

## 오이 발효음료가 만성적으로 에탄올을 급여한 흰쥐의 에탄올 대사와 항산화방어계에 미치는 영향

이해인<sup>1</sup> · 서권일<sup>1</sup> · 이진<sup>1</sup> · 이점숙<sup>1</sup> · 홍성민<sup>1</sup> · 이주혜<sup>1</sup> · 김명주<sup>2</sup> · 이미경<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>순천대학교 식품영양학과  
<sup>2</sup>대구산업정보대학 호텔조리계열

### Effect of Fermented Cucumber Beverage on Ethanol Metabolism and Antioxidant Activity in Ethanol-treated Rats

Hae-In Lee<sup>1</sup>, Kwon-II Seo<sup>1</sup>, Jin Lee<sup>1</sup>, Jeom-Sook Lee<sup>1</sup>, Sung-Min Hong<sup>1</sup>,  
Ju-Hye Lee<sup>1</sup>, Myung-Joo Kim<sup>2</sup>, and Mi-Kyung Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Jeonnam 540-742, Korea

<sup>2</sup>Faculty of Hotel Cuisine, Daegu Polytechnic College, Daegu 706-022, Korea

#### Abstract

Cucumber fermentation has been used as a means of preservation. This study was performed to investigate the effects of fermented cucumber beverage (CF) containing beneficial materials for an ethanol hangover based on *Hovenia dulcis* (SKM) on ethanol-induced hepatotoxicity. Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: ethanol control, ethanol plus SKM, and ethanol plus CF+SKM. SKM or CF+SKM was orally administered at a dose of 7 mL/kg body weight once per day for 5 weeks. Control rats were given an equal amount of water. CF+SKM significantly lowered plasma ethanol levels, whereas SKM tended to decrease the levels compared to the control. Both SKM and CF+SKM significantly lowered the plasma acetaldehyde levels and serum transaminase activities compared to those in the control. SKM and CF+SKM did not affect hepatic alcohol dehydrogenase activity; however, it significantly inhibited cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) activity. Hepatic aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity was significantly higher in the SKM and CF+SKM groups than that in the control group. Plasma acetaldehyde concentration was significantly correlated with hepatic CYP2E1 ( $r=0.566$ ,  $p<0.01$ ) activity and ALDH ( $r=-0.564$ ,  $p<0.01$ ) activity. Hepatic superoxide dismutase and catalase activities as well as glutathione content increased with the SKM and CF+SKM administration, whereas lipid peroxide content decreased significantly. Furthermore, SKM and CF+SKM lowered plasma and hepatic lipid content and lipid droplets compared to those in the control group. These results indicate that SKM and CF+SKM exhibit hepatoprotective properties partly by inhibiting CYP2E1 activity, enhancing ALDH activity and stimulating the antioxidant defense systems in ethanol-treated rats.

**Key words:** fermented cucumber, ethanol, hepatotoxicity, antioxidant

#### 서론

알코올은 주로 간에서 알코올 탈수소효소(alcohol dehydrogenase, ADH), cytochrome P450 2E1(CYP2E1) 및 catalase에 의하여 아세트알데히드로 분해되는데 만성적 알코올 섭취 시 생성된 과량의 아세트알데히드는 간독성을 촉진시킬 뿐만 아니라 혈압저하와 뇌로의 혈액순환을 악화시켜 두통이나 메스꺼움, 구토, 현기증, 설사, 근육통 등의 숙취 증상을 야기한다(1). 특히, 과량의 알코올 섭취 시 유도되는 CYP2E1은 체내 활성산소 생성을 촉진하여 알코올성 간 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다(2). 아세트알데히드는 알데히드 탈수소효소(aldehyde dehydrogenase, ALDH)에 의

하여 아세트산(acetic acid)으로 산화된다. 알코올과 그 대사 산물을 빠르고 효율적으로 제거하는 것이 과량의 알코올 독성으로부터 간을 보호하는데 중요한 역할을 하기 때문에 이와 관련한 숙취해소 및 간보호 의약품들이 개발되어 왔다. 그러나 이들 자체의 독성이나 부작용이 문제시되면서 보다 안전한 천연물을 이용한 제품개발에 관심을 모으고 있다(3,4).

과채류 중 저렴하고 손쉽게 구할 수 있는 오이는 무기질이 풍부할 뿐만 아니라 비타민 C 함량이 높은 알칼리성 식품으로 이뇨작용과 해독작용이 탁월하다(5). 최근에 Kumar 등(6)은 오이 물추출물의 플라보노이드와 탄닌들이 자유라디칼 제거력과 진통효과가 있는 것으로 보고하였다. 그러나

\*Corresponding author. E-mail: leemk@suncheon.ac.kr  
Phone: 82-61-750-3656, Fax: 82-61-752-3657

2000년대 이후 오이의 생산량에 비하여 소비량이 현저히 감소되어 폐기량은 높아지고 있는 실정인 반면, 짧은 저장기간 때문에 식품으로의 활용도는 낮아지고 있다(7). 특히, 오이는 저장기간이 경과하게 함에 따라 수분 증발로 인한 황화(과피변색), 비타민 C 함량 감소 및 경도 감소 현상이 일어나 품질이 급격히 저하된다(8,9). 현재 오이를 활용한 식품으로는 오이피클, 오이지, 오이장아찌 등 절임이나 통조림 형태로 국한되어 있으며, 오이의 유해산소 제거 특성을 이용한 오이주를 개발 중에 있으나 아직 오이생산량에 비하여 상품 개발성은 미흡하다(7,10,11). 이와 같이 다량 폐기되는 오이의 활용도를 높이고자 본 연구진은 오이를 주원료로 한 발효원액을 개발하고 항산화력과 숙취해소 효능을 확인한 바 있다(12).

따라서 본 실험에서는 상기 발효원액을 주원료로 하여 제조한 숙취해소 음료 제품의 간보호 효능을 검증하기 위하여 만성적으로 에탄올을 섭취시킨 흰쥐에서 알코올 대사, 항산화 방어계, 간독성 관련지표 및 지질대사 변화를 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

실험에 사용된 오이는 전남 순천 지역에서 생산된 것을 구입하여 사용하였으며, 헛개열매 추출물은 국내산 3종, 북한산 1종 및 중국산 2종을 구입하여 실험에 사용하였다.

