

## Improvement Effect of Fermented Silkworm (*Bombyx mori* L.) Powder against Orotic Acid-induced Fatty Liver in Rats

Hee-Young Ahn<sup>1</sup>, Jae-Young Cha<sup>3</sup>, Kyu-Rim Park<sup>1</sup>, Yu-Ra Kim<sup>2</sup> and Young-Su Cho<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biosciences, Graduate School, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

<sup>2</sup>Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

<sup>3</sup>Technical Research Institute, Daesun Distilling Co., Ltd, Busan 619-951, Korea

Received April 23, 2013 / Revised May 28, 2013 / Accepted June 21, 2013

Current study was to investigate the potential effects of silkworm, *Bombyx mori* L. fermented with *Bacillus subtilis* (BFSP) and *Aspergillus kawachii* (AFSP) at the 5% (w/w) levels in Sprague-Dawley rats, which was intoxicated with 1% (w/w) orotic acid (OA) for 10 days. The rat group administered silkworm powder showed improvements in fatty liver condition. Consumption of fermented silkworm powder reduced triglyceride concentrations in the liver tissues and serum and increased the serum lipid concentrations to normal levels, thereby aiding in improving fatty liver conditions. These effects were more pronounced in the BFSP than that in SP or AFSP in orotic acid-induced hepatotoxicity and oxidative stress. Based on these results, fermented silkworms are considered to be a material with significant potential for development into a functional health food that can improve fatty liver conditions.

**Key words** : *Bombyx mori* L., *Bacillus subtilis*, *Aspergillus kawachii*, fermentation, orotic acid, fatty liver

### 서 론

체내 중성지방 대사와 깊은 관련이 있는 간은, 식생활 양상의 변화로 비만, 고지혈증, 동맥경화, 고혈압 및 당뇨병 등 대사성 질환, 영양분 과다 섭취, 다량의 알코올 섭취 등으로 중성지방이 증가함으로써 지방을 축적하게 된다[17, 22].

Orotic acid (OA)는 carbamyl phosphate와 aspartic acid 등의 폐환 반응에 의하여 생성된 pyrimidine nucleotide 생합성의 중간생성물로서[20], 고 sucrose 식이에 1% 수준으로 첨가하여 흰쥐에 1주일 이상 투여시켰을 때 간장에 중성지방이 이상적으로 축적되어 지방간을 유발시키는 것으로 알려져 있다[4, 8]. OA-유발 지방간은 간 독성에는 큰 영향을 미치지 않으면서도 지질 대사에는 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 이전부터 지질 대사에 관련된 지방간 모델로 많이 이용되고 있다[7, 13].

최근 새로운 생물자원으로 곤충산업의 중요성이 조명되면서 누에 유충을 이용하여 생리활성을 검색하고, 그 대사기작에 영향을 미치는 작용물질을 분리하는 연구가 수행되고 있다 [14, 19, 21].

누에는 단백질, 아미노산, 펩티드, 미네랄, deoxynojir-  
imycin 그리고 섬유질과 같은 임상적과 영양적 가치가 있는  
성분을 포함하고 있다[15]. 최근 연구에서는 이러한 성분들을  
포함하는 누에 추출물 섭취가 동물실험에서 혈청 지질과 글루  
코오스의 상당한 감소와 관련 있다는 것을 보고했다[23]. 또한  
이전 연구에서 누에의 배설물이 알코올 유발성 간독성 예방에  
효과가 있는 것으로 나타났다[16].

오늘날 식품 및 음료사업은 친환경적인 것을 찾는 경향이  
보편화되고 있어 발효산업이 접목 되고 있다. 또한, 발효관련  
미생물에 관한 연구 또한 활발히 진행되고 있으며, 그 중  
*Aspergillus* 및 *Bacillus* 속 균주들은 우리나라를 비롯한 아시아  
권에서 주로 발효식품 및 양조에 많이 이용되고 있다[1, 11].  
특히 고단백 식품 소재를 단백질 분해력이 뛰어난 *Bacillus* 속  
과 같은 미생물로 발효시킬 경우 균 생육이 촉진되는 동시에  
균주가 생산하는 효소의 작용으로 세포벽 파괴로 인해 미분해  
성 물질들의 분해가 촉진되어 가용성 추출물의 함량이 증가되  
기도 하고, 분비 효소에 의해 단백질을 유리아미노산, oligo-  
peptide, 저분자 단백질이 생산 되는 등 다양한 생리활성 물질  
이 생성됨으로서 원료 소재 보다는 기능성이 강화된 식품으로  
인식 되어지고 있다[9]. *Aspergillus oryze*, *Aspergillus kawachii*  
균주[11]로 발효시킨 발효 누에와 발효 대두 koji로부터 강력  
한 항산화 물질이 생산되었고, 효모 및 *Bacillus* 속 균주에 의해  
서도 배양배지 속에 항산화 물질이 만들어지는 것으로 알려져  
있다. 산화스트레스는 간질환 유발에서 매우 중요한 역할을  
하는 것으로 알려져 있어 *Aspergillus* 및 *Bacillus* 속 균주를 이

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7586, Fax : +82-51-200-7505

E-mail : choys@dau.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

용한 발효에 의해 만들어지는 항산화 및 간 보호 물질이 주목을 받고 있다.

