

발효 대두 식품의 Superoxide dismutase(SOD) 활성

류병호^{1*} · 박종옥² · 김희숙¹ · 임복규³

¹경성대학교 응용공학부 식품생명공학과
²화학과, ³부산지방 식품의약품안전청

Activity of Superoxide dismutase(SOD) by fermented soybean

Beung-Ho Ryu^{1*}, Jong-Ok Park², Hee-Sook Kim¹ and Bok-Gyu Lim³

Department of Food Science and Biotechnology¹ and Department of Chemistry
²Kyungshung University, Busan 706-680., ³Korea Food & Drug Administration of Busan

Abstract

This study was performed to evaluate the inhibition effects of fermented soybean on lipid peroxidation and antioxidative relative enzymes activity, *in vivo*. Fermented soybean was induced the high SOD activity, while significantly inhibited on the peroxide value of linoleic acid and lipid peroxidation from rat microsome induced by Fe²⁺/ascorbate system. Sprague-Dawley (SD) male rats were fed basic diet, and experimental diets group added 200 or 500 mg/kg fermented soybean for 2 weeks. The effect of fermented soybean is also significantly increased catalase and glutathione peroxidase activities, while significantly inhibited the lipid peroxidation of rat liver microsome in a dose dependent manner. Therefore, these results suggest that fermented soybean has antioxidative activity which is related enzymes to prevention of oxidative stress.

Key words – fermented soybean, antioxidative activity, superoxide dismutase (SOD), lipid oxidation

서 론

산소는 지구라는 호기성(好氣性) 환경에서 생활하는 모든 동·식물에는 필요 불가결한 물질이지만 과잉의 산소에 의하여 야기되는 산소독(酸素毒)은 노화나 암 등 질병의 원인으로 알려져 있다. 대기 중에 존재하는 산소는 삼중항 산소(三重項 酸素)라고 부르는 물질로서 호흡을 통하여 1일 500L 정도로 대량 섭취하는데 이 산소 중 불과 몇 %의 산소는 활성 산소라고 하는 반응성이 높은 물질로 변환된

다. 이 활성 산소는 병원균, 바이러스를 살균하는 물질로서 생체 방어의 입장에서 중요한 생리적 역할을 하고 있다. 그러나 활성 산소가 환경 오염 물질, 대사 이상, 광화학 반응 및 체내 효소계 등 각종 요인에 의하여 superoxide radical (O₂⁻), hydroxy radical(OH[·]), hydrogen peroxide (H₂O₂), singlelet oxygen, NO 유래 ONOO⁻ 및 myeloperoxidase에 의하여 생성되는 OCl⁻등을 함유한 유리기가 생체에 치명적인 산소 독성을 일으킨다[3,8,15]. 활성 산소에 의하여 산화적 손상으로 세포 구성의 주요 성분 등 생체 내 지질과 산화 반응이 진행되어 반응성이 높은 유리기가 단백질과 당, DNA, 효소 등에 대하여 비 가역적, 비 선택적으로 공격을 함으로써 암을 비롯한 동맥경화, 허혈성 심장 질환, 뇌졸중,

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : (051) 620-4712, Fax : (051) 622-4986
E-mail : bhryu@star.kyungshung.ac.kr

파킨슨병, 면역 질환 등 각종 질병을 유발한다[1,9,10,21].

이러한 세포내의 산화 스트레스에 의하여 만성 당뇨병의 합병증이 유발되고[28], 특히 인슐린 비 의존성 당뇨병은 가속성 동맥 경화증으로 주요 사망 원인이 된다[4]. 그리고 동맥 경화증의 원인으로 유리기에 의한 low density lipoprotein (LDL)의 산화, 지방괴(fatty streak)가 생성되어 혈관 내피 세포 부위의 섬유화, 혈소판 응집에 의한 포말세포(foam cell)가 형성되어 동맥 경화증을 유발한다[4,6]. 이와 같이 지구상에 존재하면서 산소를 이용하는 모든 생물체는 산소의 산화에 의한 조직 손상에 항상 노출되어 있어 활성 산소로부터 스스로 보호하기 위한 방어 시스템을 가지고 있다.

활성 산소에 의하여 생성되는 유리기를 소거하는 것으로는 SOD(superoxide dismutase), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GPX)와 같은 항산화 효소 등이 있고, 항산화 물질로는 비타민 C[12], E[11], ubiquinone[25], polyphenol, flavonoids[2]등이 알려져 있다.

