

## 쥐에서 식이에 보충한 Conjugated Linoleic Acid가 식이지방 종류에 따라 항산화작용에 미치는 영향\*

윤 경 미 · 박 현 서<sup>§</sup>

경희대학교 식품영양학과

### Conjugated Linoleic Acid Supplemented to Dietary Fat Has an Antioxidant Activities, but It Depends on the Type of Fat in Diet\*

Yun, Kyung-Mi · Park, Hyun-Suh<sup>§</sup>

Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

#### ABSTRACT

The study was designed to observe an antioxidant activities of conjugated linoleic acid(CLA) in rat liver by determining the activities of antioxidative enzymes(superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase) and the levels of tocopherol and thiobarbituric acid reactive substance(TBARS). Male Sprague Dawley rats at 7 weeks-old were divided into 2 groups according to the types of dietary fat(beef tallow and fish oil) and then each group was subdivided into 2 groups depending on CLA supplement. All rats were fed experimental diet containing 12% total fat including 1% CLA by weight for 30 weeks. CLA supplemented to beef tallow diet did not have significant effect on the level of TBARS and tocopherol. The level of TBARS was significantly increased in fish oil diet(highly unsaturated fat diet), but its level was significantly reduced by increasing SOD and GSH-Px activities when CLA was supplemented to fish oil diet so that CLA showed a sparing action of tocopherol in tissue. CLA did not have significant effect on peroxisomal catalase activities, but its activity was significantly increased when TBARS production was high in the fish oil diet. CLA could be incorporated into phospholipid of microsomal membrane, and interfered the conversions of C18 : 0 into C18 : 1 and C18 : 2 into C20 : 4 in liver. In conclusion, CLA had an antioxidant activities depending on the type of fat in diet. Therefore, it could be recommended to use CLA when highly unsaturated fat was used in meal preparation. (*Korean J Nutrition* 34(8) : 858~864, 2001)

KEY WORDS: CLA, TBARS, tocopherol, antioxidant enzymes, peroxisomal catalase.

#### 서 론

Linoleic acid(C18 : 2n-6)의 기하학적 이성체인 conjugated linoleic acid(CLA)는 암 발생과 동맥경화증 유발을 억제하는 기능이 있다고 보고되고 있으나<sup>1-4)</sup> 이에 대한 작용기전은 아직 규명되어 있지는 않다. 산화적 스트레스가 있을 때 지질과산화 개시물인 자유라디칼(free radical)에 의해 세포막과 DNA 손상이 노화나 암 등의 질환을 촉진하므로<sup>5)</sup> CLA의 항암효과는 CLA의 항산화 작용과 관련된 것으로 추측되고 있다. 지금까지 CLA의 항산화작용 기전이

정확하게 알려져 있지 않지만 Ha 등<sup>6)</sup>은 크게 두가지로 대별하고 있다. CLA 분자내 이중결합을 중심으로 일어난 산화물질인 "β-hydroxy acrolein" CLA 유도체가 전이금속을 chelation함으로써 fenton reaction을 방해하기 때문이라는 것과 CLA 분자내에 있는 conjugated double bond 그 자체도 철과 같은 전이금속을 역시 chelation 한다는 것이다. 그러나 이런 보고와는 대조적으로 model membrane system에서 CLA는 라디칼 포착(radical scavenger) 작용이 없었으며, 또한 Fe ion-dependent oxidative reaction에서 metal chelator로 전환되지 않으므로, CLA는 효과적인 항산화제 또는 항산화제의 전구체 기능이 없다고 보고된 바도 있다.<sup>7)</sup>

그러므로 본 연구에서는 동물체내에서 CLA의 실제 항산화 효과를 규명하기 위해 불포화도가 낮은 쇠기름과 불포화도가 높은 어유에 CLA를 첨가한 식이를 동물에게 공급하

접수일 : 2001년 10월 26일

채택일 : 2001년 11월 17일

\*This work was supported by Grant No. KRF 1998-001-D00948 from the Korea Research Foundation(1998).

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

여 조직내의 CLA가 지질 과산화물과 항산화효소 수준에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

### 실험재료 및 방법

#### 1. 실험계획

생후 6주된 Sprague Dawley종 수컷 쥐를 1주간 일반 고형사료로 사육한 다음 체중에 따라 난괴법에 의하여 18마리씩 4군으로 나누었으며, 이때 체중은 약 150~200g이었다. 실험군은 식이지방의 급원에 따라서 2군으로 나누고, 각군을 다시 CLA의 첨가 유무에 따라서 2군으로 나누었으며, 실험식으로 30주동안 사육하였다.

