

## 해당화 열매 추출 분말의 항산화 활성과 고지방 식이로 유도된 Mice의 혈청지질 수준에 미치는 영향

최경순 · 김용환\* · 이기원\*\* · †신경옥

삼육대학교 식품영양학과, \*경기대학교 식품생물공학과, \*\*경기대학교 기초과학연구소

### Antioxidant Activity of *Rosa rugosa* Thunberg and Effect on Serum Lipid Level in High Fat Diet-induced Mice

Kyung-Soon Choi, Yong-Hwan Kim\*, Ki-Won Lee\*\* and †Kyung-Ok Shin

Dept. of Food and Nutrition, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea

\*Dept. of Food Science & Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea

\*\*The Research Institute of Basic Science, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea

#### Abstract

Since Korean ancient times, powder of *Rosa rugosa* Thunberg has been used as a folk remedy. This study was conducted to verify the effects of *Rosa rugosa* Thunberg powder on *in vitro* antioxidant properties and serum lipid levels of high-fat diet-induced mice from a nutritional viewpoint. In the case of *Rosa rugosa* Thunberg powders, measurement of TPC, ABTS radical scavenging activity of trolox, DPPH radical scavenging activity, and measured value of FRAP were higher in ethanol extract than water extracts. For LDL-cholesterol concentration, mice fed 10% powder of *Rosa rugosa* Thunberg with high-fat diets showed a high numerical value compared with other groups ( $p<0.05$ ). When testing for triglyceride concentrations in blood, mice fed 10% and 20% powder of *Rosa rugosa* Thunberg with high-fat diets showed the lowest numerical values ( $p<0.05$ ). When testing for blood insulin concentrations, the high-fat diet group showed higher levels than compared to the control group ( $p<0.05$ ). When testing for blood leptin concentrations, the high-fat diet group was  $5.88\pm 3.53$  ng/dL, whereas mice fed 10% powder of *Rosa rugosa* Thunberg with high-fat diets showed a blood leptin level of  $10.36\pm 5.96$  ng/dL ( $p<0.05$ ). Therefore, results prove that powder of *Rosa rugosa* Thunberg reduces triglyceride concentrations in the blood, and could be used as an excellent natural antioxidant in the future.

Key words: *Rosa rugosa* Thunberg, antioxidant, triglyceride, insulin, leptin

#### 서론

해당화의 학명은 *Rosa rugosa* Thunberg로 장미과(Rosaceae)에 속하는 낙엽과목이다. 해당화는 한국, 중국, 일본 등지에 분포하며, 바닷가 모래밭이나 산기슭 등에서 서식하는 식물이다(Park 등 1993; Kang 등 2010). 가시에 털이 있으며, 뿌리에서 많은 줄기를 내어 군집을 형성하며, 추위와 공해에 잘 견딘다(Park BJ 2008). 특히 해당화는 관상용, 약용 및 염료의

원료로 사용되기 시작하면서 많은 관심을 가지게 되었다. 꽃은 <본초강목>에서 매괴화라고 하여 처음 개화할 때 채집하여 건조한 것을 약용으로 쓰며, 위통·토혈·월경과다 및 인후궤양 등에 이용된다고 보고되고 있다(Kim & Park 1986; Park BJ 2008; Kang 등 2010). 일본에서는 꽃의 색소를 천연착색료로, 꽃잎은 지사제와 지혈제로 이용하기도 한다(Park 등 1993). 해당화 뿌리(해당근)의  $\beta$ -카로틴과 로자닌(rosanin) 등의 성분이 혈당 감소 기능이 있어 당뇨병 치료의 민간약으로 사

† Corresponding author: Kyung-Ok Shin, Dept. of Food and Nutrition, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea. Tel: +82-2-3399-1657, Fax: +82-2-3399-1655, E-mail: skorose@syu.ac.kr

용해 왔으며, 고지혈증 개선 효과 및 사포닌 성분인 로자멀틴(rosamultin)이 있어 항산화 효과와 간 보호기능이 있다고 보고하였다(Han 등 1987; Jung 등 2005; Park 등 2005a; Park BJ 2008). 해당화 열매에는 비타민 C가 풍부하여 서양에서는 잼을 만들었으며, 열매를 꿀이나 설탕에 재어 과당으로 만들어 먹었고, 타박상·풍비(風痺)·부인의 월경과다 등에 사용했다고 보고되었다(Park BJ 2008). 또한 선행연구(Kim 등 2001; Park BJ 2008; Kang 등 2010)에서는 해당화에는 비타민 C가 풍부하며, quercetin·terpenoid·phenylpropanoid·flavonoid(isoquercetin, rutin)·가수분해형 탄닌(rugosin 등) 및 catechin과 그 유도체 등의 함량이 높다고 보고되었다. 이러한 성분들로 인해 해당화에서 항염증, 진경작용, 항알레르기 작용, 피부 노화 예방, 미백 효과 및 통증 치료 효과 등의 연구도 보고되고 있다(Okawa M 2005; Jung 등 2005; Park 등 2005a; Park 등 2005b; Park BJ 2008; Kang 등 2010; Lee 등 2011).

