

고지방 식이와 병행 섭취한 연잎 추출물이 흰쥐의 혈청 및 간 조직 지질 함량에 미치는 영향

이경석 · 이기영[†]
호서대학교 식품생물공학과

Effect of Lotus (*Nelumbo nucifera*) Leaf Extract on Serum and Liver Lipid Levels of Rats Fed a High Fat Diet

Kyung-Seok Lee and Ki-Young Lee[†]

Dept. of Food & Biotechnology Hoseo University, Chungnam 336-795, Korea

Abstract

Lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf is known to be effective for 'overcoming body heat' and stopping bleeding. It is commonly used as a traditional curing plant for the treatment of hematemesis, epistaxis, hemoptysis, hematuria, and metrorrhagia in traditional Chinese medicine. This study investigated on the effect of oral administration of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf extract on the serum and liver lipid levels of rats fed a high fat diet. Experimental rats were divided into five different experimental groups, including the general diet group (Cont), high fat diet with lotus leaf extract groups (HL40, HL80, HL120), and high fat diet group (HFG). Body weight significantly decreased in the HL120 sample compared to that of Cont. The weights of the livers and kidneys of rats corresponded to the increase in body weight. Total cholesterol and triglyceride contents in liver tissues of rats were lowest in the sample HL120 sample. The levels of total lipids, total cholesterol, and triglycerides in serum were lower in the HL120 sample compared to the HFG.

Key words: lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf, high fat diet, triglyceride, liver weights, rats

서 론

연(lotus, *Nelumbo nucifera*)은 수생식물 중 부엽식물에 속하는 쌍떡잎식물로서 아시아 남부, 북호주가 원산지이다. 주로 연못에서 자라고 논밭에서 재배되기도 한다(1,2). 인도와 중국을 중심으로 열대, 온대의 동부아시아를 비롯한 한국, 중국, 일본 등에 널리 분포하고 있으며 일반적으로 불교에서 신성한 식물로 여겨져 왔다. 꽃은 관상용과 차의 재료로, 잎과 뿌리는 식품으로 이용되어 왔다(3). 건조시킨 연잎은 맛이 쓰고 성질은 유하며 예로부터 출혈성 위궤양이나 위염, 치질, 출혈, 설사, 두통과 어지럼증, 토혈, 산후 어혈치료, 야뇨증, 해독작용 등에 민간 치료제로 이용되어 왔다(4). 하지만 이러한 효능에도 불구하고 아직 연에 대한 연구는 많이 이루어지지 않고 있다. 지금까지의 연에 관한 연구결과를 보면 외국의 경우 Bhat과 Sridhar(5)이 연 씨의 영양성분 분석결과를, Rai 등(6)은 연 씨의 항산화효과를 발표했고, Chiang과 Luo(7)는 연뿌리의 조리 시 물성 변화를 발표하는 등, 연에 관한 연구가 비교적 최근에 이루어져 초기 단계이며 이마저 대부분 연 씨와 연뿌리에 대한 연구로 잎에 대한 연구가

드물었다. 연잎은 현재 상당수 부산물로 폐기되어지므로 이에 대한 연구를 통해 부산물에 부가가치를 부가함은 물론 새로운 생리활성 소재로 개발할 수 있을 것으로 기대되어진다.

본 연구에서는 연잎의 효능에 대한 연구의 일환으로 연잎 추출물이 지질대사에 미치는 효과를 검증하기 위해 고지방 식이를 시킨 흰쥐에 연잎 추출물을 급여하여 혈청 및 간 조직 지질 함량의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

연잎 추출물의 제조

본 실험에 사용된 연잎은 충남 온양의 인취사에서 공급받아 건조한 후 마쇄하여 시료로 사용하였다. 연잎 추출물은 70% ethanol을 사용하여 80°C에서 3시간 동안 추출한 후 추출물을 동결건조 하여 증류수에 녹여 제조하였다.

