



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](#)

2017年 8月

석사학위논문

고지방-고콜레스테롤 식이로 유도된
흰쥐에서 적겨자잎 분말의 비만억제 및
콜레스테롤 저하 효과에 대한 연구

조선대학교 대학원

식품영양학과

노 기 훈

고지방-고콜레스테롤 식이로 유도된
흰쥐에서 적겨자잎 분말의 비만억제 및
콜레스테롤 저하 효과에 대한 연구

Anti-obesity and cholesterol lowering effects of *Brassica juncea* L. leaf powder in rats induced by high fat-high cholesterol diet

2017年 8月 25日

조선대학교 대학원
식품영양학과
노 기 훈

고지방-고콜레스테롤 식이로 유도된
흰쥐에서 적겨자잎 분말의 비만억제 및
콜레스테롤 저하 효과에 대한 연구

지도교수 이 주 민

이 논문을 이학 석사학위신청 논문으로 제출함


2017年 4月


조선대학교 대학원

식품영양학과

노 기 훈

노 기 훈 의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 김복희 

위원 조선대학교 교수 이재준 

위원 조선대학교 교수 이주인 

2017年 5月

조선대학교 대학원

목 차

LIST OF TABLES	iv
LIST OF FIGURES	vi
ABSTRACT	ix
제1장 서 론	1
제2장 실험재료 및 방법	5
제1절 실험재료	5
1. 실험재료	5
2. 실험기기	5
3. 시료추출	6
제2절 성분분석 및 항산화효능	6
1. 성분분석	6
가. 일반성분 분석	6
나. 지방산 분석	7
다. 유기산 분석	8
라. 유리당 분석	9
마. 구성아미노산 분석	10
바. 비타민 분석	11
사. 무기질 분석	13
2. 항산화 물질의 함량 및 항산화 활성 측정	14
가. 총 polyphenol 함량 측정	14

나. 총 flavonoid 함량 측정	14
다. ABTS radical 소거능 측정	15
3. 통계처리	15
제3절 <i>In vivo</i> 에서 지질대사 개선 및 항비만 효과	16
1. 실험동물의 사육 및 식이	16
2. 실험동물의 처리	19
3. 혈청 효소 활성 및 포도당 함량 측정	19
4. 혈청 지질 함량 측정	19
5. 간조직 및 지방조직의 지질 함량 측정	20
6. 분변의 지질 함량 측정	20
7. 간 조직의 병리조직학적 측정	20
8. 지질대사 및 콜레스테롤 대사와 관련한 mRNA 발현	21
제3장 실험결과 및 고찰	23
제1절 성분분석 및 항산화효능	23
1. 성분분석	23
가. 일반성분 분석	23
나. 지방산 분석	25
다. 유기산 분석	27
라. 유리당 분석	29
마. 구성 아미노산 분석	31
바. 비타민 분석	33
사. 무기질 분석	35
2. 적겨자잎의 추출수율 및 항산화 물질의 함량과 활성	37
가. 추출수율	37
2. 총 polyphenol 함량 측정	39
3. 총 flavonoid 함량 측정	40
4. ABTS radical 소거능 측정	41

제2절 <i>In vivo</i> 에서 지질대사 개선 및 항비만 효과	44
1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율	44
2. 간 및 지방조직의 무게	46
3. 혈청 효소 활성 및 포도당 함량 측정	51
4. 혈청 지질 함량 측정	58
5. 간조직 및 지방조직의 지질 함량 측정	66
6. 분변의 지질 함량 측정	74
7. 간 조직의 병리조직학적 측정	78
8. 지질대사와 관련한 mRNA 발현	80
8. 콜레스테롤 대사와 관련한 mRNA 발현	85
제4장 요약	88
참 고 문 헌	91

LIST OF TABLES

Table 1. Operating conditions of gas chromatography for fatty acids	7
Table 2. Operating conditions of prominence HPLC organic acids	8
Table 3. Operating conditions of prominence HPLC for free sugars	9
Table 4. Operating conditions of amino acid auto-analyzer	10
Table 5. Operating conditions of HPLC for vitamin A and E	12
Table 6. Operation conditions of HPLC for vitamin C	12
Table 7. Operating conditions of inductively coupled plasma spectrometer for minerals	13
Table 8. Experimental design	17
Table 9. Composition of experimental diet	18
Table 10. Sequences of primers used for reverse transcription-polymerase chain reaction	22
Table 11. Proximate compositions of <i>Brassica juncea L.</i> leaf	24
Table 12. Compositions of fatty acids in <i>Brassica juncea L.</i> leaf	26
Table 13. Contents of organic acids in <i>Brassica juncea L.</i> leaf	28
Table 14. Contents of free sugars in <i>Brassica juncea L.</i> leaf	30
Table 15. Contents of amino acids in <i>Brassica juncea L.</i> leaf	32
Table 16. Contents of vitamin A, C and E in <i>Brassica juncea L.</i> leaf	34
Table 17. Contents of minerals in <i>Brassica juncea L.</i> leaf	36
Table 18. Yield of 80% ethanol extracts of <i>Brassica juncea L.</i> leaf	38
Table 19. Contents of total polyphenol in <i>Brassica juncea L.</i> leaf	42
Table 20. Contents of total flavonoid in <i>Brassica juncea L.</i> leaf	42
Table 21. ABTS radical scavenging in <i>Brassica juncea L.</i> leaf	42
Table 22. changes in body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats fed the experimental diets	45
Table 23. Weights of epididymal, mesenteric, retroperitoneal and perineal	

adipose tissues in rats fed the experimental diets 49

LIST OF FIGURES

- Fig. 1. ABTS radical scavenging activity of *Brassica juncea* L. leaf ... 43
- Fig. 2. Liver index of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks 48
- Fig. 3. Total adipose tissue weight of rats fed high fat diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks 50
- Fig. 4. Serum activity of ALT in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks 53
- Fig. 5. Serum activity of AST in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks 54
- Fig. 6. Serum activity of ALP in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks 55
- Fig. 7. Serum activity of LDH in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks 56
- Fig. 8. Contents of glucose in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks 57
- Fig. 9. Contents of triglyceride and total cholesterol in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks 61
- Fig. 10. Contents of HDL-cholesterol in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks 62
- Fig. 11. Contents of LDL-cholesterol in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks 63
- Fig. 12. Atherogenic index of rats fed high fat-high cholesterol diet

	containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	64
Fig. 13.	Cardiac risk factor of rats fed high fat-high cholesterol diet containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	65
Fig. 14.	Contents of total lipid in the liver of rats fed high fat-high cholesterol diet containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	68
Fig. 15.	Contents of triglyceride in the liver of rats fed high fat-high cholesterol diet containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	69
Fig. 16.	Contents of total cholesterol in the liver of rats fed high fat-high cholesterol diet containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	70
Fig. 17.	Contents of total lipid in the mesenteric adipose of rats fed high fat-high cholesterol diet containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	71
Fig. 18.	Contents of triglyceride in the mesenteric adipose of rats fed high fat-high cholesterol diet containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	72
Fig. 19.	Contents of total cholesterol in the mesenteric adipose of rats fed high fat-high cholesterol diet containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	73
Fig. 20.	Contents of total lipid in the fecal of rats fed high fat-high cholesterol diet containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	75
Fig. 21.	Contents of triglyceride in the fecal of rats fed high fat-high cholesterol diet containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	76
Fig. 22.	Contents of total cholesterol in the fecal of rats fed high fat-high cholesterol diet containing <i>Brassica juncea L.</i> leaf powder for 6 weeks	

weeks	77
Fig. 23. Histological analysis on liver tissue	79
Fig. 24. The changes of G6PDH expressions in liver tissue	82
Fig. 25. The changes of ACC expressions in liver tissue	83
Fig. 26. The changes of FAS expressions in liver tissue	84
Fig. 27. The changes of CYP7A1 expressions in liver tissue	86
Fig. 28. The changes of LDL-receptor expressions in liver tissue	87

ABSTRACT

Anti-obesity and cholesterol lowering effects of *Brassica juncea L.* leaf powder in rats induced by high fat-high cholesterol diet

No, Ki-hun

Advisor : Prof. Lee, Joomin, Ph.D.

Department of Food and Nutrition,

Graduate School of Chosun University

In this study, it was investigated the anti-obesity and cholesterol-lowering effects of the addition of *brassica juncea L.* leaf powder in rats fed high fat-high cholesterol(HFC) for 6 weeks. and carried out to analyze physicochemical components of *Brassica juncea L.* leaf powder. The proximate compositions of *Brassica juncea L.* leaf as a dry matter basis were 4.79% of moisture content, 20.85% of crude ash, 3.26% of crude fat, 44.09% of crude protein and 27.01% of carbohydrate, respectively. Analyzing total fatty acids, 19 kinds of components were isolated from *Brassica juncea L.* leaf powder. The major saturated acids were palmitic acid, heneicosanoic acid, the unsaturated acids were γ -linolenic acid, linoleic acid. Citric acid was the major component of organic acid. The major free sugars were detected glucose, fructose and sucrose. The result of amino acids analysis, content of total amino acid was 9,189.573 mg/100 g, content of essential amino acid was 6,108.562 mg/100 g and the component ratio of essential amino acids to amino acids was 66.472%. The content of vitamin E was the highest as 6,775 mg/100 g. The major mineral contents of *Brassica juncea L.* leaf were K, Ca, Mg and Na. Total polyphenol content of *Brassica juncea L.* leaf powder ethanol extract was found 29.47 mg/g

and total flavonoid content was found 25.41 mg/g in 1.0 mg/ml. The experimental group to investigate the effect of anti-obesity and cholesterol lowering is as follows; normal diet group(N), high fat-high cholesterol diet group(HFC), high fat-high cholesterol diet with 3% *Brassica juncea L.* leaf powder group(HFC-BJL) and high fat-high cholesterol diet with 5% *Brassica juncea L.* leaf powder group (HFC-BJH). The body weight gain and FER were increased due to a high fat-high cholesterol diet, but gradually decreased in the *Brassica juncea L.* leaf powder fed groups compared to the HFC group. The liver, epididymal, mesenteric, retroperitoneal, perineal and total adipose tissues weight of HFC group were heavier than N group, in contrast those of groups added *Brassica juncea L.* leaf powder were gradually decreased. The serum ALT, AST, ALP and LDH activities were increased HFC group. ALT, AST and LDH were significantly decreased in *Brassica juncea L.* leaf powder fed groups and ALP was slightly decreased. Levels of serum triglyceride(TG), total cholesterol(TC), LDL-cholesterol, atherogenic index(AI) and cardiac risk factor(CRF) were decreased in the *Brassica juncea L.* leaf powder fed groups compared to HFC group. HDL-cholesterol level decreased in HFC group, whereas this level increased in *Brassica juncea L.* leaf powder fed groups. Level of triglyceride in liver and adipose tissues were lower in *Brassica juncea L.* leaf powder fed groups than HFC group, and total cholesterol only in adipose tissues were lower than HFC group. Level of total cholesterol emission in fecal was gradually increased *Brassica juncea L.* leaf powder fed groups rather than HFC group. Especially 5% *Brassica juncea L.* leaf powder group(HFC-BJH) was shown as the highest level of total cholesterol emission in fecal. HFC group was induced the marked accumulation of large lipid droplets and resulted in typical histopathology, however *Brassica juncea L.* leaf powder added groups reduced lipid droplets accumulation in hepatocytes. Adipocyte size of epididymal adipose tissue was lower in *Brassica juncea L.* leaf powder added groups compared to HFC group. The mRNA expression in liver was considered to play an important role in lipid and cholesterol metabolism effect. G6PDH, ACC, FAS mRNA expression of *Brassica juncea L.* leaf powder added groups in liver were decreased compared to HFC group. CYP7A1, LDL-receptor mRNA expression was the highest in 5% *Brassica juncea L.* leaf powder added group(HFC-BJH). In conclusion, *Brassica juncea L.* leaf powder addition is suggested that

decrease lipid storage in liver and adipose tissue. Therefore *Brassica juncea L.* leaf powder may improve lipid and cholesterol metabolism, moreover, it is suggested to be effective for prevention of metabolic diseases.

제1장 서론

급속도로 발전하는 경제성장으로 인해 소득이 향상되고, 편리함과 식생활의 서구화를 가져다 주었다. 특히 동물성지방의 섭취증가로 인한 영양과잉과 영양불균형이 초래되고 이로 인하여 당뇨와 고혈압, 비만, 동맥경화 등 대사성질환의 원인으로 대두되고 있다(1). 비만은 고에너지 섭취로 인하여 피하조직 및 복강 내에 지방이 과도하게 축적되는 현상이다(2). 우리나라의 경우 최근 10년간 만 19세 이상 성인 1인당 열량섭취 비율이 지방이 약 16.4%로 증가하였고, 하루의 섭취열량은 권장량에 비해 113.75% 섭취하고 있다(3). 2014년 국민건강영양조사에 의하면 우리나라의 만 19세 이상 성인의 24.5%가 비만이며, 비만 인구는 점차 증가하고 있다(4). 이러한 원인으로서는 육체적, 환경적 요인과 개인의 생활습관 등의 변화로 인한 항상성의 불균형으로 인하여 제 2형 당뇨, 고지혈증, 고혈압 등 심혈관계 질환의 발생과 관련이 있다고 알려져 있다(5,6). 2015년 통계청 자료에 의하면 심장 질환으로 인한 사망률이 인구 10만 명당 2011년 49.8명에서 2015년 55.6명으로 증가하였다(7). WHO에서는 비만을 질병으로 분류하였으며 이를 치료하기 위해 여러 방법들이 개발되고 있다. 주로 식이조절, 운동, 약물요법 등이 제시되고 있다(8). 약물요법으로는 제니칼(Xenical), 마자놀(Mazanol) 등이 비만을 유발하는 작용기전에 따라 판매되고 있으나 다양한 부작용을 가지고 있어(9,10), 최근 천연물질로부터 유래한 효과적인 물질들을 찾아내고 이것들의 작용기전을 규명하는 연구들이 진행되고 있다(11,12).

고지혈증은 콜레스테롤, 중성지방, 인지질 등의 지질성분의 농도가 과도하게 상승된 상태를 말하며, 유전적인 결합에 의해서 나타나는 일차성 고지혈증과 지단백 대사에 영향을 미치는 약물이나 인체의 상황에 의해 유발되는 이차성 고지혈증으로 나뉜다(13). 고지혈증은 비만, 고혈압, 당뇨병등과 같이 대사증후군의 요소이며 죽상동맥경화를 일으키고 뇌혈관 질환과 허혈성 심질환을 유발하는 것으로 알려져 있어 뇌심혈관계질환의 중요 위험 요소로 알려져 있다(14). 2014년 국민건강영양조사의 통계자료 결과에 의하면 고지혈증 유병률은 만 30세 이상을 기준으로 2005년 8%에서 15.7%로 7.7% 증가하였다. 콜레스테롤강하제를 복용하는 비율 또한 2005년 17.3%에서 2014년 44.4%로 27.1%나 증가하였다(15). 체내 콜레스테롤의 주요

대사산물은 간에서 만들어지는 담즙산과 스테로이드 호르몬 등이 있으며 콜레스테롤 생합성량은 음식 섭취에 의해 들어온 콜레스테롤의 흡수 정도와 담즙산 재흡수 정도에 따라 조절이 되고 항상성이 유지된다. 담즙산은 하루에 300~500mg 정도만 들어지며, 속도 조절인자인 cholesterol 7 α -hydroxylase에 의해 조절되고 cholesterol 7 α -hydroxylase는 담즙산의 농도에 의해서 활성이 저하된다. 체내로 들어오는 음식을 통해 콜레스테롤을 흡수하는 LDL-receptor와 콜레스테롤 합성에서 속도 조절 단계에 작용하는 효소인 hydroxymethylglutaryl-CoA reductase는 세포내 콜레스테롤의 농도에 의해서 합성이 조절되고, 간에서 조직으로 운반할 때는 지단백의 형태로 운반된다. 체내의 콜레스테롤 항상성은 섭취하는 음식을 통해 콜레스테롤을 흡수하는 LDL-receptor와 HMG-CoA reductase, cholesterol 7 α -hydroxylase, 콜레스테롤 ester의 형태로 저장하는 ACAT(acyl CoA cholesterol acyltransferase)가 서로 조절되며 콜레스테롤의 농도를 조절한다. 과량의 콜레스테롤은 대사의 이상을 일으켜 동맥에 축적이 될 경우 죽상동맥경화증, 관상동맥질환 등의 심혈관계 질환을 일으키게 된다(16). 현재 시중의 고지혈증 치료제는 HMG-CoA reductase inhibitor(statin), bile acid sequestrants(resin), fibric acid derivatives, probucol, nicotic acid 등이 이용되고 있지만, 간이나 신장 기능 저하와 지용성 비타민 결핍 등의 부작용이 나타나므로 장기간 복용에 대한 위험성이 나타난다. 그렇기 때문에 생약이나 식용식물 등의 안전한 천연물에서의 고지혈증 개선에 효과가 있는 생리활성물질을 찾고자 하는 연구가 진행되고 있다(17-20).

체내에 생성되는 활성산소와 이를 제거하는 항산화 방어체계의 불균형에 의해 유발되는 산화적 스트레스는 암, 염증, 뇌질환, 노화, 심장병 등의 여러 산화적 질병 발생의 주요 원인이 된다(21). 이를 억제 하려면 항산화 효소의 생성을 촉진시키거나 외부로부터 항산화 성분을 섭취해야 한다. 체내에는 산화적 손상의 예방 및 복구하는 체계를 가지고 있지만 체내에서 발생하는 산화적 손상을 완벽하게 예방 및 복구 할 수 없기 때문에 식품을 이용한 항산화 물질의 섭취가 필요하다(22,23). 생체 내에서 발생하는 hydroxy radical(\cdot OH), hydrogen peroxide(H_2O_2), superoxide radical($\cdot O_2^-$)등과 같은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 의한 산화적 부산물로 인하여 산화적 질병이 발생하는 것으로 알려져 있다(24). ROS의 과도한 생성이나 항산화 체계의 기능이 떨어지는 상황이 발생할 시 세포는 손상을 입게 되어 산화적 스트레스(oxidative stress)가 발생된다. 특히 고콜레스테롤 상태 일 때 산화적 스트레스를 촉진하게 되어 항산화 효소의 활성이 충분해지지 않고, 체내 자

유라디칼을 제거하는 항산화 방어계(antioxidative system)의 불균형을 일으켜 심혈관계 질환을 발생 시키는데 중요한 요인으로 작용하는 것으로 보고되었다(25). Yokozawa 등(26)과 Bok 등(27)의 연구에 따르면 고콜레스테롤 식이로 인하여 산화적 스트레스가 촉진되고, 항산화 효소의 양 및 활성이 불충분해 체내의 항산화방어계에 불균형을 일으켜 심혈관계 질환의 유발에 주된 요인이 되는 것으로 보고되었다(28). 체내의 항산화 방어계로는 superoxidedismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHpx), catalase(CAT) 등(29)이 있는데 체내에서 급격히 생성되는 산화물 전부를 방어 할 수 없으므로 외부에서 항산화물질을 충분히 공급해 주어야 한다.(30) 식품 중 천연 항산화제는 ascorbic acid, tocopherol, flavonoid, carotenoids, glutathione 등이 있다(31). 인공 항산화제로는 butylated hydroxytoluene(BHT), butylated hydroxyanisole(BHA) 등은 경제적으로, 가공식품에 오래 사용되어 왔으나, 이런 합성 항산화제는 심혈관 및 위장관 독성 및 발암성이 발견되어 기피되고 있다. 그러므로 안전성이 검증된 천연 항산화제를 찾아서 합성항산화제를 대체하기 위한 연구들이 진행되고 있다(32,33).

겨자(*Brassica juncea* L.)는 십자화과(Cruciferae)의 일년생 초본이며, 경엽 채소류 중 하나로 중앙아시아가 원산지로서 높이는 1~2 m까지 자라고, 줄기에 하얀 가루가 있으며, 여러 갈래로 갈라진다. 잎은 근출엽으로 크고, 가장자리에 뾰족한 톱니가 있다. 봄에 십자모양의 노란색 꽃이 피고, 갈색의 노란 열매를 맺는다. 9월에 파종하여 이듬해 5월이나 6월에 채종을 한다. 동의보감에 의하면 신경통, 풍독(風毒)에 효과가 있고 염증과 통증을 가라앉히고 식욕부진이나 소화촉진에도 효과가 있다고 알려져 있다(34). 겨자의 명칭은 특정한 한 가지 식물을 지칭하는 것이 아니고, 향신료로서 상업적인 이용을 할 때 겨자류의 종자식물을 통틀어서 겨자라 칭하고 있다(35). 겨자의 조직이 절단이나 상처를 받게 되면 조직 중에 있는 myrosinase가 sinigrin에 작용을 하여 황을 함유하는 성분들을 생성하게 되는데, 그 중 allylthiocyanate(AITC)는 겨자의 대표적인 생리활성 물질로 매운 맛을 내고, 항균작용을 하는 것으로 알려 졌다(36). 또한 Han 등(37)은 겨자의 항산화 활성성분과 쥐의 간의 지질과산화물 억제하는 것을 관찰하였다. 우리나라에서는 갓(*Brassica juncea*)을 이용한 김치 제조시 미생물 군에 항균작용을 하여 발효를 지연시켜 저장성을 높여주는 연구(38)가 있고, 향 들연변이 효과(39)와 유방암과 위암 등의 종양을 억제한다는 연구(40)등이 있다. 겨자에 대한 연구는 항균효과와 항암효과, 항산화 등의 연구가 보고되고 있으나, 비만과 고지혈증에 대한 연구는 아직

까지 미비한 편이다.

그러므로 본 연구에서는 겨자 잎의 생리활성 기능과 더불어 이용가능성에 대한 연구의 일환으로 겨자 잎의 일반성분 및 항산화 효과를 분석하였다. 또한 겨자잎 분말이 고지방-고콜레스테롤 식이를 먹인 흰쥐의 혈청, 간, 지방조직 및 대변에서의 지질대사 및 콜레스테롤 대사의 개선효과와 비만억제 효과에 미치는 영향을 분석해 항비만 및 콜레스테롤 저하 효과가 있는 기능성 식품소재로서의 활용 가능성에 대해 알아보하고자 하였다.

제2장 실험재료 및 방법

제1절 실험재료

1. 실험재료

본 실험에 사용된 적겨자는 2016년 7월 광주원예농협(<http://www.wonhyup.com>)에서 구입하였으며, 수세 및 탈수하여 동결건조를 실시 후 분쇄하여 분말로 제조하였다. 시료는 -70℃에서 냉동보관하여 사용하였다.

2. 실험기기

1. Centrifuge : Combi-514R, Hanil, Inchun, Korea
2. Evaporator : Rotary vacuum evaporator, Eyela, Tokyo, Japan
3. Spectrophotometer : UV-spectrophotometer, Bio-rad, Hercules, USA
4. Deep freezer : MDF-U52V, Sanyo, Osaka, Japan
5. PCR : T100 Thermal cycler Bio-rad, USA
6. Freeze dryer : ED 8512, Ilshin, yangju, Korea
7. Clinical chemistry analyzer : Fuji Dry-Chem 3500, Fujifilm, Tokyo, Japan

3. 시료추출

적적겨자잎 분말을 -70°C 에서 동결건조 후 시료 100 g에 80% ethanol 1500 mL을 넣은 후 환류냉각관을 부착한 다음 65°C 의 Heating mantle(Mtops ms-265 Korea)에서 3시간씩 3회 추출하고, Whatman filter paper(No.2 China)를 이용해 여과하였다. 여액을 40°C 항온수조에서 rotary vacuum evaporator(EYELA VACUUM NVC-1100 Tokyo, Japan)로 감압·농축하여 용매를 제거하고, 동결 건조하여 추출 수율을 구하였으며, 시료의 산화방지를 위해서 -70°C 에 냉동 보관하였다.

