

발미나리 발효액의 항산화 활성과 흰쥐에서 알코올성 간 손상 보호효과

심현지¹ · 김세미² · 전영주² · 이영은^{1,2,*}

¹원광대학교 식품영양학과, ²원광대학교 식품산업융복합학과

Antioxidant Activity of Dropwort (*Oenanthe javanica* DC) Fermented Extract and its Hepatoprotective Effect against Alcohol in Rats

Hyun-Ji Sim¹, Se-Mi Kim², Young-Joo Jeon², Young-Eun Lee^{1,2,*}

¹Department of Food and Nutrition, Wonkwang University

²Department of Convergence Technology for Food Industry, Wonkwang University

³Wonkwang Research Institute for Food Industry, Wonkwang University

Abstract

Antioxidant activity of dropwort fermented extract (DFE) was measured according to fermentation period, and liver protective effects were examined using Sprague-Dawley rats. Total polyphenol and flavonoid contents as well as DPPH and ABTS radical scavenging activities increased up to 60~80 days and then decreased slightly. Proper fermentation time for DFE was more than 60 days and less than 80 days. Administration of alcohol to rats for 10 days at 10 mL/kg/day raised serum AST, ALT, total cholesterol, and triglyceride (TG) levels, which were then lowered by DFE and sugar liquid with the same soluble solids. While sugar liquid increased the blood lipid profile, especially TG levels, DFE had no effect due to its antioxidant activity. When TBARS content of the DFE group in liver tissue significantly decreased in a concentration-dependent manner compared to that of the ALH group ($p < 0.05$). Liver damage was recovered by DFE treatment and was confirmed by hamatoxylin-eosin staining. These results suggest that DFE has a protective effect against alcohol-induced hepatotoxicity in SD rats.

Key Words: dropwort, fermentation, antioxidant activity, hepatoprotective effect

1. 서 론

미나리(*Oenanthe javanica* DC)는 산형과의 다년생 초본으로 수생식물로 수중재배가 일반적인 재배양식으로 되어있다. 최근 하천오염이 심각해지면서 식용은 하우스에서 지하수를 이용하여 재배하고 있으며 미나리 가공을 목적으로 발효재배 기술이 개발되어있다.

미나리는 오래전부터 이용되어 온 채소로 녹즙으로도 많이 응용되고 있다. 채소와 녹즙의 경우 저장성이 문제되기 때문에 장기 저장과 효능을 강화할 목적으로 미나리를 효모 발효시킨 가공품도 등장하여 이용되고 있으며 일부 한방에서는 건조품을 사용하기도 한다. 한방에서는 수근(水芹)이라고 하여, 생즙을 짜서 마시면 혈압이 낮아지고 피를 깨끗이 하며 해열과 진정작용을 하고 간장 질환, 신경통 및 류머티즘에도 약효가 있다고 한다. 미나리의 잎에는 향기가 좋은 정유를 함유하고 있어 발한작용 및 보온작용이 있으며, 식욕을 촉진시

켜 대장 활동을 도와 변비를 예방한다(Jo et al. 2008). 그밖에도 음주 후에는 숙독을 제거하는데 사용하기도 하며, 민간요법에서는 이질을 치료하는데 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Mun et al. 1990). 미나리의 지상부에서 플라보노이드 성분인 isorhamnetin, hyperoside 및 persicarin과 sterol 성분이 보고되었다(Park et al. 1995). Lee et al. (1992)은 미나리 추출물로부터 아주 높은 항돌연변이 효과가 있음을 보고하였으며, MNNG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)에 의해서 유도된 위암 세포의 성장을 억제한다는 사실(Park et al. 1992)과 실험동물에서 진통효과(Park et al. 1994)가 인정되었으며, 알코올을 투여한 흰쥐의 alkaline phosphatase, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase와 같은 간기능 관련 효소활성 측정을 통해 물미나리보다 발미나리 발효액이 알코올성 간질환에 효능이 있음을 보고하였다(Whang et al. 1999).

현대인의 간 손상의 원인은 다양하며, 알코올, 흡연 외에

*Corresponding author: Young-Eun Lee, Wonkwang University, 460 Iksan-daero, Iksan 570-749, Republic of Korea
Tel: +82-63-850-6896 Fax: +82-63-850-6022 E-mail: yelee@wku.ac.kr

도 바이러스에 의한 감염, 독물 또는 약제에 의한 중독, 영양장애 및 순환장애에서 스트레스 같은 신변의 원인 등이 있다(Lee et al. 2006). 바이러스나 음주에 의해서 가장 많이 발생하는 간염이나, 간암의 경우 확실한 치료약이 없기 때문에 치유보다는 더 이상 질병이 진행되지 않도록 하여 소극적 치료 조절에 의존하고 있는 것이 대부분의 실정이다. 따라서 간을 보호하고 치유하는 효과가 있는 약물이나 기능성 식품을 개발하는 것은 대단히 중요하다(Whang et al. 1999). 이러한 간 질환의 치료를 위한 합성 의약품에 관한 보고가 있으나 합성 의약품은 부작용과 독성을 간과 할 수 없다(Rubin & Llieben 1968). 이로 인해 천연물로부터 부작용 없는 간 기능 개선제와 이를 위한 자연 식품의 개발이 절실한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 전주산 발미나리를 사용하여 미나리 발효액을 제조하여 알코올 대사성 음료로서의 활용이 가능한지를 알아보기로 발미나리 발효액의 항산화활성과 혈청 triglyceride, HDL-cholesterol 및 total cholesterol 함량과 간 기능 지표인 AST, ALT 등을 측정하고, 간조직의 과산화지질 함량과 hematoxylin-eosin 조직 염색법을 통하여 조직병리학적 관찰을 수행하여 알코올로 유도한 간 손상에 대한 간 기능 보호효과를 규명하고자 하였다.

