J Korean Soc Food Sci Nutr
38(9), 1153~1160(2009)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2009.38.9.1153

홍국발효홍삼 분말 급여에 의한 흰쥐의 혈청 지질 농도 및 항산화 활성에 미치는 영향

차재영[1] · 박진철[2] · 안희영[2] · 엄경은[2] · 박보경[2] · 전방실[2] · 이치형[3] · 조영수[2†]

[1]대선주조(주) 기술연구소
[2]동아대학교 생명공학과
[3]중부대학교

Effect of *Monascus purpureus*-Fermented Korean Red Ginseng Powder on the Serum Lipid Levels and Antioxidative Activity in Rats

Jae Young Cha[1], Jin Chul Park[2], Hee Young Ahn[2], Kyung Eun Eom[2], Bo Kyung Park[2], Bang Sil Jun[2], Chi Hyeong Lee[3], and Young Su Cho[2†]

[1]Technical Research Institute, Daesun Distilling Co., Ltd., Busan 619-934, Korea
[2]Dept. of Biotechnology, Dong-A University, Busan 604-714, Korea
[3]Joongbu University, Chungnam 312-702, Korea

Abstract

***Monascus*-fermented Korean red ginseng (MFRG), fermented by *Monascus purpureus* KCCM 12002, may be an ideal candidate for the hepatoprotectic, hypolipidemic and antioxidative activities. Effect of MFRG powder on these parameters in rats was investigated. Body weight gain, food intake, and water consumption were not significantly different among the groups. Total and relative weights of liver were significantly higher in MFRG group than that in other groups. The activities of AST and γ-GTP were highly lowered in MFRG group compared to control group. Contents of serum total lipid and triglyceride were significantly lowered in silymarin group and were significantly increased in MFRG group compared to control group, but tended to be lowered in RG group. Serum content of total cholesterol tended to be lowered in silymarin, RG, and MFRG groups compared to control group. HDL-cholesterol contents was only significantly increased in MFRG group compared to control group. At the same time, atherogenic index (AI) was also significantly lowered in silymarin, RG and MFRG groups compared to control group, and this effect was more pronounced in MFRG group. Content of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in the liver was significantly lowered in MFRG group and tended to lowered in silymarin and RG groups compared to control group. The hepatic glutathione concentration was significantly higher in silymarin and MFRG groups. Hepatic morphology in all experimental groups revealed clear-cut hepatic lobules with the uniform pattern of the polyhedral hepatocytes radiating towards the periphery from the central vein. These results suggested that MFRG may have anti-atherogenic index (AI) and antioxidative activity in normal dietary feeding rats.**

Key words: Korean red ginseng, *Monascus*-fermented Korean red ginseng, atherogenic index, TBARS, antioxidation

서 론

간 질환은 우리나라 중장년층에서 빈번하게 발병되는 질환으로 사회적 문제로 대두되면서 이를 개선 내지는 치유하려는 연구가 천연물을 대상으로 활발히 이루어지고 있다(1-3). 현재까지 임상적으로 사용되고 있는 대표적인 간 질환 치료제인 silybin 및 silymarin의 경우 국화과 식물인 마리아엉겅퀴(*Silybum marianum*)의 열매에서 분리되었으며(4,5), 차전자(*Plantago asiatica*)의 aucubin(6), ursodesoxycholic acid 및 vitamin B군 등이 간 독성 치료제로 사용되고 있으나, 이들 질환의 심각성과 빈도수에 비해 개발된 치료제가 많지 않은 실정을 감안하면 천연물에서의 간 질환 치료제의 개발은 그 의미가 크다고 할 수 있다.

고려인삼은 예로부터 가장 진귀한 생약재 중의 하나로 사용되어 오고 있는데, 현대 과학적 연구를 통하여 신진대사 촉진, 독성물질 해독, 간 보호, 간 재생 촉진, 알코올 해독 촉진, 고지혈증 개선, 당뇨병 개선, 고혈압 개선 등 생리활성 효과가 밝혀지면서 그 이용성이 증가하는 한편 인삼을 활용한 제품개발이 활발히 이루어지고 있다(3,7,8). 홍삼에도 가용성 사포닌 성분과 phenolic acids에 속하는 caffeic acid,

†Corresponding author. E-mail: choys@dau.ac.kr
Phone: 82-51-200-7586, Fax: 82-51-200-7505

saicylic acid, ferulic acid, vanillic acid, maltol, panaxynol, diol 및 triol saponin, ginsenoside Rb1와 Rb2, matol(2-methy-3,3-hydroxypyrone), cephaloridine, panaxadiol, panaxatriol 등이 간 조직에서 과산화지질에 대한 항산화 활성과 항산화 물질의 증대를 강화시키고, 홍삼을 전처리한 사염화탄소 및 갈락토사민 유발 간독성에 대한 보호 효과도 있음이 밝혀졌다(9,10). 인삼 성분의 항산화 활성은 투여량과 추출물의 종류에 따라 달라지는 것으로 알려져 있으며(9,10), 이러한 작용기전의 하나로 생체 내 과산화지질 농도가 조직의 철분 성분과 깊은 상관관계가 있으며, 항산화물질인 글루타티온, 아연과 같은 성분에 의해 경감되는 것으로 보고되고 있다(1,11,12). 최근 들어 유산균, 효모, 고초균 등 우리에게 유익한 미생물을 이용한 발효기술의 진보로 천연물의 생리활성효능이 증가된 발효산물을 얻거나 또는 상호간의 상승효과에 의해 생리활성효능이 상승되는 제품들이 개발되고 있다(13-15). *Bifidobacterium* 속 유산균으로 발효시킨 발효홍삼에서 고지혈증 및 고혈당을 개선시키는 효과가 보고된 바 있으며(13), *Bacillus lichenifomis* 균주로 발효시킨 청국장 담금에 홍삼을 혼합하여 발효시킨 발효홍삼청국장에서도 고혈당과 고지혈증을 감소시키는 것으로 나타나(16), 발효홍삼 제품 개발에 많은 주목을 받고 있는 실정이다.

