

교육학 석사학위논문

매생이 추출물이
고콜레스테롤 식이 유도 흰쥐의
지질대사에 미치는 영향



2007년 8월

부경대학교 교육대학원

영양교육 전공

정은진

교육학석사학위논문

매생이 추출물이
고콜레스테롤 식이 유도 흰쥐의
지질대사에 미치는 영향

지도교수 남택정

이 논문을 교육학석사 학위논문으로 제출함.

2007년 8월

부경대학교 교육대학원

영양교육 전공

정은진

목 차

Abstract

I. 서론	1
II. 재료 및 방법	5
1. 재료	5
가. 시약 및 재료	5
2. 실험방법	5
가. 시료의 조제	5
(1) CFE의 조제	5
(2) 일반성분 분석	6
(3) 동물실험 사료의 조제	6
나. 실험동물의 사육과 처리	7
(1) 실험동물의 사육	7
(2) 실험동물의 처리	7
다. 실험 시료의 분석	11
(1) 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 장기중량	11
(2) 혈청 및 간장지질의 분석	11
(가) 혈청 및 간장조직 중의 중성지질	11
(나) 혈청 중의 인지질	11

(다) 혈청 및 간장조직 중의 총콜레스테롤	12
(라) 혈청 중의 유리콜레스테롤과 콜레스테릴 에스테르	12
(마) 혈청 중의 HDL-콜레스테롤 및 동맥경화지수	12
(3) 혈청 중 혈당 및 GOT와 GPT의 활성	12
(가) 혈청 중의 혈당	12
(나) 혈청 중의 GOT 및 GPT의 활성	13
(4) 간장조직 염색	13
(5) 분변의 분석	14
(가) 분변 중의 지질분석	14
(나) 분변 중의 총담즙산 함량	14
(다) 분변 중의 총식이섬유 함량	14
(6) 혈청 중의 protein 분석	15
(가) 혈청 leptin western blot	15
(나) 혈청 ghrelin western blot	16
라. 통계처리	16

III. 결과 및 고찰

1. CFE의 일반성분 분석	17
2. CFE의 급이가 흰쥐에 미치는 영향	19
가. 체중변화	19
나. 식이섭취량과 식이효율	19
다. 장기의 중량	23
3. 혈청 및 간장 조직 중의 지질조성에 미치는 영향	27
가. 혈청 및 간장 조직 중의 중성지질의 함량	27

나. 혈청에서 인지질의 함량	28
다. 혈청 및 간장 조직 중의 총콜레스테롤의 함량	30
라. 혈청 중의 유리콜레스테롤과 콜레스테릴 에스테르의 함량	33
마. 혈청 중의 HDL-콜레스테롤의 함량 및 동맥경화지수	35
4. 혈청 중의 혈당 및 GOT와 GPT 활성에 미치는 영향	38
가. 혈청에서 혈당의 함량	38
나. 혈청에서 GOT, GPT의 활성	38
5. 간장 조직에 미치는 영향	41
6. 분변 중의 구성에 미치는 영향	43
가. 1일 분변량	43
나. 분변 중의 총콜레스테롤 함량	44
다. 분변 중의 총담즙산 함량	45
라. 분변 중의 총식이섬유 함량	49
7. 혈청 중의 단백질 수준에 미치는 영향	51
가. 혈청 leptin western blot	51
나. 혈청 ghrelin western blot	54
IV. 요약	56
V. 참고문헌	59

**Effect of CFE (*Capsosiphon fulvescens* Extracts) on Lipid Metabolism
in Rats Fed High Cholesterol Diet**

Eun-Jin Jung

Graduate School of Education

Pukyong National University

Abstract

As the highly industrialized society and improved economical level, the Korean's dietary life is recently getting westernized, and it has been increased the ingestion of food with high-fat, high-protein, and low-fiber. Because of the disproportionate dietary life, the ingestion calories that is remained in the body after consuming converted to fat and then the fat is accumulated at subcutaneous tissue and abdominal cavity. Thus, the accumulated fat leads obesity, which causes the serious problem of the national health such as hyperlipidemia, fatty liver, and arteriosclerosis.

Seaweeds have received increasing attention because these traditional food sources can both contribute to the maintenance of good health by providing nutritional benefits and be used to treat disease. Some seaweeds contain high amounts of proteins, vitamins, and minerals, and several polysaccharides found in seaweeds have diverse biological activities, including effects on the immune system and cancer. Some marine algae, for example, contain large amounts of polysaccharides, such as alginate, fucoidan, carrageenan, and agarose. Porphyran, a polysaccharide produced by the red alga *porphyra yezoensis*, is produced in large amounts in South Korea and has been shown to decrease cholesterol levels and to have antibiotic and anticancer effects, while fucoidan is known for its anticoagulant and antioxidant. The importance of

polysaccharide to health has therefore encouraged food scientists to continue searching for new polysaccharide sources as functional ingredients for food applications.

The aim of this study, therefore, was to investigate the improvement effect of lipid metabolism in the liver and serum, and the levels of leptin in serum of the rats supplied with CFE and cholesterol. Male Sprague-Dawley rats (4 weeks old) were assigned to four groups of diets for 4 weeks, respectively; a basal diet group, a high cholesterol group, a 2% or 4% extract, according to the levels of extracts supplementation.

CFE was composed of 60% carbohydrate and nearly 100% of the carbohydrate was diet fiber. Effects of CFE in rats were as follow ; although body weight gains and food efficiency ratio have a little difference among the groups, CFE 4% group was lower than the other diet groups. There were the highest weights of the liver, kidney and spleen in the cholesterol group, the weight of cecum increased in the CFE 4% group. However, there were no significant differences in contents of the food intake among the groups.

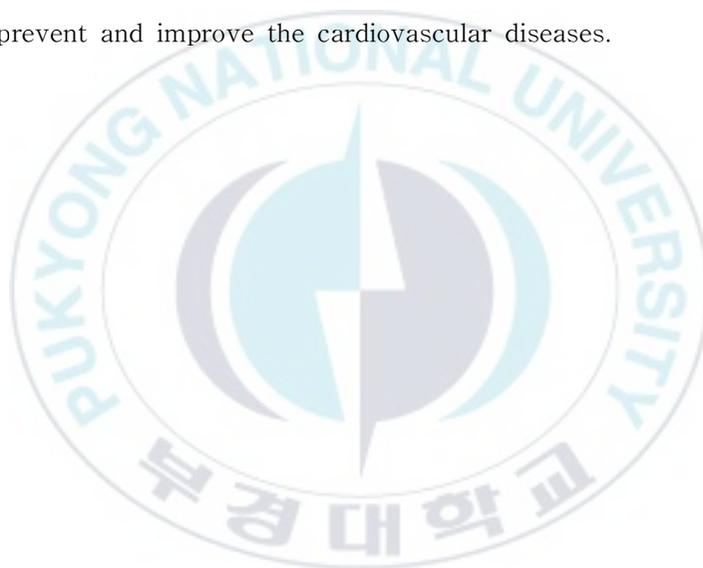
Effects of CFE in serum and liver were as follow. The triglyceride level in the serum was no difference among the groups, but the level of phospholipid and total cholesterol in the serum of CFE 4% group was significantly decreased as compared to the cholesterol group. The triglyceride and total cholesterol in liver of rats increased in the cholesterol group, and the content of the free cholesterol and cholesteryl level have shown a similar tendency to the total cholesterol level. As the levels of CFE supplementation was getting higher, the AI has decreased, and HDL-cholesterol and HDL-cholesterol/total cholesterol level have increased.

Blood sugar was significant, but couldn't find the relationship among the groups. The GOT and GPT activity was higher in the serum of cholesterol group, the fecal contents of a day and total bile acid contents and total

dietary fiber contents in the CFE group were more than other groups.

Although an increase in the leptin expression level was observed in the serum of the cholesterol group, it has decreased significantly in the CFE 4% group. It showed that the expression levels of ghrelin set against the expression level of leptin.

These results suggest that the supplement of CFE in hypercholesterolemic diet could improve the level of cholesterol in the serum and liver, such as the decreased lipid levels in serum and liver, and an increased lipid level in feces. According to these results, we suggest that CFE could be an effective material to prevent and improve the cardiovascular diseases.



I. 서 론

최근 우리나라에서도 고도의 산업화와 경제적 수준의 향상으로 생활양식과 식생활이 서구화되어감에 따라 고지방, 고단백, 저섬유소의 식품섭취가 증가하고 있으며, 특히 동물성 식품의 소비가 증가하고 있다. 이러한 고열량·고지방식과 같은 불균형된 식생활로 인해 체내에서 소비되고 남은 섭취열량은 지방으로 전환되며 체내의 여러 부분, 특히 피하조직과 복강 내에 축적됨으로 비만을 일으키게 되고, 그 결과로 고지혈증, 지방간, 동맥경화 등의 합병증을 유발시키게 된다. 한국인의 사망 원인을 살펴보면 높은 뇌혈관계 질환, 악성 종양, 고혈압 및 심장 질환 등이 높은 비중을 차지하고 있으며, 소아 성인병 또한 증가추세에 있어 국민 보건에 심각한 문제점으로 지적 되고 있다 (NSOK, 2002; NSOK, 2003).

콜레스테롤은 미토콘드리아의 구성성분으로 혈액 중 지방 단백질을 구성하고 스테로이드 호르몬, 비타민 D₃ 등의 전구체로 생명체의 필수적인 생리 물질이지만 지방질을 과잉섭취하면 지질대사 이상을 초래하여 혈액과 조직의 지질 조성에 변화를 일으키는 원인이 되기도 한다. 또한, 체내 콜레스테롤 함량은 식지방의 종류와 양, 총 열량, 무기질, 섬유소 등에 의해 영향을 받으므로 성인병 예방을 위해서는 고콜레스테롤 식품의 섭취 제한과 식이섬유와 불포화지방산이 함유된 식품의 공급이 요구된다 (Kim *et al.*, 1999; Strver, 1988; Zubay, 1993; Miettinen, 1987; Kay, 1982; Kritchevsky, 1978).

식이섬유가 신체 항상성을 유지하고, 여러 가지 생리기능 향상효과가 있음이 인정되면서 만성질환과 관련되어 건강에 미치는 영향에 관심이 증가하고 있다 (Mabeau *et al.*, 1993; Choe *et al.*, 1992). 식이섬유는 ‘소장

에서 소화되지 않으며 대장에서 분해 또는 발효되거나 하지 않는 섭취된 모든 식품 중합체들의 총합'으로 (Gordon, 1992) 크게 불용성과 수용성으로 분류되며, 이들은 구성하는 성분과 구조에 기인하는 물리·화학적 성질에 따라서 인체에 미치는 생리적인 효과가 다르다 (Schneeman, 1987; Englyst *et al.*, 1985; Muir *et al.*, 1992). 불용성 식이섬유는 장의 연동운동 촉진과 통과시간 감소로 게실염, 변비, 장암 등을 예방하며 열량이 적고 공복감을 없애는 이점이 있어, 비만, 당뇨병에 효과가 있으나 Cellulose와 같은 식이섬유는 동물을 이용한 연구에서 혈장 콜레스테롤에 어떠한 영향도 미치지 못하거나 (Reddy *et al.*, 1980; Kim *et al.*, 1981) 오히려 상승하는 효과를 가져 왔다 (Van *et al.*, 1979; Part *et al.*, 1983). 반면, Pectin, soluble gum, β -glucan, alginate 등과 같은 수용성이면서 점성이 있는 식이섬유는 위장관 내의 이동을 가속화하고 장내용물의 점도 변화 및 장점막의 기능과 구조를 변경함으로 지방질과 콜레스테롤의 흡수를 억제하고 담즙산 흡수 억제 및 분비를 촉진하여 (Gallaher *et al.*, 1993; Vahouny *et al.*, 1980) 비만과 대장암의 예방은 물론 당뇨 (Jenkins *et al.*, 2000)나 관상심장질환의 위험을 줄인다는 (Leinonen *et al.*, 2000) 보고가 많다.

특히, 수용성 식이섬유가 풍부한 해조류는 최근 다양한 생리화학적 효과가 검증되면서 해조류로부터 분리한 생리활성물질에 관심이 고조되고 있는데 (Kwon *et al.*, 2006), 해조류 중 가장 양식 생산량이 많고 우수한 식이섬유 급원인 김으로부터 추출한 포피란은 콜레스테롤 저하작용, 항균 효과 및 항암효과가 있다고 보고되었고 (Hong *et al.*, 1997; Koo *et al.*, 1995), 갈조류 유래 푸코이단은 항응고, 항산화 효과가 (Nishino *et al.*, 1991; Takashi *et al.*, 1991; Koo *et al.*, 1997), 갈조류의 대표적인 생리활성 물질인 알긴산도 노화억제를 보인다고 하였다 (Choi *et al.*, 1992). 이

중 포피란이나 푸코이단의 경우, 항암, 항바이러스, 항응고작용 등의 생리 효과 뿐만 아니라 최근에는 함황 함량을 증가시켜 그 효과를 향상시키거나 저분자화를 통해 생체내 이용률을 높이는 등 산업적인 이용가치를 높이고 있으며 (Zemani *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2005), 이외에도 글루코만난, 펙틴 또한 혈청 지질개선 효과가 있다고 하였다 (Suzuki *et al.*, 1993; Tsuji *et al.*, 1968).

한편, 녹조식물문의 갈파래목, 갈파래과 매생이속에 속하는 매생이 (*Capsosiphon fulvescens*)는 일년생 해조로써 전 세계적으로 널리 분포하며, 우리나라에서는 전남 장흥이나 완도 등지의 내만성 환경이 우세한 남해안이나 서해 남부의 해안에서 서식하고 있다 (Kang, 2000). 조단백질 함량, 특히 필수 아미노산 함량이 다른 해조류에 비하여 높고, Fe나 Se와 같은 무기질, 비타민 A, C 및 ω -3계열의 지방산도 다량 함유하고 있어서 영양학적으로 우수하여 향토음식으로 오래전부터 이용되어 왔으며, 겨울철에 채취하여 굴과 함께 끓인 매생이국은 남도의 대표적인 음식으로 특유의 향미와 감미가 있어 고급식품으로 애용되고 있다 (Jung *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2005). 이러한 매생이는 김, 파래, 미역 등 보다 높은 가격 경쟁력을 가지고 있음에도 불구하고 이에 대한 연구는 주로 기초 생물학적인 연구인 형태 및 분류 (Chihara, 1967), 생태 및 생활사 (Migita, 1967), 종의 변식과 분포 (Bliding, 1963; Garbary, 1982)가 주로 이루어졌고, 최근에 들어서야 매생이의 기능성 연구로써, 메탄올 추출물은 지질과 산화를 억제하고 에탄올 추출물은 멜라닌 생성을 억제하는 효과가 있으며, 매생이를 고콜레스테롤과 함께 급여했을 때 중성지방과 콜레스테롤을 저하하는 효과가 있다고 보고되는 등 (Mun *et al.*, 2005; Park *et al.*, 1997; Kwon *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2005)의 연구가 진행되고 있으나 아직까지 미미한 실정이다.

비만은 유전적인 배경을 가지므로 비만 유전자를 찾으려는 연구는 꾸준히 시도되었는데, Zhang *et al.* (1994)은 비만 생쥐 (ob mouse)에서 비만 유전자를 발견하였고, 지방세포에서 생성되어 체지방 정도를 반영하는 14-16kDa의 단백질이 leptin임을 확인하였다. Hallas *et al.* (1995)와 Pelleycounter *et al.* (1995)의 보고에 의하면 leptin의 식욕억제 및 대사율의 증가 기능은 대부분의 비만 대상자들이 정상인에 비해 leptin 농도가 유의적으로 높다고 보고 비만 조절에 있어서 leptin의 작용을 검토하고자 고지방식이로 비만을 유도한 후 혈 중 leptin의 변화를 살펴본 결과 고지방식이 섭취시 마우스의 혈 중 leptin농도가 유의적으로 증가되었다고 하였다 (Fredurich *et al.*, 1995; Reeves *et al.*, 1993; Bucolo 와 David, 1973). 또한 ghrelin은 위 점막세포에서 분비되어 시상하부에 작용하는 단백질로 최근 Growth Hormone 분비 촉진제로 작용하는 것이 알려져 지방 분포와 관련되어 비만증을 설명하는 물질로 연구되고 있다. 즉, 비만환자에서 낮은 혈중 Growth Hormone Secretagogue 리간드(ghrelin)는 혈중 Growth Hormone치의 감소를 일으켜 비만해진다고 할 수도 있다 (Kojima *et al.*, 1999; Tschop *et al.*, 2000; Tschop *et al.*, 2001).

