

## 한국산 녹차, 우롱차 및 홍차가 카드뮴에 중독된 흰쥐 간조직의 항산화적 해독작용에 미치는 영향

윤 연 희 · 이 순 재  
효성여자대학교 식품영양학과

### Effects of Korean Green Tea, Oolong Tea and Black Tea Beverage on the Antioxidative Detoxification in Rat Poisoned with Cadmium

Yeon-Hee Yoon, Soon-Jae Rhee

*Department of Food Science and Nutrition, Hysung Women's University, Seoul, Korea*

#### ABSTRACT

In order to investigate the effect of Korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the antioxidative detoxification in cadmium(Cd) poisoned rat liver, male Sprague-Dawley rat weighing  $143 \pm 3.2$ g were divided into control and experimental groups. The experimental groups were fed standard diet containing 40ppm Cd and were given distilled water(CD), 5% black tea(BT), oolong tea(OT) and green tea(GT), respectively.

Tea beverages were extracted from 5g dry leaves of teas in 100ml hot distilled water by the treatment at 85°C for 3 min. Liver xanthine oxidase(XOD) activity was increased by the administration of Cd except GT group. Liver superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-px), glutathione S-transferase(GST) activities were decreased by the administration of Cd but did not decreased by the administration of green tea(in GT group). Vitamin E and reduced glutathione contents were significantly decreased in Cd administered groups but GT group was significantly higher than other Cd administered groups. Liver lipid peroxide value in Cd administered groups were increased compared to control group, but was not increased in GT group.

Serum glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) activities in CD, OT, BT groups were higher than control, but that in GT group was similar to control group. Serum glutamic pyruvic transaminase(GPT) activity was not significantly different among various groups.

It was concluded that green tea might alleviate peroxidative damage in Cd-administered rat liver by reinforcing antioxidative detoxification system.

**KEY WORDS** : cadmium · tea beverage · peroxidative damage · antioxidative detoxification system.

채택일 : 1994년 9월 30일

서 론

오늘날 산업의 발달로 우리는 경제적인 여유와 문화적인 혜택을 누리고는 있으나 반면에 이로인한 환경오염으로 직·간접적으로 우리들의 생명이 위협받고 있다. 그중에서도 심각한 것은 중금속 오염문제라 할 수 있으며 특히 cadmium(Cd)은 인체에 유입되어 배출되지 않고 축적되어 itai itai 병을 비롯하여 여러가지 생리적 장애를 일으키는 것<sup>1-6)</sup>으로 알려져 있다.

한편 생체는 내인성 또는 외인성요인으로 인하여 free radical이 형성되고 이것은 조직의 과산화적 손상을 일으킴으로써 노화 및 각종 퇴행성 질환등을 유발시킬 수 있다<sup>7-9)</sup>. 이등<sup>10)</sup>의 연구에서 Cd이 조직의 과산화적 손상을 일으킨다고 보고 하였으며 또 한편으로는 식이내 Se과 같은 항산화물질을 첨가시켰을 때는 이러한 과산화적 손상을 완화시킬 수 있음을 증명하였다<sup>11)</sup>. 이러한 과산화적 손상과 이를 완화시킬 수 있는 항산화제에 대한 연구의 일환으로 최근 free radical scavenger 역할을 하는 것 중에서 천연물중의 항산화 성분의 개발에 대한 연구가 진전<sup>12)13)</sup>되고 있는데 그중에서 특히 기호 식품으로 응용하고 있는 차에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

차엽중에 존재하는 polyphenol성 화합물인 catechin은 혈중 cholesterol 농도 저하작용<sup>14)</sup>, 항균작용<sup>15)</sup>, 혈압강하작용<sup>16)</sup>, 혈당강하작용<sup>17)</sup>, 비만예방효과<sup>18)</sup>, 항암작용<sup>19)</sup> 등의 약리작용이 보고되고 있으며 이외에 강한 항산화성에 대해서도 알려져<sup>20)21)</sup> 있다. 이러한 catechin의 항산화작용에 대한 연구로는 in vitro 실험을 통하여 유지의 산화를 방지하는 역할이 알려져 있고<sup>21)</sup> in vivo 실험도 다소 연구되고 있으나<sup>20)22)</sup> 실제 차음료 상태로써 동물 실험에 접근한 연구는 아직 미비하며, 특히 중금속중독시에 일어나는 과산화적 손상에 대한 방어 작용에 관한 차의 연구는 보고된 바 없다.

따라서 본 연구는 Cd 투여에 의한 흰쥐 간조직에서의 과산화적 손상에 따른 체내의 항산화적 해독작용에 미치는 차음료의 영향을 관찰하고자

시도하였다.

재료 및 방법

1. 차 수침액 조제

실험에 사용한 차음료는 국내(주)태평양의 시판용 tea bag을 이용하였으며 차엽 5g을 85°C 증류수 100ml에서 3분간 수침한 액을 사용하였다.

2. 차음료의 catechin 함량 분석

실험에 사용한 차음료의 catechin 함량 분석은 HPLC를 이용하였으며, 분석조건은 Table 1 과 같다.

3. 실험 동물 및 식이

실험 동물은 체중이 143±3.2g 내외가 되는 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 50마리를 실험전 1주일간 일반사료로 예비사육한 후 난괴법(randomized complete block design)에 의해 Table 2와 같이 식이내 Cd을 첨가하지 않은 대조군과 Cd을 첨가한 실험군으로 나눈후 다시 실험군을 투여한 음료수의 종류에 따라 일반증류수 투여군(CD군), 홍차(BT군), 우롱차(OT) 및 녹차(GT군) 등으로 각각 10 마리씩 나누어 4주간 실험에 행하였다.

