

고지방과 고당질 식이 섭취 마우스에 있어서 산채나물의 항산화 효과

최하늘·강수정·최은옥¹·정라나²·김정인[†]

인제대학교 식의약생명공학과, ¹인하대학교 식품영양학과, ²경희대학교 호텔관광대학

Antioxidant Effects of *Sanchae-namul* in Mice Fed High-Fat and High-Sucrose Diet

Ha-Neul Choi · Su-Jung Kang · Eunok Choe¹ · Lana Chung² · Jung-In Kim[†]

Department of Smart Food and Drugs, School of Food and Life Science, Inje University, Gimhae 621-749, Korea

¹Department of Food and Nutrition, Inha University, Incheon 402-751, Korea

²College of Hotel & Tourism Management, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

Abstract

Obesity increases oxidative stress, which could contribute to the development of insulin resistance and hyperglycemia. The purpose of this study was to investigate the hypoglycemic and antioxidant effect of *sanchae-namul* (SN) in mice with diet-induced obesity. Five-week-old male C57BL/6J mice were fed a basal or high-fat and high-sucrose (HFHS) diet with or without 3% freeze-dried SN powder composed of *chammamul*, *daraesoon*, *miyeokchwi*, *bangpung namul*, and *sannamul* for 12 weeks after a 1-week adaptation. After sacrifice, serum glucose and insulin were measured and the homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) was determined as well. Hepatic lipid peroxidation, glutathione (GSH), and activities of the antioxidant enzymes were determined. SN given at 3% of the total diet did not significantly influence body weight and food intake in mice fed the HFHS diet. Serum glucose and insulin levels, as well as HOMA-IR values, were significantly lower in the SN group than those in the HFHS group. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels in the liver were decreased significantly in the SN group compared with those in the HFHS group. SN significantly increased the GSH levels and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px) in the liver compared with those in the HFHS group. Overall, these findings suggest that SN may be useful in alleviating insulin resistance and hyperglycemia in mice fed HFHS diet; further, the improvement of insulin resistance could partly occur by reducing the oxidative stress.

Key words: sanchae (wild vegetable), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), superoxide dismutase (SOD), glucose, insulin

I. 서론

제2형 당뇨병은 인슐린 저항성 및 상대적인 인슐린 분비 부족으로 인해 탄수화물, 지방, 단백질 대사의 불균형을 나타내는 만성퇴행성질환이다(King H 등 1998). 제2형 당뇨병은 전체 당뇨병의 90% 이상을 차지하고 있으며(Cheng D 2005), 비만은 제2형 당뇨병 발병의 주요 위험요인으로 알려져 있다(Kahn SE 등 2006). 비만으로 인해 과도하게 축적된 지방은 활성산소종(Reactive oxygen species, ROS)과 활성질소종(Reactive nitrogen species, RNS)과 같은 유리라디칼의 생성을 증가시켜 산화적 스트

레스를 촉진하며, 이로 인해 체내 항산화 시스템의 불균형을 초래한다(Furukawa S 등 2004). 산화적 스트레스 상태가 지속되면 근육 및 지방조직의 포도당 이용율이 저해되어 인슐린 저항성이 커지고(Maddux BA 등 2001, Rudich A 등 1998), 항산화 효소 발현이 작은 조직인 췌장베타세포의 기능이 저하되고 세포사멸이 초래되어, 고혈당이 유도되며 제2형 당뇨병이 유발된다(Shah S 등 2007, Styskal J 등 2012). 항산화 영양소(Ruhe RC와 McDonald RB 2001)와 항산화 피토케미칼은 비만으로 유도되는 산화적 스트레스 및 고혈당을 억제하는데 기여한다고 보고되었다(Dembinska-Kiec A 등 2008).

산채나물은 산간지역에 자생하는 식물 중 식용 가능한 식물을 지칭하며, 우리나라에 자생하며 식품적 가치가 있는 산채류는 약 90종으로 알려져 있다(Ahn SY 등 2009). 생으로 채취한 산채는 바로 섭취해야 하지만 산채를 말려 묵나물(한 번 삶은 후에 말린 상태) 형태로 만들면 장

[†]Corresponding author: Jung-In Kim, Department of Smart Food and Drugs, School of Food and Life Science, Inje University, 197 Inje-ro, Gimhae, Gyeongnam 621-749, Korea
Tel: +82-55-320-3236
Fax: +82-55-321-0691
E-mail: fdsnkiji@inje.ac.kr

기간 보관하며 먹을 수 있어, 연중 부담 없이 섭취할 수 있는 장점이 있다. 산채비빔밥은 여러 가지 산채들을 동시에 맛볼 수 있는 대표적인 산채 음식이다. 비빔밥은 골동반이라 하여 조선시대 궁에서 먹었다는 기록도 전해지며, 진주, 전주, 해주에서 향토음식으로 발전하였다. 산채비빔밥에 사용되는 산채나물로는 지역 고유의 산채류를 사용하므로, 산채비빔밥은 그 종류가 매우 다양하다.