따라서 본 실험에서는 *Aspergillus kawachii* 및 *Bacillus subtilis* 균주에 의해 발효된 누에 분말을 이용하여 지방간 개선효과를 확인하기 위하여 Orotic acid-유발 지방간 흰쥐의 혈액 및 간장의 지질농도, 임상생화학적 및 조직형태학적 변화를 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료

*Bacillus subtilis* KACC 91157 (*B. subtilis*) 및 *Aspergillus kawachii* KCCM 32819 (*A. kawachii*) 균주를 사용하여 열풍건조 누에분말을 발효시켜 시료로 사용하였다. 전 배양 시킨 *B. subtilis* 균주를 살균한 열풍건조 누에 분말에 접종한 후 37°C에서 48시간 발효시킨 후 6시간 동안 열풍 건조시켜 실험동물에 사용하였다[9]. 또한 PD (Potato Dextrose)액체배지에서 150 rpm, 30°C 조건에서 72시간 전 배양 시킨 *A. kawachii* 균주도 살균한 열풍건조누에분말에 접종하여 30°C에서 12일간 발효시킨 후 60°C에서 6시간 동안 열풍 건조시켜 얻은 발효 누에 분말 시료를 동물실험에 사용하였다[5].

#### 식이조성 및 실험군

식이 조성은 Table 1과 같으며, 정상군(N), 오르틴산(Orotic acid) 투여 대조군(OA), OA + 누에 분말 투여군(SP), OA +

*B. subtilis* 발효 누에 분말 투여군(BFSP), OA + *A. kawachii* 발효 누에 분말 투여군(AFSP) 및 OA + glutamic acid 투여군(GA)으로 나누어 실험을 진행하였다. 발효 누에 분말의 식이 중 첨가량 결정은 전보[23]의 방법에 준하였으며, 이때 식이 중에 첨가한 발효 누에 분말과 글루탐산은 단백질원인 카제인과 당질원인 설탕으로 대체하여 첨가하였다. 글루탐산은 누에 분말 아미노산에서 차지하는 용량만큼 사용하였다.

#### 실험동물 및 사육조건

실험동물은 6주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 (주)대한 바이오링크 (충북 음성, 한국)에서 구입하여 일주일간 시판 고형사료를 급여하면서 환경에 적응시킨 후 본 실험에 사용하였다. 본 실험은 체중이 동일하게 난괴법(randomized complete block design)으로 분류하여 사육실 온도(22±2°C)와 습도(50±5%) 및 명암주기(명주기: 07:00~19:00)가 조절되는 동물 사육실에서 사육하였다. 사육 기간 중 식이 섭취량은 매일 측정하였고, 체중은 처음 시작일과 마지막 실험일에 측정하였다. 본 연구는 동아대학교 동물실험윤리심의위원회의 승인(승인번호:DIACUC-승인-10-22)을 받아 진행하였다.

#### 동물실험, 시료 채취 및 분석시료 조제

동물실험은 10일간 각 군별로 조제사료를 급여하면서 사육한 후, 실험 최종일 12시간 이상 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시켜 해부하였다. 개복 후 복부 대동맥으로부터 채혈하여 혈액을 채취하고, 약 30분간 실온에 방치시킨 후 3,000 rpm에

Table 1. Compositions of experimental diets (%)

Ingredients	N	Orotic acid				
		OA	SP <sup>1)</sup>	BFSP <sup>2)</sup>	AFSP <sup>3)</sup>	GA <sup>4)</sup>
Casein	20	20	17.5	17.5	17.5	19.35
Corn starch	15	15	15	15	15	15
Sucrose	45	44	41.5	41.5	41.5	41.5
Cellulose	5	5	5	5	5	5
Corn oil	10	10	10	10	10	10
Mineral mixture <sup>5)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture <sup>6)</sup>	1	1	1	1	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Orotic acid	1	1	1	1	1	1
SP	0	0	5	0	0	0
BFSP	0	0	0	5	0	0
AFSP	0	0	0	0	5	0
GA	0	0	0	0	0	3.15
Total (%)	100	100	100	100	100	100

<sup>1)</sup>SP: Silkworm powder

<sup>2)</sup>BFSP: *Bacillus subtilis* fermented silkworm powder

<sup>3)</sup>AFSP: *Aspergillus kawachii* fermented silkworm powder

<sup>4)</sup>GA: Glutamic acid

<sup>5)</sup>AIN 93 M-MX mineral mix, MP Biomedicals, Illkirch, France

<sup>6)</sup>AIN 93 VX vitamin mix, MP Biomedicals, Illkirch, France

서 20분간 원심분리 하여 혈청을 얻어 혈청 생화학적 분석에 제공하였다. 채혈 후 각 조직을 적출하여 차가운 0.9% 생리식염수로 세척하고 여과지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 분석시료로 제공하였다.

