

함초(*Salicornia herbacea*)의 효소적 가수분해물이 고콜레스테롤 식이 흰쥐의 항산화방어계에 미치는 영향

김경란¹ · 최정화² · 이성권¹ · 우미희³ · 최상원^{1*}

¹대구가톨릭대학교 식품영양학과

²진주국제대학교 식품과학부

³대구가톨릭대학교 약학과

Effect of Enzymatic Hydrolysate of Hamcho (*Salicornia herbacea*) on Antioxidative Defense System in Rats Fed High Cholesterol Diet

Kyung Ran Kim¹, Jeong Hwa Choi², Sung Kwon Lee¹, Mi Hee Woo³ and Sang Won Choi^{1*}

¹Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

²School of Food Science, Jinju International University, Gyeongnam 660-759, Korea

³College of Pharmacy, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

Abstract

The purpose of the present study was to investigate the effect of enzymatic hydrolysate (extract) of *Salicornia herbacea* L. (Korean name: Hamcho) on antioxidative defense system in rats fed high cholesterol diet. Rats were divided into six experimental groups which are composed of normal diet group, normal diet group supplemented with 2% Hamcho extract, high cholesterol diet group, high cholesterol diet groups supplemented with 1%, 2% and 4% Hamcho extracts. The activity of serum glutamate oxaloacetate transaminase in rats was not different among all experimental groups, while the activity of glutamate pyruvate transaminase in groups supplemented with Hamcho extract was significantly lower than that of high cholesterol control group. Supplementation of Hamcho extract (SHE) to the high cholesterol fed rats resulted in increased activities of hepatic superoxide dismutase and glutathione peroxidase. However, there was no significant difference in the activity of hepatic catalase among all experimental groups. SHE also resulted in decreased levels of hepatic thiobarbituric acid reactive substances and mitochondrial carbonyl values. Those effects were higher to some extent in 2% and 4% Hamcho extract groups than those of high cholesterol control group. These results suggest that enzymatic hydrolysate of Hamcho may reduce oxidative damage by activation of antioxidative defense system in rats fed high cholesterol diets.

Key words: Hamcho (*Salicornia herbacea* L.), enzymatic hydrolysates, high cholesterol diet, antioxidative defense system

서 론

최근 식생활의 서구화와 더불어 환경오염 및 운동부족 등의 여러 가지 요인으로 고지혈증, 동맥경화, 당뇨병, 고혈압 등과 같은 만성 성인병 질환이 증가하고 있으며, 2005년 통계청 자료에도 우리나라 사망원인의 2위와 3위가 뇌혈관질환과 심장질환인 것으로 발표되었다(1). 특히 심혈관계 질환의 위험인자로는 고콜레스테롤혈증, 흡연 및 고혈압 등이 중요한 위험인자로 알려져 있으며, 이와 연루되는 식이인자로는 식이지방내의 불포화지방산과 포화지방산의 비율(2), 식이 콜레스테롤(3) 및 식이 지방(4) 등을 들 수 있다.

한편, 생체내 생성되는 활성산소와 그를 제거하는 항산화

방어계의 불균형에 의해 초래되는 산화적 스트레스는 암, 염증, 심장병, 뇌질환, 면역체계 감소 및 노화 등의 여러 가지 산화적 질환의 발병의 주된 요인이 된다(5). 이들 항산화 방어계의 주된 역할을 담당하는 인자에는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHpx) 및 catalase(CAT) 등의 항산화효소와 글루타티온, 토코페롤, 아스코르브산, 카로티노이드 및 폴리페놀화합물 등 식물 유래의 식이성 천연항산화물질이 있다(6,7). 따라서 이러한 산화적 스트레스에 의한 지질과산화로부터 생체를 보호하기 위해서는 생체의 항산화 방어계를 강화시키는 생리활성물질의 개발이 필요하며, 특히 최근 식품, 약용식물 뿐만 아니라 생리활성물질의 보고로 알려진 해양식물로부터 새로운 항산화

*Corresponding author. E-mail: swchoi@cu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3525, Fax: 82-53-850-3504

물질의 탐색에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다(8-10).

