

추출 조건을 달리한 감잎과 녹차의 물 및 에탄올 추출물이 노령쥐의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향*

김성경¹ · 이해진 · 김미경

이화여자대학교 식품영양학과

Effect of Water and Ethanol Extracts of Persimmon Leaf and Green Tea Different Conditions on Lipid Metabolism and Antioxidative Capacity in 12-month-old Rats *

Kim, Sung Kyung¹ · Lee, Hye Jin · Kim, Mi Kyung

Department of Foods and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate effects of dried leaf powders, water, 75% and 95% ethanol extracts of persimmon leaf and green tea on lipid metabolism, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activity in 12-month-old rats. Fifty-four male Sprague-Dawley rats weighing 542 ± 4.5 g were blocked into nine groups according to their body weight and were raised for four weeks with the diets containing 5%(w/w) dried leaf powders of persimmon(*Diospyros kaki Thunb*) and green tea(*Camellia Sinensis O. Ktze*), water or 75% and 95% ethanol extracts from same amount of each dried tea powder. Food intake was not significantly different among all groups, but weight gain of green tea powder group was significantly lower than that of control group. Plasma and liver lipid levels of all the tea diet groups were lower than those of control group. Especially, 75% ethanol extract of persimmon leaf decreased total lipid and triglyceride concentrations in plasma and 95% ethanol extract of persimmon leaf decreased liver total lipid level. However, there was no difference between 75% ethanol extracts groups and 95% ethanol extracts groups in lipid metabolism. Superoxide dismutase(SOD) and catalase activities in erythrocyte were remarkably increased by all the green tea diets. SOD, catalase and glutathione peroxidase activities in liver were increased by the feeding of ethanol extracts from green tea and persimmon leaf powder. Liver xanthine oxidase activity was not different among all groups. Plasma Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) concentrations of all the green tea diet groups were significantly low. It was thought that high flavonoids in green tea inhibited plasma lipid peroxidation by promoting SOD, catalase activities in erythrocyte. 95% ethanol extract of persimmon leaf also inhibited plasma lipid peroxidation by high vitamin E and beta-carotene. Persimmon leaf powder decreased liver TBARS concentration by vitamin E, beta-carotene and vitamin C and by increasing activities of antioxidative enzymes with flavonoids. In conclusion, dried leaf powders, water, 75% and 95% ethanol extracts of persimmon leaf and green tea were effective in lowering lipid levels and inhibiting lipid peroxidation in 12-month-old rats. Above all, ethanol extracts of persimmon leaf decreased plasma and liver lipid levels and persimmon leaf powder effectively inhibited liver lipid peroxidation. Extracts of green tea leaf inhibited plasma lipid peroxidation. In lowering lipid levels and inhibiting lipid peroxidation, ethanol extracts were more effective than water extracts, but there was no difference between 75% ethanol extracts and 95% ethanol extracts in lipid metabolism. (*Korean J Nutrition* 34(5) : 499~512, 2001)

KEY WORDS : persimmon leaf, green tea, lipid metabolism, antioxidative capacity.

서론

우리 나라도 선진국과 마찬가지로 노인인구의 급격한 증가¹⁾로 인해 그 문제가 심각하게 대두되고 있다. 이와 더불어

접수일 : 2001년 2월 5일

채택일 : 2001년 6월 20일

*This research was supported by a grant from the Korea Research Foundation.

¹⁾To whom correspondence should be addressed.

어 영양 과잉 및 불균형에서 오는 뇌혈관질환, 고혈압성질환 및 심장병 등의 순환기계질환과 암 등의 만성퇴행성질환이 지속적으로 증가하여 우리 나라 인구의 주 사망원인에서 높은 비율을 차지하고 있다.²⁾

Superoxide anion(O²)과 hydroxy radical(OH)과 같은 free radical을 비롯한 각종 reactive oxidants에 의해 지질의 과산화가 일어나는데, 이러한 과산화 물질은 의하여 노화, 암 등의 여러 질병의 발생과 관련있다고 한다.^{3,4)} 또한 다류가 순환기계질환과 만성퇴행성질환의 억제 및 노화지연에

밀접한 관련이 있다고 알려지면서⁶⁾ 항산화 효과를 가진 식품, 특히 다류를 섭취함으로써 이러한 질병을 예방, 치료하고 노화를 지연시키려는 노력이 꾸준히 증가하고 있으며, 우리가 즐겨 마시는 감잎과 녹차와 같은 다류에 들어있는 물질을 찾아내어 그 생리활성을 규명하려는 연구들이 진행되고 있다.

다류의 생리활성 성분 중 flavonoids가 혈청중의 지질농도를 저하⁷⁻⁹⁾시키고 항산화능¹⁰⁻¹²⁾이 있다고 보고된 바 있다. 5,000천종 이상¹⁵⁾의 flavonoids 중 감잎에는 astragalín, myricitrín, isoquercitrín과 같은 flavonoid 배당체¹³⁾가 있고, 녹차에는 catechin, kaempferol, quercetin, myricetin 등과 같은 flavonoid류가 함유되어 있다.⁶⁾ 그러한 flavonoids의 생리적 작용은 자연상태에서 유리상태로 존재하는 aglycone 또는 당과 결합된 배당체 형태 등 구조적 특성에 따라 각각 다른 것¹⁵⁾으로 알려져 있다. 일반적으로 저분자·중분자 polyphenol은 물·에탄올·아세톤과 같은 용매에 의해 추출이 가능하고, 섬유질이나 단백질과 같은 고분자물질에 결합된 형태의 polyphenol은 용매에 녹지 않고 남아있게 된다고 한다.¹⁶⁾ 즉, 식품내에 함유된 flavonoids는 hydroxylation, glycosylation 정도와 polarity와 같은 화학구조에 따라 용해도가 다르다.²⁰⁾ 녹차에서의 flavonoids 중 kaempferol, myricetin, catechin은 alcohol과 뜨거운 물에 녹는 성질을 지녔고, quercetin은 물에는 녹지 않고 alcohol과 glacial acetic acid에 녹으며 감잎의 flavonoids 중 myricitrín은 물과 에탄올에 제한적으로 녹는다고 알려져 있다.²¹⁾ 이러한 특성으로 감잎과 녹차의 항산화 활성 물질들은 그 종류가 다양하고 종류에 따라 물리적, 화학적 특성이 다르므로, 물 또는 에탄올 추출 용매의 농도와 온도에 따라 추출되는 물질의 종류와 정도가 다를 것으로 사료된다.

선행연구에서 노령쥐를 대상으로 물추출물과 에탄올추출물의 효과를 비교한 바 있다. 본 연구에서는 감잎과 녹차의 물추출물 및 에탄올 추출물의 추출 온도와 농도 및 시간 등의 조건을 달리하여 추출한 다음, 그 추출물 내의 항산화 비타민과 flavonoids 함량을 측정하였다. 이중 항산화 물질 함량이 높은 추출조건을 선정하여 그 추출물 시료를 건분과 함께 12개월령 흰쥐에게 먹여 두 다류의 건분과 추출물의 활성 성분이 지방대사와 항산화능에 미치는 영향을 비교하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험 식이 준비

1) 추출물의 제조

녹차잎(전남 보성산, 1999년산)과 감잎((1999년산)은 각

각 경동시장과 동서식품에서 건조된 상태의 잎을 구입하여 fitz mill(No. DASO6, The Fitz Patrick Company)로 분말화하여 40 mesh 체를 통과시켜 사용하였다. 물추출물은 일정량의 건조 분말을 15배량의 물로 1시간 추출한 후 원심분리하여 여과시키고 동결건조하였다. 단, 증류수의 온도를 95℃와 차음용 최적 온도인 70℃로 달리하였다.

에탄올추출물은 강 등의 방법^{22,23)}을 변형하여 에탄올의 농도를 95%, 75%, 50%로 달리하고 또한 각각의 추출 온도를 80℃ 또는 실온으로 달리하여 추출하였다. 80℃에서 추출시에는 일정량의 건조 분말을 15배의 에탄올로 1시간씩 3회, 총 3시간동안 환류추출한 후 원심분리시키고 여과한 추출액을 감압농축한 것을 동결건조하였다. 실온에서 추출시에는 일정량의 건조 분말을 15배의 에탄올로 25℃에서 추출하였는데 이때 추출 시간을 3시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간으로 달리하였고 추출 후 원심분리시켜 여과한 추출액을 감압농축한 것을 동결건조하였다.

동물식이에 사용된 시료는 물추출물의 경우는 70℃에서, 에탄올추출물의 경우는 95%와 75% 에탄올로 80℃에서 추출하는 것을 최종 조건으로 선정한 후, 이에따라 식이의 5%에 상당하는 건조 분말로부터 각각 추출하여 동결건조한 것을 실험식이에 섞어 사용하였다.

2) 항산화 물질과 식이섬유 분석

총 flavonoids는 강 등의 방법^{24,25)}을 이용하여 Naringin (Sigma Co. USA)의 농도가 0~0.5mg/ml 범위가 되도록 제조한 표준용액으로 표준곡선을 작성하여 420nm에서 흡광도를 측정하였다. Beta-carotene은 Nilis의 방법²⁶⁾을 이용하여 HPLC로 분석하였고, 비타민 C의 함량은 비색법²⁷⁾을 이용하여 520nm에서 흡광도를 측정하였다. 비타민 E는 AOAC 공인 방법²⁸⁾으로 HPLC를 이용하여 측정 후 α -tocopherol 당량(α -T.E.)으로 환산하여 나타내었다. 식이섬유 함량은 AOAC 공인 방법인 Lee 등의 방법²⁹⁾으로 정량하여 불용성 식이섬유와 수용성 식이섬유의 양을 합하여 총 식이섬유(total dietary fibers, TDF)의 양으로 간주하였다.