혈청 지질농도 및 생화학적 지표분석

혈청 중의 total lipid, triglyceride, total-cholesterol, phospholipid, 유리지방산은 의료전문수탁검사기관인 네오딘의학연구소(서울, 한국)에 의뢰하여 분석하였다. 간 조직의 총 지질은 이전의 실험방법에 준하여 추출하였으며[12], 중성지질 농도는 혈청의 lipase-glycerol phosphate oxidase법을 응용한 commercial kit (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA)를 사용하였다[18].

간조직의 병리조직학적 관찰

동물해부 직후 적출한 간을 냉각 생리식염수로 관류하여 혈액을 제거시킨 상태에서 조직의 일정한 부위의 일부를 취하여 10% 중성포르말린 용액에 고정하여 통상적인 조직처리인 파라핀 포매 과정을 거쳐 3~4 μm 두께로 절편하여 hematoxylin and eosin (H&E) 염색 한 후 광학현미경(Olympus BX41, Olympus Co., Tokyo, Japan)으로 관찰 후 사진촬영을 하였다.

통계처리

실험으로부터 얻어진 결과는 one-way ANOVA 검정에 의한 평균치와 표준오차(mean ± SE)로 표시하였으며, 각 실험군 간의 유의성 검증은 Duncan's multiple range test로 하였다[10].

결과 및 고찰

식이 및 음료 섭취량 변화

Orotic acid 1% 수준을 첨가하여 지방간을 유도한 흰쥐에 누에 분말, *B. subtilis* 발효 누에 분말, *A. kawachii* 발효 누에 분말이 미치는 영향을 살펴보기 위해 대조군인 Glutamic acid 와 함께 5% 농도를 10일간 기본식이에 첨가하여 투여하였다. Orotic acid는 간장의 중성지질 증가와 체중 감소에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다[2]. 정상군에서 체중이 증가한 것에 비해 OA대조군에서는 유의적으로 감소하여 OA투여에 의해 성장에 영향을 미친 것으로 사료되며, 식이섭취량은 유의적인 차이가 없었다(Table 2).

각 장기의 무게

상대적 간 조직의 무게는 정상군(N)군 3.16%에 비교해서 OA 투여 대조군에서 4.66%로 유의적인 증가를 보여 중성지질

Table 2. Effects of SP, BFSP, AFSP, and GA on the body weight gain, food intake, and water consumption in orotic acid feeding rats

Group	Body weight gain (g)	Food intake (g/day)	Water consumption (ml/day)
N	68.17±4.32 <sup>a</sup>	19.63±0.33 <sup>NS</sup>	28.93±1.03 <sup>NS</sup>
OA	40.72±5.34 <sup>b</sup>	19.23±0.23	29.64±0.84
SP	50.08±5.26 <sup>b</sup>	18.70±0.41	31.75±1.29
BFSP	51.93±4.31 <sup>b</sup>	18.23±0.36	29.75±1.17
AFSP	48.30±3.15 <sup>b</sup>	19.45±0.74	29.00±1.35
GA	41.19±9.27 <sup>b</sup>	18.33±0.35	28.78±0.62

Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$ . (mean±S.E., n=6). NS: Not significant different. Abbreviations are the same as in Table 1.

Table 3. Effects of SP, BFSP, AFSP, and GA on the tissues relative weight in orotic acid-induced fatty liver model rats (% of terminal B.W)

Groups	N	OA	SP	BFSP	AFSP	GA
Liver	3.16±0.07 <sup>a</sup>	4.66±0.24 <sup>b</sup>	4.20±0.20 <sup>bc</sup>	3.85±0.06 <sup>c</sup>	4.20±0.11 <sup>bc</sup>	4.57±0.23 <sup>b</sup>
Kidney	0.76±0.02 <sup>a</sup>	0.78±0.01 <sup>a</sup>	0.73±0.02 <sup>a</sup>	0.67±0.02 <sup>b</sup>	0.73±0.01 <sup>a</sup>	0.76±0.01 <sup>a</sup>
Heart	0.37±0.02 <sup>a</sup>	0.38±0.01 <sup>a</sup>	0.36±0.01 <sup>ab</sup>	0.35±0.01 <sup>ab</sup>	0.33±0.01 <sup>b</sup>	0.37±0.01 <sup>ab</sup>
Spleen	0.27±0.02 <sup>a</sup>	0.24±0.01 <sup>ab</sup>	0.21±0.01 <sup>b</sup>	0.26±0.02 <sup>a</sup>	0.24±0.01 <sup>ab</sup>	0.23±0.01 <sup>ab</sup>
Testis	0.96±0.02 <sup>a</sup>	1.07±0.02 <sup>bd</sup>	1.04±0.03 <sup>b</sup>	1.14±0.02 <sup>c</sup>	1.13±0.02 <sup>c</sup>	1.13±0.03 <sup>cd</sup>
Epididymal fat pad (g)	1.37±0.07 <sup>a</sup>	1.14±0.07 <sup>bc</sup>	1.23±0.06 <sup>ab</sup>	1.12±0.02 <sup>bc</sup>	1.07±0.04 <sup>b</sup>	1.30±0.02 <sup>ac</sup>
Perirenal fat pad (g)	1.06±0.05 <sup>a</sup>	0.84±0.04 <sup>b</sup>	1.01±0.05 <sup>a</sup>	1.05±0.05 <sup>a</sup>	0.74±0.09 <sup>b</sup>	0.80±0.01 <sup>b</sup>

Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$ . (mean±S.E., n=6). Abbreviations are the same as in Table 1.

의 축적에 의한 전형적인 지방간 유발이 확인되었고(Table 3), 이러한 결과는 이전의 실험 결과와 일치하였다[7]. 그러나 OA 투여에 의한 이러한 상대적 간 조직의 무게 변화는 SP, BFSP 및 AFSP 투여에 의해 각각 4.20, 3.85, 4.20%로 약간씩 낮아지는 경향을 보였으나, GA 투여군에서는 4.57%로 OA 투여군과 큰 차이를 보이지 않았다. 신장, 심장, 비장 조직의 상대적 중량은 정상군과 OA 투여군 사이에 유의적인 차이가 없었으나, 다른 실험군에 의해서도 큰 차이는 없는 것으로 나타났다. 부고환 주변 및 신장 주변의 지방 조직 무게는 정상군이 OA를 투여한 모든 군 보다 높은 것으로 나타나 체중에 어느 정도 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

간 조직 및 혈청 중성지질 농도

간 조직의 중성지질 축적은 비 알코올성 또는 알코올성 지방간 유발 원인 물질로 잘 알려져 있다[3]. 본 실험에서 OA 투여에 의해 간 조직의 중성지질 농도가 정상군 보다 현저히 증가한 것은 OA 유발 지방간의 특징을 잘 반영해주는 결과이다(Fig. 1). OA 섭취에 의한 지방간 유발 원인은 microsomal triglyceride transfer protein (MTP) 활성 저해에 의한 VLDL 분비저하[6, 13], 중성지질 합성 경로의 주요 조절 효소인 phosphatidate phosphohydrolase (PAP) 및 diacylglycerol acyltransferase (DGAT) 효소 활성의 촉진[4, 8] 및 지방산 산화 억제[70]가 주요 기작으로 알려져 있다. OA 투여 군에서 간

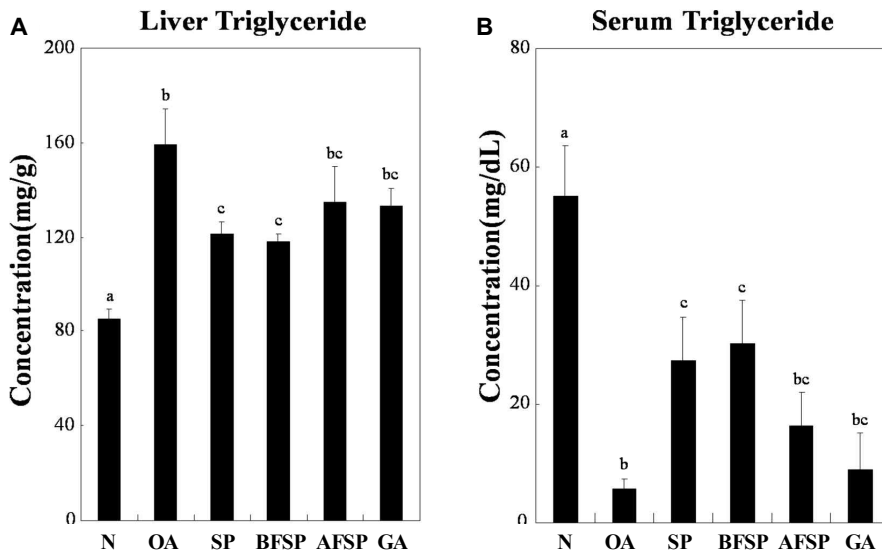


Fig. 1. Effects of SP, BFSP, AFSP, and GA on the triglyceride concentration of liver (A) and serum (B) in orotic acid feeding rats. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$ . (mean  $\pm$  S.E.,  $n=6$ ). Abbreviations are the same as in Table 1.

