

고콜레스테롤식에 홍화박의 첨가가 난소절제 흰쥐의 장 생리기능과 분변 Short-Chain Fatty Acid 함량에 미치는 효과

최영선[†] · 조성희*

대구대학교 식품영양학과

*대구가톨릭대학교 식품영양학과

Effects of Defatted Safflower Seed Powder on Intestinal Physiology and Fecal Short-Chain Fatty Acids in Ovariectomized Female Rats Fed High Cholesterol Diets

Young-Sun Choi[†] and Sung-Hee Cho*

Dept. of Food and Nutrition, Taegu University, Kyungbuk 712-714, Korea

^{*}Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu, Kyungbuk 712-702, Korea

Abstract

Much attention has been given to the role of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed in preventing and treating osteoporosis recently. Although numerous studies were done on effects of safflower oil, no attention was given to the role of dietary fiber of safflower seeds. This study was aimed at investigating physiological significance of defatted safflower seed as a source of dietary fiber. Sprague Dawley female rats were assigned one of 5 groups: ovariectomized control (Ovx-control) group and ovariectomized rats fed 15% (Ovx-SS15) and 30% defatted safflower seed (Ovx-SS30), sham-operated (Sham) group and a normal group. Cholesterol was supplemented to all diets at 0.5% except the normal diet. Ovariectomized rats were pair-fed isocalorically to the Sham group. Ovariectomy caused heavier body weight, but feeding 30% safflower seed brought back to the level of Sham group. Activities of disaccharidases of jejunal mucosa were significantly lowered in Ovx-control group compared to those of Sham, and supplementation of safflower seed tended to increase the activities. Fecal weights of Ovx-SS15 and Ovx-SS30 were almost twice as those of Ovx-control and Sham. Propionic acid and butyric acid concentrations per g of feces of Ovx-SS15 and daily excretion of these fatty acids were significantly increased as compared to those of Sham and Ovx-control. In conclusion defatted safflower seed supplementation significantly increased fecal bulk and short chain fatty acid production in large intestine of rats.

Key words: safflower, short-chain fatty acid, ovariectomy, high cholesterol diet

서 론

홍화(safflower)는 미국 등지에서 식용유 생산을 위해 재배되며, 홍화종실에서 추출한 홍화유는 유지 성분에 linoleic acid(n-6)를 다량 함유하여 혈중 콜레스테롤 저하효과를 갖는 대표적인 식용유로 널리 섭취되고 있다. 그러나 국내에서는 홍화는 약용식물로서 오래 전부터 알려져 왔으며 효능은 약침을 통한 혈전용해작용(1)과 같은 한의학적인 연구에서부터 홍화씨는 뼈질환에 효과가 있다고 민간에 널리 알려져 최근에 많은 관심을 끌고 있다. 최근에는 특히 골다공증 예방을 목적으로 폐경후 여성들이 복용을 많이 하고 있으며, 이와 관련한 연구들로 실험동물에 홍화종실분말을 섭취시켜 뼈 형성 효과에 대한 생리 기능을 규명하는 논문들(2,3)이 보고되고 있다.

홍화종실을 이용한 연구들은 대부분 종실 전체를 사용하고 있으며 각 효능을 나타내는 성분에 대한 연구가 적은 편이다. 최근에는 홍화종실에서 분리한 N-feruloylserotonin의 항산화 작용(4)과 N-feruloylserotonin을 포함한 6종류의 phenolic 화합물의 항산화 효과(5)에 관한 연구들이 보고되었다. 한편 Kim 등(6)에 의한 흰쥐에서의 홍화종실의 혈중 콜레스테롤 저하효과는 홍화유에 다량 들어 있는 linoleic acid의 영향이 컸을 것으로 추정된다.

전보(7)에서 난소제거한 흰쥐의 탈지 홍화박 섭취 후 혈장 콜레스테롤 저하 효과는 관찰되지 않았으나, 간조직내 콜레스테롤 수준 저하 및 담즙산과 콜레스테롤의 배설이 증가됨으로써 체내 콜레스테롤 pool이 감소되었음을 보고하였다. 탈지한 홍화박내에 콜레스테롤 저하 효과를 야기시키는 주 성분이 식이섬유질로 유추되나, 홍화박에 함유된 소위 phytoes-

[†]Corresponding author. E-mail: yschoi@taegu.ac.kr
Phone: 82-53-850-6833, Fax: 82-53-850-6839

trogen이 부가적으로 작용하였을 가능성도 배제할 수 없다.

식이섬유질은 물리화학적 성질에 따라 주로 가용성 식이 섬유질과 불용성 식이섬유질로 분류하며, 식품급원이나 화학적 조성, 분자량의 크기 등 다양한 요소들이 식이섬유질의 생리적 효과에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(8) 식이 섬유질의 또 하나 주요한 생리 효과로서 대장에서의 미생물 발효를 들 수 있으며, 발효의 결과 생성된 short-chain fatty acid(SCFA)는 대장 내용물의 pH, 장상피세포의 증식 등 대장의 기능에 영향을 미치게 된다(8). 또한 식이섬유질은 장의 형태에 영향을 미치며, 점막 세포 또는 미세융모와 결합된 특수한 효소 활성의 변화를 동반하기도 하는데, 이러한 연구들은 대부분 정제한 식이섬유질을 사용하여 수행되어 왔다(9).

