韓國營養學會誌 36(9) : 898~907, 2003

생식제품 급여가 영양불균형식이를 섭취하는 흰쥐의 항산화체계 및 혈청 무기질 농도에 미치는 영향

이여진 · 이해미 · 박태선§

연세대학교 식품영양학과

Effects of Uncooked Powdered Food on Antioxidative System and Serum Mineral Concentrations in Rats Fed Unbalanced Diet

Lee, Yeo Jin · Lee, Hae Mi · Park, Tae Sun§

Department of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

ABSTRACT

Antioxidative function of uncooked powdered food (Sangsik) was evaluated in rats consuming nutritionally unbalanced diet including 1% cholesterol, high proportion of animal lipids (lard : soybean oil = 8 : 2), sub-optimal levels of vitamin and mineral mixture along with 0.5% ethanol in drinking water. The uncooked powdered food tested in the present study was a mixture composed of 42 kinds of plant foods (cereals, legumes, seaweeds, vegetables, and fruits) supplemented with vitamins and minerals, and dietary fiber. Control rats were fed the semi-purified diet based on the AIN-93G composition, and nutritionally unbalanced rats were divided into 3 groups, and fed one of the following diets with 0.5% ethanol in drinking water for 5 weeks : unbalanced control diet (UC), 20% Sangsik powder supplemented diet (S20), and 40% Sangsik powder supplemented diet (S40). Food efficiency ratio was significantly higher in rats fed S40 compared to the value for rats fed UC ($p < 0.05$). Hepatic level of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) was significantly lower in rats fed UC compared to that for control rats ($p < 0.05$), and was not influenced by dietary supplementation of the Sangsik powder. Hepatic superoxide dismutase (SOD) activity was significantly higher in rats fed UC compared to that for control rats ($p < 0.05$), and significantly reduced in rats fed S20 or S40 compared to the value for unbalanced control rats. Feeding unbalanced control diet significantly reduced the ratio of hepatic GSH-Px + catalase/SOD activities compared to the value for control rats, and this decrease in the ratio of antioxidant enzyme activities was reversed by adding the Sangsik powder to the diet at 20% ($p < 0.05$). Based on the results of antioxidant enzyme activities, feeding uncooked powdered diet appears to provide a favorable environment for body's antioxidative defense mechanism. Serum levels of Fe and Cu were significantly lower in rats fed the Sangsik powder supplemented diets compared to the value for unbalanced control rats ($p < 0.05$), and levels of Se, Mn, and Zn were also tended to be decreased by dietary supplementation of the Sangsik powder. These results postulate the possibility that ingredients used in the uncooked powdered food may decrease the bioavailability of trace elements in rats. (*Korean J Nutrition* 36(9) : 898~907, 2003)

KEY WORDS : uncooked powdered food, TBARS, antioxidant enzymes, trace elements, rats.

서 론

생활환경의 서구화 및 식생활 변화로 인해 고지혈증, 당뇨병, 비만, 순환기계 질환, 암 등의 발병률 및 그에 따른 사망률이 지난 20여년 한국인들 사이에 급격히 증가하는 추세에 있다. 이러한 만성 퇴행성 질환의 대부분은 산화스트레스의 증가로 인한 체내 지질과산화물 증가 및 이로 인한 대사 장해와 관련이 있고,[1] 따라서 치료보다는 예방이 더 중요하게 부각되고 있다. 최근 성인병의 예방을 위해 다양한 건강기능식품의 개발 및 이용이 급증하는 추세에 있으며, 특히 생식제품은 바쁜 현대인들에게 다양한 식 재료를 간편하게 제공하는 식사 대용식이란 점에서 선호되고 있다. 최근 국내 생식제품의 매출액은 계속 증가하여 2005년경에는 약 3000억원에 달할 것으로 예상되며,[2] 체질, 성별 및 연령에 따른 다양한 종류의 특화된 제품이 출시되고 있다.[3]

국내에서 유통되고 있는 대부분의 생식 제품들은 유기농

접수일 : 2003년 7월 14일
채택일 : 2003년 10월 20일
§To whom correspondence should be addressed.

© 2003 The Korean Nutrition Society

으로 재배된 각종 곡류, 종실류, 채소류, 과일류 및 해조류 등을 동결 건조시킨 것으로서 주로 분말형태로 시중에 판매되고 있다. 생식제품에 포함되는 다양한 원료 또는 성분들은 대부분이 식물성이며, 따라서 비타민과 무기질 등의 미량영양소와 식이섬유 뿐 아니라 phytochemicals 등의 생리활성 물질들이 풍부히 함유되어 있다.[4] 생식제품의 주 재료로 흔히 사용되는 현미는 쌀겨와 배아 부분에 oleic acid, linoleic acid 및 palmitic acid 등의 불포화지방산을 다량 함유하는 한편,[5] 이들 불포화지방산의 과산화를 억제하는 polyphenols, phytosterol, tocopherols, flavonoids 등의 다양한 항산화물질 또한 함께 함유하고 있다.[6,7] 아울러, 현미에는 셀룰로오즈, 펙틴 및 헤미셀룰로오즈와 같은 난소화성 물질들이 함유되어 있어 미량영양소의 생체 이용률을 저하시킬 우려가 있고,[8] 이점을 고려하여 최근 일부 생식제품에서는 발아현미 등과 같이 변형된 형태의 현미류가 이용되고 있다. 즉, 현미를 0.5~1 mm 정도 발아시킨 발아현미의 경우 가공 또는 열처리하지 않은 일반 현미에 비해 비타민 함량이 더 높고, 영양소의 소화흡수율을 증가시키는 장점이 있는 것으로 보고되었다.[9]

이와 같이 생식시장이 급성장하는 추세에 있음에도 불구하고 다양한 원료로 구성된 생식제품의 생리기능을 연구한 논문은 매우 드물게 보고되고 있다. 건강한 성인여성을 대상으로 3개월간 하루 2끼 생식을 섭취시킨 결과, 철분을 제외한 비타민 및 무기질 섭취량이 대조군에 비해 높았고, 혈청 지질농도가 유의적으로 감소되었다는 결과가 보고된 바 있다.[10] 이외에도 암예방 효과가 알려진 채소류를 이용하여 제조한 생식과 시판생식을 *in vivo* 또는 *in vitro*에서 비교 연구한 결과, 전자가 시판생식에 비해 항돌연변이 및 암예방 효능이 더 우수하였음이 보고되었다.[11] 본 연구팀은 영양불균형식이를 섭취하는 흰쥐를 대상으로 한 선행연구[12]에서 현미와 율무를 1 : 1로 혼합한 분말의 보충섭취가 체내 지질농도, 항산화체계 및 면역기능에 미치는 영향을 평가한 바 있다. 본 연구에서는 현미를 포함하는 전곡류 외에 다양한 두류, 채소류, 과일류 및 해조류를 혼합하여 제조된 생식제품의 섭취가 영양불균형식이를 섭취하는 흰쥐의 체내 항산화체계에 미치는 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

생후 4주령의 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐 (100.5 ± 0.3 g) 32마리를 대한바이오링크 주식회사로부터 구입하였으며, 일반 고형사료로 5일간 환경에 적응시킨 후 난괴법에 의하여 일반대조군 (control group ; C), 영양불균형대조군 (unbalanced control group ; UC), 생식20군 (20% Sangsik powder supplemented group ; S20) 및 생식40군 (40% Sangsik powder supplemented group ; S40)으로 분류하여 5주간 사육하였다. 식이는 매일 같은 시간 (12 : 00~13 : 00)에 증류수 (일반대조군의 경우) 또는 0.5% 에탄올이 첨가된 식수 (영양불균형대조군, 생식군의 경우)와 함께 공급하였다. 식이 섭취량은 식이를 공급할 때마다, 그리고 체중은 매주 1회 같은 시간에 측정하였다.

