

고지방식이 섭식 흰쥐의 간조직에 미치는 한방초공환의 영향

박찬성 · 김동한 · 김미림*

대구한의대학교 한방식품조리영양학부

Received January 9, 2008 / Accepted February 13, 2008

Effect of Herbal Chokong Pill on the Microstructure of Liver Cell in Rats Fed High Fat Diet. Chan-Sung Park, Dong-Han Kim and Mi-Lim Kim*. Faculty of Herbal Food Cuisine & Nutrition, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea - The purpose of this study is to investigate the effects of the herbal Chokong pill (hereafter HCKP) on the liver cell and enzyme activities of serum in rat. HCKP were mixed with pickled black soybeans and five different kinds of medicinal herbs (*Rhynchosia nulubilis*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Zizyphus vulgaris*, *Atractylodes macrocephala* K., *Astragalus membranaceus* and *Cornus officinalis*). Four groups of male Sprague-Dawley rats were fed by different diets for 9 weeks: normal diet (Nor), high-fat diet (HF), high-fat diet supplemented with 1% (T1) and 5% (T5) HCKP powder, respectively. Depending on the presence of HCKP in high fat diet, the activities of the blood serum GOT and GPT were decreased. GOT and GPT activities of T1 and T5 were decreased 6.1%, 17.8% and 25.4%, 32.4% compared with HF. On microstructure observing through the transmission electron microscope (TEM) of liver cell, in normal group, a normal large and clear nucleus, rough endoplasmic reticulum (RER) and mitochondria possessing well-defined double outer-limiting membranes were found. However, in HF, it was hard to observe the microstructures in cytoplasm, because of too many fat granules. It showed severely damaged cell, pyknotic nucleus, swollen disintegrating RER and mitochondria losing the cristae. In T1, there were more repaired liver cells and less fat granules than HF. In T5, there were much less numbers and smaller size of the fat granules than T1, and the morphology was similar to normal cell.

Key words : Herbal Chokong pill, fat, liver, microstructure

서 론

산업화 사회가 진전됨에 따라 고열량, 고지방의 동물성 식품과 가공식품의 과다 섭취에 의한 식생활의 변화로 악성 신생물과 순환기계 질환의 발병 및 사망률이 증가하고 있으며 [16,23], 식생활이 원인이 되는 만성질환의 사회적 문제화에 따라 식물성 식품의 섭취에 의한 생체조절 기능에 대한 관심이 높아지고 있다[14]. 식물성 식품 중 콩과(*leguminosae*)에 속하는 두류(*legumines*)는 여러 가지 생리활성이 풍부하여 기능성 효능을 갖춘 식품소재로써 각광을 받고 있으며 콩에 포함된 성분인 phytic acid, triterpene, flavonoid, lignan 등을 비롯하여 약 14종류의 phytochemical은 암 예방에 관여한다고 알려져 있고[3,15], 올리고당류와 식이섬유 등도 함유되어 있어 콜레스테롤 농도 저하 효과도 보고되어 있다[2]. 이러한 콩의 생리활성에 대한 연구는 1994년 미국 애리조나 메사와 1996년 벨기에의 브뤼셀에서 열린 국제 콩 심포지움에서 발표되기 시작하여 오늘날에 이르기까지 그 상호연관성에 대하여 다양하게 연구되고 있다[4,5,20,24]. 한방에서는 약콩,

쥐눈이콩, 여두녹팍이라고 불리는 서목태(*Rhynchosia nulubilis*)에 대한 연구가 활발하며[1,22], 서목태는 어느 식품보다 해독성이 탁월하고 섬유질이 많아 장의 활성화와 신장병을 다스리며 기를 내리어 모든 풍열을 억제하고 혈액을 활발히 하여 독을 푼다고 한다[9]. 최근 들어 콩과 관련된 다양한 기능성 식품들 중에 콩에 식초를 처리한 제품들이 많이 소비되고 있으나 그 효능에 대한 연구는 부족한 실정이며, 일부 수행된 연구에 의하면, 콩을 식초에 1~2주간 절인 초콩은 원료 콩에 비하여 isoflavone 함량이 증가하며, 항산화작용, 혈액개선작용, 혈당강하작용, 항암작용, 간과 지방조직의 지질 대사에 영향을 미쳐 비만억제효과를 나타낸다고 한다[6,18].