II. 연구 내용 및 방법

1. 실험재료

전주산 발미나리는 2013년 6월에 전주 미호리영농조합법인에서 구입하여 실험에 사용하였다. 백설탕은 삼양사 제품(Samyang Co., Seoul, Korea)을, 천일염은 롯데(Lotte Co., Seoul, Korea) 마트에서 제품을 구매하여 사용하였다.

2. 발미나리 발효액 제조

전주산 발미나리를 세척한 후, 물기를 빼고 10 cm 길이로 절단하였다. 미나리와 백설탕을 1:1의 비율로 무게를 달아 백설탕의 80%를 약간의 천일염과 함께 미나리와 버무려 발효조에 담근 후, 나머지 20%의 설탕은 미나리 표면 위를 덮는데 사용하였다. 발효를 시작하여 14일 후에 미나리를 건져내고 상온에서 자연발효를 100일간 진행하며, 20, 40, 60, 80, 100일째에 미나리 발효액 시료를 채취하여 실험에 사용하였다. 발효 초기에는 매일 또는 이틀에 한번 거품이 생기지 않도록 저어주다가 건더기를 건지고는 1주일에 한번 정도 저어주었다.

3. 발미나리 발효액의 항산화 활성

1) 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

천연에 존재하는 주요한 폴리페놀 화합물에는 flavones 및 isoflavone, flavonone, anthocyanin, catechin 등이 존재하며, 이러한 화합물들은 라디칼 소거활성과 강력한 항산화능을 포

함한 폭 넓은 생물학적 활성을 가지는 것으로 알려져 있다(Guo & Wang 2007). 따라서 본 연구에서는 미나리 발효액의 폴리페놀 화합물과 플라보노이드 함량을 분석해 봄으로써 항산화활성을 분석해보고자 하였다.

폴리페놀 함량은 Waterman & Mole (1994)의 방법으로, 미나리 발효액과 1 N Folin-Ciocalteu, 20% sodium carbonate를 혼합하여 상온에서 120분 동안 방치 후 750 nm에서 흡광도를 측정하여 gallic acid 검량선을 이용하여 양을 환산하였다.

플라보노이드의 함량은 Choi et al. (2010)의 방법으로, 미나리 발효액을 80% 에탄올로 희석한 후 10% Al(NO₃)₃와 1 M CH₃COOK을 넣어 혼합하였다. 80% 에탄올과 혼합하여 30분간 실온에서 방치한 뒤 415 nm에서 흡광도를 측정하여 quercetin 검량선을 이용하여 양을 환산하였다.

2) DPPH 라디칼 소거활성

DPPH assay는 Blois (1958)에 의해 최초로 고안되어 식물이나 식품 추출물 또는 단일 화합물의 항산화능을 측정하기 위해서 널리 사용되는 방법이다(Shi et al. 2009, Wisanu et al. 2009, Shimada et al. 1992).

DPPH법에 의한 자유라디칼 소거활성은 Fialho & Faller (2010)의 방법을 응용하여 측정하였다. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)를 80% 메탄올에 100 μM로 용해하여, 미나리 발효액과 혼합한 뒤 15분간 방치하고 517 nm에서 흡광도를 측정하여 소거활성을 계산하였다.

3) ABTS 라디칼 소거활성

ABTS assay도 DPPH assay와 마찬가지로 양이온(ABTS⁺)에 대한 항산화제의 소거활성을 측정하는 방법으로 실험 방법이 간단하여 항산화능 측정에 널리 사용되는 방법이다(Ronald et al. 2005).

ABTS 라디칼 소거활성은 Roberta et al. (1999)의 방법을 응용하여 측정하였다. ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)di-ammonium salt] 용액은 phosphate buffer (pH 7.4)를 이용하여 ABTS 용액에 potassium persulfate를 용해시킨 다음 암실에서 16시간 동안 반응시켜 738 nm에서 흡광도 값이 약 0.70 (±0.02)이 되도록 증류수로 조정하여 ABTS 용액을 만들었다. 미나리 발효액과 ABTS 용액을 혼합하여 정확히 5분 뒤에 738 nm에서 흡광도를 측정한 후 소거활성을 계산하였다.