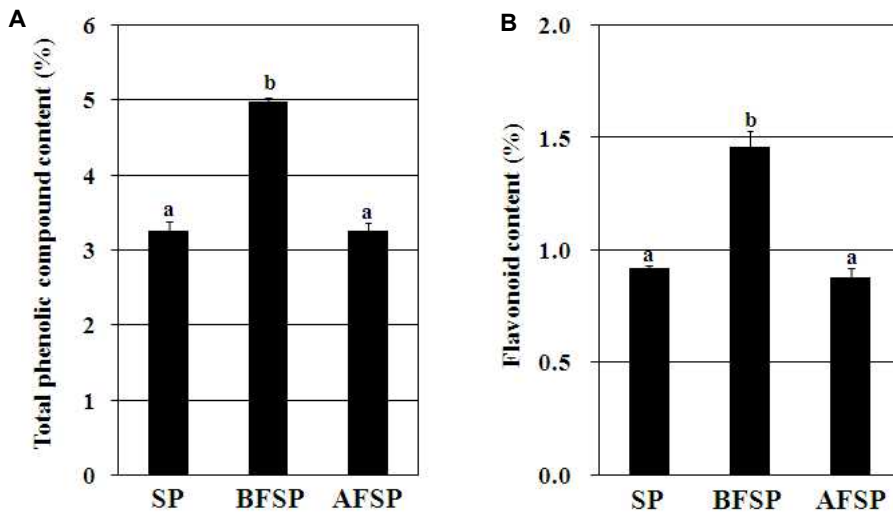


Fig. 2. Concentrations of total polyphenolic compound (A) and flavonoids (B) in SP, BFSP and AFSP. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$ . (mean  $\pm$  S.E.,  $n=6$ ). Abbreviations are the same as in Table 1.

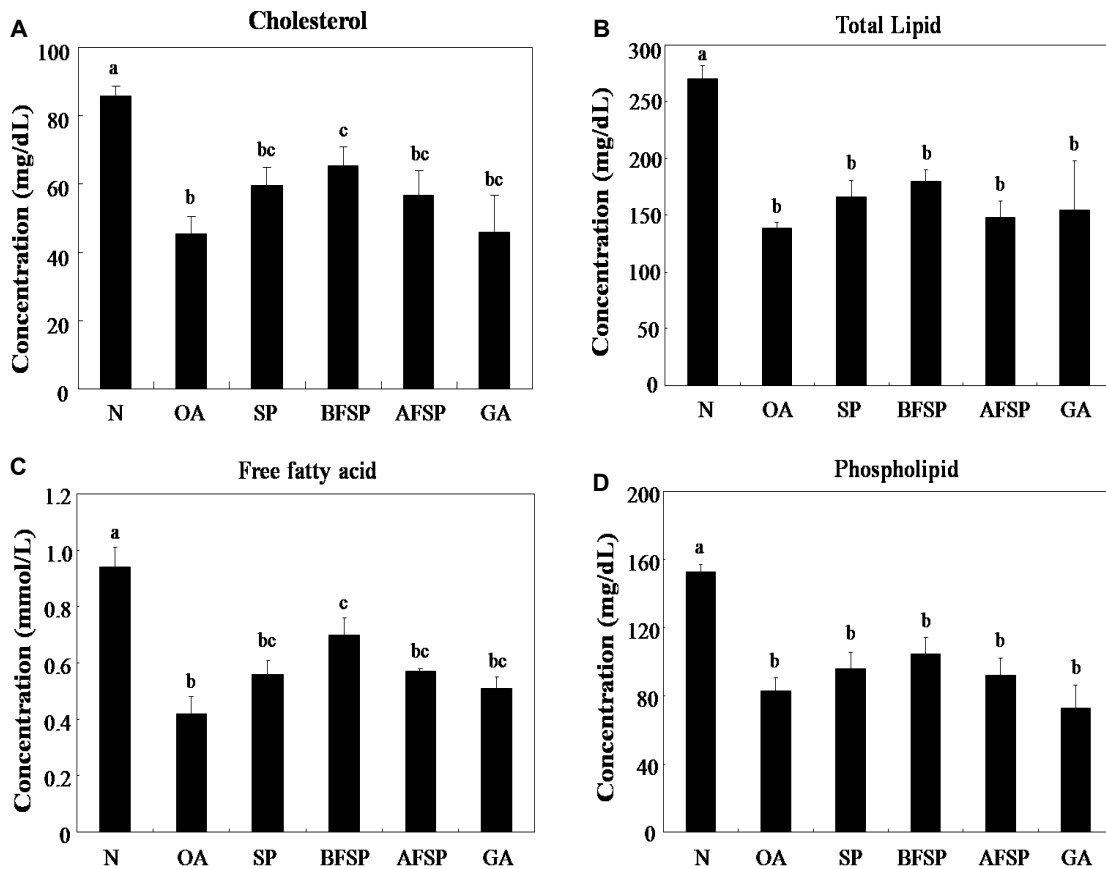


Fig. 3. Effects of SP, BFSP, AFSP, and GA on the concentration of serum cholesterol (A), total lipid (B), free fatty acid (C) and phospholipid (D) in orotic acid feeding rats. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$ . (mean $\pm$ S.E., n=6). Abbreviations are the same as in Table 1.

