

키토산-아스코베이트 처리 과메기의 식이가 정상 흰쥐의 혈청지질과 항산화계 효소활성에 미치는 영향

김도균¹ · 김재원¹ · 오승희² · 이상일³ · 김미정⁴ · 김순동^{1*}

¹대구가톨릭대학교 외식식품산업학부 식품가공학전공, ²포항대학 영양조리산업계열,
³계명문화대학교 식품영양조리학부, ⁴신성대학교 호텔조리제빵계열

The Effects of Chitosan-Ascorbate Treated *Kwamaegi* on Serum Lipid Profiles and ROS-Related Enzyme Activities in Rats

Do-Kyun Kim¹, Jae-Won Kim¹, Sung-Hee Oh², Sang-II Lee³, Mee-Jung Kim⁴ and Soon-Dong Kim^{1*}

¹Department of Food Industrial Technology, Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

²Division of Nutrition and Culinary Arts, Pohang College, Pohang 791-711, Korea

³Department of Food, Nutrition and Culinary Arts, Keimyung College, Daegu 704-703, Korea

⁴Division of Hotel Culinary Arts and Bakery, Shinsung University, Dangjingun, Chungnam 343-861, Korea

Abstract

The effects of *Kwamaegi* on serum lipid profiles and ROS(reactive oxygen species) generating and scavenging enzyme activities were investigated in rats. The three experimental groups were divided as follows: normal control diet group (NC), 5% naturally prepared and freeze-dried *Kwamaegi* supplemented diet group (NPK) and 5% chitosan-ascorbate treated and artificially dried (CWDD: Chilly Wind & Dehumidification Drier) *Kwamaegi* supplemented diets group (CAK). There were no significant differences in weight gain, feed intake, feed efficiency ratio or organs weights per body weight including liver, kidney, heart and spleen among the group. In addition, there were no significant differences in serum triglyceride and total cholesterol contents. The HDL-cholesterol contents of the NC, CAK and NPK groups were 62.00, 36.48 and 78.44 mg/dL while LDL-cholesterol contents were 62.00, 36.48 and 78.44 mg/dL, respectively, which were significantly different. The atherogenic indices in the experimental groups were 0.62, 1.20 and 0.13, respectively. There were no significant differences in total XOD (xanthine oxidoreductase) activities; however XOD type O activity was higher in the NPK group than in the NC group and in the CAK group XOD type O activity was 21~45% lower compared to NC and NPK groups. SOD (superoxide dismutase) activity was significantly higher in the CAK group than in the NC and NPK groups, while there were no significant differences in GST (glutathione S-transferase) activity among the groups. Furthermore, serum ALT activity was higher in the NPK group versus the NC and CAK groups. GSH (glutathione) content was higher and LPO (lipid peroxide) content lower in the CAK group compared to the NC and NPK groups. From the above results, we suggest that CA treated and artificially dried *Kwamaegi* is not only a hygienic product but also has lowering effects on LDL-cholesterol and the atherogenic index together with the lowering of ROS-generating and increasing of ROS-scavenging enzyme activities compared to other natural products.

Key words : *Kwamaegi*, chitosan-ascorbate, serum lipids, ROS-scavenging enzymes.

서론

우리나라 동해안 일대에서 생산되고 있는 과메기는 주로 8~12월 사이에 생산되는 콩치를 이용하여 머리, 꼬리, 지느러미, 내장 등의 비 가식 부위를 제거한 후 눈을 꼬챙이에 꿰어 온마리로 또는 반으로 잘라 겨울철의 자연환경에서 약 15~20일간 말려 제조하고 있다(Lee *et al* 2002). 과메기는 생선 보존법의 하나인 건조 제품으로 알려져 있으나, 건조가 이루어

어지는 동안 조직이 숙성되어 독특한 풍미를 띠게 되며 수분의 감소로 인하여 EPA(eicosapentaenoic acid)나 DHA(docosahexaenoic acid)와 같은 주요 성분들이 농축됨으로써 생선 자체에서 보다 높은 기능성을 나타내는 것으로 보고(Uhei *et al* 1990)되고 있다. 생선에 함유되어 있는 단백질 및 EPA나 DHA는 자연환경에서 비교적 장시간 동안 건조시킬 경우 미생물 오염이 일어날 수 있고(Lee *et al* 2008), 과산화의 우려가 있어 전통적으로 연중 겨울철에만 과메기를 생산한다(Lee *et al* 2008). 현재 이를 보완하여 사시사철 과메기를 제조할 수 있는 제조법에 관한 연구가 이루어지고 있다(Kim *et*

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

al 2000).

Chitosan-ascorbate(CA)는 chitosan의 amino기와 ascorbic acid가 Schiff 반응에 의하여 생성된 염(Muzzarelli *et al* 1984)으로 chitosan의 기능성과 ascorbic acid의 기능성이 접목됨으로서 키토산보다 높은 항균력(Kim *et al* 2009, Lee *et al* 2006)을 나타내고, ascorbic acid보다 더 높은 항산화능을 가지면서 안전성 또한 높은 것으로 알려져 있다(Zoldners *et al* 2005, Lee *et al* 2006). 또, CA는 체내 단백질 대사에는 영향을 주지 않으면서 지질을 흡착하여 배설함으로써 비만 예방(Kanauchi *et al* 1994)과 국소성 회장염인 Crohn's병의 예방 및 개선에 효과가 있는 것으로 보고되고 있으며(Tsujikawa *et al* 2003), 혈중 콜레스테롤 함량을 저하시키는 효과도 알려져 있으나(Oh *et al* 1998), 이의 활용에 관한 연구는 매우 부족한 실정이다.