2. 동물사육 실험

1) 실험동물의 사육 및 식이

생후 12개월된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 54마리를 구입하여 실험 시작 전 1주일간 고형배합사료(삼양사료)로 적응시켰다. 적응기간 후 체중이 542 ± 4.5 g인 쥐들을 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 6마리씩 9군으로 분류하여 4주간 사육하였다. 실험동

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Group ¹⁾									
	C	GP	PP	GW	PW	GE-75%	PE-75%	GE-95%	PE-95%	
Corn starch	698	648	648	648	648	648	648	648	648	
Casein	150	150	150	150	150	150	150	150	150	
Corn oil	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
Salt mixture ²⁾	40	40	40	40	40	40	40	40	40	
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
Choline chloride	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
Plant Powder	0	50	50	0	0	0	0	0	0	
Plant Water Extract & starch	0	0	0	50	50	0	0	0	0	
Plant Ethanol Extract & starch	0	0	0	0	0	50	50	50	50	

1) C: Control

GP: Powder of Green tea leaf(Camellia Sinensis O. Ktze)

PP: Powder of Persimmon leaf(Diospyros kaki Thunb)

GW: Water Extract of Green tea leaf(Camellia Sinensis O. Ktze)

PW: Water Extract of Persimmon leaf(Diospyros kaki Thunb)

GE-75%: 75% Ethanol Extract of Green tea leaf(Camellia Sinensis O. Ktze)

PE-75%: 75% Ethanol Extract of Persimmon leaf(Diospyros kaki Thunb)

GE-95%: 95% Ethanol Extract of Green tea leaf(Camellia Sinensis O. Ktze)

PE-95%: 95% Ethanol Extract of Persimmon leaf(Diospyros kaki Thunb)

2) AIN-76 salt mixture(g/kg mixture)³⁸⁾ : Calcium phosphate, dibasic(CaHPO₄ · 2H₂O) 500, Sodium chloride(NaCl) 74, Potassium citrate, monohydrate(K₃C₆H₅O₇ · H₂O) 220, Potassium sulfate(K₂SO₄) 52, Magnesium oxide(MgO) 24, Manganous carbonate(43 - 48%, Mn) 3.5, Ferric citrate(16 - 17% Fe) 6, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6, Cupric carbonate(53 - 55% Cu) 0.3, Potassium iodate(KIO₃) 0.01, Sodium selenite(Na₂SeO₃ · 5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate(CrK(SO₄)₂ · 12H₂O) 0.55, Sucrose, finely powdered to make 1,000gram.

3) AIN-76 vitamin mixture(mg/kg mixture)³⁸⁾ : Thiamine HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine HCl 700, Nicotinic acid 3000, D-Calcium Pantothenate 1600, Folic acid 200, D-Biotin 20, Cyannocobalamine(vitamin B₁₂) 1, Retinyl palmitate(vitamin A) 120,000 retinol equivalents, DL- α -Tocopheryl acetate(vitamin E) 5,000IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5(100,000IU, powder form), Menadione(vitamin K) 5.0, Sucrose, finely powdered to make 1,000gram.

물은 한 마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였고, 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다.

실험에 사용한 식이의 구성성분은 Table 1과 같았다. 식이의 탄수화물 급원으로 옥수수전분(corn starch, 신동방)을, 지방 급원으로는 옥수수유(corn oil, 백설표)를 사용하였으며, 단백질 급원으로는 casein(edible acid casein, Murry Goulburn Co-operative Co., Australia)을 사용하였다. 무기질과 비타민은 시약급을 사용하여 혼합한 것³⁸⁾을 각각 식이무게의 4%와 1% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다. 녹차와 감잎 시료의 건분은 각각 식이 무게의 5% 수준으로 식이에 섞어 공급하였고, 물과 에탄올추출물의 경우 식이무게의 5%에 상응하는 건분을 물과 75% 및 95% 에탄올로 추출하여 동결건조한 것을 식이에 첨가하고, 건분량과의 차이는 옥수수전분으로 보충하였다.

식이 섭취량은 일주일에 3회 일정한 시각에 측정하였고, 체중은 일주일에 1회 같은 시각에 측정하여 사육기간동안의 식이 섭취량과 체중증가량을 계산하였다.

2) 변, 혈액과 장기의 채취

실험동물을 희생하기 4일전에 24시간의 변을 채취하였는데, 이 동안 물은 제한 없이 공급하였고, 채취한 변은 무게를 측정 후 -20℃에서 냉동 보관하였다.

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 개복한 후 10ml 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위해 EDTA(Ethylene Diamine Tetra Acetate)가 들어있는 polystyrene 원심분리관에 담아 ice bath에 20분간 방치한 후 2,800rpm, 4℃에서 30분간 원심분리(refrigerated multy purpose centrifuge union 55 R, Hanil)하여 혈장을 -70℃ deep freezer에 보관하였다. 적혈구는 ice cold saline을 첨가하여 세척과정을 세 차례 반복하고, 세척한 적혈구를 0.9% NaCl 용액으로 희석하여 50% hematocrit suspension(RBC suspension)을 만든 후 -70℃ deep freezer에 보관하였다.

혈액 채취 후 간은 ice bath위에서 바로 떼어 ice cold saline에 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 바로 -70℃ deep freezer에 보관하였고 신장, 비장, 부고환지방은 떼어서 무게를 측정하였다.

3) 생화학적 분석

(1) 혈장, 간, 변의 지방

혈장의 총지방 농도는 Frings와 Dunn의 방법³¹⁾을 이용하여 측정하였다. 중성지방 농도는 효소법을 이용한 kit(영동제약)로 546nm에서, 콜레스테롤 농도와 HDL-콜레스테

를 농도는 효소법을 이용한 각각의 kit(영동제약)를 이용하여 500nm에서 흡광도를 측정(HP 8453, Hewlett Packard)하였다. 간과 변의 총지방 농도는 Bligh와 Dyer법³²⁾을 이용하여 측정하였고, 중성지방 및 콜레스테롤 농도는 위에서 추출한 총 지방을 methanol로 녹인 후 혈장과 같은 방법으로 측정하였다.

(2) 혈장과 간의 과산화물(Thiobarbituric Acid Reactive Substance: TBARS)

혈장의 TBARS농도는 Yagi의 방법³³⁾을 이용하여 1,1,3,3-tetramethoxypropane을 표준용액으로 excitation 515 nm, emission 553nm의 luminescence spectrometer (LS50, Perkin Elmer)로 측정하였다. 간의 TBARS 함량은 Buckingham법³⁴⁾을 이용하여 532nm의 spectrophotometer로 비색정량하였다.

(3) 적혈구와 간의 항산화계 효소 활성

항산화계 효소 중 superoxide dismutase(SOD), catalase와 glutathione peroxidase(GSH-px) 활성을 적혈구 현탁액과 간에서 측정하였고, 간에서 xanthine oxidase(XOD)의 활성을 측정하였다.

SOD 활성은 Floh의 방법³⁵⁾으로 측정하였으며 이때 SOD의 분당 활성은 ferricytochrome C의 환원을 50% 방해하는 SOD의 양을 1 unit으로 나타내었다. Catalase 활성은 Johansson과 Hkan법³⁶⁾을 이용하여 550nm에서 흡광도를 측정(HP 8453, Hewlett Packard)한 후 formaldehyde를 표준용액으로 하여 얻은 표준곡선으로 활성을 계산하였다. GSH-px 활성은 Floh의 방법³⁷⁾을 이용하여 측정하였고 분당 산화되는 NADPH의 흡광도를 365nm에서 30초 간격으로 3분간 측정하여 unit 단위로 나타내었다.

간 조직의 XOD 활성은 Stripe와 Della Corte의 방법³⁸⁾에 준하여 xanthine을 기질로 하여 생성된 노산을 292 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 XOD의 활성 단위는 효소액 중 함유된 단백질 1mg이 분당 생성한 노산양을 nmole 농도로 표시하였다.

각 효소들의 활성 측정을 위해 사용된 효소원의 단백질 함량은 Lowry법³⁹⁾에 준하여 bovine serum albumin을 표준용액으로 하여 측정하였다.

3. 통계처리

본 연구의 동물사육 실험결과는 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치간의 유의성

을 검정하였다. 시료 내 항산화 물질 및 식이섬유의 분석결과는 duplicate한 값의 평균값으로 나타내었다.

실험결과

1. 시료 추출 조건의 확립

감잎과 녹차의 건분과 추출물들의 추출 수율과 flavonoids와 항산화 비타민의 함량은 Table 2와 같았다. 물추출물의 경우, 감잎과 녹차 모두 flavonoids 함량은 온도에 따른 차이가 없었고 비타민 C 함량은 70℃에서 높았으며 비타민 E는 녹차만 70℃에서 더 높았다. 에탄올추출물의 경우, 감잎과 녹차 모두 flavonoids와 비타민 C 함량은 75%와 50%가 큰 차이 없이 95%보다 높았고, 지용성 비타민인 A와 E의 함량은 95%가 가장 높았으며 다음으로 75%이었고 50%가 가장 낮았다. 에탄올의 온도는 감잎과 녹차 모두 flavonoids와 비타민 A, E의 함량은 80℃에서 높았고, 비타민 C의 농도는 감잎은 80℃, 녹차는 실온에서 높았다. 따라서 에탄올의 농도는 flavonoids와 비타민 C의 영향을 알아보기 위하여는 75%, 지용성 비타민 A와 E의 효능을 알아보기 위하여는 95%가 적절한 것으로 생각되며 추출 온도는 80℃가 가장 적절하였다. 이러한 결과를 토대로 물추출물의 경우는 70℃ 온도로, 에탄올추출물은 80℃ 온도에서 75%와 95% 에탄올 용매로 추출하는 것을 추출 조건으로 선정하였다.

2. 감잎과 녹차의 실험식이 내 항산화 물질 및 식이섬유 함량

선행실험에서 선정되어 동물실험에 사용된 감잎, 녹차의 건분과 물, 75% 및 95% 에탄올추출물의 추출 수율, 총 flavonoids, 항산화 비타민과 식이섬유의 함량을 Table 3에 나타내었다.

추출 수율은 감잎과 녹차가 비슷하였고 75% 에탄올추출물이 가장 높아 녹차는 31.80%, 감잎은 29.67%이었다. 각 다류의 건분 1g에 함유되어 있는 총 flavonoids의 양은 모든 시료조건에서 녹차가 감잎보다 높았으며 특히 녹차의 건분(35.45mg)과 75% 에탄올추출물(31.27mg)이 가장 높게 함유되었다. 또한 감잎과 녹차 모두 총 flavonoids 중 추출 용매에 따라 추출되는 flavonoids의 비율도 달랐다.

