



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

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

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



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

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

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

새싹채소가 3T3-L1 지방세포와
흰쥐의 비만억제효과

*Anti-obesity Effect of Vegetable Sprouts in 3T3-L1
Adipocytes and Rats*

2007年 8月 24日

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

申 馨 惠

새싹채소가 *3T3-L1* 지방세포와 흰쥐의 비만억제효과

指導教授 李 明 烈

이 論文을 理學碩士學位申請 論文으로 提出함

2007年 4月

朝鮮大學校 大學院

食品營養學科

申 馨 憲

申 馨 惠 의 碩 士 學 位 論 文 을 認 准 함

委員長 朝 鮮 大 學 校 理 學 博 士 _____ 印

委 員 朝 鮮 大 學 校 理 學 博 士 _____ 印

委 員 朝 鮮 大 學 校 藥 學 博 士 _____ 印

2007年 5月

朝 鮮 大 學 校 大 學 院

목 차

| | |
|---------------------------------------|------|
| ABSTRACT | viii |
| 제1장 서 론 | 1 |
| 제2장 재료 및 방법 | 5 |
| 제1절 실험재료 | 5 |
| 제2절 성분분석 | 5 |
| 1. 일반성분 | 5 |
| 2. 아미노산 | 6 |
| 3. 지방산 | 7 |
| 4. 비타민 A 와 비타민 E | 8 |
| 5. 유기산 | 9 |
| 6. 무기질 | 10 |
| 7. 양 · 음이온 | 11 |
| 8. 구성당 | 13 |
| 9. 식이섬유소 | 14 |
| 제3절 비만억제효능 실험 | 15 |
| 1. 실험기기 | 15 |
| 2. 시료추출 | 15 |
| 3. <i>In vitro</i> 에서 비만억제효능 실험 | 16 |
| 가. 세포배양 | 16 |

| | |
|--|-----------|
| 나. 지방세포 분화 측정 | 16 |
| 다. 3T3-L1 지방세포의 새싹채소 추출분획물 탐색 | 17 |
| 라. 지방세포 수 측정 | 18 |
| 4. <i>In vivo</i> 에서 비만억제효능 실험 | 19 |
| 가. 실험동물의 사육 및 식이 | 19 |
| 나. 실험동물의 처리 | 22 |
| 다. 혈청지질 함량 | 22 |
| 라. 간장지질 함량 | 23 |
| 마. 지방조직 지질 함량 | 23 |
| 바. 지방조직의 LPL 활성 | 23 |
| 5. 통계처리 | 25 |
| 제3장 실험결과 및 고찰 | 26 |
| 제1절 성분분석 | 26 |
| 1. 일반성분 | 26 |
| 2. 구성아미노산 함량 | 27 |
| 3. 지방산 조성 | 29 |
| 4. 비타민 A, E 함량 | 31 |
| 5. 유기산 함량 | 32 |
| 6. 무기질 함량 | 33 |
| 7. 양·음이온 함량 | 34 |
| 8. 구성당 함량 | 36 |
| 9. 식이 섬유소 함량 | 37 |
| 제2절 <i>In vitro</i> 에서 항비만 효과 실험 | 38 |
| 가. 3T3-L1 지방전구세포 분화 측정에 미치는 영향 | 38 |

| | |
|---|-----------|
| 나. 3T3-L1 지방전구세포의 증식(세포수)에 미치는 영향 | 40 |
| 다. 3T3-L1 지방세포의 중성지방 함량에 미치는 영향 | 42 |
| 제3절 <i>In vivo</i> 에서 항비만 효과 실험 | 44 |
| 1. 체중증가율, 식이효율, 간 무게 및 지방조직 무게 | 44 |
| 2. 혈청 중 ALT, AST 및 alkaline phosphatase(ALP)활성 | 49 |
| 3. 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 | 54 |
| 4. 혈청 중 LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤/총 콜레 스테롤 비율, 심혈관 위험지수 및 동맥경화지수 | 57 |
| 5. 간 조직 중 총콜레스테롤 및 중성지방 함량 | 65 |
| 6. 지방조직 중 총콜레스테롤 및 중성지방 함량 | 68 |
| 7. 지방조직 LPL 활성 | 73 |
| 제4장 요약 | 77 |
| 참 고 문 헌 | 80 |

LIST OF TABLES

| | |
|--|----|
| Table 1. Operating condition of Amino Acid Autoanalyzer for amino acids | 6 |
| Table 2. Operating condition of GC for fatty acids | 7 |
| Table 3. Operating condition of HPLC for vitamin A and E | 8 |
| Table 4. Operating condition of Ion Chromatography for organic acids | 9 |
| Table 5. Operating condition of Atomic Absorption Spectrophotometer for minerals | 10 |
| Table 6. Operating condition of Ion Chromatography for cations | 11 |
| Table 7. Operating condition of Ion Chromatography for anions | 12 |
| Table 8. Operating condition of Ion Chromatography for free sugars | 13 |
| Table 9. Experimental design | 20 |
| Table 10. Composition of experimental diet (g/kg) | 21 |
| Table 11. Proximate compositions of <i>B. oleracea</i> | 26 |
| Table 12. Contents of total amino acids in <i>B. oleracea</i> | 28 |
| Table 13. Composition of fatty acids in <i>B. oleracea</i> | 30 |
| Table 14. Contents of vitamin A and E in <i>B. oleracea</i> | 31 |
| Table 15. Contents of organic acids in <i>B. oleracea</i> | 32 |
| Table 16. Contents of minerals in <i>B. oleracea</i> | 33 |
| Table 17. Contents of cations in <i>B. oleracea</i> | 34 |
| Table 18. Contents of anions in <i>B. oleracea</i> | 35 |
| Table 19. Contents of carbohydrates in <i>B. oleracea</i> | 36 |
| Table 20. Contents of dietary fiber in <i>B. oleracea</i> | 37 |

| | |
|---|----|
| Table 21. GPDH activity in 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extract of vegetable sprouts from whole stage | 39 |
| Table 22. Cell viability in pre-confluent(day -6~-2) 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extract of vegetable sprouts | 41 |
| Table 23. Triglyceride contents in 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extract of vegetable sprouts from whole stage | 43 |
| Table 24. Change of growth rate of the rats fed obesity diet with <i>B. oleracea</i> ethanol extract | 45 |
| Table 25. Effect of <i>B. oleracea</i> extract on HR-LPL activity in adipose tissue of rats fed high fat diet | 75 |
| Table 26. Effect of <i>B. oleracea</i> extract on TE-LPL activity in adipose tissue of rats fed high fat diet | 76 |

LIST OF FIGURES

| | |
|---|----|
| Fig. 1. FER of rats fed experimental diet with <i>B. oleracea</i> extract for 4 weeks | 46 |
| Fig. 2. Liver weight/body weight of rats fed experimental diet with <i>B. oleracea</i> extract for 4 weeks | 47 |
| Fig. 3. Effect of <i>B. oleracea</i> ethanol extract diets on epididymal and mesenteric adipose tissue weights of rats fed high fat diet | 48 |
| Fig. 4. Serum activity of ALT in the rats fed experimental diet with <i>B. oleracea</i> extract for 4 weeks | 51 |
| Fig. 5. Serum activity of AST in the rats fed experimental diet with <i>B. oleracea</i> extract for 4 weeks | 52 |
| Fig. 6. Serum activity of alkaline phosphatase(ALP) in the rats fed experimental diet with <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks | 53 |
| Fig. 7. Contents of triglyceride in the rats fed experimental diet with <i>B. oleracea</i> extract for 4 weeks | 55 |
| Fig. 8. Contents of total cholesterol in the rats fed experimental diet with <i>B. oleracea</i> extract for 4 weeks | 56 |
| Fig. 9. Contents of LDL-cholesterol in the rats fed experimental diet with <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks | 60 |
| Fig. 10. Contents of HDL-cholesterol in the rats fed experimental diet with <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks | 61 |
| Fig. 11. Contents of HDL-C/TC in the rats fed experimental diet with <i>B.</i> | |

| | | | |
|---|---|-------------|----|
| | <i>oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks | 62 | |
| Fig. 12. Atherosclerotic index(AI) of rats fed experimental diet with | <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks | 63 | |
| Fig. 13. Cardiac risk factor(CRF) of rats fed experimental diet with | <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks | 64 | |
| Fig. 14. Contents of triglyceride in the liver of rats fed experimental diet with | <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks | 66 | |
| Fig. 15. Contents of total cholesterol in the liver of rats fed experimental diet | with <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks | 67 | |
| Fig. 16. Contents of triglyceride in the mesenteric adipose tissue of rats fed | experimental diet with <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks ... | 69 | |
| Fig. 17. Contents of total cholesterol in the mesenteric adipose tissue of rats fed | experimental diet with <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks | 70 | |
| Fig. 18. Contents of triglyceride in the epididymal adipose tissue of rats fed | experimental diet with <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 weeks | 71 | |
| Fig. 19. Contents of total cholesterol in the epididymal adipose tissue of | rats fed experimental diet with <i>B. oleracea</i> ethanol extract for 4 | weeks | 72 |

ABSTRACT

Anti-obesity Effect of Vegetable Sprouts in 3T3-L1 Adipocytes and Rats

Shin, Hyoung-Duck

Advisor : Prof. Lee, Myung-Yul, Ph. D.

Department of Food and Nutrition,

Graduate School of Chosun University

This study was performed to investigate the effect of ethanol extract of vegetable sprout on the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes *in vitro*, and anti-obesity effect in rats fed normal or high fat diet *in vivo*. In order to develop development of the anti-obesity natural plant materials, the inhibitors of adipocytes differentiation were screened from vegetable sprout ethanol extracts such as broccoli, alfalfa, barely, rapeseed, red radish, red brussels, chinese cabbage and buckwheat. Treatment of broccoli sprout ethanol extracts(50 µg/mL) among the vegetable sprout ethanol extracts decreased differentiation and proliferation, and blocked accumulation of triglyceride in 3T3-L1 preadipocytes. Thus, an ethanol extract of brassica oleracea(BO) was selected as a candidate of adipocytes differentiation inhibitor. Therefore, this study was also conducted to investigate the anti-obesity effect of an ethanol extract of BO on the high fat diet-induced

obese rats *in vivo*. Male Sprague–Dawley rats were fed 20%(w/w) high fat diet for 4 weeks to induce obesity. Experimental groups were normal diet(N), high fat diet(HF), normal diet and BO with 200 mg/kg treated group(NBL), normal diet and BO with 400 mg/kg treated group(NBH), high fat diet and BO with 200 mg/kg treated group(HBL), and high fat diet and 400 mg/kg treated group(HBH). After feeding of an ethanol extract of BO, adipose tissue heparin-releasable lipoprotein lipase(HR-LPL) and total extractable lipoprotein lipase(TE-LPL) activities, serum and liver lipid profiles were measured. The body weight gain was increased by high fat diet, but gradually decreased to the corresponding level of the normal diet group by administered BO extract. There was a significant increase in the activities of serum alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase(ALP) in the high fat diet group. The administration of BO ethanol extract decreased serum ALT, AST and ALP activities in dose dependent manners. Concentrations of serum total cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride and the atherogenic index were tended to be decreased in the BO ethanol extract administered groups compared with the high fat diet group. However, HDL-cholesterol and phospholipid concentrations in serum decreased in the high fat diet group and markedly increased by the BO ethanol extract administered groups. In addition, significantly increased levels of triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol in the serum of HF were returned to the normal or even below the normal by administering of an ethanol extract of BO. There were no differences in the concentrations of serum triglyceride, phospholipid,

LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and free cholesterol between normal diet groups. Concentrations of total cholesterol and triglyceride in liver were also markedly decreased in the BO administered groups. Total cholesterol and triglyceride concentrations of adipose tissue in the BO administered groups were also decreased compared with the high fat diet group. In addition, there were no differences in the concentrations of liver and adipose tissue triglyceride and total cholesterol between normal diet groups. The increased activities of HR-LPL and TE-LPL in adipose tissue by high fat diet were decreased to the activity of normal group by administering of an ethanol extract of BO, as a dose-dependant manner. There were no differences between normal diet group and with BO 400 mg/kg treated group in HR-LPL and TE-LPL activities of adipose tissue. Taken together, it is suggested that the extract of BO decreases differentiation and proliferation, and blocked accumulation of triglyceride in 3T3-L1 preadipocytes, and leads to the decreased LPL activity and triglyceride concentration in high fat diet-induced obese rats, thereby potentially reducing lipid storage.

제1장 서론

최근 우리나라 식생활의 형태가 급격히 서구화되고 경제적인 수입 증대로 인하여 생활이 편리화, 자동화되고 현대인들의 신체적 활동량은 과거에 비해 급격히 낮아지고 있다. 일상생활에서의 활동량과 운동량이 부족하게 되는 반면에 섭취열량은 과다해지면서 비만증 발생이 급증하고 있는 실정이어서 비만증에 대한 국민의 관심이 집중되고 있다. 이로 인하여 비만의 문제는 이제 서구 여러 나라 문제가 아니라 우리나라에서도 심각한 사회문제로 대두되고 있다(1,2).

비만은 건강의 적이며, 장수의 적이라고 말해지고 있는데 1996년 세계보건기구(WHO)는 비만을 '질병'으로 규정하고 2004년 '비만과의 전쟁'을 전 세계에 촉구했다. 비만의 문제는 단순히 외모상의 이유 때문만이 아니라 불편감, 비능률을 유발하여 생리적 기능을 저하시키고 일상생활을 위축시킨다(3). 하지만 비만의 최대문제는 비만에 의해 발생하는 합병증이다. 비만으로 인하여 혈액 내의 콜레스테롤과 중성지방의 양이 증가되는 고지혈증이 발생되어 고혈압, 심혈관계 질환 및 뇌졸중의 발생이 증가한다. 이는 말초조직(4)과 복부지방조직에서의 중성지방축적(5-7) 또는 말초조직 중성지방(8,9)의 증가로 인슐린 저항성이 유발되어 제2형 당뇨병을 발생시킬 수 있다. 또한 비만은 관절염, 호흡기능 장애, 불임 및 월경불순, 악성종양 등과 같은 여러 가지 합병증이 유발되기 때문에 장기적인 관리와 치료가 절대적으로 필요하다. 한편, 비만지수가 높으면, 혈청 중 총 콜레스테롤 함량이 증가하는 것으로 밝혀져 있어(7) 비만증에서 유의한 의미를 갖는다. 중성지방은 전신의 각종 지방조직의 주성분으로서 생체의 에너지 저장에 관여하고 있다(9). 또한 지질대사의 이상에 중요한 역할(9)을 하고 있으며 비만지수가 높으면 혈청 중 중성지방의 변화는 비만증의 유무를 판단할 수 있는 근거가 된다.

비만을 억제하기 위해서는 약물투여와 수술뿐만 아니라 식이요법, 운동, 행동수정요법들을 병행할 경우 좋은 효과를 나타내며(10), 이중 식이요법은 비만의 예방과 치료에 있어서 가장 중요하고 근본적인 방법이다(5). 항비만 효능을 나타내는 기능성 식품 소재에 대한 연구도 활발하게 이루어져 *Garcinia cambogia* 과실의 껍질에

서 추출한 성분인 hydrocitrinate(11,12)와 더불어 carnitine(13), conjugated linoleic acid(14,15), 식이섬유(16) 등의 소재들이 항비만 소재로 활용되며 또한 이를 이용한 다양한 형태의 비만 억제용 제품이 소개되고 있다.

그러나 그 중에는 부적절한 체중감소 및 신체적 부작용 발생 등의 문제가 대두되었기 때문에 일상적으로 섭취하여 온 식품의 섭취를 통한 비만억제가 필수적임을 제기하는 보고들이 많다(17-19). 현재 국제적으로 공인된 비만치료제는 식욕억제제인 리덕틸(원재료명: 시부트라민)과 지방의 소화를 억제하는 제니칼(원재료명: 오를리스타트) 등이 있다. 이들은 모두 의약품으로 부작용이 있을 수 있다는 점에서 일반 소비자가 예방 목적으로 복용하는 것은 곤란하며 또한 위험하다. 따라서, 화학적으로 합성된 약품들의 부작용의 우려 없이 안전하게 예방·치료제로서 사용할 수 있는 식물 소재 및 물질에 대한 개발이 계속해서 요구되어 왔다.

새싹채소는 씨앗에서 싹이 나와 잎이 1~3개 정도 되는 싹이 발아한지 1주일 남짓된 어린 채소를 말한다. 두꺼운 껍질과 배아 속에서 안전하던 씨앗이 수분과 온도가 주어지면서 싹이 트는데 이때 식물은 곰팡이, 박테리아 등 외부의 적으로부터 자신을 방어할 무기로서의 생리활성물질을 생산하게 된다. 싹이 트기 시작에 따라 3일에서 9일 정도로 본 잎이 나오기 전의 어린 떡잎 상태일 때가 이러한 유용한 생리활성물질의 생성량이 최대가 되며 완전히 자란 식물에 비해 4~100배 정도 이상 함유하고 있다. 새싹채소는 성숙한 채소에 비해, 기능성 성분인 비타민과 무기질을 비롯한 식이섬유소와 기능성 생리활성물질을 다량 함유하고 있다(20-24). 메밀은 발아과정 중 불용성 식이 섬유소와 수용성 식이 섬유소가 증가하고 rutin과 같은 생리활성물질도 증가하며(25-27) rutin 외에도 메밀의 성분은 단백질 함량이 비교적 많은 편이다(28). 또한 필수 아미노산인 lysine 및 arginine과 leucine의 함량도 높아 우수한 아미노산 조성을 갖고 있는 것으로 알려져 있다(29). 유채는 발아 과정 중 필수아미노산과 항산화 비타민 함량이 현저히 증가되었다(30). 무순은 항산화 비타민, 식이섬유소 및 isothiocyanates 함량이 높으며(31), 알팔파 싹은 polyphenol을 비롯하여 양질의 단백질, 불포화 지방산 및 식이섬유소가 풍부하다(32). 특히 알팔파에는 사포닌 함량이 높은 것으로 알려져 있는데 알팔파 사포닌은 실험동물에 급여

하면 혈청콜레스테롤 저하작용에 관여하는 것으로 보고되었다(33-38). 보리의 주요식이섬유 성분인 β -glucan은 병아리(39), 쥐(40,41), 사람(42-45)에서 콜레스테롤 저하 효과가 보고되고 있다. 국내에서 보리와 관련된 동물실험 결과들은 탄수화물 급원으로 쌀과 보리 등 곡류 급원을 달리하였을 때 간과 혈중 지질농도에 미치는 영향이 보고된 바 있다(46). Choi 등(47,48)은 최근 메밀의 생리적 기능과 관련하여 혈당이나 혈청콜레스테롤 저하 효과, 간장 중성지방 축적의 억제효과 등을 밝혀 기능성 식품으로의 개발가능성을 시사한 바 있고, Choi(49)은 30% 메밀혼합국수를 4주간 흰쥐에 투여시 혈청중성지질농도의 개선 효과를 보고하고 있으며, Lee 등(50)은 당뇨를 유발한 흰쥐에 메밀투여시 혈당감소와 혈중지질농도의 감소를 관찰한 바 있다. Kayashita 등(51)은 흰쥐에서 메밀단백질 투여에 의한 혈장콜레스테롤 농도의 감소를 보고하였다. Kao 등(54)은 녹차 카테킨류 중 특히 Epigallocatechin Gallate(EGCG)가 역학적 그리고 임상적 연구조사에서 비만과 당뇨병에 효과가 있는 것으로 보고하였다. Wolfram 등(55)은 EGCG의 항비만 효과를 세포배양과 비만 동물모델에서 실험한 결과 EGCG가 지방세포의 분화와 증식에 영향을 미치며 비만 동물에서는 지방합성, 지방량, 체중, 혈청 지질, 포도당, 인슐린, 렙틴함량 감소와 지방산 산화와 체내 열생성 증가를 보고하였다.