#### 2. 실험식이

실험식은 총 열량 중 단백질이 20.9%, 당질이 53.5%, 지방이 25.6%(12%, w/w)가 되도록 구성하였으며, 다른 성분의 양은 동일하게 하였다(Table 1). 사용된 식이지방 급원으로는 포화지방산이 주로 함유된 쇠기름(beef tallow: BT)과 n-3계 지방산인 DHA와 EPA가 주로 함유된 어유(fish oil: FO)를 이용하였으며, CLA 첨가군에는 총 식이무게의 1% (w/w) 수준으로 CLA 혼합물(경상대학교 농화학과에서 제공)을 첨가하였다. 그리고 BT와 FO에 부족한 필수지방산을 충분히 공급하기 위하여 corn oil을 첨가하였으며, FO 섭취군에는 산패를 예방하기 위해 불포화정도를 고려하여 dl- $\alpha$ -tocopherol(145.46mg/100g tuna oil)을 첨가하였다. 각 군 실험식이의 지방산 조성은 Table 2에 표시하였으며, 실험동물은 12hr dark-light cycle로 조절되었고 물과 식이는 자유롭게 먹을 수 있도록 공급하였으며, 체중은 일주일에 한번, 같은 시간에 측정하였다.

Table 1. Diet composition of experimental groups

Ingredients	Experimental groups			
	BT	BTC	FO	FOC
	g/100g diet			
Corn Starch	56.50	56.50	56.50	56.50
Casein	22.00	22.00	22.00	22.00
L-methionine	0.30	0.30	0.30	0.30
$\alpha$ -Cellulose	4.00	4.00	4.00	4.00
Beef tallow	9.64	8.39	0.00	0.00
Corn oil	2.36	2.36	2.61	2.61
Fish oil	0.00	0.00	9.39	8.14
CLA-rich oil	0.00	1.25	0.00	1.25
AIN-76 Mineral mix	4.00	4.00	4.00	4.00
AIN-76 Vitamin mix	1.00	1.00	1.00	1.00
Choline bitartrate	0.20	0.20	0.20	0.20
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

CLA-rich oil: contains 80% CLA isomers mixture of total fatty acids.

#### 3. 시료채취

30주간의 사육이 끝난 후 overnight fasting한 상태에서 ethyl ether로 마취시킨 후, 복부를 절개하여 혈액을 채취하고, 간을 취하여 0.9% NaCl로 씻은 후 물기를 제거하고 superoxide dismutase(SOD)와 glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성도를 측정하기 위해 간 1g을 취하였다. 간 조직은 phosphate buffer(pH 7.4)로 10% homogenate를 만든 후 1차 원심분리(500 × g, 15min, 4°C)한 후, 상층액을 다시 초고속 원심분리하여(105,000 × g, 1hr, 4°C) 상층의 cytosol fraction과 하층의 microsomal fraction을 분리하여 즉시 -70°C에 보관하였다. Catalase 활성도를 측정하기 위하여 간 1g을 취해 isotonic solution(pH 7.4)으로 10% homogenate를 만든 후 원심분리(700 × g, 5~10min, 4°C)하여 상층의 peroxisomal fraction을 취하여 즉시 -70°C에 보관하였다.

#### 4. 생화학적 분석

Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS)는 간 조직의 whole homogenate(20%, isotonic sodium chloride buffer, pH 7.4)에서 Uchiyama와 Migara의 방법<sup>8)</sup>으로 정량하였으며, total tocopherol은 같은 whole homogenate에서 지질을 추출한 후<sup>9)</sup> ferric chloride-dipyridyl

Table 2. Fatty acid composition of experimental diets

Fatty acid	Experimental groups			
	BT	BTC	FO	FOC
	g/100g oil			
14 : 0	2.53	2.21	2.03	1.76
14 : 1	0.94	1.03	-	0.21
16 : 0	21.07	18.62	15.26	13.54
16 : 1	3.30	2.87	3.73	3.23
17 : 0	1.32	1.15	-	-
17 : 1	0.81	0.71	-	-
18 : 0	14.78	13.01	3.60	3.27
18 : 1	39.17	35.84	13.71	13.71
18 : 2	14.11	14.45	14.01	14.52
18 : 3	0.18	0.18	1.92	1.69
CLA	-	8.33	-	8.33
20 : 0	0.95	0.83	1.25	1.09
20 : 1	0.03	0.03	0.32	0.28
20 : 5	-	-	4.28	3.71
22 : 6	-	-	21.64	18.76
Unknown	0.85	0.79	18.26	15.88
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
DU	73.01	86.22	202.78	199.31

DU: Degree of unsaturation (monoenoic acid(%) × 1 + dienoic acid(%) × 2 + trienoic acid(%) × 3 + tetraenoic acid(%) × 4 + pentaenoic acid(%) × 5 + hexaenoic acid(%) × 6)

방법<sup>10)</sup>으로 정량하였다. 간조직의 SOD 활성도는 cytosol에서 Winterbourn 등의 방법<sup>11)</sup>으로 측정하였고, GSH-Px 활성도는 cytosol에서 Paglia와 Valentine의 방법<sup>12)</sup>으로 측정하였다. 또한 catalase 활성도는 peroxisomal fraction에서 Cohen 등의 방법<sup>13)</sup>으로 측정하였다. 간조직 microsomes의 지방산조성은 Lepage와 Roy의 One-step methylation 방법<sup>14)</sup>을 이용하여 methylation한 후, gas chromatograph (HP 5890-II series)로 측정하였다.

