

고지방 식이로 유도된 비만흰쥐의 체내 지질패턴 및 항산화효소 활성에 도토리 급여의 효과

강명화* · 이지현* · 이정숙** · 김주현** · 정혜경*[§]

호서대학교 자연과학부 식품영양전공, * 한국식품영양재단**

Effects of Acorn Supplementation on Lipid Profiles and Antioxidant Enzyme Activities in High Fat Diet-Induced Obese Rats

Kang, Myung-Hwa* · Lee, Ji-Hyun* · Lee, Jung-Suk** · Kim, Ju-Hyeon** · Chung, Hae-Kyung*[§]

Department of Food and Nutrition, * College of Natural Science, Hoseo University, Asan 336-795, Korea
Korea Food and Nutrition Foundation, ** Seoul 121-020, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of acorn supplementation on the lipid profile and redox antioxidant enzyme activities in obese rat. Obesity in the rats was induced by feeding diet contained 10% lard and 0.5% cholesterol for 4 week. After 4 weeks, rats were divided into the following 5 groups; high fat diet (Control), high fat diet plus 10% Acorn powder (AP10%), high fat diet plus 20% Acorn powder (AP20%), high fat diet plus 0.2% Acorn extract (AE0.2%), high fat diet plus 0.5% Acorn extract (AE0.5%). Total food intake and food efficiency ratio (FER) was not significantly different by acorn powder and extract supplementation. But, body weight was decreased by 20% acorn powder. Acorn powder and extract supplementation for 4 weeks tend to decrease total cholesterol and triglyceride level on the serum and hepatic tissue. There was no significant difference in hepatic glutathione (GSH) content among all the groups. The hepatic GST activity in acorn supplemented groups was lower than that of control. Glutathione peroxidase and catalase activities were higher in acorn supplemented groups than that of control. Hepatic TBARS levels of experimental groups were also significantly lower than that of control group. Our finding suggest that acorn powders and extract might have potential role for improving lipid profiles and antioxidant enzyme activities in obese rats. (*Korean J Nutrition* 37(3) : 169~175, 2004)

KEY WORDS : acorn, glutathione, glutathione-S-transferase, catalase, glutathione peroxidase, obese rats.

서론

2001년 통계청 자료에 의하면, 사망자 사망원인의 순위는 암, 뇌혈관, 심장, 당뇨 및 간질환순으로 나타났다.¹⁾ 특히 심혈관계 질환, 뇌혈관질환, 동맥경화증, 혈전증과 같은 순환기계 질환이 주요사망 원인으로 손꼽히고 있으며 순환기계 질환으로 인한 사망자 중 42%가 비만인 것으로 보고되어 비만은 성인병 발생에 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 비만은 에너지 섭취량과 에너지 소모량의 차이로 인한 불균형으로 고지방식이가 주요 원인 중의 하나이다.²⁾

지방은 에너지 밀도가 높아 g당 9 kcal를 제공하는 고에

너지원으로 필수지방산, 지용성비타민의 흡수에 필요하나 과잉섭취 시 장 내 식이성 cholesterol과 82%의 triglyceride로 구성된 다량의 chylomicron이 합성되어 지방 저장조직으로 수송되어 일차적으로 triglyceride형태로 조직에 저장되어 체내지방 함량을 과도하게 축적시켜 비만을 유발시킨다.³⁻⁵⁾ 뿐만 아니라 혈중 콜레스테롤 운반 단백질인 지단백질의 조성 변화로는 HDL-cholesterol 농도를 저하시키고, LDL 농도 증가는 혈액과 조직의 지질성분에 변화를 일으켜 질병의 이환율을 높이는 것으로 보고된 바 있어 지질대사 개선능을 갖는 활성성분에 대한 연구들이 점차적으로 증가되고 있다.^{3,6,7)}

생체 각 조직 내에서 자연발생적으로 생성되거나 여러 환경오염이나 화학물질의 노출 등에 의해 쉽게 생성되는 superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$)과 hydroxy radical (OH^{\cdot})과 같은 free radical을 비롯한 각종 reactive oxygen species (ROS)에 의해 지질 과산화가 일어난다. 이 과정에서

접수일 : 2003년 11월 19일

채택일 : 2004년 2월 23일

[§]To whom correspondence should be addressed.

생성된 과산화 물질에 의하여 생체 내 단백질 또는 아미노산과 반응하여 기능을 파괴시키거나 다른 물질들과 결합하여 여러 조직에서 세포막의 변화를 일으킬 뿐만 아니라 효소활성의 감소와 DNA 손상을 일으켜 노화, 뇌혈관 질환, 암, 심혈관계 질환 등과 같은 만성질환들의 발생과 관련있다고 밝혀진 바 있다.⁸⁻¹⁰⁾ 인체는 각종 이 물질로부터 보호하기 위한 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase, glutathione-S-transferase (GST) 등의 항산화효소가 작용하기도 하고 항산화능이 높은 식품을 섭취하여 생체를 보호하기도 한다.