함초(*Salicornia herbacea* L.)는 명아주과(Chenopodiaceae)에 속하는 일년생 초본으로 통통하고 마디마디 튀어나온 풀이라 하여 '통통마디'라고도 한다(11). 함초의 자생지는 우리나라 남해안과 서해안의 염습지대이며 염류 농도가 높은 갯벌에서 자라기 때문에 삼투압을 견디기 위해 식물체 내에 육상식물보다 다량의 염분을 흡수하여 체내에 저장 및 축적하고 있다(12). 또한, Mg, Ca, Fe 그리고 K 등 다수의 천연 미네랄을 함유하고 있으며, 아올러 펠수아미노산 및 펠수지방산이 풍부하고 다량의 식이섬유소가 함유되어 있어 숙변, 변비, 소화불량, 위장병, 간염 및 신장병의 약재로도 이용되고 있다(13,14). 현재 함초는 냉면, 튀김, 샐러드, 나물, 비빔밥, 칼국수 등의 요리 재료로 인기를 끌고 있을 뿐만 아니라 함초 분말은 김치, 콩나물, 국 등의 요리에 소금대용으로 사용되고 있다.

최근 함초의 항당뇨(15,16), 항고지혈증(16), 항고혈압(17) 및 항산화작용(18-20) 등 다양한 생리적 효능이 밝혀지면서 함초 분말 및 엑기스 등의 단순 가공품 뿐만 아니라 함초에 여러 가지 식물 및 생약추출물을 혼합하여 제조한 다양한 가공식품 및 건강식품이 개발되어 시중에서 판매되고 있다(21,22). 그러나 함초의 분말이나 즙은 연질의 녹즙을 함유하지 않을 뿐만 아니라 생즙을 내서 마시는 경우에는 함초 자체의 비릿한 맛 때문에 음용하기가 어렵고 인체로의 흡수가 용이하지 않으며, 침전물이 생겨서 기호성이 떨어지는 문제점이 있다. 따라서 함초 자체의 좋은 기능성은 살리고 단점을 보완하여 그 약리적 효능을 배가시키고, 음용을 용이하게 하여 기호성을 강화시켜 상품 가치를 월등히 높일 수 있는 고품질의 함초추출물 제조방법의 개발과 더불어 그의 생리활성작용의 검정에 관한 연구가 필요한 실정이다.

최근, 본 연구진들은 효소처리에 의한 고품질의 함초추출물을 개발해 왔으며, 아올러 *in vitro* 및 동물실험을 통해 함초 효소추출물의 항산화 및 지질대사 개선 작용에 대해 보고한 바가 있다(23-25).

본 연구는 효소처리에 의해 제조된 함초추출물의 생체내에서의 항산화작용을 규명하기 위하여 고콜레스테롤 식이 흰쥐에 효소적 가수분해물을 농도에 따라 공급했을 경우 간 조직의 항산화방어계에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 함초(*Salicornia herbacea* L.)는 전라남도 해남일대의 폐염전에서 채취한 것으로, 채취 후 곧바로 5분간 데치기한 후 방냉하여 자연 탈수한 다음 흐르는 물에서 계속하여 소금기를 제거하였다. 다음, 탈염 함초를 60°C 건조기에서 하룻밤 건조한 후 분쇄기로 50~100 mesh 크기로 분쇄하여 제조된 분말을 공시재료로 사용하였다.

함초의 효소적 가수분해물 제조

효소처리에 의한 함초의 효소적 가수분해물의 제조는 전보(23)와 동일한 방법으로 실시하였다.

실험동물 사육 및 식이

실험동물은 체중 150±10 g 내외의 Sprague-Dawley 중수컷을 (주)바이오 제노믹스사(Biogenomics, Inc., Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였으며, 실험식이 시작 전 일주일간 일반배합사료(Purina Co., Seoul, Korea)로 예비사육하였다. 실험그룹은 각 그룹 당 6마리씩 난괴법(completely randomize design)에 의해 정상식이대조군(N), 정상식이에 함초 열수추출물 2% 공급군(NW-2), 고콜레스테롤식이대조군(C) 및 고콜레스테롤식이에 함초 열수추출물을 각각 1%(CW-1), 2%(CW-2) 및 4%(CW-4) 공급한 군으로 하여 총 6군으로 나누어 3주간 관찰하였다. 식이구성은 Table 1과 같고, 식이 및 식수는 자유섭취하게 하였다. 사육조건은 온도 22±1°C, 습도 50~60%로 하였으며, 명암은 12시간을 주기로 자동조절되게 하였다.

혈액 및 장기의 채취

사육기간 완료 후 실험동물을 12시간 절식시키고 가벼운 에테르 마취 하에서 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취한 후 즉시 간을 적출하여 생리식염수로 헹군 후 거저로 수분을 제거하고 무게를 측정하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분간 방치한 후 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청 및 간 조직은 실험에 사용하기 전까지 -80°C에 보관하였다.