본 연구는 서목태를 15일간 식초에 절인 후 환을 제조하는 과정에서 5종류의 한약재(감초, 산조인, 백출, 황기, 산수유)를 첨가하여 한방초공환을 제조하고 한방초공환이 비만에 미치는 영향을 관찰하고자 우선적으로 간의 지방조직에 대한 영향을 검토하였다. 고지방식으로 유발한 지방간 세포에 대한 초콩의 영향을 전자현미경적으로 연구한 것은 그리 많지 않으며 이에 대한 치료효과도 보고된 연구가 거의 없는바, 고지방식으로 흰쥐의 비만을 유도하면서 고지방식에 한방초공환을 1%와 5% 첨가하여 9주 동안 투여한 후 혈청 효소활성 측정에 의한 간기능성 및 지방간 세포의 미세구조를 전자현미경으로 관찰하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-53-819-1453, Fax : +82-53-819-1272

E-mail : mlk8742@dhu.ac.kr

재료 및 방법

한방초공환의 제조 및 조성

본 실험에서 사용한 서목태는 영주시 문수면의 우가네농장에서 재배한 것을 직접 구입하여 15일 동안 현미식초에 절여 초공을 제조한 후 건조, 분말화 하였다. 한방초공환의 배합비율은 Table 1과 같으며 한약재는 Kim 등[10]이 비만치료 및 예방을 위하여 사용한 처방에서 사용한 한약재 중, 예비 실험을 통하여 항산화능과 항암 활성이 우수한 5종류(감초, 산조인, 백출, 황기, 산수유)를 선정한 후, 경북 영천시의 한약재 건재상에서 구입하여 사용하였다.

한방초공환의 제조는 초공 분말에 5종류의 약재 분말을 각각 2%씩 첨가하여 현미식초로 반죽하여 건조 시킨 분말을 실험동물 사육을 위한 식이에 첨가하였으며, Park 등[19]에 의한 일반 성분 분석 결과는 수분함량 11.8%, 조단백질 함량 30.13%, 조지방 함량 18.55%, 조회분은 7.49%, 탄수화물은 32.03%로 구성되었다.

실험동물

본 실험에서 사용한 동물은 대한실험동물센터에서 5주령 된 180~200 g의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley계)를 분양받아 온도 22±2°C, 습도 53±3% 및 밤낮을 12시간씩 조절하고 물과 일반식이(삼양 유지사료(주))를 충분히 공급하면서 1주간 실험실에 적응시킨 다음 체중이 비슷한 개체만을 선정하여 실험에 사용하였다.

실험동물 식이 조제 및 식이방법

실험동물을 위한 식이조제는 정상식이의 경우 AIN-76 diet 조성(corn oil 5% w/w)에 준하여 조제되었고 고지방식이의 지질급원은 lard (10% w/w)와 corn oil (5% w/w)을 사용하였으며 시료군의 조성은 한방초공환(HCKP)의 성분분석(Table 1)에 따라 Lee 등[13]의 방법을 변형하여 시료를 각각 1%, 5% 씩 첨가하여 조제하였다(Table 2).

식이방법에 따라 실험동물을 정상식이 급여군(정상군), 고지방식이군(HF군), 고지방식이에 한방초공환(HCKP)을 1% 첨가하여 급여한 시료군(T1군), 고지방식이에 한방초공환

Table 1. Composition of herbal *Chokong* pill (HCKP)

Ingredients	Scientific name	Composition (%)
Sumoktae (pickled)	<i>Rhynchosia Nulubilis</i>	90
Gamcho	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	2
Baekchul	<i>Atractylodes macrocephala</i> K.	2
Hwanggi	<i>Astragalus membranaceus</i>	2
Sanzoin	<i>Zizyphus vulgaris</i>	2
Sansuyu	<i>Cornus officinalis</i>	2
Total		100

(HCKP)을 5% 첨가하여 급여한 시료군(T5군)으로 나누어 7마리씩 배정하였다. 각각의 실험군은 위의 조성(Table 2)에 의하여 조제한 식이를 매일 오후 4~5시 사이에 물과 함께 충분히 공급하면서 9주간 사육하였다.

