

고지방식이를 급여한 C57BL/6 마우스에서 뽕잎분말과 열수추출물의 지질저하 작용

조영숙¹ · 손미예² · 이미경^{1*}

¹순천대학교 식품과학부 식품영양학전공

²경상대학교 식품영양학과

Lipid-Lowering Action of Powder and Water Extract of Mulberry Leaves in C57BL/6 Mice Fed High-Fat Diet

Young-Sook Cho¹, Mi-Yae Shon² and Mi-Kyung Lee^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Jeonnam 540-742, Korea

²Dept. of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

This study was to investigate the hypolipidemic effect of powdered mulberry leaves (PML) and water extract of powdered mulberry leaves (WML) on high-fat fed mice. Male C57BL/6 mice were divided into four groups; a normal group (N), a high-fat (HF) group, a high-fat group supplemented with PML (HF-PML) and a high-fat group supplemented with WML (HF-WML). The PML or WML was added to a standard diet based on 1% dried mulberry leaves (1 g PML/100 g diet and 0.22 g WML/100 g diet) for 6 weeks. Body weight and organ weights were not different among the groups in high-fat fed mice, whereas food intake and daily energy intake were significantly ($p < 0.05$) lowered in the HF-PML group. In plasma and liver, the supplementation of PML and WML significantly ($p < 0.05$) lowered cholesterol and triglyceride concentrations compared to the HF group. The HDL-cholesterol/total cholesterol ratio was significantly ($p < 0.05$) higher in the HF-PML and HF-WML groups than in the HF group. The fecal triglyceride and cholesterol concentrations were significantly ($p < 0.05$) increased in the HF-PML and HF-WML groups compared to the HF group. Hepatic lipid regulating enzyme activities, fatty acid synthase, fatty acid β -oxidation and carnitine palmitoyl transferase were significantly lower in the HF group than in the N group. However, the activities of these hepatic lipid regulating enzymes were significantly ($p < 0.05$) elevated in the HF-PML and HF-WML groups compared to the HF group. Accordingly, these results suggest that PML and WML improve plasma and hepatic lipid levels partly by increasing fecal lipid excretion and enhancing hepatic lipid regulating enzymes activities.

Key words: mulberry leaves, lipid profile, lipid metabolism, liver, C57BL/6 mice

서 론

기호음료인 차는 엄밀한 의미에서 차나무의 순(筍)이나 잎을 재료로 하여 만든 것을 말하며 그 외의 것은 대용차라고 한다. 조선시대 차의 생산량이 감소하면서 차나무만을 이용한 음다(飲茶) 풍습이 약해진 대신 감잎차, 구기자차, 모과차, 국화차, 뽕잎차 등의 대용차가 개발되었다(1). 오늘날 차는 일상생활의 예의범절 문화 등의 사회적 기능을 지니고 있을 뿐만 아니라 특수한 영양성분을 다량 함유하고 있어 건강음료로서의 가치가 재인식되고 있다. 특히, 현대인들의 well-being 식품에 대한 요구에 따라 기능성 음료가 개발되면서 녹차, 홍차, 대추차, 두충차, 뽕잎차 등 차음료의 수요가 증가하고 있다.

뽕잎(*Morus alba*)은 수천 년 동안 누에의 먹이로 이용되어 왔으며, 이미 신농본초경에 상백피와 함께 약용식물로서의 그 효과가 기록되어 있다(2). 최근 우리나라를 비롯한 중국, 일본 등에서 뽕잎의 성인병 예방 및 치료효과가 밝혀지면서 기능성식품의 재료로서 각광 받고 있다. 뽕잎에는 녹차에 존재하는 카테킨류가 거의 없는 반면, 다양한 flavonoid가 다량 함유되어 있어 카테킨으로 인하여 느껴지는 녹차의 떫은맛이 뽕잎차에서는 느껴지지 않으며 카페인 성분이 녹차의 1/600로 거의 함유되어 있지 않으므로 사람들의 선호도가 높아지고 있다.

뽕잎은 flavonoid(rutin, quercetin, quercitrin, isoquercitrin), alkaloid 성분인 α -glucosidase 저해활성을 갖는 1-deoxynojirimycin, steroid, amino acid, vitamin과 다량의

*Corresponding author. E-mail: leemk@suncheon.ac.kr
Phone: 82-61-750-3656, Fax: 82-61-752-3657

무기질과 섬유소를 함유하며, 혈당강하 물질인 γ -amino-butyric acid(GABA)도 비교적 풍부한 것으로 알려져 있다(3). 팥잎의 기능성으로 항고혈압, 항당뇨, 콜레스테롤 저하 작용, 발암억제 및 체지방 축적 억제 효능 등이 보고되어 있다(2,4). 그러나 현재까지 고지혈증 및 체지방 축적에 관한 연구 경우 팥잎의 메탄올(5) 또는 에탄올 추출물(6)에 관한 것이며 분말의 경우 급여량이 5% 이상으로(7) 팥잎 급여량이 많은 것에 국한되어 있다. 이와 같이 팥잎분말과 유기용매추출물의 생리기능에 관한 연구는 진행되어 왔으나 팥잎차의 *in vivo* 효능연구는 미비하다.