사육실의 온도는 22 ± 2.0℃, 그리고 습도는 55 ± 5.0%를 유지하였으며, 명암주기는 12시간으로 조절하였다. 5주간의 실험사육이 완료된 후 실험동물을 12시간 절식시키고, diethyl ether로 마취한 상태에서 혈액 및 간조직을 채취하였다. 복부대동맥으로부터 채혈한 혈액은 1000 × g에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였고, 분석 시까지 −70℃에 보관하였다. 간조직을 적출하여 0.9% NaCl 용액으로 헹군 후 여과지로 물기를 닦고, 분석 시까지 −70℃에 보관하였다.

2. 실험식이의 조성

본 실험에서 사용된 실험식이의 조성은 Table 1에 제시된 바와 같다. 일반대조식이는 AIN-93G 조성에 준하되, soybean oil 함량을 10%로 증가시켰다. 영양불균형대조식이는 일반대조식이와 동일하되 지질급원을 lard와 soybean oil의 비율이 8 : 2가 되도록 조절하였고 1% (wt/wt) 콜레스테롤을 포함하였으며, cellulose 함량을 AIN-93G 식이조성의 60% 수준으로 공급하였다. 또한 상습적인 음주와 함께 콜레스테롤 함량이 높은 식사를 하면서 미량영양소 및 섬유소 섭취가 부족한 현대인의 영양불균형 상태를 유도하기 위해 AIN-93G 식이조성의 75%에 해당하는 양만큼의 비타민과 무기질믹스를 첨가하고, 일반 수돗물 대신 0.5% 에탄올이 첨가된 식수를 공급하였다. 생식첨가식이는 영양불균형대조식이와 동일하되 생식분말을 각각 20% 및 40% 수준으로 식이에 첨가하였고, 첨가된 양만큼 corn starch에서 제하여 총량을 조절하였다. 생식20군 및 생식40군의 경우에도 영양불균형대조군과 마찬가지고 일반 수돗물 대신 0.5% 에탄올이 첨가된 식수를 공급하였다.

본 연구에 사용된 생식은 곡류, 두류, 야채류, 과일류, 채소류, 및 해조류 등을 포함하여 총 42가지의 식물성식품, 비타민 4종, 무기질 2종, 유제품, 식이섬유, 그리고 균사체 추출물 등을 동결 건조시킨 후 분말형태로 만든 최종제품으로서 (주)녹십초알로에로부터 공급받아 사용하였다. 생식제품의 자세한 성분조성은 Table 2에 제시된 바와 같고, 영양

소 함량은 Table 3에 나타나 있다. 본 실험에 사용된 생식제품은 당질 외에 단백질과 약간의 지질 및 기타 미량영양소를 함유하고 있으며 (Table 3), 따라서 생식첨가식이는 영양불균형대조식이에 비해 식이내 당질함량은 약간 더 낮고, 단백질 함량은 더 높았다. 결과적으로 실험식이의 에너지 비율은 식이별로 차이가 있었으나, 총칼로리 함량은 411~419 kcal/100 g 범위에 속하여 isocaloric diet에 근접하였다.

3. 총항산화능 및 지질과산화물 농도 측정

혈청의 총항산화능은 상업용 분석 kit (#NX2332, Randox Ltd., USA)를 이용하여 측정하였다.[13] ABTS[2,2'-Azino-di-(3-ethylbinzthiazoline sulphonate)] 시약을 peroxidase 및 H_2O_2와 함께 배양시키면 안정한 청록색 분자를 형성하는데, 이때 검체 중에 존재하는 항산화제에 의해 ABTS의 발색이 억제되는 정도를 측정하여 총항산화능을 평가하였다.

혈청 및 간조직의 지질과산화물 농도를 평가하기 위해 Ohkawa 등[14]의 방법을 수정하여 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 농도를 분석하였다. 15% (w/v) trichloroacetic acid, 0.375% (w/v) thiobarbituric acid와 0.25 N hydrochloric acid를 혼합한 용액 0.8 ml에 혈청 0.4 ml을 넣고 잘 섞은 후, 95℃에서 15분간 가열한 다음 얼음 위에서 식혔다. 1000 × g에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 간균질액 0.2 ml에 8.1% sodium dodecyl sulfate 0.2 ml과 1차 증류수 0.6 ml을 넣어 혼합한 후, 20% acetic acid (pH 3.5) 1.5 ml과 0.8% thiobarbituric acid 용액 1.5 ml을 넣고 95℃ 진탕수조에서 60분간 가열하였다. 실온으로 식힌 후 증류수 1 ml과 n-butanol : pyridine (15 : 1) 혼합액 5 ml을 넣어 잘 섞은 후, 원심분리 (1000 × g, 15분)하여 얻은 상층액의 흡광도를 532 nm에서 MDA 표준용액과 비교하여 비색 정량하였다.

4. 간조직의 항산화효소 활성 측정

Hulcher 등[15]의 방법을 수정하여 간조직으로부터 효소원

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Experimental diets			
	C	UC	S20	S40
	% (wt/wt)			
Corn starch	50	52	32	12
Sucrose	10	10	10	10
Soybean oil	10	2	2	2
Lard	0	8	8	8
Casein	20	20	20	20
L-cysteine	0.3	0.3	0.3	0.3
Mineral mixture[1)]	3.5	2.63	2.63	2.63
Vitamin mixture[2)]	1	0.75	0.75	0.75
Cellulose	5	3	3	3
Choline bitartarate	0.25	0.25	0.25	0.25
Tert-butylhydroquinone	0.001	0.001	0.001	0.001
Cholesterol	0	1	1	1
Sangsik powder	0	0	20	40
Calories (kcal/ 100 g)	411	419	415	411
Carbohydrate (g/ 100 g)	60	62	56	50
Protein (g/ 100 g)	20	20	23	26
Fat (g/ 100 g)	10	10	11	12
Energy ratio (CHO : protein : fat)	58 : 20 : 22	58 : 19 : 21	54 : 23 : 24	48 : 26 : 26