제2절 성분분석 및 항산화효능

1. 성분분석

가. 일반성분 분석

겨자잎 분말의 일반성분 분석은 Association of Official Analytical Chemists(A.O.A.C.)방법(41)에 준하여 실시하였고, 수분은 105°C 상압가열건조법, 조지방은 soxhlet법, 조회분은 550°C 회화법, 조단백질은 대용량 원소분석기를 이용하여 분석하였고, 탄수화물은 100에서 수분, 조단백질, 조회분, 조지방의 함량을 제외한 값으로 나타내었다.

나. 지방산 분석

지방산 분석은 Wungaarden의 방법(42)에 준하여 실시하였다. 시료 2 g을 chloroform-methanol로 추출·여과하여 감압농축한 지방질 약 100 mg을 가지형 플라스크에 취한 후 1N-KOH·ethanol 4 mL을 넣어 유지방울이 없어질 때까지 교반하여 14% BF₃-Methanol 5mL를 가한다. 환류냉각기를 부착하여 5분간 80°C에서 가열하여 methylester화 하였고 이 용액에 NaCl 포화용액 3 mL을 첨가한 후 hexane 1 mL를 첨가하여 흔들여 섞은 후 시험관에 옮겨 정치하고, 상층을 분취하여 무수 Na₂SO₄를 넣어 수분을 제거 한 후 Gas Chromatography(GC-10A, Shimadzu, Japan)로 분석하였다. 분석조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Operating conditions of gas chromatography for fatty acids

Item	Condition
Instrument	GC-17A (Shimadzu Japan)
Column	SP TM -2560 capillary column (100 mm × 0.25 mm I.d. × 0.25 μm film thickness)
Oven temp.	140°C
Detection	Flame ionization detector
Inj. Volume	2μL

다. 유기산 분석

유기산의 분석은 Kim 등의(43) 방법에 따라 실시하였다. 시료 0.5 g을 취하여 cap이 달린 삼각플라스크에 넣고 증류수 20 mL을 가하고, 80°C 이상의 항온수조에 서 4시간동안 교반 및 추출한 후 Whatman membrane filter paper(1 μ m)로 여과한 후, 30 mL로 정용하여 Whatman membrane filter(0.45 μ m)시킨 후 Prominence HPLC(Shimadzu, Japan)로 분석하였다. 분석조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Operating conditions of prominence HPLC for organic acids

Item	Condition
Instrument	Prominence HPLC (Shimadzu Japan)
Column	Two Shim-pack SCR-102H (300 × 8.0 mm)
Guard	SCR-102H (50 × 6.0 mm)
Mobile phase	4 mM p-toluenesulfonic acid and 100 μ m EDTA
Flow rate	0.7 mL/min
Detection	Electroconductivity
Inj. Volume	20 μ L

라. 유리당 분석

유리당 분석은 Gancedo의 방법(44)에 준하여 실시하였다. 시료 0.5g 에 80% ethanol 30 mL를 가하여 환류냉각기에서 80℃로 5시간 추출하여 Whatman membrane filter(1 μm)로 여과시킨 후 rotary vaccum evaporator에서 감압·농축하고 30 mL만큼 정용하여 membrane filter(0.45 μm)시킨 후 prominence HPLC(Shimadzu, Japan)로 분석하였다. 분석조건은 Table 3과 같다.

Table 3. Operating conditions of prominence HPLC for free sugars

Item	Condition
Instrument	Prominence HPLC (Shumadzu, Japan)
Column	Shim-pack ISA-07/S2504 (250 × 4.0 mm)
Mobile phase	A: Potassium borate (pH 8) B: Pottassium borate (pH 9)
Flow rate	0.5 mL/min
Detection	Fluorescence detector (Ex-320 nm, Em=430 nm)
Inj. Volume	20μL

마. 구성 아미노산 분석

구성 아미노산의 분석은 분해관에서 건조한 시료 0.5g과 6N HCl 3mL를 취해서, 탈기하고 121°C에서 24시간 가수분해 시킨 다음 여액을 rotary vaccum evaporator로 감압·농축 한 후 sodium phosphate buffer (pH 7.0) 10mL로 정용하였다.(45) 그 후 용액 1 mL를 취하여 membrane filter (0.2 μm)로 여과하고, 아미노산자동분석기(Biochrom 20, Pharmacia, England)로 정량 분석하였다. 분석조건은 Table 4과 같다.

Table 4. Operating conditions of amino acid auto - analyzer

Item	Condition
Instrument	S433-H (SYKAM)
Column	Cation separation column (LCA K06/Na)
Column size	4.6 × 150mm
Column temp.	57 ~ 74°C
Flow rate	Buffer 0.45mℓ/min, reagent 0.25mℓ/min
Wavelength	440 nm and 750 nm

바. 비타민 분석

비타민 A, C 및 E의 분석은 식품공전법의 시험방법을 기준으로 하여 시행하였다 (46). 비타민 A와 E의 함량은 시료 4 g, ethanol 30 mL, ascorbic acid 0.1 g 를 첨가하여 균질화 한 후 80°C에서 20분동안 추출한 다음 50% KOH 용액 0.25 mL을 첨가하고, hexane 5 mL와 증류수 3 mL를 가하여 1,150× g에서 20분동안 원심분리 한 후 잔사에 hexane 5 mL를 가하여 균질화 한 후 80°C에서 20분간 추출시켜 1,150× g에서 20분간 원심분리하였다. 상등액을 합하여 무수 Na₂SO₄로 탈수시킨 후 50°C에서 감압·농축하고 methanol로 용해시킨 후 membrane filter (0.45 μm) 로 여과하여 HPLC (LC-10AVP, Shimadzu, Japan)로 분석하였다. 분석조건은 Table 5 와 같다.

비타민 C의 함량은 시료 2 g에 10% metaphosphoric acid(HPO₃) 용액 10 mL를 가하여 추출 한 후 1,150× g에서 20분간 원심분리 시킨 후 잔사에 10% metaphosphoric acid 용액 5 mL를 가하여 추출 한 후 1,150× g에서 20분간 원심분리 하였다. 상등액을 합하여 membrane filter (0.20 μm)로 여과하여 HPLC (LC-10AVP, Shimadzu, Japan)로 분석하였다. 분석조건은 Table 6과 같다.

Table 5. Operating conditions of HPLC for vitamin A and E

Item	Condition
Instrument	LC-10Avp (Shimadzu Japan)
Column	Phenomenex Luna 10um C ₁₈ (250 × 4.6 mm)
Mobile phase	Acetonitrile : 2-Propanol (95:5)
Flow rate	1.0 mL/min
Inj. volume	20μL
Detection	UV-VIS Detector (254nm) Spectrofluorometric Detector (EX:290nm, EM:330nm)

Table 6. Operation conditions of HPLC for vitamin C

Item	Condition
Instrument	LC-10Avp (Shimadzu Japan)
Column	Phenomenex Bondclone 10um C ₁₈ (300×3.9 mm)
Mobile phase	0.05M KH ₂ PO ₄ : Acetonitrile (80:20)
Flow rate	1.0 mL/min
Inj. volume	20μL
Detection	UV-VIS Detector (254nm)

사. 무기질 분석

무기질 분석은 A.O.A.C.방법(47)에 준하여 실시하였다. 시료 0.5 g, 60% HClO₄ 3 mL 및 20% HNO₃ 10 mL를 취하여 투명할 때까지 가열한 후, 0.5 M HNO₃로 50 mL를 정용하였다. 각각의 항목별 표준용액을 혼합하고, vial병에 8 mL씩 취하여 표준용액으로 하였고, 0.5 M HNO₃를 대조군으로 하여 유도결합플라즈마 분광분석기(ICP-OES, PerkinElmer, USA)로 분석하였다. 분석조건은 Table 7과 같다.

Table 7. Operating conditions of inductively coupled plasma spectrometer for minerals

Item	Condition								
Instrument	ICP-OES/PerkinElmer (USA)								
Lamp Item	Ca	K	Mg	Fe	Na	Mn	Cu	Zn	
Wavelength	317.933	766.490	285.213	238.204	589.592	257.610	327.393	206.200	
Plasma Unit	RF Power 1.4 Kw Gas Flow Rate 15 L/min								

2. 항산화 물질의 함량 및 소거능 측정

가. 총 Polyphenol 함량 측정

적겨자잎 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량은 Folin-Denis법(48)을 이용하여 측정하였다. Test tube에 적겨자잎 에탄올 추출물 1 mL, Folin reagent 2 mL를 넣고, 실온에서 3분간 정치한 후, 10% Na₂CO₃ 2 mL을 첨가하였다. 이를 섞은 후 30°C에서 40분간 정치하고 흡광도 760 nm에서 UV-spectrophotometer(Bio-rad, Hercules, USA)를 이용하여 측정하였다. 표준곡선은 기준물질로 tannic acid를 사용하여 최종농도가 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/mL가 되도록 만들었다. 이 검량곡선을 이용해 시료 중 총 polyphenol 함량을 구하였다.

나. 총 flavonoid 함량 측정

적겨자잎 에탄올 추출물의 총 flavonoid의 함량은 Davis법을 변형한 방법(53)을 이용하여 측정하였다. 적겨자잎 에탄올 추출물 1 mL에 diethylene glycol 2 mL과 1N NaOH 20 µL를 넣고 37°C water bath에서 1시간 반응시킨 후 UV-spectrophotometer(Bio-rad, Hercules, USA)를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 기준물질로 rutin을 이용하여 최종 농도가 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 1.0 mg/mL가 되도록 만들었다. 이 검량곡선을 이용해 시료 중 총 flavonoid 함량을 구했다.

다. ATBS radical 소거능 측정

적겨자잎 에탄올 추출물의 ATBS radical 소거능 측정은 Robert RE 등(49)의 방법을 변형하여 측정하였다. 7mM ABTS와 2.4mM potassium persulfate를 혼합하고 실온 암소에서 24시간 정치하여 양이온을 형성시킨 후, ABTS의 흡광도를 측정하여 흡광도가 0.7 ± 0.02 가 되도록 methanol로 희석하여 사용하였다. 적겨자잎 에탄올 추출물 150 μ L와 희석한 ABTS 1350 μ L를 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시킨 후 UV-spectrophotometer(Bio-rad, Hercules, USA)를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 적겨자잎 에탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 (1-시료첨가군 흡광도/무첨가군 흡광도) \times 100 으로 계산하여 나타냈다.

3. 통계처리

본 실험의 분석은 SPSS program(SPSS version 17.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였고, 3회 반복 실시하여 측정한 평균값과 표준편차로 나타내었다. 통계적 유의도 검정을 위해 one-way ANOVA(analysis of variance)를 이용하여 통계처리 하였다.

제3절 *In vivo*에서 지질대사 개선 및 항비만 효과

1. 실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 Sprague Dawley계 5주령 수컷 흰쥐 32 마리를 오리엔트바이오(주)를 통하여 구입하였고, 조선대학교 실험동물센터에서 1주일 간 고형배합사료로 적응시키고, 평균 186~187g인 쥐를 난피법(randomized block design)에 의해 각 군 당 8마리씩 4군으로 나누어 스테인리스 케이지에 1마리씩 분리하여 6주간 사육하였다. 실험군은 Table 8과 같이 정상군(N), 고지방-고콜레스테롤 식이군(대조군, HFC), 고지방-고콜레스테롤 식이와 3% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJL), 고지방-고콜레스테롤 식이와 5% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJH)으로 나누었다. 실험에 사용된 식이는 Table 9와 같이 AIN-93 정제식이를 기준(50)으로 변형하여 조제하였다. 고지방-고콜레스테롤 식이군들은 식이 무게의 10%의 라드와 0.1%의 콜레스테롤이 첨가된 식이를 공급하였다. 식이와 물은 제한 없이 공급하였고, 조명은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였고, 사육실 내 온도는 $18\pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 유지하였다. 체중증가율은 최종 체중에서 실험개시 전의 체중을 감한 다음 실험개시 전의 체중으로 나누어 표시하였고, 식이효율(feed efficiency ratio, FER)은 사육기간의 체중증가량을 동일한 기간의 식이섭취량으로 나누어 구하였다.

Table 8. Experimental design

Group	Diet composition
N ¹⁾	Normal diet
HFC ²⁾	Control diet (High-fat/High cholesterol diet)
HFC-BJL ³⁾	High-fat/High cholesterol diet + BJL
HFC-BJH ⁴⁾	High-fat/High cholesterol diet + BJH

^{1),2)} Modified AIN-93 diet(50).

³⁾ Modified High fat diet + 3% of *Brassica Juncea L.* powder

⁴⁾ Modified High fat diet + 5% of *Brassica Juncea L.* powder

Table 9. Composition of experimental diet

Diet Composition	Groups ¹⁾			
	Normal diet	HFC	HFC-BJL	HFC-BJH
Corn starch	397.486	287.486	257.486	237.486
Casein	200	200	200	200
Dextrose	132	132	132	132
Lard		100	100	100
Soybean oil	70	70	70	70
Cellulose	50	50	50	50
Sucrose	10	10	10	10
L-cystine	3	3	3	3
Mineral Mix ²⁾	35	35	35	35
Cholesterol		10	10	10
Vitamin Mix ³⁾	10	10	10	10
Choline chloride	25	25	25	25
Tert-butyl hydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014
<i>Brassica juncea</i> leaf powder			30	50

¹⁾See the legend of Table 8.

^{2),3)}AIN-93-MX mineral mixture and AIN-93-VX vitamin mixture(50).

2. 실험동물의 처리

실험동물은 사양시험이 끝난 후 12시간 동안 절식시키고, CO₂로 가볍게 마취하여 단두 절단하고 혈액을 채취하였다. 혈액은 1,150 ×g에서 20분간 원심분리시키고, 혈청을 분리하여 혈청 지질 함량 및 효소 활성 측정용 시료로 사용하였다. 그리고 간과 지방조직을 적출하여 0.9% 생리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 부착물질을 제거하였으며, 여지로 수분을 제거하고 중량을 측정하여 효소의 활성 저하를 방지하기 위해서 급속 동결하여 -70℃의 deep freezer에 보관하였다.

3. 혈청 효소 활성 측정 및 포도당 함량 측정

혈청 중 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) 및 lactate dehydrogenase (LDH) 활성 및 혈청 중 포도당 함량은 혈액생화학적 검사 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Japan)를 이용하여 측정하였다.

4. 혈청 지질 함량 측정

혈청 중 중성지방(TG), 총콜레스테롤(TC) 및 HDL-콜레스테롤의 함량은 혈액생화학적 검사 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Japan)를 이용하여 측정하였다. LDL-콜레스테롤의 함량은 Friedwald식 {총콜레스테롤 - (중성지방/5 + HDL-콜레스테롤)}(51)을 통하여 계산하였다. 심혈관계질환 위험도 판정에 지표가 되는 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 {(총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤) / HDL-콜레스테롤}(52)을 통하여 계산하였으며, 심혈관위험지수(cardiac risk factor, CRF)(52)는 {총콜레스테롤/ HDL-콜레스테롤}의 계산식으로 구하였다.

5. 간조직 및 지방조직의 지질 함량 측정

간 및 지방조직 내의 중성지방과 총콜레스테롤 함량 분석을 하기 위해 먼저 Folch 등(53)의 방법을 통해 간, 부고환지방조직 및 장간막지방조직에서 총 지질을 추출하였다. 적출한 간 조직 중 0.1 g을 칭량한 후, 6 mL CHCl_3 -MeOH (2 : 1, v/v)을 첨가하고 냉장상태에서 3일 방치하였다. 그 다음 H_2O 를 첨가하고 1,900 ×g 에서 20분간 원심분리 시킨 후 하층부의 지질층을 취하여 중성지방과 총콜레스테롤의 함량 분석을 위하여 이용하였다. 총콜레스테롤의 함량은 Zlatkis와 Zak의 방법(54)을 통하여 측정하였고, 중성지방 함량은 Biggs 등(55)의 방법을 통하여 측정하였다.

6. 분변의 지질 함량 측정

분변은 사양시험 종료 전 3일 동안의 것을 수집하여 deep freezer(-70°C)에서 냉동건조 시킨 후 이 중 500 mg을 채취하여 Folch 등(53)의 방법으로 지질을 추출하고, 간조직의 지질 함량 측정과 같은 방법으로 중성지방과 총콜레스테롤의 함량을 측정하였다.

7. 간 조직의 병리조직학적 검사

실험에 쓰인 흰쥐의 해부 직후 적출한 간 조직 중 일부를 채취하고, 이를 4%의 paraformaldehyde 용액에 고정시킨 후, -25°C의 온도에서 동결절편기(cryocut microtome)를 사용하여 3~4 μm 두께로 절단 후 슬라이드에 부착시켜 말렸다. 이것을 Oil-Red-O로 염색한 후, 수세, 중화 및 탈수단계를 차례로 거쳐 봉입제로 봉입한 후 light microscope를 통하여 관찰하였다.

8. 지질대사 및 콜레스테롤 대사와 관련한 mRNA 발현

RNeasy mini kit (QIAGEN, Maryland, USA)를 이용하여 간에서 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA 1 µg, oligo (dT) 1 µl(Invitrogen, USA), DEPC를 첨가하여 최종적으로 20 µl로 맞춘 후, AccuPower RT-premix (Bioneer, Seoul, Korea)에 넣어 42°C에서 60분, 94°C에서 5분간 반응시켜 cDNA를 합성하였다. 합성한 cDNA를 이용하여 지방대사에 관련이 있는 FAS(fatty acid synthase), ACC(acetyl-coA carboxylase), G6PDH(glucose 6-phosphate dehydrogenase)와 콜레스테롤대사에 관련이 있는 CYP7A1(cholesterol 7 α -hydroxylase), LDL(low density lipoprotein)-receptor가 각 실험군 별로 어떠한 차이가 있는지 PCR (PCR-preMix, Bioneer, Seoul, Korea)을 통하여 확인하였다. PCR조건은 G6PDH, β -actin은 95°C에서 10분, [95°C에서 15초(denatiration), 60°C에서 1분(annealing), 72°C에서 30초(extension)] \times 30 cycle, ACC는 95°C에서 10분, [95°C에서 15초(denatiration), 60°C에서 1분(annealing), 72°C에서 30초(extension)] \times 31 cycle, CYP7A1는 95°C에서 10분, [94°C에서 3분(denatiration), 60°C에서 1분(annealing), 72°C에서 2분초(extension)] \times 30 cycle, FAS는 95°C에서 10분, [94°C에서 30초(denatiration), 55°C에서 30초(annealing), 68°C에서 30초(extension)] \times 27 cycle, LDL-receptor는 95°C에서 10분, [94°C에서 3분(denatiration), 60°C에서 1분(annealing), 72°C에서 2분(extension)] \times 33 cycle로 하였으며, PCR 생성물은 1.5% agarose 젤에서 전기영동으로 각 유전자의 발현을 확인하였다. β -actin은 house-keeping gene 중 하나로서, mRNA level control의 용도로 사용하였다. 각각의 PCR product의 크기는 Table 10과 같다.

Table 10. Sequences of primers used for reverse transcription-polymerase chain reaction.

Gene		primers	size (bp)
FAS	Sense	5'-GGACTGAACGGCATTACTCG-3'	153
	Antisense	5'-CATGCCGTTATCAACTTGTCC-3'	
G6PDH	Sense	5'-GTTTGGCAGCGGCAACTAA-3'	98
	Antisense	5'-GGCATCACCCCTGGTACAACCTC-3'	
ACC	Sense	5'-CAACGCCTTCACACCACCTT-3'	96
	Antisense	5'-AGCCCATTACTTCATCAAAGATCCT-3'	
CYP7A1	Sense	5'-GCCGTCCAAGAAATCAAGCAGT-3'	305
	Antisense	TGTGGGCAGCGAGAACAAAGT-3'	
LDL-receptor	Sense	5'-ATTTGGAGGATGAGAAGCAG-3'	931
	Antisense	5'-CAGGGCGGGGAGGTGTGAGAA-3'	
β -actin	Sense	5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACCAGGGC-3'	540
	Antisense	5'-CTCCTTAATGTCACGCACGATTTC-3'	

제3장 실험결과 및 고찰

제1절 성분분석 및 항산화효능

1. 성분분석

가. 일반성분 분석

적겨자잎의 일반성분을 분석한 결과는 Table 11과 같다. 건물량 기준(dry matter basis)으로 일반성분 함량은 수분 4.79%, 조회분 20.85%, 조지방 3.26%, 조단백질 44.09%, 및 탄수화물 27.01%이었다. Kim(56)의 연구를 보면 겨자의 일반성분 분석 결과 수분 2.25%, 조회분 3.68%, 조지방 44.08%, 조단백질 26.54%, 탄수화물 23.45%를 함유되어 있다고 보고하였고, Son과 Lee(57)의 연구에서는 수분 5.47%, 조단백 33.74%, 조지방 14.28%로 본 연구와 다소 함량 차이를 보였다. 이는 겨자잎 분말의 채취지역, 채취시기, 건조방법 등에 의한 차이로 사료된다.

십자화과에 속하는 브로콜리의 경우 수분 2.57%, 조단백질 23.19%, 조지방 4.47% 탄수화물 58.71%, 조회분 11.06%로(58) 적겨자잎 분말이 조단백질의 함량이 높았고, 탄수화물 함량이 낮은 것으로 나타났다. 이는 적겨자잎이 다른 십자화과 식물들과 비교해 조단백질 함량이 높은 것으로 나타났다.

Table 11. Proximate compositions of *Brassica juncea L.* leaf.

Composition	Sample	<i>Brassica juncea L.</i> leaf
Moisture		4.79±0.21 ²⁾
Crude ash		20.85±0.65
Crude fat		3.26±0.11
Crude protein		44.09±1.45
Carbohydrate ¹⁾		27.01±1.12

¹⁾Carbohydrate = 100 - (moisture + crude protein + crude fat + crude ash).

²⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

나. 지방산 분석

적겨자잎의 지방산 조성은 Table 12와 같다. 적겨자잎의 지방산 조성은 포화지방산 13종, 단일불포화지방산 3종, 다가불포화지방산 3종의 총 19종의 지방산이 검출되었다. 그 중 포화지방산은 palmitic acid의 함량이 21.58%로 가장 높았고, heneicosanoic acid의 함량이 16.58%로 다음으로 높았다. 불포화지방산은 γ -linolenic acid의 함량이 38.96%로 가장 높았고, linoleic acid의 함량이 10.36%로 다음으로 높았다. 따라서 적겨자잎의 주요 지방산은 palmitic acid, γ -linolenic acid, heneicosanoic acid, linoleic acid로 나타났다. 여수지역에서 재배한 갯의 연구(59)를 보면 포화지방산은 palmitic acid가 가장 높았고 불포화 지방산은 linolenic acid를 가장 많이 함유하였다. 따라서 본 연구에서 다른 십자화과 식물들의 연구들과 비슷하게 palmitic acid와 linolenic acid가 주요 지방산으로 나타났다.

