



오골계 증탕액 급여가 흰쥐의 혈중 호르몬, Cytokine 및 특이항체에 미치는 영향

채현석* · 안종남 · 유영모 · 함준상 · 이종문 · 윤상기 · 최양일¹
농촌진흥청 축산연구소, ¹충북대학교 축산학과

The Effects of the High Pressure Boiled Extracts (HPBE) of the Ogol Chicken with Herbs on the Hormones, Cytokine, Specific Antibody of Serum in the Rat

Hyun-Seok Chae*, Chong-Nam Ahn, Young-Mo Yoo, Jun-Sang Ham, Jong-Moon Lee, Sang-Ki Yoon, and Yang-Il Choi¹

National Livestock Research Institute, RDA
¹Dept. of Animal Science, Chungbuk National University

Abstract

This study was conducted to investigate feeding effects of the high pressure boiled extracts (HPBE) of the Ogol chicken with herbs on glucose, hormones and immunological response (cytokine, specific antibody) of serum in the rat which fed either with normal feed (T₁), normal feed + herb HPBE (T₂), normal feed + Ogol chicken HPBE (T₃), normal feed + mixture of cross-bred Ogol chicken HPBE (T₄) hydrolyzed with Flavourzyme 0.1% for 35 days. During experimental period, there was a weak trend to have a higher glucose content for the T₄ group with 102.27±5.95 mg/dL, but it was not significantly higher than other treatments. For insulin level, T₁ group showed numerically a slightly higher level with 6.79±4.64 μ IU/mL, but the difference was not significant in statistic term due likely to a large variation in comparison with other treatments. The treatments did not significantly alter testosterone level in rat plasma with 1.09, 1.46, 0.98, 1.13 ng/mL in T₁, T₂, T₃ and T₄, respectively. T₄ treatment increased the aldosterone level to a significantly ($p<0.05$) higher level (273.33 ng/dL) than other treatments. The extract treated rat showed a tendency in the cortisol level of lower levels than the control group, particularly, it was significantly ($p<0.05$) lower in T₃ group than other groups. T₃ and T₄ groups showed higher levels for interleukin-4 (IL-4) and anti-BSA IgG in immune cells and plasma. T₂, T₃ and T₄ treatments showed a slightly higher levels in γ -interferon (INF-r) than the control, with a greater effect for T₄ treatments. These results suggested that HPBE of the cross-bred Ogol chicken hydrolyzed with Flavourzyme increased immunological activity and decreased the concentration of cortisol and aldosterone hormones.

Key words : Ogol chicken, high pressure boiled extracts (HPBE), serum, hormones, cytokine

서 론

오골계는 우리 고유의 재래닭이며, 단백질이 풍부한 식

품으로 알려져, 허약자를 위한 건강식으로 주로 이용하였다. 단백질이 풍부한 식이나 탄수화물이 풍부한 식에 단백질을 첨가했을 때 특히 당뇨 환자에게 있어 혈당은 증가시키지 않으면서 인슐린의 분비를 증가시킬 수 있다고 하였으며 (Simpson et al., 1985), 열량 영양소 중에 혈당이나 insulin 저항성의 상승에 가장 적은 영향을 미치는 것이 단백질로 알려져 있다(Franz, 1997). 이러한 측면에서 오골계 증탕액은 증탕

* Corresponding author : Hyun-Seok Chae, National Livestock Research Institute, RDA, 560 Omokchung-dong, Keonsun-gu, Suwon 441-350, Korea. Tel: 82-31-290-1689, Fax: 82-31-290-1697, E-mail: hs6226@rda.go.kr

과정에서 지방을 제거하기 때문에 상대적으로 단백질이 풍부하여 이러한 호르몬이나 혈당과의 관계가 있을 것으로 사료된다. 오골계 증탕액 급여에 의한 면역 반응에 대해서는 주로 외부 항원에 따라 여러 형태의 면역세포의 상호작용에 달려 있는데 이러한 세포간의 협력은 cytokine이라는 protein이 중재하므로 중재자의 생성과 분비가 면역 반응 조절에 중요한 의미를 가지게 된다(Lokesh et al., 1989; Meydani, 1990). Interleukin-4(IL-4)는 활성화된 Th2 세포에서 분비되는 cytokine 으로서 여러 종류의 면역세포에 작용하여 활성화된 B 세포, T세포 및 thymocyte의 증식을 유도하며, monocyte의 활성화 및 mast cell의 증식과 성숙을 촉진한다(Paul and Ohara, 1987). IFN-γ는 class II MHC 발현을 촉진하고, B세포 증식분화와 대식세포의 직접적 활성화를 촉진한다(Vilcek et al., 1985). 최근 건강식품으로 많이 이용하고 있는 축산물과 한약제를 혼합한 증탕액에 흑염소 및 견육 대신 우리 국민의 음식문화에 맞는 육질과 맛을 가지고 있을 뿐만 아니라, 허준의 동의보감(Hur, 1981)에서 간장과 신장에 피가 부족 시 종고 어혈을 제거하고 피를 새롭게 하며 체력을 향상시킨다는 오골계육을 이용하여 증탕액의 제조를 시도하였다. 오골계 증탕액은 오골계 이외에 한약재로 십전대보를 넣어 동시에 증탕하였고, 또한 축산물의 소화 흡수를 촉진하기 위하여 가수분해 효소를 처리하여 육단백질을 펩타이드화 하는 연구도 보고되고 있고(Skanderby, 1994), 최근 들어 육 단백질 유래의 펩타이드들이 다양하게 개발되고 있으며, 특히 고기 펩타이드는 에너지 대사 촉진 소재로 다이어트 식품이나 스포츠 식품에 활용되어 일본과 미국에서 많은 관심을 얻고 있다(本田村, 1998; Schott, 1998) 따라서 본 연구는 오골계 교잡종 증탕액에 효소를 처리하였다. 이러한 증탕액에 대한 효능을 검증하기 위해서 동물 실험을 통해 면역 활성 측면에서는 cytokine, 특히 항체의 면역 물질을 조사하였고, 내분비 호르몬을 조사하여 호르몬의 특성에 따라 오골계 증탕액의 효능을 검증하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료

실험에 공시한 오골계 시료는 천연기념물 제 265호로 지정된 연산지방의 7개월 된 수컷 오골계 육(순종)을 이용하였으며, 오골계 교잡종 육은 오골계와 한국 재래닭과 로드아일랜드 레드종 간의 3원 교잡된 것을 축산기술연구소에서 16주간 사육한 후 수컷을 이용하였는데 이때 평균체중은 1,763 g 이었다. 오골계와 같이 증탕시킨 한약제는 동의보감에 소개된 십전대보(十全大補)를 이용하였는데 그 약제는 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), 황기(黃芪), 육계(肉桂)를 혼합하고 여기에 생강과 대추를 추가하였다. 구입처는 서울 경동시장의 한약재료 상에서 각각 구입하여 이용하였다.

