[UCI]I804:24011-200000233034

*2006*年 *8*月

博士學位 論文

연근의 생리활성 및 이용실태에 관한 연구

A Study on the Biological Activity and Consumption of Lotus Root(Nelumbo nucifera Gaertn)

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

朴 世 英

연근의 생리활성 및 이용실태에 관한 연구

A Study on the Biological Activity and Consumption of Lotus Root(Nelumbo nucifera Gaertn)

2006年 8月 25日

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

朴 世 英

연근의 생리활성 및 이용실태에 관한 연구

指導敎授 李 明 烈

이 論文을 理學博士學位申請 論文으로 提出함

2006年 4月 日

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

朴 世 英

朴世英의 博士學位 論文을 認准함

委員長　全南大學校　農學博士　_____印

委　員　木浦大學校　農學博士　_____印

委　員　朝鮮大學校　理學博士　_____印

委　員　朝鮮大學校　農學博士　_____印

委　員　朝鮮大學校　藥學博士　_____印

2006年　6月　日

朝鮮大學校 大學院

목 차

ABSTRACT ····· xi v

제*1*장 서 론 ····· 1

제*2*장 재료 및 방법 ····· 8

제1절 실험재료 ····· 8
제2절 시약 및 실험기기 ····· 8
1. 시약 ····· 8
2. 실험기기 ····· 9
제3절 시료추출 ····· 9
1. 연근 에탄올 추출 ····· 9
2. 에탄올 추출물의 분획 ····· 10
제4절 항산화 활성 실험 ····· 12
1. *In vitro* 에서 항산화 활성 측정 ····· 12
가. 1.1-diphenyl-2- picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거능 ····· 12
나. 항산화지수 ····· 12
다. 아질산염 소거능 ····· 13
라. 지질과산화 억제 효능 ····· 13
2. *In vivo* 에서 항산화 효능 실험 ····· 14
가. 실험동물 사육 ····· 14
나. 실험설계 및 실험식이 ····· 15
다. 실험동물 처치 ····· 15

라. 혈청 중 AST, ALT 및 ALP 활성 측정 ····· 19
마. 간조직 중 효소 활성 측정 ····· 19
(1) 효소원 조제 ····· 19
(2) Xanthine oxidase(XO) 활성 ····· 19
(3) Superoxide dismutase(SOD) 활성 ····· 20
(4) Catalase 활성 ····· 20
(5) Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성 ····· 21
(6) Glutathione(GSH) 함량 ····· 21
(7) Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 함량 ····· 22
(8) 단백질 함량 ····· 22
바. 통계처리 ····· 22
제5절 고지혈증 억제 효능 실험 ····· 24
1. *In vitro* 에서 고지혈증 억제효과 측정 ····· 24
가. Low density lipoprotein(LDL)에 대한 항산화효과 측정 ····· 24
(1) LDL 분리 ····· 24
(2) LDL 산화 및 항산화효과 측정 ····· 24
나. 연근의 HMG-CoA reductase 저해활성 측정 ····· 25
(1) Yeast 배양 ····· 25
(2) Microsomal protein 제조 ····· 25
(3) HMG-CoA reductase 저해활성 ····· 25
2. *In vivo* 에서 고지혈증 억제 효능 실험 ····· 27
가. 실험동물 사육 ····· 27
나. 실험설계 및 실험식이 ····· 27
다. 실험동물의 처치 ····· 27
라. 혈청 중 ALP, AST 및 ALP 활성 측정 ····· 30
마. 혈청 중 지질 함량 측정 ····· 30

바. 간조직 중 지질 함량 측정 ····· 30
사. 통계처리 ····· 31
제6절 단체급식소의 연근 이용실태 조사 ····· 32
1. 연구대상 및 기간 ····· 32
2. 연구방법 및 내용 ····· 32
3. 통계분석 ····· 32

제3장 실험결과 및 고찰 ····· 34

제1절 항산화 효능 ····· 34
1. 80% 에탄올 추출물 수율 및 용매별 분획물 수율 ····· 34
2. *In vitro* 에서 항산화 활성 ····· 36
가. DPPH radical 소거작용 ····· 36
나. 항산화지수 ····· 38
다. 아질산염 소거능 ····· 40
라. 지질과산화 억제 효능 ····· 42
3. *In vivo* 에서 항산화 효능 ····· 44
가. 체중증가율 및 식이효율 ····· 44
나. 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성 ····· 47
다. 간조직 중 항산화 효소 활성 ····· 51
(1) XO 활성 ····· 51
(2) SOD, catalase 및 GSH-Px 활성 ····· 53
라. 간조직 중 GSH 함량 ····· 59
마. 간조직 중 지질과산화물 함량 ····· 62

제2절 고지혈증 억제 효능 ····· 64

1. *In vitro* 에서 고지혈증 억제 효능 ····· 64
가. 산화된 LDL에 대한 항산화 효능 ····· 64
나. HMG-CoA reductase 저해활성 ····· 66
2. *In vivo* 에서 고지혈증 억제 효능 ····· 69
가. 체중증가율, 식이효율 및 간 무게 ····· 69
나. 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성 ····· 74
다. 혈청 중 중성지방, 총콜레스테롤 및 인지질 함량 ····· 79
라. 혈청 중 유리 콜레스테롤 함량, 콜레스테릴 에스테르 함량 및 콜레스테릴 에스테르 비율 ····· 84
마. 혈청 LDL-콜레스테롤 함량, HDL-콜레스테롤 함량, 심혈관 위험 지수 및 동맥경화지수 ····· 89
바. 간조직 중 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지방 함량 ····· 96
제3절 단체급식소의 연근이용 실태 ····· 101
1. 조사대상자의 일반적인 사항 ····· 101
가. 조사대상 영양사의 일반적 특징 ····· 101
나. 조사급식소의 급식유형별 운영 현황 ····· 104
2. 연근의 이용실태 ····· 107
가. 연근 사용빈도 ····· 107
나. 연근 구입할 때 상태 ····· 110
다. 연근 1회 사용 분량 ····· 112
라. 연근 조리법의 이용 실태 ····· 115
마. 연근의 사용에 대한 영양사의 인식조사 ····· 118
바. 연근 조리의 잔반비율 ····· 121

제4장 요 약 ····· 123

제5장 참 고 문 헌 ····· 128
설 문 지 ····· 147

LIST OF TABLES

Table 1. Composition of experimental basal diet ····· 17
Table 2. Experimental groups for antioxidant experiment ····· 18
Table 3. Composition of experimental diets containing high cholesterol with lotus root(*Nelumbo Nucifera* G.) ethanol extract ····· 28
Table 4. Experimental groups for hyperlipidemia experiment ····· 29
Table 5. Yields of solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root ·· 35
Table 6. Scavenging effects of the solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root on DPPH radical ····· 37
Table 7. Antioxidative activities of the solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root ····· 39
Table 8. Change of body weight gain in alcohol and/or lotus root ethanol extract administered rats ····· 45
Table 9. Feed intake and feed efficiency ratio(FER) in alcohol and/or lotus root ethanol extract administered rats ····· 46
Table 10. Inhibitory activity of lotus root ethanol extract on HMG-CoA reductase ····· 69
Table 11. Change of growth rate of the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 71
Table 12. Feed intake and FER of the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 72
Table 13. Effect of lotus root ethanol extract on liver weight of rats fed high cholesterol diet ····· 73
Table 14. General characteristics of the subjects ····· 103
Table 15. General characteristics of food service ····· 106

Table 16. Intake frequency of lotus root by the type of food service ····· 109
Table 17. Purchasing state of lotus root by the type of food service ····· 111
Table 18. Serving size of lotus root by the type of food service ····· 114
Table 19. Cooking method of lotus root by the type of food service ····· 117
Table 20. Using reason of lotus root by dietitian ····· 120
Table 21. Non-using reason of lotus root by dietitian ····· 120
Table 22. Leftover ratio of lotus root by the type of food service ····· 122

LIST OF FIGURES

Fig. 1. Procedure for extraction and fractionation of lotus root(N*elumbo nucifera* G.) by various solvents ····· 11

Fig. 2. Nitrite scavenging activity of the solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root at pH 1.2, 4.2 and 6.0 ····· 41

Fig. 3. TBA value of linoleic acid substrate containing of the solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root on at 40℃ ····· 43

Fig. 4. Activity of ALT in the serum of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract ····· 48

Fig. 5. Activity of AST in the serum of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract ····· 49

Fig. 6. Activity of ALP in the serum of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract ····· 50

Fig. 7. Activity of XO in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract ····· 52

Fig. 8. Activity of SOD in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract ····· 56

Fig. 9. Activity of catalase in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract ····· 57

Fig. 10. Activity of GSH-Px in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract ····· 58

Fig. 11. Concentration of GSH in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract ····· 61

Fig. 12. Concentration of TBARS in the liver of rats administered alcohol

and/or lotus root ethanol extract ····· 63
Fig. 13. Inhibitory activity of the solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root on human low density lipoprotein(LDL) oxidation ··· 65
Fig. 14. Activity of ALT in the serum of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 76
Fig. 15. Activity of AST in the serum of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 77
Fig. 16. Activity of ALP in the serum of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 78
Fig. 17. Concentration of triglyceride in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 81
Fig. 18. Concentration of total cholesterol in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 82
Fig. 19. Concentration of phospholipid in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 83
Fig. 20. Concentration of free cholesterol in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 86
Fig. 21. Concentration of cholesteryl ester in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 87
Fig. 22. Ratio of cholesteryl ester in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 88
Fig. 23. Concentration of LDL-cholesterol in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 92
Fig. 24. Concentration of HDL-cholesterol in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 93
Fig. 25. Ratio of cardiac risk factor(CRF) in the rats fed high cholesterol

diet with lotus root ethanol extract ····· 94
Fig. 26. Atherogenic index(AI) of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 95
Fig. 27. Concentration of total lipid in the liver of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 98
Fig. 28. Concentration of triglyceride in the liver of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 99
Fig. 29. Concentration of total cholesterol in the liver of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract ····· 100

ABSTRACT

A Study on the Biological Activity and Consumption of Lotus Root(Nelumbo nucifera G.)

Park, Se-Young
Advisor : Prof. Lee, Myung-Yul, Ph. D.
Department of Food and Nutrition,
Graduate School of Chosun University

The node of lotus rhizome(*Nelumbo nucifera* G. root) has been used for the remedy of bleeding, blood stagnancy, thirstiness, anti-diabetic and antipyretic activity as a traditional medicine in Korea. In this study, the effects of ethanol extract of lotus root(LRE) on antioxidant capacity and lipid metabolism were investigated. In addition, usage of lotus root at food service, such as school, industry and hospital, in Jeollanamdo-Gwangju areas was also surveyed to provide basic data for dietitians.

This study investigated the effects of an ethanol extract of lotus root on alcohol-induced hepatotoxicity in the rat. Sprague-Dawley rats weighing 100～150g, were divided into 6 groups: basal diet group(BD), alcohol(35%, 10 mL/kg/day) treated group(ET), LRE 200 mg/kg/day treated group(BD-LREL), LRE 400 mg/kg/day treated group(BD-LREH), LRE 200 mg/kg/day and alcohol treated group(ET-LREL), and LRE 400 mg/kg/day

and alcohol treated group(ET-LREH). Lotus root ethanol extract was fractionated by the following: n-hexane, chloroform, ethylacetate and n-butanol. The antioxidative capacity of the ethylacetate fraction was the highest among fractions. The body weight gain was decreased by alcohol administration, however, was gradually increased to a little lower level than the basal diet group by administering lotus root ethanol extract. The serum alanine aminotransferase(ALT), asparate aminotransferase(AST) and alkaline phosphatase(ALP) activities that were elevated by alcohol were significantly decreased by lotus root ethanol extract administration. These effects of lotus root ethanol extract within the alcohol groups were dose-dependent manners. It was also observed that thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) content, xanthine oxidase(XO), superoxide dismutase(SOD), catalase and glutathione peroxidase(GSH-Px) activities in liver that were increased by alcohol were markedly decreased in the lotus root ethanol extract administered groups as compared with the alcohol administrated group. These effects of lotus root ethanol extract within the alcohol groups were dose-dependent manners. The glutathione(GSH) concentration in liver was decreased by alcohol adminstration, however, increased after administering lotus root ethanol extract.

Next, this study was also performed to investigate the effects of lotus root ethanol extract on serum and liver lipid metabolism in rats. Lotus root ethanol extract(200 mg/kg/day and 400 mg/kg/day) was administered orally to rats with fed high cholesterol diet for 6 weeks. We divided into 6 groups: normal diet group(NC), high cholesterol diet group(1% cholesterol and 0.25% sodium cholate)(HC), LRE 200 mg/kg treated group(NC-LREL), LRE 400 mg/kg treated group(NC-LREH), high cholesterol diet and LRE 200 mg/kg

treated group(HC-LREL), and high cholesterol diet and LRE 400 mg/kg treated group(HC-LREH). The inhibitory effects of lotus root ethanol extract on LDL-cholesterol oxidation and HMG-CoA reductase activity of *in vitro* were observed. The growth rate and liver weight of the high cholesterol diet group was higher than the normal diet group, whereas the groups administered lotus root ethanol extract were gradually decreased. There was a signigicant increase in the activities of serum ALT, AST and ALP in the high cholesterol diet group. The administration of lotus root ethanol extract decreased serum ALT, AST and ALP activities in dose dependent manners. The high cholesterol diet group was increased serum triglyceride, total cholesterol, free cholesterol and LDL-cholesterol levels, and decreased atherogenic index, HDL-cholesterol and phospholipid levels as compared with the normal diet group. Lotus root ethanol extract administrated groups were increased HDL-C/T-C, HDL-cholesterol and phospholipid levels, and decreased serum triglyceride, total cholesterol, free cholesterol, and LDL-cholesterol levels as compared with the high cholesterol diet group. The hepatic concentrations of total lipid, total cholesterol and triglyceride were also lower in lotus root ethanol extract administrated groups than in the high cholesterol diet group.

We also surveyed dietitians' perception on usuage of lotus root. This study was carried out through a questionnaire and the subjects was 131 school dietitans, 72 industry dietitans and 45 hospital dietitans in Jeollanamdo-Gwangju areas. According to the survey, most dietitians perceived that minimally processed ready-to-use lotus root would helpful for the institutional food service. Most respondents applied lotus root to their menu planning and used lotus root for food service meal less than 10 times

per years. Lotus root jorim was estimated the most preferred cooking method. Major reasons for their using lotus root were health food and characteristic food, and reasons for non-use of lotus root were simple cooking method, high price and less preference. It is needed to study for the development of cooking method of lotus root proper to preference of student, adolescent and patient in food service. In addition, for patients' nutrition and well-being through institutional food service meal, it is necessary to prepare database of vegetables such as lotus root.

Taken together, these results suggest that ethanol extract of lotus root may have a possible protective effect on liver function in hepatotoxicity-induced rat by alcohol administration, fatty liver in hyperlipidemia-induced rat by a high cholesterol diet. The development of cooking recipe with lotus root and their antioxidative and hyperlipidermic effects of lotus root on patients need to be investigated further.

제1장 서 론

연(*Nelumbo nucifera*)은 인도, 중국, 일본, 한국, 시베리아 지역의 못이나 늪지에서 자라는 다년생 수초로, 잎의 높이가 1~1.5 m이며 뿌리가 옆으로 길게 뻗고 원주형으로 마디가 많다(1). 잎은 뿌리줄기에서 나와 물위에 높이 솟는 하엽으로 원형에 가까운 백록색이고, 엽맥은 지름이 40 cm 정도로 사방으로 퍼져 있고 물에 잘 젖지 않으며, 엽병은 원주형의 짧은 가시 모양의 돌기가 있다. 화경에는 잎자루처럼 가시가 있고 7~8월에 지름 15~20 cm 정도의 한 개의 연한 홍색 또는 백색을 띠는 연꽃이 핀다. 가을철에 뿌리줄기의 끝 부분이 굵어져 식용으로 사용하는 연근(*Nelumbo nucifera* Gaertn.(root))이 되는데, 본초명으로는 우(藕)라 한다(2). 화탁(연밥)은 길이와 지름 10 cm 정도의 해면질로 표면이 평평하고 10월에 열매가 성숙된 후 길이 2 cm 정도의 도토리와 같은 형태로 완전히 건조되어 매우 딱딱해 지는데, 이러한 성숙한 과실을 석연자 또는 연실이라 하고, 껍질을 벗긴 종자를 연자육이라 한다(2-4). 연근을 비롯한 연잎, 연꽃, 연자육은 식용 및 약용으로 널리 쓰여 지고 있다(5).

연은 nulumbine, nuferine, isoliensinine, asparagine, lotusine, armepavine, nuciferine, methylcorypalline, dimethylcoclaurine, higenamine, β-sistosterol 등과 같은 다양한 생리활성물질을 함유하고 있다(2,6-8). 이 중 methylcorypalline은 관상혈관 확장작용(2), dimethylcoclaurine은 자궁 평활근 이완작용(2), higenamine은 심장강화 활성(cardiotonic activity)작용(7), β-sistosterol은 phytosterol로서 혈장 콜레스테롤 감소효과, 심장병 예방효과 및 대장암 예방효과가 있는 것으로 보고되었다(8). 항산화물질로 알려진 kaempferol, quercetin, isoquercetin과 같은 flavonoids, tannic acid 등 다양한 polyphenol 화합물 및 oligomeric procyanidine이 연잎(9), 연꽃(10), 연근(11,12) 및 연육(13)에 다량 함유되어 있어 항산화효과가 있는 것으로 보고되었다. 또한 연잎 추출물은 아테롬성 동맥경화증을 유발한 Bio F1B 햄스터의 고지혈증 예방효과(14)와 고지

방식이로 유도된 비만 생쥐와 흰쥐의 항비만효과(15)가 있어 대사성 질환을 완화시키는 작용이 있는 것으로 알려져 왔다.

예로부터 연근은 한방과 민방에서 맛은 달고 떫으면서 성질이 차지도 덥지도 않아 죽으로 요리하여 장복하면 어혈을 풀어주며, 신경통이나 류머티즘 및 피로 회복과 병후의 회복에 좋으며, 위장과 폐가 약하거나 설사가 잦은 사람, 스트레스와 초조감, 출혈성 위궤양이나 위염에 효과가 있다(16)고 하여 널리 애용하였다.

이와 같이 연근은 약용뿐만 아니라 식용으로는 연근정과, 연근찜, 연근전, 연근죽 등의 요리에도 널리 사용하고, 생식도 가능하며 생 연근을 박리하고 세절하여 건조시킨 후 분말화한 다음 밀가루와 혼용하거나 차로 이용하고 전분제조에도 이용하였다(17).

연근에 대한 연구는 연근의 성분분석에 관한 연구(3,5,6), 연근의 갈변현상에 관한 연구(28), 연근을 이용한 조리연구(29-31), 연근의 생리활성 성분 분석에 관한 연구 등(11,12)이 주로 수행되었다.

연근의 주성분은 탄수화물로 수용성 식이섬유소가 풍부하여 체내 콜레스테롤 함량을 저하시키는 작용과 변비 예방 및 비만 예방효과가 있는 것으로 알려져 있다(6). 또한 연근은 비타민 C를 많이 함유하고 있는데 연근 자체의 주성분인 탄수화물이 비타민 C를 보호하고 있어 쉽게 파괴되지 않는 장점이 있다.

Asparagine을 비롯한 arginine, tyrosine과 같은 아미노산과 인지질인 lecithine도 연근에는 풍부하게 함유하고 있는데, lecithine은 유화력이 있기 때문에 혈관벽에 콜레스테롤이 침착하는 것을 예방하고, 신경전달물질인 acetylcholine을 생성하여 기억력 감퇴 억제효과가 있으며 치매예방효과도 알려져 있다(18). 연근은 절단할 때 실과 같은 끈끈한 점액이 나오는데 이는 당단백질의 일종인 뮤신(mucin)으로 콜레스테롤 저하작용, 위벽보호 및 해독작용을 하는 것으로 보고되었다(19). 또한 연근에는 칼륨 함량이 높아 고혈압 환자에게 좋은 식품 재료로 알려져 있으며, 항산화물질로 알려진 polyphenol류를 다량 함유하고 있는 것

으로 보고되었다(13,20).

연근의 생리활성 물질의 효능에 관한 연구로는 연근 에탄올 추출물의 고혈압 강하효과(21,22), 당뇨병 예방효과(23-25), 스트레스 저하효과(26), 항암효과 및 신장보호 효과(27) 등이 있으며, 특히 연근에서 분리한 bisbenzylisoquinoline alkaloid 유도체에 속하는 nuferine은 부정맥을 비롯해서 심혈관계 질환 예방 효과가 있는 것으로 보고되었다(10).

최근 경제수준이 향상됨에 따라 알코올의 만성적 혹은 과량 섭취로 인한 간 질환을 포함한 알코올과 관련된 만성 퇴행성 질환의 발병이 사회 문제화 되고 있다(32). 알코올은 간에서 분해되면 acetaldehyde를 생성하게 되고 간에서 생성된 acetaldehyde는 혈액을 통해 간 이외의 조직으로 운반되어 에너지 생성에 이용될 뿐만 아니라 간에서 주로 지방산 합성에 이용되기 때문에 과량의 알코올 섭취는 지방간의 원인이 된다(33). 과량 섭취된 알코올은 그 대사산물인 acetaldehyde에 의해 free radical을 생성하여 지질과산화물을 형성하고 그로 인해 간세포 파괴 및 섬유화에 관여하다고 알려져 있다(34). 즉 알코올의 대사산물은 체내 산소를 활성화시켜 독성이 매우 강한 superoxide anion(O_2・)으로 전환시키는데, 이들 superoxide anion은 다시 과산화수소(H_2O_2), hydroxyl radical(・OH) 및 $^1O_2$(singlet oxygen)로 전환되어진다. 이들은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)으로 산화력이 매우 강하기 때문에 인체 내에서 제거되지 못하면 산화적 스트레스(oxidative stress)를 유발하게 된다(35).

산화적 스트레스는 생체막의 필수 구성성분인 불포화지방산의 탄소사슬을 공격하여 microsome, mitochondria, ribosome의 막을 손상시킨다(36,37). 이로 인해 지질과산화물의 생성을 유도하고 단백질, 세포막 및 DNA 등을 손상시켜 유전자의 변형을 초래하고 암을 비롯한 Alzheimer 질환, Parkinson씨 병, 본태성 고혈압, 동맥경화증, 뇌졸중, 협심증, 심근경색, 당뇨병 등을 비롯한 각종 질환

의 원인이 된다(38).

그러나 이러한 활성산소들은 생체 내 superoxide dismutase(SOD), catalase, xanthine oxidase(XO), glutathione peroixidase(GSH-Px) 등 free radical scavenger 역할을 하는 항산화 효소와 vitamin E, β-carotene, vitamin C, lipoic acid, selenium(Se), glutathione 및 uric acid 등 항산화물질에 의해 대부분이 소멸되지만 과량의 활성산소나 지속적인 활성산소 생성으로 항산화 방어계의 균형이 깨지게 되면 각종 질환을 일으키게 된다. 이와 같이 신체는 이러한 산화적 스트레스로부터 세포막과 세포내 물질을 보호하기 위한 항산화 기전이 존재하는데 그 중 하나는 항산화효소에 의한 효소적 방법이고, 나머지는 생체 내 여러 가지 항산화물질과 식이를 통하여 공급되는 항산화 비타민이나 체내 생리활성 물질로 알려진 polylphenol류와 같은 항산화제에 의한 비효소적 방법이다. 그러나 신체가 항산화 방어체계를 구축하여 스스로를 보호하지만 항산화 체계가 약화되거나 산화적 스트레스가 가해질 때 증가되는 활성산소종에 대항하기는 역부족 상태에 놓이게 된다(35-38).

따라서 항산화 성분의 섭취나 항산화효소 활성 증가 등으로 체내 항산화 효능을 증진시키는 것은 누적되는 산화적 손상에 대항하기 위해서 매우 중요한 것으로 보고(39-49)되고 있으며, 더불어 항산화물질을 함유한 천연 자원에 대한 관심도 증가되고 있다. 이로 인하여 생체 내 free radical의 생성을 억제하는 것이 질병예방을 위한 중요한 과제로 대두되고 있으며, 생체 내 free radical의 생성을 억제하는 항산화 물질에 대한 연구(50,51)가 다양하게 수행되고 있다.

또한 서구화된 식생활 등으로 동물성 포화지방산, trans 지방산 등의 섭취 증가로 각종 질환의 발병률이 증가하는데 특히 고지혈증을 비롯한 동맥경화증, 뇌혈관질환, 심장병과 같은 심혈관계 질환으로 인한 사망이 증가되고 있는 추세이다(52). 고지혈증(hyperlipidemia)은 혈장 내 콜레스테롤이나 중성지방이 비정상적으로 증가된 상태이며, 그 중 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia)은 죽상동맥경화증과 고중성지방혈증을 유발하는 것으로 알려져 있다. 특히 죽상

동맥경화증은 혈류 속도를 감소시켜 허혈성 심장질환, 협심증, 심근경색의 원인이 되므로 임상적으로 중요한 문제가 되고 있다(53).

심혈관계 질환의 발생 원인은 유전, 흡연, 고혈압, 혈액 중 콜레스테롤, 비만 그리고 당뇨병 등 환경적 영향과 동맥의 내벽에 죽종이라는 지질과 결합조직, 평활근 세포의 증식, 혈관내벽 손상, 혈관손상부위에서 혈소판 접착과 응집, 혈관내벽에 지질과 지단백질 축적, 혈전형성, 혈관내벽에 지질과 지단백질 축적 등의 원인 등으로 인한 동맥경화증의 합병증으로 생긴다고 알려져 있다(54).

최근 연구에서는 고콜레스테롤 상태에서도 산화적 스트레스가 촉진되어(55), 심혈관계질환을 유발하는 중요한 병인으로 작용한다고 보고(56)되었다. 저밀도 지단백질인 low density lipoprotein(LDL)-콜레스테롤은 macrophage에서 생성되어진 활성산소, free radical, 내피세포의 lipoxygenase 및 과산화지질에 의하여 쉽게 산화되어 산화된 형태의 LDL(oxidized LDL)을 생성한다. 산화된 LDL-콜레스테롤은 내피세포에 축적되어 거대 거품세포(foam cell)를 형성하며, 이 과정에서 일부 세포는 사멸되고 이 거대 거품세포가 증가하면서 지방층이 동맥벽에 쌓여 동맥경화가 일어나게 된다. 결국 동맥경화의 원인을 예방하기 위해서는 LDL-콜레스테롤의 산화를 방지해야 하며, 동맥경화를 일으키는 산화된 LDL-콜레스테롤의 생성을 억제하는 물질이 동맥경화를 예방하는 물질이라고 할 수 있다(57,58).

고지혈증 개선 방안을 위하여 콜레스테롤 합성저해제가 다각적으로 연구(59-64)되어 왔다. 고지혈증 치료를 위하여 콜레스테롤 합성을 억제하는 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A(HMG-CoA) reductase 저해제 및 혈액 내 중성지방의 농도를 낮추는 피부린산 유도체 계통의 약물들이 개발되어 사용되고 있다. 그러나 이러한 약물들을 장기간 복용할 때 지용성 비타민 결핍증, 간 및 신장 기능 저하 등 부작용을 동반하는 것으로 알려져 또 다른 문제점으로 보고되었다(59). 최근에는 혈청 지질의 농도를 낮추기 위하여 천연물을 이

용한 식이요법이나 한방 혹은 민간요법을 근거로 하여 혈중 LDL-콜레스테롤 함량을 낮춤으로써 심혈관계질환으로 이환될 위험을 저하시킬 뿐 아니라 동맥경화증의 예방이나 치료를 가능하게 할 수 있는 연구가 진행되었다(52,60-64). 따라서 연근과 같은 천연식품을 식품재료화 하여 기능성 식품의 신소재로 개발하기 위해서는 과학적이며 체계적인 생리활성 연구가 우선적으로 선행되어 그 효능을 검증해야 한다.

최근 최상의 건강 유지를 위한 웰빙(well-being)이 유행하면서 연근을 비롯한 전통적인 향토음식의 식재료들은 일반인들뿐만 아니라 병원급식과 같은 병인식을 제공하는 급식소에서는 건강식품으로 각광을 받고 있다. 특히 연근이 식품재료로 우수성이 알려지면서 미국 등지에서도 연근 전분을 이용한 병약자, 유아, 노인 등의 특수 식이로 관심을 가지고 있다(30). 그러나 예로부터 연근은 조림, 전, 강정 등의 조리법이 매우 단순한데 비하여 고가의 식재료여서 단체급식소에서 이용이 제한적이고 소비자의 기호에 맞추어 조리법을 개발하는 노력이 부족한 실정이다. 초등학교(65)와 중학생(66)들은 특히 연근 기호도가 아주 낮은 것으로 조사되었다. 또한 단체급식소에서 식재료를 이용하는 영양사를 대상으로 연근의 사용실태 및 연근 식재료에 대한 인식조사가 매우 미흡한 실정이다.

연근은 다양한 생리활성 성분과 영양소를 함유하고 있으나 이들 성분들의 동물실험을 통한 항산화 및 고지혈증 예방효과에 대한 체계적인 효능 검증은 매우 미진한 편이다.

따라서 본 연구에서는 연근의 식품영양학적인 측면의 우수성과 생리활성 효능을 검증하기 위하여 흰쥐의 항산화체계와 지방대사에 미치는 영향을 검토하기 위하여 연근의 용매 추출과 용매별 분획 추출을 통하여 얻어진 분획물을 *in vitro* 에서 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 의한 전자공여능, Rancimat에 의한 항산화지수, thiobarbituric acid value(TBA)에 의한 지질과산화 억제능을 기존의 합성항산화제와 비교하여 항산화 활성을 측정하였고, *in vivo* 에서는

Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐에게 연근 에탄올 추출물 및 알코올을 6주간 경구 투여한 후 알코올 투여로 유도된 간세포 손상에 미치는 영향을 확인하기 위하여 혈청 alanine aminotransferase(ALT)와 asparate aminotransferase(AST) 활성을 측정하였으며, 간에서 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD), xanthine oxidase(XO), catalase 및 glutathione peroxidase(GSH-Px)의 활성과 항산화물질인 glutathione 함량을 측정하였다. 또한 연근의 고지혈증 예방효과에 미치는 영향을 확인하기 위하여 *in vitro* 에서 산화된 LDL-콜레스테롤에 대한 항산화작용과 콜레스테롤 합성의 주된 조절 효소인 HMG-CoA reductase 저해활성을 측정하였고, *in vivo* 에서는 고콜레스테롤식이를 급여한 흰쥐에게 연근 에탄올 추출물을 경구 투여 후 혈청과 간의 지방대사에 미치는 영향도 검토하였다.

또한 광주·전남지역 단체급식소에서 연근의 소비증대 방안 및 병인식 개발을 위한 기초 자료를 얻기 위하여 연근의 이용현황과 조리법 등 연근의 사용 실태를 급식소별 즉 학교, 산업체, 병원급식소로 비교 평가하였다.

제2장 재료 및 방법

제1절 실험재료

연근(*Nulumbo nucifera* G.)은 2003년 4월 전남 무안에서 재배되어 시판되고 있는 것을 구매하여 수세하고 음건한 다음 Waren blender(Braun MR 350. CA. USA)로 조분쇄하여 시료로 사용하였다.

제2절 시약 및 기기

1. 시약

본 실험에 사용된 시약은 xanthine oxidase, xanthine, cytochrome C, glutathione reductase, reduced glutathione(GSH), oxidized glutathione(GSSG) reduced nicotinamide adenine dinucleotide(NADH), nicotinamide adenine dinucleotide(NAD), glycine, sodium pyrophosphate, semicarbazide hydrochloride, sodium azide, reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADPH), α-l-antitrypsin, perchloric acid, sulfosalicylic acid(SSA), bovine serum albumin, potassium ferricyanide(KCN), ethylene diamine tetraacetic acid(EDTA), Tris-HCl, sucrose, 5,5′-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB), sodium phosphate(monobasic, dibasic), phenol reagent, dithiothreitol(DTT), 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, sulfanylic acid, naphthylamine, linoleic acid, soybean oil, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A(HMG-CoA), glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase, bovine serum albumin, laurly sulfate 등은 Sigma사

(Sigma-Aldrich Co., USA), ethanol, n-hexane, chloroform, ethylacetate, heptane 및 n-butanol은 HPLC grade로 Tedia사(Tedia Co., USA), trichloroacetic acid(TCA)는 Aldrich사(Sigma-Aldrich Co., USA)와 lavastatin은 EMB Biosciences사(EMB Biosciences, USA)에서 구입하였고, 기타 시약은 특급으로 구입하여 사용하였다.

