

한국산 고사리의 독성조사에 관한 연구

서화중 · 이명렬

조선대학교 식품영양학과

A Toxicological Study of Young Fronds of Bracken Fern (*Pteridium aquilinum* var *latiusculum*) Collected in Kwang Ju Area.

Sheo Hwa Joong · Lee Myung Yul

Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Kwangju, 501-759, Korea

Abstract

The results of toxicity test using mice and rats for ethanol extract of Bracken Fern collected in Kwang Ju area were shown as follows :

Up to the dose of 10g per kg of mice administered intraperitoneally there was no lethal toxicity so that it was impossible to calculate the median lethal dose (LD₅₀).

For the first 7 days experiment all rats administered frond extract grouping in 40mg, 400mg, and 1200mg per kg of rat as the daily oral doses did not show any characterized sign in the weight gain rate, anatomical findings, and biochemical studies. For 3 weeks following the first week the weight gain rates of all test group were reduced to 4.2~7% below the weight gain rate of control.

In this period serum GPT, GOT, and Alkaline phosphatase value were increased significantly indicating the symptoms of Bracken Fern poisonings. The pathological findings of all test groups for 28 days showed acute and chronic intestinal lesion and liver damage with steatosis especially in 1200g/kg rat groups. In this experiment the Bracken poisonings appeared slowly in rats of 400mg/kg and 1200mg/kg for two weeks and in rats of 40mg/kg for 3 weeks, showing the symptoms of lowering of weight gain rate, subacute hepatitis, hepatic steatosis and enteritis in 28 days experiment.

서 론

고사리(Bracken Fern, *Pteridium aquilinum* var *latiusculum*¹⁾)가 가축에 중독을 일으키고 중독의 원인이 한때는 antithiamine factor^{2,3,4,5)}라 하였으나 그 후 Wang⁷⁾, Evans⁸⁾, Hirono⁹⁾, Takatori¹⁰⁾, Yoshihira¹¹⁾ 등의 연구보고에서 고사리는 실험동물에 발

암효과가 있다는 사실을 찾아볼 수 있다. 우리나라 사람들과 대부분의 동양인들은 고사리를 일반야채 식품으로 섭취하고 있지만 그에 따른 별다른 중독 사례나 중독에 관한 임상보고를 찾을 수 없다. 그것은 가끔 소량씩 섭취하기 때문일 것이다. 그러나 고사리를 장기간 또는 다량 섭취할 때 독성이 유발될 수 있다는 것은 그간 다수의 보고에서 논의되고 있

“이 논문은 1988년도 문교부 학술연구 조성비에 의하여 연구되었음”

으며 동의보감¹²⁾이나 명대의 본초강목¹³⁾에 蕨은 甘寒滑無毒하나 久食令人目暗 鼻寒 髮落 又冷氣人食多腹腸 小兒食之 脚弱不能行 久食成癩이니 久食食多로 蓄積되어 아급성 혹은 만성독성을 시사한다. 그러므로 저자는 고사리를 일단 주의해야할 식품으로 생각하고 고사리에 대한 안정성평가의 필요성을 느꼈다. 안전성평가에서는 실험동물에 대한 시료의 농도별 투여기간별 사용동물별 반응(toxic effect)이 정량적으로 검색되어야 하는데 고사리에 대한 이러한 방향의 연구가 거의 미진함이 보인다. 그래서 저자는 무등산에서 채집한 고사리를 mouse와 rat에 대한 식품의 안정성평가에 준한 독성실험을 실시하고 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

실험재료 : 4월에 채집한 어린고사리를 5분 삶은 직후 통풍건조후 70°C 건조기 내에서 완전 건조한다.

일반성분 분석 : 건고사리의 수분, 조단백질, 조지방, 당질, 조섬유, 회분, extract량을 상법¹⁴⁾으로 측정하였다.

시료 extract 추출

추출용매 : 95% ethanol을 사용했다. 본용매는 독성실험에서 용매의 영향을 배제하고 용매의 polarity를 증대시켜 가능한 모든 성분을 추출케 하고 추출액의 변질을 방지할 수 있었다.

추출 : 조말재료 100g당 1회 용매 1ℓ를 사용 5회 반복추출하여 감압농축후 박막으로 도말하여 진공 건조했다.

Mouse에 대한 급성독(LD₅₀)조사

체중 19~23g mouse 5필을 1군으로 하고 mouse kg당 Extract 투여량이 1, 2, ..., 10g인 10개군에 대하여 1필당 20mg/0.2cc, 40mg/0.2cc...200mg/0.2cc씩을 복강내 주사하여 24시간내 죽는 마리수로부터 Behrens-Käber¹⁵⁾법으로 LD₅₀을 산출한다.

