creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

[UCI]I804:24011-200000265713

2016年 8月

博士學位論文

세발나물 분말이 지방세포와 고지방식이 유도 비만 흰쥐에 미치는 영향

朝鮮大學校 大學院

食品醫藥學科

朴 龍 炫

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

세발나물 분말이 지방세포와 고지방식이 유도 비만 흰쥐에 미치는 영향

Effects of *Spergularia marina* Griseb Powder on Adipocytes and High-Fat Diet-Induced Obese Rats

2016年 8月 25日

朝鮮大學校 大學院
食品醫藥學科
朴 龍 炫

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

세발나물 분말이 지방세포와 고지방식이 유도 비만 흰쥐에 미치는 영향

指導敎授 李 在 濬

이 論文을 理學博士學位 申請論文으로 提出함

2016年 4月

朝鮮大學校 大學院
食品醫藥學科
朴 龍 炫

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

朴 龍 炫 의 博士學位 論文을 認准함

委員長 朝 鮮 大 學 校 敎 授 이 명 렬 (印)

委 員 朝 鮮 大 學 校 敎 授 김 복 희 (印)

委 員 食品醫藥品安全評價院部長 박 혜 경 (印)

委 員 韓 京 大 學 校 敎 授 이 현 주 (印)

委 員 朝 鮮 大 學 校 敎 授 이 재 준 (印)

2016年 6月

朝鮮大學校 大學院

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

목 차

LIST OF TABLES ····· V
LIST OF FIGURES ····· vi

ABSTRACT ····· ix

제1장 서 론 ····· 1

제2장 실험의 재료 및 방법 ····· 5
제1절 실험재료 ····· 5

제2절 세발나물의 이화학적 성분 ····· 6
1. 일반성분 분석 ····· 6
2. 식이섬유소 분석 ····· 6

제3절 세발나물 에탄올 추출물의 항산화 효과 ····· 7
1. 시료의 추출 ····· 7
2. 총 polyphenol 함량 측정 ····· 7
3. 총 flavonoid 함량 측정 ····· 8

제4절 지방전구세포를 이용한 세발나물 에탄올 추출물의 항비만 효과 ··· 9
1. 세발나물 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포 증식과 분화 억제 효과 ··· 9
가. 3T3-L1 지방전구세포 배양 ····· 9
나. 3T3-L1 지방전구세포 증식 측정 ····· 10

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

다. 3T3-L1 지방세포 분화 측정 ····· 10
라. 3T3-L1 지방세포의 중성지방 함량 측정 ····· 11
2. 세발나물 에탄올 추출물의 돼지 지방전구세포 증식과 분화 억제 효과 ····· 12
가. 돼지 지방전구세포 분리 ····· 12
나. 돼지 지방전구세포 배양 ····· 13
다. 돼지 지방전구세포 증식 측정 ····· 13
라. 돼지 지방세포 분화 측정 ····· 14
마. 돼지 지방세포의 중성지방 함량 측정 ····· 14
3. 통계처리 ····· 15

제5절 세발나물 분말의 고지방식이를 급여한 흰쥐에서의 항비만 효과 ·16
1. 실험동물의 사육과 식이 ····· 16
2. 혈액과 장기 채취 ····· 19
3. 혈청의 효소활성 측정 ····· 19
4. 혈청의 지질 함량 측정 ····· 20
5. 간조직의 지질함량 측정 ····· 20
6. 지방조직의 지질함량 측정 ····· 21
7. 간 조직의 병리조직학적 검사 ····· 21
8. 부고환지방조직 세포의 크기 측정 ····· 22
9. 통계처리 ····· 22

제3장 실험결과 및 고찰 ····· 23

제1절 세발나물의 이화학적 성분 ····· 23
1. 일반성분 및 식이섬유소 함량 ····· 23

제2절 세발나물 에탄올 추출물의 항산화 효과 ····· 26

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

1. 총 polyphenol 함량 분석 ····· 26
2. 총 flavonoid 함량 분석 ····· 29

제3절 지방전구세포를 이용한 세발나물 에탄올 추출물의 항비만 효과 · 31
1. 세발나물 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포 증식과 분화 억제 효과 · 31
가. 3T3-L1 지방전구세포의 증식에 미치는 억제 효과 ····· 31
나. 3T3-L1 지방세포의 분화에 미치는 억제 효과 ····· 34
다. 3T3-L1 지방세포의 중성지방 함량에 미치는 효과 ····· 37
2. 세발나물 에탄올 추출물의 돼지 지방전구세포 증식과 분화 억제 효과 ····· 40
가. 돼지 지방전구세포의 증식에 미치는 억제 효과 ····· 40
나. 돼지 지방세포의 분화에 미치는 억제 효과 ····· 42
다. 돼지 지방세포의 중성지방 함량에 미치는 효과 ····· 44

제4절 세발나물 분말의 고지방식이를 급여한 흰쥐에서의 항비만 효과 · 46
1. 체중증가량, 식이섭취량 그리고 수분섭취량 ····· 46
2. 간과 지방조직 무게 ····· 49
3. 혈청 중의 ALT, AST, ALP 그리고 LDH 활성 ····· 54
4. 혈청 중의 중성지방과 총콜레스테롤 함량 ····· 59
5. 혈청 중의 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 함량 그리고 동맥경화지수 및 심혈관위험지수 ····· 63
6. 간조직 중의 중성지방과 총콜레스테롤 함량 지질함량 ····· 69
7. 지방조직 중의 중성지방과 총콜레스테롤 함량 지질함량 ····· 72
8. 간조직의 병리조직학적 변화 ····· 78
9. 부고환지방세포의 크기 변화 ····· 80

제4장 요약 및 결론 ····· 82

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

참 고 문 헌 ····· 85

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

LIST OF TABLES

Table 1. Experimental design ····· 17
Table 2. Composition of experimental diet ····· 18
Table 3. Proximate compositions of the *Spergularia marina* Griseb ····· 25
Table 4. Contents of total polyphenol of 80% ethanol extracts of *Spergularia marina* Griseb ····· 28
Table 5. Contents of total flavonoid of 80% ethanol extracts of *Spergularia marina* Griseb ····· 30
Table 6. Changes in body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats fed the experimental diets ····· 48
Table 7. Weights of epididymal, mensenteric, retroperitioneal and perinenal adipose tissues in rats fed the experimental diets ····· 52

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

LIST OF FIGURES

Fig. 1. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on proliferation of 3T3-L1 preadipocytes ····· 33
Fig. 2. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on differentiation of 3T3-L1 adipocytes ····· 36
Fig. 3. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on triglyceride contents of 3T3-L1 adipocytes ····· 39
Fig. 4. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on proliferation of pig preadipocytes ····· 41
Fig. 5. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on differentiation of pig adipocytes ····· 43
Fig. 6. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on triglyceride contents of pig adipocytes ····· 45
Fig. 7. Liver weight of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 51
Fig. 8. Total adipose tissue weight of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 53
Fig. 9. Serum activity of ALT in the rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 55
Fig. 10. Serum activity of AST in the rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 56
Fig. 11. Serum activity of ALP in the rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 57
Fig. 12. Serum activity of LDH in the rats fed high fat diet containing

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Spergularia marina Griseb powder for 4 weeks ····· 58
Fig. 13. Contents of triglyceride in serum of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 61
Fig. 14. Contents of total cholesterol in serum of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 62
Fig. 15. Contents of HDL-cholesterol in serum of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 65
Fig. 16. Contents of LDL-cholesterol in serum of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 66
Fig. 17. Atherogenic index of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 67
Fig. 18. Cardiac risk factor of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 68
Fig. 19. Contents of triglyceride in the liver of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 70
Fig. 20. Contents of total cholesterol in the liver of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 71
Fig. 21. Contents of triglyceride in the epididymal adipose tissue of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 74
Fig. 22. Contents of total cholesterol in the epididymal adipose tissue of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 75
Fig. 23. Contents of triglyceride in the mesenteric adipose tissue of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 76

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Fig. 24. Contents of total cholesterol in the mesenteric adipose tissue of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks ····· 77
Fig 25. Hitological analysis on liver tissue ····· 79
Fig. 26. Histological analysis on epididymal adipose tissue ····· 81

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

ABSTRACT

Effects of *Spergularia marina* Griseb Powder on Adipocytes and High-Fat Diet-Induced Obese Rats

by. Park Yong Hyun
Advisor : Prof. Lee, Jae Joon, Ph. D.
Department of Food and Drug,
Graduate School of Chosun University

In this study, it was carried out to investigate the physiological activities, lipid metabolism and anti-obesity effects of *Spergularia marina* Griseb, a kind of the halophytes. *In vitro,* the anti-obesity effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts were examined by inhibitory action on proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocytes and pig preadipocytes. In further, the effects of *Spergularia marina* Griseb powder, on lipid metabolism and anti-obesity in rats fed a high fat diet, were evaluated, *in vivo*.

Firstly, this research was to analyze proximate compositions and dietary fiber of the *Spergularia marina* Griseb. The proximate compositions of *Spergularia marina* Griseb, as a dry matter basis, were 4.10% of moisture, 32.47% of crude protein, 4.53% of crude fat, 20.68% of crude ash and 38.22% of carbohydrate. Total polyphenol content of *Spergularia marina* Griseb ethanol extract were found 68.04 mg/g in 1,000 ppm. Total flavonoid content of *Spergularia marina* Griseb ethanol extract were found 28.60 mg/g in 1,000 ppm.

Secondly, the study was carrid out to determine the effects of the *Spergularia*

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

marina Griseb on proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocytes and pig preadipocytes. To measure the cell proliferation and differentiation, cells were treated with 50, 100 and 200 μg/mL ethanol extracts of *Spergularia marina* Griseb, for two days, and dimethyl sulfoxide(DMSO) was used as the control group. Fifty and 100 μg/mL of the *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts were not significantly different compared to the control group, but 200 μg/mL of the *Spergularia marina* Griseb ethanol extract significantly decreased the proliferation of 3T3-L1 preadipocytes compared to the control. *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts proved the inhibitory effect on differentiation of 3T3-L1 adipocytes in a dose-dependent manner. One hundred, 200 μg/mL of the *Spergularia marina* Griseb ethanol extract significantly decreased the triglyceride accumulation of 3T3-L1 adipocytes compared to the control. Two hundred μg/mL of the *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts significantly decreased the proliferation of pig preadipocytes compared to the control. *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts proved the inhibitory effect on differentiation of pig adipocytes in a dose-dependent manner. One hundred, 200 μg/mL of the *Spergularia marina* Griseb ethanol extract significantly decreased the triglyceride accumulation of pig adipocytes compared to the control group. These actions indicate that the ethanol extracts of *Spergularia marina* Griseb may have potential to reduce the proliferation, differentiation and fat accumulation of 3T3-L1 preadipocytes and pig preadipocytes.

Thirdly, the effects of *Spergularia marina* Griseb powder on lipid metabolism and anti-obesity in rats fed a high fat diet were as follows; male Sprague-Dawley rats were assigned to 4 groups : normal diet group(N), high fat diet group(HF), high fat diet with 3% *Spergularia marina* Griseb(HF-SL), high fat diet with 5% *Spergularia marina* Griseb(HF-SH). The body weight gain and FER were increased due to a high fat diet, but that were decreased in the HF-SL group compared with the HF group. There was no significant differences in the weights of liver by *Spergularia marina* Griseb powder administration. Epididymal adipose tissues of HF-SL and HF-SH groups were

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

significantly more decreased than in the HF group. Weights of mesenteric, retroperitoneal, perinenal and total adipose tissues were decreased by the *Spergularia marina* Griseb powder fed groups, especially HF-SH group was almost decreased to the N group level. Serum ALT and AST activities were signicantly decreased in the *Spergularia marina* Griseb fed groups compared with the HF group, but serum ALP and LDH activities were no differences with HF group. Level of serum HDL-cholesterol decreased in the HF group, but this level increased significantly in the *Spergularia marina* Griseb powder fed groups. On the contrary, levels of serum triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol, as well as atherogenic index and cardiac risk factor were considerably reduced in the *Spergularia marina* Griseb powder fed groups compared with the HF group. Levels of triglyceride in liver and mesenteric adipose tissue significantly lowered in *Spergularia marina* Griseb. administered groups than in the HF group. Levels of cholesterol in epididymal adipose tissue and mesenteric adipose tissue significantly lowered in *Spergularia marina* Griseb administered groups than in the HF group. High fat diet administration were induced the marked accumulation of large lipid droplets and resulted in typical histopathology, but *Spergularia marina* Griseb administered groups attenuated lipid droplets accumulation in hepatocytes. Fat cell size of epididymal adipose tissue was lower in *Spergularia marina* Griseb administered groups compared with the HF group. The results suggest that *Spergularia marina* Griseb powder could make better lipid metabolism of serum, liver and adipose tissue and may decrease lipid storage.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제1장 서 론

최근 경제발전에 따라 생활수준이 향상되고 생활환경과 식생활의 서구화로 인하여 현대인들의 음식 소비 패턴이 간편화, 가공화, 획일화되어 가고 있다. 이로 인해 고열량 식품, 동물성 식품 및 가공식품 섭취가 증가하여 우리나라 비만 인구가 계속 늘어나는 추세이다. 보건복지부가 발표한 '2014년 국민건강영양조사' 결과에 의하면 우리나라 19세 이상 성인 남녀의 체질량지수기준 비만 유병률은 31.5%로, 2013년 31.8%에 비하여 다소 감소된 것으로 나타났으나 남성의 비만 유병률은 지속적으로 증가하여 37.7%에 이르렀고, 여성의 비만 유병률은 소폭 감소하여 25.3%로 나타났다(1). 세계보건기구(World Health Organization)의 보고에 따르면 1980년 이후 비만 유병률이 전 세계적으로 2배 이상 증가하였으며, 2014년 기준 18세 이상 성인 중 39%(남자 38%, 여자 40%)가 과체중이고, 13%(남자 11%, 여자 15%)가 비만이라고 보고하였다(2). 이처럼 비만은 우리나라뿐만 아니라 전 세계적으로 증가하고 있다. 이러한 증가는 여러 가지 만성질환을 야기하고 나아가 사회적, 경제적인 문제를 발생시키기 때문에 이것을 해결하기 위한 노력이 필요하다

비만은 체내 에너지 섭취와 소비의 차이에서 생기는 과잉 에너지가 지방으로 축적되어 정상 체중에 비해 20% 이상 초과한 상태를 말한다. 비만은 체중의 증가보다는 복강 내 지방조직의 증가나 내장 지방조직의 증가, 지방세포의 과도한 분화가 주된 원인으로 알려져 있다(3). 이는 식습관, 운동부족 뿐만 아니라 다양한 환경적, 유전적인 요인 등이 복합적으로 맞물려 발생하며(4), 고혈압, 당뇨병, 이상지질혈증 등과 같은 심혈관계 위험인자들과 상호작용이나 증폭작용을 한다고 알려져 있다(5). 또한 뇌혈관계질환, 관절염, 유방암 및 대장암 등의 합병증 발병 원인으로(6), 세계보건기구(World Health Organization)는 비만을 흔한 영양장애이면서도 심하면 목숨까지 잃게 되는 무서운 질병이라고 하였다(7).

비만과 관련된 질병을 이해하고 치료하기 위해서 지방세포의 분화, 그리고 지방대사에 대한 연구가 이루어지고 있다(8-10). 일반적으로 비만은 지방전구세포(preadipocyte)에서 분화를 통해 지방 축적으로 원형의 지방세포(adipocyte)를 과잉

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

생성으로 발생되며(11), 체내 지방의 축적은 지방세포의 과형성(hyperplasia)과 비대(hypertrophy)에 의한 결과이다(12,13). 지방세포의 과형성은 지방전구세포의 증식(proliferation)이나 분화(differentiation)의 결과에 따라 조절되며, 지방세포가 비대화 되는 것은 분화된 세포 내에서 지방의 생합성(lipogenesis)과 지방분해(lipolysis)가 이루는 균형의 결과에 따라 조절된다(14). 지방전구세포가 지방세포로 분화되는 과정인 지방세포 분화(adipogenesis)는 세포의 형태, 유전자 발현의 변화, 호르몬 감수성 및 중성지방량 증가 등 복합적인 변화를 동반한다(15,16). 따라서 adipogenesis은 비만억제에 있어서 중요한 기전으로 세포주(cell line) 또는 쥐, 돼지 및 소의 지방세포를 이용하여 연구되고 있다.

비만예방 및 치료를 위해서 식습관 조절이나 운동요법이 권장되고 있지만 효과가 나타나기까지 노력과 시간이 많이 요구된다. 따라서 극단적으로 절식하거나 쉽고 편리한 다이어트 식품, 약물 복용 등을 선호하고 있다. 하지만 이러한 방법은 요요현상이나 부작용을 일으킬 수 있기 때문에 보다 안전하고 부작용의 위험이 적은 천연식물 소재에 대하여 관심이 증가하고 있으며, 비만 개선에 효과적인 기능성 소재들을 찾고 이들의 작용기전에 관한 연구들이 활발히 진행되고 있다.

우리나라는 삼면이 바다로 둘러싸인 지형으로서 각 해안마다 독특한 특성을 가지고 있다. 특히 서·남해안에는 넓은 면적의 염생습지가 발달되어 있는데, 이곳은 토양의 염분 농도가 높아 일반 육상식물이 생육할 수 없는 지역이다. 이 지역에 생육할 수 있는 식물을 염생식물(Halophyte)이라 하며, 전 세계적으로 약 1,500개 이상의 종이 존재하는 것으로 보고되고 있다(17,18). 이러한 염생식물은 극한 조건에서 서식하기 때문에 육상식물과 달리 염스트레스로부터 자신을 보호하기 위해 삼투압 조절을 통해 환경에 적합한 적응 기작 및 특유의 대사과정을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(19). 따라서 페놀성 화합물을 포함한 2차 대사산물과 다양한 생리활성 물질을 함유할 가능성이 있다고 여겨진다(20). 최근 염생식물은 본래의 1차 생산자 기능, 오염물질 정화기능, 종 다양성 보전 기능, 생태적 경관 가치적 기능뿐만 아니라 인체의 생리적 기능 및 약리 작용이 밝혀지면서 이용가치가 증가하고 있다(21,22). 우리나라에서도 40여종 이상의 염생식물이 보고되고 있으며, 주로 서남해안 갯벌의 상부지역에 서식하고 있다. 대표적인 염생식물로는 퉁퉁마디, 나문

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

재, 칠면초, 해홍나물 등이 있고 이들 염생식물이 주로 이용되어 왔고(23), 갯개미자리 즉 세발나물도 관심이 높아지고 있다.

세발나물(*Spergularia marina* Griseb)은 1-2년 초로 갯벌, 염전 근처 및 간척지 등 소금기가 있는 곳에서 생육하는 석죽과(Caryophyllaceae)의 염생식물이다. 잎이 둥글며 반원기둥형 줄 모양의 잎이 여러 마디로 가늘게 뻗어 끝은 뾰족하다(24). 서남해안 일부지역에서는 그동안 봄나물의 하나로 이용되어 왔으나 다른 지역에서는 그 존재 여부도 잘 알려져 있지 않았다(25). 강한 내한성과 내건성을 지녀 겨울철 노지에서 생산 및 재배가 가능하며, 생산비용이 적고, 저온기에 생산되므로 겨울철 나물로 이용하기에 적합한 작목이다(26). 현재 전남 무안, 신안, 영암, 함평 등지에서 생산 및 출하되고 있으며(27), 해남군에서는 땅끝해남세발나물연구회를 발족하여 소비 촉진 및 생산자 소득증대에 기여하고 있다.

세발나물에는 식이섬유소와 엽록소가 풍부하며, 비타민 C 함량은 시금치 보다 1.4배 정도 많이 함유하고 있다. 갯벌에서 자라 마그네슘, 칼륨 및 칼슘 등 무기질이 많으며, 콜린, 베타카로틴, 비테인 등과 같은 여러 가지의 기능성 성분도 함유하고 있다(26). 염생식물 특성상 다른 식물에 비해 나트륨 함량이 높아 부정적인 시각도 있으나 일반 소금에 비해 다른 무기질도 많아 식물성 소금 및 천연 염료로 이용되고 있으며, 세발나물의 나트륨 함량은 다른 염생식물들에 비해 적은 것으로 나타났다(28).

전술한 바와 같이 염생식물들은 생존전략의 일환으로 다양한 항산화 화합물을 함유하고 있을 가능성이 높은 것으로 생각되어 총 페놀 함량이라든가 총 플라보노이드 함량, 그리고 전자공여능 및 아질산염 소거작용 등의 항산화능 실험을 통해 항산화 활성에 대해 연구되었으나(26), 함유된 항산화 활성 화합물에 대한 구조 및 성분에 대한 연구는 더 필요할 것으로 사료된다.

