

맹종죽(*Phyllostachys Pubescens*) 추출물 코팅쌀이 Atherogenic 식이를 섭취한 C57BL/6 마우스의 항산화 시스템에 미치는 영향*

김은영 · 이민자 · 송영옥¹⁾ · 문갑순[†]

인제대학교 식품생명과학과, 바이오헬스 소재연구센터, 식품과학연구소, 부산대학교 식품영양학과¹⁾

Effect of *Maengjong-Juk* (*Phyllostachys Pubescens*) Extract Coated Rice Diet on Antioxidative System of C57BL/6 Mice Fed Atherogenic Diet

Eun-Young Kim, Min-Ja Lee, Young-Ok Song,¹⁾ Gap-Soon Moon[†]

Department of Food and Life Science, Biohealth Products Research Center supported by MOST & KOSEF,
Food Science Institute and School of Food and Life Science, College of Biomedical Science and Engineering,
Inje University, Kimhae, Korea

Department of Food Science and Nutrition,¹⁾ Pusan National University, Busan, Korea

ABSTRACT

To evaluate the antioxidative effect of *maengjong-juk* (*Phyllostachys pubescens*) extract coated rice *in vivo* system, *maengjong-juk* extract coated rice diets were fed to C57BL/6 mice for 16 weeks. Plasma total antioxidative capacity, hepatic lipid peroxidation, protein oxidation, activities of antioxidative enzymes and total glutathione content were measured. Plasma total antioxidative capacity was elevated significantly in *maengjong-juk* extract diets supplemented group in a dose dependant manner. Hepatic TBARS contents were significantly decreased in *maengjong-juk* extract diets supplemented group compared to high cholesterol group. *Maengjong-juk* extract coated rice diets suppressed the protein oxidation significantly in liver. Activities of hepatic antioxidative enzymes such as total SOD, Cu · Zn-SOD, Mn-SOD, GSH-Px and catalase activities of *maengjong-juk* extract coated rice diets were significantly higher than those of high cholesterol diet. Total hepatic glutathione content was significantly increased by *maengjong-juk* extract coated rice diets administration. According to this study, numerous antioxidative materials and phytochemicals containing in *maengjong-juk* extracts appear to protect antioxidative systems in C57BL/6 mice fed bamboo extract coated rice diet. (*Korean J Community Nutrition* 9(4) : 536~544, 2004)

KEY WORDS : *maengjong-juk* (*Phyllostachys pubescens*) · antioxidative capacity · TBARS · protein carbonyl · antioxidative enzyme · glutathione · C57BL/6 mice

서 론

고지혈증은 죽상동맥경화, 심근경색, 심장 발작 및 뇌졸 중 등과 같은 심순환계 질환의 주요한 위험인자로 지목되

고 있다(Paul & Lisa 2002). 특히, 동맥 내피 세포의 손 상은 죽상동맥경화의 개시와 유지에 주요한 메카니즘으로 작용하는 것으로 보고되어 왔으며(Berliner 등 1995) 고 지혈증은 유리의 생성을 증가시켜 산화적 스트레스를 유발하고 내피 세포를 손상시키므로 고지혈증과 죽상동맥경

채택일 : 2004년 7월 30일

*본 연구는 과학기술부 · 한국과학재단 지정 지역협력연구센터인 인제대학교 바이오헬스 소재 연구센터(Biohealth Products Research Center) 및 중소기업청(2002년도 기술혁신개발사업)의 연구비 지원으로 수행되었음.

[†]Corresponding author: Gap-Soon Moon, School of Food and Life Science, College of Biomedical Science and Engineering, Inje University, Kimhae 621-749, Korea

Tel: (055) 320-3234, Fax: (055) 321-0691, E-mail: fdsnmoon@inje.ac.kr

화는 밀접한 관련이 있을 것으로 여겨진다(Cahide & Tan-naz 2003). 선진국 성인들의 사망원인 중 심순환계 질환이 수위를 차지하고 있는데 최근 우리나라에서도 소득 수준의 증가와 식품 소비 패턴의 서구화로 식생활에 있어 많은 변화를 겪고 있으며, 질병의 양상 또한 소위 선진국형으로 급격히 변화하고 있다. 이러한 변화는 우리나라의 사망원인에도 영향을 미쳐 2002년 사망통계에 따르면, 한국인의 사망 원인은 암, 뇌혈관질환, 심장질환, 당뇨병, 만성하기도 질환(천식, 만성기관지염) 등의 순으로 심순환계 질환에 의한 사망률이 2, 3위를 차지하였는데 이들은 오랜 시간에 걸쳐 서서히 진행되는 퇴행성 질환으로 식이가 병의 진행에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Merete 2002; Frank & Martijn 2002; Barbara 등 2002).