Beta-carotene 함량은 모든 시료 조건에서 감잎이 녹차보다 높았고, 두 다류 모두 95% 에탄올추출물이 건분보다 높았으며 감잎 95% 에탄올추출물(167.33 μ g)이 가장 높았다. 한편, 물추출물에서는 검출되지 않았다. 비타민 C는 감잎이 녹차에 비해 함유량이 월등히 높았고 감잎 건분(39.28mg)에 가장 많이 함유되었다. 비타민 E(α -T.E.)의 양

은 두 다류 모두 에탄올추출물에 많아 건분보다도 높았고, 특히 감잎의 95% 에탄올추출물(396.15µg)에 가장 높았다. 아울러 예비실험에서 에탄올추출 반복 횟수에 따라 beta-

carotene과 비타민 E의 함량이 증가되었는데, 에탄올추출물은 시료준비과정 중 에탄올에 비타민이 이미 용출되어 시료준비과정이 분석결과에 영향을 준 것으로 보인다. 따라서

Table 2. Extraction yields of extracts and contents of total flavonoids, beta-carotene, vitamin C and vitamin E in plant powders, water and ethanol extracts of persimmon leaf and green tea

Constituent	G ¹⁾				P ₁ ²⁾			
	Total flavonoids (mg/g powder)	Beta-carotene (µg/g powder)	Vitamin C (mg/g powder)	Vitamin E (µg/g powder)	Total flavonoids (mg/g powder)	Beta-carotene (µg/g powder)	Vitamin C (mg/g powder)	Vitamin E (µg/g powder)
P ₂ ³⁾	29.0 ± 0.4 ⁹⁾	49.4 ± 0.2	1.4 ± 0.2	259.4 ± 0.9	28.4 ± 0.3	90.3 ± 0.1	39.3 ± 0.0	310.1 ± 0.5
W ⁴⁾	95°C 1hr	16.1 ± 1.1	N.D. ⁸⁾	0.4 ± 0.3	6.8 ± 0.3	12.5 ± 0.6	N.D.	23.4 ± 0.5
	70°C 1hr	15.2 ± 0.9	N.D.	0.5 ± 0.0	11.1 ± 0.1	12.3 ± 0.3	N.D.	27.8 ± 0.8
	80°C 3hr	18.8 ± 1.6	147.9 ± 1.0	0.3 ± 0.0	407.0 ± 2.3	23.3 ± 2.7	189.6 ± 0.2	18.9 ± 0.5
E-95% ⁵⁾	25°C 3hr	4.3 ± 1.2	101.1 ± 0.7	0.2 ± 0.1	212.8 ± 41.0	4.3 ± 0.7	82.8 ± 1.6	5.2 ± 0.8
	25°C 6hr	4.4 ± 0.4	101.1 ± 0.1	0.2 ± 0.0	244.1 ± 10.4	4.1 ± 0.6	87.1 ± 1.1	5.4 ± 0.2
	25°C 12hr	3.5 ± 0.5	92.0 ± 0.2	0.2 ± 0.3	263.1 ± 2.0	4.7 ± 0.7	122.5 ± 1.5	6.5 ± 0.3
	25°C 24hr	4.5 ± 2.1	97.5 ± 1.1	0.3 ± 0.3	233.0 ± 2.4	5.1 ± 1.3	116.3 ± 3.0	7.0 ± 0.4
	25°C 48hr	5.5 ± 0.7	96.8 ± 0.6	0.3 ± 0.3	286.0 ± 28.8	7.5 ± 1.2	217.3 ± 1.0	9.8 ± 1.1
E-75% ⁶⁾	80°C 3hr	24.7 ± 1.5	2.0 ± 0.0	0.2 ± 0.1	305.8 ± 0.7	26.3 ± 1.5	6.7 ± 0.0	25.0 ± 0.7
	25°C 3hr	18.9 ± 1.3	N.D.	0.6 ± 0.0	163.0 ± 2.4	17.8 ± 0.9	5.5 ± 0.0	20.6 ± 0.1
	25°C 6hr	18.7 ± 0.9	N.D.	0.7 ± 0.1	144.7 ± 1.2	24.0 ± 1.6	3.1 ± 0.0	18.4 ± 0.6
	25°C 12hr	17.7 ± 0.8	N.D.	0.6 ± 0.2	192.3 ± 0.6	23.6 ± 0.4	5.5 ± 0.0	19.7 ± 0.3
	25°C 24hr	19.4 ± 1.3	N.D.	0.7 ± 0.2	195.7 ± 2.9	21.4 ± 0.4	6.7 ± 0.0	21.4 ± 0.1
E-50% ⁷⁾	25°C 48hr	21.2 ± 0.9	N.D.	0.7 ± 0.1	206.7 ± 1.1	22.4 ± 0.3	4.3 ± 0.0	20.5 ± 0.2
	80°C 3hr	23.5 ± 0.0	N.D.	0.4 ± 0.1	24.8 ± 0.5	25.6 ± 1.1	N.D.	28.4 ± 1.9
	25°C 3hr	19.5 ± 1.0	N.D.	0.7 ± 0.4	3.7 ± 0.1	17.1 ± 0.8	N.D.	19.0 ± 0.2
	25°C 6hr	20.5 ± 0.8	N.D.	0.7 ± 0.1	2.4 ± 0.0	19.4 ± 0.9	N.D.	27.9 ± 0.8
	25°C 12hr	20.2 ± 0.3	N.D.	0.8 ± 0.2	2.0 ± 0.0	20.6 ± 0.6	N.D.	28.9 ± 0.4
25°C 24hr	19.1 ± 0.9	N.D.	0.8 ± 0.2	2.6 ± 0.0	19.9 ± 0.3	N.D.	25.6 ± 0.3	
25°C 48hr	19.3 ± 0.9	N.D.	0.7 ± 0.3	1.1 ± 0.0	23.7 ± 0.2	N.D.	25.6 ± 0.7	

- 1) G: Green tea leaf(Camellia Sinensis O. Ktze) 2) P₁: Persimmon leaf(Diospyros kaki Thunb) 3) P₂: Powder
 4) W: Water Extract 5) E-95%: 95% Ethanol Extract 6) E-75%: 75% Ethanol Extract
 7) E-50%: 50% Ethanol Extract 8) N.D: Non-detectable 9) Mean ± S.D.

Table 3. Extraction yields of water and ethanol extracts, and contents of total flavonoids, beta-carotene, vitamin C, vitamin E and total dietary fibers in plant powders, water and ethanol extracts

Groups ¹⁾	CP	PP	GW	PW	GE-75%	PE-75%	GE-95%	PE-95%
Extraction yields(%)	-	-	20.9	21.8	31.8	29.7	24.9	20.0
Total flavonoids (mg/g plant powder)	35.5 ± 0.4 ³⁾	28.4 ± 0.3	22.2 ± 0.3	12.6 ± 0.6	31.3 ± 0.3	24.2 ± 1.5	22.4 ± 0.2	20.6 ± 2.7
Beta-carotene (µg/g plant powder)	39.7 ± 0.2	90.3 ± 0.1	N.D. ²⁾	N.D.	1.6 ± 0.0	6.2 ± 0.0	91.0 ± 0.6	167.3 ± 0.2
Vitamin C (mg/g plant powder)	0.8 ± 0.1	39.3 ± 0.0	0.2 ± 0.1	28.5 ± 0.5	0.2 ± 0.1	23.1 ± 0.7	0.2 ± 0.0	16.6 ± 0.5
Vitamin E (µg/g plant powder)	169.6 ± 0.5	310.1 ± 0.5	6.9 ± 0.3	4.5 ± 0.0	157.6 ± 0.4	365.8 ± 0.2	190.4 ± 1.2	396.2 ± 5.1
Total dietary fibers (mg/g plant powder)	334.1	375.8	52.3	58.2	45.1	30.7	69.6	46.6
IDF(Insoluble dietary fibers)	225.1 ± 3.4	257.6 ± 3.7	17.6 ± 0.2	21.3 ± 0.9	30.6 ± 1.2	20.9 ± 0.3	46.1 ± 2.1	34.7 ± 1.3
SDF(Soluble dietary fibers)	109.0 ± 2.9	118.2 ± 3.1	34.7 ± 1.4	36.9 ± 1.3	14.5 ± 0.0	9.8 ± 0.1	23.5 ± 0.1	11.9 ± 0.5

- 1) See Table 1 2) N.D: Non-detectable 3) Mean ± S.D.

건분 내 beta-carotene과 비타민 E의 함량이 에탄올추출물보다 더 높을 것으로 추정된다.

총 식이섬유 함량은 녹차 건분(334.1mg)과 감잎 건분(375.8mg)이 추출물에 비해 높았고 감잎과 녹차에서 총 식이섬유양은 차이가 없었으나 감잎용성 식이섬유 비율이 녹차보다 다소 높았다.

전체적으로 감잎과 녹차시료를 비교해보면, 녹차 시료에는 총 flavonoids가 많이 함유되었으며, 특히 건분과 75% 에탄올추출물에 가장 많았다. 감잎 시료에는 항산화 비타민들의 함량이 높았으며 그중 95% 에탄올추출물에서 가장 높았고, 두 다류 시료의 총 식이섬유 함량은 비슷하였다.

3. 실험동물의 성장

실험 동물의 식이 섭취량과 체중증가량을 Table 4에 나타내었다.

식이 섭취량은 감잎과 녹차 시료를 섭취한 모든 실험군들과 대조군이 비슷하였다. 체중증가량은 녹차 건분군이 대조군에 비해 유의적으로 낮았으며, 이 군을 제외한 나머지군들 간에는 유의적 차이가 없었다.

Table 4. Food intake and body weight gain

Groups ¹⁾	Food intake(g/day) ^{N.S.2)3)}	Body weight gain(g/4 weeks)
C	19.9 ± 0.4	38.8 ± 4.8 ⁴⁾
GP	20.2 ± 0.9	14.7 ± 6.3 ^b
PP	21.0 ± 0.9	27.5 ± 6.1 ^{ab}
GW	20.6 ± 0.5	25.3 ± 5.5 ^{ab}
PW	19.8 ± 0.6	15.8 ± 4.1 ^{ab}
GE-75%	19.6 ± 0.7	22.1 ± 8.7 ^{ab}
PE-75%	21.5 ± 0.9	33.8 ± 5.3 ^{ab}
GE-95%	19.4 ± 0.4	18.2 ± 4.6 ^{ab}
PE-95%	19.7 ± 0.5	20.1 ± 2.1 ^{ab}

- 1) See Table 1
- 2) Mean ± Standard Error(n = 6)
- 3) Not significant at α = 0.05 by Duncan's multiple range test.
- 4) Values with different alphabet within the column are significantly different at=0.05 by Duncan's multiple range test.

4. 지방대사

1) 혈장의 총지방, 중성지방, 총콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤

혈장 내 총지방, 중성지방, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도 및 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율을 Table 5에 나타내었다.

혈장의 총지방 농도는 감잎과 녹차 시료를 섭취한 모든 실험군들이 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. 그러나 감잎과 녹차 모두 시료제조방법에 따라 유의적 차이는 없었으나 감잎 75% 에탄올추출물군이 나머지 다류 시료군들에 비해 가장 낮았다. 중성지방농도는 모든 다류 실험군들이 대조군에 비해 낮았다. 녹차군들 중에서는 건분군이 가장 낮았고 나머지 군들간에는 차이가 없었으며, 감잎군들 중에서는 75% 에탄올추출물군이 나머지군에 비해 유의적으로 낮았다. 한편, 총콜레스테롤 농도, HDL-콜레스테롤 농도 및 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 모든 실험군들 사이에 유의적인 차이가 없었다.