Cd은 CdCl<sub>2</sub> · 2½H<sub>2</sub>O를 Cd 40ppm수준으로 식이에 혼합하고 각 차의 공급은 5% tea bag 수침액으로 만들어 공급하였으며, 이때 물, 차음료와 식이는 자유섭취 시켰다. 기본 실험식이의 조성은 Table 3과 같다.

Table 1. The operating conditions of HPLC for analysis of catechins

Item	Method
Instrument	Spectrophysics
Column	Lichrosorb RP-18 (4.6×250mm, Merck)
Mobile phase	25% THF <sup>a</sup> -1% phosphate
Flow rate	2ml/min
Detector	UV 280nm
Column Temp	Room Temp.
Chart Speed(CS)	0.25
Analytical time	16min

<sup>a</sup>THF : Teterahydrofuran

**Table 2.** Classification of experimental groups

Groups	Cd	Drinking water
Control	-	d-H <sub>2</sub> O
CD <sup>1)</sup>	+	d-H <sub>2</sub> O
BT <sup>2)</sup>	+	Black Tea
OT <sup>2)</sup>	+	Oolong Tea
GT <sup>2)</sup>	+	Green Tea

- 1) Experimental and control groups were fed with or without 40ppm Cd(CdCl<sub>2</sub> · 2½H<sub>2</sub>O) in diet, respectively.
- 2) · Preparation of tea extract soln. : 5gram of dry tea leaves were added to 100ml hot distilled water in the beaker and extracted at 85°C for 3min.  
· Control and CD groups were given distilled water and BT, OT, and GT groups of rat were given black tea, oolong tea, and green tea extract solution as drinking water, respectively.

**Table 3.** Composition of basal diet

Ingredients	Amount(g/kg diet)
Corn starch <sup>1)</sup>	668
Casein <sup>2)</sup>	180
DL-methionine <sup>3)</sup>	2
Corn oil <sup>4)</sup>	50
Salt mix <sup>5)</sup>	40
Vitamin mix <sup>6)</sup>	10
Cellulose <sup>7)</sup>	50
Kcal/kg	3850

- 1) Pung Jin Chem. Co.
- 2) Lactic Casein, 30mesh, New Zealand Dairy Board, Wington, N.Z.
- 3) Sigma Chem. Co.
- 4) Dong Bang Oil Co.
- 5) Salt mix : according to Haper<sup>1,2,3)</sup>
- 6) Vitamin mix : according to NRC<sup>2,3)</sup>
- 7) Sigma Chem. Co.

#### 4. 식이섭취량 및 체중증가량

식이와 식수섭취량 및 체중은 전실험기간을 통하여 매일 일정한 시간에 측정하였으며 식이효율은 전체증가량을 같은 기간 동안의 식이 섭취량으로 나누어 줌으로써 계산하였다.

#### 5. 혈액 및 장기채취

실험 종료후 실험 동물을 ether 마취하에서 복부 대동맥으로 혈액을 채취하여 20분간 방치한 후

1500g에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻은 후 GOT, GPT 측정에 사용하였다. 그리고 간장은 적출하여 생리식염수로 씻어내고 무게를 측정한 후 액체질소로 급동결시켜 -80°C에 보관하였다.

#### 6. 혈청 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT) 활성측정

혈청 GOT, GPT 활성측정은 Reitman과 Frankel<sup>24)</sup>의 방법에 의하여 측정하였다.

#### 7. 간조직중의 xanthine oxidase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, 및 glutathione S-transferase 활성 측정

간조직의 XOD 활성도 측정은 xanthine을 기질로하여 30°C에서 10분간 반응시켜 생성된 uric acid를 파장 292nm에서 흡광도를 측정하는 Stripe와 Della Corte<sup>25)</sup>의 방법을 이용하였다. 활성도 단위는 간조직에서는 효소액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분 동안 반응하여 기질로부터 생성된 uric acid량을 nmole 농도로 표시하였다. SOD 활성측정은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund 및 Malklund<sup>26)</sup>의 방법을, GSH-px 활성측정은 산화형 glutathione(GSSG)이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 340nm에서 NADPH의 흡광도가 감소하는 것을 이용한 Lawrence 및 Burk<sup>27)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. 그리고 GST 활성 측정은 2, 4-dinitrochlorobenzene(DNCB)와 환원형 glutathione을 기질로 하여 25°C에서 20분간 반응하는 동안에 생성된 GSH-DNCB conjugate의 분자 흡광도계수(E<sup>mM</sup>/340 nm=9.6 mM<sup>-1</sup> Cm<sup>-1</sup>)를 이용하여 효소활성을 산출하는 Habig등<sup>28)</sup>의 법에 의하여 측정하였고 이 효소활성의 단위는 1분간 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 conjugated DNCB를 nmol로 나타내었다.

#### 8. 간조직중의 Glutathione 농도 측정

Glutathione 의 농도 측정은 Bernt와 Bergmeyer<sup>29)</sup>의 방법에 따라서 실시하였다. 즉 간조직의 산추출물을 얻고 이 산추출액을 중화하여 산화형 glutathione(GSSG)은 glutathione reductase 반응을 이용

하였으며, 이 반응에서 소모된 NADPH량을 340 nm에서 측정하여 정량하였으며, 환원형 glutathione (GSH)은 glyoxalase반응을 이용하여 생성된 s-lactosyl-GSH를 240nm에서 측정하여 정량하였다.