우리나라의 경우 새싹 채소에 대한 수요와 관심이 급속도로 증가하는 추세이지만 이들에 대한 연구 및 개발은 미흡하여 무순, 메밀, 알팔파 등의 몇 가지 채소와 두과작물에 대해 한정적으로 이루어져왔다(28,31,33-38). 더욱이 새싹채소는 다량의 다양한 생리활성물질을 함유하고 있지만 이들의 효능에 관한 연구는 전무후무한 실정이다. 따라서 새싹채소와 같은 천연식품을 식품 재료화하여 기능성식품의 신소재로 개발하기 위해서는 과학적이며 체계적인 생리활성 연구가 우선적으로 선행되어야 한다.

전지방세포(Preadipocyte)인 3T3-L1 세포는 3T3 세포로부터 유래된 세포주로서 그 생물학적 특성이 잘 밝혀져 있어 지방세포의 대사과정은 물론 지방축적과 지방세포의 분화과정을 연구하는데 널리 사용되고 있다(52,53). 특히 많은 연구자들이 비만의 중요한 과정 중의 하나인 전지방세포의 증식 및 지방세포로의 분화에 영향

을 미치는 물질을 탐색하고 그 작용과정을 밝히는데 3T3-L1 세포를 이용하여 실험하였다.

3T3-L1 지방세포는 mouse의 배아에서 추출한 fibroblast로써 지방세포로 분화할 수 있으며, 이 세포는 배양액에 특정 인자를 첨가했을 때 지방세포로 분화한다.

따라서 본 연구는 먼저 3T3-L1 지방세포를 이용하여 *in vitro* 에서 브로콜리, 적무, 배추, 메밀, 알팔파, 유채, 적양배추 중 비만예방효과가 우수한 새싹채소를 먼저 선별하였다. *In vitro* 에서 항비만 효과가 효능이 검증된 새싹 채소를 *in vivo*에서 고지방 비만 식이를 급여한 흰쥐 모델을 이용하여 비만 억제 효과를 검토하고자 한다.

제2장 재료 및 방법

제1절 실험재료

새싹채소(브로콜리, 알팔파, 메밀, 유채, 적무, 배추, 적양배추, 보리)는 2006년 12월 대농바이오영농법인에서 구입하여 동결건조 한 후 그 중 브로콜리 새싹을 시료로 사용하였다.

제2절 성분분석

1. 일반성분

일반성분은 Association of Official Analytical Chemists(A.O.A.C.)방법(56)에 준하여 수분은 105℃ 상압가열건조법, 조단백질은 micro-kjeldahl법, 조지방은 soxhlet 추출법 및 조회분은 회화법으로 분석하였고, 탄수화물은 100에서 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분량을 제외한 값으로 나타냈으며 측정치는 3회 반복하여 측정된 수치의 평균값으로 나타내었다.

2. 아미노산

구성 아미노산의 분석은 분해관에 시료 0.5 g 과 6 N HCl 3 mL를 취하여 탈기하고 121℃에서 24시간 가수분해한 다음 여액을 rotary vacuum evaporator로 감압·농축한 후 sodium phosphate buffer(pH 7.0) 10 mL로 정용하였다. 용액 1 mL를 취하고 membrane filter(0.2 μM)로 여과한 다음 아미노산자동분석기(Biochrom 20, Phamacia UK)로 분석하였으며, 분석조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Operating condition of Amino Acid Autoanalyzer for amino acids

| Item | Condition |
|-----------------|---------------------------------|
| Instrument | Biochrom 20(Phamacia UK) |
| Buffer solution | Sodium phosphate buffer(pH 7.0) |
| Reagent | Ninhydrin(Phamacia) |
| Inj. volume | 20 μL |

3. 지방산

지방산 분석은 A.O.A.C.방법(56)에 준하여 시료 5 g을 blender로 균질화한 후 chloroform 10 mL와 methanol 20 mL을 가하고 2분간 균질화한 다음, chloroform 10 mL을 가하여 30초간 분사시켰다. 여과 후 30분간 방치한 후 상층을 제거하고 무수 Na₂SO₄를 가하여 탈수한 다음 rotary vacuum evaporator로 감압·농축하였다. 지방 100 mg을 toluene 5 mL에 용해하고 BF₃-MeOH으로 메칠화하여 Gas Chromatography (GC-17A, Shimadzu, Japan)로 분석하였으며 분석조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Operating condition of Gas Chromatography for fatty acids

| Item | Condition |
|----------------|--|
| Instrument | GC-17A(SHIMADZU, JAPAN) |
| Column | SP TM -2560 capillary column(100 mm length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness) |
| Column temp. | 170°C(5 min.) to 250°C(10 min.) at 4°C/min. |
| Injector temp. | 230°C |
| Detector temp. | FID 270°C |
| Inj. volume | 2 μL |
| Split ratio | 1 : 50 |

4. 비타민 A 와 비타민 E

시료 0.5 g을 culture tube에 칭량하고 여기에 ascorbic acid 0.1 g과 ethanol 5 mL를 가한 다음, 80°C로 setting된 shake water bath에서 10분간 가수분해시켰다. 위의 용기에 다시 0.25 mL 50% KOH용액을 첨가하여, 같은 온도에서 20분가량 가수분해 시킨 후, 초순수 증류수 3 mL와 5 mL hexane를 가하였다. 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 시킨 다음, 상층액을 separate funnel에 옮겨 담고 5 mL hexane을 가하고 같은 조건에서 원심분리 시킨 다음, 상층액을 separate funnel에 옮겨 담았다.

Separate funnel에 초순수 증류수를 약간 가하여 10분간 방치하였다가 하층을 제거하고 이를 3회 반복한 후, 남아있는 수분을 Na_2SO_4 로 완전 제거한 다음 여과하였다. 여액을 N_2 gas로 hexane을 휘발, vitamin A, E용액을 2 mL로 농축하여 HPLC로 측정하였으며 분석조건은 Table 3과 같다

Table 3. Operating condition of HPLC for vitamin A and E

| Item | Condition |
|-------------|--|
| Instrument | LC-10AVP(Shimadzu, Japan) |
| Column | Shim-pack GLC-ODS(M) 25 cm |
| Eluent | acetonitrile : isopropanol = 95 : 5 |
| Flow rate | 1 mL/min. |
| Inj. volume | 10 μL |
| Detection | Retinol : SPD-10A(UV-VIS Detector 254 nm) Tocopherol : RF-10A(Spectrofluorometric Detector) |

5. 유기산

마쇄한 시료 1 g에 증류수 50 mL를 가하여 80℃ 수조에서 4시간 가열한 다음 Whatman filter paper (No. 2)로 여과하고, 여액을 rotary vacuum evaporator로 감압·농축한 후 증류수로 10 mL로 정용하여 Ion Chromatography(DX-600, Dionex, USA)로 분석하였으며 분석조건은 Table 4와 같다.

Table 4. Operating condition of Ion Chromatography for organic acids

| Item | Condition |
|-------------|-------------------------------------|
| Instrument | DX-600(Dionex, USA) |
| Column | IonPac ICE-AS6 analytical, 4-mm |
| Eluent | 0.4 mM Heptafluorobutyric acid |
| Reagent | 5.0 mM tetrabutylammonium hydroxide |
| Flow rate | 1.0 mL/min. |
| Inj. volume | 20 μ L |
| Detection | Supressed conductivity |

6. 무기질

시료 0.5 g, 20% AgNO₃ 10 mL 및 60% HClO₄ 3 mL를 취하여 투명해질 때까지 가열한 후 0.5 M AgNO₃으로 50 mL를 정용하였다. 분석항목별 표준용액을 혼합 후 다른 vial에 8 mL씩 취하여 표준용액으로 하였고, 0.5 M AgNO₃을 대조구로 하여 원자흡수분광광도계(AA-6501GS, Shimadzu, Japan)로 분석하였으며 분석조건은 Table 5와 같다.

Table 5. Operating condition of atomic absorption Spectrophotometer for minerals

| Item | Condition | | | | | | | |
|-------------------------|---------------------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|--------|
| Instrument | A4-6501GS(Shimadzu) | | | | | | | |
| Lamp Item | Fe | Ca | K | Mg | Mn | Cu | Na | Zn |
| Wave length(nm) | 766.5 | 248.3 | 279.5 | 324.8 | 330.2 | 213.9 | 330.2 | 213.9 |
| Current(mA) | 10 | 12 | 10 | 6 | 10 | 8 | 10 | 8 |
| Slit Width(nm) | 0.5 | 0.2 | 0.2 | 0.5 | 0.2 | 0.5 | 0.2 | 0.5 |
| Lighting Mode | Non-BGC | BGC-D2 | BGC-D2 | BGC-D2 | Non-BGC | BGC-D2 | Non-BGC | BGC-D2 |
| Burner height(mm) | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Fuel gas Flow (mL/min.) | 2.0 | 2.2 | 2.0 | 1.8 | 1.8 | 2.0 | 1.8 | 2.0 |

7. 양 · 음이온

시료 5 g을 증발접시에 취하여 회화로에서 24시간 회화한 후 30분간 방냉시키고 HCl : 증류수 = 0.5 : 3.5인 용액 4 mL와 증류수 10 mL를 가하여 가온하면서 용해하였다. 상기 용액을 증류수로 100 mL로 정용하여 Ion Chromatography (DX-600, Dionex, USA)로 분석하였으며, 분석조건은 Table 6~7과 같다.

Table 6. Operating condition of Ion Chromatography for cations

| Item | Condition |
|-------------|-------------------------------|
| Instrument | DX-600(Dionex, USA) |
| Column | IonPac CS12A Analytical, 4-mm |
| Guard | IonPac CG12A Guard, 4-mm |
| Eluent | 21.0mM Sulfuric acid |
| Flow rate | 1.0 mL/min. |
| Inj. volume | 20 μ L |
| Detection | Supressed conductivity |

Table 7. Operating condition of Ion Chromatography for anions

| Item | Condition |
|---------------|------------------------------|
| Instrument | DX-600(Dionex, USA) |
| Column | IonPac AS18 Analytical, 4-mm |
| Guard | IonPac AG18 Guard, 4-mm |
| Eluent | 23.0mM KOH |
| Eluent source | EGC-KOH Cartridge |
| Flow rate | 1.0 mL/min. |
| Inj. volume | 20 μ L |
| Detection | Surpressed conductivity |

8. 구성당

구성당 분석은 Gancedo 방법(57)에 준하여 실시하였다. 시료 1 g에 80% ethanol 50 mL를 가하여 heating mantle에서 75°C로 5시간 가열한 다음 Whatman filter paper (No. 2)로 여과하고 여액을 rotary vacuum evaporator에서 감압·농축 후 10 mL로 정용하여 Ion Chromatography(DX-600, Dionex, USA)로 분석하였으며, 분석조건은 Table 8과 같다.

Table 8. Operating condition of Ion Chromatography for free sugars

| Item | Condition |
|-------------|-----------------------------|
| Instrument | DX-600(Dionex, USA) |
| Column | CarboPac TM-PA10 Analytical |
| Guard | CarboPac TM-PA10 |
| Eluent | 18mM NaOH |
| Flow rate | 1.0 mL/min. |
| Inj. volume | 20 μ L |
| Detection | Supressed conductivity |

9. 식이섬유소

브로콜리 추출물의 불용성 식이섬유소 함량은 Mongeau등의 방법(58)에 의하여 측정하였다. 0.5 g의 시료에 100 mL 중성세제 용액을 넣어 60분간 reflux한 후 P₂ crucible을 50mL 비이커에 넣고 15 mL의 뜨거운 물과 10 mL의 α -amylase (Sigma A-3176)를 넣어 55°C에서 60분간 방치한 후 감압 여과하고 100 mL 이상의 뜨거운 물과 acetone으로 세척하였다. 이 P₂ crucible을 105°C 오븐에서 밤새 둔 다음 잔기(residue)의 양(W₁)을 칭량하고, 525°C 회화로에서 4시간 동안 회화시킨 후 회분의 양(W₂)을 칭량하였다.

한편, 브로콜리 추출물의 수용성 식이섬유소는 Mongeau등의 방법(58)에 의하여 다음과 같이 분석하였다. 즉, 0.5 g의 시료에 20 mL 증류수와 10 mL의 phosphate buffer를 넣어 120°C, 15psi에서 1시간 동안 멸균한 후 0.1 mL의 heat stable amylase(Sigma A-5426)를 넣고 끓는 물에 30분간 두었다. Celite를 깔아 놓은 P₃ crucible을 통하여 감압 여과한 여과액을 pH 4.5로 조정 한 다음 50 μ l의 amyloglucosidase(Sigma A-9913)를 넣어 60°C water bath에 30분간 방치한 다음 165 mL anhydrous ethanol을 부어 상온에서 60분간 정치시켰다. 0.5 g 정도의 celite를 깔아놓은 P₄ crucible에 정치시켜두었던 용액을 감압여과하고 ethanol과 acetone으로 세척한 다음 105°C 오븐에서 밤새 건조시켰다.

차후의 조작은 불용성 식이섬유소의 경우와 같다. 이 모든 과정을 blank도 같이 진행하였다. 총 식이섬유소 함량은 측정된 불용성 식이섬유소 값과 수용성 식이섬유소 값의 합으로 하였다.

제3절 *In vivo*에서 비만예방효능 실험

1. 실험기기

- Centrifuge : Eppendorf 5810R, Germany
- Evaporator : Rotary vacuum evaporator, Eyela, Japan
- Spectrophotometer : Shimadzu UV-1601PC, Kyoto, Japan
- Deep freezer : MDF-V52 SANYO, Japan
- Ultra Turax : IKA MT-25 Janke & Kunkel, Germany
- Shaking water bath : JEIO-TEK SWBO3, Korea
- Liquid scintillation counter : Packard Tri-Carb 3170TR/SL, USA
- Freeze Dryer : ED 8512. Ilshin, Korea
- Ultrasonic preprocessor : VCX-750, USA
- CO₂ incubator : MCO-18AIC, Japan

2. 시료추출

브로콜리, 알팔파, 보리, 메밀, 유채, 적무, 배추, 적양배추의 새싹채소를 동결건조한 후 Waren blender(Braun MR 350. CA. USA)로 조분쇄하여 시료로 사용하였다. 검색용 생리활성 물질을 건조 시료 100 g당 80% 에탄올 500 mL을 첨가한 후 환류냉각관을 부착한 65°C의 heating mantle에서 3시간씩 3회 추출한 다음 Whatman filter paper(No. 2)로 여과하였고 여액을 40°C 수욕상에서 rotary vacuum evaporator로 용매를 제거하고 감압·농축한 후 -70°C에 냉동 보관하였다. 이것의 일부를 110°C에서 건조시킨 후 고형분 함량을 추출물 수율로 계산한 다음 시료의 산화방지를 위하여 -70°C에 냉동 보관하면서 사용하였다.

3. *In vitro*에서 비만예방효능 실험

가. 세포배양

세포배양은 Chen 등(59)의 방법을 약간 변형하여 실시하였다. 분화유도 6일전 (day -6)에 3T3-L1 지방전구세포를 6-well tissue culture plates에 3×10^4 cells/well로 seeding하고, 10% FBS를 포함한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM)으로 day 6일까지 14일 동안 2일 간격으로 배양액을 갈아주면서 37°C의 5% CO₂ incubator에서 배양시켰다. Day 1에 분화를 유도시키기 위해서 DMEM에 10 µg/mL insulin(INS), 1 µM dexamethasone(Dex), 0.5 nmol/L IBMX를 함유시켰고, day 2에는 같은 양인 10 µg/mL INS 만을 함유시켰다 (1,2). 대조군으로는 새싹채소 에탄올 추출물을 희석하는데 사용된 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 처리하였으며, 각 처리시기에 따라 3T3-L1 지방전구세포의 증식과 분화과정을 잘 보여 주었다.

나. 지방세포분화 측정

3T3-L1 지방전구세포의 분화는 sn-glycerol-3-phosphate dehydrogenase(GPDH; EC 1.1.18)를 측정함으로써 구명했는데, GPDH는 dihydroxyacetone phosphate를 glycerol-3-phosphate로 전환시키는 효소로, glycerol-3-phosphate는 중성지방 합성에 필요한 물질이기에 지방전구세포가 성숙한 지방세포로 분화했는지를 구명할 수 있는 효소로 이용되고 있다. Wise와 Green의 방법(60)을 변형하여 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 세포배양이 끝난 후(대개 day 14) 6-well plate의 배양액을 완전히 제거하고 phosphate buffer saline(PBS)로 남아있는 배양액을 씻어낸 후 260 µL homogenizing buffer(pH 7.4; 0.25 M sucrose, 5 mM

Tris base, 1 mM EDTA, 1 mM dithiothreitol)를 이용하여 6-well plate의 세포를 scrapping하여 1.5 mL eppendorf tube에 수집해 가루 얼음 위에 꽂아두었다. 다음으로 6 watt로 10초 동안 세포를 sonication(Sonics & Materials, Ins.)시켜 12,000 rpm으로 4°C에서 10분 동안 원심분리시켰다. 상층액(supernant) 200 µL를 취해서 새로운 eppendorf tube에 옮긴 후 assay buffer(100 mM triethanolamine, 2.5 mM EDTA, 0.1 mM β-mercaptoethanol, 0.176 NADH) 800 µL와 기질인 0.16 µM dihydroxyacetone phosphate lithium solution 100 µL 그리고 상층액 150 µL를 cuvette에 넣고 shaking한 뒤 spectrophotometer(Shimadzu, UV-Visible Spectrophotometer, UV-1601, Japan)를 이용하여 340 nm에서 흡광도를 측정하여 GPDH 활성을 측정하였다.

다. 3T3-L1 지방세포에 중성지방 축적을 증가시키는 새싹채소 추출 분획물 탐색

3×10^4 cells/mL의 3T3-L1 지방전구세포를 6 well plate의 각 well에 넣고 PBS로 세척한 후 1% bovine serum albumin(BSA)을 함유하고 있는 고농도 포도당 DMEM 배지에서 2일 동안 배양 배양한 후 새로운 DMEM 배지로 교환하였다. 3T3-L1 지방전구세포에 DMSO(control) 및 8종류의 새싹채소 에탄올 추출물 50 µg/mL를 분화 유도물질인 0.25 µM dexamethasone(DEX, Sigma-Aldrich, ST.Louis, MI, USA), 10 µg/mL insulin(Sigma, St. Louis, MI, USA)과 함께 처리하여 4일 동안 분화시켰다. 다시 배지를 교환하고 분화유도물질없이 DMSO 및 새싹채소 에탄올 추출물을 배지에 처리하고 6일 동안 배양하였다. 6일째에 세포에 glycerol이 포함 되어 있지 않은 lysis buffer(20 mM Tris, pH 7.4, 2 mM EDTA, 137 mM NaCl, 1% NP40, 10% glycerol, 12 mM β-glycerol phosphate와 protease inhibitors)로 용출한 후 측정된 중성지방 함량을 측정하

였다(61,62). 또한 상층액의 단백질 함량 측정은 Bradford와 Marion(63)의 방법에 따라 용액 B(coomassie brilliant blue G, phosphoric acid, 95% ethanol) 900 μL 와 sample 5 μL 를 UV cuvette에 넣고 흔들어준 후 spectrophotometer를 이용하여 590 nm에서 값을 측정하였다.

