

일부 아미노산과 식품 추출물의 에탄올 간독성에 대한 보호효과

이자현 · 김낙경 · 이도연* · 이철호*

식품의약품안전청, *고려대학교 생명공학원 식품가공핵심기술연구센터

Protective Effect of Selected Amino Acids and Food Extracts on Ethanol Toxicity Decrement in Rat Liver

Ja-Hyun Lee, N.-K. Kim, Do-Youn Lee* and Cheri-Ho Lee*

Korea Food and Drug Administration

*Center for Advanced Food Science and Technology (CAFST)

Graduate School of Biotechnology, Korea University

Abstract

An rat liver enzyme test was carried out in order to investigate preventing effect of selected amino acids and some food extracts on ethanol induced liver toxicity *in vitro*. Solutions of aspartic acid, arginine, glutamic acid were prepared and treated on ethanol treated rat liver preparation. Protective effect of amino acids on lipid peroxidation was determined. Same experiments were conducted using aqueous extracts of *Dried soybean sprout*, *Dried Alaskan pollack* and *Ganoderma lucidum*. The TBA value indicating the lipid peroxidation decreased significantly ($p < 0.05$) by addition of aspartate, glutamate and arginine, respectively at concentrations of 6.25~50 $\mu\text{g/mL}$. Similar results were observed by adding the aqueous extracts of *Soybean sprout*, *dried Alaskan pollack* and *Ganoderma lucidum*. The aqueous extracts added after ethanol treatment presented more effect than added before the treatment.

Key words: amino acid solution, dried soybean sprout, lipid peroxidation, ethanol toxicity

서 론

사회가 산업화되어감에 따라 사고방식과 생활양식이 점차로 서구화되고 있는 한국사회에서도 알코올로 인한 질병들이 증가추세에 있음을 알 수 있다. 습관성 음주는 서구에서는 급성 및 만성체장염은 물론 심근부전증의 원인이 되며 한국에서는 간 손상이 가장 흔히 발견되는 질병이다. 알코올에 의한 간 손상의 가장 직접적인 원인은 일일 음주량 및 음주 기간임은 분명하지만 임상적으로는 유사한 음주량 및 기간에도 불구하고 간 손상이 전혀 나타나지 않는 경우에서부터 심한 간 손상의 경우에 이르기까지 아주 다양하게 나타난다⁽¹⁾.

알코올은 위장관에서 빠르게 흡수되며 흡수된 알코올의 95~98%는 간의 해독작용을 통하여 물과 탄산가스로 분해된다⁽²⁾. 간세포의 알코올 분해작용은 간 조직의 Alcohol dehydrogenase (ADH)에 의해서 에탄올이

아세트알데히드로 분해되고 다시 Acetaldehyde dehydrogenase (ALDH)에 의해서 아세테이트로 다시 분해되어 최종으로 물과 탄산가스로 된다. 만약 과도한 양의 알코올을 지속적으로 흡수할 경우에는 부산물로 생겨나는 과량의 수소는 간 세포내에서 NADH 농도를 증가시키고 결과적으로 NAD/NADH의 비율을 감소시켜 중성지방의 합성을 증가시킨다⁽³⁾. 또한 간 조직의 산성농도를 저하시켜 독성이 강한 산소기를 생산하므로서 간세포에 손상을 일으킨다^(4,6). 만성적인 음주는 ADH 이외에도 간세포의 마이크로솜의 알코올 산화효소계(MEOS: Microsomal ethanol oxidizing system)^(6,9)의 작용을 유도하고 이 과정에서 oxidative stress와 lipid peroxidation이 일어난다고 한다^(7,10-12).

Kato⁽¹³⁾와 Oei 등⁽¹⁴⁾에 따르면 NADH가 xanthine dehydrogenase (XDH)의 활성도를 감소시키며 xanthine oxidase (XO)의 경로를 통해 lipid peroxidation을 증가시킨다고 보고 하고 있다. 따라서 에탄올에 의하여 감소된 NAD/NADH의 비를 정상화한다면 XO에 의한 lipid peroxidation을 방지하여 프리라디칼(free radical)