9. 간조직중의 Vitamin E 함량 측정

간조직 마쇄액 1.0ml를 Taylor등<sup>30)</sup>의 방법에 따라 간조직중의 vitamin E 를 hexane으로 추출하여 30℃에서 질소가스로 건조시킨 후 이것을 시료로하여 ferric-chloride dipyridyl법<sup>31)</sup>에 의해 측정하였다.

10. 과산화지질 정량

과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid와 반응하여 생성되는 malondialdehyde를 측정하는 Satoh

<sup>32)</sup> 방법을 이용하였다.

11. 단백질 정량

각 시료의 단백질량은 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하여 간조직중의 vitamin E 함량측정을 위한 단백질정량은 Biuret<sup>33)</sup> 그리고 각 효소의 단백질 정량은 Lowry법<sup>34)</sup>을 이용하여 정량하였다.

12. 통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 평균차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA검증)을 수행하였으며, 분산분석결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다.

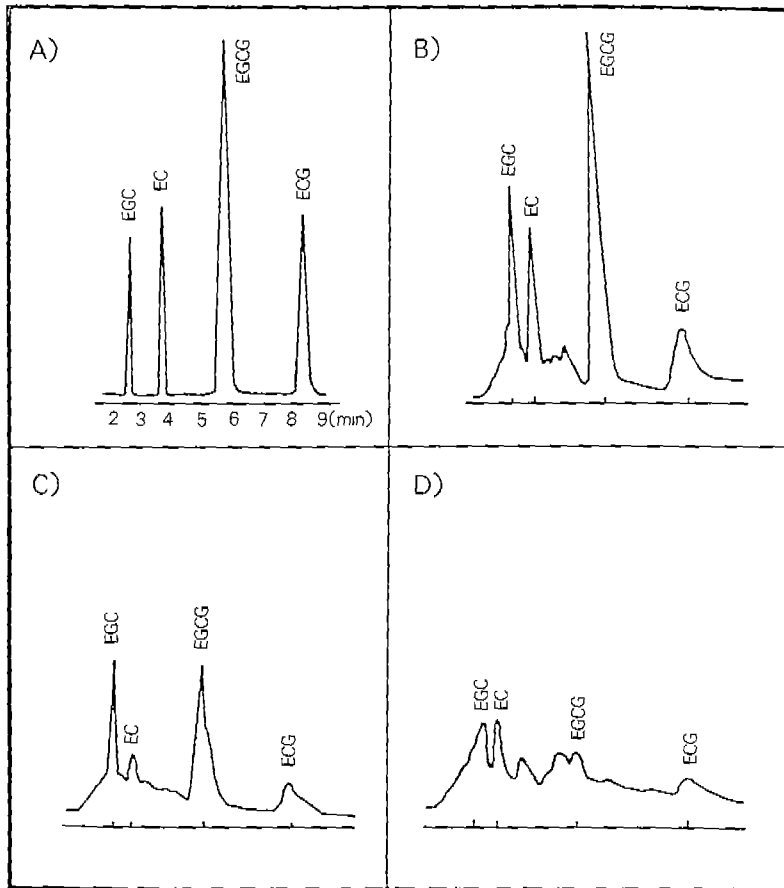


Fig. 1. HPLC Chromatogram of catechins of standard(A), green tea(B) oolong tea(C) and black tea(D).  
 EGC : Epigallo catechin  
 EC : Epicatechin  
 EGCG : Epigallocatechin gallate  
 ECG : Epicatechin gallate

## 결 과

### 1. 차음료의 catechin 함량 분석 결과

HPLC로 분석한 차음료의 catechin을 분석한 결과는 Fig. 1과 같으며 그 함량 비교는 Table 4와 같다.

차음료의 catechin 함량은 비발효차인 녹차가 가장 많고, 반발효차인 우롱차, 발효차인 홍차순이었다. 이는 차 제조과정 중 발효과정을 거치면서 catechin 이 theaflavinc 등 다른 화합물질로 변환하였기 때문<sup>34)</sup>으로 생각된다.

### 2. 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율 및 장기의 무게

실험 4주간의 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율

**Table 4.** Catechins contents of Korean Teas(g/100 ml of tea extracted solution)

	Green Tea	Oolong Tea	Black Tea
EGC	0.2302	0.1444	0.0586
EC	0.0686	0.0140	0.0252
EGCG	0.2248	0.1134	0.0152
ECG	0.0284	0.0128	0.0070
Total	0.5520	0.2846	0.1060

EGC : Epigallo catechin

EC : Epicatechin

EGCG : Epigallocatechin gallate

ECG : Epicatechin gallate

**Table 5.** Weight gains, food intakes, liver weights of experimental rats

Group	Weight gain (g/4weeks)	Food Intake (g/day)	FER	Liver weight (100g body wt.)
Control	162.50 ± 5.59 <sup>a</sup>	20.17 ± 0.42 <sup>NS</sup>	0.31 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.82 ± 0.12 <sup>NS</sup>
CD	138.13 ± 6.80 <sup>b</sup>	21.36 ± 0.27	0.27 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.77 ± 0.27
BT	120.00 ± 8.86 <sup>b</sup>	19.97 ± 0.24	0.25 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.73 ± 0.07
OT	113.75 ± 6.25 <sup>b</sup>	18.11 ± 0.46	0.26 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.83 ± 0.10
GT	128.13 ± 6.80 <sup>b</sup>	19.63 ± 0.09	0.27 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.63 ± 0.10

All values are mean ± SE(n=10)

Values within a column with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

NS : Not significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

Experimental and control groups were fed with or without 40ppm Cd(CdCl<sub>2</sub> · 2½H<sub>2</sub>O) in diet, respectively. Control and CD groups were given distilled water and BT, OT and GT groups of rat were given black tea, oolong tea, and green tea extract solution as drinking water, respectively.

