

## 산양삼 혼입 숙성 감식초 섭취에 의한 식이 제한 흰쥐의 지방 저장 및 에너지 대사 단백질 발현

이인호<sup>1</sup> · 김판기<sup>2,3</sup> · 류승필<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 레저스포츠학과, <sup>2</sup>경북대학교 생태시스템학부, <sup>3</sup>경북대학교 생태환경연구소

## Mountain-cultivated Ginseng Ripened into Persimmon Vinegar Ingestion on Fat Storage and Metabolic Protein Expression in Diet-controlled Rats

In-Ho Lee<sup>1</sup>, Pan-Ki Kim<sup>2,3</sup> and Sungpil Ryu<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Leisure Sports, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Korea

<sup>2</sup>School of Ecological & Environmental Systems, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Korea

<sup>3</sup>Institute of Ecology and Environmental Science, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Korea

**요 약:** 본 연구는 4년근 산양삼을 4년 숙성된 감식초에 22주간 혼입숙성하여 만든 산양삼감식초(가칭: 산삼초)를 활용하여 식이제한을 하였을 때 나타나는 비만관련 요소들을 분석하였다. 웅성 흰쥐 63마리를 대상으로 고지방식을 공급하면서 식후 2회, 6주간 산삼초를 경구투여하였다. 집단은 대조군, 제한식이군, 웨이트사이클링군으로 구분하였으며, 이를 다시 대조군, 산삼초 2.5배 희석 섭취군, 산삼초 5.0배 희석 섭취군으로 각각 구분하였다. 각 집단은 7마리씩으로 하였다. 6주간의 사육이 종료된 후, 복강내 지방(복막후지방, 장간막지방, 부고환지방)과 대사관련 단백질(AMPK, PPAR- $\alpha$ , CPT-1)의 발현을 분석하였다. 결과를 볼 때, 모든 집단에서 산삼초 섭취에 의한 지방저장량의 유의한 감소 또는 감소 경향이 나타났으며, 지방저장량의 총합계 역시 산삼초 섭취에 의해 증가가 억제되었다. 이와는 반대로 대사관련 단백질 발현은 모든 항목에서 산삼초 섭취에 의해 유의한 증가 혹은 증가 경향이 나타났다. 이 결과는 산삼초 섭취에 의한 에너지 대사의 효과적인 상승이 고지방식이 또는 식이제한을 하였을 경우에도 체내 지방저장량의 증가를 억제하였다는 것이다. 즉, 비만의 가장 큰 문제점인 웨이트사이클링의 억제를 위한 좋은 가능성을 보유하고 있다고 판단된다. 이를 통하여 임업산물인 산양삼과 감식초의 융합소재인 산삼초를 비만억제 식품으로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

**Abstract:** This research is to investigate the four years growth mountain-cultivated ginseng ripened twenty-two weeks into four years fermented persimmon vinegar (tentatively: *Sansamcho*) ingestion on obese-related factors during dietary control. The *Sansamcho* was ingested orally, two times a day, after every meal for six weeks to the male rats. Groups were divided into the control (CON), the restricted diet (RD), and the weight cycling (WC). And, each groups has its own sub-groups as the -control (-CON), 2.5 times diluted *Sansamcho* ingestion (-MPV2.5), and 5.0 times diluted *Sansamcho* ingestion (-MPV5.0) groups, respectively. The number of rat was consisted of seven in each group. After six weeks rearing periods was done, abdominal fats (retroperitoneal fat, mesentery fat, and epididymal fat) and energy metabolic-related protein (AMPK: AMP-activated protein kinase; PPAR- $\alpha$ : peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ ; and CPT-1: carnitine palmitoyltransferase-1) were weighed and analyzed. Amount of stored fat was significantly or tended to decrease by *Sansamcho* ingestion. In addition, sum of fats increasing were suppressed by the material. On the contrary, energy metabolism-related protein expression was significantly increased or tended to increase by *Sansamcho* ingestion. This results suggested that increased energy metabolism using *Sansamcho* was restrained effectively visceral fat store by high-fat diet and/or dietary control. In other words, it has a good function to suppress weight cycling which is the most insoluble problem. Therefore, the fusion material, *Sansamcho*, may expect to utilize as the obese-suppression-food.

**Key words:** mountain-cultivated ginseng, persimmon vinegar, lipid metabolism, obese, dietary restriction

\*Corresponding author  
E-mail: ryusp@knu.ac.kr

## 서 론

비만은 당뇨병의 합병증, 심혈관 질환, 수면 호흡 장애 및 특정 형태의 암과 같은 질병과 연관된 일련의 글로벌 전염병이다(Jauch-Chara and Oltmanns, 2014). 비만 환자는 최소 60가지 이상의 관련 질환으로 인하여 많은 의료비 지출의 원인이 되기는 하지만, 체중의 5%만 감량하더라도 비만에 의한 사망률을 감소시킬 수 있다. 비만을 해소하기 위한 방법으로서 최우선시 되고 있는 것은 칼로리 제한과 운동, 그리고 신체활동 등이다(Hurt et al., 2014).

비만 해결에 초점을 맞춘 대부분의 선행연구에서는 섭취 에너지와 지방 섭취량 제한, 규칙적인 신체활동, 행동 전략 등의 조합이 성공적인 체중 유지를 위해 필요한 것으로 나타난다(Ramage et al., 2014). 그러나, 많은 사람들이 바쁜 사회생활로 인하여 규칙적인 식사를 하지 못하고 있는 것이 사실이다(Han et al., 2014). 영양섭취 행동의 의도적 결함으로 인한 에너지 섭취 및 소비의 불균형은 단순하게 칼로리 제한이나 운동에 의해 해소될 수 있는 것으로 알려져 있지만, 보다 장기적인 연구관점에서 볼 때 그 문제의 해결은 매우 복잡하게 나타난다(Jauch-Chara and Oltmanns, 2014).

실천적인 측면에서 볼 때, 현대사회는 운동에의 참여를 독려하는 듯하지만, 운동의 참여보다는 식사를 제한하여 보다 용이하게 비만을 해결하려는 시도가 많은 것이 사실이다. 그러나 단순한 식사량 제한을 통한 칼로리 공급의 제한은 체중의 재 증가 현상을 초래하게 된다. 초고도비만 환자에게 적용하는 위 밴드 수술은 식이제한이 가능하므로 단기간의 체중감량 효과는 있으나, 보다 장기적인 경우에는 체중감량을 유지하기가 어렵기 때문에 결과적으로 체중이 증가되는 결과를 초래한다. 또한 실험에 참가한 많은 피험자의 체중이 수술 전보다 증가하는 결과를 보이고 있다(Balogh et al., 2014). 또한 임신한 쥐에게 50%의 제한식이를 한 결과, 잠재적으로 비만과 당뇨병이 유발될 가능성이 있다고 제시하였다(Ogawa et al., 2014)는 결과도 있다는 점을 볼 때, 과도한 식이제한에 의한 체중 감량으로 인하여 발생할 수 있는 부작용은 매우 크다고 할 수 있다.

