



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](#)

2019年 2月

碩士學位論文

수세미오이 식초가  
고지방 식이를 급여한 마우스의  
항비만 효과 및 지질대사에  
미치는 영향

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

金 다 은

수세미오이 식초가  
고지방 식이를 급여한 마우스의  
항비만 효과 및 지질대사에  
미치는 영향

Effects of *Luffa cylindrica* (L.) Roem Vinegar  
on Anti-obesity and Lipid Metabolism  
in High Fat Diet-fed Mice

2019年 2月 25日

朝鮮大學校 大學院  
食品營養學科  
金 다 은

수세미오이 식초가  
고지방 식이를 급여한 마우스의  
항비만 효과 및 지질대사에  
미치는 영향

指導教授 李 在 濬

이 論文을 理學 碩士學位申請 論文으로 提出함

2018年 10月

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

金 다 은

金 다 은의 碩士學位 論文을  
認准함

委員長 朝鮮大學校 教授 장 해 춘 (印)

委員 朝鮮大學校 教授 이 주 민 (印)

委員 朝鮮大學校 教授 이 재 준 (印)

2018年 11月

朝鮮大學校 大學院

# 목 차

<b>LIST OF TABLES</b> .....	<b>iv</b>
<b>LIST OF FIGURES</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>viii</b>
제1장 서 론 .....	1
제2장 재료 및 방법 .....	5
제1절 실험기기 .....	5
제2절 실험재료 .....	5
제3절 이화학적 성분 및 항산화효과 .....	7
1. 이화학적 성분분석 .....	7
가. 총 산도 측정 .....	7
나. pH 및 당도 측정 .....	7
다. 총당 측정 .....	7
라. 환원당 및 비환원당 측정 .....	8
마. 유기산 분석 .....	8
바. 유리 아미노산 분석 .....	9
사. 무기질 분석 .....	9
2. 항산화 물질의 함량 및 활성 측정 .....	10
가. 총 polyphenol 함량 측정 .....	10
나. 총 flavonoid 함량 측정 .....	10
다. DPPH radical 소거활성 측정 .....	11
라. ABTS radical 소거활성 측정 .....	11

<b>제 4절 <i>In vitro</i>에서의 항비만효과</b> .....	<b>12</b>
1. 3T3-L1세포배양 .....	12
2. MTT assay .....	12
3. Oil Red O staining and detection .....	14
4. 중성지방(Triglyceride, TG) 농도 측정 .....	14
<b>제 5절 <i>In vivo</i>에서 지질대사 개선 및 항비만 효능</b> .....	<b>15</b>
1. 실험동물의 사육 및 식이 .....	15
2. 실험동물의 처리 .....	18
3. 혈청 지질 함량 측정 .....	18
4. 간 및 지방조직의 지질 함량 측정 .....	18
5. 간 조직의 조직 병리학적 분석 .....	19
6. 지방세포의 크기 측정 .....	19
7. Reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) .....	20
8. 통계처리 .....	22
<b>제3장 실험결과 및 고찰</b> .....	<b>23</b>
<b>제1절 이화학적 성분 및 항산화효과</b> .....	<b>23</b>
1. 이화학적 성분분석 .....	23
가. pH, 총 산도 및 당도 .....	23
나. 총당, 환원당 및 비환원당 .....	25
다. 유기산 .....	27
라. 유리 아미노산 .....	29
마. 무기질 .....	31
2. 수세미오이 식초의 항산화효과 .....	33
가. 총 polyphenol 함량 .....	33
나. 총 flavonoid 함량 .....	34
다. DPPH radical 소거활성 .....	36
라. ABTS radical 소거활성 .....	38

<b>제2절 <i>In vitro</i>에서의 항비만효과</b> .....	<b>40</b>
1. 3T3-L1 세포 독성평가 .....	40
2. 3T3-L1 세포 내 중성지방(Triglyceride) 농도에 미치는 영향 .....	42
<b>제3절 <i>In vivo</i>에서 지질대사 개선 및 항비만 효능</b> .....	<b>44</b>
1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율 .....	44
2. 간 및 지방조직의 무게 .....	48
3. 혈청 중 중성지방, 총 콜레스테롤 및 포도당 함량 .....	52
4. 혈청 중 HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 함량, 동맥경화지수 및 심혈관위험지수 .....	54
5. 간 조직 중 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량 .....	59
6. 지방조직 중 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량 .....	62
7. 간 조직의 병리조직학적 변화 .....	70
8. 지방세포의 크기 변화 .....	72
9. 간 및 부고환지방조직의 mRNA 발현 수준 .....	74
가. 간 내 지방생성 전사인자 mRNA 발현 수준 .....	74
나. 간 내 지방생성 효소 mRNA 발현 수준 .....	77
다. 간 내 지방산 $\beta$ -산화 관련 유전자 mRNA 발현 수준 .....	80
라. 부고환지방조직 내 지단백질 분해 관련 mRNA 발현 수준 .....	82
<b>제4장 요약</b> .....	<b>84</b>
<b>참고문헌</b> .....	<b>86</b>



## LIST OF TABLES

Table 1. Experimental design .....	16
Table 2. Composition of experimental diet .....	17
Table 3. Experimental sequences of the primers used for RT-PCR .....	21
Table 4. Physicochemical characteristics of <i>L. cylindrica</i> vinegar .....	24
Table 5. Total sugar, reducing sugar and non-reducing sugar contents of <i>L. cylindrica</i> vinegar .....	26
Table 6. Contents of total organic acids of <i>L. cylindrica</i> vinegar .....	28
Table 7. Contents of free amino acids of <i>L. cylindrica</i> vinegar .....	30
Table 8. Contents of mineral of <i>L. cylindrica</i> vinegar .....	32
Table 9. Contents of total polyphenol and total flavonoid of <i>L. cylindrica</i> vinegar .. .....	35
Table 10. DPPH radical scavenging activity of <i>L. cylindrica</i> vinegar .....	37
Table 11. ABTS radical scavenging activity of <i>L. cylindrica</i> vinegar .....	39
Table 12. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on body weight gain, food intake and food efficiency ratio in mice fed a HFD .....	47
Table 13. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on adipose tissues weight in mice fed a HFD .....	51
Table 14. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on serum total cholesterol, triglyceride and glucose contents in mice fed a HFD .....	53
Table 15. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on serum HDL-cholesterol and LDL-cholesterol contents in mice fed a HFD .....	56
Table 16. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on liver lipid profiles in mice fed a HFD .....	61

## LIST OF FIGURES

Fig. 1. <i>Luffa cylindrica</i> (L.) Roem .....	4
Fig. 2. The schematic diagram of <i>L. cylindrica</i> vinegar .....	6
Fig. 3. Flowchart of 3T3-L1 differentiation and <i>L. cylindrica</i> vinegar treatment .....	13
Fig. 4. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on cell viability of 3T3-L1 preadipocytes .....	41
Fig. 5. Inhibitory effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on Oil Red O staining and lipid accumulation in differentiated 3T3-L1 adipocytes .....	43
Fig. 6. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on body weight changes in mice fed a HFD .....	46
Fig. 7. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on liver weight in mice fed a HFD .....	50
Fig. 8. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on atherogenic index in mice fed a HFD .....	57
Fig. 9. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on cardiac risk factor in mice fed a HFD .....	58
Fig. 10. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on total lipid content of epididymal adipose tissues in mice fed a HFD .....	64
Fig. 11. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on triglyceride content of epididymal adipose tissues in mice fed a HFD .....	65
Fig. 12. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on total cholesterol content of epididymal adipose tissues in mice fed a HFD .....	66
Fig. 13. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on total lipid content of mesenteric adipose tissues in mice fed a HFD .....	67
Fig. 14. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on triglyceride content of mesenteric adipose tissues in mice fed a HFD .....	68
Fig. 15. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on total cholesterol content of mesenteric	

adipose tissues in mice fed a HFD .....	69
Fig. 16. Histological analysis on liver tissue .....	71
Fig. 17. Histological analysis on epididymal adipose tissue .....	73
Fig. 18. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on the mRNA expressions of C/EBP $\alpha$ in liver tissue .....	75
Fig. 19. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on the mRNA expressions of SREBP-1c in liver tissue .....	76
Fig. 20. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on the mRNA expressions of ACC in liver tissue .....	78
Fig. 21. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on the mRNA expressions of FAS in liver tissue .....	79
Fig. 22. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on the mRNA expressions of PPAR $\alpha$ in liver tissue .....	81
Fig. 23. Effects of <i>L. cylindrica</i> vinegar on the mRNA expressions of LPL in epididymal adipose tissue .....	83

## ABSTRACT

### **Effects of *Luffa cylindrica* (L.) Roem Vinegar on Anti-obesity Effects and Lipid Metabolism in High Fat Diet-fed Mice**

by. Kim, Da-eun

Advisor : Prof. Lee, Jae-Joon, Ph.D.

Department of Food and Nutrition,

Graduate School of Chosun University

This study aimed to investigate the anti-obesity effects of *Luffa cylindrica* vinegar(LV) in 3T3-L1 cells and high fat diet-induced C57BL/6J mice. It was also conducted to investigate physicochemical properties and anti-oxidant activities of *Luffa cylindrica* vinegar.

The physicochemical properties of vinegar evaluated were sugar concentration, total acidity, organic acid, amino acid and mineral contents. The sugar concentration of LV was approximately 19 °Brix and total acidity was 4.03%. The acetic acid content was the highest of the major organic acids at 31,387.22 mg%. The total free amino acid content was 16.63 mg% with the main free amino acids being  $\gamma$ -amino-n-butyric acid, glutamic acid, and alanine. The major minerals of LV were K, Ca, and Mg. Total polyphenol and flavonoid content of LV were found 33.73  $\mu\text{g}$  TAE/mL and 4.10  $\mu\text{g}$  RE/mL in 1,000 ppm. The DPPH and ABTS radical scavenging activities of LV were 20.96% and 78.74%, respectively.

Treating 3T3-L1 preadipocytes with LV significantly decreased Oil Red O staining and TG content were significantly reduced, compared to control. This study showed that

LV treatments decreased lipid accumulation and differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. Thus, we found that LV exerted greater anti-obesity effects *in vitro*.

In the *in vivo* study, the anti-obesity effect of LV was investigated in a mice fed a high-fat diet. The experimental animals were randomly divided into four groups as follows : normal diet + sterile distilled water(ND), high fat diet + sterile distilled water(HFD), HFD + 1.0 mL/kg/day LV(HFD-LVL), HFD + 2.0 mL/kg/day LV(HFD-LVH). The body weight gain and FER were increased due to high-fat diet, but decreased in the LV administered groups compared with the HFD group. The liver and epididymal, mesenteric, retroperitoneal, perinrenal and total adipose tissue weights of LV fed groups were lower than that HFD group. The LV groups of high-density lipoprotein(HDL)-cholesterol showed higher compared to that in the HFD group. And total lipid, triglyceride(TG) contents in liver and adipose tissues was lower than in HFD group. Oil red O staining of the hepatic showed that the lipid accumulations were decreased by LV. Also, H&E staining of epididymal adipose tissue showed that the adipocyte size were reduced by LV. The mRNA expressions of ACC, FAS and LPL were the LV groups had a significantly lower expressions compared to the HFD. LV administration increased the mRNA expression of PPAR $\alpha$  compared to HFD group. Furthermore, mRNA expression of transcription factors(C/EBP $\alpha$  and SREBP-1c) were inhibited.

These results suggest that LV could make better lipid metabolism of serum, liver and adipose tissue and may decrease lipid accumulation. Therefore, LV to be a material with significant potential for development into a functional health foods that have improvement effect obesity.

## 제1장 서론

현대사회는 경제발전으로 인한 소득의 상승으로 많은 부분이 기계화됨으로 인해 생활양식이 편리해져 활동량은 줄어들는데 식생활은 서구화되었다. 본래의 채소 위주에서 육류 위주의 식생활로 변화하면서 동물성지방 섭취가 증가함에 따라 영양과잉 및 불균형이 초래되었고 그로 인해 비만인구가 점차 증가하고 있다. 2016년 국민건강영양조사에 의하면 만 19세 이상 성인의 비만 유병률은 34.4%로 발표되었다. 이는 2007년 31.7%, 1998년 26.0%와 비교해보면 지속적으로 상승함을 확인할 수 있다. 이러한 증가추세는 남성에서 명확하게 나타났으며, 여성은 연령은 높아지고 소득수준은 낮아질수록 비만 유병률이 증가하는 경향성을 보였다(1,2,3).

비만은 보통 과다한 체중을 뜻하지만 근육으로 인한 체중증가의 경우도 존재하기 때문에 체내 피하조직 및 복강 내에 지방이 과도하게 축적된 상태라고 정의하고 있다(4). 또한, 비만은 지방전구세포의 분화를 통해 새로 생성되는 지방세포의 비대 및 과형성에 의하여 유발된다고 보고되어 있다(5). 지방세포의 비대는 음식으로 섭취되는 중성지방의 축적에 의한 것이며, 지방세포의 과형성은 세포증식 및 분화에 의한 것으로 알려져 있다(6). 비만을 유발하는 원인으로는 고칼로리 식품섭취, 신체활동 부족, 스트레스, 올바르게 않는 생활습관 등의 환경적인 요인이나 유전적인 요인, 내분비기능이상 질환 등의 신경 내분비적 요인을 포함한 다양하고 복합적인 요인들이 있으며, 가족의 식생활이나 사회, 문화적인 요인도 비만에 영향을 줄 수 있다(7).

비만은 그 자체로도 질병이 되어 일상생활에 지장을 주지만 고혈압, 당뇨병, 고지혈증을 포함한 심혈관계 질환 등과 같은 대사성 질환의 발병 위험인자와도 깊은 관련이 있다고 보고된 바 있다(8,9). 또한, 비만으로 인해 발생하는 삶의 질 저하, 질병의 고통 등까지 포함한다면 그에 따른 사회경제적 비용의 비율은 더욱 증가할 것으로 보인다(10). 이러한 비만을 예방하기 위해서는 세포 내 지방의 축적을 억제하거나 이미 축적되었을 경우 이를 분해하도록 자극하여야 한다. 비만의 치료는 식이, 운동, 행동수정 요법을 통한 잘못된 생활습관의 개선이 우선적으로 필요하지만 약물을 복용하거나 수술요법을 사용하기도 한다(11). 따라서 다양한 작용기전을 가진 여러 형태의 비만치료제가 개발되고 있지만 위장장애, 구토, 변비, 혈압상승 등

의 부작용을 야기하여 더 큰 문제가 발생한다. 그러므로 체중조절에는 효과적이지  
 만 부작용 발생 위험이 낮은 천연식품으로의 새로운 기능성식품의 연구가 요구되  
 고 있다(12). 또한, 지방세포의 분화와 그 생체 내 조절 메커니즘을 밝히는 것이 비  
 만으로 비롯된 각종 질병들을 이해함으로써 효과적인 치료제를 개발할 수 있는 기  
 반이 될 것이라 생각된다.

식초는 술과 함께 가장 오래된 역사를 가진 발효식품 중 하나이며, 각종 원료에  
 효모로 인한 알코올발효 및 초산균으로 인한 초산발효를 거쳐 제조한 것으로 동서  
 양을 불문하고 예로부터 꾸준히 사용되어 왔다(13). 신맛을 가진 초산을 포함한 비  
 휘발성의 유기산, 당류, 아미노산류, ester 및 각종 영양물질을 함유한 식품이며 원  
 료의 종류, 제조방법, 발효방법 등에 따라 독특한 향과 맛을 나타낸다. 또한 식초는  
 기본적인 조미료로 사용될 뿐만 아니라 특유의 강한 산성으로 인해 식품 내 유해  
 미생물의 생장을 억제하여 식품보존료로 사용되며 의약품 및 미용재료로도 사용되  
 어 왔다(14).

근래 발효식품의 다양한 생리활성 물질의 기능성이 주목되고 있는데, 식초 역시  
 단순 조미용에서 건강음료로서의 기능이 대두되면서 매년 소비량이 증가되고 있는  
 추세이다(15). 식초의 유기산 중 50% 이상이 acetic acid이며, 이외에도 citric acid,  
 lactic acid, succinic acid 등 TCA회로에 필요한 유기산이 함유되어 생체 내에서 호  
 기적으로 쉽게 분해되며, 필요한 물질로 쉽게 전환될 수 있기에 영양학적으로 꾸준  
 한 섭취가 권장되고 있다(16). 식초는 소화액 분비 촉진으로 인한 소화흡수 및 촉  
 진, 젖산 분해로 인한 피로회복 및 숙취해소 등의 효과를 나타내는 것으로 알려져  
 있다(17,18). 또한 혈전증을 유발하는 과산화지질을 분해하여 혈중 콜레스테롤 수치  
 를 낮춰 동맥경화증을 예방할 수 있으며 노화 방지, 항감염 및 항종양 효과 등이  
 보고된 바 있다(19,20).

수세미오이(*Luffa cylindrica* (L.) Roem)는 박과(Cucubitaceae)식물로 수세미외라고도  
 불리며, 1년생 덩굴성 초본식물이다(Fig. 1). 열대 및 아열대 기후에서 성장하며 원  
 산지는 열대아시아이지만 우리나라, 중국, 일본에서도 오래전부터 재배되어왔다. 수  
 세미오이의 어린 과실은 식용, 미용, 약용으로 사용되었고, 성숙 과실은 한방에서  
 사과락이라 부르는데 이는 망상의 그물 섬유 구조를 갖고 있어 주방용 세척기구,  
 육류의 오일 여과기 등으로 사용되어 왔다(21). 또한 줄기를 절단하여 채취가능한  
 수세미오이 수액에는 유기산, 지방산, hydrocarbon, 휘발성 정유성분 등이 함유되어  
 있어 감기, 천식, 비염 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 수세미오이 잎과 종

자는 지혈, 이뇨, 소종, 해독, 거담, 진해, 치통, 혈행 부전 등에 민간요법으로 사용되기도 하였다(22,23). 수세미오이의 항산화성분으로는 coumaric acid, apigenin, luteolin 등이 함유되었다고 보고된 바 있다(24). 1980년대 이후 인공 수세미가 발전함에 따라 수세미오이에 대한 활용이 감소하면서 재배면적이나 건강자원으로써의 연구가 부족하였지만, 최근에는 수세미오이가 어렵지 않게 재배가 가능하고 농약을 적게 사용하는 친환경작물이라는 것이 알려져 경제적 작물로써 각광받으며 연구되고 있다.

수세미오이에 대한 연구로는 수세미오이의 뿌리털과 씨앗추출물에 의한 흑색종 세포의 성장억제(25), 분화된 3T3-L1 지방세포에서 수세미오이 분말의 중성지방 감소효과(26), 수세미오이의 잎과 씨앗의 phytochemical과 항균성 평가(27), 수세미오이에서 추출된 saponin의 면역조절 효과(28), 수세미오이의 배양세포로부터 분리된 bryonolic acid의 항알러지 활성(29), 수세미오이의 열매 및 씨앗 추출물의 대장균 살균효과(30), 백혈병세포인 L1210에 대한 수세미오이의 잎, 줄기 및 씨앗 추출물의 세포독성효과(31), 수세미오이 에탄올 추출물의 멜라닌합성 억제효과(32) 및 항산화 효과(33) 등이 보고되어 있다. 이와 같이 수세미오이의 생리활성에 대한 연구를 통해 가능성이 입증되었음에도 식품으로서의 활용이나 지질대사 및 항비만 효과에 대한 연구가 아직 미비하다.

따라서 본 연구에서는 아직까지 알려지지 않은 수세미오이 식초의 영양소 및 생리활성 성분에 대한 연구의 일환으로 영양성분 및 항산화 활성을 분석하여 기능성 식품 소재로의 개발을 위해 기초 자료를 제공하고자 한다. 또한, 수세미오이 식초의 항비만 효과를 평가하기 위해 3T3-L1 세포에서의 지방세포 분화 및 중성지방 함량 변화를 관찰하고, 고지방식이로 비만이 유도된 마우스의 혈청, 간 및 지방조직에서의 지방축적과 지질대사 관련 유전자의 발현에 미치는 영향을 분석함으로써 그 작용기전과 효능을 검증하고자 실시하였다.





Fig. 1. *Luffa cylindrica* (L.) Roem(34).

## 제2장 재료 및 방법

### 제1절 실험기기

1. pH meter : Orion 3 star, Thermoelectron Co., Beverly, MA, USA
2. digital refractometer : RX 5000, Atago Co., Tokyo, Japan
3. Centrifuge : Combi-514R, Hanil, Incheon, Korea
4. Spectrophotometer : UV-spectrophotometer, Bio-rad, Hercules, CA, USA
5. Deep freezer : MDF-U52V, Sanyo, Osaka, Japan
6. Clinical chemistry analyzer : Fuji Dry-Chem 3500, Fujifilm, Tokyo, Japan
7. Thermal cycler : T100M, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA
8. light microscopy : Zeiss Axioskop, Carl Zeiss, Inc., Jena, Germany

### 제2절 실험재료

본 실험에 사용한 수세미오이 식초는 향지춘(충남 논산)으로부터 구매하여 사용하였으며, 실험 종료 시까지 4℃에서 보관하였다. 수세미오이 식초의 제조과정은 먼저 수세미오이를 세척, 정선과정을 거쳐 설탕과 함께 살균된 용기에 넣어 3년간 1차 당발효 시켜 수세미오이 발효액을 생산하였다. 수세미오이 발효액에 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)를 접종하여 60일 동안 2차 알코올발효를 진행하였고, 현미로 만든 종초(*Acetobacter pasteurianus*)를 이용하여 50일간 3차 초산발효를 시행하여 제조하였다(Fig. 2).

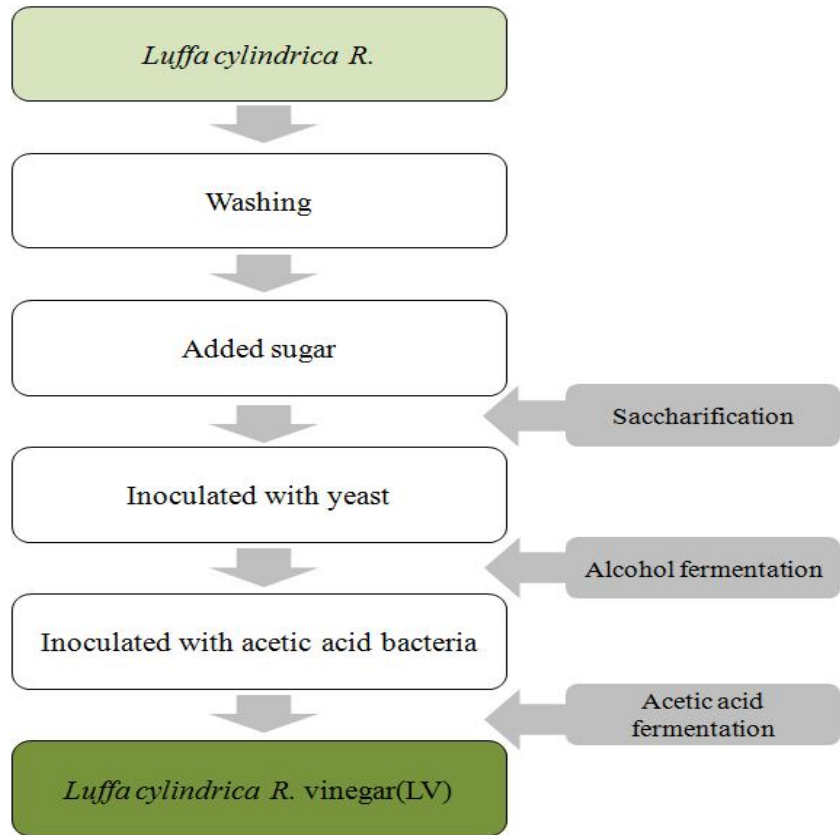


Fig. 2. The schematic diagram of *L. cylindrica* vinegar.

