

# Effect of *Spirodela polyrhiza* on Antioxidant Activity in Diet-induced Obese Rats

Won-Yeong Song and Jeong-Hwa Choi\*

Department of Food and Nutrition, International University of Korea, Jinju 52833, Korea

Received January 13, 2021 / Revised March 12, 2021 / Accepted April 8, 2021

The aim of this study was to investigate the possible antioxidant effect of *Spirodela polyrhiza* (SP) on rats fed a high fat and high cholesterol diet supplemented with either 5% (SPA group) or 10% (SPB group) SP for 4 weeks. The hepatic SOD activity of the HF group significantly decreased compared to that of the N group, but that of the SPA and SPB groups significantly increased. The GPx activity of the SPA and SPB groups in the liver was significantly greater than that of the HF group, and the hepatic catalase activity of the SPA and SPB groups significantly increased compared to the HF group. The hepatic superoxide radical content of the mitochondria and microsomes of the HF group significantly increased compared to that of the N group, but the contents were reduced in the group that took SP powder. The hepatic hydrogen peroxide content in the cytosol and mitochondria of the SP powder group was lower than in the HF group. The carbonyl content in the mitochondria and microsomes of the SPA and SPB groups was significantly lower than in the HF group. The TBARS values in the liver significantly decreased in the SPA and SPB groups. *Spirodela polyrhiza* was thus effective in reducing oxidative stress by regulating the hepatic antioxidant enzymes and the free radicals in rats fed high fat and high cholesterol diets.

**Key words** : Antioxidative activity, hepatic enzyme, oxidative stress, obesity, *Spirodela polyrhiza*

## 서론

우리나라 전국 각 지역에서 볼 수 있는 부평초(*Spirodela polyrhiza*)는 뿌리가 많은 연못 식물로 주로 논가에 2~6개씩 엽상체의 형태로 무리를 이루고 이러한 무리가 수면을 덮어 군체 모양을 띄게 되는데, 개구리밥의 전초를 부평초라고도 한다[33]. 특히 부평초는 아토피와 더불어 피부의 염증효과, 미백효과, 비만세포억제작용, 이뇨 및 해독작용 등을 가진다고 보고되었다[2, 3]. 부평초 내에는 초산칼륨, 염화칼륨 및 요오드 등의 성분이 포함되어 있고, 특히 D-apiose의 함유량이 높으며 엽록소, 당 단백질, flavonoid, anthocyanin, tannin, campesterol,  $\beta$ -sitosterol 등의 sterol류도 함유하고 있어 다양한 생리활성을 기대할 수 있다[8, 35].

한국인의 식습관 중 최근 대두되고 있는 문제로 동물성 지방과 콜레스테롤 과다가 있는데, 이뿐만 아니라 불균형한 식생활, 스트레스 및 운동부족 등은 비만, 고지혈증, 고혈압, 지방간, 당뇨 및 동맥경화 같은 생활습관 병 유발률을 급속도로 증가시키고 있다[4]. 이러한 식습관으로 생기는 불균형한 지질 대사는 결국 항산화방어계에도 영향을 미치게 되면서 그 결과

체내에는 free radical의 생성촉진으로 인해 각 조직에 과산화를 일으켜 극심한 손상을 일으키게 된다[19]. 지방과 콜레스테롤이 높게 되면 우리 몸은 산화적 스트레스를 스스로 방어하기에 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (Gpx) 및 catalase (CAT) 등과 같은 항산화효소의 양이 충분하지 않기 때문에 항산화 효소들의 양을 증진시키는 것은 물론 이러한 효소들의 활성도를 높일 수 있도록 해야 한다. 따라서 이러한 산화적 손상으로 인해 생겨나는 질병 개선을 위해 항산화 활성을 증대시킬 수 있는 소재에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 그리하여 국내에서는 butylated hydroxyanisole (BHA) 및 butylated hydroxytoluene (BHT)와 같은 합성항산화제를 사용하기도 했지만 합성항산화제로 인한 발암 성분 검출과 같은 부작용으로 이러한 위험성이 없으며, 생리활성 또한 우수한 식물성 천연항산화물질 탐색이 시급하다.

그리하여 본 연구에서는 우리나라 각 지역에 자생하고 있고, 다양한 항산화 생리활성 성분 등을 가짐에도 불구하고 아직까지 연구가 미흡한 부평초를 *in vitro* 상에서 항산화활성을 선행 연구한 결과를 바탕으로 고지방 및 고콜레스테롤 식이 산화적 손상이 유발된 비만 쥐에 추가로 부평초를 투여하여 *in vivo* 상에서 또한 생체 내 항산화효소의 활성도 및 체내 조직의 과산화손상의 개선도를 관찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 부평초 파우더 제조

본 실험에서 사용한 부평초는 전라남도 담양군 담양읍에서

### \*Corresponding author

Tel : +82-55-751-8326, Fax : +82-55-751-8205

E-mail : [jhappychoi@hanmail.net](mailto:jhappychoi@hanmail.net)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

재배 된 것을 사용하였다. 실험에 사용하기 위해 부평초를 선별하고 세척한 후 -40℃에서 6-12시간 급속 동결 시킨 후, 10℃에서 8-12시간, 20℃에서 8-12시간, 35℃에서 12-24시간 진공 건조하였다. 건조된 부평초는 분쇄기를 이용하여 60 mesh가 되게 분쇄하여 사용하였다.