특히 SOD는 유리기를 형성할 수 있는 전구물질들의 불활성 유리기의 생성을 억제시키거나, 유리기를 직접 소거하여 분자상 산소에 의한 유리기 연쇄 반응을 차단하는 작용을 한다.

우리가 매일 먹고 있는 식품 중에도 생체의 산화적 손상으로부터 보호할 수 있는 성분들이 많이 들어 있다. 특히 대두에는 영양 성분 이외에 각종 기능성 성분들이 많이 함유되어 있다. 대두의 플라보노이드인 genistein은 superoxide anion의 형성을 억제하여 과산화수소를 소거하는 작용이 있고[27], UV 조사나 Fenton 반응 시스템에서 DNA의 8-hydroxy-2-deoxyguanosine(8-OHdG)의 생성을 억제하여 항암 작용에 관여한다[16].

그 외에도 대두 성분에 들어있는 chlorogenic, ferulic acid 및 *p*-coumaric acid 등이 상당한 항산화 효과가 있는 것으로 알려졌다[22,23].

이에 본 연구는 SOD 활성이 높은 *Bacillus* sp. BH-99를 대두에 접종 한 후 발효시켜 SOD 대두 발효 식품으로서 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

대두(*Glycine var Merrill*)를 수세하고 선별 한 후 105℃에서 20분간 증자 한 후 *Bacillus* sp. BH-99를 접종한 다음 38

℃에서 3일간 배양한 후 동결 건조한 후 분말로 만들어 저온에 보관하였다[24]. 이때 사용한 배지조성은 0.5% glucose, 0.5% polypeptone, 0.5% yeast extract, 0.02% K₂HPO₄, 0.002% MgSO₄ · 7H₂O, 0.001% FeSO₄ · 7H₂O 0.001% MnSO₄ · 5H₂O를 증류수에 녹여 멸균한 후 사용하였다. 시료분말을 80% 메탄올로 추출한 후 여과한 다음 농축하여 시료로 사용하였다.

Catechin 및 quercetin은 Aldrich Co.에서 구입하여 사용하였다.

실험 동물 및 사료 조성

본 실험에 사용된 Sprague-Dawley(SD)계 수컷 rat는 화학 연구소에서 분양받아 2주 이상 실험 사육장의 환경에 적응시킨 후 7마리씩 4군으로 나누어 삼양 유지의 기본사료(control group)로써 사육하면서 대두 발효식품 농축액을 SD계 rat에 하루 200 및 500 mg/kg씩 각각 사료에 첨가하여 사육하였다. SD 수컷 rat는 몸무게 200~220 g의 암컷, 8주령 되는 것을 사용하였고, 동물 사육실은 항온 항습(22±2℃, 65±2% RH)하에서 삼양유지의 마우스용 pellets 사료를 주었으며, 물은 자유롭게 먹게 하고, 12시간 cycle의 조건하에서 실험하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 활성 측정

SOD의 활성 측정은 Fridovich 방법[7]에 준해서 측정하였다. Xanthine/xanthine oxidase 반응으로 생성된 superoxide anion에 의해 cytochrome c가 환원되는 것을 측정하였고, SOD에 의하여 superoxide anion의 양이 감소하여 cytochrome c의 변화속도가 감소하는 것으로 SOD 활성을 측정하였다.

Cytochrome c, 38 mg, 2 μM xanthine 10 mL(0.001 N NaOH), 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.8, 0.1 mM EDTA)100 mL를 혼합한 기질액 2 mL에 희석한 시료를 넣고 2분간 안정화 시킨 후 xanthine oxidase (0.2 unit/mL, 0.1 mM EDTA) 50 μL를 cuvette에 넣고 혼합하여 spectrophotometer(UV-2100, Shimadzu co. Japan)를 이용하여 550 nm에서 2분간 흡광도를 측정하였다.

Peroxide value(POV) 측정

시료의 지질 과산화물 생성 억제 효과를 linoleic acid를

기질로 사용하여 Nose의 방법[19]에 따라 POV를 측정하였다. Linoleic acid 100 μ L와 각 시료(5 mg/mL) 10 μ L를 1.6cm \times 6cm의 시험관에 넣어 50 $^{\circ}$ C 항온기에서 24시간 저장하여 산화를 촉진시킨 후 chloroform/acetic acid(2:3, v/v) 35 mL를 첨가하고 1분간 격렬하게 혼합한 후 암소에서 5분간 방치시키고, 여기에 증류수 75 mL와 전분 시액 1 mL를 첨가하고, 0.01 N sodium thiosulfate 용액으로 요오드를 역적정하여 POV를 측정하였다.

