

Scopolamine으로 유도된 기억 손상 마우스에서 청국장 식이의 항산화 효과

공현주¹ · 이경은² · 양경미^{1*}

¹대구의대학교 한방식품조리영양학부, ²영남이공대학교 간호학과

Antioxidant Effect of *Chungkukjang* Supplementation against Memory Impairment induced by Scopolamine in Mice

Hyun-Joo Kong¹, Kyung-Eun Lee² and Kyung-Mi Yang^{1*}

¹Faculty of Cousine and Nutrition, Daegu Hanny University, Gyeongbuk 715-715, Korea

²School of Nursing, Yeungnam University College, Daegu 705-703, Korea

ABSTRACT

In this study, the antioxidant effect of *Chungkukjang* supplementation against memory impairment and oxidative stress in scopolamine (2 mg/kg i.p)-injected mice was investigated. The experimental animals were divided into five groups and fed experimental diets for 12 weeks; normal diet group (C), scopolamine + normal diet group (S), scopolamine + 63.0% soybean *Chungkukjang* supplementation group (SS), scopolamine + 45.0% *Yakkong Chungkukjang* supplementation group (SY), and scopolamine + 50.0% black foods such as black rice, black sesame seeds, and sea tangle added *Yakkong Chungkukjang* group (SYB). For the results of food intake, body weight gain, and brain weights, levels of scopolamine-injected groups were lower than the levels of the control group. The reduced brain weight of the scopolamine-injected group (S) was regulated to control level by supplementation of three types *Chungkukjang*. In the oxidative stress indicator, nitric oxide and malondialdehyde levels in serum of scopolamine-injected mice were higher than those of other groups. However, supplementation of soybeans, *Yakkong* and black foods added *Yakkong Chungkukjang* was proven to regulate them. Antioxidant enzyme activities such as superoxide dismutase (SOD) and glutathione-S-transferase (GST) in serum showed no significant differences among the groups. The reduced levels of vitamin A and vitamin E in serum and brain tissue of scopolamine-injected mice were controlled by supplementation of three types of *Chungkukjang*. Total antioxidant capacity (TAC) of scopolamine-injected group was lower than those of other groups. However, TAC was significantly elevated by *Chungkukjang* supplementation. Therefore, antioxidative effects of soybeans, *Yakkong*, and black foods added *Yakkong Chungkukjang* supplementations against oxidative stress in scopolamine-injected in mice could expected.

Key words: Scopolamine, *Chungkukjang*, *Yak-Kong*, black food, oxidative stress

서 론

퇴행성 질환 중 치매는 인지력과 기억력의 감퇴로 기억장애, 행동장애 및 성격변화 등으로 인해 유발되는 문제로 사회적인 관심을 받고 있다. 치매는 발생 원인에 따라 혈관성 치매(vascular dementia), 알츠하이머형 치매(Alzheimer's disease) 및 기타 질환에 의한 치매로 분류되며, 신경계 퇴행성 질환자의 대부분은 알츠하이머형 치매인 것으로 보고되었다(Kim JH 등 2009). 치매의 원인으로는 뇌 조직에서의 free radicals에 의한 산화적 스트레스(oxidative stress)를 받을 경우, 불포화지방산 함량은 감소하는 대신에 신경독성을 유발하는 산화 생성물인 4-hydroxynonenal(HNE)와 알데하이드

(aldehyde)의 농도 증가 등이 보고되고 있다(Markesbery WR & Carney JM 1999).

특히 뇌는 다른 조직에 비해서 산소 소모량과 불포화지방산 함량이 높고, 항산화 방어계가 취약하여 superoxide anion ($O_2 \cdot^-$), hydrogen peroxide(H_2O_2), hydroxyl radical($OH \cdot$)을 포함한 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)인 free radicals에 의한 손상이 큰 것으로 나타났다(Kim JH 등 2009; Markesbery WR & Carney JM 1999; Cheon JS 등 2003). 그러나 생체 내의 catalase, SOD, GSH-Px 효소 활성은 ROS의 손상에 중요한 방어 역할을 한다. SOD는 $O_2 \cdot^-$ 를 환원시켜 H_2O_2 로 바꾸어 주며, 이때 생성된 H_2O_2 는 다시 GSH-Px와 catalase의 작용에 의해 H_2O 로 배설됨으로써 $O_2 \cdot^-$ 의 독성으로부터 생체를 보호하는 것으로 알려져 있다(Mates JM & Sanchez-Jimenez F 1999). 세포 소기관 중 SOD가 분포해 있는 미토콘드리아는 free radicals의 산화적 손상에 대하여 취

* Corresponding author : Kyung-Mi Yang, Tel: +82-53-819-1490, E-mail: jiboosin@dhu.ac.kr

약하여 산화적 손상을 받을 경우 ATP(adenosine triphosphate) 생성량의 감소에 따른 에너지 물질 대사의 장애로 신경세포의 기능장애를 일으키게 된다. 그 결과, 산화적 스트레스에 의해 손상된 미토콘드리아 DNA는 신경세포의 퇴화로 허혈성 심장 질환, 당뇨병, 파킨슨 병, 알츠하이머형 치매 및 노화를 유발하게 된다(Wallace DC 1992). 이러한 연구결과를 기반으로 최근에는 ROS를 조절할 수 있는 천연항산화 식품에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

천연항산화 식품으로 다시마는 streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐에서 항당뇨와 항산화 효과를 보여 주었으며, 흑미의 추출물에서도 항산화 효과를 관찰할 수 있었다(Cho EJ 등 2012; Cho YJ & Bang MA 2004; Kim YS 등 2011). 그리고 Chang MS 등(2011)은 생식세포에서 흑지마의 항산화 효과를 보고하였으며, Kim JM 등(2010)은 70% 흑지마 에탄올 추출물이 scopolamine으로 유도된 기억력 손상 마우스의 기억력 개선 효과를 관찰하였다. 그 기전은 흑지마 성분 중 sesamin이 신경세포 손상으로 인한 염증반응의 매개체인 미세아교세포(microglia)의 활성화를 억제하여 chemokine 및 cytokine과 연결된 β -amyloid의 생성을 억제시켜 알츠하이머형 치매를 예방하는 역할을 하는 것으로 설명하였다.

항산화 성분으로 polyphenol의 함량이 풍부한 대표적인 식품으로 대두는 phytoestrogen인 isoflavone계의 genistein과 daidzein, 그리고 약콩은 anthocyanin의 함량이 높은 것으로 보고되었다(Caragay AB 1992). Hong JY 등(2014)의 연구에서는 대두와 약콩 분말의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 항산화력을 비교한 결과, 대두에 비해 약콩의 에탄올 추출물에서 총 polyphenol 함량이, 그리고 약콩의 열수추출물에서 flavonoids 함량이 높은 것으로 나타났다. 그러나 환원력은 약콩 추출물보다 대두추출물에서 2배 이상으로 높았다. Park HS 등(2013)은 본 연구에서 사용한 대두, 약콩 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 분말의 열수와 에탄올 추출물의 항산화력을 비교한 결과, 총 polyphenol 함량은 약콩 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 분말에서, 전자공여능과 xanthine oxidase 저해활성은 mL 당 0.625~5.0 mg의 농도에서 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 분말에서, SOD 유사활성은 대두청국장에서, 그리고 환원력은 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장과 대두청국장에서 높은 것으로 나타났다. 따라서 항산화력은 대두보다 anthocyanin 함량이 높은 약콩이나 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장에서 높은 경향을 보였다. Anthocyanin 함량이 높은 자색고구마 추출물의 경우, *in vitro* 실험에서는 H₂O₂에 의해 유발된 뇌신경 세포막 손상에 대하여 보호효과를 보임으로써 정상적인 뇌신경의 기능을 위하여 anthocyanin 함량이 높은 식품의 중요성이 강조되고 있다(Kwak JH 등 2010).