2. 실험기기

가. Centrifuge : Eppendorf 5810R, Germany

나. Evaporator : Eyela, Rotary vacuum evaporator, Japan

다. Spectrophotometer : Shimadzu UV-1601PC, Kyoto, Japan

라. Deep freezer : MDF-U52V Sanyo, Japan

마. Ultra Turax : IKA MT-25 Janke & Kunkel, Germany

바. Shaking water bath : JEIO-TEK SWBO3, Korea

사. Rancimat 679 : Metrohm Ltd., CH-9101 Herisau, Switzerland

아. Ultrasonic processor : VCX-750, USA

자. Blender : Braun MR 350 CA, USA

제*3*절 시료추출

1. 연근 에탄올 추출

검색용 생리활성 물질은 건조 시료 100 g 당 80% 에탄올 500 mL을 첨가한 후 환류냉각관을 부착한 65℃의 heating mantle에서 3시간 동안 3회 추출한 다음 Whatman filter paper(No. 2)로 여과하였다. 이것의 일부를 110℃에서 건조시킨 후 고형분 함량을 추출물 수율로 계산한 다음 시료의 산화방지를 위해 -70℃에 냉동

보관하면서 사용하였다(44).

2. 에탄올 추출물의 분획

80% 연근 에탄올 추출물을 극성을 달리한 용매별로 분획하여 Fig. 1과 같이 분획물을 얻었다. 농축한 추출물을 증류수에 희석한 후 n-hexane, chloroform, ethylacetate, n-butanol, 증류수(water) 순으로 각각 분획여두에서 3회 연속 반복 추출(67)한 다음 rotary vacuum evaporator로 유기용매를 증발시킨 추출물을 동결 건조시켜 고형물 함량을 산출하였다(44).

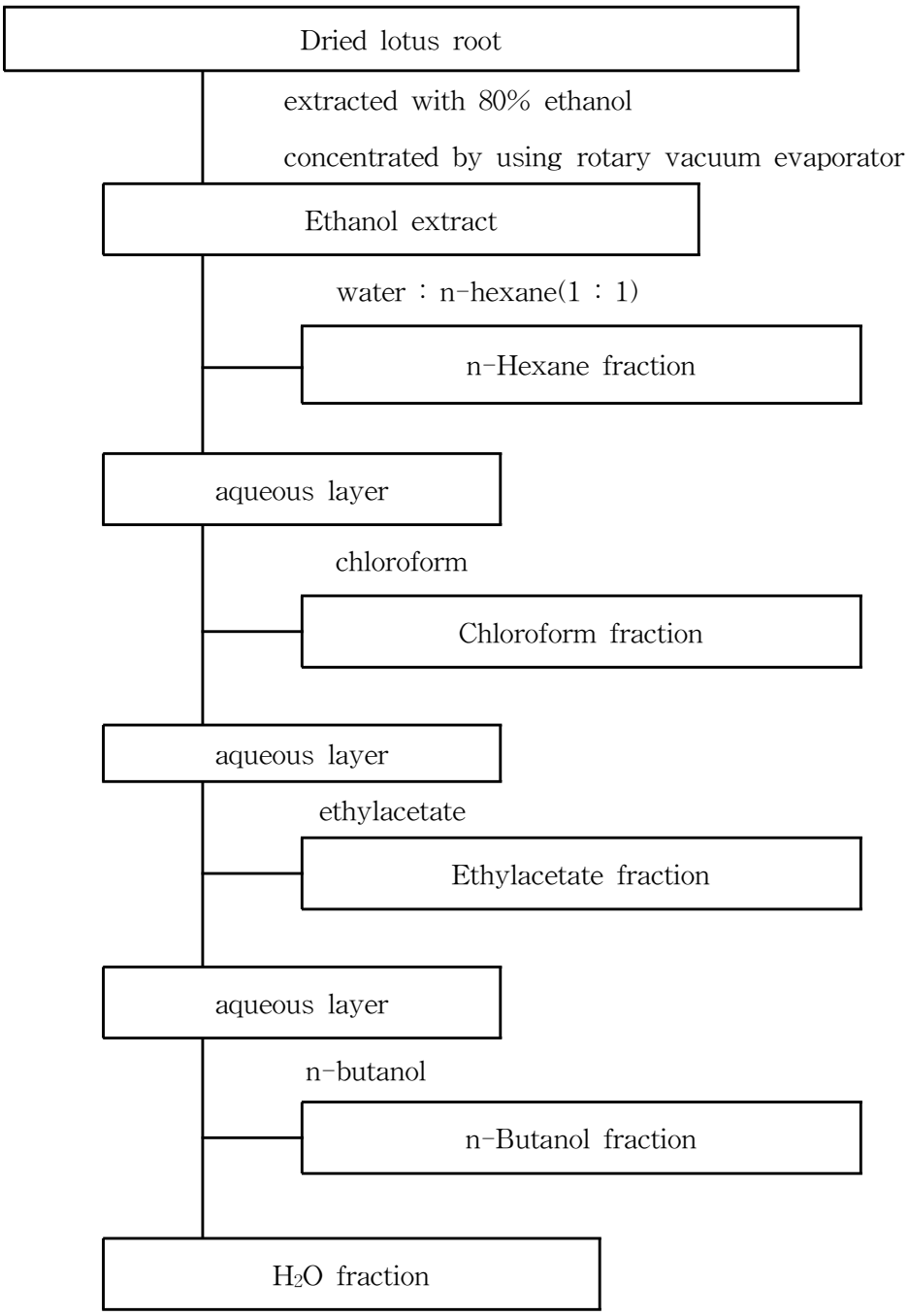

Fig. 1. Procedure for extraction and fractionation of lotus root(Nelumbo nucifera G.) by various solvents.

제4절 항산화 활성 실험

1. *In vitro* 에서 항산화 활성 측정

가. *1.1-diphenyl-2- picrylhydrazyl(DPPH) radical* 소거능

시료의 전자공여능 측정은 Blois의 방법(55)에 준하여, 연근 에탄올 추출물 분획들과 합성항산화제인 butylated hydroxytoluene(BHT)의 DPPH에 대한 수소공여능을 측정하였다. 즉 600 ppm을 함유하고 있는 시료 2 mL에 2×10^{-4} M DPPH 용액(dissolved in 99% ethanol) 1 mL 가하고, 잘 혼합하여 37℃에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액은 517 nm 흡광도에서 전자공여능(electron donating ability)으로 측정하였으며, 각 분획의 억제능은 대조군에 비하여 DPPH free radical을 50% 억제하는데 요구되는 함량(RC_{50})과 비교 하였다. 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다.

나. 항산화지수

항산화지수는 Rancimat을 이용하여 측정하였는데, 분획에 포함된 용매를 완전히 제거한 후 각 분획의 함량이 600 ppm이 되도록 soybean oil(Sgma Co., USA)에 첨가하고 초음파(Ultrasonic processor)를 이용하여 시료 추출물과 유지가 잘 혼합되도록 하였다. 항산화지수의 측정 조건은 시료 3.0 g을 반응용기에 취하고 증류수 70 mL을 측정용기에 넣은 후 110℃에서 air flow rate를 20 L/h로 하여 산화 안정성을 비교하였다(69). 항산화지수(antioxidant index, AI)는 분획을 첨가한 실험구의 유도시간을 분획을 첨가하지 않은 대조구의 유도시간으로 나눈 값으로 구하였고, 모든 측정치는 3회 반복 시험하여 얻은 값의 평균치로 표시하였다. 기존의 상업용 합성항산화제인 BHT를 연근 에탄올 분획들과

동일하게 유지에 첨가하여 비교 실험하였다.

다. 아질산염 소거능

Kato 등의 방법(70)에 준하여 아질산염 소거능을 측정하였는데, 1 mM $NaNO_2$ 용액 2 mL에 연근 에탄올 추출물 각 분획별 600 ppm의 시료 1 mL에 가하고 0.1 N HCl(pH 1.2), 0.2 M citrate phosphate buffer(pH 4.2, pH 6.0)로 각각 pH를 보정한 다음 반응액의 부피를 10 mL로 정용하였다. 용액을 37℃에서 1시간 반응시킨 후 1 mL 씩 취하고 2% 초산 5 mL와 30% 초산에 용해한 Griess 시약(1% sulfanylic acid : 1% naphthylamine = 1 : 1) 0.4 mL를 가하여 15분간 방치한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일한 방법으로 측정하여 잔존하는 아질산 양을 구하였으며, 아질산염 소거능은 분획을 첨가하기 전과 후의 아질산염 백분율(%)로 표시하였다. 실험결과는 3회 반복 시험의 평균값으로 하였다.

$$N(\%)=1-\frac{(A-C)}{B}\times 100$$

N : Nitrite scavenging ability

A : Absorbance of 1 mM $NaNO_2$ added sample after standing for 1 hr

B : Absorbance of 1 mM $NaNO_2$

C : Absorbance of control

라. 지질과산화 억제 효능

지질과산화 억제효과는 Ottolenghi 방법(71)을 변형하여 기질 용액 0.1M phosphate buffer(pH 7.0)와 ethanol을 4 : 1로 혼합한 용매에 linoleic acid를

0.03 M이 되도록 첨가하였다. 이 기질 용액 2 mL에 0.1M phosphate buffer(pH 7.0) 19.2 mL와 각 분획별 시료가 600 ppm이 되도록 첨가한 다음 40℃ 항온기에서 진탕하면서 혼합액 2.0 mL을 취하여 분석하였다. 위 혼합액 2.0 mL에 35% trichloroacetic acid(TCA) 1.0 mL와 0.75% TBA 2.0 mL를 가한 다음 30초 동안 95℃ 진탕 수욕상에서 40분 동안 반응시켰다. 이 반응액을 실온에서 냉각시켜 acetic acid 10 mL와 chloroform 2 mL을 가하여 진탕시킨 다음 4,500 ×g에서 5분 동안 원심분리하여 상징액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다.

지질과산화 억제활성(%)=$(A_{control} - A_{sample})/(A_{control} - A_{blank}) \times 100$

$A_{control}$: 대조군(분획물 미첨가)의 흡광도

A_{sample} : 실험군(분획물 첨가)의 흡광도

A_{blank} : 대조군(증류수 첨가)의 흡광도

2. *In vivo* 에서 항산화 효능 실험

가. 실험동물 사육

실험동물은 Sprague Dawley계 5주령 웅성 흰쥐를 조선대학교 실험동물센터에서 1주일 동안 일반 배합사료로 적응시킨 후 평균 체중 80~100 g인 것을 난괴법(randomized block design)에 따라 각 처리 군 당 8마리씩 6군으로 나누어 플라스틱 케이지(cage)에 1마리씩 분리하여 6주간 사육하였다. 물과 식이는 제한 없이 공급하였고 사육실 온도는 18±2℃로 유지하였으며 조명은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였다. 실험 전 기간 동안 동물의 상태를 관찰하면서 체중은 매일 같은 시각에 측정하였으며, 최종 체중에서 실험개시 전의 체중을 감하여 체중증가율로 표시하였다. 식이섭취량은 1주일 간격으로 같은 시각에

측정하였으며 사육기간의 체중증가량을 동일 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군의 식이효율(feed efficiency ratio, FER)을 구하였다.

나. 실험설계 및 실험식이

기본식이의 조성은 AIN-93 정제사료 조성(72)에 의거하여 Table 1과 같이 조제하였다. 연근 에탄올 추출물의 투여 용량은 예비실험을 토대로 저용량 투여군은 1일 흰쥐 체중 kg 당 200 mg과 고용량 투여군은 1일 흰쥐 체중 kg 당 400 mg을 투여하였다. 실험군은 Table 2와 같이 기본식이군(BD), 알코올 투여군(ET), 기본식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(200 mg/kg) 투여군(BD-LREL), 기본식이와 연근 에탄올 추출물 고용량(400 mg/kg) 투여군(BD-LREH), 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량(200 mg/kg) 병합 투여군(ET-LREL) 및 알코올과 연근 에탄올 추출물 고용량(400 mg/kg) 병합 투여군(ET-LREH)으로 나누어 실시하였다. 연근 에탄올 추출물은 생리식염수에 용해시킨 다음 매일 일정한 시간에 경구 투여하였으며, 정상식이군은 생리식염수만을 연근 에탄올 추출물과 동일한 방법으로 경구 투여하였다. 알코올 투여는 Fujji 등의 방법(73)에 준하여 조제된 35% 알코올을 흰쥐 체중 kg 당 10 mL씩 투여하였다. 연근 에탄올 추출물 및 알코올 투여량은 매일 일정한 시각에 투여하기 직전 체중을 측정하여 측정한 체중을 근거로 시료 및 알코올 투여량을 결정하였다.

다. 실험동물 처치

실험동물은 처치 전 18시간 동안 절식시킨 후 CO_2로 가볍게 마취시킨 다음, 개복하고 복부 대동맥에서 채혈하여 4,500 ×g에서 20분간 원심분리 후 분리한 혈청을 ALT, AST 및 ALP 활성 측정에 사용하였다. 간은 적출하여 0.9% 생

리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 여지로 수분을 제거한 후 효소 활성 저하를 예방하기 위하여 급속 동결하여 -70℃의 deep freezer에 보관하면서 항산화 관련 효소 활성 및 항산화 능력 측정에 사용하였다.

Table 1. Composition of experimental basal diet

(g/kg)

Diet composition	*Basal diet*
Casein	200.0
L-methionine	3.0
Beef tallow	100.0
Choline chloride	2.0
Corn starch	448.0
Sucrose	200.0
Cholic acid	2.0
Vitamin mixture(AIN 93)[1)]	10.0
Mineral mixture(AIN 93)[2)]	35.0
Cholesterol	0.0

[1)] Vitamin Mix(AIN-93-VX)(g/kg mixture): Nicotinic acid 3,000, Ca pantothenate 1,600, Pyridoxin-HCl 700, Thiamin-HCl 600, Riboflavin 600, Folic acid 200, Biotin 20, Vitamin B_{12}(cyanocobalamin)(0.1% in manitol) 2,500, Vitamin E(all-rac-tocopheryl acetate)(500 IU/g) 15,000, Vitamin D_3(cholecalciferol)(400,000 IU/g) 800, Vitamin K(phylloquinone) 75, Powdered sucrose 974.665.

[2)] Mineral Mix(AIN-93-MX)(g/kg mixture): Potassium phosphate monobasic(22.76% P, 28.73% K) 250.00, Potassium citrate, Tripotassium monohydrate(36.16% K) 28.00, Sodium sulfate(39.34%, 60.66% Cl) 74.00, Potassium sulfate(44.87%, 18.39% S) 46.60, Magnesium oxide(60.32% Mg) 24.00, Ferric citrate(16.5% Fe) 6.06, Zinc citrate(52.14% Zn) 1.65, Sodium meta-silicate H_2O(9.88% Si) 1.45, Manganous carbonate(44.79% Mn) 0.63, Cupric carbonate(57.47% Cu) 0.30, Chromium potassium sulfate $2H_2O$(10.42% Cr) 0.275, Boric acic(17.5% B) 0.0815, Sodium fluoride (42.25% F) 0.0635, Nickle carbonate(45% Ni) 0.0318, Lithium chloride(16.83% Li) 0.0174, Sodium selenate anhydrous(41.79% Se) 0.01025, Potassium iodate(59.3% I) 0.010, Ammonium paramolybdate · H_2O(54.34% Mo) 0.00795, Ammonium vanadate(43.55% V) 0.0066, Powdered sucrose 209.806.

Table 2. Experimental groups of antioxidant experiment

Groups	*Diet composition*
BD	Basal diet[1)]
ET	Basal diet + EtOH[2)]
BD-LREL	Basal diet + LREL[3)]
BD-LREH	Basal diet + LREH[4)]
ET-LREL	Basal diet + EtOH + LREL
ET-LREH	Basal diet + EtOH + LREH

[1)] See the Table 1.

[2)] EtOH : 35 % alcohol 10 mL/kg of body weight/day.

[3)] LREL : Lotus root(*Nelumbo Nucifera* G.) ethanol extract(LRE) 200 mg/kg of body weight/day.

[4)] LREH : Lotus root(*Nelumbo Nucifera* G.) ethanol extract(LRE) 400 mg/kg of body weight/day.

라. 혈청 중 *AST, ALT* 및 *ALP* 활성 측정

혈청 aminotransferase 활성은 Reitman과 Frankel의 방법(74)에 의하여 조제된 혈청 transaminase 측정용 kit(Shinyang Co., Seoul, Korea)를 사용하여 ALT 및 AST 활성을 측정하였고 단위는 혈청 mL 당 karmen unit로 표시하였다. ALP 활성은 조제된 kit 시약(Youngdong Pharm., Seoul, Korea)을 사용하여 측정하였고 단위는 king armstrong unit로 표시하였다.

마. 간조직 중 효소 활성 측정

(1) 효소원 조제

간조직 1 g 당 4배량의 0.25 M sucrose buffer(pH 7.5)를 가하고 4℃에서 ultra turax homogenizer(Janke & Kunkel, Germany)로 10,000 ×g에서 2분간 마쇄하였다. 마쇄액의 일부는 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 함량 측정에 사용하였고, 나머지는 4℃, 600 ×g 에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미 마쇄 부분을 제거한 후 상징액을 다시 한번 더 15,000 ×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 다음 XO, SOD, catalase 및 GSH-Px 활성 측정을 위한 효소원으로 사용하였고, 일부는 단백질 함량 측정에 사용하였다. 또한 간조직 0.1 g에 5%(W/V) sulfosalicylic acid(SSA) 2 mL를 가하고 마쇄 후 10,000 ×g에서 10분간 원심분리하여 상징액은 glutathione(GSH) 함량 측정에 사용하였다.

(2) Xanthine oxidase(XO) 활성

간 조직의 XO 활성은 Downey의 방법(75)에 의하여 측정하였다. 즉 50 mM phosphate buffer(pH 7.8) 2.8 mL에 10 mM ethylene diamine tetraacetic

acid(EDTA) 0.03 mL, 5 mM xanthine 0.03 mL을 가하여 혼합한 다음 25℃에서 3분간 방치하고 효소원 0.1 mL를 가하여 290 nm에서 3분 동안 변화되는 흡광도를 측정하였다. 효소 활성은 요산의 흡광계수를 10.03 L · mM^{-1} · cm^{-1}로 간주해 계산하였으며, 효소량은 mU/g protein을 1 unit로 표시하였다.

(3) Superoxide dismutase(SOD) 활성

Crapo 등의 방법(76)을 변형하여 간 조직의 SOD 활성을 측정하였는데 xanthine, XO 및 cytochrome c를 이용하였다. 즉 시험관에 100 mM phosphate buffer (pH 7.8) 2.3 mL에 0.5 mM xanthine 0.3 mL와 0.1 mM cytochrome c 0.3 mL를 가하고 혼합하여 흡광도의 증가 속도가 매분 당 0.02가 되도록 XO 용액을 첨가한 후 550 nm에서 1분간 변화되는 흡광도를 측정하였다. 효소 활성은 상기 조건에서 효소원을 가하여 증가되는 흡광도를 측정하였고, cytochrome c 환원 속도를 50% 억제하는 효소량 μM/min/mg protein을 1 unit로 표시하였다

(4) Catalase 활성

Catalase 활성은 Aebi의 방법(77)에 의하여 소모되는 H_2O_2양으로 측정하였다. 즉 25 mM H_2O_2를 포함한 50 mM phosphate buffer(pH 7.0) 3.0 mL에 효소원 10 μL를 가하여 혼합한 후 240 nm에서 60초간 변화되는 흡광도를 측정하였으며, 효소의 활성도는 1분 동안에 1 mM의 H_2O_2를 분해시키는 효소량(decreased H_2O_2 μM/min/mg protein)을 1 unit로 표시하였다.

(5) Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성

Flohe 등의 방법(78)에 의하여 GSH-Px 활성을 측정하였다. 즉 10 mM phosphate buffer(pH 7.0) 2.5 mL에 3 mM GSH, 20 mM NaN_3, glutathione reductase 0.72 U, NADPH 0.45 mM과 효소원을 넣고 0.45 mM H_2O_2를 가하여 340 nm에서 3분간 흡광도의 변화를 측정하였다. 비효소적 반응은 상기와 같은 조건에서 단지 0.45 mM H_2O_2를 가하지 않고 흡광도의 변화를 측정하였으며, 효소 활성은 비효소적 반응에 의한 흡광도 변화를 제한 값을 다음 식에 의해서 계산하여 효소량(decreased NADPH μM/min/mg protein)을 1 unit로 표시하였다.

$$A = 0.868([NADPH] / [GSH]_0\ t)(V_i / V_s)$$

A : 효소 활성도

[NADPH] : NADPH 함량 변화

$[GSH]_0$: GSH의 처음 함량

t : 반응시간

V_i : 반응액 용량

V_s : 효소액 용량

(7) Glutathione(GSH) 함량

GSH 함량은 Tietze의 방법(79)으로 측정하였다. 즉 시험관에 working buffer 700 μL, 5,5′-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid(DTNB) 100 μL, 시료액 20 μL 및 증류수 180 μL를 가하여 30℃에서 3분간 방치한 후 GSSG 5 μL를 첨가하고 412 nm에서 1분 동안 변화되는 흡광도를 측정하였다. GSH 함량은 GSH 표준액 1, 2, 3 및 4 μM을 상기와 같은 방법으로 측정하여 계산하였다.

(6) Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 함량

TBARS 함량은 Buege 등의 방법(80)에 의하여 측정하였다. 즉 TBA 시약(0.375% TBA in 0.25 N HCl) 1.0 mL에 BHT의 최종 함량이 0.01%가 되도록 첨가하고 균질액 1.0 mL를 가하여 잘 혼합한 후 98℃로 15분간 가열하였다. 즉시 냉각시켜 1,500 ×g로 15분간 원심분리하고 535 nm에서 상징액의 흡광도를 측정하였다. Malondialdehyde(MDA)의 몰 흡광계수는 1.56×10^2 $L \cdot mM^{-1} \cdot cm^{-1}$을 이용하여 계산하였다.

(8) 단백질 함량

단백질 함량은 Lowry 등의 방법(81)에 의하여 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 측정하였다. 간세포 분획 20 μL을 취하여 여기에 1.0% lauryl sulfate 용액 16 μL을 혼합하고, 증류수로 최종 부피가 124 μL이 되도록 다시 희석하였다. 희석된 용액 15 및 20 μL을 취해 증류수로 80 및 85 μL을 넣고 희석하였다. 여기에 반응시약(0.5% copper sulfate solution : 1.0% sodium tartrate solution : 2.0% sodium carbonate solution = 0.5 : 0.5 : 49, v/v/v)을 1.0 mL씩 첨가하여 10초간 잘 혼합 후 실온에서 20분간 방치시켰다. 이후 발색시약인 1 N Folin reagent 0.1 mL씩 첨가하여 5초 간 혼합하고 실온에서 30분간 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 의하여 단백질 함량을 정량하였다.

바. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과는 SPSS 12.0(Statistical package for the social science) P/C package를 이용하여 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치분산

분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, 사후검정은 Tukey(T)-test에 의하여 실행하였다. 본 연구에 이용된 통계적 유의성 검증은 $\alpha<0.05$ 수준에서 이루어졌다.

제5절 고지혈증 억제 효능 실험

1. *In vitro* 에서 고지혈증 억제효과 측정

가. *Low density lipoptotein(LDL)*에 대한 항산화효과 측정

(1) LDL 분리

연근 추출물의 용량별 LDL 산화 억제효과는 사람의 혈장에서 LDL을 분리하여 측정하였다(82). LDL(1.019<d<1.063)은 건강한 사람의 혈액을 4℃에서 3시간 방치 후 450 ×g, 4℃에서 20분간 원심분리하여 상층부의 혈장을 취한 다음, gentamycin sulfate 1 mg/25 mL을 첨가하여 46,000 ×g에서 24시간 원심분리하여 얻었다. 이를 0.15 M NaCl, 0.01% EDTA가 함유된 0.01M phosphate buffer(pH7.4)에서 20시간 투석한 후 LDL을 분리한 다음 냉동 건조하여 사용하였다.

(2) LDL 산화 및 항산화효과 측정

LDL의 산화 유발을 위해 65 μg LDL/mL과 16 μM $CuSO_4$에 전체 부피가 1 mL가 되도록 phosphate buffer(pH 7.4)를 섞은 뒤, 37℃에서 2시간 동안 반응시킨 후 EDTA(1mM)를 20 μL를 첨가하여 산화를 중지시켰다. LDL 내의 산화지질량은 TBARS 함량으로 측정하였다. 각 분획 30 μg/mL에서 2시간 후 TBARS 함량 변화를 측정하여 LDL 산화에 미치는 연근 분획의 항산화효과를 실험하였다. EDTA 첨가로 산화가 중지된 LDL용액에 TCA-TBA-HCl 정지액(15% trichloroacetic acid: 0.375% thiobarbituric acid: 0.25N HCl) 3 mL를 가한 후, 95℃에서 30분간 중탕하였다. 냉각시킨 뒤 4,500 ×g에서 10분간 원심분

리 시킨 후 상징액을 취하여 생성된 MDA 함량을 532 nm에서 흡광도로 측정하였다(83).

나. *HMG-CoA reductase* 저해활성 측정

(1) Yeast 배양

HMG-CoA reductase는 한국 종균협회에서 구입한 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 42949의 microsomal protein을 사용하였다. 혐기성 상태에서 1% glucose, 0.5% polypeptone, 1% yeast extract 배지에 *S. cerevisiae* ATCC 42949를 30℃로 24시간 전배양한 다음, 3% glucose, 0.5% polypeptone, 0.5% yeast extract, 0.5% K_2HPO_4, 0.5% KH_2PO_4 함유한 배지에 전배양액 1%를 접종한 후 30℃에서 15시간 배양하였다(84).

(2) Microsomal protein 제조

배양액을 1,200 ×g에서 15분간 원심분리 후 4℃ 증류수로 2회 세척한 다음 세포를 수집하여 20 mM EDTA를 함유한 0.1 M triethanolamine buffer(pH 7.4)에 5~15%(w/v)되게 희석하였다. 세포 분쇄기로 10,000 psi에서 5분간 균질화한 후 2,400 ×g에서 15분간 원심분리하여 mitochondria를 제거하고, 상징액을 10,000 ×g에서 90분간 초원심분리시킨 다음 microsome을 얻었다. 분리한 microsome은 2 mM dithiothreitol(DTT)를 첨가한 상기 완충액으로 세척하고 단백질을 정량한 후 10 mg/mL로 조제하여 사용하였다(85).

(3) HMG-CoA reductase 저해활성

HMG-CoA reductase 저해활성은 Hulcher 등의 방법(86,87)을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 반응액은 yeast microsomal protein 1 mg, HMG-CoA 150 nM, $NADP^+$ 2 μM, glucose-6-phosphate 3 μM, glucose-6-phosphate dehydrogenase 2 units로 조제하고, 연근 25 μg, 50 μg 및 100 μg을 첨가하여 최종 용량이 1 mL가 되게 하였다. 연근 에탄올 추출물은 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해시켜 반응액에 첨가하였으며, 음성대조군은 DMSO만을 첨가하였으며, 현재 시판 중인 고지혈증 치료제인 lavastatin(88,89)을 양성대조군으로 사용하였다. 37℃에서 30분간 반응 후 10 mM sodium tungstate를 함유한 2 M citrate buffer(pH 3.5) 0.1 mL를 첨가한 다음 37℃에서 10분간 정치하여 반응을 정지시켰다. 10,000 ×g에서 5분간 원심분리 후 침전단백질을 제거하고 상징액 1mL를 취한 다음 2 M tris buffer(pH 10.6) 0.2 mL와 2 M tris buffer(pH 8.0) 0.1 mL를 첨가하여 반응액의 pH를 8.0으로 조절하였다. 0.4 M sodium arsenite 50 μL을 첨가하고 5분간 반응시켜 dithiolarsenite complex를 형성시킨 후 반응액 1 mL를 취하여 3 mM 5.5′-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)(DTNB) 20 μL를 가한 다음 421 nm에서 흡광도를 측정하였다. Absorbance/time curve를 그려 직선부분을 연장하여 절편 값(A)을 구한 후 아래 식에 의하여 CoA-SH의 생성량을 결정하였다. 저해율은 시료를 넣지 않은 대조군의 효소활성에 대한 저해 정도를 백분율로 환산하였다.

CoA-SH 생성량(nM/min) = 1.43 × A(reaction) - A(control)/ 0.136×time

HMG-CoA reductase 저해율 = CoA-SH 생성량(실험군-대조군)/대조군 × 10

여기에서 1.43 : 반응액의 희석배수,

0.136 : CoA-SH의 extinction coefficient,

Control : 대조군(연근 미첨가),

Reaction : 실험군(연근 첨가)

2. *In vivo* 에서 고지혈증 억제 효능 실험

가. 실험동물 사육

실험동물의 사육은 제4절 항산화 활성 실험의 2. *in vivo* 에서 항산화 효능 실험(p. 14)과 같이 행하였다.

나. 실험식이 및 실험설계

실험식이는 정상식이와 고콜레스테롤식이로 나누어 AIN-93을 기준(72)으로 Table 3과 같이 조제하였으며, 고콜레스테롤식이는 1% 콜레스테롤과 0.25% sodium cholate를 첨가하여 조제하였다. 연근 에탄올 추출물은 예비실험을 토대로 연근 에탄올 추출물 저용량 투여군은 1일 흰쥐 체중 kg 당 200 mg, 고용량 투여군은 1일 흰쥐 체중 kg 당 400 mg을 투여하였으며, 연근 에탄올 추출물은 생리식염수에 용해시켜 매일 일정한 시간에 경구 투여하였다.

실험군은 Table 4와 같이 정상식이군(NC), 고콜레스테롤식이군(HC), 정상식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(200 mg/kg) 투여군(NC-LREL), 정상식이와 연근 에탄올 추출물 고용량(400 mg/kg) 투여군(NC-LREL), 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(200 mg/kg) 병합 투여군(HC-LREL), 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 고용량(400 mg/kg) 병합 투여군(HC-LREH)으로 나누어 실시하였다.

다. 실험동물의 처치

실험동물의 처치는 제4절 항산화 활성 실험의 2. *in vivo* 에서 항산화 효능 실험(p. 15)과 같이 행하였다.

Table 3. Composition of experimental diets containing high cholesterol with lotus root(Nelumbo Nucifera G.) ethanol extract

(g/kg)

Diet composition	*Normal diet*	*High-cholesterol diet*
Casein	200.0	200.0
L-methionine	3.0	3.0
Beef tallow	100.0	100.0
Choline chloride	2.0	2.0
Corn starch	448.0	443.0
Sucrose	200.0	200.0
Cholic acid	2.0	2.0
Vitamin mixture(AIN 93)[1)]	10.0	10.0
Mineral mixture (AIN 93)[2)]	35.0	35.0
Cholesterol	0.0	5.0

[1)] Mineral Mix(AIN-93-MX)(g/kg mixture): Potassium phosphate monobasic(22.76%P, 28.73% K) 250.00, Potassium citrate, Tripotassium monohydrate(36.16% K) 28.00, Sodium sulfate(39.34%, 60.66% Cl) 74.00, Potassium sulfate(44.87%, 18.39% S) 46.60, Magnesium oxide(60.32% Mg) 24.00, Ferric citrate(16.5% Fe) 6.06, Zinc citrate(52.14% Zn) 1.65, Sodium meta-silicate H_2O(9.88% Si) 1.45, Manganous carbonate(44.79% Mn) 0.63, Cupric carbonate(57.47% Cu) 0.30, Chromium potassium sulfate $2H_2O$(10.42% Cr) 0.275, Boric acid(17.5% B) 0.0815, Sodium fluoride (42.25% F) 0.0635, Nickle carbonate(45% Ni) 0.0318, Lithium chloride(16.83% Li) 0.0174, Sodium selenate anhydrous(41.79% Se) 0.01025, Potassium iodate(59.3% I) 0.010, Ammonium paramolybdate · H_2O(54.34% Mo) 0.00795, Ammonium vanadate(43.55% V) 0.0066, Powdered sucrose 209.806.

[2)] Vitamin mix(AIN-93-VX)(g/kg mixture): Nicotinic acid 3,000, Ca pantothenate 1,600, Pyridoxin HCl 700, Thiamin HCl 600, Riboflavin 600, Folic acid 200, Biotin 20, Vitamin B_{12}(cyanocobalamin)(0.1% in manitol) 2,500, Vitamin E(all-rac-tocopheryl acetate)(500 IU/g) 15,000, Vitamin D_3(cholecalciferol)(400,000 IU/g) 800, Vitamin K(phylloquinone) 75, Powdered sucrose 974.665.

Table 4. Experimental groups of hyperlipidemia experiment

Groups	*Composition*
NC	Normal diet[1)]
HC	High-cholesterol diet[2)]
NC-LREL	Normal diet + LREL[3)]
NC-LREH	Normal diet + LREH[4)]
HC-LREL	High-cholesterol + LREL
HC-LREH	High-cholesterol + LREH

[1),2)] See the Table 3.

[3)] LREL : Lotus root(*Nelumbo Nucifera* G.) ethanol extract(LRE) 200 mg/kg of body weight/day.

[4)] LREH : Lotus root(*Nelumbo Nucifera* G.) ethanol extract(LRE) 400 mg/kg of body weight/day.