실험동물

실험동물은 Sprague Dawley(S.D) 계통의 수컷 흰쥐를 공시하여 4주령부터 9주령까지 시험을 수행하였다.

실험 설계

실험 설계는 총 60두의 S.D. 계통의 흰쥐를 4처리 3반복(반복당 5두)으로 완전 임의 배치하였으며, 사료 급여는 Table 1에서와 같이 전 처리구에 자유급식시킨 기초사료(배합사료)는 시중에서 판매하고 있는 쥐 전용 펠렛형 배합사료(신촌사료, 삼육실험동물, 쥐사료 제 32-1호)를 급여하였고 T₁ 처리구는 기초사료에 물만 급여하였고, T₂ 처리구는 기초사료와 십전대보탕을 급여하였고, T₃ 처리구는 기초사료와 십전대보탕에 오골계(순종)를 혼합한 증탕액을 급여하였으며, T₄ 처리구는 기초사료와 오골계 교잡종을 증탕한 후 단백질 분해 효소인 Flavourzyme(Novo 사)으로 가수분해하여 십전대보탕 원료와 혼합하여 증탕한 탕액을 급여하였다. T₃, T₄ 처리구에서 오골계(순종) 및 오골계 교잡종을 각각 사용한 이유는 Chae 등(2002)이 보고한 자료에 의하면 각 품종 간에 이화학적 특성이 비슷하여 교차 사용해도 무리가 없으리라 사료되어 시험의 공시 재료로 이용하였다.

시료제조

1) 한약 증탕액 제조(T₂)

십전대보탕의 조제는 동의보감(Hur, 1981)을 참조하였으며, 한약재료는 인삼(人參), 백출(白朮), 백복령(白茯苓), 감초

Table 1. Experimental design of diets

Items	T ₁ ¹⁾	T ₂ ²⁾	T ₃ ³⁾	T ₄ ⁴⁾
Formula feed (pellets)	○	○	○	○
Sipjeondaebotang (liquid)	×	○	○	○
Ogol chicken (liquid)	×	×	○	×
Cross-bred				
Ogol chicken (liquid)	×	×		○

○: Addition, × : Non addition

¹⁾ T₁: formula feed+water

²⁾ T₂: formula feed+herb extracts

³⁾ T₃: formula feed+Korean Ogol chicken extracts

⁴⁾ T₄: formula feed+Cross-bred Ogol chicken extracts with Flavourzyme 0.1% treatment

(甘草), 숙지황(熟地黃), 백작약(白芍藥), 천궁(川芎), 당귀(當歸), 황기(黃芪), 육계(肉桂)를 각각 180 g씩을 취하였고, 여기에 생강 100 g과 대추 100 g을 취한 후 증탕기(DN 12, 동남산업)에 물 10,000 mL를 첨가하여 2.0 kg/cm²의 압력에서 7시간 증탕하여 포장기로 압출한 후 10분간 정치 후 100 mL씩 레토르트 포장지(PET+CPP, (주)동이)로 포장하였다.

2) 한약과 오골계를 혼합한 증탕액 제조(T₃)

십전대보탕의 한약제와 오골계 4수를 증탕기에 넣은 후 물 10,000 mL를 첨가하여 2.0 kg/cm²의 압력에서 7시간 증탕하고 포장기로 압출한 뒤 지방 제거를 위하여 10분간 정치하여 지방을 제거시키고 100 mL씩 레토르트 포장지로 포장하였다.

3) 효소 처리한 오골계 교잡종을 십전대보탕과 혼합한 증탕액 제조(T₄)

오골계 교잡종(3원교잡) 4수에 물을 첨가하여 Chae 등(2003)의 방법과 같이 제조하였다. 이때 사용한 효소는 Flavozyme(Novo 제품)으로 0.1%를 사용하였으며 *Aspergillus oryzae*에서 생산된 효소로써 특성은 endoproteinase(674 U/g), exoproteinase (8,053 U/g)로 구성되어 있다. 효소는 오골계 교잡종을 증탕시킨 후 30℃ 정도 시킨 후 처리하였다. 처리된 증탕액은 37℃ 배양기에서 교반하면서 30분 반응을 시켰다. 제조한 증탕액은 한약제를 혼합하여 제 증탕을 실시하였다. 제조된 증탕액은 지방 제거를 위하여 10분간 방치한 후 지방 부위를 제거하고 100 mL씩 레토르트 포장지에 포장하였다.

공시사료(액상)의 성분 조성

본 시험에 전 처리구에 자유급식시킨 기초사료(배합사료)는 시중에서 판매하고 있는 쥐 전용 펠렛형 배합사료로써 등록 영양성분량은 조단백질 22.0%, 조지방 4.5%, 조섬유 6.0%, 조회분 8.0%, 칼슘 0.70%, 인 0.50%, 비타민 및 미네랄 0.4%이었다. 시험사료(액상)의 일반성분, 무기물 조성, 아미노산 조성은 Table 2~4와 같았다.

사양관리 및 혈액 채취

실험동물의 사육조건은 온도 22~25℃, 습도 50~60%으로 향한 항습을 유지하였다. 시험기간(4주~9주령) 중 점등시간은 07:00~19:00까지로 고정하였으며, 환기회수는 10~15회/

Table 2. Chemical composition of experimental diets (liquid state) (unit : %)

Treatments	Moisture	Protein	Fat	Fiber	Ash
T ₁ ¹⁾	100.0	-	-	-	-
T ₂ ²⁾	95.13	0.50	0.09	-	0.27
T ₃ ³⁾	91.91	4.09	0.06	-	0.52
T ₄ ⁴⁾	92.31	4.40	0.12	-	0.41

^{1)~4)} See footnote of Table 1.

Table 4. Amino acid composition of experimental diets (liquid state) (unit : %)

Amino acid	T ₁ ¹⁾	T ₂ ²⁾	T ₃ ³⁾	T ₄ ⁴⁾
Cystine	-	0.010	0.018	0.018
Methionine	-	0.005	0.059	0.067
Aspartic acid	-	0.033	0.269	0.265
Threonine	-	0.006	0.103	0.098
Serine	-	0.007	0.115	0.119
Glutamic acid	-	0.040	0.519	0.530
Glycine	-	0.008	0.379	0.568
Alanine	-	0.011	0.249	0.287
Valine	-	0.009	0.117	0.100
Iso-leucine	-	0.006	0.091	0.081
Leucine	-	0.007	0.178	0.168
Tyrosine	-	0.008	0.077	0.066
Phenylalanine	-	0.013	0.124	0.124
Lysine	-	0.006	0.164	0.142
Histidine	-	0.009	0.078	0.085
Arginine	-	0.020	0.100	0.128
Proline	-	0.017	0.257	0.361

^{1)~4)} See footnote of Table 1.