및 장기의 무게는 Table 5 와 같다. 식이섭취량은 대조군과 실험군 사이의 유의적인 차이는 없으며 체중증가량, 식이효율은 대조군에 비해 실험군 모두 유의적으로 감소(p<0.05)하였으나 차의 음용에 대한 유의적인 변화는 없었다. Table 5에 나타난 단위 체중당 간장의 무게도 대조군에 비해 실험군 모두 유의적인 차이가 없었다.

### 3. 혈청 GOT 및 GPT 활성의 변동

혈청 GOT, GPT 활성을 측정된 결과는 Table 6과 같다. 혈청내 GOT 활성은 대조군에 비해서 CD군과 OT군이 유의적으로 높았으나(p<0.05) GT군에서

**Table 6.** Serum glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase activities in rat administered Cd

Group	GOT	GPT
	(unit/ml)	(unit/ml)
Control	35.67 ± 0.56 <sup>a</sup>	22.48 ± 0.44 <sup>NS</sup>
CD	38.64 ± 0.78 <sup>b</sup>	23.82 ± 0.71
BT	37.16 ± 0.67 <sup>ab</sup>	23.26 ± 0.66
OT	37.49 ± 0.63 <sup>b</sup>	24.23 ± 0.77
GT	35.79 ± 0.47 <sup>a</sup>	22.98 ± 0.72

All values are mean ± SE(n=10)

Values in a column with different from superscript letters are significantly different from other groups (p<0.05)

NS : Not significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

Experimental conditions are as given Table 2 and 5.

는 CD군에 비해서 유의적으로 감소( $p < 0.01$ )하여 대조군과는 유의성이 없었다. GPT활성은 대조군과 실험군간 유의적인 차이가 없었으며 실험군간에도 유의성을 볼 수 없었다.

4. Xanthine oxidase (XOD)활성의 변화

Xanthine을 기질로 하여 요산을 생성하는 과정에서 superoxide radical을 생성하는 효소인 XOD 활성의 변화 결과는 Table 7과 같다. Cd을 투여하지 않은 대조군에 비해 Cd을 투여한 실험군 즉 CD, BT, OT, GT 군에서의 XOD 활성이 각각 62%, 62%, 35%, 8% 증가하였다. GT 군에서의 활성도 증가율은 경미하였으며 CD군에 비해 유의적으로 감소하였고( $p < 0.01$ ) 대조군과는 유의성을 볼 수 없었다.

5. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase 및 glutathione S-transferase 활성의 변화

간조직에서의 SOD 활성의 변화를 관찰한 결과는 Table 7과 같다. 대조군에 비해 실험군 모두 활성이 감소하였으나 GT군은 CD, BT, OT군에 비해 유의하게 증가하였으며( $p < 0.05$ ), 대조군과는 차이가 없었다.

그리고 간장에서의 GSH-px 활성도를 측정된 결과(Table 8) 대조군에 비해 Cd을 투여한 CD, BT 군은 유의적으로 낮았으며( $p < 0.05$ ), OT, GT군은 유의적인 차이가 없었으나, GT군은 CD, BT 군에 비해서 유의적으로 증가( $p < 0.05$ )하였다.

GST의 활성변화를 관찰한 결과 GSH-px의 결과처럼 대조군에 비하여 실험군 모두 낮았으며 CD

군에 비하여 BT, OT, GT 순으로 증가하였으며, 특히 GT군은 CD군에 비하여 유의적으로 증가( $p < 0.01$ )하였다.

6. Glutathione 농도의 변화

간조직중의 환원형 glutathione(GSH)과 산화형 glutathione(GSSG) 농도 측정결과는 Table 9와 같다. 간조직중의 GSH 농도는 대조군에 비해 실험군들이 저하하였고( $p < 0.05$ ) CD군에 비해 차용군이 높아지는 경향은 보였으나 각 실험군간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. GSSG농도는 대조군에 비해 CD군이 2배 이상이나 증가하였으며 차용군에서도 약 1.2배 정도 증가하였으나 CD군에 비해 차용군에서 모두 유의적으로 감소하였다. GSH/GSSG 비는 대조군에 비해 CD군이 현저하게 저하( $p < 0.01$ )되었으며 실험군중 GT군이 CD, BT, OT 군에 비하여 각각 1.5, 1.5 및 1.3배씩

Table 7. Xanthine oxidase activities in rat liver

Group	XOD
	(nmol/mg protein/min)
Control	1.41 ± 0.07 <sup>a</sup>
CD	2.28 ± 0.10 <sup>b</sup>
BT	2.29 ± 0.15 <sup>b</sup>
OT	1.91 ± 0.15 <sup>bc</sup>
GT	1.53 ± 0.16 <sup>ac</sup>

All values are mean ± SE(n=10)

Values in a column with different from superscript letters are significantly different from other groups ( $p < 0.05$ ) by Tukey's test

Experimental conditions are as given Table 2 and 5.