Table 1. Diet compositions of experimental groups

Ingredient	Groups ¹⁾					
	N	NW-2	C	CW-1	CW-2	CW-4
Corn starch	650	644.7	636.5	633.8	631.2	625.9
Casein	150	150	150	150	150	150
Sucrose	50	50	50	50	50	50
Mineral mixture ²⁾	40	40	40	40	40	40
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10	10	10	10
Corn oil	50	50	50	50	50	50
Cellulose	50	50	50	50	50	50
Cholate	-	-	2	2	2	2
Choline bitartrate	-	-	1.5	1.5	1.5	1.5
Cholesterol	-	-	10	10	10	10
<i>Salicornia herbacea</i>	-	5.3	-	2.7	5.3	10.6
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000

¹⁾N: Normal diet group, NW-2: normal diet group supplemented with 2% Hamcho extract, C: high cholesterol diet group, CW-1: high cholesterol diet group supplemented with 1% Hamcho extract, CW-2: high cholesterol diet group supplemented with 2% Hamcho extract, CW-4: high cholesterol diet group supplemented with 4% Hamcho extract.

²⁾AIN-76 mineral mixture (g/kg mixture).

³⁾AIN-76 vitamin mixture (mg/kg mixture).

분석시료의 전 처리

간장을 각 간엽에서 고르게 일정량을 취하여 Potter-Elvehjem homogenizer를 사용하여 0.25 M sucrose/0.5 mM ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)/5 mM N-2-hydroxyethyl-piperazine-N-2-ethanesulfonic acid(HEPES) 용액으로 10%(w/v) 마쇄액을 만들었다. 마쇄액의 일부를 $8,000 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 얻은 상층액을 과산화지질 정량 시료로 사용하였고, 나머지는 $10,000 \times g$ 에서 30분간 원심분리하여 얻은 그 상층액 일정량을 취해 0.4배량의 ethanol:chloroform 냉혼합액(5:3, v/v)을 가하고 2분간 진탕한 다음 $10,000 \times g$ 로 원심분리한 후 얻어진 상층액의 일부는 다시 $105,000 \times g$ 에서 30분간 원심분리하여 얻은 상층액(cytosol)을 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHpx)의 함량 및 활성도를 측정용 시료로 사용하였다. 한편, catalase(CAT) 활성도 측정을 위해서 상기 효소 분석용 시료와 같은 방법으로 마쇄하여 $10,000 \times g$ 에서 30분간 원심분리하여 얻은 미토콘드리아 분획을 다시 $10,000 \times g$ 에서 30분간 원심분리시켜 침전물을 취하고 0.25 M sucrose 용액에 현탁시킨 다음 $10,000 \times g$ 에서 20분간 재원심분리하여 얻은 침전물에 소량의 0.25 M sucrose 용액으로 재현탁시켜 CAT 활성도 측정용 시료로 사용하였다. 이때, 모든 실험 조건은 4°C 를 유지하면서 행하였다.

혈청 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT)와 glutamate pyruvate transaminase(GPT) 활성도 측정

혈청 GOT와 GPT 활성도는 Reitman과 Frankel의 방법(26)을 응용한 아산제약의 kit를 사용하여 측정하였다. 즉 GOT 기질로 L-aspartate와 α -ketoglutaric acid, GPT 기질로 D,L-alanine과 α -ketoglutaric acid 용액에 각각 혈청을 가하여 37°C 에서 GOT는 60분, GPT는 30분간 효소반응을 시킨 후 생성된 oxaloacetic 및 pyruvic acids에 2,4-dinitrophenyl hydrazine 정색시약과 0.4 N NaOH를 가하여 잘 혼합한 다음 실온에 10분간 방치한 후 505 nm에서 비색정량하였다.

Superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHpx) 및 catalase(CAT) 활성도 측정

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund의 방법(27)에 따라 측정하였으며, GSHpx 활성은 산화형 glutathione(GSSG)이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 340 nm에서 NADPH의 흡광도가 감소하는 것을 이용한 Lawrence 및 Burk의 방법(28)에 따라 측정하였고, CAT 활성은 240 nm에서 5분간의 H_2O_2 의 흡광도 변화를 이용하여 H_2O_2 의 몰흡광계수로 H_2O_2 의 농도를 구하는 Aebi 등의 방법(29)으로 측정하였다.

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 정량

간의 과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하여 생성되는 malondialdehyde를 측정하는 Satoh의 방법(30)을 이용하였다.

