

십전대보탕 및 자혈양근탕 첨가 식이가 흰쥐의 철분 생체이용률에 미치는 영향*

양미자 · 김연정 · 박태선[§]

연세대학교 식품영양학과

Effect of Dietary Supplementation of *Sypjeondaebotang* or *Jahyulyanggeuntang* on Iron Bioavailability in Rats*

Yang, Mei Zi · Kim, Yun Jung · Park, Taesun[§]

Department of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

ABSTRACT

The effect of dietary supplementation of the two oriental medicinal prescriptions, *Sypjeondaebotang* or *Jahyulyanggeuntang*, on iron bioavailability was evaluated in rats which were depleted of iron by being fed an irondeficient diet for 4 weeks. Seventy two iron-depleted rats were randomly divided into 3 groups (n = 24), and fed one of the following experimental diets for 4 (n = 8), 12 (n = 8), and 25 days (n = 8): Control diet (CD), *Sypjeondaebotang*-supplemented diet (SD), *Jahyulyanggeuntang* -supplemented diet (JD). The CD contained 20 mg Fe/kg diet as FeSO₄, and the SD or JD was identical except that the respective oriental medicinal prescription extract was included at the level of 4 g/kg diet. Animals fed the SD and JD for 25 days consumed significantly less food (p < 0.001), but showed no change in food efficiency ratio compared to those that were fed the CD. Serum iron concentration and transferrin saturation values were significantly higher in rats fed the SD for 25 days compared to those that were fed the CD for the same period (p < 0.05). The values of serum UIBC (p < 0.05) and TIBC (p > 0.05) were lower in rats fed the SD compared to those fed the CD. Dietary supplementation of *Sypjeondaebotang* during the period of iron repletion significantly increased blood levels of hemoglobin (p < 0.05) and hematocrit (p < 0.01) measured at day 12, and increased mean corpuscular volume (p < 0.05) measured at day 25, compared to the values for the CD rats. Regression analyses of hemoglobin-repletion bioassay data from rats fed the SD and JD showed the relative biological values of 123% and 99%, respectively, calculated against the slope for the CD rats. Apparent iron absorption and retention values were also significantly lower (p < 0.05) in rats fed the SD for 25 days than those for the CD rats. Based on the results from diverse biochemical indices of iron status and the chemical balance study, the effect of *Jahyulyanggeuntang* on iron bioavailability appears to be less prominent than that for *Sypjeondaebotang*. Taken together, these results indicate that *Sypjeondaebotang* has a positive effect in restoring iron depletion by increasing the iron bioavailability in rats. (*Korean J Nutrition* 36(3) : 262~269, 2003)

KEY WORDS : *Sypjeondaebotang*, *Jahyulyanggeuntang*, iron bioavailability, hemoglobin-repletion bioassay, chemical balance study.

서 론

철분 결핍은 전 세계적으로 부유한 지역이나 빈곤한 지

역을 막론하고 발생빈도가 높은 영양문제 중의 하나이며,¹⁾ 현재 약 13억 인구가 철분결핍성 빈혈에 시달리고 있다.²⁾ 25개국을 대상으로 조사한 Breymann³⁾의 연구자료에 의하면 지역별로 차이는 있으나 약 12~43%의 인구가 철분 결핍성 빈혈 증세를 나타내며, 미국인의 경우 백인 가임기 여성의 10~20%, 임신부의 30~60% 그리고 20~44세 남자의 1~5%가 철분결핍성 빈혈증세가 있는 것으로 보고되었다.⁴⁾ 채 등⁵⁾에 의해 보고된 한국인의 빈혈빈도는 21.4%로 나타났고, 1997년도 국민영양조사에 의하면 13

접수일 : 2003년 1월 30일

채택일 : 2003년 3월 10일

*This study was supported by a grant of the Oriental Medicine R&D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (HMP-00-0-22000-013).

[§]To whom correspondence should be addressed.

~16세 여자의 26%, 그리고 17세 이상 여자의 31.7%가 철분결핍성 빈혈인 것으로 보고되었다.⁶⁾ 철분결핍성 빈혈은 철분 섭취 부족, 만성 질환, 흡수율 감소 및 감염 등의 다양한 요인에 의해 발생하며, 그 중에서도 철분의 흡수가 불량한 것이 가장 주된 원인이 되고 있다.⁷⁾

장내 철분 흡수율은 일반적으로 식사에 함유된 철분의 형태에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 식품에 함유된 철분은 헴철과 비헴철의 두가지 형태로 분류되는데, 동물성식품의 경우 헴철과 비헴철의 비율이 약 40 : 60 정도이고, 식물성식품의 경우에는 함유된 철분의 100%가 비헴철의 형태로 존재한다. 헤모글로빈 및 미오글로빈의 형태로 섭취되는 헴철은 비헴철에 비해 장내 흡수율이 높고, 식사내 다른 요인에 의해 영향을 받지 않는다. 한편 비헴철은 흡수율이 상대적으로 더 낮고, 비타민 C 및 아미노산 등과 같은 다른 식이성분들에 의해 체내 이용율이 영향을 받는다. 철분영양상태를 향상시키기 위해서는 헴철의 비율이 높은 동물성 식품의 섭취를 증가시키는 것이 바람직하나, 고지혈증 또는 심혈관계 질환자에서와 같이 동물성식품의 섭취를 제한하여야 하는 경우에는 비헴철의 생체 이용율을 향상시키는 접근이 필요하다. 한편, 과도한 철분의 섭취는 아연⁸⁾ 및 구리⁹⁾ 등과 같은 다른 미량원소의 장내 흡수를 저해할 수 있으므로 주의가 요구된다.