## 제3절 이화학적 성분 및 항산화효과

### 1. 이화학적 성분분석

#### 가. 총 산도 측정

총 산도는 시료 10 mL에 증류수를 가하여 100 mL로 정용하고, 그 중 20 mL를 취한 다음 1% phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1N NaOH 용액으로 중화 적정하였고 이를 초산 함량(%)으로 환산하였다.

$$\text{총 산도(W/V, \%)} = [ (0.006 \times V \times F \times D) / S ] \times 100$$

V = 0.1N NaOH 용액의 적정소비량 (mL)

F = 0.1N NaOH 용액의 역가

D = 희석배수

S = 시료의 채취량 (mL)

#### 나. pH 및 당도 측정

pH는 pH meter(Orion 3 star, Thermoelectron Co., Beverly, MA, USA)를 사용하여 측정하였고, 당도는 굴정당도계(RX 5000, Atago Co., Tokyo, Japan)로 측정하였다.

#### 다. 총당 측정

총당은 phenol-sulfuric acid 방법(35)에 준하여, 시료 1 mL와 5% phenol 용액 1 mL을 혼합한 후 황산 5 mL를 첨가하여 실온에서 30분 동안 방치한 다음, 470nm에서 흡광도를 측정하였다. glucose를 표준물질로 사용한 표준곡선에 대입하여 총당 함량을 계산하였다.

## 라. 환원당 및 비환원당 측정

환원당은 3,5-Dinitrosalicylic acid(DNS) 방법(36)에 준하여, 시료 1 mL와 DNS reagent 1 mL를 혼합한 후 끓는 물에서 10분 동안 증탕한 뒤 얼음에서 15분 동안 냉각시켜 575nm에서 흡광도를 측정하였다. glucose를 표준물질로 사용한 표준곡선에 대입하여 환원당 함량을 계산하였다. 비환원당은 총당에서 환원당을 뺀 값으로 계산하였다.

## 마. 유기산 분석

유기산 분석은 수세미식초 원액을 hexane으로 유지성분을 제거하고 filter paper로 여과하여 고성능액체크로마토그래피(Prominence HPLC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)로 분석하였다. 유기산 분석 column은 Two Shim-pack SCR-102H(300×8.0 mm), guard column은 Shim-pack Guard Column SCR-102H(50×6.0 mm)을 사용하였다. 이동상은 4mM p-toluenesulfonic acid를 사용하였으며 유속은 0.7 mL/min로 조절하였고, injection volume은 20  $\mu$ L 주입하고 detector는 electric conductivity를 사용하였다. 반응시약으로 4mM p-toluenesulfonic acid와 100 $\mu$ M EDTA를 포함하는 16mM Bis-Tris 용액을 사용하였다. 또한 동일한 분석조건으로 citric, tartaric, malic, succinic, lactic, formic, acetic acid 표준품의 검량곡선을 작성하여 각 유기산을 정량하였다.

## 바. 유리 아미노산 분석

유리 아미노산 분석은 Jeong 등(37)의 방법에 준하여, 시료 10 mL와 ethanol 30 mL를 혼합하여 실온에서 24시간 방치하고 상정액을 8,000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 단백질 등을 제거한 후 0.2  $\mu\text{m}$  membrane filter로 여과하여 아미노산 분석기(S433-H, Sykam Co., Eresing, Germany)를 이용하여 분석하였다. 유리 아미노산 분석 column은 Cation separation column(LCA K07/Li, 4.6 $\times$ 150 mm)을 사용하였고, 유속은 Buffer를 0.45 mL/min, reagent를 0.25 mL/min로 조절하였다.

## 사. 무기질 분석

무기질 분석은 습식 분해법에 준하여, 시료 100 mL에 분해제( $\text{HClO}_4$  :  $\text{H}_2\text{SO}_4$  :  $\text{H}_2\text{O}_2$  = 9 : 2 : 2, v/v) 25 mL를 넣고 무색이 될 때까지 가열한 후 여과시켜 100 mL로 정용하였다. 이를 시료용액으로 하여 ICP-OES(Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometers, Perkin-Elmer Co., Norwalk, USA)를 사용하여 분석하였다. 분석조건 중 RF power는 1,400 W이며, gas flows는 plasma를 15 L/min, auxiliary를 0.2 L/min, nebulizer를 0.8 L/min으로 하여 분석하였다.

## 2. 항산화 물질의 함량 및 활성 측정

### 가. 총 Polyphenol 함량 측정

수세미오이 식초의 총 polyphenol 함량은 Folin-Denis 방법(38)를 변형하여 측정하였다. 시료 0.2 mL에 Folin reagent 0.2 mL를 넣고 실온에서 3분간 반응시킨 후, 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 0.4 mL를 첨가하여 혼합하고 암소에서 40분간 반응시켰다. 흡광도는 ELISA microplate reader(Model 680, Biorad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)를 사용하여 760 nm에서 측정하였다. 표준곡선은 tannic acid를 이용하여 작성하였으며, 시료의 총 polyphenol 함량은 1 mL 중의 µg tannic acid equivalents(TAE)로 나타내었다.

### 나. 총 flavonoid 함량 측정

수세미오이 식초의 총 flavonoid 함량은 Davis 방법(39)을 변형하여 측정하였다. 시료 0.5 mL에 diethylent glycol 0.5 mL와 1N NaOH 10 µL를 넣고 잘 혼합하여 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 흡광도는 ELISA microplate reader(Model 680, Biorad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)를 사용하여 420 nm에서 측정하였다. 표준곡선은 rutin을 이용하여 작성하였으며, 시료의 총 flavonoid 함량은 1 mL 중의 µg rutin equivalents(RE)로 나타내었다.

## 다. DPPH radical 소거활성 측정

수세미오이 식초의 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical 소거활성은 Bios 방법(40)을 변형하여 측정하였다. 시료 0.1 mL에 0.2mM DPPH 용액 0.9 mL를 넣고 잘 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시켰다. 무첨가군은 시료 대신 ethanol을 넣어 반응시켰다. 흡광도는 ELISA microplate reader(Model 680, Biorad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)를 사용하여 517 nm에서 측정하였다. DPPH radical 소거활성을 계산하여 다음과 같이 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [1 - (\text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{blank}})] \times 100$$

## 라. ABTS radical 소거활성 측정

수세미오이 식초의 ABTS(2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical 소거활성은 Re 방법(41)을 변형하여 측정하였다. 7.4mM ABTS 용액과 2.6mM potassium persulfate 용액을 제조하여 동일한 비율로 혼합하였다. ABTS radical 양이온( $\text{ABTS}^+$ )의 생성을 위해 혼합용액을 암소에서 24시간 동안 반응시켰다. 그 다음  $\text{ABTS}^+$  용액을 734 nm에서  $0.7 \sim 1.0 \pm 0.02$ 의 흡광도가 얻어질 때까지 메탄올로 희석시켰다. 시료 0.1 mL에  $\text{ABTS}^+$  용액을 넣고 잘 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시켰다. 무첨가군은 시료 대신 methanol을 넣어 반응시켰다. 흡광도는 ELISA microplate reader(Model 680, Biorad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)를 사용하여 734 nm에서 측정하였다. ABTS radical 소거활성은 다음과 같이 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = [1 - (\text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{blank}})] \times 100$$



## 제4절 *In vitro*에서의 항비만 효과

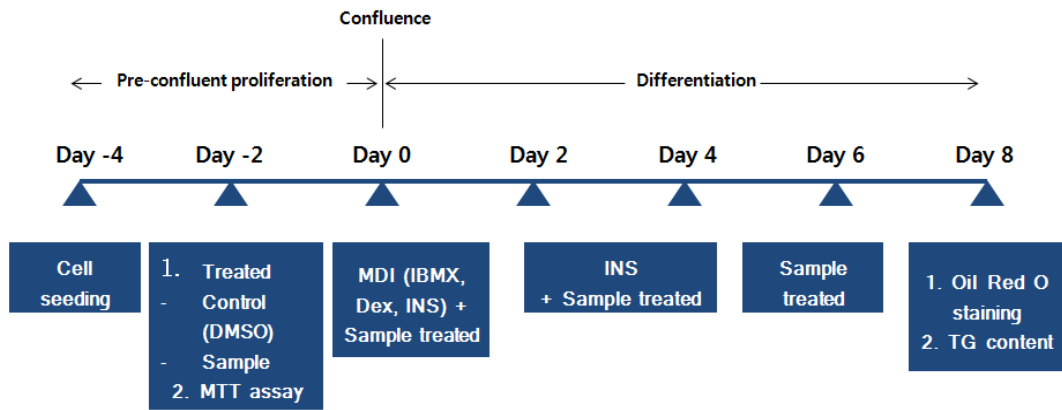
### 1. 3T3-L1세포 배양

3T3-L1 preadipocyte를 10% FBS(Fetal Bovine Serum)와 1% penicillin-streptomycin이 함유된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)에 넣어 37°C, 5% CO<sub>2</sub>로 조절된 incubator에서 배양하였다. 3T3-L1 preadipocyte의 밀도가 70%가 되면 세포를 탈착시켜 계대배양 하였으며 배지는 48시간마다 신선한 배지로 교환하였다. 지방생성을 유도하기 위해 3T3-L1 세포를 0.5 mM IBMX(3-isobutyl-1-methylxanthine), 0.5 μM dexamethasone, 10 μg/mL insulin 및 10% FBS이 함유된 DMEM 배지로 교환하고 시료를 첨가하여 48시간동안 분화시켰다. 그 후 8일까지 48시간마다 10 μg/mL insulin 및 10% FBS이 함유된 DMEM 배지로 교체하고 실험용으로 수확할 때까지 유지시켰다(Fig. 3). 항비만 효과가 있는 것으로 보고(42)되어진 caffeine을 양성대조군으로 사용하였다.

### 2. MTT assay

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 분석을 이용하여 시료의 세포 독성을 측정하였다. 3T3-L1 preadipocytes를 96-well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well로 접종한 후 48시간 동안 배양하였다. 이어서, 수세미오이 식초를 농도별로 처리하여 12, 24 시간 동안 배양하고 MTT 용액을 각 well에 넣고 4시간 동안 배양하였다. 그 후 ELISA microplate reader(Model 680, Biorad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)를 사용하여 540 nm에서 측정하였다. 세포 생존력을 계산하여 다음과 같은 백분율로 나타내었다.

$$\text{Cell viability (\%)} = (\text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{blank}}) \times 100$$



**Fig. 3. Flowchart of 3T3-L1 differentiation and *L. cylindrica* vinegar treatment.**

DMSO: Dimethyl sulfoxide, MDI: 0.5 mM isobutylmethylxanthine(IBMx), 5  $\mu$ M Dexamethasone(Dex) and 10  $\mu$ g/mL insulin(INS).

### 3. Oil red O staining and detection

세포 내 지질 축적은 분화유도 8일째에 Oil Red O staining 법으로 측정하였다. 세포를 phosphate buffer saline(PBS)로 세척하고 10% formalin 용액으로 고정시킨 다음, 60% isopropanol로 세척하고 Oil Red O 용액에 30분 동안 염색하였다. Oil Red O 용액 제거 후 증류수로 행구고 건조시킨 다음 광학현미경(Motic AE31, Motic Instrument Inc., Richmond, BC, Canada)으로 관찰하였다. 정량 분석을 위해 Oil Red O 를 100% isopropanol로 용출시키고 ELISA microplate reader(Model 680, Biorad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. Oil Red O 함량을 다음과 같이 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{Oil Red O contents (\%)} = (\text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{blank}}) \times 100$$

### 4. 중성지방(Triglyceride, TG) 농도 측정

분화된 3T3-L1 세포를 PBS로 2회 세척하고 세포용해 완충액[50 mM Tri-HCl, 150 nM NaCl, 1% Triton X-100, 0.1% sodium dodecyl sulfate(SDS)]으로 용출시켜 수집하였다. 원심분리(12,000 ×g, 4min, 4°C)하여 triglyceride가 포함된 상층액을 회수한 다음, 중성지방의 함량을 보기 위해 중성지방 kit를 사용하여 580 nm에서 흡광도를 측정한 후 중성지방의 양을 계산하였다.

## 제5절 *In vivo*에서 지질대사 개선 및 항비만 효능

### 1. 실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 6주령의 수컷 C57BL/6J 마우스 40마리를 (주)라온바이오(Incheon, Korea)에서 구입하여 고품사료로 1주일간 사육환경에 적응시킨 뒤, 난피법에 의해 10마리씩 4군으로 나누어 임의 배치하여 10주간 사육하였다. 실험군(Table 1)은 정상식이군(ND), 고지방식이군(HFD), 고지방식이와 수세미오이 식초 저농도 투여군(HFD-LVL), 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)으로 나누어 실시하였고, 수세미오이 식초 투여군(HFD-LVL, HFD-LVH)들은 수세미오이 식초를 3차 증류수에 희석하여 매일 동일한 시간에 경구 투여 하였다. 실험에 사용된 정상식이 및 고지방식이의 조성은 Table 2와 같다. 본 연구에서 식초의 경구투여량(1.0 mL/kg/day, 2.0 mL/kg/day)은 이전의 임상연구에 따라 사람의 최대 식초 허용 섭취량이 1일 체중 kg 당 0.5 mL이므로 이를 근거로 확실한 항비만 효과를 알아보기 위해 2배의 농도로 경구 투여 하였다(43). 또한 연구된 동물실험 논문에 의하면 1.0 ~ 7.0 mL/kg/day의 농도로 투여한 결과, 독성은 나타나지 않았다고 보고하였다(44~46). 체중과 식이섭취량은 1주에 한 번, 동일한 시간에 측정하였다. 최종 체중에서 실험 개시 전의 체중을 감하여 체중증가량으로 표시하였고, 사육기간의 체중증가량을 동일 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군의 식이효율(Feed Efficiency Ratio, FER)을 구하였다. 물과 식이는 제한 없이 공급하였으며 사육실 온도는 18±2℃로 유지하였고 조명은 12시간 주기(08:00 ~ 20:00)로 조절하였다. 본 논문의 동물실험은 조선대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받고 그 규정에 따라 실행하였다(승인번호 : CIACUC2018-A0031).

**Table 1. Experimental design**

<b>Groups</b>	<b>Diet composition</b>
ND <sup>1)</sup>	Normal diet (10% kcal fat)
HFD <sup>2)</sup>	High-fat diet (60% kcal fat)
HFD-LVL	High-fat diet + LV <sup>3)</sup> 1.0 mL/kg/day
HFD-LVH	High-fat diet + LV 2.0 mL/kg/day

<sup>1),2)</sup> Modified AIN-93 diet(47). <sup>3)</sup>LV: *L. cylindrica* vinegar

**Table 2. Composition of experimental diet**

(g/kg)

Diet Composition (g)	Groups	
	ND <sup>1)</sup>	HFD <sup>2)</sup>
Casein	200	200
L-cystine	3	3
Corn starch	315	0
Dextrose	35	125
Sucrose	350	69
Cellulose	50	50
Lard	20	245
Soybean oil	25	25
Mineral mix <sup>3)</sup>	10	10
Vitamin mix <sup>4)</sup>	10	10
Choline chloride	2	2
<i>tert</i> -Butylhydroquinone	0.01	0.054
Total (g)	1,020	739
Total energy (kcal)	4,057	4,058
Fat (kcal %)	10	60

<sup>1)</sup>ND: Normal diet. <sup>2)</sup>HFD: High-fat diet.

<sup>3),4)</sup>AIN-93-MX mineral mixture and AIN-93-VX vitamin mixture(47).

## 2. 실험동물의 처리

실험동물은 10주간 사육 후 12시간 절식시키고 안와동맥에서 채혈한 후 경추 탈골시켰다. 혈액은 1,500 ×g에서 15분간 원심분리 시켜 혈청을 분리하여 혈청 지질 함량 측정용 시료로 사용하였다. 간과 지방조직을 적출하여 생리 식염수로 세척하고 여과지로 수분을 제거한 후 무게를 측정하였다. 간과 지방조직 일부는 현미경 촬영을 위해 각각 4% paraformaldehyde 용액과 10% formalin 용액에 고정시켰다. 나머지는 분석 전까지 -70℃의 deep freezer(MDF-U52V, Sanyo, Osaka, Japan)에 보관하였다.

## 3. 혈청 지질 함량 측정

혈청 중 중성지방, 총 콜레스테롤, 포도당 및 HDL-콜레스테롤 함량은 혈액생화학 검사 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Tokyo, Japan)로 측정하였다. LDL-콜레스테롤 함량은 Friedwald식 {총콜레스테롤 - (HDL-콜레스테롤 - 중성지방/5)}(48)에 의하여 계산하였다. 심혈관계 질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥경화지수(Atherogenic Index, AI)는 {(총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤}(11)식으로 계산하였고, 심혈관위험지수는 (Cardiac risk factor, CRF)는 {총콜레스테롤/HDL-콜레스테롤}(49)으로 계산하였다.

## 4. 간 및 지방조직의 지질 함량 측정

간 및 지방 조직의 중성지방과 총 콜레스테롤 함량은 Folch 방법(50)을 변형하여 측정하였다. 조직 0.1g에 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(2 : 1, v/v) 6 mL를 첨가하여 교반시키고 4℃에서 3일간 방치하였다. 그 다음 증류수를 넣고 1,900 ×g에서 20분간 원심분리한 후 지질층인 하층부를 취하여 총 콜레스테롤과 중성지방 함량 분석에 사용하였다. 총 콜레스테롤 함량은 Zlatkis와 Zak의 방법(51)에 의하여 측정하였으며, 중성지방 함량은 Biggs 등의 방법(52)으로 측정하였다.

## 5. 간 조직의 조직 병리학적 분석

간 조직을 관찰하기 위해 간 조직의 일부를 채취하여 4% paraformaldehyde 용액에 고정시켰다. 고정된 조직을 100, 95, 90, 80, 70%로 나뉜 에탄올에서 탈수시킨 후 파라핀으로 포매하였다. 파라핀 블록은 Cryostat microtome(Leica RM 2235, Leica Biosystems, Wetzlar, Hesse, Germany)을 사용하여 3~4  $\mu\text{m}$  두께로 절단하였다. 조직 절편이 슬라이드에 완전히 밀착되도록 파라핀을 녹여 건조시킨 후, Oil red O로 염색하였다. 염색한 절편은 수세, 중화 및 탈수단계를 거쳐 광학현미경(Zeiss Axioskop, Carl Zeiss, Inc., Jena, Germany)으로 200배율에서 관찰하였다.

## 6. 지방세포의 크기 측정

지방조직을 관찰하기 위해 부고환 지방조직의 일부를 채취하여 10% formalin 용액에 고정시켰다. 간 조직과 동일하게 조직 절편으로 만들어 이를 슬라이드에 부착하여 건조시킨 후, Hematoxylin과 Eosin(H&E)로 염색하였다. 염색한 절편은 수세, 중화 및 탈수 단계를 거쳐 광학현미경으로 지방세포의 사진을 찍은 다음, Image J(NIH, Bethesda, MD, USA)를 사용해 면적을 측정하여 각 군별로 비교하였다.



## 7. Reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR)

비만관련인자의 mRNA 발현은 역전사 중합효소 연쇄반응(Reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)으로 측정하였다. RNease mini kit(QIAGEN, Maryland, USA)를 이용하여 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA 1 µg에 Oligo dT primer 1 µL(Invitrogen, USA)와 DEPC를 첨가하고 20 µL으로 혼합하여 Accupower RT-premix(Bioneer, Seoul, Korea)에 넣어 cDNA를 합성하였다. 만들어진 cDNA에 각각 FAS(Fatty Acid Synthase), ACC(Acetyl-CoA Carboxylase), LPL(Low Density Llipoprotein), PPARα(Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-α), C/EBPα (CCAAT/Enhancer Binding Protein-α), HSL(Hormone-Sensitive Lipase), SREBP-1c(Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c)와 PCR-premix(Bioneer, Seoul, Korea)을 혼합하여 Thermal cycler(T100M, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)을 통해 증폭시켰다. 각 유전자의 primer sequence는 Table 3에 나타내었다. PCR 생성물은 1.5% agarose gel을 통해 전기영동 하여 UV transilluminator(WUV-L20, Daihan, Scientific, Incheon, Korea)에서 확인하였다. Internal control은 housekeeping gene인 β-actin을 사용하여 유전자 발현 정도를 비교하였다.

**Table 3. Experimental sequences of the primers used for RT-PCR**

<b>Genes</b>	<b>Forward primer (5' to 3')</b>	<b>Reverse primer (5' to 3')</b>
C/EBP $\alpha$	CAAGAACAGCAACGAGTACCG	GTCACTGGTCAACTCCAGCAC
SREBP-1c	TGTTGGCATCCTGCTATCTG	AGGGAAAGCTTTGGGGTCTA
PPAR $\alpha$	TTTTCAAGGGTGCCAGTTTC	AATCCTTGGCCCTCTGAGAT
FAS	GCTGCGGAAACTTCAGGAAAT	AGAGACGTGTCACTCCTGGACTT
ACC	GCCTCTTCCTGACAAACGAG	TAAGGACTGTGCCTGGAACC
LPL	ATCCATGGATGGACGGTAAC	CTGGATCCCAATACTTCGAC
$\beta$ -actin	TGTCCACCTTCCAGCAGATGT	AGCTCAGTAACAGTCCGCCTAGA

## 8. 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 SPSS(Statistical Package for Social Science)를 이용해서 통계 분석하였다. 실험군당 평균±표준오차로 표시하였고, 통계적 유의성 검정은 일원배치 분산분석(one-way analysis for variance)을 한 후  $p < 0.05$  수준에서 Tukey's test를 이용하여 상호 검정하였다.

## 제3장 실험결과 및 고찰

### 제1절 이화학적 성분 및 항산화효과

#### 1. 이화학적 성분분석

##### 가. pH, 총 산도 및 당도

수세미오이 식초의 pH, 총 산도 및 당도를 분석한 결과는 Table 4와 같다. 수세미오이 식초의 pH를 측정한 결과  $\text{pH } 2.92 \pm 0.03$ 으로 나타났다. 이는 Jeong 등(53)이 시판 현미식초의 pH가 2.55 ~ 3.34의 범위로 보고하였고, Chung 등(54)이 한국, 중국, 일본산 시판 천연발효 쌀식초의 pH가 2.87 ~ 3.40의 범위로 보고하였고, Kwon 등(55)이 감식초의 pH가 2.85 ~ 3.22의 범위, 포도식초의 pH가 2.93 ~ 3.24의 범위로 보고하여 본 연구와 비슷한 결과를 보였다.