본 연구에서는 예비 실험에서 항균력이 가장 우수한 것으로 평가된 440 kDa의 chitosan을 이용하여 제조한 CA를 과메기의 표면에 처리한 후 냉풍 제습 건조기를 이용하여 제조한 과메기와 시판 과메기의 제조 방법에 따라 제조한 과메기를 동결건조하여 정상 흰쥐에게 급여하였을 때 혈청내 지질 함량과 ROS(reactive oxygen species) 관련 효소 활성에 미치는 영향을 상호 비교 검토함으로써 안전성과 기능성이 높은 과메기 제조를 위한 기초 자료를 제시코자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

CA 처리 및 감압 건조 과메기 제조용 꾀치는 길이가 20±3 cm의 신선한 것을 포항시 구룡포 어시장에서 구입하였다. 키토산은 440 kDa(Gumhowhasung Co Ltd, Korea)의 것을, ascorbic acid는 Sigma사의 것을 사용하였다.

2. Chitosan-ascorbate의 조제

Chitosan-ascorbate(CA)는 Lee 등(Lee *et al* 2006)의 방법에 준하여 키토산 10 g을 1% 아스코르브산 용액 1 L에 가하여 1시간동안 교반시켜 용해시킨 후 증류수로 20배로 희석하여 키토산의 최종 농도를 0.05%로 조정하여 사용하였다.

3. 과메기의 제조

과메기의 제조는 Kim 등(Kim *et al* 2000)의 자연 건조 과메기(natural prepared Kwamaegi: NPK)와 CA처리 인공 건조 과메기(chitosan-ascorbate treated Kwamaegi: CAK)로 구분하여 제조하였다. NPK는 머리, 꼬리, 지느러미, 내장 등 비 가식 부위를 제거하고 길이로 양분한 후 구룡포의 과메기 덕장에서 2008년 1월 10일부터 25일까지 15일간 5~15℃에서 자연 건조하여 제조하였다. CAP는 상기와 같이 전 처리하여 길이

로 양분한 꾀치를 10배량의 CA 용액에 10분간 침지하고 10℃의 저온실로 옮겨 2일간 숙성시킨 후 10℃의 냉풍 제습 건조 장치(Chilly Wind & Dehumidification Drier, Ocean Food Co Ltd, Kyungju, Korea)를 이용하여 220~245시간 건조 후 최종 수분 함량이 35%인 과메기를 제조하였다.

4. 실험 동물 및 식이 조성

실험 동물은 5주령의 평균 체중이 150±5 g인 Sprague-Dawley 계 SPF/VAF outbred rats(Orient Ltd, Sungnamsi, Korea)를 일반 배합 사료인 5L79 diets(PMI Nutrition, LLC, PO Box 19798, Brentwood MO 63144, USA)를 기본식으로 1주일간 사육하여 환경에 적응시킨 다음 실험에 사용하였다. 실험군은 정상 대조군(NC), 자연 건조한 과메기를 동결 건조하여 기본 식이에 5% 혼합한 식이군(NPK) 및 CA처리 과메기를 동결 건조하여 기본 식이에 5% 혼합(Shin *et al* 2007)한 식이군의 3개 군(7마리/군)으로 구분하여 6주간 사육하였다(Table 1). 실험 식이는 1주일에 한 번씩 제조하여 4℃로 냉장 보관하면서 매일 신선한 식이를 공급하였으며, 사육장은 stainless steel cage를 사용하였다. 사육실의 온도 및 습도는 각각 23±2℃ 및 60±5%로 조정하였으며, 명암 주기는 12시간 간격으로 설정하였으며, 물과 사료는 자유 섭취시켰다.

5. 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이 효율

체중, 식이 섭취량은 전 실험 기간 동안 2일 간격으로 일정 시간에 측정하여 일로 계산하였으며, 식이 효율(feed efficiency ratio, FER)은 하루 동안의 증체량을 하루 동안의 식이 섭취

Table 1. Experimental group and composition of experimental diets

Compositions	Experimental groups ¹⁾		
	NC	NPK	CAK
5L79 diets ²⁾ of PMI Nutrition	100	95	95
Naturally prepared Kwamaegi	-	5	-
CA ³⁾ treated Kwamaegi dried by CWDD ⁴⁾	-	-	5

¹⁾ NC, normal control; NPK, the diets supplemented with 5% naturally prepared Kwamaegi; CAK, the diets supplemented with 5% chitosan-ascorbate treated Kwamaegi.

²⁾ The diets for animal experiments manufactured in the PMI Nutrition, LLC, PO Box 19798, Brentwood MO 63144, USA. Guaranteed analysis: crude protein, 18%; crude fat, 5%; crude fiber, 5%; ash, 8%.

³⁾ 440 kDa chitosan-ascorbate (0.05%).

⁴⁾ Chilly Wind & Dehumidification Drier (Ocean Food Co Ltd, Kyungju, Korea).

량으로 나눈 값으로 하였다.

6. 분석 시료의 채취 및 장기 중량 비율

실험 식이로 6주간 사육한 흰쥐는 물만 주고 12시간 동안 절식시킨 후 ether 마취 하에서 복부 대동맥으로부터 채혈한 다음 병냉의 생리식염수로 간을 관류하고 장기를 적출한 후 습기를 제거하여 무게를 측정하였다. 채취한 혈액은 실온에서 응고시킨 다음 2,500 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 -70°C 에 두면서 분석용 시료로 사용하였다. 장기 중량 비율은 적출된 장기 무게에 처치 당시 무게를 나누어 백분율로 나타냈다.