현재까지 세발나물에 대한 연구로는 세발나물로부터 항산화 화합물의 단리 및 구조해석(27), 전남 서부 해안가에서 생산되는 세발나물의 유통실태, 이화학적 성분 및 생리활성 연구(26), blanching에 따른 세발나물의 이화학적 특성변화(29), OLETF 쥐를 대상으로 한 칠면초와 세발나물이 가지고 있는 인슐린에 대한 저항성 개선효과(25) 등이 있다. 또한 세발나물을 활용한 식품관련 연구로는 세발나물

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

분말을 첨가한 쿠키의 품질특성(30), 세발나물 분말을 첨가한 파운드 케이크의 품질특성(31), 염생식물 나문재와 갯개미자리를 첨가한 식빵 개발(32) 등이 보고되었다. 그러나 아직 *in vivo*나 *in vitro*를 통한 생리활성에 관한 연구가 다양하게 이루어지지 않았으며, 다른 염생식물들에 비해 부족한 실정이므로 체계적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이에 따라 본 연구에서는 세발나물이 가지고 있는 생리활성화 기능과 함께 그 이용가능성에 관한 연구의 일환으로서 세발나물의 일반성분 및 식이섬유소 분석하였으며, *in vitro*에서, 항산화 효능 및 비만과 관련해 가장 많이 이용되는 세포인 3T3-L1 세포와 돼지 지방전구세포에서 세발나물 추출물의 지방세포 분화(adipogenesis) 억제활성을 통한 항비만 효과를, 그리고 *in vivo*에서, 세발나물 분말이 고지방 식이로 비만을 유도한 흰쥐의 혈청, 간 그리고 지방조직에서 세발나물 분말의 지질대사 개선효과와 함께 비만을 억제하는 효과에 미치는 영향을 분석함으로써 항비만 기능성 소재로서의 가능성에 대해 조사하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제2장 실험의 재료 및 방법

제1절 실험 재료

이번 실험에 사용한 세발나물은 2015년 3월 전라남도 무안에서 구입하여 이물질을 제거하고 3회 수세한 후 샐러드스피너(Caous, WINDAX, Seoul, Korea)를 사용하여 탈수하였다. 세발나물을 초저온냉동고(MDF-U52V, Sanyo, Osaka, Japan)를 이용하여 -70℃의 온도에서 냉동시키고 난 다음, freeze dryer(ED 8512, Ilshin, yangju, Korea)를 사용하여 -70℃의 온도로 72시간 동안 건조시켰다. 동결건조 된 세발나물은 분쇄기(HR2904, Philips Co., Netherland)로 마쇄한 다음 -70℃의 온도로 냉동 보관하면서 시료로 사용하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제2절 세발나물의 이화학적 성분

1. 일반성분 분석

세발나물의 일반성분은 A.O.A.C.(Association of Official Analytical Chemists)가 정한 방법(33)에 따라서 분석하였다. 수분 분석은 105℃온도 상압가열건조법으로, 조단백질 분석은 micro-kjeldahl법으로, 조지방 분석은 soxhlet 추출법으로, 그리고 조회분 분석은 회화법으로 실시하였다. 탄수화물의 경우는 100에서 수분, 조단백질, 조지방 그리고 조회분 함량을 제외한 값으로 나타내었다. 실험값은 3회 반복 실시하여 얻은 결과로 표시하였다.

2. 식이섬유소 분석

총 식이섬유소(Total dietary fiber, TDF) 함량은 A.O.A.C방법(34)에서 정한 효소중량법(enzymatic-gravimetric method)에 따라서 분석하였다. 건조분말시료를 heat stable termamyl α-amylase을 이용하여 액화시킨 후 protease와 amyloglucosidase를 차례로 반응시켜서 단백질과 전분을 가수분해하는 과정을 거친 후에 감압 여과한 다음에 잔사를 에탄올로 침전시켰다. 미리 항량을 구해 놓은 crucible에 이 용액을 감압 여과하여 얻은 잔사를 에탄올과 아세톤으로 세척하고 건조하였다. 그 후 건조된 잔사 중에서 조단백질과 조회분의 양을 감한 후에 건조 전후의 무게차를 이용하여 총 식이섬유소의 함량을 구하였다. 실험값은 3회 반복 실시하여 얻은 결과로, 실험군당 평균±표준오차로 표시하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제3절 세발나물 에탄올 추출물의 항산화 효과

1. 시료의 추출

동결 건조한 세발나물을 분말화 한 후 100g 당 80%의 에탄올 500 mL에 넣은 다음 환류 냉각관이 부착된 65℃ 온도의 heating mantle (Mtops ms-265, Seoul, Korea)를 이용하여 3시간 동안 3회 추출한 후, Qualitative filter paper No.2 (Advantec, Tokyo, Japan)를 이용하여 여과하였다. 그 다음 이 여액을 40℃ 온도의 수욕에서 rotary vacuum evaporator (EYELA VACUUM NVC-1100, Tokyo, Japan)를 이용하여 용매를 제거한 다음에 감압·농축한 후에 동결 건조시켰으며, 시료가 산화되는 것을 방지를 위하여 -70℃의 온도에서 냉동 보관하면서 사용하였다.

2. 총 polyphenol 함량 측정

세발나물 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량 측정은 Folin-Denis법(35)에 따라 실시하였다. 시험관에 세발나물 에탄올 추출물을 1 mL과 함께 Folin reagent 2 mL을 넣은 다음에 실온 상태에서에서 3분 동안 정치한 다음 10%의 Na_2CO_3 2 mL을 첨가하여 이를 혼합한 후 30℃의 온도에서 에서 40분 동안 정치하였다. 그리고 UV-spectrophotometer (Shimadzu UV-1601PC, Kyoto, Japan)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 조사하였다. 표준곡선은 탄난산을 이용하여 최종농도가 각각 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/mL가 될 수 있도록 작성하였고, 이 검량곡선을 통해서 시료 중에 있는 총 polyphenol 함량을 얻었다. 실험값은 3회 반복 실시하여 얻은 결과로, 실험군당 평균±표준오차로 표시하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

3. 총 flavonoid 함량 측정

총 flavonoid 함량을 측정하기 위하여 Davis법을 변형한 방법(36)을 이용하였다. 세발나물 에탄올 추출물 1 mL에 2 mL의 diethylene glycol를 첨가한 후 1N의 NaOH 20 μL를 넣은 다음 37℃ 온도의 water bath에서 1시간 동안 반응시켰다. 그 다음 UV-spectrophotometer(Shimadzu UV-1601PC, Kyoto, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 분석하였다. 표준곡선은 rutin을 이용하여 최종 농도가 각각 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/mL가 될 수 있도록 조제하였고, 이 검량곡선을 통해서 시료중의 flavonoid 함량을 구했다. 실험값은 3회 반복 실시하여 얻은 결과로, 실험군당 평균±표준오차로 표시하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제4절 지방전구세포를 이용한 세발나물 에탄올 추출물의 항비만 효과

1. 세발나물 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포 증식과 분화 억제 효과

가. 3T3-L1 지방전구세포 배양

3T3-L1 지방전구세포의 배양은 Chen 등(37)의 방법에 따라 실시하였다. 10%의 FBS를 함유하고 있는 DMEM 배지를 이용하였으며, 6-well 배양접시에 증식의 경우는 1 × 10^5cell/well, 분화의 경우는 0.3 × 10^5cell/well을 각각 접종하고 37℃ 온도의 5% CO_2 incubator에서 배양하였다. 증식과 분화 두 경우 모두, 각 well당 2 mL의 배지를 이용하였다. 세발나물 추출물이 3T3-L1의 증식에 어떤 영향을 미치는지를 알아보기 위해서 세척을 한 날 이후부터 세포수를 측정하는 날까지 2일 동안 10%의 FBS를 포함한 DMEM 배지에 배양하였다. 그리고 세발나물 추출물이 3T3-L1의 분화에 어떤 영향을 미치는 지를 알아보기 위해서는 세척한 날 이후부터 분화 측정 일까지 14일 동안 10%의 FBS를 함유한 DMEM 배지에 배양하였으며 배지는 2일마다 교체해 주었다. 분화유도 첫날에는 분화유도를 위해 insulin(10 ㎍/mL)와 dexametasone(1 μM) 그리고 IBMX(0.5n mol/mL)를 첨가하였으며, 2일 후에는 동일한 양(10 ㎍/mL)의 insulin만을 첨가하여 분화를 유도하였다. 대조군은 세발나물 에탄올 추출물을 희석하기 위하여 사용된 dimethyl sulfoxide(DMSO)을 이용하여 처리하였고, 세발나물 에탄올 추출물은 세포를 세척한 날 이후부터 2일 동안 처리하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

나. 3T3-L1 지방전구세포 증식 측정

3T3-L1 지방전구세포가 어느 정도 증식하였는지를 알아보기 위하여 trypsin 처리 후에 세포수를 측정하였다. 그 측정 방법은 이하와 같다. 3T3-L1 지방전구세포의 증식기가 끝난 후에 먼저 6 well plate에서 배지를 모두 제거한 다음 1 mL의 versene으로 plate를 헹구어 주고 그 다음, 360 μL의 versene와 40 μL의 trypsin을 넣고 충분히 섞은 다음에 5분 동안 incubation 시켜서 세포를 plate 바닥에서 떨어뜨린 후에 1.5 mL eppendorf tube에 세포를 수집하였다. 10 μL의 Cell suspension을 사용하고 Hematocytometer(Wenk Labtec)를 이용하여 세포수를 조사하였다.

다. 3T3-L1 지방세포 분화 측정

3T3-L1 지방전구세포의 성숙세포 분화 정도를 규명하기 위해서는 배양중인 세포의 glycerol-3-phosphate dehydrogenase(GPDH) 활성도를 측정하였다. 기본적으로는 Wise와 Green(38)의 방법을 사용하여 측정하였다. T3-L1 지방전구세포배양이 끝난 후 6-well plate의 배양액을 완전히 제거하고 난 다음 phosphate buffer saline(PBS)를 이용하여 잔류 배양액을 깨끗이 제거한 후 260 μL homogenizing buffer(pH 7.4; 0.25 M sucrose, 5 mM Tris base, 1 mM EDTA, 1 mM dithiothreitol) 를 사용하여 6-well plate의 세포를 scrapping한 후에 1.5 mL eppendorf tube에 수집해서 가루 얼음 위에 꽂아두었다. 그 다음에 6 watt의 전류로 10초간 세포를 sonication(Sonics & Materials, Ins., Newtown, USA) 시켜서 2,580 ×g으로 4℃ 온도에서 10분 동안 원심분리 시켰다. 상층액(supernant) 200 μL를 취해서 새로운 eppendorf tube에 옮긴 다음에 assay buffer(100 mM triethanolamine, 2.5 mM EDTA, 0.1 mM β-mercaptoethanol, 0.176 NADH) 800 μL와 기질인 0.16 μM dihydroxyacetone phosphate lithium solution 100 μL 그리고 상층액 150 μL를 큐벳에 넣어 흔들어 준 다음 spectrophotometer(Shimadzu UV-Visible

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Spectrophotometer, UV-1601, Kyoto, Japan)을 사용하여 340 nm에서 흡광도를 분석하여 GPDH 활성 정도를 분석하였다.

라. 3T3-L1 지방세포 중성지방 함량 측정

3T3-L1 지방전구세포 분화 유도 과정 중에 생성된 중성지방을 효소적인 방법을 통해 확인하였다. 분화 유도 및 유지된 3T3-L1 지방전구세포를 phosphate buffer saline(PBS)를 이용하여 3회 수세한 다음, M-PER mammalian cell extraction solution(Pierce Inc., Rockford, USA) 200 μL를 넣은 후, 삼투압 파쇄 방법을 이용하여 세포를 분쇄하였다. 분쇄한 세포용액을 1.5 mL microtube에 옮긴 후에, 세포가 완전히 용해되도록 30분 동안 얼음에서 방치하였다. 시간 경과 후, 4℃의 온도에서 1,792 ×g로 원심 분리한 후 상층액을 취하여 실험에 사용하였다. Glycerol standard(Sigma-Aldrich, Louis, USA)를 사용하여 농도별로 희석한(39.0625~2,500 ㎍/mL) 다음에, 대조군으로 사용하였다. 그 다음, 96 well ELISA plate에 free glycerol reagent 160 μL를 넣고 water(blank) 5 μL, glycerol standard, sample을 각각의 well에 넣었다. Tapping하고 plate를 흔들어서 각 well의 용액이 골고루 섞이도록 한 후 37℃의 온도에서 5분 동안 배양한 다음 540 ㎚에서 initial absorbance (IA)를 측정하였다. 각 well에 triglyceride reagent 40 μL를 넣고 tapping 하여 잘 섞어준 후, 37℃의 온도에서 5분 동안 추가적으로 반응시킨 다음 540 ㎚에서 final absorbance (FA)를 측정하였다. 그리고 IA와 FA를 사용하여 시료내에 있는 중성지방의 농도를 산출하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

2. 세발나물 에탄올 추출물의 돼지 지방전구세포 증식과 분화 억제 효과

가. 돼지 지방전구세포의 분리

돼지 지방전구세포(preadipocytes)는 지방전구세포의 분리가 용이한 신생자돈의 등지방 조직에서 분리해서 배양하였다. 생후 1~2일령 이고 체중은 1.6~1.7 kg인 신생 자돈을 CO_2 gas를 이용하여 질식사 시킨 후에 30% 요오드로 세척한 다음 다시 70% 알코올로 세척하고, 등 쪽의 첫 번째 갈비부근에 있는 등지방 조직을 8~10 g 떼어내었다. 이 조직을 세절한 후에 collagenase와 함께 shaking water bath에서 40분 동안 배양한 후 250 μL nylon screen으로 여과해서 소화되지 않은 지방조직을 제거하였다. 여과 이후에 1,500 ×g으로 10분간 원심분리를 해서 얻은 지방전구세포가 들어있는 침전물을 다시 Kreb's ringer bicarbonate(KRB) buffer에 녹인 다음 1,796 ×g으로 10분 동안 원심분리를 한 다음에 75 μL nylon screen으로 여과하여 지방전구세포를 수집하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

나. 돼지 지방전구세포의 배양

돼지 지방전구세포를 배양하는 것은 Suryawan 등(39)의 방법에 따라서 실시하였다. 앞서 분리 수집한 지방전구세포 수를 hematocytometer(Wenk Labtec)를 이용하여 측정한 다음, 10% FBS를 함유하고 있는 DMEM/F-12 배지를 배양에 이용하였다. 6-well 배양접시에 증식의 경우에는 0.5 × 10^6cell/well을, 분화의 경우에는 1.0 × 10^6cell/well을 각각 접종하고 37℃ 온도의 5% CO_2 incubator에서 배양하였으며, 증식과 분화를 위해서는 모두 각 well당 2 mL의 배지를 이용하였다. 접종한 다음날 적혈구와 같은 이물질을 없애기 위해서 FBS를 함유하지 않은 DMEM/F-12 배지를 이용하여 2회 세척하였다. 세발나물 추출물이 지방전구세포의 증식에 어떤 영향을 미치는 지를 알아보기 위해서 세척을 한 날 이후부터 세포수를 측정하는 날까지 10% FBS를 포함한 배지에 배양하였다. 그리고 세발나물 추출물이 지방전구세포의 분화에 미치는 영향을 알아보기 위해서는 세척한 날 이후부터 분화를 측정하는 날까지 10% FBS와 insulin(600 μg/mL), transferrin(1 μg/mL) 그리고 hydrocortisone(500 μg/mL)을 포함하고 있는 DMEM/F-12를 이용하여 배양하였으며, 배지는 매 2일마다 교체하였다. 대조군은 세발나물 에탄올 추출물을 희석하기 위하여 이용된 dimethyl sulfoxide(DMSO)로 처리하였으며, 세발나물 에탄올 추출물은 세포를 세척한 날 이후부터 2일 동안 처리하였다.

다. 돼지 지방전구세포 증식 측정

돼지 지방전구세포가 어느 정도 증식되었는지를 측정하기 위해서 trypsin으로 처리한 다음 세포 수를 조사하였다. 그 구체적인 방법은 다음과 같다. 돼지 지방전구세포의 증식기가 끝난 다음에 6 well plate에서 배지를 모두 없앤 후 1 mL의 versene으로 plate를 깨끗이 헹구어준 다음, versene 360 μL와 trypsin 40 μL를 넣어 골고루 섞은 후에 5분간 incubation 시켜서 세포를 plate 바닥에서 떨어뜨린

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

후 1.5 mL eppendorf tube에 세포를 수집하였다. 그리고 10 μL의 Cell suspension을 이용하여 Hematocytometer(Wenk Labtec)로 세포수를 조사하였다.

라. 돼지 지방세포 분화 측정

돼지 지방전구세포가 성숙세포로의 분화되는 정도를 알아보기 위해서는 Wise와 Green(38)의 방법을 이용하였는데 배양중인 세포의 GPDH의 활성도를 측정함으로써 규명하였다. GPDH는 dehydroxyaceton phosphate이 glycerol-3-phosphate로 바뀌는 과정에서 역할을 하는 효소이다. glycerol-3-phosphate는 중성지방을 합성하는 원료가 된다. 그리고 중성지방의 경우는 성숙한 지방세포에서 만들어지기 때문에 GPDH 활성도를 측정함으로써 지방전구세포가 성숙한 지방세포로 분화하는 정도를 측정하였다. 앞서 기술한 3T3-L1 지방세포의 GPDH 활성 측정 방법과 같은 방법으로 실시하였다.

마. 돼지 지방전구세포 중성지방 함량 측정

돼지 지방전구세포가 분화 유도되는 과정 중에 생성된 중성지방의 함량을 효소적인 방법을 통해 확인하였다. 분화 유도 및 유지된 돼지의 지방전구세포를 PBS를 이용하여 3회 수세한 다음, M-PER mammalian cell extraction solution(Pierce Inc., Rockford, USA) 200 μL를 넣은 후, 삼투압 파쇄 방법을 이용하여 세포를 분쇄하였다. 분쇄된 세포용액을 1.5 mL microtube에 옮긴 후에, 세포가 완전히 용해되도록 30분 동안 얼음에서 방치하였다. 시간 경과 후, 4℃의 온도에서 10,000 ×g로 원심 분리한 후 얻은 상층액을 실험에 사용하였다. Glycerol standard(Sigma-Aldrich, Louis, USA)를 사용하여 농도별로 희석한(39.0625~2,500 μg/mL) 다음에, 대조군으로 사용하였다. 그 다음, 96 well ELISA plate에 free

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

glycerol reagent 160 μL를 넣고 water(blank) 5 μL, glycerol standard, sample을 각각의 well에 넣었다. Tapping하고 plate를 흔들어서 각 well의 용액이 골고루 섞이도록 한 후 37℃의 온도에서 5분 동안 배양한 다음 540 ㎚에서 initial absorbance (IA)를 측정하였다. 각 well에 triglyceride reagent 40 μL를 넣고 tapping 하여 잘 섞어준 후, 37℃의 온도에서 5분 동안 추가적으로 반응시킨 다음 540 ㎚에서 final absorbance (FA)를 측정하였다. 그리고 IA와 FA를 사용하여 시료내에 있는 중성지방의 농도를 산출하였다.

3. 통계처리

이번 실험을 통해서 구해진 결과는 SPSS(Statistical Package for Social Science)를 사용하여 통계 분석을 실시하였다. 실험군당 평균±표준오차로 표시하였고, 통계적 유의성에 대한 검정을 위해서는 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 다음 $p<0.05$ 수준에서 Tukey's test를 사용하여 사후검정을 실시하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제5절 세발나물의 고지방 식이를 급여한 흰쥐에서의 항비만 효과

1. 실험동물의 사육과 식이

실험에는 Sprague Dawley계의 5주령 된 수컷의 흰쥐 32 마리를 사용하였다. 이 동물은 오리엔트바이오(주)에서 구입하였으며 조선대학교 실험동물센터에서 1주일간 고형배합사료로 적응시킨 다음, 난괴법(randomized block design)을 이용하여 각 처리군 당 8마리씩 4군으로 나눈 후, 스테인레스 케이지에 1마리씩 분리한 상태에서 4주 동안 사육하였다. 실험군은 Table 1에서 보는 것처럼 정상식이군(N), 고지방식이군(대조군, High Fat diet), 고지방식이와 3% 세발나물 분말 첨가군(High Fat diet + 3% of *Spergularia marina* Griseb), 고지방식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(High Fat diet + 5% of *Spergularia marina* Griseb)으로 나누어서 실험하였다. 실험에 사용된 식이의 경우에는 AIN-93 정제식이를 기준(40)으로 하여 Table 2와 같이 변형하여 조제하였다. 정상식이군의 경우에는 식이 무게의 10%에 해당하는 lard를 지방 급원으로 사용하였고, 고지방식이군들은 식이 무게의 20%에 해당하는 lard를 함유한 식이를 공급하였다. 물과 식이는 제한을 두지 않고 공급하였고, 사육실은 18±2℃의 온도를 유지하였으며 12시간의 주기(08:00~20:00)로 조명을 조절하였다. 체중증가율은 최종 체중에서 실험개시 전의 체중을 감한 후 이를 실험개시 전의 체중으로 나누어 표시하였고, 식이효율(feed efficiency ratio, FER)은 사육기간 동안의 체중증가량을 같은 기간 동안의 식이섭취량으로 나누어 구하였다. 이번 연구의 동물실험은 조선대학교 동물실험유리위원회의 승인을 거쳐 진행하였다. (승인의결번호 : CIACUC2014-A0029)

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 1. Experimental design

Groups	Diet composition
N[1)]	Normal diet
HF[2)]	High fat diet
HF-SL[3)]	High fat diet + SL
HF-SH[4)]	High fat diet + SH

[1),2)] Modified AIN-93 diet(40).

[3)] Modified High fat diet + 3% of *Spergularia marina* Griseb

[4)] Modified High fat diet + 5% of *Spergularia marina* Griseb

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 2. Composition of experimental diet

(g/kg)

Groups[1)] / Diet Composition	Normal diet	High fat diet	HF-SL	HF-SH
Casein	200	200	200	200
L-cystine	3	3	3	3
Corn starch	399.986	299.986	269.986	249.986
dextrose	100	100	100	100
Sucrose	50	50	50	50
Cellulose	50	50	50	50
Lard	100	200	200	200
Soybean oil	50	50	50	50
Mineral mix[2)]	35	35	35	35
Vitamin mix[3)]	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2
Tert-butyl hydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014
Spergularia marina Griseb			30	50

[1)]See the legend of Table 1.

[2),3)]AIN-93-MX mineral mixture and AIN-93-VX vitamin mixture(40).

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

2. 혈액과 장기의 채취

실험에 이용된 흰쥐를 사양시험이 종료된 이 후 12시간 동안 절식시킨 다음 CO_2로 마취한 후 단두 절단하여 우선 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액을 1,150 ×g 에서 20분 동안 원심분리 한 후 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청을 혈청 지질 함량과 효소 활성 정도를 측정하는 시료로 사용하였다. 그리고 간 및 지방조직을 적출하여 0.9% 생리식염수를 이용 잔존 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 난 후에 여과지로 수분을 제거한 다음 중량을 측정하였다. 그 다음 효소 활성이 저하되는 것을 예방하기 위해 급속 동결하여 급속냉동고에 -70℃의 온도에서 보관하였다.