4. 동물실험에서 발미나리 발효액의 간 보호효과

1) 실험동물 및 처치

동물실험은 '생명윤리 및 안전에 관한 법률'에 따라 IRB 승인(승인번호 WKU13-56)을 받아 진행하였다. 실험에 사용된 동물은 10주령으로 (주)샘타코 BIOKOREA에서 체중 320~360 g 정도의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 구입하고,

난괴법(randomized complete block design)으로 6마리씩 4군으로 나누어 상대온도 22±2°C를 유지하면서 식이는 자유롭게 하여 5일간 적응시켰다. 적응시킨 후, 대조군(CON: control), 알코올투여군(ALH: Alcohol, 40% 에탄올 10 mL/kg b.w. 투여), 설탕물투여군(SL: Sugar liquid, 50% 설탕물 2 mL/kg b.w. 투여 1시간 후 40% 에탄올 10 mL/kg b.w. 투여), 미나리 발효액 투여군(DFE: dropwort fermented extract, 2 mL/kg b.w. 투여 1시간 후 40% 에탄올 10 mL/kg b.w. 투여)으로 나누어 10일간 공급하였다. 각 시료는 알코올 투여 1시간 전에 경구적으로 투여하였다. 실험동물을 희생하여 채혈 후 3,000 rpm, 20분간 원심 분리하여 혈청을 얻었고, 간은 적출하여 실험 전까지 -70°C 냉동고(DFU-558EV, OPERON, Korea)에 보관하였다.

2) 혈청 AST, ALT, Triglyceride, HDL-cholesterol 및 Total cholesterol

AST (Aspartate aminotransferase) 및 ALT (Alanine aminotransferase), TG (Triglyceride), 및 HDL-C (HDL-cholesterol)는 간이측정용 kit (Arkray, Inc. Japan)를 사용하여 측정하였다. TC (Total cholesterol)는 IDTox™ cholesterol enzymatic assay kit (ID Labs, Inc. UK)를 사용하여 측정 분석하였다.

3) 간 조직의 과산화 지질(TBARS) 함량

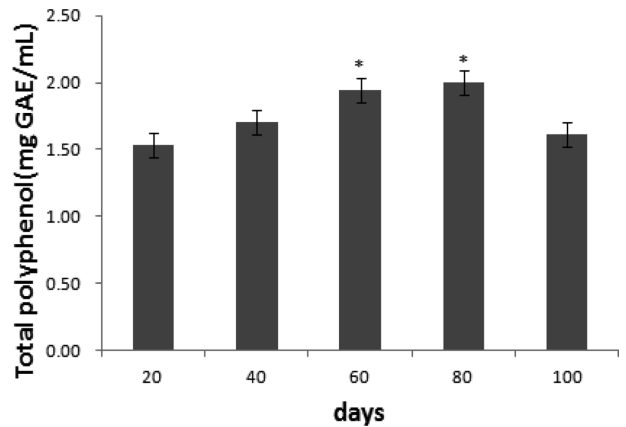
과산화 지질의 함량은 OXItek TBARS assay kit (Enzo Life Sciences Inc., USA)를 사용하여 측정하였으며, PBS 용액에 적출한 간 조직을 갈아 섞은 후 상층액을 뽑아 사용하였다. 각 시료와 SDS 용액을 섞은 후, TBA 원층액을 넣어 95°C에 60분간 배양하였다. 배양 후 10분간 ice bath에 식힌 후 3,000 rpm, 15분간 원심분리 하였다. 각 시료를 채취해 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) 간의 조직병리학적 관찰

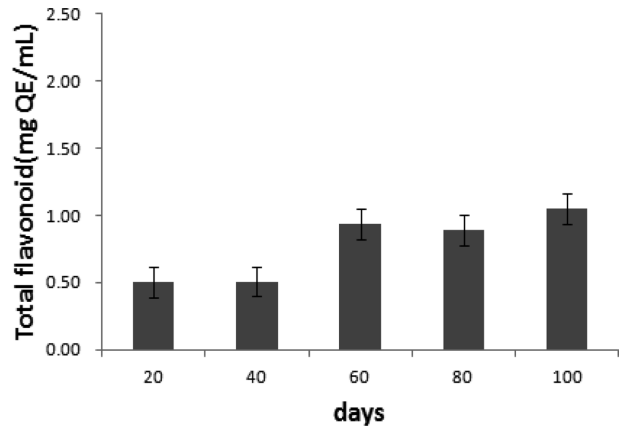
각각의 실험동물로부터 혈액을 채취한 뒤 간을 적출하여 생리식염수에 세척하여 4% paraformaldehyde에 1~2일 보관하였다. Paraformaldehyde에 보관 후 간 조직을 잘라 30% sucrose에 1~2일간 보관 후 조직을 고정하고 얼린 다음 절편으로 만들어 hematoxylin-eosin으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

5. 통계분석

본 실험은 최소 3회 이상 반복 실시하였으며, 실험 결과를 평균과 표준오차(Mean±SE)로 나타내었다. 실험의 유의성을 검정하기 위하여 SPSS(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0) program을 이용하여 ANOVA test를 실시한 후, p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후검증하였다.