예로부터 산채는 식품으로 섭취할 뿐만 아니라, 약리작용이 우수하여 전통의약에서 약초 대신으로 많이 사용되었다(Park HJ와 Kim HS 2014). 참나물(*chamnamul*, *Pimpinella brachycarpa* (Kom.) Nakai)은 *in vitro* 및 *in vivo*에서 항산화능이 우수하다고 보고되었다(Lu J 등 2012, Kim SJ 등 2013, Lee SJ 등 2013). 참나물 추출물은 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능이 우수하며(Kim SJ 등 2013), 과산화수소로 산화적 스트레스를 유도한 세포 모델에 있어서 ROS 제거능이 우수하였다(Lu J 등 2012). 참나물 추출물은 고지방과 고당질 식이로 고혈당을 유도한 마우스에 있어서 산화적 스트레스와 고혈당을 완화시켰다(Lee SJ 등 2013). 참나물은 일정시기에만 집중 출하되는 일반 산채와 달리 연 2회 과종하여 연중재배가 가능하다는 장점을 가지고 있다. Yang JE 등(2014)은 *in vitro* 항산화능이 우수하면서 구입이 용이하고 음식에 응용하기에 적합한 산채나물 4종(다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물)을 선별하여, 조리법을 달리 하여 각각의 관능적인 특성과 소비자들의 기호도를 분석하였다. 다래순(*daraesoon*, *Actinidia arguta*) 추출물(Kwak CS와 Lee JH 2014) 및 미역취(*miyeokchwi*, *Solidago virga-aurea* var. *gigantea*) 추출물은 *in vitro*에서 DPPH 라디칼 소거능이 우수하다고 보고되었다(Choi IY 등 2010). 방풍나물(*bangpung namul*, *Ledebouriella seseloides*) 추출물은 DPPH 라디칼 소거능 및 아질산염 소거능, SOD 유사 활성이 우수하여 항산화능이 우수하였다(Bae DS 2012). 삼나물(*samnamul*, *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* (Maxim.) H. Hara) 추출물은 스트렙토조토신으로 당뇨병을 유도한 흰쥐에 있어서 고혈당을 완화시키고, ROS 생성계를 억제하였으며, ROS 소거계를 활성화시켰다(Shin JW 등 2008). 따라서 참나물, 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물은 산채비빔밥에 사용될 수 있으면서 항산화능이 우수한 산채류로 기대되나, 이 5종의 산채류로 만든 산채나물 요리의 항산화능을 *in vivo*에서 규명한 연구는 미비한 실정이다. C57BL/6J mouse에게 고지방과 고당질(High-fat and high-sucrose, HFHS) 식이를 장기간 섭취시키면, 비만 및 인슐린저항성, 고혈당, 제2형 당뇨병을 유도하였다(Surwit RS 등 1988, Yang ZH 등 2012). 따라서 본 연구에서 고지방과 고당질 식이로 비만을 유도한 마우스에 있어서 참나물, 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물로 만든 산채나물의 항산화 효과 및 고혈당조절 효과를 조사하고자 하

였다. 본 연구는 산채나물의 항산화 효과를 *in vivo*에서 규명하여, 산채나물의 건강기능성에 대한 기초자료를 제공하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료의 준비

참나물은 생것을 구입하였고, 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물은 묵나물 형태로 구입하였다. 참나물은 경상남도 김해시 재래시장에서 구입하여 사용하였으며, 다래순은 전라남도 남원시에서, 미역취와 방풍나물은 전라남도 여수시에서, 삼나물은 울릉군에서 구입하였다. 들기름은 전북 무안에서 수확된 국내산 들기름을 사용하였다.

묵나물은 Yang JE 등(2014)의 연구에서 제시한 대로 불리기, 삶기, 우리기의 전처리 과정을 거친 후 볶는 방법으로 준비하였다. 묵나물 형태의 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물 각각 50 g을 찬물에 16시간 동안 불린 후, 2 L의 끓는 물에 30분간 삶았다. 아린 맛을 제거하기 위해 찬물에 2시간 동안 우려낸 후, 한 번 세척하고 30분간 체에 걸러 물기를 제거하였다. 참나물은 2.5 L의 끓는 물에 참나물 400 g을 넣어 3분간 삶고, 찬물에 세척한 뒤 물기를 제거하였다. 전처리한 각 산채나물 100 g당 들기름 1.5 g을 넣고 잘 버무린 뒤, 가열한 냄비에서 3분간 볶아 나물을 만들었다. 각 산채나물 요리(참나물, 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물)를 동일한 비율로 혼합한 후, 동결건조하였다. 동결건조한 혼합 산채나물의 일반성분을 AOAC 법으로 분석하였다(AOAC 1995).

2. 실험동물 사육 및 식이조성

5주령의 수컷 C57BL/6J mouse(n=21)를 효창사이언스(Daegu, Korea)로부터 제공받아 실험에 사용하였다. 동물은 플라스틱 케이지에 한 마리씩 사육하였고, 사육실의 온도는 24±5°C, 습도는 55±5%로 유지하였으며, 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다. 1주간의 적응기간 동안 고형사료(Purina rodent chow 5057, Purina Korea, Seoul, Korea)를 제공한 후, 난괴법을 사용하여 동물을 각 군당 7마리씩 세 군으로 나누었다. 대조군(Control (CON) group, n=7), 고지방과 고당질군(High-fat and high-sucrose (HFHS) group, n=7), 산채나물군(*Sanchae-namul* (SN) group, n=7)에게 해당식이를 자유급식으로 12주간 제공하였다. 실험에 사용된 식이의 조성은 Table 1에 제시하였다. C57BL/6J mouse에 있어서 고지방과 고당질 식이의 섭취는 제2형 당뇨병을 유발한다고 보고한 선행연구(Surwit RS 등 1988, Yang ZH 등 2012)에 근거하여, 대조식이와 HFHS 식이의 조성을 결정하였다. 대조군에게는 65% corn starch 및 5% corn oil이 포함된 식이를, HFHS군에게는 10.1% corn starch, 27% sucrose, 3% corn oil 및 33% lard가 함

Table 1. Composition of experimental diet (%)