C: control group; UC: unbalanced control group; S20: 20% Sangsik powder supplemented group; S40: 40% Sangsik powder supplemented group

[1)] Contained (g/kg of mix) calcium carbonate anhydrous 357; potassium phosphate monobasic 196; potassium citrate, tripotassium monohydrate 70.78; sodium chloride 74.00; potassium sulfate 46.6; magnesium oxide 24; ferric citrate 6.06; zinc carbonate 1.65; manganese carbonate 0.63; copper carbonate 0.3; potassium iodate 0.01; sodium selenate anhydrous 0.103; ammonium paramolybdate · $4H_2O$ 0.00795; sodium metasilicate · $9H_2O$ 1.45; chromium potassium sulfate · $12H_2O$ 0.275; ammonium vanadate 0.0066; lithium chloride 0.0174; boric acid 0.08145; sodium fluoride 0.0635; nickel carbonate 0.0318; powdered sucrose 221.026

[2)] Contained (g/kg of mix) nicotinic acid 3.0; Ca pantothenate 1.6; pyridoxine-HCl 0.7; thiamin-HCl 0.6; riboflavin 0.6; folic acid 0.2; biotin 0.02; vitamin B_{12} (0.1% in mannitol) 2.5; vitamin E (500 IU/g) 15.0; vitamin A (500,000 IU/g) 0.8; vitamin D3 (400,000 IU/g) 0.25; vitamin K1 (phylloquinone) 0.075; powdered sucrose 974.655

Table 2. Composition of the Sangsik powder

Food group (%)	Ingredients (%)
Cereals (72.1)	Brown rice (25) · Sprouted brown rice (7) · Glutinous brown rice (7) · α-brown rices (6) · Brown rice germ (4) · Corn (3.8) · Barley (3.6) · Glutinous rice (3) · Sweet potato (3) · Glutinous millet (2) · Wheat germ (2) · *Job's tears* (2) · *Sorghum* (2) · *Potato* (1.5) · *Prosomillet*
Legumes (8.2)	Bean (3) · Black soybean (2) · Small red bean (1.5) · Chestnuts (1) · Mungbean (1) · Cornus officinalisis · Perilla · Sesame
Vegetables (4.8)	Carrot (2) · Kale · Pumpkin · Dropwort · Angelica keiskei koidz · Burdock · Crown daisy · Doraji · Lotus root · Mulberry leaves · Cabbage · Radish root
Fruits (2.5)	Apple (2) · Persimmon · Japanese apricot
Sea weeds (2.4)	Sea mustard (2) · Sea tangle · Laver · Spirullina
Others (10)	Minerals · Vitamins · Mycelias · Milk products · Rice germ · Acantho panacis cortex powder · Bamboo salt

Numbers in parenthesis indicate percentage of each ingredients used in the Sangsik powder. Ingredients composed of less than 1% of the Sangsik powder do not show the percentage

을 분리하였다. 간조직 2 g에 0.1 M triethanolamine, 0.02 M ethylene diamine tetracetic acid (pH 7.4), 0.002 M dithiothreitol가 포함된 완충용액 8 ml를 가한 후 빙냉상태에서 glass teflon homogenizer를 사용하여 분쇄하였다. 10,000 × g (4℃)에서 15분간 원심분리하여 상층액을 취한 후, 다시 12,000 × g (4℃)에서 15분간 원심분리하였다. 미토콘드리아 분획인 침전물을 재현탁시켜 catalase 활성 측정에 사용하였고, 상층액을 취하여 100,000 × g에서 1시간 동안 초원심분리하였다. 이때 얻어진 상층액은 세포질 분획으로서 superoxide dismutase (SOD) 및 glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성 측정에 사용하였다. 세포질 및 미토콘드리아 분획의 단백질함량은 Bradford 방법[16]에 입각한 protein assay kit (# 55611A, Bio Rad사, CA, USA)를 이용하여 측정하였다.

간조직의 총 SOD 활성은 Marklund와 Marklund 방법[17]을 수정하여 pyrogallol의 자동산화 억제 정도를 평가하므로서 측정하였다. 10 mM의 ethylene diamine tetracetic acid (pH 8.2)가 함유된 50 mM Tris-HCl buffer 1.5 ml에 효소원 0.1 ml을 가하고, 7.2 mM pyrogallol 0.1 ml을 가하여 잘 섞은 후 420 nm에서 5분 동안 흡광도가 증가하는 정도를 측정하였다. 효소 1 unit는 pyrogallol의 자동산화를 50% 방해하는 데 필요한 효소의 양으로서 산출하였고, specific activity는 unit/mg protein으로 나타내었다.

간조직의 catalase 활성은 Aebi 등[18]의 방법에 준하여 측정하였다. 효소원 10 ul를 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.2) 2.89 ml과 혼합하고, 300 mM H_2O_2 0.1 ml을 가하여 반응을 개시한 다음, 240 nm에서 5분 동안 감소하는 흡광도의 양을 측정하였다. catalase 활성 1 unit은 1분간 소실되는 H_2O_2의 양 (μmole)을 의미하고, specific activity는 1 unit/mg protein으로 제시하였다.

간조직의 GSH-Px 활성은 Paglia의 방법[19]을 수정하여 측정하였다. 효소원 0.1 ml을 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) 2.6 ml에 가하여 잘 섞었다. 여기에 6 mM NADPH 0.1 ml, 1 unit glutathione reductase, 30 mM glutathione 0.1 ml을 가하여 25℃에서 5분간 방치하였다. 7.5 mM H_2O_2 0.1 ml을 첨가하여 반응을 개시한 후 340 nm에서 2분간 감소하는 흡광도를 측정하였다. GSH-Px 활성 1 unit은 1분간 산화되는 NADPH (μmole)의 양을 의미하고, specific activity는 unit/ mg protein으로 제시하였다.

Table 3. Proximate nutrient analysis of the Sangsik powder[1)]

Nutrient	Level
Energy (kcal/ 100 g)	379.8
Water (g/ 100 g)	6.2
Carbohydrate (g/ 100 g)	69.3
Crude Protein (g/ 100 g)	15.3
Crude Lipid (g/ 100 g)	4.6
Crude Fiber (g/ 100 g)	17.5
Sodium (mg/ 100 g)	529.0
Iron (mg/ 100 g)	12.2
Manganese (mg/ 100 g)	3.8
Cupper (mg/ 100 g)	0.6
Zinc (mg/ 100 g)	35.3
Selenium (mg/ 100 g)	ND

[1)] Obtained from Korea Advanced Food Research Institute, ND: not detected

5. 혈청 무기질 농도 측정

혈청의 무기질 농도는 원자흡광광도계 (atomic absorption spectrometer, Model #4110ZL, Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA)를 사용하여 측정하였다. 사용된 원자흡광광도계에는 transverse heated graphite atomizer (THGA) 튜브와 hollow cathode lamp가 부착되었으며, 바탕보정법으로 Zeeman background 형식[20]을 사용하였다. 혈청시료의 점성을 없애기 위해 계면활성제인 0.2% triton X-100을 이용하여 혈청시료를 적당한 농도로 희석시킨 후, 각각

248.3 nm, 324.7 nm, 279.5 nm, 196 nm 및 213.8 nm의 파장에서 Fe, Cu, Mn, Se 및 Zn 농도를 측정하였으며, 주입된 시료의 양은 20 μl로 조절하였다. 무기질의 오염을 막기 위해 분석에 이용된 모든 초자기구들을 10% HNO_3 용액에 24시간, 그리고 3차 증류수에 24시간 침지한 후, 3차 증류수로 3번 세척하고 자연 상태에서 완전 건조시켜 사용하였다.

