

## 산사발효초가 고지방식이를 급여한 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

전정우<sup>1</sup> · 박진경<sup>1</sup> · 이미애<sup>1</sup> · 정미란<sup>2</sup> · 한종현<sup>3</sup> · 박유경<sup>1,4\*</sup>

<sup>1</sup>경희대학교 동서의학대학원 의학영양학과

<sup>2</sup>전북대학교 생리활성물질연구소

<sup>3</sup>원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과

<sup>4</sup>경희대학교 임상영양연구소

### Fermented *Crataegi fructus* Vinegar Improves Lipid Metabolism in Rats Fed High Fat Diet

Jeong Woo Chon<sup>1</sup>, Jin Kyung Park<sup>1</sup>, Mi Ae Lee<sup>1</sup>, Mi Ran Jeong<sup>2</sup>, Jong Hyun Han<sup>3</sup>,  
and Yoo Kyoung Park<sup>1,4\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Medical Nutrition, Graduate School of East-West Medical Science,  
Kyung Hee University, Gyeonggi 446-701, Korea

<sup>2</sup>Research Center of Bioactive Materials, Chonbuk National University, Jeonbuk 570-883, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Herbal Professional, Graduate School of Oriental Medicine,  
Won Kwang University, Jeonbuk 570-749, Korea

<sup>4</sup>Research Institute of Clinical Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

#### Abstract

*Crataegi fructus* has been used as an oriental medicine and a folk remedy for the treatment of scurvy, constipation and stomach ailment. This study was aimed to investigate the effect of fermented *Crataegi fructus* vinegar (FCV) on the improvement of lipid metabolism in rats fed high fat diet (40% kcal% fat, fat source: beef tallow). Sprague-Dawley rats (n=32) were randomly divided into four groups [normal diet (ND), high fat diet (HD), and high fat diet supplemented with low (CFL; 1.5% wt/wt) and high (CFH; 3.0% wt/wt) doses of fermented *Crataegi fructus* vinegar] and were fed experimental diets for 6 weeks. At the end of the experiment, the body weight in high fat diet groups was higher than that of normal diet group, while the body weights of CFL and CFH group were significantly reduced by 7.2% and 10.0%, respectively, as compared with that of HD group. Moreover, liver and kidney weights in CFL and CFH group were significantly lower than that of HD group (p<0.05). The levels of serum triglyceride, total cholesterol, LDL-C, atherogenic index and hepatic triglyceride, total cholesterol in CFH group were significantly decreased as compared with HD group whereas it increased the serum level of HDL-C than HD group (p<0.05). CFL and CFH groups showed significantly decreased AST, ALT and ALP of serum as compared with HD group. Excretions of fecal saturated fatty acid in CFH group was significantly increased compared with ND and HD groups. These results imply that fermented *Crataegi fructus* vinegar can be used as possible food resources and functional food materials.

**Key words:** *Crataegi fructus*, fermented, high fat diet, obesity, lipid metabolism

#### 서 론

최근 식생활의 변화로 동물성 포화지방, 고칼로리 식품의 섭취 증가뿐만 아니라 운동 부족, 스트레스 등의 여러 요인으로 비만의 발병률이 증가 추세를 보이고 있다. 비만은 신체 에너지 섭취와 소비의 불균형으로 과잉된 체지방 축적으로 생기는 질환으로서, 심혈관계 질환, 당뇨, 고혈압, 고지혈증, 담석증 등의 신체 질환뿐만 아니라 정신 건강까지 영향을 미치므로 이에 대한 대책 마련이 시급한 실정이다(1). 비

만은 성인에게만 국한된 것이 아니라 소아·청소년을 포함한 전 연령층에서 발병되며, 최근 젊은 연령에서 체중 증가 속도가 급격히 증가하고 있어 향후 사회적 문제를 야기할 가능성이 크기 때문에 장기적인 관리와 집중적인 치료가 필요하다. 또한 비만으로 인한 삶의 질 저하, 질병의 고통 같은 무형요소까지 포함하면 비만이 차지하는 사회경제적 비용의 비율은 더욱 높아질 것이다(2). 이러한 문제에 대해 우선적으로 식이, 운동, 행동 요법을 통한 생활습관의 개선이 필요하지만 약물이나 수술요법을 병행하여 예방, 치료하고 있

\*Corresponding author. E-mail: ypark@khu.ac.kr  
Phone: 82-31-201-3816, Fax: 82-31-201-3816

다(3). 여러 작용기전에 따라 비만치료제가 개발되고 있지만 위장장애, 복부 팽만, 구갈, 변비, 혈압상승 등의 부작용을 야기하므로 체중 조절에 효과적이면서 부작용이 적은 기능성 물질들을 천연물에서 찾아내어 작용기전에 따라 의약품이나 건강 기능성식품 개발 연구가 활발히 진행되고 있다 (4). 체중 조절을 위한 기능성 물질에는 garcinia cambogia 의 hydroxycitric acid(HCA), 야자유와 귀리유의 oilibra, 치커리의 inulin, oligofructose가 식욕 조절을 하며, chitosan, flavonoids는 지방 소화 및 흡수를 억제하며, capsaicin, caffeine, catechin, retinoic acid는 열대사를 유도하고, L-carnitine, conjugated linoleic acid(CLA) 등이 지질대사 조절에 관여한다(3). 생약성분을 함유한 동·식물을 이용한 처방들이 동의보감, 본초강목에 수록되어 마황, 생강, 결정자, 괴화, 천궁, 오수유 등이 체중 조절 처방에 사용되고 있다.