Rat에 대한 독성조사

실험직전에 평균체중 약 126~141(132)g인 암컷 Wistar 중 rat 1군을 20필로 한 3개실험군과 1개대조군을 만들고 실험군의 시료투여량은 rat kg당 40mg, 400mg, 1200mg(이하 A, B, C군으로 명명함)씩이다.

이 투여량은 평균체중 132g, 섭취량 15.2g인 rat 먹이에 생고사리로 환산하여 1%, 10%, 30%의 배합량과 같다. Table 1은 시험군의 시료투여량과 농도를 표시한다.

Table 1과 같이 실험군별 3종의 시료농도액을 만들고 oral zonde를 부착한 1회용 주사기로 1일 1필당 시료액의 경구투여량은 0.1~0.2cc범위내로 28일간 계속 투여하였다. 대조군은 Saline을 투여했다. 투여중 7일마다 전 rat의 체중을 달고 각군에서 뽑은 5필의 표본 rat의 외관을 관찰후 Ether마취 즉시 경동맥 채혈하였다. 해부하여 장기를 관찰하고 조직검사용으로 위, 췌장, 소장, 간장, 비장, 신장, 대퇴골을 떼어내어 10% formalin에 고정시켰다.

혈액의 생화학적 검사

원심분리한 혈청의 GPT, GOP는 Reitman-Frankel법, blood urea nitrogen은 Urease효소법, alkaline phosphatase는 Kind King 변법으로 측정하였다.

Table 1. Dose of frond Ex in experimental groups

Daily dose Ex mg/kg. rat per oral	Calculated raw frond % in rat diet(15.2g)	Concentration of Ex mg/cc
40	1	50
400	10	500
1,200	30	1000

장기의 조직검사

10% formalin으로 고정시킨 장기를 탈수후 paraffin section의 표본을 hematoxylin-eosin staining후 microscoping하였다.

결과 및 고찰

일반성분

건재료와 extract를 분석한 결과는 Table 2 및 3과 같다.

95% ethanol extract 36.3%는 물 extract 37.1%와 비슷한 추출효과이고 무수 ethanol extract 29.4%와는 차이를 보였다. Table 3의 기타성분중에는 고사리의 활성성분¹⁸⁾이 포함되어 있는 것 같다.

Mouse에 대한 급성독

Table 3에서 시료를 복강내 주사하고 관찰하니 4g/kg군과 5g/kg군에서 24시간내에 1필씩 죽고 7g

/kg에서 4일만에 1필이 죽을 뿐이었다. 나머지는 계속 생존하여 10g/kg까지는 치사량(LD₅₀)을 나타내지 않았다. 따라서 acute lethality을 내는 양은 매우 높을 것 같다. 이와같이 급성독을 나타내지 않으므로 고사리를 옛부터 식용해 왔으나 식중독의 사례는 없는 것 같다. 이는 본초강목¹³⁾에서 고사리氣味는 甘寒滑無毒의 내용과 일치한다. 일반적으로 carcinogens는 acute toxic effect를 갖는것 보다는 이의 계속적인 섭취나 접촉에 의한 자극의 축적이 발암성을 갖는것으로 알려져있다.¹⁹⁾ 따라서 고사리는 섭취기간이 발암성의 중요한 영향인자 같으므로 체내 만성적으로 toxic level에 이르는 섭취량과 섭취기간을 아는것이 중요한 것 같다.

Rat의 체중

Table 5에서 실험개시일에 측정된 rat체중과 1일 사료 섭취량으로부터 전 rat의 평균체중은 132g이고 사료섭취량은 15.2g/rat a day이었다.

Table 2. Analytical value of young frond (boiled and dried) (%)

Moisture	Crude protein	Crude fat	Carbo-hydrate	Crude fiber	Ash	Others	95% Ethanol Ex	Absolute ethanol Ex	Water Ex
2.7	19.8	2.9	25.8	31.7	7.9	8.8	36.3	29.4	37.1

Table 3. Analytical value of frond Ex (95% Ethanol EX) (%)

Moisture	Crude protein	Crude fat	Carbo-hydrate	Ash	Others
-	18.0	6.9	46.1	8.5	20.6

Table 4. Raw data of acute toxicity in mice(IP)

Exg/kgmouse	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lethality No/5	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0