3. 혈청의 효소활성 측정

실험에 이용 된 흰쥐의 혈청 중에 있는 ALT(alanine aminotransferase), AST(aspartate aminotransferase), ALP(alkaline phosphatase) 그리고 LDH(lactate dehydrogenase)의 활성 정도는 혈액생화학적 검사 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

4. 혈청의 지질 함량 측정

실험에 이용 된 흰쥐 혈청 중에 있는 중성지방(TG), 총콜레스테롤(TC) 및 HDL-콜레스테롤의 함량을 측정을 위해서는 혈액생화학적 검사 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Japan)를 이용하였다. 그리고 LDL-콜레스테롤 함량 구하기 위해서는 Friedwald식 {총콜레스테롤 - (HDL-콜레스테롤 - 중성지방/5)}(41)을 사용하였다. 그리고 심혈관계 질환의 위험도 판정에 사용되는 동맥경화지수(atherogenic index, AI)(42)는 {(총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤}의 계산식으로, 심혈관위험지수(cardiac risk factor, CRF)(42)는 {총콜레스테/ HDL-콜레스테롤}의 계산식으로 각각 구하였다.

5. 간조직의 지질 함량 측정

실험에 이용 된 흰쥐 간 조직의 중성지방과 총콜레스테롤 함량을 분석하기 위하여 먼저 Folch 방법(43)에 따라서 간 조직에서 총지질을 추출하였다. 실험에 이용된 흰쥐의 간조직 중 0.1 g을 칭량하고 여기에 $CHCl_3$-MeOH (2 : 1, v/v) 6 mL를 첨가한 다음 3일 동안 냉장상태에서 방치한 후 다시 H_2O를 첨가한 다음 1,150 ×g에서 20분 동안 원심분리 시킨 후 지질층인 하층부를 취해서 총콜레스테롤과 중성지방 함량을 분석하는데 사용하였다. 총콜레스테롤의 함량을 측정하기 위해서는 Zlatkis와 Zak의 방법(44)을 사용하였고, 중성지방의 함량을 측정하기 위해서는 Biggs 등(45)의 방법을 이용하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

6. 지방조직의 지질 함량 측정

실험에 이용 된 흰쥐에서 적출한 장간막지방조직과 부고환지방조직에서 Folch 등(43)의 방법에 따라서 지방을 추출한 후 간조직의 경우와 동일한 방법으로 총콜레스테롤의 함량과 중성지방의 함량을 측정하였다.

7. 간 조직의 병리조직학적 검사

실험에 이용 된 흰쥐 해부 직후 적출한 간 조직의 일부를 채취하여 이를 4%의 paraformaldehyde 용액에 고정시킨 다음, 동결절편기(cryocut microtome)를 사용하여 -25℃의 온도에서 3~4 μm 두께의 절편을 제작하여 슬라이드에 부착시켜 말렸다. 이것을 hematoxylin and eosin (H&E)으로 염색한 후, 수세, 중화 및 탈수단계를 차례로 거친 후 봉입제로 봉입한 다음 light microscope 아래에서 관찰하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

8. 부고환지방조직 세포의 크기 측정

실험에 이용 된 흰쥐의 부고환지방조직을 일정 크기로 자른 다음 10%의 formalin으로 고정시킨 후 파리핀 블록으로 제작한 절편을 만들고 이를 슬라이드로 제작한 후 다시 oil-red-o 염색액을 사용하여 염색하고, 전자현미경을 통해 지방세포의 사진을 찍은 다음, Image analyzer 프로그램을 이용하여 처리구간에 있는 지방세포를 비교하였다.

9. 통계처리

이번 실험을 통해서 구해진 결과는 SPSS(Statistical Package for Social Science)를 사용하여 통계 분석을 실시하였다. 실험군당 평균±표준오차로 표시하였고, 통계적 유의성에 대한 검정을 위해서는 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 다음 $p<0.05$ 수준에서 Tukey's test를 사용하여 사후검정을 실시하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제3장 실험 결과 및 고찰

제1절 세발나물의 이화학적 성분

1. 일반성분과 식이섬유소 함량

세발나물의 일반성분 함량은 Table 3과 같이 분석되었다. 건물량 기준으로 수분 4.10%, 조단백질 32.47%, 조지방 4.53%, 조회분 20.68% 그리고 탄수화물 38.22%이었다. Lee 등(46)의 연구에서는 생 세발나물 분말의 일반성분을 분석한 결과, 수분 5.54%, 조단백질 4.70%, 조지방 36.83%, 조회분 22.37% 그리고 탄수화물 30.56%이었고, 데친 세발나물의 일반성분 함량을 보면 각각 6.79%, 4.58%, 35.54%, 19.82% 그리고 33.27%로서 blanching 에 의해 조단백질, 조지방 및 조회분의 함량은 감소되었고, 탄수화물의 함량은 증가하였으며 유의적인 차이는 없었다고 보고하였다. 본 실험의 결과와 비교해 보면 조단백질과 조지방의 함량에 있어서 상이한 결과를 나타냈다. 이는 사용한 시료의 품종, 생육환경, 채취시기, 채취장소 뿐 아니라 처리방법 등에 따라 차이를 보이는 것으로 사료된다.

한국의 서해안지역에 자생하는 28종의 염생식물의 일반성분 함량을 조사한 결과(47)에 따르면, 수분 57.4~93.55%, 조지방 0.1~1.7%, 조단백 1.1~4.9%, 조회분 1.3~5.5% 그리고 탄수화물은 1.0~22.4%로 나타났다고 보고하였으며, 이것은 습식기준으로 측정한 결과값으로서 수분 함량이 높게 나타났다. 염생식물 중 칠면초의 일반성분 분석 결과를 보면, 수분이 72.50 g, 탄수화물 10.75 g, 단백질 8.30 g, 지질 0.85 g, 회분 7.60 g으로 보고하였으며, 회분의 함량이 높게 나타난 이유는 염생식물의 특성상 대부분 나트륨임을 알 수 있었다고 하였다(48). 해안지대에 자생하는 갯기름나물의 일반성분 분석 결과(49)에 의하면, 수분 4.44%, 조단백질 8.07%, 조지방 23.49%, 조회분 5.68% 그리고 탄수화물 58.32%로 보고하였는데, 세발나물이 다른 염색식물과 비교하면 무기질과 조단백질의 함량을 나타내는 척도라고 할 수 있

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

는 조회분의 함량이 다소 높은 것으로 생각된다.

세발나물의 식이섬유소의 함량은 4.50%로 검출되었다(Table 3). 염생식물을 대상으로 식이섬유소 함량을 조사한 결과(47)에 의하면, 2.4~17.3%로 나타났다고 보고하였으며, 그 중 세발나물의 식이섬유소 함량은 3.7%로 보고하여 본 연구결과가 조금 더 높게 나타났다. 식이섬유소는 식품 중 채소, 과일 및 해조류 등에 많이 들어있는 섬유질로, 장내에서 지방의 흡수를 억제하고, 담즙산의 배설을 증가시켜서 콜레스테롤로 부터 담즙산의 합성을 촉진시킴으로써 체내 콜레스테롤의 농도가 감소되어 비만, 고지혈증 및 동맥경화 등을 개선 할 수 있다고 보고된 바 있다(50,51).

따라서 본 연구결과 세발나물에는 식이섬유소가 함유되어 있기 때문에 다양한 생리 기능에 도움을 줄 수 있는 식품으로서 활용이 가능할 것으로 생각된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 3. Proximate compositions of the *Spergularia marina* Griseb

(% dry basis)

Composition	Contents
Moisture	4.10±0.28[2)]
Crude protein	32.47±3.51
Crude fat	4.53±0.92
Crude ash	20.68±1.95
Carbohydrate[1)]	38.22±2.15
Dietary fiber	4.45±0.27

[1)]Carbohydrate = 100-(moisture+crude protein+crude fat+crude ash)
[2)]All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제2절 세발나물 에탄올 추출물의 항산화 효과

1. 총 polyphenol 함량 분석

본 실험에서는 세발나물 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량을 측정하기 위해 tannic acid를 기준물질로 사용하였으며, 총 polyphenol 함량은 Table 4에와 같이 68.04 mg TAE/g 으로 나타났다.

서해안 지역에서 채취한 28종 염생식물들을 대상으로 총 페놀성 화합물의 함량을 조사한 결과를 보면, 11.7~145.96 mg/g으로 나타났으며, 그 중 해당화가 가장 높은 함량을 보였고 세발나물의 총 페놀성 화합물 함량은 27.6 mg/g으로 보고하여(47) 본 연구결과보다 낮은 수치였다. Heo 등(26)은 세발나물의 추출물 농도가 2,000 mg/L 일 때, 메탄올 추출물 41.7 mg/L, 열수 추출물 25.1 mg/L, 에탄올 추출물 22.5 mg/L 순으로 나타났다고 보고하였다. 건조방법에 따른 세발나물 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량 연구결과(52)를 보면, 열풍건조 세발나물은 36.98 mg/g, 동결건조 세발나물은 95.07 mg/g으로 나타나 건조방법에 따른 유의적 차이를 보였다고 보고하였다. 염생식물인 함초 추출물의 용매에 따른 폴리페놀 함량 연구 결과(53)에 따르면, 물 추출물은 432.52 mg/100g, 에탄올 추출물은 458.23 mg/100g으로 에탄올 추출물의 폴리페놀 함량이 물 추출물에 비하여 유의적으로 높았다고 보고하였다. 또한 염생식물인 칠면초 70% 에탄올 추출물의 총 페놀 함량을 분석한 결과(48)에 의하면, 건조물 기준으로 18.77 mg/g으로 나타났는데 이 결과와 비교해 보면 본 연구결과 분석된 세발나물 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량이 더 높은 것으로 나타났다. 염생식물은 고염환경에서 염에 대한 내성을 가지고 자라기 때문에 염 스트레스에 적응하고 살아남기 위해서 일반 육상식물들 보다 다양한 페놀성 화합물을 함유하고 있을 것으로 시사되었다.

천연식물의 2차 대사산물 중 하나인 페놀성 화합물들은 flavonoid류가 주류를 이루고 있으며, 이 외에도 phenyl propanoid류, phenolic acid류, 단순 phenol류 그리고 quinone류 등을 총칭한다고 알려져 있다(54). 분자 내에서 phenolic hydroxyl기

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

가 거대분자와 결합하려는 성질을 가지고 있기 때문에 우리 몸속의 활성산소를 무해한 물질로 바꾸어 주는 항산화효과를 가지며, 그 외에 항암, 항균 및 항돌연변이 등의 다양한 생리활성을 가지는 것으로 보고되었다(55). 또한 콜레스테롤이 소화관으로 흡수되는 것을 막아서 혈중 콜레스테롤의 수치를 낮춰주는 작용을 하며, 지방이 소장벽에 흡수되는 과정에서 장벽으로의 흡수를 억제할 수 있는 것으로 알려졌다(56,57). 뿐만 아니라 free radical이 노화 및 심혈관계질환, 뇌혈관질환, 암과 같은 만성질환의 원인 중 하나로 알려짐에 따라 항산화 효과를 가지고 있는 식품을 섭취함으로써 이러한 질병의 예방과 치료를 기대하고, 산화를 방지함으로써 노화를 지연시킬 수 있는 항산화물질에 대한 관심이 점차 커지고 있다(58).

본 연구결과를 보면 세발나물이 polypheonol에 의한 항산화 효능을 입증하고 있기 때문에 세발나물이 천연 항산화제로서의 활용 가치가 있을 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 4. Contents of total polyphenol of 80% ethanol extracts of *Spergularia marina* Griseb

	Total polyphenol (mg TAE/g)
Spergularia marina Griseb[1)]	68.04±4.26[2)]

[1)]*Spergularia marina* Griseb 80% ethanol extract 1,000 ppm (1 mg/mL).
[2)]All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

2. 총 flavonoid 함량 분석

Flavonoid는 식물의 잎, 뿌리, 꽃등에 주로 함유되어 있으며, 여러 당류와 에테르 결합을 통해 배당체 형태로 존재한다. 이들은 활성산소종을 효과적으로 제거할 수 있기 때문에 항산화능이 높은 것으로 보고되었고, 따라서 flavonoid도 polyphenol과 마찬가지로 항염증, 항바이러스, 항암효과가 있는 것으로 알려져 있다(59).

본 실험에서는 세발나물 에탄올 추출물의 총 flavonoid 함량을 측정하기 위해서 기준 물질로는 rutin을 사용하였고, 그 측정 결과는 Table 5와 같이 28.60 mg RE/g 으로 나타났다. Heo 등(26)은 세발나물의 추출물 농도가 2,000 mg/L 일 때, 메탄올 추출물 18.9 mg/L, 에탄올 추출물 12.2 mg/L, 열수 추출물 11.0 mg/L 순으로 나타났다고 보고하였다. 건조방법에 따른 세발나물 에탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량 연구결과(52)를 보면, 열풍건조 세발나물은 10.53 mg/g, 동결건조 세발나물은 21.53 mg/g으로 나타나 건조방법에 따른 유의적 차이를 보였다고 보고하였다. Lee 등(60)이 칠면초 70% 에탄올 추출물을 용매별로 분획한 후 총 flavonoid 함량을 분석한 결과를 보면 ethyl acetate 10.9 mg/g, chloroform 7.1 mg/g, water 4.9 mg/g, butanol 3.1 mg/g 그리고 hexane 1.7 mg/g 순으로 나타났다고 보고하였고, Lee 등(48)은 칠면초 70% 에탄올 추출물의 총 flavonoid 함량을 분석한 결과, 건조물 기준으로 2.69 mg/g으로 나타난 결과 등과 비교해 보면 본 연구 결과로 분석된 세발나물 에탄올 추출물의 총 flavonoid 함량이 좀 더 높음을 알 수 있었다.

Flavonoid 류와 phenol 류는 항산화 활성 기능으로 인해서 식품의 재료로 중요한 역할을 하고 있다. 본 연구 결과에 의하면 세발나물은 다른 염생식물과 비교해 볼 때 많은 양의 polyphenol과 flavonoid를 가지고 있는 것으로 나타났으며, 따라서 세발나물은 다양한 형태의 기능성 식물 소재로 활용 가능할 것으로 생각된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 5. Contents of total flavonoid of 80% ethanol extracts of *Spergularia marina* Griseb

	Total flavonoid (mg RE/g)
Spergularia marina Griseb[1)]	28.60±1.79[2)]

[1)]*Spergularia marina* Griseb 80% ethanol extract 1,000 ppm (1 mg/mL).
[2)]All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제3절 지방전구세포를 이용한 세발나물 에탄올 추출물의 항비만 효과

1. 세발나물 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방전구세포 증식과 분화 억제효과

가. 3T3-L1 지방전구세포의 증식에 미치는 억제 효과

비만 연구 분야에서 가장 널리 사용되는 3T3-L1 지방전구세포는 단순한 에너지의 저장기관이 아니라 여러 호르몬과 분화유도 전사인자 및 유전자의 발현에 의해 지방세포로 분화되며, 이 과정은 지방세포 수의 증식과 지방축적 과정으로 나눌 수 있다(61,62). 전지방세포가 지방세포로 전환되는 과정인 adipogenesis는 비만과 밀접한 관련이 있으며 이 과정을 효과적으로 조절하는 것이 비만 예방 및 지방축적 억제하는데 있어서 중요한 부분이다(63).

세발나물 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방전구세포의 증식에 어떠한 영향을 미치는 지를 알아보기 위해서 50, 100 그리고 200 μg/mL의 세발나물 에탄올 추출물을 각각 처리하고 2일간 배양한 후에 지방세포수를 측정한 결과를 보면 Fig. 1과 같다. 세발나물 에탄올 추출물의 농도가 증가됨에 따라 지방세포 수가 농도 의존적으로 감소되었다. 50, 100 μg/mL 농도에서는 대조군에 비하여 지방세포수가 감소하기는 하였으나 유사한 경향이었고, 200 μg/mL 농도에서는 대조군에 비하여 87.89%로 지방세포 수가 유의적으로 감소하여 지방전구세포의 증식 억제효과를 보였다.

함초 물 추출물 농도별 3T3-L1 세포 생존율을 측정한 결과(62)를 보면, 함초 물 추출물로 처리되지 않은 대조군의 생존율에 비하여, 추출물 농도 1,000 μg/mL로 96시간 동안 처리 시의 세포 생존율이 크게 감소한 것을 미루어 보면 세포 독성이 일부 있는 것으로 나타났다. 따라서 모든 처리시간에서 80% 이상의 세포생존율을 보인 500 μg/mL를 최고 농도로 정하였다. 시료 처리 3T3-L1 전구지방세포의 생존

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

율을 측정함으로써 시료의 독성 정도를 파악할 수 있고, 이를 활용해서 세포의 증식과 성장을 방해하지 않는 조건을 찾을 수 있다. 염생식물인 수송나물 50% 에탄올 추출물의 3T3-L1 세포 생존율을 측정한 결과(64)를 보면, 농도가 증가됨에 따라 세포 생존율이 감소하여, 95% 이상 생존율을 보인 4, 20, 100 및 200 μg/mL로 범위를 설정하였다고 하였다. 미역, 다시마, 모자반, 톳 등의 물 추출물과 에탄올 추출물의 3T3-L1 전지방세포의 생존율 실험결과(65)에서는 해조류 4종의 물 추출물은 가장 높은 농도인 200 μg/mL에서 독성을 보이지 않았으며, 에탄올 추출물의 경우에도 3T3-L1 전지방세포에 유의한 독성을 나타내지 않았다고 보고하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

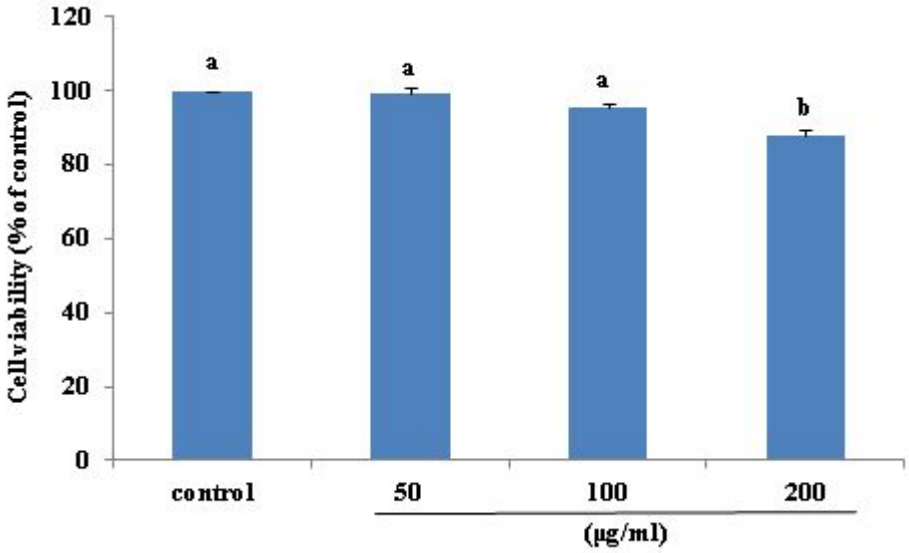

Fig. 1. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on proliferation of 3T3-L1 preadipocytes

Dimethyl sulfoxide(DMSO) was used as control. Cell proliferation was determined by counting cells by hematocytometer. Reported values are means±SE. $^{a-b}$Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

나. 3T3-L1 지방세포 분화에 미치는 억제 효과

세포질 내에 존재하는 GPDH(glycerol-3-phosphate dehydrogenase)는 지방조직에서 dihydroxyacetone phosphate를 glycerol-3-phosphate로 가역적으로 생성되게 하고, fatty acyl-CoA와 결합해서는 triglyceride를 생성한다(66). GPDH 활성은 분화 후기의 3T3-L1 지방세포에서 급격히 증가하므로 이는 지방세포 분화와 중성지방 축적 정도를 알아볼 수 있는 척도이다(67).

세발나물 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방세포 분화에 어떤 영향을 미치는 지를 알아보기 위해 50, 100 그리고 200 μg/mL의 세발나물 에탄올 추출물을 각각 처리하여 GPDH 활성 정도를 측정한 결과를 보면 Fig. 2와 같다. 세발나물 에탄올 추출물의 농도가 증가됨에 따라서 GPDH 활성 정도가 농도 의존적으로 저하됨으로써 3T3-L1 지방세포가 분화되는 것을 억제하는 효과를 나타내었다. 세발나물 에탄올 추출물들은 대조군에 비하여 50 μg/mL의 농도에서는 11.42%, 100 μg/mL의 농도에서는 20.53%, 200 μg/mL의 농도에서는 32.05%의 GPDH 활성이 감소되는 것으로 나타나 3개 실험군 모두에서 유의한 차이로 3T3-L1 지방세포의 분화가 억제되는 효과를 보였다.

Kim과 Nam(68)은 식이섬유소의 한 종류이며, 미역이나 다시마와 같은 갈조류에 많은 알긴산을 저분자화 시킨 polymannuronate를 처리하여 GPDH 활성을 측정한 결과, polymannuronate의 농도가 증가할수록 농도 의존적으로 GPDH 활성이 저하되어 지방세포 분화 억제효과를 나타냈다고 보고하여 본 연구 결과와 유사한 결과를 보였다. 해조류 4종의 물 추출물과 에탄올 추출물의 전지방세포를 지방세포로 분화하는 과정에 어떤 영향을 미치는지 알아본 결과(65)를 보면, 에탄올 추출물 중에서는 다시마 200 μg/mL 농도에서만 지방세포분화를 억제하는 효과가 나타났으며, 물 추출물 중에서는 다시마, 모자반, 톳에서 지방세포분화 억제효과가 나타났는데, 대조군과 비교하여 다시마는 100 μg/mL 농도에서부터, 모자반은 50 μg/mL 농도에서부터, 톳은 200 μg/mL 농도에서부터 지방세포분화 억제에 유의한 효과가 나타나 물추출물이 에탄올 추출물보다 지방세포분화 억제효과가 우수하다고 하였다.