지질과산화 측정

흰쥐 간 microsome 분획의 조제

흰쥐의 간을 0.15 M KCl로 perfusion한 후 적출하여 잘게 자른 후 미리 냉각시킨 4배 용량의 완충 용액(50 mM Tris-HCl, pH 7.4)을 넣고 균질기를 이용하여 조직을 균일화하였다. 이것을 8,000 \times g로 15분간 원심 분리한 후 상층액을 다시 10,000 \times g로 20분간 원심분리하여 질편을 제거하였다. 1시간 원심 분리한 후 침강한 pellet을 균질화 용액에 현탁시키고 100,000 \times g로 다시 한번 원심 분리하여 침강한 pellet을 microsome 분획으로 분취하였다. 조제한 이들 분획의 단백질을 정량하고 -70 $^{\circ}$ C에서 냉동 보관하여 사용하였다[20].

Fe/ascorbate system 반응액의 조제

시료를 MeOH 1 mL에 용해하여 사용하였다. 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7.5) 1.6 mL에 시료용액 0.1 mL, 간 microsome 분획(1 mL 중 1 mg의 단백질 함유) 0.1 mL, 0.1 mM ascorbate 0.1 mL, 5 mM FeSO₄ 0.1 mL를 차례로 가하여 반응액을 조제하였다[29].

생체내에서 항산화 작용에 미치는 영향

사염화 탄소(CCl₄)에 의한 지질과산화 유발 : 흰쥐 1군을 7마리로 하여 두 군은 2주간 시료를 200 mg/kg, 500 mg/kg씩 saline에 녹여서 경구 투여하였고, 두 군은 검액 대신 saline을 투여하였다. 투여 마지막 날 미리 6시간 절식시키고 corn oil에 용해시켜 CCl₄ 0.4 mL/kg씩 경구 투여하였다. 검액은 투여하지 않고 CCl₄ 만 투여하여 양성 대조군으로 하였고, CCl₄ 및 검액을 투여하지 않고 corn oil만 투여하여 정상 대조군으로 하였다.

Catalase 활성 측정

H₂O₂를 기질로 하여 H₂O₂를 소모하는 속도를 측정하여

간 microsome의 catalase activity를 측정하였다[5]. 30% hydrogen peroxide 30 μ L를 0.05 M potassium phosphate buffer 5 mL(pH 7.0)에 녹여서 기질로 사용하였고, 효소로 간 microsome 분획을 100배 농도로 희석하여 사용하였다. 0.05 M potassium phosphate buffer(pH7.0) 570 μ L, 기질 330 μ L와 효소원으로 간 균질화물 희석액 100 μ L를 넣고 혼합한 후 240nm에서 10초 간격으로 40초간 흡광도를 측정하였다.

글루타치온 퍼옥시다아제의 활성

간장의 cytosol 획분에서 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase : GSHPx)의 활성의 측정하였다[14]. 시험관에 cytosol에 인산완충용액(0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA, pH 7.2) 0.1mL, 증류수 1,295 mL, 26.56 mM sodium azide 용액 0.5 mL, 294.37 mM GSH용액 60 μ L, 8.4 mM NADPH (35.0 mg NADPH/5.0 mL of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA)110 μ L, glutathione reductase 5 mL, 1 mM hydroperoxide 320 μ L를 첨가하여 5초간 잘 혼합한 후, 분광광도계를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 15초 간격으로 2분간 측정하여 표준 검량선에 의해 GSHPx (IU/g protein)의 활성을 계산하였다.

Lipid peroxide 함량 측정

상기의 간 microsome 분획의 균질액에 10 % sodium dodecyl sulfate 용액을 첨가하고 실온에서 30분간 방치한 다음 0.1 M HCl과 0.37% thiobarbituric acid 용액을 가한 후 혼합액을 끓는 물에서 45분간 반응시킨 후, 냉각하여 부질 알코올을 가해 혼합하고 1,000 \times g에서 원심분리한 후 상층의 부질 알코올 층을 532 nm에서 흡광도를 측정하였고, tetramethoxypropane을 표준액으로 사용하여 MDA량을 정량하였다[18].

통계처리

본 실험에서의 결과치의 유의성은 Student's t-test 법으로 검정하였다.