Table 5. Initial rat weight and amount of diet ingested by preexperimental rats(g)

group	A(40mg/kg)	B(400mg/kg)	C(1200mg/kg)	Control
I	140±0.15	134.5±0.5	123 ±0.7	120 ±0.6
II	136.3±1.2	145 ±0.8	128.3±1.4	136 ±0.17
III	129.6±0.3	138 ±0.1	134.1±0.3	123 ±0.7
IV	125.3±0.11	149.3±0.2	127 ±0.3	126 ±0.6
M±SD	132.8±0.44	141.7±0.4	128.1±0.6	126.3±0.51
Daily diet/a rat	15.9±0.57	16.3±0.23	15±0.12	13.7±0.5

Table 6. Weight gains of rats for 7days experiment(g)

group	A	B	C	Control
I	151.6±0.27	140.3±1.0	129.5±0.6	133.5±0.32
II	146.3±1.21	158.3±2.1	141 ±3.2	153.8±0.02
III	143.6±0.82	157 ±0.3	147 ±0.05	140 ±1.4
IV	145.6±0.03	167.5±0.01	141.2±0.4	138 ±0.07
M±SE	146.7±0.4	160 ±0.7	139.6±0.13 ^{a)}	141.3±0.15
Increase(%)	10.6	9.6	9.0	11.8

a) : p<0.05

Table 7. Weight gains of rats for 14days experiment(g)

group	A	B	C	Control
II	150.3±0.19	166.7±0.01	150.4±0.27	169.3±0.35
III	156 ±1.3	166 ±2.1	158 +1.3	163 ±0.02
IV	156 ±0.7	181 ±0.3	150 ±0.08	158 ±0.15
M±SE	146.7±1.6 ^{a)}	160.2±0.2 ^{a)}	139.6±0.5 ^{b)}	141.3±1.2
Increase(%)	6.1	6.3	6.7	13.6

b) : p<0.01

시료투여에 따른 rat체중변화와 anatomy

처음 7일째 : Table 6에서 시료투여군의 1주간의 체중증가율은 10.6~9.0%로서 대조군의 11.8%와 비교시 별 차이를 볼 수 없다. 대부분의 시료투여군이 사료섭취량, activity, 구강점막 색상등에서 별 이상이 없었다. 각군의 표본 rat를 ether 마취, 채혈하고 해부하여 간, 위, 췌장, 신장, 비장을 관찰하니 모두 병변을 발견할 수 없었다.

14일째 : C군 일부 rat의 활동이 경미하게 둔화된것외에는 다른 변화는 없었다. Table 7과 같이 2주간의 시료투여군 체중증가율은 6.1~6.7%로서

대조군의 13.6%보다 약 7.1% 감소되었다. 표본 rat의 해부에서도 별 특징은 없었다.

21일째 : Table 8에서 대조군의 체중증가율 11.2%와 비교한 B군과 C군의 체중증가율이 각각 4.5, 5.5%로 2주째 보다 더 낮아졌다. C군의 대부분 rat의 활동이 약간 둔화되었다. 표본 rat를 해부하니 C군 1필의 liver와 kidney가 약간 황갈색이고 황색뇨를 보였다. 이 황색뇨는 Yoshihira가 보고한 고사리중독에 의한 hematuria¹¹⁾와 같은 증세이고 점막출혈은 없었다.

Table 8. Weight gains of rats for 21days experiment(g)

group	A	B	C	Control
III	169.6± 0.2	172 ± 0.3	165 ± 1.3	181 ± 0.2
IV	166 ± 0.05	190.8± 0.27	160 ± 1.8	176 ± 1.4
M± SE	167.8± 1.2 ^{a)}	181.4± 0.05 ^{b)}	162.5± 0.9 ^{b)}	178.6± 0.07
Increase(%)	7.5	4.5	5.5	11.2

Table 9. Weight gains of rats for 28days experiment(g)

group	A	B	C	Control
IV	181.8± 0.7 ^{a)}	203.3± 0.05 ^{b)}	167.2± 0.3 ^{b)}	195± 0.55
M± SE				
Increase(%)	9.5	6.5	4.5	10.7

