



미나리 추출물의 유리 아미노산 특성과 복어독에 중독된 마우스의 치사 시간에 미치는 영향

장준호 · 김창훈* · 이종수†

Allegheny Health Network(교수) · *부경대학교(교수) · †경상대학교/부설해양산업연구소(교수)

Free Amino Acid in Dropwort(*Oenanthe javanica*) Extract and it's Effect to the Survival Time of Mice Poisoned with Puffer Fish Toxin

Andrew J. JANG · Chang-Hoon KIM* · Jong Soo LEE†

Allegheny Health Network(professor) · *Pukyong University(professor) · †Gyeongsang National University ·
Institute of Marine Science(professor)

Abstract

The purpose of this study is to investigate the characteristics of free amino acids in dropwort (*Oenanthe javanica*) and get the basic data about detoxication of the natural sources such as dropwort, soybean sprout, ginger, wood sorrel and 4-aminopyridine (4-AP) against the puffer fish poisoning. Dropwort was extracted with hot water and free amino acid in dropwort was analyzed. Asparagine (160.1 mg %), glutamine(119.8 mg %) and γ -aminobutylic acid (36.5 mg %) were major free amino acids (total 417.3 mg %). An aliquot of each extract of dropwort, soybean sprout, ginger, wood sorrel extracts and 4-AP combined with puffer fish toxin was injected to the mice respectively and we have checked the survival time. When only the puffer fish toxin was injected to the mice, the average survival time of mice was 662 second. And as dropwort extract was injected into the mice from 5 to 40 mg, the average survival time of mice was prolonged from 853 second to 1,493 second (Increase life span 232 %, T/C). With the 30 mg of injecting, the results suggested that certain content of free amino acids in dropwort was involved in water soluble antidotal. Another extracts and 4-AP increased survival time considerably depending on the amount injected but not so considerable compared to dropwort extracts.

Key words : Dropwort(*Oenanthe javanica*), Free amino acid, Puffer fish toxin, Antidote, Detoxication.

I. 서론

우리나라의 전 지역에서 서식하는 미나리는 水芹, 水芹菜 또는 水英이라고도 불리며 식용으로 하는 것은 주로 물속에서 자라는 물미나리와 습지나 물가에 서식하는 돌미나리의 2 종이다 (Minari, 2016). 일반적으로는 논에서 대량으로 재배하는 물미나리가 널리 식재료로 쓰이고 있으

며 일부 지역에서는 특화작물로 재배하고 있다. 미나리는 고유의 독특한 향과 부드럽고 아삭한 식감이 일품으로 특히 봄철에 식욕을 돋우어 주는 제철 음식으로서도 예로부터 날것으로 또는 데쳐서 나물로 요리하여 먹거나 여러 가지 탕의 부재료로서 귀하게 널리 이용하여 왔으며, 추출 농축액은 건강식품으로 달인 것은 차로서도 이용되고 있다. 특히, 민간에 널리 알려진 것은 해독

† Corresponding author : 055-772-9145, leejs@gnu.ac.kr

작용으로서 과학적인 확실한 근거는 없으나 특히 복어독 중독에 해독 작용이 있다고 하여 복어로 요리를 할 경우 미나리를 많이 사용한다(Minari, 2016).

미나리는 동의보감에 의하면 “갈증을 풀어 주고 머리를 맑게 해 주며 주독을 제거할 뿐 아니라 대장 및 소장을 잘 통하게 하고, 황달·부인병·음주 후 두통이나 구토에 효과적이라고 알려져 있으며 대표적인 효능은 강장, 이뇨, 해열 작용으로서 적용질환은 이뇨제로서 쓰이며(Minari, 2019a), 그 외에도 간염, 감기, 강정제, 결막염, 고혈압, 과민성대장증후군, 구토, 당뇨병, 대장염(퀘양성대장염), 대하증, 동맥경화, 등창, 류머티즘, 번갈, 번혈증, 보혈, 불거리, 부종, 붓루, 비만증, 서리, 서증, 소변불통, 수종, 숙취, 습진, 식욕부진, 신경통, 신부전, 심장병, 심장열, 안질, 암(채장암), 양기부족, 열독증, 열성하리, 오심, 요혈, 원기부족, 월경불순(자주색 월경), 위염, 운장, 은진, 의식장애, 이뇨, 임파선염, 주독, 청혈, 출혈, 탄산, 폐렴, 폐부종, 해열, 황달등 주로 이비인후과, 피부과, 순환계 관련된 질환들을 다스리는 약용 식물이기도 하다(Minari, 2019b).

미나리 추출물의 생리학적 효능으로서는 활성 산소 억제 및 항산화능 증가(Hwang et al., 2011), 돌연변이 억제작용(Park et al., 1996), 항염증작용, 진통작용(Park et al., 1994; Park et al., 2002) 등이 알려져 있으며, chlorogenic acid를 주성분으로 하는 여러 가지 polyphenol을 함유한 돌미나리의 70% ethanol 추출물이 각종 in vitro 및 in vivo 실험에서 활성 산소 발생을 억제하고 총 항산화능을 증가시키며 간과 신장의 항산화능을 증가시킨다고 하며(Hwang et al., 2013), 발미나리 발효액은 항산화 및 알코올성 간손상 보호 효과가 있다고 보고하였다(Sim et al., 2015). 미나리에 함유된 특이성분으로는 isorhamnetin 구조의 3번 탄소 위치에 sulfate기를 가진 특이 flavonoid의 일종인 persicarin은 acetamino-phen에 손상된 간의 보호 효과가 있다고 알려졌으며(Park et al., 2008), 특히,

후기 패혈증을 유도하는 혈관 염증 관련 단백질인 high mobility group box 1(HMGB1)의 분비량을 감소시키고, 세포 부착 단백질의 발현을 억제시켜 중증 염증질환을 일으키는데 필요한 백혈구의 부착과 이동을 조절하여 항패혈증 효과가 있다고 보고되었다(Kim et al., 2012).

