

Chitosan-Ascorbate 함유 홍국이 고지방 식이 흰쥐의 혈청지질에 미치는 영향

신진기¹ · 이상일² · 권중호¹ · 김순동^{3*}

¹경북대학교 식품공학과, ²계명문화대학 식품영양조리과, ³대구가톨릭대학교 식품산업학부 식품공학전공

Effect of Beni-Koji with Chitosan-Ascorbate on Serum Lipid Profile of Rats Fed a High Fat Diet

Jin-Gi Shin¹, Sang-Il Lee², Jung-Ho Kwon¹ and Soon-Dong Kim^{3*}

¹Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²Dept. of Food Nutrition and Cookery, Keimyung College, Daegu 704-703, Korea

³Dept. of Food Science and Technology, Food Industrial Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

Abstract

Dietary effect of soyfiber beni-koji (SBK) with chitosan-ascorbate (CA) on the level of serum lipids in rats fed a high fat diet was investigated. The experimental groups which were divided into high fat diet control group(HC-group), 2% SBK+0.1% CA mixture diet group(CA1-group), 2% SBK+0.15% CA mixture diet group(CA2-group), and 2% SBK+0.2% CA mixture diet group (CA3-group) were fed for 4 weeks. Weight gains in CA2- and CA3-group were 5.3% and 9.5% lower than that of HC-group, respectively, while there was no significant difference in feed intakes, feed efficiency ratio and organs weight. Level of serum triglyceride in CA3-group was 21% lower than that of HC-group. Level of serum total cholesterol and LDL-cholesterol in CA2- and CA3-group were 22.1~22.7% and 58.6~64.3% lower than those of HC-group, respectively. Atherogenic index decreased with the higher level of CA. Level of lipid peroxide in CA3-group was 24% lower than that of HC-group, while there was no significant difference in GSH(Glutathione-S-transferase) content. O type activities of XOD(xanthine oxidase) in the treated groups were lower, especially the activity in CA3-group was 51.6% lower than that of HC-group. Also, O/T ratio of XOD was lower, showing 21.7~23.5% in treated groups and 34.0% in HC-group($p<0.05$). GST activities were 332.52 units in HC-group and 350.28~355.63 units in the treated groups, but there were no significant differences among them.

Key words : High fat diet, soyfiber beni-koji, chitosan-ascorbate, serum lipid profile.

서 론

Chitosan은 항균작용(Ghaouth *et al* 1992)을 비롯하여 체내 콜레스테롤 함량의 저하(Brown & Goldstein 1991) 및 혈청의 ACE 활성 저해에 따른 고혈압 치료 작용(Okuda *et al* 1997) 등 다양한 효과가 알려져 있다. 그러나 chitosan은 물이나 알코올에 용해되지 않고 묽은 포름산, 초산, 젖산, ascorbic acid와 같은 유기산이나 묽은 염산과 같은 무기산에 용해(Sanford PA 1988)되므로 그 용도가 제한되어 수용화에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다.

Chitosan의 수용화는 chitosan이 가지는 amino기가 염기로 작용하여 산과 염을 형성케 함으로서 가용화되는 것으로 알려져 있는데 고체상태로 만들기 위해서는 염 용액을 동결건

조하는 방법을 사용하고 있다(Sanford PA 1988). Chitosan을 구성하는 단당의 2번 탄소에 결합된 -NH₂기가 가지는 양이온에 결합되는 물질의 종류에 따라 다양한 생리활성(Knorr D 1984)을 지니기 때문에 chitosan염의 종류별에 따른 응용성 연구가 요구되고 있다.

Chitosan의 수용화와 기능성에 관한 연구의 일환으로 chitosan-ascorbate(CA)에 관한 연구가 아주 단편적으로 이루어지고 있는데 chitosan의 amino기에 dehydroascorbic acid를 반응(Schiff 반응)시킴으로써 얻어지며 체내에서 지질의 소화 흡수를 저해함으로써 비만을 예방하고, 비타민 C의 항산화능(Kanauchi *et al* 1995)과 chitosan의 안정성을 향상시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Zoldners *et al* 2005).