이에 본 연구에서는 대두청국장, 약콩 청국장 및 흑미, 흑

지마, 그리고 다시마가 함유된 약콩 청국장 분말의 항산화능이 scopolamine으로 유도된 기억 손상 마우스의 산화적 스트레스에 미치는 연구를 하고자 하였다. 그 결과를 기반으로 알츠하이머형 치매 예방 및 관리와 기억력 향상을 위한 청국장의 우수성을 알리기 위한 기반자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

본 실험에서는 100% 대두로 제조한 대두청국장 분말(SC), 100% 약콩으로 제조한 약콩 청국장 분말(YC) 및 흑미, 흑지마, 다시마를 각각 6%, 6%, 2%, 그리고 86%의 약콩 청국장 분말을 섞어서 제조한 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 분말(YCB)을 전라북도에 있는 (주)지리산 두류실(JirisanKong Co., Namwongsi, Korea)에서 구입하여 식이로 사용하였다. 시약으로는 NO(nitric oxide) 및 MDA(malondialdehyde) 함량 측정용 kit, SOD(superoxide dismutase) 및 GST(glutathione-S-transferase) 활성 및 TAC(total antioxidant capacity) 측정용 kit는 Biovision사(ST Louis, MO, U.S.A.) 제품을 구입하여 사용하였다. Retinol, retinyl acetate, tocopherol 및 tocopherol acetate는 Sigma사(St Louis, MO, U.S.A.), 그리고 HPLC 용 methanol, ethanol, diethyl ether, chloroform 및 acetonitrile는 Merck사(Parmstadt, Germany) 제품을 사용하였다. 그 외 일반시약은 특급 또는 일급품으로 사용하였다.

2. 실험동물 사육 및 식이

실험에 사용된 ICR(Institute of Cancer Research) 마우스는 효창 사이언스(Daegu, Korea)에서 8주령(30~35 g)에 분양 받아 2주 동안 일반배합 고형사료로 환경에 적응시킨 다음 체중에 따라 각 군당 10마리씩 5군으로 완전임의 배치하여 사육하였다. 실험동물 사육 환경으로 온도는 22±4°C, 상대습도는 65±5%, 명암은 12시간 주기(09:00~21:00)로 조절하였다. 음용수와 식이는 전 실험기간 동안 *ad libitum*으로 급여하였다. 실험에 사용된 식이는 AIN-93 조성에 근거하여 정제된 원료로 배합하였다. 식이재료 및 제조된 식이는 산패 방지를 위하여 4°C에서 냉장·보관하여 사용하였다.

식이구성은 Table 1에 제시한 바와 같이, 정상식이군(Control군), 정상식이+scopolamine 투여군(S군), 63.0% 대두청국장 분말 첨가식이+scopolamine 투여군(SS군), 45.0% 약콩 청국장 분말 첨가식이+scopolamine 투여군(SY군) 및 50.0% 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 분말 첨가식이+scopolamine 투여군(SYB군)으로 나누어 12주간 실험식을 공급하였다. 이때 청국장 분말의 첨가 비율은 Yang JL 등(2003)의 방법에 의거하여 각 실험군의 식이 내 단백질 함량이 약 19.2~20.0

Table 1. Composition of experimental diets

(%)

Ingredient	Control	S	SS	SY	SYB
Corn starch	55.0	55.0	20.8	38.8	33.8
Casein	20.0	20.0	-	-	-
Sucrose	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Soybean oil	5.0	5.0	-	-	-
α -Cellulose	5.0	5.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mix ²⁾	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix ³⁾	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
DL-Methionine	0.3	0.3	0.5	0.5	0.5
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
SC ⁴⁾	-	-	63.0	-	-
YC ⁵⁾	-	-	-	45.0	-
YCB ⁶⁾	-	-	-	-	50.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

¹⁾ The experimental diet group are as follow: C: Supplementation of normal diet in control mice, S: supplementation of normal diet in scopolamine injected mice (2.0 mg/kg, i.p.), SS: Supplementation of 63.0% soybean *Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2.0 mg/kg, i.p.), SY: Supplementation of 45.0% *Yakkong Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2.0 mg/kg, i.p.), SYB: Supplementation of 50% *Yakkong Chungkukjang* powder added black food in scopolamine injected mice (2.0 mg/kg, i.p.).

²⁾ AIN-93G-MX.

³⁾ AIN-93G-VX.

⁴⁾ SC: Soy beans *Chungkukjang* powder.

⁵⁾ YC: *Yakkong Chungkukjang* powder.

⁶⁾ YCB: *Yakkong Chungkukjang* powder added black foods.

가 되도록 조정하였다. 그리고 카제인을 섭취한 C군과 S군에 비해 DL-methionine의 섭취가 부족한 SS, SY 및 SYB군에서는 DL-methionine 0.2%를 더 첨가하였다. 성장상태는 매주 1회 12시간 동안 식이공급을 중단시킨 후 체중을 측정하였고, 식이효율은 실험기간 중 체중증가량을 식이섭취량으로 나누어 계산하였다.

3. 기억력 손상 유발

실험동물의 인지능력 장애로 인한 기억력 손상을 유도하기 위하여 Lee MR 등(Lee MR 등 2009)의 방법에 준하여 생리적 식염수에 녹인 scopolamine(Sigma, 2.0 mg/kg i.p.)을 복강 내로 투여하였으며, 정상군은 동량의 0.9% 생리식염수를 투여하였다. Scopolamine의 총 투여 횟수는 5회로 연속해서 5일 동안 매일 1회 일정 시각에 이루어졌다.

본 연구는 동물보호법(제정 1991년 5월 31일 법률 제4397호, 일부 개정 2008년 2월 29일 법률 제8852호)을 근거하여 대구한의대학교 동물실험윤리위원회에 의해 승인받아 수행

되었다(승인번호: DHU 2013-040).

4. 시료채취

시료는 실험동물을 희생시킨 다음 복부 대정맥에서 혈액을 채취하여 3,000 \times g에서 10분간 원심분리한 후 얻은 혈청을 사용하였다. 적출한 장기들은 완충용액에 여러 번 세척한 다음 여과지로 수분을 완전히 제거하고 칭량하였다. 그런 다음 뇌 조직은 즉시 10배의 12.5 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 균질화하여 1,000 \times g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 사용하였다.

5. 산화적 스트레스 관련 생화학 성분 분석

혈청과 뇌 조직의 NO 함량은 Griess 용액을 이용하여 NO로부터 생성된 nitrate 및 nitrite 함량을 측정하는 NO 정량용 Biovision사 kit를 이용하여 microplate reader에서 흡광도를 측정하여 분석하였다. 이때 흡광도는 540 nm에서 측정하였다. 지질과산화물(MDA) 함량은 혈청과 뇌 균질액 10 μ L를 시료

로 취하여 MDA 정량용 Biovision사 kit 항산화 효소 중 SOD와 GST 활성은 혈청과 뇌 균질액 20 μ L를 시료로 취하여 상용화된 Biovision사 kit를 사용하여 각각 450 nm와 340 nm에서 측정하였다. TAC는 trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)법에 따라 분석하는 TAC 측정용 kit를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. 비타민 A와 E 함량

혈청과 retinol 및 retinyl acetate 함량은 Bieri JG 등(1979)의 방법에 의하여 hexane으로 전 처리한 후 HPLC(Shimadzu, Kyoto, Japan)로 정량하였다. 뇌 조직의 retinol 함량은 Furr HC 등(1984)의 방법에 따라 뇌 조직의 수분을 제거할 목적으로 2~3배의 anhydrous sodium sulfate(w/w)를 가하여 마쇄하여 추출한 후, HPLC용 diethylether-methanol로 용해시켜 취한 일정량의 시료를 HPLC에 주입시켰다. 혈장과 뇌 조직의 α -tocopherol과 α -tocopherol acetate의 함량은 retinol과 retinyl acetate와 동시에 추출하여 HPLC에서 동시 정량하였다(Bieri JG 등 1979). HPLC 분석조건은 μ Bondapak C₁₈(30 cm \times 3.9 mm, 10 μ m)을 사용하였으며, mobile phase는 methanol과 H₂O를 95 : 5(v/v)로 하였다. Flow rate는 1.5 mL/min로 하였으며, UV Detector는 280 nm에서 정량하였다.

7. 통계처리

실험을 통하여 얻어진 자료는 SPSS package program version 21(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 분석하였다. 그 결과는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 각 실험군의 평균치의 통계적 유의성 검증은 일원배치분산분석(one way analysis of variance)을 한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 성장상태

실험동물의 체중증가량과 사료 효율을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 실험동물의 최초 체중은 모든 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나, 최종 체중은 C군 47.0 \pm 2.09 g, 그리고 S, SS, SY 및 SYB군에서는 각각 42.6 \pm 0.76 g, 39.8 \pm 0.87 g, 42.0 \pm 1.30 g 및 40.6 \pm 0.71 g으로 C군에 비해 scopolamine 투여군들에서 유의적으로 낮은 체중을 보였다($p < 0.05$). 또한 S, SS, SY 및 SYB군의 일일 체중증가량 및 사료효율도 C군에 비해 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 체중 100 g 당 장기 중량은 Table 3에서 제시하였다. 뇌 중량은 C군의 0.51 \pm 0.01 g에 비해 S군은 0.48 \pm 0.02 g으로 scopolamine의 처리로 감소되었다($p < 0.05$). 그러나 대두, 약콩 및 블랙푸드가 포함된 약콩 청국장 보충식이의 공급으로 정상적인 뇌 중량을 보였다. 간, 신장 및 심장의 무게는 모든 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.