### 숙취해소 활성 물질 및 오이 발효음료의 제조

숙취해소 활성 물질은 시중에서 판매되고 있는 헛개열매 추출물 6종을 구입하여 활성 및 단가 등을 고려하여 최적제품을 선정 후 이를 주원료로 제조한 것을 SKM이라 명명하였다. 오이 발효음료는 오이를 주원료로 하여 발효원액을 제조한 후(12) SKM, 비타민, 구연산, 울금, 정제수 등을 첨가하여 제조하였다.

### 실험동물 사육

실험동물은 4주령의 수컷 SD계 흰쥐 24마리를 다물사이언스(Daejeon, Korea)로부터 구입하였다. 마우스는 1주간 고형식으로 적응시킨 후 난피법에 의하여 에탄올대조군(Control), 에탄올과 SKM군(SKM), 에탄올과 SKM을 함유한 오이 발효음료군(CF+SKM) 나누었다. 동물 사육실의 환경은 항온( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ), 항습( $50 \pm 5\%$ ), 12 시간 간격(08:00~20:00)의 광주기로 일정한 조건을 유지하고 동물들은 stainless steel cage에 한 마리씩 분리하여 사육하였다.

본 실험에 사용한 기본식은 Lieber와 DeCarli(Table 1)의 액체식이 식이조성(13)에 따라 1 mL당 1 kcal 열량을 공급할 수 있도록 조제하였다. 실험기간 중 식이조제는 각종 비타민 파괴와 오염방지를 위하여 매일 제조하여 신선한 상태로 공급하였으며, 에탄올을 포함한 액체식은 특수 고안된 액체 식이병에 채워 제공하였다. 에탄올 식이 적응을 위해

Table 1. Composition of the ethanol liquid diet<sup>1)</sup>

Component	g/L/1,000 kcal
Casein	41.4
L-Cystein	0.5
D,L-Methionine	0.3
Corn oil	8.5
Olive oil	31.1
Dextrin maltose	25.6
Choline bitartrate	0.53
Fiber	10.0
Xanthan gum	3.0
Mineral mixture <sup>2)</sup>	2.55
Vitamin mixture <sup>3)</sup>	9.0
Ethanol	50.0

<sup>1)</sup>The liquid diet was mixed in 1 L of distilled water.

<sup>2)</sup>Mineral mixture according to AIN-76.

<sup>3)</sup>Vitamin mixture according to AIN-76.

급여 첫날과 둘째날의 에탄올 함량은 식이의 3%(전체 에너지 섭취량의 21%), 셋째날과 넷째날은 식이의 4%(전체 에너지 섭취량의 28%), 그리고 다섯째 날부터는 식이의 5%(전체 에너지 섭취량의 36%)로 급여하여 알코올성 간장해를 유도하였다. SKM과 CF+SKM 섭취량은 사람이 하루에 제품 1병(100 mL)을 마시는 양을 기준으로 하였으며 사람과 동물 간의 안전계수를 고려하여 체중 kg당 7 mL씩 매일 일정한 시각에 경구투여 하였다. 체중은 매주 1회 일정시각에 측정하였으며, 식이섭취량은 매일 일정시각에 측정 후 급여량에서 잔량을 감하여 계산하였다.

### 혈장 및 장기 채취

사육이 끝난 실험동물은 희생 전 12시간 동안 절식시킨 후 CO<sub>2</sub> 가스를 흡입시켜 마취시킨 다음 복부 하대정맥(inferior vena cava)으로부터 공복혈액을 채취하였다. 혈액의 일부는 ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA) 처리된 튜브에 담고 나머지 혈액은 그대로 900×g(4°C)에서 15분간 원심분리 하여 각각 혈장과 혈청을 분리하였다. 실험동물의 장기조직은 혈액 채취 후 즉시 적출하여 phosphate buffered saline 용액으로 수차례 헹군 후 표면의 수분을 제거하여 칭량하였으며, 즉시 액체질소로 급냉시켜 -70°C에 보관하였다.

### 혈장 중의 에탄올과 아세트알데히드 농도 측정

혈장 중의 에탄올 농도는 에탄올 측정용 kit(Roche Co., Darmstadt, Germany)를 이용하여 Cobas Intergra 800(Roche Co.) 기기로 분석하였다. 아세트알데히드 농도는 아세트알데히드가 알데히드 탈수소효소(ALDH)에 의해 산화되어 아세트산을 생성하는 과정에서 NAD<sup>+</sup>라는 조효소의 도움을 받아 NADH를 생성하는데, 생성된 NADH의 농도를 측정하는 원리로 제조된 kit(Roche Co.)를 사용하여 측정하였다.

### 혈청과 간조직 중의 지질 함량 측정

혈청 중의 중성지질 함량은 Muller(14)의 방법으로 조제된 kit 시약(Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea)을 사용하여 측정하였다. 총 콜레스테롤 함량은 Richmond(15)의 방법

으로 조제된 kit(Asan Pharmaceutical) 시약을 사용하였다.

간조직 중의 지질 함량은 Folch 등(16)의 방법에 준하여 클로로포름:메탄올(2:1, v/v) 혼합액으로 지질을 추출한 후 혈청과 동일한 방법으로 측정하여 농도를 구하였다.

#### 간독성 지표 분석

간독성의 생화학적 지표로 널리 알려져 있는 혈청의 aspartate aminotransferase(AST)와 alanine aminotransferase(ALT) 활성은 자동 생화학분석기(FUJI DRI-CHEM, 3500i, Fujifilm, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다.

#### 간조직의 조직학적 분석

간조직의 형태학적 관찰은 다음과 같이 실시하였다. 동물 희생 시 적출한 간조직을 10% formaldehyde 용액에 24시간 고정하고, 수세하고 60% 알코올에서부터 상승농도로 탈수하고 파라핀에 포매하고, 이것을 4  $\mu$ m 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin(H-E) 염색한 다음 광학현미경에서 200배 배율로 관찰하였다.

