J. Fd Hyg. Safety
Vol. 24, No. 1, pp. 69~77 (2009)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

랫드에서 밤의 과육 및 내피가 지방대사 및 항혈전능에 미치는 영향

김소정 · 김미환[1] · 김진 · 김형진 · 김수현 · 이성호 · 박영석
박병권 · 김병수 · 김상기 · 최창순[2] · 류기형[1] · 정지윤*
공주대학교 특수동물학과, [1]공주대학교 식품공학과, [2]중앙대학교 식품영양학과

Effect of Chestnut on Lipid Metabolism and Antithrombotic Capacity in Rats

So-Jung kim, Mi-Hwan Kim[1], Jin Kim, Hyeong-Jin Kim, Soo-Hyun Kim, Seung-Ho Lee, Young-Seok Park, Byung-Kwon Park, Byeong-Soo Kim, Sang-Ki Kim, Changsun Choi[2], Gi-Hyung Ryu[1], and Ji-Youn Jung*
Dept. of Companion and Laboratory Animal Science, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea
[1]Dept. of Food Science and Technology, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea
[2]Dept. of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Chung-Ang University, Ansung 456-756, Korea
(Received March 8, 2009/Revised March 20, 2009/Accepted March 22, 2009)

ABSTRACT – This study was performed to investigate the effect of dried powder of chestnut on lipid metabolism, anti-thrombotic effect in rats. Thirty 5-week-old male Sprague Dawley (SD) rats were randomly allocated into five groups and used for experiment. We examined the lipid metabolism and antithrombotic capacity of SD rats administered for 5 weeks with 0.16 g/kg, 0.5 g/kg chestnut flesh powder and 0.16 g/kg, 0.5 g/kg chestnut inner shell and flesh powder mixture, respectively. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio were also checked. The levels of serum triglyceride and free fatty acid were not statistically significant between the all experimental groups. However, the antithrombotic capacity and total lipid levels of the treatment groups were significantly lower than those of the negative control group. These results suggest that the supplementation of chestnut on diet lower the total lipid level in SD rats.

Key words: chestnut, antithrombotic capacity, flavonoid, lipid metabolism

비만은 근래에 생활수준의 향상으로 인한 식생활의 서구화 및 생활양식의 변화에 따라 현저히 증가하면서 고혈압, 심장병, 당뇨병 등 각종 성인병의 원인이 되고 있을 뿐만 아니라 만성질병으로의 이환율을 증가시키고 인간의 수명을 단축시키는 등 심각한 건강상의 문제를 일으키고 있다.

특히 2002년 통계청 자료에 의하면 허혈성심장질환을 포함한 심장질환은 10년간 5.8% 증가하였으며, 2006년 40세 이상 성인의 사망 원인 4위를 기록하고 있다[1]. 뇌혈관질환의 사망률은 2006년 61.4%로 1996년 74.7%의 사망률보다 감소하는 경향을 보이기는 하지만 사망원인 1위인 악성 신생물(암)의 사망률인 134.8%에 이어 여전히 사망률 2위를 고수하고 있으며, 3위와 4위는 심장질환과 당뇨병으로 암을 제외한 주요사망원인이 순환기계 질환에 의한 것을 알 수 있다[1]. 이중 30세 이상 성인의 당뇨환자 비율이 1996년 17.4%에서 1996년 23.7%로 간질환의 사망률인 15.6%보다 높아졌다[1].

특히 서양에서는 심혈관질환의 발생 증가율이 감소되고 있는 반면, 우리나라에서는 빠른 속도로 증가하고 있는데 이러한 성인병이 급증하는 것은 여러 가지 원인이 있겠지만 역시 생활습관의 변화가 가장 큰 이유라 하겠다. 많은 과학적인 연구에서 철저한 식이요법으로 이미 질병이 생긴 혈관이라도 호전되는 것이 증명되었고, 어려서부터 좋은 식습관을 가진 사람들의 성인병 발생율이 낮은 것으로 알려짐에 따라 혈액 순환기계 질환의 예방과 치료식 등에 대한 관심 및 연구의 중요성이 더욱 고조되고 있다. 또한 최근 국민 생활수준의 향상과 함께 식생활이 다변화하면서 식품의 개념이 양적인 면에서 질적인 면으로 변모하게 되고 건강에 대한 관심이 높아지면서 각종 암, 고혈압, 당뇨병, 동맥경화 등의 성인병에 대하여 새로운 생리조절기능을 갖는 식품소재 또는 식품성분에 관한 연구가 활발히 진행되게 되었다.

*Correspondence to: Ji-Youn Jung. Department of Companion and Laboratory Animal Science, Kongju National University, Yesan Chungnam, 340-702, Korea
Tel: 82-41-330-1526, Fax: 82-41-330-1529,
E-mail: wangza@kongju.ac.kr

농산물은 인류 최초의 먹거리이자 인간의 삶을 영위하는 최후의 보루이기도 하다. 인류 초기에는 단지 삶을 영위하는 단순한 생활 및 생명유지의 수단으로서의 재료로 활용되어 왔으나 문명이 발달하면서 지역별, 인종별로 다양하게 풍토에 맞게 독특한 식재료로 변모되어 지역별로 새로운 식문화권을 형성하게 되었다. 또한 이제는 농산물 수입개방으로 국산농산물과 수입농산물의 경쟁이 심화될 수밖에 없으며 소비시장이 한정되어 있는 국내시장으로는 경쟁력을 잃어버릴 수밖에 없는 현실 속에서 경쟁력 확보를 위해서 생산 측면에서는 고품질 및 기능성 위주의 품종으로 전환하고 경쟁력 있는 품목 위주로 특성화하는 방안과 소비 측면에서는 부가가치 향상을 위한 농산물의 품질특성에 따른 소재화 기술 개발에 의한 농산물의 고품질화가 급선무이다.

밤나무는 참나무과(fagaceae) 밤나무속(castanea spp.)에 속하는 낙엽 활엽 교목으로서 아시아, 유럽, 북아메리카, 북부아프리카 등지의 온대지역에 13종이 있으며 그중 과실생산을 위하여 주로 재배하고 있는 것은 일본밤/한국밤(Castanea crenata Sieb et Zucc.), 중국밤(Castanea mollissima Blume), 유럽밤(Castanea sativa Mill.), 미국밤(Castanea dentata (Marshall) Borkhausen) 등이다[2].