채혈 및 효소활성도 측정

각 군의 실험동물을 희생 전 15시간 절식시킨 후 CO₂로 가볍게 마취한 다음, 복부 대정맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 test tube에 넣고 상온에서 1시간 방치한 다음 4°C, 3,500 rpm에서 15분간 원심분리 하여 혈청을 분리하고, 분석할 때까지 -80°C에 보관하였다. 혈청 중 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 및 glutamic pyruvic transaminase (GPT) 활성도는 enzymatic colorimetry법으로 생화학분석기(Hitachi 7180, Japan)로 측정하였다.

간조직의 채취 및 전자현미경 관찰

투과전자현미경(TEM: Transmission electron microscope)의 표본 제작은 Kim 등[8]의 방법에 따라 쥐의 간 조직을 1 mm³의 크기로 잘라 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde용액으로 4°C에서 2~4시간 동안 전 고정 하였다. 그리고 1% osmium tetroxide (OsO₄)로 4°C에서 2시간 동안 후 고정 하였으며, 고정이 끝난 재료는 0.1 M phosphate buffer로 세척하고 ethanol을 이용하여 상온에서 15분 간격으로 30%에서 100%까지 농도를 증가시켜 100%까지 단계별 탈수하여 epon 812에 포매 하였다. 포매된

Table 2. Compositions of the experimental diets (g)

Component	Group			
	Normal	HF	T1	T5
Casein	20	20	19.7	18.49
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Corn starch	15	15	15	15
Sucrose	50	39.75	39.43	38.14
Cellulose	5	5	5	5
Corn oil	5	5	4.82	4.07
Lard	-	10	10	10
Mineral-mix ¹⁾	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin-mix ²⁾	1	1	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
Cholesterol	-	0.2	0.2	0.2
Cholic acid	-	0.05	0.05	0.05
HCKP ³⁾ powder	-	-	1	5
Total (%)	100	100	100	100
Kcal/100g diet	385.0	434.0	429.9	413.2
Calorie from fat (%)	11.7	31.1	31.0	30.6
Calorie from carbohydrate (%)	67.5	50.5	50.6	51.4
Calorie from protein (%)	20.8	18.4	18.3	18.0

¹⁾AIN-76 mineral-mixture and ²⁾AIN-76A vitamin mixture

³⁾Herbal *Chokong* pill, contained components based on Table 1

조직은 두께 900~1,000 nm의 ultrathin section을 하였으며 ultrathin section은 copper grid (200 mesh)에 올려 uranyl acetate와 lead citrate 용액으로 이중 염색하여 투과전자현미경(TEM, Hitachi H-7600, Japan)으로 관찰하였다.

통계처리

실험결과와 통계 처리는 SPSS package를 이용하였으며, 모든 측정값은 Mean±SEM로 표시하였고 분석에 대한 유의성은 one-way-ANOVA를 실시, 분석결과에 대한 p<0.05의 수준에서 LSD 다중검정법으로 사후검정을 실시하여 각 처리구간의 평균치에 대한 유의성을 분석하였다.

결과 및 고찰

한방초공환이 간무게에 미치는 영향

정상군의 간무게는 14.2 g이었으나 HF군의 경우는 19.1 g으로서 정상군에 비하여 유의하게 증가되었다. 반면에 T1군의 경우 18.8, T5군의 경우는 16.7 g으로서 HF군에 비하여 약 13% 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다(Fig. 1). Park 등의 보고[19]에서 내장지방조직의 양은 T5군이 HF군에 비하여 유의성 있게 감소되었던 결과와 비슷한 결과로서, 한방초공환은 고지방식이로 인한 혈청 중 지질농도의 증가와 더불어 간 조직 내 지질의 축적을 억제하는데 효과를 나타내는 것으로 생각된다. Shin 등[21]은 고지방 식이에 연잎 건분을 첨가한 식이로서 6주간 사육했을 때 유의적인 체중감소효과를 나타내었으며, 이때 간장, 신장, 비장, 폐 등의 장기무게도 감소한 결과는 체중감소로 인한 장기무게의 감소로 보고한 바 있다.