5. 통계처리

모든 실험결과는 Statistic Analysis System(Ver 6.02) program의 general linear model(GLM)을 이용하여  $p < 0.05$  유의수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였으며, CLA와 식이지방의 효과를 보기 위해 two-way ANOVA-unbalanced design을 사용하였고, 모든 실험결과는 평균  $\pm$  표준편차로 표시하였다.

결 과

1. 식이섭취량과 체중의 변화

실험기간 처음 10주까지는 식이섭취량이 급속하게 증가하였으나 10주 이후로는 조금씩 감소하는 경향을 보였다. 30주 동안 섭취한 식이의 양은 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 16주에서 20주 사이에는 다른 군에 비해 FOC군에서만 식이섭취가 낮았다(Fig. 1a). 체중도 식이 섭취량과 마찬가지로 실험기간 처음 10주까지는 급속하게 증가하였으나 10주 이후로는 약간의 증가만을 보였다. 그리고 초기체중에는 유의적인 차이가 없었으나 5주 이후로 FO군이 가장 높은 체중을, FOC군이 가장 낮은 체중을 유지했다(Fig. 1b).

2. Total tocopherol과 TBARS

Table 3에서 간조직의 단위 무게당 tocopherol 함량을 비교해보면 BT와 BTC군에 비해 어유에 tocopherol을 첨가한 FO와 FOC군에서 유의하게 높았으며, BT와 BTC군 간에는 CLA 첨가에 의한 차이가 없었으나, FO군에 비해 CLA 첨가한 FOC군의 tocopherol 함량이 더 높았다. 마찬가지로 경향으로 TBARS 함량도 BT와 BTC군에 비해 FO와 FOC군에서 유의하게 더 높았으며, BT와 BTC군 간에는 유의한 차이가 없었지만 FOC군이 FO군에 비해 TBARS 함량이 유의하게 낮았다.

3. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase 활성도

간 cytosol의 SOD와 GSH-Px의 활성도는 BTC군이

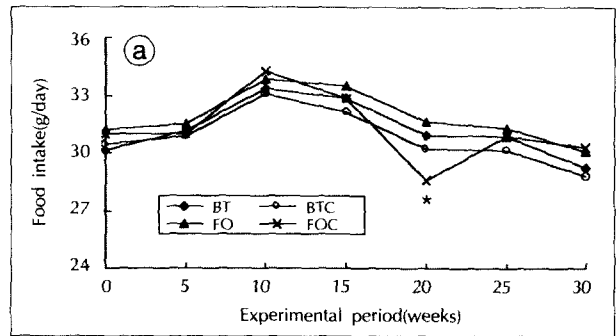


Fig. 1a. Change of food intake in rats for 30 weeks.

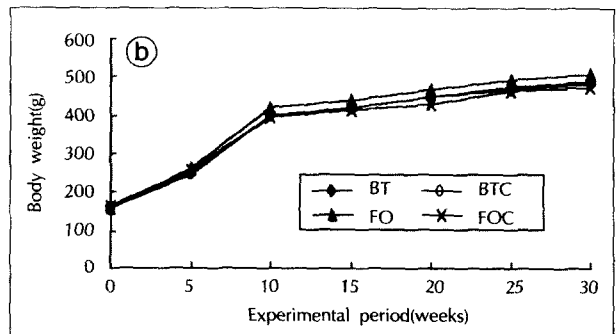


Fig. 1b. Change of body weight in rats for 30 weeks.

Table 3. Effect of CLA supplement on hepatic level of total tocopherol and TBARS in rats fed different fats

Groups	Tocopherol	TBARS
	$\mu\text{g/g liver}$	$\text{nmole/g liver}$
BT	$13.70 \pm 2.93^c$	$1.22 \pm 0.13^c$
BTC	$15.97 \pm 3.40^c$	$1.12 \pm 0.17^c$
FO	$19.34 \pm 3.49^b$	$1.64 \pm 0.22^a$
FOC	$22.61 \pm 4.69^a$	$1.45 \pm 0.30^b$
p-value		
CLA	0.0046	0.0121
Oil	0.0001	0.0001
CLA*Oil	0.5963	0.3934

Values are Mean  $\pm$  SD, Number of samples in each group: 15 - 16. Mean values with same superscript are not significantly different at  $p < 0.05$ .