대나무는 외떡잎식물 중 벼과에 속하는 목본식물로 아열대성 아시아지역이 원산지이다. 전 세계적으로 약 280여종이 알려져 있으며, 우리나라에는 왕대, 맹종죽, 솜대 및 조릿대를 비롯한 약 70종의 대나무 종류가 주로 중부 이남의 지방에서 자생 또는 재배되고 있다. 대나무의 성질은 차고 맛이 달며 독이 없고 껍질, 가지, 잎, 순, 내피인 죽여 등은 번열, 소갈과 악창 등을 낮게 하며 피멧이약, 증풍, 고혈압, 살균, 항진균에 효능이 있어 한방에서도 예로부터 민간요법으로 사용되어 왔다(Kweon 등 2001). 최근에 보고된 대나무 관련 연구로는 성분분석과 항균활성에 관한 연구가 대부분을 차지하고 있으며 대나무 종류가 한정되고 잎의 생리활성에 국한되어 있어(Kim 등 1996a; Kim 등 2001; Baek 등 2002; Kim 등 1999b; Chung & Yu 1995; Shin & Han 2002) 국내산 대나무의 *in vivo*에서의 생리활성을 체계적으로 규명한 연구가 거의 이루어지지 않은 실정이다. 대나무 추출물을 이용한 Lee & Moon (2003)의 연구에서 대나무 열수 추출물, 특히, 왕대 및 맹종죽 추출물은 *in vitro*에서 강력한 항산화효과 및 LDL 산화 억제효과를 나타내었는데 LDL 산화는 동맥경화를 유발하는 초기 요인으로 가장 중시되고 있다. 또한, 산화된 LDL과 유리기들은 혈관 내피세포의 기능 이상을 초래하게 되는데 항산화제들은 산화된 LDL에 의한 내피세포의 기능 이상을 저해하며 monocyte가 내피세포에 결합하여 platelet를 활성화시키는 것을 억제하는 다양한 기능을 하는 것으로 보고되고 있다(Wittenstein 등 2002). 동맥경화 초기 메커니즘에 있어 LDL의 산화가 주 요인으로 작용하며 항산화제를 이용하여 LDL 산화를 억제하고 고콜레스테롤혈증 동물의 콜레스테롤 대사를 개선시킴으로써 동맥경화를 억제할 수 있다는 가설이 동물 실험을 통해 입증된 바(Nespe-

reira 등 2003; Vivekananthan 등 2003; Noguchi 2003; Jay 1998) 있어 대나무의 높은 항산화효과 및 LDL 산화 억제효과는 동맥경화 및 심혈관질환의 예방 및 치료에 효과가 있을 것으로 기대된다.

쌀은 보리·밀 등과 함께 세계적으로 중요한 농산물로서 전 세계적으로 연간 약 6억 2000만 톤이 생산되며 이 중 약 92%가 아시아에서 생산되고 있다. 국민 1인당 쌀 소비량이 지속적으로 감소하고 있으나 쌀은 여전히 농업 소득의 41%, 국민 1인 당 섭취 열량의 35%, 단백질 섭취량의 21%를 차지할 만큼 우리 농업 경제와 국민 영양에 미치는 영향이 매우 크다. 최근 생활 수준이 향상되어 식생활 패턴이 고급화됨에 따라 가능성이 높은 쌀 상품을 찾는 요구가 크게 증가하고 있는 추세이며 이러한 시대적 흐름에 발맞추어 녹차쌀, 인삼쌀, 홍국할매, 흑미동충하초쌀, 현미영지쌀, 현미아가리쿠스쌀 및 솔잎할매과 같은 다양한 기능성 쌀들이 국내 시장에 선보이고 있다. 항산화효과 및 LDL 산화 억제효과가 높은 맹종죽 열수 추출물을 쌀에 코팅한 기능성 쌀을 개발함으로써 쌀로서 성인병을 예방 및 치료할 수 있다는 것은 국민건강을 증진시킬 수 있는 매우 경제적인 영양처방으로 기대된다. 따라서, 본 연구에서는 *in vitro*에서 나타난 맹종죽 열수 추출물의 강력한 항산화 및 LDL 산화 억제효과가 *in vivo*에서 조직의 산화 억제효과를 나타내는지 확인하기 위하여 맹종죽 열수 추출물을 쌀에 코팅한 맹종죽 추출물 코팅쌀을 제조하고 C57BL/6 마우스에 장기 급여하여 조직의 지질 및 단백질 산화정도, 간 조직내 항산화효소계 활성 및 글루타치온 함량에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

3년생 맹종죽(*Phyllostachys pubescens*)은 (주) 지리산 뱀부하이테크에서 구입하였고 코팅용 쌀은 (주) PN Rice에서 제공받은 무세미를 사용하였다.

1) 쌀 코팅을 위한 맹종죽 추출물의 제조

분쇄한 맹종죽 5 kg에 20 L의 물을 가한 후 열수 추출기(이건과학사)를 이용하여 100℃, 6시간 추출하였다. 맹종죽 열수 추출물을 교반기를 이용하여 1 L가 되도록 농축하고 전분을 가하여 겔화하였다.

2) 맹종죽 추출물 쌀의 코팅

무세미 1 kg에 대나무 추출물 200 mL (대나무쌀 A) 및

400 mL (대나무쌀 B)를 첨가하여 (주) PN Rice에서 개발한 코팅기(특허출원번호 10-2003-0009339)를 이용하여 대나무 코팅쌀을 제조하였다.

2. 실험계획 및 동물의 사육

맹종죽 추출물 코팅쌀의 항산화 · 항동맥경화 효과를 살펴보기 위하여 동맥경화를 유발하기 쉬운 생후 5 주령의 체중 14.0~16.0 g 가량의 C57BL/6 마우스 암컷 48 마리를 (주) 바이오제노믹스에서 구입하여 실험 시작하기 전 시판 고형사료(퓨리나 마우스용 차우)를 먹이면서 1주일 동안 환경에 적응시켰다. 식이 조성을 위해 대나무 쌀의 일반 성분을 분석한 결과 대나무 쌀 A는 수분이 7.75%, 단백질이 7.10%, 지방이 0.60%, 회분이 0.64%였고, 대나무 쌀 B는 수분이 8.05%, 단백질이 7.11%, 지방이 0.63%, 회분이 0.83%이었다. 이를 고려하여 에너지 수준이 동일하게 Table 1과 같이 atherogenic 식이를 제조하였고, 혼합한 식이는 고형으로 다시 제조하여 60°C 열풍건조기(Vision Scientific, KMC-1202D4N, Korea)로 건조시켜 냉동 보관하면서 공급하였다. 체중에 따른 난피법(randomized complete block design)으로 정상식이군(normal), 고콜레스테롤식이군(High-Cholesterol, HC), 맹종죽 코팅쌀 첨가군 A (HC + MRA), 맹종죽 코팅쌀 첨가군 B (HC + MRB)로 나누어 한 그룹당 14마리씩 사육용 cage 속에서 16주간 사육한 후 희생시켰다. 사육 기간동안 식이와 물은 자유급식하였으며 체중증가량은 매주 1회 측정하였다

