



비만 흰쥐에서 발효 서목태의 항산화 효과

배귀정 · 하배진*

신라대학교 의생명과학대학 제약공학과

Antioxidative Effect of Fermented *Rhynchosia nulubilis* in Obese Rats

Gui-jeong Bae and Bae-jin Ha*

Department of Pharmaceutical Engineering and College of Medical Life Science, Silla University, 1-1 San, Gwaebup-dong, Sasang-gu, Busan 46958, Korea

(Received November 2, 2015/Revised November 29, 2015/Accepted December 17, 2015)

ABSTRACT - This study was to examine the antioxidative activity of fermented *Rhynchosia nulubilis* (FRN) in obese rats. Oxidative stress due to reactive oxygen species (ROS) can cause oxidative damage to cells. Mitochondria are especially important in the oxidative stress as ROS have been found to be constantly generated as an endogen threat. Mitochondrial defense depends mainly on superoxide dismutase whereas microsomal defense depends on catalase, which is an enzyme abundant in microsomes. Seven weeks-aged female Sprague-Dawley rats were divided into four groups and fed high fat diets for 44 days. Also fermented *Rhynchosia nulubilis* was administered orally for 44 days at 7.5 ml/kg of body weight of rats. The antioxidative activities of fermented *Rhynchosia nulubilis* were measured by the superoxide dismutase, catalase, malondialdehyde levels in liver homogenate. The levels of malondialdehyde in FRN-treated groups were lower than those in obese groups. Superoxide dismutase and catalase levels were significantly increased. These results demonstrated that fermented *Rhynchosia nulubilis* had the inhibitive effects of oxidative stress in obese rats, suggesting that fermented *Rhynchosia nulubilis* would be used as an ingredient of the useful functional products.

Key words : Obese, *Rhynchosia nulubilis*, Anti-oxidation, Fermentation

생활습관으로 인한 질병이 사회적 문제가 됨에 따라 과실, 채소류, 두류, 곡류가 가지고 있는 여러 가지 생체기능성 물질에 관심이 높아지게 되었다¹⁴. 그 중 콩류는 식이섬유소, isoflavone, steroids, saponin, carotene 등이 함유되어 있어 항암작용 및 콜레스테롤 농도 저하, 심장질환 예방 등의 효과가 있는 것으로 보고되었다. 특히 Isoflavone 이 다량 함유된 서목태(*Rhynchosia nulubilis*)는 쥐눈이콩, 약콩이라고도 한다. 서목태는 어느 식품보다 해독성이 탁월하여 청혈작용이 있고, 신체 기능을 강화하는 약제로 신약본초에 보고되었으며, 골질환 예방 및 치료에도 사용되어 왔다. 또한 고혈압과 당뇨병을 예방하고 노화방지와 노인성 치매예방 및 신장에 좋다고 알려져 있다^{16,26}.

비만에 대한 연구들을 살펴보면, 비만이 지질과산화물 형성을 촉진시켜 체내 항산화 시스템이 불균형에 이르는

과정과 밀접한 관련이 있다고 보고되어 있다¹⁸. 항산화는 생체 내에서 Free radical 반응을 야기시키는 활성산소(Reactive oxygen species, ROS)들이 계속 생성되어 세포가 손상되는 산화적 스트레스에 대한 작용이다^{22,27}. 생체 내에는 이러한 활성산소로 인한 질병과 노화를 대항하기 위해서 생체 내에서 SOD (Superoxide dismutase), CAT (Catalase), GPX (Glutathione peroxidase) 등과 같은 효소적 방어체계의 항산화제를 생성하며, 외부에서 체내로 공급이 가능한 비효소적 방어체계로는 Vitamin C와 Vitamin E, Uric acid, Flavonoid 계열 및 Polyphenol류 등의 천연 항산화제와 합성 항산화제인 Butylated hydroxyanisole (BHA) 와 Butylated hydroxytoluene (BHT) 등이 있다^{7,17,27}. 이러한 항산화물질은 질환의 발병과 관련된 불안정한 분자들인 활성산소를 효과적으로 제거하여 항산화 및 항염증 효과를 나타낸다고 보고된다^{6,7,20}.

본 연구에서는 발효 서목태 엑기스 및 음료 추출물의 비만에 의한 항산화 활성을 비교 및 분석하여 기능성 식품에서 비만에 대한 항산화 효과에 기초 자료를 제공하고자 한다.