간 microsome 및 mitochondria의 carbonyl value 측정

간의 microsome 및 mitochondria 중의 산화된 단백질의 함량은 Levine 등의 방법(31)에 따라 carbonyl 화합물의 생성량을 측정하였다. 0.1 mL의 시료에 trichloroacetic acid(TCA) 0.5 mL를 혼합한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻어진 상층액을 제거한 뒤 잔사에 다시 10 mM dinitrophenylhydrazine(DNPH) 0.5 mL 가하여 15분마다 교반하면서 1시간 동안 실온에 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 이때 얻어진 상층액을 제거한 후 잔사에 ethanol/ethyl acetate(1:1, v/v) 3 mL를 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 다음 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 얻어진 잔사를 6 M guanidine[20 mM potassium phosphate buffer(pH 7.3)에 용해] 1.0 mL를 첨가하여 혼합한 후 37°C 의 항온수조에서 15분간 가온한 후 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl value의 양은 360 nm 흡광도의 파장에서 분자흡광계수($\epsilon=22,000$)를 이용하여 계산하였다.

단백질 정량

각 시료의 단백질 함량은 BSA(bovine serum albumin)을 표준품으로 사용하여 Lowry 등의 방법(32)에 따라 정량하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군 별로 표준차가 있는가를 검증하기 위해 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며, 분산분석결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's HSD test(33)에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

체중증가량 및 간조직의 무게

실험기간 동안 실험동물의 체중증가량 및 체중 100 g당 간 무게를 관찰한 결과는 Table 2와 같다. 체중증가량은 정상식이 대조군(N)과 정상식이에 함초의 효소적 가수분해물을 공급한 군은 유의적인 차이가 없었으며, 고콜레스테롤군들에서 정상식이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. 이는 Anderson 등(34)과 Kim 등(35)의 연구에서 흰쥐에 1% 콜레스테롤 첨가군이 정상군에 비해 체중이 유의적으로 증가하였다는 보고와 유사한 경향이였다. 그리고 고콜레스테롤식이에 함초추출물 공급군들은 고콜레스테롤식이 대조군에 비해 다소 감소하였으나 유의적인 수준은 아니었다. Jo

Table 2. Body weight gain and liver index in rats fed high cholesterol for 3 weeks with enzymatic hydrolysate of Hamcho

Groups ¹⁾	Body weight gain (g)	Liver index (g/100 g B.W.)
N	119.02±7.03 ^{2) b3)}	3.34±0.25 ^b
NW-2	121.75±6.85 ^b	3.77±0.41 ^{ab}
C	142.05±4.77 ^a	4.46±0.66 ^a
CW-1	136.20±8.89 ^{ab}	5.07±0.49 ^a
CW-2	134.12±7.68 ^{ab}	5.23±0.26 ^a
CW-4	130.01±5.81 ^{ab}	5.36±0.30 ^a

¹⁾Experimental groups are the same in Table 1.

²⁾All values are mean±SE (n=6).

³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Tukey's HSD test.

등(36)의 연구에 의하면 합초추출액 투여 시 투여량이 증가할수록 체중증가율이 감소되어 합초가 체중증가 억제에 영향을 미친다고 보고한 것과 달리 본 실험결과에서 식이섭취량에 유의성이 없는 것은 대조군의 식이 조성도 양호하였으며, 실험쥐의 성장발육이 활발한 시기 때문으로 사료된다. 그리고 각 실험군의 100 g당 간조직의 무게를 비교한 결과 정상식이 대조군과 정상식이에 합초의 효소적 가수분해물을 공급한 군은 유의적인 차이가 없었으나, 고콜레스테롤군은 정상식이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. 이러한 고콜레스테롤군에서의 간조직 무게 증가의 이유는 확실치 않으나 아마도 고콜레스테롤 식이에 의해 간조직의 총지질 및 총콜레스테롤의 함량이 증가함으로써 이들의 축적으로 인해 간조직의 무게가 증가된 것으로 사료된다.

혈청 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT)와 glutamate pyruvate transaminase(GPT) 활성

간의 괴사를 반영하는 GOT와 간조직의 비대화와 간의 상태를 반영하는 GPT의 활성을 측정된 결과는 Table 3과 같다. GOT 활성은 군간의 유의성이 없었다. GPT 활성은 정상군에 비해 고콜레스테롤식이 대조군에서 유의적으로 증가하였으나 합초추출물 공급군에서 감소하였으며 특히 CW-1 및 CW-2군에서 유의적으로 감소하였다. 이로써 효소처리에 의해 제조된 합초추출물은 간독성에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 한편 최근 합초로부터 간독성을

Table 3. Effects of enzymatic hydrolysate of Hamcho on serum glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and glutamate pyruvate transaminase (GPT) activities in rats fed high cholesterol diets (IU/mL)

Group ¹⁾	GOT	GPT
N	61.52±1.25 ^{2) NS3)}	58.89±3.91 ^{b4)}
NW-2	58.72±3.45	52.18±6.03 ^b
C	64.72±3.39	79.87±4.98 ^a
CW-1	67.49±4.99	57.89±6.39 ^b
CW-2	61.39±1.96	57.83±6.66 ^b
CW-4	64.71±3.87	68.14±8.66 ^{ab}

¹⁾Experimental groups are the same in Table 1.