Table 12. Compositions of fatty acids in *Brassica juncea* L. leaf

Fatty acid	<i>Brassica juncea</i> leaf
Caproic acid(C6:0)	0.96±0.03 ¹⁾
Caprylic acid(C8:0)	0.36±0.01
Luric acid(C12:0)	0.36±0.02
Myristic acid(C14:0)	1.49±0.13
Pentadecanoic acid(C15:0)	0.20±0.02
Palmitic acid(C16:0)	21.58±1.25
Heptadecanoic acid(C17:0)	0.40±0.04
Stearic acid(C18:0)	5.23±0.52
Arachidic acid(C20:0)	0.83±0.01
Heneicosanoic acid(C21:0)	16.58±0.98
Behenic acid(C22:0)	0.40±0.02
Tricosanoic acid(C23:0)	0.53±0.04
Lignoceric acid(C24:0)	0.36±0.02
Saturated	49.29
Palmitoleic acid(C16:1)	0.23±0.02
Oleic acid(C18:1n9c)	0.70±0.06
Nervonic acid(C24:1)	0.20±0.01
Monounsaturated	1.13
Linoleic acid(C18:2n6c)	10.36±1.02
Linolenic acid(C18:3n3)	0.26±0.04
γ-Linolenic acid(C18:3n6)	38.96±3.32
Polyunsaturated	49.59
Total	100.00

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

다. 유기산 분석

적겨자잎의 유기산 함량을 분석한 결과는 Table 13과 같다. 총 7종의 유기산이 196.1 mg%로 검출되었으며, 이 중 citric acid가 103.42 mg%로 가장 높았고, 다음으로 malic acid가 84.50 mg%, succinic acid가 4.31 mg%, formic acid 3.22 mg%, acetic acid 0.65 mg% 순으로 나타났다. 결구배추(60)의 경우 citric acid, malic acid, succinic acid 순으로 나타나 본 연구와 유사한 결과가 나타났다.

Table 13. Contents of organic acids in *Brassica juncea* L. leaf

Organic Acid	<i>Brassica juncea</i> leaf
Citric acid	103.42±5.34 ¹⁾
Tartaric acid	N.D.
Malic acid	84.50±2.17
Succinic acid	4.31±0.87
Lactic acid	N.D.
Formic acid	3.22±1.12
Acetic acid	0.65±0.03
Total	196.1

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

라. 유리당 분석

적겨자잎의 유리당 함량은 Table 14와 같다. 총 10종의 유리당을 분석하였으며, sucrose, lactose, mannose, fructose, galactose, xylose, glucose의 총 7종의 유리당이 검출되었고, maltose, rhamnose, ribose는 검출되지 않았다. 검출된 유리당 함량은 glucose가 166.51 mg/100g으로 가장 높았고, fructose, sucrose, galatose, xylose, lactose, mannose 순서로 검출되었으며, 총 유리당 함량은 439.3 mg/100g으로 나타났다. 같은 십자화과인 결구배추(60)의 경우 glucose, fructose, sucrose 순으로 적겨자잎과 같은 순서로 나타났다.

Table 14. Contents of free sugars in *Brassica juncea* L. leaf

(mg/100g)

Free sugars	<i>Brassica juncea</i> leaf
Sucrose	125.74±0.56
Maltose	N.D.
Lactose	0.70±0.02
Rhamnose	N.D.
Ribose	N.D.
Mannose	0.48±0.4
Fructose	140.41±1.51
Galactose	3.77±0.23
Xylose	1.69±0.41
Glucose	166.51±2.01
Total	439.3

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

마. 구성 아미노산 분석

적겨자잎의 구성아미노산 함량은 Table 15와 같다. 적겨자잎의 구성 아미노산은 필수아미노산 8종과 비필수아미노산 9종이 검출되어 도합 17종의 아미노산이 검출되었다. 필수아미노산의 총 함량은 6,108.562 mg/100 g으로 조성을 보면 leucine이 가장 많았고, methionine이 가장 적었다. 비필수아미노산에서는 glutamic acid가 가장 많았고 cystine이 가장 적었다. 총 구성 아미노산의 함량은 9,189.573 mg/100 g 이었다. 결구배추(60)의 경우 glutamic acid가 가장 많았다. 또한 총 아미노산 함량은 결구배추(60)는 3145.31 mg/100 g, 여수지역에서 재배한 적갓(59)의 경우 4965.94 mg/100g으로 같은 십자화과 식물들에 비해 적겨자잎의 구성 아미노산의 함량이 높은 것으로 나타났다.

적겨자잎의 필수아미노산은 6108.562 mg/100 g으로 필수아미노산의 비율은 66.472%로 나타났다. 여수지역에서 재배한 적갓(59)의 경우 54.73%로 나타나 적겨자잎 보다는 다소 낮은 필수아미노산의 비율을 나타내었다.

Table 15. Contents of total amino acids in *Brassica juncea* L. leaf

Amino acid	<i>Brassica juncea</i> leaf
(mg/100g)	
Essential	
Threonine	42.824
Valine	1,167.670
Methionine	28.559
Isoleucine	807.302
Leucine	1,483.507
Phenylalanine	929.939
Histidine	551.384
Lysine	1,097.377
Total EAA ¹⁾	6,108.562
Non-essential	
Aspartic acid	1,600.219
Serine	372.654
Glutamic acid	2,826.882
Proline	1,478.170
Glycine	753.805
Alanine	998.025
Cystine	51.799
Tryosine	213.277
Arginine	894.742
Total AA ²⁾	9,189.573
EAA/AA(%)	66.472

¹⁾Total EAA: Total essential amino acid.

²⁾Total AA: Total amino acid.

³⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

바. 비타민 분석

적겨자잎의 비타민 A, E 및 C 함량을 분석한 결과는 Table 16과 같다. 비타민 A는 검출되지 않았고, 비타민 C의 함량은 494.89 mg/100 g, 비타민 E의 함량은 6,775 mg/100g으로 가장 높게 나타났다. 비타민 E는 체내에서는 합성이 되지 않는 지용성 비타민으로 세포막의 불포화지방산 사이에 존재하고, 불포화지방산의 과산화반응(oxidation)을 저해하여 과산화물의 형성을 예방함으로써 생체막을 보호하고, 세포의 정상적인 기능을 유지시키고, 세포 막 속의 인지질과 황 함유 단백질과 결합해 세포막의 안정을 돕는다.(61) 또한 free radical과 결합해 항산화의 역할을 한다. Gey(62)와 Rimm(63)등의 연구를 보면 혈장의 비타민 E 농도와 관상동맥질환 발병율과 역의 상관관계를 나타내며, 비타민 E 보충에 의해 심장병의 발생이 감소했다고 보고하였다. 같은 십자화과 식물인 중국산 30종의 배추의 비타민 E 함량을 분석한 연구(64)에서는 평균적으로 9775 mg/100 g이 나왔다. 따라서 적겨자잎의 높은 비타민E 함량은 다량의 지방질 섭취에도 지방질의 산화가 저해될 것으로 사료된다. 또한 적겨자잎의 비타민 C 함량은 대표적인 급원식품인 감귤 289 mg/100 g, 딸기 154 mg/100 g(65) 보다 함량이 높음을 알 수 있다.

Table 16. Contents of vitamin A, C and E in *Brassica juncea L.* leaf
(mg/100g)

Vitamin	<i>Brassica juncea</i> leaf
vitamin A	N.D.
vitamin C	494.89±4.27 ¹⁾
vitamin E	6,775±0.21

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

사. 무기질 분석

적겨자잎의 무기질 함량은 Table 17과 같다. 총 무기질의 함량은 10141.5 mg/100 g 으로 8종의 무기질이 검출되었다. 이중 K의 함량이 5444 mg/100 g으로 가장 많이 검출되었고, 다음으로 Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu 순서로 나타났다. K은 Na 이온과 같이 산 염기 평형에 관여하고, 세포내액에서 Na과 함께 체액의 수분평형과 삼투압을 조절하는 무기질이며, K의 섭취는 고혈압의 예방 및 치료에 효과적이라 보고되었다.(66) 결구배추(60)의 무기질 함량은 K 2447.17 mg/100 g 으로 가장 많이 검출되었고, 다음으로 Na, Ca, Mg 순서로 적겨자잎과 유사함을 알 수 있다.

Table 17. Contents of minerals in *Brassica juncea* L. leaf

(mg/100g)

Mineral	<i>Brassica juncea</i> leaf
Ca	3848.00
K	5444.00
Mg	582.00
Fe	24.64
Na	229.00
Mn	4.95
Cu	0.49
Zn	8.42
Total	10141.5

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

2. 적겨자잎의 추출수율 및 향산화 물질의 함량과 활성

가. 추출수율

적겨자잎의 생리활성을 측정하기 위해 시료를 80%의 에탄올로 추출후, 감압·농축 하고, 고형분의 함량을 3회 반복 측정하고 추출수율을 계산한 결과는 Table 18과 같다.

에탄올은 각종 추출물 제조시에 다양하게 이용하는 용매로 안전성이 높고, 생약류와 식물의 에탄올 추출시 높은 향산화력을 보인다(67). 본 실험에서도 적겨자잎을 80% 에탄올로 추출하여 34.52%의 추출수율을 보였다. Kwak(68)의 연구에서는 적겨자잎의 추출수율이 33.9%가 나와 본 연구와 유사한 수율을 나타냈다.

추출수율이 10%이상 되어야 일반적으로 경제성을 갖고 있다고 할 수 있다.(69) 또한 추출수율이 의미하는 것은 실용성이다. 추출수율이 낮으면 경제성이 떨어져 이용하기 어려우므로 식물 추출물의 산업화를 위한 중요한 의미이다. 그러므로 본 실험의 적겨자잎 추출수율은 34.52%로 활용가능성이 있는 식물 소재이다.

Table 18. Yield of 80% ethanol extracts of *Brassica juncea* L. leaf

	Extraction yeilds(%)
<i>Brassica juncea</i> leaf	34.52±0.21 ¹⁾

¹⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

2. 총 polyphenol 함량 측정

본 연구에서는 적겨자잎 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량 측정을 위해 tannic acid를 기준물질로 사용하였고, 총 polyphenol 함량은 Table 19에서와 같이 29.47 mg TAE/g 으로 나타났다.

페놀 화합물이란 벤젠환 탄소에 phenolic hydroxyl (-OH)기가 결합되어 있는 물질로 식물계에 많이 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 갖는다. 페놀 화합물은 phenolic hydroxyl기를 통한 수소공여와 페놀 구조의 공명 안정화에 의해서 항산화 효과, 항암 및 항균 효과 같은 생리활성을 가지고 있다(70-72). 또한 콜레스테롤이 소화관에서의 흡수를 방지시켜 혈중 콜레스테롤 수치를 떨어뜨리는 작용을 하고, 소장에서 지방이 흡수되는 것을 억제하는 기능이 있다고 알려져 있다(73,74). 적겨자잎과 같은 함황 채소의 경우 무 19.41 mg/g, 파 68.32 mg/g, 양파 69.07 mg/g 등으로 나타났다(75). polyphenol은 추출온도가 높아질수록, 시료가 용매에 비해 적을수록 증가(76)하므로 시료의 추출온도와 방법 등의 조건에 의한 차이로 다를 수 있다. 다량의 polyphenol을 함유한 카카오를 고지방 식이를 급여한 흰쥐에게 경구 투여 하였을 때, 혈소판 응집 억제효과, 총콜레스테롤, 중성지방의 감소 등의 효과가 보고되었다(77). 이는 적겨자잎에 함유된 polyphenol 또한 비만과 고지혈증 예방에 도움이 있을 것이라 생각한다.

3. 총 flavonoid 함량 측정

본 연구에서는 적겨자잎 에탄올 추출물의 총 flavonoid 함량 측정을 위해 rutin을 기준물질로 사용하였고, 총 flavonoid 함량은 Table 20에서와 같이 25.41 mg RE/g 으로 나타났다.

Flavonoid는 노란색 혹은 담황색을 띠는 천연의 polyphenol 화합물의 총칭을 말하며, 자연에서 유리상태로 존재하기 보다는 주로 glucose, rutiose, rhamnose 등과 같이 당류와의 에테르 결합을 통해서 배당체 형태로 존재하며, 활성산소종을 제거하는 것으로 알려져 있으며(83), 배당체 형태가 flavonoid의 흡수율을 높여주는 것으로 알려져 있다(84). Flavonoid는 독성이 거의 없으며, 항산화작용, 항균, 항염증, 항바이러스, 면역증강, 모세혈관 강화, 지질저하 작용 등에 효과가 알려져 있다(85,86). 방울다다기양배추(77)의 경우 에탄올 추출물에서 26.62 $\mu\text{g/g}$, 열수추출물에서 11.25 $\mu\text{g/g}$, 결구배추(60)의 경우 75.37 mg/100 g 으로 십자화과 식물들의 flavonoid의 함량은 종과 건조방법, 추출방법에 따른 차이가 있을 것으로 사료된다.

4. ATBS radical 소거능 측정

ABTS radical 소거능 측정은 7 mM ABTS와 2.4 mM potassium persulfate를 암소에서 24시간 반응시켜 potassium persulfate로부터 생성된 라디칼이 항산화 물질과 반응하여 환원되고 청록색이 탈색 되는 원리이며 항산화 물질의 함량이 높을수록 소거활성이 증가하는 것으로 알려져 있다(87). 본 연구에서 적겨자잎 에탄올 추출물의 항산화 활성을 측정하기 위해 위의 실험방법으로 ABTS radical 소거능을 측정한 결과는 Table 21에서와 같이 IC_{50} 이 1.84 mg/g 으로 나타났다. 같은 십자화과 식물중 하나인 냉이(88)의 ABTS radical 소거능은 IC_{50} 이 4.43 mg/g로 본 실험의 적겨자잎의 IC_{50} 값과 비교 하였을 때 적겨자잎의 항산화 활성이 더 뛰어난 것으로 나타났다.

Table 19. Contents of total polyphenol in *Brassica juncea* L. leaf

sample	Total polyphenol contents (mg TAE/g)
<i>Brassica juncea</i> leaf ¹⁾	29.47±0.75 ²⁾

¹⁾*Brassica juncea* L 80% ethanol extract 1,000 ppm (1 mg/mL).

²⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

Table 20. Contents of total flavonoid in *Brassica juncea* L. leaf

sample	Total flavonoid contents (mg RE/g)
<i>Brassica juncea</i> leaf ¹⁾	25.41±0.28 ²⁾

¹⁾*Brassica juncea* L 80% ethanol extract 1,000 ppm (1 mg/mL).

²⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

Table 21. ABTS radical scavenging in *Brassica juncea* L. leaf

sample	ABTS IC ₅₀ (mg/g)
<i>Brassica juncea</i> leaf ¹⁾	1.84±3.63 ²⁾

¹⁾*Brassica juncea* L 80% ethanol extract 1,000 ppm (1 mg/mL).

²⁾All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

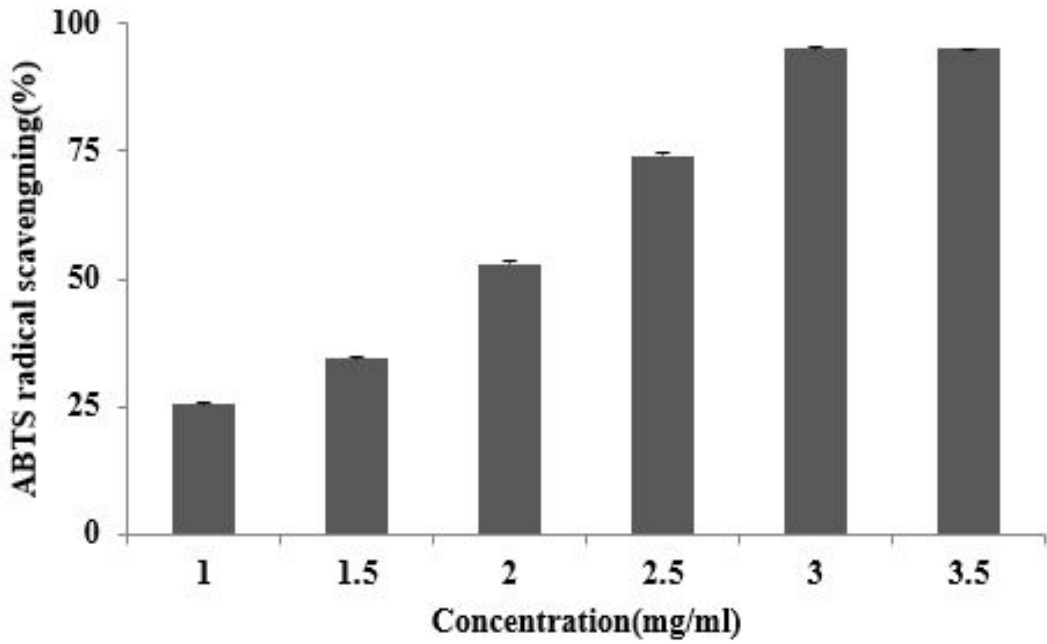


Fig. 1. ABTS radical scavenging activity of *Brassica juncea L.* leaf

제2절 *In vivo*에서 지질대사 개선 및 항산화 효능

1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

고지방-고콜레스테롤의 식이와 적겨자잎 분말의 첨가를 달리하여 6주간 급여한 흰쥐의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 비교한 결과는 Table 22과 같다.

흰쥐의 체중증가량은 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 유의적으로 증가하였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 5% 적겨자잎 분말 첨가군이 유의적으로 감소하였다.

식이섭취량은 정상식이군(N)이 가장 높게 나왔고 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)과 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)은 유의한 차이를 보이지 않았다.

식이효율은 에너지의 밀도가 높은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 정상식이군(N)에 비해 유의하게 증가하였고, 적겨자 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 유의적으로 감소하였다. 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 경구투여한 흰쥐의 연구(89)에서 농도 의존적으로 체중이 감소하는 효과를 보였다고 보고하였다.

본 연구에서 고지방-고콜레스테롤 식이로 비만이 유도된 흰쥐에서 적겨자잎 분말의 첨가로 인하여 체중증가량, 식이효율이 감소되었다. 이는 체중 감소효과가 있는 것으로 사료된다.

Table 22. Changes in body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats fed the experimental diets

Groups ¹⁾	Gained body wt. (g/day)	Food intake (g/day)	FER ²⁾
N	7.04±0.32 ^{3)b4)}	23.06±0.7 ^{NS5)}	0.29±0.01 ^c
HFC	7.61±0.64 ^a	22.07±0.90	0.34±0.01 ^a
HFC-BJL	7.35±0.26 ^b	22.10±0.76	0.33±0.01 ^b
HFC-BJH	6.73±0.37 ^c	20.60±0.65	0.32±0.01 ^b

¹⁾See the legend of Table 8.

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.

⁵⁾NS: not significantly different among groups.

2. 간 및 지방조직의 무게

고지방-고콜레스테롤 식이와 적겨자잎 분말의 농도를 달리하여 6주간 급여한 흰 쥐의 체중 당 간 및 지방조직의 무게를 비교한 결과는 Fig. 2, 3 및 Table 23과 같다.

체중 100 g당 간 조직 무게는 Fig. 2에서처럼 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 유의적으로 증가하였는데, 이는 고지방-고콜레스테롤 식이 섭취시, 간의 지질대사에 문제를 일으켜 간 조직 내에 중성지질과 콜레스테롤 등이 축적되어 간의 중량이 증가하고, 간 비대증을 일으킨다는 보고(90)와 같았다. 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)과 유의적인 차이가 없었다. 식이 중 콜레스테롤의 첨가로 간장 중 중성지방 및 콜레스테롤이 축적되어 간의 중량이 증가된 것(91)으로 사료된다.

Bjorntorp(92.93)는 일반적인 체중의 증가보다 체지방 중 특히 복강내의 지방조직 증가가 건강의 위해요인으로 작용한다고 보고하였다. 체내의 지방조직은 갈색지방과 백색지방으로 구분되는데 갈색지방은 모세혈관과 신경이 분포해 있고, 많은 미토콘드리아가 있어서 열을 생산하고, 목이나 겨드랑이, 심장 등에 존재한다. 반면에 백색지방은 소모되지 않고 남은 잉여 에너지를 저장하며, 내장주위나 피하 등 몸 전체에 존재한다. 비만환자에게서는 갈색지방이 매우 소량 존재하고, 주로 백색지방의 증가로 인해 문제가 야기된다(94). 따라서 백색지방인 등지방, 신장주위지방, 부고환지방, 장간막지방의 무게를 분석하였다.

지방조직들의 무게를 분석한 결과는 Table. 22 에서와 같다. 체중 100 g당 등지방의 무게는 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 가장 높았고, 5% 적겨자잎 분말을 첨가한 군(HFC-BJH)이 고지방콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 유의적인 감소를 보였다. 신장주위지방조직은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)가 가장 높았으나, 실험군들간에 유의한 차이는 없었다. 부고환지방과 장간막 지방조직은 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 유의적인 증가를 보였고, 적겨자잎 분말의 첨가로 인해 감소되는 경향을 보였으나, 5% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJH)에서 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 유의적인 차이를 보였다.

등지방, 신장주위지방, 부고환지방, 장간막지방의 무게를 더한 총 지방조직의 무게는 Fig. 3에서와 같이 정상식이군(N)이 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 유의적

으로 증가하였고, 적겨자잎 분말의 첨가로 인해 감소하는 경향을 보였으며, 5% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJH)에서는 정상식이군(N) 수준과 비슷하게 감소하였다.

본 실험에서 적겨자잎 분말의 급여가 고지방-고콜레스테롤 식이로 인해 증가된 간, 지방조직들의 무게가 감소되는 효과를 보았다. 따라서 적겨자잎 분말이 고지방-고콜레스테롤 식이로 비만이 유도된 흰쥐의 간 조직과 체내 지방조직의 지방 축적 억제효과가 있음을 알 수 있고, 이는 지방대사에 영향을 미쳐 대사성 질환 예방효과가 있을 것으로 사료된다.

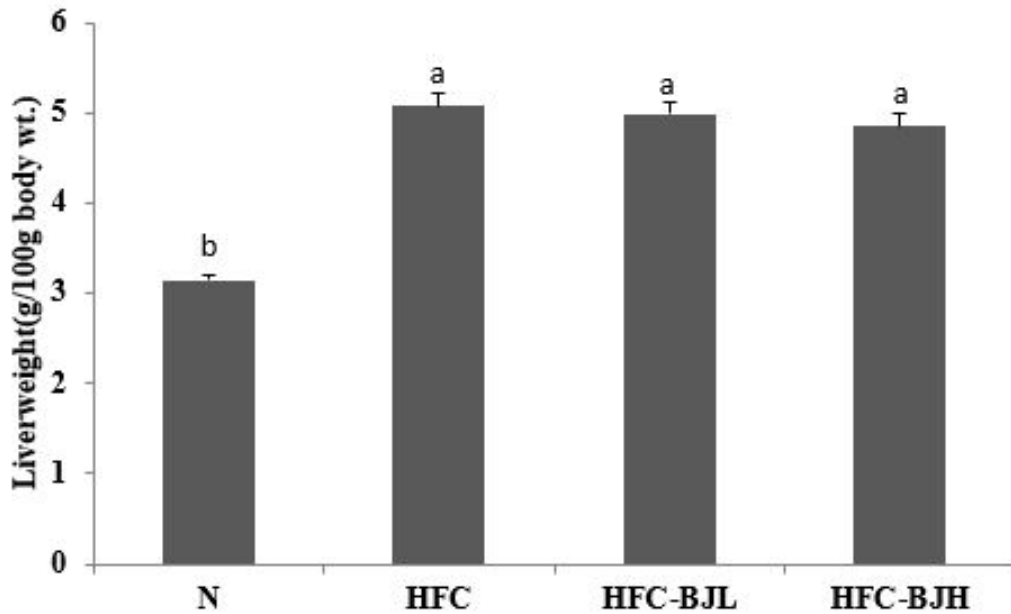


Fig. 2. Liver index of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks
 Abbreviations: See the legend of Table 8.
 Liver index: liver weight/100g body weight.
 Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

Table 23. Weights of epididymal, mesenteric, retroperitoneal and perineal adipose tissues in rats fed the experimental diets

(g/100g body wt.)