라. 혈청 중 *AST, ALT* 및 *ALP* 활성 측정

혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성 측정은 제4절 항산화 활성 실험의 2. *in vivo* 에서 항산화 효능 실험(p. 19)과 같이 측정하였다.

마. 혈청 중 지질 함량 측정

혈청 중 중성지방 함량은 McGowan 등의 방법(90)에 준하여 조제된 kit(AM157S-K. Asan, Korea), 총콜레스테롤 함량은 Richmond의 효소법(91)에 준하여 조제된 kit(AM202-K, Asan, Korea), 인지질 함량은 Eng와 Noble의 방법(92)으로 조제된 kit(Wako Co., Japan)를, 그리고 유리콜레스테롤 함량은 kit(G-HH54, Shinyang, Korea)를 사용하여 측정하였다. HDL-콜레스테롤 함량은 Noma 등의 효소법(93)에 준하여 조제된 kit(AM203-K, Asan, Korea)를, 그리고 LDL-콜레스테롤 함량은 Friedwald식 {총콜레스테롤 - (HDL-콜레스테롤 + 중성지방/5)}(94)에 의하여 계산하였다. HDL-콜레스테롤의 총콜레스테롤에 대한 비율은 HDL-콜레스테롤을 총콜레스테롤로 나누어 계산하였으며, 콜레스테릴 에스테르 함량은 총콜레스테롤 함량에서 유리콜레스테롤 함량을 감하여 구하였다. 심혈관계질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 {(총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤}(95) 공식에 의거하여 계산하였다.

바. 간조직 중 지질 함량 측정

간조직 중 총지질 함량은 Folch 방법(96)에 의거하여 적출한 간조직 0.5 g을 6 mL chloroform-methanol(2 : 1, v/v)를 첨가하여 냉장상태에서 3일간 방치한 후 2 mL H_2O를 첨가한 다음 1,150 ×g에서 20분간 원심분리 시킨 후 간조직의

총지질 함량을 측정하였다. 총콜레스테롤과 중성지방 함량은 각 조직으로부터 추출한 지방 시료를 가지고 분석하여, 총콜레스테롤 함량은 Zlatkis와 Zak의 방법(97)에 의하여 측정하였으며, 중성지방 함량은 Biggs 등의 방법(98)으로 측정하였다.

사. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과는 제4절 항산화 활성 실험의 바. 통계처리(p. 22)와 같은 방법으로 처리하였다.

제6절 단체급식소에서의 연근 이용실태 조사

1. 연구대상 및 기간

조사대상자는 연근의 단체급식 활용도를 위해 전남·광주지역 급식소에 종사하는 영양사 280명으로 초등학교, 산업체, 병원 영양사는 각각 150명, 80명, 50명이었다. 조사기간은 2005년 10월 1일부터 10월 20일에 행하였다. 설문지는 280부 배부하여 부실하게 기재된 자료를 제외하고 충실히 기재된 248부(회수율 88.6%)를 통계자료로 이용하였다.

2. 연구방법 및 내용

본 조사방법은 급식소에서 사용하고 있는 연근의 이용실태를 조사하기 위해 설문지법을 이용하였다. 본 설문 내용은 기존의 문헌(99-101)을 기초로 연구자가 설문 문항을 개발하였고, 개발된 설문문항은 영양사들의 자문을 거쳐 수정·보완한 다음 본 연구에 적응 가능하도록 작성하였다. 개발된 설문지는 각 영양사에게 배부한 후 그들로 하여금 직접 기록하게 하는 자가 기록방법을 이용하였다.

설문내용은 일반적으로 영양사의 경력, 급식소 유형, 급식규모, 운영형태, 식단가, 제공 식수인원 등으로 구성하였으며, 연근의 이용실태에 관한 문항으로는 연근의 사용빈도, 연근 구입할 때 상태, 조리 시 연근 사용 분량, 연근 조리방법, 식단에 연근을 사용하는 이유와 연근을 사용하지 않는 이유, 연근의 잔반비율 등에 관한 문항으로 구성하였다.

3. 통계분석

본 조사 자료는 SPSS 12.0(Statistical package for the social science) P/C

package을 이용하여 조사항목별로 빈도수, 백분율, 평균 및 표준편차를 산출하였고 각 변인 간의 통계적 유의성 검증 방법으로는 χ^2-test와 분산분석(ANOVA)을 실시하였으며 α = 0.05 수준에서 검증하였다.

제3장 실험결과 및 고찰

제1절 항산화 효능

1. 에탄올 추출물 수율 및 용매별 분획물 수율

연근의 항산화효과를 검토하기 위해 냉동 건조하여 마쇄한 시료를 80% 에탄올로 추출한 추출물의 수율은 9.14%이었다. 이를 용매별로 분획한 후 80% 에탄올로 추출물에 대한 추출 수율을 측정한 결과는 Table 5와 같다.

80% 에탄올 추출물의 용매별 분획의 추출 수율은 n-butanol 분획이 21.23%로 가장 높았으며 water, ethylacetate, chloroform, n-hexane 순이었다. 용매의 극성이 높아질수록 추출물의 수율이 높게 나타났으며, 연잎(89)과 천년초(102)도 n-butanol 분획에서 추출물의 수율이 각각 36.12%와 27.8%로, 본 연구와 비슷한 경향이었다.

Table 5. Yields of solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root

Solvent	*Fraction yield*	
	Gained weight(g/100g)	*Ratio(%)*
Ethanol extract	9.14	100.00
n-Hexane	1.06	11.60
Chloroform	1.31	14.33
Ethylacetate	1.39	15.21
n-Butanol	1.94	21.23
Water	1.64	17.94

2. *In vitro* 에서 항산화 활성

가. *DPPH radical* 소거작용

80% 에탄올 추출물을 유기 용매별로 분획한 분획물을 DPPH법에 의한 전자공여능을 비교한 결과는 Table 6과 같다.

DPPH를 50% 환원시키는데 필요한 분획물의 농도(RC_{50})는 ethylacetate 분획물이 15.69 μg/mL, n-butanol 분획물이 26.32 μg/mL, chloroform 분획물이 54.16 μg/mL으로 ethylacetate 분획물이 가장 뛰어났다. Ethylacetate 분획물은 합성항산화제인 BHT와 유사한 전자공여능을 나타내었다.

전자공여작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식품 중의 지방 산화를 억제하는 목적으로 사용되고, 인체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 이용되고 있다(103). 연꽃(8)과 연잎(9)에서 ethylacetate 분획물의 DPPH radical 소거능이 가장 우수하게 나타났으나, 연자(104)는 n-butanol 분획물에서 DPPH radical 소거활성이 가장 우수하였다. 활성산소는 인체 내에서 질병과 노화를 일으키는 원인 물질로서, 활성산소의 항산화력 및 노화억제 작용의 척도로 평가할 수 있는데(105), 연근 분획물의 DPPH free radical 소거활성이 ethylacetate과 n-butanol 분획에서 높게 나타났음은 연근의 항산화 활성을 지닌 성분들이 비교적 극성이 큰 유기용매에 잘 용해되는 것으로 추정된다.

Table 6. Scavenging effects of the solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root on DPPH radical

Solvents	*RC_{50}(μg/ml)*[1)]
n-Hexane	98.00[2)a]
Chloroform	64.16[b]
Ethylacetate	15.69[c]
n-Butanol	26.32[c]
Water	89.70[a]
BHT[3)]	15.38[c]

[1)] Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

[2)] Means with different letters are significantly different($p<0.05$).

[3)] BHT: butylated hydroxytoluene

나. 항산화지수

연근 에탄올 추출물 분획과 BHT의 농도가 600 ppm이 되도록 soybean oil에 첨가한 후 공기에 의한 지질 자동산화를 유발시켜 지질 산패도를 Rancimat으로 측정한 항산화지수는 Table 7과 같다.

Rancimat에 의한 항산화지수는 시료를 첨가 후 유지의 복잡한 산화과정 중 유도기간 마지막에 상당량의 저분자량 휘발성 카보닐산이 유리되는 양으로 측정한다(69,106).

Ethylacetate 분획물의 유도기간은 9.97시간, 항산화지수는 1.39로 분획물 중 가장 높았으나 합성항산화제인 BHT에 비하여서 낮았다. n-hexane 분획물의 유도기간은 9.01시간, chloroform 분획물은 7.98 순으로 나타나 DPPH free radiacal 소거능의 결과와 비슷한 경향을 나타내었으며 따라서 ethylacetate 분획물에 항산화물질이 많이 이행된 것으로 생각된다.

Table 7. Antioxidative activities of the solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root

Fraction[1)]	*IP*[2)]	*AI*[3)]
Control	7.19[4)c]	1.00[5)c]
n-Hexane	7.31[c]	1.02[c]
Chloroform	7.98[c]	1.11[c]
Ethylacetate	9.97[b]	1.39[b]
n-Butanol	9.01[b]	1.43[b]
Water	7.21[c]	1.01[c]
BHT	13.13[a]	1.83[a]

[1)] Fractions were separated by separatory funnel.

[2)] Induction period(IP) of oil was determined by test of Rancimat at 110℃.

[3)] Antioxidant index(AI) was expressed as IP of oil containing various fraction/IP of soybean oil.

[4),5)] Means with different letters are significantly different($p<0.05$).

다. 아질산염 소거작용

인체 내 위에서의 pH 변화를 고려하여 산도를 pH 1.2, 4.2 및 6.0로 달리하여 연근 에탄올 추출물 분획과 합성항산화제인 BHT의 농도를 600 ppm으로 맞추어 아질산염 소거작용을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다.

연근 에탄올 추출물 분획의 아질산염 소거작용은 pH 1.2에서 ethylacetate 분획물은 88.33%로 합성항산화제인 BHT와 비슷한 결과였으며, n-butanol 분획물은 79.22%, chloroform 분획물은 61.25%, n-hexane 분획물은 50.21%이었다. 연근 에탄올 추출물 분획의 아질산염 소거작용은 pH 1.2에서 가장 강하였고, pH가 상승함에 따라 점차 감소하였다. 이는 강 등(107)의 연구에서도 낮은 pH에서 아질산염 소거효과가 높았다. 각각의 pH 조건에서 아질산염 소거능은 전반적으로 비극성 용매의 추출물보다는 극성 용매인 ethylacetate과 n-butanol 분획물에서 높았다. pH에 따라 각 분획의 소거능은 감소하였는데, 이는 nitrosamine 생성은 pH 의존적이고 아질산염 소거능은 강산성에서 높으며, pH가 상승할수록 감소한다는 보고와 유사한 경향이었다(107,108). 이는 식품 중에 존재하는 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine이 생성되는데 이 과정은 pH가 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있으며(109), 니트로화에 영향을 미치는 nitrite는 nitrous acid(HNO_2)를 형성하기 위해서 산성화되고 HNO_2는 $H_2NO_2^+$으로 proton화 되어 선택적으로 amide와 반응하여 nitrosamine를 형성한다. 이러한 산성화 과정 때문에 니트로화반응은 주로 생체 내 위에서 발생한다. 연구 결과에 의하면 아질산염 소거능이 인체의 위내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 가장 우수한 것으로 나타나 연근 ethylacetate 분획물은 생체 내에서도 효과적인 아질산염 소거작용을 통하여 nitrosamine 생성을 억제 할 것으로 생각되어진다.

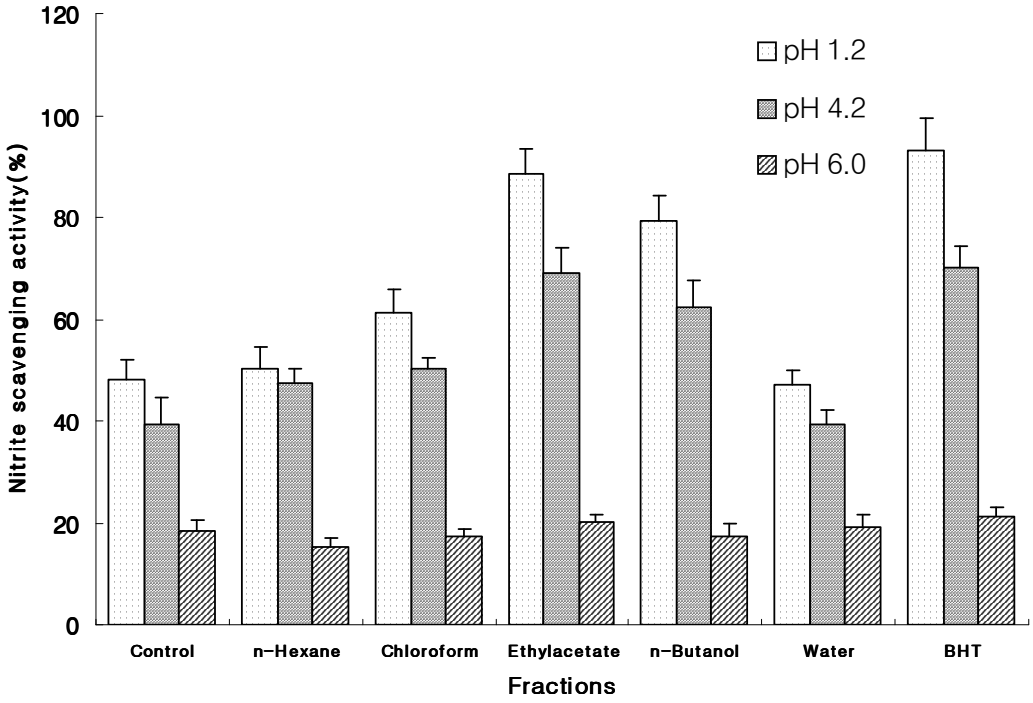

Fig. 2. Nitrite scavenging activity of the solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root at pH 1.2, 4.2 and 6.0 .

라. 지질과산화 억제작용

연근 에탄올 추출물 분획의 농도 600 ppm에서 linoleic acid를 기질로 지질과산화물가(TBA value)를 측정하여 항산화 활성을 비교한 결과는 Fig. 3과 같다. 분획물을 첨가하지 않은 음성대조군을 0%로 보았을 때 각 분획물의 지질과산화 억제율은 ethylacetate 분획물이 87.23%, n-butanol 분획물이 77.32%, chloroform 분획물이 47.02% 순으로 ethylacetate 분획물에서 지질과산화 억제율이 가장 높았다. 양성 대조군으로 사용한 BHT에 의한 지질과산화 억제율 보다는 낮았다. 연자에서는 용매 분획물의 지질과산화 억제활성을 측정한 결과 n-butanol 분획물이 가장 강력한 활성을 보였다(104). 이러한 결과는 연근에 많이 함유한 항산화물질(9)인 phenol의 OH기가 DPPH 용액에 존재하는 free radical과 linoleic acid의 산화로 인해 생성되는 free radical에 작용하는 차이 때문으로 생각된다(110).

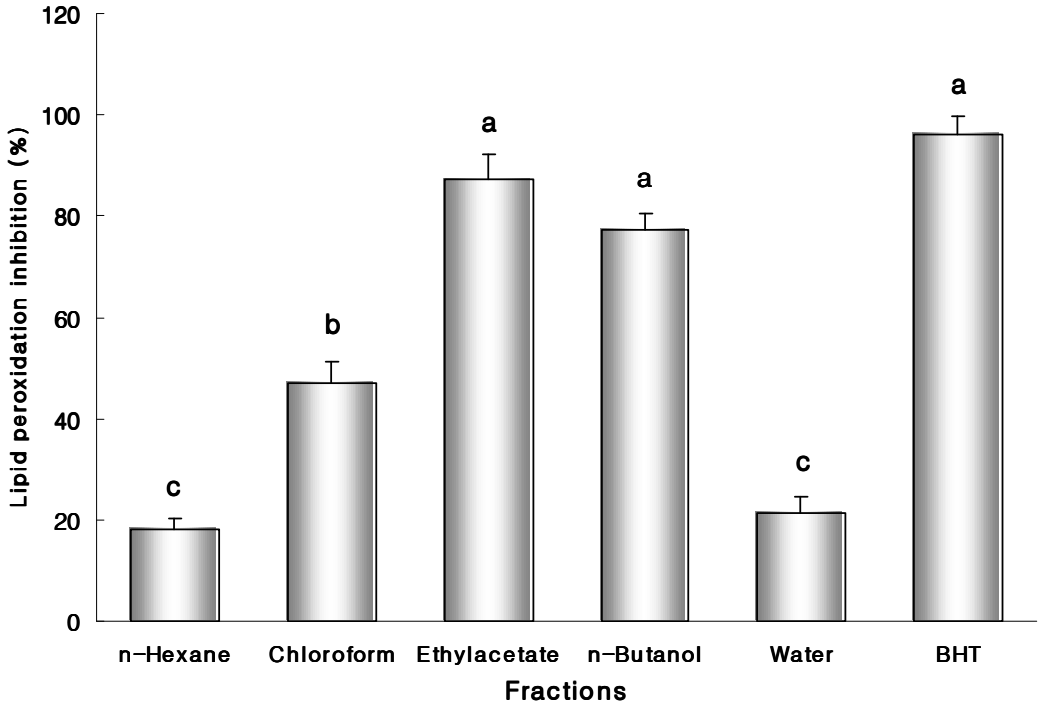

Fig. 3. TBA value of linoleic acid substrate containing the solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root at 40℃.

3. *In vivo* 에서 항산화 효능

가. 체중증가율 및 식이효율

흰쥐에게 연근 에탄올 추출물의 농도를 달리하여 저용량(200 mg/kg/day)과 고용량(400 mg/kg/day) 및 알코올을 6주간 경구 투여 후 체중증가율과 식이효율을 측정한 결과는 Table 8,9와 같다.

Table 8과 같이 전 실험기간 체중증가율은 알코올 단독 투여군(ET)이 149.23±13.25 g로 기본식이군(BD)의 169.32±11.23 g에 비하여 약 12% 정도 감소하였으나 유의차는 없었다. 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량(ET-LREL)과 고용량(ET-LREH) 병합 투여군들은 알코올 투여로 감소된 체중을 기본식이군(BD)에 근접토록 유의하게 증가시켰으나 투여 용량에 따른 차이는 나타나지 않았다.

식이효율은 Table 9와 같이 알코올 단독 투여군(ET)이 0.17±0.02로 기본식이군(BD)의 0.20±0.06에 비하여 15% 정도 유의하게 저하되었으나, 연근 에탄올 추출물 단독 투여군(BD-LREL과 BD-LREH)과 병합 투여군(ET-LREL과 ET-LREH)은 기본식이군(BD)과 식이효율이 유사하였다. 이와 같이 알코올 투여로 인한 식이섭취량과 체중증가율 감소는 연근 에탄올 추출물 투여로 완화시킨 것으로 나타났다.

이러한 결과는 흰쥐에게 7% 알코올을 음용수에 첨가시켜 섭취시킨 결과 체중이 대조군에 비하여 유의하게 감소되어진 Rothwell과 Stock(111)의 연구 결과와 유사하였다. 이는 다량의 알코올을 만성적으로 섭취한 환자를 대상으로 한 실험에서도 알코올을 섭취할 때 식이섭취량의 감소와 여러 영양소의 흡수장애로 체중감소를 초래한다고 보고하였다(112). 이와 같이 알코올 투여로 인한 체중감소는 식이섭취량 감소로 인해서 혹은 알코올 자체의 독성효과로 인한 소화율 감소, 영양소의 흡수장애, 그리고 고농도의 에탄올 섭취로 인한 에너지 소모가 증가했기 때문인 것으로 생각되었다(113).

Table 8. Change of body weight gain in alcohol and/or lotus root ethanol extract administered rats

Groups[1)]	*Initial body wt. (g)*	*Final body wt. (g)*	*Gained body wt. (g)*
BD	134.25±2.15[2,3)NS]	303.57±19.25[NS]	169.32±11.23[NS]
ET	133.29±1.95	282.52±17.29	149.23±13.25
BD-LREL	134.07±1.74	306.59±24.31	172.58±9.58
BD-LREH	134.71±2.01	297.08±11.64	162.37±10.47
ET-LREL	133.95±1.53	299.29±15.26	165.34±13.29
ET-LREH	134.42±1.72	293.67±20.43	159.25±13.25

[1)] See the legend of Table 2.

[2)] NS: not significant.

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

Table 9. Feed intake and feed efficiency ratio(FER) in alcohol and/or lotus root ethanol extract administered rats

Groups[1)]	*Total feed intake (g)*	*Dalily feed intake(g/day)*	*FER*[2)]
BD	853.44±53.23[2)NS]	20.32±2.36[2)NS]	0.20±0.06[3)a]
ET	853.86±72.32	20.33±1.46	0.17±0.02[b]
BD-LREL	895.44±33.92	21.32±3.12	0.19±0.03[a]
BD-LREH	847.56±65.02	20.18±2.01	0.19±0.07[a]
ET-LREL	797.58±51.21	18.99±1.25	0.21±0.04[a]
ET-LREH	835.38±69.17	19.87±2.08	0.19±0.01[a]

1) See the legend of Table 2.

2) FER(feed efficiency ratio): total weight gain/total feed intake.

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

나. 혈청 중 *ALT, AST* 및 *ALP* 활성

흰쥐에게 알코올 및 연근 에탄올 추출물을 6주간 경구 투여한 후 간 손상의 지표로 사용되어지는(114,115) 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성을 측정한 결과는 Fig. 4~6과 같다.

Fig. 4에서와 같이 혈청 중 ALT 활성은 기본식이에 연근 에탄올 추출물 저용량(BD-LREL)과 고용량(BD-LREH) 단독 투여군은 기본식이군(BD)과 비교할 때 유의차가 없었으나 다소 저하되었다. 알코올 단독 투여군(ET)은 기본식이군(BD)에 비하여 혈청 중 ALT 활성이 유의하게 증가하였다. 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량(ET-LREL)과 고용량(ET-LRELH) 병합 투여군은 알코올 단독 투여군(ET)에 비하여 혈청 중 ALT 활성은 연근 에탄올 추출물 투여 용량이 증가할수록 감소하는 경향이었으며, 특히 고용량 투여 시 유의하게 감소하였다.

Fig. 5와 같이 혈청 중 AST 활성은 알코올 단독 투여군(ET)이 기본식이군(BD)에 비하여 유의하게 증가되었고, 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량(ET-LREL)과 고용량(ET-LREH) 병합 투여군은 알코올 단독 투여군(ET)에 비하여 용량 의존적으로 유의하게 감소하였다.

Fig. 6에서와 같이 혈청 중 ALP 활성도 알코올 단독 투여군(ET)이 기본식이군(BD)에 비하여 유의하게 증가되었고, 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량(ET-LREL)과 고용량(ET-LREH) 병합 투여군은 알코올 단독 투여군(ET)에 비하여 농도 의존적으로 감소되었으며 고용량 투여 시만 유의하게 감소되었다.

알코올 투여로 혈청 중 AST, ALT 및 ALP 활성 증가를 나타낸 결과는 안(116) 등의 연구 결과와 유사하였으며, 이 결과는 알코올이 간의 대사과정에 작용하여 대사 이상을 초래함으로서 간세포 손상을 유발하고, 알코올에 의한 간세포 손상이 연근 에탄올 추출물 투여로 점차 회복되어 가는 것으로 생각된다.

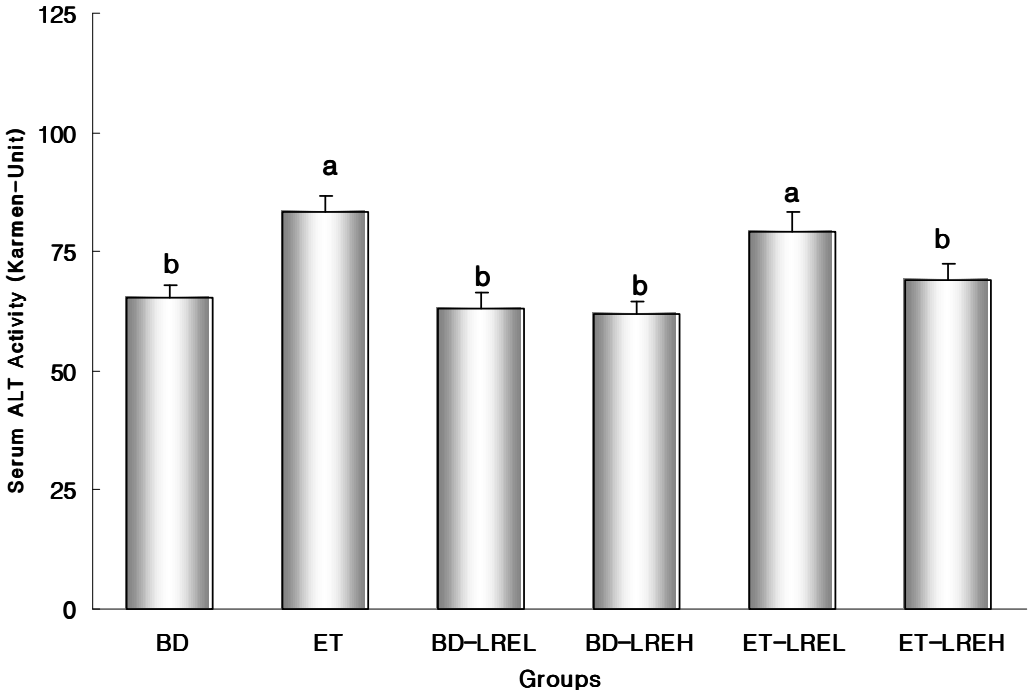

Fig. 4. Activity of ALT in the serum of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

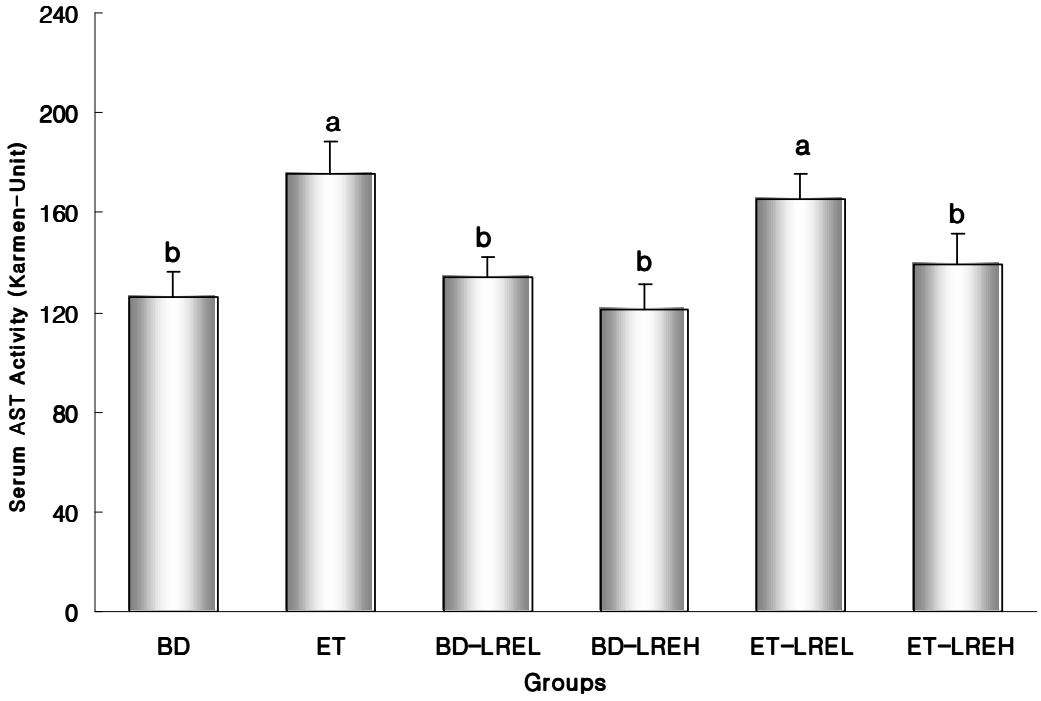

Fig. 5. Activity of AST in the serum of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

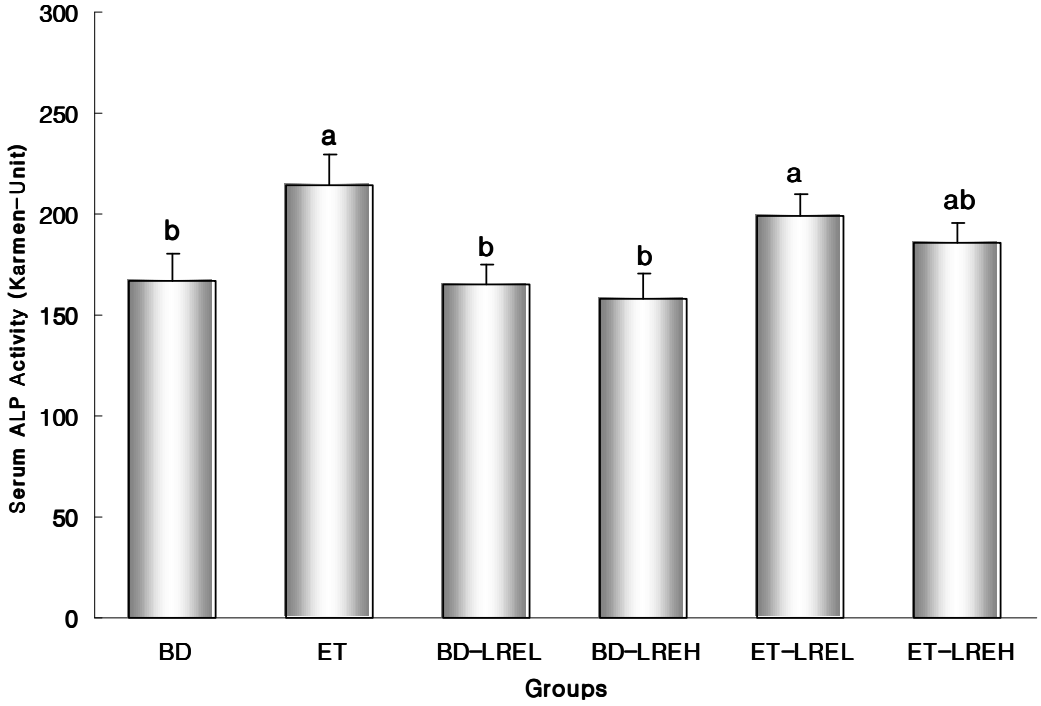

Fig. 6. Activity of ALP in the serum of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

다. 간조직 중 항산화 효소 활성

(1) XO 활성

흰쥐에게 알코올 및 연근 에탄올 추출물을 6주간 경구 투여한 후 간조직 중 XO 활성을 측정한 결과는 Fig. 7과 같다.

간조직의 XO 활성은 알코올 단독 투여군(ET)은 39.25±2.98 mU/mg protein으로 기본식이군(BD)의 26.43±2.21 mU/mg protein에 비하여 약 48% 정도 유의하게 증가되었다. 이는 실험동물에 알코올을 만성적으로 투여할 때 간조직의 XO 활성이 증가된다는 보고와 일치하였다(117). 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(ET-LREL)의 33.32.11±2.45 mU/mg protein과 고용량 병합 투여군(ET-LREH)의 27.27±1.23 mU/mg protein은 알코올 단독 투여군(ET)에 비하여 XO 활성이 용량 의존적으로 저하되는 경향이었으며, 특히 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군(ET-LREH)이 알코올 단독 투여군(ET)에 비하여 유의하게 저하되었다. 이는 알코올을 실험동물에게 만성적으로 섭취시킬 때 XO 활성의 증가로 oxygen free radical이 생성되었으며, 연근 에탄올 추출물 투여 후 free radical의 생성을 감소시킨 것으로 생각된다.

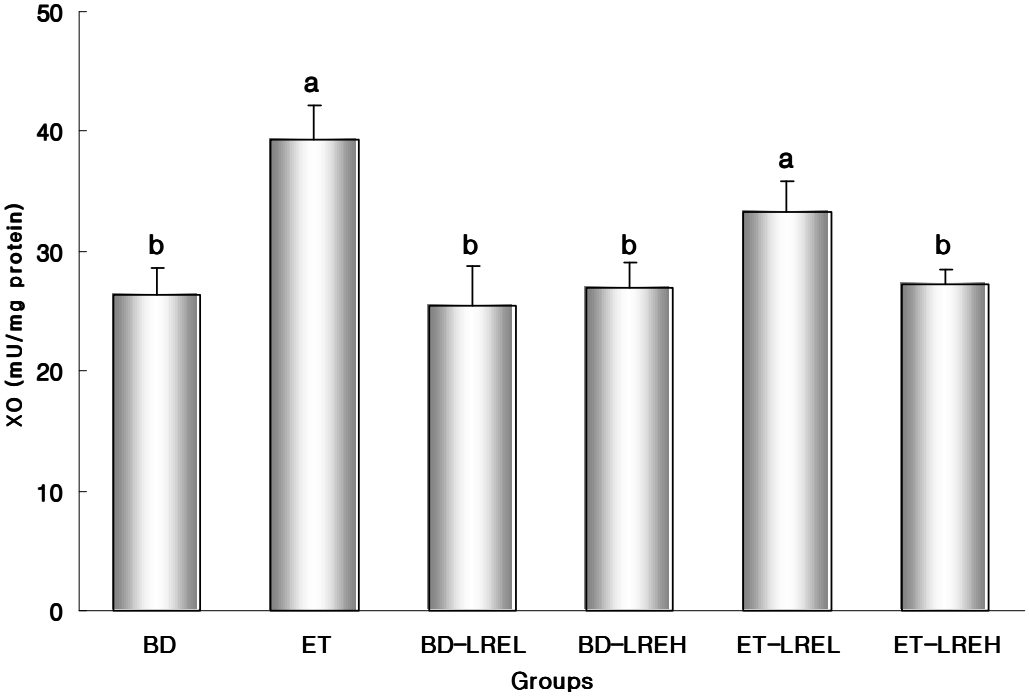

Fig. 7. Activity of XO in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

(2) SOD, catalase 및 *GSH-Px* 활성

흰쥐에게 연근 에탄올 추출물과 알코올을 6주간 경구 투여 후 생체 내 유리기 해독에 관여하는 것으로 알려진 항산화 효소(118-123)인 SOD, catalase 및 GSH-Px 활성을 간조직에서 측정한 결과는 Fig. 8~10과 같다.

