

아미그달린 저감화 매실청의 독성동태학적 및 경구독성 연구

김현진¹ · 고미란¹ · 유 진¹ · 황지수¹ · 최현우² · 김현석² · 최수진^{1,*}
¹서울여자대학교 식품응용시스템학부 식품공학전공, ²경기대학교 식품생물공학과

Toxicokinetics and oral toxicity of Maesil-cheongs with reduced amygdalin levels

Hyeon-Jin Kim¹, Mi-Ran Go¹, Jin Yu¹, Ji-Soo Hwang¹, Hyun Woo Choi², Hyun-Seok Kim², and Soo-Jin Choi^{1,*}

¹Division of Applied Food System, Major of Food Science & Technology, Seoul Women's University

²Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University,

Abstract In this study, the safety aspect of Maesil-cheongs with reduced amygdalin levels was investigated in terms of toxicokinetics and repeated oral toxicity. Plasma or UVC treatment was utilized to obtain Maesil-cheongs with reduced amygdalin levels. The toxicokinetic study demonstrated that the oral absorption of amygdalin decreased remarkably after a single-dose oral administration of both plasma- and UVC-treated Maesil-cheongs. The fourteen-day repeated oral toxicity study revealed that plasma- or UVC-treated Maesil-cheongs did not cause changes in body weight, food intake, water consumption, and absolute and relative organ weights. No significant effects on hematological and serum biochemical parameters were found. Histopathological examination showed no abnormality or toxicological change. These findings suggest that plasma- and UVC-treated Maesil-cheongs have no toxicity potential, and these processes will be useful to obtain products with safe, reduced amygdalin levels.

Keywords: Maesil-cheong, amygdalin, toxicokinetics, oral toxicity

서 론

매실(*Prunus mume*)은 장미과에 속하는 매화 나무의 열매로, 원산지는 중국의 사천성과 호북성의 산간지이며 아시아대륙의 동남부 즉, 한국, 중국, 일본 및 대만의 온난한 기후 지역에 분포하고 재배되고 있다(Kang, 1990; Lim과 Eun, 2012). 매실은 오래전부터 건강 기능성으로 인해 차로 음용되거나, 술, 음료, 절임, 잼, 농축액(청), 식초 등 각종 식품으로 이용되고 있다. 매실은 동의보감 및 본초강목 등 각종 한의서에서 만성기침, 열기, 목마름, 설사, 혈변, 혈뇨, 구충, 해열, 발한 등에 약리 작용이 있는 것으로 기록되어 있다(Hwang 등, 2004; Lee 등, 2007). 최근 건강 기능성에 대한 관심이 증가함에 따라 매실의 생리활성에 대한 연구가 진행되어 항균성, 항암성, 항산화성, 항혈전, 피로회복, 간 기능 개선, 위장장애 억제 효과 등이 보고된 바 있는데(Kim 등, 1997; Chuda 등, 1999; Hwang, 2005; Otsuka 등, 2005; Choi 등, 2007; Piirainen 등, 2007), 이러한 생리활성은 다량의 유기산 및 항산화 물질을 함유하고 있기 때문으로 보인다(Shim 등, 2002; Lee 등, 2004). 매실에는 시트르산, 사과산, 수산, 타타르산, 석신산 등 다양한 유기산이 다량 함유되어 있고, 항산화 물질의 주된

성분은 루틴(rutin)으로 알려져 있다(Kim 등, 1996; Han 등, 2001).

그러나 최근 매실에 함유된 사이안글리코사이드, 특히 아미그달린(amygdalin, $C_{20}H_{27}NO_{11}$)에 대한 독성 논란으로 소비자들의 불안감 및 혼란을 초래하여 성장하던 매실산업이 침체에 이르게 되었다. 특히 매실추출제품은 6월 중순~7월 초순에 과육이 단단하고 과란, 익지 않은 청매실 상태에서 수확하여 가공하게 되는데, 청매실에 아미그달린이 가장 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(Kim 등, 2010). 아미그달린은 매실 이외에 체리, 복숭아, 살구, 사과, 배와 같은 과일의 씨와 쓴 아몬드에서도 발견된다(Tatsuma 등, 1998). 아미그달린은 경구 섭취 시 소장 존재하는 베타글루코사이드 가수분해효소(β -glucosidase)에 의해 가수분해되어 프루나신(prunasin)과 만델로나이트릴(mandelonitrile)로 분해되고, 만델로나이트릴은 다시 분해되어 벤즈알데하이드(benzaldehyde)와 사이안화수소(HCN)를 생성하는 것으로 알려져 있다(Hughes 등, 2003; Newmark 등, 1981; Poulton과 Li, 1994; Shim과 Kwon, 2010). 최종 분해산물인 사이안화수소는 무색의 휘발성 액체로 특유의 냄새가 있으며, 사이안화수소의 수용액을 사이안화수소산 또는 청산이라고 한다. 사이안화수소는 미토콘드리아 세포호흡에 관여하는 단백질의 일종인 사이토크롬(cytochrome) 산화효소(oxidase)의 헴(heme) 부분 철(iron)과 결합하여 산소 이용이 저해되고, 궁극적으로 산화 대사가 정지되어 무산소 상태에 이르게 하는 맹독성 물질이다(Antonini 등, 1971; Cooper와 Brown, 2008; Shragg 등, 1982). 따라서 다량 섭취 시 마비, 혼수, 호흡마비에 의한 사망에 이를 수 있고, 장기간 섭취 시 현기증, 구토, 호흡곤란, 경련 등의 증상을 유발하며, 피부로도 쉽게 흡수되어 중독을 일으킨다(Akyildiz 등, 2010; Egekeze와 Oehme, 1980; Sanchez-Verlaan 등, 2011). 한편 사이안화수소는 휘발성이 크고,

*Corresponding author: Soo-Jin Choi, Division of Applied Food System, Major of Food Science & Technology, Seoul Women's University, Seoul 01797, Korea
Tel: +82-2-970-5634
Fax: +82-2-970-5977
E-mail: sjchoi@swu.ac.kr
Received October 17, 2018; revised October 26, 2018;
accepted October 26, 2018