라. 지방세포 수 측정

3T3-L1 지방전구세포를 day -6일에 1.8×10^4 cells/mL로 96 well plate에 seeding과 동시에 각각의 새싹채소 에탄올 추출물 50 μL 를 처리하고, day -2에 tetrazolium salt WST-1(4-[3-iodophenyl]-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate)을 이용하여 세포수를 측정하였다. DMEM으로 100 μL 넣은 뒤 37°C의 5% CO₂ incubator에 넣고 3시간 배양시킨 다음, microplate reader (Molecular Devices, CA, USA) 450 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 수를 산출하였다.

4. *In vivo*에서 비만 예방효능 실험

가. 실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 Sprague Dawley계 5주령 음성 흰쥐 36마리를 조선대학교 실험동물 센터에서 1주일 동안 기본식으로 적응시킨 후, 평균 체중 153~155 g인 것을 난괴법에 따라 Table 9와 같이 식이하였다. 즉, 정상군(N), 비만 식이 급여군(HF), 새싹채소 에탄올 추출물 체중 kg당 200 mg 및 정상식이 병합투여군(이하 N-BL이라 함), 새싹채소 에탄올 추출물 체중 kg당 400 mg 및 정상식이 병합 투여군(N-BH), 새싹채소 에탄올 추출물 체중 kg당 200 mg 및 비만 식이 병합투여군(HF-BL), 새싹채소 에탄올 추출물 체중 kg당 400 mg 및 비만 식이 병합투여군(HF-BH)으로 구분하여 4주 동안 상자(cage)에 2마리씩 사육하였다. 비만 유발식은 AIN-93(64)을 기준으로 비만을 유도하기 위하여 lard를 첨가하여 조제하였다. 물과 식이는 제한 없이 공급하였고 사육실 온도는 $18\pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 유지하였으며 조명은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였다. 최종 체중에서 실험개시 전의 체중을 감하여 실험개시 전의 체중으로 나누어 체중증가율로 표시하였고, 사육기간의 체중증가량을 동일 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군의 식이효율을 구하였다.

Table 9. Experimental design

| <i>Groups</i> | <i>Diet composition</i> |
|---------------|-------------------------------|
| <i>N</i> | Basal diet ¹⁾ |
| <i>HF</i> | High fat diet ²⁾ |
| <i>N-BL</i> | Basal diet + BL ³⁾ |
| <i>N-BH</i> | Basal diet + BH ⁴⁾ |
| <i>HF-BL</i> | High fat diet + BL |
| <i>HF-BH</i> | High fat diet + BH |

^{1),2)} According to AIN-93 diet composition (Table 10)

³⁾ BL : *B. oleracea* ethanol extract 200 mg/kg of b.w./day

⁴⁾ BH : *B. oleracea* ethanol extract 400 mg/kg of b.w./day

Table 10. Composition of experimental diet

| | <i>(g/kg)</i> | |
|--|---------------|----------|
| Diet composition | Basal diet | High-fat |
| Casein | 200.0 | 200.0 |
| L-methionine | 3.0 | 3.0 |
| Choline bitrate | 2.0 | 2.0 |
| Corn starch | 500.0 | 400.0 |
| Sucrose | 100.0 | 100.0 |
| Cellulose | 50.0 | 50.0 |
| Vitamin mixture(AIN 93) ¹⁾ | 35.0 | 10.0 |
| Mineral mixture (AIN 93) ²⁾ | 10.0 | 35.0 |
| Lard | 100.0 | 200.0 |

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 H₂O(9.88% Si) 1.45, Manganese carbonate(44.79% Mn) 0.63, Cupric carbonate(57.47% Cu) 0.30, Chromium potassium sulfate 2H₂O(10.42% Cr) 0.275, Boric acid(17.5% B) 0.0815, Sodium fluoride (42.25% F) 0.0635, Nickel 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 · H₂O (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 3000, Capantothenate 1600, Pyridoxin-HCl 700, Thiamin-HCl 600, Riboflavin 600, Folic acid 200, Biotin 20, Vitamin B₁₂(cyanocobalamin)(0.1% in manitol) 2500, Vitamin E(all-rac-tocopheryl acetate)(500IU/g) 15,000, Vitamin D₃(cholecalciferol)(400,000IU/g) 800, Vitamin K(phyloquinone) 75, Powdered sucrose 974.665

나. 실험동물의 처리

실험동물은 사양시험 종료 후 16시간 절식시킨 후 CO₂로 가볍게 마취한 다음 회복한 후 복부대동맥에서 채혈하여 실온에서 30분간 방치하였다. 3,000 rpm에서 20분간 원심분리시킨 후 혈청을 분리하여 혈청 지질측정용 시료로 사용하였다. 그리고 간과 지방조직을 적출하여 0.9% 생리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 여지로 수분을 제거한 후 중량을 측정한다. 다음 효소 활성 저하를 예방하기 위해 급속 동결하여 -70℃의 deep freezer에 보관하였다.

다. 혈청 지질함량 측정

혈청 중 중성지방(TG), 총콜레스테롤(TC), alanine transaminase(ALT), aspartate transaminase(AST), alkaline phosphatase(ALP), HDL-콜레스테롤의 혈액생화학적 검사를 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm., Japan)를 사용하여 측정하였다. LDL-콜레스테롤함량은 Friedwald식 {총콜레스테롤 - (HDL-콜레스테롤 - 중성지방/5)}(65)에 의하여 계산하였다. HDL-콜레스테롤의 총콜레스테롤에 대한 비율은 HDL-콜레스테롤을 총콜레스테롤로 나누어 계산하였다. 심혈관계질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 {(총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤}에 의하여 구하였으며, 심혈관위험지수(cardiac risk factor, CRF)는 총콜레스테롤을 HDL-콜레스테롤로 나누어 구하였다.

라. 간장 지질함량 측정

간장의 총 지질은 Folch법(66)에 의하여 적출한 0.1 g의 간장조직에 CHCl_3 -MeOH (2 : 1, v/v)과 H_2O 를 첨가하고 3,000 rpm에서 20분간 원심분리시킨 후 하층부를 취하여 콜레스테롤 분석용과 중성지방 분석용을 따로 준비하였다. 총 콜레스테롤함량은 Zlatkis와 Zak의 방법(67)에 의하여 측정하였으며, 중성지방함량은 Biggs 등(68)의 방법으로 측정하였다.

마. 지방조직 지질함량 측정

적출한 부고환지방조직과 내장지방조직에서 Folch 등(66)의 방법으로 지방을 추출한 후 간장조직의 지질함량 측정과 동일한 방법으로 총 콜레스테롤과 중성지방함량을 측정하였다.

바. 지방조직의 LPL 활성 측정

부고환지방조직과 내장지방조직의 heparin-releasable LPL(HR-LPL) 활성은 heparin을 함유한 배양액 중으로 방출된 지방조직의 세포외액에 함유된 LPL만의 활성을 측정하는 것으로, Nilsson-Ehle과 Schotz의 방법을 변형시킨 Fried와 Zechner의 방법에 의하여 측정하였다(69).

(1) *Heparin-releasable LPL(HR-LPL)* 활성

세포외액에 존재하는 LPL 활성은 Nilsson-Ehle와 Schotz 방법(70)을 응용한 Fried와 Zechner 방법(71)에 의하여 측정하였다. 지방조직(약 20~40 mg)을 1% BSA와 heparin(10 mU/mL)를 함유한 0.5 mL MI99(Hanks salts)에 넣은 후 진탕 수욕조 24°C에서 45 분간 배양하여 효소분석용 시료를 만들었다. 효소 활성을 위한 기질은 ³H-triolein에 phosphatidylcholine과 triolein을 넣고 냄새가 없어질 때 까지 질소가스를 용액 표면에 씌어준 후, glycerol을 첨가하여 6분 정도 sonication시켜 제조했다. 효소반응은 배양시킨 효소분석용 시료 150 μL와 ³H-triolein emulsion을 기초로 만든 기질 150 μL를 함께 넣은 다음 37°C에서 1시간 동안 배양시켜 수행하였고, 이때 생성된 유리지방산(free fatty acid)의 radioactivity를 β-counter를 이용하여 측정 한 다음 HR-LPL 활성을 계산하였다.

(2) *Total extractable LPL(TE-LPL)* 활성

지방조직의 LPL은 세포외액 뿐만 아니라 세포내액에도 함유되어 있는데, microsome 안에 있는 잠재적인 LPL을 포함한 총체적인 LPL 활성을 측정하는 것이 TE-LPL 활성 측정 방법이다. TE-LPL 활성 측정은 Iverius와 Brunzell의 방법(72)에 의해 실시하였으며, detergent인 deoxycholate로 LPL을 추출한 다음 측정하였다. 지방조직(약 50 mg)은 0.5% deoxycholate을 함유한 ice-cold buffer(0.5% deoxycholate, 0.2 M Tris, 0.25M sucrose, 1% BSA, 10 U/mL heparin, 0.02% nonidet P40, pH 8.3) 0.2~0.3 mL를 첨가하여 glass homogenizer로 균질화한 후 짧게 sonication시킨 다음 microcentrifuge를 이용하여 18,000 ×g에서 15분간 (4°C) 원심분리 하였다. LDL 활성 측정을 위해 하층액을 사용하였으며, 하층액은 deoxycholate를 함유하지 않은 ice-cold buffer와 1:5로 희석하였다. 희석액 150 μL에 효소 활성을 측정하기 위해 제조한 기질 150 μL를 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 배양시킨 후 HR-LPL 활성 측정 방법과 동일한 방법으로 radioactivity를 측정하여 계산하였다.

5. 통계처리

본 시험에서 얻어진 결과는 SPSS package를 이용해서 실험군당 평균±표준오차로 표시하였고 통계적 유의성 검정은 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Tukey's test를 이용하여 상호 검정하였다.

제3장 실험결과 및 고찰

제1절 성분분석

1. 일반성분

브로콜리 새싹의 일반성분 함량은 Table 11과 같다. 일반 성분은 동결 건조한 브로콜리 싹을 기준으로 수분함량은 21.19%, 조단백 22.04%, 조지방 12.80%, 조회분 6.25% 및 탄수화물 37.73%이었다. 같은 십자화과에 속하는 유채 추출물의 경우는 수분 함량이 6.30~7.90%, 조단백 3.70~4.50%, 조지방 35.50~38.20%, 조회분 2.70~3.70% 함유하고 있는 것으로 보고되었다(73).

Table 11. Proximate compositions of *B. oleracea*

| | | (%/100g) | | | | |
|--------------------|------|----------|---------------|-----------|-----------|--------------|
| Sample | Item | Moisture | Crude protein | Crude fat | Crude ash | Carbohydrate |
| <i>B. oleracea</i> | | 21.19 | 22.04 | 12.80 | 6.25 | 37.72 |

2. 구성아미노산 함량

브로콜리 싹의 구성 아미노산은 Table 12와 같다. 총 15종의 아미노산이 검출되었으며, 총 아미노산 함량은 5152.67 mg/100g이었다. 구성 아미노산의 경우 lysine 함량이 691.09 mg/100g로 가장 높았고, 다음으로 leucine, aspartic acid, glutamic acid, arginine, phenylalanine, valine 순이었다.

이 중 필수아미노산은 2,727.97 mg/100g 으로 lysine, leucine, arginine, valine, phenylalanine, methionine, threonine 순이었으며, 총 아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 56.05%로 나타났다.

Table 12. Contents of total amino acids in B. oleracea

(mg/100g)

| Amino acid | Content |
|---------------|---------|
| Valine | 284.90 |
| Leucine | 616.57 |
| Methionine | 237.68 |
| Threonine | 19.00 |
| Lysine | 691.09 |
| Phenylalanine | 371.20 |
| Histidine | 251.42 |
| Glutamic acid | 522.35 |
| Arginine | 507.53 |
| Serine | 85.03 |
| Glycine | 259.63 |
| Alanine | 126.15 |
| Proline | 49.72 |
| Tyrosine | 239.18 |
| Aspartic acid | 605.74 |
| Cysteine | 0.00 |
| Total A.A. | 4867.19 |

3. 지방산 조성

브로콜리 싹의 지방산 조성은 Table 13과 같다. 구성 지방산 중 포화지방산량은 palmitic acid(C16:0)가 가장 높았으며 arachidic acid(C20:0), lignoceric acid(C24:0) behenic acid (C22:0) 순으로 나타났다. 불포화지방산은 cis-11,14-eicosatienoic acid(C20:3n3), linolenic acid(C18:3n3), linoleic acid(C18:2n6c), oleic acid(C18:1n9c) 순으로 나타났다. 특히 지방산 중에서 cis-11,14-eicosatienoic acid(C20:3n3) 함량이 가장 높게 나타났다. 같은 십자화과에 속하는 유채 추출물의 경우는 포화지방산은 palmitic acid(C16:0) 함량이 가장 높아 본 연구에서 사용한 브로콜리 새싹과 유사한 경향이었으며, 불포화지방산은 oleic acid, linoleic acid, eicosenoic acid 순으로 나타났다(74).

Table 13. Compositions of fatty acids of *B. olerace*

| <i>Fatty acid</i> | <i>Composition (%)</i> |
|--|-------------------------------|
| Butyric Acid Methyl Ester(C4:0) | 0.00 |
| Caproic Acid Methyl Ester(C6:0) | 0.00 |
| Capric acid(C10:0) | 0.00 |
| Undecanoic acid(C11:0) | 0.00 |
| Lauric acid(C12:0) | 0.00 |
| Tridecanoic acid(C23:0) | 0.00 |
| Myristic acid(C14:0) | 0.00 |
| Pentadecanoic acid(C15:0) | 0.00 |
| Palmitic acid(C16:0) | 2.39 |
| Heptadecanoic acid(C17:0) | 0.00 |
| Stearic acid(C18:0) | 0.00 |
| Arachidic acid(C20:0) | 0.40 |
| Heneicosanoic acid(C21:0) | 0.00 |
| Behenic acid (C22:0) | 0.10 |
| Tricosanoic acid(C23:0) | 0.00 |
| Lignoceric acid(C24:0) | 0.30 |
| <i>Saturates</i> | <i>3.19</i> |
| Myristoleic acid(C14:1) | 0.00 |
| cis-10-Pentadecenoic acid(C15:1) | 0.00 |
| Palmitoleic acid(C16:1) | 0.14 |
| cis-10-Heptadecenoic acid(C17:1) | 0.09 |
| Elaidic acid(C18:1n9t) | 0.00 |
| Oleic acid(C18:1n9c) | 10.11 |
| cis-11-Eicosenoic acid(C20:1) | 2.77 |
| Erucic acid(C22:1n9) | 0.00 |
| Nervonic acid (C24:1) | 0.31 |
| <i>Monoenes</i> | <i>14.42</i> |
| Linolelaidic acid(C18:2n6t) | 0.00 |
| Linoleic acid(C18:2n6c) | 10.15 |
| cis-11,14-Eicosadienoic acid(C20:2) | 0.29 |
| cis-13,16-Docosadienoic acid(C22:2) | 0.73 |
| r-Linolenic acid(C18:3n6) | 0.00 |
| Linolenic acid(C18:3n3) | 10.90 |
| cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid(C20:3n6) | 0.00 |
| cis-11,14-Eicosatienoic acid(C20:3n3) | 60.32 |
| Arachidonic acid(C20:4n6) | 0.00 |
| EPA(C20:5n3) | 0.00 |
| DHA(C22:6n3) | 0.00 |
| <i>Polyenes</i> | <i>82.39</i> |
| <i>Total</i> | <i>100.00</i> |

4. 비타민 A 및 E 함량

브로콜리 싹의 비타민 A와 E의 함량은 Table 14와 같다. 비타민 A와 E의 함량은 각각 0.059 mg/100g과 0.822 mg/100g이었다. 같은 십자화과에 속하는 유채 싹의 비타민 E는 0.423 mg/100g로 함유되어 있는 것으로 보고(75)되어 브로콜리 싹이 항산화비타민인 비타민 E 함량 유채 싹보다 2배 이상 높게 나타났다.

Table 14. Contents of vitamin A and E in B. oleracea

(mg/100g)

| Vitamin | Content |
|---------|---------|
| A | 0.059 |
| E | 0.822 |

5. 유기산 함량

브로콜리 싹의 유기산 함량은 Table 15와 같다. 총 3종의 유기산이 검출되었으며, 이 중 lactic acid가 41875.0 mg/L로 가장 많았고, 다음으로 malic acid는 27333.0 mg/L, citric acid 610.0 mg/L순이었다. Oxalic acid, tartaric acid, formic acid, succinic acid는 검출되지 않았다.

Table 15. Contents of organic acids in B. oleracea

(mg/L)

| Organic Acid | Content |
|--------------|---------|
| Citric acid | 610.0 |
| Malic acid | 27333.0 |
| Lactic acid | 41875.0 |

6. 무기질 함량

브로콜리 싹의 무기질 함량은 Table 16과 같다. 총 8종의 무기질 성분이 검출되었으며, 이 중 K 함량이 794.160 mg/100g로 가장 많았으며, 다음으로 Mg, Na, Fe 순이었고 Zn, Mn, Cu의 함량은 미량이었다. Kim 등(76)의 브로콜리잎즙의 무기질 함량 분석 결과는 K, Fe, Mn, Zn 순으로 함량이 나타났는데, 본 연구 결과와 비슷한 수준이었다.

Table 16. Contents of minerals in B. oleracea

(mg/100g)

| Mineral | Content |
|---------|---------|
| Fe | 6.608 |
| K | 794.160 |
| Mg | 369.960 |
| Mn | 2.363 |
| Cu | 0.341 |
| Na | 16.240 |
| Zn | 5.433 |

7. 양 · 음이온 함량

브로콜리 싹의 양 · 음이온의 함량은 Table 17, 18과 같다. Table 17에서와 같이 양이온은 potassium(K^+)의 함량이 2410.0 mg/L로 가장 많았으며, 다음으로 magnesium (Mg^{2+})이 1373.0 mg/L로 많았고 Na^+ , Ca^+ 순이었으며, Li^+ 과 NH_4^+ 이온은 검출되지 않았다. 음이온의 경우 Table 18과 같이 phosphate(PO_4^{3-})가 438.75 mg/L로 가장 높았고, 다음으로 sulfate(SO_4^{2-})가 357.50 mg/L로 높았으며, NO_3^- , Cl^- , ClO_2^- 순이었다.