산사(*Crataegi fructus*)는 아가위, 적과자 등의 이명으로 불리며 식용, 약용 및 관상수로 널리 애용되고 있는 장미과의 낙엽교목인 산사나무 과실이다(5). 한방에서 건위, 소화, 수렴, 진통 등에 이용되고 있으며(6), 항산화(7,8), 고지혈증(9), 항염증(10), 순환계 질환(11), chitin synthase II 저해(5), HIV- I protease 저해(12) 등의 생리활성이 있는 것으로 알려져 있다. 산사는 crataegolic acid, citric acid, succinic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, oleanolic acid, ursolic acid 등의 유기산과 quercetin, vitexin, quercitin, epicatechin, rutin 등의 flavonoids계 화합물로 이루어져 있으며, lipase, vitamin B<sub>2</sub>, vitamin C, pectin, carotene, Na, Fe 등을 함유하고 있다(13).

식초는 동·서양을 막론하고 오랜 시간 동안 이용되어 온 발효식품(14)으로 우리나라에서는 해동역사와 향약구급방에 기록되어 곡류초나 매실, 감 등의 다양한 과실을 이용한 과실초를 제조하여 이용해 왔다(15). 식초는 초산 이외에 휘발산 및 비휘발산의 유기산류, 당류, 아미노산류 및 ester 등을 함유한 알칼리성 식품이다. 또한 기본 조미료의 역할뿐만 아니라 식품 보존 및 의약용으로 이용되어 왔는데, 동맥경화, 고혈압, 당뇨, 비만, 소화흡수 및 촉진, 피로회복, 노화방지, 그리고 방사능 제거효과 등의 기능성이 주목을 받고 있다(16). 식초를 희석하여 음용하는 식초음료의 소비가 증대됨에 따라 식초에 대한 관심이 높아지고 있으며(17), 최근에는 향이나 유효성분을 이용하여 풍미가 특이적인 배, 매실, 감자, 보리, 양파, 무화과, 석류, 복분자 등의 다양한 소재 연구들이 이루어지고 있다(18).

따라서 본 연구에서는 건강 기능성식품 원료로 가능성이 잠재되어 있는 한약재 중 산사를 알코올 발효, 초산 발효 2단계로 구분하여 제조한 산사발효초의 일반성분을 분석하고, 고지방 식이로 비만을 유도한 흰쥐의 체중 조절, 혈청 및 간의 지질 함량, 분변의 지방산 변화에 미치는 영향을 관찰하고, 이러한 결과를 바탕으로 산사발효초의 체중 조절 및 지질대사 개선 효과를 검증하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용한 산사(山査)는 전라북도 장수에서 수확한 국내산 산사를 장수제약에서 구입하여 흐르는 물에 세척하고 음건시킨 후 사용하였다.

### 균주

산사의 알코올 발효에 사용한 효모는 *Saccharomyces cerevisiae*(KTCT 7246)를 사용하였으며, 초산균은 *Acetobacter* sp.(KTCT 2806)를 사용하였다.

### 알코올 발효

산사를 waring blender로 마쇄한 후 살균 및 갈변 방지를 위하여 K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>(Sigma, St. Louis, USA)를 100 ppm 농도로 첨가하였다. 설탕으로 24%가 되게 보당한 후 1일간 방치하고, YM broth(Table 1)에서 배양시킨 주모액 5%를 접종하여 27°C에서 10일간 발효시켰다(16).

### 초산 발효

초산균인 *Acetobacter* sp.을 YPM medium(Table 2)에 접종하여 30°C, 72시간 정지 배양하여 종초로 사용하였다. 알코올 발효가 된 발효액을 면 거즈로 여과한 여과액에 종초 5%를 접종하였다. 30°C에서 4일간 발효시킨 후, 여과지(Whatman No.2)로 여과시키고 10°C에서 90일간 숙성시킨 후 시료로 사용하였다(16-20).

### 일반성분 분석

산사발효초의 pH 측정은 pH meter(Beckman, Fullerton, USA)를 이용하여 측정하였고, 총산도는 시료 10 mL을 bromthymol blue와 neutral red 혼합지시약을 첨가하여 0.1 N NaOH로 적정한 후 acetic acid 함량(%)으로 환산하였다. 당의 함량은 Abbe 굴절당도계(NOW, Tokyo, Japan)를 이

Table 1. Medium composition for isolation of acetic acid bacteria

Material	Concentration
Yeast extract	3.0 g
Malt extract	3.0 g
Peptone	5.0 g
Dextrose	10.0 g
Agar	20.0 g
Distilled water	1.0 L

Table 2. Composition of basal medium on acetic acid fermentation

Material	Concentration
Yeast extract	5.0 g
Peptone	3.0 g
Mannitol	25.0 g
Agar	15.0 g
Distilled water	1.0 L

용하여 측정하였다. 수분, 조지방, 무기질은 식품공전 시험법(21), 조단백질은 Semi-micro kjeldahl법(21), 조회분은 AOAC법(22)에 준하였으며, 식이섬유는 Prosky법(23)에 의해 수용성 식이섬유와 불용성 식이섬유 함량을 분석하여 총 식이섬유 함량을 구하였다.

#### 실험동물 및 식이

실험동물은 생후 5주령 Sprague-Dawley 중 수컷 흰쥐를 (주)샘타코에서 구입하였고, 1주일간 적응시킨 후, 난괴법에 의해 8마리씩 4군으로 나누어 실험에 사용하였고 실험식이의 조성은 Table 3과 같다. 실험군은 정상식이군, 고지방식이대조군(40% kcal% fat, beef tallow), 1.5% 및 3.0% 산사발효초군(고지방식이에 산사발효초를 1.5% 및 3.0%씩 첨가한 군) 등 4군으로 나누어 해당 식이로 6주간 사육하였다. 체중은 1주일에 두 번씩 일정한 시간에 측정하였고, 식이섭취량은 실험기간 동안 매일 일정시간에 측정한 후 급여량에서 잔량을 감하여 계산하였다. 식이효율은 실험 전 기간의 체중 증가량을 같은 기간 동안의 섭취한 식이량으로 나누어 줌으로써 계산하였다. 실험동물은 stainless wire cage에서 한 마리씩 분리하여 사육하였고 사육실의 온도는  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도는  $50 \pm 5\%$ 이었다.

