

## 감귤박, 다시마, 손바닥 선인장 분말을 함유한 식이의 급여가 고콜레스테롤혈증 환주의 체내 지질수준과 장내 콜레스테롤 흡수, 혈소판 응집성 및 간 조직에 미치는 영향\*

강민숙·강정숙<sup>§</sup>

제주대학교 자연과학대학 식품영양학과

### Hypocholesterolemic Effect of Tangerine Pulp, Sea Tangle or Prickly Pear Cactus on Lipid Level, Intestinal Cholesterol Absorption, Platelet Aggregation and Liver Tissue in Hypercholesterolemic Rats\*

Kang, Min Sook · Kang, Jung Sook<sup>§</sup>

Department of Food & Nutrition, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

#### ABSTRACT

This study was done to investigate the hypocholesterolemic effect of low dietary fiber in a high cholesterol diet in aspect of cholesterol absorption and excretion using Sprague Dawley rats. After feeding diets containing 0.5% cholesterol and 5% tangerine pulp, sea tangle or prickly pear cactus for four weeks, we measured the levels of plasma and liver cholesterol and triglyceride, fecal neutral sterols and fecal radioactivity after ingestion <sup>14</sup>C-cholesterol. We also examined platelet aggregation and histological change in liver tissues in association of hypercholesterolemia. The liver to body weight ratio was significantly( $p < 0.01$ ) lower in rats fed prickly pear cactus than in other groups. The levels of plasma total cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride were decreased significantly( $p < 0.01$ ) in the prickly pear cactus group compared with the control, while there was no difference in the liver levels of total cholesterol and triglyceride among groups. Fecal coprostanol and cholesterol were significantly( $p < 0.01$ ) higher in groups of control and prickly pear cactus compared to the other two groups. Radioisotope excretion after ingestion of <sup>14</sup>C-cholesterol was higher in the control group than in tangerine pulp group or sea tangle group, with the highest in prickly pear group. Radioisotope excretion was the highest during the 2nd and 3rd days in all groups. Hematocrit and platelet aggregation were decreased in all fiber groups compared to the control, but not statistically different. Microscopic examination showed that cholesterol diet caused a fat accumulation in the liver and prickly pear cactus decreased the fat accumulation. Result indicates that prickly pear cactus has hypocholesterolemic effect by decreasing absorption and increasing excretion of cholesterol, thereby protective effect on fatty liver. Control group fed diet containing high cholesterol and low fiber seems to have a self control system in cholesterol absorption and excretion preventing hypercholesterolemia. (*Korean J Nutrition* 34(2) : 141~149, 2001)

KEY WORDS: dietary fiber, <sup>14</sup>C-cholesterol absorption, fecal neutral sterols, platelet aggregation.

#### 서 론

최근, 식이성 섬유질로 알려진 비소화성 다당류가 사람에 있어서 생리적 또는 영양학적 측면에서 그 중요성이 인정되

접수일 : 2000년 11월 2일

채택일 : 2001년 1월 12일

\*This study was supported by Cheju National University Research Fund awarded to Applied Radioisotope Research Institute.

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

면서 상당한 연구가 진행되고 있다. 식이성 섬유질은 과일, 야채, 두류, 곡류 등 식물성 식품에 복합 탄수화물을 형태로 존재하고 있는데 흡수 팽창하는 성질로 인해 정장작용이 있어 변비나 대장암 등의 예방에 도움이 되고, 저열량에 소화지연 작용으로 비만과 당뇨의 치료에 효과적이다. 식이성 섬유질은 불용성과 수용성으로 분류되며, 이들은 구성하는 성분과 구조에 기인하는 물리 화학적 성질에 따라서 인체에 미치는 생리적인 효과가 달라진다.<sup>1,2)</sup> Pectin, soluble gum, β-glucan, alginate 등과 같은 수용성이면서 점성이 있는 식이성 섬유질은 콜레스테롤을 흡수하거나 결합하는 성질이 있

어서 이런 물질이나 이를 포함한 식품은 혈중 콜레스테롤, 특히 LDL-콜레스테롤을 저하시키는 것으로 보고되고 있는 반면,<sup>4-7)</sup> cellulose와 hemicellulose를 포함하는 wheat bran 등과 같은 불용성 식이 섬유의 섭취는 동물을 이용한 연구에서 혈장 콜레스테롤에 어떠한 영향도 미치지 못하거나,<sup>8,9)</sup> 오히려 상승하는 효과를 보였다.<sup>10,11)</sup> 이러한 식이성 섬유질의 혈중 콜레스테롤 저하 효과는 실험 대상이 정상인과 고콜레스테롤 혈증 환자인 경우가 다르고,<sup>12,13)</sup> 실험 동물의 경우 식이 속에 콜레스테롤을 침가 여부나,<sup>14)</sup> 사용된 섬유질의 양에 따라 그 효과의 크기가 다르다.<sup>15-17)</sup> 수용성 섬유질의 혈중 콜레스테롤 저하효과에 대한 일반적인 작용기전은 식이 콜레스테롤이나 담즙산의 흡수저해에 의한 것이다. 그러나, Fernandez의 실험에서 순수 citrus pectin<sup>17)</sup>이나 손바닥 선인장 열매의 정제된 pectin<sup>18)</sup>에 있어서 콜레스테롤 저하 작용은 콜레스테롤의 흡수나 담즙산의 배설과는 무관한 것으로 나타나 있다. Abraham 등<sup>12)</sup>은 또한 수용성 섬유질로 구성된 psyllium 경우, 사람에 있어서의 혈중 콜레스테롤 저하 효과는 영양소의 흡수나 담즙산의 배설량과 관련이 없었다. 식품내의 섬유질 구성은 적어도 3가지 이상의 복합 섬유질 형태로 수용성과 불용성이 함께 존재하므로 정제된 단일 섬유질 형태의 효과나 그 작용 기전과는 같지 않을 것이다.

서양에서 수용성 섬유질로서 oat bran, guar나 locust bean gum, psyllium 등을 직접으로나 식품에 첨가함으로서 식이성 섬유질의 효과를 최대한 얻고 있다. 우리 주변에서 알긴산, 팩틴 등의 수용성 섬유질 함량이 비교적 높으면서 쉽게 구할 수 있는 식품 소재로서 해조류나 감귤박, 손바닥 선인장을 생각할 수 있다. 감귤박의 경우 진피라는 한약 재료 사용하고 있고 오렌지와 마찬가지로 마발레이드 형태로 가공되어질 수 있다. 손바닥 선인장 열매는 술, 잼 등 건강보조 식품으로 개발되어 이용되고 있으나 폐기되고 있는 줄기 부분에 대해서 국수나 제과 반죽에 섞어 넣거나 드레싱 등의 thickner로 이용 가능성이 모색되고 있다. 그러나 이들이 갖는 쓴맛이나 지나친 점성 등으로 인해 맛이나 질감을 해치지 않으면서 충분한 섬유질을 공급할 수 있는 이용 가능한 분량은 3~5% 안팎으로 많은 분량은 아니다.