**실험동물 사육 및 식이**

본 실험에 사용된 동물은 체중 130±10 g 내외의 Sprague-Dawley 중 5주령 수컷을 (주)바이오 제노믹스사(Bio genomics, Inc., Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험식이 시작 전 일주일간 일반배합사료(Purina Co., Seoul, Korea)로 예비 사육한 후 평균 체중이 유사하도록 난괴법(randomized complete block design)에 의해 대조군과 실험군으로 나눈 후 4주간 사육하였다. 실험 기간 중 식이는 4℃에서 보관하였다. 사육실의 온도는 22±2℃, 상대습도 50±10%를 유지하였다. 식이 groups은 정상군(N 군)과 1% 고지방·고콜레스테롤 식이 실험군으로 나눈 후 고지방·고콜레스테롤 실험군은 고지방·고콜레스테롤 대조군(HF 군), 고지방·고콜레스테롤식이+5% 부평초과우더 공급군(SPA군), 고지방·고콜레스테롤+10% 부평초과우더 공급군(SPB군)으로 총 4군으로 나누어 사육하였다. 식이구성은 Table 1과 같고 식이 및 식수는 자유 섭취하게 하였다. 본 동물실험은 한국국제대학교 동물실험 윤리위원회의 승인(NVRQS AEC13)을 거쳐 진행하였다.

Table 1. Diet compositions of experimental groups (g/kg diet)

Ingredient	Groups <sup>1)</sup>			
	N	HF	SPA	SPB
Corn starch	539	429	379	329
Casein	200	200	200	200
Sucrose	100	100	100	100
Cellulose	50	50	50	50
Mineral mixture <sup>2)</sup>	35	35	35	35
Vitamin mixture <sup>3)</sup>	10	10	10	10
DL-methionine	3	3	3	3
Choline chloride	3	3	3	3
Corn oil	60	60	60	60
Cholesterol	0	10	10	10
Lard	0	100	100	100
<i>Spirodela polyrhiza</i>	-	-	50	-
<i>Spirodela polyrhiza</i>	-	-	-	100
Total	1,000	1,000	1,000	1,000

<sup>1)</sup>N: Normal diet.

HF: High fat and High cholesterol diet.

SPA: High fat and High cholesterol diet+5% of *Spirodela polyrhiza*

SPB: High fat and High cholesterol diet+10% of *Spirodela polyrhiza*

<sup>2)</sup>AIN mineral mixture (g/kg mixture).

<sup>3)</sup>AIN vitamin mixture (g/kg mixture).

**혈액 및 장기의 채취**

사육기간 완료 후 실험동물을 12시간 절식시키고 가벼운 ether 마취 하에서 복부대동맥으로부터 혈액을 채취한 후 즉시 간장을 적출하여 생리식염수로 헹군 후 가제로 수분을 제거하고 무게를 측정하였다. 간 조직은 실험에 사용하기 전까지 무게를 측정한 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80℃에 보관하였다.

**분석 시료의 전처리**

간장을 각 간엽에서 고르게 일정량을 취하여 Potter Elvehjem homogenizer를 사용하여 0.25 M sucrose/0.5 mM ethylene diamine teraacetic acid (EDTA)/5 mM N-2-hydroxyethyl-piperazine-N-2-ethane sulfonic acid (HEPES) 용액으로써 10%(w/v) 마쇄 액을 만들었다. 마쇄 액의 일부를 8,000×g에서 20분간 원심분리(Gyrozen Co., Daejeon, Korea)하여 그 상층 액을 과산화지질 정량에 사용하였고, 나머지는 10,000×g에서 30분간 원심분리 하여 그 상층 액 중 일정량을 취하여 0.4배량의 ethanol:chloroform 냉 혼합액(5:3)을 가하고 2분간 진탕한 다음 10,000×g에서 30분간 원심분리 하여 얻은 상층 액을 세포질 SOD원액으로 사용하였다. 또 10,000×g상층액의 일부는 다시 105,000×g에서 30분간 원심분리 하여 얻은 cytosol은 Gpx의 활성도를 측정하였다. 모든 실험 조건은 4℃를 유지하면서 행하였다.

**SOD, Gpx, catalase 활성 측정**

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동 산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund [20]의 방법에 따라 측정하였다. Gpx활성은 산화형 glutathione (GSH)이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 340 nm에서 NADPH의 흡광도가 감소하는 것을 이용한 Lawrence와 Burk [15]의 방법에 따라 측정하였다. 간 조직의 CAT 활성은 Aebi 등[1]의 방법으로 측정하였다. 즉 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) 2.89 ml에 기질인 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 100 μl를 넣어 25℃에서 5분간 반응시켰다. 여기에 시료 10 μl를 가하여 3.0 ml가 되도록 하고 25℃, 240 nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 흡광도 변화와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 몰 흡광계수로 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 농도를 구하여 효소 활성도를 계산하였다.

**Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 함량 측정**

간 조직 중의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 함량을 측정하기 위하여 1 g의 간 조직을 0.25 M sucrose 용액으로 균질화시킨 후 8,000×g에서 원심분리하여 mitochondria 분획을 얻은 후 다시 105,000×g에서 원심분리하여 cytosol과 microsome 분획을 얻었다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성 량 측정은 Gay와 Gebicki [6] 방법에 따라 xylenol orange를 이용하여 560 nm에서 흡광도 증가로 측정하였다.

