

곡류 및 두류 추출물로 부터 HMG-CoA reductase 저해활성 검색

하태열 · 조일진 · 이상효
한국식품개발연구원 쌀연구사업단

Screening of HMG-CoA Reductase Inhibitory Activity of Ethanol and Methanol Extracts from Cereals and Regumes

Tae Youl Ha, Il Jin Cho and Sang Hyo Lee
Korea Food Research Institute, Rice Research Group

Abstract

A study was conducted to screen the inhibitory activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A(HMG-CoA) reductase, which is known to be rate-limiting enzyme in cholesterol biosynthesis, from the extracts of 80% methanol and 70% ethanol of cereals and regumes. The strongest inhibitory activity was shown in the ethanol extract of sorghum among the ethanol extracts. The inhibitory activity of HMG-CoA reductase of proso millet methanol extract was 73%, and highest among the methanol extracts. The inhibitory activity of 44.7% was observed in sorghum methanol extract. The methanol extracts of proso millet and sorghum were further fractionated with hexane, chloroform, ethylacetate, butanol and water. HMG-CoA reductase inhibitory activity was shown in all fractions of proso millet and sorghum methanol extracts. Hexan fraction of both proso millet and sorghum had the strongest inhibitory activity among five fractions, and the inhibitory activity was increased compared to each crude extracts.

Key words: HMG-CoA reductase inhibitor, cereals, methanol extract

서 론

콜레스테롤은 세포막의 구성성분, 담즙산 및 호르몬의 전구체로서 생체내의 필수성분중의 하나이다. 그러나 혈중 콜레스테롤의 과다한 상승은 혈청 지질인자중 관상동맥질환의 제 1 위험인자로 알려져 있어 특히 서구에서는 혈중 콜레스테롤 농도를 낮추기 위하여 영양교육에서 부터 약제개발에 까지 다방면으로 노력해 왔으며 혈중 콜레스테롤 상승억제에 대한 관심이 집중되고 있다. 혈중 콜레스테롤의 농도는 크게 생체 내에서의 생합성과 분해의 두 과정에 의하여 조절되는데 그 중 생합성 과정이 더 크게 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 콜레스테롤 생합성 과정중 HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A)로부터 mevalonate로 전환시키는 효소인 HMG-CoA reductase는 cholesterol 합성속도의 율속 효소이며 간장중 HMG-CoA reductase활성의 저하는 간장 LDL-receptor의 활성을

증가시켜 혈중 콜레스테롤 농도를 감소시킨다고 보고되어 있다. 이와 동시에 고지혈증 개선제로서 콜레스테롤 합성저해제에 관한 연구가 다각적으로 연구되어 왔고⁽¹⁻⁷⁾ 현재 시판되고 있는 compactin도 미생물균주로부터 분리한 것으로 HMG-CoA reductase의 활성을 특이적으로 저해하며 이에 대한 자세한 연구가 계속되고 있다⁽⁸⁻¹⁰⁾.

한편 근년의 역학조사에 의하면 곡류가 풍부한 식사를 섭취하는 사람들은 그렇지 못한 사람들에 비하여 심질환 발생률이 현저히 낮다고 보고되어 있고⁽¹¹⁾, 곡류 및 그 부산물이 체내 콜레스테롤 함량을 저하시키는 작용은 주로 식이섬유의 작용에 기인한다고 산발적으로 보고되어 왔다⁽¹²⁻¹⁶⁾. 예를 들면 밀, 보리, 옥수수 외피, oat bran 등이 생체내 콜레스테롤 저하작용이 있는 것으로 보고되어 있으며 이는 식이섬유, 특히 hemicellulose를 비롯한 soluble dietary fiber의 작용에 기인하는 것으로 보고되어 있다. 보리에는 실험동물의 혈중 콜레스테롤 상승을 억제하는 강한 효과가 있는 것으로 알려져 있으며⁽¹⁷⁾ Qureshi 등은 고단백질 보리에는 배유부에 존재하는 식이섬유, β -glucane의 콜

Corresponding author: Tae Youl Ha, Korea Food Research Institute, Rice Research Group, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-ku, Songnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea

레스테를 배설작용과는 다른 성분이 존재함을 밝혔고, 이러한 보리의 콜레스테롤 억제효과를 나타내는 주된 성분은 HMG-CoA reductase 활성을 억제하는 tocotrienol이라고 보고하고 있다⁽⁷⁾. 또한 메밀이나^(18,19) 울무⁽²⁰⁾ 등에도 흰쥐 체내 콜레스테롤 함량을 감소시키는 작용이 있다고 보고되어 있다. 잡곡류에는 콜레스테롤 저하효과를 나타내는 성분으로서 종래부터 알려진 식이섬유 이외에도 다른 성분, 예를들면 phenolic compound와 같은 성분들이 다량함유 되어 있는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 곡류에는 콜레스테롤 저하효과와 물질이 존재할 가능성이 높으나 모두 실험동물을 이용한 효능검토단계에서의 산발적 보고가 있을 뿐이며 이들의 작용기작에 관한 구명이나 제품화된 예는 없다.

