

이상지질혈증 동물 모델을 이용한 솔잎 착즙액 첨가 설기떡의 지질개선 효과*

이윤정, 박재희, 박은주[†]

경남대학교 식품영양학과

Effect of Sulgidduk containing pine needle juice on lipid metabolism in high fat-cholesterol diet induced dyslipidemic rats*

Yunjung Lee, Jae-Hee Park and Eunju Park[†]

Department of Food and Nutrition, Kyungnam University, Changwon, Gyeongnam 51767, Korea

ABSTRACT

Purpose: Dyslipidemia is a major risk factor for cardiovascular disease. Pine needles (*Pinus densiflora* seib et Zucc) are a traditional medicine used to treat dyslipidemia in clinical settings. This study examined the potential effects of sulgidduk, a Korean traditional rice cake containing pine needle juice to protect against dyslipidemia induced by a high-fat/sulgidduk diet in a rat model. **Methods:** Twenty one male Sprague-Dawley rats were divided randomly into three groups: normal control (NC), Sulgidduk diet (SD), Sulgidduk diet containing pine needle juice (PSD). The blood lipid levels, production of lipid peroxide in the plasma and liver, total cholesterol and triglyceride in the liver and feces, antioxidant enzyme activities in plasma and erythrocytes were measured to assess the effects of PSD on dyslipidemia. **Results:** A high-fat/Sulgidduk diet induced dyslipidemia, which was characterized by significantly altered lipid profiles in the plasma and liver. The food intake was similar in the three groups, but weight gain and food efficiency ratio (FER) were reduced significantly in the PSD group compared to those in the SD group. The level of total cholesterol, LDL-cholesterol and TBARS in the plasma showed tendencies to decrease in the PSD group compared to those in the SD group. The levels of high-fat/Sulgidduk diet-induced sterol regulatory element-binding protein 2 (SREBP2) gene expression were reduced significantly in the PSD group. The supplementation of PSD reduced the hepatic triglyceride and total cholesterol levels significantly, and enhanced the fecal excretion of triglyceride and hepatic antioxidant enzyme activities compared to the SD group. **Conclusion:** These results suggest that the addition of 0.4% pine needle juice to Sulgidduk may be an alternative snack to control dyslipidemia.

KEY WORDS: pine needle juice, sulgidduk, dyslipidemia, SREBP2, hepatic lipid profile

서 론

국민경제가 발전하고 생활수준이 향상됨에 따라 평균수명이 증가하는 반면, 식생활의 서구화와 지방 및 가공식품의 소비에 따른 당뇨병, 고혈압, 이상지질혈증, 동맥경화 등의 발병율은 최근 수십 년 동안 지속적으로 증가하고 있다. 2017년 한국인 사망원인 통계자료에 의하면 전체 사망원인의 29.0%가 고혈압성 질환, 심장 질환, 뇌혈관 질환의 심순환계통 질환이었다. 이상지질혈증은 심뇌혈관질환의 주된 위험인자로서 미국을 비롯한 여러 나라에서는 최근 몇 년 간 감소되고 있으나 [1], 우리나라의 경우는 이상지

질혈증의 발병이 오히려 증가하는 것으로 나타났다 [2]. 2016년 기준 30세 이상 성인의 이상지질혈증 유병률은 40.5%이고, 이는 2008년 이상지질혈증 유병률인 28.5%에 비해 12.0%가 증가한 수치이다 [3]. 그러나 2010년 국민건강영양조사 자료에 따르면 이상지질혈증 유병자의 질병발생 인지율은 13.7%, 치료율은 7.4%에 불과한 것으로 나타났다 [4]. 이상지질혈증은 혈액 내의 콜레스테롤, 중성지방, LDL 콜레스테롤의 수치가 기준 이상으로 높고, HDL 콜레스테롤 수치가 기준 이하로 낮은 상태로, 고콜레스테롤혈증, 고중성지방혈증, 고LDL콜레스테롤혈증, 저HDL 콜레스테롤혈증의 네 가지 질환을 포괄하는 것이다. 흔히

Received: January 3, 2019 / Revised: January 13, 2019 / Accepted: January 30, 2019

* This work was supported by grants from Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs.

[†] To whom correspondence should be addressed.

tel: +82-55-249-2218, e-mail: pej@kyungnam.ac.kr

© 2019 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

고지혈증이 유사한 의미로 통용되고 있으나 이는 총 콜레스테롤과 중성지방의 수치가 기준이상으로 높은 고콜레스테롤혈증과 고중성지방혈증만을 의미하는 것이다. 이상지질혈증은 생활습관 개선이나 약물 치료로 조절할 수 있는 것으로 알려져 있는데, 가장 큰 원인은 지방 섭취를 비롯한 식사 요인이며, 고혈당 또는 지질대사이상으로 인한 혈중 지질의 증가와 이로 인한 지질과산화에 따른 조직손상이 발병의 원인이다 [5]. 지질과산화물은 생체 내에서 생체막의 파괴, 압, 노화 등을 일으키므로, 지질과산화물을 제어하는 기능성 물질의 탐색은 지방 섭취가 증가된 현대인의 식생활을 고려해 볼 때 매우 중요하다. 이에 항산화 및 지질강화 효능을 나타내는 기능성 물질에 대한 연구가 최근 활발히 수행되고 있으나, 보다 더 많은 종류의 천연물에 대한 탐색이 필요한 실정이다.

침엽수의 대표적인 수종인 소나무 (*Pinus densiflora* Siebold et Zuccarini)는 소나무과 (Pinaceae)에 속하는 상록 교목으로 전국의 산지에서 자생하며, 예로부터 잎, 솔방울, 꽃가루, 송진, 껍질 등의 모든 부위가 구황식물로 이용되어왔다. 또한 솔잎의 신경통, 관절염, 동맥경화 등에 대한 약리적 효능은 민간요법으로 이용되어 왔다 [6]. 솔잎은 식이섬유소, chlorophyll, carotene, terpenoids, quercetin, kaempferol, tannin, alkaloids 화합물과 다량의 phenolic compounds가 함유되어 있다 [7]. 솔잎은 콜레스테롤 축적을 막고 동맥경화를 방지하며 말초혈관을 확장시켜 혈액순환을 촉진하고 호르몬 분비를 도와 체내 균형에 도움을 준다고 알려져 있다 [8]. 이 밖에도 솔잎의 항산화활성 [9], 면역증진활성 [10]과 항염증 [11], 항당뇨 [12], 항비만 [13] 및 항암 [14] 효과에 대한 연구가 보고되었다.

우리 고유의 전통음식인 떡은 밥, 죽과 함께 우리나라의 대표적인 곡물조리법이다. 설기떡은 가루를 찌는 떡의 일종으로 쌀가루에 섞는 재료에 따라 팥설기, 죽설기, 콩설기, 호박설기 등으로 이름이 달라진다. 최근에는 건강에 관심이 높아지면서 다양한 건강기능성 식재료를 첨가한 설기떡이 개발되고 있으며, 클로렐라 [15], 파래 [16], 표고버섯 [17] 및 연잎 [18] 등을 첨가한 설기떡 제조의 품질특성에 관한 연구가 다수 보고되었다. 최근에는 소비자들이 건강지향적 식품을 선호하는 추세이므로 식사대용 및 건강식으로 활용 가능한 기능성 떡을 개발하고 이의 기능성을 확인하는 것은 쌀 소비 증대뿐만 아니라 건강증진 측면에서 매우 유의하다고 할 수 있다.