한방초공환이 간기능에 미치는 영향

Fig. 2는 고지방식이를 투여한 쥐의 혈청중 GOT와 GPT 활성도로서 정상군의 혈청 중 GOT 활성도는 148.3±8.1 U/l

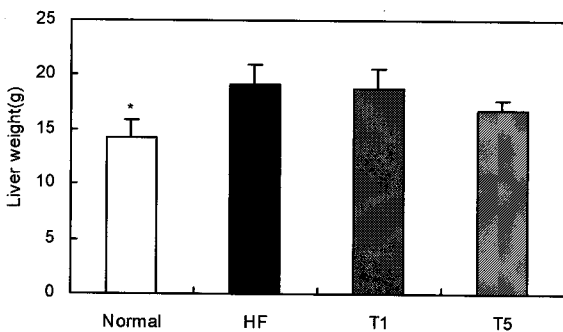


Fig. 1. Effects of powdered HCKP supplementation on the liver weights in rats fed high-fat diet. Mean±SE for 7 animals. Normal, HF, T1, T5: See the legend in Table 1. *Significantly different from HF group (p<0.05).

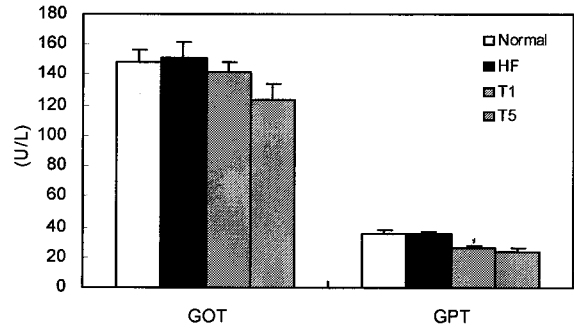


Fig. 2. Effects of powdered HCKP supplementation on the serum GOT and GPT in rats fed high-fat diet. Mean±SE for 7 animals. Normal, HF, T1, T5: See the legend in Table 1. *Significantly different from HF group (p<0.05).

이었으나 HF군의 경우는 150.8±10.4 U/l로 정상군에 비해 약간 증가되었다. 반면에 T1군과 T5군에서는 각각 141.6±6.4 U/l, 124±10.3 U/l로 HF군에 비하여 초공환의 농도에 비례하여 GOT 활성이 감소하는 경향을 보였다. 한편 혈청 중 GPT 활성도는 정상군이 35.3±3.3 U/l이었으나 HF군은 35.5±1.7 U/l로 정상군과 같았으며 T1군과 T5군에서는 각각 26.5±0.9, 24±1.7 U/l로 HF에 비해 감소하였고 T1군에서 유의성을 보였다(p<0.05). 본 결과에서 한방초공환의 섭취는 고지방식이 섭취로 인한 간 무게의 증가에도 불구하고 간 보호 작용을 하는 것으로 생각된다. 이러한 연구결과는 한약재나 천연식품을 이용한 비만억제 연구에서, 한약제인 PM-F2-OB [7], 현미, 야채, 버섯 등을 포함한 천연복합식품[12], 운지버섯[17], 연잎 건분[21]을 첨가한 경우에 GOT와 GPT 활성을 감소시켰다고 보고되고 있어 앞으로 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 기대된다.

간 세포의 전자현미경 관찰

정상군의 간세포는 Fig. 3의 A에서와 같이 원형 또는 다각형을 취하고 있고 원형질막의 경계가 분명하며(->b), 크고 둥근 핵이 세포의 중앙에 위치해(->a) 핵질이 고르게 발달해 있을 뿐만 아니라, B와 C에서 조면 소포체(rough endoplasmic reticulum, RER)가 핵막 주위에 평행한 층상으로 발달되어 있고(er), 세포질에는 난원형의 미토콘드리아(mi)를 비롯한 각종 세포 소기관이 고루 분포되어 있었다. 또한 C와 D의 고배율로 관찰한 결과 선명한 막 구조물의 소포체가 핵 주위에서 발달되어 규칙적인 층상구조를 이루었으며 미토콘드리아의 형태 및 막과 내부의 cristae도 분명하였고 세포 전반에 걸쳐 지방구는 전혀 보이지 않았다. HF군은 Fig. 4의 A와 같이 세포전반에 걸쳐 지방구에 뒤덮여 세포의 형태 관찰이 불가능할 정도였으며 B, C와 D의 고배율에서도 큰 지방구가 관찰되었고(gf) 지방구와 지방구 사이로 관찰한 세포질 내에도 지방의 과잉 축적으로 인한 전자밀도가 낮아 백색을 나타