한편, 복어는 독이 있음에도 불구하고 우리나라에서는 독이 있는 부위를 제거하고 가식부를 예로부터 회나 매운탕 등 다양한 방법으로 요리하여 즐겨먹는 식재료의 하나로서 최근에는 자연산 복어의 감소로 자주복과 같은 고가의 어종은 양식도 하고 있으며 가격이 비싼 고급요리에 속한다. 전 세계적으로 복어류는 300여 종이 있는 것으로 알려져 있으며 이들 대부분은 해산종으로서 종에 따라 독성의 차이가 크며 같은 종이라 하여도 서식지나 계절에 따라 차이가 크다. 현재 우리나라에서는 남해안 연안에 널리 서식하는 복어를 포함한 21종이 식용 가능 복어로 허용되고 있으며 식용 가능 복어라 하여서 전혀 독이 없는 것이 아니라 가식부의 독성 기준치를 10 Mouse Unit(MU)/g(1 MU: 20 g의 수컷 마우스를 30분에 치사 시키는 독의 량)이하로 규정하고 있다(KFDA, 2017). 복어의 독은 난소, 간장, 내장에 많이 함유되어 있어 이 부분은 반드시 제거해야 하며 가식부라고 하여도 독이 제거되지 않은 것을 먹을 경우 식중독의 위험이 크고 사망하는 예도 있어 주의가 필요하다(Kim et al., 2003). 이러한 복어독은 비록 복어에만 들어있는 것이 아니라 세균을 비롯하여 일부의 패류나 갑각류, 극피동물, 환형동물, 독개구리나 영원과 같은 양서류에서도 검출되었으며(Noguchi and Arakawa, 2008), 최근에는 제주와 부산 연안에서 복어독을 가진 파랑고리 문어가 발견되었다(Parangorimuneo, 2009).

복어에 함유되어 있는 독성분은 tetrodotoxin (TTX)과 그 유도체들로서 Na⁺ 이온 channel을 차단하는 guanidine 염기를 가진 급성 신경독으로서 치사율이 높은 대표적인 동물성 식중독의 원인 물질이다(Narahashi, 2001, Priest et al., 2005;

Noguchi and Arakawa, 2008). 복어독 증독시 해독에 관하여서는 예로부터 많은 관심의 대상이 되어왔으나 유용한 치료 또는 예방약은 아직까지 보고되거나 개발되지 않고 있는 실정이다.

본 연구에서는 자연에서 복어독의 해독에 관련된 기초 자료를 얻고자 복어국을 끓일 때 함께 넣는 부재료인 미나리, 마늘, 콩나물 그리고 팽이밥의 추출물을 실제 마우스에 복어독과 함께 복강에 투여하고 치사 시간을 조사하여 생명 연장 효과 유무를 시험하였으며, 치사 시간의 연장 효과가 있는 미나리의 추출물의 유리 아미노산 조성 특성을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 복어독 조추출액의 조제 및 분석

복어독 조추출액은 복섬(*Takifugu niphobles*)의 간장(1 kg)을 마쇄하여 3 배량의 물을 넣고 초산으로 pH를 4.0으로 조절한 다음 10 분간 가열하여 추출하고 여과 후 hexane으로 탈지하였으며 활성탄 칼럼에서 1 % 초산을 포함한 20 % 에탄올로 용출한 액을 감압 농축한 것을 복어독 조추출액 원액으로 하여 -20 °C에 냉동보관하면서 적당량을 희석하여 독성을 조정된 것을 실험에 사용하였다(Jang et al., 2008). 복어 독성 시험은 마우스 복강 투여법으로 하였으며(KFDA, 2019), 독성분 조성은 LC/MS를 이용하여 분석하였다(Jang et al., 2010).

2. 미나리 추출액의 조제 및 유리 아미노산의 분석

통영의 농장에서 재배한 물미나리(*Oenanthe javanica*, 5 kg)를 시장에서 구입하여 이물질을 제거한 후 세척하고 마쇄하여 3 배량의 물을 넣고 1시간 동안 열수로 추출하였다. 추출액은 여과 후 동결 건조하여 두고 일정량을 실험에 사용하였다. 또한 추출액의 일부는 중공사막을 이용한

한외 여과 장치(Ultra filtration)를 이용하여 분자량 10,000 이하 획분을 모아 동결 건조한 부분 정제 분말을 시험에 사용하였다.