Fig. 8에서와 같이 간조직 중 SOD 활성은 기본식이군(BD)의 73.32±5.65 unit/mg protein에 비하여 알코올 단독 투여군(ET)은 98.33±5.21 unit/mg protein으로 알코올 투여로 인하여 약 25% 정도 증가하였다. 알코올 단독 투여군(ET)에 비하여 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(ET-LREL)과 고용량 병합 투여군(ET-LREH)은 SOD 활성이 용량 의존적으로 감소되었다. SOD는 superoxide anion radical($O_2^{\cdot-}$)을 보다 반응성이 약한 과산화수소(H_2O_2)로 전환시키며, 생성된 H_2O_2는 GSH-Px, catalase 등의 작용에 의해 H_2O로 무독화 됨으로써 산소독으로부터 생체를 보호하는 $O_2^{\cdot-}$ 소거효소이다(110). 알코올을 투여할 때 체내 SOD는 구성 성분인 Cu, Mn 및 Zn 등 미량원소의 고갈에 의하여 활성이 감소된다는 연구 결과(124)도 있지만, 알코올을 급성 또는 만성 투여 후 mitochondria superoxide의 증가로 인하여 SOD 활성이 증가된 것(125)으로 생각된다. 이는 SOD가 활성산소(O_2^-)를 H_2O_2와 O_2로 전환시켜 활성산소에 의해 생긴 산화적 손상의 일차적 방어에 관여하며 비정상적으로 증가된 활성산소를 제거하기 위해 그 활성이 높아졌다는 보고(76,126)와 유사한 경향이었다.

Fig. 9와 같이 간조직 중 catalase 활성은 알코올 단독 투여군(ET)이 483.33±21.98 unit/mg protein로 기본식이군(BD)의 353.23±15.43 unit/mg protein에 비하여 약 37% 정도 유의하게 증가되었으며, 이는 SOD의 작용에 의해 생성된 H_2O_2를 분해하기 위해 catalase 활성이 증가된 것으로 생각된다(127). 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(ET-LREL)의 456.43±21.98 unit/mg protein과 고용량 병합 투여군(ET-LREH)의 447.23±19.89 unit/mg

protein은 알코올 단독 투여군(ET)에 비하여 간조직의 catalase 활성이 감소되었으나 유의차가 없었다. 조직의 catalase는 대사과정 중 발생하는 활성산소종의 유리기를 제거할 뿐만 아니라 이들 활성산소에 의해 그 활성이 비가역적으로 불활성화 될 수 있다고 알려져 있다(128). Catalase는 세포내 소포체에서 합성되며, 골지체로 이동 부착되어 세포내 peroxisome에 존재하고, 체내에서 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생성된 H_2O_2를 분해 및 소거하여 무독화시키는 효소로 H_2O_2의 농도가 높을 때 주로 작용하며 SOD에 비하여 산화적 손상에 다소 민감하게 반응하는 것으로 보고되어 있다.

Fig. 10에서와 같이 간조직 중 GSH-Px 활성은 알코올 단독 투여군(ET)이 142.35±13.22 unit/mg protein로 기본식이군(BD)의 98.23±10.20 unit/mg protein에 비하여 약 45% 정도 유의하게 증가되었다. 알코올 투여군(ET, ET-LREL과 ET-LREH)들 간에는 유의차를 보여 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(ET-LREL)의 117.03±12.33 unit/mg protein와 고용량 병합 투여군(ET-LREH)의 104.45±9.87 unit/mg protein은 알코올 단독 투여군(ET)에 비하여 용량 의존적으로 감소하였다. GSH-Px는 H_2O_2와 환원형 GSH의 반응에 관여하여 산화형 GSSG을 생성하며 이 GSSG는 GSSG reductase의 도움으로 NADPH에 의해 다시 GSH로 환원되는데 catalase와 비슷한 기능을 가지고 있다(129,130). 또한 GSH-Px는 간조직의 H_2O_2 농도가 낮을 때에도 작용하며, Se을 함유하는 항산화 효소로 비타민 E와 함께 과산화물을 제거함으로써 세포막의 손실을 방어한다(131).

따라서 만성 알코올을 투여할 때 GSH-Px 활성이 증가 된다는 고 등(132)의 연구와 유사하였으며, 이는 GSH-Px가 체내 물질 대사 중 발생되는 과산화물을 환원하는 항산화 효소로서 알코올의 산화작용으로 인해 증가되는 산화물들을 환원하기 위한 것으로 보고(133) 되었다. 즉 알코올의 섭취가 간조직 내 GSH 양을 감소시키고, 이차적으로 free radical 생성에 의한 지질과산화 반응을 일으킨다는 보고(134-136)와 관련됨을 보여준다. 따라서 연근 에탄올 추출물

을 투여할 때 간조직 내 지질과산화물의 생성이 감소되어 지는 것으로 확인되었으며, 이는 연근 에탄올 추출물이 체내 산화적 손상을 예방하는 항산화효과가 있는 것으로 생각된다.

간조직은 알코올 투여로 유도된 산화적 스트레스에 의한 free radical 발생이 증가함에 따라 세포의 환경을 보호하기 위하여 항산화 효소 즉 SOD, catalase 및 GSH-Px 활성이 증가 되어지며, 증가된 효소의 활성이 연근 에탄올 추출물 병합 투여로 유의적인 감소효과를 나타내어 항산화제로의 활용성과 간 보호 기능으로서의 가능성이 예상된다.

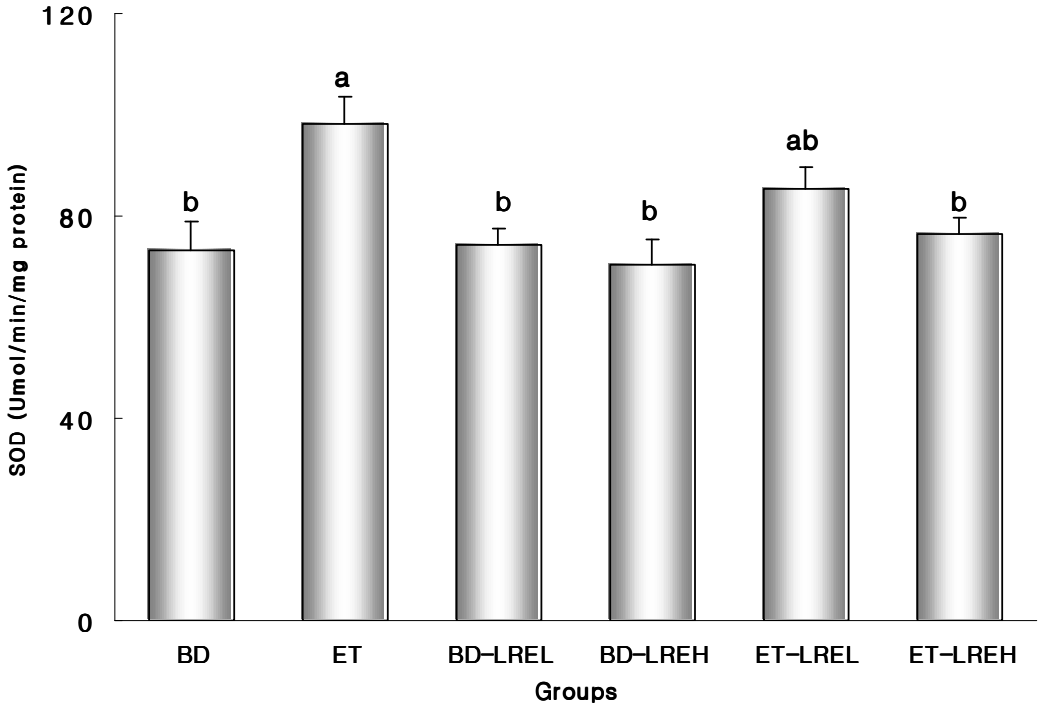

Fig. 8. Activity of SOD in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

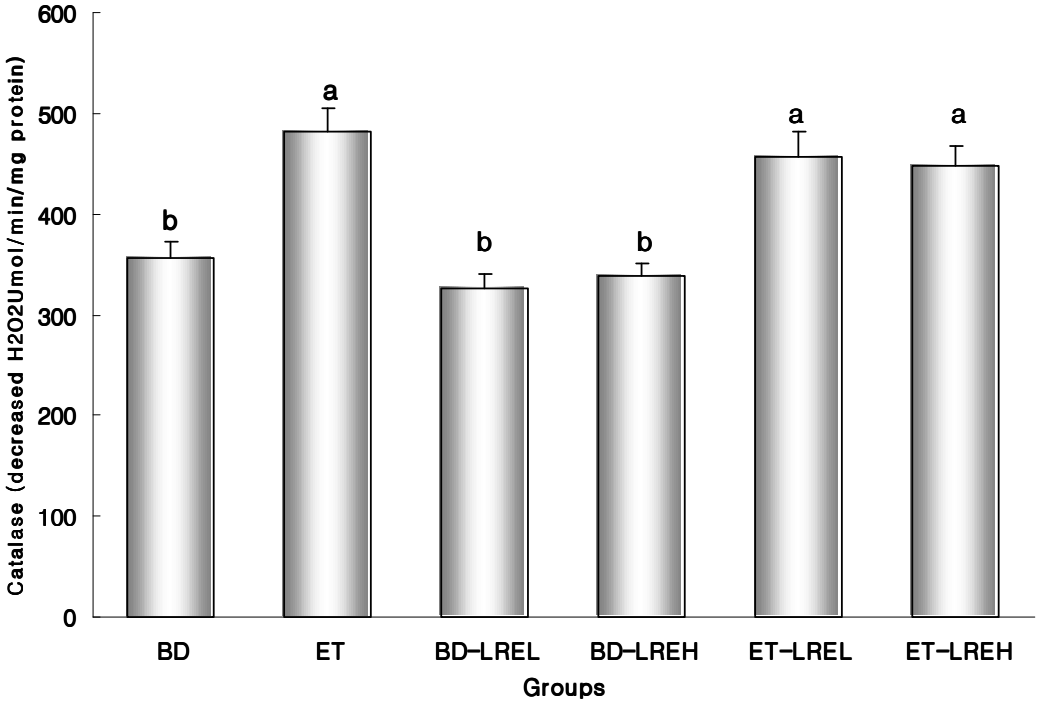

Fig. 9. Activity of catalase in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S. E of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

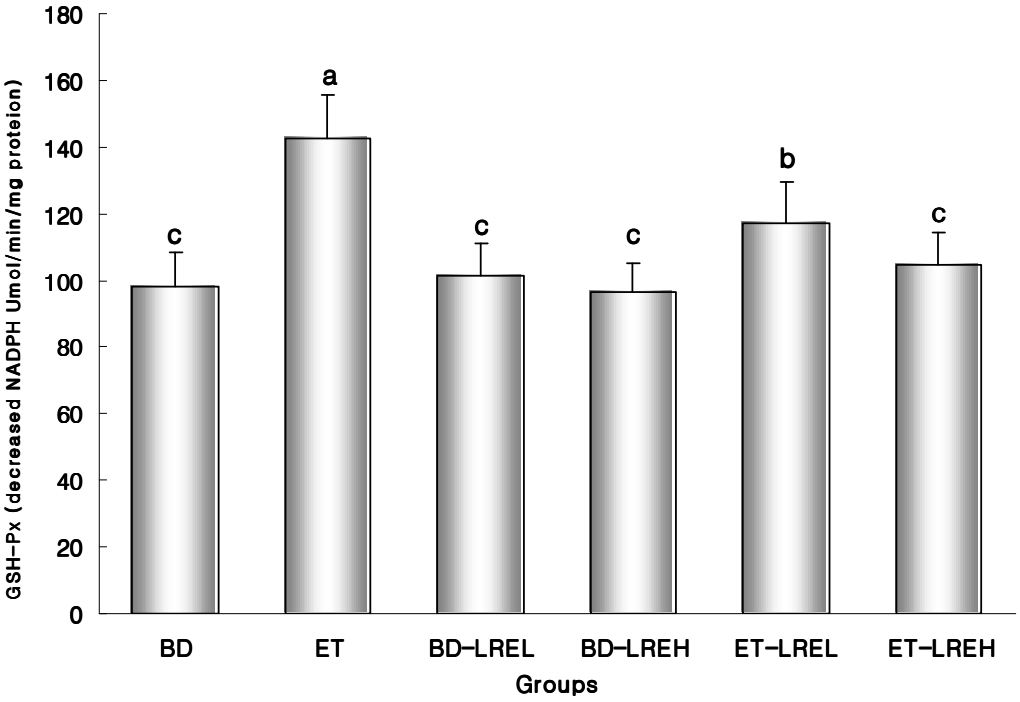

Fig. 10. Activity of GSH-Px in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S. E of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

라. 간조직 중 *GSH* 함량

흰쥐에게 연근 에탄올 추출물 저용량(200 mg/kg/day)과 고용량(400 mg/kg/day) 및 알코올을 6주간 경구 투여 후 간조직 중 GSH 함량 변화를 측정한 결과는 Fig. 11과 같다.

간조직 중 GSH 함량은 알코올 단독 투여군(ET)의 18.93±2.69 nM/mg protein은 기본식이군(BD)의 34.33±2.69 nM/mg protein에 비하여 약 45% 정도 유의하게 감소하였다. 연근 에탄올 저용량 단독 투여군(BD-LREL)의 36.45±23.71 nM/mg protein과 고용량 단독 투여군(BD-LREH)의 38.21±1.10 nM/mg protein은 기본식이군(BD)에 비하여 간조직 중 GSH 함량이 용량 의존적으로 증가되었으나 유의차는 없었다. 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(ET-LREL)은 21.33±3.21 nM/mg protein과 고용량 병합 투여군(ET-LREH)은 28.31±3.25 nM/mg protein으로 알코올 단독 투여군(ET)에 비하여 용량 의존적으로 증가되었으며, 특히 고용량을 투여할 때 유의하게 증가하였다. GSH는 cytochrome c의 환원 속도를 저하시켜 O_2^-에 대하여 소거효과를 발현하며, nonprotein thiols의 대부분을 차지하고, 비교적 안정한 thiol radical(GS^-)을 생성시켜서 유리기를 제거하는 기능 이외에도 이물질과의 포합형성, 과산화지질 형성과정 중 생성되는 hydroperoxide의 제거작용을 한다(137). 또한 GSH는 free radical의 scavenger로 GSH-Px의 기질이며, 여러 세포에서 높은 함량으로 존재함으로써 방어에 도움을 주며 높은 산소 농도에 노출되어 활성이 없어지는 효소를 재생시킬 수 있는 항산화물질이다(138). 알코올은 epinephrine, corticosteroid, glucagon 등의 호르몬 분비를 촉진하여 간으로부터 GSH의 유출을 증가시키므로 조직 내 GSH 감소가 일어나며, 이차적으로는 free radical에 의한 지질과산화 반응을 유도하는 것으로 알려져 있다(139). Speisky 등(134)은 간 조직의 GSH 함량이 저하되는 기전은 항산화 작용으로 소모되는 것 이외에도 알코올 대사산물인 acetaldehyde와 GSH의 결합에 의해

서도 저하된다고 보고하였다.

본 연구결과 알코올 투여로 간조직 중 GSH 함량은 감소되어졌고 GSH-Px 활성은 높았는데 이는 간 손상 시 GSH-Px 활성이 증가하여 GSH의 방출이 많아지므로 조직의 GSH 함량이 감소한다는 보고(140-143)와 유사한 경향을 나타냈다. 또한 알코올 단독 투여군(ET)보다 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량(ET-LREL)과 고용량(ET-LREH) 병합 투여군의 GSH 함량이 증가된 것은 연근 에탄올 추출물 투여가 알코올에 의해 생성된 H_2O_2 등의 free radical을 소거하여 GSH-Px 소모가 감소함으로써 GSH 소모량도 감소되었다. 이는 알코올 투여로 손상된 간조직의 보호에 도움을 줄 수 있을 것이라는 가능성을 제시해 주었다.

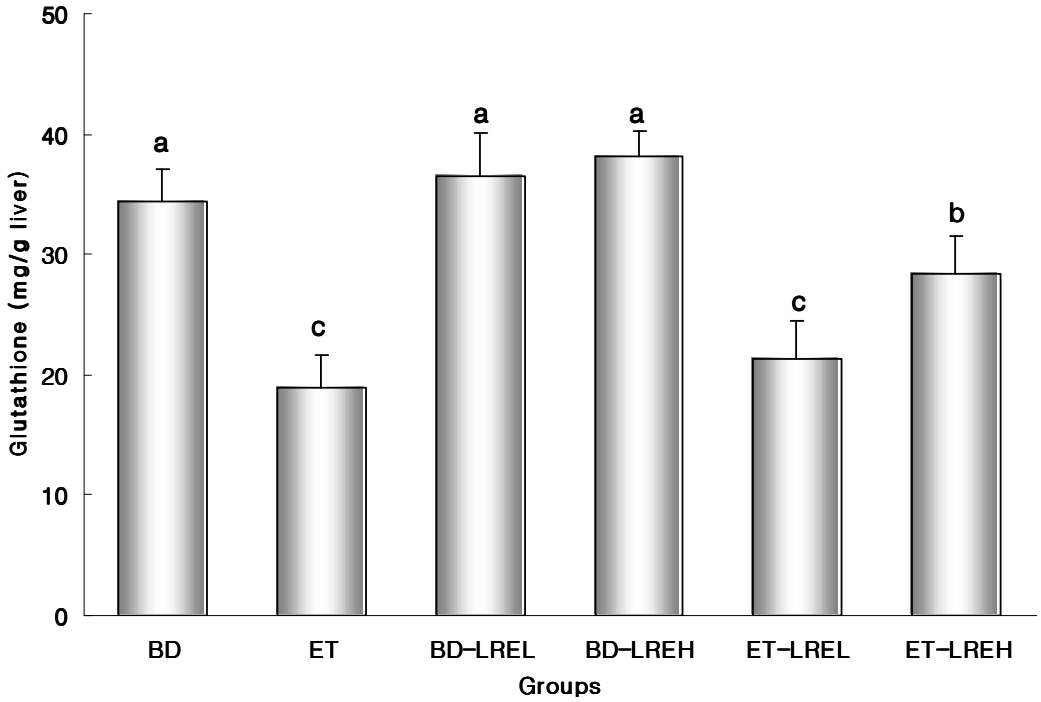

Fig. 11. Concentration of GSH in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S. E of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

마. 간조직 중 지질과산화물 함량

연근 에탄올 추출물 200 mg/kg/day과 400 mg/kg/day 및 알코올을 6주간 단독 혹은 병합 경구 투여 후 흰쥐 간조직 중 지질과산화물 함량을 측정한 결과는 Fig. 12와 같다.

알코올에 의하여 초래된 간조직의 손상 정도를 확인하기 위하여 측정하는 산소 라디칼 유래 조직의 산화성 손상 지표 중의 하나인(144) 지질과산화물(TBARS) 함량은 알코올 단독 투여군(ET)이 9.06±3.11 Um/g로 정상식이군(BD)의 5.39±2.14 Um/g에 비하여 약 68% 정도 유의하게 증가되었다. 알코올과 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군(ET-LREH)은 7.21±2.49 Um/g로 알코올 투여로 증가된 간조직의 과산화지질 함량을 감소시켰다. 이는 급성 혹은 만성적인 알코올 투여로 알코올 부산물인 acetaldehyde에 의하여 다양한 free radical의 생성 증가로 acetaldehyde가 세포질 내에서 XO와 작용하여 부산물로 superoxide 생성이 증가되어 세포막의 불포화지방산과 결합하여 지질과산화물이 증가한다는 연구(144,145)와, 윤과 이(146)의 체내 항산화물질인 GSH 함량이 증가되는 등 방어기구가 강화되면 지질과산화물 함량은 감소된다는 보고와 유사하였으며, 본 연구에서도 알코올과 연근 에탄올 추출물을 병합 투여할 때가 알코올 단독 투여할 때 보다 GSH 함량은 증가되었고 지질과산화물 함량은 감소된 것으로 나타났다.

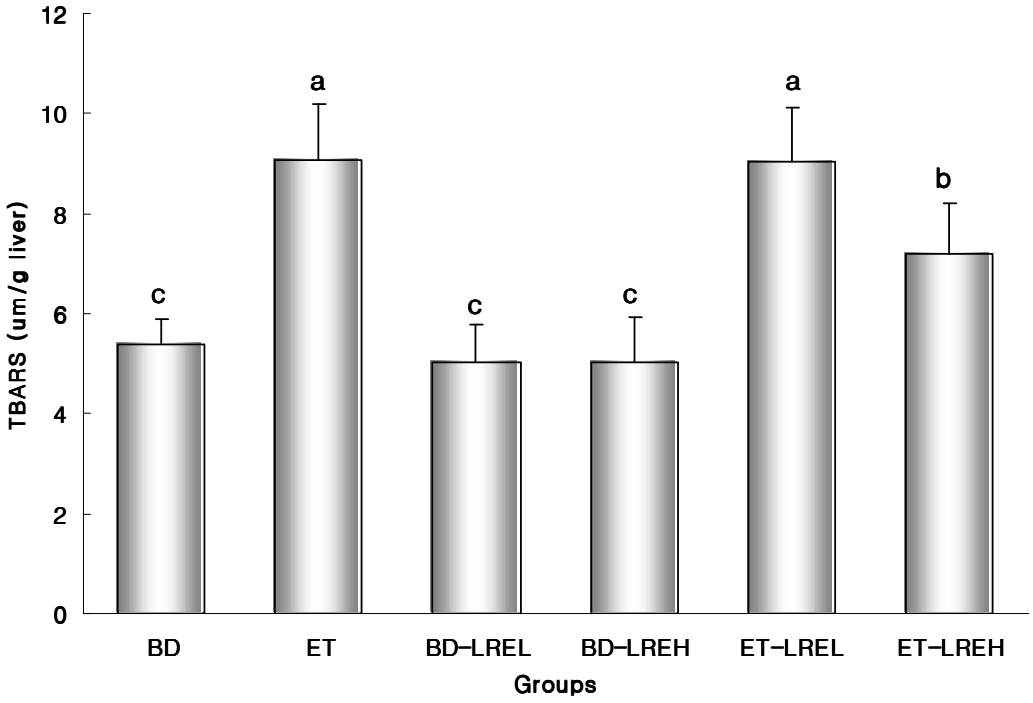

Fig. 12. Concentration of TBARS in the liver of rats administered alcohol and/or lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 2. Values are mean ± S. E of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

제2절 고지혈증 억제 효능

1. *In vitro* 에서 고지혈증 억제 효능

가. 산화된 *LDL*에 대한 항산화 효능

연근 에탄올 추출물 분획물이 사람 혈장의 산화된 LDL(oxidized LDL)에 대한 항산화효과를 측정한 결과는 Fig. 13과 같다.

산화된 LDL에 대한 항산화 효능은 산화가 유발되어진 LDL에 연근 에탄올 추출물 분획 30 μg/mL을 첨가한 후 지질과산화물(TBARS) 함량을 측정하여 검토하였는데, 지질과산화물 함량은 대조군이 28.89±2.42 nM MDA/mg protein이었으며, 연근 에탄올 추출물 분획은 ethylacetate 분획물이 18.01±2.01 nM MDA/mg protein, n-butanol 분획물이 18.62±1.43 nM MDA/mg protein, chloroform 분획물이 22.17±1.98 nM MDA/mg protein, n-hexane 분획물이 24.21±1.43 nM MDA/mg protein, water 분획물이 24.37±3.01 nM MDA/mg protein으로 대조군에 비하여 낮게 나타났다. 분획 중 ethylacetate과 n-butanol 분획물의 지질과산화물 함량이 대조군에 비하여 가장 낮았다.

혈장의 산화된 LDL과 같은 지질과산화물질은 혈관내피 세포를 손상시키고 그에 따라 유리되는 여러 인자들에 의해 혈소판이 활성화되는 것으로, 본 실험에서 연근 에탄올 추출물의 계통별 분획의 항산화 활성이 산화된 LDL 내의 지질과산화물질의 축적으로 일어나는 각종 연쇄반응을 억제함으로서 세포 의존성 동맥경화의 초기단계를 예방할 수 있는 기능성 물질로 이용할 수 있을 것으로 예상된다.

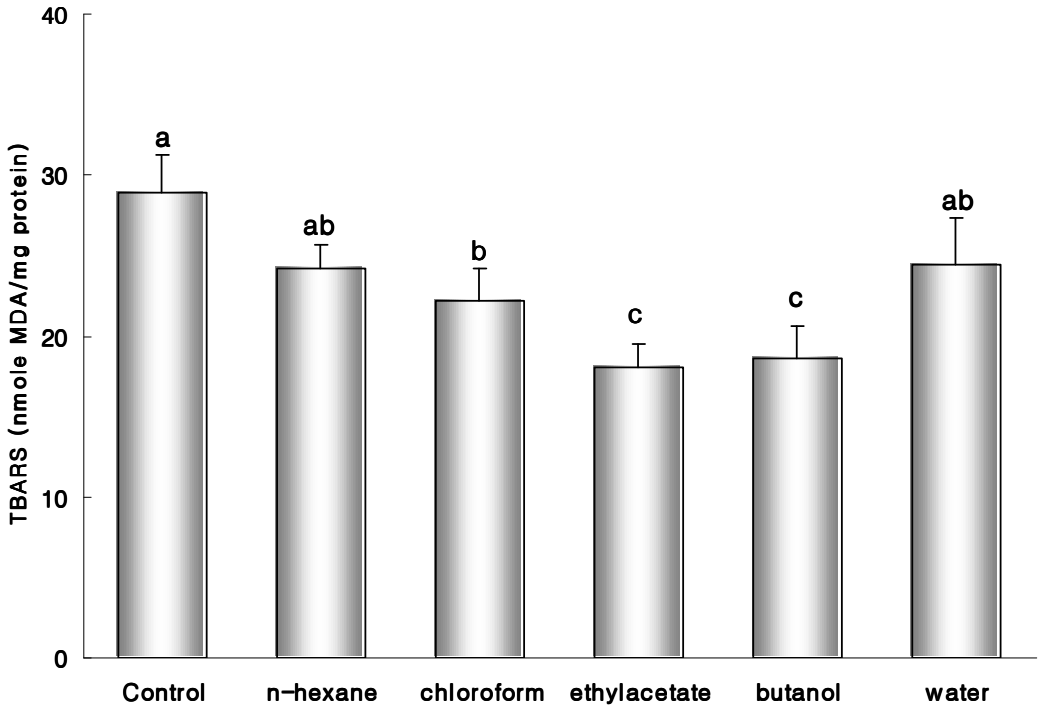

Fig. 13. Inhibitory activity of the solvent fractions from 80% ethanol extract of lotus root on human low density lipoprotein(LDL) oxidation.

LDL was incubated with 16 μM Cu^{2+} at 37℃ under air for 2 hrs in the presence of 30 μg/mL concentrations of fractions of lotus root ethanol extract. The reaction mixture was stopped by adding 3 mL of TBA-TCA-HCl solution, and then the solution was heated at 95℃ for 30 min. After centrifugation to clarify the solution, the peak absorbance at 532 nm was used to calculate TBARS using and is expressed as nmol malondialdehyde equivalents/mL. Values are mean ± S. E. of 10 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

나. *HMG-CoA reductase* 저해활성

연근 에탄올 추출물의 용량을 0, 25, 50 및 100 μg로 달리하여 HMG-CoA reductase에 대한 저해활성을 측정한 결과는 Table 10과 같다.

HMG-CoA reductase 저해율은 시료를 넣지 않은 대조군의 효소활성에 대한 저해 정도를 백분율로 환산하여 검토하였는데, 연근 에탄올 추출물 100 μg은 39.19%의 HMG-CoA reductase 저해활성을 나타냈고, 50 μg은 16.26%, 25 μg은 8.45%로 농도 의존적으로 저해활성을 나타내었다. 이러한 결과는 이(147)가 식물 추출물 중 솔잎과 메밀껍질이 *in vitro* HMG-CoA reductase에 대하여 65.5%의 높은 저해활성을 나타냈다고 한 결과와 유사한 경향이었다. 연근 에탄올 추출물에 비하여 양성대조군으로 사용한 고지혈증 치료제인 lavastatin은 90.29%의 HMG-CoA reductase 저해활성을 보였다. Lavastatin은 현재 시판되는 고지혈증 치료제로 HMG-CoA reductase 활성을 저해시키고(88), LDL-콜레스테롤의 분해와 세포로 콜레스테롤 흡수를 촉진시켜 혈액 중 콜레스테롤 농도 저하 효과가 높은 것으로(89) 알려져 있다.

HMG-CoA reductase는 체내 콜레스테롤 합성의 주된 조절 효소로 간, 소장, 부신 및 성선 등의 형질내세망에 존재하며, 이 효소는 체내 콜레스테롤, 26-hydroxycholesterol 함량 및 인산화 반응에 의해서도 활성이 조절된다. 특히 인산화반응이 일어나면 효소가 불활성화되고 탈인산화 반응이 일어나면 활성화된다(84). 세포 내 유리 콜레스테롤 함량이 증가되면 HMG-CoA reductase 유전자의 전사를 억제하여 LDL-수용체 수를 감소시키고 acyl CoA : cholesterol acyl transferase(ACAT) 활성이 촉진된다. 따라서 HMG-CoA reductase에 경쟁적 저해제를 사용할 경우 콜레스테롤 합성이 저해될 뿐만 아니라 LDL-수용체 수를 증가시켜 혈청 내 LDL-콜레스테롤 농도를 낮추게 된다. 최근 혈청 콜레스테롤 농도를 저하시키기 위한 약물의 개발은 대부분 HMG-CoA reductase 저해제의 탐색에 관심을 가지고 연구되고 있다(148). 따라서 앞으로 연근 에탄

올 추출물의 HMG-CoA reductase에 대한 저해활성 등 체계적인 연구가 수행되어지면 연근을 혈청 콜레스테롤 농도를 저하시키는 식품 소재로 개발이 기대된다.

Table 10. Inhibitory activity of lotus root ethanol extract on HMG-CoA reductase[1)]

	Concentration (μg/assay)	*Specific activity*[2)]	*Relative activity*	*Inhibition rate(%)*[3)]
	0	2.96	100.00	0.00
LRE[4)]	25	2.71	91.55	8.45
	50	2.39	80.74	16.26
	100	1.80	60.81	39.19
Lavastatin	100			90.29

1) The reaction mixture consisted of yeast microsomal protein 1 mg, HMG-CoA 150 nM, $NADP^+$ 2 μM, glucose-6-phosphate 3 μM, glucose-6-phosphate dehydrogenase 2 units and 0, 25, 50 and 100 μg of ethanol extract of lotus root or 100 μg of lavastatin in total volume of 1 mL. Values are means of triplicate assay.

2) Unit: nM of CoA produced/mg protein/min.

3) Inhibition rate(%)=100-(sample activity×100/control activity).

4) LRE: lotus root ethanol extract

2. *In vivo* 에서 고지혈증 억제 효능

가. 체중증가율, 식이효율 및 간 무게

고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 200 mg/kg/day과 400 mg/kg/day을 6주간 경구 투여 후 흰쥐의 체중증가량, 식이효율 및 간 무게를 비교한 결과는 Table 11～13과 같다.

Table 11에서와 같이 체중증가량은 고콜레스테롤식이군(HC)은 192.32±22.61 g로 정상식이군(NC)의 156.89±36.59 g에 비하여 약 26% 정도 유의하게 증가되었다 (Table 11). 정상식이군(NC)과 정상식이군(NC-LREL과 NC-LREH)들 간에는 체중증가량의 유의차가 없었다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(HC-LREL)과 고용량 병합 투여군(HC-LREH) 모두 실험 개시 후 4주까지는 고콜레스테롤식이군(HC)과 체중증가율이 유사하였지만 4주 후부터는 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 체중증가율이 억제되었다. 특히 5주부터는 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군(HC-LREH)은 정상식이군(NC)과 비슷한 체중증가 현상을 보였다.