Table 1. Composition of experimental diet (%)

Ingredients	Groups ¹⁾			
	Normal	HC	HC + MRA	HC + MRB
Casein	20	20	18.58	18.575
Sucrose	10	10	10	10
Cocoa butter	7.5	7.5	7.5	7.5
Corn oil	7.5	7.5	7.46	7.44
Cholesterol	-	1.25	1.25	1.25
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
AIN-93 Vitamin mixture	1.0	1.0	1.0	1.0
AIN-93 Mineral mixture	3.5	3.5	3.5	3.5
Cellulose	5.0	5.0	4.98	4.98
Sodium cholate	0.5	0.5	0.5	0.5
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
Maengjong-juk extracts coated rice	-	-	44.76 (A)	44.81 (B)
Rice	43.25	43.25	-	-
Total calorie	428 Kcal			

¹⁾HC: High-Cholesterol group
 HC + MRA: High-Cholesterol diet + 200 mL of maengjong-juk extract coated rice group (A)
 HC + MRB: High-Cholesterol diet + 400 mL of maengjong-juk extract coated rice group (B)

다. 사육실의 온도는 20~25°C를 유지하였으며 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다.

3. 실험 동물의 희생 및 시료의 제취

마우스는 희생 전 12시간 절식시킨 후, 에테르를 이용한 호흡기 마취법으로 마취하였고 안구로부터 헤파린이 처리된 모세관을 이용하여 혈액을 취하였다. 채취한 혈액은 10°C에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 얻었다. 인산완충액(pH 7.4)을 이용하여 심장을 통해 관류시킨 후 간, 신장, 비장 및 심장 등의 장기를 적출하여 0.9% 생리 식염수로 씻은 다음 여과지로 물기를 제거하고 중량을 측정하여 액체질소에 담근 후 -70°C에서 냉동보관하면서 시료로 사용하였다.

4. 혈액 내 총 항산화능 측정

혈장의 TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) 값은 Roberta 등(Roberta 등 1999; Miller 등 1993)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 10 µL의 혈장 또는 Trolox standard에 ABTS { 2,2' -azinobis(3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate) }⁺ 용액 1.0 mL를 첨가하여 1분 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 6분간 monitoring하였고 1 mM Trolox와 비교하여 흡광도의 저해 %로 나타내었다.

5. 간 조직의 지질 및 단백질 산화정도의 측정

간 조직에서의 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등(1979)의 방법에 따라 측정하였다. 이때 standard로는 1, 1, 3, 3-tetramethoxypropane (TMP)을 사용하였으며 측정된 값을 표준곡선에 대입시켜 malondialdehyde (MDA)의 양으로 환산하였다. 간, 비장, 신장 및 심장 조직의 단백질 산화는 Oliver 등(1987)의 방법에 준하여 DNPH (2, 4-dinitrophenyl hydrazine)를 이용하여 카르보닐 그룹의 함량을 측정하였다. 카르보닐 농도는 Livine 등(1990)의 방법에 따라 370 nm에서 각 시료의 흡광도를 측정한 후 지방족 하이드라존 화합물의 평균분자흡광계수를 22,000으로 삼아 카르보닐 그룹의 몰수로 산정하였다.

6. 간 조직 내 항산화 효소계의 활성측정

간 조직에 대해 20배의 차가운 50 mM 인산완충액(pH 7.4)을 첨가하여 glass teflon homogenizer로 균질화하였다. 간균질액을 4°C, 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 원심분리기를 이용하여 13,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 세포질 획분(상층액)과 미토콘드리아 획분(pellet)을 얻었다. 세포질 획분에서 Cu · Zn-Superoxide dismutase (SOD), catalase, Glutathione pero-

xidase (GSH-Px) 및 GSH-reductase (GR)을 측정하였으며 미토콘드리아 획분에서는 Mn-SOD를 측정하였다.

SOD 활성은 Oyanagui (1948)의 방법을 이용하여 측정하였는데 SOD 1 unit는 측정계에서 생성되는 superoxide에 의한 반응이 검체중의 superoxide dismutase에 의해 50% 저해될 경우의 반응액 중의 검체량(ID₅₀)을 나타내었다. GSH-Px와 GR 활성은 각각 Lawrence & Burk (1976)의 방법 및 Inger & Bengt (1985)의 방법에 의해 측정하였으며 GSH-Px 1 unit는 1분간 1 μM NADPH를 산화시키는 효소의 양으로 정의하였고 GR 1 unit는 1분간 1 nmole의 NADPH 환원을 촉매하는 효소의 양으로 정의하였다. Catalase 활성은 Aebi (1984)의 방법에 의해 측정하였고 효소의 활성은 1분 동안 1 μM의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

7. 간 조직 내 총 글루타치온 함량의 측정

간 조직 중의 총 글루타치온 함량은 Tietze 등 (1969)의 방법으로 측정하였다. 간 0.1 g을 1 mL의 인산 완충액으로 균질화한 것을 원심분리하여 상층액을 취한 다음 이를 시료로 사용하였다. 시료 0.5 mL을 취하여 4% sulfosalicylic acid를 0.5 mL 가한 다음 10분간 방치하였다. 이것을 2,500 rpm에서 10분 동안 원심분리시킨 다음 상층액을 0.3 mL 취하고 disulfide reagent를 2.7 mL 가하여 20분간 방치한 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8. 단백질 함량의 측정

Bradford 등(1976)의 방법에 의해 bovine serum albumin (BSA)을 표준단백질로 사용하여 단백질량을 측정하였다.

9. 통계처리

통계 분석은 SPSS Ver. 10.0 package program을 이용하여 각 군의 평균과 표준편차를 산출하고 군간의 차이 유무를 one-way ANOVA로 분석한 뒤 p < 0.05에서 유의한 차이가 있는 경우 Tukey test를 이용하여 검정하였다.

