

해조 올리고당 음료가 고지혈증 유도 쥐에 있어서 혈액 지질 산화 및 혈액·혈장 응고에 미치는 영향

주동식[†]·이진경*·김옥선*·조순영*·이득식·제외권**·최종원***

동해대학교 의식산업학과, *강릉대학교 동해안해양생물자원연구센터

동명대학 식품가공과, *경성대학교 약학대학

Effect of Seatangle Oligosaccharide Drink on Oxidation of Serum Lipid and Bleeding and Plasma Clotting Time in Rats Fed a Hyperlipidemic Diet

Dong-Sik Joo[†], Jin-Kyung Lee*, Ok-Seon Kim*, Soon-Yeong Cho*,
Deuk-Sik Lee, Yoi-Kweon Je** and Jong-Won Choi***

Dept. of Foodservice Industry, Donghae University, Donghae 240-713, Korea
*East Coastal Marine Bioresources Research Center, Kangnung National University,
Kangnung 210-703, Korea

**Dept. of Food Technology, Dong Myung College, Busan 608-080, Korea

***College of Pharmacy, Kyungsung University, Busan 608-736, Korea

Abstract

We investigated the effect of seatangle drink and seatangle extract on lipid oxidation, blood coagulation and intestinal movement in rats fed a hyperlipidemic diet. In the dietary hyperlipidemic induced group, the serum superoxide dismutase activity decreased and formation of hydroxy radical increased when compared to normal group, but these were controlled by seatangle drink treatment. The decreased of bleeding time and increased of tissue factor in the dietary hyperlipidemic rats were regulated by seatangle drink and seatangle extract, and especially the activity of tissue factor was remarkably decreased. Seatangle drink and seatangle extract were increased contraction on intestinal movement. Therefore, it can be concluded that seatangle drink or seatangle extract treatment depresses changing in absorption of gastrointestinal track in rats fed a hyperlipidemic diet.

Key words: seatangle drink, seatangle extract product, hyperlipidemic diet, lipid oxidation, blood coagulation, tissue factor

서 론

최근 식생활 수준의 향상으로 동물성 지방질 과다 섭취, 운동부족, 과음 등으로 인해 성인병의 주요한 원인이 되고 있는 비만이 급격하게 증가하고 있는 상황이며, 이 때문에 고지혈증, 고혈압 등에 의한 뇌혈관 질환이 급격히 증가하고 있다(1). 고지혈증은 혈장 내에 콜레스테롤(cholesterol)과 중성지방(triglyceride) 등과 같은 지질이 비정상적으로 증가된 상태를 말하는데, 고지혈증, 특히 고콜레스테롤혈증은 죽상동맥경화증(atherosclerosis)을, 고중성지방증은 췌장염을 유발하기 때문에 임상적으로 문제가 되고 있다(2). 한편, 동맥경화의 원인은 손상반응설(reaction to injury hypothesis)(2,3)이 가장 유력시되고 있으며, 손상된 혈관의 복원 파탄으

로 간주되는 다양한 반응으로 인하여 발생한다. 손상반응설은 혈관 내피세포가 손상되어 내피층내로 특정 인자가 분비되어 internal elastic lamina를 통해 매끈평활근 세포가 전이하여 혈관내막 내에서 점진적 증식작용이 일어나며, 평활근 세포에 의한 collagen, elastin 및 proteoglycan의 합성 현상에 이어, 세포 내외 lipid 축적 그리고 혈전형성 동반 작용에 의한 것이다. 최근에는 고지혈증시 산화적 스트레스에 의한 superoxide와 oxygen free radical의 생성에 의해 nitric oxide(major endothelial relaxing factor)가 감소된다는 보고와, 동맥벽의 대식세포 또는 내피세포 내에서 free radical에 의한 산화적 반응으로 생성된 oxidized LDL이 고지혈증으로 인한 동맥경화의 주요 원인(4,5)이라는 보고가 있다.

한편, 해조류는 체내 다양한 효과를 가지는 기능성 식품

[†]Corresponding author. E-mail: dsjoo777@yahoo.co.kr
Phone: 82-33-520-9253, Fax: 82-33-520-9251

소재로 주목을 받고 있는데, 특히 비만 개선, 콜레스테롤 저하 등과 같은 효과가 다양한 연구진에 의해 확인된 바 있다(6,7).

본 논문은 해조의 고부가가치적 이용을 위해 해조로부터 해조 다당과 올리고당을 다당으로 함유한 해조 음료 소재와 이를 소재로 기능성 해조 음료를 제조하여 이를 고지혈증 쥐에 투여하여 혈액의 지질 산화에 대한 영향과 혈액 및 혈장 응고에 미치는 영향을 시험하였고, 아울러 쥐와 토끼의 소장 운동 및 회장에 미치는 영향에 대해 기술하고자 한다.