본 연구결과 세발나물 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방세포의 분화를 억제하는 것

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

으로 나타남에 따라 세발나물의 섭취 시 비만을 예방하는 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

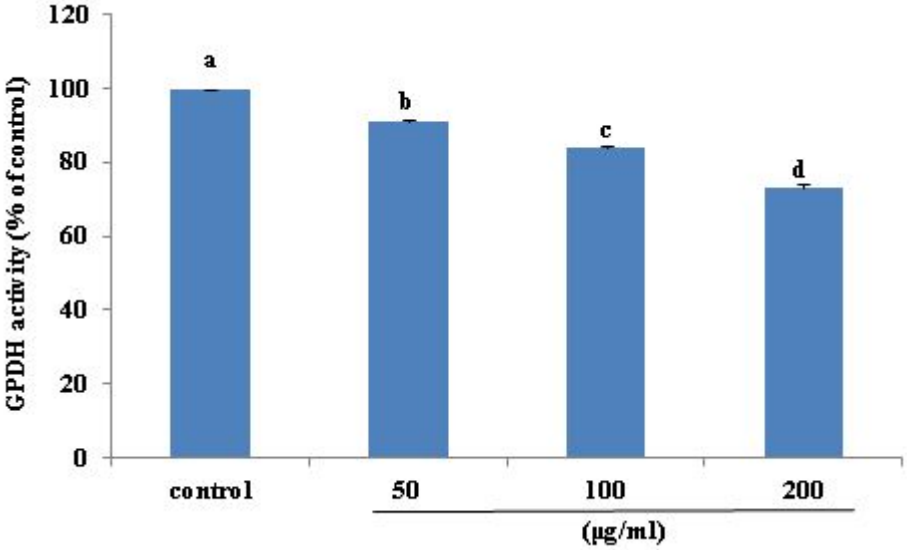

Fig. 2. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on differentiation of 3T3-L1 adipocytes

Dimethyl sulfoxide(DMSO) was used as control. Cell differentiation was determined by glycerol-3-phosphate dehydrogenase(GPDH) activity. Reported values are means±SE. $^{a-d}$Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

다. 3T3-L1 지방세포의 중성지방 함량에 미치는 효과

3T3-L1 지방세포에서 triglyceride 함량을 측정하는 이유는 지방전구세포가 지방세포로 분화할 때 세포 내 지방구에 triglyceride가 침착하게 되는 것 때문이다. 따라서 3T3-L1 지방세포에서의 triglyceride 함량을 측정하는 것은 지방세포의 지방 축적을 비교 평가하는 방법 중 하나가 된다. Triglyceride 생성 단계는 먼저 세포 내로 유입되는 포도당의 대사과정으로 일어나며, lipoprotein lipase에 의해 분해되어 들어오는 모노글리세롤과 지방산, 그리고 세포 내 새로운 지방산 합성과정 등으로 인해 복합적으로 세포 내에 triglyceride가 생성되어 분화 마지막 단계까지 계속해서 지방구가 형성되는데 시간이 지나면서 지방구끼리도 결합하게 되어 그 크기가 점차 더 커지게 된다(69).

세발나물 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방세포의 지방 축적을 억제하는 효과를 확인하기 위해 50, 100 그리고 200 μg/mL의 세발나물 에탄올 추출물을 각각 처리하여 중성지방 함량을 측정한 결과를 보면 Fig. 3과 같다. 세발나물 에탄올 추출물의 농도가 다른 3개 실험군 모두에서 3T3-L1 지방세포의 중성지방 함량이 감소하였고 감소의 정도도 세발나물 에탄올 추출물의 농도에 의존적인 경향을 보였다. 50 μg/mL 농도의 경우에는 대조군에 비해 10.20% 중성지방 축적이 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다. 그러나 100 μg/mL와 200 μg/mL 농도의 경우에는 대조군에 비해 각각 28.00%와 46.13% 중성지방 함량이 유의한 차이로 감소되었다. 지방전구세포가 지방세포로 분화되는 과정에서 세포 내에는 지방이 축적되는 점을 미루어 볼 때, 중성지방 함량이 감소되었다는 것은 분화가 억제 되었다는 것을 의미한다고 할 수 있다. 따라서 본 연구에서의 결과는 세발나물 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방세포의 분화를 억제시킨 결과로 볼 수 있겠다.

함초 물 추출물 처리시기에 따른 지방세포의 지방 축적에 미치는 영향을 알아본 결과(62)를 살펴보면, 함초 물 추출물을 처리하지 않은 대조군의 지방 축적도에 비하여, 함초 물 추출물 전처리 시 고농도인 500 μg/mL에서 지방 축적이 유의한 차이로 감소하였고, 함초 물 추출물 후처리 시 저농도인 125, 250 μg/mL에서 지방

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

축적이 유의한 차이로 감소한 것으로 나타났다. 수송나물 50% 에탄올 추출물의 지방세포 분화 억제능을 확인한 결과(64)에 따르면, 농도가 증가됨에 따라 지방구의 수가 의존적으로 감소하였으며, 100 μl/mL 농도에서는 대조군인 지방전구세포와 유사하게 보일 정도로 지방 축적이 감소하였고, 200 μl/mL 농도에서는 지방세포에 비해 유의적으로 지방축적이 감소하였다고 보고하여 본 연구결과와 유사한 결과를 보였다.

이상의 결과 세발나물 에탄올 추출물은 3T3-L1 지방전구세포가 증식하는 것을 억제하고, GPDH의 활성 정도를 약화시킴으로써 중성지방의 축적과 지방세포로의 분화를 억제하는 효과가 있는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 세발나물이 항비만 소재로 활용될 수 있는 가능성이 있을 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

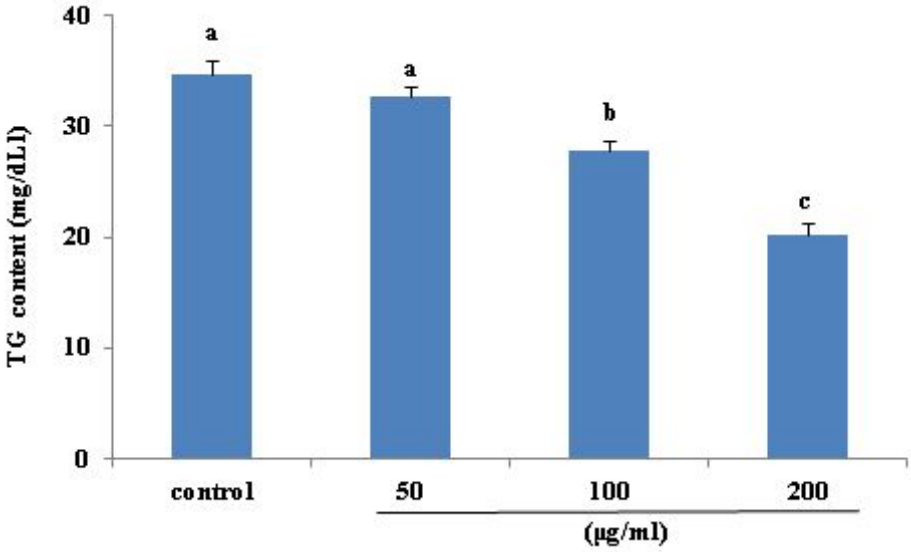

Fig. 3. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on triglyceride contents of 3T3-L1 adipocytes

Dimethyl sulfoxide(DMSO) was used as control. Reported values are means±SE. $^{a-c}$Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

2. 세발나물 에탄올 추출물의 돼지 지방전구세포 증식과 분화 억제 효과

가. 돼지 지방전구세포 증식에 미치는 억제 효과

세발나물 에탄올 추출물이 돼지 지방전구세포의 증식에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보기 위해 50, 100 그리고 200 μg/mL의 세발나물 에탄올 추출물을 각각 처리하고 2일간 배양한 후에 지방세포수를 측정한 결과를 보면 Fig. 4와 같다. 세발나물 에탄올 추출물의 농도가 증가됨에 따라 지방세포 수가 농도 의존적으로 저하되었다. 50 μg/mL와 100 μg/mL 농도의 실험군에서는 대조군에 비하여 지방세포 수가 다소 감소되기는 하였으나 유의한 차이를 보이지는 않았고, 200 μg/mL 농도의 경우에는 대조군에 비해 91.39%로 감소한 것으로 나타나 유의한 차이로 지방전구세포의 증식 억제효과를 보였다. 앞서 3T3-L1 지방전구세포를 대상으로 한 실험에서 세발나물 에탄올 추출물 농도 50, 100 μg/mL에서는 유의한 차이를 보이지 않았지만, 200 μg/mL 농도에서는 12.11%의 유의한 차이의 증식 억제효과를 보였던 것과 비교하면 돼지 지방전구세포를 대상으로 한 실험도 유사한 경향을 보였으며, 따라서 지방세포의 증식 억제는 세발나물 에탄올 추출물 200 μg/mL 농도에서 효과가 있는 것으로 생각된다.

Kim(70)의 연구에서는 열풍건조 또는 동결건조 시킨 모시잎 에탄올 추출물의 25 μg/mL와 100 μg/mL 농도에서 돼지 지방전구세포의 증식에 미치는 영향을 분석하였는데 그 결과를 보면, 두 추출물 모두의 경우에서 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 지방전구세포의 증식 억제효과를 보였다고 보고하였다. Song 등(71)은 콜라비 80% 에탄올 추출물이 돼지 지방전구세포의 증식에 어떤 영향을 미치는 지를 알아보기 위해 세포배양 초기 2일간 25 ng/mL와 100 ng/mL의 콜라비를 처리한 결과를 보면, 대조군에 비하여 콜라비 과피 25 ng/mL, 100 ng/mL는 각각 4.59%, 17.70%의 지방세포 증식 억제 효과가, 콜라피 과육 25 ng/mL, 100 ng/mL는 각각 11.40%, 19.20%의 지방세포 증식 억제 효과가 있는 것으로 보고하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

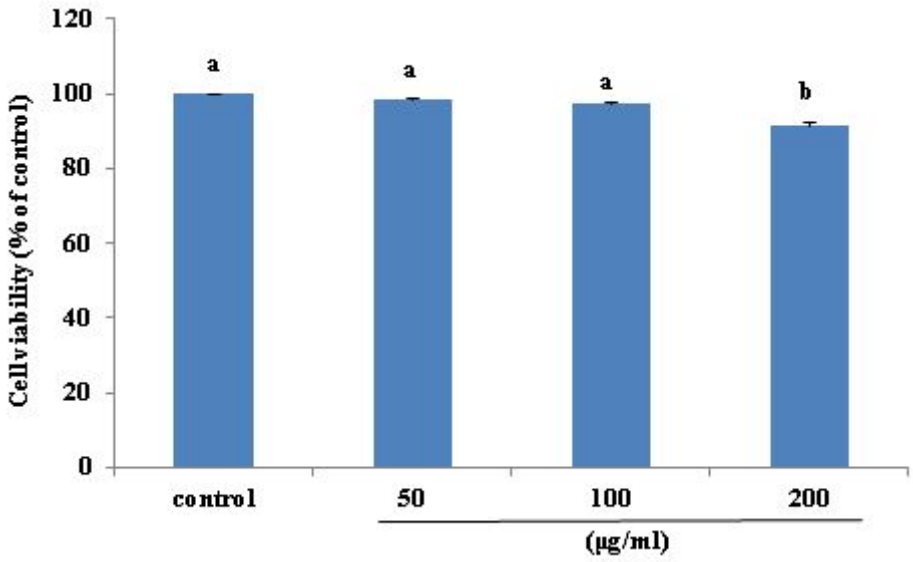

Fig. 4. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on proliferation of pig preadipocytes

Dimethyl sulfoxide(DMSO) was used as control. Cell proliferation was determined by counting cells by hematocytometer. Reported values are means±SE. $^{a-b}$Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

나. 돼지 지방세포의 분화에 미치는 억제 효과

세발나물 에탄올 추출물이 돼지 지방세포의 분화에 미치는 영향을 알아보기 위해 50, 100 그리고 200 μg/mL의 세발나물 에탄올 추출물을 각각 처리하여 GPDH 활성 정도를 측정한 결과를 보면 Fig. 5와 같다. 세발나물 에탄올 추출물의 농도가 증가됨에 따라 GPDH 활성 정도도 농도 의존적으로 감소되어 지방세포의 분화를 억제하는 효과를 나타내었다. 세발나물 에탄올 추출물은 대조군에 비하여 50 μg/mL의 농도에서는 9.13%, 100 μg/mL의 농도에서는 16.22% 그리고 200 μg/mL의 농도에서는 26.73%의 GPDH 활성이 감소되어 유의한 차이로 지방세포의 분화를 억제하는 효과를 보였다. 이러한 실험결과는 앞서 3T3-L1 지방세포에 대한 세발나물 에탄올 추출물의 분화 억제효과에서 50, 100, 그리고 200 μg/mL 농도 모두의 경우에서 농도 의존적이고 유의한 차이로 지방세포 분화 억제 효과를 보인 결과와 유사하였다.

Kim (70)은 열풍건조 또는 동결건조 모시잎 에탄올 추출물의 25 μg/mL와 100 μg/mL 농도에서 돼지 지방세포의 분화에 미치는 영향을 연구하였는데 그 결과를 보면, 두 추출물 모두의 경우에 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 지방세포의 분화 억제효과를 보였다고 보고하였다. 콜라비 80% 에탄올 추출물의 돼지 지방세포의 분화에 미치는 영향을 조사한 Song 등(71)의 연구결과에 따르면, 콜라비 과피와 과육 100 ng/mL의 농도에서 각각 12.8%, 10.6%의 지방세포 분화를 촉진 효과를 보여, 지방전구세포의 증식 억제효과와는 다른 결과를 나타났는데 이는 서로 다른 작용기전을 통해서 돼지 지방전구세포의 증식과 분화에 영향을 미쳤기 때문인 것으로 생각된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

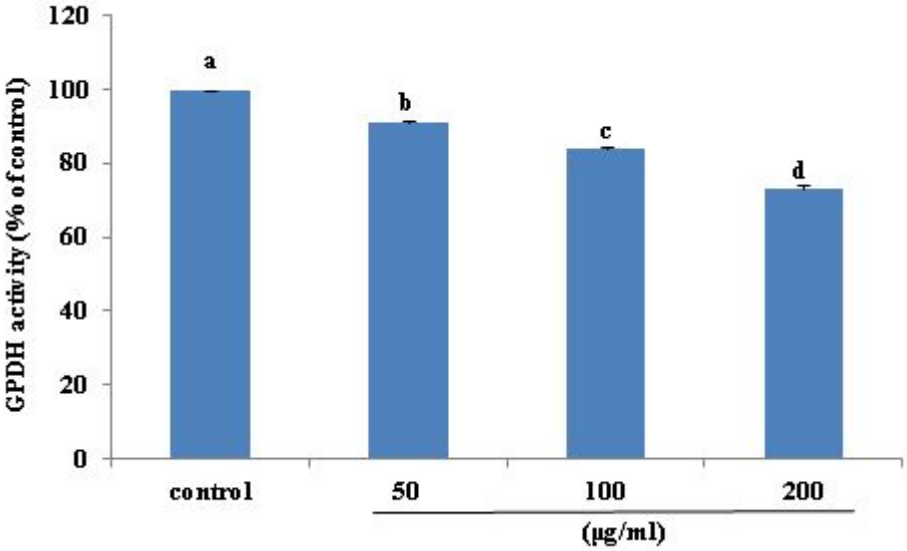

Fig. 5. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on differentiation of pig adipocytes

Dimethyl sulfoxide(DMSO) was used as control. Cell differentiation was determined by glycerol-3-phosphate dehydrogenase(GPDH) activity. Reported values are means±SE. [a-c]Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

다. 돼지 지방세포의 중성지방 함량에 미치는 효과

세발나물 에탄올 추출물이 돼지 지방세포의 지방 축적에 어떤 영향을 미치는 지를 확인하기 위해 50, 100, 그리고 200 μg/mL의 세발나물 에탄올 추출물을 각각 처리하여 중성지방 함량을 측정한 결과를 보면 Fig. 6과 같다. 세발나물 에탄올 추출물의 농도가 증가함에 따라서 지방세포의 중성지방 함량은 농도 의존적으로 감소되는 경향을 보였다. 50 μg/mL 농도의 실험군에서는 대조군에 비하여 중성지방의 함량이 5.70% 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 없었다. 100 μg/mL와 200 μg/mL 농도의 실험군에서는 대조군과 비교하여 각각 19.74%, 41.76%의 중성지방 함량이 유의적으로 감소된 것으로 나타났다. 이러한 결과는 세발나물 에탄올 추출물의 농도가 증가함에 따라 돼지 지방세포의 분화를 억제시킨 결과와 유사한 경향이었으며, 앞서 3T3-L1 지방세포에 대한 세발나물 에탄올 추출물의 중성지방 축적 억제효과에서 보았던 100 μg/mL와 200 μg/mL의 두 농도 모두 농도 의존적 그리고 유의적으로 중성지방 축적 억제효과를 보인 결과와도 일치하였다.

열풍건조 또는 동결건조 모시잎 에탄올 추출물의 돼지 지방세포의 지방 축적 억제효과를 조사한 Kim (70)의 연구결과를 보면, 두 추출물 모두의 경우에서 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 중성지방 함량이 저하되었으며, 열풍건조 한 모시잎이 동결건조 한 모시잎에 비하여 중성지방 축적 억제효과가 더 높게 나타났다고 보고하였다.

이상의 *in vitro* 실험결과를 보면, 세발나물 에탄올 추출물은 3T3-L1 지방전구세포 뿐만 아니라 돼지 지방전구세포에서도 지방세포의 증식과 분화를 억제하는 효과, 그리고 지방 축적을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타나 세발나물은 항비만 소재로서의 가능성이 있는 것으로 사료된다. 따라서 *in vivo* 연구에서 세발나물 분말을 이용하여 항비만 효과를 연구하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

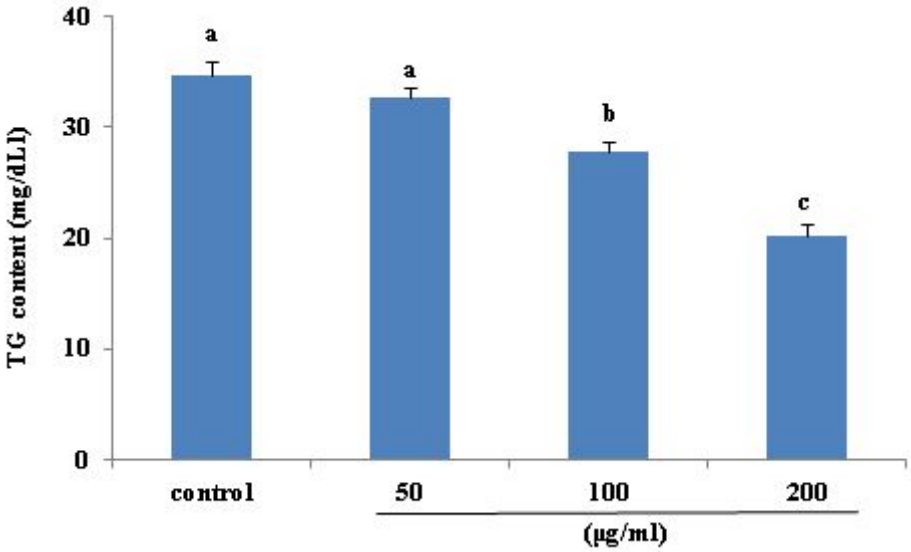

Fig. 6. Effects of *Spergularia marina* Griseb ethanol extracts on triglyceride contents of pig adipocytes

Dimethyl sulfoxide(DMSO) was used as control. Reported values are means±SE. [a-c]Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제4절 세발나물 분말의 고지방 식이를 급여한 흰쥐에 대한 항비만 효과

1. 체중증가량, 식이섭취량 그리고 식이효율

고지방 식이와 함께 세발나물 분말의 첨가 수준을 달리하여 4주 동안 급여한 흰쥐의 체중증가량, 식이섭취량, 그리고 식이효율을 비교한 결과를 보면 Table 6과 같다. 체중증가량의 경우, 고지방 식이군(HF)의 경우 정상식이군(N)에 비하여 유의한 차이로 체중이 증가한 것을 미루어 볼 때 고지방 식이로 인해서 비만이 유도되었음을 확인하였다. 고지방 식이와 함께 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우에는 모두 고지방 식이군(HF)에 비하여 농도 의존적으로 체중이 감소하는 경향이었으며, 고지방 식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(HF-SH)은 고지방 식이군(HF)에 비하여 유의한 차이로 체중이 감소하였다.

식이섭취량은 고지방 식이를 첨가한 군들(HF, HF-SL, HF-SH)에 비하여 정상식이군(N)이 높게 나타났으며, 이는 고지방 식이의 에너지 밀도가 높아 체내에서 위 내 배출시간을 지연시켜 일반사료에 비해 섭취량이 낮아졌다는 연구결과와 유사한 경향을 보였다(72,73). 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH) 모두 고지방 식이군(HF)에 비해 식이섭취량이 감소하는 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다.

체중증가량을 식이섭취량으로 나눈 값인 식이효율에서는 에너지 밀도가 높은 고지방 식이를 첨가한 군들(HF, HF-SL, HF-SH)이 상대적으로 에너지 밀도가 낮은 정상식이군(N) 보다는 유의한 차이로 높게 나타났다. 고지방 식이군(HF)과 비교해 보면 고지방식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 식이효율이 감소하였으며, 고지방식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(HF-SH)의 경우에는 고지방 식이군(HF)에 비하여 그 차이가 유의하게 감소하였다.

세발나물과 같은 염생식물인 함초 추출물을 비만 유도된 흰쥐에게 급여하여 식이섭취량을 비교한 결과를 보면, 비만유도 후의 고지방식이 + 함초 0.5%군이 비만

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

유도 후의 고지방식이군에 비해 감소하는 경향이었으나 유의한 차이는 없었으며, 체중증가량 및 식이효율은 고지방식이 + 함초 0.5%군이 고지방식이군에 비해 유의한 차이로 감소되었다고 보고하였다(74). 또한 염생식물의 종류인 수송나물 추출물을 6주간 마우스에게 투여한 결과를 보면, 시료 투여 4주차부터 수송나물 추출물 투여군들 모두 고지방식이 대조군에 비하여 유의한 차이로 체중이 감소되었다고 보고하였다(64).