따라서 본 연구에서는 사람이 하루에 섭취하는 팥잎차의 양을 고려하여 팥잎분말 1%가 섭취되도록 팥잎열수추출물을 고지방식이에 첨가하여 고지방식이에 의한 비만유발이 사람과 유사한 동물모델(8)인 C57BL/6 마우스에게 급여한 후 지질 함량 및 지질대사에 미치는 영향을 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

팥잎분말과 열수추출물 제조

본 실험에서는 우리나라 팥잎의 주 장려 품종인 청일팥(Cheongilppong)나무의 잎(잠실농원식품, 전남 순천)을 사용하였다. 팥잎은 음건한 후 작은 절편으로 만들어 균질기로 파쇄하여 분말로 사용하였으며, 열수추출물은 분말시료 100 g을 둥근플라스크에 넣고 10배량의 증류수를 가하여 4시간 동안 가열추출하고 그 여액을 회전증발농축기로 감압농축하여 동결건조한 후 사용하였다. 팥잎열수추출물의 수율은 22%이었다.

팥잎분말과 열수추출물의 일반성분과 총 페놀화합물 함량 분석

시료의 일반성분은 AOAC(9)에 준하여 조섬유 및 회분은 회화법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조단백질은 단백질 자동분석기(Buchi-342)를 사용하여 시료 분해 및 함량을 측정하였다.

총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법(10)에 준해 측정하였으며, 그 함량은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다.

실험동물 사육

실험동물은 4주령의 수컷 C57BL/6 마우스 32마리를 바이오제노믹스(Biogenomics, Seoul, Korea)로부터 구입하였다. 마우스는 1주간 고형식으로 적응시킨 후 난괴법에 의하여 정상군(N), 고지방대조군(HF), 고지방-팥잎분말군(HF-PML)과 고지방-팥잎열수추출물군(HF-WML)으로 나누어 6주간 사육하였다. 동물사육실의 환경은 항온(20±2°C), 항습(50±4%), 12시간 간격(08:00~20:00)의 광주기로 일정한 조건을 유지하고 동물들은 polycarbonate cage에 두 마리씩 분리하여 사육하였다.

Table 1. Composition of the experimental diet

Ingredients	(g/100 g diet)			
	N	HF	HF-PML	HF-WML
Casein	20.0	20.0	20.0	20.0
Corn starch	50.0	34.0	33.0	33.78
Sucrose	15.0	15.0	15.0	15.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0	5.0
Corn oil	5.0	-	-	-
Beef tallow	-	21.0	21.0	21.0
AIN-mineral mixture ²⁾	3.5	3.5	3.5	3.5
AIN-vitamin mixture ³⁾	1.0	1.0	1.0	1.0
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
PML ⁴⁾	-	-	1.0	-
WML ⁵⁾	-	-	-	0.22
kcal/100 g diet	421.07	508.97	510.26	510.80
Calorie from fat (%)	10.6	37.1	37.0	37.0

¹⁾N: normal diet group, HF: high-fat diet group, HF-PML: high-fat diet group supplemented with powdered mulberry leaves, HF-WML: high-fat diet group supplemented with water extract of powdered mulberry leaves.

²⁾Mineral mixture (g/kg) according to AIN-76.

³⁾Vitamin mixture (g/kg) according to AIN-76.

⁴⁾Powdered mulberry leaves: 1 g mulberry leaves in 100 g diet provides 2.94 kcal energy, 467.3 mg carbohydrate, 170.5 mg protein, 43.9 mg fat and 157.9 mg fiber based on Table 2.

⁵⁾Water extract of powdered mulberry leaves: 0.22 g water extract of mulberry leaves in 100 g diet provides 0.67 kcal energy, 137.8 mg carbohydrate, 31 mg protein, 0.19 mg fat and 1.69 mg fiber based on Table 2.

