

감잎, 녹차의 건분 및 물, 에탄올추출물이 노령쥐의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향*

오 현 명[§] · 김 미 경

이화여자대학교 식품영양학과

Effects of Dried Leaf Powders, Water and Ethanol Extracts of Persimmon and Green Tea Leaves on Lipid Metabolism and Antioxidative Capacity in 12-Month-Old Rats

Oh, Hyun Myung[§] · Kim, Mi Kyung

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

ABSTRACT

The effects of dried leaf powders and water and ethanol extracts of persimmon and green tea on lipid metabolism, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activity were investigated in 12-month-old rats. Forty-nine male Sprague-Dawley rats weighing 520 ± 19 g were blocked into seven groups according to body weight. Rats were raised for four weeks with control(no tea leaf powder or extracts) and experimental diets containing either 5%(w/w) dried leaf powders of persimmon(*Diospyros kaki* Thunb) or green tea(*Camellia Sinensis* O. Ktze), or water or ethanol extract from equal amounts of each dried tea powder. Food intakes of all tea diet groups were higher than that of control. Weight gains and food efficiency ratios of all tea diet groups were not significantly different from those of control. All tea diets decreased plasma triglyceride level, especially, green tea powder and persimmon ethanol diets were more effective than other diet. All the tea diet groups showed decrease in liver triglyceride level, and persimmon powder and ethanol extract increased fecal triglyceride excretion. Plasma cholesterol levels of all the tea diet groups were not significantly different from the control, but control. Fecal cholesterol/liver cholesterol concentrations of all tea y lower than that of ol excretions of persimmon powder, green tea ethanol extract, persommon ethanol extract and green tea ethanol extract groups were significantly higher than that of control. Plasma and liver thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) concentrations of all the tea diet groups were lower than that of control. Especially, plasma TBARS concentrations of green tea powder and persimmon ethanol extract groups were sinificantly low. Red blood cell(RBC) superoxide dismutase(SOD) activities of persimmon ethanol extract and green tea water extract groups were increased, and RBC catalase activities of all experimental groups were not significantly different. RBC glutathione peroxidase(GSH-px) activities of persimmon ethanol extract, persimmon water extract and green tea powder groups were increased. Liver SOD activities of all the tea diet groups except green tea ethanol extract group were higher than that of control. Liver catalase activities of all experimental groups were not significantly different, and liver GSH-px activity of green tea powder group was significantly higher than that of control. In conclusion, dried leaf powders, and water and ethanol extracts of persimmon and green tea were effective in lowering lipid level, inhibiting lipid peroxidation and increasing antioxidative enzyme activities in 12-month-old rat. Green tea leaf powder with high contents of flavonoids and water soluble dietary fiber was most effective in lowering plasma triglyceride, cholesterol and TBARS level. (*Korean J Nutrition* 34(3) : 285~298, 2001)

KEY WORDS: persimmon leaf, green tea leaf, lipid metabolism, antioxidative capacity.

서 론

최근 우리나라에서도 당뇨, 순환계 질환, 암 등과 같은 만

접수일 : 2000년 11월 13일

채택일 : 2001년 2월 28일

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

[§]To whom correspondence should be addressed.

성퇴행성 질환의 발병과 이에 의한 사망율이 높아지고 있는 동시에^{1,2)} 평균수명과 노령인구가 증가하여 노인 문제가 심각하다.³⁾

생체 각 조직 내의 각종 활성 산화제의 반응이 만성질환 및 노화를 가져온다고 밝혀짐에 따라^{4,5)} 항산화 물질인 항산화 비타민을 비롯하여 여러 가지 flavonoids에 대한 연구가 진행중이며 이들 항산화 효과를 가진 식품의 섭취를 통해 이러한 질병을 예방하고 치료하며 노화를 지연시키고자 하

는 노력이 증가하고 있다.

최근에 기호음료로 대수롭지 않게 여겨져 왔던 차가 성인 병 예방과 건강유지와 밀접하게 관계가 있다는 사실이 밝혀지기 시작하면서⁶⁾ 이들의 영양성과 생리활성기능에 대하여 많은 연구가 진행 중인데⁷⁾ 항암효과, 항산화 효과가 밝혀짐에 따라 다류는 만성 질병의 예방 및 치료와 노화의 지연에 효과적으로 사용될 수 있을 것이다.

본 연구에서는 우리나라 전통차 중에서 본 실험의 선행연구에서 flavonoids의 함량이 높다고 밝혀진 감잎과 녹차를 선정하여 이들의 생리효과를 규명하고자 하였다.

다류의 생리활성 물질로는 항산화 비타민 및 flavonoids와 식이섬유를 들 수 있다. Flavonoids는 polyphenolic substance로서 화학구조에 따라 flavonols, flavones, flavanones, catechins, anthocyanidins, isoflavones, dihydroflavonols, 등으로 구분하는데^{8,9)} 각각 물과 에탄올 등의 용매에 대한 용해도가 다르고 이들의 화학적 구조가 과산화지질 생성억제를 비롯한 생화학활성에 영향을 미친다고 보고하고 있다.^{10,11)} 또한 자연에서 유리상태(aglycone)로 존재하지만 대부분 당과 결합하여 배당체 형태로 존재하는 것으로 알려져 있으며 또한 여러 가지 환경조건과 유전적인 요인에 의한 영향을 받아 flavonoids의 함량은 달라진다고 한다.¹²⁾

감잎의 flavonoid로는 kaempferol의 배당체인 astragalinal, myricetin의 배당체인 myricitrin, isoquercitrin 등의 배당체 형태가 존재한다.¹³⁾ Myricitrin은 물과 absolute alcohol에 제한적으로 녹는다.

녹차의 flavonoids에는 catechin, quercetin, myricetin, kaempferol 등이 있다. Catechin은(+)-catechin과 (-)-epigallocatechin의 형태로 풍부하게 함유되어 있는 flavonoid로 뜨거운 물이나 alcohol, glacial acetic acid, acetone에 잘 녹고, 차가운 물이나 ether에는 덜 녹는다. 항염증, 항종양, 항산화 활성을 지녔다고 알려진 quercetin은 glacial acetic acid에 녹는다. 또한 항염증, 이노작용, 항종양활성 등이 보고되고 있는 myricetin은 끓는 물에서 제한적으로 녹고 alcohol에도 녹는다. Kaempferol은 물 또는 뜨거운 alcohol, ether 또는 alkalies에 녹는다고 보고되어 있다.¹⁴⁾

Flavonoids는 hydroxyl radical, superoxide anion radical, peroxy radical 등을 scavenging^{15,16)} 할 뿐 아니라, Fe와 Cu를 chelating¹⁶⁾하고 항산화 효소의 활성을 증가시킴^{19,20)}으로써 항산화 활성을 나타내는 것으로 알려졌다. 그 외에도 항암성, 항염성, 항돌연변이성, 항바이러스성, 항알레르기성 항혈전성을 가진다고 보고되어 있다.¹⁹⁾

Beta-carotene, 비타민 C, 비타민 E와 같은 항산화 비타민은 free radical을 제거함으로써 암, 백내장, 관상동맥 질환을 예방한다고 알려져 있으며, 노화의 지연에도 상당한 작용을 하리라 여겨진다.²²⁻²⁵⁾

또한 식이섬유는 "인간의 소화효소에 의해 소화되지 않는 난소화성 다당류의 총체"라고 정의되는데 그 급원과 물리화학적 특성에 따라 생리작용이 다르며, 일반적으로 용해도에 따라 수용성과 불용성으로 나뉜다. 수용성 식이섬유는 장에서 gel을 형성하여 점도를 높여주어 각종 영양소의 소화, 흡수율을 감소시키고, 식이 콜레스테롤이나 bile acid와 결합하여 변으로 배설시킴으로써 혈청 콜레스테롤을 저하시켜 관상동맥 질환을 예방한다고 알려져 있다.^{26,27)} 불용성 식이섬유는 물을 흡수하여 팽창하며, 대장 내 미생물의 작용을 적게 받아 이들의 발효에 의해 분해되지 않으므로 대변의 부피와 무게를 증가시킨다.

감잎과 녹차의 생리활성에 대한 *in vivo* 연구는 단편적으로 진행되어 왔고, 에탄올 추출물과 물 추출물을 동시에 이용한 연구는 거의 없는 실정이며 본 실험실의 선행연구에서는 생후 4주된 어린 쥐를 대상으로 기초조사를 한바 있다. 따라서 본 연구에서는 감잎과 녹차의 건분과 에탄올과 물추출물을 12개월령의 흰쥐에게 섭취시켜 지방대사와 항산화능에 미치는 영향을 비교함으로써 만성퇴행성 질환의 예방과 노화의 지연 가능성을 알아보고, 나아가 다류의 건분과 물 및 에탄올 추출물의 효과를 비교하여 생리활성을 나타내는 성분을 검색하고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 동물사육 실험

1) 감잎과 녹차의 건분, 물 및 에탄올추출물의 준비

감잎(충북 영동 1998년산)과 녹차(전남 보성 1998년산)는 경동시장에서 건조된 상태의 것을 구입하여 fitz mill (The Fitz Patrick Company, No. DASO6)로 40mesh를 통과할 수 있도록 분말화하였고, 이것을 실험에 이용하였다. 물 추출물은 건분을 15배량의 물로 95℃ water bath에서 1시간 추출 후 원심분리하여 여과시킨 후 동결 건조해서 사용하였다.²⁸⁾

각 시료의 에탄올추출물은 강 등²⁹⁾의 방법을 변형하여 준비하였다. 감잎과 녹차 건분을 각각 15배량의 95% 에탄올에 현탁시켜 80℃에서 1시간동안 환류추출하였다. 이 액을 여과하고 잔사는 95% 에탄올로 2회 반복하여 추출한 후 여과액을 얻고, 여과액 전량을 모아 30분간 10,000rpm에서

원심분리한 후 그 상층액을 감압농축한 것을 실험식에 섞어 사용하였다.