Table 3. Mineral composition of experimental diets (liquid state)

(unit : ppm)

Treatments	Ca	P	K	Na	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
T ₁ ¹⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T ₂ ²⁾	97.00	494.15	408.28	554.39	137.81	4.16	0.73	0.99	0.14
T ₃ ³⁾	105.27	194.78	243.75	140.08	117.60	5.03	2.95	1.01	0.11
T ₄ ⁴⁾	73.57	291.88	300.29	263.37	91.31	5.99	1.53	1.12	0.15

^{1)~4)} See footnote of Table 1.

시간이었다. 기초사료와 음수는 자유 섭취토록 하였다.

시험사료는 4주령부터 급여하기 시작하여 9주령까지 매일 경구투여(1 mL/두/일)를 하였으며, 혈중 glucose 및 hormones 과 면역학적 변화를 구명하기 위한 혈액 채취용은 시험 종료 시(9주령) 각 처리별 3반복으로 반복 당 3두씩을 공시하여 에테르를 사용하여 질식시킨 후 심장 부위에서 채취하였다.

혈액분석

1) Hormones 및 glucose

(1) Glucose

Glucose의 분석은 Ciba-Corning의 glucose reagent를 이용하여 Chemistry Analyzer(Express-Plus 550, Ciba Corning, USA)를 이용하여 분석하였다.

(2) Aldosterone

Aldosterone 분석은 solid-phase radioimmuno assay(Coat-a-account, DPC[®])방법으로 다음과 같이 실시하였다. 우선 채취한 혈액으로부터 혈청을 분리한 뒤 샘플로 사용하였다. 200 μ L의 calibrator A를 각각의 샘플 튜브와 control 튜브에 넣고, 110 mL의 증류수를 첨가하여 희석한 ¹²⁵Ialdosterone 1.0 mL를 튜브에 넣고 천천히 혼합한 다음 실온에서 18시간 incubation 하였다. 그 후 내용물을 모두 버리고 gamma counter에서 1분간 계수하였다.

(3) Insulin

Insulin 분석은 solid-phase radioimmuno assay(Coat-a-account, DPC[®])방법으로 다음과 같이 실시하였다. 우선 채취한 혈액으로부터 혈청을 분리한 뒤 샘플로 사용하였다. 200 μ L의 calibrator A를 각각의 샘플 튜브와 control 튜브에 넣은 후 튜브마다 ¹²⁵Iinsulin 1.0 mL를 첨가하고 천천히 혼합한 다음 실온에서 18~24시간 incubation하였다. 그 후 내용물을 모두 버리고 gamma counter에서 1분간 계수하였다.

(4) Glucagon

Glucagon 분석은 solid-phase radioimmuno assay(Coat-a-account, DPC[®])방법으로 다음과 같이 실시하였다. Glucagon calibrator는 500 pg/mL로 희석하여 사용하였다. 200 μ L의 zero calibrator A를 튜브에 넣은 다음 혈청 200 μ L를 첨가하였다. 여기에 glucagon antiserum 100 μ L를 넣고 뚜껑을 닫은 후 2~8°C에서 24시간 incubation하였다. ¹²⁵Iglucagon 100 μ L를 튜브에 넣고 천천히 혼합한 다음 뚜껑을 닫은 후 다시 2~8°C에서 24시간 incubation하였다. 여기에 cold precipitating solution

1.0 mL를 첨가한 다음 원심분리(1,500 \times g, 15분)하고 상층액을 제거한 후 1분간 계수하였다.

(5) Testosterone

Testosterone 분석은 radioimmuno assay kit(Immunotech, Cat. #2463)를 사용하여 다음과 같이 실시하였다. Antibody coated tube에 standard 50 μ L, serum diluent 500 μ L, tracer 50 μ L를 넣었다. Sample tube에는 serum 50 μ L, tracer 50 μ L를 넣고 혼합한 다음 350~400 rpm으로 shaking하면서 18~25°C에서 3시간 incubation 하였다. 그 다음 tube의 내용물을 계수하였다.

(6) Cortisol

Cortisol 분석은 radioimmuno assay kit(Immunotech, Cat. #2466)를 사용하여 다음과 같이 실시하였다. Antibody coated tube에 standard 50 μ L, serum diluent 500 μ L, tracer 50 μ L를 넣고, sample tube에는 serum 50 μ L와 tracer 50 μ L를 넣고 혼합한 다음 350~400 rpm으로 shaking하면서 18~25°C에서 3시간 incubation하였다. 그 다음 tube의 내용물을 계수하였다.

2) Cytokine 및 특이항체

특정 항원에 대한 면역 반응 시 한약 증탕액 및 오골계 증탕액에 의해서 유도되어지는 cytokine을 검증하기 위하여 Sunwoo 등(1996)의 방법을 이용하여 흰쥐에 BSA(bovine serum albumin)을 항원으로 투여한 후, 그 변화를 한약과 오골계 증탕액을 급여하지 않은 대조구와 비교 관찰하기 위하여 다음과 같이 면역세포의 분리를 하였다.

먼저 혈액 채취를 마친 쥐에서 비장을 채취하여 면역세포를 분리한 다음, 비장을 체를 통하여 단일 세포단위로 만든 후 배지(RPMI-1640 + 10% BSA)에 담아서 4°C에서 10분 방치한 후 상층액을 취함으로써 근육 및 불필요한 조직으로부터 적혈구와 백혈구를 분리하였다. 세포들에 1% ammonium chloride를 2분 정도 처리하여 백혈구를 용혈시키고 3회 세척 및 원심분리(800 rpm, 10분)하여 백혈구를 순수 분리하였다. 백혈구는 hemocytometer와 trypan blue를 이용하여 수를 세고 5×10^6 /mL로 맞추어 준다. 세포들은 24 well plate에서 배양하였으며 BSA(10 μ g/mL)를 첨가한 후 72시간에 200 μ L의 상층액을 수거하여 -72°C에 분석 때까지 보관하였다.