도토리는 우리나라 전국 산야에서 생산되는 참나무속 (Genus Querus) 열매로 약 70% 정도 전분으로 구성되어 있고, 다른 전분질 식품과는 달리 강한 수렴작용이 있고 짙은 맛과 쓴맛을 나타내는 탄닌을 6~9% 함유한다.^{11,12)} 탄닌은 밤, 감, 녹차 및 각종 한약재에 함유되어 있는 polyphenol 화합물로 일반적으로 가수분해형 탄닌 (hydrolyzable) 과 축합형 탄닌 (condensed tannin) 으로 구별되나¹³⁾ 주로 도토리의 짙은 맛과 갈변 현상은 가수분해형 탄닌에서 기인한 것이다. Yugarani¹⁴⁾는 탄닌이 흰쥐의 체내 중성지방 대사 및 합성에 관여하고, Wursch¹⁵⁾는 흰쥐의 콜레스테롤 대사와 담즙산과의 결합에 미치는 영향을 보고 한 바 있다. 또한 Lee 등¹⁶⁾은 도토리와 밤의 이화학적 특성연구를, Lee 등¹⁷⁾은 gallic acid의 식용유지에 대한 천연항산화제로서의 이용 가치, Sung 등¹⁰⁾은 도토리추출물이 체내 지질대사와 항산화효소에 미치는 영향 등 도토리의 탄닌성분과 gallic acid, digallic acid, gallotannin 등의 항산화성분이 미치는 영향에 대한 많은 연구가 보고 되고 있으나 도토리의 비만에 대한 생체 내 지질대사 및 항산화효소 활성 효과의 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 도토리가루와 물 추출물이 고지방 식이로 유도된 비만 흰쥐의 체내 지질대사와 항산화효소 활성에 미치는 영향을 연구하였다.

재료 및 방법

1. 도토리 가루 및 추출물 제조

일정한 크기로 분쇄한 도토리 100 g에 20배의 물을 넣고 100 rpm으로 온도 55℃의 항온수조에서 2.5시간 진탕 추출 하였다. 추출 후 여과 한 후 약 11 brix° 로 농축하여 추출물을 제조한 후 동결 건조하여 시료로 사용하였다.

2. 실험동물 사육 및 식이

SD종 수컷 30마리를 실내온도 20 ± 5℃, 습도 55~60%,

12 hr light-dark cycle의 조건에서 표준식이와 물을 충분히 공급하면서 환경에 적응시킨 후 일반식이에 Lard 10% 와 Cholesterol 0.5%를 첨가하여 조제한 고지방 식이를 4 주 간 급여하면서 비만을 유도하였다. 비만 유도기간 후 난괴법에 의해 고지방식이 (Control), 고지방식이에 10% 도토리가루 급여 (AP10%), 고지방식이에 20% 도토리가루 급여 (AP20%), 고지방식이에 0.2% 도토리 추출물 급여 (AE0.2%), 고지방식이에 0.5% 도토리 추출물 급여 (AE 0.5%) 군으로 나누어 4주간 사육하였고, 식이조성은 Table 1 과 같다. 물과 사료는 자유급식 시켰고 일주일에 한번 같은 시간에 체중을 측정하였으며, 식이섭취량은 하루에 한번 측정하였다. 식이 효율 (food efficiency ratio: FER)은 사육 기간동안의 체중증가량을 같은 기간동안 섭취한 식이량으로 나누어 산출하였다.

식이 효율 (FER, %) =

$$\frac{\text{총실험기간의 체중증가량 (g)}}{\text{총실험기간의 식이섭취량 (g)}} \times 100$$

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

Ingredient	Groups ¹⁾				
	Control	AP10%	AP20%	AE0.2%	AE0.5%
Corn starch	343.75	243.75	143.75	341.75	338.75
Sucrose	150	150	150	150	150
Cellulose	50	50	50	50	50
Casein	200	200	200	200	200
Corn oil	100	100	100	100	100
Lard	100	100	100	100	100
Cholesterol	5	5	5	5	5
Mineral mix ²⁾	35	35	35	35	35
Vitamin mix ³⁾	10	10	10	10	10
DL-methionine	3	3	3	3	3
Choline chloride	2	2	2	2	2
Taurocholic acid	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
Acorn powder	-	100	200	-	-
Acorn extract	-	-	-	2	5

1) Control: High fat diet, AP10%: High fat diet plus Acorn powder 10%, AP20%: High fat diet plus Acorn powder 20%, AE0.2%: High fat diet plus Acorn extract 0.2%, AE0.5%: High fat diet plus Acorn extract 0.5%

2) Mineral mixture (g/kg min. mix) according to AIN-76: Calcium phosphate, dibasic 500.0, zinc carbonate 1.6, sodium chloride 74.0, cupric carbonate 0.3, potassium citrate monohydrate 220.0, potassium iodate 0.01, potassium sulfate 52.0, sodium selenite 0.01, manganese carbonate 3.5, chromium potassium sulfate 0.55, magnesium oxide 24.0, ferric citrate 6.0, powdered to make 1000.0 g

