

## 옥수수수염, 울무, 표고버섯 그리고 사과껍질을 함유한 빵의 항산화 및 3T3-L1 지방 전구세포 분화 억제 활성

이창원<sup>1</sup> · 박용일<sup>1</sup> · 김수현<sup>2</sup> · 임희경<sup>3</sup> · 정미자<sup>3</sup>

<sup>1</sup>가톨릭대학교 생명공학과

<sup>2</sup>구운식품 기업부설연구소

<sup>3</sup>광주대학교 식품영양학과

### Antioxidant and Anti-Adipogenic Activities of Bread Containing Corn Silk, Job's Tears, *Lentinus edodes*, and Apple Peel in 3T3-L1 Preadipocytes

Chang Won Lee<sup>1</sup>, Yong Il Park<sup>1</sup>, Soo-Hyun Kim<sup>2</sup>, Heekyung Lim<sup>3</sup>, and Mi Ja Chung<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Biotechnology, The Catholic University of Korea

<sup>2</sup>Guwoon Food & Research Institute

<sup>3</sup>Department of Food Science and Nutrition, Gwangju University

**ABSTRACT** Corn silk, Job's tears, *Lentinus edodes*, and apple peel 70% ethanol extracts (CS, JT, LE, and AP) were studied for their antioxidant activities. CS among all extracts showed the highest antioxidant activities based on total polyphenol and flavonoid contents, 2,2-diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radical scavenging activity, and reducing power. Adipocyte differentiation was investigated by Oil Red O staining assay using CS, JT, LE, AP, and extract of developed bread containing corn silk, Job's tears, *Lentinus edodes*, and apple peel (DB) treated to 3T3-L1 adipocytes. DB1 and DB2 showed anti-adipogenic and antioxidant effects. Triglyceride (TG) accumulation in 3T3-L1 cells was measured, and among the samples tested (CS, JT, LE, and AP), CS was found to have the highest inhibitory activity against TG accumulation of differentiated 3T3-L1 adipocytes and regulated factors associated with adipogenesis. CS suppressed lipid droplet formation and adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells in a dose-dependent manner. We examined the effects of CS on the levels of CCAAT-enhancer-binding protein  $\beta$  (C/EBP $\beta$ ), peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ), and adipocyte-specific lipid binding protein (aP2) mRNA as well as protein levels in 3T3-L1 cells treated with CS at various concentrations (0, 10, 50, and 100  $\mu$ g/mL) during adipocyte differentiation and treatment with CS in 3T3-L1 adipocytes down-regulated expression of PPAR $\gamma$  and aP2 mRNA. CS also significantly inhibited up-regulation of C/EBP $\beta$ , PPAR $\gamma$ , and aP2 proteins during adipocyte differentiation. These data indicate that DBs have anti-adipogenic activity induced by CS in 3T3-L1 preadipocytes, and CS exerts anti-adipogenic activity by inhibiting expression of C/EBP $\beta$ , PPAR $\gamma$ , and aP2 signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes. JT, LE, and AP had no inhibitory effects on differentiation of 3T3-L1 preadipocytes but displayed strong antioxidant effects. These results suggest that the developed bread may be a health beneficial food that can prevent or treat obesity and diseases induced by oxidative stress.

**Key words:** adipocyte differentiation, adipogenic transcription factors, bread, corn silk, 3T3-L1 preadipocyte

## 서 론

에너지 섭취량과 소비량의 불균형으로 인해 체내에 지방이 과잉 축적된 상태인 비만은 세계적으로 심각한 사회문제가 되고 있고, 비만은 당뇨, 고혈압, 심혈관계 질환, 고지혈증과 같은 성인병을 일으키는 주요 인자로 밝혀지면서 세계보건기구(World Health Organization, WHO)는 2000년부터

터 비만을 주요 보건의로 문제로 지정하였다(1). 바쁜 현대인들의 운동부족, 서구화된 식생활 등이 비만의 주요 원인인 것으로 알려졌고, 아침에 밥보다는 간단한 빵을 섭취하는 인구가 증가하고 있다. 그러나 칼로리가 낮으면서 무기질과 비타민이 풍부한 나물 등 주로 식물성 반찬들과 밥 중심의 식사는 빵 중심 식사보다 체내 지방조직의 축적을 억제하였다는 연구보고가 있고(2), 식사 및 간식으로 먹는 빵의 높은 칼로리가 비만의 원인이 될 수 있다. 비만은 산화적 스트레스를 유발하여 체내 활성산소종(ROS, reactive oxygen species)을 증가시키고 체내에 존재하는 항산화 시스템에 의해 ROS가 제거되지 않으면 노화, 당뇨 등과 같은 다양한

Received 13 January 2016; Accepted 12 March 2016

Corresponding author: Mi Ja Chung, Department of Food Science and Nutrition, Gwangju University, Gwangju 61743, Korea  
E-mail: mijachung@gwangju.ac.kr, Phone: +82-62-670-2049

질병을 유발한다(3).

따라서 바쁜 현대인의 한 끼 식사를 해결하고 항비만 기능 및 항산화 효과가 있으면서 부작용이 거의 없는 천연소재 함유 항비만 및 항산화 빵을 개발하여 아침 식사대용으로 섭취할 수 있다면 비만 예방 및 비만 개선 효과뿐만 아니라 노화 방지 등 산화적 스트레스에 의한 질병 예방 및 개선에 도움을 줄 수 있을 것이다.

지방세포는 에너지 항상성 유지 및 지질대사에 중요한 역할을 하고, 지방 전구세포인 3T3-L1은 여러 호르몬과 다양한 전사인자들에 의해 지방세포로 분화되면서 세포 내 지방을 축적한다. 이러한 지방세포 형성(adipogenesis) 과정에 관여하는 중요한 인자로는 peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ ), CCAAT-enhancer-binding protein  $\alpha$ (C/EBP $\alpha$ ), adipocyte-specific lipid binding protein(aP2)이 있다(4,5).

지방세포 분화 억제제를 통한 항비만 연구를 위해 3T3-L1 지방 전구세포(preadipocyte)가 지방세포(adipocyte)로 분화(adipogenesis)의 단계를 거치면서 생성된 활성산소종 생성량 및 세포 내 지방 축적(fat accumulation) 정도를 알아보고 지방 축적 억제 및 ROS 소거작용을 나타내는 항비만 및 항산화 효과가 있는 천연소재를 찾고자 하는 노력이 활발하게 진행되고 있다. 또한 이들 식품의 항비만 효과뿐만 아니라 이와 같은 효과를 나타내는 기전연구도 진행하여 연구의 깊이를 더하고 있다.

옥수수(*Zea mays* L.)수염은 옥수수의 부산물로 옥수수의 열매 부분을 싸고 있는 실 같은 부분으로 주요 생리활성 물질은 메이신(maysin)이다. 옥수수수염은 항산화 효과, 이뇨작용, 당뇨 억제 효과 등에 대한 보고가 있고, 메이신은 페놀(phenol)성 물질인 플라보노이드(flavonoid)의 하나로 산화에 비교적 안정적이고, 항비만 효과, 중앙 세포주에 대한 세포독성 효과 및 항산화 효과 등이 알려졌다(6,7).

율무(*Coix lachryma-jobi* L.)는 다른 곡류에 비하여 고단백, 고지방의 곡류이고, 전분 대부분이 amylopectin으로 되어 있으며, 섬유소뿐만 아니라 무기질과 비타민이 풍부하게 함유되어 있어 건강에 유익성이 있고, 고지혈증 개선 효과 및 면역증진 효과 등이 알려졌다(8,9).

표고버섯(*Lentinus edodes*)은 한국, 일본, 중국 등 동남아시아 지역에서 주로 재배되며, 특유의 향과 다양한 약리작용을 가지고 있어 3대 주요 식용버섯 중의 하나이다. 식용 및 약용으로 널리 이용돼 오고 있는 표고버섯은 항산화, 성인병 예방, 암세포 증식 억제, 고혈압, 당뇨병 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다(10,11).

사과에 함유된 폴리페놀은 사과의 항산화 활성을 나타내며, 이러한 페놀성분이 과일의 과육보다 과피에 더 많은 것으로 알려졌고 다른 생리활성도 과피가 더 우수한 것으로 보고되고 있어 과일 껍질의 기능성 및 활용 방안에 대한 관심이 증가하고 있다(12,13). 사과 과육을 이용한 잼, 음료, 소스, 통조림 등을 가공하는 과정 중 발생하는 사과 껍질의

양이 상당한 양에 이르고 있음에도 불구하고(12), 사과 과피에 대한 항산화 효과에 대해 알려졌지만 다양한 생리활성에 대한 연구는 미비하다.

옥수수수염, 율무, 표고버섯 및 사과 과피의 항산화 활성에 관한 연구들은 있지만, 이들의 최적 배합비를 개발하고 이것들이 첨가된 소비자의 입맛에 맞는 빵을 만들어 이 빵의 항산화 효과를 알아본 연구는 없다. 본 연구에서는 개발된 빵의 항산화 및 항비만 효과뿐만 아니라 개발된 빵에 함유된 소재들의 항산화 및 항비만 효과를 스크린 한 후 항비만 활성이 가장 뛰어난 소재를 선택하여 어떤 기전에 의해 항비만 효과를 나타내는지 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 빵 개발

본 실험에서 개발된 식빵 1(DB1)은 밀가루 100% 기준으로 혼합 추출물(옥수수수염 추출물 : 율무 추출물 : 표고버섯 추출물=6:2:1)을 30%(210 g) 그리고 사과껍질 분말 5%(35 g)를 첨가하였고, 개발된 식빵 2(DB2)는 개발된 식빵 1(DB1) 배합비에 옥수수수염 분말을 2%(14 g) 첨가하였으며, 제빵의 반죽 배합비는 Table 1과 같다. 혼합 추출물의 최적 배합비는 관능검사로 결정하였다. Table 1의 배합비에 따라 전제료를 믹싱(저속 5분, 고속 5분)하여 혼합한 후 온도 28°C, 상대습도 80%의 조건에서 60분 동안 1차 발효한 다음 분할하여 같은 조건에서 10분간 중간발효 하였으며, 가스를 뺀 후 성형 및 팬닝(panning) 하였다. 그다음 28°C, 상대습도 80% 조건에서 40분간 2차 발효시켰고, 2차 발효가 끝난 반죽은 185°C에서 구웠다. 냉각 후 포장하여 본 연구에 사용하였다.