(1) Cytokine

IFN- γ (R & D systems, USA)과 IL-4(R & D systems, USA)는 ELISA(enzyme-linked immuno sorbent assay) kit를 이용하여 측정하였다. 분석에 사용될 시약은 상온으로 온도를 맞춘 후에 사용하였다. 50 μ L의 희석용 버퍼와 50 μ L의 standard,

control 또는 상층액 sample을 혼합하여 준 후 96 well plate에서 2시간동안 상온에서 배양하였다. 각 well들은 PBS-tween 20(phosphate buffered saline-0.05% tween 20)으로 5번 세척하여 준 후 종이휴지 위에서 가볍게 두드려 수분을 제거하였다. 100 µL의 항체(anti bovine interferon conjugated to horseradish peroxidase)를 각 well에 넣은 후 다시 2시간동안 상온에서 배양하였다. 배양 후 각 well들은 PBS-tween 20으로 5번 세척하고 수분을 제거하였다.

각 well에 100 µL의 기질을 넣고 색깔이 충분히 발색될 때까지 기다린 후 강산을 이용하여 반응을 정지시켰다. 각 well의 발색 정도는 reader(Molecular Devices Vmax Kinetic microplate reader; Molecular Devices, USA)를 이용하여 450 nm에서 그 값을 읽어서 각 구에서 4 또는 5 반복으로 나온 결과를 평균하여 통계처리하였다.

(2) 특이 항체

면역 혈청 항체의 측정은 Sunwoo 등(1996)의 방법을 이용하여 검증하였다. 96 well을 갖은 microtiter plates를 이용하여 BSA용액 150 mL를 첨가하고 22°C에서 2시간동안 배양하였다. Plates는 0.05% tween 20을 함유한 PBS butter를 이용하여 세척하였다. 면역 혈청은 1,000배로 희석한 후 plates에 주입하였다. 그리고 22°C에서 3시간 동안 배양한 후 PBS buffer로 세척하였다. 두번째 항체(150 µL of a 1:1,000 dilution of peroxidase conjugated rabbit anti-rat IgG)를 첨가시킨 후 37°C에서 1시간 배양한 뒤 세척하였다. 0.05 M phosphate-citrate buffer에서 2,2'-azino-bis용액 100 mL를 첨가한 후 30분 뒤 ELISA를 이용하여 405 nm에서 측정하였다.

통계처리

통계처리는 SAS(1996) program의 GLM procedure를 이용하였으며 유의성 검정은 Duncan's multiple range test로 수행하였다.

결과 및 고찰

혈청 Glucose, Insulin, Glucagon

오골계 증탕액 급여에 의한 흰쥐의 혈중의 glucose 및 호르몬의 변화를 관찰하여 증탕액의 효능을 검증하기 위하여 실시하였다.

Table 5에서와 같이 혈중 glucose 농도는 대조구(T₁)는 89.45 mg/dL, 한약 증탕액(T₂)은 86.70 mg/dL, 오골계 증탕액(T₃)은 87.90 mg/dL, 효소 처리 오골계 교잡종 증탕액(T₄)은 102.27 mg/dL으로 각 처리별로 유의차는 없었으나(p>0.05), 효소 처리 오골계 교잡종 증탕액 급여구가 가장 높았는데, 이

Table 5. Effects of various feeding treatments on the level of glucose, insulin, glucagon in serum

Items	Glucose (mg/dL)	Insulin (µIU/mL)	Glucagon (pg/mL)
T ₁ ¹⁾	89.45±2.98 ^{a5)}	6.79±4.64 ^a	70.39±2.70 ^a
T ₂ ²⁾	86.70±7.65 ^a	4.93±0.35 ^b	63.21±2.39 ^{ab}
T ₃ ³⁾	87.90±5.53 ^a	4.64±0.45 ^b	55.56±3.32 ^b
T ₄ ⁴⁾	102.27±5.95 ^a	5.62±0.32 ^{ab}	64.78±3.36 ^{ab}

^{a,b} Means having different letters in the same column are significantly different (p<0.05).

^{1)~4)} See footnote of Table 1.

⁵⁾ Mean±S.E.

러한 측정치는 흰쥐의 혈청 glucose 농도는 Baker 등(1984)이 98~148 mg/dL, Hong 등(1991)이 92.5~97.8mg/dL, Kim 등(1992)이 103.6~107.5 mg/dL였다는 보고보다는 대부분 낮은 수치를 나타냈다.

Insulin 함량은 대조구(T₁)는 6.79 µIU/mL, 한약 증탕액(T₂)은 4.93 µIU/mL, 오골계 증탕액(T₃)은 4.64 µIU/mL, 효소 처리 오골계 교잡종 증탕액(T₄)은 5.62 µIU/mL로 각 처리별로 유의차는 없었으나(p>0.05) 대조구가 가장 높았다. Insulin 농도는 비만인이 정상인에 비해 혈중 insulin 농도가 높으며(Bagdade et al., 1967), 비만의 정도가 인슐린 분비 증가와 관련이 있음은 여러 연구들을 통하여 알려져 있는데, 이는 인슐린 저항성을 유발하고 이것은 내당능 장애와 고인슐린 혈증(hyperinsulinemia)을 초래하여 지질대사 장애, 고혈압 및 관상동맥경화증의 원인이 되기도 하는 것으로 보고되어 있다(Huh et al., 1993; Reven, 1988). Huh 등(1993)은 혈청 내 인슐린 함량을 측정하여 비만 집단과 비비만 집단 사이에 어떤 차이가 있는가를 살펴본 바, 혈청 인슐린 함량은 비만 집단이 8.78 µU/mL, 비비만 집단이 7.50 µU/mL로 두 집단간 유의적인 차이는 보이지 않았으나(p>0.05), 비만 집단에서 더 높게 나타났다고 보고하고 있다.

Chae 등(2003)이 발표한 자료에 따르면 효소 처리 오골계 교잡종 증탕액 급여구(T₄)가 다른 처리구와 비교 시 체중이 유의적으로 높았다고 보고하였는데(p<0.05), 본 연구에서도 Insulin의 함량이 T₂, T₃구에 비해 증가하는 경향을 나타내어, Huh 등(1993)의 보고와 비슷한 경향을 나타내었으나, 대조구의 6.79 µU/mL보다는 낮은 수치를 나타내었다. 그러나 Kim 등(1992)이 정상의 흰쥐의 혈청 중 Insulin 량이 21.0 µg/mL였다는 보고와 비교 시 극히 정상이라고 사료된다.