²⁾All values are mean±SE (n=6).

³⁾NS: not significant.

⁴⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Tukey's HSD test.

현저히 저하시키고, CCl₄에 의해 손상된 흰쥐의 간세포를 회복시키는데 유용한 betain을 분리·정량한 바가 있으며 (37,38), Ha와 Lee(39)도 CCl₄를 투여한 흰쥐의 간독성 발현 정도를 조사한 연구에서 합초추출물이 간독성에 대한 보호 효과가 있음을 보고한 것을 감안할 때 합초의 효소적 가수분해물도 간기능을 개선시킬 가능성이 있을 것으로 사료된다.

Superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHpx) 및 catalase(CAT) 활성

생체내 항산화방어기구 중 효소적 방어계의 하나로서 superoxide radical을 H₂O₂로 환원시키므로서 산소독으로부터 생체를 보호하는 SOD 활성을 간에서 관찰한 결과는 Table 4와 같다. 고콜레스테롤식이 대조군에서 정상식이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으나 고콜레스테롤 식이에 합초추출물을 공급함으로써 다소 증가하였으며, 특히 합초추출물 2%를 공급한 CW-2군에서 유의적으로 증가하였다. Selenium을 함유하는 항산화효소로 비타민 E와 함께 과산화물을 제거함으로써 세포막의 손실을 방어하는 GSHpx의 활성을 관찰한 결과 정상식이 대조군에 비해 콜레스테롤식이 공급군 모두에서 감소하였으나 합초 추출물을 4% 공급한 CW-4군에서는 고콜레스테롤식이 대조군보다 53% 증가되어 정상군 수준이었다. 일반적으로 고콜레스테롤 상태

Table 4. Effect of enzymatic hydrolysate of Hamcho on hepatic superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) and catalase (CAT) activities in rats fed high cholesterol diets

Groups ¹⁾	SOD (unit/mg protein/min)	GSH-px (nmol NADPH/min/mg protein)	CAT (nmol/min/mg protein)
N	6.31±0.25 ^{2) a3)}	107.02±15.56 ^a	4.41±0.90 ^{NS4)}
NW-2	6.22±0.10 ^a	126.72±15.73 ^a	4.15±0.53
C	5.74±0.14 ^b	64.42±10.37 ^b	3.52±0.76
CW-1	6.01±0.24 ^{ab}	90.95±14.80 ^{ab}	3.88±0.59
CW-2	6.24±0.23 ^a	80.23±14.55 ^{ab}	4.08±0.84
CW-4	6.01±0.45 ^{ab}	98.75±9.08 ^a	3.93±0.91

¹⁾Experimental groups are the same in Table 1.

²⁾All values are mean±SE (n=6).

³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Tukey's HSD test.

⁴⁾NS: not significant.

에서는 GSHpx 활성이 정상상태보다 감소되지만(39) 본 실험에 사용된 함초추출물 4% 수준의 공급군에서 증가됨으로서 GSHpx 활성화 기능이 함초 효소추출물에 함유되어 있음을 알 수 있다. 다음, 과산화수소 및 유기 과산화물을 제거시킴으로써 과산화적 손상을 방지하는 간조직의 CAT 활성은 고콜레스테롤 식이 대조군에 비해 함초추출물 공급군에서 다소 증가하는 경향을 보였으나 실험군 간의 유의성은 없었다. 따라서 함초 효소추출물 급여는 항산화효소의 활성을 조절해 생체의 free radical에 의한 산화적 손상을 감소시키는데 크게 기여할 가능성을 시사되었다.

간조직중의 과산화지질(TBARS) 함량

세포내 산화적 스트레스로 인해 생성되는 free radical에 의한 지질과산화 반응은 생체내 대사이상을 초래하고 DNA를 손상하여 발암, 돌연변이, 유전자의 소실 및 노화의 기전으로 알려져 있다(5). 생체 조직의 과산화적 손상 지표가 되는 간의 지질과산화물(TBARS) 함량을 간조직에서 관찰한 결과는 Fig. 1과 같다. 고콜레스테롤식이 대조군은 정상식이군에 비해 30% 증가되었으나 함초추출물 2%와 4% 공급군에서는 고콜레스테롤 식이군에 비해 각각 23%와 26%씩 감소되었다. 이러한 결과는 고지방식이와 콜레스테롤 식이의 공급으로 간조직의 TBARS가 증가하였다는 이전의 보고(40,41)와 유사한 경향을 보였다. 따라서 함초 효소가수분해물에는 활성산소종을 제거할 수 있거나 조직의 지질과산화 반응을 억제할 수 있는 항산화물질이 함유되어 있음을 암시하는 것으로서, 최근 본 연구진은 함초 가수분해물로부터 항산화성 페놀화합물의 존재를 확인한 바가 있다(25).