#### 간조직 중의 효소원 분리

간조직은 0.1 M triethanolamine, 0.02 M EDTA와 2 mM dithiothreitol가 포함된 완충용액(pH 7.4)을 가하여 균질기(099CK33, Glas-col, Terre Haute, IN, USA)로 마쇄하여 얻은 균질액을 900 $\times$ g(4°C)에서 10분간 원심분리 하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 후 상층액을 얻었다. 이를 10,000 $\times$ g(4°C)에서 20분간 원심분리 하여 미토콘드리아 분획을 취하였으며, 분리된 상층액을 100,000 $\times$ g(4°C)에서 1시간 초원심분리 하여 시토플 분획과 마이크로솜 분획을 얻었다. 미토콘드리아와 마이크로솜 침전물은 사용된 완충용액에 녹인 후 효소원으로 사용하였다. 조직의 효소활성도는 Bradford(17)의 방법을 사용하여 측정된 단백질 mg당의 고유활성도로 나타내었다.

#### 간조직의 에탄올대사 효소 활성도 측정

ADH 활성도는 Bergmeyer(18)의 방법에 준하여 측정하였으며, ALDH 활성도는 Koivula와 Koivusalo(19)의 방법에 준하여 측정하였다. 효소활성도는 1분간 1 mg 단백질이 생성하는 NADH의 양을 nmol로 표기하였다.

#### 간조직의 cytochrome P450 2E1(CYP2E1) 활성도 측정

CYP2E1 활성도는 Dicker 등(20)의 방법에 준하여 aniline 이 aniline hydroxylase에 의하여 생성되는 4-hydroxyaniline의 양을 측정하였다. 3.6 mM aniline과 450  $\mu$ M NADPH 및 마이크로솜 시료를 potassium phosphate 완충액(pH 7.4)에 혼합한 후 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 40% trichloroacetic acid를 가하여 반응을 종결시키고 14,000 $\times$ g에서 10분간 원심분리 하여 상층액에 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>와 2% phenol를 가한 후 실온에서 45분간 방치하여 발색시킨 다음 630 nm에서 흡광도를 측정하고 4-hydroxyaniline 검량선으로부터 활성도를 계산하였다.

#### 간조직 중의 항산화 효소 활성도와 글루타티온 측정

Superoxide dismutase(SOD) 활성은 Marklund와 Marklund(21)의 방법에 준하여 효소액을 넣지 않고 반응시킨 0.5 mM pyrogallol 용액의 자동산화율을 50% 억제하는 정도를 나타내었다. Catalase(CAT) 활성은 Aebi(22)의 방법에 준하여 1분간 1 mg의 단백질에 의해 소실되는 과산화수소 양을 나타내었다. Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성은 Paglia와 Valentine(23)의 방법에 준하여 단백질 1 mg당 1분 동안 산화되는 NADPH 정도를 나타내었다. 글루타티온(glutathione, GSH) 함량은 Ellman의 방법(24)을 수정·보완하여 측정하였다.

#### 간조직의 지질과산화물 생성 측정

간조직의 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등(25)의 방법에 준하여 측정하였다. 지질과산화물의 지표물질인 malondialdehyde(MDA) 함량은 tetramethoxypropane 표준검량선에 준하여 나타내었다.

#### 통계처리

실험결과는 SPSS package 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 실험군당 평균 $\pm$ 표준오차로 표시하였고 각 군 간의 평균치의 통계적 유의성 검정은 one-way ANOVA를 실시하고 다군 간의 차이는 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다. 상관관계는 Pearson's correlation을 적용하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

#### 체중, 식이섭취량과 장기무게 변화에 미치는 영향

SKM과 CF+SKM은 열량의 36%를 에탄올로 급여하는 액체식이를 5주간 급여한 마우스의 체중과 식이섭취에는 영향을 미치지 않았으며, 장기무게 역시 CF+SKM군의 신장무게가 대조군보다 낮은 것을 제외하고는 실험군 간의 변화가 관찰되지 않았다(Table 2).

#### 혈장 중 에탄올과 아세트알데히드 함량에 미치는 영향

오이 발효음료가 혈장 중의 에탄올과 아세트알데히드 함량에 미치는 영향은 Fig. 1에 나타내었다. SKM과 CF+SKM군의 혈장 중 에탄올 함량은 대조군에 비하여 각각 9.5%와 32.7% 낮았으며 특히, CF+SKM군에서 유의적으로(p<0.05) 에탄올 함량이 개선되었다(Fig. 1A). 한편, 혈장 중의 아세트알데히드 함량은 대조군에 비하여 SKM과 CF+SKM군 모두 각각 40.6%와 48.4% 유의적인(p<0.05) 개선 효과를 보였다(Fig. 1B). 에탄올 자체, 아세트알데히드의 독성, 에탄올 산화과정에 따른 세포내 NADH/NAD<sup>+</sup>비 증가에 의한 대사 불균형, 활성산소 증가 등이 에탄올에 의한 조직손상의 원인으로 알려져 있다(26). Lee와 Chyun(27)은 에너지의 36%를 에탄올로 급여하는 액체식이를 30일간 급여 시 혈중 에탄올 농도는 지속적으로 높아진다고 보고하였는데, 본 실험에서

**Table 2. Effects of fermented cucumber beverage on body weight, food intake and organ weights in ethanol-treated rats<sup>1)</sup>**