끓는 점이 26°C로 낮아 가공과정에서 쉽게 제거되며, 저장기간이 증가함에 따라 대부분 공기 중으로 휘산되는 것으로 알려져 있다(Feng 등, 2003). 그럼에도 불구하고 매실추출제에 함유되어 있는 아미그달린의 잠재적 독성 영향으로 인한 소비자의 불안감은 완전히 해소되지 않고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 매실청에 존재하는 아미그달린 저감화 공정을 개발하고자 플라즈마 및 자외선(ultraviolet, UVC) 처리 공정을 개발하였으며, 이와 같이 생산된 아미그달린 저감화 매실청에 대한 독성동태학적 연구 및 14일 반복 경구독성 평가를 통해 안전성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 아미그달린 저감화 매실청 제조

본 연구에 사용된 매실은 2016년에 수확되었으며, 과실과 설탕을 1:1로 혼합하여 3개월간 저장 후 과실을 건져내고 다시 9개월간 숙성한 매실청을 슬로푸드(주)(경상남도, 대한민국)로부터 공급받아 플라즈마 및 자외선(UVC) 처리하여 아미그달린 저감화 매실청을 제조하였다.

매실청의 플라즈마 처리는 자체 제작한 수중 플라즈마 처리 장치(Fig. 1)를 이용하여 수행하였다. 매실청 500 g을 반응기에 넣고 입력전압 80 V로 하여 수중 플라즈마 처리 장치를 가동시켜 플라즈마가 발생하는 3 A의 전류량에 도달하였을 때부터 1시간 동안 플라즈마 처리를 수행하였다. 플라즈마 처리를 수행하는 동안 전류량이 5 A를 초과하지 않도록 입력전압조정기를 이용하여 입력전압을 조정하였으며, 플라즈마 처리에 소요된 전력량은 평균적으로 320 W였다. 플라즈마 처리 완료 후(매실청 온도 약 96.5°C) 감압여과하여 매실청 내의 침전물과 부유물을 제거하고 상온으로 냉각하였다. 회수된 플라즈마 처리 매실청은 증류수를 가하여 무처리 매실청의 당도(48°Bx)로 조정한 후 4°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

매실청의 UVC 처리는 UVC 램프(G6T5/OF RG3, Hansung Ultraviolet Co., Ltd., Seongnam, Korea)가 장착된 UVC 조사 처리 장치(Kim과 Yoo, 2015)를 이용하여 수행하였다. 매실청은 2개의 석영 페트리디쉬(지름 115 mm, 높이 10 mm)에 각각 50 g씩 넣어(매실청의 높이는 5 mm) 뚜껑을 덮지 않은 상태에서 UVC 조사 처리 장치의 시료 지지대 위에 설치하고 상온에서 20 W/m²으로 24시간 동안 UVC를 조사하였다. UVC 조사가 완료되었을 때 매실청의 온도는 약 40°C이었다. UVC 처리 매실청은 증류수를 가하여 무처리 매실청의 당도(48°Bx)로 조정한 후 4°C에서 보

관하면서 실험에 사용하였다.

아미그달린 및 대사체 함량 분석

아미그달린 및 대사체의 함량은 다이오드어레이검출기(diode-array detector, DAD)가 장착된 고성능액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography (HPLC), Agilent 1100 series, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)로 분석하였으며, 모든 시료는 syringe filter (pore size: 0.45 µm; Advantec®, Toyo Roshi Kaicha Ltd., Tokyo, Japan)로 여과한 뒤 HPLC 분석에 사용하였다. 분석조건은 Supelcosil™ LC-18 (250 mm×4.6 mm i.d., 5 µm, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA) 칼럼을 사용하여 25°C에서 유속은 1 mL/min, 주입부피는 20 µL로 하였고, 이동상은 HPLC급 물(Samchun pure chemical Co., Ltd., Pyeongtaek, Korea)과 아세트나이트릴(Samchun pure chemical Co., Ltd.)을 80:20 (v/v)의 비율로 혼합한 용매를 사용하여 215 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 아미그달린(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 대사체인 프루나신(Sigma-Aldrich), 만델로나이트릴(Sigma-Aldrich), 벤즈알데하이드(Sigma-Aldrich) 및 사이안화수소(Sigma-Aldrich)를 표준물질로 사용하였다.

동물사육

독성동태학적 연구 및 14일 반복 경구 독성을 위하여 6주령의 암컷 Sprague-Dawley (SD) 래트를 코아텍(주)(Pyeongtaek, Korea)으로부터 공급받아 1주일간 순화시킨 뒤 실험에 사용하였으며, 고휘사료와 물은 자유롭게 공급하였다. 사육환경은 일정한 온도(20±2°C)와 습도(60±10%) 및 조명시간(12시간)을 유지하도록 하였다. 본 연구의 동물실험은 서울여자대학교 동물실험윤리심의위원회의 승인을 거쳐 수행하였다(승인번호: SWU IACUC-2018A-1).

독성동태학적 연구

그룹당 6마리의 암컷 SD 래트(약 200 g)에 플라즈마 및 UVC 처리 매실청을 각각 10 mL/kg로 경구투여하였고, 0, 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6시간 후 꼬리정맥에서 채혈한 뒤 원심분리(3000×g, 15분)하여 얻은 혈장을 HPLC 분석에 사용하였다. HPLC 분석 전 단백질을 침전시키기 위해 각 시료 부피의 2배에 해당하는 아세트나이트릴을 가하여 vortex한 뒤, 원심분리(10000×g, 3분)하여 얻은 상층액을 분석하였다. Kinetica 프로그램(version 4.4, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)을 이용하여 독성동태학적 파라메타인 최고혈중농도 도달시간(time to maximum concentration,

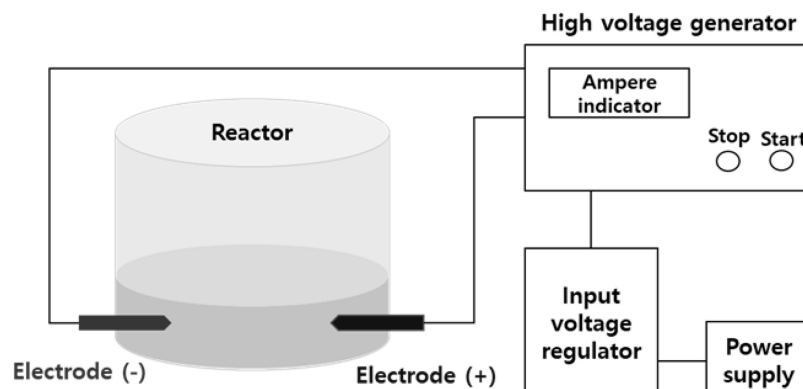


Fig. 1. Schematic diagram for underwater plasma equipment.