TBARS: thiobarbituric acid reactive substance

BT군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았으나, FOC군이 FO군에 비해 유의하게 높았다(Table 4). Catalase 활성도는 BTC군이 BT군에 비해 낮았으나 유의한 차이가 아니었다. Catalase 활성도는 CLA의 첨가에 의해서 유의적인 차이를 보이지 않았으나 식이지방의 종류(BT와 FO)에 따라 유의한 차이를 보였다. 즉, BT군보다는 FO군에서, BTC군보다는 FOC군에서 catalase 활성도가 유의하게 높았다(Table 4).

**Table 4.** Effect of CLA supplement on hepatic level of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in rats fed different fats

Groups	SOD	GSH-Px	Catalase
	units/mg pro	units/mg pro	units/mg pro
BT	51.72 ± 11.25 <sup>ab</sup>	39.16 ± 4.89 <sup>ab</sup>	2.87 ± 0.49 <sup>b</sup>
BTC	47.46 ± 8.51 <sup>b</sup>	36.68 ± 6.09 <sup>bc</sup>	2.46 ± 0.61 <sup>b</sup>
FO	46.59 ± 6.91 <sup>b</sup>	33.51 ± 6.65 <sup>c</sup>	3.72 ± 1.08 <sup>a</sup>
FOC	56.24 ± 12.81 <sup>a</sup>	41.69 ± 6.53 <sup>a</sup>	3.53 ± 0.63 <sup>a</sup>
p-value			
CLA	0.0616	0.0742	0.1314
Oil	0.0788	0.8387	0.0001
CLA*Oil	0.0020	0.0012	0.5598

Values are Mean ± SD, Number of samples in each group: 14 - 15  
Mean values with same superscript are not significantly different at p < 0.05.

SOD: superoxide dismutase, GSH-Px: glutathione peroxidase

#### 4. 간소포체막의 지방산 조성

전체 식이의 지방산조성과 같은 경향을 보였으나 간 소포체의 지방산 조성을 살펴보면(Table 5) 다소 차이를 보였다. C18 : 0함량은 FO군과 FOC군에서는 낮게 나타났으나 BT와 BTC군과 거의 비슷하게 다소 높은 수준으로 분포되었다. C18 : 1은 BTC군이 BT군에 비해 유의하게 낮았으나 FO군과 FOC군간에는 유의한 차이가 없었다. CLA는

BT와 FO군의 소포체막에서 검출되지 않았으며, CLA를 첨가한 BTC와 FOC군에서만 CLA가 검출되었다. C20 : 3 + C20 : 4는 모든군에서 비교적 높게 분포되었으며, BTC군이 BT군에 비해 유의하게 낮았고, FO와 FOC군이 BT와 BTC군에 비해 유의하게 낮았으며, FO와 FOC군간에는 차이가 없었다. 그러나 C22 : 6은 어유를 함유한 FO와 FOC군이 BT와 BTC군에 비해 유의하게 높았다.

## 고 찰

### 1. CLA 보충이 간의 과산화물 형성에 미치는 영향

비타민 A, E, C와 같은 항산화 영양소와 SOD, GSH-Px, catalase와 같은 항산화 효소는 산화적 스트레스 시 지질과산화 개시 물인 자유라디칼을 제거함으로써 세포막과 DNA 손상을 막아 노화나 암 등을 예방할 수 있을 것으로 보고하였다.<sup>5)</sup> 동물실험에 의하면 생체내의 항산화 체계가 100% 완벽하지 않기 때문에 식이를 통한 항산화제의 섭취가 매우 중요하며, 이들 항산화 영양소는 식이 중 PUFA 함량이 증가될수록 생체 내에서의 산화로부터 세포막을 보호하기 위해 그 요구량이 증가된다고 하였다.<sup>15-17)</sup> 또한 식이 중 PUFA가 증가할수록 지질과산화는 증가하며, 이에 대

**Table 5.** Effect of CLA on the relative percent of fatty acids of hepatic microsomal phospholipid in rats fed different fats