최근 들어 *Monascus* 속의 홍국균이 생산하는 홍국색소는 식품첨가물로 이용되고 있으며, monacolin K, mevinolin, lovastatin, γ-aminobutyric acid(GABA), acethylcholine과 같은 생리활성물질은 콜레스테롤 생합성 효소(HMG-CoA reductase) 활성 억제, 혈압상승 억제 및 항산화 활성과 같은 유효성 검증에 관한 많은 연구결과가 보고되고 있다(17-19). 따라서 홍국의 우수한 생리활성 효능 때문에 이를 새로운 건강기능식품 개발에 활용하려는 연구가 활발하게 이루어지고 있는 가운데 홍국을 소재로 한 된장, 고추장, 발효메밀, 발효 콩 등이 상품화 되고 있다(20-22).

본 연구에서는 홍삼 분말과 홍국의 지질 저하 효과 및 항산화 효과의 상승효과를 기대하기 위하여 홍삼을 홍국으로 발효시켜 만든 홍국발효홍삼 분말을 흰쥐에 급여하여 어떠한 영향을 미치는지를 규명함으로서 향후 건강기능식품 개발의 기초 자료를 얻을 목적으로 시행 하였다.

재료 및 방법

실험동물, 식이조성 및 사육조건

실험동물은 성장기의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 효창사이언스(Daegu, Korea)로부터 구입하여 온도 22±2°C, 습도 50±5%, 명암주기 12시간(명주기: 07:00~19:00)이 자동 설정된 동물사육실에서 사육하였다. 본 실험의 식이 조성은 Table 1과 같으며, 홍삼 분말 및 홍국발효홍삼 분말은 1,000 mg/kg 첨가하였고, 시판 간질환 치료제 silymarin(미래제약, 경기)은 식이 중에 100 mg/kg 첨가하였다. 홍국발효홍삼은 6년근 수삼(금산, 충남)을 98~100°C로 4시간 증숙한 후 60°C에서 5시간 건조시켜 분말화 시킨 것을 (주)일한인삼으로부터 제공받아 사용하였다.

Table 1. Dietary composition (%)

Ingredients	Control	Silymarin	RG	MFRG
Casein	20	20	20	20
α-Corn starch	15	15	15	15
Corn oil	10	10	10	10
Cellulose	5	5	5	5
AIN-93 mineral mixture	4	4	4	4
AIN-93 vitamin mixture	1	1	1	1
L-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Sucrose	44.5	42.6	43.5	43.5
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
Silymarin	0	0.1	0	0
RG	0	0	1	0
MFRG	0	0	0	1

RG: Korean red ginseng, MFRG: *Monascus*-fermented Korean red ginseng.

본 실험에서는 체중이 동일하게 난괴법(randomized complete block design)으로 분류하여 각 실험군당 6마리씩 나누었다. 실험군은 대조군(Control군), 실리마린 투여 군(Silymarin군), 홍삼 분말 투여 군(Korean red ginseng; RG군), 홍국발효홍삼 분말 투여 군(*Monascus*-fermented Korean red ginseng; MFRG군)으로 나누어 4주간 각 실험 식이를 자유급여 시켰다. 사육 기간 중 식이 섭취량은 매일 측정하였으며, 체중은 매주 한 번씩 일정한 시간에 측정하였다.

실험동물의 시료 채취 및 분석시료 조제

동물실험은 4주간 조제한 식이를 급여한 후, 실험 최종일 12시간 이상 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시켜 해부를 실시하였다. 개복 후 복부 대동맥으로부터 채혈하여 혈액을 채취하고, 약 30분간 실온에 방치시킨 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 얻은 혈청을 생화학적 분석에 제공하였다. 채혈 후 각 조직을 적출하여 냉장 보관된 0.9% 생리식염수로 세척하고 이물질을 제거시킨 다음 여과지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다.

혈액 지질농도 및 임상생화학적 지표 분석

혈중의 total lipid, triglyceride, total-cholesterol, HDL-cholesterol, free fatty acid 농도 및 혈중 AST, ALT, LDH 및 γ-GTP 활성은 의료전문수탁검사기관인 네오딘의학연구소(서울, 한국)에 의뢰하여 분석하였다. 혈관 순환기계 질환과 관련된 임상진단지수인 동맥경화지수(Atherogenic index, AI)는 다음과 같은 공식에 의해 산출하였다(23).

$$AI = \frac{\text{Total cholesterol} - \text{HDL cholesterol}}{\text{HDL cholesterol}}$$

간 조직의 분획 조제 및 과산화지질 측정

간 조직으로부터 homogenate 분획 조제는 간을 일정량

취해 250 mM sucrose를 함유한 homogenate 용액을 4배량 첨가하여 마쇄 균질액을 제조하였다. 분획한 homogenate 생체막의 과산화지질 함량은 마쇄한 간 조직 homogenate 분획 용액 1 mL에 thiobarbituric acid(TBA) 시약 2 mL을 가하여 잘 혼합하고, 끓는 물에서 30분간 반응시킨 후 실온에서 방냉하여 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 한 상등액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다(24). 과산화지질 함량은 malondialdehyde를 nmol/g으로 나타내었다.

