

## 생약초 청국장이 흰쥐의 혈액성분 및 뇨에 미치는 영향

김형우<sup>1#</sup>, 조수진<sup>2</sup>, 김부여<sup>3</sup>, 정선<sup>4</sup>, 박정숙<sup>5</sup>, 이숙영<sup>6</sup>, 조수인<sup>7\*</sup>

1: 산업용가속기이용 생물연구센터, 2: 고려대학교 의과대학, 3: 한국한의학연구원, 4: 동신대학교 한의과대학,  
5: 광주여자대학교 대체요법학과, 6: 조선대학교 단백질소재 연구센터, 7: 부산대학교 한의학전문대학원

### Effects of Herbal-cheonggukjang on Serum Composition and Urine in Rats

Hyung Woo Kim<sup>1#</sup>, Su Jin Cho<sup>2</sup>, Bu Yeo Kim<sup>3</sup>, Sun Jung<sup>4</sup>, Jung Suk Park<sup>5</sup>,  
Sook Young Lee<sup>6</sup>, Su In Cho<sup>7\*</sup>

1: Research Center of Industrial Accelerators, 2: College of Medicine, Korea University, 3: Korea Institute of Oriental Medicine, 4: College of Korean Medicine, Dongshin University, 5: Department of Complementary Alternative Therapy, Kwang-ju Womens University, 6: Research Center for Proteineous Materials, Chosun University, 7: School of Oriental Medicine, Pusan National University

### ABSTRACT

**Objectives :** Cheonggukjang(natto) is known to have anti-hyperlipidemic action in our previous study. This study was designed to investigate the safety of Prototype-cheonggukjang (PC, Herbal-natto).

**Methods :** We investigated the effects of PC on changes in body weights, food uptake, water uptake, levels of AST/ALT, levels of BUN/creatinine and electrolytes in serum from normal mice. PC is made by cheonggukjang added *Codonopsis Lanceolata*, *Houttuynia cordata* and *Lentinus edodes* in indicated concentrations.

**Results :** In this experiment, PC group showed equal levels of body weights, urine volume compared to non-treated control group. Oral administration of PC did not affect food and water uptake too. Levels of AST/ALT, which are markers of liver function, were not changed by administration of PC. In addition, levels of BUN/creatinine, which are markers of renal function, were not affected by PC too. Finally electrolytes in serum were not affected by PC.

**Conclusions :** These results imply that oral administration of PC is safe in the framework of liver and renal function, and electrolytes in serum.

**Key words :** Cheonggukjang, safety, herbal medicine

\* 교신저자 : 조수인, 부산시 금정구 장전동 산 30번지 부산대학교 한의학전문대학원

· Tel : 051-510-7383 · E-mail : sicho@pusan.ac.kr

# 제1저자 : 김형우, 전남 나주시 대호동 252번지 동신대학교 산업용가속기이용 생물연구센터

· Tel : 061-330-2972 · E-mail : kronos7@hanmail.net

· 접수 : 2008년 5월 18일 · 수정 : 2008년 6월 14일 · 채택 : 2008년 6월 20일

## 서 론

청국장은 우리나라 전통발효식품의 하나로 최근 들어 새로운 관심의 대상이 되고 있는 식품이다<sup>1)</sup>. 본 연구진은 이전 논문<sup>2)</sup>에서 생약초 청국장이 흰쥐의 혈중 콜레스테롤을 낮추어 고지혈증의 예방 및 치료에 활용될 소지가 매우 높음을 천명하였다. 청국장은 이 외에도 항혈전 작용 및 섬유소 용해작용 또한 알려져 있으며<sup>3)</sup>. 다른 연구자들에 의하여 항고지혈증 작용<sup>4)</sup>, 항고혈압 작용<sup>5)</sup>, 항암 효과<sup>6)</sup> 등이 알려져 있다. 그러나, 생약초 청국장의 안전성에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서 사용한 생약초로는 향간에 사삼(沙蔘)으로 오인되어 유통되고 있으나, 주로 식용으로 사용되고 한의학계에서는 한약재로 거의 사용되고 있는 더덕(*Codonopsis lanceolata* BENTH. et HOOK.)과 주로 식용으로 사용되는 표고버섯(한약재명은 香蕈), 그리고 한약재로서 다용되는 魚腥草(*Houttuynia cordata* THUNB.)이다.