본 연구 결과 고지방 식이로 비만이 유도된 흰쥐에게 세발나물 분말의 급여로 체중증가량, 식이섭취량, 그리고 식이효율 등을 모두 감소되었기 때문에 세발나물은 체중 감소효과가 있는 것으로 생각된다. 이러한 결과는 세발나물에 함유된 식이섬유소, polyphenol 및 flavonoid 등의 생리활성 물질들이 지방대사에 효과적으로 작용하여 체중감소를 유도한 것으로 사료되며 이에 대한 연구는 더 자세히 이루어져야 할 것이다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 6. Changes in body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats fed the experimental diets

Groups[1)]	Body weight gain (g)	Food intake (g/day)	FER[2)]
N	6.16±0.18[c]	21.80±0.44[a]	0.28±0.00[c]
HF	8.22±0.46[a]	20.17±0.81[ab]	0.41±0.13[a]
HF-SL	7.48±0.24[ab]	19.03±0.49[b]	0.39±0.01[ab]
HF-SH	6.81±0.36[bc]	18.55±0.37[b]	0.37±0.01[b]

[1)]See the legend of Table 1.

[2)]Values FER(food efficiency ratio) : total weight gain/total food intake.

[3)]Values are mean±S.E. of 8 rats per each group.

[4)]Values with different superscripts in the same column are significantly different($p<0.05$) between groups by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

2. 간과 지방조직의 무게

고지방 식이와 함께 세발나물 분말의 첨가 수준을 달리하여 4주 동안 급여한 흰쥐에서 채취한 간 및 지방조직의 무게를 비교한 결과를 보면 Fig 7 및 Table 7과 같다. 일반적으로 고지방 또는 고콜레스테롤 식이 섭취는 간의 지질대사의 문제를 초래하여 간에 콜레스테롤과 중성지질 등이 축적되고 간 중량을 증가시킨다(75). 본 실험결과 간조직의 무게는 Fig 7에서 보는 것과 같이 고지방 식이군(HF)이 가장 높았으며, 세발나물 분말을 첨가하면 간 조직의 무게가 감소되는 경향이 있었으나 모든 실험군들 간에 유의한 차이는 없었다.

부고환지방조직의 무게는 Table 7에서 보는 것과 같이 고지방 식이군(HF)의 경우에는 정상식이군(N)에 비하여 유의한 차이로 증가되었고, 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)은 모두 고지방 식이군(HF)에 비해 유의한 차이로 감소하였다. 장간막지방조직과 등지방조직의 무게를 비교해 보면, 고지방 식이군(HF)은 정상식이군(N)에 비하여 유의한 차이로 무게가 증가된 반면에, 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우에는 모두 고지방 식이군(HF)에 비하여 유의한 차이로 장간막지방조직과 등지방조직의 무게가 감소하여 정상식이군(N)과 비슷한 수준을 나타냈다. 신주위지방조직의 무게를 비교한 결과를 보면, 고지방식이군(HF)의 경우 정상식이군(N)에 비하여 유의한 차이로 증가하였고, 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)은 모두 고지방 식이군(HF)에 비하여 농도 의존적으로 신주위지방조직의 무게가 감소하는 경향이었고, 고지방 식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(HF-SH)의 경우에는 고지방 식이군(HF)에 비하여 그 차이가 유의한 차이로 감소하였다.

부고환지방, 장간막지방, 등지방 및 신주위지방조직의 무게를 더한 값인 총 지방조직 무게를 비교해 보면 Fig 8에서와 같이 고지방식이군(HF)이 정상식이군(N)에 비하여 유의한 차이로 증가하였으나, 세발나물 분말의 첨가로 인해 그 무게가 감소되는 경향을 보였으며, 고지방 식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(HF-SH)은 정상식이군(N)과 비슷한 수준으로 총 지방조직의 무게가 감소하였다.

고지방식이를 급여한 흰쥐에게 함초 동결건조 분말과 함초 동결건조 나노화분말을

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

8주간 급여한 Kim 등(76)의 연구에서는 함초 동결건조 분말과 함초 동결건조 나노화 분말을 급여한 군들 모두 고지방식이군에 비하여 부고환 지방조직의 무게가 유의한 차이로 감소하여 정상식이군보다도 낮게 나타난 것은 본 연구결과와 유사하였다. Lee (64)는 신장주위지방조직의 무게는 고지방식이를 섭취한 대조군에 비해 고지방식이와 수송나물 추출물 투여군들이 유의한 차이로 감소하였으며 정상식이군과 유사한 경향을 보였다고 보고하였다. Lee 등(74)의 연구에서도 신장주변지방의 무게 또한 부고환 지방 조직의 무게와 유사하게 정상식이군보다 고지방식이를 섭취한 군의 경우에 그 무게가 증가하였으며 함초를 첨가하였을 때에는 정상식이군과 고지방식이군 모두에서 함초 추출물 첨가군의 신장주변지방의 무게가 감소되는 경향을 보였다.

일반적으로 비만은 에너지의 불균형으로 인해 내장지방, 피하지방으로 구성된 체지방이 과다하게 축적되는 상태를 의미하며, 체지방 함량이 증가할수록 대사성질환에 노출될 위험도 증가한다(77). 따라서 체지방을 줄이는 것이 비만을 억제하는 데 효과적인 기능을 할 수 있다. 본 연구 결과 간 조직 무게 변화에는 큰 영향을 미치지 않았지만, 체지방 축적을 대표하는 부고환지방, 장간막지방, 등지방 및 신주위지방조직의 축적이 고지방식이로 증가되었으나 세발나물 분말의 급여로 지방조직의 무게가 감소되는 결과를 보였다. 따라서 세발나물이 복부비만 억제 효과와 더불어 대사성질환 예방에도 도움이 될 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

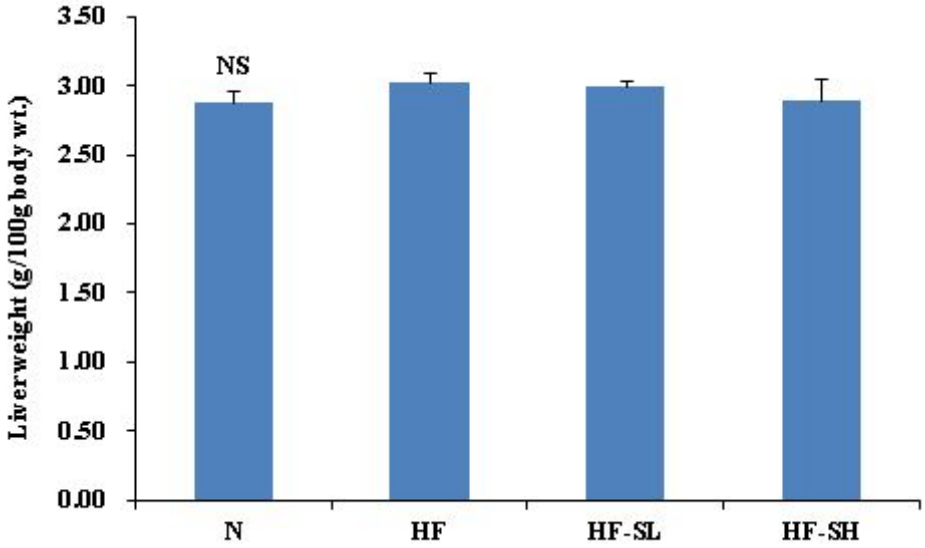

Fig. 7. Liver weight of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 7. Weights of Epididymal, Mensenteric, Retroperitioneal and perinenal adipose tissues in rats fed the experimental diets

(g/100g body wt.)

Groups[1)]	Epididymal AT	Mensenteric AT	Retroperitoneal AT	Perinenal AT	Total AT
N	1.23±0.05[c]	0.95±0.10[b]	1.71±0.15[b]	6.07±0.46[c]	4.35±0.21[c]
HF	2.47±0.04[a]	1.54±0.10[a]	2.47±0.09[a]	11.41±1.14[a]	6.71±0.16[a]
HF-SL	1.62±0.08[b]	1.16±0.07[b]	2.04±0.12[b]	10.34±0.59[ab]	5.79±0.32[b]
HF-SH	1.77±0.07[b]	1.09±0.05[b]	1.97±0.07[b]	8.28±0.40[bc]	5.11±0.34[bc]

[1)]See the legend of Table 8.

[2)]The results are mean±S.E. for 8 rats in each group.

[3)]NS: not significantly different among groups.

[4)]Values with different superscripts in the same column are significantly different($p<0.05$) between groups by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

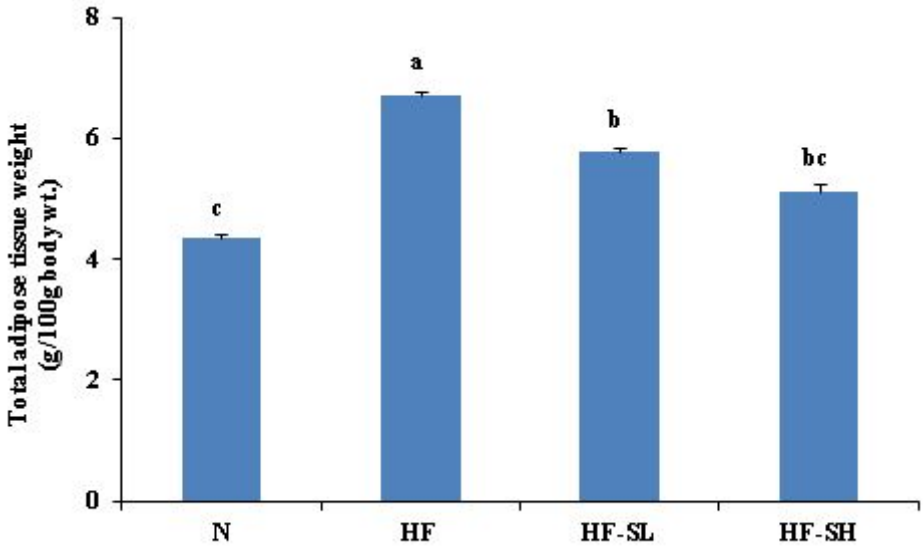

Fig. 8. Total adipose tissue weight of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

3. 혈청 중의 ALT, AST, ALP 그리고 LDH 활성

고지방 식이와 함께 세발나물 분말의 첨가 수준을 달리하여 4주 동안 급여한 흰쥐의 간조직의 기능 및 상태를 확인하기 위하여 이 흰쥐의 혈청 중에 있는 ALT, AST, ALP 그리고 LDH 활성 정도를 측정한 결과를 보면 Fig. 9~12와 같다. 고지방 식이군(HF)의 경우에 정상식이군(N)과 비교하여 ALT, AST, ALP 그리고 LDH 활성 모두 유의한 차이로 증가하였다. ALT 활성은 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH) 모두의 경우 고지방 식이군(HF)과 비교해서 유의한 차이로 감소하였다. 그러나 첨가 수준에 따른 유의한 차이는 없었다. AST 활성은 고지방 식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(HF-SH)이 고지방 식이군(HF)에 비해서 유의한 차이로 감소하였으며 정상식이군(N)과 비슷한 경향을 나타냈다. ALP 및 LDH 활성을 보면 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH) 모두의 경우에서 고지방 식이군(HF)에 비하여 감소하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다. Kim 등(78)은 고콜레스테롤을 식이한 흰쥐에게 함초의 효소적 가수분해물을 농도에 따라 공급한 결과, 정상군에 비해서 고콜레스테롤 식이 대조군의 경우 유의한 차이로 ALT 활성이 증가되었으며, 함초추출물 2%와 4% 공급군에서는 유의한 차이로 감소되었다고 보고하였다. 반면 AST 활성은 실험군들 간에는 유의한 차이가 없었다고 보고하였다.

AST와 ALT는 간이나 심장근육에 다량 존재하는 효소로서 간조직의 비대화와 간의 상태를 반영한다. 고지방식이, 고콜레스테롤 식이, 알코올 등으로 인해 간이 손상되면 간세포의 막투과성이 항진되어 혈액 중에 AST와 ALT가 증가하기 때문에 이 두 효소의 활성 정도는 간 손상을 알 수 있는 지표로 사용된다(79,80).

본 연구결과 고지방 식이로 비만이 유도된 흰쥐의 혈청 중 ALT, AST 활성은 세발나물 분말의 첨가로 인해 유의하게 감소하였으며, 이러한 결과로 미루어 볼 때 세발나물이 간의 지질대사 개선, 간 기능 보호에 긍정적인 효과가 있을 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

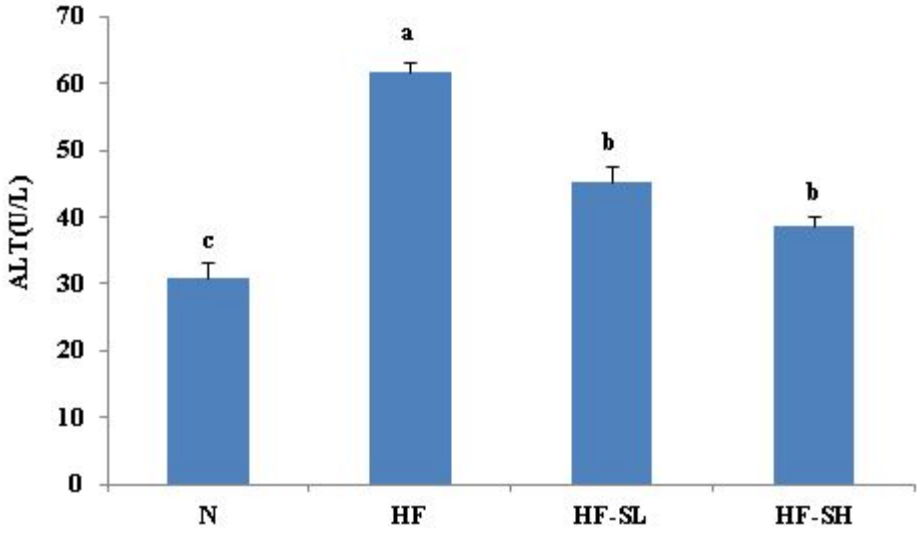

Fig. 9. Serum activity of ALT in the rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

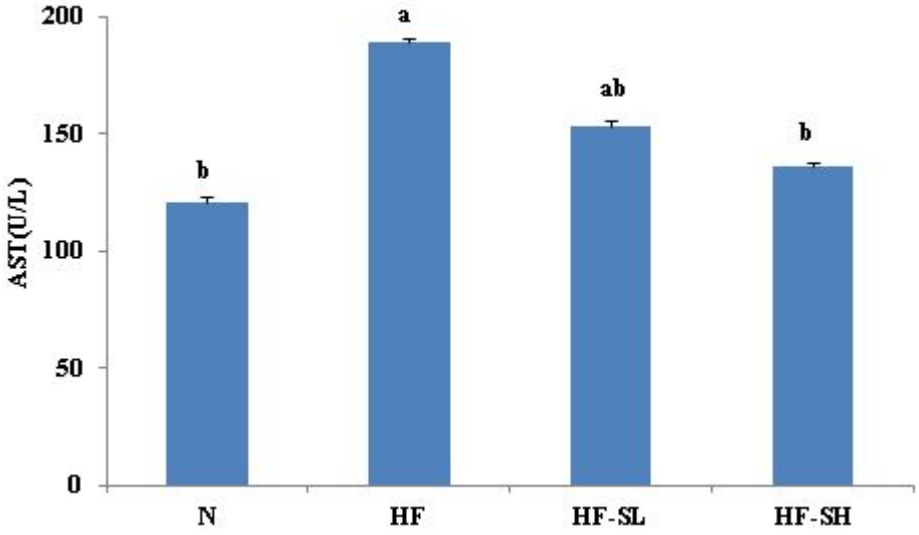

Fig. 10. Serum activity of AST in the rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

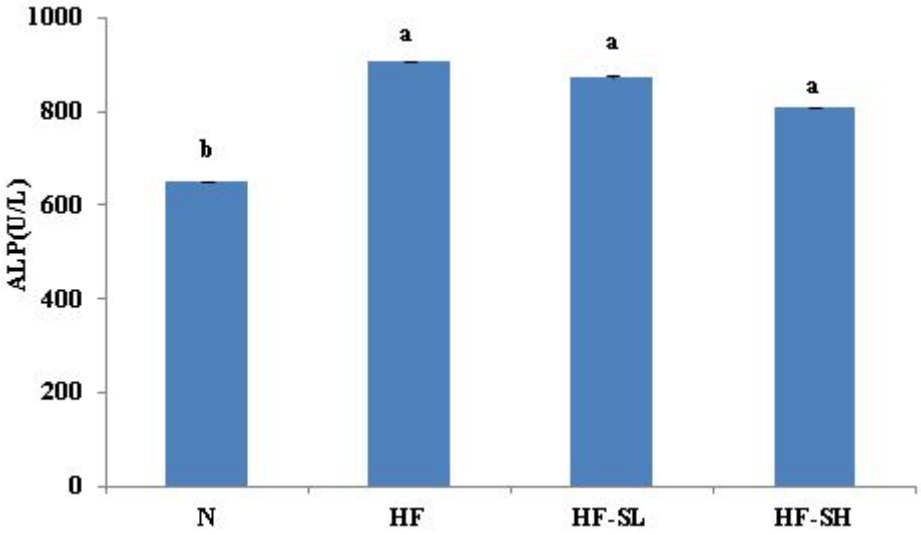

Fig. 11. Serum activity of ALP in the rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

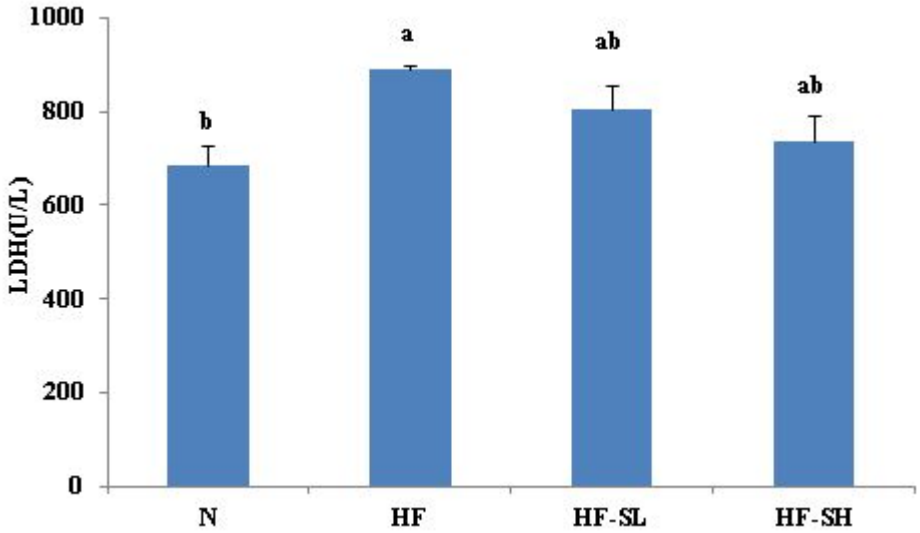

Fig. 12. Serum activity of LDH in the rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

4. 혈청 중의 중성지방과 총콜레스테롤 함량

고지방 식이와 함께 세발나물 분말의 첨가 수준을 달리하여 4주 동안 급여한 흰쥐의 혈청 중에서 중성지방 및 총콜레스테롤 함량의 변화를 비교한 결과를 보면 Fig 13, 14와 같다. 혈청 중에 존재하는 중성지방 및 총콜레스테롤의 함량을 비교해 보면 고지방 식이군(HF)이 정상식이군(N)에 비하여 유의한 차이로 증가하여 고지방식이에 의해서 혈청 중에 있는 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량이 증가한 것을 확인할 수 있었다. 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)은 모두 고지방 식이군(HF)에 비하여 혈청 중에 있는 중성지방 및 총콜레스테롤 함량이 농도 의존적으로 저하되어 정상식이군(N)과 비슷한 경향을 보였으며, 첨가 수준에 따른 유의한 차이는 없었다. 복부지방이 축적된 사람은 혈액 속 중성지방의 함량이 높다고 보고되었는데(81), 본 연구 결과에서도 복부지방 중 하나인 부고환지방조직의 무게가 가장 무거웠던 고지방 식이군(HF)의 중성지방 함량이 가장 높았고, 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)은 모두 앞서 밝힌 것처럼 부고환지방조직의 무게가 감소하였을 뿐 만 아니라 혈청 중 중성지방의 함량 또한 감소하는 경향을 보였다.

염생식물의 지질대사 개선효과에 관한 연구로 Lee 등(74)은 6주 동안 고지방식이로 비만을 유도 후, 고지방식이에 0.5% 함초 추출물을 급여한 실험군이 고지방식이군에 비하여 혈청 중에 있는 중성지방의 함량이 유의한 차이로 감소하였고, 혈청 중의 총콜레스테롤 함량은 유의한 차이는 없었으나 감소하는 경향을 보였다. 고지방식이를 급여한 흰쥐에게 5% 함초분을 4주 동안 급여한 Seo 등(82)의 연구에서도 혈청 중에 있는 중성지방 함량의 경우 5% 함초분을 급여한 군이 고지방식이군에 비하여 유의한 차이로 감소하여 정상식이군과 유사한 수준을 보였고, 혈청 중에 총콜레스테롤의 함량은 실험군들 간에 유의한 차이는 나타나지 않았다고 하였다. Lee 등(83)은 고지방식이를 먹인 흰쥐에게 citrus flavonoid 류(hesperidin, naringin, heperetin, naringenin)를 0.1% 수준으로 투여한 결과, 혈장 중에 있는 총 콜레스테롤의 함량이 대조군에 비하여 유의한 차이로 감소하였다고 보고하였다.