Groups ¹⁾	Epididymal AT	Mesenteric AT	Retroperitoneal AT	Perineal AT	Total AT
N	1.27±0.07 ^{2)ab3)}	0.69±0.02 ^b	1.86±0.03 ^b	0.56±0.03 ^N S4)	4.39±0.11 ^b
HFC	1.58±0.15 ^a	0.9±0.03 ^a	2.44±0.07 ^a	0.58±0.05	5.5±0.21 ^b
HFC-BJL	1.47±0.03 ^{ab}	0.84±0.06 ^{ab}	2.18±0.15 ^{ab}	0.56±0.03	5.04±0.17 ^a
HFC-BJH	1.15±0.07 ^b	0.73±0.05 ^b	1.87±0.08 ^b	0.51±0.03	4.26±0.14 ^a

¹⁾See the legend of Table 8.

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

³⁾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.

⁴⁾NS: not significantly different among groups.

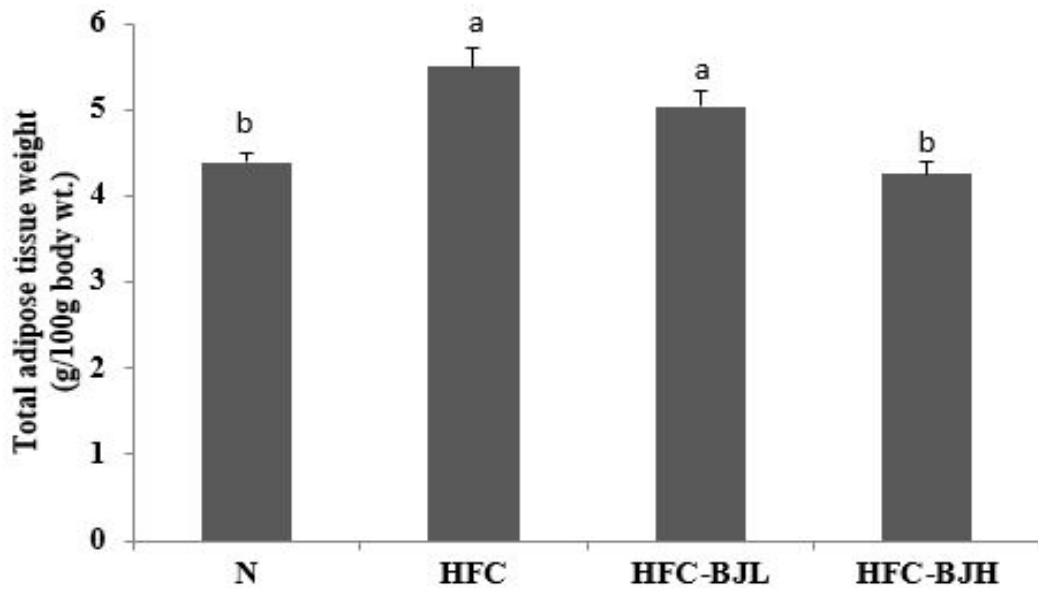


Fig. 3. Total adipose tissue weight of rats fed high fat diet containing *Brassica juncea* L. leaf powder for 6 weeks

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

3. 혈청 효소 활성 및 포도당 함량 측정

고지방-고콜레스테롤 식이와 적겨자잎 분말의 농도를 달리하여 6주간 급여한 흰 쥐의 혈청 중 ALT(alanine aminotransferase), AST(aspartate aminotransferase), ALP(alkaline phosphatase) 및 LDH(lactate dehydrogenase) 활성을 측정한 결과는 Fig. 4~7과 같다.

혈청 중 ALT, AST 활성은 Fig. 4, 5와 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 유의적인 증가를 보였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)이 유의적인 감소를 보였다. Kwon등(95)의 연구에서 콜레스테롤 1% 첨가 식이에 의해서 혈청 중 ALT, AST의 활성이 기초식이군 대비 증가하였다고 보고하여, 본 실험과 비슷한 결과를 보였다. ALT와 AST는 간세포에 있는 많은 양의 효소로 스트레스나 약물 등의 영향으로 간세포가 손상되면서 혈액으로 방출이 증가하여 나타나게 되므로 간 손상의 대표적인 지표로 이용하고 있다. 비만의 경우 간에 지방이 축적되어 지방과산화물이 생기므로 간 조직이 손상되며 ALT와 AST 효소의 활성이 증가한다고 알려져 있다(96). 본 실험에서도 고지방-고콜레스테롤 식이로 ALT와 AST의 활성이 유의적으로 증가하는 결과를 나타냈다.

혈청 중 ALP, LDH의 활성은 Fig. 6, 7과 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 유의적인 증가를 보였고, 특히 LDH는 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 유의적인 감소를 보였다. 혈청 ALP는 고지혈증이나 간 조직 및 담관계폐쇄, 간질환의 경우에 증가하는 효소로 간 세포의 장애가 고도화 되면 ALP 활성이 높아져서 간에서 담즙산 배설작용에 문제가 발생하게 돼서 혈중 콜레스테롤 농도가 상승하는 것으로 알려져 있다(96). LDH의 활성은 고콜레스테롤혈증 발생과 간에 지방이 축적되어 담즙분비에 장애가 생기는 것에 의해 기인된 것으로 알려져 있다(97). 혈청 ALT와 LDH 효소활성이 모두 높으면 임상적으로 급성 심근경색, 신장 및 간장에 급성염증이 발생한다고 알려져 있다(97).

일반적으로 간장내에 식이 중 다량의 중성지방과 콜레스테롤이 유입이 되면 지질 수용체인 apoprotein과 결합해 lipoprotein형태로 바뀌어 배출되지 않고 지방간과 간세포 손상을 입힌다(98). 따라서 본 실험에서도 고지방-고콜레스테롤 식이로

인해 증가된 AST, ALT, ALP, LDH의 활성이 적겨자잎 분말의 급여로 인해 감소하는 경향을 보여, 적겨자잎 분말이 혈청과 간의 지질대사를 개선시키고, 간 기능의 회복 및 개선에 효과를 나타낼 것이라 사료된다.

고지방-고콜레스테롤 식이와 적겨자잎 분말의 농도를 달리하여 6주간 급여한 흰쥐의 혈청 중 포도당 함량은 Fig. 8과 같다.

혈청 중 포도당 함량은 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 유의적인 증가를 보였다. 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)은 감소하는 경향이었지만 유의적인 차이가 없었다. Cha 등(99)의 연구에서 혈장 포도당 농도는 고지방식이군이 정상식이군에 비해 높은 경향을 보였고, Lee 등(100)의 연구 또한 정상식이군에 비해 고지방식이군에서 더 높은 포도당 농도를 보여 본 연구와 유사한 결과가 나왔다. 또한 Kim과 Yoon(101)의 연구에서 흰쥐의 식이에 0.75%의 콜레스테롤을 첨가한 경우 혈청 중 포도당 농도는 유의적인 증가가 있었다.

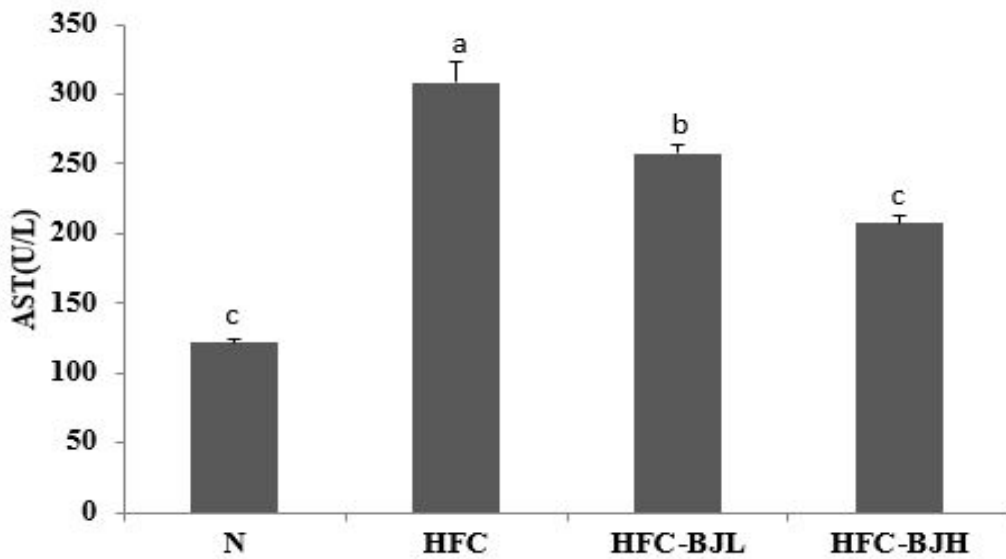


Fig. 4. Serum activity of ALT in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks
 Abbreviations: See the legend of Table 8.
 Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

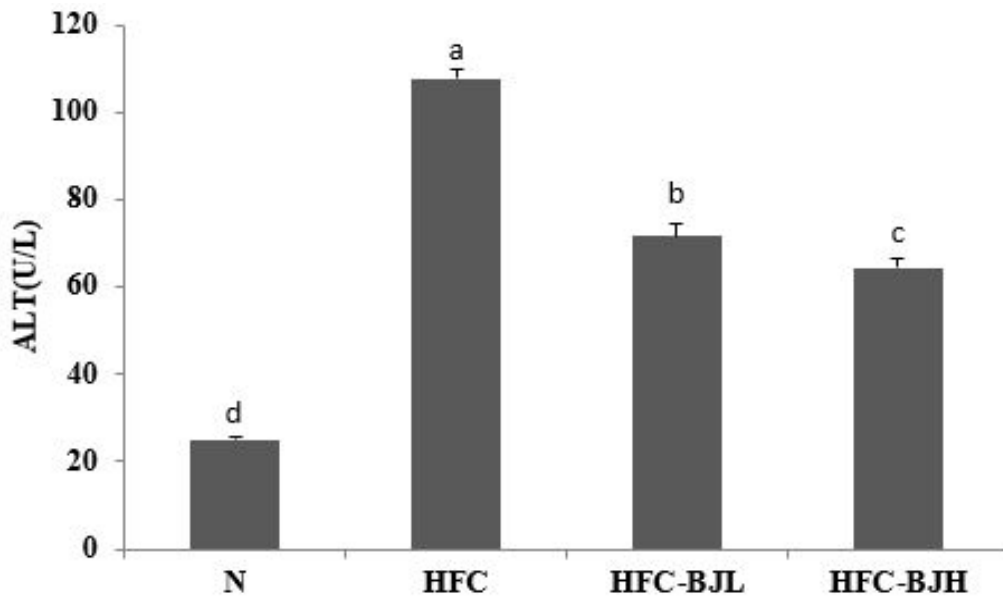


Fig. 5. Serum activity of AST in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks
 Abbreviations: See the legend of Table 8.
 Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

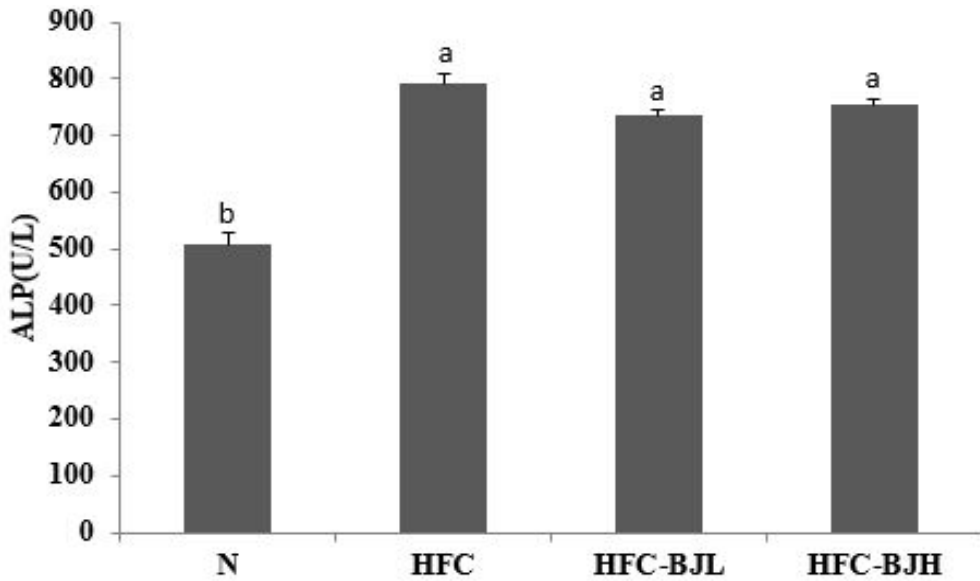


Fig. 6 Serum activity of ALP in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

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.

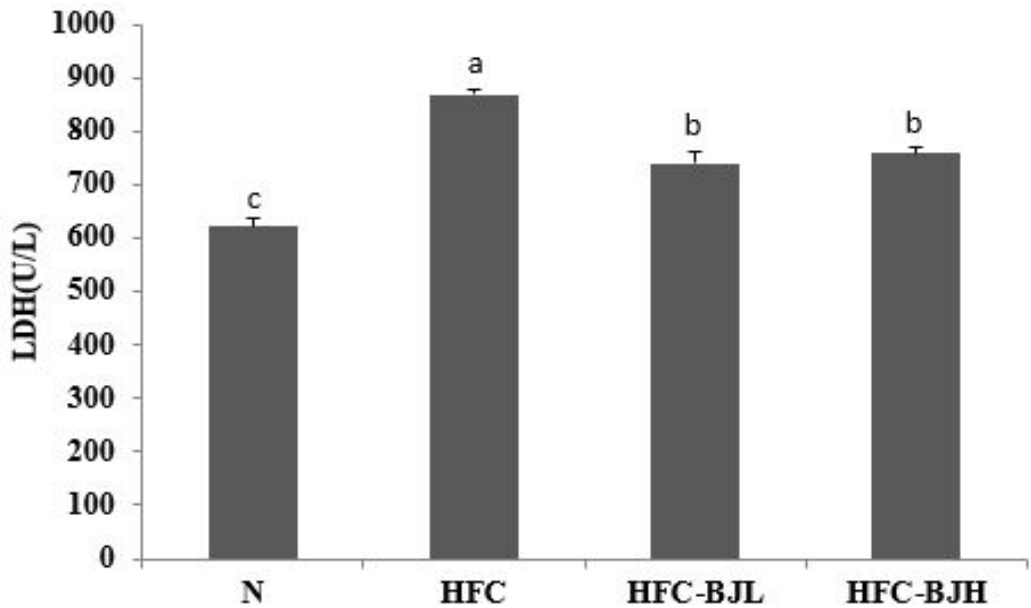


Fig. 7 Serum activity of LDH in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

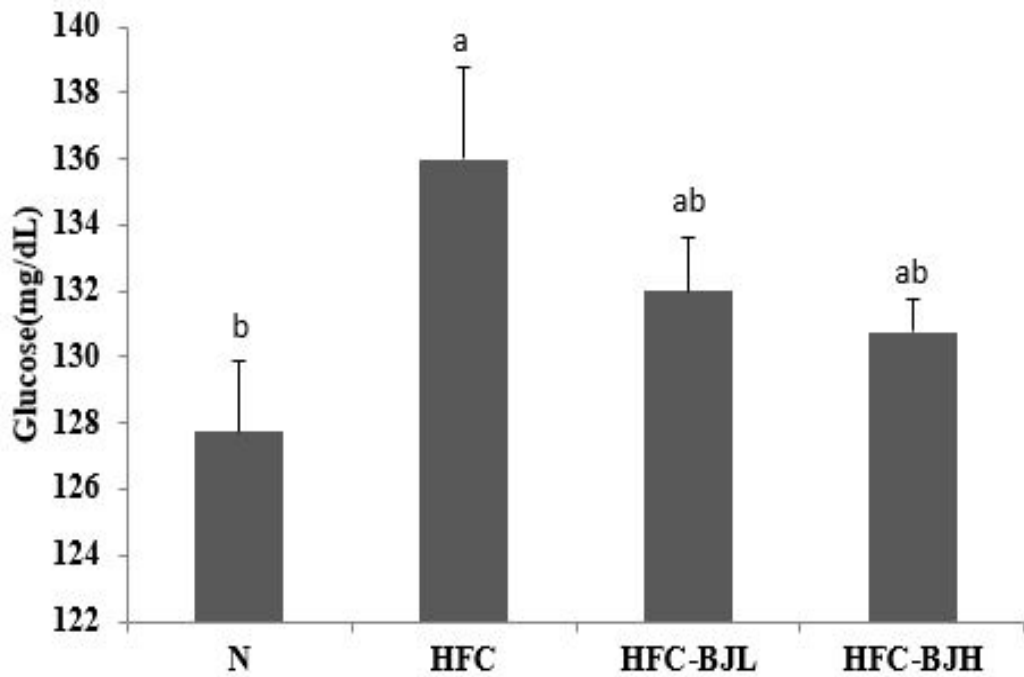


Fig. 8. Contents of glucose in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

4. 혈청 지질 함량 측정

고지방-고콜레스테롤 식이와 적겨자잎 분말의 농도를 달리하여 6주간 급여한 흰쥐의 혈청 중 중성지방, 총콜레스테롤의 함량은 Fig. 9과 같다.

혈청 중 중성지방 과 총콜레스테롤 함량을 비교해 보면 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 유의적인 증가를 보였다. 이는 고지방-고콜레스테롤 식이의 급여로 인해서 피하지방의 지방산과 간세포 내의 지방산합성, chylomicron remnant중의 중성지방에서 가수분해 된 지방산 등의 요인으로 인해 혈청 중성지방이 증가하였다는 보고가 있다(102). Kim 등(103)의 연구에서 정상식이군에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군에서 혈청 중 중성지방과 총콜레스테롤의 함량이 유의적으로 증가하는 경향을 보여 본 실험과 유사하였다.

고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)이 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. Jung 등(104)의 연구에서 8주간 고콜레스테롤 식이 흰쥐에게 천년초 추출물을 식이게 공급한 결과, 혈청 중 총 콜레스테롤 함량, 중성지방 함량이 농도 의존적으로 낮아졌다.

혈청 중 중성지방의 저하는 관상심혈관계 질환의 발생률을 감소시키고, 혈청 중의 콜레스테롤은 심장순환기계 질환의 주요한 위험인자로 알려져 있다(105,106). 따라서 본 실험 결과 적겨자잎 분말 첨가로 인해 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 혈청 중성지방 및 총콜레스테롤의 함량이 저하되는 결과가 나타나 적겨자잎 분말이 혈청 지질대사의 개선과 고지혈증 예방에 도움이 될 것으로 사료된다.

고지방-고콜레스테롤 식이와 적겨자잎 분말의 농도를 달리하여 6주간 급여한 흰쥐의 HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤의 함량, 동맥경화지수(atherogenic index, AI) 및 심혈관위험지수(cardiac risk factor, CRF)는 Fig. 10~13와 같다.

HDL-콜레스테롤은 콜레스테롤을 말초조직에서 간으로 운반해 혈중 콜레스테롤 농도를 낮춘다. 따라서 혈중의 HDL-콜레스테롤의 농도가 증가 시 동맥경화를 예방할 수 있고, HDL-콜레스테롤의 농도가 감소 시 관상동맥질환의 발병률이 높아진다(107). 반면, LDL-콜레스테롤은 중성지방을 동맥벽으로 운반시키고, 동맥혈관 내막지단백질에 콜레스테롤을 작용시켜 LDL-콜레스테롤의 농도가 증가하면 동맥경화, 관상동맥 심질환의 발병률이 높아지게 된다(108).

혈청 중 HDL-콜레스테롤의 함량은 Fig. 10와 같이 정상식이군(N)에 비해 고지

방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 유의적인 감소를 보였다. 이는 고콜레스테롤 식이 급여시 장내에서 콜레스테롤 이용이 저하되고, 배설과 이화작용을 위해 말초조직에서 간으로 운반이 촉진되므로 혈중 총 콜레스테롤의 함량은 증가하고, HDL-콜레스테롤은 감소하는 것으로 알려져 있다(102). Kim 등(103)의 연구에서도 혈청 중 HDL-콜레스테롤이 정상식이군에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군에서 유의적으로 감소하는 경향을 보여 본 실험과 비슷하였다. 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)이 증가하였지만 유의적인 차이는 없었다.

혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량은 Fig. 11과 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 유의적인 증가를 보였고, 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 유의적인 감소를 보였다. Shin(89)의 연구에서 HDL-콜레스테롤 함량은 정상식이군에 비해 고지방식이군에서 유의적인 증가를 보였다.

동맥경화지수(Atherogenic Index, AI)는 혈중 HDL-콜레스테롤에 대한 중성지방 함량비의 값으로 동맥경화를 인지 할 수 있는 대표적인 신호로 사용하는데, 일반적으로 임상에서 7.0이상 일 경우 위험수치로 인지한다(109). 동맥경화지수는 Fig. 12과 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 유의적으로 증가하였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말을 첨가한 식이군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 유의적인 감소를 보였다. Park 등(110)이 고콜레스테롤 식이와 파프리카 분말을 급여한 연구결과를 보면 동맥경화지수(AI)가 정상식이군에 비해 고콜레스테롤 식이군에서 유의적인 증가를 하였고, 파프리카 분말 첨가군에서 유의적인 감소를 보였다.

심혈관위험지수(Cardiac Risk Factor, CRF)는 혈중 HDL-콜레스테롤에 대한 총 콜레스테롤 함량비의 값으로 동맥경화지수와 같이 심혈관계질환에 대한 위험수치로 이용하며, 일반적으로 임상에서 7.0이상 일 경우 위험수치로 인지한다(111). 심혈관위험지수는 Fig 13와 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 보였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 유의적인 감소를 보였다.

본 실험결과 고지방-고콜레스테롤 식이로 인해 증가된 혈중 LDL-콜레스테롤이 적겨자잎 분말 급여로 인해 감소되고, 감소된 혈중 HDL-콜레스테롤이 증가된다. 그로 인해 동맥경화지수, 심혈관위험지수를 낮춘 것으로 보인다. 따라서 적겨자잎

이 혈중의 지질대사를 개선하고, 더불어 동맥경화, 고지혈증 같은 심혈관계질환의 발병률을 감소시키는 효과가 있을 것으로 사료된다.

