

# 밤과 도토리외 과육 및 내피가 흰쥐의 지방대사, 항산화능 및 항혈전능에 미치는 영향\*

육근정<sup>§</sup> · 이혜진 · 김미경

이화여자대학교 식품영양학과

## Effect of Chestnut and Acorn on Lipid Metabolism, Antioxidative Capacity and Antithrombotic Capacity in Rats\*

Yook, Geun Jung<sup>§</sup> · Lee, Hey Jin · Kim, Mi Kyung

Department of Food & Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

### ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of dried powder of chestnut and acorn on lipid metabolism, antioxidative capacity and antithrombotic effect in rats. Fifty-four male Sprague-Dawley rats weighing  $199 \pm 17$  g were blocked into nine groups according to their body weights. Rats were raised with diets containing only flesh or flesh with inner skin of 5% and 10% dried nut powders for four weeks. Food intake, body weight gain, food efficiency ratio and organ weight were no different among the experimental groups. The plasma and liver lipid levels of all the nut diet groups were lower than those of the control group. The nut diets showed hypolipidemic effect in the plasma and liver. Plasma and liver thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) concentrations were significantly decreased in all the nut diet groups. The plasma TBARS levels of the inner skin groups were significantly different from the control group dose-dependently. Superoxide dismutase (SOD) activity was significantly different among the experimental groups, and all the nut groups showed higher activity than the control group. There were significant differences in SOD activity between the chestnut and acorn groups and the chestnut groups showed higher erythrocyte SOD activity and the acorn groups showed higher liver SOD activity than the other groups. Whereas catalase and GSH-Px activities in the erythrocyte and liver of both nut groups showed a tendency to increase, they were not significantly different among the experimental groups. The bleeding time and whole blood clotting time tended to be extended by feeding both types of nut but they were not significantly different among the experimental groups. Production of TXB<sub>2</sub> and PGE<sub>1α</sub> was no different among the experimental groups. These results suggest that chestnut and acorn diets have the effect of lowering plasma and liver lipid levels, inhibiting lipid peroxide formation and increasing antioxidative enzymes activity. Thus, it is plausible that chestnut and acorn could be recommended in the treatment and prevention of cardiovascular diseases. (*Korean J Nutrition* 35(2) : 171~182, 2002)

KEY WORDS: chestnut, acorn, lipid metabolism, antioxidative capacity, antithrombotic capacity.

### 서론

최근 생활수준의 향상과 더불어 생활양식의 변화로 인해 비만, 관상동맥질환, 당뇨, 암 등의 만성 퇴행성 질환이 지속적으로 증가하고 있다. 특히 고혈압성 질환, 뇌혈관 질환, 동맥경화증, 혈전증과 같은 순환기계 질환으로 인한 사망은 2000년 전체 사망원인<sup>1)</sup>의 2~3위를 차지하고 있어 혈

액 순환기계 질환의 예방과 치료에 대한 관심 및 연구의 중요성이 더욱 고조되고 있다. 심순환기계 질환의 발병 원인은 다양하나 혈청내 지질함량의 증가, 혈전 형성, LDL 산화 및 유리 라디칼 (free radicals) 등이 밀접한 관련을 갖는다.<sup>2, 3)</sup>

심혈관질환 환자의 혈소판 내에서의 산소 유리 라디칼 생성, 지질과산화의 증가 및 항산화 영양소 부족으로 인한 혈소판 응집능 증가는 동맥질환의 위험도를 증가시키고 동맥경화의 진행을 촉진시킬 수 있는 가능성으로 제시되었다.<sup>4, 5)</sup> 관상동맥질환 환자에 있어서 혈소판의 비정상적인 활성 증가가 세포의 방어기전인 항산화 효소의 활성 감소와 관련되어 있다고 제안한 보고도 있다.<sup>7, 8)</sup> 따라서 요즘에는 항

접수일 : 2002년 1월 2일

채택일 : 2002년 1월 28일

\*This research was supported by grants from Sungshin Cement Manufacturing Co. Ltd.

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

혈전 효과를 가진 식이 요인에 대한 연구와 LDL의 산화에 영향을 미치는 항산화 영양소의 작용과 기능에 대한 많은 연구들이 심순환기계 질환과 관련하여 진행되고 있다.

오래 전부터 진행되어온 천연 항산화제들의 대부분은 식물 기원으로, 항산화능 화합물들을 함유하고 있는 이들은 주로 폴리페놀 (polyphenol) 물질이며 천연 항산화제로서의 기능이 잘 알려져 있다.<sup>9)</sup> 식물계에 널리 분포되어 있는 폴리페놀 화합물은 다양한 구조를 가지며, 페놀산 (phenolic acid) 및 쿠마린류 (coumarin), 플라보노이드류 (flavonoid), 탄닌류 (tannins)로 크게 분류된다. 탄닌은 나무껍질과 견과에 널리 분포되어 있고, 단백질과 결합하는 특성을 지닌 폴리페놀을 총칭한다.<sup>10,11)</sup> 탄닌은 Perkin의 분류<sup>12)</sup>에 따라 축합형 탄닌 (condensed tannin)과 가수분해형 탄닌 (hydrolyzable tannin)으로 크게 분류되며, 축합형 탄닌 함량과 총페놀 함량간에는 높은 상관관계 ( $r = 0.56, p < 0.001$ )를 보인다.<sup>10)</sup> 탄닌 화합물의 약리활성에 관한 연구로는 항 virus 작용, 효소활성 저해작용, 혈압 강하작용, 혈중 뇨소질소 (BUN) 저하 작용, 이중나선 구조를 가진 DNA 절단작용, 항 allergy 작용, 항 ACE (Angiotensin Converting Enzyme) 작용, 항 HIV 작용 등<sup>13)</sup>이 있으며, 근래에는 탄닌 성분의 항균, 항산화, 항종양작용 및 중금속 제거능 등<sup>14)</sup> 새로운 생리활성이 보고되어 상당한 관심을 모으고 있다. 그러나, 탄닌에 대한 생체실험 (in vivo) 연구는 부족한 실정이므로 생리활성을 생체에서 확인하는 연구들이 필요하다. 플라보노이드는 식물계에 널리 분포되어 있는 폴리페놀 화합물로서 약 5,000여 종류가 있으며 화학구조에 따라 flavones, flavanones, flavanols, catechins, anthocyanidins, isoflavones, dihydroflavonols 및 chalcone 등으로 구분된다.<sup>15)</sup> 이러한 플라보노이드류는 Fe와 Cu의 킬레이트 작용<sup>16)</sup>과 hydroxyl radical, superoxide anion radical, peroxy radical과 같은 자유기의 소거 작용 뿐만 아니라,<sup>17-19)</sup> 항산화 효소의 활성을 증가시킴<sup>20-22)</sup>으로써 지질과산화와 LDL의 산화를 억제하고 혈소판의 응집을 저해하여 동맥경화증, 고혈압, 관상심장질환을 예방한다고 보고되어 있다. 그 외에도 항암성, 항염성, 항돌연변이성, 항바이러스성, 항알레르기성을 가진다고 알려져 있다.<sup>22)</sup>

밤 (*Castanea crenata* S. et Z)에는 수분 65.3%, 조단백질 6.6%, 조지방 0.9%, 조섬유 2.3%, 조회분 1.7% 내로 함유되어 있다.<sup>23)</sup> 밤의 탄닌 조성은 주로 gallic acid가 포함되어 있다.<sup>24)</sup> 그 외의 성분으로 밤의 과육에는 ferulic acid, caffeic acid, sinapic acid, p-coumaric acid, salicylic acid가,<sup>25)</sup> 밤의 내피에는 ellagic acid, syringic acid, protocatechuic acid 등의 phenolic acids가 다량

함유<sup>26)</sup>되어 있으며, 밤의 내피에는 11.0~12.3%의 축합형 탄닌이 함유되어 있다.<sup>27)</sup>

도토리 (*Quercus acutissima*)는 우리나라 전역의 산림에서 생산되는 참나무과 (Fagaceae) 나무의 열매로서 그 종류는 약 28종이나 된다. 대표적인 도토리에는 졸참나무 (*Quercus serrata* thunb)의 열매와 상수리나무 (*Quercus acutissima* carruther)의 열매를 들 수 있다. 도토리에는 전분 65~69%, 조단백 5.8~7.8%, 조지방 1.1~5.0%, 조섬유 2.1~3.6%, 조회분 1.9~3.4%, 탄닌 4.6~9.3%, 수분이 6.5~13.7% 내외 함유되어 있다. 한편, 도토리의 짧은 맛과 갈변 현상은 주로 탄닌 성분에 기인하며 가수분해형 탄닌 성분 즉 gallic acid, digallic acid, gallotannin 등과 같은 천연 항산화 성분을 다량 함유하고 있다.<sup>28)</sup>

밤에 대한 기존의 선행 연구들은 밤을 이용한 여러 가지 가공식품의 제조와 밤의 저장 및 저장시 성분변화 등에 관한 분야에 주로 집중되었고, 도토리에 관한 선행연구도 고유의 짧은 맛을 내게 하는 탄닌의 제거와 관련된 가공방법과 이화학적 특성 연구가 대부분으로 밤과 도토리의 영양학적 또는 생리적 특성에 관한 in vivo 조건에서의 연구는 미흡한 실정이다.<sup>23,25,28)</sup> 게다가 혈액순환계 질환의 개선효과가 있는 식물자원의 탐색 및 제품개발에 관한 선행연구<sup>29)</sup>에 의하면 생체의 (in vitro) 실험에서 밤이 혈전응집억제능이 가장 우수한 결과를 보였다. 이에 본 연구에서는 밤을 대상으로 in vivo 조건에서도 항혈전능이 있는지를 알아보려고 하였으며, 밤과 같이 견과류에 속하며, 탄닌을 다량 함유하고 있는 도토리도 항혈전효과가 있는지를 살펴보고자 하였다. 동시에 지방대사 및 항산화능도 같이 측정하고자 하였다. 밤과 도토리의 섭취가 지질대사, 항산화 및 항혈전 효과를 나타낼 경우 심혈관계 질환의 예방과 치료에 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

## 실험 재료 및 방법

### 1. 실험 시료 준비 및 항산화 물질 함량 분석

#### 1) 시료준비

밤 (국내산, 2000년산)과 도토리 (국내산, 2000년산)는 서울소재 농산물 시장에서 구입하였다. 각각 과육과 내피를 분리하여 50℃에서 24시간 열풍 건조한 후 분쇄하였다.