O<sub>2</sub><sup>-</sup> 함량 측정은 Azzi 등[3]의 방법에 준해 실시하였다.

**Carbonyl 함량 측정**

간 조직의 microsome 및 mitochondria 중의 산화된 단백질의 함량은 Levine [18] 등의 방법에 따라 측정하였다. 0.1 ml의 시료에 trichloroacetic acid (TCA) 0.5 ml를 혼합한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻어진 상층 액을 제거한 뒤 잔사에 다시 10 mM dinitrophenylhydrazine (DNPH) 0.5 ml 가하여 15분마다 교반하면서 1시간 동안 실온에 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 이때 얻어진 상층액을 제거한 후 잔사에 ethanol/ethyl acetate (1:1, v/v) 3 ml를 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 다음 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 얻어진 잔사를 6 M guanidine [20 mM potassium phosphate buffer (pH 7.3)에 용해] 1.0 ml를 첨가하여 혼합한 후 37℃의 항온수조에서 15분간 가운 한 후 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층 액을 얻었다. 이때 carbonyl value의 양은 360 nm 흡광도의 파장에서 분자 흡광계수 ( $\epsilon=22,000$ )를 이용하여 계산하였다.

**Thiobarbituric acid reaction substance (TBARS) 정량**

간 조직에서의 과산화지질 정량은 간 조직의 마쇄 액을 8,000× g에서 처리하여 얻은 상층 액과 TCA용액을 섞은 후, 실온에서 10분간 방치한 다음 0.05 M 황산으로 세척한 후 그 침전물과 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하여 생성되는 malondialdehyde를 측정하는 Satho [26]법을 이용하였다.

**단백질 정량**

각 시료의 단백질량은 Lowry 등[15]의 방법으로 하였으며, bovin serum albumin을 표준물질로 사용하였다.

**통계처리**

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군의 평균값의 차이를 검증하기 위해 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며 분산분석결과 유의성이 발견된 경우 Tukey's HSD test [31]에 의해 실험군 간의 유의도를 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**체중, 식이량 및 간 무게 측정**

부평초 파우더 5% 및 10%의 공급으로 인한 체중, 식이량 변화 및 간 무게의 변화를 측정된 결과는 Table 2와 같다. 사육 기간 4주 동안 각각의 식이 공급이 실험동물에 미치는 영향을 보기 위해 체중 및 식이량 변화를 측정하였는데, 체중에서는 정상군, N군에 비해 고지방 및 고콜레스테롤 식이군, HF 군에서 유의적으로 증가하였으나 그 외의 군간의 차이는 나타나지 않았으며 식이량에서 또한 각각의 실험군에서 유의적인 차이

Table 2. Changes in body weight, food intake and liver weight in experimental rats

Groups <sup>1)</sup>	Body weight (g)	Food intake (g)	Liver weight (g)
N	168.5±2.54 <sup>b2)</sup>	17.14±0.99 <sup>NS3)</sup>	7.564±1.01 <sup>b</sup>
HF	191.3±2.03 <sup>a</sup>	18.54±1.02	12.85±1.14 <sup>d</sup>
SPA	187.4±1.59 <sup>b</sup>	18.43±0.83	11.43±1.56 <sup>a</sup>
SPB	185.7±2.41 <sup>b</sup>	17.98±1.12	11.31±1.05 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Experimental conditions are same as Table 1.

<sup>2)</sup>All values are the means ± SE (n=10).

<sup>3)</sup>NS: not significantly different among groups.

<sup>a,b</sup>Those with different superscript letters are significantly different at  $p<0.05$  by Tukey's test.

가 관찰되지 않았다. 이는 Song 등[30]의 연구에서 고지방 및 고콜레스테롤 식이에 부평초와 같이 생리활성성분이 다양한 시금치 파우더를 5% 및 10%로 공급했을 시 실험군 간의 차이를 나타내지 않은 결과와 일치하였다. 간 무게 에서는 N 군에 비해 HF, SPA 및 SPB 군에서 유의적으로 증가하였으나 그 외의 실험군간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 고지방식이 및 고콜레스테롤 식이 공급은 간 조직의 지방 축적 및 간 무게를 증가시킨다[27, 34]는 보고와 유사하였으나 부평초의 공급으로 유의적인 차이가 관찰되지 않은 것은 4주간의 사육 기간으로는 간 무게의 유의미한 차이를 나타내는 데 짧은 기간이라 판단되며, 추후 간 조직에서의 지질 함량 측정 또는 병리조직학적 검사를 통한 관찰이 필요하다고 사료된다.