6. 통계분석

모든 자료의 통계분석은 SAS (Statistical Analysis system) PC package를 사용하여 실시하였고, 분석 수치는 mean ± SEM으로 제시하였다. 실험식이에 의한 효과의 유의성은 one way analysis of variance (ANOVA)를 실시하여 검증하였고, $p < 0.05$ 수준에서 유의성이 관찰된 경우 각 실험군 간의 평균값의 차이에 대한 유의성은 Duncan's multiple range test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 평가하였다. 간조직의 지질과산화물 농도와 항산화효소 활성 간의 상관관계는 Pearson's correlation test를 이용하여 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 체중증가량 및 식이효율

실험식이 급여 이후 5주 동안 측정된 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율 결과는 Table 4에 제시된 바와 같다. 일일 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율은 일반대조군과 영양불균형대조군 간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 생식20군의 경우 식이섭취량이 영양불균형대조군에 비해 유의하게 낮았으나 ($p < 0.05$), 체중증가량 및 식이효율에는 유의적인 변화가 없었다. 생식40군의 경우 영양불균형대조군과 비교시 식이섭취량에 차이가 없었으나 더 높은 체중증가량을 보였고 ($p < 0.05$), 결과적으로 식이효율이 유의하게 향상되는 결과를 나타냈다 ($p < 0.05$). 이는 생식에 함유된 단백질 및 각종 미량 영양소가 성장기 흰쥐의 성장 또는 식이효율을 증가시킨 때문으로 생각되며, 생식의 바람직한 효과로 사료된다.

2. 혈청 총항산화능 및 지질과산화물 농도

생식첨가식이가 흰쥐의 혈청 총항산화능, 혈청 및 간조직의 지질과산화물 농도에 미치는 영향이 Table 5에 제시되어 있다. 총항산화능은 혈청 내에 존재하는 항산화물질에 의해 ABTS 화합물의 산화가 억제되는 정도를 측정한 것으로서, 본 연구의 결과 실험군 간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 혈청의 지질과산화물 농도 역시 실험군 간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 한편, 간조직의 지질과산화물 농도는 일반대조군 (24.2 ± 0.93 nmol/g liver)에 비해 영양불균형대조군 (18.8 ± 1.94 μmol/l)에서 유의하게 더 낮았으며 ($p < 0.05$), 영양불균형식이에 생식분말을

Table 4. Body weight gain and food efficiency ratio of rats fed experimental diets for 5 weeks

Group	C	UC	S20	S40
Food intake (g/day)	17.7 ± 0.04^a	17.5 ± 0.11^a	16.9 ± 0.12^b	17.7 ± 0.22^a
Body weight gain (g/5 weeks)	187 ± 4.90^b	188 ± 5.94^b	187 ± 6.35^b	206 ± 2.65^a
FER[1]	0.34 ± 0.01^b	0.35 ± 0.01^b	0.36 ± 0.01^{ab}	0.38 ± 0.01^a

C: control group; UC: unbalanced control group; S20: 20% Sangsik powder supplemented group; S40: 40% Sangsik powder supplemented group

1) FER (Food efficiency ratio) = $\frac{\text{Body weight gain for experimental period (g/day)}}{\text{Food intake for experimental period (g/day)}}$

Values are mean ± SEM of 8 rats
Different letters in the same row indicate significant differences at $p < 0.05$

Table 5. Levels of total antioxidant status (TAS) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in the serum and liver of rats fed experimental diets

Group	C	UC	S20	S40
TAS				
(mmol/l serum)	0.86 ± 0.07	0.90 ± 0.02	0.98 ± 0.02	0.92 ± 0.02
TBARS				
(μmol/l serum)	5.15 ± 0.35	4.85 ± 0.31	5.53 ± 0.26	4.88 ± 0.28
(nmol/g liver)	24.2 ± 0.93^a	18.8 ± 1.94^b	21.1 ± 1.10^{ab}	19.9 ± 0.57^{ab}

C: control group; UC: unbalanced control group; S20: 20% Sangsik powder supplemented group; S40: 40% Sangsik powder supplemented group
Values are mean ± SEM of 8 rats
Different letters in the same row indicate significant differences at $p < 0.05$

Table 6. Correlation coefficients between the level of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and antioxidative enzyme activities in the liver of rats

Group	TBARS	SOD	Catalase	GSH-Px	(G + C)/SOD
TBARS	–	−0.221	0.323	−0.149	0.393*
SOD			−0.014	−0.156	−0.622**
Catalase				0.014	0.522**
GSH-Px					0.067
(G + C)/SOD					–

*, **: Significantly correlated by Pearson's correlation test at *: $p<0.05$ and **: $p<0.01$, respectively
SOD: superoxide dismutase; GSH-Px, glutathione peroxidase; (G + C)/SOD, glutathione peroxidase + catalase/SOD

Table 7. Serum mineral concentrations of rats fed experimental diets

Group	C	UC	S20	S40
		(μg/dl)		
Fe	249 ± 22.8^{a}	226 ± 18.5^{ab}	181 ± 26.2^{c}	182 ± 15.2^{c}
Se	68.4 ± 0.73^{a}	64.4 ± 2.05^{ab}	59.5 ± 2.36^{b}	65.0 ± 2.98^{ab}
Mn	0.77 ± 0.06	0.92 ± 0.08	0.79 ± 0.06	0.80 ± 0.07
Cu	105 ± 1.39^{b}	125 ± 8.69^{a}	103 ± 2.04^{b}	114 ± 2.40^{ab}
Zn	210 ± 11.6^{a}	210 ± 7.57^{a}	183 ± 13.9^{ab}	142 ± 6.79^{b}
Cu/Zn (ratio)	0.51 ± 0.02^{b}	0.60 ± 0.04^{b}	0.58 ± 0.04^{b}	0.76 ± 0.06^{a}

C: control group; UC: unbalanced control group; S20: 20% Sangsik powder supplemented group; S40: 40% Sangsik powder supplemented group
Values are mean ± SEM of 8 rats
Different letters in the same row indicate significant differences at $p<0.05$

첨가하여 섭취시킨 결과 영양불균형대조군과 유의한 차이를 나타내지 않았다.