#### 2) 시료중 항산화 물질 함량 분석

총 flavonoids 함량은 Goldberg 등<sup>30)</sup>의 방법을 이용하였다. 즉, 시료 1 g에 50% methanol 60 ml를 가하여 80℃에서 1시간 동안 환류 추출한 후, 100 ml로 정용하여 얻어

진 분획물 1 ml를 diethylene glycol 10 ml, 1N NaOH 1 ml를 가하여 잘 혼합한 후 37°C에서 1시간 반응시키고 나서 420 nm의 spectrophotometer (HP 8453, Hewlett Packard)로 비색정량하였다.

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 법<sup>31)</sup>을 이용하였다. 즉, 시료 200 mg을 140 ml 증류수로 5시간동안 환류 추출한 후 얻어진 분획물 1 ml를 100 ml 메스플라스크에 넣고 75 ml의 증류수를 가하여 잘 혼합한 후 Folin-Denis 시약 5 ml와 탄산나트륨 포화용액 (35%) 10 ml를 넣은 후 증류수로 100 ml 용량으로 채웠다. 이것을 잘 혼합하여 실온에서 30분간 방치시킨 후 상동 비색계로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다.

본 실험에서 사용한 밤과 도토리의 과육과 내피의 분말 시료에서 추출한 폴리페놀성 물질의 함량과 플라보노이드 함량은 Table 1과 같았다.

2. 실험동물의 사육 및 식이

생후 4주된 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐 54마리를 구입하여 실험 시작 전 1주일간 고형배합사료 (삼양사료)로

적용시켰다. 적응기간 후 체중이 199 ± 17 g인 흰쥐들을 체중에 따라 난괴법으로 6마리씩 9군으로 분류하여 4주간 사육하였다. 실험동물은 한 마리씩 분리하여 stainless steel 사육상자에서 사육하였고, 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였으며, 사육실 온도는 18 ± 2°C로, 습도는 40~60%로 유지하였으며, 조명은 12시간 주기로 조절하였다.

본 실험에서 사용한 식이의 구성성분은 Table 2와 같았다. 식이의 탄수화물 급원으로는 옥수수전분 (신동방)을, 지방 급원으로는 옥수수유 (해표)와 콩유 (백선표)를 사용하였고, 단백질 급원으로는 카제인 (edible acid casein, Murry Goulburn Co-operative Co., Australia)을 사용하였다. 무기질과 비타민은 시약급을 사용하여 혼합한 것 (AIN-93)<sup>32)</sup>을 각각 식이 무게의 3.5%와 1% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다. 과육군의 경우 분말만을 각각 식이 무게의 5%, 10% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다. 내피군의 경우에는 열풍건조후의 과육과 내피의 중량 비율을 계산하고, 그 비율에 따라 각각 식이무게의 5%, 10% 수준에 상응토록 과육과 내피분말을 혼합하였다. 밤과 도토리의 함유 수준은 사람이 일상생활에서 섭취하는 밤밥의 양을 고려할 때 밤의 함유량이 약 10% 정도로 추정되었으며, 건분을 이용하므로 수분 함유량 50% 정도를 고려하여 적정수준이 약 5%로 결정되었다. 그리고 시료 함유수준에 의한 차이를 살펴보기 위하여 10% 비율 또한 같이 실험하였다.

식이섭취량은 일주일에 3회 일정한 시각에 측정하였고, 체중은 일주일에 1회 같은 시각에 측정하였다. 식이섭취에

Table 1. Contents of total polyphenols and total flavonoids in chestnut and acorn powders (mg/g powder basis)

Kinds		Total polyphenols	Total flavonoids
Chestnut	Flesh	0.13	0.01
	Inner skin	1.98	0.19
Acorn	Flesh	0.59	0.21
	Inner skin	2.49	0.44

Table 2. Composition of the experimental diets

Ingredients	Groups <sup>1)</sup>	(g/kg diet)								
		C	CFL	CFH	CIL	CIH	AFL	AFH	AIL	AIH
Corn starch		730	680	630	680	630	680	630	680	630
Casein		150	150	150	150	150	150	150	150	150
Mineral mixture <sup>2)</sup>		35	35	35	35	35	35	35	35	35
Vitamin mixture <sup>3)</sup>		10	10	10	10	10	10	10	10	10
Choline chloride		2	2	2	2	2	2	2	2	2
L-cystine		3	3	3	3	3	3	3	3	3
Oil <sup>4)</sup>		70	70	70	70	70	70	70	70	70
Flesh powder		0	50	100	37.5	75	50	100	47	94
Inner skin powder <sup>5)</sup>		0	0	0	12.5	25	0	0	3	6
Total polyphenols (mg/g) <sup>6)</sup>		0	6.25	12.50	29.40	58.80	29.25	58.50	34.96	69.92
Total flavonoids (mg/g) <sup>7)</sup>		0	0.34	0.68	2.65	5.30	10.57	21.14	11.26	22.52

1) C : Control (not containing chestnut/acorn powder)  
 CFH : Chestnut flesh powder 10%  
 CIH : Chestnut flesh powder with inner skin 10%  
 AFH : Acorn flesh powder 10%  
 AIH : Acorn flesh powder with inner skin 10%

CFL : Chestnut flesh powder 5%  
 CIL : Chestnut flesh powder with inner skin 5%  
 AFL : Acorn flesh powder 5%  
 AIL : Acorn flesh powder with inner skin 5%

2) AIN-93 mineral mixture

3) AIN-93 vitamin mixture

4) Soybean oil 4 : corn oil 6, (v/v)

5) Flesh/Inner skin ratio : chestnut (3 : 1), acorn (15.67 : 1)

6) Total polyphenols (mg/g powder) : chestnut flesh (0.13), chestnut inner skin (1.98), acorn flesh (0.59), acorn inner skin (2.49)

7) Total flavonoids (mg/g powder) : chestnut flesh (0.01), chestnut inner skin (0.19), acorn flesh (0.21), acorn inner skin (0.44)

서 오는 갑작스런 체중의 변화를 막기 위하여 체중 측정 2시간 전에 식이 그릇을 빼주었다. 총 사육기간 동안의 체중증가량을 같은 기간에 섭취한 식이량으로 나누어 식이효율 (food efficiency ratio, FER)을 계산하였다.

### 3. 혈액과 장기의 채취

사육기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 회복한 후 주사기를 사용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위해 EDTA가 들어있는 polystyrene 원심분리관에 담아 얼음 위에 20분간 방치한 후 원심분리기 (Dupont Sorvall RT 6000B, Sorvall)로 2,800 rpm, 4°C에서 30분간 원심분리하여 적혈구와 혈장을 분리하고, 혈장은 지질과산화물 양과 지방 수치를 측정하기 위해 -70°C에 보관하였다.

적혈구는 동량의 냉장 식염수를 첨가하여 원심분리기로 2,800 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리하는 과정을 세 차례 반복하여 세척하였고, 이렇게 하여 얻어진 적혈구는 0.9% NaCl 용액과 부피 비가 1:1이 되도록 희석하여 50% hematocrit suspension을 만든 후 항산화 효소의 활성을 측정하기 전까지 -70°C에 보관하였다.

혈액을 채취한 후 얼음 위에서 즉시 간을 떼어 냉장 식염수에 넣어 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하였고 바로 -70°C에 보관하여 지방 수치, 과산화지질 함량 및 항산화 효소활성 측정에 사용하였다. 신장, 비장, 부고환 지방은 떼어서 무게를 측정하였다.

### 4. 생화학적 분석

혈장의 총지방 농도는 Frings의 방법<sup>33)</sup>으로, 간의 총지방 농도는 Bligh와 Dyer의 방법<sup>34)</sup>을 이용하여 측정하였고, 혈장과 간의 중성지방 농도와 콜레스테롤 농도 및 혈장의 HDL-콜레스테롤 농도는 효소법을 이용한 kit (영동제약)를 사용하여 spectrophotometer (HP 8453, 상동)로 각각 파장 540, 500, 500 nm에서 비색정량하였다.

혈장의 과산화지질 함량 (thiobarbituric acid reactive substances : TBARS values)은 Yagi 법<sup>35)</sup>을 이용하여 excitation 515 nm, emission 553 nm에서 luminiscence spectrometer (Perkin Elmer, LS50)로 정량하였으며, 간의 TBARS 함량은 Buckingham 법<sup>36)</sup>을 이용하여 spectrophotometer (HP 8453, 상동)로 파장 532 nm에서 비색정량하였다.

적혈구와 간의 SOD 활성은 Floh 등의 방법<sup>37)</sup>을 이용하여 ferric cytochrome C의 환원이 50% 방해되는 정도를 1 unit으로 하여 550 nm에서 비색정량하였다. 적혈구와 간의 catalase 활성은 Johansson과 Hakan 법<sup>38)</sup>에 의해 측정하

였다. 적혈구와 간의 GSH-Px 활성은 Paglia 등<sup>39)</sup>의 방법과 Floh 등<sup>40)</sup>의 방법을 이용하여 파장 340 nm에서 분당 산화되는 NADPH의 흡광도를 측정하였다. 위의 방법으로 측정된 항산화 효소들의 활성을 계산하는 데에 필요한 각 효소들의 단백질 농도는 Lowry 법<sup>41)</sup>에 준하여 측정하였다.