Table 8. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activities in rats liver

Group	SOD	GSH-px	GST
	(unit/mg protein)	(nmol NADPH/mg protein/min)	(nmol DNCB/mg protein/min)
Control	7.27 ± 0.35 <sup>a</sup>	118.62 ± 6.00 <sup>a</sup>	367.37 ± 29.97 <sup>a</sup>
CD	6.39 ± 0.44 <sup>b</sup>	78.75 ± 7.12 <sup>b</sup>	221.20 ± 12.33 <sup>b</sup>
BT	6.95 ± 0.33 <sup>b</sup>	81.26 ± 6.57 <sup>b</sup>	297.03 ± 23.80 <sup>ab</sup>
OT	6.90 ± 0.46 <sup>b</sup>	94.20 ± 12.96 <sup>ab</sup>	315.99 ± 20.40 <sup>ab</sup>
GT	7.44 ± 0.25 <sup>a</sup>	103.43 ± 4.46 <sup>a</sup>	344.10 ± 11.42 <sup>a</sup>

All values are mean ± SE(n=10)

Values in a column with different from superscript letters are significantly different from other groups( $p < 0.05$ ) by Tukey's test

Experimental conditions are as given Table 2 and 5.

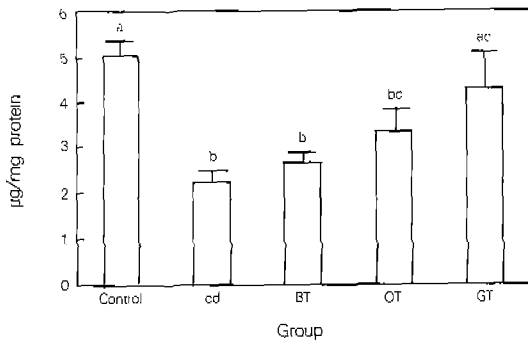
**Table 9.** Glutathione contents in rat liver

Group	GSH	GSSG	GSH/GSSG
	( $\mu\text{mol/g wet wt.}$ )	( $\mu\text{mol/g wet wt.}$ )	
Control	4.64 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	0.39 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	11.47 $\pm$ 1.02 <sup>a</sup>
CD	2.54 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	0.72 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	5.04 $\pm$ 0.78 <sup>b</sup>
BT	3.08 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>	0.54 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	5.14 $\pm$ 0.42 <sup>b</sup>
OT	2.82 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	0.52 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	6.28 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>
GT	3.32 $\pm$ 0.28 <sup>b</sup>	0.50 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	8.02 $\pm$ 0.67 <sup>c</sup>

All values are mean  $\pm$  SE (n=10)

Values in a column with different from superscript letters are significantly different from other groups (p<0.05) by Tukey's test

Experimental conditions are as given Table 2 and 5.



**Fig. 2.** Effects of Korean teas on vitamin E content in rat liver.

All values are mean  $\pm$  SE (n=10)

Values with different from superscript letters are significantly different from other groups (p<0.05)

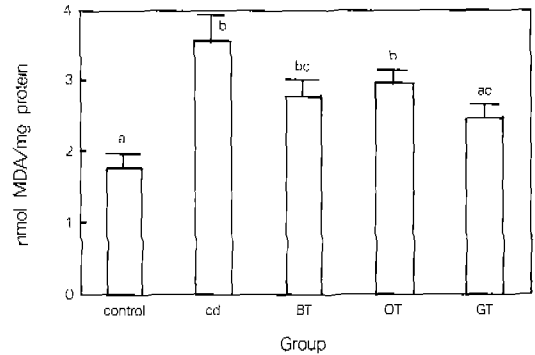
Experimental and control groups were fed with or without 40ppm Cd (CdCl<sub>2</sub> · 2½H<sub>2</sub>O) in diet, respectively.

Control and CD group were given distilled water as and BT, OT, and GT groups of rat were given black tea, oolong tea, and green tea extract solution as drinking water, respectively.

높았다.

**7. Vitamin E의 함량 변화**

비효소계 항산화물질인 vitamin E의 함량변화는 (Fig. 2) 대조군에 비해 Cd 투여 실험군에서 유의적으로 감소 (p<0.01) 하였으나 CD군에 비해 차용군에서 점차적으로 증가하는 경향을 나타내었는데 녹차를 투여한 GT군에서 유의적으로 증가 (p<



**Fig. 3.** Effects of Korean teas on liver lipid peroxide values All values are mean  $\pm$  SE (n=10).

Values with different from superscript letters are significantly different from other groups (p<0.05)

Experimental and control groups were fed with or without 40ppm Cd (CdCl<sub>2</sub> · 2½H<sub>2</sub>O) in diet, respectively.

Control and CD group were given with distilled water and BT, OT, and GT groups of rat were given black tea, oolong tea, and green tea extract solution as drinking water, respectively.

0.05) 하였다.

**8. 과산화지질량의 변화**

간조직의 과산화지질의 변화는 (Fig. 3) 대조군에 비하여 Cd을 투여한 실험군이 모두 증가하였으며 차용군에서 CD군에 비하여 감소하는 경향을 나타내었으며 특히 GT군이 CD군보다 31% 감소하였다.