밤은 예부터 밤나무를 많이 재배해 왔으며 관혼상제등의 대사에 필수적으로 이용되었을 뿐만 아니라 영양가도 풍부하여 기호식품이나 대용식량으로 널리 이용되었다[3]. 그러나 1958년 밤나무혹벌이 발생하여 재래종은 거의 사라져 강원, 경기북부 지역 등 일부 지역에 노거수 형태로 소수만 남아있게 되었으며, 현재는 밤나무혹벌에 견디는 국내종에 대한 내충성 개체 선발과 일본에서의 내충성 품종이 도입되어 재배되고 있다[2]. 현재 전국의 밤나무 재배면적은 약 80,000ha로 생산량은 94,000톤에 달하고 있으며, 주산지는 공주, 부여, 광양, 하동, 진주, 충주 등지이다[2].

밤에 관한 연구로는 국내에서 밤에 함유된 peroxidase의 정제 및 특성에 관한연구[4], 밤 전분의 물리화학적 특성에 관한 연구[5], 임 등[6]과 양 등[7]의 밤의 저장에 관한 연구, 조 등[8]의 밤나무 꽃과 잎의 화학성분 및 항균활성에 관한 연구가 있었으며 외국에서는 Attanassio 등[9]의 건조온도 조건에 따른 이화학적 성분변화에 관한 연구, Miguelez 등[10]의 HPLC를 이용한 스페인 지역의 밤의 종류별 당 성분 등이 보고되었다.

최근 국내에서는 식물에서의 생리활성 물질에 대한 연구가 활발해지면서 성인병을 예방할 수 있는 바이오 플라보노이드에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 플라보노이드는 과일, 야채, 견과류, 식물의 뿌리, 줄기, 껍질, 차, 커피, 포도주 등에 널리 분포되어 있는 저분자 천연물질로 자연계에 약 4,000종이나 있는 것으로 알려져 있으며[11,12] diphenylpropane (C6-C3-C6)을 기본 구조로 하는 물질로써 rhamnose, glucose, rutinose 등의 당류와 결합하여 배당체(glycosides)로 존재하거나 또는 자연에서 유리상태(aglycone)로 존재한다. 또 플라보노이드는 담황색 또는 노란색을 띄는 수용성 색소 화합물로써 산소 고리 주위의 구조적 특징에 따라 antoxanthin, antocyanin, tannin으로 분류되며 일반적으로 플라보노이드는 antoxanthin으로 flavones, flavonols, falvanones, flavanonols, isoflavonoids의 5종류로 나누어진다[13].

Emblica officinalis 와 Mangifera indica라는 식물에서 추출한 플라보노이드는 랫드의 간에서 HMG CoA reductase의 수준을 높이고 혈청에서 지질수치를 효과적으로 낮춤으로서 이상지질혈증에 효과적인 것으로 밝혀진바 있다[14].

밤에는 수분 65.3%, 조단백질 6.6%, 조지방 0.9%, 조섬유 2.3%, 조회분 1.7% 내로 함유되어 있는데[15], 밤의 탄닌 조성은 주로 gallic acid가 포함되어 있다[16]. Kwon 등[17]은 밤 귀피의 용매분획별 항산화 물질을 GC로 분석하였는데 salicylic acid, p-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, syringic acid, gallic acid, ferulic acid, ellagic acid를 확인하였고, 이 중 gallic acid와 ellagic acid가 각각 107.39 mg%와 172.22 mg%였다고 보고하였으며, Vekiari 등[18]은 밤나무 껍질과 밤과실에서 ellagic acid를 검출하였다.

밤에 대한 기존의 선행 연구들은 밤을 이용한 여러 가지 가공식품의 제조와 밤의 저장 방법 및 저장시 성분변화 등에 연구가 대부분으로 밤의 영양학적 또는 생리적 특성에 관한 *in vivo* 조건에서의 연구는 미흡한 실정이다[12,18]. 이에 본 연구에서는 밤을 대상으로 지질대사에 효과가 있는지와 *in vivo* 조건에서도 항혈전능이 있는지를 알아보고자 하였으며, 밤의 섭취가 지질대사와 항혈전능에서 효능을 나타낼 경우 심혈관계 질환의 예방과 치료에 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

시료준비

밤(Castanea crenata Sieb. et Zucc.)은 2008년 충남 공주시에서 채취하여 각각 과육과 내피를 분리하였고 50 °C에서 24시간 열풍 건조한 후 분쇄하여 냉동보관하면서 사용하였다.

실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 한 군당 두 케이지로 나누어 사육 하였으며, 1주간에 걸쳐 환경적응을 위한 예비사육을 실시하였다. 사료와 음수는 자유로이 섭취할 수 있도록 하였고, 사육실 온도는 23 ± 2 °C, 습도는 40~60%로 유지하였으며, 조명은 12시간의 명암 주기에서 사육하였다.

생후 5주령(246 ± 9 g)된 Sprague-Dawley 수컷 랫드 30

마리를 난괴법(randomized block design)에 의해 음성대조군, 과육 0.16 g/kg군, 과육 0.5 g/kg군, 과육내피 0.16 g/kg군, 과육내피 0.5 g/kg군으로 구분하고, 각 군별로 6마리씩 구성하였다. 시료는 체중 1 Kg당 과육 0.16 g, 과육 0.5 g, 과육과 내피를 4:1 비율로 혼합한 과육내피 0.16 g, 과육내피 0.5 g으로 측정하여 개체 당 2 ml의 증류수에 녹였다.

측정된 시료를 일주일에 총 다섯번 매일 같은 시간에 경구 투여하였으며 대조군은 개체 당 2 ml의 증류수를 같은 방법으로 총 5주간 투여하였다.