식이제한은 에너지 결핍에 대한 통합된 반응에 관여하는 간의 fibroblast growth factor 21(FGF21)의 생산을 증가시킨다. 특히, 높은 FGF21 수준은 당신생을 감소시키고 간의 케톤체 생산을 증가시키게 된다. 그러나 역설적으로 FGF21이 순환하는 양이 증가할 경우에 비만과 같은 대사 장애가 증가한다(Samms et al., 2014). 또한 식사제한으로 인하여 유발되는 공복감의 반복은 내장지방 합성을 유발한다. 따라서 규칙적인 식사와 양을 조절하는 것이 건강을 유지하는 방법이다(Han et al., 2014).

한편, 반복적인 웨이트사이클링 즉, 요요현상은 지방합성을 초래한다. 이를 확인하기 위하여 C57BL/6J 마우스에게 4회의 반복적인 웨이트사이클링을 부하한 결과, 동일한 기간 중에 과칼로리식이(hypercaloric feeding)를 부하한 집단과 비교할 때, 총 섭취에너지는 차이가 없었으나, 웨이트사이클링을 적용한 집단의 체중과 지방량이 많았으며, 간의 렘틴 순환과 지방량이 증가하였다고 하였다. 또한 두 집단 모두 지방세포의 크기가 증가하였으며, 인슐린 저항성이 높아진 것을 확인하였다(Dankel et al., 2014). 이와 유사하게 자유섭취할 수 있는 집단과 식이제한을 하여 공급한 집단으로 구분하여 8주간 경과한 결과, 총 식이섭취량은 식이제한에 의해 감소하였으나 대사증후군과 유사한 상태로 변화하였으며, 지방조직의 지방 저장량이 유의하게 증가하였다는 보고(Han et al., 2014)도 있다. 즉, 비만을 해결하기 위해서 선택하게 되는 단기간의 식이제한은 체중의 증가를 초래할 수 있으므로 보다 장기간에 걸쳐 효과가 지속될 수 있는 방법을 연구하는 것이 필요할 것이다.

최근 다양한 식품소재의 융합을 통하여 기능성을 상승시키려는 연구가 이루어지고 있다(Jeon et al., 2013). 특히, 우리나라 면적의 대부분을 차지하고 있는 산림에 자생하고 있는 여러 가지 식물을 활용하는 것은 장기적으로 부가가치를 드높일 수 있는 분야라고 생각된다. 그 중에서 짧은 감을 장기간 숙성시켜 만든 감식초는 임업농가의 부수입원으로서 활용되고 있으며, 산양삼은 다양한 종류의 진세노사이드를 함유하고 있어 최근 건강식품으로 각광을 받고 있다고 할 수 있다. 본 연구팀은 산양삼과 감식초 및 두 식품의 융합소재를 이용하여 다양한 연구를 진행하고 있다(Jeon et al., 2013; 2012; Kwon et al., 2012; Seo et al., 2012; 2011). 이 중 산양삼에 감식초를 혼입하여 숙성시킨 상태에서 섭취시켰을 때, 에너지대사의 증가를 통하여 비만을 억제할 수 있을 것이라 제시하기도 하였다. 그러나 비만의 가장 큰 위험은 반복적인 체중의 감소와 증가에 의해 유발되는 요요현상 즉, 웨이트사이클링이라고 할 수 있다. 이는 일반적으로 나타나는 비만증과는 다소 차이가 있으며, 지속적인 체중 증가의 원인으로 작용하기도 한다. 이는 비만인들에게 흔히 나타나는 현상이며 체중을 감량하고자 하는 일반인들에게도 나타나게 된다. 특히, 체급경기의 운동선수 혹은 지구성 운동을 지속적으로 반복하고 있는 운동선수에게도 나타나게 되는 특이한 현상이라고 할 수 있다. 따라서 요요현상을 최대한 억제할 수 있는 기능성 식품에 대한 요구는 더욱 증가될 것으로 예상할 수 있다(Ryu et al., 2013). 이를 해소하기 위한 다양한 연구가 필요하다고 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 식이섭취량을 조절하여 체중의 감량과 증량을 강제적으로 반복적 조절을 하였을 때 나타

나는 지방합성 증가작용을 억제하기 위하여 산양삼감식초의 섭취가 어떠한 효과를 나타내는지 알아보려고 한다. 이를 통하여 임업소재인 산양삼과 감식초의 활용도를 개선하여 임업농가의 수입원 창출에 기여하고자 함과 동시에 비만의 해결에 대한 접근을 보다 용이하게 할 수 있는 자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물의 사육 및 군의 분류

생후 4주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 63마리를 실험에 사용하였다. 쥐는 한 마리씩 개별사육 하였으며, 사육실 내부 환경온도는 23-25°C, 상대습도는 60%를 유지하였고, 환풍기를 24시간 가동하여 공기를 순환시켰다. 사육실 조명은 08:00-20:00시를 명기, 20:00-08:00시를 암기로 하였다. 처음 2주 동안은 환경에 적응시키고, 6주령이 되었을 때 난괴법(randomized block design)에 의해 세 집단으로 나누었으며, 이를 다시 소집단으로 각각 세 집단으로 구분하여 총 아홉 집단으로 진행하였다. 집단의 구분 및 집단 명칭은 Table 1과 같다. 산양삼 단독섭취군은 섭취방법의 차이로 인하여 제외하였다.

### 2. 식이공급 및 체중측정 방법

산양삼은 경상북도 안동지역에서 채취한 씨삼 4년근을 구입하여 사용하였으며, 감식초는 경상북도 상주지역에서 채취한 뽕은 감을 이용하여 4년간 발효시켜 얻은 제품을 사용하였다. 사료는 고지방식이를 공급하였다. 사료의 구성은 Table 2와 같다.

CCON, CMPV2.5, CMPV5.0 군은 08:00-09:00, 20:00-21:00에 각 10 g씩 총 20 g의 식이를 제공하였고, RCON, RMPV2.5, RMPV5.0 군 또한 동일한 시간대에 7 g씩 총 14 g의 식이를 제한하여 제공하였다. WCON, WMPV2.5, WMPV5.0 군은 실험 6주간에 걸쳐 1주차엔 동일한 시간대에 10 g씩 총 20 g의 식이를 제공하였고, 2주차엔 동일한 시간대에 7 g씩 총 14 g의 식이를 제공하였다. 이렇게 1주차와 2주차를 6주간 반복함으로써 주간 섭취칼로리를 다르게 공급하였다. 즉, CCON과 같은 식이 100%를 1주일간 공급한 후 70%로 줄인 식이를 1주일 공급하였다.