T_{max}), 최고혈중농도(maximum concentration, C_{max}), 혈장농도-시간 곡선하 면적(area under the plasma concentration-time curve, AUC), 반감기(half-life, $T_{1/2}$) 및 평균체류시간(mean residence time, MRT)을 도출하였다.

14일 반복 경구 독성

그룹당 5마리의 암컷 SD 래트(약 200 g)에 플라즈마 및 UVC 처리 매실청을 각각 10 mL/kg로 투여하였고, 대조군으로는 동일한 부피의 증류수를 투여하였다. 14일간 매일 1회 경구 투여하였으며, 시험기간 동안 매일 일정시간에 몸무게, 일반증상, 이상징후, 식이 및 물 섭취량을 기록하였다. 시험 종료일에 이산화탄소 가스를 사용하여 마취시킨 후 개복하여 10 mL 주사기를 이용하여 후대정맥에서 혈액을 채취하였으며, 각 장기를 적출하였다.

적출된 장기는 식염수로 세척한 뒤에 물기를 제거하고 무게를 측정하였으며, 각 장기에 대하여 절대 장기 및 체중에 대한 상대 장기 무게를 측정하였다. 상대 장기 무게(organo-somatic indices)는 $[(\text{조직 무게(g)}/\text{개체 체중(g)}) \times 100]$ 의 식을 통하여 산출하였다.

부검당일 채취한 혈액시료는 혈액학적 및 혈청생화학적 분석을 수행하였다(Jo 등, 2015). 자동혈구측정기(ADVIA 2120i, Siemens, Tarrytown, NY, USA)와 자동응고시간측정기(ALC 7000, Werfen Medical, IL, USA)를 이용하여 혈액학적 분석을 수행하였으며, 혈청생화학적 분석은 자동혈청분석기(TBA-120FR, Toshiba, Otawara, Japan)를 사용하여 측정하였다.

적출된 간, 비장, 신장 및 폐는 10% 중성완충포르말린(neutral buffered formalin)에 고정한 후, 일반적인 조직처리과정을 거쳐 제작된 슬라이드 표본을 헤마톡실린(hematoxylin)과 에오신(eosin) 염색 뒤 조직병리분석을 수행하였다.

통계분석

모든 실험결과는 평균값 \pm 표준편차로 나타내었으며, SAS 프로그램(Version 9.4, SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 one-way ANOVA 분석 후 Tukey's test를 이용하여 시험군과 대조군과의 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

매실청의 아미그달린 및 대사체 함량 분석

1년 숙성한 매실청의 아미그달린과 프루나신 함량은 각각 166.82 ± 1.46 과 31.57 ± 0.16 ppm으로 분석되었으며, 그 외 다른 대사체, 즉 만델로니이트릴, 벤즈알데하이드 및 사이안화수소는 검출되지 않았다(Fig. 2). 이러한 결과로 매실청 숙성 과정에서 아미그달린이 프루나신으로 일부 분해됨을 알 수 있다. 한편, 플라즈마 처리 후 아미그달린과 프루나신 함량은 각각 130.94 ± 6.34 , 36.53 ± 2.57 ppm으로 나타났으며, UVC 처리 후에는 각각 135.88 ± 10.16 , 36.79 ± 1.99 ppm으로 분석되어, 플라즈마 및 UVC 처리에 의해 아미그달린 함량이 각각 약 22, 19% 감소하는 것을 확인하였다. 플라즈마 및 UVC 처리 강도와 시간이 증가할 경우 화학적 반응에 의해 아미그달린으로부터 알려진 대사체 이외의 다른 부산물들이 생겨나는 것으로 판단되어(data not shown), 아미그달린 함량은 감소하면서 다른 부산물을 생성하지 않는 조건을 저감화의 최적 조건으로 이용하였다. 한편, 매실청에 존재하는 유기산이나 항산화 성분 같은 기능성 성분 혼합체들이 베타글루코사이드 가수분해효소에 의한 아미그달린의 분해를 억제하는 것으로 보고된 바 있는데(da Silva 등, 2017; Go 등, 2018; Kim 등, 2011; Peng 등, 2017), 이러한 특성이 매실청에서 플라즈마 및