### 시료의 제조

강원도 영월에서 재배된 옥수수수염, 대구광역시 달성군에서 재배된 율무, 전라북도 순창군에서 재배된 표고버섯 및 경상남도 거창에서 재배된 사과(홍로)껍질을 본 연구에

**Table 1.** Formulas of bread containing corn silk, Job's tears, *Lentinus edodes*, and apple peel (g)

Ingredients	Normal bread	Developed bread 1	Developed bread 2
Wheat flour	700	700	700
Salt	14	14	14
Sugar	42	42	42
Yeast	21	21	21
Egg	35	35	35
Water	308	308	308
Low fat milk	98	98	98
Mixture of extracts <sup>1)</sup>	—	210	210
Apple peel powder	—	35	35
Corn silk powder	—	—	14

<sup>1)</sup>Corn silk extract : Job's tears extract : *Lentinus edodes* extract =6:2:1.

사용하였다. 모든 시료는 40~50°C에서 열풍 건조한 후 옥수수수염, 울무, 표고버섯 및 사과껍질은 분쇄한 다음 70% 주정으로 추출하였거나 옥수수수염과 사과껍질은 분쇄하여 분말화한 상태로 사용하였다. 시료 무게 10배 중량의 70% 주정을 첨가하여 shaking incubator(JSSI-100C, JSR, Seoul, Korea)의 150 rpm과 25°C 조건에서 14시간 추출하여 Whatman No.1 filter paper(Whatman, London, UK)로 여과한 후 감압농축기(N-1200, EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 추출 용매를 제거한 다음 동결건조기(Clean vac 8, Hanil, Incheon, Korea)로 동결 건조한 시료를 -20°C의 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 항산화 효과

총페놀화합물의 함량은 Folin-Denis 법(14)을 응용하여 측정하였다. 즉, 70% 주정으로 용해한 시료 0.2 mL를 시험관에 넣고 증류수 1.8 mL와 Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 0.2 mL를 첨가하여 혼합한 다음 실온에서 3분간 방치하였다. 그리고 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(Daejung Chemical, Siheung, Korea) 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수 1.4 mL를 첨가한 후 실온에서 1시간 반응시켜 상등액을 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 카페인산(caffeic acid; Sigma-Aldrich Co.)을 0~100 µg/mL의 농도로 제조하여 시료와 같은 방법으로 분석하였으며, 표준 검량곡선으로부터 추출물의 총페놀 함량을 계산하였다.

총플라보노이드는 Moreno 등(15)의 방법에 따라 시료 0.5 mL에 10% aluminum nitrate(Sigma-Aldrich Co.) 0.1 mL, 1 M potassium acetate(Sigma-Aldrich Co.) 0.1 mL 및 80% 에탄올 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40분간 방치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 quercetin(Sigma-Aldrich Co.)을 0~100 µg/mL의 농도로 제조하여 시료와 같은 방법으로 분석하였으며, 표준 검량곡선으로부터 추출물의 총플라보노이드 함량을 계산하였다.

2,2-Diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH) free radical 소거 활성은 Blois(16)의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 시료 희석액 0.4 mL에 1×10<sup>-4</sup> M DPPH(Sigma-Aldrich Co.) 용액 5.6 mL를 첨가한 후 10분간 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 시료 무첨가구에 대한 첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)(ABTS) 라디칼 소거작용은 Re 등(17)의 방법에 따라 7.4 mM ABTS(Sigma-Aldrich Co.) 용액에 2.4 mM potassium persulfate(Sigma-Aldrich Co.)를 넣고 암실에서 12~16시간 동안 반응시켰다. 반응액을 734 nm에서 흡광도가 0.7이 되도록 증류수로 희석한 후 이 용액 2 mL에 시료 용액 1 mL를 가하여 실온에서 10분간 반응시킨 다음 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거능은 시료 첨가

구와 무첨가구의 흡광도 비로 나타내었다.

환원력은 Oyaizu(18)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 시료 1 mL 인산완충액(200 mM, pH 6.6) 그리고 1% potassium ferricyanides(Biobasic, Seoul, Korea)를 1 mL씩 차례로 가하여 섞은 후 50°C에서 20분간 반응시켰다. 10% TCA(Daejung Chemical) 용액 1 mL를 가하여 2,000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 얻은 상정액 2 mL에 증류수 1 mL와 0.1% ferric chloride(Daejung Chemical) 1 mL를 가하여 혼합 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 환원력은 흡광도 값으로 나타내었다.

### 3T3-L1 세포배양, 분화 및 시료 처리

3T3-L1(mouse embryonic fibroblast-adipose like cell line) 지방 전구세포는 ATCC(American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. 3T3-L1 세포는 불활성화시킨 10% fetal bovine serum(FBS; Gibco-BRL, Carlsbad, CA, USA), 1% penicillin(Gibco-BRL)과 streptomycin(Gibco-BRL)을 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM; Gibco-BRL) 배지에 5% CO<sub>2</sub>가 공급되는 배양기(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)에서 37°C 조건으로 배양하였다. 추출물이 지방세포의 지질축적에 미치는 영향을 알아보기 위해 일반빵(NB), 개발빵 1(DB1) 그리고 개발빵 2(DB2)의 농도별 추출물(0, 10, 50 µg/mL)과 분화유도물질(MDI solution) [0.5 µM 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMx; Sigma-Aldrich Co.), 1 µM dexamethasone(Sigma-Aldrich Co.), 10 µg/mL insulin(Sigma-Aldrich Co.)]이 들어 있는 DMEM 배지로 세포를 배양하였다. 개발빵에 첨가한 옥수수수염 추출물(CS), 울무 추출물(JT), 표고 추출물(LE) 그리고 사과껍피 추출물(AP)을 250 µg/mL 처리하였고, 옥수수수염 추출물(CS)은 다시 0, 50 그리고 100 µg/mL 처리하였으며, 3T3-L1 지방 전구세포를 시료와 분화유도물질을 함유한 배지에 배양하였다.

### 세포독성 평가

3T3-L1 지방세포에 대한 70% 주정 추출물의 세포독성은 MTT[3-(4,5-dimethyl-thiazol)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide] assay에 의해 실시하였다. 3T3-L1 지방세포를 96 well cell culture plate(SPL Lifesciences, Pocheon, Korea)에 4×10<sup>4</sup> cells/mL로 분주하여 5% CO<sub>2</sub>와 37°C 조건이 설정된 배양기(Thermo Fisher Scientific)에서 24시간 배양하였다. 배양 후 배양액을 제거하고 DMEM 배지와 농도별(0, 50, 100, 250, 1,000 µg/mL)로 24시간 동안 처리하였다. Dulbecco's phosphate-buffered saline(DPBS, 1×)을 이용하여 5 mg/mL MTT 용액을 제조하여 120 µL/well 처리하였고 4시간 다시 배양하였다. 배양 이후 배양액을 제거한 뒤 dimethyl sulfoxide(DMSO; Sigma-Aldrich Co.)를 200 µL/well로 넣어 섞어주었다. 그 후

microplate reader(Max plus 384, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정 시 공시료는 DMSO로 하였고, 세포의 생존율은 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{세포 생존율(\%)} = \frac{\text{시료 처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

### Oil Red O 염색

35 mm cell culture dish(SPL Lifesciences)에서 배양한 3T3-L1 지방 전구세포를 시료와 분화유도물질을 함유한 배지로 6일간 배양시킨 후 세포의 배양액을 제거하고 PBS로 세척하였다. 지방세포로의 분화를 유도하지 않은 지방 전구세포를 음성대조군(UC)으로 하였으며, 지방세포의 분화는 유도하였으나 추출물을 처리하지 않은 지방세포를 양성대조군(control, Con)으로 하였다. 상기 그룹 각각에 10% formaldehyde를 500  $\mu$ L씩 각 well에 넣고 4°C에서 1시간 동안 지방세포를 고정하였다. 10% formaldehyde를 제거하고 인산완충식염수로 3번 씻어낸 후 건조하였다. Oil Red O 염색약(Sigma-Aldrich Co.) 500 mg을 100% isopropyl alcohol 100  $\mu$ L에 녹인 용액과 증류수를 6:4 비율로 섞어 여과한 Oil Red O solution을 넣고 빛이 차단된 실온에서 30분간 염색한 후 인산완충식염수로 3번 세척하여 완전히 건조하였다. 염색된 세포는 현미경(Olympus, Tokyo, Japan)에서 100배의 비율로 관찰하였으며, 정량분석을 위해 100% isopropanol를 사용하여 염색된 지방을 추출하였으며 microplate reader(Molecular Devices)를 이용하여 500 nm의 흡광도에서 지방 함량을 분석하였다.

### Total RNA 추출 및 RT-PCR

35 mm cell culture dish(SPL Lifesciences)에서 배양한 3T3-L1 지방 전구세포를 시료와 분화유도물질을 함유한 배지로 6일간 배양시킨 후 세포의 배양액을 제거하고 PBS로 세척하였다. TRIzol reagent(Invitrogen, Carlsbad CA, USA)를 0.5 mL씩 가하여 완전히 마쇄시킨 후 Invitrogen사에서 제공한 제품 사용설명서에 따라 RNA를 추출하였다. 본 연구에 First-stand cDNA를 생산하기 위하여 Power cDNA synthesis kits(iNtRON Biotech, Seongnam, Korea)를 이용하여 iNtRON Biotech사에서 제공한 제품 사용설명서에 따라 cDNA를 합성하였다. PCR을 합성한 cDNA 1  $\mu$ L와 각 primer 2  $\mu$ L(forward와 reverse, 10 pmol/ $\mu$ L)를 Maxime PCR PreMix kit(iNtRON Biotech)에 더한 후 RNase-free water 17  $\mu$ L를 넣어 최종부피 20  $\mu$ L로 맞춘 다음 PCR을 수행하였다. 본 실험에 사용한 primers는 다음과 같다. PPAR $\gamma$ , F, 5'-GTCTGTGGGGATAAAGCATC 그리고 R, 5'-CTGATGGCATTGTGAGACAT; aP2, F, 5'-CCTGGAAGACAGCTCCTCCTC 그리고 R, 5'-ATCCAGGCTCTTCCTTTGGCTC;  $\beta$ -actin, F, 5'-AGGTATCCTGACCCTGAAGTACC 그리고 R, 5'-GTTGCCA

ATAGTGATGACCTGGC였다. PPAR $\gamma$ 의 PCR 조건을 보면 94°C에서 5분, 94°C에서 20초, 47.7°C에서 10초, 72°C에서 30초, 72°C에서 5분 그리고 aP2의 PCR 조건을 보면 94°C에서 5분, 94°C에서 40초, 55°C에서 40초, 72°C에서 40초, 72°C에서 5분이었고, 내부 표준 유전자로 사용한  $\beta$ -actin의 annealing 온도는 55.6°C였다. PCR 산물은 0.002% ethidium bromide가 첨가된 2% agarose gel에 80 V에서 30분 전기영동 한 후 자외선 광으로 유전자 발현 정도를 알아보았다. 그 밴드의 강도를 SigmaGel(Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA) 소프트웨어에 의해 분석 정량하였다.

