

정어리유 섭취시 지질과산화 억제를 위한 몇가지 산화방지제의 효과

이 호 상 · 최 임 순

동덕여자대학교 식품영양학과

Effects of Some Antioxidants on the Inhibition of in vitro and in vivo Lipid Peroxidation of Sardine Oil in Rats

Hye Sang Lee, Im Soon Choi

Department of Foods and Nutrition, Dandong Women's University

=ABSTRACT=

This research was to investigate the effects of sardine oil with different antioxidants on tissue lipid peroxidation and the activity of superoxide dismutase in rats. Young male rats were fed for 6 weeks on different experimental diets containing 10%(w/w) sardine oil with α -tocopherol(800mg/kg oil), δ -tocopherol(1,000mg/kg oil) or rosemary extract(1,000mg/kg oil) as antioxidant and also sardine oil or lard without antioxidant as control. In sardine oil group tissue lipid peroxide level and percentage of hemolysis were increased compared to those of lard group. By the addition of antioxidants, percentage of hemolysis reduced significantly but the lipid peroxide level in liver was unaffected. The activities of superoxide dismutase in erythrocyte and liver were not affected by either sardine oil ingestion or different antioxidants.

서 론

Greenland Eskimos인에게 순환기계 질환의 발병율이 낮은 이유는 이들이 다량 섭취하고 있는 어류의 지질 성분중 n-3계 고도불포화지방산인 EPA(eicosapentaenoic acid, C20:5) 및 DHA(docosahexaenoic acid, C22:6) 등에 기인한다는 보고¹⁾ 이래 어유(fish oil)의 생리적 효과에 대한

많은 연구²⁻⁴⁾가 이루어지고 있다. 본 실험실에서 수행한 연구에서도 8%(w/w)의 정어리유를 함유한 식이를 흰쥐에 섭취시킨 동물실험 결과 혈장내의 중성지방과 총콜레스테롤의 농도를 저하시키는 효과를 나타냈다⁵⁾.

그런데 어유의 고도불포화지방산은 유익한 생리작용을 나타내는 반면에 구조상 이중결합이 5~6개로 체내외에서 쉽게 산화되어 세포막의

접수일자 : 1989년 9월 26일

*본 연구는 1988년도 한국 전통음식문화연구원의 연구비에 의해서 수행되었음.

형성불능 혹은 파괴⁶⁾, 노화, DNA변이에 의한 암 유발 가능성, 퇴행성 변화⁷⁾등을 일으켜 생체에 치명적인 영향을 줄 수 있다고 보고되고 있으며 최 등⁸⁾의 연구에서도 정어리유를 섭취시킨 흰쥐의 간에서 lipid peroxide의 함량이 증가되는 것으로 나타났다.

어유의 체내에서의 산화방지를 위해서는 적절한 산화방지제가 사용되어야하는데 현재 우리나라에서는 식품첨가물로 허용되어 있는 BHA, BHT 등의 합성항산화제를 식용유지에 사용하고 있으나 안전성⁹⁾에 대한 문제로 최근에는 천연항산화물질이 주목받고 있다. 지금까지 어유 또는 고도불포화지방산을 함유한 유지제품에는 천연항산화제로 α -tocopherol¹⁰⁾을 사용하고 있으나, tocopherol 도 isomer에 따라 항산화력에 현저한 차이를 보여 in vitro 항산화실험 결과 α -보다 δ -tocopherol의 항산화력이 뛰어나다고 보고¹¹⁾되었다. 또한 최근 연구에 의하면 rosmariquinone과 rosmaridiphenol을 함유한 천연항산화물질인

rosemary extract가 BHA보다는 항산화력이 뛰어나고 BHT에 접근하는 항산화력이 있다고 보고¹²⁻¹⁴⁾되었다.

따라서 본 연구에서는 정어리유를 실험재료로 선택하여 α - 및 δ -tocopherol과 rosemary extract를 산화방지제로 사용하고 in vitro 실험을 수행하여 각 산화방지제의 적정 농도를 선정 한 후 이 농도의 산화방지제를 vitamin E가 결핍된 흰쥐의 식이에 첨가하여 in vivo 에서의 지질과산화에 미치는 영향을 조사하였다.