미네랄 함량 측정

간 조직의 미네랄 함량은 AOAC 분석방법에 준하여 측정하였다(25). 즉, 간 조직 1 g을 각 550°C 회화로에서 3시간 회화시킨 후 6 N HCl에 용해시켜 완전히 산 분해시켜 수욕상에서 산을 완전히 제거하고, 이 건고물에 3 N HCl를 가하여 Whatman No. 4 여과지로 여과하여 원소 종류에 따라 각각 일정비율로 희석하여 원자흡광 분광광도계(AAnalyst 300, Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA)를 이용하여 측정하였다.

Glutathione 함량 측정

간 조직의 glutathione 함량은 간 homogenate 분획 0.2 mL에 3차 증류수 0.3 mL과 0.4% sulfosalicylic acid 0.5 mL를 가하여 혼합하고 원심분리 시킨 뒤 상등액 0.3 mL에 5,5′-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)(DTNB) 발색시약을 첨가하여 412 nm 흡광도에서 측정하여 glutathione의 표준 검량 곡선에 의해 함량을 산출하였으며 간 조직 g당 mg으로 표시하였다(26).

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) 염색한 후 광학현미경(Olympus BX41, Olympus Co., Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

통계처리

실험으로부터 얻어진 결과치는 one-way ANOVA 검정에 의한 평균치와 표준오차(mean±SE)로 표시하였으며, 각 실험군 간의 유의성 검증은 Duncan′s multiple range test로 하였다(27).

결과 및 고찰

체중, 식이 및 음료 섭취량 변화

정상식이를 급여한 흰쥐의 체중 변화에 대하여 홍삼 분말 및 홍국발효홍삼 분말의 영향을 조사한 결과, 체중증가량은 모든 실험 군에서 통계상 유의적인 차이는 없이 대조군에 비해 silymarin 투여 군에서 7.8% 증가하였고, 홍삼 분말 및 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 각각 7.3% 및 13.6% 감소하였다(Table 2). 고지방 식이에 홍삼 분말을 급여한 흰쥐와 알코올 함유 음료수에 홍국 추출물을 첨가하여 급여시킨 흰쥐에서도 체중증가율에 미치는 영향은 미미한 것으로 나타났다(8,28,29).

식이섭취량 및 음료섭취량에서 각 실험 군 간에 유의적인 차이는 없었다(Table 2). 20% 고지방 식이에 홍삼 분말을 200 mg/rat 및 400 mg/rat 수준에서 첨가하여 3주간 급여한 실험에서 식이섭취량은 유의적인 차이가 나타나지 않았으며(8), Tienchi 인삼분말을 시판 분말 사료에 3% 수준으로 첨가하여 7주간 자유 섭취시킨 뇌졸증자발성고혈압 흰쥐(stroke-prone spontaneusly hypertensive rat)에서도 식이섭취량에서 변화가 없는 것으로 보고되었다(30). 따라서 홍삼 분말 또는 홍국발효홍삼 분말은 식이섭취량 및 음료섭취량에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료되어진다.

간 조직의 총 중량 및 체중에 대한 상대적 중량(%)을 Table 2에 나타내었다. 간 상대 중량은 대조군에 비해 silymarin 및 홍삼 분말 투여 군에서는 유의적인 차이가 없었으나, 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 유의적인 증가를 나타내었다. 알코올 투여 대조군의 간 상대 중량 2.70%에 비해 홍삼 추출물 1% 투여 군에서 2.76%, 홍삼 추출물 2.5% 투여 군에서 3.15% 및 홍삼 추출물 5% 투여 군에서 3.25%로 첨가농도 의존적으로 간 상대 중량이 증가하는 경향을 나타내었다(29).

혈중 ALT, AST, γ-GTP 및 LDH 활성 변화

간 손상의 임상적 지표로 사용되고 있는 ALT, AST, γ-

Table 2. Effect of *Monascus*-fermented Korean red ginseng on the body and liver weights, food intake, and water consumption in rats

Ingredients	Control	Silymarin	RG	MFRG
Initial body weight (g)	302.23±2.52^{NS}	299.46±7.49	304.46±6.24	302.09±5.65
Final body weight (g)	380.85±4.57^{NS}	384.22±2.41	377.33±7.78	379.01±6.14
Body weight gain (g/4 weeks)	78.62±1.02^{NS}	84.76±1.10	72.87±1.31	67.92±1.26
Total liver weight (g)	10.37±0.38^{a}	9.70±0.51^{a}	9.85±0.32^{a}	12.87±0.45^{b}
Relative liver weight (%)	2.55±0.12^{a}	2.57±0.08^{a}	2.61±0.05^{a}	3.23±0.12^{b}
Food intake (g/d)	20.08±0.88^{NS}	20.15±0.56	20.14±0.71	20.68±0.33
Water consumption (mL/d)	30.11±1.36^{NS}	27.02±2.26	32.26±1.64	32.35±1.58

RG: Korean red ginseng, MFRG: *Monascus*-fermented Korean red ginseng.
Values with different letters are significantly different at $p<0.05$ (mean±SE, n=6). NS: Not significant.

Table 3. Effect of *Monascus*-fermented Korean red ginseng on the activities of serum ALT, AST, γ-GTP, and LDH in rats

Ingredients	Control	Silymarin	RG	MFRG
ALT	26.50±2.75[a]	35.33±2.85[b]	32.33±3.28[ab]	26.33±1.69[a]
AST	108.00±9.61[ab]	108.67±11.67[ab]	123.00±16.09[a]	87.67±6.68[b]
γ-GTP	2.53±0.65[a]	3.50±0.87[a]	3.67±1.33[a]	0.32±0.11[b]
LDH	3697.8±856.0[NS]	3506.7±1185.9	4560.0±895.7	2173.3±234.2

RG: Korean red ginseng, MFRG: *Monascus*-fermented Korean red ginseng.
Values with different letters are significantly different at $p<0.05$ (mean±SE, n=6). NS: Not significant.