식이섭취량과 체중은 일주일에 3번 투여직전에 측정하였으며 식이섭취에서 오는 갑작스런 체중의 변화를 막기 위하여 체중 측정 12시간 전에 절식시켰다. 총 사육기간 동안의 체중증가량을 같은 기간에 섭취한 사료 섭취량으로 나누어 식이효율(food efficiency ratio, FER)을 계산하였다.

혈액과 장기의 채취

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 뒤 diethyl ether로 마취시켜 개복한 후 주사기를 사용하여 복대동맥에서 혈액을 채취하였으며 혈액생화학적 검사를 위해서 혈청분리관(polyethylene tube)을 사용하였다. 채취한 혈액은 tube에 담아 채혈 후 40분 이내에 원심분리기(UNION 32R, Hanil Co., Korea)로, 3000rpm, 26 °C에서 15분간 원심 분리하였다. 원심분리하여 얻어진 혈청 중의 Glucose 함량, 유리지방산 함량, 총 지질함량, 총 콜레스테롤 함량, HDL cholesterol 함량, LDL cholesterol 함량, 중성지질의 함량을 효소시약을 사용하여 비색 정량하였다. 혈청의 총 콜레스테롤 함량은 V-cholestase Kit(Iatron Lab, Tokyo, Japan)로 분석하였고, 혈청의 HDL chelesterol 함량, LDL cholesterol 함량은 야트로 리포 하이 콜레스트 kit(Iatron LAb, Tokyo, Japan)로 분석하였으며, 중성지방의 측정은 Cleantech TG-S kit(Iatron Lab, Tokyo, Japan)로 분석하였다.

혈액을 채취한 후 즉시 간과 신장 그리고 비장을 떼어 냉장 PBS(phosphate buffered saline)에 여러 번 헹궈 표면의 이물질을 제거한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다.

항혈전능 실험

출혈시간은 Hornstra 법에 의하여 꼬리 끝 5 mm 부분을 절단한 후, 절단면으로부터 5 cm 되는 곳까지 37.5 °C로 유지된 생리식염수(0.9% sodium chloride)에 담가 지혈될 때까지의 시간을 측정하였다[19].

동맥경화지수 (Atherogenic index, AI)의 계산

동맥경화지수는 다음 공식에 의해 계산되었다[20].

AI = ([Total-C]-[HDL-C]) / [HDL-C]

통계처리

본 연구의 모든 실험 결과는 밤의 내피와 과육 투여수준에 따른 각 군의 평균치와 표준오차를 이용하여 나타내었고 각 군의 밤 투여에 따른 영향을 알아보기 위해 SPSS program(2005, ver. 12.0)을 이용하여 통계분석하였다. 각 군간의 통계적 유의성은 α=0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다.

결 과

체중증가량과 식이효율과 및 상대장기중량

사료섭취량과 체중증가량을 이용하여 각 군의 5주간 식이효율을 측정한 결과, 대조군에 비하여 과육 0.16 g/kg군에서 통계학적으로 수치가 감소하였다(Table 1). 상대장기중량에 있어서 체중 g당 장기의 무게를 계산한 결과 대조군에 비하여 과육 0.16 g/kg, 과육 0.5 g/kg, 과육내피 0.16 g/kg, 과육내피 0.5 g/kg군 모두에서 간의 무게가 통계학적으로 유의하게 증가하였고, 대조군에 비하여 과육내피0.5 g/kg군에서 비장과 우측신장의 무게가 통계학적으로 유의하게 증가하였다(Table 2). 체중의 변화에서는 밤 투여군과 음성대조군간의 통계학적으로 유의적인 차이는 없었다(Fig. 1).

Table 1. Food intake, body weight gain and food efficiency recorded in the 5 weeks of the experiment

	Total food intake	Body weight gain	Food efficiency ratio
Group	g / 5 weeks	g / 5 weeks	%
C	1845.5 ± 13.57	144.67	7.84 ± 0.06
CPL	1786 ± 13.94	131.67	7.37 ± 0.06*
CPH	1702 ± 14.20	134.17	7.89 ± 0.06
CPSL	1671 ± 14.47	131.00	7.84 ± 0.07
CPSH	1705.5 ± 14.81	134.00	7.86 ± 0.07

Each values was expressed as Mean ± SE of 6 SD rats.
[1)]C: Control (not containing chestnut)
CPL: Chestnut flesh powder 0.16 g/kg
CPH: Chestnut flesh powder 0.5 g/kg
CPSL: Chestnut flesh powder with inner shell 0.16 g/kg
CPSH: Chestnut flesh powder with inner shell 0.5 g/kg
[2)]Significantly different from control group at $p<0.05$.

Table 2. Relative organ weight of rats after oral administration of chestnut.

	Liver	Spleen	Kidney (L)	Kidney (R)
Group	%	%	%	%
C	1.91 ± 0.05	0.14 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.01
CPL	2.07 ± 0.03*	0.15 ± 0.0	0.23 ± 0.01	0.22 ± 0.0
CPH	2.12 ± 0.07*	0.13 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.01
CPSL	2.07 ± 0.08*	0.15 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.01
CPSH	2.15 ± 0.05*	0.17 ± 0.01*	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.0*

Each values was expressed as Mean ± SE of 6 SD rats.
[1)]C: Control (not containing chestnut)
CPL: Chestnut flesh powder 0.16 g/kg
CPH: Chestnut flesh powder 0.5 g/kg
CPSL: Chestnut flesh powder with inner skin 0.16 g/kg
CPSH: Chestnut flesh powder with inner skin 0.5 g/kg
[2)]Significantly different from control group at $p<0.05$.