Table 2. Effects of *maengjong-juk* extract coated rice diet supplementation on weight gain, food intake, food efficiency and liver weight in C57BL/6 mice fed high cholesterol diet

	Groups			
	Normal	HC	HC + MRA	HC + MRB
Weight gain (g/day)	0.035 ± 0.012 ^{ns}	0.034 ± 0.009	0.037 ± 0.009	0.041 ± 0.007
Food intake (g/day)	3.562 ± 0.326 ^b	2.894 ± 0.228 ^a	2.664 ± 0.229 ^a	2.848 ± 0.102 ^a
Food efficiency (%)	0.983 ± 0.362 ^a	1.176 ± 0.331 ^{ab}	1.379 ± 0.365 ^b	1.428 ± 0.261 ^b
Liver (g)	1.168 ± 0.150 ^a	1.645 ± 0.177 ^b	1.887 ± 0.211 ^c	2.036 ± 0.299 ^c

¹⁾Data are expressed as means ± S.D. (n = 14)

²⁾a-c: Values with different superscript within a same column are significant difference (p < 0.05) by Tukey test. ^{ns} is not significant

결과 및 고찰

1. 맹종죽 코팅쌀 식이가 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 간 무게에 미치는 영향

맹종죽 코팅쌀 식이를 16주간 급식하면서 사육한 C57BL/6 마우스의 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 간 무게를 Table 2에 나타내었다. 체중증가량은 정상식이군, 고콜레스테롤식이군에 비해 맹종죽 코팅쌀 투여군인 HC + MRA군, HC + MRB군에서 다소 높게 나타났으나 각 군들 간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 식이섭취량은 정상식이군에서 고콜레스테롤식이군, HC + MRA군, HC + MRB군에 비해 유의적으로 높았다. 식이효율은 맹종죽 코팅쌀 투여군에서 정상식이군에 비해 상당히 높은 값을 보였는데 이는 콜레스테롤 섭취로 인해 마우스들의 식이섭취량이 감소한 반면 체중은 맹종죽 코팅쌀군에서 대조군에 비해 약간 증가하였기 때문인 것으로 사료된다. 간 무게는 정상식이군(1.17 ± 0.15 g)에 비해 콜레스테롤 섭취군들에서 유의적으로 높게 나타났는데 특히, HC + MRA군과 HC + MRB군에서 각각 1.89 ± 0.21, 2.04 ± 0.30 g으로 맹종죽 코팅쌀군에서 현저히 증가하였고 추출물 농도 의존적인 경향을 보였다. Shin & Han (2002)은 고콜레스테롤 식이에 대나무 잎 추출물을 1~5% 농도로 첨가하여 흰쥐의 지방 대사에 미치는 영향을 관찰한 결과 체중증가량, 식이섭

Table 3. Effects of *maengjong-juk* extract coated rice diet on total antioxidant capacity¹⁾ by TEAC assay on serum of C57BL/6 mice

Groups	TEAC value (mM Trolox equivalent)
Normal	1.312 ± 0.061 ^{b2)}
HC	1.145 ± 0.033 ^a
HC + MRA	1.161 ± 0.037 ^a
HC + MRB	1.357 ± 0.084 ^b

¹⁾Data are expressed as means ± S.D. (n = 14)

²⁾a-b Values with different superscript within a same column are significant difference (p < 0.05) by Tukey test

취량 및 식이효율은 각 군들간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다고 보고한 바 있다. 본 실험 결과로부터 일정량의 대나무 코팅쌀 섭취는 C57BL/6 마우스의 성장에 해로운 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

2. 맹종죽 코팅쌀 식이가 혈액 내 총 항산화능에 미치는 영향

*In vitro*에서 항산화효과가 높게 나타난 맹종죽 추출물을 이용하여 맹종죽 코팅쌀을 제조하고 맹종죽 코팅쌀이 *in vivo*에서도 항산화효과를 나타내는지 확인하기 위해 C57BL/6 마우스에게 맹종죽 코팅쌀을 장기간 급여하여 혈액 내의 총 항산화능을 TEAC법으로 측정된 결과 Table 3에서와 같이 HC + MRB군 > 정상식이군 > HC + MRA군 > 고콜레스테롤식이군의 순으로 총 항산화능이 높게 나타났다. 특히, HC + MRB군의 경우 콜레스테롤을 섭취하지 않은 정상식이군과 유사한 수준의 항산화능을 나타내었으며 맹종죽 코팅쌀을 첨가하지 않은 고콜레스테롤군에 비해 총 항산화능이 18.5% 증가하였고 맹종죽 추출물 농도 의존적인 경향을 보였다. TEAC 법은 생물체 내의 총 항산화능을 측정하기 위해 널리 이용되고 있다. 이 방법은 potassium persulfate와 ABTS의 산화에 의해 생성되어지는 ABTS {2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate)}⁺을 소거하는 항산화제의 활성을 수용성 비타민 E analogue인 Trolox와 비교함으로써 항산화능을 평가한다. 비타민 C, E 뿐만 아니라 uric acid, bilirubin 및 다양한 플라보노이드와 같은 항산화제들은 ABTS⁺ 생성을 감소시켜 생체 내의 총 항산화능을 증가시킬 수 있다고 보고되고 있다 (Miller & Rice-Evans 1997). Silva 등(1998)은 (-)-epicatechin이 쥐 혈장에서 항산화 방어에 미치는 영향을 관찰하기 위해 10~50 mg의 농도로 (-)-epicatechin을

쥐에게 투여한 결과 혈장 내 항산화능을 증가시켜 산화적 스트레스에 의한 항산화 영양소의 손실을 억제하였다고 보고한 바 있다. 따라서, 본 실험으로부터 *in vitro*에서 강력한 항산화효과를 나타내었던 맹종죽 추출물(Lee & Moon 2003)이 *in vivo*에서도 높은 항산화효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