따라서 본 연구에서는 곡류로부터 콜레스테롤 상승억제 기능소재 개발을 위한 기초연구로서, 곡류 및 두류를 에탄올 및 메탄올로 추출하여 각 추출물에 대해서 HMG-CoA reductase 저해활성을 검색하였다. 또한 활성을 나타낸 일부시료는 극성이 다른 각종 용매로 순차적으로 분획하여 저해활성을 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험재료로 사용한 현미, 흑미, 향미, 배아, 쌀보리, 늘보리, 수수, 기장, 차조, 메밀, 울무, 옥수수, 흑임자, 녹두, 대두, 동부, 팥, 검정콩은 모두 1996년도산으로서 대양영농조합으로부터 구입하였다. Cholestyramin, β -NADPH, HMG-CoA, dithiothreitol은 sigma사로 부터 구입하였고 나머지 시약은 일급이상의 것을 사용하였다.

시료의 조제

각 실험재료는 이물질 등을 골라내고 물로 씻어 30°C에서 풍건한 후 40 mesh로 분쇄하였고 지방함량이 높은 흑임자 및 두류는 hexane으로 탈지한 후 추출에 이용하였다. 각 시료에 70% 에탄올 용액을 시료중량의 10배를 가하여 16시간 shaking 한 다음 여과하고 (Toyo No. 2) 다시 70% 에탄올 용액을 시료중량의 5배 가하여 3시간 shaking하여 여과하였다. 여액은 모아서 감압건조시킨 뒤 잔존하는 물은 동결건조하여 에탄올 시료로 사용하였다. 메탄올 시료는 에탄올 대신 80% 메탄올을 가하여 에탄올 시료와 동일한 방법으로 추출하였다. 또한 활성이 나타난 일부시료는 각종 용매로서 순차적으로 분획하였는데, 즉 시료 2 g

에 증류수 100 mL을 가하여 혼합한 후 500 mL 분액여두에 넣어 hexane 200 mL을 넣고 분액여두용 진탕기에서 10분간 진탕한 다음 1시간 방치후 hexane층을 분리해 내고 다시 hexane 200 mL을 가하여 10분간 진탕, 1시간 방치하여 hexane층을 분리하여 모았다. 다음은 chloroform, ethylacetate, butanol을 순차적으로 가하여 hexane과 동일한 방법으로 분획하여 hexane획분, chloroform획분, ethylacetate획분, butanol획분, 수용성 획분으로 분획하였고 각 분획물은 감압건조하였다. 각 시료 추출물 및 분획물은 dimethylsulfoxide (DMSO)로 일정농도가 되게 녹인 후 assay에 이용하였다.

효소원의 조제

실험동물은 200~220 g의 SD계 숫컷 흰쥐에게 activation 시킨 cholestyramin을 일반고형사료에 0.4% 되게 첨가한 사료를 주어 10일간 사육하였다. 사육이 끝난 흰쥐는 밤 11시에 해부하여 간을 적출하여 무게를 측정하였다. 적출한 간을 cold buffer (인산 완충용액, pH 7.0, 50 mM, sucrose 0.2 M, dithiothreitol 2 mM)로 세척하여 Potter-Elvehjem type glass homogenizer로 homogenize한 다음 15,000 g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액에서 흰색의 지방층을 가아제와 면봉으로 제거하고 다시 100,000 g에서 70분간 초원심분리하여 microsome pellet을 취하고 다시 buffer A로 microsome을 세척하여 100,000 g에서 60 분간 원심분리한 다음 -20°C에서 보관하였다. -20°C에서 약 2주일간 보관되었던 microsome pellet을 buffer B (인산완충용액, pH 7.0, 50 mM, sucrose 0.1 M, dithiothreitol 2 mM, KCl 50 mM, EDTA 30 mM)를 가하여 homogenize한 후 상온에서 30분간 방치 한 다음 100,000 g, 20°C에서 60분간 초원심분리하여 상등액을 효소원으로 하였고 사용할 때 까지 -70°C에서 보관하였다.

