charleux JL. Beta-Carotene, Vitamin C, and Vitamin E : The prospective micronutrients. *Nutrition Reviews* 54(11) : S109-S114, 1996
 - 70) Ahmad S, Pardini RS. Mechanism for regulating oxygen toxicity in phytophagous insects. *Free Radical Biology & Medicine* 8(4) : 401-13, 1990
 - 71) Galvez J de la Cruz JP, Zarzuelo A, Sanchez de la Cuesta F. Flavonoid inhibition of enzymic and nonenzymic lipid peroxidation in rat liver differents from its influence on the glutathione related enzymes. *Pharmacology* 51(2) : 127-33, 1995
 - 72) Ozturk HS, Kavutcu M, Kacmaz M, Canbolat O, Durak I. The effects of gentamicin on the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase enzymes and malondialdehyde levels in heart tissues of guinea pigs. *Current Medical Research & Opinion* 14(1) : 47-52, 1997
 - 73) Lee YS, Lee HJ, Yoon CG. The effect of dietary fiber on the liver xanthine oxidase activity in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 24(6) : 843-847, 1995
 - 74) Yagi K, Kobayashi K, Tagawa S, Adachi K, Ueda A, Sawa Y, Shibata H. Antioxidant activity of polyphenolics in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. *Biochimica et Biophysica Acta* 1355 (3) : 335-42, 1997
 - 75) Viana M, Barbas C, Bonet B, Bonet MV, Castro M, Fraile MV, Herrera E. In vitro effects of a flavonoid-rich extract on LDL oxidation. *Atherosclerosis* 123 : 83-91, 1996
 - 76) Mabile L, Negre-Salvayre A, Delchambre J, Salvayre R. Alpha-tocopherol, ascorbic acid, and rutin inhibit synergistically the copper-promoted LDL oxidation and the cytotoxicity of oxidized LDL to cultured endothelial cells. *Biological Trace Element Research* 47(1-3) : 81-91, 1995
 - 77) Lee HJ. Retarding effect of dietary fibers isolated from persimmon peels and jujubes on in vitro glucose, bile acid, and cadmium transport. *Korean J Nutr* 31(4) : 809-822, 1998
 - 78) Graham HN. Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. *Prevention Medicine* 21 : 334-350, 1992
 - 79) Takagama U. Inhibition of lipoxigenase-dependent lipid peroxidation by quercetin : mechanism of antioxidative function. *Phytochem* 24 : 1443-1446, 1985