

## 키토산-아스코베이트 첨가 물김치의 고콜레스테롤 식이 흰쥐 간 조직에 대한 항산화효과

백경연<sup>1</sup> · 김미정<sup>2</sup> · 김소자<sup>3</sup> · 양재호<sup>4</sup> · 김순동<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>대구가톨릭대학교 식품외식산업학부 식품공학전공

<sup>2</sup>신성대학교호텔식품계열

<sup>3</sup>안동가톨릭상지대학

<sup>4</sup>대구가톨릭대학교 해양바이오산업연구센터

Antioxidant Effect of Mul-kimchi on Hepatic Tissue of Rats Fed with High Cholesterol Diet. Kyung-Yeun Beik<sup>1</sup>, Mee-Jung Kim<sup>2</sup>, So-Ja Kim<sup>3</sup>, Jae-Ho Yang<sup>4</sup> and Soon-Dong Kim<sup>1\*</sup>. <sup>1</sup>Department of Food Science and Technology of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea, <sup>2</sup>Department of Hotel Food Shinsung College, Jungminyun, Dangjingu Choongnam 343-860, Korea. <sup>3</sup>Department of Food and Nutrition of Catholic Sang-Ji College, Andong 393-080, Korea. <sup>4</sup>Marine Biotechnology Research Center, Gyungsan 712-702, Korea

**Abstract** This study was to investigate the effect of 0.1% chitosan-ascorbate (CA) prepared with different molecular weight (223, 746, 1,110 and 2,025 kDa) of chitosan on the changes in antioxidant activity of mul-kimchi during storage at 10°C for 20 days. Animal experiments were divided to 5 groups; normal control group (NC), high cholesterol diet group (HC), high cholesterol diet mul-kimchi diet group (HCKC), high cholesterol diet and CA2025 containing mul-kimchi administrated group (HCCA), and high cholesterol diet and 1/2 concentrated CA containing mul-kimchi administrated group (HC2CA). Mul-kimchi juice was administered 0.5 mL per 100 g body weight once a day and fed for 5 weeks. Electron donating activity of the 20 days-stored mul-kimchi with 0.1% CA showed higher activity (84.74~89.13%) than those of control and ascorbic acid mul-kimchi (35.04 and 75.04%). Superoxide dismutase activities of the kimchijuice with CA were higher in the higher molecular of chitosan. In the animal experiments, the average body weight of the HCCA and HC2CA group were lower 6.9% and 8.4% than that of HC control group, respectively. Hepatic glutathione content in HCCA and HC2CA group was increased 22.5% and 9.1% as compared to HC group. Hepatic glutathione S-transferase activities were significantly increased in the HCCA (219.9%) and HC2CA group (153.8%) compared to NC group. Hepatic superoxide dismutase activity was highest in the HCCA group, and the activities in CA groups were higher than those of NC and HC group.

**Key words** : Chitosan-ascorbate, mul-kimchi, antioxidant activity, hepatic tissue.

## 서 론

서구화된 식생활로 지질섭취량이 증가하면서 비만이나 만성퇴행성 질환의 발병율이 급증하고 있다. 만성퇴행성 질환들은 생체 내 산화적 스트레스에 의한 과산화 지질의 양을 높이는 것으로 알려져 있다

[2,28]. 특히, 생체막 과산화지질의 증가는 세포에 산화적 손상을 주어 조직의 정상적인 생리적 기능을 저하시킴으로써 동맥경화, 당뇨병, 고혈압, 심장병, 악성종양, 간 질환 등을 동반하게 되는 동시에 노화 와도 깊은 상관관계가 있다 [25,33]. 조직의 산화적 손상은 체내에 과잉의 자유라디칼이 축적될 때에 일

\* Corresponding author

Phone: +82-53-850-3216, Fax: +82-53-850-3216

E-mail: kimsd@cu.ac.kr

어나며 정상적인 생리상태에서는 자유라디칼의 제거체인 항산화 방어계와 생성계가 균형을 이룸으로써 자유라디칼의 제거가 원만하게 이루어지게 된다 [1,7,12]. 그러나 산화적 스트레스나 기타 여러 가지 요인에 의해 항산화 방어계와 생성계 사이에 균형이 깨뜨려지게 되면 자유라디칼의 생성이 촉진되면서 조직은 과산화적 손상을 입게 된다 [22]. 고지방 또는 고콜레스테롤의 섭취도 조직의 산화적 손상을 초래하거나 촉진되는 것으로 알려져 있다 [27,35]. 항산화 방어계를 강화시킴으로서 고콜레스테롤 상태에서 나타나는 산화적 스트레스의 방어가 가능하다는 사실이 알려지면서 천연소재를 중심으로 항산화 기능성 탐색 연구가 활발히 이루어지고 있다 [6,16,30]. 그 중에서도 키토산은 면역부활작용, 콜레스테롤 저하작용, 동맥경화의 예방 및 식이섬유가 갖는 생리적 기능이 보고되고 있으나 물이나 알코올에는 용해되지 않으며, 유·무기산과 염을 형성하여 용해되거나 높은 점성과 신맛 또는 떼은맛이 강하여 사용 가능한 식품의 수가 제한되어 있다 [29].