HMG-CoA reductase 억제활성의 측정

HMG-CoA reductase 활성은 Kleinsek 등의 방법⁽²¹⁾에 따라 측정하였는데, 즉, 1 mL Cuvette에 각시료 20 μ L (control은 시료대신 DMSO 20 μ L, 인산완충용액 (pH 7.0, 0.5 μ M) 100 μ L, DTT (20 mM) 100 μ L, NADPH (3 mM) 100 μ L, 효소원을 100 μ L를 가하고 반응액의 온도를 37°C로 일정 하게 한 후 HMG-CoA (3 mM)를 100 μ L 가하여 효소반응을 시작하면서 340 nm에서 5분간의 흡광도 변화를 기록하였다. 또한 HMG-CoA 대신 증류수를 가한 blank로 반응시킨 흡광도의 변화도 동시에 기록하여 다음식에 의거하여 억제활성을 산출하였다.

억제활성(%)=[1-(control의 흡광도 변화-control blank의 흡광도)/(sample의 흡광도 변화-sample blank의 흡광도 변화)]×100

단백질 정량

Solubilized enzyme원의 단백질양은 Lowry법⁽²²⁾에 의하여 정량하였고 표준품은 bovine serum albumin을 사용하였다.

결과 및 고찰

시료의 일반성분

시료의 일반성분을 보면 수분은 10% 미만이었으며 지방 함량은 0.2~5%로 나타났으며 일부 두류등 고지방 시료는 핵산으로 탈지하여 사용하였으므로 단백질 및 식이섬유 함량이 각각 22~42%, 10~23% 범위로 매우 높게 나타났다.

시료 추출물의 수율

각 시료의 에탄올 및 메탄올 추출물의 수율(Table 1)을 보면 메탄올 추출물에서는 탈지대두가 15.1%, 탈지검정콩이 14.8%로 매우 높았으며 현미, 흑미, 울무는 2%미만으로 낮았고 향미는 1% 미만이었다. 에탄올 추출물에서도 탈지검정콩이 17.5%로 가장 높았고 향미가 0.6%로 가장 낮았으며 전체적으로 보아 메탄올 추출물의 수율이 에탄올 추출물 보다 약간 낮게 나

타났다. 표준 분획물의 수율(data not shown)은 수수의 경우 핵산획분이 42%로 가장 높았고 다음은 수용성 획분이 38%, 부탄올 획분이 11%였으며 기장은 핵산 획분이 62%, 수용성 획분이 30%, 부탄올 획분이 7%의 순으로 두시료 모두 핵산 획분이 가장 많았고 에틸 아세테이트 획분이 가장 낮게 나타났다.

시료 추출물의 HMG-CoA reductase 저해활성

각 곡류 및 두류 시료 에탄올 추출물을 100 µg/assay 되게 첨가하여 HMG-CoA reductase 억제활성을 검색한 결과를 Table 2에 나타내었다. 수수가 41.1%로서 가장 높은 저해활성을 보였고 다음은 흑임자로서 20.8%를 나타내었다. 또한 늘보리, 옥수수, 녹두, 동부는 16~17.3%의 범위를 나타내었으며 나머지는 활성이 미미하거나 전혀 없는 것으로 나타났다. 메탄올 추출물의 HMG-CoA reductase 저해활성을 보면(Table 3), 기장이 73%로 매우 높은 억제활성을 나타내었고 다음은 수수로서 44.7%의 활성을 보였으며 그 다음은 흑미가 27%, 향미(26.2%), 쌀보리(18.8%), 메밀(16.2%)의 순으로 나타났다. Qureshi등은 보리는 여러 곡류 중에서 실험동물의 혈중콜레스테롤을 저하시키는 데 가장 효과적이었으며, 특히 보리배유부에 존재하는 주된 식이섬유인 β-D-glucans는 콜레스테롤의 배설에

Table 1. The yields of 70% ethanol and 80% methanol extracts of cereals and regumes

Samples	Methanol extracts	Ethanol extracts (%)
Brown rice	1.9	1.8
Black rice	2.7	1.4
Prosomillet	2.9	2.0
Sorghum	2.8	2.4
Naked barley	4.0	2.9
barley	2.2	3.0
Job's tears	5.0	1.6
Glutinous millet	3.5	2.6
Buckwheat	2.6	3.5
Flavor rice	0.6	0.4
Red rice	2.5	2.0
Corn	7.0	4.9
Defatted soybean	16.9	15.1
Defatted black soybean	17.5	14.8
Mungbean	9.1	8.1
Cowpeas	6.4	9.4
Small red bean	8.2	7.5
Black sesame	6.2	7.7