한편 홍국은 증자한 곡류에 *Monascus*속 곰팡이를 번식시킨 것으로 한국, 중국, 일본, 인도네시아 등 동아시아권 국가들에서 널리 이용되고 있으며, 홍국에 함유된 색소 성분 중 monascorubrin은 강한 항암 효과가 있는 것으로 알려져 있다

* Corresponding author : Soon-Dong Kim, Tel : +82-53-850-3216, Fax : +82-53-850-3216, E-mail : kimsd@cu.ac.kr

(Yasukawa *et al* 1996). 또한 홍국에 함유된 monacolin K, J 등은 체내에서 cholesterol의 생합성에 관여하는 HMG-Co A reductase를 저해함으로써 고 cholesterol 혈증에 효과가 인정되어 식품 및 의약품 소재로써 각광 받고 있다(Endo A 1980). 고체 홍국의 제조원료는 주로 쌀이 이용되고 있으나 Kim & Lee(2003)은 콩의 부산물인 비지를 이용하여 홍국을 제조하였으며 이의 식이가 닭고기와 계란의 콜레스테롤 함량을 감소시켰다고 하였다.

본 연구는 홍국의 cholesterol 저하 효과에 미치는 chitosan과 ascorbic acid를 반응시켜 얻은 수용성 chitosan-ascorbate (CA)의 영향을 검토하고자 콩으로부터 분리한 soyfiber에 *Monascus pilosus*를 번식시킨 홍국에 CA를 혼합한 사료를 조제하고, 이의 식이가 고지방 식이로 성장시킨 흰쥐의 혈청지질 함량에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

Soyfiber-홍국 제조용 콩은 2004년도 10월에 생산된 국내산 은하 콩(*Glycine max* Enha)을 사용하였으며, 키토산은 분자량 746 kDa(Gumhowhasung Co Ltd, Korea)의 것을 사용하였다.

2. Chitosan-ascorbate의 제조

Chitosan-ascorbate(CA)는 5% ascorbic acid 수용액 200 mL에 chitosan 10 g의 비율로 가하여 20℃에서 용해시킨 후 동결건조하여 분말 형태로 제조(Sanford PA 1988)하였다.

3. Soyfiber 홍국의 제조

Soyfiber 홍국(soyfiber beni-koji: SBK)은 Fig. 1(Kim & Lee 2003)에 따라 제조하였다. 즉, 콩을 상온에서 8시간 동안 수침한 후 원료콩 양에 대하여 10배량의 증류수를 가하여 ACE homogenizer(Nihonseki Kaisha Ltd, Japan)로 균질화 하였다. 균질화된 용액을 autoclave 속에 넣고 120℃에서 30분간 살균한 후 면포로 1차 여과하여 조 soyfiber를 얻었다. 이 soyfiber를 건조기에 넣어 수분함량이 25% 될 때까지 건조시킨 후 glucose를 소량의 증류수에 녹여 5% 되게 첨가하고 별도로 Mizutani 배지(glucose 5%, peptone 2%, KH_2PO_4 0.8%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, CH_3COOK 0.2%, NaCl 0.1%)에 *Monascus pilosus* KCCM 60084를 접종하여 10일간 배양한 종 배양액을 5% 되게 혼합하여 30℃에서 10일간 배양한 다음 60℃에서 충분히 건조하여 분말화 하였다.

4. 실험군 및 실험식이의 조제

실험군은 high fat diet control(HC), 2% soyfiber beni-koji

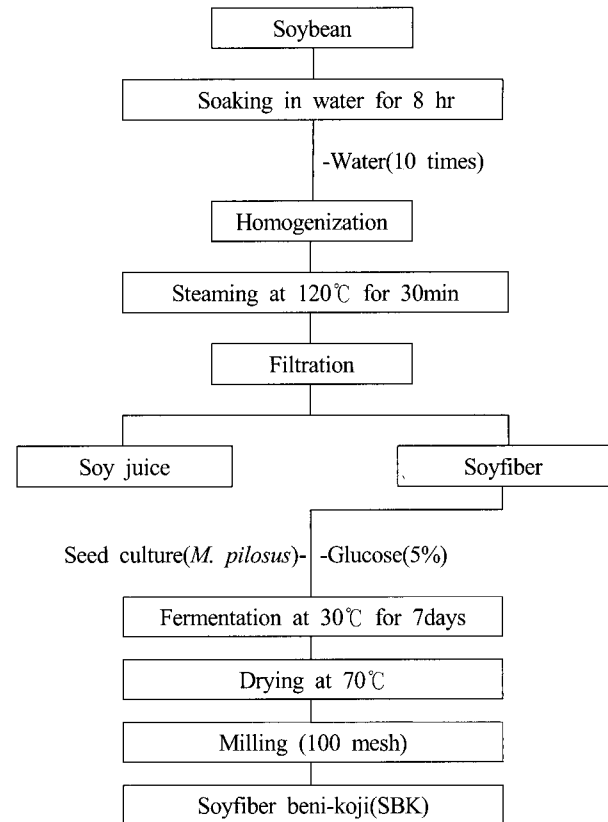


Fig. 1. Preparation procedure of soyfiber beni-koji.