재료 및 방법

원료, 첨가물, 해조 음료 소재 및 다시마 음료

다시마는 시판되는 건조 다시마를 수협에서 직접 구입하여 냉수에 수세하여 건조한 다음, 수도수로 5분 이내로 간단하게 재수세하여 열풍 건조(45±2°C, Jeio Tech Co., Korea)하여 수분 함량이 10% 정도로 한 것을 분쇄하여(60~80 mesh) 해조 음료 제조용 원료로 이용하였다. 원료 다시마로부터 음료 소재 추출에 이용한 구연산과 음료 제조시 첨가한 벌꿀, 포도당, 비타민 C, 황산 콘드로이틴, 당귀추출액, 사과 과즙 농축액은 식품 첨가물용으로 시판되는 것을 구입하여 사용하였다.

해조 음료의 제조는 원료 다시마로부터 0.5% 구연산 용액을 이용하여 120°C에서 60분 이상 추출하여 얻어진 추출액을 음료 소재로 하였으며, 이 음료 소재에 일정 비율의 음료 첨가물을 첨가하여 해조 음료를 제조하였다(8). 다시마 추출물 제품은 시판되는 제품을 실험에 이용하였다.

실험동물 및 처치

실험동물은 대한실험동물센터로부터 분양받아 동물 사육실에서 일정한 조건(온도: 22±1°C, 습도: 55±3%, 명암: 12시간 light/dark cycle)으로 1주 동안 고품사료로 적응시킨 체중 200±10 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 및 ICR계 생쥐(20±2 g)를 사용하였다. 식이성 고지혈증 model의 유도는 1%의 cholesterol과 0.5% Na-cholic acid를 첨가 조제한 Table 1과 같은 콜레스테롤 식이로 6주간 사육하여 고지혈증을 유도하였다. 실험동물은 고지혈증을 유도하지 않은 1개 그룹과 고지혈증을 유도한 그룹을 실험 시료의 종류에 따라 4개 그룹으로 나누어 총 5개 그룹으로 실험을 행하였다. 실험시료는 A(해조음료), B(해조음료 소재), C(다시마 추출 음료)로 10 mL/kg을 경구 투여하였으며, 대조물질은 cholestyramine resin(CSR, 100 mg/kg, 럭키제약)을 생리식염수에 현탁하여 고지혈증 유도 마지막 2주일간 각각 needle zonde를 사용하여 하루에 한번 씩 경구투여하였다.

효소원의 조제

시료의 투입이 끝난 실험동물에 sodium phenobarbital 200 mg/kg을 복강주사하여 마취시킨 후 bleeding time을 측

Table 1. Composition of basal and hyperlipidemic diet

Ingredient	Basal diet (%)	Hyperlipidemic diet (%)
Casein	20.0	20.0
DL-Methionine	0.3	0.3
Corn Starch	15.0	15.0
Sucrose	50.0	48.5
Fiber ¹⁾	5.0	5.0
Corn oil	5.0	5.0
AIN-mineral mixture ²⁾	3.5	3.5
AIN-vitamine mixture ³⁾	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2
Cholesterol	-	1.0
Na-cholate	-	0.5

¹⁾Cellulose: Sigma Co. LTD., USA.

²⁾Mineral mixture based on the pattern of Rogers and Harper (1965) contain the following (g/kg diet): calcium phosphate dibasic 500.0, sodium chloride 74.0, potassium citrate monohydrate 220.0, potassium sulfate 52.0, magnesium oxide 24.0, magnesium carbonate 3.5, ferric citrate 6.0, zinc carbonate 1.6, cupuric carbonate 0.3, potassium iodate 0.01, chromium potassium sulfate 0.55, sucrose, finely powered make 1,000.0.

³⁾Vitamin mixture (g/kg): thiamin HCl 0.6, biotin 0.02, riboflavin 0.6, cyano-cobalamine 0.001, pyridoxine HCl 0.7, retinyl acetate 0.8, nicotinic acid 3.0, DL-tocopherol 3.8, Ca-pantothenate 1.6, 7-dehydrocholesterol 0.0025, folic acid 0.2, menadione 0.005, sucrose, finely powered to make 1,000.0.