본 연구에서 다시마, 감귤 겹질 및 손바닥 선인장의 줄기를 식품 소재로 이용 가능한 분량만큼 고콜레스테롤을 식이에 첨가할 때 이들 식품 소재가 가질 수 있는 혈중 콜레스테롤 저하효과를 식이 콜레스테롤의 흡수와 배설의 측면에서 조사하고자 하였다. 0.5%의 콜레스테롤을 함유하고 있는 기본 식이에 손바닥 선인장과 다시마, 또는 감귤박을 5% 첨가하여 Sprague Dawley 쥐에게 급여하였을 때 혈장과 간

의 콜레스테롤과 중성지방의 수준, 혈소판 응집과 간조직의 변화 및 <sup>14</sup>C-콜레스테롤을 이용하여 이러한 섬유질이 식이 콜레스테롤의 흡수와 중성스테롤을 측정하여 체콜레스테롤의 배설에 미치는 영향을 조사하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1) 실험동물의 식이, 사육 및 시료채취

생후 5주된 Sprague Dawley 쥐 40마리를 대조군, 감귤박, 다시마, 손바닥 선인장군 등 모두 4실험군에 각 10마리씩 나눈 후, 0.5% cholesterol과 0.2% cholate를 함유하고 무섬유질의 기본 식이(hypercholesterolemic diet)를 대조군 식이로, 여기에 전분대신 5%의 냉동 건조된 감귤껍질(tangerine pulp), 다시마(sea tangle), 손바닥선인장 줄기(prickly pear cactus)의 분말을 섞어 만들었다 (Table 1). 쥐들은 각기 stainless steel cage에 넣어 12시간조명, 12시간 암흑주기가 조절되는 방에서 식이와 물은 자유로이 공급되었다. 사양기간동안 주 2회씩 식이 섭취량, 체중변화를 기록하고 변은 수집하여 공기 중에서 말린 후 -20°C에 보관하였다. 4주째 쥐들을 12시간 절식한 후 cardiac puncture에 의해 혈소판 응집을 위한 heparin 처리된 전혈(whole blood)과 혈청 지질분석을 위한 heparin이 처리되지 않은 혈액을 따로 채취하였다. 간은 바로 적출하여 거름종이로 표면의 혈액을 제거하여 무게를 측정한 후, 간 조직검사를 위해 일부를 10% 포르밀린용액에 고정시켜

Table 1. Composition of experimental diets(%)

Ingredient	Pre-liminary	Control	Tangerine pulp	Sea tangle	Prickly pear cactus
Casein <sup>a</sup>	20.0	20.0	20.0	19.5	19.5
L-methionine <sup>a</sup>	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Lard	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
Soybean oil	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Vitamin mix <sup>a</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mix <sup>b</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Sucrose	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Corn starch	45.0	44.3	39.3	39.8	39.8
Cholesterol <sup>c</sup>	-	0.5	0.5	0.5	0.5
Cholic acid <sup>c</sup>	-	0.2	0.2	0.2	0.2
Tangerine pulp <sup>d</sup>	-	-	5.0	-	-
Sea tangle <sup>d</sup>	-	-	-	5.0	-
Prickly pear cactus <sup>d</sup>	-	-	-	-	5.0

a: Teklad, Harlan Madison WI, USA

b: Mineral mixture based on ALN 76A

c: Sigma chemical Co, USA

d: Tangerine pulp, Sea tangle, prickly pear cactus powdered after freeze dry containing 6.3%, 10.6% and 12.4% crude protein respectively. Casein was adjusted based on crude protein contents

놓고, 남은 간은 콜레스테롤과 중성지방 분석을 위해 분리된 혈청과 함께 -20°C 냉동고에 보관되었다.

콜레스테롤 흡수율을 측정하기 위한 실험에서는 생후 4주 된 Sprague Dawley 솟쥐 20마리를 각각 5마리씩 4개 군으로 나누어 실험식이로 사육한 2주때에, 20시간을 절식시킨 후 0.2 $\mu$ ci 분량의  $^{14}\text{C}$ -콜레스테롤 용액 200 $\mu\text{l}$ 를 암흑주기 시작 10분 전에 식이에 넣어 섭취시켰다.

## 2) 혈소판 응집성

혈소판응집은 whole blood platelet aggregation을 측정하는 impedance 방법으로, 혈소판의 응집에 따라 형성되는 두 전극간의 저항(ohm)의 증가로 나타난다. Chronolog aggregometer(model 500, Havertown PA, USA)를 사용하여 0.25ml 혈액을 생리식염수로 회석하여(1 : 4) 혈소판이 대략 200,000/ $\mu\text{l}$ 로 조정한 후 ADP(2 $\mu\text{M}$ )을 첨가하여 응집을 유도했고, 3회 반복한 평균치를 사용하였다.

## 3) 혈청의 지질함량 분석

혈청내의 총 콜레스테롤은 Waco kit(Waco Pure Chemical Ind., Osaka, Japan)을, HDL-콜레스테롤과 중성지방은 국제시약(International Reagent Co., Tokyo, Japan)을 사용하여 분석하였다. LDL-콜레스테롤은 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤의 수치를 이용하여 계산되었다.

## 4) 간의 지질함량 분석

간 시료의 콜레스테롤과 중성지방의 추출은 Folch 등<sup>19)</sup>의 방법을 다소 수정한 것으로, 간 조직 1g을 6ml chloroform/methanol mixture(2 : 1, v/v)와 2ml 종류수를 넣어 균질화한 후 3,000 × g에서 원심분리하였다. 하층액 500 $\mu\text{l}$ 을 취하여 질소가스로 건조한 후, 여기에 50 $\mu\text{l}$  Triton X-100/chloroform mixture(1 : 1, v/v)와 450 $\mu\text{l}$  chloroform을 넣어서 500 $\mu\text{l}$ 로 만들어 가볍게 흔들어 내용물을 용해시켰다. 이중 20~50 $\mu\text{l}$ 을 취하여 chloroform을 휘발시킨 후 Wako kit을 사용하여 간의 콜레스테롤을 측정하였다. 간 중성지방은 하층액 20~50 $\mu\text{l}$ 를 취하여 chloroform을 휘발시킨 후 50 $\mu\text{l}$  메탄올을 넣고 용해시켜 국제시약을 사용하여 측정하였다.