본 연구에서는 솔잎차즙을 첨가한 설기떡을 제조하고 동물모델을 이용하여 솔잎차즙을 첨가한 설기떡의 섭취가 이상지질혈증에 미치는 영향을 분석하였다.

연구방법

솔잎차즙액의 제조

본 실험에서 사용한 솔잎차즙액은 조선대학교에서 제공받았다 [19]. 솔잎은 아황산가스의 오염을 최소화하기 위해 해발 350 m 이상에서 자란 청정지역의 건강한 소나무를 선택하여 영양상태가 좋은 가지부분을 채취한 후 싱싱하고 푸른 잎만을 선별하였다. 솔잎의 불순물이 녹아 나오도록 흐르는 물에 담근 후, 맑은 물이 나올 때까지 3~4회 세척하고 다시 솥을 우려낸 물로 1회 세척하였다. 솔잎 표면의 수분을 완전히 탈수한 뒤 차즙기로 분쇄하여 차즙하였으며, 차즙된 솔잎액을 4°C에서 섬유소 층과 상징액을 저온 분리한 후, 상징액만을 모아 솔잎차즙액 (Pine needle juice)이라 하였다.

실험동물 및 식이

11주령의 Sprague-Dawley (SD)계 수컷 흰쥐 21마리에게 Lab-chaw 식이 (2018S Teklad global 18% protein rodent diet, USA)를 제공하면서 1주일간 적응시킨 후 체중에 따라 난괴법에 의하여 정상식이군 (normal diet; ND, n = 7)과 고지방식이군 (n = 14)으로 나누고 각각의 식이를 4주간 급여하였다. 고지방식이의 조성은 casein 18 g, corn starch 50.5 g, sucrose 10 g, corn oil 4.75 g, lard 4.75 g, cellulose 6.5 g, vitamin mix 1 g, mineral mix 3.5 g, DL-methionine 0.3 g, choline bitartrate 0.2 g, BHT 0.001 g, cholesterol 0.5 g, soildum cholate 0.2 g으로 구성하였다. 4주 후에 고지방식이군 (n = 14)을 설기떡군 (Sulgidduk diet; SD, n = 7)과 솔잎차즙액 + 설기떡군 (pine needle juice + Sulgidduk diet; PSD, n = 7)으로 나누어 6주간 각각의 식이를 공급하였다 (Table 1). SD군은 쌀가루 55.34%, 소금 0.61%, PSD군은 쌀가루 54.07%, 소금 0.6%, 솔잎차즙액 0.39%를 함유하도록 하였으며, 각각의 영양성분을 고려하여 고지방식이의 조성에서 casein, corn starch, corn oil, cellulose의 함량을 수정하였다. 솔잎차즙액의 농도는 솔잎차즙액 설기떡 제조 시의 기호도를 고려하여 산정되었다. 실험동물은 동물실험실에서 개개의 케이지에서 사육하였고 해당 식이를 증류수와 함께 자유로이 섭취하도록 하였다. 사육기간 동안 사육실의 온도는 20°C, 습도는 55%를 유지하였으며 명암은 12시간을 주기로 자동 조절하였다. 6주간의 사육기간 중 매 7일마다 체중을 측정하였고, 매일 식이섭취량을 측정하여 식이섭취효율을 분석하였다. 본 연구에서 수행된 동물실험은 경남대학교 동물실험윤리위원회 승인을 얻어 수행하였다 (KUICA-12-05).

Table 1. Composition of the experimental diets (g/kg diet)

Ingredient	ND ¹⁾	SD	PSD
Basal composition			
Casein	18	13.8	13.77
Corn starch	50.5	0.39	1.37
Sucrose	10	10	10
Corn oil	10	3.91	3.83
Lard	0	4.75	4.75
Cellulose	6.5	6.31	6.31
Vitamin mix ²⁾	1	1	1
Mineral mix ³⁾	3.5	3.5	3.5
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
BHT ⁴⁾	0.001	0.001	0.001
Experimental composition (dyslipidemic)			
Cholesterol	0	0.5	0.5
Sodium cholate	0	0.2	0.2
Experimental composition (rice cake)			
Rice flour	0	55.34	54.07
Pine needle juice	0	0	0.39
Salt	0	0.61	0.6

1) ND, normal diet; SD, Sulgidduk diet; PSD, Sulgidduk diet containing pine needle juice

2) AIN 93 vitamin mixture

3) AIN93 mineral mixture

4) Dibutylated hydroxytoluene

혈액 및 장기 적출

6주간의 사육이 끝난 후 실험동물은 12시간 동안 공복을 유도한 후 isoflurane (4 mL/kg)으로 마취시키고 대동맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액을 헤파린 튜브에 담아 3,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 혈장을 분리하였으며, 적혈구는 isoosmotic phosphate buffered saline (124 mM NaCl, 10 mM EDTA, 8 mM Na₂HPO₄, pH 7.4)으로 처리한 후 분석 시까지 -80°C 냉동고에 보관하였다. 채혈 후 간을 적출하여 생리식염수로 표면의 혈액 및 기타 부착물질을 제거한 후 여과지로 수분을 제거하고 무게를 측정하였다. 간과 분변은 분석 시까지 -80°C 냉동고에 보관하였다.

혈장 지질 및 간기능 지표 분석

혈장 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, AST 및 ALT는 BCS 진단 kit (Biosystems, Barcelona, Spain)를 사용하여 photometric autoanalyzer (BTS-350, Biosystems, Barcelona, Spain)로 비색 측정하였다.

지질대사 유전자 발현 분석

간 조직의 지질대사 관련 유전자 발현은 quantitative real-time reverse transcription-polymerase chain reaction을

이용하여 분석하였다. 간 조직 0.5 g에 TRI reagent 1 mL을 가하여 균질화한 후 실온에 5분간 방치하였다. 반응이 끝난 후 chloroform 0.2 mL을 가하여 20초간 강하게 vortex 하고 실온에서 10분간 방치한 후 4°C에서 10,000 g로 15분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상층액을 분리하여 RNase-free water 0.5 mL과 isopropanol 1 mL을 혼합하였다. 반응액을 실온에서 10분간 방치한 후 4°C에서 10,000 g로 15분간 원심분리하였다. 분리된 RNA pellet에 75% ethanol 1 mL을 가하여 세척하고 4°C에서 10,000 g로 5분간 원심분리하였다. 분리된 RNA pellet은 공기 중에 건조한 후 RNase-free water에 녹였다. RNA 농도는 Nanodrop (Nanodrop1000, Thermo Scientific, USA)을 이용하여 측정하였다. cDNA는 total RNA 1 µg과 oligodT₁₉, M-MLV reverse transcriptase (M-MLV reverse transcriptase, Promega, Madison, USA), nucleotide mix 및 5X reaction buffer를 혼합한 반응액을 25°C에서 5분, 42°C에서 30분, 85°C에서 5분간 반응시키는 조건으로 DNA thermal cycler (MycyclerTM thermal cycler, BIO-RAD, USA)을 이용하여 합성하였다. cDNA에 SYBR Green master mix (PhileKorea, QuantiSpeed SYBR No-ROX kit Daejeon, Korea)를 첨가하고 Real-time DNA thermal cycler (iQTM5 multicolor real-time PCR detection system, BIO-RAD, USA)를 이용

하여 real-time PCR을 수행하였다. SREBP2의 유전자 primer sequences는 sense 5'-TCCCCATCTGTTTTTCTC CC-3', antisense 5'-AGATCACCCCAATCCTGCTC-3'이었다. 유전자발현의 상대적인 정량을 위해 ΔC_T method를 사용하였으며, 각 시료의 ΔC_T 값은 target gene의 C_T value와 reference gene인 GAPDH의 C_T value의 차이로 산출하였고, 각 시료의 $\Delta \Delta C_T$ 값은 시료의 C_T value로부터 교정된 C_T value 차이값으로 산출하였다. 시료의 normalized target gene expression level은 $expression 2^{-\Delta \Delta C_T}$ 으로 산출하였다. 측정값은 대조군 발현의 fold change로 나타내었으며, 값은 평균 \pm 편차로 나타내었다.