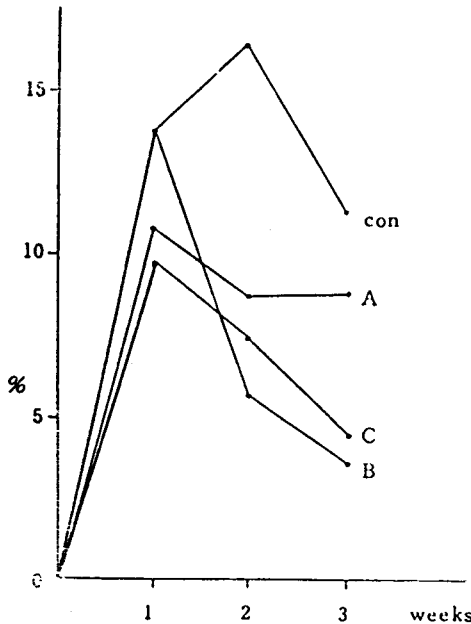


Fig. 1 Weekly increase rate of body weight for 21 days (III)

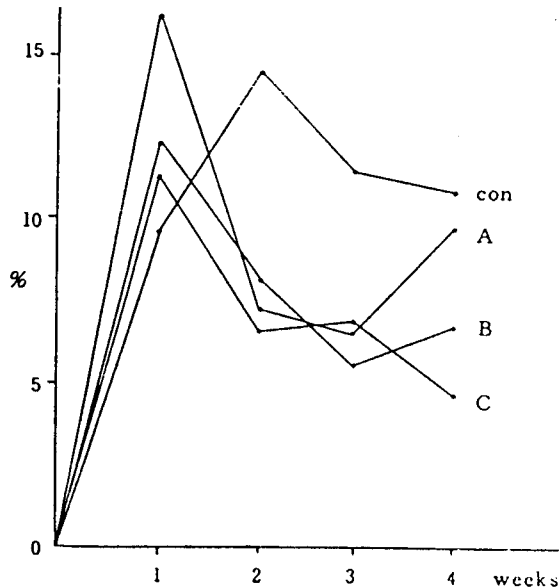


Fig. 2 Weekly increase rate of body weight for 28 days (IV)

28일째 : Table 9에서 시료투여 완료직후 대조군의 체중증가를 10.7%에 비교한 A군은 9.5%로 별 차이가 없으나 B군과 C군의 증가율이 각각 6.5%와 4.5%를 보여 C군에서 시료투여의 영향이 큰것 같다. C군과 B군 일부 rat의 활동이 둔화되고 사료섭취량이 약간 감소되었다. 해부결과 B군 1필과 C군 2필의 간과 신장이 황갈색이고 황색뇨를 보였다. 간 변색을 보인 C군 2필이 소장애 고사리중독으로 보고

¹⁾된바 있는 염증성 변화를 보였다. 곧이어 조직검 사용으로 간, 위, 소장, 비장, 신장, 대퇴골을 떼어내어 10% formalin에 고정시켰다.

다음 Fig. 1과 2는 시료를 21일간 (III) 및 28일간 (IV)투여한 rat에 대한 7일간격의 체중변화율이다. Fig. 1과 2는 상호 비슷한 pattern이고 4주째 A군은 회복세를 보였다.

Rat 혈액의 생화학적 검사결과

GPT : Fig 3에서 1. 2차 대조군의 64~68u에 비교한 C군이 84~82u로 약간 상승하고 기타는 대조군과 비슷했다. 3. 4차에서 투여군들이 유의적인 증가로 88~116u로 증가하는 경향이였다.

GOT : Fig 4에서 1차의 대조군 118u는 인간의 정상치 40u보다는 높고 투여군 모두 대조군과 비슷한 121~131u이었다. 전 기간 대조군은 125u 이하이나 실험군은 2차부터 점증하여 C군이 2, 3, 4차 각각 164, 200, 215u고 B군이 2, 3, 4차 각각 146, 186, 207u로 증가됐다. A군은 최고 164u를 초과하지 않는다.

2차부터 GOT 증가와 3차부터 GPT의 증가는 체중

및 해부 소견과 일치하고 2주부터 간에 고사리증독의 영향이 서서히 나타남을 알수 있다. 그러나 급성간증독이나 급성간염에서보는 것과 같은 GPT나 GOT의 급상승은 없었다. 특히 간특이성인 GPT가 GOT보다 낮은 것은 고사리 독성은 subacute toxicity type¹⁷로 진행되어 mouse에서 급성독이 나타나지 않는것과 관련이 있는 것 같다. 또 고사리 독성을 유발하는 일차 target organ¹¹이 liver가 아닌것 같다.

Blood urea-N : Fig 5에서 1차의 대조군과 실험군 모두 15~20mg/dl인 정상치이고 2~4차도 C군을 제외하고 거의 모두 정상이었다.