식이섬유질의 종류에 따라 대장내에서 개개 SCFA를 생성하는 정도가 다르다고 알려져 있다. Propionic acid는 간에서의 콜레스테롤 생합성을 억제한다는 보고들이 있으며(10, 11), butyric acid는 결장세포의 주에너지원인면서 결장 상피 조직의 성숙에 관련되며(12), *in vitro* 실험에서 암세포의 증식을 억제하는 효과를 보여주었다(13). 따라서 butyric acid 생성을 조절하는 식이에 많은 관심이 주어졌으나 그 이전에 대해서는 아직 밝혀져 있지 않다. 홍화씨는 중년여성의 골다공증, 퇴행성관절염에 효능이 있는 것으로 선전되고 있어 폐경 후 여성에서 복용 가능성이 높으므로 실험동물모델로서 난소절제 암컷 쥐를 사용하여 탈지한 홍화박이 장 생리기능과 SCFA 생성에 미치는 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

실험식이에 사용한 홍화박은 경북 의성지방에서 재배한 종실을 구입하여 사용하였다. 건조 종실 500 g을 170°C에서 10분간 볶아서 분쇄한 후 2~3배 용량의 hexane으로 2회 열탕 추출하여 유지성분을 제거하였다. 진공상태에서 남은 hexane을 휘발시키고 잔사를 완전히 건조시켜 식이재료로 사용하였다. 조제식이의 기본성분인 casein, vitamin mix, mineral mix. 콜레스테롤은 Teklad사(Teklad Test Diets, Madison, WI, USA)에서 구입하였고, cellulose는 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서, 옥수수 전분은 삼양사 제품을, 기타 유지성분과 설탕은 시중에서 구입하여 사용하였다.

동물 사육

한국실험동물센터에서 구입한 Sprague-Dawley종 100 g 내외의 암컷 50마리를 사육 환경에 적응시킨 후, 약 200 g에 도달했을 때 pentobarbital(50 mg/mL)과 urethane(230 mg/mL) 복합제제를 복강으로 2 mL/kg의 용량으로 주사하여 마취시키고 복부를 절개한 후 30마리는 난소를 절제하고(Ovx), 10마리는 난소절제 없이(sham) 절개부분을 봉합하였다. Ovx 군을 난괴법으로 3군으로 나누어 0.5%(w/w) 콜레스테롤이 함유된 식이(Ovx-control), 0.5% 콜레스테롤 외에 탈지한

홍화박을 각각 15%(Ovx-SS15)와 30%(Ovx-SS30) 수준으로 함유한 실험식이를 각각 급여하였다. 이상의 4군 외에 수술을 하지 않은 같은 몸무게의 암컷 10마리는 Normal군으로 하여 콜레스테롤이 첨가되지 않은 식이를 급여하였다. 실험식이는 AIN 기준(14)에 따라 Table 1과 같은 조성으로 제조하였다. Sham군과 Ovx-control군의 식이는 동일하였고, Ovx-SS15와 Ovx-SS30군은 홍화박 15%(식이섬유질 5% 수준)와 30%(식이섬유질 10% 수준)에 함유된 단백질과 전분 양을 참작하여(15) casein과 전분의 양을 조절하였다. Ovx-control, Ovx-SS15, Ovx-SS30군의 식이섭취량은 Sham군과 에너지를 동일하게 pair-feeding하였으며, Normal군은 자유급식케 하였다.

분석시료준비

흰쥐를 실험식이로 4주간 사육한 후, 실험기간 종료일에 16~18시간 절식시킨 후 에테르로 가법계 마취하여 복부를 절개하여 대동맥으로부터 혈액을 채취하였다. 복부를 절개하여 위에서부터 맹장에 이르기까지 소장을 잘라 길이를 재었다. 위에서 1/3 길이에 해당하는 공장의 5 cm를 정확히

Table 1. Characteristics of experimental groups and diet compositions

Group ¹⁾	Normal	Sham	Ovx-control	Ovx-SS15	Ovx-SS30
	Ovariectomy	-	-	+	+
Cholesterol	-	+	+	+	+
Diet compositions (g/1000 g diet)					
Casein	150	150	150	114	78
Corn starch	485	480	480	431	382
Sucrose	150	150	150	150	150
Lard	40	40	40	40	40
Soybean oil	75	75	75	75	75
Mineral mixture ²⁾	40	40	40	40	40
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10	10	10
Cellulose	50	50	50	-	-
Cholesterol	-	5	5	5	5
Defatted safflower seed	-	-	-	150	300
kcal/1000 g	4175	4155	4155	4093	3847

¹⁾Normal group of rats without operation and cholesterol supplementation, Sham : sham-operated group, Ovx-control : ovariectomized control group, Ovx-SS15 : ovariectomized rats fed 15% defatted safflower seed, Ovx-SS30 : ovariectomized rats fed 30% defatted safflower seed.

²⁾Composition of mineral mixture (mg/kg) : Thiamin·HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine·HCl 700, Nicotinic acid 3000, p-Calcium pantothenate 1600, Folic acid 200, D-Biotin 20, Cyanocobalamin 1, Retinyl acetate 120,000 RE, dl- α -Tocopheryl acetate 5,000 α -TE, Cholecalciferol 2.5, Menaquinone 5.0, Sucrose to make 1 kg.