간 조직 및 분변 지질함량 분석

간 조직 및 분변의 지질함량 측정을 위해 간 조직 및 분변 0.5 g에 0.9% saline 1.5 mL을 가하여 균질화하였다. 혼합용액에 chloroform : methanol = 2:1 (v/v) 용액 7.5 mL을 가하여 vortex한 후 30분간 방치하였다. 방치 후 혼합용액을 다시 격렬히 vortex하고, chloroform 2.5 mL을 가하여 vortex한 후 2분간 방치하였다. 방치 후 혼합용액에 증류수 2.5 mL을 가하여 vortex한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 분리된 하층액을 새 용기에 담은 후, chloroform과 증류수를 첨가하여 추출하는 과정을 반복하였다. 추출이 끝난 용액은 chloroform에 미리 침지시킨 여과지를 이용하여 여과하였다. 여과액을 80°C 수조에서 방치하여 chloroform을 증발시킨 후 50°C에서 건조하였다. 건조된 지질은 isopropanol으로 용해하였다. 간 조직과 분변의 총 콜레스테롤 및 중성지방은 BCS 진단 kit (Biosystems, Barcelona, Spain)를 사용하여 photometric autoanalyzer (BTS-350, Biosystems, Barcelona, Spain)로 비색 측정하였다.

혈장 및 간조직의 TBARS 함량 분석

혈장과 간조직의 TBARS 함량은 Puntel 등 [20]의 방법을 이용하여 분석하였다. 혈장의 TBARS 함량 분석을 위해 혈장 200 μ L와 2 mL의 반응액 (15% (w/v) trichloroacetic acid, 0.38% (w/v) thiobarbituric acid, 0.25 N hydrochloric acid)을 혼합한 후 20분간 100°C oil bath에서 가열하였다. 반응액을 원심분리한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하고, 1,3,3,3-tetramethoxypropane을 표준물질로 사용하여 TBARS 함량을 산출하였다. 간 조직의 TBARS 함량 분석을 위해 간 조직에 HEPES 완충용액 (10 mM HEPES, 10 mM KCl, 280 mM sucrose, pH 7.4)을 가하여 균질화한 후 4°C에서 3,000g로 10분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상층액을 분석에 사용하였다. 간 조직의 단백질 농도는 BCA protein

assay (Pierce BCA protein assay kit, Pierce Biotechnology, Rockford, USA)를 사용하여 정량하였다.

혈장 ORAC 분석

Peroxyl radical 소거능을 통한 항산화 활성 측정은 peroxyl radical scavenging capacity (ORAC_{ROO}) 분석법을 이용하였다. 혈장에 peroxyl radical 생성을 위한 AAPH (최종 반응 농도 20 nM)와 형광표준 용액인 fluorescein (최종 반응 농도 40 nM)을 처리하고, 최종 반응 농도 1 μ M의 trolox를 표준물질로 사용하였다. Peroxyl radical의 감소를 나타내는 형광감소율은 GENios fluorescence plate reader (FLUO star OPTIMA, BMG Labtech, Ortenberg, Germany)를 이용하여 excitation wavelength 485 nm, emission wavelength 535 nm에서 매 2 분마다 2시간 동안 측정하였다. ORAC 값은 각 시료의 형광이 감소하는 곡선 아래 부분의 총 면적 (net area under the curve)을 산출하여 1 μ M trolox equivalents (TE)로 나타내었다 [21].

간 조직의 항산화 효소 활성 분석

간 조직의 glutathione peroxidase (GSH-Px) 측정을 위해 간 조직을 250 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)에 균질화한 후, 10,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 상층액 (cytosolic fraction) 25 μ L와 10 mM EDTA, 10 mM NaN₃, 10 mM GSH, 2 mM NADPH, 1 unit glutathione reductase을 혼합하여 실온에서 5분간 반응시켰다. 반응액에 2.5 mM H₂O₂ 25 μ L를 혼합한 후 H₂O₂ 감소율을 UV/VIS spectrophotometer (UV-1601, Shimadzu, Japan)를 사용하여 340 nm에서 70초간 측정하였다 [22]. 간 조직의 superoxide dismutase (SOD) 측정을 위해 간 조직을 65 mM phosphate buffer (pH 7.8)에 균질화한 후, 10,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. Cu, Zn-SOD 측정은 원심분리 후 상층액 (cytosolic fraction)을 사용하였으며, 4 μ M KCN은 Cu, Zn-SOD 저해제로 처리하였다. Mn-SOD 측정은 원심분리 후 pellet (mitochondrial fraction)을 0.1% triton에 용해시켜 사용하였다. 각각의 시료와 75 mM Na-xanthine 및 10 mM hydroxylamine hydrochloride을 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 0.1 unit xanthine oxidase을 가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 1% sulphanilamide와 0.02% ethylenediamine dihydrochloride을 가하여 실온에서 20분간 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 간 조직의 catalase (CAT) 측정을 위해 간 조직을 Na-K phosphate buffer (pH 7.0)에 균질화한 후, 1,653 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상층액을 분리하여 10,000 rpm에서 20분

간 원심분리하였다. 분리된 pellet을 1X RBC buffer로 현탁하여 4°C에서 10분간 반응시킨 후 10,000 g에서 20분간 원심분리하였다. 분리된 pellet을 Na-K phosphate buffer (pH 7.0)로 재현탁하여 10,000 g에서 20분간 원심분리하였다. 분리된 pellet을 Na-K phosphate buffer (pH 7.0)로 현탁하여 분석에 사용하였다. 시료에 30 mM H₂O₂ 300 µL를 혼합한 후 H₂O₂ 감소율을 UV/VIS spectrophotometer (UV-1601, Shimadzu, Japan)를 사용하여 240 nm에서 40 초간 측정하였다 [23]. 간 조직의 단백질 농도는 BCA protein assay (Pierce BCA protein assay kit, Pierce Biotechnology, Rockford, USA)를 사용하여 정량하였다.

통계처리

모든 데이터의 통계처리는 SPSS 프로그램 (Windows 14.0, SPSS Inc, IBM, Chicago, USA)을 이용하였고, 결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, 신뢰수준 95% ($p < 0.05$)에서 평균값들에 대해 유의성을 검증하였다. 각 항목은 일원배치분산분석 (one-way ANOVA)을 시행하여 F값을 구하였고, Duncan's multiple range test를 이용하여 각 구간의 유의성 차이를 검증하였다.