출혈시간은 Hornstra 법<sup>42)</sup>에 의하여 꼬리 끝 5 mm 되는 곳을 절단한 후, 꼬리의 5 cm 되는 곳까지 37.5°C로 유지된 생리적인 식염수 (0.9% sodium chloride)에 담그어 지혈될 때까지의 시간을 측정하였다. 전혈응고시간<sup>43)</sup>은 실험기간 종료일에 실험동물을 ethyl ether로 마취시켜 회복한 다음 3.8% sodium citrate 0.1 ml 정도로 미리 코팅시킨 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하고 채취된 혈액 중 1 ml를 유리시험관에 넣고 즉시 1.7% CaCl<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O 200 μl를 가한 후 가만히 섞어준 뒤, 혈액에 CaCl<sub>2</sub>를 가한 시간부터 응고가 생길 때까지의 시간으로 측정하였다. 혈장의 thromboxane B<sub>2</sub>와 6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub> 함량은 enzyme immunoassay (EIA)<sup>44)</sup> system에 의해 측정했다. Thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>)는 혈소판 응집의 강력한 촉진제이며 혈관수축제로 작용하는데, 반감기가 30초 정도로 매우 빠르게 가수분해되어 비교적 안정한 형태인 thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>)를 형성하므로 TXB<sub>2</sub>를 측정하는 것이 TXA<sub>2</sub>의 좋은 지표가 될 수 있다. Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>)은 TXA<sub>2</sub>와 생리적으로 정반대의 특성을 가지며, 불안정하여 자발적 가수분해 과정을 거쳐 6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub>가 되므로 6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub>를 측정하는 것이 PGI<sub>2</sub> 형성량을 대표한다고 하겠다.

### 5. 자료처리

본 연구의 모든 실험 결과는 각 군의 평균과 표준오차로 나타내었고 일원배치 분산분석 (One-Way Analysis of Variance)을 한 후  $\alpha = 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군의 평균치간의 유의성을 검정하였다. 또한 견과류의 급원 (밤 : 도토리), 함유종류 (과육만 함유 : 내피포함), 함유수준 (5% : 10%)의 3가지 식이 요인의 영향은  $\alpha = 0.05$  수준에서 삼원배치 분산분석 (Three-Way Analysis of Variance)으로 유의성을 검정하였다.

## 실험결과

### 1. 식이섭취량, 체중증가량과 장기무게

하루 평균 식이섭취량, 실험기간 동안의 체중증가량 및 식이 효율은 Table 3에 나타내었다.

하루 평균 식이섭취량을 보면, 밤과 도토리 시료를 섭취한 모든 실험군들과 대조군이 비슷하여 유의적인 차이는 없었다. 그러나 체중증가량과 식이 효율은 시료 급원에 의해 영향을 받아 밤 시료를 섭취한 실험군들이 도토리 실험군들보다 높게 나타났으나 각 군들간에 유의적인 차이는 없었다.

체중 g당 장기와 조직의 무게는 간을 비롯하여 신장, 부고환지방, 비장 모두 밤 및 도토리 실험군들과 대조군 간의 유의적인 차이가 없었다.

2. 지방대사

혈장내 지방 농도를 분석한 결과는 Table 4에, 간의 지질 분석 결과는 Table 5에 제시하였다.

Table 3. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio

Groups	Food intake (g/day)	Body weight gain	Food efficiency ratio
C	<sup>1)</sup> 21.0 ± 0.4 <sup>NS2)</sup>	181.1 ± 6.3 <sup>NS</sup>	0.31 ± 0.01 <sup>NS</sup>
CFL	21.8 ± 1.1	190.8 ± 12.0	0.31 ± 0.01
CFH	21.3 ± 1.0	194.6 ± 13.0	0.31 ± 0.01
CIL	22.8 ± 0.8	195.6 ± 12.9	0.31 ± 0.01
CIH	20.8 ± 0.5	175.5 ± 5.9	0.30 ± 0.01
AFL	20.8 ± 0.9	179.8 ± 13.4	0.31 ± 0.01
AFH	21.8 ± 0.8	170.2 ± 10.7	0.28 ± 0.01
AIL	21.6 ± 0.4	171.6 ± 10.7	0.29 ± 0.01
AIH	20.9 ± 0.7	163.4 ± 9.4	0.28 ± 0.01
Significant factor <sup>3)</sup>		A	A

- 1) Mean ± standard error (n = 6)
- 2) Not significant at α = 0.05 by Duncan's multiple range test in column
- 3) Significant factor notations used are as follows : A : Effect of source (chestnut vs acorn) was significant at α = 0.05

혈장 내 총지방 수준은 밤과 도토리 시료를 섭취한 모든 실험군들에서 유의적인 감소를 보였으며, 밤 시료를 섭취한 실험군들에 비해 도토리 시료를 섭취한 실험군들에서 더욱 감소되어 시료 급원에 의해 영향을 나타내었다. 혈장 내 중성지방 수준도 모든 밤과 도토리군들이 대조군보다 유의적으로 감소하였으며, 밤과 도토리의 함유수준이 높을수록 더욱 감소해 시료 함유수준에 의해 영향을 보였다. 혈장 총콜레스테롤 수준은 도토리 10% 실험군 (AFH)만 유의차를 보였으며, 시료 급원에 의해 영향을 받아 밤 군들에 비해 도토리 군들이 더 낮았다. 혈장의 HDL-콜레스테롤 농도와

Table 5. Liver total lipid, triglyceride and total cholesterol concentrations (mg/g wet liver)

Groups	Total lipid	Triglyceride	Total cholesterol
C	<sup>1)</sup> 47.44 ± 3.27 <sup>2)</sup>	13.88 ± 0.93 <sup>a</sup>	4.27 ± 0.19 <sup>a</sup>
CFL	50.79 ± 0.98 <sup>a</sup>	8.14 ± 0.83 <sup>bc</sup>	3.50 ± 0.43 <sup>ab</sup>
CFH	42.71 ± 2.04 <sup>ab</sup>	5.81 ± 0.76 <sup>c</sup>	3.90 ± 0.13 <sup>ab</sup>
CIL	49.25 ± 1.40 <sup>a</sup>	6.87 ± 0.69 <sup>bc</sup>	2.94 ± 0.52 <sup>bc</sup>
CIH	38.05 ± 2.43 <sup>c</sup>	5.69 ± 0.60 <sup>c</sup>	2.37 ± 0.21 <sup>c</sup>
AFL	44.11 ± 2.05 <sup>ab</sup>	9.37 ± 0.86 <sup>b</sup>	3.20 ± 0.42 <sup>bc</sup>
AFH	42.73 ± 1.36 <sup>ab</sup>	9.04 ± 1.02 <sup>b</sup>	2.33 ± 0.40 <sup>c</sup>
AIL	48.25 ± 6.42 <sup>a</sup>	9.07 ± 1.15 <sup>b</sup>	3.12 ± 0.30 <sup>bc</sup>
AIH	46.29 ± 1.72 <sup>ab</sup>	8.54 ± 0.85 <sup>bc</sup>	2.26 ± 0.13 <sup>c</sup>
Significant factor <sup>3)</sup>	C	A, C	B

- 1) Mean ± standard error (n = 6)
- 2) Values with different alphabet within each column are significantly different at α = 0.05 by Duncan's multiple range test
- 3) Significant factor notations used are as follows : A : Effect of source (chestnut vs acorn) was significant at α = 0.05, B : Effect of type (flesh vs inner skin) was significant at α = 0.05, C : Effect of dietary level (low(5%) vs high(10%)) was significant at α = 0.05

Table 4. Plasma total lipid, triglyceride, total cholesterol and HDL-cholesterol concentrations (mg/dl), and HDL-cholesterol : total cholesterol ratio

Groups	Total lipid (mg/dl)	Tryglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol : total Cholesterol
C	<sup>1)</sup> 231.18 ± 9.63 <sup>2)</sup>	99.41 ± 9.61 <sup>a</sup>	57.76 ± 3.99 <sup>a</sup>	26.51 ± 1.58 <sup>NS3)</sup>	0.47 ± 0.03 <sup>NS</sup>
CFL	164.75 ± 10.43 <sup>b</sup>	66.83 ± 4.53 <sup>b</sup>	53.14 ± 3.84 <sup>ab</sup>	28.04 ± 3.64	0.47 ± 0.04
CFH	179.14 ± 9.85 <sup>b</sup>	56.04 ± 7.06 <sup>b</sup>	57.23 ± 6.45 <sup>a</sup>	33.00 ± 1.75	0.60 ± 0.05
CIL	178.60 ± 10.96 <sup>b</sup>	63.86 ± 5.58 <sup>b</sup>	52.42 ± 4.24 <sup>ab</sup>	33.98 ± 2.93	0.56 ± 0.05
CIH	158.31 ± 9.82 <sup>b</sup>	54.46 ± 8.26 <sup>b</sup>	45.43 ± 7.29 <sup>ab</sup>	33.27 ± 3.63	0.63 ± 0.07
AFL	165.11 ± 10.55 <sup>b</sup>	65.25 ± 8.33 <sup>b</sup>	42.49 ± 5.28 <sup>ab</sup>	37.64 ± 0.77	0.65 ± 0.01
AFH	148.92 ± 9.05 <sup>b</sup>	46.14 ± 5.52 <sup>b</sup>	38.31 ± 5.69 <sup>b</sup>	35.32 ± 5.26	0.54 ± 0.08
AIL	146.04 ± 5.88 <sup>b</sup>	49.17 ± 7.78 <sup>b</sup>	42.32 ± 5.64 <sup>ab</sup>	36.18 ± 4.78	0.52 ± 0.04
AIH	155.72 ± 15.69 <sup>b</sup>	50.87 ± 6.46 <sup>b</sup>	41.34 ± 4.63 <sup>ab</sup>	33.77 ± 3.66	0.55 ± 0.06
Significant factor <sup>4)</sup>	A	C	A		

- 1) Mean ± standard error (n = 6)
- 2) Values with different alphabet within each column are significantly different at α = 0.05 by Duncan's multiple range test
- 3) Not significant at α = 0.05 by Duncan's multiple range test in column
- 4) Significant factor notations used are as follows : A : Effect of source (chestnut vs acorn) was significant at α = 0.05, C : Effect of dietary level (low (5%) vs high (10%)) was significant at α = 0.05

총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 실험군들과 대조군 간에 유의적인 차이는 없었다.