Corresponding author: Ja-Hyun Lee, Korea Food and Drug Administration

에 의한 간 손상을 줄일 수 있다고 가정하였고 박 등 (1993)은 세포내 대부분의 산화 환원 효소들에 의한 NAD/NADH비의 변화들이 세포내 당, 지질, 아미노산 등의 전반적인 대사에 미치는 효과가 매우 크다는 점을 고려하여 감소된 NAD/NADH비를 보정 함으로써 에탄올에 의한 프리라디칼 생성을 줄일 수 있다고 가정하였다^(16,17). 박 등⁽¹⁶⁾은 만성적으로 에탄올을 투여한 흰쥐들에게 aspartate를 투여한 경우 lipid peroxidation이 크게 감소하였으며 이는 NADH가 라디칼(radical) 형성 기구로 작용하는 것을 차단하여 에탄올의 만성 공급시 발생하는 세포내의 산소라디칼에 의한 피해를 aspartate가 감소시키는 역할을 하는 것으로 추론하였다. 뿐만아니라 박 등⁽¹⁸⁾은 aspartate를 투여하여 세포내 glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), malate dehydrogenase (MDH) 연계 반응을 유도함으로써 에탄올에 의한 세포내 NAD/NADH비의 불균형을 보완하고 아울러 XDH의 XO로의 전환을 방지하여 결과적으로 프리라디칼 생성의 억제와 lipid peroxidation을 방지할 수 있었다.

지금까지의 연구결과를 보면 단지 aspartate의 간 보호 효과를 보았을 뿐이고⁽¹⁵⁻¹⁸⁾ 실질적으로 aspartate를 함유하고 있는 식품을 가지고 실험을 한 연구는 보고된 바가 적었다. 따라서 본 실험에서는 이미 보고된 바 있는 실험들과는 달리 aspartate뿐만 아니라 aspartate같은 글루코오스생성 아미노산중 알코올 대사와 관련이 있을 것으로 추정되는 arginine과 glutamate가 에탄올로 처리한 간세포의 lipid peroxidation을 얼마나 감소시키는지를 비교분석하고 예로부터 숙취제거 식품으로 잘 알려진 콩나물, 북어 및 영지 버섯 추출액의 *in vitro* 실험을 통하여 에탄올로 처리된 간세포에 대한 lipid peroxidation의 감소효과를 증명하고자 하였다. 또한 에탄올과 숙취제거 식품의 처리순서에 따른 lipid peroxidation의 감소효과를 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

생후 5주령의 건강 상태가 양호한 SD계 웅성 랫드 (체중 250 ± 20 g)를 국립보건 안전연구원에서 분양받아 실험실 환경에 1주간 적응시킨 다음 실험에 사용하였다. 적응기간중 사료는 실험동물용 사료를, 음수로는 정제수를 자유로이 섭취하게 하였으며 실험실 환경은 항온, 항습조건(온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 5\%$)에 맞도록 하였고 인공조명하에서 명암교대 12시간(조명시간 06:00~18:00)을 유지하였다.

아미노산 용액

Sigma사에서 구입한 aspartate, glutamate, arginine를 각각 6.25, 12.5, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 멸균 증류수에 녹였다.

콩나물, 북어, 영지버섯 추출물

콩나물, 북어, 영지버섯 각각의 시료는 소매상에서 구입하였다. 콩나물은 dry oven에 넣어 65°C 에서 5시간 건조시킨 후 세절하였으며 영지, 북어는 시중에서 건조제품을 구입하여 세절한 후 용적비로 9배 가량의 증류수를 가하여 1시간 30분씩 3회에 걸쳐 환류 추출기로 열수 추출물을 만들었다. 이것을 각각 6.25, 12.5, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 멸균 증류수로 희석하였다.

식품 추출물의 단백질 정량 및 유리아미노산 성분 분석

열수 추출물의 aspartate, glutamate, arginine 함량을 양성대조군과 비교하기 위하여 단백질 정량은 bovine- γ -globulin을 표준 물질로 하여 Bio-Rad protein kit를 사용하여 Bradford⁽¹⁹⁾법으로 정량하였으며 유리아미노산 성분 분석은 OPA법으로 형광유도체화한 후 HPLC를 이용하여 형광검출기로 분석하였다.

동물실험(아미노산 및 추출물처리)

S9 분획(postmitochondrial supernatant prepared from the liver of male rat) 제조: Rat liver enzymes를 유도시키기 위해 Czygan 등의 방법으로 Aroclor 1254를 옥수수기름에 200 mg/mL 농도로 녹여 부검 5일전에 단회복강 주사하였다. 투여 5일 후 Gamer 등의 방법으로 진행하였다. 목을 절단한 후 혈액을 충분히 방류시키고 개복한 후 조심스럽게 간을 떼어내었다. 떼어낸 간은 간 무게당 0.15 M KCl (g/mL)로 깨끗이 세척한 후 세절하여 간 무게당 3 mL의 0.15 M KCl을 넣은 후 균질화시켰다. 균질화된 것을 10분동안 $9000 \times g$ 에서 원심 분리하여 얻은 상등액을 S9 분획으로 하고 Bradford⁽¹⁹⁾법으로 정량하여 2 mg protein/ mL로 희석한 후 각각 분주하여 실험전까지 -70°C 에서 보관하였다. 이 모든 단계는 $0\sim 4^\circ\text{C}$ 에서 실시하였다.