결과 및 고찰

SOD 활성 비교

생체의 대사 과정에서 발생하는 유해 산소 중의 하나인

superoxide (O₂)는 superoxide dismutase (SOD)에 의하여 소거된다. 본 실험은 발효 대두 식품의 SOD 유사 활성을 알아 보기 위하여 측정된 결과를 나타내었다(Table 1). 발효 대두 식품의 SOD 활성을 확인하기 위하여 항산화 활성이 높은 것으로 알려진 플라보노이드인 quercetin 및 녹차 catechin과 비교한 결과 발효 대두 식품의 메탄올 추출물을 50 µg/mL 를 첨가하였을 때의 활성은 각각 54.53±2.60 mg, protein에 비하여 대조구의 quercetin의 경우 50 µg/mL 첨가구의 SOD가 각각 59.42±3.74 mg, protein이었고 catechin의 경우 50 µg/mL 첨가구에서 각각 48.84±2.32 mg, protein이었다. 본 실험결과 발효 대두 식품의 SOD 대조구인 quercetin의 SOD보다는 약간 낮았으나 녹차의 catechin 보다는 높은 활성을 나타내었다.

생체 내 산화 스트레스로 생성하는 활성 산소에 의하여 산소 종(reactive oxygen species : ROS)이 발생한다. 이러한 유리 라디칼은 세포막의 지질 성분에 작용하여 과산화 지질을 생성하고 DNA에 손상을 일으켜 변이를 촉진하고 단백질의 손상을 초래하여 성인병, 암 및 노화에 영향을 미친다[23].

본 실험 결과에서 발효 대두 식품의 80 % 메탄올 추출물이 활성 산소 소거능이 있는 것으로 판단된다.

과산화 지질의 억제효과

Linoleic acid가 지질에 대한 과산화물 생성 억제 효과는 Table 2와 같다. 과산화지질은 대조구의 POV가 1245.2 meq/kg에 대하여 발효 대두는 POV가 182.2 meq/kg으로 대조군에 비하여 85.4%의 억제 효과를 나타내었고 현재 사용되고 있거나 알려진 항산화제로서 대조구인 catechin의 경우는 85.0%의 억제율을 나타내었고, quercetin는 86.4%의 억제율을 나타내었다. 이상의 실험 결과에서 발효 대두의 경우 항산화제로 알려진 catechin 및 quercetin과 비교해

Table 1. Effects of ethanol fraction of fermented soybean on superoxide dismutase (SOD) relative activity (unit /mg, protein)

DMSO	0
Catechin (50 µg/mL)	48.84±2.32
Quercetin (50 µg/mL)	59.42±3.74
Fermented soybean (50 µg/mL)	54.53±2.60

Table 2. Inhibition effect of fermented soybean on peroxide value (POV) from rat liver microsome induced by Fe²⁺-ascorbate system

Sample	POV (meq/kg)	Inhibition (%)
Control	1,245.2	-
Catechin (50 µg)	189.6	85.0
Quercetin (50 µg)	170.0	86.4
Fermented soybean (50 µg)	182.2	85.4

Inhibition Each value represents the mean value of duplicate determination. (%) = [1-(sample POV/control POV)]×100

보면 지질 과산화 효과가 거의 비슷한 수준으로 우수한 활성을 나타내었다.

*In vivo*에서 간의 microsome 분획에 대한 지질과산화에 대하여 malondialdehyde (MDA)의 결과를 Table 3에 나타내었다. 지질 과산화에 대한 실험 결과 대조군은 10.42 nmol/mg protein 이었으나, 항산화 활성이 높은 것으로 알려진 대두 발효 식품의 80% 메탄올 추출물 50 µg 첨가하였을 때 2.50 nmole/mg, protein으로 76.1%의 억제 효과를 볼 수 있었다. Catechin를 50 µg 첨가한 경우 2.47 nmole/mg protein으로 76.35 %의 억제 효과를 나타내었고, quercetin의 경우 2.10 nmole/mg, protein으로 80.0%의 억제 효과를 나타내었다. 이상의 실험 결과로 보아 발효 대두의 지질과산화 억제 효과는 상당히 높은 것으로 사료된다.

Table 3. Inhibition effects of fermented soybean on lipid peroxidation from rat liver microsome induced by Fe²⁺-ascorbate system

Sample	MDA (nmol/mg, protein)	Inhibition (%)
Control	10.42	-
Catechin(50 µg)	2.47	76.3
Quercetin (50 µg)	2.10	80.0
Fermented soybean (50 µg)	2.50	76.1

Each value represents the mean value of duplicate determination.

Inhibition (%)=[1-(sample MDA/control MDA)]×100 MDA means malonaldehyde.