## 5) 변의 중성스테롤 분석

변의 중성스테롤 추출은 DeDeckere 등<sup>20)</sup> 방법을 적용하였으나 silylation을 거치지 않았다. 동결 건조한 변의 분말 100mg을 시험관에 취하고, 비누화시키기 위해 5mM NaOH 0.65 $\mu\text{l}$ 을 첨가하였다. 여기에 internal standard인 5 $\alpha$ -cholestane(Sigma chemical co., St. Louis, USA) 일정농도와 methanol 2ml를 더 첨가한 후, 80°C water

bath에서 1시간 동안 배양하였다. 배양한 시험관을 식힌 후 3ml petroleum ether로 3번에 나누어 중성스테롤을 추출했다. 1 $\mu\text{l}$ 의 추출된 중성스테롤을 gas chromatograph(HP 5890)에 주입하여 coprostanol과 cholesterol의 함량을 측정하였다. GC분석 조건으로 detector는 FID, column은 30m × 0.32mm HP-5, fused 5% PH ME Siloxane capillary column을, carrier gas는 nitrogen을 사용하였으며, oven temperature는 240°C 등온, injector 온도는 270°C, detector 온도는 280°C로 하였다.

## 6) 간 조직 검사

각 군마다 4 sample의 간을 같은 부위에서 채취하여 각 2건본을 만들어 관찰하였다. 간 조직을 10% formalin용액으로 고정하였으며, 탈수과정을 거친 후, paraffin 포매 절편을 만들어 Hematoxylin-Eosin 염색을 한 후, 광학현미경으로 관찰하였다.

## 7) 변의 방사성 동위원소 측정

콜레스테롤 흡수율을 측정하기 위해서 0.2 $\mu\text{ci}$ 의  $^{14}\text{C}$ -cholesterol(NEN, Boston MA, USA)을 각각의 쥐에게 실험식이와 함께 섭취시킨 후, 만 1일에서부터 6일까지의 변을 수집하여 상온에서 건조하고 분쇄한 후, 각 마리당 하루동안 수집된 변 전체를 개별적으로 scintillation vial에 넣었다. 여기에 15ml scintillation cocktail(SCINT<sup>TM</sup>-A XF, Packard)을 첨가하고, 충분히 우러나도록 잘 흔들어 준 후, scintillation counter(Packard 2700PR)를 이용해 측정하였다.

## 8) 통계처리방법

본 실험의 결과는 평균과 표준편차로 표시하였고, 실험결과들간 평균값의 차이는 one-way ANOVA를 사용하여 검증하였으며,  $p < 0.05$  수준에서 Duncan test에 의해 각식이에 따른 처리구 간의 유의차를 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 체중증가량, 식이섭취량 및 간/체중 비

무섬유질의 콜레스테롤이 첨가되지 않은 4주간의 예비실험의 결과가 Table 2에 함께 나타나 있다. 주령이 낮아 Initial weight이 적을수록 증체율이 높고, 간과 체중 무게비(liver/body weight ratio)도 약간 높으나, 일반적으로 300~400g의 건강한 솟쥐의 간과 무게는 체중의 2.8~3.2%에 해당한다. 본 실험의 증체율에 있어서 각 처리군간에 차이는 없었으며, 간과 체중 무게비에 있어서 콜레스테롤이 첨가되

지 않는 예비실험에 비해 모든 실험군에서 상당히 증가되어 있는데, 손바닥 선인장 처리군에서 그 증가폭이 유의적 ( $p < 0.001$ )으로 낮았다. 이는 간의 무게가 다른 실험군에 비해 작은 것을 의미하는데 손바닥 선인장은 고콜레스테롤 식이로 인한 지방간이나 간의 비대를 방지하는 효과가 있음을 뜻한다.

## 2. 혈청의 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 중성지방

Table 3에 무섬유질의 콜레스테롤이 첨가되지 않은 일반 조제식이로 사육된 쥐의 preliminary 실험결과가 함께 표시되어 있다. 대조군을 비롯한 콜레스테롤이 첨가된 본 실험의 모든 실험군에 있어서 혈중 총 콜레스테롤이 증가되어 있는 반면, HDL-콜레스테롤은 상당히 감소되어 있고, 특히 혈중 중성지방이 오히려 감소하는 경향은 지방간 상태에서 높은 합성과 혈장으로의 낮은 분비에 기인한 것으로 Kushwaha 등<sup>21</sup>의 baboon 실험결과와 일치한다. 본 실험에서 손바닥 선인장군의 혈중 총 콜레스테롤 수치는 대조군에 비해 유의적으로 감소했으나( $p < 0.01$ ), 감귤박군에서는 오히려 증가되었다. HDL-콜레스테롤 수준은 다시마군이 약간 높게, 손바닥 선인장은 약간 낮게 나타났으나 대조

군과 비교했을 때 유의적 차이는 없었다. LDL-콜레스테롤은 총 콜레스테롤의 주 구성요소로서 비슷한 경향을 나타냈다. 혈청 중성지방 또한 선인장군이 다른 실험군에 비해 낮게 나타났는데( $p < 0.01$ ), 손바닥 선인장을 제외한 두 섬유질 실험군은 대조군에 비해 혈중 콜레스테롤이나 중성지방의 저하효과는 없었다. Kim과 Wang<sup>22</sup>은 총섬유질 함량이 10%가 되도록 첨가한 39.7% 감귤박(진피)으로부터 혈장 콜레스테롤 감소효과를 보았고, Lee 등<sup>23</sup>의 실험에서 또한 7%의 다시마 분말이 혈중 콜레스테롤을 감소시켰다. Fernandez 등<sup>24</sup>은 0.25%의 콜레스테롤이 함유되어 있는 식이에 1% 선인장 펩틴이 간의 콜레스테롤을 유의적으로 감소시켰고, 같은 콜레스테롤 식이의 citrus 펩틴 실험<sup>17</sup>에서 그는 7.5% 펩틴으로 비슷한 효과를 볼 수 있었다.