2) 간의 총지방, 중성지방 및 총콜레스테롤

간의 총지방, 중성지방 및 총콜레스테롤 농도는 Table 6과 같았다.

간의 총지방 농도는 모든 다류 실험군들이 대조군에 비해 낮은 경향을 보였다. 녹차는 시료제조방법에 따른 군간의 차이가 없었으나 감잎의 경우에는, 건분에 비하여 추출물군들이 낮았으며 특히 95% 에탄올추출물군이 유의적으로 낮았다. 중성지방 농도는 녹차의 건분과 물추출물군이 대조군과 비슷하였으나 나머지 다류 식이군들은 대조군보다 유의적으로 낮았다. 모든 시료제조방법에서 감잎군이 녹차군에 비해 낮았다. 또한, 녹차는 에탄올추출물군들이 건분과 물추출물군에 비해 유의적으로 낮았으나, 감잎은 시료제조방법에 따른 차이 없이 모두 대조군에 비하여 유의적으로 낮았다. 총콜레스테롤 농도는 모든 다류 식이군이 대조군보다

Table 5. Plasma total lipid, triglyceride, total cholesterol and HDL-cholesterol concentrations, and HDL: total cholesterol ratio

Groups ¹⁾	Plasma total lipid (mg/100ml)	Plasma TG (mg/100ml)	Plasma total cholesterol (mg/100ml)	Plasma HDL-cholesterol (mg/100ml)	HDL: total cholesterol ratio
C	384.7 ± 8.8 ²⁾⁴⁾	179.1 ± 11.0 ^a	68.5 ± 1.4 ^{N.S.3)}	27.6 ± 0.9 ^{N.S.}	0.42 ± 0.04 ^{N.S.}
GP	304.9 ± 23.0 ^{bc}	91.6 ± 6.2 ^{cd}	61.2 ± 3.1	29.0 ± 2.0	0.43 ± 0.02
PP	291.1 ± 13.3 ^{bc}	152.5 ± 14.1 ^{ab}	58.6 ± 8.0	29.0 ± 1.8	0.48 ± 0.06
GW	277.7 ± 24.5 ^{bc}	123.1 ± 6.7 ^{bc}	59.8 ± 6.4	28.2 ± 2.1	0.42 ± 0.05
PW	317.4 ± 21.2 ^b	132.1 ± 18.0 ^b	62.4 ± 2.6	34.5 ± 3.6	0.53 ± 0.05
GE-75%	270.8 ± 31.7 ^{bc}	124.1 ± 8.0 ^{bc}	54.3 ± 7.2	29.3 ± 2.9	0.49 ± 0.07
PE-75%	247.4 ± 19.3 ^c	73.5 ± 5.6 ^d	56.4 ± 4.9	30.2 ± 5.3	0.48 ± 0.08
GE-95%	315.7 ± 15.8 ^b	127.6 ± 17.2 ^{bc}	62.6 ± 3.0	31.5 ± 4.6	0.52 ± 0.07
PE-95%	288.2 ± 17.8 ^{bc}	114.1 ± 12.6 ^{bc}	67.5 ± 1.8	28.2 ± 1.8	0.43 ± 0.03

- 1) See Table 1
- 2) - 4) See Table 4

유의적으로 낮았다. 시료제조방법별로 보면 감잎군이 녹차군에 비해 낮았고, 녹차의 경우 95% 에탄올추출물군이 가장 낮았으며, 감잎의 경우에는 모든 시료군들 사이에 유의적인 차이가 없었다.

3) 변의 무게 및 변의 총지방, 중성지방, 총콜레스테롤

변의 무게와 변의 총지방, 중성지방, 총콜레스테롤의 배설량은 Table 7과 같았다.

변의 무게는 모든 다류 식이군들이 대조군보다 높은 경향을 보였다. 변의 무게는 감잎의 건분과 75% 에탄올추출물군이 대조군보다 유의적으로 높았고 시료제조방법별로 보면 모든 감잎군이 녹차군에 비해 다소 높았다. 총지방 배설량은 모든 다류 실험군들이 대조군보다 높았다. 시료제조방법별로 보면 건분과 물, 75% 에탄올추출물에서 감잎이 녹차에 비해 다소 높았다. 중성지방 배설량은 녹차 건분과 감잎 건분, 그 다음으로 감잎 95% 에탄올추출물군이 대조군보다 유의적으로 높았다. 총콜레스테롤 배설량은 녹차 건분과 모든 감잎군들에서 대조군보다 유의적으로 높았고 모든 시료제조방법에서 감잎군이 녹차군에 비해 높았다. 변의 무

게 및 지방 배설량은 모두 다류 시료군들이 대조군보다 높았고 그중 감잎과 녹차의 건분군이 가장 높았으며 물추출물군이 가장 낮았다.

따라서 모든 다류 식이군에서 혈장과 간의 지질수준이 낮았다. 특히 감잎 75% 에탄올추출물은 혈장의 총지방과 중성지방 수준을, 감잎 95% 에탄올추출물은 간 내 지질수준을 가장 낮추었으며 추출 용매의 농도에 따른 지질수준의 차이는 없었다.

5. 항산화능

1) 혈장과 간의 지질과산화물

혈장과 간의 지질과산화물(Thiobarbituric Acid Reactive Substances: TBARS) 수준을 측정된 결과는 Table 8과 같았다.

혈장의 지질과산화물 수준은 다류 식이군들이 대조군보다 낮았다. 특히 녹차의 물, 75% 및 95% 에탄올추출물군과 감잎 95% 에탄올추출물군은 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. 모든 제조방법에서 감잎과 녹차 사이에 유의적 차이는 없었으나 세 가지 추출물군들에서는 녹차군이 감잎군보다 다소 낮았다. 간의 지질과산화물 수준은 녹차 95% 에

Table 6. Liver total lipid, triglyceride and cholesterol concentrations

Groups ¹⁾	Liver total lipid (mg/g wet weight)	Liver TG (mg/g wet weight)	Liver cholesterol (mg/g wet weight)
C	42.5 ± 3.2 ^{a23)}	8.80 ± 0.46 ^a	4.67 ± 0.68 ^a
GP	40.6 ± 0.9 ^a	7.89 ± 0.44 ^a	3.75 ± 0.58 ^{ab}
PP	41.8 ± 1.7 ^a	5.81 ± 0.53 ^b	2.83 ± 0.27 ^{bc}
GW	39.3 ± 1.3 ^a	8.28 ± 0.55 ^a	3.15 ± 0.37 ^{bc}
PW	38.4 ± 1.4 ^{ab}	4.85 ± 0.83 ^{bc}	2.18 ± 0.20 ^c
GE-75%	38.7 ± 0.4 ^a	3.61 ± 0.32 ^c	2.59 ± 0.43 ^{bc}
PE-75%	38.3 ± 2.1 ^{ab}	5.13 ± 1.07 ^{bc}	2.52 ± 0.29 ^c
GE-95%	39.4 ± 1.5 ^a	4.09 ± 0.59 ^{bc}	2.30 ± 0.09 ^c
PE-95%	33.5 ± 1.4 ^b	3.86 ± 0.74 ^{bc}	2.39 ± 0.26 ^c

1) See Table 1 2) See Table 4
 3) Values with different alphabet within the column are significantly different at = 0.05 by Duncan's multiple range test

Table 8. Plasma and liver TBARS levels

Groups ¹⁾	Plasma TBARS (nmol/100ml plasma)	Liver TBARS (nmol/g wet liver)
C	124.3 ± 6.6 ^{a23)}	14.61 ± 2.34 ^a
GP	109.0 ± 3.4 ^{ab}	10.52 ± 0.61 ^{ab}
PP	103.1 ± 10.0 ^{abc}	7.72 ± 0.70 ^b
GW	95.7 ± 6.2 ^{bc}	10.52 ± 1.19 ^{ab}
PW	116.1 ± 6.0 ^{ab}	9.49 ± 0.67 ^{ab}
GE-75%	85.9 ± 6.2 ^c	11.86 ± 2.35 ^{ab}
PE-75%	105.4 ± 5.6 ^{abc}	11.81 ± 2.00 ^{ab}
GE-95%	94.4 ± 4.7 ^{bc}	13.98 ± 2.36 ^a
PE-95%	95.1 ± 10.0 ^{bc}	10.59 ± 1.62 ^{ab}

1) See Table 1 2) See Table 4 3) See Table 6

Table 7. Fecal weight, and fecal excretion of total lipid, triglyceride and cholesterol

Groups ¹⁾	Fecal wet weight (g weight/day)	Fecal dry weight (g weight/day)	Fecal total lipid (mg/day)	Fecal TG(mg/day)	Fecal cholesterol (mg/day)
C	0.95 ± 0.10 ^{c23)}	0.62 ± 0.07 ^d	34.4 ± 4.1 ^c	0.43 ± 0.22 ^c	2.30 ± 0.37 ^e
GP	1.73 ± 0.18 ^{bc}	1.24 ± 0.08 ^b	80.0 ± 9.5 ^a	2.38 ± 0.38 ^a	5.36 ± 0.67 ^{bc}
PP	3.00 ± 0.45 ^a	1.64 ± 0.19 ^a	85.2 ± 9.6 ^a	2.07 ± 0.26 ^a	7.63 ± 0.65 ^a
GW	0.99 ± 0.13 ^c	0.59 ± 0.05 ^d	37.5 ± 2.4 ^{bc}	0.80 ± 0.29 ^{bc}	2.35 ± 0.25 ^e
PW	1.29 ± 0.16 ^c	0.67 ± 0.10 ^{cd}	43.3 ± 6.8 ^{bc}	0.47 ± 0.08 ^c	4.49 ± 0.81 ^{bcd}
GE-75%	1.10 ± 0.08 ^c	0.67 ± 0.07 ^{cd}	43.7 ± 4.0 ^{bc}	0.86 ± 0.17 ^{bc}	3.13 ± 0.27 ^{de}
PE-75%	2.17 ± 0.30 ^b	0.99 ± 0.07 ^{bc}	62.4 ± 5.3 ^{ab}	1.00 ± 0.23 ^{bc}	7.52 ± 0.64 ^a
GE-95%	1.16 ± 0.19 ^c	0.73 ± 0.11 ^{cd}	62.0 ± 10.4 ^{ab}	1.13 ± 0.20 ^{bc}	4.20 ± 0.68 ^{cd}
PE-95%	1.62 ± 0.29 ^{bc}	0.91 ± 0.10 ^{cd}	61.9 ± 11.0 ^{ab}	1.28 ± 0.23 ^b	6.24 ± 0.96 ^{ab}

1) See Table 1 2) See Table 4 3) See Table 6

탄올추출물군을 제외한 모든 실험군들이 대조군에 비하여 낮았고, 특히 감잎 건분군은 유의적으로 낮아 모든 실험군들 중 가장 낮았다.