본 연구진은 청국장 제조 공법을 확립하고 여기에 더덕, 어성초, 표고버섯을 첨가하여 항고지혈증 작용을 강화한 제품을 생산하였고, 이의 안전성 검증을 위하여 본 연구를 기획하였다. 본 연구에서는 안전성 검증을 위하여 체중, 식이량, 음수량에 미치는 영향을 관찰하고, 생약초 청국장의 투여가 끝난 후, 흰쥐의 혈액으로부터 Aspartate amino Transferase (AST)와 Alanine amino Transferase (ALT), Blood urea nitrogen (BUN), creatinine 함량을 관찰하고 혈액 내의 electrolytes의 변화를 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

체중 200 g 내외의 웅성 Wistar Rat (샘타코, 한국)을 사용하였다. 동물은 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고품사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경(실내온도 24±2℃, 습도 55±5%, 12시간 dark/light)에 1주일 이상 적응시킨 후 사용하였다.

#### 2) 시료의 준비

생약초 청국장은 광주여자대학교 대체요법학과에서 제작되었다. 첨가된 생약초로는 더덕, 어성초, 표

고버섯을 세말하여 사용하였다. 시료는 청국장 발효 후에 생약초 분말을 10%(w/w) 첨가하여 제작 되었으며, 발효 및 숙성은 42℃에서 48시간 동안 진행되었다.

## 2. 방법

### 1) 시료의 조제

제조된 생약초 청국장 200g을 전기 믹서(신일, 한국)로 갈아, 증류수 1,200 ml과 함께 잘 흔들어서 4℃에서 24시간 동안 추출한 후, 거즈로 걸러 추출액을 얻었다. 얻어진 추출액을 5,000 g에서 10분간 원심분리하여 찌꺼기는 버리고 상청액을 얻은 다음 加溫減壓乾燥法으로 70℃를 유지하면서 건조 분말을 얻었다. 이렇게 하여 얻어진 추출물은 평균 32.7 g으로 수율은 평균 16.4%였으며, 각 시료 간에 추출물의 차이는 거의 없었다.

### 2) 실험군 분류

정상군(Normal, n=12)에게는 일반 사료(삼양사, 한국)를 공급하였고, 시제품군(PC, n=12)에는 시료의 건조분말이 1g/kg 분량으로 함유된 사료를 공급하였다. 실험은 총 6주간 진행되었다.

### 3) 체중 및 식이량, 음수량 측정

시제품이 포함된 사료를 투여한 첫 날 전자저울을 이용하여 기준 체중을 측정하였다. 시제품이 포함된 사료를 투여하는 동안 총 6회 식이량 (g) 및 음수량 (ml)을 측정하였다. 측정 단위는 24시간으로 전일 오후 6시에 고형사료와 음용수를 공여한 후, 다음 날 오후 6시에 남은 사료와 음용수의 양을 측정하여 그 차이를 하루 동안의 식이량 및 음수량으로 계산하였다.

### 4) 혈중 AST/ALT, Total protein 측정

2주간의 약물 투여가 끝난 후, Ether로 흰쥐를 마취 시키고 심장채혈법으로 혈액을 얻었다. 얻어진 혈액을 5,000 x g로 20분간 원심분리하여 상청액을 취하여 혈청을 얻은 후, Reitman-Frankel 법<sup>7)</sup>을 이용하여 혈중 AST/ALT, Total protein의 함량을 측정하였다. OD (Optical Density)값은 분광광도계(Hitachi, U-2800, Japan)를 이용하여 측정하였다.