³⁾Composition of vitamin mixture (g/kg) : Calcium phosphate, dibasic 500.0, Sodium chloride 74.0, Potassium citrate, monohydrate 220.0, Potassium sulfate 52.0, Magnesium carbonate 24.0, Manganous carbonate 3.5, Ferric citrate 6.0, Zinc carbonate 1.6, Cupric carbonate 0.3, Potassium iodate 0.01, Sodium selenite 0.01, Chromium potassium sulfate 0.55. Sucrose to make 1 kg

잘라 생리식염수로 장내 내용물을 씻은 후 거즈로 물기를 닦고 무게를 잰 후, 장을 펼쳐 슬라이드 글라스위에 평평하게 놓고 또 하나의 슬라이드 글라스로 접막을 긁어 -60°C 에 보관하였다. 맹장과 결장을 잘라내어 무게를 단 후, 내용물을 비우고 생리식염수에 씻어 거즈로 가볍게 물기를 닦은 후 조직 무게를 측정하였다. 분변은 사육기간 마지막 1주 동안 매일 수거하여 중량을 재고 -60°C 에 보관하였다.

소장 이당류가수분해 효소활성 측정

장점막을 녹인 후 20배의 증류수를 넣고 세포를 파쇄한 후, 일정량을 취하여 Dahlqvist법(16)에 의해 이당류 가수분해효소인 maltase와 sucrase 활성을 측정하였다. 효소의 활성단위는 분당 1 μmole 의 glucose 생성을 1 unit로 하였으며, 소장 cm당 또는 점막 단백질 g당 unit로 표현하였다. 단백질을 소혈청 알부민을 표준품으로 하여 Biuret method로 정량하였다

분변 중 SCFA 함량 측정

급방 배설한 분변을 0.8 mL 메타인산용액(250 g/L)을 담은 Eppendorf tube에 넣어 잘 섞은 후 분석 전까지 -60°C 에 보관하였다. 내용물을 녹인 후 2.8 mL 증류수와 0.4 mL 메타인산을 첨가하여 잘 혼합하여 4°C , 13,000 \times g에서 20분 동안 원심분리한 후 상층액을 취하여 0.45 μm Millipore filter(17)를 사용하여 여과하였다. 여과액 1 μL 를 DB-Wax glass capillary column(30 m \times 0.32 mm id, Supelco)에 주입함으로써 SCFA를 분석하였다. 사용한 gas chromatograph(Varian, Star 3600X)의 분석 조건은 oven temperature 250°C , detector temperature 260°C 였으며, 질소를 carrier gas(pressure 12.5 psi)로 사용하였고, flame ionization detector로 peak를 검색하였다.

통계처리

본연구의 모든 각 실험군별로 평균치와 표준오차를 구하였고, 실험군간의 비교는 ANOVA 분석 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의 수준 $\alpha=0.05$ 에서 검증하였다.

결과 및 고찰

체중과 소장 중량

에스트로젠은 시상하부에 작용하여 섭식활동에 영향을

미치므로 난소절제는 흰쥐에서 식이섭취량을 증가시킴으로써 체중증가를 가져온다(18,19). 전보(7)에서 자유롭게 급식시킨 난소절제한 쥐들의 체중증가량이 Sham쥐들에 비하여 유의하게 높았던 점을 고려하여 본 연구에서는 Sham군을 대조로 하여 pair-feeding을 하였다

Table 2는 실험군들의 4주 실험식이 섭취 후의 최종 체중, 소장의 길이 및 5 cm 공장단편의 무게를 보여준다. 초기 평균체중은 군간에 유의적인 차이가 없었으나, 4주 실험식 이후의 체중은 콜레스테롤을 먹이지 않은 Normal군이 가장 낮았으며, Ovx-control군이 가장 높아 Sham군에 비하여도 유의하게 높았다. 이는 난소절제 쥐에서는 지방조직의 lipoprotein lipase의 활성을 저하시키고(20) hormone-sensitive lipase 활성을 증가시켜(21) 체지방 축적을 억제하는 에스트로겐의 효과가 제거된 때문으로 설명할 수 있다. 15% 홍화박을 첨가한 식이를 먹인 Ovx-SS15군의 체중은 Ovx-control과 유의한 차이가 없었으나, Ovx-SS30군의 체중은 Normal군과 유사한 정도로 낮았다. 난소절제한 군들은 동일한 에너지를 섭취하였음에도 불구하고 30% 홍화박의 첨가는 체중증가를 유의하게 둔화시켰다. 본연구에서 Ovx-SS30군의 체중이 유의하게 낮은 것은 식이섬유질에 의한 식이효율 저하 때문일 가능성이 크나 한편으로는 홍화박에 함유된 phytoestrogen의 일부 효과도 배제할 수 없다고 사료된다.

Table 2에서 보는 바와 같이 소장의 총길이는 Ovx-control군이 Sham군에 비해 유의하게 길었으며, 공장 5 cm 단편의 무게도 유의하게 높았다. 점막조직량은 Ovx-control군과 Ovx-SS15군이 Sham군에 비해 높은 경향이었으나, 군간 유의성은 없었다. 이 결과는 난소절제 후 6개월이 된 암쥐에서 과식현상에 따른 소장적응 현상을 관찰한 결과 소장 점막에 과잉성장이 이루어져 hyperplasia를 초래하였다고 한 Yoon과 Lee(19)의 연구결과와 유사하였다. Pectin, guar gum과 같은 점성이 높은 식이섬유질은 소장내 영양 환경을 변화시킴으로써 DNA함량 증가를 수반하는 hyperplasia 현상에 의한 소장 점막조직량 증가(22), 점막의 형태 및 기능에서 적응 현상을 보인다. 이러한 적응 변화는 소장의 세포증식 변화를 통해 조절되며, 식이섬유질의 양은 물론 질에 따라 다르다고 알려져 있다(23). Chen 등의 연구(24)에 의하면 난소절제한 쥐는 발정정지기의 암쥐에 비해 빠른 gastric emptying을 보