3. 맹종죽 코팅쌀 식이의 조직 산화 보호효과

맹종죽 코팅쌀이 atherogenic 식이를 섭취한 C57BL/6 마우스 간 조직의 지질 및 단백질 산화를 억제하는지 알아보기 위하여 지질과산화 및 단백질 산화를 측정하였다(Fig. 1). 간 조직에서의 TBARS 함량은 정상식이군, 고콜레스테롤식이군, HC + MRA군 및 HC + MRB군에서 각각 0.12 ± 0.05, 2.15 ± 0.13, 1.97 ± 0.07, 1.82 ± 0.10 nm MDA/mg protein으로서 고콜레스테롤식이군에 비해 맹종죽 추출물 코팅쌀군, 즉, HC + MRA군 및 HC + MRB군에서 TBARS 함량이 각각 8.4%, 15.3% 유의적으로 낮게 나타났고 지질과산화 억제효과는 맹종죽 추출물 농도 의존적이었다. 유리기 매개 지질과산화 반응은 다양한 병리학적 경로와 관련되어지는데 특히 죽상동맥경화의 개시와 촉진 모두에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다(Kehrer 1993). 또한 지질과산화를 통해 생성되는 MDA와 같은 물질들은 반응성이 크고 아미노 그룹을 포함하는 막 단백질과 가교를 형성하게 되므로 고지혈증 및 죽상동맥경화가 유발되면 혈장 및 간에서 MDA 농도가 증가하게 된다(Rohn 1996). Dayanandan 등(2001)은 죽상동맥경화성 쥐에 L-carnitine (300 mg/kg/day)을 7~14일간 복막 내로 투여하였을 때 간과 심장의 지질과산화가 유의적으로 억제되었다고 보고하였으며 Shea & Rogers

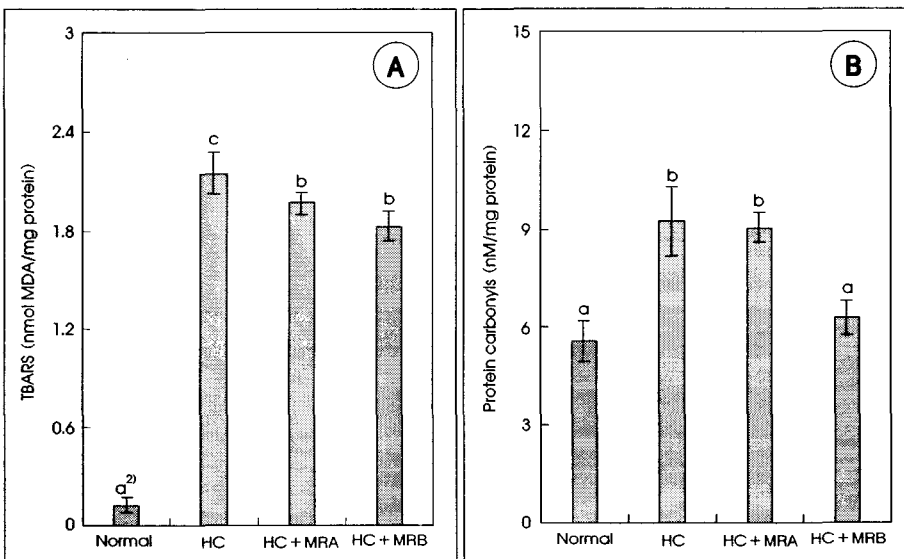


Fig. 1. Effects of *maengjong-juk* extract coated rice on TBARS (A) and protein carbonyl (B) contents¹⁾ of liver homogenate of C57BL/6 mice fed high cholesterol diet. ¹⁾Data are expressed as means S.D. (n = 14) ²⁾a-c: Values with different superscript within a same column are significant difference (p < 0.05) by Tukey test.

(2002)의 연구에서도 apolipoprotein E 결핍 마우스에게 엽산과 비타민 E를 식이에 첨가한 결과 뇌 조직 내의 TBARS 함량이 엽산 첨가군과 비타민 E 첨가군에서 대조군에 비해 각각 58%, 27% 낮게 나타났다. 또한, Santos 등 (2002)은 고지방 식이에 수용성 카로티노이드인 norbixin (7.7 mg/kg)을 첨가하여 Swiss 마우스에게 급여하였을 때 간 조직 내 지질과산화도가 37.4%나 억제된 것으로 보고한 바 있으며 Murakami 등(2002)의 보고에서는 식수에 타우린(0.3%)을 첨가하여 WHHL 토끼에게 제공한 결과 혈장 및 동맥 조직 내 TBARS 함량을 각각 29%, 50% 감소시킨 것으로 나타났다. 본 실험에서도 맹종죽 추출물 코팅쌀군에서 정상식이군에 비해 TBARS 함량이 현저히 낮았는데 이로써 콜레스테롤로 인해 증가된 토끼 각 조직의 지질과산화에 대해 맹종죽 추출물 코팅쌀에 함유된 대나무의 항산화 관련물질들이 강한 보호효과를 가지는 것으로 사료된다.

간 조직의 단백질 산화를 측정된 결과, 단백질 카르보닐 함량은 정상식이군, 고콜레스테롤식이군, HC + MRA군 및 HC + MRB군에서 각각 5.56 ± 0.64 , 9.23 ± 1.05 , 9.04 ± 0.46 , 6.28 ± 0.52 nM/mg protein으로서 콜레스테롤 섭취로 인해 단백질 산화가 심화되었으나 맹종죽 코팅쌀이 이를 효과적으로 저해하는 것으로 나타났다. 특히, HC + MRB군은 고콜레스테롤식이군에 비해 32% 적은 단백질 카르보닐 함량을 보여 맹종죽 코팅쌀이 농도 의존적으로 단백질 산화를 억제하는 것으로 나타났다. 본 실험에서 단백질 카르보닐 함량이 대조군에 비해 맹종죽 추출물 코팅쌀 섭취군의 간에서 유의적으로 낮았던 것은 맹종죽 추출물 코팅쌀에 함유되어 있는 대나무의 생리활성물질이 조직 단백질의 산화를 효과적으로 억제하였기 때문으로 사료된다.