GTP 및 LDH 활성 측정을 통하여 간 기능 효능을 검증한 결과를 Table 3에 나타내었다. 혈청 ALT 및 AST 활성은 간 손상으로 인한 간세포의 괴사와 간 조직의 파괴가 진행됨에 따라 transaminase가 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타내는 것으로 간 손상 지표의 중요한 단서가 된다(31,32).

본 실험에서 ALT 활성은 대조군에 비해 silymarin 투여군에서 유의적으로 증가하였고, 홍삼 분말 투여 군에서는 증가 경향을 보인 반면 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 대조군과 차이가 없었다(Table 3). AST 활성은 대조군에 비해 silymarin 투여 군과는 차이가 없었으나, 홍삼 분말 투여군 및 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 각각 증가경향 및 감소경향을 보여 두 시료 간에 현저한 차이를 나타내었다. γ-GTP 활성은 대조군에 비해 silymarin 투여군 및 홍삼 분말 투여 군과는 유의적인 차이가 없었으나, 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 현저하게 저하하였다. LDH 활성은 각 실험 군 간에 차이는 없었다. 특히, 간 기능적 임상지표로 사용되고 있는 혈중 AST 및 γ-GTP 활성이 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서 감소함으로써 알코올성 간 질환을 개선할 수 있는 건강기능식품 소재로 활용할 가능성이 있는 것으로 사료되어진다.

혈중 지질 농도 변화

혈중 지질 농도는 동맥경화, 고혈압, 심장병, 고지혈증과 같은 심혈관계 질환인의 진단지표로 사용되고 있는 가운데, 고콜레스테롤혈증(23), 고중성지혈증, 저HDL-콜레스테롤 혈증도 이들 질환의 위험 인자로 주목 받게 되면서 유럽과 미국 등에서 새로운 임상 지침이 설정되었다(33). 최근 천연 식물자원을 대상으로 혈중 콜레스테롤 농도뿐만 아니라 중성지질 농도를 감소시키고 HDL-콜레스테롤 농도를 증가시키려는 시도가 활발하게 전개되고 있다(14,34).

본 실험에서 혈중 총 지질 농도는 대조군에 비해 silymarin 투여 군에서 유의적인 감소를 보였고, 홍삼 분말 투여 군에서는 감소경향을 보인 반면 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 유의적인 증가를 나타내었다(Table 4). 혈중 중성지질 농도도 비슷한 경향을 나타내었다. 그러나 혈중 유리지방산 농도는 각 실험 군 간에 유의적인 차이는 없었다.

혈청 총 콜레스테롤 농도는 각 실험 군 간에 통계상의 유의적인 차이가 없었지만 특히 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서 20%의 저하 효과가 있었다(Table 4). 홍삼 분말, 홍삼 사포닌 및 인삼 분말 투여 실험에서도 혈청 총 콜레스테롤 농도가 감소한 것으로 보고되었다(8,35). 또한 홍국균이 생산하는 monacolin K, mevinolin 및 lovastatin과 같은 천연 스타틴 계열 약물은 실제로 콜레스테롤 생합성 효소(HMG-CoA reductase) 활성을 저해하는 작용이 강한 것으로 알려져 있다(36-38). 따라서 홍국에 의해 발효된 홍국발효홍삼에는 콜레스테롤 합성 조절효소인 HMG-CoA reductase의 활성 저해에 의해 혈중 콜레스테롤 농도를 감소시키는 작용이 있을 가능성이 높아 보인다.

혈중 HDL-콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 silymarin 및 홍삼 분말 투여 군과는 유의적인 차이가 없었으나, 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 유의적으로 증가하였다(Table 4). 혈청 HDL-콜레스테롤 농도는 항동맥경화의 지표로서 주로 간장에서 합성되고 다른 지단백질과는 달리 혈관벽에 침착되어 있는 LDL-콜레스테롤을 분리해내어 간장으로 운반하여 에너지로 이용하거나 체외 배설을 촉진하는 작용을 함으로써 심혈관계 질환의 유발 위험성을 감소시킬 수 있는 유익한 콜레스테롤로 널리 알려져 있다(39). 고 콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐에서도 인삼 분말 급여는 혈중 총

Table 4. Effect of *Monascus*-fermented Korean red ginseng on the serum lipid contents and AI in rats

Ingredients	Control	Silymarin	RG	MFRG
Total lipid	240.17±9.29[a]	184.67±6.39[b]	215.33±12.44[ab]	296.33±16.18[c]
Triglyceride	41.83±7.28[a]	13.33±1.33[b]	21.67±6.57[ab]	49.00±5.30[a]
Free fatty acid	782.83±105.25[NS]	593.33±44.21	882.33±86.64	737.50±86.04
Total cholesterol	58.33±3.62[a]	47.67±4.33[a]	49.67±3.48[a]	46.50±3.84[a]
HDL-Cholesterol	16.67±1.28[a]	14.33±1.20[a]	15.33±1.33[a]	23.83±1.08[b]
AI[1)]	2.86±0.18[a]	2.32±0.07[b]	2.25±0.13[b]	0.95±0.07[c]

RG: Korean red ginseng, MFRG: *Monascus*-fermented Korean red ginseng.
Values with different letters are significantly different at $p<0.05$ (mean±SE, n=6). NS: Not significant.
[1)]AI (atherogenic index)=(total cholesterol−HDL-cholesterol)/ HDL-cholesterol.