Table 2. Effects of experimental conditions on body weights and small intestine

Group ¹⁾	Final body weight (g)	Small intestine length (cm)	5 cm jejunal fragment (g)	Mucosa weight (g)
Normal	253.3 \pm 5.0 ⁽²⁾	762.1 \pm 22.3 ^c	0.391 \pm 0.014 ^{ab}	0.262 \pm 0.013
Sham	268.3 \pm 3.0 ^b	847.3 \pm 20.7 ^f	0.343 \pm 0.019 ^b	0.239 \pm 0.018
Ovx-control	304.4 \pm 4.9 ^a	945.2 \pm 34.8 ^e	0.422 \pm 0.029 ^a	0.267 \pm 0.022
Ovx-SS15	299.1 \pm 6.3 ^a	910.2 \pm 18.4 ^{ab}	0.382 \pm 0.013 ^{ab}	0.259 \pm 0.019
Ovx-SS30	255.8 \pm 6.0 ^{bc}	877.9 \pm 33.8 ^{ab}	0.354 \pm 0.019 ^b	0.231 \pm 0.017

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Values are mean \pm SE (n=10) and those in the same row not sharing common superscript letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

였고, estradiol 첨가는 gastric emptying을 억제했다고 보고하였다. 즉, gastric emptying이 빨라지면 그만큼식이섬유량이 증가될 가능성이 크며 이는 체중증가로 이어질 가능성이 있다. 본 연구결과에서는 홍화박의 첨가로 난소절제로 인한 소장 점막의 파인성장이 억제됨을 볼 수 있는데, 홍화박 식이 섬유질의 첨가로 위에서의 gastric emptying이 억제되어 체중감소가 되었을 가능성이 있다.

소장 이당류가수분해효소의 활성

Maltase 와 sucrase는 소장 융모말단에 주로 존재하는 효소들로 점막세포의 성숙 정도를 반영한다. Yoon과 Lee(19)는 난소절제한 흰쥐를 6개월간 고형사료로 자유급식한 결과, 난소절제한 쥐들이 Sham군에 비해 높은 점막 maltase 활성을 보였다고 보고하였다. 본 연구에서는 Table 3에서 보는 바와 같이 Ovx-control군의 cm 장길이당 mastase와 sucrase 활성이 Sham군에 비하여 유의하게 낮았으며, g 단백질당 활성도도 마찬가지로 결과로서 Yoon과 Lee(19)의 결과와는 상반된 것이었다. 아마도 이는 실험조건이 본 연구에서는 Ovx군의 식이섬유량을 Sham군에 pair-feeding하였고, 전분과 자당을 함유한 부분정제사료를 사용하였으며, 4주간의 실험기간 등 실험조건이 달라 장세포의 적응반응이 달랐기 때문인 것으로 사료된다.

Cellulose나 bran과 같은 불용성 식이섬유질은 융모에 결합된 효소들에 영향이 없는 반면에, pectin은 효소활성을 감소시켰다는 보고들이 있다(25,26). 15% 그리고 30% 수준의 홍화박 첨가군에서 maltase와 sucrase 활성이 비록 Ovx-control군과 유의한 차이를 보이지 않았으나, 증가하는 경향

을 보였으며, 특히 Ovx-SS15군의 maltase와 sucrase 활성은 Sham군의 수준과 유의한 차이를 보이지 않았다.

맹장, 결장 및 분변 배설량

Table 4에서 보는 바와 같이 맹장조직 무게는 Ovx-control군이 Sham군이나 Normal군에 비하여 유의하게 높았으며, 난소절제한 쥐들에 15% 그리고 30% 홍화박을 첨가한 결과 Sham군의 수준으로 유의하게 낮아졌다. 결장 길이는 군간에 유의한 차이가 없었으며, 결장조직 무게는 Ovx-control군이 Sham군과 Normal군에 비해 유의하게 높았으나. Ovx-SS30군과 유사하였다. Hoff와 Chang(27)은 생쥐의 하행결장의 crypt에 있는 상피세포의 증식과 분화에 에스트로겐이 미치는 영향을 조사한 결과에서 난소절제 후 3주째에 결장 crypt 크기 감소, 분화된 세포수의 상대적인 감소, crypt의 증식력 증가와 증식하는 세포수의 상대적인 증가현상을 관찰하였다. In vitro 연구에서 에스트로겐이나 프로게스테론과 같은 여성 스테로이드 호르몬은 위장조직의 평활근의 근전성(myoelectric)이나 수축성에 영향을 미칠 수 있으며, 난소절제는 결장내 통과(colonic transit)에 영향을 미치며, 에스트로겐과 프로게스테론 처치는 결장내 통과를 난소절제 전 수준으로 낮추었다(28). 이처럼 난소절제는 결장조직의 증식과 내용물의 통과에 영향을 미치며 홍화박의 첨가는 난소절제 효과를 완화한 결과를 보여주었다

맹장과 결장의 내용물의 무게는 군간에 유의한 차이를 보이지 않았는데, 이는 이들 쥐들이 16~18시간 정도 절식한 상태였기 때문으로 사료된다(Table 4). 변배설량은 15% 홍화박 첨가군이 Sham군과 Ovx군에 비하여 2배 이상 많았으