Chitosan-ascorbate(CA)는 chitosan의 amino기와 ascorbic acid가 Schiff 반응에 의하여 생성된 염 [26]으로 이에 관한 연구는 부분적으로 이루어지고 있으며, 체내에서 단백질 대사에는 영향을 주지 않으면서 지질을 흡착하여 배설시킴으로서 비만예방효과가 있다 [13]. 또한 chitosan은 ascorbic acid의 안정성 향상 [36]과 체내 콜레스테롤 저하효과 [4]가 있으나 이의 활용에 관한 연구는 매우 부족하다.

한편, 전통발효식품인 물김치는 열무물김치, 배추물김치(백김치), 나박물김치 등이 있으며, 각각 주재료로 열무, 절임배추, 얇게 썬 무 및 양념류(마늘, 생강, 풋고추 또는 홍고추 등)에 2% 정도의 소금물을 가하여 숙성시킨 김치로 재료로부터 우리나라 다양한 영양성분과 발효 중에 생성된 유기산을 비롯한 발효산물과 다양한 효소류가 녹아 있으며 시원한 맛을 띠는 전통음료이다 [5]. 따라서, 전보 [32]에서는 보존성이 높은 항콜레스테롤의 물김치 음료를 제조할 목적으로 분자량이 다른 키토산으로 제조한 chitosan-ascorbate (CA)가 물김치의 품질특성과 고 콜레스테롤 식이 흰쥐의 혈청 지질에 미치는 영향을 조사한 결과, 혈청지질을 개선하는 효과가 현저하였다. 본 연구에서는 이러한 효과가 CA 첨가 물김치의 항산화 작용에 기인하는지를 조사함과 동시에 고콜

레스테롤 식이 흰쥐 간 조직의 항산화 효과에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

김치 국물은 증류수를 사용하였으며, 담금재료로 배추(*Brassica campestris* var. *pekinensis* cv. Galacsin No. 1), 무, 대파, 마늘, 생강, 홍고추 및 소금(천일염)을 사용하였으며, chitosan(Kitto Life Co., Seoul, Korea)은 분자량 223, 746, 1,110 및 2,025 kDa을 사용하였으며, ascorbic acid는 L-form (Sigma-Aldrich Co., Saint Louis, Missouri, USA)을, 물은 증류수를 사용하였다.

### Chitosan-ascorbate의 제조

Chitosan-ascorbate(CA)의 제조는 각 분자량별 chitosan 1 g씩을 vortex 상에서 0.2%의 ascorbic acid 용액 1 L에 가하여 실온에서 1시간동안 반응하여 조제하였다.

### 물김치 제조와 저장

물김치의 제조는 사용한 용수에 따라 증류수(C1), 0.2%의 ascorbic acid 용액(C2), 223 KDa의 CA용액(CA223), 746 KDa의 CA용액(CA746), 1110 KDa의 CA용액(CA1110) 및 2025 KDa의 CA용액(CA2025)으로 구분하였다(Table 1). 배추는 4 × 4 cm 크기로 썰고, 무는 3 mm × 4 × 4 cm의 크기로 썰어 재료무게의 7%가 되게 소금을 직접 뿌려 25°C에서 2시간동안 절인 후 1시간 동안 물기를 제거시킨 후 사용하였다. 홍고추는 씨를 빼고 대파와 함께 4~5 mm 두께로 어슷썰기를 하였으며, 생강과 마늘은 1 mm 두께로 얇게 썰어 넣었다. 물김치의 담금은 1 L들이 유리병에 3 반복으로 담금하여 10°C에서 20일간 저장하였다. 최종염도는 담금 3시간 후 Salinity Refractometer (Nippon Optical Works Co. Tokyo, Japan)를 사용하여 2%되게 조정하였다.

### 항산화능

물김치의 전자공여능(electron donating ability, EDA)은 Blois [3]의 방법에 따라 물김치 주스 0.2 mL에  $4 \times 10^{-4}$  M DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)용액

**Table 1.** Composition of materials and experimental plots ( g )

Materials	C1	C2	Mul-kimchi with chitosan-ascorbate <sup>1)</sup>			
			CA223	CA746	CA1110	CA2025
Salted chinese cabbage	87	87	87	87	87	87
Salted radish	50	50	50	50	50	50
Green onion	3	3	3	3	3	3
Garlic	5	5	5	5	5	5
Ginger	3	3	3	3	3	3
Fresh red pepper	2	2	2	2	2	2
CA solution <sup>1)</sup>	-	-	500	500	500	500
Ascorbic acid solution(0.2%)	-	500	-	-	-	-
Distilled water	500	-	-	-	-	-
Final salinity (%)	2	2	2	2	2	2

<sup>1)</sup>CA(chitosan-ascorbate, CAs: CA-223, CA-746, CA-1110 and CA-2025) were prepared by reaction of 1 g chitosan with different molecular weight(223, 746, 1110 and 2025 kDa) and 1 L of 0.2% ascorbic acid solution.