Table 12에서와 같이 식이섭취량은 고콜레스테롤식이군(HC)이 가장 낮았고 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군은 고콜레스테롤식이군(HC)과 비교 시 농도 의존적으로 증가되었으며, 특히 고용량 연근 에탄올 추출물 병합 투여군(HC-LREH)은 유의하게 증가하였다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군은 실험기간이 경과할수록 식이효율이 낮아지는 경향을 보였는데 이는 고콜레스테롤식이에 대한 적응으로 사료된다.

Table 13에 제시한 바와 같이 체중 당 간조직의 무게 비는 고콜레스테롤식이군(HC)이 다른 실험군들에 비하여 가장 높았는데, 이는 체중증가량을 반영한 것으로 생각되어 진다. 식이로 섭취한 과량의 콜레스테롤은 체외로 정상적으로

배출되지 못하고 간장 내에 축적되어 간장이 비대해진다(149). 이처럼 과량의 콜레스테롤을 식이에 첨가하였을 때 흰쥐 장기 무게에 영향을 미친다는 보고가 (150) 다양하게 수행되었는데, Turley 등(151)도 고콜레스테롤을 장기간 급여할 때 간 비대증을 유발한다고 하였다. 본 연구에서도 장기간 고지혈증을 유도하기 위해 식이에 첨가한 고콜레스테롤로 인하여 체중과 간 무게가 증가되었고, 간 무게가 체중에 차지하는 비율로 비교하였을 때도 간 비대 현상이 나타났다. 체중 당 간 조직 무게 비는 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 고콜레스테롤과 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군(HC-LREH)에서 유의적으로 감소되었다. 이와 같이 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량과 고용량 병합 투여군(HC-LREL과 HC-LREH)들의 간 무게가 감소된 것은 연근 에탄올 추출물 병합 투여로 간 조직으로의 지방축적이 억제되었을 것으로 생각된다.

Table 11. Change of growth rate of the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract

Groups[1)]	*Initial body wt. (g)*	*Final body wt. (g)*	*Gained body wt. (g)*
NC	125.50±1.45[2)NS]	282.37±19.67[3)b]	156.89±36.59[b]
HC	124.99±2.09	317.31±32.98[a]	192.32±22.61[a]
NC-LREL	124.04±1.50	278.43±41.21[b]	152.39±19.21[b]
NC-LREH	124.76±1.81	282.09±29.43[b]	157.33±26.38[b]
HC-LREL	125.14±2.47	310.43±21.00[a]	185.29±30.09[a]
HC-LREH	124.52±1.43	300.73±30.98[a]	176.21±29.01[ab]

[1)] See the legend of Table 4.

[2)] NS: not significant.

[3)] mean ± S.E.(n=8), Values with different superscripts in the same column are significantly different($p<0.05$) between groups by Tukey(T) test.

Table 12. Feed intake and FER of the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract

Groups[1)]	*Total feed intake (g)*	*Dalily feed intake(g/day)*	*FER*[2)]
NC	895.44±22.14[3)a]	21.32±0.95[a]	0.18±0.02[b]
HC	724.92±36.19[bc]	17.26±0.52[b]	0.27±0.09[a]
NC-LREL	937.86±19.40[a]	22.33±0.40[a]	0.16±0.05[b]
NC-LREH	863.52±29.11[ab]	20.56±0.19[a]	0.18±0.04[b]
HC-LREL	769.44±30.15[b]	18.32±0.24[b]	0.24±0.07[a]
HC-LREH	811.86±16.23[b]	19.33±0.26[ab]	0.22±0.02[ab]

1) See the legend of Table 4.

2) FER(feed efficiency ratio): total weight gain/total feed intake.

3) mean ± S.E.(n=8), Values with different superscripts in the same column are significantly different($p<0.05$) between groups by Tukey(T) test.

Table 13. Effect of lotus root ethanol extract on liver weight of rats fed high cholesterol diet

Groups[1)]	*Liver wt. (g)*	*Liver wt. (g/100 g carcass wt.)*
NC	7.69±2.01[2)b]	2.72±0.09[b]
HC	9.56±1.23[a]	3.01±0.07[a]
NC-LREL	7.85±1.36[b]	2.82±0.02[b]
NC-LREH	7.71±1.92[b]	2.73±0.08[b]
HC-LREL	9.01±2.36[a]	2.90±0.04[a]
HC-LREH	8.22±2.07[b]	2.73±0.03[b]

[1)] See the legend of Table 4.

[2)] mean ± S.E.(n=8), Values with different superscripts in the same column are significantly different($p<0.05$) between groups by Tukey(T) test.

나. 혈청 중 *ALT, AST* 및 *ALP* 활성

고콜레스테롤식이를 급여한 흰쥐에게 연근 에탄올 추출물을 6주간 경구 투여 후 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성을 측정한 결과는 Fig. 14~16과 같다.

Fig. 14에서와 같이 고콜레스테롤식이군(HC)은 76.43±3.29 units로 정상식이군(NC)의 55.27±3.10 units에 비하여 혈청 중 ALT 활성이 약 38% 정도 유의하게 증가하였다. 고콜레스테롤식이군(HC)은 고콜레스테롤과 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(HC-LREL)의 74.29±2.98 units와 고용량 병합 투여군(HC-LREH)의 73.99±3.48 units와는 유의차가 없었다.(Fig. 14). 정상식이군(NC, NC-LREL과 NC-LREH)들 간에도 유의차가 없었다.

Fig. 15와 같이 혈청 중 AST 활성은 고콜레스테롤식이군(HC)이 179.39±10.92 units로 다른 실험군들에 비하여 가장 높았다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(HC-LREL)의 145.28±13.08 units와 고용량 병합 투여군(HC-LREH)의 144.01±11.38 units는 고콜레스테롤식이군(HC)과 비교할 때 유의차가 없었다.

혈청 중 AST와 ALT 활성 증가는 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨을 의미하며 고지방식이, 고콜레스테롤식이, 알코올 등으로 간세포의 독성이 생기면 간 실질세포의 장애가 발생하여 간세포가 파괴되고 혈액 중으로 이들 효소의 방출이 항진되어 활성이 증가한다고 하였다(152).

Fig. 16에서와 같이 혈청 중 ALP 활성은 정상식이군(NC)의 21.33±2.90 units에 비하여 고콜레스테롤식이군(HC)이 34.29±3.56 units로 약 61% 정도 유의하게 증가하였다. 고콜레스테롤식이군(HC, HC-LREL과 HC-LREH)들 간에는 연근 에탄올 추출물의 투여 용량이 증가 할수록 혈청 중 ALP 활성이 저하되었으나 정상식이군(NC)의 활성에는 도달하지 못하였다. 또한 혈청 중 ALP는 신체 각 조직에 존재하는 효소로 간염, 간경변증 등의 진단과 예후를 관찰하는데 이용되어지는데 특히 담도계 폐색 또는 간질환 등에 의하여 ALP 활성 수치가 상

승되어 진다.

급성 신부전증, 고지혈증, 폐경색증이 있을 때 간세포 장애가 고도로 진행되면 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성 수치가 동시에 높아져 간장의 담즙산 배설 장애가 유발되고 이로 인해 혈청 콜레스테롤 함량이 상승되는 것으로 알려져 있다(153).

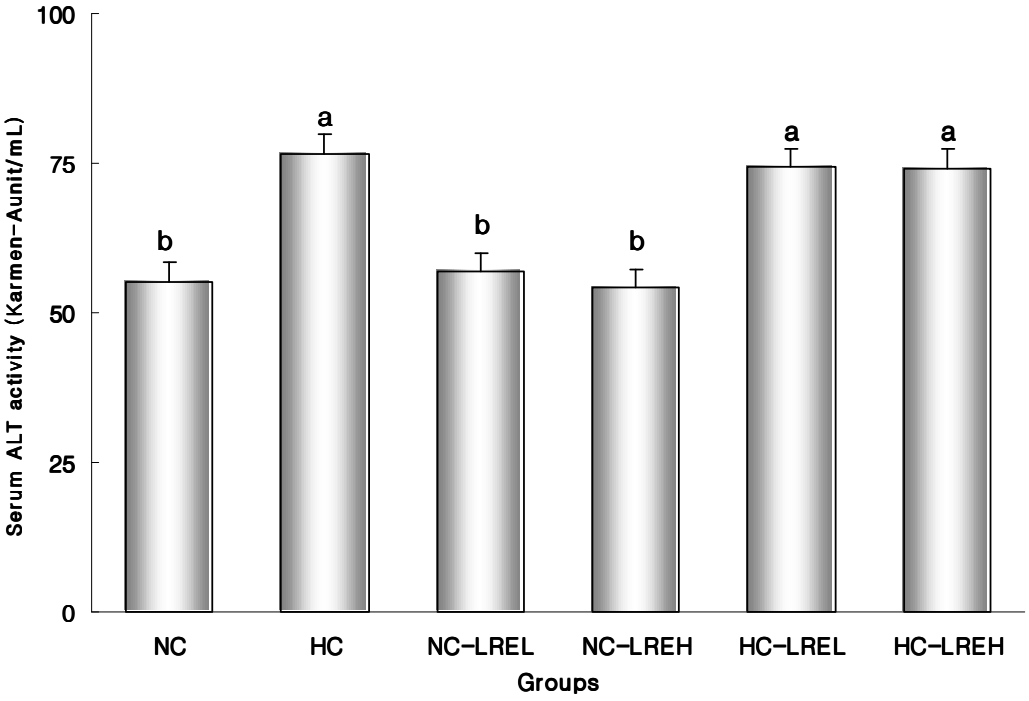

Fig. 14. Activity of ALT in the serum of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

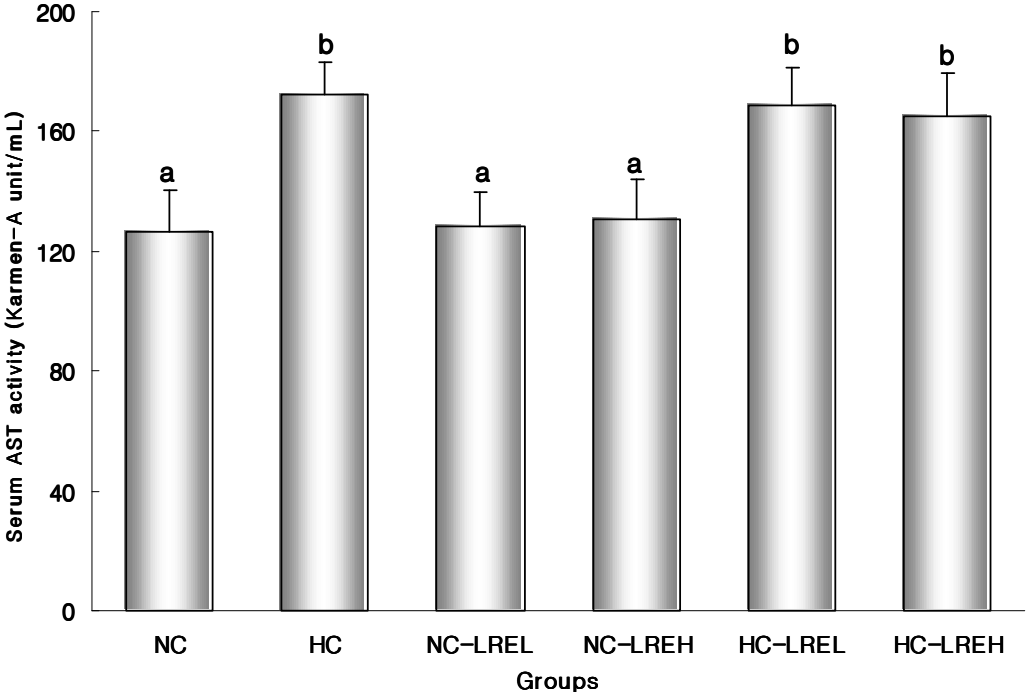

Fig. 15. Activity of AST in the serum of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

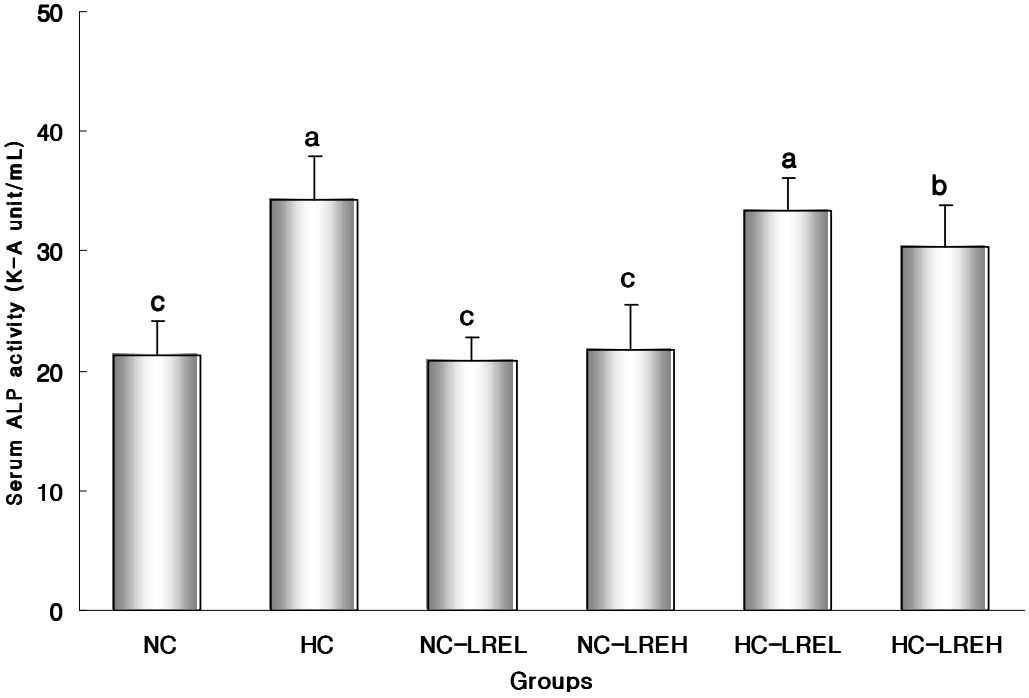

Fig. 16. Activity of ALP in the serum of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

다. 혈청 중 중성지방, 총콜레스테롤 및 인지질 함량

흰쥐에 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물을 저용량(200 mg/kg/day)과 고용량(400 mg/kg/day)으로 달리하여 6주간 경구 투여 후 측정한 혈청 중 중성지방, 총콜레스테롤 및 인지질 함량 변화는 Fig. 17～19와 같다.

Fig. 17에서와 같이 혈청 중 중성지방 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)이 143.29±9.32 mg/dL로 정상식이군(NC)의 91.43±7.15 mg/dL에 비하여 약 57% 정도 유의하게 높았다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군의 혈청 중성지방 함량은 각각 137.26±10.43 mg/dL과 121.01±7.42 mg/dL로 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 용량 의존적으로 감소하였으며, 특히 고용량 병합 투여군(HC-LREH)은 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 유의하게 저하되었으나 정상식이군(NC)에 비해서는 증가하였다. 연근 에탄올 추출물 투여로 인한 혈청 중 중성지방 함량의 감소는 모세혈관 벽의 lipoprotein lipase에 의해 중성지방의 주요 운반체 지단백질인 chylomicron과 VLDL의 분해가 촉진되어 나타난 결과로 생각되어진다(154).

Fig. 18에서와 같이 혈청 중 총콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)이 124.23±8.92 mg/dL로 정상식이군(NC)의 88.23±7.21 mg/dL에 비하여 약 41% 정도 유의하게 증가되었다. 고콜레스테롤식이에 의하여 증가된 혈청 중 총콜레스테롤 함량은 연근 에탄올 추출물 병합 투여로 농도 의존적으로 감소되었으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

Fig. 19에서와 같이 혈청 중 인지질 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)이 정상식이군(NC)에 비하여 유의하게 감소되었다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군(HC-LREH)은 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 유의하게 증가하였으나 정상식이군(NC)에 비해서는 저하되었다. 고콜레스테롤 혹은 고지방식이로 인한 지방간 발병의 주된 원인은 인지질 합성 감소로 인한 것

으로 보고되었는데(155), 연근 에탄올 추출물 투여로 혈청 중 인지질 함량 증가는 연근이 알코올성 지방간 진행을 억제할 뿐만 아니라 예방할 수 있는 가능성도 제시하였다.

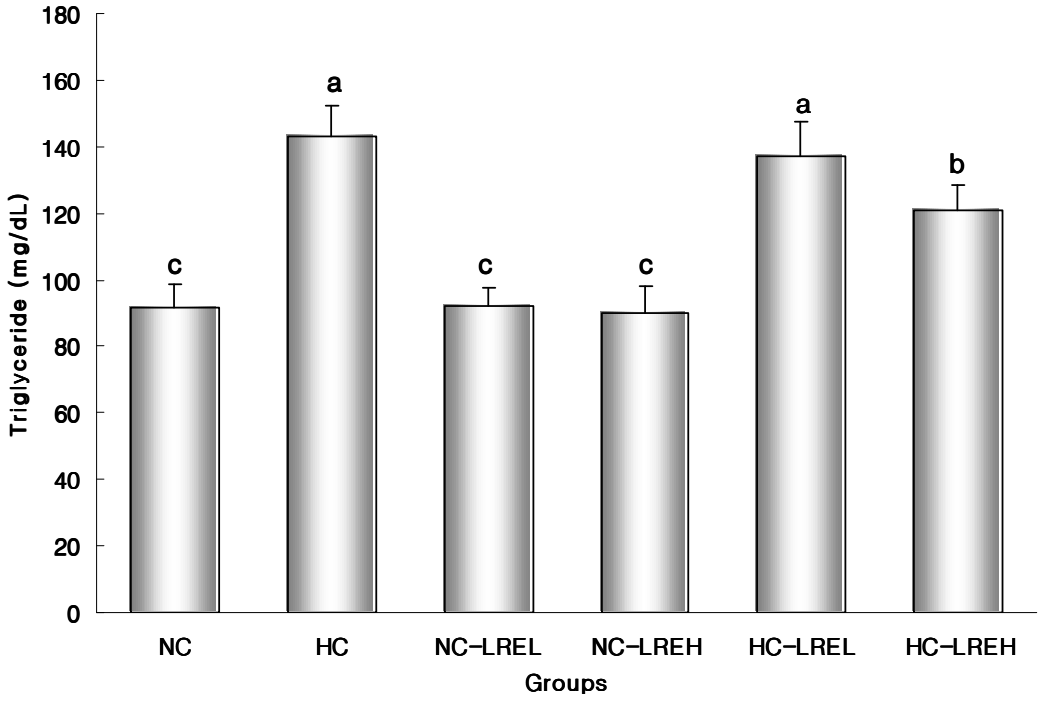

Fig. 17. Concentration of triglyceride in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

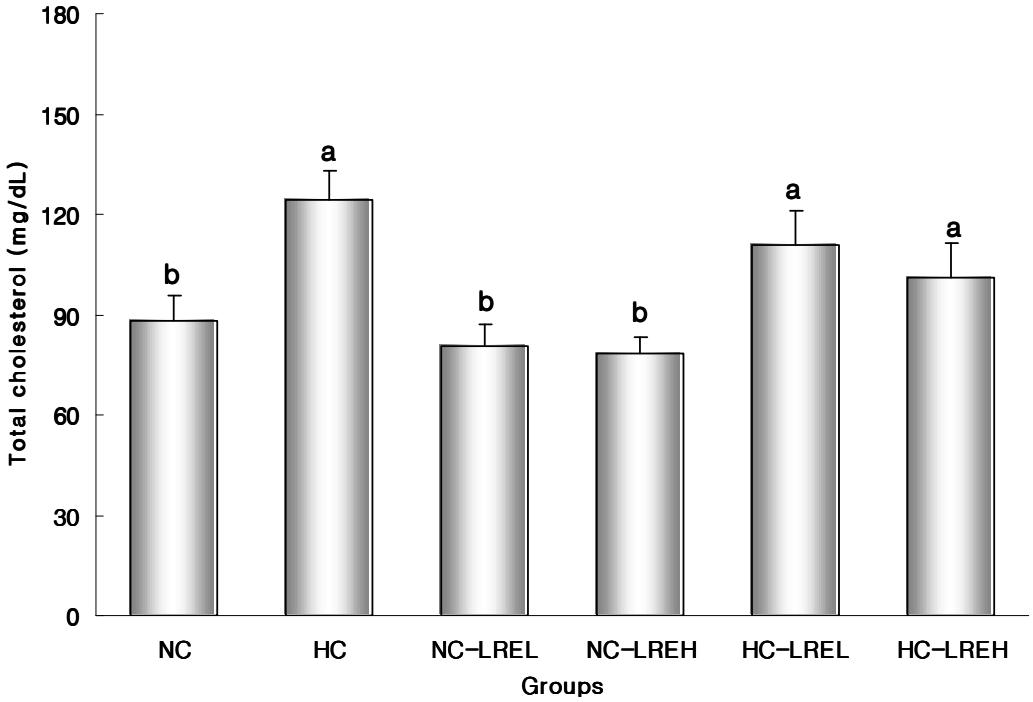

Fig. 18. Concentration of total cholesterol in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

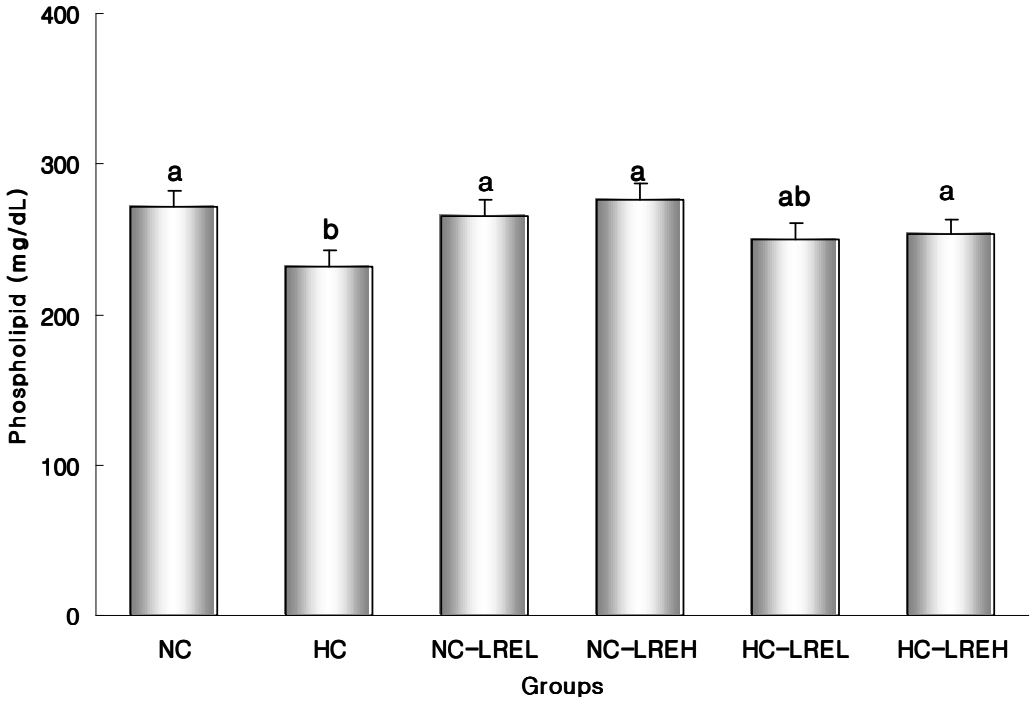

Fig. 19. Concentration of phospholipid in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

라. 혈청 중 유리 콜레스테롤 함량, 콜레스테릴 에스테르 함량 및 콜레스테릴 에스테르 비율

흰쥐에게 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물의 용량을 달리하여 경구 투여한 후 혈청 중 유리 콜레스테롤 함량, 콜레스테릴 에스테르 함량 및 콜레스테릴 에스테르의 비율을 측정한 결과는 Fig. 20～22와 같다.

Fig. 20에서와 같이 혈청 중 유리 콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)이 40.39±2.98 mg/dL로 정상식이군(NC)의 26.49±2.14 mg/dL에 비하여 약 53% 정도 유의하게 증가되었으며, 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군의 유리콜레스테롤 함량은 각각 36.78±3.02 mg/dL와 29.47±2.90 mg/dL로 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 용량 의존적으로 저하되었으나 고용량 투여 시에만 유의차가 있었다. 정상식이군(NC, NC-LREL과 NC-LREH)들 간에는 유의차가 없었으나 연근 에탄올 추출물 투여 용량이 증가할수록 혈청 중 유리 콜레스테롤 함량이 농도 의존적으로 저하되었다.

Fig. 21에서와 같이 혈청 중 콜레스테릴 에스테르 함량은 정상식이군(NC)에 비하여 고콜레스테롤식이군(HC)이 유의하게 증가하였다. 콜레스테롤 급여로 증가된 고콜레스테롤식이군(HC)의 혈청 중 콜레스테릴 에스테르 함량은 연근 에탄올 추출물 병합 투여로 농도 의존적으로 감소하였으나 유의차는 없었다.

Fig. 22에서와 같이 총콜레스테롤에 대한 콜레스테릴 에스테르 비는 실험군들 간에 유의차가 없었다. 콜레스테롤은 인지질과 함께 세포막의 주요 성분으로 혈액 중에는 지방산과 에스테르결합을 한 콜레스테롤 에스테르형이 70%이고 나머지 30%는 유리형으로 존재한다. 사람의 경우 총콜레스테롤에 대한 콜레스테릴 에스테르 비는 약 70% 전후가 정상적이고 콜레스테롤 에스테르 비의 저하는 간질환 진단의 지표이며 고콜레스테롤혈증일 때 상승되는 것으로 알려져 있다(156).

콜레스테롤의 흡수는 소장 상부에서 일어나며 콜레스테롤 에스테르의 형태로 점막세포로 들어가게 되는데 외인성 콜레스테롤은 혈액 중 유리 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르 함량을 상승시킨다고 보고 되어있다. 따라서 고콜레스테롤식이군(HC)은 콜레스테롤 에스테르 함량비가 높게 나타났으나, 연근 에탄올 추출물의 투여로 저하되었다. 이상의 결과 연근 에탄올 추출물은 식이로 혈액 중 유리 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르 함량 저하효과가 있었다.

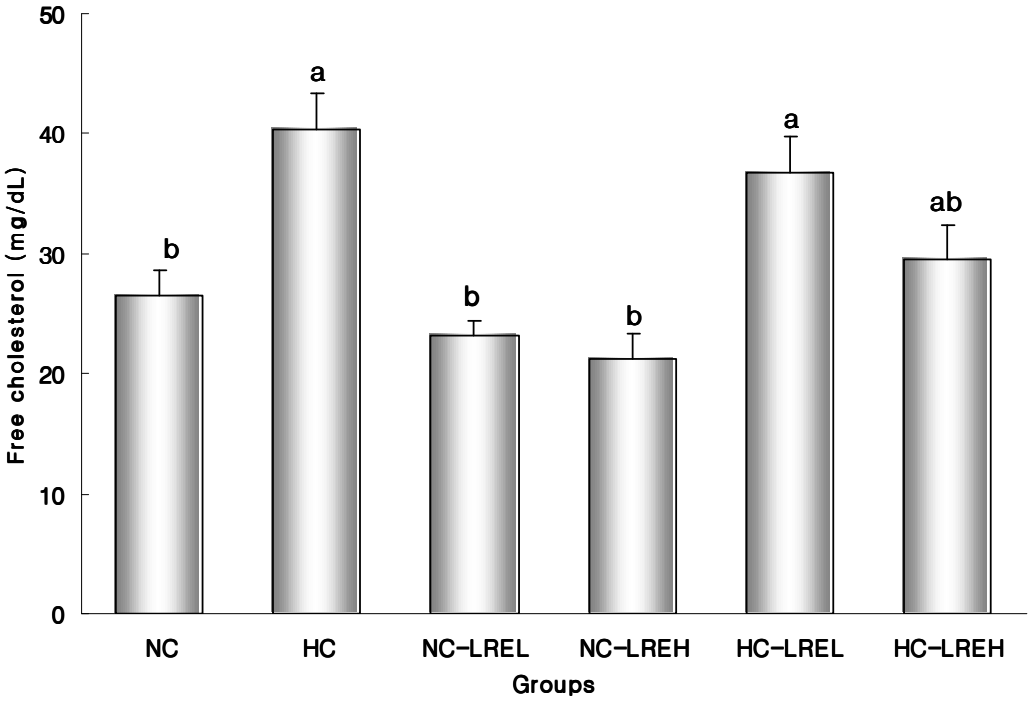

Fig. 20. Concentration of free cholesterol in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

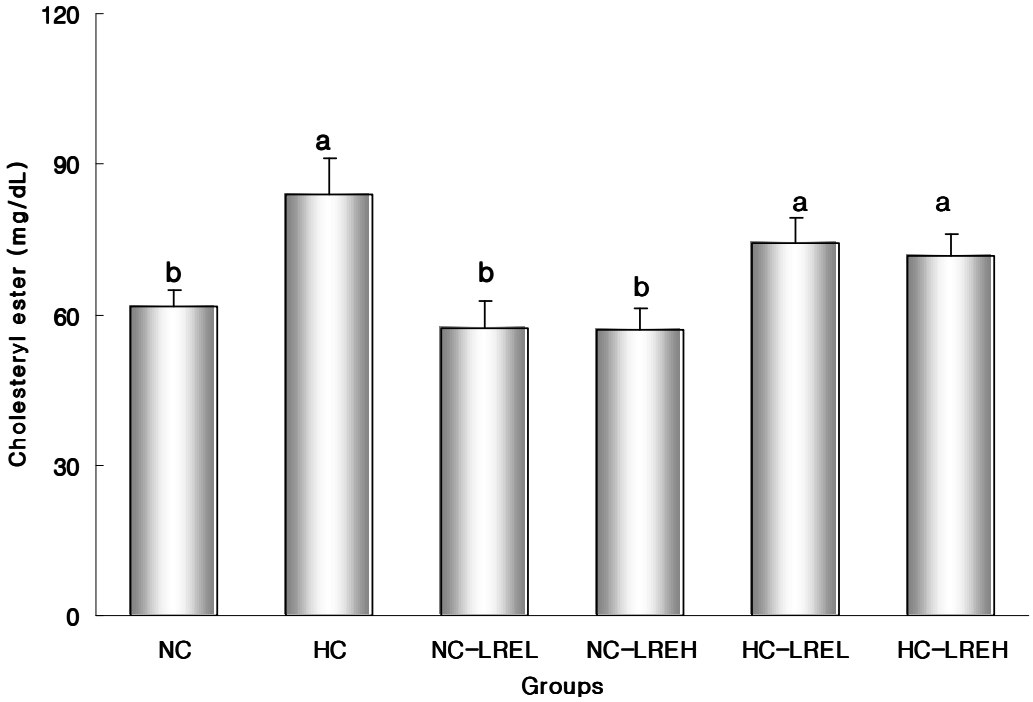

Fig. 21. Concentration of cholesteryl ester in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

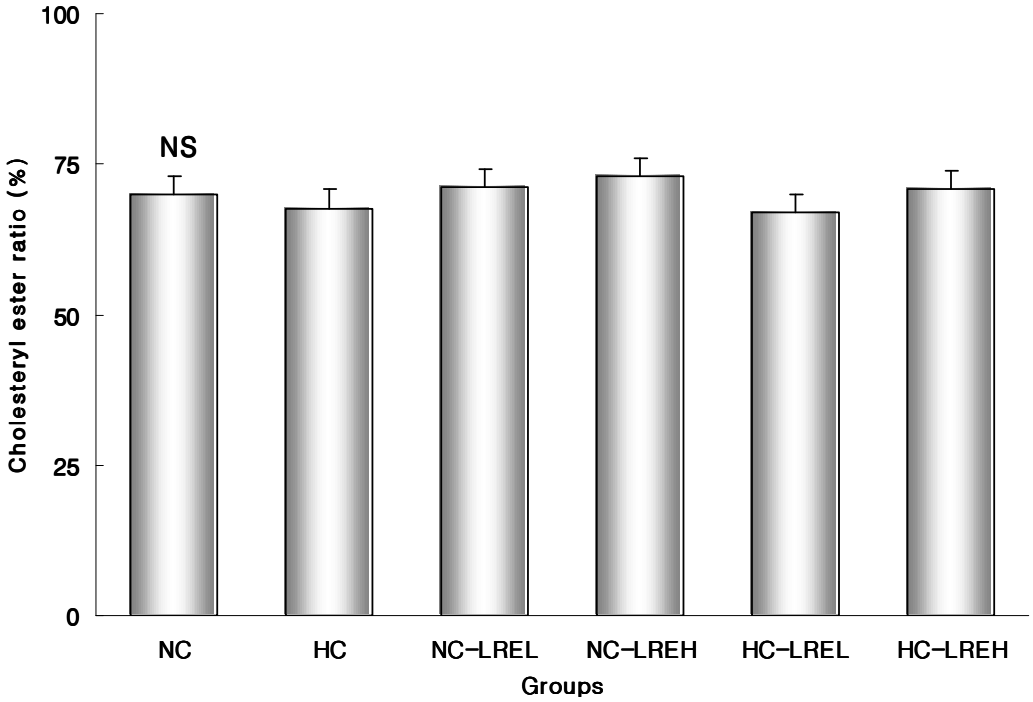

Fig. 22. Ratio of cholesteryl ester in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group. NS: Not Significance.