결 과

체중증가량, 식이섭취량, 식이효율

실험동물의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이섭취효율을 측정된 결과 식이섭취량은 그룹 간에 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 체중증가량과 식이섭취효율은 SD군이 ND군보다 유의하게 높았으며, PSD군이 SD군보다 체중증가량과 식이섭취효율 모두 유의하게 낮았다 (Table 2).

지질관련 및 간기능관련 지표 분석

혈장 중성지방은 SD군이 ND군보다 8.4% 높았으며, PSD군이 SD군보다 6.3% 낮았으나 그룹 간에 유의적인 차이는 없었다. 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 SD군이 ND군보다 유의하게 높았으며, PSD군이 SD군보다 총 콜레스테롤이 10.1%, LDL-콜레스테롤이 12.2% 낮았으나 유의적인 차이는 없었다. HDL-콜레스테롤은 고지방식을 섭취한 SD군과 PSD군 모두 ND군보다 유의하게 낮았다. 동맥경화지수는 고지방식을 섭취한 SD군과 PSD군 모두 ND군보다 유의하게 높았으며, 솔잎착즙액 섭취에 의한 변화는 나타나지 않았다. 간기능 지표인 AST와 ALT는 그룹간에 유의적인 차이가 없었다 (Table 3).

간 조직과 분변의 지질함량 및 콜레스테롤 생합성관련 유전자 발현

간의 체중 대비 상대적인 무게는 고지방식을 섭취한 SD군과 PSD군 모두 ND군보다 유의하게 높았으며, 솔잎 착즙액 섭취에 의한 변화는 나타나지 않았다 (Fig. 1A). 간

Table 2. Effects of Sulgidduk containing pine needle juice on weight gain and food intake in rats fed a high-fat diet

	ND	SD	PSD
Weight gain (g/day)	0.7 ± 0.2 ^a	2.1 ± 0.2 ^c	1.6 ± 0.1 ^b
Food intake (g/day)	18.5 ± 0.2 ^{NS}	18.2 ± 0.1	18.1 ± 0.3
FER (%) ¹⁾	3.5 ± 0.9 ^a	11.3 ± 0.8 ^c	9.0 ± 0.7 ^b

1) FER; Food efficiency ratio = weight gain (g/day)/food intakes (g/day)

Values are the mean ± SE.

Significant different are indicated by different letters in a row at $p < 0.05$ at determined by Duncan's multiple range test.

ND, normal diet; SD, Sulgidduk diet; PSD, Sulgidduk diet containing pine needle juice. NS: not significant

Table 3. Effects of Sulgidduk containing pine needle juice on blood biochemical parameters in rats fed a high-fat diet

	ND	SD	PSD
Triglyceride (mg/dL)	56.0 ± 2.7 ^{NS}	60.7 ± 3.6	56.9 ± 4.7
Total cholesterol (mg/dL)	120.9 ± 4.3 ^a	189.9 ± 8.0 ^b	170.7 ± 10.4 ^b
HDL-cholesterol (mg/dL)	69.7 ± 3.2 ^b	37.0 ± 2.2 ^a	35.7 ± 3.4 ^a
LDL-cholesterol (mg/dL)	40.1 ± 3.8 ^a	140.8 ± 9.1 ^b	123.6 ± 11.5 ^b
AI ¹⁾	0.8 ± 0.1 ^a	4.2 ± 0.4 ^b	4.1 ± 0.7 ^b
AST (U/L)	54.3 ± 3.2 ^{NS}	55.7 ± 6.1	50.8 ± 4.4
ALT (U/L)	42.0 ± 5.0 ^{NS}	48.2 ± 3.5	41.8 ± 1.8

1) AI; Atherogenic index = Total cholesterol-HDL-cholesterol/HDL-cholesterol

Values are the mean ± SE.

Significant different are indicated by differences letters in a row at $p < 0.05$ at determined by Duncan's multiple range test.

ND, normal diet; SD, Sulgidduk diet; PSD, Sulgidduk diet containing pine needle juice. NS: not significant

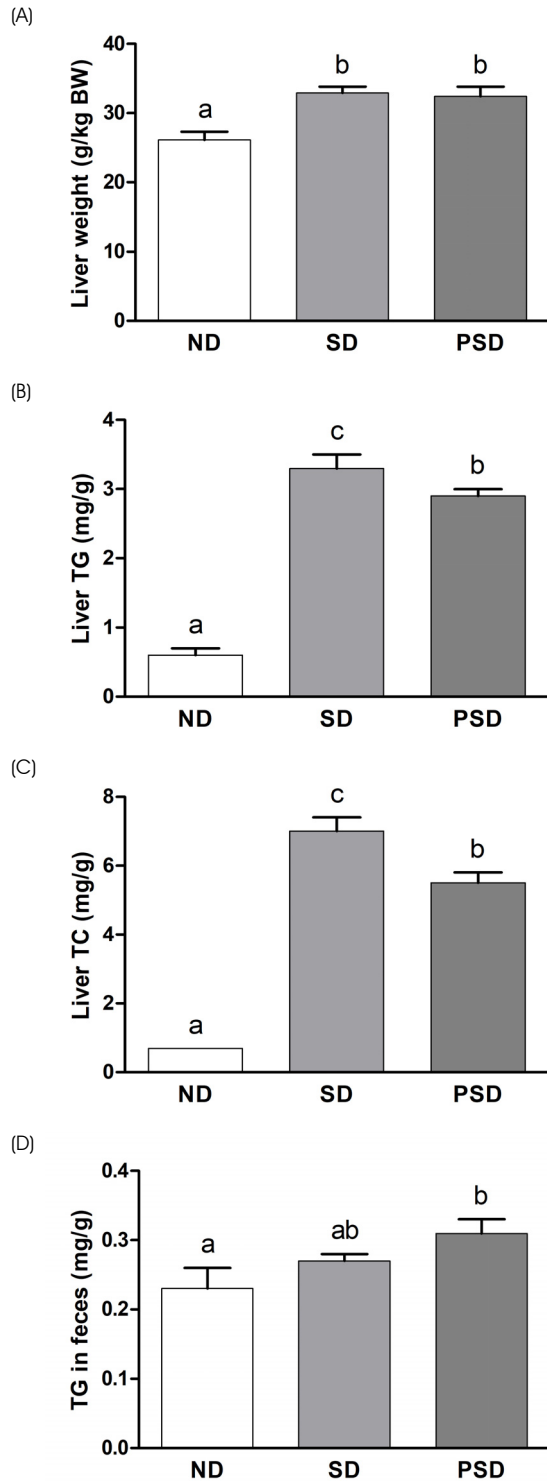


Fig. 1. Effect of Sulgidduk containing pine needle juice on liver weight (A), liver triglyceride (B), liver total cholesterol (C), and fecal triglyceride (D) in rats fed a high fat diet. Each bar represents the mean ± SE. Bars with different superscript letters are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; SD, Sulgidduk diet; PSD, Sulgidduk diet containing pine needle juice