따라서 본 실험에서는 흰쥐에게 매생이 추출물(*Capsosiphon fulvescens* Extracts, CFE)을 콜레스테롤과 함께 급이 시킴으로써 흰쥐의 혈청과 간장, 분변의 지질대사에 미치는 효과와 혈청에서의 leptin과 ghrelin의 발현 정도를 살펴보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

가. 시약 및 재료

본 실험에 사용된 매생이 (*Capsosiphon fulvecens*)는 2006년 1월 전남 장흥군 내저리 매생이 작업장으로부터 구입하여 재료로 사용하였다.

동물실험에 사용된 측정용 kit는 WAKO (WAKO, Japan), 신양화학 (신양화학, Korea) 제품을 사용하였으며, amyloglucosidase는 Sigma (Sigma Chemical Co., U.S.A.) 제품을 사용하였다. 그 외의 유기용매와 같은 일반시약은 특급시약을 사용하였으며, western blot에 사용한 protein standard marker는 Precision Plus Protein Standards (BIO-RAD, U.S.A.)를 사용하였고 detection reagent로는 Super Signal West Pico Stable Peroxide Solution과 Super Signal West Pico Luminol/Enhancer Solution (PIERCE, USA)를 사용하였다. Leptin 항체와 ghrelin 항체는 Santa Cruz (Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA)를 사용하였다.

2. 실험방법

가. 시료의 조제

(1) CFE의 조제

CFE의 조제는 Fig. 1의 방법에 따라 행하였다. 즉, 매생이를 담수에 3번 수세한 후, 동결 건조기로 건조하였다. 건조된 매생이는 식품 분쇄기(HANIL, FM-681, Korea)로 미세하게 분쇄하였으며, 60 mesh에 통과한 것을 실험에 사용하였다.

매생이 분말 120g을 3구 플라스크에 넣고 증류수 3.5L를 가하여 90~100℃에서 4시간 동안 교반하면서 추출한 다음 식혔다. 그 후에 8,500 rpm에서 45분간 원심분리하여 상층액에 약 2~3배 부피의 에탄올을 가한 후 저온에서 12~24시간 반응시켰다. 다시 위와 동일한 방법으로 원심분리하여 잔사를 얻었으며, 잔사는 열풍 건조기에서 건조시킨 후 식품 분쇄기로 미세하게 분쇄하여 106 mesh에 통과시켰다. 이때 회수한 CFE는 약 30g이었다.

(2) 일반성분 분석

CFE의 일반성분 (수분, 조지방, 조단백질, 조회분)과 총식이섬유의 분석은 부경대 사료영양연구소에 의뢰하였다. 그리고 탄수화물의 함량은 100%에서 일반성분을 뺀 값으로 나타내었다.

(3) 동물실험 사료의 조제

본 동물실험에 사용된 기본 사료는 Table 1과 같으며, 실험사료의 원료로는 시판되는 corn starch (대상, 한국), sucrose (백설, 한국), casein (MP Biomedicals Inc., France), lard (라원식품, 한국), corn oil (오뚜기, 한국), mineral mix (AIN-76; ICN Biomedicals Inc., U.S.A.), vitamin mix (AIN-76; ICN Biomedicals Inc., U.S.A.), choline chloride (ACROS ORGANICS, U.S.A.), DL-methionine (Sigma Chemical Co., U.S.A.), cholestrol (YAKURI PURE CHEMICALS., LTD, Japan), sodium cholate

(ACROS ORGANICS, U.S.A.)를 사용하였다.

콜레스테롤식은 기초식지에서 콜레스테롤 1%를 급이한 양만큼 corn starch의 양을 줄여 조제하였고, 실험식은 기초식지의 corn starch의 양에서 콜레스테롤 1%와 CFE의 2%·4%에 해당하는 양만큼을 줄인 수준에서 각각 조제하였다. 제조한 사료는 4℃에서 보관하며 공급하였다.

나. 실험동물의 사육과 처리

(1) 실험동물의 사육

실험동물의 실험식은 기초식이, 콜레스테롤식이, CFE 2%식이, CFE 4%식으로 구분하여 실시하였다. 동물실험은 효창사이언스 (경북, 한국)에서 분양받은 4주령된 Sprague Dawley계 숫쥐 (체중 100~120g)를 사용하였다. 각 10마리씩 분류하여 연립식 사육케이지에 넣고, 일반사료로서 7일간 순치 예비사육한 후에 기초식지와 콜레스테롤식이, CFE 2%식이, CFE 4%식을 함유하는 식이를 4주간 급여하였다. 예비사육 및 본 사육기간 중의 물과 식이는 자유급이 (*ad libitum*) 하였으며, 사육실 온도 ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$), 습도 ($50\pm 10\%$) 및 명암 (12시간, 06:00~18:00 주기로 조명)을 엄격히 조절하였다.

(2) 실험동물의 처리

실험동물은 실험사육 최종일에 18시간 동안 절식시킨 후에 단두하여 채혈하였고, 각 혈액시료는 빙수 중에 1시간 방치한 후에 원심분리(3,000 rpm, 15min 4°C)하여 취한 혈청을 저온 (-70°C)에 보관하면서 실험에 사용하였다. 그리고 간장, 신장, 심장, 비장, 대장, 소장, 맹장도 별도로 적출하여 생리식염수로 씻은 후, 그 무게를 칭량하였다. 특히, 간장은 채취한

즉시 생리식염수로 세척, 여과지로 물기를 제거하여 중량을 측정한 후, 액체질소에 넣어 급속 동결시킨 다음 실험에 사용할 때까지 -70°C 에 보관하였다. 분변은 실험식이 급여기간 중 실험종료 전 10일간 metabolic cage로부터 수집하였다.



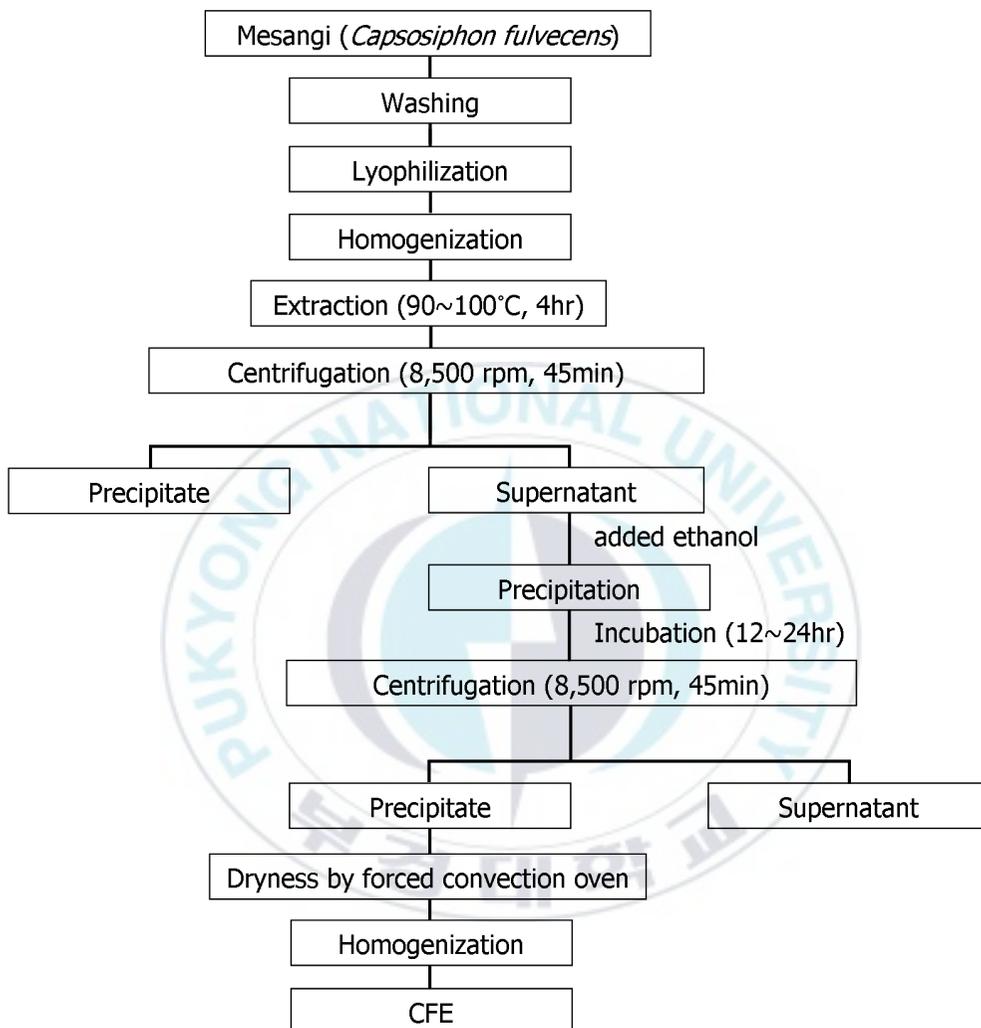


Fig. 1. Manufacturing process of CFE from Mesangi

*CFE : *capsosiphon fulvecens* extracts

Table 1. Formation of experimental diets

(g/kg)

Constituents	Experimental animal group ^{*1}			
	B ^{*2}	C	CFE2%	CFE4%
Corn starch	496	483.5	463.5	443.5
Sucrose	124	124	124	124
Casein	180	180	180	180
Lard	100	100	100	100
Corn oil	50	50	50	50
Mineral mixture	35	35	35	35
Vitamin mixture	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2
Methionine	3	3	3	3
Cholesterol	0	10	10	10
Sodium cholate	0	2.5	2.5	2.5
CFE	0	0	20	40

¹Experimental animal : Strain, Sparague Dawley age, 4 weeks; average body weight; 100~120g; feeding period, 4 weeks by experimental diet after a week of basal diet.

²Codes of experimental diet. B, fed the basal diet; C, fed the chloesterol diet; CFE2%; fed the cholesterol diet containing the CFE2%; CFE4%; fed the chloesterol diet containing the CFE4%

다. 실험 시료의 분석

(1) 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 장기중량

식이 섭취량은 매일 일정한 시간에 먹은 식이의 양을 측정하였고, 체중은 1주일에 한번 일정한 시간에 동일한 순서로 측정하였다. 체중증가량은 4주간 실험 사육한 후 체중에서 실험 사육 시작할 때의 체중을 뺀 값으로 하였다. 식이효율은 체중 증가량을 같은 기간 동안 식이 섭취량으로 나누어 표시하였고 장기 중량은 간장, 신장, 심장, 비장, 대장, 소장, 맹장의 무게를 칭량하였다.

(2) 혈청 및 간장 지질의 분석

중성지질 및 인지질, 총콜레스테롤, 유리콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 혈당, GOT와 GPT의 분석시료 중, 혈청은 저온보관중의 시료를 그대로 분석하였다. 간장분석시료는 간장조직 0.5g을 취하여 마쇄한 후, hexan : isopropanol 혼액 (3 : 2, v/v)으로 지질을 추출하고 N₂ gas로 농축하였다. 농축한 시료는 chloroform : methanol 혼액 (2 : 1, v/v) 0.5ml에 용해하여 분석용 시료로 사용하였다.

(가) 혈청 및 간장조직 중의 중성지질

혈청과 간장조직 중의 중성지질의 농도는 추출시료 각 10 μ l를 취하여 TRYGLYZYME-V "*Eiken*" kit (신양화학, Korea)를 써서 Enzymatic 방법으로 반응시켜 분광광도계 (Ultrospec 2001 pro, Amersham Phamacia biotech, England)로써 505nm에서 측정하였다.

(나) 혈청 중의 인지질

혈청 중의 인지질의 농도는 추출시료 각 $10\mu\text{l}$ 를 취하여 phospholipid C-test kit (Wako, Japan)를 써서 콜린 옥시데이즈 · DAOS법으로 반응시켜 600nm에서 측정하였다.

(다) 혈청 및 간장조직 중의 총콜레스테롤

혈청과 간장조직 중의 총콜레스테롤의 농도는 추출시료 각 $10\mu\text{l}$ 를 취하여 총콜레스테롤 측정용 CHOLESTE ZYME-V "Eiken" kit (신양화학, Korea)를 써서 Enzymatic COD법으로 반응시켜 505nm에서 측정하였다.

(라) 혈청 중의 유리콜레스테롤과 콜레스테릴 에스테르

혈청 중의 유리콜레스테롤의 농도는 추출시료 각 $25\mu\text{l}$ 를 취하여 유리콜레스테롤 측정용 Free cholesterol C-test kit (Wako, Japan)를 써서 콜레스테롤 옥시데이즈 · 페놀법으로 반응시켜 600nm에서 측정하였다.

콜레스테릴 에스테르 함량은 총콜레스테롤 함량에서 유리콜레스테롤 함량을 뺀 값으로 구하였다.

(마) 혈청 중의 HDL-콜레스테롤 및 동맥경화지수

혈청 중의 HDL-콜레스테롤의 농도는 추출시료 각 $100\mu\text{l}$ 를 취하여 HDL-C555 kit (신양화학, Korea)를 써서 phosphotungstic acid-Mg⁺⁺헤파린 · 망간 결합 침전법으로 반응시켜 555nm에서 측정하였다.

동맥경화지수 (Atherogenic index, AI)는 (Total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol로 계산하였다.

(3) 혈청 중 혈당 및 GOT와 GPT 활성

(가) 혈청 중의 혈당

혈청 중의 혈당의 농도는 추출시료 각 $10\mu\text{l}$ 를 취하여 Enzymatic glucose oxidase와 peroxidase 법에 따라 제조된 혈당측정용 GL ZYME "Eiker" kit (신양화학, Korea)을 써서 500nm에서 측정하였다.

(나) 혈청 중의 GOT 및 GPT의 활성

혈청 중의 GOT 및 GPT의 활성은 추출시료 각 $20\mu\text{l}$ 를 취하여 Reitman-Frankel의 방법에 따라 제조된 Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 및 Glutamic pyruvic transaminase (GPT) 활성측정용 혈청 transaminase 측정 kit (신양화학, Korea)를 써서 505nm에서 측정하였다.

(4) 간장조직염색

각 실험식이별로 사육한 흰쥐의 간장조직을 떼어내어 생리식염수로 가볍게 씻어 혈액을 제거하였다. 간장 조직의 일부를 절단하여 0.5cm 두께로 잘라 Bouin 고정용액 (picric acid : formalin : glacial acetate = 15 : 5 : 1)에 고정하고, 동일 고정액을 사용하여 24시간 안에 tissue capsule에 넣어 재고정 하였다. 이를 수세하여 자동침투기 (autotechnicon)에 넣어 순차농도 알코올에 탈수하고 xylene으로 투명화 시켰다. Embedding center에서 tissue capsule에 paraffin을 침투시켜 포매 (embedding)하여 block으로 만들었다. Rotary microtome으로 block을 이를 $5\mu\text{m}$ 두께로 박 절하여 부유 항온수조에서 충분히 퍼지도록 둔 후 깨끗한 slide glass에 부착시켰다. 그런 다음, slide glass와 조직절편을 단단히 접촉시켜주기 위해서 60°C 정도의 온도를 유지하는 slide warmer에 방치하였다. 마지막으로 기본적으로 세포의 배열과 형태학적 변화를 보기위해 모든 조직절편을 핵과 세포질을 구분해서 볼 수 있는 Hematoxylin & Eosin 염색 후 광학

현미경으로 관찰하였다.

(5) 분변의 분석

(가) 분변 중의 지질 분석

분변 중의 지질 추출은 Aoki와 Tuzihara (1984)의 방법을 변형하여 실험하였는데, 즉, 분변 시료 중 0.5g을 취하여 chloroform : methanol (3 : 1, v/v) 15ml로 지질을 추출하고 여액을 회수하여 N₂ gas로 용매를 증발시킨 후 1g 당 chloroform : methanol (2 : 1, v/v) 혼합액을 1ml 첨가시켜 완전히 용해시킨 후 총콜레스테롤 분석용 시료로 혈청과 동일한 방법으로 측정하였다.

(나) 분변 중의 총 담즙산 함량

분변 중의 총 담즙산의 함량을 측정하기 위해 Crowell and MacDonald (1980)의 연구를 변형하여 실험하였다. 즉, 0.2g의 분변에 4% KOH/glycerol 2ml를 첨가하여 20분간 습열멸균하고 20% NaCl을 2ml 첨가하여 ether 20ml로 2회 추출하였다. 추출한 잔사에 2N HCl 1.2ml를 첨가하여 산성화 (pH 1~2) 시킨 후 ether 5ml로 4회 추출하여 상층액을 회수하였다. 상층액을 Water bath에서 45°C로 용매를 증발시켜 methanol : H₂O (5 : 1, v/v)혼합액 2ml에 녹였다. 이것을 총 담즙산 test kit (Wako, Japan)를 이용하여 효소비색법으로 측정하였다.