마. 혈청 중 *LDL*-콜레스테롤 함량, *HDL*-콜레스테롤 함량, 심혈관 위험지수 및 동맥경화지수

흰쥐에게 연근 에탄올 추출물과 고지혈증 유발식이를 6주간 급여 후 혈청 중 LDL-콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 함량, 심혈관 위험지수 및 동맥경화지수에 미치는 영향은 Fig. 23~26과 같다.

Fig. 23에서와 같이 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)이 90.18±7.22 mg/dL로 정상식이군(NC)의 62.49±4.02 mg/dL에 비하여 약 44% 정도 유의하게 증가하였다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 저용량 병합 투여군(HC-LREL)과 고용량 병합 투여군(HC-LREH)은 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량이 77.58±4.19 mg/dL와 70.09±6.12 mg/dL로 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 각각 약 14%와 22% 정도 유의적인 감소효과를 나타내었으며, 연근 에탄올 추출물 투여 용량이 증가할수록 저하되었다. 혈청 중 내인성 콜레스테롤을 주 구성성분으로 하는 LDL-콜레스테롤은 콜레스테롤의 주된 운반형으로 동맥벽이나 말초조직으로 콜레스테롤을 운반하는데 이들 함량이 혈액 내 정상치보다 증가하게 되면 동맥 평활근에 축적되어 동맥경화를 촉진시키는 인자로 보고되어 있다(157). LDL-콜레스테롤 함량 증가는 혈액으로부터 LDL-콜레스테롤 제거 속도의 감소뿐만 아니라 혈액 내 intermediate density lipoprotein(IDL) 함량이 증가함으로써 더 많은 IDL이 LDL로 전환되기 때문이라는 보고가 있다(158).

고콜레스테롤식이로 콜레스테롤의 섭취량이 많아지면 LDL-콜레스테롤이 혈관 내에서 순환되는 시간이 길어지므로 혈관 내피세포에서 산화적 스트레스를 받을 기회가 많아지게 된다. 이때 산화된 LDL은 죽상동맥경화증의 초기 변병인 fatty steak을 일으켜 혈관 내피세포를 손상시키고 혈소판을 응집하게 된다. 그러므로 혈액 중 LDL 함량 변화와 LDL 산화 측정은 죽상동맥경화 유발의 주요 지표가 된다. 따라서 혈액 중 LDL 산화를 예방하는 것이 매우 중요한데 *in*

vitro 연구를 통하여 연근 에탄올 추출물 투여로 혈장 LDL-콜레스테롤 산화가 억제되었음을 확인하였다. 따라서 연근 에탄올 추출물은 *in vivo* 에서는 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량을 저하시키고 *in vitro* 에서는 LDL-콜레스테롤 산화를 억제하였다.

Fig. 24에서와 같이 혈청 중 HDL-콜레스테롤 함량은 정상식이군(NC)의 37.29±3.18 mg/dL에 비하여 고콜레스테롤식이군(HC)이 27.32±2.11 mg/dL로 약 27% 정도 유의하게 감소하였다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군은 혈청 중 HDL-콜레스테롤 함량은 각각 29.50±3.21 mg/dL과 34.43±2.19 mg/dL로 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 용량 의존적으로 증가하였으나 고용량 투여 시에만 약 26% 정도로 유의차가 있었다. 고콜레스테롤식이를 섭취한 동물은 식이 콜레스테롤의 장내 이용률 감소로 인해 이화작용과 배설을 위해 말초조직으로부터 간으로 운반이 촉진되어 혈액 중 총콜레스테롤 함량은 증가하고 HDL-콜레스테롤 함량은 감소하는 것으로 보고되어 있다(159). HDL-콜레스테롤은 말초조직의 콜레스테롤을 간으로 운반하고 간에서 콜레스테롤로부터 담즙산이 합성되어지고 장으로 배설시키기 때문에 HDL-콜레스테롤은 동맥경화 예방효과가 있다(160).

Fig. 25에서와 같이 심혈관 위험지수(cardiac risk factor, CRF)는 고콜레스테롤식이군(HC)이 4.55±0.69로 정상식이(NC)의 2.37±0.848에 비하여 약 52% 정도 유의하게 증가하였다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군은 심혈관 위험지수가 3.76±0.66와 2.94±0.59로 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 각각 약 18%와 35% 정도 유의하게 저하되었으나, 정상식이군(NC, NC-LREL과 NC-LREH)들에 비하여는 증가하였다. 정상식이군(NC, NC-LREL과 NC-LREH)들 간에는 심혈관 위험지수에 유의차가 없었으나 연근 에탄올 추출물 투여 용량이 증가할수록 감소하였다. 심혈관 위험지수는 HDL-콜레스테롤에 대한 총콜레스테롤의 함량비를 대표하는 값으로 동맥경화지수와 더불어 심혈관계 질환에 대한 위험 신호로 사용되고 있으

며, 임상에서는 7.0 이상의 수치를 나타낼 때 위험 신호로 인지된다(161).

Fig. 26에서와 같이 동맥경화지수는 고콜레스테롤식이군(HC)이 3.51±0.29로 동맥경화의 위험성이 매우 높은 상태임을 알 수 있었다. 동맥경화지수가 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합투여군은 2.76±0.27와 1.94±0.06으로 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 각각 약 21%와 45% 정도 유의하게 저하되었다. 따라서 연근 에탄올 추출물 투여 시 동맥경화 위험도를 낮추는 것으로 사료된다. 동맥경화지수는 혈액 중 HDL-콜레스테롤에 대한 중성지방의 함량 비를 대표하는 값으로 미국의 National Institute of Health Consensus Development Conference(NIH)의 기준에 따르면 임상에서 3.0 이상의 값을 나타낼 때 동맥경화에 대한 위험 신호로서 사용하고 있다(162).

이상의 결과 연근 에탄올 추출물 투여로 LDL-콜레스테롤 함량, 심혈관 위험지수 및 동맥경화지수가 감소되었고, HDL-콜레스테롤 함량은 증가되어진 것으로 보아 연근이 동맥경화 예방 및 치료 용도로 사용 가능한 것으로 생각된다.

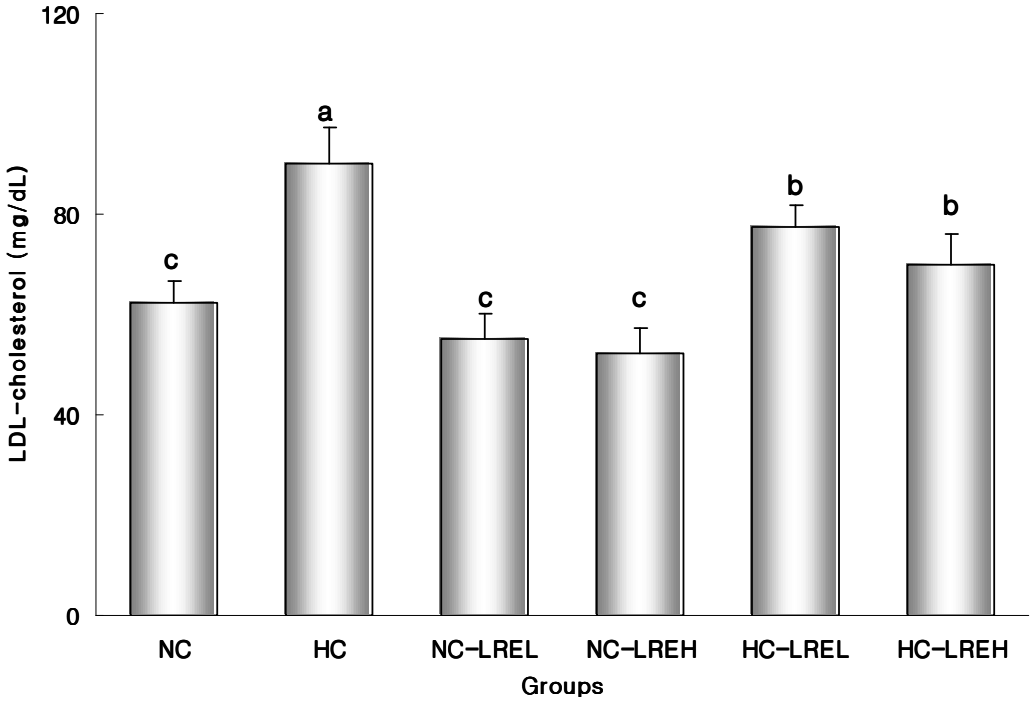

Fig. 23. Concentration of LDL-cholesterol in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: LDL-cholesterol=TC-(HDL-cholesterol+TG/5). See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

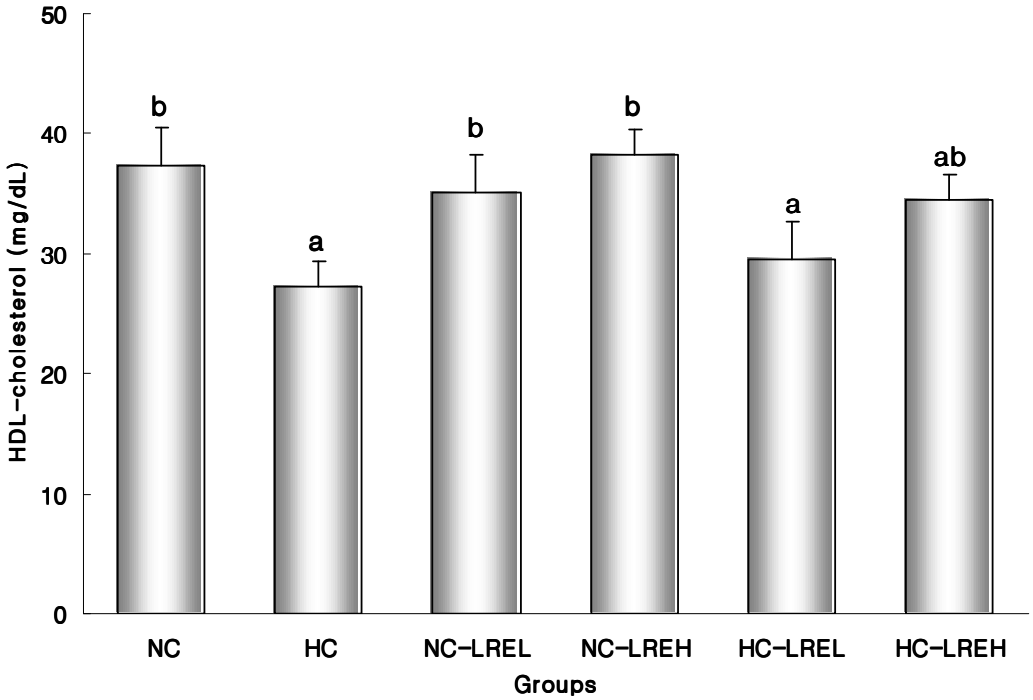

Fig. 24. Concentration of HDL-cholesterol in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

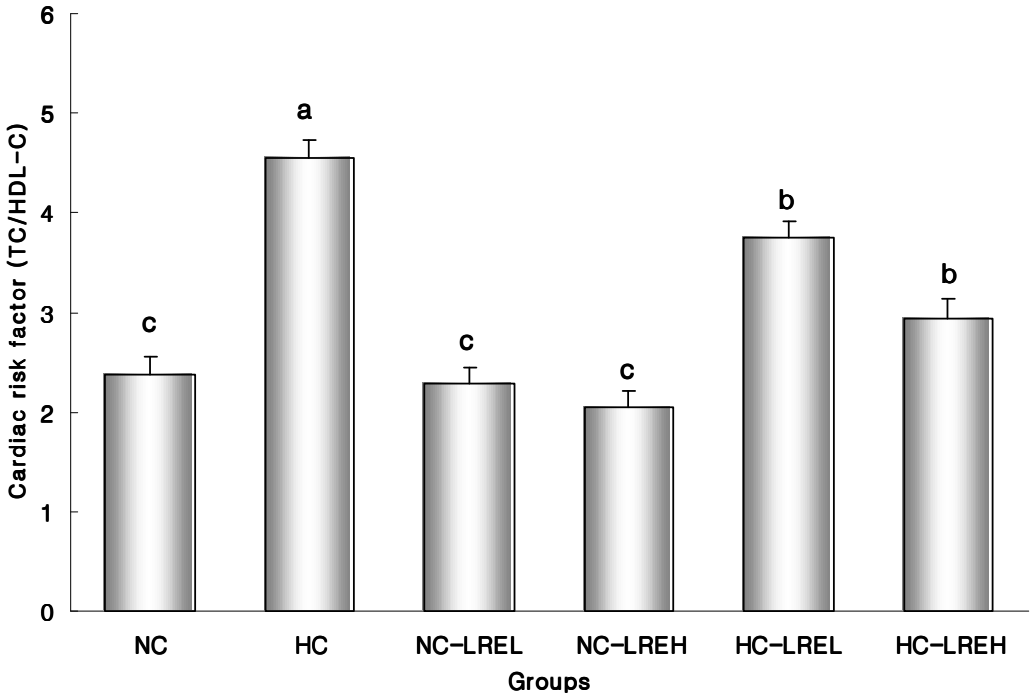

Fig. 25. Ratio of cardiac risk factor in the rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Cardiac risk factor : TC/HDL-C=total cholesterol/HDL-cholesterol. See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

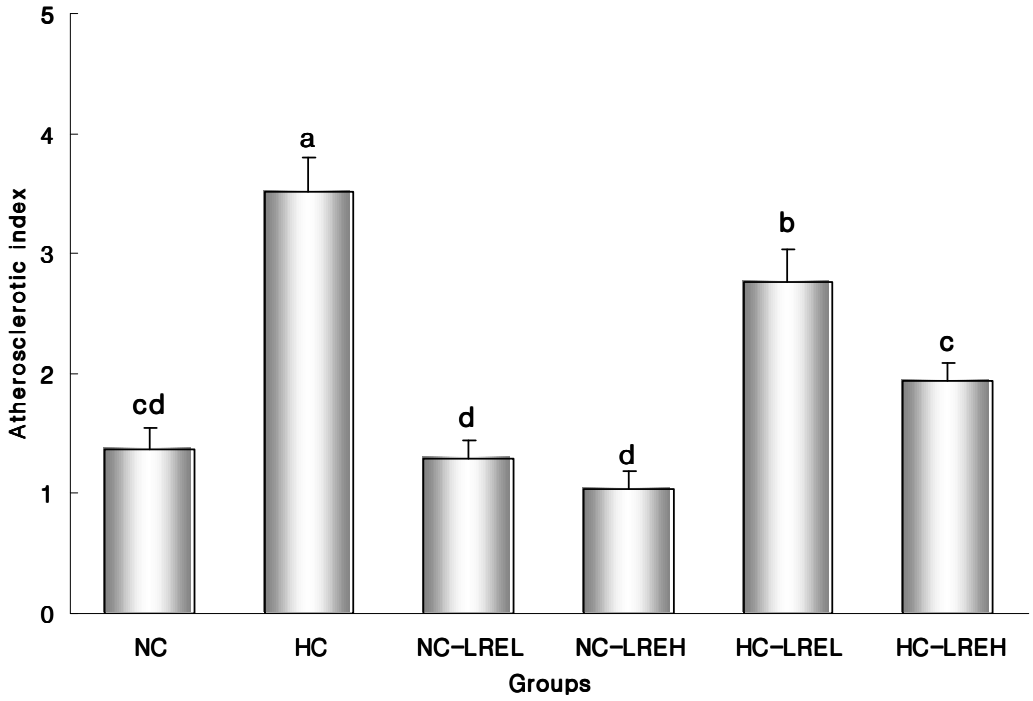

Fig. 26. Atherogenic index of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Atherogenic index = (Total cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol. See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

바. 간조직 중 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지방 함량

고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물의 농도를 달리하여 투여한 흰쥐 간조직 중 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지방 함량은 Fig. 27~29와 같다.

Fig. 27에서와 같이 간조직 중 총지질 함량은 고콜레스테롤식이군(HC) 이 114.19±9.24 mg/g로 정상식이군(NC)의 84.39±5.76 mg/g에 비하여 약 35% 정도 유의하게 증가되었다. 정상식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(NC-LREL)과 고용량(NC-LREH) 단독 투여군은 간조직의 총지질 함량이 각각 81.47±6.25 mg/g와 79.31±7.14 mg/g로 정상식이군(NC)과 비교 시 유의차가 없었으나 저하되었다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군의 간조직 중 총지질 함량은 각각 101.29±10.21 mg/g와 92.43±7.21 mg/g로 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 감소되었다. 이는 연근 에탄올 추출물이 간으로의 지질 축적을 어느 정도 예방할 수 있으며 이로 인한 지방간 유발도 억제할 수 있을 것으로 추측된다.

Fig. 28과 같이 간조직 중 총콜레스테롤의 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)이 정상식이군(NC)에 비하여 유의하게 증가하였으며 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군(HC-LREH)이 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 유의한 감소효과를 보았으나 저용량 병합 투여군(HC-LREL)은 고콜레스테롤식이에 의해 증가된 콜레스테롤 함량을 감소시키지 못했다.

Fig. 29에서와 같이 간조직 중 중성지방 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)의 60.39±5.22 mg/g에 비하여 연근 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(HC-LREL)과 고용량 병합 투여군(HC-LREH)은 각각 56.27±3.29 mg/g와 51.43±2.49 mg/g로 감소되었으며 고용량 투여 시에만 유의하게 저하되었다. 중성지방은 총콜레스테롤 함량에 영향을 받으며 체내 총콜레스테롤 함량을 증가시켰을 때 간에서 지방산의 *de novo* 합성과 함께 중성지방의 합성을 증가시키는 반면 지방산의 β-oxidation은 현저히 감소시켰다는 보고가 있다(163-165). 강 등(64)은 고콜레

스테롤식이를 급여한 흰쥐의 경우 혈장 내 중성지방과 콜레스테롤 함량이 증가하면 간의 중성지방과 콜레스테롤 함량도 증가하는 경향을 보였는데 이는 본 연구 결과와 일치하였다. 연근 에탄올 추출물은 고콜레스테롤식이와 병합 투여시 간조직 중 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지방 함량을 저하시켰다. 따라서 연근 에탄올 추출물은 간조직의 지질대사에 영향을 미쳐, 간조직의 중성지방이나 콜레스테롤 함량을 낮추어 고지혈증이나 허혈성 심장질환 개선에 도움을 줄 것으로 추정한다.

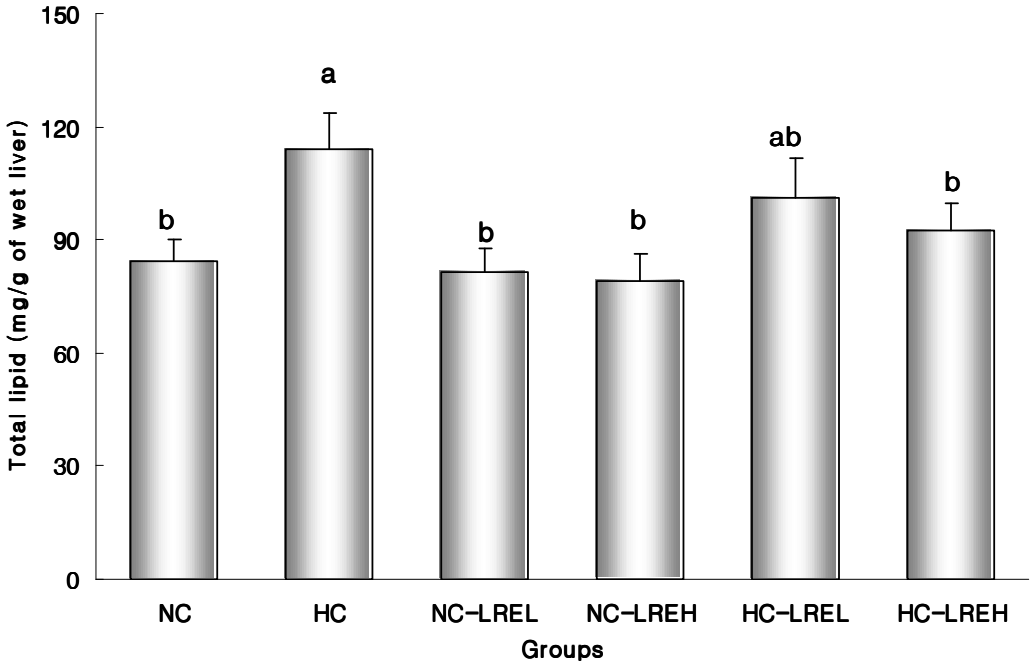

Fig. 27. Concentration of total lipid in the liver of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

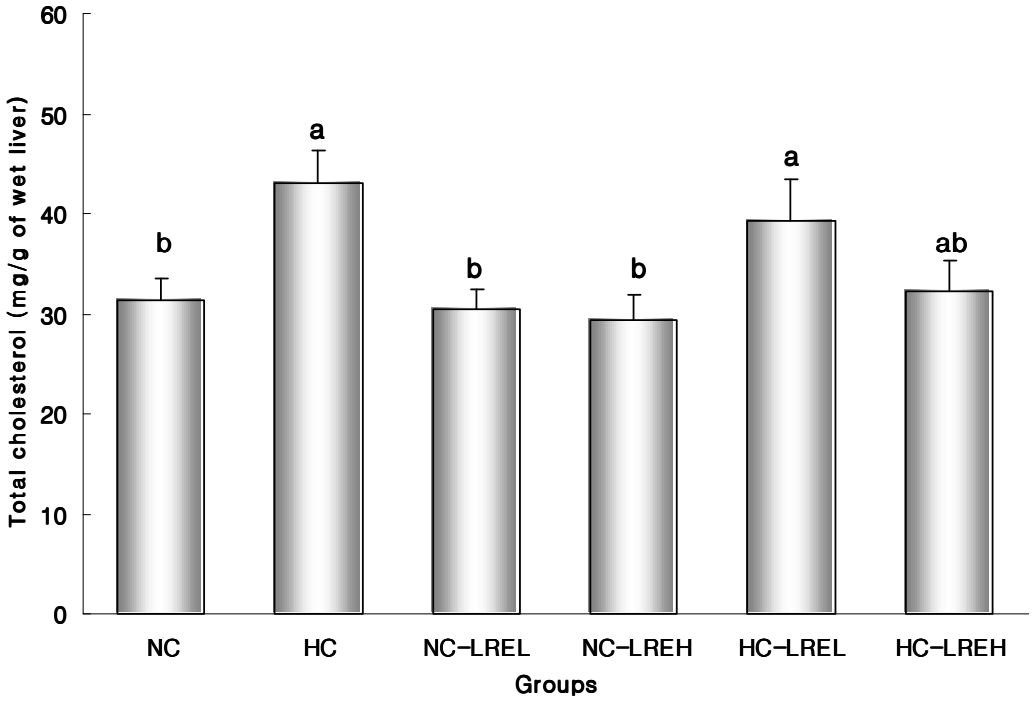

Fig. 28. Concentration of total cholesterol in the liver of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

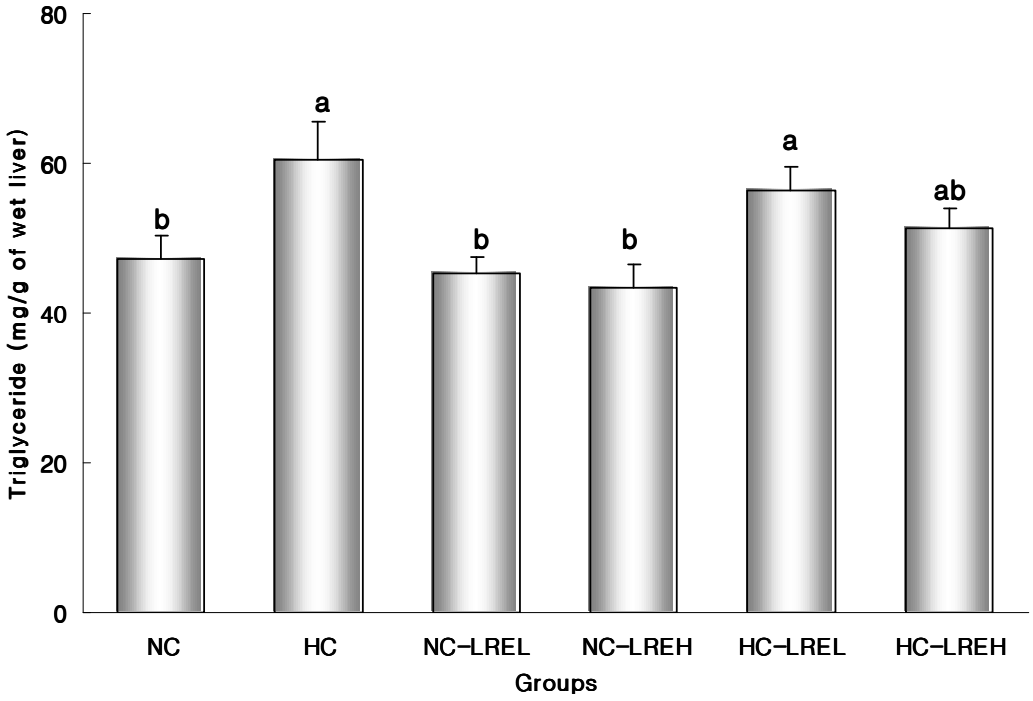

Fig. 29. Concentration of triglyceride in the liver of rats fed high cholesterol diet with lotus root ethanol extract.

Abbreviations: See the legend of Table 4. Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p<0.05$ by Tukey(T)-test.

제3절 단체급식소의 연근 이용실태

1. 조사대상자의 일반적인 사항

가. 조사대상 영양사의 일반적 특징

조사대상 영양사의 일반적 특징은 Table 14와 같다.

조사대상 영양사의 연령 분포를 종합적으로 살펴보면 20대가 25.9%, 30대가 44.5%, 40대는 29.6%로 30대가 가장 많았다. 이는 1989년 전국 영양사를 대상으로 한 조사 결과(166)인 25세 이하의 영양사가 66%, 26-30세는 28%로 대부분이 30세 미만이었던 것과 대조적인 경향을 나타냈다. 이러한 결과는 여성의 사회참여와 결혼 연령이 높아짐에 따라 영양사들의 연령 또한 과거에 비하여 현저하게 높게 나타냈다.

영양사들의 연령 분포를 자세히 알아보기 위하여 단체급식소의 형태별로 본 결과 학교급식 영양사는 20대가 9.2%, 30대가 51.9%, 40대는 36.1%였고, 산업체급식 영양사의 연령은 20대가 43.1%, 30대가 36.1%, 40대는 20.8%였으며, 병원급식 영양사의 연령은 20대가 48.8%, 30대는 35.6%, 40대가 15.6%로 단체급식의 형태에 따라 연령의 분포가 유의적인 차이를 나타냈다. 이와 같이 학교급식 영양사는 30대가 가장 많은 이유가 1990년대 중반 학교급식의 확대와 함께 정부에서 많은 영양사들을 채용하였던 정책과 관련이 있는 것으로 생각되며, 20대의 비율이 낮은 이유는 1990년대 중반 이후 최근까지 학교급식 영양사의 채용율이 낮은 것과 관련이 깊은 것으로 사료된다. 특히 산업체나 병원급식 영양사보다 연령대가 높은 이유는 결혼 후에도 계속 근무하는 것이 용이하므로 연령대가 높은 것으로 생각된다. 병원급식 영양사의 20대 비율이 높은 이유는 최근 임상영양사의 중요성이 부각되면서 병원들의 영양사 채용이 늘어난 것과

관련이 있을 것으로 생각된다. 또한 산업체급식이나 병원급식 영양사들의 30-40대 비율이 낮은 이유는 영양사의 위탁급식의 비율이 높은 급식형태나 근무 여건에 따라 이직율이 높은 것과 동시에 아직도 여성의 경우 결혼과 동시에 퇴사를 하는 관행들이 남아 있는 것과 관련이 높은 것으로 생각된다.

조사대상 영양사의 교육정도는 전문대학 졸업자가 29.8%, 대학 졸업자는 49.6%, 대학원 학위 수여자는 20.6%였다. 이를 단체급식소 형태별로 살펴보면 학교급식 영양사의 학력은 전문대 졸업자가 23.7%, 대학 졸업자는 55.0%, 대학원 학위 수여자는 21.4%, 산업체급식 영양사의 학력은 전문대학 졸업자가 38.9%, 대졸 졸업자는 41.7%, 대학원 학위 수여자는 19.4%, 병원급식 영양사의 학력은 전문대학 졸업자가 33.3%, 대졸 졸업자는 46.7%, 대학원 학위 수여자는 20.0%로 나타났다. 산업체의 영양사 학력이 전문대 졸업자가 가장 많았는데 이는 산업체가 인건비 절감 등의 경제적 이유로 대학 졸업자 보다 선호하는 분위기가 전문대 출신 영양사의 비율이 높은 이유라 사료되며, 병원 영양사는 비교적 전문지식이 요구되고 단순한 식사제공 만이 아니라 환자 대상의 영양교육과 식사요법을 실시하여야 하기 때문에 대졸 이상의 학력자를 채용하기 때문으로 보인다. 학교급식의 경우도 교육청의 선발에 의해 채용되기 때문에 학력이 높은 영양사들이 공개경쟁에서 채용되기 때문인 것으로 보인다. 이와 같이 급식소의 형태에 따라 영양사의 교육정도도 유의적인 차이를 나타냈다.

영양사의 경력은 평균 5.6년 이었으며, 1년 이상~4년 미만은 32.7%, 5년 이상~9년 미만은 29.8%, 10년 이상은 37.5%로 나타났다. 급식소별로 살펴보면 학교급식소 영양사의 근무연한은 1년 이상~4년 미만은 20.6%, 5년 이상~9년 미만은 29.8%, 10년 이상은 49.6%, 산업체급식소는 1년 이상~4년 미만은 56.9%, 5년 이상~9년 미만은 33.3%, 10년 이상은 6.9%, 병원급식소는 1년 이상~4년 미만은 75.4%, 5년 이상~9년 미만은 18.5%, 10년 이상은 22.2%로 나타나 급식소의 유형에 따른 유의차가 나타났으며, 특히 산업체급식소나 병원급식소의 경우 영양사의 근무 연한이 학교급식소에 비하여 짧았는데 이는 앞에서 언급한 영양사의 연령 분포와도 관련이 깊다.

Table 14. General characteristics of the subjects

N(%)

Variables		*Type of food service*			*Total*	χ^2
		School	*Industry*	*Hospital*		
Age(years)	21-29	12(9.2)	31(43.1)	22(48.8)	64(25.9)	87.8***
	30-39	68(51.9)	26(36.1)	16(35.6)	110(44.5)	
	≥40	51(38.9)	15(20.8)	7(15.6)	84(29.6)	
Education level	College	31(23.7)	28(38.9)	15(33.3)	74(29.8)	45.3***
	University	72(55.0)	30(41.7)	21(46.7)	123(49.6)	
	Graduate school	28(21.4)	14(19.4)	9(20.0)	51(20.6)	
Employment period	1-4	27(20.6)	41(56.9)	13(28.9)	81(32.7)	25.6[1)NS]
	5-9	39(29.8)	24(33.3)	11(24.4)	74(29.8)	
	≥10	65(49.6)	7(9.7)	21(46.7)	93(37.5)	

[1)] NS: Not significant. ***<0.001.

나. 조사급식소의 급식유형별 운영 현황

조사대상 단체급식소 유형별 급식운영에 관한 사항을 조사한 결과는 Table 15와 같다. 모든 조사 항목 간에 유의차가 있었다($p<0.01$).

단체급식소의 급식운영 형태는 직영이 75.4%, 위탁이 18.5%, 직영과 위탁 겸용이 6.6%로 조사되었는데 대부분의 급식소는 직영으로 운영되고 있는 것으로 나타났다. 급식소 유형별로 급식운영 형태를 살펴보면 학교급식은 직영이 93.9%, 위탁이 6.1%였으며, 산업체급식은 직영이 56.9%, 위탁이 36.2%, 직영과 위탁 겸용이 6.9%, 병원급식은 직영이 51.1%, 위탁이 36.7%, 직영과 위탁 겸용이 6.6%로 나타났다.

급식규모는 1,000~1,500식 미만이 37.5%로 가장 높은 분포를 나타냈고, 그 다음이 500식 미만으로 33.1%, 500식~1,000식이 28.2%, 1,500식~2,000식 규모는 0.8%이며 2,000식 이상은 0.4%로 나타났다. 급식소 유형별로 살펴보면 학교급식소의 급식규모는 500식 미만이 14.5%, 500식~1,000식 미만이 26.7%, 1,000~1,500식 미만이 58.8%였으며 1,500식 이상의 급식규모 학교는 없었다. 산업체급식소의 급식인원은 500식 미만이 72.2%, 500식~1,000식 미만이 19.4%, 1,000~1,500식 미만이 8.4%였으며, 병원급식소는 500식 미만이 24.5%, 500식~1,000식 미만이 46.7%, 1,000~1,500식 미만이 22.2%, 기타 1.2%로 나타났다. 산업체급식소가 다른 급식소에 비하여 급식인원이 유의적으로 적었다.