*Correspondence to: Bae-jin Ha, Department of Pharmaceutical Engineering and College of Medical Life Science, Silla University, 1-1 San, Gwaebup-dong, Sasang-gu, Busan 46958, Korea
Tel: 82-51-999-5466, Fax: +82-51-999-5636
E-mail: bjha@silla.ac.kr

Materials and Methods

DPPH radical 소거활성 측정

항산화활성의 대표적인 지표인 radical 소거활성(radical scavenging activity)은 Blois⁴⁾의 방법을 변형하여 발효 서목태 엑기스에 대한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)의 전자공여능으로 측정하였다. 즉, 추출물의 농도별 희석액 50 µl에 0.15 mM DPPH 용액 혹은 에탄올 150 µl을 첨가하여 총액의 부피가 200 µl가 되도록 하였다. 이 반응액을 실온(25°C)에서 30 분간 방치한 후 96 well plate reader 기기(AT/Infinite M200, Tecan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정한 후, 아래와 같은 식으로 DPPH radical 소거율을 계산하였다. 양성대조군으로 3,5-di-tert-4-butylhydroxytoluene (BHT, Sigma, USA)를 사용하였다.

DPPH radical scavenging activity(%) =

$$\{1 - (S - SB)/(C - CB)\} \times 100$$

S: Absorbance of sample

SB: Absorbance of sample blank

C: Absorbance of ethanol

CB: Absorbance of ethanol blank

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법⁹⁾을 응용하였다. 각각 10,000, 1,000, 500, 100 µg/ml이 되도록 희석한 후 희석액 800 µl에 1 N Folin-ciocalteu's phenol reagent (Sigma, USA) 100 µl을 첨가하여 잘 혼합하고 실온(25°C)에서 3 분간 방치하였다. 200 µl의 10% sodium carbonate(10% Na₂CO₃)를 혼합하여 실온에서 1 시간 동안 암실상태로 방치한 후

Table 1. Experimental design of rats

Experimental group	day 11-54	day 11- 54
	food intake	dose of sample
NOR(6)	42 g/day of Normal diet intake	7.5 ml/kg of water-fed
CON(6)	42 g/day of High-fat diet intake	7.5 ml/kg of water-fed
FRN-E(6)	42 g/day of High-fat diet intake	7.5 ml/kg of FRN-fed
FRN-B(6)	42 g/day of High-fat diet intake	7.5 ml/kg of FRN-fed

NOR: Normal control group

CON: High fat diet treated group

FRN-E: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (100%) and high fat dietary group

FRN-B: fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (8%) and high fat dietary group

96 well plate reader 기기(AT/Infinite M200, Tecan)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 에탄올에 녹인 Gallic acid를 최종농도가 0, 50, 100, 150, 200, 250 µg/ml이 되도록 하여 725 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량곡선을 작성하였으며, 총 폴리페놀 함량은 µg gallic acid equivalents(GAE)/ml로 나타내었다.

실험재료

실험에 사용된 발효 서목태 엑기스는 (주)할머니청국장에서 제공받았다. 발효 서목태는 전통 발효 방법을 사용하였으며 발효과정은 다음과 같다. 먼저 서목태를 수돗물로 세척하고 5 시간 동안 수돗물에서 방치했다. 팽윤시킨 서목태는 물과 혼합(3:1, by w/v)하여 벧짚과 함께 70°C에

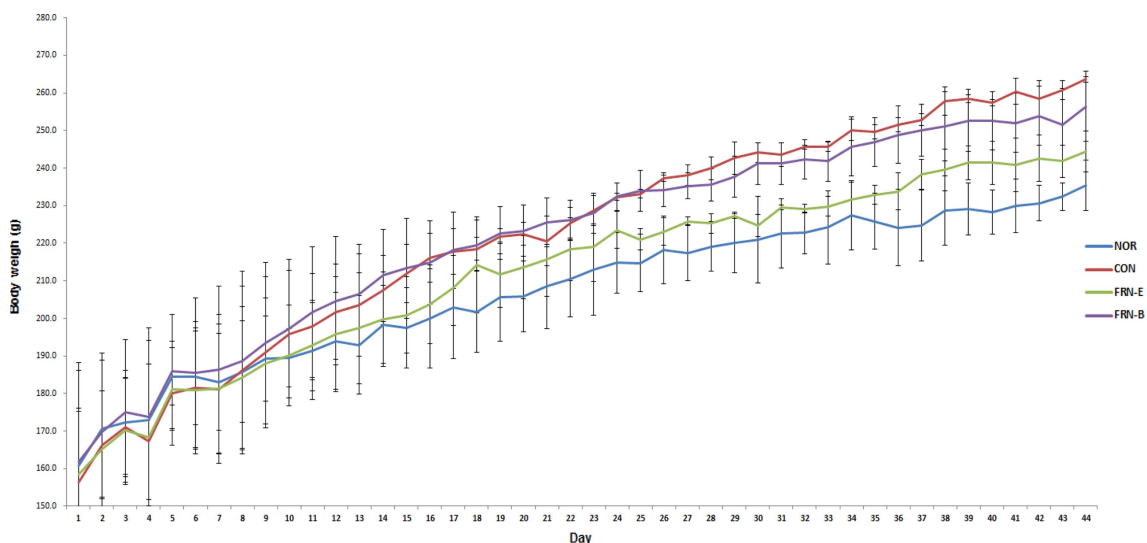


Fig. 1. Comparison of body weight of rats for 44 days. NOR: Normal control group, CON: High fat diet treated group, FRN-E: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (100%) and high fat dietary group, FRN-B: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (8%) and high fat dietary group. The number of experiment animals is given in parenthesis.