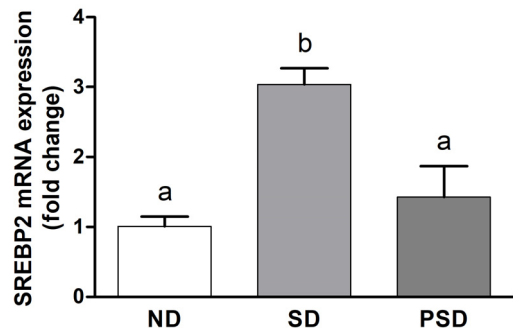


Fig. 2. Effect of Sulgidduk containing pine needle juice on hepatic mRNA levels of SREBP2 genes in rats. Each bar represents the mean ± SE. Bars with different letters are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. ND, normal diet; SD, Sulgidduk diet; PSD, Sulgidduk diet containing pine needle juice

의 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량은 SD군이 ND군보다 유의하게 높았으며, PSD군이 SD군보다 중성지방이 14.4%, 총 콜레스테롤이 20.2% 유의하게 낮았다 (Fig. 1B,C). 분변의 중성지방은 SD군이 ND군보다 17.4% 높았으나 유의적인 차이는 없었으며, PSD군이 SD군보다 14.8% 높았으나 유의적인 차이는 없었다. (Fig. 1D). 간의 콜레스테롤 생합성을 촉진하는 SREBP2의 유전자 발현은 SD군이 ND군보다 유의하게 높았으며 (p < 0.05), PSD군은 ND군 수준의 SREBP2의 유전자 발현을 나타내었다 (p < 0.05) (Fig. 2).

혈장과 간 조직의 지질과산화물

혈장의 TBARS는 SD군이 ND군보다 유의하게 높았으며, PSD군이 SD군보다 7.7% 낮았으나 유의적인 차이는 없었다. 간 조직의 TBARS는 SD군이 ND군보다 57.3% 높았으나 유의적인 차이는 없었으며, PSD군은 SD군보다 20.0% 낮았으나 유의적인 차이는 없었다. (Table 4).

혈장 및 간 조직의 항산화 활성

혈장 ORAC은 SD군이 ND군보다 7.7% 낮았으며, PSD군은 ND군보다 높은 수준으로 SD군보다 19.8% 높은 결과를 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 한편, 간 조직의 GSH-Px 활성은 SD군이 ND군보다 15.5% 낮았다. 반면, 유의적인 차이는 없었으나 PSD군의 간 조직의 GSH-Px 활성이 SD군보다 19.6% 낮은 경향을 나타내었다. 간 조직의 Mn-SOD 활성은 SD군이 ND군보다 31.0% 유의하게 낮았으며, PSD군이 SD군보다 21.5% 유의하게 높았다. 이와 마찬가지로 간 조직의 Cu,Zn-SOD 활성은 SD군이 ND군보다 15.5% 낮았으며, PSD군이 SD군보다 10.7% 높았으나 유의적인 차이는 없었다. 간 조직의 CAT 활성은 SD

Table 4. Effects of Sulgidduk containing pine needle juice on plasma and hepatic lipid peroxide level in rats fed a high-fat diet

	ND	SD	PSD
Plasma TBARS (%)	100.0 ± 3.1 ^a	117.6 ± 5.2 ^b	108.5 ± 4.1 ^{ab}
Liver TBARS (%)	100.0 ± 14.1 ^{NS}	157.3 ± 38.3	125.9 ± 24.4

Values are the mean ± SE.

Significant different are indicated by differences letters in a row at $p < 0.05$ at determined by Duncan's multiple range test.

ND, normal diet; SD, Sulgidduk diet; PSD, Sulgidduk diet containing pine needle juice. NS: not significant

Table 5. Effects of Sulgidduk containing pine needle juice on antioxidant status in plasma and liver in rats fed a high-fat diet

	ND	SD	PSD
Plasma			
ORAC (1 μ M TE ¹⁾)	100.0 ± 6.21 ^{NS}	92.3 ± 9.7	110.6 ± 16.1
Liver			
GSH-Px (% control)	100.0 ± 10.1 ^b	84.5 ± 4.1 ^{ab}	67.4 ± 5.9 ^a
Mn-SOD (% control)	100.0 ± 3.4 ^c	69.9 ± 4.6 ^a	84.9 ± 4.5 ^b
Cu,Zn-SOD (% control)	100.0 ± 25.0 ^{NS}	69.0 ± 12.5	76.4 ± 15.4
CAT (% control)	100.0 ± 4.3 ^{ab}	92.0 ± 3.1 ^a	110.0 ± 2.4 ^b

1) TE; Trolox equivalent

Values are the mean ± SE.

Significant different are indicated by different letters in a row at $p < 0.05$ at determined by Duncan's multiple range test.

ND, normal diet; SD, Sulgidduk diet; PSD, Sulgidduk diet containing pine needle juice. NS: not significant

군이 ND군보다 8.0% 낮았으나 유의적인 차이는 없었으며, PSD군이 SD군보다 19.6% 유의하게 높았다 (Table 5).

고 찰

현대사회는 운동부족과 서구화된 식생활로 이상지질혈증의 위험이 증가하고 있으며, 이로 인한 심뇌혈관질환의 사망률 증가는 사회적 문제가 되고 있다 [24]. 이상지질혈증은 인슐린 저항성, 당뇨, 비만, 고혈압, 심혈관계 질환 등이 원인으로 작용하여 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 중성지방이 증가하거나 HDL-콜레스테롤이 감소된 상태를 말한다 [25,26]. 식물에 함유되어 있는 생리활성물질은 총 콜레스테롤, 중성지방, LDL-콜레스테롤과 같은 혈청 지질 수준을 개선시키는 효과가 있으며, 비만 및 고지혈증의 예방과 치료에 도움을 준다고 알려져 있다 [27,28]. 솔잎은 ascorbic acid, carotene, flavonoid, anthocyan, tannin 등을 함유하고 있어, 다수의 연구에서 솔잎의 지질강하 효능을 보고하였으나 그 효능의 정도는 솔잎에서 분리된 특정 성분과 다른 화합물의 상호작용으로 인해 차이를 나타내었다 [8,13,29-33]. 한편, 쌀가루, 찹쌀가루, 감자가루 또는 전분 등을 주원료로 하는 떡류는 농경과 함께 시작되어 지속적으로 발전해 온 뿌리 깊은 전통음식으로서 시식, 절식 및 제례음식으로 사용되어 왔다. 쌀 가공식품에 대한 인지도는 영양지식 수준이 높을수록 증가하는데 [34], 떡에 대한 소비자 구매의도와 식대용식으로서 떡의 소비

실태는 건강에 대한 관심과 밀접하게 관련된 것으로 보고되었다 [35,36]. 떡류에 대한 연구는 떡에 대한 소비자의 기호도 분석과 기능성 소재를 첨가한 떡류의 품질특성 [15-18] 등이 보고되고 있으며, 떡류의 섭취에 따른 생리활성 변화에 대한 연구는 현재까지 보고되지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 솔잎착즙액을 첨가한 설기떡 급여가 고지방식으로 이상지질혈증이 유도된 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향을 검토하였다.