## 고 찰

본 연구는 Cd 투여에 의한 흰쥐 간조직에서의 과산화적 손상을 관찰하고 이에 따른 체내의 항산화적 해독작용에 대한 차음료의 영향을 관찰하고자 시도하였다. 본실험에서 체중증가량, 식이효율은 대조군에 비해 실험군이 유의적인 감소를 하였으며 차음용으로 인한 유의적인 차이는 나타나지 않았는데 이러한 결과는 Fox<sup>36)</sup> 등이 Cd를 투여했을 때 체중이 현저하게 감소되었다는 보고와 일치하였다.

XOD는 purine, pyrimidine, pteridine, aldehyde류 및 heterocyclic compound 등의 대사에 관여하는 비특이적 효소로서 생체내에서는 주로 purine체의 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 산화시켜 요산을 생성하는데 촉매로 작용<sup>37)</sup>한다. 또한 이 효소는 virus 등의 감염<sup>38)</sup> 및 xenobiotics의 중독에 의한 간손상시에 그 활성이 증가<sup>39)</sup>하며 이때 superoxide radical을 생성한다. 본 실험에서 식이내 Cd를 첨가한 CD, BT, OT, GT군에서 대조군에 비해 XOD 활성이 62%, 62%, 35%, 8%씩 각각 증가하였다. 따라서 Cd를 투여시 XOD가 증가됨으로써 간장의 손상과 더불어<sup>40)</sup> 이때 superoxide radical 생성이 될것으로 생각된다. 그리고 특히 녹차를 음용한 GT군이 CD군에 비해 유의적으로 감소하였는데 조동<sup>41)</sup>의 연구에서 차에서 추출한 catechin에 의해 XOD의 활성이 저하된 결과와 같은 맥락이라 할 수 있다. SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 바꾸며 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 유기 과산화물은 GSH-px, catalase의 작용에 의해 H<sub>2</sub>O로 배설됨으로써 산소독으로부터 생체를 보호하는 효소이다<sup>42)43)</sup>. 본 실험에서는 Cd를 투여한 실험군에서 활성이 저하되었으나 GT군에서는 활성이 오히려 증가되었다. GSH-px는 생체내에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 GSH로 부터 산화형 glutathione(GSSG)과 물을 생성하는 반응과 기타 과산화물(ROOH)과 GSH로 부터 GSSG, alcohol(ROH) 및 물을 생성하는 반응을 촉매함으로써 조직의 과산화적 손상을 방지하고 산소독을 해독<sup>44)</sup>한다. 본 실험에서 GSH-

px 활성도는 대조군에 비해서 실험군이 모두 감소하였으나 GT군이 CD군에 비해서 활성이 증가하였다. 변이원성 물질, 발암성물질, 독성물질 등의 대사산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질 등에 환원형 glutathione을 포함시켜 glutathione thioester(R-S-C)를 형성하는 반응을 촉매하는 GST<sup>45)</sup> 역시 Cd를 투여함으로써 활성이 감소하였으나 녹차를 공급함으로써 활성이 증가하였다. 이러한 항산화제 효소활성의 변화 결과는 Cd으로 인해 그 활성이 저해되는 효소들을 녹차내에 함유된 catechin이 보호한다고 볼 수 있다. Cd투여로 인해 항산화 효소의 활성감소와 더불어 생리적 항산화 물질인 간조직의 vitamin E 수준이 감소하였으나 GT군은 CD군에 비해서 증가하였으며 Funabiki<sup>46)</sup> 등은 식이에 vitamin E를 결핍시킨 군과 vitamin E 결핍식이에 catechin을 첨가한 식이군 사이에서 간조직내의 vitamin E 함량을 조사한 결과 catechin 첨가 식이군이 높게 나타난 보고와 일치하였다. 또한 간조직내에 GSH 함량은 줄고, GSSG함량은 증가하여 GSH/GSSG 비가 감소되었으나 차를 공급함으로써 GSH 및 GSH/GSSG가 증가하는 결과를 보여 Cd 투여로 인한 과산화적 손상의 방어에 이들 항산화물질들이 소모되었으나 녹차가 이들 물질들의 소모를 감소시켜주었다고 사료된다. 체내 과산화적 손상의 지표가 되는 지질과산화가는 Cd투여로 인해 높게 나타났으나 녹차를 투여함으로써 과산화가가 저하되었다. 이런 결과는 Sano<sup>20)</sup>이 흰쥐 식이에 녹차분말을 혼합하여 사육한 후 간조직을 slice하여 BHP에 의한 free radical 포집능을 관찰한 결과 대조군에 비해서 녹차투여군이 현저히 증가하였고 지질과산화값 또한 23%나 감소함과 일치하였다. 아울러 간손상시에 혈중으로 유출되어 나오는<sup>47)</sup> GOT, GPT도 대조군에 비해서 실험군이 높게 나타났으나 GOT활성도는 CD군에 비해서 GT군이 유의하게 감소하여<sup>48)</sup> Cd투여에 따른 간조직의 손상이 녹차를 투여함으로써 경감되었다고 볼 수 있었다. 본 실험에서 효소활성을 관찰한 결과 Cd군에 비해서 녹차를 투여한 군이 free radical 생성효소인 XOD 활성이 저하되고, 반대로 free radical scavenger 효소인 SOD, GSH-Px, GST효소 등의



활성은 증가되었으며 또한 체내 항산화 물질인 vitamin E와 glutathione 함량이 증가되는 등 방어기구가 강화됨으로써 간조직의 과산화물과 및 혈청 GOT 값이 낮아지는 등 과산화적 손상이 감소되었다고 볼 수 있다.

