

알로에 베라 유래 식이섬유의 *In Vitro* 및 *In Vivo* 생리기능 특성

백진홍¹ · 차태양¹ · 허진철² · 이상한² · 이신영*

¹주) 김정문 알로에 과학연구소

²경북대학교 식품생물산업연구소
강원대학교생물공학과

In Vitro and *In Vivo* Physiological Characteristics of Dietary Fiber from By-product of *Aloe vera* Gel Processing

Jin-Hong Baek¹, Tae-Yang Cha¹, Jin-Chul Heo², Sang-Han Lee², and Shin-Young Lee*

¹KJM Aloe R&D Center

²Food & Bioindustry Research Institute, Kyungpook National University

Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University

Abstract

A fiber fraction (Aloe cellulose), the by-product obtained from *Aloe vera* gel processing was freeze dried and investigated for *in vitro* glucose/ bile acid retarding effects of powdered sample (100 mesh) comparing with commercial α -cellulose as a reference sample. We also examined the effectiveness of physiological functionality such as the anti-obesity and anti-constipation on Sprague-Dawley (SD) rat. The Aloe cellulose powders during *in vitro* dialysis experiment for 2 hours exhibited the glucose and bile acid retarding index of 20.32-35.2% and 53.13-28.30%, respectively. Especially, freeze dried aloe cellulose showed the 2.5 and 1.2-6 times higher effect on *in vitro* glucose and bile acid retardation than those of α -cellulose. These relatively good retarding effects on glucose and bile acid diffusion suggest a potential of preventing from diabetes and arteriosclerosis of some extent. Also, the results from animal experiments on SD rats fed a high-fat diet for 4 weeks suggested that Aloe cellulose might be used as a novel dietary fiber showing an effective anti-obesity and anti-constipation effect.

Key words: Aloe vera dietary fiber, *in vitro* glucose/ bile acid retardation effect, animal experiment, anti-obesity and anti-constipation effect

서 론

알로에 겔 제품의 사용부위인 잎 내부의 유세포조직 (parenchyma tissue)은 약 10%의 섬유질을 함유하며, 수분 다음의 대량함유 성분이지만 그동안 그 역할이나 용도적성이 전혀 규명되지 않은 채 가공 중의 부산물로 폐기되어 왔다(Baek et al., 2010).

Baek et al.(2010)은 알로에의 이 섬유질 분획이 cellulose의 회절양상을 보이는 식이섬유로, 87.5%의 총 식이섬유를 함유하며, 불용성 및 수용성은 각각 77.6 및 22.4%라고 하였다. 이의 팽윤력, 보수력 및 지방 흡수능은 시판 α -cellulose

식이섬유보다 약 3.3, 1.4 및 2배나 높은 우수한 특징을 보이며, 거품형성능을 나타내지 않고, α -cellulose보다 약 3배의 거품안정성을 향상시킨다고 하였다. 또, 유화능도 α -cellulose보다 약 2배, 유화 안정능에서도 1.2배 이상이나 높고, CMC 함유용액은 매우 우수한 분산능을 가지며, 알로에 식이섬유 1% 이상의 농도에서 α -cellulose 보다 높은 농도의 의존성 및 의가소성의 점도 특성을 나타내어 새로운 식이섬유 소재로서의 물성기능을 갖는다고 보고하였다. 하지만 이의 생리기능성에 대한 보고는 없었다.

일반적으로 식이섬유는 매우 다양하고 종류도 많지만 크게 불용성 및 수용성 식이섬유로 구분하는데, 이들의 생리적 효과는 서로 다른 것으로 보고되었다(Kay, 1982; Schneeman, 1987; Prosky, et al., 1988; Lee & Lee, 1996). 수용성 식이섬유는 대체로 수분 보유능(water-holding capacity)이 크고, gel 형성능이 우수하여 음식물의 점성을 높여 준다. 또 위에서의 체류시간을 증가시키고, 포만감을 제공하여 영양분의 흡수를 느리게 하며(Krotkiewski, 1987;

Corresponding author: Shin-Young Lee, Department of Bioengineering and Technology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Tel: +82-33-250-6273; Fax: +82-33-243-6350

E-mail: sylee@kangwon.ac.kr

Received March 4, 2010; revised May 22, 2010; accepted May 24, 2010

Saltzman et al., 2001), 이러한 영양소의 소화 및 흡수의 지연은 당뇨병 환자의 혈액 내 glucose tolerance를 증진시키는 효과를 갖는다고 보고되었다(Jenkins et al., 1976, 1978; Anderson & Chen, 1979). 또, 담즙산(bile acid)과 결합하여 분변으로 배출됨으로써 체내 담즙산의 보충을 위한 콜레스테롤의 소모를 유도하며(Anderson et al., 1984; Van Horn et al., 1986), 이에 따라 혈중 콜레스테롤 값을 저하시키고, 심장병 및 동맥경화를 예방하며 대장암의 발병율을 낮추는 것으로 보고되었다(Koseki, et al., 1990; Kay & Truswell, 1977).

반면, 불용성 식이섬유는 주로 식물 세포벽의 구성성분으로 수분 보유능이 커서 위에 포만감을 주고, 변을 묽게 하여 장에서의 이동시간을 감소시켜 통변을 용이하게 한다(Anderson et al., 1984). 또, 대장 내에서 세균에 의해 일부 분해되어 짧은 사슬 지방산(short chain fatty acid)으로 발효되는 등, 주로 대장기능에 관련된 효과를 나타낸다(Van Horn et al., 1986). 이외에도 식이섬유는 혈압강하 작용을 가지며, 항비만에 좋고, 특히, 포도당의 흡수를 지연시켜 인슐린 요구량을 감소시킴으로써 당뇨병의 치료에도 많은 도움이 되는 것으로 잘 알려져 있다(Koseki et al., 1990; Yoon et al., 1987; Torsdottir et al., 1990; Kim et al., 2004).

따라서 본 연구에서는 알로에 셀룰로오스의 식이섬유로서의 신규 기능성 소재화 연구의 일환으로, 상기와 같은 식이섬유의 생리기능성에 착안하여 알로에 섬유질의 생리기능성을 특성화하고자 하였다. 즉, 알로에 베라의 가공 중 부산물인 알로에 섬유질을 동결건조하여 분말제품을 얻었고, 이의 *in vitro* 법에 의한 glucose 및 bile acid의 흡수지연효과를 표준시료(α -cellulose)와 비교하면서 검토하였다. 아울러, 실험동물을 이용한 *in vivo* 실험을 통하여 항비만 및 변비개선 효과를 밝혔으며, 이를 자료화함으로써 궁극적으로 신규의 알로에 셀룰로오스의 생물소재화를 달성하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용한 알로에는 주) 김정문알로에의 제주농장에서 재배한 국내산의 알로에 베라(*Aloe vera* Linne)이며, 완전히 성숙된 3년산의 신선한 알로에를 회사로부터 직접 제공받아 실험에 사용하였다.