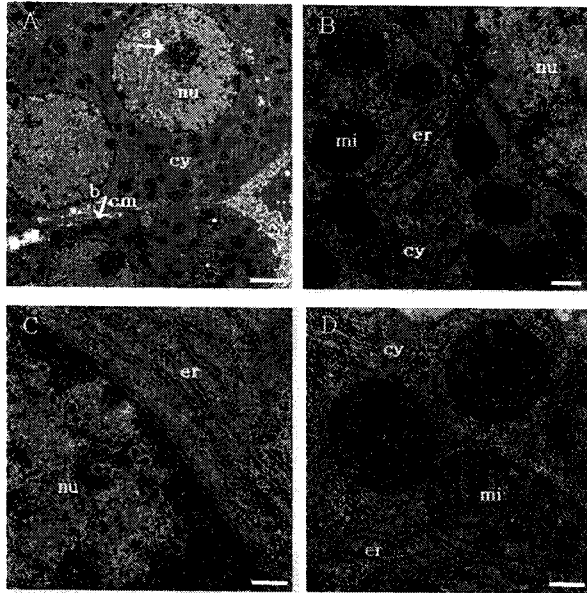


Fig. 3. Transmission electron micrographs (TEM) of normal liver cells. Scale bar indicates A: 2 μ m, B: 0.5 μ m and C & D: 0.2 μ m. Symbols are cy: cytoplasm, er: endoplasmic reticulum, mi: mitochondria, nu: nucleus.

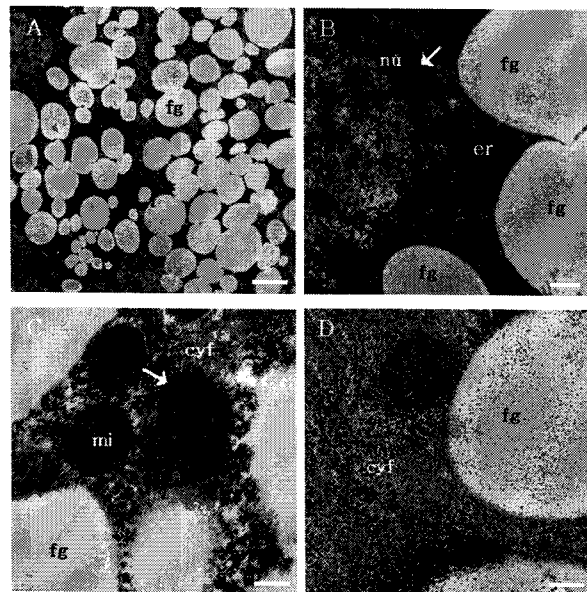


Fig. 4. Transmission electron micrographs (TEM) of HF liver cells. Scale bar indicates A: 2 μ m, B: 0.5 μ m and C & D: 0.2 μ m. Symbols are cyf: cytoplasm fat, er: endoplasmic reticulum, fg: fat globule, mi: mitochondria, nu: nucleus.

내어(cyf) 세포소기관의 막과 형태가 불분명한(→) 지방간의 심각한 양상을 볼 수 있었다. 지방으로 차여 비대해진 핵 및 조면소포체의 위축과 수적 감소가 매우 심하였고(er) 미토콘드리아막이 부풀어 오르거나(swelling) cristae가 소실되어 심한 퇴행성 변화(degenerative changes)를 보였다. T1군은