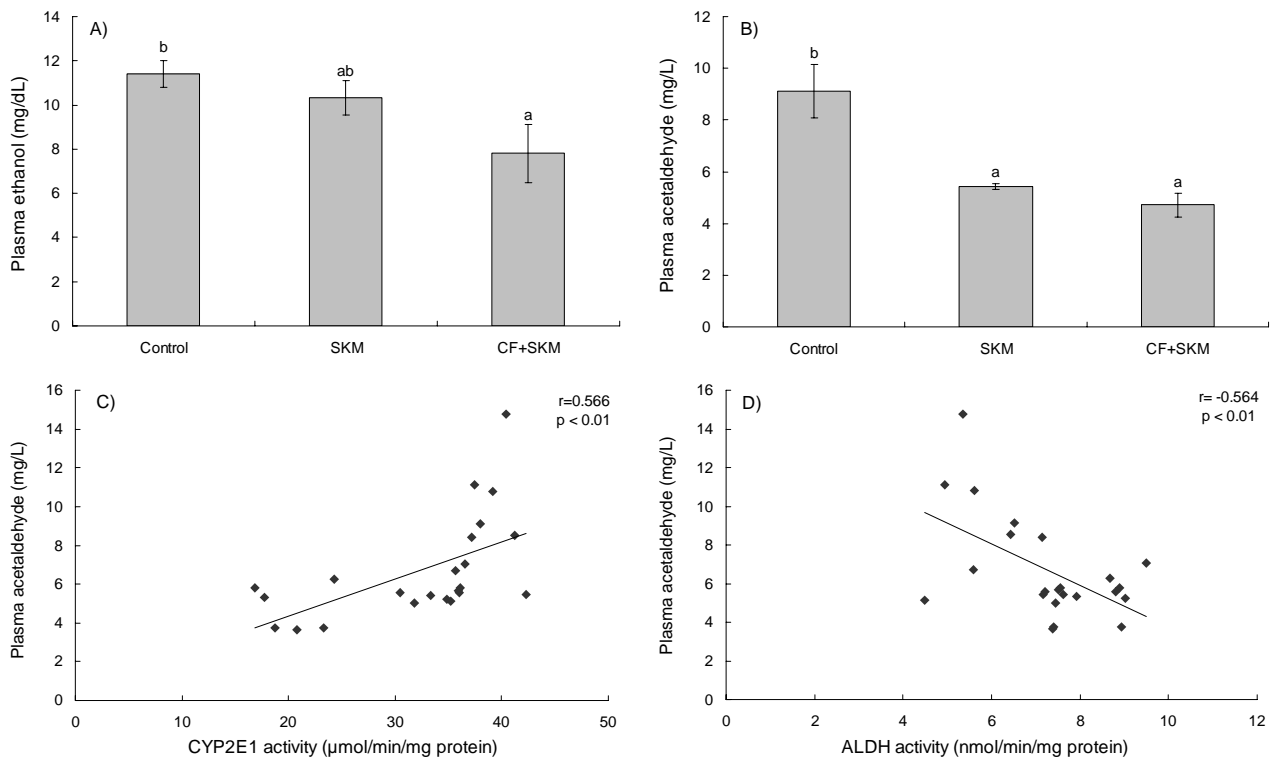
	Control <sup>2)</sup>	SKM <sup>3)</sup>	CF+SKM <sup>4)</sup>
Body weight (g)			
Initial	158.75±9.01	164.62±3.89	165.18±6.46
Final	219.66±13.02	216.42±2.30	231.34±5.73
Food intake (mL/day)	64.93±2.18	65.01±0.61	66.15±1.38
Organ weights (g/100 g)			
Liver	4.61±0.21	4.38±0.11	4.42±0.14
Heart	0.41±0.01	0.41±0.01	0.41±0.01
Kidney	0.97±0.03 <sup>b</sup>	0.99±0.01 <sup>b</sup>	0.89±0.01 <sup>a</sup>
Spleen	0.17±0.00	0.16±0.00	0.17±0.00

<sup>1)</sup> Mean±SE (n=8). Means in the same row not sharing a common letter (a,b) are significantly different among groups (p<0.05).

<sup>2)</sup> Rats were fed ethanol liquid diet.

<sup>3)</sup> Rats were fed ethanol liquid diet and were administered SKM.

<sup>4)</sup> Rats were fed ethanol liquid diet and were administered fermented cucumber beverage containing SKM.



**Fig. 1. Effects of fermented cucumber beverage on plasma ethanol (A) and acetaldehyde (B) concentrations and correlation between plasma acetaldehyde concentration and hepatic CYP2E1 activity (C) or ALDH activity (D) in ethanol-treated rats.** Mean±SE (n=8). Means not sharing a common letter (a,b) are significantly different among groups (p<0.05). Control: Rats were fed ethanol liquid diet. SKM: Rats were fed ethanol liquid diet and were administered SKM. CF+SKM: Rats were fed ethanol liquid diet and were administered fermented cucumber beverage containing SKM. CYP2E1: cytochrome P450 2E1, ALDH: aldehyde dehydrogenase.

만성적 에탄올 섭취 시 CF+SKM는 효과적으로 혈중 에탄올을 제거하는 것으로 나타났다. 특히 에탄올 분해로 생성된 아세트알데히드는 뇌로 이동하여 유해화합물로 전환되어 맥박 증가, 발한, 홍조, 오심, 구토 등의 증상을 초래할 수 있다(28). 또한 아세트알데히드는 에탄올에 비하여 반응성이 높고 독성이 강하여 에탄올성 간장해의 주원인 물질로서 미토콘드리아 기능을 저해하고 ALDH 활성을 감소시킬 뿐만 아니라 비타민 활성을 저해한다(29). 따라서 본 실험에서 에탄올대조군에 비하여 SKM과 CF+SKM은 아세트알데히드를

효과적으로 제거함으로써 알코올과 그 대사산물의 독성으로부터 간조직을 보호할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 간조직 중의 에탄올대사 효소 활성에 미치는 영향

SKM과 CF+SKM이 에탄올을 급여한 흰쥐의 에탄올 대사에 미치는 영향은 Table 3에 나타내었다. SKM과 CF+SKM 급여는 간조직의 에탄올대사 효소인 ADH에는 영향을 미치지 않았으나 CYP2E1 활성은 대조군에 비하여 각각 18%, 40% 유의적으로(p<0.05) 낮추었다. 적정량의 에탄올

**Table 3. Effects of fermented cucumber beverage on hepatic ethanol metabolic enzyme activities in ethanol-treated rats<sup>1)</sup>**

	Control <sup>2)</sup>	SKM <sup>3)</sup>	CF+SKM <sup>4)</sup>
ADH <sup>5)</sup> (nmol/min/mg protein)	6.40±0.18	6.49±0.39	7.30±0.62
ALDH (nmol/min/mg protein)	6.50±0.52 <sup>a</sup>	8.14±0.34 <sup>b</sup>	8.31±0.39 <sup>b</sup>
CYP2E1 (μmol/min/mg protein)	37.95±0.73 <sup>c</sup>	30.95±3.59 <sup>b</sup>	22.82±1.61 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SE (n=8). Means in the row not sharing a common letter (a-c) are significantly different among groups (p<0.05).