2) 적혈구의 항산화 효소들의 활성

적혈구의 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD)와 catalase, glutathione peroxidase(GSH-px)의 활성을 측정된 결과는 Table 9와 같았다.

적혈구의 SOD 활성은 모든 녹차 시료와 감잎 물추출물군에서 대조군보다 유의적으로 높았다. 시료제조방법별로 감잎과 녹차를 비교하면 건분과 75% 및 95% 에탄올추출물들에서는 녹차군이, 물추출물에서는 감잎군이 유의적으로 높았다. Catalase 활성은 모든 다류 실험군들이 대조군보다 높았고, 특히 녹차 시료군들은 대조군에 비해 유의적으로 높았다. 모든 시료제조방법에서 녹차가 감잎에 비해 높았으나 녹차와 감잎 모두 제조방법에 따른 catalase 활성의 차이는 없었다. GSH-px 활성은 녹차 95% 에탄올추출물군만이 대조군에 비해 유의적으로 높았다. 제조방법별로 보면 녹차는 건분과 95% 에탄올추출물군이, 감잎은 건분과

물추출물군이 나머지 시료에 비해 다소 높았다.

즉, 적혈구의 항산화 효소들의 활성을 보면, SOD는 모든 녹차 시료군들과 감잎 물추출물군에서, catalase는 모든 녹차의 시료군들에서, GSH-px는 녹차 95% 에탄올추출물군에서 효소의 활성이 높아 녹차의 섭취가 감잎에 비하여 적혈구의 항산화 효소들의 활성 증진에 더 효과적이라고 할 수 있겠다.

3) 간의 항산화 효소들의 활성

간의 SOD, catalase, GSH-px의 활성을 측정된 결과는 Table 10과 같았다.

간의 SOD 활성은 녹차 물추출물을 제외한 모든 다류 섭취군들이 대조군보다 유의적으로 높았다. 제조방법별로 보면 감잎이 녹차보다 높은 경향을 보였다. 녹차는 물추출물에 비해 건분과 두 에탄올추출물군의 활성이 높은 반면, 감잎에서는 군들간에 별 차이가 없었다.

Catalase 활성은 녹차 95% 에탄올추출물군과 감잎 건분군이 대조군보다 유의적으로 높았고, 녹차의 75% 에탄올추출물, 물추출물의 순서로 높았다. 제조방법별로 보면, 세

Table 9. Erythrocyte antioxidative enzyme activities

Groups ¹⁾	RBC SOD ⁴⁾ (Unit/min/mg protein)	RBC catalase(nmole/mg protein)	RBC GSH-px(Unit/min/mg protein)
C	10.1 ± 2.80 ^{c23)}	2237.0 ± 448.6 ^c	0.055 ± 0.031 ^b
GP	21.8 ± 2.74 ^b	5586.1 ± 740.0 ^a	0.146 ± 0.070 ^{ab}
PP	10.3 ± 1.15 ^c	3244.7 ± 655.3 ^{bc}	0.133 ± 0.021 ^{ab}
GW	20.5 ± 3.33 ^b	4533.1 ± 468.3 ^{ab}	0.073 ± 0.019 ^b
PW	32.1 ± 2.86 ^a	3863.3 ± 761.1 ^{abc}	0.127 ± 0.012 ^{ab}
GE-75%	29.1 ± 4.00 ^{ab}	5449.0 ± 865.3 ^a	0.075 ± 0.025 ^b
PE-75%	11.0 ± 3.62 ^c	2340.9 ± 256.7 ^c	0.064 ± 0.020 ^b
GE-95%	32.7 ± 5.36 ^a	4763.4 ± 758.3 ^{ab}	0.191 ± 0.022 ^a
PE-95%	10.5 ± 1.70 ^c	3128.4 ± 494.4 ^{bc}	0.057 ± 0.031 ^b

1) See Table 1 2) See Table 4 3) See Table 6

4) Superoxide dismutase(SOD) activities are expressed as Units per minute per mg protein(1 unit will inhibit the rate of reduced of cytochrome C by 50% in a coupled system with xanthine oxidase at pH 7.8 and 25°C in a 3.0ml reaction volume). Catalase activities are expressed as nmole formaldehyde utilized as standard per mg protein. Glutathione peroxidase(GSH-px) activities are expressed as unit per mg protein(1unit will catalyze the oxidation by H₂O₂ of 1.0μmol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25°C).

Table 10. Liver antioxidative enzyme activities

Groups ¹⁾	Liver SOD ⁴⁾ (Unit/min/mg protein)	Liver catalase(nmole/mg protein)	Liver GSH-px(Unit/min/mg protein)
C	13.1 ± 5.01 ^{c23)}	7883.1 ± 1232.4 ^c	0.410 ± 0.022 ^c
GP	28.0 ± 9.88 ^{ab}	8026.5 ± 1888.5 ^c	0.618 ± 0.143 ^{bc}
PP	37.5 ± 2.95 ^a	15184.0 ± 3470.8 ^{ab}	0.351 ± 0.168 ^a
GW	15.3 ± 1.92 ^{bc}	10029.5 ± 1029.5 ^{abc}	0.418 ± 0.025 ^c
PW	31.6 ± 3.19 ^a	7906.9 ± 939.2 ^c	1.017 ± 0.136 ^{ab}
GE-75%	38.6 ± 4.05 ^a	13264.7 ± 1727.2 ^{abc}	0.707 ± 0.179 ^{bc}
PE-75%	31.1 ± 4.69 ^a	9672.6 ± 1474.1 ^{bc}	0.570 ± 0.218 ^{bc}
GE-95%	30.6 ± 5.41 ^a	16042.3 ± 2483.2 ^a	0.813 ± 0.181 ^{bc}
PE-95%	36.9 ± 2.63 ^a	8435.6 ± 1592.0 ^c	0.452 ± 0.061 ^c

1) See Table 1 2) See Table 4 3) See Table 6 4) See Table 9

Table 11. Xanthine oxidase activities of liver

Groups ¹⁾	Liver XOD ⁴⁾ (nmole/min/mg protein)
C	6.82 ± 1.27 ^{N.S.2)3)}
GP	6.07 ± 0.87
PP	5.63 ± 1.24
GW	6.72 ± 1.86
PW	6.49 ± 1.16
GE-75%	6.22 ± 1.04
PE-75%	4.48 ± 1.00
GE-95%	5.28 ± 0.57
PE-95%	4.66 ± 1.23

1) See Table 1

2-3) See Table 4

4) Xanthine oxidase(XOD) activities are expressed as the formation of nmole of uric acid per minute per mg of protein.

가지 추출물군에서 녹차가 감잎에 비해 높았다. 또한 녹차에서는 95% 에탄올추출물군이 가장 높았고 건분군이 가장 낮았으며, 감잎 경우 건분군이 가장 높았고 물과 95% 에탄올추출물군은 낮아 대조군과 차이가 없었다.

GSH-px 활성은 감잎의 건분 및 물추출물군이 대조군에 비해 유의적으로 높았다. 제조방법별로 보면, 건분과 물추출물에서는 감잎이 녹차보다 유의적으로 높았으나, 에탄올추출물에서는 녹차가 다소 높았다. 또한 녹차에서는 제조방법에 따른 차이가 없는 반면, 감잎에서는 건분군이 에탄올추출물군들에 비해 유의적으로 높았다.

따라서 간 내 SOD 활성은 모든 다류 시료군에서 대조군보다 증가하였으며, 세 가지 효소 모두 감잎 건분군의 효소 활성이 가장 높았고 다음으로 녹차의 75% 및 95% 에탄올의 추출물군들에서 높아 감잎 건분과 녹차 에탄올추출물들이 효소 활성 증가에 효과적으로 작용함을 알 수 있었다.

4) 간의 Xanthine oxidase의 활성

간의 XOD 활성을 측정한 결과를 Table 11에 제시하였는데 XOD 활성은 모든 다류 실험군들과 대조군 사이에 유의적 차이가 없었다.

고 찰

감잎, 녹차의 건분과 물 및 75%와 95% 에탄올추출물이 12개월령 흰쥐의 체내 지방대사와 항산화능에 미치는 영향을 알아보고, 그 결과를 지방대사와 항산화능으로 나누어 고찰하고자 한다.

실험 식이인 감잎, 녹차의 건분과 물, 75% 및 95% 에탄올추출물 내 총 flavonoids와 비타민 A, C, E 및 총 식이섬유의 함량을 측정하였다. 각 다류의 건분 1g당 함량으로 환산한 결과, 녹차 건분에는 총 flavonoids와 식이섬유의

함량이 높았고 감잎 건분에서는 비타민 C와 식이섬유의 함량이 높았다. 녹차 75% 에탄올추출물에는 총 flavonoids가, 감잎 75% 에탄올추출물에는 비타민 E가 많이 함유되었고, 감잎과 녹차의 95% 에탄올추출물에는 beta-carotene과 비타민 E의 함량이 높았다. 이처럼 용매의 특성에 따라 추출되는 다류의 생리활성 성분의 양 뿐아니라 종류 또한 차이가 있을 것으로 사료된다.

본 실험에서 사용한 12개월령 흰쥐에서 제조방법이 다른 감잎과 녹차 시료 중 녹차 건분군에서만 체중증가량이 대조군보다 낮았을 뿐, 다류 시료가 식이 섭취량 및 성장에는 영향을 미치지 않았다.

1. 지방대사

감잎과 녹차의 건분과 물추출물, 75% 및 95% 에탄올추출물이 노령쥐의 지방대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험 동물의 혈장, 간, 변의 지방 수준을 측정된 결과, 모든 다류 식이군들에서 대조군보다 혈장과 간 조직내 지질 수준이 낮았고 이 중 감잎의 75%와 95% 에탄올추출물군에서 가장 낮았으며 추출 용매의 농도에 따른 차이는 없었다.

감잎과 녹차의 건분과 에탄올추출물군들의 체내 지질수준이 대조군보다 낮은 것은 시료에 함유된 식이섬유와 flavonoids 같은 기능성 물질의 작용으로 생각해 볼 수 있겠다. 이러한 물질이 첫째로 지방 흡수를 저하시키고 배설을 촉진시켜 혈액과 간의 지방수준을 낮추고,⁴⁰⁾ 두 번째로 3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA(HMG-CoA) reductase와 같은 지방합성에 관여하는 효소 활성을 억제⁴¹⁾하여 지방 수준을 낮추는 것을 생각해 볼 수 있겠다.