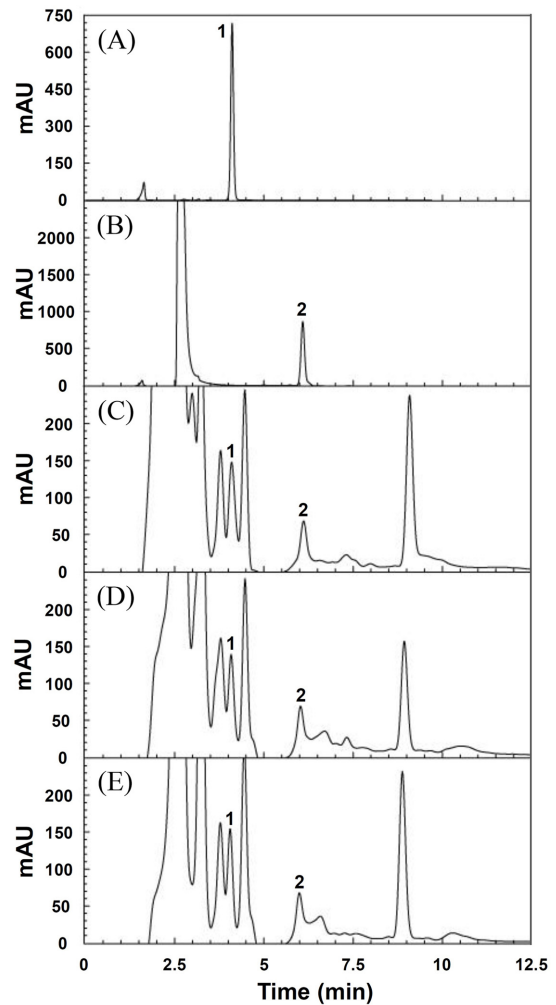


Fig. 2. HPLC chromatograms of amygdalin standard (A), prunasin standard (B), Maesil-cheong (C), plasma-treated Maesil-cheong (D), and UVC-treated Maesil-cheong (E). 1, amygdalin; 2, prunasin.

UVC 처리에 의해 아미그달린이 현저하게 감소하지 않는 본 연구결과를 설명할 수 있을 것이다.

독성동태 연구

플라즈마와 UVC 처리에 의해 아미그달린이 저감화된 매실청을 래트에 단회 경구투여하여 독성동태학적 프로파일을 분석한 결과, 두 저감화 매실청 모두 유사한 혈장농도-시간 프로파일을 나타내는 것으로 분석되었다(Fig. 3). 즉, 경구투여 후 0.5 시간에 최고혈중농도 도달시간(T_{max})을 보였으며, 최고혈중농도(C_{max})는 약 0.8-0.9 mg/L, 반감기($T_{1/2}$)는 약 1.6-1.9시간, 평균체류시간(MRT)은 3시간 이내인 것으로 나타났다(Table 1). 플라즈마 처리군과 UVC 처리군에서 독성동태학적 파라미터들간의 통계학적 유의적 차이는 나타나지 않았다($p > 0.05$). 이러한 결과는 저감화 처리하지 않은 매실청 자체의 T_{max} , C_{max} , $T_{1/2}$ 및 MRT 값이 각각 0.19 ± 0.09 시간, 9.57 ± 2.20 mg/mL, 0.47 ± 0.22 시간, 0.75 ± 0.28 시간으로 분석된 선행 연구결과와 비교하면(Go 등, 2018), 저감화 공정에 의해 아미그달린의 체내 흡수되는 양이 급격히 감소하였음을 제시한다. 실질적으로 흡수량을 계산하는데 이용하는 AUC 값을 비교해보면, 저감화 전 매실청은 7.39 ± 2.71 h \times mg/L의 값을 나타내었고(Go

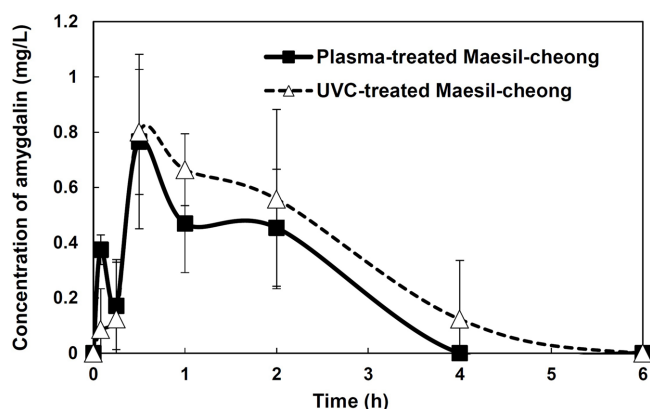


Fig. 3. Plasma concentration-time profiles of plasma-treated or UVC-treated Maesil-cheong after a single-dose oral administration to rats.

등, 2018), 플라즈마와 UVC 처리 후 각각 1.98 ± 0.69 , 2.20 ± 1.08 h \times mg/L의 값을 나타내어, 약 3.7, 3.4배의 체내 흡수량 감소에 의한 저감화 효과를 확인할 수 있었다. 플라즈마 처리와 UVC 처리 매실청의 아미그달린 흡수율(%)은 9.34 ± 3.24 , 9.93 ± 4.86 으로 유의적 차이가 나타나지 않았다($p > 0.05$).

14일 반복 경구 독성

플라즈마와 UVC 처리에 의해 아미그달린 저감화한 매실청의

Table 1. Toxicokinetic parameters and oral absorption of plasma- or UVC-treated Maesil-cheong after a single-dose oral administration to rats

Toxicokinetic parameters	Maesil-cheongs	
	Plasma-treated	UVC-treated
C_{max} (mg/L)	0.86 ± 0.10	0.81 ± 0.02
T_{max} (h)	0.5	0.5
AUC (h \times mg/L)	1.98 ± 0.69	2.20 ± 1.08
$T_{1/2}$ (h)	1.88 ± 0.98	1.58 ± 1.15
MRT (h)	3.01 ± 1.43	2.77 ± 1.53
Absorption (%)	9.34 ± 3.24	9.93 ± 4.86

All data showed no significant differences between plasma- and UVC-treated Maesil-cheongs at $p > 0.05$.

Abbreviation: C_{max} , maximum concentration; T_{max} , time to maximum concentration; AUC, area under the plasma concentration-time curve; $T_{1/2}$, half-life; MRT, mean residence time.

독성을 래트에 14일간 반복 경구투여하여 독성영향을 확인하였다. 몸무게 측정 결과, 저감화 매실청 투여기간 14일 동안 대조군 대비 몸무게 증가 또는 감소 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 4A). 저감화 매실청에 의한 식이 및 물 섭취량의 유의적인 변화 또한 관찰되지 않았다(Fig. 4B, 4C). 또한 투여기간 동안 어떠한 행동 이상이나 이상 현상이 관찰되지 않았다.