비타민 C와 E가 scopolamine에 의한 인지능력 감퇴에 미치는 영향을 연구한 Ahn HS 등(1999)은 정상 쥐와 scopolamine을 투여한 쥐의 체중과 뇌 중량에는 유의적인 차이가 없다고 보고하였다. 그러나 Lee JE(2000)의 연구 결과에서는 정상 쥐에 비해 scopolamine으로 인한 치매 유도 쥐의 체중이 유의적으로 감소되는 것으로 나타났다. 치매나 뇌졸중 등 뇌 질환자의 경우에도 저체중 현상이 보고되고 있는데(Hughes TA & Wiles CM 1998; Martin D 2000; Ritter AM & Robert CS 1994), 그 원인은 의식 저하, 연하 곤란, 편마비, 운동성 저하, 저작 곤란 등으로 인해 부적절한 음식 섭취와 뇌 손상 직후에 유발되는 과대사증이 원인으로 설명되고 있다. 그리고 저체중은 급성기 또는 후급성기 환자의 회복상태와 밀접

Table 2. Effect of *Chungkukjang* supplementation on body weight gain, food efficiency ratio in scopolamine injected mice

Groups ¹⁾	Initial body weight	Final body weight	Body weight gain/day	FER ²⁾
	g			(%)
C	38.4 \pm 0.54 ^{3)NS4)}	47.0 \pm 2.09 ^{a5)}	0.06 \pm 0.01 ^a	0.10 \pm 0.02 ^a
S	38.1 \pm 0.49	42.6 \pm 0.76 ^b	0.03 \pm 0.01 ^b	0.05 \pm 0.00 ^b
SS	37.3 \pm 0.51	39.8 \pm 0.87 ^b	0.02 \pm 0.01 ^b	0.03 \pm 0.01 ^b
SY	38.4 \pm 0.69	42.0 \pm 1.30 ^b	0.02 \pm 0.01 ^b	0.05 \pm 0.01 ^b
SYB	36.7 \pm 0.57	40.6 \pm 0.71 ^b	0.03 \pm 0.01 ^b	0.05 \pm 0.01 ^b

¹⁾ See the group legend of Table 1.

²⁾ Food efficiency ratio: FER (body weight/food intake).

³⁾ Values are means \pm S.D., N=10.

⁴⁾ NS : not significant.

⁵⁾ Values with the same letter are not significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 3. Effect of *Chungkukjang* supplementation on brain, liver, kidney, and heart weights in scopolamine injected mice (g/100 g B.W.)

Groups ¹⁾	Brain	Liver	Kidney	Heart
C	0.51±0.01 ^{2)a3)}	1.97±0.16 ^{NS4)}	0.68±0.03 ^{NS}	0.23±0.01 ^{NS}
S	0.48±0.02 ^b	1.83±0.09	0.63±0.02	0.22±0.01
SS	0.52±0.00 ^a	1.82±0.07	0.71±0.02	0.21±0.01
SY	0.53±0.01 ^a	1.84±0.14	0.70±0.03	0.23±0.01
SYB	0.52±0.01 ^a	1.79±0.07	0.71±0.04	0.22±0.01

¹⁾ See the group legend of Table 1.

²⁾ Values are means±S.D., N=10.

³⁾ Values with the same letter are not significantly different at $p<0.05$ by duncan's multiple range test.

⁴⁾ NS : not significant.

한 관계가 있으므로 뇌 질환자의 회복에 체중관리는 중요한 요인으로 작용할 것으로 보여진다.

본 연구에서도 정상군에 비해 scopolamine을 투여한 군들에서 낮은 체중증가량과 식이효율 및 뇌 중량의 감소 현상을 보였으며, 이에 청국장 첨가 식이는 뇌 중량 변화에 보호 효과를 미친 것으로 나타났다.

2. 산화적 스트레스 관련 물질

1) Nitric Oxide(NO) 수준

마우스의 혈청과 뇌 조직의 NO 수준을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 혈청 μL 당 NO 수준은 C군의 0.14 ± 0.02 nmol에 비해 S군이 0.51 ± 0.12 nmol로 scopolamine의 투여로 $p<0.05$ 수준에서 유의적으로 3.6배 높았다. 그 반면에, SS군은 0.17 ± 0.03 nmol, SY군은 0.20 ± 0.03 nmol 및 SYB군은 0.24 ± 0.02 nmol로 scopolamine의 투여로 증가된 S군의 NO 수준은 대두, 약콩 및 블랙푸드에 함유된 약콩의 청국장 섭취로 정상 수준까지 낮출 수 있었다($p<0.05$). 뇌 조직에서 NO 수준은 C군의 1.49 ± 0.09 nmol에 비해 S군은 1.78 ± 0.06 nmol로 혈청과 마찬가지로 scopolamine의 투여로 유의적인 증가를 보였다($p<0.05$). 이때 SS군은 1.70 ± 0.06 nmol, SY군은 1.63 ± 0.06 nmol 및 SYB군은 1.55 ± 0.02 nmol로 scopolamine의 투여로 증가된 S군의 NO 수준에 대하여 청국장 보충식이는 아무런 영향을 미치지 못하였다.

β -Amyloid peptide(A β), estrogen, apolipoprotein E, prenilin, ROS, RNS(reactive nitrogen species), 염증, 사고에 의한 손상, 신경전달물질과 신경영양인자의 불균형 등에 의해 뇌 교세포 내 악성중양세포(microglial cell)가 활성화로 생성된 ROS는 뇌 신경세포 및 교세포의 손상에 의한 퇴행성 뇌 질환과의 관련성이 규명됨에 따라 생체 내 ROS의 생성과 억제

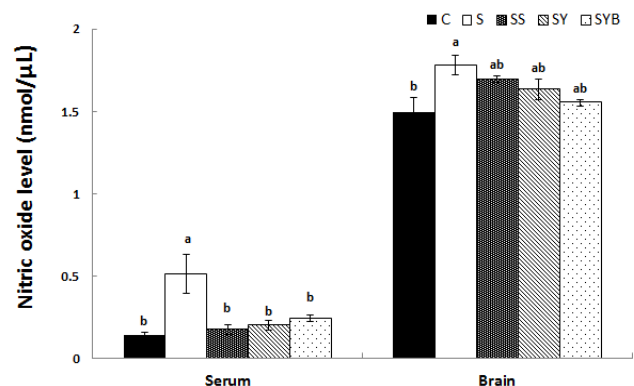


Fig. 1. Effect of *Chungkukjang* supplementation on serum and brain levels of NO in scopolamine injected mice. C: Supplementation of normal diet in control mice, S: supplementation of normal diet in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SS: Supplementation of 63% soybean *Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SY: Supplementation of 45% *Yakkong Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SYB: Supplementation of 50% *Yakkong Chungkukjang* powder added black food in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.). Values are mean±S.D. N=10. Means with the same lettered superscripts on bars are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$). NS: not significant.

에 관한 연구가 활발히 수행되고 있다(Chao CC 등 1992; Guix FX 등 2005; Pyo H 등 1999). 이와 관련된 연구 결과로 Kim HS(2007)는 알츠하이머형 치매를 일으키는 뇌 신경세포 손상 유발물질인 A β 를 투여군에서 신경세포의 사멸과 함께 정상군에 비해 20배 정도의 NO 증가 현상을 보고하였다. 그러나 항산화 성분 및 식품의 섭취나 항산화 효소를 증가시키는 경우 A β 에 의한 세포독성이나 뇌 조직 손상이 감소되는 것으로 나타났다(Jang JH & Surh YJ 2003; Kim YI 등 2008; Lee C 등 2015).

본 연구에서도 혈청과 뇌 조직에서 정상군에 비해 뇌 기억력 손상 물질인 scopolamine을 투여한 S군의 NO 수준은 MDA의 증가와 함께 높았으며, 이러한 결과는 scopolamine으로 유도된 기억력 감퇴 마우스가 산화적 스트레스를 받은 것으로 유추된다. 그러나 대두, 약콩 및 블랙푸드에 함유된 청국장 첨가 식이의 공급으로 혈청에서의 NO는 정상 수준을 보임에 따라서 청국장이 항산화 효과를 보인 것으로 유추되며, 청국장 종류에 따른 NO의 조절 능력에는 차이는 없는 것으로 나타났다.