본 실험에 사용한 기본식은 AIN-76(11)의 식이조성에 준하였으며 단백질 공급원으로는 카제인(Murray, UK)을 공급하였고, 탄수화물 공급원은 옥수수 전분(신동방), 지방 공급원으로는 옥수수유(제일제당)를 사용하였다. 고지방 식이군들은 총 열량의 37%가 되도록 우지(Wako, 일본)를 공급하였다. 팥잎분말과 열수추출물은 사람이 섭취하는 양을 고려하여 팥잎분말 1% 수준이 되도록 조제(Table 1)하여 급여하였으며 식이와 식수는 자유롭게 섭취(*ad libitum*)하도록 하였고, 모든 실험식은 사육기간 동안 냉장 보관하였다. 식이 100 g당 에너지는 열량계(Parr-1351, USA)를 사용하여 측정하였다. 사육기간 마지막 5일 동안 분변을 수집하여 건조시킨 후 지질측정에 사용하였다.

체중은 매주 1회 일정시각에 측정하였으며 식이섭취량은 매일 일정시각에 측정된 후 급여량에서 잔량을 감하여 계산하였다.

혈장 및 장기 채취

사육이 끝난 실험동물은 희생 전 12시간 동안 절식시킨 후 에테르를 흡입시켜 마취시킨 다음 복부 하대정맥(inferior vena cava)으로부터 공복혈액을 채취하였다. 헤파린 처리된 혈액은 3,000 rpm(4°C)에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 실험동물의 장기조직은 혈액 채취 후 즉시 적출하여 PBS(phosphate buffered saline)용액으로 수차례 헹군 후 표면의 수분을 제거하여 칭량하였으며 즉시 액체질소로 급

냉시켜 -70°C 에 보관하였다.

혈장, 간조직 및 변 중의 지질 함량 측정

혈장 중의 중성지질 함량은 Muller의 방법(12)으로 조제된 kit(아산제약, 한국)을 사용하여 측정하였다. 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 함량은 Richmond의 방법(13)으로 조제된 kit(아산제약, 한국) 시약을 사용하였다.

간조직과 변의 지질 함량은 Folch 등의 방법(14)에 준하여 클로로포름:에탄올(2:1, v/v) 혼합액으로 지질을 추출한 후 추출액은 Whatman 여과지(No. 2)로 걸러내고 질소가스로 건조시킨 후 동일 추출용매 1 mL에 다시 녹이고 그 중 100 μL 를 취하여 다시 질소가스로 완전히 건조시켰다. Sale 등(15)에 의해 수정·보완된 방법에 따라 여기에 1 mL 에탄올을 섞은 후 그 중 200 μL 를 취하여 500 μL 증류수에 녹여 호소반응법으로 지질을 정량하였다.

간조직 중의 효소원 분리

간조직은 4배량의 0.25 M sucrose(pH 7.4) 완충용액을 가하여 균질기(IKA, Rw20.7, USA)로 마쇄하여 얻은 균질액을 $600 \times g(4^{\circ}\text{C})$ 에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 후 상층액을 얻었다. 이를 $10,000 \times g(4^{\circ}\text{C})$ 에서 20분간 원심분리하여 미토콘드리아 분획을 취했으며, 분리된 상층액을 $100,000 \times g(4^{\circ}\text{C})$ 에서 1시간 초원심분리하여 시토졸 분획을 얻었다. 미토콘드리아 침전물은 사용된 완충용액에 녹인 후 효소원으로 사용하였다. 미토콘드리아 분획은 fatty acid의 β -oxidation과 carnitine palmitoyl transferase (CPT) 활성 측정에 사용하였고 시토졸 분획은 fatty acid synthase(FAS) 활성 측정에 사용하였다. 조직의 효소활성도는 Bradford의 방법(16)을 사용하여 측정된 단백질 mg당 고유허성도로 나타내었다.

간조직 중의 지질대사 관련 효소 활성도 측정

FAS 활성도는 Carl 등(17)이 실시한 방법을 수정·보완하여 측정하였다. β -oxidation은 Lazarow(18) 방법을 수정·보완하여 NAD⁺가 NADH로 환원되는 정도를 340 nm에서 측정하였다. CPT 활성도는 Bieber 등의 방법(19)으로 carnitine이 palmitoyl-CoA를 기질로 생성된 총 CoASH 생성물을 412 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

통계처리

실험결과는 SPSS package 프로그램을 이용하여 실험군당 평균±표준오차로 표시하였고 각 군간의 평균치의 통계적 유의성 검정은 one-way ANOVA를 실시하고 다군간의 차이는 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

뽕잎분말과 열수추출물의 일반성분 및 총 페놀화합물 함량
뽕잎분말과 열수추출물의 100 g당 일반성분과 g당 총 페

Table 2. Composition and total phenolic contents of PML and WML

Component	PML ¹⁾	WML ²⁾
Energy (kcal/100 g)	294.63	307.93
Carbohydrate (g/100 g)	46.73	62.66
Crude protein (g/100 g)	17.05	14.12
Crude fat (g/100 g)	4.39	0.09
Crude fiber (g/100 g)	15.79	0.77
Crude ash (g/100 g)	11.21	17.70
Total phenolics (mg/g)	11.76	24.72

¹⁾PML: powdered mulberry leaves.