서 5 시간동안 쪄다. 쪄낸 서목태 열수 추출물은 30°C에서 48 시간 동안 발효한 후, 120°C에서 멸균하였다. 발효물은 미세 모슬린 천을 이용하여 여과한 후 여과된 추출액을 실험에 사용하였다(yield: 2% w/w, dry weight).

실험동물 및 식이

실험동물은 8 주령이고 몸무게가 175 g Sprague-dawley (SD)계 암컷을 (주)셈타코코리아로부터 구입하여 사용하였다. 각 실험에 쓰이는 RAT은 매일 일정한 시간에 시료를 투여하였고(Table 1), 또한 체중을 매일 일정한 시각에 측정하였다(Fig. 1).

쥐의 활동성을 주기 위해 12 시간 낮과 밤의 주기로 Auto control system 기기(SS-2200, SYSTRONICS, KOREA)를 사용하여 온도 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 와 습도 $60 \pm 5\%$ 로 유지하여 54 일간 사육하였다. 쥐들은 난괴법(randomized complete block design)에 의해 4 군으로 각 군당 6 마리로 나누어 실험하였다. 각각의 그룹은 정상 군(NOR: 생수 투여 + 정상식이), 대조 군(CON: 생수 투여 + 60% high fat diet), (FRN-E: 100% 발효 서목태 엑기스 투여 + 60% high fat diet), (FRN-B: 8% 발효 서목태 엑기스 투여 + 60% high fat diet)으로 표기하여 실험하였다(Table 1). 10 일간 적응기간을 가진 후, 44 일간 급식하고 55 일째 되는 날 CO₂로 마취하고 개복하여 장기의 상태를 확인하였고, 하대정맥에서 혈액을 채취하였으며, 4 엽의 간을 모두 적출한 뒤 식염수로 세척하여 여분의 혈액을 제거하였다. 그리고 혈액은 원심분리 한 후 혈청을 획득하여 실험에 사용하기 전에 -74°C 에 보관하였고, 간 또한 -74°C 에 보관하여 실험에 사용하였다.

고지방 식이 투여

(주)셈타코에서 고지방 식이를 구입 하였으며 식이의 조성은 Table 2와 같다.

간 균질물의 총 단백질 측정

단백질의 정량은 Lowry법²¹⁾으로 750 nm에서 흡광도를 측정하였고, 표준 단백질 시료로 Bovine Serum Albumin (BSA)을 사용하였다.

간 조직 중 superoxide dismutase (SOD)활성 측정

SOD 효소 활성의 측정은 Beauchamp와 Fridovich법³⁾의 변형된 방법에 따라 0.2 M K-phosphate buffer (pH 7.4)를 6720 μl , 1 mM xanthine 100 μl , 1% sodium deoxychlorate 300 μl , 1.5 mM KCN 300 μl , 0.2 mM cytochrome C 1500 μl 를 넣은 혼합액에 sample 80 μl 를 넣고, xanthine oxidase 원액 10 μl 를 넣은 후 Elisa (Microtiter plate reader, Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA., USA)를 이용하여 550 nm에서의 흡광도 변화를 2 분 동안 측정하였다. 효소의 활성도는 superoxide dismutase standard (Sigma Co., USA)

Table 2. Formulation of high-fat diet

PRODUCT	mg %	kcal %
Protein	26.2	20
Carbohydrate	26.3	20
Fat	34.9	60
Total		100
kcal/gm	55.24	
Ingredient	mg	kcal
Caseun, 80 Mesh	200	800
L-Cystine	3	12
Corn Starch	0	0
Maltodextrin 10	125	500
Sucrose	68.8	275.2
Cellulose, BW200	50	0
Soybean Oil	25	225
Lard*	245	2205
Mineral Mix S10026 10 0	10	0
DjCalcium Phosphate	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H ₂ O	16.5	0
Vitamin Mix V10001	10	40
Choline Bitartrate	2	0
Total	773.85	4057

Formulated by E.A, Ulman, Ph.D. Research Diet, Inc.

Typical analysis of cholesterol in lard = 0.95 mg/g

Cholesterol(mg)/4057 = 232.8

Cholesterol(mg)/kg = 300.8

를 표준액으로 사용하여 비교 측정하였다.