Table 2. The inhibitory effect of 70% ethanol extracts of cereals and regumes on the microsomal HMG-CoA reductase activity

Samples	Specific activity (nmole/mg protein/min)	Inhibition rate (%)
Control	3.53	41.1
Sorghum	2.08	9.8
Prosomillet	3.18	16.0
Barley	2.97	4.6
Naked barley	3.37	-14.0
Glutinous millet	4.02	0
Buckwheat	3.53	-17.0
Flavor rice	4.13	0.7
Black rice	3.51	1.3
Red rice	3.48	22.1
Rice germ	2.75	-16.0
Brown rice	4.09	0
Job's tear	3.52	20.8
Black sesame	2.80	17.3
Mungbean	2.92	-22.0
Defatted soybean	4.31	17.3
Cowpeas	2.92	-1.0
Small red bean	3.57	16.7
Corn	2.94	
Defatted-black soybean	3.53	0

Table 3. The inhibitory effect of 80% methanol extracts of cereals and regumes on the microsomal HMG-CoA reductase activity

Samples	Specific activity (nmole/mg protein/min)	Inhibition rate (%)
Control	4.15	
Sorghum	2.29	44.7
Prosomillet	1.13	72.7
Barley	4.45	-7.3
Naked barley	3.37	18.8
Glutinous millet	4.66	-12.2
Buckwheat	3.06	26.2
Flavor rice	3.35	19.2
Black rice	5.70	-37.4
Red rice	4.76	-14.7
Brown rice	4.15	0.0
Job's tear	3.93	5.2
Rice germ	4.77	-14.9
Black sesame	3.89	6.2
Mungbean	4.02	3.0
Defatted soybean	4.07	1.8
Cowpeas	4.34	-4.5
Small red bean	5.69	-37.3
Corn	4.40	-6.1
Defatted-black soybean	4.23	-2.1

영향을 준다고 보고되어 있다⁽¹⁷⁾. 그러나 고단백질 보리(*Hordeum vulgan*, L) 가루에는 식이섬유 이외에 콜레스테롤 합성을 억제하는 작용, 즉 HMG-CoA reductase 활성을 억제하는 효과가 있으며 이러한 활성을 나타내는 물질은 tocotrienol이라고 보고하였다⁽⁷⁾. 또한 이 등은⁽⁴⁾ 약용식물을 중심으로 HMG-CoA reductase 저해활성을 검색한 결과 메밀껍질의 물 추출물에서 65% 정도로 가장 높은 활성을 나타내었다고 보고하고 있으며 최 등의 연구에 의하면 메밀종자 물추출물은 6%, 메밀껍질 물추출물은 33%의 저해활성을 나타내었으나 메밀채소의 경우는 HMG-CoA reductase 활성을 오히려 증가시킨다고 보고되어 있다⁽¹⁸⁾. 통메밀을 이용한 본 연구에서는 에탄올 추출물에서는 HMG-CoA reductase 저해활성이 전혀 나타나지 않았고 메탄올 추출물에서는 약 26%로서 최 등⁽⁴⁾의 메밀종자보다는 높고 껍질보다는 낮은 저해활성을 보여 메밀의 HMG-CoA reductase 저해활성을 나타내는 물질은 메밀의 껍질부분에 존재할 것으로 사료된다. 또한 본 연구에서는 보리와 메밀이 타 곡류에 비하여 비교적 높은 활성을 나타내었지만 수수와 기장은 이미 보고된 바 있는 메밀이나 보리보다도 현저히 높은 활성을 나타내어 새로운 HMG-CoA reductase 저해활성 소재로 사료되나 이에 대해서는 *in vivo*에서의 효능을 비롯하

여 더 많은 연구가 요구된다.