Ingredient	Group ¹⁾		
	CON	HFHS	SN
Casein ²⁾	20.0	20.0	19.3
Corn starch ³⁾	65.0	8.7	8.5
Sucrose ⁴⁾	-	27.0	26.7
Alpha-cellulose ⁵⁾	5.0	1.4	-
Corn oil ⁴⁾	5.0	3.0	2.6
Lard ⁶⁾	-	33.0	33.0
Vitamin mixture ²⁾	1.0	1.4	1.4
Mineral mixture ²⁾	3.5	5.0	5.0
D,L-Methionine ²⁾	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate ⁵⁾	0.2	0.2	0.2
Tert-butyl hydroquinone ⁷⁾	0.001	0.007	0.007
Freeze dried <i>sanchae-namul</i> ⁸⁾	-	-	3.0
Calorie value (kcal/g)	3.9	5.6	5.6

¹⁾CON, control group; HFHS, high-fat and high-sucrose group; SN, sanchae-namul group

²⁾ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA, USA

³⁾Daesang Co. Seoul, Korea

⁴⁾Cheiljedang Co. Seoul, Korea

⁵⁾Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA

⁶⁾Lotte Samgang Co. Seoul, Korea

⁷⁾Fluka Co. Milwaukee, WI, USA

⁸⁾*Sanchae-namul* was composed of *chamnamul*, *daraesoon*, *miyeokchwi*, *bangpung namul*, and *samnamul*.

유된 HFHS 식이를 제공하였다. 대조식이 및 HFHS 식이의 지방 함량은 각각 총열량의 11.5% 및 58.3% 수준이었다. SN군에게는 HFHS 식이에 동결건조하여 분쇄한 산채나물(참나물, 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물)을 3% 수준으로 함유한 식이를 제공하였다. HFHS군과 SN군 식이의 단백질, 지방, 및 총 식이섬유 함량이 유사하도록 제조하였다. 체중 및 식이섭취량은 각각 주 1회, 주 3회 측정하였다. 동물실험은 인제대학교 동물자원센터의 승인을 받아 수행되었다(승인번호 2012-58).

3. 시료수집

식이 섭취 시작일로부터 12주가 지난 후, 동물을 12시간 절식시키고, diethyl ether로 가볍게 마취시킨 후, 심장 채혈법으로 희생시켰다. 혈액 및 간조직을 즉시 수집하였고, 혈액은 3,000×g에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청과 간조직은 분석하기까지 -70°C에서 보관하였다.

4. 혈청의 생화학적 분석

혈당은 혈당 측정용 kit(Asan pharmaceutical Co., Seoul, Korea)를 사용하여 효소법(Raabo E와 Terkildsen TC 1960)으로 비색 정량하였으며, 혈청 인슐린 농도는 mouse insulin enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) kit (Mercodia AB, Uppsala, Sweden)를 사용하여 측정하였다. 인슐린 저항성의 지표로는 Homeostasis model assessment for insulin resistance(HOMA-IR)를 사용하였다. HOMA-IR은 [공복혈당(mmol/L)×공복인슐린(uU/mL)/22.5]로부터 계산하였다(Haffner SM 등 1997).

5. 간조직의 지질과산화물과 글루타치온 농도 및 항산화계 효소 활성 측정

간조직의 지질과산화물 농도는 Ohkawa H 등(1979)의 방법을 이용하여, thiobarbituric acid(TBA)와 반응하는 malondialdehyde(MDA)의 농도를 측정하였다. 간조직에 5배에 해당하는 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.4)를 가한 후 균질화하였다. 간균질액 0.5 mL와 15% trichloroacetic acid, 0.4% TBA, 2.5% HCl을 함유한 반응용액 1 mL를 혼합한 후 100°C에서 45분간 반응시켰다. 찬물에서 식힌 후 1,500×g에서 10분간 원심분리하고 상층액을 취하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 단백질 함량은 Bradford MM(1976)의 방법을 이용하여 측정하였다. 표준품으로는 bovine serum albumin(BSA)을 사용하였다. 간조직의 지질과산화물 함량은 nmol MDA/mg protein으로 나타내었다.

간조직의 글루타치온(Glutathione, GSH) 함량은 Ellman GL(1959)의 방법을 이용하여 측정하였다. 간조직에 9배의 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 균질화한 뒤 10,000×g(4°C)에서 30분간 원심분리하였다. 상층액에 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB)를 함유한 0.1 M phosphate buffer(pH 8.0) 가하여 15분간 발색시키고, 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. GSH 함량은 nmol/mg protein으로 나타내었다.

항산화계 효소 활성을 측정하기 위해, 간조직에 10배에 해당하는 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 균질화하였다. 간균질액은 700×g에서 10분간 원심분리하고 상층액을 취하여 10,000×g에서 10분간 다시 원심분리한 후 침전물(mitochondrial pellets)을 수집하여 카탈레이스(catalase, CAT) 활성 측정에 사용하였다. 상층액은 100,000×g에서 60분간 원심분리한 후, 상층액을 취하여 수퍼옥사이드 디스무테이스(superoxide dismutase, SOD) 및 글루타치온 과산화효소(glutathione peroxidase, GSH-Px) 활성 측정에 사용하였다.

CAT 활성은 Aebi H(1974)의 방법으로 측정하였다. Mitochondrial pellets과 50 mM sodium-potassium phosphate

buffer(pH 7.0)를 혼합한 후 30 mM H₂O₂를 가하여 240 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. CAT 활성 1 unit은 1 분 동안 1 μmole의 hydrogen peroxide(H₂O₂)를 분해시키는데 요구되는 효소의 양으로 정의하였다. SOD 활성은 Sun Y 등(1988)의 방법을 변형하여 측정하였다. 간 상층액과 0.3 mM xanthine, 400 mM sodium carbonate(Na₂CO₃), 0.6 mM EDTA, 0.15 mM nitro blue tetrazolium(NBT), bovine serum albumin(BSA)(1 g/L)로 구성된 반응 용액을 혼합한 후 167 unit/L xanthine oxidase 용액을 가하여 25°C에서 20분간 반응시켰다. 0.8 mM cupric chloride(CuCl₂) 용액을 가하여 반응을 종료시킨 후 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 활성 1 unit은 NBT 감소의 저해비율이 50%가 되는 효소의 양으로 정의하였다. GSH-Px 활성은 Paglia DE와 Valentine WN(1967)의 방법으로 측정하였다. 간 상층액에 250 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0), 2 mM NADPH, 10 mM glutathione, 10 mM sodium azide, 10 mM EDTA, 0.24 unit glutathione reductase를 넣고 22°C에서 3분간 반응시켰다. 2.5 mM H₂O₂를 가한 후 340 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. GSH-Px 활성 1 unit은 1분당 NADP⁺로 전환되는 NADPH의 양(nmol)으로 나타내었다. SOD, CAT, GSH-Px 활성 측정에 사용한 시료의 단백질 함량은 Bradford MM(1976)의 방법을 이용하여 측정하였다.