간 중의 carbonyl 함량

간의 산화적 손상의 지표로 알려져 있는 산화단백질을 나

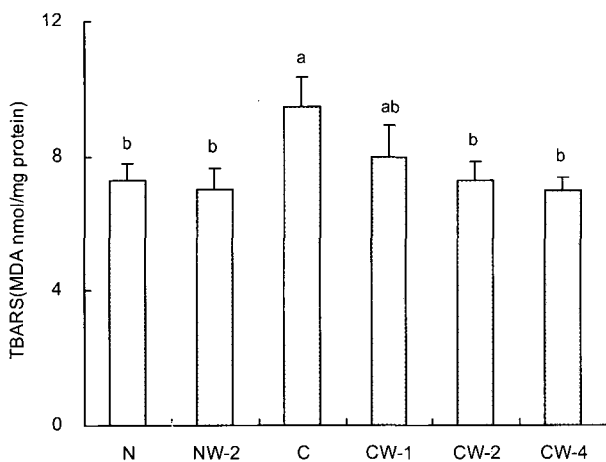


Fig. 1. Effect of enzymatic hydrolysate of Hamcho on hepatic thiobarbituric acid reactive substances levels in rats fed high cholesterol diets.

Experimental groups are the same in Table 1. All values are mean ± SE (n=6). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's HSD test.

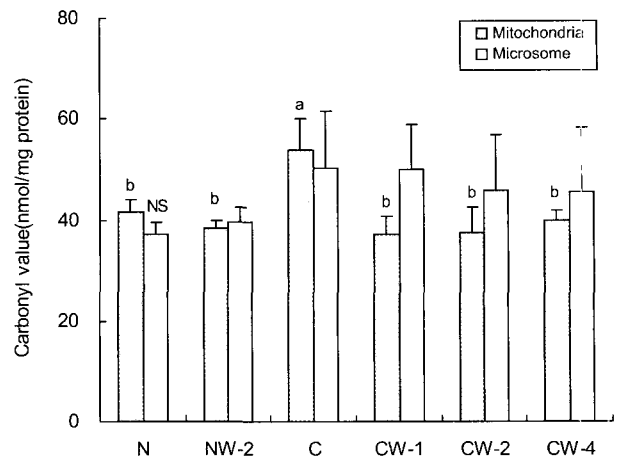


Fig. 2. Effect of enzymatic hydrolysate of Hamcho on hepatic carbonyl values in rats fed high cholesterol diets. Experimental groups are the same in Table 1.

All values are mean ± SE (n=6). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's HSD test. NS: not significant.

타내는 carbonyl 함량을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. Mitochondria에서는 정상군에 비해 고콜레스테롤 식이군에서는 29% 증가하였으나 함초추출물을 1%, 2% 및 4%를 공급한 군들에서 각각 31%, 30% 및 26%씩 감소하여 정상군 수준이었다. 이러한 결과는 함초 효소추출물에 함유되어 있는 항산화물질이 지질과산화를 억제함으로써 단백질 산화가 억제되고 이로 인하여 최종 조직의 산화를 억제시킨 것으로 여겨진다. 그러나 간조직의 microsome에서의 carbonyl 함량은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다.

요 약

본 연구는 함초의 효소적 가수분해물이 고콜레스테롤 식이 흰쥐의 항산화계와 지질과산화에 미치는 영향을 관찰하였다. 실험동물은 체중 150±10 g 내외의 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐를 사용하였으며, 정상식이대조군(N), 정상식이에 함초 열수추출물 2% 공급군(NW-2), 고콜레스테롤식이 대조군(C) 및 고콜레스테롤식이에 함초 열수추출물을 각각 1%(CW-1), 2%(CW-2) 및 4%(CW-4) 공급한 군으로 하여 총 6군으로 나누었다. 식이 및 식수는 자유섭취하게 하였으며 3주간 사육한 후 희생시켰다. 체중증가량은 N군에 비해 C군에서 유의적으로 증가하였으며, 함초추출물 공급군들은 C군에 비해 다소 감소하였으나 유의적인 수준은 아니었다. 간조직 손상의 지표를 나타내는 GOT 및 GPT 효소 활성 변화를 측정된 결과 GOT는 각 군간에 유의성이 없었으나 GPT는 고콜레스테롤 식이 대조군에 비해 함초추출물 1% 및 2% 공급군에서 유의적으로 감소하여 함초의 효소적 가수분해물은 간독성에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

