

## 감마선 조사가 우육의 지질성분과 항산화 효소 활성도 및 $\alpha$ -Tocopherol에 미치는 영향

육홍선 · 김성애\* · 정영진\* · 김종근\*\* · 정차권\*\*\* · 변명우  
한국원자력연구소 방사선식품공학연구실, \*충남대학교 식품영양학과,  
\*\*세종대학교 가정학과, \*\*\*한림대학교 식품영양학과

### Effects of Gamma Irradiation on Lipid Components, Antioxidative Enzyme Activities and $\alpha$ -Tocopherol in Beef

Hong-Sun Yook, Seung-Ai Kim\*, Young-Jin Chung\*, Jong-Goon Kim\*\*,  
Cha-Kwon Chung\*\*\* and Myung-Woo Byun

Department of Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute

\*Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

\*\*Department of Home Economics, King Sejong University

\*\*\*Department of Food and Nutrition, Hallym University

#### Abstract

Effects of gamma irradiation on lipid components, antioxidative enzyme activities and  $\alpha$ -tocopherol in beef (*M. Semitendinosus* and *Longissimus dorsi*) were investigated. The lipid components (total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride and phospholipid) and the antioxidative enzyme activities (glutathione sulfur transferase, catalase and total superoxide dismutase) were not significantly changed by gamma irradiation up to 10 kGy ( $p>0.05$ ). However, the contents of  $\alpha$ -tocopherol in *Longissimus dorsi* significantly decreased with irradiation dose ( $p<0.05$ ).

Key words: beef, gamma irradiation, lipid component, antioxidant enzyme activity,  $\alpha$ -tocopherol

#### 서 론

최근 식생활의 서구화에 따른 육류의 수요와 생산이 크게 증가함에 따라 당뇨병, 고혈압, 비만, 동맥경화증, 심장마비, 각종 암 등의 발생률이 현저히 증가되고 있다. 이중 가장 중심이 되는 원인적 질환은 비만으로 비만한 사람의 혈중지질, 포화지방, 콜레스테롤 등이 정상인보다 높은 것으로 나타났다<sup>(1)</sup>. 비만한 사람은 어느 정도 고지혈증 또는 고콜레스테롤 혈증을 나타낸다. 일반적으로 에너지 과잉섭취에 의한 체중증가는 지단백질 대사에 영향을 미치게 되는데, 간에서는 초저밀도 지단백질-콜레스테롤 과잉생산과 함께 초저밀도지단백질-콜레스테롤의 변화가 심하게 일어난다<sup>(2)</sup>. 따라서 혈중지질과 콜레스테롤의 상승은 순환기계 질환의

발생에 근본적인 요인이 된다. 최근 들어 순환기계 성인질환이 급증하고 있어 혈장 콜레스테롤 농도가 200 mg/dL 이상으로 식이요법 등 생활치료 및 약물요법의 치료대상이 우리 나라 전체 성인의 30% 정도를 차지하여 정상수준의 혈장 콜레스테롤을 유지하기 위한 많은 노력과 연구가 필요하다. 한편, 이러한 지질을 공급하는 주요 급원이 식육류로 그 중 우육의 지질구성을 보면 중성지방(triglyceride), 인지질(phospholipid), 콜레스테롤(cholesterol), 미량의 지용성 비타민으로 구성되어 있다. 최근 동물성 지방은 포화지방산이 높고 콜레스테롤이 함유되어 있어 동맥경화증 혹은 심장병의 유발요인이 되므로 육류의 섭취를 제한하여야 한다는 의견이 많이 주장되고 있고, 콜레스테롤의 흡수를 억제하고 이화 및 배설을 촉진시키기 위하여 식이 섬유소를 비롯한 여러 가지 건강보조식품을 섭취하기도 한다<sup>(3,4)</sup>. 그러나, 우육은 질이 좋은 단백질 공급원으로서 식물성 단백질에 적은 함량 아미노산(methionine,

Corresponding author: Myung-Woo Byun, Team of Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute, Dukjindong, Yusong-ku, Taejeon, 305-353, Korea

cysteine)을 많이 함유하고 있다. 특히 메치오닌은 강간제(強肝劑)로서의 작용이 있어서 알코올성 음료의 해로부터 간장을 보호하는 역할을 하며, 아이들의 성장발육에 없어서는 안되는 필수아미노산의 일종인 라이신이 많이 함유된 특징이 있다.