수세미오이 식초의 총 산도를 측정한 결과 4.03%로 나타났다. 식품공전의 품질규격(56)에 의하면, 발효식초의 총 산도는 초산으로서 4.0 ~ 20.0%(감식초의 경우 2.6% 이상)로 범위를 규정하고 있다. 시료의 총산 함량은 제품에 표기된 함량 수준이었고, 국내 품질규격에도 알맞은 것으로 확인되었다. Woo 등(57)이 정치배양 및 시판 현미식초의 총 산도가 4.51 ~ 6.39%의 범위로 보고하였고, Na 등(58)이 시판되고 있는 다양한 발효식초의 총 산도가 4.38 ~ 6.57%의 범위로 보고하여 본 연구와 유사하였다. 식초는 산도에 의해 저산도는 4 ~ 5%로, 일반산도는 6 ~ 7%로, 2배산도는 12 ~ 14%로, 3배 산도는 18 ~ 19%로 구분한다. 저산도 식초는 산도가 낮고 맛이 부드러워 풍미를 살려주며, 고산도 식초는 식초를 대량 사용하는 공장이나 요식업소에서 운송비 및 저장 공간 절감 등의 이유로 많이 소비되어지고 있다(59).

수세미오이 식초의 당도를 측정한 결과 19.60 °Brix로 나타났다. 이는 Park 등(60)이 복분자 식초의 당도가 8.4 °Brix로 보고하였고, Shin(61)이 고추냉이 잎 식초의 당도가 14 °Brix로 보고하였으며, Woo 등(62)이 현미식초의 당도가 5.33 °Brix, 잡곡식초의 당도가 7.00 °Brix로 보고하여 본 연구와 차이를 보였다.

**Table 4. Physicochemical characteristics of *L. cylindrica* vinegar**

<i>L. cylindrica</i> vinegar	
pH	2.92±0.03 <sup>1)</sup>
Total acidity (%)	4.03±0.03
Brix (°)	19.60±0.00

<sup>1)</sup>All values are expressed as mean±SE of experiments performed in triplicate.

## 나. 총당, 환원당 및 비환원당

식초는 곡류를 당화하거나 과일 등의 당류가 함유된 용액을 발효시켜 얻으므로 각종 당류가 함유되어 있으며, 식초 제조 시 원료의 당분은 발효과정 중 초산균의 작용으로 거의 산으로 변화되어 초산발효 후의 당 함량을 미량이지만, 식초의 감미와 산미의 조화에 관여한다(63).

수세미오이 식초의 총당, 환원당 및 비환원당 함량을 분석한 결과는 Table 5와 같다. 수세미오이 식초의 총당을 측정된 결과 135.50 mg/mL로 나타났다. 이는 Lee 등(64)이 으름열매 식초의 총당이 4.48 ~ 11.37 mg/mL의 범위로 보고하였고, Kwon 등(55)이 시판 감식초의 총당이 2.96 ~ 8.30 mg/mL의 범위로 보고하여 본 연구의 결과가 높게 나타났다. 수세미오이 식초의 환원당과 비환원당을 측정된 결과 각각 7.58 mg/mL와 127.92 mg/mL로 나타났다. 이는 Jeong 등(37)이 시판 및 속성 감식초의 환원당을 측정된 결과 1.88 ~ 6.88 mg/mL로 나타나 본 연구와 유사하였다. Kim 등(65)은 주정 무첨가 발효 현미식초의 경우 원료인 현미 및 기타 당질원료들이 알코올 발효 후 초산 발효에 의해 당질이 소비되어 환원당 함량이 낮게 나타났다고 보고하여 수세미오이 식초도 비슷한 경향을 보인 것으로 생각된다.

**Table 5. Total sugar, reducing sugar and non-reducing sugar contents of *L. cylindrica* vinegar**

(mg/mL)

<i>L. cylindrica</i> vinegar	
Total sugar	135.50±3.19 <sup>1)</sup>
Reducing sugar	7.58±0.24
Non-reducing sugar	127.92±3.06

<sup>1)</sup>All values are expressed as mean±SE of experiments performed in triplicate.

## 다. 유기산

유기산은 식초의 산미에 관여하여 품질에 지대한 영향을 미치며, citric acid, succinic acid, tartaric acid 등 다양한 유기산이 존재하는 것으로 알려져 있다(66). 그 중 양조과정에서 초산균의 작용에 의해 생성되는 acetic acid는 식초의 주성분으로 발효 공정 관리의 지침이 된다(63).

수세미오이 식초의 유기산 함량을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 총 6종의 유기산이 검출되었다. 본 연구에서는 주성분으로 acetic acid가 31387.22 mg/L로 가장 많이 검출되었다. Lee 등(67)은 수세미오이의 유기산 중 acetic acid 함량이 25.77 mg%로 가장 높게 나타났다고 보고하였고, Jeong 등(68)이 포도식초에 함유된 유기산 중 acetic acid 함량이 가장 높다고 보고하였으며, Yi 등(69)이 감귤 미숙과 과즙 첨가비에 따른 식초의 유기산 함량 중 acetic acid가 다량 검출되었다고 보고하여 본 연구의 결과가 유사하였다. A/T 값은 전체 유기산에 대한 acetic acid의 비율을 나타낸 것으로(54), 수세미오이 식초에서는 A/T 값이 0.76으로 나타나 acetic acid를 제외한 다른 유기산의 함량이 비교적 높음을 의미하였다. Jo 등(70)은 A/T값이 저산도 식초는 0.88, 일반산도 및 고산도 식초는 0.95 ~ 0.98의 범위라고 보고하여 본 연구의 수세미오이 식초는 저산도 식초에 해당하는 것으로 생각된다.

그 다음으로 lactic acid, malic acid가 각각 3992.32, 3818.26 mg/L가 검출되었는데, Lee 등(67)은 수세미오이의 유기산 중 lactic acid는 분석되지 않았다고 보고하여 본 연구의 결과와 차이를 보였다. 이는 초산발효를 거칠 때 영양분이 불충분하게 공급되어 부산물로 lactic acid가 생성되었거나(71), 발효초기단계에서 젖산균이 생육하여 lactic acid가 생성되었을 것으로 사료된다(72).

식초의 유기산 종류 및 함량은 제품에 따라 차이를 나타내는데, 이는 원료의 함량, 발효 미생물의 종류 및 발효방법에 의한 것으로 보이며(53), citric acid, malic acid 및 succinic acid의 경우 원료의 성분이 식초에 그대로 이행되거나 발효 중의 부산물으로써 생성된 것으로 보인다(73).



**Table 6. Contents of total organic acids of *L. cylindrica* vinegar**

(mg/L)

<i>L. cylindrica</i> vinegar	
Citric acid	160.80±5.77 <sup>2)</sup>
Tartaric acid	1495.26±56.58
Malic acid	3818.26±110.27
Succinic acid	326.04±5.20
Lactic acid	3992.32±169.16
Formic acid	N.D.
Acetic acid	31387.22±467.65
Total	41179.90±584.86
A/T <sup>1)</sup>	0.76

<sup>1)</sup>Ratio of acetic acid compared to total organic acids.

<sup>2)</sup>All values are expressed as mean±SE of experiments performed in triplicate.

## 라. 유리 아미노산

식초의 아미노산은 원료의 종류, 재료 배합비, 초산균의 종류, 발효법 등에 의해 달라지며 대체로 약 20여종의 유리 아미노산이 검출되는 것으로 보고되고 있다(74,75). 그 종류에 의해 식초의 맛에 영향을 주며 품질도 달라진다고 알려져 있다(76). 또한 초산발효를 거치게 되면 전체 아미노산의 38 ~ 60%가 감소되며 숙성 기간에도 약간 감소하는 것으로 보고되어 있다(77).

수세미오이 식초의 유리 아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 7과 같다. 유리 아미노산 성분은 총 22종이었으며, 총 함량은 16.63 mg%로 나타났다. 필수 아미노산은 총 8종이 검출되어 약 29%의 비율로 확인되었고, 비필수 아미노산은 총 14종이 검출되어 71%의 비율로 확인되었다. 주요 아미노산으로는  $\gamma$ -amino-n-butyric acid(GABA), glutamic acid, alanine, aspartic acid, valine이 검출되었다. 이는 Lee 등(67)이 수세미오이의 주요 유리 아미노산으로  $\beta$ -aminoisobutyric acid, valine, alanine, aspartic acid, phosphoethanolamine 등이 검출되었다는 보고하여 본 연구의 결과와 유사하였다.

수세미오이 식초의 유리 아미노산 중 함량이 가장 높게 나타난  $\gamma$ -amino-n-butyric acid(GABA)는 뇌세포를 구성하는 성분으로 포유류의 중추신경계에 작용하는 억제성 신경전달물질로 알려져 있다(78). GABA는 성인병을 예방하고 두뇌활동을 활발하게 하여 집중력과 기억력을 높여 학습능력 향상에 도움을 줄 뿐만 아니라 대장암 세포의 전이와 증식억제에도 효과가 있다고 보고(79)되어 있어 기능성식초를 제조할 경우 수세미오이 식초가 좋은 대안이 될 것으로 생각된다.

**Table 7. Contents of free amino acids of *L. cylindrica* vinegar**

(mg%)

		<i>L. cylindrica</i> vinegar
Essential		
	Valine	1.03±0.01 <sup>3)</sup>
	Methionine	0.20±0.01
	Isoleucine	0.56±0.03
	Leucine	0.76±0.09
	Threonine	0.42±0.04
	Phenylalanine	0.33±0.00
	Histidine	0.55±0.07
	Lysine	0.96±0.08
Total EAA <sup>1)</sup>		4.81±0.10
Non-essential		
	Aspartic acid	1.44±0.10
	Serine	0.55±0.13
	Glutamic acid	1.58±0.15
	Proline	0.86±0.07
	Glycine	0.53±0.05
	Alanine	1.53±0.05
	Phosphoserine	0.58±0.14
	Taurine	0.74±0.78
	Cysthathionine	0.35±0.06
	Tyrosine	0.41±0.14
	γ-amino-n-butyric acid	2.43±0.12
	Ornithine	0.58±0.07
	Ethanolamine	0.13±0.03
	Arginine	0.11±0.01
Total AA <sup>2)</sup>		11.82±0.03
EAA/AA (%)		40.69

<sup>1)</sup>Total EAA: Total essential amino acid.

<sup>2)</sup>Total AA: Total amino acid.

<sup>3)</sup>All values are expressed as mean±SE of experiments performed in triplicate.

## 마. 무기질

수세미오이 식초의 무기질 함량을 분석한 결과는 Table 8과 같다. 수세미오이 식초의 무기성분 중 K와 Ca의 함량이 높게 나타났으며, 각각  $32.51 \pm 0.16$ ,  $4.12 \pm 0.12$  mg/L이 검출되었다. 가장 함량이 많은 K의 경우에는 전체 무기물 중 83%를 차지하고 있다. 이는 Park 등(21)이 수세미오이의 주요 무기성분으로 K, Ca, Mg가 검출되었다는 보고하여 본 연구의 결과와 유사하였다. 또한 Hong 등(80)은 오이 식초에서 K가 1,560.75 mg/L로 다량 검출되었다고 보고하였고, Sim 등(81)은 흑마늘의 첨가량을 달리한 식초의 무기성분 분석의 경우에도 모든 시료에서 K의 함량이 가장 높았다고 보고하였다. Jeong 등(37)은 식초의 주 무기성분은 K이며, 그 외의 성분은 식초 제조 시 원료 및 부재료의 차이에 의해 달라진다고 보고하였다. 수세미오이 식초의 경우 K, Ca, Mg 등의 알칼리성 원소를 많이 함유하고 있어 알칼리성 자연 식품으로서 사용가치가 높아질 것으로 사료된다.

한편, 수세미오이 식초에서는 초산과 작용하여 초산철을 형성해 식초의 색을 변색시킴으로써 가치를 저하시킬 가능성이 높은 Fe의 경우 미량으로 나타났다(82). 하지만 식초의 색은 원료의 배합비율에 의해서도 영향을 받을 수 있기 때문에(53) 이에 관해서는 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

Table 8. Contents of mineral of *L. cylindrica* vinegar

(mg/L)

<i>L. cylindrica</i> vinegar	
Ca	4.12±0.12 <sup>1)</sup>
K	32.51±0.16
Mg	2.49±0.24
Fe	0.11±0.02
Na	1.01±0.00
Mn	N.D.
Zn	N.D.
Total	39.23±0.70

<sup>1)</sup>All values are expressed as mean±SE of experiments performed in triplicate.

<sup>2)</sup>N.D. : Not Detected.

## 2. 수세미오이 식초의 항산화 효과

### 가. 총 polyphenol 함량

Polyphenol은 녹색식물의 광합성 시 생성된 탄수화물의 일부가 변화된 2차대사 화합물로서 주로 식물체 내에서 고유한 색을 나타내며 쓴맛, 떫은맛의 주체이다. 이는 단일성분이 아닌 식물 내 존재하는 여러 phenol화합물을 말하며, 한 가지 식물에 다양한 종류의 polyphenol이 함유되어 있다(83). Polyphenol 화합물은 활성산소에 의해 손상되는 DNA, 세포구성 단백질 및 효소를 보호하며(84), 수산기를 통한 수소공여, phenol고리구조의 공명안정화, 금속이온과의 킬레이트 형성 등으로 자유라디칼형성 및 지방과산화물을 막는 등의 항산화 활성을 나타낸다(85,86). 또한 체장 리파아제의 활성을 억제하여 지방 흡수를 감소시킴으로써 항비만 효과가 있다고 보고된 바 있다(87). 수세미오이의 과실에는 cinnamic acid 유도체와 flavonoid glycosides와 같은 phenol화합물로 인하여 항산화능이 높은 것으로 보고되었다(24,88).

수세미오이 식초의 총 polyphenol 함량을 분석한 결과는 Table 9와 같다. 수세미오이 식초의 총 polyphenol 함량은  $33.73 \pm 5.26 \mu\text{g TAE/mL}$ 로 나타났다. Yi 등(89)은 레몬그라스 식초의 경우  $586.6 \mu\text{g GAE/mL}$ 이 검출되었다고 보고하였고, Yi 등(69)은 감귤 미숙과 식초의 경우  $1,543.6 \mu\text{g GAE/mL}$ , 감귤 완숙과 식초의 경우  $230.9 \mu\text{g GAE/mL}$ 이 검출되었다고 보고하여 본 연구의 수세미오이 식초와 차이를 보였다. Lee 등(90)은 시판 식초들의 polyphenol 함량을 비교하였을 때 붉은 색을 가진 복분자, 오디 등의 식초에서는 높은 polyphenol 함량이 나타났지만, 매실, 레몬, 배, 사과, 현미 등의 식초에서는  $60 \text{ mg/100mL}$  이하의 비교적 낮은 polyphenol 함량을 나타냈다고 보고하여 붉은 색을 띄지 않는 수세미오이 식초 역시 낮은 polyphenol 함량이 나타난 것으로 사료된다. 또한 식초의 경우 초산발효 과정에서 phenol분해 및 변형으로 인해 polyphenol 함량이 감소한다고 보고되어 있어 수세미오이 식초도 유사한 경향을 나타낸 것으로 생각된다(91).

## 나. 총 flavonoid 함량

Phytochemical은 식물에서 유래된 화합물으로써 일반적으로 영양소로 작용하지는 않지만 광범위한 생리활성을 나타내는 물질이며, 그 종류가 매우 다양하고 flavonoid류도 이에 포함된다(89). Flavonoid는 노란색 또는 담황색을 나타내는 페놀계 화합물의 총칭으로 anthocyanidin, flavonol, flavone 및 flavanone 등이 구성되어 있으며, 식물의 잎, 꽃, 과일, 줄기 및 뿌리 등 거의 모든 부위에 함유되어있다(91). 식물에는 6000여종 이상의 flavonoid가 존재한다고 알려져 있으며, 이들은 항균, 항바이러스, 면역증강, 순환기질환 예방 등 다양한 기능성 생리활성 효과를 나타낸다(93~95). 또한 체장성 인지질 분해효소나 중성지방 분해효소의 활성을 억제하여 비만을 억제할 수 있다고 보고된 바 있다(96). 총 flavonoid 함량 분석은 생체 중 지질, 단백질, 핵산 등의 산화를 방지할 수 있는 관련 성분들의 함량을 간단하면서 신속하게 측정하는 방법으로, 과일과 채소 및 그 가공품의 건강 기능적 품질 성분을 검사하는 방법으로 많이 이용되고 있다(97).

수세미오이 식초의 총 flavonoid 함량을 분석한 결과는 Table 9와 같다. 수세미오이 식초의 flavonoid 함량은  $4.10 \pm 0.04 \mu\text{g RE/mL}$ 로 나타났다. Yi 등(69)은 감귤 미숙과 식초의 경우  $1,004.7 \mu\text{g QE/mL}$ , 감귤 완숙과 식초의 경우  $175.1 \mu\text{g QE/mL}$ 가 검출되었다고 보고하여 본 연구의 수세미오이 식초와 차이를 보였다. Lee 등(90)은 시판 식초들의 flavonoid 함량을 비교하였을 때 석류, 백년초, 블루베리 식초 등은  $10 \text{ mg/100mL}$ , 그 외의 식초들은  $5 \text{ mg/100mL}$  이하의 상당히 낮은 flavonoid 함량이 나타났다고 보고하여 본 연구의 결과와 유사한 경향이었다. 이는 식초의 원료, 함량 및 제조방법, 발효 중 성분변화의 차이로 사료된다.

**Table 9. Contents of total polyphenol and total flavonoid of *L. cylindrica* vinegar**

<i>L. cylindrica</i> vinegar	
Total polyphenol ( $\mu\text{g TAE}^1/\text{mL}$ )	33.73 $\pm$ 5.26 <sup>3)</sup>
Total flavonoid ( $\mu\text{g RE}^2/\text{mL}$ )	4.10 $\pm$ 0.04

<sup>1)</sup>TAE: Tannic acid equivalent.

<sup>2)</sup>RE: Rutin equivalent.

<sup>3)</sup>All values are expressed as mean $\pm$ SE of experiments performed in triplicate.



## 다. DPPH radical 소거활성

DPPH radical 소거활성 측정에 사용되는 DPPH는 비교적 안정한 free radical로써 ascorbic acid 및 tocopherol, polyhydroxy 방향족화합물, 방향족 아민류에 의해 전자나 수소를 받아 환원되어짐에 따라 짙은 자색이 탈색되어지는 원리를 이용한 것이며, 체내에서 발생하는 불안정하고 유해한 유리기를 안정화시키는 역할을 한다. 또한 특정물질이 생체의 생리작용 및 산화작용에 의해 발생하는 hydroxyl radical, superoxide radical 등을 제거하는 항산화 능력을 측정할 때 사용되며 높은 값일수록 항산화능이 우수한 것으로 판단한다(98,99).

수세미오이 식초의 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과는 Table 10과 같다. 수세미오이 식초는 125 ~ 1,000  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 의 농도에서 10.35 ~ 20.96%의 소거활성을 나타내었다. 양성 대조구로 사용된 BHT는 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 74.39%의 활성을 보였다. Lee 등(32)은 수세미오이 에탄올 추출물의 경우 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는 90.1%, 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는 92.7%의 소거활성이

나타났다고 보고하였고, Jo 등(100)은 시판 고산도 식초 중 사과농축액을 원료로 한 2배 식초의 경우 36.37%의 소거활성을 나타내었다고 보고하여 본 연구의 수세미오이 식초보다 높은 활성을 나타냈다. Hong 등(101)은 복분자 식초의 경우 65%의 소거활성을 보였는데, 이는 총 polyphenol 및 총 flavonoid의 함량이 높게 나타나 DPPH radical 소거활성이 우수하다고 보고하였다. 이에 따르면 본 실험의 수세미오이 식초의 경우 총 polyphenol 및 총 flavonoid 함량이 높지 않아 DPPH radical의 소거활성도 높지 않은 것으로 생각된다.

**Table 10. DPPH radical scavenging activity of *L. cylindrica* vinegar**

	Concentration ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	DPPH radical scavenging activity (%)
<i>L. cylindrica</i> vinegar	125	10.35 $\pm$ 0.12 <sup>2)</sup>
	250	13.48 $\pm$ 0.77
	500	18.22 $\pm$ 0.19
	1000	20.96 $\pm$ 0.54
BHT <sup>1)</sup> (1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		74.39 $\pm$ 0.15

<sup>1)</sup>BHT: Butylated Hydroxy Toluene.

<sup>2)</sup>All values are expressed as mean $\pm$ SE of experiments performed in triplicate.

## 라. ABTS radical 소거활성

ABTS radical 소거활성은 potassium persulfate와의 반응으로 생성된 ABTS<sup>+</sup> free radical이 천연원료 내의 항산화 물질로부터 수소를 받아 안정한 물질로 변화되면서 라디칼 특유의 푸른색이 탈색되어지는 원리를 이용하여 항산화활성을 측정한다. DPPH radical 소거활성과 마찬가지로 값이 높을수록 항산화능이 뛰어난 것으로 판단한다(102).

수세미오이 식초의 ABTS radical 소거활성을 측정한 결과는 Table 11과 같다. 수세미오이 식초는 125 ~ 1,000  $\mu\text{L}/\text{mL}$ 의 농도에서 19.67 ~ 78.74%의 소거활성을 나타내었다. 양성 대조구로 사용된 BHT는 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 96.88%의 활성을 보였다. Hong(103)은 토마토 식초의 발효 종료액의 경우 51%의 소거활성을 나타냈다고 보고하였고, Yi 등(69)은 감귤 미숙과 식초의 경우 62.0%의 소거활성을 보였다고 보고하였으며, Hong 등(80)은 오이식초의 경우 79.29%의 소거활성을 나타냈다고 보고하여 본 연구의 수세미오이 식초와 유사한 활성을 보였다.

수세미오이 식초의 ABTS radical 소거활성이 DPPH radical 소거활성보다 높게 나타났는데, 이는 DPPH와 ABTS의 경우 같은 라디칼을 이루는 물질이지만 DPPH는 자유라디칼, ABTS는 양이온 라디칼을 형성하므로 결합하는 페놀의 종류가 다르고 (104), ABTS 방법이 DPPH 방법보다 수소 공여 항산화제와 연쇄 절단형 항산화제 모두를 측정할 수 있으며(105), ABTS는 친수성 물질과 소수성 물질의 항산화력 측정이 가능하므로(59) 더 민감하게 나타나 높은 소거활성을 나타낸 것으로 사료된다.

**Table 11. ABTS radical scavenging activity of *L. cylindrica* vinegar**

	Concentration ( $\mu\text{L/mL}$ )	ABTS radical scavenging activity (%)
<i>L. cylindrica</i> vinegar	125	19.67 $\pm$ 0.41 <sup>2)</sup>
	250	37.03 $\pm$ 0.68
	500	56.70 $\pm$ 0.10
	1000	78.74 $\pm$ 0.34
BHT <sup>1)</sup> (1000 $\mu\text{g/mL}$ )		96.88 $\pm$ 0.61

<sup>1)</sup>BHT: Butylated Hydroxy Toluene.

<sup>2)</sup>All values are expressed as mean $\pm$ SE of experiments performed in triplicate.