본 연구 결과 고지방 식이로 인하여 혈청 중에 있는 중성지방과 총콜레스테롤의

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

함량이 증가하였으나, 세발나물 분말의 첨가로 인해 그 함량이 감소되는 것을 확인하였다. 따라서 세발나물 분말 첨가가 혈중 지질대사 개선에 효과가 있는 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

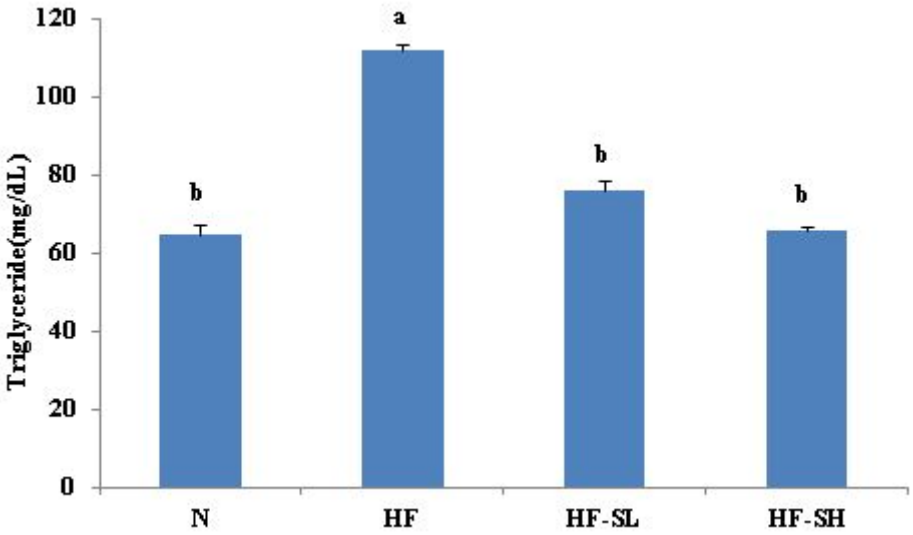

Fig. 13. Contents of triglyceride in serum of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

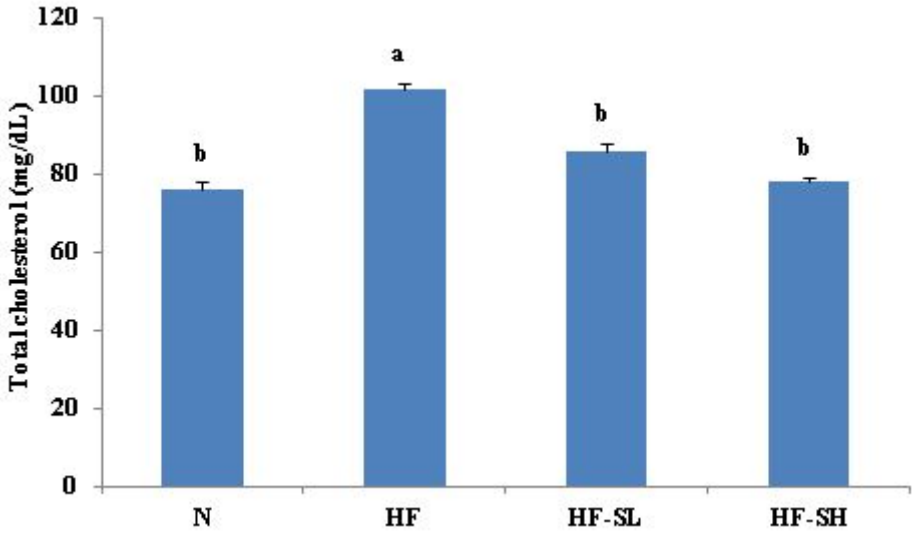

Fig. 14. Contents of total cholesterol in serum of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

5. 혈청 중의 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 함량 그리고 동맥경화지수 및 심혈관위험지수

고지방 식이와 함께 세발나물 분말의 첨가 수준을 달리하여 4주 동안 급여한 흰쥐의 혈청 중에 존재하는 HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 함량, 그리고 동맥경화지수(atherogenic index) 및 심혈관위험지수(cardiac risk factor)의 변화를 비교한 결과를 보면 Fig 15~18과 같다. HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 몸속에서 콜레스테롤을 운반하는 기능을 담당하는데 HDL-콜레스테롤은 조직에서 간으로 콜레스테롤을 운반하여 재활용 또는 배설을 촉진시켜 혈액 속에 있는 콜레스테롤의 양을 저하시키는 반면에 LDL-콜레스테롤은 간에서 말초조직으로 콜레스테롤을 운반하여 몸속에 콜레스테롤을 축적함으로써 동맥경화 및 심혈관계 질환을 유발하는 중요한 위험인자이다. HDL-콜레스테롤 함량 수준을 비교해 보면 Fig 15와 같이 고지방 식이군(HF)의 경우 정상식이군(N)에 비하여 유의한 차이로 감소하였고, 고지방식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우에는 모두 고지방 식이군(HF)과 비교하여 HDL-콜레스테롤 함량이 증가하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다. LDL-콜레스테롤 함량수준을 비교해 보면 Fig 16과 같이 정상식이군(N)에 비하여 고지방 식이군(HF)이 유의적인 차이로 증가하였다. 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우에는 모두 고지방 식이군(HF)에 비하여 유의한 차이로 LDL-콜레스테롤 함량이 감소하였으며, 고지방 식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(HF-SH)은 정상식이군(N)과 비슷한 경향을 나타냈다. Lee 등(74)은 6주 동안 고지방식이로 비만을 유도 후, 고지방식이에 0.5% 함초 추출물을 급여한 실험군의 HDL-콜레스테롤 함량이 고지방식이군에 비하여 유의한 차이로 증가하여 정상식이군과 비슷한 경향을 보였고, LDL-콜레스테롤 함량의 경우에는 함초 추출물 급여에 따른 유의한 차이가 없었다고 보고하였다. Seo 등(82)의 연구 결과를 보면, 고지방식이를 급여한 흰쥐에게 5% 함초분을 4주 동안 급여한 결과 HDL-콜레스테롤 함량은 5% 함초분 급여군이 고지방식이군에 비하여 유의한 차이로 증가하는 경향을 나타냈으나, LDL-콜레스테롤 함량의 경우에는 5% 함초분

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

급여군이 고지방식이군에 비하여 유의한 차이로 감소하는 경향을 보였다고 보고하였다.

심혈관계 질환의 위험도를 파악하기 위한 지표로 이용되는 동맥경화지수 및 심혈관위험지수의 차이 정도를 비교해 보면 Fig 17, 18과 같이 고지방 식이군(HF)의 경우 정상식이군(N)에 비하여 유의한 차이로 높게 나타났으며, 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우에는 모두 고지방 식이군(HF)에 비하여 유의한 차이로 감소하였으며, 첨가 수준에 따른 유의한 차이는 없었다. Lee 등(74)의 연구 결과를 보면 비만 유도 흰쥐에게 함초를 섭취시킨 후의 동맥경화지수와 심혈관위험지수의 변화를 보면, 고지방식이군과 비교하여 고지방식이에 0.5% 함초 추출물 급여군의 동맥경화지수와 심혈관위험지수가 유의한 차이로 감소되었다고 보고하였다. Lee (64)는 정상식이군에 비하여 고지방식이 대조군의 동맥경화지수와 심혈관위험지수가 높게 나타났으며, 수송나물 추출물 투여군들은 고지방식이 대조군에 비하여 동맥경화지수와 심혈관위험지수가 감소하는 경향을 나타냈다고 보고하였다.

혈청 중에 있는 중성지방, 총콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 등의 혈중 지질 함량이 감소되면 관상심혈관계 질환의 위험이 감소된다는 여러 연구 결과들(84-86)에 근거하여 볼 때 세발나물 분말의 섭취는 비만에 의해 유발되는 혈중 지질 개선뿐만 아니라 심혈관계의 위험성을 줄여 줄 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

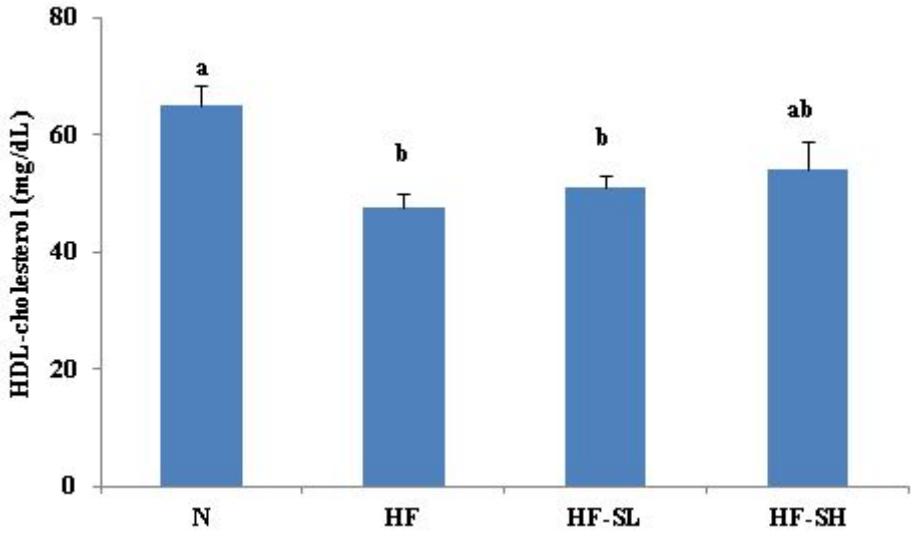

Fig. 15. Contents of HDL-cholesterol in serum of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

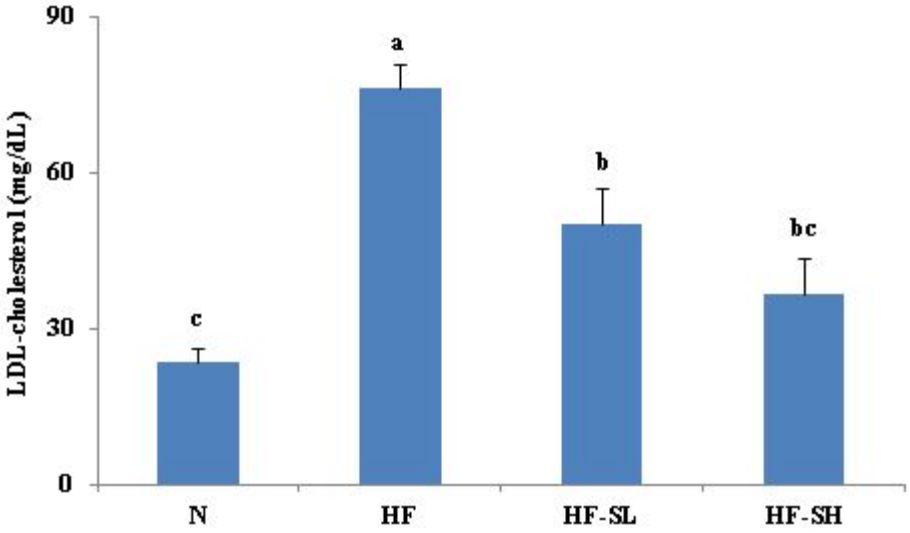

Fig. 16. Contents of LDL-cholesterol in serum of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

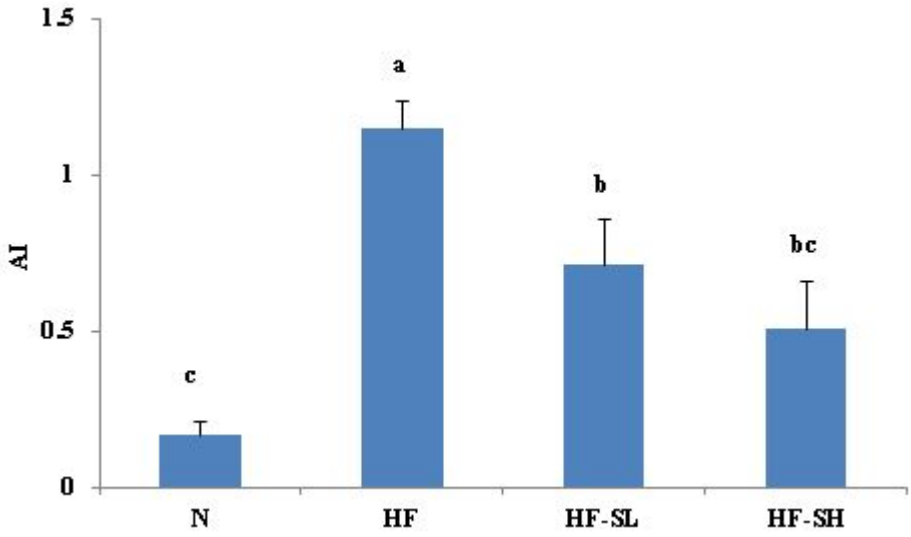

Fig. 17. Atherogenic index of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

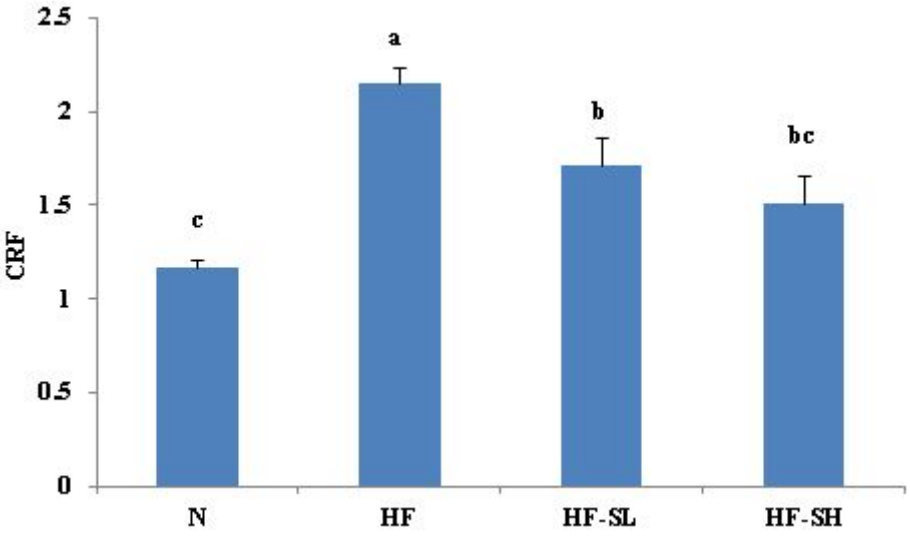

Fig. 18. Cardiac risk factor of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

6. 간조직 중의 중성지방과 총콜레스테롤 함량

고지방 식이와 함께 세발나물 분말의 첨가 수준을 달리하여 4주 동안 급여한 흰쥐에서 채취한 간조직 중에 있는 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 변화를 보면 Fig. 19, 20과 같다. 간조직 중에 존재하는 중성지방 및 총콜레스테롤의 함량 모두 정상식이군(N)에 비하여 고지방 식이군(HF)의 경우 유의한 차이로 증가하였다. 지방대사가 일어나는 주요기관인 간은 콜레스테롤 및 혈장 지단백질의 합성과 분배를 담당하는데(87), 간 조직 내에 중성지방이 축적되면 이로 인해 간에서 만들어지는 VLDL(very low density lipoprotein)이 혈장으로 방출되지 못하는 것으로 보고되어 있다(88). 따라서 간조직의 중성지방과 콜레스테롤 농도를 증가되면 지질대사 이상이 초래되는 것으로 알려져 있다.

세발나물 분말 첨가로 인한 간조직 중에 있는 중성지방 함량의 변화를 살펴보면, 고지방 식이군(HF)에 비교하여 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우 모두 유의한 차이로 중성지방 함량이 감소하였으나 첨가 수준에 따른 유의한 차이는 없었다. 간조직 중에 있는 총콜레스테롤 함량의 변화를 살펴보면 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH) 모두 고지방 식이군(HF)에 비하여 총콜레스테롤의 양이 감소하는 경향을 보이긴 하였으나 유의한 차이는 없었다. Kim 등(76)의 연구에서도 정상식이군에 비하여 고지방식이군의 간조직 중에 있는 중성지방과 총콜레스테롤의 함량이 유의한 차이로 높게 나타났으며, 고지방 식이와 함초 동결건조 분말 5% 첨가군에서 중성지방 및 총콜레스테롤 함량은 유의한 차이는 아니지만 감소하는 경향이었다. Lee 등(83)은 고지방식이를 먹인 흰쥐에게 citrus flavonoid 류(hesperidin, naringin, heperetin, naringenin)를 0.1% 수준으로 투여한 결과, 간 조직 중의 총 콜레스테롤 함량은 대조군에 비하여 naringin 및 naringenin 투여군에서 유의한 차이로 감소하였으며, 간 조직 중의 중성지방 함량은 시험군들 간에 유의한 차이가 없었다고 보고하였다.

본 연구결과를 보면, 고지방식이로 인해서 혈청과 간조직 중에 있는 중성지방 및 총콜레스테롤 함량이 모두 증가되었고, 세발나물 분말의 첨가는 혈중에서와 마찬가지로 간조직 내에서도 지질 조절의 기능이 있는 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

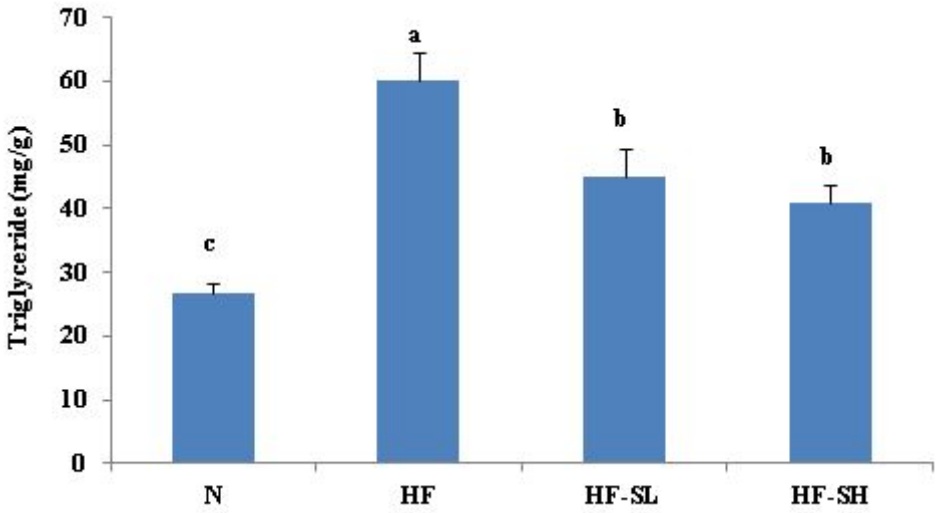

Fig. 19. Contents of triglyceride in the liver of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

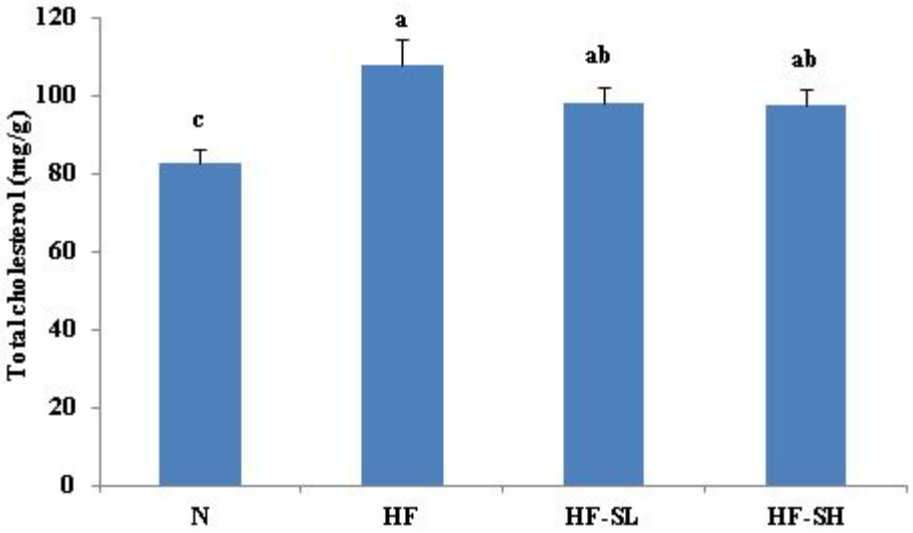

Fig. 20. Contents of total cholesterol in the liver of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

7. 지방조직 중의 중성지방과 총콜레스테롤 함량

고지방 식이와 함께 세발나물 분말의 첨가 수준을 달리하여 4주 동안 급여한 흰쥐의 부고환지방조직과 장간막지방조직 중에 있는 중성지방 및 총콜레스테롤의 함량 변화를 보면 Fig 21~24와 같다. 부고환지방조직 중에 있는 중성지방의 함량을 비교하면, 정상식이군(N)에 비하여 고지방 식이군(HF)이 유의한 차이로 증가하였다. 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우에는 모두 고지방 식이군(HF)보다 유의한 차이로 중성지방의 함량이 감소하였으며, 고지방 식이와 3% 세발나물 분말 첨가군(HF-SL)이 가장 낮은 중성지방 함량을 보였다. 부고환지방조직 중의 총콜레스테롤 함량의 경우에도 정상식이군(N)에 비하여 고지방 식이군(HF)이 유의한 차이로 증가하였다. 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우에는 모두 고지방 식이군(HF)에 비하여 농도 의존적으로 총콜레스테롤 함량이 감소하였으나 첨가 수준에 따른 유의한 차이는 없었다.

장간막지방조직 중에 있는 중성지방 함량의 경우를 보면, 정상식이군(N)에 비하여 고지방 식이군(HF)이 유의한 차이로 증가하였다. 고지방식이와 3% 세발나물 분말 첨가군(HF-SL)은 고지방 식이군(HF)에 비하여 중성지방 함량이 감소하였으나 유의한 차이는 없었고, 고지방식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(HF-SH)은 고지방 식이군(HF)보다 유의한 차이로 중성지방 함량이 감소하여 정상식이군(N)과 유사한 경향을 보였다. 장간막지방조직 중의 총콜레스테롤 함량 변화를 보면, 정상식이군(N)에 비하여 고지방 식이군(HF)이 유의한 차이로 증가하였으며 고지방식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우에는 모두 고지방 식이군(HF)보다 유의한 차이로 총콜레스테롤 함량이 감소하였다.