간조직 중의 항산화 방어계의 효소 활성을 측정한 결과 SOD 활성은 C군에 비해 함초추출물 공급군에서 다소 증가하였으며, 특히 함초추출물 2%를 공급한 CW-2군에서 유의적으로 증가하였다. GSHpx 활성은 함초추출물 공급군에서 증가하는 경향이었으며 특히 함초추출물 4% 공급군에서 유의적으로 증가하였다. Catalase 활성은 함초추출물 공급군에서 다소 증가하였으나 각 군간에 유의적인 차이가 없었다. 한편, 조직의 과산화적 손상의 지표가 되는 간조직의 TBARS 함량은 C군에서 N군에 비해 30% 증가되었으나 함초추출물 2%와 4% 공급군에서 C군에 비해 각각 23%와 26%씩 감소되었다. 또한, 간조직의 mitochondria에서 carbonyl 함량을 측정한 결과 N군에 비해 C군에서 29% 증가하였으나 함초추출물을 각각 1%, 2% 및 4% 공급한 군들에서 각각 31%, 30% 및 26%씩 감소하여 정상군 수준이었다. 그러나 간조직의 microsomes에서는 실험군 간의 유의적인 차이는 없었다. 이러한 결과로부터 함초의 효소적 가수분해물은 고콜레스테롤 식이 흰쥐 간조직의 항산화계를 강화시켜 조직의 산화적 손상을 감소시키는 항산화 효과가 있음이 규명되었다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지정 대구가톨릭대학교 해양바이오산업연구센터의 지원에 의한 것입니다.

문헌

1. Korea National Statistical Office. 2005. Cause of death statistics.
2. Shepherd J, Packard CJ, Grundy SM, Yeshumin P, Gotto AM, Taunton OD. 1980. Effect of saturated and polyunsaturated fat diet in the chemical composition and metabolism of low density lipoprotein in man. *J Lipid Res* 21: 91-99.
3. Sacks FM. 2002. The role of high-density lipoprotein (HDL) cholesterol in the prevention and treatment of coronary heart disease: expert group recommendations. *Am J Cardiol* 90: 139-143.
4. Hegsted DM, McGandy RB, Myers ML, Stare FJ. 1965. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr* 17: 281-286.
5. Halliwell B, Gutteridge JMC. 1996. Free radicals, ageing, and disease. In *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon Press, London. p 416.
6. Frei B. 1994. Nonenzymatic antioxidant defense systems. In *Natural antioxidants in human health and disease*. Briviba K, Sies H, eds. Academic Press, London. p 107.
7. Ji LL. 1995. Exercise and oxidative stress: Role of the cellular antioxidant system. *Gerontology* 37: 317-325.
8. Siriwardhana N, Lee KW, Kim SH, Ha JW, Jeon YJ. 2003. Antioxidant activity of *Hizikia fusiformis* on reactive oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibition. *Food Sci Tech Int* 9: 339-346.
9. Heo SJ, Jeon YJ, Lee JH, Kim HT, Lee KW. 2003. Antioxidant effect of enzymatic hydrolysate from a kelp, *Ecklonia cava*. *Algae* 18: 341-347.
10. Lee HJ, Park KE, Yoo JS, Ahn JW, Lee BJ, Seo Y. 2004. Studies on screening of seaweed extracts for peroxynitrite and DPPH radical scavenging activities. *Ocean Polar Res* 26: 59-64.
11. Kim CS, Song TQ. 1993. Ecological studies on the halophyte communities at western and southern coasts in Korea. *Korean J Ecol* 6: 167-176.
12. Netty E, Cha JY, Yingshi L, Jung MH, Shin DG, Lee BH, Lee KH, Son DY. 2004. Molecular cloning and characterization of outer envelope membrane protein from *Salicornia herbacea*. *Korean J Plant Biotechnol* 31: 273-278.
13. Shin KS, Boo HO, Jeon MW, Ko JY. 2002. Chemical components of native plants, *Salicornia herbacea* L. *Korean J Plant Res* 25: 216-220.
14. Lee YS, Lee HS, Shin KH, Kim BK, Lee S. 2004. Constituents of the halophyte *Salicornia herbacea*. *Arch Pharm Res* 27: 1034-1036.
15. Bang MA, Kim HA, Cho YJ. 2002. Hypoglycemic and antioxidant effect of dietary hamcho powder in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 840-846.
16. Park SH, Ko SK, Choi JG, Chung SH. 2006. *Salicornia herbacea* prevents high fat diet-induced hyperglycemia and hyperlipidemia in ICR mice. *Arch Pharm Res* 29: 256-264.
17. Cha JY, Jeon BS, Park JW, Kim BK, Jeong CY, Ryu JS, Choi CK, Cho YS. 2004. Hypocholesterolemic effect of yogurt supplemented *Salicornia herbacea* extract in cholesterol-fed rats. *J Life Sci* 14: 747-751.
18. Han SK, Kim SM. 2003. Antioxidative effect of *Salicornia herbacea* L. grown in closed sea beach. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 207-210.
19. Han SK, Kim SM, Pyo BS. 2003. Antioxidative effect of glasswort (*Salicornia herbacea* L.) on the lipid oxidation of pork. *J Korean Nutr* 36: 981-989.
20. Han SK. 2004. Antioxidant effect of fermented *Salicornia herbacea* L. liquid with EM (effective microorganism) on pork. *Korean J Food Ani Resour* 24: 298-302.
21. Jeong CY, Ryu JS, Choi CK, Jeon BS, Park JW, Kim BK, Shin GG, Bae DW, Cha JY. 2004. Supplemented effect of *Salicornia herbacea* extracted powder on preparation and quality characteristics of fermented milk product. *J Life Sci* 14: 788-793.
22. 국민건강네트워크뉴스. 함초이용 발효음료 개발. 2006. 6. 26.
23. Kim KR, Jang MJ, Choi SW, Woo MH, Choi JH. 2006. Effect of water extract from enzymic-treated Hamcho (*Salicornia herbacea*) on lipid metabolism in rats fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 55-60.
24. Jang MJ, Kim KR, Choi SW, Woo MH, Choi JH. 2006. Antioxidant and antithrombus activities of water and methanol extracts from *Salicornia herbacea* prepared by enzymatic treatment. *Ann Nutr Metabol* (accepted)
25. Oh JH, Kim EO, Lee SK, Woo MH, Choi SW. 2006. Antioxidant property of ethanol extract from Hamcho (*Salicornia herbacea* L.) cake prepared by enzymatic treatment. *Food Sci Biotechnol* (accepted)
26. Reitman S, Frankel S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28: 56-63.
27. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
28. Lawrence RA, Burk RF. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71: 952-958.