²⁾WML: water extract of powdered mulberry leaves.

놀화합물 함량은 Table 2와 같다.

뽕잎분말과 열수추출물의 에너지는 각각 294.63 kcal와 307.93 kcal이었다. 탄수화물 함량은 뽕잎분말(46.73 g)에 비하여 뽕잎열수추출물(62.66 g)이 높았으며, 단백질은 뽕잎분말(17.05 g)과 뽕잎열수추출물(14.12 g)의 함유량이 비슷하였다. 뽕잎은 식물 중에서 콩 다음으로 많은 단백질을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(2). 조섬유소 함량은 뽕잎분말이 15.79 g, 뽕잎열수추출물이 0.77 g으로 나타났는데, 뽕잎의 섬유소는 주로 불용성 섬유소이기 때문에(2) 뽕잎열수추출물의 조섬유소 함유량이 낮은 것으로 사료된다. 조지방은 뽕잎분말과 뽕잎열수추출물에서 각각 4.39 g과 0.09 g으로 낮았으며 조회분 함량은 뽕잎분말이 11.21 g, 뽕잎열수추출물이 17.70 g이었다. 총 페놀화합물 함량은 뽕잎열수추출물(24.72 mg/g)이 뽕잎분말(11.76 mg/g)에 비하여 2.1배 높았다.

체중, 식이섭취량 및 장기무게에 미치는 영향

뽕잎분말과 열수추출물이 고지방식이를 급여한 마우스의 체중, 식이섭취량과 장기무게에 미치는 영향은 Table 3에 나타내었다.

실험식이 급여전 실험군간의 체중은 차이가 없었으나 실험 종료시 고지방 식이군들은 정상식이를 급여한 정상군에 비하여 116%의 유의적인 체중증가를 보였다($p < 0.05$). 반면, 식이섭취량은 고지방 대조군(HF)이 정상군(N)보다 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 이는 고지방식이(508.97 kcal/100 g diet)가 정상식이(421.07 kcal/100 g diet)에 비하여 열량밀도가 높은 이유로 열량 섭취의 증가로 인하여 식이섭취 감소가 유도된 것으로 사료된다. 그러나 일일 열량섭취량은 고지방 대조군이 정상군에 비하여 유의적으로 높았다. 이는 총 열량의 50%를 지방으로 급여한 흰쥐가 정상식이를 급여한 흰쥐에 비하여 식이섭취량은 유의적으로 감소되었으나 체중은 현저히 증가하였다는 보고(20)와 일치한다. 뽕잎분말과 열수추출물은 비만유도 마우스의 체중에는 영향을 미치지 않았으며, 뽕잎분말군만이 고지방 대조군에 비하여 식이섭취량이 유의적으로 낮았다. 이는 뽕잎분말의 섬유소 함량이 뽕잎열수추출물에 비해 높은 것에서 기인된 것으로 생각된다. Kim 등(7)은 1% 콜레스테롤을 급여한 흰쥐에게 뽕잎분

Table 3. Effects of powder and water extract of mulberry leaves on body weight, food intake, energy intake and organ weights in C57BL/6 mice fed high-fat diet

	Group ¹⁾			
	N	HF	HF-PML	HF-WML
Body weight (g)				
Initial	19.77 ± 0.39 ³⁾	19.76 ± 0.35	19.73 ± 0.32	19.75 ± 0.25
Final	27.47 ± 0.77 ⁴⁾	31.89 ± 0.47 ^a	31.19 ± 0.65 ^a	30.97 ± 0.66 ^a
Food intake (g/day)	3.55 ± 0.08 ^a	3.13 ± 0.03 ^b	2.88 ± 0.04 ^c	3.04 ± 0.09 ^{bc}
Energy intake (kcal/day)	14.95 ± 0.36 ^{bc}	15.78 ± 0.20 ^a	14.70 ± 0.41 ^c	15.54 ± 0.23 ^{ab}
Organ weight (mg/g)				
Liver	36.15 ± 1.05 ^b	40.05 ± 0.89 ^a	38.03 ± 0.81 ^{ab}	40.45 ± 1.13 ^a
Epididymal WAT ²⁾	31.03 ± 2.04 ^b	46.91 ± 2.11 ^a	45.83 ± 1.52 ^a	41.79 ± 1.34 ^a
Perirenal WAT	16.69 ± 1.23 ^b	20.81 ± 0.69 ^a	18.09 ± 1.08 ^{ab}	20.17 ± 0.78 ^a
Kidney	11.91 ± 0.45 ^a	9.89 ± 0.34 ^b	9.57 ± 0.30 ^b	9.64 ± 0.26 ^b
Heart	4.29 ± 0.18 ^a	3.53 ± 0.10 ^b	3.21 ± 0.06 ^b	3.24 ± 0.07 ^b

¹⁾Groups are the same as in Table 1.