Table 3. Effects of experimental conditions on disaccharidases activity of jejunal mucosa

Group ¹⁾	Maltase		Sucrase	
	Units/cm	Units/g protein	Units/cm	Units/g protein
Normal	1.21 ± 0.161 ^{ab2)}	22.83 ± 2.85 ^{ab}	0.260 ± 0.032 ^a	4.93 ± 0.582 ^{ab}
Sham	1.52 ± 0.146 ^a	33.75 ± 5.29 ^a	0.264 ± 0.027 ^a	5.80 ± 0.840 ^a
Ovx-control	0.935 ± 0.166 ^b	18.29 ± 4.19 ^b	0.169 ± 0.024 ^b	3.25 ± 0.562 ^b
Ovx-SS15	1.07 ± 0.139 ^b	22.21 ± 3.49 ^{ab}	0.243 ± 0.036 ^{ab}	4.93 ± 0.721 ^{ab}
Ovx-SS30	1.11 ± 0.073 ^{ab}	24.92 ± 2.04 ^{ab}	0.251 ± 0.020 ^{ab}	5.59 ± 0.500 ^a

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Values are mean ± SE (n=10) and those in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test

Table 4. Effect of experimental conditions on cecum and colon in rats

Group ¹⁾	Cecum		Colon		Feces	
	Tissue weight (g)	Content weight (g)	Tissue weight (g)	Content weight (g)	Length (cm)	Wet weight (g/day)
Normal	0.510 ± 0.023 ^{b2)}	0.662 ± 0.082 ^b	0.994 ± 0.039 ^b	0.384 ± 0.115	14.42 ± 0.27	4.09 ± 0.25 ^c
Sham	0.527 ± 0.029 ^b	0.718 ± 0.074 ^b	1.023 ± 0.034 ^b	0.221 ± 0.065	14.40 ± 0.35	3.94 ± 0.34 ^c
Ovx-control	0.613 ± 0.042 ^a	1.140 ± 0.114 ^a	1.224 ± 0.048 ^a	0.287 ± 0.122	15.37 ± 0.35	4.21 ± 0.30 ^c
Ovx-SS15	0.525 ± 0.028 ^b	0.861 ± 0.093 ^{ab}	1.008 ± 0.025 ^b	0.239 ± 0.073	14.25 ± 0.38	8.77 ± 0.25 ^b
Ovx-SS30	0.500 ± 0.020 ^b	1.127 ± 0.142 ^a	1.150 ± 0.054 ^a	0.487 ± 0.210	14.64 ± 0.47	10.80 ± 0.69 ^a

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Values are mean ± SE (n=10) and those in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

므로 홍화박 식이섬유질의 변증량 효과는 셀룰로오스보다 훨씬 크다고 할 수 있다. 홍화박의 수준을 15%에서 30%로 증가시키도 분변량의 증가는 1.23배 증가하였으므로 15%첨가로 변증량 효과는 최대로 이루어졌다고 볼 수 있다

분변 중 SCFA

분변 중 총 SCFA 농도는 Ovx-SS15군이 Sham군과 Normal군에 비해 유의하게 높았으며, Ovx-control군보다는 높은 경향이였다. Ovx-SS15군의 butyric acid와 propionic acid 농도에 있어서는 Ovx-control군보다 각각 1.54배, 1.94배로 유의하게 높았다(Fig. 1). 반면 Ovx-SS30군의 총 SCFA 농도는 Ovx-control군보다는 높은 경향이였으나, Ovx-SS15군보다는 총 SCFA함량, propionic acid, butyric acid 함량 등이 모두 유의하게 낮았다. 이는 30% 홍화박 첨가가 대장내 내용물 부피를 증가시킴으로 인해 장내용물이 희석된 때문으로 사료된다. 장내 내용물의 부피 증가는 장내용물을 희석시키며 짧은 체류시간 때문에 집막과의 접촉시간을 감소시키는 것으로 보고되었다(29). 따라서 홍화박 30% 첨가는 SCFA 생성에 효과적으로 작용하지 못하였을 가능성이 크다. Lewis와 Heaton(30)은 장 통과시간이 butyric acid 생성, 원위 결장내 pH, 변증 SCFA 농도에 영향을 미치는 주요 요인일 수 있다고 하였다

식이섬유질의 대장 내 발효가 결장직장암 발생과 관련이 있다면 이는 낮은 산도, 장내 butyric acid의 높은 농도, 높은 변증량성, 낮은 상피세포 증식률 등이 방어적으로 작용한 것으로 설명할 수 있다(31). Basson 등은 butyric acid가 결장

세포주에서 세포 표현형에 관한 여러 측면을 조절한다고 하였으며(32), 다른 연구에서 butyric acid는 인간 결장암세포의 침윤을 down-regulation하는데 있어서 가장 강력하였다고 보고하였다(33). Propionic acid는 간에서의 콜레스테롤 합성을 억제한다고 주장되었으나(10,11), 그 기능에 대해서는 여전히 논란이 많다(34). Fig. 2에서 보는 바와 같이 1일 변으로 배설된 총 SCFA, butyric acid, propionic acid도 Ovx-SS15군이 Ovx-control과 Ovx-SS30군보다 높아서 15% 수준의 홍화박 첨가가 대장내에서의 미생물에 의한 SCFA 생성에 매우 효과적임을 보여 준다.