### Western blot 분석

35 mm cell culture dish(SPL Lifesciences)에서 배양한 3T3-L1 지방세포를 시료와 분화유도물질을 함유한 배지로 6일간 배양시킨 후 세포의 배양액을 제거하고 PBS로 세척하였다. 단백질을 추출하기 위해 protease와 phosphatase inhibitor cocktails(Roche Applied Science, Mannheim, Germany)를 함유한 radioimmunoprecipitation assay(RIPA) buffer(50 mM Tris, 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, 0.1% Tween-20, 0.1% SDS, pH 7.8)를 지방세포에 첨가하였다. 4°C에서 20분간 반응시킨 후 14,000 $\times$ g, 4°C에서 15분간 원심분리 한 후 상등액을 회수하여 총단백질량은 Bio-Rad protein assay kit(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 사용하여 정량하였다. 검량선은 bovine serum albumin(BSA; Sigma-Aldrich Co.)을 이용하여 작성하였다.

단백질 30  $\mu$ g을 12% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel(SDS-PAGE)에서 전기영동 후 gel 내의 단백질을 nitrocellulose membrane(Amersham GE Healthcare, Little Chalfont, UK)에 전이시킨 후 5% skim milk를 함유한 PBS-T(0.5% Tween 20 in PBS)에 담가 상온에서 1시간 동안 blocking 시킨 다음 1차 항체인 C/EBP $\beta$ (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA), PPAR $\gamma$ (Cell Signaling Technology), aP2(Cell Signaling Technology) 그리고  $\beta$ -actin(Cell Signaling Technology)을 희석하여(PBS-T로 1:1,000으로 희석) 4°C에서 16시간 반응시켰다. PBS-T로 10분마다 5회 세척 후 처리한 1차 항체에 맞는 2차 항체인 horseradish peroxidase-conjugated anti-rabbit 또는 anti-mouse IgG(Cell Signaling Technology)를 희석하여(PBS-T로 1:5,000으로 희석) 상온에서 90분간 반응시켰다. PBS-T로 10분마다 5회 세척 후 2차 항체와 결합한 단백질은 ECL Western Blotting Detection kit(GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)으로 처리하였고, 암실에서 X-ray film으로 시각화된 밴드는 스캔 후 그 밴드의 강도를 SigmaGel(Jandel Scientific) 소프트웨어에 의해 분석 정량하였다. 단백질 정량은  $\beta$ -actin을 참고로 하여 분석하였다.

**관능검사**

빵의 관능검사는 식품영양학을 전공하고 있는 대학생 40명을 선정하여 본 실험의 목적과 평가방법에 대한 교육 후 5점 척도법으로 시행하였다. 관능검사 설문조사에서 일반식빵(NB)을 대조군으로 하여 개발 식빵 1(DB1) 그리고 개발 식빵 2(DB2)를 비교하여 평가하는 방식으로 이루어졌다.

제품의 기호도 평가 항목은 외관(appearance), 색상(color), 향미(flavor), 부드러움(softness), 맛(taste) 및 종합적인 기호도(overall acceptability)로 나누었고 대단히 좋아한다는 5점, 좋지도 싫지도 않다는 3점 그리고 대단히 싫어한다는 1점으로 나타내었다. 관능검사에 참여한 지원자들은 설문지에 나이와 성별 등을 기록하고 빵 15 g을 입안에 넣고 20초간 씹어 구강표피를 골고루 자극한 후 뱉어내고, 한 시료의 평가를 마칠 때마다 물로 입을 씻고 10분 지난 후 다음 시료를 평가하였다.

**통계처리**

본 실험 결과들은 평균(mean)±표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였고 실험군 간 평균의 차이는 one-way ANOVA로 유의성을 확인한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후 검정하였으며  $P < 0.05$  수준에서 유의성의 여부를 검증하였다. 모든 통계 분석은 SPSS (statistical package for the social science) version 12.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**옥수수수염, 울무, 표고버섯 그리고 사과껍질 및 이것들을 함유 개발빵의 항산화 효과**

옥수수수염, 울무와 표고버섯의 혼합 추출물 및 사과껍질 분말을 함유한 개발빵 1의 70% 주정 추출물(DB1) 및 개발빵 1의 배합비에 옥수수수염 분말을 더한 개발빵 2의 70% 주정 추출물(DB2)의 총폴리페놀과 플라보노이드의 함량을

분석한 결과는 Table 2와 같다. 천연소재를 함유하지 않은 일반빵 70% 주정 추출물(NB), DB1과 DB2의 수율은 13.1, 14.9, 15.5%였다. 개발빵에 함유된 옥수수수염, 울무, 표고버섯 및 사과껍질 70% 주정 추출물들(CS, JT, LE, AP)의 수율은 5.32, 3.3, 11.8, 54.15%였다. 사과껍질이 다른 천연소재보다 높은 수율을 나타내었다. NB, DB1과 DB2의 총폴리페놀 함량은 각각 9.4, 14.5, 17.1 mg/g이었고, 플라보노이드 함량은 0.7, 1.1, 1.9 mg/g이었다. CS, JT, LE, AP의 총페놀화합물은 각각 41.4, 26.7, 7.0, 21.6 mg/g이었고, 플라보노이드 함량은 각각 13.5, 1.1, 0.6, 4.6 mg/g이었다 (Table 2).

식물성 식품 속에 함유된 많은 생리활성물질 중 페놀성 화합물들은 식물계에 존재하는 2차 대사산물의 하나이고 분자 내에 phenolic hydroxyl 기를 가지고 있는 방향족 화합물을 총칭하는 것으로, 폴리페놀화합물은 세포벽, 다당류, 리그닌 등과 에스테르 결합하여 있거나 중합체로 존재하며, 수산기를 통한 수소공여와 페놀고리구조의 공명 안정화에 의해 항산화 능력을 나타낸다고 보고되어 있다(19). 플라보노이드는 페놀성 화합물 중에서 자연적으로 생성되는 가장 큰 그룹 중의 하나로 효과적인 free radical scavenger로서 항산화 효과가 있다(20).

Lee 등(21)은 옥수수수염 열수 추출물의 총폴리페놀과 플라보노이드 함량이 각각 47.7과 6.8 mg/g이라 하였는데 총폴리페놀 함량은 본 연구에 사용한 옥수수수염 70% 주정 추출물(CS)과 유사하나 플라보노이드 함량은 본 연구 결과가 더 높은 함량을 나타내었으며 본 연구에 사용한 울무, 표고버섯 및 사과껍질 70% 주정 추출물의 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량보다 높았다. Lee와 Yoon(22)의 연구에서는 울무의 메탄올 추출물의 총폴리페놀 함량이 3.45 mg GAE/g 추출물로 본 연구 결과(26.7 mg/g)보다 낮았다. 표고버섯의 폴리페놀 함량은 아세톤과 에틸아세테이트 추출물보다 에탄올 추출물에서 더 높았고 에탄올 추출물의 폴리페놀 함량은 2.12 mg GAE/g 추출물이었다(11). 이는 극성 용매를 이용한 표고버섯 추출물에서 더 많은 폴리페놀 성분이 함유되어 있음을 보여 주는 결과이다(11). 폴리페놀화합물의 일종인 플라보노이드 함량은 폴리페놀 함량에 비해 낮고, Han 등(11)은 표고버섯 에탄올 추출물에서 0.35 mg QE/g 추출물을 확인할 수 있었다. 본 연구에서도 표고버섯 70% 주정 추출물(LE)의 총폴리페놀 함량은 7.0 mg/g이었고 플라보노이드 함량은 0.6 mg/g으로 플라보노이드 함량이 총폴리페놀 함량보다 11.7배 적은 함량이었는 데 이는 표고버섯의 경우 비플라보노이드 계열의 폴리페놀이 더 많은 양으로 존재하고 주요 폴리페놀이 페놀산이라고 추정된다.

Kim(23)의 보고에 의하면 사과 과피의 에탄올 추출물의 총폴리페놀 함량은 6.8 mg GAE/g이고 플라보노이드는 3.3 mg/g이라 하였는데, 본 연구에서는 사과 과피의 70% 주정 추출물(AP)의 총폴리페놀 함량이 21.6 mg/g이고 플라보노이드 함량은 4.6 mg/g으로 더 높은 함량을 나타내었다. 다

**Table 2.** Total polyphenol and flavonoid contents of extracts from corn silk, Job's tears, *Lentinus edodes*, and apple peel (mg/g)

Samples <sup>1)</sup>	Total polyphenol	Flavonoid
NB	9.4±0.6 <sup>d2)</sup>	0.7±0.3 <sup>d</sup>
DB1	14.5±1.5 <sup>c</sup>	1.1±0.3 <sup>c</sup>
DB2	17.1±3.4 <sup>c</sup>	1.9±0.3 <sup>c</sup>
CS	41.4±1.1 <sup>a</sup>	13.5±0.9 <sup>a</sup>
JT	26.7±3.5 <sup>b</sup>	1.1±0.1 <sup>c</sup>
LE	7.0±1.6 <sup>d</sup>	0.6±0.1 <sup>d</sup>
AP	21.6±1.2 <sup>b</sup>	4.6±0.3 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>NB: extract from normal bread, DB: extract from developed bread, CS: corn silk extract, JT: Job's tears extract, LE: *Lentinus edodes* extract, AP: apple peel extract.

<sup>2)</sup>Means with different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ). Values are mean±standard deviation (n=4).