Aloe fiber의 조제

알로에 잎의 부착 토양 및 기타 부착물을 물로 철저히 세척하여 제거하였고, 다시 알로인을 제거한 다음 박피하여 겔 상의 유세포조직을 얻었다. 이를 원심분리(8,000×g)하여 알로에 섬유질과 알로에 겔로 분리하였으며, 알로에

섬유질 분획을 위하여 동결건조(0.05 torr, 24시간)하였다. 동결건조 시료는 분말화(80 mesh)하였고, 이를 실험의 공시 시료로 사용하였다. 또, 비교 표준시료는 α -cellulose를 사용하였고, Sigma-Aldrich사의 제품(Product no. C8002)을 사용하였다.

In vitro 법에 의한 glucose 및 bile acid의 흡수지연 효과

Glucose 및 bile acid의 흡수지연효과는 유리상태의 glucose 또는 bile acid는 투석막을 그대로 통과하지만 고분자 물질에 흡착된 glucose 또는 bile acid는 투석막을 통과하지 못하므로 투석 외액의 glucose 및 bile acid의 농도를 분석하여 각각 측정하였다(Adiotomre et al., 1990). 넓이 3.2 cm², 길이 10 cm의 투석막(Sigma D7884 : M.W. cut-off < 1200)을 0.1% sodium azide 용액에 하룻밤 담근 후 사용하였다. 투석막의 한쪽 끝을 목면실로 단단하게 묶은 후 투석막 내부에 시료 0.2 g을 넣고, 여기에 glucose 36 mg 을 용해시킨 0.1% sodium azide 용액 6 mL 또는 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0)에 1 L당 15 mmol taurocholic acid(Sigma T-4009)를 6 mL를 넣었다. 반대편의 투석막 끝도 단단히 묶은 후 150 mL 용량의 용기에 넣고 14시간 동안 수화시켰으며, 이 때 대조구의 경우는 시료만을 제외하여 마찬가지로 실시하였다. 수화종료 후 용기에 0.1% sodium azide 용액 100 mL를 첨가하였으며, 이를 37°C로 유지한 진탕 항온조에서 100 rpm으로 24시간 동안 투과실험을 실시하였다. 일정 시간(30분-24시간) 간격으로 투석 외액 1 mL씩을 취하여 glucose 및 bile acid의 함량을 측정하였으며, 흡수지연 효과를 다음 식 (1) 및 (2)에 의해 각각 계산하였다.

Glucose retardation index(%)

$$= 100 - \frac{\text{Total glucose diffused from sack containing fiber}}{\text{Total glucose diffused from sack without fiber}} \times 100 \quad (1)$$

Bile acid retardation index(%)

$$= 100 - \left(\frac{\text{Total bile acid diffused from sack containing fiber}}{\text{Total bile acid diffused from sack without fiber}} \times 100 \right) \quad (2)$$

이 때, glucose 함량은 ABTS법(White & Kennedy, 1981)에 따라 측정하였다. 즉, 0.1% sodium azide 용액에 용해시킨 시료 및 표준 glucose 용액 1 mL에 ABTS 시약(glucose oxidase 60 mg, peroxidase 6 mg 및 ABTS 50 mg)을 0.12 M phosphate buffer 용액 250 mL에 용해한 것) 5 mL를 첨가한 후, 실온에서 30-40분간 방치하였고, 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

한편, bile acid 함량은 Boyd et al.의 방법(1966)에 따라 측정하였다. 즉, bile acid (Sigma B-8756) 용액 1 mL에 70% H₂SO₄ 용액 5 mL를 넣고 5분 후에 0.25% furfural

Table 1. Compositions of experimental diet for the animal study (g/kg diet)

Ingredient	Experimental diet*		
	ND	HFD	HFD+ADF
Casein, 80 mesh	200	200	200
L-Cystine	3	3	3
Corn starch	245	0	0
Maltodextrin 10	125	125	125
Sucrose	68.8	68.8	18.8
Cellulose, BW200	50	50	50
Soybean oil	25	25	25
Lard	-	245	245
Mineral mix, S10026	10	10	10
DiCalcium phosphate	13	13	13
Calcium carbonate	5.5	5.5	5.5
Potassium citrate, 1 H ₂ O	16.5	16.5	16.5
Vitamin mix, V10001	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2
FD&C Blue dye #1	0.05	0.05	0.05
Aloe dietary fiber	-	-	50
Total	773.85	773.85	773.85

* ND: Normal diet, HFD: High fat diet, ADF: Aloe dietary fiber.

용액 1 mL를 각각 첨가하였다. 60분간 방치하여 분홍색이 최대로 발색된 후의 최대 흡수 파장인 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

In vivo 실험에 의한 비만 및 변비개선 효과

알로에 식이섬유 분획의 비만 및 변비개선 효과를 조사하기 위하여 흰쥐를 대상으로 다음과 같이 동물실험을 실시하였다.

실험동물: 생후 6주령 된 수컷 흰쥐(Sprague Dawley)를 효창사이언스로부터 구입하여 1주일 적응기간 후 사용하였다.

실험 식이의 조제: 동물실험에 사용한 식이는 비만 유도 및 변비유발을 위한 고지방 사료인 open source diet (D12492, Research diet, Inc. New Brunswick, USA)이었으며, 표준 식이조성(%)은 Table 1과 같다. 이 때, 실험 식이는 알로에 식이섬유를 사용하였고, 첨가 수준은 5%이었다.

사육조건 및 시험군: 실험동물은 온도 20.7-22.1°C, 상대 습도 49.9-54.2%, 환기횟수 10-15회 및 12시간(오전 8시-오후 8시) 주기의 명암(조도 200-300 Lux) 환경의 동물 사육실에서 사육하였다. 1주간 동안 적응시킨 후 wire cage에서 3-4마리씩 격리하여 일반사료 처리군, 고지방사료 처리군 및 고지방사료+식이섬유(5%) 처리군으로 나누어 다시 30일간 실험식으로 사육하였다. 이때, 각 군은 체중이 비슷한 10마리를 1군으로 하였다.

한편, 음용수는 증류수를 사용하였고, 음용수와 식이는 자유로이 섭취토록 하였다. 식이 섭취량은 주 2-3회 측정하여 일 섭취량으로 환산하였고, 체중은 실험식이 투여 개

Table 2. Antibodies used for labelling smooth muscle cells

Antibody	Source	Binding site
Anti-smooth muscle myosin heavy chain (SMMHC)	Sigma M-7786	Myosin heavy chain polypeptides of 204 and 200 kDa
Anti-smoothelin (R4A) (SM)	Santacruz Smoothelin : SC-28562	Polypeptide of c. 60 kDa (cytoskeleton-associated protein)

시 직전 및 투여 30일 후에 측정하였다.

시료의 채취: 30일간의 실험식이 사육이 끝난 실험동물은 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 가볍게 마취시켜 주사기로 복대동맥으로부터 약 5-7 mL의 혈액을 채취하였다. 이 전혈은 항응고제(heparin: Sigma H7005)가 들어 있는 micro haematocrit tube(GRAF Cat. No. 5.530-06)를 통과시킨 후, 3000 rpm(4°C)에서 10분간 원심분리하여 혈장을 분리하였고, 혈장분석의 시료로 하였다.