2) 지질과산화물(MDA) 수준

마우스의 혈청과 뇌 조직의 mg protein 당 MDA 수준은 Fig. 2와 같다. 혈청의 MDA 농도는 C군의 46.1±0.78 nmol에 비해 S군은 59.4±0.40 nmol로 scopolamine 처리로 $p<0.05$ 수준에서 유의적으로 증가되었다. 그러나 scopolamine과 함께 청국장을 섭취시킨 SS군, SY군 및 SYB군은 각각 51.4±1.66 nmol, 50.2±1.09 nmol 및 48.1±2.70 nmol로 S군에 비해 유의적인 감소를 보였다($p<0.05$). 뇌 조직의 MDA 농도는 C의 14.3±0.28 nmol에 비해 scopolamine의 처리로 증가된 S군의 MDA 수준은 16.3±0.53 nmol로 두 군간에 유의적인 차이는 없었다. 이때 scopolamine의 처리와 함께 청국장 분말을 섭취시킨 SS, SY 및 SYB군의 MDA 수준은 각각 12.8±0.84 nmol,

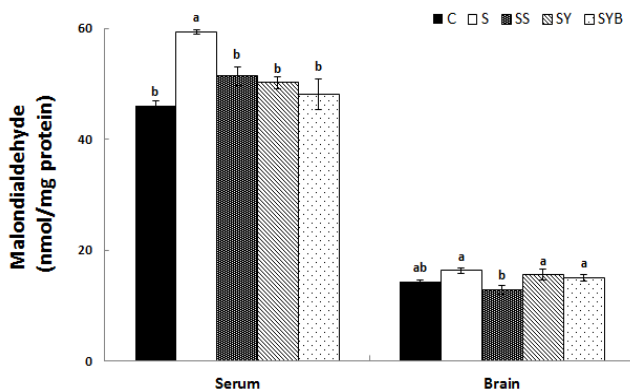


Fig. 2. Effect of *Chungkukjang* supplementation on serum and brain levels of malondialdehyde in scopolamine injected mice.

C: Supplementation of normal diet in control mice, S: supplementation of normal diet in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SS: Supplementation of 63% soybean *Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SY: Supplementation of 45% *Yakkong Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SYB: Supplementation of 50% *Yakkong Chungkukjang* powder added black food in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.). Values are mean±S.D. N=10. Means with the same lettered superscripts on bars are not significantly different by duncan's multiple range test($p<0.05$). NS: not significant.

15.5±0.99 nmol 및 15.0±0.56 nmol로 S군에 비해 대두 청국장 분말을 섭취시킨 SS군에서의 MDA 수준이 21.5% 정도 낮게 나타났다($p<0.05$).

생체 내 산화적 스트레스 손상에 대한 평가는 free radicals에 의한 지질과산화 반응의 초기 생성물의 분해산물인 thiobarbituric acid(TBA)와의 반응산물인 MDA, conjugated diene 및 hydroperoxides 수준으로 이루어진다. 세포의 변성과 기능 저하와 연결된 MDA의 증가는 퇴행성 질환을 유발함으로 이와 관련하여 항산화 영양소 및 생리활성을 함유한 기능성 식품에 대한 연구들이 보고되었다(Betteridge DJ 2000; Lee JE 2000; Jung HA 등 1999; Park HS 등 2015). Scopolamine로 유도된 치매 쥐가 비타민 E나 C를 공급시킨 치매 쥐에 비해 뇌 조직에서 TBARS(thiobarbituric acid reactive substance) 수준이 증가되었으며(Lee JE 2000), Jung HR(2011)의 Aβ의 산화적 스트레스로 유도된 알츠하이머형 치매에 대한 블루베리 잎 추출물의 예방효과 연구에서도 MDA의 농도가 mg protein 당 정상군은 0.87 nmole이었으며, 알츠하이머형 치매군은 이보다 52.9% 증가한 1.33 nmole로 알츠하이머형 치매에 의해 뇌 조직의 MDA 농도가 증가되었다. 그러나 항산화력이 높은 블루베리 잎추출물의 투여량과 비례해서 MDA 농도가 현저히 감소되었다.

또한 Jung HA 등(1999)은 비파나무 잎의 polyphenol 화합물의 일종인 chlorogenic acid는 MDA 농도를 저하시키는데 효능이 있다고 보고하였다. 그리고 streptozotocin에 의해 유도된 당뇨 쥐의 산화적 스트레스로 증가된 MDA 농도는 본 연구에서 사용한 대두, 약콩 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장을 섭취시켰을 때 혈청에서는 대두 청국장, 그리고 간 조직에서는 대두 및 블랙푸드가 함유된 청국장 식이를 섭취시켰을 때 유의적인 감소 효과를 보였다고 Park HS 등(2015)은 보고하였다. 이와 같이 항산화 물질을 함유하고 있는 다양한 기능성 식품이 MDA 농도를 감소시킨다는 위의 보고(Hong JY 등 2014; Jung HA 등 1999; Jung HR 2011; Park HS 등 2015; Park HS 등 2013)에서처럼 본 연구에서도 scopolamine 처리로 유도된 산화적 스트레스 결과로 인해 증가된 혈청과 뇌 조직 내의 MDA 농도에 대하여 대두, 약콩 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 첨가 식이가 보호효과를 보인 것으로 나타났다.

3. 항산화 효소 활성

1) Superoxide Dismutase(SOD) 활성

마우스의 혈청과 뇌 조직의 SOD 활성은 Fig. 3과 같다. 혈청에서의 SOD 활성은 C, S, SS, SY 및 SYB군에서 각각 144.2±17.5, 134.7±6.9, 145.3±13.4, 118.6±10.3 및 139.0±10.8 unit/mL로 모든 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다. 그러

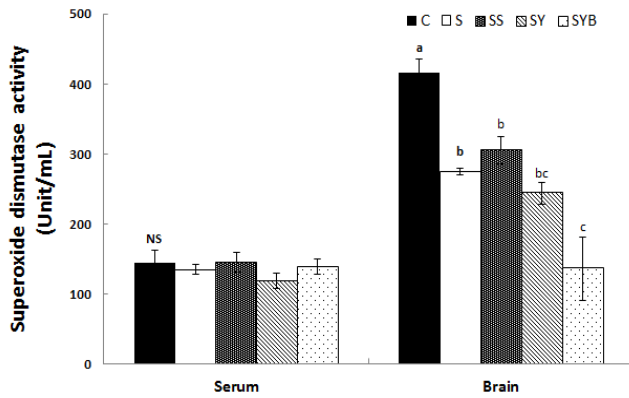


Fig. 3. Effect of *Chungkukjang* supplementation on serum and brain levels of SOD activity in scopolamine injected mice.

C: Supplementation of normal diet in control mice, S: supplementation of normal diet in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SS: Supplementation of 63% soybean *Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SY: Supplementation of 45% *Yakkong Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SYB: Supplementation of 50% *Yakkong Chungkukjang* powder added black food in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.). Values are mean±S.D. N=10. NS: not significant. Means with the same lettered superscripts on bars are not significantly different by duncan's multiple range test($p<0.05$).

나 뇌 조직에서 SOD 활성은 C군의 416.2 ± 19.9 unit/mL에 비해서 S군은 274.6 ± 5.06 unit/mL로 $p<0.05$ 수준에서 34%의 낮은 활성을 보였다. Scopolamine 처리와 함께 대두, 약콩 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장을 각각 첨가시킨 식이를 공급한 SS, SY 및 SYB군의 SOD 활성은 각각 305.5 ± 49.9 , 244.1 ± 15.9 및 136.3 ± 45.0 unit/mL로 S군에 비해서 블랙푸드와 함유된 약콩 청국장 첨가 식이를 섭취한 SYB군에서 가장 낮은 SOD 활성을 보였다.