Table 17. Contents of cations in B. oleracea

| (mg/100g) | |
|------------------------|---------|
| Cation | Content |
| Sodium(Na^+) | 479.0 |
| Potassium(K^+) | 2410.0 |
| Magnesium(Mg^{2+}) | 1373.0 |
| Calcium(Ca^{2+}) | 179.5 |

Table 18. Contents of anions in B. oleracea

(mg/100g)

| Anion | Content |
|---------------------------------|---------|
| Chlorite(ClO_2^-) | 0.46 |
| Chloride(Cl^-) | 12.55 |
| Nitrate(NO_3^-) | 14.85 |
| Phosphate(PO_4^{3-}) | 438.75 |
| Sulfate(SO_4^{2-}) | 357.50 |

8. 구성당

브로콜리 싹의 구성당 함량은 Table 19와 같다. Fructose는 105.830 mg/L로 가장 많은 함량이 검출되었고, glucose가 70.610 mg/L 검출되었으며 그 다음으로 ribose가 검출되었다.

Table 19. Contents of carbohydrates in B. oleracea

| | | (mg/L) | | | | | | |
|--------------------|------|-------------------|-----------|-----------|---------|----------|---------|---------|
| Sample | Item | Fructose | Arabinose | Galactose | Glucose | Fructose | Ribose | Lactose |
| <i>B. oleracea</i> | | N.D ¹⁾ | N.D | N.D | 70.610 | 105.830 | 213.400 | N.D |

¹⁾N.D. : not detected

9. 식이섬유소 함량

브로콜리 새싹의 식이 섬유소 함량은 Table 20과 같다. 총 식이섬유소 함량이 39.29 g/100g로 검출되었다. 새싹채소 종류인 메밀새싹의 경우 24.86 g/100g 함유하는 것으로 보고하였다(77).

Table 20. Contents of dietary fiber in B. oleracea

(g/100g)

| Item | Dietary Fiber |
|--------------------|---------------|
| Sample | |
| <i>B. oleracea</i> | 39.29 |

제1절 *In vitro*에서 항비만효과

가. 새싹채소 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방전구세포의 분화에 미치는 효과

브로콜리, 알팔파, 적무, 메밀, 유채, 배추, 적양배추 및 보리싹의 에탄올 추출물 8종류의 시료 50 µg/mL를 가지고 3T3-L1 지방전구세포의 분화에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 21과 같다.

Table 21에서 보는 바와 같이 브로콜리 싹 에탄올 추출물이 가장 많이 지방세포분화를 억제시켰으며 다음으로는 브로콜리, 알팔파, 적무, 메밀, 유채, 배추, 적양배추 및 보리싹 에탄올 추출물 순으로 3T3-L1 지방전구세포의 세포분화를 억제시켰다. 결과에서 보듯이 모든 새싹채소들은 약간의 차이가 있지만 지방세포의 분화를 억제시킴으로써 비만예방효과를 가져오는 것으로 사료된다.

Table 21. GPDH(glycerol-3-phosphate dehydrogenase) activity in 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extract of vegetable sprouts from whole stage

| Day -6~8 Treatment | GPDH/ mg protein, % control ¹⁾ (50 µg/mL) |
|-----------------------|---|
| Control | 100 |
| Broccoli | 67.49 ± 2.36 ^{*2)} |
| Alfalfa | 80.38 ± 3.18 [*] |
| Barley | 90.15 ± 2.87 [*] |
| Rapeseed | 81.21 ± 3.08 [*] |
| Red radish | 80.53 ± 1.99 [*] |
| Red brussels | 82.97 ± 3.06 [*] |
| Chinese cabbage | 86.13 ± 2.45 [*] |
| Buckwheat | 77.64 ± 1.28 [*] |

¹⁾Reported values are means ± S.E. (n=6, collected from two independent experiments performed on four wells) ; difference from dimethyl sulfoxide(DMSO)-treated control cells.

^{2)*}p<0.05 compared to control values(ANOVA followed by Tukey's test).

나. 새싹채소 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방전구세포의 증식(세포 수)에 미치는 영향

새싹채소 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방전구세포의 증식에 영향을 줌으로써 세포분화에 영향을 미칠 것이라는 가정 하에, 새싹채소 에탄올 추출물의 작용기전 규명에 대한 일환으로 세포증식이 일어나는 pre-confluent 시기에 day -6~-2 시기에 50 µg/mL 농도에서 8종류의 새싹채소 에탄올 추출물을 처리하여 세포 수를 측정하였는데 그 결과는 Table 22와 같다.

그 결과 8종류의 새싹채소 에탄올 추출물 모두 지방세포 수가 대조군에 비하여 적었으며, 특히 브로콜리 싹 에탄올 추출물이 가장 적은 지방세포 수가 관찰되었는데 이는 3T3-L1 지방전구세포의 분화를 억제한 작용 기전이 지방세포의 증식을 억제하였기 때문인 것으로 사료되어 진다.

Table 22. Cell viability in pre-confluent(day -6~-2) 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extract of vegetable sprouts¹⁾

| Day -6~-2 Treatment | Cell viability, % control ²⁾ (50 µg/mL) |
|------------------------|---|
| Control | 100 |
| Broccoli | 56.23 ± 1.42 ^{*3)} |
| Alfalfa | 81.72 ± 3.09 [*] |
| Barley | 88.13 ± 2.46 [*] |
| Rapeseed | 76.31 ± 2.84 [*] |
| Red radish | 83.16 ± 2.91 [*] |
| Red brussels | 85.33 ± 3.59 [*] |
| Chinese cabbage | 84.29 ± 2.09 [*] |
| Buckwheat | 79.12 ± 2.81 [*] |

¹⁾Cells were plated on 96-well plate at a density 1.8×10^4 cells/well in DMEM plus 10% FBS for 4days. The cells were treated for 24 h with 50 µg/mL of individual vegetable sprouts ethanol extract, and DMSO for control. Cell number was determined based on the formation of formazan after 3 h incubation with the tetrazolium salt WST-1(see the Materials and Methods).

²⁾Reported values are means ± S.E. (n=6, collected from two independent experiments performed on four wells) ; difference from dimethyl sulfoxide(DMSO)-treated control cells.

³⁾*p<0.05 compared to control values(ANOVA followed by Tukey's test).

다. 새싹채소 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방세포의 중성지방 함량에 미치는 영향

8종류의 새싹채소 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방세포의 중성지방 함량에 미치는 영향을 살펴보았는데, Table 23에서 보듯이 3T3-L1 지방전구세포의 분화를 가장 많이 억제시킨 브로콜리 싹 에탄올 추출물의 중성지방 함량도 가장 적게 나타났다. 지방전구세포가 지방세포로 분화할 때 세포 내 지방구가 침착하게 되는데, 중성지방 함량이 적었다는 것은 분화가 덜 되었다는 것은 의미한다. 이것은 브로콜리 싹 에탄올 추출물이 세포분화를 억제시킨 결과와 일치하였다.

이상의 결과 8종류의 새싹채소 에탄올 추출물 중 브로콜리 싹 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방전구세포의 분화와 증식을 가장 많이 억제하였으며, 중성지방 함량이 가장 적었다. 따라서 브로콜리 싹 에탄올 추출물이 3T3-L1 지방세포에서 가장 강력한 항비만효과를 보였으므로, 최종 후보 물질로 선정하여, 흰쥐를 이용한 *in vivo* 연구에서는 브로콜리 싹 에탄올 추출물만을 이용하여 항비만효과를 연구하였다.

Table 23. Triglyceride contents in 3T3-L1 preadipocytes treated with ethanol extract of vegetable sprouts from whole stage¹⁾

| Day -6~8 Treatment | Triglyceride contents, mg/dL (50 µg/mL) |
|-----------------------|--|
| Control | 32.16 ± 1.26 ²⁾ |
| Broccoli | 16.25 ± 0.49 ³⁾ |
| Alfalfa | 26.31 ± 1.02* |
| Barley | 23.18 ± 0.94* |
| Rapeseed | 24.51 ± 1.21* |
| Red radish | 20.33 ± 1.39* |
| Red brussels | 25.39 ± 0.84* |
| Chinese cabbage | 21.54 ± 0.84* |
| Buckwheat | 19.21 ± 1.46* |

¹⁾The cells were treated with 50 µg/mL of individual vegetable sprouts ethanol extract, and DMSO was included in all cases. At day 8 was measured triglyceride(see the Materials and Methods).

²⁾Reported values are means ± S.E. (n=6, collected from two independent experiments performed on four wells) ; difference from dimethyl sulfoxide(DMSO)-treated control cells.

³⁾*p<0.05 compared to control values(ANOVA followed by Tukey's test).

제2절 *In vivo*에서 비만예방 효능

1. 체중증가율, 식이효율, 간 및 지방조직 무게

비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 200 mg/kg/day과 400 mg/kg/day을 4주간 경구 투여 후 흰쥐의 체중증가량, 식이효율 및 간 및 지방조직무게를 비교한 결과는 Table 24 및 Fig. 1,2와 같다.

Table 24에서와 같이 체중증가량은 비만식이군(HF)은 164.67 ± 7.20 g으로 정상식이군(N)의 130.83 ± 4.12 g에 비하여 유의하게 증가되었다. 정상식이군(N과 NBL과 NBH)들 간에는 체중증가량의 유의차가 없었다. 비만식이군(HF와 HBL과 HBH)들 간에는 저용량 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 투여군은 비만식이군에 비하여 저하되었고, 특히 고용량 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 투여군은 정상식이군과 유사한 결과를 보였다.

Fig. 1에서와 같이 식이효율은 비만식이군(HF)이 0.349 ± 0.02 로 가장 낮았고, 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량(HBL)과 고용량(HBH) 병합 투여군은 비만식이군(HF)과 비교 시 증가하였다.

Fig. 2에 제시한 바와 같이 체중 당 간조직의 무게 비는 비만식이군(HF)이 다른 실험군들에 비하여 가장 높았는데, 이는 체중증가량을 반영한 것으로 생각되며, 체중 당 간 조직 무게 비는 비만식이군(HF)에 비하여 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군(HBH)에서 유의차는 없었지만 조금 감소되었다. 정상식이군(N과 NBL과 NBH)들 간에는 유의차가 없었다. 이와 같이 비만식이군(HF)에 비하여 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량과 고용량 병합 투여군(HBL과 HBH)들의 간 무게가 감소된 것은 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 병합 투여로 간 조직으로의 지방축적이 억제되었을 것으로 생각된다.

복강 내에 위치한 지방조직에 미치는 영향을 관찰하기 위해 Fig. 3과 같이 내장지방조직과 부고환지방조직의 중량을 측정하였다. 부고환지방조직 무게는 비만식이를 급여한 비만식이군(HF)이 정상(N)군에 비해 증가하였으며 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 병합 투여한 군(HBL과 HBH)은 비만식이(HF)군에 비해 감소하였으나 유의차는 없었다. 내장

지방조직 무게는 비만식이를 급여한 비만식이군(HF)이 정상(N)군에 비해 증가하였으며, 특히 고용량 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 병합투여한 군(HBH)은 비만식이(HF)군에 비해 유의하게 감소하여 정상군(N)과 유사한 경향을 보였다. 일반적으로 비만에 있어서 체중의 증가보다는 체지방의 증가, 특히 피하지방보다는 복강내에 위치한 지방조직의 증가가 건강상의 위해요인으로 작용한다는 것이 잘 알려져 있다(78,79).

Table 24. Change of growth rate of the rats fed obesity diet with *B. oleracea* ethanol extract

| <i>Groups</i> ¹⁾ | <i>Initial body wt.</i> (g) | <i>Final body wt.</i> (g) | <i>Gained body wt.</i> (g) |
|-----------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| N | 153.67±2.11 ^{2)NS3)} | 317.17±12.70 ^{b4)} | 130.83±4.12 ^b |
| HF | 153.67±6.12 | 340.17±10.93 ^a | 164.67±7.20 ^a |
| NBL | 154.00±2.93 | 316.00±7.50 ^b | 130.17±5.20 ^b |
| NBH | 154.33±2.60 | 310.00±8.91 ^b | 135.00±6.25 ^b |
| HBL | 153.17±6.24 | 331.50±5.33 ^{ab} | 154.83±7.05 ^{ab} |
| HBH | 153.17±3.03 | 330.17±8.05 ^{ab} | 135.67±6.03 ^b |

¹⁾Abbreviations: See the legend of Table 9.

²⁾Values are mean ± S. E. of 6 rats per each group

³⁾NS : no significantly different among groups.

⁴⁾Values with different superscript in the same row significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

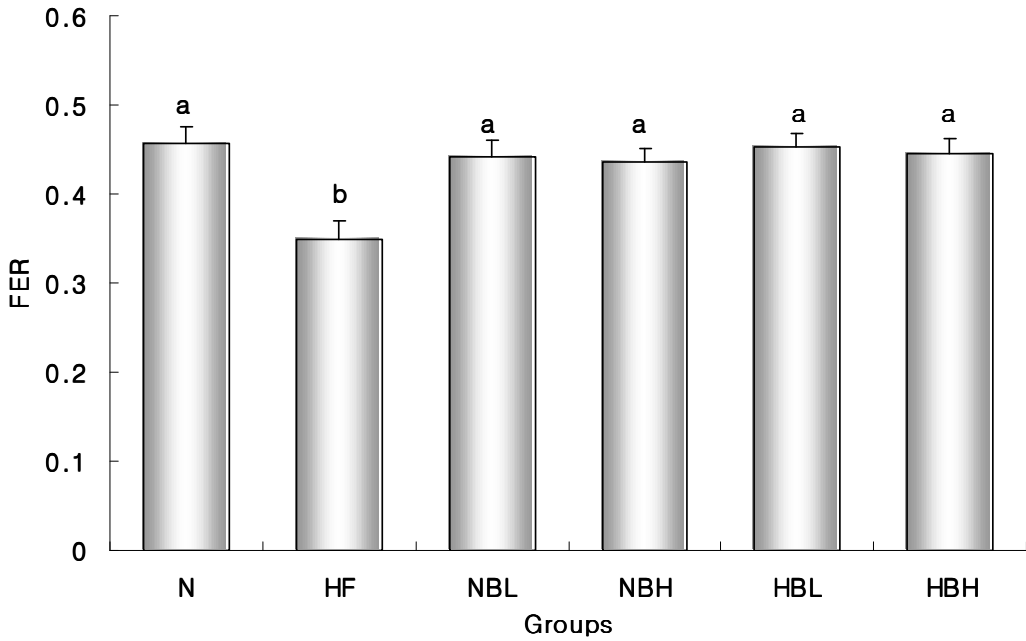


Fig. 1. FER of rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: FER(feed efficiency ratio) : total weight gain/total feed intake. See the legend of Table 9. Values are mean ± S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

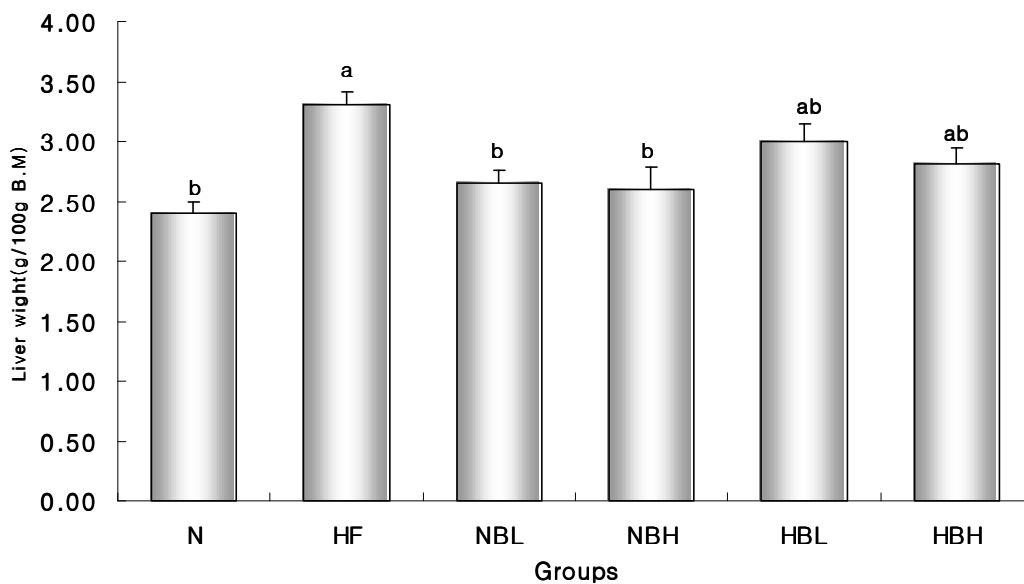


Fig. 2. Liver weight/body weight of rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

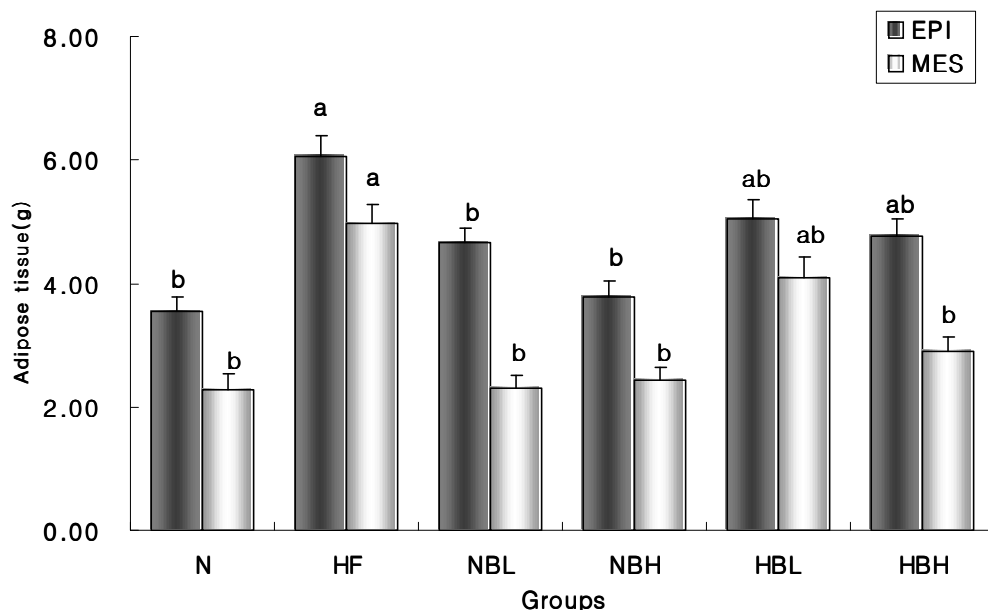


Fig. 3. Effect of brassica oleracea extract on epididymal and mesenteric adipose tissue weights of rats fed obesity diet.

Abbreviations: See the legend of Table 9. EPI: Epididymal adipose tissue, MES: mesenteric adipose tissue. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

2. 혈청 중 ALT, AST 및 ALP활성

비만식이를 급여한 흰쥐에게 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 4주간 경구 투여 후 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성을 측정된 결과는 Fig. 4~6과 같다.

혈청 중 ALT 활성은 Fig. 4에서와 같이 비만식이군(HF)은 50.53 ± 2.89 units로 정상식이군(N)의 47.93 ± 2.47 units에 비하여 혈청 중 ALT 활성이 약간 증가하였으나 유의차는 나타나지 않았다. 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 병합 투여군(HBL과 HBH)의 혈청 중 ALT 활성은 각각 48.41 ± 4.12 units와 35.52 ± 2.87 units로 고용량 투여 시 용량 의존적으로 감소하였으며, 특히 고용량 병합 투여군(HBH)은 비만식이군(HF)에 비하여 유의하게 저하되었다. 정상식이군(N, NBL과 NBH)들 간에는 유의차가 없었다.