<sup>2)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet.

<sup>3)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet and were administered SKM.

<sup>4)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet and were administered fermented cucumber beverage containing SKM.

<sup>5)</sup>ADH, alcohol dehydrogenase; ALDH, aldehyde dehydrogenase; CYP2E1, cytochrome P450 2E1.

은 ADH에 의해 아세트알데히드로 전환되고 이는 ALDH에 의해 아세트산(acetic acid)으로 산화된다. 아세트산은 아세틸-CoA로 전환되어 구연산회로를 거쳐 에너지를 발생하거나 지방산을 합성하는데 이용되고 일부는 요나 CO<sub>2</sub>로 배설된다(30). 반면, 만성적 혹은 과량으로 에탄올이 공급되면 microsomal ethanol-oxidizing system(MEOS) 경로에 의한 아세트알데히드의 생성량이 증가되는데 CYP2E1이 중추적인 역할을 한다(31). 본 실험에서 5주 동안 에탄올 섭취 시 에탄올 산화는 ADH 활성보다 CYP2E1 활성에 의존한 것으로 사료된다. CYP2E1은 산소분자에 전자를 제공하는 전자 전달계 역할의 헴단백질로 특히 간조직에 다량으로 존재하고 있으나 에탄올의 산화적 대사과정에서 라디칼 중간체나 활성산소 형성 및 지질과산화 반응을 일으켜 간에 치명적인 손상을 미칠 뿐만 아니라 약물독성과 암의 발병을 증가시킨다(32,33). 본 실험에서도 간조직의 CYP2E1 활성은 혈장 중의 아세트알데히드 함량과 양의 상관관계(r=0.566, p<0.01)를 보였다(Fig. 1C). 따라서 SKM과 CF+SKM은 CYP2E1의 활성 억제제를 통하여 간 손상 유발을 개선할 것으로 사료되며, CF+SKM의 효과가 SKM보다 우수한 것으로 나타났다.

반면, 간조직의 ALDH 활성은 SKM과 CF+SKM 모두 대조군에 비하여 각각 약 25.2%, 27.8% 유의적으로(p<0.05) 높았다. ALDH 활성은 과량의 에탄올을 섭취하게 되면 활성이 감소되고 그로 인해 체내의 아세트알데히드가 간의 마이크로솜 단백질과 높은 친화력을 가지게 되어 간 손상을 유발한다고 알려져 있다(34). 본 실험에서는 SKM과 CF+SKM은 에탄올 간독성 물질로 알려진 아세트알데히드 분해를 향상시키는 것으로 나타났는데 이는 혈장의 아세트알데히드

농도는 간조직의 ALDH 활성과 유의적 음의 상관관계(r=-0.564, p<0.01)를 보임으로써 뒷받침된다(Fig. 1D).

**간조직 중의 항산화 방어계와 지질과산화물 함량에 미치는 영향**

만성적인 에탄올 섭취가 유도하는 CYP2E1 경로의 산화과정에서 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)과 항산화 기전 감소는 알코올성 간 손상의 주요 원인으로 주목받고 있다(35). 따라서 본 실험에서는 SKM과 CF+SKM이 간조직의 항산화방어계와 지질과산화물 함량에 미치는 영향을 Table 4에 나타내었다.

체내에는 활성산소에 대한 자가 방어기능을 수행하기 위하여 SOD, CAT, GSH-Px 등의 항산화 효소가 작용한다. 에탄올이 아세트알데히드와 아세트산으로 산화될 때 먼저 O<sub>2</sub><sup>-</sup>과 같은 자유라디칼이 생성되는데 SOD는 O<sub>2</sub><sup>-</sup>을 환원시켜 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환함으로써 산소독으로부터 생체를 보호한다. 본 실험에서 SKM과 CF+SKM군의 SOD 활성은 대조군에 비하여 유의적으로(p<0.05) 높았다. Nadkarni와 D'Souza(36)는 20% 에탄올을 섭취하였을 때 SOD 활성도가 감소하는 것으로 보고한 반면, Hilton 등(37)은 에탄올 섭취 시 생성되는 활성산소를 소거하기 위하여 간조직의 SOD가 증가한다고 보고하였다. 이와 같이 에탄올 섭취량, 섭취기간, 종류에 따라 항산화 방어계에 미치는 영향이 다르게 나타난다. 그러나 만성 에탄올 독성에 의한 항산화 효소 활성 감소는 에탄올의 항산화 효소 단백질 생합성 저해, 에탄올대사 시 생성되는 자유라디칼과 매우 반응성이 높은 아세트알데히드 생성에 기인되는 것으로 보고되었다(38). 특히, 아세트알

**Table 4. Effects of fermented cucumber beverage on hepatic antioxidant defense system and lipid peroxide content in ethanol-treated rats<sup>1)</sup>**

	Control <sup>2)</sup>	SKM <sup>3)</sup>	CF+SKM <sup>4)</sup>
SOD <sup>5)</sup> (unit/mg protein)	4.61±0.15 <sup>a</sup>	5.85±0.39 <sup>b</sup>	5.89±0.29 <sup>b</sup>
CAT (μmol/min/mg protein)	14.50±0.64 <sup>a</sup>	17.82±1.16 <sup>b</sup>	17.82±0.40 <sup>b</sup>
GSH-Px (nmol/min/mg protein)	12.11±0.24	12.50±0.33	13.98±1.21
GSH (nmol/g)	5.57±0.14 <sup>a</sup>	6.10±0.22 <sup>b</sup>	6.33±0.09 <sup>b</sup>
Lipid peroxide (nmol/g)	56.87±1.31 <sup>c</sup>	49.65±1.64 <sup>b</sup>	44.21±1.51 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SE (n=8). Means in the row not sharing a common letter (a-c) are significantly different among groups (p<0.05).