### 5) 혈중 BUN, Creatinine 측정

2주간의 구강 투여가 끝난 후, 백서로부터 심장 채혈의 방법으로 혈액을 얻었다. 얻어진 혈액은 원심분

리기(VS-15000N, Vision, 한국)를 이용하여, 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 찌꺼기를 버리고 상청액을 취하였다. 얻어진 혈청에서 혈중 BUN 및 Creatinine 함량 측정은 전용 Kit (아산제약, 한국)를 이용하여 측정하였다.

6) 혈액내 전해질 함량 측정

상기한 방법으로 혈청을 얻은 다음, 전해질 분석기 (Easy electrolyte, Medica)를 이용하여 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, C<sup>-</sup>의 함량을 측정하였다.

3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 Sigma plot (Sigma plot for Windows, ver. 9.0, USA)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준편차 (mean±SD)로 나타내었으며, 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

성적

1. 시제품의 투여가 체중 변화에 미치는 영향

고지혈증 유발 후, 시제품 투여가 시작되는 첫 날 체중을 기준으로 하여 6주간의 투여가 끝나고 체중 변화를 측정된 결과 시제품을 투여한 모든 군과 정상군 사이에 특별한 차이를 발견할 수 없었다(Fig. 1).

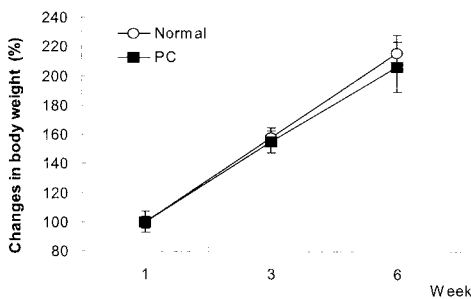


Fig. 1. Effects of PC on changes in body weights in normal rats

Body weights were measured on indicated day. Changes of Body Weight were represented as average weights, which were expressed as percentages of weight on day 1. Normal : naive Rats, PC : PC administered Rats. Values are represented as mean±SD(n=012).

2. PC의 투여가 식이량 및 음수량에 미치는 영향

6주간의 PC 투여기간 동안 식이량 및 음수량의 변화를 관찰 한 결과 특별한 차이는 관찰 되지 않았다(Fig. 2).

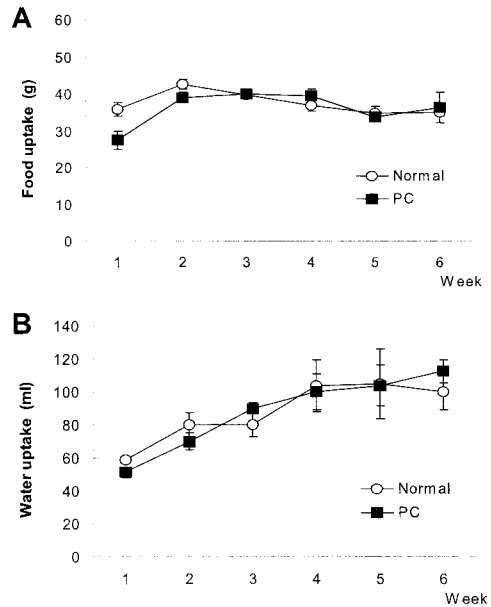


Fig. 2. Effects of PC on food and water uptake in normal Rats Food and Water uptake were measured one day in every week. Normal : naive Rats, PC : PC administered Rats. (A) Food uptake, (B) Water uptake. Values are represented as mean±SD(n=012).

3. 요량에 미치는 영향

6주간 PC 투여가 끝난 후, 흰쥐의 24시간 요를 수집하여 요량을 측정된 결과 정상군과 PC 투여군에서 특별한 차이를 발견할 수 없었다(Fig. 3).

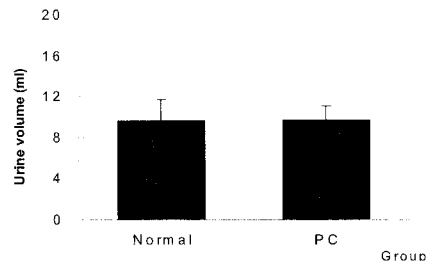


Fig. 3. Effects of PC on urine volume in normal rats

Urine volumes for 24h were measured at the end of experiment (day 42). Normal : naive rats, PC : PC administered rats. Values are represented as mean±SD(n=12).