Alkaline phosphatase : Fig 6에서 전기간에 대조

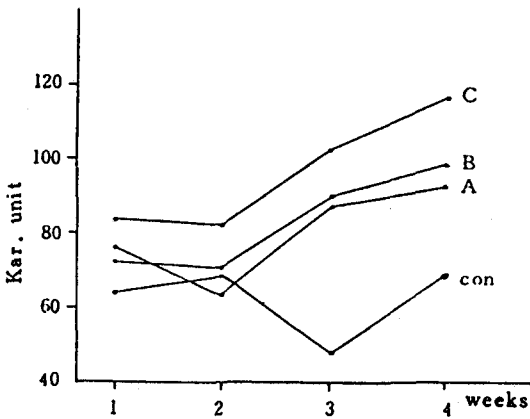


Fig. 3 GPT activity

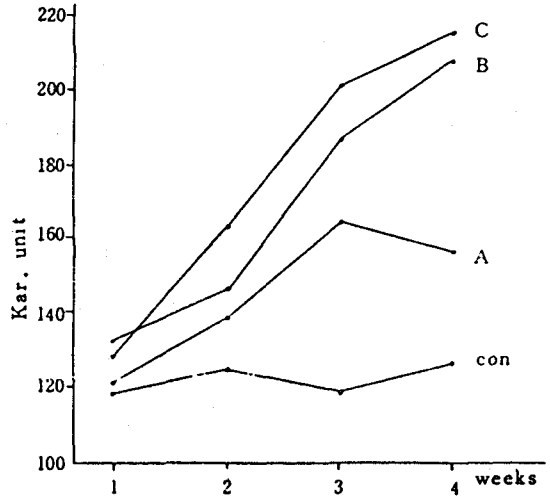


Fig. 4 GOT activity

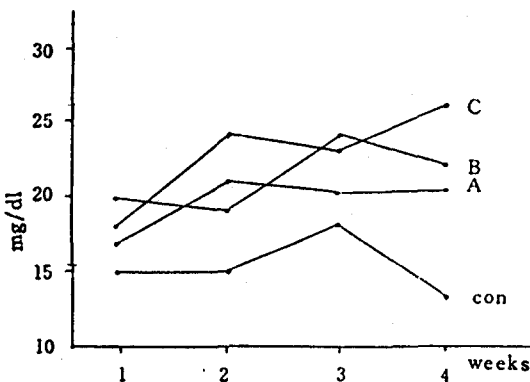


Fig. 5 Blood urea-N

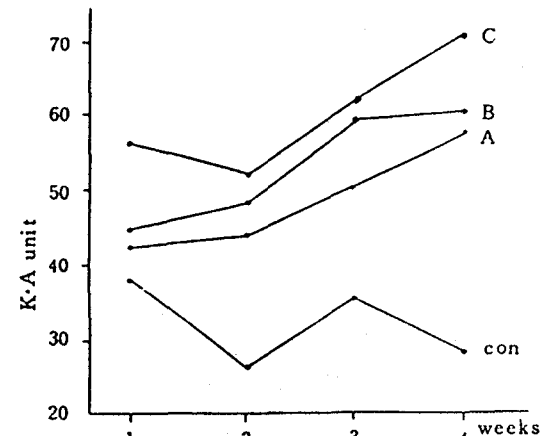


Fig. 6 Alkaline phosphatase activity

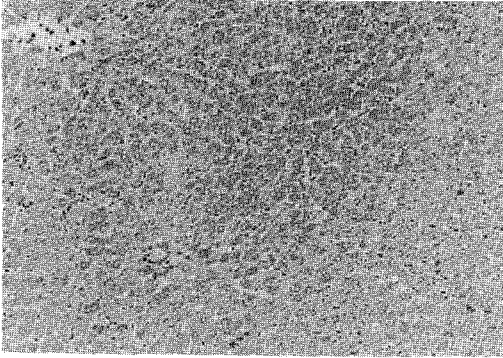


Fig. 7 normal liver H & E, 200×
Surrounding the hepatic veins the regular arrangement resembling cords and correspondingly the sinusodal network radiates out far a short distance into the perivenular area.