실험재료 및 방법

1. In vitro 항산화 실험

정어리유 10g을 petri dish에 넣고 산화방지제로 α - 및 δ -tocopherol과 rosemary extract를 여러수준 (200, 400, 800, 1000, 2000 ppm)으로 첨가한 후 저장기간별로 과산화물가, 카르보닐가, TBA가를 측정하여 산화방지 효과를 조사하여 최적

Table 1. Composition of experimental diets (g / kg diet)

Ingredient	Experimental group ¹⁾				
	LD	SO	SO- α	SO- δ	SO-R
Corn starch	500	500	500	500	500
Sucrose	100	100	100	100	100
Casein	200	200	200	200	200
Lard	100	—	—	—	—
Sardine oil	—	100	100	100	100
Cellulose	50	50	50	50	50
DL-Methionine	3	3	3	3	3
AIN Mineral mix ²⁾	35	35	35	35	35
AIN Vitamin mix ³⁾	10	10	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2	2	2

1) LD : Lard, SO : Sardine oil, SO- α : Sardine oil+800mg α -tocopherol / kg oil, SO- δ : Sardine oil+1,000mg δ -tocopherol / kg oil, SO-R : Sardine oil+1,000mg rosemary extract / kg oil

2) AIN-76™(J Nutr 107 : 1340-1348, 1977)

3) Vitamin mixture(per kg mixture) : Thiamin, HCl : 600mg, Riboflavin : 600mg, Pyridoxine, HCl : 700mg, Nicotinic acid : 3g, D-Calcium pantothenate : 1.6g, Folic acid : 200mg, D-Biotin : 20mg, Cyanocobalamin : 1mg, Vitamin A : 400,000IU, Cholecalciferol : 2.5mg, Menaquinone : 5mg, Sucrose to make 1,000g

배합 농도를 결정하였다. 이때 저장조건은 항온기를 30°C로 유지시키고 저장기간 동안 빛을 차단시켰으며 petri dish의 뚜껑을 덮어 공기와의 접촉을 차단시켰다. 과산화물가는 AOCS 방법¹⁵⁾, 카르보닐가는 Henick등¹⁶⁾의 방법, TBA가는 Sidwell¹⁷⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 항산화제로 α - 및 δ -tocopherol은 Sigma사 제품을 구입하여 사용하였고 rosemary extract는 일본 McCormick사 제품으로 rosemary의 에탄올 추출 분획이었다.

2. 동물 사육 실험

1) 실험동물 및 식이

실험동물은 생후 4주된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 유전공학센터에서 공급받아 1주간사판 고형사료(제일사료)로 적응시킨 후 난피법에 의하여 7마리씩 5군으로 나누어 6주간 실험식으로 사육하였으며 물과 식이는 무제한 공급하였다.

실험에 사용된 식이의 구성 성분은 Table 1과 같다. Vitamin E를 첨가하지 않은 기본식이에 지방의 급원으로 돈지(LD)나 정어리유(SO)를 식이의 10%(w/w) 수준으로 동일하게 하고 정어리유에 산화방지제로 α -tocopherol(α), δ -tocopherol(δ) 및 rosemary extract(R)를 in vitro 실험에서 나타난 각 산화방지제의 최적 수준으로 첨가하여 사용하였다. 정어리유 및 돈지 자체의 α -tocopherol함량의 100g의 지방중 2.4mg과 3.1mg¹⁸⁾으로 지방의 종류에 따른 차이는 거의 없었다.

정어리유는 최 등⁵⁾의 방법으로 탈취, 정제하여 질소가스로 stripping 한 후 식이제조시까지 냉장 보관하면서 사용하였다. 돈지는 서울식품 실험실에서 공급받아 정어리유와 동일한 방법으로 탈취, 정제하여 사용하였으며 본 실험에 사용된 유지의 peroxide value는 정어리유 0.6, 돈지 0.2(mEg/kg)로 아주 낮은 수준이었다.

2) 실험 방법

(1) 혈액 및 장기의 채취

사육기간 종료후 12시간 단식시킨 흰쥐들을

ethyl ether로 마취시키고 heart puncture로 혈액을 채취한 후 heparin처리가 된 시험관에 받아 일부는 즉시 적혈구 hemolysis율의 측정에 사용하고 나머지 혈액은 3,000rpm에서 15분간 원심분리시켜 혈장을 분리하였다.

혈액성분은 생리식염수로 2번 세척한 후 buffy coat를 제거하고 적혈구 효소활성도 측정에 사용하였다. 간은 채혈 즉시 적출하여 세척한 후 sealing film으로 밀봉하여 dry ice를 넣은 ethanol 용액에서 급속냉동시킨 다음 -20°C에서 냉동보관하였으며 lipid peroxide 함량과 효소활성도의 측정은 24시간 이내에 수행하였다.