<sup>2)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet.

<sup>3)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet and were administered SKM.

<sup>4)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet and were administered fermented cucumber beverage containing SKM.

<sup>5)</sup>SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; GSH-Px, glutathione peroxidase; GSH, glutathione.

데히드는 항산화효소 단백질의 아미노기 또는 황화수소기와 쉽게 반응하여 단백질의 구조와 기능을 변화시킨다. 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 물로 무독화하는 CAT와 GSH-Px 활성을 살펴보면 SKM과 CF+SKM은 CAT 활성을 대조군에 비하여 유의적으로(p<0.05) 높였으나 GSH-Px 활성에는 영향을 미치지 않았다. 이는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 제거가 GSH-Px 활성에 의해서라기보다 CAT 활성에 의존한 것으로 사료된다. 또한 체내 가장 풍부한 항산화물질인 GSH은 급성 또는 만성 에탄올 섭취시 감소되며 지질과산화물을 촉진함으로써 간질환을 유발하는 것으로 알려져 있는데(39), SKM과 CF+SKM 급여는 대조군에 비하여 간조직내 GSH 함량을 유의적으로(p<0.05) 증가시키는 것으로 나타났다. 이와 같이 SKM과 CF+SKM은 만성적으로 에탄올을 급여한 흰쥐의 간조직내 항산화 효소활성과 항산화물질을 회복함으로써 에탄올로 인해 생성되는 산화적 스트레스로부터 세포를 보호할 것으로 사료된다.

한편, SKM과 CF+SKM은 간조직 중의 지질과산화물 생성을 대조군에 비하여 각각 약 13%와 22% 유의적으로(p<0.05) 낮추었다. 지질과산화에 의한 조직의 손상은 다가 불포화지방산으로부터 유리가 발생하면서 시작되어 유리라디칼은 산소와 반응하여 과산화기가 생성되고 이는 다른 지질과 반응하여 지질과산화를 촉진하고 체내의 막을 손상시킨다(40). 본 실험결과 에탄올 섭취 시 SKM과 CF+SKM은 효과적으로 지질과산화를 억제함으로써 간손상을 보호할 것으로 사료된다.

#### 간독성 지표에 미치는 영향

에탄올은 간세포를 손상시켜 생화학적 대사과정에 여러 변화를 초래하게 되므로 혈액 성분의 변화도 초래한다. 따라서 SKM과 CF+SKM이 에탄올성 간독성에 미치는 영향을 살펴보고자 대표적인 간독성 지표인 혈장 중의 AST와 ALT 활성도를 측정하여 Table 5에 나타내었다.

SKM과 CF+SKM 급여 시 에탄올대조군에 비하여 각각 AST 활성은 29%와 44% 낮았으며, ALT 활성은 42%와 34% 낮았다. AST의 경우 간, 심장, 근육, 신장에 존재하는 효소로서 이 조직들이 손상되면 혈중으로 효소가 유리되어 효소활성이 높으며, 세포손상 정도와 비교적 상관성이 높아 간염, 간경변증 등의 지표로 널리 사용되고 있다. ALT의 경우

Table 5. Effects of fermented cucumber beverage on plasma aminotransferase activity in ethanol-treated rats<sup>1)</sup>

	Control <sup>2)</sup>	SKM <sup>3)</sup>	CF+SKM <sup>4)</sup>
AST <sup>5)</sup> (U/mL)	210.83±26.26 <sup>b</sup>	150.66±9.48 <sup>a</sup>	118.80±7.71 <sup>a</sup>
ALT (U/mL)	99.85±10.93 <sup>b</sup>	58.00±7.59 <sup>a</sup>	65.80±6.88 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SE (n=8). Means in the row not sharing a common letter (a,b) are significantly different among groups (p<0.05).

<sup>2)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet.

<sup>3)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet and were administered SKM.

<sup>4)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet and were administered fermented cucumber beverage containing SKM.

<sup>5)</sup>AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase.

에도 주로 간에 존재하는 효소이며 간염, 간괴사 및 간경변증 등에 의해 활성이 증가하는 특징이 있다(41). 따라서 AST와 ALT의 증가는 간손상을 평가할 수 있는 주요한 척도가 되는데, SKM 또는 CF+SKM은 혈장의 AST와 ALT 활성을 유의적으로(p<0.05) 개선함으로써 간 보호에 효과적일 것으로 사료된다.

#### 혈장과 간조직의 지질 함량 및 간조직의 형태학적 변화에 미치는 영향

에탄올이 유도하는 지방간은 중성지질 합성 증가, 지방산의 산화 저해 또는 CYP2E1을 포함한 과다한 산화적 스트레스에 의해 야기된다고 보고되었다(42). 따라서 지질 함량 및 간조직의 형태학적 변화를 측정하여 각각 Table 6과 Fig. 2에 나타내었다.

혈장의 총 콜레스테롤과 간조직의 콜레스테롤 함량은 대조군에 비하여 SKM과 CF+SKM군에서 유의적으로(p<0.05) 낮았다. 특히, CF+SKM군의 간조직 중 중성지질 함량은 대조군에 비하여 유의적으로(p<0.05) 낮았다. SKM과 CF+SKM 모두 간조직의 지방축적이 대조군에 비하여 감소되는 것으로 나타났다. 사람의 경우 정상인의 간조직에는 지방이 3~5%를 차지하며, 10~12%를 초과할 경우 조직학적으로 간조직에서 지방구가 발견되고 간이 비대해진다고 보고되어 있다(43). 중성지질이 간조직에 과잉으로 축적되면 지방간을 초래하는데 특히, CF+SKM 급여군은 간조직 중의 지질함량을 낮추고 조직학적 손상을 개선시키는 결과로 미루어 지방간 생성을 억제하고 개선하는데 효과적인 것

Table 6. Effects of fermented cucumber beverage on plasma and hepatic lipid contents in ethanol-treated rats<sup>1)</sup>

	Control <sup>2)</sup>	SKM <sup>3)</sup>	CF+SKM <sup>4)</sup>
Plasma			
Total cholesterol (mg/dL)	142.18±7.19 <sup>b</sup>	97.15±5.48 <sup>a</sup>	102.73±9.87 <sup>a</sup>
Triglyceride (mg/dL)	56.90±9.17	48.61±2.84	49.97±4.85
Liver			
Cholesterol (mg/g)	6.81±0.35 <sup>b</sup>	5.53±0.51 <sup>a</sup>	5.10±0.16 <sup>a</sup>
Triglyceride (mg/g)	26.37±1.13 <sup>b</sup>	25.30±0.91 <sup>ab</sup>	22.88±1.84 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Mean±SE (n=8). Means in the row not sharing a common letter (a,b) are significantly different among groups (p<0.05).