6. 통계분석

모든 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었다. 각 군의 평균치의 유의성 검정은 일원성 분산분석(ANOVA)를 사용하여 실시한 후, Tukey's test에 의해 $p < 0.05$ 수준에서 실시하였다. 통계분석은 Statistics Analysis Systems(SAS) 통계프로그램(ver 9.2, SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 산채나물의 일반성분

참나물, 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물로 구성된 산채나물 요리를 동결건조한 후 일반성분 분석을 실시한 결과는 Table 2에 제시되어 있다. 동결건조한 산채나물은 수분 2.2%, 조단백질 23.3%, 조지방 12.1%, 조회분 5.4%, 식이섬유 47.9%를 함유하고 있어, 단백질 및 식이섬유의 좋은 급원으로 나타났다. 산채나물의 일반성분 분석자료에 근거하여, SN식이의 조성을 결정하여, HFHS식이와 SN식이의 단백질, 지방, 식이섬유의 조성이 유사하게 하였다(Table 1).

2. 체중, 식이섭취량 및 식이섭취효율

실험동물의 체중, 체중증가량, 식이섭취량과 식이효율은 Table 3에 제시되어 있다. HFHS군의 체중과 체중증가량, 식이효율은 대조군에 비해 유의적으로 증가하여($p < 0.01$), C57BL/6J mouse에 있어서 고지방과 고당질 식이의 장기적인 섭취는 비만을 유도한다고 보고한 선행연구(Surwit RS 등 1988, Yang ZH 등 2012, Lee SJ 등 2013)

Table 2. Proximate composition of freeze-dried *sanchae-namul*

<i>Sanchae-namul</i> ¹⁾	
Moisture	2.2
Crude protein	23.3
Crude lipid	12.1
Crude ash	5.4
Total dietary fiber	47.9

¹⁾*Sanchae-namul* was composed of *chamnamul*, *daraesoon*, *miyeokchwi*, *bangpung namul*, and *samnamul*.

Table 3. Body weight, food intake, and feed efficiency ratio in the mice fed the experimental diets

Group ¹⁾	CON	HFHS	SN
Initial body weight (g)	20.0±1.9 ^{3)ms4)}	19.6±1.8	19.7±1.9
Final body weight (g)	27.0±2.5 ^{a5)}	39.2±3.8 ^b	36.2±3.2 ^b
Weight gain (mg/day)	83.3±15.4 ^{a5)}	232.8±32.6 ^b	196.1±33.7 ^b
Food intake (g/day)	3.66±0.36 ^{ns}	3.13±0.35	3.30±0.42
FER ²⁾ (%)	2.28±0.39 ^{a5)}	7.56±1.58 ^b	6.01±1.28 ^b

¹⁾CON, control group; HFHS, high-fat and high-sucrose group; SN, *sanchae-namul* group

²⁾Feed efficiency ratio (FER, %) = (Body weight gain (g/day)/food intake (g/day)) × 100

³⁾Values are presented as mean±SD (n=7). Values with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

⁴⁾Not significant

⁵⁾ $p < 0.01$

의 결과와 유사하게 나타났다. 동결건조한 산채나물을 식이의 3% 수준으로 12주간 섭취하는 것은 고지방과 고당질 식이를 섭취한 마우스의 체중과 체중증가량, 식이효율에 유의적인 영향을 주지 않았다.

3. 간조직의 지질과산화물 농도 및 항산화계 효소 활성

대조군, HFHS군, SN군의 간조직에서 지질과산화물 및 GSH 함량을 측정한 결과는 Fig. 1에 제시되어 있다. 간조직의 TBARS 농도를 측정한 결과, HFHS군의 경우 (1.04 ± 0.16 nmol MDA/mg protein) 대조군 (0.73 ± 0.09 nmol MDA/mg protein)에 비해 유의적으로 증가하여 ($p < 0.05$), 산화적 스트레스가 증가한 것으로 나타났다. 그러나, SN군의 TBARS 농도 (0.78 ± 0.13 nmol/mg protein)는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하여 ($p < 0.05$), 대조군과 유의적인 차이가 없었다. 간조직의 GSH 농도는 HFHS군 (25.8 ± 4.2 nmol/mg protein)이 대조군 (33.7 ± 5.3 nmol/mg protein)에 비해 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$). SN군의 GSH 농도 (32.1 ± 4.0 nmol/mg protein)는 HFHS군에 비해 유의적으로 증가하여 ($p < 0.05$), 대조군과 유의적인 차이가