(2) 분석 방법

적혈구 hemolysis율은 Draper등¹⁹⁾의 방법을 약간 변형한 Buckingham⁶⁾의 방법으로 측정하였고, 혈장 및 간의 lipid peroxide 함량은 Ohkawa법¹⁹⁾을 이용하여 측정하였으며 TMP(1.1.3.3-tetramethoxypropane, Sigma Chemical Co.)를 external standard로 사용하였다.

적혈구 superoxide dismutase(SOD) 활성도 riboflavin에 광조사를 시켜서 생성되는 superoxide radical에 의한 NBT(nitroblue tetrazolium, Sigma Chemical Co.)의 환원을 SOD가 억제하는 정도를 측정하는 Winterbourn등²⁰⁾의 방법으로 측정하였다. 즉 2번 세척한 적혈구에 약 2배의 증류수를 가하여 만든 hemolysate에서 Drabkin의 방법²¹⁾으로 hemoglobin농도를 측정하고 ethanol : chloroform(5 : 3, v/v) 추출에 의해서 hemoglobin을 제거한 상징액에서 SOD를 측정하였다. NBT의 최대환원을 50%억제한 SOD의 양을 1unit로 하였으며 g hemoglobin당 적혈구 SOD의 unit로 나타내었다. 간에서의 SOD추출은 10% 간균질액을 14,000rpm에서 30분간 원심분리시킨 다음 그 상징액에 ethanol : chloroform혼합액을 가하고 다시 원심분리시켜 얻은 상징액을 투석막(Spectra / Por, Spectrum Medical INC.)에 넣어 phosphate buffer(pH 7.8)용액에서 12시간 투석시켜서 SOD측정용 시료로 사용하였다. 적혈구와 동일한 방법으로 효소활성도를 측정

하여 단백질을 기준으로 SOD의 unit를 나타내었다. 단백질 함량은 Lowry등의 방법을 변형한 Alexander등²⁰⁾의 방법으로 측정하였다.

3) 통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군 별로 평균에 차이가 있는가를 검정하기 위하여 분산분석 (ANOVA 검정)을 수행하였으며, 분산 분석결과 유의성이 발견된 경우 동질적인 군과 이질적인 군을 구분하기 위하여 Tukey의 다중비교검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. In vitro 항산화 실험

1) 과산화물가(POV)의 변화

α -및 δ -tocopherol과 rosemary extract를 여러 수준으로 첨가했을때 peroxide value(POV) 변화를 측정한 결과는 Fig 1-3과 같다. 산화방지제가

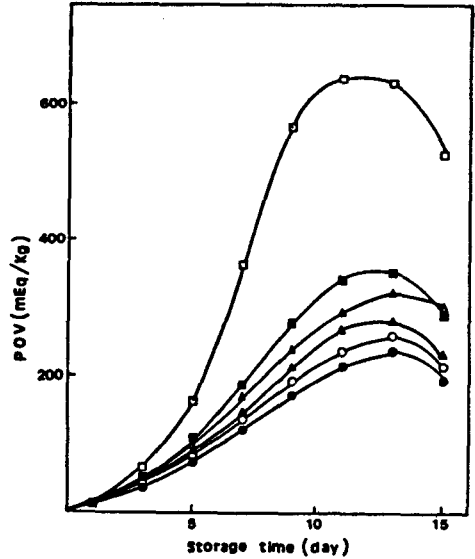


Fig. 2. Changes of peroxide values of sardine oil in the presence of δ -tocopherol

□ — □ No addition ■ — ■ 200ppm
 ▲ — ▲ 400ppm ○ — ○ 800ppm
 ● — ● 1,000ppm △ — △ 2,000ppm

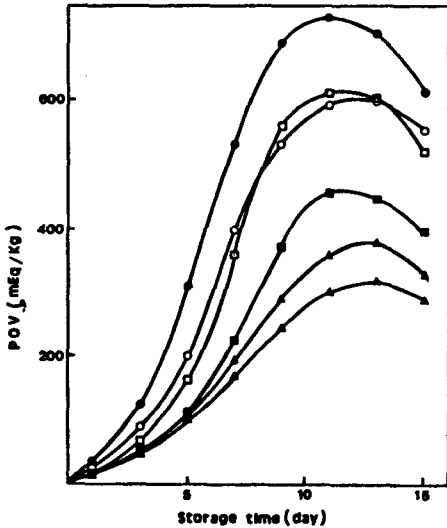


Fig. 1. Changes of peroxide values of sardine oil in the presence of α -tocopherol

□ — □ No addition ■ — ■ 200ppm
 △ — △ 400ppm ▲ — ▲ 800ppm
 ○ — ○ 1,000ppm ● — ● 2,000ppm