실험동물의 사육

실험동물은 6주령의 수컷 rat(Sprague-Dawley rat, male; 대한실험동물센터, Eumseong, Korea) 25마리를 들여와 실험시작 전 1주일간 고형분 배합사료(삼양유지, Incheon,

[†]Corresponding author. E-mail: kylee@office.hoseo.ac.kr
Phone: 82-41-540-5641, Fax: 82-41-532-5640

Table 1. Manufacture of experimental diets

| Group | Diet |
|------------------|--|
| Cont | General diet group ¹⁾ |
| HL ²⁾ | HL40 Extract concentration is 40 mg/kg at rat weight |
| | HL80 Extract concentration is 80 mg/kg at rat weight |
| | HL120 Extract concentration is 120 mg/kg at rat weight |
| HFG | High fat diet group |

¹⁾Formula feed (Samyang Oil & Feed Corporation).

²⁾HL: high fat diet with lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf extract oral administration group. The high fat diet was mixture of Cont 60 g shortening 20 g and soybean oil 20 g.

Table 2. The composition of experimental diets (%)

| | Composition | Content | Calorie |
|---------------|--------------|---------|---------|
| General diet | Carbohydrate | 63.0 | 66.3 |
| | Protein | 22.0 | 23.2 |
| | Fat | 5.0 | 10.5 |
| | Ash | 10.0 | 0 |
| High fat diet | Carbohydrate | 47.2 | 39.0 |
| | Protein | 16.5 | 13.6 |
| | Fat | 28.8 | 47.4 |
| | Ash | 7.5 | 0 |

Korea)로 적응시켰다. 1주의 적응기간 후 rat을 체중에 따라 5마리씩 5군으로 구분하여 4주간 사육하였으며 각 군별 설정은 Table 1과 같다. 즉 일반식이 섭취군(Con)과 고지방식이 섭취군(HFG) 그리고 고지방식이 섭취 및 연잎추출물 투여군(HL40, HL80, HL120)으로 나누었으며 연잎 추출물 투여군은 rat의 체중(kg) 대비 고형분 40 mg 투여군(HL40), 80 mg 투여군(HL80), 120 mg 투여군(HL120)으로 세분하였다. 일반식이와 고지방식이의 탄수화물, 단백질, 지방의 열량구성은 Table 2와 같다. 일반식이는 적응기간 중 섭취시킨 상기 배합사료로 하였으며 고지방식이는 일반식이에 대두유와 쇼트닝을 첨가하여 일반식이 대비 총 열량을 28% 증가시켜 제조하였다. 실험기간 동안 실험식이와 물은 제한 없이 먹도록 하였으며 연잎 추출물은 각 군별 해당 양을 하루 1회 4주에 걸쳐 경구투여 하였다. 이때 경구투여 시 발생하는 스트레스에 의한 군별 차이를 없애기 위해 일반식이군, 고지방식이군에도 물로 경구투여를 행하여 동일한 스트레스를 주었다. 이들 실험은 매일 오후 1시부터 2시 사이에 행하였으며 실험기간 중 이들 rat의 무게와 식이 소비량을 매일 측정하여 그 결과를 비교하였다.

실험동물의 처리 및 시료수집

4주간의 사육기간이 끝난 후 rat의 간정맥에서 채혈하였다. 채혈한 혈액은 냉장온도에서 30분간 방치 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 혈청을 분리하였다. 혈액을 채취한 후, 간을 적출하여 냉장 potassium phosphate buffer(0.1 mM)로 세척하고 결합조직 및 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다. 혈청과 장기는 분석 직전까지 -70°C deep freezer에 보관하였다.

간 조직 내 지질함량의 측정

간 조직 내 지질은 Folch법(8)에 의해 추출하였다. 간을 일정량 취한 후 CM solution(chloroform : methanol=2:1)을 가하고 homogenizer(Biospec, Racine, WI, USA)를 이용해 균질화 하였다. 균질액은 filter paper(Whatman No.2)로 여과하고 여과액에 0.05% calcium chloride를 가하여 잘 혼합하고 하루 동안 방치 후 상층액을 취하여 건조시켜 지질의 무게를 측정하였다. 건조된 지질은 일정량의 chloroform에 용해시킨 다음 총 콜레스테롤은 sulfuric acid와 acetic acid를 반응시켜 형성되는 청록색의 착색물질의 양을 측정하여 계산하였고, 중성지방은 alcoholic KOH로 비누화시켜 유리되는 glycerol을 metaiodate로 산화시켜 생성된 formaldehyde를 acetyl acetone과 반응시켜 생성된 황색의 3,5-diacetyl-1-4-dihydrolutidine을 412 nm에서 흡광도를 측정하여 정량화 하였다(9).