#### 시료 채취

실험동물은 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취하고 단두하여 채혈하여 실온에서 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 혈청을 분석 시료로 사용하였다. 채혈 후 즉시 장기를 적출하여 생리식염수로 세척한 다음 여과지로 수분을 제거하고 무게를 측정하였다. 분변의 수집

은 실험종료 전 일주일간 모아서 건조기에서 건조하여 분석 시료로 사용하였다.

#### 혈청, 간의 지질 함량 측정

혈청의 중성지방(triglyceride, TG)과 총콜레스테롤(total cholesterol, TC)은 표준 효소비색법에 의한 kit(Asan Pharm., Seoul, Korea)를 사용하여 각각 550, 500 nm에서 흡광도를 측정하고 정량하였다. HDL-cholesterol은 2% dextrin sulfate와 1 M  $\text{MgCl}_2$  침전액(1:1)을 가해서 상층액을 시료로 표준효소비색법의 의한 kit(Asan Pharm.)를 사용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하고 정량하였다. LDL-cholesterol은 Friedewald 식에 의하여 산출하였고(24), 심혈관 질환의 유행율과 관련이 있는 동맥경화지수(atherogenic index, AI)를 산출하였다(25). 간의 지질 함량은 Folch 등의 방법(26)에 의해 추출하여 중성지방, 총콜레스테롤 kit를 이용하여 측정하였다.

#### 혈청의 metabolic variables 측정

분리한 혈청의 total protein, albumin, aspartate transaminase(AST), alanine transaminase(ALT), alkaline phosphatase(ALP)의 농도는 각각의 kit(Asan Pharm.)를 이용하여 측정하였다.

#### 분변의 지방산 분석

지방산은 Folch 등의 방법(26)에 따라 분변의 지질을 추출한 후  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$ 로 메틸에스테르화시켜 GC(4890 series, Hewlett-Packard, Palo Alto, USA)를 이용하여 분석하였다.

#### 통계처리

본 실험 결과는 SPSS package program 15.0을 이용하여 평균치와 표준오차를 구하였으며 각 군 간의 유의성은 one-way ANOVA 분석 후  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple comparison test로 검증하였다.

## 결 과

#### 산사발효초 이화학적 특성 및 영양소 함량 비교

2단계 발효를 통해 제조된 산사발효초의 pH는 3.82, 총산도는 5.14%, 당의 함량은 6.46°Brix이었다. 그러나 시판중인 산사발효초가 없어 직접 비교는 할 수 없었지만 과실을 이용한 과실식초 연구들의 pH, 총산도, 당의 함량 결과에 비하면 비슷한 수치를 나타내었다(14,16).

산사발효초와 산사자(山査子, 발효하지 않은 산사), 한방에서 한약재를 대부분 열수 추출하여 생리활성 성분을 이용하는 데 이와 비교하기 위해서 열수 추출한 산사 열수추출물의 일반성분을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 산사자의 일반성분은 조단백 0.26%, 조지방 0.30%, 조회분 0.66%이었으며, 산사열수추출물은 조단백 0.21%, 조지방과 조회분은 각각 0.01%이었다. 산사발효초는 조단백 0.24%, 조지방 0.03%, 조회분은 0.53%이었다. 총 식이섬유소의 함량은 산

Table 3. Composition of the experimental diet (g/kg diet)

Ingredient	Normal diet		High fat diet	
	ND <sup>1)</sup>	HD <sup>2)</sup>	CFL <sup>3)</sup>	CFH <sup>4)</sup>
Corn starch	150	150	135	120
Casein	200	200	200	200
Cellulose	50	50	50	50
Sucrose	500	345	345	345
Corn oil	50	—	—	—
Beef tallow	—	205	205	205
DL-methionine	3	3	3	3
AIN 76 vitamin mix <sup>5)</sup>	10	10	10	10
AIN 76 mineral mix <sup>6)</sup>	35	35	35	35
Choline bitartrate	2	2	2	2
FCV <sup>7)</sup>	—	—	15	30
Total	1,000	1,000	1,000	1,000

<sup>1)</sup>ND: normal diet.

<sup>2)</sup>HD: high fat diet.

<sup>3)</sup>CFL: high fat diet with 1.5% fermented *Crataegi fructus* vinegar.

<sup>4)</sup>CFH: high fat diet with 3.0% fermented *Crataegi fructus* vinegar.

<sup>5)</sup>Mineral mixture (g/kg) according to AIN-76.

<sup>6)</sup>Vitamin mixture (g/kg) according to AIN-76.

<sup>7)</sup>FCV: fermented *Crataegi fructus* vinegar.

Table 4. Proximate composition of *Crataegi fructus*

		CF <sup>1)</sup>	CW <sup>2)</sup>	FCV <sup>3)</sup>
Moisture (%)		80.64 <sup>b</sup>	99.60 <sup>a</sup>	74.42 <sup>c</sup>
Carbohydrate (%)		18.14 <sup>b</sup>	0.17 <sup>c</sup>	24.78 <sup>a</sup>
Crude	Protein (%)	0.26 <sup>a</sup>	0.21 <sup>c</sup>	0.24 <sup>b</sup>
	Lipid (%)	0.30 <sup>a</sup>	0.01 <sup>c</sup>	0.03 <sup>b</sup>
	Ash (%)	0.66 <sup>a</sup>	0.01 <sup>c</sup>	0.53 <sup>b</sup>
Fiber	IDF <sup>4)</sup> (%)	4.66	—	—
	SDF <sup>5)</sup> (%)	0.94 <sup>a</sup>	0.15 <sup>c</sup>	0.24 <sup>b</sup>
	TDF <sup>6)</sup> (%)	5.60 <sup>a</sup>	0.15 <sup>c</sup>	0.24 <sup>b</sup>
Mineral (mg/100 g)	K	348.59 <sup>a</sup>	9.55 <sup>c</sup>	258.47 <sup>b</sup>
	Ca	93.46 <sup>a</sup>	3.87 <sup>c</sup>	29.86 <sup>b</sup>
	P	39.30 <sup>a</sup>	2.44 <sup>c</sup>	22.15 <sup>b</sup>
	Na	15.42 <sup>b</sup>	6.52 <sup>c</sup>	42.03 <sup>a</sup>
	Mn	0.43 <sup>a</sup>	0.02 <sup>b</sup>	0.43 <sup>a</sup>
	Zn	0.32 <sup>a</sup>	0.05 <sup>c</sup>	0.29 <sup>b</sup>
	Fe	1.81 <sup>a</sup>	0.14 <sup>c</sup>	0.43 <sup>b</sup>
	Cu	0.18 <sup>a</sup>	0.05 <sup>c</sup>	0.09 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>CF: *Crataegi fructus*.