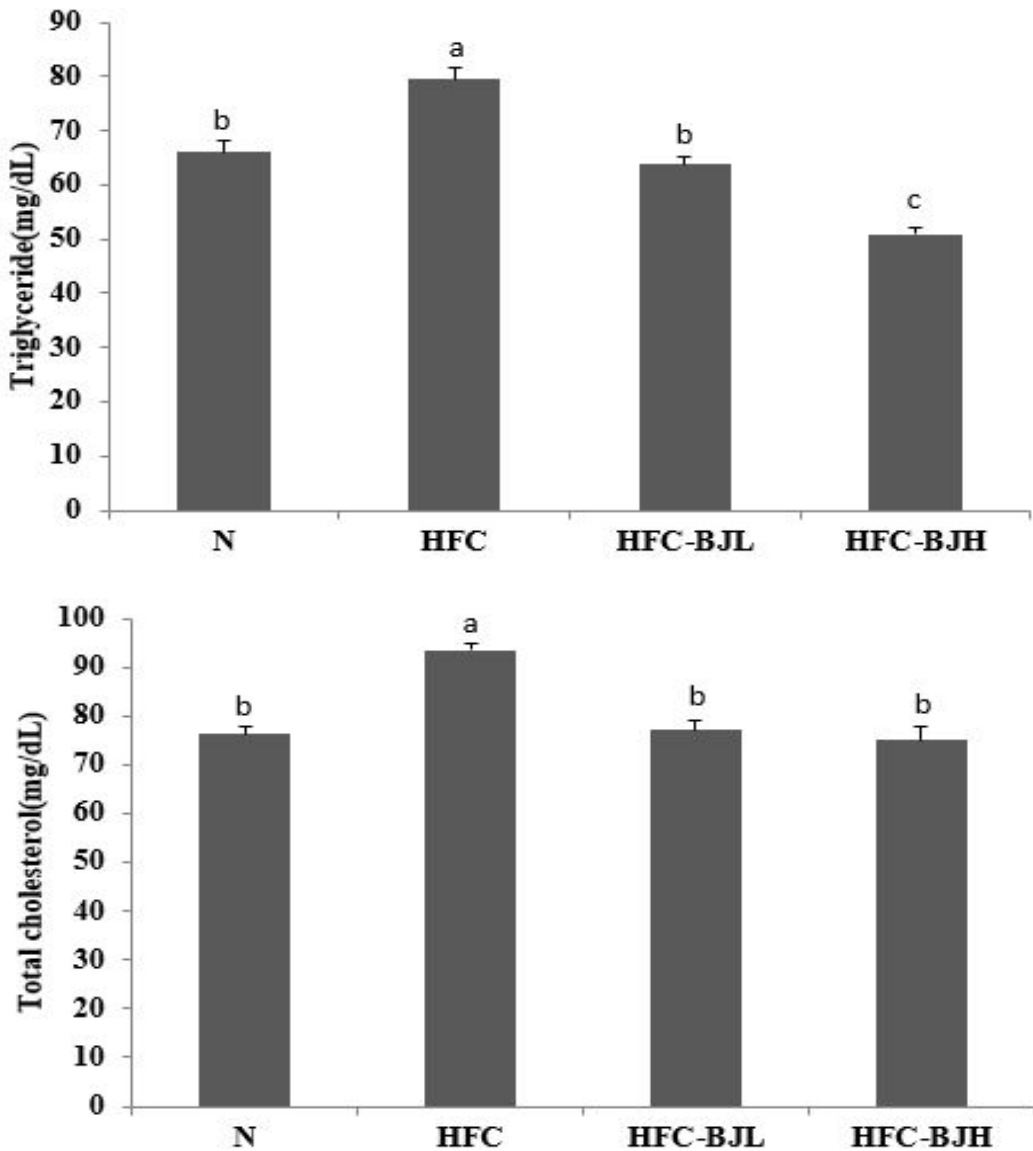


Fig. 9. Contents of triglyceride and total cholesterol in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

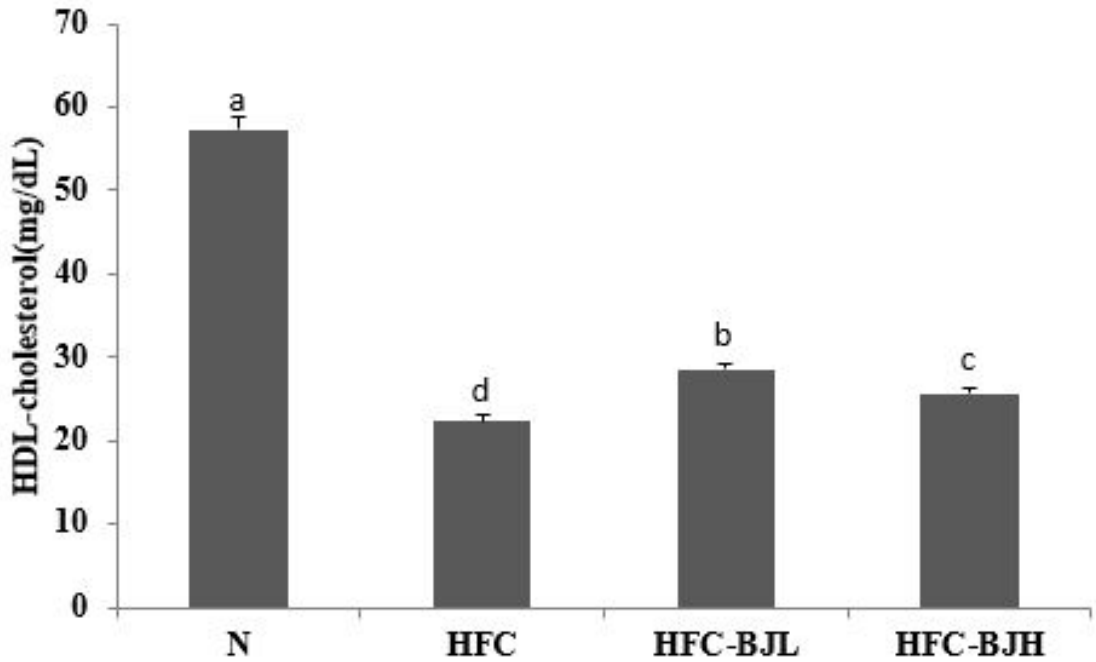


Fig. 10. Contents of HDL-cholesterol in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

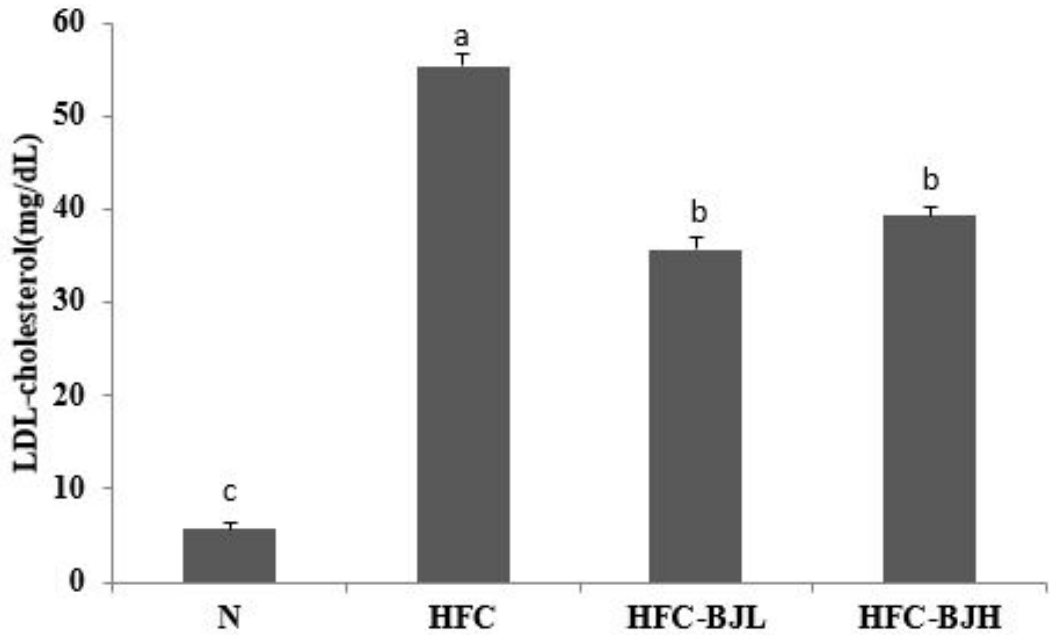


Fig. 11. Contents of LDL-cholesterol in the rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

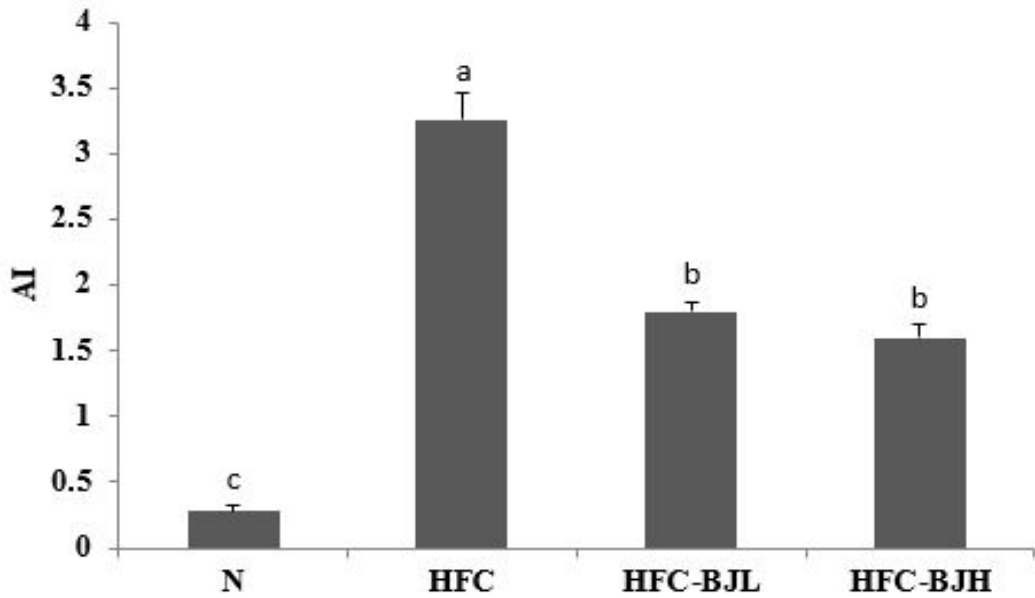


Fig. 12. Atherogenic index of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

AI: atherogenic index.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

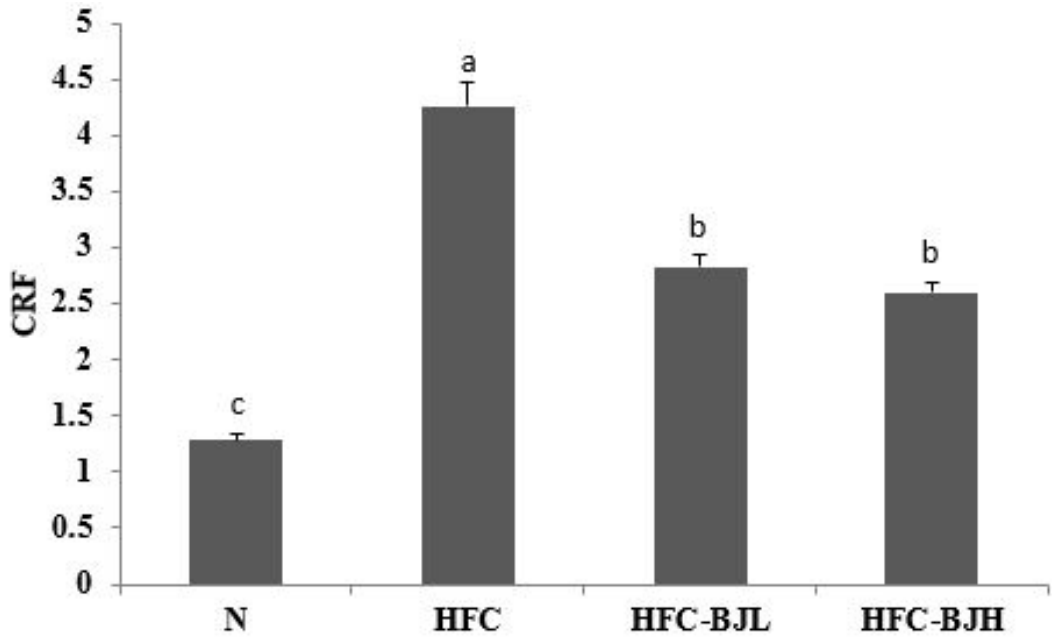


Fig. 13. Cardiac risk factor of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

CRF: cardiac risk factor.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

5. 간 조직 및 지방조직의 지질 함량 측정

고지방-고콜레스테롤 식이와 적겨자잎 분말의 농도를 달리하여 6주간 급여한 흰 쥐의 간 조직 중 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량 변화는 Fig. 14~16와 같다.

간 조직 중 총 지질 함량은 Fig 14과 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적으로 증가하지만, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)과 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)간의 유의적인 차이는 없었다. 간 조직 중 중성지방의 함량은 Fig. 15와 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 보였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 유의적인 감소를 보였다. 간 조직 중 총콜레스테롤 함량은 Fig. 16와 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 보였으나, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)과 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서는 유의적인 차이가 없었다.

간은 지방대사가 일어나는 장소로 중성지방은 간에서 합성되어서 VLDL 속으로 들어가게 되는데, 고지방-고콜레스테롤 식이로 인해서 간에 중성지방이 축적되고 VLDL을 혈장으로 방출을 막아 중성지방의 함량이 증가한다(112). 또한 간은 콜레스테롤을 합성하는 기관으로 유리형 콜레스테롤 또는 에스터형 콜레스테롤로 지단백을 구성하여 순환계로 분비하며 혈중 콜레스테롤 농도를 조절한다. 콜레스테롤은 간에서 담즙산의 형태로 소장으로 분비되고, 식이로 섭취된 콜레스테롤, 지질과 결합하여 재흡수되어 다시 간으로 회수되는 장간순환과정(entro-hepatic circulation system)을 통해 체내의 콜레스테롤을 조절한다. 고콜레스테롤 식이 급여시 체내의 콜레스테롤 축적은 간에서의 합성 기능보다 LDL-receptor의 생성 감소와 LDL-콜레스테롤의 제거기능이 낮아져 간 내에 LDL-콜레스테롤 유입이 증가하여 총 콜레스테롤의 함량이 증가한다(113-114). 고지방 식이군에 브로콜리 싹 추출물을 투여한 연구(115)에서 정상식이군에 비해 고지방식이군에서 중성지방과 총콜레스테롤 함량이 유의적으로 증가하였고, 고지방식이군에 비해 브로콜리 싹 추출물을 투여한 식이군에서 유의적인 감소를 보여 본 실험과 중성지방의 결과는 유사하나 총콜레스테롤 함량에서의 차이를 보였다.

본 실험 결과 간 조직 중의 중성지방 함량이 고지방-고콜레스테롤 식이로 인해 증가되었지만 적겨자잎 분말의 첨가로 인해 유의적으로 감소하였고, 총콜레스테롤 함량은 유의적인 차이가 없었다. 따라서 적겨자잎 분말의 급여는 체내 지질대사와 지방간의 개선에 긍정적인 효과가 있을 것으로 사료된다.

고지방-고콜레스테롤 식이와 적겨자잎 분말의 농도를 달리하여 6주간 급여한 흰쥐의 장간막 지방조직 중 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량 변화는 Fig. 17~19과 같다.

장간막 지방조직 중 총 지질 함량은 Fig. 17과 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 보였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 감소하는 경향을 보였고, 특히 5% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJH)에서는 유의적인 차이를 보였다.

장간막 지방조직 중 중성지방 함량은 Fig. 18과 같이 정상식이군(N)에 비하여 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 유의적인 증가를 보였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말을 첨가한 식이군(HFC-BJL, HFC-BJH)이 유의적인 감소를 하였다.

장간막 지방조직 중 총 콜레스테롤 함량은 Fig. 19과 같이 정상식이군(N)에 비하여 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 유의적인 증가를 보였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말을 첨가한 식이군(HFC-BJL, HFC-BJH)이 농도의존적으로 유의적인 감소를 보였다. 특히 5%의 적겨자잎 분말을 첨가한 식이군(HFC-BJH)에서는 정상식이군(N)과 유사한 함량을 보였다. 적겨자잎과 같은 십자화과인 브로콜리 싹 에탄올 추출물을 4주간 흰쥐에게 고지방식이와 같이 급여한 결과 장간막 지방조직의 중성지방과 총 콜레스테롤의 함량이 고지방식이군에 비해 브로콜리 싹 에탄올 추출물을 투여한 실험군에서 유의적인 감소를 보였다 (116).

본 실험결과 지방조직 중의 중성지방, 총콜레스테롤이 고지방-고콜레스테롤 식이로 인하여 증가되었지만 적겨자잎 분말의 급여로 인하여 감소되었다. 따라서 적겨자잎 분말이 지방 축적을 억제하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

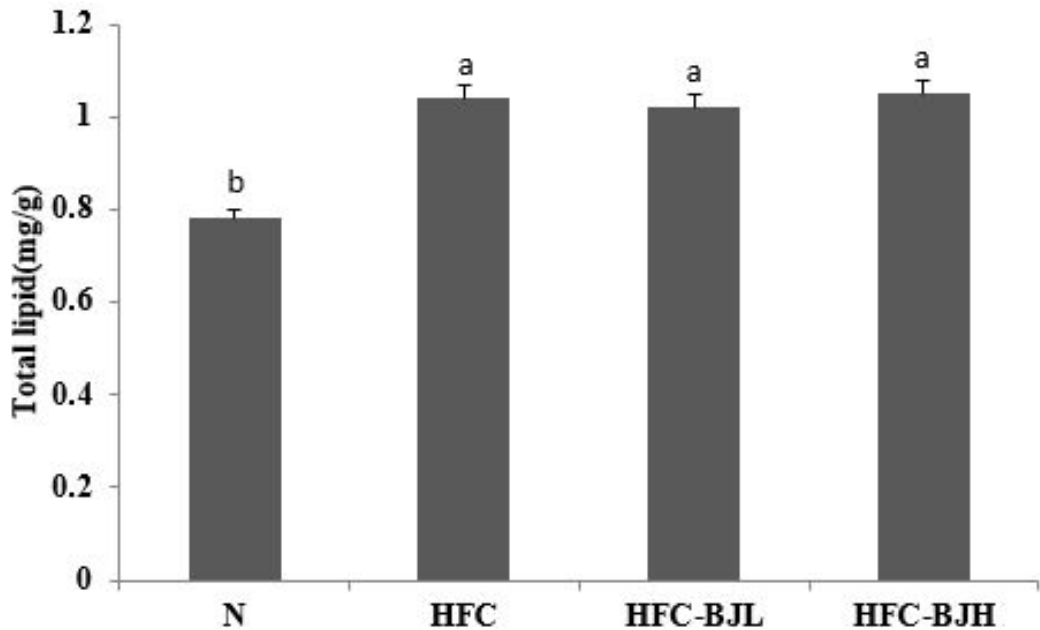


Fig. 14. Contents of total lipid in the liver of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

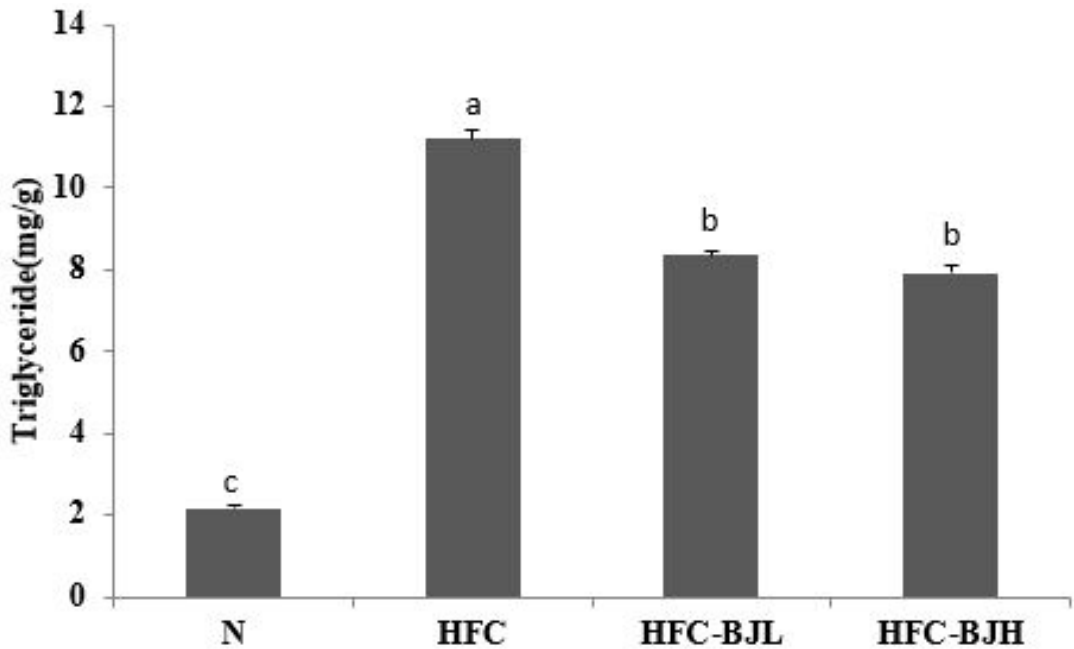


Fig. 15. Contents of triglyceride in the liver of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

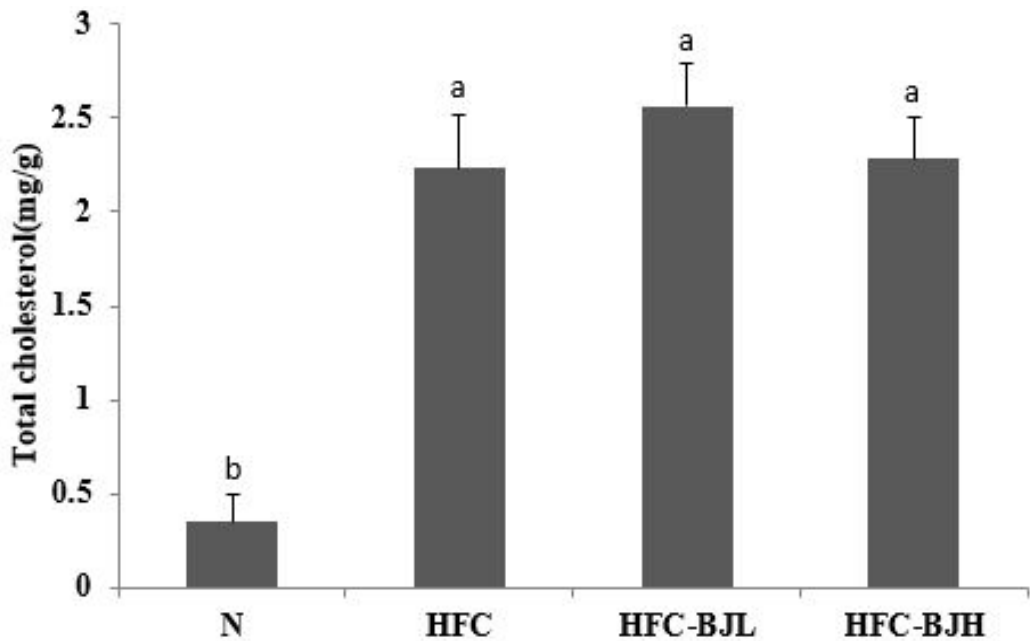


Fig. 16. Contents of total cholesterol in the liver of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