혈액 및 조직의 지질과산화물 농도는 산화스트레스로 인해 자유산소라디칼의 생성이 증가하거나, 또는 신체의 항산화 방어능력이 감소되는 상황에서 증가한다. 지질과산화 정도의 지표로는 과산화과정의 초기 단계에서 생성되는 conjugated diene, 또는 2차 단계에서 생성되는 malondialdehyde (MDA)가 종종 이용되고 있다.[21] 본 연구에서 영양불균형대조군의 경우 만성적으로 알코올을 섭취하였음에도 불구하고 일반대조군에 비해 간조직의 지질과산화물 농도가 더 낮게 나타났는데, 이는 실험식이에 포함된 지질급원의 차이에 부분적인 원인이 있는 것으로 사료된다. 즉, 일반대조군의 경우 지질급원으로 불포화지방산 함량이 높은 대두유 (10%)를 사용한 한편, 영양불균형대조군의 경우에는 라아드와 대두유를 8 : 2의 비율로 사용하였다. 이는 식이지질 급원으로 옥수수유 (10%)만을 섭취한 쥐에 비해 라아드 (7.5%)와 옥수수유 (2.5%)를 혼합하여 섭취한 동물에서 지질과산화물 농도가 유의적으로 더 낮게 나타난 연구결과[22,23]와도 일치하는 것이다. 한편, 본 연구의 결과에서 일반대조군의 75% 수준으로 공급된 비타민 및 무기질 섭취량이 영양불균형대조군의 지질과산화물 농도에 직접적인 영향을 미쳤는지를 평가하는 것은 어려우나, 일반대조군과 영양불균형대조군 간에 혈청 미량원소의 농도에 유의적인 차이가 나타나지 않은 결과 (Table 7)로 미루어 볼 때 sub-optimal 수준에서 공급된 미량영양소로 인해 체내 항산화체계에 유의적인 변화가 초래되지는 않았을 것으로 추정된다. 아울러 본 연구의 결과에서 생식 섭취가 혈청 및 간조직의 지질과산화물 농도에 유의적인 변화를 초래하지 않은 것은 영양불균형대조군의 지질과산화물 농도가 일반대조군보다도 더 낮았던 것에 부분적인 원인이 있을 것으로 사료된다.

생식제품에 주로 이용되는 기능성 식품소재가 체내 총항산화능 및 지질과산화물 농도에 미치는 영향을 평가한 선행연구결과를 살펴보면, 고콜레스테롤식이를 섭취하는 흰쥐를 대상으로 신선초와 케일분말을 첨가하여 사육한 결과 대조군에 비해 총항산화능이 유의적으로 향상되었다.[24] 아울러 옥수수유 (10%)가 함유된 식이에 무우건분과 양파즙을 섭취시킨 결과 흰쥐 간조직의 과산화지질 생성이 현저하게 감소되었음이 보고되었다.[25] 사염화탄소로 간 손상을 유도시킨 흰쥐를 대상으로 한 Jung 등[26]의 연구에서도 4주간 신선초 녹즙을 투여한 결과 간조직의 지질과산화물 농도가 유의하게 감소하였다. 반면, 고콜레스테롤혈증을 나타내는 성인을 대상으로 녹즙의 항산화효과를 평가한 연구에서는 남녀 모두에서 혈청 지질과산화물 농도에 유의적인 차이가 관찰되지 않았다.[27]

3. 간조직의 항산화효소 활성

SOD, catalase 및 GSH-Px는 자유산소라디칼 (supero-

xide radical)로부터 세포막과 세포내 물질을 보호하는 항산화 효소계이다. 세포내에서 자유산소라디칼은 SOD에 의해 일차적으로 H_2O_2로 전환되며, 후자는 다시 catalase와 GSH-Px의 촉매작용에 의해 무독한 H_2O로 환원됨으로써 조직을 과산화적 손상으로부터 보호해 준다.[28] 아울러 조직의 노화 및 산화스트레스 방어능력을 평가하는데 있어서 이들 항산화효소의 절대적 수치보다는 (GSH-Px + catalase)/SOD 비율이 더 중요하게 작용할 수 있음이 제시된 바 있다.[29] 즉, 이는 (GSH-Px + catalase)/SOD 비율이 감소하여 조직에 H_2O_2가 축적되면, 후자는 지질과산화의 주범이 되는 hydroxy radical을 형성하므로서 세포막 손상을 초래할 수 있다는 이론에 근거한 것이다. 본 연구에서 간조직의 지질과산화물 농도와 항산화효소 활성 간의 상관관계를 평가한 결과(Table 6), 간조직의 (GSH-Px + catalase)/SOD 비율과 유의적인 양의 상관관계가 관찰되었다 ($p < 0.05$). 이와같이 체내 산화스트레스가 증가하는 상황에서 (GSH-Px + catalase)/SOD 비율이 함께 증가하는 결과는 운동훈련과 함께 장기간의 에탄올 섭취를 병행시킨 흰쥐를 대상으로 한 연구[30]에서도 유사하게 관찰되어 증가된 산화스트레스에 대응하기 위한 체내 방어 기전의 일환으로 풀이되고 있다.

생식첨가식이가 간조직의 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성 및 (GSH-Px + catalase)/SOD 비율에 미치는 영향이 Fig. 1-4에 제시되어 있다. 간조직의 SOD 활성은 일반대조군 (0.11 ± 0.008 unit/mg protein)에 비해 영양불균형대조군 (0.14 ± 0.004 unit/mg protein)에서 유의적으로 증가하였다. 한편 생식20군 및 생식40군의 경우 간조직의 SOD 활성이 각각 0.11 ± 0.007 및 0.12 ± 0.003 unit/mg protein으로 나타나 영양불균형대조군에 비해 유의하게 감소하였다 (Fig. 1). 간조직의 catalase 활성은 영양불균형대조군 (563 ± 21.2 unit/mg protein)에서 일반대조군 (706 ± 79.3 unit/mg

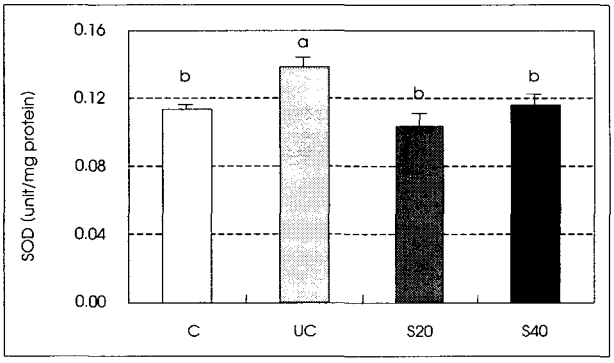

Fig. 1. Hepatic superoxide dismutase (SOD) activity of rats fed experimental diets, Values are mean ± SEM of 8 rats, Different letters above the bar indicate significant differences at $p < 0.05$, C: control group; UC: unbalanced control group; S20: 20% Sangsik powder supplemented group; S40: 40% Sangsik powder supplemented group.