유리 아미노산은 열수 추출한 여과액 20 ml에 70 % 에탄올(100 ml)을 가하고 sulfosalicylic acid(2 mg)을 첨가하여 하루동안 냉장고에 방치한 후 여과하여 단백질 침전을 제거하였다. 여과액은 농축하여 lithium buffer (pH 2.2)로 정용한 후 다시 여과(UF, MWCO 30,000)하여 유리 아미노산 자동 분석기(Biochrom30 plus, Biochrom, UK)로 3회 반복하여 분석하고 평균값과 표준편차를 구하였다.

3. 콩나물, 마늘 및 팽이밥 추출물의 조제

콩나물과 마늘(*Allium sativum*)은 통영 재래시장에서 구입하여 이물질을 제거한 후 세척하고 마쇄하여 3배량의 물을 넣고 1시간 동안 열수로 추출하였다. 추출액은 여과 후 동결 건조하여 분말로 만들어 일정량을 실험에 사용하였다. 한편, 팽이밥(*Oxalis corniculata*)은 통영 인근에 자생하는 것을 채취하여 동일한 방법으로 추출물의 분말을 만들어 사용하였다.

4. 4-aminopyridine(4-AP)

실험에 사용한 4-aminopyridine(CAS No. 504-24-5, 98%)은 Sigma-Aldrich사에서 구입하여 일정 농도를 수용액으로 만들어 사용하였다.

5. 마우스 치사 시간의 측정

실험에 사용한 마우스는 ICR계 수컷 마우스를 오리엔트바이오사(한국)에서 사육한 것을 구입하여 19~20 g 사이의 일정한 무게를 가진 것만 골라 한 군에 4~5 마리씩을 사용하였다. 마우스 치사 독성을 조사하기 위하여 적정 치사 시간이 10 분 정도 되도록 1.7 MU/mL 농도로 희석한 복어독 조추출액 0.5 mL에 시료 일정량을 녹인 수용

액 0.5 mL를 1회용 주사기로 뽑아 마우스의 복강에 투여하여 평균 치사 시간을 초 단위로 측정하였다. 대조군은 생리식염수(0.85 %, NaCl) 0.5 mL에 복어독 추출액만 첨가하여 마우스 복강에 투여하였고, 추출 시료는 각각 5, 10, 15, 20 mg 씩을 첨가하였으며, 미나리는 여기에 추가로 30, 40 mg을 첨가한 시료도 투여하였다. 4-AP는 임으로 7.5, 15, 30, 50 μ g을 각각 투여하였다. 연명율(Increase Life Span, ILS)은 대조군의 치사 시간을 100 %로 하여 연장된 치사 시간(T/C)을 %로 나타내었다.

III. 결과 및 고찰

1. 미나리 열수 추출물의 유리 아미노산 조성 특성

미나리의 잎과 줄기를 마쇄하여 열수 추출한 미나리의 유리 아미노산 조성을 <Table 1>에 나타내었다. 미나리를 가열하였을 때 우리나라는 성분 중 대부분은 유리 아미노산으로서 식품의 맛에 큰 영향을 줄 뿐 아니라 단백질 구성에 관여하지 않는 일부의 아미노산들은 생체내에서 다양한 작용을 한다.

미나리의 유리 아미노산 총 함량은 417.3 mg/100g 이었으며, 그 중 asparagine이 가장 많아 160.1 mg/100 g 으로 전체의 38.4 %를 차지하였으며, asparagine의 전구물질인 aspartic acid는 5.7 mg/100g(1.4 %)으로 소량이었다. Asparagine은 2개의 아미노기를 가지고 있어 암모니아 대사와 아미노기 전이 반응에 공여체로서 아미노산 대사와 아미노당의 합성에 관여하며, 뇌의 발달과 신경 세포 대사 기능 조절에 중요한 역할을 한다 (Asparagine, 2019). 또한 asparagine은 콩나물에도 많이 들어 있으며 알콜 분해 과정에서 생성되는 acetaldehyde 대사의 분해에 관여하여 숙취 해소에 도움이 된다고 알려진 비단백성 아미노산이다 (Park et. al., 1994; Yim et. al., 1995).

<Table. 1> Content and composition of free amino acids in *O. javanica*.

Name	Content mg/100g \pm SD*	Composition (%)
Phosphoserine	0.81 \pm 0.25	0.19
Taurine	0.09 \pm 0.01	0.02
Phosphoethanolamine	1.36 \pm 0.10	0.33
Urea	6.28 \pm 0.35	1.51
Aspartic acid	5.69 \pm 0.45	1.36
Threonine	6.47 \pm 0.03	1.55
Serine	7.68 \pm 0.07	1.84
Asparagine	160.06 \pm 0.31	38.36
Glutamic acid	0	0
Glutamine	119.80 \pm 2.12	28.71
Sarcosine	0.99 \pm 0.08	0.24
Amino adipic acid	0.05 \pm 0.02	0.01
Proline	2.17 \pm 0.11	0.52
Glycine	1.03 \pm 0.01	0.25
Alanine	9.00 \pm 0.09	2.17
Citrulline	0.13 \pm 0.02	0.03
α -aminobutyric acid	0.05 \pm 0.01	0.01
Valine	8.85 \pm 0.10	2.12
Cystine	0.30 \pm 0.02	0.07
Methionine	0.74 \pm 0.01	0.18
Cystathionine	0.13 \pm 0.02	0.03
Isoleucine	5.37 \pm 0.11	1.29
Leucine	4.97 \pm 0.14	1.19
Tyrosine	3.04 \pm 0.17	0.73
β -alanine	0.67 \pm 0.07	0.16
Phenylalanine	5.63 \pm 0.07	1.35
γ-aminobutyric acid	36.53 \pm 0.13	8.76
Ethanolamine	8.25 \pm 0.03	1.98
Ammonia	2.12 \pm 0.43	0.51
Hydroxylysine	0.11 \pm 0.04	0.03
Ornithine	0.11 \pm 0.00	0.03
Lysine	4.28 \pm 0.02	1.03
1-Methylhistidine	1.15 \pm 0.03	0.27
Histidine	3.12 \pm 0.05	0.75
Tryptophan	0.23 \pm 0.29	0.06
Arginine	9.96 \pm 0.04	2.39
Total	417.28 \pm 0.84	100.00