29. Abei H, Wyss SR, Scherz B, Skvaril F. 1974. Heterogeneity of erythrocyte catalase II. Isolation and characterization of normal and variant erythrocyte catalase and their subunits. *Eur J Biochem* 48: 137-145.
30. Satoh K. 1978. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new metric method. *Clinica Chemica Acta* 90: 37-43.
31. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 186: 464-478.
32. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
33. Sreel RGD, Torrie JH. 1990. *Principles and procedures of statistics*. McGraw Hill, New York, USA.
34. Anderson JW, Jones AE, Riddell-Mason S. 1994. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J Nutr* 124: 78-83.
35. Kim SO, Rhee SJ, Rhee IK, Joo GJ, Ha HP. 1998. Effects of dietary xylooligosaccharide on lipid levels of serum in rats fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 945-951.
36. Jo YC, Ahn JH, Chon SM, Lee KS, Bae TJ, Kang DS. 2002. Studies on pharmacological effects of glasswort (*Salicornia Herbacea* L.). *J Med Crop Sci* 10: 93-99.
37. Kim SK, Kim HP, Lee MK, Kim SH, Moon A, Han HM, Huh H, Kim YC. 1993. The effect of betaine on the CCl₄-induced toxicity in primary cultured rat hepatocytes. *Yakhak Hoeji* 37: 499-503.
38. Kim SK, Kim YC. 1996. The effect of repeated betaine treatment on hepatotoxicity and cytochrome P-450 dependent drug metabolizing enzyme system. *Yakhak Hoeji* 40: 449-450.
39. Ha BJ, Lee SH. 2006. The protective effects of *Salicornia herbacea* L. against liver toxicity. *J Life Sci* 16: 95-100.
40. Del Boccio GLD, Porreca EPA, Savini R, Feliciani P, Ricci G, Cuccurullo F. 1990. Aortic antioxidant defence mechanism time-related change in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 81: 127-135.
41. Mantha SV, Kalra J, Prasad K. 1996. Effects of probucol on hypercholesterolemia-induced changes in antioxidant enzymes. *Life Sci* 58: 503-509.

(2006년 9월 21일 접수; 2006년 12월 2일 채택)