른 연구보고들에 의하면 사과와 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 모든 사과 품종에서 과육보다 과피에 최소 3배 이상 높게 함유된 것으로 나타나(12), 과피가 사과와 폴리페놀화합물 및 플라보노이드 물질의 주요 급원 부위임을 알 수 있다. 또한 사과와 과피는 과육에 발견되지 않은 quercetin glycoside와 같은 플라보노이드도 함유하고 있어 사과 과육과 과피는 폴리페놀 성분들의 함량뿐만 아니라 분포에도 차이가 있음을 알 수 있었다(24).

옥수수수염, 울무, 표고버섯 및 사과껍질 70% 주정 추출물(CS, JT, LE, AP) 및 이들 천연소재를 함유한 개발빵 1 및 개발빵 2 추출물(DB1과 DB2)의 DPPH 라디칼 소거작용은 Table 3과 같다. 10 mg/g 농도에서 일반빵(NB)보다 DB1과 DB2가 유의적으로 높은 DPPH 라디칼 소거작용이 있었고, 개발된 빵에 함유된 천연소재 추출물은 CS(96.2%) > AP(85.5%) > JT(53.5%) > LE(20.1%) 순으로 DPPH 라디칼 소거작용이 있었다(Table 3).

DPPH는 수소를 공여받아 환원되어 짙은 자색이 노란색으로 탈색하는 원리를 이용하여 흡광도를 측정하는데 주로 페놀성 화합물 및 aromatic amine 화합물의 항산화 활성을 측정하는 데 많이 사용한다(25). 옥수수수염 열수 추출물은 1 mg/g 농도에서 DPPH 라디칼 소거작용이 53.4%라고 보고돼 있으나(21), 본 연구 결과 옥수수수염 70% 주정 추출물(CS)은 2.5 mg/g에서 51.0% DPPH 라디칼 소거작용을 나타내어 보고된 옥수수수염 열수 추출물보다 낮은 DPPH 라디칼 소거작용을 나타내었다. 그러나 옥수수수염 70% 주정 추출물(CS)은 다른 추출물들인 울무, 표고버섯 및 사과껍

질 70% 주정 추출물(JT, LE, AP)보다 높은 DPPH 라디칼 소거작용을 나타내었는데, 총폴리페놀 함량 결과와 유사하여 옥수수수염 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용은 이들 추출물에 함유된 총폴리페놀화합물에 의한 것으로 추정할 수 있었다. Lee와 Yoon(22)은 4 mg/mL의 울무 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용이 18.55%라고 보고하였는데 본 연구에서는 5 mg/g JT의 농도에서 DPPH 라디칼 소거작용이 23.9%였다. Han 등(11)은 표고버섯 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용이 25.0% 에틸아세테이트 및 아세톤 추출물보다 낮다고 보고하였고, Qi 등(26)은 표고버섯 메탄올 추출물 500 µg/mL에서 9%라고 하였는데 본 연구에서는 LE 625 µg/mL에서는 1.2%였으나 5 mg/g과 10 mg/g에서 11.4%와 20.1%로 두 연구보고보다 낮은 DPPH 라디칼 소거작용을 보여 주었다. 사과는 과육보다 과피의 DPPH 라디칼 소거 활성이 크게 높았고 같은 농도에서 과피가 과육보다 4~5배 높은 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었다(27).

ABTS 라디칼 소거 활성 측정 결과는 Table 4에 나타내었고 울무 추출물(JT)을 제외한 시료들은 농도 의존적으로 ABTS 라디칼 소거 활성을 나타내었으며, 1 mg/g 농도에서 일반 식빵, 개발빵 1, 개발빵 2, 옥수수수염, 표고버섯 그리고 사과껍질 추출물들(NB, DB1, DB2, CS, LE, AP)은 17.5, 47.7, 54.2, 97.6, 36.1, 98.4%였고, 울무 추출물은 0.125~5 mg/g 농도에서 ABTS 라디칼 소거 활성이 없었다.

ABTS 라디칼 소거 활성은 친수성 및 소수성 물질의 항산화 활성 평가에 모두 활용되는 방법으로 ABTS와 potas-

**Table 3.** DPPH radical scavenging activities of extracts from corn silk, Job's tears, *Lentinus edodes*, and apple peel (%)

Samples (mg/g)	0.625	1.25	2.5	5	10
NB	0.1±0.1 <sup>d1)</sup>	0.2±0.1 <sup>c</sup>	0.2±0.1 <sup>c</sup>	0.2±0.1 <sup>c</sup>	0.1±0.1 <sup>f</sup>
DB1	0.1±0.1 <sup>d</sup>	0.2±0.1 <sup>c</sup>	0.1±0.1 <sup>c</sup>	0.1±0.1 <sup>c</sup>	17.6±1.9 <sup>e</sup>
DB2	0.1±0.1 <sup>d</sup>	0.1±0.1 <sup>c</sup>	0.1±0.1 <sup>c</sup>	13.4±2.5 <sup>d</sup>	22.1±1.5 <sup>d</sup>
CS	13.6±1.2 <sup>a</sup>	26.8±1.2 <sup>a</sup>	51.0±1.1 <sup>a</sup>	84.3±2.0 <sup>a</sup>	96.2±2.5 <sup>a</sup>
JT	1.1±0.2 <sup>c</sup>	1.5±0.6 <sup>c</sup>	2.5±0.5 <sup>c</sup>	23.9±4.2 <sup>c</sup>	53.5±2.3 <sup>c</sup>
LE	1.2±1.1 <sup>c</sup>	2.3±0.8 <sup>c</sup>	3.2±0.5 <sup>c</sup>	11.4±1.5 <sup>d</sup>	20.1±0.3 <sup>d</sup>
AP	10.2±1.3 <sup>b</sup>	17.4±1.8 <sup>b</sup>	32.9±1.0 <sup>b</sup>	57.3±2.0 <sup>b</sup>	85.5±2.3 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Means with different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ). Abbreviations: See Table 2.

Values are mean±standard deviation (n=4).

**Table 4.** ABTS radical scavenging activities of extracts from corn silk, Job's tears, *Lentinus edodes*, and apple peel (%)

Samples (mg/g)	0.125	0.25	0.5	1	5
NB	0.1±0.1 <sup>d1)</sup>	0.6±0.2 <sup>d</sup>	0.6±0.4 <sup>e</sup>	17.5±1.6 <sup>c</sup>	23.4±3.1 <sup>d</sup>
DB1	0.6±0.3 <sup>d</sup>	0.2±0.1 <sup>d</sup>	11.8±2.5 <sup>d</sup>	47.7±3.4 <sup>b</sup>	70.8±2.3 <sup>c</sup>
DB2	0.2±0.1 <sup>d</sup>	0.1±0.1 <sup>d</sup>	18.5±1.9 <sup>c</sup>	54.2±3.1 <sup>b</sup>	84.4±1.2 <sup>b</sup>
CS	32.7±2.3 <sup>a</sup>	63.7±3.2 <sup>a</sup>	92.6±1.1 <sup>a</sup>	97.6±1.2 <sup>a</sup>	98.2±2.1 <sup>a</sup>
JT	0.1±0.1 <sup>d</sup>	0.1±0.1 <sup>d</sup>	0.3±0.2 <sup>e</sup>	0.2±0.1 <sup>d</sup>	0.2±0.1 <sup>e</sup>
LE	4.1±0.4 <sup>c</sup>	6.9±0.9 <sup>c</sup>	15.5±1.2 <sup>c</sup>	36.1±1.5 <sup>b</sup>	99.0±0.4 <sup>a</sup>
AP	19.5±7.9 <sup>b</sup>	55.0±4.6 <sup>b</sup>	86.5±1.9 <sup>b</sup>	98.4±1.8 <sup>a</sup>	99.2±1.8 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Means with different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ). Abbreviations: See Table 2.

Values are mean±standard deviation (n=4).

sium persulfate의 반응으로 생성되는 ABTS<sup>+</sup> free 라디칼이 추출물 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼의 짙은 청록색이 무색으로 탈색되는 원리를 이용한 항산화 활성 측정법이다(28). 옥수수수염 열수 추출물은 1 mg/g 농도에서 57.6% ABTS 라디칼 소거 활성을 나타내었다고 보고하였는데(21), 본 연구 결과 같은 농도(1 mg/g)에서 옥수수수염 70% 주정 추출물(CS)보다 낮은 ABTS 라디칼 소거 활성을 나타내었다. Hong 등(29)의 보고에 의한 표고버섯의 80% 메탄올 추출물(10 mg/mL)에서 70.2%의 ABTS 라디칼 소거 활성 결과와 비교하면 본 연구 결과 표고버섯의 70% 주정 추출물(LE, 5 mg/g)에서 ABTS 라디칼 소거 활성은 99.0%로 높았다. 사과에서는 과육보다 과피가 높은 ABTS 라디칼 소거 활성을 나타내었으며, 재배 지역에 따라 항산화 활성의 차이가 있다고 보고하였다(27).

옥수수수염, 울무, 표고버섯, 사과껍질 및 이들을 함유한 개발빵 1 그리고 개발빵 2의 70% 주정 추출물(CS, JT, LE, AP, DB1, DB2)의 환원력은 Table 5와 같다. 시료의 환원력은 700 nm에서 흡광도 값으로 나타내었으며(30), 5 mg/g 농도에서 NB, DB1과 DB2의 환원력을 알아보기 위한 700 nm에서 흡광도는 0.15, 0.36, 0.39이다(Table 5).

개발빵에 함유된 천연소재 추출물들인 CS, JT, LE와 AP의 환원력은 Table 5에 나타내었다. 5 mg/mL에서 CS, JT, LE와 AP의 700 nm에서의 흡광도는 2.30, 0.53, 0.55, 1.41이었다. 10 mg/g CS와 AP는 흡광도 값이 너무 높아 읽을 수가 없을 정도의 환원력을 가지고 있었다.

환원력은 Fe<sup>3+</sup> 이온을 Fe<sup>2+</sup> 이온으로 환원시키는 원리를 이용하여 전자의 공여 능력을 측정하는 것으로, 생성된 Fe<sup>2+</sup>는 푸른색을 띠게 되는데 흡광도 수치가 높을수록 환원력이 강하다는 것을 의미한다(30). 눈개승마 에탄올 추출물은 2 mg/mL의 농도에서 1.58(31)로 본 연구에 사용한 2.5 mg/g CS 및 5 mg/g AP와 유사한 환원력을 가지고 있었다.