최근 우리나라에서 재배되고 있는 채소류 및 야생초 등의 생약추출물을 대상으로 조사한 항산화 활성에 관한 연구(Choi 등 1997; Jung 등 2005; Okawa M 2005; Park 등 2005a; Park 등 2005b; Park BJ 2008)가 많이 수행되고 있다. 현재까지 여러 물질에서 천연항산화제 개발이 활발히 진행되고 있지만, 효력이나 효능면에 있어서 합성항산화제(BHT나 BHA)를 능가하지 못하고 있는 실정이다(Choi 등 1997). 또한 합성항산화제의 경우, 대량으로 투여된 동물실험에서 각종 질병을 발생시키는 물질이나 발암성 물질이 보고됨에 따라 소비자들의 기피현상이 나타나고 있어, 점점 합성항산화제의 사용이 제한 되어가고 있다(Choi 등 1997). 따라서 인체에 안전하면서 효율과 효력이 탁월한 천연항산화제 개발이 시급한 실정이다.

이에 본 연구에서는 우리나라에서 오래 전부터 민간요법으로 사용되었던 약용식물인 해당화의 열매 추출 분말을 이용하여 열매가 가지고 있는 식품의 일반성분과 항산화 활성 및 고지방 식이로 유도된 흰쥐 체내에서의 혈중 지질 수준의 변화와 혈청 insulin과 leptin 수준의 변화 등을 확인하여 해당화 열매 분말의 가공식품산업의 재료로 이용할 수 있는지를 알아보고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료

해당화 열매는 2013년 11월 8일 경기도 시흥 갯골생태공원에서 채취하여 동결 건조시킨 후 분쇄하여 분말로 만들어 사용하였다.

### 2. 해당화 열매 분말의 일반성분 분석

해당화 열매 분말의 일반성분 분석은 Korea Food and Drug

Administration(2003)에 준하여 실시하였으며, 수분 함량의 측정은 상압가열건조법(105°C 건조법), 조회분은 직접회화법, 조지방은 Soxhlet 추출법 및 조단백질은 Keltech 방법으로 측정하였다. 모든 결과는 3회 반복 실험한 것을 평균값으로 계산하여 나타내었다.

## 3. 항산화 활성 분석

### 1) 시료 준비

본 연구에 사용된 해당화 열매는 동결 건조한 후, 분말(1g)로 만들어 열수 추출물과 70.5% 에탄올 추출물의 방법은 초음파 추출(SM30-CEP, Mirco, Korea)을 사용하였다.

### 2) 총 페놀 함량의 측정(Total phenolic content, TPC)

시료의 총 페놀 함량의 측정은 Singleton & Rossi(1965)의 방법을 일부 변경하여 Folin-Ciocalteu's(FC) reagent(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 이용하여 실험하였다. 각 시료 20  $\mu$ L에 증류수 1.58 mL를 추가한 후 FC reagent(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 100  $\mu$ L를 vortex로 혼합하여 5분 후 20% sodium carbonate 용액 300  $\mu$ L를 첨가하여 2시간 동안 실온에서 반응시킨 후 765 nm 파장에서 spectrophotometer(Ultrospec 3,100 pro, Amersham Bio., Cambridge, UK)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 해당화 열매 추출 분말의 페놀 함량은 해당화 열매 분말 중 100 g에 해당하는 galic acid의 용량(mg GAE/g dw)으로 표시하였다.

### 3) ABTS[2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] 라디칼 소거능 측정

시료의 ABTS assay 방법은 Re 등(1999)의 방법을 변형하여 실험하였다. ABTS 용액은 7 mM ABTS 저장용액과 2.45 mM potassium persulfate( $K_2S_2O_8$ )을 포함하는 ABTS 용액에 시료를 혼합하여 실온에서 6분간 반응시킨 후, 734 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 라디칼 소거능은 건조시료 g당 mM Trolox equivalents로 나타내었다.

### 4) DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능 측정

시료의 DPPH 라디칼 소거능 측정은 Sa'anchez-Moreno 등(1998)의 방법에 준하여 각각의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 시료 50  $\mu$ L를 넣고 60  $\mu$ M DPPH 용액 2 mL를 첨가하여 vortex로 균일하게 혼합한 다음, 실온의 암실에서 30분 방치한 후, 515 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 trolox(Sigma Chemical)를 이용하여 검량선을 작성하였고, 각 시료의 라디칼 소거능은 건조시료 1 g당 mM Trolox equivalent로 나타내었다.

#### 5) FRAP(Ferric reducing antioxidant power)에 의한 항산화 활성 측정

시료의 환원력을 구하기 위해 Pulido 등(2000)의 방법에 의하여 FRAP assay를 사용하였다. FRAP 용액은 40 mM HCl에 10 mM TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-triazine)로 녹인 용액 2.5 mL와 20 mM FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O 2.5 mL, 0.3 M acetate buffer(pH 3.6) 25 mL를 혼합하여 37°C에서 보관하여 준비하였다. FRAP 용액 900 µL에 시료 30 µL와 증류수 90 µL를 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 595 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 환원력은 Trolox를 표준으로 이용하여 만든 표준곡선에 대입하여 해당화 열매 추출 분말 중 100 g에 해당하는 Trolox의 용량(mg)으로 표시하였다.