Fatty acid	Dietary group			
	BT	BTC	FO	FOC
14 : 0	0.16 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.09 ± 0.07 <sup>ab</sup>	0.05 ± 0.05 <sup>b</sup>
16 : 0	16.30 ± 1.24 <sup>b</sup>	16.53 ± 0.89 <sup>b</sup>	20.20 ± 0.82 <sup>a</sup>	19.72 ± 0.49 <sup>a</sup>
18 : 0	22.47 ± 3.55 <sup>ab</sup>	23.69 ± 1.15 <sup>a</sup>	20.86 ± 1.14 <sup>b</sup>	20.90 ± 0.51 <sup>b</sup>
18 : 1	11.94 ± 0.71 <sup>a</sup>	10.61 ± 0.88 <sup>b</sup>	5.47 ± 1.07 <sup>c</sup>	4.90 ± 1.24 <sup>c</sup>
18 : 2	7.96 ± 1.55	7.64 ± 1.34	7.87 ± 0.60	7.95 ± 0.60
20 : 0	0.24 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.05 ± 0.05 <sup>c</sup>
18 : 3	0.01 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.02 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.05 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.02 ± 0.04 <sup>ab</sup>
20 : 1	0.10 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.48 ± 0.37 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.46 ± 0.16 <sup>a</sup>
CLA	ND	0.37 ± 0.07	ND	0.40 ± 0.07
20 : 2	0.08 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.15 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.09 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.17 ± 0.02 <sup>a</sup>
22 : 0	0.75 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.70 ± 0.17 <sup>ab</sup>	0.58 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.58 ± 0.03 <sup>b</sup>
20 : 4	30.66 ± 1.71 <sup>a</sup>	28.55 ± 1.20 <sup>b</sup>	22.92 ± 1.50 <sup>c</sup>	22.22 ± 1.12 <sup>c</sup>
20 : 5	0.10 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.10 ± 0.09 <sup>b</sup>	1.77 ± 0.19 <sup>a</sup>	1.77 ± 0.27 <sup>a</sup>
22 : 4	0.51 ± 0.11	0.53 ± 0.07	0.47 ± 0.06	0.50 ± 0.04
24 : 0	0.51 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.56 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.32 ± 0.11 <sup>b</sup>
24 : 1	0.53 ± 0.49 <sup>b</sup>	0.58 ± 0.30 <sup>b</sup>	0.90 ± 0.31 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.20 <sup>a</sup>
22 : 5	0.98 ± 0.20 <sup>b</sup>	1.24 ± 0.27 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.93 ± 0.08 <sup>b</sup>
22 : 6	6.72 ± 1.00 <sup>c</sup>	7.90 ± 0.85 <sup>b</sup>	17.25 ± 1.27 <sup>a</sup>	18.11 ± 1.60 <sup>a</sup>
PI	164.68 ± 7.80 <sup>b</sup>	165.45 ± 5.24 <sup>b</sup>	199.89 ± 6.62 <sup>a</sup>	203.21 ± 6.49 <sup>a</sup>

Values are Mean ± SD, ND: not detected

PI: Peroxidizability index [monoenoic acid(%) × 0.25 + dienoic acid(%) × 1 + trienoic acid(%) × 2 + tetraenoic acid(%) × 3 + pentaenoic acid(%) × 4 + hexaenoic acid(%) × 5]

Mean values with same superscript are not significantly different at p < 0.05.

항하여 세포막에서 항산화역할을 하는 tocopherol의 요구량이 높아지게 된다.<sup>18)</sup> 식이의 P/S ratio가 커질수록 비타민 E 요구량이 증가하며, 비타민 E 첨가시 TBARS 생성이 감소된다고 보고하였다.<sup>16,19)</sup>

본 연구에서도 간조직의 단위무게당 tocopherol 함량을 비교해 보면(Table 3), BT군에 비해 BTC군에서는 CLA 첨가에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았으나 FO군에 비해 FOC군에서는 tocopherol 함량이 높았다. BT와 BTC군에 비해 FO와 FOC군에서 tocopherol 함량이 유의하게 높았던 것은 어유의 산패를 막기 위해 특별히 dl- $\alpha$ -tocopherol을 145.46mg/100g tuna oil 수준으로 첨가하였기 때문인 것으로 사려된다. 그러나 FO에 CLA를 첨가함으로써 불포화 지방산의 산화를 막아주는 역할을 하여 그만큼 FOC군에서 tocopherol이 절약되어 그 함량이 증가된 것으로 본다. 이를 뒷받침하는 것은 TBARS의 함량이 BT와 BTC군간에는 유의한 차이가 없었으나 반면에, 불포화도가 높은 어유를 먹인 FO와 FOC군에서는 모두 BT를 먹인 군에 비해 유의하게 높았다. 아울러 CLA를 첨가한 FOC군에서는 FO군보다 TBARS 함량이 유의적으로 감소되었다. 그러므로 CLA는 지질과산화물 생성을 억제하는 항산화 기능이 있다고 사려되며 그로 인해 조직내의 tocopherol의 절약작용이 나타난 것으로 보인다. FO와 FOC군에서 어유에 충분한 tocopherol을 첨가했지만 BT와 BTC군에 비해 TBARS 생성이 여전히 높게 일어나고 있는 것으로 보아 불포화도가 높은 기름을 사용하였을 때는 tocopherol만으로 지질과산화물 생성을 완전히 막을 수는 없다고 여겨진다. 본 연구에서 BT와 BTC군에서는 쇠기름의 불포화도가 낮았던 것과 마찬가지로 지질과산화물 생성이 적게 일어나 tocopherol 사용도 적게 일어나 CLA의 효과가 통계적으로 유의한 수준을 보이지 않았다고 사려된다.