한의학에서 십전대보탕(十全大補湯)은 사군자탕(四君子湯)과 사물탕(四物湯)이 합방(合方)된 팔물탕(八物湯)에 황기(黃芪)와 육계(肉桂)를 추가하여 보기(補氣)와 거한(拒寒)의 기능을 강화시킨 기혈쌍보제(氣血雙補劑)로 알려져 있다.¹⁰⁾ 십전대보탕에 포함되는 원료 중 특히 당귀(當歸)는 조혈세포의 증식과 분화를 촉진하는 것으로 알려져 있으며,¹¹⁾ 십전대보탕은 보혈(補血)하고 양간(養肝)하는 작용을 통해 빈혈증 및 월경부조(月經不調) 등의 증상을 개선하는 효과가 있고, 빈혈, 피로, 쇠약, 만성질환 및 소모성질환의 회복기, 그리고 월경불순 등에 임상적으로 응용되어져 왔다.¹²⁾ 한편, 자혈양근탕(滋血養筋湯)은 혈액생성을 촉진하고 근력(筋力)을 강화시킬 목적으로 사용되었던 한약처방제이다.

대부분의 한약제에는 섬유소를 포함한 각종 다당류의 함량이 높다. 일반적으로 식품내에 존재하는 식이섬유소, phytate, 탄닌 등의 성분은 구리, 철, 아연 및 칼슘 등과 같은 무기질의 장내 흡수를 방해하는 것으로 알려져 있으나, 한약제의 복용이 이들 미량 및 다량원소의 체내 이용률에 미치는 영향에 관한 연구는 전무한 실정이다. 한편, 1997년 황 등의¹³⁾ 연구에 의하면 건조된 상태로 유통되는 대부분의 한약제는 일반식품에 비해 대체적으로 Ca, K, Mg,

Na 및 Fe 등의 무기질 함량이 약 10~100배정도 더 높은 것으로 보고되었고, 따라서 한약처방 복용 시 체내 무기질 영양상태 및 이용률에 영향을 미칠 것으로 사려된다. 아울러 최근 건강기능식품 소재로 다양한 허브제품과 한약재의 이용이 급성장하면서 이들 한약성분의 복용이 체내 미량 영양소 흡수 및 대사에 미치는 영향에 관한 연구의 필요성이 대두되고 있다. 본 연구팀은 선행연구¹⁴⁾에서 자혈양근탕 및 양혈장근보환 한약처방이 장내 칼슘흡수에 미치는 영향을 인체소장상피세포주 모델을 이용하여 평가한 바 있다. 본 연구에서는 상용되는 한약처방 중 빈혈증에 효과가 있는 것으로 알려진 십전대보탕 그리고 혈액생성을 촉진하는 자혈양근탕이 한국인에게 부족되기 쉬운 철분의 생체이용률에 미치는 영향을 흰쥐를 대상으로 평가하였다.

재료 및 방법

1. 한약처방제의 추출 및 제조

본 연구에 이용된 한약처방은 십전대보탕(十全大補湯)과 자혈양근탕(滋血養筋湯)의 두가지이다. 십전대보탕(十全大補湯)은 인삼(人參), 백출(白朮), 백복령(白茯苓), 감초(甘草), 숙지황(熟地黃), 백작약(白芍藥), 천궁(川芎), 당귀(當歸) 각 4.5 g, 황기(黃芪), 육계(肉桂) 각 3.75 g, 생강(生薑) 3 g, 그리고 대추(大棗) 2 g으로 처방이 구성되었다. 자혈양근탕(滋血養筋湯)은 숙지황(熟地黃) 6 g, 백작약(白芍藥), 당귀(當歸), 맥문동(麥門冬), 황백(黃柏), 두충(杜仲), 창출(蒼朮) 각 4 g, 의이인(薏苡仁) 3 g, 인삼(人參), 천궁(川芎), 방풍(防風), 지모(知母) 각 2 g, 강활(羌活), 감초(甘草) 각 1.5 g, 오미자(五味子) 9알, 생강(生薑) 2편, 그리고 대추(大棗) 2알로 처방이 구성되었다. 각 처방에 증류수 2000 ml를 가하여 4시간 이상 환류 추출한 후 여과하고, evaporator를 이용하여 농축한 후 동결건조하였다. 십전대보탕 1첩과 자혈양근탕 1첩을 추출하여 각각 9.2 g과 8.7 g의 동결건조물을 얻었다.

2. 실험동물의 사육 및 시료의 채취

3주령된 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 78마리를 대한동물실험(주)로부터 구입하여 4일간 고행배합사료(주, 삼양유지사료)로 적응시킨 후 철분결핍식이(iron-deficient diet, ID)로 4주간 사육함으로써 빈혈을 유도하였다. 철분 보충을 시작하기 전 일차적으로 6마리를 임의 선택하여 희생시키고, 헤모글로빈 수치를 측정하여 빈혈 여부

를 확인하였다. 빈혈이 유도된 나머지 72마리의 쥐를 다음의 세가지 실험식이군 (n = 24)으로 임의 배치하고, 각 실험식이군의 동물을 다시 세군 (n = 8)으로 배치하여, 4일, 12일 또는 25일간 사육하였다: 대조식이 (control diet, CD), 십전대보탕 첨가식이 (sypjeondaebotang-supplemented diet, SD) 또는 자혈양근탕 첨가식이 (jahyulyangeutang-supplemented diet, JD).

모든 실험식은 정제식이로서 AIN-93 조성에 준하여 조제하였다.¹⁵⁾ 철분결핍식은 AIN-93 무기질 조성에서 철분만 제거시켜 조제하였으며, 철분 repletion에 이용된 대조식의 조성은 ID와 동일하되 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 을 99.3 mg/kg의 농도로 첨가하여 식이내 철분 농도가 20 mg/kg diet가 되도록 조제하였다. 이는 일단 철분결핍이 유도된 흰쥐에게 철분 repletion을 시키면서 relative biological value (RBV)를 평가하는 경우 hemoglobin 수치가 linear하게 증가되도록 하기 위해 총 철분 섭취량을 4.4 mg이하로 하는 것이 바람직하다는 Miller의 보고^{16,17)}에 근거한 것이다. SD 또는 JD는 CD와 동일하되 십전대보탕 또는 자혈양근탕 추출물을 예비실험 결과에 준해 4 g/kg diet 수준으로 첨가하여 제조하였으며, 기타 실험식의 자세한 조성은 Table 1에 제시된 바와 같다.