뇌, 심장, 신장, 간, 폐, 난소, 비장, 위, 소장 및 대장의 절대장기 무게(Table 2)와 상대장기 무게(Table 3)를 측정하여 비교한 결

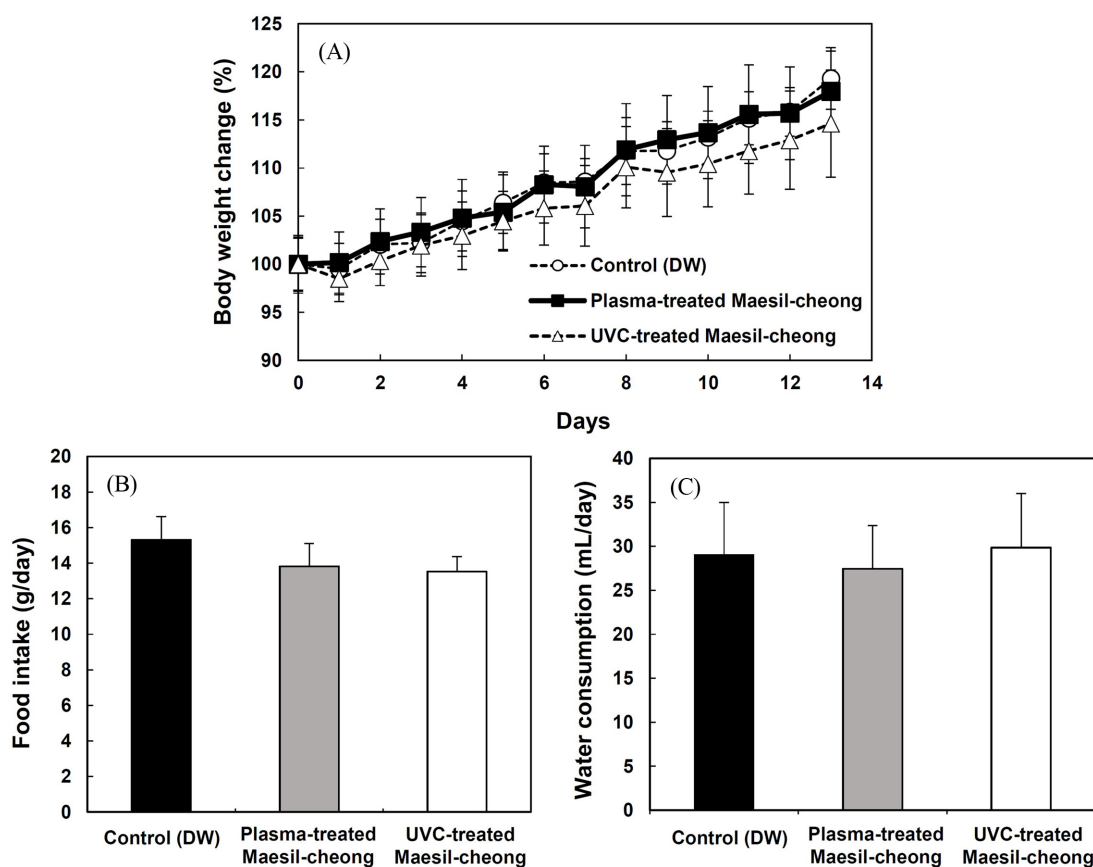


Fig. 4. Changes in body weight gain (A), food intake (B), and water consumption (C) after 14-day repeated oral administration of DW as a control, plasma-treated, or UVC-treated Maesil-cheong to rats. No significant differences were found among untreated control (DW), plasma-treated, and UVC-treated Maesil-cheongs at $p > 0.05$.

Table 2. Absolute organ weights of rats after 14-day repeated oral administration of plasma- or UVC-treated Maesil-cheong

Organ	Control (DW) (g)	Maesil-cheongs	
		Plasma-treated (g)	UVC-treated (g)
Brain	1.62±0.05	1.71±0.10	1.68±0.03
Heart	0.78±0.05	0.73±0.04	0.70±0.07
Kidney	1.57±0.10	1.62±0.06	1.59±0.09
Large intestine	2.88±1.07	3.10±0.66	3.09±0.43
Liver	7.06±0.39	6.76±0.37	6.62±0.47
Lung	1.13±0.07	1.17±0.05	1.15±0.06
Ovary	0.11±0.02	0.10±0.02	0.09±0.02
Small intestine	7.33±0.52	7.25±0.18	6.73±0.59
Spleen	0.58±0.05	0.58±0.04	0.57±0.06
Stomach	2.27±0.41	2.20±0.36	2.18±0.13

All data showed no significant differences from the control at $p>0.05$.

과, 대조군 대비 저감화 매실청 투여군 장기무게의 통계학적 유의성이 나타나지 않았다($p>0.05$).

혈액학적 분석결과, UVC 처리 매실청 투여군의 평균적혈구색소량(MCH)과 망상적혈구(reticulocyte) 수치가 유의적으로 감소하였으나(Table 4), 이와 관련된 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구

Table 3. Organo-somatic indices of rats after 14-day repeated oral administration of plasma- or UVC-treated Maesil-cheong

Organ	Control (DW)	Maesil-cheongs	
		Plasma-treated	UVC-treated
Brain	0.86±0.03	0.90±0.06	0.90±0.04
Heart	0.42±0.03	0.38±0.01	0.38±0.04
Kidney	0.83±0.05	0.84±0.04	0.86±0.03
Large intestine	1.52±0.53	1.62±0.34	1.66±0.19
Liver	3.74±0.18	3.53±0.14	3.56±0.18
Lung	0.60±0.04	0.61±0.02	0.62±0.04
Ovary	0.06±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01
Small intestine	3.89±0.19	3.80±0.23	3.62±0.24
Spleen	0.31±0.03	0.30±0.03	0.30±0.03
Stomach	1.20±0.19	1.15±0.15	1.18±0.08

All data showed no significant differences from the control at $p>0.05$.