3) Vitamin mixture (g/kg vit. mix.) according to AIN-76: Thiamine-HCl 0.6, biotin 0.02, riboflavin 0.6, cyanocobalamin 0.001, pyridoxine-HCl 0.7, retinyl acetate 0.8, nicotinic acid 3.0, DL-α-tocopherol 3.8, Ca-pantothenate 1.6, 7-dehydro-cholesterol 0.0025, folic acid 0.2, menadione 0.005, powdered to make 1000.0 g

3. 시료수집 및 분석

1) 시료수집

각 군들은 희생 12시간 전부터 절식시키고, ethyl ether 로 마취시킨 후 복부를 절개하여 간정맥에서 주사기를 이용하여 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 냉장온도에서 24시간 방치 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며 적출한 간과 신장은 냉 생리식염수에 씻은 후 연결조직을 제거하여 중량을 측정하였고 분석직전까지 -80℃의 냉동고에 보관하였다. 적출한 간 조직은 0.1 mM phosphate buffer (pH 7.4)를 1 : 9 비율로 가하여 마쇄 균질화하였으며 혈청과 간균질액은 -70℃ deep freezer에 보관하면서 각종 생화학 분석실험에 사용하였다.

2) 생화학적 분석

혈청 내 total cholesterol (TC), triglyceride (TG) 그리고 HDL-콜레스테롤 (HDL-C) 농도는 ADVIA 1650 (Jeol, Japan)를 이용하여, phospholipid (PL)은 Cobas Mira Plus (Roche, Switzerland)에 의해 측정하였다. LDL-콜레스테롤 (LDL-C)은 Friedwald법¹⁹⁾ [LDL-콜레스테롤 = 총콜레스테롤 - (HDL-콜레스테롤 + 중성지방/5)]에 의해 계산하였다.

3) 간조직 내 지방함량 측정

간조직 내 Total lipid 함량은 deep freezer에 보관하여 놓은 간 조직을 이용하여 Yoon 등²⁰⁾의 방법으로 추출하였고, 추출한 지질을 이용하여 총 콜레스테롤함량은 Zak법²¹⁾으로, 중성지방은 Yoon 등²⁰⁾의 방법으로 측정하였다.

4) 항산화효소활성 측정

간조직에 0.1 mM PBS를 가하여 homogenizer로 균질화한 후, 3500 rpm에서 30분 간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 이 상등액을 가지고 Simons와 Johnson의 방법²²⁾에 따라 glutathione 함량 (GSH)을 측정하고, Johansson과 Borg 법²³⁾에 의해 catalase 활성을 측정하였으며, Flohe²⁴⁾의 방법을 이용하여 glutathione peroxidase 활성을 측정하였다. GST (glutathione-S-transferase)활성은 원액의 간균질액을 사용하여 Habig 등²⁵⁾의 방법에 의해 측정하였다.

5) 지질과산화도 측정

지질과산화물 함량의 측정은 Buege와 Aust²⁶⁾의 방법에 따라 thiobarbituric acid (TBA)법을 사용하여, 간조직 내 malondialdehyde (MDA)함량으로 정량화하였다. 표준 시약으로 1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane을 사용하여 1 mg protein의 양에 따라 생성된 TBARS 값으로 나타내었다.

4. 통계처리

실험결과는 SAS program을 이용하여 각 실험군 마다 평균과 표준편차를 계산하였고, 각 실험군간의 비교는 GLM으로 분석한 후, 유의적인 차이는 $\alpha = 0.05$ 에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 체중증가량, 식이섭취량 및 장기무게

실험동물의 체중변화는 Fig. 1과 같다. 고지방식이에 20%

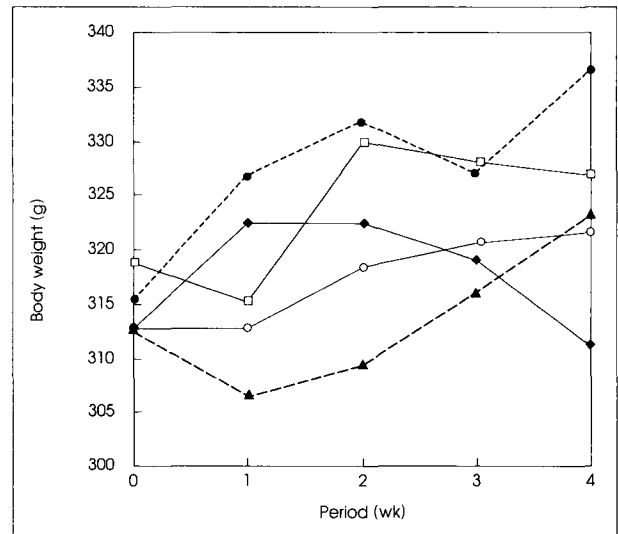


Fig. 1. Body weight changes during the experimental periods (□: Control (High fat diet), ○: AP10% (High fat diet plus Acorn powder 10%), ◆: AP20% (High fat diet plus Acorn powder 20%), ▲: AE0.2% (High fat diet plus Acorn extract 0.2%), ●: AE0.5% (High fat diet plus Acorn extract 0.5%).

