

양파 육질 및 껍질의 섭취가 고철분식이를 공급한 노령흰쥐의 항산화능에 미치는 영향*

박주연 · 김미경[§]

이화여자대학교 식품영양학과

(2005년 10월 8일 접수)

Effect of Onion Flesh or Peel Feeding on Antioxidative Capacity in 16-Month-old Rats Fed High Iron Diet*

Park, Juyeon and Kim, Mi Kyung[§]

Department of Food & Nutritional Sciences, Ewha Womans University, Seoul, 120-750, Korea

(Received October 8, 2005)

Abstract

Recently, epidemiological evidence has raised concerns that moderate elevation in body iron stores may increase oxidative stress and the risk of cardiovascular disease and cancer. Onion flesh or peel contains antioxidant such as flavonoids and alk(en)ylcysteine sulphoxides. This study was conducted to examine the effect of onion flesh or peel feeding on antioxidative capacity in aged rats supplemented with high dietary iron. Thirty-two Sprague-Dawley male 16-month-old rats weighing $618 \pm 6g$ were acclimated for 10 days with medium-iron diet (35ppm in diet), and blocked into 4 groups according to their body weights and raised for 3 months on either control diets (adequate iron-35ppm or high iron-350ppm) or experimental diets containing onion flesh/peel (5% w/w in diet) with high iron (350ppm). Rats fed high iron-onion peel diet had significantly high quercetin and isorhamnetin levels in plasma whereas rats fed high iron-onion flesh diet did not show. Plasma TBARS level was lowered by onion flesh or peel diet with high iron supplementation. However, there was no significant difference in cellular DNA damage in brain and kidney tissue among all experimental groups. We concluded that high iron diet (10 times higher than requirement) tend to increase oxidative stress and it is plausible that onion flesh or peel feeding enhances antioxidative capacity in the elderly even with iron supplementation.

Key Words : Onion flesh, Onion peel, Iron supplementation, Antioxidative capacity, Aged rats

1. 서론

최근 반세기 동안 수명연장과 함께 대두된 노인인구의 급격한 증가는 최근 국내에서 매우 심각한 사회현상을 받아들여지고 있으며 노인인구, 나아가서 인구전체의 웰빙을 증진시키기 위한 다양한 정책이 요구되고 있다. 국내에서는 전체 인구 중 65세 이상 노령인구의 비중이 급격히 증가하여 2000년 7%를 상회하였으며 2020년이 되면 14%를 상회하게 되어 본격적인 고령사회(aged society)로 진입할 것으로 예상하고 있다¹⁾. 의학의 발달, 공중보건과 생활의 개선, 식품 수급의 증가 등이 수명 연장의 주된 원인이었으나 수명이 연장된 만큼 삶의 질을 향상시키

기 위해서는 노화에 대한 원인규명과 함께 노인기의 여러 만성 질환을 감소시키기 위한 유용생리자원의 탐색이 필요하며 이와 관련한 식이 인자의 규명이 필요하다²⁾. 현재까지 노화에 대한 원인규명을 위하여 약 300여 가지의 가설이 제시되었고 이 중 free radical theory가 가장 지지받고 있어서³⁾ 노화 자체를 지연시키고 또한 노인기의 각종 만성질환을 감소시키기 위해서는 체내 산화스트레스를 감소시키는 노력이 필요하다 하겠다.

철은 지구표면에 4번째로 다량 존재하는 무기질로서 인체에서 철은 hemes, cytochromes, 철함유 효소의 구성성분 및 효소의 촉매인자 등으로 체내 산소운반 및 에너지 대사에 필수적이다⁴⁻⁵⁾. 철분결핍과 이로 인한 빈혈문제는 세계적으로 공통적인 영양장

* This research was supported by grants from SangWoo., Corporation

§교신저자: Mi Kyung Kim, Department of Food & Nutritional Sciences, Ewha Womans University, 11-1 DaeHyun-Dong, SeoDaeMun-Gu, Seoul, 120-750, Korea Tel : 82-2-362-0837 Fax : 82-2-362-0836

애이기 때문에 지금까지 철분연구는 대부분 성장기아동 및 여성을 대상으로, 주로 철분결핍의 영향 및 철분보충의 방법과 그 효과에 대한 연구들이 주를 이루었다⁶⁾. 따라서 철분 결핍을 감소시키기 위해 철분강화식품 및 다양한 형태의 철분 보충제를 쉽게 접할 수 있게 되었고 선진국을 비롯하여 우리나라에서도 식생활에서 체내 이용률이 높은 heme 철분의 섭취량이 높아졌으며 특히 노인 계층에서의 철분 영양보충제의 복용사례가 증가하고 있다⁷⁻⁸⁾. 특히 이들 보충제 섭취인구의 철분 섭취량이 권장량의 약 2~24배(평균 6.1배)인 것으로 보고되고 있어서 지나친 철분보충에 따른 산화스트레스 증가가 우려되고 있다⁸⁾.

최근 여러 population-based study에서는 연령이 증가함에 따라 체내 철분 축적량이 증가하고 체내 철분 저장량의 증가는 산화스트레스를 야기하여 cardiovascular disease(CVD) risk를 증가시킨다고 보고하고 있다⁹⁻¹³⁾. 철은 체내 유해산소의 생성에 주요 역할을 담당하고 Fenton reaction과 Haber-Weiss reaction을 통하여 가장 반응성이 높은 hydroxyl radical을 생성한다¹⁴⁻¹⁵⁾. 또한 중년여성을 대상으로 한 또 다른 연구에서는 체내 철분저장량이 낮을수록 산화 스트레스가 적다고 보고하고 있어¹⁶⁻¹⁷⁾ 체내 철분저장량과 CVD risk factor들 간에 양의 상관관계가 있다는 역학 연구⁹⁻¹¹⁾는 현재 상당히 존재하나 철분 보충이 체내 항산화능에 미치는 영향에 대한 중재 연구(intervention study)는 미미하다.

한편, CVD로 인한 사망률과 flavonoids 섭취량간에는 음의 상관관계가 있다는 보고^{18,19)}가 있으며 flavonoids 중 quercetin의 섭취량이 전체 flavonoids 섭취량의 약 70%를 차지하고 국내 quercetin의 주요 급원은 양파인 것으로 조사된 바 있다^{19,20)}. 양파는 기능성분으로 2가지 계열을 함유하는데 이는 alk(en)ylcysteine sulphoxides(ACSOs)와 quercetin과 그 유도체들이다. ACSOs는 양파 특유의 향미성분의 전구체로 alliinase에 의해 분해되어 황산화된다. 또한 양파에는 16가지의 flavonols가 존재하는데 이들은 quercetin, isorhamnetin, kaempferol의 aglycone과 그 당유도체들이다²¹⁾. 양파육질 및 껍질에는 특히 quercetin 및 그 당유도체가 풍부하여 hydroxyl 기, peroxy 기를 제거하거나 철분 등의 metal ion chelator로서 작용하여 산화스트레스를 완화시킬 것으로 생각된다. 실제로 이와 관련된 *in vitro* 실험은 수행되어 그 유의성이 검증된 바 있으나²¹⁻²³⁾ *in vivo*에서의 양파시료의 유의성은 아직 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 철분 보충 및 양파 시료의 공급이 노년기의 항산화능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 생후 16개월령 수컷 노령 흰쥐 32마리를 네 군으로 분리한 후 한 군은 중철분 수준의 식이(35ppm)를 공급하고 나머지 3군은 고철분식이(350ppm)를 공급하면서 한 군은 대조군으로 양파시료를 공급하지 않았으며 나머지 2군은 양파육질 혹은 껍질 건분을 공급하여 3개월간 사육한 후 희생하여 혈장, 간 및 뇌 내 과산화지질수준과 신장 및 뇌의 DNA 손상정도, 혈장, 간 및 뇌의 철분수준을 측정하여 고철분 식이를 섭취한 노령 흰쥐의 항산화능