4. 맹종죽 추출물 코팅쌀 식이가 항산화 효소계에 미치는 영향

맹종죽 코팅쌀 식이를 장기간 투여시키고 간 조직내 총 SOD, Cu · Zn-SOD, Mn-SOD, GSH-Px, GR 및 catal-

ase와 같은 항산화 효소활성의 변화를 관찰하였다(Table 4).

Total SOD, Cu · Zn-SOD 및 Mn-SOD 활성은 정상식이군에 비해 콜레스테롤 섭취군에서 낮게 나타났으나 맹종죽 코팅쌀 식이가 SOD 활성을 개선시켜 HC + MRA군 및 HC + MRB군에서 고콜레스테롤식이군에 비해 유의적으로 증가하였으며 특히, Mn-SOD 활성의 경우 HC + MRB군(2.11 ± 0.09 NU/mg protein)에서 정상식이군(2.36 ± 0.32 NU/mg protein)의 89.4%에 해당하는 수준까지 회복되었다. GSH-Px, GR 및 catalase 활성 또한 SOD 활성과 비슷한 경향을 나타내었다. GSH-Px 활성은 고콜레스테롤 섭취시 75.8%까지 감소되었으나 맹종죽 코팅쌀 식이에 의해 효소 활성이 회복되었고 맹종죽 추출물 농도간의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. GR 활성은 고콜레스테롤식이군에 비해 HC + MRA군 및 HC + MRB군에서 유의적으로 증가하였으며 특히, HC + MRB군(70.20 ± 3.87 nmole/mg protein/min)의 효소 활성은 정상식이군(76.74 ± 3.87 nmole/mg protein/min)의 91.5%에 해당하는 값을 나타내었다. Catalase 활성은 정상식이군, 고콜레스테롤식이군, HC + MRA군 및 HC + MRB군에서 각각 1.85 ± 0.05 , 1.30 ± 0.07 , 1.42 ± 0.10 , 1.43 ± 0.05 μ mole/mg protein/min으로 정상식이군에 비해 콜레스테롤 섭취군에서 효소 활성이 낮아졌으나 맹종죽 코팅쌀 급여 시 효소 활성 감소가 완화되어 정상식이군의 76.8~77.3% 수준을 나타내었다. 본 연구에서 콜레스테롤 투여군에서 항산화효소 활성이 낮게 나타난 것은 콜레스테롤에 의해 유발된 산화적 스트레스에 기인하여 superoxide anion이 증가되어져 GSH-Px와 catalase 활성이 감소되었으며 이 두 효소의 활성 감소는 조직 내 hydrogen peroxide 함량을 증가시켜 SOD를 불활성화시켰기 때문인 것으로 여겨진다. 따라서 맹종죽 추출물 코팅쌀 식이는 콜레스테롤 식이로 인한 항산화 효소계 활성의 저하를 완화시켜줌으로써 항동맥경화 효과를 나타낼 것으로 기대된다.

Table 4. Effects of *maengjong-juk* extract coated rice on hepatic antioxidative enzymes (SOD, GSH-Px, GR and catalase) activities¹⁾ of liver homogenate of C57BL/6 mice fed high cholesterol diet

Antioxidative enzymes	Groups			
	Normal	HC	HC + MRA	HC + MRB
Total SOD (NU/mg protein)	19.96 ± 1.75^c	12.53 ± 1.47^a	12.89 ± 0.71^{ab}	14.84 ± 0.93^b
Cu · Zn-SOD (NU/mg protein)	17.61 ± 1.60^a	11.05 ± 1.40^b	10.87 ± 0.65^a	12.74 ± 0.89^a
Mn-SOD (NU/mg protein)	2.36 ± 0.32^c	1.47 ± 0.16^a	2.01 ± 0.07^b	2.11 ± 0.09^b
GSH-Px (unit/mg protein)	273.94 ± 17.79^c	66.20 ± 4.14^a	75.45 ± 8.55^{ab}	90.23 ± 5.92^b
GR (nmole/mg protein/min)	76.74 ± 3.87^c	59.91 ± 2.53^a	68.27 ± 3.85^b	70.20 ± 3.87^b
Catalase (μ mole/mg protein/min)	1.85 ± 0.05^c	1.30 ± 0.07^a	1.42 ± 0.10^b	1.43 ± 0.05^b

¹⁾Data are expressed as means \pm S.D. (n = 14)

²⁾a-c: Values with different superscript within a same column are significant difference (p < 0.05) by Tukey test

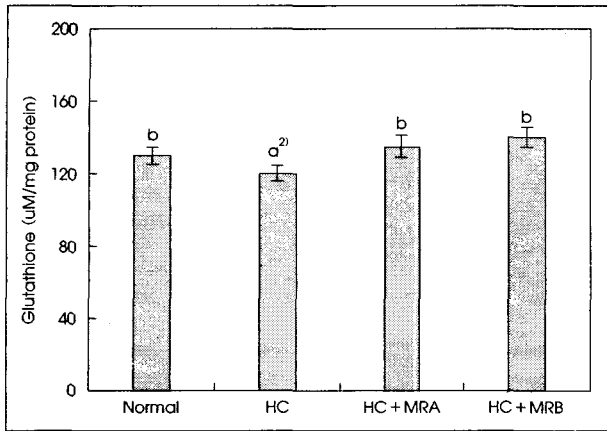


Fig. 2. Effects of *maengjong-juk* extract coated rice on glutathione contents¹⁾ of liver homogenate of C57BL/6 mice fed high cholesterol diet.