한편, 해부 후 간, 비장, 신장, 고환 등 장기를 절취하였으며, 적출 후 saline으로 처리하고 filter paper(Whatman No. 2)로 수분을 제거한 다음 무게를 정하였다.

또, 지방조직은 내장지방(Inguinal fat pads)을 절취하고 무게를 측정하였으며, 대장 및 간 조직은 무작위로 약 0.5-1 cm 정도를 절취하여 조직학적 소견을 확인하기 위해 10% 포르말린 용액에 고정하였으며, RNA 등의 추출용은 분석 시까지 액체질소에 동결하여 보관하였다.

조직화학적 검사: 대장과 간 조직을 절취 후 10% 포르말린 용액(dissolved in phosphate buffer pH 7.4)에 고정(48시간 이상) 후 수세과정을 거친 다음 파라핀 포매(embedding)과정을 실시하였다. 이후 microtome을 사용하여 5-7 μm 두께로 조직 절편을 만든 후 염색하였다. 염색 후 수분을 제거한 후 파라핀을 이용하여 포매과정을 거쳤다. Hematoxylin-Eosin (HE) 염색은 탈 파라핀 후 hematoxylin에 약 10분 염색한 다음 수세하고 eosin에 5분간 염색하여 실시하였으며, 염색 후 광학현미경으로 관찰하였다.

한편, 대장 질환과 관련된 단백질 발현을 조사하기 위한 immunohisto-chemistry는 탈 파라핀 후 PBST(phosphate buffered saline + Tween 20, 10X, pH 7.4)를 이용하여 peroxidase blocking하였고, 1차 antibody를 처리 후 blocking 과정을 거친 다음 2차 antibody를 처리 하였으며 수세 후 발색반응을 실시하여 수행하였다. 이 때 사용된 antibody는 Table 2와 같다.

RT-PCR: 변비 관련 전사 발현 인자의 측정을 위해 대장을 액체질소를 이용하여 분쇄한 다음 Trizol reagent (Invitrogen, USA)를 이용하여 RNA를 분리하였으며, 이후 Tong et al.(2005)의 방법에 준하여 RT(reverse transcription) 반응 수행 및 PCR 과정을 수행하였다. 검지 전사발현인자 및 이를 위해 사용한 primer는 Table 3과 같다.

Table 3. Primer sets for detecting rat Prox1, c-kit and GAPDH

	Primer (F/R)	Size (bp)
Rat Prox1	5'AAG CCA GCG GAC TCT CTA GC-3' 5'-ACA GGT CGC CAT CTT CAT CA-3'	518
Rat c-Kit	5'-ATCTGCTCTGCGTCCTGTTG-3' 5'-GTTGGGGACGAATTCAGGT-3'	491
Rat GAPDH	5'-TGT CAG CAA TGC ATC CTG CAC C-3' 5'-GAA GTC ACA GGA GAC AAC CTG GTC C-3'	420

통계처리: 본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 Sigma Stat 3.1(SYSTAT Software, Inc., Chicago, IL, USA)로 One Way ANOVA 분석하였으며, 사후검증으로 Duncan's multiple range test(SAS version 8.12)를 실시하였다.

결과 및 고찰

Aloe cellulose의 *In vitro* 생리 기능성 특성

Glucose의 흡수지연 효과: 투석막을 이용한 aloe cellulose의 glucose 흡수 지연 효과를 알아보기 위하여 투석되는 glucose의 양을 24시간 동안 경시적으로 측정하고, 그 결과를 glucose 투과율(%)의 경시 변화로서 Fig. 1에 나타내었다.

대조구의 포도당 투과율은 투석 초기 6시간까지 급격히 증가하여 약 85%에 달하였고, 이후 미미하게 증가하여 24시간 후에는 약 90%에 달하였다. 반면 알로에 첨가구는 6시간 후 약 75%에 도달하였고, 이후 서서히 증가하여 24시간 후 약 80%에 달하였다. 따라서 알로에 식이섬유는 glucose의 투과 지연효과를 나타내었는데, 이는 식이섬유가 그 구조내에 glucose를 가두어 두는 가둠효과(entraping effect)에 기인한다(Schneeman, 1987).

투석초기의 glucose retardation index(%)는 glucose의 흡수지연효과를 판단하는 지표로 사용되므로 30분, 1시간 및

2시간에서의 glucose 흡수억제지수를 구하였다. 그 결과, aloe cellulose는 투석막을 이용한 2시간 동안의 *in vitro* 포도당 흡수지연 실험에서 20.32 ± 0.02 - $35.20 \pm 0.09\%$ 흡수지연 효과를 보였으며, 이는 비교 표준품인 α -cellulose보다 포도당 흡수지연 효과가 약 2.5배 더 높은 우수한 결과이었다. 현재 시판용 식이섬유 중 수용성 식이섬유인 alginic acid, guar gum, CM-cellulose 및 citrus pectin의 투석 30분 경과 시 glucose 흡수 억제지수는 약 30% 수준이다. 따라서 알로에 식이섬유는 이들 값 범위 이상으로 매우 높은 glucose 흡수지연 효과가 있음을 보여주는 사실로 glucose의 흡수억제에 의한 항 당뇨효과가 기대된다.

그동안 알로에 껍질이나 전립(whole leaf)의 추출물에 대해서는 당뇨에 관하여 동물 및 임상시험이 있었다. Okyar et al.(2001)은 ND(non-diabetic), type I(IDDM; insulin dependent diabetes mellitus) 및 type II(NIDDM; (non-insulin dependent diabetes mellitus) 쥐를 사용하여 *A. vera*의 leaf와 gel의 추출물을 사용하여 실험한 결과, 정상 쥐에서는 혈당 수준을 낮추는 효과가 없었다고 하였다. 그러나 *A. vera*의 leaf와 gel의 추출물은 IDDM 및 NIDDM 주에서 혈당강화 활성을 보였으며, 혈당강화제인 glibenclamide와 비교하여 type II 당뇨에서 향상된 효능이 있다고 하였다. 반면, gel 추출에서는 NIDDM 주에서만 혈당강화를 보였으며, 따라서 gel이 없는 *A. vera* 잎의 pulp가 NIDDM의 치료에 유용하다고 하였다. Rajendran et al.(2007)도 *A. vera* sap으로 처리한 당뇨쥐는 체중 및 간의 glycogen을 현저히 증가시키며, 혈중 포도당, 뇨의 당 수준 및 혈중 지질을 다른 군에 비해 현저한 감소를 보인다고 하였다.

Bile acid의 흡수지연 효과: Aloe cellulose의 *in vitro*법에 의한 bile acid 흡수 지연효과를 알아보기 위하여 투석막을 통해 투석되는 bile acid의 양을 72시간 동안 경시적으로 측정하여 조사한 결과는 Fig. 2와 같다.