7. 혈청지질 함량 측정

혈청중성지질, 총콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량은 kit 시약(AM 157S-K, AM 202-K, AM 203-K, Asanpharm Co., Korea)으로 측정하였으며, LDL-콜레스테롤 함량은 Friedewald 등의 방법(Friedewald *et al* 1972)에 따라 총콜레스테롤-HDL-콜레스테롤량-(중성지질/5)의 계산식으로 구하였다. 동맥경화 지수(Atherogenic index)는 계산식 (총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL 콜레스테롤에 의하여 산출하였다.

8. 혈청 ALT 활성도 측정

혈청 ALT(alanine aminotransferase) 활성도는 kit 시약(Asanpharm Co., Korea)을 사용하여 측정하였으며, 활성도는 혈청 1 mL당 Karmen unit로 나타내었다(Karmen A 1955).

9. 간 조직의 XOD, SOD, GST 활성 측정

XOD(xanthine oxidoreductase), SOD(superoxide dismutase), GST(glutathione S-transferase) 활성 측정용 효소원은 적출한 동물의 간 조직 일정량에 4배량의 병냉의 0.25 M sucrose 용액을 가하여 균질화한 다음 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 나온 상정액(postmitochondrial fraction, PMF)을 사용하였다. XOD 활성은 Stirpe & Della Corte(1969)의 방법에 따라 total type 활성은 NAD^{+} 의 존재 하에서, O type 활성은 NAD^{+} 를 첨가하지 않은 상태에서 측정하였다. 활성도는 분당 단백질 1 mg이 기질인 xanthine으로부터 생성되는 uric acid의 양을 nmole로 나타내었다. SOD 활성은 hematoxylin 자동산화의 억제 정도를 측정하는 Martin 등(Martin *et al* 1987)의 방법에 따라 측정하였다. GST 활성은 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 과 reduced glutathione이 포접되어 생성되는 thioether를 측정하는 Habig 등(Habig *et al* 1974)의 방법에 따라 측정하였다.

10. 간 조직의 GSH 및 LPO 함량

간 조직 GSH(glutathione)의 함량은 Ellman(1959)의 방법에

따라 적출한 동물의 간 조직 균질액에 2-nitrobenzoic acid를 가해 생성되는 thiophenol의 측정하였으며, 간 조직 g당 환원형 GSH μmole 로 나타내었다. LPO(lipid peroxide)의 함량은 Satho(1978)의 방법에 따라 간 조직 균질액에 thiobarbituric acid(TBA) 용액을 가하여 반응시킨 후 n-butanol을 가해 이 행되는 TBA-reactive substance의 흡광도를 532 nm에서 측정, 분자 흡광 계수, $\epsilon=1.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 를 이용하여 함량을 산출하였으며, 간 조직 g당 μmole 로 나타내었다.

11. 단백질 함량 측정

간 조직의 단백질 함량은 BSA(bovine serum albumin)을 표준 용액으로 하여 Lowry 법(Lowry *et al* 1951)으로 측정하였다.

12. 통계처리

실험 결과는 실험동물 7마리에 대한 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

1. 체중 증가량, 식이 섭취량, 식이 효율, 장기 중량 비율 및 혈청 ALT 활성도

동결 건조한 자연 건조 과메기(NPK)와 chitosan-ascorbate 처리 과메기(CAK)를 식이에 5%씩 첨가하여 6주간 사육하였을 때의 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 실험 식이 개시일의 각 실험군의 체중은 223.00~227.50 g 범위였으나, 6주간 사육 후의 체중은 422.40~463.00 g이었다. 체중 증가량과 식이 섭취량은 각각 5.14~5.71 g/일로 실험군간의 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 식이 섭취와 식이 효율은 27.60~30.42 g/일 및 0.18~0.20으로 유의적인 차이가 없었다. 6주간 사육 후의 체중에 대한 상대적 장기 중량 비율 및 혈청 ALT의 활성은 Table 3과 같다. NPK군의 간의 중량 비율은 2.51%로 대조군(NC군)의 2.47%보다 평균값으로는 높은 수치를 나타내었으며, CAK군은 2.41%로 NPK군보다 낮은 값을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 신장, 심장 및 고환에서도 각각 0.57~0.62%, 0.27~0.28% 및 0.68~0.69%로 실험군 간의 유의적인 차이를 보이지 않았다.

간 조직 손상의 지표로 이용되는 혈청 ALT의 활성(Reitman & Frankel 1957)은 각각 32.54, 39.92, 33.25 Karmen unit로 각 군에 비해 NPK군에서 유의하게 높게 나타났으나, CAK군에서는 NC군 수준으로 저하되었다.

대사의 불균형으로 면역기능이 저하되거나 고지방 식이로

Table 2. The effect of chitosan-ascorbate treated *Kwamaegi* on the weight gain, feed intakes and feed efficiency ratio of rats fed for 6 weeks

Groups ¹⁾	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Weight gain(g/day)	Feed intakes(g/day)	FER ²⁾
NC	226.34±5.67 ^{NS,3)}	442.40±9.70 ^{NS}	5.14±1.97 ^{NS}	27.60±2.04 ^{NS}	0.19±0.07 ^{NS}
NPK	227.50±8.15 ^a	459.00±6.55	5.51±1.84	30.42±4.31	0.18±0.06
CAK	223.00±2.94 ^b	463.00±7.27	5.71±2.42	27.63±2.12	0.20±0.08

¹⁾Abbreviations: See Table 1.

²⁾Feed efficiency ratio: daily weight gain/daily feed intake.

³⁾Values are mean±standard deviation(SD) of 7 rats. NS: Not significant.