¹⁾Data are expressed as means ± S.D. (n = 14)

²⁾a-b: Values with different superscript within a same column are significant difference (p < 0.05) by Tukey test.

5. 맹종죽 추출물 코팅쌀 식이가 간 조직 내 총 글루타치온 함량에 미치는 영향

장기간 맹종죽 코팅쌀 첨가 식이를 급여한 C57BL/6 마우스 간 조직 중의 총 글루타치온 함량은 HC + MRA군 및 HC + MRB군에서 각각 135.00 ± 6.38 , 139.61 ± 5.50 $\mu\text{M}/\text{mg protein}$ 으로서 고콜레스테롤식이군(120.18 ± 3.84 $\mu\text{M}/\text{mg protein}$)에 비해 12.3%, 16.2% 유의적으로 높은 함량을 나타내었다(Fig. 2). 또한 정상식이군(130.23 ± 4.13 $\mu\text{M}/\text{mg protein}$)과 비교하여 유의적인 차이는 관찰되지 않았으나 다소 증가하였다. 본 실험에서 나타난 결과는 고콜레스테롤혈증 토끼에게 비타민 E 첨가한 식이를 섭취케 하였을 때 혈장 내 글루타치온 함량이 230%나 증가하였다는 Hsu 등(2001)의 보고와 고콜레스테롤혈증 쥐에게 장기간 비타민 E를 첨가한 식이를 섭취시켰을 때 간 조직 내 글루타치온 함량이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다는 Cahide & Tannaz (2003)의 결과와 일치하였다. 또한 Shea 등(2003)의 보고에 의하면 apo E 결핍 마우스의 뇌 균질액에서 글루타치온 농도에 비례적으로 총 항산화능이 증가되었음이 밝혀졌다. 또한 Tamer 등(2002)은 죽상동맥경화성 환자들에 있어서 혈장 내 총 항산화능과 적혈구 내 글루타치온 함량의 감소는 혈장 내 MDA 함량 증가와 관련되어진다고 보고하였는데 본 실험에서 혈장 내 총 항산화능과 간 조직 내 글루타치온 함량이 맹종죽 코팅쌀 첨가군에서 유의적으로 증가되고 간 조직 내 TBARS 함량이 맹종죽 코팅쌀 첨가군에서 현저히 낮게 나타난 것도 이러한 보고와 일치하는 경향을 보였다. 따라서,

대나무 추출물에 함유된 생리활성 물질들이 고콜레스테롤로 인해 유도되는 산화적 스트레스를 감소시켜 글루타치온의 체내 고갈을 효과적으로 억제하고 항산화 시스템을 활성화시켜 항산화 · 항동맥경화 효과를 나타낸 것으로 사료된다.

요약 및 결론

맹종죽 추출물 코팅쌀이 atherogenic 식이를 섭취한 C57BL/6 마우스의 항산화 및 항동맥경화 효과에 미치는 영향을 평가하기 위해 C57BL/6 마우스에게 atherogenic 식이에 대나무 코팅쌀을 첨가한 식이를 16주간 급여하면서 항산화 시스템에 미치는 영향을 조사하였다. 체중증가량은 각 군들 간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았고 식이섭취량은 정상식이군에서 고콜레스테롤 섭취군에 비해 유의적으로 높았다. 식이효율은 맹종죽 추출물 코팅쌀군에서 정상식이군에 비해 상당히 높은 값을 보였으며 간 무게는 고콜레스테롤 섭취군들에서 유의적으로 높게 나타났고 맹종죽 추출물 농도 의존적인 경향을 보였다. 혈액 내의 총 항산화능을 TEAC법으로 측정된 결과 HC + MRB군 > 정상식이군 > HC + MRA군 > 고콜레스테롤식이군의 순으로 총 항산화능이 높게 나타났고 특히, HC + MRB군의 경우 콜레스테롤을 섭취하지 않은 정상식이군과 유사한 수준의 항산화능을 나타내었다. 간 조직에서의 지질과산화 정도를 TBARS 값으로 측정된 결과 고콜레스테롤식이군에 비해 맹종죽 추출물 코팅쌀군에서 TBARS 함량이 각각 8.4%, 15.3% 유의적으로 낮게 나타났고 지질과산화 억제효과는 맹종죽 추출물 농도 의존적이었다. 간 조직의 단백질 카르보닐 함량을 측정된 결과 콜레스테롤 섭취로 인해 단백질 산화가 심화되었으나 맹종죽 코팅쌀이 이를 효과적으로 저해하는 것으로 나타났다. 간에서의 SOD, GSH-Px, GR 및 catalase와 같은 항산화 효소계 활성을 측정된 결과 모든 효소에 있어서 효소 활성이 정상식이군에 비해 콜레스테롤 섭취군에서 낮게 나타났으나 맹종죽 코팅쌀 식이가 효소 활성을 개선시켜 HC + MRA군 및 HC + MRB군에서 고콜레스테롤식이군에 비해 유의적으로 증가하였다. 간 조직 중의 총 글루타치온 함량은 맹종죽 추출물 코팅쌀 섭취군에서 유의적으로 높은 함량을 나타내었으며 정상식이군과 비교하여 유의적인 차이는 관찰되지 않았으나 다소 증가하였다. 따라서, 대나무 코팅쌀 내에 함유된 항산화 물질들이 atherogenic 식이를 섭취한 C57BL/6 마우스의 항산화 시스템을 적극적으로 보호함을 확인하였다.