Table 2. Effects of acorn powder and acorn extract supplementation on body weight gain, total food intake and FER in obese rats

Groups ¹⁾	Body weight gain (g/4 week)	Total food intake (g/4 week)	FER ²⁾ (%)
Control	8.0 ± 35.21 ³⁾	366.3 ± 45.88	1.3 ± 10.85
AP10%	8.8 ± 22.13	385.9 ± 18.58	2.5 ± 5.87
AP20%	- 1.6 ± 14.66	372.3 ± 18.29	-0.4 ± 3.88
AE0.2%	10.6 ± 42.68	364.1 ± 39.92	2.1 ± 12.26
AE0.5%	21.4 ± 19.53	385.6 ± 9.86	5.5 ± 5.04
SF ⁴⁾	NS	NS	NS

1) Control: High fat diet, AP10%: High fat diet plus Acorn powder 10%, AP20%: High fat diet plus Acorn powder 20%, AE0.2%: High fat diet plus Acorn extract 0.2%, AE0.5%: High fat diet plus Acorn extract 0.5%

2) FER (%) = [Body weight increased during experimental period (g) / total food intake weight during experimental period (g)] × 100

3) Mean ± SD

4) NS: not significant

도토리가루 급여 (AP 20%) 군을 제외한 모든 군에서 실험 기간 동안 증가되는 것으로 관찰되었다. 체중증가량도 군들 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았으나, 비만을 유도한 후 20% 도토리가루를 급여 (AP 20%) 한 군에서 실험기간 2~4주 동안 꾸준한 체중 감소효과가 나타났다. 이 결과는 Sung 등^{10,18)}의 연구결과와 일치하며 또한 Mehansho 등²⁷⁾의 탄닌 투여 시 탄닌이 신체적응이 일어나기 전에 체중이 감소한다는 연구결과와 같이 본 연구에서도 신체적응을 위한 결과였다고 생각된다. 총 식이섭취량, 실험기간 동안 체중증가량 및 식이효율은 Table 2와 같다. 식이섭취량과 식이효율 (FER)은 각 군 간에 유의적인 차이는 없었지만, 20% 도토리가루를 급여한 군에서 체중 증가량이 -1.6 g으로 나타나 과량의 도토리가루 급여가 체중감소 효과를 나타낸 것으로 생각된다.

간과 신장의 상대적 중량은 Table 3과 같다. 간 중량은 대조군에서 무게가 증가하였는데, 이것은 고지방 섭취 시 간 무게가 증가한다는 Sung,¹⁸⁾ Wursch¹⁵⁾ 및 Park²⁸⁾의 보고와

일치되는 결과였으며 10% 도토리가루를 급여한 군의 간 무게가 대조군보다 유의적으로 감소된 것으로 보아 도토리가루가 간 조직 중 중성지방과 총지질 함량을 감소시킴으로써 간 무게를 감소시킨 것으로 생각되고, 신장의 중량도 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 도토리를 급여함으로써 감소하는 경향이였다.

2. 혈청 지질패턴의 영향

혈청 내 지질농도를 분석한 결과는 Table 4와 같다. 혈청 내 총지질 함량 측정 결과 모든 군에서 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 도토리 가루와 추출물 급여로 인해 총지질 함량을 낮추는 경향이였다. 이것은 고지방 급여로 인하여 증가된 지질함량을 도토리 추출물이 유의적으로 감소시켰다는 Sung 등¹⁸⁾의 결과와 밤과 도토리의 과육 및 과피 급여가 지질함량을 낮추었다는 Yook 등²⁹⁾의 보고와 유사하며 탄닌 투여 시 혈청 내 지질개선 효과를 나타낸 Choi 등³⁰⁾의 연구보고와 비교해 볼 때 도토리에 함유된 탄닌 또는 폴리페놀 등이 지질패턴에 영향을 미쳐 총지질 함량을 감소시킨 하나의 원인으로 생각된다. 차의 폴리페놀류를 포함한 식이가 체내 지질 대사를 개선시키는데 효과적이었다는 보고³¹⁾를 고려하여 볼 때 시료에 포함되어 있는 폴리페놀 함량에 의한 영향인 것으로 생각된다.

혈청 내 총 콜레스테롤과 중성지방 함량 또한 모든 군에서 유의적이진 않았지만 총지질과 유사한 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 도토리 추출물 급여시 혈중 콜레스테롤과 중성지방 함량을 낮추었다는 Sung 등¹⁸⁾의 연구결과와 탄닌이 혈중 중성지방 흡수 저해 및 간조직 중 중성지방 합성 저해로 인하여 체내 중성지방 함량이 감소한다는 Yugarani 등¹⁴⁾의 보고, 혈중과 간의 콜레스테롤 수준을 감소시켰다는 Wursch¹⁵⁾의 연구보고와 유사하였다. 본 연구결과 도토리가루보다 도토리 물 추출물의 효과가 다소 더 높은 것으로 나타나, 도토리가루와 물 추출물의 급여농도가 증가할수록 총