사육실의 온도는 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 그리고 습도는 $55 \pm 5\%$ 로 조절하였고, 명암은 12시간 주기로 조절하였다. 식이 섭취량은 매일, 그리고 체중은 매주 1회 일정한 시간에 측정하

였다. 각 실험사육 기간 (4, 12 및 25일)의 마지막 3일동안 실험동물들 대사장에 옮겨서 대변 및 소변시료를 수거하였으며, 수집된 시료는 무게 또는 부피를 측정 후 분석 시까지 -70°C 에 냉동보관하였다. 사용된 대사장과 초자기구는 무기질의 오염을 막기 위하여 10% 질산용액으로 세척한 후 3차 증류수로 2번 행구어 사용하였다.

실험 마지막 날 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 에테르 마취 하에 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하였으며, 채취한 혈액의 일부는 EDTA로 처리된 튜브에 담아 헤모글로빈 농도, 헤마토크릿, mean corpuscular volume (MCV) 및 relative biological value (RBV)의 분석에 이용하였다. 나머지 혈액은 항응고제가 처리되지 않은 튜브에 넣어 $1000 \times \text{g}$ 에서 15분간 원심분리하였으며, 분리된 혈청은 분석 시까지 -70°C 에 냉동보관하였다.

3. 생화학적 분석

혈청 철분농도와 unsaturated iron binding capacity (UIBC) 수치는 상업용 분석 kit (# 565A, Sigma사, St Louis, MO, USA)를 이용하여 비색법으로 측정하였다. Total iron binding capacity (TIBC) 및 transferrin 포화도는 UIBC 및 혈청 철분농도 수치를 토대로 아래의 공식을 이용하여 각기 계산하였다.

$$\text{TIBC (umol/L)} =$$

$$\text{혈청 철분농도 } (\mu\text{mol/L}) + \text{UIBC } (\mu\text{mol/L})$$

Table 1. Composition of iron-deficient, and iron-supplemented experimental diets

Ingredient	ID ¹⁾	CD ¹⁾	SD ¹⁾	JD ¹⁾
	g/kg			
Corn starch	529.5	529.5	525.4	525.4
Casein	200	200	200	200
Sucrose	100	100	100	100
Soybean oil	70	70	70	70
Alphacel, non-nutritive bulk	50	50	50	50
Mineral mix (AIN-93, iron free) ²⁾	35	35	35	35
Vitamin mix (AIN-93) ³⁾	10	10	10	10
L-Cystine	3	3	3	3
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
Tert-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-	0.0993	0.0993	0.0993
Sypjeondaebotang extract	-	-	4	-
Jahyulyangeutang extract	-	-	-	4

¹⁾ID: iron-deficient diet, CD: control diet, SD: sypjeondaebotang-supplemented diet, JD: jahyulyangeutang-supplemented diet

²⁾Ferric citrate was omitted from the AIN-93G mineral mix: g/kg of mix: calcium carbonate 357; monopotassium phosphate 196; potassium citrate monohydrate 70.78; sodium chloride 74; potassium sulfate 46.6; magnesium oxide 24; zinc carbonate 1.65; manganese carbonate 0.63; copper carbonate 0.3; potassium iodate 0.01; sodium selenate anhydrous 0.103; ammonium molybdate $\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.00795; sodium metasilicate $\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 1.45; chromium potassium sulfate $\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.275; lithium chloride 0.0174; boric acid 0.08145; sodium fluoride 0.0635; nickel carbonate 0.0066; powdered sugar 227.06

³⁾AIN-93 Vitamin mix: g/kg of mix: nicotinic acid 3; D-calcium pantothenate 1.6; pyridoxine HCl 0.7; thiamine $\cdot \text{HCl}$ 0.6; riboflavin 0.6; folic acid 0.2; D-biotin 0.02; vitamin B₁₂ (0.1% in mannitol) 2.5; α -tocopherol powder (250 U/g) 30; vitamin A palmitate (250,000 U/g) 1.6; vitamin D₃ (400,000 U/g) 0.25; phyloquinone (vitamin K1) 0.075; powdered sucrose 959.855

$$\text{Transferrin 포화도 (\%)} = \frac{\text{혈청 철분농도 (\mu mol/L)}}{\text{TIBC (\mu mol/L)}} \times 100$$

전혈시료의 헤모글로빈농도, 헤마토크릿 및 MCV 수치는 자동화된 blood cell counter (HORIBA, LC-240, Japan)를 이용하여 측정하였다.

실험사육 기간별 (4, 12, 25일)로 섭취한 총철분의 함량을 x축으로 놓고, 그에 따른 헤모글로빈 농도를 y축으로 하여 얻어진 곡선으로부터 기울기를 구하였으며, 한약처방제 첨가식이군에서 얻어진 곡선의 기울기를 대조군에서 얻어진 곡선의 기울기에 대한 백분율로 계산하여 RBV를 구하였다.¹⁸⁾

$$\text{RBV (\%)} = \frac{\text{실험군 (SD 또는 JD)에서 얻어진 곡선의 기울기}}{\text{대조군 (CD)에서 얻어진 곡선의 기울기}} \times 100$$

4. 철분의 겉보기 흡수율 및 보유율

냉동보관한 소변시료를 해동시킨 후 1000×g에서 20분간 원심분리시켜 상층액을 분리하였다. 대변시료는 105℃에서 24시간 건조시킨 후 함량을 측정하고, 550~600℃ 회화로에서 48시간동안 회화시켰다. 얻어진 회분을 6 N HCl에 용해시키고, 1000×g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 조제된 소변 및 대변시료 상층액을 3차 증류수로 희석한 후, 원자흡광광도계 (atomic absorption spectrophotometer, Perkin-Elmer, 4100ZL, Norwalk, CT, USA)를 이용하여 철분함량을 측정하였다. 사용된 원자흡광광도계에는 transverse heated graphite atomizer 튜브와 hollow cathode lamp가 부착되었으며, pyrolysis 및 atomization 온도는 각기 1400℃와 2100℃로 설정되었다. 철분 표준용액은 Perkin-Elmer사 (N 930-0126, Norwalk, CT, USA)로 부터 구입하여 사용하였다. 시료를 첨가하지 않은 blank 시험관을 전 과정에 걸쳐 사용하므로써 시약 및 공기에서 유래되는 오염을 보정하였으며, 사용되는 모든 초자기구는 무기질의 오염을 막기 위해 20% 질산용액과 3차 증류수에서 각기 24시간 동안 처리한 후, 3차 증류수로 3회 세척하여 사용하였다.