변화와 함께 이들에 미치는 양파육질 혹은 껍질 건분의 항산화능 증진효과를 살펴보고자 하였다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐(SAM: TacN(SD) BR, inbred, (주)삼육동물연구소) 32마리를 대상으로 하였으며, 생후 15개월 되었을 때 본 동물 사육실로 옮긴 후에 10일간 동일한 고형배합사료((주)삼육동물연구소)로 적응시킨 후 다시 10일간 중(35ppm) 철분식으로 적응시켰다. 생후 16개월이 되었을 때 체중이 $618 \pm 6g$ 인 쥐들을 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 8마리씩 4군으로 분류하여 한 마리씩 stainless steel cage에서 3개월간 사육하였고, 식이와 물은 자유롭게 먹도록 하였다. 동물 사육실은 온도 $22 \sim 24^{\circ}C$, 습도 45%내외로 유지 시켰으며 lighting cycle은 12시간 주기로 일정하게 하였다.

실험에 사용한 식이의 구성성분은 <Table 1>과 같았다. 식이의 탄수화물 급원으로는 옥수수전분(corn starch, (주)대성)을, 지방 급원으로는 옥수수유(corn oil, 오투기(주))와 대두유(soybean oil, CJ(주))를 3:2(w:w)의 비율로 섞어 실험식이의 10%(w/w) 수준으로 사용하였고, 단백질 급원으로는 casein(edible acid casein, Scerma Goulburn Co-operative Co., France)을 식이 무게의 15%수준으로 사용하였다. 무기질과 비타민은 시약급을 사용하여 혼합한 것(AIN-93M)²⁴⁾을 각각 식이무게의 3.5%와 1% 수준으로 식이에 섞어 공급하였다. 식이 내 철분수준은 Nutrition Research Council(1995)에서 랫드의 최적 헤모글로빈 수준 유지 및 성장을 위해 권장하는 35ppm을 중철분 수준으로 공급하였으며 이의 10배에 해당하는 350ppm을 고철분 수준으로 공급하였다²⁵⁾. 실험에 사용된 모든 기구는 타 무기질의 오염을 막기 위하여 0.4% ethylene diamine tetraacetate(EDTA)로 처리하여 탈이온수로 세척 후 사용하였다.

실험에 사용한 양파(Turbo-중만생종, Allium cepa L. 전남 무안, 2002년 6월산)는 가락시장에서 구입하여 양파 육질과 양파 껍질로 분리한 후 흐르는 물에서 수세한 후에 $4 \times 4mm$ 크기로 세절하여 각각 동결건조 하였다. 동결건조 후 모든 시료는 fitz mill(Fitz Patrick, No. DASO6)로 40 mesh를 통과할 수 있도록 분말화 하였다. 각 시료의 수분함량은 5% 미만이었다.

2. 실험동물의 희생 및 변, 혈액과 장기의 채취

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식 시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 개복한 후 심장에서 혈액을 채취하였다. 이때 혈액은 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위해 헤파린으로 처리하거나 EDTA로 처리하였으며 헤파린 처리한 일부 혈액은 헤모글로빈 측정을 위하여 사용(Hemocue AB, Sweden)하였으며 나머지 혈액은 원심분리기(refrigerated multipurpose

<Table 1> Classification of experimental groups (g/kg diet)

Ingredients	Experimental diets			
	MC	HC	HF	HP
Corn starch	700.7	700.7	650.7	650.7
Casein 150	150	150	150	
Corn oil 60	60	60	60	
Soybean oil	40	40	40	40
Mineral mixture with adequate iron ²⁾	35	-	-	-
Mineral mixture with high iron ³⁾	-	35	35	35
Vitamin mixture ⁴⁾	10	10	10	10
Choline chloride	2.5	2.5	2.5	2.5
L-cystine	1.8	1.8	1.8	1.8
Onion flesh powder	-	-	50	-
Onion peel powder	-	-	-	50

1) MC : adequate iron-onion free control group
 HC : high iron-onion free control group
 HF : high iron -onion flesh group
 HP : high iron -onion peel group

2) AIN-93 mineral mixture(g/kg mixture) with adequate iron : Calcium phosphate, dibasic(CaHPO₄2H₂O) 500, Sodium chloride(NaCl) 74, Potassium citrate, monohydrate (K₃C₆H₅O₇H₂O) 220, Potassium sulfate (K₂SO₄) 52, Magnesium oxide (MgO) 24, Manganous carbonate(43-48%, Mn) 3.5, Ferric citrate(16-17% Fe) 6.06, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6, Cupric carbonate(53-55% Cu) 0.3, Potassium iodate(KIO₃) 0.01, Sodium selenite(Na₂SeO₃5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate(CrK(SO₄)₂12H₂O) 0.55, Sucrose finely powdered, to make 1000 gram.

3) AIN-93 mineral mixture(g/kg mixture) with high iron : Calcium phosphate, dibasic(CaHPO₄2H₂O) 500, Sodium chloride(NaCl) 74, Potassium citrate, monohydrate (K₃C₆H₅O₇H₂O) 220, Potassium sulfate (K₂SO₄) 52, Magnesium oxide (MgO) 24, Manganous carbonate(43-48%, Mn) 3.5, Ferric citrate(16-17% Fe) 6.06, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6, Cupric carbonate(53-55% Cu) 0.3, Potassium iodate(KIO₃) 0.01, Sodium selenite(Na₂SeO₃5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate(CrK(SO₄)₂12H₂O) 0.55, Sucrose finely powdered, to make 1000 gram. 3) Vitamin mix (AIN-93M) (mg/kg mixture) : Nicotinic acid 3000, Calcium Pantothenate 1600, Pyridoxine-HCl 700, Tiamin-HCl 600, Riboflavin 600, Folic acid 200, D-Biotin 20, Vitamin B12 (cyanocobalamin) (0.1% in mannitol) 2.5, Vitamin E (all-rac- α -tocopheryl acetate) (500IU/g) 1500, Vitamin A(all-trans-retinyl palmitate) (500,000 IU/g) 800, Vitamin D₃ (cholecalciferol) (400,000 IU/g) 250, Vitamin K (phyloquinone) 75.0, Sucrose finely powdered, to make 1,000gram

4) AIN-93 vitamin mixture(mg/kg mixture): Thiamine HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine HCl 700, Nicotinic acid 3000, D-Calcium Pantothenate 1600, Folic acid 200, D-Biotin 20, Cyanocobalamin(vitamin B12) 1, Retinyl palmitate(vitamin A) 120,000 retinol equivalents, DL- α -Tocopheryl acetate(vitamin E) 5,000IU vitamin E activity, Cholecalciferol 250(400,000 IU/g, powder form), phyloquinone(vitamin K) 75.0, Sucrose finely powdered, to make 1,000 gram.

centrifuge union 55R Hanil)로 1,000xg, 4°C에서 30분간 원심 분리하여 상층액을 -70°C deep freezer에 보관하였다. 혈액을 채취한 그 즉시 단두하여 Glowinski와 Iversen의 방법²⁶⁾에 따라 뇌를 적출하여 dry-ice bath에서 작게 잘라 즉시 -70°C deep freezer에 보관하였다. 또한 ice bath위에서 즉시 간, 신장을 떼어 ice cold saline에 넣어 세척한 다음 여지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 바로 -70°C deep freezer에 보관

하여 생화학 지표 분석 시 사용하였다. 혈장 중 헤파린 처리한 혈장은 혈장 내 total antioxidant status(TAS), quercetin, isorhamnetin, 철분 수준을 측정하는데 사용하였으며 EDTA로 처리한 혈장은 혈장 내 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)측정시 사용하였다.