염생식물과 비슷하게 해안지대에서 자생하는 갯기름나물을 고지방-고콜레스테롤 식이와 함께 급여한 흰쥐의 지방조직 중에 있는 중성지방 및 총콜레스테롤의 함량 측정한 결과를 보면, 부고환지방조직 및 장간막지방조직에 있는 중성지방과 총콜레스테롤의 양은 정상식이군에 비하여 고지방-고콜레스테롤 식이군에서 유의한 차이로 증가하였고, 고지방-고콜레스테롤 식이와 함께 갯기름나물 분말을 첨가한 군들은 고지방-고콜레스테롤 식이군에 비해 유의적으로 감소되었다고 보고하였다(89).

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

본 연구결과를 보면, 고지방식이를 급여한 흰쥐에게 세발나물 분말의 첨가로 부고환지방조직과 장간막지방조직 중에 있는 중성지방 및 총콜레스테롤의 함량이 모두 유의한 차이로 감소되는 것으로 나타났다. 따라서 세발나물 분말이 지방조직에서 지방이 축적되는 것을 억제함으로써 지질대사를 개선하는 효과와 함께 항비만 효과를 가지고 있을 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

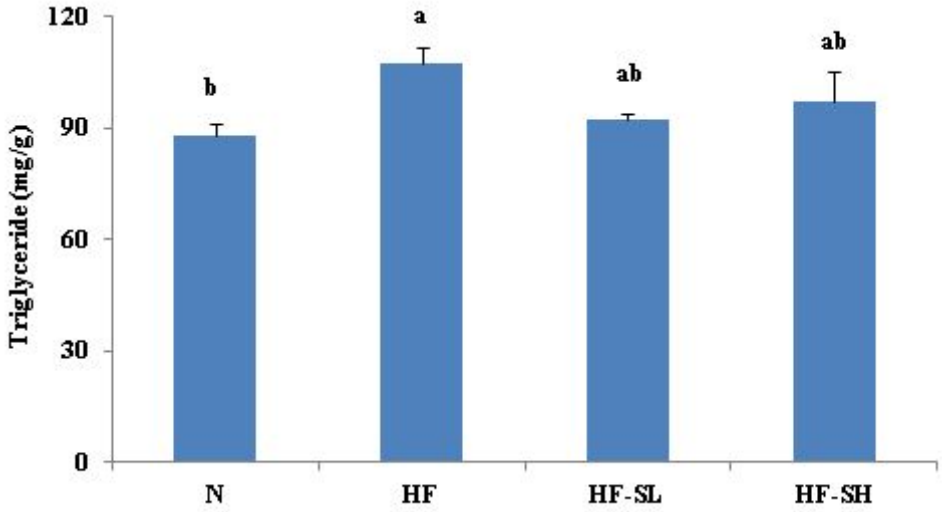

Fig. 21. Contents of triglyceride in the epididymal adipose tissue of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

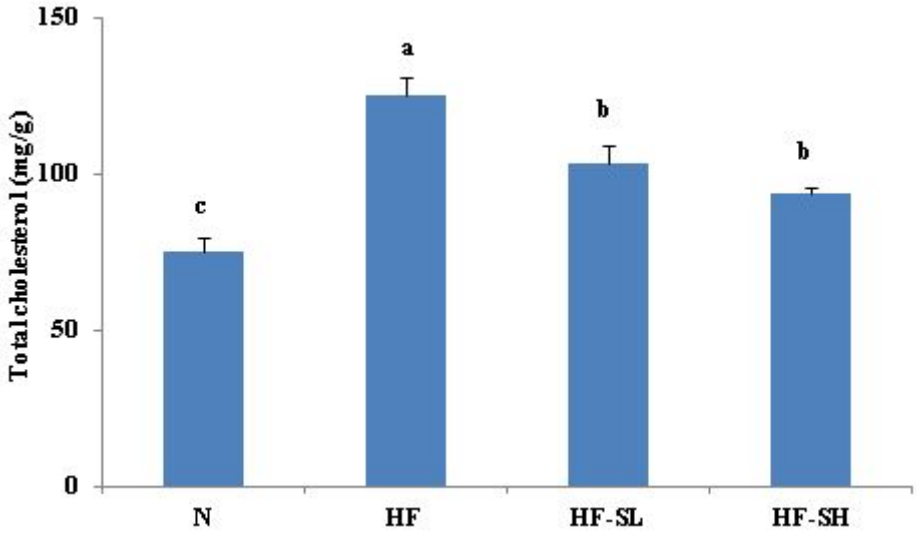

Fig. 22. Contents of total cholesterol in the epididymal adipose tissue of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

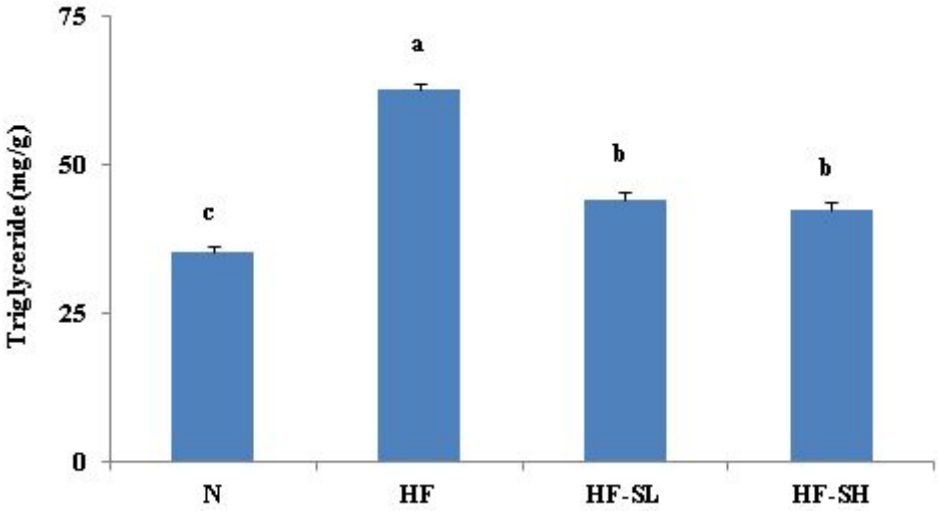

Fig. 23. Contents of triglyceride in the mesenteric adipose tissue of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

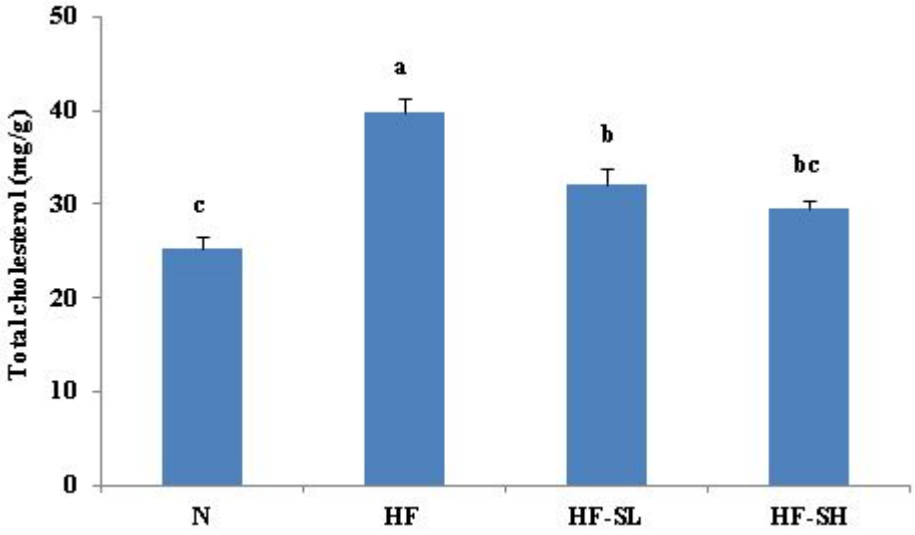

Fig. 24. Contents of total cholesterol in the mesenteric adipose tissue of rats fed high fat diet containing *Spergularia marina* Griseb powder for 4 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey's test.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

8. 간 조직의 병리조직학적 변화

고지방 식이와 함께 세발나물 분말의 첨가 수준을 달리하여 4주 동안 급여한 흰쥐에서 채취한 간 조직 내의 지방 축적 정도를 확인하기 위해서 H&E 염색하여 광학현미경으로 관찰한 결과를 보면 Fig 25와 같다. 정상식이군의 간조직은 그 표면에 윤기가 있고 탄력성도 있었으나, 고지방 식이군(HF)은 간조직 내에 있는 지방입자가 지방구를 형성하여 지방 침착이 뚜렷하게 관찰되었으며 윤기와 탄력성이 정상식이군(N)에 비해 현저히 저하되어 보였다. 이는 고지방 식이를 통해 직접적인 지방섭취와 지방세포로부터 유리된 지방산의 과다한 간 유입으로 인하여 간에 지방 축적이 많이 발생하였기 때문이다(90). 고지방식이를 4주 동안 흰쥐에게 급여한 결과를 보면, 고지방식이군은 간조직의 입자가 지방방울을 형성하여 과도한 지방 침착이나 괴사, 그리고 문맥에 염증세포의 침윤현상이 확인되었다고 하였다(91). 고지방식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH) 모두 지방 침착이 관찰되기는 하였지만 고지방 식이군(HF)에 비하여 지방구의 크기와 숫자가 줄어든 것을 확인할 수 있었다.

본 연구결과 세발나물 분말의 첨가로 간조직 내에 지방이 축적되는 것을 억제하거나 간의 손상을 완화하는데 도움이 되는 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

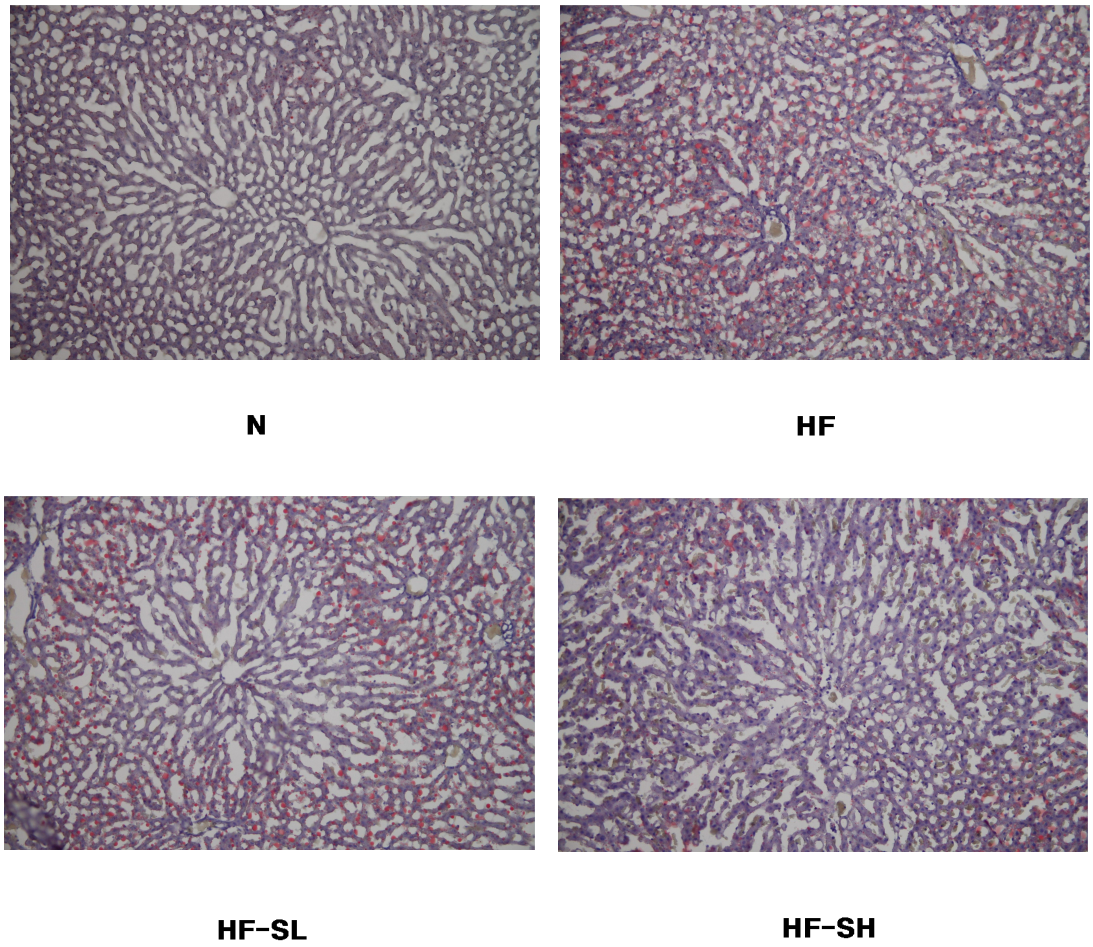

Fig 25. Hitological analysis on liver tissue. N: Normal diet, HF : High fat diet, HF-SL : High fat diet + 3% *Spergularia marina* Griseb, HF-SH : High fat diet + 5% *Spergularia marina* Griseb

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

9. 지방세포의 크기 변화

고지방 식이와 함께 세발나물 분말의 첨가 수준을 달리하여 4주 동안 급여한 흰쥐에서 채취한 부고환지방조직을 염색하여 현미경으로 관찰한 결과(Fig. 26a)와 이미지 분석 프로그램(image analyzer)로 측정한 결과(Fig. 26b)를 비교하면 Fig. 26과 같다. 정상식이군(N)에 비교하면 고지방 식이군(HF)의 부고환 지방세포의 크기가 유의한 차이로 증가되었으며, 고지방식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우는 모두 고지방식이군(HF)에 비해 유의한 차이로 부고환 지방세포의 크기가 감소하였으나 첨가 수준에 따른 유의한 차이는 없었다. 이러한 결과는, 세발나물 분말이 첨가로 부고환 지방조직 무게와 부고환지방조직 중에 있는 중성지방과 총 콜레스테롤의 함량이 고지방 식이군(HF)보다 감소하는 경향을 보인 결과와 유사하였다.

지방세포의 직경이 증대되는 것은 고지방식이 섭취로 인해 지방세포 내에서 중성지방의 축적이 일어난 것을 의미하므로 지방세포 크기를 측정하는 것은 항비만 효과를 알아볼 수 있는 방법 중 하나이다(92). 이미 형성된 지방세포의 수는 감소되지 않지만, 지방세포의 크기는 이미지 분석 프로그램으로 세포의 크기를 측정할 때 같은 면적 안에 나타난 지방세포 크기를 측정한 것이기 때문에 세발나물 분말 첨가로 인해 중성지방 합성 및 체지방 축적이 억제되어 지방세포의 hypertrophy를 억제한 것으로 사료된다(93).

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

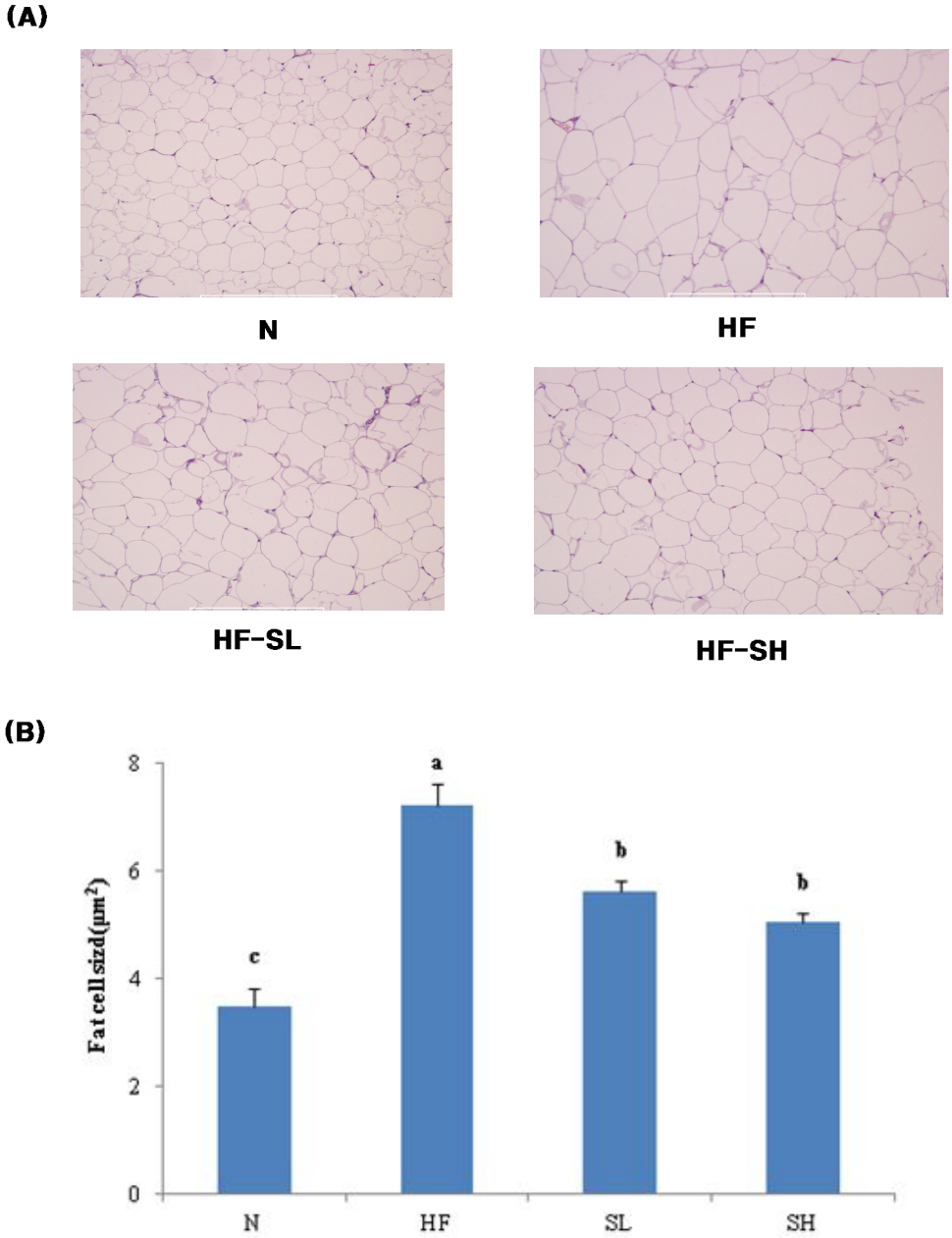

Fig. 26. Histological analysis on epididymal adipose tissue. N: Normal diet, HF : High fat diet, HF-SL : High fat diet + 3% *Spergularia marina* Griseb, HF-SH : High fat diet + 5% *Spergularia marina* Griseb. oil-red-O sections of adipose tissue (A). The cell area was measured by Image analyzer program (B). The calues shown are mean ± S.E.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제4장 요약 및 결론

본 연구는 먼저 세발나물의 생리활성 기능, 체내에서의 지질대사 개선효과, 그리고 항비만 효과를 살펴보기 위한 기초 자료를 얻기 위하여 일반성분 및 식이섬유소 분석을 실시하였다. 그리고 *in vitro*에서, 항산화 효능 및 항비만 효과와 관련해서는, 3T3-L1 지방전구세포 및 돼지 지방전구세포가 증식하고 분화하는 것을 억제하는 효과의 확인을 통해서 세발나물 에탄올 추출물이 가진 항비만 효과를 알아보았다. 또한, *in vivo*에서, 수컷 흰쥐 32마리를 정상식이군(N), 고지방 식이군(HF), 고지방식이와 3% 세발나물 분말 첨가군(HF-SL), 고지방식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(HF-SH)으로 나누어서 식이한 후에, 세발나물 분말이 고지방 식이로 비만이 유도된 흰쥐의 혈청, 간 및 지방조직에서의 지질대사 개선효과와 함께 항비만 효과에 미치는 영향을 알아보았다.

세발나물의 일반성분을 분석한 결과에서는, 건물량 기준으로 수분 4.10%, 조단백질 32.47%, 조지방 4.53%, 조회분 20.68% 및 탄수화물 38.22%로 나타났으며, 식이섬유소 함량은 4.50%로 검출되었다.

*In vitro*에서, 세발나물 에탄올 추출물의 항산화 물질의 함량을 분석한 결과를 보면, 총 polyphenol 함량은 68.04 mg/g, 총 flavonoid 함량은 28.60 mg/g으로 나타났다.

*In vitro*에서, 세발나물 에탄올 추출물의 3T3-L1 지방세포와 돼지 지방세포에 대한 증식과 분화에 미치는 영향을 살펴본 결과를 보면, 3T3-L1 지방전구세포의 증식은 세발나물 에탄올 추출물 50, 100 μg/mL 농도의 경우에는 대조군보다 유의한 차이를 보이지 않았고, 200 μg/mL 농도의 경우에는 대조군의 87.89% 수준으로서 유의한 차이로 지방전구세포의 증식을 억제하였다. 3T3-L1 지방세포의 분화는 세발나물 에탄올 추출물 농도 의존적으로 저하되어 대조군에 비하여 유의한 차이로

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

지방세포의 분화를 억제하였다. 3T3-L1 지방세포의 중성지방 축적은 50 μg/mL 농도의 경우에는 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았고, 100, 200 μg/mL 농도의 경우에는 각각 대조군의 28.00%와 46.13% 수준으로서 중성지방 함량이 유의한 차이로 감소되었다. 돼지 지방전구세포의 증식은 세발나물 에탄올 추출물 50, 100 μg/mL 농도의 경우에는 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았고, 200 μg/mL 농도의 경우에는 대조군의 91.39% 수준으로서 유의한 차이의 지방전구세포 증식 억제효과를 보였다. 돼지 지방세포의 분화는 세발나물 에탄올 추출물 농도 의존적으로 저하되어 대조군에 비하여 유의한 차이로 지방세포의 분화를 억제하였다. 돼지 지방세포의 중성지방 축적은 50 μg/mL 농도의 경우에는 대조군보다 유의한 차이를 보이지 않았고, 100, 200 μg/mL 농도의 경우에는 각각 대조군에 비하여 19.74%와 41.76%의 중성지방 축적을 억제하였다.