와 0.1% chitosan-ascorbate를 혼합한 diet group(CA1), 2% soyfiber beni-koji와 0.15% chitosan-ascorbate를 혼합한 diet group(CA2) 및 2% soyfiber beni-koji와 0.2% chitosan-ascorbate를 혼합한 diet group(CA3) 등 4개군으로 구분하여 4주간 급여하였다. Soyfiber beni-koji(2%)와 chitosan-ascorbate(0.2%)의 농도는 예비실험의 결과를 참고로 하여 결정하였다. 기본 식이는 AIN-76A diet(Teklad, USA)를 기준으로 탄수화물 : 지질 : 단백질의 비를 60 : 25 : 15로 고지방 식이를 조제하였으며 choline bitartrate (ICN Biomedicals Inc, Germany), chromium potassium sulfate 및 ferric citrate(Kanto Chemical Co Inc, Japan), zinc carbonate(Yakuri Pure Chemicals Co Ltd., Japan), cellulose(Aldrich Chemical Co Inc, USA), casein(Dae Jung Chemicals & Metals Co Ltd, Korea), DL-methionine (Research Chemicals Ltd, Korea), corn starch (Dusan Corn Products Co Ltd, Korea), sucrose(Sam yang Co Ltd, Korea), corn oil(Jeiljedang, Co Ltd, Korea)을, mineral 및 vitamin mixture는 AIN-76A에 따라 조합하였다(Table 1).

5. 실험동물 및 사육방법

실험동물은 평균체중이 215±5.2 g 되는 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 각 실험군마다 10마리씩 총 40마리를 구입하여

실험에 사용하였다. 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료 (Purina Co, Seoul, Korea)로 1주간 예비사육한 후 4주간 실험식을 행하였다. 실험식사와 물은 자유 공급하였으며, 모든 실험군의 식이는 1주일에 한번씩 제조하여 4°C에 냉장보관하면서 매일 신선한 식이를 공급하였다. 사육장은 stainless steel 장을 사용하였고, 온도 및 습도는 23±2°C, 60±5%로 조정하였고, 명암은 6:00 Am~6:00 Pm으로 명암 사이클을 유지하였다.

6. 체중 증가량, 식이 섭취량, 음용수 섭취량, 식이효율 및 혈당 분석

체중, 식이 및 음용수 섭취량은 전 실험 기간을 통하여 매

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

Ingredients	HC ³⁾	CA1 ⁴⁾	CA2 ⁵⁾	CA3 ⁶⁾
Corn starch	300	300	300	300
Sucrose	240	240	240	240
Casein	142.5	142.5	142.5	142.5
DL-Methionine	3	3	3	3
Corn oil	87.5	87.5	87.5	87.5
Lard	150	150	150	150
AIN mineral mixture ¹⁾	35	35	35	35
AIN vitamin mixture ²⁾	10	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2	2
Cellulose	30	9	8.5	8
Soyfiber beni-koji	-	20	20	20
Chitosan-ascorbate	-	1	1.5	2
Total	1,000	1,000	1,000	1,000

¹⁾ AIN mineral mixture(g/kg): calcium lactate 620.0, sodium chloride 74.0, potassium phosphate di-basic 220.0, potassium sulfate 52.0, magnesium oxide 23.0, manganous carbonate 3.3, ferric citrate 6.0, zinc carbonate 1.0, cupric carbonate 0.2, potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 0.5, finely powdered to make 1,000 g.

²⁾ AIN vitamin mixture(mg/kg): thiamin-HCl 600, riboflavin 600, pyridoxine-HCl 700, nicotinic acid 3,000, D-calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, D-biotin 20, vitamin B₁₂ 2.5, vitamin A 400, 000 IU, vitamin D₃ 100,000 IU, vitamin E 7,500 IU, vitamin K 75, finely powdered to make 1,000 g.

³⁻⁵⁾ HC; high fat diet control, CA1; 2% soyfiber beni-koji with 0.1% chitosan-ascorbate diet group(CA), CA2; 2% soyfiber beni-koji with 0.15% chitosan-ascorbate diet group(CA), CA3; 0.2% soyfiber beni-koji with 10% chitosan-ascorbate diet group(CA).

일 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율(feed efficiency ratio, FER)은 같은 기간동안의 체중 증가량을 동일 기간의 식이 섭취량으로 나눈 값으로 하였다. 혈당은 매일 오전 10~12시에 꼬리 부위 혈관에서 란셋으로 채혈하여 Gluco-Tester(Life Scan Inc, USA)로 혈당을 측정하였다.