In vitro 실험에서 항산화 효소로 SOD 유사활성은 식품의 산화, 인간의 노화 및 신경계 손상 등의 억제와 밀접한 관련성이 있으며, Hong JY 등(2014)은 대두와 약콩 분말의 열수 및 에탄올 추출물의 SOD 유사 활성을 측정된 결과, 대두와 약콩 분말 열수 추출물의 농도와 비례해서 증가하였고, 대두보다 약콩에서 높은 경향을 보였다. 또한 Park HS 등(2013)은 본 실험에서 식이로 이용한 대두, 약콩 및 블랙푸드와 함유된 약콩 청국장 분말의 열수 및 에탄올 추출물의 SOD 유사 활성을 측정된 결과, 모든 추출물에서 농도가 증가할수록 활성이 높아진다고 보고하였다. 그리고 에탄올 추출물 mL당 10 mg의 높은 농도에서는 SOD 유사활성은 ascorbic acid의 91.03%에 비해 대두에서는 88.28%로 가장 높은 반면에, 2.5 mg/mL의 낮은 농도에서는 약콩에서 다소 높은 활성을 통하여 본 실험의 식이로 사용된 대두, 약콩 및 블랙푸드와 함유된 약콩

청국장 분말이 항산화력을 가지고 있는 것으로 보여진다.

Superoxide dismutase는 알츠하이머형 치매에 중요한 역할을 한다고 보고(Mates JM & Sanchez-Jimenez F 1999)되고 있는데, Um 등(2009)은 A β 로 유도된 인지능력 감퇴 마우스에게 동결·건조시킨 항산화 물질인 sesaminol glucosides를 1.25% 및 1.5% 식이로 만들어 6주 동안 공급시킨 후 SOD 활성을 측정하였다. 그 결과, 정상군에 비해 A β 유도 마우스의 뇌 조직에서 101.9%의 증가를 보였으나, sesaminol glucosides (SG) 첨가 식이 섭취군에서 정상군 수준의 낮은 활성을 보였다. A β 의 유도에 의한 SOD 활성의 증가는 축적된 H $_2$ O $_2$ 의 방어 기전을 의미하며, 이러한 결과는 뇌 조직의 MDA 축적과 DNA의 산화적 손상을 받을 수 있고, 이때 SG가 보호효과를 보였다고 설명하였다. Lee JS(2012)는 정상군의 마우스에 비해 scopolamine을 투여한 군의 마우스 뇌 조직에서 SOD 활성이 유의적으로 낮았으나, 황기와 단삼으로 구성되어 피로 회복 및 면역증강 역할을 하는 Myelophil 추출물을 scopolamine을 투여하기 전에 미리 투여하였을 때 SOD 활성을 높일 수 있다는 보고를 통해서 볼 때 항산화 물질은 SOD 활성 조절을 통하여 scopolamine 투여로 인한 손상 조절에 긍정적인 효과를 보이는 것으로 여겨진다.

그러나 본 연구에서 혈청의 SOD 활성은 scopolamine 투여 유무 및 청국장 섭취 여부에 따른 유의적인 차이는 없었고, 뇌 조직에서 scopolamine의 투여군의 SOD 활성은 정상군에 비해 34%가 낮았다. 그러나 SOD 활성 유도에 청국장 보충 식이가 영향을 미치지 못한 것으로 여겨진다.

2) Glutathione-s-transferase(GST) 활성

마우스의 혈청과 뇌 조직의 GST 활성은 Fig. 4와 같다. 혈청에서 GST 활성은 C, S, SS, SY 및 SYB군이 각각 0.59 ± 0.08 , 0.87 ± 0.16 , 1.00 ± 0.17 , 0.91 ± 0.18 및 0.99 ± 0.20 unit/mL로 모든 실험군 간의 유의적인 차이가 없었다. 뇌 조직에서 GST 활성은 C군의 1.94 ± 0.28 unit/mL에 비해 S군에서 3.96 ± 0.21 unit/mL로 C군보다 S군에서 $p<0.05$ 수준에서 49.0% 정도의 유의적으로 높은 활성을 보였다. 그러나 청국장 첨가 식이를 섭취시킨 SS, SY 및 SYB군은 각각 2.99 ± 0.27 , 2.84 ± 0.21 unit/mL 및 2.80 ± 0.19 unit/mL로 scopolamine 투여로 GST 활성은 $p<0.05$ 수준에서 유의적으로 낮은 활성을 보였으며, 청국장 종류에 따른 차이는 없었다.

Catalase나 GST 효소는 세포 내에서 산화적 스트레스로 활성화되어 SOD로부터 생성된 H $_2$ O $_2$ 를 해독화 시키는데 작용하는 효소이다(Betteridge DJ 2000; Mates JM & Sanchez-Jimenez F 1999). 정상군에 비해 A β 로 유도된 인지능력 감퇴 마우스의 GST 활성은 43%의 감소되었다고 Um MY 등(2009)은 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 정상군에 비해 scopolamine

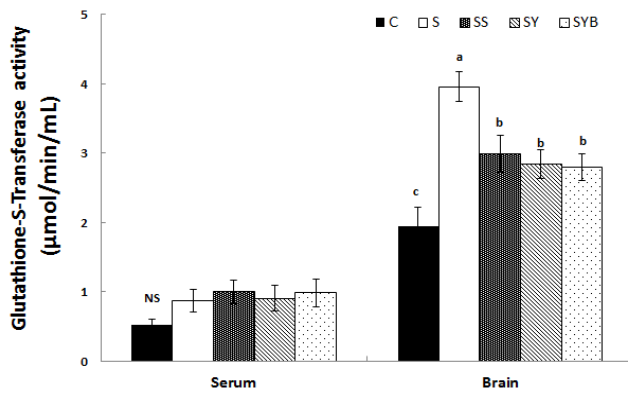


Fig. 4. Effect of *Chungkukjang* supplementation on serum and brain levels of GST activity in scopolamine injected mice.

C: Supplementation of normal diet in control mice, S: supplementation of normal diet in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SS: Supplementation of 63% soybean *Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SY: Supplementation of 45% *Yakkong Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SYB: Supplementation of 50% *Yakkong Chungkukjang* powder added black food in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.). Values are mean±S.D. N=10. NS: not significant. Means with the same lettered superscripts on bars are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

mine 투여군의 뇌 조직에서 GST는 104.1%의 높은 활성을 보였다. 이때 청국장 분말 첨가 식이의 공급으로 정상군 수준에는 미치지 못하지만, scopolamine 투여군으로 증가된 활성을 24.5~29.3% 정도 낮추었다.

본 연구에서 혈청의 GST 활성은 모든 군간에 유의적인 차이는 없었으나, 뇌 조직에서는 정상군에 비해 scopolamine의 투여군에서 높았다. 이러한 결과는 뇌 조직에서는 scopolamine 투여로 인한 산화 생성물인 H_2O_2 증가로 인하여 GST 활성이 유도된 것으로 추측되며, 이때 대두, 약콩 및 블랙푸드

드가 함유된 약콩 청국장 첨가 식이가 GST 활성에 영향을 미친 것으로 나타났다.

4. 항산화 성분 측정

1) 비타민 A 수준

Table 4에서 제시한 바와 같이 혈청 dL 당 retinol 함량은 C군의 7.46 ± 0.5 μg 에 비해 S군은 4.8 ± 0.31 μg 으로 $p<0.05$ 수준에서 유의적으로 낮았다. 그리고 SS군은 4.71 ± 0.31 μg 으로 S군에 비해 유의적으로 낮은 반면에, SY군과 SYB군은 각각 8.22 ± 1.15 μg 과 11.45 ± 1.26 μg 으로 S군에 비해 유의적으로 높은 농도를 보였다($p<0.05$). 뇌 조직 g 당 retinol 함량은 C군이 3.85 ± 0.98 μg , S군이 7.63 ± 0.91 μg 으로 두 군 간에 유의적인 차이는 없었다. 그러나 SS군, SY군, SYB군은 각각 20.6 ± 4.01 μg , 16.04 ± 4.10 μg , 12.47 μg 으로 scopolamine의 투여로 감소된 S군의 retinol 함량은 청국장 첨가 식이의 섭취로 유의적인 증가를 보였다($p<0.05$). 혈청 dL 당 retinyl acetate 함량은 C군의 2.24 ± 0.37 μg 에 비해 S군은 4.12 ± 0.78 μg 으로 scopolamine의 투여로 오히려 높았다($p<0.05$). 또한 SS군은 1.77 ± 0.02 μg , SY군은 1.07 ± 0.14 μg 및 SYB군은 3.53 ± 0.15 μg 의 retinyl acetate 함량을 보여 청국장 첨가 식이군 중에서는 SYB군에서 유의적으로 가장 높은 농도를 보였다($p<0.05$). 뇌 조직 g 당 retinyl acetate 함량은 C, S, SS, SY 및 SYB군은 각각 1.88 ± 0.33 , 1.83 ± 0.38 , 2.48 ± 0.59 , 3.20 ± 0.87 및 1.21 μg 으로 C군과 다른 군 사이에는 유의적인 차이가 없었으나, SY군과 SYB군 사이에는 유의적인 차이가 있었다.