정하였다. 측정 후 이산화탄소(CO₂)로 가볍게 마취시키고 복부대동맥으로부터 혈액을 채취하였고 간장은 0.9% 생리식염수로 관류시켜 조직 내 혈액을 제거하고 간장, 폐, 뇌, 신장, 비장, 심장을 적출하여 생리식염수에 씻은 후 여지로 가볍게 압박하여 남아있는 혈액 및 생리식염수를 제거하였다. 채취한 혈액의 일부는 실온에서 30분간 방치한 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하고 지질함량의 측정, lipid peroxide, hydroxy radical 함량 및 superoxide dismutase 활성의 측정에 사용하였고 나머지는 3.13% sodium citrate 용액이 혈액의 1/10이 되도록 하여 2500 rpm에서 10분간 원심분리한 후 혈장(citrated plasma)을 분리하여 plasma clotting time, tissue factor activity의 측정에 사용하였다. 뇌와 폐 조직은 1 g당 4배량의 0.15 M NaCl 용액(saline solution)을 가하여 뇌조직은 2분간 glass-teflon homogenizer로 마쇄하였고, 폐조직은 1분간 stainless-blade homogenizer로 마쇄한 후 1분간 glass-teflon homogenizer로 마쇄하였다. 조직 마쇄액을 600×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 다시 ultracentrifuge로 105,000×g에서 1시간 초원심분리한 후, 침전부분을 초원심분리한 후의 상등액과 같은 부피의 saline 용액으로 현탁하여(glass-teflon) 이것을 Tissue Factor(TF) crude solution으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 따로 규정이 없는 한 4°C 이하에서 행하였다.

혈중 lipid peroxide 함량의 측정

혈청중 lipid peroxide의 함량은 Yagi의 방법(9)에 따라 혈청에 1/12 N H₂SO₄와 10% phosphotungstic acid를 가하여 25°C에서 5분간 preincubation한 후 원심분리하여 침전물인

혈청단백질만 취해서 다시 1/12 N H₂SO₄와 10% phosphotungstic acid를 가하여 원심분리한 후 침전물만을 취하여 증류수 1 mL와 0.67% thiobarbituric acid와 50% acetic acid를 가하여 95°C에서 50분간 반응시켜 실온에서 냉각 후 n-BuOH을 5 mL 첨가하여 10분간 원심분리하여 생성된 홍색의 n-BuOH 층을 취하여 형광스펙트로미터를 사용하여(Ex: 515 nm, Em: 553 nm) 흡광도를 측정하여 표준곡선에서 그 함량을 혈청 1 mL 당 malondialdehyde nmole로 표시하였다.

혈중 hydroxy radical 함량의 측정

Hydroxy radical의 측정은 Kobatake 등의 방법(10)에 따라 혈청 34.8 µL에 0.54 M NaCl, 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4), 10 mM NaN₃, 7 mM deoxyribose, 5 mM ferrous ammonium sulfate 및 증류수로서 333.3 µL가 되도록 첨가하여 vortex에서 잘 혼합하여 37°C에서 15분간 정치한다. 혈청 67 µL를 취하고 여기에 8.1% sodium dodecyl sulfate 75 µL, 20% acetic acid 500 µL 및 재증류수 25 µL를 넣어 혼합한 다음, 여기에 다시 1.2% thiobarbituric acid 333 µL를 가하여 수조(100°C)에서 30분간 가열한 후 실온에서 냉각한 다음 700×g에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액을 파장 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의하여 hydroxyl radical(nmole/mg protein)의 함량을 정량하였다.

혈중 superoxide dismutase(SOD) 활성의 측정

혈중 superoxide dismutase(SOD) 활성의 측정은 Oyanagai의 방법(11)에 따라 정량하였다. 혈청을 potassium phosphate buffer로써 100배 희석하여 그 중의 100 µL를 시험관에 넣고 여기에 증류수 500 µL, 시약 A(3 mM hydroxyamine/3 mM hypoxanthine) 200 µL 및 시약 B[7.5 mU/mL xanthine oxidase(XOD) with 0.1 mM EDTA-2Na] 200 µL를 넣고 vortex에서 잘 혼합한 다음, 37°C water bath에서 40분간 정치한다. 반응액에 시약 C(300 mg of sulfanilic acid/5.0 mg N-1-naphthyl-ethylenediamine in 500 mL of 16.7% acetic acid) 2.0 mL을 넣어 잘 혼합하여 실온에서 20분 동안 정치한 다음 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 준하여 혈청중의 superoxide dismutase 활성을 측정하였다.

Plasma clotting time의 측정

플라스틱 시험관을 37°C의 수조에 담그고 혈장 100 µL, saline(0.15 M NaCl) 100 µL, 25 mM CaCl₂ 100 µL를 가하고 섞은 후 가만히 흔들어 주면서 CaCl₂를 가한 후부터 혈장이 응고하기까지의 시간을 측정하였다.