#### 4. 혈청 및 뇨중 total protein 함량에 미치는 영향

6주간 PC 투여가 끝난 후, 흰쥐의 혈액 및 뇨로부터 Total protein 함량을 측정된 결과 정상군 및 PC 투여군간에 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 4)

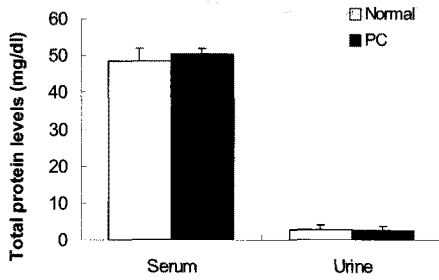


Fig. 4. Effects of PC on total protein levels in normal rats  
Total protein levels in serum and urine were measured using spectrophotometry. Normal: naive Rats, PC : PC administered Rats. Values are represented as mean±SD(n=12).

#### 5. 혈청 AST/ALT 함량에 미치는 영향

6주간 PC 투여가 끝난 후, 흰쥐의 혈액으로부터 AST/ALT 함량을 측정된 결과 정상군 및 PC 투여군간에 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 5).

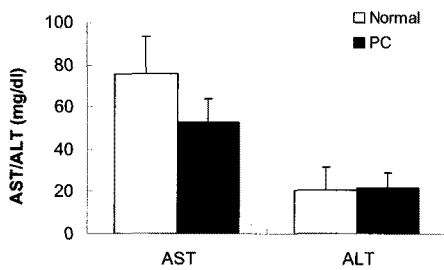


Fig. 5. Effects of PC on AST/ALT levels in normal rats  
AST/ALT levels in serum were measured using spectrophotometry. Normal: naive Rats, PC : PC administered Rats. Values are represented as mean±SD(n=12).

#### 6. 혈청 전해질 함량에 미치는 영향

6주간 PC 투여가 끝난 후, 흰쥐의 혈액으로부터 전해질 함량을 측정된 결과 정상군 및 PC 투여군간에 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 6).

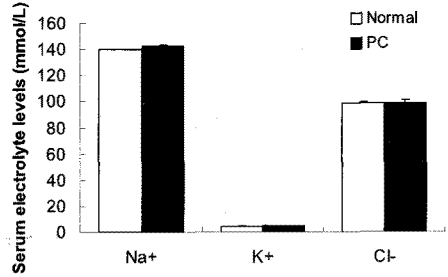


Fig. 6. Effects of PC on electrolyte levels in normal rats  
Electrolyte levels in serum were measured using electrolytic analyzer. Normal: naive Rats, PC : PC administered Rats. Values are represented as mean±SD(n=12).

#### 7. 혈청 및 뇨중 BUN/Creatinine 함량에 미치는 영향

6주간 PC 투여가 끝난 후, 흰쥐의 혈액 및 뇨로부터 BUN/Creatinine 함량을 측정된 결과 정상군 및 PC 투여군간에 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 7 A, B)

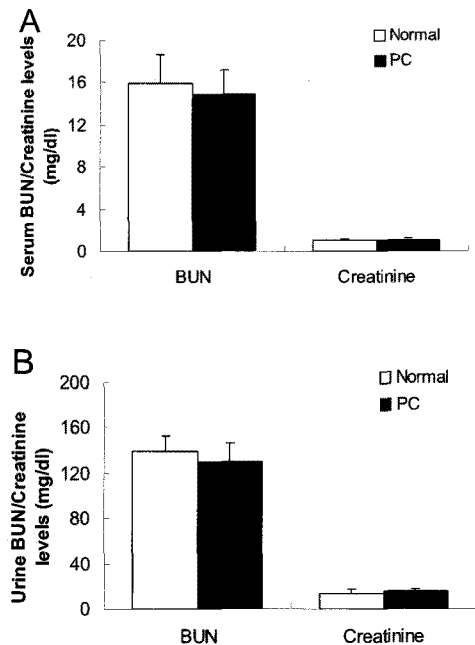


Fig. 7. Effects of PC on BUN/Creatinine levels in normal rats.  
BUN/Creatinine levels in serum and urine were measured using spectrophotometry. Normal: naive Rats, PC : PC administered Rats. Values are represented as mean±SD(n=12).