Table 3. The effect of chitosan-ascorbate treated *Kwamaegi* on the organs weight per body weight and blood ALT activity of rats fed for 6 weeks

Groups ¹⁾	Liver(g/100 g BW)	Kidney (g/100 g BW)	Heart(g/100 g BW)	Spleen(g/100 g BW)	ALT ²⁾ (Karmen unit)
NC	2.47±0.26 ^{NS,3)}	0.62±0.07 ^{NS}	0.27±0.01 ^{NS}	0.68±0.03 ^{NS}	32.54±0.83 ^b
NPK	2.51±0.15	0.59±0.04	0.28±0.01	0.69±0.02	39.92±0.93 ^a
CAK	2.41±0.10	0.57±0.02	0.27±0.02	0.69±0.05	33.25±1.05 ^b

¹⁾Abbreviations: See Table 1.

²⁾Values are mean±SD of triplicate determinations, different superscripts in a column(a-b) indicate significant differences($p<0.05$). NS: Not significant.

체중이 증가하게 되면 간장, 신장 및 심장 등의 장기 중량이 비례해저는 것으로 알려져 있다(Mogensen *et al* 1973, Heaton 1973). 이러한 결과로 보아 NPK군에서는 경미한 간 조직 손상이 나타난 것으로 생각되며, CA를 처리한 과메기를 섭취한 CAK군에서는 간조직의 손상이 나타나지 않은 것으로 생각된다.

2. 혈청지질 함량과 동맥경화지수

실험 식이로 6주간 사육한 흰쥐의 혈청지질 함량과 동맥경화지수를 측정 한 결과는 Table 4와 같다. 중성 지질의 함

량은 NC군 74.92 mg/dL, NPK군 76.27 mg/dL, CAK군 69.49 mg/dL로 상호간의 유의적인 차이가 없었으며, 총콜레스테롤 함량도 각각 113.02, 120.83 및 120.88 mg/dL로 유의적인 차이가 없었다. 그러나 HDL-콜레스테롤 함량은 각각 62.00, 48.01, 71.81 mg/dL로 NPK군은 대조군에 비하여 현저히 감소하였으나, CAK군이 다른 두 군보다 유의적으로 높은 수치를 나타냈다. LDL-콜레스테롤 함량은 각각 34.98, 57.49, 35.17 mg/dL로 CAK군은 NC군에 비하여 유의적 차이가 없었으나, NPK군은 NC군에 비하여 유의적으로 높았으며, 동맥경화지수도 각각 0.08, 1.49, 0.68로 CAK군이 다른 두 군보다 유의

Table 4. The effect of chitosan-ascorbate treated *Kwamaegi* on the serum lipids content and atherogenic index of rats fed for 6 weeks

Experimental groups ¹⁾	Triglyceride (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	HDL cholesterol (mg/dL)	LDL cholesterol (mg/dL)	Atherogenic index ²⁾
NC	74.92±7.85 ^{NS,3)}	113.02±9.23 ^{NS}	62.00±8.98 ^{b,4)}	34.98±4.29 ^b	0.80±0.26 ^{b3)}
NPK	76.27±6.80	120.83±8.68	48.01±2.70 ^c	57.49±4.67 ^a	1.49±0.05 ^a
CAK	69.49±4.26	120.88±3.91	71.81±6.85 ^a	35.17±3.84 ^b	0.68±0.11 ^c

¹⁾ Abbreviations: See Table 1.

²⁾ Atherogenic index = (Total cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol.

³⁾ NS: Not significant.

⁴⁾ Values are mean±SD of triplicate determinations, different superscripts in a column(a~c) indicate significant differences($p<0.05$).

적으로 낮은 반면 NPK군은 NC군보다 높았다. Shin *et al*(2005)은 고지방 식이에 첨가한 CA의 혈청 지질 개선 효과에 대하여 보고하였으며, Shin *et al*(2007)은 고지방식이 흰쥐에 CA를 처리한 과메기를 혼합한 식이를 급여하였을 때 체중 감소와 더불어 혈청지질의 개선 효과를 나타낸다고 하였다. 그리고 과메기와 같은 등푸른 생선에 함유되어 있는 ω -3계 불포화지방산은 산화된 LDL-콜레스테롤의 혈관 침착을 막음으로써 동맥경화를 예방하는 것으로 알려져 있다(Allon *et al* 2006, Carl *et al* 2009). 따라서 상기의 CA군에서 나타난 결과는 CA의 항산화 작용(Lee *et al* 2006)과 더불어 표면에 보호막을 형성함(Kim *et al* 2009)으로써 과메기에 존재하는 EPA (eicosapentaenoic acid), DHA (docosahexaenoic acid와 같은 고도불포화지방산의 산화를 방지함과 동시에 혈중 지질 개선 효과(Oh *et al* 1998, Shin *et al* 2005, Kanauchi *et al* 1994)를 나타냄으로써 동맥경화를 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

3. 간 조직의 XOD 활성

실험 식이로 6주간 사육한 흰쥐 간조직의 XOD 활성을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. NC, NPK 및 CAK군의 total type의 XOD 활성은 각각 27.66, 26.40, 24.45 nmole/mg으로 유의적인 차이가 없었다. NPK군의 XOD O(oxygenase) type 활성은 NC군에 비하여 14% 높았으나, CAK군의 활성은 NC 및 NPK군보다 각각 21% 및 45%가 낮았다. O/T(%)도 NPK군은 NC군에 비하여 21% 높은 반면 CAK군은 NC 및 NPK군보다 각각 12% 및 25%가 낮았다. XOD는 hypoxanthine을 xanthine으로 산화시켜 uric acid를 생성함과 동시에 pyrimidine, aldehyde류 및 heterocyclic 화합물의 대사에 관여하는 비 특이적인 효소(Park *et al* 1997)로 정상적인 생리 상태하에서는 NAD⁺를 전자 수용체로 이용하는 dehydrogenase type(D type)으로 존재하나 각종 간 독성 물질의 투여로 간 조직이 손상될 경우에는 분자상의 O₂를 전자 수용체로 이용하는 O type으로 전

환되어 생체내 유해한 superoxide 및 hydroxyl radical과 같은 ROS를 생성하여 조직의 산화적 손상을 초래한다(Oei *et al* 1982, Urano *et al* 1991, Ham *et al* 2004, Hashim *et al* 2005).