In vitro 약물 처리 방법

양성 대조군은 에탄올 농도 0.56 M로 처리한 S9 분획에 세 아미노산용액을 각각 50 μL 씩 처리하여 lipid peroxidation생성 정도를 측정 비교하였다.

Control은 에탄올 농도 0.56 M로 처리한 S9 분획에 아미노산 용액 대신에 멸균증류수 50 μL 씩 처리하였다.

에탄올을 처리 후 식품추출물을 처리하였을 경우 간 독성 보호효과를 측정하기 위하여 세 개의 S9 분획에 에탄올을 각각 처리하고 약 10분 경과한 뒤 위에서 제조한 세 가지 식품 추출물을 50 μ L씩 처리하였다. 에탄올을 처리 전 식품추출물을 처리하였을 경우 간 독성 보호효과를 측정하기 위하여 세 개의 S9 분획에 세 가지 식품 추출물을 50 μ L씩 처리 후 약 10분 경과한 뒤 에탄올을 각각의 S9 분획에 처리하였다.

Lipid peroxidation 측정

Buege and Aust⁽²⁰⁾의 방법으로 약물 처리 후 12, 24, 48 시간 후에 각각의 약물 처치군에서 0.25 mL를 취하여 2 mL의 TCA-TBA-HCl reagent를 원심관에 넣은 후 혼합 시켜 15분간 boiling water bath에서 가열시켰다. 15분 후 냉각시켜 10분 동안 1000 \times g에서 원심 분리시켜 상등액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 기준물은 미리 준비한 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (TEP)을 사용하였다.

통계처리 및 분석

모든 실험은 3반복 실험으로 행하였으며 실험의 값은 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 또 각 군간의 유의성 검증을 위해 분산분석을 실시하였고 p값이 0.05이 하인 경우 유의성이 있는 것으로 인정하였다.

결과 및 고찰

아미노산용액 처리에 의한 lipid peroxidation의 변화

준비된 S9분획에 에탄올을 처리후 각 아미노산 용액을 처리 하였을때의 lipid peroxidation 변화를 Table 1에 나타내었다. Control에 비해 에탄올을 처리하였을 경우 lipid peroxidation의 수치가 높음을 알 수 있다. 즉 12시간 경과 후 control은 2.343이고, 에탄올은 2.654이었다.

이는 Comporti 등⁽²¹⁾, Takada 등⁽²²⁾의 *in vitro* 실험에서 에탄올을 처리 후 lipid peroxidation이 증가함을 보여준 결과와 일치하였다. lipid peroxidation생성은 에탄올 산화에 의한 아세트 알데히드의 생성^(5,9), NAD의 소비와 함께 과잉의 NADH 생성으로 인한 NAD/NADH 비율 감소^(6,7), 유도되어지는 microsomal ethanol oxidizing system (MEOS)의 증가^(8,9)에 따른 과정중에 일어난다고 알려져 있다^(7,10-12).

에탄올을 처리 후 시간에 따른 변화를 보면 aspartate, arginine, glutamate의 모든 농도에서 시간이 경과하면서 lipid peroxidation이 점점 증가하는 것을 알 수 있

다. 이는 시간에 따른 lipid peroxidation의 감소 효과는 없음을 알 수 있다(Table 1).

에탄올을 처리 후 aspartate, arginine, glutamate를 6.25, 12.5, 25, 50 μ g/mL의 농도로 처리한 결과 농도가 증가할수록 lipid peroxidation이 감소하는 경향을 보였으며 대부분 통계적으로 유의하였다. 아미노산중 arginine이 가장 많이 lipid peroxidation을 감소시켰고 aspartate, glutamate순 이었다. 즉 12시간 경과 후 6.25 μ g/mL농도에서 arginine은 1.135, aspartate는 1.986, glutamate는 2.110이었다. 이는 aspartate가 효과가 가장 클 것이라고 예상한 결과와는 다른것으로 아직까지 문헌상으로 기전이 밝혀진바는 없다. 다만 aspartate와 arginine이 글루코오스 생성성아미노산이기 때문에 같은 기전으로 효과가 클 것으로 추정할 뿐이다.