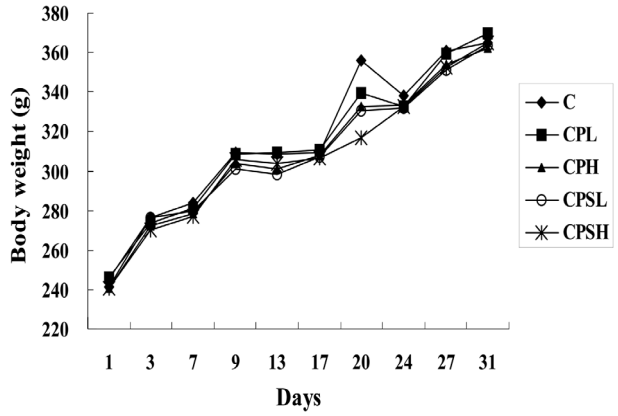

Fig. 1. Body weight changes of rats orally treated with chestnut. Each value was expressed as Mean ± SE of 6 SD rats.
[1)]C: Control (not containing chestnut)
CPL: Chestnut flesh powder 0.16 g/kg
CPH: Chestnut flesh powder 0.5 g/kg
CPSL: Chestnut flesh powder with inner shell 0.16 g/kg
CPSH: Chestnut flesh powder with inner shell 0.5 g/kg
[2)]Significantly different from control group at $p<0.05$.

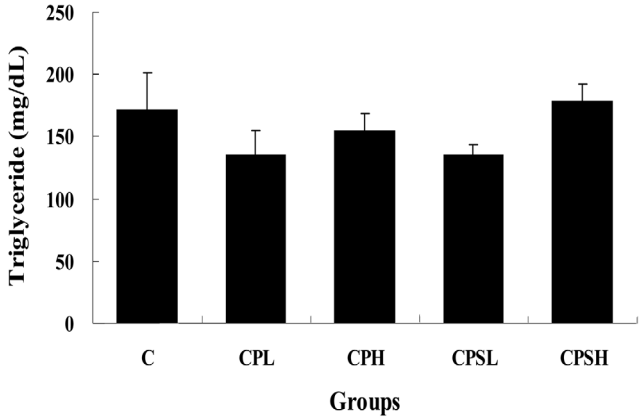

Fig. 2. Levels of triglyceride values of rats after oral administration of chestnut for 5 weeks.
Each value was expressed as Mean±SE of 6 SD rats.
[1)]C: Control (not containing chestnut)
CPL: Chestnut flesh powder 0.16g/kg
CPH: Chestnut flesh powder 0.5g/kg
CPSL: Chestnut flesh powder with inner shell 0.16g/kg
CPSH: Chestnut flesh powder with inner shell 0.5g/kg
[2)]Significantly different from control group at $p<0.05$.

Total cholesterol & High density lipoprotein (HDL) cholesterol & Atherogenic index

혈청 중 total cholesterol와 HDL cholesterol의 농도는 대조군과 비교시 과육내피 0.5 g/kg군에서 유의적인 수치의 증가가 나타났다. 과육 0.16 g/kg군에서는 대조군에 비하여 통계학적으로 유의적인 수치의 감소가 나타났으며 과육내피 0.5 g/kg군에서 대조군에 비하여 AI지수의 통계학적으로 유의적인 증가가 나타났다(Table 3).

Triglyceride & Total lipid

혈중 중성 지방의 농도를 측정한 결과 대조군에 비하여 과육 0.16 g/kg군, 과육 0.5 g/kg군과 과육내피 0.16 g/kg군에서 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 2). 혈청 총 지질 농도는 대조군에 비하여 과육 0.16 g/kg, 과육 0.5 g/kg군과 과육내피 0.16 g/kg군에서 통계학적으로 유의적인 감소를 나타내었다(Fig. 3).

Free fatty acid & Glucose

혈중 유리지방산의 농도를 측정한 결과 대조군에 비하여 밤의 과육만을 투여한 0.16 g/kg, 0.5 g/kg군과 과육내피 0.16 g/kg군에서 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4).

혈중 Glucose의 농도를 측정한 결과 밤을 투여하지 않은 대조군과 비교시 과육 0.5 g/kg과 과육내피 0.5 g/kg에서 통계학적으로 유의하게 증가한 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 5).

항혈전능

항혈전능의 수치를 측정한 결과 대조군에 비하여 과육 0.16 g/kg, 0.5 g/kg군과 과육내피 0.16 g/kg, 0.5 g/kg군에서 모두 통계학적으로 유의적인 증가를 나타내었다(Fig. 6).

Table 3. Total Cholesterol, HDL Cholesterol and Atherogenic index(AI) of rats after oral administration of chestnut.

	HDL Cholesterol	Total Cholesterol	AI
Group	mg/dL	mg/dL	
C	32.83 ± 1.2	73.67 ± 3.1	1.24 ± 0.05
CPL	33.17 ± 3.1	71.50 ± 9.6	1.16 ± 0.1*
CPH	33.00 ± 1.1	73.17 ± 3.5	1.22 ± 0.07
CPSL	33.33 ± 1.2	77.33 ± 4.7	1.32 ± 0.09
CPSH	35.67 ± 1.3*	84.83 ± 4.2*	1.38 ± 0.04*

Each value was expressed as Mean ± SE of 6 SD rats.
[1)]C: Control (not containing chestnut)
CPL: Chestnut flesh powder 0.16 g/kg
CPH: Chestnut flesh powder 0.5 g/kg
CPSL: Chestnut flesh powder with inner skin 0.16 g/kg
CPSH: Chestnut flesh powder with inner skin 0.5 g/kg
[2)]Significantly different from control group at $p<0.05$.

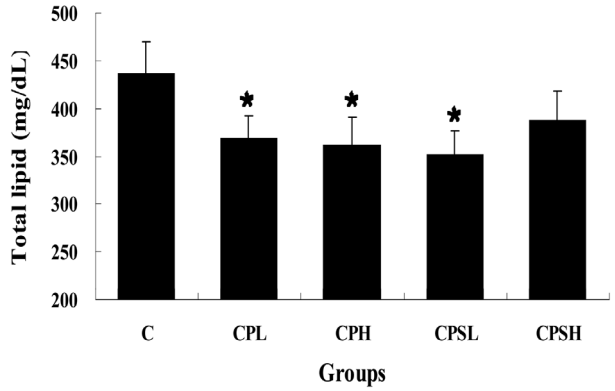

Fig. 3. Levels of total lipid values of rats after oral administration of chestnut for 5 weeks.
Each value was expressed as Mean±SE of 6 SD rats.
[1)]C: Control (not containing chestnut)
CPL: Chestnut flesh powder 0.16g/kg
CPH: Chestnut flesh powder 0.5g/kg
CPSL: Chestnut flesh powder with inner shell 0.16g/kg
CPSH: Chestnut flesh powder with inner shell 0.5g/kg
[2)]Significantly different from control group at $p<0.05$.