조직의 중성지질 농도 증가는 혈중 중성지질 농도의 감소로 나타나 주로 간으로부터의 VLDL 분비저하에 기인하는 것으로 보이며, SP 및 BFSP 투여 군에서는 OA 투여군보다 간 조직의 중성지질 농도가 유의적으로 낮아져 지방간 개선효과가 있는 것으로 확인되었다. OA 투여에 의한 간 조직의 중성지질 농도의 증가는 AFSP와 GA 투여에 의해서 통계적으로 낮아지는 경향을 보이고 있으며 발효 균주 간에 차이를 보였다. 한편, 누에의 주요 구성 아미노산인 글루탐산을 누에 분말 첨가량만큼 투여한 실험 군에서는 OA-유발 지방간에 미치는 효과가 미미하여 발효 누에의 지방간 개선 효과는 글루탐산에 의한 영향이 아닌 것으로 사료되어진다. 누에는 주로 뽕잎을 먹고 자라기 때문에 뽕잎에서 유래한 폴리페놀 화합물, 플라보노이드와 테옥시노지리마이신과 같은 생리활성 물질을 몸 속에 많이 함유하고 있어 이들에 의한 영향도 있을 것으로 사료되어지며 이들 물질들이 간과 혈중의 지질 농도에 영향을 미칠 수 있는 가능성도 배제하기 어렵다. 특히 플라보노이드는 OA-유발 지방간을 개선시키는 효과가 있는 것으로 보고[4]되어 있어 플라보노이드를 가장 많이 함유한 BFSP 투여 군에서 간 조직의 중성지질 농도가 가장 낮았던 것도 이러한 영향을 받았을

가능성이 높을 것으로 생각된다(Fig. 2).

#### 혈청 지질 농도

간 조직은 많은 지질과 지질 대사에 관련된 중요한 조직으로서 혈중 중성지질 농도 조절과 밀접한 관련성이 있다[4, 8]. 혈청 콜레스테롤, 총 지질, 유리지방산 및 인지질 농도는 정상군에 비해 OA 투여군에서 현저히 감소함으로써 간 조직에서 혈중으로 분비되는 지질 운반체 VLDL의 분비 저하가 주요 기작으로 사료되어진다(Fig. 3). 그러나 다른 SP, BFSP, AFSP 및 GA 투여에 의해서는 이들 지질 농도의 감소폭이 OA 투여군보다 작아 간 조직에서 축적되는 농도가 낮아져 어느 정도 지방간이 개선되었음을 보여주는 결과이다. 특히, BFSP투여군에서 다른 군과 비교해 볼 때 정상군에 가까운 수치를 보여 *B. subtilis* 균주로 누에분말을 발효 시킴으로서 지질대사에 긍정적인 영향을 주는 것으로 사료된다. 한편, Yoon 등[23]은 누에 추출물을 흰쥐에게 급여하여 지질대사와 당대사의 개선 효과가 관찰되었다고 보고하였고, Kim 등[16]의 연구에서도 누에 배설물을 알코올성 지방간 유발 시킨 흰쥐에게 급여하여 지방간 간독성 효과를 확인하였다.