혈청의 지질성분 분석

혈청 내 지질 패턴을 분석하기 위해 총 지질, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤, 중성지방 농도는 혈액 자동분석기(Automatic analyzer, Hitachi, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. LDL 콜레스테롤과 VLDL 콜레스테롤 농도는 Friedward법(10)에 의해 계산하였다. 또한 동맥경화지표(Atherogenic index; AI)는 총 콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤 농도를 이용하여 계산하였다(11). 즉 계산법은 다음과 같다.

$$\text{LDL cholesterol} = \text{Total cholesterol} - (\text{HDL cholesterol} + \text{triglyceride}/5)$$

$$\text{VLDL cholesterol} = \text{Total cholesterol} - (\text{HDL cholesterol} + \text{LDL cholesterol})$$

$$\text{AI} = (\text{Total cholesterol} - \text{HDL cholesterol}) / \text{HDL cholesterol}$$

통계처리

본 연구의 결과는 평균±표준편차로 나타내었고, 각 실험군 간의 비교분석은 SAS system을 이용하여 ANOVA 분석 후 $\alpha=0.05$ 에서 Duncan's multiple range test를 사용하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

사료섭취량 대비 체중증가량

실험동물 각 군의 사료섭취량 대비, 주별 체중증가량은 Fig. 1과 같다. 고지방식이를 하지 않은 Cont의 경우 가장 낮은 체중증가량을 보여주었고 고지방식이지만 한 HFG는 가장 큰 폭의 체중증가량을 보여주었다. 연잎추출물을 첨가한 HL 40, 80, 120의 경우 고지방식이를 했으므로 Cont보다는 비교적 높은 체중증가량을 보여주었지만 동일한 고지방식이를 행한 HFG와 비교해 유의적으로 낮은 체중증가량을 보여주었다. 또한 섭취량이 증가할수록 그 폭이 낮아져 HL 120의 경우는 Cont와 오차범위 내에 있을 만큼 그 효과가

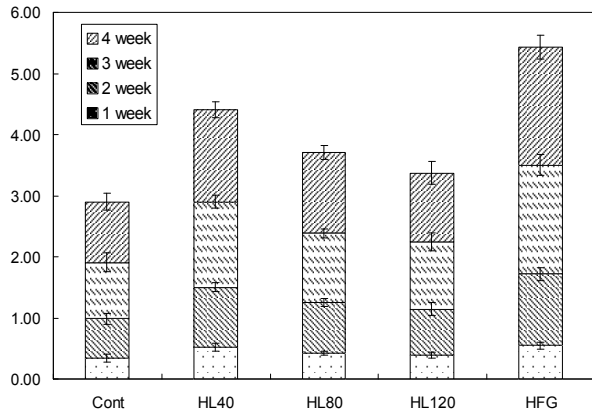


Fig. 1. Body weight gain of rat after each week oral administration lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf extract.

두드러짐을 볼 수 있었다. 이 결과로 연잎 추출물의 급여가 rat의 체중증가 억제에 상당한 효과가 있음이 확인되었다. 연잎 차의 항비만 효과에 대한 연구는 없으며 녹차의 경우 항비만 효과는 비교적 잘 알려져 있는데 이는 카테킨에 의한 것으로 알려져 있다. 카테킨은 췌장 α-amylase나 lipase의 활성을 저해하여 탄수화물과 지방의 소화와 흡수 억제로 인한 칼로리 섭취량 제한 효과로 항비만 효과를 가지는 것으로 알려져 있고(12) 그 외에 교감신경을 흥분시켜 지방의 체내 사용을 증가시켜 항비만 효과를 가질 수 있다(13)고 보고되었다.