식단가를 급식소 전체로는 1,000원 미만은 1.2%, 1,000~1,500원 미만은 15.4%, 1,500~2,000원 미만은 28.6%, 2,000원 이상은 54.8%였다. 학교급식소의 식단가는 1,500원 미만이 없었으며, 1,500~2,000원 미만은 38.7%, 2,000원 이상은 60.3%, 산업체급식소도 1,000원 미만은 없었으며, 1,000~1,500원 미만은 30.6%, 1,500~2,000원 미만은 16.7%, 2,000원 이상은 52.7%, 병원급식소는 1,000원 미만이 6.7%, 1,000~1,500원 미만은 35.6%, 1,500~2,000원 미만은 15.6%와 2,000원 이상은 42.2%로 나타났다.

순수 조리에 참여하는 조리종사자수는 급식소 전체로는 5~7명이 33.9%로 가장 높은 분포를 나타냈고, 10명 이상은 30.2%, 8~9명은 22.6%, 4명 미만은 13.3%로 나타났다. 급식소 유형별로 학교급식소 조리종사자수는 4명 미만이 13.7%, 5~7명은 32.1%, 8~9명은 21.4%, 10명 이상은 32.8%였으며, 산업체급식소는 4명 미만이 16.7%, 5~7명은 50.0%, 8~9명은 23.6%, 10명 이상은 9.7%, 병원급식은 4명 미만이 6.7%, 5~7명은 13.3%, 8~9명은 24.4%, 10명 이상은 55.6%로 나타냈다.

Table 15. General characteristics of food service

N(%)

Variables		*Type of food service*			*Total*	χ^2
		School	*Industry*	*Hospital*		
Operation of food service	Direct	123(93.9)	41(56.9)	23(51.1)	187(75.4)	35.5***
	Consignment	8(6.1)	26(36.2)	12(26.7)	46(18.5)	
	Direct+consignment	0(0.0)	5(6.9)	10(22.2)	15(6.6)	
Number of meal size	< 500	19(14.5)	52(72.2)	11(24.5)	82(33.1)	189.7***
	500-999	35(26.7)	14(19.4)	21(46.7)	70(28.2)	
	1,000-1499	77(58.0)	6(8.4)	10(22.2)	93(37.5)	
	1,500-2,000	0(0.0)	0(0.0)	2(4.4)	2(0.8)	
	Others	0(0.0)	0(0.0)	1(2.2)	1(0.4)	
Cost per meal (won)	< 1,000	0(0.0)	0(0.0)	3(6.7)	3(1.2)	57.3***
	1,000-1,490	0(0.0)	22(30.6)	16(35.6)	38(15.4)	
	1,500-1,990	52(39.7)	12(16.7)	7(15.6)	71(28.6)	
	≥ 2,000	79(60.3)	38(52.7)	19(42.2)	136(54.8)	
Number of employee for cooking	1-4	18(13.7)	12(16.7)	3(6.7)	33(13.3)	43.1**
	5-7	42(32.1)	36(50.0)	6(13.3)	84(33.9)	
	8-9	28(21.4)	17(23.6)	11(24.4)	56(22.6)	
	≥10	43(32.8)	7(9.7)	25(55.6)	75(30.2)	

***<0.001, **<0.01.

2. 연근의 이용실태

가. 연근 사용빈도

단체급식소에서의 연근의 이용실태를 조사한 결과는 Table 16과 같다.

연근은 한시적으로 생산되고 식재료의 단가가 고가이며 조리 방법도 다양하지 못하기 때문에 단체급식소에서 이용실태가 적은 식재료로 알려져 있다. 그러나 최근 연근이 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있다는 보고(6,13,20)와 영양학적 중요성이 강조되면서 소비자들의 선호도가 증가하고 있다.

연근의 이용실태는 급식소 전체로는 영양사 중 연근을 사용하지 않는다가 2.0%로 매우 적었으나, 년 중 10회 미만이 60.1%로 연근 사용빈도가 가장 많아 급식소에서 연근을 사용하는 비율은 매우 낮았으며, 1달에 1회는 20.6%, 1달에 2~3회는 10.9%, 1주일에 1회는 5.2%, 1주일에 2~3회는 1.2%였다.

급식소 유형별로는 학교급식소에 근무하는 영양사가 년 중 10회 미만이 71.0%, 1달에 1회는 22.9%, 1달에 2~3회는 2.3%로 나타났으며 1주일 마다 사용하는 곳은 없어 학교급식소에서의 연근 사용 비율이 낮다는 것을 알 수 있었다. 그러나 산업체급식소는 년 중 10회 미만이 62.5%, 1달에 1회는 25.0%, 1달에 2~3회는 6.9%, 1주일에 1회는 5.6%였으며, 병원급식소는 년 중 10회 미만이 24.3%, 1달에 1회는 6.7%, 1달에 2~3회는 42.2%, 1주일에 1회는 20.1%, 1주일에 2~3회도 6.7%로 조사되어 급식소 유형에 따라 연근 사용빈도가 유의하게 다르다는 것을 알 수 있었다. 병원급식의 경우 병인식를 제공하는 특수성과 연근이 건강기능성식품으로 알려져 있어 사용빈도가 높은 것으로 사료된다.

병인식이 가정이나 다른 급식소에서 제공하는 식사와 크게 다른 점은 환자 개개인의 질병치료를 목적으로 의사의 처방에 의해 영양사가 제시한 식단을 기초로 식사가 제공된다는 점이다. 최근 의학과 영양학의 발달로 병원급식의 내용이 다양화되고 있으며 복합질환 환자의 수가 증가되어 고도의 전문성이 요구되

고 있다. 병인식 관리는 질병치료 방침의 정확한 실현과 함께 환자의 기호도를 반영시켜야 하는 양면성을 지니고 있다. 따라서 연근을 병인식으로 사용할 때 나트륨 섭취를 줄이기 위하여 생연근을 갈아서 전이나 만두 소, 연근 두부찜 등의 요리 방법으로 활용하는 것이 좋으며, 과일 또는 발효유를 혼합한 연근쥬스나 연근즙 등은 연근의 아린 맛을 없애주면서 연근의 섭취를 쉽게 하여 기호도를 높이는 방법으로 권장하고 있다.

연근은 예로부터 병인식으로 사용 시 삶아 익혀서 사용할 경우 소화기능을 좋게 하고 설사를 멈추며, 위궤양, 십이지장궤양, 빈혈 등의 치료에도 효과가 있다고 하였다(17). 최근 연자주는 연근의 생리활성이 변화되지 않고 용출되어지므로 1일 알코올 섭취를 30 mL 이하로 마실 경우 HDL-콜레스테롤 함량을 증가시킨다는 보고(167)가 있어, 고지혈증이 있는 사람에게 효과가 있을 것으로 생각된다. 또한 본 연구에서도 연근 에탄올 추출물이 흰쥐의 항산화효과 및 고지혈증 예방효과가 있는 것으로 조사되었는데, 연근을 병인식으로 제공할 경우 효과가 나타날 것으로 사료되나 추후 임상실험을 통하여 그 효능의 검증이 필요하다. 즉 우리 식생활에서 중요한 위치를 차지하고 있는 연근과 같은 한국전통음식은 과학적 타당성에 뿌리를 두고 발전시켜 단체급식 특히 병원급식에서 적극적으로 활용하여 국민 건강과 식생활에 이바지할 수 있도록 하는데 목적이 있다.

Table 16. Intake frequency of lotus root by the type of food service

N(%)

Intake frequency	*Type of food service*			*Total*	χ^2
	School	*Industry*	*Hospital*		
2-3 times/week	0(0.0)	0(0.0)	3(6.7)	3(1.2)	
1 time/week	0(0.0)	4(5.6)	9(20.1)	13(5.2)	
2-3 times/month	3(2.3)	5(6.9)	19(42.2)	27(10.9)	114.6***
1 time/month	30(22.9)	18(25.0)	3(6.7)	51(20.6)	
< 10 times/year	93(71.0)	45(62.5)	11(24.3)	149(60.1)	
Few or never	5(3.9)	0(0.0)	0(0.0)	5(2.0)	

***<0.001

나. 연근 구입할 때 상태

단체급식소에서 연근 구입할 때의 상태를 조사한 결과는 Table 17에 제시하였다.

단체급식산업은 노동집약적인 사업으로 전처리, 조리, 배식, 세척 등의 전 단계뿐만 아니라 점심시간의 피크타임 때 작업인원이 집중적으로 필요하다. 또한 손질이 많이 가는 식재료의 경우 전처리 시 작업시간과 작업인원이 많이 요구된다. 또한 음식물 쓰레기 발생문제는 모든 급식소에서 해결하고자 하는 큰 과제 중에 하나이다. 음식의 전체 생산과정에서 쓰레기 발생이 가장 많은 단계는 다듬는 과정이 65.6%이고 음식물 쓰레기를 가장 많이 배출하는 식품류는 채소류가 76.6%인 것으로 보고되었다(168). 단체급식소에서에서 반가공 처리된 채소를 구입하면 쓰레기 발생 감량뿐만 아니라 채소 전처리 시 소요되는 노동력과 시간을 절약할 수 있다. 따라서 단체급식소에서 채소 구매 시 전처리 상태로 구매하는 경우가 점차 늘어나는 추세이다.

급식소 전체로 살펴보면 연근 구입할 때 상태는 박피하여 세절된 상태로 구입하는 경우가 64.1%로 가장 높은 분포를 보였고, 가공하지 않는 상태로의 구입은 24.2%, 박피상태로 구입은 11.7% 순으로 응답하였다. 이 등(100)의 연구에서 초등학교 영양사의 86.3%가 전처리 식재료의 사용이 필요하며, 전처리 상태의 식재료 구입이 가장 많았다고 보고하였는데, 본 연구에서도 연근 구입할 때 모든 단체급식소에서 전처리 상태에서의 구입이 가장 많이 나타났다.

급식소 유형에 따른 연근 구매할 때의 상태를 살펴 본 결과 학교급식소는 박피하여 세절된 상태로의 구입은 53.4%, 박피 상태 만으로의 구입은 15.3%, 가공하지 않은 상태로 구입은 31.3%였으며, 산업체급식소는 박피하여 세절된 상태로의 구입은 69.4%, 박피 상태 만으로의 구입은 7.0%, 가공하지 않은 상태로 구입은 23.6%, 병원급식소는 박피하여 세절된 상태로의 구입은 86.7%, 박피 상태 만으로의 구입은 8.9%, 가공하지 않은 상태로 구입은 24.2%로 나타났다.

Table 17. Purchasing state of lotus root by the type of food service

N(%)

Variables	*Type of food service*			*Total*	χ^2
	School	*Industry*	*Hospital*		
Peeled and Sliced	70(53.4)	50(69.4)	39(86.7)	159(64.1)	
Peeled	20(15.3)	5(7.0)	4(8.9)	29(11.7)	46.3^{***}
Raw	41(31.3)	17(23.6)	2(4.4)	60(24.2)	

$^{***}<0.001$

다. 연근 *1*회 사용 분량

본 연구에서는 연근 조리 시 급식소 유형에 따라 사용량이 다를 것이라는 가정 하에 50g 이하부터 90g 까지 10g 단위로 증가하여 조리 시 연근 1회 사용 분량에 대하여 조사한 결과는 Table 18과 같다.

개인의 식사량은 연령, 노동 등의 조건, 건강상태, 수면량, 기후, 기호도, 음식 보관상태 등에 따라서 다르기 때문에 한 끼 식사량을 예측하여 과부족 없이 준비하는 것은 다양한 사람들이 모인 단체급식소에서는 여간 어려운 일이 아니다(169). 특히 음식 1인 분량의 조절은 식재료비와 잔반량 조절에 중요하게 영향을 미친다.

단체급식소 전체로 살펴보면 연근 1회 사용량은 50 g 이하가 56.9%로 가장 많은 분포를 차지하였으며, 50~60 g이 17.7%, 60~70 g은 10.1%, 그리고 70~80 g이 8.5%, 80~90 g이 4.8%, 90 g 이상은 2.0% 순으로 응답하여 유의하게 차이를 나타냈다.

단체급식소 유형별로는 학교급식소는 50 g 이하가 68.7%, 50~60 g은 16.0%, 60~70 g이 6.9%, 70~80 g가 6.9%, 그리고 80~90 g이 1.5%, 90g 이상은 사용하지 않는 것으로 나타났고, 산업체급식소는 50 g 이하가 47.2%, 50~60 g은 15.3%, 60~70 g은 18.1%, 70~80 g이 6.9%, 80~90 g가 8.3%, 90g 이상은 4.2%였으며, 병원급식소는 50 g 이하가 37.8%, 50~60 g은 26.7%, 60~70 g은 6.7%, 70~80 g이 15.6%, 80~90 g가 8.9%, 90g 이상은 2.0%로 조사되었다. 급식소 유형에 따라 연근 조리 시 1회 사용량이 다르게 나타났으며, 특히 학교급식소에서 1회 사용량이 가장 적었다. 이는 학교급식소의 경우 초등학교급식소를 대상으로 조사하였기에 급식 연령이 낮아 상대적으로 연근 조리 시 1회 분량이 산업체와 병원급식소 보다 낮게 책정한 것으로 생각된다.

연근 1인 1회 사용 분량은 단체급식소의 표준레시피 조리법에 의거하여 50 g을 전후해서 대부분의 급식소에서 사용하였는데 병원급식소에서 가장 많은 분

량을 사용하였다.

조사 결과와 본 논문에서 실행한 연근 에탄올 추출물의 항산화효과와 고지혈증 예방효과를 연결지어 1일 1회 연근의 적정 사용분량을 추론해 보면, 본 연구 결과 중등도의 효능을 나타낼 수 있는 급여량이 연근 에탄올 추출물 200 mg/kg이므로 이를 성인 60 kg을 기준으로 이에 해당하는 양으로 환산하면 120 g 정도이다. 따라서 연근이 건강식품으로서 최소한의 효능을 나타내기 위해서는 특히, 병인식의 경우 1일 120 g 이상을 섭취해야 건강기능식품으로써의 효능을 나타낼 수 있을 것으로 예상된다.

Table 18. Serving size of lotus root by the type of food service

N(%)

Serving size (g/pearson/day)	*Type of food service*			*Total*	χ^2
	School	*Industry*	*Hospital*		
〈 50	90(68.7)	34(47.2)	17(37.8)	141(56.9)	83.6***
50～60	21(16.0)	11(15.3)	12(26.7)	44(17.7)	
60～70	9(6.9)	13(18.1)	3(6.7)	25(10.1)	
70～80	9(6.9)	5(6.9)	7(15.6)	21(8.5)	
80～90	2(1.5)	6(8.3)	4(8.9)	12(4.8)	
≥90 g	0(0.0)	3(4.2)	2(4.4)	5(2.0)	

***<0.001

라. 연근 조리법의 이용실태

단체급식소에 주로 사용하는 연근 조리법을 조사한 결과는 Table 19와 같다. 과거부터 우리나라는 연근을 생채로 먹거나 아삭아삭한 촉감이 있어 정과나 조림 등으로 식용되어 왔다.

연근 조리법을 급식소 전체로는 조림이 56.5%로 가장 많았고, 전 20.6%, 튀김 19.0% 기타 4.0% 순으로 응답하였다. 기타 연근 조리법으로는 강정과 볶음 요리가 제공된다고 응답하였다. 단체급식소 유형별로 살펴보면 학교급식소의 연근 조리법은 조림 형태가 52.7%, 전은 20.6%, 튀김은 20.6%, 기타 6.1%로 나타났고, 산업체급식소는 조림이 58.3%, 전은 25.0%, 튀김은 16.7%였으며, 병원급식소는 조림이 64.5%, 전은 20.6%, 튀김은 19.0%, 기타 4.0%로 나타났다. 학교급식은 초등학생들의 기호도를 고려하여 연근 튀김은 세절된 것을 사용하는 경우가 대부분이었으며, 날 것을 갈아서 전의 재료로 이용하는 경우도 있는 것으로 조사되었다.

단체급식소에서는 극히 제한적인 연근 조리법만을 사용하고 있었다. 단체급식의 목적이 아무리 훌륭해도 실제 급식에서 피급식자들이 식품을 섭취하지 않으면 권장섭취기준을 취할 수 없는 문제점이 있다. 그래서 이러한 문제의 해결책으로 식단이나 식품의 다양화, 싫어하는 식품이라도 기호에 맞는 조리법을 선택하는 등(170) 제공되는 식품을 모두 섭취할 수 있도록 단체급식 관리자는 끊임없이 노력하여야 한다.

현재까지 알려지고 개발되어진 연근 조리법에는 연근죽, 연근밥, 연근김치, 연근정과, 연근찜, 연근전, 연근빈대떡, 연근 흰콩야채 조림, 연근 연두부 조림, 연근튀김, 연근 볶음, 연근 프렌치드레싱 샐러드, 연향차, 연근딸기 쥬스, 배시럽 연근즙, 연자주 등이 있으며, 가공식품으로는 연근된장, 간장, 청국장, 백련근 추출물을 이용한 고형제재, 청국장의 환 등 제품 개발을 위한 다양한 연구가 수행되었다(17,171). 또한 연근 섭취를 늘리는 방법으로는 연근 분말이용으로

연근죽, 식빵 반죽에 활용하여 주식으로 활용하는 방법, 과자나 비스켓 등을 제조할 때 첨가하여 간식의 재료로 활용하여 찬으로 사용하는 것 이외에도 연근의 이용도를 높일 수 있는 여러 방법 등이 연구되어지고 있다(30,171).

Table 19. Cooking method of lotus root by the type of food service

N(%)

Cooking method	*Type of food service*			*Total*	χ^2
	School	*Industry*	*Hospital*		
Jorim	69(52.7)	42(58.3)	29(64.5)	140(56.5)	4.28[1)NS]
Jeon	27(20.6)	18(25.0)	6(13.3)	51(20.6)	
Fry	27(20.6)	12(16.7)	8(17.8)	47(19.0)	
Others	8(6.1)	0(0.0)	2(4.4)	10(4.0)	

[1)] NS: Not significant

마. 연근 사용에 대한 영양사의 인식조사

영양사들이 연근 조리를 급식 식단에 이용하는 이유와 이용하지 않는 이유에 대한 인식조사 결과는 Table 20, 21과 같다.

연근을 식단에 이용하는 이유는 연근이 건강식품이기 때문이라는 응답이 가장 많아 48.4%였으며, 특색 있는 식품재료이기 때문이 40.7%, 연근이 전남지역에서 많이 생산된다는 특수성으로 지역사회의 자원 활용 차원에서는 9.3%, 연근의 기호도 때문이라는 응답은 1.6%로 매우 낮았다(Table 20). 급식소 유형별로는 학교급식소의 영양사가 연근을 식단에 이용하는 이유는 건강식품이여서가 54.2%, 특색 있는 음식 재료여서가 45.0%, 지역사회 자원 활용 측면에서가 0.8%로 나타났으며, 학생들이 연근의 기호도 때문에 이용한다는 응답자는 없었다. 산업체급식소는 건강식품이여서가 43.0%, 특색 있는 음식 재료여서 40.3%, 지역사회 자원 활용 측면에서가 16.7%였으며, 병원급식은 건강식품이여서가 40.0%, 특색 있는 음식 재료여서 28.9%, 지역사회 자원 활용 측면에서가 22.2%, 기호도 때문이 8.9%이었다.

연근을 식단에 이용하지 않는 이유는 연근조리에 기호도가 낮기 때문이라는 응답이 75.0%로 가장 높았으며, 그 다음으로 연근재료 구입비가 비싸다는 이유가 14.5%였으며, 조리가 단순하기 때문이라고 응답한 경우는 10.5%로 유의하게 차이가 나타났다(Table 21). 급식소 유형별로 살펴보면 학교급식소는 연근의 기호도가 낮기 때문이 85.5%, 조리가 단순하기 때문이 7.6%, 연근재료 구입비가 비싸기 때문은 6.9%였으며, 산업체급식소는 연근의 기호도가 낮기 때문이 68.1%, 조리가 단순하기 때문은 8.3%, 연근재료 구입비가 고가이기 때문이 23.6%였고, 병원급식소는 연근의 기호도가 낮기 때문이 55.6%, 조리가 단순하기 때문은 22.2%, 연근재료 구입비가 고가이기 때문이 22.2%로 조사되었다. 영양사들이 피급식자들의 기호를 반영하여 식단을 계획한다 하더라도 모든 피급식자의 기호를 충족시키기에는 어렵게 인식되었다(172). 그러므로 피급식자의

기호를 반영한 연근의 다양한 조리기술의 개발이 중요하다. 또한 기호도가 낮으면서 건강지향적인 식재료들의 개발과 대량 생산 및 체계적인 보급방안에 대한 지속적인 연구를 통하여 국내 단체급식소가 가지고 있는 운영상의 많은 어려운 문제점이 개선되어 져야 할 것이다.

Table 20. Using reason of lotus root by dietitian

N(%)

	Type of food service			*Total*	χ^2
	School	*Industry*	*Hospital*		
Health food	71(54.2)	31(43.0)	18(40.0)	120(48.4)	33.0***
Preference of lotus root	0(0.0)	0(0.0)	4(8.9)	4(1.6)	
Characteristic material	59(45.0)	29(40.3)	13(28.9)	101(40.7)	
Local special product	1(0.8)	12(16.7)	10(22.2)	23(9.3)	

***<0.001

Table 21. Non-using reason of lotus root by dietitian

N(%)

	Type of food service			*Total*	χ^2
	School	*Industry*	*Hospital*		
Lower preference	112(85.5)	49(68.1)	25(55.6)	186(75.0)	20.5***
Simple cooking method	10(7.6)	6(8.3)	10(22.2)	26(10.5)	
High price	9(6.9)	17(23.6)	10(22.2)	36(14.5)	

***<0.001

바. 연근 조리의 잔반비율

기호도가 낮은 것으로 알려진 연근 조리의 잔반비율은 1회 제공된 배식량을 기준으로 남은 잔반식을 가지고 산출하였는데 그 결과는 Table 22와 같다.

연근의 1회 제공되는 배식량을 기준으로 연근 잔반비율이 10～20%는 38.7%로 가장 많았으며, 20～30%가 16.9%, 10% 미만이 16.2%, 30～40%가 14.9%, 40% 이상은 13.5%로 연근요리의 잔반비율이 매우 높은 것으로 나타났다.

단체급식소에서는 피급식자들의 요구와 기호에 맞는 식단이 제공되어야 한다. 이를 충복시키지 못할 경우에 잔반발생량이 증가될 수 있기 때문이다. 단체급식소에서 잔반이 과다하게 발생하는 것은 식사에 대한 피급식자들의 낮은 기호도와 관련 있는 것으로 보고되었다(173).

급식소 유형별로 연근요리의 잔반비율은 학교급식소는 10% 이하가 6.9%, 10～20%는 37.4%, 20～30%가 8.4%, 30～40%가 22.1%, 40% 이상은 22.5%였으며, 산업급식소는 10% 이하가 30.6%, 10～20%는 40.3%, 20～30%가 25.0%, 30～40%가 4.1%, 40% 이상은 없었으며, 병원급식소는 10% 이하가 20.0%, 10～20%는 40.0%, 20～30%가 28.9%, 30～40%가 11.1%, 40% 이상은 없는 것으로 조사되었다. 학교급식의 경우 잔반비율이 산업체와 병원급식에 비하여 많은 것으로 조사되었는데 이는 초등학교 학생들의 연근 기호도가 아주 낮았던 원인과 관련이 있는 것으로 생각된다.

잔반량 감량을 위한 효율적인 방법에 관한 연구(169, 173)가 다양하게 수행되어 졌으며, Collison과 Colwill(169)은 1인당 배식량을 조절하는 것이 잔반을 줄이는 매우 중요한 방법인 것으로 보고하였다. 따라서 어른들에 비하여 상대적으로 연근의 기호도가 낮은 학교급식에서는 건강식재료인 연근의 잔반량을 줄이기 위해 1인당 적정 배식량에 대한 연구와 잔반을 줄이기 위한 연근을 이용한 다양한 조리법과 가공식품이 개발되어져야 할 것으로 생각된다.

Table 22. Leftover ratio of lotus root by the type of food service

N(%)

Leftover ratio (%/person/meal)	*Type of food service*			*Total*	χ^2
	School	*Industry*	*Hospital*		
〈10	9(6.9)	22(30.6)	9(20.0)	40(16.2)	
10～20	49(37.4)	29(40.3)	18(40.0)	96(38.7)	
20～30	11(8.4)	18(25.0)	13(28.9)	42(16.9)	61.6***
30～40	29(22.1)	3(4.1)	5(11.1)	37(14.9)	
≥40	33(25.2)	0(0.0)	0(0.0)	33(13.3)	

***<0.001

제4장 요 약

연근의 생리활성 효능 구명과 단체급식소에서의 이용실태를 파악하기 위하여, 항산화 효과는 *in vitro* 에서 연근 에탄올 추출물의 각 분획별 항산화력 측정과 *in vivo* 에서 흰쥐에게 알코올 투여로 유발되어진 간 손상 보호에 미치는 효과를 실험하여 검토하였고, 고지혈증 예방효과는 *in vitro* 에서 LDL 산화억제능 및 HMG-CoA reductase 저해능과 *in vivo* 에서 고콜레스테롤식이로 유발된 흰쥐의 고지혈증 예방효과를 실험하여 검토하였으며, 전남·광주지역의 학교, 산업체 및 병원급식소에서의 연근 이용실태에 대한 영양사의 인식조사를 실시하였다.

1. 연근 에탄올 추출물을 계통 분획하여 DPPH radical에 대한 자유기 소거능, 항산화지수, 아질산염 소거능, 지질과산화물 생성 억제 효과 등을 측정하였다. *In vitro* 에서 분획 중 ethylacetate 분획물이 항산화력과 항산화지수가 가장 우수하였고, 아질산염 소거능은 pH 1.2에서 가장 우수하였다.
2. *In vivo* 에서 연근 에탄올 추출물이 알코올 투여로 유도된 간 손상의 보호효과를 측정한 결과는
   ① 6주간의 에탄올 추출물을 농도별로 경구 투여 후 체중증가율은 알코올 단독 투여군(ET)이 기본식이군(BD)에 비하여 감소되었으나 유의차가 없었다. 알코올과 연근 에탄올 추출물 저용량(ET-LREL)과 고용량(ET-LREH) 병합 투여군은 알코올 투여로 감소된 체중을 기본식이군(BD)에 근접하게 증가시켰다. 식이효율은 알코올 단독 투여군(ET)이 기본식이군(BD)에 비하여 유의하게 저하되었으나, 알코올 단독 투여군(ET)을 제외한 모든 실험군의 식이효율은 유사하였다.
   ② 알코올 투여로 증가된 혈청 중 AST, ALT 및 ALP 활성은 연근 에탄올

추출물 경구 투여로 저하되었다.

③ 간조직 중 XO 활성은 알코올 단독 투여군(ET)이 기본식이군(BD)에 비하여 유의하게 증가되었고 연근 에탄올 추출물 투여로 알코올 투여로 증가된 XO 활성을 용량 의존적으로 감소시켰다. 간조직의 SOD와 GSH-Px 활성은 알코올 단독 투여군(ET)이 기본식이군(BD)에 비하여 현저히 증가되었는데 이는 알코올 투여로 생성된 활성산소를 소거하려는 생리 적응 현상으로 사료되며, 연근 에탄올 추출물 투여로 SOD 활성이 용량 의존적으로 유의하게 감소하였다. 간조직의 catalase 활성도 알코올 단독 투여군(ET)이 기본식이군(BD)에 비하여 유의하게 증가되었으나 연근 에탄올 추출물 투여로 증가된 활성을 용량 의존적으로 감소시켰지만 유의차는 없었다.

④ 간조직 중 GSH 함량은 알코올 단독 투여군(ET)이 기본식이군(BD)에 비하여 유의하게 감소되었으며, 알코올과 연근 에탄올 추출물 고용량 투여군(ET-LREH)은 알코올 투여로 감소된 GSH 함량을 기본식이군(BD)에 근접토록 증가시켰다. 간조직 중 과산화지질 함량은 알코올 단독 투여군(ET)이 기본식이군(BD)에 비하여 증가되었으나, 알코올과 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군(ET-LREH)은 알코올 투여로 증가된 과산화지질 함량을 유의하게 저하시켰다.

3. 연근 에탄올 추출물의 *in vitro* 에서 고지혈증 예방효과는 산화된 LDL에 대하여 항산화효과를 측정한 결과 연근 분획 중 ethylacetate 분획에서 가장 효과가 우수하였으며 또한 연근 에탄올 추출물은 농도 의존적으로 HMG-CoA reductase 활성을 저해시켰다.

4. *In vivo* 에서 고콜레스테롤 식이로 유발된 고지혈증 예방효과는

① 고콜레스테롤식이군(HC)은 정상식이군(NC)에 비하여 체중이 유의하게 증가하였으나, 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군은 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여

체중증가율이 저하되었다. 특히 연근 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군(HC-LREH)은 정상식이군(NC)과 비슷한 수준 이였다. 고콜레스테롤식이군(HC)은 다른 실험군들에 비하여 식이섭취량은 가장 적었으나 식이효율은 가장 높게 나타났다. 체중 당 간 무게도 고콜레스테롤식이군(HC)이 다른 실험군들에 비하여 유의하게 증가되었다.

② 고콜레스테롤식이로 증가된 혈청 중 AST, ALT 및 ALP 활성은 연근 에탄올 추출물 경구 투여로 저하되었다.

③ 고콜레스테롤식이군(HC)은 정상식이군(NC)에 비하여 혈청 중 중성지방 함량은 유의하게 증가하였으나, 고콜레스테롤식이로 증가된 중성지방 함량을 연근 에탄올 추출물 투여로 유의하게 감소시켰다. 혈청 중 총콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤식이군(HC군, HC-LREL군 및 HC-LREH군)들 간에는 유의차가 없었으나 연근 에탄올 추출물 투여 용량이 증가할수록 감소하였다. 혈청 중 인지질 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)이 정상식이군(NC)에 비하여 유의하게 감소하였으나 연근 에탄올 추출물 투여로 정상식이군(NC)에 근접하게 증가되었다.

④ 혈청 중 유리콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤식이와 연근 예탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군은 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 감소하였으며, 특히 연근 에탄올 추출물 고용량 투여할 때 유의하게 저하되었다. 혈청 중 콜레스테릴 에스테르 함량은 고콜레스테롤식이군(HC군, HC-LREL군, HC-LREH군)들 간에는 차이가 없었으나, 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군이 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 다소 저하되었다. 총콜레스테롤에 대한 콜레스테롤 에스테르 비율은 실험군들 간에 유의차가 없었다.

⑤ 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)이 정상식이군(NC)에 비하여 유의하게 증가하였다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군은 고콜레스테

롤식이군(HC)에 비하여 에탄올 추출물 투여 용량 의존적으로 저하되었다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량과 고용량 병합 투여군(HC-LREL과 HC-LREH)의 HDL-콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 증가하였으며, 심혈관 위험지수는 유의적으로 저하되었다. 동맥경화지수는 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여군은 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 감소되었다.

⑥ 간조직 중 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지방 함량은 고콜레스테롤식이군(HC)이 정상식이군(NC)에 비하여 유의하게 증가되었다. 고콜레스테롤식이와 연근 에탄올 추출물 저용량(HC-LREL)과 고용량(HC-LREH) 병합 투여한 군은 고콜레스테롤식이군(HC)에 비하여 간조직 중 총지질, 총콜레스테롤과 중성지방 함량이 연근 에탄올 추출물 투여 용량 의존적으로 저하되었다. 정상식이군(NC, NC-LREL과 NC-LREH)들 간에는 유의차가 없었다.

5. 연근의 생리활성을 확인한 결과 항산화효과와 고지혈증 예방효과가 있는 것으로 조사되어 이를 단체급식소에서의 이용실태를 파악하기 위해 전남·광주지역 학교, 산업체 및 병원급식소에서의 연근 이용실태에 관한 설문조사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

① 연근의 이용실태는 년 중 10회 미만이 가장 많았으며, 대부분 급식소에서 연근 사용빈도가 매우 낮은 것으로 조사되었다. 학교급식에서 연근 사용빈도가 가장 낮았으며, 병원급식에서 가장 높게 조사되었다.

② 모든 급식소에서 가장 선호하는 조리방법은 조림이었고, 다음으로는 전, 튀김 순으로 나타났다.