Tissue factor 활성의 측정

Quick과 Surprenant 등의 방법(12,13)에 준하여 플라스틱 시험관을 37°C 수조상에 담가두고 plasma 100 µL, TF stock을 saline 용액으로 희석한 것 100 µL(saline만 100 µL 넣은 것을 blank로 함)를 가하고 25 mM CaCl₂ 100 µL를 넣고 섞은 후 시험관을 수욕상에서 꺼내 가만히 기울여보고 다시 담

그고 하면서 CaCl₂를 첨가한 후부터 응고할 때까지의 시간을 재었으며 모두 2회 반복 실시하였다. Saline을 넣지 않고 TF stock만을 넣었을 때의 혈장 응고시간을 100% TF activity로 정하고 TF stock을 넣지 않고 saline만을 넣은 혈장의 응고시간을 0%로 하여 농도를 log scale로 x축에, activity %를 y축에 표시하여 standard curve를 그렸으며 이 그래프에서 50% TF activity가 되는 TF의 양을 1 unit로 정하여 tissue factor 활성을 표시하였다.

Bleeding time의 측정

Han 등의 방법(14)에 의하여 마취된 실험동물을 꼬리 끝에서 0.3 cm 자른 후 곧 37.5°C saline 용액의 꼬리를 5 cm 담그고 지혈될 때까지의 시간을 측정하였다.

쥐의 소장 운동 및 적출 토끼 회장의 수축 정도 측정

20시간 절식시킨 체중 20~25 g의 수컷 생쥐(mouse) 10마리를 한 군으로 하여 해조 음료를 경구투여하고 1시간후에 charcoal meal(탄밀 50%, arabia 고무 현탁액)을 0.2 mL/mouse로 하여 경구투여한 다음 30분 후 치사시켜 개복하고서 유문부에서 맹장직전까지 적출한 후 charcoal meal의 이동거리(cm)를 측정하고 아래와 같은 식에 의해 소장 운동 정도를 비교하였다.

이동 거리(%) =

$$\frac{\text{유문부로부터 charcoal meal의 이동 거리}}{\text{소장 전체의 길이(유문부-맹장)}} \times 100$$

토끼 적출 회장 표본은 토끼에게 시료를 섭취시킨 다음 소장을 노출하고 맹장과 소장의 접합부에서 10~15 cm되는 곳으로부터 30 cm 가량의 회장을 절단해 내어 tyroid solution에 담그고 syringe를 이용하여 장부의 내용물을 씻어 내었다. 적출 회장은 2.0~2.5 cm 길이로 절단하여 37°C, 95% O₂-5% CO₂ 혼합가스로 포화시킨 tyroid solution이 담긴 organ bath 내에 현수하고 적출 표본을 안정화시킨 후 시험 시료를 가하여 isotonic 수축 정도의 변화를 대조(공)시험에 대한 %로 나타내었다.

단백질함량

단백질 함량은 Lowry 등의 방법(15)에 준하여 bovine serum albumin(Sigma, Fr.V)을 표준품으로 하여 측정하였다.

통계처리

실험 결과는 평균치±표준편차로 표시하였고 각 군의 유의성 검정은 ANOVA로 검증한 후 실험군간의 통계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 시행하였다.

결과 및 고찰

해조 음료 제조

전보(8)에서 보고한 것처럼 다시마 유기산 분해물을 제조한 다음, 이 분해물에 다양한 첨가물을 첨가하여 해조취나

Table 2. Effects of seatangle drinks on the serum lipid peroxide, hydroxy radical content and superoxide dismutase activity in rats fed a hyperlipidemic diet

Group ¹⁾	Dose (mg/kg)	Lipid peroxide ²⁾	Hydroxy radical ³⁾	SOD ⁴⁾
Normal		23.3 ± 1.17 ^{3)db)}	2.54 ± 0.09 ^c	3.09 ± 0.19 ^a
Control		42.9 ± 2.30 ^a	5.87 ± 0.18 ^a	1.99 ± 0.04 ^d
Sample A	10	35.4 ± 1.98 ^b	4.89 ± 0.14 ^b	2.56 ± 0.08 ^c
Sample B	10	32.6 ± 2.10 ^b	4.45 ± 0.30 ^c	2.45 ± 0.11 ^c
Sample C	10	35.3 ± 1.19 ^b	4.78 ± 0.19 ^c	2.67 ± 0.16 ^{bc}
CSR	100	26.5 ± 1.10 ^c	2.89 ± 0.16 ^d	2.87 ± 0.10 ^{ab}

The sample (A~C) and cholestyramine resin (CSR) were orally administered daily for two weeks, and rats were sacrificed 24 hr after the final dose.

The assay procedure was described in the experimental methods.

¹⁾Normal: basal diet group, Control: hyperlipidemic diet group.

Sample A: seatangle drink, Sample B: citric acid extract of seatangle, Sample C: market product of seatangle extract.

²⁾Serum lipid peroxide content: malondialdehyde (MDA) nmole/mL.

³⁾Serum hydroxide radical content: hydroxy radical nmole/mg protein.

⁴⁾Serum superoxide dismutase activity: unit⁵⁾/mg protein.