3. 생화학 지표 분석

1) 혈장 내 항산화 물질 함량 측정

혈장의 TAS 수준은 TAS kit(Randox Co., UK)를 이용하여 분석하였다. 즉, 채취한 지 14일 이내의 heparin 처리된 혈장 20 μ l에 발색제 1ml를 넣고 잘 섞은 다음 spectrophotometer (Genesys 10 UV)로 600nm에서 초기 흡광도를 측정한 후, 기질 200 μ l를 넣고 혼합과 동시에 timer를 작동시켜 정확히 3분 후에 흡광도를 측정하였다. Blank는 혈장 대신 증류수를 사용하며, standard는 kit 내에 포함되어 있는 표준액을 이용하였다. 이 모든 과정은 37°C에서 이루어졌으며, kit에 주어진 계산식으로 혈장 내의 TAS를 환산하였다.

양파의 주요 생리활성 성분인 flavonoids 중 quercetin과 그 대사물질인 isorhamnetin의 혈장 내 수준은 Manach *et al*의 방법^{27,28)}으로 분석하였다. 헤파린 처리한 혈장 300 μ l에 약 0.1volume의 0.58M acetic acid를 섞어서 pH 4.9로 맞추고 37°C water bath에서 30분간 glucuronidase와 sulfatase로 분해(G0876, Sigma)하여 acetone으로 quercetin 및 isorhamnetin을 추출하여 원심분리 후 그 상층액 20 μ l를 HPLC(Waters 2690 separation module, Waters, USA)를 이용하여 측정하였다. 이때 칼럼은 Lichrospher 100-RP 18 (5 μ m, 4.6 \times 125mm, SRD, Austria), detector는 UV detector (Younglin Instrument Co, Version 2.0 plus, Korea)를 사용하였으며 파장 370nm에서, mobile phase는 73% H₃PO₄와 27% acetonitrile로 isocratic 하게 사용하였고 flow rate은 1.5ml/min, run time은 30분이었다.

2) 혈장, 간 및 뇌의 지질과산화물 측정

혈장의 TBARS 함량은 lipid peroxidation assay kit (Calbiochem-Novabiochem CO., Germany)를 이용하였고 파장 586nm에서 spectrophotometer (Genesys 10 UV)로 흡광도를 측정하여 분석하였는데, 그 원리는 다음과 같다. N-methyl-2-phenylindole(in acetonitrile)을 혈장 내 malondialdehyde(MDA)와 45°C에서 반응시키면 N-methyl-2-phenylindole 두 분자와 MDA 한 분자가 축합 반응을 일으켜서 파장 586nm에서 발색을 띄게 되는 것이다. 이 때 농도범위 0~5 μ mol의 1,1,3,3,-tetra-methoxypropane [malonaldehyde bis (dimethyl acetal)] 표준 용액을 사용하여 얻은 표준 곡선으로부터 혈장의 TBARS 함량을 계산하였다.

간의 TBARS 함량은 Buckingham법²⁹⁾을 이용하였다. 간 1g에 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 3ml를 가하여 homogenizer(Brinkman PT 10/35)로 3분간 균질화시킨 후

1.5ml씩 duplicate로 취하여 33 mM FeSO₄ 용액 50 μ l, 0.33 mM butylated hydroxytoluene(BHT) 50 μ l, 33mM L-ascorbic acid 용액 50 μ l를 가하여 잘 섞은 후 37°C에서 30분간 incubation시켰다. 여기에 10% trichloroacetic acid (TCA) 용액 1.5ml를 가하고 12,000 \times g에서 10분간 원심분리(Ultra 80, Sorvall)하여 얻은 상층액 2ml에 1% thiobarbituric acid (TBA) reagent 0.5ml를 가하여 10분간 끓이고 실온에서 냉각시켜 3,000rpm에서 5분간 원심분리하여 얻어진 상층액을 spectrophotometer (Genesys 10 UV)를 사용하여 532nm에서 비색정량하였다. 이 때 농도범위 0~4 nmole의 1,1,3,3-tetramethoxypropane [malonaldehyde bis (dimethyl acetal)] 표준용액으로 표준곡선을 구하여 이로부터 간의 TBARS 함량을 계산하였다.

뇌의 8-isoprostane를 측정하기 위하여 조직의 전처리 과정은 Hoffman *et al*의 방법³⁰⁾으로 뇌 내 지질층을 분리하였으며 이를 8-isoprostane ELA kit(516351, Cayman chemical, USA)을 이용하여 측정하였다. Microplate reader로는 spectra Max 340(Molecular devices, USA)를 사용하였다.

3) 신장 및 뇌조직의 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine 농도

신장 및 뇌 조직의 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OHdG) 농도를 측정하여 DNA의 산화적 손상 정도를 나타내는 지표로 이용하였다. 신장조직의 DNA는 DNA extractor Wako kit(Wako, Osaka, Japan)를 이용하여 추출분리하였다. 추출 분리된 DNA는 Wako사에서 권장하는 다음과 같은 방법으로 가수분해하여 enzyme linked immunosolvent assay(ELISA)를 이용한 8-OHdG 분석에 사용하였다. 즉, DNA(150~200 μ g/135 μ l distilled water(D.W.))를 200 mM sodium acetate(pH 5.0) 15 μ l에 녹인 후 nuclease P1(Sigma N8630) 6 unit을 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 여기에 1M Tris-HCl(pH 7.4) 15 μ l를 첨가하여 반응액의 pH를 8.0으로 맞춘 다음 alkaline phosphatase(Böehringer Mannheim, Germany) 2 unit을 첨가하여 37°C에서 1시간 반응시켰다. 반응이 종료된 후 10,000Da의 membrane filter tube(Millipore, MA, USA)로 옮기고 이를 10,000 \times g(실온)에서 20분간 원심분리하여 여과시켰다. 그리고 이 여과액 50 μ l를 취해서 ELISA 분석에 사용하였다. ELISA에 의한 8-OHdG의 분석은 8-OHdG ELISA kit(Japan Institute For the Control of Aging, Japan)를 사용하였다.

4) 혈장, 간, 뇌의 철분 수준 측정

혈중 헤모글로빈 수준은 Hemocue 기구를 이용하여 희생 당일 측정하였다(Hemocue AB, Sweden). 혈중 철분수준은 serum iron assay kit(Shinyang Chemical, Korea)를 사용하여 측정하였으며 간 및 뇌조직 내 철분수준은 먼저 건식회화(dry-ash digestion)를 거쳐 atomic absorption spectrophotometry(AAS, Perkin-Elmer model AAnalyst 100, USA)로 측정하였다.

3. 통계처리

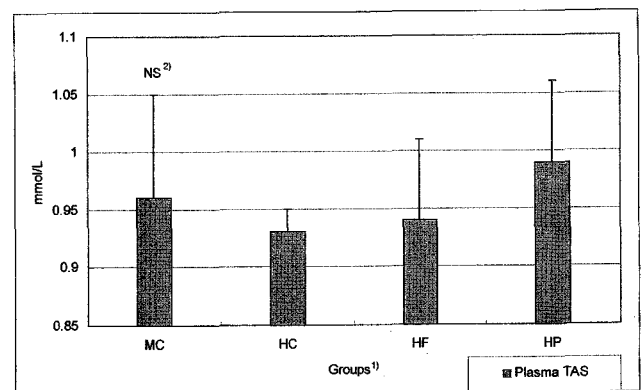
모든 측정치는 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다.

III. 실험 결과 및 고찰

본 연구는 양파 육질 혹은 껍질 건분이 고철분 식이를 공급받은 노령 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 행하였다.