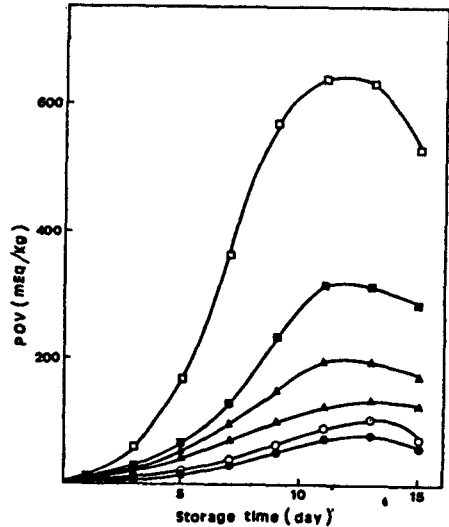


Fig. 3. Changes of peroxide values of sardine oil in the presence of rosemary extract

□ — □ No addition ■ — ■ 200ppm
 △ — △ 400ppm ▲ — ▲ 800ppm
 ○ — ○ 1,000ppm ● — ● 2,000ppm

첨가되지 않았을 때 산화안정성이 낮아서 유도기간(induction period)이 매우 짧고 그후 POV가 급격히 증가되었다. 각 항산화제별로 정어리유에 미치는 항산화효과를 살펴보면 α -tocopherol을 1,000ppm이상 첨가했을때는 오히려 그 자신이 prooxidant가 되어 산화를 가속시켰으며 이러한 결과는 대두유에서 항산화제로 첨가된 α -tocopherol이 0.1%이상의 농도에서는 prooxidant로서 반응했다는 보고²³⁾와 일치되었다. 일정수준 이상의 농도에서 α -tocopherol의 prooxidant로서의 작용은 oxygen에 의해 쉽게 산화되어 지질과산화물을 유발하는 radical을 형성하는데서 온다고 추측된다²³⁾. δ -tocopherol의 경우에도 1,000ppm까지의 첨가에서는 첨가비율에 따라 항산화효과가 향상되었으나 2,000ppm에서는 prooxidant의 반응을 보였으므로 α -tocopherol 800ppm, δ -tocopherol 1,000ppm이 항산화제로서 최적수준임을 보여주었다. rosemary extract는 첨가수준을 증가시킬수록 항산화 효과가 향상될 수 있는 것으로 보이나 2,000ppm 첨가와 1,000ppm 첨가 사이의 POV에 커다란 차이가 없었으므로 rosemary extract의 최적비율을 1,000ppm으로 결정하였다.

각 항산화제별로 최적 배합 농도로 나타난 α -tocopherol 800ppm, δ -tocopherol과 rosemary extract 각각 1,000ppm씩 첨가시 과산화물가의 변화는 α -tocopherol, δ -tocopherol, rosemary extract의 순으로 산화억제 효과가 증가되었다.

2) 카르보닐가(CV)의 변화

Carbonyl value(CV)의 변화도 POV측정에 의해 최적의 비율로 나타난 α -tocopherol 800ppm, δ -tocopherol과 rosemary extract를 각각 1,000ppm씩 첨가했을때 최적의 산화방지효과가 있으며 Fig 4에 나타난 바와 같이 rosemary extract가 CV의 증가를 최대로 억제하였으며 δ -tocopherol, α -tocopherol의 순으로 억제효과가 감소되었다. 카르보닐화합물은 2차산화물로서 저장기간이 길어질수록 계속적으로 증가하는 경향을 보였으며 이것은 1차 산화에 의해 생성된 hydrope-

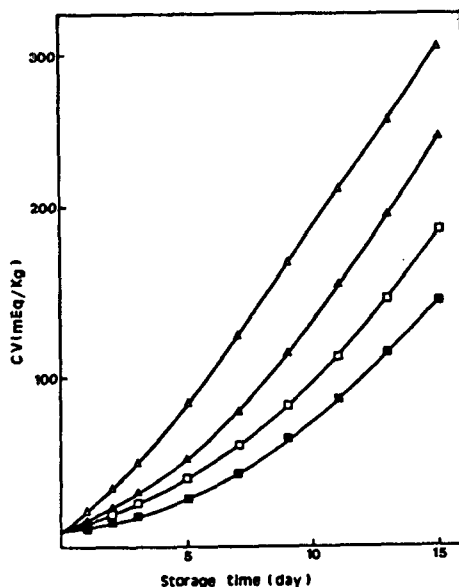


Fig. 4. Changes of carbonyl values of sardine oil in the presence of natural antioxidants

- ▲—▲ No addition
- △—△ α -Tocopherol 800ppm
- δ -Tocopherol 1,000ppm
- Rosemary extract 1,000ppm

roxide가 중합체를 형성, 일정기간이 지난 후 감소되면서 카르보닐화합물 등의 화합물을 더욱 생성한 데 기인한 것으로 생각된다.