Fig. 5와 같이 혈청 중 AST 활성은 비만식이군(HF)이 135.85 ± 10.94 units로 다른 실험 군들에 비하여 가장 높았다. 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(HBL)의 99.02 ± 3.77 units와 고용량 병합 투여군(HBH)의 101.17 ± 17.86 units는 비만식이군(HF)에 비하여 유의적인 감소효과를 나타내었으나 정상식이군(N, NBL과 NBH)들 간에는 혈청 중 AST 활성에 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 향진되어 활성이 증가한다(80).

Fig. 6에서와 같이 혈청 중 ALP 활성은 정상식이군(N)의 47.93 ± 2.47 units에 비하여 비만식이군(HF)이 51.23 ± 2.89 units로 약간 증가하였다. 비만식이군(HF, HBL과 HBH)들 간에는 브로콜리 새싹 에탄올 추출물의 투여 용량이 증가 할수록 혈청 중 ALP 활성이 저하되었고 특히 고용량 병합 투여군(HBH)은 비만식이군(HF)에 비하여 유의하게 저하되었다. 정상식이군(N, NBL과 NBH)들 간에는 유의차가 없었다.

본 실험 결과 ALT, AST 및 ALP의 활성이 비만식이 군에 비교하여 감소하는

것을 보아 브로콜리 새싹 에탄올 추출물이 간질환과 관련된 효소활성에 영향을 주는 것을 알 수 있었다. 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 상승되어진다. 급성 신부전증, 고지혈증, 폐경색증이 있을 때 간세포 장애가 고도로 진행된다면 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성 수치가 동시에 높아져 간장의 담즙산 배설장애가 유발되고 이로 인해 혈청 콜레스테롤 함량이 상승되는 것으로 알려져 있다(81).

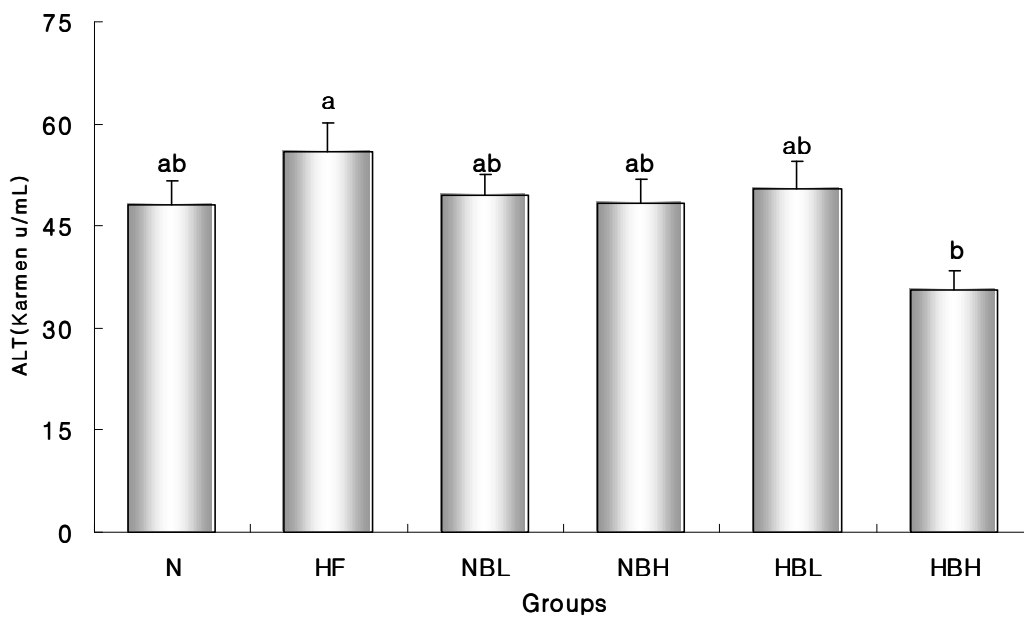


Fig. 4. Serum activity of ALT in the rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

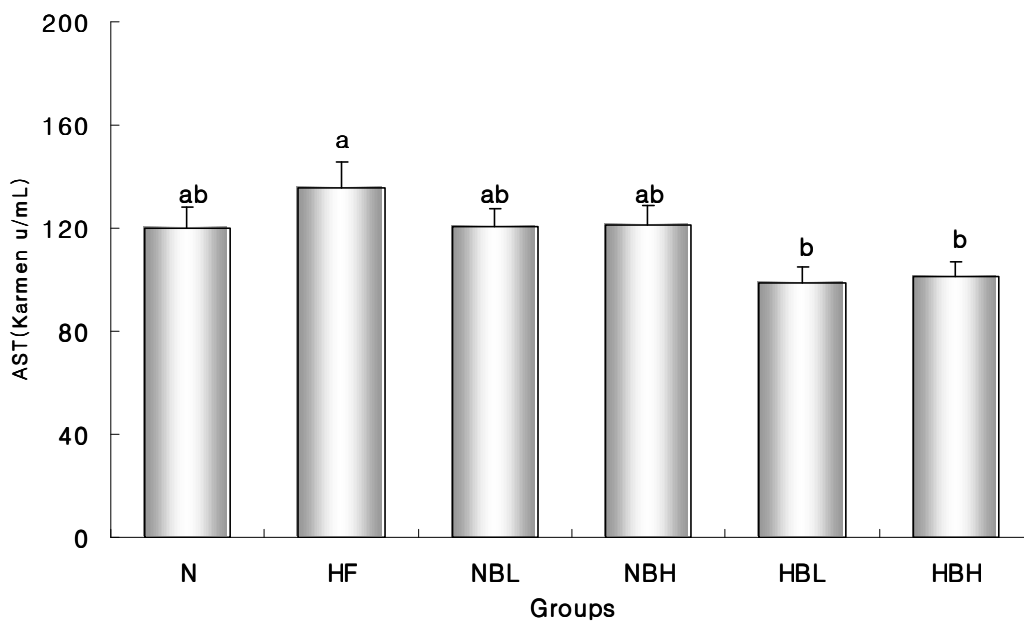


Fig. 5. Serum activity of AST in the rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

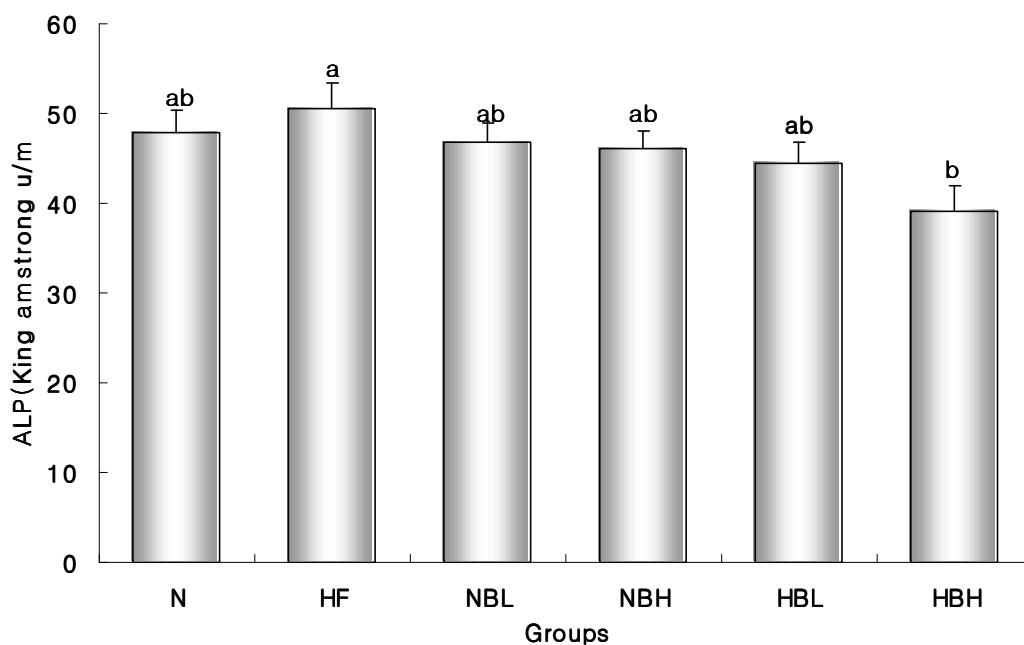


Fig. 6. Serum activity of ALP in the rats fed experimental diets with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

3. 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량

흰쥐에 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 저용량(200 mg/kg/day)과 고용량(400 mg/kg/day)으로 달리하여 4주간 경구 투여 후 측정된 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량 변화는 Fig. 7, 8과 같다.

Fig. 7에서와 같이 혈청 중 중성지방 함량은 비만식이군(HF)이 131.83 ± 4.42 mg/dL로 정상식이군(N)의 116.67 ± 3.88 mg/dL에 비하여 높았다. 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량(HBL)과 고용량(HBH) 병합 투여군의 혈청 중성지방 함량은 각각 115.03 ± 3.37 mg/dL과 112.33 ± 3.38 mg/dL로 비만식이군(HF)에 비하여 감소하였다. 브로콜리 새싹 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(82).

Fig. 8에서와 같이 혈청 중 총콜레스테롤 함량은 비만식이군(HF)이 125.50 ± 7.18 mg/dL로 정상식이군(N)의 117.01 ± 6.76 mg/dL에 비하여 증가되었다. 비만식이에 의하여 증가된 혈청 중 총콜레스테롤 함량은 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 병합 투여로 다소 감소하였으나 유의차는 나타나지 않았다.

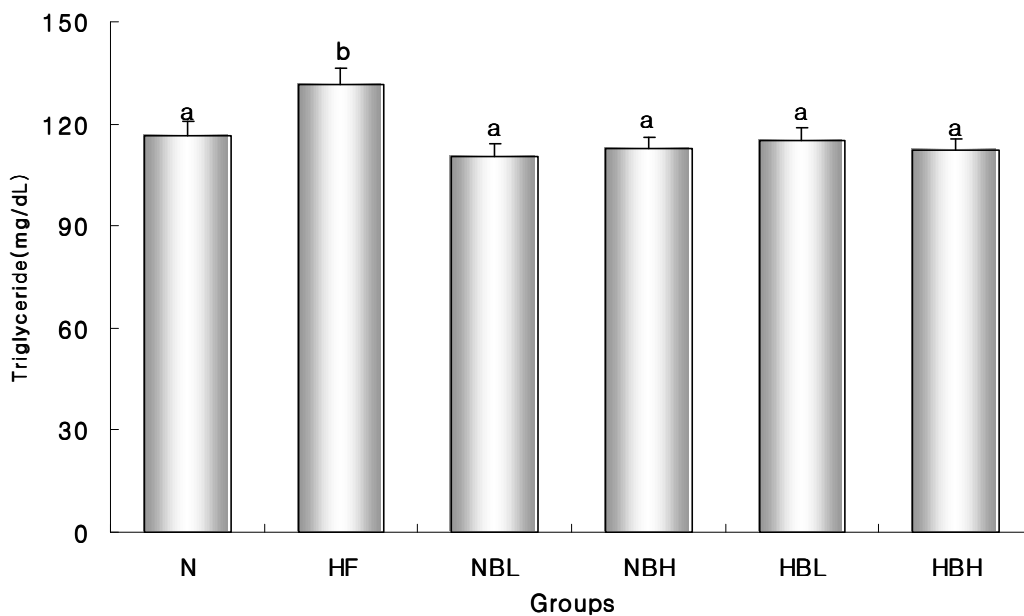


Fig. 7. Contents of triglyceride in the rats fed experimental diets with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

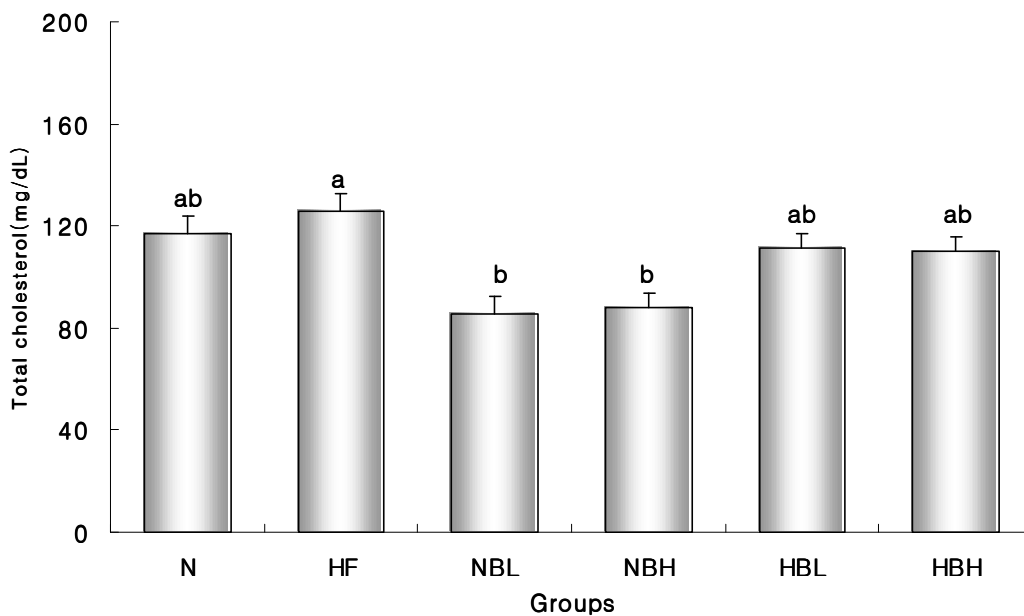


Fig. 8. Contents of total cholesterol in the rats fed experimental diets with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

4. 혈청 중 *LDL*-콜레스테롤, *HDL*-콜레스테롤 함량 및 *HDL*-콜레스테롤/총콜레스테롤비율, 심혈관 위험지수 및 동맥경화지수

흰쥐에게 브로콜리 새싹 에탄올 추출물과 비만식이를 4주간 급여 후 혈청 중 *LDL*-콜레스테롤과 *HDL*-콜레스테롤 함량, 심혈관 위험지수 및 동맥경화지수에 미치는 영향은 Fig. 9~13과 같다.

Fig. 9에서와 같이 혈청 중 *LDL*-콜레스테롤 함량은 비만식이군(HF)이 68.57 ± 2.85 mg/dL로 정상식이군(N)의 50.50 ± 3.56 mg/dL에 비하여 유의하게 증가하였다. 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 저용량 병합 투여군(HBL)과 고용량 병합 투여군(HBH)은 혈청 중 *LDL*-콜레스테롤 함량이 49.53 ± 2.99 mg/dL와 47.26 ± 3.15 mg/dL로 비만식이군(HF)에 비하여 유의적인 감소효과를 나타내었으며, 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 투여 용량이 증가할수록 저하되었다. 정상식이군(N, NBL과 NBH)들 간에는 유의차가 없었다. 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(83). *LDL*-콜레스테롤 함량 증가는 혈액으로부터 *LDL*-콜레스테롤 제거 속도의 감소뿐만 아니라 혈액 내 intermediate density lipoprotein(IDL) 함량이 증가함으로써 더 많은 IDL이 *LDL*로 전환되기 때문이라는 보고가 있다(84).

또한 *LDL*-콜레스테롤 함량은 비만도가 높아지면 농도가 높아지며(85) 특히 고지방식이에 더욱 높아진다(86). 고지방식으로 콜레스테롤의 섭취량이 많아지면 *LDL*이 혈관내에서 순환되는 시간이 길어지므로 혈관 내피세포에서 화학적 산화를 받을 기회가 많아진다. 이때 산화된 *LDL*은 죽상동맥경화증의 초기병변인 fatty streak을 일으켜 혈관 내피세포를 손상시키고 혈소판을 응집하게 된다. 그러므로 혈액 중 *LDL* 함량 변화와 *LDL* 산화 측정은 죽상동맥경화 유발의 주

요 지표가 된다.

Fig. 10에서와 같이 혈청 중 HDL-콜레스테롤 함량은 정상식이군(N)의 92.17 ± 4.02 mg/dL에 비하여 비만식이군(HF)이 73.83 ± 5.05 mg/dL로 유의하게 감소하였다. 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량(HBL)과 고용량(HBH) 병합 투여군은 혈청 중 HDL-콜레스테롤 함량은 각각 85.67 ± 4.32 mg/dL과 86.83 ± 4.41 mg/dL로 비만식이군(HF)에 비하여 유의차는 없었으나 증가하였다. HDL-콜레스테롤은 말초 조직의 콜레스테롤을 간으로 역수송을 담당하고 있는 지단백질의 일종으로 동맥경화와 혈관 장애 개선에 대해 효과가 있는 것으로 알려져 있고(87), 고콜레스테롤식을 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(88). 또한, HDL-콜레스테롤은 말초조직의 콜레스테롤을 간으로 운반하고 간에서 콜레스테롤로부터 담즙산이 합성되어지고 장으로 배설시키기 때문에 HDL-콜레스테롤은 동맥경화 예방효과가 있다(89).

Fig. 11에서와 같이 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율(HDL-C/TC)은 정상군 $101.35 \pm 6.51\%$ 에 비해 비만식이군은 $61.03 \pm 5.63\%$ 로 감소되었으며, 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 병합투여군(HBL과 HBH)에서는 비만식이(HF)군에 비해 유의적으로 증가하였다. 정상식이군(N, NBL과 NBH)들 간에는 유의차가 없었다.

Fig. 12에서와 같이 동맥경화지수는 비만식이군(HF)이 0.620 ± 0.025 로 유의하게 증가됨을 알 수 있었다. 동맥경화지수가 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량(HBL)과 고용량(HBH) 병합 투여군은 각각 0.502 ± 0.021 와 0.461 ± 0.019 으로 비만식이군(HF)에 비하여 유의하게 저하되었다. 따라서 브로콜리 새싹 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(90).

Fig. 13에서와 같이 심혈관 위험지수(cardiac risk factor, CRF)는 비만식이군(HF)이 1.240 ± 0.054 로 정상식이(N)의 0.990 ± 0.050 에 비하여 유의하게 증가하였다. 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량(HBL)과 고용량(HBH) 병합 투여군은 심혈관 위험지수가 1.02 ± 0.06 와 1.06 ± 0.05 로 비만식이군(HF)에 비하여 유의하게 저하되었다. 정상식이군(N, NBL과 NBH)들 간에는 심혈관 위험지수에 유의차가 없었다. 심혈관 위험지수는 HDL-콜레스테롤에 대한 총콜레스테롤의 함량비를 대표하는 값으로 동맥경화지수와 더불어 심혈관계 질환에 대한 위험 신호로 사용되고 있으며, 임상에서는 7.0 이상의 수치를 나타낼 때 위험 신호로 인지된다(91).