## 고찰

본 연구진은 우리가 매일 접하는 전통음식으로부터 고지혈증을 예방 할 수 있는 새로운 기능을 발견하고 이를 통하여 새로운 제품을 개발하였고, 이러한 내용을 이전 연구 결과<sup>2)</sup>를 통하여 보고 한 바 있다. 본 연구에서는 이전 연구를 통하여 개발된 생약초청국장의 안전성 검증을 위하여 정상 동물에 6주간 더덕, 어성초, 표고버섯이 함유된 생약초 청국장 추출물을 투여하면서 체중 및 식이량, 음수량의 변화를 관찰하고, 6주간의 약물 투여가 끝난 후, 흰쥐의 혈액과 요로부터 Total protein, electrolyte, AST, ALT, BUN, Creatinine을 측정된 결과 모든 결과에서 정상 동물과 PC 투여군간의 유의한 차이는 없었다.

체중 변화와 요량 등은 많은 연구에서 실험 동물의 일반적인 상태를 관찰하기 위한 기본적 자료로 여겨져 왔으며, 상당 수의 논문에서는 체중 변화가 부작용의 하나로 취급되어져 왔다<sup>8,9)</sup>. 본 연구의 결과에서 PC 투여는 체중 변화 및 요량에 특별한 영향을 미치지 않았다(Fig. 1, 3). 이러한 결과는 PC가 흰쥐의 General condition에 특별한 영향을 미치지 않았다는 것으로 해석되며, 또한 수분 저류에 의한 부종이나, 체중을 증가시켜 비만을 일으킬 수 있는 소지도 적은 것으로 생각된다.

일반적인 청국장은 염도가 높아서 음수량의 증가를 가져올 가능성이 존재 한다<sup>10,11)</sup>. 본 연구에서 PC는 특별한 음수량이나 식이량의 변화를 가져오지 않았다(Fig. 2A, 2B). 특히 음수량 면에서 특별한 변화를 보이지 않은 것은 1g/kg의 청국장 추출물 함량이 가지는 염도가 섭취의 제약점이 될 소지는 적은 것으로 해석된다. 다만 염도와 청국장의 발효, 향취 및 맛과의 관계에 대한 후속 연구가 필요하리라고 생각된다.

혈액 내 단백질의 대부분은 알부민이 차지하며, 염증 질환을 포함한 몇 가지 질환에서 증가될 수 있으며, 영양실조, 간기능 저하에 의하여 감소될 수 있다<sup>12-14)</sup>. 본 연구의 결과에서 혈중 전체 단백질량은 특별한 차이를 보이지 않았다(Fig. 4). 이러한 결과는 흰쥐에서 최소한 간기능 저하 등과 같은 몇 가지 문제들을 일으키지 않는다는 것으로 해석된다.

많은 수의 혈청 효소에 대한 분석이 간세포 손상의 표식자로 제안되었지만, 그 중 AST (Aspartate aminotransferases, sGOT) 및 ALT (Alanine aminotransferase, sGPT)가 가장 유용하다<sup>15)</sup>. 혈청 AST

와 ALT는 거의 모든 간질환에서 어느 정도 증가한다. 본 연구의 결과에서 PC 투여는 혈중 AST와 ALT 함량에 특별한 영향을 미치지 않았다(Fig. 5). 이러한 결과로부터 제한적이지만, PC는 간기능에 특별한 영향을 미치지 않는다는 것을 짐작 할 수 있다.