Table 5. Effect of *Monascus*-fermented Korean red ginseng on the hepatic concentrations of TBARS and nonheme iron and zinc in rats

Ingredients	Control	Silymarin	RG	MFRG
TBARS (nmol/g)	248.04±1.91[a]	228.80±8.12[ab]	221.52±2.70[ab]	218.40±6.29[b]
Fe (mg/g)	0.53±0.06[NS]	0.55±0.03	0.57±0.04	0.43±0.04
Zn (mg/g)	0.29±0.02[NS]	0.28±0.02	0.25±0.01	0.27±0.02

RG: Korean red ginseng, MFRG: *Monascus*-fermented Korean red ginseng, TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances. Values with different letters are significantly different at $p<0.05$ (mean±SE, n=6). NS: Not significant.

콜레스테롤 농도를 감소시키고 HDL-콜레스테롤 농도를 증가시켰으며(7), Tienchi 인삼 분말 섭취에 의해서는 HDL의 주요구성 단백질인 apo A1이 상승함으로써 동맥경화 지수의 하나인 apo B/apo A1 비율이 저하하여 항동맥경화 작용이 있음을 시사하였다(30). 홍삼 분말 급여 흰쥐에서 총 콜레스테롤 농도의 감소와 HDL-콜레스테롤 농도의 증가로 인해 동맥경화지수가 현저히 감소하는 결과와 일치하였다(8). 본 실험에서도 총 콜레스테롤 농도에 대한 HDL-콜레스테롤 농도의 비로 나타내는 동맥경화지수(AI)는 대조군에 비해 silymarin 및 홍삼 분말 투여 군에서 유의적으로 감소하였고, 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서도 더욱더 현저한 감소를 보였다. 따라서 홍삼 분말 또는 홍국발효홍삼 분말은 고콜레스테롤혈증 개선에 의한 동맥경화 억제작용이 강한 것으로 나타나 동맥경화와 같은 혈관계 질환의 예방 및 개선에 도움을 줄 것으로 사료된다.

간 조직의 과산화지질 및 항산화 관련 물질 농도 변화

본 실험에서 생체막 지질의 과산화물 생성 정도의 지표로 알려져 있는 TBARS를 측정한 결과, 간 조직에서 대조군에 비해 silymarin 및 홍삼 분말 투여 군에서 감소경향을 보였으나, 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 유의적으로 감소하였다(Table 5). 정상쥐를 대상으로 한 홍삼 투여 실험에서 간 조직의 MDA 함량은 대조군에 비해 홍삼 투여 군에서 각각 29.7%~37.2% 유의적으로 감소하였으며(8), 흰쥐와 마우스 간 조직에서 과산화지질의 최종산물인 MDA 함량도 홍삼 또는 홍삼성분의 사포닌을 비롯한 특정 성분에 의해 감소된 것으로 보고되었다(40). 홍삼 사포닌은 사염화탄소 유발 간 장해를 개선시키는 기작으로 간장 microsomes cytochrom P450 관련 monooxygenase 활성 저해에 의한 과산화지질 생성 억제와 관련성이 있다고 하였다(10). 이러한 인삼의 항산화 작용은 phenolic acids에 속하는 caffeic, ferulic, vanillic acid 등의 항산화 물질이 Fe^{3+}와 강한 킬레이트를 형성하기 때문인 것으로 전해지고 있다. 또한 홍삼 특유의 성분으로 알려진 maltol(2-methyl-3-hydroxy-4-pyrone), ginsenoside Rb1(41), Rb2, Rd 성분 및 추출물에 의해서도 조직 내 MDA 함량 감소에 의한 항산화 활성이 보고되었다(35). 따라서 홍국발효홍삼은 간 조직 내에서 높은 항산화 활성을 나타내어 이에 관련된 조직 내 항산화 관련 물질을 분석하였다.

필수 미량원소인 철은 지방산화를 촉진시키는 물질로 알려져 있으며, 체내 H_2O_2를 제거하는 catalase의 구성 성분으로 체내의 비타민 C의 함량과 H_2O_2의 농도 차에 의해서 과산화지질 반응에 영향을 미침으로써 생체 내 과산화지질 반응을 조사하는데 있어서 비헴철 함량 측정은 중요한 요인으로 시사되어 있다(11,12,42,43). 간 조직 중의 비헴철 함량은 대조군에 비해 각 실험 군 간에 통계상의 유의적인 차이는 없었지만 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서 19% 낮은 것으로 나타났다(Table 5). 한편, 생체 내 항산화 물질로 잘 알려져 있는(44) 간 조직 중의 아연 농도도 본 실험에서 각 실험 군 간에 유의적인 차이는 없었다(Table 5).

체내 항산화 작용물질로 잘 알려진 glutathione 농도는 대조군에 비해 silymarin 투여 군에서 유의적으로 증가하였으며, 홍삼 분말 투여 군에서는 증가경향을 보였고, 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 현저하게 증가하였다(Fig. 1). Lee 등(3,45)도 정상쥐에 사염화탄소 또는 갈락토사민을 투여함으로써 현저히 감소하였던 glutathione 농도가 홍삼 50~100 mg/kg 투여 및 간 치료제 silymarin 투여로 유의적으로 증가한 것으로 보고하였다. Sung 등(40)도 생리적 식염수를 급여한 생쥐 간 조직 내 glutathione 함량이 홍삼 물 추출물 17.1%, 알코올 추출물 19.6%, 지용성 분획 32%, 총사포닌 투여 55.9%, 홍삼 panaxadiol 투여 45.5% 및 홍삼 panaxatriol 투여 37.5% 투여로 모두 유의적으로 증가하는 것으로 조사되었다.