<sup>2)</sup>CW: *Crataegi fructus* water extract.

<sup>3)</sup>FCV: fermented *Crataegi fructus* vinegar.

<sup>4)</sup>IDF: insoluble dietary fiber.

<sup>5)</sup>SDF: soluble dietary fiber.

<sup>6)</sup>TDF: total dietary fiber.

사자는 5.60%(불용성 4.66%, 수용성 0.94%), 산사 열수추출물과 발효초는 각각 0.15%, 0.24%이었고 불용성 식이섬유는 함유되어 있지 않았다.

체중변화, 식이섭취량, 식이효율 및 장기무게

실험기간 동안 체중변화, 식이섭취량, 식이효율 및 장기무게는 Fig. 1과 Table 5에 나타내었다. 실험식이 급여 전 실험군 간의 체중은 차이가 없었으나 급여 3주 후부터 정상식이군(ND)보다 고지방식이군들의 체중이 유의적으로 증가하기 시작하였으며, 실험 종료 시에는 저농도 산사발효초군(low doses of fermented *Crataegi fructus* vinegar, CFL) 및 고농도 산사발효초군(high doses of fermented *Crataegi fructus* vinegar, CFH)의 체중은 고지방식이대조군(HD)에

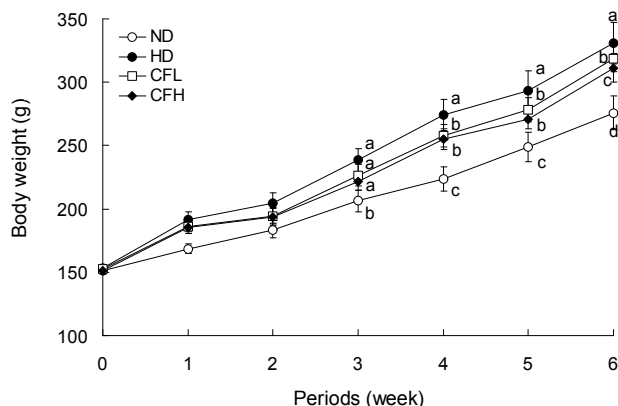


Fig. 1. Comparison of body weight in rats fed experimental diets for 6 weeks. ND: normal diet, HD: high fat diet, CFL: high fat diet with 1.5% fermented *Crataegi fructus* vinegar, CFH: high fat diet with 3.0% fermented *Crataegi fructus* vinegar. All values are mean±SD (n=8). Values with different superscripts are significantly different by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05.

비해 유의적으로 각각 7.2%, 10.0% 감소되었다. 식이섭취량은 고지방식이군들이 ND군보다 낮았으나 식이효율은 유의적으로 높았다. 이는 식이지방이 공복감을 줄여 식이섭취량을 감소시키고, 열량 밀도가 높을수록 식이섭취량이 감소되기 때문이다(27). 간, 신장의 무게는 CFL군과 CFH군이 HD군에 비해 유의적으로 감소하였다.

혈청 중 metabolic variables 변화

혈청의 대사 지표 물질들의 농도는 Table 6에 나타내었다. CFL군과 CFH군의 total protein과 albumin 농도는 ND군보다 유의적으로 낮았지만 HD군보다 유의적으로 높았다. AST와 ALT에서 CFL군과 CFH군은 ND군과 유의적 차이를 보이지 않았지만 HD군보다 유의적으로 낮았으며, ALP에서 CFH군이 HD군보다 유의적으로 낮게 나타났다.

혈청 및 간의 지질 농도 변화

혈청과 간의 지질 농도 변화는 Table 7에 나타내었다. 혈

Table 5. Comparison of body weight gains, food intake, food efficiency ratio, and organ weight in rats fed experimental diets for 6 weeks

	ND <sup>1)</sup>	HD <sup>2)</sup>	CFL <sup>3)</sup>	CFH <sup>4)</sup>
Body weight gain (g/day)	2.97±0.14 <sup>c</sup>	4.23±0.23 <sup>a</sup>	3.92±0.22 <sup>ab</sup>	3.81±0.11 <sup>b</sup>
Food Intake (g/day)	14.28±0.74	14.04±0.57	14.18±0.41	14.12±0.98
FER <sup>5)</sup>	0.20±0.41 <sup>c</sup>	0.30±0.21 <sup>a</sup>	0.27±0.35 <sup>b</sup>	0.27±0.26 <sup>b</sup>
Organ weight (g)				
Liver	6.84±1.93 <sup>c</sup>	10.29±0.90 <sup>a</sup>	8.84±0.12 <sup>b</sup>	9.14±0.43 <sup>b</sup>
Spleen	0.60±0.15 <sup>b</sup>	0.70±0.13 <sup>a</sup>	0.69±4.76 <sup>ab</sup>	0.66±5.41 <sup>b</sup>
Kidney	1.94±0.20 <sup>b</sup>	2.16±9.14 <sup>a</sup>	1.95±7.09 <sup>b</sup>	1.96±3.94 <sup>b</sup>
Testis	3.15±0.14 <sup>c</sup>	3.60±0.11 <sup>a</sup>	3.43±9.63 <sup>b</sup>	3.58±9.40 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>ND: normal diet.