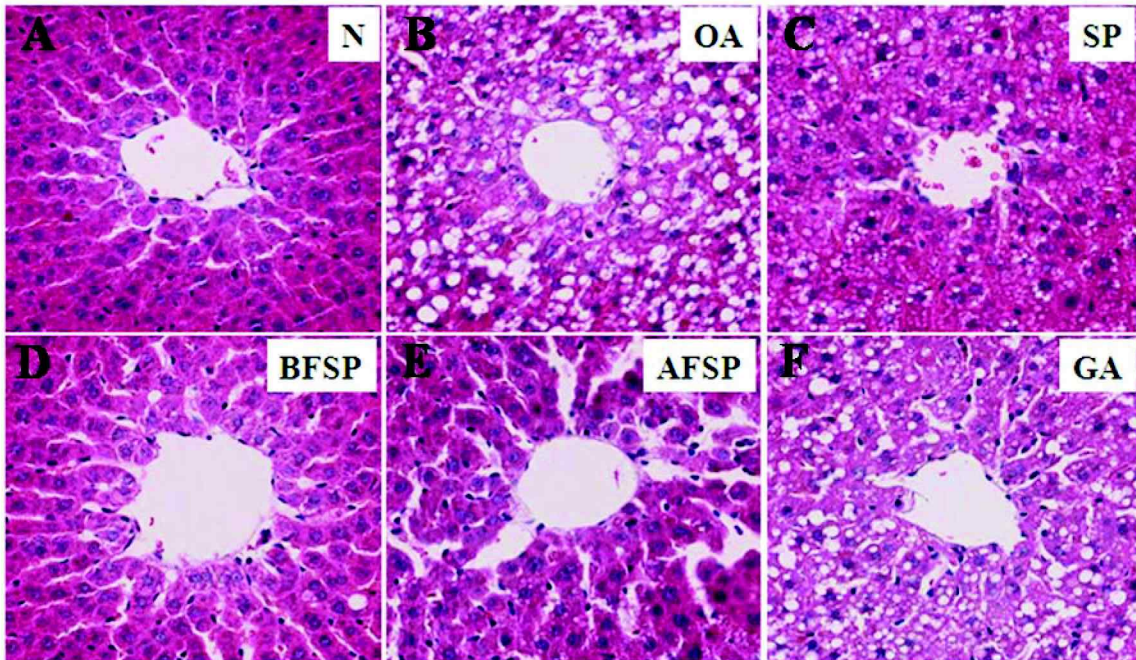


Fig. 4. Effects of SP, BFSP, AFSP, and GA on the hepatic histopathologic changes in orotic acid feeding rats (A, B, C, D, E, F). The liver sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E stain, x200). Abbreviations are the same as in Table 1.

간 조직의 병리조직학인 관찰

H&E 염색을 통한 간 조직을 광학 현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 4와 같다. 정상군(N)은 간소엽의 구조가 잘 유지되었으며, 간 세포들은 풍부한 호산성 세포질과 뚜렷한 둥근 핵을 가지고 있으면서 그 간격이 일정하고, 세포 간극이 좁고 잘 구성된 소엽구조를 하고 있었다. 이와 유사하게 BFSP 투여군도 간소엽을 구성하고 있는 간 세포들이 전반적으로 균일하게 배열되어 있어 정상군(N)의 간 소견과 비슷한 양상을 보여 지방간의 개선효과가 있는 것으로 보였다. 이에 반해, OA투여 대조군은 소포성 지방 변성이 소엽 중심대에 주로 나타나 있고, 간 조직에 전체적으로 지방세포가 균일하게 배열되어 있을 뿐만 아니라, 그 크기도 정상군과 비교했을 때 상당한 차이가 있어 전형적인 지방간 유발이 관찰 되었다. 그러나 SP투여군은 OA 대조군 보다는 지방구의 크기와 숫자가 적은 것을 보여주고 있으나 지방간의 개선효과가 다른 누에 또는 발효누에 투여군에 비해 그 효과가 미미한 것으로 나타났다.

이상의 실험에서 *A. kawachii* 및 *B. subtilis* 균주에 의해 발효된 누에 분말은 OA-유발 지방간 모델에서 간 조직의 지방 축적 억제에 의한 지방간 개선 효과가 있는 것으로 밝혀져 간 질환 개선용 건강식품 원료로 사용될 가능성이 높은 것으로 사료 되어진다.

감사의 글

본 연구는 동아대학교 연구비 지원에 의해 이루어졌습니다.

References

1. Bennett, J. W. 2001. *Aspergillus* and koji: history, practice and molecular biology. *SIM News* **51**, 65-71.
2. Bunang, Y., Wang, Y. M., Cha, J. Y., Nagao, K. and Yanagita, T. 2005. Dietary phosphatidylcholine alleviates fatty liver induced by orotic acid. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **21**, 867-873.
3. Cha, J. Y., Heo, J. S. and Cho, Y. S. 2003. Effect of zinc-enriched yeast FF-10 strain on the alcoholic hepatotoxicity in alcohol feeding rats. *Food Sci Biotechnol* **17**, 1207-1213.
4. Cha, J. Y., Cho, Y. S., Kim, I., Anno, T., Rahman, S. M. and Yanagita, T. 2001. Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats. *Plant Foods Hum Nutr* **56**, 349-358.
5. Cha, J. Y., Kim, Y. S., Kang, P. D., Ahn, H. Y., Eom, K. E. and Cho, Y. S. 2010. Biological activity and chemical characteristics of fermented silkworm powder by mold. *J Life Sci* **20**, 237-244.
6. Cha, J. Y. and Cho, Y. S. 2001. Effects of orotic acid and di-(2-ethylhexyl)phthalate on microsomal triglyceride transfer protein (MTP) and mRNA levels in liver and intestine of rats. *Korean J Food Sci Technol* **33**, 492-496.
7. Cha, J. Y., Jun, B. S. and Cho, Y. S. 2004. Prevention of orotic acid-induced fatty liver in rats by capsaicin. *Food Sci Biotechnol* **13**, 597-602.
8. Cha, J. Y., Maeda, Y., Oogami, K., Yamamoto, K. and Yanagita, T. 1998. Association between hepatic triacylglycerol accumulation induced by administering orotic acid and