요 약

홍화씨는 뼈질환에 효과가 있다고 민간에 널리 알려져 최근 많은 관심을 끌고 있다. 본 연구는 식이섬유원으로서의 홍화박의 효과를 조사하기 위하여 흰쥐에서 장 생리기능과 변의 short-chain fatty acid(SCFA) 함량을 측정하였다. 200 g 내외의 Sprague Dawley종 암쥐를 군당 10마리씩 나누어 난소를 제거한 군(Ovx-control), 난소제거와 홍화박 15% 첨가군(Ovx-SS15), 난소제거와 홍화박 30% 첨가군(Ovx-SS30), 난소제거하지 않은 수술군(Sham), 수술을 하지 않은 군(Normal)으로 배정하였다. 난소절제한 쥐들은 Sham군과 에너지섭취가 같도록 pair-feeding에 의해 식이량을 섭취시켰으며, Normal군을 제외한 모든 군은 0.5% 콜레스테롤을 첨가한 식이를 4주 동안 섭취시켰다. 15% 홍화박을 첨가한 식이를 먹인 Ovx-SS15군의 체중은 Ovx-control군과 유의한 차

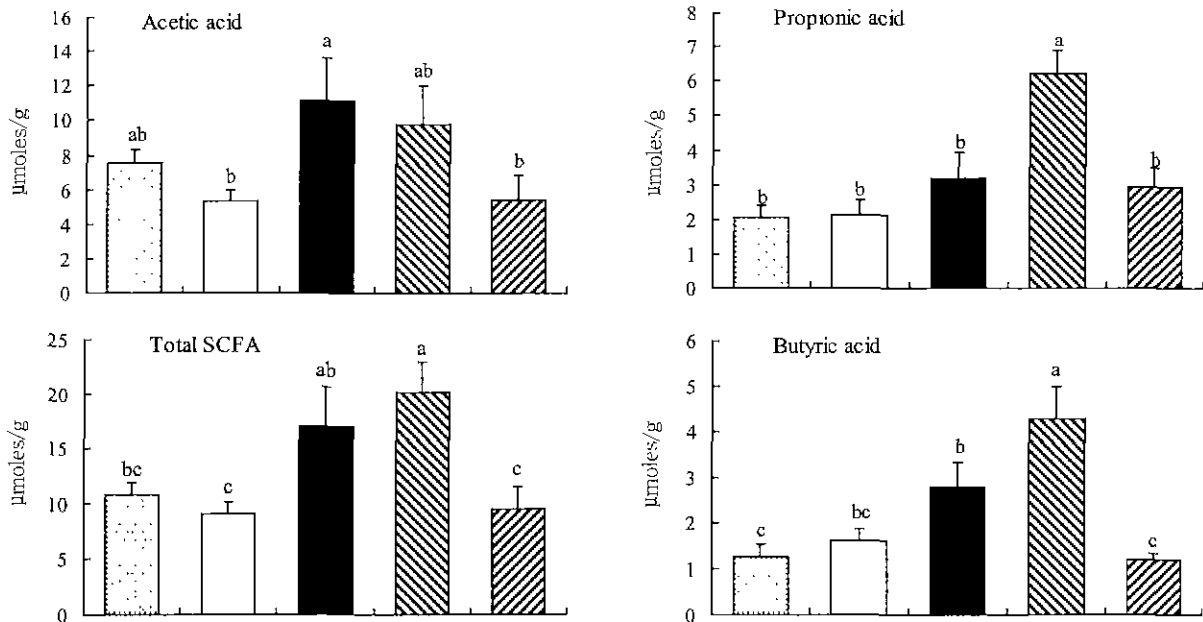


Fig. 1. Effect of experimental diets on concentrations of principal short-chain fatty acids and total SCFA in feces. Group¹⁾ □ Normal □ Sham ■ Ovx-control ▨ Ovx-SS15 ▩ Ovx-SS30

¹⁾See the legend of Table 1.

Values are means±SE (n=10) and means with different alphabets above the bar are significantly different by the Duncan's multiple range test.