⁵⁾ one unit will inhibit the rate of reduction of cytochrome C by 50% in a coupled system with xanthine and xanthine oxidase at pH 7.8 at 25°C in a 3.0 mL reaction volume.

³⁾Values are mean ± SD (n=8).

⁶⁾Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

맛을 교정하여 최종 해조 음료를 제조하였다.

혈중 과산화 지질의 생성에 미치는 영향

식이성 고지혈증을 유도한 뒤 해조 올리고당 음료를 처리하였을 때 혈중 과산화 지질의 함량과 과산화지질 생성계 및 제거계에 미치는 영향을 조사한 결과를 Table 2에 나타내었다. 과산화 지질 함량은 고지혈증 유발 식이를 급여한 실험군이 42.9 nmole/mL로 정상 식이 실험군의 23.3 nmole/mL보다 2배 가량 증가하는 것으로 확인되었으며, 혈중의 hydroxy radical의 함량도 2배 이상 증가하는 것으로 나타났다. 한편, 해조 음료를 투여한 실험군의 경우, 정상 식이군에는 미치지 못했으나 과산화 지질의 함량과 hydroxy radical의 함량을 낮추는 효과가 있다는 것을 확인하였고, 다시마 추출음료도 비슷한 경향을 나타내었다. 아울러 superoxide dismutase(SOD) 활성에 미치는 영향에서는 고지혈증 유도 실험군의 경우는 1.99 unit/mg protein로 혈중 SOD의 활성이 정상 실험군 3.09 unit/mg protein에 비해 약 34% 억제되었으며, 반면 해조 음료 및 다시마 추출음료의 투여로 정상 실험군에는 미치지 못하지만 2.56 unit/mg protein로 증가하는 것으로 나타났다. 한편, 지질 과산화 반응은 생리 조건이 정상인 상태에서는 방어체계의 조절에 의하여 free radical의 생성과 억제의 균형이 유지되어 지질과산화 반응으로 기인된 손상은 일어나지 않지만, 세포내 산화적 자극이 증가하여 free radical의 생성 증가나 방어 체계 능력의 감소가 일어났을 때는 생체에 심각한 독성을 나타내게 된다. 일반적으로 lipid peroxide의 생성은 병태생리 현상이나 조직의 손상 정도를 나타내는 지표로 생체막 구성 성분인 인지질의 불포화 지방산은 활성 산소종과 같은 free radical에 의해 과산화 반응이 시작되어 연쇄적으로 진행되며(16,17), 지질의 과산화 반응은 세포막의 투과성을 향진시킬 뿐만 아니라 전반적인 세

포독성을 초래하여 노화 현상이나 이에 따른 여러 가지 질환의 병리 현상을 초래하는 것으로 알려져 있으며 해독기구의 작용으로 무독화된다고 한다(18,19). 본 실험에서 식이성 고지혈증을 유발시킨 후 해조 올리고당 함유 음료를 처리하고서 흰쥐의 혈중 hydroxy radical의 생성과 superoxide dismutase(SOD)의 활성을 측정하였던 바 고지혈증유도로 증가되었던 hydroxy radical이 해조 음료 및 다시마 추출음료의 투여로 감소되었으며, 생체내 해독 체계중의 하나인 SOD의 활성은 오히려 증가되었다. 이러한 결과는 해조 음료 및 다시마 추출음료가 혈중의 지질 과산화를 억제한다는 것을 시사하고 있으며, 아울러 혈중 지질함량 및 콜레스테롤 함량을 감소시키므로 혈관계 질환의 예방에 효과가 있다는 것을 나타내고 있다.

혈액 및 혈장 응고 시간에서의 영향

식이성 고지혈증을 유도한 흰쥐의 bleeding time에 미치는 해조 음료의 영향을 실험한 결과를 Table 3에 나타내었다. 식이성 고지혈증 쥐의 bleeding time은 115.4초로 정상군의 267.2초에 비해 약 44% 감소되었으나, 식이성 고지혈증 쥐에 해조 음료를 투여한 결과 bleeding time이 115.4초에서 236.7초로 정상 식이군에 근접한 결과를 나타내었으며, 다시마 추출음료도 200.7초로 bleeding time이 연장되는 것이 확인되었다. 이러한 결과는 해조 올리고당 음료나 다시마 추출음료가 혈중의 혈액 응고를 방지할 수 있다는 것을 시사하는 결과로 판단된다.