수용성과 불용성으로 구분되는 식이섬유는 구성성분의 구조적 특징에 의하여 그 기능과 특성이 결정된다.⁴²⁾ 수용성 식이섬유는 소화기관에서 수분보유력이 증가되어 장내 용물의 점성을 증가시키며 gel matrix를 형성하여 소장에서의 micelle 형성을 방해하고, 지방분해 효소 작용을 억제함으로써 지방의 소화와 흡수를 방해하여 혈액과 간의 지방 수준을 낮춘다고 알려졌다.⁴³⁾ 뿐만아니라 혈중 콜레스테롤을 담즙산 합성에 이용하게 하고 변으로의 콜레스테롤과 담즙산 배설을 증가시킨다.^{44,45)} 또한, 대장에서의 식이섬유 발효부산물인 short-chain fatty acid도 콜레스테롤 합성능을 감소시키고, 특히 propionate가 HMG-CoA reductase를 억제시켜 혈중 콜레스테롤 농도가 낮아진다고 알려져 있다.^{43,46)} 본 연구에서 간의 콜레스테롤 농도는 감잎 물추출물군에서 가장 낮았다. 감잎 물추출물군에서 변으로의 지방 배설량이 가장 적었고 감잎의 건분과 에탄올추출물들의 배설량은 많았음에도 그러한 결과가 나타난 것은 물추출물 시

료내 식이섬유가 감잎 건분보다는 적었지만 이 시료에 함유된 수용성 식이섬유가 변으로의 콜레스테롤 배설증가보다는 간에서의 콜레스테롤 합성을 감소시켜 나타난 결과라 사료된다.

또한 불용성 식이섬유는 대장기능에 영향을 미친다. 즉, 장 통과 시간의 단축으로 수분 함유량이 증가하고, 미생물의 작용을 적게 받아 비발효잔사로 남아 그것이 대장 기능을 증진시킴으로써 지방 배설량을 증가시켜 지방저하 효과를 볼 수 있는 것이다.⁴⁷⁻⁴⁹⁾

한편, 강 등⁴⁶⁾은 뽕잎, 감잎, 깻잎을 분말화하여 식이섬유 함량이 5%가 되도록 조제한 식이를 급여한 군이 대조군에 비해 혈청의 중성지방이 낮았다고 보고하였다. 또한, 고지방 식이를 먹인 흰쥐에게 flavonoids를 0.1% 수준으로 투여한 군에서 혈장과 간의 콜레스테롤과 HMG-CoA reductase 활성이 대조군에 비해 낮았다고 이 등⁴¹⁾은 보고하였다. 이러한 연구를 통해, 본 실험에서 감잎 건분군이 녹차 건분군에 비해 지질 배설량은 많았으나 혈장의 중성지방 수준이 녹차 건분군에서 현저히 낮은 것은 식이섬유로 인한 지방 배설 뿐 아니라 감잎보다 녹차에 많이 함유되어 있는 flavonoids가 중성지방 합성을 감소한 것으로 생각해 볼 수 있겠다.

또한, Choi 등⁵⁰⁾의 연구에서 Tannin 투여시 혈청의 중성지방 수준이 낮아졌고, 이 등⁵¹⁾의 연구에서는 5% 및 15% 전란 단백질 식이에 녹차분말을 첨가한 군의 혈장 및 간의 중성지방이 대조군에 비해 현저하게 감소하였으며, Yugarani⁵²⁾는 quercitrin과 catechin을 섭취한 흰쥐의 혈청과 간에서 콜레스테롤과 중성지방의 수준이 낮아졌다고 보고하였다. 권 등⁵³⁾은 차잎에서 추출된(-)-epigallo catechin gallate와(-)-epicatechin gallate 투여가 고콜레스테롤 식이를 먹인 쥐의 혈청 콜레스테롤을 저하시킨다고 하였다. Bravo 등⁵⁴⁾의 연구에서 tannic acid는 변무게 및 지방 배설량을 유의적으로 증가시켰고, naringin과 hesperidin은 변으로의 지방 배설량을 대조군보다 증가시킨다고 김 등⁴⁰⁾은 보고하였다. 이러한 것으로 본 연구에서는 식이섬유의 함량이 건분보다 적은 에탄올추출물들은 식이섬유보다 flavonoids가 변으로의 지방배설을 증가시켜 혈장의 지질 수준을 낮추는데 작용하였다고 생각해 볼 수 있다. 즉, 감잎 에탄올추출물은 녹차 에탄올추출물에 비해 flavonoids와 식이섬유 함량이 낮음에도 불구하고 혈장에서의 지질 수준을 더욱 감소시켰다. 이는 김 등⁵⁵⁾과 오 등⁵⁶⁾의 연구 결과와 일치하는 것이다. 이것은 flavonoids와 식이섬유의 함량 뿐 아니라 종류와 질의 효과 차이로 생각해 볼 수 있으며 감잎에 함유된 에탄올 용해성 flavonoids와 식이섬유가 녹차에

비해 체내 지질 저하에 효과가 컸다고 볼 수 있겠다.

선행 연구인 김 등⁵⁵⁾의 연구에서의 4주된 흰쥐의 혈장과 간의 지질수준을 본 실험에서 사용한 12개월령 흰쥐와 비교했을 때, 어린쥐는 12개월령 흰쥐에 비해 혈장의 중성지방과 간의 콜레스테롤 수준이 낮았다. 이는 흰쥐의 나이가 증가하면서 혈장의 중성지방이 증가하고 간 내에 콜레스테롤이 축적되는 방향으로 흰쥐의 나이에 따라 지방대사가 변한다고 볼 수 있겠다.

이상에서와 같이 본 실험에서는 모든 다류 식이군들이 대조군보다 혈장과 간 조직내 지질 수준을 낮추었고 이 중 감잎의 75%와 95% 에탄올추출물군에서 지방의 수준이 가장 낮았으며 추출 용매의 농도에 따른 차이는 없었다. 이것은 식이섬유와 flavonoids가 변으로의 지방 배설을 증가시키고 지방 합성을 억제하는 것에 기인하는 것으로 보인다.

2. 항산화능

감잎, 녹차의 건분과 물추출물, 75% 및 95% 에탄올추출물의 첨가 식이가 노령쥐의 항산화능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 혈장과 간의 지질과산화물 함량과 적혈구와 간에서 항산화 효소와 간의XOD 활성을 측정하였다.

생체내에서는 free radical을 비롯한 활성 산화 물질로부터 세포막과 세포내 물질을 보호하기 위해 항산화의 효소적·비효소적 기전이 일어난다.⁵⁷⁻⁵⁹⁾ 체내 항산화의 효소적 기전 중, SOD는 free radical 생성과정의 초기단계에 생성되어 superoxide(O₂^{·-})를 H₂O₂로 전환시키고,^{60,61)} catalase와 GSH-px는 SOD에 의해 생성된 H₂O₂를 분해함으로써 조직의 과산화적 손상을 방지한다.^{36,37,60)}

XOD는 생체내에서 purine체의 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 산화시켜 요산을 생성하는 반응을 촉매하는데 작용하며 이때 H₂O₂를 생성하는⁶²⁾ 비특이적 효소로 간 손상시 그 활성이 증가한다.

비효소적 기전은 항산화 비타민이나 flavonoids에 의해 일어난다. 항산화 비타민 중 carotenoid는 radical scavenger로 지질산화의 개시단계를 방해하고, 비타민 C는 수용성 항산화제로 지질과산화의 연쇄반응을 차단하며, superoxide나 hydroxyl radical과 빠르게 반응하며 폐놀성 항산화제의 synergist와 금속제거제의 기능³⁾을 갖는다. Tocopherol은 수소공여체로 작용을 하여 신체를 보호하고 구조에 따라 항산화 효과가 다르다.⁶⁵⁾ Flavonoids는 직접 항산화 효소활성을 증가시키거나 free radical damage를 촉진하는 Fe, Cu ion과 안정적 금속이온 복합체를 형성하고 free radical을 직접 scavenging하여 세포막과 세포내 물질을 보호한다.^{4,63,64)} 또한, free radical 생성에 관여하는 XOD의

활성을 저해⁴¹⁾하며, 지질과산화물 생성과 LDL 산화를 방지¹⁴⁾⁶³⁾하고, quercetin같은 경우 lipoxygenase의 작용을 억제⁶⁵⁾함으로써 항산화 효과를 나타낸다고 알려졌다.

Flavonoids 및 항산화 비타민이 과산화지질 생성을 억제함을 연구자들이 보고한 바 있다. 정 등⁶⁶⁾의 연구에서는 녹차의 물추출물 투여로 혈장의 SOD와 GSH-px의 활성이 유의적이지는 않으나 대조군보다 높게 나타났으며, 한국산 녹차, 우롱차 및 홍차 중 catechin 함량이 가장 높은 녹차 열수추출물이 카드뮴 중독으로 인해 저하된 간의 SOD, GSH-px의 활성을 유의적으로 증가시키고 과산화지질의 생성을 억제하였다는 보고⁶⁷⁾가 있다. 또한, Bratislavské 등⁶⁸⁾은 건강한 사람의 혈액에서 비타민 E와 SOD, catalase, GSH-px의 활성은 상호 보완적으로 작용하여 과산화지질 수준에 영향을 미침을 보고하였으며, Ozturk 등⁶⁹⁾은 gentamycin과 함께 비타민 E를 guinea pig에 투여한 결과 심장 조직의 SOD 활성이 증가하였고 과산화지질 수준이 낮아졌다고 보고하였다. 한편 Igarashi 등⁷¹⁾의 연구에서는 isorhamnetin, rhamnetin, quercetin이 간의 catalase, SOD 활성에는 영향을 주지 않고 과산화지질 생성을 억제하였고, Galvez 등⁶⁹⁾은 flavonoids가 GSH-px의 활성은 변화시키지 않고 과산화지질 생성을 저하시켰다고 발표하였다. 손 등⁷⁰⁾의 연구에서는 naringin이 혈장의 과산화지질 생성을 억제하였으며, Jadwiga 등⁷¹⁾은 quercetin과 myricetin이 흰쥐의 간에서 microsomal에 의한 과산화지질 생성을 억제하였다고 보고하였다. 이러한 연구에서 항산화 효과는 효소적·비효소적 방법 중 어느 한가지 효과라 보기 어려우며 상호작용에 의한 것이라 사료된다.