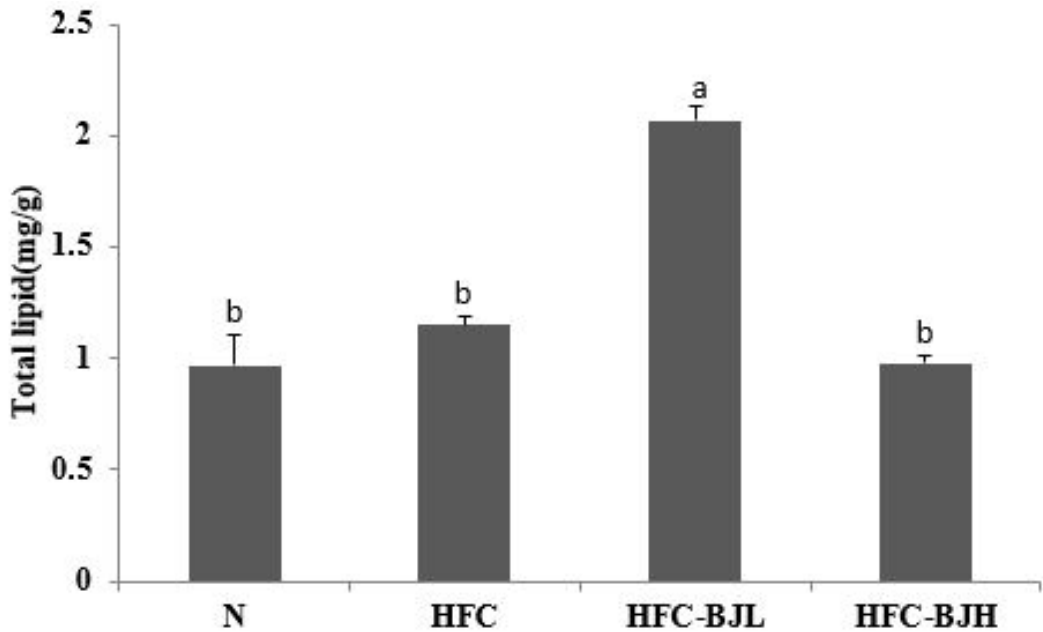


Fig. 17. Contents of total lipid in the mesenteric adipose of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

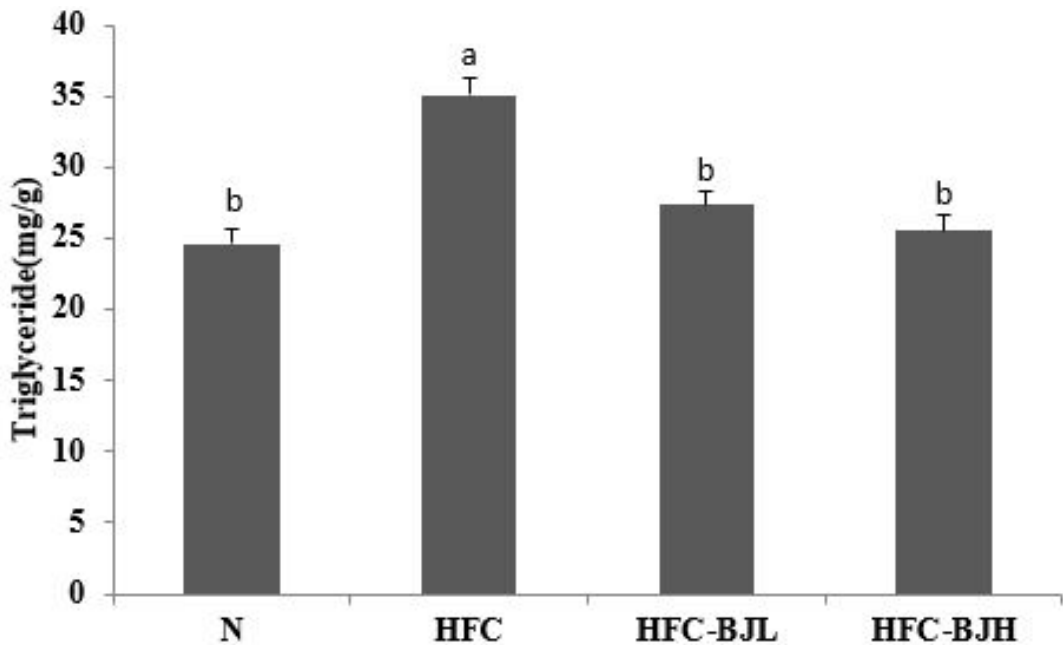


Fig. 18. Contents of triglyceride in the mesenteric adipose of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

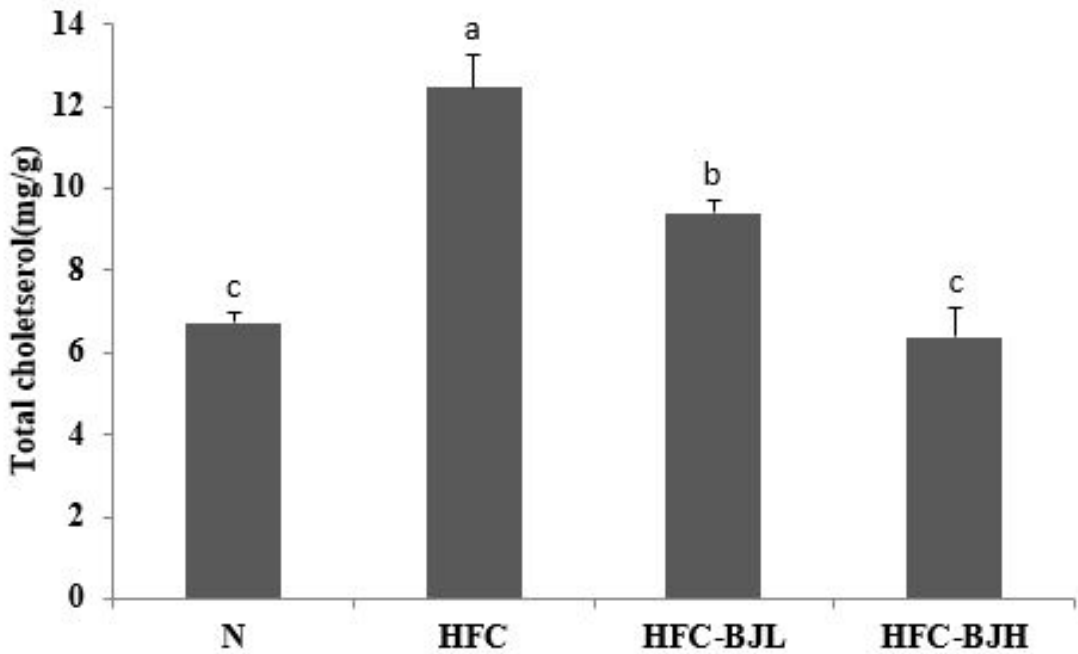


Fig. 19. Contents of total cholesterol in the mesenteric adipose of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

6. 분변의 지질 함량 측정

고지방-고콜레스테롤 식이와 적겨자잎 분말의 농도를 달리하여 6주간 급여한 흰 쥐의 분변 중 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량 변화는 Fig. 20~23과 같다.

분변 중 총 지질 함량은 Fig. 20와 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 보였으며, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 증가하는 경향을 보였으며, 특히 5% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJH)에서 유의적인 증가를 보였다.

분변 중 중성지방 함량은 Fig. 21과 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 보였으며, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)과 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)은 유의적인 차이가 없었다.

분변 중 총 콜레스테롤 함량은 Fig. 22과 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 보였으며, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 증가하는 경향을 보였으며, 특히 5% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJH)에서 유의적인 증가를 보였다. 미나리와 부추 분말을 고지방-고콜레스테롤 식이와 함께 4주간 급여한 흰 쥐(117)에서 분변의 중성지방과 총콜레스테롤 함량은 정상식이군에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군에서 유의적으로 증가하였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군에 비해 미나리와 부추 분말 첨가군들에서 증가를 보였다.

본 실험결과 적겨자잎 분말의 첨가로 인하여 분변 중 총 지질 함량과 총콜레스테롤 함량이 증가하는 결과를 나타냈다. 이는 십자화과 채소 내에 함유된 기능성 성분들과 담즙산의 결합으로 담즙산의 재흡수를 억제하여 지질 흡수를 감소시키고, 담즙산 이차 분해산물의 배설을 촉진하는 것(118)으로 알려져 있다. 또한 Yamaguchi 등(119)은 식이섬유소가 분변의 점성을 증가시키고, 지질 흡수를 저해하여 체외로 배출한다고 보고하였다. 따라서 적겨자잎 분말의 첨가로 인해 분변 중 증가하는 총 콜레스테롤의 함량은 십자화과 채소 내의 기능성 성분과, 식이섬유에 기인하는 것으로 사료된다.

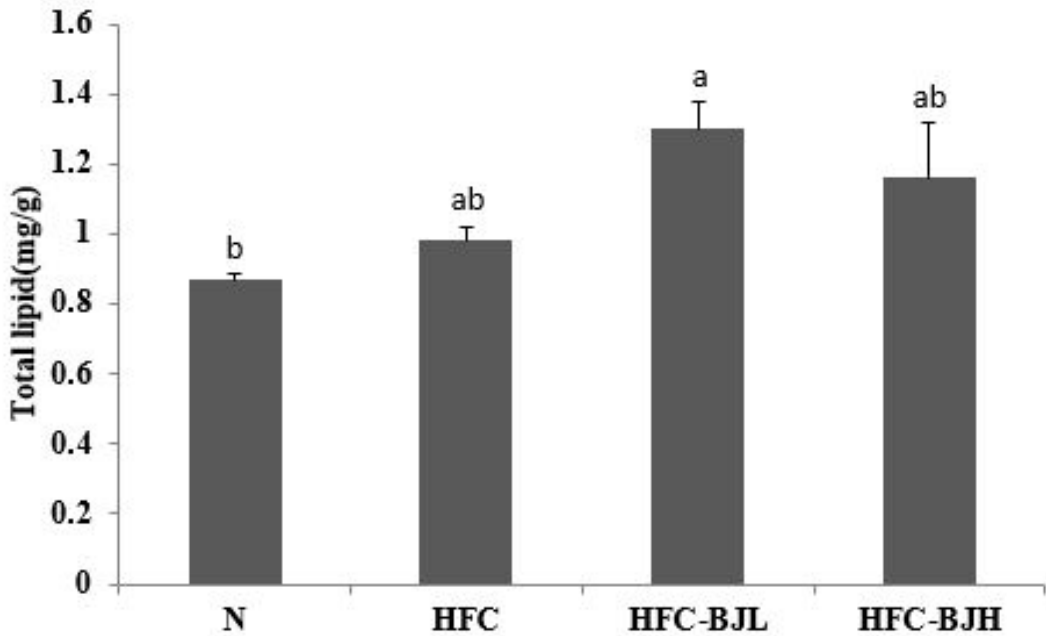


Fig. 20. Contents of total lipid in the fecal of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

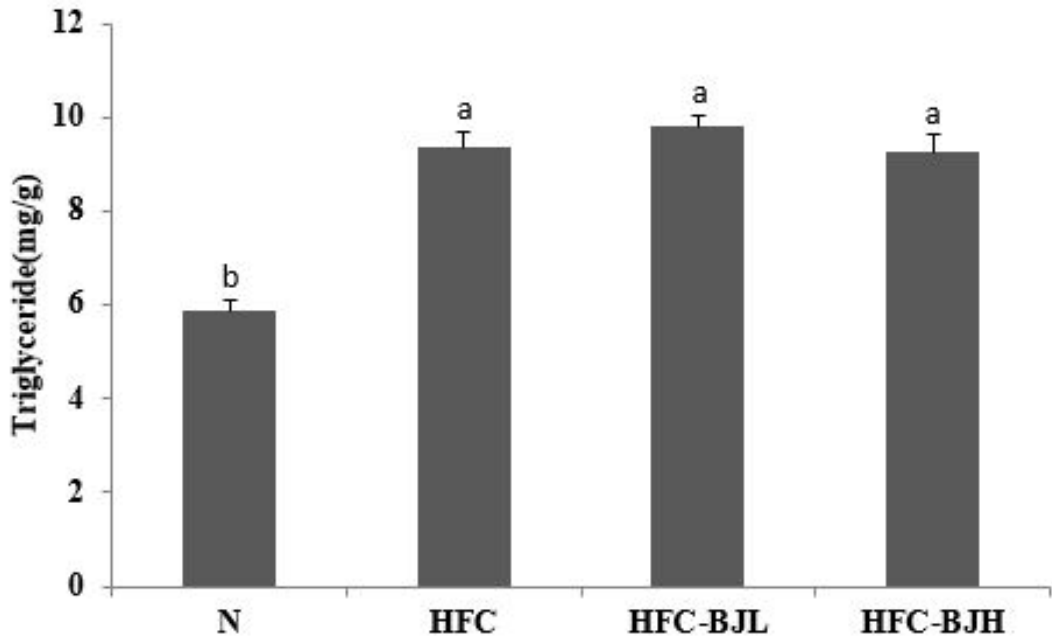


Fig. 21. Contents of triglyceride in the fecal of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

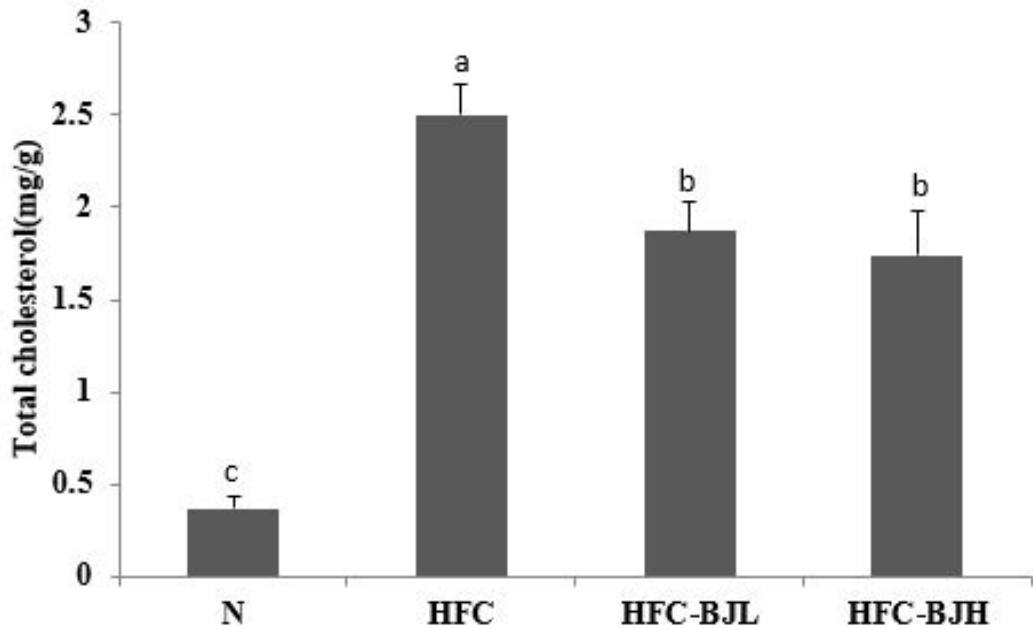


Fig. 22. Contents of total cholesterol in the fecal of rats fed high fat-high cholesterol diet containing *Brassica juncea L.* leaf powder for 6 weeks

Abbreviations: See the legend of Table 8.

Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

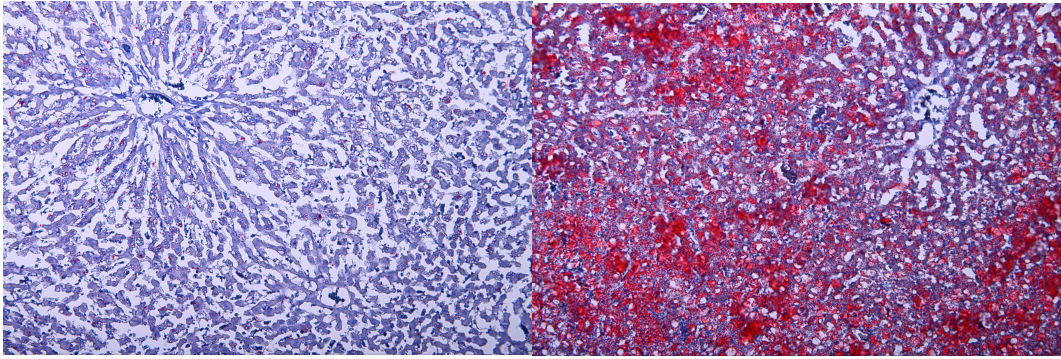
7. 간 조직의 병리조직학적 측정

고지방-고콜레스테롤 식이와 적겨자잎 분말의 첨가 농도를 달리하여 6주 동안 급여한 흰쥐에서 적출한 간 조직 내의 지방 축적 정도를 확인하기 위해 간 조직을 Oil-Red-O로 염색 후 관찰한 결과를 보면 Fig 23와 같다.

고지방-고콜레스테롤 식이를 6주간 급여한 흰쥐의 간 조직 염색 후 표면과 단면을 보면, 정상식이군(N)에 비하여 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 간 조직에 지방침착이 확연히 관찰되어 지방구를 형성하였다. 이는 고지방-고콜레스테롤 식이로 인한 직접적인 지방과 콜레스테롤의 섭취 때문에 체내 지질대사에 이상을 일으켜 지방세포에서 유리된 지방산이 과도하게 간에 유입되어 지방 축적이 다량 일어나게 되었다(120).

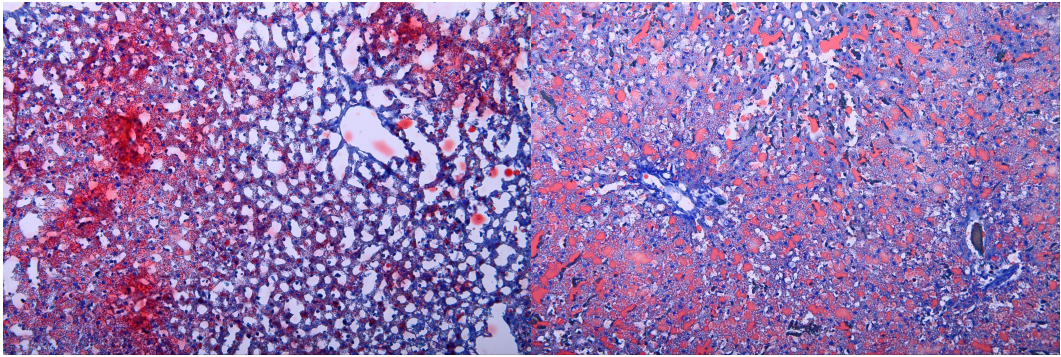
고지방-고콜레스테롤 식이를 6주간 급여한 흰쥐의 간 조직을 염색한 결과를 보면 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 간 조직에서 지방방울을 형성하여 붉은색으로 염색되는 정도가 많아지는 것을 볼 수 있었고, 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서도 동일하게 붉은색으로 염색이 되었으나, 고지방-고콜레스테롤 첨가군(HFC)에 비해 상대적으로 지방구의 숫자와 크기가 농도의존적으로 감소하는 것을 볼 수 있었다.

따라서, 본 실험에서 적겨자잎 분말의 첨가로 간 조직 내의 지방의 축적이 감소되는 효과가 있는 것으로 사료된다.



N

HFC



HFC-BJL

HFC-BJH

Fig. 23. Histological analysis on liver tissue

N: Normal diet, HFC : High fat-High cholesterol diet, HFC-BJL : High fat-High cholesterol diet + 3% *Brassica juncea L.* leaf powder, HFC-BJH : High fat-High cholesterol diet + 5% *Brassica juncea L.* leaf powder.

8. 지질대사와 관련한 mRNA 발현

지방산의 생합성은 간에서 주로 일어나고, 간은 지질의 저장, 방출, 흡수 등이 일어나는 기관으로 지방산의 산화와 혈중 지질함량을 조절한다. 지방산 생합성에 관여하는 대표적인 효소로는 G6PDH, ACC, FAS 등이 있다. 따라서 고지방-고콜레스테롤 과 적겨자잎 분말을 첨가한 식이를 6주간 흰쥐에게 급여하였을 시, 간 조직 중의 지질대사에 관여하는 효소들의 발현 정도를 측정 한 결과는 Fig. 24~26과 같다.

G6PDH는 지방산 합성에 필요한 NADPH의 생산에 필요한 효소로 hexosemonophosphate(HMP) shunt의 첫 번째 반응 시 NAPD+를 NADPH로 바꾸는 역할을 한다. 그러므로 G6PDH의 작용이 억제되면 NADPH의 생성 또한 억제되므로 지방산 합성 대사가 억제된다(121,122). 본 실험의 G6PDH의 발현 수준은 Fig. 24와 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 보였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 유의적인 감소를 보였다.

ACC는 acetyl-CoA를 malonyl CoA로 전환시켜서 지방산 합성에 영향을 준다. Malonyl CoA는 장쇄(long chain) acyl-CoA를 미토콘드리아내부로의 이송을 조절하는 CPT- I (carnitine palmitoyltransferase- I)을 억제하고, CPT- I 은 지방산의 산화를 촉진한다. 그러므로 ACC가 억제되면 malonyl CoA가 억제되고, 이는 CPT- I 의 억제를 불러와 지방산 β -산화가 증가한다(123). 본 실험의 ACC 발현 수준은 Fig. 25와 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 보였고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 유의적인 감소를 보였다. Mao 등(124)의 연구에서 ACC의 발현을 억제시킨 마우스의 간조직에서 malonyl-CoA의 수치가 낮아지는 것을 관찰 할 수 있고, 간세포의 콜레스테롤 합성저하와 중성지질 함량이 저하되었다고 보고하였다.

FAS(fatty acid synthase)는 지방산 합성에 필요한 효소로, 간에서 만들어진 중성지방을 VLDL의 형태로 혈관을 통하여 지방조직에 중성지방을 전달하게 된다 (125). 본 실험의 FAS 발현 수준은 Fig. 26과 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 나타냈고, 적겨자잎 분말 첨가군

들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 감소하는 경향을 보였고, 특히 5% 적겨자잎 첨가군 (HFC-BJH)에서 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 유의적인 감소를 나타냈다.

따라서, 본 실험에서 적겨자잎 분말의 첨가로 인하여 G6PDH, ACC, FAS의 발현이 감소되는 경향이 나타나 지방산 합성의 억제가 일어나는 것으로 사료 된다.