측정된 대변 및 소변시료의 철분함량을 토대로 아래 공식에 준해 겉보기 철분 흡수율 및 보유율을 계산하였다.

$$\text{겉보기 철분 흡수율 (\%)} = \frac{\text{Fe 섭취량 (\mu g/d)} - \text{대변내 Fe 배설량 (\mu g/d)}}{\text{Fe 섭취량 (\mu g/d)}} \times 100$$

$$\text{겉보기 철분 보유율 (\%)} = \frac{\text{Fe 섭취량 (\mu g/d)} - \text{대변내 Fe 배설량 (\mu g/d)} - \text{소변내 Fe 배설량 (\mu g/d)}}{\text{Fe 섭취량 (\mu g/d)}} \times 100$$

5. 통계처리

모든 분석수치는 means ± SEM으로 표시하였으며, 통계분석은 SAS (Statistical Analysis System) PC 프로그램을 이용하여 실시하였다. 대조군과 실험군의 평균값에 대한 차이는 Student's t-test를 실시하여 p < 0.05, p < 0.01 또는 p < 0.001 범위에서 유의성을 검증하였다. 한편, 동일 실험군내에서 실험기간에 따른 유의성의 차이는 ANOVA test를 실시하여 p < 0.05 수준에서 검증하였고, 실험기간에 따른 유의성이 관찰된 경우 각 실험기간 간의 차이는 Duncan's multiple range test를 이용하여 p < 0.05 범위에서 평가하였다.

결과 및 고찰

1. 체중 및 식이효율

철분결핍성 빈혈이 유도된 흰쥐를 십전대보탕 또는 자혈양근탕이 첨가된 실험식이로 25일간 사육하면서 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율을 측정한 결과가 Table 2에 나타나 있다. SD군 또는 JD군의 누적체중증가량 (g/25 d)은 74.2 ± 13.3 또는 68.3 ± 13.1로 대조군 (98.7 ± 12.8 g/25 d)에 비해 24~31% 정도 더 낮았으나, 통계적으로 유의한 차이는 아니었다. 이와같이 한약처방제 첨가식을 섭취한 군에서 대조군에 비해 체중증가량이 더 낮게 나타난 것은 식이 섭취량의 감소에 기인한 것으로 풀이된다. 즉, 25일간의 실험사육 기간동안 SD군 (495 ± 9.8 g/25 d) 또는 JD군 (505 ± 5.1 g/25 d)의 총식이섭취량은 대조군 (629 ± 5.2 g/25 d)에 비해 유의적으로 더 낮았다 (p < 0.001). 한편, 체중증가량을 식이섭취량으로 나누어 준 식

Table 2. Weight gain and food efficiency ratio of rats fed experimental diets

	Weight gain (g/25 days)	Food intake (g/25 days)	Food efficiency ratio ¹
CD	98.7 ± 12.8	629 ± 5.2	0.16 ± 0.02
SD	74.2 ± 13.3	495 ± 9.8***	0.17 ± 0.02
JD	68.3 ± 13.1	505 ± 5.1***	0.15 ± 0.02

CD: control diet, SD: syjeondaebotang-supplemented diet, JD: jahyulyangeuntang-supplemented diet

Values are Means ± SEM of 8 rats.

¹Food efficiency ratio: weight gain (g)/ food consumed (g)

***Significantly different compared to the value for rats fed the control diet by Student's t-test at p < 0.001.

이효율은 SD군 또는 JD군과 대조군 간에 유의적인 차이가 없었다.

2. 철분 영양상태 관련 생화학적 지표

CD, SD 및 JD를 4일, 12일 및 25일간 섭취한 흰쥐를 대상으로 혈청 철분농도 및 transferrin 포화도를 측정 한 결과가 Fig. 1에 제시되어 있다. 철분 결핍이 유도된 흰쥐에게 ferrous sulfate (20 mg Fe/kg)가 함유된 식이로 철분 repletion을 시작하면서 혈청 철분농도의 변화를 살펴본 결과, 25일까지 혈청 철분농도가 지속적으로 증가하였다. 실험군에 따른 혈청 철분농도의 차이는 사육 기간이 길어지면서 점차 증가하여, 25일 후에는 SD군 ($20.1 \pm 2.1 \mu\text{mol/L}$) 또는 JD군 ($17.8 \pm 2.8 \mu\text{mol/L}$)의 혈청 철분농도가 대조군 ($15.5 \pm 2.2 \mu\text{mol/L}$)에 비해 더 높았고, 특히 SD군의 경우 대조군에 비해 유의적인 증가가 관찰되었다 ($p < 0.05$). 철분 repletion에 따른 혈청 transferrin 포화도 역시 세 군 모두 25일까지 지속적으로 증가하였으며, SD군의 경우 25일째 transferrin 포화도가 $43.7 \pm 5.0\%$ 로 나타나 상응한 시기의 대조군에서 관찰된 수

치 ($31.4 \pm 4.7\%$)에 비해 유의적으로 더 높았다 ($p < 0.05$).

혈액에서 철분은 유리상태로 존재하지 않고, transferrin에 결합된 상태로 운반되기 때문에 혈청 철분농도는 곧 transferrin과 결합된 철분의 양을 의미하며, 조직의 철분 저장량이 고갈되거나 철분결핍성 빈혈이 있는 경우 감소하게 된다. Transferrin 포화도는 철분과 결합되어 있는 transferrin 단백질의 비율을 의미하며, 철분결핍성 빈혈 시 혈청 철분농도가 감소하기 때문에 transferrin 포화도 역시 감소하게 된다. 일반적으로 혈중 transferrin 포화도는 혈청 철분농도 또는 TIBC보다 철분 영양상태를 판정하는데 있어서 더 민감한 도구로 알려져 있다.¹⁹⁾

철분결핍이 유도된 흰쥐를 철분 및 한약처방제가 함유된 식이로 4, 12 및 25일간 사육하면서 unsaturated iron binding capacity (UIBC) 및 total iron binding capacity (TIBC)를 측정 한 결과가 Fig. 2에 나타나 있다. UIBC는 혈청에 존재하는 철분과 결합하지 못하고 유리상태로 남아 있는 transferrin 단백질을 반영하는 것으로서 철분 결핍이 심할수록 그 수치가 증가한다. TIBC는 철분과 결합되