혈중 TAS 수준은 <Figure 1>에 나타내었다. 실험동물의 혈장 내 TAS 수준은 유의적이지는 않으나 고철분-양파껍질공급군에서 가장 높고 다음은 중철분 대조군, 고철분-양파육질공급군, 고철분 대조군 순으로 높았다. 중철분 대조군에 비하여 고철분-양파껍질공급군의 TAS 수준이 다소 높았는데 이는 양파 껍질 내 함유되어 있는 항산화 물질로 인한 것으로 사료된다. 본 실험에 사용된 양파시료의 항산화 물질을 측정된 결과, 껍질 부위가 육질 부위에 비하여 총 polyphenol은 10배(13.98 Vs. 133.62 mg/g powder), quercetin은 20배(1.12 Vs. 20.50mg/g), TAS는 3배(0.04 Vs. 0.12 mmol/g)가 함유³¹⁾되어 있어 껍질 건분의 공급으로 혈중 TAS 수준이 다소 증가한 것으로 사료된다.

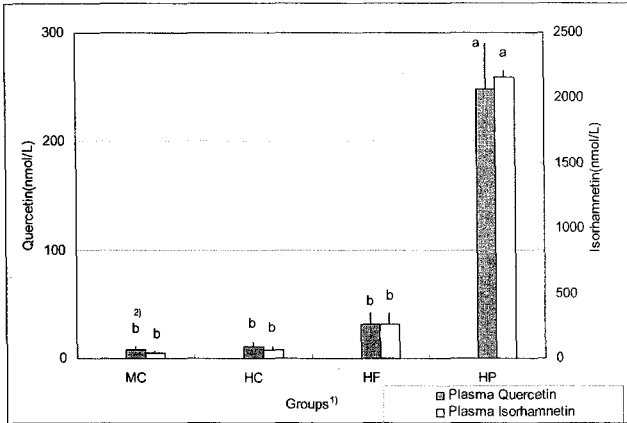
양파에 함유되어 있는 flavonoid중 비효소적 항산화 기능을 나타내는 것으로 알려진 quercetin 및 그 metabolite인 isorhamnetin의 체내 수준을 측정하여 <Figure 2>에 제시하였다. 그 결과, 양파껍질 건분의 항산화 성분으로 알려져 있는 flavonoid중 quercetin의 혈중 농도가 양파육질공급군보다 양파껍질공급군에서 유의적으로 높았으며 quercetin의 체내 대사형태인 isorhamnetin의 혈중 농도 또한 양파껍질 식이의 공급으로 유의적으로 증가하였다. Quercetin의 methylation에



<Figure 1> Plasma total antioxidant status levels in aged rats fed control diets or experimental diets containing onion flesh or peel (5% w/w in diet) with high iron level

1) See <Table 1>

2) Not significant at $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test

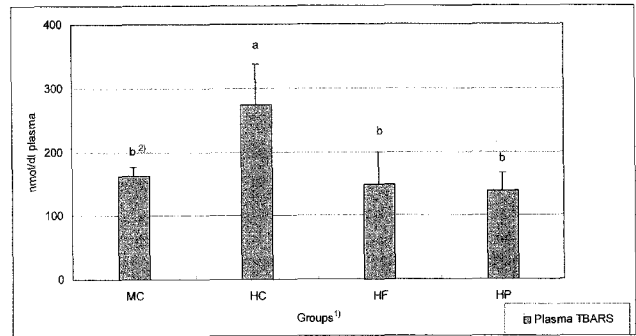


<Figure 2> Plasma quercetin and isorhamnetin levels in rats fed control diets or experimental diets containing onion flesh or peel (5% w/w in diet) with high iron level

- 1) See <Table 1>
- 2) Values with different letters are significantly different at $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test

의해 생성되는 isorhamnetin(3-O-methyl quercetin)은 체내에서 주로 간에서 생성되며 quercetin에 비하여 생리활성이 낮아서 non-active form으로 간주되고 있다. Azuma *et al*³²⁾은 Wister rat을 대상으로 onion based diet을 섭취시킨 후 quercetin의 체내 circulating form을 연구하였는데 그 결과 quercetin과 isorhamnetin이 주요 순환형이며 각각 alycone 형태보다 conjugated derivatives형으로 존재한다고 보고하였다. 이 중에서 quercetin의 순환형들은 체내 과량 존재하게 되면 오히려 산화스트레스를 유발할 가능성이 있다. 체내 circulating하는 quercetin의 주된 형태는 sulfo-와 sulfo-glucurono derivatives들이다. 이러한 conjugated derivatives들은 aglycone에 비하여는 적지만 상당한 항산화력을 가진다³³⁾. 한편, 본 연구에서는 혈중 quercetin 및 isorhamnetin은 양파껍질 공급군에서 유의적으로 높았는데 양파 육질 공급군에서는 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 식이내 5% 수준의 양파 육질의 공급으로는 체내 유입되는 quercetin이 양이 그다지 크지 않음을 알 수 있으며 껍질군의 경우 식이 내 5% 수준으로 공급하면 체내 유입 수준이 상당하다는 것을 알 수 있다.

Quercetin은 *in vitro*상에서 매우 효과적인 철분의 chelating agent로서 체내 지용성 성분의 산화를 막고 Fe-dependent lipid peroxidation을 효과적으로 저해한다^{34,35)}. Hurrell *et al*³⁶⁾은 성인을 대상으로 한 중재연구에서 herb tea의 섭취가 철분흡수를 저해한다고 보고하였다. 특히 이러한 흡수 저해는 섭취한 total polyphenol 양에 dose-dependent한 fashion으로 저해되었다고 하였다. 본 연구에서 고철분-양파 껍질공급군의 혈중 quercetin 농도는 본 연구와 병행된 Park & Kim의 연구³¹⁾에서 중철분 식이(35ppm)에 양파껍질 건분을 식이내 5%로 공급하였을 때의 혈중 quercetin 농도(609.84nmol/L)보다 상당히 낮았다. 한편, 본 연구에서의 혈중 철분 수준은 고철분 대조군에 비하여 고철분-양파껍질공급군



<Figure 3> Plasma lipid peroxide level in rats fed control diets or experimental diets containing onion flesh or peel (5% w/w in diet) with high iron level

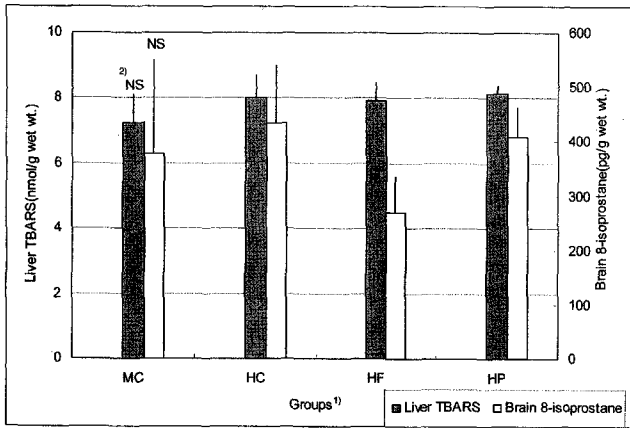
- 1) See <Table 1>
- 2) Values with different letters are significantly different at $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test

에서 다소 낮았으므로 이는 식이 내 높은 수준의 철분과 quercetin간의 complex 형성으로 흡수가 낮아진 것으로 사료된다. 위의 결과를 종합하여보면 3개월간 양파껍질 건분을 섭취한 흰쥐의 혈중 quercetin 농도는 양파육질 건분을 섭취하였을 때 보다 현저히 높았으며 이는 혈중 TAS 수준 증가에도 영향을 미쳤을 것으로 사료되어 양파껍질 시료의 항산화 소재로의 가능성을 생각해볼 수 있었다.