*In vivo*에서, 고지방 식이로 비만 유도된 흰쥐에 세발나물 분말을 4주 동안 급여하여 항비만 효과를 살펴본 결과를 보면, 고지방식이로 인해 유의한 차이로 체중 및 식이효율은 증가하였으나, 고지방 식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(HF-SH)은 고지방 식이군(HF) 보다 유의한 차이로 체중 및 식이효율이 감소하였다. 식이섭취량은 고지방 식이에 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우 모두 고지방 식이군(HF)에 비해 식이섭취량이 감소하는 경향이 있기는 하였으나 유의한 차이는 없었다. 간조직의 무게는 고지방 식이군(HF)이 가장 높았으며, 세발나물 분말의 첨가로 인해 감소되는 경향을 보이기는 하였으나 모든 실험군들 간의 유의한 차이는 없었다. 부고환지방조직의 무게는 고지방 식이군(HF) 비하여 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우 모두 유의한 차이로 감소하였다. 장간막, 등지방, 신주위지방조직 및 총 지방조직의 무게는 세발나물 분말의 첨가로 고지방식이군(HF)에 비하여 감소하는 경향을 보였으며, 고지방 식이와 5% 세발나물 분말 첨가군(HF-SH)은 정상식이군(N)과 비슷한 수준까지 유의한 차이로 감소하였다. 혈청 중에 있는 ALT과 AST의 활성 정도는 고지방 식이군(HF)에 비하여 고지방 식이와 세발나물 분말 첨가군들(HF-SL, HF-SH)의 경우 모두 유의한 차이로 감소하였으며, 혈청 중의 ALP 및 LDH 활성은 세발나물 분말의 첨가로 감소하

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

는 경향을 보였으나 고지방 식이군(HF)과 유의한 차이는 보이지 않았다. 고지방 식이로 인해 감소된 혈청 HDL-콜레스테롤의 함량은 세발나물 분말의 급여로 인하여 증가하는 경향을 나타냈으며, 고지방 식이로 증가된 혈청 중에 있는 중성지방, 총 콜레스테롤 그리고 LDL-콜레스테롤의 함량과 동맥경화지수 및 심혈관위험지수는 유의한 차이로 감소되었다. 간조직 중 중성지방의 함량은 세발나물 분말의 첨가로 고지방 식이군(HF)에 비하여 유의한 차이로 감소하였으나, 총 콜레스테롤 함량은 유의한 차이를 보이지 않았다. 부고환지방조직의 총 콜레스테롤 함량 및 장간막지방조직의 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량은 세발나물 분말의 첨가로 유의한 차이로 감소하였다. 간조직 내 지방축적을 확인한 결과 정상식이군(N)과 비교해서 고지방식이군(HF)은 간조직 내 지방 입자가 지방구를 형성하여 지방 침착이 뚜렷하게 관찰되었으며, 세발나물 분말의 첨가로 고지방 식이군(HF)에 비하여 지방구의 크기와 숫자가 줄어든 것을 확인할 수 있었다. 부고환 지방세포의 크기는 정상식이군(N) 보다 고지방 식이군(HF)이 유의한 차이로 증가되었으며, 세발나물 분말의 첨가로 고지방식이군(HF)에 비해 유의한 차이로 감소하였다.

이상의 연구결과를 보면, 세발나물은 *in vitro*에서, 3T3-L1 지방세포와 돼지 지방세포가 증식과 분화되는 것을 억제하는 것은 물론이고, 중성지방 축적을 억제하는 항비만 효과를 나타냈다. *in vivo*에서, 흰쥐에게 고지방식이와 함께 세발나물 분말을 급여함으로써 체중 및 지방조직의 무게가 감소되고 혈청, 간 그리고 지방조직에 있는 지질의 함량이 감소되었으며, 간조직 내 지질 침착 및 부고환 지방세포의 크기를 억제하여 항비만에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 세발나물에 함유된 식이섬유소, polyphenol 및 flavonoid 등의 생리활성물질에 의해 체내에서 지질대사를 개선시키며 지방이 축적되는 것을 억제하는 등의 항비만 효과를 나타낸 것이라 생각되어진다. 따라서 세발나물은 기능성 식품소재로 활용될 수 있을 것으로 생각되며, 추가적으로 활성 성분의 규명과 구체적인 기전에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

참 고 문 헌

1. Ministry of Health and Welfare. 2014. Korea Health Statistics 2014 Korean National Health and Nutrition Examination Survey. Korea Centers for Disease Control and Prevention, Seoul, Korea.
2. World Health Organization. Global status report on noncommunicable disease 2014. Geneva: WHO Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health; 2015. {Accessed Mon Day, Year}. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/.
3. Bjorntorp. 1988. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta medica Scandinavica* 723, 121-134.
4. Albu J, Allison D, Boozer CN, Heymsfield S, Kissileff H, Kretser A, Krumhar K, Leibel R, Nonas C, Pi-Sunyer X, VanItallie T, Wedral E. 1997. Obesity solutions: report of a meeting. *Nutr Rev* 55, 150-156.
5. Mcinnis KJ, Franklin BA, Tippe JM. 2003. Counseling for physical activity in overweight and obese patients. *Am Fam Physician* 67, 1249-1256.
6. Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, Vinicor F, Marks JS, Koplan JP. 2001. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *JAMA* 286, 1195-1200.
7. Cummings DE, Schwartz MW. 2003. Genetics and pathophysiology of human obesity. *Annu Rev Med 54*, 453-471.
8. Kim JB. 2001. New horizon in atherosclerosis research: Insights into fat cell differentiation and insulin sensitivity with ADD1/SREBP1 and PPAR-γ. *Korea J Lipidol* 9, 79-83.
9. Grundy SM. 1998. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. *Am J Clin Nutr* 67, 563S-572S.
10. Albu J, Allixon D, Boozer CN, Heymsfield S, Kissileff H, Kretser A, Krumhar K, Leibel R, Nonas C. 1997. Obesity solutions report of a meeting. *Nutr Rea* 55, 150-156.
11. Oh JH, Lee YK. 2015. Effects of water and ethanol extracts from four types

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

of domestic seaweeds on cell differentiation in 3T3-L1 cell line. *J East Asian Soc Dietary Life* 25, 990-998.

12. Alessi MC, Lijnen HR, Bastelica D, Juhan-Vague I. 2003. Adipose tissue and atherothrombosis. *Pathophysiol Haemost Thromb 33*, 290-297.
13. Gesta S, Tseng YH, Kahn CR. 2007. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell 131*, 242-256.
14. Roncari DA, Lau DC, Kindler S. 1981. Exaggerated replication in culture of adipocyte precursors from massively obese person. *Metabolism 30*, 425-427.
15. Ross SR, Graves RA, Greenstein A, Platt KA, Shyu HL, Mellovitz B, Spiegelman BM. 1990. A fat-specific enhancer is the primary determinant of gene expression for adipocyte P2 *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 87, 9590-9594.
16. Tontonoz P, Hu E, Graves RA, Budavari AI, Spiegelman BM. 1994. mPPAR gamma 2: tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes Dev* 8, 1224-1234.
17. Lokhande VH, Suprasanna P. 2012. Prospects of halophytes in understanding and managing abiotic stress tolerance. *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change* 29-56.
18. Hwang ST, Kim SK, Na JG, Lee JS, Choi DS. 2013. Isolation and characterization of expansin genes in a halophyte, *Suaeda japonica*. *Journal of life science* 23, 182-189.
19. Park JC, Choi JW. 1996. Screening of marine natural products on inhibitory effect of the fromation of lipid peroxidation. *Kor. J. pharmacogn* 27, 117-122.
20. Parida AK, Das AB. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. Ecotoxicol. *Environ Safety* 60, 324-349.
21. Cheong JH. 2011. Characteristics of seed germination in halophyte influenced by temperature. *MS Thesis,* Mokpo National University, Korea.
22. Lee HJ, Kim YA, Ahn JW, Lee BJ, Moon SG, Seo Y. 2004. Screening of peroxynitrite and DPPH radical scavenging activities from salt marsh plants. *Korean J biotechnol bioeng* 19, 57-61.
23. Kim JB, Choe SN, Choe KH, Lim SH, Chai SJ. 2007. Funtional components

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

of holophyte - Antioxidant substances in *Salicornia herbacea* L.-. *Jour Fish Mar Sci Edu* 19, 197-205.

24. Kim HS, Ihm BS, Lee JS, Park SH. 2003. Ecological studies on the vegetation of abandoned salt field in Gasado. *Kor J Eco* 17, 123-132.
25. Cho JY, Huang Z, Park SY, Park KH, Pai TK, Kim SY, Kim HR, Ham KS. 2014. The effects of several halophytes on insulin resistance in otsuka long-evans tokushima fatty rats. *Korean J. Food Sci. Technol* 46, 100-107.
26. Heo BG, Park YJ, Park YS, Hee IM, Cho JY. 2009. Distribution status, physicochemical composition, and physiological activity of *Spergularia marina* cultivated. *Korean J Community Living Science* 20, 181-191.
27. Kim MS. 2013. Isolation and structural elucidation of antioxidants from S*pergularia marina* Griseb. *MS Thesis*, Chonnam National University, Korea.
28. Noh KM. 2015. Study on nutritional functionality profiles and development of antihypertensive functional product using halophyte plant. National Insitute of Agricultural Sciences,
29. Lee JJ, Jung HO. 2012. Changes in physicochemical properties of *Spergularia marina* Griseb by blanching. Korean J Food Preserv. 19, 866-872.
30. Son HK, Kong HM, Cha SS, Choi YJ, Lee JJ. 2015. Quality characteristics of cookies added with *Spergularia marina* Griseb powder. *Korean J Food Preserv* 22, 211-217.
31. Ji HJ. 2014. Physicochemical properties of pound cake added with lyophilized sandspurry powder. *MS Thesis*, Hansung University, Korea.
32. Hong GJ. 2011. Bread development and usage plan of added halophyte *Suaeda glauca* and *Spergularia marina*. *Ph.D Thesis*, Kyonggi University, Korea.
33. A.O.A.C. 2005. Official methods of analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
34. A.O.A.C. 1995. Official methods of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA.
35. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungastic phosphomolybdic compounds

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

as color regents. *J Biol Chem.* 12, 239-249.

36. Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KW, Oh MW, Oh SH. 2002. standard food analysis. Jigu-moonwha sa. p 381-382.
37. Chen C, Brodie AE, Hu CY. 1997. CCAAT/enhancer-binding protein β cannot overcome TCDD inhibition of 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Obesity Res* 5, 146-152.
38. Wise LS, Green H. 1979. Participation of one isozyme of cytosolic glycerophosphate in adipose conversion of 3T3 cell. *Journal of Biological Chemistry* 254, 273-275.
39. Suryawan A, Swanson L.V, and Hu C.Y. 1997. Insulin and hydrocortisone, but not triiodothyronine, are required for the differentiation of pig preadipocytes in primary culture. *Journal of Animal Science* 75, 105-111.
40. Reeves PG, Nielson FH, Fahey Jr GC. 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 Nut* 123, 1939-1951.
41. Friedwald W, Levy R, Fredrickson D. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18, 499-502.
42. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. *Arch Pathol Lab Med.* 113, 1101-1110.
43. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 226, 497-509.
44. Zlatkis A, B Zak. 1969. Study of a new cholesterol reagent. *Anal Biochem.* 29, 143-148.
45. Biggs HG, Erikson TM, Moorehead WR. 1975. A mamual colirimetric assay of triglyceride in serum. *Clinical Chem.* 21, 437.
46. Lee JJ, Jung HO. 2012. Changes in physicochemical properties of *Spergularia marina* Griseb by blanching. *Korean J Food Preserv.* 19,

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

866-872.

47. Yang X. 2011. Biological activities of various halophytes and structure elucidation of antioxidative compounds in *Suaeda japonica*. *MS Thesis*, Mokpo National University, Korea.
48. Lee KS, Kim AJ, Lee KY. 2012. Analysis of chemical composition and antioxidant activity of *Suaeda japonica*. *J East Asian Soc Dietary Life*. 22, 521-526.
49. Son HK, Kang ST, Jung HO,, Lee JJ. 2013. Changes in physicochemical properties of *Peucedanum japonicum* Thunb. after blanching. *Korean J Food Preserv* 20, 628-635.
50. Story JA. 1981. The role of dietary fiber in lipid metabolism. *Adv Lipid Res*, 18, 229-246.
51. Schrijver R, Fremaut D, Verheyen A. 1992. Cholesterol-lowering effects and utilization of protein, lipid, fiber and energy in rats fed unprocessed and baked oat bran. *J Nutr*, 122, 1318-1324.
52. Kong HM. 2015. Physicochemical composition and antioxidant activity of *Spergularia marina* Griseb and quality characteristics of cookies added with *Spergularia marina* Griseb. *MS Thesis*, Chosun University, Korea.
53. Jeong MH. 2011. Functional properities of *Salicornia herbacea* and quality characteristics of seaweed jelly prepared with *Salicornia herbacea*. *MS Thesis*, Daegu Haany University, Korea.
54. Jeong HJ, Park SB, Kim S, Kim HK. 2007. Total polyphenol content and antioxidative activity of wild grape(*vitiscoigneiae*) extracts depending on ethanol concentrations. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 36, 1491-1496.
55. Choi Y, Kim MH, Shin JJ Park JM, Lee J. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 723-727.
56. Loest HB, Noh SK, Koo SI. 2002. Green tea extract inhibits the lymphatic absorption of cholesterol and α-tocopherol in ovariectomized rats. *J Nutr*, 132, 1282-1288.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

57. Juhel C, Armand M, Pafumi Y. 2000. Green tea extract inhibits lipolysis of triglycerides in gastric and duodenal medium *in vitro*. *J Nutr Biochem*, 11, 45-51.

58. Shin MK, Han SH. 2006. Effects of Lotus(Nelumbo Nucifera Gaetner) leaf powder on lipid concentrations in rats fed high fat diet rats. *Korean J. food Culture*. 21, 202-208.

59. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr.* Biochem. 13, 572-584.

60. Lee KS, Gim JC, Son SM, Lee KY. 2011. Antioxidative effect of *Suaeda japonica* ethanol extract and solvent partitioned fractions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40, 804-808.

61. Green Green H, Kehinde O. 1974. An established preadipose cell line and its differentiation in culture. *Cell*. 3, 127-133.

62. Kim MJ, Jun HY, Kim JH. 2014. Antiadipigenic effect of korean glasswort (*Salicomia herbacea* L.) water extract on 3T3-L1 adipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 43, 814-821.

63. Shon MS, Kim GN. 2014. Anti-oxidant and anti-obese activities of Turmeric (*Curcuma longa* L.) extract in 3T3-L1 cells. *Kor. J. Aesthet Cosmetol*. 12, 169-175.

64. Lee YS. 2015. Studies on the bioactivities of Salsola komarovi extract. *MS Thesis*, Wonkwang University, Korea.

65. JH, Lee YK. 2015. Effects of water and ethanol extracts from four types of domestic seaweeds on cell differentiation in 3T3-L1 cell line. *J East Asian Soc Dietary Life* 25, 990-998.

66. Kim JY. 2011. Effect of resveratrol and peanut sprout extracts on cell proliferation and lipid accumulation in mouse fibroblast 3T3-L1 preadipocytes. *MS Thesis*, Dankook University, Korea.

67. Maeda H, Hosokawa M, Sashima T, Takahashi N, Kawada T, Miyashita K. 2006. Fucoxanthin and its metabolite, fucoxanthinol, suppress adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Int J Mol Med*. 18, 147-152.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

68. Kim IH, Nam TJ. 2004. The effects of polymannuronates on leptin in 3T3-L1 adipocytes. *J Kor Fih Soc* 37, 372-379.

69. Cha SY, Jang JY, Lee YH, Lee GY, Lee HJ, Hwang KT, Kim YJ, Jun YJ, Lee JM. 2010. Lipolytic effect of methanol extracts from Luffa cylindrica in mature 3T3-L1 adipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39, 813-819.

70. Kim AR. 2013. Physicochemical composition and physiological activities of Ramie leaf according to drying methods. *Ph.D Thesis*, Chosun University, Korea.

71. Song MY, Lee JJ, Cha SS, Chung CS. 2013. Effects of Kohlrabi(*Brassica oleracea* var. Gongylodes) on proliferation and differentiation of pig preadipocytes and 3T3-L1. *Journal of Animal Science and Technology* 55, 19-23.

72. Park JC, Jang Y, Doo MS, Kim SH, Choi JW. 1996. Effect of methanolic extract of pachymeniopsis elliptica on lipids component of hyperlipidemic rats. *J. Kor Soc Food Sci. Nutr* 25, 958-962.

73. Pellizon M, Busion A, Jen KL. 2000. Short-term weight cycling in aging female rats increases rate of weight gain but not body fat content. *Int. J Obes*. 24, 236-245.

74. Lee HS,, Choi JH, Kim YE, Lee CH. 2012. Effect of dietary intake of *Salicornia herbacea* L. hot water extract on anti-obesity in diet-induced obese rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 41, 950-956.

75. Sung NJ, Lee SJ, Shin JH, Chung MJ, Lim SS. 1998. Effects of Houttuynia cordata Thunb powder and juice on lipid composition of liver, brain and kidney in dietary hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 27, 1230-1235.

76. Kim MJ, Jun HY, Kim JH. 2015. Anti-obesity effect of korean hamcho (*Salicomia herbacea* L.) powder on high-fat diet-induced obese rats. *J Nutr Health*. 48, 123-132.

77. Despres JP. 1993. Abdominal obesity as important component of insulin resistance syndrome. *Nutrition*, 9, 452-459.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

78. Kim KR, Choi JH, Lee SK, Woo MH, Choi SW. 2006. Effect of enzymatic hydrolysate of Hamcho(*Salicornia herbacea*) on antioxidative defense system in rats fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 35, 1356-1362.
79. Lee EH, Chyun JH. 2007. Effects of chongkukjang intake on lipid metabolism and liver functional in ethanol consumed rats. *Korean J Nutr*, 40, 684-692.
80. Plaa GL. Charbonneau M. 1994. Detection and evaluation of chemically induced liver injury. Principles and Methods of Toxicology, 5th ed, 1465-1507.
81. Lee JJ, Park MR, Kim AR, Lee MY. 2011. Effects of ramie leaves on improvement of lipid metabolism and anti-obesity effect in rats fed a high fat/high cholesterol diet. *Korean J Food Sci Technol* 43, 83-90.
82. Seo HB, Kwak YY, Nam JO, Son YJ, Kim BO, Ryu SP. 2012. Glasswort powder diet activates lipid metabolism in rat. *Journal of life science*, 22, 478-485.
83. Lee SH, Park YB, Choi Ms. 1998. The effect of dietary citrus flavonoid supplementation on cholesterol biosynthesis control in rats. The Autumnal symposium of Korean Nutr Association. Soeul, Korea. 79.
84. Park Sh, Ko Sk, Chung SH. 2005. Euonymus alatus prevents the hyperglycemia and hyperlipidemia induced by high-fat in ICR mice. *J Etnopharmacol* 102, 326-335.
85. Wat E, Tandy S, Kapera E, Kamili A, Chung RWS, Brown A, Rowney M, Cohn JS. 2009. Dietary phospholipid-rich dairy milk extract reduces hepatomegaly, hepatic steatosis and hyperlipidemia in mice fed a high fat diet. *Atherosclerosis*, 205, 144-150.
86. Davignon J, Cohn JS. 1996. Triglyceride: a risk factor for coronary heart disease. *Atherosclerosis*, 124, S57-64.
87. Yang KM, Shin SR, Jang JH. 2006. Effect of combined extract of safflower seed with herbs on blood glucose level and biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *J kor Soc Food Sci Nutr*, 35, 150-157.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

88. Lie CH, Huang MT, Huang PC. 1995. Sources of triglycerol accumulation in liver of rats fed a cholesterol supplemented diets. *Lipids*, 30, 527-531.
89. Son HK, Kang ST, Lee JJ. 2014. Effects of Peucedanum japonicum Thunb. on lipid metabolism and antioxidative activities in rats fed a hig-fat/high-cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 43, 641-649.
90. Jung YY. 2008. Effect of Oenanthe javanica extracts on fat accumulation of the liver in rats. *MS Thesis*, Yeungnam University, Korea.
91. Zhang XH, Choi SK, Seo JS. 2010. Effect of dietary grape pomace on lipid metabolism and hepatic morphology in rats fed a high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39, 1595-1603.
92. Kim HS, Kim TW, Kim DJ, Hwang HJ, Lee HJ, Cheo M. 2007. Effects of natural plants supplementation on adipocyte size of the epididymal fat pads in rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36, 419-423.
93. Kang KJ, Lim SJ, Gi, Jeong JG, Han HK, Choi SS, Kim MH, Kwon SY. 2003. Effects of wax guard on weight, triglyceride, leptin and fat cell size in rats fed on a high fat diet. *Journal of nutiriton and health* 36, 446-451.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

저작물 이용 허락서

학 과	식품의약학과	학 번	20077415	과 정	박사
성 명	한글 : 박 용 현 한문 : 영문 : Park Yong Hyun				
주 소	경기도 성남시 분당구 미금로 105 벽산빌라 2동 202호				
연락처	e-mail : yonghyunpark@hanmail.net				
논문제목	한글 : 세발나물 분말이 지방세포와 고지방 식이 유도 비만 흰쥐에 미치는 영향				
	영문 : Effects of *Spergularia marina* Griseb Powder on Adipocytes and High-Fat Diet-Induced Obese Rats				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포・전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송・출력을 허락함.

동의여부 : 동의 (ㅇ) 반대( )

2016 년 06 월

저작자 : 박 용 현 (인)

조선대학교 총장 귀하

Collection @ chosun