Zaman Z 등(1992)은 알츠하이머형 치매 환자의 혈장에서 비타민 A와 carotenoids 농도를 측정한 결과, 정상인에 비해서 그 농도가 감소된다고 밝혔으며, De Keyser J 등(1992)은 비타민 A와 E가 급성 허혈성 뇌졸중에서 뇌 조직 손상과 신경세포의 보호 기능에 대해 연구한 결과, 비타민 A의 농도가

Table 4. Effect of *Chungkukjang* diet on serum and brain levels of vitamin A in scopolamine injected mice

Groups ¹⁾	Retinol		Retinyl acetate	
	Serum ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	Brain ($\mu\text{g}/\text{g}$)	Serum ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	Brain ($\mu\text{g}/\text{g}$)
C	$7.46\pm 0.5^{2)bc3)}$	3.85 ± 0.98^c	2.24 ± 0.37^{bc}	1.88 ± 0.33^{ab}
S	4.80 ± 0.31^c	7.63 ± 0.91^{bc}	4.12 ± 0.78^a	1.83 ± 0.38^{ab}
SS	4.71 ± 0.31^c	20.60 ± 4.01^a	1.77 ± 0.02^c	2.48 ± 0.59^{ab}
SY	8.22 ± 1.15^b	16.04 ± 4.10^a	1.07 ± 0.14^c	3.20 ± 0.87^a
SYB	11.45 ± 1.26^a	12.47 ± 1.58^{ab}	3.53 ± 0.15^{ab}	1.21 ± 0.30^b

¹⁾ See the group legend of Table 1.

²⁾ Values are means±S.D., N=10.

³⁾ Values with the same letter are not significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

증가함에 따라 유효한 효과를 보였다고 보고하였다. 본 실험에서는 혈청의 retinol 함량은 scopolamine을 투여했을 때 정상군 수준보다 낮은 함량을 보였으나, 약콩이나 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장을 섭취시켰을 때 정상군보다 높은 함량을 보였다. 또한 뇌 조직에서는 retinol과 retinyl acetate 함량 모두 대두나 약콩 청국장을 섭취시킨 군에서 높았다. 이러한 결과는 항산화 영양소의 상호작용에 의해 항산화력이나 면역력이 증가된다는 Kubena KS & McMurray DN 1996)의 연구 결과와 연결해서 볼 때, 본 연구에서도 대두, 약콩 및 다시마, 흑지마, 흑미와 같은 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 내에 존재하는 antocyanin과 polyphenol과 같은 항산화 물질의 상호작용이나 전자공여능, SOD 유사활성 및 환원력 등의 항산화력(Hong JY 등 2014; Park HS 등 2013)이 scopolamine의 투여에 의한 산화적 스트레스로부터 유발된 뇌 조직의 retinol 및 retinyl acetate 함량 감소에 대하여 보호 효과를 나타낸 것으로 여겨진다.

2) 비타민 E 수준

Table 5에서 제시한 바와 같이, 혈청 dL 당 α -tocopherol 함량은 C군의 $29.5 \pm 1.02 \mu\text{g}$ 에 비해 S군은 $10.8 \pm 0.11 \mu\text{g}$ 으로 scopolamine의 투여로 감소하였다($p < 0.05$). 그러나 SS군은 $12.3 \pm 1.28 \mu\text{g}$, SY군은 $10.3 \pm 1.4 \mu\text{g}$, 그리고 SYB군은 $16.6 \pm 1.5 \mu\text{g}$ 으로 scopolamine의 투여로 감소된 α -tocopherol 함량은 대두 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 첨가 식이의 섭취로 높일 수 있었다($p < 0.05$). 뇌 조직 g 당 α -tocopherol 함량은 C군은 $359.7 \pm 26.6 \mu\text{g}$ 에 비해 S군은 $128.7 \pm 18.8 \mu\text{g}$ 으로 scopolamine의 투여로 64.2%의 감소현상을 보였으나, 대두, 약콩 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 식이의 섭취로 증가 효과를 얻었다($p < 0.05$). 혈청 dL당 tocopherol acetate 함량은 C군의 $43.8 \pm 3.96 \mu\text{g}$ 에 비해 S, SS 및 SY군은 각각 23.3 ± 1.87 , 19.4 ± 0.90 , $24.6 \pm 2.26 \mu\text{g}$ 으로 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 그러나 scopola-

mine의 투여로 감소된 α -tocopherol acetate 함량은 블랙푸드가 함유된 청국장 식이 섭취로 증가시킬 수 있었으나, 정상수준에는 미치지 못하였다. 뇌 조직 g 당 tocopherol acetate 함량은 SS군 > S군 > SYB군 > SY군 > C군 순으로 분석되었다.

비타민 E의 항산화력이 밝혀진 후 많은 연구에서 비타민 E가 산화적 손상을 방지함으로써, 노화예방, 면역력 증진, 치매 예방, 당뇨병 예방 및 치료 효과가 검증되었다. 여러 보고자들(Jeandel C 등 1989; Tohgi H 등 1994; Zaman Z 등 1992)의 보고에서 알츠하이머형 및 뇌경색 치매 환자의 경우 혈중이나 뇌 조직의 비타민 E 농도가 정상인보다 유의적으로 낮았다. 그 반면에, *In vitro* 실험에서 α -tocopherol은 허혈성 상태에서 뇌신경 세포의 유익한 효과가 있었으며(Yoshida S 등 1985), *in vivo* 상태에서 뇌허혈로 야기된 free radicals에 의한 손상된 신경 회복에 대하여 α -tocopherol이 효과가 있었다(Yamamoto M 등 1983). Sano M 등(1997)의 임상 연구에서 중증의 알츠하이머형 치매 환자 341명을 무작위 추출하여 하루 2,000 IU의 비타민 E를 2년 동안 복용시킨 군에서 치매로 인한 뇌기능 저하를 지연시켰으며, 이러한 연구는 비타민 E가 산화적 손상을 억제한다고 볼 수 있다. 따라서 알츠하이머형 치매 환자를 비타민 E로 치료할 경우 병의 진행속도를 늦출 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구에서는 혈청과 뇌 조직의 α -tocopherol 함량은 정상군에 비해 scopolamine 투여군에서 낮았으나, 혈청에서는 대두나 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장이, 뇌 조직에서는 대두, 약콩 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 첨가 식이의 공급으로 증가시킬 수 있었다. 혈청의 α -tocopherol acetate 함량은 정상군에 비해 scopolamine 투여군에서 낮았으나, 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 첨가 식이의 공급으로 $p < 0.05$ 수준에서 증가시킬 수 있었다. 따라서 대두, 약콩 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장의 첨가 식이의 섭취로 scopolamine으로 유도된 기억손상 마우스의 산화적 스트레스에 대해 항산화 영

Table 5. Effect of *Chungkukjang* diet on serum and brain levels of vitamin E in scopolamine injected mice

Groups ¹⁾	α -Tocopherol		α -Tocopherol acetate	
	Serum ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	Brain ($\mu\text{g}/\text{g}$)	Serum ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	Brain ($\mu\text{g}/\text{g}$)
C	$29.5 \pm 1.02^{\text{a3}}$	$359.7 \pm 26.60^{\text{a}}$	$43.8 \pm 3.96^{\text{a}}$	$20.5 \pm 4.32^{\text{b}}$
S	$10.8 \pm 0.11^{\text{d}}$	$128.7 \pm 18.80^{\text{b}}$	$23.3 \pm 1.87^{\text{c}}$	$39.0 \pm 6.28^{\text{ab}}$
SS	$12.3 \pm 1.28^{\text{c}}$	$142.2 \pm 27.10^{\text{a}}$	$19.4 \pm 0.90^{\text{c}}$	$53.1 \pm 8.49^{\text{a}}$
SY	$10.3 \pm 1.40^{\text{cd}}$	$270.0 \pm 32.80^{\text{a}}$	$24.6 \pm 2.26^{\text{c}}$	$23.53 \pm 6.87^{\text{b}}$
SYB	$16.6 \pm 1.50^{\text{b}}$	$142.2 \pm 27.13^{\text{a}}$	$33.2 \pm 4.22^{\text{b}}$	$27.9 \pm 1.46^{\text{b}}$

¹⁾ See the group legend of Table 1.