Aspartic acid의 경우는 무처리군 보다 12, 24, 48시간 경과 후 모두 농도별로 유의성 있게 lipid peroxidation이 감소하였다. 12시간 경과 후 6.25 μ g/mL에서 1.986, 12.5 μ g/mL에서 1.379, 25 μ g/mL에서 1.150, 50 μ g/mL에서 0.381이었다. arginine의 경우도 무처리군 보다 12, 24, 48 시간 경과 후 농도별로 유의성 있게 lipid peroxidation이 감소하였다. 12시간 경과 후 6.25 μ g/mL에서 1.135, 25 μ g/mL에서 0.081, 25 μ g/mL에서 0.423, 50 μ g/mL에서 0.388 이었다. glutamate의 경우는 12시간 경과 후 농도별로 유의성 있게 무처리군 보다 lipid peroxidation이 감소하였고, 24시간 경과 후에는 50 μ g/mL에서만 무처리군 보다 유의성있게 lipid peroxidation이 감소하였으며 48시간 경과 후에는 12.5, 25, 50 μ g/mL농도에서 무처리군보다 유의성 있게 lipid peroxidation이 감소하였다.

이는 aspartate를 투여하여 세포내 GOT, MDH 연계반응을 유도함으로써 에탄올 유래 세포내 NAD/NADH비의 불균형을 보완하고 아울러 XDH의 XO로의 전환을 방지하여 프리라디칼 생성을 억제하고 lipid peroxidation 생성을 방지한 결과와 일치하였다⁽²³⁾. 뿐만 아니라 만성적인 에탄올 섭취에 대하여 aspartate를 투여한 결과 lipid peroxidation생성이 크게 감소한 박 등⁽¹⁷⁾의 결과와도 일치하였다. 따라서 본 실험을 통하여 박 등⁽¹⁷⁾이 *in vivo* 시험을 통하여 aspartate가 lipid peroxidation생성을 감소시키는 물질로써 산소 라디칼을 저해시키는 대사물질인 것으로 추정한 결과를 재입증 하였다. 뿐만 아니라 aspartate 전구물질인 arginine 역시 aspartate와 같이 NAD/NADH 비를 보정함으로써 에탄올로 인한 프리라디칼 생성을 줄인다고 추정할 수 있다.

Table 1. Effect of aspartate, arginine and glutamate on TBA value indicating ethanol-induced lipid peroxidation in rat liver enzyme preparation (mmol/mg protein)

Sample	Time (hr)		
	12	24	48
control	2.343±0.102 ^{b1)}	2.345±0.048 ^b	2.561±0.121 ^b
ethanol	2.653±0.081 ^a	2.701±0.022 ^a	3.067±0.027 ^a
aspartate (µg/mL)	6.25 ²⁾	1.986±0.113 ^c	2.013±0.015 ^c
	12.5	1.379±0.029 ^d	1.633±0.034 ^d
	25	1.150±0.018 ^e	1.479±0.010 ^e
	50	0.381±0.010 ^f	0.531±0.011 ^f

Sample	Time (hr)		
	12	24	48
control	2.343±0.102 ^b	2.345±0.048 ^b	2.561±0.121 ^b
ethanol	2.653±0.081 ^a	2.701±0.022 ^a	3.067±0.027 ^a
arginine (µg/mL)	6.25 ³⁾	1.135±0.027 ^c	1.442±0.058 ^c
	12.5	0.881±0.005 ^d	1.103±0.030 ^d
	25	0.423±0.014 ^e	0.516±0.006 ^e
	50	0.388±0.006 ^e	0.418±0.013 ^e

Sample	Time (hr)		
	12	24	48
control	2.343±0.102 ^b	2.345±0.048 ^b	2.561±0.121 ^b
ethanol	2.653±0.081 ^a	2.701±0.022 ^a	3.067±0.027 ^a
glutamate (µg/mL)	6.25 ⁴⁾	2.110±0.067 ^c	2.348±0.023 ^b
	12.5	1.763±0.039 ^d	2.331±0.022 ^b
	25	1.504±0.067 ^e	2.296±0.010 ^b
	50	1.366±0.048 ^f	1.679±0.135 ^c

¹⁾Mean values of 3 replicates. The same alphabet superscripts in each column presented no statistical significance (p<0.05).

²⁾Concentration of aspartate added to test sample.