Quercetin은 친지용성(lipophilic) 항산화 물질로 막표면에 가까이 존재하여 막지질의 산화를 효과적으로 막는다고 알려져 있다³⁴⁾. 따라서 본 실험에서 사용된 양파 원료소재의 특성상 체내 항산화능을 변화를 알려주는 척도로 혈장, 간 및 뇌의 지질과산화물 수준을 측정하였으며 혈장 내 TBARS 수준은 <Figure 3>에, 간 내 TBARS 수준과 뇌내 8-isoprostane을 측정하여 <Figure 4>에 제시하였다. 본 연구에서는 양파 시료의 항산화능 증진효과를 가장 잘 반영하는 바이오 마커 선정을 위하여 지질과산화물 측정 시 3종류의 실험방법을 선택하였다. 여러 연구에서 가장 흔하게 사용되는 지질과산화물 바이오 마커로 혈장 내 TBARS는 체외 산화가 쉽고 측정시 한계점을 나타내므로 혈중 TBARS를 측정하는 보다 안정적이고 reliable한 kit를 이용하였으며 간의 경우 기존에 사용되는 TBARS 측정법을 사용하였고 뇌에서는 최근 여러 연구에서 사용되고 가장 예민한 *in vivo* 바이오마커로 생각되는 8-isoprostane을 측정지표로 사용하여 지질 과산화물 수준을 측정하였다.

혈중 지질 과산화물 측정을 위하여 혈중 TBARS 수준을 측정한 결과, 고철분 대조군에 비하여 고철분-양파시료공급군들의 혈중 TBARS수준이 모두 유의적으로 낮았으며 중철분 대조군에 비하여 오히려 다소 낮은 경향을 보여서 두 가지 양파시료의 공급으로 고철분 식이로 인한 항산화능 변화가 극복될 수 있는 것으로 나타났다. 이렇게 고철분 대조군의 혈장 내 TBARS 수준이 다른 실험군에 비하여 유의적으로 증가한 것으로 볼 때 식이 내 권장량의 10배 수준에 해당하는 정도의 철분 보충으로도 TBARS의 수준이 증가함을 알 수 있었다.

Swain 등¹⁷⁾은 중년여성을 대상으로 체내 철분 저장량과 항

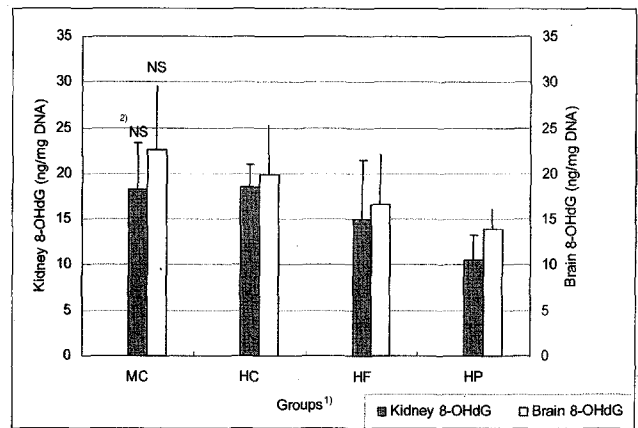


<Figure 4> Lipid peroxide levels in liver and brain of aged rats fed control diets or experimental diets containing onion flesh or peel (5% w/w in diet) with high iron level

- 1) See <Table 1>
- 2) Not significant at $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test

산화능의 상관성을 조사하여 철분저장량이 낮을수록 항산화능 관련지표가 높다고 보고하였으며, 성숙한 흰쥐를 대상으로 한 연구³⁷⁾에서도 고철분 식이(500ppm)를 12주간 공급하였을 때 식이 내 불포화지방산 함량이 높을수록 간 내 콜레스테롤 과산화물이 증가한다고 하여서 본 연구 결과와 일치하는 경향을 보여주었다. 본 연구와 동시에 진행된 Kim & Kim의 연구³⁸⁾에서도 고철분(350ppm)식이의 공급으로 중철분 식이공급에 비하여 혈중 LDL분획내 지질과산화물이 증가하는 경향이 있었다. 그러므로 본 연구의 고철분 수준 공급으로 혈중 TBARS 수준이 유의적으로 증가한 것은 혈중 지질분획 중에서도 LDL 분획내 지질과산화물 증가에 기인하는 것으로 사료된다.

간과 뇌의 지질과산화물 측정을 위하여 간의 경우에는 항산화 측정에서 가장 빈번히 사용되고 있는 TBARS를, 뇌의 경우에는 최근 보다 reliable하고 민감한 지표로 알려진 8-isoprostane을 측정지표로 선정하였다. 뇌조직은 산화 스트레스에 노출되는 주요 기관이고 특히 지질 함량이 매우 높아서 분석시 malonaldehyde의 증가 가능성이 매우 높으므로 non-enzymatically produced prostaglandin인 8-isoprostane을 측정지표로 사용하였다^{39,40)}. 8-isoprostane은 최근 여러 연구에서 사용되어 지질과산화물의 측정지표 중 *in vivo* 상의 결과를 가장 바람직한 지표로 생각되고 있다³⁰⁾. 그 결과, 간 조직과 뇌조직 모두에서 실험군간 지질과산화물 수준의 유의적인 차이는 없었다. 다만, 뇌조직에서는 고철분 식이를 공급하였더라도 양파시료의 공급으로 지질과산화물 수준이 유의적이지는 않으나 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 한편, 간에서는 실험군간 TBARS 수준의 차이가 뚜렷하지 않았다. 본 연구에 선행하여 진행된 An & Kim의 연구⁴¹⁾에서는 성장기쥐를 대상으로 동일 수준의 양파육질 시료를 공급하였을 때 간에서의 TBARS 수준이 대조군보다 유의적으로 낮았다. 그러므로 대상쥐의 연령과 철분 등의 공급으로 인한 항산화 체계의 변화유무에 따라 다른 결과를 초래할 수 있다고 생각된다. 본 연구에서는 체내 지질과



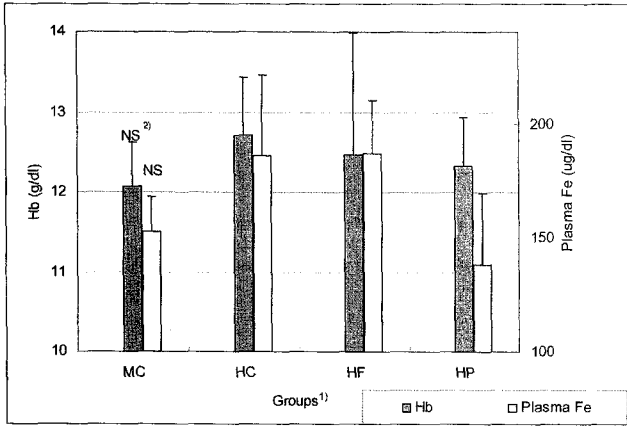
<Figure 5> DNA damage level(8-hydroxydeoxyguanosine) in kidney and brain tissues of rats fed control diets or experimental diets containing onion flesh or peel (5% w/w in diet) with high iron level

- 1) See <Table 1>
- 2) Not significant at $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test

산화물 수준은 조직에 따라서, 또한 측정지표의 종류 및 방법에 따라 다른 결과를 보여주었는데, 특히 혈장에서 실험군간 차이가 뚜렷하여 증재에 의한 영향을 보다 확실히 볼 수 있었다.