간 조직 중의 총지방 수준은 시료 함유수준에 의해 영향을 받아 밤과 도토리 10% 함유군들 (CFH, CIH, AFH, AIH)이 5% 함유군들보다 낮은 경향을 보였다. 간조직 중의 중성지방 수준은 모든 실험군들이 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. 특히 간의 중성지방 수준은 시료 급원에 의해 영향을 받아 밤 군들이 도토리 군들에 비해 낮았으며, 시료 함유수준에 의해서도 영향을 받아 10% 함유군들이 5% 함유군들에 비해 낮았다. 간 조직의 총 콜레스테롤 수준은 CFL, CFH군을 제외한 모든 실험군들이 대조군보다 유의적으로 낮았으며, 내피를 함유한 군들 (CIL, CIH, AIL, AIH)이 과육만 함유한 군들에 비해 더욱 감소하였다.

**3. 항산화능**

혈장과 간의 과산화지질 TBARS 농도는 Table 6에 나타내었다.

혈장의 지질과산화물 함량은 모든 실험군들이 대조군보다 유의적으로 낮았고, 내피 함유 유무 및 시료의 함유 수준에 의해 영향을 받았다. 즉 내피를 포함한 군들 (CIL, CIH, AIL, AIH)이 과육군들에 비해 혈장의 과산화지질 농도가 낮았으며, 5% 실험군들에 비해 10% 실험군들이 더욱 낮았다.

간의 지질과산화물 함량 또한 혈장에서와 마찬가지로 모든 실험군들이 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. 그러나 시료 급원, 시료 함유수준, 내피 함유 유무에 대한 영향은 없었다.

혈장과 간에 존재하는 항산화 효소들의 활성은 Table 7과

**Table 6.** TBARS levels in plasma and liver

Groups	Plasma	Liver
	(nmol/100 ml plasma)	(nmol/g wet liver)
C	<sup>1)</sup> 738.96 ± 114.00 <sup>2)</sup>	16.81 ± 1.70 <sup>a</sup>
CFL	553.36 ± 64.64 <sup>b</sup>	13.59 ± 1.17 <sup>b</sup>
CFH	415.78 ± 42.62 <sup>bc</sup>	11.76 ± 1.10 <sup>b</sup>
CIL	356.84 ± 94.32 <sup>bc</sup>	11.88 ± 1.07 <sup>b</sup>
CIH	339.15 ± 42.39 <sup>c</sup>	11.47 ± 0.42 <sup>b</sup>
AFL	534.02 ± 33.87 <sup>bc</sup>	12.47 ± 1.70 <sup>b</sup>
AFH	422.40 ± 65.20 <sup>bc</sup>	11.38 ± 0.70 <sup>b</sup>
AIL	444.28 ± 26.58 <sup>bc</sup>	11.60 ± 0.62 <sup>b</sup>
AIH	365.29 ± 69.29 <sup>bc</sup>	11.36 ± 0.92 <sup>b</sup>
Significant factor <sup>3)</sup>	B, C	

- 1) Mean ± standard error (n = 6)
- 2) Values with different alphabet within each column are significantly different at α = 0.05 by Duncan's multiple range test
- 3) Significant factor notations used are as follow : B : Effect of type (flesh vs inner skin) was significant at α = 0.05

Table 8에 각각 제시하였다.

적혈구의 SOD 활성은 CFH, CIL, CIH군이 대조군에 비해 높았다. 그리고 도토리 실험군들에 비하여 밤 실험군들이 더욱 높아 시료 급원에 의한 영향을 보였다. 적혈구의 catalase 활성은 모든 군들간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 CFL군을 제외한 모든 실험군들이 대조군보다 약간 높은 경향을 보였다. 적혈구의 GSH-Px 활성 역시 모든 군들간에 유의적인 차이가 없었으나, 모든 실험군들이 대조군보다 다소 높은 경향을 보였다. 전체적으로 보면, 적혈구내 세가지 항산화 효소들의 활성은 밤과 도토리의 실험군들에서 대조군에 비하여 증가하였으며, 특히 SOD 활성의 증가가 뚜렷하였고 밤 군들의 SOD 활성은 도토리 군들에 비하여 더욱 높았다.

간의 SOD 활성은 AIL과 AIH군만이 대조군에 비해 높았으며, 시료 급원에 의해 영향을 받아 밤 실험군들에 비해 도토리 실험군들이 높았다. 간의 catalase 활성은 모든 군들간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 모든 실험군들이 대조군보다 다소 증가하는 경향을 보였다. 간의 GSH-Px 활성은 모든 군들간에 유의적인 차이가 없었으나 실험군들

**Table 7.** Antioxidative enzyme activities of erythrocyte

Groups	SOD <sup>1)</sup>	Catalase <sup>2)</sup>	GSH-Px <sup>3)</sup>
	(unit/min/mg protein)	(µmol/mg protein)	(unit/min/mg protein)
C	<sup>1)</sup> 5.66 ± 0.66 <sup>b2)</sup>	3.67 ± 0.05 <sup>NS3)</sup>	3.84 ± 0.35 <sup>NS</sup>
CFL	10.41 ± 1.54 <sup>ab</sup>	3.67 ± 0.22	4.85 ± 0.28
CFH	11.80 ± 2.06 <sup>a</sup>	4.16 ± 0.38	4.82 ± 0.46
CIL	12.05 ± 1.27 <sup>a</sup>	4.23 ± 0.58	4.66 ± 0.39
CIH	12.21 ± 2.64 <sup>a</sup>	4.54 ± 0.19	4.76 ± 0.21
AFL	7.83 ± 1.64 <sup>ab</sup>	4.59 ± 0.47	4.21 ± 0.31
AFH	9.81 ± 0.16 <sup>ab</sup>	4.75 ± 0.46	4.59 ± 0.25
AIL	8.54 ± 1.41 <sup>ab</sup>	4.77 ± 0.50	4.57 ± 0.32
AIH	9.58 ± 0.39 <sup>ab</sup>	4.78 ± 0.06	4.55 ± 0.32
Significant factor <sup>7)</sup>	A		

- 1) Mean ± standard error (n = 6)
- 2) Values with different alphabet within each column are significantly different at α = 0.05 by Duncan's multiple range test
- 3) Not significant at α = 0.05 by Duncan's multiple range test in column
- 4) Superoxide dismutase (SOD) activities are expressed as units per mg protein (One unit inhibits the rate of cytochrome C reduction by 50% in a coupled system with xanthine and xanthine oxidase at pH 7.8 and 25 °C in a 3.0 ml reaction volume)
- 5) Catalase activities are expressed as µmol formaldehyde utilized as standard per mg protein
- 6) Glutathione peroxidase (GSH-Px) activities are expressed as unit per mg protein (One unit catalyzes the oxidation by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> of 1.0 µmol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25 °C)
- 7) Significant factor notations used are as follows : A : Effect of source (chestnut vs acorn) was significant at α = 0.05

이 대조군보다는 약간 증가하는 경향을 보였다. 전체적으로 간 조직내 세가지 항산화 효소들의 활성은 실험군들이 대조군에 비하여 증가하였으며 특히, SOD 활성의 증가가 뚜렷하였고 도토리 군들의 SOD 활성은 밤 군들에 비하여 더욱 높았다.

4. 항혈전능

출혈시간 및 전혈 응고시간 측정 결과는 Table 9에서 볼

수 있는 바와 같이 모든 실험군이 대조군에 비해 다소 연장되는 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 발견되지 않았다. 혈장내 TXB<sub>2</sub>와 PGI<sub>2</sub> 수준을 측정된 결과는 Table 9에 나타내었다. 밤과 도토리 군들의 TXB<sub>2</sub> 수준은 대조군보다 낮은 경향을 보였지만, 모든 군들간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 혈장내 PGI<sub>2</sub> 수준도 대조군과 실험군들 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

고 찰

1. 지방대사

혈장과 간의 총지방 수준은 모든 실험군들이 대조군보다 유의적으로 감소하였다. 이는 탄닌 투여시 인체의 혈청 지질개선 효과가 있었다는 최 등<sup>46)</sup>의 보고를 고려해 볼 때 밤과 도토리에 다량 함유된 탄닌에 의하여 총지방 함량의 감소가 영향을 받은 것으로 사료된다.