대조구의 bile acid 투과율은 초기 3시간까지 비교적 급격히 증가하다가 이후 72시간까지 서서히 증가하여 72시간 후에 거의 90%이상 투과하였다. 이러한 경향은 glucose 투과와 비슷하였다. 따라서 시료 첨가구의 경우는 대응하는 시간에서 bile acid의 투과를 지연시킴을 알 수 있었는데, bile acid의 흡수 지연효과를 보다 명확히 알아보기 위하여 glucose에서와 마찬가지로 투석 초기 1-2시간 사이의 bile acid 흡수 억제지수(bile acid retardation index, %)를

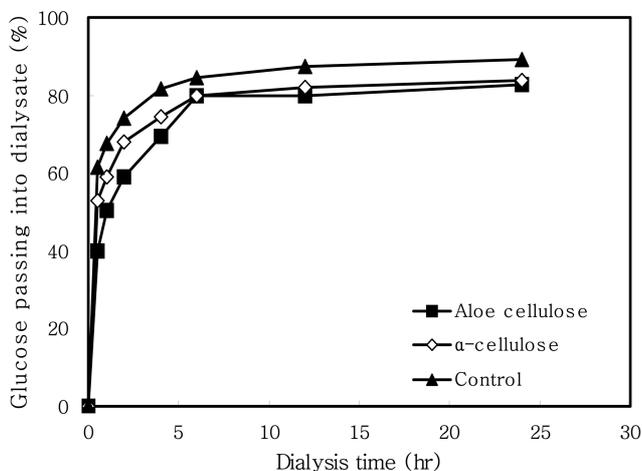


Fig. 1. Glucose movement across dialysis bag in the presence of α -cellulose and aloe cellulose.

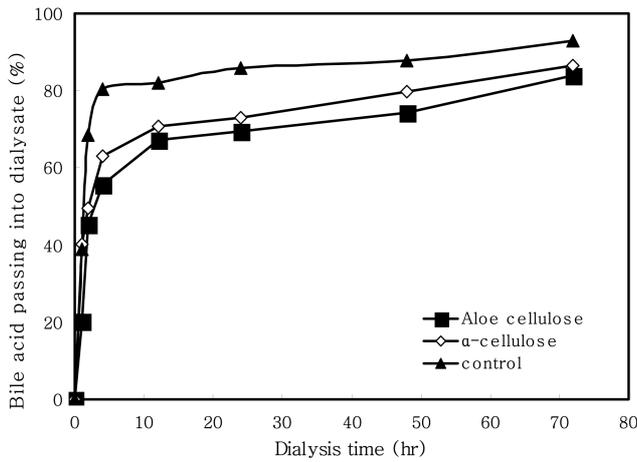


Fig. 2. Bile acid movement across dialysis bag in the presence of α-cellulose and aloe cellulose.

구하였다. 그 결과, 투석막을 이용한 2시간 동안의 *in vitro* 담즙산의 흡수지연 효과는 53.13 ± 0.20 - $28.30 \pm 0.08\%$ 로 매우 높았다.

이는 비교 표준품인 α-cellulose보다 담즙산 흡수지연효과가 최소 약 1.2배에서 최대 6배까지도 높은 값이었다. 보고된 시판용 식이섬유 중 수용성 식이섬유인 bile acid 흡수 억제지수가 citrus pectin 30.4%, guar gum 22.3%, alginic acid 17.0% 및 apple pectin 13.4%임을 고려할 때(Lee & Lee, 1996), 본 시료의 값은 월등하게 높은 값으로 bile acid 흡수 지연효과가 뛰어난 것을 알 수 있다. Story(1985)는 점질성의 식이섬유는 장에서 당 흡수를 지연시켜 혈중 인슐린값을 감소시킬 뿐만 아니라, bile acid와의 결합에 의해 유리 상태의 bile acid 함량을 감소시켜 재흡수되는 담즙산의 함량에 변화를 줌으로써 궁극적으로 지방대사에 영향을 미쳐 cholesterol 합성을 저하시킨다고 하였다. 또, Dixit & Joshi(1983)는 동물실험에서 *A. vera*의 잎 추출물이 대조구에 비해 LDL과 VLDL-cholesterol을 각각 79% 및 37.5%나 감소시키고 HDL/total cholesterol 비를 초기 수준에 비해 현저히 증가시킨다고 보고한 바 있다.

따라서 aloe cellulose의 이러한 매우 우수한 포도당 및 담즙산의 흡수지연효과는 당뇨 및 동맥경화 억제에의 효과

가 기대되는 결과로 추후 *in vivo* 검토의 필요성이 매우 높다고 판단하였다.

동물실험에 의한 항비만 및 변비개선 효과

체중 및 식이 섭취량의 변화 : 흰쥐의 체중 증가량 및 식이섭취량과 식이효율은 Table 4와 같다.

실험 전 흰쥐의 평균 체중은 실험군 간의 차이없이 265-266.7g의 비슷한 값 범위이었다. 그러나 사육 30일 후 평균 체중은 일반식이군 403.10±32.43 g, 고지방식이군이 455.43±21.10 g으로 고지방식이군에서 더 높은 체중 증가를 나타내었다.

체중 증가량은 고지방식이군이 6.29±1.06 g/day, 일반식이군이 4.55±0.96 g/day로, 체중 증가율로 환산하면 고지방식이군은 일반식이군에 비해 체중 증가율이 약 23.6% 증가하였으며, 따라서 4주간의 고지방식 공급으로 체중이 현저히 증가하고 비만이 유도됨을 알 수 있었다. 반면, 알로에 식이섬유 첨가군의 평균 체중 증가율은 6.33±0.60 g/day로 미미하지만 고지방식이군보다도 오히려 높은 편이어서 기대와는 달리, 체중 감량 효과를 보이지 않았으며, 통계적으로 유의하였다($p < 0.01$). 하지만 식이섭취량은 고지방식의 높은 칼로리에 기인하여 고지방식이군에서 일반식이군보다 섭취량이 적었으며, 따라서 식이효율은 오히려 더 높게 나타났다. 백분율로 계산한 알로에 식이섬유 첨가군의 식이효율은 약 32.75%이었으며, 이 값은 일반식이군(20.26±2.03%)보다는 높지만 고지방식이군(34.35±0.09%)보다는 다소 낮아서 알로에 식이섬유 첨가자체가 체중증가를 유발하지는 않는 것으로 생각되었다.

장기 및 지방조직의 무게 변화 : 흰쥐의 장기 무게를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다.

고지방식은 일반식이군에서보다 간, 비장, 신장 및 고환의 무게를 다소 증가시켰다. 반면, 알로에 식이섬유 첨가군의 장기 무게는 일반식이군과 비슷한 수준이었다. 고지방식에 의한 무게의 증가가 가장 큰 장기는 상대적으로 간인 것으로 나타났는데, 간의 무게는 고지방식에서 11.6±0.92 g으로 일반식이군의 9.9±1.31 g 보다 약 17% 증가되었으나 알로에 식이섬유 첨가군은 평균 10.3 g으로 일반식이군 수준을 나타내었다.