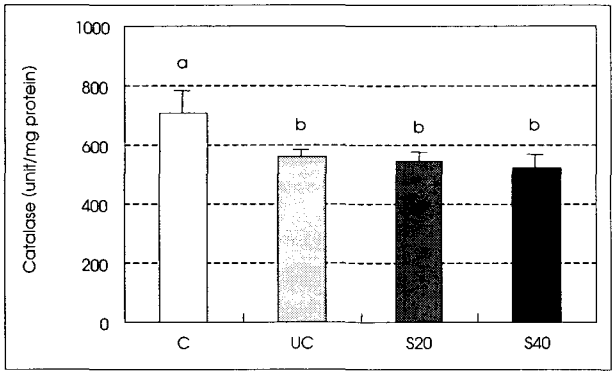

Fig. 2. Hepatic catalase activity of rats fed experimental diets, Values are mean ± SEM of 8 rats, Different letters above the bar indicate significant differences at $p < 0.05$, C: control group; UC: unbalanced control group; S20: 20% Sangsik powder supplemented group; S40: 40% Sangsik powder supplemented group.

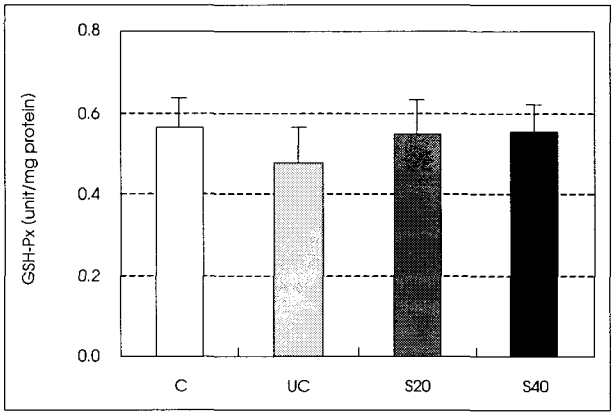

Fig. 3. Hepatic glutathione peroxidase activity (GSH-Px) of rats fed experimental diets, Values are mean ± SEM of 8 rats, Different letters above the bar indicate significant differences at $p < 0.05$, C: control group; UC: unbalanced control group; S20: 20% Sangsik powder supplemented group; S40: 40% Sangsik powder supplemented group.

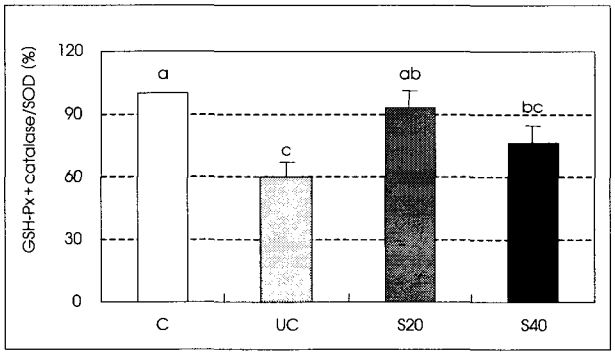

Fig. 4. Relative status of hepatic antioxidant enzyme activities in rats, Values are mean ± SEM of 8 rats, Different letters above the bar indicate significant differences at $p < 0.05$, C: control group; UC, unbalanced control group; S20, 20% Sangsik powder supplemented group; S40, 40% Sangsik powder supplemented group. GSH-Px, glutathione peroxidase; SOD, superoxide dismutase.

protein)에 비해 유의하게 더 낮았으며 ($p < 0.05$), 생식20군 (543 ± 34.5 unit/mg protein) 및 생식40군 (524 ± 48.5 unit/mg protein)의 간 조직내 catalase 활성은 영양불균형대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않았다 (Fig. 2). 간조직의 GSH-Px 활성은 일반대조군 (0.56 ± 0.07 unit/mg protein)에 비해 영양불균형대조군 (0.48 ± 0.09 unit/mg protein)에서 감소하는 경향을, 그리고 생식섭취군에서는 다시 증가하는 경향을 보였으나, 통계적 유의성은 관찰되지 않았다 (Fig. 3). 5주간 사육한 쥐로부터 적출한 간조직의 (GSH-Px + catalase)/SOD 비율을 평가한 결과, 영양불균형대조군 (59.6 ± 7.13%)에서 일반대조군 (100%)보다 유의하게 더 낮았다 ($p < 0.05$). 생식첨가군의 경우 영양불균형대조군에 비해 간조직의 (GSH-Px + catalase)/SOD 비율이 더 높았으며, 특히 생식20군 (93.1 ± 8.53%)에서 유의적인 차이가 관찰되었고 ($p < 0.05$), 40% 수준으로 생식을 첨가해 준 경우에는 생식20군에 비해 오히려 감소하는 경향을 보였다 ($p > 0.05$) (Fig. 4). 따라서 영양불균형대조식이는 간조직 내 H_2O_2 축적을 증가시키고, 20% 생식첨가식이는 이를 다시 유의하게 감소시키는 환경을 조성하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

SOD는 산화스트레스로 인해 자유산소라디칼의 발생이 증가하는 상황에서 세포 또는 유기체를 보호하기 위해 그 활성이 증가되는 것으로 알려져 있다.[31] 간조직의 SOD 활성도가 영양불균형대조군에서 일반대조군에 비해 유의적으로 더 높았고, 생식분말 섭취에 의해 감소한 것으로 나타난 본 연구의 결과로 미루어 볼 때, 만성적인 알코올 섭취 및 영양불균형 식이는 체내에 자유산소라디칼의 발생을 증가시키는 한편, 생식섭취는 체내에서 산화스트레스를 경감시키는 효과가 있는 것으로 풀이된다. 간조직의 (GSH-Px + catalase)/SOD 비율이 생식20군에서 영양불균형대조군에 비해 유의적으로 증가된 결과 역시 곡류, 견과류, 채소 및 과일에 함유된 다양한 항산화물질이 지질과산화의 주요 원인물질인 H_2O_2의 체내 축적을 경감시키는 작용을 하였음을 시사하는 것이다. 아울러 생식40군의 간조직 (GSH-Px + catalase)/SOD 비율이 생식20군에 비해 감소하는 경향을 보인 본 연구의 결과는 생식을 비롯한 다양한 건강기능성식품의 이용 시 적정 섭취량의 중요성을 시사하는 것으로 생각된다.