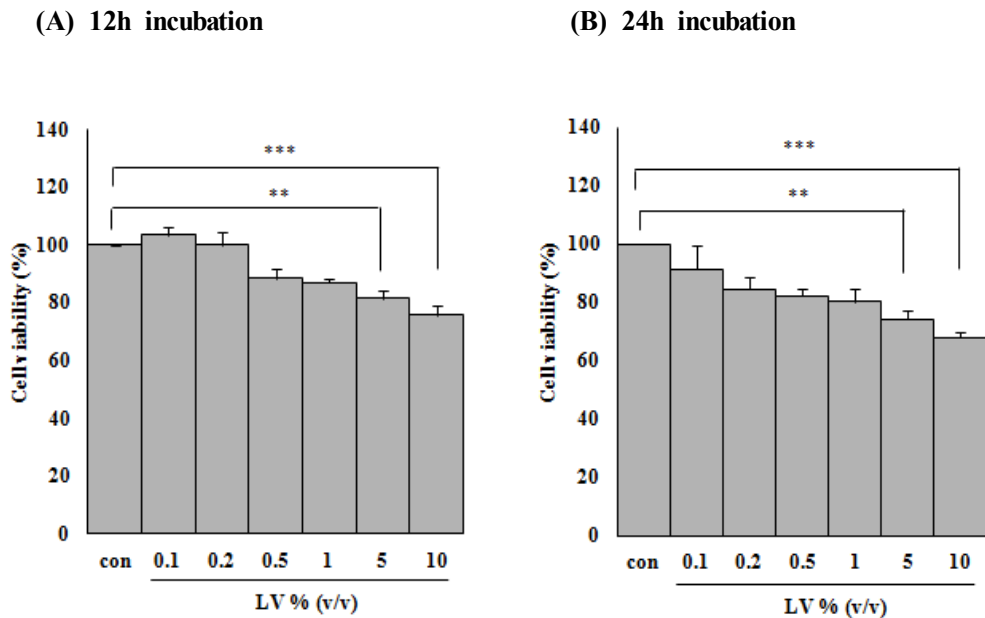
## 제2절 *In vitro*에서의 항비만 효과

### 1. 3T3-L1 세포독성평가

수세미오이 식초에 대한 preadipocyte의 세포 생존력을 측정하기 위해 MTT assay를 실시하였다. 일반적으로 세포의 최적 성장조건은 pH 6.9 ~ 7.8의 범위이기 때문에 수세미오이 식초의 pH를 10N NaOH를 사용하여 pH 7.0으로 조정하고 3T3-L1 preadipocytes에 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5 및 10%의 농도로 처리하였다.

3T3-L1 preadipocytes에 수세미오이 식초를 0.1 ~ 10%의 농도로 12시간 동안 처리하였을 때 세포 생존율을 측정한 결과는 Fig. 4(A)에 나타내었다. 세포만 배양한 대조구(control)의 생존율을 100%로 기준했을 때, 수세미오이 식초 0.1 ~ 5%의 범위에서는 80% 이상의 생존율이 확인되었기 때문에 세포 성장에는 큰 영향을 미치지 않았다.

3T3-L1 preadipocytes에 수세미오이 식초를 0.1 ~ 10%의 농도로 24시간 동안 처리하였을 때 세포 생존율을 측정한 결과는 Fig. 4(B)에 나타내었다. 대조구(control)에 비해 농도 의존적으로 감소하는 경향이었으며 5, 10%의 농도에서는 80% 미만의 생존율을 보였다. 따라서 3T3-L1 preadipocytes의 성장에 영향을 주지 않으면서 세포 독성을 나타내지 않는 농도인 0.2, 0.5 및 1%에서 지방세포분화에 대한 억제 효과 평가를 수행하였다.



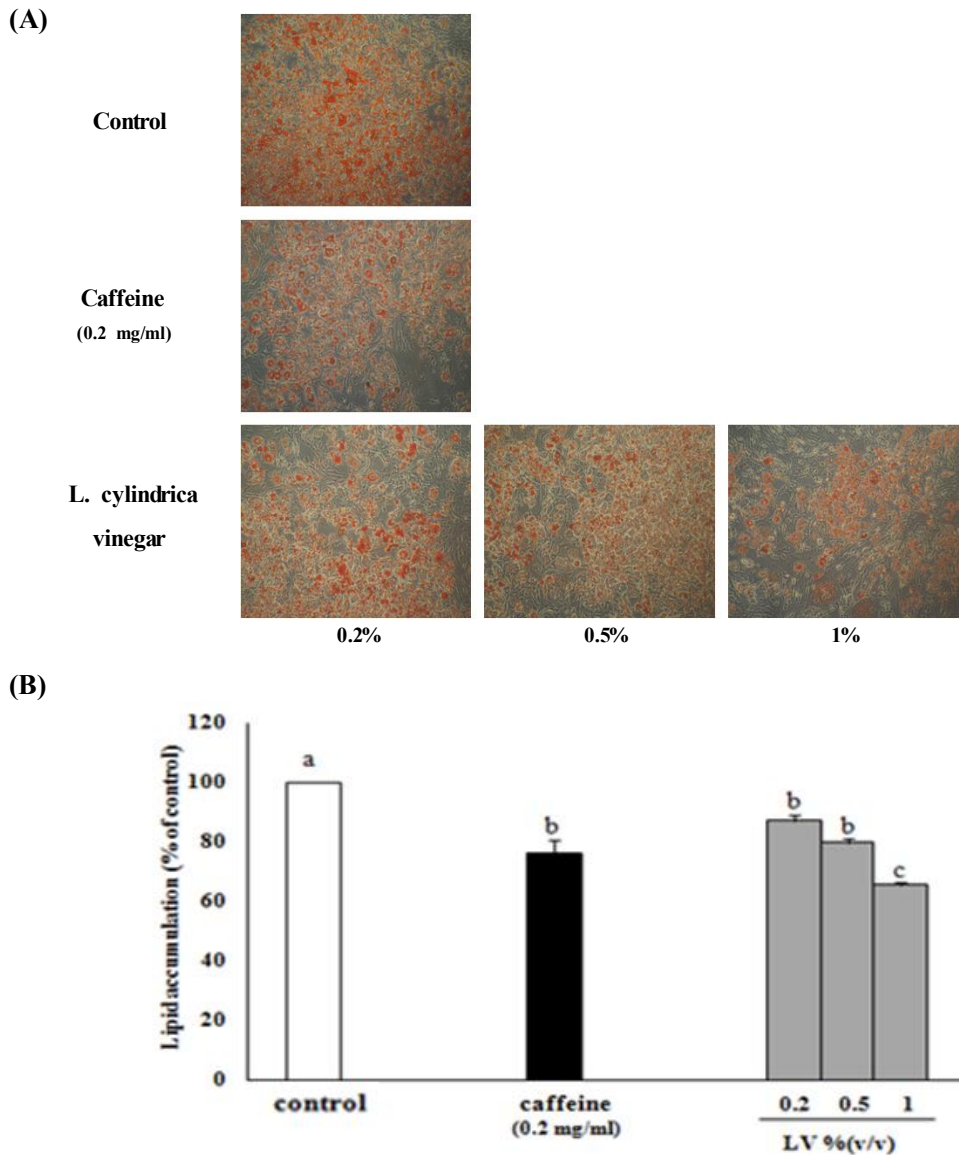
**Fig. 4. Effects of *L. cylindrica* vinegar on cell viability of 3T3-L1 preadipocytes.** 3T3-L1 preadipocytes were treated with various concentrations (0.1, 0.2, 0.5, 1, 5 and 10%) of LV for 12h (A) and 24h (B) incubation. Cell viability was calculated using MTT assay. Values are expressed as the mean $\pm$ SE of three independent experiments. Significant differences from the control by Student's t-test at \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

## 2. 3T3-L1 세포 내 중성지방(Triglyceride) 농도에 미치는 영향

수세미오이 식초에 의한 3T3-L1 지방세포의 분화 억제 효능을 평가하기 위해 지방전구세포 분화 유도과 함께 수세미오이 식초를 독성이 나타나지 않는 범위(0.2, 0.5 및 1%)로 처리하여 중성지방 함량을 측정하였다. 지방세포의 분화 중 생성되어지는 lipid droplet은 인지질 단분자층으로 둘러싸여 있는 비활성 소낭으로, 소포체의 이중막 사이에 중성지방과 콜레스테롤 에스터가 축적되어 만들어진다(106). Oil Red O는 중성지방 및 콜레스테롤 에스터만 염색시키고 그 외 인지질이나 유리지방산 등은 염색시키지 않는다. 지방분화로 인하여 lipid droplet이 생성된 부분은 중성지방이기 때문에 염색이 가능하여 지방 축적 정도를 확인 할 수 있다(107).

Oil Red O에 의한 지방축적 정도를 관찰한 결과는 Fig. 5(A)에 나타내었다. 지방세포 분화억제제로 잘 알려진 카페인을 양성 대조군으로 사용하였다(42). 그 결과 수세미오이 식초를 처리하지 않고 지방분화를 유도한 대조구(control)에서는 lipid droplet이 다량 관찰되었으나, 수세미오이 식초를 처리하였을 경우에는 대조구(control)에 비해 농도 의존적으로 지방 축적이 억제됨을 확인하였다.

세포 내 중성지방 농도를 측정한 결과는 Fig. 5(B)에 나타내었다. 세포만을 배양한 대조구(control)의 지질 축적 정도를 100%로 하였을 때, 수세미오이 식초의 투여량이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 특히 1%의 농도에서는 항비만 효과가 우수한 것으로 알려진 카페인보다 지질 축적이 억제된 것을 확인할 수 있었다. Cha 등(26)의 연구에서도 수세미오이 메탄올 추출물이 3T3-L1 세포에서 지방축적이 억제되고 특히 지방구 내의 중성지방 함량이 감소되는 결과를 도출해낸 바 있다.



**Fig. 5. Inhibitory effects of *L. cylindrica* vinegar on Oil Red O staining and lipid accumulation in differentiated 3T3-L1 adipocytes.**

(A) Intercellular triglycerides were stained with Oil Red O and observed 200x magnification. (B) Quantified by measuring the lipid accumulation using a ELISA microplate reader. Values are expressed as the mean±SE of three independent experiments. <sup>a-c</sup>Different letters above the bars indicated significant differences by Tukey's test by  $p < 0.05$ .



### 제3절 *In vivo*에서 지질대사 개선 및 항비만 효능

#### 1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

고지방 식이와 수세미오이 식초의 투여 수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 비교한 결과는 Fig. 6, Table 12와 같다. 전 실험 기간 동안 모든 실험군에서 폐사한 동물은 관찰되지 않았으며, 시료로 기인된 변화로 보이는 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았다.

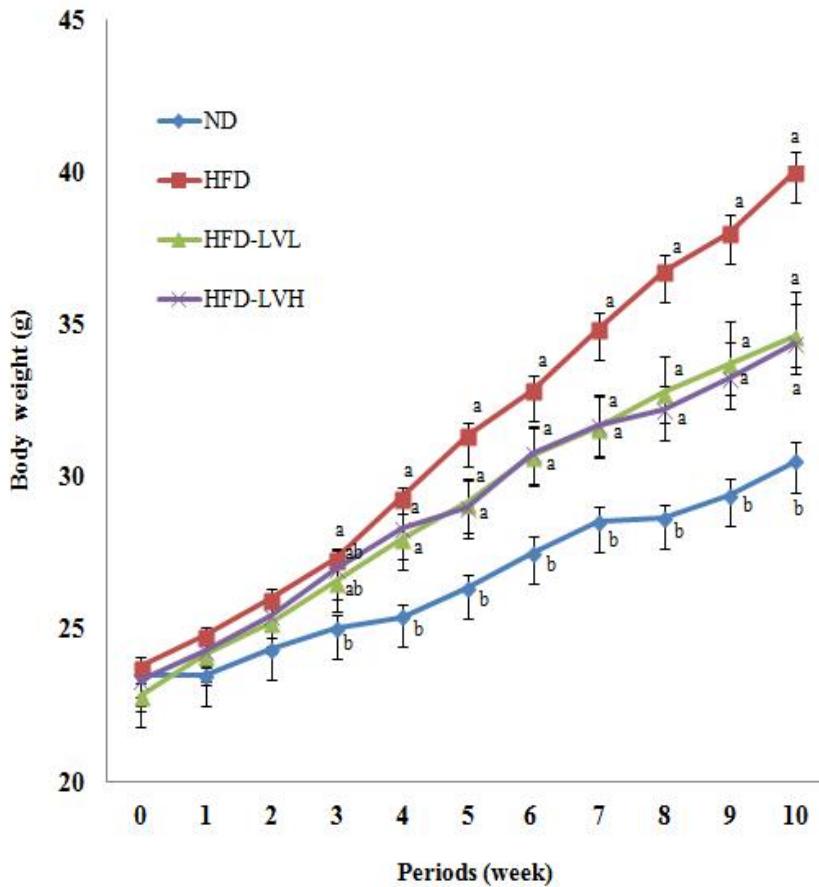
실험 시작 시의 체중은 실험군 사이에 유의적 차이가 보이지 않았으나 10주간 고지방식이를 급여한 군들(HFD, HFD-LVL, HFD-LVH)은 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 체중이 증가하여 비만이 유도되었음을 확인하였다. 실험 종료 시의 최종체중은 정상식이군(ND)이 고지방식이군(HFD)과 비교하여 23.75%가 낮았으며, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)과 비교하여 각각 13.50%, 14.12% 감소하였다. 마우스의 1일 체중증가량은 고지방식이군(HFD)군이 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 증가하였으며, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 유의적으로 감소하였다. 이러한 결과는 윗식초를 12주간 고지방식이와 함께 흰쥐에게 급여하였을 때, 윗식초 음용군이 고지방식이군에 비해 체중증가량이 감소하는 경향을 보였다는 보고(108)와 산사발효초를 6주간 고지방식이와 함께 흰쥐에게 급여하였을 때, 산사발효초의 첨가수준에 따라 농도 의존적으로 체중이 감소하였다는 보고(109)와 유사하여 체중감소효과를 나타낸 것으로 보인다.

식이섭취량은 정상식이군(ND)이 가장 높게 나타났고, 고지방식이를 급여한 군들(HFD, HFD-LVL, HFD-LVH)은 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 감소하였다. 하지만 수세미오이 식초의 투여 수준에 따른 식이섭취량의 차이는 보이지 않았다. 이는 식이 내 지방이 열량 밀도가 높아 포만감을 주기 때문에 식이섭취량을 감소시킨 것으로 보인다(110,111).

식이효율은 에너지 밀도가 높은 고지방식이군(HFD)이 에너지 밀도가 낮은 정상식이군(ND)에 비해 유의하게 증가되었으며, 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 감소하였지만 유의한 차이는 보이지 않았

다.

본 연구 결과 고지방식으로 비만이 유도된 마우스에서 수세미오이 식초의 투여로 인해 체중증가량이 감소되었기 때문에 수세미오이 식초는 항비만 효과가 있을 것으로 생각된다. 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)의 경우 식이효율이 유의한 차이는 아니지만 고지방식이군(HFD)에 비해 점차 감소하는 경향을 보여 수세미오이 식초의 투여 수준이 높아짐에 따른 체중감소효과를 보일 것으로 판단된다. 이는 수세미오이 식초에 함유된 무기질, 유기산, polyphenol, flavonoid 등의 생리활성 물질들이 지질대사에 작용하여 체중감소를 유도한 것으로 보이며 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.



**Fig. 6. Effects of *L. cylindrica* vinegar on body weight changes in mice fed a HFD.**

Values are mean±SE of 10 mice per each group. <sup>a-b</sup>Different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test. ND: normal diet, HFD: high-fat diet, HFD-LVL: high-fat diet + LV 1.0 mL/kg/day, HFD-LVH: high-fat diet + LV 2.0 mL/kg/day.

**Table 12. Effects of *L. cylindrica* vinegar on body weight gain, food intake and food efficiency ratio in mice fed a HFD**

Groups <sup>1)</sup>	Initial	Final	Body weight		Food intake (g/day)	FER <sup>2)</sup>
	body weight (g)	body weight (g)	gain			
			(g)	(g/day)		
ND	23.50±0.26 <sup>3)NS4)</sup>	30.50±0.73 <sup>c</sup>	7.00±0.74 <sup>c</sup>	0.10±0.01 <sup>c</sup>	2.81±0.10 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>b</sup>
HFD	23.75±0.38	40.00±0.68 <sup>a</sup>	15.20±0.62 <sup>a</sup>	0.22±0.01 <sup>a</sup>	2.25±0.10 <sup>b</sup>	0.09±0.00 <sup>a</sup>
HFD-LVL	22.80±0.42	34.60±1.45 <sup>b</sup>	11.80±1.16 <sup>b</sup>	0.17±0.02 <sup>b</sup>	2.22±0.12 <sup>b</sup>	0.08±0.02 <sup>a</sup>
HFD-LVH	23.30±0.26	34.35±1.32 <sup>b</sup>	11.05±1.13 <sup>b</sup>	0.16±0.02 <sup>b</sup>	2.20±0.09 <sup>b</sup>	0.06±0.01 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 1.

<sup>2)</sup>Values FER(food efficiency ratio) : total weight gain/total food intake.

<sup>3)</sup>Values are mean±S.E. of 10 mice per each group. Values with different superscripts in the same column are significantly different(p<0.05) between groups by Tukey's test.

<sup>4)</sup>NS: not significantly different among groups.

## 2. 간 및 지방조직의 무게

고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 체중 당 간 및 지방조직의 무게를 비교한 결과는 Fig. 7, Table 13과 같다.

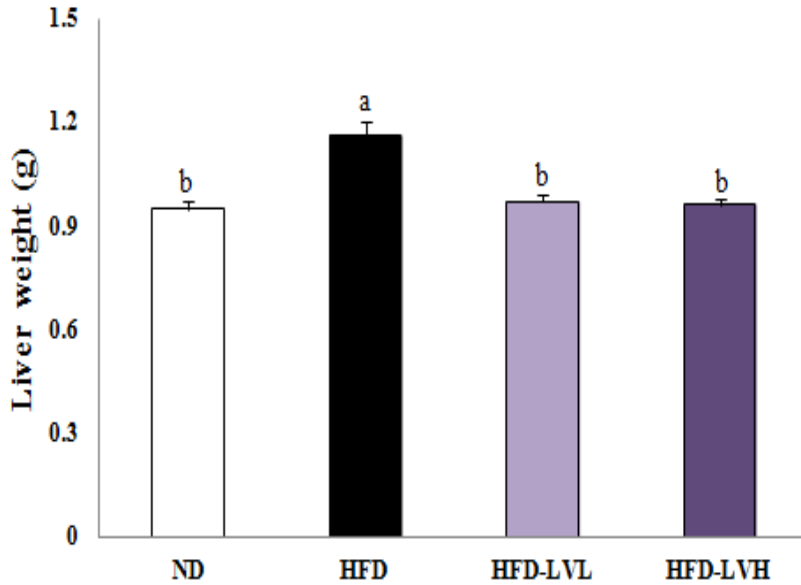
간 조직의 무게는 Fig. 7에서와 같이 고지방식이군(HFD)이 정상식이군(ND)에 비하여 유의적으로 증가하였다. 고지방식을 지속적으로 섭취하게 되면 간 조직에 유입된 콜레스테롤의 배출을 방해하고 조직 내에 축적을 유인함으로써 지방간 및 간 비대를 일으켜 간 중량이 증가된다는 보고(112)와 일치하였다. 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 유의하게 감소하여 정상식이군(ND)과 유사한 수준이었다. 섬애약쑥 식초와 맥아 식초를 고지방-고콜레스테롤 식이와 함께 흰쥐에 4주간 투여한 결과, 간 조직의 무게가 정상군보다 섬애약쑥 식초 투여군은 1.58배, 맥아 식초 투여군은 1.60배 증가하였다고 보고(113)하여 본 연구의 결과와 차이를 보였다.

일반적으로 비만은 체중의 증가에 비해 체지방의 증가, 특히 복부 또는 내장지방의 증가가 건강의 위해요인으로 더 영향을 많이 미친다고 보고되고 있다(114,115). 지방조직은 구조 및 기능에 의해 백색지방과 갈색지방으로 나뉘는데, 갈색지방은 미토콘드리아의 양이 많아 에너지를 산화시켜 열로 방출함으로써 체온 유지 및 에너지 항상성 등의 기능을 하는 반면(116), 백색지방은 남은 에너지를 중성지방으로 저장하는 역할을 하며 마른 사람들에 비해 비만환자들에게 더 많이 축적되어 비만 합병증의 위험이 증가시킨다(117). 그로 인해 본 연구에서 백색지방 조직에 해당하는 부고환지방, 장간막지방, 등지방 및 신장주위지방 조직의 무게를 분석하였다.

부고환지방, 장간막지방, 등지방, 신장주위지방 및 총 지방조직의 무게를 분석한 결과 Table 13에서와 같이 고지방식이군(HFD)이 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 농도 의존적이지 않지만 고지방식이군(HFD)에 비하여 유의적으로 감소하였다. 수경채배 인삼 식초를 고지방식이와 함께 마우스에 8주간 투여한 결과, 복강 내에 위치한 주요 장기를 둘러싸고 있는 지방의 무게가 수경채배 인삼식초 투여군은 고지방식이군과 비교하여 85.5%로 유의하게 감소효과를 나타냈다고 보고(118)하여 본 실험의 결과와 비슷한 경향이였다.

본 연구결과 수세미오이 식초의 투여로 인해 고지방식이로 증가된 간 및 지방조직

의 무게가 감소하는 경향이 관찰되었다. 따라서 수세미오이 식초로 인해 간 조직 내 지방 축적이 억제되어 지방간의 위험률을 낮추고, 체내 지방대사에 관여하여 지방조직 내 지방축적을 감소시킴으로써 대사성 질환 예방 및 복부비만 억제효과가 있을 것으로 생각된다.



**Fig. 7. Effects of *L. cylindrica* vinegar on liver weight in mice fed a HFD.**

Abbreviations: See the legend of Table 1. Values are mean±S.E. of 10 mice per each group. Values with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.

**Table 13. Effects of *L. cylindrica* vinegar on adipose tissues weight in mice fed a HFD** (g)

Groups <sup>1)</sup>	Epididymal AT	Mesenteric AT	Retroperitoneal AT	Perinental AT	Total AT
ND	0.54±0.03 <sup>2)c3)</sup>	0.25±0.02 <sup>c</sup>	0.22±0.02 <sup>c</sup>	0.08±0.01 <sup>c</sup>	2.05±0.05 <sup>c</sup>
HFD	1.54±0.05 <sup>a</sup>	0.53±0.03 <sup>a</sup>	0.62±0.03 <sup>a</sup>	0.24±0.05 <sup>a</sup>	4.08±0.09 <sup>a</sup>
HFD-LVL	1.35±0.03 <sup>b</sup>	0.46±0.01 <sup>ab</sup>	0.50±0.02 <sup>b</sup>	0.18±0.01 <sup>b</sup>	3.45±0.03 <sup>b</sup>
HFD-LVH	1.26±0.09 <sup>b</sup>	0.42±0.03 <sup>b</sup>	0.44±0.02 <sup>b</sup>	0.16±0.02 <sup>b</sup>	3.24±0.10 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean±S.E. of 10 mice per each group.

<sup>3)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different(p<0.05) between groups by Tukey's test.



### 3. 혈청 중 중성지방, 총 콜레스테롤 및 포도당 함량

고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 혈청 중 중성지방, 총 콜레스테롤 및 포도당 함량은 Table 14와 같다.