³⁾Concentration of arginine added to test sample.

⁴⁾Concentration of glutamate added to test sample.

식품 추출물의 아미노산 성분 조성

추출물 각각의 단백질 함량을 정량한 결과 콩나물 8.916 µg/mL, 영지 3.873 µg/mL 이었으며 북어는 0.219 µg/mL으로 분석되어 콩나물 단백질함량이 가장 높았다. 또한 아미노산 분석결과 aspartate, glutamate, arginine 함량은 콩나물에서 매우 높게 나타났으며 aspartate, glutamate는 영지보다 북어에 더 많이 함유되어 있다. 특히 arginine은 북어에는 들어있지 않았으며 영지에는 적은양이 존재하였다(Table 2).

식품 추출물 처리에 의한 lipid peroxidation의 변화

준비된 S9분획에 에탄올 처리후 각 식품추출물 처리에 의한 lipid peroxidation의 변화를 Table 3에 나타내었다. 에탄올 처리 후 콩나물, 북어, 영지의 모든 농도에서 시간이 경과하면서 lipid peroxidation이 점점 증가하는 것을 알 수 있다. 이는 시간에 따른 lipid peroxidation의 감소 효과는 없음을 알 수 있다(Table

Table 2. Free amino acid compositions of protein extracted from Soybean sprout, Ganoderma lucidum and Alaskan pollack (µg/100 µL)

amino acid	Soybean sprout	Ganoderma lucidum	Alaskan pollack
aspartic acid	13.11	0.0023	1.15
glutamic acid	11.37	0.0321	5.96
hisitidine	82.26	0.0193	2.89
serine	28.71	trace	trace
glycine	10.75	trace	12.94
arginine	68.04	0.1370	trace
threonine	32.52	3.97	12.00
alanine	39.12	5.27	45.51
tyrosine	33.75	trace	trace
valline	trace	3.58	0.17
phenylalanine	trace	0.01	trace
isoleucine	trace	1.83	trace
leucine	trace	2.27	4.13

3). Lipid peroxidation 에탄올 처리 후 콩나물, 북어, 영지를 6.25, 12.5, 25, 50 µg/mL의 농도로 처리한 결과

Table 3. Effect of Soybean sprout, Alaskan pollack, and Ganoderma lucidum on TBA value indicating ethanol-induced lipid peroxidation in rat liver enzyme preparation (mmol/mg protein)

Sample	Time (hr)		
	12	24	48
control	2.343±0.102 ^{b1)}	2.345±0.048 ^b	2.561±0.121 ^b
ethanol	2.653±0.081 ^a	2.701±0.022 ^a	3.067±0.027 ^a
	6.25 ²⁾	2.016±0.070 ^c	2.129±0.083 ^c
	12.5	2.016±0.070 ^c	2.413±0.209 ^b
Soybean sprout (µg/mL)	25	1.643±0.063 ^d	1.742±0.022 ^d
	50	1.136±0.095 ^e	1.515±0.012 ^e
		0.393±0.013 ^f	0.552±0.007 ^f
0.814±0.312 ^e			

Sample	Time (hr)		
	12	24	48
control	2.343±0.102 ^a	2.345±0.048 ^b	2.561±0.121 ^b
ethanol	2.653±0.081 ^a	2.701±0.022 ^a	3.067±0.027 ^a
	6.25 ³⁾	2.317±0.057 ^a	2.399±0.019 ^b
	12.5	2.113±0.192 ^b	2.175±0.325 ^b
Alaskan pollack (µg/mL)	25	1.986±0.109 ^b	2.121±0.167 ^b
	50	1.968±0.050 ^b	1.962±0.032 ^c
2.202±0.375 ^b			

Sample	Time (hr)		
	12	24	48
control	2.343±0.102 ^b	2.345±0.048 ^b	2.561±0.121 ^b
ethanol	2.653±0.081 ^a	2.701±0.022 ^a	3.067±0.027 ^a
	6.25 ⁴⁾	2.287±0.247 ^b	2.384±0.188 ^b
	12.5	1.850±0.117 ^c	1.995±0.084 ^c
Ganoderma lucidum (µg/mL)	25	1.553±0.260 ^d	1.749±0.192 ^d
	50	0.440±0.010 ^e	0.574±0.038 ^e
0.920±0.234 ^d			

¹⁾Mean values of 3 replicates. The same alphabet superscripts in each column presented no statistical significance (p<0.05).

²⁾Concentration of Soybean sprout added to test sample.