**Table 2. Diet composition.**

Ingredients	Amount (g)
Casein	20
Starch	20
Sucrose	15
Lard	30
Corn-oil	5
Vitamin AIN-76	1
Mineral AIN-76	3.5
Cellulose	5
D.L-methionine	0.3
Choline barbiturate	0.2
Total (g)	100

RCON, RMPV2.5, RMPV5.0 군은 CCON의 70%의 칼로리를 공급받았다. 산양삼감식초를 실험기간 동안 매일 일정시간에 2.5배 및 5배 희석하여 각 집단의 MPV군에게 1 mL 주사기에 끝이 둥그런 주사기 바늘을 연결하여 경구투여하였으며, CCON에게는 동일한 양의 증류수를 경구투여 하였다. 따라서 이들의 경구투여에 의한 스트레스는 동일하게 처치하였다. 체중은 주당 1회 동일한 시간에 측정하였다. 총 식이 섭취기간은 6주로 하였다.

### 3. 단백질 발현량 분석

간 조직의 처리는 0.5M EDTA(Duksan, Korea), lysis buffer(Gendepot, R4200-100, USA), phosphatase inhibitor 100 x(Gendepot, P3200-001, USA)를 샘플에 넣어 균질화 작업을 하였다. 균질화 작업이 끝난 후 간 샘플을 10분간 1,200 × g에서 원심분리 후 상층액을 분리한 다음 각 샘플의 단백질 정량을 위해 상층을 분리한 샘플 상층 1 μL와 brad-ford 1 mL을 잘 혼합 후 각 샘플을 ELISA plate에 200 μL를 넣어서 595 nm의 흡광도를 측정한 다음 Laemmli sample buffer를 섞어서 샘플을 만들었다.

단백질 분석을 위하여 10% sodium dodecyl sulphate (SDS)-polyacrylamide gel에 단백질 샘플을 각각 20 μL를 loading한 후에 100 V에서 전기영동하여 단백질을 분리한 후 polyvinylidene difluoride membranes으로 electroblotting 100 V에 의해 1시간 동안 membrane으로 전이시켰다. 전이가 끝난 후 5% BAS가 포함된 Blocking buffer(TBST

**Table 1. The experimental group classification and designation.**

Groups	CON			WC			RD		
Sub-groups	CCON	CMPV 2.5	CMPV 5.0	WCON	WMPV 2.5	WMPV 5.0	RCON	RMPV 2.5	RMPV 5.0
Number of rats	8	8	8	8	8	8	8	8	8

CON: control group; WC: weight cycling group; RD: restricted diet group; C: within CON; W: within WC; R: within RD; MPV2.5: mountain-cultivated ginseng ripened into persimmon vinegar ingestion with 2.5 times dilution; MPV5.0: mountain-cultivated ginseng ripened into persimmon vinegar ingestion with 5.0 times dilution; WCON: weight cycling-control; RCON: restricted diet-control.

buffer; 50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, and 0.05%, Tween 20)를 이용하여 1시간 30분간 Blocking을 실시하였다. 1차 항체인 AMPK:1:1000(Cell Signaling Technology, Inc, CA No., #2532, USA), PPAR- $\alpha$ :1:1000(abcam, CA No., ab8934, UK), UCP-2:1:500(abcam, CA No., ab67241, UK), CPT-1:1:5000(abcam, CA No., ab128568, UK)를 각각의 방법에 따라 희석한 후 4에서 over-night 시킨 후 TBST(5% tween-20)를 이용하여 10분간 5회 washing을 실시하였다. 2차 항체는 AMPK:1:3000(goat-anti rabbit, Santa cruz Biotechnology, Inc, CA No., SC-2004, USA), PPAR- $\alpha$ :1:2000(goat-anti rabbit, Santa cruz Biotechnology, Inc, CA No., SC-2004, USA), CPT-1:1:10000(goat-anti mouse, Santa cruz Biotechnology, Inc, CA No., SC-2005, USA)를 각각의 방법에 따라 희석하여 한 시간 동안 반응을 시킨 후 TBST(5% tween-20)로 10분간 5회 washing을 실시하였다. 이에 따라 도출된 간에 대한 밴드의 동정은 enhanced chemiluminescence(ECL) kit을 이용해 membrane을 발광 시킨 후 X-ray film에 현상하였으며, band의 density는 image j 소프트웨어를 이용하여 band/ $\beta$ -actin으로 계산하였다.