혈청 중 총 콜레스테롤 함량을 비교해보면 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 증가하였다. 고지방식이와 수세미오이 식초 저농도 투여군(HFD-LVL)은 고지방식이군(HFD)과 비슷한 경향을 보였는데, 이는 고지방식이의 섭취로 피하지방, 간세포 내 지방산 합성 및 chylomicron 잔유물에서 중성지방으로 가수분해 된 지방산 등으로 인해 혈청 총콜레스테롤이 증가된 것으로 보인다(119). 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 감소하는 경향이었으나 유의한 차이는 보이지 않았다.

혈청 중 중성지방의 함량을 비교해 보면 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 증가하였다. 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 현저히 감소하여 유의한 차이를 보였고, 정상식이군(ND)보다 낮은 수치를 나타냈다. 수세미오이와 같은 박과 식물인 여주추출물을 고지방식이와 함께 마우스에 4주간 급여한 결과, 혈중 중성지방 농도가 고지방식이군보다 유의하게 낮았다는 보고하여(120) 본 연구의 결과와 유사하였다.

혈청 중 포도당 함량을 비교해 보면 고지방식이군(HFD)이 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 증가하였다. 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비하여 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보였고, 특히 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)은 유의적으로 감소하였다.

본 연구 결과 고지방식이를 급여한 마우스의 혈청 중성지방과 포도당 함량이 수세미오이 식초의 투여로 저하되는 결과를 나타내, 수세미오이 식초가 혈청 중 지질 대사 개선시킬 뿐만 아니라 고지혈증 예방에도 긍정적 영향을 미칠 것으로 생각된다.

**Table 14. Effects of *L. cylindrica* vinegar on serum total cholesterol, triglyceride and glucose contents in mice fed a HFD**

(mg/dL)

Groups <sup>1)</sup>	Total cholesterol	Triglyceride	Glucose
ND	150.90±3.66 <sup>2) b3)</sup>	132.70±10.42 <sup>ab</sup>	153.70±6.18 <sup>c</sup>
HFD	198.60±3.61 <sup>a</sup>	159.60±13.43 <sup>a</sup>	191.80±4.00 <sup>a</sup>
HFD-LVL	188.90±26.05 <sup>a</sup>	121.40±9.09 <sup>b</sup>	182.20±2.37 <sup>ab</sup>
HFD-LVH	174.10±12.39 <sup>ab</sup>	114.20±4.85 <sup>b</sup>	171.10±4.94 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean±S.E. of 10 mice per each group.

<sup>3)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.

#### 4. 혈청 중 HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 함량, 동맥경화지수 및 심혈관위험지수

고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤의 함량, 동맥경화지수(atherogenic index, AI) 및 심혈관위험지수(cardiac risk factor, CRF)는 Fig. 8~9, Table 15와 같다.

HDL-콜레스테롤은 과잉 콜레스테롤을 말초조직에서 간으로 운반하여 혈중 콜레스테롤을 낮춘다(121). 그로 인해 혈중 HDL-콜레스테롤의 농도가 높으면 동맥경화와 혈관장애의 개선에 효과가 높다고 알려져 있다(122). 혈청 중 HDL-콜레스테롤 함량 수준을 비교해 보면 Table 15와 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비하여 유의하게 감소되었다. 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 유의하게 증가되었고, 정상식이군(ND)과 유사한 수준이었다. 수세미오이와 같은 박과식물인 여주열매 분말을 고지방식이와 함께 흰쥐에 4주간 급여한 결과, 5% 여주열매 분말 첨가군의 HDL-콜레스테롤 함량은 정상대조군보다도 높은 수준으로 나타나(123) 본 연구의 결과와 비슷하였다.

LDL-콜레스테롤은 간에서 말초조직으로 중성지방을 운반하여 동맥벽에 축적시킨다(124). 외부 요인이나 유전적 요인으로 인해 LDL-콜레스테롤의 농도가 증가되면 동맥경화증, 고혈압 및 심혈관계 질환의 발병률을 높인다(125). 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량 수준을 비교해 보면 Table 15와 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비하여 유의하게 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 감소하는 경향을 보였으며, 특히 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)의 경우 유의적으로 감소하였다.

동맥경화지수(AI)는 혈액 중 HDL-콜레스테롤에 대한 중성지방의 함량비를 나타내는 값으로, 동맥경화의 위험 신호로 사용되고 있다(49). 동맥경화지수와 더불어 심혈관계 질환의 위험 신호로 이용되고 있는 심혈관 위험지수(CRF)는 HDL-콜레스테롤에 대한 총 콜레스테롤의 함량비를 나타내는 값으로, 임상에서는 7.0 이상일 때 위험신호로 작용한다(126). 동맥경화지수 및 심혈관위험지수는 Fig. 8~9에서와 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 증가하였으며, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에

비해 유의적으로 감소하여 정상식이군(ND)과 비슷한 수준으로 감소하였다. 섬애약썩 식초를 고지방-고콜레스테롤 식이와 함께 흰쥐에 4주간 투여한 결과, 동맥경화지수 및 심혈관 위험지수에서 대조군보다 57.9%와 61.7% 수준으로 유의하게 낮아졌다고 보고하여(112) 본 연구의 결과와 유사하였다.

본 연구 결과 수세미오이 식초의 투여는 HDL-콜레스테롤의 수치를 증가시키고, LDL-콜레스테롤 수치를 감소시킴으로써 동맥경화지수 및 심혈관위험지수를 낮추어 혈중 지질대사 개선효과 및 동맥경화와 고지혈증 같은 심혈관계 질환의 예방효과가 있는 것으로 생각된다.

**Table 15. Effects of *L. cylindrica* vinegar on serum HDL-cholesterol and LDL-cholesterol contents in mice fed a HFD**

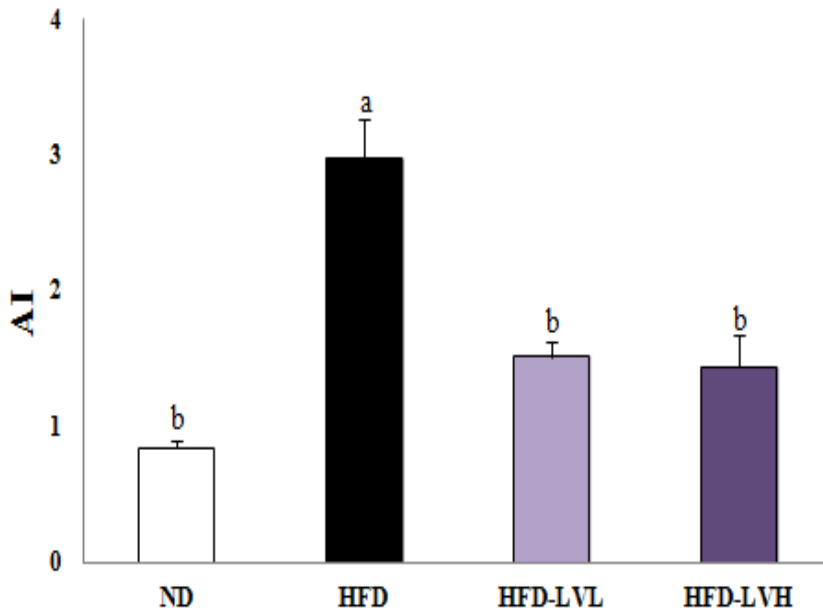
(mg/dL)

Groups <sup>1)</sup>	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol
ND	82.30±2.32 <sup>2)a3)</sup>	42.06±2.82 <sup>c</sup>
HFD	51.80±3.10 <sup>b</sup>	114.88±6.94 <sup>a</sup>
HFD-LVL	75.30±1.60 <sup>a</sup>	89.21±8.22 <sup>ab</sup>
HFD-LVH	73.90±3.62 <sup>a</sup>	77.31±14.27 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean±S.E. of 10 mice per each group.

<sup>3)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.

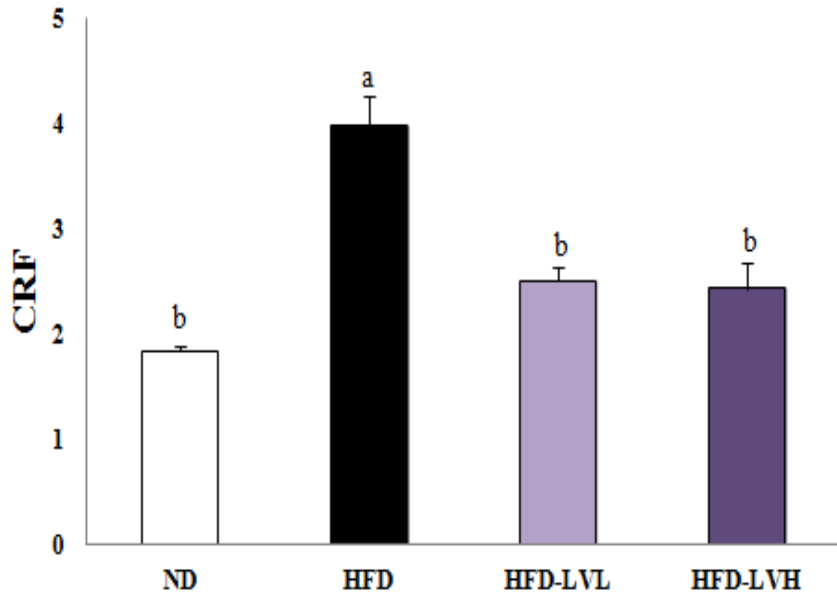


**Fig. 8.** Effects of *L. cylindrica* vinegar on atherogenic index in mice fed a HFD.

Abbreviations: See the legend of Table 1.

AI: Atherogenic Index.

Values are mean±S.E. of 10 mice per each group. Values with different superscripts in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.



**Fig. 9.** Effects of *L. cylindrica* vinegar on cardiac risk factor in mice fed a HFD.

Abbreviations: See the legend of Table 1.

CRF: Cardiac Risk Factor.

Values are mean±S.E. of 10 mice per each group. Values with different superscripts in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.

## 5. 간 조직 중 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량

고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 간 조직 중 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량 변화는 Table 16과 같다.

간은 지방대사가 이루어지는 주요기관으로, 고지방식이를 지속적으로 섭취하게 되면 식이로 인한 직접적인 유입뿐만 아니라 이차적으로 인슐린 저항성이 발생하여 지방조직에서 지방분해가 증가하게 되고, 그러므로 간으로 유입되는 유리지방산의 양이 많아져 지방축적이 일어난다(127). 또한, 콜레스테롤의 합성 및 조절도 간에서 이루어지는데, 고지방식이를 섭취하면 LDL-receptor 생성이 감소되어 LDL-콜레스테롤 제거기능이 저하되기 때문에, 간 내에 LDL-콜레스테롤의 유입을 증가시켜 총콜레스테롤의 함량이 증가하는 것으로 보고되고 있다(128,129).

간조직 중 총 지질의 함량은 고지방식이군(HFD)이 정상식이군(ND)에 비하여 유의적으로 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 정상식이군(ND)보다는 높지만 고지방식이군(HFD)에 비하여 투여 수준에 따라 농도 의존적으로 감소하였으며 유의한 차이를 나타냈다.

간조직 중 중성지방의 함량은 고지방식이군(HFD)이 정상식이군(ND)에 비해 유의하게 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비하여 농도 의존적으로 감소하였으며, 특히 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)은 정상식이군(ND)보다 낮은 수치를 나타냈다. 산사발효초를 6주간 고지방식이와 함께 흰쥐에게 급여한 결과, 간의 중성지방이 고지방식이군에 비해 저농도군은 54.6%, 고농도군은 61.9% 감소하였다고 보고(108)하였고, 우영식초를 6주간 고지방식이와 함께 흰쥐에 경구 투여한 결과, 간의 중성지방이 고지방식이군보다 유의적으로 낮은 농도를 나타냈다고 보고(130)하여 본 연구의 결과와 유사하였다. 또한, Fushimi 등(131)은 아세트산이 함유된 식이를 급여한 비만 쥐에서 혈청 및 간의 중성지방 농도가 유의적으로 감소하였다고 보고하였다. 그리하여 본 실험의 지질 감소 효과의 일부는 아세트산의 효능이라고 사료된다.

간조직 중 총 콜레스테롤의 함량은 고지방식이군(HFD)이 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 저농도 투여군(HFD-LVL)은 고지방식이군(HFD)과 비슷한 경향을 나타냈고, 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 감소하는 경향이었으나 유의



적인 차이는 나타내지 않았다.

본 연구 결과, 고지방식이로 인해 증가된 간 조직 중의 총 지질, 중성지방 함량이 수세미오이 식초의 투여로 인해 유의하게 감소되었다. 따라서 수세미오이 식초의 투여는 체내에서 중성지방 관련 지질대사 조절의 기능이 있는 것으로 생각되며 지방간 및 고지혈증 개선에 긍정적 영향을 미칠 것으로 사료된다.

**Table 16. Effects of *L. cylindrica* vinegar on liver lipid profiles in mice fed a HFD**

(mg/g)

Groups <sup>1)</sup>	Total lipid	Triglyceride	Total cholesterol
ND	423.50±28.62 <sup>2)d3)</sup>	110.46±9.74 <sup>b</sup>	1.66±0.19 <sup>b</sup>
HFD	1002.08±36.30 <sup>a</sup>	191.32±15.13 <sup>a</sup>	2.52±0.20 <sup>a</sup>
HFD-LVL	934.96±37.50 <sup>b</sup>	94.20±8.13 <sup>bc</sup>	2.46±0.20 <sup>a</sup>
HFD-LVH	790.53±38.58 <sup>c</sup>	62.47±5.84 <sup>c</sup>	1.93±0.11 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>See the legend of Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean±S.E. of 10 mice per each group.

<sup>3)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different( $p<0.05$ ) between groups by Tukey's test.

## 6. 지방 조직 중 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량

고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 부고환지방 조직과 장간막지방 조직 중 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량은 Fig. 10~15와 같다.

백색지방에 해당하는 장간막지방의 축적은 중성지방의 합성을 증가시키며 catecholamine 자극에 대한 지방분해능을 높여 유리지방산이 많이 만들어져 피하지방의 축적보다 고지혈증, 당뇨병, 고혈압 등과 같은 대사증후군의 발병률을 높인다고 보고되었다(132). 이와 같이 지방조직은 부위에 따라 대사기전이 다르다고 알려져 있어 본 연구에서도 같은 백색지방에 해당하는 부고환지방 조직 내 지질 함량을 알아보았다.

부고환지방 조직 중 총 지질의 함량은 Fig. 10과 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비하여 유의적으로 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 저농도 투여군(HFD-LVL)은 고지방식이군(HFD)과 유사한 경향을 나타냈고, 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 감소하여 유의한 차이를 보였다.

부고환지방 조직 중 중성지방의 함량은 Fig. 11과 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비하여 현저히 증가하여 유의적인 차이를 나타냈고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비하여 농도 의존적으로 감소하는 경향을 나타냈으며, 특히 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)은 정상식이군(ND)보다 낮은 수치를 나타냈다.

부고환지방 조직 중 총 콜레스테롤의 함량은 Fig. 12와 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비해 약 3배정도 증가하여 유의적인 차이로 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 투여수준에 따른 차이는 보이지 않았으나 고지방식이군(HFD)에 비하여 유의하게 감소하였다.

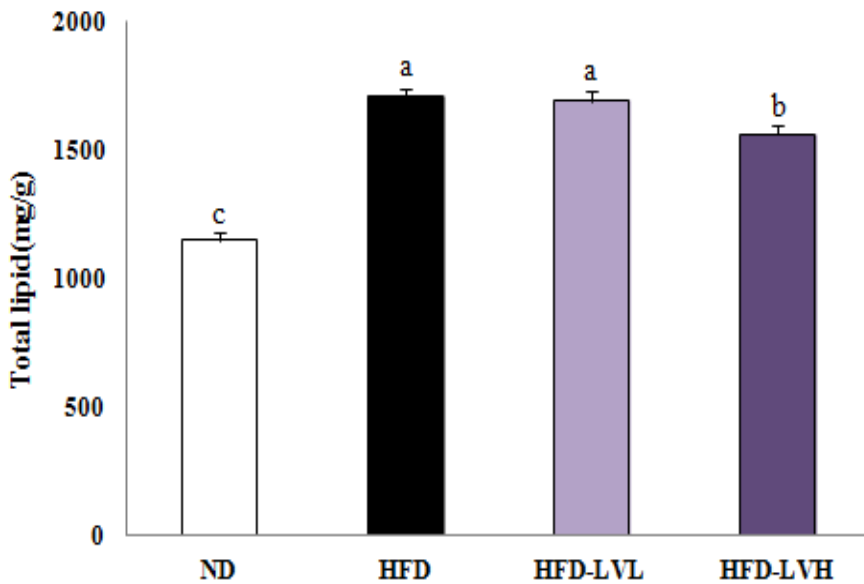
장간막지방 조직 중 총 지질의 함량은 Fig. 13과 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비하여 두드러지게 증가하여 유의적인 차이로 나타냈고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 투여수준에 따른 차이는 나타나지 않았으나 고지방식이군(HFD)에 비하여 유의적으로 감소하였다.

장간막지방 조직 중 중성지방의 함량은 Fig. 14와 같이 고지방식이군(HFD)은 정

상식이군(ND)에 비해 유의하게 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보였으며, 특히 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)은 정상식이군(ND)보다 감소하였다.

장간막지방 조직 중 총 콜레스테롤의 함량은 Fig. 15와 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비하여 유의적으로 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 투여수준에 따른 차이는 보이지 않았으나 고지방식이군(HFD)에 비하여 유의하게 감소하여 정상식이군(ND)과 유사한 수준이었다.

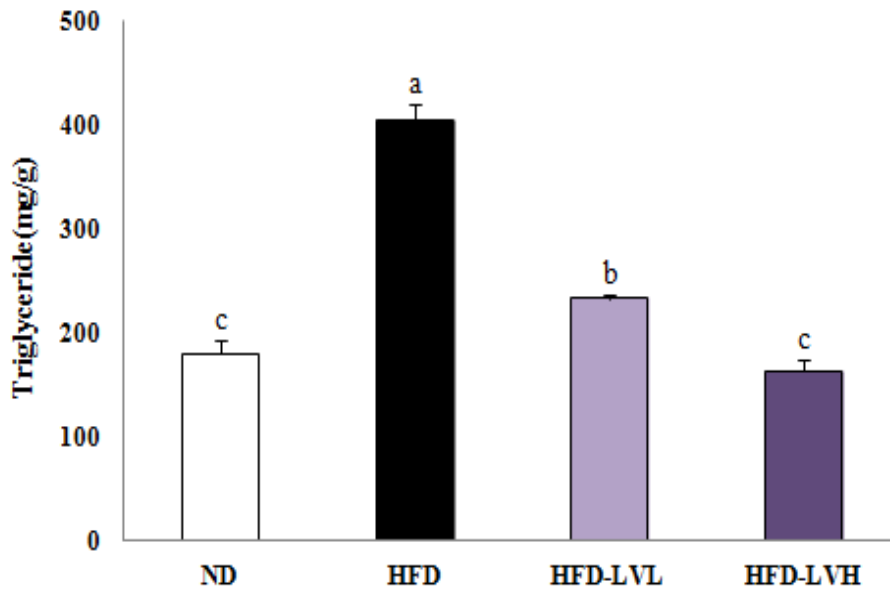
본 연구 결과, 고지방식을 급여한 마우스에게 수세미오이 식초의 투여로 부고환지방 조직과 장간막지방 조직의 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량이 감소하였다. 따라서 수세미오이 식초는 지방조직의 지방축적을 제지하여 지질대사 개선효과 및 혈관질환 예방에 긍정적 영향이 있을 것으로 생각된다.



**Fig. 10. Effects of *L. cylindrica* vinegar on total lipid content of epididymal adipose tissues in mice fed a HFD.**

Abbreviations: See the legend of Table 1.

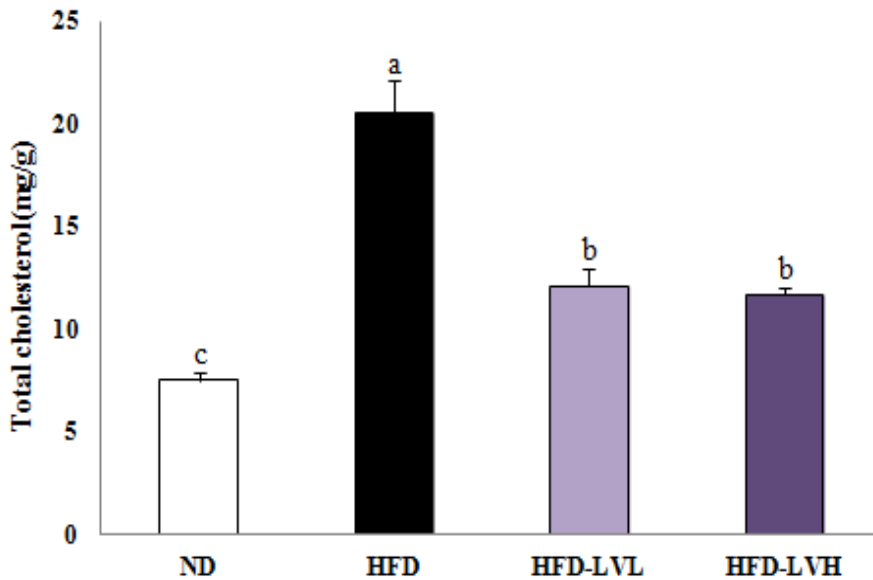
Values are mean±S.E. of 10 mice per each group. Values with different superscripts in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.



**Fig. 11. Effects of *L. cylindrica* vinegar on triglyceride content of epididymal adipose tissues in mice fed a HFD.**

Abbreviations: See the legend of Table 1.

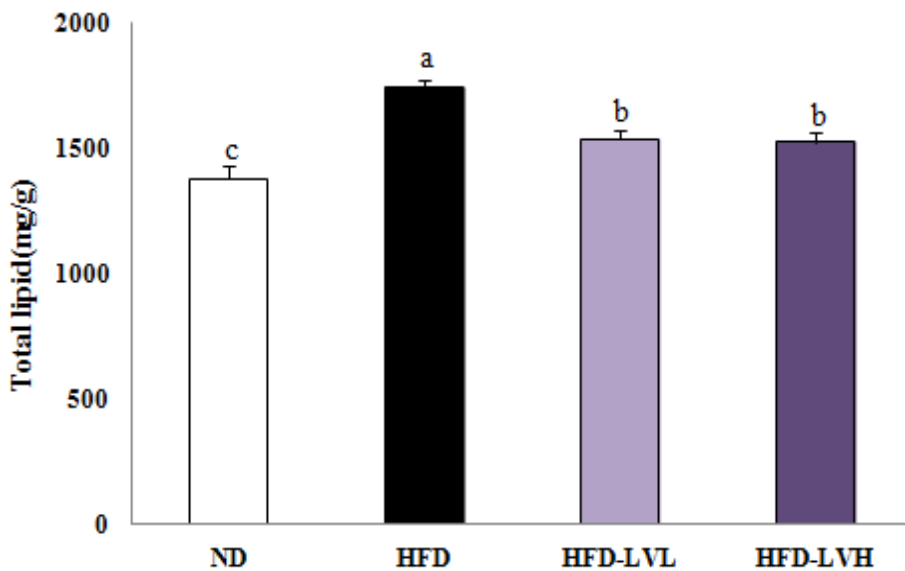
Values are mean±S.E. of 10 mice per each group. Values with different superscripts in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.