3) TBA가의 변화

TBA가의 변화도 CV의 변화와 마찬가지로 α -tocopherol 800ppm, δ -tocopherol과 rosemary extract를 1,000ppm 첨가했을때 최대의 억제효과를 나타내었다. α -tocopherol첨가시 항산화제를 첨가하지 않은 정어리유와 비교하여 TBA의 증가 억제효과는 크지않았으나 δ -tocopherol, rosemary extract의 순으로 TBA의 증가를 보다 더 억제시키는 것으로 나타났다(Fig 5).

이상의 POV, CV, TBA가의 변화를 살펴보면 rosemary extract가 가장 항산화효과가 뛰어났으며 α -tocopherol보다는 δ -tocopherol이 항산화효과가 높아 tocopherol중 δ -tocopherol이 in vitro

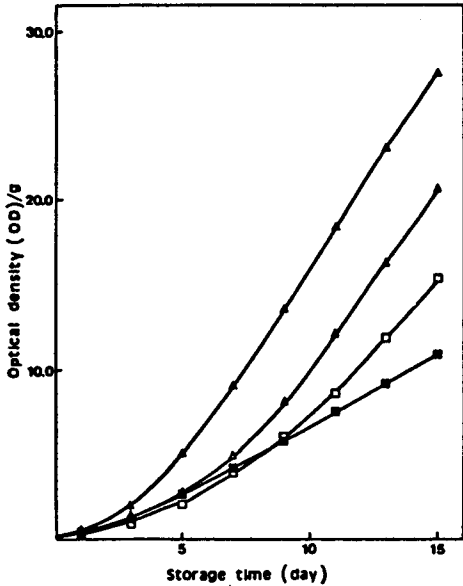


Fig. 5. Changes of TBA values of sardine oil in the presence of natural antioxidants

- ▲—▲ No addition
- △—△ α -Tocopherol 800ppm
- δ -Tocopherol 1,000ppm
- Rosemary extract 1,000ppm

산화방지 효능이 가장 높다는 Takahashi등²⁰⁾의 보고와 일치되는 경향을 보였다.

2. 동물사육 실험

1) 적혈구 hemolysis율

Saline phosphate buffer에서 적혈구의 자연적인 hemolysis를 유도한 결과는 Table 2와 같이 정어리유를 첨가한 SO군의 hemolysis율이 돈지군에 비해서 크게 증가되었고 α -tocopherol, δ -tocopherol 및 rosemary extract 첨가군들이 산화방지제를 첨가하지 않은 SO군에 비해서 크게 감소되었다. 이러한 결과는 tocopherol이 결핍된 군에 비해 1kg 식이당 100mg의 α -tocopherol acetate를 첨가시켰을 때 자연적인 hemolysis율이 정상수준으로 돌아갔다는 Crinna²⁰⁾의 연구와 일치되었다.

Table 2. Effect of some antioxidants in sardine oil on hemolysis of red blood cell in rats¹⁾

Group ²⁾	% Hemolysis
LD	24.54 ± 2.12 ^a
SO	88.22 ± 10.48 ^b
SO- α	23.57 ± 5.25 ^a
SO- δ	39.72 ± 11.30 ^c
SO-R	26.58 ± 4.71 ^a

1) $\bar{x} \pm SD$, n=7

2) LD : Lard, SO : Sardine oil, SO- α : Sardine oil+ 00mg α -tocopherol / kg oil, SO- δ : Sardine oil+ 1,000mg δ -tocopherol / kg oil, SO-R : Sardine oil+ 1,000mg rosemary extract / kg oil

3) Values within a column with different superscripts are significantly at $p < 0.05$ by Tukey's test

실험식이에 vitamin E를 첨가해 주지 않고 지방의 종류만을 달리한 LD군과 SO군을 비교해 볼 때 SO군의 hemolysis율이 높은 것은 Buckingham⁶⁾과 Draper등¹⁰⁾의 연구에서 나타난 바와 같이 P/S ratio가 증가할수록 불포화지방산의 과산화에 의해 적혈구막의 파괴를 방지하기 위하여 vitamin E의 필요량이 증가된 것에 기인한 것으로 보인다.