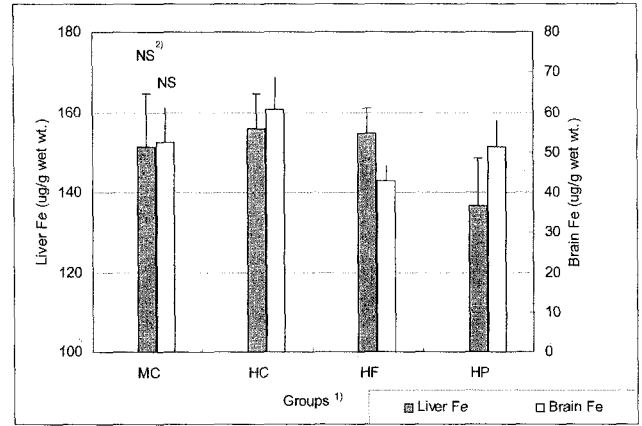
산화스트레스에 반응하는 상대적 민감도는 조직에 따라 달라서 신장은 체내 장기 중 노화에 따른 조직변화가 가장 큰 장기로 알려져 있다⁴²⁾. 또한 중추신경계는 산화스트레스에 가장 많이 노출되어 있고 이로 인한 손상을 가장 많이 받을 것으로 생각되는 장기이다. 그 이유는 다음과 같다, 먼저 뇌 내 glutathione의 농도가 타 조직에 비하여 적고⁴³⁾ 뇌신경세포막의 다가불포화지방산 함량이 높아 산화되기 쉽고⁴⁴⁾, 대사율이 높아 산소요구량이 높으며 노화와 더불어 이러한 산화적 손상에 취약한 기관으로 알려져 있다⁴⁵⁾. 따라서 이 두 조직을 대상으로 조직 내 DNA 손상 정도를 측정하여 산화스트레스 정도를 측정하였다. 신장과 뇌의 DNA손상 정도는 8-hydroxydeoxy-guanosine(8-OHdG) 수준을 측정하였으며 mg DNA 당 8-OHdG의 양은 (Figure 5)와 같았다. 고철분-양파껍질공급군의 DNA 손상 정도가 중철분 대조군보다 낮았으며 뇌 및 신장 모두에서 가장 낮은 경향이었으나 모든 군간 유의적인 차이는 없었다. 양파껍질은 공급은 철분보충 시에도 DNA손상에 대한 보호효과를 보였으나 유의적인 차이를 보이지는 않았다.

8-hydroxy-deoxy-guanosine(8-OHdG)는 guanidine의 hydroxide attack으로 생성되는 변형 핵산 중의 하나이다⁴⁶⁾. Fischer 344 rat을 대상으로 뇌내 protein carbonyl 농도를 측정함으로써 노화시 증가하는 산화스트레스에 미치는 철분의 영향을 연구한 결과 철분과잉시 뇌내 protein carbonyl의 수준이 증가하였다고 하였다⁴⁷⁾. 철분과 관련되어 생성되는 hydroxyl radical은 산화스트레스를 증가시키는데 이는 단지 반경 2mm 내에서만 확산 가능하고 반감기가 매우 짧다⁴⁸⁾. 본 연구에서 DNA손상이 체내 권장량의 약 10배에 해당하는 철분보충으로도 유의적으로 증가하지 않은 것은 hydroxyl radical의 특징과



<Figure 6> Blood hemoglobin and plasma iron levels in rats fed control diets or experimental diets containing onion flesh or peel (5% w/w in diet) with high iron level

- 1) See <Table 1>
- 2) Not significant at $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test



<Figure 7> Total iron levels in liver and brain tissues of rats fed control diets or experimental diets containing onion flesh or peel (5% w/w in diet) with high iron level

- 1) See <Table 1>
- 2) Not significant at $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test

연과지어 생각해 볼 수 있겠다. 즉, hydroxyl(OH) radical이 세포 내 세포질에서 주로 생성되기 때문에 미토콘드리아나 핵 내 DNA에 미치는 영향보다는 세포질에 미치는 영향이 보다 크기 때문인 것으로 사료된다. 한편, 본 연구에서 투여한 수준과 기간의 두 가지 양파시료 공급으로는 DNA 손상에 영향을 미치지 않았는데 이는 식이 내 철분 수준이 높았던 동시에 양파시료 내 포함되어 있는 항산화물질의 물리화학적 성질에 의한 영향에 의한 것으로 생각해 볼 수 있다. 양파 내 주된 항산화 물질인 quercetin은 친지용성 물질(lipophilic substances)로 지질과 산화물에는 영향을 미치나 DNA 보호효과는 지질과산화물 감소에 비하여 그다지 크지 않을 가능성을 생각할 수 있겠다. Norrozi *et al*⁴⁹⁾은 flavonoids와 Vitamin C가 human lymphocyte에 미치는 영향을 연구하였는데 이들은 flavonoids가 Vitamin C보다 DNA 보호 효과가 컸다고 하였고 flavonoid의 DNA 보호효과를 세포수준에서 증명하 바 있다. 본 연구에서는 양파시료의 DNA보호효과가 유의적으로 나타나지 않았는데 이는 양파시료의 공급수준이나 실험기간이 연장되었다면 보다 뚜렷하였을 것으로 생각된다.

체내 철분수준이 항산화능에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 혈중 헤모글로빈 수준과 혈장 내 철분 수준, 간 및 뇌내 총철분 수준을 측정하여 그 결과는 <Figure 6>과 <Figure 7>에 나타내었다. 그 결과 고철분식이의 공급으로 철분지표의 수준이 다소 증가하였으나 실험군간 유의적인 차이는 보이지 않았다.

고철분식 및 양파시료의 공급이 체내 철분 수준에 미치는 영향을 살펴보면 모든 군간에 유의적 차이는 없었으나 고철분 대조군이 고철분-양파시료공급군들 보다 다소 높고 모든 실험군 간에 가장 높은 수준을 보이는 경향이였다. Pinero *et al*⁵⁰⁾은 성장기의 SD rat을 대상으로 400ppm을 2주간 투여하였을 때 체내 철분 과잉이 유도되었다고 하였고 여러 철분대사 관련 연구에서 고철분 혹은 철분보충 수준으로 식이 내 350ppm-

500ppm을 투여하고 있다^{7),47)}. 그러나 성장이 끝난 흰 쥐를 대상으로 고철분식이(500ppm)를 12주간 공급하여 철분 status와 항산화능 변화를 조사한 Brandsch *et al*⁵¹⁾은 본 연구에서와 유사하게 체내 철분 수준에는 큰 영향을 미치지 않으나 간 내 지질과산화물이 증가하였다는 결과를 보고였다. 따라서 권장량의 10배 수준의 철분 보충으로도 체내 철분수준에는 유의적인 영향을 미치지 않는 것이라도 체내 항산화능을 저하시킬 수 있음을 알 수 있었다. 성장기가 아닌 노령기의 흰쥐에서는 철분의 체내 요구량 감소 및 저장량 증가 등의 변화가 나타나므로 노령기의 철분대사에 대한 보다 많은 연구가 진행되어야 할 것이며 특히 체내 노화에 따른 철분 status와 항산화능간의 관련성을 규명하는 연구가 보충되어야 할 것이다.