Table 3. Liver and kidney weight per 100 g body weight of experimental groups (g)

Groups ¹⁾	Liver weight/ 100 g B.W.	Kidney weight/ 100 g B.W.
Control	3.728 ± 0.470 ²⁾³⁾	0.690 ± 0.125
AP10%	2.961 ± 0.529 ^{b)}	0.680 ± 0.048
AP20%	3.630 ± 0.360 ^{ab)}	0.662 ± 0.032
AE0.2%	3.392 ± 0.616 ^{ab)}	0.648 ± 0.045
AE0.5%	3.476 ± 0.697 ^{ab)}	0.656 ± 0.052
SF ⁴⁾	*	NS

1) Control: High fat diet, AP10%: High fat diet plus Acorn powder 10%, AP20%: High fat diet plus Acorn powder 20%, AE0.2%: High fat diet plus Acorn extract 0.2%, AE0.5%: High fat diet plus Acorn extract 0.5%

2) Mean ± SD

3) Value within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

4) Significant factor (*: p < 0.05, NS: not significant)

Table 4. Total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, phospholipid and total lipid in serum

Groups ¹⁾	Total lipid (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	HDL-cholesterol (mg/dL)	LDL-cholesterol (mg/dL)	Phospholipid (mg/dL)
Control	209.33 ± 82.07 ²⁾	88.0 ± 43.97	48.33 ± 5.79	9.25 ± 1.89 ^{ab3)}	58.44 ± 30.41	73.0 ± 37.18 ^{a)}
AP10%	181.00 ± 75.45	91.8 ± 61.08	40.60 ± 8.11	8.00 ± 4.24 ^{ab)}	75.68 ± 59.65	48.6 ± 15.32 ^{ab)}
AP20%	169.40 ± 40.23	78.0 ± 21.31	38.20 ± 8.29	11.00 ± 4.06 ^{c)}	59.36 ± 17.73	53.2 ± 19.01 ^{ab)}
AE0.2%	142.40 ± 25.08	58.2 ± 12.22	41.40 ± 8.47	8.00 ± 2.83 ^{ab)}	41.92 ± 11.35	42.8 ± 10.59 ^{ab)}
AE0.5%	132.40 ± 14.45	53.4 ± 10.90	40.4 ± 10.29	6.20 ± 1.79 ^{b)}	39.12 ± 11.03	38.60 ± 7.37 ^{b)}
SF ⁴⁾	NS	NS	NS	*	NS	**

1) Control: High fat diet, AP10%: High fat diet plus Acorn powder 10%, AP20%: High fat diet plus Acorn powder 20%, AE0.2%: High fat diet plus Acorn extract 0.2%, AE0.5%: High fat diet plus Acorn extract 0.5%

2) Mean ± SD

3) Value within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

4) Significant factor (*: p < 0.05, **: p < 0.01, NS: not significant)

콜레스테롤 함량과 중성지방 함량이 저하되어 시료 함유수준에 의한 영향으로 나타났다. 혈청 내 HDL-cholesterol 함량은 AP 20% 급여군에서 유의적으로 높은 함량을 보인 반면 AE 0.5% 급여군에서 가장 낮았다. 총지질, 중성지방 및 총콜레스테롤 함량에서도 도토리 추출물군이 지질대사 개선에 영향을 미친 것으로 보였으나 동맥경화지수에 영향을 미치는 HDL-cholesterol은 도토리가루가 추출물보다 더 높은 결과를 나타내었다. LDL-cholesterol 함량은 모든 군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 도토리 추출물 급여군이 도토리가루 급여군보다 LDL-cholesterol 함량을 낮추는 경향이였다. 따라서 도토리 급여군이 대조군보다 혈청 지질수준을 낮추어주므로 도토리가 체내 지질대사를 개선시켜 체지방 함량을 낮추는데 효과적이었고 더 나아가 도토리 추출물이 도토리가루보다 지질대사를 개선시켜 심혈관계 질환 예방에 효과적일 것으로 생각된다.

3. 간 지질패턴의 효과

간 조직 내 지질패턴 분석 결과는 Table 5와 같다. 간조직 중 총지질, 중성지방 함량은 다량의 도토리 가루 급여가

대조군에 비해 낮은 것으로 나타났고 AP 20%군을 제외한 다른군들은 대조군과 유의적인 차이는 보이지 않았다. Sung 등¹⁰⁾은 간 조직 중 중성지방 함량이 총지방 함량 증가와 유사한 결과를 나타내는 것은 식이 지방으로부터 체내에 흡수된 중성지방 함량이 증가되어 간에 축적된 결과라고 보고하였는데 이는 본 실험의 결과에서도 뒷받침된다. 또한 도토리의 폴리페놀 성분인 탄닌이 담즙생성에 영향을 끼쳐 콜레스테롤과 중성지방을 배설시킴으로써 간 지질함량을 낮추는 것으로 생각된다.