**간 조직 중의 SOD, Gpx 및 catalase 활성**

체내 항산화효소의 하나인 SOD는 슈퍼옥사이드(superoxide) radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)을 반응성이 낮은 산소와 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매 하는 데 이를 측정된 결과는 Table 3과 같다. N군에 비해 HF 군에서 유의하게 감소되었으나, 부평초 파우더를 5%, 10%로 각각 추가로 공급한 SPA 및 SPB군에서 유의적으로 증가되었다. Selenium을 함유하는 항산화효소로 과산화물질을 제거하여 생체 내 세포막의 손상을 방어하는 Gpx의 활성을 관찰한 결과(Table 3), HF 군에서 N 군에 비해 유의적으로 감소하였는데, 부평초의 공급으로 SPA 및 SPB 모든 군에서 유의하게 증가되었다. 또한 효소적 방어계로서 과산화수소 및 유기 과산화물을 제거하는 간 조직의 catalase의 활성 변화를 측정된 결과(Table 3)에서 또한 HF군에 비해 부평초를 공급한 모든 군에서 유의적으로 증가되었다. 고지방식이나 고콜레스테롤식이의 과잉섭취는 체내 산화스트레스를 유발하게 되는 데, 본 연구에서 또한 고지방 및 고콜레스테롤 식이로 부터 산화스트레스로 인해 항산화효소의 불균형이 유발되었으나 부평초의 공급으로 인해 대표적인 항산화 효소, SOD, Gpx 및 catalase의 활성이 유의적으로 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. Choi 등[5]의 연구에서 산화를 방어하는

Table 3. Effects of *Spirodela polyrhiza* (SP) on hepatic superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (Gpx) and catalase activities in rats fed high fat and high cholesterol diets

Groups <sup>1)</sup>	SOD (unit/mg protein/min)	Gpx (nmol NADPH/min/mg protein)	Catalase (nmol/mg protein/min)
N	7.057±0.83 <sup>c2)</sup>	68.77±4.28 <sup>c</sup>	7.710±1.22 <sup>b</sup>
HF	4.802±0.94 <sup>d</sup>	57.91±3.79 <sup>d</sup>	6.772±0.67 <sup>b</sup>
SPA	8.562±0.92 <sup>bc</sup>	87.59±0.40 <sup>a</sup>	11.76±0.45 <sup>a</sup>
SPB	15.15±1.56 <sup>a</sup>	80.61±2.19 <sup>b</sup>	13.65±1.04 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Experimental conditions are same as Table 1.  
<sup>2)</sup>All values are the means ± SE (n=10).  
<sup>a-d)</sup>Those with different superscript letters are significantly different at *p*<0.05 by Tukey's test.

생리활성 성분이 풍부한 산채나물인 참나물, 다래순, 미역취, 방풍나물 및 삼나물을 동결 건조한 파우더를 3%로 추가로 공급하자 고지방 및 고당질식으로 감소된 항산화 효소 SOD, Gpx 및 catalase 활성을 증가시켰다. 또한 Lee 등[16]의 연구에서도 항산화 활성 성분이 높은 물푸레나무과에 속하는 연교의 추출물이 Gpx 활성도를 높였으며, Heo 등[9]의 연구에서도 고지방식으로 인한 산화스트레스로 인해 감소된 항산화 효소 SOD, Gpx 및 catalase 효소 모두를 천궁 추출물 공급으로 인해 증가시켰다. 이러한 연구들은 본 연구들의 결과와도 유사하였다. 앞서 연구한 선행연구에서는 부평초의 열수 추출물과 에탄올 추출물에서 페놀 및 플라보노이드 함량을 100 µg/ml부터 2,500 µg/ml의 농도에서 측정된 결과, 페놀 함량은 열수 추출물에서 52.75~293.4 mg/g, 에탄올 추출물에서 60.12~398.4 mg/g였으며, 총 플라보노이드 함량의 경우 열수 추출물은 38.25~67.75 mg/g, 에탄올 추출물은 38.25~159.4 mg/g로 높은 페놀 및 플라보노이드 함량이 관찰되어졌다 [31]. 이러한 연구들의 결과로 미루어 부평초에 포함된 페놀 및 플라보노이드는 다양한 항산화 생리활성 성분들과 함께 체내 대표적인 항산화효소들의 활성을 증가시키는 데 기여하였으리라 사료된다.

**간 조직의 superoxide radical (·O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 함량**

생체의 대사과정에서 불가피하게 발생하는 hydroxyl radical (·OH), superoxide radical (·O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 등을 활성산소라 하는 데, 그 중 superoxide radical은 활성산소 중 생성의 주요한 원인이 되는 데 생체 내 조직이나 DNA, 단백질 등에 손상을 일으켜 세포막의 다가 불포화 지방산 등에 관여하여 세포의 기능의 손상까지 유발시킨다[11]. 간 조직의 mitochondria 및 microsome에서 superoxide radical 함량을 측정된 결과는 Table 4와 같다. Mitochondria에서는 N 군에 비해 HF 군에서 유의적으로 증가되었으나, 부평초를 5% 및 10%로 각각 공급한 SPA 및 SPB 군 모든 군에서 유의적

Table 4. Effects of *Spirodela polyrhiza* (SP) on hepatic superoxide radical contents in rats fed high fat and high cholesterol diets

Groups <sup>1)</sup>	Superoxide radical (nmoles/mg protein/min)	
	Mitochondria	Microsome
N	12.37±2.94 <sup>b2)</sup>	13.51±0.56 <sup>b</sup>
HF	19.13±1.90 <sup>a</sup>	32.13±1.96 <sup>a</sup>
SPA	8.354±1.48 <sup>bc</sup>	14.62±0.83 <sup>b</sup>
SPB	6.710±0.57 <sup>c</sup>	5.528±0.73 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Table 1.  
<sup>2)</sup>All values are the means ± SE (n=10).  
<sup>a-c)</sup>Those with different superscript letters are significantly different at *p*<0.05 by Tukey's test.