항산화계 효소의 활성

쥐를 이용한 *in vivo*에서의 항산화 활성을 알아보기 위하여 발효 대두 식품을 rat에 2주일간 사료에 섞어 먹인 후 간 microsome 분획에 존재하는 SOD, catalase 및 glutathione peroxidase 등 항산화계 효소에 미치는 영향을 검토하였다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 실험 동물인 쥐에 사염화탄소(CCl₄)를 처리하여 간에 과산화 지질을 유발시킨 후 SOD의 활성을 측정한 결과 정상 사육한 대조군 SOD 활성이 24.0±3.23U/mg, protein으로 CCl₄ 처리군의 9.84±2.50 U/mg, protein이었다. 59% 정도의 활성이 높았으나, 발효 대두를 200 mg/kg 첨가군에서 16.47±3.06 U/mg, protein으로 CCl₄ 처리군에 비하여 40% 증가하였으며, 500 mg/kg 첨가군에서는 20.86±3.46 U/mg, protein으로 50.73 %의 증가로 1% 수준에서 유의성이 인정되었다.

CCl₄는 cytochrome에 의해서 C-Cl 결합이 깨어지면서 trichloromethyl radicals를 생성하고 O₂와 반응하여 trichloromethyl peroxy radicals를 생성한다. 이렇게 생성된 radicals는 세포막의 인지질인 polyenoic fatty acid의 methyl carbon을 공격하여 과산화 지질을 야기하여 간세포를 괴사시킨다[26]. 본 실험 결과로서 CCl₄의 처리군에 발효대두를 첨가하였을때 SOD의 활성이 증가하는 것으로 보아 과산화 지질을 억제하는 것으로 사료된다.

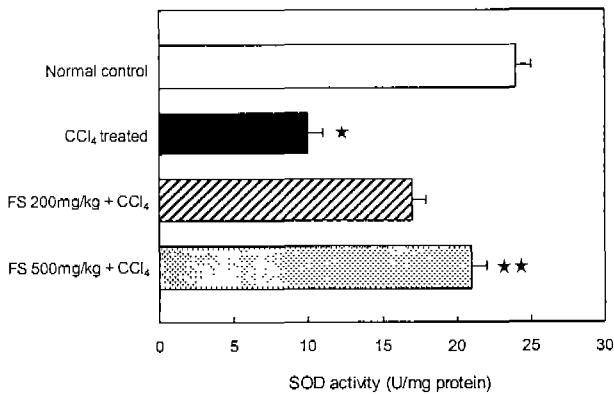


Fig. 1. Effects of fermented soybean on superoxide dismutase activity (SOD) in rat liver microsome.

FS: fermented soybean

★: p<0.05, significantly difference from normal control

★★: p<0.05, significantly difference from CCl₄ treatment

Each group represents the mean ± SD

한편, Fig. 2는 발효 대두를 쥐에 2주일간 투여한 후 쥐 간의 microsome 획분에 존재하는 catalase 활성을 비교하였다. 정상 사육한 대조군의 catalase 활성은 19.65±2.73 U/mg, protein이었으나 CCl₄ 처리군에서는 8.17±3.401 U/mg, protein으로 CCl₄ 대조군에 비하여 58.5 % 감소하였으나 발효 대두 200 mg/kg 첨가군에서는 13.28±2.17 U/mg, protein으로 CCl₄ 처리군에 비하여 31.94 % 증가하였고 500 mg/kg 첨가군에서는 17.04±1.28 U/mg, protein으로 40.98 %의 증가를 나타내어 유의성이 있었다.

Fig. 3은 대두 발효 식품을 사료에 첨가하여 2주간 사육한 후 glutathione peroxidase의 활성을 측정하였다. 대조군에서는 9.80±0.25 IU/g.protein 이었으나, CCl₄ 처리군에서는 2.26±0.20 IU/g.protein 으로 대조군에 비하여 77.0% 감소하였다. 그러나 대두 발효를 200 mg/kg 투여한 경우 5.43±0.17 IU/g.protein 으로 대조군에 비하여 glutathione peroxidase의 활성이 23.54% 증가하였고, 500 mg/kg 투여군에서는 8.08±0.23 IU/g.protein으로 35.03% 증가함을 볼 수 있었다.