지속적인 고지방식이 섭취는 과도한 체지방 축적과 체중증가를 나타내는데, 본 연구에서는 그룹간의 식이섭취량 차이에도 불구하고 SD군보다 PSD군의 체중증가량이 유의하게 낮아 솔잎착즙액의 체중증가 억제효과를 알 수 있었다. 또한, 혈장 중성지방과 총 콜레스테롤은 SD군보다 PSD군이 낮았으나 통계적인 유의성은 없었다. 이는 고지방식으로 비만을 유도한 흰쥐에 1% 솔잎열수추출물을 6주간 급여하였을 때 혈장 중성지방과 총 콜레스테롤이 고지방식이군보다 각각 9.7%, 7.8% 낮은 Jeon 등 [29]의 연구와 유사한 결과이며, 솔잎부탄올획분 25, 50, 100 mg/kg BW을 45일 동안 투여하였을 때 혈청 콜레스테롤이 농도 의존적으로 12.8~21.6% 유의하게 감소한 Choi 등 [30]의 연구보다 낮은 수준의 혈중지질 저하효과였다. HDL-콜레스테롤은 ND군보다 고지방식을 섭취한 SD군과 PSD군 모두 유의하게 낮았으나, 솔잎착즙액 섭취에 의한 효과는 없었다. Sin과 Han [37] 및 Kang 등 [31]은 식물성 polyphenol 성분이 혈장 HDL-콜레스테롤을 증가시킨다고

보고하였다. 그러나, 유사한 조건하에서 수행한 연구임에도 혈장 HDL-콜레스테롤의 변동경향은 연구자에 따라 큰 차이가 있거나 혹은 상반된 결과를 보였다 [38-40]. 한편, SD군은 ND군보다 간의 중량이 증가하였는데, 이는 고지방식이 섭취가 지질 축적으로 간의 중량 증가를 유도하였다고 보고한 선행연구 [41]와 일치하는 결과이다. 그러나 솔잎착즙액 섭취에 의한 간 중량의 변화는 나타나지 않았다. 본 연구에서 식이에 0.39% 첨가한 솔잎착즙액의 양은 1% 및 3~6% 솔잎열수추출물을 첨가한 Jeon 등 [29] 및 Kang 등 [31]의 연구와, 2~3% 솔잎분말을 첨가한 Lee [8] 및 Lee 등 [32]의 연구와 비교하였을 때 2.6~15.4배 낮은 양으로써 혈중 지질감소에 극적인 효과를 나타내지 못한 것으로 생각된다. 그러나 혈장 중성지방과 총 콜레스테롤이 SD군보다 PSD군이 낮은 경향을 나타낸 것은 솔잎착즙액 내에 혈중 지질을 감소시키는 기능성 물질이 내재하고 있을 가능성을 시사해 주었다.

LDL 대사 관련 유전자로 알려진 SREBP2 유전자 발현은 SD군이 ND군보다 유의하게 높았으며, PSD군은 SD군보다 유의하게 낮은 SREBP2 유전자 발현을 나타내었는데 이는 ND군 수준의 극적인 감소였다. SREBP2는 간에서 콜레스테롤 생합성을 촉진하는 유전자로 설기떡 섭취에 의해 ND군보다 높은 유전자 발현을 나타내었는데 이는 고지방식이 섭취는 SREBP2의 유전자발현을 증가시킨다고 보고한 선행연구 [42,43]와 일치하는 결과이다. 또한, 설기떡 섭취에 의해 높아진 SREBP2 유전자 발현이 솔잎착즙액설기떡 섭취에 의해 ND군 수준으로 유의하게 낮아진 것은 솔잎착즙액의 간 내 콜레스테롤 생합성 억제 효과를 나타내는 것으로써 이는 PSD군이 SD군보다 간 총 콜레스테롤이 20.2% 낮은 결과에서도 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 고지방식으로 고지혈증을 유도한 마우스에 오미자 리그난 100 mg/kg을 4주간 투여하였을 때 고지혈증으로 높아진 SREBP2 유전자 발현을 유의하게 낮추었다고 보고한 Sun 등 [42]의 연구와 Triton-WR 1339 (300 mg/kg BW)으로 고지혈증을 유도한 흰쥐에 테니스카시아 꽃추출물 300 mg/kg을 2주간 투여하였을 때 고지혈증으로 인해 높아진 SREBP2 유전자 발현을 대조군 수준으로 회복시켰다고 보고한 Vijayakumar 등 [13]의 연구와 유사한 결과이다. 케일에 함유된 식물성 polyphenol류가 간 내 콜레스테롤을 저하시킨다고 보고한 Krichevsky와 Tepper [44]의 연구와 영지추출액을 고콜레스테롤혈증 흰쥐에 급여했을 때 간 내 중성지질이 감소하였다고 보고한 Chung 등 [45]의 연구는 식물성 polyphenol류가 간 내 지질구성에 영향을 미칠 수 있음을 시사해 주었다. 본 연구에서는 6주간의 고지방식과 4주간의 설기떡 섭취로 인해 높아

진 간의 중성지방, 총 콜레스테롤 및 총 지질 함량을 솔잎착즙액설기떡 섭취가 유의하게 낮추는 효과를 나타내었는데, 이는 식물성 polyphenol을 함유하고 있는 솔잎착즙액에 의한 효과로 사료된다.

간과 마찬가지로 분변의 중성지방은 SD군이 ND군보다 높은 경향을 나타내었으며, 이는 고지방식이 투여에 의한 상대적인 지방섭취량 증가에 기인한 결과로 보인다. PSD군은 SD군보다 중성지방이 14.8% 높은 경향을 나타내어, 솔잎착즙액이 분변으로의 지방 배출을 촉진할 가능성을 시사해 주었다. Huang 등 [46]은 고지방식이를 섭취한 흰쥐에 뽕나무잎 분말 0.3~0.6 g/kg을 5주간 투여하였을 때 분변 콜레스테롤과 분변 bile acid가 유의하게 증가하였다고 보고하였으며, 고지혈증 유도 식이를 섭취한 마우스에 오크라분말 1~2%를 투여한 Wang 등 [47]의 연구에서도 농도 의존적인 분변 총 콜레스테롤 및 중성지방 증가를 보고하였다. 한편 Huang 등 [46]은 뽕나무잎 분말의 총 플라보노이드 함량이 58%이며, 이러한 높은 항산화 성분이 지질배출에 영향을 주었다고 예측하였다. 본 연구에서 PSD군의 지질 배출 효과를 확인하였으나, SD군과 비교하였을 때 통계적으로 유의한 차이가 없었으므로 고지혈증 동물 모델에 솔잎추출물과 솔잎분말을 투여한 선행연구 [8,29,31,32]의 섭취농도를 고려하여 솔잎착즙액의 섭취용량을 1~6% 범위로 증가시킨 향후 연구가 필요할 것으로 생각된다.

혈장의 TBARS는 SD군이 ND군보다 유의하게 높았는데, 이는 고지방식이의 과량급여는 혈액 내 지질과산화물 증가시킨다는 선행연구와 일치하는 결과이다 [48]. PSD군은 SD군보다 혈장과 간의 TBARS가 낮았으나 통계적인 유의성은 없었다. 이와 같은 결과는 고지혈증을 유도한 흰쥐에 3% 솔잎분말을 7주간 투여하였을 때 고지혈증으로 높아진 혈장 TBARS를 대조군 수치로 유지한 반면, 간 TBARS는 혈장 TBARS와 유사한 변동경향을 나타내었으나 유의한 효과는 없었다고 보고한 Lee와 Choi [32]의 결과와 유사하였다. 또한, Choi 등 [30]은 솔잎부탄올획분 100 mg/kg BW을 45일 동안 투여하였을 때 간 조직의 mitochondria와 microsome에서 8.8~13.1%의 유의적인 지질과산화감소효과를 보고하였는데, 이는 솔잎착즙액에 지질과산화를 억제하는 요소가 내재하고 있을 가능성을 시사한다. Kang 등 [48]은 솔잎추출물의 주성분은 catechin, leucoanthocyan으로 catechin을 포함한 flavanol형 tannin의 함량이 총 polyphenol의 60% 이상을 차지한다고 보고하였으며, 고지방식이 투여에 의한 간 내 지질감소 효과는 flavonoid 화합물 중 catechin이 가장 큰 영향을 미친다고 하였다. 따라서 솔잎착즙액에 함유된 polyphenol이 세포막

의 지질이 활성산소의 공격을 받아 산화될 때 생성되는 과산화지질을 억제하는 효능을 가질 것으로 추측된다.