* Standard deviation

동식물 중의 유리 아미노산 함량은 생체내 단백질 합성과 아미노산 대사의 중심이 되며 흥분성 아미노산으로 알려진 glutamic acid가 가장 많은 것이 일반적이지만 미나리에서는 glutamic acid가 검출되지 않았으며, glutamic acid로부터 glutamine synthetase의 작용으로 생성되는 glutamine의 함량이 119.8 mg/100g(28.7 %) 이었다.

Glutamine은 단백질과 지질의 합성, 간장에서의 산-염기 평형, 아미노기 공여, purine 합성에 질소 공여, 장점막의 정상 유지 등, 인체 내에서 중요한 역할을 한다(Glutamine, 2019). 특히, glutamic acid의 탈탄산 작용으로 만들어지는 아미노산인 γ -aminobutyric acid(GABA)가 36.5 mg/100g (8.8 %) 이었다. Glutamic acid가 흥분성 아미노산인데 비하여 GABA는 동물의 뇌에 존재하며 중추 신경에 작용하여 흥분 억제와 조절 등 다양한 작용을 가진 신경 전달 억제 물질로 혈압 저하 (Ohmori, et al., 1987), 스트레스 저하(Hayakawa et al., 2004), 암세포의 증식 억제 기능 (Oh et al., 2004)등이 보고되어져 있다. 식품 분야에서도 기능 성분으로 GABA가 함유된 여러 가지 제품에 이용하고 있다.

이들 3 종의 아미노산이 유리 아미노산 전체의 76 %를 차지하였으며, arginine이 10.0 mg/100g (2.4 %), valine과 alanine 이 각각 9 mg/100g(2 %), 나머지는 2% 이하의 미량이었다. 미나리의 유리 아미노산 중에서 carboxyl기를 2개 가진 산성 아미노산들은 염기의 형태로 존재하였다.

2. 부분 정제한 복어독 조추출액의 독성 및 독성분 조성

생리 식염수만을 투여하거나 복어독을 첨가하지 않고 시료만 일정량 첨가한 대조군에서는 마우스가 치사하지 않았으나 복어독 조추출액을 첨가한 시료에서는 전형적인 신경마비를 동반한 복어독 중독 증상을 나타내었다.

복섬의 간장으로부터 추출하여 부분 정제한 조추출액의 총 독성은 150,000 MU 이었으며 LC/MS로 분석한 결과 독성분 조성은 TTX 22 %, 5,6,11-trideoxyTTX 34 %, 6,11-dideoxyTTX 29 %, 4,9-anhydroTTX 11 %, 4-epiTTX는 0.8 %로 되어 있었다.

3. 미나리 추출물이 복어독에 중독된 마우스 치사 시간에 미치는 영향

미나리 열수 추출물이 복어독에 중독된 마우스 독성의 감독 효과를 알아보기 위하여 미나리 열수 추출물의 동결건조 분말 일정량을 복어독 추출물 희석액에 첨가하여 마우스의 복강에 투여하고 치사 시간을 측정하여 <Table 2>에 나타내었다. 사용한 마우스의 평균 무게와 마리수, 연명율(ILS)도 동시에 나타내었다. 복어독 무첨가군의 마우스 평균 치사 시간은 661.8 초 이었으나 미나리 추출 분말을 5 mg 투여시 평균 치사 시간이 증가하여, 30 mg 에서는 1,533.3 초(연명 시간이 852.8 초(연명율 129 %)로 증가하였으며

<Table 2> Effect of dropwort extract to the survival time of mice poisoned with partially purified puffer fish toxin

	Injection content(mg)						
	0	5	10	15	20	30	40
Mouse weight(g)	19.7±0.4	19.3±0.2	19.6±0.2	20.0±0.3	19.7±0.4	19.7±0.2	19.7±0.2
Survival time(sec.)	661.8 ±35.0	852.8 ±32.5	1,066.0 ±41.5	1,082.0 ±26.9	1,155.8 ±49.3	1,533.3 ±191.8	1,356.5 ±136.5
ILS(%)*	100	129	161	164	174	232	205
No. of mice**	5/5	4/5	4/4	4/4	4/4	3/5	2/5

*: Increase Life Span(T/C x 100), ** : No. of dead mice /No. of tested mice

미나리 추출 분말을 증가하여 투여 할수록 치사율 232 %)로 치사 시간이 복어독 무첨가군에 비하여 2배 이상 연장되었으나, 40 mg 에서는 오히려 치사 시간이 30 mg 투여시 보다 약간 감소하였다. 그러나, 30 mg 투여시에는 마우스 5 마리 중 2 마리가, 40 mg 투여시는 5 마리 중 3 마리가 각각 생존하여 투여량이 증가함에 따라 연명 효과가 큰 것으로 나타났다.