이러한 결과는 녹차중에 다량 함유된 catechin의 항산화적 역할로 세포막이나 그외 기타 세포소기관 구성 물질로 다량 존재하고 있는 지질을 과산화로부터 보호함으로써 세포막을 안정화시켜 효소의 기능적 최적조건을 유지시켜 주는데 기여하였기 때문으로 생각된다. Catechin의 이런 강한 항산화력은 분자내에 가지고 있는 -OH의 수, 위치와 밀접한 관계가 있는 것으로<sup>21)</sup> 추측된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 Cd투여로 인한 free radical의 생성으로 야기되는 체내 과산화적 손상을 녹차를 음용함으로써 체내 항산화적 방어기구를 강화시켜 과산화적 손상을 경감시킬 수 있음을 관찰할 수 있었다. 앞으로 catechin에 대한 항산화력의 실용화 단계가 기대되며 이에 따른 보다 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

## 요 약

본 연구는 Cd 투여에 의한 흰쥐 간조직에서의 과산화적 손상에 따른 체내의 항산화적 해독작용에 대한 차음료의 영향을 관찰하고자 체중이  $143 \pm 3g$  내외의 Sprague-Dawley종 숫컷 흰쥐를 구입하여 식이에 40ppm Cd를 첨가하지 않은 대조군과 40ppm Cd를 첨가한 실험군으로 나눈 후 다시 실험군을 음료로 증류수(CD), 홍차(BT), 우롱차(OT) 및 녹차(GT)를 각각 공급한 군으로 분류하여 4주간 사육 한 후 혈청 GOT, GPT 활성 및 간조직내의 XOD, SOD, GSH-px, GST의 효소활성을 측정함과 아울러 glutathione 수준, vitamin E 함량과 과산화 지질량을 측정하여 다음과 같은 실험결과를 얻었다.

1) Carcchin의 함량은 녹차, 우롱차, 홍차의 순으로 많았다.

2) 체중증가량, 식이효율은 대조군에 비해 Cd 투여군이 유의적으로 감소를 하였으나 차음용에 영향은 없었다.

3) 혈청 GOT활성은 GT군은 대조군과 차이가 없었으나 CD, OT, BT군은 높았고 GPT 활성은 각 실험군간 유의성이 없었다.

4) XOD의 활성도는 대조군에 비해 실험군에서 증가되었으나 차를 공급한 군에서는 낮은 경향이었으며 특히 녹차를 공급한 군이 유의하게 감소되었다.

5) SOD, GPX, GST활성은 Cd를 투여한 CD, BT, OT군은 대조군에 비해 현저하게 감소되었으나 GT군은 대조군 수준이었다.

6) Glutathione, vitamin E 함량도 대조군에 비해 실험군이 낮았으나 GT군은 다른 실험군에 비하여 유의적으로 증가하였다.

7) 지질과산화가는 대조군에 비해 Cd 투여군이 현저하게 증가되었으나 GT군은 대조군과 차이가 없었다.

## Literature cited

- 1) Kazantzis G. Renal tubular disfunction and abnormalities of calcium metabolism in cadmium workers. *Environ Health perspect* 28 : 155-159, 1979
- 2) Morita S. Defense mechanisms against cadmium toxicity. I. A biochemical and histological study of the effects of pretreatment with cadmium on the acute oral toxicity of cadmium in mice. *Japan J Pharmacol* 35 : 129-135, 1984
- 3) 김혜진 · 조수열 · 박종민. 카드뮴 투여 흰쥐의 혈청 및 간장성분에 미치는 식이성 비타민 E와 단백질의 영향. *한국영양과학회지* 19 : 27-34, 1990
- 4) Schroeder HA, Vinton WH. Hypertension induced in rats by small doses of cadmium. *Am J Physiol* 202 : 515-518, 1962
- 5) Axelsson B, Piscator M. Renal damage after prolonged exposure to cadmium. An experimental study. *Arch Environ Health* 12 : 360-374, 1966
- 6) Larsson S, Piscator M. Effect of cadmium on skeletal tissue in normal and calcium-deficient rats. *Metab Bone Dis* 7 : 495-498, 1971
- 7) Haber F, Weiss J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by salt. *Proc Roy Soc Ser A* 147 : 332-351, 1984