(다) 분변 중의 총 식이섬유 함량

분변 중의 총 식이섬유 함량은 AOAC OFFICIAL METHODS of ANALYSIS (1990)을 변형하여 Enzymatic-Gravimetric method로 측정하였다. 분변 시료 중 0.5g을 취하여 chloroform : methanol (3 : 1, v/v) 15ml로 지질을 추출한 후 여액은 버리고 잔사에 증류수 10ml를 첨가하여 9

5°C water bath에서 15분간 가열한 후 55°C water bath에서 15분간 냉각시켰다. 여기에 250 μ l의 amyloglucosidase를 가하여 55°C에서 1시간 30분 가온한 후 취한 여액에 250 μ l의 amyloglucosidase를 넣어 55°C에서 1시간 30분 가온하였다. 이것을 실온에서 1시간 방치하고 acetone으로 탈수하여 잔사를 회수하고 건조하여 함량을 구한 다음, 525°C 회화로에 1시간 30분 회화시켜 회분을 구하였다. 즉, 분변 당 회분 함량에서 수분 함량의 차를 분변 중의 총 식이섬유소로 하였다.

(6) 혈청 중의 protein 분석

(가) 혈청 leptin western blot

혈청 중의 leptin western blot은 혈청 1 μ l를 취하여 전기영동 하였다. 17% polyacrylamide gel에 loading시켜 분리된 단백질은 Immobilon-P membrane (Millipore, USA)으로 옮겼다. 이때 표준 분자량은 Precision Plus Protein Standards (BIO-RAD, USA)를 사용하였다. 1% BSA를 함유하는 TBS-T (Tris-buffered saline; 20mM Tris-base, 137mM NaCl, 1M HCl, 0.1% Tween 20, pH 7.6)에서 1시간 blocking한 다음, TBS-T (Tris-buffered saline; 20mM Tris-base, 137mM NaCl, 1M HCl, 0.1% Tween 20, pH 7.6)로 10분간 세척하였다. 세척한 membrane에 leptin 1차 항체 (Anti-leptin polyclonal rabbit IgG, Santa Cruz Biotechnology Inc., USA)를 TBS-T에 1 : 1,000으로 희석하여 실온에서 1시간 반응시켰다. TBS-T로 15분간 2번 세척한 후 peroxidase labelled anti-rabbit antibodies 2차 항체 (1 : 10,000)를 사용하여 실온에서 1시간 반응시켰다. 2차 항체로 반응시킨 membrane은 TBS-T로 15분간 2번 세척하고 Super Signal West Pico Stable Peroxide Solution과 Super Signal West Pico Luminol/Enhancer Solution을 사용하여 KODAK X-ray 필름에 감광시켰

다. X-ray 필름을 현상하여 leptin의 protein expression 수준을 밴드로 확인하였다.

(나) 혈청 ghrelin western blot

혈청 중의 ghrelin western blot은 혈청 1.5 μ l를 취하여 전기영동 하였다. 12.5% polyacrylamide gel에 loading시켜 분리된 단백질은 Immobilon-P membrane (Millipore, USA)으로 옮겼다. 이때 표준 분자량은 Precision Plus Protein Standards (BIO-RAD, USA)를 사용하였다. membrane은 1% BSA로 1시간 blocking한 후, ghrelin 1차 항체 (c-18, Santa Cruz Biotechnology Inc., USA)를 1 : 2,000으로 희석하여 실온에서 1시간 반응시켰다. TBS-T로 15분간 2번 세척한 후 Goat anti-rabbit IgG-HRP 2차 항체 (1 : 10,000)를 사용하여 실온에서 1시간 반응시켰다. 2차 항체로 반응시킨 membrane은 TBS-T로 15분간 2번 세척하고 Super Signal West Pico Stable Peroxide Solution과 Super Signal West Pico Luminol/Enhancer Solution을 사용하여 KODAK X-ray 필름에 감광시켜 ghrelin의 protein expression 수준을 밴드로 확인하였다.

라. 통계처리

실험의 분석결과는 각각의 군별로 평균과 표준편차 (mean \pm S.D.)를 사용하여 표기하였으며, 모든 자료는 Window용 SPSS 프로그램 (Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 처리하였고, 반복측정에 의한 ANOVA test와 Duncan's multiple range test를 적용하였다. 이때, 모든 통계적 유의도 수준은 $p < 0.05$ 에서 살펴보았다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. CFE의 일반성분 분석

Table 2는 CFE의 일반성분 결과를 나타낸 것이다. 매생이를 건조하여 분쇄하고, 이를 열수 추출하여 에탄올과 반응시켜 얻은 CFE의 성분은 약 60%가 탄수화물이며, 조회분이 약 15%, 조단백이 약 13%정도를 차지하고 있는 것으로 나타났다. 또한 CFE의 탄수화물은 거의 대부분이 총식이 섬유로 존재하였다.

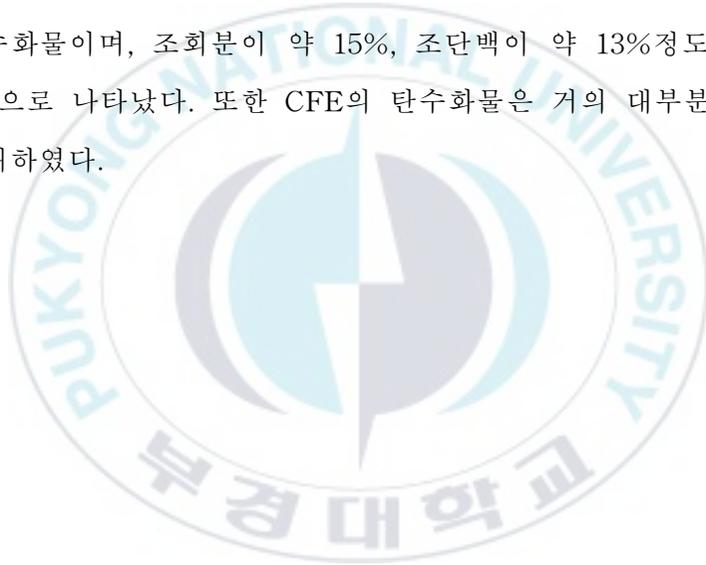


Table 2. Proximate composition of CFE

	Moisture	Crude lipid	Crude protein	Crude ash	Carbo- hydrate* ¹	total dietary fiber* ²
CFE	12.82	0.52	12.34	14.73	59.59	59.56

¹100 - (Moisture + Crude lipid + Crude protein + Crude ash)

²Carbohydrate contains total dietary fiber

2. CFE의 급이가 흰쥐에 미치는 영향

가. 체중 변화

각각 실험동물을 구분하여 예비사육 1주, 각 사료를 4주간 급이하면서 사육기간에 대한 체중 변화의 관계를 Fig. 2에, 초기체중과 사육 최종일의 체중증가량을 Table 3에 나타내었다. 초기체중은 비슷하였으나 체중의 증가는 각 실험군에서 약간의 차이를 보였고 특히, CFE 4%군은 다른 실험군에 비해 유의적으로 감소하였다. Lee *et al.* (2002)은 다시마 첨가 수준이 높아짐에 따라 비례하여 체중증가량이 감소하는 것을 확인하였으며 이는 다시마 식이 섬유에 의한 체중 증가 억제 효과 때문이라 하였다. Choi *et al.* (1997)은 미역이나 다시마 중의 20~30%를 차지하고 있는 식이섬유로서 알긴산 (alginic acid)의 스펀지 효과 (Sponge effect)로 인하여 비만 억제효과가 있다고 보고하였으며, Torsdottir *et al.* (1991)도 수용성 식이 섬유는 불용성 식이 섬유에 비해 보수력이 커서 겔 형성으로 점도를 높이고 그로 인해 음식물이 위에 머무르는 시간이 길어져 포만감을 준다고 하였다. 또한 Rotenberg *et al.* (1978)은 섬유소가 단백질과 지방질의 소화와 흡수를 감소시킴으로써 체중을 감소시킨다고 하였다. 이와 같이 본 연구도 CFE의 대부분이 수용성 식이섬유로써 급이 수준이 높아짐에 따라 체중이 감소되었음을 확인하였다.

나. 식이섭취량과 식이효율

기초식이 및 실험食이를 급이한 흰쥐의 사육기간 중 식이섭취량 및 식

이효율을 Table 3에 나타내었다. 체중변동과 함께 식이섭취량을 계측한 결과, 식이섭취량은 실험군 간에 약간의 차이는 있었으나 유의적인 차이는 없었으며, 식이효율은 CFE 4%군이 다른 군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 이는 유의성은 없었지만 벳 붉은잎 열수추출액을 급여한 군에서 식이효율이 낮아진다고 한 Kim *et al.* (2005)의 연구와 유사하였으며, Kim *et al.* (2005)은 식이 효율이 낮은 것은 다량의 식이섬유소가 지질을 흡착하여 배설을 촉진시킨 것이라고 보고하였는데 본 연구에서도 CFE 급여로 인하여 식이효율이 감소되었음을 확인하였다.



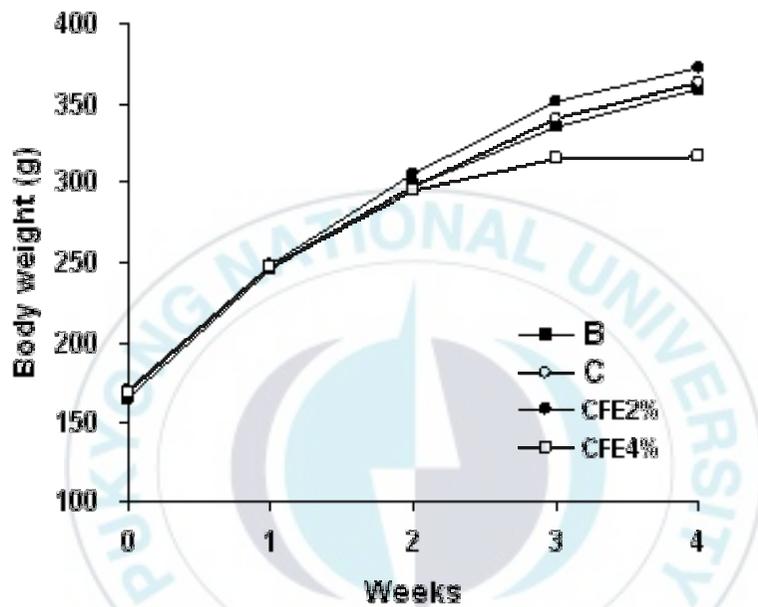


Fig. 2. The changes in body weight of the rats fed the experimental diet for 4 weeks.

*Refer to the footnote of Table 1.

*Table 3. Weight gains, feed intakes and its efficiency ratio
in the rats fed the experimental diets*

(Mean ± S.D.)

Experimental animal group* ¹	B	C	CFE2%	CFE4%
Initial body weight (g)	164.9±5.3	170.4±8.6	170.3±4.9	168.4±5.6
Weight gain (g/4weeks)	188.5±19.2 ^{b*2}	199.9±20.4 ^b	196.5±21.8 ^b	152.9±19.3 ^a
Food intake (g/day)	21.5±1.6	22.4±0.7	22.5±1.2	23.2±0.8
Feed efficiency ratio (%)	0.34±0.03 ^b	0.34±0.03 ^b	0.34±0.03 ^b	0.25±0.04 ^a

¹Refer to the footnote of Table 1.

All data were calculated by Mean±S.D. for 10 individuals.

²Values different alphabet are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test.

다. 장기의 중량

Table 4는 실험 식이를 급이한 실험동물을 해부하여 각 실험군의 장기 중량을 측정하여 나타낸 것이다. 간장의 중량은 기초식이군에 비하여 콜레스테롤군과 CFE 2%군이 현저하게 증가하였고, CFE 4%군은 기초식이군에 비하여는 유의적인 증가는 나타내었지만 콜레스테롤군과 CFE 2%군에 비하여는 유의적으로 감소하였다. 이는 고콜레스테롤 식이에 의한 영향으로 보이며, 간장의 중성지방 농도와 총콜레스테롤 농도 때문에 간장 중량 역시 증가한 것으로 보인다. Yang *et al.* (1996)이 sodium alginate라는 수용성 식이섬유를 식이한 군이 정상군에 비해 유의적으로 간장의 중량이 감소되었다고 한 것과 같이 일반적으로 섬유소 급이시 고콜레스테롤 식이로 증가된 간장의 무게가 감소되는데, 본 연구도 CFE의 급이 수준에 따라 유의적으로 감소하였다. Rhee *et al.* (1984)는 식이로 섭취한 과량의 콜레스테롤은 체외로 정상적으로 배출되지 못하고 간장 내에 축적되어 간장이 비대해진다고 하였고, Turley *et al.* (1990)도 고콜레스테롤을 장기간 급여할 때 간 비대증을 유발한다고 하여 지방의 과잉섭취는 지질대사 이상을 초래하여 간장 등 장기조직에 지방 침착을 일으킴으로 비만증, 고지혈증, 지방간 등을 유발하는 것으로 보인다. 본 연구도 Fig. 3에서 콜레스테롤군의 간장이 다른 군들에 비해 지방간 현상을 보였다. 간장에 대한 육안적인 소견은 기초식이군의 간장은 적갈색을 띠었고, 표면은 평활하고 수분에 의한 윤기를 나타내었으며 탄력이 있었다. 반면 콜레스테롤군의 간장은 황갈색을 띠었으며, 콜레스테롤이 침착하였고 간장의 크기가 증대하였으며 탄력성도 감소하였다. 또한 CFE의 급이 수준이 높을수록 간장의 지방 침착이 줄어드는 것을 확인할 수 있었다.

심장은 콜레스테롤이 포함된 군에서 중량이 증가되었고 CFE의 급이 수

준이 높을수록 중량은 감소되었으나 그 차이는 유의적이지 않았다. Chen *et al.* (1981)은 펙틴을 과량 급여했을 때 정상 급여군보다 그 무게가 감소되었다고 보고한 것으로 보아 CFE의 급여 수준을 높인다면 유의적인 감소를 보일 것으로 여겨진다.

신장은 Park *et al.* (1985)이 콜레스테롤 급여시 증가된 신장의 무게가 펙틴 급여로 감소되었다고 보고한 바와 같이 기초식이군에 비하여 콜레스테롤군과 CFE2%군의 신장 중량은 유의적으로 증가하였으나 CFE4%군은 기초식이군과 유의적인 차이가 없었고, 비장 또한 신장과 동일한 결과를 보였다.

맹장은 기초식이군과 콜레스테롤식이군에 비하여 CFE 식이군에서 유의적으로 높은 중량을 나타내었다. Oku *et al.* (1981)은 클루코만난을 흰쥐에게 급여시킨 결과 맹장의 무게가 유의적으로 증가하였다고 보고하였으며, Suzuki *et al.* (1993)은 다시마를 급여한 군에서 맹장과 소장 및 대장의 크기가 유의적으로 큰 경향을 나타내었다고 하여 본 연구와 유사함을 알 수 있었다. 그러나 Wyatt *et al.* (1988)의 식이 중 다당류의 종류와 함량 및 섭취기간에 따라, 맹장 내 내용물의 중량과 소화관의 무게에 영향을 미치며, 흰쥐에 밀겨를 먹었을 때 대장 무게가 증가하였다는 연구와 Lee (1997)의 연구에서 알긴산, 셀룰로오즈, 펙틴을 급여했을 때 소장의 길이는 차이가 없었으나 대장의 경우 섭취된 섬유소 함량이 증가할수록 그 길이가 증가하는 경향을 나타내었다는 보고와는 달리 본 연구에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 4. Weight of the organs in the rats fed the experimental diet

(Mean ± S.D.)

Experimental animal group ^{*1}	B	C	CFE2%	CFE4%
Liver	10.0±0.68 ^{a*2}	18.9±2.37 ^c	17.5±2.21 ^c	14.4±0.87 ^b
Heart	1.3±0.15	1.4±0.19	1.4±0.17	1.3±0.18
Kidney	2.5±0.15 ^a	2.8±0.25 ^b	2.8±0.25 ^b	2.5±0.17 ^a
Spleen	0.8±0.11 ^a	1.0±0.12 ^c	0.9±0.16 ^{bc}	0.8±0.13 ^{ab}
Large Intestine	0.8±0.28	0.8±0.13	0.9±0.29	0.8±0.17
Small Intestine	3.4±0.66	3.7±0.65	4.1±1.17	3.3±0.72
Cecum	0.6±0.07 ^a	0.6±0.10 ^a	0.8±0.19 ^b	0.9±0.13 ^b

¹Refer to the footnote of Table 1.

All data were calculated by Mean±S.D. for 10 individuals.

²Values different alphabet are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test.