<sup>2)</sup>HD: high fat diet.

<sup>3)</sup>CFL: high fat diet with 1.5% fermented *Crataegi fructus* vinegar.

<sup>4)</sup>CFH: high fat diet with 3.0% fermented *Crataegi fructus* vinegar.

<sup>5)</sup>FER: food efficiency ratio.

<sup>6)</sup>All values are mean±SD (n=8). Values with different superscripts are significantly different by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05.

Table 6. Effects of alcohol fermentation *Crataegi fructus* vinegar on biochemical variations of serum in rats fed experimental diets

	ND <sup>1)</sup>	HD <sup>2)</sup>	CFL <sup>3)</sup>	CFH <sup>4)</sup>
TP <sup>5)</sup> (g/dL)	7.07±0.86 <sup>a</sup>	5.20±0.30 <sup>b</sup>	5.77±0.73 <sup>b</sup>	5.84±0.52 <sup>b</sup>
Albumin (g/dL)	4.75±0.55 <sup>a</sup>	3.35±0.19 <sup>c</sup>	3.48±0.17 <sup>bc</sup>	3.80±0.31 <sup>b</sup>
AST <sup>6)</sup> (U/L)	177.30±15.35 <sup>b</sup>	238.60±33.61 <sup>a</sup>	164.60±19.28 <sup>b</sup>	152.30±9.29 <sup>b</sup>
ALT <sup>7)</sup> (U/L)	23.20±6.83 <sup>b</sup>	41.80±7.33 <sup>a</sup>	25.60±5.68 <sup>b</sup>	25.00±3.60 <sup>b</sup>
ALP <sup>8)</sup> (U/L)	94.80±16.39 <sup>c</sup>	152.00±27.01 <sup>a</sup>	139.40±25.23 <sup>ab</sup>	120.00±12.29 <sup>bc</sup>

<sup>1)</sup>ND: normal diet.

<sup>2)</sup>HD: high fat diet.

<sup>3)</sup>CFL: high fat diet with 1.5% fermented *Crataegi fructus* vinegar.

<sup>4)</sup>CFH: high fat diet with 3.0% fermented *Crataegi fructus* vinegar.

<sup>5)</sup>TP: total protein.

<sup>6)</sup>AST: aspartate transaminase.

<sup>7)</sup>ALT: alanine transaminase.

<sup>8)</sup>ALP: alkaline phosphatase.

<sup>9)</sup>All values are mean±SD (n=8). Values with different superscripts are significantly different by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05.

Table 7. Change of lipid concentrations in serum and liver

		ND <sup>1)</sup>	HD <sup>2)</sup>	CFL <sup>3)</sup>	CFH <sup>4)</sup>
Serum	Triglyceride	65.28±6.8 <sup>b</sup>	92.45±7.2 <sup>a</sup>	71.53±5.6 <sup>b</sup>	68.80±7.3 <sup>b</sup>
	Total cholesterol	88.69±3.6 <sup>b</sup>	160.07±16.1 <sup>a</sup>	156.64±14.2 <sup>a</sup>	97.35±5.6 <sup>b</sup>
	HDL-cholesterol	31.58±9.2 <sup>a</sup>	22.65±9.5 <sup>b</sup>	34.63±11.4 <sup>a</sup>	36.87±11.2 <sup>a</sup>
	LDL-cholesterol	15.96±10.8 <sup>b</sup>	37.79±11.3 <sup>a</sup>	5.57±10.3 <sup>c</sup>	12.46±10.8 <sup>c</sup>
	AI <sup>5)</sup>	1.07±0.8 <sup>b</sup>	3.08±1.8 <sup>a</sup>	1.07±0.7 <sup>b</sup>	0.87±0.3 <sup>b</sup>
Liver	Triglyceride	4.88±0.3 <sup>b</sup>	8.39±1.0 <sup>a</sup>	3.81±0.7 <sup>b</sup>	3.20±0.7 <sup>b</sup>
	Total cholesterol	15.75±0.9 <sup>d</sup>	33.16±2.0 <sup>a</sup>	24.37±2.29 <sup>b</sup>	21.39±1.6 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>ND: normal diet.

<sup>2)</sup>HD: high fat diet.

<sup>3)</sup>CFL: high fat diet with 1.5% fermented *Crataegi fructus* vinegar.

<sup>4)</sup>CFH: high fat diet with 3.0% fermented *Crataegi fructus* vinegar.

<sup>5)</sup>AI: atherogenic index.

<sup>6)</sup>All values are mean±SD (n=8). Values with different superscripts are significantly different by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05.

청의 중성지방은 HD군이 CFL군과 CFH군보다 각각 22.6%, 25.6% 유의적으로 높았으며, 총콜레스테롤은 CFH군에서 HD군보다 39.2% 유의적으로 감소되었다. HDL-C은 CFL군과 CFH군이 HD군보다 각각 52.9%, 62.8% 유의적으로 높았고, LDL-C과 동맥경화지수는 유의적으로 낮았다. 간의 중성지방은 CFL군과 CFH군은 HD군에 비해 각각 54.6%, 61.9% 유의적으로 감소하였다. 총콜레스테롤은 HD군이 ND군보다 유의적으로 높게 나타나 고지방식이로 비만 유도가 진행되었음을 알 수 있었고 Wursch 연구 결과(28)와 유사하였고 CFL군과 CFH군은 HD군보다 유의적으로 각각 26.5%, 35.5% 감소하였다.