한편, 항산화성 물질은 XOR의 O type 활성을 억제한다는 보고(Nagao *et al* 1999, Zhu *et al* 2004)를 고려해 볼 때, CA 처리 과메기 첨가 식이군에서 XOR의 O type 활성이 저하된 것은 과메기에 처리된 CA나 CA에 의하여 산화되지 않고 잔존하는 항산화성 물질에 의해 O type의 활성이 억제되어 나타난 것으로 생각되며, ROS의 생성 저하로 LDL의 산화를 방지함으로써 동맥경화뿐만 아니라 조직의 손상을 예방할 수 있을 것으로 생각한다.

Shin *et al*(2007)은 고지방 식이 흰쥐 모델에서 total type XOD의 활성은 CA 무처리 과메기 급여군은 고지방 식이 대조군과의 유의차가 없는 반면 CA처리 과메기 급여군은 유의적인 감소를 나타낸다고 하였으며, O type 활성은 고지방 식이 대조군에 비하여는 CA 처리와 무 처리 모두가 유의적인 감소를 보이나 상호간의 유의차는 나타나지 않는다고 하여 정상 쥐에서 실험한 본 연구의 결과와 현저한 차이를 나타내었다. 이러한 결과는 Oh와 Kim (1998)이 언급한 바와 같이 자연 건조 과메기는 겨울철 자연환경에서 장시간에 걸쳐 제조됨으로써 미생물의 오염과 지방의 산패가 유발될 수 있다는 보고를 고려해 볼 때 자연 건조 과메기 제조시 기상 상태와 처리조건의 차이에 기인된 결과로 생각되나, 추후 지속적인 연구를 통해 확인할 수 있을 것이다. 따라서 미생물의 생육 억제 및 항산화 작용(Kim *et al* 2009)과 더불어 ROS의 생성에 관여하는 XOD O type의 활성을 억제하는 효과를 나타내는 CA 처리 과메기 제조는 산업적 활용성이 높은 것으로 생각된다.

4. 간 조직의 SOD, GST 활성

실험 식이로 6주간 사육한 흰쥐의 간조직의 SOD 및 GST 활성을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. NC, NPK 및 CAK군의

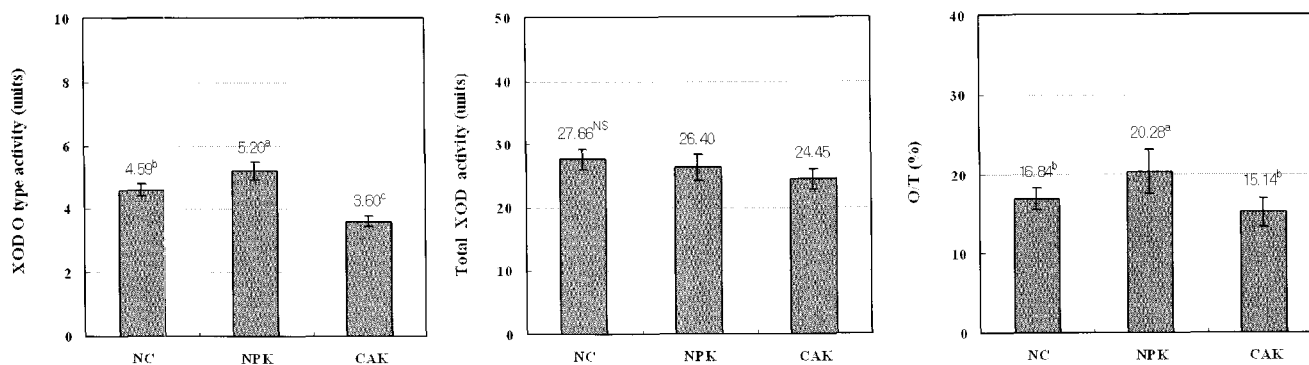


Fig. 1. The effect of chitosan-ascorbate treated *Kwamagi* on the total xanthine oxidoreductase(XOD: T), O type(O) activity (unit: uric acid nmole/mg protein/min) and O/T ratio of rats fed for 6 weeks. Abbreviations: See Table 1. Values are mean±SD of 7 rats, different superscripts in the figure indicate significant differences($p < 0.05$).