Fig. 4는 *in vivo*에서 발효 대두 첨가 식이가 주간의 microsome 획분의 지질 과산화의 생성을 나타내었다. 정상 사육한 대조군의 과산화 지질의 지표인 malondialdehyde (MDA)는 1.63±0.26 nmole/mg, protein이었으나 CCl₄ 처리군에서는 3.37±0.84 nmole/mg, protein이었으나, 발효

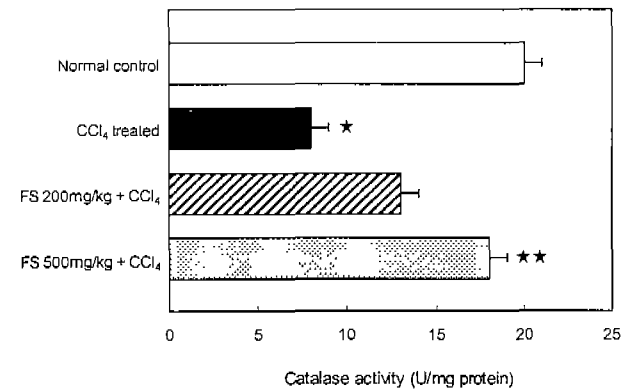


Fig. 2. Effects of fermented soybean on catalase activity (CAT) in rat liver microsome.

FS: fermented soybean

★: p<0.05, significantly difference from normal control

★★: p<0.05, significantly difference from CCl₄ treatment

Each group represents the mean ± SD

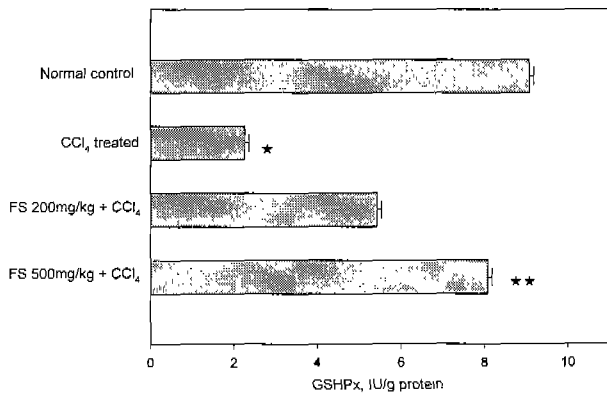


Fig. 3. Effects of fermented soybean on glutathione peroxidase activity (GTHPx) in rat liver microsome.
 FS: fermented soybean
 ★: p<0.05, significantly difference from normal control
 ★★: p<0.05, significantly difference from CCl₄ treatment
 Each group represents the mean±SD

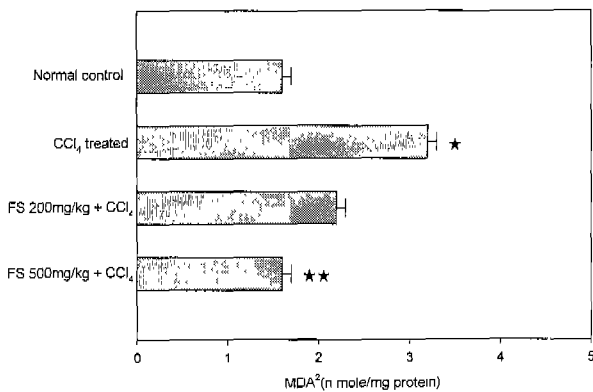


Fig. 4. Effects of fermented soybean on lipid peroxidation activity in rat liver microsome.
 FS: fermented soybean
 ★: p<0.05, significantly difference from normal control
 ★★: p<0.05, significantly difference from CCl₄ treatment
 Each group represents the mean±SD

대두 200mg/kg 첨가군에서는 2.28±0.12 nmole/mg, protein으로 32.4% 감소하였고, 500 mg/kg 첨가군에서는 1.73±0.17 nmole/mg, protein으로 48.7% 감소하여 유의성이 인정되었다.

모든 생물체는 유산소 호흡을 하는 대사 과정에서 활성 산소를 생성하는데 적정량의 활성 산소는 생체내 면역기능에 관계된 대식 세포의 살균 작용 등이 있으나 그 양이 많으면 활성 산소가 산화제로서 생체막의 지질 변화, DNA

변이 등 산화적 스트레스를 발생시킨다. 따라서 생물체는 이러한 활성 산소를 제거하여 생체를 보호하기 위하여 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathion peroxidase 등 항산화 효소를 가지고 있다. 유리기를 제거하는 SOD는 활성 산소를 OH⁻와 산소로 전환시키는데 효소 작용을 함으로써 활성 산소 유리기에 의해서 생기는 생체의 지질 과산화를 방어한다[10,16].

SOD는 생체 내에서 비교적 널리 분포된 효소로서 포유류에는 3종류의 SOD가 알려져 있다. Cu, Zn-SOD는 각각 세포질과 세포 외액에 존재하나 Mn-SOD는 주로 mitochondria에 존재한다. Mn-SOD는 노화과정, 발암기전에 일부 역할을 하고 산화 스트레스에 의한 각종 성인병 발생에 의한 저항성을 갖게 한다[17].