혈액 내의 전해질 불균형은 신장 여과 기능의 문제 또는 각종 호르몬의 문제 때문에 발생할 수 있다<sup>16,17)</sup>. 본 연구의 결과에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  모두 정상군 및 PC 투여군에서 특별한 차이를 보이지 않았다(Fig. 6). 이러한 결과는 PC의 투여가 신장 기능, 호르몬 분비 및 신체의 각종 대사 기능에 특별한 영향을 미치지 않는 것으로 해석된다.

혈액과 요중의 BUN (Blood Urea Nitrogen) 및 Creatinine 함량은 신장 기능을 평가하는데 매우 중요한 인자 중의 하나이다. 이들은 신장의 기능저하에 의하여 혈중 농도가 상승하는 경향을 가지고 있다. 만성 신부전 같은 질환에서 BUN과 Creatinine 농도의 증가와 관련된 증상과 증후가 나타나는 경우가 많다<sup>18)</sup>. 특히 Creatinine은 골격근 대사과정의 부산물이어서 혈장에 비교적 일정한 농도로 존재하므로 환자의 정맥에 따로 투여할 필요가 없기 때문에 신장 기능의 평가에 다양하게 이용되고 있다<sup>17)</sup>.

본 연구의 결과에서 PC 투여는 혈액과 요중의 BUN 및 Creatinine 함량에 특별한 영향을 미치지 않았다(Fig. 7). 이러한 결과 역시 제한적이거나 PC의 투여가 신장 기능에도 특별한 영향을 미치지 않는 것으로 해석된다.

본 연구에서 신장 기능에 대한 또 하나의 지표로서 요중의 총 단백질 함량을 측정하였는데, 요중의 단백질 증가는 신장의 여과기능 손상에 기인하는 경우가 많다. 본 연구의 결과에서 요중 총 단백질은 정상군과 유사하게 거의 측정되지 않았다(Fig. 4). 이러한 결과는 PC의 투여가 신장의 여과 기능에 큰 영향을 미치지 않을 가능성이 높은 것으로 해석된다.

이상의 결과를 요약하면, 생약초 청국장의 투여는 체중, 요량, 식이량, 음수량에 아무런 영향을 미치지 않았고, 요중 및 혈중의 단백질 함량 및 간 손상의 지표인 AST, ALT 신장 기능의 지표인 BUN, creatinine 함량에도 특별한 영향을 미치지 않았다. 이러한 결과를 바탕으로 본 연구진이 개발한 생약초 청국장에 대하여 비록 제한적인 연구를 통해서 살펴 보았지만, 관찰된 결과는 식용하였을 때, 예견되는 위 해요소는 발견되지 않았음을 보고하는 바이다.

## 결 론

본 연구진이 개발한 생약초 청국장의 안전성 검증을 위하여 흰쥐에 생약초 청국장을 투여하면서 체중 변화, 요량, 식이량, 음수량을 측정하고, 청국장의 투여가 끝난 후, 생쥐의 혈액과 요로부터 총 단백질 함량, AST/ALT, 전해질, BUN/creatinine 함량을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 생약초 청국장은 흰쥐의 체중 및 요량에 특별한 영향을 미치지 않았다.
2. 생약초 청국장은 흰쥐의 식이량 및 음수량에 특별한 영향을 미치지 않았다.
3. 생약초 청국장은 흰쥐의 혈액과 요의 총 단백질 함량에 특별한 영향을 미치지 않았다.
4. 생약초 청국장은 흰쥐의 혈액 AST/ALT 함량에 특별한 영향을 미치지 않았다.
5. 생약초 청국장은 흰쥐의 혈액 전해질 함량에 특별한 영향을 미치지 않았다.
6. 생약초 청국장은 흰쥐의 혈액 및 요의 BUN/creatinine 함량에 특별한 영향을 미치지 않았다.