종합적으로 살펴보면, 권장량의 10배 수준에 해당하는 철분 보충은 체내 철분 status에는 유의적인 영향을 미치지 않으나 보충하지 않는 경우보다 다소 체내 철분 수준이 증가하는 것을 볼 수 있었고 철분수준에는 큰 영향을 미치지 않더라도 체내 항산화능에는 보다 큰 영향을 미쳐 혈중 TBARS수준을 증가시키는 것으로 나타났다. 이러한 철분 보충의 영향은 양파시료의 공급으로 완화되어 항산화능을 증진시키는 것으로 생각되며 간 및 뇌의 항산화 지표에는 유의적이지는 않으나 양파시료 공급으로 인한 항산화능의 증가 경향은 살펴볼 수 있었다. 따라서 노년기의 지나친 철분보충은 산화스트레스로 작용하여 오히려 노화를 촉진시키거나 만성질환의 유병률을 증가시킬 수 있으므로 주의가 요구되며 항산화능을 개선시킬 수 있는 양파시료를 함께 섭취하면 노년기의 만성질환 유병률을 낮추고 노화를 지연시키는데 도움이 될 것으로 사료된다. 특히 3개월간 고철분식이공급과 함께 양파껍질 건분을 섭취한 흰쥐의 혈중 quercetin 농도는 양파육질 건분을 섭취하였을 때 보다 현저히 높았고 혈중 TBARS 수준을 고철분-대조군에 비하여 유의적으로 감소시킴으로써 항산화 기능성 원료소재로의 사용가능성을 엿볼 수 있었다. 양파껍질 부위는 식품부산물로 폐기되는 비

가식 부위이므로 이를 유용자원으로 활용하는 것은 환경보호와 건강증진 두 가지 측면에서 모두 바람직하다고 생각된다.

IV. 요약 및 결론

본 연구는 양파육질과 껍질 건분 식이가 고철분 식이를 섭취한 노령 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 생후 16개월된 수컷 흰쥐를 식이 철분수준이 35ppm인 중철분 식이로 10일간 사육한 후, 체중에 따라 난괴법으로 4군으로 나누어 그 중 한 군은 중철분 식이(35ppm)를, 나머지 3군은 고철분 식이를 공급하고 이중 2군은 양파육질 혹은 껍질 건분 식이를 공급하여 3개월간 사육하였다. 실험기간 종료 후 혈장내 TAS 수준, quercetin 및 isorhamnetin 수준, 혈장, 간 및 뇌 내 지질과산화물 수준, 신장 및 뇌조직의 DNA 손상 정도를 측정하였으며 체내 철분 수준의 변화를 측정하기 위해 혈 중 헤모글로빈, 혈장, 간 및 뇌조직의 철분 수준을 측정하였다.

고철분 식이의 공급은 중철분 식이의 공급에 비하여 체내 철분수준을 유의적으로 증가시키지는 않았고 다만 체내 철분 status를 다소 증가시키는 경향이 있었다. 그러나 체내 산화스트레스는 고철분식이의 공급으로 유의적으로 증가하여 고철분 대조군의 혈중 TBARS 수준은 중철분 대조군의 약 2배로 증가하였다. 이는 체내 철분수준의 증가가 유의적이지 않더라도 항산화능의 변화가 일어날 수 있음을 알려주는 것이다. 한편, 간 및 뇌조직 내 지질과산화물 수준은 유의적으로 증가하지 않았으며 신장 및 뇌 내 DNA 손상 정도 또한 유의적인 변화가 관찰되지 않았다. 따라서 식이 내 철분 권장량의 약 10배에 해당하는 고철분 식이의 공급은 체내 항산화능 변화를 유발할 가능성이 있으므로 주의가 요구된다고 생각된다.

고철분 식이와 함께 양파육질 및 껍질을 식이 내 5% 수준으로 공급하였을 때 혈중 TBARS 수준은 고철분 대조군에 비해 유의적으로 감소하였고 특히 양파껍질공급군의 경우 중철분 대조군보다 오히려 그 수치가 다소 낮았다. 이와 같은 양파껍질시료의 항산화능 증진은 시료 내 다량 포함되어 있는 quercetin에 기인하는 것으로 생각된다. 본 연구에서도 식이 내 5% 수준으로 양파껍질 시료를 섭취시켰을 때 혈중 quercetin 수준이 유의적으로 높았다. 한편, 양파육질 시료의 경우 식이 내 5% 수준의 섭취로는 혈중 quercetin 수준을 유의적으로 증가시키지는 않았다. 한편, 신장 및 뇌 내 DNA 손상 정도를 측정할 결과, 두 가지 양파 시료의 DNA 손상에 대한 보호 효과는 나타나지 않았으며 이는 이들 양파시료에 포함되어 있는 생리활성 물질인 quercetin이 친지용성으로 DNA 손상에 대한 보호효과보다 막의 지질과산화 보호에 보다 효과적일 수 있음을 알려주었다. 지질과산화물의 수준에 미치는 양파시료의 영향은 조직에 따라 달라서 즉, 혈장의 결과와는 달리 간 및 뇌 조직 내 지질과산화물 수준은 실험군간 유의적인 차이는 보이지 않았고 양파시료의 공급으로 지질과산화물 수준이 다소 감소하는 경향만을 보여주었다.

종합적으로 살펴볼 때, 권장량의 10배 수준에 해당하는 철분의 보충은 체내 철분 status에는 유의적인 영향을 미치지 않으나 보충하지 않는 경우보다 체내 철분 수준이 다소 증가하는 것을 볼 수 있었고 철분 수준에는 큰 영향을 미치지 않더라도 체내 항산화능에는 영향을 미칠 수 있어서 혈중 TBARS수준을 증가시키는 것으로 나타났다. 이러한 철분 보충으로 인한 산화스트레스 증가는 양파시료의 공급으로 완화되어 체내 항산화능을 증진시키는 것으로 생각되며 간 및 뇌조직의 항산화 지표에는 유의적이지는 않으나 양파시료 공급으로 인한 항산화능의 증가 경향은 살펴볼 수 있었다. 따라서 철분 보충 시 항산화능에 미치는 영향을 고려하여 무분별한 철분보충제 남용을 지양해야 할 것이며 이와 같은 철분 보충시에도 항산화능을 개선시킬 수 있는 양파시료를 함께 섭취하면 노인기의 만성질환 유병률을 낮추고 노화를 지연시키는데 도움이 될 것으로 사료된다. 특히 양파껍질 시료의 항산화능 증진 효과는 향후 식품부산물 활용에 대한 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

■ 참고문헌

- 1) Korean national statistical office. Population projection for Korea 2000-2050. 2001
- 2) Kim SH, Kim HY. Aging. *Minumsa Pub Korea*, 1995
- 3) Mezzetti A, Lapenna D, Romano F, Costantini F, Pierdomenico SD, De Cesare D, Cucurillo F, Riariorforza G, Zulaini G, Fellin R, & Sabin AM. Systemic oxidative stress and its relationship with age and illness. *Am Geriatr Soc* 44: 823-827. 1996
- 4) Lauffer RB. Iron and human disease. CRD, Press. Boca Raton, 1992
- 5) Proula-Curry PM, Chasteen ND. Molecular aspects of iron uptake and storage in ferritin. *Coordination Chemistry Reviews* 144: 347-368. 1995
- 6) British Nutrition Foundation. Measurement of iron status. In Iron. (pp 23-28). New York: Chapman & Hall. 1995
- 7) Beard J. Dietary iron intakes and elevated iron stores in the elderly: is it time to abandon the set-point hypothesis of regulation of iron absorption? *Am J Clin Nutr* 76(6): 1189-1190. 2002
- 8) Song BC, Kim MK. Patterns of Vitamin - Mineral Supplement Usage by the Elderly in Korea. *Korean J Nutr* 30: 139-147. 1997
- 9) Fleming DJ, Tucker KL, Jacques PF, Dallal GE, Wilson PW, Wood RJ. Dietary factors associated with the risk of high iron stores in the elderly Framingham Heart Study cohort. *Am J Clin Nutr* 76(6): 1375-1384. 2002
- 10) Sullivan JL. Stored iron and ischemic heart disease. Empirical support for a new paradigm. *Circulation* 86(3): 1036-1037. 1992
- 11) Berge LN, Bona KH, Nordoy A. A serum ferritin, sex