7. 분석시료의 채취 및 조제

물만 주고 금식시킨 실험동물을 ether 마취 하에서 복부 대동맥으로부터 채혈한 다음, 빙냉의 생리식염수로 간장을 관류하고 장기를 적출한 후 무게를 측정하였다. 적출한 간 조직 일정량에 4배량의 빙냉의 0.25 M sucrose 용액을 가해 마쇄한 다음 마쇄 균질액을 10,000 × g에서 30분간 원심분리하여 나온 postmitochondria 분획(PMF)을 효소 활성 측정에 이용하였다. 한편, 채취한 혈액은 실온에서 응고시킨 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 얻고 -70°C에 두면서 분석용 시료로 사용하였다. 분뇨는 매일 24시간 동안 수집하여 변의 색상, 무게, 무게를 측정하였다.

8. 혈청 지질의 분석

혈청중성지질, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 함량의 함량은 kit 시약(AM 157S-K, AM 202-K, AM 203-K, Asan-pharm Co, Korea)으로 측정하였으며, LDL-콜레스테롤 함량은 Fridwald *et al*(1972)의 방법에 따라 계산하였다.

9. 간 조직 Glutathione S-transferase, Xanthine Oxidase 및 혈청 Alanine Aminotransferase의 활성도 측정

Glutathione S-transferase(GST)의 활성은 Habig *et al*(1974)의 방법에 준해 0.1M phosphate 완충액 (pH 6.5) 일정량에 간 조직 효소액과 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 및 glutathione을 혼합하여 25°C에서 반응시킨 다음 파장 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하고 분자흡광계수($\epsilon=9.5M^{-1}cm^{-1}$)를 이용하여 conjugate의 생성량을 산정하였다. 효소활성 단위는 분당 단백질 1 mg이 생성시킨 thioether의 n mole로 나타내었다. Xanthine oxidase(XOD) 활성은 Stirpe *et al*(1969)의 방법에 준하여 0.1M phosphate 완충액(pH 7.4)에 효소용액과 기질인 xanthine 및 NAD⁺의 첨가 여부에 따라 총 및 O type 활성으로 구분하여 30°C에서 10분간 반응시키는 동안 생성된 uric acid를 파장 292 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소의 활성도는 간조직 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 기질로부터 생성된 uric acid의 n mole로 나타내었다. 단백질의 함량은 Lowry *et al*(1951)의 방법에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 정량하였다.

10. Glutathione 및 과산화지질 함량의 측정

Glutathione(GSH) 함량은 Ellman GL(1959)의 방법에 준해 간 조직 마쇄 균질액 일정량에 4% sulfosalicylic acid를 가해 제단백한 다음 상징액 일정량을 발색제인 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)와 혼합해 생성되는 thiophenol을 파장 412 nm에서 흡광도를 읽고 표준 검량선에 준해 그 함량을 산출하였다. 환원형 glutathione의 함량은 간 조직 g당 μ mole로 나타내었다. 과산화지질(LPO)의 함량은 Satho *et al*(1978)의 방법에 준해 간조직 마쇄액 일정량에 thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가해 boiling water bath 내에서 15분 동안 반응시킨 다음 냉각시켜 n-butanol을 혼합하여 n-butanol층으로 이행되는 홍색의 TBA-reactive substance를 532 nm에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수($\epsilon = 1.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 그 함량을 산출하였다. 과산화지질의 함량은 간조직 g당 n mole로 나타내었다.

11. 통계처리

모든 실험결과는 실험동물 10마리의 평균치와 표준편차로 나타내었으며, 유의성 검증은 SPSS(Statistical Package for

Social Sciences, Version 12.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) software package program을 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다.

결과 및 고찰

1. 체중, 증체량, 식이 섭취량, 식이효율, 배변량 및 장기중량

실험동물을 HC(고지방식이 대조군), CA1(0.1% CA 함유 2% 홍국식이군), CA2(0.15% CA 함유 2% 홍국식이군) 및 CA3(0.2% CA 함유 2% 홍국식이군)의 4개 군으로 나누어 4주간 식이 후의 체중, 증체량, 식이섭취량, 식이효율과 배변량 및 체중당 장기 중량을 조사한 결과는 Table 2 및 3과 같다.

실험기간(4주) 동안의 증체량은 통계학적인 차이는 보이지 않았으나 CA2군과 CA3군에서는 정상군에 비하여 각각 5.3% 및 9.5%가 감소되었다. 각 실험군간의 식이섭취량과 식이효율은 유의차가 없었다. 배변량도 유의적인 차이는 보이지 않으나 CA의 첨가율이 높아질수록 증가하는 경향을 보였다.