<sup>2)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet.

<sup>3)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet and were administered SKM.

<sup>4)</sup>Rats were fed ethanol liquid diet and were administered fermented cucumber beverage containing SKM.

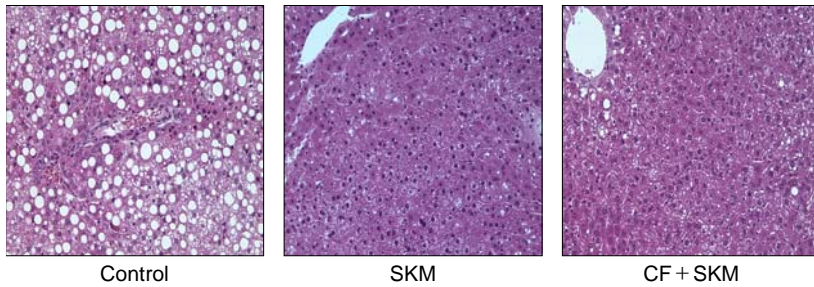


Fig. 2. Effects of fermented cucumber beverage on hepatic morphology in ethanol-treated rats ( $\times 200$ ). Representative pictures of hematoxylin and eosin-stained sections of liver tissue from rats were fed ethanol liquid diet and were administered SKM (SKM) or fermented cucumber beverage containing SKM (CF+SKM) show few fat droplets compared to the rats fed ethanol liquid diet (Control).

으로 사료된다.

## 요 약

본 연구는 다량으로 폐기되는 오이를 이용하기 위하여 개발한 오이 발효원액을 주원료로 제조한 숙취해소 음료의 간 보호 효능을 검증하기 위하여 만성적으로 에탄올을 섭취시킨 흰쥐에서 에탄올 대사, 항산화 방어계, 간독성 관련지표 및 지질함량 변화를 살펴보았다. 실험동물은 4 주령의 수컷 SD계 흰쥐 24마리를 1주간 고형식으로 적응시킨 후 난피법에 의하여 에탄올대조군(Control) 및 에탄올 섭취 흰쥐에게 헛개열매 추출물을 주원료로 하여 개발한 숙취해소 물질인 SKM 급여군(SKМ) 또는 SKM을 함유한 오이 발효음료 급여군(CF+SKM)으로 나누었다. SKM과 CF+SKM은 사람의 하루 섭취량을 기준으로 체중 kg당 7 mL씩 매일 일정시간에 경구투여 하였다. SKM과 CF+SKM은 체중과 식이섭취에는 영향을 미치지 않았으며, CF+SKM군의 신장무게가 대조군보다 낮았다. 혈장 중 에탄올 함량은 대조군에 비하여 CF+SKM군에서 유의적으로( $p < 0.05$ ) 낮았으며, SKM군은 낮은 경향을 보였다. 혈장 중의 아세트알데히드 함량은 대조군에 비하여 SKM과 CF+SKM군 모두 각각 40.6%와 48.4% 유의적인( $p < 0.05$ ) 개선 효과를 보였다. 간조직 중의 ADH 활성은 실험기간 유의적인 변화가 없었으나 CYP2E1 활성은 SKM과 CF+SKM 모두 대조군에 비하여 유의적으로( $p < 0.05$ ) 낮았다. 간조직의 CYP2E1 활성은 혈장 중의 아세트알데히드 함량과 양의 상관관계( $r = 0.566$ ,  $p < 0.01$ )였다. 간조직의 ALDH 활성은 SKM과 CF+SKM 모두 대조군에 비하여 유의적으로( $p < 0.05$ ) 높았으며 혈장의 아세트알데히드 농도와 유의적 음의 상관관계( $r = -0.564$ ,  $p < 0.01$ )를 보였다. SKM군과 CF+SKM군의 간조직내 SOD와 CAT 활성과 GSH 함량이 대조군에 비하여 유의적으로 높았다. 반면, SKM과 CF+SKM은 간조직 중의 지질과산화물 생성을 대조군에 비하여 각각 유의적으로 낮추었다. SKM과 CF+SKM 급여 시 에탄올대조군에 비하여 각각 AST 활성은 29%와 44% 낮았으며, ALT 활성은 42%와 34% 낮았다. 혈장의 총 콜레스테롤과 간조직의 콜레스테롤 함량은 대조군에 비하여 SKM과 CF+SKM군에서 유의적으로( $p < 0.05$ ) 낮았으며 특히, CF+SKM의 간조직내 중성지질 함량은 대조군에 비하여 유의적으로( $p < 0.05$ ) 낮았다. SKM군과 CF+