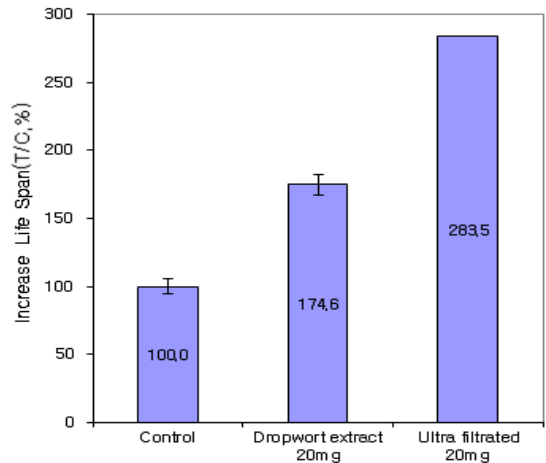
미나리 열수 추출물에서 고분자 수용성 물질을 한외 여과로 제거하고 분자량이 10,000 이하가 되는 저분자 획분의 분말 20 mg 을 첨가하여 투여한 경우는 [Fig. 1]에 나타난 바와 같이 치사 시간이 1,876 초로 복어독 무첨가군에 비하여 치사 시간이 284 %로 연장되었으며, 한외 여과 처리하지 않은 미나리 추출 분말을 20 mg 투여시의 치사 시간보다도 114 %나 증가하였다. 특히, 시험에 사용한 5 마리의 마우스 중 4 마리는 생존하였으며 1 마리만 치사하였다.

이는 미나리 열수 추출물 중에서 치사 시간을 연장 시키는 성분들이 고분자 물질이 아니고 분자량 10,000 이하의 저분자 수용성 물질임을 시사하였다.

4. 콩나물 추출물이 복어독에 중독된 마우스 치사 시간에 미치는 영향

콩나물은 복어 요리에 미나리와 함께 많이 사용되는 부재료로서 콩나물에 함유된 유리 아미노

산 함량은 재배 조건에 따라 다르나 유리 아미노산 중에서는 asparagine이 압도적으로 많으며 소량의 GABA와 glutamic acid가 들어 있으나 glutamine은 없다(Cha et al., 2011).



[Fig. 1] Increase life span(ILS) of mice, poisoned with partially purified puffer fish toxin, which injected 20 mg dropwort extract powder before and after ultra filtrated with membrane(MWCO 10,000).

콩나물 열수 추출물이 복어독에 중독된 마우스 독성의 감독 효과를 알아보기 위하여 콩나물 열수 추출물의 동결건조 분말 일정량을 복어독 추출물 희석액에 첨가하여 마우스의 복강에 투여하고 치사 시간을 측정한 결과를 <Table 3>에 나타내었다.

<Table 3> Effect of bean sprout extract to the survival time of mice poisoned with partially purified puffer fish toxin

	Injection content(mg)				
	0	5	10	15	20
Mouse weight(g)	19.7±0.4	19.4±0.3	19.6±0.3	19.5±0.2	19.3±0.1
Survival time(sec.)	661.8±35.0	769.0±37.6	806.2±65.8	744.0±21.1	733.3±40.3
ILS(%)*	100	116	122	112	111
No. of mice**	5/5	4/4	5/5	4/4	4/4

* : Increase Life Span(T/C x 100), ** : No. of dead/No. of tested

복어독 무침가군의 마우스 평균 치사 시간은 661.8 초 이었으며 콩나물 추출 분말을 10 mg 투여시 평균 치사 시간이 806.3 초(연명율 122 %)로 가장 길었으며 그 이상 콩나물 추출물 분말의 농도를 증가 하여도 치사 시간은 오히려 감소하여 효과가 없었다. 이는 콩나물 중에 다량으로 함유된 asparagine을 포함한 수용성 성분들은 알콜로 인한 숙취에는 도움이 되나 복어독의 독성을 감소시키는 효과가 없는 것으로 추정되었다.

5. 마늘 추출물이 복어독에 중독된 마우스 치사 시간에 미치는 영향

마늘은 우리나라 사람들이 예로부터 먹어온 약용식물이며 기능성 식품이다. 또, 여러 가지 요리에 즐겨 사용하는 향신료로서 복어 요리에도 사용된다. 마늘에는 매운맛을 내는 allicin을 포함한 여러 가지 함유 화합물들이 들어 있으며 항암을 비롯한 살균, 정장, 면역 증강, 항산화 작용등 다양한 작용을 하는 것으로 알려지고 있다. 마늘의 유리 아미노산으로는 강염기성 아미노산인 arginine이 전체 유리 아미노산의 30 % 이상 들어 있다(Kim et al., 2005). Arginine은 요소 회로에서 필수 성분으로 혈관 확장 작용, 면역조절, 항산화 작용이 있다(Arginine, 2019).