Table 2. Changes in body weight, weight gain, FER and amounts of feces of rat during feeding of 2% soyfiber beni-koji with different chitosan-ascorbate

Parameters	HC ¹⁾	CA1 ²⁾	CA2 ³⁾	CA3 ⁴⁾
Initial body weight(g)	234.8 ± 8.5 ^a	231.5 ± 5.3 ^a	230.1 ± 5.6 ^a	233.5 ± 8.1 ^a
Final body weight(g)	423.9 ± 32.2 ^a	420.5 ± 19.3 ^a	409.2 ± 24.2 ^a	404.5 ± 35.9 ^a
Weight gain	47.3 ± 5.4 ^a	47.3 ± 4.8 ^a	44.8 ± 6.8 ^a	42.8 ± 4.4 ^a
Feed intakes(g/week)	155.8 ± 5.1 ^a	158.0 ± 2.8 ^a	150.1 ± 4.3 ^a	154.0 ± 4.2 ^a
FER ⁵⁾	0.30 ± 0.10 ^a	0.30 ± 0.08 ^a	0.30 ± 0.12 ^a	0.28 ± 0.06 ^a
Feces(g/week)	8.20 ± 0.08 ^a	8.31 ± 0.04 ^a	8.44 ± 0.10 ^a	8.65 ± 0.05 ^a

¹⁻⁴⁾ Abbreviations : See Table 1.

⁵⁾ Feed efficiency ratio : weight gain/feed intakes.

⁶⁾ Values are mean±SD of 10 rats, different superscripts within a row(a~d) indicate significant difference at $p < 0.05$.

Table 3. Organs weight of rat fed for 4 weeks with 2% soyfiber beni-koji with different chitosan-ascorbate

Organs	HC ¹⁾	CA1 ²⁾	CA2 ³⁾	CA3 ⁴⁾
Liver weight/BW(%)	2.45 ± 0.32 ^a	2.39 ± 0.19 ^a	2.32 ± 0.26 ^a	2.30 ± 0.16 ^a
Kidney weight/BW(%)	0.67 ± 0.08 ^a	0.63 ± 0.05 ^a	0.61 ± 0.03 ^a	0.60 ± 0.03 ^a
Heart weight/BW(%)	0.32 ± 0.02 ^a	0.32 ± 0.04 ^a	0.32 ± 0.02 ^a	0.31 ± 0.02 ^a
Testicle weight/BW(%)	0.74 ± 0.06 ^a	0.72 ± 0.07 ^a	0.72 ± 0.03 ^a	0.73 ± 0.05 ^a
Spleen weight/BW(%)	0.17 ± 0.02 ^a	0.16 ± 0.02 ^a	0.16 ± 0.03 ^a	0.15 ± 0.03 ^a

¹⁻⁴⁾ Abbreviations : See Table 1.

⁵⁾ Values are mean±SD of 10 rats, different letters within a row(a) indicates significantly different at $p < 0.05$.

고지방식이로 4주간 식이한 후의 장기중량을 체중 대비 %로 환산하였을 때, 각 실험군의 장기중량은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

이상에서 CA의 첨가량을 증가시킴으로서 식이섭취량과 체중당 장기중량의 변동 없이 식이효율과 체중이 감소하는 것으로 보아 CA 함유 홍국의 첨가 식이에 의해 체내 장기의 독성이나 손상 없이 비만을 예방할 수 있는 효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각되며, 또한 CA의 첨가량이 증가할수록 배변량이 증가되는 것은 chitosan-ascorbate가 지질 등을 흡착한다는 보고(Kanauchi *et al* 1995) 등을 고려해 볼 때, 소화관 내의 잔류성 노폐물이 함께 배설되어 나타난 결과로 사료된다.

2 혈당 및 혈청 지질 함량

각 실험군의 혈당과 혈청 지질 함량을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 혈당은 109.0~119.4 mg/dL로 유의적인 차이를 보이지 않으면서 정상치 범위로 나타났으나, 혈청 중성 지질의 함량은 CA1 및 CA2군은 정상군과 유의차는 없으나 CA의 첨가량이 높아짐에 따라 CA3군에서는 정상군보다 21% 정도 감소하였다. CA2군과 CA3군의 total cholesterol 함량은 정상군보다 22.1~22.7% 정도, LDL-cholesterol 함량은 58.6~ 64.3% 정도 감소하였다. HDL-cholesterol 함량은 각 실험군간의 유의차는 없으나 CA의 첨가량이 높아짐에 따라 증가하는 경향을 보였다. 동맥경화지수는 NC 0.38, CA1군 0.33, CA2군 0.20, CA3군 0.18로 CA 첨가율을 증가시킴에 따라 감소하였다.