Fig. 5의 A와 같이 HF군에 비하여 지방구가 많이 줄어들었으며 핵, 미토콘드리아 및 소포체 등 세포질에 있는 소기관들의 관찰이 가능하였다. B, C와 D의 고배율 사진에서도 큰 지방구 아래의 세포질(cyf)은 지방질에 의한 전자밀도가 여전히 낮았으나 HF군에 비하여 높아진 것을 관찰할 수 있었다. 비대한 핵(nu)과 수가 적고 불분명한 막(→) 및 소실되어 희미한 cristae를 가진 미토콘드리아와 내강이 팽대된 소포체의 막 구조물(er→)이 관찰되었으나 HF군에 비하여 세포 전반에 걸쳐 지방에 의한 세포의 변형이 많이 회복된 상태였다. T5군은 Fig. 6의 A와 같이 HF군과 T1군에 비하여 지방세포의 크기와 수가 더욱 줄어들었고, B에서 세포질의 지방도 줄어들어 세포질의 전자밀도가 높아졌음을 확인할 수 있었으며(cyf), 세포소기관 및 핵과 핵막의 형태가 더욱더 선명하였다. 정상군에 비하여 지방이 사이사이에 끼어있고 미토콘드리아 내부도 지방이 잔존해 있었으나 HF군과 T1군에 비하여 좀 더 수적으로 우세하고 또렷한 소포체와 좀 더 선명해진 cristae를 가진 미토콘드리아가 관찰되어 T1군보다 더 많이 회복된 세포의 형태로 정상군과 거의 유사한 결과가 관찰되었다.

이상의 성적을 종합하면 HF군에서는 정상군에 비하여 많은 수의 크고 작은 지방구와 미토콘드리아의 수적 감소 및 지방화, 그리고 조면소포체의 수적 감소 및 불분명하고 끊어진 막 구조물이 관찰되는 간의 퇴행성 변화 즉, 지방간의 소견을 보였다. T1군에서는 T5군 보다는 다소 퇴행성 변화가 잔존하여 미토콘드리아와 소수의 세포질 내에 끼어있는 지방이 관찰되나 HF군에 비하면 지방간의 소견이 많이 감소됨을 보였다. 한편 T5군에서는 지방구의 수와 크기가 크게 감

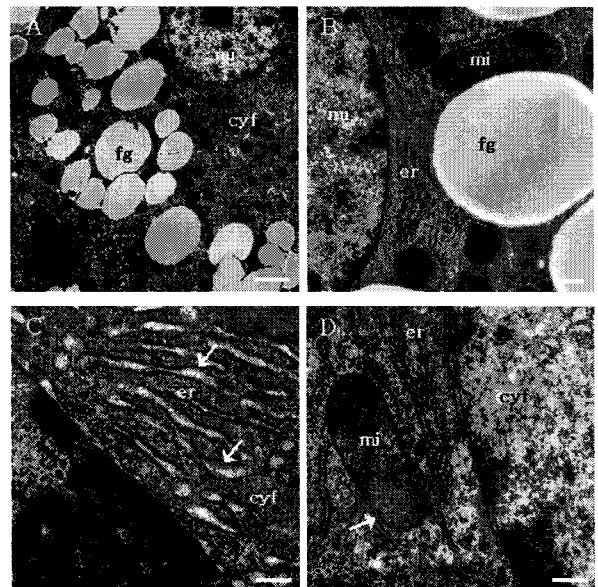


Fig. 5. Transmission electron micrographs (TEM) of T1 liver cells. Scale bar indicates A: 2 μ m, B: 0.5 μ m and C & D: 0.2 μ m. Symbols are same as Fig. 4.

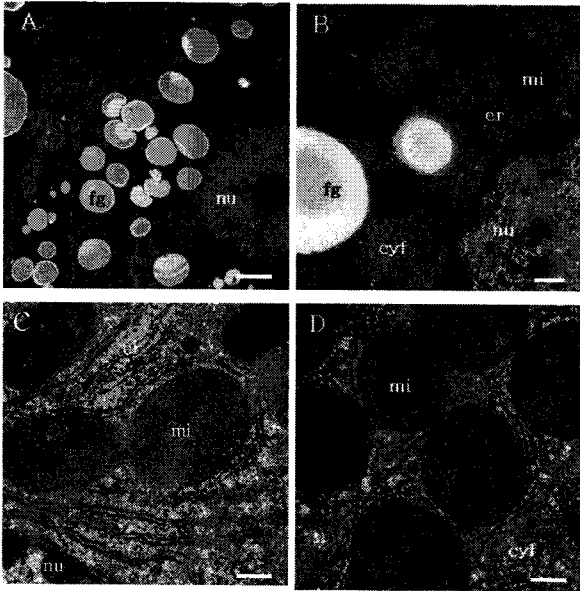


Fig. 6. Transmission electron micrographs (TEM) of T5 liver cells. Scale bar indicates A: 2 μ m, B: 0.5 μ m and C & D: 0.2 μ m. Symbols are same as Fig. 4.