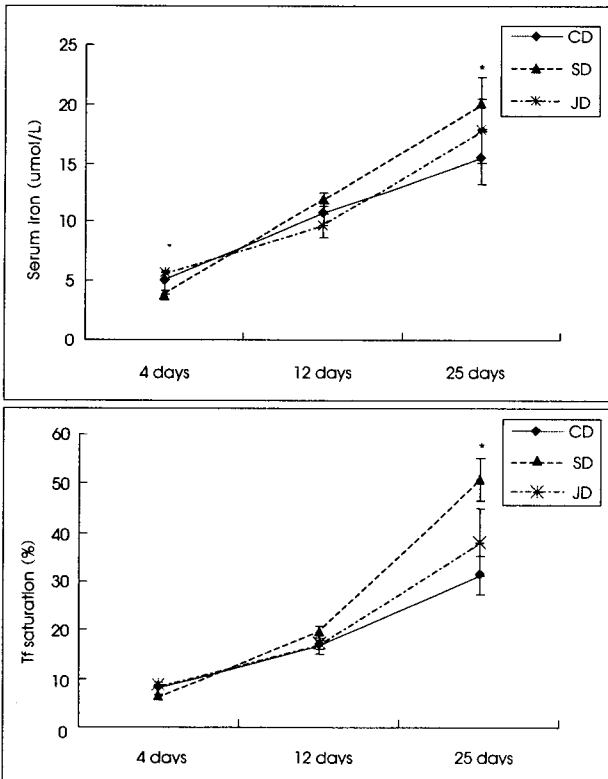


Fig. 1. Serum iron concentration and transferrin saturation of rats fed experimental diets for 4, 12 and 25 days
 CD: control diet, SD: *sypjeondaebotang*-supplemented diet, JD: *jahyulyangeun tang*-supplemented diet
 Values are mean \pm SEM of 8 rats.
 *Significantly different compared to the value for rats fed the control diet by Student's t-test at $p < 0.05$.

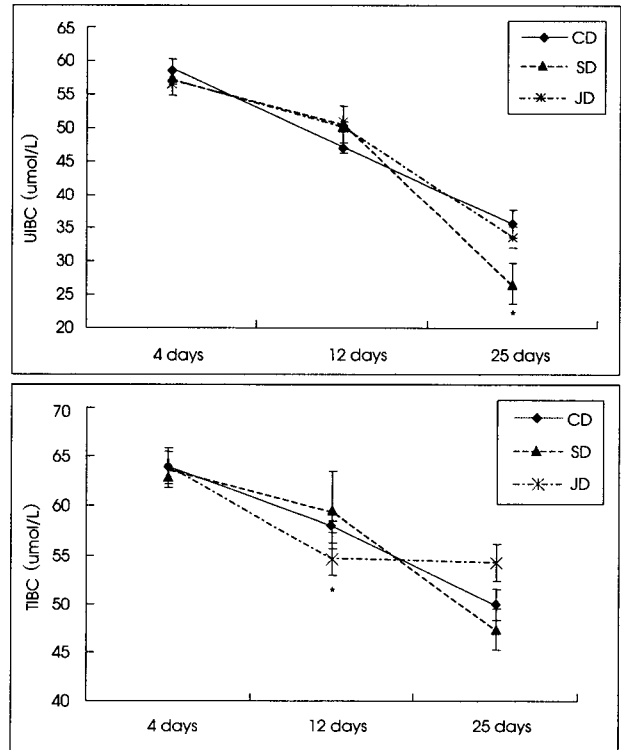


Fig. 2. Unsaturated iron binding capacity (UIBC) and total iron binding capacity (TIBC) values of rats fed experimental diets for 4, 12 and 25 days
 CD: control diet, SD: *sypjeondaebotang*-supplemented diet, JD: *jahyulyangeun tang*-supplemented diet
 Values are mean \pm SEM of 8 rats.
 *Significantly different compared to the value for rats fed the control diet by Student's t-test at $p < 0.05$.

어 있는 transferrin과 UIBC를 합한 총 transferrin 함량을 의미하며, 개체의 철분 영양상태가 불량할수록 그 수치가 증가하는 것으로 알려져 있다. 대조군의 경우 철분 repletion이 진행되면서 혈청 UIBC 및 TIBC 수치가 계속 감소하는 패턴을 보였다. 실험사육 25일 후 SD군의 혈청 UIBC 수치 ($26.6 \pm 3.0 \mu\text{mol/L}$)는 대조군 ($35.6 \pm 2.0 \mu\text{mol/L}$)에 비해 유의적으로 더 낮았으며 ($p < 0.05$), TIBC 수치 역시 SD군 ($47.4 \pm 2.1 \mu\text{mol/L}$)에서 대조군 ($49.9 \pm 1.6 \mu\text{mol/L}$)에 비해 낮은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 아니었다. 따라서 UIBC 및 TIBC 결과에 근거해 볼 때, 십전대보탕의 섭취는 흰쥐의 철분 생체이용

률에 긍정적인 영향을 미친 것으로 사려된다.

철분결핍이 유도된 흰쥐를 철분이 함유된 실험식으로 4, 12 및 25일간 사육하면서 혈중 헤모글로빈농도, 헤마토크릿 및 MCV 수치를 측정된 결과가 Fig. 3에 제시되어 있다. 대조군의 경우 철분 repletion이 시작되어 25일이 경과할 때까지 혈중 헤모글로빈농도 및 헤마토크릿 수치가 급격히 증가하였으나, MCV 수치에는 변화가 없었다. SD군의 경우, 실험사육 12일 후 헤모글로빈 농도 ($12.2 \pm 0.1 \text{ mg/dl}$) 및 헤마토크릿 수치 ($28.5 \pm 0.5\%$)가 대조군 ($11.2 \pm 0.1 \text{ mg/dl}$, $25.1 \pm 0.5\%$)에 비해 유의적으로 더 높았다 ($p < 0.01$). 십전대보탕의 섭취는 철분결핍 실험동물의 MCV 수치를 증가시켰으며, 특히 대조군과 비교 시 25일 후 유의적인 증가를 나타냈다 ($p < 0.05$). 25일간 자혈양근탕을 섭취한 군은 동일량의 철분을 섭취하는 대조군에 비해 혈중 헤모글로빈농도 및 헤마토크릿 수치가 더 낮은 경향을 보였으나, 통계적으로 유의한 차이는 아니었다. 따라서 혈중 헤모글로빈농도, 헤마토크릿 및 MCV 수치에 근거해 볼 때 십전대보탕의 섭취는 철분의 체내 이용율을 증가시키는 효과가 있었음을 알 수 있다.