## 2. CLA 보충이 항산화 효소체계에 미치는 영향

SOD, GSH-Px 및 catalase와 같은 항산화 효소는 조직의 자유라디칼을 해독함으로써 조직의 손상을 예방하는데 관여한다. 본 연구에서 cytosol에서 SOD와 GSH-Px 활성도(Table 4)를 보면 BT섭취군에서는 CLA 첨가에 의한 유의적인 차이가 없었으나 FO섭취군에서는 CLA 첨가에 의해 효소활성도가 증가하였다. 이와 같은 결과는 BT군에서는 불포화도가 낮은 식이를 먹었기 때문에 그만큼 TBARS 생성이 낮아서 이에 따라 효소의 활성도에서도 변화가 적었다고 사려된다. 그러나 FO군은 불포화도가 높은 식이를 먹여 TBARS 생성도 높았기 때문에 CLA의 항산화 효과도 나타날 수가 있었다. 그러나 CLA가 TBARS를 직접 제거

하였는지 항산화효소를 활성화하여 TBARS를 제거하였는지는 규명할 수가 없었다. 또한 BT군에 비해 불포화도가 높은 FO군에서 효소의 활성도가 더 유도될 것으로 예측하였으나 오히려 BT군보다 FO군에서 효소활성도가 더 낮았다. 이미 보고된 바<sup>10)</sup>에 의하면 수컷 쥐의 간에서 UI(unsaturation index)가 가장 높은 군에서 SOD와 GSH-Px의 활성이 유의하게 낮았으며, TBARS 농도는 높은 것으로 보고되었다. 한편 조직에 많은 양의 n-3계 지방산이 유입되면 UI가 증가되고 따라서 지질과산화가 증가되지만, 지질과산화와 UI가 증가하는 만큼 항산화효소의 활성이 비례적으로 증가되지는 않았다.<sup>20,21)</sup> 저지방식이를 동물에게 먹었을 때는 식이 중 불포화지방산의 비율이 증가할수록 GSH-Px의 활성이 증가했지만, 고지방식이 급여시에는 GSH-Px가 최대로 활성화되기 때문에 식이지방의 불포화도에 따른 반응을 보이지 않았다.<sup>20)</sup> 이를 볼 때 본 연구에서는 비교적 고지방 식이를 급여했기 때문에 식이지방의 형태에 따른 효소활성도의 변화가 크지 않았고, FO군에서는 n-3계 지방산을 많은 양 섭취하였기 때문에 UI가 증가하는 만큼 효소 활성이 증가되지 않아 TBARS 생성이 유의하게 높았으며 그 결과 항산화효소의 활성이 감소되었다고 본다. 그러나 BTC군에 비해 FOC군에서 SOD와 GSH-Px 활성이 유의하게 높은 것은 FO군의 UI가 증가하여 TBARS 생성이 증가했지만 CLA의 항산화작용으로 항산화효소의 활성이 유도되었을 가능성도 있다.

한편, catalase는 hydrogen peroxide가 O<sub>2</sub>와 H<sub>2</sub>O로 되는 반응을 촉매하는 catalytic activity와 ethanol, methanol, 또는 phenol 같은 electron donor를 산화시키는 peroxidative activity의 두 가지 기능을 가지는 Fe<sup>2+</sup>를 함유한 효소로서 hydrogen peroxide 제거능력은 GSH-Px보다 더욱 효과적이다.<sup>22)</sup> 또한 catalase는 hydrogen peroxide를 지속적으로 linear하게 분해하지만 GSH-Px는 10<sup>-6</sup>mol/L 이상에서는 포화되고 아주 낮은 농도에서는 catalase의 8% 정도밖에 활성을 나타내지 못한다고 하였다.<sup>23)</sup> 본 연구에서 catalase의 결과(Table 4)를 보면 CLA 첨가에 의한 차이는 없었으나 BT와 BTC군에 비해 불포화도가 높은 FO와 FOC군에서 그 활성이 유의하게 높았다. Table 5에서 간세포체막의 PI는 어유 급여군에서 유의하게 높았으며, 이에 따라 간조직의 TBARS 함량도 유의하게 높았다. 이것의 상호관계를 Fig. 2a, 2b에서 살펴보면 PI와 TBARS가 증가할수록 catalase 활성이 비례적으로 증가되었다. 이처럼 SOD나 GSH-Px 활성도와는 달리 FO군의 catalase 활성도는 감소되지 않았다. GSH-Px는 hydrogen peroxide 농도가 너무 높은 경우 포화되어 지방형태에 따른 영향을 받지 않았

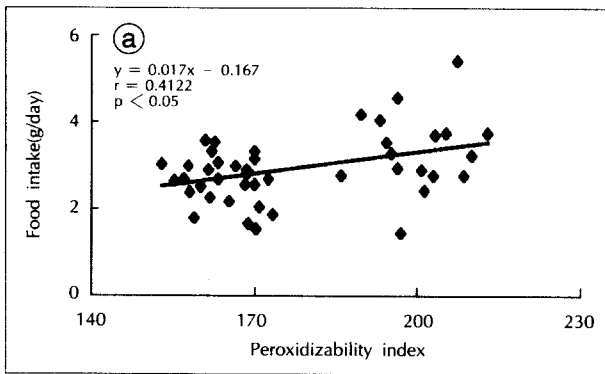


Fig. 2a. Correlation between PI and Catalase in rats fed different fats with or without CLA supplement.