### 4. 동물실험

#### 1) 실험동물 및 사육조건

실험동물은 (주)오리엔트 바이오로부터 분양 받아 ICR-mouse 8주령 수컷을 성숙기 모델로 잡아 실험군당 7마리를 공시하였다. 시판 고형식이(PicoLab<sup>®</sup> Rodent Diet)로 1주일간 적응시킨 후, 무게에 따라 완전임의 배치한 후 60일간 물과 식이를 충분히 공급(*ad libitum*)해 주면서 사육하였다. 실험 전체 기간 동안 실험실의 사육조건은 20±2°C, 습도 40~60%를 항상 유지시켰고, 명암은 11±1시간을 주기로 조절하였다. 실험 기간은 2014년 9월 16일부터 2014년 11월 11일까지 총 8주간 실험하였다. 실험동물(Approved number; SYUIACUC 2014-036) 과정은 삼육대학교 동물실험윤리위원회(IACUC: Institutional Animal Care and Use Committees)의 지침에 따라 수행하였다.

#### 2) 동물사료 조성

동물사료는 현재 시판되고 있는 시판용 mice 고형사료를 분말로 만든 후 사용하였으며, 동물실험용 사료조성은 탄수화물 60%(starch+sucrose+glucose+fructose+lactose)를 기준으로 하여 단백질 21%, 지질 13%(고지방 식이 group 33% 첨가)를 영양원으로 하였다. 각종 비타민과 무기질을 각각 1%, 3%, 그리고 섬유질 1%를 첨가하였으며, 여기에 Choi 등(2013)의 연구방법을 기준으로 하여 해당화 열매 분말을 각각 10%와 20% 비율로 첨가하여 배합하였다.

#### 3) 체중 변화 및 장기 무게

실험동물의 체중은 5일에 한 번씩 측정하였다. 각 군들은 희생 12시간 전부터 절식시키고, ethyl ether로 살짝 마취시킨 후 복부를 절개한 뒤 장기를 적출하여 차가운 생리식염수에 씻은 후, 연결조직을 제거하여 중량을 측정하였다.

#### 4) 혈액 채취

실험동물의 처리는 실험사육 최종일 12시간 동안 절식을 시키고, ethyl ether로 살짝 마취시킨 후 복부를 절개한 뒤 심장에서 주사기를 이용하여 채혈하였다. 채취한 각 혈액은 1시간 정도 4°C 냉장실에 놓아둔 후에 원심분리기를 이용하여 3,000 rpm/15 min으로 원심분리(A32010, Gyrozen, Daejeon, Korea)를 하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청은 각각 100 µL씩 micro tube에 넣어 실험에 사용되기 전까지 -70°C Deep freezer(Ultra low temperature freezer, Sanyo Electric Biomedical Co, Ltd., Tokonabe-Cho Kasai-City Hyogo, Japan)에 보관하였다.

### 5. 혈중 지질 농도 분석

#### 1) 콜레스테롤 함량 측정

혈청 콜레스테롤 함량은 Cho & Choi(2007)와 Rudel & Morris(1973)의 방법에 따라 o-phthaldehyde법으로 측정하였다. 시료를 0.1 mL씩 분취한 다음, 33% KOH 용액 0.3 mL와 95% 에탄올 3.0 mL를 첨가하고 잘 혼합한 다음, 혈청은 15분 동안 60°C 수조에서 가열시킨 후 냉각하였다. 헥산 5.0 mL를 첨가하여 혼합하고, 증류수 3.0 mL를 가한 다음 1분간 잘 혼합한 다음, 층을 분리하여 1.0 mL의 헥산층을 분취하였다. 헥산층을 질소로 농축 및 건조시키고, o-phthaldehyde 시약 2.0 mL를 첨가하여 잘 혼합하고, 10분 후 발색시약으로서 진한 황산 1.0 mL를 첨가하여 잘 혼합하였다. 황산 첨가 후 10~90분 내에 분광광도계(Spectrophotometer; Human corporation, Korea)를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하고, 표준검량선에 따라 콜레스테롤의 함량을 정량하였다.

#### 2) HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol 함량 측정

혈청 중의 HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol 함량의 측정은 Cho & Choi(2007)의 방법을 참고하여 HDL-cholesterol(HDL-C 555, Eiken Co., Tokyo, Japan)과 LDL-cholesterol(BLF, Eiken Co., Tokyo, Japan) kit 시약을 사용하였다.

#### (1) HDL-cholesterol 함량 측정

혈청 중의 HDL-cholesterol 함량은 Cho & Choi(2007)의 방법을 참고하여 혈청 0.3 mL를 시험관에 넣고, 여기서 침전시약 0.3 mL를 넣어 잘 혼합한 다음, 실온에서 10분간 방치 후 700×g에서 10분간 원심분리 하였다. 그 후 상층액 50 µL, 표준용액(100 mg/dL) 50 µL, blank로 증류수 50 µL에 각각 HDL 발색시약 3.0 mL씩을 첨가하고 잘 섞은 후, 37°C 수조상에서 5분간 가온시켰다. Blank를 대조로 하여 555 nm에서 흡광도를 측정하여 HDL-cholesterol의 함량을 정량하였다.