Table 4. Changes in body weight, food intake and food efficiency ratio of rats fed high fat diet containing Aloe cellulose tablet composition for 4 weeks

Groups ¹⁾	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio (%) ²⁾
ND	266.70±10.89 ³⁾	403.10±32.43	4.55±0.96 ⁴⁾	22.76±2.22 ^a	20.26±2.03 ^b
HFD	266.80±8.49	455.43±21.10	6.29±1.06 ^a	18.72±2.16 ^b	34.35±0.09 ^a
HFD+ADF	266.60±8.86	456.61±10.21	6.33±0.60 ^a	19.42±1.57 ^b	32.75±0.043 ^a

¹⁾ ND: normal diet, HFD: high fat diet, ADF: Aloe dietary fiber (5%, w/w).

²⁾ Food efficiency ratio (%) = (weight gain/food intake) × 100.

³⁾ Values are means ± SD (n=10).

⁴⁾ Values with different subscripts within the same column are significantly different at $p < 0.01$ ANOVA test by Duncan's multiple range test.

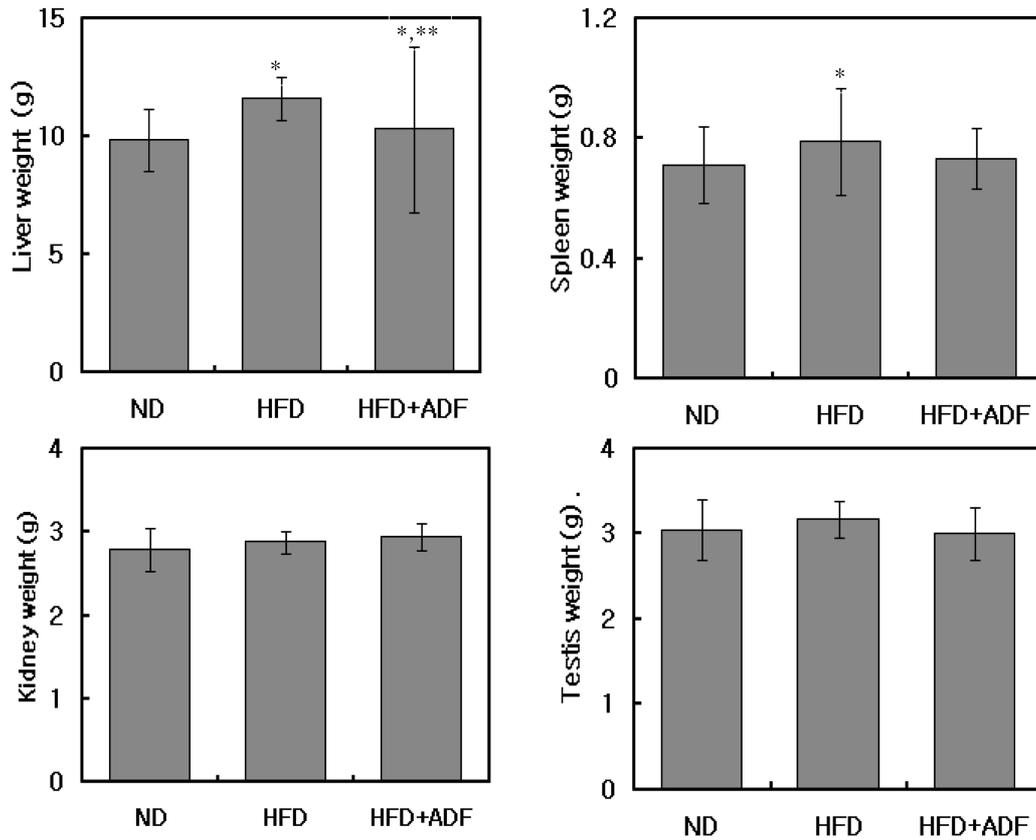


Fig. 3. Organ weight changes in rats fed high fat diet containing Aloe cellulose for 4 weeks.

* Significantly different at $p < 0.05$ compared with ND group.
 ** Significantly different at $p < 0.05$ compared with HFD group.

자료로 나타내지는 않았으나 혈액분석을 통해 간 기능의 biomarker인 AST(aspartate aminotransferase)와 ALT (alanine transaminase)를 조사한 결과에서도 이와 비슷하게 일반식이군에 비해 고지방식이군에서 미미하게 증가하고 알로에 식이섬유첨가로 다시 감소하였다. 하지만 오차범위가 비교적 크고 통계적인 유의성은 없었는데 이는 고지방식에 의해 간의 손상이나 독성이 나타나지 않았기 때문이

라 생각된다.

이러한 간 무게의 증가가 간 조직의 지방 축적과 관계되는 것으로 생각되어 간 조직 내의 지방 침착도를 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 4와 같다.

고지방식이군은 지방과립의 분포가 관찰(Fig. 4의 참조)되나 알로에 식이섬유 첨가군에서는 일반식이군과 마찬가지로 지방구의 존재를 관찰할 수 없었다. 그러므로 알로에

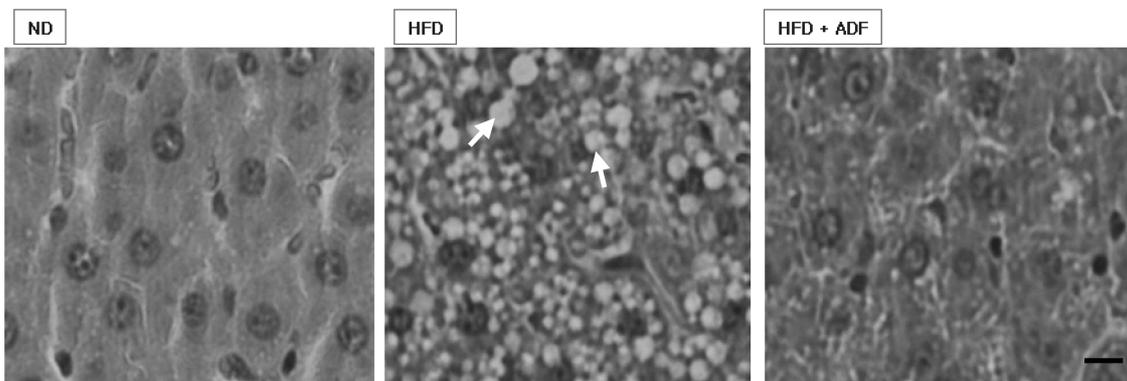


Fig. 4. Effect of Aloe cellulose supplementation on hepatic tissue morphology in rats fed high at diet.

█ : Scale bar 50 μ m

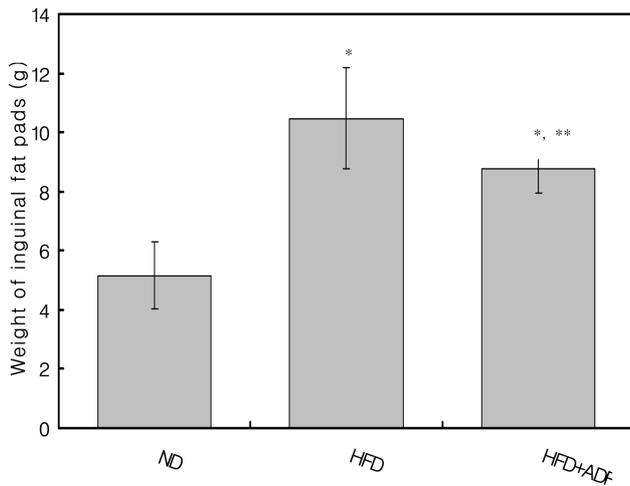


Fig. 5. Inguinal fat pad weight in rats fed high fat diet containing Aloe cellulose for 4 weeks.