혈장과 간의 중성지방 수준은 모든 밤과 도토리의 실험군들이 대조군보다 유의적으로 감소하였다. 이는 차의 폴리페놀류가 고지혈증을 방지하는데 효과적이었는 Zhu<sup>46)</sup>의 보고와 고지방에 대한 탄닌의 효과적인 혈청 지질개선에 관한 Yugarani 등<sup>47)</sup>의 연구보고 및 고지방 섭취로 인해 상승된 중성지방 수준을 도토리 추출물이 유의적으로 저하시켰다는 성 등<sup>50)</sup>의 연구결과와 유사하다. 이러한 결과는 Yugarani 등<sup>47)</sup>의 연구에서 보고된 바와 같이 탄닌이 혈중 중성지방의 변환을 촉진하거나, 간의 중성지방 합성을 저해함으로써, 체내 중성지방 수준을 감소시켰기 때문으로 사료된다. 밤과 도토리 시료의 함유수준이 높을수록 중성지방 수준이 더욱 감소하는 경향을 보였는데 이는 시료에 포함되어 있는 폴리페놀 물질 함량에 의하여 영향을 받은 것으로 보여진다.

혈장과 간의 총콜레스테롤 농도 역시, 모든 실험군들이 대조군에 비해 유의적으로 낮은 결과를 보였다. 플라보노이드류를 포함하는 다양한 폴리페놀류가 지방대사에 미치는

Table 8. Antioxidative enzyme activities of liver

Groups	SOD <sup>4)</sup> (unit/min/mg protein)	Catalase <sup>5)</sup> ( $\mu$ mol/mg protein)	GSH-Px <sup>6)</sup> (unit/min/mg protein)
C	<sup>1)</sup> 17.58 $\pm$ 4.84 <sup>c2)</sup>	22.30 $\pm$ 0.23 <sup>NS3)</sup>	37.32 $\pm$ 3.16 <sup>NS</sup>
CFL	17.65 $\pm$ 2.18 <sup>c</sup>	24.38 $\pm$ 4.85	37.43 $\pm$ 3.08
CFH	20.01 $\pm$ 2.44 <sup>bc</sup>	25.46 $\pm$ 5.11	46.08 $\pm$ 3.53
CIL	22.58 $\pm$ 2.10 <sup>abc</sup>	26.82 $\pm$ 0.64	43.64 $\pm$ 3.74
CIH	23.85 $\pm$ 3.83 <sup>abc</sup>	25.92 $\pm$ 0.93	48.12 $\pm$ 3.38
AFL	29.27 $\pm$ 1.48 <sup>abc</sup>	25.17 $\pm$ 1.99	41.85 $\pm$ 3.80
AFH	30.75 $\pm$ 1.59 <sup>abc</sup>	27.44 $\pm$ 1.67	48.37 $\pm$ 5.86
AIL	31.92 $\pm$ 5.83 <sup>ab</sup>	26.10 $\pm$ 4.23	40.35 $\pm$ 3.31
AIH	35.01 $\pm$ 7.53 <sup>a</sup>	29.77 $\pm$ 2.26	46.86 $\pm$ 3.95

Significant factor<sup>7)</sup> A

- 1) Mean  $\pm$  standard error (n = 6)
- 2) Values with different alphabet within each column are significantly different at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test
- 3) Not significant at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test in column
- 4) Superoxide dismutase (SOD) activities are expressed as units per mg protein (One unit inhibits the rate of cytochrome C reduction by 50% in a coupled system with xanthine and xanthine oxidase at pH 7.8 and 25  $^{\circ}$ C in a 3.0 ml reaction volume)
- 5) Catalase activities are expressed as  $\mu$ mol formaldehyde utilized as standard per mg protein
- 6) Glutathione peroxidase (GSH-Px) activities are expressed as unit per mg protein (One unit catalyzes the oxidation by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> of 1.0  $\mu$ mol of reduced glutathione to oxidized glutathione per min at pH 7.0 and 25  $^{\circ}$ C).
- 7) Significant factor notations used are as follows : A : Effect of source (chestnut vs acorn) was significant at  $\alpha = 0.05$ .

Table 9. Bleeding and clotting times, and TXB<sub>2</sub> and PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  concentrations in plasma

Groups	Bleeding time (sec)	Clotting time (sec)	TXB <sub>2</sub> (pg/ml plasma)	PGF <sub>1<math>\alpha</math></sub> (pg/ml plasma)
C	<sup>1)</sup> 115.6 $\pm$ 12.24 <sup>NS2)</sup>	75.0 $\pm$ 7.95 <sup>NS</sup>	1016.11 $\pm$ 73.96 <sup>NS</sup>	234.58 $\pm$ 24.63 <sup>NS</sup>
CFL	124.8 $\pm$ 11.79	86.7 $\pm$ 12.32	677.50 $\pm$ 151.72	207.78 $\pm$ 27.09
CFH	151.0 $\pm$ 14.22	76.7 $\pm$ 9.05	938.65 $\pm$ 102.82	250.49 $\pm$ 21.77
CIL	142.3 $\pm$ 11.39	98.7 $\pm$ 14.46	810.18 $\pm$ 141.37	246.84 $\pm$ 22.55
CIH	150.7 $\pm$ 18.12	99.5 $\pm$ 7.19	842.24 $\pm$ 152.58	215.23 $\pm$ 20.28
AFL	155.0 $\pm$ 15.25	79.3 $\pm$ 2.09	637.35 $\pm$ 154.29	222.64 $\pm$ 32.63
AFH	168.3 $\pm$ 25.86	94.7 $\pm$ 11.72	716.34 $\pm$ 190.19	231.63 $\pm$ 88.63
AIL	137.7 $\pm$ 13.77	91.2 $\pm$ 8.68	1193.72 $\pm$ 288.20	198.54 $\pm$ 12.08
AIH	146.4 $\pm$ 22.01	104.7 $\pm$ 23.53	915.09 $\pm$ 323.05	264.54 $\pm$ 70.62

1) Mean  $\pm$  standard error (n = 6)

2) Not significant at  $\alpha = 0.05$  by Duncan's multiple range test in column

영향에 대한 연구는 광범위하게 이루어지지는 않았으나, 몇몇 폴리페놀류의 지방대사 개선 효과가 알려져 있다. 수용성 폴리페놀류와 축합형 탄닌류가 변으로의 지방 배설량을 늘리며,<sup>51-57)</sup> 혈중 콜레스테롤 저하 효과가 grape tannin류,<sup>52,56,57)</sup> tannic acid,<sup>49)</sup> tea catechin류<sup>58)</sup>를 포함한 식이를 섭취한 동물실험에서 나타났다. 이러한 효과는 폴리페놀류가 말초 조직으로부터 간으로 콜레스테롤의 이동을 증가시키고 장에서 콜레스테롤의 흡수를 감소시키며 담즙산 배설을 증가시키기 때문<sup>48,58)</sup>이라고 추정되고 있으나 정확한 기전은 아직 알려져 있지 않다. Wursch의 콜레스테롤 대사에 미치는 탄닌의 영향에 대한 연구보고<sup>56)</sup>에서 탄닌이 혈중과 간의 콜레스테롤 수준을 감소시켰다고 하였으며, 식이성 폴리페놀과 지방대사에 대한 Matsumoto의 연구<sup>61)</sup>는 폴리페놀 화합물이 혈청 총콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 농도를 저하시켜 고지혈증 및 심장 순환계 질환을 예방하는 작용을 한다고 보고하였다. 본 실험결과 나타난 혈장과 간의 총콜레스테롤 농도 감소는 Wursch<sup>54)</sup>와 Matsumoto<sup>59)</sup>의 연구에서 보고된 바와 같이 폴리페놀류 중 탄닌과 담즙산의 결합이 장관 내에서의 담즙산의 재흡수를 방해하여 분내로 담즙산 배설을 증가시킴으로써, 체내 콜레스테롤 농도를 감소시키는 기전에 의한 것으로 추정된다. 이외에도 밤과 도토리에, 특히 밤의 내피에 함유되어 있는 섬유소도 이와 같은 기전에 의해 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

밤과 도토리 식이를 섭취시 혈장의 HDL-콜레스테롤 농도와 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 모든 실험군들이 대조군에 비해 다소 높은 경향을 보였고 밤 실험군들보다 도토리 실험군들이 높은 경향을 보였으나 유의적이지는 않다. 폴리페놀 물질에 대한 Zhu 등<sup>46)</sup>의 연구와 탄닌에 대한 Yugarani 등<sup>47-49)</sup>의 연구에서는 혈중 중성지방의 감소, 총 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤의 감소와 같은 유의적인 혈중 지질의 변화를 보고하였다. 그러나 동 연구에서도 HDL-콜레스테롤 농도의 유의적인 변화는 관찰되지 않았다고 보고한 바 있어 본 실험 결과와 일치하였다.

따라서 모든 실험군들이 대조군보다 혈장과 간의 지질수준이 유의적으로 낮았으므로 밤과 도토리 모두 체내 지질수준을 낮추는데 효과적임을 알 수 있었으며 생체의 지방대사를 개선시키는 것으로 나타났다. 특히 도토리군의 혈장내 총지질, 총콜레스테롤 농도 저하 효과가 더욱 컸으며, 혈장 HDL-콜레스테롤 증가가 유의적이지는 않으나, 밤군보다 더 높은 경향을 보였다. 이는 Zhu<sup>46)</sup>와 Yugarani<sup>47-49)</sup> 실험을 통해 폴리페놀류에 의한 체내 지질수준 감소효과가 뚜렷하게 입증된 바와 같이 폴리페놀 물질이 도토리에 밤보다 더 높게 함유되어 있어 도토리 섭취시 체내 지질수준 개선 효과가 뛰

어나 혈액 순환계 질환 예방효과를 기대할 수 있겠다.