### (2) LDL-cholesterol 함량 측정

혈청 중의 LDL-cholesterol 함량은 Cho & Choi(2007)의 방법을 참고하여 혈청 0.1 mL, 표준혈청 0.1 mL를 시험관에 넣고 여기에 BLF kit 시약 I 및 II를 각각 4.0 mL씩 넣은 후 5초간 잘 혼합한 다음, 실온(25±3°C)에서 25분간 방치 후 10분 이내에 증류수를 대조로 하여 분광광도계를 사용하여 650 nm에서 흡광도를 측정하여 LDL-cholesterol의 함량을 정량하였다.

### 3) Triglyceride 함량 측정

혈청 중의 triglyceride 함량은 Cho & Choi(2007)의 방법을 참고하여 혈청 중의 중성지질은 TG kit(Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 시약을 사용하여 분석하였다. 혈청 10 µL, 표준용액(300 mg/dL) 10 µL와 blank로 탈이온수 10 µL에 TG kit 시약 1.0 mL씩을 첨가하고 잘 혼합한 다음, 37°C 수조상에서 5분간 반응시켰다. Blank를 대조로 하여 분광광도계를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 TG의 함량을 정량하였다.

### 6. 혈액 내 생화학적 분석

혈액에서 phospholipid, alkaline phosphatase(ALP), aspartate transaminase(AST), alanine transaminase(ALT)은 Reitman & Frankel(1957) 방법에 의해 UV/VIS-spectrophotometric(Specord 200, Analytik-Jena, Jena, Germany)을 이용하여 분석하였다. Serum lactate dehydrogenase(LDH) 활성은 Martinek RG(1972) 방법에 의해 UV/VIS-spectrophotometric(Specord 200, Analytik-Jena, Jena, Germany)을 이용하여 분석하였다.

혈중 insulin 농도는 실험 종료일에 분리한 혈장에서 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) kit(Linco, Washington, USA)를 사용하였고, 분석장비(Molecular device, USA)를 이용하여 녹십자에서 분석하였다. 혈중 leptin 농도는 ELISA를 이용하여 분석하였으며, 분석 방법은 manufacturer's protocols(R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)에 의해 분석하였다.

### 6. 통계처리

수집된 모든 자료는 SPSS package(version 18.0) 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였다. 항산화 활성 실험

방법에 대한 평균치 비교는 student *t*-test 방법을 이용하여 유의성 분석을 하였다( $p<0.01$ ). 그리고 그룹들 간에 평균치 비교는 one-way ANOVA 방법에 따라 실시하였으며, 평균들 간 차이의 유의성 분석( $p<0.05$ )은 Duncan의 다중검정법에 의해 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 일반성분 분석

해당화 열매 분말에 대한 일반성분 분석은 Table 1에 제시하였다. 해당화 열매 분말의 수분 함량은 4.55±0.18%, 조회분 함량은 3.75±0.16%, 조지방 함량은 6.81±0.48% 및 조단백질 함량은 8.86±0.05%로 나타났다.

### 2. 항산화 활성 분석

해당화 열매 분말의 항산화 실험의 결과는 Table 2에 제시하였다. 해당화 열매 분말의 경우, 물 추출보다 에탄올 추출에서 TPC의 측정, trolox의 ABTS 라디칼 소거능, DPPH 라디칼 소거능 및 FRAP의 측정값이 높았다( $p<0.01$ ). 특히 해당화 열매 분말의 경우, Trolox의 ABTS 라디칼 소거능 61.98±1.46 (trolox/µmol dry weight)과 FRAP의 측정 56.13±0.90(trolox/µmol dry weight)에서는 항산화 효과가 뛰어난 것으로 조사되었다. Choi 등(1997)의 연구에서는 해당화 잎의 항산화 활성(RC<sub>50</sub>: 12 µg)이 가장 강하게 나타났으며, 물싸리(*Potentilla fruticosa*), 양지꽃(*P. fragarioides*), 큰뽕무(*Geum aleppicum*) 순으로 높다고 보고하였다. Park BJ(2008)은 연구에서 해당화의 자유라디칼 소거활성에서 추출물의 IC<sub>50</sub>는 뿌리가 13.7 µg/mL, 줄기가 14.5 µg/mL로 높은 소거활성을 나타냈다고 보고

**Table 1. General composition of *Rosa rugosa* Thunberg (dry weight)**

Moisture (%)	Crude ash (%)	Crude fat (%)	Crude protein (%)
4.55±0.18 <sup>1)</sup>	3.75±0.16	6.81±0.48	8.86±0.05

<sup>1)</sup> Mean±S.D.

**Table 2. Antioxidant activity and total phenolic contents of *Rosa rugosa* Thunberg**

	Water extracts	Ethanol extracts	<i>t</i> -value
TPC (GAE mg/g dry weight)	14.39±0.83 <sup>1)</sup>	24.10±0.84	-60.656*
ABTS (trolox/µmol dry weight)	31.34±0.34	61.98±1.46	-31.741*
DPPH (trolox/µmol dry weight)	12.23±0.08	18.28±0.34	-25.589*
FRAP (trolox/µmol dry weight)	37.40±1.47	56.13±0.90	-14.428*

<sup>1)</sup> Mean±S.D.