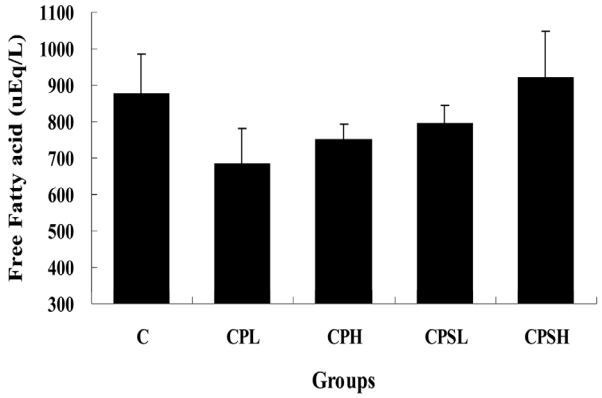

Fig. 4. Levels of free fatty acid values of rats after oral administration of chestnut for 5 weeks.
Each value was expressed as Mean±SE of 6 SD rats.
[1)]C: Control (not containing chestnut)
CPL: Chestnut flesh powder 0.16g/kg
CPH: Chestnut flesh powder 0.5g/kg
CPSL: Chestnut flesh powder with inner shell 0.16g/kg
CPSH: Chestnut flesh powder with inner shell 0.5g/kg
[2)]Significantly different from control group at $p<0.05$.

고 찰

본 연구에서는 식물성 플라보노이드 성분을 다량 함유하고 있는 밤을 대상으로 지질대사에 효과가 있는지와 *in vivo* 조건에서 항혈전능이 있는지를 확인하기 위하여 일주일에 5번씩 총 5주 동안 수컷 SD rat에 과육 0.16 g/kg, 과육 0.5 g/kg, 과육내피 0.16 g/kg, 과육내피 0.5 g/kg의 용량으로 밤을 경구투여 하였다.

체중 120~250 g의 정상 랫드가 하루에 섭취하는 사료량은 15~20 g/day인데[21)], 본 실험에서 체중 241 ± 21 g인 수컷 SD rat의 사료 섭취량을 측정한 결과 투여군들과 대조군간의 통계학적으로 유의적인 차이는 없었으며 투여군과 대조군 모두 정상 사료섭취량을 벗어나지 않는 수치였다. 따라서 밤의 과육과 내피 모두 수컷 SD rat의 사료섭취량에 영향을 미치지 않는 것으로 보인다.

체중의 변화는 밤 투여군과 대조군간의 통계학적으로 유의적인 차이는 보이지 않았다. 따라서 밤의 과육과 내피는 수컷 SD rat에서 체중의 증가에 영향을 미치지 않으며, 용량과 내피의 함유유무에 상관없이 각 조직의 발육에 영향을 미치지 않는 것으로 보인다.

사료섭취량과 체중증가량을 이용하여 각 군의 5주간 식이효율을 구해봤을 때, 대조군에 비하여 과육 0.16 g/kg군에서 통계학적으로 수치가 감소하였다. 체중 g당 장기의 무게를 계산하여 상대장기중량을 구해봤을 때 대조군에 비하여 모든 투여군에서 간의 무게가 통계학적으로 유의하게 증가하였고, 대조군에 비하여 과육내피 0.5 g/kg군에서 비장과 우측 신장의 무게가 대조군에 비하여 통계학적으로 유의하게 증가하였지만 발육정도의 개체 차이를 고려했을 때 모든 투여군의 상대장기중량이 정상범위에 속하므로 밤 투여에 따른 경향을 유추하기는 어려울 것으로 사료된다.

생체 내에서 혈액은 응고와 용해작용이 항상 평형을 이

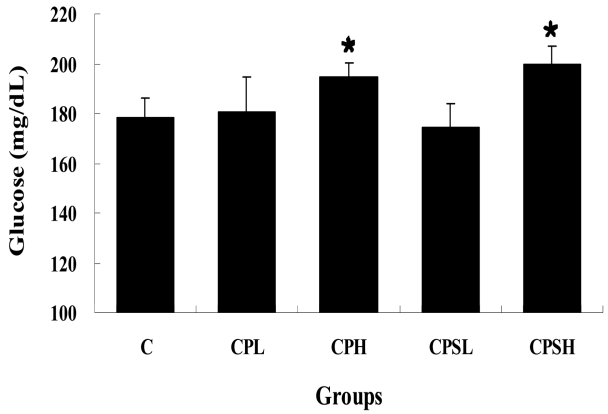

Fig. 5. Levels of glucose values of rats after oral administration of chestnut for 5 weeks.
Each value was expressed as Mean±SE of 6 SD rats.
[1)]C: Control (not containing chestnut)
CPL: Chestnut flesh powder 0.16g/kg
CPH: Chestnut flesh powder 0.5g/kg
CPSL: Chestnut flesh powder with inner shell 0.16g/kg
CPSH: Chestnut flesh powder with inner shell 0.5g/kg
[2)]Significantly different from control group at $p<0.05$.

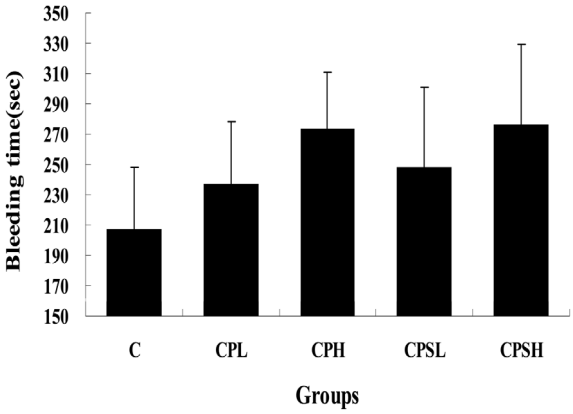

Fig. 6. Antithrombotic capacity of rats after oral administration of chestnut for 5 weeks.
Each value was expressed as Mean±SE of 6 SD rats.
[1)]C: Control (not containing chestnut)
CPL: Chestnut flesh powder 0.16g/kg
CPH: Chestnut flesh powder 0.5g/kg
CPSL: Chestnut flesh powder with inner shell 0.16g/kg
CPSH: Chestnut flesh powder with inner shell 0.5g/kg
[2)]Significantly different from control group at $p<0.05$.