²⁾WAT: white adipose tissue.

³⁾Mean ± SE (n=8).

⁴⁾Means in the same row not sharing a common letter are significantly different among groups (p<0.05).

말을 식이에 10% 첨가하여 급여하였을 경우 체중이 유의적으로 감소된 것으로 보고하고 있다. 이는 본 실험에 사용된 뽕잎분말의 10배에 해당되는 양으로 급여량 차이에 따른 결과라 사료된다.

체중 g당 간조직, 부고환 백색지방조직 및 신장주변 백색지방조직 무게는 고지방 대조군이 정상군에 비하여 유의적으로 높았으나 신장과 심장조직의 무게는 낮았다. 뽕잎분말과 열수추출물 급여에 따른 장기무게의 유의적인 변화는 관찰되지 않았다.

혈장, 간조직 및 변 중의 지질 함량에 미치는 영향

뽕잎분말과 열수추출물을 6주간 급여한 후 혈장, 간조직 및 변 중의 지질 함량을 측정된 결과를 Fig. 1과 Table 4에 나타내었다.

실험식이 급여전 혈장의 총 콜레스테롤과 중성지질의 함량은 실험군간에 차이가 없었다. 그러나 6주간의 고열량 섭취는 정상군에 비하여 총 콜레스테롤은 148%, 중성지질은 118%의 유의적인 증가를 일으켰다(p<0.05). 혈장의 총 콜레스테롤 함량은 뽕잎열수추출물 급여시 고지방 대조군에 비하여 유의적으로 낮았으며 중성지질 함량은 뽕잎분말군과 열수추출물군 모두 14%와 20%의 유의적인 감소를 보였다(p<0.05). 혈장의 중성지질 함량 감소는 관상심혈관 질환의 위험을 감소시키는 것으로 알려져(21) 있으므로 과도한 열량 섭취로 인한 중성지질 증가는 뽕잎분말과 열수추출물 급여시 개선될 수 있음을 시사한다. 한편, 혈장 HDL-콜레스테롤 함량은 정상군에 비하여 고지방식이군들에서 유의적으로 높았는데 이는 고지방식이로 인한 혈장의 총 콜레스테롤 함량 증가에 기인된 것으로 사료된다. 그러나 총 콜레스테롤 함량에 대한 HDL-콜레스테롤 함량비(HTR)는 고지방 대조군이 정상군에 비하여 유의적으로 낮았으며, 뽕잎분말과 열수추출물 급여는 HTR을 정상군 수준으로 향상시켰다. HDL-콜레스테롤은 말초조직으로부터 콜레스테롤을 간으

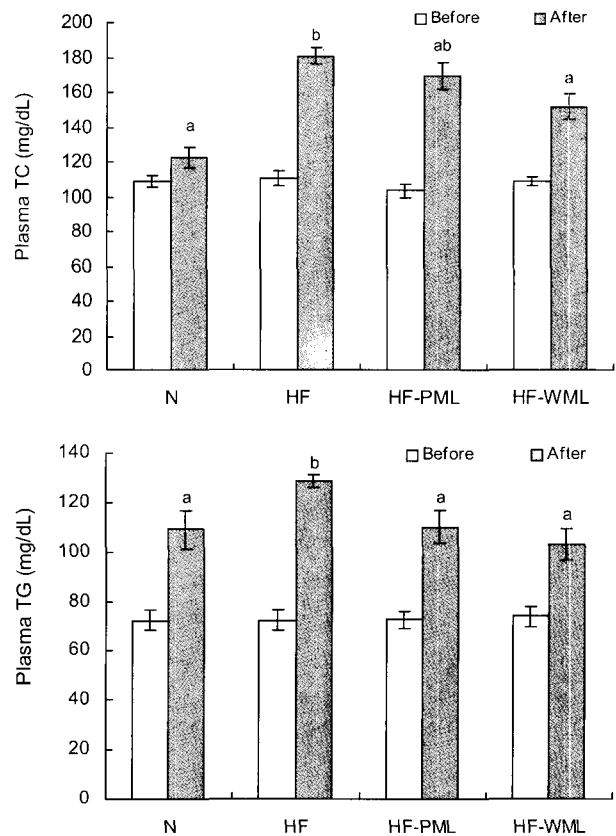


Fig. 1. Effects of powder and water extract of mulberry leaves on plasma lipid levels in C57BL/6 mice fed high-fat diet.