으로 감소되었다. Microsome에서도 또한 N군에 비해 HF 군에서 유의적으로 증가되었으나 부평초를 공급한 모든 군에서 유의적으로 감소되었으며, 특히 부평초를 공급한 군들 사이에서도 농도별 유의한 차이를 관찰 할 수 있었다. Rhim과 Choi [24]의 연구에 의하면 quercetin, quercitrin 및 hyperin 등의 다양한 flavonoids를 가진 만병초 추출물은 superoxide radical 소거능을 농도의존적으로 나타내었으며, Rhim 등[25]의 연구에서는 saponin, tannin 및 flavonoids를 함유한 소리쟁이 추출물 또한 농도가 증가할수록 superoxide radical 소거능이 증가되었다. 선행연구에서 부평초의 열수 및 에탄올 추출물은 DPPH 및 ABTS radical을 농도의존적으로 소거하였다[31]. Song과 Choi [29]의 연구에서 또한 고지방 및 고콜레스테롤 식이로 인해 증가된 흰쥐의 간 조직의 superoxide radical을 β-sisterol, flavonoid 및 saponin 등 다양한 생리활성 성분을 가진 뱀딸기풀 파우더를 추가로 공급하자 정상군 수준으로 감소하였다. 따라서, 본 연구 결과는 부평초에 포함 된 페놀 및 플라보노이드 화합물이 suproxide radical 감소에 관련 되리라 예측된다.

**간 조직의 hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 함량**

Hydrogen peroxide는 산화스트레스를 받은 상태나 생물학적으로 SOD로 촉매되는 과정에서 superoxide radical로부터 생성되어져 과도하게 생성되게 되면 생체 내 단백질이나 DNA 등을 손상시키고 과산화지질의 생성 또한 증가시킨다고 알려져 있는 데 [21], 이러한 radical인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 함량을 간 조직의 cytosol 및 mitochondria에서 측정된 결과는 Table 5와 같다. Cytosol에서 측정된 결과 N 군에 비해 HF 군에서 유의적으로 증가하였으나, 부평초를 공급한 군에서 감소하였으며, 특히 10%를 공급한 군에서 유의한 차이를 나타내었다. Mitochondria에서는 N군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었으나, 부평초를 5% 및 10%로 공급한 모든 군에서 고지방 및 고콜레스테롤 식이로 증가된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 함량이 정상군 수준으로 유의적인 감소를 하였다. Kim 등[13]의 연구에 의하면 이질풀이라고 하는 현지초에는 epicatechin, kaempferitrin, gallic acid,

Table 5. Effects of *Spirodela polyrhiza* (SP) on hepatic hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) contents in rats fed high fat and high cholesterol diets

Groups <sup>1)</sup>	Hydrogen peroxide (nmoles/mg protein/min)	
	Cytosol	Mitochondria
N	0.921±0.08 <sup>b2)</sup>	1.170±0.09 <sup>b</sup>
HF	1.226±0.11 <sup>a</sup>	1.405±0.06 <sup>a</sup>
SPA	0.960±0.13 <sup>ab</sup>	1.128±0.02 <sup>b</sup>
SPB	0.917±0.15 <sup>b</sup>	1.112±0.02 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>All values are the means ± SE (n=10).

<sup>a,b</sup>Those with different superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

quercetin 및 protocatechuic acid 등 다양한 페놀성 화합물들이 주로 함유되어 있는 데, 이러한 성분을 가진 현지 초 추출물을 경구투여하자 정상식이군에 비하여 증가한 대조군의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 함량을 5% 정도 감소시켰다. Han과 Jang의 연구[7]에 의하면 부평초 에탄올 추출물은 reactive oxygen species (ROS) 저해 활성을 농도의존적으로 감소시켰으며, 본 연구자의 선행연구에서도 부평초의 열수 및 에탄올 추출물은 다양한 활성산소를 감소시켰다[31]. 부평초에는 flavonoid 외에도 다양한 페놀 물질 및 여러 항산화물질을 함유하는 데 이러한 물질들은 활성산소를 제거하는 데 탁월하게 작용했으리라 사료된다.

**간 조직 중의 carbonyl value**

생체막에 있는 단백질은 활성산소에 의해 쉽게 공격을 받게 된다. 산화적 스트레스로 인한 활성산소에 의해서 단백질의 산화는 발생하게 되는 데, 이러한 산화단백질의 대표적 생성 지표로 알려져 있는 carbonyl value 함량을 측정한 결과는 Fig.

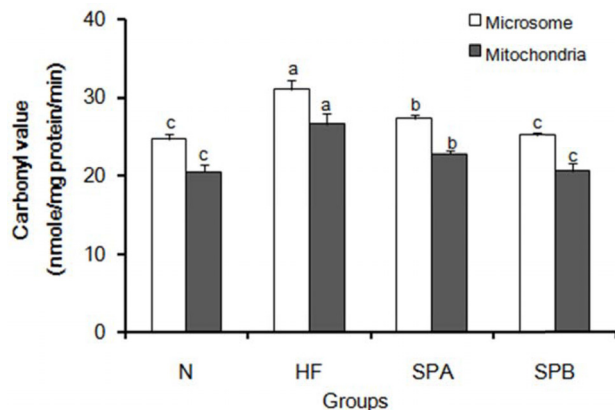


Fig. 1. Effects of *Spirodela polyrhiza* (SP) on hepatic carbonyl value in rats fed high fat and high cholesterol diets. Experimental conditions are same as Table 1. All values are the means ± SE (n=10). <sup>a-c</sup>Those with different superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