루고 있어 정상적인 상태에서는 출혈이나 혈전 등에 의하여 혈류의 흐름이 방해받지 않지만 과도하게 혈소판이 응집되면 혈전이 형성되고 협심증, 뇌혈전 및 동맥경화와 같은 순환계질환을 유발시킨다. 밤에는 폴리페놀 물질 중에서도 탄닌이 가장 많이 함유되어 있으며, 그 중에서도 gallic acid가 다량 함유되어 있는데 기존의 녹차[22)]나 포도주[23)]와 관련된 연구결과를 살펴보면, 녹차와 포도주에 다량 함유된 폴리페놀 물질이 혈중 콜레스테롤 저하 및 항산화효과 그리고 항혈전능까지 있으며, 심질환계 질환 특히 동맥경화를 예방하고 치료하는데 가능성이 있다고 보고하고 있다. 또한 이등[24)]의 연구에 따르면 탄닌류 중 gallic acid와 eugeniin 등을 주요 화학성분으로 하는 정향의 에탄올 추출물에서 혈소판 응집억제능이 관찰되었다고 보고하였다. 본 연구에서 항혈전능의 수치를 측정한 결과 대조군에 비하여 과육 0.16 g/kg, 0.5 g/kg군과 과육내피 0.16 g/kg, 0.5 g/kg군에서 모두 통계학적으로 유의적인 증가를 나타내었으며, 과육과 내피의 투여량이 증가할수록 항혈전능이 증가한다는 것을 알 수 있었다.

플라보노이드류를 포함하는 다양한 폴리페놀류가 지방대사에 미치는 영향에 대한 연구는 광범위하게 이루어지지는 않았으나 몇몇 폴리페놀류의 지방대사 개선 효과가 알려져 있다. 예를 들어 적포도주에 함유되어 있는 플라보노이드는 유리기를 제거하여 지질과산화를 방지하거나[25)] lipoxygenase, cyclo-oxygenase, phospholipase A_2 (PLA_2) 등의 효소 활성을 저해함으로써[26)] 혈청 LDL-cholesterol의 수준을 낮추고[27)] 혈소판 응집을 저해하여 고지방식을 즐기는 프랑스인들의 심혈관계 질환 사망률을 낮춘다고 한다[28)]. 또한 Jung 등은 당뇨 모델 쥐에게 식물성 플라보노이드인 naringin 200 mg/kg diet를 5주간 섭취시킨 결과 혈중 글루코스, 혈장 유리지방산 및 지방 대사 관련 효소의 활성을 감소시켰다고 보고한 바가 있으며[29)], C57BL/KsJ-db/db mice에서 hesperidin과 naringin이 glucose와 lipid 조절에 미치는 영향을 알아본 실험에서는 glucose 조절효소를 발현하는 유전자에 영향을 주고 지방산과 cholesterol대사를 부분적으로 조절하여 제 2형 당뇨에 걸린 동물에서 고지혈증과 고혈당증을 개선하는데 효과가 있는 것으로 밝혀졌다.

본 실험에서 혈중 유리지방산의 농도를 측정한 결과 대조군에 비하여 밤의 과육만을 투여한 과육 0.16 g/kg, 0.5 g/kg군과 과육내피 0.16 g/kg군에서는 대조군에 비하여 감소하는 경향이 나타났으며 이중 과육 0.16 g/kg군에 비하여 과육 0.5 g/kg군에서 유리지방산의 수치가 오히려 증가하는 경향을 보였다. 따라서 내피의 함유유무와 용량에 상관없이 적정량의 과육 투여가 혈청 중 유리지방산의 농도를 낮추는데 가장 효과적이라고 판단되며 혈중Glucose의 농도를 측정한 결과 밤을 투여하지 않은 군과 비교시 과육 0.5 g/kg과 과육내피 0.5 g/kg에서 통계학적으로 증가한 것은 밤의 섭취가 늘어날수록 밤의 구성성분 중 sucrose, glucose와 같은 유리당의 섭취도 늘어나기 때문인 것으로 추측된다.

HDL입자는 유리 간에서 합성되어 혈장에서 cholesterol을 에스테르화하는데 관여하는 효소인 lecithin cholesterol acyl transferase(LCAT)의 활성화에 관여하여 cholesterol의 세포내 유입을 억제하는 항동맥경화 작용을 하게 된다[30)].

즉, HDL-cholesterol은 cholesterol이 말초조직으로부터 간으로 이동하는 것을 중재해주는 역할을 하므로 HDL cholesterol 수준이 증가되면 동맥경화 예방효과가 있다고 해석할 수 있는 것이다[31]. 본 연구에서 밤을 투여한 랫드에서의 혈청 중 total cholesterol와 HDL cholesterol의 농도는 대조군과 비교시 과육내피 0.5 g/kg군에서 유의적인 수치의 증가가 나타났고 과육 0.16 g/kg군에서는 대조군에 비하여 통계학적으로 유의적인 수치의 감소가 나타났으며 과육내피 0.5 g/kg군에서 대조군에 비하여 AI지수의 통계학적으로 유의적인 증가가 나타났다(Table 3). 따라서 적정량의 밤 과육투여는 동맥경화예방에 효과가 있다고 보이며 과육내피 0.5 g/kg군의 HDL cholesterol의 농도는 대조군에 비해 유의적으로 상승했지만 total cholesterol의 농도와 AI지수를 봤을 때, 내피의 투여가 동맥경화의 예방에는 효능이 없는 것으로 판단된다.