**Fig. 12. Effects of *L. cylindrica* vinegar on total cholesterol content of epididymal adipose tissues in mice fed a HFD.**

Abbreviations: See the legend of Table 1.

Values are mean±S.E. of 10 mice per each group. Values with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.

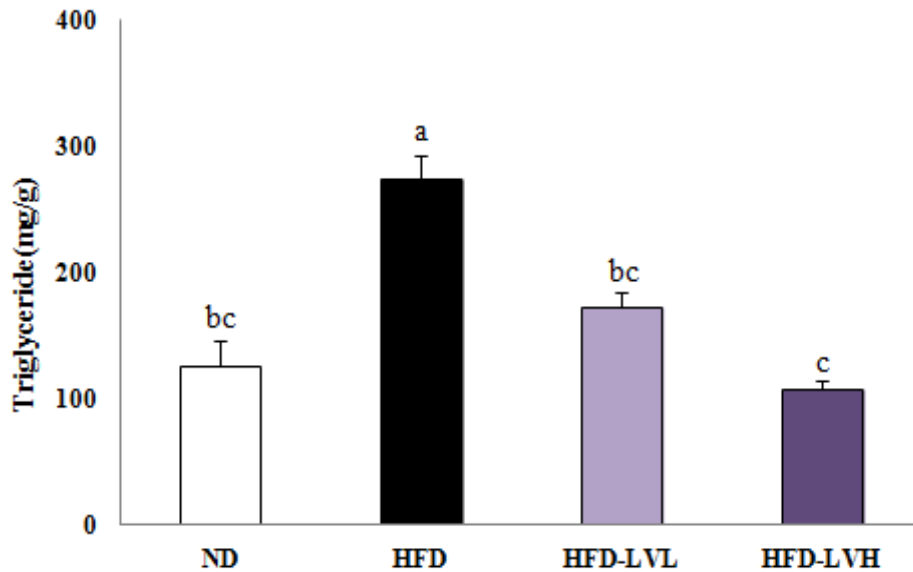


**Fig. 13. Effects of *L. cylindrica* vinegar on total lipid content of mesenteric adipose tissues in mice fed a HFD.**

Abbreviations: See the legend of Table 1.

Values are mean±S.E. of 10 mice per each group. Values with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.

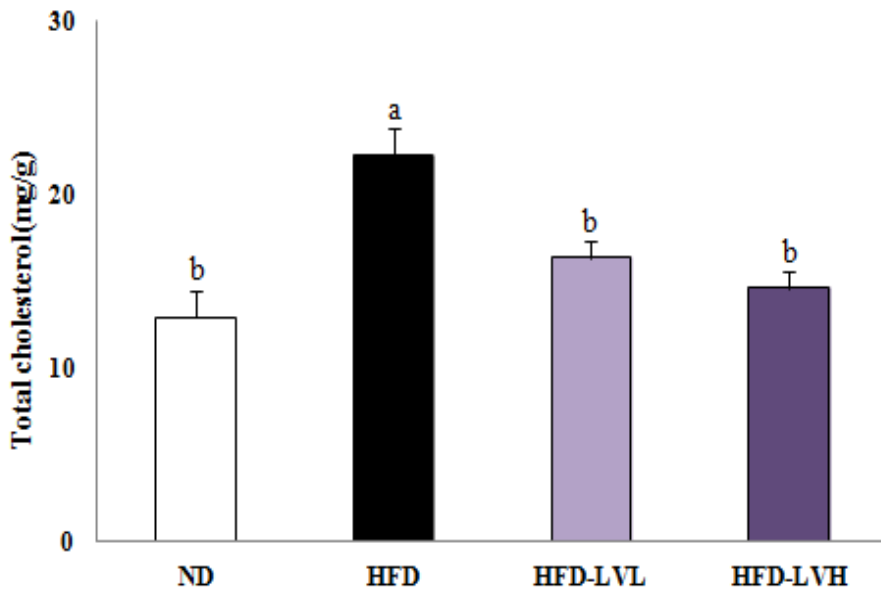




**Fig. 14. Effects of *L. cylindrica* vinegar on triglyceride content of mesenteric adipose tissues in mice fed a HFD.**

Abbreviations: See the legend of Table 1.

Values are mean±S.E. of 10 mice per each group. Values with different superscripts in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.



**Fig. 15. Effects of *L. cylindrica* vinegar on total cholesterol content of mesenteric adipose tissues in mice fed a HFD.**

Abbreviations: See the legend of Table 1.

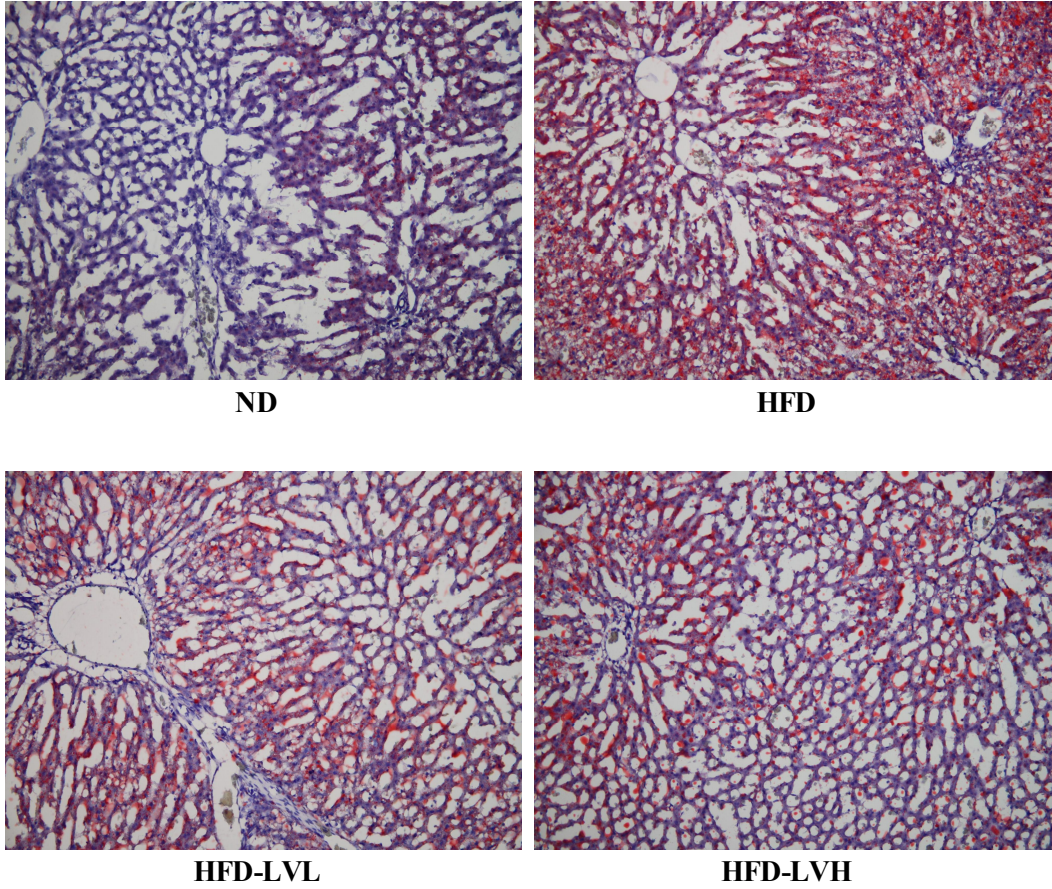
Values are mean±S.E. of 10 mice per each group. Values with different superscripts in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test.

## 7. 간 조직의 병리조직학적 변화

고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 간 조직 내 지방 축적을 확인하기 위해 Oil Red O로 염색하여 관찰한 결과는 Fig. 16과 같다. 고지방 식단은 지방간을 유발시킬 수 있는 환경적인 요소 중 하나이며, 과도한 지방섭취가 계속될 경우 체내 지질대사 이상을 발생시켜 지방세포로부터 유리지방산이 간으로 유입되어 지방간이 유발된다(133). 또한 간 조직 내의 지방입자는 지방간으로 변이되면서 그 수와 부피가 증가한다(134).

Oil Red O에 의해 염색된 간 조직의 단면을 관찰한 결과, 정상식이군(ND)에서는 염색된 부분이 거의 보이지 않았으나, 고지방식이군(HFD)에서는 중성지방의 과도한 축적으로 지방구가 증가되어 붉게 염색되어지는 부분이 많이 나타났다. 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비하여 수세미오이 식초 투여수준에 따라 지방구의 수나 크기가 눈에 띄게 줄어 붉게 염색된 부분이 감소된 것을 확인할 수 있었다. 이는 토마토식초를 5주간 고지방식이와 함께 흰쥐에게 경구 투여한 결과, 고지방식이군에 비해 지방구의 형성을 현저히 감소시켰다고 보고(135)하여 본 연구의 결과와 유사하였다.

따라서, 본 연구결과 수세미오이 식초의 투여로 인해 간 조직 내의 지방 침착을 억제하는 효과를 보이며, 간 손상을 줄여 지방간 발병위험을 감소시키는 데 도움이 될 것으로 생각된다.



**Fig. 16. Histological analysis on liver tissue**

ND: Normal diet, HFD : High fat diet, HFD-LVL : High fat diet + *Luffa cylindrica* vinegar 1mL/kg/day, HFD-LVH : High fat diet + *Luffa cylindrica* vinegar 2mL/kg/day.

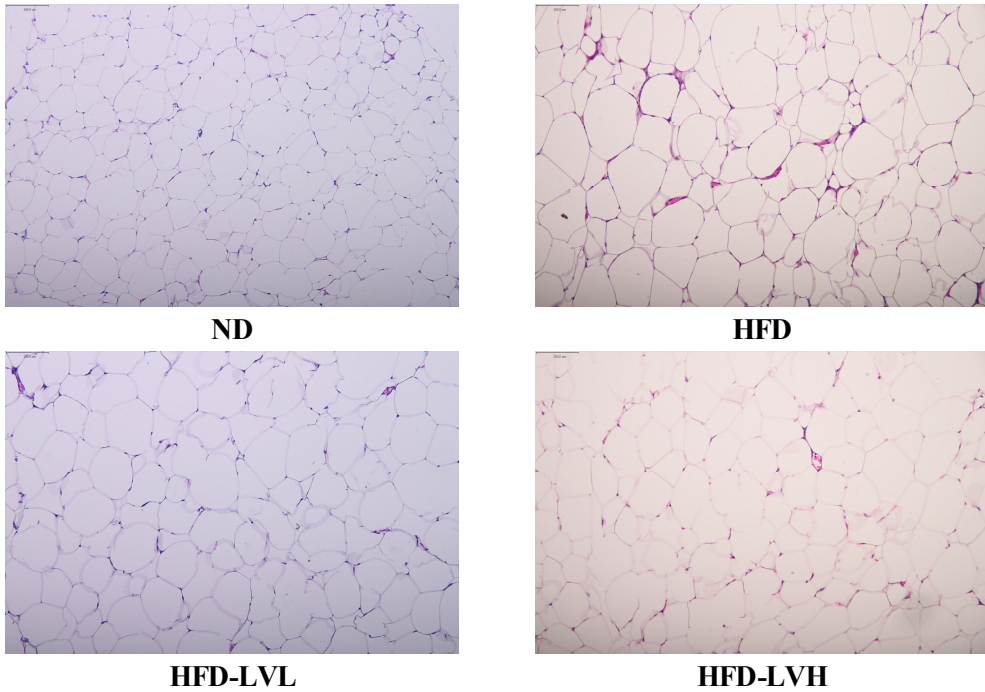
## 8. 지방세포의 크기 변화

일반적으로 체지방 함량은 비슷하더라도 복부지방 함량이 높아질수록 대사증후군 발병률이 증가하는 것으로 알려져 있어 복강 내에 위치한 지방세포의 증가를 억제하는 것이 굉장히 중요하다(136). 또한, 체내에서 지방세포의 수는 차이를 나타내지 않아도, 지방세포의 크기 변화를 관찰하여 항비만 효과를 확인할 수 있다고 보고된 바 있다(137). 고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 복강 내에 위치한 부고환지방조직의 지방 축적을 확인하기 위해 H&E로 염색하여 현미경으로 관찰한 결과와 이미지분석프로그램(image analyzer)으로 측정된 결과는 Fig. 17(A), (B)와 같다.

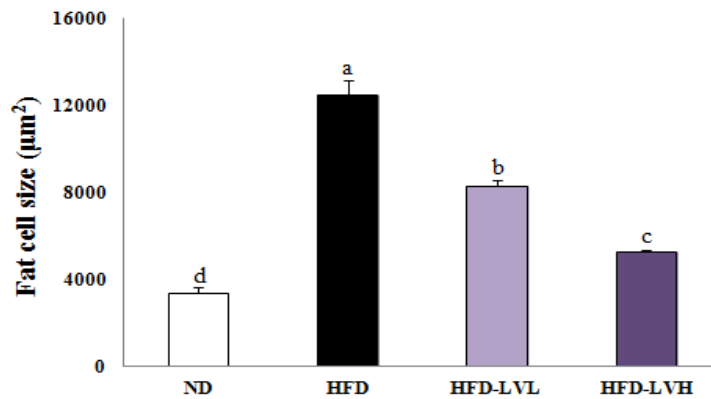
H&E에 의해 염색된 부고환지방조직의 세포크기를 관찰한 결과, 고지방식이군(HFD)의 지방세포의 크기는 정상식이군(ND)에 비하여 현저하게 증가되었으며, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)의 지방세포의 크기는 고지방식이군(HFD)에 비해 투여수준에 따라 유의적으로 감소하였다. 이는 본 연구에서 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)이 고지방식이군(HFD)보다 부고환지방조직의 무게, 콜레스테롤 및 중성지방의 함량이 감소하는 경향과 비슷하였다. 따라서 고지방식이의 섭취로 증가된 중성지방의 축적을 수세미오이 식초의 투여로 인해 감소하는 것으로 생각된다. Cheong 등(105)은 윗식초를 12주간 고지방식이와 함께 흰쥐에게 급여한 결과, 복부지방의 세포면적이 고지방식이군에 비해 12.5% 감소하였다고 보고하여 본 연구의 결과와 유사하였다.

본 연구결과 수세미오이 식초의 투여로 인해 지방세포의 크기를 감소시켜 복부 비만의 발병률을 낮춰 성인병 및 대사증후군 예방에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료된다.

(A)



(B)



**Fig. 17. Histological analysis on epididymal adipose tissue**

ND: Normal diet, HFD : High fat diet, HFD-LVL : High fat diet + *Luffa cylindrica* vinegar 1mL/kg/day, HFD-LVH : High fat diet + *Luffa cylindrica* vinegar 2mL/kg/day, Oil-Red-O sections of adipose tissue (A), the cell area was measured by Image analyzer program (B). The values shown are mean±S.E.



## 9. 간 및 부고환지방조직의 mRNA 발현 수준

### 가. 간 내 지방생성 전사인자 mRNA 발현 수준

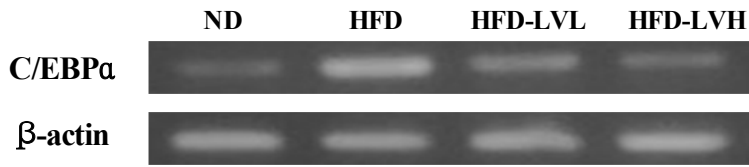
고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 간 조직 중 지방생성 전사인자인 C/EBP $\alpha$ , SREBP-1c의 mRNA 발현 수준은 Fig. 20,21과 같다.

C/EBP $\alpha$ (CCAAT/enhancer binding protein- $\alpha$ )는 지방세포 분화와 관련된 전사인자로, 지방전구세포에서는 발현되지 않고 있다가 지방세포로 분화되는 과정에서 발현된다. 특히, 다른 지방세포 관련 유전자가 발현되기 바로 직전에 발현을 시작하여 지방분화 시작을 알리는 유전자이다(138). 그로 인해 지방세포를 성숙하게 만들어 지방을 축적시킨다(139). 본 연구에서의 C/EBP $\alpha$  mRNA 발현 수준은 Fig. 20과 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비하여 현저한 차이로 유의하게 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비하여 농도 의존적으로 감소하였으며, 특히 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)은 정상식이군(ND)과 유사한 수준으로 나타났다.

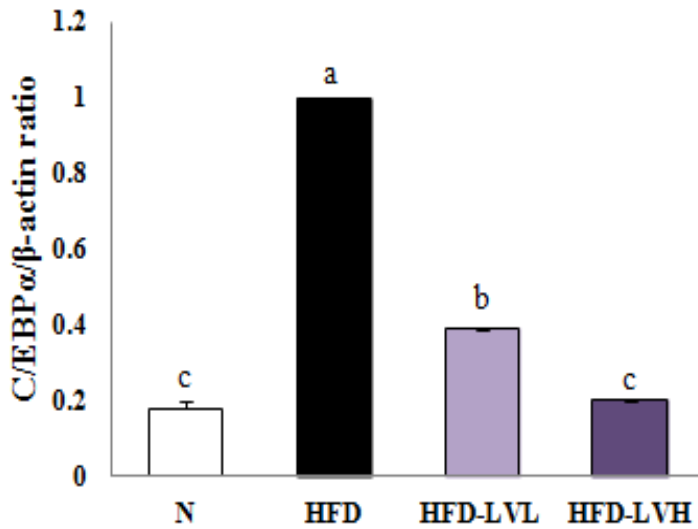
SREBP-1c(Sterol regulatory element binding protein-1c)는 지방산 및 중성지방의 합성에 관여하는 전사인자로, 특히 간 조직에서 발현이 강하게 나타난다(140). 간의 SREBP-1c가 증가하게 되면 지방산의 생합성을 촉진시켜 간 조직 내 중성지방 축적을 유발한다(141). 본 연구에서의 SREBP-1c mRNA 발현 수준은 Fig. 21과 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비하여 농도 의존적으로 감소하였으며, 특히 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)은 정상식이군(ND)보다 유의하게 감소된 수치를 나타냈다.

본 연구 결과 지방생성 전사에 관여하는 효소인 C/EBP $\alpha$ , SREBP-1c는 수세미오이 식초의 투여로 인하여 발현이 유의적으로 감소되었다. 따라서 수세미오이 식초에 의해 지방생성이 억제될 것으로 사료된다.

(A)



(B)

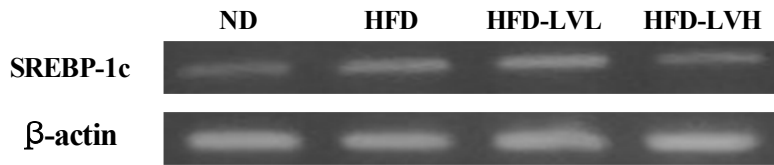


**Fig. 18. Effects of *L. cylindrica* vinegar on the mRNA expressions of C/EBPα in liver tissue.**

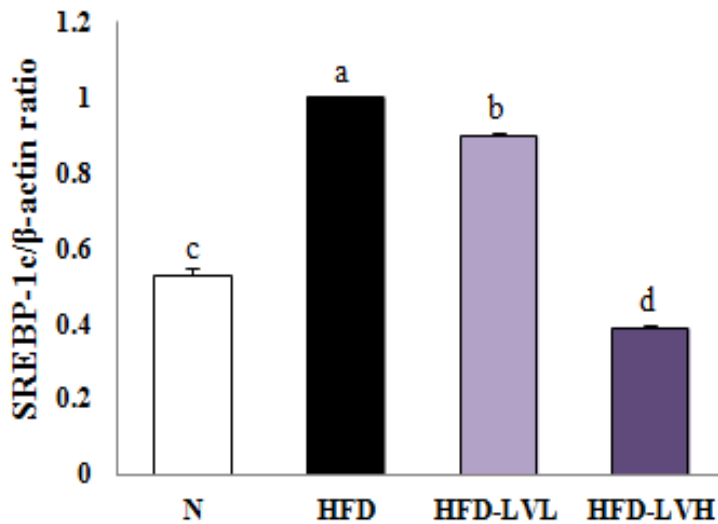
(A) C/EBPα gene expression analysis was performed by RT-PCR. (B) Band intensities were quantified by densitometry and normalized using β-actin. Gene expression was displayed as a fold change relative to the HFD group. Values are expressed as the mean±SE of three independent experiments. <sup>a-c</sup>Different letters above the bars indicated significant differences by Tukey's test at  $p < 0.05$ . ND: normal diet, HFD: high-fat diet, HFD-LVL: high-fat diet + LV 1.0 mL/kg/day, HFD-LVH: high-fat diet + LV 2.0 mL/kg/day



(A)



(B)



**Fig. 19. Effects of *L. cylindrica* vinegar on the mRNA expressions of SREBP-1c in liver tissue.**

(A) SREBP-1c gene expression analysis was performed by RT-PCR. (B) Band intensities were quantified by densitometry and normalized using  $\beta$ -actin. Gene expression was displayed as a fold change relative to the HFD group. Values are expressed as the mean $\pm$ SE of three independent experiments. <sup>a-d</sup>Different letters above the bars indicated significant differences by Tukey's test at  $p < 0.05$ . ND: normal diet, HFD: high-fat diet, HFD-LVL: high-fat diet + LV 1.0 mL/kg/day, HFD-LVH: high-fat diet + LV 2.0 mL/kg/day

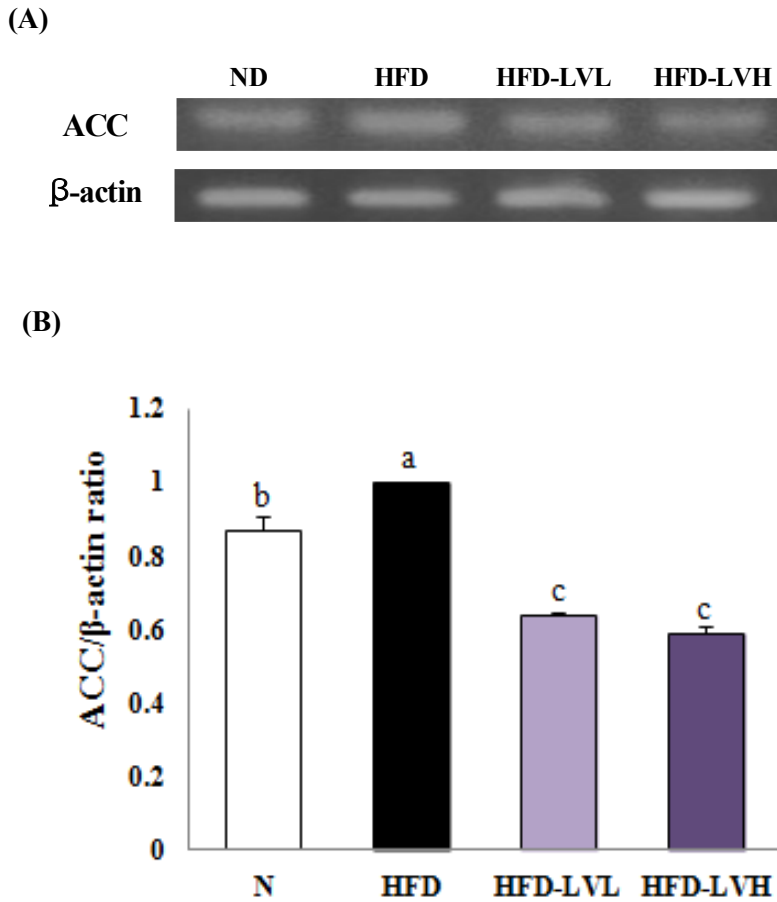
## 나. 간 내 지방생성 효소 mRNA 발현 수준

고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 간 조직 중 지방생성 효소인 ACC, FAS의 mRNA 발현 수준은 Fig. 18~19와 같다.