용매분획물의 HMG-CoA reductase 저해활성

메탄올 및 에탄올 추출물의 HMG-CoA reductase 저해활성을 검색한 결과 높은 활성을 나타내었던 수수와 기장을 각종 용매로 분획하여 hexan, 클로르포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 수용성 획분을 얻어 HMG-CoA reductase 억제활성을 검토하였다. 우선 기장을 보면(Fig. 1) hexan 획분이 75.6%로 가장 높았고 다음은 에틸아세테이트 획분으로서 58%, 클로르포름 획분은 51%를 나타내었으나 부탄올 획분과 수용성 획분은 30% 미만이었다. 수수에 있어서도(Fig. 2) hexan 획분이 71%로 가장 높았고 다음은 에틸아세테이트 획분으로서 약 64%, 부탄올 획분은 57%로 3획분 모두 분획전의 메탄올 추출물에 비하여 활성이 현저히 증가하였다. 수수와 기장 모두 hexan 획분 및 에틸아세테이트 획분에서 매우 높은 활성을 나타낸 것으로 보아 이러한 활성을 나타내는 물질은 비극성 물질일 가능

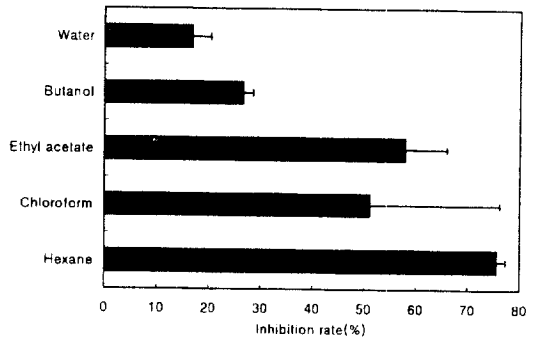


Fig. 1. The inhibitory effect of solvent fractions of prosomillet methanol extract on the microsomal HMG-CoA reductase activity.

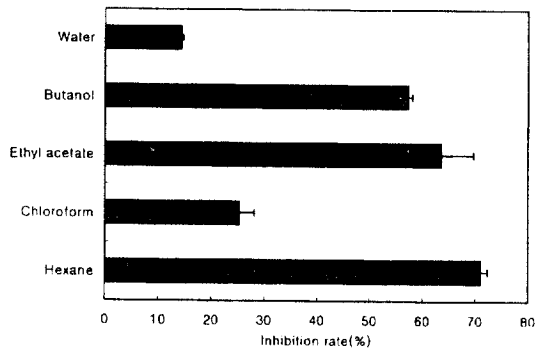


Fig. 2. The inhibitory effect of solvent fractions of sorghum methanol extract on the microsomal HMG-CoA reductase activity.

성이 높다고 사료된다. 특히 수수에는 phenolic acids, flavonoids, tannins 등을 비롯한 phenolic compounds가 다량 함유되어 있으며 특히 tannin의 함량은 품종에 따라 0.18~3.4%의 범위로 상당히 높은 것으로 알려져 있다. 본 연구에 있어서 수수, 기장의 HMG-CoA reductase 억제활성 물질을 확인하기 위해서는 앞으로 분리, 정제 및 구조확인이 필요하다고 생각된다.

요 약

국내산 곡류의 에탄올 및 메탄올 추출물로부터 콜레스테롤 생합성계에서 가장 중요한 율속효소로 알려져 있는 HMG-CoA reductase 저해활성을 검색하였다. HMG-CoA reductase activity 측정용 효소원은 cholestyramin을 급여하여 사육 한 후 밤 12시경에 간을 적출하여 얻어진 microsome을 freeze-thaw방법으로 조제하였고 효소활성은 spectrophotometric assay 로 측정하였다.

그 결과 각 시료 추출물을 100 µg/assay 되게 첨가한 경우 HMG-CoA reductase 억제활성은 에탄올 추출물에서는 수수가 가장 높은 활성을 보였고 다음은 흑임자였으며 나머지는 활성이 미미하거나 전혀 없는 것으로 나타났다. 메탄올 추출물에서는 기장이 가장 높은 활성을 나타내었고 다음은 수수였으며 그 다음은 메밀, 흑미의 순으로 나타났다. 또한 추출물에서 높은 억제활성을 나타내었던 수수와 기장 메탄올 추출물을 각종 용매로 분획하여 활성을 검토한 결과 수수와 기장 모두 헥산 회분에서 가장 높은 활성을 나타내었다.