본 실험에서 사용된 섬유질원의 총섬유질(total dietary fiber)의 함량을 비교해 볼 때 분석상의 차이가 있겠지만 감귤박<sup>22</sup>(25.2%), 다시마<sup>25</sup>(49.9%), 손바닥 선인장<sup>26</sup>(46.1%)으로 감귤박이 가장 낮으며, 사용된 5% 수준에서 이들이 함유한 총섬유질은 1.5~2.3%이다. 감귤박군에 있어서 간이나 혈청의 콜레스테롤 수준이 대조군보다 높다는 점은 뒷부분에서 언급되겠지만 감귤박군의 <sup>14</sup>C-isotope 배설이나 변의 중성스테롤 함량이 대조군보다 낮은 것으로 설명이 된

Table 2. Weight gain and liver/body weight ratio in rats fed none cholesterol basal diets and cholesterol added experimental diets

	Preliminary(No cholesterol)		Main experiment(Cholesterol)			
	1	2	Control	Tangerine pulp	Sea tangle	Prickly pear
Initial B.W(g)	203.9 ± 6.4	155.5 ± 20.4	100.4 ± 8.5	100.2 ± 6.5	100.1 ± 6.9	100.3 ± 7.4
Final B.W(g)	374.8 ± 23.8	355.9 ± 18.4	326.1 ± 24.3	341.6 ± 27.9	345.0 ± 29.6	321.2 ± 15.0
ADG(g/d) <sup>1)</sup>	6.1 ± 0.7	6.7 ± 0.7	8.1 ± 0.6	8.6 ± 0.9	8.8 ± 0.9	7.9 ± 0.5
L.W/B.W <sup>2)</sup> (%)	2.8 ± 0.2	3.0 ± 0.3	5.1 ± 0.4 <sup>a†</sup>	5.1 ± 0.4 <sup>a</sup>	5.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	4.2 ± 0.3 <sup>b</sup>

1) ADG: Average daily feed intake

2) L.W/B.W: Liver and final body weight ratio

Values are means ± SD of 10 rats

Two preliminary reference data excluded for statistical analysis

Values in the same row not sharing the same superscript differ( $p < 0.001$ )

Table 3. Effects of dietary cholesterol and fiber source on plasma and liver cholesterol and triglyceride

	Preliminary (No cholesterol)	Main experiment(Cholesterol)			
		Control	Tangerine pulp	Sea tangle	Prickly pear cactus
<b>Plasma<sup>1)</sup></b>					
Total-cholesterol**	176.63 ± 17.31	242.92 ± 33.29 <sup>a</sup>	352.49 ± 36.90 <sup>b</sup>	240.77 ± 44.86 <sup>a</sup>	167.70 ± 18.37 <sup>c</sup>
HDL-cholesterol*	43.65 ± 12.19	12.47 ± 2.30 <sup>ab</sup>	12.39 ± 1.61 <sup>ab</sup>	14.18 ± 2.00 <sup>a</sup>	11.76 ± 1.29 <sup>b</sup>
LDL-cholesterol**	133.0 ± 16.84	215.78 ± 32.07 <sup>a</sup>	325.14 ± 36.97 <sup>b</sup>	211.17 ± 44.42 <sup>a</sup>	144.80 ± 17.92 <sup>c</sup>
Triglyceride**	61.92 ± 13.43	73.37 ± 8.77 <sup>a</sup>	74.80 ± 12.68 <sup>a</sup>	77.12 ± 11.60 <sup>a</sup>	55.74 ± 7.29 <sup>b</sup>
<b>Liver<sup>2)</sup></b>					
Total-cholesterol	9.27 ± 3.34	54.18 ± 5.77	58.98 ± 9.79	54.32 ± 6.86	53.80 ± 4.80
Triglyceride	21.46 ± 7.92	64.34 ± 10.55	54.66 ± 6.54	64.61 ± 11.22	60.31 ± 9.19

1) Plasma levels in mg/100ml, 2) Liver levels in mg/g

Values are means ± SD of 10 rats

LDL-cholesterol calculated from an equation: LDL-cholesterol = T-cholesterol - (HDL-cholesterol + TG/5)

Preliminary reference data excluded for statistical analysis

\*\*: Values in the same row not sharing the same superscript differ( $p < 0.01$ )

\*: Values in the same row not sharing the same superscript differ( $p < 0.05$ )

**Table 4.** Percentage of total excretion of  $^{14}\text{C}$ -isotope after ingestion of  $0.2\mu\text{Ci}$   $^{14}\text{C}$ -cholesterol and concentration of fecal neutral sterols

	Control	Tangerine pulp	Sea tangle	Prickly pear cactus
$^{14}\text{C}$ -isotope excretion <sup>1)</sup>	8.58 ± 2.62	5.88 ± 1.54	6.88 ± 1.28	16.95 ± 3.41
Neutral sterol excretion <sup>2)</sup>				
Coprostanol	4.00 ± 0.52 <sup>a</sup>	0.97 ± 0.27 <sup>c</sup>	1.10 ± 0.77 <sup>c</sup>	1.89 ± 0.44 <sup>b</sup>
Cholesterol	66.90 ± 4.89 <sup>a</sup>	32.12 ± 2.45 <sup>b</sup>	34.32 ± 3.73 <sup>b</sup>	66.07 ± 6.95 <sup>a</sup>
Daily fecal weight	0.47 ± 0.05	1.11 ± 0.15	1.49 ± 0.20	1.18 ± 0.07

1) Percent of total  $^{14}\text{C}$ -isotope excreted for 6 days after ingestion of  $0.2\mu\text{Ci}$   $^{14}\text{C}$ -cholesterol, values are means ± SD of 5 rats2) Fecal neutral sterols in  $\mu\text{mol/g}$  dry mass

Average daily fecal weight after air dry, expressed in gram Values are means ± SD of 10 rats

Values in the same row not sharing the same superscript differ( $p < 0.01$ )

다. 콜레스테롤이 첨가되지 않은 무섬유질 식이와는 달리, 본 실험의 대조군인 콜레스테롤이 첨가되고 무섬유질의 경우 실험기간동안 내내 모든 쥐에 있어서 끈적한 묽은 변을 관찰할 수 있었는데, 이는 앞의 중체률을 비교하거나  $^{14}\text{C}$ -isotope 배변속도를 비교해 볼 때 설사로 해석하기는 어렵다. 무섬유질에 대한 적은량의 섬유질 첨가 효과를 기대한 본 연구에서 대조군의 체콜레스테롤이 섬유질 처리군보다 높지 않다는 것은 섬유질이 가지는 물리적인 흡수 저해작용과는 다른 어떤 생리적 흡수조절 기전이 있어 일정한 체 콜레스테롤을 유지할 수 있지 않을까 생각된다.