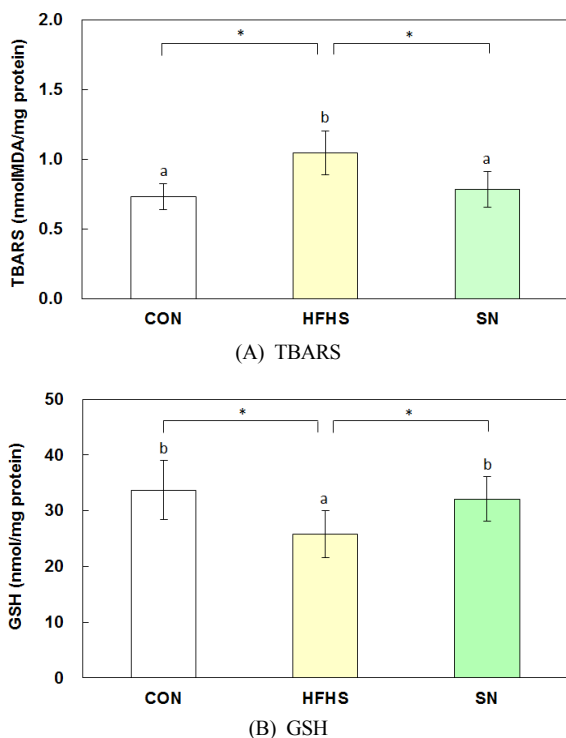


Fig. 1. Hepatic thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and glutathione (GSH) levels in the mice fed the experimental diets. Values are presented as mean \pm SD ($n=7$). Each bar with different letters is significantly different at $p < 0.05$ (*). Group abbreviation: CON, control group; HFHS, high-fat and high-sucrose group; SN, *sanchae-namul* group.

없었다.

간 조직에서 항산화계 효소 활성을 측정한 결과는 Fig. 2에 제시되어 있다. HFHS군의 SOD 활성 (11.6 ± 1.7 U/mg protein)은 대조군 (18.9 ± 2.9 U/mg protein)에 비해 유의적으로 감소하였으나 ($p < 0.01$), 산채나물의 섭취는 SOD 활성을 HFHS군에 비해 유의적으로 증가시켰다 (15.3 ± 1.8 U/mg protein, $p < 0.05$). HFHS군의 CAT (8.7 ± 1.6 U/mg protein) 및 GSH-Px 활성 (13.1 ± 1.9 U/mg protein)은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$). 산채나물의

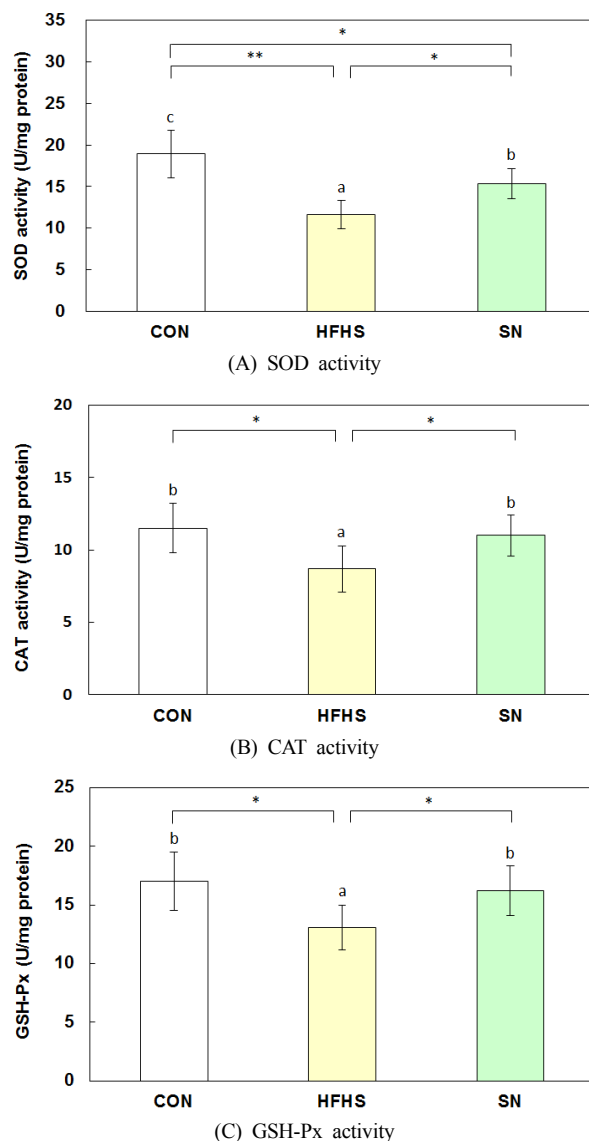


Fig. 2. Activities of antioxidative enzymes of the liver in the mice fed the experimental diets. Values are presented as mean \pm SD ($n=7$). Each bar with different letters is significantly different at $p < 0.05$ (*) and $p < 0.01$ (**). Group abbreviation: CON, control group; HFHS, high-fat and high-sucrose group; SN, *sanchae-namul* group

섭취는 CAT(11.0 ± 1.4 U/mg protein) 및 GSH-Px 활성(16.2 ± 2.1 U/mg protein)을 HFHS군에 비해 유의적으로 증가시켰고($p < 0.05$), SN군과 대조군 사이에는 유의적인 차이가 없었다.

선행연구에서 참나물(Kim SJ 등 2013), 다래순(Kwak CS와 Lee JH 2014), 미역취(Choi IY 등 2010), 방풍나물(Bae DS 2012)은 *in vitro* 항산화 활성이 우수하였고, 삼나물은 제1형 당뇨병동물모델에서 항산화 활성을 나타내었다(Shin JW 등 2008). 본 연구에서 참나물, 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물로 구성된 산채나물은 식이로 유도된 비만 마우스에 있어서 간조직의 지질과산화물 농도를 감소시켜, *in vivo*에서도 항산화 활성이 우수한 것으로 나타났다. 또한 산채나물의 섭취는 간조직에서 GSH 농도를 증가시키고, 항산화 효소 방어시스템 활성을 증가시켰다.