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

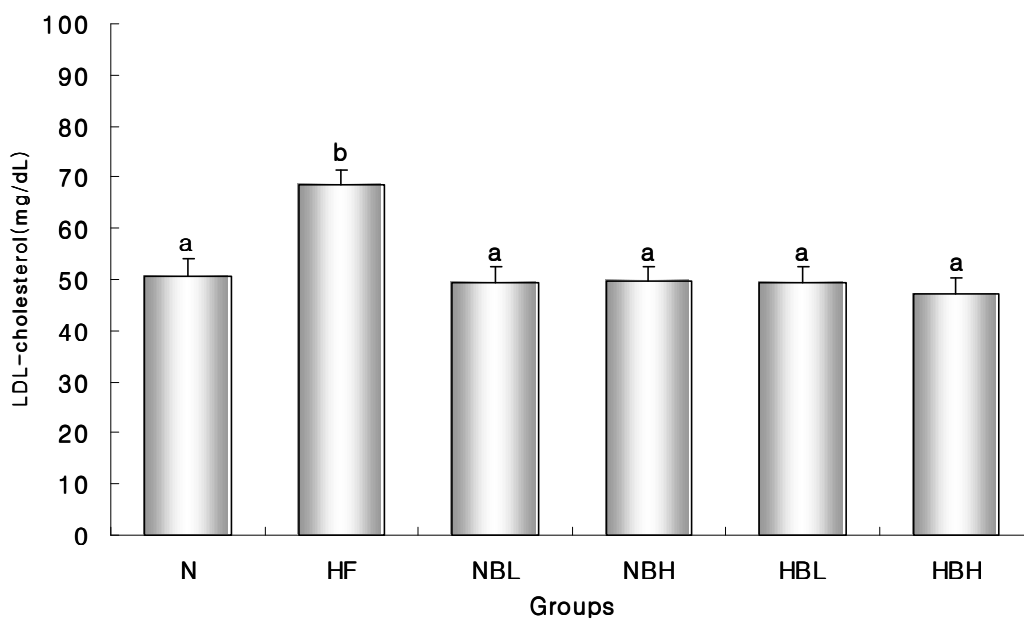


Fig. 9. Contents of LDL cholesterol in the rats fed experimental diet with *brassica oleracea* extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

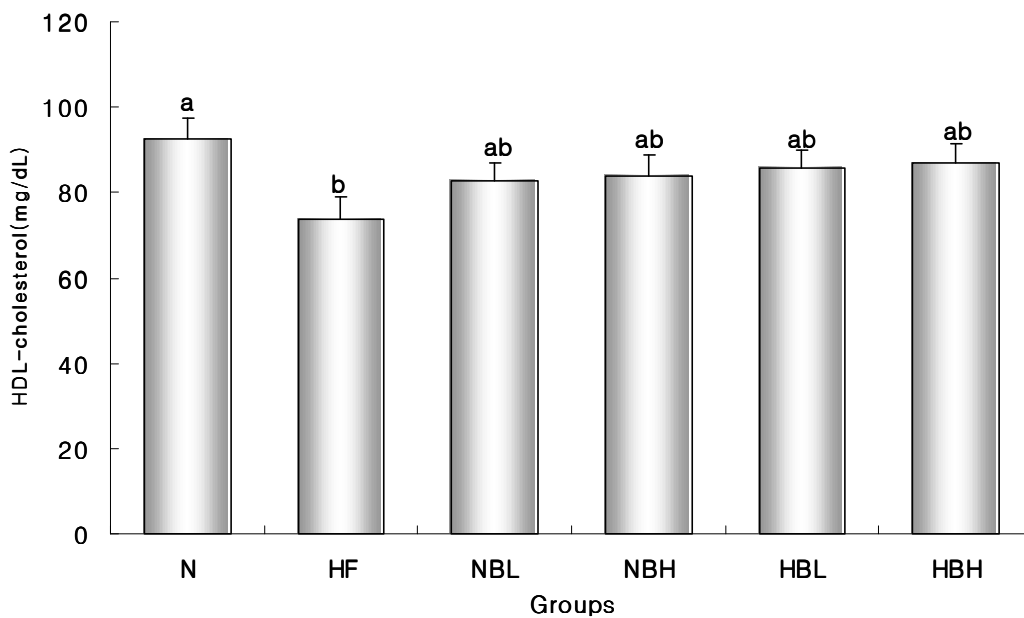


Fig. 10. Contents of HDL-cholesterol in the rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

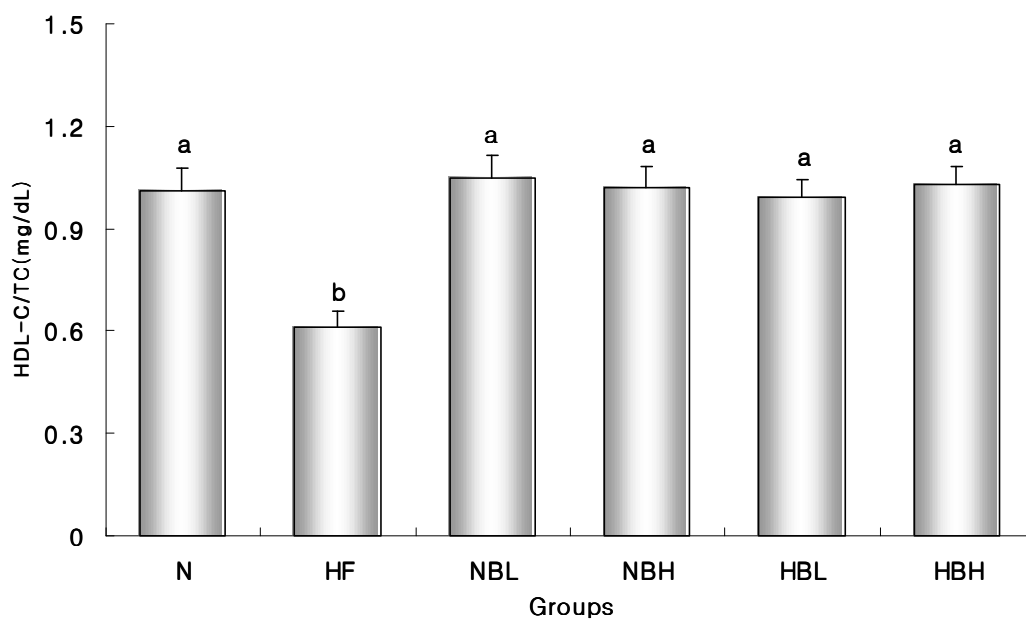


Fig. 11. Contents of HDL-C/TC in the rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

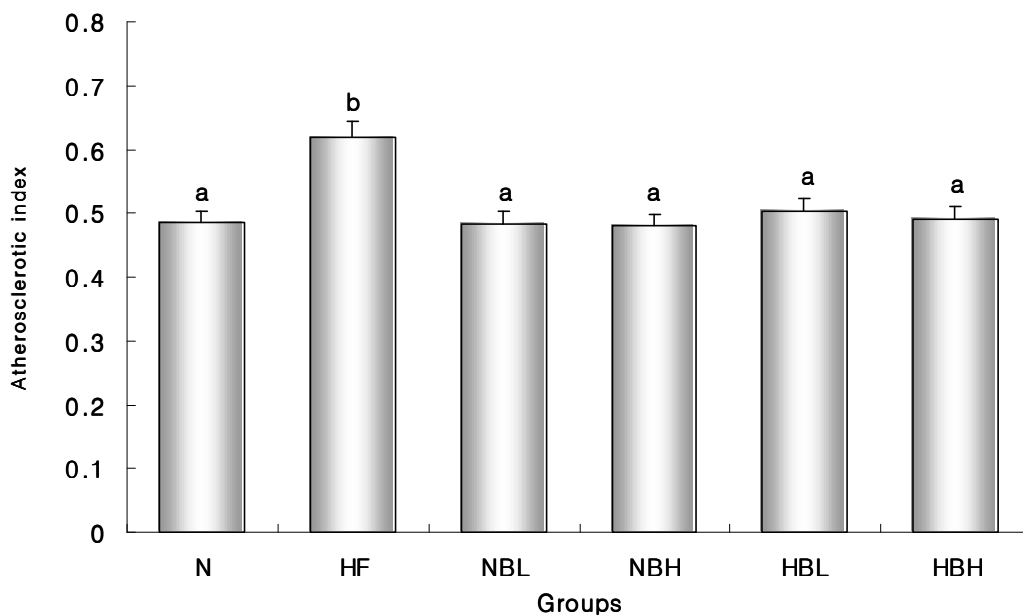


Fig. 12. Atherosclerotic index of rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: AI = (total chol. - HDL-chol.) / HDL-chol. See the legend of Table 9. Values are mean ± S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

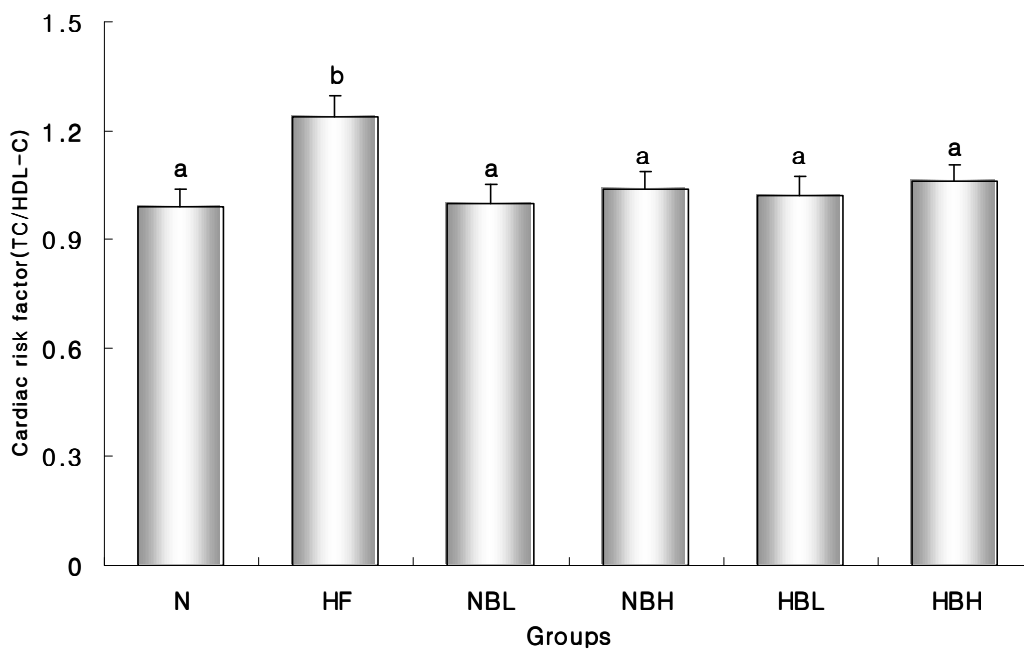


Fig. 13. Cardiac risk factor of rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: TC/HDL-C=total cholesterol/HDL-cholesterol. See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

5. 간 조직 중 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량

비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물의 농도를 달리하여 투여한 흰쥐 간 조직 중 총콜레스테롤 및 중성지방 함량은 Fig. 14, 15와 같다.

Fig. 14와 같이 간 조직 중 총콜레스테롤의 함량은 비만식이군(HF)이 정상식이군(N)에 비하여 유의하게 증가하였으며 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(HBL)과 고용량 병합 투여군(HBH)은 비만식이군(HF)에 비하여 유의하게 감소하였다.

Fig. 15에서와 같이 간 조직 중 중성지방 함량은 비만식이군(HF)의 15.84 ± 0.85 mg/g에 비하여 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량 병합 투여군(HBL)과 고용량 병합 투여군(HBH)은 각각 13.89 ± 0.74 mg/g와 13.58 ± 0.65 mg/g로 유의차는 없었지만 용량 의존적으로 감소되었다. 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(92-94). Kang 등(95)은 고 콜레스테롤식을 급여한 흰쥐의 경우 혈장 내 중성지방과 콜레스테롤 함량이 증가하면 간의 중성지방과 콜레스테롤 함량도 증가하는 경향을 보였는데 이는 본 연구 결과와 일치하였다. 브로콜리 에탄올 추출물은 비만식이와 병합 투여 시 간 조직 중 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량을 저하시켰다.

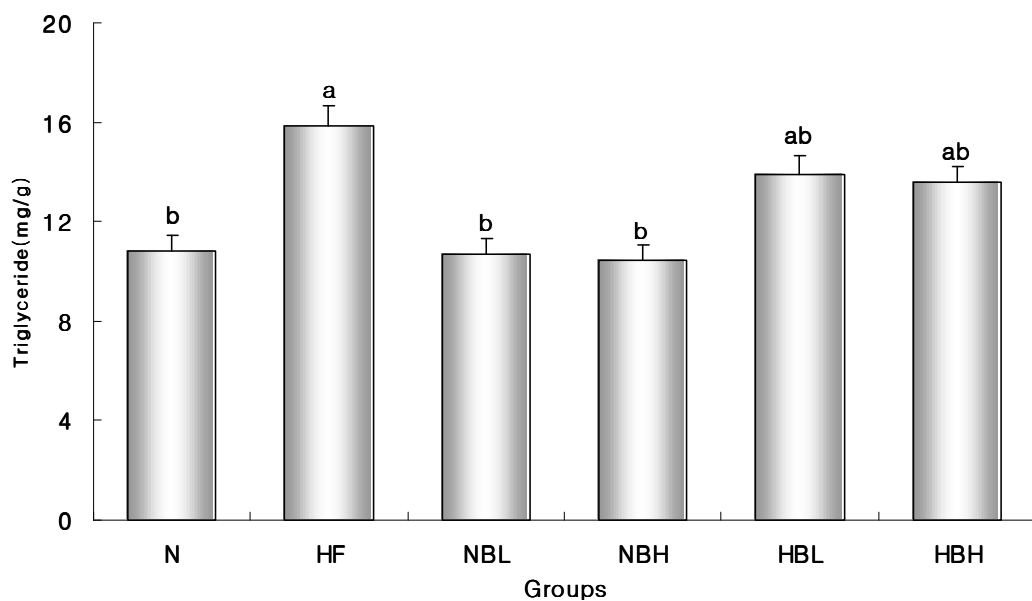


Fig. 14. Contents of triglyceride in the liver of rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

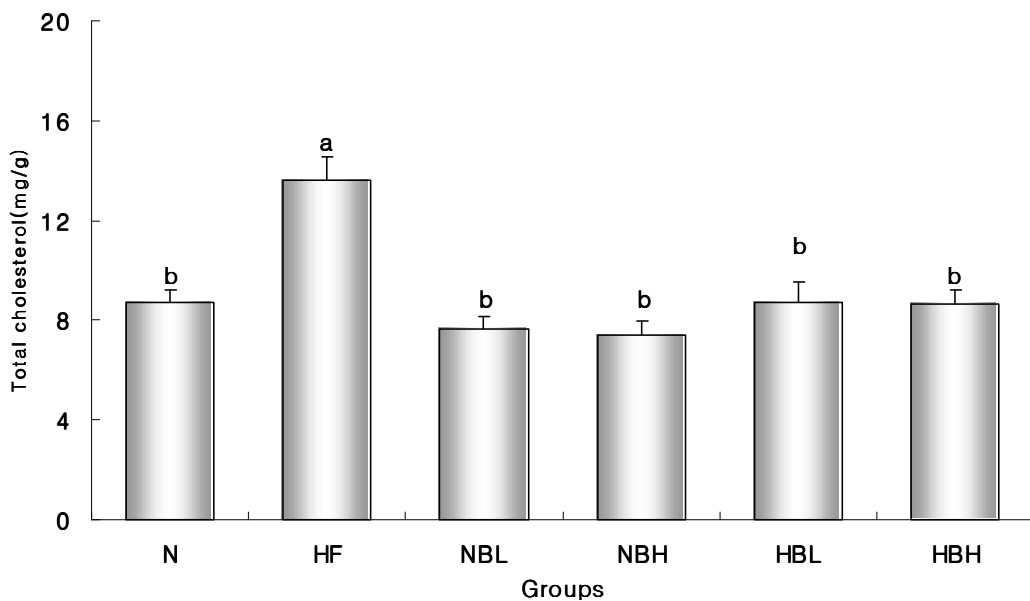


Fig. 15. Contents of total cholesterol in the liver of rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

6. 지방조직 중 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량

브로콜리 새싹 에탄올 추출물과 비만식을 흰쥐에 4주간 급여시 흰쥐의 내장지방조직과 부고환지방조직 중 총 콜레스테롤과 중성지방의 함량은 Fig. 16~19과 같다.

앞선 실험에서 비만식을 급여한 흰쥐의 경우 체중 및 지방조직의 중량이 정상식이군(N)에 비해 현저하게 증가되었기에, 본 실험에서 지방조직의 총콜레스테롤과 중성지방 함량을 측정하였다. 내장지방조직과 부고환지방조직의 중성지방 함량은 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 저용량(HBL) 혹은 고용량(HBH) 병합 투여한 모든 군에서 비만식이군(HF)에 비해 유의적인 차이를 보였다. 체지방 함량이 같더라도 복부 지방 함량이 증가할수록 대사성 합병증이 증가하는 것으로 알려져 있다(96). 복부지방세포는 피하지방세포와 달리 지방세포의 크기가 크고 지방조직 내 LPL 활성이 증가하여 중성지방의 분해가 지속적으로 증가되고, 유리된 지방산은 지방조직으로의 유입이 증가되어 중성지방의 형태로 지방조직 내 축적되어 복부비만을 유발하게 된다(97). 따라서 본 연구에서도 부고환지방조직 뿐만 아니라 내장지방조직도 이용하여 연구하였다. 내장지방조직과 부고환지방조직 모두 중성지방과 콜레스테롤 함량은 브로콜리 새싹 추출물 공급으로 현저히 감소하였다.