색소 농도(MCHC), 헤모글로빈(Hb), 헤마토크릿(HCT), 적혈구(RBC) 수치 등 다른 지표들이 모두 정상 범주로 나타나 독성학적 의미는 없는 것으로 보인다. MCH는 적혈구 1개에 포함된 헤모글로빈 농도로 빈혈 등의 증상과 관련이 있으며, 망상적혈구는 RNA, 미토콘드리아, 리보솜이 남아있는 미숙한 적혈구로 골수 내 1-2일 존재하다가 말초혈액으로 나오게 되고 1일 뒤 RNA가

Table 4. Hematological and coagulation time values in rats after 14-day repeated oral administration of plasma- or UVC-treated Maesil-cheong

Groups	WBC	WBC differential counting (%)					RBC	Hb	HCT	MCV	MCH	MCHC	RETI	PLT	PT	APTT
	(10 ³ / μL)	NE	LY	MO	EO	BA	(10 ⁶ / μL)	(g/dL)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)	(%)	(10 ³ / μL)	(sec)	(sec)
Control (DW)	4.12 ±1.64	15.2 ±2.9	80.9 ±2.7	1.4 ±0.5	1.4 ±0.3	0.4 ±0.1	4.73 ±1.13	9.4 ±2.2	32.5 ±8.1	68.7 ±2.1	19.9 ±0.3	28.9 ±0.7	3.45 ±0.51	663 ±161	16.0 ±0.5	30.4 ±1.3
Plasma-treated Maesil-cheong	4.93 ±0.89	12.9 ±3.3	81.8 ±4.2	1.8 ±0.5	1.8 ±0.7	0.4 ±0.1	5.84 ±0.71	11.6 ±1.3	40.1 ±4.6	68.6 ±1.2	19.8 ±0.5	28.9 ±0.4	2.83 ±0.34	802 ±220	17.4 ±1.8	33.9 ±3.6
UVC-treated Maesil-cheong	4.82 ±0.76	12.2 ±1.4	83.6 ±2.1	1.5 ±0.5	1.1 ±0.2	0.4 ±0.2	5.45 ±0.56	10.4 ±1.2	37.1 ±4.0	68.1 ±1.1	19.1 ±0.3*	28.0 ±0.5	2.72 ±0.17*	841 ±89	16.4 ±0.5	30.7 ±3.1

Abbreviation: WBC, white blood cell; NE, neutrophils; LY, lymphocytes; MO, monocytes; EO, eosinophils; BA, basophils; RBC, red blood cell; Hb, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RETI, reticulocyte; PLT, platelet; PT, prothrombin time; APTT, activated partial thromboplastin time. * denotes significant difference from the control at $p<0.05$.

Table 5. Serum biochemical values in rats after 14-day repeated oral administration of plasma- or UVC-treated Maesil-cheong

Groups	TP	ALB	A/G	T-BIL	ALP	AST	ALT	CREA	BUN	CHOL	TG	GLU	CA	IP	CK	Na	K	Cl
	(g/dL)	(g/dL)	-	(mg/ dL)	(U/L)	(U/L)	(U/L)	(mg/ dL)	(mg/ dL)	(mg/ dL)	(mg/ dL)	(mg/ dL)	(mg/ dL)	(mg/ dL)	(IU/L)	(mmol/ L)	(mmol/ L)	(mmol/ L)
Control (DW)	6.6 ±0.4	4.4 ±0.2	2.0 ±0.1	0.01 ±0.01	503 ±108	83 ±9	42 ±7	0.51 ±0.05	23.3 ±4.4	97 ±20	40 ±16	141 ±34	12.2 ±0.6	12.6 ±1.0	153 ±36	143.2 ±2.8	7.59 ±0.75	97.9 ±0.5
Plasma-treated Maesil-cheong	6.8 ±0.2	4.5 ±0.1	2.0 ±0.2	0.03 ±0.01	549 ±37	77 ±4	39 ±5	0.52 ±0.05	24.6 ±8.5	103 ±7	36 ±9	118 ±27	12.5 ±0.3	13.2 ±0.7	137 ±24	145.0 ±0.9	7.71 ±0.55	98.1 ±1.1
UVC-treated Maesil-cheong	6.8 ±0.3	4.4 ±0.1	1.9 ±0.1	0.02 ±0.01	542 ±85	73 ±6	39 ±6	0.47 ±0.02	23.0 ±4.8	96 ±20	37 ±8	115 ±9	12.4 ±0.3	13.8 ±0.8	132 ±28	145.2 ±1.3	8.08 ±0.40	99.1 ±1.3

Abbreviation: TP, total protein; ALB, albumin; A/G, A/G ratio; T-BIL, total bilirubin; ALP, alkaline phosphatase; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; CREA, creatinine; BUN, blood urea nitrogen; CHOL, total cholesterol; TG, triglycerides; GLU, glucose; CA, calcium; IP, inorganic phosphorus; CK, creatine kinase; Na, sodium; K, potassium; Cl, chloride. No significant differences from the control at $p>0.05$.