1과 같다. Microsome에서 산화단백질 함량을 측정한 결과 N군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었으나 부평초의 공급으로 유의적으로 감소되었으며 특히 10% 공급군에서는 정상군 수준의 감소를 보였고 부평초를 농도별로 공급한 군들 사이에서 유의성도 관찰되었다. Mitochondria에서도 N군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가한 산화단백질이 부평초의 공급으로 유의적으로 감소되었으며, 부평초를 공급한 군 사이에서 농도의존적인 감소를 나타내었다. 고지방 및 고콜레스테롤 식이는 체내 산화단백질을 증가시켰는데, 다양한 항산화물질을 가진 뱀딸기풀 파우더를 본 부평초의 농도와 마찬가지로 5% 및 10%로 공급하자 고지방 및 고콜레스테롤 식이로 간 조직의 microsome 및 mitochondria에서 증가된 산화단백질의 함량이 유의하게 감소되었다[29]. Rhee 등[23]의 연구에서도 고콜레스테롤 식이로 증가된 carbonyl 함량이 무청파우더를 5% 및 10% 추가로 공급하자 정상군수준으로 모두 감소되었는데, 이는 무청 속에 항산화지표인 페놀성 물질 및 flavonoid가 다양하게 함유되어 있는 데, 이러한 성분들이 산화단백질의 감소에 기여 했으리라 고찰했다. 또한 Lee 등[17]의 연구에서도 다양한 flavonoid들과 함황 화합물 등 항산화물질을 다량 함유하고 있는 부추 파우더를 2% 및 5%의 농도로 마우스에 각각 공급한 결과 간 조직 내 산화단백질의 생성량이 대조군에 비해 유의하게 감소되어지는 것을 관찰하였다. 이러한 결과들로 미루어 부평초 파우더의 공급으로 간 조직 내 carbonyl 함량이 감소되어 단백질산화 방어에 유의적으로 작용한 것은 부평초 내 다양하게 함유된 항산화력의 지표가 되는 물질들이 관여하였으리라 사료된다.

**간 조직 중의 과산화지질(TBARS) 함량**

세포의 불포화지방산은 활성산소와 반응하여 불포화지방산의 radical이 된다. 이 radical은 산소와 결합하여 hydroperoxide, endoperoxide 및 polyepoxide 등과 같은 지질과산화물로 되어 분해되는데[22], 이러한 지질과산화 반응의 산물인 malondialdehyde을 나타내는 TBARS 함량을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. N군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었으나, 부평초를 공급한 모든 군에서 유의적인 감소를 나타내었다. Malondialdehyde의 농도가 증가되면 생체의 세포에 산화적 손상을 일으켜 여러 질환을 유발시키는 과산화지질 함량을 증가하게 되는 데, 이러한 수치를 부평초가 유의하게 감소시켰다. Son 등[28]의 연구에 의하면 고지방 및 고콜레스테롤 식이로 인해 지질과산화물인 TBARS의 함량이 증가되었으나 냇가나 바다근처에서 자라는 갯기름나물은 지질과산화물을 감소시켰는데 이는 갯기름나물에 함유된 polyphenol 및 flavonoid 등의 생리활성 물질 등이 지질과산화물 소거에 관여하였으리라 보고하였으며, Choi 등[5]의 연구에서도 산채나물을 동결건조하여 공급한 결과 고지방 및 고당질 식이에 의해 간 조직의 과산화지질 함량이 증가하였으나 유의적으로 감소

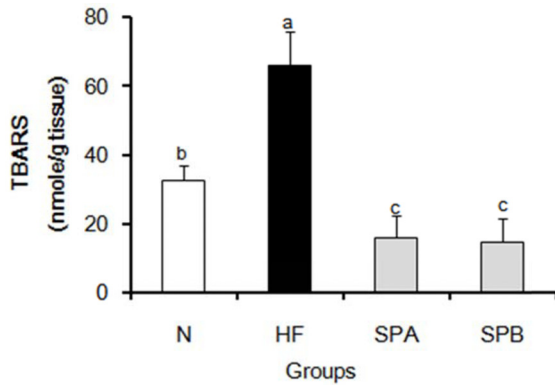


Fig. 2. Effects of *Spirodela polyrhiza* (SP) on thiobarbituric acid reaction substance (TBARS) values in rats fed high fat and high cholesterol diets. Experimental conditions are same as Table 1. All values are the means  $\pm$  SE (n=10). <sup>a,b</sup>Those with different superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

시켰다. Kim 등[12]의 연구에서는 terpenoid, polyphenol, tannin, amygdalin 및 flavonoid 등 생리활성성분들을 다양하게 가진 비파 잎 추출물을 고농도로 공급하자 고지방 및 고콜레스테롤 식이로 인해 증가된 TBARS 수치를 유의하게 감소시켰다. 고지방 및 고콜레스테롤 식이는 체내 과산화물을 증가시키는 데, phenol, flavonoid, 비타민 및 여러 생리활성성분들을 가진 식물들은 이러한 수치를 유의적으로 감소시키는 데 기여하였다. 지질과산화 반응은 다가불포화지방산의 활성산소로 인해 생체막의 손상을 일으키고 그리하여 생체막의 기능저하, 세포의 노화 및 여러 질병을 초래할 수 있는[10, 14], 데 본 연구에서 사용된 부평초는 항산화능에 효과적인 다양한 polyphenol 및 flavonoid 함량이 높아 간 조직의 지질과산화 제거에 억제시키는 데 유용한 물질로 작용할 수 있으리라 기대된다.

### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

### References

1. Abei, H., Wyss, S. R., Scherz, B. and Skvaril, F. 1974. Heterogeneity of erythrocyte catalase II. isolation and characterization of normal and variant erythrocyte catalase and their subunits. *Eur. J. Biochem.* **48**, 137-145.
2. Ahn, Y. S., Seong, N. S., Ham, I. H. and Choi, H. Y. 2004. Study on the effect of medicinal herbs used as Bu-pyung (*S. polyrhiza* and *L. paucicostata*) on immune and anti-cancer. *Kor. J. Herbology* **19**, 117-127.
3. Aruoma, O. I., Kaur, H. and Halliwell, B. 1991. Oxygen free radicals and human diseases. *J. R. Soc. Health* **111**, 172-177.
4. Azzi, A., Montecucco, C. and Richter, C. 1975. The use of acetylated ferricytochrome c for the detection of superoxide radicals produced in biological membrane. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **65**, 597-603.
5. Choi, H. N., Kang, S. J., Choe, E., Chung, L. and Kim, J. I. 2014. Antioxidant effects of Sanchae-namul in mice fed high-fat and high-sucrose diet. *Kor. J. Food Cook. Sci.* **30**, 369-377.
6. Gay, C. and Gebicki, J. M. 2000. A critical evaluation of the effect of sorbitol on the ferric-xylenol orange hydroperoxide-assay. *Anal. Biochem.* **284**, 217-220.
7. Han, J. S. and Jang, H. I. 2016. Study on the antioxidant, anti-inflammatory and Preservative Features of *Nelumbinis Folium, Spirodela Herba*. *J. Korea Soc. Beauty Art.* **17**, 27-38.
8. Harborne, J. B. 1986. The natural distribution in angiosperms of anthocyanins acylated with aliphatic dicarboxylic acids. *Phytochemistry* **25**, 1887-1894.
9. Heo, Y. Y. and Ha, B. J. 2011. Effect of *Ligusticum duonxiang Hort* extracts on the bioactivity in high-fat diet-fed obese rats. *J. Fd. Hyg. Safety* **26**, 370-376.
10. Joo, H. Y. and Lim, K. T. 2009. Protective effect of glycoproteinisolated from *Cudrania tricuspidata* on liver in CCl<sub>4</sub>-treated A/J mice. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **41**, 93-99.
11. Kang, H. J., Kim, H. S., Jeon, I. H., Mok, J. Y., Han, K. S. and Jang, S. I. 2013. Effects of antioxidant and blood flow improvement of grape leaf extract and resveratrol from *Vitis rotundifolia*. *J. Kor. Soc Food Sci Nutr.* **42**, 1736-1743.
12. Kim, A. R., Hwang, Y. G., Lee, J. J., Jung, H. O. and Lee, M. Y. 2011. Effects of *Eriobotrya japonica* Lindl. (Loquat) leaf ethanol extract on cholesterol and antioxidative activity in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **40**, 673-681.
13. Kim, S. G., Lamichhane, R., Sharma, D. K., Lee, K. H., Choi, J. W. and Jung, H. J. 2014. Anti-obesity and anti-hyperlipidemic effects of butanol soluble fraction from methanol extract of *Geranium thunbergii* in sprague-dawley rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **45**, 69-76.
14. Kim, S. Y., Kim, J. H., Ki, S. K., Oh, J. and Jung, M. Y. 1994. Anti oxidant activity of selected oriental herb extracts. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **71**, 633-640.
15. Lawrence, R. A. and Burk, R. F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**, 952-958.
16. Lee, J. M., Choe, S. W., Jo, S. H. and Lee, S. J. 2003. Effect of *Forsythia Viridissima* extracts on antioxidative system and lipid peroxidation of liver in rats fed high-cholesterol diet. *J. Nutr. Health* **36**, 990-996.
17. Lee, M. J., Ryu, B. M., Lee, Y. S. and Moon, G. S. 2002. Effect of long term buchu (Chinese chives) diet on antioxidative system of ICR Mice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 834-839.
18. Levin, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G., Ahn, B. W., Shaltiel, S. and Stadtman, E. R. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* **186**, 464-478.
19. Lovlin, R., Cottle, W., Pyke, I., Kavanagh, M. and Belcastro, A. N. 1987. Are inducers of free radical damage related to exercise intensity. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* **6**, 313-