활성산소에 의하여 산화되는 동안 발생하는 superoxide anion radical(O₂⁻)은 SOD에 의하여 활성이 소실되지만 이들 유리기들이 세포막에 손상을 일으킬 것으로 사료된다[13].

본 실험 결과 발효 대두는 과산화 지질의 억제 효과가 상당히 높게 나타났다. 그리고 쥐를 이용한 Fe²⁺-ascorbate system에서도 catechin과 quercetin간의 대조구로 하여 microsome의 과산화 지질의 억제 효과를 실험한 결과 이를 대표적인 항산화제와 비슷한 효과를 나타내었다. 활성 산소 소거 활성에서는 SOD의 활성이 항산화제로 알려진 catechin과 quercetin의 산화 억제 효과와 거의 비슷한 수준의 효과를 나타내었다.

Bacillus sp Bu-99로 만든 발효 대두의 동물 실험결과 쥐의 간의 microsome의 SOD, catalase, glutathion peroxidase 및 지질 과산화물의 생성 억제 효과를 항산화 효소의 작용으로, 생물체의 세포막을 보호하여 노화 등을 예방할 것으로 생각된다.

한편, CCl₄를 투여하여 쥐 간에 손상을 일으킨 후 발효 대두를 첨가한 식이군에서는 항산화 관련 효소 및 SOD와 catalase, glutathion peroxidase 활성이 CCl₄ 처리군보다 증가하는 경향은 발효 대두가 항산화 관련 효소의 활성과 관련이 있는 것으로 판단된다. 그리고 CCl₄로 간에 손상을 일으킨 쥐에 발효 대두를 첨가한 식이를 급여한 군에서 SOD, catalase, glutathion peroxidase의 활성을 억제시켰으며 이때 유의성을 볼 수 있었다.

이러한 실험결과는 생체 내에서 발효 대두 식품이 CCl₄에 의하여 손상되었던 간에 SOD와 catalase의 활성이 회복

되는 것을 볼 수 있었고 과산화지질의 생성은 발효 대두 식품에 대하여 억제되었다.

본 실험 결과에서 발효 대두는 *in vitro*에서 SOD의 활성을 증가시키면서 지질 과산화를 억제하였다.

따라서, 발효 대두는 항산화 관련 효소의 활성을 높여 주고 지질 과산화를 억제 하므로서 노화 등 성인병 예방에 기여할 것으로 생각되어진다.

요 약

대두 발효 식품의 항산화 활성을 알아보기 위하여 *in vitro*와 *in vivo*에서 과산화 지질의 생성 억제와 항산화 관련 효소인 superoxide dismutase (SOD), catalase 및 glutathion peroxidase 활성을 증강시키는 실험을 실시하였다.

In vitro 실험에서 항산화 활성을 실험 한 결과 대두 발효 식품은 POV와 과산화 지질의 생성을 유의성 있게 억제시켰으며 quercetin과 catechin과 비교한 결과 SOD 활성은 상당히 높았다.

그리고 대두 발효 식품을 SD계 수컷 쥐에 2주간 사료에 첨가하여 먹인 후 항산화 활성을 측정 한 결과, 대두 발효 식품을 쥐에 투여하여 사염화 탄소(CCl₄)로 손상을 유도시킨 뒤 쥐의 간 microsome의 지질 과산화를 유의성 있게 억제 시켰다. 항산화 관련 효소인 SOD, catalase 및 glutathion peroxidase 활성은 유의성 있게 증가하였고, 지질 과산화도 억제시켰다.

따라서 대두 발효 식품은 산화 스트레스로 생성되는 활성 산소의 소거에 효과적임을 알 수 있다.

참 고 문 헌

1. Balin, A. K. 1982. Testing the free radical theory of aging. In: R. R. Adelman and G. S. Roth, eds., Testing the theories of Aging. CRC Press, Boca Raton, Fla. p.37
2. Bauman, J., E. Bruchahysen and G. Wurm. 1980. Flavonoids and related compounds as inhibition of arachidonic acid peroxidation. *Prostaglandins*. **20**, 627-639
3. Bulkey, G. B. 1993. The role of oxygen free radicals in human disease processes, *Surgery*. **94**, 407-411.