²⁾ Values are means \pm S.D., N=10.

³⁾ Values with the same letter are not significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

양소인 비타민 A와 E의 생체 내 농도 조절을 통하여 보호효과를 보일 것으로 기대된다.

3) 총 항산화능(TAC) 수준

마우스의 혈청과 뇌 조직의 TAC는 Fig. 5와 같다. 혈청에서는 C군, S군, SS군, SY군 및 SYB군은 각각 3.58 ± 0.28 , 3.02 ± 0.09 , 3.17 ± 0.15 , 3.73 ± 0.59 및 3.91 ± 0.39 mM로 모든 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다. 뇌 조직의 TAC는 C군의 5.64 ± 0.14 mM에 비해 S군은 5.13 ± 0.20 mM로 scopolamine의 투여로 감소되었다($p < 0.05$). 그러나 SS군은 5.22 ± 0.05 mM, SY군은 5.81 ± 0.02 mM, SYB군은 5.50 ± 0.03 mM의 TAC를 보임으로써 scopolamine의 투여로 인해 낮아진 TAC는 약콩 및 블랙푸드에 함유된 약콩 청국장 식이로 13.3%와 7.2%의 유의적인 증가 효과를 얻었다($p < 0.05$).

정상인, 혈관성 치매 및 알츠하이머형 치매 환자의 항산화 효소 활성이나 전자전달계의 환원력 등 체내 항산화력의 반영지표인 TAC를 측정한 결과, Repetto MG 등(1999)은 18명의 알츠하이머형 치매 환자의 혈장에서 TAC가 24% 감소된 반면에, Foy CJ 등(1999)은 알츠하이머형이나 혈관성 치매 환자의 혈장에서 TAC는 유의한 변화가 없다고 보고하였다. 그리고 Cheon JS 등(2003)은 혈청 L당 정상군의 1.47 ± 0.08 mmol에 비해 혈관성 치매 및 알츠하이머형 치매군이 각각 1.31 ± 0.08 mmol과 1.24 ± 0.09 mmol로 유의하게 더 낮은 것

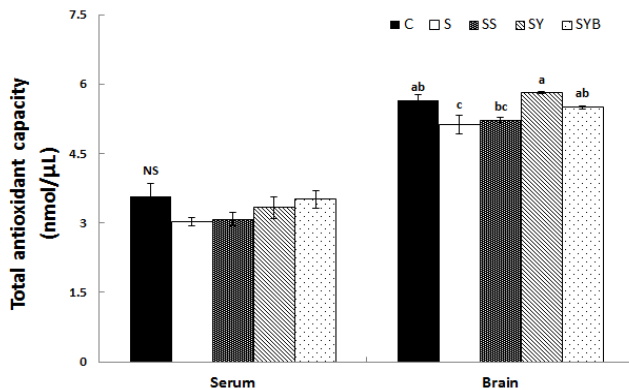


Fig. 5. Effect of *Chungkukjang* supplementation on serum and brain levels of TAC in scopolamine injected mice.

C: Supplementation of normal diet in control mice, S: supplementation of normal diet in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SS: Supplementation of 63% soybean *Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SY: Supplementation of 45% *Yakkong Chungkukjang* powder in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.), SYB: Supplementation of 50% *Yakkong Chungkukjang* powder added black food in scopolamine injected mice (2 mg/kg, i.p.). Values are mean±S.D. N=10. NS: not significant. Means with the same lettered superscripts on bars are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

로 나타났다고 보고하였다. 정상군과의 TAC의 차이는 혈관성 치매보다 알츠하이머형 치매에서 유의하게 더 크게 나타났으며, 이러한 결과는 혈관성 치매보다 알츠하이머형 치매에서 산화 스트레스에 의한 영향을 더 많이 받는다는 설명하였다.

또한 Lee JS(2012)는 정상군의 마우스에 비해 scopolamine을 투여한 마우스의 뇌 조직에서 TAC는 유의적으로 낮았으나, 황기와 단삼 혼합 추출물인 myelophil을 scopolamine을 투여하기 전에 미리 투여하였을 때 TAC의 저하 정도를 낮출 수 있었다고 하였다. 따라서 여러 연구자들의 연구 결과 (Cheon JS 등 2003; Lee JS 2012; Repetto MG 등 1999)에서 정상인에 비해 치매 환자의 경우 산화적 스트레스로 TAC가 감소되지만, 항산화 성분이 함유된 일부 한약재나 기능성 식품의 공급으로 생체 내 항산화력에 긍정적인 반응을 얻을 수 있는 것으로 나타났다. 본 실험에서도 뇌 조직의 TAC는 정상군에 비해 scopolamine으로 투여군에서 현저히 낮았으나, 약콩 및 블랙푸드에 함유된 약콩 청국장의 섭취로 정상수준으로 TAC를 조절 할 수 있었다. 따라서 scopolamine에 의한 산화적 손상에 대한 TAC는 약콩 및 블랙푸드에 함유된 약콩 청국장 식이로 TAC를 높일 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구에서는 기억 손상을 유발하는 scopolamine을 투여한 마우스의 산화적 스트레스에 대하여 12주간 공급시킨 대두 청국장 분말, 약콩 청국장 분말 및 흑미, 흑임자, 다시마를 첨가한 약콩 청국장 분말 식이의 영향을 규명하고자 하였다. 그 결과, scopolamine을 투여한 마우스의 뇌 중량은 감소되었으나 세 종류의 청국장 분말의 섭취로 유의하게 호전시킬 수 있었다. Scopolamine의 투여로 인한 산화적 스트레스로 인해 혈청에서 증가된 NO와 MDA 함량은 세 종류의 청국장 분말의 섭취로 감소되었으며, 이러한 결과는 대두, 약콩 및 블랙푸드에 함유된 약콩 청국장 식이는 항산화 작용을 할 것으로 기대된다. 항산화 효소로 혈청에서의 SOD와 GST 활성은 모든 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다. 뇌 조직의 SOD 활성은 정상군에 비해 scopolamine을 투여한 모든 실험군에서 $p < 0.05$ 수준에서 유의적으로 낮은 활성을 보였으나, GST 활성은 증가되었다. 증가된 GST 활성은 대두, 약콩 및 블랙푸드에 함유된 약콩 청국장 식이 섭취로 조절되었으나, 정상군의 활성 수준에는 미치지 못하였다. Scopolamine의 투여로 낮아진 혈청의 retinol 함량은 약콩 및 블랙푸드에 함유된 약콩 청국장이, 그리고 뇌 조직에서는 대두 및 약콩 청국장 섭취로 높일 수 있었다. 또한 scopolamine의 투여로 낮아진 혈청의 α -tocopherol과 α -tocopherol acetate 함량은 블랙푸

드가 함유된 약콩 청국장 섭취로 증가를 보임에 따라 블랙푸드에 함유된 청국장이 체내 비타민 E 상태에 대한 보호효과가 기대된다. 뇌 조직의 TAC는 정상군에 비해 scopolamine으로 투여군에서 현저히 낮았으나, 약콩 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 섭취로 정상수준으로 TAC를 증가시킬 수 있었다. 따라서 scopolamine의 투여로 증가된 산화적 스트레스에 대하여 대두, 약콩 및 블랙푸드가 함유된 약콩 청국장 분말이 항산화 효과를 보였다. 그러므로 향후 산화적 스트레스에 의한 알츠하이머형 치매의 예방과 관리를 위하여 청국장 이외에 블랙푸드 섭취에 대한 중요성을 강조할 수 있는 근거 자료로 충분한 가치고 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2013년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(2012-220-068)에 의한 결과의 일부이며, 본 연구자들은 연구비를 지원해 주신 한국과학재단에 감사드립니다.