- 316.
20. Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxideanion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 469-474.
  21. Park, S. N. 1997. Skin aging and antioxidants. *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* **23**, 75-132.
  22. Park, Y. S. 2010. Antioxidant effects and improvement of lipid metabolism of *Acanthopanax cortex* water extract in rats fed high fat diet. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **20**, 37-45.
  23. Rhee, S. J., Ahn, J. M., Ku, K. H. and Choi, J. H. 2006. Effects of radish leaves powder on hepatic antioxidative system in rats fed high-cholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 1157-1163.
  24. Rhim, T. J. and Choi, M. Y. 2011. The antioxidative effects of *Rhododendron brachycarpum* extracts. *Kor. J. Plant Res.* **24**, 456-460.
  25. Rhim, T. J., Choi, M. Y. and Park, H. J. 2012. Antioxidative activity of *Rumex crispus* L. extract. *Kor. J. Plant Res.* **25**, 568-577.
  26. Satoh, K. 1978. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new metric method. *Clin. Chem. Acta.* **90**, 37-43.
  27. Sollot, L. A., Futenberg, H. L. and Lacko, A. G. 1973. Serum cholesterol esterification in patients with coronary heart disease. Importance of initial rate of esterification expressed as a function of free cholesterol. *Am. Heart J.* **85**, 153-161.
  28. Son, H. K., Kang, S. T. and Lee, J. J. 2014. Effects of *Peucedanum japonicum* Thunb. on lipid metabolism and antioxidative activities in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **43**, 641-649.
  29. Song, W. Y. and Choi, J. H. 2017. Effects of *Duchesnea chrysantha* on regulation of antioxidative defense system in rats fed a high-fat·high-cholesterol diet. *J. Life Sci.* **28**, 83-89.
  30. Song, W. Y. and Choi, J. H. 2019. Effects of selenium-treated *Spinacia oleracea* L. on antioxidative enzyme activities and oxidative damage in rats fed high-fat and high-cholesterol diets. *J. Food Hyg. Saf.* **34**, 388-395.
  31. Song, W. Y. and Choi, J. H. 2017. Total phenols, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Spirodela polyrhiza* extracts. *J. Life Sci.* **27**, 180-186.
  32. Sreel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1990. Principles and procedures of statistics. McGraw Hill, New York, NY, USA.
  33. Suh, S. S. and Shin, J. S. 1969. Studies on phytosterols. *Yakhakhoe Chi.* **13**, 144-146.
  34. Turley, E., Armstrong, N. C., Wallace, J. M. W., Gilore, W. S., Mckelvey-Martin, J. V., Allen, T. M. and Strain, J. J. 1999. Effect of cholesterol feeding on DNA damage in male and female Syrian hamsters. *Ann. Nutr. Metab.* **43**, 47-51.
  35. Wallace, J. W. 1975. Biosynthetic studies on flavones and C-glycosylflavones: B-ring oxidation patterns. *Phytochemistry* **14**, 1765-1768.

## 초록 : 고지방 및 고콜레스테롤 식이로 유도 된 비만 쥐에서 부평초의 간 조직에서의 항산화 활성에 미치는 영향

송원영 · 최정화\*

(한국국제대학교 식품영양학과)

본 연구에서는 부평초가 고지방과 고콜레스테롤 식이로 산화손상이 유도된 비만 쥐에서 간 조직의 항산화 효소활성 및 활성산소의 제거에 미치는 영향을 보고자 하였다. 실험군은 정상 식이군(N 군), 고지방과 고콜레스테롤 식이군(HF 군), 고지방과 고콜레스테롤 식이에 부평초를 5% 첨가한 군(SPA 군), 고지방과 고콜레스테롤 식이에 부평초를 10% 첨가한 군(SPB 군)으로 나누었다. 식이 및 식수는 자유섭취하게 하였으며 4주간 사육한 후 희생시켰다. 먼저 체중, 식이량 변화 및 간 무게의 변화를 측정된 결과, 체중에서는 N 군에 비해 HF 군에서 유의적으로 증가하였으나, 그 외의 군간의 차이는 나타내지 않았으며, 식이량에서 또한 각각의 실험군에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 간 무게 에서는 N 군에 비해 HF, SPA 및 SPB 군에서 유의적으로 증가하였으나, 그 외의 실험군 간의 유의적인 차이는 나타내지 않았다. 간 조직에서 주요 항산화 효소의 활성도에서 SOD는 N 군에 비해 HF 군에서 감소되었으나 부평초를 공급한 SPA 및 SPB 군에서는 유의적으로 증가되었다. Gpx 및 catalase 또한 고지방과 고콜레스테롤 섭취로 인해 감소된 활성이 부평초의 공급으로 유의적으로 증가되었다. Superoxide radical 함량을 mitochondria 및 microsome에서 측정된 결과 N 군에 비해 HF 군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 부평초 공급한 모든 군에서 유의하게 감소되었다. 특히 microsome에서는 군간의 유의한 차이도 나타났다. 간 조직의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 함량은 mitochondria에서는 SPA 및 SPB군 모두에서 유의적인 감소로 정상군 수준을 나타내었고, cytosol 에서는 10% 부평초 공급군에서 유의적으로 감소되었다. 간 조직의 microsome 및 mitochondria에서의 carbonyl value는 N 군에 비해 HF 군에서 유의적으로 증가 되었으나 부평초의 공급으로 유의적으로 감소하였고 특히 군간의 유의한 차이도 나타났다. TBARS를 간 조직에서 관찰 한 결과 N 군에 비해 HF 군에서 유의적으로 증가 하였으나 SPA 및 SPB 모든 군에서 유의한 감소를 나타내었다. 이러한 결과로 미루어 부평초에 함유된 여러 생리활성 물질들은 고지방과 고콜레스테롤 식이로 인해 산화적으로 손상된 간 조직의 재생에 작용하여 항산화 효과에 탁월하게 작용하였음이 사료된다.