소하였으며 미토콘드리아의 수나 모양, 그리고 조면소포체의 배열 및 수는 정상군과 유사한 소견이었다. Kim 등[11]은 다양한 한약재 추출물이 간 소엽 내 지방면적 비율을 감소시킨다고 보고한 바 있으며, Shin 등[12]의 서목태 추출물이 고지방과 고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 혈청 지질 농도를 낮춘다는 보고 등으로 미루어 볼 때 서목태와 한방약재로 만든 한방초공환의 간 조직 지방제거 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 한방초공환의 고지방식이를 섭취한 흰쥐의 간 조직 지방제거 효과를 관찰하기 위하여 서목태(*Rhynchosia nulubilis*)를 식초에 15일간 절인 후, 5종류의 한약재(감초, 산조인, 백출, 황기, 산수유)를 첨가하여 한방초공환을 제조하고, 고지방식으로 흰쥐의 비만을 유도하면서 고지방식이에 한방초공환을 1%와 5% 첨가하여 9주 동안 투여한 후 간장의 무게, 혈청 효소활성도 및 간세포의 미세구조를 투과형 전자현미경(TEM)으로 관찰하였다.

HF군은 정상군의 간 무게에 비하여 약 35% 증가된 반면에 T5군의 경우는 HF군에 비하여 약 13% 감소하였다. 혈청 중 GOT 활성도는 정상군과 HF군이 비슷한 수준이었으나 T1군과 T5군에서는 HF군에 비하여 각각, 6.1%, 17.8% 감소하였으며 혈청 중 GPT 활성도 역시 정상군과 HF군이 거의 비슷한 수준이었으나 T1군과 T5군에서는 HF군에 비하여 각각 25.4, 32.4% 감소하였다.

간세포조직의 지방축적 정도 및 형태적 특징을 전자현미

경으로 관찰한 결과, 정상군의 모양은 원형 내지 다각형을 나타내고 핵은 크고 둥글며 세포의 중앙에 위치해 핵질이 고르게 발달해 있을 뿐만 아니라 세포질에는 미토콘드리아를 비롯한 각종 세포 소기관이 고루 분포되어 있었으며 세포 전반에 걸쳐 지방구는 보이지 않았다. HF군은 세포전반에 걸쳐 지방구에 뒤덮여 세포의 형태 관찰이 불가능할 정도였으며 지방의 과잉 축적으로 인한 전자밀도가 낮아 백색을 나타내어 세포소기관의 막과 형태가 불분명한 지방간의 심각한 양상을 볼 수 있었다. T1군은 HF군에 비하여 지방구가 많이 소멸되었으며, T5군은 T1군에 비하여 지방세포의 크기와 수가 현저히 줄어든 것이 관찰 되었고, 더욱더 선명한 핵과 핵막 및 세포질의 전자밀도가 높아 지방질의 감소를 볼 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2006년도 중소기업청과 경상북도의 산학연컨소시엄 연구개발비 지원에 의하여 수행된 연구결과로서 연구비 지원에 감사드립니다.

References

1. Bae, E. A. and G. S. Moon. 2003. A study on the anti-oxidative activities of Korean soybeans. *Korean J. Food Sci. Nutr.* **26**, 203-208.
2. Bron, D. and R. Asmis. 2001. Vitamin B and the prevention of atherosclerosis. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **71**, 18-24.
3. Caragay, A. B. 1992. Cancer-preventive foods and ingredients. *Food Technol.* **46**, 65-78.
4. Carroll, K. K., P. M. Giovannetti, M. W. Huff, O. Moase, D. C. K. Roberts and B. M. Wolfe. 1978. Hypocholesterolemic effect of substituting soybean protein for animal protein in the diet of healthy young men. *Am. J. Clin. Nutr.* **31**, 1312-1314.
5. Choi, Y. S. and S. Y. Lee. 1993. Cholesterol-lowering effects of soybean products (curd or curd residue) in rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **26**, 673-677.
6. Han, J. S., H. D. Hong and S. R. Kim. 2007. Changes in isoflavone content and mass balance during soybean processing. *Food Sci. and Biotechnol.* **16**, 426-433.
7. Kang, M. J., W. Oh, H. K. Lee, H. S. Chung, S. M. Lee, C. Kim, H. J. Lee, D. W. Yoon. 2000. Anti-obesity effect of PM-F2-OB, an anti-obesity herbal formulation, on rats fed a high-fat diet. *Biol. Pharm. Bull.* **27**, 1251-1256.
8. Kim, H. S., G. J. Kim, H. S. Kim. 1998. Effect of the Feeding *Platycodon grandiflorum* on Lipid Components of Liver and Liver Function in Hypercholesterolemia Rats. *Kor. J. Food and Nutr.* **11**, 312-318.
9. Kim, T. S. 1996. *The Plant of Korea*, Seoul National Univ. Publish, Seoul.
10. Kim, Y. S., S. H. Byeon, B. I. Seo, S. C. Kim, M. Gug, E.