2) 실험동물의 사육 및 식이

생후 12개월된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 49마리를 구입하여 실험 시작 전 1주일간 고품배합사료(삼양사료)로 적응시켰다. 적응기간 후 체중이 520±19g인 쥐들을 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 7마리씩 7군으로 분류하여 4주간 사육하였다. 실험동물은 한 마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였고, 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

실험에 사용한 식이의 구성성분은 Table 1과 같았다. 식이의 탄수화물 급원으로는 옥수수전분(corn starch, 신동방)을, 지방 급원으로는 옥수수유(corn oil, 해표)를 사용하였으며, 단백질 급원으로는 casein(edible acid casein, Murry Goulburn Co-operative Co., Australia)을 사용하였다. 무기질과 비타민은 시약급을 사용하여 혼합한 것을

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

Ingredients	Groups ¹⁾						
	C	GP	NP	GE	NE	GW	NW
Corn starch	698	648	648	648	648	648	648
Casein	150	150	150	150	150	150	150
Corn oil	100	100	100	100	100	100	100
Salt mixture ²⁾	40	40	40	40	40	40	40
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2	2	2	2
Plant Powder	0	50	50	0	0	0	0
Plant Ethanol Extract and starch	0	0	0	50	50	0	0
Plant Water Extract and starch	0	0	0	0	0	50	50

1) C: Control group
 GP: Powder of Gamyip(Diospyros kaki Thunb)
 NP: Powder of Nokchaip(Camellia Sinensis O. Ktze)
 GE: Ethanol Extract of Gamyip(Diospyros kaki Thunb)
 NE: Ethanol Extract of Nokchip(Camellia Sinensis O. Ktze)
 GW: Water Extract of Gamyip(Diospyros kaki Thunb)
 NW: Water Extract of Nokchip(Camellia Sinensis O. Ktze)
 2) AIN salt mixture(g/kg mixture): Calcium phosphate, dibasic (CaHPO₄·2H₂O) 500, Sodium chloride(NaCl) 74, Potassium citrate, monohydrate(K₂C₆H₅O₇·H₂O) 220, Potassium sulfate(K₂SO₄) 52, Magnesium oxide(MgO) 24, Manganous carbonate(43 - 48%, Mn) 3.5, Ferric citrate(16 - 17% Fe) 6, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6, Cupric carbonate(53 - 55% Cu) 0.3, Potassium iodate(KIO₃) 0.01, Sodium selenite(Na₂SeO₃·5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate(CrK(SO₄)₂·12H₂O) 0.55, Sucrose finely powdered, to make 1000 gram.
 3) AIN vitamin mixture(mg/kg mixture): Thiamine HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine HCl 700, Nicotinic acid 3000, D-Calcium Pantothenate 1600, Folic acid 200, D-Biotin 20, Cyannocobalamine(vitamin B₁₂) 1, Retinyl palmitate(vitamin A) 120,000 retinol equivalents, DL-α-Tocopheryl acetate(vitamin E) 5,000IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5(100,000 IU, powder form), Menadione(vitamin K) 5.0, Sucrose finely powdered, to make 1,000gram.

각각 식이무게의 4%와 1% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다. 즉, 물 또는 에탄올 추출군의 경우 식이무게의 5%에 상응하는 건조분말을 물 또는 95% 에탄올로 추출하여 식이에 첨가하였고, 건분량과의 차이는 옥수수전분을 첨가하여 보충하였다.

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

3) 변, 혈액과 장기의 채취

실험동물을 희생하기 4일전부터 12시간씩 2회에 걸쳐 대사장(metabolic cage)에서 24시간 동안의 변을 채취하였다. 이때 식이에 의해 변의 성분이 오염되는 것을 막기 위하여 대사장에는 식이그릇을 넣어주지 않았다. 첫째날에는 오후 9시부터 오전 9시까지 대사장에서 변을 채취하였고 그 날 오전 9시부터 다음날 오전 9시까지는 다시 본래의 사육장에서 식이를 섭취하도록 한 후, 시료 채취 3일째인날 오전 9시부터 오후 9시까지의 12시간 동안 다시 대사장에서 변을 채취하였다. 이 기간중 물은 제한없이 공급하였고, 채취한 변은 무게를 측정후 -20℃에서 냉동하였다.

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

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

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

4) 생화학적 분석

(1) 혈장, 간, 변의 지방함량

혈장의 총지방 농도는 Frings법,²⁹⁾ 간과 변의 총지방 농도는 Bligh와 Dyer법³⁰⁾을 이용하여 측정하였다. 혈장과 간, 변의 중성지방농도는 GPO-PAP법을 이용한 kit(영동 제약)로 측정하였고 혈장, 간, 변의 콜레스테롤 농도는 효소법을 이용한 kit(영동 제약)를 이용하여 측정하였다. 또한 혈장의 HDL-콜레스테롤 농도는 LDL(Low-Density Lipoprotein) 및 VLDL(Very Low Density Lipoprotein)을 침전시킨 후 효소법으로 HDL-콜레스테롤의 농도를 측정하는 kit(영동 제약)로 측정하였다.

(2) 혈장과 간의 Thiobarbituric acid reactive substance

혈장의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance(TBARS) 함량은 Yagi³¹⁾의 방법으로 측정하였는데 1,1,3,3-tetramethoxypropane을 표준용액으로 하여 luminescence spectrometer(Perkin Elmer, LS50)로 excitation 515nm, emission 553nm에서 정량하였다. 간의 TBARS 함량은 Buckingham법³²⁾을 이용하여 spectrophotometer(Spectronic 301, Milton Roy)로 532nm에서 비색정량하였다.

(3) 적혈구와 간의 항산화계 효소 활성

적혈구와 간의 superoxide dismutase(SOD) 활성은 Floh 등³³⁾의 방법으로 측정하였다. 즉, xanthine이 xanthine oxidase에 의해 superoxide를 생성하고, 이 superoxide에 의한 ferricytochrome c(Fe^{+++})의 ferrous cytochrome c(Fe^{++})로의 환원을 SOD가 방해하는 정도를 550 nm(HP 8453, Hewlett Packard)에서 30초 간격으로 3분간 비색정량하였다. 이때 SOD의 분당 활성 정도는 ferricytochrome c의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1 unit으로 하여 나타내었다.

적혈구와 간의 catalase 활성은 Johansson과 Hkan³⁴⁾법에 의해 spectrophotometer(Spectronic 301, Milton Roy)로 550nm에서 흡광도를 측정한 후 formaldehyde를 표준용액으로 하여 얻은 표준곡선으로부터 활성을 계산하였다.

적혈구의 glutathione peroxidase(GSH-px) 활성은 Floh의 방법³⁵⁾을 이용하여 측정하였다. Glutathione perox-

idase는 환원형 glutathione(GSH)과 H_2O_2 의 반응을 촉진시켜 환원형 GSH를 산화형 glutathione(GSSG)으로 전환시키고, 이 GSSG는 glutathione reductase의 작용으로 NADPH를 NADP로 산화시키는 동시에 다시 GSH로 환원되는데 이때 형광을 띄는 NADPH는 형광을 띄지 않는 NADP가 된다는 원리를 이용한다. 1unit은 1분동안 $1.0\mu\text{M}$ 의 GSH가 GSSG로 산화되는 것을 나타낸다.

간의 GSH-px 활성 측정은 간의 SOD 활성 측정시 제조하여 보관한 효소원을 이용하여 적혈구와 동일한 방법으로 측정하였는데, 간의 경우는 적혈구와 달리 t-butyl hydroperoxide 대신 H_2O_2 를 사용하였고, catalase의 작용을 억제하기 위하여 1mM sodium azide를 첨가하였다.

각 효소들의 활성측정을 위해 사용된 적혈구와 간의 단백질 함량은 bovine serum albumin(Sigma)을 표준용액으로 하는 Lowry법³⁶⁾으로 비색정량하였다.

2. Flavonoids의 정량분석

Flavonoids의 함량은 강등²⁹⁾의 방법을 이용하여 정량하였다. 건조시료 1g에 50% 메탄올 60ml를 가하여 80°C 에서 1시간동안 환류추출한 후, 냉각시켜 50% 메탄올로 100ml를 맞추어 여과지로 여과한 것을 시료용액으로 하였다. 시험관에 diethylene glycol 10ml와 시료용액 1ml를 취해 잘 혼합한 후 여기에 1N NaOH 1ml를 가하여 다시 잘 혼합하고 37°C 에서 1시간동안 방치한 후 420nm에서 흡광도를 측정하였고, blank는 시료용액 대신에 50% 메탄올 용액을 이용하였다. 물, 에탄올추출물내에 함유된 flavonoids 함량은 실험식이를 위해 제조하였던 물, 에탄올 추출물을 동결건조시켜 분말화한 후 건조시료와 동일한 방법으로 측정하였다.

3. 항산화 비타민의 정량분석

Beta-carotene(β -carotene)은 Nilis의 방법^{37,38)}으로 HPLC(Pharmacia LKB, Pharmacia)를 사용하여 Column : C_{18} (ODS-2, $250 \times 4.6\text{mm}$ 5μ), Mobile phase : acetonitrile : dichloromethane = 8 : 2, Flow rate : 1.2ml/min, Detector : UV 450nm, Injection volume : 20 μ 인 조건에서 분석하였다. 비타민 C의 함량은 비색법에 의하여 측정하였다.^{62,64)} 비타민 E는 AOAC에서 공인된 방법^{39,40)}으로 HPLC의 조건 Column : μ -porasil, Mobile phase : hexane : isopropanol : acetic acid = 1000 : 6 : 5, Flow rate : 1.0ml/min, Detector : 형광검출기(excitation 298nm, emission 324nm)에서 분석한 후 α -tocopherol equivalent(α -T.E. = $1 \times \alpha$ -tocopherol + $0.5 \times \beta$ -tocopherol + $0.1 \times \gamma$ -tocopherol)로 환산하여 나타내었다.

4. 식이섬유의 정량분석

식이 섬유 함량은 AOAC 공인 방법인 Lee 등의 방법⁴⁾으로 정량하였다. 건조 시료 1g에 차례로 α -amylase, protease, amyloglucosidase를 첨가하여 여과한 후 crucible에 남은 residue를 건조하여 불용성 식이섬유(Insoluble dietary fibers, IDF)의 양으로 간주하였고, 또한 여과액에 60°C ethanol을 여과액 부피의 4배만큼 가하여 실온에서 1시간 동안 침전시킨 후 재여과하여 건조한 것을 수용성 식이 섬유(soluble dietary fibers, SDF)의 양으로 간주하였다. 이렇게 하여 얻어진 IDF와 SDF의 양을 합하여 총 식이 섬유(total dietary fibers, TDF)의 양으로 간주하였다.