*Emblica officinalis*와 *Mangifera indica*라는 식물에 있는 플라보노이드를 추출하여 흰쥐에 투여한 결과 cholesterol 식이를 공급한 흰쥐의 혈장 중성지질함량이 낮아졌고 그 이유로는 체내 지방생합성을 위한 NADPH 공급의 감소와 중성지질 생합성 효소 활성의 유의적인 감소에 의한 것이라고 한다[18]. 중성지질은 혈중 지질과 지단백질 중에서 심장질환과 양의 상관관계가 있는 것으로 알려져 있는데, 본 실험 결과에서는 혈중 중성 지방의 농도를 측정한 결과 대조군에 비하여 과육 0.16 g/kg군, 과육 0.5 g/kg군과 과육내피 0.16 g/kg군에서 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 혈중 총 지질 농도는 대조군에 비하여 과육 0.16 g/kg, 과육 0.5 g/kg군과 과육내피 0.16 g/kg군에서 통계학적으로 유의적인 감소를 나타내었는데, 과육내피 0.5 g/kg군에서 한 개체의 혈중 총 지질농도가 비정상적으로 높아 평균값이 비교적 높게 나온 것으로 추측된다. 비정상적인 수치가 나온 개체의 총 지질농도를 제외한 평균은 344 mg/dl로 투여군 중 가장 통계학적으로 유의적인 감소를 나타낸다. 이러한 결과로 보았을 때, SD rat에서 밤의 투여는 중성지질과 혈청 총 지질 농도를 감소시키는 역할을 하지만 투여한 시료 중 밤의 내피유무나 시료의 함유수준에 따라 혈청 내 중성지질과 총 지질의 농도는 영향을 받지 않는 것으로 보인다.

밤에는 gallic acid가 다량 함유되어 있어 기존의 연구들처럼 지질대사와 항혈전능에 유의적인 효과를 기대하였으나, 체중변화에서는 군간의 통계학적으로 유의적인 차이가 나타나지 않았고, Triglyceride와 유리지방산은 과육 0.16 g/kg, 과육 0.5 g/kg, 과육내피 0.16 g/kg군에서 대조군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었다. 식이효율과 AI지수는 대조군과 비교했을 때 과육 0.16 g/kg군의 수치가 통계학적으로 유의하게 낮았으며, 과육 0.5 g/kg의 AI수치와 상대장기중량은 대조군과 비교했을 때 통계학적으로 유의하게 높게 나타났다. 혈청 glucose는 대조군에 비하여 과육 0.5 g/kg와 과육내피 0.5 g/kg에서 통계학적으로 유의적인 수치의 증가가 일어났고, 혈청 총 지질의 농도는 과육 0.16 g/kg, 과육 0.5 g/kg, 과육내피 0.16 g/kg군에서 대조군에 비하여 통계학적으로 유의적인 감소가 나타났으며, 항혈전능은 대조군에 비하여 모든 투여군에서 밤의 내피 함유유무와 상관없이 용량의존적으로 유의적인 수치의 증가를 나타냈다.

이상의 결과를 종합해 보면, 밤의 과육을 저용량으로 급여한 군에서 식이효율 및 전반적인 체내 지질 수준의 감소와 항혈전능 수치의 증가를 관찰할 수 있었다. 그러므로 본 연구 결과에서 볼 때 밤의 과육 섭취는 고혈압성 질환, 동맥경화증과 같은 혈액 순환기계 질환의 예방 및 치료와 건강기능식품의 첨가제 등으로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

또한 gallic acid와 같은 밤의 주요 성분이 어떠한 기전에 의해 항혈전능을 보이는 지를 밝혀줄 후속 연구가 필요하다고 생각되며, 본 실험 결과에서 보는 바와 같이 식물성 폴리페놀 물질인 탄닌의 함량이 높은 내피에 대하여 약리적 유용성이 인정되지 않으므로 차후 밤의 내피 성분에 대한 연구와 그 기전에 대한 연구도 함께 진행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 농산물 수입개방으로 우리농산물의 고부가가치 창출에 힘써야 하는 이때에 비만인구의 증가과 이에 따른 순환기계질환의 심각성을 인식하고 예부터 기호식품이나 대용식량으로 널리 이용되어 왔던 밤을 이용하여 기능성식품으로서의 가치를 알아보고자 하였다.

실험은 일주일에 5번씩 총 5주 동안 5주령의 수컷 SD rat를 대상으로 밤시료를 경구투여하였다. 실험군은 음성대조군(non chestnut group), 과육 저용량 투여군(0.16 g/kg), 과육 고용량 투여군(0.5 g/kg), 과육내피 저용량 투여군(0.16 g/kg), 과육내피 고용량 투여군(0.5 g/kg)으로 구분하여 지질대사와 항혈전능에 미치는 영향을 비교 분석하였다.

실험결과 랫드의 체중증가량과 상대장기중량에서 통계학적으로 유의적인 변화가 관찰되지 않았지만, 사료섭취량과 체중증가량을 이용하여 각 군의 5주간 식이효율을 구해보았을 때 과육 저용량군의 식이효율이 대조군의 식이효율보다 유의적으로 감소하였다.

혈청 중 triglyceride, free fatty acid의 수치는 과육내피 고용량군을 제외하고 대조군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었으며, total lipid의 수치는 모든 투여군이 대조군에 비하여 감소하였고 특히 과육 저용량군, 과육 고용량군, 과육내피 저용량군에서 수치가 유의적으로 감소하였다. 한편, glucose의 수치는 대조군에 비해 과육 고용량군, 과육내피 고용량군에서 유의적인 증가를 관찰할 수 있었

다. 혈청 total cholesterol과 HDL-cholesterol의 수치를 이용한 Atherogenic index 즉, 동맥경화지수는 대조군과 비교하여 봤을 때 모든 투여군에서 증가하는 경향을 보였지만 특히 과육 고용량군과 과육내피 고용량군의 수치가 과육 저용량군과 과육내피 저용량군의 수치보다 높은 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합해 봤을 때 내피를 함유한 식이보다 과육만을 함유한 식이가 랫드에서 지질대사와 항혈전능에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 따라서 우리나라에서 대량으로 생산되고 있는 밤나무 열매의 과육이 기능성 건강식품의 소재로 이용될 수 있는 적절한 물질이라 판단된다.