* Significantly different at $p < 0.05$ compared with ND group.
 ** Significantly different at $p < 0.05$ compared with HFD group.

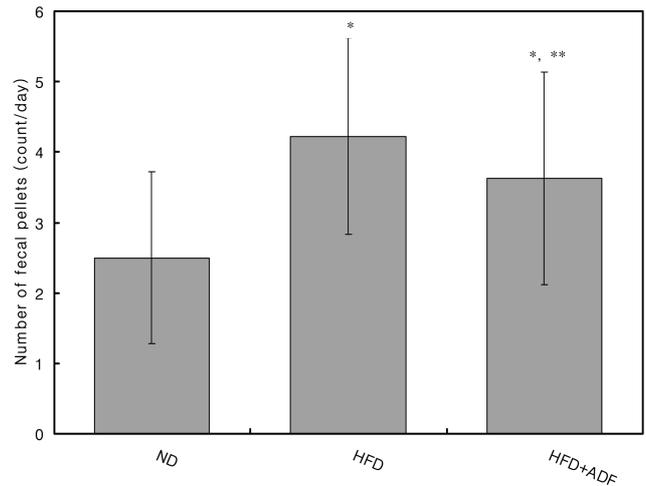


Fig. 6. Effect of Aloe cellulose on number of fecal pellets in distal colon of rat fed high fat diet.

* Significantly different at $p < 0.05$ compared with ND group.
 ** Significantly different at $p < 0.05$ compared with HFD group.

식이섬유의 첨가로 고지방식이에 따른 간 조직내 지방침착도를 크게 완화하여 지방간을 줄일 수 있을 것으로 생각되었으며, 이는 아마도 알로에 식이섬유가 다른 식이 cellulose나 biocellulose와 마찬가지로 지방의 흡수를 억제하여 간의 지방축적을 억제하기 때문이라 생각되었다 (Akiba & Matsumoto, 1977; Chau et al., 2008).

한편, 지방조직으로 내장지방(Inguinal fat pads)의 무게를 측정된 결과는 Fig. 5와 같다.

일반식이군의 내장지방 무게는 5.2 ± 1.12 g이었으나 고지방식을 섭취한 군에서는 10.2 ± 1.82 g으로 내장지방의 무게가 약 2배나 증가하는 것으로 나타났다. 하지만 고지방식에 알로에 식이섬유를 첨가한 군에서는 약 10%의 내

장지방이 감소하였으며, 통계적인 유의성($p < 0.05$)을 나타내어 알로에 식이섬유가 내장 지방의 축적을 억제하는 것으로 나타났다.

장내 변의 개수 및 통과시간 : 실험동물의 해부 전 24시간 절식시킨 다음, 실험 마지막 날에 대장 내 변의 이동이 어느 정도 이루어 졌는지를 알아보기 위해 잔류 변의 개수를 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 6과 같다.

일반 식이를 섭취한 경우 약 2.5개의 변이 대장 내에서 발견 되었으나, 고지방을 식이 한 경우는 4.2개의 변이 관찰되어, 고지방식이군에서 변이 약 1.7배나 느리게 이동하는 것으로 나타났다. 반면, 식이섬유를 섭취한 군에서는 3.6개로 식이섬유의 섭취가 변의 이동속도를 다소 빠르게

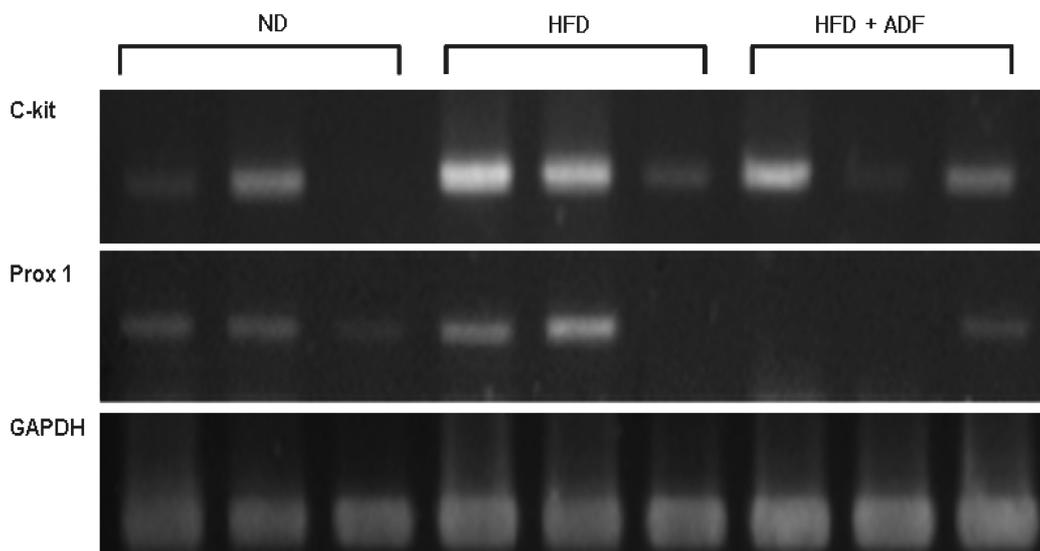


Fig. 7. Expression of C-kit and Prox1 in colonic tissue (sigmoid colon) of rat fed high fat diet containing Aloe cellulose.

하는 것으로 생각되었다. 통계적인 유의성이 없어 자료화하지는 않았으나 12시간 절식 후 10% comassie brilliant blue dye 1 g을 혼합하여 변이 푸른색으로 나오는 시간을 측정하여 구한 장 통과시간도 비슷한 경향을 나타내었으며, 일반식이군과 알로에 식이섬유 첨가군은 고지방식이군과 약 2-3배의 시차가 있었다.

변비 관련 전사 발현 인자 및 조직화학적 분석 : 장내 변의 개수 및 장 통과 시간의 결과는 알로에 식이섬유의 배변활동 개선효과를 유추하므로 이하에서는 변비관련 전사 발현인자를 조사하였다.

최근, c-kit 유전자는 변비 환자에서 발현이 감소하는 것으로 알려졌고, Prox 1 유전자는 대장암이 유발되었을 때 발현하는 유전자로 알려졌다(Tong et al., 2005; Shimoda et al., 2006; Petrova et al., 2008). 따라서, GAPDH

(glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase)를 대조로 일반식이군, 고지방식이군 및 알로에 식이섬유 첨가군의 c-kit와 Prox 1 유전자의 발현을 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 7과 같다.