³⁾Concentration of Alaskan pollack added to test sample.

⁴⁾Concentration of Ganoderma lucidum added to test sample.

농도가 증가할수록 lipid peroxidation이 감소하는 경향을 보였으며 이것은 대부분 통계적으로 유의하였다. 식품추출물중 콩나물추출물이 lipid peroxidation을 가장 많이 감소시켰고 다음으로 영지, 북어 순이었다. 즉 에탄올을 처리하고 추출물을 처리하면 12시간 경과 후에 6.25 µg/mL 농도에서 콩나물은 2.016, 북어 2.317, 영지는 2.287이었다(Table 3). 그러나 이들 식품추출물간의 유의적 차이는 없었다. 다만 콩나물 추출물의 감소효과가 크다는 것을 알 수 있었다. 후처리시 콩나물의 경우 무처리군보다 12, 24, 48시간 경과 후 모든 농도에서 lipid peroxidation이 유의성 있게 감소하였다. 북어의 경우 후처리는 12시간 경과 후 12.5, 25, 50 µg/mL 농도에서 무처리군보다 lipid peroxidation이 유의성 있게 감소하였고, 24시간 경과 후에는 50 µg/mL에서 무처리군보다 lipid peroxidation이 유의성 있게 감소하였으며, 48시간 경과 후에는 25, 50 µg/mL에서 무처리군보다 lipid peroxidation이 감소하였으나 유

의성은 없었다. 영지의 경우는 12, 24, 48시간 경과 후 12.5, 25, 50 µg/mL농도에서 무처리군보다 lipid peroxidation이 유의성 있게 감소하였다.

에탄올처리전 각 식품추출물 처리에 의한 lipid peroxidation의 변화를 Table 4에 나타내었다. 에탄올 처리전 콩나물, 북어, 영지를 후처리와 같은 농도로 처리한 결과 후처리와 같은 결과를 나타내었다(Table 4). 식품추출물 전 처리시 콩나물의 경우 12, 24시간 경과 후 12.5, 25, 50 µg/mL농도에서 무처리군보다 lipid peroxidation이 유의성 있게 감소하였고 48시간 경과 후에는 50 µg/mL농도에서만 무처리군 보다 유의성 있게 감소하였다. 북어의 경우 12시간 경과 후 농도별로 무처리군보다 lipid peroxidation이 유의성 있게 감소하였고 24, 48시간 경과 후에는 모든 농도에서 무처리군에 비하면 lipid peroxidation이 감소하지 않았다. 영지의 경우에는 12시간 경과 후 농도별로 유의성 있게 무처리군보다 lipid peroxidation이 감소하였고, 24, 48시간 경과

Table 4. Effect of Soybean sprout, Alaskan pollack and Ganoderma lucidum (pretreatment) on ethanol-induced TBA value indicating lipid peroxidation in rat liver enzyme preparation.¹⁾ (mmol/mg protein)

Sample		Time (hr)		
		12	24	48
control		2.343±0.102 ^{b,1)}	2.345±0.048 ^b	2.561±0.121 ^b
ethanol		2.653±0.081 ^a	2.701±0.022 ^a	3.067±0.027 ^a
Soybean sprout (µg/mL)	6.25 ²⁾	2.023±0.135 ^b	2.357±0.110 ^b	2.866±0.367 ^a
	12.5	1.730±0.070 ^c	2.078±0.040 ^c	2.557±0.118 ^b
	25	1.178±0.210 ^d	1.910±0.210 ^c	2.431±0.072 ^b
	50	0.436±0.024 ^d	0.451±0.066 ^d	0.745±0.143 ^c

Sample		Time (hr)		
		12	24	48
control		2.343±0.102 ^b	2.345±0.048 ^b	2.561±0.121 ^b
ethanol		2.653±0.081 ^a	2.701±0.022 ^a	3.067±0.027 ^a
Alaskan pollack (µg/mL)	6.25 ³⁾	2.063±0.076 ^c	2.684±0.101 ^a	2.908±0.270 ^a
	12.5	1.972±0.212 ^c	2.650±0.044 ^a	2.888±0.275 ^a
	25	1.659±0.159 ^d	2.642±0.054 ^a	2.757±0.231 ^a
	50	1.605±0.016 ^d	2.605±0.016 ^a	2.603±0.014 ^b

Sample		Time (hr)		
		12	24	48
control		2.343±0.102 ^b	2.345±0.048 ^b	2.561±0.121 ^b
ethanol		2.653±0.081 ^a	2.701±0.022 ^a	3.067±0.027 ^a
Ganoderma lucidum (µg/mL)	6.2540	2.027±0.151 ^c	2.664±0.044 ^a	2.900±0.356 ^a
	12.5	1.851±0.059 ^d	2.595±0.016 ^a	2.799±0.239 ^a
	25	1.543±0.053 ^c	2.103±0.340 ^b	2.665±0.091 ^b
	50	0.497±0.055 ^f	0.654±0.274 ^c	1.127±0.189 ^c

¹⁾Mean values of 3 replicates. The same alphabet superscripts in each column presented no statistical significance (p<0.05).