- hormones, and cardiovascular risk factors in healthy women. *Arterioscler Thromb* 14: 857-861. 1994
- 12) Stevens RG, Grubard BI, Micozzi MS, Neriishi K, Blumberg BS. Moderate elevation of body iron level and increased risk of cancer occurrence and death. *Int J Cancer* 56: 364-369. 1994
 - 13) Nelson RL, Davis FG, Sutter E, Sobin LH, Kitendall JW, Bowen P. Body iron stores and risk of colonic neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 86: 455-460. 1994
 - 14) Sutanam N, Ramachandran S, Parthasarathy S. Oxygen radicals, antioxidants, and lipid peroxidation. *Semin Reprod Endocrinol* 16: 275-280. 1998
 - 15) Jayachandran M, Jayanthi B, Sundaravadeivel B, Panneerselvan C. Status of lipids, lipid peroxidation, and antioxidant systems with vitamin C supplementation during aging in rats. *J Nutr Biochem* 7: 270-275. 1996
 - 16) Ramakishnan U, Kuklina E, Stein AD. Iron stores and cardiovascular disease risk factors in women of reproductive age in United States. *Am J Clin Nutr* 76: 1256-60, 2002
 - 17) Swain JH, Alekel DL, Dent SB, Peterson CT, Reddy MB. Iron indexes and total antioxidant status in response to soy protein intake in perimenopausal women. *Am J Clin Nutr* 76: 165-71, 2002
 - 18) Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB, Kromout D. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoid and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutr Cancer* 20: 21-39. 1993
 - 19) Hertog MGL. Flavonoid intake and long term risk of coronary heart disease in the 7 countries study. *Arch Int Med* 155: 1184-1195. 1995
 - 20) Kim YA, Park YK, Park EJ, Kang MH. Survey of flavonoids and carotenoids intake of Korean adults by using frequency survey of food intake. Abstract of 2001's Spring Associated Workshop of Korean Nutrition Society. 2001
 - 21) Fossen T, Pedersen AT, Andersen OM. Flavonoids from red onion (*Allium cepa*). *Phytochemistry* 47: 281-285. 1998
 - 22) Ra KS, Suh HJ, Chung SH, Son JY. Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. *Korean Journal of Food Science and Technology* 29: 595-600. 1997
 - 23) Son JY, Son HS, Cho WD. Antioxidant activity of onion skin extract. *Korean J Soc Food Sci* 14: 16-20. 1998
 - 24) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute Nutrition Ad Hoc wrighting Committee on the reformulation of the AIN-79A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951. 1993
 - 25) Nutrition Research Council. Nutrient requirements of laboratory animals. The academy press. Fourth edition. 1995
 - 26) Glowinski J, Iversen LL. Regional studies of catecholamines in the rat brain. I. The composition of [³H]norepinephrine, [³H]dopamine and [³H]dopa in various regions in brain. *J Neurochem* 13(8): 655-669. 1966
 - 27) Manach C, Morand C, Crespy V, Demigne C, Texier O, Regerat F, Remesy C. Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidant properties. *FASEB Letters* 426: 331-336. 1998
 - 28) Manach C, Texier O, Moran C, Crespy V, Regerat F, Demigue C, Remesy C. Comparison of the bioavailability of quercetin and catechin in rats. *Free radical Biology & Medicine* 27: 1259-1266. 1999
 - 29) Buckingham KW. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid metabolism in the rat. *J Nutr* 115: 1415-1435. 1985
 - 30) Hoffman SW, Robin LR, Stein DG. A reliable and sensitive enzyme immunoassay method for measuring 8-isoprostaglandin F2a: a marker for lipid peroxidation after experimental brain injury. *J Neuroscience Methods* 68: 133-136. 1996
 - 31) Park J. Effects of onion flesh or peel feeding on antioxidative capacity and iron metabolism in 16-month-old rats oxidatively stressed with dietary iron. Doctoral thesis of Ewha womans university, 2004
 - 32) Azuma K, Ippoushi K, Ito H, Horie H, Terao J. Enhancing effect of lipids and emulsifiers on the accumulation of quercetin metabolites in blood plasma after the short-term ingestion of onion by rats *Biosci Biotechnol Biochem* 67: 2548-2555. 2003
 - 33) Morand C, Crespy V, Manach C, Besson C, Denigne C, Remesy. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *American J Physiol* R212-R219. 1998
 - 34) Griffiths G, Truemann L, Crowther T, Thomans B, Smith B. Onions-A global benefit to health. *Phytother Res* 16: 603-615. 2002
 - 35) Afanas'ev IB, Dorozhko AL, Brodskii AV, Kostyuk VA, Potapovitch AI. Chelating and free radical scavenging mechanism of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* 38: 1763-1769. 1989
 - 36) Hurrell RF, Reddy M, Cook JD. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *Br J Nutr* 81: 289-295. 1999
 - 37) Brandsch C, Ringseis R, Eder K. High dietary iron

- concentrations enhances the formation of cholesterol oxidation products in the liver of adult rats fed salmon oil with mineral effects on antioxidant status. *J Nutr* 132: 2263-2269. 2002
- 38) Kim SK, Kim MK. Effect of onion flesh or peel feeding with different iron level on lipid metabolism, antioxidative capacity, and antithrombogenic capacity in 16-month-old rats. *Korean J Nutr* 37: 623-632. 2004
- 39) Bondy SC, Lee DK. Oxidative stress induced by glutamate receptor agonists. *Brain Res* 610: 229-233. 1993
- 40) Le Poncin-Laffitte M, Martin P, Lespinasse P, Rapin JR. Inhibition of high-affinity glutamate transport in neuronal and glial cells by arachidonic acid and oxygen-free radicals: Molecular mechanisms and neuropathological relevance. *Renal Physiol Biochem* 17: 165-167. 1994
- 41) An SJ, Kim MK. Effect of dry powders, ethanol extracts and juices of radish and onion on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 34(5): 513-525. 2001
- 42) Schmerold I, Niedermuller H. Levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in cellular DNA from 12 tissues of young and old Sprague-Dawley rats. *Experimental Gerontology* 36: 1375-1386. 2001
- 43) Cooper AJL. Glutathione in the brain: disorders of glutathione metabolism. In: Rosenberg RN, Prusiner SB, DiMauro S, Barch RL, Klunk LM, editors. The molecular and genetic basis of neurological disease. Boston: Butterworth-Heinemann. Pp.1242-1245. 1997
- 44) Hazel JR, Williams EE. The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Prog Lipid Res* 29: 167-227. 1990
- 45) Benzi G, Moretti A. Are reactive oxygen species involved in Alzheimer's disease? *Neurological Aging* 16: 661-674. 1995
- 46) Dample B, Harrison L. Repair of oxidative damage to DNA: Enzymology and Biology. *Annu Rev Biochem* 63: 915-948. 1994
- 47) Focht SJ, Snyder BS, Beard JL, Van Gelder W, Williams LR, Connor JR. Regional distribution of iron, transferrin, ferritin, and oxidatively-modified proteins in young and aged Fisher 344 rat brains. *Neuroscience* 79: 255-261. 1997
- 48) Deshpande SS, Deshpande US, Salunke DK. Nutritional and health aspects. pp.361-469. In: Food antioxidants. Madhavi DL, Deshpande SS, & Salunkhe DK (eds). Marcel Dekker, Inc. New York. 1996
- 49) Noroozi M, Angerson WJ, Lean ME. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *Am J Clin Nutr* 67: 1210-1218. 1998
- 50) Pinero DJ, Li N-Q, Connor JR, Beard JL. Variations in dietary iron alter brain iron metabolism in developing rats. *J Nutr* 130: 254-263. 2000