4. 간조직의 항산화효소 활성에 미치는 영향

도토리가루와 추출물의 급여시 간조직 중 항산화 효소활성에 미치는 영향은 Table 6과 같다. 외부의 독성물질과 산화적 스트레스에 대한 항산화 효소 방어체계의 기질로써 작용하는 환원형 GSH 함량은 모든군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 도토리급여로 인하여 증가하는 경향을 보였고, GST활성은 AE 0.5% 군을 제외하고는 대조군보다 낮은 활성을 나타내었다. 즉, 대조군의 GST 활성의 감소는 Sung 등¹⁰⁾의 연구와 유사하며 도토리가루와 추출물의 성분

Table 5. Total lipid, total cholesterol and triglyceride in hepatic tissue

Groups ¹⁾	Liver		
	Total lipid (g/g liver tissue)	Total cholesterol (mg/g liver tissue)	Triglyceride (mg/g liver tissue)
Control	0.46 ± 0.06 ^{2)ab3)}	83.45 ± 1.73	9.88 ± 3.01 ^a
AP10%	0.46 ± 0.05 ^a	81.91 ± 4.50	9.76 ± 2.90 ^a
AP20%	0.25 ± 0.12 ^b	78.59 ± 4.49	6.78 ± 2.45 ^b
AE0.2%	0.41 ± 0.06 ^a	79.84 ± 2.84	9.61 ± 3.17 ^a
AE0.5%	0.40 ± 0.06 ^a	78.83 ± 5.06	9.54 ± 2.15 ^a
SF ⁴⁾	***	NS	***

1) Control: High fat diet, AP10%: High fat diet plus Acorn powder 10%, AP20%: High fat diet plus Acorn powder 20%, AE0.2%: High fat diet plus Acorn extract 0.2%, AE0.5%: High fat diet plus Acorn extract 0.5%
 2) Mean ± SD
 3) Value within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test
 4) Significant factor (***: p < 0.001, NS: not significant)

Table 6. Glutathione contents, glutathione-S-transferase activity, glutathione peroxidase activity and catalase activity in hepatic cytosol

Groups ¹⁾	Glutathione (μg/ml)	GST (mU/mg protein/min)	GSH-Px (nmol/NADPH oxidized/min)	CAT (mU/mg protein)
	Control	504.64 ± 48.91 ²⁾	75.18 ± 0.006 ^{ab3)}	1.39 ± 0.471 ^b
AP10%	546.52 ± 40.46	37.17 ± 0.005 ^b	2.01 ± 0.251 ^a	44.05 ± 11.68
AP20%	530.43 ± 64.68	34.30 ± 0.009 ^b	2.38 ± 0.378 ^a	54.75 ± 20.01
AE0.2%	497.83 ± 40.86	34.00 ± 0.007 ^b	2.22 ± 0.650 ^a	45.74 ± 14.55
AE0.5%	523.04 ± 11.75	75.68 ± 0.013 ^a	2.34 ± 0.558 ^a	40.08 ± 15.20
SF ⁴⁾	NS	****	***	NS

1) Control: High fat diet, AP10%: High fat diet plus Acorn powder 10%, AP20%: High fat diet plus Acorn powder 20%, AE0.2%: High fat diet plus Acorn extract 0.2%, AE0.5%: High fat diet plus Acorn extract 0.5%
 2) Mean ± SD
 3) Value within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test
 4) Significant factor (***: p < 0.001, ****: p < 0.0001, NS: not significant)

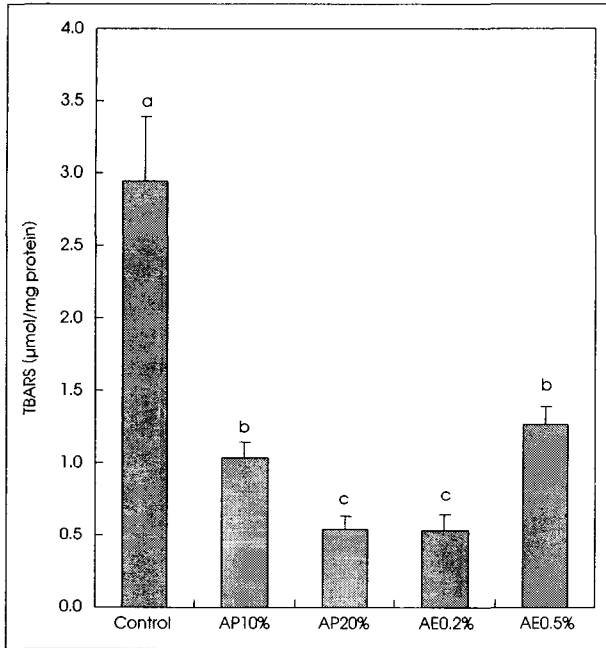


Fig. 2. Effect of Acorn powder and Acorn extract supplementation on hepatic lipid peroxidation. Each bar is the mean standard deviations for triplication experiment of five rats. Different alphabets in bar show statistically different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test (Control: High fat diet, AP10%: High fat diet plus Acorn powder 10%, AP20%: High fat diet plus Acorn powder 20%, AE0.2%: High fat diet plus Acorn extract 0.2%, AE0.5%: High fat diet plus Acorn extract 0.5%).