한편, 식이성 고지혈증 흰쥐에 해조 음료를 식이하였을 때 plasma clotting time에 미치는 영향에 대해 고찰한 결과를 Table 4에 나타내었다. 고지혈증 유도군이 105.7초로 정상군의 234.5초에 비해 44% 정도 감소하였던 것이 해조 음료 식이로 정상군의 75~80% 정도까지 plasma clotting time을 회복

Table 3. Effects of seatangle drinks on the bleeding time in rats fed a hyperlipidemic diet

Group ¹⁾	Dose (mg/kg)	Bleeding time (sec)
Normal		267.5 ± 40.3 ^{2)a3)}
Control		115.4 ± 29.8 ^{d)}
Sample A	10	236.7 ± 22.2 ^{abc)}
Sample B	10	210.6 ± 30.0 ^{bc)}
Sample C	10	200.7 ± 19.4 ^{c)}
CSR	100	249.2 ± 14.9 ^{ab)}

The sample (A~C) and cholestyramine resin (CSR) were orally administered daily for two weeks, and rats were sacrificed 24 hr after the final dose.

The assay procedure was described in the experimental methods.

¹⁾Refer to the Table 2.

²⁾Values are mean ± SD (n=8).

³⁾Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 4. Effects of seatangle drinks on the plasma clotting time in rats fed a hyperlipidemic diet

Group ¹⁾	Dose (mg/kg)	Clotting time (sec)
Normal		234.5 ± 29.3 ^{2)a3)}
Control		105.7 ± 19.2 ^{d)}
Sample A	10	176.3 ± 19.0 ^{bc)}
Sample B	10	167.3 ± 15.7 ^{c)}
Sample C	10	187.9 ± 17.3 ^{bc)}
CSR	100	210.3 ± 15.8 ^{ab)}

The sample (A~C) and cholestyramine resin (CSR) were orally administered daily for two weeks, and rats were sacrificed 24 hr after the final dose.

The assay procedure was described in the experimental methods.

¹⁾Refer to the Table 2.

²⁾Values are mean ± SD (n=8).

³⁾Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

시키는 효과가 있는 것으로 확인되었다. 한편, tissue factor (thromboplastin)의 활성화에 미치는 해조 올리고당 음료의 영향을 살펴본 결과(Table 5), 정상 식이군의 뇌에서의 tissue factor의 활성이 3.12 unit/mL인데 비해 식이성 고지혈증 유도군의 활성은 6.78 unit/mL로 정상군에 비해 1.9배 증가하였다. 해조 올리고당 음료와 다시마 추출 음료를 식이한 결과 고지혈증 유도군에 비해 약 30% 정도 감소하였다. 또한 폐의 tissue factor 활성은 고지혈증 유도군이 20.4 unit/mL이었고, 정산군의 활성 8.56 unit/mL의 2.3배에 달하였으나 해조 올리고당 음료를 식이한 결과 25% 정도의 tissue factor를 저하시키는 것으로 나타났다.

한편, 혈장응고의 개시반응은 이중표면 또는 활성화표면에 의한 factor XIII(Hageman factor)의 활성화로 시작되는 내인계경로(intrinsic pathway)와 조직인자(Tissue factor, tissue thromboplastin)에 의한 factor VIII의 활성화로 시작되는 외인계경로(extrinsic pathway)로 구성된다. Tissue factor(TF)는 혈관내피세포에 주로 존재하는 lipoprotein으로서 정상적인 상태에서는 세포외막과 혈장 내에 소량 존재하다가 감염

Table 5. Effects of seatangle drinks on the tissue factor activity of brain and lung in rats fed a hyperlipidemic diet

Group ¹⁾	Dose (mg/kg)	Brain (Unit/mL)	Lung (Unit/mL)
Normal		3.12 ± 0.45 ^{2)c3)}	8.56 ± 0.27 ^{d)}
Control		6.78 ± 0.54 ^{a)}	20.4 ± 1.54 ^{a)}
Sample A	10	6.45 ± 0.38 ^{d)}	19.4 ± 0.87 ^{a)}
Sample B	10	4.87 ± 0.40 ^{b)}	16.2 ± 1.44 ^{b)}
Sample C	10	4.99 ± 0.27 ^{b)}	15.2 ± 1.25 ^{b)}
CSR	100	4.57 ± 0.34 ^{b)}	11.3 ± 1.16 ^{c)}

The sample (A~C) and cholestyramine resin (CSR) were orally administered daily for two weeks, and rats were sacrificed 24 hr after the final dose.

The assay procedure was described in the experimental methods.

¹⁾Refer to the Table 2.

²⁾Values are mean ± SD (n=8).