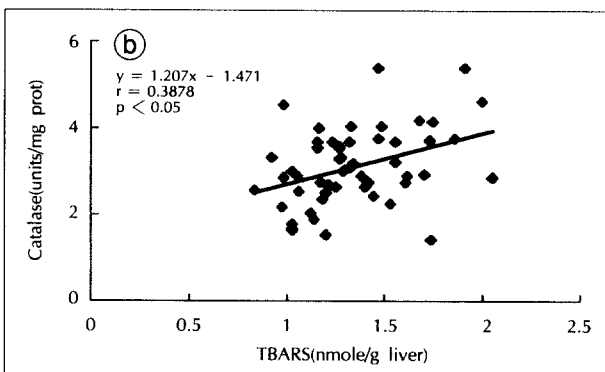


Fig. 2b. Correlation between TBARS and Catalase in rats fed different fats with or without CLA supplement. TBARS: thiobarbituric acid reactive substance.

지만 catalase는 지속적으로 분해하기 때문에 불포화도가 높은 FO섭취에 의해 그 활성이 유도되었을 것으로 사료된다. 인체연구<sup>23)</sup>에서도 정상 태반에 비하여 지질 과산화가 증가하는 자간전증(preeclamptic pregnancies) 태반에서 GSH-Px와 CuZn-SOD의 활성은 유의하게 감소하였으나 catalase 활성은 유의하게 증가하였다는 보고가 있었다.

### 3. CLA 보충이 간소포체막의 지방산조성에 미치는 영향

간소포체막의 지방산 조성은 식이지방과 CLA 보충의 효과를 잘 반영하고 있다. CLA 무첨가군의 간소포체막에서는 CLA가 검출되지 않았으나 CLA 첨가군에서는 검출되어 식이에 첨가한 CLA는 다른 지방산과 마찬가지로 간소포체 막으로 유입되었다는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 C18:1은 BT군에 비해 CLA를 첨가한 BTC군에서 유의하게 더 낮았던 것은 이미 보고된 것<sup>24)</sup>과 같이 CLA는 C18:0에서 C18:1로 전환되는 과정을 억제하여 C18:1가 낮았던 것이라고 사려된다. 그러나 어유를 먹인 FO와 FOC군간에는 CLA에 의한 유의한 차이를 보이지 않았다. 이것

은 FO와 FOC군의 식이조성 중 C18:0과 C18:1함량이 낮았을 뿐 아니라 n-3 fatty acid가 지방산 합성을 억제함으로<sup>25,26)</sup> C18:0 함량이 더욱 낮아 C18:1로 전환량이 적었을 것이며, 따라서 CLA 보충 효과가 관찰되지 않았을 것으로 사료된다. 지금까지 보고된 바<sup>24)</sup>에 의하면 CLA가 C18:2나 C20:4와 유사한 정도로 세포막의 phospholipid나 cellular lipid로 급속히 유입된다고 하였다. 또한 각 군의 식이 중 C18:2의 함량은 비슷한 수준이었으나 BTC군에서는 BT군에 비해 CLA에 의해 C20:4의 함량이 유의하게 낮았던 것을 관찰하였다. 이것은 이미 보고된 것<sup>24)</sup>처럼 C18:2에서 C20:4로 대사될 때 rate-limiting step인 delta-6 desaturase의 기질로서 CLA와 C18:2가 경쟁하기 때문에 C20:4 합성이 감소된데 기인하는 것으로 사려된다.

## 요 약

본 연구에서는 Sprague Dawley 종 수컷 쥐에게 식이지방으로 쇠기름과 어유를 각각 12%(w/w) 수준으로 30주 동안 섭취시켜 식이지방과 CLA 첨가가 간소포체막의 지방산조성과 과산화물 형성 및 항산화 효소 수준에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) CLA는 불포화도가 낮은 쇠기름과 같이 섭취하였을 때는 TBARS 생성이 낮아 CLA의 항산화효과를 볼 수가 없었으며, 이에 따라 tocopherol 함량에도 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 불포화도가 높은 어유를 섭취하였을 때는 조직에서 TBARS 생성이 높았으며, 이에 따라 CLA는 유의하게 SOD와 GSH-Px의 활성도를 증가시켜 TBARS를 감소시켰으며 tocopherol이 더욱 절약되어 유의하게 높았다.
- 2) Liver peroxisome의 catalase 활성도는 CLA 첨가에 의해서 유의한 차이는 없었으나 어유를 먹여 TBARS 생성이 높았을 때 효소의 활성이 더 증가되었다.
- 3) CLA는 간소포체막에 유입이 가능하였으며, C18:0에서 C18:1로 전환되는 과정과 C18:2에서 C20:4로 전환되는 것을 저해하였다.