철분결핍의 제 1 단계는 체내 저장철의 함량이 감소되는 단계이며, 제 2 단계는 저장 철분의 고갈과 함께 transferrin 포화도가 감소되고 조혈세포에 공급되는 철분이 부족하여 헤모글로빈 생성에 장애가 나타나기 시작하는 단계이다. 제 3 단계는 헤모글로빈 농도의 저하와 함께 뚜렷한 철분결핍성 빈혈증세가 나타나는 단계이다. 일반적으로 철분 영양상태를 정확히 파악하기 위해서는 각 단계별 철분 결핍상태 지표들에 대한 종합적 해석이 필요하며, 본 연구에서 측정된 철분영양상태 관련 다양한 지표들은 십전대보탕 및 자혈양근탕이 철분의 체내이용율에 미치는 효과에 대해 비교적 일관된 결과를 제시하고 있다.

3. Relative biological value

철분 결핍이 유도된 흰쥐를 대상으로 4일 및 12일 간 철분 repletion을 실시한 후 섭취된 총철분 함량에 따른 혈중 헤모글로빈농도 변화 그래프를 유도한 결과, CD군, SD군 및 JD군에서 얻어진 직선그래프의 기울기가 각기 1.12, 1.37, 그리고 1.10으로 나타났다 (Fig. 4A). RBV를 평가하기 위해 한약처방제 첨가식이군에서 얻어진 그래프의 기울기를 대조군에서 얻어진 그래프의 기울기에 대한 백분율로 환산한 결과, SD군 및 JD군의 RBV가 각기 123%와 98.9%로 나타났다. 따라서 hemoglobin repletion bioassay 결과에서도 역시 십전대보탕은 철분의 생체 이용률에 긍정적인 영향을 미쳤음을 알 수 있다.

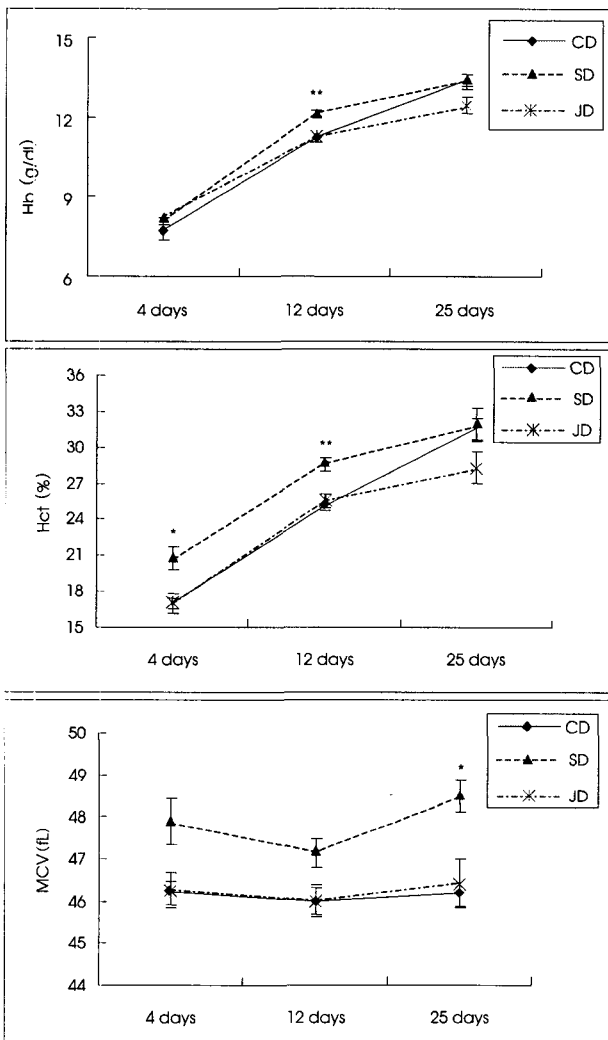


Fig. 3. Hemoglobin (Hb) level, hematocrit (Hct) and mean corpuscular volume (MCV) of rats fed experiment diets for 4, 12 and 25 days
 CD: control diet, SD: *sypjeondaebotang*-supplemented diet, JD: *jahyulyangeun tang*-supplemented diet
 Values are mean \pm SEM of 8 rats.
 *, **Significantly different compared to the value for rats fed the control diet by Student's t-test at * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$.

한편, 철분 결핍이 유도된 흰쥐에게 철분 repletion을 25일까지 연장하여 실시한 경우 총철분섭취량에 대한 혈중 헤모글로빈농도 변화가 일차함수 관계로 증가하지 않았으며, 이를 로그함수관계식으로 변형시켜 곡선의 기울기를 분석한 결과, CD군, SD군 및 JD군에서 각각 2.41, 2.55 및 2.43로 나타났다 (Fig. 4B).