0.8 mL를 가하여 10초간 진탕한 후 상온에서 10분간 방치 후 525nm에서 흡광도를 측정하여 계산식,  $\text{electron donating ability}(\%) = 1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도}) \times 100$ 에 의하여 산출하였다. Superoxide dismutase(SOD)활성의 측정은 Marklund와 Marklund [23]의 방법에 따라 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris [hydroxy methyl]aminomethane+10 mM EDTA) 3mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치 후 1N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여  $100 - [(\text{시료첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도}) \times 100]$ 의 계산식에 의하여 산출하였다.

### 동물실험

실험동물은 150±10 g의 Sprague-Dawley계의 수컷 흰쥐를 고형사료로 1주일간 적응시킨 후 고콜레스테롤 식이로 5주간 급여하였다. 실험군은 정상식이군(NC), 고콜레스테롤 식이군(HC), 고콜레스테롤 식이 김치국물 투여군(HCKC), 고콜레스테롤 식이 CA 함유 김치국물 투여군(HCCA), 고콜레스테롤 식이 CA-2025 1/2 농축액 투여군(HC2CA)으로 구분, 각 군당 10마리씩 난괴법으로 분리하여 wire bottomed cage에 넣어 개별 사육하였다. 실험식이 조성은 Table 2와 같으며, 김치국물은 0.5 mL/100 g-body weight씩 경구 투여하였으며, NC군은 증류수를 0.5 mL/100 g-body weight로 경구 투여하였다. 사육실의 온도는 22±2°C, 명암은 12시간 주기로 일정하게 유

지시켰고, 물과 식이는 자유롭게 섭취케 하였다.

### 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

식이섭취량과 체중증가량은 매일 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율은 일정 실험기간의 체중 증가량(g)을 일정 실험기간의 식이섭취량(g)으로 나눈 값으로 나타내었다.

### 간조직 postmitochondrial fraction의 제조

실험동물을 ether 마취 하에서 복부 정중선을 따라 개방한 후 하대정맥으로부터 혈액을 채취하고, 병냉의 생리식염수로 간장을 관류한 다음 장기를 적출하였다. 적출한 간장은 여과지로 가능한 한 물기를 제거하여 중량을 측정한 다음 간 조직 1 g당 4배량의 0.25 M sucrose를 가하여 Polytron homogenizer (PT-1200C, Kinematica AG, Littau, Switzer land)로 균질화하였다. 마쇄균질액을 10,000×g에서 30분간 원심분리하여 postmitochondrial 획분(PMF)(Fig. 1)을 얻어 분석용시료로 활용하였다.

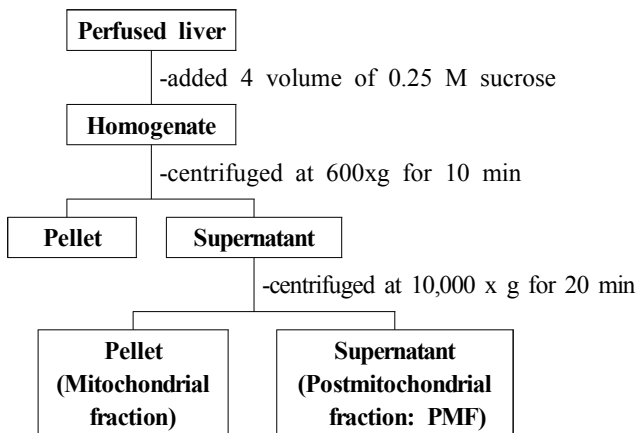
### 간 조직 중의 GSH 함량, GST 및 SOD활성

효소원은 PMF를 사용하였다. Glutathione의 함량은 Ellman [8]의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 균질액에 4% sulfosalicylic acid를 가한 후 2500 rpm에서 10분동안 원심분리한 뒤 상층액을 취하고, 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 8.0)에 10 mM 농도로 5,5'-dithio bis(2-nitrobenzoic acid)를 용해시킨 용액을 가하여 반응시킨 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였으

**Table 2.** Composition of experimental diet (g/100 g of rat)

Ingredients	Experimental groups <sup>1)</sup>				
	NC	HC	HCKC	HCCA	HC2CA
Corn starch	15.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Sucrose	50.00	48.75	48.75	48.75	48.75
Cellulose	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Casein	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Corn oil	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Lard	-	5.00	5.00	5.00	5.00
DL-methionine	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Vitamin mix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Mineral mix	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50
choline bitartrate	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Cholesterol	-	1.00	1.00	1.00	1.00
Sodium cholate	-	0.25	0.25	0.25	0.25
Distilled water(mL/100 g of rat)	0.50	0.50	-	-	-
Mul-kimchi juice(mL/100 g of rat)	-	-	0.50	-	-
Mul-kimchi juice with CA-2025(mL/100 g of rat)	-	-	-	0.50	-
Mul-kimchi juice with 2CA-2025(mL/100 g of rat)	-	-	-	-	0.50

<sup>1)</sup>Abbreviation: NC; normal control, HC; high cholesterol diets, HCKC; high cholesterol diets with mul-kimchi juice administration, HCCA; high cholesterol diets with CA2025 containing mul-kimchi juice administration, HC2CA; high cholesterol diets with 1/2 concentrated CA2025 administration.