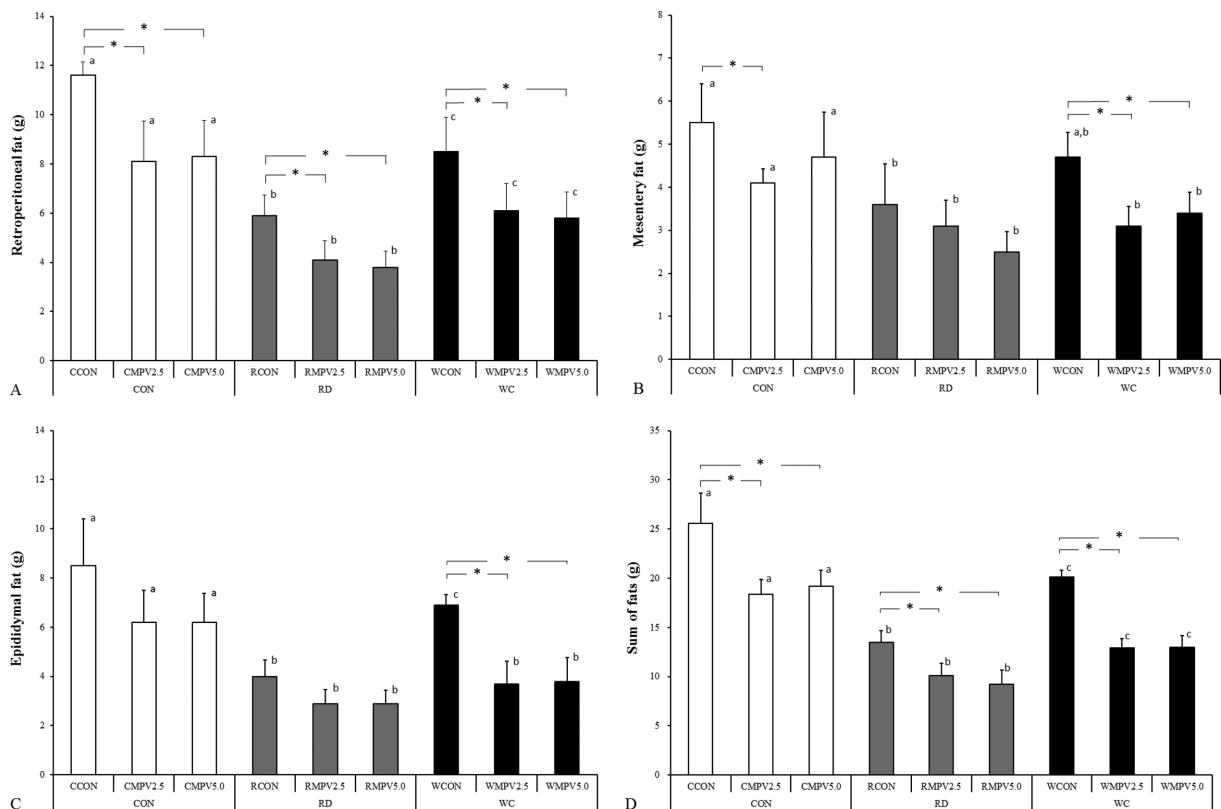
#### 4. 통계처리

연구결과의 데이터는 Windows용 통계프로그램 SPSS/PC+ 17.0K를 이용하였으며, 모든 실험 결과는 평균과 표준편차로 나타내었다. 각 그룹의 유의성 검증을 위하여 집단 3 (CON, RD, WC)  $\times$  시도 3 (각 집단의 하위집단으로서의 CON, MPV2.5, MPV5.0)으로서 이원변량분석(two-way ANOVA)을 실시하였으며, 유의한 차이가 나타난 항목에 대해서는 집단 간 및 동일한 시도간 일원변량분석(one-way ANOVA)을 실시한 후에 LSD 법으로 사후검정을 하였다. 유의차는 집단 내의 경우 선을 연결하여 직접 표기하였으며, 집단 간 동일한 시도간의 차이는 알파벳 소문자로 표기하였다. 통계적 유의한 차이는  $p < 0.05$ 로 설정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 지방 저장량의 차이

복막후 지방의 경우(Figure 1A), CON, RD, WC의 대조군에 비하여 산양삼감식초를 섭취하였을 때 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 또한 집단간 동일한 시도에서는 RD가



**Figure 1. Differences of retroperitoneal fat (A), mesentery fat (B), epididymal fat (C) and sum of fats (D) among the groups. CON: control group; WC: weight cycling group; RD: restricted diet group; C: within CON; W: within WC; R: within RD; MPV2.5: mountain-cultivated ginseng ripened into persimmon vinegar ingestion with 2.5 times dilution; MPV5.0: mountain-cultivated ginseng ripened into persimmon vinegar ingestion with 5.0 times dilution; WCON: weight cycling-control; RCON: restricted diet-control; asterisks means significantly different within the line ( $p < 0.05$ ); different letter means significantly different among the sub-groups ( $p < 0.05$ ).**

CON 및 WC에 비하여 유의한 감소를 보였으며( $p < 0.05$ ), WC가 CON에 비하여 낮은 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 복막후 지방량은 백혈구 감소증 발생율과 유의한 상관성이 있으며(Wong et al., 2014), 복부 지방은 고지방식이(de Castro et al., 2014), 고과당식이(Jung et al., 2013) 등에 의해 증가한다. 이는 심각한 인슐린 저항성을 유발하여(Mori et al., 2014) 대사증후군의 주된 원인이 된다. 따라서 본 연구의 CON, RD, WC 모두에게서 나타난 산양삼 감식초 섭취에 의한 복막후 지방량의 감소를 볼 때, 대사증후군을 억제할 수 있는 효과적인 식품으로 활용될 수 있다는 점을 시사하고 있다. 또한 RD는 CON, WC에 비하여 더욱 낮게 나타났다. RD는 식사량을 CON에 비하여 30%를 감소시켰는데, 이는 쥐에게 20%의 칼로리를 제한하여 식이를 공급하였을 때, 복막후 지방량이 유의하게 낮았으며, 지방합성과 관련된 mRNA 발현이 낮은 반면에 지방분해 및 인슐린 신호체계와 관련된 mRNA 발현이 매우 높게 나타났다는 보고(Torrens et al., 2014)의 결과로 지지되고 있다.

장간막 지방(Figure 1B)은 CMPV2.5이 CCON에 비하여 유의하게 낮았으며( $p < 0.05$ ), WMPV2.5 및 WMPV5.0이 WCON에 비하여 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 또한 집단간 동일한 시도에서는 RD 전체 하위집단이 CON 전체 하위집단에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). WC의 산양삼감식초를 섭취한 하위집단이 CON의 동일한 하위집단에 비하여 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 장간막 지방은 복부 지방의 한 종류로서 당뇨, 고지혈증, 지방간, 심혈관계 질환 등 비만과 관련된 질환의 발병에 관여하며(Lee et al., 2013), 인슐린 저항성을 증가시키고, 염증성 장질환의 원인이 되는 것으로 판단된다(Ludwick et al., 2013). 그러나 본 연구에서는 CON 및 WC에서 산양삼감식초 섭취에 의한 감소가 각각 나타나 이를 예방할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 웨이트사이클링에 의한 지방합성의 증가(Dankel et al., 2014)가 효과적으로 억제되었다는 것은 의미있는 결과라고 사료된다.

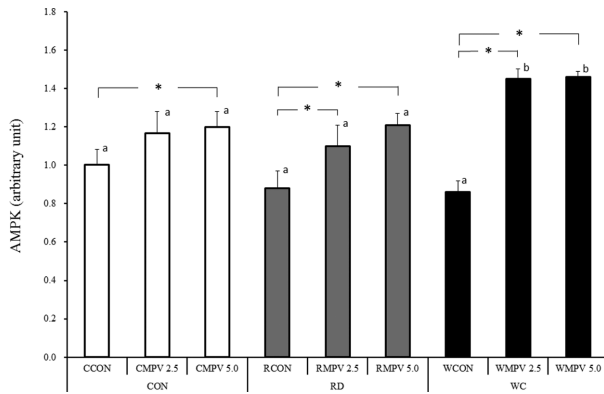
부고환지방(Figure 1C)은 WMPV2.5 및 WMPV5.0이 WCON에 비하여 유의하게 낮았으며( $p < 0.05$ ), 다른 집단 내 유의차는 없었다. 또한 집단간 동일한 시도에서는 RD 전체 하위집단이 CON 전체 하위집단에 비하여 유의하게 낮은 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). RCON은 CCON 및 WCON에 비하여 유의하게 낮은 저장량을 나타내었다( $p < 0.05$ ). 부고환지방은 고지방식을 할 경우 증가(Brockman et al., 2014)한다. 부고환지방량이 감소할 경우에 인슐린 농도가 저하하는 결과(Landa et al., 2014)를 볼 때, 본 연구의 부고환지방량이 WC군에서 산양삼감식초 섭취에 의해 감소하였다는 점은 역시 대사증후군의 발생 가능성을 억제시킬 수 있다는 점을 시사하고 있다. 또한,

다소 오래된 연구로서 Ng et al.(1986)은 진세노사이드 Rb2, Rc, Rb2가 쥐의 부고환 지방세포의 지방분해 및 지방합성에 미치는 영향을 알아본 결과, 세 가지 모두 기본적인 지방분해를 억제하지 않았으며, 인슐린 자극성 지방합성이 Rg1 및 Rc에 의해 감소되었다고 하였다. 이는 본 연구에서 사용한 산양삼에 다양한 진세노사이드가 함유되어 있기 때문(Ryu et al., 2013)이라 판단되며, 본 연구결과를 지지하고 있다고 사료된다.