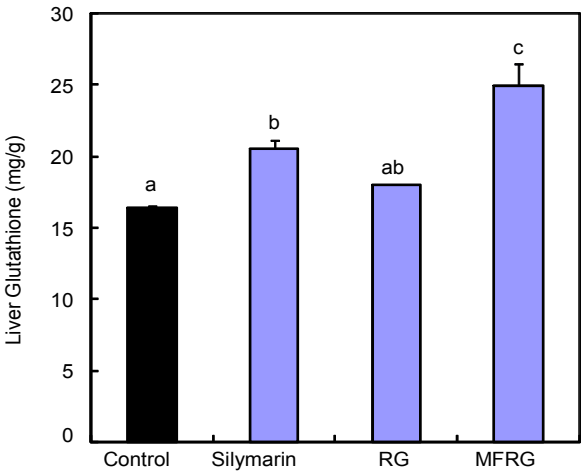

Fig. 1. Effect of *Monascus*-fermented Korean red ginseng on the glutathione concentration of liver in rats. RG: Korean red ginseng, MFRG: *Monascus*-fermented Korean red ginseng.

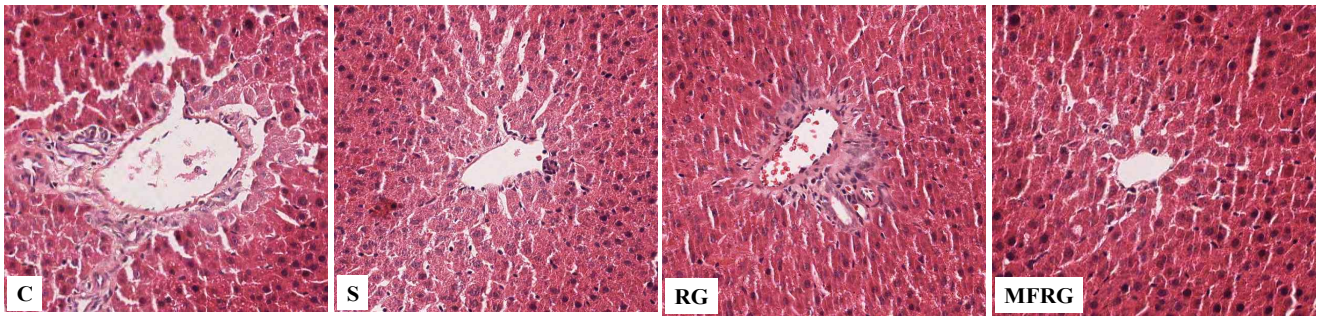

Fig. 2. Optical microscopy of hepatocytes of experimental rats (Hematoxylin & Eosin stain, ×200). C: Control, S: Silymarin, RG: Korean red ginseng, MFRG: Alcohol *Monascus*-fermented Korean red ginseng.

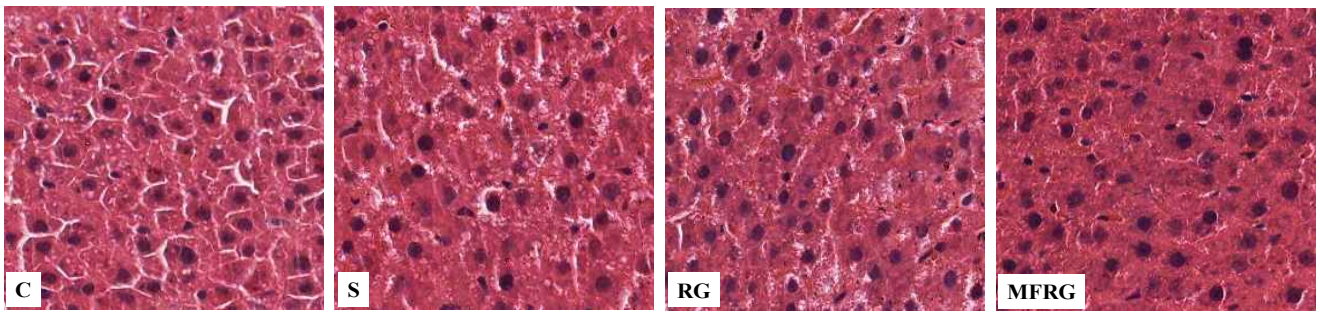

Fig. 3. Optical microscopy of hepatocytes of experimental rats (Hematoxylin & Eosin stain, ×200). C: Control, S: Silymarin, RG: Korean red ginseng, MFRG: *Monascus*-fermented Korean red ginseng.

간 조직의 morphology 변화

실험동물을 해부한 직후 간 조직을 적출하여 조직학적 검사를 실시한 결과 대조군에서는 혈관을 중심으로 간 소엽 구조가 잘 유지되었으며, 간세포들은 풍부한 호산성 세포질과 둥근핵을 가지고 있었고 간세포판은 대부분 한 층으로 잘 유지되어 있었다(Fig. 2, 3). 한편, silymarin, 홍삼 분말 및 홍국발효홍삼 분말 투여 군들에서도 대조군과 같은 조직학적 검사 결과를 보였다.