5. 통계처리

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

실험결과

1. 감잎과 녹차잎 건분과 물 추출물, 에탄올 추출물 내 flavonoids와 항산화 비타민, 식이섬유 함량

본 실험에서 사용한 감잎과 녹차잎의 물과 에탄올 추출물의 추출수율 및 건분과 추출물 내에 함유된 flavonoids와 항산화 비타민인 beta-carotene, 비타민 C, 비타민 E 함량은 Table 2와 같았다.

에탄올추출물의 추출 수율은 감잎이 17.59%, 녹차 29.69%로 녹차의 수율이 높았다. 물추출물의 수율은 감잎이 13.89%, 녹차가 17.04%로 역시 녹차의 수율이 높았고, 물추출물 보다는 에탄올추출물이 높았다.

각 건조시료 1g에 함유되어 있는 총 flavonoids의 양은 감잎건분 20.72mg, 녹차건분 25.62mg, 감잎 에탄올추출물 9.98mg, 녹차 에탄올추출물 17.08mg, 감잎 물추출물 5.69mg, 녹차 물추출물 11.30mg이었다. 녹차 건분의 flavonoids 함량이 가장 높았고, 에탄올, 물추출물들에서도 녹차 추출물의 flavonoids 함량이 높았다. 각 시료내의 총 flavonoids 중에서 에탄올에 녹는 flavonoids의 비율을 계산하면 감잎은 총 flavonoids의 47.68%가 에탄올에 녹는 flavonoids였으며, 녹차는 총 flavonoids의 66.67%가 에탄올에 녹는 flavonoids로 나타났다. 또한 물에 녹는 fla-

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

Constituent	Groups					
	GP	GE	GW	NP	NE	NW
Extraction yields(%)	-	17.5	13.8	-	29.6	17.0
Total flavonoids(mg/g plant powder)	20.7	9.9	5.6	25.6	17.0	11.3
Beta-carotene(μ g/g plant powder)	91.5	137.1	- ¹⁾	35.3	28.4	- ¹⁾
Vitamin C(mg/g plant powder)	3.41	1.05	0.59	1.56	0.69	0.32
Vitamin E μ g(α -T.E./g plant powder)	173.8	324.0	0.9	19.6	40.7	1.6
Total dietary fibers(%)	34.78	4.78	5.87	32.24	6.02	5.04
IDF(Insoluble dietary fibers)(%)	23.39	3.65	2.24	20.09	4.28	1.97
SDF(soluble dietary fibers)(%)	11.39	1.13	3.63	12.15	1.92	3.07

1) N.D: Non-detectable

vonoids의 비율을 계산하면 감잎은 27.46%, 녹차는 44.10%로 나타났다.

항산화 비타민의 함량을 알아보기 위해 시료내의 beta-carotene, 비타민 C, 비타민 E의 함량을 측정하였다. 건조 시료 1g당 Beta-carotene 함량은 감잎 건분이 91.56 μ g, 녹차 건분이 35.35 μ g, 감잎 에탄올 추출물이 137.13 μ g, 녹차 에탄올 추출물이 28.47 μ g으로 beta-carotene함량은 감잎이 녹차보다 높았다. 건조시료 1g당 비타민 C의 함량은 감잎 건분이 3.417mg, 녹차 건분이 1.565mg, 감잎 에탄올 추출물이 1.051mg, 녹차 에탄올추출물이 0.699mg였으며 감잎 물추출물은 0.599mg, 녹차 물 추출물은 0.328mg으로 나타나서 이 역시 감잎시료들의 함량이 녹차시료 보다 높았다. 건조시료 1g당 비타민 E(α -tocopherol equivalent)의 함량은 감잎 건분이 173.8 μ g, 녹차 건분이 19.6 μ g, 감잎 에탄올추출물은 324.0 μ g, 녹차 에탄올추출물이 40.7 μ g였으며 감잎 물추출물은 0.9 μ g, 녹차 물추출물은 1.6 μ g로 건분과 에탄올추출물에선 감잎이 높았으나 물추출물에선 녹차가 높았다. 김²⁾등의 선행연구에서 감잎과 녹차의 건분시료 1g당 total flavonoids는 각각 15.5mg, 31.1mg이었으며, β -carotene은 32.80 μ g, 100.45 μ g이었고, 비타민 C는 0.17mg, 1.35mg 비타민 E는 0.58 μ g, 0.20 μ g이었다. 이와같이 원산지, 수확시기 등이 다른 다류시료에 따라 이들 항산화 물질의 함량이 다른 것으로 나타났다. 그러나 본 연구에서와 같이 선행연구에서도 total flavonoids는 녹차건분이 높았으며 비타민 E는 감잎건분이 높았다. 감잎 에탄올추출물에서 비타민 E와 beta-carotene의 함량이 건분보다 높은 이유는, 에탄올추출물은 시료제조과정 중 이미 에탄올에 이

들 비타민이 다량 용출되어 있는 상태인데 비해 건분의 경우 비타민 함량 측정을 위한 실험과정에서 비타민이 충분히 용출되지 않기 때문으로 사료된다. 따라서 실제로 건분 내 비타민 E와 beta-carotene의 함량은 에탄올추출물 내의 함량보다 더 높을 것으로 생각된다.

총 식이섬유는 감잎 건분이 34.78%, 녹차 건분이 32.24%, 감잎 에탄올추출물은 4.78%, 녹차 에탄올추출물은 6.02%였고, 감잎 물추출물은 5.87%, 녹차 물추출물은 5.04%였다. 감잎과 녹차의 건분은 총 식이섬유함량에 큰 차이는 보이지 않았으나 녹차 에탄올추출물의 총 식이섬유 함량이 감잎 에탄올추출물보다 높았다. 또한 불용성 식이섬유와 수용성 식이섬유를 비교 했을 때 불용성 식이섬유의 함량이 높게 나타나는 경향을 보이나 물 추출물에서는 수용성 식이섬유가 불용성 식이 섬유보다 높았다.

전체적으로 감잎은 비타민 C와 beta-carotene, 비타민 E를 많이 함유하였고, 녹차는 total flavonoids가 높았으며 총 식이섬유는 비슷하였다.

2. 실험동물의 성장

1) 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

실험동물의 하루 평균 식이섭취량, 실험기간동안의 체중증가량과 식이효율은 Table 3과 같았다.

Table 3. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio¹⁾

Groups	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/4 weeks)	Food efficiency ratio
C	19.5 ± 0.4 ^{b2)}	21.3 ± 10.5 ^{N,53)}	0.04 ± 0.03 ^{N,5}
GP	21.6 ± 1.0 ^{a,b}	16.1 ± 4.8	0.03 ± 0.00
NP	21.3 ± 0.4 ^{a,b}	27.5 ± 5.4	0.04 ± 0.00
GE	23.1 ± 1.0 ^a	27.3 ± 16.0	0.05 ± 0.03
NE	22.7 ± 0.2 ^a	24.6 ± 9.7	0.04 ± 0.01
GW	21.2 ± 0.6 ^{a,b}	22.1 ± 8.7	0.03 ± 0.01
NW	22.0 ± 0.7 ^a	20.5 ± 2.3	0.03 ± 0.00

1) Mean ± Standard Error (n = 7).
 2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α = 0.05 by Duncan's multiple range test.
 3) Not significant at α = 0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 4. Plasma total lipid, triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol concentrations and HDL : total cholesterol ratio¹⁾

Groups	Plasma total lipid (mg/100ml)	Plasma triglyceride (mg/100ml)	Plasma total cholesterol (mg/100ml)	Plasma HDL-cholesterol (mg/100ml)	HDL : total cholesterol ratio
C	352.65 ± 31.21 ^{a2)}	112.76 ± 5.54 ^a	55.35 ± 9.42 ^{N,53)}	24.35 ± 2.16 ^{N,5}	0.22 ± 0.01 ^b
GP	288.48 ± 22.55 ^{a,b}	90.53 ± 8.20 ^b	56.01 ± 8.80	27.94 ± 3.39	0.28 ± 0.03 ^{a,b}
NP	246.37 ± 18.93 ^b	80.81 ± 4.88 ^b	43.66 ± 10.16	21.68 ± 2.20	0.28 ± 0.01 ^{a,b}
GE	245.79 ± 24.04 ^b	77.24 ± 3.68 ^b	51.76 ± 10.89	22.32 ± 1.16	0.29 ± 0.01 ^{a,b}
NE	314.53 ± 18.03 ^{a,b}	97.29 ± 7.26 ^{a,b}	42.66 ± 7.71	29.51 ± 2.92	0.30 ± 0.02 ^a
GW	297.59 ± 22.18 ^{a,b}	88.48 ± 8.81 ^b	41.89 ± 6.94	27.29 ± 4.36	0.28 ± 0.03 ^{a,b}
NW	285.45 ± 12.75 ^{a,b}	88.15 ± 5.51 ^b	54.08 ± 11.18	31.25 ± 3.24	0.30 ± 0.03 ^a

1) - 3) See Table 3.

하루 평균 식이섭취량을 보면 모든 실험식이군들이 대조군에 비하여 높았으며 특히 감잎과 녹차의 에탄올추출군이 높았다. 실험기간동안의 체중증가량은 유의적인 차이가 없었으나 녹차 건분군과 감잎 에탄올 추출군이 높은 경향을 나타내었고 감잎 건분군이 가장 낮았다. 식이효율 또한 체중 증가량과 마찬가지로 유의적인 차이가 없었으나 감잎 에탄올 추출군의 식이효율이 가장 높은 경향을 나타내었다.

3. 지방대사

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

혈장의 지방대사를 알아보기 위해 측정된 총지방, 중성지방, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 Table 4와 같았다.