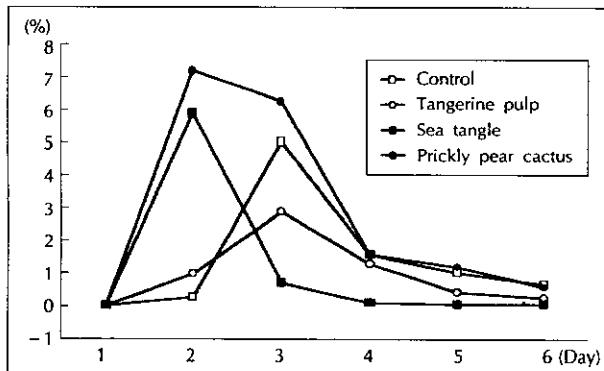
### 3. 간의 콜레스테롤과 중성지방

Preliminary 실험결과와 비교해 볼 때 콜레스테롤이 첨가된 본 실험의 모든 실험군에 있어서 총 콜레스테롤과 중성지방이 상당히 증가되어 있음을 알 수 있다. 본 실험에서 간의 총 콜레스테롤과 중성지방은 처리간 유의적인 차이는 없었다(Table 3). 이렇게 감귤박, 다시마, 손바닥 선인장의 첨가가 증가된 간의 총 콜레스테롤과 중성지방의 수준을 낮추지 못한 것은 역시 첨가된 섬유질이 충분하지 못한 것으로 해석할 수 있다. 그러나 간의 총 콜레스테롤과 중성지방의 수준과는 별도로 손바닥 선인장의 경우, 간이 유의적으로 작은 것을 볼 수 있는데(Table 2), 이를 감안해 볼 때 간 전체에 포함된 콜레스테롤과 중성지방 함량은 손바닥 선인장의 경우 감소한 것으로 볼 수 있다. 이렇게 혈장과 마찬가지로 간에 있어서 섬유질에 의한 콜레스테롤과 중성지방 저하효과는 식이내의 콜레스테롤 함량과 첨가된 섬유질 종류와 분량에 따라 달라진다.

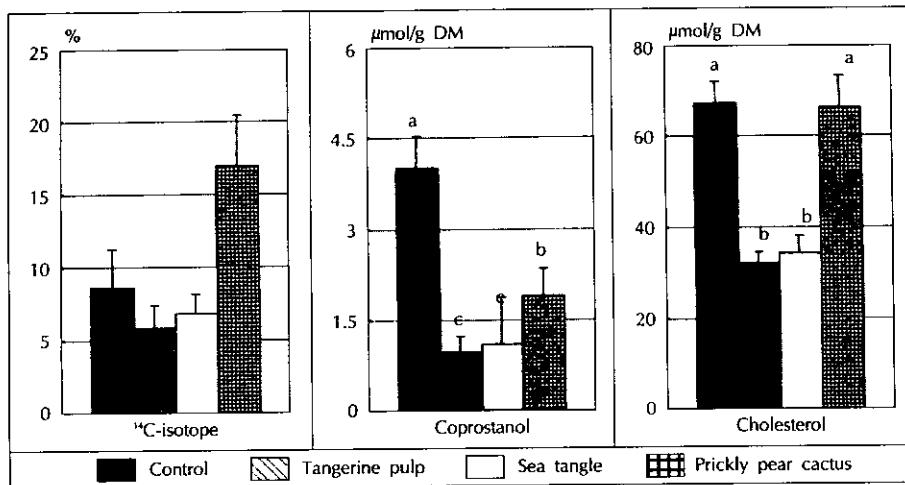
### 4. $^{14}\text{C}$ -콜레스테롤 흡수와 변 중성스테롤의 배설

#### 1) $^{14}\text{C}$ -콜레스테롤 섭취후 방사능 배설

급여한  $^{14}\text{C}$ -콜레스테롤의 흡수정도를 상대적으로 비교할 수 있는  $^{14}\text{C}$ -방사능 날짜별 배설추이와 급여량에 대한 배설된 총  $^{14}\text{C}$ -방사능의 백분비가 Table 4와 Fig. 1, 2에 나타나 있다. 방사능 배설은 급여 후 6일간 변속에 나타난  $^{14}\text{C}$ -

**Fig. 1.** Daily excretion of radioactivity following  $^{14}\text{C}$ -cholesterol feeding (% of intake).

방사능을 총 섭취량에 대한 비율로 나타냈는데, 이는 흡수되지 않은 분량이다.  $^{14}\text{C}$ -콜레스테롤을 급여한 만 1일 후 수집한 모든 실험군에서 변에 방사능이 검출되지 않았고, 대부분 만 2~3일에 가장 많이 배설되어 5~6일에는 거의 배설이 멈추었다. 일반적으로 식이 콜레스테롤이 흡수되어 혈장과 조직으로 고르게 분포되는 기간은 수일과 수주가 각각 걸리는 것을 감안할 때<sup>27)</sup> 이 기간동안  $^{14}\text{C}$ -콜레스테롤이 흡수되어 대사과정을 거쳐 배설되기로는 짧은 시간이다. 배설 패턴에 있어서 실험군에 따라 각기 다른데, 손바닥 선인장군은 섭취 2~3일에 배설량이 많았고, 다시마군에서 2일에 대부분 배설된 반면, 대조군과 감귤박군은 3일에 그 배설량이 가장 많았다. 이는 다시마의 경우 장을 통과하는 시간이 비교적 빠른 반면, 무섬유질의 대조군과 감귤박의 경우 장에 머무른 시간이 긴 것으로 해석할 수 있는데, 특히 대조군의 경우 끈적하면서 묽은 변이 설사는 아님을 알 수 있다. 섭취된  $0.2\mu\text{Ci}$ 량에서 배설된  $^{14}\text{C}$ -방사능을 제외한 양이 모두 흡수된 것으로 해석하기는 어려운데, 이는 실제 변에서 측정된  $^{14}\text{C}$ -방사능은 급여량  $0.2\mu\text{Ci}$ 를 그대로 cocktail에 타서 읽은 후 변의 색깔에서 오는 color quenching에 대한 보정만으로 얻어진 값에 비해 상대적으로 낮게 읽혔다. 이렇게 낮게 측정된 배설량을 제외한 모든 양이 흡수된 것으로

Fig. 2. Comparison of <sup>14</sup>C-isotope excretion and fecal neutral excretion.

로 생각한다면 알려진 콜레스테롤 평균 흡수률<sup>28,29)</sup> 30~40% 보다 훨씬 높다. 여기서 알 수 있는 것은 감귤박, 다시마, 손바닥 선인장의 콜레스테롤 흡수 저해작용의 상대적 크기이다. Table 4에 6일간 변에 나타난 <sup>14</sup>C-방사능의 총 섭취량에 대한 백분비가 표시되어 있다. 6일간 변속에 나타난 <sup>14</sup>C-방사능의 백분비는 감귤박군이 가장 낮은 5.88%로 섭취한 <sup>14</sup>C-콜레스테롤이 가장 적게 배설된 반면, 손바닥 선인장군이 가장 높은 16.95%로서 가장 많이 배설된 것으로, 혈중 총 콜레스테롤에 있어서 감귤박군이 가장 높게, 손바닥 선인장군이 가장 낮은 것과 연관성을 보여준다.