지방저장량의 합(Figure 1D)은 CON, RD, WC의 대조군에 비하여 산양삼감식초를 섭취하였을 때 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 또한 집단간 동일한 시도에서는 RD가 CON 및 WC에 비하여 유의한 감소를 보였으며( $p < 0.05$ ), WC가 CON에 비하여 낮은 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 각 집단의 MPV군에서 나타난 결과는, 산양삼의 진세노사이드에 의한 지방합성의 억제(Siraj et al., 2014; Gao et al., 2013), 식초음료에 의한 지방분해 효과(Ok et al., 2013), 숙성과정에 의한 초산의 증가(Calzada et al., 2013), 그리고 비만 쥐의 증가된 혈중 유리지방산이 2주간 섭취된 진세노사이드에 의하여 감소되었다는 보고(Shang et al., 2013) 등에서 나타난바와 같이 산양삼과 감식초 융합소재의 지방합성 억제작용이 유발되었기 때문에 총지방량이 감소된 결과로 나타났다고 판단된다. 특히, 웨이트사이클링군에서 효과적으로 억제되었다는 것은 의미있는 결과라고 사료된다.

## 2. 대사 관련 단백질 발현량의 차이

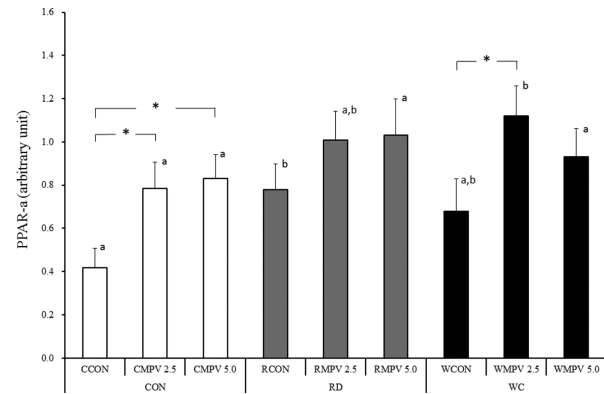
AMPK(AMP-activated protein kinase, Figure 2)의 집단 내 비교에서는 CCON에 비하여 CMPV5.0이 유의하게 높았으며( $p < 0.05$ ), 다른 집단에서는 모두 산양삼감식초 섭취에 의하여 유의하게 증가한 것으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 집단 간 동일한 시도간의 비교에서는 WMPV2.5 및 WMPV5.0이 다른 시도에 비하여 유의한 증가를 보였다( $p < 0.05$ ). AMPK의 활성이 증가하게 되면 과도한 영양섭취로 인한 간의 지방축적을 예방한다(Li et al., 2014). 반대로 말하면, AMPK가 감소하게 되면 지방합성을 유도하는 유전자 발현이 증가하게 된다(Fang et al., 2014). 본 연구에서 산양삼감식초 섭취에 의해 AMPK 단백질 발현이 유의하게 증가하는 것으로 나타났다. 이는 단기간 섭취량의 40% 칼로리를 제한하였을 때 간과 근육의 AMPK가 활성화 증가(Pires et al., 2014), 식초음료 섭취에 의한 AMPK 단백질 발현 증가(Seo et al., 2014; Ok et al., 2013), 식초에 함유되어 있는 초산에 의한 AMPK 활성의 증가(Li et al., 2013) 등의 결과에서도 유사성을 찾을 수 있을 것이다. 이는 결과적으로 지방산화가 개선되는 결과를 초래하며, 항비만 및 인슐린 저항성 개선에 효과적인 영향을 줄 수 있을 것이다(Seo et al., 2014). 또한 Hwang et al.(2007)은 3T3-L1 지방세포에 진세노사이드 Rh2를 처



**Figure 2. Differences of AMP-activated protein kinase (AMPK) protein expression among the groups.** CON: control group; WC: weight cycling group; RD: restricted diet group; C: within CON; W: within WC; R: within RD; MPV2.5: mountain-cultivated ginseng ripened into persimmon vinegar ingestion with 2.5 times dilution; MPV5.0: mountain-cultivated ginseng ripened into persimmon vinegar ingestion with 5.0 times dilution; WCON: weight cycling-control; RCON: restricted diet-control; asterisks means significantly different within the line ( $p<0.05$ ); different letter means significantly different among the sub-groups ( $p<0.05$ ).

치한 결과, AMPK 신호전달 작용에 영향을 미침으로써 진세노사이드 Rh2가 비만에 의한 대사적 불균형을 예방할 수 있는 가장 효과적인 후보물질 중의 하나라고 하였다. 또한 진세노사이드 Rb1 역시 AMPK의 활성화를 유도하여 비만 쥐의 간 내 지방저장을 감소시킨다고 하였다. 이러한 선행연구를 바탕으로 할 때 특히 본 연구의 WC군에서 산양삼감식초에 의한 AMPK의 증가는 다이어트의 부작용을 효과적으로 억제할 수 있다는 점을 시사하고 있다고 판단된다. 정기적으로 식초음료를 섭취하는 것은 AMPK 활성을 일정하게 유지시켜 건강에 도움을 주게 된다는 보고(McCarty, 2014)에서 나타난 바와 같이, 산양삼감식초의 섭취는 대사활성에 긍정적인 영향을 미친다고 사료된다.