한편 각 항산화제에 따른 차이를 보면 α -tocopherol 이 hemolysis율을 가장 크게 억제시킨 반면 in vitro 실험에서 항산화효과가 보다 뛰어난 δ -tocopherol 첨가군이 α -tocopherol보다 낮은 억제효과를 보였으며 이는 동물실험에서는 in vitro에서와 다른 생체내에서의 대사와 반응이 있을 수 있다는 것을 나타내 주고 있다. Belitz등²⁰⁾은 in vivo에서 α -tocopherol은 radical과 반응하여 자동산화를 유발시키는 반응산물의 생성은 억제되고 반면 보다 안정된 형태의 산물을 형성하며, 또한 α -tocopherol은 δ -tocopherol에 비하여 가스상태의 oxygen에 의하여 쉽게 산화되나 생체내에서는 가스상태의 oxygen에 의한 산화가 적기 때문에 in vivo 상태에서는 δ -tocopherol보다 우수한 항산화력을 갖는다고 지적했다. δ -tocopherol

의 hemolysis에 대한 방어율이 dialuric acid로 hemolysis를 유발시켰을 경우에는 α -tocopherol의 0.3~2.0%에 불과하다는 보고²⁶⁾ 보다 훨씬 높은 것은 본 실험에서는 saline phosphate buffer에서의 자연적인 hemolysis율을 측정했으며 또한 식이지방의 종류와 양, tocopherol의 첨가비율 등이 서로 다른데서 온 것으로 보인다.

2) 혈장 및 간의 lipid peroxide(LPO) 함량의 변화

혈장내에서의 LPO 함량은 Table 3에서와 같이 돈지군에 비하여 정어리유군에서 증가되는 경향을 보였으나 유의성은 없었으며 항산화제 첨가에 따른 효과는 볼 수 없었다. 간의 LPO 함량은 정어리유를 섭취시킨 SO군이 돈지를 섭취시킨 LD군보다 유의성있게 증가되었으며 이는 정어리유가 고도불포화지방산을 다량 함유한 데 기인한 것이며 이러한 결과는 정어리유 또는 EPA나 DHA를 첨가시킨 동물실험에서 간의 LPO 농도가 증가되었다는 보고들^{5,27)}과 일치된다. 항산화제 첨가에 따라 LPO의 형성을 억제시키는 효과는 없었으며 δ -tocopherol을 첨가한 군이 α -tocop-

herol 과 rosemary extract를 첨가한 군보다는 LPO 함량이 낮았으나 유의성은 없었다. 이러한 결과는 흰쥐에서 vitamin E가 결핍된 군이 tocopheryl-nicotinate가 첨가된 실험동물군에 비하여 적혈구의 LPO함량은 변화되지 않았다는 보고²⁸⁾와 일치되나 돈지와 옥수수유로 P/S ratio를 달리한 식이를 섭취시킨 흰쥐에서 식이 kg 당 100IU(90mg)의 dl- α -tocopherol을 첨가했을 때 P/S ratio와 관계없이 모든 군에서 간의 LPO 함량을 크게 저하시킨 Buckingham⁶⁾의 보고와는 일치되지 않는다. 한편 Iritani등²⁹⁾의 연구는 80 mg의 dl- α -tocopherol / kg diet이 첨가된 10% 옥수수유 섭취군에서 0.5% 옥수수유 섭취군에 비하여 간에서의 LPO 함량이 크게 증가되었으며, α -tocopherol을 400mg 까지 증가시켰을 때에도 LPO가 감소는 되었으나 0.5% 옥수수유분보다는 훨씬 높은 LPO수준을 보여 주었다. 식이 1 kg 당 80mg의 α -tocopherol을 공급한 본 연구에서 간에서 LPO를 감소시킬 수 없었던 것은 Iritani의 보고와 유사하며 쥐에서 최소 vitamin E의 필요량이 30IU(30mg α -tocopherol acetate) / kg diet²⁶⁾이고 NAS-NRC의 권장량³⁰⁾이 50 IU 라는 사실과 비교해 볼 때 LPO의 감소를 가져 오기 위한 400mg이상의 엄청난 α -tocopherol의 사용은 이 vitamin의 과량 투여에 대한 독성이 많이 보고되어 있지는 않으나³¹⁾ 신중히 결정되어야 할 것이다.