## 2) 변으로의 중성스테롤의 배설

각 실험군의 1일 평균 변의 무게와 변에서의 coprostanol과 cholesterol 함량이 Table 4에 나타나 있다. 변속에 들어 있는 coprostanol량은 무섬유질인 대조군이 처리군에 비해 유의적으로 높았으며( $p<0.01$ ), 처리군 중에서는 손바닥 선인장군이 감귤박이나 다시마군에 비해 2배 이상 높았다. 변속의 cholesterol량도 coprostanol과 비슷한 경향으로 대조군이 감귤박과 다시마군에 비해 높으나 손바닥 선인장과는 비슷한 수준이었다. 일정 량의 변속에 들어 있는 중성스테롤량은 무섬유질의 대조군이 높으나 변의 량을 고려할 때 배설된 총 중성스테롤량은 대조군이 감귤박이나 다시마 처리군보다도 높지는 않다. 무섬유질의 대조군에 있어서 변량 자체가 적었을 뿐 아니라 앞서 논의된 바와 같이 설사는 아니지만 변이 끈적하게 묶은 것은 흡수되지 않은 콜레스테롤과 배설되는 중성스테롤이 농축되어 들어 있기 때문이 아닌가 생각된다. 처리군중에서 손바닥 선인장의 중성스테롤의 배설량은 유의적으로 높은데( $p<0.01$ ) 이는 손바닥 선인장이 콜레스테롤 흡수를 억제하는 효과가 높음을 뜻한다. Cholesterol에 비해 상대적으로 적은 분량이긴 하

지만, 장내 미생물에 의한 cholesterol의 분해 산물로서 coprostanol이 대조군의 변에서 높은 것은 섬유질 자체가 장내 미생물에 의한 coprostanol 생성에 영향을 주지 못하는 것으로 해석할 수 있다.

## 5. Hematocrit 수치와 혈소판 응집

Hematocrit 수치와 혈소판 응집에 대한 결과는 Table 5에 제시되었다. Hematocrit 수치는 처리구에서 다소 감소하는 경향을 보이기는 하였으나 처리간 유의차는 없었다. 혈소판 응집에서 최대 응집치와 initial slope도 식이 섬유질 첨가에 의해 감소하는 경향은 있으나 처리군간의 유의적인 차이는 없었다. 식이 섬유질 공급이 혈압을 낮추고 혈소판 응집성을 감소시켰다는 임상 연구 결과<sup>30)</sup>가 있고, Wang 등<sup>31)</sup> 또한 1%의 콜레스테롤을 첨가 식이에 대두섬유질을 첨가한 결과 혈소판 응집성을 유의적으로 낮췄다고 하였다. 반면, Chanllen 등<sup>32)</sup>은 임상실험에서 3주 동안 하루에 36g의 pectin을 섭취 시켰을 때 혈청 콜레스테롤은 유의적으로 감소시켰으나, 혈소판의 지방 조성이나 혈소판 응집에는 영향을 미치지 못하였다. 식이성 섬유질의 섭취가 혈중 콜레스테롤 저하효과와 함께 혈소판 응집성에 영향을 줌으로써 혈전등으로 인한 뇌혈관 질환의 위험으로부터 보호해 줄 수 있을지도 모른다는 가설이 있지만, 혈중 콜레스테롤 농도와 혈소판 응집성에 대한 직접적인 상관관계에 대한 보고는 없다.

## 6. 간 조직 검사

콜레스테롤이 첨가되지 않은 식이로 사육된 건강한 쥐의 간과 다르게 콜레스테롤이 첨가된 본 실험의 대조군이나 섬유질 처리군 모두 간엽마다 부어 있고 간의 비대(hypertrophic)와 저색소(hypochromic)를 육안으로 관찰할 수 있었는데, 손바닥 선인장의 경우 그 정도가 약했다. 각 군당 4마리씩 광

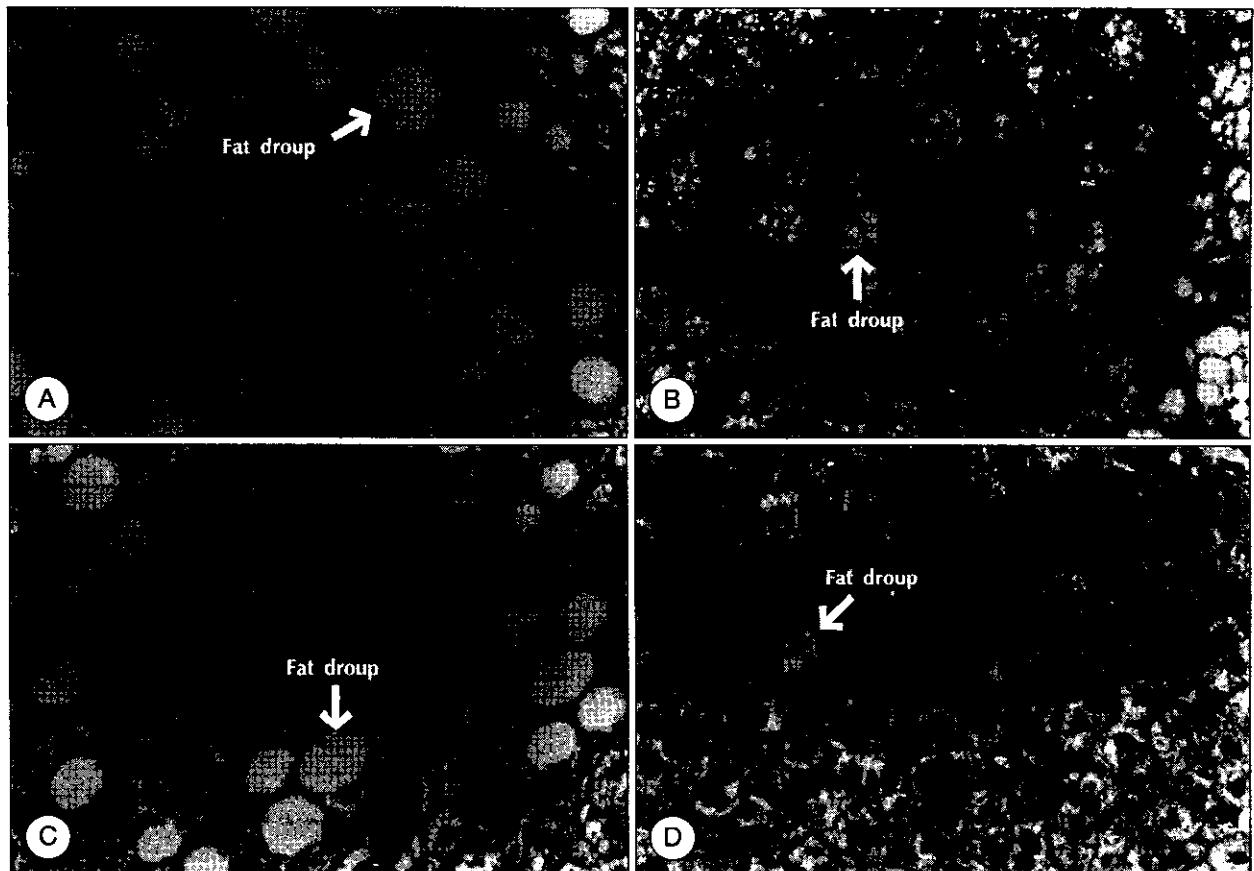


Fig. 3. Microscopic appearance of liver tissue, ( $\times 300$ ). A: Control group, B: Tangerine pulp group, C: Sea tangle group, D: Prickly pear cactus group.