이러한 결과들을 바탕으로, 생약초 청국장의 안전성을 검증한 결과 식용으로 사용하였을 때, 예견되는 건강상의 위해 요소는 발견되지 않았다. 따라서 본 연구진이 개발한 생약초 청국장은 비교적 안전하게 식용될 수 있을 것이라고 생각하며, 추후 청국장의 염도와 관련된 후속 연구가 필요하리라 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 전라남도 장흥군이 주관한 고부가가치 생약초제품 연구개발용역사업의 연구비를 지원받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 고진복, 고지방 섭취 압력에 청국장이 지질대사에 미치는 영향. 한국영양학회지. 2006 ; 39(4) : 331-7.
2. 김형우, 조수진, 김부여, 정선, 박정숙, 이숙영, 조수인. 생약초 청국장이 흰쥐의 혈중 콜레스테롤 함량에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2008 ; 23(1) : 17-22.

3. Omura K, Hitosugi M, Zhu X, Ikeda M, Maeda H, Tokudome S. A newly derived protein from *Bacillus subtilis natto* with both antithrombotic and fibrinolytic effects. *J Pharmacol Sci.* 2005 Nov ; 99(3) : 247-51.

4. 김승진, 이승훈, 위성장. 낫도(Natto) 점질물이 흰쥐의 혈청 지질성분에 미치는 영향. 한국유화학회지. 2002 ; 19(1) : 63-67.

5. 양정례, 이숙희, 송영선. 자발성 고혈압 흰쥐에서 전공과 청국장 분말의 혈압 및 지질대사 개선 효과. 한국식품영양과학회지. 2003 ; 32(6) : 899-905.

6. 광충실, 김미연, 김성애, 이미숙. 청국장의 암세포생장억제효과 및 흰쥐에서 DMBA 투여에 의한 유방종양발생 억제효과. 한국영양학회지. 2006 ; 39(4) : 347-56.

7. Crowley LV. The Reitman-Frankel colorimetric transaminase procedure in suspected myocardial infarction. *Clin Chem.* 1967 ; 13(6) : 482-7.

8. Pi-Sunyer FX. Short-term medical benefits and adverse effects of weight loss. *Ann Intern Med.* 1993 Oct 1 ; 119 : 722-6.

9. Endo Y, Kanbayashi H. Modified rice bran beneficial for weight loss of mice as a major and acute adverse effect of Cisplatin. *Pharmacol Toxicol.* 2003 Jun ; 92(6) : 300-3.

10. 이동순. 염도와 알코올 첨가량에 따른 청국장 숙성중의 변화. 한국조리학회지. 1997 ; 3(0) : 239-57.

11. 박병준, 장규섭, 김동호, 육홍선, 변명우. 감마선 조사와 저염함량으로 제조한 된장의 미생물 및 품질특성 변화. 한국식품과학회지. 2002 ; 34(1) : 79-84.

12. Van Diejen-Visser MP, Seynaeve C, Brombacher PJ. Influence of variations in albumin or total-protein concentration on serum fructosamine concentration. *Clin Chem.* 1986 ; 32(8) : 1610.

13. Loste A, Marca MC. Study of the effect of total serum protein and albumin concentrations on canine fructosamine concentration. *Can J Vet Res.* 1999 Apr ; 63(2) : 138-41.

14. Schreiber G, Urban J, Zähringer J, Reutter W, Frosch U. The secretion of serum protein and the synthesis of albumin and total protein in regenerating rat liver. *J Biol Chem.* 1971 Jul 25 ; 246(14) : 4531-8.

15. Kurt J. Isselbacher, Eugene Braunwald, Jean D. Wilson, Joseph B. Martin, Anthony S. Fauci,

Dennis L. Kasper. Harrison's principles of internal medicine. Seoul : Jung Dam Publishing Co. 1997 ; 2 : 1553-5.

16. 권민아, 김갑수, 홍정길, 조현성, 김진경, 양미경, 이병달. 만성 신부전 환자에서 0.45% 및 0.9% 식염수액이 혈중 소듐 농도에 미치는 영향. 대한마취

과학회지. 2003 ; 44(4) : 462-8.

17. 의학계열 교수 27인 공역. 의학 생리학. 서울 : 정담. 2002 : 349-50.

18. 신진호, 이영기, 김상욱, 권영주, 표희정. 만성 신부전환자의 투석요법개시시의 임상상. 대한내과학회지. 1998 ; 54(5) : 598-606.