결론적으로 CLA의 항산화효과는 불포화도가 높아 지질과산화물질 생성이 높았을 때 SOD와 GSH-Px 같은 항산화효소를 활성화하여 효과적으로 지질과산화물질을 제거하여 tocopherol을 절약하는 효과를 보였다. 그러나 catalase 활성은 CLA에 의해서 유의한 차이를 보이지 않았으나 TBARS 생성이 높았을 때 효소의 활성이 더 증가되었다.

## Literature cited

- 1) Ip C, Singh M, Thompson HJ, Scimeca JA. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res* 54: 1212-1215, 1994
- 2) Ip C, Briggs SP, Haegle AD, Thompson HJ, Storkson J, Scimeca JA. The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is of the level of type of fat in the diet. *Carcinogenesis* 17: 1045-1050, 1996
- 3) Ip C, Scimeca JA, Thompson H. Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. *Nutr Cancer* 24: 241-247, 1995
- 4) Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 108: 19-25, 1994
- 5) Archer MC. Cancer and diet. *Present Knowledge in Nutrition* 7th ed. ILSI, pp.482-487, 1996
- 6) Ha YL, Pariza MW. Naturally-occurring novel anticarcinogens: conjugated dienoic derivatives of linoleic acid(CLA). *J Korean Soc Food Nutr* 24(4): 401-407, 1991
- 7) Jeroen JM van den Berg, Cook NE, Tribble DL. Reinvestigation of the antioxidant properties of conjugated linoleic acid. *Lipids* 30(7): 599-605, 1995
- 8) Uchiyama M, Migara M. Determination of malondialdehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid treat. *Anal Biochem* 86: 279-286, 1978
- 9) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917, 1959
- 10) Hawk PB, Oser BL, Summerson WH. Ferric chloride-dipyridyl method(Emmerie-Engel reaction). In: *Practical Physiological Chemistry*. 13th ed. LA Churchill, LTD, pp.1272-1273, 1956
- 11) 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
- 12) Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70(1): 158-169, 1967
- 13) Cohen G, Dembiec D, Marcus J. Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Anal Biochem* 34: 30-38, 1970
- 14) Lepage G, Roy CC. Direct trans-esterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 27: 114-120, 1989
- 15) Jacobson JM, Michael JR, Jafri MH JR, Gurtner GH. Antioxidants and antioxidant enzymes protect against pulmonary oxygen toxicity in the rabbit. *J Appl Physiol* 68(3): 1252-1259, 1990
- 16) Hu ML, Frankel EN, Leibovitz BE, Tappel AL. Effect of dietary lipids and vitamin E on in vitro lipid peroxidation in rat liver and kidney homogenates. *J Nutr* 119: 1574-1582, 1989
- 17) Lester P. Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr* 53: 1050S-1055S, 1991
- 18) L'abbe MR, Trick KD, Beare-Rogers JL. Dietary(n-3) fatty acids affect rat heart, liver, and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J Nutr* 121: 1331-1340, 1991
- 19) 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
- 20) Mutanen ML, Mykkanen HM. Effect of Dietary fat on plasma glutathione peroxidase levels and intestinal absorption of <sup>75</sup>Se-labeled sodium selenite in chicks. *J Nutr* 114: 829-834, 1984
- 21) Mueller S, Riedel HD, Stremmel W. Direct evidence for catalase as the predominant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-removing enzyme in human erythrocytes. *Blood* 90(12): 4973-4978, 1997
- 22) Groff JL, Gropper SS, Hunt SM. *Advanced Nutrition and Human Metabolism* 2th ed. West, pp.320-324, 1995
- 23) Wang Y, Walsh SW. Antioxidant activities and mRNA expression of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in normal and preeclamptic placentas. *J Soc Gynecol Investig* 3(4): 179-84, 1996
- 24) Belury MA, Kemap-Steczko A. Conjugated linoleic acid modulates hepatic lipid composition in mice. *Lipids* 32(2): 199-204, 1997
- 25) Herzberg GR, Rogerson M. Hepatic fatty acid synthesis and triglyceride secretion in rats fed fructose- or glucose-based diets containing corn oil, beef tallow or marine oil. *J Nutr* 118: 1061-1067, 1988
- 26) Park HS, Lee SM. Effects of dietary n-3 fatty acids and fat unsaturation on plasma lipids and lipoproteins in rats. *Korean J Nutr* 25(7): 555-568, 1992