간 조직 내 지질 함량

간 조직 내에 함유되어 있는 총 지질, 총 콜레스테롤, 중성 지방의 함량은 Table 3에 나타났다. 간의 총 지질 함량 역시 Cont군이 가장 낮게 나왔으며 HL 80군이 가장 높게 나왔고 HFG, HL 40, HL 120군 순으로 높게 나타났다. 그러나 Cont군을 제외하고는 유의적인 차이를 보여주지 못했다. 총 콜레스테롤 함량의 경우 Cont군과 HL 120군에서 동일한 수치로 가장 낮게 나타났다. HFG군과 비교하여 HL 120군에서 수치가 40% 가량 떨어졌고 HL 40, 80군과는 큰 차이가 없는 것으로 미루어 일정 수준 이상의 연잎 추출물의 급여는 총콜레스

Table 3. Total lipid, total cholesterol and triglyceride contents in liver tissue of rat after oral administration of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf extract

| Groups ¹⁾ | Total lipid (mg/g liver) | Total cholesterol (mg/g liver) | Triglyceride (mg/g liver) |
|----------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| Cont | 29.9±3.4 ^{2)bc3)} | 0.7±0.2 ^b | 9.6±1.7 ^b |
| HL40 | 35.4±13.2 ^a | 1.2±0.2 ^a | 8.1±1.7 ^c |
| HL80 | 38.6±12.8 ^a | 1.3±0.2 ^a | 8.0±0.32 ^c |
| HL120 | 31.8±14.8 ^a | 0.7±0.1 ^b | 6.0±0.12 ^d |
| HFG | 36.0±16.2 ^a | 1.2±0.4 ^a | 11.2±0.21 ^a |

¹⁾Control: normal diet group, HL40: lotus leaf extract 40 mg/kg oral administration group, HL80: lotus leaf extract 80 mg/kg oral administration group, HL120: lotus leaf extract 120 mg/kg oral administration group, HFG: high fat diet group.

²⁾Mean±SD, n=12.

³⁾Values within a column with different superscripts are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

테를 수치를 떨어뜨리는데 효과가 있는 것으로 판단되었다. 중성지방의 경우 연잎추출물을 급여한 모든 군이 HFG군뿐만 아니라 Cont군에 비해서도 낮은 수치를 보였다. 특히 HL 120군에서는 HFG군에 비해 그 수치가 절반가량 줄어들음을 볼 수 있었다. 녹차의 항 비만효과를 연구한 결과(14)에서도 고지방식이에 녹차를 혼합하여 rat에게 섭취할 경우 섭취량에 따라 간조직의 지질 함량을 최대 30%까지 억제시켰고 체중증가 억제율과 비례하는 결과를 나타내어 본 연구결과와도 유사함을 보여주었다.

혈청 내 지질 패턴 분석

혈청 내 지질 패턴을 분석하기 위해 총 지질, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤, 중성지방 농도 및 LDL 콜레스테롤과 VLDL 콜레스테롤 농도를 측정된 결과는 Table 4와 같다. 혈청 내 총 지질은 Cont군이 가장 낮았으며 HL120, HFG, HL80, HL40 순으로 낮은 수치를 보여주었다. Cont군을 제외한 나머지 군들은 오차범위 내에 있었으며 변별력을 보여주지 못했지만 이는 Cont군이 다른 군들에 비해 월등히 낮은 값을 보여주었기 때문이다. 중성지방의 경우 Cont군이 가장 낮은 수치를 보여주었고 HL 120, 80, 40, HFG 순이었다. HL 120의 경우 Cont군과 유의적 차이를 보여주지 않았다. 총