혈장의 총지방 농도는 모든 다류식이군이 대조군 보다 낮았고, 특히 녹차 건분군과 감잎 에탄올추출군이 낮은 수준을 보였다. 건분군과 에탄올, 물추출군들을 각각 비교하면 건분군들에선 녹차 건분군이, 에탄올추출군들에선 감잎 에탄올추출군이 낮은 경향이었고 물추출군들에선 유의적 차이가 없었다. 감잎시료 중에서는 에탄올추출군이, 녹차시료 중에서는 건분군이 가장 낮았고 이 두 군간에는 차이가 없었다. 혈장의 중성지방 농도는 모든 다류식이군이 대조군보다 낮았고 다류식이군간에는 유의적 차이가 없었으나 그중 감잎 에탄올추출군과 녹차 건분군이 가장 낮았다. 따라서 건분군들 뿐만 아니라 에탄올 및 물추출물군도 혈장 중성지방을 낮추었다. 혈장의 총콜레스테롤 농도는 모든 실험군들 간에 유의적인 차이가 없었으나, 녹차 건분군, 녹차 에탄올추출군, 감잎 물추출군들이 대조군보다 다소 낮은 경향을 보였다. 혈장의 HDL-콜레스테롤 농도는 모든 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나 녹차 에탄올추출군과 녹차 물추출군이 다소 높은 경향을 보였다. 혈장의 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 모든 다류식이군이 대조군보다 높은 경향을 보였고, 특히 녹차 에탄올과 물추출물

군이 가장 높았다.

따라서, 혈장의 총지방, 중성지방 저하는 녹차 건분군과 감잎 에탄올 추출군이 가장 효과적이며 HDL-콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 : 콜레스테롤의 비율 증가는 녹차 물추출군과 녹차 에탄올추출군이 가장 효과적이었다.

2) 간의 총지방, 중성지방 및 콜레스테롤 농도

간의 지방대사를 알아보기 위해 측정된 총지방, 중성지방 및 총콜레스테롤 농도는 Table 5과 같았다.

간의 총지방 농도는 모든 다류식이군이 대조군 보다 낮았고 특히 감잎 물추출군과 감잎 건분군이 낮았다. 감잎과 녹차잎의 각각 건분군과 에탄올, 물추출물을 비교했을 때는 차이가 없었으나 두가지 다류를 비교했을 때는 에탄올추출군을 제외하고는 녹차보다 감잎이 총지방농도를 낮추었다. 간의 중성지방 농도는 모든 다류식이군이 대조군보다 유의적으로 낮았으나 다류식이 실험군들 간에는 유의적인 차이가 없었다. 간의 총콜레스테롤 농도도 모든 다류식이군이 대조군보다 유의적으로 낮았고 이들 다류식이군들 간에 유의적인 차이는 없었다.

3) 변의 무게 및 변의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 배설량

일일 평균 변의 무게와 변의 총지방과 중성지방, 콜레스테롤의 배설량은 Table 6과 같았다.

일일 평균 변무게는 두가지 감잎과 녹차 건분군이 대조군보다 유의적으로 높았고, 각각의 에탄올과 물추출군 보다도

유의적으로 높았다. 에탄올과 물추출군들은 대조군과 큰 차이가 없었고 두가지 다류간에도 차이가 없었다.

일일 총지방 배설량은 감잎 물추출군을 제외한 나머지 군들이 대체로 대조군보다 높았고, 그중에서 감잎건분군이 가장 높았다. 감잎군들 중에는 건분군이 가장 높았고 그 다음으로 에탄올추출군, 물추출군의 순이었다. 그러나 세 가지 녹차군들에서는 차이가 없었다. 변의 중성지방 배설량도 감잎 물추출군을 제외하고는 모든 다류실험군이 대조군보다 높았다. 특히 두 가지 건분군과 감잎 에탄올 추출군이 효과적으로 중성지방을 배설함을 알 수 있었다. 다류별로 건분군과 에탄올, 물추출군을 비교하면 감잎에서는 건분군과 에탄올추출군의 중성지방 배설량이 물추출군에 비해 유의적으로 높았으며 녹차에서는 녹차 건분군이 에탄올과 물추출군보다 다소 높았다. 변의 콜레스테롤 배설량도 감잎 물추출군을 제외하고는 모든 다류군들이 대조군보다 높았고 특히 감잎 건분군과 녹차 건분군 및 감잎 에탄올 추출군과 녹차 에탄올추출군이 가장 많은 콜레스테롤을 배설하였다. 감잎 건분군의 콜레스테롤 배설량은 감잎 물추출군보다 유의적으로 높았다.

전체적으로 변의 무게 및 총지방, 중성지방, 콜레스테롤 배설량은 모든 다류식이군들이 대조군보다 높았는데, 그중 감잎 건분군이 가장 높았고 감잎 물추출군이 가장 낮았다.

4. 항산화능

1) 혈장과 간의 지질과산화물 함량

혈장과 간의 지질의 과산화 정도를 알아보기 위해 지질과산화물 함량(Thiobarbituric Acid Reactive Substances: TBARS values)을 측정된 결과는 Table 7과 같았다.

혈장의 지질과산화물 함량은 다류의 섭취에 의해 영향을 받아 모든 다류식이군이 대조군보다 유의적으로 낮은 수준이었고, 특히 녹차 건분군과 감잎 에탄올추출군이 낮았다. 시료제조방법별로 감잎과 녹차를 비교시에는 유의적 차이가 없었다. 각 다류의 건분군과 에탄올, 물추출군을 비교했을 때 세 가지 감잎군들 간에는 큰 차이가 없었으나 녹차의

Table 5. Liver total lipid, triglyceride and cholesterol concentrations¹⁾

Groups	Liver total lipid (mg/g wet weight)	Liver triglyceride (mg/g wet weight)	Liver cholesterol (mg/g wet weight)
C	32.07 ± 2.65 ^{a2)}	2.08 ± 0.15 ^a	1.63 ± 0.05 ^a
GP	18.53 ± 2.27 ^c	1.50 ± 0.09 ^b	1.02 ± 0.02 ^b
NP	27.17 ± 2.40 ^{ab}	1.59 ± 0.14 ^b	0.98 ± 0.02 ^b
GE	22.95 ± 3.39 ^{bc}	1.67 ± 0.12 ^b	1.01 ± 0.01 ^b
NE	22.66 ± 2.33 ^{bc}	1.60 ± 0.12 ^b	1.01 ± 0.02 ^b
GW	15.16 ± 1.32 ^c	1.51 ± 0.11 ^b	1.05 ± 0.02 ^b
NW	27.15 ± 3.10 ^{ab}	1.64 ± 0.15 ^b	1.00 ± 0.01 ^b

1) - 2) See Table 3.

Table 6. Fecal weight, and fecal total lipid, triglyceride and cholesterol excretions¹⁾

Groups	Fecal weight(g dry weight/day)	Fecal total lipid(mg/day)	Fecal triglyceride(mg/day)	Fecal cholesterol(mg/day)
C	0.99 ± 0.10 ^{b2)}	16.41 ± 5.76 ^b	0.62 ± 0.19 ^c	0.14 ± 0.04 ^c
GP	2.01 ± 0.12 ^a	49.60 ± 7.09 ^a	1.85 ± 0.19 ^a	0.72 ± 0.20 ^a
NP	2.02 ± 0.25 ^a	34.25 ± 6.84 ^{ab}	1.49 ± 0.24 ^{ab}	0.51 ± 0.10 ^{ab}
GE	1.13 ± 0.07 ^b	36.71 ± 10.64 ^{ab}	1.77 ± 0.43 ^a	0.54 ± 0.12 ^{ab}
NE	1.18 ± 0.10 ^b	33.17 ± 6.13 ^{ab}	1.21 ± 0.21 ^{bc}	0.66 ± 0.20 ^{ab}
GW	1.13 ± 0.19 ^b	20.80 ± 5.13 ^b	0.73 ± 0.17 ^c	0.23 ± 0.05 ^c
NW	1.22 ± 0.11 ^b	28.62 ± 7.06 ^{ab}	1.00 ± 0.21 ^{bc}	0.30 ± 0.06 ^{bc}

1) - 2) See Table 3.

경우에는 건분군이 물추출군보다 유의적으로 낮았다.

간의 지질과산화물 함량은 녹차 물추출군을 제외하고는 모든 다류식이군이 대조군보다 낮았다. 녹차 물추출군은 대조군보다 유의적이지 않으나 다소 낮은 경향을 보였다. 각 다류의 건분과 에탄올, 물추출군간과 또한 두가지 다류 비교 시에도 유의적 차이가 없었다.

따라서 혈장과 간의 과산화지질 함량은 모든 건분과 추출군이 대조군보다 낮아 감잎과 녹차가 체내 지질 과산화를 효과적으로 억제함을 알 수 있었다.

2) 적혈구의 항산화 효소들의 활성

적혈구에서의 항산화 효소들의 활성을 알아보기 위해 대표적인 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD)와 catalase, glutathione peroxidase(GSH-px)의 활성을 측정된 결과는 Table 8과 같았다.

적혈구의 SOD 활성은 감잎 에탄올추출군과 녹차 물추출군을 제외하고는 나머지 군간에 유의적 차이가 없었다. 감잎 에탄올추출물과 녹차 물추출군은 대조군보다 높았다. 각

다류의 건분군과 에탄올, 물추출군을 비교하면 감잎은 에탄올추출군이 건분과 물추출군에 비해 유의적으로 높았고 녹차의 경우에는 건분과 에탄올추출군에 비해 물추출군이 높았다. 적혈구의 catalase 활성은 모든 실험군들간에 유의적 차이가 없었으나, 다류식이군들이 대조군보다 다소 높은 경향이였다. 적혈구의 GSH-px 활성은 대조군보다 모든 다류식이군들이 높은 경향을 보였고 특히 감잎 에탄올추출군과 감잎 물추출군, 녹차 건분군이 높았다. 즉, 적혈구의 항산화 효소들의 활성을 보면 SOD와 GSH-px가 민감하게 반응을 보여 모든 다류식이군의 활성이 대조군에 비하여 증가하는 경향을 보여주었으며 특히 감잎 에탄올추출군이 유의적으로 높았다. 그러나 catalase는 모든 실험군 간에 차이가 없었다.