³⁾Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

이나 다른 병적인 상태에서 세포외막의 TF가 증가되고, 이때 TF가 혈액에 노출되면 외인계나 내인계의 단계적인 혈액 응고반응이 시작되어 혈액이 응고되는데 이 혈액응고 촉진 작용은 혈관 손상시의 지혈반응에는 필수적이지만 심근경색, 암, 그 외 기타 혈액응고에 의한 질병시에 그 혈액응고를 촉진시키는 것으로 알려져 있다(20,21). 본 실험에서는 식이성 고지혈증의 유발로 TF의 활성이 현저히 증가하였으나 해조 음료의 투여로 조절되었다. 이것은 배양세포에 oxidized LDL-cholesterol을 첨가하였을 때 TF의 활성이 증가하였다는 보고(22,23)와 관련지어 볼 때 식이성 고지혈증으로 인해 생성된 과도한 양의 혈중 과산화 지질의 혈관벽상해로 인해 TF가 발현되어, 지질대사의 이상으로 과잉생성된 cholesterol함량에 의해 TF활성이 증가하였으며 해조 음료의 투여로 인한 지질대사 이상의 개선으로 그 활성이 조절된 것으로 사료된다. 식이성 고지혈증의 유발로 대조군에 비해 현저히 감소된 bleeding time은 고지혈증으로 유도된 tissue factor의 활성화에 기인한 것으로 생각되어지며 해조올리고당의 처리로 다소 연장된 bleeding time은 tissue factor의 활성 조절과 관련된 것으로 생각되어진다.

이상의 bleeding time, plasma clotting time 및 tissue factor에 미치는 해조 올리고당 음료의 효과로 판단해 볼 때, 혈관의 혈액 응고에 의한 고혈압 또는 동맥경화 및 심장 질환과 같은 성인병 예방에도 효과가 있을 것으로 여겨진다.

쥐의 소장 운동 및 적출 토끼 회장에의 영향

해조 음료를 투여하고서 charcoal meal의 이동거리를 비교하여 효과를 평가한 결과를 Table 6에 나타내었다. 정상 식이군에서는 charcoal meal의 이동 거리가 63.4%이던 것이 해조 음료 투여로 78.2%의 이동거리를 나타내어 비율로 보면 24% 정도 더 이동한 것으로 확인되었으며, 다시마 추출 음료의 경우 이동거리가 86.4%로 정상 식이군에 비해 36% 정도 더 이동한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 해조 음료가

Table 6. Effects of seaweed oligosaccharide drink on the gastrointestinal motility of mice

Group ¹⁾	Dose (mg/kg)	Motility (%)
Normal		63.4±2.34 ^{2)c3)}
Sample A	10	78.2±2.49 ^b
Sample B	10	73.6±2.19 ^b
Sample C	10	86.4±3.44 ^a

The sample (A~C) and cholestyramine resin (CSR) were orally administered daily for two weeks, and rats were sacrificed 24 hr after the final dose.

The assay procedure was described in the experimental methods.

¹⁾Refer to the Table 2.

²⁾Values are mean±SD (n=8).

³⁾Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 7. Effects of seatangle drinks on the contractility of isolated rabbit ileum

Conc (mg/mL)	% of contraction		
	Sample A ¹⁾	Sample B	Sample C
10 ⁻²	7.47±0.76 ^{2)d3)}	2.46±0.33 ^d	10.5±1.32 ^e
3×10 ⁻²	9.88±0.17 ^c	3.51±0.21 ^c	15.1±1.45 ^d
10 ⁻¹	10.4±1.48 ^c	5.17±0.09 ^b	20.4±2.11 ^c
3×10 ⁻¹	15.7±1.54 ^b	5.03±0.11 ^b	39.3±1.18 ^b
1	23.0±1.39 ^a	6.13±0.15 ^a	46.7±2.30 ^a

The sample (A~C) and cholestyramine resin (CSR) were orally administered daily for two weeks, and rats were sacrificed 24 hr after the final dose.

The assay procedure was described in the experimental methods.

¹⁾Refer to the Table 2.

²⁾Values are mean±SD (n=8).

³⁾Values in a column sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

소장내의 음식물의 이동을 촉진시켜 배변 효과를 높일 수 있는 가능성이 있다는 것을 나타내는 결과라고 생각된다. 한편, 실험에 사용한 해조 음료 및 다시마 추출 음료를 첨가하므로서 용량 의존적으로 토끼의 장관의 수축력이 증가 되었다(Table 7). 이는 해조 음료가 토끼의 장관을 자극하여서 장관의 운동을 촉진시키는 효과가 있을 수 있다는 증거라고 판단되며, 소장내의 charcoal meal의 이동 거리 결과와 함께 해조 음료는 장관의 운동을 촉진하여 배변을 원활하게 함으로서 체내 다양한 성인병의 예방에 기여를 할 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

식이성 고지혈증 model 실험동물을 사용하여 해조 음료를 투여하여 지질 산화와 관련된 효소 변화 및 혈액응고에 미치는 영향을 시험하였다. 혈액의 lipid peroxide 함량과 혈중 hydroxy radical 생성이 식이성 고지혈증의 유도로 증가되었으며, 혈중 superoxide dismutase의 활성은 오히려 감소되었던 것이 해조 음료의 투여로 조절되었다. 식이성 고지혈증을