SKM군의 간조직 중 지방축적이 대조군에 비하여 감소되었다. 이와 같이 SKM과 CF+SKM은 간조직의 CYP2E1 활성을 억제하고 ALDH 활성과 항산화 방어계를 향상시킴으로써 에탄올로 인한 간독성을 보호할 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 2008년도 농림수산식품부 농림기술개발사업의 연구비 지원으로 이루어진 결과이며, 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Tuma DJ, Casey CA. 2003. Dangerous byproducts of alcohol breakdown-focus on adducts. *Alcohol Res Health* 27: 285-290.
2. Cederbaum AI. 2010. Role of CYP2E1 in ethanol-induced oxidant stress, fatty liver and hepatotoxicity. *Dig Dis* 28: 802-811.
3. Kim JH, Min SS, Kim SH, Hong HD, Kim JS, Kim SU. 1995. Effect of arrowroot flower (*Puerariae flos*) extract on lowering of ethanol concentration in rat blood. *Agric Chem Biotechnol* 38: 549-553.
4. Kim YC, Paek SH, Lee MG. 1993. Effect of glutamate on the blood concentrations of ethanol in healthy adults. *Yakhak Hoeji* 37: 549-553.
5. Joshi SG. 2003. *Medicinal plants*. Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, India. p 157-158.
6. Kumar D, Kumar S, Singh J, Narender, Rashmi, Vashistha B, Singh N. 2010. Free radical scavenging and analgesic activities of *Cucumis sativus* L. fruit extract. *J Young Pharm* 2: 365-368.
7. Park HS, Park WS, Kim MR. 2004. Quality characteristics of commercial Oiji, Korean cucumber pickle. *Korean J Food Sci Technol* 36: 385-392.
8. Kays SJ. 1991. *Postharvest physiology and handling of perishable plant products*. AVI, New York, NY, USA. p 337-339.
9. Lee SK. 1996. *Postharvest physiology of horticultural crops*. Sungkunsu, Suwon, Korea. p 11-187.
10. Kim JE. 2001. Effect of processing methods on quality of cucumber pickles. *MS Thesis*. Chungju University, Chungbuk, Korea.
11. Jung ST, Lee HY, Park HJ. 1995. The acidity, pH, salt content and sensory scores change in Oyjigangachi manufacturing. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 606-612.
12. Moon HS. 2011. Development of vinegar using cucumber and its functional activity. *MS Thesis*. Sunchon National University, Jeonnam, Korea.
13. Lieber CS, DeCarli LM. 1986. The feeding of ethanol in liq-

- uid diets. *Alcohol Clin Exp Res* 10: 550-553.
14. Muller PH. 1977. A fully enzymatic triglyceride determination. *J Clin Chem Clin Biochem* 5: 457-464.
  15. Richmond V. 1976. Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum continuous flow analysis. *Clin Chem* 22: 1579-1588.
  16. Folch J, Mee L, Stanley GSH. 1975. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
  17. 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: 248-254.
  18. Bergmeyer HU. 1974. *Method of enzymatic analysis*. Academic Press, New York, NY, USA. p 28.
  19. Koivula T, Koivusalo M. 1975. Different form of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochem Biophys Acta* 397: 9-23.
  20. Dicker E, McHugh T, Cederbaum AI. 1990. Increased oxidation of p-nitrophenol and aniline by intact hepatocytes isolated from pyrazole-treated rats. *Biochim Biophys Acta* 1035: 249-256.
  21. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
  22. Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105: 121-126.
  23. Paglia DE, Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169.
  24. Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77.
  25. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.
  26. Lieber CS. 1991. Perspectives: do alcohol calories count? *Am J Clin Nutr* 54: 976-982.
  27. Lee EH, Chyun JH. 2009. Effects of chongkukjang intake on lipid metabolism and liver function in alcoholic fatty liver rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1506-1515.
  28. Eriksson CJ. 2001. The role of acetaldehyde in the action of alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 25: 15S-32S.
  29. Farfán Labonne BE, Gutiérrez M, Gómez-Quiroz LE, Königsberg Fainstein M, Bucio L, Souza V, Flores O, Ortíz V, Hernández E, Kershenobich D, Gutierrez-Ruiz MC. 2009. Acetaldehyde-induced mitochondrial dysfunction sensitizes hepatocytes to oxidative damage. *Cell Biol Toxicol* 25: 599-609.
  30. Comporti M, Signorini C, Leoncini S, Gardi C, Ciccoli L, Giardini A, Vecchio D, Arezzini B. 2010. Ethanol-induced oxidative stress: basic knowledge. *Genes Nutr* 5: 101-109.
  31. Ramchandani VA, Bosron WF, Li TK. 2001. Research advances in ethanol metabolism. *Pathol Biol* 49: 676-682.
  32. Gaudineau C, Beckerman R, Welbourn S, Auclair K. 2004. Inhibition of human P450 enzymes by multiple constituents of the *Ginkgo biloba* extract. *Biochem Biophys Res Commun* 318: 1072-1078.
  33. Dey A, Cederbaum AI. 2006. Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology* 43: S63-S74.
  34. Nordmann R, Ribière C, Rouach H. 1987. Involvement of iron and iron-catalyzed free radical production in ethanol metabolism and toxicity. *Enzyme* 37: 57-69.
  35. Caro AA, Cederbaum AI. 2004. Oxidative stress, toxicology, and pharmacology of CYP2E1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 44: 27-42.
  36. Nadkarni GD, D'Souza NB. 1988. Antioxidant and free radical-scavenging enzymes in chronically ethanol-consuming rats: controversy over hepatic lipid peroxidation. *Drug Alcohol Depend* 22: 161-164.
  37. Hilton JW, Hodson PV, Slinger SJ. 1980. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo Gairdneri*). *J Nutr* 110: 2527-2535.
  38. Lee ES, Moon JO. 2001. Effect of glutathione on aldehyde dehydrogenase activity. *Kor J Environ Toxicol* 16: 9-16.
  39. Meister A. 1991. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal: applications in research and therapy. *Pharmacol Ther* 51: 155-194.
  40. Oyanagui Y. 1989. *SOD and active oxygen modulator*. Nihon Igakukan, Tokyo, Japan. p 17-36.
  41. Jung DM. 2001. Effect of long term exercise on liver function of fatty liver patients: by data analysis of GPT, GOT,  $\gamma$ -GTP. *MS Thesis*. Kyunghee University. Seoul, Korea.
  42. Ki SH, Choi JH, Kim CW, Kim SG. 2007. Combined metadoxine and garlic oil treatment efficaciously abrogates alcoholic steatosis and CYP2E1 induction in rat liver with restoration of AMPK activity. *Chem Biol Interact* 169: 80-90.
  43. Eaton S, Record CO, Bartlett K. 1997. Multiple biochemical effects in the pathogenesis of alcoholic fatty liver. *Eur J Clin Invest* 27: 719-722.

(2011년 5월 18일 접수; 2011년 7월 5일 채택)