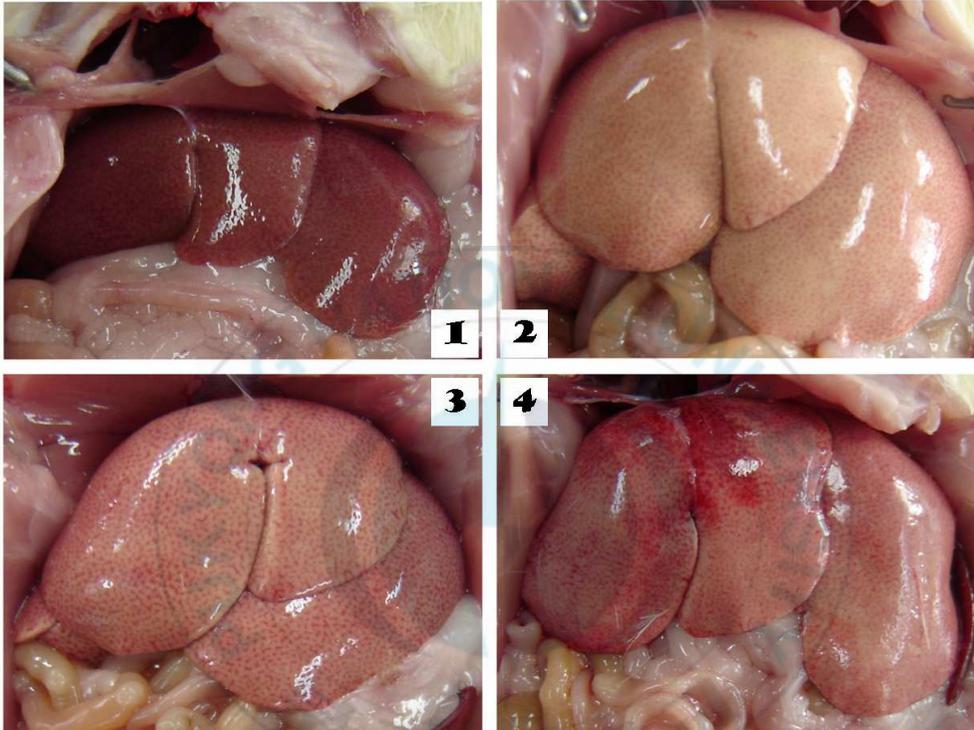


Fig. 3. Photographs in the liver tissue of rats fed the experimental diet for 4 weeks.

*Codes of experimental diet. 1, fed the basal diet; 2, fed the chloesterol diet; 3; fed the cholesterol diet containing the CFE2%; 4; fed the chloesterol diet containing the CFE4%

3. 혈청 및 간장 조직 중의 지질조성에 미치는 영향

가. 혈청 및 간장 조직 중의 중성지질의 함량

중성지질은 세포의 기능 유지와 에너지 대사에 사용됨으로 당연히 존재해야 하지만 너무 과하면 고지혈증, 동맥경화증 등을 유발하여 심각한 문제를 일으킬 수 있다고 알려져 있다.

기초식이와 실험식이를 급이한 흰쥐의 혈청과 간장 조직에서의 중성지질의 함량을 측정하여 Table 5에 나타내었다. 본 실험에서 혈청 중의 중성지질의 농도는 유의성이 없었으나, 간장 조직에서의 중성지질의 농도는 기초식이군에 비하여 콜레스테롤군과 CFE 2%군이 현저히 높은 값을 나타내었다. CFE 4%군은 기초식이군에 비하여 유의적인 증가를 나타내었으나 콜레스테롤군과 CFE 2%군에 비해서는 유의적인 감소를 보였다.

Kinnunen *et al.* (1983)은 펙틴이 장내 점도 변화로 점막의 기능과 구조적 변화를 유도하여 콜레스테롤과 중성지질의 흡수를 억제하고 지질합성을 감소시켜 중성지질의 농도를 저하시킨다고 하였고, Fernandez *et al.* (1992)는 수용성 식이섬유소의 혈장 중성지질 감소 효과는 대부분의 연구에서 미미하다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다. 또, 식이섬유와 혈중 지질농도의 상관성을 밝힌 대부분의 연구는 장기간의 연구로, Vigne *et al.* (1987)은 섬유소의 급여는 모세혈관벽의 지단백 분해효소를 활성화하여 중성지질의 주요 운반체인 키로미크론과 VLDL의 분해를 촉진시킴으로 혈 중의 중성지질의 농도를 저하시킨다고 하였으며, Rotenberg *et al.* (1978)은 펙틴을 식이중량의 10% 정도 첨가하면 중성지질을 감소하는 효과가 관찰되었다고 하여 10% 이상의 식이섬유를 장기간

으로 섭취하면 중성지질 감소효과를 높일 것으로 여겨진다.

나. 혈청에서 인지질의 함량

인지질은 분자 안에 인산에스테르를 가지고 있는 복합지질로써 세포막을 형성하고 신경 전달에 중요한 역할을 한다. 그리고 콜레스테롤, 중성지질, 인지질, 유리지방산 등 혈청 지질 가운데 어느 하나의 혈청농도가 높은 상태를 고지혈증이라고 하는데 이를 판단하는데 사용되기도 한다.

기초식이와 실험식이에 따른 혈청 중의 인지질 함량을 측정하여 Table 5에 나타내었다. 기초식이군과 CFE 2%군에 비하여 콜레스테롤군의 인지질 함량은 유의적으로 증가하였으며, CFE 4%군은 기초식이군과 CFE 2%군에 비하여 유의적인 감소를 나타내었다.

Jang *et al.* (1998)은 셀룰로오스와 펙틴 모두 과량의 섬유소 급여시 인지질의 농도는 감소하는 경향을 나타내었고, Akiba와 Tatsuro (1982)은 무섬유소 식이보다 쌀겨 alfalfa 및 땅콩껍질 등의 섬유소를 급여한 흰쥐에 있어서 혈청 인지질 농도가 비교적 낮았다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

Table 5 . Triglyceride and phospholipid levels in the serum and liver of the rats fed the experimental diets

(Mean ± S.D.)

Experimental animal group ^{*1}	B	C	CFE2%	CFE4%
Triglycerid level				
Serum (mg/dl)	55.7±9.53	54.3±6.69	49.7±16.49	46.9±8.00
Liver (mg/g)	14.9±3.57 ^{*2a}	50.8±4.15 ^c	49.1±5.32 ^c	35.1±4.16 ^b
Phospholipid level				
Serum (mg/dl)	102.6±11.17 ^b	128.1±6.24 ^c	107.3±15.57 ^b	88.8±10.48 ^a

¹Refer to the footnote of Table 1.

All data were calculated by Mean±S.D. for 10 individuals.

²Values different alphabet are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test.

다. 혈청 및 간장 조직 중의 총콜레스테롤의 함량

기초식이와 실험식이에 따른 총콜레스테롤의 함량을 Table 6에 나타내었다. 즉, 총콜레스테롤 농도는 혈청과 간장에서 모두 콜레스테롤군과 CFE 2%군이 기초식이군에 비해 유의적으로 증가하였고 CFE 4%군은 콜레스테롤군과 CFE 2%군에 비해 유의적으로 감소한 것으로 나타났다.

일반적으로 수용성 식이섬유가 혈청과 간장의 콜레스테롤 함량을 낮추는데 효과가 있다는 연구가 많은데, 해조류를 이용한 지질대사의 연구에서 Kim *et al.* (1998)은 식이성 고지혈증 흰쥐에게 톳 녹즙액 50% 용액을 체중 100g당 1일 10ml씩 4주간 급여시켰을 때, 혈청 중 총콜레스테롤이 톳 녹즙액 급여군에서 감소를 확인하였고, Ficher *et al.* (1965)는 콜레스테롤 투여시 펙틴을 급여함으로 혈 중의 콜레스테롤 농도가 저하된다고 하였으며, Fernandez *et al.* (1994)는 펙틴의 급여수준이 증가할수록 저하 효과가 현저하다고 하였다. 그리고 Jue *et al.* (2003)도 100% 쌀과 보리식을 급식하였을 때, 4주 식이섬유를 제공한 실험에서 콜레스테롤 농도가 유의적으로 감소하였다고 하였으며, Shinnick *et al.* (1990)은 1% 콜레스테롤과 0.2% cholic acid로 흰쥐에서 지방간을 유도한 후 0~10%의 고식이섬유인 귀리를 투여하였을 때 투여량에 의존적으로 혈청과 간장의 콜레스테롤 농도가 저하된다고 하였다. Fisher *et al.* (1964, 1966)과 Trowell (1972)은 흰쥐에 대한 실험을 통하여 섬유소는 혈 중 콜레스테롤 농도를 저하시키고 아테롬성 동맥경화의 진행을 지연시킨다고 보고하였다. 일반적으로 Kang *et al.* (1997)은 수용성 식이섬유는 혈장 콜레스테롤 농도보다 간장 콜레스테롤 농도에 큰 영향을 미치는 것으로 보고하였으며, Oda *et al.* (1992)와 Jung *et al.* (1995)도 탄수화물원으로 보리를 첨가하였을 때 혈중 콜레스테롤 함량에 미치는 영향은 유의차가 없었으며 간장 지질

대사에 미치는 영향이 크다고 하였으나, 본 연구에서는 간장과 혈청 모두 CFE를 급이했을 때 콜레스테롤 함량이 유의적으로 감소하였다.

Kang *et al.* (1994)과 Nishina *et al.* (1992), Ehihara *et al.* (1989)은 alginate, pectin과 같은 수용성 식이섬유를 섭취한 흰쥐에서 간장의 콜레스테롤 및 중성지방 함량이 저하하였다고 보고 하였는데, 이것은 이들 식이섬유의 높은 점성이 소장에서의 중성지방의 흡수를 저해하여 콜레스테롤 합성을 위한 기질 저하를 초래하였기 때문이라고 하였고, Ied *et al.* (1990)은 식이섬유가 소장에서의 담즙산의 재흡수를 방해하여 분변으로 steroid 배설을 증가시킴으로써 체내 콜레스테롤을 감소시킨다고 하였으며, Anderson *et al.* (1990)도 식이섬유 섭취 시 담즙산과 식이섬유가 결합함으로써 담즙산의 배설량을 증가시키고, 식이섬유의 겔 형성으로 인해 담즙산을 격리시켜 장내로의 흡수를 감소시킨다고 하였다. Venter *et al.* (1990)은 대장에서의 식이섬유 발효대사 산물인 단쇄 지방산이 콜레스테롤 합성을 방해함으로써 체내 콜레스테롤을 감소시킨다고 보고하였는데 본 연구도 CFE 식이균에서 CFE 급이 수준이 증가할수록 현저한 감소효과를 보여주었다.

Table 6. Total Cholesterol levels in the serum and liver of the rats fed the experimental diets

(Mean ± S.D.)

Experimental animal group ^{*1}	B	C	CFE2%	CFE4%
Total cholesterol level				
Serum (mg/dl)	55.3±6.64 ^{a*2}	111.8±18.14 ^d	91.8±19.55 ^c	74.1±13.17 ^b
Liver (mg/g)	2.7±0.37 ^a	12.4±1.92 ^c	13.8±2.38 ^c	10.4±1.52 ^b

¹Refer to the footnote of Table 1.

All data were calculated by Mean±S.D. for 10 individuals.

²Values different alphabet are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test.

라. 혈청 중의 유리콜레스테롤과 콜레스테릴 에스테르의 함량

혈액 중 대부분의 콜레스테롤은 소장에서 흡수되어 인지질과 함께 세포막의 구성성분으로 혈중에서 지방산과 ester 결합을 한 콜레스테릴 에스테르형이 70%를 차지하며 30%는 유리형으로 존재한다.

기초식이와 실험식이를 급이한 흰쥐의 혈청 중 유리콜레스테롤은 Table 7에서 나타낸 바와 같이 콜레스테롤군이 가장 높았으며, 기초식이군과 CFE군은 콜레스테롤군에 비하여 유의적인 감소를 보였다. 기초식이군과 CFE군 간에는 유의적인 차이는 없었으나 CFE 4%군에서 가장 낮은 값을 보였다. 또한 콜레스테릴 에스테르 역시 콜레스테롤군이 다른 군에 비하여 유의적으로 높은 값을 나타내었으며, CFE 급이 수준이 증가할수록 기초식이군에 비해 증가하고 콜레스테롤군에 비하여는 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 Grag *et al.* (1998)는 콜레스테롤 급여시 혈 중 유리콜레스테롤 및 콜레스테릴 에스테르농도가 상승하였다고 하였으며, Kim *et al.* (1993)은 식이섬유 급여시 혈 중 콜레스테릴 에스테르 농도가 저하된다고 하여 본 연구와 일치하였다. Normura *et al.* (1992)에 의하면 사람에게 있어서 총콜레스테롤에 대한 콜레스테릴 에스테르 비는 약 70%가 전후가 정상적이며, 콜레스테릴 에스테르의 저하는 간질환 진단에 있어서 중요한 지표가 되고 고콜레스테롤 혈증일 때 상승된다고 보고하여, 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

Table 7 . Free cholesterol and cholesteryl ester levels in the serum and liver of the rats fed the experimental diets

(Mean ± S.D.)

Experimental animal group ^{*1}	Serum (mg/dl)		Cholesteryl ester ratio(%) ^{*2}
	Free cholesterol level	Cholesteryl ester level	
B	16.7±3.11 ^{a*3}	38.11±6.10 ^a	68.77
C	26.1±8.75 ^b	91.99±14.00 ^d	80.04
CFE2%	17.7±5.84 ^a	76.18±15.77 ^c	83.08
CFE4%	15.9±3.91 ^a	57.53±10.33 ^b	77.59

¹Refer to the footnote of Table 1.

All data were calculated by Mean±S.D. for 10 individuals.

²Cholesteryl ester ratio (%) : Cholesteryl ester/ Total cholesterol×100

³Values different alphabet are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test.

마. 혈청 중의 HDL-콜레스테롤의 함량 및 동맥경화지수

CFE와 고콜레스테롤 식이를 흰쥐에 4주간 급여시 혈청 중 HDL-콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤/총콜레스테롤비와 동맥경화지수에 미치는 영향은 Table 8에 나타내었다.

HDL-콜레스테롤은 기초식이군에서 가장 높은 값을 가지며, 콜레스테롤을 급여한 군이 유의적으로 낮은 함량을 가진다. CFE 4%군은 CFE 2%군에 비하여 유의적으로 증가함을 볼 수 있다.

Glomset *et al.* (1970)은 HDL 입자가 HDL의 유리콜레스테롤을 에스테르화하는 lecithin : cholesterol acyltransferase (LCAT)의 활성화에 관여함으로써 콜레스테롤의 세포내 유입을 억제한다는 항동맥경화 작용을 가진다고 하였고, Tall (1990)은 동맥경화를 개선시켜주는 요인으로 알려져 있는 HDL은 말초조직으로부터 과잉의 콜레스테롤을 간장으로 이동시키고 거품세포 형성을 방해하여 동맥경화의 진행과정을 늦추는 역할을 한다고 하였다. Kim *et al.* (2005)은 빵잎분말 급여가 식이로 고콜레스테롤을 유도한 경우에 LDL-cholesterol을 감소시키고, HDL-cholesterol을 상승시키는 결과를 나타내었고, Choi *et al.* (2004)는 고콜레스테롤식이를 급여했을 때 죽력을 투여하여 LDL-콜레스테롤 농도와 동맥경화지수가 감소하는 것과 HDL-콜레스테롤 농도 및 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 농도비가 증가하였다고 보고하였다. 특히, Yang *et al.* (1996), Park *et al.* (1994), Kang *et al.* (1994)과 Fernandez *et al.* (1990)은 수용성 식이 섬유인 펙틴, 검, mucilages, 해조류의 다당류 등이 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤의 농도를 낮추고 HDL-콜레스테롤의 농도를 높이는 효과가 있다고 하여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다.

AI는 체내 HDL-콜레스테롤에 대한 중성지방의 농도를 대표하는 값으

로 임상에서 3.0이상의 값을 나타낼 때 동맥경화에 대한 위험 신호로 사용하고 있으며 (Rosenfeld *et al.*, 1989), 혈청 총콜레스테롤 농도보다 총콜레스테롤 농도에 대한 HDL-콜레스테롤의 농도비는 심혈관질환의 발병을 예견하는 좋은 지표로 인정되고 있다 (Goodman *et al.*, 1964). 본 연구에서는 AI의 값이 콜레스테롤군에서 CFE 급이 수준을 높일수록 유의적으로 감소하였으며, 총콜레스테롤 농도에 대한 HDL-콜레스테롤 농도비는 반대로 CFE 급이 수준이 높을수록 유의적으로 증가하였다. 이는 섬유소의 급여수준에 따라 셀룰로오스와 펙틴 모두 HDL-C/TC 비율이 증가하였고, AI도 섬유소 급여시 유의적으로 감소하였다는 Jang *et al.* (1998)의 연구와 일치하였으며, LDL-콜레스테롤 농도와 동맥 경화지수가 감소하는 것과 HDL-콜레스테롤 농도 및 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 농도비가 증가한 것으로 보아 동맥경화의 방지 및 치료에 도움을 줄 것으로 생각된다.