²⁾Concentration of Soybean sprout added to test sample.

³⁾Concentration of Alaskan pollack added to test sample.

⁴⁾Concentration of Ganoderma lucidum added to test sample.

후 50 µg/mL농도에서 무처리군보다 lipid peroxidation 이 유의성 있게 감소하였다.

식품추출물의 처리순서에 따른 lipid peroxidation의 변화를 살펴보면 북어(12시간 경과 후)의 경우를 제외하고 콩나물과 영지에서는 후처리의 경우가 lipid peroxidation을 좀 더 감소시켰다. 즉 12시간 경과 후 12.5 µg/mL농도에서 북어의 경우 전처리 1.972, 후처리 2.113, 콩나물의 경우 전처리 1.730, 후처리 1.643, 영지의 경우 전처리 1.851, 후처리 1.850이었다. 이는 ethanol 처리전 식품추출물을 투여한 경우는 독성이 나타나기전 미연에 방지하므로 lipid peroxidation의 변화가 적게 나타난것이고 ethanol 처리후 식품추출물을 투여한 경우는 독성이 나타난 후에 처리를 하였기 때문에 lipid peroxidation의 변화가 크게 나타나는 것으로 추정된다. 따라서 이 결과를 가지고 식품추출물의 처리순에 따른 차이가 크다고는 말할 수 없으며 앞으로 좀 더 명확한 결과를 얻기 위하여 in vivo실험이 필

요할 것으로 사료된다.

Table 2에 나타난 것과 같이 aspartate와 arginine을 많이 함유하고 있는 콩나물이 다른 식품추출물에 비해 lipid peroxidation을 좀 더 많이 감소시켰으며 aspartate와 glutamate만을 함유한 북어보다 aspartate와 glutamate양은 적으나 arginine을 함유한 영지가 효과가 큼을 알 수 있었다. 이는 arginine, aspartate, glutamate순으로 lipid peroxidation을 감소시킨 아미노산용액의 결과와 일치하였다. 따라서 aspartate, arginine이 각각 단독으로 식품추출물에 함유되어 있을 때보다 적은 양이나마 aspartate, arginine이 함께 함유되어있을 때 lipid peroxidation의 효과가 큰 것으로 사료된다.

따라서 간 보호 효과는 콩나물이 가장 크며 영지와 북어 순이라는것을 알 수 있다. 또한 식품추출물의 간 보호 효과는 함유된 aspartate, arginine 및 glutamate 성분과 관련이 있는 것으로 추측되며 식품추출물의 항 에탄올 작용은 순수한 이들 아미노산과 같은 기전을

보이는 것으로 추측된다.

요 약

본 실험에서는 aspartate, arginine, glutamate가 에탄올로 처리한 간세포에 대한 lipid peroxidation의 변화를 비교분석하고 예로부터 숙취제거 식품으로 잘 알려진 콩나물, 북어 및 영지버섯 추출액의 *in vitro* 실험을 통하여 에탄올로 처리된 간세포에 대한 lipid peroxidation 변화를 보았다. 또한 에탄올치리에 대한 숙취제거 식품의 처리순서에 따른 lipid peroxidation의 변화를 보았다. S9분획(간세포)에 에탄올(0.56 M)을 50 μ L씩 처리한 후 아미노산용액과 식품추출물을 6.25, 12.5, 25, 50 mg/mL 농도로 처리하였다. 이 실험의 결과는 다음과 같다. Aspartate, arginine, glutamate중 arginine가 가장 큰 간 보호 효과를 나타내었다. 콩나물, 북어, 영지의 단백질 함량은 콩나물이 8.916 μ g/mL으로 가장 많았다.

콩나물, 북어, 영지중에서 콩나물 추출물이 가장 큰 간 보호 효과를 나타내었다. 각각의 식품추출물을 에탄올 다음에 처리하였을 경우 전처리보다 간 보호 효과가 더욱 증가하는 경향을 나타내었다.