서구인에 비해 한국인들이 인슐린 저항성이 낮고 더불어 인슐린 분비 능력도 낮은 것은 식이의 차이일 가능성이 높다. 20년 전에는 한국인의 식이 섭취량은 전체 열량의 80% 이상

을 탄수화물로 섭취하였고 단백질과 지방 섭취량은 전체 열량의 15와 5% 정도이었으며 단백질의 공급원은 주로 식물성 단백질이었다(National Nutrition Survey Report in Korea, 1994/1995). 반면 서구인들은 탄수화물, 단백질과 지방의 섭취량이 전체 열량의 약 42, 18 그리고 40%이었고, 단백질의 주요 공급원은 동물성 단백질이었다(Kennedy et al., 1999). 본 연구에서는 T₄와 같이 단백질이 풍부한 오폐계와 같은 식품에 효소를 처리함으로써 펩타이드 화시켜 보다 소화시키기 쉬운 상태로 급여함으로써 체내에서 단백질의 이용성을 높여 인슐린 부족으로 인한 당뇨병과 같은 질병을 미리 예방하는 것도 좋은 건강법이라 사료된다.

Glucagon 농도는 대조구(T₁) 70.39 pg/mL, 한약 증탕액(T₂)은 63.21 pg/mL, 오폐계 증탕액(T₃)은 55.56 pg/mL, 효소처리 오폐계 교잡종 증탕액(T₄)은 64.78 pg/mL로 대조구와 오폐계 증탕액은 유의차가 있었다(p<0.05). 인체에 있어서 glucagon의 농도는 영양상태에 따라 차이가 있는데, 매우 좋은 영양상태의 급식은 80 pg/mL, 식후 12시간은 100 pg/mL, 절식한지 3일에는 150 pg/mL, 5주 동안 기아 시에는 120 pg/mL으로 알려지고 있으며, glucagon은 인슐린과 반대의 작용을 하고, 혈당 수준이 낮았을 때 췌장 α세포에 의하여 분비되는 polypeptide 호르몬으로써 이 호르몬은 간에서 글리코겐 분해를 촉진시킴으로써 혈당 수준을 증가시킨다고 알려져 있다(Stryer, 1994). 본 연구에서는 오폐계 교잡종 증탕액(T₄) 급여구에서 혈당 농도가 가장 높았는데 glucagon은 증탕액 급여구보다는 증가하였으나 대조구보다는 낮은 경향을 보여 위의 결과와 일치하지는 않았다.

혈청 Testosterone, Aldosterone, Cortisol

Table 6에서 testosterone의 농도는 대조구(T₁)가 1.09 ng/mL, 한약 증탕액(T₂) 급여구는 1.46 ng/mL, 오폐계 증탕액(T₃) 급여구는 0.98 ng/mL, 효소 처리 오폐계 교잡종 증탕액(T₄)

Table 6. Effects of various feeding treatments on the level of testosterone, aldosterone, cortisol in serum

Items	Testosterone (ng/mL)	Aldosterone (ng/dL)	Cortisol (nmol/L)
T ₁ ¹⁾	1.09±0.32 ^{ab}	422.18±61.08 ^a	0.67±0.55 ^a
T ₂ ²⁾	1.46±0.40 ^a	215.40±28.08 ^b	0.49±0.07 ^{ab}
T ₃ ³⁾	0.98±0.26 ^a	308.26±68.07 ^{ab}	0.40±0.05 ^b
T ₄ ⁴⁾	1.13±0.28 ^a	273.33±32.87 ^{ab}	0.49±0.06 ^{ab}

^{a-b} Means having different letters in the same column are significantly different (p<0.05).

¹⁾⁻⁴⁾ See footnote of Table 1.

⁵⁾ Mean±S.E.

급여구는 1.13 ng/mL를 나타내 처리간의 유의차를 나타내지 않았다(p>0.05).

Aldosterone의 농도는 대조구(T₁) 422.18 ng/dL, 한약 증탕액(T₂) 급여구는 215.40 ng/dL, 오폐계 증탕액(T₃) 급여구 308.26 ng/dL, 효소 처리 오폐계교잡종 증탕액(T₄) 구는 273.33 ng/dL로 대조구와 한약 증탕액 급여구 간에는 유의차가 있었다(p<0.05). 이러한 분석결과는 Han 등(2001)이 일반적인 흰쥐의 aldosterone의 농도는 430.16 pg/mL이었다고 한 보고와 비교 시 대조구의 분석결과와 비슷하였다. 결국 renin의 효소 작용의 저하는 angiotensin의 저하를 가져와 동시에 aldosterone을 저하시켜 나트륨과 수분의 저류를 저하시키므로 혈류량을 줄여 혈압을 낮추는 역할을 한다(Bagby and McDonald, 1975).

본 연구에서 한약 증탕액(T₂)과 오폐계 증탕액(T₃), 효소 처리 오폐계 교잡종증탕액(T₄)은 대조구(T₁)를 급여시킬 때보다 aldosterone 농도가 낮아 인체에 있어서도 이들을 섭취 시 aldosterone을 저하시켜 나트륨과 수분의 저류를 저하시키므로 혈류량을 줄여 혈압을 낮추는 역할을 할 수 있는 식품으로 기대된다.

Cortisol의 측정치는 대조구(T₁)가 0.67 nmol/L, 한약 증탕액(T₂) 구는 0.49 nmol/L, 오폐계 증탕액(T₃) 구는 0.40 nmol/L, 효소 처리 오폐계 교잡종 증탕액(T₄) 구는 0.49 nmol/L로 T₁구와 T₃구 간에는 유의차가 있었다(p<0.05). Cortisol은 부신피질의 주요 생산물로서 사람에서는 대부분이 glucocorticoid로서 세포의 여러 부분에 함유되어 있다. 간이 주된 표적기관으로서 비교적 높은 농도의 glucocorticoid의 수용체를 가지고 있기 때문이다. 사람에서는 많은 양의 glucocorticoid가 분비되는데, 1일 약 25 mg이나 그 이상이 분비되며, 장기간 스트레스를 받은 사람은 혈액 내에 그렇지 않은 사람보다 많은 양이 순환된다. 또한 cortisol은 스트레스 측정에 감도 높은 척도로 알려져 있으며, 소에 있어서 수송시간이 길어지거나 스트레스 민감도가 클수록 증가한다고 하였으며(Mitchell et al., 1988; Tarrant, 1988), Christison과 Johnson(1972)은 암소에서 중간 정도의 더위(35°C)를 가했을 때 처음 20분간 혈장 중 cortisol 농도가 유의적으로(p<0.05) 증가하였으며(35와 37 μL/L), 그 농도는 2시간째까지 계속적인 증가를 보였다고 하였다. 본 시험의 결과는 대조구에 비하여 한약이 첨가된 시험구(T₂, T₃, T₄)에서 더 낮게 측정이 되었으며 오폐계 증탕액은 대조구와 유의차(p<0.05)가 있었다. 또한 스트레스에 노출되면 탄수화물 대사에 극심한 변화가 일어나 혈당량이 상승하며, 극심한 스트레스에 접하게 되면 고혈당 임에도 불구하고 중성지방의 분해가 증가한다고 보고하고 있다(Elwyn, 1980). 본 연구에서는 대조구의 cortisol 함량이 시험구(T₂, T₃, T₄)보다는 높았는데, 이러한 결과는 한약제와 동물성 단백질을 섭

취함에 따라 생체에서 스트레스를 저하시킬 수 있는 건강식품이 될 수 있을 것으로 사료된다.