개발된 빵(DB1과 DB2)은 일반빵인 대조군(NB)보다 높은 총폴리페놀 함량, 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거 작용, ABTS 라디칼 소거작용 및 환원력을 나타내었고 개발된 빵에 첨가한 천연소재 중에서 옥수수수염 추출물(CS)과 사과 과피 추출물(AP)이 울무 추출물(JT)과 표고버섯 추출물(LE)보다 높은 항산화 효과를 나타내었는데 빵의 항산화

효과는 CS와 AP의 항산화 효과가 영향을 주었을 것으로 생각한다. 개발된 빵 2(DB2)는 개발된 빵 1(DB1)보다 옥수수수염 함량이 높고 DB2가 DB1보다 항산화 효과가 뛰어났는데, 이는 옥수수수염이 총폴리페놀화합물 함량, 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거작용, ABTS 라디칼 소거 활성 및 환원력이 개발된 빵에 첨가된 천연소재 중에서 가장 높은 것을 확인하였으므로 개발된 빵의 항산화 효과는 옥수수수염이 가장 큰 영향을 나타낸다는 것과 천연소재의 항산화 효과는 빵을 제조한 후에도 유지된다는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 Kwon 등(32)의 연구보고에 의하면 참취와 곤드레 70% 주정 추출물을 함유한 빵이 이들 추출물이 가지고 있는 항산화 및 뇌질향 개선 효과를 그대로 가지고 있었다는 연구보고와 유사하였다.

**개발된 빵 추출물에 의한 세포독성 및 중성지방 축적 억제 효과**

일반빵 추출물(NB)과 개발된 빵 추출물들(DB1, DB2)의 세포독성을 알아본 결과 5,000 µg/mL 농도까지 모든 시료에서 세포독성이 나타나지 않았다(Fig. 1A). 빵은 주로 탄수화물 급원으로 알려졌고 과량의 탄수화물 섭취는 비만을 유도할 수 있으므로 항비만 물질을 함유한 빵이라도 과량 섭취는 비만을 유도할 가능성이 있기 때문에 본 연구에서 항비만 효과를 알아보기 위해 저농도인 10과 50 µg/mL에서 중성지방 축적 억제 효과를 알아보았다(Fig. 1B).

대조군 일반빵 추출물(NB)과 개발된 빵 추출물들(DB1, DB2)이 3T3-L1 지방 전구세포의 지방세포 분화에 미치는 영향은 Fig. 1B와 같다. 3T3-L1 지방 전구세포의 분화유도를 위하여 MDI 및 인슐린이 포함된 배지로 교환할 때 적정 농도(0, 10, 50 µg/mL)의 추출물을 동시에 처리하여 개발된 빵 추출물들(DB1, DB2) 처리에 의한 중성지방(triglyceride)의 생성 억제 효과를 확인하기 위하여 Oil Red O로 염색된 지방방울(lipid droplet)을 isopropanol로 추출한 후 세포 내 형성된 중성지방 함량을 측정하였고 그 결과는 Fig. 1B와 같다.

분화하지 않은 세포(undifferentiated control, UC)인 지방 전구세포보다 분화가 완료된 지방세포(Con, 100%) 내 중성지방 함량이 현저히 높았고, NB는 대조군과 비교하여

**Table 5.** Reducing power of extracts from corn silk, Job's tears, *Lentinus edodes*, and apple peel (Absorbance at 700 nm)

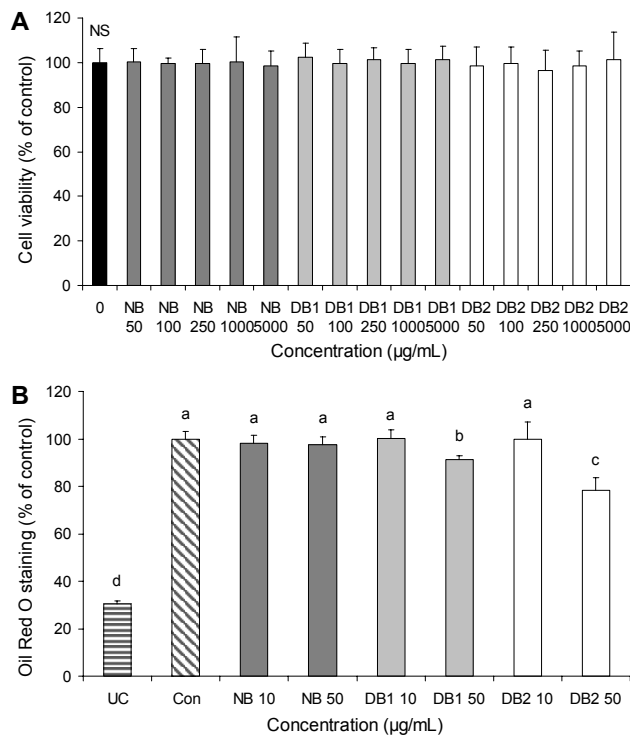
Samples (mg/g)	0.625	1.25	2.5	5	10
NB	0.02±0.01 <sup>c1)</sup>	0.02±0.01 <sup>c</sup>	0.05±0.01 <sup>d</sup>	0.15±0.02 <sup>e</sup>	0.33±0.05 <sup>d</sup>
DB1	0.02±0.01 <sup>c</sup>	0.05±0.01 <sup>c</sup>	0.12±0.01 <sup>c</sup>	0.36±0.02 <sup>d</sup>	0.65±0.04 <sup>c</sup>
DB2	0.02±0.01 <sup>c</sup>	0.07±0.02 <sup>c</sup>	0.15±0.03 <sup>c</sup>	0.39±0.04 <sup>d</sup>	0.73±0.02 <sup>c</sup>
CS	0.34±0.02 <sup>a</sup>	0.68±0.03 <sup>a</sup>	1.31±0.04 <sup>a</sup>	2.30±0.02 <sup>a</sup>	—
JT	0.02±0.01 <sup>c</sup>	0.02±0.01 <sup>c</sup>	0.01±0.01 <sup>d</sup>	0.53±0.02 <sup>c</sup>	1.02±0.07 <sup>b</sup>
LE	0.02±0.01 <sup>c</sup>	0.01±0.01 <sup>c</sup>	0.02±0.01 <sup>d</sup>	0.55±0.01 <sup>c</sup>	1.11±0.01 <sup>a</sup>
AP	0.19±0.01 <sup>b</sup>	0.34±0.01 <sup>b</sup>	0.73±0.01 <sup>b</sup>	1.41±0.04 <sup>b</sup>	—

<sup>1)</sup>Means with different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ). Abbreviations: See Table 2. Values are mean±standard deviation (n=4).

차이가 없었으나 50 µg/mL DB1과 DB2는 같은 농도의 NB 또는 대조군(Con)과 비교하여 유의적으로 중성지방 축적이 억제되었고, DB1보다는 DB2가 더 효과적으로 중성지방 축적이 억제되었다(Fig. 1B).

곤약 글루코만난을 함유한 식빵을 동결하여 첨가한 사료를 고지방식으로 유도한 비만 흰쥐에 6주간 급여하였을 때 체중 및 비만 지수가 현저히 감소하였다(33). 글루코만난, 소이화이버, 셀룰로오스 등식이섬유는 항비만 효과가 있다고 알려졌다(34). 옥수수수염, 팥, 표고버섯 및 청고추물 추출물의 냉동건조분말 혼합물을 섭취한 흰쥐는 항비만 효과를 나타내었는데, 이들 혼합물의 주요 천연소재는 옥수수수염 및 팥 열수 추출물이었으므로 옥수수수염이 항비만 효과가 있으리라 추정하였다(35).

이상의 결과를 살펴보면 개발된 빵은 3T3-L1 지방 전구세포의 분화를 억제함으로써 비만 예방에 효과적일 것으로 추정할 수 있었다. 그리고 옥수수수염 분말을 2% 첨가했을 때 이것을 첨가하지 않은 개발빵과 비교하여 유의적으로 중성지방 축적 억제 효과가 있었으므로 개발된 빵에 첨가한 천연소재 중에서 항비만 효과를 나타내는 것은 옥수수수염 일 것으로 추정할 수 있었다.

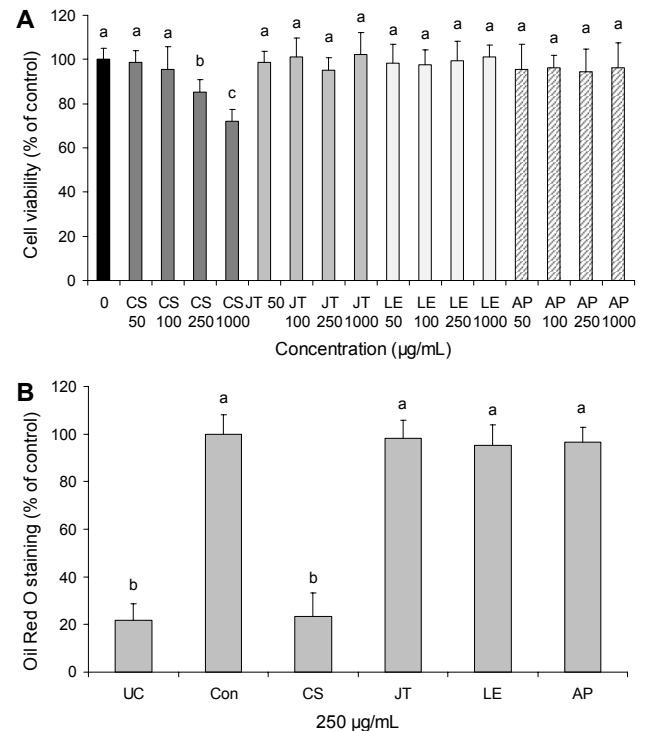


**Fig. 1.** Effect of 70% ethanol extracts obtained from breads on cell viability (A) and differentiation (B) of 3T3-L1 preadipocyte. UC: undifferentiated preadipocyte, Con: differentiated adipocyte, NB: normal bread extract, DB: developed bread extract. NS: not significant. Values are mean±standard deviation (n=3). Stained oil droplets was dissolved with isopropanol and quantified by spectrophotometric analysis at 500 nm (B). Bars with different letters indicate statistically significant differences among groups by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ).