\*Significant at  $p<0.01$  by *t*-test

하였다. 또한 선행연구(Park 등 2005a)에서는 해당근은 유리 기 소거 효소인 SOD(superoxide dismutase)의 활성과 GSH (Glutathione)의 활성을 회복시켜 위점막의 방어기전에 기여 함으로 해당근에 대한 지속적인 연구가 필요하다고 강조하 고 있다.

### 3. 흰쥐의 체중 변화 및 장기 무게

체중 변화와 흰쥐의 장기 무게는 각각 Fig. 1과 Table 3에 제시하였다. 흰쥐의 체중 변화는 8주 동안 모든 군에서 증가 했으나, 각 군 간에 유의한 차이는 없었다. 간의 무게는 평균 값이  $2.34 \pm 0.29$ (g/100 g body wt.)로 군 간에 유의한 차이는 없

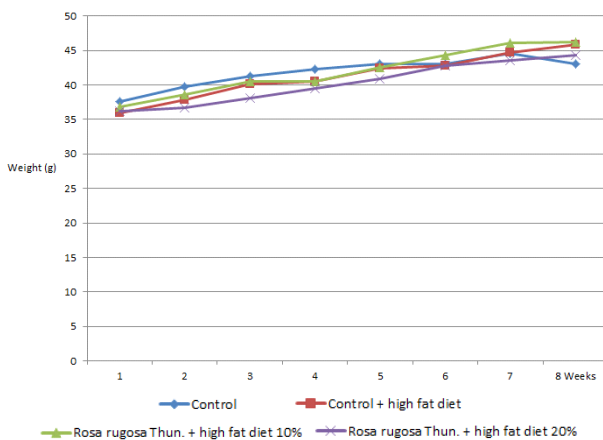


Fig. 1. The change of body weight

Table 3. Organ weight in mice

	Mean±S.D.	Control	CHD <sup>1)</sup>	RFD 10% <sup>2)</sup>	RFD 20% <sup>3)</sup>	Significance
Liver (g/100 g body wt.)	$2.34 \pm 0.29$	$2.38 \pm 0.33$	$2.29 \pm 0.23$	$2.44 \pm 0.39$	$2.26 \pm 0.18$	NS <sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> CHD: Control + high fat diet

<sup>2)</sup> RFD 10%: *Rosa rugosa* Thunberg + high fat diet 10%

<sup>3)</sup> RFD 20%: *Rosa rugosa* Thunberg + high fat diet 20%

<sup>4)</sup> NS: Statistically no significant difference at  $p < 0.05$  by ANOVA-test

Table 4. Comparison of blood lipid in mice

Variables	Control	CHD	RFD 10%	RFD 20%	Significance
Total cholesterol (mg/dL)	$139.80 \pm 17.57$ <sup>1)</sup>	$133.50 \pm 28.63$	$162.00 \pm 21.72$	$152.25 \pm 13.28$	NS <sup>2)</sup>
HDL-cholesterol (mg/dL)	$133.20 \pm 19.04$	$131.50 \pm 27.72$	$157.67 \pm 21.04$	$145.50 \pm 7.55$	NS
LDL-cholesterol (mg/dL)	$9.00 \pm 0.00$ <sup>a</sup>	$10.00 \pm 1.55$ <sup>a</sup>	$14.50 \pm 2.95$ <sup>b</sup>	$9.75 \pm 1.50$ <sup>a</sup>	<0.05 <sup>3)</sup>
Triglyceride (mg/dL)	$145.80 \pm 32.49$ <sup>b</sup>	$102.50 \pm 18.24$ <sup>a</sup>	$98.00 \pm 30.69$ <sup>a</sup>	$114.00 \pm 31.18$ <sup>ab</sup>	<0.05
HDL-cholesterol/total cholesterol	0.95	0.99	0.97	0.96	-

<sup>1)</sup> Mean±S.D.

<sup>2)</sup> NS: Statistically no significant difference at  $p < 0.05$  by ANOVA-test

<sup>3)</sup> Significant at  $p < 0.05$  by ANOVA-test

HDL-cholesterol: High density lipoprotein-cholesterol, LDL-cholesterol: Low density lipoprotein-cholesterol

었다. 선행연구(Kang 등 2004)에서는 흰쥐에게 고지방 식이 를 섭취할 경우 간의 무게가 증가한다고 하였지만, 본 연구에 서는 고지방 식이를 섭취했음에도 불구하고, 군 간에 간의 무 게에 차이가 없는 것은 해당화 열매 분말이 간 조직 중 중성 지방이나 콜레스테롤을 감소시키는데 영향을 주었을 것으로 사료된다.