3) 간의 항산화 효소들의 활성

간의 항산화 효소인 catalase, SOD, GSH-px의 활성을 측정된 결과는 Table 9과 같았다.

간의 SOD 활성은 다류 섭취에 의해 영향을 받아 녹차 에탄올추출군을 제외하고는 모든 다류식이군이 대조군보다 높은 수준이었고, 특히 녹차 건분군이 대조군보다 유의적으로 높았다. 각 다류의 세 가지 감잎군들 간에는 별차이가 없었으나, 녹차의 경우에는 건분군의 활성이 높게 나타났다. 간의 catalase 활성은 모든 실험군들간에 유의적 차이가 없었으나, 다류군들이 대조군보다 높은 경향이였다. 간의 GSH-px 활성은 녹차건분군이 대조군에 비하여 유의적으로 높았고, 나머지 군들은 대조군과 유의적 차이가 없었다. 각 다류의 건분군과 에탄올, 물추출군을 비교했을 때 세 감잎군들 간에는 차이가 없었으나 녹차의 경우에는 건분군이 물추출군보다 높은 활성을 보였다. 두 가지 다류를 비교했을 때 건분군들 중에는 녹차가 유의적으로 높았으나 에탄올추출군들에서는 녹차가 물추출군에서는 감잎의 활성이 다소 높게 나타났다.

간의 항산화 효소들의 활성은 적혈구에서와 마찬가지로 SOD와 GSH-px의 활성이 모든 다류식이군들에서 대조군

Table 7. Plasma and liver TBARS levels¹⁾

Groups	Plasma TBARS (nmol/100ml plasma)	Liver TBARS (nmol/g wet liver)
C	70.76 ± 6.11 ^{a2)}	7.98 ± 0.58 ^a
GP	47.58 ± 4.04 ^{bc}	6.38 ± 0.37 ^b
NP	33.65 ± 3.71 ^c	6.60 ± 0.48 ^b
GE	33.65 ± 3.71 ^c	6.53 ± 0.30 ^b
NE	45.49 ± 2.05 ^{bc}	6.55 ± 0.26 ^b
GW	40.22 ± 4.56 ^{bc}	6.49 ± 0.39 ^b
NW	52.43 ± 7.05 ^b	7.30 ± 0.38 ^{ab}

1) - 2) See Table 3.

Table 8. Erythrocyte antioxidative enzyme activities¹⁾

Groups	RBC SOD ⁴⁾	RBC catalase ⁴⁾	RBC GSH-px ⁴⁾
C	11.28 ± 2.27 ^{b2)}	3297.1 ± 339.7 ^{N.53)}	0.070 ± 0.013 ^c
GP	17.18 ± 0.67 ^b	3614.3 ± 149.7	0.148 ± 0.018 ^{ab}
NP	12.70 ± 3.89 ^b	3867.8 ± 397.1	0.170 ± 0.066 ^{ab}
GE	31.10 ± 4.47 ^a	3690.0 ± 215.9	0.232 ± 0.029 ^a
NE	16.37 ± 3.30 ^b	3549.7 ± 127.4	0.114 ± 0.016 ^{bc}
GW	17.86 ± 3.27 ^b	3603.0 ± 97.0	0.186 ± 0.016 ^{ab}
NW	21.65 ± 7.01 ^{ab}	3535.9 ± 193.3	0.108 ± 0.018 ^{bc}

1) - 3) See Table 3.

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

Table 9. Liver antioxidative enzyme activities¹⁾

Groups	Liver SOD ⁴⁾	Liver catalase ⁴⁾	Liver GSH-px ⁴⁾
C	25.30 ± 1.33 ^{b2)}	12568 ± 1918.8 ^{N.53)}	1.021 ± 0.16 ^b
GP	31.35 ± 2.83 ^{ab}	14603 ± 1948.6	1.319 ± 0.30 ^b
NP	33.37 ± 1.79 ^a	13379 ± 2399.6	2.562 ± 0.70 ^a
GE	28.47 ± 1.99 ^{ab}	14611 ± 1508.8	1.182 ± 0.35 ^b
NE	26.42 ± 1.33 ^b	14104 ± 2125.7	1.537 ± 0.21 ^{ab}
GW	29.04 ± 2.33 ^{ab}	15012 ± 1199.9	1.556 ± 0.47 ^{ab}
NW	28.08 ± 1.80 ^{ab}	15784 ± 2520.3	1.105 ± 0.24 ^b

1) - 4) See Table 9.

에 비하여 증가하는 경향을 보였으며 특히 녹차 건분군이 유의적으로 높았다. 그러나 catalase 활성은 모든 실험군들 간에 차이가 없었다.

고 찰

1. 흰쥐의 성장에 미치는 영향

감잎, 녹차잎의 건분과 에탄올 및 물 추출물의 첨가식이 흰쥐의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험동물의 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율 및 장기와 조직의 무게를 측정하였다.

하루평균 식이 섭취량은 모든 실험 식이군들이 대조군에 비해 높은 경향이었으나 체중증가량과 식이효율은 유의적인 차이가 없었다. 본 실험에서 사용한 12개월 된 쥐에서 식이섭취량에는 차이가 있었으나 체중증가량과 식이효율에 차이가 없었던 것은 식이 energy density 차이보다는 또한 실험동물들이 성장기가 지났기 때문으로 보인다. 또한 김 등⁴²⁾의 선행연구에서 사용한 생후 4주된 흰쥐는 식이섭취량이 하루에 $16.2 \pm 0.5g$, 체중증가량이 4주의 실험기간에 $129.6 \pm 3.7g$ 이었으나 본 실험에 사용된 12개월 된 쥐는 식이섭취량이 하루에 $19.8 \pm 0.4g$ 였으며, 체중증가량은 4주의 실험기간에 $21.3 \pm 10.5g$ 로, 식이 섭취량은 12개월령 쥐가 4주령 쥐에 비해 많았으나 체중증가량은 4주령 쥐에서 높았던 것으로 보아 본 연구에 사용한 12개월 된 쥐는 성장기 거의 끝난 실험동물임을 확인 할 수 있겠다.

감잎과 녹차 각각의 건분 및 에탄올, 물추출군의 식이섭취량, 체중증가량 간에 차이가 없는 것으로 보아 제조 방법이 다른 다류 시료는 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율에 크게 영향을 끼치지 않는다고 볼 수 있으며, 이들은 두 가지 다류 사이에도 큰 차이가 없었다.

2. 지방대사

감잎과 녹차의 건분과 물 및 에탄올추출물이 흰쥐의 지방대사에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 실험동물의 혈장, 간, 변의 총지방, 중성지방 및 총 콜레스테롤과 혈장의 HDL-콜레스테롤 농도를 측정하였다.

혈장의 중성지방 농도는 감잎과 녹차의 모든 다류 식이군이 대조군보다 낮았고 그 중 녹차 건분군과 감잎 에탄올추출물군이 가장 낮았다. 간의 중성지방 농도는 모든 다류 식이군들이 대조군 보다 낮았지만 다류 식이군 간에는 차이가 없었고, 변으로의 중성지방 배설은 모든 다류 식이군들이 대조군 보다 높았지만 특히 감잎 건분군과 녹차 건분군 및 감잎 에탄올추출군이 많았다. 녹차 건분군과 감잎 에탄올추

출군과 같은 다류 식이군들의 혈장 중성지방 수준이 대조군에 비해 낮은 것은 녹차와 감잎에 함유되어 있는 식이 섬유와 flavonoids와 같은 기능성 물질의 효과로 우선 생각하여 볼 수 있겠다.

녹차 건분과 감잎 건분에 32~35% 정도 다량 함유된 식이섬유는 음식물이 위에 머무르는 시간을 증가시켜 포만감을 주고 각종 영양소의 흡수를 저해시킨다고 보고⁴³⁾되고 있다. 특히 식이섬유의 hypolipidemic 효과는 주로 수용성 성분 즉, 수용성 식이섬유에서 나타나는데 감잎 건분과 녹차 건분의 수용성 식이섬유 함량은 11.39%, 12.15%로 비슷하게 높았다. 이 수용성 식이섬유는 소장에서 micelle의 형성을 방해하고 지방분해효소의 작용을 저해하며 지방흡수를 방해하여 혈중 지방수준을 낮추는 것으로 알려져 있다.^{44,45)} 그리고 불용성 식이섬유도 작지만 hypolipidemic 효과를 나타내는데 이것은 불용성 식이섬유가 대장에서 미생물의 작용을 적게 받아 비발효 잔사로 남게 되고, 그 물리적 구조를 유지함으로써 지방의 배설을 증가시키기 때문이다.⁴⁶⁾ 따라서 중성지방의 농도가 모든 다류 식이군에서 낮은 것의 한 이유로 다류식이내 식이섬유의 hypolipidemic 효과를 생각할 수 있겠다.

그러나 식이섬유의 함량이 높지 않은 감잎 에탄올추출물군에서 혈장 중성지방 농도가 낮은 것은 식이섬유의 효과라고 말할 수 없는데 감잎과 녹차에 함유된 flavonoids 또한 hypolipidemic 효과를 보인다고 알려져있다. Catechin류 등의 flavonoids가 풍부한 녹차의 물 추출물을 식이에 첨가했을 때 혈장 내 중성지방 농도가 저하된다는 Muramatsu⁴⁷⁾의 연구와 고지방 식이에 quercitrin, tannic acid 등 polyphenolic natural product를 주었을 때 tannic acid가 효과적으로 지방을 저하시킨다는 보고⁴⁸⁾와, flavonoid인 quercitrin과 catechin이 콜레스테롤 및 어유를 섭취한 흰쥐의 혈청과 간에서 콜레스테롤과 중성지방 수준을 저하시킨다⁴⁹⁾는 연구 결과가 있다. 이와 같이 식이섬유로 인한 체내 지방 저하 효과 뿐 아니라 감잎과 녹차에 풍부하게 들어있는 flavonoids 같은 물질 또한 체내 지방 저하에 효과적일 수 있겠으나 그 기전은 밝혀지지 않았다.