본 실험의 결과는 키토산(Brown & Goldstein 1991)과 홍국이 체내 콜레스테롤의 함량을 저하시킨다는 보고(Endo A 1980)와 chitosan-ascorbate가 지질을 흡착 배설함으로써 체내 흡수를 저해한다는 보고(Kanauchi *et al* 1995)를 고려해 볼 때, CA 함유 홍국 성분이 소화관에서 지질의 흡수를 억

제시킬 뿐만 아니라 체내의 콜레스테롤 합성도 저하시켜 나타난 결과로 생각되며 또한 고지혈증과 비만 등에 의해 발생할 수 있는 제2형 당뇨의 예방에도 유효할 것으로 사료된다.

3. 간조직의 GSH 및 LPO 함량과 효소 활성 변화

고지방식이로 4주간 사육한 흰쥐 간조직의 GSH 및 LPO의 함량과 XOD 및 GST 활성도를 측정된 결과는 Table 5와 같다. 각 실험군의 GSH 함량은 정상군과의 유의적 차이를 보이지 않았으나 LPO의 함량은 실험군에서 낮은 경향을 보였으며 특히, CA3군은 정상군 보다 24% 정도 감소하였다. XOD 활성도는 각 실험군이 정상군보다 유의적으로 낮은 값을 나타내었고 각 실험군간의 유의성은 없었다. O type의 활성도 정상군에 비하여 실험군이 낮은 활성을 나타내었으며 특히 CA3군이 정상군보다 51.6% 정도 낮았다. XOD의 O/T(%)도 정상군 34.0%에 비하여 실험군에서는 21.7~23.5% 정도로 유의적으로 낮았다($p<0.05$).

GST 활성도는 정상군에서는 332.52 units로 나타났으나 각 실험군에서는 350.28~355.63 units로 증가하는 경향을 나타내었다.

GSH는 superoxide dismutase에 의하여 superoxide radical이 환원되어 생성된 H_2O_2 를 glutathione peroxidase와 함께 H_2O 로 전환시키는 물질로 알려져 있으며(Sara & Terezinha 2005, Hausburg *et al* 2005), LPO는 산화적 스트레스의 증가와 더불어 항산화력 감소에 의해 생성되는 물질(Vladislav *et al* 2005)로 알려져 있다. 그리고 XOD는 purine, pyrimidine, aldehyde류 및 heterocyclic 화합물의 대사에 관여하는 비특이적 효소로서 생체 내에는 주로 purine체인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 산화시켜 요산을 생성하는 반응에 관여하는 효소로 정상 조직세포 내에서는 NAD^+ 를 전

Table 4. Content of blood sugar, triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol in serum, and atherogenic index of the rat fed for 4 weeks with 2% soyfiber beni-koji with different chitosan-ascorbate

Measurements	HC ¹⁾	CA1 ²⁾	CA2 ³⁾	CA3 ⁴⁾
Blood glucose(mg/dL)	112.8 ± 11.5 ^{a7)}	109.0 ± 10.6 ^a	115.4 ± 7.5 ^a	119.4 ± 12.5 ^a
Triglyceride(mg/dL)	101.8 ± 11.0 ^a	97.3 ± 5.2 ^a	95.3 ± 6.8 ^a	80.4 ± 4.7 ^b
Total-cholesterol(mg/dL)	127.0 ± 13.9 ^a	117.4 ± 9.0 ^a	98.9 ± 9.1 ^b	98.1 ± 7.3 ^b
HDL-cholesterol(mg/dL)	57.4 ± 7.7 ^a	58.1 ± 8.1 ^a	59.4 ± 4.7 ^a	64.4 ± 2.0 ^a
LDL-cholesterol(mg/dL) ⁵⁾	49.3 ± 12.8 ^a	39.8 ± 13.4 ^{ab}	20.4 ± 8.7 ^{bc}	17.6 ± 5.6 ^c
Atherogenic index ⁶⁾	0.38 ± 0.07 ^a	0.33 ± 0.09 ^{ab}	0.20 ± 0.07 ^{bc}	0.18 ± 0.05 ^c

¹⁻⁴⁾ Abbreviations : See Table 1.

⁵⁾ LDL-cholesterol= Total cholesterol-HDL-cholesterol-(TG/5).

⁶⁾ LDL-cholesterol/HDL-cholesterol.