Table 8 . HDL-cholesterol levels and AI in the serum of the rats fed the experimental diets

(Mean ± S.D.)

Experimental animal group ^{*1}	Serum (mg/dl)		AI
	HDL-cholesterol level	HDL cholesterol /total cholesterol	
B	46.4±5.79 ^{c*2}	0.85±0.07 ^c	0.19±0.10 ^a
C	18.7±4.66 ^a	0.18±0.04 ^a	4.94±1.56 ^c
CFE2%	18.4±5.75 ^a	0.21±0.04 ^a	3.99±1.43 ^c
CFE4%	24.8±5.44 ^b	0.36±0.11 ^b	2.11±1.22 ^b

¹Refer to the footnote of Table 1.

All data were calculated by Mean±S.D. for 10 individuals.

²Values different alphabet are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test.

4. 혈청 중의 혈당 및 GOT와 GPT 활성화에 미치는 영향

가. 혈청에서 혈당의 함량

기초식이와 실험식이를 급이한 흰쥐의 혈당의 함량을 측정하여 Table 9에 나타내었다. 혈당은 각 군마다 유의적인 차이를 보였으나 차이간의 관련성은 발견하지 못하였다.

Kim *et al.* (2005)은 해조류인 벵 붓은잎 열수추출액을 섭취하였을 때 혈당 저하 효과가 나타났다고 하였으며, Williams *et al.* (2004)은 콩을 포함한 식이섬유가 표준식, 밀식이보다 식후 30, 60분에서 혈당 농도가 유의적으로 낮아져 개선 효과를 보였다고 하였고, 식이섬유 함량이 높은 쌀을 정상인에게 섭취시킬 경우 식이섬유 함량이 낮은 일반 쌀에 비하여 식후 혈당 농도가 유의적으로 낮아졌다고 보고하였다. 또한 Vuksan *et al.* (1997)은 식이섬유의 섭취증가가 당뇨병 환자의 인슐린 요구량을 감소시켜 혈당조절을 개선한다고 하였으며, Lee *et al.* (2004)은 고식이섬유 쌀을 급여시켜 당뇨쥐의 혈당저하를 확인하였다. 이와 같이 일반적인 연구에서는 식이섬유의 혈당 저하효과를 나타내는데 대부분 식후 혈당 증가량과 당뇨병에 있어서의 식이섬유의 섭취가 혈당을 낮춘다는 것이다. 본 연구는 식후 18시간 동안 절식시켰으며, 당뇨병과는 무관하므로 이와는 관련이 없는 것으로 보인다.

나. 혈청에서 GOT, GPT의 활성화

고콜레스테롤과 CFE 급이가 혈청의 간장기능 지표 효소인 GOT와 GPT 활성에 미치는 영향을 Table 9에 나타내었다. S.D.계 흰쥐의 경우 생화학적 임상 기준치의 GOT는 39~262 U/L, GPT는 20~60 U/L 범위로 보고 있다. 혈청의 GOT와 GPT 활성은 간장세포의 변성과 괴사를 반영하는 효소로서 간장 조직 손상이 혈중으로 다량 유출된다. GOT 활성은 기초식이군에 비하여 실험군에서 모두 높게 나타났지만, CFE 급이 수준에 따라 유의적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었으며, GPT 활성 또한 CFE를 급이하므로 유의적으로 낮게 나타났다. 콜레스테롤군의 GPT 활성을 제외한 모든 값에서 정상범주에 속하여 본 실험에서 사용된 CFE는 GOT, GPT 활성에 영향을 주지 않는 것으로 보인다.



Table 9. Glucose levels, GOT and GPT in the serum of the rats fed the experimental diets

(Mean ± S.D.)

Test animal group ^{*1}	B	C	CFE2%	CFE4%
Glucose level				
Serum (mg/dℓ)	101.0±17.71 ^{a*2}	96.8±10.35 ^a	116.0±16.10 ^b	104.0±10.37 ^{ab}
GOT (Karmen)	58.0±13.60 ^a	80.1±15.57 ^b	79.3±24.18 ^b	71.1±17.49 ^{ab}
GPT (Karmen)	36.9±9.18 ^a	66.4±9.19 ^c	54.3±8.36 ^b	46.1±7.07 ^b

¹Refer to the footnote of Table 1.

All data were calculated by Mean±S.D. for 10 individuals.

²Values different alphabet are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test.

5. 간장 조직에 미치는 영향

실험식이에 따른 흰쥐의 간장 조직을 조직학적으로 살펴보고자 H & E 로 염색 처리한 후 광학현미경으로 관찰하였다 (Fig. 6). 간장 조직의 현미경 관찰 결과 지방구를 제외한 부분은 붉게 염색되었으며, 지방구는 투명한 색으로 존재하였다. 기초식이군은 정상 간장 조직과 동일하였으며, 콜레스테롤 급이로 인하여 콜레스테롤군의 간장 조직에서는 큰 지방구들이 관찰되었다. 또한 CFE 식이군에서는 지방의 양이 줄어드는 것을 볼 수 있었는데, 특히 CFE 2%군보다 CFE 4%군에서 현저하게 줄어들며 기초식이군과 가깝게 나타났다. 이는 콜레스테롤과 CFE를 급이하면, 콜레스테롤로 인하여 생길 수 있는 지방 침착을 CFE가 억제시킬 수 있음을 보여주는 증거이며, 해부 시 간장의 사진과 간장 조직 중의 지질 함량과도 동일한 결과를 보였다.

Stuart *et al.* (1975)는 고콜레스테롤을 급이한 흰쥐에서 간 세포질에 지방공포 출현을 관찰하였고, Park *et al.* (1998)은 Triton WR-1339에 의한 고콜레스테롤을 유도한 후, 김 추출물을 급이하였을 때 신장 내에서 지방축적을 감소시키는 항 콜레스테롤증 효과를 나타낸다고 하였다. Jung *et al.* (2001)은 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증을 유발한 흰쥐에게 porphyran을 농도별로 섭취시켰을 때 농도가 높을수록 세포 내 지방축적을 감소시킨다고 하여 본 실험과 유사한 결과를 보여주었다.

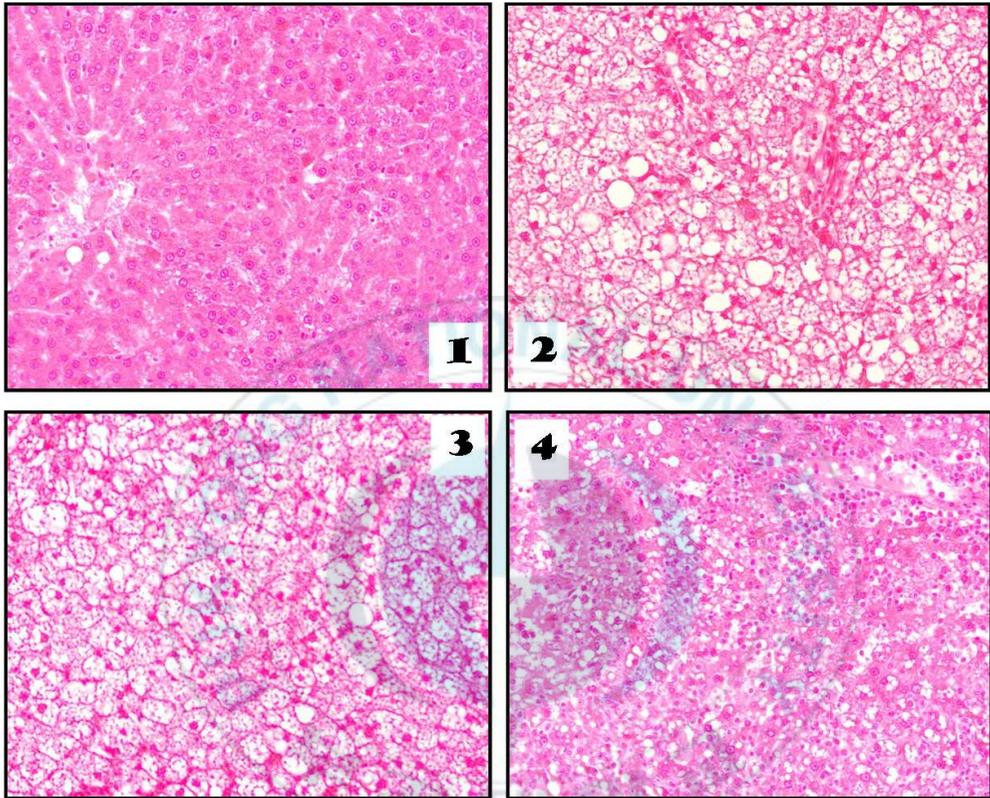


Fig. 4. Photomicrographs of H&E staining in the liver of rats

The liver of rats were fixed by Bouin fixation liquid. After being embedded in paraffin, sections of the livers were cut 5 μ m thick, and H & E (hematoxylin & eosin) staining was performed. Photographs of each of the livers were taken from every section at $\times 200$ magnification. Refer to the footnote of Fig. 3.

6. 분변 중의 조성에 미치는 영향

가. 1일 분변량

실험식이에 충분히 적응된, 사육 종료 10일전의 분변을 수집하여 분석한 결과를 Table 10에 나타내었다. 수집한 변의 양은 CFE군에서 유의적으로 높게 나타났는데, 이는 식이섬유인 CFE가 큰 보수성을 지님으로 인해 물분자가 식이섬유의 표면에 흡착되거나 식이섬유의 틈새에 침입함으로써 식이섬유의 용적을 증가시켜 분변의 무게를 증가시킨 것으로 보인다.

Kay *et al.* (1977)은 섭취하는 식이섬유의 양이 증가할수록 변의 양이 많아지고 변으로 배설되는 지방의 양이 증가한다고 하였으며, Lee *et al.* (2002)도 다시마 첨가에 따라 변중량이 증가하였으며 이는 다시마에 함유되어 있는 비소화성 식이섬유에 의한 효과에 따른 것이라고 하였다. Seog *et al.* (2002)은 보리의 β -glucan 농축획분 첨가군의 변 배설량은 대조군보다 1.5~2배 이상 많았다고 하였고, Gohl과 Gohl (1977)은 분변량은 장관 통과시간과 밀접한 관계가 있으며, 식이섬유량이 많은 소맥섬유를 보통의 식사에 첨가하면 대변량이 증가함과 아울러 소화관 통과시간이 유의적으로 단축된다고 하였다. Kim *et al.* (2001)은 분변의 무게와 수분함량의 변화는 alginate에서 가장 높은 증가를 보였으며 급이 수준이 높을수록 유의적으로 증가하였다고 하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

그러나 본 연구에서는 CFE 2%군과 CFE 4%군을 비교하였을 때 CFE 2%군의 변의 중량이 유의적으로 높은 것으로 나타났는데, 이는 Fig. 4에서 나타난 바와 같이 CFE 4%군의 변이 묽어 Stainless steel cage에 접

착되어 회수율이 적었고 다른 군보다 많은 CFE 4%군의 수분 함유량이 건조함에 의해 증발되었기 때문인 것으로 여겨진다.

각 군의 건조된 분변 사진을 Fig. 4에 나타내었다. 콜레스테롤군의 분변 색은 콜레스테롤 섭취로 인하여 기초식이군과 비교하였을 때 지방이 침착됨으로 밝은 갈색을 띄었으며, CFE 2%군과 CFE 4%군에서는 콜레스테롤을 섭취시켰으나 CFE 급이로 인하여 분변의 색이 기초식이군과 유사해졌다. CFE 급이군을 비교해보면 CFE 2%군의 분변에 비해 CFE 4%군의 분변이 묽기가 묽어 그 형태가 유지되지 않은 것이 육안으로도 확인되었다.

나. 분변 중의 총콜레스테롤 함량

실험식에 따른 분변 중의 총콜레스테롤 함량을 Table 10에 나타내었다. 분변 중의 총콜레스테롤의 함량은 기초식이군보다 콜레스테롤군과 CFE 2%군이, 콜레스테롤군과 CFE 2%군보다는 CFE 4%군이 유의적으로 증가하였다.

Viola *et al.* (1970)는 알긴산을, Ikegami *et al.* (1983)은 알긴산과 펙틴을, Schneeman과 Gallaher (1980)가 cellulose를 섭취시킨 쥐의 소장에서 소화되지 않은 성분들로 인하여 장관 내용물이 증가되면서 분변으로의 지방의 배설이 증가된다고 하였고, Yamaguchi *et al.* (1995)도 식이섬유소가 장관 내용물의 점성을 증가시켜 지질 흡수를 저해함으로 체외로 배출된다고 하였다. Stephen과 Cummings (1979)은 식이섬유가 담즙산이나 췌장의 소화액을 흡착하기 때문에 단백질과 지방 분해효소의 활성을 저하시켜 미소화물의 양이 증가하고 단백질과 지방의 배설이 촉진되기 때문이라고 하였고, Seog *et al.* (2002)은 보리 β -gluann 농분획분 섭취가 변으로의 콜레

스테롤과 중성지방 배설을 촉진한다고 하였는데, 이에 Viola *et al.* (1970)와 Cummings *et al.* (1976)은 인체의 소화효소에 의해 분해되지 않는 식이 섬유원으로써 알긴산을 섭취하면 단백질과 같은 에너지원의 흡수를 억제하여 분변으로의 배설을 촉진하기 때문이라고 하였다. 한편, Kwon *et al.* (1997)은 분변의 콜레스테롤과 중성지방 함량이 김치를 첨가한 군에서 증가하는 것은 김치가 체내에 존재하는 콜레스테롤과 중성지방이 분변으로 배설시키는 작용으로 인해 혈중 농도를 낮추는 것이라 하였으며, Ebihara *et al.* (1989)도 식이섬유는 지질의 흡수를 방해하여 분변으로의 배설을 증가시킨다고 보고하여 본 실험과 동일한 결과를 보였다.

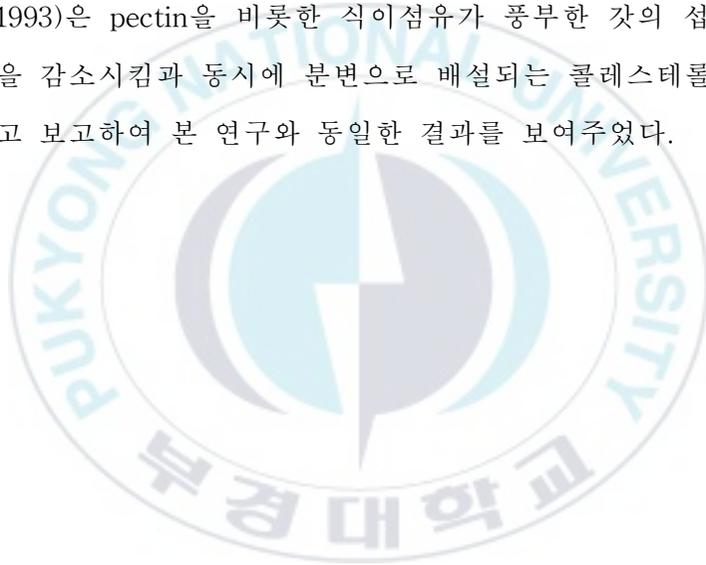
다. 분변 중의 총담즙산 함량

수용성 식이섬유는 지방을 비롯한 영양소의 소화와 흡수에 영향을 미쳐 분변으로의 지방배설을 증가시켜 체내농도를 저하시킨다는 연구가 많은데, 특히 담즙의 배설을 증가시키는 효과가 있다고 알려져 있다.

실험식이에 따른 분변 중의 총담즙산 함량을 Table 10에 나타내었다. 총담즙산 함량은 CFE 식이군에서 가장 높은 값을 나타냈으며, 기초식이군에 비하여 콜레스테롤군에서 유의적으로 높았다. 또한 CFE 식이군에서는 CFE 4%군이 CFE 2%군의 담즙산 함량보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다.