REFERENCES

- Ahn HS, Kang SA, Lee LH (1999). Effects of vitamin E and vitamin C supplementation on the decrease in cognitive function induced by scopolamine. *J Nutrition* 32: 239-247.
- Betteridge DJ (2000). What is oxidative stress? *Metabolism* 49: 3-8.
- Bieri JG, Tollver TJ, Catignani GL (1979). Simultaneous determination of alpha-tocopherol and retinol in plasma or red cells by high pressure liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* 39: 2143-2149.
- Caragay AB (1992). Cancer-preventive foods and ingredients. *Food Technol* 4: 65-68.
- Chang MS, Chung KJ, Chang WK, Park SK (2011). The antioxidant activity of sesame semen nigrum on Leydig TM3 cells. *Kor J Herbology* 26: 133-138.
- Chao CC, Hu S, Molitor TW, Shaskan EG, Peterson PK (1992). Activated microglia mediate neuronal cell injury via a nitric oxide mechanism. *J Am Assoc Immunol* 149: 2736-2741.
- Cheon JS, Chung HC, Kim IS, Oh BH (2003). Blood markers of oxidative stress in dementia. *J Korean Geriatr Psychiatry* 7: 47-56.
- Cho EJ, Choi MJ, Shin SW, Kim HY (2012). Antioxidant activity of black rice and grains. *J Agric Sci* 39: 511-514.
- Cho YJ, Bang MA (2004). Hypoglycemic and antioxidative effects of dietary sea-tangle extracts supplementation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 37: 5-14.
- De Keyser J, De Klippel N, Merckx H, Vervaeck M, Herroelen L (1992). Serum concentrations of vitamins A and E and early outcome after ischaemic stroke. *J Lancet* 399: 1562-1565.
- Foy CJ, Passmore AP, Vahidassr MD, Young IS, Lawson JT (1999). Plasma chain-breaking antioxidants in Alzheimer's disease, vascular dementia and Parkinson's disease. *Q J Med* 92: 39-45.
- Furr HC, Amedee-Manesme O, Olson JA (1984). Gradient reversed-phased high-performance liquid chromatographic separation of naturally occurring retinoids. *J Chroma* 309: 299-307.
- Guix FX, Uribealago I, Coma M, Munoz FJ (2005). The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Prog Neurobiol* 76: 126-152.
- Hong JY, Shin SR, Kong HJ, Choi EM, Woo SC, Lee MH, Yang KM (2014). Antioxidant activity of extracts from soybean and small black bean. *Korean J Food Preserv* 21: 404-411.
- Hughes TA, Wiles CM (1998). Neurogenic dysphagia: the role of the neurologist. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 64: 569-572.
- Jang JH, Surh YJ (2003). Protective effect of resveratrol on β amyloid-induced oxidative PC12 cell death. *Free Radical Bio Med* 34: 1100-1110.
- Jeandel C, Nicolas MB, Dubois F, Nabet-Belleville F, Penin F, Cuny G (1989). Lipid peroxidation and free radical scavengers in Alzheimer's disease. *Gerontology* 35: 275-282.
- Jung HA, Park JC, Chung HY, Kim J, Choi JS (1999). Antioxidant flavonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. *Arch Pharm Res* 22: 213-218.
- Jung HR (2011). Anti-amnesic effects of blueberry leaf extracts on Amyloid β protein-induced Alzheimer's disease model. MS Thesis Kungsang University, Jinju, pp 46-48.
- Kim HS (2007). A study on the inhibitory effect of *Yeongdamsagantang* on Alzheimer in A β -oligomer-induced Neuro 2A cell lines. MS Thesis Daegu Haany University, Gyeongsansi, pp 12-25.
- Kim JH, Jeong CH, Choi GN, Kwak JH, Choi SG, Heo HJ (2009). Antioxidant and neuronal cell protective effects of methanol extract from *Schizandra chinensis* using an in

- in vitro* system. Korean J Food Sci Technol 41: 712-716.
- Kim JM, Kim DH, Park SJ, Jung JW, Ryu JH (2010). Memory enhancing properties of the ethanolic extract of black sesame and its ameliorating properties on memory impairments in mice. Korean J Pharmacogn 41: 196-203.
- Kim YI, Park JY, Choi SJ, Kim JK, Jeong CH, Choi SG, Lee SC, Cho SH, Heo HJ (2008). Protective effect of green tea extract on amyloid β peptide-induced neurotoxicity. Korean J Food Preserv 15: 743-748.
- Kim YS, Kang CO, Kim MH, Cha WS, Shin HJ (2011). Contents of water extract for *Laminaria japonica* and its antioxidant activity. Korean Society Biotechnology Bioengineering J 26: 112-118.
- Kubena KS, McMurray DN (1996). Nutrition and the immune system: A review of nutrient-nutrient interactions. J Am Diet Assoc 96: 1165-1164.
- Kwak JH, Choi GN, Park JH, Kim JH, Jeong HR, Jeong CH, Heo HJ (2010). Antioxidant and neuronal cell protective effect of purple sweet potato extract. J Agric Life Science 44: 57-66.
- Lee C, Park GH, Lee JW, Jang JH (2015). Protective effect of wheat bran extract against β -amyloid-induced cell death and memory impairment. Kor J Herbology 30: 67-75.
- Lee JE (2000). Effect of vitamin C and E on antioxidant enzyme activity in rats with dementia induced by scopolamine. MS Thesis ChungAng University, Seoul, pp 23-26.
- Lee JS (2012). Protective effect of myelophil against scopolamine-induced memory deficit and brain oxidative stress in mice. MS Thesis Dejeon University, Dejeon, pp 89-90.
- Lee MR, Sun BS, Gu LJ, Wang CY, Fang ZM, Wang Z, Mo EK, Ly SY, Sung CK (2009). Effects of the deer antler extract on scopolamine-induced memory impairment and its related enzyme-activities. J Korean Soc Food Sci Nutr 38: 409-414.
- Marksberry WR, Carney JM (1999). Symposium: Oxidative stress in neurological disease. Oxidative alterations in Alzheimer's disease. Brain Pathol 9: 133-146.
- Martin D (2000). Nutrition after stroke. British Medical Bulletin 56: 466-475.
- Mates JM, Sanchez-Jimenez F (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. Frontiers in Bioscience 4: d339-345.
- Park HS, Kong HJ, Lee EH, Choi EM, Jang JH, Lee MH, Hong JY, Hwang SJ, Jung HA, Yang MI (2015). Effect of *Chungkukjang* supplementation on oxidative stress and antioxidant nutrients of diabetic rats induced by streptozotocin. Korean J Food Preserv 22: 281-289.
- Park HS, Shin SR, Hong JY, Yang KM (2013). Comparison of the antioxidant activities of small-black-bean-*Chungkukjang*-added black food and soybean *Chungkukjang* extracts. Korean J Food Preserv 20: 735-743.
- Pyo HK, Joe EH, Jung SY, Lee SH, Jou I (1999). Gangliosides activate cultured rat brain microglia. J Biol Chem 274: 34584-34589.
- Repetto MG, Reides CG, Evelson P, Kohan S, de Lustig ES, Llesuy SF (1999). Peripheral markers of oxidative stress in probable Alzheimer patients. Eur J Clin Invest 29: 643-649.
- Ritter AM, Robertson CS (1994). Cerebral metabolism. Neurosurg Clin N Am 5: 633-645.
- Sano M, Ernesto C, Thomas RG, Klauber MR, Schafer K, Grudman M, Woodbury P, Growdon J, Cotman CW, Pfeiffer E, Schneider LS, Thal LJ (1997). A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease. N Engl J Med 336: 1216-1222.
- Tohgi H, Abe T, Nakanishi M, Hamato F, Sasaki K, Takahashi S (1994). Concentrations of alpha-tocopherol and its quinone derivative in cerebrospinal fluid from patients with vascular dementia of the Binswanger type and Alzheimer type dementia. Neurosci Lett 174: 73-76.
- Um MY, Ahn JY, Kim S, Kim MK, Ha TY (2009). Sesaminol glucosides protect β -amyloid peptide-induced cognitive deficits in mice. Biol Pharm Bull 32: 1516-1520.
- Wallace DC (1992). Mitochondrial genetics: A paradigm for aging and degenerative diseases? Science 256: 628-632.
- Yamamoto M, Shima T, Uozumi T, Sogabe T, Yamada K, Kawasaki T (1983). A possible role of lipid peroxidation in cellular damages caused by cerebral ischemia and the protective effect of α -tocopherol administration. Stroke 14: 977-982.
- Yang JL, Lee SH, Song YS (2003). Improving effect of powders of cooked soybean and *Chongkukjang* on blood pressure and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 32: 899-905.
- Yoshida S, Busto R, Watson BD, Santiso M, Ginsberg MD (1985). Posts ischemic cerebral lipid peroxidation in vitro: modification by dietary vitamin E. J Neurochem 44: 1593-1601.
- Zaman Z, Roche S, Fielden P, Frost PG, Niriella DC, Cayley

ACD (1992). Plasma concentration of vitamin A and E and carotenoids in Alzheimer's disease. *Oxford J Medicine & Health Age Ageing* 21: 91-94.

Date Received Mar. 7, 2016
Date Revised May 9, 2016
Date Accepted May 24, 2016