이 산화적 손상으로 발생한 지질과산화물과 GSH의 결합을 촉진시키는데 사용되어 낮아진 것으로 생각되며, 이는 간조직 내 지질과산화물 형성을 낮추는데 긍정적인 영향을 미친 것으로 생각된다. 반면, 도토리 급여시 GSH-Px활성은 대조군에 비하여 활성이 증가된 것으로 나타났다. 즉, 도토리가 산화된 glutathione (GSSG)을 환원형 glutathione (GSH)으로 전환시켜주며 산화적 스트레스로 생성된 H_2O_2 를 환원형 GSH와 결합시켜 무독화시킴으로써 조직세포의 산화적 손상으로부터 세포막을 보호한 것으로 보여진다. 또한 GSH-Px활성은 총지방섭취량에 영향을 받는다는 보고³²⁾를 고려하여 볼 때 대조군의 GSH-Px활성 감소는 고지방식이 급여로 인해 증가된 지질과 과산화물의 분해에 소모된 것으로 생각된다. 탄닌은 Fe를 환원시키는 항산화능이 있어 Fe에 의해 지질의 산화를 억제하며 생성된 O_2 를 소거하여 항산화 효과를 나타내는 경향이 있는 것으로 보고 되어 있고,³³⁾ gallic acid ester와 gallic acid가 과산화수소로 인한 세포손상에 대해 항산화제로서 효과^{34,35)}가 알려진 바 있다. Catalase는 H_2O_2 를 무독성의 H_2O 로 환원시키거나 methanol, ethanol, formic acid 및 phenol과 같은 hydrogen donor의 산화에 관여하는 효소로서 지방산화에 의해 생성된 유리기를 제거하는 것으로 알려져 있으나,²³⁾ 본 실험에서는 도토리 급

여가 과산화수소를 무독화 하는데 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다.

5. 조직 내 지질과산화도

간 조직 중 과산화지질 농도는 Fig. 2와 같다. 간 조직 중 지질과산화물 함량은 도토리가루와 도토리 추출물 급여군이 대조군보다 유의적으로 낮았고, 가루 급여수준에 의한 영향은 나타났으나 추출물 급여수준에 의한 영향은 나타나지 않았다. 본 실험결과, 도토리 급여로 인하여 지질과산화물 함량이 감소된 것은 gallic acid, digallic acid, propyl gallate 등의 폴리페놀 화학물들이 lipid peroxide 생성하는 H_2O_2 의 생성을 억제한 것으로 생각되며 Sung 등¹⁰⁾의 연구와 비슷한 결과를 나타내었다.

요약 및 결론

고지방식으로 유도된 비만 흰쥐의 체내 지질패턴 및 항산화 효소 활성에 도토리 가루와 추출물의 급여효과를 측정 한 결과는 다음과 같다. 체중은 AP 20% 급여군만이 실험기간 동안 꾸준한 감소효과를 나타내었고, 혈액 내 지질패턴에는 도토리 급여가 총지질 함량을 현저하게 낮추는 것으로 관찰되었다. 또한 AP 20%급여군에서 혈청 HDL-cholesterol 함량을 높였고, LDL-cholesterol 함량은 유의적인 차이는 없었으나 도토리 추출물급여군에서 감소하는 경향이 있었다. 간 조직 내 지질패턴은 도토리 급여시 총지질 함량을 낮추었고, AP 20% 급여시 중성지방 함량이 현저하게 저하되는 것으로 관찰되었으나 총콜레스테롤 함량은 각군간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 도토리 급여는 간조직의 항산화 효소인 glutathione peroxidase의 활성을 촉진시키고 GST 활성은 저하시켰으며 GSH 함량과 catalase활성에는 영향을 주지 않았다. 조직 내 지질과산화물 (malondialdehyde) 생성량은 도토리 급여시 유의적으로 감소되었는데 이는 도토리에 함유되어 있는 폴리페놀 성분인 탄닌의 항산화 작용으로 조직 내 과산화정도를 낮추는데 영향을 끼친 것으로 판단되었다.

이상의 결과, 도토리 가루와 추출물의 급여시 혈청과 간 조직 내 총지질 농도를 낮추고, 조직 내 지질과산화물 생성을 억제시켜 체내 지방대사 개선에 관여하는 것으로 나타났다.