## 개발된 빵에 함유된 옥수수수염, 울무, 표고버섯 그리고 사과껍질 추출물에 의한 세포독성 및 중성지방 축적 억제 효과

옥수수수염, 울무, 표고버섯 그리고 사과껍질 추출물인 CS, JT, LE, AP를 3T3-L1 지방 전구세포에 50~1,000 µg/mL까지 처리했을 때 JT, LE, AP는 모든 농도에서 세포 생존율에 영향을 미치지 않았지만 CS 250과 1,000 µg/mL 농도에서 무처리군인 대조군보다 현저하게 낮은 세포 생존율을 나타내었다(Fig. 2A). CS 250 µg/mL에서 미미한 세포 독성이 있었지만 세포 생존율은 85.3%이므로 중성지방 축적 억제 효과를 다른 추출물들과 비교할 때 250 µg/mL 농도를 선택하였다.

옥수수수염, 울무 및 표고버섯의 혼합물 및 사과껍질을 함유한 개발된 빵의 70% 주정 추출물들(DB1, DB2)이 중성지방 축적 억제 효과가 있었으나 이들 천연소재를 함유하지 않은 일반빵 추출물(NB)은 중성지방 축적에 영향을 미치지 않아 개발된 빵에 함유된 옥수수수염, 울무, 표고버섯 그리고 사과껍질의 70% 주정 추출물들(CS, JT, LE, AP)이 중성지방 축적 억제 효과가 있으리라 추정할 수 있어 이들 추출물의 중성지방 축적 억제 효과에 대해 알아보았다(Fig. 2B). 즉, 3T3-L1 지방 전구세포에 분화유도물질(MDI solution)



**Fig. 2.** Effect of 70% ethanol extracts obtained from corn silk (CS), Job's tears (JT), *Lentinus edodes* (LE), and apple peel (AP) on cell viability (A) and differentiation (B) of 3T3-L1 preadipocyte. UC: undifferentiated preadipocyte, Con: differentiated adipocyte. Stained oil droplets was dissolved with isopropanol and quantified by spectrophotometric analysis at 500 nm (B). Values are mean±standard deviation (n=3). Bars with different letters indicate statistically significant differences among groups by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ).



과 함께 옥수수수염, 울무, 표고버섯 그리고 사과껍질 70% 주정 추출물들(CS, JT, LE, AP)을 각각 처리하여 지방세포 내 중성지방 축적에 미치는 영향력을 알아보기 위해 Oil Red O로 염색된 지방구를 isopropanol로 추출한 후 흡광도 값으로 이들 소재 추출물의 세포 내 축적 억제 효과를 알아보았고 그 결과는 Fig. 2B와 같다.

분화하지 않은 지방 전구세포(UC)보다 분화된 지방세포에서 중성지방의 함량이 현저하게 증가하였고, 이들 증가는 250 µg/mL 옥수수수염 추출물(CS) 처리로 지방 전구세포(UC) 내 중성지방 함량 정도까지 감소하였다. 그러나 울무, 표고버섯 및 사과껍질 추출물(JT, LE, AP)은 세포 내 중성지방 함량이 영향을 미치지 않았다.

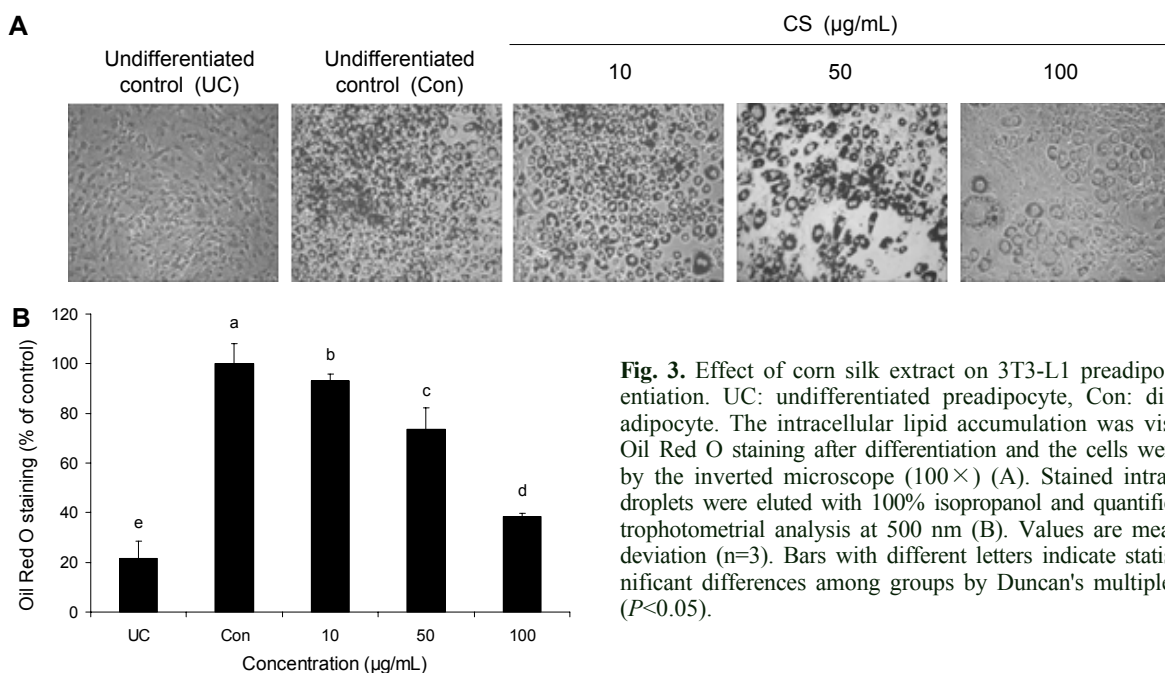
결론적으로 개발된 빵은 항비만 효과가 옥수수수염에 의한 것으로 추정할 수 있었고 따라서 옥수수수염 추출물의 항비만 효과 및 그 효과를 나타내는 기전에 대한 연구를 진행하였다. 먼저 옥수수수염 주정 추출물(CS)이 3T3-L1 지방세포 내 중성지방 함량에 미치는 영향력을 다양한 농도(0, 10, 50, 100 µg/mL)로 알아본 결과는 Fig. 3과 같다. 옥수수수염 추출물이 3T3-L1 세포가 지방 전구세포에서 지방세포로 분화되는 과정에 작용하여 지방구의 생성을 억제하는지를 확인하기 위해 Oil Red O 염색액을 이용하여 3T3-L1 지방세포 내에 생성된 지방구를 염색한 후 현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 3A와 같다. Oil Red O로 염색된 지방구를 isopropanol로 추출한 후 흡광도 값으로 옥수수수염 주정 추출물의 3T3-L1 지방세포 내 중성지방 억제 효과를 알아본 결과는 Fig. 3B와 같다. 분화배지만 처리한 군인 대조군(Con)에 비해서 옥수수수염 추출물을 처리한 군에서 농도 의존적으로 지방구 수가 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

옥수수수염의 주요 생리활성물질은 메이신으로 알려졌는데(6), 이들 메이신을 함유한 혼합물은 3T3-L1 지방 전구 물질이 지방세포로 분화되는 과정 중 중성지방 축적을 현저히 감소시켰다(7). 따라서 옥수수수염 추출물에 의한 3T3-L1의 중성지방 감소 효과는 옥수수수염 추출물에 함유된 메이신의 영향일 것으로 추정된다.

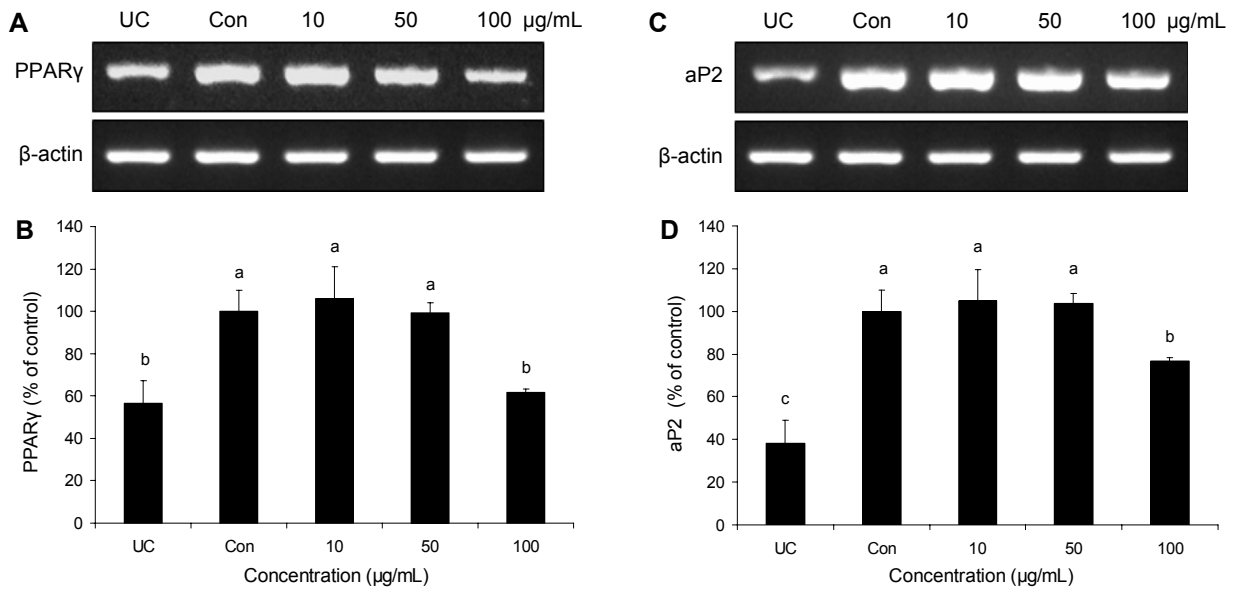
**옥수수수염 추출물에 의한 PPAR $\gamma$  및 aP2의 발현억제 활성 측정**

3T3-L1 지방세포 내 PPAR $\gamma$  및 aP2 유전자 발현 정도를 RT-PCR 법을 이용하여 관찰하였다. Fig. 4A와 4C는 PPAR $\gamma$ , aP2 및  $\beta$ -actin을 PCR 하여 전동영동 한 후 자외선 광으로 유전자 발현 정도를 알아보기 위한 밴드이고, 그 밴드의 강도를 SigmaGel(Jandel Scientific) 소프트웨어에 의해 분석 정량하여 Fig. 4B와 4D와 같이 그래프로 나타내었다. 그 결과 지방세포로 분화된 3T3-L1 지방세포는 분화되기 전 지방 전구세포 내 PPAR $\gamma$ 와 aP2 mRNA 수준보다 현저하게 증가하였고, 이와 같은 증가는 100 µg/mL 옥수수수염 70% 주정 추출물 처리로 억제되었다(Fig. 4).