기능성 식품소재 또는 영양성분이 간조직의 항산화효소 활성에 미치는 영향을 평가한 연구결과에 의하면, Lee 등[32]이 흰쥐를 대상으로 식이지질급원의 P/S 비율을 변화시키면서 항산화비타민을 보충시킨 결과 간조직의 SOD 활성에는 변화가 없었으나, GSH-Px 활성이 유의하게 증가하였다. 한편, 흰쥐에게 밤 내피분말 (10%)이 함유된 실험식이를 4주간 섭취시킨 결과, 간조직의 SOD 활성은 증가되었으나, catalase 및 GSH-Px 활성에는 유의적인 변화가 없었다.[33] 본 연구팀의 선행연구[12]에서 가공되지 않은 현미 및 율무를 1 : 1로 배합한 곡류분말을 영양불균형식이를 섭취하는 흰쥐에게 섭취시킨 결과 간조직의 지질과산화물 농도는 영양불균형대조군에 비해 38% 정도 감소되었으나, 항산화효소 활성에서는 유의적인 영향을 미치지 못한 것으로 나타났다.

4. 혈청 무기질 농도

5주간의 생식첨가식이가 영양불균형식이를 섭취하는 흰쥐의 무기질 농도에 미치는 영향을 평가한 결과가 Table 7에 나타나 있다. 혈청 Fe 농도는 영양불균형대조군에서 일반대조군과 비교 시 유의적인 차이가 없었고, 생식섭취군의 경우 영양불균형대조군보다 유의하게 더 낮았으며 ($p < 0.05$), 생식첨가 수준에 따른 차이는 관찰되지 않았다. 혈청 Se 농도는 모든 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 혈청 Mn 농도는 실험군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 영양불균형대조군에서 다른 군에 비해 높은 경향을 보였다. 혈청 Cu 농도는 영양불균형대조군에서 일반대조군에 비해 유의하게 높았으며 ($p < 0.05$), 생식20군의 경우 영양불균형대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 혈청 Zn 농도는 영양불균형대조군과 일반대조군 간에 차이가 없었으나 ($p < 0.05$) 생식첨가 시 감소하는 경향을 보였으며, 특히 생식40군 (142 ± 6.79 μg/dl)에서 영양불균형대조군 (210 ± 7.57 μg/dl)에 비해 32% 유의적으로 감소하였다. 혈청의 Cu/Zn ratio는 영양불균형대조군에 비해 생식40군에서 유의적으로 더 높았다 ($p < 0.05$).

Fe, Se, Mn, Zn 및 Cu 등의 무기질은 종류에 따라 항산화체계에 미치는 작용기전에 차이가 있다. Fe의 경우 H_2O_2를 제거하는 catalase의 구성성분으로 작용하므로 체내에서 항산화 작용을 나타내는 한편, 과량으로 섭취시 Fenton 반응을 촉매하는 pro-oxidant로 작용하는 양면성을 지닌다.[34] Se은 생체내에서 glutathione peroxidase의 cofactor로 작용한다.[35] Mn은 Mn-SOD의 구성성분으로서 자유산소라디칼 제거에 관여하며, 따라서 결핍 시 미토콘드리아내의 지질과산화가 증가함이 보고되었다.[36] Cu는 SOD 효소의 보조인자이며 헤모글로빈 생성에 필수적인 영양소이나, 과량 섭취시에는 Fe과 마찬가지로 pro-oxidant로 작용할 수 있다.[37] Cu와 Zn은 체내에서 metallothinein에 대해 서로 경쟁적인 관계에 있으며, 상호간의 길항작용을 통해 생체내에서 항상성을 유지한다.[38] 인체를 대상으로 한 연구결과에 의

하면 혈청 Cu 농도는 연령과 양의 상관관계를 나타내고, 만성적인 음주 시 증가하는 것으로 알려져 있으며,[39] 혈청 Cu/Zn 비율이 비정상적으로 증가하는 경우 허혈성 심장질환의 위험율이 증가하는 것으로 보고되었다.[40]

이상의 혈청 무기질농도 결과를 종합해 볼 때, 영양불균형대조식이는 Cu를 제외한 다른 무기질 농도에 영향을 미치지 않았음을 알 수 있다. 생식제품에는 Fe 및 Zn 등을 비롯한 미량원소가 함유되어 있고 (Table 3), 따라서 생식분말 섭취군의 경우 영양불균형대조군에 비해 이들 무기질 섭취량이 더 높을 것으로 추정되나, 혈중 무기질 농도는 오히려 더 낮게 나타났다 (특히 Fe와 Cu의 경우 유의적인 감소가 관찰되었음). 이는 생식제품이 phytate 및 섬유질이 풍부한 전곡류 및 식물성 식품들로 구성되어 있어 무기질의 생체이용률을 저하시키기 때문[41]으로 사료된다. 따라서 생식제품의 장기 섭취시 이들 무기질 영양상태가 저하되지 않도록 주의가 필요하며, 이를 극복할 수 있는 방안이 고려되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 비타민과 무기질을 sub-optimal 수준으로 섭취시키고 고콜레스테롤식이와 에탄올을 병행 섭취시키는 흰쥐를 대상으로 5주간 생식제품을 20% (생식20군) 및 40% (생식40군) 수준으로 보충 섭취시킨 후, 체내 항산화체계에 미치는 영향을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 일일 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율은 일반대조군과 영양불균형대조군 간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았고, 생식40군의 경우 영양불균형대조군에 비해 식이효율이 유의하게 향상되었다 ($p < 0.05$). 간조직의 지질과산화물 농도는 일반대조군에 비해 영양불균형대조군에서 유의하게 더 낮았으며 ($p < 0.05$), 식이내 생식첨가에 의해 영향을 받지 않았다. 간조직의 SOD 활성은 일반대조군에 비해 영양불균형대조군에서 유의적으로 증가하였고, 생식 섭취군의 경우 영양불균형대조군에 비해 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$). 간조직의 catalase 활성은 영양불균형대조군에서 일반대조군에 비해 유의하게 더 낮았으며 ($p < 0.05$), 생식섭취에 의해 영향을 받지 않았다. 간조직의 (GSH-Px + catalase)/SOD 비율은 영양불균형대조군에서 일반대조군보다 유의하게 더 낮았으며, 영양불균형대조식이에 생식을 20% 수준으로 첨가시킨 결과 유의하게 증가하였다 ($p < 0.05$). 영양불균형대조식이는 일반대조식이에 비해 혈중 Cu 농도를 유의하게 증가시켰다. 생식분말 섭취군의 경우 영양불균형대조군에 비해 Fe, Se, Mn, Zn 및 Cu 등의 무기질 섭취량이 더 많음에도 불구하고 혈중 농도는 오히려 더 낮게 나타났으며, 특히 Fe 및 Cu농도는 유의적으로 감소하였다. 이는 생식제품이 phytate 및 섬유질이 풍부한 전곡류 및 식물성 식품들로 구성되어 있어 무기질의 생체이용률을 저하시키기 때문으로 사료되며, 생식제품의 장기 섭취시 이들 무기질 영양상태가 저하되지 않도록 주의가 필요할 것으로 생각된다.