#### 분변의 지방산 함량

산사발효초균 중 고농도인 CFH군의 체중변화, 혈청 및 간의 지질 농도 결과가 저농도인 CFL군보다 긍정적인 효과를 크므로 CFH군의 분변 지방산 조성을 Table 8에 나타내었다. 분변의 지방산 함량은 linoleic acid는 ND군은 16.59%로 HD군과 CFH군보다 각각 13.88%, 12.83% 유의적으로 높았고, linolenic acid는 CFH군이 ND군과 HD군에 비해 유

Table 8. Fatty acid composition of fecal in rats fed experimental diets

	ND <sup>1)</sup>	HD <sup>2)</sup>	CFH <sup>3)</sup>
C18:2 (n=6)	16.59±2.94 <sup>a</sup>	13.88±1.23 <sup>b</sup>	12.83±0.91 <sup>b</sup>
C18:3 (n=3)	1.65±0.62 <sup>a</sup>	1.01±0.55 <sup>a</sup>	0.36±0.15 <sup>b</sup>
C20:5 (n=3)	0.42±0.08	0.60±0.07	0.58±0.15
C22:6 (n=3)	1.24±0.31 <sup>a</sup>	0.95±0.23 <sup>ab</sup>	0.26±0.08 <sup>b</sup>
ΣPUFA <sup>4)</sup>	27.96±3.02 <sup>a</sup>	25.21±1.57 <sup>ab</sup>	20.31±1.41 <sup>b</sup>
ΣMUFA <sup>5)</sup>	14.39±1.41	15.18±1.13	13.17±0.92
ΣSFA <sup>6)</sup>	57.33±3.72 <sup>b</sup>	57.59±1.99 <sup>b</sup>	66.35±1.38 <sup>a</sup>
ΣP/M/S	0.79/0.35/1.00	0.44/0.27/1.00	0.31/0.20/1.00
Σn=6	24.28±2.78 <sup>a</sup>	22.08±1.32 <sup>a</sup>	18.43±1.35 <sup>b</sup>
Σn=3	3.70±0.78 <sup>a</sup>	3.14±0.56 <sup>a</sup>	1.95±0.24 <sup>b</sup>
n=6/n=3	18.35±4.22 <sup>a</sup>	9.19±1.12 <sup>c</sup>	13.67±2.92 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>ND: normal diet.

<sup>2)</sup>HD: high fat diet.

<sup>3)</sup>CFH: high fat diet with 3.0% fermented *Crataegi fructus* vinegar.

<sup>4)</sup>PUFA: polyunsaturated fatty acid.

<sup>5)</sup>MUFA: monounsaturated fatty acid.

<sup>6)</sup>SFA: saturated fatty acid.

<sup>7)</sup>All values are mean±SD (n=8). Values with different superscripts are significantly different by ANOVA with Duncan's multiple range test at p<0.05.

의적으로 낮게 나타났다. DHA에서도 CFH군은 HD군보다 낮았지만 유의적이지 않았다. 그러나 포화지방산( $\Sigma$ SFA)은 CFH군이 ND군과 HD군보다 유의적으로 높았으며, n-6/n-3 비율에서 CFH군은 유의적으로 ND군보다 낮았지만 HD군보다 높았다. CFH군 분변의 포화지방산 배설 함량이 다른 군보다 높았다는 점에서 산사발효초가 지질 개선을 위한 좋은 결과가 기대할 수 있으리라 사료되며, 또한 만성질환의 위험을 간접적으로 나타내는 지표로 간주될 수 있는 n=6/n=3 비율이 배설된 분변에서 높아진 것은 CFH 군에서 n=6계 지방산의 체내 이용 및 저장율이 감소되어 체외로 배설되기 때문에 n=6/n=3 비율이 HD군보다 높아진 것으로 여겨진다.

## 고 찰

본 연구에서는 심혈관계 질환, 고지혈증 등의 여러 질환들에 효능이 있는 산사를 건강 기능성식품으로 개발하고자 2 단계 발효 과정을 통해 발효초로 제조하였다. 제조한 산사발효초의 일반성분을 확인한 후, 고지방 식이를 섭취한 흰쥐에 산사발효초를 급여하여 체내 지질대사 개선 효과를 관찰하고자 하였다.

산사발효초와 산사자, 산사열수추출물의 일반성분을 비교하였을 때, 식이섬유 및 무기질 등의 함량이 산사자보다 낮았지만 산사열수추출물보다 높은 수치를 나타내었다. 발효 한약은 한약재를 저분자 구조로 분해하여 체내 흡수율과 생체 이용률 모두 증가시켜 한약재의 효과를 극대화시킬 수 있는 것으로 알려져 있으며(29), Shon에 의하면 발효한 한약재에서 항산화, 항암 효과가 증가한다고 하였다(30). 이는 한방에서 한약재의 생리활성 물질들을 열수 추출하여 사용하는데, 열수 추출보다 산사를 발효를 통해 일반성분이나 무기질 등의 손실을 최소화 시켜서 산사의 생리활성과 영양학적 효율을 증대시킬 수 있을 것으로 여겨진다. 동물실험 결과 정상식이군에 비해 고지방식이군에서 체중 증가와 장기무게의 증가가 유의하게 나타났으며, 저농도와 고농도 산사발효초군에서 체중 증가와 장기무게가 고지방식이 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다. 이는 고지방식이 섭취 시 체내 에너지 균형의 조절이 무너져 체중이 증가하여 hyperleptinemic과 인슐린 저항이 생긴다는 보고와(31) 같이 고지방식이를 통해 비만 유도가 되었음을 확인할 수 있었으며, 산사발효초군의 체중 감소는 산사의 식이섬유와 quercetin과 같은 생리활성 물질들이 지질 흡수를 저해하여 체중 감소를 유도한 것으로 여겨진다(32). 간 기능의 지표인 AST, ALT 결과에서 산사발효초군은 정상식이군과 유의적인 차이를 보이지 않았지만 고지방식이군과는 유의적 차이를 나타내어 산사발효초가 고지방식으로 인해 간 기능 저하를 개선시키며 부작용이 없음을 확인하였다. 혈청의 중성지방과 총콜레스테롤의 함량은 정상식이군에 비해 고지방식이군에서 높았으나 고농도 산사발효초군에서 정상식이군과