간 조직 중 catalase (CAT)의 활성 측정

CAT 효소 활성 측정은 Aebi법¹⁾으로 측정하였다. 측정하기에 앞서 효소의 효율에 따라 결과가 달라지므로 희석 배율을 정하여 선 측정 후 일정 희석배율에서 가장 좋은 효과가 보이는 희석배율을 선택하여 측정한다. 1.9 ml의 PBS (0.05 M, pH 7.0)와 0.1 ml의 간 균질화물을 첨가하여 잘 혼합한다. 혼합한 뒤 H₂O₂용액 1 ml를 첨가한 뒤 Elisa (Microtiter plate reader, Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA., USA)를 이용하여 240 nm에서 1 분 30 초간 측정한다. CAT 활성도의 표기는 U/mg protein으로 하였다.

간 조직중 malondialdehyde (MDA)의 정량

간의 MDA 수치는 Ha의 방법¹³⁾에 따라 1 ml의 sodium dodecyl sulfate(7% SDS)와 균질화한 간 시료 0.5 ml과 혼합한다. 37°C, 30 분간 반응시킨 뒤 0.67% thiobarbituric-acid 시약을 2 ml 첨가하여 한 시간 동안 끓는 물에서 가열하였다. 가열 후 즉시 냉각 시킨 뒤 부탄올 5 ml을 첨가하고 3000 rpm에서 10 분간 원심 분리한다. 원심 분리

후 상층액을 취하여 535 nm의 파장에서 흡광도를 측정 (Microtiter plate reader, Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA., USA)하였다. 표준 시약으로는 1,1,4,4-tetra-ethoxy-propane를 사용하였다.

통계적 분석

본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 IBM SPSS Statistics Ver. 20 (IBM, NY, USA)를 이용한 one-way ANOVA로 검정하였으며, 사후 검증으로 Duncan's post-hoc test과 t-test를 실시하였고 유의성은 $p < 0.01$ 과 $p < 0.001$ 로 하였다.

Results and Discussion

DPPH radical 소거효과 측정

발효 서목태의 DPPH radical 소거효과 결과는 Fig. 2와 같다. 발효 서목태 엑기스의 DPPH radical 소거효과는 각각 $22.18 \pm 0.63\%$, $10.65 \pm 2.47\%$, $4.93 \pm 0.63\%$, $3.56 \pm 0.17\%$ 이며, 발효 서목태 음료에서는 각각 $6.37 \pm 0.54\%$, $3.77 \pm 0.73\%$, $2.87 \pm 0.15\%$, $1.80 \pm 1.20\%$ 로 발효 서목태 엑기스가 발효 서목태 음료보다 DPPH radical 소거효과가 높았으며, 농도 의존적으로 감소하였다.

홍 등¹⁴⁾의 연구에 따르면, 대두와 서목태 열수 추출물의 DPPH에 대한 전자공여능은 농도가 증가함에 따라 증가하였고, 서목태 추출물은 73.05%, 대두 추출물은 57.70%로 본 연구에서도 사용된 서목태가 대두보다 높은 전자공여능을 나타냈다.

Dordevic 등⁸⁾의 연구에서 메밀, 보리, 밀 및 호밀의 DPPH

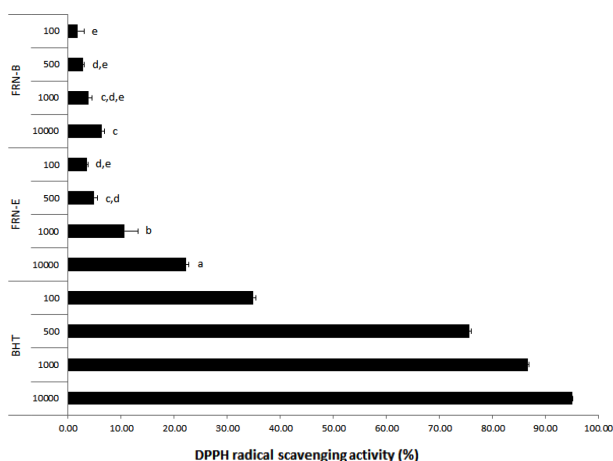


Fig. 2. Scavenging activity of fermented *Rhynchosia nulubilis* and BHT on free radical. FRN-B: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (8%), FRN-E: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (100%), BHT: positive control. All the values were expressed as means \pm S.D. (n = 6), a,b,c,d,e are different (P < 0.01) group by one-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test.

radical 소거능을 연구한 결과, 메밀이 가장 높은 소거능을 보였으며 고농도로 갈수록 높은 소거능을 나타냈다. 또한 *L. rhamnosus*와 *S. cerevisiae*로 각각 발효를 했을 때, 비슷한 소거능을 보였지만 비발효 일 때보다는 높은 소거능을 나타냈다. 이에 따라 본 연구에서는 발효한 서목태를 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

발효 서목태의 총 폴리페놀 함량을 측정하는 결과는 Fig. 3과 같다. 발효 서목태 엑기스의 총 폴리페놀 함량은 각각 $229.08 \pm 0.73 \mu\text{g/ml}$, $36.84 \pm 0.57 \mu\text{g/ml}$, $18.74 \pm 0.05 \mu\text{g/ml}$, $12.11 \pm 0.37 \mu\text{g/ml}$ 이며, 발효 서목태 음료에서는 각각 $77.01 \pm 0.60 \mu\text{g/ml}$, $35.76 \pm 0.41 \mu\text{g/ml}$, $12.74 \pm 0.08 \mu\text{g/ml}$, $10.02 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$ 로 발효 서목태 엑기스가 발효 서목태 음료보다 폴리페놀의 함량이 더 높았으며, 농도가 높을수록 폴리페놀 함량이 높았다.