Mean ± SE (n=8). Bar with different letters are significantly different among groups (p<0.05).

Groups are the same as in Table 1.

TC: total cholesterol, TG: triglyceride.

로 수송하는 항동맥경화 지표인데 뽕잎분말과 열수추출물의 HTR 증가효과는 고지방 섭취로 인한 심혈관 질환의 예방에 유효할 것으로 평가된다.

Table 4. Effects of powder and water extract of mulberry leaves on plasma HDL-cholesterol concentration, HTR and hepatic and fecal lipid levels in C57BL/6 mice fed high-fat diet

		Group ¹⁾			
		N	HF	HF-PML	HF-WML
Plasma	HDL-C ²⁾ (mg/dL)	65.96 ± 3.51 ⁴⁾⁵⁾	86.51 ± 5.15 ^a	93.47 ± 3.73 ^a	85.32 ± 4.72 ^a
	HTR ³⁾ (%)	53.85 ± 1.34 ^a	47.86 ± 1.74 ^b	55.17 ± 2.85 ^a	56.19 ± 1.89 ^a
Liver	Triglyceride (mg/g)	29.17 ± 0.93 ^b	37.06 ± 1.25 ^a	31.69 ± 1.51 ^b	31.30 ± 1.42 ^b
	Cholesterol (mg/g)	2.51 ± 0.09 ^c	3.57 ± 0.20 ^a	3.08 ± 0.15 ^b	3.10 ± 0.08 ^b
Feces	Triglyceride (mg/g)	22.85 ± 1.65 ^c	90.90 ± 12.05 ^b	133.90 ± 13.68 ^a	131.96 ± 11.98 ^a
	Cholesterol (mg/g)	32.92 ± 1.08 ^a	12.66 ± 0.59 ^c	17.40 ± 1.04 ^b	20.33 ± 1.16 ^b

¹⁾Groups are the same as in Table 1.

²⁾HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol. ³⁾HTR: (HDL-cholesterol / total cholesterol) × 100.

⁴⁾Mean ± SE (n=8). ⁵⁾Means in the same row not sharing a common letter are significantly different among groups (p<0.05).

간조직 중의 콜레스테롤과 중성지질 함량은 고지방 대조군이 정상군에 비하여 유의적으로 높았다(p<0.05). 일반적으로 고지방식은 혈장과 간조직의 콜레스테롤 함량을 증가시키는 것(22)으로 알려져 있는데 본 실험에서도 고지방 대조군이 정상군에 비하여 간조직의 콜레스테롤은 1.4배, 중성지질은 1.3배의 증가를 보였다. 그러나 뽕잎분말과 열수추출물은 간조직의 콜레스테롤 함량을 각각 13.7%, 13.1% 감소시켰고 중성지질 함량을 14.5%, 15.5% 감소시켰다.

식이 콜레스테롤(1%)을 급여할 경우(7) 변 중의 중성지질 함량보다 콜레스테롤의 배설량이 증가하는 것과 달리 본 실험은 콜레스테롤을 첨가하지 않았으므로 변 중의 콜레스테롤 함량은 고지방 대조군이 정상군에 비하여 감소한 반면, 중성지질은 약 4배 증가되었다. 한편, 뽕잎분말과 열수추출물 급여는 고지방 대조군에 비하여 변으로의 중성지질 배설을 약 1.5배 증가시켰으므로 식이지방의 흡수를 억제하는 것으로 나타났다. 변 중의 콜레스테롤 함량 역시 뽕잎분말과 열수추출물 급여로 유의적인 증가를 보였다. 선행 연구는 뽕잎의 지질저하 작용을 뽕잎의 섬유소에 기인되는 것(7)으로 설명하고 있으나 본 실험에서는 뽕잎열수추출물의 섬유소 함량이 뽕잎분말의 5%에 불과하지만 지질저하 효과는 유사한 것으로 보아 뽕잎의 지질저하 작용은 총 페놀화합물과 같은 생리적 기능성 물질에 의한 것으로 사료된다.

간조직의 지질대사 관련 효소 활성도에 미치는 영향

간조직은 탄수화물로부터의 지방산 합성과 지질의 흡수·저장·방출 등에 중추적인 역할을 하여 혈 중의 지질 함

량과 지방산 산화를 조절한다. 따라서 뽕잎분말과 열수추출물이 고지방을 급여한 C57BL/6 마우스의 간조직 중 지질대사에 미치는 영향을 Table 5에 나타내었다.