Table 4. Total lipid, total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol levels and atherogenic index (AI) in serum of rat after oral administration of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf extract

| Groups ¹⁾ | Total lipid (mg/dL) | Triglyceride (mg/dL) | Total cholesterol (mg/dL) | HDL-C (mg/dL) | LDL-C ⁴⁾ (mg/dL) | VLDL-C ⁵⁾ (mg/dL) | AI ⁶⁾ |
|----------------------|------------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------|
| Cont | 239.2±11.3 ^{2)bc3)} | 64.1±4.3 ^b | 73.1±5.4 ^c | 29.1±3.9 ^b | 31.2±6.4 ^c | 12.8±0.9 ^b | 1.5±0.4 ^c |
| HL40 | 345.9±28.2 ^a | 69.0±1.5 ^a | 77.0±4.8 ^b | 31.9±5.5 ^a | 31.2±7.1 ^c | 13.8±0.3 ^a | 1.5±0.4 ^c |
| HL80 | 343.8±23.2 ^a | 64.5±5.4 ^{ab} | 75.8±5.3 ^{bc} | 28.7±1.3 ^b | 34.2±6.5 ^b | 12.9±1.1 ^b | 1.6±0.3 ^b |
| HL120 | 331.0±46.3 ^a | 64.1±7.5 ^b | 74.9±4.5 ^{bc} | 29.5±1.7 ^b | 32.6±3.2 ^c | 12.8±1.5 ^b | 1.5±0.2 ^c |
| HFG | 335.0±47.2 ^a | 69.7±8.1 ^a | 81.8±4.6 ^a | 31.1±4.0 ^a | 36.7±4.0 ^a | 13.9±1.6 ^a | 1.7±0.2 ^a |

¹⁾Control: normal diet group, HL40: lotus leaf extract 40 mg/kg oral administration group, HL80: lotus leaf extract 80 mg/kg oral administration group, HL120: lotus leaf extract 120 mg/kg oral administration group, HFG: high fat diet group.

²⁾Mean±SD, n=12.

³⁾Values within a column with different superscripts are significantly different at α=0.05 by Duncan's multiple range test.

⁴⁾LDL-C=Total cholesterol-(HDL-C+triglyceride/5).

⁵⁾VLDL-C=Total cholesterol-(HDL-C+LDL-C).

⁶⁾AI=(Total cholesterol-HDL-C)/ HDL-C.

콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, VLDL 콜레스테롤 모두 이와 비슷한 경향을 보여주었다. HDL 콜레스테롤 대비 LDL 콜레스테롤 수치를 표현한 AI의 경우 HFG가 유의적으로 가장 높은 값을 나타내어 연잎 추출물이 rat 혈청 내 콜레스테롤 수치와 조성에 영향을 미침을 알 수 있었다. 녹차의 항 비만효과를 연구한 결과(14)에서도 고지방 식이에 녹차를 혼합하여 rat에게 섭취시킬 경우 섭취량에 따라 혈청 내 총콜레스테롤 함량이 감소하였고 HDL 콜레스테롤이 증가하였으며 중성지방이 감소하는 결과를 얻었고 이는 체중증가 억제율과 비례함을 나타내어 본 연구결과와 유사함을 보여주었다.

본 연구결과 연잎 추출물이 체내에서 지방축적을 억제시키는 효과가 높음을 알 수 있었다. 따라서 연잎차는 물론 연잎 추출물이나 연잎건조분말을 국수나 빵 등 다양한 가공 식품에 첨가해 다이어트 식품으로 개발할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

연(*Nelumbo nucifera*)은 우리나라에 널리 분포하며 뿌리는 식용으로 잎은 민간에서 치료제로 사용되어왔다. 연잎은 또한 차와 술 등으로 가공되어 음용되고 있지만 이에 대한 생리활성 연구가 미비해 본 연구에서는 연잎 추출물의 흰쥐에 대한 혈청 및 간 조직 지질 함량에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 실험동물은 rat를 사용했으며 일반식이 섭취군(Con)과 고지방식이 섭취군(HFG) 그리고 고지방식이 섭취 및 연잎 추출물 투여군(HL40, HL80, HL120)으로 나누었으며 연잎 추출물 투여군은 rat의 체중(kg) 대비 고형분 40 mg 투여군(HL40), 80 mg 투여군(HL80), 120 mg 투여군(HL120)으로 세분하여 총 4주간 사육하였다. 4주간 사료 섭취량 대비 체중증가량을 측정된 결과 HL40, 80, 120의 경우 고지방 식이를 하였기에 Cont군보다는 높은 체중증가량을 보여주었지만 동일한 고지방 식이를 행한 HFG군과 비교하여 유의적으로 낮은 체중증가량을 보여주었고 섭취량이 증가할수록 그 폭이 낮아져 HL120군의 경우는 Cont군과 오차범위 내에 있을 만큼 그 효과가 두드러졌다. 간의 총 지질 함량 측정결과 HL120군이 HFG군보다 지질생성량이 낮게 나왔으나 유의적인 차이를 보여주지 못했다. 총 콜레스테롤 함량의 경우에는 Cont군과 HL120군에서 동일한 수치로 가장 낮게 나타났다. HFG군과 비교하여 HL120군에서 수치가 40% 가량 떨어졌고 HL40, 80군과는 큰 차이가 없는 것으로 미루어 일정 수준 이상의 연잎 추출물 급여 시 총콜레스테롤 수치를 떨어뜨리는데 효과가 있는 것으로 판단되었다. 중성지방의 경우 연잎 추출물을 급여한 모든 군이 HFG군뿐만 아니라 Cont군에 비해서도 낮은 수치를 보였다. 특히 HL120군