**Fig. 1.** Preparation procedure of subcellular fraction from hepatic tissue of rat.

며, 함량은 표준품 glutathione (Sigma-Aldrich Co., Saint Louis, Missouri, USA)의 검량선에 의하여 산출하여  $\mu\text{mole/g}$ 으로 나타내었다.

Glutathione S-transferase (GST) 활성은 Habig 등 [10]의 방법에 따라 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.5), 1 mM glutathione, 1 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 및 간 균질액을 혼합한 후 25°C에서 10분 동안 incubation한 후 20% trichloroacetic acid로 반응을 정지시켜 340 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Superoxide dismutase (SOD) 활성은 Martin [24]의

방법에 따라 hematoxylin의 산화를 억제하는 정도를 560 nm에서 측정하고 단백질 mg당 hematoxylin의 산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 나타내었다. 단백질함량은 Lowry 법 [21]에 의하여 측정하였다.

### 통계처리

동물실험 결과는 실험동물 10마리의 평균치와 표준편차로 나타내었으며, 그 외 모든 결과는 3반복으로 실험하여 평균치와 표준편차로 나타내었다. 유의성 검증은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package program을 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다.

### 결과 및 고찰

#### 물김치의 항산화능

분자량별 chitosan으로 제조한 CA를 0.1% 첨가하여 담근 물김치를 10°C에서 20일간 저장하는 동안 전자공여능 (Table 3) 및 SOD활성 (Table 4)을 측정하였다. 담금일의 전자공여능은 증류수 물김치(C1)에서 45.9%, 0.2% ascorbic acid 물김치 및 CA 첨가 물김치 각각 88.1~92.7%의 높은 활성을 보였으나, 20일이 경

**Table 3.** Changes in electron donating ability of the mul-kimchi during fermentation at 10°C

Samples <sup>1)</sup>	Fermentation periods (day)		
	0	10	20
C1	45.87±0.62 <sup>ca2)</sup>	42.10±1.63 <sup>dB</sup>	35.04±0.13 <sup>dC</sup>
C2	89.77±0.73 <sup>bcA</sup>	82.04±0.11 <sup>cB</sup>	75.04±0.51 <sup>cC</sup>
CA223	92.72±0.24 <sup>aA</sup>	90.94±0.53 <sup>aB</sup>	89.13±0.81 <sup>aC</sup>
CA746	90.72±0.19 <sup>bA</sup>	87.59±0.20 <sup>bB</sup>	85.49±0.36 <sup>bC</sup>
CA1110	89.48±0.41 <sup>ca</sup>	87.06±0.24 <sup>bb</sup>	84.12±0.25 <sup>bc</sup>
CA2025	88.12±0.96 <sup>dA</sup>	88.21±0.19 <sup>bA</sup>	84.74±0.52 <sup>bb</sup>

<sup>1)</sup>See Table 2.

<sup>2)</sup>Each value is mean±SD of experimental group, n=10. Different alphabets within a same row(A-C) and a same column(a-d) in each values show statistically difference at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

**Table 4.** Changes in superoxide dismutase activity of the mul-kimchi during fermentation at 10°C

Samples <sup>1)</sup>	Fermentation periods (day)		
	0	10	20
C1	4.23±0.09 <sup>dB2)</sup>	6.71±1.03 <sup>dA</sup>	5.76±1.15 <sup>dAB</sup>
C2	66.21±1.94 <sup>bA</sup>	65.44±0.23 <sup>aA</sup>	45.38±0.54 <sup>cB</sup>
CA223	71.65±2.23 <sup>aA</sup>	56.60±1.92 <sup>cB</sup>	44.30±3.34 <sup>cC</sup>
CA746	61.61±1.41 <sup>ca</sup>	60.97±0.50 <sup>bA</sup>	53.31±1.24 <sup>bb</sup>
CA1110	63.34±1.48 <sup>ca</sup>	64.64±2.26 <sup>aA</sup>	57.08±0.46 <sup>ab</sup>
CA2025	67.19±0.97 <sup>bA</sup>	65.66±2.15 <sup>aA</sup>	58.28±0.38 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>See Table 2.

<sup>2)</sup>Each value is mean±SD of experimental group, n=10. Different alphabets within a same row(A-C) and a same column(a-d) in each values show statistically difference at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

과한 후 CA 물김치에서는 담금일의 경우보다 감소하는 경향을 보였는데 그 감소율은 증류수 물김치는 23.6%, 0.2% ascorbic acid 물김치에서는 16.4%, CA 물김치에서는 3.84~5.99%로 CA의 경우가 ascorbic

acid로 담근 경우보다 높은 안정성을 나타내었다.