3T3-L1은 여러 호르몬과 다양한 전사인자들에 의해 지방세포로 분화되면서 세포 내 지방을 축적한다. 이러한 지방세포 형성 과정에 관여하는 중요한 인자로 PPAR $\gamma$ 와 C/EBP $\alpha$ 가 있고, C/EBP family와 PPAR $\gamma$ 를 중심으로 초기, 중기, 후기의 단계별로 발현되는 전사인자들의 복잡한 상호작용으로 지방세포로 분화된다. C/EBP $\beta$ 는 분화 초기에 발현이 유도되어 이후 분화 후기에 유도되는 C/EBP $\alpha$  및 PPAR $\gamma$ 의 발현을 조절함으로써 지방세포 분화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다(4,5). 분화된 세포는 백색 지방세포에서 나타나는 중성지방의 축적 등과 같은 형태적 특징과 더불어



**Fig. 3.** Effect of corn silk extract on 3T3-L1 preadipocyte differentiation. UC: undifferentiated preadipocyte, Con: differentiated adipocyte. The intracellular lipid accumulation was visualized by Oil Red O staining after differentiation and the cells were observed by the inverted microscope (100 $\times$ ) (A). Stained intracellular oil droplets were eluted with 100% isopropanol and quantified by spectrophotometrial analysis at 500 nm (B). Values are mean $\pm$ standard deviation (n=3). Bars with different letters indicate statistically significant differences among groups by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ).



**Fig. 4.** Effect of corn silk extract on PPAR $\gamma$  and aP2 mRNA expression during differentiation of 3T3-L1 adipocytes. UC: undifferentiated preadipocyte, Con: differentiated adipocyte. Values are mean $\pm$ standard deviation (n=3). Bars with different letters indicate statistically significant differences among groups by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ). The amount of PPAR $\gamma$  and aP2 mRNA in each sample was normalized to the amount of  $\beta$ -actin. The density of each band of PPAR $\gamma$ , aP2, and  $\beta$ -actin mRNA (A, C) was quantified using SigmaGel software (Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA) (B, D).

PPAR $\gamma$ , fatty acid synthase, lipoprotein lipase, sterol response element binding protein 및 aP2 등과 같은 지방세포 특이적인 유전자의 발현이 유발되는 생화학적 특징을 가진다(36). 따라서 비만 억제 및 비만과 관련된 대사질환의 개선을 위해서 지방세포 형성에 관여하는 중요한 인자 및 지방세포 분화과정에 관여하는 전사인자들의 활성을 억제하는 것이 중요하다.

#### 옥수수수염 추출물의 지방세포 분화 특이 지표 단백질의 발현에 대한 효과

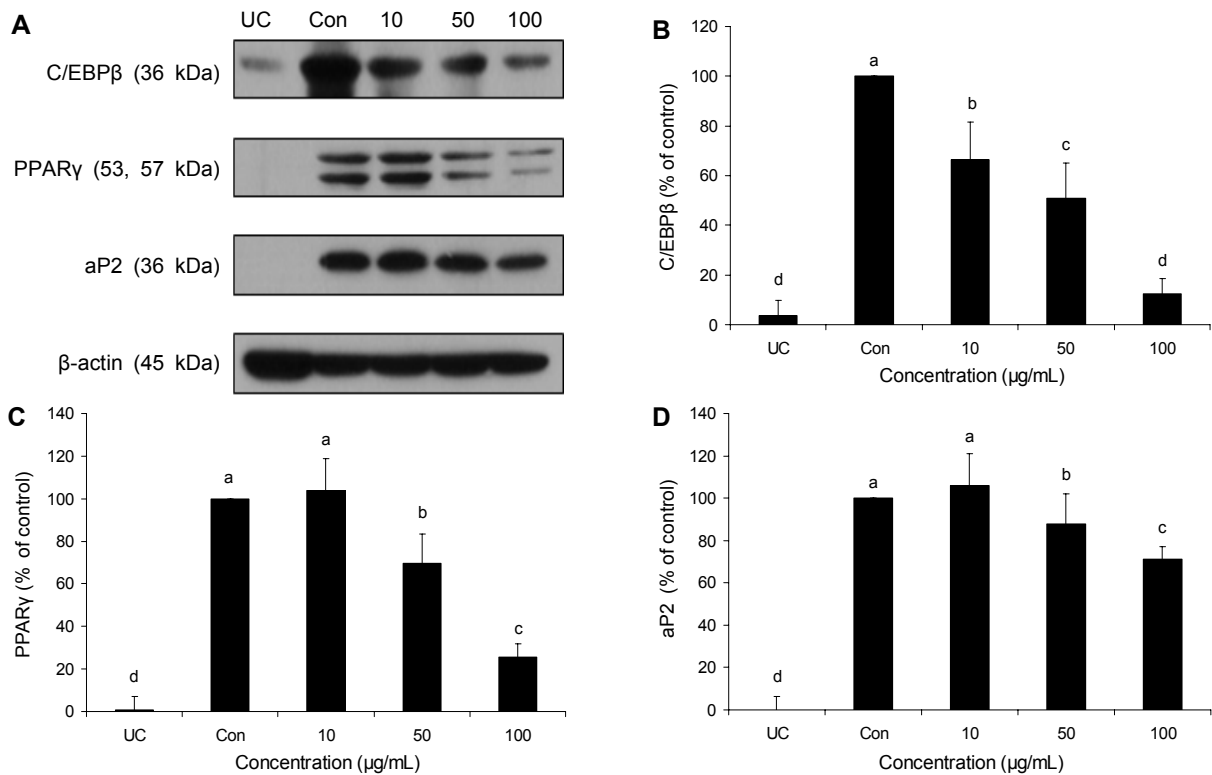
옥수수수염 추출물의 지방세포 분화 특이 지표 단백질의 발현에 대한 효과를 알아보기 위한 지방세포로의 분화 특이 지표 단백질은 전사인자의 하나인 PPAR $\gamma$ , aP2, C/EBP $\beta$  등이 알려졌다(37,38). Western blot으로 지방세포 분화와 관련된 특이 지표 단백질인 PPAR $\gamma$ , aP2, C/EBP $\beta$  단백질의 발현에 옥수수수염 추출물이 미치는 영향력을 알아본 결과는 Fig. 5와 같다. 분화를 유도한 세포(Con)는 분화를 유도하지 않은 세포(UC)와 비교하여 c/EBP $\beta$ , PPAR $\gamma$ 와 aP2의 단백질 함량이 현저히 높았고 이런 증가는 옥수수수염 추출물 처리로 농도 의존적으로 억제되는 것을 알 수 있었다 (Fig. 5).

항비만 천연소재로 잘 알려진 가시니아 캄보지아 추출물이 C/EBP $\alpha$ , PPAR $\gamma$  및 aP2의 발현증가를 억제하였다고 보고하였고 메이션이 함유된 혼합물도 C/EBP $\beta$ , C/EBP $\alpha$ , PPAR $\gamma$  및 aP2의 발현을 억제함으로써 비만세포의 증식지방을 감소시켜 항비만 효과가 있다고 했는데(7), 이는 본 연구 결과와 유사하였다. 분화가 시작되면 insulin, dexamethasone

등과 같은 hormonal induction에 의해 분화 초기에는 C/EBP $\beta$ 가 발현되며, PPAR $\gamma$ 는 nuclear hormone receptor superfamily 중 하나이고 retinoid X receptor (RXR)와 heterodimer를 형성하는 표적 유전자의 발현을 조절하는 전사인자로 C/EBP $\beta$ 가 분화된 이후에 C/EBP $\alpha$ 와 PPAR $\gamma$ 의 활성화로 인해 다양한 adipose-specific 유전자인 aP2 등의 발현을 유도하며, 이러한 주요 전사인자들의 조절을 통해 지방세포 분화가 진행되고 그 결과 중성지방의 지방구(lipid droplet)가 세포질에 나타나 점점 커지고 합쳐져서 지방세포의 분화가 완료된다(39,40). 따라서 많은 연구에서 지방세포 분화 관련 전사인자의 조절 등 지방세포의 분화를 제어하는 항비만 치료제의 연구가 지속하고 있다 (39,40). 따라서 옥수수수염 추출물은 지방 전구세포인 3T3-L1이 지방세포로의 분화와 관련된 단백질 생성을 억제함으로써 항비만 효과를 나타낼 수 있으리라는 것을 알 수 있었다.

#### 관능검사

옥수수수염 추출물(CS), 울무 추출물(JT) 그리고 표고버섯 추출물(LE)의 혼합 추출물 및 사과껍질 분말을 함유한 개발빵 1, 개발빵 1과 같은 배합비에 옥수수수염 분말을 더한 개발빵 2의 관능검사 결과는 Table 6과 같다. 외관의 점수는 일반빵 및 개발빵 2보다 개발빵 1이 유의적으로 높았다. 색상은 일반빵과 개발빵 1이 개발빵 2보다 점수가 현저하게 높았으나 향미와 부드러움은 그룹 간의 차이가 없었다. 맛은 개발빵 1이 일반빵과 개발빵 2보다 점수가 높았고, 종합적인 기호도도 개발빵 1이 일반빵과 개발빵 2보다 점수



**Fig. 5.** Effect of corn silk extract on C/EBPβ, PPARγ, and aP2 protein levels during differentiation of 3T3-L1 adipocytes. UC: undifferentiated preadipocyte, Con: differentiated adipocyte. Values are mean±standard deviation (n=3). Bars with different letters indicate statistically significant differences among groups by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ). The amount of C/EBPβ, PPARγ, and aP2 protein in each sample was normalized to the amount of β-actin. The density of each band of C/EBPβ, PPARγ, and aP2 protein (A) as quantified using SigmaGel software (Jandel Scientific) (B~D).