차이를 보이지 않았다. HDL-C 함량은 산사발효초군이 고지방식이 대조군보다 유의적으로 높았으며, 동맥경화 발병 빈도와 양의 상관관계를 보이는(33) LDL-C 함량은 정상식이군에 비해 고지방식이군에서 현저하게 높았지만 산사발효초군은 고지방식이대조군에 비해 각각 2.8배, 3.5배 감소하여 동맥경화에 효과적임을 알 수 있었다. Jung 등(34)의 감식초가 혈중 총콜레스테롤, LDL-C 함량을 감소시키고, HDL-C 함량을 높여주는 결과와 유사하여 산사발효초도 혈중 지질대사 개선에 도움을 줄 것으로 사료되어진다. 일반적으로 과다하게 지방 섭취를 하면 간에서 지질대사의 이상이 야기되어 지질 침착으로 인해 간의 무게가 증가되고, 간의 중성지방과 총콜레스테롤의 함량이 증가하는데(35), 산사발효초군에서 간의 중성지방과 총콜레스테롤 함량은 혈중 지질조성과 유사하게 고지방식이 대조군보다 낮은 수치를 나타냈다. 이러한 결과는 산사 성분 중 lipase가 pepsin의 활성을 증가시켜 단백질 분해를 촉진시키며, ursolic acid는 혈청 중 lecithin cholesterol acyltransferase(LCAT)의 활성을 증가시켜서 혈관벽의 유리콜레스테롤 침착을 저해하여 동맥경화를 예방하며(36), flavonoids는 항협심, 혈압강하, 강심작용을 하는데 그 중에서 quercetin은 항산화, 항암, 항염, 지질과산화 억제, 콜레스테롤 합성을 저해할 뿐만 아니라 adipogenesis 감소 및 지방세포 분화 조절 등의 효과를 나타낸다고 한다(37,38). 따라서 산사발효초의 여러 성분들이 복합적으로 연계하여 고지방식으로 증가된 혈청 및 간의 지질 조성 개선에 효과적인 것으로 여겨진다. 분변의 포화지방산 함량이 산사발효초군에서 다른 실험군보다 높다는 것은 산사발효초가 소화관 내에서 지질 흡수를 방해하여 간접적으로 담즙산의 배설량을 증가시켜 지질을 제거하는 역할을 하는 것으로 여겨진다. Zhang 등(39)은 소장에서 acyl-CoA cholesteryl acyltransferase(ACAT)를 저해하고, 간에서 cholesterol-7 $\alpha$ -hydroxylase의 활성화를 시켜 콜레스테롤 흡수되는 것을 억제함과 동시에 분변의 지질 배설을 증가시킨다는 연구와 유사하였다.

결론적으로 고지방식이 급여로 증가된 체중, 장기무게를 감소시키고, 혈청 및 간의 지질 조성을 개선시키며, 포화지방산의 배설을 증가시킨 산사발효초는 고지방 식사로 인한 고지혈증, 고혈압 및 비만 같은 지질대사 이상을 개선시키는데 긍정적인 영향을 나타내므로 건강 기능성식품의 소재로써 이용될 가능성을 높다고 할 수 있겠다.

## 요 약

본 연구에서는 산사 발효초가 고지방식이를 급여한 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향에 대해 살펴보았다. 흰쥐에게 고지방식이(40% kcal% fat, beef tallow)를 급여하면서 산사 발효초를 저농도(1.5% wt/wt, n=8), 고농도(3.0% wt/wt, n=8)로 투여하였을 때, 정상식이군(n=8)과 고지방식이 대조

군(n=8)과의 체중, 장기무게, 지질 함량 등의 차이를 관찰하였다. 체중은 산사발효초군이 정상식이군보다 유의적으로 증가하였지만, 고지방식이 대조군보다 유의적으로 각각 7.2%, 10.0% 감소하였다. 간과 신장 무게도 고지방식이 대조군에 비해 산사발효초군들에서 유의적으로 감소하였다. 고농도 산사발효초군에서 혈청의 중성지방, 총콜레스테롤, LDL-C, 동맥경화지수 및 간의 중성지방, 총콜레스테롤 함량은 고지방식이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였지만 혈청 중 HDL-C 함량은 유의적으로 증가하였다. 분변 중 포화지방산 함량은 고농도 산사발효초군에 비해 정상식이군이나 고지방식이대조군에서 유의적으로 높았다. 결론적으로 산사발효초는 체중을 감소시키며 혈청이나 간의 지질 함량을 개선시키고, 포화지방산 배설을 증가시키므로 체중 조절 및 지질대사 개선 효과가 규명되었다.