전자공여작용은 활성라디칼에 전자를 공여함으로써 지질의 산화를 억제하며, 체내에서는 활성라디칼에 의한 노화를 억제시킨다 [17]. Chitosan도 항산화능이 있는 것으로 알려져 있는데 이의 전자공여능은 29.8% 정도인 것으로 보고된 바 있으며 [16], chitosan이 ascorbic acid의 안정성을 높이고 ascorbic acid의 항산화능을 높이는 시너지효과가 있다는 연구결과와 일치한다 [36].

SOD는 생체내에서 산화적 장애를 일으키는 superoxide의 소거에 관여하는 효소로서 증류수 물김치(C1) 4.23%에 비하여 0.2% ascorbic acid 첨가 물김치(C2) 및 CA첨가 물김치(CA223, CA746, CA1110, CA2025)에서는 약 10배의 높은 활성을 보였으며 CA 중에서는 CA2025가 가장 높은 활성을 나타내었다. 숙성기간별에서는 전자공여능에서와 같이 20일이 경과된 후는 활성이 13~38%가 감소되었다(p<0.05).

### 증체량, 식이섭취량 및 식이효율

5주 동안 고콜레스테롤 식이를 행한 흰쥐의 일일 증체량 및 일일 식이섭취량과 식이효율에 미치는 CA2025 첨가 물김치국물의 투여효과를 조사한 결과는 Table 5와 같다. 실험식이 전 실험동물의 평균 체중은 161~165 g으로 실험군 간의 유의차가 없었으며 5주후에도 실험군별 유의차는 없으나 HC군이 타군에 비하여 9~15%가 증가하였다. 그러나 5주후 HCCA군과 HC2CA군의 평균체중은 HC군에 비하여 각각 7% 및 8%가 감소되었다. CA첨가군의 체중감소효과는 고콜레스테롤 식이 흰쥐에 키토산올리고당을 급여하였을 때와 고지방식이를 행한 흰쥐에 CA를 첨가한 홍국을 급여한 경우와 동일한 효과를 나타내었는데 [15,31], 이는 CA가 체내지방을 흡착

**Table 5.** Body weight, weight gain, feed intake and feed efficiency ratio(FER) of rats fed with high cholesterol diet containing mul-kimchi with chitosan-ascorbate for 5 weeks

Groups <sup>1)</sup>	Initial weight(g)	Final weight(g)	Weight gain (g/day)	Feed intake (g/day)	FER
NC	162.90±11.81 <sup>NS,2)</sup>	335.10±23.01 <sup>NS</sup>	4.92±0.49 <sup>NS</sup>	23.46±2.78 <sup>NS</sup>	0.21±0.02 <sup>NS</sup>
HC	163.63±11.65	352.63±22.72	5.40±0.32	19.93±3.88	0.24±0.04
HCKC	165.06±10.91	328.86±21.42	4.68±0.48	23.03±2.24	0.21±0.05
HCCA	162.25± 9.85	328.15±29.97	4.74±0.42	21.41±1.69	0.25±0.04
HC2CA	161.92±10.04	322.92±24.95	4.60±0.40	19.87±1.49	0.24±0.02

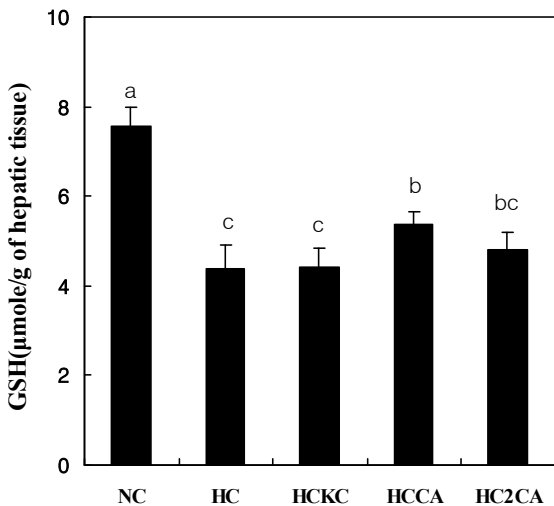
<sup>1)</sup>See Table 2.

<sup>2)</sup>Each value is mean±SD of experimental group, n=10. NS: not significant.

하여 배설하는 작용 [14]과 관련이 있는 것으로 사료된다.식이섭취량과 식이효율도 유의적인 차이는 없으나 정상군(NC)에서 가장 많거나 높았으며, 식이효율은 HC, HCCA 및 HC2CA에서 높은 반면 HCKC, NC에서는 낮은 경향을 보였다.