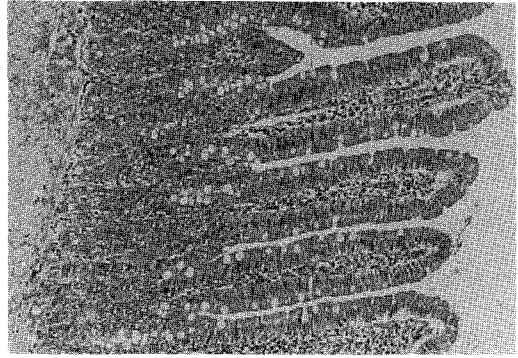


Fig. 8 normal intestinal mucosa H & E 200×
The villi are delicate and tall, but not distorted. The cellular infiltrate in the lamina propria is normal

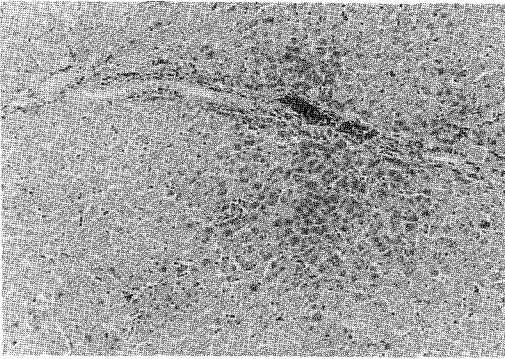


Fig. 9 A group liver H & E 100×
Proliferation of interlobular bile ducts was noted in the portal area. There is slightly fibrotic change and regenerative parenchymal tissue in the periductular region

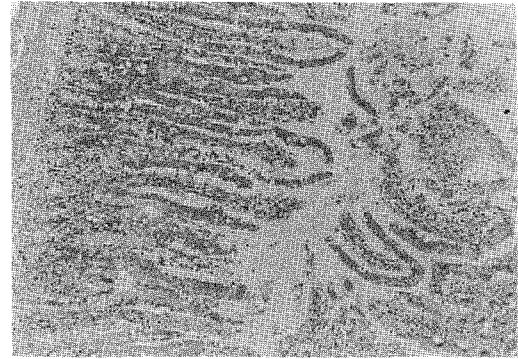


Fig. 10 Small intestine, A group. H & E. 100×
Partial villous atrophy and discontinuation with moderate infiltration of inflammatory cells in villi and lamina propria.

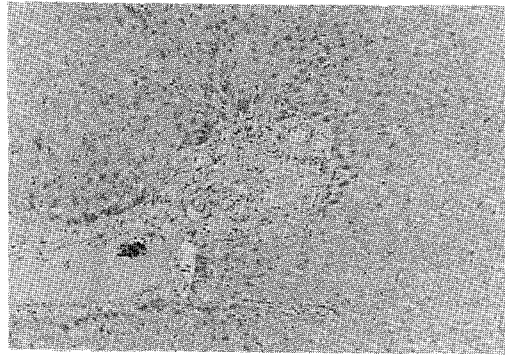


Fig. 11 B group liver H & E 100×
Increased number of proliferative bile ducts in periportal area. A few lymphocytes were infiltraton in the hepatic parenchyme.

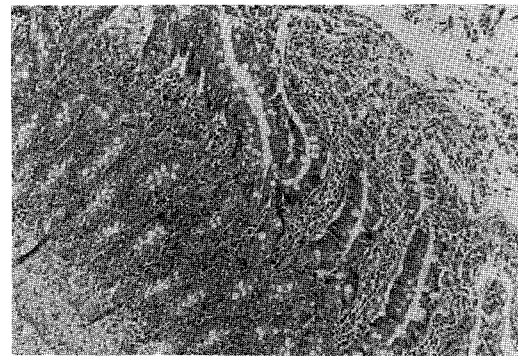


Fig. 12 Small intestine B group H & E, 150×
The villi are partial ablated and surface epithelium inflamed and ulcerated.

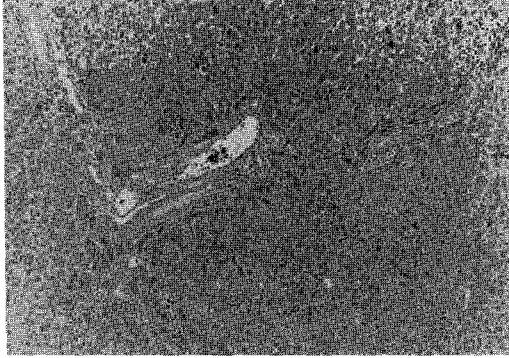


Fig. 13 C group liver H & E, 100×(A)

More extensive ductular proliferation, lobular disarray and interlobular acute and chronic inflammatory cells in groups about parenchymal cells with steatosis (fatty change) or mild necrosis.