식이섬유소, 특히 수용성 식이섬유소는 소장에서 담즙의 재흡수를 방해하여 지질의 유화를 충분히 시키지 못하게 함으로 흡수를 억제하여 분변으로의 배설을 증가시킨다고 알려져 있는데 (Cassidy과 Calvert. 1993), 이는 담즙산이 콜레스테롤로부터 합성되는 물질로서 체내 콜레스테롤이 체외로 배설되는 유일한 경로이기 때문이다. Ebihara *et al.* (1989),

Gallaher *et al.* (1986)와 Lafont *et al.* (1985)는 식이섬유의 종류에 따라서 담즙 배설능에 미치는 영향은 다르다고 하였으며, Ikegami *et al.* (1990)이 무콜레스테롤 식이에 다양한 형태의 식이섬유를 섭취시키고 십이지장으로 유출되는 담즙의 양을 확인하였을 때 고도의 점성 다당류인 sodium alginate, 구아검, gum xanthan, locust bean gum 등은 담즙의 분비를 증가시킨 반면, 불용성 다당류인 calcium alginate는 담즙 분비에 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. Ko *et al.* (1998)은 콩 첨가식을 통하여 식이섬유가 담즙산의 흡수를 저해하여 체외배출을 증가시킴을 확인하였고, Jo *et al.* (1993)은 pectin을 비롯한 식이섬유가 풍부한 갖의 섭취가 혈장 콜레스테롤을 감소시킴과 동시에 분변으로 배설되는 콜레스테롤 담즙산을 증가시킨다고 보고하여 본 연구와 동일한 결과를 보여주었다.



*Table 10. fecal cholesterol and total bile acids contents
of the rats fed the experimental diets*

(Mean ± S.D.)

Experimental animal group ^{*1}	B	C	CFE2%	CFE4%
feces (g/day)	0.60±0.106 ^{a*2}	0.70±0.103 ^{ab}	0.99±0.158 ^c	0.79±0.150 ^b
Total cholesterol (mg/g)	7.5±2.02 ^a	32.0±5.24 ^b	31.8±5.85 ^b	43.4±3.27 ^c
Total bile acid (μmol/mg)	4.0±1.54 ^a	13.1±11.04 ^b	29.0±8.29 ^c	43.1±8.89 ^d

¹Refer to the footnote of Table 1.

All data were calculated by Mean±S.D. for 10 individuals.

²Values different alphabet are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test.



Fig 5. Dried feces of rats fed the experimental diet for 4 weeks.

*Refer to the footnote of Table 1.

라. 분변 중의 총식이섬유 함량

식이섬유는 '소장에서 소화되지 않으며 대장에서 분해 또는 발효되거나 하지 않는 섭취된 모든 식품중합체들의 총합으로 (Gordon, 1992) 소화되지 않아 영양적 가치가 없고 영양소의 흡수를 저해한다는 단점이 있으나 수용성 식이섬유는 보수력이 커서 위에서 포만감을 형성, 장내에서 점도 증가, 당뇨병 환자의 포도당 내성 증진효과가 있고 장내에서 콜레스테롤 및 담즙산을 흡착한 후 대변으로 배설시킴으로써 혈중 콜레스테롤 농도 저하 효과가 있다고 알려져 있다.

Table 11은 실험식이에 따른 분변 중의 식이섬유 함량을 나타낸 것이다. 분변 중의 총식이섬유함량은 각 군간에 유의적인 차이는 보이지 않았으나, 기초식이군과 콜레스테롤군에 비하여 CFE 식이군이 증가하였으며, CFE 2%군에 비하여 CFE 4%군의 함량이 더 높았다. 이는 식이섬유가 장내에서 발효되지 않고 대부분이 분변으로 배설되었기 때문에 분변의 무게가 증가한다는 Nyman *et al.* (1990)의 연구와 일치하는 것이다. 또한, 분변 중의 담즙산 함량과도 동일한 경향을 보였는데, 식이섬유의 작용에 의해 소장에서 담즙산과 결합하여 분변으로 배설되었기 때문인 것으로 보인다.

*Table 11. total dietary fiber (TDF) of feces in the rats
fed the experimental diets*

(Mean ± S.D.)

Experimental animal group* ¹	B	C	CFE2%	CFE4%
feces (g/day)	0.60±0.106 ^{a*2}	0.70±0.103 ^{ab}	0.99±0.158 ^c	0.79±0.150 ^b
TDF (g/g)	0.36±0.016	0.36±0.028	0.39±0.054	0.40±0.070

¹Refer to the footnote of Table 1.

All data were calculated by Mean±S.D. for 10 individuals.

²Values different alphabet are significantly (p<0.05) among the group by Duncan's multiple range test.

6. 혈청 중의 단백질 수준에 미치는 영향

가. 혈청 *leptin western blot*

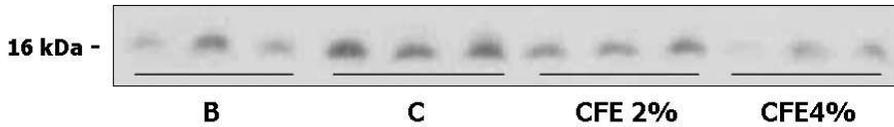
실험식이에 따른 혈청 중 leptin의 발현정도를 살펴본 결과, 콜레스테롤을 식이에 첨가하여 고콜레스테롤혈증 유도시 혈중 leptin 발현정도가 증가된 반면, 콜레스테롤과 동시에 CFE를 급이하였을 때에는 그 발현정도가 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다 (Fig. 6).

Leptin은 지방세포의 비만 유전자에 의해 생성되는 호르몬으로 시상하부에 작용하여 음식섭취를 억제시키고 에너지 소비를 증가시켜 비만을 조절하는 단백질로 (Caro *et al.* 1996), 그 혈중 농도가 지방조직의 양과 비례하여 (Ostrund *et al.* 1996) 지방세포 내의 지방 축적량이 증가할수록 leptin의 분비량이 증가한다 (Considine *et al.* 1996)고 알려져 있다. 그 기작으로써 leptin은 식욕을 조절하는 단백질로써 영양상태에 비례하며, 혈장의 leptin은 뇌의 시상하부에 있는 수용체와 결합하여 식이섭취를 감소시키고 thermogenesis와 활동량을 증가시켜 에너지 소비량이 증가되고, 또한 식이섭취량을 감소시켜 체중과 체지방이 감소된다고 하였다 (Behme, 1996; Mistry *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 1999; Havel, 2000). 체중이 많으면 leptin의 농도가 높아진다고 보고되어 (Lee *et al.*, 1999; Havel, 2000), 혈 중 leptin농도는 체지방량을 나타내는 지표로 알려져 최근 비만 연구에서 많이 적용되고 있는데 (Havel, 2000), Kwon *et al.* (2005)은 펙틴 첨가에 의하여 leptin의 분비량이 유의적으로 감소한 것으로 보아 지방이 축적되는 것을 억제하는 효과가 있음이 관찰하였고, Kang *et al.* (2003)은 고지방식이 섭취시 체중증가량이 가장 낮은 동과 15% 첨가군이

유의적인 차이는 아니지만 다른 군에 비하여 leptin의 농도가 낮아지는 경향을 보인다고 하여 본 연구와 동일한 결과를 보였다.



A



B

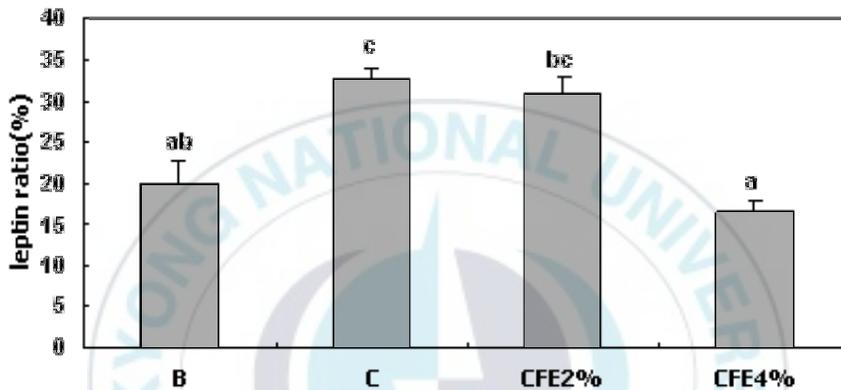


Fig. 6 Western blot for detecting leptin protein levels in the serum of rat.

Serum was mixed with loading buffer and loaded onto and 17% polyacrylamide gel. After electrophoresis, proteins were transferred onto nitrocellulose membranes and blotted against primary antibody. Membranes were washed and incubated with a 1 : 1000 dilution of HRP-conjugated secondary antibody. Protein bands were visualized by an enhanced representative experiment being shown. Western blot analysis were performed as described in Materials and Methods. (A) Representative western bolt analysis bands for leptin. (B) Quantitative analysis of leptin.

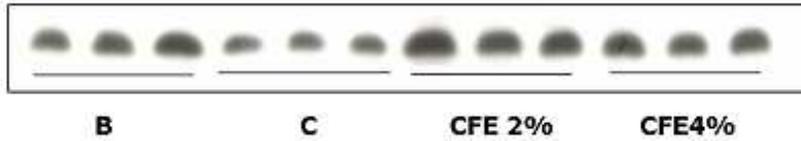
Refer to the footnote of Table 1.

나. 혈청 *ghrelin western blot*

Ghrelin은 위에서 분비되는 호르몬으로 음식을 섭취하기 전에 방출되어 혈액을 통해 뇌에 전달, 뇌의 시상하부의 식욕중추를 자극하여 식욕을 촉진해서 사람이 음식을 섭취하도록 자극하는 호르몬이다.

실험식이에 따른 혈청 중 ghrelin의 발현정도를 살펴본 결과는 Fig. 7과 같다. 콜레스테롤군에서 ghrelin의 발현이 유의적으로 감소하였으며 CFE 2%군에서 유의적으로 증가하였다. 이는 Considine *et al.* (2001)과 Wang *et al.* (1999)이 에너지 과잉이 급성(과식) 또는 만성(비만)으로 지속되면 혈중 ghrelin치가 감소한다는 것과 Kim *et al.* (2002)이 일반적으로 비만환자에게서 leptin치와 반비례되는 것으로 보인다는 보고와 동일한 결과이다. 그러나 CFE 4%군에서 유의적인 차이를 보이지 않는 것은 CFE의 높은 급이가 오랫동안 위에서 포만감을 주었기 때문인 것으로 여겨지나 이후의 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

A



B

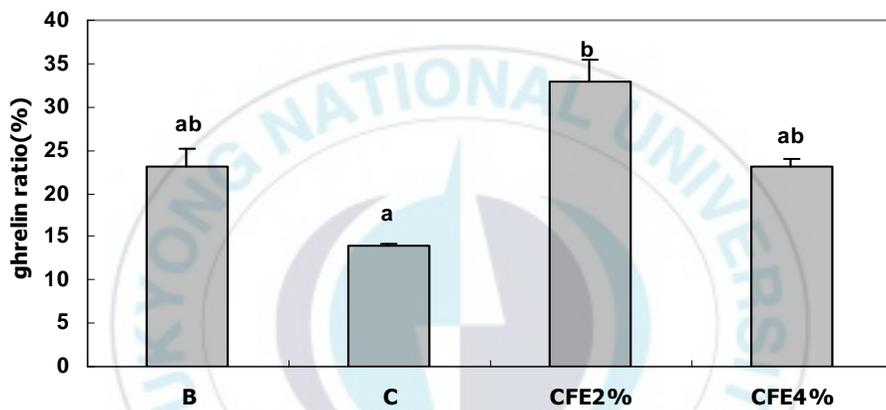


Fig. 7. Western blot for detecting ghrelin protein levels in the serum of rat.

Serum was mixed with loading buffer and loaded onto and 12.5% polyacrylamide gel. After electrophoresis, proteins were transferred onto nitrocellulose membranes and blotted against primary antibody. Membranes were washed and incubated with a 1 : 10000 dilution of HRP-conjugated secondary antibody. Protein bands were visualized by an enhanced representative experiment being shown. Western blot analysis were performed as described in Materials and Methods. (A) Representative western bolt analysis bands for ghrelin. (B) Quantitative analysis of ghrelin.

Refer to the footnote of Table 1.

IV. 요약

본 연구는 흰쥐에게 녹조식물 갈파래과에 속한 매생이 추출물 (*Capsosiphon fulvescens* Extracts, CFE)을 콜레스테롤과 함께 급이하였을 때 혈청과 간의 지질대사에 미치는 효과와 함께 혈청에서의 leptin과 ghrelin의 발현정도를 검토하였다.

1. CFE의 일반성분 분석

CFE 성분은 약 60%가 탄수화물이며, 조회분이 약 15%, 조단백이 약 13%정도를 차지하고 있다. 약 60%의 탄수화물은 거의 100%가 식이섬유이다.

2. CFE 급이가 흰쥐에게 미치는 영향

가. 체중의 증가와 식이효율은 각 실험군마다 약간의 차이를 보였으나 CFE 4%군만 다른 군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 식이섭취량은 유의적인 차이는 없었다.

나. 간, 신장, 비장의 중량은 콜레스테롤군이 가장 높았으며, CFE의 급이 수준이 높을수록 유의적으로 감소하였다. 한편, 맹장은 CFE 4%군에서 가장 높게 나타났다.

S.D.계 흰쥐를 기초식이로 1주간 순치한 후에 기초식이군, 콜레스테롤군, CFE 2%군, CFE 4%군으로 나누어 4주간 사육한 후 혈청과 간, 분변을 분석한 결과는 다음과 같다.

3. 혈청 및 간장 조직 중의 지질 구성에 미치는 영향

- 가. 혈청 중의 중성지질의 함량은 다른 군과 유의적인 차이를 보이지 않았고, 혈청 중의 인지질과 총콜레스테롤의 함량은 CFE4 %군이 콜레스테롤군에 비하여 유의적으로 감소하였다.
- 나. 간장 조직에서 중성지질과 총콜레스테롤 함량은 콜레스테롤군에서 대부분 증가하였고, 혈청 중 유리 콜레스테롤과 콜레스테릴 에스테르 함량은 총콜레스테롤의 함량과 같은 경향을 보인다.
- 다. CFE의 급이수준이 높아질수록 동맥 경화지수가 감소하는 것과 HDL-콜레스테롤 농도 및 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤 농도비가 증가하였다.

4. 혈청중의 혈당 및 GOT와 GPT 활성에 미치는 영향

혈당은 각 군마다 유의적인 차이를 보였으나 차이간의 관련성은 발견하지 못하였고, GOT와 GPT활성은 콜레스테롤군에서 가장 높았으며, CFE 급이 수준에 따라 유의적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다.

5. 간장조직 염색

기초식이군은 정상 간장 조직과 동일하였으며, 콜레스테롤군에서는 큰 지방구들이 관찰되었다. 또한 CFE 급이군에서는 급이 수준이 높아짐에 따라 지방의 양이 줄어드는 것을 볼 수 있다.

6. 분변 중의 조성

수집한 분변의 양과 분변 중의 총콜레스테롤, 총담즙산, 총식이섬유는 CFE 급이군이 다른군에 비하여 유의적으로 높은 값을 가진다.

7. 혈청 *protein*의 함량

혈청 중 leptin은 콜레스테롤군에서 그 발현정도가 증가된 반면, 매생이 추출물을 급이 하였을 때에는 발현정도가 유의적으로 감소하였다. 한편 ghrelin은 콜레스테롤군에서 ghrelin의 발현이 유의적으로 감소하였으며 CFE 2%군에서 유의적으로 증가하였다. CFE 4%군에서 유의적인 차이를 보이지 않는 것은 CFE의 높은 급이가 오랫동안 위에서 포만감을 주었기 때문인 것으로 여겨지나 이후의 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

이상의 결과들을 미루어 볼 때, CFE를 콜레스테롤과 함께 섭취하는 경우, 콜레스테롤로 인해 상승된 혈청과 간장의 지질수준을 떨어뜨리고 분변 중 지질배설량을 상승시키는 효과가 있어, 고콜레스테롤혈증, 지방간, 동맥경화와 같은 질병에 개선효과가 있는 것으로 생각된다.

따라서, 지방섭취가 증가되고 있는 식생활에 있어서 생활습관병의 예방과 개선에 유효하며, 동시에 여러 심혈관계 질환의 치료를 목적으로 하는 식품소재로서의 활용이 가능할 것으로 보인다.