그러나 혈장 중성지방이 저하된 감잎 에탄올추출물의 경우 혈장 중성지방이 높았던 녹차 에탄올추출물에 비해 총 flavonoids와 dietary fibers의 함량이 높지 않았다. 이는 김 등⁴²⁾의 어린쥐를 이용한 선행연구에서 녹차 에탄올추출물군보다 식이섬유와 flavonoids 함량이 낮은 감잎 에탄올추출물군이 혈장의 총지방, 중성지방, 콜레스테롤을 효과적으로 낮추었다는 결과와 일치하였다. 따라서 flavonoids와 dietary fibers의 절대량뿐만 아니라 이들 물질의 종류에

따른 질적효과 또는 감잎에 함유되어 있는 또 다른 에탄올 용해성 물질에 의한 효과의 차이라고 생각 할 수 있겠다.

혈장과 간, 변의 콜레스테롤 수준을 보면 혈장에서는 모든 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나 녹차 건분군과 녹차 에탄올추출군 및 감잎 물 추출군이 대조군보다 낮은 경향을 보였으며, 간의 콜레스테롤 수준은 모든 다류 식이군이 대조군보다 낮았으나 다류식이군 간에는 차이가 없었으며, 변으로의 콜레스테롤 배설량은 감잎 건분군과 녹차 건분군, 감잎 에탄올추출군, 녹차 에탄올추출군이 높았다.

이와 같이 혈중 콜레스테롤 저하 효과는 특히 총 식이섬유 및 수용성 식이섬유와 총 flavonoids의 함량이 높았던 녹차 건분군과 녹차 에탄올추출물군이 효과적이었다. 식이섬유는 콜레스테롤을 저하시키는 효과가 뛰어나며 특히 수용성 식이섬유들이 장내에서 수화되면서 점도가 높은 gel matrix를 형성하고 이들이 콜레스테롤을 비롯한 각종 영양소와 담즙산을 격리하여 확산을 억제시켜 흡수를 억제하는 동시에 변으로의 배설을 증가시키고 혈중 콜레스테롤을 담즙산 합성에 이용하게 함으로 혈중 콜레스테롤 농도를 저하시키는 것으로 알려져 있다. 또한 수용성 식이섬유의 대장내의 발효산물인 propionic acid가 3-hydroxy-3-methyl glutaryl coA reductase의 inhibitor로 작용하여 혈청 콜레스테롤을 낮춘다는 보고가 있다.^{44,45,50,51)}

본 실험에서도 다류 식이군들의 혈장 콜레스테롤 수준이 유의적 차이는 아니지만 대조군 보다 낮은 경향을 보였는데 다류시료 중의 식이섬유로 인한 콜레스테롤의 배설 및 합성 억제효과로 생각 할 수 있겠는데 특히 녹차 건분군과 녹차 에탄올추출물군은 감잎 건분군과 감잎 에탄올추출물군 보다 수용성 식이섬유 함량이 약간 높았으나 변으로의 콜레스테롤 배설량이 높지 않았다. 또한 에탄올과 물추출물들 중에서 수용성 식이섬유 함량이 가장 높았던 감잎 물추출물의 경우 변으로의 콜레스테롤 배설량이 낮음에도 혈중 콜레스테롤이 다소 저하된 경향을 보이는 것은 콜레스테롤 배설량보다는 합성량이 작은데서 기인 할 것으로 생각된다.

또한 총 flavonoids의 양이 높은 녹차 건분과 녹차 에탄올 추출물군에서 콜레스테롤 저하효과가 높게 나타났다. Yugarani의 연구⁵²⁾에서 tannic acid, tea catechin류 등의 flavonoids를 포함한 식이를 흰쥐가 섭취했을 때 hypocholesterolemic 효과가 있었고, 김 등의⁴²⁾ 연구에서도 flavonoids의 종류인 감귤과피로부터 추출한 hesperidin과 구입한 hesperidin과 naringin을 사용했을 때 콜레스테롤을 저하시킨 결과를 보여 주었다.

이상에서와 같이 본 실험에서는 모든 다류 식이군들이 대조군 보다 지질대사에 효과가 있었으나 특히, 수용성 식이

섬유와 flavonoids를 가장 많이 함유한 녹차 건분군이 혈중 중성지방과 콜레스테롤을 저하시키는데 가장 효과적이었다.

이러한 지방대사는 흰쥐의 나이에 따라 다른 것으로 보이는데 12개월령의 흰쥐를 사용한 본 연구에서 혈장 중성지방과 콜레스테롤 수준은 4주된 흰쥐를 사용한 김 등⁴²⁾의 선행연구 결과와 비슷하였으나, 간의 중성지방과 콜레스테롤 축적량은 2.68mg/g, 1.63mg/g로 4주된 흰쥐의 중성지방과 콜레스테롤 축적량 8.06mg/g, 2.56mg/g보다 더 낮았다. 이는 4주령 흰쥐의 식이효율이 0.30 ± 0.01 이고, 12개월령 흰쥐의 식이효율이 0.04 ± 0.03 에서 알 수 있는 바와 같이 본 실험 동물의 열량대사가 어린쥐 보다 비효율적인 것을 알 수 있었다.

3. 항산화능

감잎과 녹차의 건분 및 에탄올, 물 추출물의 첨가 식이가 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 혈장과 간의 지질과산화물(TBARS)함량과 적혈구와 간에서 항산화 효소인 catalase, SOD, GSH-px의 활성을 측정하였다.

생체 내에는 자유기를 비롯한 활성산화물질로부터 세포막과 세포 내 물질을 보호하기 위해 항산화 system이 존재하는데 catalase, SOD, GSH-px와 같은 항산화 효소들에 의한 효소적 방법과 flavonoids를 포함하는 polyphenol류와 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E 등의 작용에 의한 비효소적 방법이 있다.

항산화 효소들을 살펴보면, 우선 SOD는 free radicals 생성과정 초기에 생성되어 다른 free radical의 생성 및 lipid peroxidation 과정을 단계적으로 일으키는 superoxide anion radical을 H₂O₂로 만들어 주는 효소이다. 이 H₂O₂의 제거는 catalase와 GSH-px가 담당한다. 조직의 peroxisomes에서 대부분 발견되는 catalase는 SOD로 인해 생성된 H₂O₂를 H₂O로 환원시키는 catalytic activity와 methanol, ethanol, formic acid, phenol과 같은 hydrogen donor의 산화에 관여하는 peroxidic activity를 가진다. 또한 GSH-px는 생체 내에서 H₂O₂와 환원형 GSH이 산화형 GSSG으로 되면서 물을 생성하게 된다. GSH-px은 이외에도 과산화물(ROOH)과 GSH로부터 GSSG, alcohol(ROH) 및 물을 생성하는 반응을 촉매 함으로써 조직의 과산화적 손상을 방지한다.^{34,35,53,54)}

비효소적 방법에 의하여도 과산화지질 생성이 억제되는데 우선 flavonoids가 과산화지질 생성을 억제하는 방법은 catalase, SOD, GSH-px등의 항산화 효소활성을 증진시키는 방법과 free radical damage를 촉진하는 'free' 상태의 금속이온들을 chelating 하거나, 이미 생긴 free rad-

ical을 직접 없애는 free radical scavenger로 작용하여 세포막과 세포내의 물질을 보호하는 방법이 있다. 항산화 비타민들인 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E 또한 free radical을 제거한다^{55,56}고 알려져 있다. Carotenoids는 이중결합이 증가할수록 항산화 효과가 증가하는 것으로 알려졌고⁵⁶ 비타민 C는 전자를 내어줌으로써 환원제로 작용하여 다른 산화제를 환원시키며,⁵⁷ 또한 LDL의 산화를 막고 세포의 산화방지에 주요한 역할을 하며, 비타민 E는 직접 세포막을 보호하고 또한 체내에서 자유기를 생성하는 물질들로부터 신체를 보호하는 효과를 지녔다고⁵⁸한다. 또한 flavonoids류와 항산화 비타민의 상호작용으로 인해 과산화 지질 생성이 억제된다고도 알려져 있다.^{59,60}

혈장의 지질과산화물 생성량은 모든 다류 실험 식이군들이 대조군 보다 유의적으로 낮았고 특히 녹차 건분군과 감잎 에탄올추출물군이 가장 낮았다. 적혈구내 항산화 효소를 보면 SOD활성은 활성이 가장 높았던 감잎 에탄올추출물군과 녹차 물추출물만이 대조군보다 유의적으로 증가하였으며, catalase활성은 모든 실험군 간에 유의적 차이가 없었고, GSH-px활성은 감잎 에탄올추출물, 감잎 물추출물, 녹차 건분군으로 대조군에 비하여 높았다. 혈장 과산화지질이 특히 낮았던 두군 중 감잎 에탄올 추출물의 경우에는 SOD와 GSH-px활성이 가장 높았으나 catalase활성은 대조군과 유의적 차이가 없었으며, 녹차 건분군의 경우에는 SOD와 catalase활성은 대조군과 차이가 없었으나 GSH-px활성은 대조군보다 높았다. 따라서 다류 식이군들의 혈장 내 과산화지질 함량저하는 적혈구내 항산화 효소들의 작용때문으로 보이나 전적으로 이에 기인한다고는 단정할 수 없다.

본 연구에서 혈장의 과산화 지질 생성이 가장 낮았던 녹차 건분과 감잎 에탄올 추출물의 경우 녹차 건분은 다류시료 중 총 flavonoids의 함량이 가장 높았으며, 감잎 에탄올 추출물의 경우 항산화 비타민인 β -carotene과 비타민 E의 함량이 가장 높았다. 이로써 과산화지질 생성 억제는 효소적인 방법 뿐 아니라 flavonoids와 항산화 비타민에 의한 비효소적인 방법도 작용한 것으로 사료된다.

간의 과산화지질은 모든 다류 식이군에서 대조군 보다 낮았다. 간내 항산화 효소들을 살펴보면 SOD활성은 녹차 에탄올 추출물을 제외하고는 대조군 보다 증가하거나 증가하는 경향을 보였으며 특히 녹차 건분군이 가장 높았다. Catalase활성은 모든 실험군 간에 유의적인 차이는 없었으나 다류 식이군들이 대조군보다 다소 증가하는 경향을 보였다. GSH-px활성은 녹차 건분군이 유의적으로 증가하였으며 다음으로 녹차 에탄올추출물과 감잎 물추출물이 증가하는 경향을 보였으나 나머지 군들은 대조군과 차이가 없었다.