<Figure 1> Changes in total polyphenol contents of dropwort fermented extract (DFE) during fermentation period. Values were expressed as mean±SE (*p<0.05), GAE: gallic acid equivalent



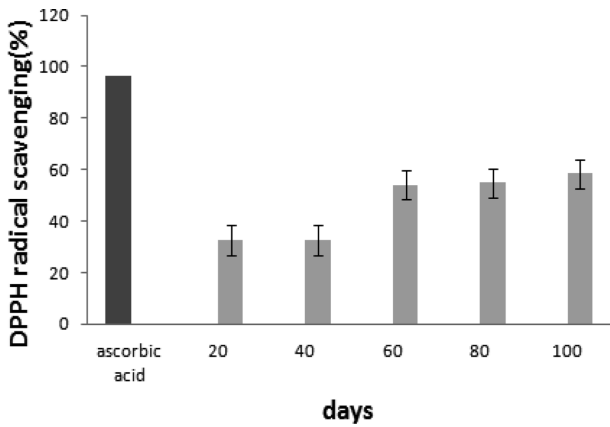
<Figure 2> Changes in total flavonoid contents of dropwort fermented extract (DFE) during fermentation period. Values were expressed as mean±SE, QE: quercetin equivalent

III. 결과 및 고찰

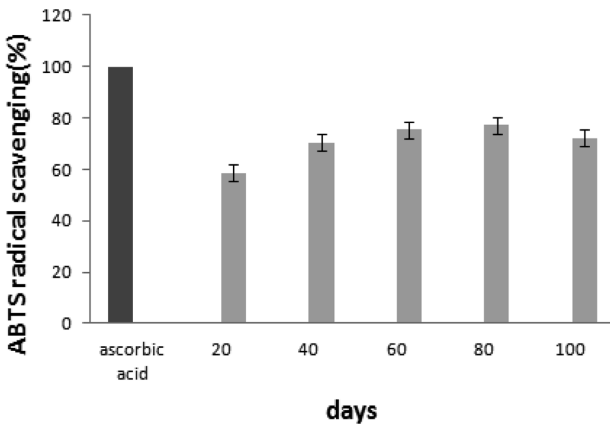
1. 발미나리 발효액의 항산화 활성

1) 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석 결과는 <Figure 1, 2>와 같다. 미나리 발효액의 발효초기 총 폴리페놀 함량은 1.53 mg/mL였으며, 발효기간 80일 경과 후 2.00 mg/mL 로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 그 후로 감소하는 경향을 보였다. 총 플라보노이드 함량은 발효 초기 0.50 mg/mL 에서 1.05 mg/mL까지 발효기간 100일간 점진적으로 증가하는 경향을 보였다. 이와 같이 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량이 시간이 경과함에 따라 감소하는 경향은 Kim et al. (2011)의 연구결과와 유사하였다. Kim et al. (2003)의 연구에서도 발효가 진행됨에 따라 산야채 중의 페놀 성분이 발효액 중으로 유출되어 함량이 증가하다 발효기간이 4개월 이상이



<Figure 3> Changes in DPPH radical scavenging activities of dropwort fermented extract (DFE) during fermentation period



<Figure 4> Changes in ABTS radical scavenging activities of dropwort fermented extract (DFE) during fermentation period

되면서 함량이 감소하는 것으로 나타났다. 발효 및 숙성기간이 경과할수록 함량이 감소하는 경향을 보이는 것은 발효 및 숙성과정 중에 불안정한 페놀 및 플라보노이드계 화합물이 변화하는 것에 기인하는 것으로 생각된다(Van & Robinson 1969).

2) DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성

DPPH 라디칼 소거활성과 ABTS 라디칼 소거활성은 <Figure 3, 4>에 제시하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 대조군으로써 항산화 활성이 있는 ascorbic acid와 비교하였을 때, ascorbic acid는 96.4%를 나타냈으며, 미나리 발효액의 발효 초기 32.5%에서 58.4%까지 소거활성이 점진적으로 증가하는 경향을 보였다. ABTS 라디칼 소거활성은 ascorbic acid가 99.9%에 비교하여, 발효초기 58.7%에서 발효기간 80일에서 77.3%로 높은 소거활성을 보여 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량의 변화양상과 비슷한 변화추이를 나타내었다. Hwang et al. (2013)의 연구에 따르면 돌미나리 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성이 추출물의 농도가 높아질수록 증가

<Table 1> Body weight change of Sprague-Dawley rats

Group ¹⁾	Body weight (g)		
	1	5	10 (days)
CON ²⁾	365.8±6.6	377.9±7.9	389.4±9.1 ^a
ALH ³⁾	361.7±2.6	363.8±3.8	369.8±2.9 ^b
SL ⁴⁾	356.7±13.9	374.9±5.6	383.1±5.5 ^{ab}
DFE ⁵⁾	363.5±3.0	372.5±4.2	378.9±5.6 ^{ab}

¹⁾Each point represents the mean±SE for group of six rats.

²⁾Control group: only distilled water.

³⁾Alcohol treated group: 40% ethanol 10 mL/kg b.w./day.

⁴⁾Sugar liquid treated group: 50% sugar liquid 2 mL/kg+40% ethanol 10 mL/kg b.w./day.

⁵⁾Dropwort fermented extract treated group: DFE 2 mL/kg+40% ethanol 10 mL/kg b.w./day. Values in same column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

하는 경향을 나타내었는데, 발효기간이 증가함에 따라 증가하는 것으로 나타난 폴리페놀 화합물 등 발미나리에서 추출된 항산화 물질에 의해 DPPH 라디칼 소거활성이 증가하는 것으로 보여진다.