박 등²⁴⁾의 연구에 의하면, 된장의 총 폴리페놀 함량이 $4.17 \pm 0.11 \text{ mM gallic acid equivalent}$ 로 가장 높게 나타났으며, 그 외 대두 식품의 경우 메주($2.310 \pm 0.09 \text{ mM gallic acid equivalent}$), 청국장($1.785 \pm 0.07 \text{ mM gallic acid equivalent}$) 및 콩($0.585 \pm 0.03 \text{ mM gallic acid equivalent}$) 순으로 폴리페놀 함량이 높게 나타났다.

Arellano-gonzalez 등²⁾의 연구에 따르면, 발효를 하지 않은 커피는 $335 \pm 71 \text{ w/(g/kg)}$ 이고, 발효를 한 커피는 $322.4 \pm 30.1 \text{ w/(g/kg)}$ 로써 발효를 한 커피가 더 높은 함량을 나타냈다. 이에 따라 본 연구에서는 발효한 서목태를 사용하였다.

간에서의 CAT 활성 변화

CAT는 H₂O₂를 무독성의 H₂O로 환원시키거나 methanol, ethanol, formic acid 및 phenol과 같은 hydrogen donor의 산화에 관여하는 효소로서 지방산화에 의해 생성된 유리기를 제거하는 것으로 알려져 있으며 활성산소종을 소거시키는 작용을 한다^{15,23)}.

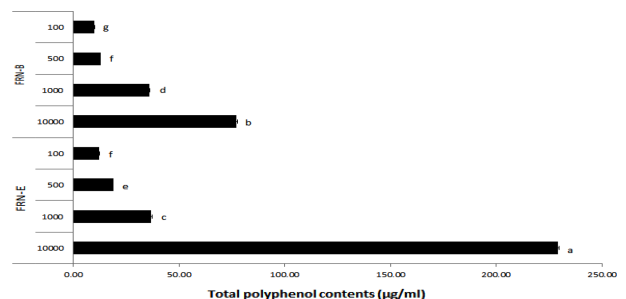


Fig. 3. Contents of fermented *Rhynchosia nulubilis* on total polyphenol. FRN-B: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (8%), FRN-E: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (100%). All the values were expressed as means \pm S.D. (n = 6), a,b,c,d,e are different (P < 0.01) group by one-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test.

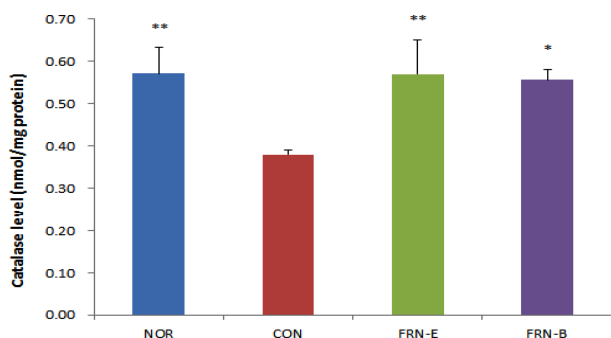


Fig. 4. Effect of fermented *Rhynchosia nulubilis* on CAT levels in liver homogenate. NOR: Normal control group, CON: High fat diet treated group, FRN-E: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (100%) and high fat dietary group, FRN-B: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (8%) and high fat dietary group. All the values were expressed as means \pm S.D. (n = 6), ***means each group was significantly different ($P < 0.001$) for the value of CON in student's test.

비만을 유도한 rat의 간 균질액에서의 CAT의 활성 변화는 Fig. 4와 같다. CAT는 정상군이 0.57 ± 0.06 nmol/mg protein, 대조군은 0.38 ± 0.01 nmol/mg protein, 발효 서목태 엑기스 섭취군은 0.57 ± 0.08 nmol/mg protein, 발효 서목태 음료 섭취군은 0.56 ± 0.02 nmol/mg protein로, 발효 서목태 엑기스 섭취군과 발효 서목태 음료 섭취군이 대조군에 비해 94.7~100% 증가하여 정상군으로의 회복을 나타냈다.

Carillon 등⁵⁾의 연구에서는 정상군과 비만을 유도시킨 대조군의 CAT 활성보다 SODB(멜론)을 섭취한 군이 현저하게 CAT 활성이 증가되었으며 내인성 발현 또한 50% 증가한 것으로 나타났다.