간조직 중 FAS, β-oxidation과 CPT 활성은 정상군에 비하여 고지방 대조군에서 각각 37.5%, 18.0%, 35.5% 낮았으나 뽕잎분말과 열수추출물 급여로 이들 효소들의 활성이 유의적으로 증가되었다(p<0.05). 공복상태에서 지방조직의 중성지질은 호르몬-민감성 지방분해효소에 의해 지방산과 글리세롤로 분해되며(23) 대부분의 지방산은 혈중으로 분비되어 간으로 유입된다. 간으로 유입되는 유리지방산의 증가로 인해 고지방 대조군의 FAS 활성이 감소된 것으로 사료된다. Geelen 등(24)은 조랑말에서 고지방(118 g fat/kg diet) 식이군이 저지방(15 g fat/kg diet) 식이군에 비하여 간조직의 FAS 활성이 낮았다고 보고하였다. 또한 간으로 유입된 지방산은 산화되기도 하고 중성지질로 재합성되어 VLDL의 형태로 혈 중으로 분비될 수도 있는데(25) 본 연구에서 고지방 대조군의 간조직 β-oxidation 활성이 정상군에 비해 낮았다. 이러한 지방산 산화의 감소는 지방산 합성효소의 활성 저해를 유도한 것이라 사료되며, 미토콘드리아내 지방산 산화를 위한 긴사슬 지방산 수송에 관여하는 CPT 활성도 고지방식이로 인해 감소됨으로써 β-oxidation의 변화와 같은 양상이었다. 그러나 뽕잎분말과 열수추출물은 간조직에서 β-oxidation과 CPT 활성 및 FAS 활성을 활성화함으로써 지방산 대사에 관여하며 특히, FAS 활성은 간조직의 중성지질 함량과 음의 상관성(r=-0.377, p<0.05)을 나타내었다. 이와 같이 뽕잎분말과 열수추출물은 지방의 배설을 증가시키고 간조직에서 지질대사를 촉진함으로써 지질 함량을 개선할 것으

Table 5. Effects of powder and water extract of mulberry leaves on hepatic lipid regulating enzyme activities in C57BL/6 mice fed high-fat diet

		Group ¹⁾			
		N	HF	HF-PML	HF-WML
FAS ²⁾ (nmol/min/mg protein)		0.64 ± 0.06 ⁴⁾⁵⁾	0.40 ± 0.03 ^b	0.53 ± 0.02 ^a	0.60 ± 0.04 ^a
β-Oxidation (nmol/min/mg protein)		31.27 ± 0.88 ^a	25.65 ± 1.17 ^b	30.67 ± 1.18 ^a	32.03 ± 1.37 ^a
CPT ³⁾ (nmol/min/mg protein)		5.29 ± 0.62 ^a	3.41 ± 0.34 ^b	6.10 ± 0.69 ^a	7.13 ± 0.68 ^a

¹⁾Groups are the same as in Table 1.

²⁾FAS: fatty acid synthase. ³⁾CPT: carnitine palmitoyl transferase.

⁴⁾Mean ± SE (n=8). ⁵⁾Means in the same row not sharing a common letter are significantly different among groups (p<0.05).

로 평가된다.

요 약

본 연구에서는 우리나라 장려품종인 청일뽕잎을 이용하여 고지방식이(열량의 37%를 지방으로 대체)를 급여한 C57BL/6 마우스의 지질 함량과 지질대사를 측정함으로써 뽕잎분말과 열수추출물의 지질 개선작용을 검증하고자 하였다. 4주령의 C57BL/6 마우스(n=32)를 1주일간 적응시킨 후 정상食이를 급여한 정상군, 고지방을 급여한 고지방대조군(HF), 고지방-뽕잎분말군(HF-PML)과 고지방-뽕잎열수추출물군(HF-WML)으로 나누어 6주간 사육하였다. 뽕잎은 사람의 섭취량을 고려하여 뽕잎 1% 수준이 섭취되도록 분말(1 g/100 g diet)과 열수추출물(0.22 g/100 g diet)을 식이에 첨가·조제하여 급여하였다. 뽕잎분말과 열수추출물은 고지방을 급여한 마우스의 체중과 장기무게에는 영향을 미치지 않았다. 뽕잎분말만 일일 식이섭취량과 에너지 섭취를 고지방 대조군에 비하여 감소시켰다. 실험 6주 후 고지방 대조군의 혈장과 간조직 중의 콜레스테롤과 중성지질 함량이 정상군에 비하여 유의적으로 높았으나 뽕잎분말과 열수추출물 급여시 혈장과 간조직 중의 지질 함량이 유의적으로 개선되었고 총 콜레스테롤 함량에 대한 HDL-콜레스테롤 비는 정상 수준이었다($p < 0.05$). 뽕잎분말과 열수추출물은 변이로의 콜레스테롤과 중성지질 배설을 증가시켰다. 간조직 중의 fatty acid synthase, fatty acid β -oxidation과 carnitine palmitoyl transferase 활성은 고지방 대조군이 정상군에 비하여 유의적으로 낮았으나 뽕잎분말과 열수추출물은 이들 효소들의 활성을 증가시키는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 이와 같이 고지방을 급여한 마우스에서 뽕잎분말과 열수추출물은 변이로의 지질 배설을 증가시키고 간조직의 지질대사 관련 효소 활성에 영향을 미침으로써 혈장과 간조직의 지질 함량을 개선하는데 효과적인 것으로 검증되었다.