3. 동물실험에서 발미나리 발효액의 간 보호효과

1) 실험동물의 체중변화

실험동물 체중변화는 <Table 1>과 같다. 체중은 5일간 적응기 후 알코올 및 설탕액, 발효액을 투여 시작일부터 투여 종료일까지 10일간 측정하였다. 알코올 투여군(ALH)은 10일째에서 대조군(CON)에 비해 유의적으로 체중이 감소하였으며(p<0.05), 설탕액 투여군(SL)과 미나리 발효액 투여군(DFE)에서는 알코올 섭취에도 불구하고 체중증가가 대조군(CON)과 비슷하게 나타나 Choi et al. (2014)의 연구와 같이 알코올 섭취가 정상적인 체중 증가를 방해하고, 설탕물과 미나리 발효액의 섭취가 알코올 섭취로 인한 체중 감소현상의 일부를 회복시키는 것으로 생각된다.

2) 혈청 AST, ALT, Triglyceride, HDL-cholesterol, 및 Total cholesterol

발미나리 발효액의 생체내 간장장애에 미치는 영향을 확인하기 위해 알코올 및 미나리 발효액을 10일간 투여한 후 간 기능 지표로 이용되는 혈청 중 AST 및 ALT 활성과 TG, HDL-C 및 TC를 측정한 결과를 <Table 2>에 제시하였다. AST활성은 알코올군(ALH)이 238.5 IU/L로 대조군(CON)인 189.2 IU/L에 비하여 유의적으로 상승하였으며(p<0.05), 미나리 발효액 투여군(DFE)과 설탕물 투여군(SL)이 각각 182.5와 193.5 IU/L로 AST 활성이 대조군(CON)과 비슷한 수준 또는 그 이하로 유의하게 저하되었다(p<0.05). ALT활성은 알코올군(ALH)이 39.7 IU/L로 대조군(CON)인 33.7 IU/L에 비하여 유의적으로 상승하였으며(p<0.05), 설탕물 투여군(SL)과 미나리 발효액 투여군(DFE)은 각각 23.2와 29.5

<Table 2> Serum AST, ALT and lipid profile of SD rats fed alcohol and/or dropwort fermented extract (DFE)

Groups ¹⁾	CON ²⁾	ALH ³⁾	SL ⁴⁾	DFE ⁵⁾
AST (IU/L)	189.2±8.7 ^{ab}	238.5±27.5 ^a	193.5±11.2 ^{ab}	182.5±10.2 ^b
ALT (IU/L)	33.7±1.3 ^{ab}	39.7±8.6 ^a	23.2±1.8 ^b	29.5±1.8 ^{ab}
TG (mg/dL)	122.3±12.8 ^{ab}	130.8±11.1 ^{ab}	153.3±18.8 ^a	102.3±8.7 ^b
TC (mg/dL)	29.8±1.0	30.3±0.8	30.3±1.9	29.0±2.0
HDL-C (mg/dL)	16.0±0.7	13.8±1.9	13.0±1.0	14.5±1.2

¹⁾Each point represents the mean ±SE for group of six rats.

²⁾Control group: only distilled water.

³⁾Alcohol treated group: 40% ethanol 10 mL/kg b.w./day.

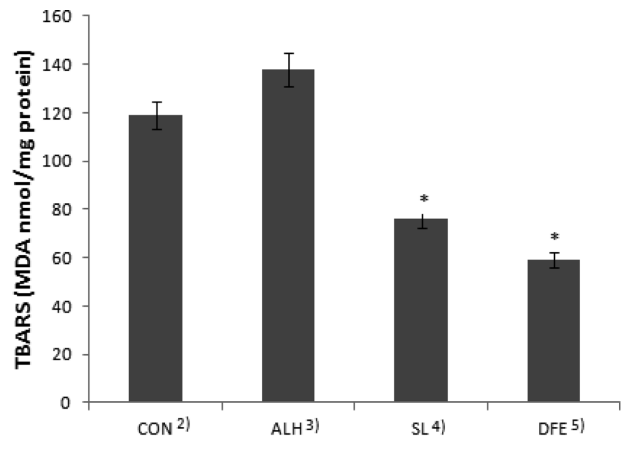
⁴⁾Sugar liquid treated group: 50% sugar liquid 2 mL/kg+40% ethanol 10 mL/kg b.w./day.

⁵⁾DFE treated group: DFE 2 mL/kg+40% ethanol 10 mL/kg b.w./day. Values in same column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

IU/L로 ALT 활성이 대조군(CON)과 비슷한 수준 또는 그 이하로 유의하게 저하되었다(p<0.05). 혈청 AST 및 ALT의 활성은 알코올군(ALH)에서 대조군(CON)보다 높은 수치를 보였으며, 이는 Whang et al. (1999)의 연구에서도 이와 같은 결과를 보였다. 이로 보아 10일간의 알코올 투여로 간장 장해를 받고 있는 것으로 나타났으며, 미나리 발효액이 알코올 투여로 손상된 간세포 기능을 회복시키는 것으로 생각된다. 설탕물 투여군(SL)에서도 AST 및 ALT 수치가 알코올군(ALH)에 비해 낮아지는 것으로 보아, 음주 후 숙취해소를 위해 꿀물을 마시듯 당의 섭취만으로도 알코올 분해를 도와주어 간장 장해를 감소시키는 것으로 보여 진다. TG는 설탕물 투여군(SL)에서 153.3 mg/dL로 가장 높은 수치를 나타내어 설탕물과 알코올을 섭취에 의해 증가되고 있음을 알 수가 있었으며, 미나리 발효액 투여군(DFE)에서 102.3 mg/dL 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 알코올군(ALH)이 130.8 mg/dL로 미나리 발효액 투여군(DFE)과 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 122.3 mg/dL인 대조군(CON) 보다 낮은 수치를 보였다. 알코올 처리에 의해서 증가된 TG가 밭미나리 발효액의 투여로 인해 감소하는 것은 Whang et al. (1999)의 연구와 유사한 결과를 보였다. TC 및 HDL-C의 수치는 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 미나리 발효액을 투여하였을 때 대조군(CON)과 가장 근접한 수치를 나타냈다. 이 결과 미나리 발효액을 섭취 후 알코올을 섭취하였을 때 간장 장해를 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