**GSH 함량**

Fig. 2는 glutathione(GSH)의 함량을 측정한 결과이다. 고콜레스테롤 투여군인 HC군, HCKC군, HCCA군 및 HC2CA 군에서는 NC군보다 유의적으로 낮았다. 간에서 GSH 함량의 감소는 GSH의 합성억제, 혈액으로의 수송증가, GSSG (Oxide glutathione) 축적 또는 GSH를 소모하는 효소활성의 증가 등에 의해 발생할 수 있다 [9]. 물김치 투여군인 HCKC군, HCCA군 및 HC2CA군은 각각 4.42±0.44, 5.39±0.28 및 4.80±0.39 μmole/g으로 이중에서 HCCA군이 가장 많은 함량을 나타내었다. 이러한 결과는 고콜레스테롤 식이에 의한 과산화 지질의 생성을 CA물김치가 억제한 결과라 생각되며 2배로 농축된 CA물김치에서 그 효과가 향상되지 않은 현상으로 미루어 보아 투여량에 의해서도 영향을 받는 것으로 사료된다. 생체는 활성산소종에 의한 조직손상으로부터 스스로 보호하기 위한 방어체계를 갖추고 있는데 GSH는 여기에 관여하는 주요 물질로 알려져 있다. GSH



**Fig 2.** Effects of mul-kimchi on hepatic glutathione in rats fed high cholesterol diets. All values are mean±SD(n=10). Different alphabets on the bars are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. The experimental groups are the same as Table 2.

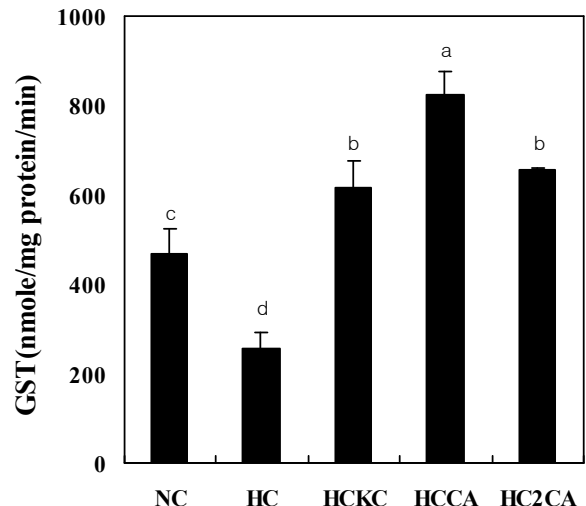
는 동물조직 중에서 nonprotein thiol의 대부분을 차지하며, 활성산소의 scavenger로서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 및 과산화지질을 대사시키는 GPX의 기질로서 중요한 역할을 담당함으로써 GSH의 결핍은 지질 과산화 반응을 촉진케 하는 원인이 된다 [34].

**GST 활성**

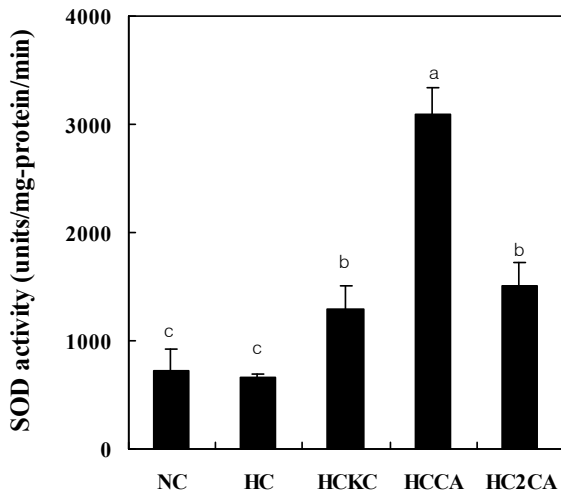
간조직의 GST 활성을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. HC군(257.92±33.16)에 비해 HCKC군(615.46±60.65), HCCA(825.03±51.16) 및 HC2CA군(654.57±3.44) 모두 유의적으로 GST 활성이 증가되었다. 그중에서 HCCA군에서 가장 두드러진 활성을 보였다. GST는 변이원성 물질, 발암물질, 독성물질 등의 대사산물 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질 등에 환원형 glutathione를 첨가하여 glutathione thioester(R-S-G)를 형성하는 반응을 촉매하는 효소로 [10], 본 실험에서 GST 활성이 HC군에 비해 CA물김치에서 높은 활성을 보인 현상은 항산화적 해독 기능이 있음을 시사하는 것이다.

**SOD 활성**

CA 첨가 물김치의 투여가 생체내 superoxide dismutase (SOD) 활성에 미치는 영향을 관찰한 결과는 Fig. 4와 같다. 그 결과 HCCA 군에서 가장 높은 활성



**Fig 3.** Effects of mul-kimchi on hepatic glutathione S-transferase in rats fed high cholesterol diets. All values are mean±SD(n=10). Different alphabets on the bars are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. The experimental groups are the same as Table 2.



**Fig 4.** Effects of mul-kimchi on hepatic superoxide dismutase activity in rats fed high cholesterol diets. All values are mean $\pm$ SD(n=10). Values with a column with different superscripts are significantly different at  $p<0.05$  by duncan's test. The experimental groups are the same as Table 2.