문 헌

- Park, B.C.: Alcohol and Liver disease in Korean. *Abstract* 183, '95 International Minisymposium on Alcohol, Seoul, Korea (1995)
- Cha, Y.S.: Alcohol- Dietary fat, Carnitine in Korean. *Abstract* 60, '95 International Minisymposium on Alcohol, Seoul, Korea (1995)
- Liber, C.S.: Alcohol-induced hepatotoxicity. *Hepatotoxicology*, CRC PRESS, Inc. p. 484-485 (1991)
- Isselbacher, K.J.: Metabolic and hepatic effects of alcohol. *New Engl. J. Med.*, **296**, 612-615 (1977)
- Liber, C.S.: New pathway of ethanol metabolism in the liver. *Gastroenterol.*, **59**, 930-937 (1970)
- Liber, C.S.: Medical disorders of alcoholism : pathogenesis and treatment. *Philadelphia Saunders.*, 53-56 (1982)
- Liber, C.S.: Metabolic effects of ethanol and its interaction with other drugs hepatotoxic agents, vitamins and carcinogens. *Sem Liver Dis.*, **8**, 47-68 (1988)
- Pirola and Liber, C.S.: Energy wastage in rats given drugs that induce microsomal enzyme. *J. Nutr.*, **105**, 1544-1548 (1976)
- Liber, C.S.: Hepatic metabolic and toxic effects of ethanol. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **15**, 573-592 (1991)
- Videla, L.A. and Valenzuela, A.: Alcohol ingestion, liver glutathione and lipid peroxidation. metabolic interrelations and pathological implication. *Life Sci.*, **31**, 2395-2407 (1982)
- Muller, A. and Sies, H.: Alcohol, aldehydes and lipid peroxidation. current notions. *Alcohol Alcohol.*, **22**, 67-74 (1987)
- Arthur, M.J.P.: Reactive oxygen intermediates and liver injury. *J. Hepatol.*, **6**, 125-131 (1988)
- Kato, S., Kawase, T., Alderman, J., Inatomi, N. and Lieber, C.S.: Role of xanthine oxidase in ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Gastroenterology.*, **98**, 203-210 (1990)
- Oei, H.H.H., Stroo, E., Burton, K.P. and Schafter, S.W.: A possible role of xanthine oxidase in producing oxidative stress in the heart of chronically ethanol treated rats. *Res. Commum Chem Path Pharm.*, **38**, 453-461 (1982)
- Park, S.C.: Ethanol oxidation is accelerated by augmentation of malate-aspartate shuttle with aspartate (in Korean). *Korean. J. Biochem.*, **25**(2), 137-143 (1993)
- Park, S.C., Kim, J.S., Han, J.A., Han, J.G. and Choi, Y.C.: Protective effects of aspartate other amino compounds on ethanol toxicity, *in vitro* (in Korean). *Korean. J. Biochem.*, **26**, 7-12 (1994)
- Park, S.C., Han, J.G. and Park, Y.C.: Aspartate decrease lipid peroxidation and protein carbonylation in liver of chronic ethanol-fed rats (in Korean), *Korean. J. Biochem.*, **26**, 145-149 (1994)
- Park, Y.C. and Park, S.C.: Inhibitory effect of aspartate on ethanol-induced radical generation in Korean. *Abstract* 117, '95 International Minisymposium on Alcohol, Seoul, Korea (1995)
- Bradford, M.M.: A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254 (1976)
- Buege, J.A. and Aust, S.D.: Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, **52**, 302-306 (1978)
- Comporti, M., Hartman, A.D., and Di Luzio, N.R.: Effect of *in vivo* and *in vitro* ethanol administration on liver lipid peroxidation. *Lab. Invest.*, **16**, 616-620 (1967)
- Takada, A., Ikegami F., Okumura, Y., Hasumura, Y., Kanayama, R. and Takeuchi, J.: Effect of alcohol on the liver of rat. III. the role of lipid peroxidation and sulphhydryl compounds in ethanol-induced liver injury. *Lab. Invest.*, **23**, 421-425 (1970)
- Msato, O., Yoshihara, N., Takei, H., Kashio, Y., Hijioka, S., Fukui, T., Goto, H., Matsunaga, M. and Okumura, T.: Ethanol-induced focal cell necrosis via microcirculatory disturbance in the perfused rat liver. *Alcohol Alcohol.*, **1**, 317-320 (1991)

(1998년 8월 6일 접수)