3) 간 조직의 과산화지질 (TBARS) 함량

간 조직에서 관찰한 과산화지질 함량 결과는 <Figure 5>와 같다. 일반적인 식이를 한 대조군(CON)의 과산화지질함량이 119.0±19.8 nmol/mg, 알코올 투여군(ALH) 138.0±35.8 nmol/mg으로 높아지는 것을 볼 수 있었다. Plaa & Witschi (1976)의 연구와 같이 에탄올만을 투여한 군의 간 TBA 반응성산물량은 급성 또는 만성적인 에탄올 투여가 과산화지질함량을 증가시키는 것으로 나타났다. 알코올군(ALH)에 비해 설탕물 투여군(SL)이 76.1±5.4 nmol/mg, 미나리 발효액



<Figure 5> Effects of dropwort fermented extract (DFE) on hepatic thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in SD rats fed alcohol¹⁾

¹⁾Each point represents the mean±SE for group of six rats.

²⁾Control group: only distilled water.

³⁾Alcohol treated group: 40% ethanol 10 mL/kg b.w./day.

⁴⁾Sugar liquid treated group: 50% sugar liquid 2 mL/kg+40% ethanol 10 mL/kg b.w./day.

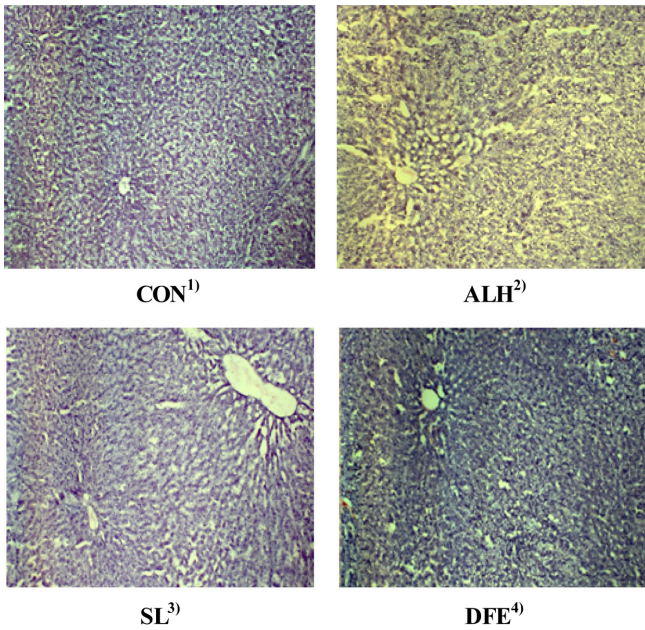
⁵⁾DFE treated group: DFE 2 mL/kg+40% ethanol 10 mL/kg b.w./day.

*p<0.05, significantly different from the alcohol treated group. MDA: malondialdehyde

투여군(DFE)이 59.3±2.5 nmol/mg로 두 군에서 과산화지질함량이 유의적으로 낮아지는 것으로 나타났다(p<0.05). 미나리 발효액 투여군(DFE) 뿐만 아니라 설탕물 투여군(SL)에서도 유의적으로 과산화지질 함량이 낮아지는 것으로 보아, 당의 섭취만으로도 일부 간 보호효과가 있는 것으로 보이며, 삼투작용에 의해서 추출된 미나리의 항산화 성분들이 과산화지질의 함량을 낮춰 간 보호효과를 나타내는 것으로 보여 진다.

4) 간의 조직병리학적 관찰

간의 조직병리학적 관찰은 hematoxylin-eosin 조직 염색법을 이용하여 직접 육안으로 간의 손상정도를 확인할 수 있으며, 그 결과를 <Figure 6>에 제시하였다. 간 조직이 균일



<Figure 6> Hepatoprotective effect of dropwort fermented extract (DFE) against alcohol in Sprague-Dawley rats.

- ¹⁾Control group: only distilled water.
- ²⁾Alcohol treated group: 40% ethanol 10 mL/kg b.w./day.
- ³⁾Sugar liquid treated group: 50% sugar liquid 2 mL/kg+40% ethanol 10 mL/kg b.w./day.
- ⁴⁾DFE treated group: DEF 2 mL/kg+40% ethanol 10 mL/kg b.w./day

하게 퍼져 있는 대조군(CON)과는 달리 알코올 섭취군(ALH)에서 혈관이 지나가는 주위에 간 손상이 있는 것을 육안으로 확인할 수 있었으며, 설탕물 투여군(SL)과 미나리 발효액 투여군(DFE)에서 알코올군(ALH)에 비해 손상이 적고 간 조직이 고른 것으로 보아 간 조직 손상 보호효과가 있는 것으로 나타났다. 간 보호효과 정도는 미나리 발효액 투여군(DFE)이 가장 대조군(CON)과 비슷하게 간 조직이 회복되는 것으로 나타났다.