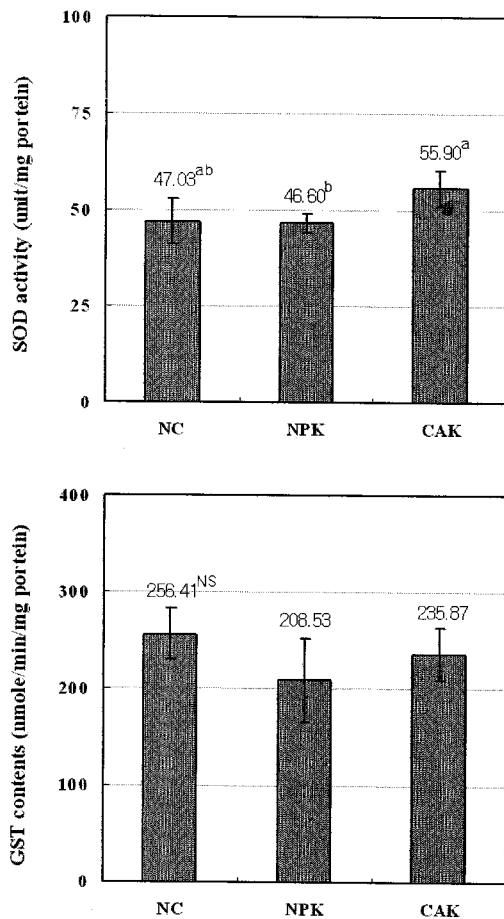


Fig. 2. The effect of chitosan-ascorbate treated *Kwamaegi* on the SOD and GST activities of rats fed for 6 weeks. Abbreviations: See Table 1. Values are mean±SD of 7 rats, different superscripts in the figures indicate significant differences ($p < 0.05$). NS: Not significant.

SOD 활성은 각각 47.03, 46.60, 55.90 unit/mg으로 NPK군은 NC군과의 유의적인 차이를 보이지 않았으나, CAK군은 NC 및 NPK군에 비하여 18.86~19.96% 높았다. 그러나 GST 활성은 NC, NPK 및 CAK군이 유의적인 차이를 보이지 않았다. SOD는 ROS generating system에 의해 생성된 superoxide를 반응성이 적은 hydrogen peroxide로 전환시키는데 관여하며(Im *et al* 1985), GST는 ROS에 의하여 생성된 LPO 등과 같은 organic hydroperoxide를 GSH를 이용하여 독성이 낮은 lipid alcohol로 전환하는데 관여한다(Jacoby 1978). 따라서 이러한 결과는 자연 건조 과메기보다 CA처리 과메기가 체내 ROS 생성을 차단하거나 생성된 ROS의 작용을 약화시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

5. 간 조직의 GSH, LPO 함량

실험 식이로 6주간 사육한 흰쥐의 간조직의 GSH 및 LPO

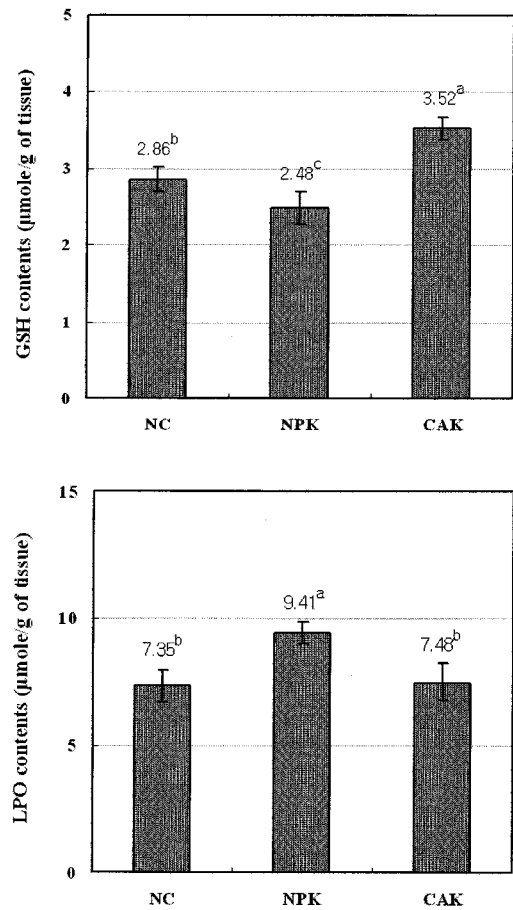


Fig. 3. The effect of *Kwamaegi* on the GSH(glutathione) and LPO(lipid peroxide) contents of rats fed for 6 weeks. Abbreviations: See Table 1. Values are mean±SD of 7 rats, different superscripts in the figures indicate significant differences ($p < 0.05$).

의 함량을 측정된 것은 Fig. 3과 같다. GSH 함량은 NC군에서는 2.86 $\mu\text{mole/g-tissue}$ 를 나타내었으나, NPK군에서는 2.48 $\mu\text{mole/g-tissue}$ 로 유의적인 감소를 보였으며, CAK군에서는 3.52 $\mu\text{mole/g-tissue}$ 로 현저하게 증가하였다. LPO의 함량은 NPK에서는 NC군에 비하여 28% 증가한 반면 CAK군은 NPK군에 비하여 25.8% 낮았다. GSH는 GPX(gultathione peroxidase)와 함께 superoxide radical이 SOD에 의하여 환원되어 생성된 hydroperoxide를 물로 전환시키는 항산화 물질로 세포내의 산화적 스트레스에 대한 방어작용을 한다(Sara *et al* 2005, Hausburg *et al* 2005). 그러나 LPO는 세포내의 산화적 스트레스로 인하여 세포막이 손상되었을 때 증가하는 것으로 알려져 있어 GSH와 LPO는 생체의 산화-항산화계의 indicator로 잘 알려져 있다(Ohkawa *et al* 1979, Cotran *et al* 1999, Vladislav *et al* 2004). 따라서 생체내 GSH 함량이 높으면 LPO 함량은 감소하며, 낮아지면 증가한다(Casini *et al* 1984, Wang *et al* 2000). 따라서 본 실험의 CAK군에서 GSH의 함량은 높고 LPO의 함