마늘 열수 추출물이 복어독에 중독된 마우스 독성의 감독 효과를 알아보기 위하여 마늘 열수 추출물의 동결 건조 분말 일정량을 복어독 추출물 희석액에 첨가하여 마우스의 복강에 투여하고

치사 시간을 측정한 결과를 <Table 4>에 나타내었다. 마늘 추출물 분말을 10 mg 투여 시까지는 복어독 무침가군과 치사 시간에 큰 차이는 없었으나 20 mg 투여 시에는 985.5 초 까지 생존 시간이 연장되었다.

6. 팽이밥 추출물이 복어독에 중독된 마우스 치사 시간에 미치는 영향

팽이밥은 oxalic acid가 많이 들어 있어 시큼한 맛을 내는 야생초로서 식용 가능하다. 약용 식물로서 oxalic acid 외에 flavonoid, tannin, phytosterol 등 여러 가지 성분이 들어있으며 항균 작용을 비롯한 항염증, 항산화, 항암, 간장 보호, 항폐양, 상처 치료 등 다양한 작용이 있다고 알려져 있다 (Srikanth et. al., 2012; Sohail et. al., 2014). 특히, 남해안의 일부 지역에서는 복어 중독에 효과가 있다고도 민간에 구전되고 있다.

팽이밥 추출물 분말이 복어독에 중독된 마우스 치사 시간에 미치는 영향을 시험한 결과, 10 mg까지는 약간의 연명 효과가 있었으나 20 mg 에서는 오히려 치사 시간이 단축되어([Fig. 5]) 복어독 해독에는 효과가 없는 것으로 추정되었다.

7. 4-AP의 복어독에 중독된 마우스 치사 시간에 미치는 영향

K⁺ ion channel을 차단하는 작용을 가진 4-AP는 급성 신경독인 TTX나 마비성 패독 성분인 saxitoxin에 의한 심호흡 기능 저하에 길항적으로

<Table 4> Effect of garlic extract to the survival time of mice poisoned with poisoned partially purified puffer fish toxin

	Injection content(mg)				
	0	5	10	15	20
Mouse weight(g)	19.7±0.4	19.4±0.2	19.6±0.3	19.4±0.4	19.6±0.3
Survival time(sec.)	661.8±35.0	666.0±18.7	721.0±50.1	881.8±69.4	985.5±38.2
ILS(%)*	100	101	109	133	149
No. of mice**	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

* : Increase Life Span(T/C x 100), ** : No. of dead/No. of tested

작용하여 심폐 기능 회복 효과가 있다고 하여 치료제로서의 가능성이 있어 관심을 모으고 있다 (Chang et. al., 1996; Chang et. al., 1997; Benton et. al., 1997). 4-AP의 경우, 30 μg 투여시 치사 시간이 1,072.3 초로서 복어독 무첨가군에 비하여 153 %의 연명률을 보였으나 50 μg 투여 시에는 오히려 치사 시간이 955 초(연명율 136 %)로 감소하였다.

복국 등 복어 요리에 많이 사용되는 미나리, 콩나물, 마늘 중에서 미나리의 열수 추출물이 복어독에 의한 마우스의 치사 시간을 연장 시키는 효과가 가장 좋아 해독에 유효한 성분이 있는 것으로 추정되었으며, 복어독의 해독에 효과가 있다고 민간에 알려진 팽이밥은 크게 효과가 없었다. 또한, 이들 추출물은 일정량 이상 투여시 오히려 효과가 감소하여 농도에 의존하는 것으로 나타났다. 단일 물질인 4-AP의 경우도 예상과 달리 미나리 추출물 보다 효과가 적었으며, 농도가 증가하면 오히려 치사 시간이 감소하였다.

이상의 결과, 미나리는 복어독 중독에 해독 효과가 있는 것으로 보이며 복어 요리에 미나리를 넣어 먹는 식습관은 맛이나 향은 물론 독에 의한 중독을 예방하기 위한 선조들의 지혜라고도 볼 수 있다.

미나리 추출물의 유리 아미노산 성분 조성은 콩나물이나 마늘과 달리 다양한 생리활성을 지닌 asparagine, glutamine, GABA가 주성분으로 되어 있어 유리 아미노산의 분석 결과로 볼 때, asparagine을 미나리 보다 많이 함유한 콩나물이 치사 시간 연장에 효과가 적은 것으로 보아 미나리에서는 asparagine을 포함한 glutamine이나 GABA 등 여러가지 성분들의 복합 작용으로 치사 시간의 연장 효과가 있는 것으로 추정되었다. 그러나, 유리 아미노산 이외의 다른 수용성 성분들이 치사 시간을 연장 하는 효과가 있을 가능성을 배제할 수 없으며, 유효 성분을 규명하기 위하여 추가 실험 중에 있다.