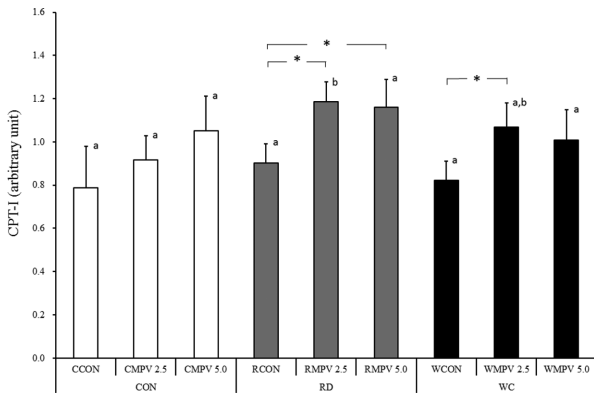
PPAR- $\alpha$ (Peroxisome proliferator-activated receptor alpha, Figure 3)의 집단 내 비교에서는 CON 집단에서 산양삼감식초 섭취에 의해 유의한 증가를 보였으며( $p<0.05$ ), WCON에 비하여 WMPV2.5가 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). 집단 간 동일한 시도간의 비교에서는 RCON이 CCON에 비하여 유의하게 높았고( $p<0.05$ ), WMPV2.5가 CMPV2.5에 비하여 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). PPAR- $\alpha$ 의 증가는 지방방울 형성과 중성지방 저장을 감소시킨다(Kim et al., 2013). 본 연구에서도 산양삼감식초 섭취에 의해 PPAR- $\alpha$ 가 증가한 것으로 나타났다. 이는 식초음료 섭취에 의한 PPAR- $\alpha$  단백질 발현의 증가(Seo et al., 2014; Ok et al., 2013), 식초를 처리한 식품에 의한 PPAR- $\alpha$  활성의 증가로 인한 체지방 저장의 억제 및 지방산화의 증가 등의 결과(Tzeng et al., 2012) 및 초산섭취에 의한 PPAR- $\alpha$  발현의 증가로 인한 지방산화와 체열생산 단백질 발현 증가



**Figure 3. Differences of peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR- $\alpha$ ) protein expression among the groups.** CON: control group; WC: weight cycling group; RD: restricted diet group; C: within CON; W: within WC; R: within RD; MPV2.5: mountain-cultivated ginseng ripened into persimmon vinegar ingestion with 2.5 times dilution; MPV5.0: mountain-cultivated ginseng ripened into persimmon vinegar ingestion with 5.0 times dilution; WCON: weight cycling-control; RCON: restricted diet-control; asterisks means significantly different within the line ( $p<0.05$ ); different letter means significantly different among the sub-groups ( $p<0.05$ ).

(Kondo et al., 2009) 등의 결과를 볼 때, 산양삼감식초는 효과적인 비만억제 식품으로 활용될 수 있을 것이라 생각된다. 또한 WC군에서도 동일한 결과가 나타났다는 것은 매우 의미있는 결과라 사료된다. 즉, 웨이트사이클링은 비만 치료에 있어서 빈번하게 나타나는 부작용이며, 단기간의 식이간섭으로 인하여 PPAR- $\alpha$  단백질 발현이 감소하였다고 하여 결과적으로 체중의 증가가 유발되었다는 결과(Barbosa-da-Silva et al., 2013)에서도 잘 나타나고 있다. 또한 비만쥐에게 단기간의 식이제한이 PPAR- $\alpha$  발현을 억제 및 산화스트레스의 증가가 유발되는 결과로 나타난다(Rame et al., 2011)는 보고는 비만의 치료가 식이제한만으로는 해결하기가 어렵다는 점을 시사하고 있다.

CPT-I(Carnitine palmitoyltransferase-I, Figure 4)의 집단 내 비교에서는 RD군에서 산양삼감식초 섭취에 의해 유의한 증가가 나타났으며( $p<0.05$ ), WCON에 비하여 WMPV2.5가 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). 집단 간 동일한 시도간의 비교에서는 RMPV2.5가 CMPV2.5에 비하여 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). CPT-I은 장쇄지방산을 미토콘드리아 내로 운반하는 역할을 통해 지방산화를 증가시키게 된다. CPT-I은 PPAR- $\alpha$ 이 증가할 경우 증가하며, 지방분해가 촉진됨에 따라 발현량이 증가하게 된다(Chen et al., 2014). 식이제한에 의한 혈중 지방산량이 증가할 경우를 살펴본 연구를 보면, 쥐에게 20%의 칼로리를 제한하여 식이를 공급하였을 때, CPT-1 발현이 증가하는 결과로 나타난다(Torrens et al., 2014). 또한 석류식초 섭취에 의해 간 조직의 CPT-Ia를 증가시켰으며(Ok et al., 2013), 고지방식을



**Figure 4. Differences of carnitine palmitoyltransferase-I (CPT-I) protein expression among the groups. CON: control group; WC: weight cycling group; RD: restricted diet group; C: within CON; W: within WC; R: within RD; MPV2.5: mountain-cultivated ginseng ripened into persimmon vinegar ingestion with 2.5 times dilution; MPV5.0: mountain-cultivated ginseng ripened into persimmon vinegar ingestion with 5.0 times dilution; WCON: weight cycling-control; RCON: restricted diet-control; asterisks means significantly different within the line (p<0.05); different letter means significantly different among the sub-groups (p<0.05).**

공급하였을 때 식초음료에 의한 CPT-I의 활성이 증가하였다(Seo et al., 2014)는 보고, 고지방식이 쥐에게 초산을 공급하였을 때 CPT-I 단백질 발현이 증가하여 지방산화가 개선되었다(Kondo et al., 2009)는 연구결과, 그리고 진세노사이드 Rb1의 섭취에 의하여 CPT-I 발현이 유의하게 증가하였다는 보고(Shen et al., 2013) 등 다양한 결과가 나타나고 있다. 이는 본 연구의 산양삼감식초의 특징인 식초, 초산, 고지방식이, 식이제한 등의 방법 적용에 의하여 나타난 결과라고 사료된다. 특히, WC군의 경우 산양삼감식초에 의해 유의한 증가(WMPV2.5) 및 증가경향(WMPV5.0)이 나타났다는 것은 지방산화가 증가하였음을 시사하고 있으며, 이를 통하여 산양삼감식초의 비만증 해소에 효과적으로 사용할 수 있을 것이라 사료된다. 이러한 결과는 입업산물로 개발된 산양삼감식초가 비만증을 해소하기 위하여 선택하는 식이제한의 부작용인 웨이트사이클링이 유발되었을 경우에도 효과적으로 지방산화를 개선시킨다는 것을 시사하고 있다.

## 결론

본 연구에서는 산양삼을 감식초에 혼입숙성과정을 거쳐 생산한 산양삼감식초를 실험용 흰쥐에게 6주간 공급하였다. 이때 대조군, 절식군(대조군의 70% 칼로리 섭취), 웨이트사이클링군(대조군의 100%, 70%의 칼로리를 일주일 간격으로 변환)으로 구분하여 진행하였다. 각각의 집단은 다시 대조군, 산양삼감식초 2.5배 희석군, 산양삼감식초 5.0배 희석군의 하위집단으로 다시 구분하였다. 지

방량은 복막후지방, 장간막지방, 그리고 부고환지방에서 측정하였으며, 세 집단 모두 산양삼감식초 섭취에 의해 증가가 억제되는 것으로 나타났다. 그러나 하위 집단 간에는 차이가 나타나지 않았다. 대사관련 단백질 중 AMPK, PPAR- $\alpha$ 는 산양삼감식초 섭취에 의해 증가하는 것으로 나타났다으며, 이는 결과적으로 지방산화에 직접적인 영향을 주는 CPT-I의 증가로 나타났다. 이는 소재융합을 통한 건강식품 및 천연식품으로서의 가치가 높아질 수 있을 것이다.