각 군별로 3마리씩의 대장에서 확인한 결과로, 개체별 차이가 심하게 나타나는 것으로 확인되었다. 그러나 대체로 일반식이군 및 알로에 식이섬유 첨가군은 고지방식이군과 c-kit 유전자의 발현 정도가 낮았다. 또, 대장암 발생시 유발되는 prox-1 유전자는 고지방식이군에서는 증가하는 양상을 보이나, 알로에 식이섬유군에서는 증가하지 않는 것으로 관찰되었다.

한편, 대장질환(colorectal motility disorders)에서 평활근의 myosin heavy chain(SMMHC)과 smoothelin(SM)은 대장 상피의 이상성과 관련되는 marker로 알려져 있다

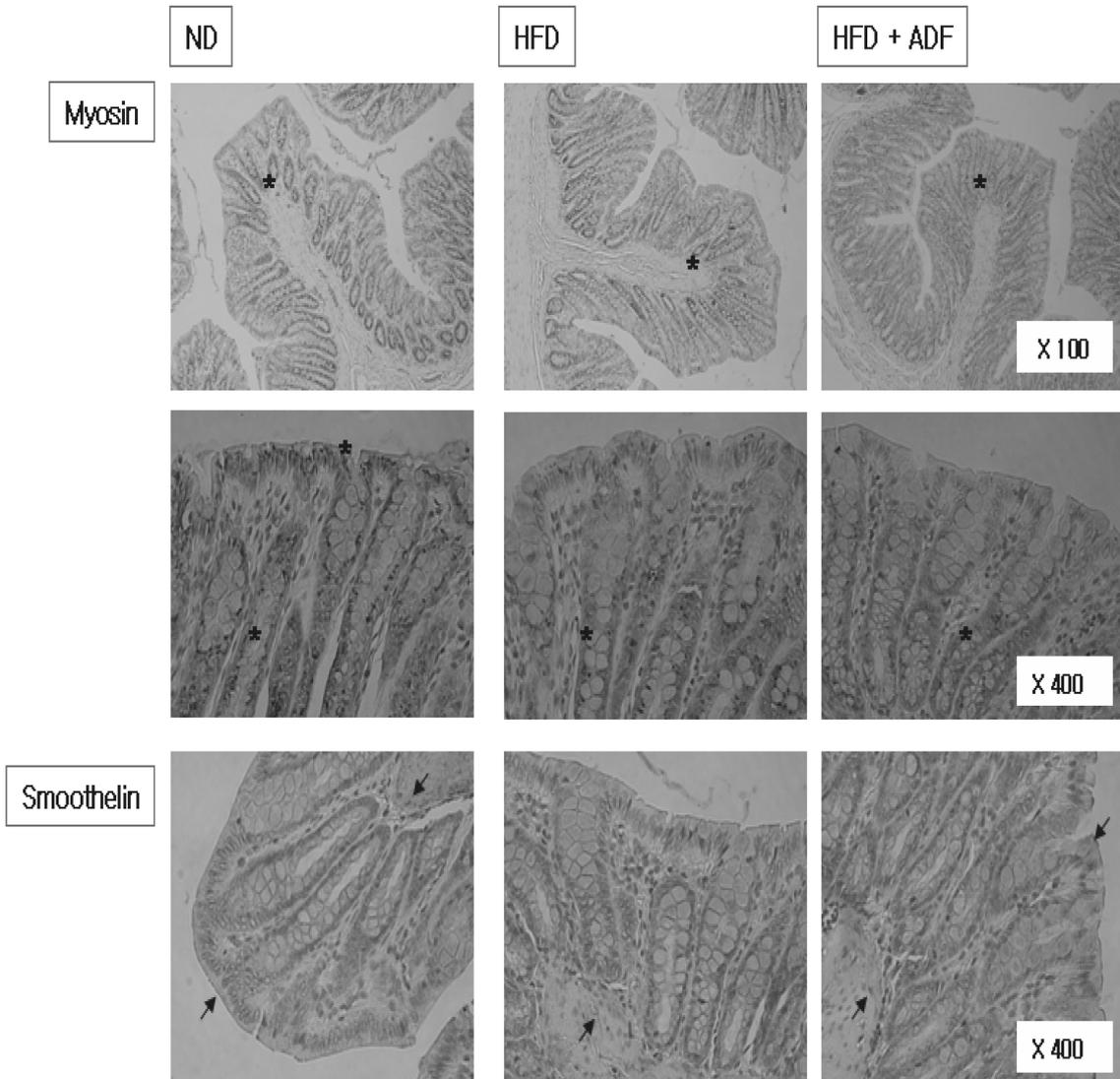


Fig. 8. Immunoreactivity of smooth muscle myosin heavy chain and smoothelin in intestinal musculature of rats fed high fat diet containing Aloe cellulose.

(Wedel et al., 2006). Wedel et al.(2006)의 보고에 의하면 이들 단백질의 면역반응성(immunoreactivity)은 변비(slow-transit constipation)에서 70% 수준이다. 따라서 이들 단백질의 발현을 대장조직검사(immunohistochemistry)하여 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 8과 같다.

Myosin의 경우 각 군간의 큰 차이를 보이지는 않았으나 식이 따른 대장 상피 내 myosin의 positive cell을 counting 한 결과, 전반적으로 고지방식이군에서는 대장 상피에서 약간 감소한 반면, 알로에 식이섬유 섭취 군에서는 약간 증가하는 경향을 나타내었다.

마찬가지로 위장관 운동성 질환의 병인과정에 포함되는 평활근 세포의 특이적 결핍을 나타내는 척도인 smoothelin 도 고지방식이군의 대장 상피 쪽에서 일반식이군보다 감소하는 경향을 나타내었다(Wedel et al., 2006). 반면, 알로에 식이섬유 첨가군에서는 약간의 발현차이는 있으나 증가하는 경향을 보였다. 발현 정도는 일반식이군 > 식이섬유첨가군 > 고지방식이군으로 이었다.

따라서 이상의 실험결과들을 종합해 볼 때 고지방식으로 유도한 식이성 비만 흰쥐에 고지방식이와 함께 알로에 식이섬유를 첨가하여 섭취시킬 경우, 비만억제의 효과는 매우 미미하였으나 변비개선의 효과가 있음을 추론할 수 있었다.

통상, 이러한 동물실험에서 식이섬유의 첨가수준은 5-20% 수준이며, 농도 의존적으로 그 효과가 증가된다. 본 실험의 경우 알로에 식이섬유의 첨가량은 최소 수준인 5%이었으므로 그 첨가량을 높여주면 더욱 향상된 결과를 얻을 것으로 기대된다.

결 론

알로에 베라의 가공 중 부산물인 알로에 섬유질을 동결 건조 분말제품을 시료로 이의 *in vitro* 실험을 통한 glucose 및 bile acid 흡수지연효과 및 실험 쥐를 이용한 *in vivo* 실험을 통한 변비개선효과를 조사함으로써 새로운 식이섬유 소재로서의 가능성을 탐색, 검토하였다.