<Table 5> Effect of wood sorrel extract to the survival time of mice poisoned with poisoned partially purified puffer fish toxin

	Injection content(mg)				
	0	5	10	15	20
Mouse weight(g)	19.7±0.4	19.3±0.1	19.4±0.3	19.5±0.2	19.6±0.2
Survival time(sec.)	661.8±35.0	747.8±45.0	755.6±37.0	665.8±48.9	653.5±42.2
ILS(%)*	100	113	114	101	99
No. of mice*	4/4	4/4	5/5	4/4	4/4

* : Increase Life Span(T/C x 100), ** : No. of dead/No. of tested

<Table 6> Effect of 4-aminopyridine to the survival time of mice poisoned with partially purified puffer fish toxin

	Injection content(μg)				
	0	7.5	15	30	50
Mouse weight(g)	20.9±0.5	21.8±0.4	20.9±0.4	19.7±0.5	20.9±0.4
Survival time(sec.)	700.0±64.7	922.2±14.8	955.0±154.0	1,072.3±144.6	955.0±97.0
ILS(%)*	100	132	136	153	136
No. of mice**	5/5	5/5	4/4	4/4	5/5

* : Increase Life Span(T/C x 100), ** : No. of dead/No. of tested

IV. 결 론

복어독 중독에 대한 예방이나 해독과 관련한 기초 자료를 얻을 목적으로 미나리(*Oenanthe javanica*), 콩나물, 마늘(*Allium sativum*), 팽이밥(*Oxalis corniculata*)의 열수 추출물 건조 분말과 4-aminopyridine(4-AP) 일정량을 각각 복어 간장으로부터 복어독 조추출물을 조제하여 마우스 복강에 함께 투여하고 치사 시간을 측정하여 생명 연장 효과를 조사하였으며 효과가 가장 좋은 미나리의 유리 아미노산 함량을 조사하였다.

1. 미나리의 유리 아미노산 함량은 417.3 mg % 로서 주요 유리 아미노산은 asparagine (160.1 mg %), glutamine (119.8 mg %), γ -aminobutyric acid (36.5 mg %)이 전체의 78 %를 차지 하였고 glutamic acid는 없었다.
2. 미나리 추출 건조물을 30 mg을 투여하였을 경우 치사시간이 무침가지 662 초에서 1,493 초 까지 증가하였으나(연명률 232 %), 40 mg 투여시는 감소하였다.
3. 콩나물, 마늘, 팽이밥 추출물의 경우도 소량 투여시는 치사 시간이 다소 증가하였으나 큰 차이는 없었다.
4. 4-AP는 30 μ g 투여시 치사 시간이 1,072.3 초로서 복어독 무침가군에 비하여 153 % 의 연명률을 보였으나 50 μ g 투여시에는 오히려 치사 시간이 955 초(연명률 136 %)로 감소하였다.
5. 미나리 추출물의 경우 복어독 중독에 대하여 열수 추출물 중의 주요 아미노산의 작용이거나 또는 다른 수용성 물질이 해독에 관여하는 것으로 시사되었다.

References

Arginine(2019). <https://en.wikipedia.org/wiki/Arginine>
 Benton BJ, Keller SA, Spriggs DL, Capacio BR and Chang FCT(1997). Recovery from the lethal effects

of saxitoxin: a therapeutic window for 4-aminopyridine(4-AP), *Toxicol*, 36, 571~588.
 Cha MJ, Park EH, Kang SC and Baek KH(2011). Effects of various wavelength on the hardness and the free amino acid contents of soybean sprouts, *Korean J Environ Agric*. 30, 402~408.
<https://doi.org/10.7318/KJFC/2016.31.3.213>
 Chang, FCT, Bauer RM, Benton BJ, Keller SA and Capacio BR(1996). 4-Aminopyridine antagonizes saxitoxin- and tetrodotoxin-induced cardiorespiratory depression, *Toxicol*, 34, 671~690.
 Chang, FCT, Spriggs DL, Benton BJ, Keller SA and Capacio BR(1997). 4-Aminopyridine Reverses Saxitoxin(STX)- and Tetrodotoxin (TTX)-Induced cardiorespiratory depression in chronically Instrumented Guinea Pigs, *Fundam. Appl. Toxicol*. 38, 75~88.
 Glutamine(2019). <https://en.wikipedia.org/wiki/Glutamine>
 Hayakawa K, Kimura M, Kasaha K, Matsumoto K, Sansawa H and Yamori Y(2004). Effect of a gamma-aminobutyric acid enriched dairy product on blood pressure of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats, *Brit. J. Nutr*. 92, 411~417. <https://doi.org/10.1079/BJN.20041221>
 Hwang CR, Hwang IG, Kim HY, Kang TS, Kim YB, Joo SS, Lee J and Jeong HS(2011). Antioxidant component and activity of Dropwort(*Oenanthe javanica*) ethanol extracts, *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 40, 316~320.
<https://doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.6.882>
 Hwang SJ, Park J and Kim JD(2013). Component analysis and antioxidant activity of *Oenanthe javanica* extracts, *Korean J. Food Sci. Technol*. 45, 227~234.
<https://doi.org/10.7318/KJFC/2015.30.1.097>
 Jang JH, Lee JS and Yotsu-Yamashita M(2010). LC/MS analysis of tetrodotoxin and its deoxy analogs in the marine puffer fish *Fugu niphobles* from the southern coast of Korea, and in the Brackishwater puffer fishes *Tetraodon nigroviridis* and *Tetraodon biocellatus* from southeast Asia, *Mar. Drugs* 8, 1049~1058.
<https://doi.org/10.3390/md804149>
 Jang JH, Yun SM, Kim JS and Lee JS(2008). Toxin profile in the liver of puffer fish, *Takifugu niphobles*, and Changes in mouse toxicity by pH