을 나타내었으며 NC 군보다 유의적인( $p<0.05$ ) 높은 활성을 보였다. HCKC군, HCCA군, HC2CA군 모두 HC군 보다 현저히 높은 활성을 보였는데 이는 고콜레스테롤 공급으로 인해 불포화 지방산의 함량이 높은 생체막 지질의 과산화가 촉진되어 세포소기관들의 산화적 손상이 가속화 되어 효소활성이 저하된 것으로 CA 물김치가 이를 완화시킨 것으로 볼 수 있다. 고콜레스테롤 식이의 흰쥐에 작약씨 추출물 및 연교 추출물을 투여한 결과와 무청을 투여한 결과에서도 SOD의 활성이 증가된다는 보고가 있다 [18-20].

## 요 약

분자량(223, 746, 1,110 및 2,025 kDa)이 다른 chitosan으로 제조한 chitosan-ascorbate(CA223, CA746, CA1110, CA2025)를 각각 0.1%씩 첨가한 물김치의 저장중 항산화 활성 변화를 조사하였으며, 그 중 10 $^{\circ}$ C에서 20일간 저장한 CA2025 첨가 물김치국물의 투여(5 mL/kg)가 고콜레스테롤식이 흰쥐 간 조직의 항산화능에 미치는 영향을 조사하였다. 동물실험은 정상식이군(NC), 고콜레스테롤식이군(HC), 고콜레스테롤식이 김치국물 투여군(HCKC), 고콜레스테롤식이 CA2025 함유 김치국물 투여군(HCCA), 고콜레스테롤식이 CA2025 1/2 농축액 투여군(HC2CA)

의 5개군으로 구분하여 5주간 사육하였다. 20일간 저장한 CA첨가 물김치의 전자공여능은 84.74~89.13%로 증류수 및 0.2% ascorbic 물김치의 35.04 및 75.04%에 비하여 높았다. SOD 활성은 chitosan의 분자량이 클수록 증가하였으며( $p<0.05$ ), 무첨가 물김치 보다 10배 이상의 높은 활성을 나타내었다. HCCA군과 HC2CA군의 체중은 HC군에 비하여 각각 6.9%, 및 8.4%가 감소되었다. 간 조직의 GSH 함량은 HCCA군 및 HC2CA군이 각각 5.39 및 4.80  $\mu$  mole/g tissue로 HC군보다 22.5 및 9.1%가 증가하였다. HCCA군 및 HC2CA군의 GST 활성은 HC군에 비하여는 각각 219.9% 및 153.79%가 높았으며, NC군 보다도 높았다. SOD 활성은 HCCA 군이 HC2CA군 보다 높은 활성이 나타났으며, NC군 및 HC군 보다 높았다.

## 감사의 글

본 연구는 산업자원부 지정 대구가톨릭대학교 해양바이오산업연구센터의 지원에 의한 것 입니다.

## 참 고 문 헌

- Balkan, J., Kanbagli, O., Hatipoglu, A., Kucuk, M., Cevikbas, U., Aykac-Toker, G. and Uysal, M. 2002. Improving effect of dietary taurine supplementation on the oxidative stress and lipid levels in the plasma, liver and aorta of rabbits fed on a high-cholesterol diet. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **66**, 1755-1758.
- Bidlack, W. R. and Tappel, A. L. 1973. Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipid* **8**, 177-178.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1120.
- Brown, M. S. and Goldstein, J. L. 1991. Drugs used in the treatment of hyperlipoproteinemias. In *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG eds. Pergamon Press, New York. p 888.
- Choi, S. Y., Oh, J. Y., Yoo, J. W. and Hahn, Y. S. 1998. Fermentation properties of Yulmoo Mul-kimchi according to the ratio of water to Yulmoo. *Kor. J. Soc. Food Sci.* **14**, 327-332.
- Choi, U. C., Shin, D. H., Chang, Y. S. and Shin, J. I. 1992. Screening of natural antioxidant from plant and their antioxidant effect. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **24**, 142-148.
- Del Baccio, G., Lapenna, D., Porreca, E., Pennelli, A., Savini, F., Feliciani, P., Ricci, G. and Cuccurullo, F. 1990. Aortic antioxidant defence mechanisms: time-re-