### 3. 혈중 지질 수준의 변화

혈중 지질의 농도는 Table 4에 제시하였다. 혈중 콜레스테롤 농도와 HDL-cholesterol 농도는 대조군과 해당화 열매 분말 을 먹인 그룹에서 유의한 차이는 없었다. 혈중 LDL-cholesterol 농도는 대조군( $9.00 \pm 0.00$  mg/dL)과 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 20% 첨가한 군( $9.75 \pm 1.50$  mg/dL)의 비교에서는 유 의한 차이는 나타나지 않았고, 고지방 식이군( $10.00 \pm 1.55$  mg/dL) 보다는 낮은 경향을 보여 혈중 LDL-cholesterol 농도를 낮추 는데, 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 20% 첨가한 군에서 효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 10% 첨가한 군( $14.50 \pm 2.95$  mg/dL)에서는 오히려 다른 군에 비해 높은 수치를 보였다( $p < 0.05$ ). 따라서 앞으로 해당화 열매 분말의 첨가량 조절에 대한 세밀한 연구가 진행 되어야 할 것으로 사료된다. Sheo HJ(2001)은 연구에서는 흰 쥐의 정상 혈중 LDL-cholesterol 양을 10.47~82.7 mg/dL라고 보 고하였으며, 측정자에 따라 큰 차이를 보인다고 강조하였다.

혈중 중성지방 농도는 대조군( $145.80 \pm 32.49$  mg/dL)에 비해 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 각각 10%( $98.00 \pm 30.69$  mg/

dL)와 20%(114.00±31.18 mg/dL)씩 첨가한 군에서 유의하게 낮은 수치를 보였다( $p<0.05$ ). 선행연구(Johnson-Johnson Diagnostics 2001; Sheo & Sheo 2002)에서는 정상 흰쥐의 혈중 중성지방량을 27~108 mg/dL로 제시하였으며, 혈중 중성지방량은 고지방 섭취 시에 동맥경화증, 당뇨병, 신장질환 및 췌장염 등을 일으킨다고 보고하였다. 선행연구(Park 등 2005b)에서는 해당근 추출물이 고지방 식이의 결과, 유도된 흰쥐의 증가된 총 콜레스테롤, LDL-cholesterol의 혈중 함량 및 동맥경화 지수를 현저히 감소시키는 한편, 감소된 HDL-cholesterol 함량은 정상수준으로 회복시켰으며, 이는 항산화 효소계 활성의 저하를 완화시켜줌으로써 항동맥경화 효과가 있다고 보고하였다.

#### 4. 혈액 내 생화학적 지표 및 insulin과 leptin 수준의 변화

혈액 내 생화학적 지표는 Table 5에 제시하였다. 혈청 내 인의 성분과 alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase 및 lactate dehydronase의 활성에 관해서는 군 간에 유의한 차이는 없었다.

혈청 내 insulin과 leptin의 변화는 Table 6에 제시하였다. 혈청 내 insulin 농도는 대조군(1.18±0.62 ng/dL)에 비해 고지방 식이를 첨가한 군(2.15±1.34 ng/dL)에서 높은 경향을 보였으며, 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 10% 첨가한 군(6.14±4.91 ng/dL)에서 가장 높은 수준을 보였다( $p<0.05$ ). 선행연구(Hong 등 2001)에서는 흰쥐에게 12주 이상 장기간 고지방 식이를 공급했을 경우, 혈중 insulin 농도는 증가한다고 보고하였다. 혈액 내 insulin 농도를 증가시키는 요인 중 식이와 관련지어 보면, 고지방 식이 섭취 시 혈중 유리지방산 농도가 증

가하게 되고, 이에 따라서 간에서의 인슐린 감수성이 감소되어서 고인슐린혈증이 유발된다고 보고되고 있다(Jang & Choi 2003).

혈청 내 leptin의 농도는 고지방 식이군에서는 5.88±3.53 ng/dL였지만, 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 10% 첨가한 군에서는 10.36±5.96 ng/dL로 나타났다( $p<0.05$ ). 그러나 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 20% 첨가한 군에서 3.78±2.14 ng/dL로 낮은 수치를 보였다( $p<0.05$ ). 선행연구(Hong 등 2001)에서는 혈중 leptin 농도와 혈중 insulin 농도가 양의 상관관계를 보인다고 보고하였으며, 본 연구에서도 두 가지 인자가 비슷한 변화 양상을 보였다. 특히 고지방 식이에 해당화 분말을 10% 첨가한 군보다는 20%를 첨가한 군에서 각각 insulin 농도와 leptin 농도의 조절 능력이 탁월한 것으로 나타났다. Havel PJ(2000)의 연구에 의하면, 사람에게 insulin을 주입했을 때 혈중 leptin 농도를 증가시켜 insulin은 leptin 생성의 주요절인자라고 하였다. 또한 insulin은 설치류와 사람에게서 leptin의 생성을 촉진한다고 하였다(Guerre-Millo M 1997; Hong 등 2001). Leptin은 에너지가 과잉 축적될 경우, 생성이 증가하여 비만의 지표로 사용될 수 있다고 보고되고 있다(Jang & Choi 2003; Kang 등 2003). 선행연구(Considine & Caro 1996; Mistry 등 1997; Havel PJ 2000; Kang 등 2003)에서는 leptin은 식욕을 조절하는 단백질로서 영양상태에 비례하여 지방세포에서 분비되며, 혈장의 leptin은 뇌의 시상하부에 있는 수용체와 결합하여 식이섭취를 감소시키고, thermogenesis와 활동량을 증가시켜 에너지 소비량이 증가되고, 식이섭취량을 감소시켜 체중과 체지방이 감소된다고 보고되고 있다. 비만한 쥐의 경우, 혈중 leptin의 농도는 높으며, 고지방 식이에 의해 유