## 감사의 글

본 연구는 산림청 ‘산림과학기술개발사업(과제번호: S121010L080110)’의 지원에 의해 이루어진 것임. 또한 전체적인 분석에 도움을 준 경북대학교 레저스포츠학과 서효빈 박사께 감사드립니다.

## References

- Balogh, J., Vizhul, A., Dunkin, B.J., Tariq, N., and Sherman, V. 2014. Clinical management of patients presenting with non-adjustable gastric band (NAGB) complications. *Yale Journal of Biology and Medicine* 87(2): 159-166.
- Barbosa-da-Silva, S., da Silva, N.C., Aguila, M.B., and Mandarim-de-Lacerda, C.A. 2013. Liver damage is not reversed during the lean period in diet-induced weight cycling in mice. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research* doi: 10.1111/hepr.12138.
- Brockman, D.A., Chen, X., and Gallaher, D.D. 2014. High-viscosity dietary fibers reduce adiposity and decrease hepatic steatosis in rats fed a high-fat diet. *Journal of Nutrition* pii: jn.114.191577.
- Calzada, J., DeOlmo, A., Picon, A., Gaya, P., and Nuñez, M. 2013. High-pressure processing decelerates lipolysis and formation of volatile compounds in ovine milk blue-veined cheese. *Journal of Dairy Science* 96(12): 7500-7510.
- Dankel, S.N., Degerud, E.M., Borkowski, K., Fjære, E., Midtbø, L.K., Haugen, C., Solsvik, M.H., Lavigne, A.M., Liasset, B., Sagen, J.V., Kristiansen, K., Mellgren, G., and Madsen, L. 2014. Weight cycling promotes fat gain and altered clock gene expression in adipose tissue in C57BL/6J mice. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 306(2): 210-224.
- de Castro, U.G., dos Santos, R.A., Silva, M.E., de Lima, W.G., Campagnole-Santos, M.J., and Alzamora, A.C. 2013. Age-dependent effect of high-fructose and high-fat diets on lipid metabolism and lipid accumulation in liver and kidney of rats. *Lipids in Health and Disease* 12: 136.
- Fang, Y., Qi, W., Ming, L., Wenbin, C., Yongfeng, S., Fei, J., Laicheng, W., Yanliang, L., Tao, B., Jie, Z., Tingting, W., Wei, X., Chunxiao, Y., Qingbo, G., Xinli, Z., Ling, G., Chao,

- X., and Jiajun, Z. 2014. Thyrotropin increases hepatic triglyceride content through upregulation of SREBP-1c activity. *Journal of Hepatology* pii: S0168-8278(14)00468-1.
- Gao, Y., Yang, M.F., Su, Y.P., Jiang, H.M., You, X.J., Yang, Y.J., and Zhang, H.L. 2013. Ginsenoside Re reduces insulin resistance through activation of PPAR- pathway and inhibition of TNF- $\alpha$  production. *Journal of Ethnopharmacology* 147(2): 509-516.
- Han, J.M., Kim, H.G., Lee, J.S., Choi, M.K., Kim, Y.A., and Son, C.G. 2014. Repeated sense of hunger leads to the development of visceral obesity and metabolic syndrome in a mouse model. *PLoS One* 9(5): e98276.
- Hurt, R.T., Edakkanambeth, Varayil, J., and Ebbert, J.O. 2014. New pharmacological treatments for the management of obesity. *Current Gastroenterology Reports* 16(6): 394.
- Hwang, J.T., Kim, S.H., Lee, M.S., Kim, S.H., Yang, H.J., Kim, M.J., Kim, H.S., Ha, J., Kim, M.S., and Kwon, D.Y. 2007. Anti-obesity effects of ginsenoside Rh2 are associated with the activation of AMPK signaling pathway in 3T3-L1 adipocyte. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 364(4): 1002-1008.
- Jauch-Chara, K., and Oltmanns, K.M. 2014. Obesity--a neuropsychological disease? Systematic review and neuropsychological model. *Progress in Neurobiology* 114: 84-101.
- Jeon, B.D., Kim, P.G., and Ryu, S. 2012. Change of ripened persimmon vinegar with mountain ginseng ingestion on energy metabolism in rats. *Journal of Korean Forest Society* 101(3): 517-525.
- Jeon, B. D., Kim, P.G., and Ryu, S. 2013. Ripened persimmon vinegar with mountain-cultivated ginseng ingestion reduce blood lipids and enhance anti-oxidants capacity in rats. *Journal of Korean Forest Society* 102(2): 182-188.
- Jung, M.H., Seong, P.N., Kim, M.H., Myong, N.H., 2013. Chang, M.J. Effect of green tea extract microencapsulation on hypertriglyceridemia and cardiovascular tissues in high fructose-fed rats. *Nutrition Research and Practice* 7(5): 366-372.
- Kim, M.S., Lee, K.T., Iseli, T.J., Hoy, A.J., George, J., Grewal, T., and Roufogalis, B.D. 2013. Compound K modulates fatty acid-induced lipid droplet formation and expression of proteins involved in lipid metabolism in hepatocytes. *Liver International* 33(10): 1583-1593.
- Kondo, T., Kishi, M., Fushimi, T., and Kaga, T. 2009. Acetic acid upregulates the expression of genes for fatty acid oxidation enzymes in liver to suppress body fat accumulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(13): 5982-5986.
- Kwon, D.K., Kang, J.Y., Song, Y.J., Kim, P.G., Seo, H.B., and Ryu, S. 2012. Effects of mountain ginseng-added high fat diet on lipid peroxidation and antioxidant protein expression of skeletal muscle in rats. *Journal of Korean Forest Society* 101(1): 69-76.
- Landa, V., Zidek, V., Mlejnek, P., Simáková, M., Silhavy, J., Trnovská, J., Kazdová, L., and Pravenec, M. Sterol regulatory element binding protein 2 overexpression is associated with reduced adipogenesis and ectopic fat accumulation in transgenic spontaneously hypertensive rats. *Physiological research* [Epub ahead of print].
- Lee, G.R., Shin, M.K., Yoon, D.J., Kim, A.R., Yu, R., Park, N.H., and Han, I.S. 2013. Topical application of capsaicin reduces visceral adipose fat by affecting adipokine levels in high-fat diet-induced obese mice. *Obesity* 21(1): 115-122.
- Li, H., Min, Q., Ouyang, C., Lee, J., He, C., Zou, M.H., and Xie, Z. 2014. AMPK activation prevents excess nutrient-induced hepatic lipid accumulation by inhibiting mTORC1 signaling and endoplasmic reticulum stress response. *Biochimica et Biophysica Acta* pii: S0925-4439(14)00213-0.
- Li, X., Chen, H., Guan, Y., Li, X., Lei, L., Liu, J., Yin, L., Liu, G., and Wang, Z. 2013. Acetic acid activates the AMP-activated protein kinase signaling pathway to regulate lipid metabolism in bovine hepatocytes. *PLoS One* 8(7): e67880.
- Ludwig, T., Worsch, S., Heikenwalder, M., Daniel, H., Hauner, H., and Bader, B.L. 2013. Metabolic and immunomodulatory effects of n-3 fatty acids are different in mesenteric and epididymal adipose tissue of diet-induced obese mice. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*. 304(11): 1140-1156.
- McCarty, M.F. 2014. AMPK activation--protean potential for boosting healthspan. *Age* 36(2): 641-663.
- Mori, M.A., Thomou, T., Boucher, J., Lee, K.Y., Lallukka, S., Kim, J.K., Torriani, M., Yki-Järvinen, H., Grinspoon, S.K., Cypess, A.M., and Kahn, C.R. 2014. Altered miRNA processing disrupts brown/white adipocyte determination and associates with lipodystrophy. *Journal of Clinical Investigation* pii: 73468.
- Ng, T.B., Wong, C.M., and Yeung, H.W. 1986. Effect of ginsenosides Rg1, Rc and Rb2 on hormone-induced lipolysis and lipogenesis in rat epididymal fat cells. *Journal of Ethnopharmacology* 16(2-3): 191-199.
- Ogawa, T., Shibato, J., Rakwal, R., Saito, T., Tamura, G., Kuwagata, M., and Shioda, S. 2014. Seeking genes responsible for developmental origins of health and disease from the fetal mouse liver following maternal food restriction. *Congenital Anomalies* doi: 10.1111/cga.12062.
- Ok, E., Do, G.M., Lim, Y., Park, J.E., Park, Y.J., and Kwon, O. 2013. Pomegranate vinegar attenuates adiposity in obese rats through coordinated control of AMPK signaling in the liver and adipose tissue. *Lipids in Health and Disease* 12: 163.
- Pires, R.C., Souza, E.E., Vanzela, E.C., Ribeiro, R.A., Silva-Santos, J.C., Carneiro, E.M., Boschero, A.C., and Amaral, M.E. 2014. Short-term calorie restriction improves glucose homeostasis in old rats: involvement of AMPK. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 21: 1-7.
- Ramage, S., Farmer, A., Apps E.ccles, K., and McCargar, L.