Table 3. Lipid peroxide levels in plasma and liver of rats fed the experimental diets¹⁾

Group	Lipid peroxide levels	
	Liver (nmol MDA ²⁾ /g	Plasma (nmol MDA/ml)
LD	203.32 ± 28.10 ^{a3)}	5.36 ± 1.52 ^{NS 4)}
SO	402.32 ± 37.87 ^b	7.58 ± 1.60
SO- α	408.20 ± 22.71 ^b	6.90 ± 1.48
SO- δ	375.74 ± 21.12 ^b	6.86 ± 1.73
SO-R	408.36 ± 24.04 ^b	5.68 ± 0.56

1) $\bar{x} \pm SD$, n=7

2) MDA : Malnondialdehyde

3) Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's test

4) Not-significant at p<0.05 by F-test

3) Superoxide dismutase(SOD) 활성도의 변화

적혈구와 간의 SOD의 활성도의 변화는 Table 4에서와 같이 지방의 종류에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았으며 또한 여러 항산화제의 첨가에 따라서는도 영향을 받지 않았다. 이는 vitamin E의 첨가 유무에 관계없이 SOD의 적혈구막 및 세포질에서의 활성이 변화되지 않았다는 Kameda 등²⁸⁾의 보고와 일치된다. 한편 vitamin E의 첨가가 실험 6주까지는 SOD의 활성에 영향을 미치지 못하였으나 9주에 SOD의 활성을 유의적으로 감소시켰다는 박³²⁾등이 연구결과로 미루어 볼 때 실험기간에 따라 효소활성도에 미치는 영향에

Table 4. Superoxide dismutase activities in erythrocyte and liver fed the experimental diets in rats¹⁾

Group	Erythrocyte (unit/g Hb)	Liver (mg protein)
LD	1308.17±289.39 ^{NS 2)}	61.24± 5.04 ^{NS}
SO	1330.86±300.09	62.68±19.78
SO- α	1420.51±133.61	64.32±15.67
SO- δ	1625.04±250.07	60.17± 9.51
SO-R	1377.35±328.33	73.14± 6.67

1) $x \pm SD$, n=7

2) Not-significant at $p < 0.05$ by F-test

차이가 있는 것으로 생각된다. Superoxide radical은 호기적 대사기관에서 여러가지 생화학적 반응으로 생성되며, 주로 세포막지질의 불포화지방산과 반응하여 지질과산화물을 생성하므로 세포손상을 초래한다고 알려져 있다. 생체는 이러한 지질과산화에 대한 반응체로서 SOD에 의하여 superoxide radical을 H_2O_2 로 바꾸며, H_2O_2 는 다시 catalase와 glutathione peroxidase의 작용에 의해 H_2O 로 환원되므로 이들 효소계의 반응에 의해서 free radical로부터 생체를 보호할 수 있다.³⁹⁾

따라서 지질과산화의 방어효소인 SOD의 활성도가 P/S ratio의 증가와 산화방지제의 첨가에 의해서 변화되지 않은 결과로 미루어 볼 때 본 실험의 조건에서는 SOD가 조직과산화의 억제에 기여하지 못한 것으로 사료된다.

결 론

정어리유 섭취에 따른 지질과산화를 억제시키는 효율적인 산화방지제를 선정하기 위하여 in vitro에서 α -tocopherol, δ -tocopherol, rosemary extract를 여러수준으로 첨가하여 각각 800ppm, 1,000ppm, 1,000ppm이 최적농도로 조사되었다. 이 농도의 산화방지제를 함유한 식이를 제조하여 흰쥐에 섭취시켜 in vivo에서의 효과를 조사하여

다음의 결과를 얻었다.

정어리유 섭취군에서는 적혈구 hemolysis율이 돈지군에 비하여 크게 증가되었으나 산화방지제 섭취에 따라 효율적으로 감소되었다. 정어리유 섭취군은 돈지군에 비하여 간의 지질과산화가 크게 증가되었으나 여러 산화방지제의 첨가가 LPO의 증가를 억제시키지는 못하였다. SOD의 활성도는 사용된 지방의 종류와 산화방지제의 첨가 유무에 따라 영향받지 않았다.

따라서 어유 섭취시 지질과산화에 의해 증가된 LPO의 감소를 가져올 수 있는 효율적인 항산화제의 선정과 첨가비율의 결정을 위한 다각적인 연구가 이루어져야 된다고 생각된다.

References

- 1) Dyerberg J, Bang Ho, Hjorne N. *Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. Am J Clin Nutr* 28 : 958-961, 1975
- 2) Sanders TBA, Vickers M, Haines Ap. *Effect on blood lipids and haemostasis of a supplement of cod-liver oil rich in EPA and DHA, in healthy young men. Clin Sci* 61 : 317-324, 1981
- 3) Schacky CV, Fischer S, Weber PC. *Long-term effects of dietary marine n-3 fatty acids upon plasma and cellular lipids, platelet function, and eicosanoid formation in human. J Clin Invest* 76 : 1626-1631, 1985
- 4) Kinsella JE. *Food components with potential therapeutic benefits : The n-3 polyunsaturated fatty acid of fish oils. Food Tech.* 2 : 89-97, 1986
- 5) 최임순, 진복희. 정어리유 섭취가 혈장지질, 적혈구 막 인지질의 지방산 조성 및 지질의 과산화가에 미치는 영향. *한국영양학회지* 20(5) : 330-340, 1987
- 6) Buckingham KW. *Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. J Nutr* 115 : 1425-1435, 1985