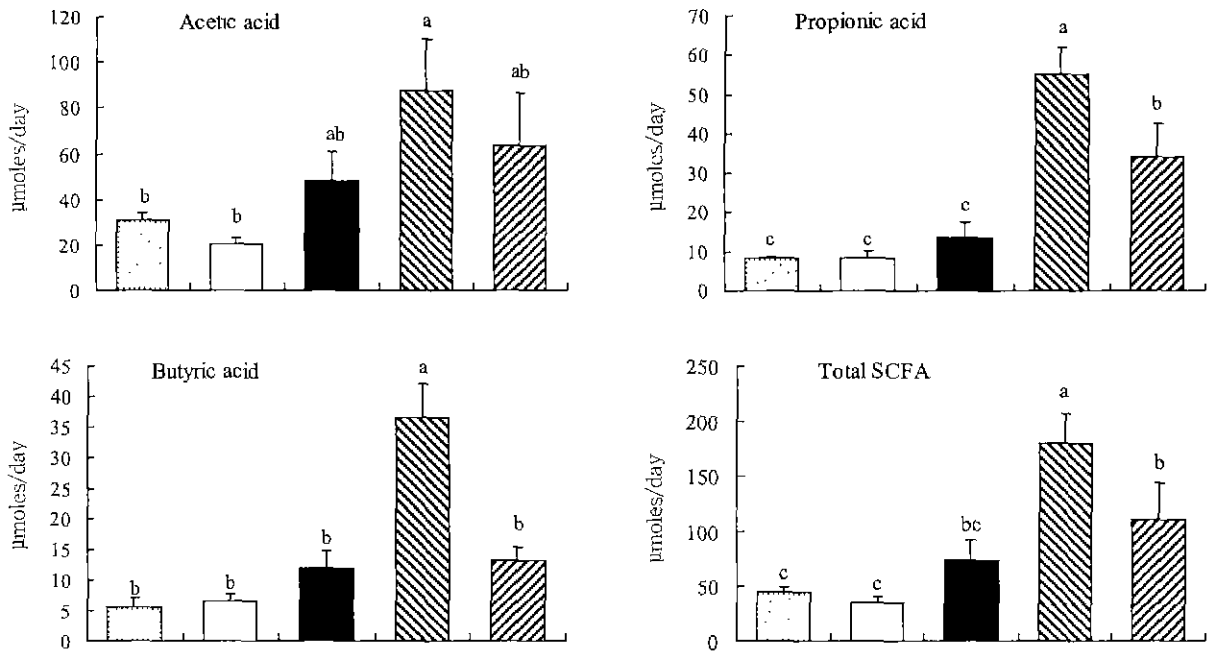


Fig. 2. Effects of experimental diets on daily excretion of principal short-chain fatty acids and total SCFA in feces. Group¹⁾. □ Normal □ Sham ■ OVX-control ▨ OVX-SS15 ▩ OVX-SS30

¹⁾See the legend of Table 1.

Values are means ± SE (n=10) and means with different alphabets above the bar are significantly different by the Duncan's multiple range test.

이가 없었으나, Ovx-SS30군의 체중은 Normal군과 유사한 정도로 낮았다. 체중 100 g당 소장길이는 군간에 유의한 차이가 없었으나, 5 cm 공장조직의 무게는 Ovx-control군이 가장 높았으며, 홍화박의 첨가로 인해 감소하는 경향이였다. 소장점막 이당류가수분해효소 활성은 난소절제군이 Sham군에 비해 유의하게 낮았으나, 홍화박의 첨가로 증가하는 경향이였다. 변배설량은 홍화박 첨가군이 Sham군과 Ovxcontrol군에 비하여 2배 이상 많았다. 변의 총 SCFA 농도는 Ovx-SS15군이 Ovx-control군에 비하여 유의하게 높았으며, Ovx-SS15군의 propionic acid와 butyric acid 함량도 다른 군에 비하여 유의하게 높았다. 1일 변에 함유된 총 SCFA 양은 Ovx-SS15군이 Sham군과 Ovx-control군에 비하여 유의하게 높은 수준을 보여 홍화박이 대장내 SCFA 생성에 매우 효과적임을 보여 주었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 대구대학교 농산물 저장·가공 및 산업화연구센터의 지원에 의한 것입니다.

문헌

1 Jung, C.G., Ahn, K.S. and Moon, J.J. Study on the effects of *Astragali Radix*, *Cinnamomi Ramulus* and *Carthami Flos* on thrombosis and elevated blood viscosity *Kor J Oriental Med Pathol*, 4, 74-93 (1989)

2 Kang, J.K. and Shin, H.S. Effect of extract of seeds of *Carthamus tinctorius* L. on mineralization in periodontal ligament cells and osteoblastic cells *J. Wonkwang Dental Research Institute*, 8, 1-17 (1998)

3 Kim, J.H., Jeon, S.M., An, M.Y., Ku, S.K., Lee, J.H., Choi, M.S. and Moon, K.D. Effects of diet of Korean safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed powder on bone tissue in rats during the recovery of rib fracture. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 27, 698-704 (1998)

4 Baek, N.I., Bang, M.H., Song, J.C., Lee, S.Y. and Park, N.K. Antioxidative component from the seed of *Carthamus tinctorius* L. *Agr. Chem. Biotech.*, 42, 366-368 (1999)

5 Kang, G.H., Chang, E.J. and Choi, S.W. Antioxidative activity of phenolic compounds in roasted safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seeds *J. Food Sci. Nutr.*, 4, 221-225 (1999)

6 Kim, J.H., Jeon, S.M., Park, Y.-A., Choi, M.S. and Moon, K.D. Effects of safflower seed (*Carthamus tinctorius* L.) powder on lipid metabolism in high fat and high cholesterol-fed rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 625-631 (1999)

7 Cho, S.H., Choi, S.W., Choi, Y.S. and Lee, W.J. Effects of defatted safflower and perilla seed powders on lipid metabolism in ovariectomized female rats fed high cholesterol diets. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 29, 112-118 (2001)

8 Potty, V.H. Physico-chemical aspects, physiological functions, nutritional importance and technological significance of dietary fibers-A critical appraisal *J. Food Sci Technol.*, 33, 1-18 (1996)

9 Goodlad, R.A., Ratcliffe, B., Lee, C.Y. and Weight, N.A. Dietary fibre and the gastrointestinal tract. differing trophic effects on muscle and mucosa of the stomach, small intestine and colon. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 49 (suppl 3), S178-S181 (1995)

10 Boila, R.J., Salomon, M.D., Milligan, L.P. and Aherne, F.X. The effect of dietary propionic acid on cholesterol synthesis in swine. *Nutr. Rep. Int.*, 23, 1113-1121 (1981)