이와같이 간의 SOD와 GSH-px 활성이 가장 높았던 녹차 건분군의 간내 과산화지질 함량과 다른 다류 식이군의 과산화지질 함량간에 차이가 없었던 것으로 보아 과산화지질 생성은 효소적 방법에 의하여 전적으로 감소되었다고 할 수 없으며 비효소적인 방법도 작용했다고 생각되는데 녹차 건분은 다류시료 중 총 flavonoids의 함량이 가장 높았다. 김 등⁴²의 선행연구와 마찬가지로 적혈구와 간의 항산화 효소 중 catalase 활성은 식이에 의하여 예민하게 변화되지 않는 것으로 보이며 식이에 의한 영향은 SOD와 GSH-px 활성에 더 큰 것으로 생각된다.

본 연구에서와 같이 다른 연구자들에 의하여도 다류와 그 추출물의 항산화 효과가 보고된바 있는데 이들 보고에서도 항산화 효과는 항산화 효소활성 증진이나 비효소적 방법 각각의 단독 효과로는 생각되지 않으며 다류 중 항산화 물질의 종류와 양, 체조직 등에 따라 다른 것으로 보인다. 정⁶¹ 등의 연구에서는 녹차의 물 추출물 투여로 혈장의 SOD, GSH-px활성이 유의적은 아니나 대조군 보다 높게 나타났으며, catechin, tannic acid 등의 flavonoids에 의한 과산화지질 생성 억제효과도 Yugarani⁵²에 의하여 발표되었다. 또한 한국산 녹차 및 우롱차, 홍차 중 catechin의 함량이 가장 높은 녹차의 열수 추출물이 카드뮴 중금속으로 인해 저하된 간의 SOD, GSH-px 활성을 유의적으로 증가시키고 과산화 지질 생성을 저하시켰다⁶²는 보고도 발표되었다.

이러한 항산화능은 실험동물의 나이에 따라 변화되는 것으로 보이는데 이는 12개월 된 흰쥐를 사용한 본 실험 대조군의 과산화지질 함량이 혈장과 간에서 각각 70.76 ± 6.11 nmol/100ml plasma, 7.98 ± 0.58 nmol/g wet liver로 생후 4주된 흰쥐를 사용한 김 등⁴²의 선행 연구에서 혈장과 간의 과산화지질 함량 30.79 ± 4.33 nmol/100ml plasma, 4.81 ± 0.58 nmol/g wet liver 보다 높았다. 정⁶³ 등의 연구 결과에서도 12개월령의 나이든 쥐가 8주령의 어린 쥐에 비해 조직내 과산화지질 함량이 높았다. 이와 같이 체내 과산화지질 함량은 노화 과정 중에 증가하는 것으로 보인다.

이상과 같이 본 연구에서 항산화능은 모든 다류 식이의 섭취에 의하여 대조군 보다 증진되었는데 이는 효소적 기전과 비효소적 기전에 의한 것으로 보이며, 항산화 물질의 종류와 양, 체조직 부위에 따라 그 기전이 다른 것으로 보인다. 혈장 과산화지질 함량을 가장 낮게 억제시킨 녹차 건분과 감잎 에탄올 추출물 중 녹차 건분은 flavonoids의 함량이 가장 높았는데 효소 활성 증진보다는 비효소적 기전에 의한 것으로 보이며, β -carotene과 비타민 E의 함량이 가장 높았던 감잎 에탄올 추출물은 SOD와 GSH-px 활성 증진 효과가 컸다. 간 내 과산화지질 함량은 모든 다류 식이군

에서 낮았는데 특히 flavonoid의 함량이 가장 높은 녹차 건분의 SOD와 GSH-px활성 증진효과가 가장 컸다.

요약 및 결론

본 연구에서는 우리나라 전통차 중에서 감잎차와 녹차의 건분과 물 및 에탄올 추출물이 성장이 멈춘 12개월 된 흰쥐에서의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 먼저 이들 다류 시료 중 총 flavonoids와 항산화 비타민인 β -carotene, 비타민 C, 비타민 E를 측정하였으며, 총 dietary fibers의 함량도 측정하였다. 지방대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 혈장과 간, 변의 총지방, 중성지방 및 콜레스테롤 농도를 분석하였고, 항산화능을 알아보기 위하여 혈장과 간의 TBARS 함량과 적혈구와 간의 SOD, catalase, GSH-px의 활성을 측정하였다.

건조분말 형태의 각 다류시료 중 식이섬유와 flavonoids, β -carotene, 비타민 C, 비타민 E 함량을 보면 녹차 건분군은 총 flavonoids, 수용성 식이섬유 함량이 가장 높았고, 감잎 에탄올 추출물군은 β -carotene, 비타민 E 함량이 가장 높았다.

식이섭취량은 대조군에 비해 모든 실험군이 높은 경향이었으나 체중 증가량과 식이효율은 실험군 간에 유의적 차이가 없었다. 따라서 본 실험에서 사용한 12개월 된 흰쥐는 성장이 끝난 실험 동물임을 확인할 수 있었다.

지방대사에서는 혈장의 중성지방은 다류의 건분과 에탄올 및 물 추출물의 섭취로 대조군 보다 낮아지는 경향을 보였고 특히 녹차 건분군과 감잎 에탄올 추출군이 가장 낮았으며, 간에서의 중성지방은 모든 다류식이군이 대조군보다 낮았으며 이들 다류 식이 간에 유의적 차이가 없었다. 변으로의 중성지방 배설은 모든 다류 식이군에서 증가하였으나 그중 감잎 건분이 가장 높았다. 혈장 콜레스테롤 수준은 모든 실험군 간에 유의적 차이가 없었으나, 녹차 건분, 녹차 에탄올, 감잎 물추출군이 낮은 경향을 보였으며, 간의 콜레스테롤 수준은 모든 다류 식이군이 대조군보다 낮았는데 다류 식이군 간에는 유의적 차이가 없었다. 변으로의 콜레스테롤 배설량은 모든 다류 식이군이 대조군 보다 높았으나 그 중 감잎 건분과 녹차 건분군 및 감잎 에탄올추출군과 녹차 에탄올추출군이 더 높았다. 따라서 녹차와 감잎의 건분과 에탄올 및 물 추출물 시료는 혈장과 간 내 중성지방과 콜레스테롤 수준을 저하시키는 효과가 있었는데 그 중 총 flavonoids 함량과 수용성 식이섬유 함량이 가장 높은 녹차 건분의 지방 저하 효과가 가장 컸다. 그러나 녹차 건분군의 변중 중성지방과 콜레스테롤 배설량은 이들 지방의 배설량

이 가장 높았던 감잎 건분군 보다 낮아 녹차 건분의 지방 저하효과가 가장 컸던 것이 전적으로 변으로의 배설량에 기인한다고는 할 수 없겠다.

혈장의 TBARS 수준은 모든 실험군이 대조군보다 낮은 경향을 보였으며, 특히 녹차건분군과 감잎 에탄올추출군이 대조군보다 유의적으로 낮았다. 간의 TBARS의 수준은 모든 실험 식이군에서 대조군보다 낮은 경향을 보였다. 적혈구의 SOD활성은 감잎 에탄올추출군과 녹차 물추출군에서 증가되었고, catalase활성은 모든 실험군 간에 유의적 차이가 없었으며, GSH-px활성은 감잎 에탄올추출군, 감잎 물추출군, 녹차 건분에서 증가되었다. 간의 SOD활성은 녹차 에탄올추출군을 제외하고는 모든 다류 식이군에서 증가하였으며, catalase 활성은 모든 실험군 간에 차이가 없었고, GSH-px 활성은 녹차 건분군이 유의적으로 증가하였다. 혈장과 간에서 SOD와 GSH-px 활성은 식이에 의하여 변화되었으나 catalase 활성은 변화가 없었다.

혈장 과산화지질 함량을 가장 낮게 억제시킨 녹차 건분과 감잎 에탄올 추출물 중 녹차 건분은 flavonoids의 함량이 가장 높았는데 효소 활성 증진보다는 비효소적 기전에 의한 것으로 보이며, β -carotene과 비타민 E의 함량이 가장 높았던 감잎 에탄올 추출물은 SOD와 GSH-px 활성 증진 효과가 컸다. 간내 과산화지질은 모든 다류 식이군에 낮았는데 특히 flavonoid의 함량이 가장 높은 녹차 건분의 SOD와 GSH-px활성 증진효과가 가장 컸다.

이와 같이 본 연구에서 항산화능은 모든 다류 식이의 섭취에 의하여 대조군 보다 증진되었는데 이는 효소적 기전과 비효소적 기전에 의한 것으로 보이며, 항산화 물질의 종류와 양, 체조직 부위에 따라 그 기전이 다른 것으로 보인다.

따라서 녹차와 감잎차의 건분과 에탄올 및 물 추출물은 12개월령의 흰쥐에서 체내 지방 저하 효과와 항산화능 증진 효과가 있었는데 그 중 flavonoids와 수용성 식이 함량이 가장 높은 녹차 건분은 혈장의 중성지방과 콜레스테롤의 저하효과와 아울러 혈장의 과산화지질 함량 저하 및 간의 SOD와 GSH-px 활성 증진효과가 가장 컸다.