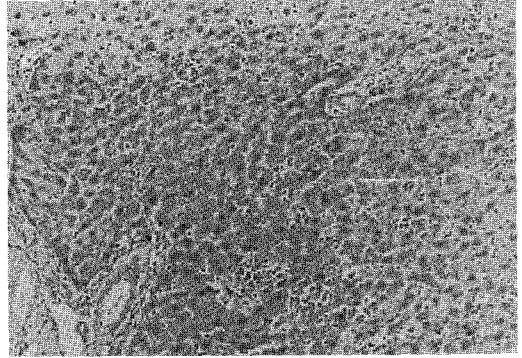


Fig. 14 C group liver H & E 200×(B)

steatosis and mild necrosis in parenchyme

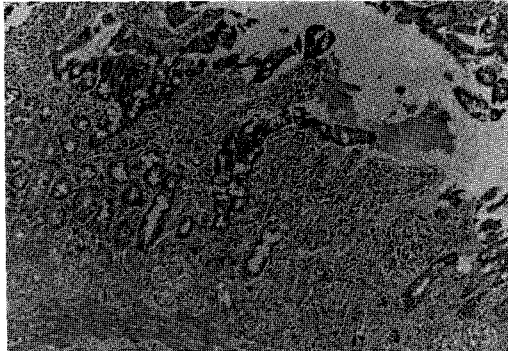


Fig. 15 C group liver H & E 100×(C)

microsteatosis and necrosis of hepatocytes. Swelling of liver cells which are filled many tiny fat droplets that do not displace nucleus.

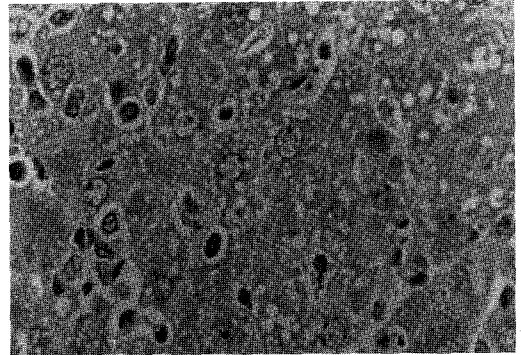


Fig. 16 S mall intestine C group H & E 200×

The villi are absent and the mucosa, which is flat surfaced, chiefly consists of cellula lamina propria with heavy infiltration of lymphocytes and plasma cells. Loss of individual cell boundaries and nuclear atypism are regarded as epithelial dysplasia.

군의 32u에 비교한 1~4차 투여군이 43~70u로 근사한 증가였다.

장기의 조직검사 결과

Table 10과 같이 28일간 시료투여한 B군과 C군 일부 rat의 소장과 간에 중독성 병변을 보였고, 그중 소장에 미치는 영향이 더 큰것으로 보였다.

고사리 섭취의 안정성

본연구에서 고사리는 급성독을 내지는 않으나 고사리 extract 40mg/kg, rat day (생고사리 1%)가 1개월내 중독의 징후를 보이므로 사람도 양의 대소에 관계없이 장기간 섭취할 때 중독발생을 의심치 않는다.²⁰⁾ 따라서 안전한 섭취량을 정하기 어렵다.

Table 10. The pathological findings of the rats in the 4weeks experimental groups

Ex mg/kg	No of rat	occurrence	Site	Sign
40	1		Liver	Proliferation of interlobular bile ducts in the portal area. slightly fibrotic change and regenerative parenchymal tissue in the periductular region (Fig. 9)
40	1		Small intestine	Partial villous atrophy with moderate infiltration of inflammatory cells in villi and lamina propria (Fig. 10)
400	1		Liver	Increased number of proliferative bile ducts in periportal area A few lymphocytes infiltration in the hepatic parenchyme (Fig. 11)
400	2		Small intestine	Partial ablated villi and surface epithelium inflamed and ulcerated (Fig. 12)
1,200	2		Liver	More extensive ductular proliferation. lobular disarray and interlobular acute and chronic inflammatory cells in groups about parenchymal cells with steatosis(fatty change) or mild necrosis (Fig. 13, 14, 15)
1,200	3		Small intestine	The villi are absent, and the mucosa, which is flat surfaced, chiefly consists of cellular lamina propria with heavy infiltration of lymphocytes and plasma cells. Loss of individual cell boundaries and nuclear atypism are regarded as epithelial dysplasia (Fig. 16)

요 약

고사리의 ethanol extract를 독성실험한 결과는 mouse에 시료 10g/kg까지는 급성독(LD₅₀)을 나타 내지 않았다.