참고문헌

1. 이지연, 박경애: 2006년 사망 및 사망원인통계결과. 통계청 인구동향과 (2007).
2. 임업연구원: 밤나무 재배관리 기술. 16 (2001).
3. 김정호, 김종천, 고광출, 김규래, 이재창: 과수원예각론. 향문사, 서울, 404-420 (1999).
4. Oh, S.H., Kim, Y.H. and Lee, S.N.: Purification and properties of the peroxidase in castanea semen. *Kor. J. Food Sci. Technol*, **19**, 506-514 (1987).
5. Kim, S.K., Jeon, Y.J., Kim, Y.T., Lee, B.J. and Kang, O.J.: Physicochemical and textural properties of chestnut starches. *J. Korean Soc. Food Nutr,* **24**, 594-600 (1995).
6. Yim, H., Kim, C.O., Shin, D.W. and Suh, K.B.: Study on the storage of chestnut. *Korean J. Food Sci. Technol,* **12**, 170-175 (1980).
7. Na, Y.A. and Yang, C.B.: Changes of lipids in chestnut during storage. *Korean J. Food Sci. Technol,* **29**, 437-445 (1997).
8. Cho, G.S. and Kim, H.Y.: Screening of Antimicrobial Activity from Castanea crenata Sieb. et Zucc. Leaves and Flowers. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem*, **46**, 262-267 (2003).
9. Gerardina, A., Luciano, C., Donatella, A. and Marisa, D.M.: Effects of drying temperatures on physico-chemical properties of dried and rehydrated chestnuts (Castanea sativa). *Food Chemistry*, **88**, 583-590 (2004).
10. Míguez, B.M., Montaña, M.J. and García, Q.J.: HPLC determination of sugars in varieties of chestnut fruits from galicia. *J. Food Compos. Anal,* **17**, 63-67 (2004).
11. Bylik, A. and Sapers, G.M.: Distribution of quercetin and kaempferol in lettuce, kale, chive, garlic chive, leek, horseradish, red radish, and red cabbage tissues. *J. Agric. Food Chem*, **33**, 226-228 (1985).
12. Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and Katan, M.B.: Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem*, **40**, 2379-2383 (1992).
13. Pratt, D.E. and Hudson, B.J.F.: In food antioxidants: Natural antioxidants not exploited commercially. Elsevier Applied Science, London, UK, 171-192 (1990).
14. Anila, L. and vijayalakshmi, N.R.: Flavonoids from emblica officinalis and mangifera indica-effectiveness for dyslipidemia. *J. Ethnopharmacol*, **79**, 81-87 (2002).
15. Na, Y.A. and Yang, C.B.: Changes of constituent components in chestnut during storage. *Korean J. Food Sci. Technol*, **28**, 1164-1170 (1996).
16. Vasconcelos, M.C., Bennett, R.N., Rosa, E.A. and Cardoso, J.V.F.: Primary and secondary metabolite composition of kernels from three cultivars of Portuguese chestnut (Castanea sativa Mill.) at different stages of industrial transformation. *J. Agric. Food. Chem,* **55**, 3508-3516 (2007).
17. Kwon, E.J., Kim, Y.C., Kwon, M.S., Kim, C.S., Kang, W.W., Lee, J.B. and Chung, S.K.: Antioxidative activity of solvent fraction and isolation of antioxidant compound from chestnut husk. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr,* **30**, 726-731 (2001).
18. Vekiari, S.A., Gordon, M.H., Garcia, M.P. and Labrinea, H.: Extraction and determination of ellagic acid content in chestnut bark and fruit. *Food Chem,* **110**, 1007-1011 (2008).
19. Hornstra, G. and Kester, A.D.: Effect of the dietary fat type on arterial thrombosis tendency. systematic studies with a rat model. *Atherosclerosis*, **131**, 25-33 (1997).
20. Yamazaki, K. and Murata, M.: Frequency of atherogenic risk factors in Japanese obese children. *Diabetes. Res. Clin. Pract*, **10**, S211-S219 (1990).
21. 정순동: 가축과 실험동물의 생리자료. 광일문화사, 서울, 694 (1996).
22. Ikeda, I., Imasato, Y., Sasaki, E., Nakayama, M., Nagao, H., Takeo, T., Yayabe, F. and Sugano, M.: Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. *Biochim. Biophys. Acta*, **1127**, 141-146 (1992).
23. Waterhouse, A.L.: Wine and heart disease. *Chemistry and industry*, **5**, 338-341 (1995).
24. Lee, J.I., Lee, H.S., Jun, W.J., Yu, K.W., Shin, D.H., Hong, B.S., Cho, H.Y. and Yang, H.C.: Anticoagulation activities pattern and in vivo test of extract from eugenia caryophyllata. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*, **29**, 543-548 (2000).
25. Petroni, A., Blasevich, M., Salami, M., Papini, N., Montedoro, G.F. and Galli, C.: Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb. Res*, **78**, 151-160 (1995).
26. Laughton, M.J., Evans, P.J., Moroney, M.A., Hoult, J.R. and Halliwell, B.: Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem. Pharmacol,* **42**, 1673-1681 (1991).
27. Viana, M., Barbas, C., Bonet, B., Bonet, M.V., Castro, M., Fraile, M.V. and Herrera, E.: In vitro effects of a flavonoid-rich extract on LDL oxidation. *Atherosclerosis*, **123**, 83-91 (1996).
28. Hertog, M.G., Feskens, E.J., Hollman, P.C., Katan, M.B. and Kromhout, D.: Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart diease: The Zutphen Elderly Study. *Lancet*, **342**, 1007-1011 (1993).
29. Jung, U.J., Lee, M.K., Park, Y.B., Kang, M.A. and Choi, M.S.: Effects of citrus flavonoids on lipid metabolism and

glucose-regulating enzyme mRNA level in type-2 diabetic mice. *Int. J. Biochem. Cell Biol,* **38**, 1134-1145 (2006).
30. Glomset, J.A.: Physiological role of lecithin-cholesterol acyltransferase. *Am. J. Clin. Nutr*, **23**, 1129-1136 (1970).
31. Miller, G.J. and Miller, N.E.: Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease. *Lancet*, **1**, 16-19 (1975).