## 문 헌

- Kopelman PG. 2005. Obesity as a medical problem. *Nature* 404: 635-643.
- Lee SK, So SH, Hwang EI, Koo BS, Han GH, Ko SB, Kim NM. 2008. Effect of ginseng and herbal plant mixtures on anti-obesity in obese SD rat induced by high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 437-444.
- Ahn IS, Park KY, Do MS. 2007. Weight control mechanisms and antiobesity functional agents. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 503-513.
- George AB, Louis AT. 2000. Medicinal strategies in the treatment of obesity. *Nature* 404: 672-677.
- Jeong TS, Hwang EI, Lee HB, Lee ES, Kim YK, Min BS, Bae KH, Bok SH, Kim SU. 1999. Chitin synthase II inhibitory activity of ursolic acid, isolated from *Crataegus pinnatifida*. *Planta Med* 65: 261-263.
- 허준. 2001. 동의보감. 근영출판사, 서울. p 325.
- Kim JS, Lee GD, Kwon JH, Yoon HS. 1993. Antioxidative effectiveness of ether in *Crataegus pinnatifida* Bunge and *Terminalia chebula* rats. *J Korean Agric Chem Soc* 36: 203-207.
- Kang IH, Cha JH, Lee SW, Kim HJ, Kwon SH, Han IH, Hwang BS, Whang WK. 2005. Isolation of anti-oxidant from domestic *Crataegus pinnatifida* Bunge leaves. *Kor J Pharmacogn* 36: 121-128.
- Lee HJ, Choi MS. 1999. Measurement of inhibitory activities on 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and Acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase by various plant extracts *in vitro*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 958-962.
- Kao ES, Wang CJ, Lin WL, Yin YF, Wang CP, Tseng TH. 2005. Anti-inflammatory potential of flavonoid contents from dried fruit of *Crataegus pinnatifida* *in vitro* and *in vivo*. *J Agric Food Chem* 53: 430-436.
- Seo BI. 2005. Preventive effects of water extracts from on *Crataegi fructus* on hyperlipiderma and liver damage induced by alcohol. *Kor J Herbology* 20: 35-43.
- Min BS, Jung HJ, Lee JS, Kim YH, Bok SH, Ma CM, Nakamura N, Hattori M, Bae K. 1999. Inhibitory effect of triterpenes from *Crataegus pinnatifida* on HIV-1 protease. *Planta Med* 65: 374-375.
- Hong SS, Hwang JS, Lee SA, Han XH, Ro JS, Lee KS. 2002. Inhibitors of monoamine oxidase activity from the fruits of *Crataegus pinnatifida* Bunge. *Kor J Pharmacogn* 33: 285-290.
- Jeong YJ, Lee MH, Seo KI, Kim JN, Lee YS. 1998. The quality comparison of grape vinegar by two stages fermentation with traditional grape vinegar. *J East Asian Soc Dietary Life* 16: 731-739.
- Kim MK, Kim MY, Youn EK, Kim SD. 2002. Extraction of citrus bioflavonoid with vinegars and effects on blood pressure. *Korean J Food Preserv* 9: 411-417.
- Kim DH, Lee JS. 2000. Vinegar production from subtropical fruits. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 68-75.
- Yae MJ, Lee GH, Nam KH, Jang SY, Woo SM, Jeong YJ. 2007. Establishment of quality control standardization for pomegranate vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1425-1430.
- Kim DH. 1999. Studies on the production of vinegar from fig. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 53-60.
- Kwon SH, Jeong EJ, Lee GD, Jeong YJ. 2000. Preparation method of fruit vinegars by two stage fermentation and beverages including vinegar. *Food Industry and Nutrition* 5: 18-24.
- Shin JS, Lee OS, Jeong YJ. 2002. Changes in the components of onion vinegars by two stage fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1079-1084.
- 한국식품공업협회. 2002. 식품공전. 훈영사, 서울. p 452-455.
- AOAC. 1980. *Official Method of Analysis*. 12th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC, USA.
- Prosby L, Asp NG, Furda I, Deuries JW, Schweizer TF, Harland BF. 1984. Determination of total dietary fiber in foods, food products and total diets. *JAOCAC* 67: 1044-1052.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. 1979. Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502.
- Yim JE, Choue RW, Kim YS, Oh SJ, Peang JR. 2000. Dietary and simvastatin treatment on the blood lipid levels in the patients with hyperlipidemia according to genetic and biochemical markers. *Kor J Lipidol* 10: 215-229.
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 226: 497-509.
- Cho YS, Jang EM, Jang SM, Chun MS, Shon MY, Kim MJ, Lee MK. 2007. Effect of grape seed water extract on lipid metabolism and erythrocyte antioxidant defense system in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1537-1543.
- Wursch P. 1979. Influence of tannin-rich carob pob fiber on the cholesterol metabolism in the rat. *J Nutr* 109: 685-692.
- Jung YJ, Han DO, Choi BH, Park C, Lee HJ, Kim SH, Hahm DH. 2007. Effect of fermented herbal extracts, HP-1 on enzyme activities and gene expressions related to alcohol metabolism in ethanol-loaded rats. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 21: 387-391.
- Shon MY. 2007. Antioxidant and anticancer activities of *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* fermented with mycelial mushrooms. *Food Industry and Nutrition* 12(2): 51-57.
- Stephen CW, David AD, Patrick T, Paul AR, Deborah JC, Stephen CB, Koro G, Min L, Randy JS. 2004. Consumption of a high-fat diet alters the homeostatic regulation of energy balance. *Physiol Behav* 83: 573-578.
- Stewart LK, Soileau JL, Ribnick D, Wang ZQ, Raskin I, Poulev A, Majewski M, Cefalu WT, Gettys TW. 2008. Quercetin transiently increases energy expenditure but persistently decreases circulating markers of inflammation

- in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *Metabolism* 57: 39-46.
33. Gordon T, Kannel WB, Castelli WP, Dawber TR. 1981. Lipoproteins, cardiovascular disease, and death. *Arch Inter Med* 141: 1128-1131.
34. Jung SH, Kim JH, Jeong YJ, Choi MJ. 1999. Effect of per-simmon vinegar on serum lipid profile in rats with high cholesterol diet. *J East Asian Soc Dietary Life* 9: 421-426.
35. Rhee SJ, Kim KR, Kim HT, Hong JH. 2007. Effects of catechin on lipid composition and adipose tissue in obese rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 540-547.
36. Sudhahar V, Ashokkumar S, Varalakshmi P. 2006. Effect of lupeol and lupeol linoleate on lipemic-hepatocellular aberrations in rats fed a high cholesterol diet. *Mol Nutr Food Res* 50: 1212-1219.
37. Gläber G, Graefe EU, Struck F, Veit M, Gebhard R. 2002. Comparison of antioxidative capacities and inhibitory effects on cholesterol biosynthesis of quercetin and potential metabolites. *Phytomedicine* 9: 33-40.
38. Ahn JY, Lee HJ, Kim SN, Park JH, Ha TY. 2008. The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 373: 545-549.
39. Zhang Z, Ho KK, Huang Y, Chen ZY. 2002. Hypocholesterolemic activity of hawthorn fruit is mediated by regulation of cholesterol-7 $\alpha$ -hydroxylase and acyl CoA: cholesterol acyltransferase. *Food Res Intern* 35: 885-891.

(2009년 5월 22일 접수; 2009년 6월 29일 채택)