Aloe cellulose는 투석막을 이용한 2시간 동안의 *in vitro* 포도당 및 담즙산의 흡수지연 실험에서 비교 표준품인 α -cellulose보다 포도당 흡수지연 효과는 약 2.5배 더 높고, 담즙산 흡수지연효과는 최소 약 1.2배-최대 6배까지도 높은 값을 나타내었다. 또, 고지방식으로 유도한 식이성 비만 흰쥐에 고지방식이와 함께 알로에 식이섬유를 5%(w/w) 첨가하여 4주간 섭취시킬 경우, 비만억제효과는 미미하였다. 그러나 알로에 셀룰로오스 섭취군은 장내면의 개수 증가와 변 통과시간의 단축효과를 보였고, 변비관련 전사인자의 발현 감소 및 평활근 단백질의 면역반응성을 증가시켜 변비의 개선효과가 추론됨으로써 알로에 섬유분획이 새로운 식이섬유로서의 생리기능성을 가짐을 밝혔다.

참고문헌

- Adiotomre J, Eastwood MA, Edwards CA, Brydon WG 1990. Dietary fiber; *In Vitro* methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 52: 128-134.
- Akiba Y, Matsumoto T. 1977. Effects of force-feeding and dietary cellulose on liver lipid accumulation and lipid composition of liver and plasma in growing chicks. *J. Nutr.* 108: 739-748.
- Anderson JW, Chen WJL. 1979. Plant fiber: carbohydrate and lipid metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 346-363.
- Anderson JW, Story L, Sieling B, Chen WL, Petro MS, Story J. 1984. Hypercholesterolemic effect of oat bran or bean intake for hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.* 40: 1146-1155.
- Baek JH, Lee SY. 2010. Physicochemical properties of fibrous material fraction from by-product of Aloe vera gel processing. *Food Eng. Prog.* 14:
- Boyd GS, Eastwood MA, MacLean N. 1966. Bile acids in the rat : Studies in experimental occlusion of the bile duct. *J. Lipid Res.* 7: 83-94.
- Chau CF, Yang P, Yu CM, Yen GC. 2008. Investigation on the lipid- and cholesterol-lowering abilities of biocellulose. *J. Agric. Food Chem.* 56: 2291-2295.
- Dixit VP, Joshi S. 1983. Effect of *Aloe barbadensis* and clofibrate on serum lipids in Triton-induced hyperlipemia in Presbytit monkeys. *Indian J. Med Res.* 78: 417-421.
- Jenkins DJA, Wolever TMS, Leeds AR, Gassull MA, Haisman P, Dilawari J, Goff DV, Metz GL, Alberti KGMM. 1978. Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: Importance of viscosity. *Br. Med. J.* 1: 1392-1396.
- Jenkins DJA, Goff DV, Leeds AR, Alberti KG, Wolever TMS, Gassull MA, Hockaday TDR. 1976. Unabsorbable carbohydrates and diabetes: Decreased postprandial hyperglycemia. *Lancet* 2: 172-177.
- Kay RM. 1982. Diet fiber. *J. Lipid Res.* 23: 221-242.
- Kay RM, Truswell AS. 1977. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 30: 171-174.
- Kim CS, Park JS, Nam JY, Nam JS, Cho MH, Park J, Kim DM, Ahn CW, Cha BS, Lim SK, Kim KR, Lee HC. 2004. Effect of glucomannan on glucose and lipid metabolism in elderly type II diabetic subjects. *Korean J. Clin Geri.* 5: 433-441.
- Koseki M, Tsuji K, Kazama M, Kitabatake N, Dot E. 1990. Interaction between dietary cholesterol or fatty acids and water-soluble fibers and increase in cholesterol excretion by pectin in rats. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 37: 559-564.
- Krotkiewski M. 1987. Effect of guar gum on the arterial blood pressure. *Acta Med. Scand.* 222: 43-49.
- Lee KS, Lee SR. 1996. Retarding effect of dietary fibers on the glucose and bile acid movement across a dialysis membrane *in Vitro*. *J. Kor. Nutri. Soc.* 29: 738-746.
- Mitchell JR. 1986. Foaming and emulsifying properties of proteins. In: *Development in Food Proteins-4*. Hudson BJB (ed). Elsevier Applied Science Publisher, New York, USA, pp. 326-330.
- Okyar A, Can A, Akev N, Baktir G, Sütülpinar N. 2001. Effect of *Aloe vera* leaves on blood glucose level in type I and type II diabetic rat models. *Phytotherapy Res.* 15: 157-161.
- Prosky L, Asp NG, Schweizer TF, Devries JW, Furda I. 1988.

- Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: Interlaboratory Study. *J. AOAC*. 71: 1017-1023.
- Rajendran A, Narayanan V, Gnanavel I. 2007. Evaluation of therapeutic efficacy of *Aloe vera* sap in diabetes and treating wounds and inflammation in animals. *J. Appl. Sci. Res.* 3: 1434-1436.
- Saltzman E, Moriguti JC, Das SK, Corrales A, Fuss P, Greenberg AS, Roberts SB. 2001. Effects of a cereal rich in soluble fiber on body composition and dietary compliance during consumption of a hypocaloric diet. *J. Am. Coll. Nutr.* 20: 50-57.
- Schneeman BO. 1987. Soluble vs. insoluble fiber - Different physiological responses. *Food Technol.* 41: 81-82.
- Schneeman BO. 1986. Dietary fiber: Physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. *Food Technol.* 40: 104-110.
- Shimoda M, Takahashi M, Yoshimoto T, Kono T, Ikai I, Kubo H. 2006. A homeobox protein, *prox1*, is involved in the differentiation, proliferation, and prognosis in hepatocellular carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 12: 6005-6011.
- Story JA. 1985. Dietary fiber and lipid metabolism. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 180: 447-452.
- Tong WD, Liu BH, Zhang LY, Xiong RP, Liu P, Zhang SB. 2005. Expression of c-kit messenger ribonucleic acid and c-kit protein in sigmoid colon of patients with slow transit constipation. *Int. J. Colorectal Dis.* 20: 363-367.
- Torsdottir I, Alpsten M, Holm G, Sandberg AS, Tolli J. 1990. A small dose of soluble alginate - Fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes. *Am. J. Nutr.* 795-799.
- Van Horn NV, Parker DJ, Emidy L, Stammer J. 1986. Serum lipid response to oat product intake with a fat modified diet. *J. Am. Diet. Assoc.* 86: 759-764.
- Wedel T, van Eys GJJM, Waltregny D, Glenisson W, Castronovo V, Vanderwindens JM. 2006. Novel smooth muscle markers reveal abnormalities of the intestinal musculature in severe colorectal motility disorders. *Neurogastroenterol Motil.* 18: 526-538.
- White CA, Kennedy JF. 1981. Manual and automated spectrophotometric techniques for the detection and assay of carbohydrates and related molecules. In: *Techniques in Carbohydrate Metabolism*. Kornberg HL, Metcalf JC, Northcote DH, Pogson CI, Tipton KF (ed.). Elsevier, New York, USA, pp. 1-64.
- Yoon JW, Kim CJ, Park CY, McArthur RG. 1987. Effect of environmental factors on development of insulin dependent diabetes mellitus. *Clin. Invest. Med.* 10: 459-464.