ACC(Acetyl-CoA carboxylase)는 지방생합성에 관련된 효소 중 하나로, acetyl-CoA를 지방산 합성의 실질적 기질인 Malonyl CoA로 변환시키는 역할을 한다. Malonyl CoA는 장쇄 아실-CoA(long-chain acyl-CoA)의 이송에 관여하는 carnitine palmitoyltransferase-1(CPT-1)의 활성을 저해시켜 지질의 합성에 관여한다. 결과적으로 ACC의 활성이 낮아지면 Malonyl CoA의 농도 또한 감소되어 CPT-1이 활성화되고 그로 인해 지방산의  $\beta$ -산화가 증가하여 지방합성이 억제된다(142). 본 연구에서의 ACC mRNA 발현 수준은 Fig. 18와 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비하여 유의한 차이로 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 농도에 의한 차이는 보이지 않았지만 고지방식이군(HFD)에 비해 유의하게 감소하여 정상식이군(ND)보다 낮은 결과를 보였다. 이는 감식초를 7주간 흰쥐에 경구 투여한 결과, 감식초 투여군의 발현수준이 control군에 비해 유의적으로 감소하였다고 보고(143)하여 본 연구의 결과와 비슷하였다.

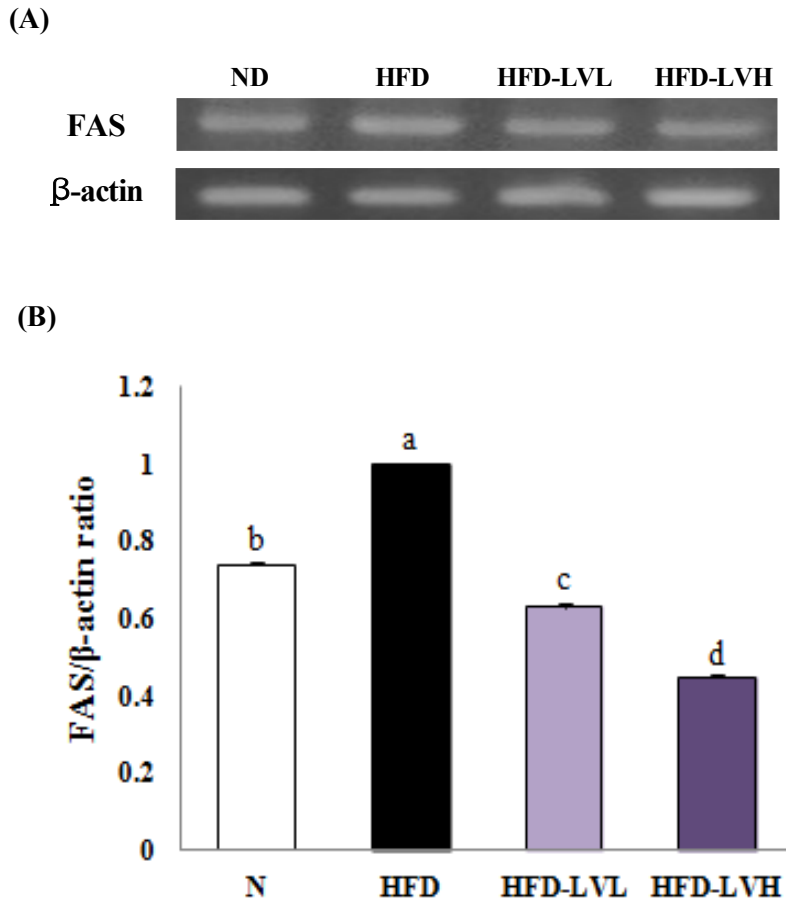
FAS(Fatty acid synthase)은 ACC와 더불어 지방생합성에 관여하는 효소 중 하나로, 간에서 지방조직까지 VLDL의 형태로 중성지방을 전달하여 장쇄지방산의 합성을 촉매함으로써 지방산 합성에 주요한 역할을 한다(144). 본 연구에서의 FAS mRNA 발현 수준은 Fig. 19와 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 증가하였으며, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-LVH)은 고지방식이군(HFD)에 비하여 농도 의존적으로 유의하게 감소하여 정상식이군(ND)보다 낮은 수치를 나타냈다.

본 연구 결과 지방산 합성에 관여하는 효소인 ACC, FAS는 수세미오이 식초의 투여로 인하여 발현이 현저하게 감소되었다. 따라서 수세미오이 식초에 의해 지방산 합성대사가 저하될 것으로 보인다.



**Fig. 20. Effects of *L. cylindrica* vinegar on the mRNA expressions of ACC in liver tissue**

(A) ACC gene expression analysis was performed by RT-PCR. (B) Band intensities were quantified by densitometry and normalized using  $\beta$ -actin. Gene expression was displayed as a fold change relative to the HFD group. Values are expressed as the mean $\pm$ SE of three independent experiments. <sup>a-c</sup>Different letters above the bars indicated significant differences by Tukey's test at  $p < 0.05$ . ND: normal diet, HFD: high-fat diet, HFD-LVL: high-fat diet + LV 1.0 mL/kg/day, HFD-LVH: high-fat diet + LV 2.0 mL/kg/day



**Fig. 21. Effects of *L. cylindrica* vinegar on the mRNA expressions of FAS in liver tissue.**

(A) FAS gene expression analysis was performed by RT-PCR. (B) Band intensities were quantified by densitometry and normalized using  $\beta$ -actin. Gene expression was displayed as a fold change relative to the HFD group. Values are expressed as the mean $\pm$ SE of three independent experiments. <sup>a-d</sup>Different letters above the bars indicated significant differences by Tukey's test at  $p < 0.05$ . ND: normal diet, HFD: high-fat diet, HFD-LVL: high-fat diet + LV 1.0 mL/kg/day, HFD-LVH: high-fat diet + LV 2.0 mL/kg/day

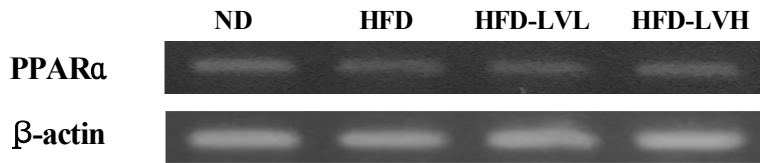
## 다. 간 내 지방산 $\beta$ -oxidation 관련 유전자 mRNA 발현 수준

고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 간 조직 중 지방산  $\beta$ -oxidation 관련 유전자인 PPAR $\alpha$ 의 mRNA 발현 수준은 Fig. 22와 같다.

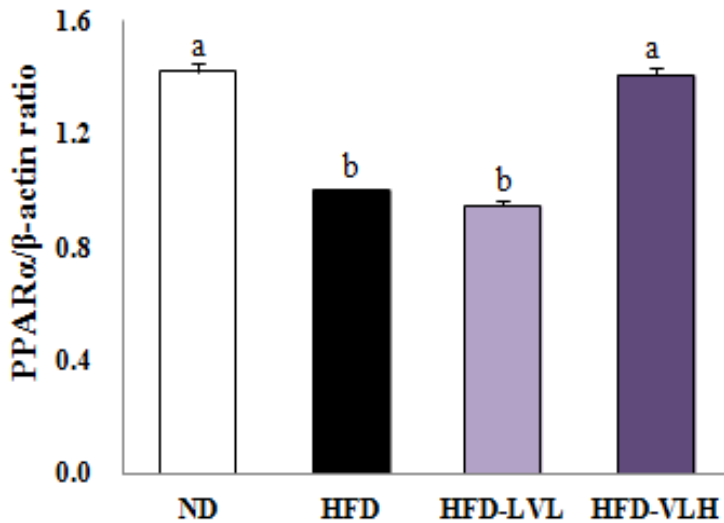
PPAR $\alpha$ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$ )은 지방산의 세포내 유입과 지방 대사물의 산화를 조절하는 효소들에 작용하여 지방산  $\beta$ -산화를 유발하는 유전자로, 특히 간 조직에서 가장 활발하게 발현된다(145). 지방산이 세포내로 유입되어 분해를 거쳐 에너지가 생성되는 과정에서 해당 지방산의 미토콘드리아로의 이송은 carnitine palmitoyltransferase-1(CPT-1)에 의해 조절되는데, PPAR $\alpha$ 가 그 발현을 증가시킨다(146). 본 연구에서의 PPAR $\alpha$  mRNA 발현 수준은 Fig. 22와 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비하여 현저하게 감소하였다. 고지방식이와 수세미오이 식초 저농도 투여군(HFD-LVL)은 고지방식이군(HFD)과 비슷한 발현을 나타냈지만 특히 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)에서는 발현이 눈에 띄게 증가하여 정상식이군(ND)과 유사한 수준의 발현을 나타냈다. 이는 석류식초를 고지방식이와 함께 16주간 급여한 결과, 석류식초 고농도 투여군의 발현수준이 control군에 비해 유의적으로 증가하였다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사하였다(147).

본 연구 결과 지방산  $\beta$ -산화에 관여하는 효소인 PPAR $\alpha$ 는 수세미오이 식초의 투여로 인하여 발현이 증가되었다. 따라서 수세미오이 식초에 의해 지방산  $\beta$ -산화가 증가되어 지방축적이 억제될 것으로 생각된다.

(A)



(B)



**Fig. 22. Effects of *L. cylindrica* vinegar on the mRNA expressions of PPARα in liver tissue.**

(A) PPARα gene expression analysis was performed by RT-PCR. (B) Band intensities were quantified by densitometry and normalized using β-actin. Gene expression was displayed as a fold change relative to the HFD group. Values are expressed as the mean±SE of three independent experiments. <sup>a-c</sup>Different letters above the bars indicated significant differences by Tukey's test at  $p < 0.05$ . ND: normal diet, HFD: high-fat diet, HFD-LVL: high-fat diet + LV 1.0 mL/kg/day, HFD-LVH: high-fat diet + LV 2.0 mL/kg/day

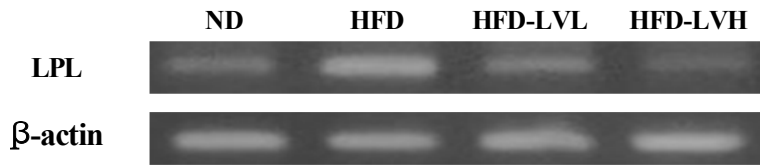
## 라. 부고환지방조직 내 지단백질 분해 관련 mRNA 발현 수준

고지방식이와 수세미오이 식초의 투여수준을 달리하여 10주간 급여한 마우스의 부고환 지방조직 중 지단백질 가수분해효소인 LPL의 mRNA 발현 수준은 Fig. 23과 같다.

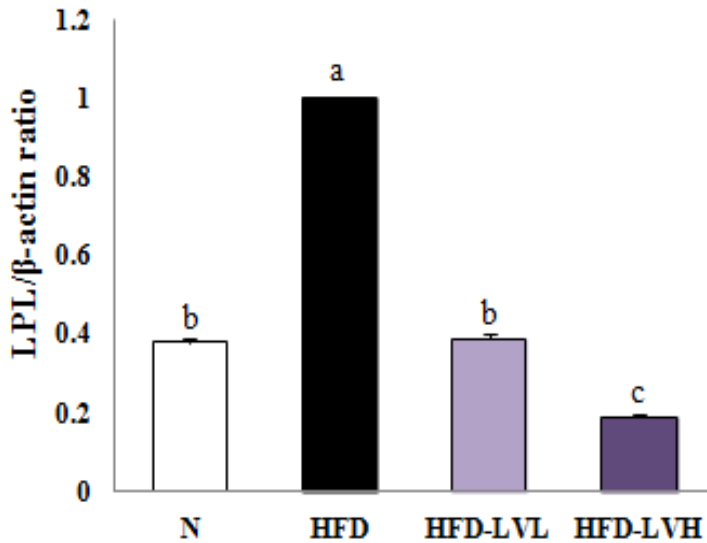
LPL(Lipoprotein lipase)은 지방조직에 다량 존재하며 중성지방과 단백질이 결합된 지단백질로부터 지방산을 가수분해하여 세포내로 유입시켜 축적시키는 지단백질 가수분해효소(148), LPL이 활성화되어 지방세포 내로 지방산을 유입시키면 중성지방으로 전환되어 저장되고, 근육조직으로 흡수시키면 에너지원으로 사용된다(149). 하지만 대사불균형으로 인해 중성지방으로 축적되는 양이 증가하게 되면 비만, 당뇨, 죽상동맥경화 등의 대사질환이 유발되므로, 중성지방 저장을 저해하면 각종 대사질환을 예방할 수 있다(150). 본 연구에서의 LPL mRNA 발현 수준은 Fig. 23과 같이 고지방식이군(HFD)은 정상식이군(ND)에 비해 유의적으로 증가하였고, 고지방식이와 수세미오이 식초 투여군들(HFD-LVL, HFD-VLH)은 고지방식이군(HFD)에 비해 농도 의존적으로 감소하였으며, 특히 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH)은 정상식이군(ND)과 유사한 수준으로 유의하게 감소하였다.

본 연구 결과 지단백질 가수분해에 관여하는 효소인 LPL는 수세미오이 식초의 투여로 인하여 발현이 눈에 띄게 감소되었다. 따라서 수세미오이 식초에 의해 중성지방의 축적을 저해시켜 비만 예방에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료된다.

(A)



(B)



**Fig. 23. Effects of *L. cylindrica* vinegar on the mRNA expressions of LPL in epididymal adipose tissue**

(A) LPL gene expression analysis was performed by RT-PCR. (B) Band intensities were quantified by densitometry and normalized using  $\beta$ -actin. Gene expression was displayed as a fold change relative to the HFD group. Values are expressed as the mean $\pm$ SE of three independent experiments. <sup>a-c</sup>Different letters above the bars indicated significant differences by Tukey's test at  $p < 0.05$ . ND: normal diet, HFD: high-fat diet, HFD-LVL: high-fat diet + LV 1.0 mL/kg/day, HFD-LVH: high-fat diet + LV 2.0 mL/kg/day



## 제4장 요약

본 연구는 수세미오이 식초의 영양적 가치를 평가하기 위해 이화학적 성분 및 항산화 활성을 분석하였고, 체내 지질대사 개선 및 항비만 효과를 알아보기 위해 3T3-L1 지방세포의 지질 축적에 미치는 영향과 고지방식이를 급여한 마우스의 비만 억제에 미치는 영향을 평가하였다.

수세미오이 식초의 이화학적 성분을 분석한 결과, pH는 2.92, 총 산도는 4.03%, 당도는 19.60 °Brix로 나타났으며, 총당은 135.50 mg/mL, 환원당은 7.58 mg/mL, 비환원당은 127.92 mg/mL가 분석되었다. 또한, 유기산은 acetic acid가 31,387.22 mg%로 가장 많이 검출되었으며 그 다음은 lactic acid, malic acid 순이었다. 수세미오이 식초의 주요 유리 아미노산은  $\gamma$ -amino-n-butyric acid, glutamic acid, alanine으로 전체 아미노산에 대한 필수아미노산 비율은 40.69%로 나타났으며, 무기질은 K, Ca, Mg 순으로 검출되었다.

수세미오이 식초의 항산화 활성을 분석한 결과, 1000  $\mu$ L/mL의 농도에서 총 polyphenol 함량은 33.73  $\mu$ g TAE/mL, 총 flavonoid 함량은 4.10  $\mu$ g RE/mL로 나타났으며, DPPH radical 소거활성은 20.96%, ABTS radical 소거활성은 78.74%로 나타났다.

*In vitro*에서는 수세미오이 식초가 3T3-L1 지방세포에 미치는 독성을 먼저 확인한 후, 3T3-L1 지방세포를 분화 유도하여 독성을 나타내지 않는 농도인 0.2, 0.5, 1%에서 지방축적 정도를 알아보기 위해 Oil Red O 염색 및 중성지방 농도를 조사하였다. 수세미오이 식초를 처리하였을 때, 대조군에 비해 Oil Red O로 붉게 염색되어진 부분이 적게 관찰되었고 중성지방의 농도 또한 감소하였다. 따라서 수세미오이 식초가 3T3-L1 세포의 분화를 억제함으로써 지질 축적이 감소되어 항비만 효과가 있는 것으로 확인되었다.

*In vitro*의 결과를 토대로 *in vivo*에서 6주령의 C57BL/6J 마우스 40마리를 10마리씩 정상식이군(ND, 10 kcal% fat), 고지방식이군(HFD, 60 kcal% fat), 고지방식이와

수세미오이 식초 저농도 투여군(HFD-LVL, 1.0 mL/kg/day), 고지방식이와 수세미오이 식초 고농도 투여군(HFD-LVH, 2.0mL/kg/day)으로 나누어 10주간 경구투여 하였다. 고지방식으로 인해 식이효율 및 체중이 유의하게 증가하였으나, 수세미오이 식초의 투여로 최종 체중 및 체중 증가량은 고지방식이군에 비해 유의적으로 감소하였다. 또한, 수세미오이 식초 투여군들의 간, 부고환지방, 장간막지방, 등지방 및 신주위지방 조직의 무게가 고지방식이군에 비해 유의적으로 감소하여 총 지방조직의 무게도 유의하게 감소하였다. 그리고 혈청, 간, 부고환지방 및 장간막지방 조직 중의 중성지방 함량 역시 고지방식이군에 비하여 유의적으로 저하되어 총 지질 함량도 유의하게 감소하였다. 아울러, 간세포 중의 지질 침착 및 부고환지방 조직의 지방세포 크기는 수세미오이 식초 투여군에서 고지방식이군보다 유의적으로 감소된 것을 관찰하였다. 지질대사와 연관된 효소의 mRNA 발현 수준을 비교한 결과 간 내 지방생성 효소인 FAS 및 ACC, 간 내 지방생성 전사인자인 C/EBP $\alpha$  및 SREBP-1c, 부고환지방조직 내 지단백질 분해 관련 유전자인 LPL의 유전자 발현은 수세미오이 식초의 투여로 인해 고지방식이군에 비하여 유의적으로 감소하였고, 간 내 지방산  $\beta$ -산화 관련 유전자인 PPAR $\alpha$ 의 유전자 발현은 유의하게 증가하였다.

이상의 실험 결과 *in vivo*에서, 수세미오이식초는 고지방식으로 비만이 유도된 마우스의 체중 및 조직무게를 감소시킬 뿐만 아니라 지방세포의 분화 및 지방 생성에 관련된 효소의 mRNA 발현을 감소시키며, 간 및 지방조직에서의 지질대사를 개선시킴으로써 항비만 효과에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 확인하였다. 따라서 수세미오이 식초는 비만억제제 및 기능성 건강식품의 소재로의 발전 가능성이 있을 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Ministry of Health & Welfare, 2016 National Nutrition Survey, 2017.
2. Ministry of Health & Welfare, 2007 National Nutrition Survey, 2008.
3. Ministry of Health & Welfare, 1998 National Nutrition Survey, 1999.
4. Bjorntorp P. 1988. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta medica Scandinavica*. 222(S723), 121-134.
5. Alessi MC, Lijnen HR, Bastelica D, Juhan-Vague I. 2003. Adipose tissue and atherothrombosis. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 33, 290-297.
6. Roncari DAL, Lau DCW, Kindler S. 1981. Exaggerated replication in culture of adipocyte precursors from massively obese persons. *Metabolism*. 30(5), 425-427.
7. Lee KY, Jang MR, Kim EK, Huh KB. 1991. A study on body fat distribution in obese human - Specially related to risk factors in degenerated diseases. *Korean J Nutrition*. 24(3), 157-165.
8. Flegal KM, Graubard BI, Williamsom DF, Gail MH. 2007. Cause-specific excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *JAMA*. 298(17), 2028-2037.
9. Fontaine KR, Redden DT, Wang C, Westfall AO, Allison DB. 2003. Years of life lost due to obesity. *JAMA*. 289(2), 187-193.
10. Lee SK, So SH, Hwang EI, Koo BS, Han GH, Ko SB, Kim NM. 2008. Effect of ginseng and herbal plant mixtures on anti-obesity in obese SD rat induced by high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 37(4), 437-444.
11. Ahn IS, Park KY, Do MS. 2007. Weight control mechanisms and antiobesity functional agents. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 36(4), 503-513.
12. Bray GA, Tartaglia LA. 2000. Medicinal strategies in the treatment of obesity. *Nature*. 404, 672-677.
13. Chen JC, Chen QH, Guo Q, Ruan S, Ruan H, He GQ, Gu Q. 2010. Simultaneous determination of acetoin and tetramethylpyrazine in traditional vinegars by HPLC method. *Food Chem*. 122(4), 1247-1252.
14. Jeong YJ, Lee MH. 2000. A view and prospect of vinegar industry. *Food Ind Nutr*. 5(1), 7-12.
15. Park HJ, Jeong SH, Yoon HH, Jung JH, Song JY. 2014. Optimization of the acetic acid fermentation for aronia vinegar using response surface methodology. *Korean J Food Cook Sci*. 30(6), 792-799.
16. Son SM. 1992. Study on the alcohol fermentation and subsequent vinegar

- production by immobilized cells from saccharified potato starch. *MS Thesis*, Konkuk University, Seoul, Korea.
17. Ryu IH, Lee KS, Shin YS, Chun SH, Lee DS. 1999. Optimization in the preparation of aloe vinegar by *Acetobacter* sp. and inhibitory effect against lipase activity. *42(2)*, 105-110.
  18. Sung NH, Jeong YJ. 2013. Consumer awareness survey on functional properties of vinegar beverage. *Food Ind and Nutr.* 18(1), 37-42.
  19. Johnston CS, Gaas CA. 2006. Vinegar: medicinal uses and antiglycemic effect. *Med Gen Med.* 8(2), 61.
  20. Kim DH. 1999. Studies on the production of vinegar from fig. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 28(1), 53-60.
  21. Park JS, Chang KW, Lee JI. 1996. Inorganic components and some physical properties of sap from sponge-gourd(*Luffa cylindrica* L.) as affected by collection time. *39(1)*, 67-69.
  22. Haemmerle G, Lass A, Zimmermann R, Gorkiewicz G, Meyer C, Rozman J, Heldmajer G, Maier R, Theussel C, Eder S, Kratky D, Wagner EF, Klingenspor M, Hoefler G, Zechner R. 2006. Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. *Science.* 312(5774), 734-737.
  23. Chang KW, Moon CS, Lee HD, Lee CJ, Lee VC. 1991. Determination of the effective components in the various parts of *Luffa cylindrica* (L.) Roemr and development to remove the flesh its fruit: (I) Determination of chemical components in the various parts of *Luffa cylindrica* (L.) Romer by GC and GC/MS. *J Korean Agric Chem Soc.* 34(4), 366-372.
  24. Du Q, Y Xu, L Li, Y Zhao, G Jerz, P Winterhalter. 2006. Antioxidant constituents in the fruits of *Luffa cylindrica* (L.) Roem. *J Agric Food Chem.* 54(12), 4186-4190.
  25. Poma A, Galeota K, Miranda M, Spano L. 1997. A ribosome-inactivating protein principle from hairy roots and seeds of *Luffa cylindrica* (L.) Roem and its cytotoxicity on melanotic and amelanotic melanoma cell lines. *Inter J Pharmacognosy.* 35(3), 212-214.
  26. Cha SY, Jang JY, Lee YH, Lee GO, Lee HJ, Hwang KT, Kim YJ, Jun WJ, Lee JM. 2010. Lipolytic effect of methanol extracts from *Luffa cylindrica* in mature 3T3-L1 adipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 39(6), 813-819.
  27. Oyetayo FL, Oyetayo VO, Ajewole V. 2007. Phytochemical profile and antibacterial