본 실험에서 혈장의 지질과산화물 수준은 녹차의 물과 75% 및 95% 에탄올추출물군과 감잎 95% 에탄올추출물군이 유의적으로 낮았다. 적혈구내 항산화 효소는 녹차의 물, 75% 및 95% 에탄올추출물군에서 효소 활성이 유의적으로 증가되었는데 반해, 감잎 95% 에탄올추출물군은 대조군과 차이가 없었다. Flavonoids 함량이 높은 녹차 시료들의 효소 활성을 보면, 건분과 물추출물군에 비해 95% 에탄올추출물군의 효소 활성이 유의적으로 증가하였는데 이것은 총 flavonoids 함량보다는 flavonoids의 종류와 특성에 따라 효소 활성 증가 정도가 달라졌다고 사료된다. 즉, 녹차 에탄올추출물의 상대적으로 비극성인 flavonoids가 물추출물의 극성 flavonoids와 건분의 flavonoids보다 효소 활성 증가에 더 효과적이라고 할 수 있겠다. 혈장 과산화지질 수준은 녹차의 물과 에탄올추출물군이 건분군에 비해 낮았으며 추출용매에 따른 차이는 없었다. 따라서, 추출용매에 따른 flavonoids 특성 차이에 의해 효소 활성 차이는 있었으나

과산화지질 생성 억제 차이는 볼 수 없었다. 한편, 감잎 95% 에탄올추출물군에서는 세 가지 항산화 효소 활성이 증가되지 않았음에도 과산화지질 수준이 대조군보다 유의적으로 낮았다. 이것은 시료내에 많이 함유된 비타민 E와 beta-carotene가 비효소적으로 작용한 결과로 생각해 볼 수 있다.

또한, 간의 과산화지질 수준은 감잎 건분군에서만 유의적으로 낮았다. 간 내 항산화 효소 중 SOD 활성은 모든 다류 섭취군에서 증가하였으며 그중 감잎 건분군은 세 효소 모두에서 활성이 가장 높았고, 녹차의 75% 및 95% 에탄올추출물도 효소활성 증진에 효과적이었다. 이와 같이 간의 과산화지질 수준이 가장 낮았던 감잎 건분군은 SOD, catalase, GSH-px의 활성이 모두 증가함으로써 과산화지질 생성이 억제되었다고 본다. 녹차 에탄올추출물군에서도 효소 활성은 감잎 건분군 만큼 증가하였지만 간의 과산화지질 수준이 감잎 건분군만큼 낮아지지 않은 것은, 감잎 건분에 들어있는 flavonoids가 효소 활성을 증가시킨 것과 아울러 감잎 건분 시료 내 많이 함유된 beta-carotene, 비타민 C 및 비타민 E 또한 비효소적으로 작용한 결과라 여겨져 감잎 건분내 항산화 비타민의 역할이 컸음을 생각해 볼 수 있겠다.

Viana 등¹⁹⁾은 CuCl₂로 LDL 산화를 시킬 때 medium에 flavonoids를 넣으면 비타민 E가 소비되는 것을 지연시키면서 LDL 산화를 억제하는 것으로 flavonoids와 비타민 E의 상호작용을 제시하였다. 이러한 것으로 보아 flavonoids와 항산화 비타민의 상호작용, 항산화 물질의 종류와 양, 그리고 체내 조직에 따라 지질 과산화물의 생성에 미치는 영향이 다른 것으로 보인다. 간의 XOD 활성이 flavonoids에 의해 저해된다는 연구가 많이 보고^{14,17,54,72)}되었는데 본 실험에서는 모든 감잎과 녹차의 실험군들과 대조군간에 유의적 차이가 없었다.

본 실험과 오 등⁵⁶⁾의 선행연구에서 사용한 12개월령 흰쥐와 김 등⁵⁵⁾이 사용한 생후 4주된 흰쥐를 비교해 보면, 노령 쥐가 어린쥐보다 혈장과 간의 과산화지질 수준이 3~4배 높았으며, catalase 활성은 높고 SOD와 GSH-px의 활성은 비슷하거나 약간 높았다. 또한, 21일, 6개월, 12개월, 30개월령 흰쥐에서 과산화지질 수준을 비교했을 때 나이가 들수록 과산화지질 수준 및 간에서의 SOD, catalase, GSH-px의 활성이 증가한다는 보고⁴⁷⁾가 있다. 이러한 결과로 체내 과산화지질 수준과 효소 활성은 노화 과정에서 모두 증가한다고 생각해 볼 수 있겠다.

이와같이 본 연구에서 항산화능은 모든 다류 식이의 섭취에 의해 대조군보다 증가된 경향을 나타냈고, 이것은 flavonoids가 항산화 효소를 직접 증가시키거나 flavonoids

와 항산화 비타민의 비효소적 기전에 의한 결과로 보인다. 즉, 녹차의 물, 75% 및 95% 에탄올추출물은 그 시료 내 함유된 flavonoids가 효소 활성을 직접 증가시키는 효소적 기전으로, 감잎 95% 에탄올추출물은 항산화 비타민에 의한 비효소적 기전으로 혈장의 지질과산화물 수준을 대조군보다 낮춘 것으로 생각되며 추출 용매의 농도에 따른 항산화능의 차이는 없었다. 감잎 건분은 시료 내 flavonoids가 효소 활성을 증가시키고, 아울러 항산화 비타민의 비효소적 작용으로 간의 지질과산화물 수준을 저하시킨 것으로 보인다.

요약 및 결론

본 연구에서는 감잎, 녹차의 건분과 물추출물, 75% 및 95% 에탄올의 추출물이 12개월령 흰쥐의 체내 지방대사와 항산화능에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 이들 다류 시료에서 총 flavonoids, 항산화 비타민과 식이섬유의 함량을 측정하였고 이들 시료로 동물을 사육하여 혈장과 간 및 변의 총지방, 중성지방 및 콜레스테롤 농도를 측정하여 지방대사를 알아보았으며 혈장과 간의 과산화지질 수준, 적혈구와 간의 SOD, catalase, GSH-px와 간에서의 XOD의 활성을 측정하여 항산화능을 알아보았다.

다류 시료에 포함되어 있는 항산화 물질과 식이섬유를 건분 1g당 함량으로 환산한 결과, 녹차 건분은 총 flavonoids와 식이섬유의 함량이 높았고 감잎 건분에서는 비타민 C와 식이섬유의 함량이 높았다. 녹차 75% 에탄올추출물에는 총 flavonoids가, 감잎 75% 에탄올추출물에는 비타민 E가 많이 함유되어 있었고, 감잎과 녹차의 95% 에탄올추출물에는 beta-carotene과 비타민 E의 함량이 높았다.

식이 섭취량은 모든 다류 식이군들이 대조군과 비슷하였고, 체중증가량은 녹차 건분군만이 대조군에 비해 유의적으로 낮았다.

혈장의 총지방과 중성지방 수준은 감잎 75% 에탄올추출물군이 가장 낮았고, 간 조직의 지방수준은 감잎 95% 에탄올추출물군에서 가장 낮았다. 변의 지질 배설량은 감잎과 녹차의 건분군이 가장 높았으며 물추출물군이 가장 낮았다. 이렇게 감잎의 75%와 95% 에탄올의 추출물군들에서 추출 용매의 농도에 따른 차이 없이 지방 수준이 가장 낮았는데 이것은 식이섬유와 flavonoids에 의해 변지방 배설량이 증가되고 지방 합성이 억제된 것에 기인한 것으로 보인다.

지질과산화물 수준을 보면, 혈장에서는 특히, 녹차의 물추출물, 75% 및 95% 에탄올의 추출물군들과 감잎 95% 에탄올추출물군의 과산화지질 수준이 대조군보다 유의적으로 낮았고 간에서는 감잎 건분군이 가장 낮았다.

더불어, 적혈구내 항산화 효소 활성에서는 녹차의 건분과 물추출물, 75% 및 95% 에탄올의 추출물군들에서는 세 가지 항산화 효소활성이 유의적으로 증가되었고 95% 에탄올추출물군이 물추출물군보다 더 증가되었으나 75% 에탄올추출물군과는 차이가 없었다. 반면에 감잎 95% 에탄올추출물군의 경우에는 모든 효소활성이 대조군과 차이가 없어, 녹차 시료의 섭취가 감잎에 비해 적혈구의 효소활성을 높이는 데 더 효과적으로 작용하였다고 본다. 간에서는 감잎 건분군의 세 가지 효소활성이 가장 높았고, 녹차의 75% 및 95% 에탄올추출물도 효소활성을 증가시켰다.

즉, 혈장내 과산화 지질 수준은 시료 내에 있는 flavonoids가 효소활성을 증진시켜 녹차의 물추출물, 75% 및 95% 에탄올의 추출물군들에서 가장 낮았고, 시료 내 많이 함유된 beta-carotene과 비타민 E가 비효소적으로 작용하여 감잎 95% 에탄올추출물군에서 낮은 것으로 사료된다. 그러나 추출용매의 농도에 따른 과산화지질 생성의 억제에는 차이가 없었다. 또한 간에서 감잎 건분군의 과산화지질 수준이 가장 낮은 것은 시료 내 함유된 flavonoids의 효소활성 증가와 아울러 개월령 흰쥐에서 체내 지방저하와 항산화 증진에 효과가 있었다. 감잎의 경우에는, 에탄올추출물들이 혈장과 간의 지질수준을 낮추었고, 건분은 간의 지질과산화물 생성을 가장 억제하였다. 녹차의 경우, 물과 에탄올의 모든 추출물들이 혈장의 지질과산화물 생성을 억제하였다. 추출 용매에 따라 보면 선행연구와 같이 물추출물에 비해 에탄올추출물들이 지질수준 저하와 항산화능 증진에 더 효과적이었으나 75%와 95% 에탄올추출물 사이에는 차이가 없었다.