알코올 대사경로는 두 단계의 과정을 거치게 되는데, 간에 도달한 알코올은 먼저 알코올탈수소효소(ADH)에 의해 아세트알데하이드로 변환된다. 생성된 아세트알데하이드는 알데하이드탈수소효소(ALDH)에 의해 아세트산으로 분해되어 간으로부터 배출되어 에너지원으로 사용된다. 알코올의 1차 대사 과정 중 생성되는 아세트알데하이드가 술에 의한 두통, 오심, 구토 등의 유해 작용을 발생시키는 독성 물질로, 미토콘드리아 기능을 저해하고 알데하이드탈수소효소(ALDH) 활성을 감소시키며, 알데하이드탈수소효소(ALDH)의 활성도가 낮은 경우 음주 시 생성되는 아세트알데하이드의 독성 발현으로 과잉 음주를 제한 받게 된다. 이로 인해 Son et al. (1995)은 혈중 알코올 농도의 빠른 저하 또는 ADH의 증가는 독성물질인 혈중 아세트알데하이드 농도의 급격한 상승을 의미하기 때문에 오히려 간에 대한 위해도는 증가할 수 있다고 보고하였다.

Kim et al. (2011)의 미나리 발효농축액의 간암세포 성장 억제 효과에 대한 연구에서는 정상 간 세포주와 간암 세포주에 농도별로 시료 처리하였을 때, 농도 의존적으로 억제 효과를 확인할 수 있었으며, 이는 시료에 존재하는 총 플라보노이드 함량과 상관관계가 있을 것으로 보고하였다.

따라서 발미나리 발효액의 항산화 성분에 의해 알코올로부터 간세포를 보호하여 간질환을 예방하는 효과를 보이는 것으로 생각된다.

IV. 요약 및 결론

본 연구는 발미나리 발효액의 발효기간에 따른 항산화 활성과 Sprague-Dawley계 흰쥐를 이용한 동물실험을 통해 알코올 섭취 시 간 보호효과를 알아보려고 하였다. 발미나리 발효액의 간 보호효과를 확인하기 위하여 10일간 미나리 발효액을 섭취하고 1시간 후 알코올을 10 mL/kg/day 투여하였다. 혈액을 채취하여 혈청 중 triglyceride, HDL-cholesterol, total cholesterol과 간 기능 지표인 AST, ALT를 측정하였고, 간 조직을 이용한 과산화지질 함량과 hematoxylin-eosin 조직 염색법을 통하여 조직병리학적 관찰을 하였다.

발효초기 총 폴리페놀 함량은 1.53 mgGAE/mL, 발효기간이 80일에서 2.00 mgGAE/mL로 최고치를 나타내고 감소하는 경향이었으며, 총 플라보노이드 함량은 발효 초기 0.50 mgQE/mL에서 1.05 mgQE/mL까지 점진적으로 증가하는 경향을 보였다. DPPH 라디칼 소거활성은 미나리 발효액의 발효 초기 32.5%에서 58.4%까지 소거활성이 점진적으로 증가하는 경향을 보였으며, ABTS 라디칼 소거활성은 발효초기 58.7%에서 발효기간 80일에서 77.3%로 가장 높은 소거활성을 보였다. 발효기간이 60~80일까지 항산화 활성이 증가하며, 그 이상 발효가 지속되어도 항산화활성이 비슷하거나 오히려 감소하는 경향을 보여 발효기간은 60~80일 정도가 가장 적절한 것으로 나타났다.

실험동물의 체중은 알코올 섭취 시 감소하는 것으로 나타났다. 설탕물 투여군(SL)과 미나리 발효액 투여군(DFE)에서는 알코올 투여로 인한 체중감소를 회복하는 것으로 나타났다. 간 손상 지표인 혈청 AST와 ALT의 활성은 알코올 투여군(ALH)의 AST 수치가 238.5±27.5 IU/L로 가장 높게 나타났으며, 알코올 투여군(ALF)에 비해 미나리 발효액 투여군(DFE)에서 182.5±10.2 IU/L로 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 설탕물 투여군(SL)은 193.5±11.2 IU/L로 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 수치가 감소하는 경향을 보였다. ALT 수치는 알코올군(ALH)에서 39.7±8.6 IU/L로 가장 높은 수치를 나타냈으며, 설탕물 투여군(SL)에서 23.2±1.8 IU/L로 유의적으로 감소하였다(p<0.05). AST 및 ALT 수치 결과 설탕물을 투여하는 것만으로도 간 보호효과를 볼 수 있었으며, 미나리 발효액 투여 시 유의적인 차이를 볼 수 있었다. TG는 설탕물 투여군(SL)이 153.3±18.8 mg/dL로 가장 높게 나타났으며,