Table 5. Hematocrit and platelet aggregation in rats fed cholesterol added experimental diets

	Control	Tangerine pulp	Sea tangle	Prickly pear cactus
Hematocrit(%)	45.31 $\pm$ 3.36	43.47 $\pm$ 0.76	44.21 $\pm$ 2.27	43.74 $\pm$ 1.78
Platelet aggregation				
Maximum( $\Omega$ )	12.51 $\pm$ 2.83	11.13 $\pm$ 2.29	11.76 $\pm$ 2.96	11.17 $\pm$ 2.55
Initial Slope( $\Omega/min$ )	10.64 $\pm$ 2.16	10.51 $\pm$ 1.16	10.25 $\pm$ 1.93	9.23 $\pm$ 1.92

Values are means  $\pm$  SD of 10 rats

학현미경을 이용하여 관찰한 간 조직은 대조군을 비롯한 모든 처리군에서 지방구(fat drop)와 더욱 진행된 형태인 상당수의 지방공포(fat vacuole)를 나타냈다. 특히 대조군과 다시마군의 모든 조직 sample에서 이러한 지방축적이 심하게 나타난 반면 손바닥 선인장의 경우 다른 실험군에 비해 지방 축적이 적음을 관찰할 수 있다(Fig. 3). 본 연구에서 간의 생화학적 분석의 결과가 간의 비대현상이나 지방의 축척 등 병리적 상태와 상관관계를 보이고 있는데, 특히 손바닥 선인장이 갖는 이러한 체 콜레스테롤 저하나 항지방간 효과를 흡수와 배설 측면에서 해석할 수도 있을 것 같다. 그러나 건강보조 식품으로 인식되고 있는 손바닥 선인장에 있어서 섬유질 효과가 아닌 콜레스테롤 대사나 간 보호작용에

관여하는 생리활성물질이 있음도 배제할 수 없다.

## 결 론

본 연구에서 손바닥 선인장을 제외한 감귤박, 다시마 분말 5% 수준은 콜레스테롤이 첨가된 식이에서 콜레스테롤 흡수저해나 면을 통한 콜레스테롤의 배설 촉진에 의한 혈중 콜레스테롤 저하효과를 나타내지 못하였다. 혈액내의 총 콜레스테롤과 중성지방 수준은 손바닥 선인장군의 경우 대조군에 비해 유의적으로 감소했으나, 감귤박군은 오히려 증가되었고 간의 콜레스테롤과 중성지방 수준은 대조군을 비롯한 모든 실험군에 있어서 사실상 차이가 없었다. 체중과의

비율에서 손바닥 선인장군의 간 무게는 유의적으로 작아, 간 전체로 볼 때 콜레스테롤 함량은 감소한 것으로 볼 수 있다. 이렇게 손바닥 선인장군을 제외한 섬유질 처리군이 대조군에 비해 혈액이나 간의 콜레스테롤 수준을 낮출 수 없었던 것은 콜레스테롤 저하효과를 보기에는 섬유질 분량이 충분하지 않았고, 대조군에 있어서 의외로 높은 콜레스테롤 배설을 설명할 수 있는 어떤 흡수 조절기전을 생각할 수 있다. Ferenzou 등<sup>29)</sup>에 의하면 정상인의 경우, 1일 변속으로 배설되는 중성스테롤은 약 650mg으로서 대사과정에서 창자로 분비된 것, 흡수되지 않은 식이 콜레스테롤, 소화관에서 합성된 콜레스테롤로 구성되어 있는데 그 비율이 67%, 20%, 13%로서 상당량의 중성스테롤이 창자의 상피세포에서 합성되어 바로 배설되고 있다.

이렇게 소화관내에 상당한 크기의 콜레스테롤 pool이 형성되는데 섬유질 등의 외부적 요인이 아닌 자체 흡수 조절기전이 창자의 상피세포에 있지 않을까 생각된다. 대조군에서의 끈적한 묶은 변이 설사는 아님을 증체율과 <sup>14</sup>C-방사능의 배설에서 알 수 있는데, 이러한 끈적한 변은 그 자체가 고농도의 콜레스테롤을 비롯한 중성스테롤과 담즙을 포함한 때문으로 해석할 수 있다. 이로서 사실상 대조군에 대한 처리군의 섬유질 공급효과를 비교하기 어렵지만, 처리군 중 손바닥 선인장군에 있어서 간과 혈중 콜레스테롤의 낮은 수준은 <sup>14</sup>C-콜레스테롤과 변 중성스테롤의 높은 배설량과 좋은 상관관계를 나타내면서 콜레스테롤 저하효과를 보였다. 특히 간의 콜레스테롤과 중성지방의 수준과는 별도로 손바닥 선인장군에 있어서 간은 비교적 작고 덜 손상된 것으로 관찰되었는데, 이러한 간 보호효과는 섬유질 역할 이상의 어떤 생리 활성물질에 기인할 수도 있다.

본 실험에서 감귤박이나 다시마로부터 콜레스테롤 저하효과를 볼 수 없었던 것은 5%의 이들 섬유질 공급원이 0.5% 콜레스테롤 첨가 식이에서 조차 충분하지 않은 게 아닌가 한다. 콜레스테롤 함량 0.5%는 2500mg/2000Cal로서 일상적인 식생활에 접하기 어려운 높은 수준이지만, 이들 섬유질원 5%에서 얻을 수 있는 총 섬유질량은 1.5~2.3%에 불과한 것으로, 이것은 1일 섭취 권장량 20~25g을 맞추기 위한 식이 함량 5g/100g/400Cal diet보다 훨씬 적고, 우리나라 대학생 평균 섭취량<sup>33)</sup> 7.4g/1000cal보다도 약간 낮다. 식품개발의 한 첨가재료로서 이러한 섬유질원의 이용 가능한 분량은 체 콜레스테롤 저하효과를 보기에는 충분하지 않지만, 손바닥 선인장의 경우 적은량으로 효과적이므로 제품의 질에 무리하지 않는다면 섬유질 공급원으로서 식품에 첨가하여 이용할 가치가 충분히 있다.