량은 저하된 현상은 CA의 항산화 작용에 의해 ROS 생성계 효소의 일종인 XOR의 O type의 활성이 저하됨으로써 ROS의 생성이 저하됨과 동시에 SOD의 활성이 증가되어 나타난 결과로 생각된다. Shin *et al*(2007)은 고지방식이 흰쥐 모델에서 CA 처리 과메기를 급여한 결과, GSH 함량은 대조군과의 유의적인 차이가 없으나 LPO의 함량은 유의적으로 낮았다고 하였으며, 본 실험의 정상쥐에 CA처리 과메기를 급여한 경우와 상이한 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 자연 건조 과메기의 경우 표준화된 제조 공정이 이루어지지 않아 나타난 차이로 생각된다. 호기성 생물들은 에너지 생산 과정에서 산소를 이용함으로써 필연적으로 superoxide, hydrogen peroxide 등과 같은 ROS를 생성한다. 이러한 ROS들은 SOD, CAT, GPX 및 GST 등과 같은 효소적 항산화계와 GSH, 비타민 C와 E 등과 같은 비효소적 항산화계에 의해 제거되는 것으로 알려져 있다. 그러나 어떠한 원인에서든지 이러한 ROS 생성계와 항산화계의 불균형이 초래되면 과잉의 ROS에 의해 동맥경화, 당뇨 등과 같은 생활습관병뿐만 아니라 암, 노화, 염증과 조직의 손상이 유발되는 것으로 보고되고 있다(Halliwell 1978, Susan & Barry 1980).

본 실험에서 과메기 제조 시 CA를 처리함으로써 과메기 중에 다량 함유되어 있는 ω -3 다가불포화 지방산의 산화를 방지함으로써 체내에서 동맥경화 예방 효과를 나타냄과 동시에 CA 자체의 항산화 작용에 의해 ROS 생성계 효소의 일종인 XOR의 O type 활성을 억제하여 ROS의 과잉 생성을 저하시켜 ROS에 의한 동맥 경화발생을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

440 kDa의 키토산을 아스코르브산 0.05% 용액에 교반시켜 만든 CA 용액에 과메기를 침지한 후 냉풍 제습 건조한 과메기(CAK)와 자연 건조한 과메기(NPK)를 각각 동결 건조하여 식이에 5%씩 첨가한 식이를 5주령의 SD계 흰쥐에 6주간 급여하였을 때 혈청지질함량과 활성산소종(ROS) 관련 효소 활성화에 미치는 영향을 비교하였다. 체중 증가량, 식이 섭취량, 식이 효율 및 간장, 신장, 심장, 고환 등의 장기 중량 비율에는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 혈중 중성 지질, 총콜레스테롤 함량에도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 HDL-콜레스테롤 함량은 과메기를 급여하지 않은 대조군(NC군), NPK군 및 CAK군에서 각각 62.00, 48.01 및 71.84 mg/dL로 유의적인 차이를 보였으며, LDL-콜레스테롤 함량은 각각 34.98, 57.49, 35.17 mg/dL로 CAK군이 다른 두 군보다 유의적으로 낮은 수치를 나타내었고, 동맥경화지수도 각각 0.80, 1.49, 0.68으로 유의적인 차이를 보였다. 각 군의 total XOD (xanthine oxidoreductase) 활성은 유의차가 없었으나 XOD O type의 활성

은 NPK군에서 NC군보다 높은 활성을 보이는 반면 CAK군은 NC 및 NPK군보다 21~45% 낮았다. 간조직의 SOD(superoxide dismutase) 활성은 CAK군이 NC 및 NPK군에 비하여 유의적으로 높았으나 GST(glutathione S-transferrase)의 활성은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 한편, 혈청 ALT의 활성은 NC군에 비해 NPK군에서 증가하였으나, CAK군은 NC군의 수준으로 나타났다. 그리고 CAK군은 NC 및 NPK군에 비하여 간조직 내의 GSH(glutathione) 함량은 높은 반면 LPO(lipid peroxide)함량은 낮았다.

이상의 결과 CA처리 냉풍 제습 건조 과메기는 자연 건조 과메기에 비하여 높은 혈중 지질 개선 효과와 더불어 체내 ROS 생성계 효소 활성을 억제함과 동시에 소거계 효소의 활성을 촉진하는 효과가 있어 산업적 활용성이 기대되며, 일반 성분 분석을 통한 자연 건조 과메기와 CA처리 냉풍 제습 건조 과메기의 일반 성분 차이 및 기능성 물질의 연구는 추후 당면 연구 과제이다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지정 대구가톨릭대학교 해양바이오 산업연구센터의 지원에 의한 것입니다.

문 헌

- Allon N Friedman, Sharon M Moe, Susan M Perkins, Yong Li, Bruce A Watkins (2006) Fish consumption and omega-3 fatty acid status and determinants in long-term hemodialysis *Am J Kidney Dis* 47: 1064-1071.
- Casini AF, Pompella A, Comporti M (1984) Glutathione depletion, lipid peroxidation, and liver necrosis following bromobenzene and iodobenzene intoxication. *Toxicol Pathol* 12: 295-299.
- Carl J Lavie, Richard V Milani, Mandeep R Mehra, Hector O Ventura (2009) Omega-3 Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. *J Am Coll Cardiol* 54: 585-594.
- Cotran RS, Kurma V, Collin T (1999) Cellular Pathology 6th ed. I in "Robbins Pathologic Basis of Diseases". WB Saunders, Philadelphia pp. 1-29.
- Ellman GL (1959) Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77.
- Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of the low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502.
- Habig WH, Pabst MJ, Fleischner G, Gatmaitan F, Aris IM,