- properties of the seed and leaf of the luffa plant (*Luffa cylindrica*). *J Pharmacol Toxicol.* 2(6), 586-589.
28. Khajuria A, Gupta A, Garai S, Wakhloo BP. 2007. Immunomodulatory effects of two saponinins 1 and 2 isolated from *Luffa cylindrica* in Balb/C mice. *Bioorg Med Chem Lett.* 17(6), 1608-1612.
  29. Tabeta M, Tanaka S, Cho HJ, Uno C, Shimakura J, Ito M, Kamisako W, Honda C. 1993. Production of an anti-allergic triterpene bryonolic acid, by plant cell cultures. *J Nat Prod.* 56(2), 165-174.
  30. Shaheed A, Templeton MR, Matthews RL, Tripathi SK, Bhattarai K. 2009. Disinfection of waterborne coliform bacteria using *Luffa cylindrica* fruit and seed extracts. *Environ Technol.* 30(13), 1435-1440.
  31. Bae KH, Chi JM, Chang KW. 1991. The study on effective components in various parts of *Luffa cylindrica* and development for removal of the flesh from its fruits: (II) Cytotoxic activity of leaf, stem and seed extracts against L1210 cells and antibacterial activity against streptococcus mutants OMZ176. *Kor J Pharm.* 22(4), 249-251.
  32. Lee HS, Kim YS, Kim KY. 2014. Effect of anti-oxidation and melanogenesis inhibition from *Luffa cylindrica* ethanol extract. *Korean Beauty Society.* 20(6), 1106-1111.
  33. Lee GO. 2010. Antioxidative effect of *Luffa cylindrica* (L) Roem and its lipolytic effect of in 3T3-L1 adipocytes cells. *Ph.D Thesis.* Chonnam National University, Gwangju, Korea.
  34. Na JH. 2010. Shelf-life extension of *Luffa cylindrica* : Quality properties of *Luffa cylindrica* in modified atmosphere. *MS Thesis.* Korea University, Seoul, Korea.
  35. Dubois M, Gillers KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colormetric method for determination of sugar and related substance. *Anal Chem.* 28(3), 350-356.
  36. Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem.* 31(3), 426-428.
  37. Jeong YJ, Seo KI, Kim KS. 1996. Physicochemical properties of marketing and intensive persimmon vinegars. *J East Asian Diet Life.* 6(3), 355-363.
  38. Folin O, Denis W. 1915. A colorimetric method for the determination of phenols (and phenolderivatives) in urine. *J Biol Chem.* 22, 305-308.
  39. Davis WB. 1947. Determination of flavanone in citrus fruits. *Anal Chem.* 19(7),

- 476-478.
40. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181, 1199-1200.
  41. 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 Radic Biol Med*. 26(9-10), 1231-1237.
  42. Yoon SY. 2007. Effects of caffeine on body weight, lipid profile, ACC and PPAR- $\gamma$  in a high fat diet induced obese mice and genetically obese mice. *MT thesis*. Dongduk Woman's University, Seoul, Korea.
  43. Kondo T, M KishiM, Fushimi T, Ugajin S, Kaga T. 2009. Vinegar intake reduces body weight, body fat mass, and serum triglyceride levels in obese Japanese subjects. *Biosci Biotechnol Biochem*. 73(8), 1837-1843.
  44. Moon YJ, Chio DS, Oh SH, Song YS, Cha YS. 2010. Effects of persimmon-vinegar on lipid and carnitine profiles in mice. *Food Sci Biotechnol*. 19(2), 343-348.
  45. Bouderbala H, Kaddouri H, Kheroua O, Saidi D. 2016. Anti-obesogenic effect of apple cider vinegar in rats subjected to a high fat diet. *Ann Cardiol Anqeiol(Paris)*. 65(3), 208-213.
  46. Lee JH, Cho HD, Jeong JH, Lee MK, Jeong YK, Shim KH, Seo KI. 2013. New vinegar produced by tomato suppresses adipocyte differentiation and fat accumulation in 3T3-L1 cells and obese rat model. *Food Chem*. 141(3), 3241-3249.
  47. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the american institute of nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nut*. 123(11), 1939-1951.
  48. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 18(6), 499-502.
  49. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. Early methods in the diagnosis of atherosclerosis. *Arch Pathol Lab Med*. 113(10), 1101-1110.
  50. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J biol chem*. 226, 497-509.
  51. Zlatkis A, Zak B. 1969. Study of a new cholesterol reagent. *Analytical biochemistry*. 29, 143-148.
  52. Biggs HG, Erikson JM, Moorehead WR. 1975. A manual colirimetric assay of

- triglyceride in serum. *Clinical Chem.* 21, 437-441.
53. Jeong YJ, Seo JH, Jung SH, Shin SR, Kim KS. 1998. The quality comparison of uncleaned rice vinegar by two stages fermentation with commercial uncleaned rice vinegar. *Korean J Food Preserv.* 5(4), 374-379.
  54. Chung NH, Jo YH, Gao YP, Gu SY, Jeong YJ, Kwon JH. 2015. Comparison of physicochemical properties and antioxidant activities of naturally-fermented commercial rice vinegars produced in korea, china, and japan. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 44(12), 1799-1805.
  55. Kwon SH, Jeong EJ, Lee GD, Jeong YJ. 2000. Preparation method of fruit vinegars by two stage fermentation and beverages including vinegar. *Food Ind Nutr.* 5(1), 18-24.
  56. Korea Ministry of Food and Drug Safety (MFDS). Korea food standard codex. [accessed 2018 May 20]; Available from : [http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01\\_03.jsp?idx=33](http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=33)
  57. Woo SM, Jo YJ, Lee SW, Kwon JH, Yeo SH, Jeong YJ. 2012. Quality comparison of static-culture and commercial brown rice vinegars. *Korean J Food Preserv.* 19(2), 301-307.
  58. Na HS, Choi GC, Yang SI, Lee JH, Cho JY, Ma SJ, Kim JY. 2013. Comparison of characteristics in commercial fermented vinegars made with different ingredients. *Korean J Food Preserv.* 20(4), 482-487.
  59. Lee YC, Lee JH, 2000. A manufacturing process of high strength vinegar. *Food Industry and Nutrition.* 5(1): 13-17.
  60. Park SY, Chae KS, Son RH, Jung JH, Im YR, Kwon JW. 2012. Quality Characteristics and Antioxidant Activity of Bokbunja(Black Raspberry) Vinegars. *Food Engineering Progress.* 16(4), 340-346.
  61. Shin EH. 2015. Quality Characteristics of Vinegar using Wasabi japonica Matsum Leaves. *Culinary Science & Hospitality Research.* 21(6), 255-263.
  62. Woo KS, Ko JK, Song SB, Lee JS, Kang JR, Oh BG, Nam MH, Jeong JH, Jeong HS, Seo MC. 2010. Physicochemical Characteristics of Vinegars Fermented from Cereal Crops with Incalgyun. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 39(8), 1171-1178.
  63. Moon SY, Chung HC, Yoon HN. 1997. Comparative analysis of commercial vinegars in physiochemical properties, minor components and organoleptic tastes. *Korean J Food Sci Technol.* 29(4), 663-670.
  64. Lee EK, Kwon WY, Lee JW, Yoon JA, Chung KH, Song BC, An JH. 2014.



- Quality Characteristics and Antioxidant Activity of Vinegar Supplemented Added with *Akebia quinata* Fruit during Fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 43(8), 1217-1227.
65. Kim GR, Yoon SR, Lee JH, Yeo SH, Kim TY. 2009. Quality comparison of commercial brown rice vinegar fermented with and without ethanol. *Korean J Food Preserv.* 16(6), 893-899.
  66. Furukawa S, Ueda R. 1963. Studies on non-volatile organic acids in vinegars, Contents of non-volatile organic acid in commercial vinegars. *J Ferment Technol.* 41, 14-19.
  67. Lee GO, You YH, Hwang KT, Lee JM, Lee HJ, Jun WJ. 2012. Physicochemical characteristics and antioxidant activities of *Lufa cylindrica (L.) Roem.* *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 41(6), 733-738.
  68. Jeong YJ, Lee MH, Seo KI, Kim JN, Lee YS. 1998. The quality comparison of grape vinegar by two stages fermentation with traditional grape vinegar. *J East Asian Soc Dietary Life.* 8(4), 462-468.
  69. Yi MR, Hwang JH, Oh YS, Oh HJ, Lim SB. 2014. Quality characteristics and antioxidant activity of immature Citrus unshiu vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 43(2), 250-257.
  70. Jo DJ, Park EJ, Kim GR, Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH. 2012. Quality comparison of commercial cider vinegars by their acidity levels. *Korean J Food Sci Technol.* 44(6), 699-703.
  71. Woo CH, Yoon HH. 2000. Production of acetic acid form cellulosic biomass. *Korean J Biotechnol Bioeng.* 15, 458-463.
  72. Yoon SR, Kim GR, Lee JH, Lee SW, Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH. 2010. Properties of organic acids and volatile components in brown rice vinegar prepared using different yeasts and fermentation methods. *Korean J Food Preserv.* 17(5), 733-740.
  73. Lee YC, Jang OY, Kim HW, Choi CU, Yoon SK. 1999. Physicochemical characteristics of traditional vinegars in andong province. *Korean J Dietary Culture.* 14(1), 17-20.
  74. Jeong YJ, Lee MH. 2000. A view and prospect of vinegar industry. *Food Ind Nutr.* 5(1), 7-12.
  75. Shin JS, Jeong YJ. 2003. Changes in the components of acetic acid fermentation of brown rice using raw starch digesting enzyme. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.*



- 32(3), 381-387.
76. Ko EJ, Hur SS, Choi YH. 1998. The establishment of optimum cultural conditions for manufacturing garlic vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 27(1), 102-108.
  77. Yoon HN. 1999. Chemical characterization of commercial vinegars. *Korean J Food Sci Technol.* 31(6), 1440-1446.
  78. Nakagawa K. 1996. Accumulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in the rice germ. *Food Processing.* 31, 43-46.
  79. Mody I, De koninck Y, Otis TS, Soltesz I. 1994. Bridging the cleft at GABA synapses in the brain. *Trends Neurosci.* 17(12), 517-525.
  80. Hong SM, Moon HS, Lee JH, Lee HI, Jeong JH, Lee MK, Seo KI. 2012. Development of functional vinegar by using cucumbers. *Korean Soc Food Sci Nutr.* 41(7), 927-935.
  81. Sim HJ, Seo WT, Choi MH, Kim KH, Shin JH, Kang MJ. 2016. Quality characteristics of vinegar added with different levels of black garlic. *Korean J Food Cook Sci.* 32(1), 16-26.
  82. Kough K, Kim KS. 1999. Studies on quality characteristics of commercial vinegars. *Bull Nat Sci.* 4(2), 171-187.
  83. Park YO. 2018. Quality comparison of natural fermented vinegars manufactured with different raw materials. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 47(1), 46-54.
  84. Bidlack WR, Omaye ST, Meskin MS, Topham DK. 2000. Phytochemicals as bioactive agents. CRC Press Co., Boca, Raton, FL, USA. 25-36.
  85. Seeram NP, Adams LS, Henning SM, Niu Y, Zhang Y, Nair MG, Hebera D. 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *J Nutr Biochem.* 16(6), 360-367.
  86. Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 2(4), 639-738.
  87. McDougall GJ, Stewart D. 2005. The inhibitory effects of berry polyphenols on digestive enzymes. *Biofactors.* 23(4), 189-195.
  88. Ansari NM, L Houlihan, B Hussain, A Pieroni. 2005. Antioxidant activity of five vegetables traditionally consumed by South-Asian migrants in Bradford, Yorkshire, UK. *Phytother Res.* 19(10), 907-911.
  89. Yi MR, Kang CH, Bu HJ. 2017. Acetic acid fermentation properties and

- antioxidant activity of lemongrass vinegar. *Korean J Food Preserv.* 24(5), 680-687.
90. Lee SM, Choi Y, Kim DJ, Lee J. 2009. Antioxidant activity of vinegars commercially available in Korean markets. *Food Eng.* 13(3), 221-225.
  91. Andlauer W, Stumpf C, Furst P. 2000. Influence of the acetification process on phenolic compounds. *J Agric Food Chem.* 48(8), 3533-3536.
  92. Hetog MGL, Hollman PCH, Van de Putte B. 1993. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juice. *J Agr Food Chem.* 41(8), 1242-1246.
  93. Nakagawa M, Amano INE. 1974. Evaluation method of green tea grade by nitrogen analysis. *J Japanese Food Sci Technol.* 21(2), 57-63.
  94. Middleton E, Kandaswami C. 1994. Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technol.* 48, 115-119.
  95. Kawaguchi K, Mizuno T, Aida K, Uchino K. 1997. Hesperidin as an inhibitor of lipase from porcine pancreas and pseudomonas. *Biosci Biotechnol Biochem.* 61(1), 102-104.
  96. Noh SK. 2002. Functional action of flavonoids for treatment of obesity. *Food Indu Nutr.* 7(2), 27-29.
  97. Hermann K, Nagel CW. 1989. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 28(4), 315-347.
  98. Cha HS, Park MS. 2001. Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J Food Sci Technol.* 33(4), 409-415.
  99. Canadanovic-Brunet JM, Djilas SM, Cetkovic GS, Tumbas VT. 2005. Free-radical scavenging activity of wormwood(*Artemisia absinthium* L.) extracts. *J Sci Food Agr.* 85(2), 265-272.
  100. Jo DJ, Park EJ, Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH. 2013. Physicochemical and antioxidant properties of commercial vinegars with high acidity. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 42(8), 1204-1210.
  101. Hong SM, Kang MJ, Lee JH, Jeong JH, Kwon SH, Seo KI. 2012. Production of vinegar using *Rubus Coreanus* and its antioxidant activities. *Korean J Food Preserv.* 19(4), 594-603.
  102. Hassas-Roudsari M, Chang PR, Pegg RB, Tyler RT. 2009. Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanol and hot water extraction. *Food Chem.* 114(2), 717-726.
  103. Hong SM. 2012. Antioxidant effect of tomato vinegar. *MS Thesis*, Sunchon

- University, Suncheon, Korea.
104. Wang M, Shao Y, Li J, Zhu NQ, Rngarajan M, Lavoie E, Ho C. 1998. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem.* 46(12), 4869-4873.
  105. Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean J Biotechnol Bioeng.* 32(5), 723-727.
  106. Padilla-Benavides T, Velez-delValle C, Marsch-Moreno M, Castro-Munozledo F, Kuri-Harcuch W. 2016. Lipogenic enzymes complexes and cytoplasmic lipid droplet formation during adipogenesis. *J Cell Biochem.* 117(10), 2315-2326..
  107. Kim EH. 2018. Antioxidative activities and anti-adipogenesis effect of extracts from different parts of *Cudrania tricuspidata* and *Morus alba*. *MT thesis*. Duksung Women's University, Seoul, Kora.
  108. Cheong SR, Kim RS, Park YK, Baek SY, Yeo SH, Lee CH. 2015. Anti-obesity effects of fermented detoxified *Rhus verniciflua* vinegar supplementation in diet-induced obese rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 44(12), 1771-1778.
  109. Chon JW, Park JK, Lee MA, Jeong MR, Han JH, Park YK. 2009. Fermented *crataegi fructus* vinegar improves lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 38(8), 1024-1031.
  110. Katan MB, Zock PL, Mensink RP. 1994. Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans: an overview. *Am J Clin Nutr.* 60(6), 1017S-1022S.
  111. Dodge JA. 1994. Dietary fats and gastrointestinal function. *Eur J Clin Nutr.* 48, S8-S16.
  112. Rhee SJ, Park HK. 1984. Changes of lipid concentration and histochemical observation in liver of rats fed high fat diet. *Korean J Nutr.* 17(2), 113-125.
  113. Shin JY, Kang JR, Shin JH, Seo WT, Byun HU, Choi JS, Kang MJ. 2017. Effects of Seomaeyakssuk (*Artemisia argyi H.*) vinegar on lipid metabolism in rats fed a high-fat and high-cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 46(7), 779-789.
  114. Bjorntorp PER. 1987. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med Scand.* 222(S723), 121-134.
  115. Bjorntorp PER. 1990. "Portal" adipose tissue as a gernerator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 10, 493-496.
  116. Lidell ME, MJ Betz, S Enerback. 2014. Brown adipose tissue and its therapeutic potential. *Journal of internal medicine.* 276(4), 364-377.

117. Vazquez-Vela, MEF, N Torres, AR Tovar. 2008. White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity. *Archives of medical research.* 39(8), 715-728.
118. Oh YJ, Kwon SH, Choi KB, Kim TS, Yeo IH. 2014. Effect of vinegar made with hydroponic-cultured panax ginseng C. A. Meyer on body weight and lipid metabolism in high-fat diet-fed mice. *Korean J Food Sci Technol.* 46(6), 743-749.
119. Kinnunen PKJ, Virtanen JA, Vainoi P. 1983. Lipoprotein lipase and hepatic endothelial lipase. *Atheroscler Rev.* 11, 65-71.
120. Park JY, Heo YR. 2011. Effects of Bitter Melon (*Monordica charantia.*) extracts on body weight change and lipid composition in C57/BL6J mice fed high fat diet. *Journal of Human Ecology.* 21, 113-121.
121. Jo HC, Kim JH, Han FH. 1999. Effect of long term dance sports on serum lipids and activity of enzyme. *J Sports SCI.* 9(1), 197-211.
122. Ross R. 1983. The pathogenesis of atherosclerosis an update. *N Engl J Med.* 314, 488-494.
123. Kim MW. 2014. Effect of dietary supplementation with bitter melon on lipids and hepatic enzyme levels in streptozotocin induced diabetic rats. *J East Asian Soc Dietary Life.* 24(6), 759-767.
124. Woollett 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.
125. Park SH, Jang MJ, Hong JH, Rhee SJ, Choi KH, Park MR. 2007. Effects of mulberry leaf extract feeding on lipid status of rats fed high cholesterol diets. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 36(1), 43-50.
126. Yun YP, Kang WS, Lee MY. 1996. The antithrombotic effects of green tea catechins. *J Food Hyg Satety.* 11, 77-82.
127. Musso G, Gambino R, Cassader M. 2009. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Prog Lipid Res.* 48(1), 1-26.
128. Roach P, Balasubramaniam S, Hirata F, Abbey M, Szanto A, Simons L, Nestel P. 1993. The low density lipoprotein receptor and cholesterol synthesis are affected differently by dietary cholesterol in the rats. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1170(2), 165-172.
129. Spady DK, Meddings JB, 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(5), 1471-1474.
130. Kim YS. 2017. Optimization of fermentation conditions of Burdock vinegar and effect on anti-obesity of fermented vinegar. *MS Thesis.* Daegu University. Gyeongsan. Korea.
  131. Fushimi T, Suruga K, Oshima Y, Fukiharu M, Tsukamoto Y, Goda T. 2006. Dietary acetic acid reduces serum cholesterol and triacylglycerols in rats fed a cholesterol-rich diet. *Br J Nutr.* 95(5), 916-924.
  132. Bjorntorp P. 1992. Abdominal obesity and the metabolic syndrome. *Ann Med.* 24(6), 465-468.
  133. Jung YY. 2008. Effect of *Oenanthe javanica* extracts on fat accumulation of the liver in rats. *MS Thesis,* Yeungnam University, Gyeongsan, Korea.
  134. Shon MH, Cha JY, Lee CH, Park JH, Cho YS. 2007. Protective effect of administrated glutathione-enriched *Saccharomyces cerevisiae* FF-8 against carbon tetrachloride(CCl<sub>4</sub>)-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Food Sci Biochemol.* 16(6), 967-974.
  135. Lee JH, Cho HD, Jeong JH, Lee MK, Jeong YK, Shim KH, Seo KI. 2013. New vinegar produced by tomato suppresses adipocyte differentiation and fat accumulation in 3T3-L1 and obese rat model. *Food Chem.* 141(3), 3241-3249.
  136. Despres JP. 1993. Abdominal obesity as important component of insulin-resistant syndrome. *Nutrition.* 9(5), 452-459.
  137. Kim HS, Kim TW, Kim DJ, Hwang HJ, Lee HJ, Cheo M. 2007. Effects of natural plants supplementation on adipocyte size of the epididymal fat pads in rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 36(4), 41-423.
  138. Tang QQ, Zhang JW, Lane MD. 2004. Sequential gene promoter interaction of C/EBP $\beta$ , C/EBP $\alpha$ , and PPAR $\gamma$  during adipogenesis. *Biochemical Biophysical Research Communications.* 318(1), 213-218.
  139. Guo X, Liap K. 2000. Analysis gene expression profile during 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Gene.* 251(1), 45-53.
  140. Brown MS, Goldstein JL. 1997. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell.* 89(3), 331-340.
  141. Shimomura I, Bashmakov Y, Horton JD. 1999. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus. *J*

- Biol Chem.* 274, 30028-30032.
142. Saha A, Ruderman NB. 2003. Malonyl-CoA and AMP-activated protein kinase: An expanding partnership. *Mol Cell Biochem.* 253(1-2), 65-70.
  143. Moon YJ, Cha YS. 2008. Effects of persimmon-vinegar on lipid metabolism and alcohol clearance in chronic alcohol-fed rats. *J Med Food.* 11(1), 38-45.
  144. 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(8), 1283-1288.
  145. Aoyama T, Peters JM, Iritani N, Nakajima T, Furihata K, Hashimoto T, Gonzalez FJ. 1998. Altered constitutive expression of fatty acid-metabolizing enzymes in mice lacking the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR alpha). *J Biol Chem.* 273, 5678-5684.
  146. Brady PS, Marrine KA, Brady LJ, Ramsay RR. 1989. Co-ordinate induction of hepatic mitochondrial and peroxisomal carnitine acyltransferase synthesis by diet and drugs. *Biochem J.* 260(1), 93-100.
  147. Ok EL. 2011. Pomegranate vinegar feeding enhances hepatic fatty acid oxidation : in vitro and in vivo. *MT thesis.* Ewha Womans University, Seoul, Korea.
  148. Havel R, Shore V, Shore B, Bier D. 1970. Role of specific peptides of serum lipoproteins in the action of lipoprotein lipase. *Circul.* 41, 111-116.
  149. Alba FS, Eduardo MS, Mirandeli B, Jaime ES, Angel MG, Cesar EC, Irene DM, Graciela SR, Carmen VV, Josea MG. 2011. Inflammation, Oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci.* 12(5), 3117-3132.
  150. Attie AD, Scherer PE. 2009. Adipocyte metabolism and obesity. *J Lipid Research.* 50, S395-S399.