Rat에 매일 시료 40mg/kg, 400mg/kg, 1200mg/kg을 경구투여한 처음 7일간에는 체중, 해부소견, 혈액의 생화학적 검사에서 별이상이 없었다.

14일째 전시료투여군의 체중증가율은 대조군보다 평균 약 7% 감소를 보이고 혈청의 생화학적 측정치가 대부분 약간 증가하였다.

21일째 400mg/kg군과 1200mg/kg군의 체중증가율이 대조군보다 6.7~5.7% 감소되고 1200mg/kg군 1필이 황색간증세를 보였다.

모든 시험군 GPT 및 GOT는 각각 88~102u와 164~200u로 증가되고 alkaline phosphatase도 상승하여 중독의 징후를 보였다.

28일째 400mg/kg군과 1200mg/kg군의 체중증가율이 대조군보다 감소되고 이들군에서 각각 1~2필이 황색간을 보였다.

1200mg/kg군 2필이 소장염을 보였다. 모든 시험

군은 GPT 92~116u와 GOT 56~215u 및 alkaline phosphatase 57~70u로 증가 되었다.

조직의 병리학적 검사소견

4주간의 시료투여로 40mg/kg군 2필이 간실질 조직과 소장염에 가벼운 염증을 보였다. 400mg/kg군 2필이 장염과 ulcer를 보이고 그중 1필은 간담관증식과 간실질조직에 소량 임파구의 침윤을 보였다. 1200mg군 2필의 간에서 급만성염증세포가 실질조직에 집단으로 나타나고 장점막에 임파구와 plasma-cell의 심한 침윤과 Villi의 탈락 그리고 상피세포 핵의 이형증을 보였다. 따라서 고사리를 매일 400 mg/kg, 1200mg/kg을 투여한 시험군은 2주부터, 40 mg/kg투여군은 3주부터 서서히 중독징후를 보이고 그 영향의 크기는 시료의 투여량에 비례하였다.

문 헌

1. 이창복 : 대한식물도감, 향문사, 14(1982)
2. Osebold, J. W : An approach to the pathogenesis of fern poisoning in the bovine species.

- J. Amer. Vet. Med. Ass.* 199, 440(1951)
3. Agriculture, Forestry and Fishery Research council secretariat, ministry of Agriculture and Forestry, Japan. Research Rev, No. 70. "Studies on the Bovine panmyelolitis in Japanese Meadow"(1973)
 4. Evans. W. C : Studies on the biochemistry of pasture plants, the effects of the inclusion of Bracken in the Diet of rats and the problem of Bracken poisoning in farm animals. *Brit. Vet. J.*, 105, 175(1949)
 5. Perkins. L. E : Experiments on Bracken Poisoning. *Brit. Vet.*, 106, 377(1950)
 6. Shearer G. D : Some observations on the poisonous properties of Bracken(*pteris aquilina*) *J. comp. pathol.* 55, 301(1945)
 7. Wang. C. Y, Pamukcu. A. M : Identification of Carcinogenic Tannin isolated from Bracken Fern, *J. Natl., Cancer Inst.*, 56, 33(1976)
 8. Evans. I. A. and Osman. M. A : Carcinogenicity of Bracken and shikimicacid, *Nature.* 250, 348(1974)
 9. Hirono. I., Fushimi, K. : Studies on Carcinogenic properties of Bracken. *pteridium Aquilinum.* *Natl. cancer. Inst.* 45, 179(1970)
 10. Takatori. K. : Pterolactam, a new compound. isolated from Bracken. *chem. pharm. Bull.*, 20 (5). 1087(1972)
 11. Yoshihira, K : Chemical and toxicological studies on Bracken Fern. I, *chem. pharm. Bull.*, 26(8). 2346(1978)
 12. 허준원저 : 중보 동의보감, 남산당, 1175(1981)
 13. 이시진 원저 : 도해 본초강목, 고문사 953(1983)
 14. AOAC. 12th ed., (1975)
 15. Goldstein : Principles of drug action, 2nd ed, Wilry, 383(1974).
 16. 홍사욱 : 최신위생화학, 록지사, 121, (1983).
 17. 국립보건원, 의약품, 화장품 식품의 안정성 평가에 관한 woke shop, 33(1983).
 18. Fukuoka. M. : Chemical and toxicol studies on Bracken Fern, *pteridium aquilinum var. Latius culum II.* *chem, pharm, Bull.* 26. 2365 (1978)
 19. Casarett and Doull. : Toxicology 2nd ed., 110 (1975)
 20. 문범수 : 식품첨가물, 수학사 3. (1978).

(Received July 10, 1989)