## 2. 항산화능

지질과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물 또는 당뇨병 등에 의한 간손상 발생의 가장 중요한 기전으로서 인정되어지고 있다.<sup>60)</sup> 이러한 기전은 세포내 산화적 스트레스의 증가 즉 유리 라디칼 생성의 증가 및 항산화적 방어력의 감소로 인해 야기되며, 생체내 유리 라디칼의 작용을 저지시켜주는 유리 라디칼 제거제의 불균형이 초래되어질 때에는 조직의 손상, 발암, 염증, 성인병 및 노화 등과 같이 여러 가지 질병이 유발된다.<sup>61)</sup> 그러나 생체는 효소적, 비효소적 항산화계를 통하여 이러한 유리 라디칼로부터 세포막과 세포내 물질을 보호한다.

효소적 항산화계는 유리 라디칼로부터 막과 세포질내 물질을 보호하는 기능을 하는 SOD, catalase, GSH-Px와 같은 항산화 효소에 의한 것으로, 급성의 기관 독성에 대항하는 중요한 세포의 방어계이다. 호기적 대사기관에서 여러 가지 생화학적 반응으로 생성되는 superoxide radical은 주로 세포막지질의 불포화 지방산과 반응하여 지질과산화물을 생성하므로 세포손상을 초래한다고 알려져 있다. 생체는 이러한 지질과산화에 대한 반응체로서 SOD에 의하여 superoxide radical을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 바꾸며, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 다시 catalase와 GSH-Px의 작용에 의해 H<sub>2</sub>O로 환원되므로, 이들 효소계의 반응에 의해서 유리 라디칼로부터 생체를 보호할 수 있고 조직의 과산화적 손상을 방지할 수 있다.<sup>62)</sup> 비효소적 항산화계는 항산화 비타민이나 폴리페놀 등 항산화 물질의 작용에 의한 것으로 유리 라디칼 손상을 촉진하는 'free' 상태 금속이온의 킬레이터로서 또는 이미 생긴 유리 라디칼을 직접 없애는 유리라디칼 제거제 등으로 작용하여 세포막과 세포내 물질을 보호하는 방법이 있다.

밤과 도토리에는 식물성 폴리페놀인 탄닌이 다량 함유되어 있다고 알려져 있으며<sup>27,31)</sup> 밤의 과육<sup>25)</sup>에서, 밤의 내피<sup>26)</sup>에서, 도토리<sup>28,63)</sup>로부터 항산화 성분을 분리한 결과 주로 gallic acid가 다량 함유되어 있다고 한다. 식물성 폴리페놀인 탄닌이 과산화지질 생성 감소 효과를 발휘하게 하는 기전으로는 금속이온의 킬레이터로서의 작용과 유리 라디칼 제거제로서의 작용 및 SOD, catalase, GSH-Px 등의 항산화계 효소를 통한 영향을 생각해 볼 수 있겠다.

Lopes의 연구<sup>64)</sup>에 의하면 탄닌은 Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>와 같이 지질산화를 쉽게 야기시키는 금속 이온을 킬레이트하는 능력이 뛰어난데 특히 Fe<sup>2+</sup>과 킬레이트 작용을 함으로써 안정한 물질을 형성 (Fe<sup>2+</sup>-tannin)하여 OH·를 형성하는 과정의 매개역할을 하지 않게 한다고 한다. 또한 탄닌



의 경우 Fe을 환원시키는 항산화능이 있어 Fe에 의해 지질이 산화되는 것을 억제하고, O<sub>2</sub>-로부터 혈장 DNA를 보호하며, 생성된 OH·를 소거(scavenge)하여 항산화 효과를 나타내는 경향이 있는 것으로 Pulido 등<sup>65)</sup>에 의해 보고되어 있다. Masataka 등<sup>66)</sup>은 폴리페놀 물질이 Fe<sup>++</sup>과 킬레이트 작용을 함으로써 안정한 물질을 형성(Fe<sup>++</sup>-polyphenol)하여 활성산소의 제거제로서 작용을 한다고 보고하였다. Yokozawa 등<sup>67)</sup>은 허브로부터 추출한 탄닌류와 플라보노이드류가 in vitro 항산화실험에서 유리 라디칼 제거제로서 작용을 함을 밝혀냈고, 플라보노이드류보다는 탄닌류가 낮은 농도에서도 제거하는 능력이 더 뛰어나 탄닌의 항산화능이 더 효과적이라고 보고하였으며, 탄닌의 생리적 효과는 화학구조에 따라 즉 galloyl group과 hydroxyl group을 많이 가질수록 활성이 증가한다고 보고하였다. Phenolics의 항산화효과에 대해 연구한 조의 보고<sup>68)</sup>에 의하면 gallic acid, digallic acid, propyl gallate와 같은 페놀계통의 화합물들은 그 -OH기(hydroxyl group)가 유리기의 수용체로서 이들 유리기들과 안정된 공명혼성물을 형성하므로써 산화 억제 작용을 나타낸다고 보고하였으며, Uchida 등<sup>69)</sup>의 연구에 의하면 galloyl group을 가진 축합형 탄닌이 유리기를 소거하는 작용이 가장 크게 나타나 여러 가지 축합형 탄닌 중에서 (-)-epigallocatechin 3-O-gallate가 가장 효과적이라고 보고하여 탄닌의 화학구조에 의해 활성이 달라짐을 알 수 있다. 또한 탄닌이 superoxide radical 생성을 방해하는 작용을 한다는 보고들이 있으며,<sup>70,71)</sup> Perchellet<sup>72)</sup>과 Gal<sup>73,74)</sup> 등은 쥐 표피에 발암물질을 주입시켜 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 탄닌에 의하여 효과적으로 억제되는 결과를 보여 탄닌이 항암 효과와 항산화 효과가 뛰어난 것을 보고하였다. Tsutomu 등<sup>75)</sup>의 보고에서는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 손상에 gallic acid를 주입시 보호작용이 있어 gallic acid ester가 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 인해 유발되는 세포 손상에 대해 항산화제로서의 작용을 나타낸다고 하였다.

이것은 위로부터 미루어 볼 때 밤과 도토리류의 주성분이며, 항산화 성분인 gallic acid로 구성된 탄닌이 superoxide radical 생성을 억제하는 작용을 함에 따라 SOD의 활성이 증가되어 항산화 효소들 중 가장 먼저 작용하여 유리 라디칼을 이미 충분히 제거함으로써 혈액 내의 나머지 두 항산화 효소의 활성 증진이 불필요하게 된 때문으로 보인다. 또한 SOD 활성 증가로 인해 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대해서는 탄닌이 catalase와 GSH-Px의 작용을 다소 증가시킴으로써 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O로 환원시켜 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성을 억제시킨 것으로 생각된다.

본 실험 결과로는 확실하게 확인할 수 없으나 앞에서 언

급한 바와 같이 Lopes,<sup>64)</sup> Yokozawa<sup>67)</sup> 등의 연구로 보아 생체 내에서 금속이온의 킬레이터로서 작용함으로써 Fe<sup>++</sup>와 결합하여 안정한 물질을 형성하여서 Fe에 의한 지질의 산화를 억제하였기 때문이거나, 또는 superoxide radical과 hydroxyl radical과 같은 유리 라디칼 제거제로서 작용함으로써 과산화지질 생성을 효과적으로 억제하였을 가능성을 배제할 수 없다. 하지만 SOD, catalase, GSH-Px 등의 항산화계 효소에 대한 기전은 본 실험결과에서와 같이 유의적인 SOD 활성 증가를 통해 알 수 있었다.

따라서 밤과 도토리가 첨가된 모든 실험군들에서 적혈구와 간의 SOD 활성 증가효과와 혈장과 간의 지질과산화물 저하 효과가 뚜렷하게 나타난 것으로 미루어 폴리페놀 물질 중 탄닌이 다량 함유된 밤과 도토리는 체내 항산화능을 증진시킴으로써 만성질환인 동맥경화 질환과 노화 및 암 등의 발병률을 낮추는데 기여할 것으로 기대된다.

### 3. 항혈전능에 미치는 영향

생체 내에서 혈액은 응고와 용해작용이 항상 평형을 이루고 있어 정상적인 상태에서는 출혈이나 혈전 등에 의하여 흐름이 방해받지 않는다. 하지만 혈소판과 피브리노로부터 혈전을 형성하면 협심증, 뇌혈전 및 동맥경화와 같은 순환계질환을 유발시킨다. 이러한 혈전형성은 과도한 혈소판 응집과 관련이 있으며 혈소판 응집은 아라키돈산에서 합성되는 TXA<sub>2</sub>와 PGI<sub>2</sub>량에 의해 조절된다. 즉, 혈소판 응집작용과 혈관수축 작용을 하는 TXA<sub>2</sub>와 항응집 작용과 혈관 확장 작용을 하는 PGI<sub>2</sub>의 길항작용 때문에 TXA<sub>2</sub>와 PGI<sub>2</sub>의 균형에 의해 혈소판 응집이 조절된다고 할 수 있다.

밤과 도토리에는 폴리페놀 물질 중에서도 탄닌이 가장 많이 함유되어 있었으며, 그 중에서도 gallic acid가 다량 함유되어 있다. 기존의 녹차<sup>76,79)</sup>나 포도주<sup>80,81)</sup>와 관련된 연구결과를 살펴보면, 녹차와 포도주에 다량 함유된 폴리페놀 물질이 혈중 콜레스테롤 저하 및 항산화효과 그리고 항혈전 효과까지 있으며, 심질환계 질환 특히 동맥경화를 예방하고 치료하는데 가능성이 있다고 보고하고 있다. 또, 이 등<sup>82,83)</sup>의 연구에 따르면 허브 추출물의 항응고 활성을 검색한 결과 허브중 정향이 가장 우수한 효과를 보였으며, 정향 추출물의 항응고 활성양식 및 in vivo test 결과에서도 에탄올 추출물에서 혈소판 응집억제능이 관찰되었다고 보고하였다. 그리고 정향의 주요 화학성분은 탄닌류 중 gallic acid와 eugenin 등이었다고 보고되었다.<sup>84)</sup> 윤 등<sup>85)</sup>의 천연 식물 생약들을 대상으로한 혈소판 응집억제작용 연구 결과에서는 protocatechuic acid를 함유한 오가피와 gallic acid를 함유한 작약이 가장 우수하며, 이들 물질의 구조는 임상에서

사용중인 aspirin과도 구조가 유사하다고 보고했다. 그리고 항혈소판 작용을 검색결과, protocatechuic acid, gallic acid, aspirin 모두 우수한 항혈소판 작용 및 항혈전 작용을 확인할 수 있었고, protocatechuic acid와 gallic acid가 aspirin과 유사한 구조이지만, aspirin과는 확실히 다른 작용기전을 가지는 것 같다는 보고<sup>89)</sup>가 있었다.