Cytokine 및 특이항체

특정 항원에 대한 면역반응 시 흰쥐에게 증탕액에 의해서 유도되어지는 cytokine을 검증하기 위하여 흰쥐에게 소의 혈액성분(BSA, bovine serum albumin)을 항원으로 투여한 후 그 변화를 증탕액(T₂, T₃, T₄)을 급여하지 않은 대조구와 비교한 바 그 결과는 Fig. 1과 같았다.

일반 배합사료(T₁)와 일반 배합사료에 한약제(T₂) 만 증탕하여 급여시킨 처리구에서는 혈청 및 면역세포 모두 IL-4의 역가가 한약제에 오골계를 혼합하여 증탕시킨 T₃, T₄ 처리구보다 역가가 현저히 저하하였으며, 특히 오골계 교잡종에 효소를 처리하고 한약을 첨가하여 증탕한 T₄ 처리구에서 면역활성이 유의적으로(p<0.05) 증가하는 경향을 나타내었다. 오골계 증탕액에 첨가한 한약제는 빈혈, 혈소판 감소성 자반병, 항암제 또는 방사선 치료로 인한 백혈구 감소증 등 혈액세포 부족으로 인한 질병에 유효성이 있는 약제가 사용되어 질병치료 효과 등은 입증되었지만, 그 약리 기전과 조절에 관여하는 cytokine들의 발현 등 과학적인 효과의 검증은 거의 없는 상태에 있다.

Kim과 Lim(1999)은 한약제에 대한 흰쥐의 면역실험 결과 IL-4의 합성이 대조군(22±6.5 pg/mL)에 비하여 3배 이상 유의한 증가(p<0.05)를 나타낸 것은 백작약(77±8.1 pg/mL)과 단삼(83±11.8 pg/mL)(p<0.001), 사물탕(76±15.2 pg/mL)과 보혈탕(88±13.8 pg/mL)(p<0.01) 그리고 천궁(73±20.6 pg/mL)과 당귀(54±12.6 pg/mL)(p<0.05)였다고 보고하고 있다.

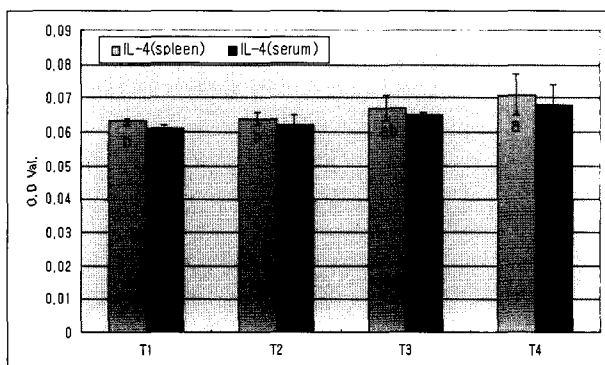


Fig. 1. Effects of various feeding treatments on the level of IL-4 in rat serum and spleen.

T₁: formula feed+water, T₂: formula feed+herb extracts, T₃: formula feed+Korean Ogol chicken extracts, T₄: formula feed+Cross-bred Ogol chicken extracts with Flavourzyme 0.1% treatment.

^{a,b} Means having different letters in the same column are significantly different (p<0.05).

본 연구에서는 효소 처리 오골계 교잡종 증탕액(T₄)에서 IL-4의 증가율이 가장 높았으며, Chae 등(2003)은 T₄ 처리구의 체중 증가가 대조구에 비해 월등히 증가하였다고 보고하였는데 이는 IL-4의 증가에 따른 면역 능력 활성화에 기인하지 않았나 사료된다.

Fig. 2에서와 같이 증탕액(T₂, T₃, T₄) 급여에 의한 흰쥐의 IFN-γ의 변화는 큰 차이는 없었으나, 오골계 증탕액(T₃) 급여구에서 IFN-γ의 역가가 대조구에 비하여 spleen 및 serum 모두에서 유의적으로(p<0.05) 높은 경향을 나타내었다. 이러한 경향은 보양 효능이 있는 보기(補氣), 익기(益氣) 효능이 있는 인삼, 보음(補陰) 효능이 있는 숙지황, 건비익기(乾肥益氣) 효능이 있는 녹보산(鹿補散)이 면역기능을 증진시켰다고 하였으며, Kim 등(1999)이 청심연자탕 또한 흰쥐에 대한 면역 실험 결과 면역의 역가가 증가하였다는 보고와 Aburda 등(1988)이 십전대보탕을 급여한 실험구에서 면역효과가 있었다는 보고와 비슷한 결과를 나타내었다.

IFN-γ는 Class II MHC 발현을 촉진하고, B세포 증식분화와 대식세포의 직접적 활성화를 촉진시킨다고 보고하고 있다(Vilcek et al., 1985). 본 연구에서는 IFN-γ의 활성이 일반사료급여구나 한약 증탕액 급여구보다 오골계에 한약을 첨가하여 증탕액으로 급여한 처리구에서 증가하는 경향을 나타냈는데 이는 Fig. 1에서와 같이 IL-4의 면역 활성과 비슷한 경향을 나타냈다

BSA 항원에 대한 anti-BSA 항체를 급여사료원 별로 측정 한 결과는 Fig. 3과 같았다. 단순히 한약제만 급여한 처리구보다 오골계를 혼합하여 급여한 처리구에서 면역의 특이항체 활성이 증가하는 경향을 보였고 특히 효소 처리 오골계

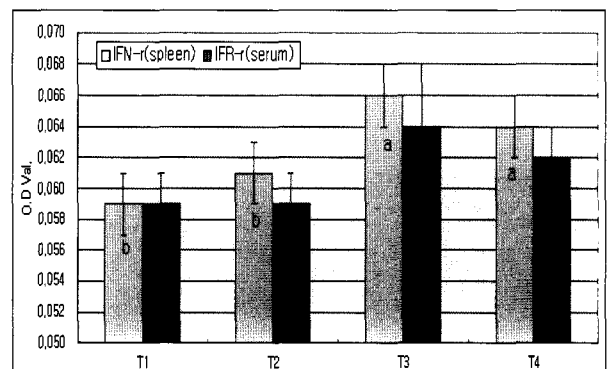


Fig. 2. Effects of various feeding treatments on the level of gamma IFN-γ in rat serum and spleen.