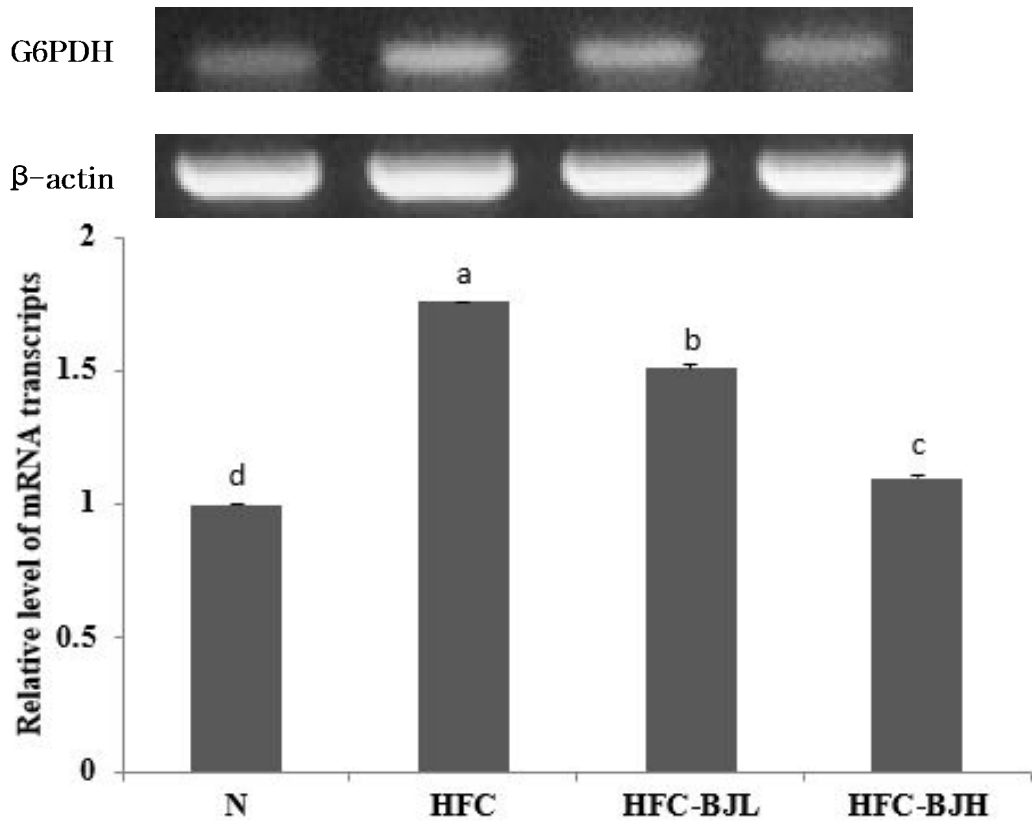


Fig. 24. The changes of G6PDH expressions in liver tissue

G6PDH levels were determined by RT-PCR. N: Normal diet, HFC : High fat-High cholesterol diet, HFC-BJL : High fat-High cholesterol diet + 3% *Brassica juncea L.* leaf powder, HFC-BJH : High fat-High cholesterol diet + 5% *Brassica juncea L.* leaf powder. Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

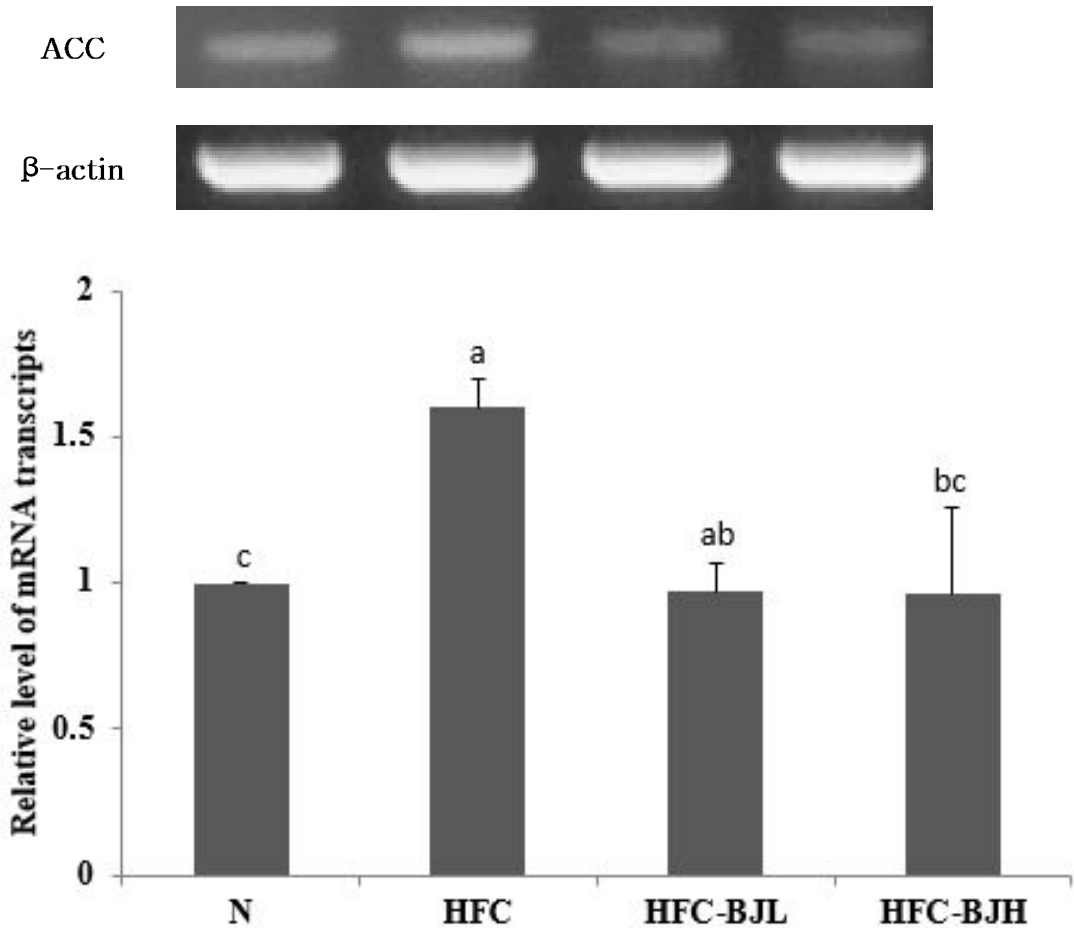


Fig. 25. The changes of ACC expressions in liver tissue

ACC levels were determined by RT-PCR. N: Normal diet, HFC : High fat-High cholesterol diet, HFC-BJL : High fat-High cholesterol diet + 3% *Brassica juncea L.* leaf powder, HFC-BJH : High fat-High cholesterol diet + 5% *Brassica juncea L.* leaf powder. 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.

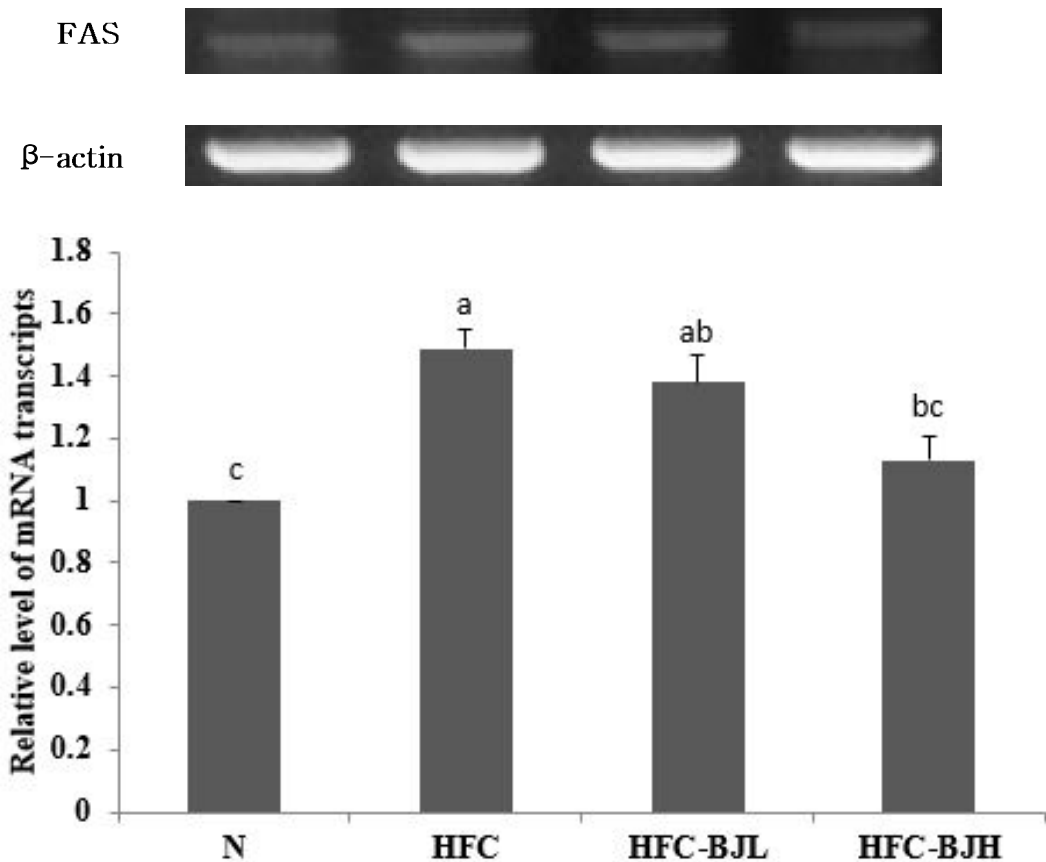


Fig. 26. The changes of FAS expressions in liver tissue

FAS levels were determined by RT-PCR. N: Normal diet, HFC : High fat-High cholesterol diet, HFC-BJL : High fat-High cholesterol diet + 3% *Brassica juncea L.* leaf powder, HFC-BJH : High fat-High cholesterol diet + 5% *Brassica juncea L.* leaf powder. 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.

12. 콜레스테롤 대사와 관련한 mRNA 발현

고지방-고콜레스테롤 식이를 6주간 급여한 흰쥐의 간 조직 중 콜레스테롤 대사에 관여 하는 인자들인 CYP7A1, LDL-receptor 발현 수준을 살펴본 결과는 Fig. 27~28와 같다.

CYP7A1(cholesterol 7 α -hydroxylase)은 콜레스테롤을 담즙산의 형태로 전환시켜서 간에서 십이지장으로 배출한 후 일부는 흡수되고 일부는 배설되지만 대다수는 회장 하부에서 재흡수 되어 간으로 돌아가는 장간순환(enterohepatic circulation)에 속도제한효소로 작용한다. 따라서 CYP7A1의 활성증가는 간에서 콜레스테롤을 담즙산으로 전환시켜 배설되는 과정을 증가시킨다(126). 본 실험에서 CYP7A1의 발현은 Fig. 27과 같이 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 유의적인 증가를 나타냈고, 3% 적겨자잎 분말첨가군(HFC-BJL)에서 감소하였으나, 5% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJH)에서 유의적인 증가를 나타냈다. 고콜레스테롤 식이에 녹차 분말을 첨가한 연구에서 녹차 분말 급여에 의해 CYP7A1이 증가하였다고 보고하였다(127). 이는 본 실험의 결과와 유사하며 적겨자잎 분말의 첨가로 인하여 CYP7A1의 활성이 높아져 콜레스테롤의 배설을 촉진 한 것으로 사료 된다.

LDL(low density lipoprotein)은 혈관에 쌓이는 지단백질로, 혈중 콜레스테롤의 3/4 정도를 형성하며(128), 간에서 세포와 조직으로 콜레스테롤을 운반한다. 간에서 LDL-receptor는 혈중 IDL-cholesterol과 LDL-cholesterol을 간으로 흡수시켜 담즙의 형태로 재흡수 하는 역할을 하고, 혈중 콜레스테롤 제거하는 역할과 세포 내 콜레스테롤 양에 의하여 발현이 조절되어 균형을 유지한다(129). 본 실험에서 LDL-receptor의 발현은 Fig. 28와 같이 정상식이군(N)에 비하여 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 감소되었고, 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비하여 적겨자잎 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 첨가수준에 따라 유의적인 증가를 나타냈다. 이는 적겨자잎 분말 첨가에 따라 LDL-receptor의 발현이 증가하여, 혈중 콜레스테롤 농도를 낮추는데 영향을 끼친 것으로 추측된다.

따라서 본 실험에서 CYP7A1, LDL-receptor의 발현 증가로 인하여 혈중 콜레스테롤에 긍정적이 효과가 있을 것으로 사료된다.

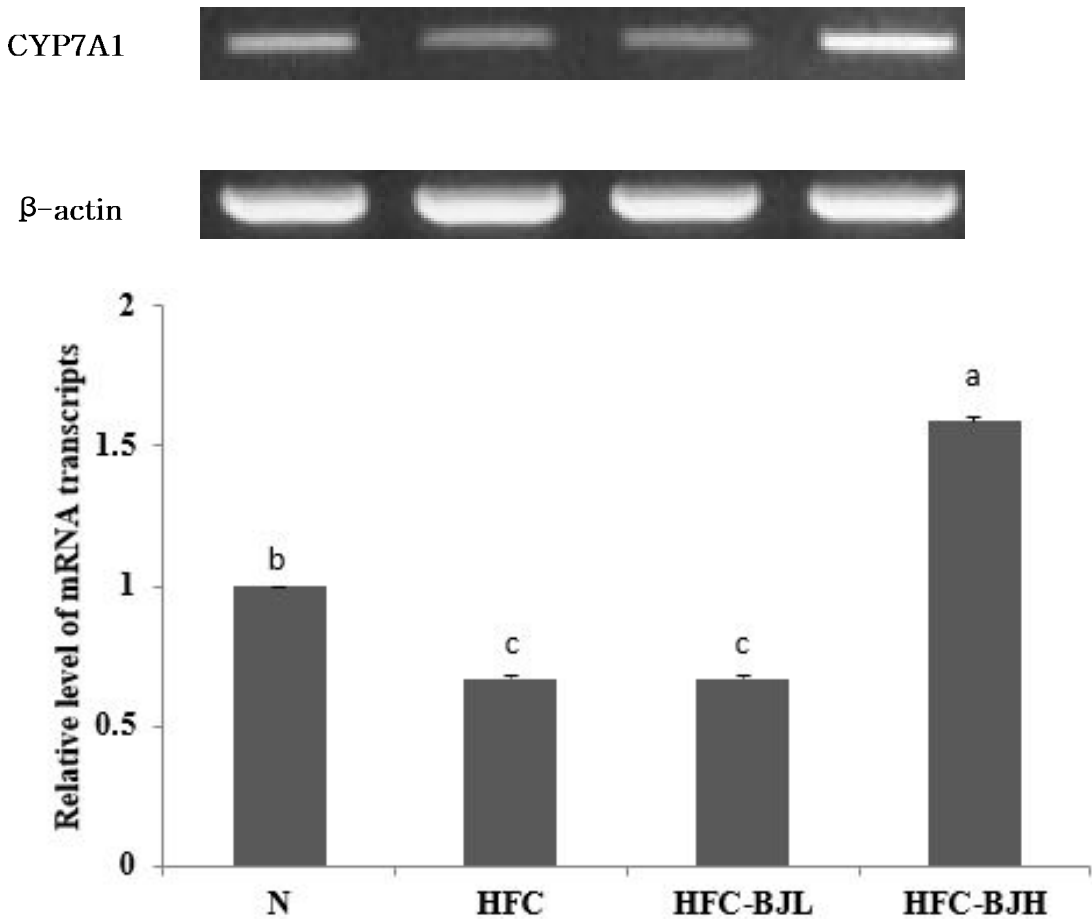


Fig. 27. The changes of CYP7A1 expressions in liver tissue

CYP7A1 levels were determined by RT-PCR. N: Normal diet, HFC : High fat-High cholesterol diet, HFC-BJL : High fat-High cholesterol diet + 3% *Brassica juncea L.* leaf powder, HFC-BJH : High fat-High cholesterol diet + 5% *Brassica juncea L.* leaf powder. Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

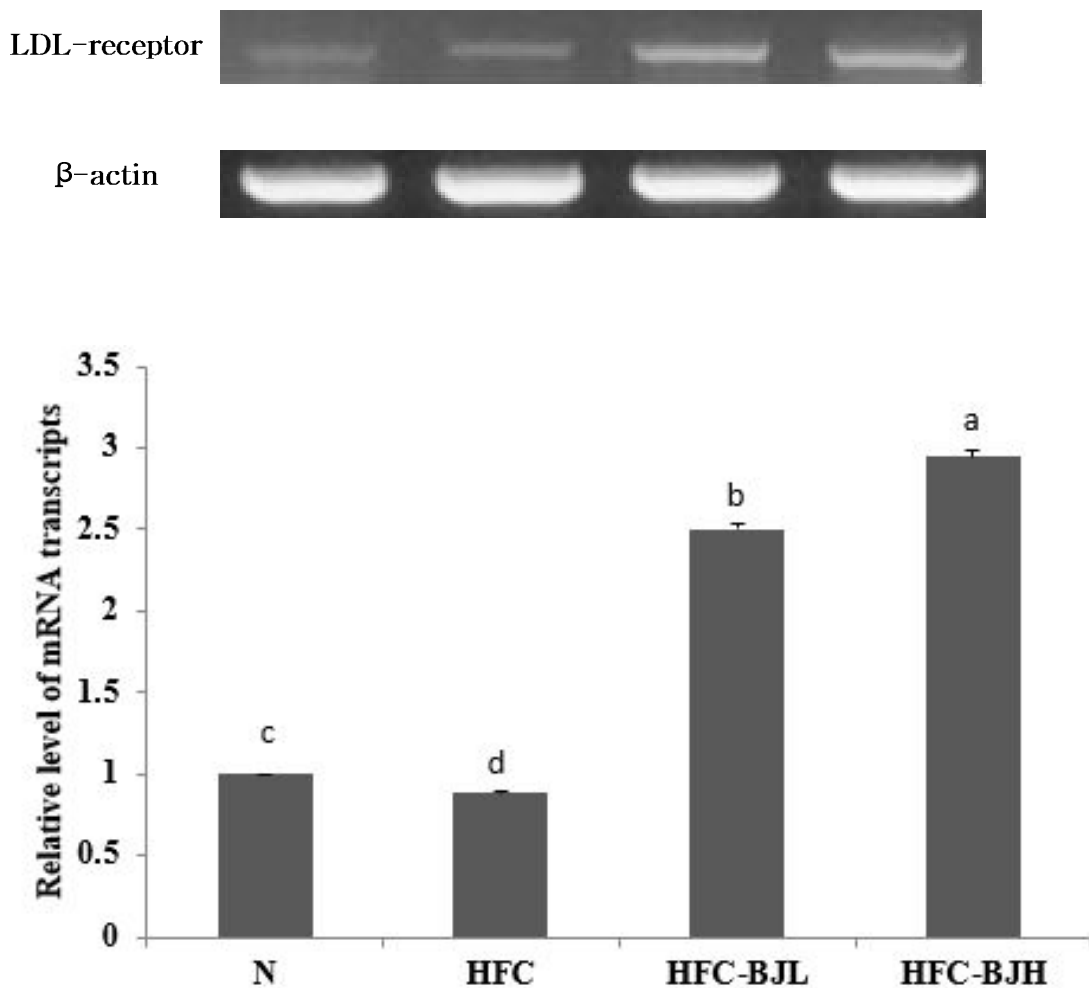


Fig. 28. The changes of LDL-receptor expressions in liver tissue

LDL-receptor levels were determined by RT-PCR. N: Normal diet, HFC : High fat-High cholesterol diet, HFC-BJL : High fat-High cholesterol diet + 3% *Brassica juncea L.* leaf powder, HFC-BJH : High fat-High cholesterol diet + 5% *Brassica juncea L.* leaf powder. Values are mean \pm S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

제4장 요약

본 연구는 적겨자잎이 갖는 체내에서의 지질대사 개선과 항산화 효과를 알아보기 위하여 일반성분 분석, 항산화 물질의 함량과 활성, *In vivo*에서 6주령 된 흰쥐 수컷 32마리를 일주일간 적용시키고 정상식이군(N), 고지방-고콜레스테롤 식이군(대조군, HFC), 고지방-고콜레스테롤 식이와 3% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJL), 고지방-고콜레스테롤 식이와 5% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJH)으로 나누어 6주간 급여 후, 혈청, 간, 지방조직, 분변의 지질대사 개선 및 간 조직에서의 G6PDH, ACC, FAS, CYP7A1, LDL-receptor의 발현에 따른 지방산 합성의 억제 및 콜레스테롤 저감효과를 알아본 결과는 다음과 같다.

1. 적겨자잎 분말의 이화학적 성분 분석 결과는 건량 기준(dry basis)으로 수분 4.79%, 조회분 20.85%, 조지방 3.26%, 조단백질b 44.09%, 탄수화물 27.01%였다. 적겨자잎의 주요 지방산은 palmitic acid, γ -linolenic acid이고, 유기산은 citric acid, malic acid 순으로 나타났다. 유리당은 glucose, fructose, sucrose, galatose, xylose, lactose, mannose 순으로 검출 되었고, 주요 구성 아미노산은 glutamic acid, aspartic acid, leucine, proline등이 있으며, 전체 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 66.472%로 나타났다. 비타민은 비타민 E, 무기질은 K이 가장 많이 검출되었다.
2. 적겨자잎 분말의 에탄올 추출물의 항산화물질 함량 및 활성은 적겨자잎의 총 polyphenol 함량은 1.0 mg/mL에서 29.47 mg/g 이었고, 총 flavonoid 함량은

25.41 mg/g 으로 나타났다. ABTS radical 소거능은 IC₅₀이 1.84 mg/g 이었다.

3. *In vivo*에서 적겨자잎 분말 급여로 인한 고지방-고콜레스테롤 식이로 유발된 흰 쥐의 항비만 및 콜레스테롤 저하 효과는 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 체중과 식이효율은 증가하였으나, 적겨자잎 분말 급여로 인하여 체중증가량은 5% 적겨자잎 분말 첨가군(HFC-BJH)에서 유의적인 감소를 보였고, 식이효율은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 유의적인 감소를 보였다. 체중 100g당 간, 부고환지방, 장간막지방, 등지방, 신장주위지방 및 총 지방조직의 무게는 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 가장 높았고, 간, 등지방은 유의적인 차이는 없었으나 감소되는 경향을 나타냈고, 부고환지방, 장간막지방, 등지방은 5% 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJH)에서 유의적인 감소를 나타냈다. 총 지방조직 무게는 적겨자잎 분말의 첨가에 따라 유의적인 감소를 보였다. 혈청 중 ALT, AST, LDH의 활성은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 유의적인 감소를 나타내었으며, 혈청 중 ALP 활성은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 혈청 중 중성지방은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 가장 높은 농도를 나타냈고, 적겨자잎 분말 첨가 수준에 따라 유의적인 감소를 보였다. 혈청 중 총 콜레스테롤은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 가장 높은 농도를 나타냈고, 적겨자잎 분말 첨가로 감소하였으나 첨가 수준에 따른 유의적인 변화는 없었다. 혈청 중 HDL-콜레스테롤은 고지방-고콜레스테롤 식이로 인하여 감소하였으나 적겨자잎 첨가로 인하여 증가하였고, 고지방-고콜레스테롤 식이로 인하여 증가한 LDL-콜레스테롤과 동맥경화지수 및 심혈관위험지수는 적겨자잎 첨가로 인하여 감소되었다. 간 조직 중의 중성지방은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비해 적겨자잎 분말 첨가군들(HFC-BJL, HFC-BJH)에서 유의적인 감소를 보였고, 총콜레스테롤은 유의적인 차이가 없었다. 장간막 지방조직 중의 중성지방 및 총콜레스테롤은 고지방-고콜레스테롤 식이로 인하여 유의적인 증가를 하였고, 중성지방은 적겨자잎 첨가로 인하여 감소하였으나 유의적인 차이는 없었으며, 총 콜레스테롤은 적겨자잎 분말 첨가에 따라 감소하는 경향을 나타냈다. 분변 중 총 지질과 중성지방 및 총콜레스테롤은 정상식이군(N)이 가장 낮게 나왔고, 총콜레스테롤은 적겨자잎 분말의 첨가 수준에 따라 유의적

으로 증가하는 결과를 나타냈다. 간 조직의 지방축적은 정상식이군(N)에 비해 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에서 확연하게 증가를 하였고, 적겨자잎의 첨가로 인하여 크기와 숫자가 줄어드는 것을 확인할 수 있었다. 부고환 지방세포의 크기는 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 정상식이군(N)에 비해 유의적인 증가가 나타났고, 적겨자잎분말 첨가에 따라 유의적인 감소를 나타냈다. 간 조직에서 체내 지질대사에 작용하는 효소들의 mRNA 발현을 비교한 결과 G6PDH, ACC, FAS에서 적겨자잎의 첨가로 인하여 감소되는 경향을 보였다. 체내 콜레스테롤 대사에 작용하는 효소들의 경우 CYP7A1의 경우 5% 적겨자잎 첨가군(HFC-BJH)에서 가장 높은 발현을 나타냈다.