밤과 도토리에는 gallic acid가 다량 함유되어 있어 기존의 연구들처럼 항혈전효과를 기대하였으나, 이번 in vivo 실험결과에서는 유의적인 차이를 보이지 않아 밤과 도토리의 항혈전 작용을 뚜렷하게 유추하기는 어려웠다. 그러나 대부분의 실험군들의 출혈시간 및 전혈응고시간이 연장되었고, 혈소판의 응집력을 촉진시키는 TXB<sub>2</sub>의 측정치가 비록 유의적이지는 않았지만 대체로 감소하는 경향을 보여 밤과 도토리의 항혈전 가능성을 보여 주는 것이 아닌가 싶다. 그러므로 실제 밤과 도토리가, 특히 gallic acid가 어떠한 기전에 의해 항혈전 효과를 보이는지를 밝혀줄 후속 연구가 필요하다고 생각된다. 또한 현재 밤과 도토리를 이용한 가공 식품들은 주로 이들의 과육만을 이용하는 것에 머물고 있는 실정이나, 본 실험 결과에서 보는 바와 같이 밤과 도토리에 포함되어 있는 식물성 폴리페놀 물질인 탄닌의 함량이 높을수록 약리적 유용성이 인정되므로, 차후 밤과 도토리의 내피를 이용한 가공 식품의 개발 및 내피 성분에 대한 연구도 진행되어야 할 것으로 생각된다.

### 요약 및 결론

본 연구에서는 식물성 페놀성 화합물 중 탄닌 성분을 많이 함유하고 있는 것으로 알려진, 밤과 도토리의 지방대사, 항산화능 및 항혈전능에 미치는 영향을 알아보고자 밤과 도토리의 과육 및 내피의 수준을 달리 첨가한 식이로 흰쥐를 사육한 후 지방대사, 항산화능 및 항혈전능을 생화학적 측면에서 관찰한 결과는 다음과 같다.

1) 밤과 도토리의 항산화 물질로 알려진 폴리페놀 및 플라보노이드 총량을 측정된 결과 밤보다는 도토리에, 과육보다는 내피부분에 폴리페놀 및 플라보노이드가 더 많이 함유되어 있다.

2) 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율 및 체중 g당 장기 무게는 모든 실험군들간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

3) 지방대사에 대하여 살펴보면, 밤과 도토리의 식이를 첨가한 실험군들이 대조군보다 혈장과 간의 총지방, 중성지방과 총콜레스테롤 수준이 유의적으로 낮았으며 혈장의 HDL-콜레스테롤 및 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 모든 군간에 유의적인 차이는 없었으나 대조군

에 비해 실험군들이 다소 높은 경향을 보였다. 또한 밤과 도토리의 과육보다 내피를 포함한 식이에서 총콜레스테롤 수준이 더 낮았고 식이내 시료 함유수준이 높을수록 혈장과 간의 중성지방 수준을 저하시키는 효과가 더 컸다.

4) 항산화능에 대하여 살펴보면, 밤과 도토리 식이 섭취는 적혈구와 간 모두에서 SOD의 활성을 유의적으로 증가시켰고, catalase와 GSH-Px 활성은 유의적이지는 않으나 모든 실험군들이 대조군에 비해 다소 증가하는 경향을 보였으며, 혈장과 간의 지질과산화 수준을 낮추어 주었다. 특히 혈장에서는 과육만을 포함한 실험군들보다 내피를 포함한 실험군들에서 지질과산화물 함량이 더욱 낮은 경향을 보이며 식이내 밤과 도토리의 함유수준이 높을수록 더욱 효과적이었다.

5) 항혈전능에 대하여 살펴보면, 출혈시간 및 전혈응고시간 측정 결과는 모든 밤과 도토리 실험군들에서 대조군에 비해 다소 연장되는 경향을 보였으나, 유의적인 차이는 발견되지 않았다. 혈장내 TXA<sub>2</sub> 수준은 비록 유의적이지는 않았지만 대조군에 비하여 대체로 감소하는 경향을 보였으며, PGI<sub>2</sub> 수준 또한 대조군과 실험군들 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

이상의 결과를 종합해 보면, 밤과 도토리의 함유수준이 높을수록 체내 지질 수준을 효과적으로 감소시켰고 혈장과 간의 지질과산화도 효과적으로 억제하였으며, SOD의 활성을 증가시키는 등의 항산화 효과를 나타내었다. 이와 같은 효과는 밤보다는 도토리에, 과육보다는 내피 부분에서 컸다. 그러나, 밤과 도토리의 항혈전 효과는 유의하지는 않았으나 가능성을 엿보였다.

그러므로 본 연구 결과에서 볼 때 밤과 도토리 모두 체내 지질수준 저하, 지질 과산화물 생성 억제작용 및 항산화 작용에 뛰어난 효과를 보이며, 항혈전 효과 또한 가능성이 있으므로 고혈압성질환, 뇌혈관질환, 동맥경화증, 심근경색증과 같은 혈액 순환기계 질환 예방 및 치료에 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

### Literature cited

- 1) Statistical Office. 2001 Yearbook of Death Cause Statistics, Korea, 2001
- 2) Report of a WHO Study Group. Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases. WHO, Geneva, 1990
- 3) McGill BC. The pathogenesis of atherosclerosis. *Clin Chem* 34: 33-39, 1993
- 4) Barry H. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet* 344: 721-724, 1994
- 5) Srivastava KC. Vitamin E exerts antiaggregatory effects without inhibiting the enzymes of the arachidonic acid cascade in pla-

- telets. *Prostaglandins Leukotriene Med* 21: 177-185, 1986
- 6) Salonen JT, Salonen R, Seppanen K. Effects of antioxidant supplementation on platelet function: randomized pairmatched, placebo-controlled, double-blind trial in men with low antioxidant status. *Am J Clin Nutr* 53: 1222-1229, 1991
  - 7) Buczynski A, Wachowicz K, Kedziora-Kornaatowska K. Changes in antioxidant enzymes activities, aggregability and malonyldialdehyde concentration in blood platelets from patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 100: 223-228, 1993
  - 8) Aviram M, Hussein O, Rosenblat M, Schlezinger S, Hayek T, Keidar S. Interactions of platelets, macrophages, and lipoproteins in hypercholesterolemia: Antiatherogenic effects of HMG-CoA reductase inhibitor therapy. *J Carivase Pharmacol* 31: 39-45, 1998
  - 9) Pratt DE. Natural antioxidants from plant materials. In "Phenolic compounds in food and their effects on health (II)" Huang MT, Ho ST, Lee CY (eds). Am Chem Soc, Washington DC, pp.54, 1992
  - 10) Lee JH, Lee SR. Analysis of phenolic substances content in Korean plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26(3): 310-316, 1994
  - 11) Lee JH, Lee SR. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26(3): 317-323, 1994
  - 12) Perkin AG, Everest AE. The Natural Organic Coloring Matters London, pp.498, 1918
  - 13) Ahn YJ, Lee SH, Kang SJ, Hwang BY. The phenolic components of *Sapium japonicum*. *Yakhak Haeji* 40(2): 183-192, 1996
  - 14) Salunkhe DK, Chavan JK, Kadam SS. Dietary tannins Consequences and remedies. CRC Press, Inc. Boca Raton, 1990
  - 15) Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr Reviews* 56(11): 317-333, 1998
  - 16) Morel I, Lescoat G, Cogrel P, Sergent O, Padeloup N, Brissot P, Cillard P, Cillard J. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem Pharmacol* 45: 13-19, 1993
  - 17) Haenen GR, Paquay JB, Korthouwer RE, Bast A. Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 236(3): 591-3, 1997
  - 18) Ishikawa T, Suzukawa M, Ito T, Yoshida H, Ayaori M, Nishiwaki M, Yonemura A, Hera Y, Nakamura H. Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Am J Clin Nutr* 66(2): 261-266, 1997
  - 19) Anna P, Milena B, Marco S, Nadia P, Gian FM, Clandio G. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Res* 78: 151-160, 1995
  - 20) Chung HY, Takako Y. Studies on Antioxidative and Antimutagenic Mechanism of Epicatechin 3-O-gallate Isolated from Green Tea. The 3rd International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea 65-81, 1995
  - 21) 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
  - 22) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917, 1959
  - 23) Nha YA, Yang CB. Changes of constituent components in chestnut during storage. *Korean J Food Sci Technol* 28(6): 1164-1170, 1996
  - 24) Kurogi M, Bessho Y. *Shokuhim Sogo Kenkyusho Kenkyu Hokoku* 36: 33, 1980
  - 25) Yoon KY. Polyphenol compounds and biochemical characteristics of polyphenol oxidase in chinese chestnut. Kyungpook National University Graduate School, 1991
  - 26) Kwon EJ. Isolation of antioxidative and antimicrobial compounds from the skins of chestnut (*Castanea crenata*) Kyungpook National University Graduate School, 1998
  - 27) 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
  - 28) Kim BN. A study on the literature review of acorn in korea. *Korean J Soc Food Sci* 11(2): 158-163, 1995
  - 29) Kim MK, Han DS, Lee JM. Identification of Plant Resources for Improvement of Cardiovascular diseases. Final Report on Agricultural Cooperative Federation Project. Asia Food of Nutrition Research Institute, Ewha Womens University, 1999
  - 30) Goldberg I. Functional foods. Chapman & Hall, New York, pp. 56-61, 1994
  - 31) Thompson LU, Yoon JH, Jenkins DJ, Wolever TM, Jenkins AL. Relationship between polyphenol intake and blood glucose response of normal and diabetic individuals. *Am J Clin Nutr* 39(5): 745-751, 1984
  - 32) Philip G, Reeves, Forrest H, Nielsen, George C, Fahey Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J Nutr* 123: 1939-1951, 1993
  - 33) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipid vased on the sulfuric-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Nutr* 53: 89, 1970
  - 34) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 67: 911-917, 1959
  - 35) Yagi K. Assay for Blood Plasma or Serum. Methods in Enzymology Academic Press Inc. NY 105: 328-331, 1984
  - 36) 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
  - 37) Floh L, Becker R, Brigelius R, Lengfelder E, Ötting F. Convenient Assays for Superoxide Dismutase. *CRC Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine*: 287-293, 1992
  - 38) Johnsson LH, Hkan Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Analytical Biochemistry* 174: 331-336, 1988
  - 39) Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70(1): 158-169, 1967
  - 40) Floh L. Determination of glutathione peroxidase. *CRC Handbook of Free Radicals and Antioxidations in Biomedicine*: 281-286, 1992
  - 41) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
  - 42) Hornstra G, Christ-Hazelhof E, Haddeman E, Hoor FT, Nugteren DH. Fish oil feeding lowers thromboxane and prostacyclin production by rat platelets and aorta and does not result in the formation of prostaglandin I<sub>2</sub>. *Prostaglandins* 21: 727, 1981
  - 43) Yun EP, Kang OS, Lee MA. The antithrombotic effects of green tea, catechins. *J Fd Hyg Safety* 11(2): 77-82, 1996
  - 44) Salmon JA, Flower RJ. In methods in enzymology 86: 477-493, Academic Press, 1982
  - 45) Choi IS, Lee KH, Lee SS, Oh SH. Effects of tannin on lipid metabolism in 6 college women. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26(5): 920-926, 1997
  - 46) Zhu XM, Zhao ZD, Huang ZL. Experimental study on tea polyphenols in prevention of hyperlipidemia. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 16(9): 549-551, 1996
  - 47) Yugarani T, Tan BK, Das NP. The effects of tannic acid on