Lee [15]는 흰쥐에서 과산화지질 투여로 낮아진 간 조직의 GSH-Px 활성이 3% 솔잎분말 섭취에 의해 증가하는 경향을 나타내었다고 보고하였으며, Jang 등 [33]은 흰쥐에서 카드뮴으로 유도된 산화적 스트레스가 간 조직의 GSH-Px, CAT 및 SOD 활성을 낮추었으나 1.26 g/kg의 솔잎열수추출물 투여가 이를 회복시켰다고 보고하였다. 본 연구에서는 설기떡 섭취로 낮아진 간 조직의 Mn-SOD 및 CAT 활성을 솔잎착즙액설기떡 섭취가 유의하게 높이는 효과를 나타내었는데, 이는 솔잎착즙액 내에 간 조직 내 항산화효소 활성을 조절하는 물질이 있음을 시사하는 결과이다.

본 연구에서 실험동물에 투여한 솔잎착즙액의 농도는 솔잎추출물 또는 솔잎분말을 투여한 선행연구와 비교하였을 때 낮은 수준이었으며 이에 극적인 지질저하 효과는 나타나지 못하였다. 그러나 현재까지 솔잎착즙액 섭취에 의한 지질감소 효과를 보고한 선행연구는 없었으므로 본 연구의 결과는 솔잎의 지질저하 효과를 검증하는데 중요한 자료로 활용될 수 있을 것이며, 향후 솔잎착즙액의 섭취량을 높인 이상지질혈증 동물모델 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 솔잎착즙액이 고지방식으로 이상지질혈증을 유도한 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향을 분석하기 위해 실험동물을 정상식이 (ND)군, 고지방식이군으로 나누어 각각의 식이를 4주간 급여한 후 고지방식이군을 설기떡 (SD)군 및 솔잎착즙액설기떡 (PSD)군으로 분류하여 6주간 사육하고, 혈장과 간 및 분변의 지질관련 지표를 분석하였다. PSD군은 설기떡 섭취에 의해 유의하게 높아진 체중증가량을 유의하게 낮추었으며 ($p < 0.05$), 설기떡 섭취에 의해 유의하게 높아진 혈장 총 콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤을 낮추는 경향을 나타내었다 ($p > 0.05$). 간 조직과 분변의 지질대사 관련 지표를 분석한 결과 PSD군은 설기떡 섭취에 의해 ND군보다 유의하게 높아진 간 조직의 중성지방 및 총 콜레스테롤과 간 조직의 SREBP2 유전자 발현을 유의하게 낮추는 효과를 나타내었다 ($p < 0.05$). 또한 PSD군은 SD군보다 분변으로 배출되는 중성지방 함량을 14.8% 높였으며 ($p > 0.05$), 혈장과 간의 지질과산화물 SD군보다 각각 7.7%, 20.2% 낮추는 효과를 나타내었다 ($p > 0.05$). 혈장과 적혈구의 항산화활성 관련 지표를 분석한 결과 PSD군은 설기떡 섭취에 의해 낮아진 혈장 ORAC을

높이는 경향을 나타내었으며, 설기떡 섭취에 의해 유의하게 낮아진 간조직의 Mn-SOD 및 CAT 효소활성을 SD군보다 각각 21.5%, 19.6% 유의하게 높이는 효과를 나타내었다. 이상의 결과에서, 고지방식으로 이상지질혈증을 유도한 흰쥐에서 솔잎착즙액설기떡의 섭취는 체중증가억제, 혈장 콜레스테롤 감소, 간 내 콜레스테롤 생합성 억제, 간 조직의 지질수준 감소, 분변으로의 지질배출 증가, 간 조직의 지질과산화 감소, 혈장과 간 조직의 항산화 활성 증가 효능을 나타내는 것으로 확인되었다. 이에 본 연구에서 개발된 솔잎착즙액을 첨가한 설기떡은 지질 감소 효능을 가진 기능성 떡으로써 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

ORCID

이윤정: <https://orcid.org/0000-0003-4726-4671>

박재희: <https://orcid.org/0000-0002-4804-4032>

박은주: <https://orcid.org/0000-0002-3462-6090>

References

1. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, et al. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics- 2017 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2017; 135(10): e146-e603.
2. Ministry of Health and Welfare (KR); Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korea health statistics 2015. Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES VI-3). Cheongju: Korea Centers for Disease Control and Prevention; 2016 [cited 2017 Oct 1]. Available from: <https://knhanes.cdc.go.kr>.
3. Statistics Korea. Cause of death statistics 2017. Daejeon: Statistics Korea; 2018 [cited 2018 Sep 19]. Available from: <https://kostat.go.kr>.
4. Roh E, Ko SH, Kwon HS, Kim NH, Kim JH, Kim CS, et al. Taskforce Team of Diabetes Fact Sheet of the Korean Diabetes Association. Prevalence and management of dyslipidemia in Korea: Korea National Health and Nutrition Examination Survey during 1998 to 2010. *Diabetes Metab J* 2013; 37(6): 433-449.
5. Urano S, Hoshi-Hashizume M, Tochigi N, Matsuo M, Shiraki M, Ito H. Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposomes to oxidative stress in aged diabetics. *Lipids* 1991; 26(1): 58-61.
6. Choi HY. Antioxidant activity and quality characteristics of pine needle cookies. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2009; 38(10): 1414-1421.
7. Lim YS, Bae MJ, Lee SH. Antimicrobial effects of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. ethanol extract on *Listeria monocytogenes*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2002; 31(2): 333-337.
8. Lee E. Effect of powdered pine needle (*Pinus densiflora* seib