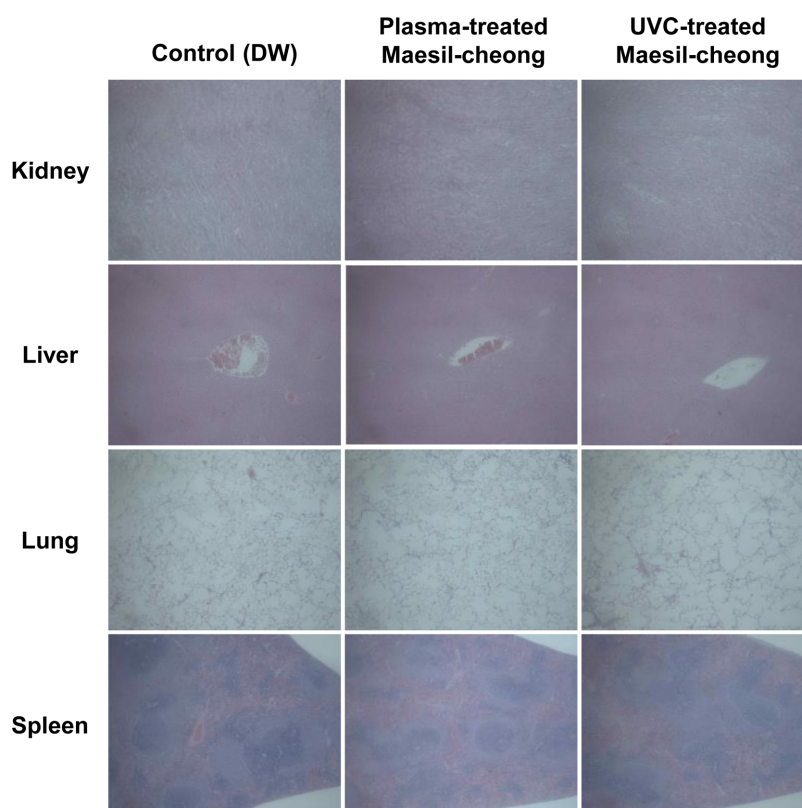


Fig. 5. Histopathological examination of kidney, liver, lung, and spleen after 14-day repeated oral administration of DW as a control, plasma-treated, or UVC-treated Maesil-cheong to rats. Images magnification at 50×.

완전히 소실되어 성숙적혈구가 되는데, 즉 말초혈액으로 새롭게 방출되는 적혈구로 기존의 적혈구의 상실에 맞추어 방출되므로 골수의 적혈구 조혈상태를 간접적으로 파악할 수 있어 빈혈 진단에 활용된다. 그 외 혈액학적 지표들은 모두 정상 범주로 확인되었다. 한편, 플라즈마 처리 매실청 투여군의 혈액학적 분석결과는 모두 정상으로 확인되었다.

혈청생화학적 분석 결과, 플라즈마 및 UVC 처리 투여군의 모든 혈청학적 수치가 정상으로 확인되었다(Table 5).

Table 6. Summary of histopathological findings of rats after 14-day repeated oral administration of plasma- or UVC-treated Maesil-cheong

Groups	Control (DW)	Maesil-cheongs	
		Plasma-treated	UVC-treated
No. of animal examined	5	5	5
Kidney			
No abnormalities detected	2	5	5
Cortical scar	1	0	0
Tubular basophilia	1	0	0
Tubular cast	1	0	0
Liver			
No abnormalities detected	5	5	5
Lung			
No abnormalities detected	5	5	5
Spleen			
No abnormalities detected	5	5	5

주요 장기인 간, 신장, 폐 및 비장에서 조직병리학적 분석 결과를 Fig. 5와 Table 6에 나타내었는데, 플라즈마 및 UVC 처리 아미그달린 저감화 매실청 투여에 의한 어떠한 병리학적 및 독성학적 이상 현상이 관찰되지 않았다. 즉, 몸무게 변화, 식이 및 물 섭취량, 장기무게, 혈액학적 및 혈청학적 분석, 조직병리학적 분석 결과를 종합하면, 아미그달린 저감화 매실청의 투여에 의한 경구독성 영향은 없는 것으로 보인다. 선행연구에서 매실청의 14일 반복투여에 의한 경구 독성이 나타나지 않는 것으로 밝혀진 바 있는데(Go 등, 2018), 본 연구에서는 아미그달린의 저감화 공정에 의해 매실청의 잠재적 독성영향이 더욱 낮아진 것으로 보인다. 또한, 이러한 결과는 아미그달린 저감화 공정 과정에서 독성에 영향을 주는 어떠한 분해산물도 생성되지 않았음을 제시해주며, 따라서 본 연구에서 사용된 플라즈마 및 UVC 처리공정이 매실청의 아미그달린 저감화 공정에 활용될 수 있을 것이다.

요 약

본 연구에서는 플라즈마 및 UVC 처리에 의해 매실청에 존재하는 아미그달린 저감화 공정을 개발하여 아미그달린 저감화 매실청에 대한 독성을 독성동태학적 및 14일 반복 경구투여에 의해 평가하였다. 독성동태학적 연구 결과, 플라즈마 및 UVC 처리에 의한 아미그달린 저감화 매실청 투여에 의해 아미그달린의 경구 흡수량이 약 3.7, 3.4배 감소하여 저감화 효과를 확인할 수 있었다. 아미그달린 저감화 매실청의 14일 반복 경구독성시험 결과를 종합하면, 몸무게 변화, 식이 및 물 섭취량, 절대장기 및 상대장기 무게, 혈액학적 및 혈청학적 분석, 조직 병리학적 분석에서 유의미한 독성현상이 관찰되지 않았다. 따라서 본 연구에서 개발

된 플라즈마 및 UVC 처리에 의한 아미그달린 저감화 매실청의 독성영향은 없는 것으로 보이며, 이러한 공정은 매실청뿐만 아니라 아미그달린 함유 다양한 제품의 저감화 공정에 활용될 수 있을 것이다.

감사의 글

이 연구는 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 농생명산업기술개발사업의 지원에 의해 이루어졌으며(317002-02-2-CG000), 이에 감사드립니다.