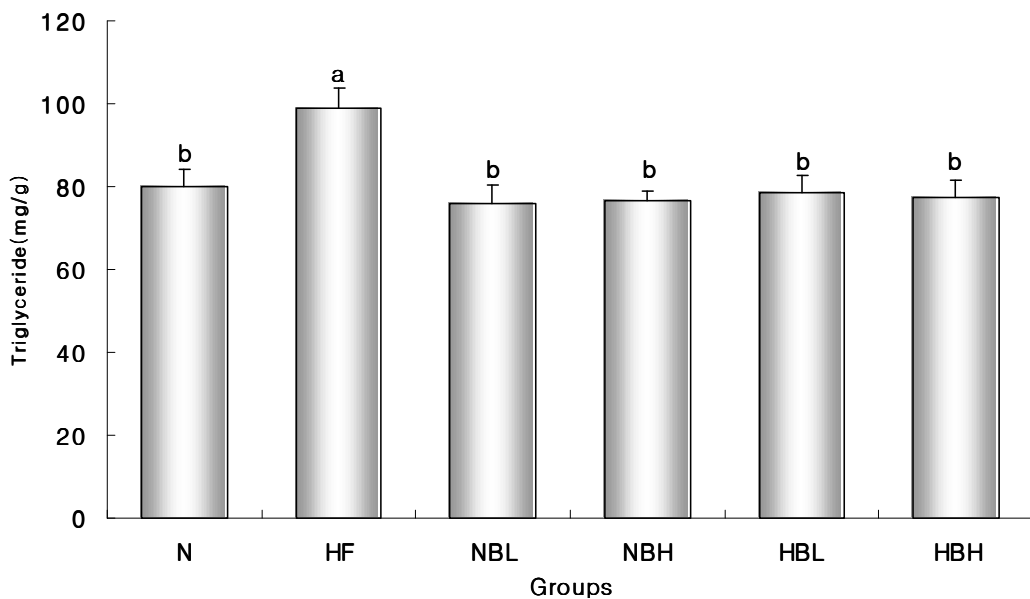


Fig. 16. Contents of triglyceride in the mesenteric adipose tissue of rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

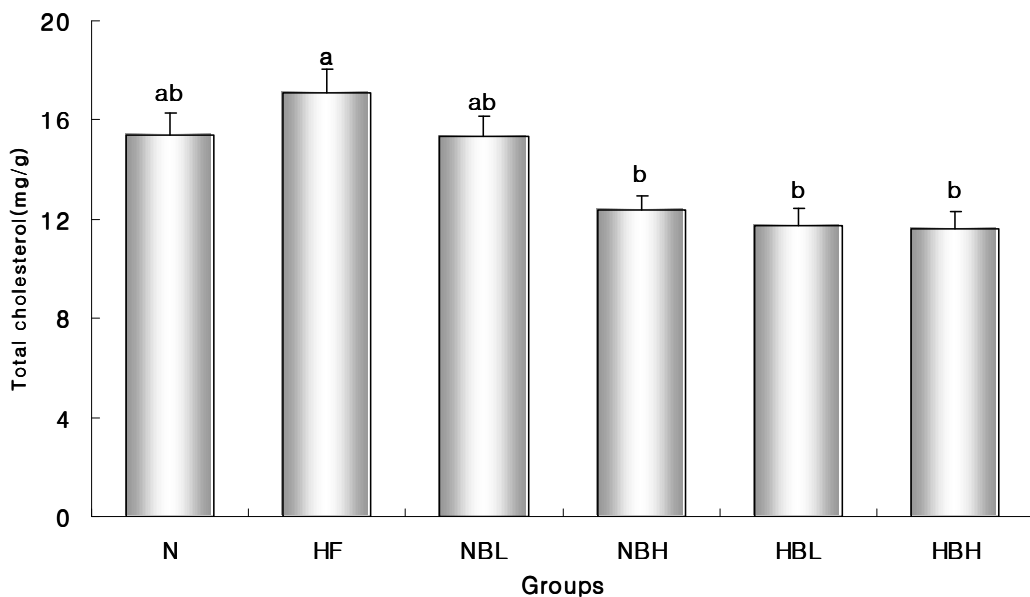


Fig. 17. Contents of total cholesterol in the mesenteric adipose tissue of rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

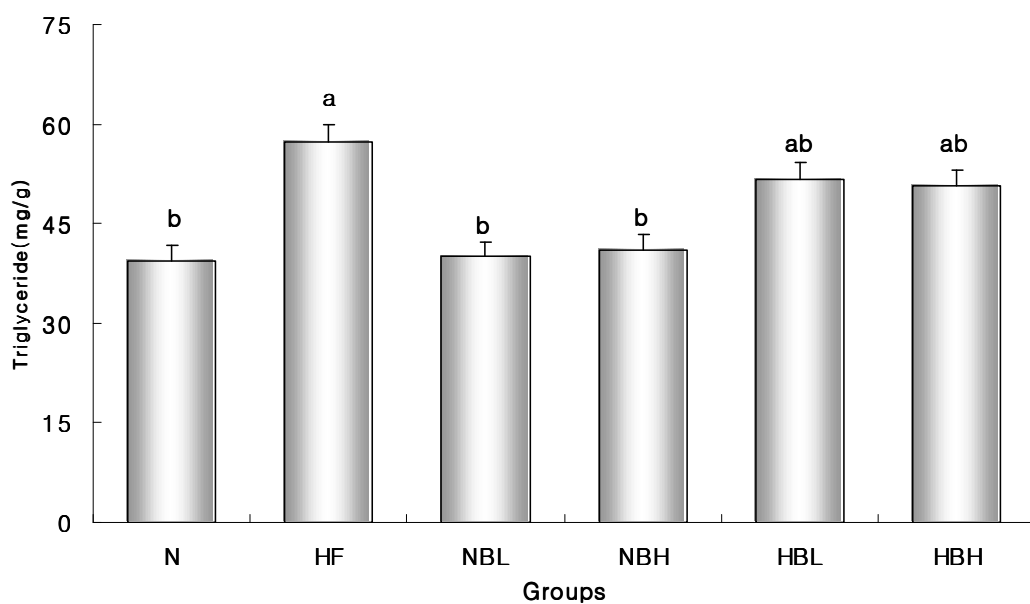


Fig. 18. Contents of triglyceride in the epididymal adipose tissue of rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

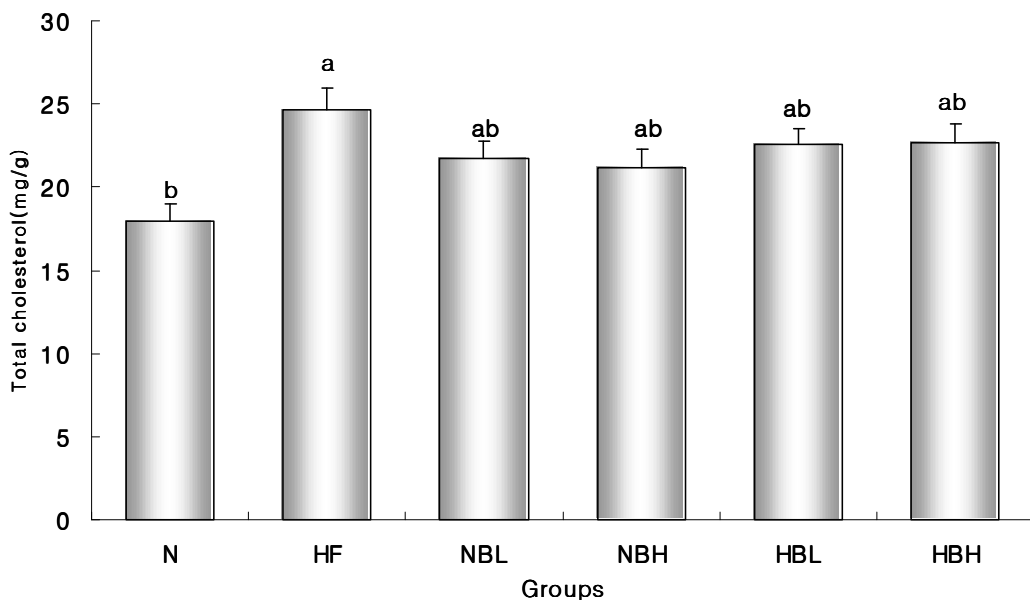


Fig. 19. Contents of total cholesterol in the epididymal adipose tissue of rats fed experimental diet with brassica oleracea extract for 4 weeks.

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean \pm S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

7. 지방조직 LPL 활성

체지방 증가시키는 요인으로 알려진 LPL에 브로콜리 새싹 에탄올 추출물이 부고환 및 내장지방조직의 HR-LPL과 TE-LPL 활성화에 미치는 영향은 Table 25, 26과 같다.

LPL은 중성지방이 풍부한 lipoprotein을 monoacylglycerol과 지방산으로 가수분해하는 주된 효소로 지방세포에서 합성되고 분비되어 모세혈관의 내피세포로 수송되어 중성지방을 가수분해 한다. LPL 활성화는식이섭취 후 증가하여, 지방의 대사에 관여하며 과잉의 에너지를 지방세포에 중성지방의 형태로 저장하게 된다(98). 또한 LPL은 동맥내벽 세포에서 LDL receptor 결합력과 콜레스테롤 흡수를 촉진한다고 알려졌다(99). LPL 결핍에 의한 지단백질의 가수분해가 저하되어 VLDL을 증가시키고 HDL을 감소시킴으로써 동맥경화증을 유발한다는 사실로 미루어 보아(100) 간 및 혈청 내 콜레스테롤 함량과 더불어 LPL 활성화 측정은 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증과 관련한 중요한 기초 자료를 제공해 줄 수 있다.

부고환지방조직의 HR-LPL 활성화는 브로콜리 새싹 에탄올 추출물만 투여한 군(NBL과 NBH)은 정상식이군(N)에 비하여 약간 감소하였으나 유의차는 없었다. 비만식을 급여한 군(HF)은 정상식이군(N)에 비해 증가되었으며, 비만식과 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 병합 투여한 군(HBL과 HBH)은 비만식이 군(HF)에 비하여 감소하였고, 특히 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 고용량 투여한 군(NBH)에서 유의한 감소를 보였다.

부고환지방조직의 TE-LPL 활성화는 비만식이 군(HF)이 정상식이군(N)에 비하여 유의하게 증가하였다. 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 병합 투여한 군(HBL과 HBH)은 비만식이 군(HF)에 비하여 감소하였으나 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 고용량 투여한 군(HBH)만이 유의적으로 감소하였다.

또한 지방부위에 따라 LPL 활성이 다르다고 알려져 있어(100,101) 내장지방조직의 LPL 활성화도 측정하였는데, 부고환지방조직에 비하여 HR-LPL 활성화와 TE-LPL 활성화 모두 낮았으나 각각의 실험 군들간의 활성화 차이는 부고환지방조직과 비슷한 경향을 보였다.

사람을 비롯한 실험동물의 경우에 지방조직의 부위에 따라서 LPL 대사가 다르게

나타나는 것으로 알려졌는데(100,101), 흰쥐의 경우 부고환과 같은 내부지방조직은 피하지방조직보다 LPL 활성이 높고, 내장지방조직은 내부지방조직과 피하지방조직 사이의 중간 정도의 LPL 활성을 가지고 있다고 한다(101). 이들 지방조직 부위별 LPL 대사 조절 기전이 다른 이유는 지방세포의 크기, 지방조직의 insulin 민감도, glucocorticoid 혹은 estrogen receptor 수의 차이에 의해 기인된다는 여러 연구결과가 있다(102). 특히 피하지방조직은 부고환지방조직보다 glucocorticoid receptor 수가 적다고 보고되었다(103).

이상의 실험결과 브로콜리 새싹 에탄올 추출물만 단독 투여한 군(NBL과 NBH)은 정상식이군(N)과 비슷한 LPL 활성을 보였으며, 비만식이만 급여한 군(HF)에 비하여 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 병합 투여한 군(HBL과 HBH)은 부고환 및 내장지방조직의 HR-LPL 및 TE-LPL이 낮은 활성을 보여 고콜레스테롤혈증과 동맥경화증의 예방효과 및 지방축적 억제효과가 있는 것으로 사료된다.

Table 25. Effect of B. oleracea extract on HR-LPL activity in adipose tissue of rats fed high fat diet

| <i>Group</i> | <i>HR- LPL activity(Units)</i> | |
|--------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | <i>epididymal adipose tissue</i> | <i>mesenteric adipose tissue</i> |
| <i>N</i> | 8.12±1.67 ^a | 6.01±1.28 ^a |
| <i>HF</i> | 14.51±1.86 ^b | 10.10±1.72 ^b |
| <i>NBL</i> | 8.95±1.74 ^a | 7.81±1.41 ^a |
| <i>NBH</i> | 8.57±1.55 ^a | 7.30±1.20 ^a |
| <i>HBL</i> | 11.01±1.36 ^{ab} | 8.22±1.13 ^{ab} |
| <i>HBH</i> | 9.25±1.50 ^a | 6.13±1.24 ^a |

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean ± S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

Table 26. Effect of B. oleracea extract on TE-LPL activity in adipose tissue of rats fed high fat diet

| <i>Group</i> | <i>TE- LPL activity(Units)</i> | |
|--------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | <i>epididymal adipose tissue</i> | <i>mesenteric adipose tissue</i> |
| <i>N</i> | 14.63±1.40 ^a | 7.46±1.53 ^a |
| <i>HF</i> | 24.47±2.01 ^b | 10.51±1.63 ^b |
| <i>NBL</i> | 18.26±1.58 ^a | 7.07±1.56 ^a |
| <i>NBH</i> | 17.65±1.00 ^a | 7.28±1.74 ^a |
| <i>HBL</i> | 21.50±1.86 ^b | 9.83±1.54 ^b |
| <i>HBH</i> | 18.80±2.84 ^a | 8.07±1.13 ^a |

Abbreviations: See the legend of Table 9. Values are mean ± S. E. of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

제4장 요약

새싹채소 에탄올 추출물이 체내 지질대사 개선과 항비만 효과를 구명하기 위하여 *in vitro*에서 브로콜리, 알팔파, 적무, 메밀, 유채, 배추, 적양배추, 보리싹인 8종류의 새싹채소 에탄올 추출물을 가지고 3T3-L1 지방전구세포에 전처리 한 후 분화유도 및 증식을 관찰하였다. 그 중 브로콜리 새싹 에탄올 추출이 3T3-L1 지방전구세포의 분화 및 증식을 가장 효과적으로 억제하여 항비만 효과를 보여 최종 후보 물질로 선정하였다. *In vivo*에서 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 투여하여 고지방 식이로 유도된 흰쥐의 비만예방효과를 측정하여 검토한 결과는 다음과 같다.

1. *In vitro*에서 8종류의 새싹채소 에탄올 추출물 50 µg/mL을 가지고 3T3-L1 지방전구세포의 분화(differentiation)에 미치는 효과를 측정한 결과는
 - ① 브로콜리 새싹 에탄올 추출물이 가장 많이 3T3-L1 지방전구세포의 분화를 가장 많이 억제시켰으며, 다음으로는 메밀싹, 알팔파, 적무, 유채, 적양배추, 배추, 보리싹 에탄올 추출물 순으로 3T3-L1 지방전구세포의 세포분화를 억제시켰다.
 - ② 세포증식이 일어나는 pre-confluent시기에 새싹채소 에탄올 추출물들을 50 µg/mL을 전처리한 후 3T3-L1 지방세포수를 가지고 증식을 측정하였는데, 브로콜리 새싹 에탄올 추출물의 지방세포수가 가장 적었다.
 - ③ 또한, 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 전처리한 3T3-L1 지방세포의 중성지방 함량도 가장 적게 나타났다. 그 외 나머지 새싹채소 에탄올 추출물에서도 대조군에 비하여 중성지방 함량이 적게 나타났다.
2. *In vitro*에서 브로콜리새싹 에탄올 추출물이 항 비만효과가 가장 우수하였으므로 흰쥐를 이용한 *in vivo*에서는 브로콜리 새싹 에탄올 추출물만을 투여하여 연구하였다.

3. 브로콜리 새싹의 성분분석은 아미노산은 lysine, 지방산은 palmitic acid, 유기산은 latic acid가 많았으며, 무기질은 K, 양이온은 K^+ , 음이온은 PO_4^{3-} 이 가장 많이 검출되었다.

4. *In vivo*에서 비만 식이로 유발된 비만 억제 효능은

- ① 비만식이만을 급여한 군(HF)은 정상군(N)에 비하여 체중이 증가하였으나, 비만식이와 브로콜리 새싹 추출물 저용량(HBL)과 고용량(HBH) 병합 투여군은 비만식이군(HF)에 비하여 체중증가율이 저하되었다. 특히 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 고용량 병합 투여군(HBH)은 정상식이군(N)과 비슷한 수준이었다. 식이효율은 비만식이군(HF)이 가장 낮게 나타났다. 체중 당 간무게, 내장지방과 부고환지방의 무게는 비만식이군에서(HF) 정상군(N)에 비하여 유의하게 증가되었다.
- ② 비만식으로 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성이 증가되었으나 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 병합투여로 저하되었는데, 특히 브로콜리 새싹 다량투여군(HBH)은 증가된 AST 활성이 비만식이(HF)군에 유의한 감소를 나타냈다.
- ③ 비만식이군(HF)은 정상식이군(N)에 비하여 혈청 중 지질함량은 유의하게 증가하였으나, 비만식으로 증가된 중성지방 함량을 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 투여로 정상식이군(N)에 근접하게 나타났다. 혈청 중 총콜레스테롤 함량은 비만식이군(HF)과 정상식이군(N)에 비하여 혈청 중성지방, 총 콜레스테롤 함량이 증가되었으며, 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 병합투여한 경우 정상식이군(N)에 가깝게 감소되었으나 유의성은 없었다.
- ⑤ 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량은 비만식이군(HF)이 정상식이군(N)에 비해 유의하게 증가하였다. 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량과 고용량 병합 투여군(NBL과 NBH)의 HDL-콜레스테롤 함량은 비만식이군(HF)에 비하여 증가하였으나 유의차는 없었다. 임상진단에서 순환계와 관련한 진단지수인 동맥경화지수와 심혈관 위험지수는 비만식이와 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 저용량(HBL)과 고용량 병합 투여군(HBH)은 비만식이군(HF)에 비하여 감소하였다. HDL-콜레스테롤, HDL-C/TC비율은 브로콜리 새싹 에탄올 추출

물 투여로 HDL-콜레스테롤 함량이 비만식이군(HF)에 비하여 증가를 나타냈으며 HDL-C/TC의 비율은 유의적으로 증가되었다.

- ⑦ 간장 중 중성지방 함량과 총콜레스테롤은 비만식이군(HF)에 비하여 브로콜리 새싹 에탄올 추출물을 병합투여한 모든 군(HBL과HBH)에서 유의차가 없었으나 용량 의존적으로 저하되었다.
- ⑨ 부고환지방조직과 내장지방조직의 중성지방 함량은 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 단독(HBL) 혹은 병합 투여한 모든 군이 비만식이군(HF)에 비해 유의차가 없었으나, 브로콜리 새싹 에탄올 추출물 투여 용량 의존적으로 저하되었다. 지방조직 내 총콜레스테롤 함량도 중성지방 함량 변화와 유사한 경향이였다.

이상의 실험결과 브로콜리 새싹 에탄올 추출물은 3T3-L1 지방전구세포의 분화 및 증식을 가장 효과적으로 억제하여 항비만효과를 보여 *in vivo* 실험을 위한 최종 후보 물질로 선정하였다. *In vivo*에서 고지방식이와 함께 섭취한 브로콜리 새싹 에탄올 추출물은 체중증가 및 지방함량저하효과, 지방축적인자인 LPL활성 저하로 인하여 항 비만효과를 보였다. 이러한 결과는 브로콜리 새싹의 식이섬유소 함량이 높아 체내 지질대사와 심혈관계질환예방, 체중증가를 억제함으로써 비만개선 효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각되어지며 현대인의 성인병 예방 및 치료에 기여할 수 있을 것으로 사료되나 식이섬유소 외의 성분이 어떻게 비만을 억제시킬 수 있는지의 가능성을 확인하기 위한 생화학적인 작용기전 등은 좀 더 많은 연구가 요구된다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Popkin BM, Doak CM. 1998. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. *Nutr Rev* 56: 106-114.
2. Korea Ministry of Health and Social Affairs. 2000. National Nutrition Survey Report.
3. Diehle HS, W Darlynple. 1973. Obesity and Digestive disorder and disease. McGraw-Hill, New York. p.65-68
4. Levy RI. 1991. Cholesterol, lipoprotein, apoproteins and heart disease; present status and future prospects. *Clin. Chem.* 27: 653-657
5. Kelly DE and Mandarino LJ. 2000. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination. *Diabetes* 49: 677-683.
6. Kelly DE, Thaete FL, Troost F, Huwe T, Goodpaster BH. 2000. Subdivision of subcutaneous abdominal adipose tissue and insulin resistance. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab* 278: 941-948.
7. Kim JY, Nolte LA, Hansen PA, Han DH, Ferguson K, Holloszy JO. 2000. High fat diet induced muscle insulin resistance: Relationship to visceral fat mass. *Am. J. Physiol* 279: 2057-2063.
8. Storlien LH, Baur LA, Kriketos AD, Pan DA, Cooney GJ, Jenkins AB, Calvert GD, Campbell LV. 1996. Dietary fats and insulin acition. *Diabetologia* 39: 621-631.
9. Raz I, Eldor R, Cernea S, Shafrir E. 2005. Diabetes: insulin resistance and derangements in lipid metabolism. Cure through intervention in fat transport and storage. *Diabetes Metab. Res. Rev* 21: 3-14.
10. King DJ, Devaney N. 1988. Clinical pharmacology of sibutramine hydrochloride(BTS 54 525) a new antidepressant, in healthy volunteers.