- et Zucc.) on serum and liver lipid composition and antioxidative capacity in rats fed high oxidized fat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2003; 32(6): 926-930.
9. Kim JS. Evaluation of in vitro antioxidant activity of the water extract obtained from dried pine needle (*Pinus densiflora*). *Prev Nutr Food Sci* 2018; 23(2): 134-143.
 10. Choi HD, Koh YJ, Choi IW, Kim YS, Park YK. Anticariogenic activity and glucosyltransferase inhibitory effects of extracts from pine needle and twig. *Korean J Food Sci Technol* 2007; 39(3): 336-341.
 11. Yen GC, Duh PD, Huang DW, Hsu CL, Fu TY. Protective effect of pine (*Pinus morrisonicola* Hay.) needle on LDL oxidation and its anti-inflammatory action by modulation of iNOS and COX-2 expression in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(1): 175-185.
 12. Kim SH, Hwang SY, Park OS, Kim MK, Chung YJ. Effect of *Pinus densiflora* extract on blood glucose level, OGTT and biochemical parameters in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2005; 34(7): 973-979.
 13. Jeon JR, Kim JY, Lee KM, Cho DH. Anti-obese effects of mixture contained pine needle, black tea and green tea extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 2005; 48(4): 375-381.
 14. Ren P, Ren X, Cheng L, Xu L. Frankincense, pine needle and geranium essential oils suppress tumor progression through the regulation of the AMPK/mTOR pathway in breast cancer. *Oncol Rep* 2018; 39(1): 129-137.
 15. Park MK, Lee JM, Park CH, In MJ. Quality characteristics of Sulgidduk containing chlorella powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2002; 31(2): 225-229.
 16. Lee JH, Yoon SJ. Quality characteristics of Sulgidduk prepared with different amounts of green laver powder. *Korean J Food Cookery Sci* 2008; 24(1): 39-45.
 17. Cho JS, Choi MY, Chang YH. Quality characteristics of Sulgidduk added with *Lentinus edodes* sing powder. *J East Asian Soc Diet Life* 2002; 12(1): 55-64.
 18. Yoon SJ. Quality characteristics of Sulgitteok with lotus leaf powder. *Korean J Food Cookery Sci* 2007; 23(4): 433-442.
 19. Park GY, Li HX, Hwang ID, Cheong HS. The functional effects of fermented pine needle extract. *Korean J Biotechnol Bioeng* 2006; 21(5): 376-383.
 20. Puntel RL, Roos DH, Grotto D, Garcia SC, Nogueira CW, Rocha JB. Antioxidant properties of Krebs cycle intermediates against malonate pro-oxidant activity in vitro: a comparative study using the colorimetric method and HPLC analysis to determine malondialdehyde in rat brain homogenates. *Life Sci* 2007; 81(1): 51-62.
 21. Kim GN, Shin JG, Jang HD. Antioxidant and antidiabetic activity of Danguyuja (*Citrus grandis* Osbeck) extract treated with *Aspergillus saitoi*. *Food Chem* 2009; 117(1): 35-41.
 22. Bogdanska JJ, Kometi P, Todorova B. Erythrocyte superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in healthy male subjects in Republic of Macedonia. *Bratisl Lek Listy* 2003; 104(3): 108-114.
 23. Carrillo MC, Kanai S, Nokubo M, Kitani K. (-) deprenyl induces activities of both superoxide dismutase and catalase but not of glutathione peroxidase in the striatum of young male rats. *Life Sci* 1991; 48(6): 517-521.
 24. Ahn Y, Gebereamanuel MR, Oh EK, Kwon O. Inhibitory effects of persimmon (*Diospyros kaki* Thumb.) against diet-induced hypertriglyceridemia/hypercholesterolemia in rats. *J Nutr Health* 2017; 50(3): 225-235.
 25. Grundy SM. Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 1998; 81(4A): 18B-25B.
 26. Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Decreased plasma adiponectin concentrations in women with dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(6): 2764-2769.
 27. Hwang KH, Jung LH, Cho NC, Yoo YK, Park PS, Noh YH, et al. The effect of concentrated onion juice in a body composition, serum electrolytes and lipids levels on hyperlipidemia. *Korean J Food Nutr* 2003; 16(1): 35-45.
 28. Lee JJ, Park MR, Kim AR, Lee MY. Effects of ramie leaves on improvement of lipid metabolism and antiobesity effect in rats fed a high fat/high cholesterol diet. *Korean J Food Sci Technol* 2011; 43(1): 83-90.
 29. Jeon JR, Kim JY. Effects of pine needle extract on differentiation of 3T3-L1 preadipocytes and obesity in high-fat diet fed rats. *Biol Pharm Bull* 2006; 29(10): 2111-2115.
 30. Choi JH, Kim DL, Choi MG, Cho WK, Kim CK. Effects of pine needle butanol fraction on membrane fluidity and oxidative stress in liver membranes of rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2003; 32(7): 1082-1087.
 31. Kang YH, Park YK, Ha TY, Moon KD. Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Nutr* 1996; 25(3): 367-373.
 32. Lee E, Choi MY. Effect of pine needle on lipid composition and TBARS in rat fed high cholesterol. *Korean J Food Sci Technol* 2000; 32(5): 1186-1190.
 33. Jang JY, Kim MJ, Lee MK, Kim DJ. Effect of pine needle water extract on cadmium-induced oxidative stress in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2007; 36(4): 411-418.
 34. Kang JH, Kang JH. Effect of the consumption values of rice cake type rice processed food on attitude and purchase intention. *Int J Tourism Hosp Res* 2017; 31(9): 217-232.
 35. Yoon SJ, Oh IS. Usage status of traditional rice cake as a meal substitute and analysis on the selection attributes affecting purchase. *Korean J Culinary Res* 2014; 20(2): 38-53.
 36. Kim CH, Lee JH. The study on the consumer' perception and purchasing behavior of rice cake as a meal. *Korean J Culinary Res* 2007; 13(2): 59-68.
 37. Sin MK, Han GJ. Effects of water extracts green tea scented with lotus *Nelumbo nucifera* gaertner flower on the serum lipid concentrations in rats fed high fat. *J East Asian Soc Diet Life* 2005; 15(1): 57-64.
 38. Harris WS, Connor WE, McMurry MP. The comparative reductions of the plasma lipids and lipoproteins by dietary polyunsaturated fats: salmon oil versus vegetable oils. *Metabolism* 1983; 32(2): 179-184.
 39. Sanders TA, Hochland MC. A comparison of the influence on plasma lipids and platelet function of supplements of omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids. *Br J Nutr* 1983; 50(3): 521-529.
 40. Droubay PE, Puppione DL. Dietary fat-induced postprandial lipemia: effect on arterial oxygen saturation and plasma lactate,

- triglyceride, and cholesterol levels in subjects with angina pectoris. *Am J Clin Nutr* 1980; 33(6): 1199-1207.
41. Cho SY, Kim MJ. The effect of plantaginis semen on serum and hepatic lipid metabolism in fed high and low fat diets. *J Korean Soc Food Nutr* 1995; 24(4): 517-522.
 42. Sun JH, Liu X, Cong LX, Li H, Zhang CY, Chen JG, et al. Metabolomics study of the therapeutic mechanism of Schisandra Chinensis lignans in diet-induced hyperlipidemia mice. *Lipids Health Dis* 2017; 16(1): 145.
 43. Vijayakumar R, Nachiappan V. Cassia auriculata flower extract attenuates hyperlipidemia in male Wistar rats by regulating the hepatic cholesterol metabolism. *Biomed Pharmacother* 2017; 95: 394-401.
 44. Kritchevsky D, Tepper SA. Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol-free diets: influence of chow components. *J Atheroscler Res* 1968; 8(2): 357-369.
 45. Chung SY, Kim SA, Kim SH, Kim HS, Kim GJ, Kim HS, et al. Effects of Ganoderma lucidum on lipid metabolism in dietary hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 1990; 19(2): 180-186.
 46. Huang J, Wang Y, Ying C, Liu L, Lou Z. Effects of mulberry leaf on experimental hyperlipidemia rats induced by high-fat diet. *Exp Ther Med* 2018; 16(2): 547-556.
 47. Wang H, Chen G, Ren D, Yang ST. Hypolipidemic activity of okra is mediated through inhibition of lipogenesis and upregulation of cholesterol degradation. *Phytother Res* 2014; 28(2): 268-273.
 48. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J Food Sci Technol* 1995; 27(6): 978-984.