T₁: formula feed+water, T₂: formula feed+herb extracts, T₃: formula feed+Korean Ogol chicken extracts, T₄: formula feed+Cross-bred Ogol chicken extracts with Flavourzyme 0.1% treatment.

^{a,b} Means having different letters in the same column are significantly different (p<0.05).

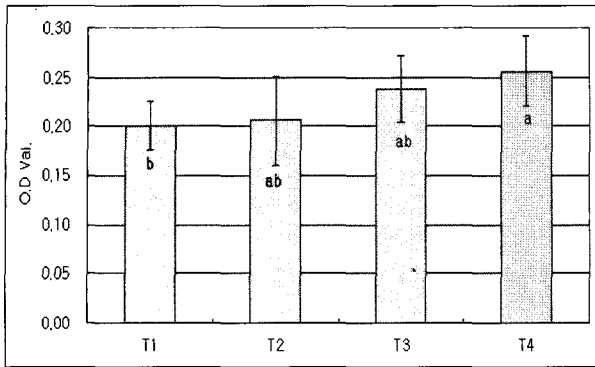


Fig. 3. Effects of various feeding treatments on the level of anti-BSA antibody activity in rat serum.

T1: formula feed+water, T2: formula feed+herb extracts, T3: formula feed+Korean Ogol chicken extracts, T4: formula feed+Cross-bred Ogol chicken extracts with Flavourzyme 0.1% treatment.

^{a,b} Means having different letters in the same column are significantly different (p<0.05).

교잡종 증탕액에서 높은 특이항체 활성을 나타내므로, T₄ 처리구와 같은 형태로 식품을 개발한다면 좋은 건강식품 소재가 될 것으로 사료된다. So와 Kim(1995)이 녹삼지황탕(鹿蔘地黃湯)을 흰쥐에 급여할 때 IgG 함량에 대한 유의적인 효과가 있었다고 보고하고 있고(p<0.05), 반대로 Broughton(1991)은 쥐에게 지방 사료를 식이 무게의 15%로 하고 n-3/n-6 비율을 0.05~1.93으로 다양하게 섭취시키면서 간과 peritoneal세포에서 eicosanoid 생성을 측정하였는데 n-3/n-6 비율이 0.21 이상일 때 면역능력을 억제하는 PGE₂, PGF_{1α}와 같은 eicosanoid 생산이 감소하였다는 보고도 있다. 또한 Chae 등(1998)은 산란기에 2주 간격으로 2회 BSA를 주사하고 급여 사료로는 아마종실과 α-tocopherol을 산란계 사료에 첨가하여 급여시 대조구에 비해 항원주입 후 14일부터 50일까지 유의적으로 증가하였다고 보고하였다(p<0.05). 본 연구에서도 한약제에 의한 면역 활성의 기대뿐 아니라, 효소 처리에 의한 오골계의 고기 단백질이 소편화 되어 아미노산이나 펩타이드 형태로 장내에서 흡수가 쉽게 이루어져, 소화기능의 활성화로 대조구에 비해 BSA에 대한 특이 면역 항체가 증가한 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 흰쥐(S.D, ♂)에 각 처리에 따라 기초사료로 시판사료(T₁)를 무제한 급여하면서 시험사료로 한약 증탕액(T₂), 오골계 증탕액(T₃), 오골계 교잡종 육에 Flavourzyme을 0.1% 첨가하여 가수 분해시킨 후 한약제와 혼합하여 증탕시킨 증탕액(T₄)을 35일간 경구 투여한 후 흰쥐의 혈청에 대한

glucose 및 hormones과 면역학적 변화에 미치는 영향을 조사한 결과는 다음과 같았다.

비만하였을 때나 과도한 스트레스를 받았을 때 insulin 함량이 증가한다고 하였으나 효소 처리 오골계 교잡종 증탕액을 급여한 처리구에서 체중 증가가 일반사료를 급여한 처리구에 비해 유의적으로(p<0.05) 증가하였어도 insulin 함량이 일반사료 급여구보다 증가하지 않은 것으로 나타나 바람직한 생리현상을 나타냈다.

Aldosterone은 스테로이드 계통의 호르몬으로 물의 생리적 밸런스와 혈압조절에 관여하는데 일반사료 급여구에 비해 한약 증탕액, 오골계 증탕액, 효소 처리 오골계 증탕액 급여구에서 낮은 함량을 나타내 고농도 단백질 식이의 급여에도 불구하고 aldosterone 수치의 저하로 혈압 저하의 효과를 나타낸 것은 한약을 첨가시켜 고압으로 처리시킨 증탕액의 효과와 가수분해 효소에 의한 소화가 용이하도록 처리한 결과로 사료된다. Cortisol은 스트레스 측정에 감도가 높은 호르몬으로 알려져 있는데 일반사료 급여구가 0.67 nmol/L 인 반면 증탕액을 급여한 구에서는 0.40~0.49 nmol/L으로 cortisol 농도가 감소하는 경향을 나타냈는데 이는 aldosterone에서와 같이 한약제와 동물성 단백질을 섭취함에 따른 효과로 사료된다. 흰쥐에 증탕액 급여가 면역반응에 미치는 영향에서 IL-4, IFN-γ 및 anti-BSA IgG의 역할은 일반사료를 급여한 처리구에 비해 오골계 증탕액 및 효소 처리 오골계 교잡종 증탕액 급여구에서 spleen과 serum 모두에서 증가하는 경향을 나타내었는데 앞에서 언급했던 바와 같이 한약(십전대보탕)의 효과와 소화시키기 쉬운 고농도의 단백질 가수분해 물질의 다량 섭취에 의해 면역 활성이 증가되었을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 1998~2001년도까지 농림기술관리센타의 농림기술개발과제로 수행된 “오골계를 이용한 특수 닭고기 생산 이용 연구” 결과의 일부이며 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Aburda, M. (1988) Protective effects of Juzen-tailio-to (TJ-48) against adverse reactions associated with Mitomycin Cin recent advances in the pharmacology of Kampo (Japanes Herbal) medicines, International congress series 854, Tokyo: Excerpta medica. 275-280.
2. Bagby, S. P. and Mcdonald, W. J. (1975) Increased plasma renin activity in mature spontaneously hypertensive rats. *Kidney Int.* 8, 436-440.