알코올 투여군(ALH)은 130.8 ± 11.1 mg/dL, 미나리 발효액 투여군(DFE)이 102.3 ± 8.7 mg/dL로 설탕액 투여군(SL)과 미나리 발효액 투여군에서 유의적으로 감소하는 경향을 보였다 ($p < 0.05$). 알코올군(ALH)에 비해 미나리 발효액 투여군(DFE)은 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 대조군(CON)과 대조군보다 낮은 수치를 보였다. TC 및 HDL-C 수치는 유의적인 차이를 나타내지 않았지만 미나리 발효액 투여 시 대조군(CON)과 가장 근접한 수치를 나타냈다. 간 조직 중 TBARS 함량은 미나리 발효액 투여군(DFE)에서 59.3 ± 2.5 nmol/mg로 알코올 섭취군(ALH)의 138.0 ± 35.8 nmol/mg 비해 유의적으로 낮아지는 경향을 보였다. hematoxylin-eosin 조직 염색법을 이용하여 육안으로 간의 손상을 확인할 수 있었고, 미나리 발효액을 섭취함으로써 간 조직 손상을 보호하는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 바탕으로 발미나리 발효액은 발효기간 동안 미나리의 항산화 성분들이 삼투압 작용에 의하여 추출되어 알코올로 유도된 간 손상에 대한 간 보호효과를 나타내며, 알코올 대사성 음료로 발미나리 발효액을 활용하였을 때 효과가 있을 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 전라북도와 전주시 농업기술센터에서 지원하는 2013년도 고부가가치식품 가공기술개발지원사업으로 수행된 연구의 일부로 이에 감사드립니다.

References

- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(0):1198-2000
- Choi SW, Kim EO, Lee YJ, Leem HH, Seo IH, Yu MH, Kang DH. 2010. Comparison of nutritional and functional constituents, and physicochemical characteristics of mulberries from seven different *Morus alba* L. cultivars. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 39(10):1467-1475
- Fialho E, Faller ALK. 2010. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *J. Food Compos. Analysis.*, 23(6):561-568
- Guo J, Wang MH. 2007. Antioxidant and antidiabetic activities of *Ulmus davidiana* extracts. *Food Sci. Biotechnol.*, 16(1):55-61
- Hwang SJ, Park SJ, Kim JD. 2013. Component analysis and antioxidant activity of *Oenanthe javanica* extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 45(2):227-234
- Jo HW, Lee SH, Nam DH, Kim JY, Lim SK, Lee JS, Park JC. 2008. Antioxidant activity and phytochemical study on the aerial parts of *Oenanthe javanica*. *Korean J. Pharmacogn.*, 39(2):142-145
- Kim MJ, Yang SA, Park JH, Kim HI, Lee SP. 2011. Quality characteristics and anti-proliferative effects of dropwort extracts fermented with fructooligosaccharides on HepG2 Cells. *Korean J Food Sci Technol.*, 43(4):432-437
- Kim NM, Lee JW, Do JH, Yang JW. 2003. Effects of fermentation periods on the qualities and functionalities of the fermentation broth of wild vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35(2):272-279
- Lee EG, Kim KB, Jeong JM. 2006. Hepatoprotective effects of poly herbal formulation (Hepa-1000) on t-BHP-induced toxicity in human hepatoma cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35(9):1121-1126
- Lee KL, Park KY, Rhee SH. 1992. Antimutagenic effect of green-yellow vegetables toward aflatoxin B1 and 4-nitroquinoline-1-oxide. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 21(2): 143-148
- Mun SI, Joh YG, Ryu HS. 1990. Protein and amino acid composition of watercress, *Oenanthe stolonifera* DC. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 19(2):133-142
- Park JC, Cho YS, Park SK, Park JR, Chun SS, Ok KD, Choi JW. 1995. Isolation of flavone-7-O-glycosides from the aerial parts of *Anglica keiskei* and anti-hyperlipidemic effect. *Korean J. Pharmacogn.*, 26(4):337-343
- Park KY, Lee KI, Rhee SH. 1992. Inhibitory effect of green-yellow vegetables on mutagenicity in Salmonella assay system and on growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 21(2):149-153
- Plaa, G.L. and Witschi, H. 1976. Chemical drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 16(1):125-141
- Rubin E, Llieben CS. 1968. Hepatic microsomal enzymes in man and rats: Induction and inhibition by ethanol. *Science*, 162(3854):690-691
- Roberta RE, Nicoletta P, Anna P, Ananth P, Min Y, Catherine RE. 1999. Antioxidant activities applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26(9-10):1231-1237
- Ronald LP, Xianli W, Karen S. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 53(10):4290-4302
- Shi J, Gong J, Liu J, Wu X, Zhang Y. 2009. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components. *Food Sci. Technol.*, 42(2):477-482
- Shimada KK, Fujikawa KY, Nakamura T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin. *J. Agric. Food Chem.*, 40(6):945-948
- Son DH, Go GI, Kim JB. 1995. Problem of alcohol metabolic drinks. *Bosa J.*, March, pp 28-31
- Van BJ, Robinson WB. 1969. Formation of complex between

- protein and tannic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 17(4):772-775
- Wisanu T, Boonsom L, Saisunee L. 2009. Flow injection analysis of total curcuminoids in turmeric and antioxidant capacity using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay. *Food Chem.*, 112(2):494-499
- Waterman PG, Mole S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Pub., U.S.A, pp 83-91
- Whang TE, Lim HO, Lee JW. 1999. Effect of fermented (*Oenanthe stolonifera* DC) extract on the activity of enzymes related to liver function of alcohol-administered rats and mice. *Korean J. Med. Crop Sci.*, 7(2):107-114

Received February 11, 2015; revised February 25, 2015; accepted February 26, 2015