Literature cited

- 1) Annual Report on the Cause of Death Statistics. National Statistical Office, Republic of Korea, 1999
- 2) The Expectancy of Future Population. National Statistical Office, Republic of Korea, 1996
- 3) Kim YJ. The protect the living organ from free radicals and the failure of protection: age-related disease. *Bull Food Technol* 10(2): 4-26, 1997
- 4) Husain SR, Cillard J and Cillard P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry* 26(9): 2489-2491, 1987
- 5) Han DS, Kim SJ. The SOD-like activity and development of functional food. *Bull Food Technol* 7(4): 41-49, 1994
- 6) Chang HK. Tea and health. *Public Nutr* 93-4, pp.18-21, 1993
- 7) Choi SH. The aroma components of duchung tea and persimmon leaf tea. *Korean J Food Sci Technol* 22: 405-410, 1990
- 8) Lee SH, Lee YS. Effects of late-harvested green tea extract on lipid metabolism and Ca absorption in rats. *Korean J Nutr* 31(6): 999-1005, 1998
- 9) Sin MK, Han SH and Han GJ. The effects of green tea on the serum lipid and liver tissue of cholesterol fed rats. *Korean J Food Sci Technol* 29(6): 1255-1263, 1997
- 10) Chung SH, Moon KD, Kim JK, Seong JH, Sohn TH. Changes of ch-

- emical components in persimmon leaves during growth for processing persimmon leaves tea. *Korean J Food Sci Technol* 26(2): 141-146, 1994
- 11) Park CO, Jin SH, Ryu BH. Antioxidant activity of green tea extracts toward human low density lipoprotein. *Korea J Food Sci Technol* 28(5): 850-858, 1996
 - 12) Yeo SG, Ahn CW, Lee YW, Lee TG, Park YH, Kim SB. Antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24(2): 299-304, 1995
 - 13) Chung BS, Shin MK. The great dictionary of traditional and crude medicine. YoungLim Press, 1990
 - 14) Kim JH, Kim MK. Effect of dried powders and ethanol extracts of perilla frutescens, Artemisia princeps var. orientalis and aster scaber on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 32(5): 540-551, 1999
 - 15) Ra KS, Suh HJ, Chung SH, Son JY. Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. *Korean J Food Sci Technol* 29(3): 595-600, 1997
 - 16) Cook NC, Samman S. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutr Biochem* 7: 66-76, 1996
 - 17) Yeo SG, Park YB, Kim IS, Kim SB, Park YH. Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24(1): 154-159, 1995
 - 18) Bravo L, Abia R, Eastwood MA, Saura-Calixto F. Degradation of polyphenols(catechin and tannic acid) in the rat intestinal tract. Effect on colonic fermentation and faecal output. *Br J Nutr* 71: 1933-946, 1994
 - 19) Viana M, Barbas C, Bonet B, Bonet MV, Castro M, Fraile MV, Herrera E. In vitro effects of a flavonoid-rich extract on LDL oxidation. *Atherosclerosis* 123: 83-91, 1996
 - 20) Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 56(11): 317-333, 1998
 - 21) Park YG. Flavonoids of fruits. *Bull Food Techn* 8(2): 76-91, 1995
 - 22) Kim JD, Yoon TH, Choe M, Im KJ, Ju JS, Lee SY. Effect of dietary supplementation with pine leaf on lipid parameters in rats. *Kor J Gerontol* 1(1): 47-50, 1991
 - 23) Lee YH, Shin YM, Cha SH, Choi YS, Lee SY. Development of the health foods containing the extract from pinus strobus leave. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3): 379-383, 1996
 - 24) Kang YH, Park YK, Ha TY, Moon KD. Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3): 367-373, 1996
 - 25) Kang YH, Park YK, Ha TY, Moon KD. Effects of pine needle extracts on enzyme activities of serum and liver, and liver morphology in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3): 374-378, 1996
 - 26) Nilis HJCF. Isocratic nonaqueous reversed-phase liquid chromatography of carotenoids. *Anal Chem* 55: 270-275, 1983
 - 27) The Guide to Hygienic Experimental Method. Japan Drug Association. Kumwon Press, Japan, 1995
 - 28) Official Methods of Analysis. 16th Ed. AOAC international USA, 1995
 - 29) Lee SC, Prosky L, Devries JW. Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber in food-enzymatic gravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study. *J Assoc off Anal Chem* 75: 395-416, 1992
 - 30) Report of the american institute of nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-1348, 1977
 - 31) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipid based on the sulfuric-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Nutr* 53: 89, 1970
 - 32) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917, 1959
 - 33) Yagi K. Assay for blood plasma or serum. Methods in Enzymology Academic Press Inc. NY vol 105, pp.328-331, 1984
 - 34) Buckingham KW. Effect of dietary polysaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J Nutr* 115: 1425-1435, 1985
 - 35) Floh L, Becker R, Brigelius R, Lengfelder E, tting F. Convenient assays for superoxide dismutase. *CRC Handbook of free Radicals and Antioxidants in Biomedicine*, pp.287-293, 1992
 - 36) Johnsson LH, Hkan Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Anal Biochem* 174: 331-336, 1988
 - 37) Floh L. Determination of glutathione peroxidase. *CRC Handbook of Free Radicals and Antioxidations in Biomedicine*, pp.281-286, 1992
 - 38) Stripe F, Della Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855- 3863, 1969
 - 39) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
 - 40) Kim HJ, Bae KH, Lee HJ, Eun JB, Kim MK. Effect of hesperidin extracted from tangerine peel on Cd and lipid metabolism, and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 32(2): 137-149, 1999
 - 41) Lee SH, Park YB, Choi MS. The effect of dietary citrus flavonoid supplementation on cholesterol biosynthesis control in rats. The Autumnal Symposium of Korean Nutr Associ, pp.79, 1998
 - 42) Hwang JK. Physiological and chemical characteristics of dietary fibers. *J Korean Soc Food Nutr* 25(4): 715-71,1996
 - 43) Yang JL, Suh MJ, Song YS. Effects of dietary fiber on cholesterol metabolism in cholesterol -fed rats. *J Korean Soc Food Nutr* 25(3): 392-398, 1996
 - 44) Garcia-Diez F, Garcia-Mediavilla V, Bayon JE, Gonzalez-Gallego J. Pectin feeding influences fecal bile acid excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats. *J Nutr* 126: 1766-1771, 1996
 - 45) Arjmandi BH, Ahn J, Nathani S, Reeves RD. Dietary soluble fiber and cholesterol affect serum cholesterol concentration, hepatic portal venous short-chain fatty acid concentration and fecal sterol excretion in rats. *J Nutr* 122: 246-253,1992
 - 46) Kang JO, Kim KS. The effect of dry edible leaves feeding on serum lipids of hyper- cholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 24(4): 502-509, 1995
 - 47) Nuria Sanz, Carmen diez-Fernandez. Alberto Alvarez and Maria Cascales. Age-dependen modifications in rat hepatocyte antioxidant defense systems. *J Hepatol* 27: 525-534, 1997
 - 48) Hillman L, Peters S, Fisher AM, Promare EW. Different effects of pectin, cellulose and lignin on stool pH, transit time and weight. *Br J Nutr* 50: 189-195, 1983
 - 49) Bratislavske LL. Relation between levels of vitamins C, E, A and β -carotene and activity of antioxidant enzymes in the blood. *Bratislavske Lekarske Listy* 99(5): 250-4, 1998
 - 50) Choi IS, Lee KH, Lee SS, Oh SH. Effects of tannin on lipid metabolism in 6 college women. *J Korean Soc Food Nutr* 26(5): 920-926,1997
 - 51) Lee CH, Choi BK, Lee WC, Park CI, Furugawa Y, Kimura S. Effect of dietary protein levels, caffen and green tea on body fat deposition in wister rats. *J Korean Soc Food Nutr* 21(6): 595-600, 1992
 - 52) Yugari T, Tan BKH, Das NP. The effects of tannic acid on serum and liver lipid of RAIIF and RICO rats fed on high fat diet. *Comp Biochem Physiol* 104: 339-43, 1993
 - 53) Kwon MN, Choi JS, Byun DS. Effect of flavonoid(+)-catechin as stabilizer in rat fed fresh and peroxidized fish oil. *J Korean Soc Food Nutr* 22(4): 381-391, 1993
 - 54) Park GY, Lee SJ and Im JG. Effects of green tea catechin on cytochrome P₄₅₀, xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26(5): 901-907, 1997
 - 55) Kim ES, Kim MK. Effect of dried leaf powders and ethanol extracts of persimmon, green tea and pine needle lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 32(4): 337-352, 1999

- 56) Oh HM. Effect of dried leaf powders, water and ethanol extracts of persimmon and green tea on lipid metabolism and antioxidative capacity in 12-month-old rats. Thesis for master's degree, Ewha womans university, 2001
- 57) Ekhard EZ, Filler LJ. Present Knowledge in Nutrition 7th edition. p 132, ILSI Press, 1996
- 58) Laura B. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significane. *Nutr Rev* 56(11): 317-333, 1998
- 59) Harris ED. Regulation of antioxidant enzymes. *J Nutr* 122: 625-626, 1992
- 60) Britton C, Helmut S, Alberto B. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59: 527-605, 1979
- 61) Igarashi K, Ohmuma M. Effects of isorhamnetin, rhamnetin, and quercetin on the concentrations of cholesterol and lipoperoxide in the serum and liver and on the blood and liver antioxidative enzyme activities or rats. *Biosci Biotech Biochem* 59(4): 595-601, 1995
- 62) Klinenberg JR, Goldfinger SE, Seegmüller TE. The effectiveness of the xanthine oxidase inhibitor. Allopurinol in the treatment of gout. *Ann Intern Med* 62(4): 639-647, 1965
- 63) Robak J, Gryglewski RJ. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharmacol* 37(5): 837-841, 1988
- 64) Torel J, Cillard J, Cillard P. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry* 25(2): 383-385, 1986
- 65) Shin DH. The research and prospect of natural antioxidants. *Bull Food Technol* 8(2): 28-33, 1995
- 66) Chung CH, Yoo YS. Effects of aqueous green tea extracts with α -tocopherol and lecithin on the lipid metabolism in serum and liver of rats. *Korean J Nutr* 28(1): 15-22, 1995
- 67) Rhee SJ, Kim MJ, Youn YH. Effects of korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the removal of cadmium and antioxidative detoxification in cadmium administered rats. The 3rd International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea, pp.21-38, 1995
- 68) Ozturk HS, Kavutcu M, Kacmaz M, Canbolat O, Durak I. The Effects of gentamicin on the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase enzymes and malondialdehyde levels in heart tissues of guinea pigs. *Curr Med Res Opin* 14(1): 47-52, 1997
- 69) Galvez J de la Cruz JP, Zarzuelo A, Sanchez de la Cuesta F. Flavonoid inhibition of enzymic and nonenzymic lipid peroxidation in rat liver differents from its influence on the glutathionerelated enzymes. *Pharmacology* 51(2): 127-33, 1995
- 70) Sohn JS. Effects of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. *Korean J of Nutr* 32(2): 137-149, 1999
- 71) Jadwiga R, Ryszard JG. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharmacol* 37: 837-841, 1988
- 72) Cho YJ, Chun SS, Choi C. Inhibitory effect of condensed tannins isolated from korean green tea against xanthine oxidase. *J Korean Soc Food Nutr* 22(4): 418-422, 1993