이상의 RBV 결과를 종합해 보면, 십전대보탕을 섭취한 군의 경우 철분 repletion에 따른 헤모글로빈농도 변화의

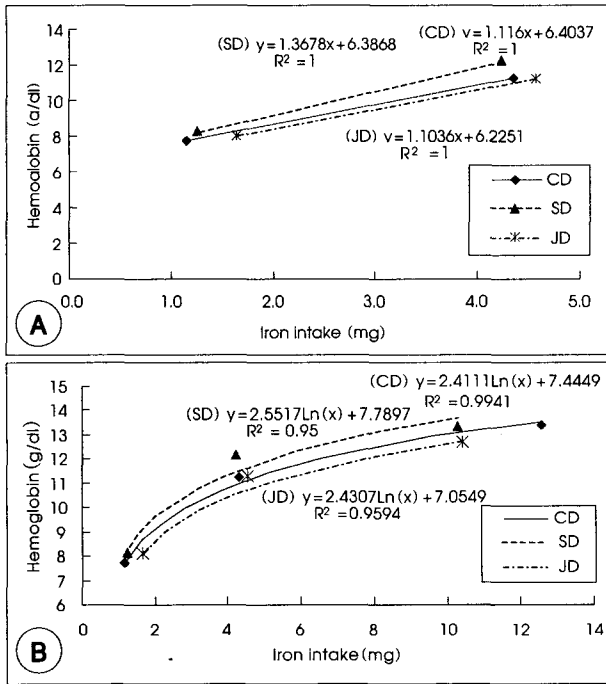


Fig. 4. Changes in hemoglobin concentration of rats fed iron-supplemented experimental diets
 CD: control diet, SD: *sypjeondaebotang* -supplemented diet, JD: *jahyulyangeun tang*-supplemented diet
 (A) Linear regression analysis (B) Non-linear regression analysis

값이 일차 및 로그함수그래프에서 모두 대조군에 비해 더 높게 나타났으며, 이는 십전대보탕이 철분의 생체이용률을 높이는 효과가 있었음을 제시하는 것이다. 본 실험에 이용된 십전대보탕 및 자혈양근탕 시료의 철분함량을 측정된 결과 각기 $193 \pm 25.5 \mu\text{g/g}$ 과 $155 \pm 25.4 \mu\text{g/g}$ 으로 나타났고, 따라서 이들 한약처방을 4 g/kg diet 수준으로 식이에 첨가하는 경우 실험식이의 철분함량은 CD의 경우 $20.000 \mu\text{g/g diet}$, SD의 경우 $20.773 \mu\text{g/g diet}$, 그리고 JD의 경우 $20.619 \mu\text{g/g diet}$ 가 된다. 결과적으로 한약처방제 첨가에 따른 총철분섭취량 추가분은 약 0.5 mg/25 d 미만으로 계산되며, 이는 본 연구의 RBV 결과에 영향을 미칠 수준은 아닌 것으로 사려된다.

4. 철분의 결보기 흡수율 및 보유율

화학평형실험을 토대로 십전대보탕 및 자혈양근탕의 섭취가 철분의 결보기 흡수율 및 보유율에 미치는 효과를 평가한 결과가 Table 3에 제시되어 있다. 동일 실험군내에서 철분 repletion에 따른 철분 흡수율 및 보유율의 변화를 관찰한 결과, repletion 기간이 길어지면서 세군에서 모두 철분 흡수율 및 보유율이 감소하는 추세를 나타냈다. 이와 같은 현상은 철분의 homeostasis를 이루기 위한 체내 적응현상의 일환으로서 체내 철분함량이 부족한 상태에서는 철분 흡수율 및 보유율이 증가하지만, 철분 고갈상태가 완화되면서 흡수율 및 보유율이 감소하기 때문일 것으로 생각된다²⁰⁾. 특히 25일간 십전대보탕을 섭취시킨 결과 동일량의 철분을 섭취하는 대조군에 비해 결보기 철분 흡수율 ($55.0 \pm 2.8\%$ vs $39.2 \pm 5.8\%$) 및 보유율 ($53.7 \pm 3.0\%$ vs $38.4 \pm 6.0\%$)이 유의적으로 감소하였는데 ($p < 0.05$), 이는 십전대보탕의 첨가가 철분의 생체 이용률에 긍정적인 영향을 미쳐 철분 고갈상태를 더 효율적으

Table 3. Apparent iron absorption and retention of rats fed experimental diets for 4, 12 and 25 days

	Group	Dietary Fe intake (mg/d)	Fecal Fe excretion ($\mu\text{g/d}$)	Apparent Fe absorption (%)	Urinary Fe excretion ($\mu\text{g/d}$)	Apparent Fe retention (%)
4 days	CD	0.25 ± 0.04	125 ± 6.9	58.8 ± 4.9	2.41 ± 0.8	56.2 ± 5.2
	SD	0.29 ± 0.02	125 ± 6.2	$57.4 \pm 4.0 \alpha$	1.59 ± 0.4	$57.4 \pm 4.4 \alpha$
	JD	$0.41 \pm 0.06^*$	$162 \pm 14.6^*$	60.0 ± 5.1	5.84 ± 1.7	58.4 ± 5.3
12 days	CD	0.35 ± 0.03	198 ± 13	52.5 ± 3.4	1.61 ± 0.3	52.1 ± 3.4
	SD	0.33 ± 0.04	$151 \pm 9.5^{**}$	$57.6 \pm 1.9 \alpha$	2.17 ± 0.6	$57.0 \pm 1.8 \alpha \beta$
	JD	0.30 ± 0.02	$117 \pm 7.7^{***}$	57.7 ± 4.6	$7.17 \pm 1.9^{**}$	55.3 ± 4.9
25 days	CD	0.48 ± 0.04	232 ± 14.5	55.0 ± 2.8	5.32 ± 1.6	53.7 ± 3.0
	SD	0.40 ± 0.04	212 ± 13.5	$39.2 \pm 5.8 \beta^*$	2.49 ± 0.4	$38.4 \pm 6.0 \beta^*$
	JD	0.46 ± 0.04	254 ± 20.7	43.6 ± 6.8	6.90 ± 2.0	42.0 ± 6.9

CD: control diet, SD: *sypjeondaebotang* -supplemented diet, JD: *jahyulyangeuntang*- supplemented diet

Values are mean \pm SEM of 8 rats.

α, β, γ within the same group indicate significant difference among experimental periods tested by ANOVA at $p < 0.05$.

*, **, *** Significantly different compared to the value for rats fed the control diet by Student's t-test at * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$.

로 완화시켰기 때문인 것으로 풀이된다. 한편, 25일간 자혈양근탕을 섭취시킨 결과 동일량의 철분을 섭취한 대조군에 비해 겉보기 철분 흡수율 ($43.6 \pm 6.8\%$) 및 보유율 ($42.0 \pm 6.9\%$)이 감소하는 경향을 나타냈으나, 통계적으로 유의한 수준은 아니었다.