3. Bagdade, J. D., Bierman, E. L., and Prote, D. (1967) The significance of basal insulin response to glucose in diabetic and non-diabetic subjects. *J. Clin. Invest.* **46**, 1549-1557.
4. Baker, H. J., Lindesey, J. R., and Weisbroth, S. H. (1984) The laboratory rats. Academic Press Inc., New York, Vol II, pp. 123-127.
5. Broughton, K. S. and Morgan, L. J. (1991) Frequency of (n-3) to (n-6) polyunsaturated fatty acid ratio on murine liver and peritoneal cell fatty acids and eicosanoid formation. *J. Nutr.* **121**, 155-162.
6. Chae, H. S., Ahn, C. N., Paek, B. H., Kim, D. H., Chung, W. T., Kim, S. C., and Sim, J. S. (1998) Effects feeding of α -tocopherol and selenium in laying hen's ration including full fat flax seed on immune response and storage characteristics in egg. *RDA. J. Livestock Sci.* **40**(1), 138-144.
7. Chae, H. S., Ahn, C. N., Park, B. Y., Yoo, Y. M., Cho, S. H., Lee, J. M., and Choi, Y. I. (2002) Physicochemical properties of Korean Ogol chicken, the cross-bred Ogol chicken and broiler meat. *K. J. Poult. Sci.* **29**(3), 185-194.
8. Chae, H. S., Yoo, Y. M., Ahn, C. N., Cho, S. H., Sang, B. D., Kim, Y. G., Lee, J. M., Yun, S. K., and Choi, Y. I. (2003) Feeding effects of the high pressure boiled extract (HPBE) of the Ogol chicken on weight gain and serum lipid composition of rat. *K. J. Poult. Sci.* **30**(2), 135-143.
9. Christison, G. I. and Johnson, H. D. (1972) Cortisol turnover in heat-stressed cows. *J. Anim. Sci.* **35**, 5-11.
10. Elwyn, D. H. (1980) Nutritional requirements of adult surgical patients. *Crit. Care Med.* **8**, 9-20.
11. Franz, M. J. (1997) Metabolism and effect on blood glucose levels. *Diabetes Educ.* **23**(6), 643-646.
12. Han, S. H., Shin, M. K., and Lee, H. S. (2001) Effect of Korean Gugija Tea on plasma hormone in Cd-administered rats. *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr.* **30**(6), 1272-1277.
13. Hong, J. S., Jo, D. H., and Do, H. K. (1991) Effect of hoechunyanggeuksan on the glucose in diabetic rats induced by streptozotocin. *K. H. Univ. O. Med. J.* **14**, 397-412.
14. Huh, K. B., Lee, J. H., Paik, I. K., Ahn, K. J., Jung, Y. S., Kim, M. J., Lee, H. C., Lee, Y. H., and Lee, Y. J. (1993) Influence of total abdominal fat accumulation on serum lipids and lipoproteins in Korean middle-aged men. *Korean J. Nutrition* **26**(3), 299-312.
15. Hur, J. (1981) Jungbo Dongebogam. Namsadang, Seoul. pp. 1172 (in Korean).
16. Kennedy, E. T., Bowman, S., and Powell, A. (1999) Dietary-fat intake in the US population. *J. Am. Coll. Nutr.* **18**(3), 207-212.
17. Kim, S. H. and Lim, J. S. (1999) Effects of Korean traditional medicine on Murine hematopoiesis(1). *Korean J. Immunol.* **21**(2), 165-174.
18. Kim, S. T., Cho, D. H., and Doo, H. K. (1992) Effects of Kamijiwhang-tang on the glucose in diabetic rats induced by Streptozotocin. *Korean J. K. H. O. Med. Univ. J.* **15**, 397-413.
19. Lokesh, B. R., Sayer, T. J., and Kinsella, J. E. (1989/1990) Intrleukin-1 and tumor necrosis factor synthesis by mouse peritoneal macrophage is enhanced by dietary n-3 polyunsaturated fatty acid. *z Immunology' Letter* **23**, 281-287.
20. Meydani, S. N. (1990) Dietary modulation of cytokine production and biologic functions. *Nut. Rev.* **48**, 361-365.
21. Mitchell, T., Hattingh, M., and Ganhao, J. (1988) Stress in cattle assessed after handling, after transport and after slaughter. *Vet. Rec.* **123**, 201-205.
22. National Nutrition Survey Report in Korea (1994) Ministry of Health and Welfare, Seoul.
23. National Nutrition Survey Report in Korea (1995) Ministry of Health and Welfare, Seoul.
24. Paul, W. E. and Ohara, J. (1987) β -cell stimulating factor-1/interleukin-4. *Annu. Rev. Immunol.* **5**, 429-433.
25. Reven, G. M. (1988) Role of insulin resistance in human disease. *Diabetics* **37**, 1595-1607.
26. SAS (1996) SAS/STAT user's guide. Edition SAS Institute Inc., Cary, NC., USA.
27. Schott, A. (1998) Healthful foods with gelatin. The world of ingredients. October, pp. 60-62.
28. Simpson, R. W., McDonald, J., Wahlqvist, M. L., Alter, L., and Outch, K. (1985) Macronutrients have different metabolic effects in nondiabetics and diabetics. *Am. J. Clin. Nutr.* **42**, 449-453.
29. Skanderby, M. (1994) 蛋白質分解物の機能性とその利用. 食品と開発 **29**, 23-26.
30. So, K. S. and Kim, K. H. (1995) Effects of Nooksa-njiwhang-tang on the anti-aging. *Korean J. K. H. O. Med. Univ.* **18**, 127-134.
31. Stryer, L. (1994) Biochemistry. W. H. Freeman Co., pp. 484.
32. Sunwoo, H. H., Nakano, T., Dixon, W. T., and Sim, J. S. (1996) Immune responses in chickens against lipopolysaccharide.

- ride of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Poult. Sci.* **75**, 342-345.
33. Tarrant, P. V. (1988) Animal behaviour and environment in the dark cutting condition. Australian Meat and Livestock Research and Development Corporation, Sydney NSW, pp. 8-18.
34. Vilcek, J., Gray, P. W., Rinderknecht, E., and Sevastopoulus, C. G. (1985) Interferon- γ : A lymphokine for all seasons. *Lymphkines* **11**, 1-4.
35. 本田-村 (1998) Physiological function of collagen peptides. *食品と開発* **33**, 22-27.
-
- (2004. 4. 19. 접수 ; 2004. 7. 1. 채택)