- 8) Ronando FDM, Howard HT, Jakob B, Manfred and Karl EA. Free radicals as mediators of tissue injury. *Acta Physiol Scand* 492(Suppl) : 43-57, 1980
- 9) Basu AK, Loechler EL, Leadon SA, Essignann JM. Genetic effects of thymine glycol : Site-specific mutagenesis and molecular modeling studies. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 : 7677-7681, 1989
- 10) 이순재 · 김성옥 · 최원경 · 조성희. 카드뮴 투여 흰쥐 간조직의 과산화적 손상에 미치는 영향. *한국영양식량학회지* 21 : 601-607, 1992
- 11) 이순재 · 전수영. Cadmium 투여 흰쥐에 있어서 metallothionein 합성과 항산화적 해독기구에 미치는 식이 selenium의 영향. *한국영양학회지* 26 : 286-298, 1993
- 12) Tanizawa H, Toda, Sazuka Y, Taniyama T, Hayashi T, Arich S, Takino Y. Natural antioxidants I. Antioxidative Compounds of tea leaf. *Chem Pharm Bull* 32 : 2011-2014, 1984
- 13) Okuda T, Kimuram Y, Yoshida T, Hatano T, Okuda H, Arich S. Studies on the activities of tannins and relate compounds from medical plants and drugs. I. Inhibitory effects on lipid peroxidation in mitochondria and microsomes of liver. *Chem Pharm Bull* 31 : 1625-1631, 1983
- 14) 福興眞弓 · 原征彦 · 村松敬一郎. 茶葉 カテキンの構成成分である (-)エピガロケカテンガレホトの血中 コレステロール 低下作用. *日本營養食糧學會誌* 39 : 495-500, 1986
- 15) 原征彦 · 渡邊眞由美 · 阪口玄二. 茶飲料類に 接種された A型, B型 ポツリヌス菌牙胞の動向. *日本食品工業學會誌* 36 : 375-379, 1989
- 16) 原征彦 · 松崎妙子 · 鈴木建未. 茶成分のアンゾテンソン I 變換酵素阻害能について. *日本農藝化學會誌* 61 : 803-808, 1987
- 17) Matsumoto N, Tonooka F, Ishigaki A, Hara Y. Reduction of blood glucose level by tea catechins. *Agric Biol Chem* 54 : 1939-1945, 1990
- 18) 松本 なつき, 原征彦. 茶カテキンによる肥滿豫防? ? 消化抑制作用. *食品工業 特集 : 茶の生理機能* 26-30, 1992, 7月
- 19) 原征彦 · 松崎敏 · 中村耕三. 茶カテキンの抗腫瘍作用. *日本營養食糧學會誌* 42(1) : 39-45, 1989
- 20) Sano M, Takahashi Y, Komatsu C, Nakamura Y. Antioxidative activities of green tea and black tea in rat organ and blood plasma. *Abst of ISTS(Shizuoka)* p75, II-p-16, 1991
- 21) Matsuzaki T, Hara Y. Antioxidative activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 59 : 129-134, 1985
- 22) 권미나 · 최재수 · 변대석. 어유 및 과산화어유를 섭취한 흰쥐에 있어서 플라보노이드 (+)-카테킨의 산화안정 효과. *한국영양학회지* 22 : 381-391, 1993
- 23) 백태홍 · 전세열 · 김천호. 영양학 실험, 수확사, 1988
- 24) Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28 : 56-63, 1957
- 25) Stripe F, Della Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244 : 3855-3863, 1969
- 26) Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47 : 469-474, 1974
- 27) Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71 : 952-958, 1976
- 28) Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferase : The first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249 : 7130-7139, 1974
- 29) Bernt E, Bergmeyer HU. Methods of enzymatic analysis : Glutathione. 2nd English Ed. *Academic Press* 4 : 1643-1647, 1974
- 30) Taylor SL. Sensitive fluometric method for tissue tocopherol analysis. *Lipid* 11 : 530-538, 1973
- 31) Hawk PB, Oser BL, Summerson WH. Ferric chloride dipyriddy method(Emmenrie-Engel reaction). *Practical Phsio. Chem.*, 13th ed. *J LA. Churchill LTD* 1272-1273, 1956
- 32) Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chemica Acta* 90 : 37-43, 1978
- 33) Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem* 177 : 751-766, 1949
- 34) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall

- RJ, Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 35) 石垣史子 · 原征彦. 茶の血壓上昇抑制作用. *食品工業特集 : 茶の生理機能* 20-25, 1992, 7月
- 36) Fox MRS, Fry Jr BE, Harland BF, Schertel ME, Weeks CE. Effect of ascorbic acid on cadmium toxicity in the young cuturnix. *J Nutr* 101 : 1295-1306, 1971
- 37) Krenitsky TA. Xanthine oxidase and aldehyde oxidase in purine and purine analogue metabolism. *Exp Med Biol* 41 : 57, 1973
- 38) Ziegler DW, Hutchison HD, Kissling RE. Induction of xanthine oxidase by virus infections in newborn mice. *Infection and Immunity* 3 : 237, 1971
- 39) 윤종국. 사염화탄소를 투여한 흰쥐에서의 간장 및 혈청 xanthine oxidase 활성변동. *과학논집. 계명대학교 생활과학연구소* 6 : 75-82, 1980
- 40) 윤종국 · 신증규. 흰쥐에 사염화탄소 투여가 혈액 및 뇨중 뇨산함량에 미치는 영향. *대한보건의학회지* 15 : 13-19, 1989
- 41) 조영제 · 전성숙 · 최 청. 한국산 녹차로 부터 분리한 속합형 탄닌의 Xanthine oxidase 저해효과. *한국영양학회지* 22 : 418-422, 1993
- 42) Bus JS, Ausi SD, Gibson JE. Superoxide and singlet oxygen-catalyzed lipid peroxidation as a possible mechanism for paraquat(methyl viologen) toxicity. *Biophys Res Commun* 58 : 749-753, 1974
- 43) Fridovich I. The biology of oxygen radicals, the superoxide radical is an agent of oxygen toxicity ; superoxide dismutase provide an important defense. *Science* 201 : 875-880, 1978
- 44) Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59 : 527-605, 1979
- 45) Jacoby WB. The glutathione S-transferases : A group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol* 46 : 383-414, 1978
- 46) 船引龍平. 食品成分による老化抑制の可能性お深る. *Fragrance Journal* 11 : 20-23, 1990
- 47) Lehninger AL. Principles of Biochemistry, Worth publishers, INC, 1986
- 48) 이순재 · 박미향 · 정병두. 가열유와 vitamin E 투여가 흰쥐의 GOT, GPT 및 Alkaline Phosphatase 활성에 미치는 영향. *효성여자대학교 응용과학연구논집* 1 : 101-109, 1991