이상의 연구결과를 종합해 볼 때 십전대보탕은 자혈양근탕에 비해 철분의 생체이용률에 더 바람직한 영향을 미치는 것으로 평가되었고, 한약처방의 종류에 따라 무기질의 생체이용률에 미치는 영향에 차이가 있을 것으로 사려되므로, 앞으로 다양한 한약소재를 대상으로 한 연구가 계속되어야 할 것으로 생각된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 십전대보탕 및 자혈양근탕의 섭취가 철분 생체이용률에 미치는 영향을 평가하기 위하여 철분결핍이 유도된 흰쥐를 대상으로 대조식이 (CD), 십전대보탕 첨가식이 (SD) 또는 자혈양근탕 첨가식이 (JD)를 섭취시킨 후 다양한 철분영양상태 관련 지표들, 그리고 철분흡수율 및 보유율을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 십전대보탕 또는 자혈양근탕 첨가 식이를 25일간 섭취시킨 결과 대조군에 비해 식이섭취량이 유의하게 감소하였으나, 체중증가를 또한 감소하여 식이효율에는 유의적인 변화가 초래되지 않았다.

2) 철분결핍이 유도된 흰쥐를 대상으로 실험식이를 25일간 섭취시킨 결과, CD군에 비해 SD군의 혈청 철분농도 및 transferrin 포화도가 유의적으로 더 높았으며, UIBC 및 TIBC 수치는 더 낮았다. 한편, 십전대보탕을 12일간 섭취시킨 결과 동일량의 철분을 섭취시킨 대조군에 비해 혈중 헤모글로빈농도, 헤마토크릿 및 MCV 수치가 유의하게 증가하였다.

3) Hemoglobin repletion bioassay를 통해 한약처방 첨가 식이의 RBV를 평가한 결과, 십전대보탕을 섭취한 군은 대조군에 비해 철분 repletion에 따른 헤모글로빈 농도 변화 그래프의 기울기가 더 높게 나타났으며, 이는 십전대보탕이 철분의 생체 이용률을 높이는 효과가 있음을 제시하는 결과로 사료된다.

4) 25일간 십전대보탕을 섭취한 군은 동일량의 철분이 함유된 식이를 섭취하는 대조군에 비해 겉보기 철분흡수율 및 보유율이 유의적으로 더 낮았는데, 이는 십전대보탕의 섭취가 체내 철분 고갈상태를 더 효율적으로 완화시켰기 때문으로 생각된다.

5) 철분영양상태 관련 생화학적 지표들, RBV, 그리고

화학평형연구 결과를 종합하여 볼 때 자혈양근탕은 십전대보탕보다 철분의 체내 이용률에 미치는 효과가 더 미약한 것으로 나타났다.

Literature cited

- 1) Kye SH, Paik HY. Iron nutriture and related dietary factors in apparently healthy young Korean women (2): analysis of iron in major food items and assessment of intake and availability of dietary iron. *Korean J Nutrition* 26(6): 703-714, 1993
- 2) 윤진숙. 철분영양상태 향상을 위한 방안. *한국영양학회지* 33(8): 924-927, 2000
- 3) Breyman C. Iron deficiency and anemia in pregnancy: modern aspects of diagnosis and therapy. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 29(3): 506-516, 2002
- 4) Vital Health Statistics. Series 11, 70.229, 1982
- 5) Tchai BS, Kang EJ, Lee, Han JH. A study on the anemia prevalence in Korea. *Korean J Nutrition* 14(4): 182-189, 1981
- 6) Ahn HS, Lee JY, Kim SK. Assessment of dietary iron availability and analysis of dietary factors affecting hematological indices in iron deficiency anemic female high school students. *Korean J Nutrition* 32(7): 787-792, 1999
- 7) 이기완, 박영심, 박태선, 김은경, 장미라. 한국인의 식생활 100년 평가 (I), 신광출판사, 서울, 1998
- 8) Sandstrom B, Davidsson L, Cederblad A, Lonnerdal B. Oral iron, dietary ligands and zinc absorption. *J Nutr* 115: 411-414, 1985
- 9) Yu S, West C, Beynen A. Increasing intakes of iron reduce status, absorption and biliary excretion of copper in rats. *Br J Nutr* 71: 887-895, 1994
- 10) 구분홍, 정규만. 십전대보탕에 관한 문헌적 고찰, 동서의학 5(2): 16-20, 1980
- 11) Mei QB, Tao TY, Cui B. Advances in the pharmacological studies of Radix Angelica Sinensis (Oliv) Diels (Chinese Danggui). *Chin Med J Engl* 104: 776-781, 1991
- 12) Jo SK, Yu YB, Oh H, Kim SR, Kim SH. The effects of Shi-Quan-Dai-Bu-Tang and its ingredients on the survival of jejunal crypt cells and hematopoietic cells in irradiated mice. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 29(1): 93-98, 2000
- 13) Hwang JB, Yang MO, Shin HK. Survey for approximate composition and mineral content of medicinal herbs. *Korean J Food Sci Technol* 29(4): 671-679, 1997
- 14) Lim HJ, Hwang GS, Park T. Effects of the oriental medicinal prescriptions, Jahyulyangeun-tang and Yanghyuljangeunkeonbohwan, on calcium absorption in the human colon carcinoma cell line (Caco-2 cells). *Korean J Nutrition* 35(4): 446-453, 2002
- 15) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. 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
- 16) Miller J. Factors affecting evaluation of relative biological value of dietary iron for rats. *J Nutr* 112: 2381-2385, 1982
- 17) Miller J, McNeal LS. Bioavailability of egg yolk measured by hemoglobin regeneration in anemic rats. *J Nutr* 113: 115-123, 1983
- 18) Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis, 16th ed., pp.62-63, AOAC International, Arlington, 1995
- 19) Ravel R. Clinical laboratory medicine: clinical application of laboratory data, 5th ed., Year Book Medical Publishers, Chicago, 1989
- 20) Hallberg L, Hulthen L, Garby L. Iron stores in man in relation to diet and iron requirements. *Eur J Clin Nutr* 52(9): 623-631, 1998