- 7) Freeman BA, Crapo JD. *Biology of Disease. Lab Invest* 47(5) : 412-426, 1982
- 8) Ames BN. *Dietary Carcinogens and anticarcinogens. Science* 221 : 1256-1264, 1983
- 9) 최석영, 양규환, 향산화제 BHT와 BHA의 안정성, *한국식품과학회지* 14(3) : 283-288, 1982
- 10) Witting LA. *Vitamin E as a food additive. JAOCA* 52 : 64-68, 1975
- 11) Cillard J, Cillard P. *Behavior of alpha, gamma, and delta tocopherols with linoleic acid in aqueous media. JAOCS* 57(1) : 39-42, 1980
- 12) Bracco U, Loliger J, Viret JL. *Production and use of natural antioxidants. JAOCS* 58(6) : 686-690, 1981
- 13) Houlihan CM, Ho CT, Chang SS. *Elucidation of the chemical structure of a novel antioxidant, rosmaridiphenol, isolated from rosemary. JAOCS* 61(6) : 1036-1039, 1984
- 14) Houlihan CM, Ho CT, Chang SS. *The structure of rosmariguinone-A new antioxidant isolated from rosmarinus officinalis L. JAOCS* 62(1) : 96-98, 1985
- 15) A.O.C.S. *Official Method Cd 8-53*
- 16) Henick AS, Benca MF, Mitchell JH. *Estimating carbonyl compounds in rancid fats and foods. JAOCS* 31 : 88-91, 1954
- 17) Sidwell CG. *TBA determination. JAOCS* 31 : 603, 1954
- 18) Draper HH, Csallany AS. *A simplified hemolysis test for vitamin E deficiency. J Nutr* 98 : 390-394, 1969
- 19) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. *Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem* 95 : 351-358, 1979
- 20) Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. *The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med* 85(2) : 337-341, 1975
- 21) Mitruka BM, Rawnsley HM. *Methods in hematology. In : Clinical Biochemical and hematological Reference Values in Normal Experimental Animals and Normal Humans. Masson Publishing Inc., New York* 1981
- 22) Alexander RR, Griffiths JM, Wilkinson ML. *Lowry technique for protein determination. In : Basic Biochemical Methods. John Wiley & Sons, Inc, New York* 14-16, 1985
- 23) Belitx HD, Grosch W. *Lipids : Inhibition of lipid peroxidation. In : Food Chemistry. Springer Verlag, Berlin* 174-178, 1987
- 24) Takahashi K, Zamak, Nakamura s, Hodala J, Furube K, *Bull Fac Fish Hokkaido Univ.*, 34 : 124-130, 1983
- 25) Crinna LS. *Effect of dietary α -tocopherol on liver microsomes and mitochondria of aging rats. J Nutr* 106 : 918-929, 1976
- 26) Lawrence JM. *Vitamin E. In : Lawrence JM, eds Handbook of Vitamins. Marcel Dekker, Inc., New York* 99-145, 1984
- 27) Kuroda k, Kobatake Y, Kubota M, Nishide E, Innami S. *Effects of polyunsaturated fatty acid concentrated on lipids in the serum and liver of rats. J Jap Soc Nutr Food Sci* 38(\$) : 291-299, 1985
- 28) Kameda K, Imai M, Sento M. *The effect of vitamin E deficiency on some erythrocyte membrane properties. J Nutr Sci Vitaminol.* 31 : 481-490, 1985
- 29) Iritani N, Fukuda E, Kimamura Y. *Effect of corn oil feeding on lipid peroxidation in rat. J Nutr* 110 : 924-930, 1980
- 30) American Institute of Nutrition. *Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. J Nutr* 107 : 1340-1348, 1977
- 31) Machlin LJ, Bendich A. *The safety of vitamin E. In : Hayaishi O, Mino M, eds. Clinical and Nutritional Aspects of Vitamin E. Elsevier, Amsterdam* 261-274, 1987

- 32) 박규영, 이순재. 식이 불포화지방산과 Vitamin E 함량이 흰쥐 간장내 지질과산화에 미치는 영향. 한국영양학회지 21(5) 295-304, 1988.
- 33) Chow Ck. *Nutritional influence on cellur antioxidant defense systems. Am J Clin Nutr* 32 : 1066-1076, 1975