V. 참고 문헌

- Akiba, Y. and Tatsuro, M. (1982) Effect of dietary fibers on lipid metabolism in liver and adipose tissue in chicks. *J. Nutr.*, 112 : 1577.
- Anderson, J. W., Deakins, D. A., Floore, T. L., Smith, B. M., Whitis, S. E. (1990) Dietary fiber and coronary heart disease. *Crit Rev Food Sci Nutr* 29(2) : 95-147.
- Aoki M, Tuzihara N. (1984) Effects of hatomugi(*coxi Larchryma Jobi L. var. Mayuen*) on the blood pressure, cholesterol absorption and serum lipids level. *jpn J Home Economics*, 35(2) : 89-96.
- Applebaum-Bowden, D., Haffner, S. M., Hartsook, E., Luk, K. H., Albers, J. J., Hazzard, W. R. (1984) Down regulation of the low density lipoprotein receptor by dietary cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr.* 39 : 360-367.
- Behme, M. T. (1996) Leptin : Products of the obese gene. *Nuritin Today* 31(4) : 138-140.
- Bliding, C. A. (1963) Critical survey of european taxa in ulvales. Part I. *Capsosiphon, Percursaria, Blidingia, Enteromorpha*. *Opera Botanica*. 8 : 1-160.
- Bucolo, G. and H. David. (1973) Quantitative determination of the serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin, Chem*, 19 : 476-479.
- Caro, J. F., Sinha, M. K., Kolaczynski, J. W, Zhang, P., Considine, R. V. (1996) Leptin : The tale of an obesity gene. *Deabetes* 45 : 1455-1462.
- Cassidy, M. M, Calvert, R. J. (1993) Effects of dietary fiber on intestinal absorption of lipids. In *CRC handbook of dietary fiber in human nutrition*. 2nd ed. Spiller GA, ed. CRC press, New York. 153-162*1
- Chen, L. W., Anderson, J. W., and Max., R. R. (1981) Effects of oat bran, oatgum and pectin on lipid metabolism of cholesterol-fed rats. *Nutr. Rep. Intl.*, 24 : 1093-1098.
- Chihara M. (1967) Developmental morphology and systematics of *Capsosiphon fulvescens* as found in Izu, Japan. *Bull. Nat. Sci. Mus. Tokyo*. 10 : 163-170.

- Choe, M., Kim, J. D., Ju, J. S. (1992) Effects of polydextrose and hydrolysed guar gum on lipid metabolism of normal rats with different levels of dietary fat. *Korean J Nurt.*, 25(3) : 211-220.
- Choi, H. S., Ha, J. O., Choo, M. H., Na, M. S., Lee, M. Y. (2004) Effect of *Bambusae Caulis in Liquamen* on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *Korean Journal of Food Preservation*. 11(3) : 373-382.
- Choi, J. H. and Kim, D. W. (1997) Effect of alginic acid-added seaweed drink (*Haezomiin*) in brown algae (*Undaria pinnatifida*) on obesity and biological activity of SD rats. *Korean J. Life Sci.*7(4) : 361-370.
- Choi, J. H., Kim, I. S., Kim, J. I., Yoon, T. H. (1992) Studies on antiaging action of brown algae (*Undaria pinnatifida*) 2. dose effect of alginic acid as a modulator of anti-aging action in liver membranes. *Bull Korean Fish Soc* 25 : 181-188.
- Considine R. V., Sinha, M. K., Heinman, M. L., Kriau-ciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R., Ohannesian, J. P, Marco, C. C, McKee. L. J., Caro, J. F. (1996) Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 334 : 292-295.
- Considine, R. V. (2001) Regulation of leptin production. *Rev Endocr Metab Disord* 2 : 357-363.
- Cummings, J. H., Hill, M. J., Jenkins, O. J., Pearson, J. R. and Wiggling, H. S. (1976) Changes in fecal composition and colonic function due to cereal fiber. *Am. J. Clin. Nutr.*, 29 : 1468-473.
- Ehahara K, Schneeman BO. (1989) Interaction of bile acids, phospholipid, cholesterol and triglyceride with dietary fiber in small intestine of rats. *J Nutr* 119(8) : 1100-1106.
- Englyst. H. N., Cummings, J. H.(1985) Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in human small intestine. *Am J Clin Nutr* 42 : 778-787.
- Fernandez, M. L, Lin, E. C. K, Trejo, A, McNamara, D. J. (1992) Prickly pear (*Opuntia* sp) pectin reverses low density lipoprotein receptor suppression induced by a hypercholesterolemic diet in guinea pigs. *J Nutr* 122 : 2330-2340.
- Fernandez, M. L., Sun, D. M., Tosca, M. A. and Monama, D. J. (1994) Citrus pectin and cholesterol interact to regulate hepatic cholesterol homeostasis and lipoprotein metabolism. : A dose-response study in

- guinea pigs. Am. J. Clin. Nutr., 59 : 869.
- Fernandez, M. L., Trejo, A. and McNamara, D. J. (1990) Pectin isolated from prickly paper modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. J Nutr 120 : 1283.
- Ficher, H., Grimingwe, P., Sostman, E. R., and Brush, M. K. (1965) Dietary pectin and blood cholesterol. J. Nutr., 86 : 113.
- Fisher, H., Grimminger, P., Weiss, H. S. and Siller, W. G. (1964) Avian atherosclerosis retardation by pectin. Science, 14 : 1063.
- Fisher, H., Siller, W. G. and Grimminger, P. (1966) The retardation by pectin of cholesterol induced atherosclerosis in the fowl. J. Atheroscler. Res., 6 : 292.
- Fredurich, R. C., A. Hamann, S. Anderson, B. Lollmann, B. B. Iowell and J.S. Flier.(1995) Leptin levels reflect body lipid content in mice : evidence for diet-induced resistance to leptin action. Nature Med., 1 : 1311-1314.
- Gallaher, D. and Schneeman, B. O. (1986) Intestinal interaction of bile acids, phospholipid, dietary fiber and cholesterylamine. Am J Physiol 250 : 20.
- Gallaher, D. D., Hassel, C. A., Lee, K. J. and Gallaher, C. M. (1993) Viscosity and fermentability as attributes of dietary fiber responsible for hypocholesterolemic effect in hamsters. J. Nutr., 23 : 244-252.
- Garbary, D. J, Golden, L, Scagel, R. F. (1982) *Capsosiphon fulvescens* (*Capsosiphonaceae*, *Chlorophyta*) rediscovered in the northeastern Pacific Syesis. 15 : 39-42..
- Glomset, J. A. (1970) Physiological role of lecithin-cholesterol acyltransferase. Am. J. Clin. Nutr., 23 : 1129.
- Gohl, B. and I. Gohl. (1977) The effect of viscous substances on the transit time of barley digesta in rats. J. Sci. Food Agric., 28 : 911-915.
- Goodman. D. S. (1964) The turnover of plasma cholesterol in man. Physiol. Rev., 45 : 747-760.
- Gordon, D. T. (1992) The importance of total dietary fiber in human nutrition and health. Kor. J. Nutr., 25 : 75.
- Grag, M. L., Thomson, M. T. (1998) Effect of dietary cholesterol and fatty on lipid composition and desaturase activity or rat liver microsomes. J. Nutr., 118 : 661-668.

- Haglund O, Luostarinen R, Wallin R, Wibell L, Saldeen T. (1991) The effects of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in humans supplemented with vitamin E. *J. Nutr.* 121: 165-169.
- Hallas, J. L., Gajiwala, K. S., Maffei, M., Cohen, S. L., Chait, B. T., Rabinowitz, D., Lallouf, R. L., Burley, S. K. and Friedman J. M. (1995) Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*, 269 : 543-546.
- Hasegawa K, Larson JL, (2001) White WJ, Cliffond CB, Baseline date comparing CD (SD) IGS rats supplied from Charles River Japan, Charles River UK and Charles River USA, 9-18
- Havel P. J. (2000) Role of adipose tissue in body-weight regulation : mechanism regulating leptin production and energy balance. *Proc Nutr Soc* 59(3) : 359-371.
- Hong, S. P, Koo, J. K., Jo, K. S., Kim, D. S. (1997) Physicochemical characteristics of water or alcohol soluble extracts from laver, *Porphyra yezoensis*. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 26 : 10-16.
- Ied, T., Horii, M., Yamamoto, T. and Kawashima, K. (1990) Contrasting effects of water-soluble and water-insoluble dietary fibers on bile acid conjugation and taurine metabolism in the rat. *Lipids* 25 : 335-339.
- Ikegami, S., N. Tsuchihashi, S. Nagayama, H. Harada, E. Nishide and S. Innami. (1983) Effect of indigestible polysaccharides on function of digestion and absorption in rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, 36 : 163-168.
- Ikegami, S., Tsuchihashi, f., Harada, H., Tsuchihashi, N., Nishide, E. and Innami, S. (1990) Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in the rats. *J Nutr.* 120 : 353.
- Jang, J. Y., Lee, M. K., Kim, M. J. and Cho, S. Y. (1998) Effect of fiber on serum lipid metabolism in rats with diet-induced cholesterolemia. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 27(6) : 1211-1216.
- Jekins, D. J., Kendall, C. W., Axelsen, M., Augustin, L. S. and Vuksan, V. (2000) Viscous and nonviscous fibres, nonabsorbable and low glycaemic index carbohydrates, blood lipids and coronary heart

- disease. *Curr. Opin. Lipidol.*, 11 : 49-56.
- Jo, Y. S, Park, J. R., Park, S. K. (1993) Effects of mustard leaf(*Brassica Juncea*) on cholesterol metabolism in rats. *Korean J Nutrition* 26(1) : 13-20.
- Jue Li, Takashi K, Li-Qiang Q, Jing W, Yuan W. (2003) Effects of barley intake on glucose tolerance, lipid metabolism, and bowel function in women. *J Nutr* 19(11-12) : 926-929.
- Jung, K. A. and Chand, Y. K. (1995) Effect of cereal on lipid concentration of liver and serum in the rats. *Korean J. Nutr.* 28 : 5-14.
- Jung, K. J., Jung, B. M., Kim, S. B., (2001) Effect of porphyran isolated from laver, *Porphyra yezoensis*, on lipid metabolism in hyperlipidemic and hypercholesterolemic rats, *Korea J. FOOD SCI. Technol.* 33(5) : 633-640.
- Jung, K. J., Jung, C. H., Pyeun, J. H., Choi, Y. J. (2005) Changes of food components in mesangi (*Capsosiphon fulvecense*), gashiparae (*Enteromorpha prolifera*), and cheonggak (*Codium fragile*) depending on harvest times. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34 : 687-693.
- Kahlon, T. S., Chow, F. I., Knuckles, B. E. and Chiu, M. M. (1993) Cholesterol-lowering effects in hamsters of β -glucan-enriched barley fraction, dehulled whole barley, rice bran, and oat bran and their combinations. *Cereal Chem.* 70 : 435-440.
- Kang, H. J. and Song, Y. S. (1997) Dietary fiber and cholesterol metabolism. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26 : 358-369.
- Kang, H. J., Suh, M. J., Kim, E. H. and Song, Y. S. (1994) Effect of sodium alginate and cellulose on postprandial plasma lipoprotein and cholesterol metabolism in rats(II). *J Korean Soc Food Nutr* 23(6) : 887-893.
- Kang, H. J., Suh, M. J., Kim, E. H. and Song, Y. S. (1994) Effect of sodium alginate and cellulose on fasting plasma lipoprotein composition and cholesterol metabolism in rats(I). *J Korean Soc Food Nutr* 23(6) : 879-863.
- Kang, K. J., Lim, S. J., Jeong, J. G., Han, H. K., Choi, S. S., Kim, M. H., Kwon, S. Y. (2003) Effects of Wax Guard on weight, triglyceride, leptin and fat cell size in rats fed on a high fat diet. *J Korean Nutr Soc.*

- Kang, Y. S. (2000) A comprehensive bibliography on the fishery special commodity in Korea. (주)수협문화사 : 418-421.
- Kannel, W. B., McGree D. L. (1979) Diabetes and cardiovascular disease Framingham study., 2035-2038.
- Kay, M., Truswell, A. S. (1977) Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Am J Clin Nutr* 30 : 171-175.
- Kay, R. M. (1982) Dietary fiber. *J. Lipid Res.*, 23 : 221.
- Kim, A. J., Kim, S. Y., Choi, M. K., Kim, M. H., Han, M. R. and Chung, K. S. (2005) Effects of Mulberry leaves powder on lipid metabolism in high cholesterol-fed rats. *Korean J. FOOD SCI. TECHNOL.*37(4) : 636-641.
- Kim, D. N., Lee, K. T., Reiner, J. M., Thomeas, W. A. (1981) Lack of beneficial effects of wheat bran cereals on cholesterol balance in swine. *Exp Mol Pathol* 35 : 301-303.
- Kim, E. H., Suh, Y. S., Kim, D. H. (2002) Relationships between serum ghrelin levels, serum leptin levels and anthropometric data in Koreans. *Journal of Korean Oriental Association for Study of Obesity* 11(4).
- Kim, G. J., Ryu, A. R., Kim, H. S., (2005) Effects of *Callophyllis japonica* extracts on the glucose and lipid metabolism in hypercholesterolemic rats. *Korea J. of Human Ecology* 8(1) : 49-58.
- Kim, H. S., Kim, G. J. (1998) Effects of the feeding *Hijikia fusiforme*(Harvey) *okamura* on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemic rats. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 27 : 718-723.
- Kim, S. Y., Kim, H. S., Su, I. S., Lee, H. S., Kim, H. S. and Chung, S. Y. (1993) Effects of the feeding *Platycodon grandiflorum* and *Codonopsis lanceolata* on the lipid components of serum and liver in rats. *J. Korea Soc. food Nutr.* 22(5) : 517-523.
- Kim, Y. Y. and Cho, Y. J. (2001) Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition. 7. Effects of depolymerized alginate on fecal composition in rats. *J. Korean Fish. Soc.* 34(2) : 84-90.
- Kinnunen, P. K., Virtanen, J. A. and Vainio, P. (1983) Lipoprotein lipase and hepatic endothelial lipase. *Atheroscler. Rev.*, 11 : 65.

- Ko, M. K., Kwon, T. W. and Song, Y. S. (1998) Effects of yellow and black soybeans on plasma and hepatic lipid composition and fecal lipid excretion in rats. *J. Korean Soc Food Sci. Nutr.* 27(1) : 126-131.
- Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., Kangawa, K. (1999) Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402(6762) : 656-660.
- Koo, J. G., Chang, S. H., Kim, J. B., Cho, K. S. (1997) Chemical characteristics of fucoidan extracted from the korean brown seaweed. *Food Sci Indust* 30 : 157-163.
- Koo, J. K., Jo, K. S., Do, J. R., Park, J. H., Yang, C. B. (1995) Chemical properties of fucoidans from *Hizikia fusiformis* and *Sargassum fulvellum*. *Bull Korean Fish Soc* 28 : 659-666.
- Kritchevsky, D. (1978) Fiber, lipid and atherosclerosis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31 : S65.
- Kwon, M. J. and Nam, T. J. (2006) Effects of Mesangi (*Capsosiphon fulvecens*) powder on lipid metabolism in high cholesterol fed rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 35(5) : 530-535.
- Kwon, M. J., Song, Y. S. and Song, Y. S. (1997) Effects of Kimchi on tissue and fecal lipid composition and apolipoprotein and thyroxine levels rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26(3) : 507-513.
- Kwon, J. Y., Ann, I. S., Park, K. Y. Choi, H. S. and Song, Y. O. (2005) The beneficial effects of pectin on obesity in vitro and in vivo. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34(1) : 13-20.
- Lafont, H., Lairon, D., Vigne, J. L., Chanussot, F., Chabert, C., Porthgal, H., Pauli, A. M., Crotte, C. and Hauton, J. C. (1985) Effect of wheat bran, pectin and cellulose on the secretion of bile lipids in rats. *J. Nutr.* 115 : 849.
- Lee S. H., Park, H. J., Cho, S. Y., Jung, I. K., Cho, Y. S., Kim, T. Y., Hwang, H. G., Lee, T. S. (2004) Supplementary effect of the high dietary fiber rice on blood glucose in diabetic KK mice. *Kor Nutr.* 37(2) : 75-80.
- Lee, D. S. (1997) Improved functionality of alginate from the edible brown algae by low-molecularization. Pukyong National University.
- Lee, E. O. (1999) Effect of total starvation on body composition, serum leptin and lipid profile, and urinary excretion of minerals in women. *Kyung*

Hee University, Master Thesis.