이를 통해 CAT가 증가된 것은 활성산소를 제거하여 생체 내 대사과정에서 생성된 과산화물로부터 생체조직을 보호하여 손상된 간조직의 기능을 회복시킨 것이기 때문에 발효 서목태가 CAT 활성에 유의적인 효과가 있는 것으로 사료된다.

간에서의 SOD 활성 변화

체내에 축적된 과량의 활성 산소는 암을 발생시키거나 노화를 촉진하는 등 유해한 영향을 미친다. 이러한 활성 산소는 과식, 과도한 스트레스 및 흡연, 지나친 운동으로 야기되는 과호흡 등에 의해 그 양이 증가하는데 이러한 활성 산소를 체내에서 가장 먼저 분해시키는 역할을 하는 효소가 바로 SOD이다. SOD라는 효소는 25세 까지는 체내에서 자연적으로 생성되므로 별 문제가 없으나, 25세 이후부터는 SOD 발생량이 줄어들어서 신체는 점점 노화되어 간다, SOD는 생체내의 항산화 방어기구 중에서 효소적 방어계의 하나로 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2 로 전환시킴으로써 산소 독으로부터 생체를 보호한다¹⁰⁾.

비만을 유도한 rat의 간 균질액에서 SOD의 활성 변화

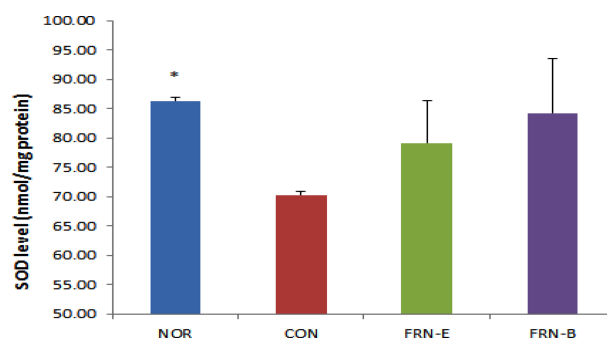


Fig. 5. Effect of fermented *Rhynchosia nulubilis* on SOD levels in liver homogenate. NOR: Normal control group, CON: High fat diet treated group, FRN-E: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (100%) and high fat dietary group, FRN-B: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (8%) and high fat dietary group. All the values were expressed as means \pm S.D. (n = 6), ***means each group was significantly different ($P < 0.001$) for the value of CON in student's test.

는 Fig. 5와 같다. 정상군이 86.33 ± 0.58 nmol/mg protein로 나타났고 대조군은 70.33 ± 0.58 nmol/mg protein, 발효 서목태 엑기스 섭취군은 79.20 ± 7.26 nmol/mg protein, 발효 서목태 음료 섭취군은 84.22 ± 9.40 nmol/mg protein로 발효 서목태 섭취 군의 SOD 수치가 대조군에 비해 55.4~86.8% 증가하여 정상군으로의 회복을 보였다.

류 등¹²⁾의 연구에 따르면 대조군의 SOD 활성이 9.84 ± 2.50 U/mg protein이고, 발효 대두를 200 mg/kg 첨가군에서 16.47 ± 3.06 U/mg protein으로 40% 증가했다. 본 연구에서의 비만 유도 흰쥐의 SOD 활성이 더 높았으므로 대두보다 서목태가 간에서의 SOD 활성에 상승 효과가 있을 것으로 예측된다.

이를 통해 발효 서목태가 간에서의 SOD 활성 증가에 도움을 주는 것으로 사료된다.

간에서의 MDA 변화

과산화지질은 oxygen radicals에 의해 불포화지방산에서 일어나는 연쇄반응으로 oxygen radicals의 직접적인 작용보다는 철 이온 존재 하에 superoxide와 H_2O_2 의 상호작용에 의해 형성되는 OH^{\bullet} 에 의해 간접적으로 일어나며, 이의 주된 손상장소가 DNA나 세포막이다¹¹⁾. MDA는 발암의 가능성이 있고, 돌연변이를 일으킬 수 있으며, 고도로 반응성이 높은 free radical들은 여러 가지 세포의 중요한 구성 성분들, 즉 지방 세포막, DNA, 단백질 등을 변형시키는 것으로 알려져 있다¹²⁾.