Table 5. Comparison of phospholipid and liver function test in mice

	Control	CHD	RFD 10%	RFD 20%	Significance
Phospholipid (mg/dL)	288.75±20.55 <sup>1)</sup>	252.00±19.79	255.00±43.14	288.00±54.37	NS <sup>2)</sup>
Alkaline phosphatase (ALP) (U/L)	56.40±7.47	38.00±12.25	39.00±16.97	51.00±23.87	NS
Aspartate aminotransferase (AST) (U/L)	164.40±59.15	160.50±120.10	171.00±136.01	186.00±104.12	NS
Alanine aminotransferase (ALT) (U/L)	42.00±9.00	26.00±6.20	64.00±54.75	43.50±7.14	NS
Lactate dehydronase (LDH) (U/L)	891.75±265.04	957.50±672.75	1,350.50±1,159.90	1,056.00±619.72	NS

<sup>1)</sup> Mean±S.D.

<sup>2)</sup> NS: Statistically no significant difference at  $p<0.05$  by ANOVA-test

Table 6. Comparison of insulin and leptin level in mice

	Control	CHD	RFD 10%	RFD 20%	Significance
Insulin (ng/dL)	1.18±0.62 <sup>1)a</sup>	2.15±1.34 <sup>a</sup>	6.14±4.91 <sup>b</sup>	1.53±0.65 <sup>a</sup>	<0.05 <sup>2)</sup>
Leptin (ng/dL)	2.06±1.77 <sup>a</sup>	5.88±3.53 <sup>a</sup>	10.36±5.96 <sup>b</sup>	3.78±2.14 <sup>a</sup>	<0.05

<sup>1)</sup> Mean±S.D.

<sup>2)</sup> Significant at  $p<0.05$  by ANOVA-test

도된 비만에서도 leptin 저항성이 증가하는 것으로 보고되고 있다(Hong 등 2001). 위의 보고와 동일하게 본 연구에서도 고지방 식이를 섭취한 군에서는 혈중 leptin의 농도가 높았으나, 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 20% 첨가한 군에서는 leptin의 농도가 오히려 낮은 것으로 나타나, 해당화 열매 분말을 20% 첨가한 군에서 혈중 leptin의 기능을 조절하는데 효과적이라고 사료된다.

## 요약 및 결론

본 연구는 약용식물인 해당화의 열매 분말을 이용하여 영양학적 관점으로 열매가 가지고 있는 식품의 일반성분 분석과 항산화 활성 및 고지방 식이로 유도된 쥐의 체내에서의 혈중 지질 수준의 변화와 혈청 insulin과 leptin 수준의 변화 등을 확인하여 식품가공 산업에서 천연항산화제 재료로 응용할 수 있는지 알아보려고 실시하였다.

1. 해당화 열매 분말의 수분 함량은  $4.55 \pm 0.18\%$ , 조회분 함량은  $3.75 \pm 0.16\%$ , 조지방 함량은  $6.81 \pm 0.48\%$  및 조단백질 함량은  $8.86 \pm 0.05\%$ 로 나타났다.

2. 간의 무게는 평균값이  $2.34 \pm 0.29$ (g/100 g body wt.)로 군간에 유의한 차이는 없었다.

3. 혈중 LDL-cholesterol 농도는 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 10% 첨가한 군에서 높았으며( $p < 0.05$ ), 중성지방 농도는 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 각각 10%와 20%씩 첨가한 군에서 유의하게 낮은 수치를 보였다( $p < 0.05$ ).

4. 혈청 내 insulin 농도는 대조군에 비해 고지방 식이를 첨가한 군에서 높은 경향을 보였으며, 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 10% 첨가한 군( $6.14 \pm 4.91$  ng/dL)에서 가장 높은 비율을 보였다( $p < 0.05$ ).

5. 혈청 내 leptin의 농도는 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 10% 첨가한 군에서는  $10.36 \pm 5.96$  ng/dL로 높았지만, 고지방 식이에 해당화 열매 분말을 20% 첨가한 군에서  $3.78 \pm 2.14$  ng/dL로 낮았다( $p < 0.05$ ).

현재 민간요법으로 한방에서는 해당화의 꽃, 꽃잎 및 뿌리를 사용하고 있는데, 본 연구를 통해 해당화의 열매도 한방에서 사용이 가능할 것으로 사료된다. 특히 해당화의 열매 분말은 혈중 중성지방을 낮추는 효과가 탁월하여 식품학적 활용도를 위해서 가공방법을 모색한 후 기능성 식품으로 이용 가능할 것으로 사료되며, 추후 해당화 열매의 생리활성에 대한 자세한 연구가 수반되어야 할 것이다.