- Lee, J. G., Lim, Y. S., Joo, D. S., Jeong, J. H., (2002) Effect of diet with sea tangle(*Kjellemaniella cressifolia*) on calcium absorption, serum composition and fecal in rats. J.Korea Fish. Soc. 35(6) : 601-607.
- Lee, J. K. (1986) Flora of marine algae in Cheju Island 1. Ulvaceae. Korean J. Phycol. 1 : 157-167.
- Leinonen, K. S., Poutanen, K. S. and Mykken, H. M. (2000) Rye bread decrease serum total and LDL cholesterol in men with moderately elevated serum cholesterol. J. Nutr., 130 : 164-170.
- Liu, H., Geng, M., Xin, X., Li, F., Zhang, Z., Li, J., and Ding, J. (2005) Multiple and multivalent interactions of novel anti-AIDS drug candidates, sulfated polymannuronate (SPMG)-derived oligosaccharides, with gp120 and their anti-HIV activities. Glycobiology. 15 : 501-510.
- Lowe, G. D. (1992) Blood viscosity lipoprotein and cardiovascular risk. Circulation. 85 : 2329-2331.
- Mabeau, S. and Fleurencen, J. (1993) Seaweed in food products : biochemical and nutritional aspects. Trends in Food Science & technology, 41 : 103.
- Miettinen, T. A. (1987) Dietary fiber and lipids. Am, J. Clin. Nutr., 45 : 1237.
- Migita S. (1967) Life cycle of *Capsosiphon Fulvescens*(*C. Agardh*) Setchell and Gardner. Bull. Fac. Fish. Nasaki Univ. 22 : 21-31.
- Mistry, A. M., Swick, A. G., Romos, D. R. (1997) Leptin rapidly lowers food intake and elevates metabolic rates in lean ob/ob mice. J Nutr 127 : 2065-2072.
- Muir, J. G., Dea, K. (1992) Measurement of resistant starch : Factors affecting the amount of starch escaping digestion in vitro. Am J Clin Nutr. 56(1) : 123-127.
- Mun, Y. J., Yoo, H. J., Lee, K. E., Kim, J. H., Pyo, H. B., Woo, W. H. (2005) Inhibitory effect on the melanogenesis of *Capsosiphon fulvescens*. Yakhak Hoeji 49(5) : 375-379.
- Nishina, P. M., Schneeman, B. O. and Freedland, R. A. (1992) Effects of dietary fibers on nonfasting plasma lipoprotein and apolipoprotein levels in rats. J. Nutr., 122 : 219.
- Nishino T, Aizu Y, Nagumo T. (1991) Antithrombin activity of a fucam

- sulfate from the brown seaweed. *Ecklonia kurome* Thromb Res 62 : 765-773.
- Normura M, Nakajima Y, Abe H. (1992) Effect of long administration indigestible dextrin as soluble dietary fiber on lipid and glucose metabolism. *J. Jan. Food Nutr.*, 45 : 21-25.
- NSOK. (2002) The Expectancy of Future Population. Natl. Stat. Office Korea, Seoul, Korea
- NSOK. (2003) Annual Report on the Cause of Death Statistics. Natl. Stat. Office Korea, Seoul, Korea
- Nyman, M., T. F. Schweizer, S. Tyren, S. Reimann and N. Asp. (1990) Fermentation of vegetable fiber in the intestinal tract of rats and effects on fecal bulking and bile acid excretion. *J. Nutr.*, 120 : 459.
- Oda, t., Aoe, S., Sanda, H. and Ayano, Y. (1992) Effects of oat and barley gums on lipid metabolism in rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* 46 : 147-153.
- Oda, t., Aoe, S., Sanda, H. and Ayano, Y. (1992) Effects of oat, barley and wheat on fiber and plasma cholesterol concentrations in cholesterol-fed rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* 45 : 560-563.
- Ostrund, R. E., Yang, J. W., Klein, S., Gingerich, R. (1996) Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 81 : 3903-3913.
- Park, C. S., Harrold, R. L. (1983) Effects of dietary protein and fiber on growth and selected cholesterol responses of rats. *Ann Nutr Metab* 27(2) :137-144
- Park, I. S., Ahn, S. H., Chang, J. M., Kim, J. T. and Kim, H. H. (1998) The cholesterol accumulation decreasing effect of *Porphyran yezoensis* extract in kidney of murine with hypercholesterolemia induced by Triton WR-1339. *D.J.I.O.M* 7 : 43-51.
- Park, J. C., Choi, J. S., Song, S. H., Choi, M. R., Kim, K. Y., Choi, J. W. (1997) Hepatoprotective effect of extracts and phenolic compound from marine algae in bromobenzene-treated rats. *Korean J Pharmacogn* 28(4) : 239-246.
- Park, J. H., Koo, J. G., Do, J. R., Yang, C. B., Woo, S. K. (1998) Effect of extraction temperature and pH on the chemical properties of crude porphyran extracted from *Porphyran yezoensis*. *J. Korean Fish, Soc.*

31 : 127-131.

- Park, M. L., Cho, S. Y., (1985) Effect of dietary fibers on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. J. KOREAN SOC. FOOD NUTR. 14(3) : 223-228.
- Park, S. H., Lee, Y. K. and Lee, H. S. (1994) The effect of dietary fiber feeding on gastrointestinal functions and lipid and glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J Nutr 27 : 311-322.
- Pelleymounter, M. A., Cullen, M. J., Baker, M. B., Hecht, R., Winters, D., Boone, T. and Collins, F. (1995) Effect of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science, 269 : 540-543.
- Reddy, B. S., Watanabe, K., Sheinfil, A. (1980) Effects of dietary wheat bran alfalfa, pectin and carageenan on plasma cholesterol and fecal bile acid and neutral sterol excretion in rats. J Nutr 110 : 1247-1254.
- Reeves, P. G., Nielsen, F. H. and Fahey, G. C. (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents : final report of the american institute of nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J. Nutr., 123 : 1939-1951.
- Rhee, S. J. and Park, H. K. (1984) Changes of lipid concentration and histochemical observation in liver of rats fed high fat diet. Korea J. Nutr., 17, 113-125.
- Rosenfeld L. (1989) Lipoprotein analysis. Arch. Pathol. Lab Med. 113 : 1101-1110.
- Rotenberg, S. and Jakobson, P. E. (1978) The effect of dietary pectin on lipid composition of blood, skeletal muscle and internal organ of rats. J. Nutr., 108 : 1384-1392.
- Schneeman, B. O. (1987) Soluble vs insoluble fiber- different physiological responses. Food echnol. 41(2) : 81-82.
- Schneeman, B. O. and D. Gallaher. (1980) Changes in small intestinal digestive enzyme activity and bile acid with dietary cellulose in rats. J. Nutr., 110 : 584-590.
- Seog, H. M., Kim, S. R., Choi, H. D. and Kim, H. M. (2002) Effects of β -Glucan-enriched barley fraction on the lipid and cholesterol contents of plasma and fecal in rat. KOREA J. FOOD SCI. TECHNOL. 34(4) : 678-683.

- Sheard, N. F. and B. O. Schneeman. (1980) Wheat bran's effect on digestive enzyme activity and bile acid levels in rats. *J. Food Sci.*, 45 : 1645-1648.
- Shinnick, F. L., Ink, S. L., Marlett, J. A. (1990) Dose response to a dietary oat bran fraction in cholesterol-fed rats. *J Nutr* 120(6): 561-568.
- Steinberg, D., Witztum, J. L. (1990) Lipoproteins and atherogenesis.. *JAMA*, 264 : 3047-3052.
- Stephen, A. M. and J. H. Cummings. (1979) The influence of dietary fiber on fecal nitrogen excretion in man. *Proc. Nutr. Soc.*, 38 : 141 A.
- Stryer, L. (1988) *Biochemistry*. 3rd ed. W. H. Freeman Company. 547-574.
- Stuart A. E. and Smith, I. I. (1975) Histological effects of lipids on the liver and spleen of mice. *J Pathol.* 115 : 63.
- Suzuki, T., Nakai, K., Yoshie, Y., Shirai, T. and Hirano, T (1993) Digestibility of dietary fiber in brown alga, kombu, by rats. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59 : 879-884.
- Suzuki, T., Nakai, K., Yoshie, Y., Shirai, T. and Hirano, T. (1993) Effect of sodium alginates rich in guluronic acid mannuronic acid on cholesterol levels and digestive organs of high-cholesterol-fed rats. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59 : 545-551.
- Suzuki, T., Nakai, K., Yoshie, Y., Shirai, T. and Hirano, T. (1993) Seasonal variation in the dietary fiber content and molecular weight of soluble dietary fiber in brown alga. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59 : 1633.
- Takashi, N, Terukazu, N. (1991) The sulfate-content dependence of the anticoagulant activity of a fucan sulfate from the brown seaweed. *Ecklonia Kurome Carbohydr Res* 214 : 193-197.
- Tall, A. R. (1990) Plasma high density lipoproteins metabolism and relationship to atherogenesis. *J. Clin. Invest.* 86 : 379-384.
- Torsdottir J, Alpsten M, Holm G, Sandberg AS, Tolli J. (1991) A small dose of soluble alginate fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes. *J Nutr.* 121(6) : 795-799.
- Trowell, H. C. (1972) Ischemic heart disease and dietary fiber. *Am. J. Clin Nutr.*, 25 : 926.
- Tschop, M., Smiley, D. L., Heiman, M. L. (2000) Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407(6806) : 908-913.
- Tschop, M., Weyer, C., Tataranni, P. A., Devanarayan, V., Ravussin, E.,

- Heiman, M. L. (2001) Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50 : 707-709.
- Tsuji, K., E. Oshima, A. Matsuzaki, S. Nakamura and T. Tezuka. (1968) Effect of polysaccharides on cholesterol metabolism (part. I). Studies on konnyaku powder, sodium alginate, and pectin. *Jap. J. Nutr.* 26 : 113-122.
- Turley, E., Armstrong, N. C., Wallace, J. M. W., Gilore, W. S., Mckelvey-Matin, J. V., Allen, T. M. and Strain, J. J. (1990) Effect of cholesterol feeding on DNA damage in male and female syrian hamsters. *Ann. Nutr. Metab.*, 43, 47-51.
- Vahouny, G. V., Roy, T., Gallo, L. L., Story, J. A., Kritchevsky, D. and Cassidy, M. (1980) Dietary fibers III. Effects of chronic intake on cholesterol absorption and metabolism in the rat. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33 : 2182-2191.
- Van Beresteyn EC, Van Schaik K, Mogot MF.(1979) Effect of bran and cellulose on lipid metabolism in obese female zucker rats. *J Nutr* 109(12) : 2085-2097.
- Venter, C. S., Vorster H. H. and Van Der Nest. D. G. (1990) Comparison between physiological effects of konjac-glucomannan and propionate in baboons fed "Western" diets. *J. Nutr.* 120 : 1046-1051.
- Vigne, J. L., Lairon, D., Borel, P., Portugal, D., Pauli, A., Hauton, J. and Lafont, H. (1987) Effect of pectin, wheat bran and cellulose on serum lipids and lipoproteins. *Br. J. Nutr.*, 58 : 405.
- Viola, S., G. Zimmermann and S. Mokady. (1970) Effect of pectin and algin upon protein utilization, digestibility of nutrients and energy in young rats. *Nutrition Report International*, 1 : 367-375.
- Vuksan, V., Korsic, M., Posavi, A. A. (1997) Metabolic diseases and the high fiber diet. *Lijec Vjesn* 119 : 125-127.
- Wang, J., Liu, R., Liu, L., Chowdhury, R., Barzilai, N., Tan, J., *et al.* (1999) The effect of leptin on Lep expression is tissue-specific and nutritionally regulated. *Nat Med* 5: 895-899.
- Williams, J. A., Lai, C. S., Corwin, H., Ma, Y., Maki, K. C., Garleb, K. A., Wolf, B. W. (2004) Inclusion of guar gum and alginate into a crispy bar improves postprandial glycemia in humans. *J Nutr.* 134(4) : 886-889.

- Wyatt, G. M., Horn, N., Gee, J. M. and Johnson, I. T. (1988) Intestinal microflora and gastrointestinal adaptation in the rat in response to non-digestible dietary polysaccharides. *Br J Nutr* 60 : 197.
- Yamaguchi, F., Uchida, S., Watabe, S., Kojima, H., Shimizu, N. and Hatanaka, C. (1995) Relationship between molecular weights of pectin and hypercholesterolemic effects in rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59 : 2130-2131.
- Yang, H. C., Jung, K. M., Gang, K. S., Song, B. J., Lim, H. C., Na, H. S., Mun, H. and Heo, N. C. (2005) Physicochemical composition of seaweed *fulvescens* (*Capsosiphon fulvescens*). *KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL*, 37(6) : 912-917.
- Yang, J. L., Suh, M. J. and Song, Y. S. (1996) Effect of dietary fibers on cholesterol metabolism in cholesterol-fed rats. *J. Korean Soc. food Nutr* 25(3) : 392-398.
- Zemani, F., D, Benisvy, I. Galy-Fauonx, A. Lokajczyk, S. Collic-Jouault, G. Uzan, A. M. Fisher and C. Boisson- Vidal. (2005) Low molecular weight fucoidan enhances the proangiogenic phenotypes of endothelial progenitor cells. *Biochem. Pharmacol.* 70 : 1167-1175.
- Zhang, Y., Proence, R., Maffel, M., Barone, M., Leopold, L. and Friedman, J. M. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372 : 425-432.
- Zubay, G. (1993) *Biochemistry*. 3rd ed. Wm. C. Brown Publishers. 635-643.
- 대한생화학·분자생물학회. 1997. 실험생화학. 102-103

감사의 글

처음 교육대학원으로 입학해서 실형을 하지 않으면 졸업할 수 없다는 사실을 접하였을 때 눈앞이 캄캄하고 과연 졸업이 가능할 것인가? 막막하였는데, 논문이 완료된 현재 새로운 일을 해내었다는 성취감과 자신감으로 가슴이 부듯해옵니다. 이 모든 것을 가능하게 해주신 하나님께 먼저 감사드립니다. 그리고 아무것도 모르는 저를 받아주셨고 끝까지 책임져 주셨던 우리 남택정 지도교수님 진심으로 존경합니다. 그렇게 해서 도장찍어줄 수 없다하시던 류홍수 주심 교수님 졸업시켜주셔서 감사합니다. 류은순 교수님 복도에서 마주칠 때마다 해주신 격려에 눈물 날 뻔 했는데, 정말 감사합니다. 학부시절 부터 지켜봐주셨던 최진호 교수님, 최재수 교수님, 변대석 교수님, 김형락 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

우리 실험실에 있어서 정말 이나마 할 수 있었던 것 같습니다. 인혜언니 없었으면 아마 졸업 못했을 게예요. 실험계획부터 논문 완성 전부분에 걸쳐 지도해주고 바빴을텐데도 질문할때 마다 성실히 가르쳐 준 것 고마워요. 혜정이 쌤! 쌤의 현란한 말씀씨 때문에 늘 즐거웠어요. 지금은 다른 연구실에 가셨지만 미진 선생님, 조기에 진짜 아무것도 모를때 화나셨을텐데 참아주시고 가르쳐주셔서 감사합니다. 기현오빠! 오빠의 영작 실력 인정하께요. 은영아! 니가 타준 커피 쥘 맛있었어. 고마워. 관능적인 히로에야~ 내 맘 알지? 12시간동안 공부만 하는 너의 모습이 큰 도전이 되었어. 귀엽고 멋지고 똑똑하기까지 한 우리 학부생 - 정욱이, 은순이, 회연이, 연정아! 언니 때문에 수고 많았어. 효영언니 관심가져줘서 고마워요. 언니도 논문 잘 쓸꺼예요. 모두 고마워요. 잊지 않을게요.

교육대학원 입학할 때부터 시험 합격의 그날까지 한 배를 탄, 같이 울고 같이 웃었던 우리 동기 혜란아! 너가 있어서 정말 든든하고 행복했다. 우리 끝까지 힘을 주는 친구 되자. 향이언니 ~ 하고잡이 은진이랑 같이 교생 실습한다고 고생 많았어. 졸업한다고 버리는 거 아니죠? 같이 올인해요. 우리 뒤를 따라오는 휴학한 민경이 언니. 우리도 해냈는데, 언니도 할 수 있어요. 언니에겐 형부와 우진이가 있잖아요. 1, 2학년 후배님들. 우리가 첫회라 짝여진 틀이 없어서 챙겨주지 못했는데, 오히려 챙김을 받아서 미안하고 고마웠어요. 대신 우리가 앞길 열게요.

현미야! 바쁘다고 집에 늦게 들어가고 같이 시간 못 보내서 미안해. 혼자라서 심심하지 않게 도서관에서 같이 공부하자. 신희야! 너의 전화와 메신저 늘 반갑고 위로가 되었다. 이제 놀아줄게 미워하지마! 아름다운 사람 상희언니~ 언니가 있어서 행복했어~

우리 사랑하는 가족들.. 나이는 들어가는데 공부 할려는 딸 때문에 고생하시는 아버지, 어머니! 올해까지만 공부할게요. 막내 딸 하나가 게으르고 절었다고 걱정

하시지만, 그 누구보다 믿어주시고 기도해주시는 것 알아요. 저 짠짓 안하고 잘살고 있습니다. 말씀대로 늘 최선을 다하겠습니다. 취업과 학업을 두고 고민할때 하고싶은 거 해야 한다고 말해준 큰오빠와 새언니 힘들었지만 후회 안하게 해줘서 고마워요. 시현아, 민혜야 너희들은 존재하는 것만으로 고모에게 큰 힘이 된단다. 정많은 우리 작은 오빠야 나 논문 완성했어 마음으로 함께 해준거 고마워. 동생한테 연락 좀 자주 해주라.

너무 많은 분들이 지금까지 도와주셨는데, 미처 기록되지 못한 분들 죄송해요. 이 논문은 여러분들이 모두 공동저자예요. 저는 앞으로도 맑고 씩씩하게 여러분 곁에서 열심히 살겠습니다. 감사합니다.