Literature cited

- 1) Statistical Office. 2001 Yearbook of death cause statistics. Korea, 2001

- 2) Present knowledge in nutrition. 8th edition, p553, The Korean Nutrition Society, Seoul, 2002
- 3) Chae KS. Biochemistry for life science. JI-GU Publishing Co., 1998
- 4) Yoon SH, Joo CN. Study on the preventive effect of ginsenosides against hypercholesterolemia and its mechanism. *Kor J Ginseng Sci* 17(1) : 1-12, 1993
- 5) Chang YK. Clinical nutrition management a dietary treatment by disease, Hyo-il Publishing Co., 1996
- 6) Present knowledge in nutrition. 8th edition, pp561-565, The Korean Nutrition Society, Seoul, 2002
- 7) Park EM, Lee MK, Jang JY, Kim MJ, Cho SY. Effect of persimmon leaves (*Diospyros kaki folium*) extract on serum and liver lipid concentrations in hypercholesterolemic rats. *Kor Soc Food Sci Nutr* 29(3) : 537-542, 2000
- 8) Kim SK, Lee HJ, Kim MK. Effect of water and ethanol extracts of persimmon leaf and green tea different conditions on lipid metabolism and antioxidative capacity in 12-month-old rats. *Kor J Nutr* 34(5) : 499-512, 2001
- 9) Oh HM, Kim MK. Effect 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. *Kor J Nutr* 34(3) : 285-298, 2001
- 10) Sung IS, Park EM, Lee MK, Han EK, Jang JY, Cho SY. Effect of acorn extracts on the antioxidative enzyme system. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 26(3) : 494-500, 1997
- 11) Lee CB. A pictorial book of the Korean Flora. Hyang-Mun-Sa, 1979
- 12) Shin DH, Cho JS, Jung ST. Study on antioxidant effects of acorn (*Quercus acutissima* CARRUTHERS) components-II. Antioxidant effect of acornic compound. *J Kor Oil Chem Soc* 10(1) : 103-109, 1993
- 13) Shin DH, Jung ST. The effect of acorn on the serum and liver of rats. *J Kor Oil Chem Soc* 13(2) : 55-65, 1996
- 14) Yugarani T, Tan BK, Das NP. The effects of tannic acid on serum lipid parameters and tissue lipid peroxides in the spontaneously hypertensive and Wister Kyoto rats. *Planta Med* 59(1) : 28-31, 1993
- 15) Wursch P. Influence of tannin-rich Carob Pod fiber on the cholesterol metabolism in the rat. *J Nutr* 109(4) : 685-692, 1979
- 16) Lee HS, Rhee HS. Physicochemical properties of acorn and chestnut starches. *Kor J Soc Food Sci* 6(3) : 1-7, 1990
- 17) Lee MH, Jeong JH, Oh MJ. Antioxidative activity of gallic acid in acorn extract. *J Kor Soc Food Nutr* 21(6) : 693-700, 1992
- 18) Sung IS, Kim MJ, Cho SY. Effect of *Quercus acutissima* CARRUTHERS extracts on the lipid metabolism. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 26(2) : 327-333, 1997
- 19) Friedwald WT, Levy RT, Fridrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Nutr* 18 : 499-502, 1972
- 20) Yoon JS, Lee JH, Cho SH. Nutrition of experiment, Hyungseul Publishing, 1999
- 21) Zak B. Total and free cholesterol. In standard method chemistry. Academic Press, New York, pp.79-89, 1968
- 22) Simons SS, Johnson DF. Reaction of O-phtal-aldehyde and thiols with primary amines: Fluorescence properties of 1-alkyl (and aryl) rhoio-2-alkylisoindoles. *Ann Biochem* 90 : 705-725, 1978
- 23) Johansson LH, Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Anal Biochem* 174 : 331-336, 1988
- 24) Flohe L. Determination of glutathione peroxidase. CRC Handbook of free radicals and oxidations in biomedicine, pp.281-286, 1992
- 25) Habig WH, Pabst MP, Jakoby WB. Glutathione S-transferase. *J Biol Chem* 249 : 7130-7139, 1974
- 26) Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* 52 : 302-306, 1978
- 27) Mehansho H, Hagerman A, Clements S, Butler L, Rogler J, Mearlson D. Modulation of proline-rich protein biosynthesis in rat parotid glands by sorghum with high tannin levels. *Proc Natl Acad Sci USA* 80(3) : 3948-3952, 1983
- 28) Park OJ. Plasma lipids and fecal excretion of lipids in rats fed a high fat diet, a high cholesterol diet or a low fat/high sucrose diet. *Kor J Nutr* 27(8) : 785-794, 1994
- 29) Yook GJ, Lee HJ, Kim MK. Effect of chestnut and acorn on lipid metabolism, antioxidative capacity and antithrombotic capacity in rats. *J Kor Nutr Soc* 35(2) : 171-182, 2002
- 30) Choi IS, Lee KH, Lee SS, Oh SH. Effects of tannin on lipid metabolism in 6 college women. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 26(5) : 920-926, 1997
- 31) Zhu XM, Zhao ZD, Huang ZL. Experimental study on tea polyphenols in prevention of hyperlipidemia. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 16(9) : 549-551, 1996
- 32) Connye K, Barbara CP. Changes in colonic antioxidant status in rats during long-term feeding of different high fat diets. *J Nutr* 121(10) : 1562-1569, 1991
- 33) Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. *J Agric Food Chem* 48(8) : 3396-3402, 2000
- 34) Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y. Tannins and human health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 38(6) : 421-464, 1998
- 35) Nakayama T, Hiramitsu M, Osawa T, Kawakish S. The protective role of gallic acid ester in bacterial cytotoxicity and SOS responses induced by hydrogen peroxide. *Mutat* 303(1) : 29-34, 1993