그러나, 최근 육류기인 미생물인 살모넬라, 리스테리아, 대장균 O157:H7 등으로 인한 식중독으로 말미암아 미국에서만 3,300만명 이상이 발병하여 그 중 9,000여명이 사망하고 있고 이로 인해 사회적으로 소요되는 손실도 생산성 저하나 의료비 및 기타 관련 비용 등으로 연간 80억에서 230억달러로 추산되고 있다. 1997년 여름, 미국 허드슨푸드사의 햄버거가 병원성 대장균 O157:H7균에 오염된 가능성이 커 2,500만 파운드가 리콜되는 사건이 발생하기도 하였다. 이렇게 식중독 방지뿐만 아니라 방부제 등 식품 첨가물 규제의 강화와 식품보존료 무첨가 육제품의 요구 증가 등 소비자의 건강 지향적 욕구가 증대됨에 따라서 식품산업에서 위생적 품질 관리는 그 중요성이 더욱 증가하고 있다. 또한, 이러한 시점에서 최근 미국 FDA는 병원성 미생물 및 기생충의 살균을 위하여 3~7 kGy까지 방사선 조사된 육류의 유통을 허가한 바 있다. 이와 같이 식품가공, 저장 및 위생화 방법으로 알려진 감마선 조사기술은 이용대상 식품에 대한 저장수명 연장, 살충, 살균 및 건조식품의 물성개선 등에 효과가 탁월하다는 것이 인정되고 있으며, 국제기구(FAO/IAEA/WHO, FDA)와 선진 여러 나라에서 그 건전성과 경제성이 공인되어 현재 39개국에서 40여 식품군(230여 품목)이 각국 보건 당국에 의해 허가되어 실용화되고 있다<sup>(5,6)</sup>.

한편, 우육이 숙성되는 동안 지질의 산화가 발생하고, 항산화 효소에도 변화를 일으킨다고 알려져 있으나 감마선 조사가 이에 영향을 미치는가에 대한 연구는 아직까지 보고된 바 없다. 본 연구에서는 감마선 조사에 대한 영양학적 연구의 일환으로 사후경직후 우육의 지질대사성분 및 항산화효소계에 미치는 영향을 조사하기 위하여 육류의 성인병 관련 요인들인 중성지질, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 인지질, LDL-콜레스테롤과 함께 glutathione sulfur transferase (GST), catalase, superoxide dismutase (SOD) 및 항산화비타민인  $\alpha$ -tocopherol 함량을 측정하였다.

**재료 및 방법**

**시료 및 감마선 조사**

본 실험에 사용된 한우암소육(M. *Semitendinosus*

and *Longissimus dorsi*)은 도축장(대전광역시 오정동)에서 도축직후 우둔부위를 해체하고 약 200 g씩 접합포장재(Nylon, NY 15 m/PE 100 m:투습도, 4.7 g/m<sup>2</sup>/24 hr: 산소투과도, 22.5 cc/m<sup>2</sup>/24 hr)를 이용하여 합기 포장하였다. 포장된 우육의 감마선 조사는 10만 Ci Co-60 감마선 조사시설을 이용하여 시간당 2 kGy의 선량율로 1, 3, 5, 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였고, ceric cerous dosimeter (USA)를 이용한 흡수선량 확인에서 흡수선량 오차범위는  $\pm 6$  Gy였다. 감마선 조사된 우육의 저장은  $5 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 냉장하면서 시험시료로 사용하였다.