Literature cited

- 1) Kwon TW, Kang SK. Development of food industry and our eating style. Korean Dietary Culture Association Autumn Symposium, 1993
- 2) Lee HS. Dietary fiber intake of Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25(2): 540-548, 1997
- 3) The Expectancy of Future Population. National Statistical Office, Republic of Korea, 1996
- 4) Barry H. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 344: 721-724, 1994

- 5) Niki E, Yamamoto Y, Komura E, Sato K. Membrane damage due to lipid oxidation. *Am J Clin Nutr* 53: 201, 1991
- 6) Oh SY. Functionality of Tea. *Public Nutrition* 98-3: 15-22, 1998
- 7) Chang HK. Tea and Health. *Public Nutrition* 93-4: 18-21, 1993
- 8) Cook NC, Samman S. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutr Biochem* 7: 66-76, 1996
- 9) Willian FH, Emil BM, Fohn HN, Ronald SP. Electrochemistry of flavonoids: Relationships between redox potentials, inhibition of mitochondrial respiration, and production of oxygen radicals by flavonoids. *Biochem Pharmacol* 37: 2607-2611, 1988
- 10) Lam LK, Zhang J, Hasegawa S. Citrus limonoid reduction of chemically induced tumorigenesis. *Food Technol* 48: 104, 1994
- 11) Middleton EJ, Kandaswami C. Potential health promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technol* 48: 115, 1994
- 12) Bravo L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutr Reviews* 56(11): 317-333, 1998
- 13) Chung BS and Shin MK. The great dictionary of traditional and crude medicine. YoungLim Press, 1990
- 14) Park YG. Flavonoids of Fruits. *Bulletin of Food Technology* 8(2): 76-91, 1995
- 15) Robak J and Gryglewski RJ. Flavonoids are Scavengers of Superoxide Anions. *Biochemical Pharmacology* 37(5): 837-841, 1988
- 16) Husain SR, Cillard J and Cillard P. Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Flavonoids. *Phytochemistry* 26(9): 2489-2491, 1987
- 17) Torel J, Cillard J and Cillard P. Antioxidant Activity of Flavonoids and Reactivity with Peroxyl Radical. *Phytochemistry* 25(2): 383-385, 1986
- 18) Haenen GR, Paquay JB, Korthouwer RE, Bast A. Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 236(3): 591-3, 1997
- 19) Chung HY and Takako Y. Studies on Antioxidative and Antimutagenic Mechanism of Epicatechin 3-O-gallate Isolated from Green Tea. The 3rd International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea, 1995
- 20) Morel I, Lescoat G, Cogrel P, Sergent O, Padeloup N, Brissot P, Cillard P and Cillard J. Antioxidant and Iron-chelating Activities of the Flavonoids Catechin, Quercetin and Diosmetin on Iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem Pharmacol* 45: 13-19, 1993
- 21) Ishikawa T, Suzukawa M, Ito T, Yoshida H, Ayaori M, Nishiwaki M, Yonemura A, Hera Y, Nakamura H. Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Am J Clin Nutr* 66(2): 261-266, 1997
- 22) Shin DH. The research and prospect of natural antioxidants. *Bulletin of Food Technology* 8(2): 28-33, 1995
- 23) Kim YJ. The protect the living organ from free radicals and the failure of protection: age-related disease. *Bulletin of Food Technology* 10(2): 4-26, 1997
- 24) Charleux JL. Beta-Carotene, Vitamin C, and Vitamin E: The Prospective Micronutrients. *Nutrition Reviews* 54(11): S109-S114, 1996
- 25) Buring JE and Hennekens CH. Antioxidant Vitamins and Cardiovascular Disease. *Nutrition Reviews* 55(1): S53-S60, 1997
- 26) Vahouny GV, Khalafi R, Satchithandam S, Watkins DW, Story JA, Cassidy MM and Kritchevsky D. Dietary Fiber Supplementation and Fecal Bile Acids, Neutral Steroids and Divalent Cations in Rats. *J Nutr* 117: 2009-2015, 1987
- 27) Torsdottir I, Alpsten M, Holm G, Sandberg A-S and Tili J. A Small Dose of Soluble Alginate-Fiber Affects Postprandial Glycemia and Gastric Emptying in Humans with Diabetes. *J Nutr* 121: 795-799, 1991
- 28) Kang YH, Park YK, Ha TY and Moon KD. Effects of Pine Needle Extracts on Serum and Liver Lipid Contents in Rats Fed High Fat Diet. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3): 367-373, 1996
- 29) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipid based on the sulfuric-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Nutr* 53: 89, 1970
- 30) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917, 1959
- 31) Yagi K. Assay for Blood Plasma or Serum. *Methods in Enzymology* Academic Press Inc. NY Vol. 105: 328-331, 1984
- 32) Buckingham KW. Effect of Dietary Polysaturated/Saturated Fatty Acid Ratio and Dietary Vitamin E on Lipid Peroxidation in the Rat. *J Nutr* 115: 1425-1435, 1985
- 33) Floh L, Becker R, Brigelius R, Lengfelder E and tting F. Convenient Assays for Superoxide Dismutase. *CRC Handbook of free Radicals and Antioxidants in Biomedicine* 287-293, 1992
- 34) Johnsson LH, Hkan Borg LA. A Spectrophotometric Method for Determination of Catalase Activity in Small Tissue Samples. *Analytical Biochemistry* 174: 331-336, 1988
- 35) Floh L. Determination of Glutathione Peroxidase. *CRC Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine*, pp.281-286, 1992
- 36) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
- 37) The Industrial Dictionary of Foods. Department of health and welfare. Republic of Korea, 1997
- 38) Nilis HJCF. Isocratic nonaqueous reversed-phase liquid chromatography of carotenoids. *Anal Chem* 55: 270-275, 1983
- 39) The Guide to Hygienic Experimental Method. Japan Drug Association. Kumwon Press, Japan, 1995
- 40) Official methods of analysis. 16th Ed. AOAC international USA, 1995
- 41) Lee SC, Prosky L, DeVries JW. Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber in food-enzymatic gravimetric method. MES-TRIS buffer: Collaborative study. *J Assoc off Anal Chem* 75: 395-416, 1992
- 42) Kim ES, Kim MK. Effect of Dried leaf Powders and Ethanol Extracts of Persimmon, Green Tea and pine Needle Lipid metabolism and Antioxidative Capacity in Rats. *Korean J Nutrition* 32(4): 337-352, 1999
- 43) Vahouny GV, Khalafi R, Satchithandam S, Watkins DW, Story JA, Cassidy MM and Kritchevsky D. Dietary Fiber Supplementation and Fecal Bile Acids, Neutral Steroids and Divalent Cations in Rats. *J Nutr* 117: 2009-2015, 1987
- 44) Torsdottir I, Alpsten M, Holm G, Sandberg A-S and Tili J. A Small Dose of Soluble Alginate-Fiber Affects Postprandial Glycemia and Gastric Emptying in Humans with Diabetes. *J Nutr* 121: 795-799, 1991
- 45) Yang JL, Suh MJ and Song YS. Effects of Dietary Fiber on Cholesterol Metabolism in Cholesterol-Fed Rats. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3): 392-398, 1996
- 46) Hilman L, Peters S, Fisher AM, Promare EW. Different effects of pectin, cellulose and lignin in stool pH, transit time and weight. *Br J Nutr* 50: 189-195, 1993
- 47) Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 32: 613-622, 1986
- 48) Yugarani T, Tan BK, Teh M, Das NP. Effects of polyphenolic natural products in the lipid profiles of rats fed high fat diets. *Lipids* 27(3): 181-6, 1992 Mar
- 49) Kwon MN, Choi JS and Byun DS. Effect of Flavonoid(+)-Catechin as Stabilizer in Rat Fed Fresh and Peroxidized Fish Oil. *J Korean Soc Food Nutr* 22(4): 381-391, 1993
- 50) Chen W-JL, Anderson JW and Fennings D. Propionate May Mediate the Hypocholesterolemic Effect of Certain Soluble Plant Fibers in Cholesterol-Fed Rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 175: 215-218, 1984
- 51) Arjmandi BH, Ahn J, Nathani S and Reeves RD. Dietary Soluble Fiber and Cholesterol Affect Serum Cholesterol Concentration, Hepatic Portal Venous Short-Chain Fatty Acid Concentrations and Fecal Sterol Excretion in Rats. *J Nutr* 122: 246-253, 1992
- 52) Yugarani T, Tan BK, Das NP. The effects of tannic acid in serum lipid parameters and tissue lipid peroxides in the spontaneously hypertensive and Wistar kyoto rats. *Plant Medica* 59(1): 28-31, 1993 Feb

- 53) Kim HJ, Bae KH, Lee HJ, Eun JB, Kim MK. Effect of Hesperidin Extracted from Tangerine Peel on Cd and Lipid Metabolism, and Antioxidative Capacity in Rats. *Korean J Nutr* 32(2): 137-149, 1999
- 54) Han DS, Kim SJ. The SOD-like activity and development of functional food. *Bulletin of Food Technology* 7(4): 41-49, 1994
- 55) Yeo SG, Park YB, Kim IS, Kim SB and Park YH. Inhibition of Xanthine Oxidase by Tea Extracts from Green Tea, Oolong Tea and Black Tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24(1): 154-159, 1995
- 56) Charleux JL. β -carotene, vitamin C, and vitamin E: The prospective micronutrients. *Nutr Review* 54(11): s109-s114, 1996
- 57) Ekhard EZ, Filler LJ. present knowledge in Nutrition 7th Edition. ILSI Press p.149-150, 1996
- 58) Ekhard EZ, Foller LJ. present knowledge in nutrition 7th Edition. ILSI Press, p.132, 1996
- 59) Viana M, Barbas C, Bonet B, Bonet MV, Castro M, Fraile MV, Herrera E. In vitro effects of a flavonoid-rich extract on LDL oxidation. *Atherosclerosis* 123: 83-91, 1996
- 60) Mabile L, Negre-Salvayre A, Delchambre J, Salvayre R. Alpha-tocopherol, ascorbic acid, and rutin inhibit synergistically the copper-promoted LDL oxidation and the cytotoxicity of oxidized LDL to cultured endothelial cells. *Biological Trace Element Research* 47(1-3): 81-91, 1995
- 61) Chung CH and Yoo YS. Effects of Aqueous Green Tea Extracts with α -Tocopherol and Lecithin on the Lipid Metabolism in Serum and Liver of Rats. *Korean J Nutrition* 28(1): 15-22, 1995
- 62) Rhi JW, Shin HS. Antioxidant Effect of Aqueous Extract Obtained from Green Tea *Korean J Food* 25(6): 759-763, 1999
- 63) Chung MJ. Effect of n-3 fatty acids and dietary protein level on lipid metabolism and renal function in rats of different ages. Thesis for master's degree, Ewha Womans University 1998