참나물(Chae HS 등 2013), 다래순(Kwak CS와 Lee JH 2014), 미역취(Lee YM 등 2011), 삼나물(Kim MS 등 2011)은 총 폴리페놀 함량이 높다고 보고되었다. Bae DS(2012)는 방풍나물의 항산화물질로 chrysophanol, imperatorin, quercetin, quercitrin과 같은 플라보노이드를 분리하였다. 폴리페놀 화합물은 식물의 광합성작용에 의해 생성된 당의 일부가 변화한 2차 대사산물로 벤젠의 수소 원자 중 두 개 이상이 히드록시기로 치환된 구조를 가지는 화합물로 정의되는데, 폴리페놀은 페놀산, 플라보노이드, 스틸벤, 리그난으로 분류되며, 항산화효과를 나타낸다(Manach C 등 2004). 따라서 산채나물에 함유된 폴리페놀 화합물이 고지방과 고당질 식이로 유도된 비만 마우스에서 항산화 효과를 나타내는데 기여한 것으로 사료된다.

폴리페놀 화합물은 수소공여체로 작용하여 유리 라디칼을 제거할 수 있으며(Valko M 등 2006), 폴리페놀은 GSH 합성과정의 율속효소인 γ -glutamylcysteine synthetase의 발현을 증가시켜 세포내 GSH를 증가시킨다고 제시되었다(Moskaug JØ 등 2005). GSH는 ROS를 제거하고 지질과산화물을 감소시키는 체내 항산화 물질이다(Townsend DM 등 2003). 또한 폴리페놀은 nuclear factor-erythroid-2-related factor 2(Nrf2)을 활성화하여, 항산화계 효소 활성을 증진시킨다고 보고되었다(Hu ML 2011). SOD는 ROS 화학종인 슈퍼옥사이드 음이온 라디칼(superoxide radical)을 과산화수소로 전환하고, 과산화수소는 CAT 또는 GSH-Px에 의해 산소와 물로 전환된다(Harman D 1991, Drøge W 2002). 따라서 산채나물은 GSH를 증가시키고, 항산화계 효소를 활성화하여 지질과산화물 생성을 억제한 것으로 사료된다. 향후 각 산채나물의 항산화 활성물질을 분리하고 규명하는 연구를 수행하는 것이 중요할 것으로 생각된다.

4. 혈당, 혈청 인슐린 및 HOMA-IR

대조군, HFHS군, SN군의 혈당 및 혈청 인슐린, HOMA-

IR을 조사한 결과를 Fig. 3에 제시하였다. HFHS군의 혈당(162.4 ± 25.1 mg/dL)과 인슐린 농도(34.6 ± 6.0 μ U/mL)는 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$, $p < 0.01$). SN군의 혈당(131.2 ± 18.9 mg/dL) 및 인슐린 농도(25.5 ± 4.8 μ U/mL)는 HFHS군에 비해 유의적으로 감소하였으며($p < 0.05$, $p < 0.01$), SN군의 혈당은 대조군(136.9 ± 20.7 mg/dL)과 유의적인 차이가 없었다. HFHS군의 HOMA-IR 값

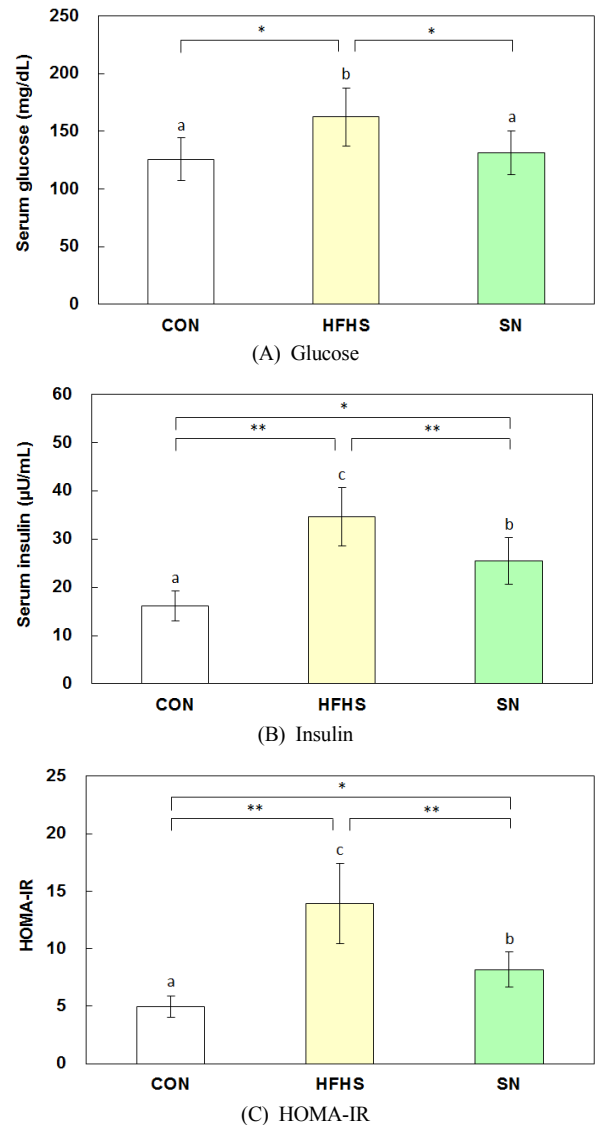


Fig. 3. Serum glucose, insulin, and HOMA-IR in mice fed the experimental diets. Homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) values were estimated as follows: [Insulin (μ U/mL) \times glucose (mmol/L)]/22.5. Values are presented as mean \pm SD (n=7). Each bar with different letters is significantly different at $p < 0.05$ (*) and $p < 0.01$ (**). Group abbreviation: CON, control group; HFHS, high-fat and high-sucrose group; SN, *sanchae-namul* group.