유도한 흰쥐에서 감소되었던 bleeding time과 plasma clotting time이 해조 음료의 투여로 다소 증가하였고, 증가하였던 tissue factor의 활성은 현저히 감소되었다. 동물 소화 장관에 대한 운동성 시험에서는 해조 음료의 투여로 장관 운동이 증가되는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 해조 음료나 해조 음료 소재에 다량 함유되어 있는 해조 올리고당이 기존의 해조 다당과 마찬가지로 혈관계 관련 질병의 예방에 유효한 기능을 할 수 있다는 것을 나타내며 향후로도 다양한 기능성 제품의 소재가 될 수 있을 것으로 여겨진다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 지정 강릉대학교 동해안해양생물자원연구센터의 지원에 의한 것입니다.

문 헌

1. 보건복지부. 1997. 1997년도 국민 영양 조사 결과서. 문영사, 서울. p 37.
2. Ross R, Glomset JA. 1976. The pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med* 295: 420-425.
3. Ross R. 1984. Studies of hypercholesterolemia in the non-human primate. I. Changes that lead to fatty streak formation. *Atherosclerosis* 4: 323-340.
4. Treasure CB. 1995. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 332: 481-487.
5. Anderson TJ. 1995. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 332: 488-494.
6. Kim JI, Choi JH. 1992. Effect of brown algae component on obese rats induced by a high fat diet I. Body weight, feed and gross efficiencies, body fat content, and obesity index. *Kor J Gerontol* 3: 33-38.
7. Lee KS, Seo JS, Choi YS. 1998. Effect of sea tangle and hypoglycemic agent on lipid metabolism in diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 960-967.
8. Joo DS, Kim OS, Lee JG, Choi YS, Cho SY, Je YK, Choi JW. 2003. Effect of seatangle oligosaccharide drink on serum and hepatic lipids in rats fed a hyperlipidmic diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1364-1369.
9. Yagi K. 1987. Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids* 45: 337-342.
10. Kobatake Y, Saito M, Kuroda K, Kobayashi S, Innami S. 1987. Influence of fish consumption on serum lipid and lipid peroxide concentrations in middle aged subjects. *J Japan Soc Nutr & Food Sci* 40: 103-110.
11. Oyanagui Y. 1984. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal Biochem* 42: 290-295.
12. Quick AJ, Stanleybrown M, Bancroft FW. 1985. A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice. *Am J Med Sci* 190: 571-576.
13. Surprenant YM, Zuckerman SH. 1989. A novel microtiter plate assay for the quantitation of procoagulant activity on adherent monocytes, macrophages and endothelial cells. *Thromb Res* 53: 339-345.
14. Han YN, Baik SK, Kim TH, Han BH. 1987. Antithrombotic activities of saponins from *Ilex pubescens*. *Arch Pharm Res*

- 10: 115-122.
15. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Rendall RJ. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-272.
16. Croci T, Williams GM. 1985. Activities of several phase I and phase II xenobiotics biotransformation enzymes in cultured hepatocytes from male and female rats. *Biochem Pharmacol* 34: 3029-3033.
17. Simonm RH, Scoggin CM, Patterson D. 1981. Hydrogen peroxide causes the fetal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J Biol Chem* 266: 7181-7186.
18. Halliwell B. 1978. Biochemical mechanism accounting for the toxic action of oxygen on living organisms. the key role of superoxide dismutase. *Cell Biol Int Rep* 2: 11-16.
19. Freman BA, Crapo JD. 1982. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47: 412-415.
20. Amlie T, Lyberg A, Kaplun JH, Prydz H. 1981. Thromboplastin activity of mouse peritoneal macrophages. *Thrombosis research* 24: 61-68.
21. Tanaka H, Andoh K, Narahara N, Uchiyama T, Kubota T, Takada M, Kobayashi N, Maekawa T. 1986. The leukocyte membrane and its contribution to thrombosis and haemostasis with special reference to tissue factor. *Acta Haematol Jpn* 49: 1583-1589.
22. Weis HR, Pitas RE, Wilson BD, Rodgers GM. 1991. Oxidized low-density lipoprotein increases cultured human endothelial cell tissue factor activity and reduces protein C activation. *The FASEB Journal* 5: 2459-2465.
23. Wada H, Kaneko T, Wakita Y, Minamikawa K, Nagaya S, Tamaki S, Deguchi K, Shirakawa S. 1994. Effect of lipoproteins on tissue factor activity and PAI-II antigen in human monocytes and macrophages. *Int J Cardiol* 47: 521-526.

(2003년 6월 7일 접수; 2003년 10월 29일 채택)