## References

Cho WK, Choi JH. 2007. Effect of pyroligneous liquor on lipid

metabolism in serum of CD rats. *Korean J Nutr* 40:24-30  
Choi KS, Kim YH, Kim SO, Shin KO, Chung KH. 2013. Effect of intake of sponge gourd (*Luffa cylindrica*) seed oil and yukdomok (*Chionanthus retusa* L.) seed oil on lipid levels of blood and organs of a mice. *Food Sci Biotechnol* 22: 757-763

Choi YH, Kim MJ, Lee HS, Changxu Hu, Kwak SS. 1997. Antioxidants in leaves of *Rosa rugosa*. *Korean J Pharmacogn* 28:179-184

Considine RV, Caro JF. 1996. Leptin: Genes, concepts and clinical perspective. *Horm Res* 46:249-256

Guerre-Millo M. 1997. Regulation of ob gene and overexpression in obesity. *Biomed Pharmacother* 51:318-323

Han SY, Park JC, Choi JS. 1987. Isolation of (+)-catechin from the roots of *Rosa rugosa*. *Korean J Pharmacogn* 18:177-179

Havel PJ. 2000. Role of adipose tissue in body-weight regulation: Mechanisms regulating leptin production and energy balance. *Proc Nutr Soc* 59:359-371

Hong KH, Kang SA, Kim SH, Choue RW. 2001. Effects of high fat diet on leptin and insulin level and brown adipose tissue UCP 1 expression in rats. *Korean J Nutr* 34:865-871

Jang JY, Choi HJ. 2003. Effects of *Artemisia iwayomogi* oligosaccharide on the blood lipids, abdominal adipose tissues and leptin levels in the obese rats. *Korean J Nutr* 36:437-445

Johnson-Johnson Diagnostics. 2001. The reference intervals in biochemical analyte of laboratory animal. Ortho Clinical Diagnostics, Johnson-Johnson Co, New York. p13.

Jung HJ, Nam JH, Choi J, Lee KT, Park HJ. 2005. 19 alpha-hydroxyursane-type triterpenoids: antinociceptive anti-inflammatory principles of the roots of *Rosa rugosa*. *Biol Pharm Bull* 28:101-104

Kang KJ, Lim SJ, Jeong JG, Han HK, Choi SS, Kim MH, Kwon SY. 2003. Effects of wax guard on weight, triglyceride, leptin and fat cell size in rats fed on a high fat diet. *Korean J Nutr* 36:446-451

Kang MH, Lee JH, Lee JS, Kim JH, Chung HK. 2004. Effects of acon supplementation on lipid profiles and antioxidant enzyme activities in high fat diet-induced obese rats. *Korean J Nutr* 37:169-175

Kang SC, Lim JD, Lee JC, Park HJ, Kang NS, Sohn EH. 2010. Effects of fructus and semen from *Rosa rugosa* on osteoimmune cells. *Korean J Plant Res* 23:157-164

Kim JH, Park YS. 1986. A study on the chemical constituents

- of *Rosa rugosa* roots. *Korean J Pharmacogn* 17:35-38
- Kim MJ, Kim KE, Shin KH, Heo K, Cho DH, Park CH, Yu CY. 2001. Comparison of antioxidative activities from different organs of *Rosa rugosa* Thunb. *Korean J Medicinal Crop Sci* 9:40-44
- Korea Food and Drug Administration. 2003. Food Code. Korean Foods Ind. Asso. Seoul, Korea
- Lee JY, Lee JH, Ki GY, Kim ST, Han TH. 2011. Improvement of seed germination in *Rosa rugosa*. *Korean J Hort Sci Technol* 29:352-357
- Martinek RG. 1972. A rapid ultraviolet spectrophotometric lactic dehydrogenase assay. *Clin Chem Acta* 40:91-99
- Mistry AM, Swick AG, Romsos DR. 1997. Leptin rapidly lowers food intake and elevates metabolic rates in lean and ob/ob mice. *J Nutr* 127:2065-2072
- Okawa M. 2005. Study on the antioxidative and antiproliferative activity of the polyphenol contained some functional foods. *Pharmaceutical Bul Fukuoka Univ* 5:1-12
- Park BJ. 2008. Isolation of main component and antioxidant activities on the stem and root of *Rosa rugosa*. *Korean J Plant Res* 21:402-407
- Park HJ, Lim SC, Kim DH, Lee JH, Kang HO, Choi JW. 2005a. Effect of the *Rosa rugosa* extract on the rat with the alcohol-salicylate-induced gastropathy. *Korean J Pharmacogn* 36:38-43
- Park HJ, Nam JH, Jung HJ, Lee MS, Lee KT, Jung MH, Choi JW. 2005b. Inhibitory effect of euscaphic acid and tormentic acid from the roots of *Rosa rugosa* on high fat diet-induced obesity in the rat. *Korean J Pharmacogn* 36:324-331
- Park JC, Young HS, Lee SH. 1993. A tannin compound isolated from the underground part of *Rosa rugosa* Thunb. *Korean J Pharmacogn* 24:319-321
- Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J Agric Food Chem* 48:3396-3402
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26:1231-1237
- Reitman S, Frankel S. 1957. Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 28:56-63
- Rudel L, Morris MD. 1973. Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde. *J Lipid Res* 14:364-366
- Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto FA. 1998. Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric* 76:270-276
- Sheo HJ. 2001. Effects of perilla oil on the levels of plasma lipids and other biochemical parameters in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30:703-709
- Sheo HJ, Sheo YS. 2002. Adverse effects of the megadose perilla oil on the rats metabolism. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31:277-283
- Singleton VL, Rossi JAJ. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult* 16:144-158

---

Received 5 February, 2015

Revised 17 April, 2015

Accepted 20 April, 2015