4. Doerr W. 1978. Principles of pathogenesis and an attempt at a biological classification. *Virchows Arch*. **380**, 91.
5. Esterbauer, H., J. Lang, S. Zadavec and T. F. O. Slater. 1981. *Methods in enzymology*, Academic Press, New York. **150**, 319.
6. Fogelman A. M., I. Schechter, J. Sager, M. Hokom, J. S. Child and P. A. Edward. 1980. Malonyldialdehyde alteration of low density lipoproteins lead to cholesterol ester accumulation in human monocyte macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **77**, 2214-2224.
7. Fridovich, L. and J. M. McCord. 1968. The reduction of cytochrome c by milk xanthine oxidase. *J. Bio. Chem.* **243**, 5753-5760.
8. Halliwell, D. H. and T. E. Barry. 1991. Reactive oxygen species in living system. *Am. J. Medicine*. **91**, 14-23.
9. Harman, D. 1956. A theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* **11**, 298-307.
10. Hertzberg, R. P. and P. B. Drevan. 1984. Cleavage of DNA with EDTA-iron(II): reaction condition and product analysis. *Biochem.* **23**, 3934-3945.
11. Jessup, W., S. M. Rankin, C. V. De Whalley, R. S. Hoult, J; Scott and D. S. Leake. 1990. α -Tocopherol consumption during low-density lipoprotein oxidation. *Biochem. J.* **265**, 237-248
12. Jisalal, I., G. L. Vega and S. M. Gundy. 1990. Physiologic levels of ascorbate inhibit the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biochem. Biophys. Acta*. **1086**, 134-138.
13. Jungqueira, V. B. C., K. Simiz, L. A. Videla and S. B. Barros. 1996. Dose dependent study of the effects of acute lindance administration on rat liver superoxide anion production, antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation. *Toxicology*. **41**, 193 -204.
14. Luck, H. 1971. Catalase., In *Methods of Enzymatic Analysis* (Ed. Bergmeyer HU), *Academic Press*, New York. p885.
15. McCord, L. M. 1983. The superoxide free radical: Its biochemistry and pathophysiology. *Surgery*. **94**, 412-444.
16. Minto, G. and S. D. Aust. 1993. Redox cycling of iron and Lipid peroxidation. *Lipid*. **27**, 219-226.
17. Moody, C. S. and H. M. Hassan. 1982. Mutagenicity of oxygen free radicals. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **79**, 2855-2859.
18. Nohl, H. and W. Jordan. 1986. The mitochondrial site

- of superoxide formation. *Biochem, Biophys. Res. Commun.* **138**, 533-9539.
19. Nose, M. and N. Fijino. 1982. Antioxidative activities of some vegetable foods and active component of avocado epicarp. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* **29**, 507-13.
20. Ohnishi, S. T. and J. K. Barr. 1978. A simplified method of quantitating proteins using the biuret and phenol reagent. *Anal. Biochem.* **86**, 193-200.
21. Parker, L. 1987. Oxygen radicals in biological system, *Methods in Enzymology.* Academic press, New York. 105.
22. Pratt, D. E. and P. M. Birac. 1979. Source of antioxidant activity in soybeans and product. *J. Food Sci.* **44**, 1720-1728.
23. Pratt, D. E. 1982. Water soluble antioxidant activity in soybeans. *J. Food Sci.* **37**, 322-332.
24. Ryu, B. H. and Y. S. Lee. 1999. Antioxidative activity on Human Low density Lipoprotein oxidation by 2, 6-dimethoxy phenol purified from *Bacillus*. sp. *J. life Science.* **9**, 57-61.
25. Stocher, R., V. W. Bowry and B. Frei. 1991. Ubiquinol-10 protects human low density lipoprotein more deficiently against lipid peroxidation than α -tocopherol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **88**, 1646-1650.
26. Wei, H., Q. Cai. and R. Rahn. 1996. Inhibition of UV light and Fenton reaction induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein. *Carcinogenesis.* **17**, 73-81.
27. Wei, H., L. Wei, K. Frenkel, R. Brown. and S. Barnes. 1993. Inhibition of tumor promoter-induced hydrogen peroxide formation *in vitro* and *in vivo* by genistein. *Nutri. and Cancer.* **20**, 1-20.
28. Wolff, S. P., Z. Y. Jiang and J. V. Hunt. 1991. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and aging. *Free Rad. Biol. Med.* **10**, 330-352.
29. Wong, S. F. and H. Halliwell. 1981. The role of superoxide and hydroxyl radicals in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J. Inorg. Biochem.* **14**, 127-134.

(Received September 3, 2001; Accepted November 12, 2001)