**우육의 지질성분 측정을 위한 전처리**

우육의 총 지질은 Folch법<sup>(7)</sup>으로 추출하였다. 우육 3 g에 0.9% saline 6 mL를 가하고 4°C에서 homogenizer (Diox 900, Heidolph, Germany)로 2분간 마쇄하였다. 여기에 CM (chloroform:methanol, 2:1, v/v) 용액 9 mL를 넣고 2분간 vortex mixer로 혼합하고 4°C shaking incubator로 30분간 교반한 후 4°C, 3,000×g로 10분간 원심분리하여 chloroform층(아래층)을 수기에 담았다. Chloroform층을 제거한 잔사에 다시 chloroform을 3 mL 가해 2분간 vortex mixer로 혼합하고 4°C shaking incubator로 30분간 교반한 후 원심분리하여 chloroform층액을 같은 수기에 담았다. 이 수기에 들은 용매를 evaporator (Eyela, model N-N, Japan)로 날린 후 desiccator에 30분 방냉시켜 총 지방 무게를 구했다. 총 지방정량이 끝난 수기에 chloroform 3 mL을 가하여 지방을 녹인 후 그 1 mL을 cap tube에 넣고 다시 500  $\mu\text{L}$ 씩 cap tube에 취하여 4°C에 보관하였다.

중성지질, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 인지질, LDL-콜레스테롤을 측정하기 위하여 위에서 취한 500  $\mu\text{L}$ 를 질소가스로 증발시킨 후 50  $\mu\text{L}$ 의 Triton X-100: chloroform (1:1, v/v)과 450  $\mu\text{L}$  chloroform을 넣고 vortexing후 capping하여 우육의 지질성분 측정을 위한 시료로 사용하였다.

**우육의 지질성분 측정**

우육의 중성지질, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 인지질, LDL-콜레스테롤은 효소비색법을 이용한 kit (Eikan Co., Japan)로 분광광도계(Shimadzu, UV-1601PC, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

**우육의 항산화 효소시험을 위한 효소원의 조제**

우육 10 g에 0.25 M sucrose 용액 20 mL를 가하여 4°C에서 homogenizer (Diox 900, Heidolph, Germany)

로 2분간 마쇄하였다. 이것을 4°C, 7000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 얻고, cytosolic fraction은 실험에 사용될 분량만큼씩 나누어서 분석 전까지 -70°C 냉동고에 보관하여 glutathione sulfur transferase (GST), catalase, superoxide dismutase (SOD)의 효소원으로 사용하였다.

#### 우유의 항산화 효소 활성도 측정

Cytosolic의 GST 측정은 Habig 등<sup>(9)</sup>의 방법으로 측정하였다. 0.1 M phosphate buffer 2835 μL, 0.1 M glutathione 30 μL, 0.12 M 2,4-CNDB (1-chloro-2,4-dinitrobenzene Sigma, USA) 25 μL, 효소원 100 μL순으로 혼합하여 25°C에서 20초 간격으로 3분간 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성단위는 1분간 mg protein이 생성한 2,4-dinitrobenzene-glutathione의 분자 흡광도계수( $E \text{ mM}^{-1}/340 \text{ nm}=9.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )를 이용하여 나타내었다.

Cytosolic의 catalase 활성도는 Abei<sup>(9)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. 1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA (pH 8.0) 50 μL, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1500 μL, H<sub>2</sub>O 1350 μL, 효소원 100 μL를 240 nm에서 20초 간격으로 3분간 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성도는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분해시킬 수 있는 효소의 양을 단백질 1 mg당 1분간의 반응정도로 나타내었다.