**Table 6.** Sensory evaluation<sup>1)</sup> of bread containing corn silk, Job's tears, *Lentinus edodes*, and apple peel

	Normal bread	Developed bread 1	Developed bread 2
Appearance	3.7±0.8 <sup>a2)</sup>	3.9±0.6 <sup>b</sup>	3.6±0.5 <sup>a</sup>
Color	4.1±0.5 <sup>a</sup>	4.0±0.5 <sup>a</sup>	3.7±0.5 <sup>b</sup>
Flavor	3.6±0.4 <sup>NS3)</sup>	3.7±0.5	3.6±0.4
Softness	3.5±0.5 <sup>NS</sup>	3.4±0.5	3.4±0.5
Taste	3.6±0.4 <sup>a</sup>	3.9±0.4 <sup>b</sup>	3.5±0.4 <sup>a</sup>
Overall acceptability	3.6±0.6 <sup>a</sup>	3.9±0.6 <sup>b</sup>	3.5±0.4 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Score: 1, very dislike; 5, very like.

<sup>2)</sup>Means with different superscripts in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ).

<sup>3)</sup>NS: not significant.

Values are mean±standard deviation (n=40).

가 높아 맛과 비슷한 경향을 나타내었다. 따라서 큰 차이는 아니지만 개발된 빵 1의 관능검사 점수가 가장 높았으며, 일반빵과 개발빵 2는 비슷한 수준이었다. 옥수수수염 분말 첨가로 항비만 및 항산화 효과가 증가하였으나 소비자의 기호도는 감소하여 개발빵 1이 개발빵 2보다 상품화하기에 더 좋을 것으로 생각한다.

## 요 약

옥수수수염, 울무, 표고버섯 그리고 사과껍질 70% 주정 추출물들(CS, JT, LE, AP)은 항산화 활성이 있었고, 그것 중에 CS가 총폴리페놀 함량, 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거작용, ABTS 라디칼 소거작용 그리고 환원력과 같은 항산화 효과가 가장 높았다. 지방분화는 CS, JT, LE, AP 그리고 옥수수수염, 울무, 표고버섯 그리고 사과껍질을 함유한 개발 빵 추출물(DB)을 각각 처리한 3T3-L1 지방세포에서 연구하였다. DB1과 DB2는 지방 전구세포 분화 억제 및 항산화 효과가 있었다. 3T3-L1 지방세포에서 중성지방 축적은 실험한 시료들(CS, JT, LE, AP) 중에서 CS가 분화된 3T3-L1 지방세포에서 TG 축적을 가장 억제하였고 3T3-L1에서 지방분화와 관련된 인자들을 조절하였다. CS는 3T3-L1 세포에서 지방구 형성과 지방세포 분화를 농도 의존적으로 억제하였다. 지방분화 동안 다양한 농도(10, 50, 100 μg/mL)에서 CS와 함께 처리한 3T3-L1 세포에서 C/EBPβ, PPARγ 그리고 aP2 mRNA와 단백질 수준에 대한 CS의 영향력을 실험하였고, 3T3-L1 지방세포에 CS 처리는 PPARγ와 aP2 mRNA 발현을 감소시켰다. CS는 역시 지방분화 중에 C/EBPβ, PPARγ와 aP2 단백질의 증가를 현저하게 저해하였다. 개발된 빵들은 CS에 의해 지방 전구세포(3T3-

L1 preadipocytes) 분화 억제 효과가 있고, CS는 3T3-L1 지방세포에서 C/EBP $\beta$ , PPAR $\gamma$ 와 aP2 신호전달경로를 저해함으로써 지방 전구세포 분화 억제 효과를 나타내었다. JT, LE와 AP는 지방 전구세포 분화 억제 효과는 없었지만 강한 항산화 효과가 있었다. 이들 결과는 개발된 빵이 비만 예방 및 억제뿐만 아니라 산화적 스트레스에 의해 유발되는 질병에 도움을 줄 수 있는 건강빵이라는 것을 제안하였다.

## 감사의 글

이 연구는 교육부의 재원으로 지원을 받아 수행된 2015년 광주대학교 산학협력 선도대학(LINC) 육성사업 4차년도 산학공동 기술개발과제 연구비 지원에 의해 수행되었음.

## REFERENCES

- Visscher TL, Seidell JC. 2001. The public health impact of obesity. *Annu Rev Public Health* 22: 355-375.
- Choi WH, Um MY, Ahn JY, Jung CH, Seo JS, Ha TY. 2013. Effects of a rice-based diet on body weight and serum lipid levels in mice. *J East Asian Soc Dietary Life* 23: 31-38.
- Halliwel B. 1996. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 16: 33-50.
- Spiegelman BM, Flier JS. 1996. Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell* 87: 377-389.
- Rayalam S, Della-Fera MA, Baile CA. 2008. Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J Nutr Biochem* 19: 717-726.
- Lee J, Kim SL, Lee S, Chung MJ, Park YI. 2014. Immunostimulating activity of maysin isolated from corn silk in murine RAW 264.7 macrophages. *BMB Rep* 47: 382-387.
- Park HJ, Chung BY, Lee MK, Song Y, Lee SS, Chu GM, Kang SN, Song YM, Kim GS, Cho JH. 2012. Centipede grass exerts anti-adipogenic activity through inhibition of C/EBP $\beta$ , C/EBP $\alpha$ , and PPAR $\gamma$  expression and the AKT signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes. *BMC Complementary Altern Med* 12: 230.
- Lee KW, Sung KS, Kim SS, Lee OH, Lee BH, Han CK. 2012. Effects of *Cucurbita moschata*, adlay seed, and *Cudrania tricuspidata* leaf mixed-powder diet supplements on the visceral fat, fecal amount, and serum lipid levels of the rats on a high-fat diet. *Korean J Food & Nutr* 25: 990-998.
- Oh SY, Chung MJ, Choi JH, Oh DH. 2014. Screening of personalized immunostimulatory activities of Saengsik materials and products using human primary immune cell. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 1325-1333.
- Lee IS, Chae HJ, Moon H. 2008. Inhibitory effect of aqueous extracts from the fruit body of *Lentinus edodes* on rat intestinal mucosa  $\alpha$ -glucosidase activity and reducing the increase of blood glucose after streptozotocin-induced diabetic rats. *J Exp Biomed Sci* 14: 63-68.
- Han SR, Kim MJ, Oh TJ. 2015. Antioxidant activities and antimicrobial effects of solvent extracts from *Lentinus edodes*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 1144-1149.
- Wolfe K, Wu X, Liu RH. 2003. Antioxidant activity of apple peels. *J Agric Food Chem* 51: 609-614.
- Kubola J, Siriamornpun S. 2011. Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chem* 127: 1138-1145.
- Folin O, Denis W. 1915. A colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. *J Biol Chem* 22: 305-308.
- Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109-114.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- 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.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
- Yusof S, Ghazali HM, King GS. 1990. Naringin content in local citrus fruits. *Food Chem* 37: 113-121.
- Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. 2006. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. inermis rehder. *Korean J Food Sci Technol* 38: 128-134.
- Lee SJ, Shin JH, Lee HJ, Tak HM, Kang MJ, Sung NJ. 2013. Antioxidant and anti-inflammatory activities of functional plant materials. *J Life Sci* 23: 869-878.
- Lee YR, Yoon N. 2015. Anti-oxidative and anti-diabetic effects of methanol extracts from medicinal plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 681-686.
- Kim I. 2015. Inhibitory effects of apple peel extract on inflammatory enzymes. *Korean J Food Sci Technol* 47: 534-538.
- Escarpa A, González MC. 1998. High-performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties. *J Chromatogr A* 823: 331-337.
- Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36: 333-338.
- Qi Y, Zhao X, Lim YI, Park KY. 2013. Antioxidant and anticancer effects of edible and medicinal mushrooms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 655-662.
- Bang HY, Cho SD, Kim D, Kim GH. 2015. Comparison of antioxidative activities of Fuji apples parts according to production region. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 557-563.
- Kim YS, Suh HJ, Park S. 2015. Antioxidant activity of hot-water extracts and floral waters from natural plant pigments. *Korean J Food Presev* 22: 129-133.
- Hong MH, Jin YJ, Pyo YH. 2012. Antioxidant properties and ubiquinone contents in different parts of several commercial mushrooms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1235-1241.
- Choi SY, Kim SY, Hur JM, Choi HG, Sung NJ. 2006. Antioxidant activity of solvent extracts from *Sargassum thunbergii*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 139-144.
- Youn JS, Shin SY, Wu Y, Hwang JY, Cho JH, Ha YG, Kim JK, Park MJ, Lee S, Kim TH, Kim T. 2012. Antioxidant and anti-wrinkling effects *Arunucus dioicus* var. *kamtschaticus* extract. *Korean J Food Preserv* 19: 393-399.
- Kwon KH, Lim H, Chung MJ. 2014. Neuroprotective effects of bread containing *Cirsium setidens* or *Aster scaber*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 829-835.
- Park JS, Lee SI, Park I. 2013. Effects of white bread with konjac glucomannan on body weight and serum lipids on

- rats with diet-induced obesity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 188-194.
34. Choi YS, Lee SY. 1993. Cholesterol-lowering effects of soybean products (curd or curd residue) in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 673-677.
35. Seo DJ, Chung MJ, Kim DJ, Choe M. 2009. Antiobese effects of diet containing medicinal plant water extracts in high fat diet-induced obese mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1522-1527.
36. Choi JH, Park YH, Lee IS, Lee SP, Yu MH. 2013. Antioxidant activity and inhibitory effect of *Aster scaber* Thunb. extract on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Korean J Food Sci Technol* 45: 356-363.
37. Kang SI, Ko HC, Shin HS, Kim HM, Hong YS, Lee NH, Kim SJ. 2011. Fucoxanthin exerts differing effects on 3T3-L1 cells according to differentiation stage and inhibits glucose uptake in mature adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 409: 769-774.
38. Sung HY, Jun JG, Kang SW, Kim HS, Shin D, Kang IJ, Kang YH. 2010. Novel Danshen methoxybenzo[b]furan derivative antagonizing adipogenic differentiation and production of inflammatory adipokines. *Chem Biol Interact* 188: 457-466.
39. Morrison RF, Farmer SR. 2000. Hormonal signaling and transcriptional control of adipocyte differentiation. *J Nutr* 130: 3116S-3121S.
40. Rosen ED, MacDougald OA. 2006. Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7: 885-896.