- H. Jo. 2000. The Oriental medicines effects on cure and prevention of an obesity (2). *Kor. J. Herbology* **15**, 73-82.
11. Kim, Y. S., S. H. Byun, S. C. Kim, M. Kuk, E. H. Cho. 2001. Effect on cure and prevention of the obesity (VIII). *Kor. J. Herbology* **16**, 41-48.
 12. Lee, E., W. J. Kim, Y. J. Lee, M. K. Lee, P. G. Kim, Y. J. Park, S. K. Kim. 2003. Effects of natural complex food on specific enzymes of serum and liver and liver microstructure of rats fed a high fat diet. *Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 256-262.
 13. Lee, J. S., M. K. Lee, T. Y. Ha, S. H. Bok, H. M. Park, K. S. Jeong, M. N. Woo, G. M. Do, J. Y. Yeo, M. S. Choi. 2006. Supplementation of whole persimmon leaf improves lipid profiles and suppresses body weight gain in rats fed high-fat diet. *Food Chem. Tox.* **44**, 1875-1883.
 14. Lin, R. I. S. 1994. In *Functional Foods: Phytochemicals and antioxidants*. Chapman & Hall, New York.
 15. Messina, M., V. Persk, K. D. R. Setchell and S. Branes. 1994. Soy intake and cancer risk: A review of the in vitro and in vivo data. *Nutr. Cancer* **21**, 113-131.
 16. Ministry of Health and welfare. 2000. 1998 Yearbook of health and nutrition statistics.
 17. Moon, S. P., J. B. Koh. 2004. Effects of liquid culture of *Coriolus Versicolor* on lipid metabolism and enzyme activities in rats fed high fat diet. *Kor. Nutr. Soc.* **37**, 88-94.
 18. Oh, C. H., E. J. Kim, K. H. Lee, M. K. Moon, M. G. Cho, J. H. Kim, S. H. Oh, T. K. Lee, T. Y. Shin, D. K. Kim. 2006. Antiproliferative constituents from vinegar treated small black soybean (*Glycine max* Merr). *Natural Product Sci.* **12**, 109-112.
 19. Park, C. S., D. H. Kim, M. L. Kim, J. M. Suk, M. R. Kim. 2007. Effects of mixed pills of *Chokong* (pickled black soybeans) with medicinal herbs on body weight gain and lipid profiles in rats fed high-fat diet. *Kor. J. Herbology.* **22**, 127-135.
 20. Park, M. S. C., B. J. Kudchodkar and G. U. Liepa. 1987. Effect of dietary animal and plants proteins on the cholesterol metabolism in immature and mature rats. *J. Nutr.* **117**, 30-35.
 21. Shin, M. K. and S. H. Han. 2006. Effect of Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertner) leaf powder on lipid concentrations in rats fed high fat diet rats. *Kor. J. Food Culture* **21**, 202-208.
 22. Shin, M. K. and S. H. Han. 2002. Effects of methanol extracts from *Rhynchosia nulubilis* on serum lipid concentrations in rats fed high fat and high cholesterol diet. *Kor. J. dietary Culture* **17**, 64-69.
 23. Statistics office. 1999. 1998 Yearbook death cause statistics.
 24. Terpastra, A. H. M., G. Tintelen and C. E. West. 1982. The hypocholesterolemic effect of dietary soy protein in rats. *J. Nutr.* **11**, 810-817.