Cytosolic의 SOD 측정은 Crapo 등<sup>(10)</sup>의 방법으로 측정하였다. 50 mM potassium phosphate (pH 7.8) 2,130 또는 2,080 μL, 0.5 mM xanthine 300 μL, 1% deoxychloride 100 μL, 2 mM potassium cyanide 100 μL, 0.1 M ferric cytochrome C 300 μL, xanthine oxidase 20 μL, 효소원을 50 또는 100 μL 순으로 혼합하여 실온에서 550 nm로 3분간 흡광도를 측정하였다. Xanthine oxidase는 시료를 넣지 않았을 경우의 흡광도 증가율이 0.025가 되도록 완충용액으로 희석하여 사용하였다. 또한, cytosolic fraction에서 세포막을 파괴하여 total SOD의 효소원으로 사용하였다. 단위는 단백질 1 mg당 1분간의 반응정도로 나타내었다.

#### 우유의 α-tocopherol 함량 측정을 위한 전처리

우유 2 g에 95% ethanol 4 mL를 가하여 4°C에서 homogenizer (Diox 900, Heidolph, Germany)로 2분간 분쇄하였다. 여기에 hexane 3.5 mL를 넣고 30초간 혼합한 후 2분간 vortexing한 후 4°C, 2,000×g로 10분간 원심분리하고, 그 상등액을 여과(Gelman, 0.45 μm, USA)하여 nitrogen gas로 건조시켰다. 건조된 시료는 실험에 사용되기 전까지 -70°C 냉동고에 보관하고, 실험에 사용할 때는 acetone : hexane 혼합용액(2:1, v/v)

150 μL로 녹여 vortexing한 후 HPLC (Waters 2690, USA)용 시료로 사용하였다.

#### 우유의 α-tocopherol 함량 측정

HPLC의 α-tocopherol 분석을 위한 조건은 μ-Bondapak C<sub>18</sub>을 사용하여 이동상은 methanol:H<sub>2</sub>O를 97:3으로 구성하였으며, 유속은 1 mL/min로 하였고, 파장은 292 nm에서 UV detection으로 분석하였고, 표준 물질은 α-tocopherol (Sigma, USA)을 사용하였다.

#### 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성은 SAS (statistical analysis system) program<sup>(11)</sup>을 이용하여 실험구당 평균±표준편차로 표시하였고 각 구의 평균치의 통계적 유의성을 ANOVA analysis의  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

## 결과 및 고찰

#### 우유의 지질성분과 항산화 효소활성도 변화

우유의 조지방질 함량은 약 5.4~7.5%로 10 kGy까지의 감마선 조사에 의한 영향은 보이지 않았다.

감마선 조사에 따른 우유의 지질성분 변화 결과는 Table 1과 같다. 총 콜레스테롤 함량은 약 1.54~1.58%, LDL-콜레스테롤 함량은 약 2.83~2.87%, HDL-콜레스테롤은 약 0.13~0.14%, 중성지질 함량은 약 7.28~7.33%, phospholipid 함량은 약 0.95~0.98%로 비조사구나 10 kGy까지의 감마선 조사구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ).

또한, 감마선 조사에 따른 우유의 항산화 효소활성도를 분석한 결과는 Table 2와 같다. GST는 약 0.00029~0.00030 unit/mg protein, catalase는 약 0.0012~0.0015 unit/mg protein, SOD는 약 0.0092~0.0094 unit/mg protein으로 비교적 항산화 효소의 양이 적었고, 앞의 지질성분 변화와 같이 10 kGy까지의 감마선 조사선량에서는 비조사구와 감마선 조사구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). 이러한 결과로 미루어 보아 10 kGy까지의 감마선 조사는 우유의 지질성분이나 항산화 효소의 활성에 유의적으로 영향을 미치지 않는다고 생각된다.