- lated changes in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* **81**, 127-135.
8. Ellman, G. L. 1959. Tissue sulfhydryl group. *A. B. B.*, **82**, 70-77.
  9. Etsuo, N. K., Hiroyuki, S. and Makoto, M. 1996. Free radicals and biological defense. Japan Scientific Societies Press, p277-287.
  10. Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. 1974. Glutathione S-transferase: The first enzymic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* **249**, 7130-7139.
  11. Jacoby, W. B. 1978. The glutathione S-transferase: a group of multifunctional detoxification proteins. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **46**, 383-414.
  12. Jeon, S. M., Bok, S. H., Jang, M. K., Lee, M. K., Nam, K. T., Park, Y. B., Rhee, S. J. and Choi, M. S. 2001. Antioxidative activity of naringin and lovastatin in high cholesterol-fed rabbits. *Life Sci.* **69**, 2855-2866.
  13. Kanauchi, O., Deuchi, K., Imasato, Y., Shizukuishi, M. and Kobayashi, E. 1994. Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect ascorbate. *Biosci. Biotech. Biochem.* **59**, 786-790.
  14. Kanauchi O., Deuchi K., Imasato Y. and Kobayashi E. 1994. Increasing effect of a chitosan and ascorbic acid mixture on fecal dietary fat excretion. *Biotechnol. Biochem.* **58**, 1617-1620.
  15. Kim, K. N., Joo, E. S., Kim, K. I., Kim, S. K., Yang, H. P. and Jeon, Y. J. 2005. Effect of chitosan oligosaccharides on cholesterol level and antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic rat. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 36-41.
  16. Kim S. M., Cho Y. S. and Sung, S. K. 2001. The antioxidant and nitrite scavenging ability of waste resource (crab shell, sesame meal, Korean tangrin peel) extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 589-593.
  17. Lee, K. D., Chang, H. K. and Kim, H. K. 1997. Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushroom. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**, 432-436.
  18. Lee, J. M., Choi, S. W., Cho, S. H. and Lee, S. J. 2003. Effect of seeds extract of *Paeonia lactiflora* on antioxidative system and lipid peroxidation of liver in rats fed high-cholesterol diet. *Kor. J. Nutr.* **36**, 793-800.
  19. Lee, J. M., Choi, S. W., Cho, S. H. and Lee, S. J. 2003. Effect of *Forsythia Viridissima* extracts on antioxidative system and lipid peroxidation of liver in rats fed high-cholesterol diet. *Kor. J. Nutr.* **36**, 793-800.
  20. Lee, S. J., Ahn, J. M., Ku, K. H. and Choi, J. H. 2005. Effects of radish leaves powder on hepatic antioxidative system in rats fed highcholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 1157-1163.
  21. Lowry, O. H., Rosebrough N. J., Farr, A. L. and Randall R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-271.
  22. Mantha, S. V., Kalra, J. and Prasad, K. 1996. Effects of probucol on hypercholesterole mia-induced changes in antioxidant enzymes. *Life Sci.* **58**, 503-509.
  23. Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 468-474.
  24. Martin, J. P., Dailey, J. M. and Sugarmanand, E. 1987. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* **255**, 329-336.
  25. Miyake, Y., Yamamoto, K., Tsujihara, N. and Osawa, T. 1998. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipid* **33**, 689-695.
  26. Muzzarelli, R. A. A., Tanfani, F. and Emanuelli, M. 1984. Chelating derivatives of chitosan obtained by reaction with ascorbic acid. *Carbohydr. Polym.* **4**, 137-151.
  27. Naito, M., Wu, X., Nomura, H., Kodama, M., Kaito, Y. and Osawa, T. 2002. The protective effects of tetrahydrocurcumin on oxidative stress in cholesterol-fed rabbits. *J. Atheroscler Thromb.* **9**, 243-250.
  28. Saito, M. 1988. International between lipid peroxidation formation and nutritional status. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **41**, 343-349.
  29. Sanford, P. A. 1988. *Chitosan, Commercial Uses and Potential Applications*. Proc. The 4th International Conference on chito/chitosan held in Trondheim, Norway. p.51-69.
  30. Seo, K. S., Lim, J. K., Park, J. H., Kim C. H., Chung, G. Y. and Jeong, H. J. 2003. Antioxidant activity and biological properties in extracts of *Euonymus alatus* (Thunb.) sieb. *Kor. J. Life Sci.* **13**, 1-8.
  31. Shin, J. G., Lee, S. I., Kwon, J. H. and Kim, S. D. 2005. Effect of beni-koji with chitosan-ascorbate on serum lipid profile of rats fed a high fat diet. *J. East Asian Soc. Diet. Life* **15**, 524-530.
  32. Shin, K. O., Kim, M. J., Beik, K. Y. and Kim, S. D. 2006. Quality characteristics of mul-kimchi with chitosan-ascorbate and dietary effects on serum lipids of rats fed with high cholesterol diet. *Kor. J. Food Preserv.* **13**, 754-761.
  33. Suzuki, S., Hinokio, Y., Komatu, K., Ohtomo, M., Onoda, M., Hirai, S., Hirai, M., Hirai, A., Chiba, M., Kasuga, S., Akai, H. and Toyota, T. 1999. Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to diabetic complications. *Diab. Res. Clin. Pract.* **45**, 161-168.
  34. Vendemiale, G., Altomare, E., Altavilla, R., Le Grazie, C., Di Padova, C. and Albano, O. 1989. S-adenosylmethionine (SAME) improves acetaminophen metabolism in cirrhotic patients. *J. Hepatol.* **9**, S240.
  35. Yokozawa, T., Nakagawa, T. and Kitani, K. 2002. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3549-3552.
  36. Zoldners, J., Kiseleva, T. and Kaiminsh, I. 2005. Influence of ascorbic acid on the stability of chitosan solutions. *Carbohydr. Polymer.* **60**, 215-218.