### Literature cited

- Schneeman BO. Soluble vs insoluble fiber-different physiological responses. *Food Technol* 41(2): 81-82, 1987
- Englyst HN, Cummings JH. Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in human small intestine. *Am J Clin Nutr* 42: 778-787, 1985
- Muir JG, O'Dea K. Measurement of resistant starch: Factors affecting the amount of starch escaping digestion in vitro. *Am J Clin Nutr* 56(1): 123-127, 1992
- Anderson JW, Gustafson NJ. Hypocholesterolemic effects of oat and bean products. *Am J Clin Nutr* 48: 749-753, 1988
- Hopewell R, Yeater R, Ullrich I. Soluble fiber: Effect on carbohydrate and lipid metabolism. *Prog Food Nutr Sci* 17(2): 159-182, 1993
- Nishide E, Anzai H, Uchida N. Effect of alginates on the ingestion and excretion of cholesterol in the rat. *J Applied Phycology* 5: 207-211, 1993
- Schneeman BO, Tietjen J. Dietary Fiber. In: Shills ME, Olson JA, Shike M, eds. Modern Nutrition in Health and Disease, Lea & Febiger, 1: 89-100, 1994
- Reddy BS, Watanabe K, Sheinfeld A. Effects of dietary wheat bran alfalfa, pectin and carageenan on plasma cholesterol and fecal bile acid and neutral sterol excretion in rats. *J Nutr* 110: 1247-1254, 1980
- Kim DN, Lee KT, Reiner JM, Thomeas WA. Lack of beneficial effects of wheat bran cereals on cholesterol balance in swine. *Exp Mol Pathol* 35: 301-303, 1981
- Van Beresteyn EC, Van Schaik K, Mogot MF. Effect of bran and cellulose on lipid metabolism in obese female zucker rats. *J Nutr* 109(12): 2085-2097, 1979
- Park CS, Harrold RL. Effects of dietary protein and fiber on growth and selected cholesterol responses of rats. *Ann Nutr Metab* 27(2): 137-44, 1983
- Abraham ZD, Mehta T. Three-week psyllium husk supplementation: Effect on plasma cholesterol concentrations, fecal steroid excretion and carbohydrate absorption in men. *Am J Clin Nutr* 47: 67-74, 1988
- Wolever TMS, Jenkins DJA, McMillan K, Fulgoni V. Psyllium reduces blood lipids in men and women with hyperlipidemia. *Am J Med Sci* 307(4): 269-273, 1994
- Arjmandi BH, Ahn J, Nathani S, Reeves RD. Dietary soluble fiber and cholesterol affect serum cholesterol concentration, hepatic portal venous short-chain fatty acid concentrations and fecal sterol excretion in rats. *J Nutr* 122(2): 246-253, 1992
- Ullrich IH, Lai HY, Vona L, Reid RL, Albrink MJ. Alterations of fecal steroid composition induced by changes in dietary fiber consumption. *Am J Clin Nutr* 34(10): 2054-2060, 1981
- Marlett JA, Shinnick FL, Steven LI. Dose response to a dietary oat bran fraction in cholesterol-fed rats. *J Nutr* 120: 561-568, 1990
- Fernandez ML, Sun DM, Tosca MA, McNamara DJ. Citrus pectin and cholesterol interact to regulate hepatic cholesterol homeostasis and lipoprotein metabolism: A dose-response study in guinea pigs. *Am J Clin Nutr* 59(4): 869-878, 1994
- Fernandez ML, Trejo A, McNamara DJ. Prickly pear pectin alters hepatic cholesterol metabolism without affecting cholesterol absorption in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. *J Nutr* 124: 817-824, 1994
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509, 1957
- Verbeek MJ, De Deckere EA, Tijburg LB, Van Amelsvoort JM, Bey-

- nen AC. Influence of dietary retrograded starch on the metabolism of neutral sterols and bile acids in rats. *Br J Nutr* 74(6): 807-820, 1995
- 21) Kushwaha RS, Hazzard WR, Harker LA, Engblom J. Lipoprotein metabolism in baboons. Effect of feeding cholesterol-rich diet. *Atherosclerosis* 31(1): 65-76, 1978
- 22) Kim JH, Wang SG. Effects of mugwort, dried orange peel and du-chung on lipid metabolism in hyperlipidemia rats. *Korean J Nutr* 30(8): 895-903, 1997
- 23) Lee HS, Choi MS, Lee YK, Park SH, Kim YJ. A study on the development of high-fiber supplements for the diabetic patients - Effect of seaweed supplementation on the lipid and glucose metabolism in streptozotocin-Induced diabetic rats. *Kor J Nutr* 29(3): 296-306, 1996
- 24) Fernandez ML, Trejo A, McNamara DJ. Pectin isolated from prickly pear(*Opuntia SP.*) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. *J Nutr* 120(11): 1283-1290, 1990
- 25) Lee HS, Choi MS, Lee YK, Park SH, Kim YJ. A study on the development of high-fiber supplements for the diabetic patients(1) - Effect of seaweed supplementation on the gastrointestinal function and diabetic symptom control in streptozotocin-induced diabetic rats -. *Kor J Nutr* 29(3): 286-295, 1996
- 26) Seoul National University Natural Products Research Institute, Bukjeju Country Agricultural Development & Technology Center. Development of Functional Foods Using Fruit and Stem of *Opuntia Ficus-indica* var. saboten and Characterization of their Physiologically Active Constituents. Final Report to Ministry of Agriculture and Forestry, 1999
- 27) Martin DW, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Review of Biochemistry. Lange Medical Publication, pp.224-247, 1983
- 28) Ferezou J, Coste T, Chevallier F. Origins of neutral sterols in human feces studied by stable isotope labeling(D and 13C). Existence of an external secretion of cholesterol. *Digestion* 21(5): 232-243, 1981
- 29) Heinemann T, Axtmann G, Von Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur J Clin Invest* 23(12): 827-81, 1993
- 30) Bagger M, Andersen A, Nielsen JB, Rytting KR. Dietary fibres reduce blood pressure, serum total cholesterol and platelet aggregation in rats. *Br J Nutr* 75(3): 483-493, 1996
- 31) Wang C, Zhao L, Chen Y. Hypolipidemic action of soy fiber and its effects on platelet aggregation and coagulation time in rats. *Chung Hua Yu Fang I Hsueh Tsa Chih* 30(4): 205-208, 1996
- 32) Challen AD, Branch WJ, Cummings JH. The effect of pectin and wheat bran on platelet function and haemostasis in man. *Hum Nutr Clin Nutr* 37(3): 209-217, 1983
- 33) Lee HS, Lee YK, Chen SC. Estimation of dietary fiber intake of college students. *Kor J Nutr* 24(6): 534-546, 1991