(13.93±3.46)은 대조군(4.98±0.94)에 비해 유의적으로 증가하였다($p<0.01$). 그러나, 고지방과 고당질 식이를 섭취하는 마우스에 있어서 산채나물의 섭취는 HOMA-IR값(8.18±1.52)을 유의적으로 감소시켰다($p<0.05$). SN군의 인슐린 농도와 HOMA-IR값은 대조군보다는 높게 나타났다($p<0.05$).

C57BL/6J mouse에 있어서 고지방과 고당질 식이의 섭취는 인슐린 신호전달체계의 유전자 발현을 하향 조절하여 인슐린 저항성을 유도하고 제2형 당뇨병을 유도한다(Yang ZH 등 2012). 또한 비만상태는 산화적 스트레스를 증가시켜, 인슐린 저항성을 유발하는데 기여한다(Rudich A 등 1998, Maddux BA 등 2001, Shah S 등 2007). 본 연구에서도 HFHS군은 대조군에 비해 인슐린 저항성지표인 HOMA-IR값이 증가되었으며 인슐린 농도가 증가되었는데, 이는 인슐린 저항성으로 인해 췌장베타세포에서 인슐린 분비능이 보상적으로 증가하였기 때문으로 사료된다. 그러나, 산채나물의 섭취는 HFHS식으로 유도된 고인슐린혈증과 고혈당을 유의적으로 완화시켰다. 이는 산채나물이 HFHS 식이를 섭취한 마우스에 있어서 산화적 스트레스를 완화시켜, 인슐린 저항성 개선에 기여한 것으로 사료된다. Zhang ZF 등(2013)은 고지방 식이로 비만을 유도한 마우스에 있어서, purple sweet potato color(PSPC)의 섭취는 간조직에서 ROS를 감소시키고 소포체 스트레스를 방어하여 산화적 스트레스를 감소시켰고, 따라서 간조직의 인슐린 저항성을 개선시켰다고 보고하였다.

또한 참나물 추출물은 α -glucosidase 저해활성이 우수하다고 보고되었다(Lee SJ 등 2013). 소장 상의 용모세포에 존재하는 이당류 소화효소인 α -glucosidase를 저해할 경우, 식사에 포함된 탄수화물의 소화를 저해하여 식후혈당의 증가를 완화시킬 수 있다(Standl E 등 1999). 아카보스와 같은 α -glucosidase 저해제를 장기간 섭취하면 포도당 독성(glucose toxicity)을 감소시켜 고혈당을 조절할 수 있으므로(Lebovitz HE 1998), 아카보스는 제2형 당뇨병환자의 경구혈당강하제로 사용된다. 따라서, 참나물의 α -glucosidase 저해활성 또한 산채나물의 고혈당 완화효과에 부분적으로 기여한 것으로 사료된다. 다래순, 미역취, 방풍나물, 방풍나물의 α -glucosidase 저해활성을 조사하고 각 산채류가 인슐린 신호전달체계에 미치는 영향을 조사하여, 혈당 조절 메커니즘을 구명하는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

IV. 요약 및 결론

참나물, 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물로 만든 산채나물의 항산화 효과 및 고혈당조절 효과를 조사하기 위하여, 마우스에게 대조식이, 고지방과 고당질 함유식이, 동결건조한 산채나물을 식이의 3% 수준으로 첨가한 고지방과 고당질 함유식을 12주간 제공하였다. 고지방과

고당질 식이를 섭취한 그룹은 대조군에 비해 체중이 유의적으로 증가하였고, 간조직의 지질과산화물 농도가 증가되었고, GSH 농도와 항산화계 효소(SOD, CAT, GSH-Px) 활성이 감소되었다. 그러나, 산채나물군은 고지방과 고당질 식이를 섭취한 그룹에 비해, 지질과산화물 농도가 감소되었고, GSH 농도와 항산화계 효소활성이 증가되었다. 또한 고지방과 고당질 식이를 섭취한 마우스에 있어서, 산채나물의 섭취는 고인슐린혈증과 고혈당을 완화시켰다. 산채나물군과 대조군의 혈당, 간조직 지질과산화물, GSH 농도 및 CAT, GSH-Px 활성은 유의적인 차이가 없었다. 따라서 산채나물은 산화적 스트레스를 완화시켜, 인슐린 저항성 개선에 기여한 것으로 사료된다. 향후 후속 연구를 통해 참나물, 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물의 항산화 효과를 나타내는 활성물질을 규명하는 연구와 산채나물의 혈당조절 메커니즘을 구명하는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 한식세계화용역연구사업의 (한식 우수성·기능성 연구) 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

- Aebi H. 1974. Catalase. Methods of enzymatic analysis. Vol 2. pp 673-684. In: Bergmeyer HU, Gawehn K, editors. Academic Press. New York, NY. USA
- Ahn SY, Kim JH, Choi SJ, Kim YJ. 2009. Current status and prospect of cultivation of wild vegetable crops. Korean J Hort Sci Technol 27(S):36-36
- AOAC. 1995. Official methods of analysis. 14th ed. Association of official analytical chemists. Washington DC. USA
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 72(1-2): 248-254
- Bae DS. 2012. Isolation and identification of antioxidative compounds from *Ledebouriella seseloides*. Master's thesis. The Pusan National University of Korea. p 17, p 27, p 29
- Chae HS, Lee SH, Jeong HS, Kim WJ. 2013. Antioxidant activity and physicochemical characteristics of *Pimpinella brachycarpa* Nakai with treatments methods. Korean J Food Nutr 26(1): 125-131
- Cheng D. 2005. Prevalence, predisposition and prevention of type II diabetes. Nutr Metab (Lond) 2(29):1-12
- Choi IY, Song YJ, Lee WH. 2010. DPPH radical scavenging effect and antimicrobial activities of some herbal extracts. Kor J Hort Sci Technol 28(5):871-876