- Brit. J. Pharmacol* 26: 607-611.
11. Kovacs EMR, Westerterp-Plantenga MS, De Vries M. 2001. Effect of 2-week ingestion of (-)-hydroxycitrate and (-)-hydroxycitrate combined with medium-chain triglycerides on satiety and food intake. *Physiol. Behav* 74: 543-549.
 12. Westerterp-Plantenga MS, Kovacs EMR. 2000. The paradoxical effect of (-)-hydroxycitrate on energy intake regulation in humans. *Int J Obes* 24: 189-192.
 13. Helms R, Whittington P, Mauer E. 1986. Enhanced lipid utilization in infants receiving oral L-carnitine during long-term parenteral nutrition. *J Pediatrics* 109: 984-988.
 14. West DB, Delany JP, Camet PM, Blohm F, Truett AA, Seimeca J. 2000. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Am J Physiol* 275: R667-672.
 15. Park Y, Albright KJ, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW. 1999. Changes in body composition in mice during feedings and withdrawal of conjugated linoleic acid. *Lipids* 34: 243-248.
 16. Birketvedt GS, Aaseth J, Florholmen JR, Rhttig K. 2000. Long-term effect of fiber supplement and reduced energy intake on body weight and blood lipids in overweight subjects. *Acta Med* 43:129-132.
 17. Ha TY, Kim NY. 2003. The effect of uncooked grains and vegetables with mainly brown rice on weight control and serum components in Korean overweight/obese female. *Korean J Nutr* 36: 183-190.
 18. Seo JS, Bang BH, Yeo IB. 2001. Effect of improve obesity with sprout raw grains and vegetables. *Korean J Food Nutr* 14: 150-160.
 19. Liu S, Willett Wc, Manson JE, Hu FB, Rosner B, Colditz G. 2003.

- Relation between changes in intakes of dietary fiber and grain products and changes in weight and development of obesity among middle-aged women. *Am J Clin Nutr* 78: 920-927.
20. Song MR. 2001. Volatile flavor component of cultivated radish(*Raphanus sativus* L). sprout. *Korean J Food. & Nutr* 14: 20.
 21. Kim IS, Han SH and Han KW. 1997. Study on the chemical change of amino acid and vitamin of rapeseed during germination. *J Korean Soc Food Nutr* 26: 1058.
 22. Wallig MA, Kingston S, Staack R, Jeffery EH. 1998. Induction of rat pancreatic glutathione s-transferase and quinone reductase activities by a mixture of glucosinolate breakdown derivatives found in brussels sprouts. *Food and Chemical Toxicol* 39: 533.
 23. Sorensen M, Jensen BR, Poulsen HE, Deng XS, Tygstrup N, Dalhoff K, Loft S. 2001. Effects of a Brussels sprouts extract on oxidative DNA damage and metabolism enzymes in rat liver. *Food Res Int* 37: 319.
 24. Kim SL, Kim SK and Park CH. 2004. Introduction and nutritional of buckwheat sprouts as a new vegetable. *Food Res Int* 37: 319.
 25. Lee MH, Woo SJ, Oh SK, Kwon TB. 1994. Changes in contents and composition of dietary fiber during buckwheat germination. *Korean J Food Nutr* 7: 274.
 26. Kwon TB. 1994. Changes in rutin and fatty acids of buckwheat during germination. *Korean J Food Nutr* 7: 124-127.
 27. Kim YS, Kim JG, Kang IJ, Lee YS. 2005. Comparison of the chemical components of buckwheat seed and sprout. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 206.
 28. 농업진흥청 : 농촌영양개선연수원 식품분석표. 1986.

29. Pomeranz Y, Robbins GS. 1972. Amino acid composition of buckwheat. *J Arg Food Chem.* 20: 270.
30. Kim IS, Han SH and Han KW. 1997. Study on the chemical change of amino acid and vitamin of rapeseed during germination. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 1058.
31. Song MR. 2001. Volatile flavor components of cultivated radish(*Raphanus sativus* L.) sprout. *Korean J Food Nutr* 14: 20.
32. Lee YA, Kim HY, Cho EJ. 2005. Comparison of methanol extracts from vegetables on antioxidative effect under *in vitro* and cell system. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1151.
33. Cookson FB, Fedroff S. 1968. Quantitative relationships between administered cholesterol and alfalfa required to prevent hypercholesterolemia in rabbits. *Br J Exp Pathol* 49: 348.
34. Kritchvsky D, Story JA. 1974. Binding of bile salts in vitro by nonnutritive fiber. *J Nutr* 104: 458.
35. Malinow MR, Mclaughlin P. 1978. Effect of alfalfa meal on shrinkage of atherosclerotic plaques during cholesterol feeding in monkey. *Atherosclerosis* 30: 27.
36. Malinow MR, Mclaughlin P, Standford C. 1980. Alfalfa seeds, Effect on cholesterol metabolism. *Experimentia.* 36: 562
37. Malinow MR, Mclaughlin P, Papworth L, Standford C, Kohler GO, Livingston AL, Cheeke PR. 1977. Effect of alfalfa saponins on intestinal cholesterol absorption in rats. *Am J Clin Nutr* 30: 2061.
38. Cookson FB, Altschul R, Fedoroff S. 1967. The effects of alfalfa on serum cholesterol and in modifying or preventing, cholesterol induced atherosclerosis in rabbits. *J Atherosclerosis Research* 7: 69.

39. Petersen RD, Reinhold W, Tyborczk J. 1997. Cytokines in cosmetology. *Cosmetics and Toiletries Magazine* 112: 165-169.
40. Proctor JW, Stiteler RD, Yamamura Y, Mansell PWA, Winters R. 1978. Effect of glucan and other adjuvants on the clearance of radiolabelled tumor cells from mouse lungs. *Cancer Treated Reports* 62: 1873-1880.
41. Di Luzio NR, Williams DL, Mcnamee RP, Edwards BF, Kitahama A. 1979. Comparative tumor inhibitory and antibacterial activity of soluble and particulate glucan. *Int J Cancer* 24: 773-779.
42. Artursson P, Edman P, Ericsson JLE. 1987. Macrophage stimulation with some structurally related polysaccharides. *Scand J Immunol* 25: 245-251.
43. Michael M, David M, Deborah BR, Matthew L, Kristen L, William G, Myra P and William M. 1998. Activation of rat macrophages by beta-faction PGG-glucan required cross-linking of membrane receptors distinct from complement receptor three. *J Leukocyte Biology* 64: 337-344.
44. Eric JO, Joseph ES, Natalie GH, Orlee AH and Andrew HI. 1996. Fungal β -glucan interacts with vitronectin and stimulates tumor necrosis factor alpha release from macrophages. *Infection and Immunity* 64: 3548-3554.
45. Jorunn BJ and Burre R. 1995. Yeast β -glucan stimulates respiratory burst activity of atlantic salmon macrophages. *Developmental and Comparative Immunology* 19: 43-57.
46. 강순아, 장기효, 홍경희, 최원아, 정경희, 이인영. 2002. Effects of dietary β -glucan on adiposity and serum lipids levels in obese rats induced by high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 1052-1057.
47. 최면, 김종대, 박경숙, 오상룡, 이상영. 1991. 메밀보충급여가 백서의 혈당 및 혈압에 미치는 영향. *한국영양식량학회지* 20: 300.

48. 최용순, 안철, 심호흠, 최면, 오상룡, 이상영. 인스탄트 메밀국수가 백서의 소화흡수율, 간장 및 혈청지질농도에 미치는 영향. *한국영양식량학회지* 21: 478.
49. Choi YS, Ahn A, Shim HH, Choe M, Oh SY, Lee SY. 1992. Effects of instant buckwheat noodle on digestibility and lipids profiles of liver and serum in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 478-483.
50. Lee JS, Son HS, Maeng YS, Chang YK, Ju JS. 1994. Effects of buckwheat on organ weight glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Nutr* 27: 819-827.
51. Kayashita J, Shimaoka I, Nakajoh M, Yamazaki M, Kato N. 1997. Consumption of buckwheat protein lowers plasma cholesterol and raises fecal neutral sterols in cholesterol-fed rats because of its low digestibility. *J Nutr* 127: 1395-1400.
52. Green H, Kehinde. 1974. Sublines of mouse 3T3 cells that accumulate lipid. *Cell* 1: 113-116
53. Green H, Kehinde. 1976. Spontaneous heritable changes leading to increased adipose conversion in 3T3 cells. *Cell* 7: 105-113.
54. Kao YH, Chang HH, Lee MJ, Chen CL. 2006. Tea, obesity and diabetes. *Mol Nutr Food Res* 20: 188.
55. Wolfram S, Wang Y, Thielecke F. 2006. Anti-obesity effects of green tea from bedside to bench. *Mol Nutr Food Res* 50: 176-187.
56. A.O.A.C. 1995. Official methods of analysis (16th Edition) Association of official analytical chemists. Washington, D.C.
57. Gancedo M, Luh BS. 1986. HPLC analysis of organic acid in Waters. PICO. TAG system, Young-in Scientific Co. Ltd., Seoul. Korea. p41-46
58. Mongrau R, Brassard R. 1990. Determination of insoluble, soluble, and

- total dietary fiber. Collaborative study of a rapid gravimetric method, *Cereal foods World* 35: 319.
59. Chen C, Brodie AE, Hu CY. 1997. CCAAT/enhancer-binding protein β cannot overcome TCDD inhibition of 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Obesity Res* 5: 146-152.
60. Wise LS, Green H. 1979. Participation of one isozyme of cytosolic glycerophosphate in adipose conversion of 3T3 cells. *J Biol Chem* 254: 273.
61. Ko BS, Kim HK, Park S. 2002. Insulin sensitizing and insulin-like effects of water extracts from *Kalopanax pictus* NAKA fractions in 3TA-L1 adipocytes. *Korean J Agri Chem Biotech* 45: 42.
62. Park S, Jun DW, Park CH, Jang JS, Park SK, Ko BS, Kim BJ, Choi SB. 2004. Hypoglycemic effects of crude extracts of *Moutan Radicals Cortex*. *Korean J Food Sci* 36: 472.
63. Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem* 72: 248-254.
64. PG Reeves, FH Nielson, GC Fahey Jr. 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.
65. Friedwald W, Levy R, Fredrickson, D. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem* 18: 499-502.
66. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem* 226:

497-509.

67. Zlatkis A, B Zak. 1969. Study of a new cholesterol reagent. *Anal Biochem* 29: 143-148.
68. Biggs HG, Erikson TM, Moorehead WR. 1975. A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. *Clinical Chem* 21: 437.
69. Fried SK, Zechner R. 1989. Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis and activity. *J Lipid Res* 30: 1917-1923.
70. Nilsson-Ehle P, Schotz MC. 1976. A stable radioactive substrate emulsion for assay of lipoprotein lipase. *J Lipid Res* 17: 536-541.
71. Fried SK, Zechner R. 1989. Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis and activity. *J Lipid Res* 30: 1917-1923.
72. Iverius PH, Brunzell JD. 1985. Human adipose tissue lipoprotein lipase: change with feeding and relation to postheparin plasma enzyme. *Am J Physiol* 249: E107-E114.
73. Soo KJ, Sung JO. 1989. A study in the Rapeseed Fatty Acid in Korea Samples.
74. Kim IS, Kwon TB, Oh SK. 1988. Study on the Chemical Change of General Composition, Fatty Acids and minerals of Rapeseed during Germination.
75. Kim IS, Han SH, Han KW. 1997. Study on the Chemical Change of Amino acid and Vitamin of Rapeseed during Germination. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 1058-1062.
76. Kim MR, Kim JH, Wi DS, Na JH, Sok DE. 1999. Votail Sulfur Compounds, Proximate Components, Minerals, Vitamin C Content and

- Sensory Characteristics of the Juices of kale and Brocoli Leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1201-1207.
77. Lee MH, Woo SJ, Oh SK, Kwon TB. 1994. Change on Contents and Composition of Dietary Fiber during Buckwheat Germination. *Korean J Nutr* 7: 274-283.
78. Bjorntorp P. 1988. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med Scand* 723: 121-134.
79. Bjorntorp P. 1990. "Portal" adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis* 10: 493-496.
80. 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.
81. Lim SS, Kim MH, Lee JH. 1997. Effect of *Artemisia princeps* var *orientalis* and *cirsium japonicum* var *ussuriense* on liver function body lipid and bile acid of hyperlipidemic rat. *J Korean Nutr Soc* 30: 797-802.
82. 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.
83. Steinberg D. 1983. Lipoproteins and atherosclerosis: a look back and look ahead. *Atherosclerosis* 3: 283-3013.
84. Kinnunen PKJ, Virtanen JA, Vainio P. 1983. Lipoprotein lipase and hepatic endothelial lipase. *Atherosclerosis Rev* 11: 65-71.
85. 김은경, 최정희, 김미경. 1998. 초등학교 아동의 혈청 지질상태 및 지방 섭취에 관한 연구. *한국영양학회지* 31: 166-178

86. 박혜순, 조홍준, 김영식, 김철준. 1992. 성인의 비만과 관련된 질환. 가정의학 회지 13: 344-353.
87. 허영란, 임현숙. 1995. 지방 섭취 증가가 일부 젊은 여성의 혈장 지단백 조성에 미치는 영향. 한국영양학회지 28: 697-705.
88. 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.
89. Gilliard SE, Nelson CR, Maxwell C. 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol* 49: 377-381
90. Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein analysis. *Arch Pathol Lab Med* 113: 1101-1110.
91. Yun YP, Kang WS, Lee MY, 1996. The antithrombotic effects of green tea catechins. *J Food Hyg Safety* 11: 77-82.
92. 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.
93. Spady DK, Eidtschy JM. 1998. Interaction of dietary cholesterol and triglyceride in the hamster. *J Clin Invest* 81: 300-309.
94. Chi MS, Koh ET, Stewart TJ. 1982. Effects of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol of lard. *J Nutr* 112: 241-248.
95. 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.
96. Bjorntorp P. 1992. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Ann. Med* 24: 465-468.

97. 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.
98. O'Brien KD, Gordon D, Deeb S, Ferguson M, Chait A. 1992. Lipoprotein lipase is synthesized by macrophage-derived foam cells in human coronary atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 89: 1544-1550.
99. Semenkovich CF, Coleman T, Daugherty A. 1998. Effects of heterozygous lipoprotein lipase deficiency on diet-induced atherosclerosis in mice. *J Lipid Res* 39: 1141-1148.
100. Fried SK, Kral JG. 1987. Sex differences in regional distribution of fat cell size and lipoprotein lipase in morbidly obese patients. *Int J Obes* 11: 129-140.
101. Braun JEA, Severson DL. 1992. Regulation of the synthesis, processing and translocation of lipoprotein lipase. *Biochem. J* 287: 337-342.
102. Pedersen SB, Borglum JD, Moller-Pedersen T, Richelsen B. 1992. Characterization of nuclear corticosteroid receptors in rat adipocytes. Regional variations and modulatory effects of hormones. *Biochim Biophys Acta* 1134: 303-308.
103. Rebuffe-Scrive M, Walsh UA, McEwen B, Rodin DS. 1992. Effect of chronic stresses and exogenous glucocorticoids on regional fat distribution and metabolism. *Physiol Behav* 52:583-590.

감사의 글

실험실에 생활한 지 엇그제 같은데 벌써 졸업을 준비하게 되었습니다.

그동안 저를 도와주신 많은 고마운 분들이 계셨다는 것을 다시 생각하게 합니다.

먼저 부족한 저에게 많은 관심과 격려로 변함없이 믿어주시고 기회를 주신 이명렬 교수님께 가슴 속 깊이 감사드립니다.

저의 미흡한 논문을 자상하게 심사해 주시고 좀 더 체계적으로 정리해 주신 김복희 교수님과 이소정 교수님께 진심으로 감사드립니다.

학부 때부터 많은 가르침과 대학원 과정을 통하여 새로운 학문의 길을 열게 해주신 노희경 교수님, 김경수 교수님, 장해춘 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

실험실에 들어와 생활하면서 학문적인 부분 이상으로 많은 경험을 배울 수 있었고 따뜻한 마음과 사랑을 느끼게 해 준 실험실 식구들에게 감사의 마음을 전합니다.

멀리 있어 함께 하지 못했지만 실험실 선배이신 명희언니, 진옥언니, 학부 때부터 실험에 많은 도움을 주신 현숙언니께도 감사드립니다. 언제나 따뜻한 선배언니로서 가르쳐주고 아껴주는 정화언니 너무 보고 싶습니다. 힘든 일, 어려운 일 항상 함께 하며 저의 모든 부분을 감싸주고 가르쳐주는 유미언니, 짧은 시간이지만 열심히 도와주었던 착하고 밝은 아라, 부족한 저에게 세심하게 학문적으로 많은 도움을 주시고 가르쳐주신 이재준박사님께 감사드립니다. 열심히 대학원 생활을 함께 하는 대학원 동기들과 선배님, 후배님께도 감사드립니다.

그리고 항상 따뜻한 말과 함께 응원해주는 사랑스런 친구들에게 고마운 마음을 전합니다. 항상 힘이 되어주고 어른스럽고 사랑스런 동생들 너무 고맙고 아낌없이 사랑과 관심을 가져주시고 믿음으로 지켜봐주시는 부모님..부모님의 희생이 있었기에 제가 이 자리에 있을 수 있었고 감사의 마음으로 소중한 부모님께 이 논문을 바칩니다.

저작물 이용 허락서

| | | | | | |
|------|---|-----|----------|-----|----|
| 학 과 | 식품영양학과 | 학 번 | 20067033 | 과 정 | 석사 |
| 성 명 | 한글: 신 형 덕 한문 : 申 馨 惠 영문 : Shin, Hyoung Duck | | | | |
| 주 소 | 광주광역시 서구 화정4동 금호타운 102-504 | | | | |
| 연락처 | E-MAIL : gudejrtm02@nate.com | | | | |
| 논문제목 | 한글 : 새싹채소가 3T3-L1 지방세포와 흰쥐의 비만억제효과 영문 : Anti-obesity Effect of Vegetable Sprouts in 3T3-L1 Adipocytes and Rats | | | | |

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

- 다 음 -

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

동의여부 : 동의(0) 조건부 동의() 반대()

2007년 8월 일

저작자: 신 형 덕 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하