- and heating conditions, J Korean Soc Food Sci Nutr. 37, 612~617.
<https://doi.org/10.3746/jkfn.2008.37.5.612>
- KFDA(2017). Tetrodotoxin limit, food code, chapter. 2. standards and specification for general foods, specification for fisheries products, 55~56.
- KFDA(2019). Chapter 8. general test, 9. toxic components in foods, 9.10. tetrodotoxin.
- Kim JH, Gong QL, Mok JS, Min JG, Lee TS and Park JH(2003). Characteristics of puffer fish poisoning outbreaks in Korea (1991-2002), J. Fd Hyg. Safety, 18, 133~138.
- Kim TH, Ku S, and Bae JS(2012). Persicarin is anti-inflammatory mediator against HMGB1-induced inflammatory responses in HUVECs and in CLP-induced sepsis mice, Journal of Cellular Physiology, 228, 698~703.
<https://doi.org/10.1002/jcp.24214>
- Kim YD, Seo JS, Kim KJ, Kim KM, Hur CK, Cho IK(2005). Component analysis by different heat treatment of garlic(*Allium sativum L.*) Korean J Food Preserv. 12, 161~165.
- Minari.(2016). <https://www.nongsaro.go.kr>
- Minari.(2019a). <https://terms.naver.com/>
- Minari.(2019b). <http://100.daum.net/encyclopedia/>
- Narahashi T.(2001). Pharmacology of tetrodo-toxin. J. Toxicol. -Toxin Rev. 20, 67~84.
<https://doi.org/10.1081/TXR-100102537>
- Noguchi T and Arakawa, O(2008). Tetrodotoxin - Distribution and accumulation in aquatic organisms and cases of human intoxication, Mar. Drugs, 6, 220-242. (DOI: 10.3390/md20080011)
- Oh CH, Oh SH(2004). Effect of germinated brown rice extracts with enhanced levels of GABA on cancer cell proliferation and apoptosis, J. Med. Food, 7, 19~23.
<https://doi.org/10.1089/109662004322984653>
- Ohmori M, Yano T, Okamoto J, Tsushida T, Murai T and Higuchi M(1987). Effect of anaerobically treated tea(Gabaron tea) on blood pressure of spontaneously hypertensive rats, Nippon Nogei Kagaku Kaishi. 61, 1449~1451.
- Parangorimuneo.(2019). <https://namuwiki/>
- Park JC, Ha JO and Park KY(1996) Antimutagenic effect of flavonoids isolated from *Oenanthe javanica*, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 25, 588~592.
- Park JC, Hur JM and Park, JG(2002) Biological activities of Umbelliferae family. plants and their bioactive flavonoids, Food Industry and Nutrition, 7, 30~34.
- Park JC, Kim JY, Lee YJ, Lee JS, Kim BG, Lee SH and Nam DH(2008). Protective effect of *Oenanthe javanica* extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats, Yakhak Hoeji, 52, 316~321.
- Park JC, Yu YB, Lee IH and Kim NJ(1994). Studies on the chemical components and biological activities of edible plants in Korea (VI) Anti-inflammatory and analgesic effects of *Cedrela sinensis*, *Oenanthe javanica* and *Artemisia princeps var. orientalis*-, j. Korean Soc. Food Nutr. 23, 176~119.
- Park SC(1994). Effect of bean sprout extracts on metabolism and biological functions of ethanol in vitro and in vivo. International symposium on soybean: production, processing and nutrition, Korea Soybean Digest, 11, 121~130.
<https://doi.org/10.9721/KJFST.2014.46.5.616>
- Priest BT, Murphy BA, Lindia JA, Diaz C, Abbadie C, Ritter AM, Liberator P, Iyer LM, Kash SF, Kohler MG, Kaczorowski GJ MacIntyre DE, Martin WJ, Catterall WA(2005). Contribution of the tetrodotoxin-resistant voltage-Gated sodium channel NaV 1.9 to sensory transmission and nociceptive behavior proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, National Academy of Sciences 9382~9387.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0501549102>
- Sim HJ, Kim SM, Jeon YJ and Lee YE(2015). Antioxidant activity of dropwort(*Oenanthe javanica* DC) Fermented extract and its hepatoprotective effect against alcohol in rats, J. Korean Soc. Food Cult. 30, 97~104.
<https://doi.org/10.7318/KJFC/2015.30.1.097>
- Sohail I, Hussain K, Bukhari NI, Islam M, Tanveer M, Furqan K, Hashmi K, Latif A, Hussain A, Danish MZ, Shahwar DE, Shamim R and Naureen S(2014). Analytical, antioxidant and hepatoprotective studies on extracts of *Oxalis corniculata* Linn, J. Chem. Soc. Pak., 36, 630~638.

Srikanth M, Swetha T and Veeresh B(2012).
Phytochemistry, pharmacology and therapeutic
application of *Oxalis corniculata* Linn. - a review,
IJPSR, 3, 4077~4085.
[http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3\(11\).
4077-85](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3(11).4077-85)
Yim DS, Lee KH, Jang IJ, Shin SG, Lee YS and
Park SC(1995). Effect of aspartate and asparagine

on metabolism and central nervous system effect of
alcohol in healthy male volunteers, Korean J
Physiol & Pharmacol. 31, 261~270.

-
- Received : 25 June, 2019
 - Revised : 04 July, 2019
 - Accepted : 30 July, 2019