2014. Healthy strategies or successful weight loss and weight maintenance: a systematic review. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 39(1): 1-20.
- Rame, J.E., Barouch, L.A., Sack, M.N., Lynn, E.G., Abu-Asab, M., Tsokos, M., Kern, S.J., Barb, J.J., Munson, P.J., Halushka, M.K., Miller, K.L., Fox-Talbot, K., Zhang, J., Hare, J.M., Solomon, M.A., and Danner, R.L. 2011. Caloric restriction in leptin deficiency does not correct myocardial steatosis: failure to normalize PPAR $\alpha$ /PGC1 $\alpha$  and thermogenic glycerolipid/fatty acid cycling. *Physiological Genomics* 43(12): 726-738.
- Ryu, S., Kim, C., and Bae, E.H. 2013. Development of Anti-obesity Foods and Programs by Using Fusion Ingredients of Mountain-cultivated Ginseng and Persimmon Vinegar. *Forest Service Report* pp. 2.
- Samms, R.J., Fowler, M.J., Cooper, S., Emmerson, P., Coskun, T., Adams, A.C., Kharitonov, A., Tsintzas, K., and Ebling, F.J. 2014. Photoperiodic regulation of FGF21 production in the Siberian hamster. *Hormones and Behavior* 66(1): 180-185.
- Seo, H.B., Nam, J.O., Jeon, B.D., Kim, P.G., and Ryu, S. 2012. Persimmon Vinegar Ingestion before Endurance Exercise on Energy Substrates Utilization. *Journal of Korean Forest Society* 101(4): 626-634.
- Seo, H.B., Song, Y.J., Kang, J.Y., Kwon, D.K., Kim, P.G., and Ryu, S. 2011. The study of persimmon vinegar as a functional drink on reduce blood lipids and enhance exercise performance. *Journal of Korean Forest Society* 100(2): 232-239.
- Seo, K.I., Lee, J., Choi, R.Y., Lee, H.I., Lee, J.H., Jeong, Y.K., Kim, M.J., and Lee, M.K. 2014. Anti-obesity and anti-insulin resistance effects of tomato vinegar beverage in diet-induced obese mice. *Food & Function* [Epub ahead of print]
- Shang, W.B., Yu, X.Z., Wang, G.Q., and Zhao, J. 2013. Effect of ginsenoside Rb1 in ameliorating insulin resistance and ectopic fat deposition in obese mice induced by high fat diet. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 38(23): 4119-4123.
- Shen, L., Xiong, Y., Wang, D.Q., Howles, P., Basford, J.E., Wang, J., Xiong, Y.Q., Hui, D.Y., Woods, S.C., and Liu, M. 2013. Ginsenoside Rb1 reduces fatty liver by activating AMP-activated protein kinase in obese rats. *Journal of Lipid Research* 54(5): 1430-1438.
- Siraj, F.M., Sathishkumar, N., Kim, Y.J., Kim, S.Y., and Yang, D.C. 2014. Ginsenoside F2 possesses anti-obesity activity via binding with PPAR and inhibiting adipocyte differentiation in the 3T3-L1 cell line. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* [Epub ahead of print]
- Song, A., Wang, C., Ren, L., and Zhao, J. 2014. Swimming improves high-fat induced insulin resistance by regulating lipid and energy metabolism and the insulin pathway in rats. *International Journal of Molecular Medicine* 33(6): 1671-1679.
- Torrens, J.M., Konieczna, J., Palou, M., Sánchez, J., Picó, C., and Palou, A. 2014. Early biomarkers identified in a rat model of a healthier phenotype based on early postnatal dietary intervention may predict the response to an obesogenic environment in adulthood. *Journal of Nutritional Biochemistry* 25(2): 208-218.
- Tzeng, T.F., Lu, H.J., Liou, S.S., Chang, C.J., and Liu, I.M. 2012. Vinegar-Baked Radix Bupleuri regulates lipid disorders via a pathway dependent on peroxisome-proliferator-activated receptor- $\alpha$  in high-fat-diet-induced obese rats. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2012: 827278.
- Wong, A.L., Seng, K.Y., Ong, E.M., Wang, L.Z., Oscar, H., Cordero, M.T., Copones, R., Fan, L., Tan, S.H., Goh, B.C., and Lee, S.C. 2014. Body fat composition impacts the hematologic toxicities and pharmacokinetics of doxorubicin in Asian breast cancer patients. *Breast Cancer Research and Treatment* 144(1): 143-152.