요 약

Monascus purpureus KCCM 12002 홍국균으로 발효시킨 홍국발효홍삼 분말을 식이 중에 1% 수준으로 첨가하여 4주간 흰쥐에 급여한 후 혈청 임상생화학적 특성과 조직 내 항산화 활성 및 간 조직에 미치는 영향을 검토하였다. 체중 증가량, 식이섭취량 및 음료섭취량은 각 실험 군 간에 유의적인 차이는 없었다. 간 조직 총 중량 및 상대 중량은 다른 실험 군에 비해 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서만 유의적으로 증가하였다. 간 손상 임상지표인 AST 및 γ-GTP 활성은 대조군에 비해 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서 현저하게 저하하였으나, ALT 활성에는 영향을 미치지 못하였다. 혈중 총 지질 및 중성지질 농도는 대조군에 비해 silymarin 투여 군에서 유의적으로 감소하였고, 홍삼 분말 투여 군에서는 감소경향을 보인 반면 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 유의적인 증가를 나타내었다. 혈청 총 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 silymarin, 홍삼 분말 및 홍국발효홍삼 분말 투여 군들에서 모두 저하경향을 보였다. 혈중 HDL-콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서만 유의적으로 증가하였다. 따라서 총 콜레스테롤 농도에 대한 HDL-콜레스테롤 농도의 비로 나타내는 동맥경화지수(AI)는 대조군에 비해 Silymarin 및 홍삼 분말 투여 군에서 유의적으로 감소하였고, 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서도 현저하게 감소하였다. 간 조직의 과산화지질(TBARS)을 측정한 결과, 대조군에 비해 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서는 유의적으로 감소하였으나, silymarin 및 홍삼 분말 투여 군에서는 감소경향을 보였다. 특히 홍국발효홍삼은 간 조직 내에서 높은 과산화지질 억제작용을 나타내어 조직 내 항산화 물질로 잘 알려진 glutathione 농도는 대조군에 비해 silymarin 및 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서 유의적으로 증가하였으며, 홍삼 분말 투여 군에서만 증가경향을 보였다. 간 조직의 조직학적 검사를 실시한 결과 대조군에서는 혈관을 중심으로 간 소엽 구조가 잘 유지되었으며, 간세포들은 풍부한 호산성 세포질과 둥근 핵을 가지고 있었고 간세포판은 대부분 한 층으로 잘 유지되어 있었으며, silymarin, 홍삼 분말 및 홍국발효홍삼 분말 투여 군에서도 대조군과 같은 현상을 보였다. 이상의 실험결과 홍국발효홍삼은 항동맥경화 작용뿐만 아니라 간 조직 내 항산화물질 증가에 의한 산화스트레스를 경감시킴으로써 향후 간 독성 개선 효능을 가

지는 건강기능식품 개발의 기초 소재로 활용될 가능성이 높은 것으로 판단되어진다.

감사의 글

본 연구는 동아대학교 연구비 지원에 의해 이루어졌습니다.

문 헌

1. Cha JY, Heo JS, Cho YS. 2008. Effect of zinc-enriched yeast FF-10 strain on the alcoholic hepatotoxicity in alcohol feeding rats. *Food Sci Biotechnol* 17: 1207-1213.
2. Jeon BS, Park JW, Shin GG, Kim BK, Kim HK, Cho YS, Cha JY. 2004. Effect of fermented mushroom milk on hyperlipidemia and hepatic injury in streptozotocin-induced diabetic and Zucker fatty rats. *Food Sci Biotechnol* 13: 576-580.
3. Lee CK, Kim NY, Han YN, Choi JW. 2003. Effects of pretreated Korean red ginseng on carbon tetrachloride and galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. *J Ginseng Res* 27: 1-10.
4. Campos R, Garrido A, Guerra R, Valenzuela A. 1989. Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Planta Med* 55: 417-419.
5. Muriel P, Garciapina T, Perez-Alvarez V, Mourelle M. 1992. Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. *J Appl Toxicol* 12: 439-442.
6. Chang IM. 1998. Liver-protective activities of aucubin derived from traditional oriental medicine. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 102: 189-204.
7. Yamamoto M, Uemura T, Nakama S, Uemiya M, Kumagai A. 1983. Serum HDL-cholesterol-increasing and fatty liver-improving actions of *Panax ginseng* in high cholesterol diet-fed rats with clinical effect on hyperlipidemia in man. *Am J Chin Med* 11: 96-101.
8. Cha JY, Jun BS, Cho YS. 2003. Effect of Korean red ginseng powder on the lipid concentrations and tissues lipid peroxidation in the rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 124-130.
9. Kim YK, Guo Q, Packer L. 2002. Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous extracts. *Toxicology* 172: 149-156.
10. Kim HJ, Chun YJ, Park JD, Kim SI, Roh JK, Jeong TC. 1997. Protection of rat liver microsomes against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation by red ginseng saponin through cytochrome P450 inhibition. *Planta Med* 63: 415-418.
11. Chiba H, Takasaki M, Masuyama R, Uehara M, Kanke Y, Suzuki K, Goto S. 1998. Time course of change in hepatic lipid peroxide level in iron-deficient rats. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 51: 201-206.
12. Murakami A, Kishimoto M, Kawaguchi M, Matsuura T, Ichikawa T. 1998. Lipid peroxides and their relatives in organs of female rats fed diets containing excessive heme iron. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 51: 9-15.
13. Trinh HT, Han SJ, Kim SW, Lee YC, Kim DH. 2007. Bifidus fermentation increases hypolipidemic and hypoglycemic effects of red ginseng. *J Microbiol Biotechnol* 17: 1127-1133.
14. Jeon BS, Park JW, Kim BK, Kim HK, Jung TS, Hahm JR, Kim DR, Cho YS, Cha JY. 2005. Fermented mushroom milk supplemented dietary fiber prevents the onset of obesity and hypertriglyceridemia in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Diabetes Obes Metab* 7: 709-715.
15. Bae EA, Hyun YI, Choo MK, Oh JK, Ryu JH, Kim DH. 2004. Protective effect of fermented red ginseng on transient focal ischemic rats. *Arch Pharm Res* 27: 1136-1140.
16. Lee SI, Shin JG, Kim SD. 2005. Effect of ginseng-chungkukjang effects on lipid profiles of serum in alcohol administered diabetic-induced rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1362-1366.
17. Endo A. 1979. Monacolin-K, a new hypocholesterolemic agent produced by *Monascus* species. *J Antibiot* 32: 852-854.
18. Huang CF, Li TC, Lin CC, Liu CS, Shih HC, Lai MM. 2007. Efficacy of *Monascus purpureus* Went rice on lowering lipid ratios in hypercholesterolemic patients. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 4: 438-440.
19. Tsukahara M, Shinzato N, Tamaki Y, Namihira T, Matsui T. 2009. Red yeast rice fermentation by selected *Monascus* sp. with deep-red color, lovastatin production but no citrinin, and effect of temperature-shift cultivation on lovastatin production. *Appl Biochem Biotechnol* 158: 476-482.
20. Kim EY, Rhyu MR. 2000. The chemical properties of *Doenjang* prepared by *Monascus* koji. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1114-1121.
21. Pyo YH, Lee TC. 2007. The potential antioxidant capacity and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of *Monascus*-fermented soybean extracts: evaluation of *Monascus*-fermented soybean extracts as multifunctional food additives. *J Food Sci* 72: S218-223.
22. Kang DZ, Um JB, Lee SK, Lee JH. 2003. Content of rutin and monacoline K in the red buckwheat fermented with *Monascus ruber*. *Korean J Food Sci Technol* 35: 242-245.
23. Inkeles S, Eisenberg D. 1981. Hyperlipidemia and coronary atherosclerosis. *Medicine* (Baltimore) 60: 110-123.
24. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.
25. AOAC. 1975. *Official Methods of Analysis*. 12th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
26. Beutler E, Duron O, Kelly BM. 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 61: 882-888.
27. Duncan DB. 1959. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 1: 1-42.
28. Sung JH, So NW, Jeon BH, Chang CC. 2004. Effect of white and red *Panax ginseng* extract on serum lipids level in high-fat-diet fed rats. *J Ginseng Res* 28: 33-38.
29. Yu TS, Choi HJ, Yoon CG. 2003. Effct of *Monascus* pigment extract on the alcohol metabolism in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 603-607.
30. Ogawa H, Sakai M, Takatera K, Meguro T. 1997. Effect of tienchi ginseng powder on blood pressure and lipid metabolism in SHRSP (stroke-prone spontaneously hypentensive-rats). *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 50: 127-132.
31. Lieber CS. 1985. Alcohol and the liver; metabolism of ethanol, metabolism effects and pathogenesis of injury. *Acta Med Scand Suppl* 703: 11-55.
32. Whitfield JB, Martin NG. 1985. Individual differences in plasma ALT, AST and GGT: contributions of genetic and environmental factors, including alcohol consumption. *Enzyme* 33: 61-69.
33. Manninen V, Tenkanen L, Koskinen P, Huttunen JK,