4. 이상의 실험 결과 *In vivo*에서 고지방-고콜레스테롤 식이에 적겨자잎 분말을 급여한 흰쥐의 체중과 지방조직의 무게가 감소하였고, 혈청, 간 및 지방조직 지질 함량이 감소되고, 분변 중의 지질 및 콜레스테롤 함량은 증가하여 분변으로 배설량이 증가되는 것으로 나타났고 또한 간 조직 내 지방침착과 부고환 지방세포 크기가 억제되었다. 체내 지방대사 및 콜레스테롤 대사에 관여하는 G6PDH, ACC, FAS, CYP7A1, LDL-receptor에 영향을 미쳐 지방대사 및 콜레스테롤 대사에 긍정적인 효과를 나타냈다. 이러한 결과는 적겨자잎의 비타민, 무기질, polyphenol, flavonoid 등의 생리활성 물질에 의하여 체지방 형성을 억제시키고, 혈중 콜레스테롤 농도를 저하시켜 체내의 지방 및 콜레스테롤 대사 개선과 대사성질환의 예방에 효과가 있을 것으로 사료되나, 항비만 관련 연구는 미흡하여 이와 관련된 생화학적 기전에 관한 연구가 필요 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Hue, GB. 1990. *Pathology of obesity. Kor. J. Nutr.* 23: 333-336.
2. Bjorntorp, 1988. "The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease." *Acta Medica Scandinavica* 222.S723: 121-134.
3. Choi JW, Lee CK, Lee YC, Moon YI, Park HJ, Han YN. 2002. Biological activities of the extracts from fruit and stem of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*) II. *Kor J Pharmacogn* 33: 230-237
4. 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.
5. Ordovas, JM, Mooser V. 2004. Nutrigenomic and nutrigenetics., *Curr Opin Lipidol* 15: 101-108.
6. Kim, JB. 2016. Dynamic cross talk between metabolic organs in obesity and metabolic diseases. *Exp Mol Med* 48: 1-2.
7. Statistics Korea. 2015. Korean Statistical Information Service. <http://kosis.kr>
8. Naderali EK. 2009. Obesity and cardiovascular dysfunction: A role for resveratrol? *Obes Res Clin Pract* 3: 45-52
9. Kim MH. 2004. Updates in treating obesity. *Korean J Health Psychol* 9: 493-959.
10. Reddy P. Chow MSS. 1998. Focus on orlistat: A non-systemic inhibitor of gastrointestinal lipase for weight reduction in the management of obesity. *Formulary* 33: 943-959
11. Burns AA, Livingstone MB, Welch RW, Dunne A, Rowland IR. 2002. Dose-response effects of a novel fat emulsion(Oliibra) on energy and macronutrient intakes up to 36 post-consumption. *Eur J Clin Nutr* 56: 368-377
12. Zacour AC, Sliva ME, Cecon PR, Bambirra EA, Vieira EC. 1992. Effect of dietary chitin on cholesterol absorption and metabolism in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 38: 609-613

13. Robert L. Hyperlipidermia. In: Dipro JT et al. eds. 1999. Pharmacotherapy: a pathophysiologic approach. 4th ed. New York: Elsevier, 350-373.
14. Park SY, 2007. Retrospective evaluations of comparative atorvastatin versus rosuvastatin use in Korean patient with dyslipidemia. Ms Thesis, Chungbuk National University.
15. Ministry of Health and Welfare, Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korea Health Statistics 2014: Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES VI-2) [Internet]. Cheongju: Korea Centers for Disease Control and Prevention; 2015 [cited 2015 Dec 8] Available from: <http://Knhanes.cdc.go.kr>
16. Kang JA, Song YB, KangJS. 2008. Effects of green tea on weight gain, plasma and liver lipids and lipid peroxidation in pair fed rats. *Korean J. Nutri.* 41: 602-611.
17. Mckenny Ja. 2001. Lipid management: tools fir getting to the goal. *Am J Manag Care.* 7: 299-306.
18. Miettinen TA. 2001. Cholesterol absorption inhibition: a strategy for cholesterol-lowering therapy. *Int J Clin Part.* 55: 710-716
19. Oh IS, Kang JA, Kang JS. 2002. Gender differnc in the effects of gonadectomy and hypercholesterol diet on plasma and liver cholesterol and triglyceride levels, platelet aggregation and liver tissue in sprague rats. *Korean J Nutr.* 35:15-23.
20. Shin MK, Han SH. 2002. Effects of methanol extracts from bamboo(*Pseudosasa uaponica* Makino) leaves extracts on lipid metabolism in rats fed high cholesterol diet. *Korean J Diet Culture.* 1: 30-36.
21. Chung CK, Han SS, Lee SY, Oh DH, Choi SY, Kang IJ, Nam SM. 1999. Effects of houttyunia cordata ethanol extracts on serum lipids and antioxidant enzmes in rats fed high fat diet. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 205-211.
22. Park GY, Rhee SJ, Im JG, 1997. Effects of green tea catechin od cytochrome P₄₅₀, Xanthine oxidase activities in liver and liver damage in steptozocin induced diabetic rats. *J. Korean Soc. food Sci. Nutr.* 26: 901-7.

23. Lenaz G. 1998. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochem Biophys Acta* 1366: 53-67.
24. Wiseman H. 1996. Dietary influences on membrane function: important in protection against oxidative damage and disease. *Nutr Biochem* 7: 2-6.
25. Del Boccio G, Lapenna D, Porreca E, Pennelli A, Savini F, Feliciani P, Ricci G, Cuccurullo F. 1990. Aortic antioxidant defence mechanism: time-related changes in cholesterol fed rabbits. *Atherosclerosis* 81: 127-135.
26. Naito M, Wu X, Nomura H, Kodama M, Kato Y, Osawa T. 2002. The protective effects of tetrahydrocurcumin on oxidative stress in cholesterol-fed rabbits. *J Atheroscler Thromb* 9: 243-250.
27. Smith E.B. 1974. The relationship between plasma and plasma and tissue in human atherosclerosis. *Adv. Lipid Res* 11: 1-7.
28. Yokozawa T, Nakagawa T, Kitana K. 2002. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem* 50: 3549-3552.
29. Trackshel G, Maines MD. 1988. Characterization of glutathione S-transferase in ret kidney. *Biochem J* 253: 127-136.
30. Simic MG. 1988 Mechanisms of inhibition of free radical processed in mutagenesis and carcinogenesis *Mutat Res* 202: 386-399.
31. Osborn-Barnes HT, Akoh CC. 2003. Effect of α -tocopherol, β -carotene and isoflavones on lipid oxidation of structured lipid-based emulsions. *J Agric Food Chem* 51: 6856-6860.
32. Jang MJ, Woo MH, Rhee SJ, Cho SH. 2006. Antioxidative and anti-aging effects of sancho (*Zanthoxylum schinifolium*) extract in rats fed high fat diet. *Nutritional Sciences* 9: 159-166.
33. Jang MJ, Rhee SJ, Cho SH, Woo MH, Choi JH. 2006. A study on the antioxidative, anti-inflammatory and anti-thrombogenic effects of *Zanthoxylum piperitum* DC. extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 21-27.
34. Danaka K, Jang KJ. 2004. Encyclopedia of the medicinal plants in home. Donghaksa, 24.
35. Song JT. 1993. Encyclopedia of the plants, Published by Federation, 330.
36. Dorman HJ, Deans SG. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial

- activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol* 88: 308-316.
37. Han YB, Kim MR, Han BH and Han YN. 1987. Original articles; studies on antioxidant component of mustard leaf and seed. *Kor. J. Pharmacogn.* 18: 41-49.
 38. Chun SS, Choi OJ, Cho YS, Park Sk, Park JR. 1995. Changes in pungent components of Dolsan leaf mustard kimchi during fermentation. *Korean Soc Food Sci Nutr* 24: 54-59.
 39. Kim JO, Kim MN, Park KY, Moon SH, HA YL, Rhee SH. 1993. Antimutagenic effects of 5-decano identified from mustard leaf. *J Korean Agric Soc* 36: 424-427
 40. Wattenberg W, Loud WD. 1987. Inhibition of polycyclic aromatic hydrocarbon induced neoplasia by naturally occurring indole. *Cancer Research* 38: 1410-1413
 41. AOAC. 2005. Official method of analysis. 18th ed. Association of official analytical chemists, Washington, DC, USA
 42. Wugaarden DV. 1967. Modified rapid preparation fatty acid esters from liquid for gas chromatographic analysis. *Analytical. Chem*, 39: 848-850
 43. AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed. Association of official analytical chemists, Washington, DC, USA, p.878.
 44. AOAC. 2000. Official method of analysis of AOAC. 17th ed. Intl. Association of official analytical communities, Gaithersburg, MD, USA. p 1-26.
 45. Waters Associates. 1990. Analysis of amino acid in waters. PICO. TAG system. Young-in Scientific Co. Ltd., Korea, p.41-46.
 46. Korea Food and Drug Association. 2005. Food standards codex. Korean Foods Industry Association. Seoul, Korea. p.367-368, p.383-385.
 47. AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed. Association of official analytical chemists, Washington, DC, USA, p.878.
 48. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol Chem.* 12: 239-249
 49. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation

- decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26: 1231-1237.
50. Reeves PG, Niesol FH, Fahey Jr GC. 1993. ANI-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 123: 1939-1951.
 51. 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.
 52. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. *Arch Pathol Lab Med.* 113: 1101-1110.
 53. 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.
 54. Zlatkis A, B Zak. 1969. Study of a new cholesterol reagent. *Anal Biochem.* 29: 143-148.
 55. Biggs HG, Erikson TM, Moorehead WR. 1975. A manual colirimetric assay of triglyceride in serum. *Clinical Chem.* 21: 437.
 56. Kim CS. 2012. Physicochemical properties of tofu with mustard powder. Sunchon National University, Korea.
 57. Son MH, Lee JY. 2006. Standardization of processing conditions of Mustard powder and mustard oil. Collection of learned papers of Seoil Junior College. 8: 69-77.
 58. Kim BH. 2009. Food quality of Sujebi containing freeze dried broccoli powder. Pukyong National University.
 59. Kim SH. 2010. Comparison of nutrition components of *Brassica juncea* in Yeosu. Chonnam National University.
 60. Seong GU. 2015. The physicochemical properties and antioxidant characteristics of Kimchi cabbages leaves. Kyungpook National University.
 61. Bieri JG. 1990. Vitamin E, present knowledge in nutrition, sixth edition. International life science institute, Nutrition Foundation, Washington D.C.
 62. Gey KF, Brubacher GB and Stahelin HB. 1987. Plasma levels of antioxidant

- vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am J Clin Nutr* 45: 1368-1377.
63. Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Giovannucci E, Colditz GA, & Willett WC. 1993. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *New England Journal of Medicine*, 328: 1450-1456.
 64. Lee JE. 2009. Comparative analyses of functional and nutritional components in *Brassica* species originated from china.
 65. Kim AR, Lee JJ, Jung HO, Lee MY. 2010. Physicochemical composition and antioxidative effects of yacon. *J Life Sci.* 20: 40-48.
 66. Lee SJ, Shin SR, Yoon KY. 2013. Physicochemical characteristics of black *doragi* (*Platycodon grandiflorum*). *Korean J. Food Sci. Technol.* 45: 422-427.
 67. Kang WS, Kim JH, Park EJ, Yoon KR. 1998. Antioxidative property of turmeric (*Curcumae Rhizoma*) ethanol extract. *Korean J Food Sci Technol.* 30: 266-271.
 68. Kwak YE. 2014. Anti-cancer activities of different leafy vegetable extracts in vitro. Chungbuk National University.
 69. Park SH, Lim HY, Han JH. 2003. A study of medicinal herbs for functional food application (I)-nutritional composition and scoplectin anaysis of *Artemisa capilaries*. *J East Asian Soc Dietary Life.* 13: 552-560.
 70. Xu XM, Jun JY, Jeong IH. 2007. A study on the antioxidant activity of Hae-Songi mushroom (*Hypsizigus marmoreus*) hot water extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 36: 1351-1357
 71. Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, 82: 47-95.
 72. Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, Aruoma OI. 1995. The characterization of antioxidants. *Food Chem Toxicol*, 33: 601-617.
 73. 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
 74. 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.
75. Kim KH, Kim HJ, Byun MW, Yook HS. 2012. Antioxidant and antimicrobial activity of ethanol extract from six vegetables containing different sulfur compounds. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 41: 677-583
 76. Kim IS, Park KS, Yu HH, Shin MK. 2009. Antioxidant activities and cell viability against cancer cells of *Adenophora remotiflora* leaves. *J East Asian Dietary Life*. 19: 384-394
 77. Kim SJ. 2014. Study on the effect of cacao polyphenols on vascular function and their underlying mechanism. Mokpo National University.
 78. Heim KE, Tagliaferro AR, Hong JH. 2007. Effects of catechin on lipid composition and adipose tissue in obese rats fed high fat diet. *Korean Soc Food Sci Nutr*. 36: 540-547.
 79. Hollman PC, Bijlsman MN, Van Gameren Y, Cnossen EP, de Vr-Ies JH, Katan MB. 1999. The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Rad-Ic Res* 31: 569-573.
 80. Cha JY, Cho YS. 2001. Bio functional activities of citrus flavonoids. *J Kor Soc Agric Chem Biothchnol*. 44: 122-128.
 81. Kawaguchi K, Mizuno T, Aida K, Uchino K. 1997. Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. *Bio Sci Biotechnol Biochem*. 61: 102-104.
 82. Lee SH, 2016. Effects of extracts from Brussels sprouts (*Brassica oleracea var. gemmifera*) on antioxidant activity and growth inhibition of AGS cell lines. Wonkwang University.
 83. 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
 84. 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.
 85. Shin GH, Lee YJ, Kim JH, Kim YH, KIM DB, Lee JS, Lim JH, Lee OH.

2014. Antioxidant activities of commonly used *Brassica spp.* sprout vegetables in Korea. *Korea J Food Preserv* 21: 587-592.
86. Kim IS, Park KS, Yu HH, Shin MK. 2009. Antioxidant activities and cell viability against cancer cells of *Adenophora remotiflora* leaves. *J East Asian Dietary Life*. 19: 384-394.
87. Wursch P. 1979. Influence of tannin-rich carob pod fiber on the cholesterol metabolism in the rat. *J Nutr* 109: 685.
88. Jia Yuan. 2013. The antioxidative activities and inhibitory effect on Tyrosinase and Elastase by water extract of Shepherd's Purse. Dong-A University. Korea.
89. Shin HD. 2007. Anti-obesity effect of vegetable sprouts in 3T3-L1 adipocytes and rats. Chosun University.
90. Sollof LA, Futenberg HL, Lacko AG. 1973. Serum cholesterol esterification in patients with coronary artery disease. *Am Heart J*. 85: 153-161.
91. Turley E, Armstrong NC, Wallace JMW, Gilore WS, Mckelvey-Martin JV, Allen TM, Strain JJ. 1999. Effect of cholesterol feeding on DNA damage in male and female syrian hamsters. *Ann. Nutr. Metab.* 43: 47-51
92. Bjorn torp P. 1988. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med Scand.* 723: 121-134.
93. Bjorn torp P. 1990. "Portal" adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 10: 493-496.
94. Avram AS, Avram MN, James WD. 2005. Subcutaneous fat in normal and diseased states: 2. Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue. *J Am Acad Dermatol.* 53: 671-683.
95. Kwon MJ, Nam TJ. 2006. Effects of mesangi (*Capsosiphon fulvecens*) powder on lipid metabolism in high cholesterol fed rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 35: 530-535.
96. Corinne HR, Emma SW. 1984. Basic nutrition and diettherapy.(5th ed). New York. Macmillan Pub.co. p.37-4.
97. Lim SS, Kim MH, Lee JH. 1997. Effect of *Artemisia princeps var orientalis*

- and *Circium japonicum var ussuriense* on liver function body lipid and bile acid of hyperlipidemic rat. *Korean J Nutr.* 30: 797-802.
98. Kim, KH. 1980. A translation: The clinical application of the results of the test, p. 164-176.
 99. Cha JY, Jun BS, Cho YS. 2003. Effect of Korean red ginseng powder on the lipid on the lipid concentrations and tissue lipid peroxidation in the rats fed high fat diet. *J. Korean Soc Food Sci Nutr.* 32: 124-130
 100. Lee YJ, Park MH, Hwang SW, Bae MJ, Han JP. 1994. Effect of pine pollen on serum and liver lipids in rats on a fed high fat diet. *J Korean Soc. Food Nutr.* 23: 192-197
 101. Kim HS, Yoon HD. 2008. Effects of the chitosan oligosaccharide intake on the improvement of serum lipid level in hypercholesterolemic rats. *Journal of Life Science* Vol. 18 1686-1692.
 102. Kinnunen PKJ, Virtanen JA, Vainoi P. 1983. Lipoprotein lipase and hepatic endothelial lipase. *Atheroscler. Rev.* 11: 65-80.
 103. Kim JW, Kim SD, Youn KS. 2010. Effects of chicken treated with Hwangki-Beni Koji sauces on body weight, serum and hepatic lipid profiles of rats fed high fat and high cholesterol diets. *J Korean Soc Food sci Nutr.* 39: 1270-1278.
 104. Jung EY, Yeon SH, Suh HJ. 2014. Hypocholesterol effect of *Opuntia humifusa* extract on high cholesterol diet-induced hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 43: 485-490.
 105. Davignon J, Cohn JS. 1996. Triglyceride: a risk factor for coronary heart disease. *Atherosclerosis.* 124: 57-64.
 106. Good man DS. 1964. The turn over of plasma cholesterol in man. *Physiol Rev.* 45: 747-760.
 107. Jo HC, Kim JH, Han FH. 1999. Effect of long term dance sports on serum lipids and activity of enzyme. *J. Sports SCI.* Yongin University. 9: 197-211.
 108. Wooller LA, Spady DK, Dietschy JM. 1992. Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. *J. Lipid Res.* 33: 77-88.

109. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. *Arch Pathol Lab Med.* 113: 1101-1110.
110. Park JH, Noh SK, Kim CS. 2010. Effects of paprika (*Capsicum annum L.*) on serum lipid profile and α -tocopherol concentration in rats fed a high-cholesterol diet. *Korean J Food Nutr.* 23: 311-317.
111. Yun Yp, Kang WS, Lee MY. 1996. The antithrombotic effects of green tea catechins. *J Food Hyg Safety.* 11: 77-82.
112. Kang JA and Kang JS. 1997. Effects of garlic and onion on plasma and liver cholesterol and triglyceride and platelet aggregation in rats on basal or cholesterol supplemented diets. *Korean J Nutr.* 32: 132-138.
113. Kang SM, Shim JY, Hwang SJ, Hong SG, Jang HE, Park MH. 2003. Effects of saengshik supplementation of health improvement in diet-induced hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 32: 906-912.
114. Roach J, Lees M, Sloane-Stanley GH. 1993. The low density lipoprotein receptor and cholesterol synthesis are affected differently by dietary cholesterol in the rats. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism.* 1170: 165-172.
115. Spady DK, Meddings J, Dietschy JM. 1986. Kinetic constants for receptor-dependent and receptor-independent low density lipoprotein transport in the tissues of the rat and hamster. *J Clin Invest.* 77: 1474-1471.
116. Lee JJ, Shin HD, Lee YM, Kim AR, Lee MY. 2009. Effect of broccoli sprouts on cholesterol-lowering and anti-obesity effects in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 38: 309-318.
117. Song WY, Chio JH. 2016. Effects of *Oenanthe javanica* and *Allium tuberosum* on lipid content in rats fed a high-fat-high-cholesterol diet. *Journal of life Science.* 26: 302-308.
118. Kahlon TS, Chapman MH, Smith GE. 2007. *In vitro* binding of bile acids by spinach, kale, brussels sprouts, broccoli, mustard greens, green bell pepper, cabbage and collards. *Food Chem* 100: 1531-1536.
119. Yamaguchi F, Uchida S, Watabe S, Kojima H, Shumizu N and Hatanaka C. 1995. Relationship between molecular weights of pectin and

- hypercholesterolemic effects in rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59: 2130-2131.
120. Jung YY. 2008. Effect of *Oenanthe javanica* extracts on fat accumulation of the liver in rats. *MS Thesis*, Yeungnam University, Korea.
121. Furukawa S, Fujita Tm Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 114: 1752-1761.
122. Park J, Pho HK, Kim KH, Choe SS, Lee YS, Kim JB. 2005. Over expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase is associated with lipid dysregulation and insulin resistance in obesity. *Mol Cell Biol.* 25: 5146-5157.
123. Saha A, Ruderman NB. 2003. Malonyl-CoA and AMP-activated protein kinase: An expanding partnership. *Mol. Cell. Biochem.* 253: 65-70.
124. Mao J, Demayo FJ, Li H, Elheiga LA, Gu Z, Shaikenov TE, Kordari P, Chirala SS, Heird WC and Wakil SJ. 2006. Liver-specific deletion of acetyl-CoA carboxylase 1 reduces hepatic triglyceride accumulation without affecting glucose homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103: 8552-8557.
125. Agheli N, Kabir M, Berni-Canani S, Petitjean E, Boussairi A, Luo J, Bornet F, Slama G, Rizkalla SW. 1998. Plasma lipids and fatty acid synthase activity are regulated by short-chain fructo-oligosaccharides in sucrose-fed insulin-resistant rats. *J. Nutr.* 128: 1283-1288.
126. Park YB. 2000. Cholesterol metabolism and regulation of related genes. *Food Industry and Nutrition.* 5: 1-9.
127. Jin HH, Yang JL, Chung JH, Kim YH. 2004. Hypocholesterolemic effects of green tea in cholesterol-fed rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 33: 47-51.
128. Mahley RW, Innerarity TL, Rall Jr SC, Weisgraber KH. 1984. Plasma lipoproteins: Apoprotein structure and function. *J. Lipid Res.* 25: 1277-1294.
129. Pal S, Ho N, Santos C, Dubois P, Mamo J, Croft K, Allister E. 2003. Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. *J. Nutr.* 133: 700-706.