문 헌

1. Lee YJ, Byun GI. 2006. A study on the preference and intake frequency of Korean traditional beverages. *Korean J Food Culture* 21: 8-16.
2. Lee WC, Kim AJ, Kim SY. 2003. The study on the functional materials and effects of mulberry leaf. *Food Sci Industry* 36: 2-14.
3. Kimura M, Chen F, Nakashima N, Kimura I, Asano A, Koya S. 1995. Antihyperglycemic effect of N-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Traditional Med* 12: 214-216.
4. Kim SK, Kim SY, Kim HJ, Kim AJ. 2001. The effect of mulberry-leaf extract on the body fat accumulation in obese fa/fa male Zucker rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 516-520.
5. Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim AJ, Kim SK. 1998. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mul-

6. berry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1217-1222.
6. El-Beshbishy HA, Singab AN, Sinkkonen J, Pihlaja K. 2006. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. *Life Sci* 78: 2724-2733.
7. Kim AJ, Kim SY, Choi MK, Kim MH, Han MR, Chung KS. 2005. Effects of mulberry leaves powder on lipid metabolism in high-cholesterol-fed rats. *Korean J Food Sci Technol* 37: 636-641.
8. Collins S, Martin TL, Surwit RS, Robidoux J. 2004. Genetic vulnerability to diet-induced obesity in C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. *Physiol Behav* 81: 243-248.
9. AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC.
10. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
11. American Institute of Nutrition. 1977. Report of ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-1348.
12. Muller PH. 1977. A fully enzymatic triglyceride determination. *J Clin Chem Clin Biochem* 15: 457-464.
13. Richmond W. 1976. Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum continuous flow analysis. *Clin Chem* 22: 1579-1588.
14. Folch J, Lee M, Slone-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
15. Sale FD, Marchesini S, Fishman PH, Berra B. 1984. *A sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extracts*. Academic Press, New York. p 347-350.
16. Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
17. Carl MN, Lakshmana MR, Porter JW. 1975. Fatty acid synthase from rat liver. *Methods Enzymol* 35: 37-44.
18. Lazarow PB. 1981. Assay of peroxisomal β -oxidation of fatty acids. *Methods Enzymol* 72: 315-319.
19. Bieber LL, Abraham T, Helmrath T. 1972. A rapid spectrophotometric assay for carnitine palmitoyl transferase. *Anal Biochem* 50: 509-518.
20. Lee JS, Lee MK, Ha TY, Bok SH, Park HM, Jeong KS, Woo MN, Do GM, Yeo JY, Choi MS. 2006. Supplementation of whole persimmon leaf improves lipid profiles and suppress body weight gain in rats fed high-fat diet. *Food Chem Toxicol* 44: 1875-1883.
21. Davignon J, Cohn JS. 1996. Triglyceride: a risk factor for coronary heart disease. *Atherosclerosis* 124: S57-S64.
22. Ghasi S, Nwobodo E, Ofili JO. 2000. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed wistar rats. *J Ethnopharmacol* 69: 21-25.
23. Holm C, Osterlund T, Laurell H, Contreras JA. 2000. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Annu Rev Nutr* 20: 365-393.
24. Geelen SN, Blazquez C, Geelen MJ, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Beynen AC. 2001. High fat intake lowers hepatic fatty acid synthesis and raises fatty acid oxidation in aerobic muscle in Shetland ponies. *Br J Nutr* 86: 31-36.
25. McDevitt RM, Bott SJ, Harding M, Coward WA, Bluck LJ, Prentice AM. 2001. De novo lipogenesis during controlled overfeeding with sucrose or glucose in lean and obese women. *Am J Clin Nutr* 74: 737-746.

(2007년 1월 12일 접수; 2007년 2월 8일 채택)