Manntari M, Heinonen OP, Frick MH. 1992. Triglycerides and LDL-cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. *Circulation* 85: 37-45.
34. Cha JY, Kim HJ, Jun BS, Cho YS. 2000. Effect of water extract of leaves from *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid concentration of serum and liver in rats. *Agric Chem Biotechnol* 43: 303-308.
35. Inoue M, Wu CZ, Dou DQ, Chen YJ, Ogihara Y. 1999. Lipoprotein lipase activation by red ginseng saponins in hyperlipidemia model animals. *Phytomedicine* 6: 257-265.
36. Journoud M, Jones PJ. 2004. Red yeast rice: a new hypolipidemic drug. *Life Sci* 74: 2675-2683.
37. Heber D, Yip I, Ashley JM, Elashoff DA, Elashoff RM, Go VL. 1999. Cholesterol-lowering effects of a proprietary Chinese red-yeast-rice dietary supplement. *Am J Clin Nutr* 69: 231-236.
38. Wei W, Li C, Wang Y, Kritchevsky D. 2006. Effect of *Monascus purpureus*-fermented rice on lipidemia and fatty liver in quail. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 119: 67-75.
39. Gordon T, Casfelli WP, Hjortland MC, Kennel WB, Dawher TR. 1977. Hight density lipoprotein as a protective factor against coronary heart diseases, the Framingham study. *Am J Med* 62: 707-714.
40. Sung KS, Chun C, Kwon YH, Chang CC. 2000a. Effects of red ginseng component administration on glutathione and lipid peroxidation levels in mice liver. *J Ginseng Res* 24: 176-182.
41. Lee HU, Bae EA, Han MJ, Kim NJ, Kim DH. 2005. Hepatoprotective effect of ginsenoside Rb1 and compound K on tert-butyl hydroperoxide-induced liver injury. *Liver Int* 25: 1069-1073.
42. Cha JY, Kim HJ, Cho YS. 2000. Effect of water-soluble extract from leaves of *Morus alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid peroxidation in tissues of rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 531-536.
43. Singh RK, Barrand MA. 1990. Lipid peroxidation effects of a novel iron compound, ferric maltol. A comparison with ferrous sulphate. *J Pharm Pharmacol* 42: 276-927.
44. Goel A, Dani V, Dhawan DK. 2005. Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity. *Chem Biol Interact* 156: 131-140.
45. Lee CK, Han YN, Kim NY, Choi JW. 2003. The therapeutic effects of Korean red ginseng extracts on carbone tetrachloride- and galactosamine-induced hepatoxicity in rats. *J Ginseng Res* 27: 11-16.

(2009년 6월 15일 접수; 2009년 8월 18일 채택)