문 헌

1. Sirtory, C.R.: Pharmacology and mechanism of action of the new HMG-CoA reductase inhibitors. *Pharm. Res.*, **22**, 555-562 (1990)
2. Qureshi, A.A., Abuirmeileh, N, Din, Z.Z., Elson, C.E. and Burger W.C.: Inhibition of cholesterol and fatty acid biosynthesis in liver enzymes and chicken hepatocytes by polar fractions of garlic. *Lipids*, **18**, 343-348 (1983)
3. Qureshi, A.A., Burger W.C. Peterson D.M. and Elson, C.E.: Suppression of cholesterologenesis by plant constituents: review of wisconsin contributions to NC-167. *Lipids*, **20**, 817-824 (1985)
4. Lee, Y.H., Shin, Y.M., Lee, J.E., Choi, Y.S. and Lee, S. Y.: *In vitro* screening of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase from plant extracts (in Korean). *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **6**, 55-61 (1991)
5. Park, J.R., Park, J.C. and Choi, S.H.: Screening and characterization of anticholesterogenic substances from edible plant extracts (in Korean). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 236-241 (1997)
6. Dennis, P. and Michael, S.: Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase synthesis by a non sterol mevalonate derived product in mev-1 cells. *J. Biol. Chem.*, **260**, 9949-9952 (1985)
7. Qureshi, A.A., Burger W.C. Peterson D.M. and Elson, C.E.: The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley. *J. Biol. Chem.*, **261**, 10544-10550 (1986)
8. Hardeman, E.C., Endo, A. and Simoni, R.D.: Effects of compactin on the levels of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in compactin-resistant C100 and wild-type cells. *Arch. Biochem. Biophys.*, **232**, 549-561 (1984)
9. Kaneko, I., Hazama-Shimada, Y. and Endo, A.: Inhibitory effects on lipid metabolism in cultured cells of ML-236B, a potent inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *Eur. J. Biochem.*, **87**, 313-321 (1978)
10. Brown, M.S., Faust, J.R. and Goldstein, J.L.: Induction of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in human fibroblasts incubated with compactin (ML-236B), a competitive inhibitor of the reductase. *J. Biol. Chem.*, **253**, 1121-1128 (1978)
11. Gould, M.R., Anderson, J.W. and O'Mahony, S.: in cereals for foods and beverages. Inglett, G.E., and Munk, L., eds, pp. 447, Academic press, New York (1980)
12. Anderson, J.W., Jones, A.E. and Riddell-Mason, S.: Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J. Nutr.*, **124**, 78-83 (1994)
13. Kahlon, T.S., Chow, F.I., Sayre, R.N. and Betschart, A. A.: Cholesterol-lowering in hamsters fed rice bran at various levels, defatted rice bran and rice bran oil. *J. Nutr.*, **122**, 513-519 (1992)
14. Ullrich, I.H.: Evaluation of high-fiber diet in hyperlipidemia: A review. *J. Am. Col. Nutr.*, **6**, 19-25 (1985)
15. Kahlon, T.S., Saunders, R.M., Sayre, R.N., Chow, F.I., Chiu, M.M. and Betschart, A.A.: Cholesterol-lowering effects of rice bran and rice bran oil fractions in hypercholesterolemic hamster. *Cereal Chem.*, **69**, 485-489 (1992)
16. Kahlon, T.S., Chow, F.I., Knuckles, B.E. and Chiu, M. M.: Cholesterol-lowering effects in hamsters of β -glucan-enriched barley fraction, dehulled whole barley, rice bran and oat bran and their combinations. *Cereal Chem.*, **70**, 435-440 (1993)
17. Qureshi, A.A., Burger, W.C., Pretice, N., Bird, H.R. and Sunde, M.L.: Regulation of lipid metabolism in chicken liver by dietary cereals supplemented with culture filtrate of *Trichoderma Viride*. *J. Nutr.*, **110**, 388-394 (1980)
18. Choi, Y.S., Ahn C., Shim, H.H., Choe, M., Oh, S.Y. and Lee, S.Y.: Effects of instant buckwheat noodle on digestibility and lipids profiles of liver and serum in rats (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 478-483 (1992)
19. Choi, Y.S., Sur, J.H., Kim, C.H., Kim, Y.M., Ham, S.S. and Lee, S.Y.: Effects of dietary buckwheat vegetables on lipid metabolism in rats (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 212-218 (1994)
20. Park, Y.J., Lee, Y.S. and Suzuki, H.: Effect of coix on plasma cholesterol and lipid metabolism in rats (in Korean).

Korean J. Nutr., **21**, 89-98 (1988)

21. Kleinsek, D.A. Dugan, R.E., Baker, T.A. and Porter J. W.: 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase from rat liver. *Methods in enzymology*, **71**, 462-479 (1981)
22. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall,

R.J.: Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-271 (1951)

(1997년 11월 19일 접수)