비만을 유도한 rat의 간 균질액에서 MDA의 활성 변화는 Fig. 6과 같다. 정상군이 22.32 ± 1.13 nmol/mg protein로 나타났고 대조군은 35.05 ± 1.23 nmol/mg protein, 발효 서목태 엑기스 섭취군은 23.57 ± 1.12 nmol/mg protein, 발효 서목태 음료 섭취군은 23.77 ± 1.14 nmol/mg protein로

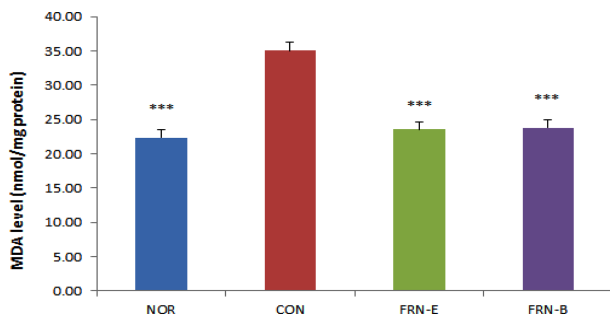


Fig. 6. Effect of fermented *Rhynchosia nulubilis* on MDA levels in liver homogenate. NOR: Normal control group, CON: High fat diet treated group, FRN-E: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (100%) and high fat dietary group, FRN-B: Fermented *Rhynchosia nulubilis* extracts (8%) and high fat dietary group. All the values were expressed as means \pm S.D. (n = 6), ***means each group was significantly different ($P < 0.001$) for the value of CON in student's test.

발효 서목태 섭취군의 MDA 수치가 대조군에 비해 88.6~90.1% 감소하여 정상군에 가까운 수치를 보였다.

성 등²⁸⁾의 연구에서는 MDA량이 물 추출물 투여군은 2.28%, 알코올 추출물 및 지용성 추출물 투여군은 18.53%, 30.1%씩 감소함을 보였으며, 총 사포닌 투여군은 13.25%로 물 추출물을 제외한 모든 추출물에서 유의성 있게 감소함을 보였다. 본 연구에서의 비만 유도 흰쥐의 MDA량이 더 감소하였으므로 사포닌보다 서목태가 지질과산화억제에 더 효과가 있을 것으로 예측된다.

이를 통해 발효 서목태가 지질과산화를 억제하는 것으로 사료된다.

국문요약

본 연구에서는 유도비만 쥐에서 발효 서목태의 항산화 효과를 연구하기 위하여 체중 175 g의 SD계 암컷 흰쥐 24마리를 대상으로 정상 군, 고지방식이 군, 발효 서목태 엑기스 급여 군, 발효 서목태 음료 급여 군으로 분류하여 54일간 사육하였다. *in vitro* 항산화 활성에서는 발효 서목태 엑기스가 높은 활성 및 함량을 나타냈다. *in vivo* 항산화 활성에서는 발효 서목태 섭취 군이 고지방식이 대조 군에 비해 CAT, SOD 활성은 높은 활성을 보였으며, MDA량은 감소 현상을 보였다. 이와 같은 결과를 통해 발효 서목태가 항산화 효소의 증가로 활성산소의 제거능을 향상시킬 뿐만 아니라, 생체 내 대사과정에서 생성된 과산화물로부터 생체 조직을 보호하여 손상된 간조직의 기능을 회복시킨 것으로 사료된다.

References

1. Aebi, H.: Catalase *in vitro*, In: Packer L, ed methods in Enzy-

mology. N. Y. Academic, **105**, 121-126 (1984).

- Arellano-gonzalez, M. A., Ramirez-coronel, M. A., Torremancera, M. T., Perez-morales, G. G. and Saucedo-castaneda, G.: Antioxidant Activity of Fermented and Nonfermented Coffee (*Coffea arabica*) Pulp Extracts. *Food Technol. Biotechnol.*, **49**, 374-378 (2011).
- Beauchamp, C. and Fridovich, I.: Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, **44**, 276-287 (1971).
- Blois, M.S.: Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, **26**, 1199-1200 (1958).
- Carillon, J., Romain, C., Bardy, G., Fouret, G., Feillet-coudray, C., Gaillet, S., Lacan, D., Cristol, J. and Rouanet, J.: Cafeteria diet induces obesity and insulin resistance associated with oxidative stress but not with inflammation: improvement by dietary supplementation with a melon superoxide dismutase. *Free Radical Biology and Medicine*, **65**, 254-261 (2013).
- Choi, S. H.: Pharmacological and Molecular studies of *Atractylodes japonica* Koidzumi on anti-oxidant activity, M. S. Thesis, KyungHee University, 1-29 (2011).
- Doh, E.S., Chang, J.P., Kil, K.J., Choi, M.S., Yang, J.K., Yun, C.W., Jeong, S.M., Jung, Y.H., Lee, G.H.: Antioxidative Activity and Cytotoxicity of Fermented *Allium victorialis* L. Extract. *Korean J. Plant Res.*, **24**, 30-39 (2011).
- Dordevic, T. M., Siler-Marinkovic, S. S. and Dimitrijevic-brankovic, S. I.: Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. *Food Chemistry*, **119**, 957-963 (2010).
- Folin, A.D. and Denis, W.: A colorimetric method for the determination of phenols (and phenolderivatives) in urine. *J. Biol. Chem.*, **22**, 305-308 (1915).
- Ha, B.J. and Kim, M.H.: Effect of Chondroitin Sulfate on Collagen Maturity and Aging. *J. Food Hygiene and Safety*, **14**, 45-54 (1999).
- Ha, B.J., Kim, H.J., Lee, S.H., Ha, J.M., Lee, S.H., Lee, J.H., Lee, D.G., Park, E.K. and Nam, C.S.: The Hepatoprotective Effects of *Epimedium* Herba through the Antioxidation. *J. of Life Sci.*, **15**, 572-577 (2005).
- Ha, B.J.: Effects of *Rhynchosia molubilis* Saponin on Hepatotoxicity and Pathology. *J. of Life Sci.*, **16**, 186-191 (2006).
- Ha, B. J.: Studies on the Antilipidperoxidation effect of Brazilin and Hematoxylin. Ph. D. Dissertation. Seoul university, Seoul, Korea (1985).
- Hong, J.Y., Shin, S.R., Kong, H.J., Choi, E.M., Woo, S.C., Lee, M.H. and Yang, K. M.: Antioxidant activity of extracts from soybean and small black bean. *Korean J. Food Preserv.*, **21**, 404-411 (2014).
- Kang, M.H., Lee, J.H., Lee, J.S., Kim, J.H., Chung, H.K.: Effects of Acorn Supplementation on Lipid Profiles and Antioxidant Enzyme Activities in High Fat Diet-Induced Obese Rats. *Korean J. of nutrition*, **37**, 169-175 (2004).
- Kang, S.A. and Han, J.A.: Acetylcholinesterase Inhibiting Effect and Free Radical Scavenging Effect of Soybean(Glycine max) and Yak-Kong(*Rhynchosia nolubilis*)*. *J. East*