- enhanced phosphatidate phosphohydase activity in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* **62**, 508-513.
9. Cha, J. Y., Kim, Y. S., Ahn, H. Y., Eom, K. E., Park, B. K. and Cho, Y. S. 2009. Biological activity of fermented silkworm powder. *J Life Sci* **19**, 1468-1477.
  10. Duncan, D. B. 1957. Multiple range test for correlated and heteroscedastic means. *Biometrics* **13**, 164-176.
  11. Esaki, H., Kawakishi, S., Morimitsu, Y. and Osawa, T. 1999. New potent antioxidant o-dihydroxyisoflavones in fermented Japanese soybean products. *Biosci Biotechnol Biochem* **63**, 1637-1639.
  12. Folch, J., Lees, M. and Sloan-Stanley, G. H. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* **226**, 497-509.
  13. Hebbachi, A. M., Seelaender, M. C., Baker, B. W. and Gibbons, G. F. 1997. Decreased secretion of very-low-density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein B is associated with decreased intercellular triglyceride lipolysis in hepatocytes derived from rats fed orotic acid or n-3 fatty acids. *Biochem J* **325**, 711-719.
  14. Kang, G. D., Lee, K. H., Do, S. G., Kim, C. S., Suh, J. G., Oh, Y. S. and Nham, J. H. 2001. Effect of silk fibroin on the protection of alcoholic hepatotoxicity in the liver of alcohol preference mouse. *Int J Indust Entomol* **2**, 15-18.
  15. Kang, P. D., Kim, J. W., Sohn, B. H., Kim, K. Y., Jung, I. Y., Kim, M. J. and Ryu, K. S. 2000. Accumulating pattern of  $\alpha$ -glycosidase inhibitor in various silkworm varieties. *Korean J Seric Sci* **48**, 25-27.
  16. Kim, Y. S., Kim, K. Y., Kang, P. D., Cha, J. Y., Heo, J. S., Park, B. K. and Cho, Y. S. 2008. Effect of silkworm (*Bombyx mori* L.) excrement powder on the alcoholic hepatotoxicity in rats. *J Life Sci* **18**, 1342-1347.
  17. Lieber, C. S. 1997. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clin Chim Acta* **257**, 59-84.
  18. McGowan, M. W., Artiss, J. D., Strandbergh, D. R. and Zak, B. 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem* **29**, 538-542.
  19. Park, Y. J., Heo, J. C., An, S. M., Yun, E. Y., Han, S. M., Hwang, J. S., Kang, S. W., Yun, C. Y. and Lee, S. H. 2005. High throughput-compatible screening of antioxidative substances by insect extract library. *Korean J Food Preserv* **12**, 482-488.
  20. Pottenger, L. A. and Getz, G. S. 1971. Serum lipoprotein accumulation in the livers of orotic acid fed rats. *J Lipid Res* **12**, 450.
  21. Ryu, H. Y., Heo, J. C., Hwang, J. S., Kang, S. W., Yun, C. Y., Lee, S. H. and Sohn, H. Y. 2008. Screening of thrombin inhibitor and its DPPH radical scavenging activity from wide insects. *J Life Sci* **18**, 363-368.
  22. Silverman, J. F., Pories, W. J. and Caro, J. F. 1989. Liver pathology in diabetes mellitus and morbid obesity. Clinical, pathological, and biochemical concentrations. *Pathol Annu* **24**, 275-302.
  23. Yoon, J. W., Lee, S. G. and Lee, K. B. 2005. Effects of silkworm extract powder on plasma lipids and glucose in rat. *Korean J Food Nutr* **18**, 140-145.

초록 : 발효누에분말 투여가 orotic acid 유발 흰쥐에 미치는 지방간 개선 효과

안희영<sup>1</sup> · 차재영<sup>3</sup> · 박규림<sup>1</sup> · 김유리<sup>2</sup> · 조영수<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>동아대학교 대학원 의생명과학과, <sup>2</sup>동아대학교 생명공학과, <sup>3</sup>대전주조(주)기술연구소)

단백질 분해 활성, 이화학적 특성 및 생리활성을 검토한 결과 우수한 효능을 나타낸 *Bacillus subtilis* 및 *Aspergillus kawachii* 균주를 이용하여 Orotic acid-유발 지방간의 개선 효과를 알아보기 위해 발효된 누에 분말을 식이에 5% 수준으로 첨가하였다. 발효 누에 분말은 Orotic acid 지방간 유발 흰쥐의 간 조직 및 혈청 중성지질 농도를 낮춰주고, 혈청 지질농도를 정상 수준으로 올려주어 지방간 개선에 도움을 주었다. SP 투여군과 AFSP 투여군에 반해, BFSP 투여군에서 지질대사와 관련된 개선 효과를 보였고, 간 조직의 병리학적 관찰결과에서도 BFSP 투여군이 간소엽을 구성하고 있는 간 세포들이 전반적으로 균일하게 배열되어 있어 정상군(N)의 간 소견과 비슷한 양상을 보여 지방간의 개선효과가 있는 것으로 보였다. 이러한 결과를 바탕으로 발효 누에 분말은 향후 지방간 개선효능을 가지는 건강식품 개발 가능성이 높은 소재로 판단되어 진다.