에서는 HFG군에 비해 그 수치가 절반가량 줄어들음을 볼 수 있었다. 혈청 내 지질 패턴을 분석하기 위해 총 지질, 총 콜레스테롤, 중성지방 농도를 측정된 결과, 혈청 내 총 지질은 Cont군을 제외한 나머지 군들은 오차범위 내에 있었으며 변별력을 보여주지 못했다. 중성지방의 경우 HL40, 80, 120군이 HFG보다 낮게 측정되었으며 총 콜레스테롤의 경우에도 동일한 경향을 보여주었다. 이 결과 연잎이 면이나 빵류 등에 첨가되어 각종 다이어트식품의 개발에 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

문 헌

- Borsch T, Barthlott W. 1994. Classification and distribution of the genus *Nelumbo adans* (*Nelumbonaccae*). *Beitr Biol Pflazen* 68: 421-450.
- Dahlgren R, Rasmussen FN. 1983. Monocotyledon evolution characters and phylogenetic estimation. *J Evol Biol* 16: 255-265.
- Kim SB, Rho SB, Rhyu DY, Kim DW. 2005. Effect of *Nelumbo nucifera* leaves on hyperlipidemic and atherosclerotic bio FIB hamster. *Kor J Pharmacogn* 36: 229-234.
- Yuk CS. 1990. *Coloured medicinal plants of Korea*. Academy book Co., Seoul, Korea. p 219-230.
- Bhat R, Sridhar KR. 2008. Nutritional quality evaluation of electron beam-irradiated lotus (*Nelumbo nucifera*) seeds. *Food Chem* 107: 174-184.
- Rai S, Wahile A, Mukherjee K, Pada Saha B, Mukherjee PK. 2006. Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* (sacred lotus) seeds. *J Ethnopharmacol* 104: 322-327.
- Chiang PY, Luo YY. 2007. Effects of pressurized cooking on the relationship between the chemical compositions and texture changes of lotus root (*Nelumbo nucifera*) gaertn. *Food Chem* 105: 480-484.
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissue. *J Biol Chem* 226: 497-509.
- Yoon JS, Lee JH, Jo SH. 1999. *Experimental nutrition*. Hyung-Seol Press, Seoul, Korea. p 52-53.
- Friedwald WT, Levy RT, Fridrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Nutr* 18: 499-502.
- Muruganandan S, Crinivasan K, Gupta S, Gupta PK, Lai J. 2005 Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 97: 495-501.
- Gupta S, Gaha A, Giri AK. 2002. Comparative antimutagenic and anticlastogenic effects of green tea and black tea. *Mutat Res* 512: 37-65.
- Lee YJ, An MS, Hong KH. 1998. A study on the content of general compounds, amino acid, vitamins, catechins, alkaloids in green, oolong and black tea. *J Fd Hyg Safety* 13: 377-382.
- Sin MK, Han SH, Han GJ. 1997. The Effects of green tea on the serum lipid and liver tissue of cholesterol fed rats, *Korean J Food Sci Technol* 29: 1255-1263.

(2011년 8월 11일 접수; 2011년 10월 24일 채택)