- Jacoby WB (1974) The identification of glutathione S-transferase B with ligandin, a major binding protein of liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 71: 3879-3882.
- Ham YK, Kim SW (2004) Protective effects of plant extract on the hepatocytes of rat treated with carbon tetrachloride. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1246-1251.
- 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.
- Halliwell B (1978) Biochemical mechanism accounting for the toxic action of oxygen on living organisms: The key role of superoxide dismutase. *Cell Biol Int Rep* 2: 113-128.
- Hausburg MA, Dekrey GK, Salmen JJ, Palic MR, Gardiner CS (2005) Effects of paraquat on development of preimplantation embryos *in vivo* and *in vitro*. *Reprod Toxicol* 20: 239-246.
- Heaton KW (1973) Food fiber as an obstacle to energy intake. *Lancet* 2: 1418-1421.
- Im MJ, Manson PN, Bulkeley GB, Hoopes JE (1985) Effects of superoxide dismutase and allopurinol in survival of acute island skin flaps. *Ann Surgery* 201: 357-359.
- Jacoby JB (1978) The glutathione S-transferase: a group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 46: 383-414.
- Karmen A (1955) A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 34: 131-133.
- Kanauchi O, Deuchi K, Imasato Y, Kobayashi E (1994) Increasing effect of a chitosan and ascorbic acid mixture on fecal dietary fat excretion. *Biosci Biotech Biochem* 58: 1617-1620.
- Kanauchi O, Deuchi K, Imasato Y, Shizukuishi M, Kobayashi E (1994) Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect of ascorbate. *Biosci Biotech Biochem* 59: 786-790.
- Kim DJ, Lee JW, Cho KH, Yook HS, Byun MW (2000) Quality properties of gamma irradiated *Kwamegi* (semi-dried *Cololabis seira*). *Korean J Food Sci Technol* 32: 1128-1134.
- Kim DK, Lee YK, Kim YS, Park JS, Kim SD (2009) Effect of chitosan-ascorbate and morea (roasted of oyster shell at 1,300°C) on growth of contaminating bacteria in *dombaeki* (traditional shark dish) during storage. *Korean J Food Preserv* 16: 220-229.
- Kim KN, Joo ES, Kim KI, Kim SK, Yang HP, Jeon, YJ (2005) Effect of chitosan oligosaccharides on cholesterol level and antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 36-41.
- Lee JW, Cho KH, Yook HS, Jo C, Kim DH, Byun MW (2002) The effect of gamma irradiation on the stability and hygienic quality of semi-dried pacific saury (*Cololabis seira*) flesh. *Radiat Phys Chem* 64: 309-315.
- Lee SB, Lee YK, Kim SD (2006) Solubility, antioxidative and antimicrobial activity of chitosan ascorbate. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 973-986.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RL (1951) Protein measurement folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Martin JP, Dailey JM, Sugarmanand E (1987) Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys* 255: 329-336.
- Mogensen CE, Anderson MJF (1973) Increased kidney size and glomerular filtration rate early juvenile diabetes. *Diabetes* 22: 706-712.
- Muzzarelli RAA, Tanfani F, Emanuelli M (1984) Chelating derivatives of chitosan obtained by reaction with ascorbic acid. *Carbohydr Polym* 4: 137-151.
- Nagao A, Seki M, Kobayashi H (1999) Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 1787-1790.
- Oei HH, Kentroo WE, Burton KP, Schaffer SW (1982) A possible role of xanthine oxidase in producing oxidative stress in the heart of chronically ethanol treated rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 38: 453-461.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 248-254.
- Oh SH, Kim DJ (1998) Change of nucleotides, free amino acids in Kwamaegi flesh by different drying for pacific saury, *Cololabis seira*. *Korean J Food Nutr* 11: 249-255.
- Park GY, Lee SJ, Lim JG (1997) Effects of green tea catechin on cytochrome p450, xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 901-907.
- Reitman S, Frankel S (1957) A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28: 58-63.
- Sara CG, Terezinha D (2005) Oxidative stress in alcohol-induced rat parotid sialadenosis. *Arch Oral Biol* 50: 661-

- 668.
- Satho K (1978) Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 90: 37-43.
- Shin JG, Lee SI, Kwon JH, Kim SD (2005) Effect of benjokji with chitosan-ascorbate on serum lipid profile of rats fed a high fat diet. *J East Asian Soc Dietary Life* 15: 524-530.
- Shin KO, Oh-SH, Kim SD (2007) Quality characteristics of chitosan-ascorbate treated *kwamaegi* prepared by vacuum drying, and lowering effect of serum lipids in rats fed high fat diets. *Korean J Food Preserv* 14: 669-675.
- Stripe F, Della Corte (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3860.
- Susan MD, Barry LF (1980) Normobaric oxygen toxicity of the lung. *New Engl J Med* 303: 76-86.
- 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.
- Uhei N, Sumiko K, Kunitoshi S (1990) Effect of Pacific saury (*Cololabis seira*) on serum cholesterol and component fatty acid in humans. *Eiyogaku Zasshi* 48: 233-236.
- Urano S, Midori H, Tochihi N, Matsuo M, Shiraki M, Ito H (1991) Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposome to oxidative stress in aged diabetics. *Lipids* 26: 58-62.
- 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 Lett* 151: 79-85.
- Wang RS, Nakajima T, Honma T (2000) Different change patterns of the isozymes of cytochrome P450 and glutathione S-transferases in chemically induced liver damage in rat. *Ind Health* 37: 440-448.
- Zhu JX, Wang Y, Kong LD, Yang C, Zhang X (2004) Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *J Ethnopharmacol* 93: 133-140.
- Zoldners J, Kiseleva T, Kaiminsh I (2005) Influence of ascorbic acid on the stability of chitosan solutions. *Carbohydr Polym* 60: 215-218.

(2009년 9월 21일 접수, 2009년 11월 10일 채택)