#### 우유의 α-tocopherol 함량 변화

활성산소들은 조직에 발생되어 DNA, 단백질, 지방 등에 손상을 주는데, vitamin E는 항산화제로서 free radical에 의한 세포의 손상을 방지하고 주로 세포막내

**Table 1. Changes of serum lipid parameters in non-irradiated and gamma-irradiated beef**

(unit: %)

Irradiation dose (kGy)	Cholesterol	LDL-cholesterol	HDL-cholesterol	Triglyceride	Phospholipid
0	1.55±0.003	2.83±0.002	0.14±0.004	7.29±0.006	0.96±0.005
1	1.54±0.005	2.86±0.003	0.13±0.003	7.32±0.003	0.97±0.004
3	1.58±0.002	2.85±0.001	0.13±0.005	7.31±0.004	0.98±0.003
5	1.57±0.006	2.87±0.005	0.14±0.004	7.28±0.005	0.95±0.005
10	1.57±0.005	2.84±0.003	0.14±0.003	7.33±0.005	0.98±0.003

Fatty acids were analysed immediately after gamma irradiation, and each value is the average of triplicate determinations and expressed as % of total lipids.

Mean±S.E.M. (Standard error of mean).

All values within the same column are not significantly different at  $p<0.05$ .

**Table 2. Changes of specific activities of glutathione sulfur transferase, catalase and superoxide dismutase in non-irradiated and gamma-irradiated beef**

(unit: unit/mg protein)

Irradiation dose (kGy)	Glutathione sulfur transferase	Catalase	Total superoxide dismutase
0	0.00029±0.00002	0.0013±0.0001	0.0093±0.0003
1	0.00029±0.00003	0.0013±0.0002	0.0092±0.0002
3	0.00029±0.00002	0.0013±0.0002	0.0094±0.0002
5	0.00030±0.00002	0.0012±0.0003	0.0093±0.0003
10	0.00030±0.00003	0.0013±0.0002	0.0094±0.0002

Mean±S.E.M. (Standard error of mean).

All values within the same column are not significantly different at  $p<0.05$ .

**Table 3. Changes of  $\alpha$ -tocopherol contents in non-irradiated and gamma-irradiated beef**

(unit: mg/g meat)

Irradiation dose (kGy)	$\alpha$ -Tocopherol	
	<i>Longissimus dorsi</i>	<i>M. Semitendinosus</i>
0	0.075±0.00004 <sup>a</sup>	0.027±0.00003 <sup>a</sup>
1	0.056±0.00002 <sup>b</sup>	0.025±0.00001 <sup>a</sup>
3	0.038±0.00004 <sup>c</sup>	0.022±0.00002 <sup>a</sup>
5	0.017±0.00003 <sup>d</sup>	0.024±0.00003 <sup>a</sup>
10	0.008±0.00002 <sup>e</sup>	0.023±0.00003 <sup>a</sup>

Mean±S.E.M. (Standard error of mean).

Values within the same column with different alphabet are significantly different among groups by Duncan's multiple range test at  $p<0.05$ .

에 존재하므로 생체막에 있는 hydroperoxyl radical의 가장 효과적인 scavenger이다. 세포막 인지질의 불포화 지방산은 hydroperoxyl radical의 공격대상으로 DNA구조를 손상시키는데 이 때 tocopherol은 항산화제로서 radical vitamin E를 형성하여 free radical에 의해 개시되는 막손상의 조절에 필수적이다. 또한, R- $\alpha$ -tocotrienol은 혈청 콜레스테롤과 LDL을 낮추어 주며  $\alpha$ -tocotrienol이 콜레스테롤 생합성에 관여하여 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase를 억제시키므로서 콜레스테롤 합성을 제한시켜 심장계 질환을 막아줄 수 있다고 하였다.<sup>(12-14)</sup>

위와 같이 지질 및 콜레스테롤 대사와 밀접한 관련

이 있는  $\alpha$ -tocopherol 함량을 측정해 본 결과는 Table 3과 같다.