References

- Akyildiz BN, Kurtoglu S, Kondolot M, Tunc A. Cyanide poisoning caused by ingestion of apricot seeds. *Ann. Trop. Paediatr.* 30: 39-43 (2010)
- Antonini E, Brunori M, Greenwood C, Malmstrom BG, Rotilio GC. The Interaction of cyanide with cytochrome oxidase. *Eur. J. Biochem.* 23: 396-400 (1971)
- Choi HJ, Kang OH, Park PS, Chae HS, Oh YC, Lee YS, Choi JG, Lee GH, Kweon OH, Kwon DY. Mume Fructus water extract inhibits pro-inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *J. Med. Food* 10: 460-466 (2007)
- Chuda Y, Ono H, Ohnishi-Kameyama M, Matsumoto K, Nagata T, Kikuchi Y. Mumefural, citric acid derivative improving blood fluidity from fruit-juice concentrate of Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.). *J. Agr. Food Chem.* 47: 828-831 (1999)
- Cooper CE, Brown GC. The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide: chemical mechanism and physiological significance. *J. Bioenerg. Biomembr.* 40: 533-539 (2008)
- da Silva VM, Sato JAP, Araujo JN, Squina FM, Muniz JRC, Riske KA, Garcia W. Systematic studies of the interactions between a model polyphenol compound and microbial β -glucosidases. *PLoS ONE* 12: 1-15 (2017)
- Egekeze JO, Oehme FW. Cyanides and their toxicity: a literature review. *Vet. Quart.* 2: 104-114 (1980)
- Feng D, Shen Y, Chavez ER. Effectiveness of different processing methods in reducing hydrogen cyanide content of flaxseed. *J. Sci. Food Agr.* 83: 836-841 (2003)
- Go MR, Kim HJ, Yu J, Choi SJ. Toxicity and toxicokinetics of amygdalin in Maesil (*Prunus mume*) syrup: protective effect of Maesil against amygdalin toxicity. *J. Agr. Food Chem.* 66: 11432-11440 (2018)
- Han JT, Lee SY, Kim KN, Baek NI, Rutin, antioxidant compound isolated from the fruit of *Prunus mume*. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 44: 35-37 (2001)
- Hughes C, Lehner F, Dirikolu L, Harkins D, Boyles J, McDowell K, Tobin T, Crutchfield J, Sebastian M, Harrison L, Baskin SI. A simple and highly sensitive spectrophotometric method for the determination of cyanide in equine blood. *Toxicol. Mech. Method.* 13: 129-138 (2003)
- Hwang JY. Pharmacological effects of Maesil (*Prunus Mume*). *Food Sci. Indu.* 38: 112-119 (2005)
- Hwang JY, Ham JW, Nam SH. The antioxidant activity of Maesil (*Prunus Mume*). *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 461-464 (2004)
- Jo MR, Bae SH, Go MR, Kim HJ, Hwang YG, Choi SJ. Toxicity and biokinetics of colloidal gold nanoparticles. *Nanomaterials* 5: 835-850 (2015)
- Kang CK. A historical study on fruits in Korea. *J. Korean Soc. Food Cult.* 5: 301-312 (1990)
- Kim YD, Kang SH, Kang SK. Studies on the acetic acid fermentation using Maesil juice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 25: 695-700 (1996)
- Kim BJ, Kim JH, Kim HP, Heo MY. Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (II): Anti-oxidative activity and free radical scavenging activity. *Int. J. Cosmetic Sci.* 19: 299-307 (1997)
- Kim EJ, Lee HJ, Jang JW, Kim IY, Kim DH, Kim HA, Lee SM, Jang HW, Kim SY, Jang YM, Im DK, Lee SH. Analytical determination of cyanide in Maesil (*Prunus mume*) extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42: 130-135 (2010)
- Kim Y, Ximenes E, Mosier NS, Ladisch M.R. Soluble inhibitors/deactivators of cellulase enzymes from lignocellulosic biomass. *Enzyme Microb. Tech.* 48: 408-415 (2011)
- Kim HS, Yoo HS. Preparing method of highly-dispersed Chinese yam flour using simultaneous treatment of UV irradiation and organic acid. *Korean patent* 10-1578040 (2015)
- Lee OK, Lee HJ, Shin YS, Ahn YG, Jo HJ, Shin HC, Kang HY. Quantitative analysis of the fruit flesh of *Prunus mume* Siebold & Zuccarni. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 15: 143-147 (2007)
- Lee JH, Na MS, Lee MY. Effects of ethanol extract of *Prunus mume* on the antioxidative system and lipid peroxidation on ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver. *Korean J. Food Preserv.* 11: 71-78 (2004)
- Lim SJ, Eun JB. Processing and distribution of Maesil, Japanese apricot in Korea. *Food Sci. Indu.* 45: 2-9 (2012)
- Newmark J, Brady RO, Grimley PM, Gal AE, Waller SG, Thistlethwaite JR. Amygdalin (Laetrile) and prunasin β -glucosidases: distribution in germ-free rat and in human tumor tissue. *P. Natl. Acad. Sci. USA.* 78: 6513-6516 (1981)
- Otsuka T, Tsukamoto T, Tanaka H, Inada K, Utsunomiya H, Mizoshita T, Kumagai T, Katsuyama T, Miki K, Tatematsu M. Suppressive effects of fruit-juice concentrate of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. (Japanese apricot, ume) on *Helicobacter pylori*-induced glandular stomach lesions in Mongolian gerbils. *Asian Pac. J. Cancer P.* 6: 337-341 (2005)
- Peng S, Cao Q, Qin Y, Li X, Liu G, Qu Y. An aldonolactonase AltA from *Penicillium oxalicum* mitigates the inhibition of β -glucosidase during lignocellulose biodegradation. *Appl. Microbiol. Biot.* 101: 3627-3636 (2017)
- Piirainen L, Peuhkuri K, Backstrom K, Korpela R, Salminen S. Prune juice has a mild laxative effect in adults with certain gastrointestinal symptoms. *Nutr. Res.* 27: 511-513 (2007)
- Poulton JE, Li CP. Tissue level compartmentation of (R)-amygdalin and amygdalin hydrolase prevents large-scale cyanogenesis in undamaged *Prunus* seeds. *Plant Physiol.* 104: 29-35 (1994)
- Sanchez-Verlaan P, Geeraerts T, Buys S, Riu-Poulenc B, Cabot C, Fourcade O, Megarbane B, Genestal M. An unusual cause of severe lactic acidosis: cyanide poisoning after bitter almond ingestion. *Intens. Care Med.* 37: 168-169 (2011)
- Shim JH, Park MW, Kim MR, Lim KT, Park ST. Screening of anti-oxidant in *Fructus mume* (*Prunus Mume* Sieb. et Zucc.) extract. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 45: 119-123 (2002)
- Shim SM, Kwon H. Metabolites of amygdalin under simulated human digestive fluids. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 61: 770-779 (2010)
- Shragg TA, Albertson TE, Fisher Jr CJ. Cyanide poisoning after bitter almond ingestion. *Western J. Med.* 136: 65-69 (1982)
- Tatsuma T, Tani K, Ogawa T, Oyama N. Interference-based amygdalin sensor with emulsin and peroxidase. *Sensor. Actuat. B-Chem.* 49: 268-272 (1998)