⁷⁾ Values are mean±SD of 10 rats, different letters within a row(a~c) indicates significantly different at $p<0.05$.

Table 5. Effect of hepatic glutathione, lipid peroxide and activities of xanthine oxidase and glutathione S-transferase in rats fed for 4 weeks

Groups ¹⁾	GSH ²⁾ (μ mole/g)	LPO ³⁾ (μ mole/g)	XOD ⁴⁾ (uric acid nmole/mg-protein/min)			GST ⁵⁾ (thioether nmole/mg-protein/min)
			Total	O type	O/T (%)	
HC	4.83 \pm 0.64 ^{a6)}	15.04 \pm 2.06 ^a	5.47 \pm 0.37 ^a	1.86 \pm 0.12 ^a	34.0 \pm 2.6 ^a	332.52 \pm 34.30 ^a
CA1	4.71 \pm 0.68 ^a	13.30 \pm 1.32 ^{ab}	4.80 \pm 0.35 ^b	1.13 \pm 0.09 ^b	23.5 \pm 1.8 ^b	350.28 \pm 37.42 ^a
CA2	4.75 \pm 0.70 ^a	12.12 \pm 1.95 ^{ab}	4.42 \pm 0.28 ^b	1.01 \pm 0.10 ^{bc}	22.9 \pm 1.6 ^b	352.97 \pm 28.47 ^a
CA3	4.78 \pm 0.65 ^a	11.38 \pm 1.24 ^b	4.15 \pm 0.34 ^b	0.90 \pm 0.12 ^c	21.7 \pm 3.2 ^b	355.63 \pm 32.45 ^a

1) Abbreviations : See Table 1.

2~5) Abbreviations: GSH; glutathione in hepatic tissue, LPO; lipid peroxidase, XOD; xanthine oxidase.

6) Values are means \pm SD of 10 rats, different superscripts within a column(a~b) indicate significant difference($p < 0.05$).

자 수용체로 이용(Stirpe & Della Corte 1969, Yoon & Huh 1989)하지만 병태생리적인 조건하에서는 O₂를 전자수용체로 이용함으로써 조직의 손상 및 대사성 질환과 관련된 superoxide를 생성하는 O type으로 전환된다고 알려져 있다(Parks & Granger 1986, Roy & McCord 1982). 그러므로 XOD의 O type 활성과 O/T ratio(%)가 증가할 경우 superoxide와 같은 활성산소종의 과잉 생성으로 인하여 조직의 손상이 초래되는 것으로 보고되고 있다(Lebovitz & Siegel 1980, Lee F 1991). 한편, GST는 조직 내 친전자성 독성물질뿐만 아니라 과산화 지질의 제거에도 관여(Hashim *et al* 2005)하는 것으로 알려져 있다.

본 실험에서 CA 함유 홍국을 식이한 실험군에서 XOD의 O type 활성과 O/T ratio의 감소 현상이 나타난 것은 CA 함유 홍국 성분의 항산화력(Tsujikawa *et al* 2003)에 의해 XOD의 -SH group이 보호된 결과로 사료되며 이로 인하여 활성산소종의 생성이 억제됨으로서 과산화 지질의 생성량도 감소되어 조직의 손상뿐만 아니라 당뇨병, 고혈압 및 동맥경화증 등과 같은 생활 습관병의 예방이나 치료 효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각된다.

요약 및 결론

Chitosan-ascorbate(CA)를 함유하는 soyfiber beni-koji(SBK)의 식이가 고 지질 식이를 급여한 흰쥐의 혈청 지질 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 실험군은 HC군(고지방식이 대조군), CA1군(2% SBK와 0.1% CA 혼합식이군), CA2군(2% SBK와 0.15% CA 혼합식이군) 및 CA3군(2% SBK와 0.2% CA 혼합식이군)의 4개 군으로 나누어 4주간 식이하였다. 그 결과 CA2군과 CA3군은 HC군에 비하여 증체량이 각각 5.3% 및 9.5%가 감소하였으며, 식이섭취량과 식이효율은 유의차

가 없었다. 장기중량 및 혈당은 유의성이 없었다. 혈청 중성지질의 함량은 CA3군이 HC군보다 21%가 감소하였으며 CA의 첨가량이 높아짐에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. CA2군과 CA3군의 total cholesterol 함량은 HC군보다 22.1~22.7%가, LDL-cholesterol 함량은 58.6~64.3%가 감소하였다. 동맥경화지수는 CA의 첨가율이 높아질수록 감소하였다. 각 실험군의 GSH 함량은 HC군과의 유의적 차이를 보이지 않았으나 LPO의 함량은 특히, CA3군이 HC군보다 24%가 감소하였다. XOD의 O type의 활성도 HC군에 비하여 처리군이 낮은 값을 나타내었으며 특히 CA3군은 HC군보다 51.6%가 낮았다. XOD의 O/T(%)도 HC군의 34.0%에 비하여 처리군에서는 21.7~23.5%로 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). GST 활성도는 HC군에서는 332.52 units로 나타났으나 처리군에서는 350.28~355.63 units로 평균값은 처리군에서 높았으나 유의성은 없었다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지정 대구가톨릭대학교 해양바이오 산업연구센터의 지원에 의한 것입니다.