- Asian Soc. Dietary Life*, **14**, 64-69 (2004).
17. Kim, H.J., Lee, S.G., Park, S.J., Yu, M.H., Lee, E.J., Lee, S.P., Lee, I.S.: Antioxidant Effects of Extracts from Fermented Red Ginseng Added with Medicinal Herbs in STZ-induced Diabetic Rats. *Korean J. Food Sci. Technol*, **44**, 367-372 (2012).
 18. Kim, J. D., Lee, B. I., Jeon, Y. H., Bak, J. P., Jin, H. L. and Lim, B. O.: Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Effects of Green Tea Mixture and Dietary Fiber on Liver of High Fat Diet-Induced Obese Rats. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **18**, 224-230 (2010).
 19. Kim, J. Y., Shin, M., Heo, Y. R.: Effects of Stabilized Rice Bran on Obesity and Antioxidative Enzyme Activity in High Fat Diet-induced Obese C57BL/6 Mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **43**, 1148-1157 (2014).
 20. Kim, Y.H., Lee, Y.J., Park, S.O., Lee, S.J., Lee, O.H.: Antioxidant Compounds and Antioxidant Activities of Fermented Black Rice and Its Fractions. *Korean J. Food Sci. Technol*, **45**, 262-266 (2013).
 21. Kobayashi, M.M., Fujita, H. and Mitsuhashi.: Components of *Cnidium officinale* Makino: occurrence of pregnenolone, coniferylferulate, ferulate and hydroxylprthalides. *Cham Pharm. Bull.* **23**, 3770-3773 (1984).
 22. Kwon, C.S.: Antioxidant Properties of Red Yeast Rice (*Monascus purpureus*) Extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **41**, 437-442 (2012).
 23. Park, H.J., Nam, J.H., Jung, H.J., Lee, M.S., Lee, K.T., Jung, M.H., Choi, J.W.: Inhibitory Effect of Euscaphic Acid and Tormentic Acid from the Roots of *Rosa rugosa* on High Fat Diet-Induced Obesity in the Rat. *Korea J. Pharmacogn*, **36**, 324-331 (2005).
 24. Park, J.W., Lee, Y.J. and Yoon, S.: Total flavonoids and phenolics in fermented soy products and their effects on antioxidant activities determined by different assays. *Korean J. Food Culture*, **22**, 353-358 (2007).
 25. Ryu, B.H., Park, J.O., Kim, H.S. and Lim, B.G.: Activity of Superoxide dismutase(SOD) by fermented soybean. *Korean J. Life Science*, **11**, 574-581 (2001).
 26. Shin, M.K. and Han, S.H.: Effects of Methanol Extracts from *Rhynchosia nulubilis* on serum Lipid Concentrations in Rats fed High Fat and High Cholesterol Diet. *Korean J. Dietary Culture*. **17**, 64-69 (2002).
 27. Sim, Y.S.: Effects of *Paeonia suffruticosa* Extract on Antioxidation and Activation of Caspase on Human Lung Cancer cell A549. M. S. Thesis, Dongguk University, 1-39 (2015).
 28. Sung, K.S. Chun, C., Kwon, Y.H., Kim, K.H. and Chang, C.C.: Effects of Red Component on the Antioxidative Enzymes Activities and Lipid Peroxidation in the Liver of Mice. *J. Ginseng Res.*, **24**, 29-34 (2000).