③ 조사대상 영양사들이 연근을 식단에 사용하는 이유가 건강식품, 특색있는 식품재료, 지역 특산품으로 지역사회 자원 활용 순으로 나타났으며, 연근 기호도가 높아서 사용된 경우는 극히 드물었다. 연근을 식단에 사용하지

않는 이유는 피급식자들의 기호도가 낮아서, 그 다음으로는 연근재료 구입비가 고가이기 때문과 단순한 조리법 때문이라고 응답하였다.

④ 연근요리의 1회 잔반율은 급식소 유형에 따라 다르게 나타났으며, 학교급식소에서 잔반율이 가장 높게 나타났다.

이상의 결과 흰쥐에서 연근 에탄올 추출물은 알코올로 유도된 간독성을 보호하는 항산화효과와 고콜레스테롤식이로 유도된 고지혈증을 예방하는 효과가 있었다. 생리활성 물질이 풍부하고 영양적으로 우수한 연근의 이용실태를 조사한 결과 단체급식소의 영양사들은 연근의 영양학적 중요성을 인지하고 있었으나 기호도가 낮다는 이유로 사용 빈도가 낮은 편이였다. 병원급식에서는 건강과 관련하여 연근 급여 빈도가 다른 급식소에 비해서는 비교적 높았지만 질병 유형에 따라 적절한 연근의 섭취기준에 의거하여 식사가 제공되지 않아 체계적인 병인식의 사용 분량을 제시할 수 없으나, 연근이 건강식품으로서 최소한의 효능을 나타내기 위해서는 특히, 병인식의 경우 1일 120 g 이상을 섭취해야 건강기능식품으로써의 효능을 나타낼 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 연근의 이용한 다양한 조리법을 개발하고, 관능검사를 실시하여 기호도가 높은 조리법을 조사한 후, 암과 고지혈증환자 등을 위한 식사요법을 실시함으로써 임상적으로도 연근이 인체에 항산화효과와 고지혈증 예방효과가 있는지는 추후에 계속적으로 연구되어 져야 할 것이다.

제5장 참 고 문 헌

1. 육창수. 1989. 원색한국약용식물도감. 아카데미 서적. 서울. p. 217.
2. 박종희, 이정규. 2002. 상용 약용식물도감. 도서출판 신일상사. 서울. p. 278-279.
3. 전남보건환경연구원. 식품약품분석과. 2003. Investigation of chemical composition of the species of lotus in Jeonnam province area. *보건환경연구원보* 14: 35-58.
4. 이창복. 1980. 대한식물도감. 향문사. 서울. p. 340.
5. Yang HC, Kim YH, Lee TK, Cha YS. 1985. Physicochemical properties of lotus root. *J Korean Agri Chem Soc* 28: 239-244.
6. Han SJ, Koo SJ. 1993. Study of the chemical composition in bamboo, shoot, lotus root and burdock. *Korean J Soc Food Sci* 9: 82-87.
7. Chung KS, Yun-Choi HS, Hahn Y. 2000. High performance liquid chromatographic analyses of higenamine enatiomers in aconite roots. *Natural Product Sci* 6: 20-24.
8. Jung HA, Kim JE, Chung HY, Choi JS. 2003. Antioxidant principles of *Nelumbo Nucifera* stamens. *Arch Pharm Res* 26: 279-285.
9. Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2006. Antioxidative activity of ethanol extract from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 182-185.
10. Quan JQ. 2002. Cardiovascular pharmacological effects of bibenzylisoquinoline alkaloid derivatives. *Acta Phramacol Sin* 23: 1086-1092.
11. Cho EJ, Yokozawa T, Rhyu DY, Kim SC, Shibahara N, Park JC. 2003.

Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Phytomedicine* 10: 544-551.

12. Hu MH, Skibsted LH. 2002. Antioxidative capacity of rhizome extract and rhizome knot extract of edible lotus(*Nelumbo Nucifera*). *Food Chem* 76: 327-333.
13. Ling ZQ, Xie BJ, Yang EL, 2005. Isolation, characterization, and determination of antioxidative of oligomeric procyanidins from the seedpod of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *J Agric Food Chem* 53: 2441-2445.
14. Kim SB, Rho SB, Rhyu DY, Kim DW. 2005. Effect of *Nelumbo nucifera* leaves on hylerlipidemic and atherosclerotic bio F1B hamster. *Korean J Pharmacogn.* 36: 229-234.
15. Ono YO, Hattori E, Fukaya Y, Imai S, Ohizumi Y. 2006. Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. *J Ethnopharma* 106: 238-244.
16. 변부형, 서부일. 2000. 질병에 따른 양・한방 식사요법. 유한문화사. 서울. p. 66.
17. 강성국. 2005. 백련을 이용한 가공식품의 개발. 무안군 백련학술세미나. p. 1-11.
18. 황안국. 1998. 한방영양학. 한올출판사. 서울. p. 111-112.
19. 정보섭. 신민교. 1990. 도해 생약 대사전. 영림사. 서울. p.208, p. 514-517, p. 1010-1012.
20. Xiao JH, Zhang JH, Chen HL, Feng XL, Wang JL. 2005. Inhibitory effects of isoliensinine on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Planta Med* 71: 225-330.
21. Park SH, Hahm TS, Han JH. 2005. Effects of ethanol-extract of lotus

root on the renal function and blood pressure of fructose-induced hypertensive rats. *J East Asian Dietary Life* 15: 165-170.

22. Park SH, Sihn EH, Koo JG, Lee TH, Han JH. 2005. Effects of *Nelumbo nucifera* on the regional cerebral blood flow and blood pressure in rats. *J East Asian Dietary Life* 15: 49-56
23. Kim JS. 2002. Anti-diabetic constituent from the node of lotus rihzome (*Nelumbo nucifera* Gaertn). *MS Thesis.* ChungAng University.
24. Ko BS, Jun DW, Jang JS, Kim JH, Park S. 2006. Effect of *Sasa Borealis* and white lotus roots and leaves on insulin action and secretion *in vivo*. *Korean J Food Sci Technol* 38: 114-120.
25. Lee MW, Kim JS, Cho SM, Kim JH, Lee JS. 2001. Anti-diabetic constituent from the node of lotus rhizome(*Nelumbo Nucifera* Gaertn). *Natural Product Sci* 7: 107-109.
26. Won HT. 2004. Effects of *Nodus Neoumbinis Nhizomatis* extracts on sociopsychological stress in mice. *MS Thesis.* Dongshin University.
27. Cho SI, Kim HW. 2003. Beneficial effect of *Nodus Neoumbinis Nhizomatis* extracts on cisplatin-induced kidney toxicity in rats. *Korean J Herbology* 18: 127-134.
28. Moon SM, Kim HJ, Ham KS. 2003. Purification and characterization of polyphenol oxidase from lotus root (*Nelumbo nucifera G.*). *Korean J Food Sci Technol* 35: 791-796.
29. Cho SH, Kang RK, Lee HG. 1984. A study on the ingredients preparation method of lotus root jung kwa. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 13: 42-50.
30. Kim YS, Jeon SS, Jung ST. 2002. Effect of lotus powder on the baking quality of white bread. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18: 413-425

31. Park IB, Park JW, Kim JM, Jung ST, Kang SG. 2005. Quality of soybean paste(Doenjang) prepared with lotus root powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 519-523.

32. Mezey E. 1980. Alcoholic liver disease: role of alcohol and malnutrition. *Am J Clin Nutr* 33: 2709-2718.

33. Keshavarizian A, Fields JZ, Vaeth J, Holmes EW. 1994. The differing effects of acute and chronic alcoholic on gastric and intestinal permeability. *Am J Gastro* 89: 2205-2212.

34. Choe M, Sin GJ, Choe GP, Do JH, Kim JD. 2003. Synergistic effects of extracts from Korean red ginseng, *Saururus chinensis*(Lour.) Baill. and *Rubus coreanus* Miq. on antioxidative activities in rats. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11: 148-154.

35. Pryor WA. 1977. Free radical in biology. In involvement of radical reaction in aging and carcinogenesis in medicine chemistry. *Elservier Amsterdam* 331-361

36. Cha BC, Lee W, Choi MY. 1998. Antioxidative and antimicrobial effects of nut species. *Korean J Pharmacogn* 29: 28-34.

37. Shin CH. 2001. Studies on the antioxidative character in the ethyl acetate extractions of *Rumex crispus*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 16: 592-602.

38. Hur SK, Kim SS, Heo YH, Ahn SM, Lee BG, Lee SK. 2001. Effect of the grapevine shoot extract on free radical scavenger activity and inhibition of pro-inflammatory mediator production in raw macrophages. *J Applied Pharmaol.* 9: 188-193.

39. Jeong SJ, Lee H, Song NH, Lee SE, Baeg I. 2004. Natural products chemistry: screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J*

Korean Soc Food Sci Nutr 33: 28-33.

40. Chang SS, Biserka OM, Oliver AL, Huang CL. 1977. Natural antioxidants from rosemary and sage. *J Food Sci* 42:1102-1106.
41. Kim EJ, Ahn MS. 1993. Antioxidative effect of Ginger extracts. *Korean J Soc Food Sci* 9: 37-42.
42. Lee CJ. 1999. A study on the antioxidative effects on the oils and identification of antioxidative substances from as *Astragalus membrabaceus* Bunge extracts. *Ph D Thesis*. Sungshin Women's University.
43. Choi U, Shin DH, Chang YS, Shin JI. 1992. Antioxidant activity of ethanol extract from *Rhus javanica* Linne on edible oil. *Korean J Food Sci Technol* 24: 320-325.
44. Jung GT, Ju IO, Choi JS, Hong JS. 2000. The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schizandra chinensis* RUPRECHT(Omija) seed. *Korean J Food Sci Technol* 32: 928-935.
45. Woo N, Ahn MS, Lee KY. 1995. Antioxidative effect of aloe(*Aloe arborescences*) extracts on linoleic acid and soybean oil. *Korean J Soc Food Sci* 11: 536-541.
46. Park SW, Woo CJ, Chung SK, Chung KT. 1994. Antimicrobial and antioxidative activities of solvent fraction from *Humulus japonicus*. *Korean J Food Sci Technol* 26: 464-470.
47. Lim DK, Choi U, Shin DH. 1996. Antioxidative activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 28: 83-89.
48. Cho SY, You BJ, Chang MH, Lee SJ, Sung NJ, Lee EH. 1994. Screening for the antioxidants in unused marine resources by the

polarographic method. *Korean J Food Sci Technol* 26: 417-421.

49. Park JH, Kang KC, Baek SB, Lee YH, Rhee KS. 1991. Separation of antioxidant compounds from edible marine algae. *Korean J Food Sci Technol* 23: 256-261.
50. Jae JU. 1989. Isolation and identification of constituents from antioxidant and hematopoietic fractions of panax ginseng C.A. Mayer. *Ph D Thesis*. Seoul University.
51. Sang D, Kim JH, Hoon IO. 1981. Antioxidant activity of panax ginseng browning products. *J Korean Agri Chem Soc* 24(3): 161-166.
52. Lim SS, Lee JH. 1997. Effect *Atremisa Princeps* var Orientals and *Ccircium japonicum* var ussuiense on serum lipid of hyperlipidemic rat. *Korean J Nutr* 30: 12-18.
53. Levy RI. 1991. Cholesterol, lipoprotein, apoproteins and heart disease; present status and future prospecrs. *Clin Chem 27*: 653-657.
54. Truswell AS. 1978. Diet and plasm lipids a reappraisal. *Am J Clin Nutr* 31: 997-989.
55. Lee JM, Choi SW, Cho SH, Rhee SJ. 2003. Effect of seeds extract of *Paeonia lactiflora* on antioxidative system and lipid peroxidation of liver in rats fed high-cholesterol diet. *Korean J Nutr* 36: 793-800.
56. Yokozawa T, Nakagawa T, Kitani K. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem* 50: 3549-3552.
57. Henriksen T, Mahoney EM, Steinberg D. 1983. Enhanced macrophage degradation of biologically modified low density lipoprotein. *Atherosclerosis* 3: 149-159.
58. More DW, Docorleto PE, Chisolm GM. 1984. Endothelial and smooth muscle alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation.

Atherosclerosis 4: 357-364

59. Mckenny JA. 2001. Lipid management: tools fir getting to the goal. *Am J Manag Care* 7: 299-306.
60. Oh IS, Kang JA, Kang JS. 2002. Gender differnc in the effects of gonadectomy and hypercholesterol diet on plasma and liver cholesterol and triglyceride levels, platelet aggregation and liver tissue in sprague rats. *Korean J Nutr* 35: 15-23.
61. Gang MS, Lim SS and Lee, JH. 1997. A study on the chemical composition an hypocholesterilemic effect of nostoc commune. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 468-472.
62. Choi HS, Ha JO, Choo MH, Na MS, Lee MY. 2004. Effect of bambusae caulis in liquamen on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *Korean J Food Preserve* 11: 373-382.
63. Sung IS, Kim MJ, Cho SY.1997. Effect of quercus acutissina carruthers extracts on the lipid metabolism. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 327-331.
64. Kang JA, Kang JS. 1997. Effect of garlic an onion on plasma an liver cholesterol and triglyceride and platelet aggregation in rate basal or cholesterol supplemented diets. *Korean J Nutr* 32: 132-138.
65. Koo NS, Park CI. 1998. Food preference of elementary school children under meal service in Taejon. *Korean J Commu Nutr* 3: 440-453.
66. Kim KA, Kim SJ, Jung LH, Jeon ER. 2003. Meal preference of the school students in Gwangju and Chollanamdo Area. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 19: 144-154.
67. 우원식. 1997. 천연물 화학 연구. 서울. 서울대학교 출판부. p. 14-15.
68. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free

radical. *Nature* 26: 1199-1744.

69. Esquivel MM, Ribeiro MA, BermardoGil MG. 1999. Supercritical extraction of savory oil : study of antioxidant activity and extract characterization. *J Supercritical Fluids* 14: 129-138.

70. Kato H, Lee C, Kim NV, SB Hayase. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Bio Chem* 51: 1333-1338.

71. Ottolenghi, A. 1959. Interaction of ascorbic acid and mitochondrial lipids. *Arch Biochem Biophy* 79: 355-461.

72. Reeves PG, Nielson FH, Fahey Jr GC. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.

73. Fujji H, Ohmachi T, Sagami I, Watanabe M. 1985. Liver microsomal drug metabolism in ethanol-treated hamsters. *Biochem Pharmacol* 34: 3881-3884.

74. Reitman S, Frankel S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic determination and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28: 56-63.

75. Downey JM, Miura Y, Eddy LJ, Chambers DE, Mellert T, Hearse DJ, Yellon DM. 1987. Xanthine oxidase is not a source of free radicals in the ischemic rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 19: 1053-1060.

76. Crapo JD, McCord JM, Fridovich I. 1978. Preparation and assay of superoxide dismutase. *Methods enzymol.* ed. Fleischer S and Packer L., Academic press, New York 53: 382-393.

77. Aebi H. 1974. Catalase, in m*ethods of Enzymetic Analysis*, Bergmeyer HU, Bergmeyer, J and Grabi, M., eds. 3rd ed., Verlag chemie 2:

673-684.

78. Flohe L, Wolfgng A, Gunzler WA. 1984. Assay of glutathione peroxidase. In *Methods Enzymol* 105: 114-130.

79. Tietze F. 1969. Enzymatic methods for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. *Anal Biochem* 27: 502-522.

80. Buege JA, Aust SD. 1978. The thiobarbituric acid assay. In *Methods Enzymol* 52: 306-307.

81. Lowry OH. Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.

82. Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. 1985. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 34: 1345-1353.

83. Choe M, Kim HS. 2002. Effects of Korean wheat on LDL oxidation and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbit. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 104-108.

84. Edwards PA, Gloud RG. 1972. Turnover rate of hepatic 3-hydroxy-methylglutaryl CoA reductase and determined by use of cycloheximide. *J Biol Chem* 947: 1520-1524.

85. Billhimer JT, Alcron M, Galor JL. 1981. Solubilization and partial purification of microsomal 3-ketosteroid reductase of cholesterol biosynthesis. *Arch Biochem Biophys* 211: 430-434.

86. Hulcher FH, Oleson WH. 1973. Simplified spectrophotometeric assay for microsomal 3-hydroxy-3-methylglutary CoA reductase by measurement of coenzyme A. *J Lipid Res* 14: 625-631.

87. Son HH, Rhee SJ. 2002. Effects of dietary xylooligosccharides on hepatic

HMG-CoA reductase activity and morphological exchange of liver in rats fed high fat diets. *Korean Nutr Soc* 35: 1015-1022.

88. Alberts AW. 1990. Lovastatin and simvastatin-inhibitors of HMG-CoA reductase and cholesterol biosynthesis. *Cardiology Suppl* 4: 14.
89. Maher VM., Thompson GR. 1990. HMG-CoA reductase inhibitors as lipid-lowering agents: five years experience with lovastatin and an appraisal of simvastatin and pravastin. *Q J Med* 274: 165-170.
90. McGowan MW, Artiss JD, Strandbergh DR. 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem* 29: 538-542.
91. Richmond W. 1976. Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum by continuous flow analysis. *Clin Chem* 22: 1579-1588.
92. Eng LF, Noble EP. 1957. The maturation of rat brain myelin. *Lipids* 3: 157-162.
93. Noma A, Nakayama KN, Kota M, Okabe H. 1978. Simultaneous determination of serum cholesterol in high and low density lipoprotein with use of heparin, Ca^{2+} and an anion exchange resin. *Clin Chem* 24: 1504-1580.
94. Friedwald WT, Levy RL, Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502.
95. Fiordaliso M, Kok N, Desager KP, Goethals F, Deboyser D. 1977. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma. *Am J Clin Nutr* 30: 170-176.
96. Folch J, Lees M, Sloane-Stanly GH. 1957. A sample method for the

isolation and purification of total from animal tissue. *J Biol Chem* 226: 497-509.

97. Zlatkis A, Zak B. 1969. Study of a new cholesterol reagent. *Anal Biochem* 29: 143-148.

98. Biggs HG, Erikson TM, Moorehead WR. 1975. A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. *Clin Chem* 21: 437-441.

99. Shin IJ, Nam SR, Kwak TK. 1988. A survey of food procurement practices in hospital dietetics; assessment of the level of processing for purchased food. *Korean J Soc Food Sci* 4: 65-73.

100. Lee JY. 1996. The study of elementary school foodservice system especially to food purchasing management. *Annual Bulletin of Seoul Health Junior College* 16: 55-70.

101. Kwak TK, Lee KE, Park HW, Ryu K, Hong WS, Jang HJ, Kim SH. 1997. The survey of housewives' preception for the development of refrigerated convenience foods for Korean. *Korean J Dietary Culture.* 12: 391-400.

102. Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2004. Antimicrobial effect of the extracts of cactus Chounnyouncho (*Opuntia humifusa*) aganist food borne pathogens. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1268-1272.

103. Lee KD, Chang HK, Kim HK. 1997. Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushrooms. *Korean J Food Sci Technol* 29: 432-436.

104. Na MK, An RN, Lee SM, Hong ND, Yoo JK, Lee CB, Kim JP, Bae KH. Screening of crude drugs for antioxidative activity. *Korean J Pharmacogn* 32: 108-115.

105. Harman D. 1987. The free radical theory of aging. In modern biological theories of aging. Warner HR, Butler RN, Sprott RL, Schneider EL, eds.

Raven Press NY p. 89.

106. Cha GS, Choi CU. 1990. Determination of oxidation stability of perilla oil by the Rancimat method. *Korean J Food Sci Technol* 22: 61-65.

107. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J Food Sci Technol* 27: 978-984.

108. Kytopoulos SA. 1987. Ascorbic acid and formation of n-nitroso compounds: possible role of ascorbic acid in cancer prevention. *Am J Clin Nutr* 45: 1344-1350.

109. Gray JI, Dugan Jr. 1975. Inhibition of n-nitrosamine formation in model food systems. *J Food Sci* 40: 981-984.

110. Paker L, Glazer AN. 1990. Oxygen radicals in biological systems. In *Methods in Enzymology*. Oxygen radicals in biological systems, Academic Press, London 186: 343.

111. Rothwell NJ, Stock MJ. 1984. Influence of alcohol and sucrose consumption on energy balance and brown fat activity in the rat. *Metabolism* 33: 768-771.

112. Shaw S, Lieber CS. 1983. Nutrition and alcohol. A clinical perfective, In : Weininger J. Briggs GM, eds. Nutrition Update John Wiley & Sons, New York, 1: 79-104.

113. Ray SY, Kim JH. 1995. Effect of chronic alcohol feeding and 20 acetylaminofluoren treatment on hepatic mitochondrial ATPase activity and membrane lipid composition in rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 24: 867-873.

114. Koo BY, Dhung JM, Lee HS. 1998. Biochemical evaluation of nutritional status of protein and lipid in patients with alcoholic liver disease. *J*

Korean Soc Food Sci Nutr 27: 1236-1243.

115. Lim SS, Kim MH, Lee JH. 1997. Effect of *Artemisia princeps* var *orientalis* and *Circium japonicum* var *ussuriense* on liver function body lipid and bile acid of hyperlipidemic rat. *J Korean Nutr Society* 30: 797-802.

116. Ahn YT, Bae JS, Kim YH, Lim KS, Huh CS. 2005. Effects of fermented milk intake on hepatic antioxidative systems in alcohol treated rats. *Korean J Food Sci Technol* 37: 631-635.

117. Oei HH, Stroo WE, Burton KP, Schaffer SW. 1982. Xanthin oxidase in producing oxidative stress in the heart of chronically ethanol treated rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 38: 453-461.

118. Chow CK, Tapplle AL. 1974. Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rat. *J Nutr* 104: 444-451.

119. Leibiovitz BE, Siegel BV. 1980. Aspects of free radical reaction in biological system. *Aging J Gerontol* 35: 45-56.

120. Wheeler MD, Nakagami M, Bradford BU, Uesugi T, Mason RP, Connor HD, Dikalova A, Kadiska M, Thurman RG. 2001. Over expression of manganese superoxide dismutase prevents alcohol-induced liver injury in the rat. *J Biol Chem* 276: 36664-36672.

121. Abdellah M, Demelliers C, Amsellem S, Pessayre D, Fromenty B. 2001. Acute ethanol administration oxidatively damages and depletes mitochondrial DNA in mouse liver, brain heart and skeletal muscles; protective effects of antioxidants. *J Pharmacol Exp Ther* 298: 737-743.

122. Marco D, Paolo C, Gianluigi V, Ignazio G, Bruno N, Monia DA, Bruno, Franco T, Antonino C, Emanuele A, Maurio N. 2001. Food depravation exacerbates mitochondrial oxidative stress in rat liver exposed to

ischemia-reperfusion injury. *J Nutr* 131: 105-110.

123. McCord JM, Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 244: 6049-6055.

124. Karkkainen P, Mussalo-Rauhamaa H, Poikolainen K, Lehto J. 1988. Alcohol intake correlated with serum trace elements. *Alcohol* 23: 279-282.

125. Kim MJ, Park EM, Cho SY. 1997. Effect of methionine and selenium levels on alcohol metabolic enzyme system in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 319-326.

126. Chang NS, Ryu SM. 2001. Antioxidative effects of green tea powder diet against ethanol-induced oxidative damage in rat brain region. *Korean J Nutr* 34: 525-531.

127. Kim KA, Park HJ, Lee JS, Kim JW, Kim CJ, Shin IS, Han SM, Lim SB. 2003. The inhibitory effect of *Achyranthis bidentata radix* extract on cytochrome p450-catalyzed reactions in human liver microsomes. *J Korean Oriental Med* 24: 40-46.

128. Johansson LH, Borg LA. 1988. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue sample. *Anal Biochem* 174: 331-336.

129. Paglia DE, Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169.

130. Folch L, Gunzler WA. 1984. Assays of glutathione peroxidase. In *Methods in enzymology*. Ed. by Loxensterin, Academic Press Inc. New York. vol. 105, p114-126.

131. Bompart GJ, Prevot DS, Bascabds JL. 1990. Rapid automated analysis of

glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity: application to cisplatin-induced toxicity. *Clin Biochem* 23: 501-504.

132. Ko MS, Shin KM, Lee MY. 2002. Effects of *Hijikia fusiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol-induced hepatotoxicity of rat liver. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 87-91.

133. Cho SY, Jang JY, Kim MJ. 2001. Effects of Pueraria flos and radix water-extracts on levels of several serum biomarkers in ethanol-treated rats. *Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 92-96.

134. Speisky H, Kera Y, Penttila KE, Israel Y, Lindros KO. 1988. Depletion of hepatic glutathione by ethanol occurs independently of ethanol metabolism. *Alcohol Clin Exp Res* 12: 224-228.

135. Hur SK, Kim SS, Heo YH, Ahn SM, Lee BG, Lee SK. 2001. Effect of the grapevine shoot extract on free radical scavenger activity and inhibition of pro-inflammatory mediator production in raw 264.7 macrophages. *J Appl Pharmacol* 9: 188-193.

136. Roberforid M, Calderon PB. 1995. Free radicals and oxidation phenomena in biological system. Marcel Deker, Inc., New York.

137. Meister A, Anderson ME. 1983. Glutathione. *Annu Rev Biochem* 52: 711-716.

138. Ahn JM. 2001. Preventive effect of leek extract on diabetic atherosclerosis and identification of active principles. *Ph D Thesis*. Pusan National University.

139. Aykac G, Uysal M, Yalcin S, Kocak-Toker N, Sivas A, Oz H. 1985. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicol* 36: 71-76.

140. Lee JS, Kim ES, Kim SW. 1999. Effects of extract of *Pueraria radix* on peroxidation in ethanol-administered rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 901-906.

141. Oh SI, Kim CI, Chun HJ, Park SC. 1998. Chronic ethanol consumption affects glutathione status in rat liver. *J Nutr* 128: 758-763.

142. Lieber CS. 1980. Increased loss and decreased synthesis of hepatic glutathione after acute alcohol administration. *Pharmacol Biochem Behav* 13: 17-21.

143. Park PS, Lee BR, Lee MY. 1994. Effects of onion juice on ethanol-induced hepatic lipid peroxidation in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 23:750-756.

144. Nordmann R, Ribierc CM, Rouach H. 1992. Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. *Free Radic Bio Med* 12: 219-248.

145. Rulido R, Bravo L. Saura-Calixto F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by modified ferric reducing antioxidant power assay. *J Agric Food Chem* 48: 3396-3402.

146. Yoon TH, Rhee SJ. 1994. Effects of Korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the antioxidantive detoxification in rat poisoned with cadmium. *Korean J Nutr* 27: 1007-1017.

147. Lee YH. 1994. Study on the screening and application of 3-hydroxy-methylglutaryl CoA reductase inhibitor from pinus strobu extracts. *Ph D Thesis.* KangWon Uiversity.

148. Browun MS, Goldstein JL. 1986. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 232: 34-47.

149. Wursch P. 1979. Influence of tannin-rich Carob pod fiber on the cholesterol metabolism in the rat. *J Nutr* 109: 685-670.

150. Rhee SJ, Park HK. 1984. Changes of lipid concentration and histochemical observation in liver of rats fed high fat diet. *Korean J Nutr* 17: 113-125.

151. Turley E, Armstrong NC, Wallace JMW, Gilore WS, Mckelvey-Martin JV, Allen TM, Strain JJ. 1999. Effect of cholesterol feeding on DNA damage in male and female syrian hamsters. *Ann Nutr Metab* 43: 47-51.

152. Plaa GL, Charbonneau M. 1994. Detection and evaluation of chemically induced liver injury. In *Principles and Methods of Toxicology.* Hayes AW ed., Raven Press. New York. p. 839-870.

153. Lim SS, Kim MH, Lee JH. 1997. Effect of *Artemisia princeps* var *orientalis* and *circium japonicum* var *ussuriense* on liver function body lipid and bile acid of hyperlipidemic rat. *J Korean Nutr Soc* 30: 797-802.

154. Kim SY, Kim HS, Kim SH, Su IS, Chung SY. 2003. Effects of the feeding *platycodon grandiflorum* and *codonopsis ianceolata* on the fatty acid composition of serum and liver in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1211-1216.

155. Oda T, Shikata T, Natio C, Suzuki H, Kanetaka T. 1970. Phospholipid fatty liver: a report of three cases with a new type of fatty liver. *Jpn J Exp Med* 40: 127-140.

156. Odman DS. 1964. The turnover of plasma cholesterol in man. *Physiol Rev* 45: 747-760.

157. Steinberg D. 1983. Lipoproteins and atherosclerosis: a look back and look ahead. *Atherosclerosis* 3: 283-3013.

158. Kinnuen PKJ, Virtanen JA, Vainio P. 1983. Lipoprotein lipase and

hepatic endothelial lipase. *Atherosclerosis Rev* 11: 65-71.

159. Wooller, LA, Spady DK, Dietschy JM. 1992. Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. *J Lipid Res* 33: 77-88.

160. Gilliard SE, Nelson CR, Maxwell C. 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol* 49: 377-381

161. Yun YP, Kang WS, Lee MY, 1996. The antithrombotic effects of green tea catechins. *J Food Hyg Safety* 11: 77-82.

162. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. *Arch Pathol Lab Med* 113: 1101-1110.

163. Kang SM, Shin JY, Hwang SJ, Hong SG, Jang HE, Park MH. 2003. Effects of Saengshik supplementation on health improvement in diet-induced hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 906-912.

164. Spady DK, Eidtschy JM. 1998. Interaction of dietary cholesterol and triglyceride in the hamster. *J Clin Invest* 81: 300-309.

165. Chi MS, Koh ET, Stwart TJ. 1982. Effects of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol of lard. *J Nutr* 112: 241-248.

166. 대한영양사회. 1989. '89 산업체 급식업무 실태조사 (Ⅱ). 국민 영양. 114: 16.

167. 박종희. 2002. 약이 되는 술. 신일상사. 서울. p. 179-188.

168. 정기혜, 김주나. 1998. 음식문화 개선 및 식단 정착화 방안. 한국보건사회연구원. p. 66-69.

169. Collison R, Colwill J. 1986. The analysis of food waste results and related attributes of restaurants and public houses. *J Foodservice Sys* 4: 17-30.

170. Young CM, Laforture TD. 1957. Effect of food preference on nutritional intake. *J A Dietet A* 33: 98-103.

171. Kim YS, Chun SS, Jung ST, Kim RY. 2002. Effect of lotus root powder on the quality of dough. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18: 573-578.

172. Jun M, Min H. 2000. Study on effective methods for reducing leftlovers in the food service business and industry. *Korean J Commu Nutr* 5: 92-99.

173. Kipps M, Middleton VTC. 1990. Achieving quality and choice for the customer in hospital catering. *Int Hospitality Management* 9: 69-83.

단체급식소의 연근이용 실태 조사

안녕하십니까?

단체급식에서의 연근의 활용도를 조사하여 연구 자료로 활용하고자 이 설문을 드리오니 협조 부탁드립니다.

1. 사용하는 빈도는? (　　)

가. 2~3회/주　나. 1회/1주　다. 2~3회/월　라. 1회/월　마. 10회 미만/년

2. 구입 시　상태는 ? (　　)

가. 박피하여 세절된 것 나. 박피하여 세절되지 않은 것 다. 가공하지 않은 것

3. 1인 1회 사용량은 ? (　　)

가. 50g 이하 나. 50~60g 다. 60~70g 라. 70~80g 마. 80~90g 바. 90g 이상

4. 사용되는 조리법은? (　　)

* 아래의 방법 이외의 것은 기타사항에 적어 주세요.

가. 조림　나. 전　다. 튀김　라. 기타 (　　)

5. 연근을 사용하는 이유는? (　　)

가. 건강에 좋은 식품으로 이용한다.

나. 기호도가 좋아 선정한다.

다. 특색 있는 식품을 식단에 활용하기 위해 한다.

라. 주변에 많이 있는 식품으로 자원을 활용하는 의미로 선정한다.

6. 연근을 사용하지 않는 이유는? (　　)

가. 기호도가 낮다.

나. 조리법이 단순하다.

다. 건강에 도움이 되지 않는다.

라. 가격이 비싸다,

마. 량이나 출하 시기 등이 쉽게 구하기 어렵다.

7. 연근의 잔반비율은 어느 정도 인가? (　　)

가. 10% 미만　나. 10-20%　다. 20-30%　라. 30-40%　마 . 40% 이상

일반사항

1. 귀하의 성별은?　남자　여자

2. 연령 대는? (　　)

가. 20 대　나. 30대　다. 40대　라. 50대　마. 60대

2. 귀하의 담당 업무는? (　　)

가. 영양사　나. 조리사　다. 급식업체 관리자　라. 급식업체 운영자

마. 기타 (　　)

3. 귀하가 담당하는 단체급식에 속하는 곳은? (　　)

가. 학교급식　나. 사업체급식　다. 병원급식

4. 1일 제공식수는 ? (　　식/1일)

5. 1일 급식 인원은? (　　명/1일)

6. 급식운영형태는 어떡합니까? (　　)

가. 직영　나. 위탁　다. 직영과 위탁의 혼합

7. 식단가는 얼마입니까? (　　)

가. 1000원 미만　나 1000-1490원　다. 1500-1990원　라. 2000원 이상

바쁜 시간 중에 답변해 주심에 감사드립니다.