등심육의 경우 비조사구가 약 0.075 mg/g meat이고 1 kGy 조사구가 약 0.056 mg/g meat, 3 kGy 조사구가 약 0.038 mg/g meat, 5 kGy 조사구가 약 0.017 mg/g meat, 10 kGy 조사구가 약 0.008 mg/g meat을 나타낸 것으로 보아 감마선 조사는 조사선량의 증가에 따라  $\alpha$ -tocopherol이 유의적으로 감소됨을 알 수 있었다( $p<0.05$ ). 그러나 사태육의 경우에는 원료육 자체의 낮은 지방함량으로 비조사구와 감마선 조사구간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나( $p>0.05$ ), 상기 지방함량이 높은 등심육의 경우에서와 같이 감마선 조사는  $\alpha$ -tocopherol을 어느 정도 분해시킴을 알 수 있었다.

## 요 약

한우육의 사태(*M. Semitendinosus*)를 대상으로 감마선 조사선량(0, 1, 3, 5, 10 kGy)에 따른 지질성분과 항산화 효소 활성도 및  $\alpha$ -tocopherol 함량의 변화를 측정하였다. 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 중성지질 함량에서는 비조사군과 조사군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다( $p>0.05$ ). 항산화 효소의 활성에서 GST, catalase, SOD 역시 비조사군과 조사군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다( $p>0.05$ ).

한편, 등심부위의  $\alpha$ -tocopherol 함량은 감마선 조사선량이 증가함에 따라 유의적으로 감소되었다( $p < 0.05$ ).

### 감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었으며 이 지원에 감사드립니다.

### 문헌

1. Cho, S.H.: Lipid and atherosclerosis, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 170-179 (1994).
2. Connor, W.E., Connor, S.L.: The key role of nutritional factors in the prevention of coronary heart disease. *Prev. Med.*, **1**, 49-83 (1972).
3. Kim, C. and Fukuba, H.: Plasma and liver cholesterol lowering substance in *Gyrophora esculenta*(Sogi)II. Effect of *Gyrophora esculenta* (Sogi) on the plasma and liver cholesterol in rats. *Korean J. Nutr.*, **16**, 27 (1983).
4. Gallaher, D. and Schneeman, B.O.: Intestinal interaction of bile acids, phospholipids, dietary fiber and cholesterylamine. *Am. J. Physiol.*, **250**, 20 (1986).
5. Loaharanu. P.: Acceptance and trading on irradiated foods-International developments of food irradiation and consumer acceptance of irradiated food. Paper presented at the 4th CAFST Seminar, Korea Univ., Seoul, Korea, 30 April (1998).
6. Byun, M.W.: Current status and problems of utilization of irradiation techniques in Korean food industry and medicine (in Korean). *Food science and Industry*, **31**, 19-24 (1998).
7. Folch, J., Lee, M. and Stanley, G.H.S.: A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissue. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957).
8. Habig, W.H., Pabist, M.J. and Jakoby, W.B.: Glutathione S-transferase: the first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130-7139 (1974).
9. Abci, H.: Catalase, In *Methods of enzymology*, Bergmeyer, H.U., Bergmeyer, J. and Grabl, M. (ed.), Verlag Chemie, **3**, 273 (1983).
10. Crapo, H.C., McCord, M.J. and Fridovich, I.: Preparation and assay of superoxide dismutase. In *Methods in enzymology*, Fleischer, S. and Packer, I. (ed.), Academic Press, New York, **52**, 382 (1978).
11. SAS Institute, Inc.: *SAS/STAT Software: Changes and Enhancements, Release 6.10*. SAS Institute Inc., Cary, NC (1994).
12. Qureshi, A.A., Burger, W.C., Peterson, D.M. and Elson, C.E.: The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley. *J. Biol. Chem.*, **261**(10), 544-550 (1986).
13. Burger, W.C., Qureshi, A.A. and Elson, C.E.: Cholesterol lowering, method of use, US patent number 4, 603, 142, July, 29 (1986).
14. Consensus Conference: Lowering food cholesterol to prevent heart disease, *JAMA*, **253**, 2080-2086 (1985).

(1998년 10월 23일 접수)