문헌

- Brown MS, Goldstein JL (1991) Drugs used in the treatment of hyperlipoproteinemias in the Pharmacological Basis of Therapeutics(Gilman AG *et al* ed). Pergamon Press New York. p 888.
- Ellman GL (1959) Tissue sulfhydryl group. ABB 82: 70-77.
- Endo A (1980) Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent that specifically inhibits 3-hydroxy- 3-methylglutaryl coen-

- zyme A reductase. *J Antibiotics* XXXIII: 334-336.
- Fridwald WT, Levy RI, Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of the low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* 18: 499-502.
- Ghaouth AE, Arul J, Grentier J, Asslin A (1992) Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. *Phytopathol* 82: 398-402.
- Habig WH, Pabist MJ, Jakoby WB (1974) Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139.
- Hashim MS, Lincy S, Remya V, Teena M, Anila L (2005) Effect of polyphenolic compounds from *Coriandrum sativum* on H₂O₂-induced oxidative stress in human lymphocytes. *Food Chem* 92: 653-660.
- Hausburg MA, Dekrey GK, Salmen JJ, Palic MR, Gardiner CS (2005) Effects of paraquat on development of preimplantation embryos *in vivo* and *in vitro*. *Reproductive Toxicology* 20: 239-246.
- Kanauchi O, Deuchi K, Imasato Y, Shizukuishi M, Kobayashi E (1995) Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect ascorbate. *Biosci Biotech Biochem* 59: 786-790.
- Kim SD, Lee CG (2003) Preparation method of hen feeds using soyfiber beni-koji with abundant monacolin. *Korean Patent No* 0403565.
- Lebovitz BE, Siegel BV (1980) Aspects of free radical reactions in biological systems. *Aging J Gerontol* 35: 45-56.
- Lee F (1991) Developmental aspects of experimental pulmonary oxygen toxicity. *Free Rad Biol* 11: 463-494.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RL (1951) Protein measurement by folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Okuda H, Kato H, Takahiro Tsujita T (1997) Antihypertensive and antihyperlipemic actions of chitosan. *J Chitin Chitosan* 2: 49-59.
- Parks DA, Granger DN (1986) Xanthine oxidase: Biochemistry, distribution and physiology. *Acta Physiol Scand Suppl* 548: 87-99.
- Roy R, McCord JM (1982) Ischemia-induced conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. *Fed Proc* 41: 767-773.
- Sanford PA (1988) Chitosan, commercial uses and potential applications. Proc. the 4th Inter Conf. on chito/chitosan held in Trondheim, Norway, p 51-69.
- Sara CG, Terezinha D (2005) Oxidative stress in alcohol-induced rat parotid sialadenosis. *Archives of Oral Biology* 50: 661-668.
- Satho K (1978) Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 90: 37-43.
- Stirpe F, Della Corte E (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3860.
- Tsujikawa T, Kanauchi O, Andoh A, Saotome T, Sasaki M, Fujiyama Y, Bamba T (2003) Supplement of a chitosan and ascorbic acid mixture for crohn's disease: A pilot study. *Nutr* 19: 137-139.
- Vladislav E, Dana K, Monika B (2004) The effect of curcumin on cadmium-induced oxidative damage and trace elements level in the liver of rats and mice. *Toxicology Letters* 151: 79-85.
- Yasukawa K, Takahashi M, Yamanouchi S, Takido M (1996) Inhibitory effect of oral administration of *Monascus* pigment on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Oncology* 53: 247-249.
- Yoon CG, Huh K (1989) Effect of carbon tetrachloride intoxication on the type conversion of xanthine dehydrogenase into xanthine oxidase in rats. *Arch Pharm Res* 10: 36-41.
- Zoldners J, Kiseleva T, Kaiminsh I (2005) Influence of ascorbic acid on the stability of chitosan solutions. *Carbohydrate Polymers* 60: 215-218.

(2005년 8월 20일 접수, 2005년 10월 11일 채택)