- serum lipid parameters and tissue lipid peroxides in the spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rats. *Planta Med* 59(1): 28-31, 1993
- 48) Yugarani T, Tan BK, Das NP. The effects of tannic acid on serum and liver lipids of RAIF and RICO rats fed on high fat diet. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol* 104(2): 339-343, 1993
  - 49) Yugarani T, Tan BK, Das NP. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. *Lipids* 27(3): 181-186, 1992
  - 50) Sung IS, Kim MJ, Cho SY. Effects of quercus acutissima caruthers extracts on the lipid metabolism. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26(2): 327-333, 1997
  - 51) Bravo L, Saura CF, Goni I. Effects of dietary fiber and tannins from apple pulp on the composition of faeces in rats. *Br J Nutr* 67: 463-473, 1992
  - 52) Martin CN, Garcia AA, Goni I, Saura CF. Nutritional and physiological properties of grape pomace as a potential food ingredient. *Am J Enol Vitic* 48: 328-332, 1997
  - 53) Bravo L, Abia R, Eastwood MA, Saura CF. Degradation of polyphenols (catechin and tannic acid) in the rat intestinal tract: effect on colonic fermentation and faecal output. *Br J Nutr* 71: 933-946, 1994
  - 54) Wursch P. Influence of tannin-rich carob pob fiber on the cholesterol metabolism in the rat. *J Nutr* 109: 685, 1979
  - 55) Regerat F, Remesy C, Tixier O, et al. Effects of condensed tannins and pectin on cecal fermentations and lipid metabolism in the rat. *Bull Liaison Group Polyphenols* 16: 201-204, 1992
  - 56) Tebib K, Bitri L, Besancon P, Rouanet JM. Polymeric grape seed tannins prevent plasma cholesterol changes in high-cholesterol-fed rats. *Food Chem* 49: 403-406, 1994
  - 57) Tebib K, Besancon P, Rouanet JM. Dietary grape seed tannins affect lipoproteins, lipoprotein lipases, and tissue lipids in rats fed hypercholesterolemic diets. *J Nutr* 124: 2451-2457, 1994
  - 58) Muramatsu K, Fukuyuu M, Hara Y. Effects of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 32: 613-622, 1986
  - 59) Matsumoto N, Okushio K, Hara Y. Effect of blacktea polyphenols on plasma lipids in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 44: 337-342, 1998
  - 60) Plaa GL, Witschi H. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 16: 125-141, 1976
  - 61) Husain SR, Cillard J, Cillard P. Hydroxy radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochem* 26: 2489-2491, 1987
  - 62) Harris ED. Regulation of antioxidant enzymes. *J Nutr* 122: 625-626, 1992
  - 63) Lee MH, Jeong JH, Oh MJ. Antioxidative activity of gallic acid in acorn extract. *J Korean Soc Food Nutr* 21(6): 693-700, 1992
  - 64) Lopes GK, Schulman HM, Hermes-lima M. Polyphenol tannic acid inhibits hydroxy radical formation from fenton reaction by complexing ferrous ions. *Biochem Biophys Acta* 18: 1472(1-2): 142-152, 1999
  - 65) Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J Agric Food Chem* 48(8): 3396-3402, 2000
  - 66) Masataka Y, Keiko M. Interacion of iron with polyphenolic compounds: Application to antioxidant characterization. *Analytical Biochemistry* 257(1): 40-44, 1998
  - 67) Yokozawa T, Chen CP, Dong E, Tanaka T, Nonaka GI, Nishioka I. Study on the inhibitory effect of tannin and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2 picrylhydrazyl (DPPH) radical. *Biochem Pharmacol* 56(2): 213-222, 1998
  - 68) Cho MJ. Antioxidant effect of some phenolics on soybean oil. *Agricultural Chemistry & Biotechnology* 32: 37, 1989
  - 69) Uchida S, Ohta H, Niwa M, Mori A, Nonaka G, Nishioka I, Ozaki M. Prolongation of life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) ingesting persimmon tannin. *Chem Pharm Bull* 38(4): 1049-1052, 1990
  - 70) Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y. Tannins and human health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 38(6): 421-464, 1998
  - 71) Bhat R, Hadi SM. DNA breakage by tannic acid and Cu (II): generation of active oxygen species and biological activity of the reactio. *Mutat Res* 313(1): 49-55, 1994
  - 72) Perchellet JP, et al. Characterization of the tumor-promoting activity of thapsigargin in senear mouse skin and its modulation by gallotannin. *Proceedings of the American Association for Cancer Research* 36: 123, 1995
  - 73) Gali HU, Perchellet EM, Klish DS, Johnson JM, Perchellet JP. Hydrolyzable tannins: potent inhibitors of hydroperoxide production and tumor promotion in mouse skin treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in vivo. *Int J Cancer* 51(3): 425-432, 1992
  - 74) Gali-Muhtacib HU, Yamout SZ, Sidani MM. Plant tannins as inhibitors of hydroperoxide production and tumor promotion induced by ultraviolet B radiation in mouse skin in vivo. *Oncol Rep* 6(4): 847-853, 1999
  - 75) Tsutomu N, et al. The protective role of gallic acid ester in bacterial cytotoxicity and SOS responses induced by hydrogen peroxide. *Mutation Res* 303: 29, 1993
  - 76) Roberts E, Wood DA. Study of the polyphenols in tea leaf by paper chromatography. *Biochem J* 49: 414, 1951
  - 77) Hara Y, Mastsuzaki T, Suzuki T. Angiotensin I converting enzyme inhibiting activity of tea components. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 61: 803, 1987
  - 78) Mastsuzaki T, Hara Y. Antioxidative activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 59: 129, 1985
  - 79) Ikeda I, Imasato Y, Sasaki E, Nakayama M, Nagao H, Takeo T, Yayabe F, Sugano M. Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. *Biochem Biophys Acta* 1127: 141, 1992
  - 80) Kanner J, Frankel E, Granit R, German B, Kinsella JE. Natural antioxidants in grape and wine. *J Agric Food Chem* 42: 64-69, 1994
  - 81) Waterhouse AL. Wine and heart disease. *Chemistry and Industry* 5: 338-346, 1995
  - 82) Lee GI, et al. Screening of anticoagulant activities in extracts from edible herbs. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29(2): 335-341, 2000
  - 83) Lee GI, et al. Anticoagulation activity pattern and in vivo test of extract from eugenia caryophyllata. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29(3): 543-548, 2000
  - 84) Park MK, Park JH, Shin YG. Chemical constituents of eugenia caryophyllata. *Yakhak Hoeji* 41(2): 149-152, 1997
  - 85) Yun-Choi HS, Kang SS, Kim MH, Jung KH. Anti-thrombotic effects of analogs of protocatechuic acid & gallic acid. *Yakhak Hoeji* 37(5): 453, 1993
  - 86) Oh JH. Studies on the anti-platelet effects of aliphatic ester of protocatechuic acid, vanillic acid and gallic acid. Kyughee University. Thesis of Graduate School, 1995