11. Chen, W.L., Anderson, J.W. and Jennings, D. : Propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol-fed rats. *Proc Soc. Exp Biol. Med.*, **175**, 215-218 (1984)
12. Sakata, T. : Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine : a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors *Br. J. Nutr.*, **58**, 95-103 (1987)
13. Siavoshian, S., Blottiere, H.M., Le Foll, E., Kaeffer, B., Cherbut, C. and Galmiche, J-P. : Comparison of the effect of different short chain fatty acids on the growth and differentiation of human colonic carcinoma cell lines *in vitro* *Cell Biol Int.*, **21**, 281-287 (1997)
14. The American Institute of Nutrition : Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies *J. Nutr.*, **107**, 1340-1348 (1977)
15. Kim, J-H. : The effects of Korean safflower (*Carthamus tinctorious* L.) powder supplementation diet on the recovery of rib fracture and the improvement of lipid metabolism in rats and development of processed food. *M.S. Thesis. Kyung-Pook National University* (1998)
16. Dahlqvist, A. : Disaccharidases. In *Method of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer, H.U. (ed.), 2nd ed. Academic Press, New York, Vol. 2, p 916-922 (1974)
17. Lupton, J.R. and Kurtz, P.P. : Relationship of colonic luminal short-chain fatty acids and pH to *in vivo* cell proliferation in rats. *J. Nutr.*, **123**, 1522-1530 (1993)
18. Varma, M., Chai, J.K., Meguid, M.M., Laviano, A., Gleason, J.R., Yang, Z.J. and Blada, V. : Effect of estradiol and progesterone on daily rhythm in food intake and feeding patterns in Fisher rats. *Physiol. Behav.*, **68**, 99-107 (1999)
19. Yoon, J.H. and Lee, S.S. : Effect of ovariectomy induced hyperphagia on the intestinal adaptation. *Kor. J. Nutr.*, **21**, 182-187 (1988)
20. Ramirez, M.E., McMurry, M.P., Wiebke, G.A., Felton, K.J., Ren, K., Meikle, A.W. and Iverius, P.H. : Evidence for sex steroid inhibition of lipoprotein lipase in men : comparison of abdominal and femoral adipose tissue. *Metabolism*, **46**, 179-185 (1997)
21. Valette, A., Meignen, K.M., Mercier, L., Liehr, J.G. and Boyer, J. : Effects of 2-fluoroestradiol on lipid metabolism in the ovariectomized rat. *J. Steroid Biochem.*, **25**, 575-578 (1986)
22. Jacobs, L.R. and White, F.A. : Modulation of mucosal proliferation in the intestine of rats fed a wheat bran diet. *Am. J. Clin. Nutr.*, **37**, 945-953 (1983)
23. Jacobs, L.R. : Effects of dietary fiber on mucosal growth and cell proliferation in the small intestine of the rat : a comparison of oat bran, pectin, and guar with total fiber deprivation. *Am. J. Clin. Nutr.*, **37**, 954-960 (1983)
24. Chen, T.S., Doong, M.L., Chang, F.Y., Lee, S.D. and Wang, P.S. : Effects of sex steroid hormones on gastric emptying and gastrointestinal transit in rats. *Am. J. Physiol.*, **268**, G171-176 (1995)
25. Choi, Y.S., Cho, S.H., Kim, H.J. and Lee, H.J. : Effects of soluble dietary fibers on lipid metabolism and activities of intestinal disaccharidases in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **44**, 591-600 (1998)
26. Thomsen, L.L. and Tasman-Jones, C. : Disaccharidase levels of the rat jejunum are altered by dietary fibre. *Digestion*, **23**, 253-258 (1982)
27. Hoff, M.B. and Chang, W.W. : The effect of estrogen on epithelial cell proliferation and differentiation in the crypts of the descending colon of the mouse - a radioautographic study. *Am. J. Anat.*, **155**, 507-516 (1979)
28. Ryan, J.P. and Bhojwani, A. : Colonic transit in rats : effect of ovariectomy, sex steroid hormones, and pregnancy. *Am. J. Physiol.*, **251**, G46-50 (1986)
29. McDougall, G.J., Morrison, I.M., Stewart, D. and Hillman, J.R. : Plant cell walls as dietary fibre : Range, structure, processing and function. *J. Sci. Food Agric.*, **70**, 133-150 (1996)
30. Lewis, S.J. and Heaton, K.W. : Increasing butyrate concentration in the distal colon by accelerating intestinal transit. *Gut*, **41**, 245-251 (1997)
31. Folino, M., Malntyre, A. and Young, G.P. : Dietary fibers differ in their effects on large bowel epithelial proliferation and fecal fermentation-dependent events in rats. *J. Nutr.*, **125**, 1521-1528 (1995)
32. Basson, M.D., Emenaker, N.J. and Hong, F. : Differential modulation of human (Caco-2) colon cancer cell line phenotype by short chain fatty acids. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **217**, 476-483 (1998)
33. Emenaker, N.J. and Basson, M.D. : Short chain fatty acids inhibit human (SW1116) colon cancer cell invasion by reducing urokinase plasminogen activator activity and stimulating TIMP-1 and TIMP-2 activities, rather than via MMP modulation. *J. Surg. Res.*, **76**, 41-46 (1998)
34. Hara, H., Hage, S., Kasai, T. and Kuriyama, S. : Fermentation products of sugar-beet fiber by cecal bacteria lower plasma cholesterol concentration in rats. *J. Nutr.*, **128**, 688-693 (1998)

(2001년 2월 3일 접수)