■ 감사의 글

본 연구는 2003년도 (주)녹십초알로에 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

Literature cited

1) Alordmann R, Ribierre C, Rouach H. Ethanol induced lipid peroxidation and oxidative stress in extra hepatic tissues. *Alcohol* 25: 231-237, 1990
2) The status of uncooked food industry and its future. *J Korean Soc Food Sci Nutr* autumn symposium, 2002
3) Park MH. The status of uncooked food industry and its future. *Food Industry and Nutrition* 7(3): 1-3, 2002
4) Hwang JK. Function of uncooked foods. *Food Industry and Nutrition* 7(3): 16-19, 2002
5) Kim MK, Won EJ. Effects of feeding polished or brown rice diet with different kinds of lipids on the metabolism in rats. *Kor J Nutr* 17: 154-162, 1984
6) Adom KK, Liu RH. Antioxidant activity of grains. *J Agric Food Chem* 50: 6182-6187, 2002
7) Thompson LU. Antioxidant and hormone-mediated health benefits of whole grains. *Grit Rev Food Sci Nutr* 34: 473-497, 1994
8) Bunzel M, Ralph J, Martia JM, Hatfield RD, Steinhart H. Diferulates as structual components in soluble and insoluble cereal dietary fiber. *J Sci Food Agric* 81(7): 653-660, 2001
9) 김성수, 하태열, 이영기, 홍희도, 이민재, 김두남. 곡류, 두류 및 검정깨 등을 이용한 건강식품 개발. 한국식품개발연구원, p.8, 2000
10) Park SH, Han JH. The effects of uncooked powdered food on nutrient intake, serum lipid level, dietary behavior and health index in healthy women. *Kor J Nutr* 36(1): 49-63, 2003
11) Kil JH. Studies on cancer preventive raw diet. Pusan National University, M.S. Thesis, 2001
12) Park JY, Yang MZ, Jun HS, Lee JH, Bae HK and Park TS. Effect of raw brown rice and job's tear supplemented diet on serum and hepatic lipid concentrations, antioxidative system and immune function of rats. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 32(2): 197-206, 2003
13) Ronald LP, Guohua C. In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 27: 1173-1181, 1999
14) Ohkawa H, Ohishi N, Yogi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95(2): 351-358, 1979
15) Hulcher FH, Oleson WH. Simplified spectrophotometric assay for

microsomal 3-hydroxy-methylglutaryl CoA reductase by measurement of coenzyme A. *J Lipid Res* 14(6) : 625-631, 1973
16) Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254, 1976
17) Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem 47(3) : 469-474, 1974
18) Aebi H. Catalase. In Method of enzymatic analysis. Bergmeyer HU (ed.), Chemie, Weinheim, F.R.G, pp.673-684, 1974
19) Paglia ED, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70(1) : 158-169, 1967
20) Scott PE, Michael LM, Barrett ER, Kurt GK, Carmen SA, Joseph AW, Sharon WA. Sampling and analysis techniques for monitoring serum for trace elements. *Clin Chem* 32(7) : 1350-1356, 1986
21) Chajes V, Sattler W, Stultschining M, Kostner GM. Photometric evaluation of lipid peroxidation products in human plasma and copper oxidized low density lipoproteins: correlation of different oxidation parameters. *Atherosclerosis* 121: 193-203, 1996
22) Lu YF, Lu Shuwen. Influence of dietary fat saturation on lipid peroxidation of serum and low density lipoprotein in rats. *Nutr Res* 22: 463-472, 2002
23) Buckingham KW. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J Nutr* 115(11) : 1425-1435, 1985
24) Park JH. Effects of powdered green vegetable juice on lipid profiles and antioxidant status in the rat. Yonsei University, Ph.D. Thesis, 1997
25) 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) : 513-524, 2001
26) Jung KJ, Park PS, Huh NC, Kim SO, Kim KS, Lee MY. Inhibitory effect of Angelica Keiskei Koidz green juice on the liver damage in CCl4-treated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27(3) : 531-536, 1998
27) Kwon SM. The effects of antioxidant nutrients-rich kale (*Brassica Oleracea Acephala*) extract supplementation on serum lipid level in hyperlipidemic adults. Yonsei University, M.S. Thesis, 2000
28) Harris ED. Regulation of antioxidant enzymes. *FASEB J* 6(9) : 2675-2683, 1992
29) de Hann JB, Cristiano F, Lannello RC, Kola I. Cu/Zn-superoxide dismutase and glutathione peroxidase during aging. *Biochem Mol Biol Int* 35(6) : 1281-1297, 1995
30) Husain K, Somani SM. Interaction of exercise training and chronic ethanol ingestion on hepatic and plasma antioxidant system in rat. *J Appl Toxicol* 17(3) : 189-194, 1997
31) Park GY, Rhee SJ. Effect of dietary polyunsaturated fatty acid and α-tocopherol on lipid peroxidation in rat liver. *Kor J Nutr* 21(5) : 295-304, 1988
32) Lee BJ, Park JN, Lee SS. Effects of P/S ratios of dietary lipids and antioxidant vitamin supplements on the level of serum lipids and liver lipid peroxidation in rats treated with DMBA. *Kor J Nutr* 31(5) : 906-913, 1998
33) Yook GJ, Lee HJ and Kim MJ. Effect of chestnut and acorn on lipid metabolism, antioxidative capacity and antithrombotic capacity in rats. *Kor J Nutr* 35(2) : 171-182, 2002
34) Gutteridge JM. Inhibition of the Fenton Reaction by the protein ceruloplasmin and other copper complexes: assessment of peroxidase and radical scavenging activities. *Chem Biol Int* 56(1) : 113-120, 1985
35) Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179(73) : 588-590, 1973
36) Borrello S, De Leo ME, Galeotti T. Transcriptional regulation of Mn-SOD by manganese in the liver of manganese-deficient mice and during rat development. *Biochem Int* 28(4) : 595-601, 1992
37) Van Campen DR. Copper interference with the intestinal absorption of zinc-65 by rats. *J Nutr* 99: 97-104, 1969
38) Chung YD, Hong SI, Na HB, Shim YH. The study on concentration of serum copper and zinc in stomach cancer patients. *Kor J Nutr* 24(6) : 516-525, 1991
39) Lee YJ, Chung EJ, Hwang JA, Kim MK, Lee JH, Park TS, Kim ST, Park KS. A study on serum concentrations of antioxidant minerals in normal Korean adult. *Kor J Nutr* 31(3) : 324-332, 1998
40) Lau BWC, Klevay LM. Plasma lecithin: cholesterol acyltransferase in copper-deficient rat. *J Nutr* 111: 1698-1703, 1981
41) Zhou JR and Erdman JW. Phytic acid in health and disease. *Crit Rev Food Sci Nutr* 35(6) : 495-508, 1995