- Dembinska-Kiec A, Mykkänen O, Kiec-Wilk B, Mykkänen H. 2008. Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. *Br J Nutr* 99 E Suppl (1):ES109-117
- Dröge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82(1):47-95
- Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 82(1):70-77
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 114(12):1752-1761
- Haffner SM, Miettinen H, Stern MP. 1997. The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 20(7):1087-1092
- Harman D. 1991. The aging process: major risk factor for disease and death. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(12):5360-5363
- Hu ML. 2011. Dietary polyphenols as antioxidants and anticancer agents: more questions than answers. *Chang Gung Med J* 34(5):449-460
- Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. 2006. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 444(7121):840-846
- Kim MS, Kim KH, Jo JE, Choi JJ, Kim YJ, Kim JH, Jang SA, Yook HS. 2011. Antioxidative and Antimicrobial Activities of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara Extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40(1):47-55
- Kim SJ, Min SC, Shin HJ, Lee YJ, Cho AR, Kim SY, Han J. 2013. Evaluation of the antioxidant activities and nutritional properties of ten edible plant extracts and their application to fresh ground beef. *Meat Sci* 93(3):715-722
- King H, Aubert RE, Herman WH. 1998. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 21(9):1414-1431
- Kwak CS, Lee JH. 2014. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory effects of ethanol extracts from sprout of Evening primrose (*Oenothera lacinata*) and Gooseberry (*Actinidia arguta*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43(2):207-215
- Lebovitz HE. 1998. α -Glucosidase inhibitors as agents in the treatment of diabetes. *Diabetes Rev* 6(2):132-145
- Lee SJ, Choi HN, Kang MJ, Choe E, Auh JH, Kim JI. 2013. Chamnamul [*Pimpinella brachycarpa* (Kom.) Nakai] ameliorates hyperglycemia and improves antioxidant status in mice fed a high-fat, high-sucrose diet. *Nutr Res Pract* 7(6):446-452
- Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park DS. 2011. Antioxidant activity in water and methanol extracts from Korean edible wild plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40(1): 29-36
- Lu J, Qian W, Xu L, Huang G, Cong W, Wang Z, Deng X, Wang D, Guan S. 2012. Phytochemical composition and toxicity of an antioxidant extract from *Pimpinella brachycarpa* (Kom.) Nakai. *Environ Toxicol Pharmacol* 34(2):409-415
- Maddux BA, See W, Lawrence JC Jr, Goldfine AL, Goldfine ID, Evans JL. 2001. Protection against oxidative stress-induced insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentrations of alpha-lipoic acid. *Diabetes* 50(2):404-410
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79(5):727-747
- Moskang JØ, Carlsen H, Myhrstad MC, Blomhoff R. 2005. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am J Clin Nutr* 81(1 Suppl):277S-283S
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95(2):351-358
- Paglia DE, Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70(1):158-169
- Park HJ, Kim HS. 2014. Korean traditional natural herbs and plants as immune enhancing, antidiabetic, chemopreventive, and antioxidative agents: a narrative review and perspective. *J Med Food* 17(1):21-27
- Raabo E, Terkildsen TC. 1960. On the enzymatic determination of blood glucose. *Scand J Clin Lab Invest* 12(4):402-407
- Rudich A, Tirosh A, Potashnik R, Hemi R, Kanety H, Bashan N. 1998. Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes* 47(10): 1562-1569
- Ruhe RC, McDonald RB. 2001. Use of antioxidant nutrients in the prevention and treatment of type 2 diabetes. *J Am Coll Nutr* 20(5 Suppl):363S-369S
- Shah S, Iqbal M, Karam J, Salifu M, McFarlane SI. 2007. Oxidative stress, glucose metabolism, and the prevention of type 2 diabetes: pathophysiological insights. *Antioxid Redox Signal* 9(7):911-929
- Shin JW, Lee SI, Woo MH, Kim SD. 2008. Effect of ethanol extracts of Goat's beard on streptozotocin induced diabetic symptoms and oxidative stress in rats. *J East Asian Soc Dietary Life* 18(6):939-948
- Standl E, Baumgartl HJ, Fuchtenbusch M, Stemmlinger J. 1999. Effect of acarbose on additional insulin therapy in type 2 diabetic patients with late failure of sulphonylurea therapy. *Diabetes Obes Metab* 1(4):215-220
- Styskal J, Van Remmen H, Richardson A, Salmon AB. 2012. Oxidative stress and diabetes: what can we learn about insulin resistance from antioxidant mutant mouse models? *Free Radic Biol Med* 52(1):46-58
- Sun Y, Oberley LW, Li Y. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 34(3):497-500
- Surwit RS, Kuhn CM, Cochrane C, McCubbin JA, Feinglos MN. 1988. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes* 37(9):1163-1167
- Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. 2003. The importance of

- glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother* 57(3-4): 145-155
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 160(1):1-40
- Yang JE, Lee JH, Kim DY, Choe EO, Chung LN. 2014. Sensory properties and drivers of liking Sanchae namul (seasoned dish with wild edible greens). *Korean J Food Cook Sci* 30(2):200-211
- Yang ZH, Miyahara H, Takeo J, Katayama M. 2012. Diet high in fat and sucrose induces rapid onset of obesity-related metabolic syndrome partly through rapid response of genes involved in lipogenesis, insulin signalling and inflammation in mice. *Diabetol Metab* 4(1):32
- Zhang ZF, Lu J, Zheng YL, Wu DM, Hu B, Shan Q, Cheng W, Li MQ, Sun YY. 2013. Purple sweet potato color attenuates hepatic insulin resistance via blocking oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in high-fat-diet-treated mice. *J Nutr Biochem* 24(6):1008-1018

Received on June11, 2014/ Accepted on June18, 2014