참고 문헌

- Paul HB, Lisa D (2002): Stress, inflammation and cardiovascular disease. *Journal of Psychosomatic Research* 52(1): 1-23
- Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD, Lusis AJ (1995): Atherosclerosis: Basic Mechanisms: Oxidation, Inflammation, and Genetics. *Circulation* 91: 2488-2496
- Cahide G, Tannaz M (2003): Changes of oxidative stress in various tissues by long-term administration of vitamin E in hypercholesterolemic rats. *Clinica Chimica Acta* 328(1): 155-161
- Merete O (2002): Nutritional modification of cardiovascular disease risk. *International Congress Series* 1229: 109-114
- Frank MS, Martijn K (2002): Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *The American Journal of Medicine* 113(9): 13-24
- Barbara EM, Paula AQ, Nam BH, Catherine EO, Joseph FP, Ralph BD (2002): Dietary patterns and the odds of carotid atherosclerosis in women: The Framingham Nutrition Studies. *Preventive Medicine* 35(6): 540-547
- Kweon M, Hwang HJ, Sung HC (2001): Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J Agric Food Chem* 49(10): 4646-4655
- Kim MJ, Byun MW, Jang MS (1996): Physiological and antibacterial activity of bamboo (*Sasa coreana Nakai*) leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25(1): 135-142
- Kim NK, Cho SH, Lee SD, Ryu JS, Shim KH (2001): Functional properties and antimicrobial activity of bamboo (*Phyllostachys sp.*) extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 8(4): 475-480
- Baek JW, Jung SH, Moon GS (2002): Antimicrobial activities of ethanol extracts from Korean bamboo culms and leaves. *Korean J Food Sci Technol* 34(6): 1073-1078
- Kim MJ, Jang MS (1999): Effect of bamboo (*Pseudosasa japonica Makino*) leaves on the physicochemical properties of Dongchimi. *Korean J Food Sci Technol* 15(5): 459-468
- Chung DK, Yu RN (1995): Antimicrobial activity of bamboo leaves extract on microorganisms related to kimchi fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 27(6): 1035-1038
- Shin MK, Han SH (2002): Effects of methanol extracts from bamboo (*Pseudosasa japonica Makino*) leaves extracts on lipid metabolism in rats fed high fat and high cholesterol diet. *Korean J Dietary Culture* 17(1): 30-36
- Lee MJ, Moon GS (2003): Antioxidative effects of Korean bamboo trees, *wang-dae*, *som-dae*, *maengjong-juk*, *jolit-dae* and *o-juk*. *Korean J Food Sci Technol* 35(6): 1226-1232
- Wittenstein B, Klein M, Finckh B, Ullrich K, Kohlschutter A (2002): Plasma antioxidants in pediatric patients with glycogen storage disease, diabetes mellitus, and hypercholesterolemia. *Free Radical Biology & Medicine* 33(1): 103-110
- Nespereira B, Perez-Illarbe M, Fernandez P, Fuentes AM, Paramo JA, and Rodriguez JA (2003): Vitamins C and E downregulate vascular VEGF and VEGFR-2 expression in apolipoprotein-E-deficient mice. *Atherosclerosis* 171(1): 67-73
- Vivekananthan DP, Penn MS, Sapp SK, Hsu A, Topol EJ (2003): Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. *The Lancet* 361(14): 2017-2023
- Noguchi N (2002): Novel insights into the molecular mechanisms of the antiatherosclerotic properties of antioxidants: the alternatives to radical scavenging. *Free Radical Biology & Medicine* 33(11): 1480-1489
- Jay WH (1998): Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis. *Atherosclerosis* 141(1): 1-15
- Roberta RE, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999): Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26(9): 1231-1237
- Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner AA (1993): A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 84(4): 407-412
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979): Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95(2): 351-358
- Oliver CN, Ahn B, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER (1987): Age-related changes in oxidized proteins. *The Journal of Biological Chemistry* 262(12): 5488-5491
- Livine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER (1990): Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology* 186, pp.464-478, Academic press. Inc., New York
- Oyanagui Y (1948): Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal Biochem* 4: 290-298
- Lawrence RA, Burk F (1976): Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71(4): 952-958
- Inger C, Bengt M (1985): Glutathione reductase. *Methods in Enzymology* 113, pp.484-490, Academic press. Inc., New York
- Aebi H (1984): Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105, pp.121-126, Academic press. Inc., New York
- Tietze F (1969): Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: application to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 27(3): 502-522
- Bradford MM (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72(7): 248-254
- Miller NJ, Rice-Evans CA (1997): Factors influencing the antioxidant activity determined by ABTS^{•+} radical cation assay. *Free Radical Research* 26(3): 195-199
- Silva EL, Piskula M, Terao J (1998): Enhancement of antioxidative ability of rat plasma by oral administration of (-)-epicatechin. *Free Radical Biology & Medicine* 24(7): 1209-1216
- Djuric Z, Uhley VE, Naegeli L, Lababidi S, Macha S, Heilbrun LK (2003): Plasma carotenoids, tocopherols, and antioxidant capacity in a 12-week intervention study to reduce fat and/or energy intakes. *Nutrition* 19(3): 244-249
- Kehrer JP (1993): Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 23(1): 21-48
- Rohn TT, Hinds TR, Vincenzi FF (1996): Inhibition of Ca²⁺-pump

- ATPase and the Na⁺/K⁺-pump ATPase by iron-generated free radicals: Protection by 6, 7-dimethyl-2, 4-di-1-pyrrolidinyl-7h-pyrrolo [2, 3-d] pyrimidine sulfate (U-89843D), a potent, novel, antioxidant/free radical scavenger. *Biochemical Pharmacology* 51 (4): 471-476
- Dayanandan A, Kumar P, Panneerselvam C (2001): Protective role of L-carnitine on liver and heart lipid peroxidation in atherosclerotic rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 12 (5): 254-257
- Shea TB, Rogers E (2002): Folate quenches oxidative damage in brains of apolipoprotein E-deficient mice: augmentation by vitamin E. *Molecular Brain Research* 108 (1): 1-6
- Santos AA, Silva VG, Guerreiro LT, Alves MV, Cunha VLF, Cunha J, Kovary K (2002): Influence of norbixin on plasma cholesterol-associated lipoproteins, plasma arylesterase/paraoxonase activity and hepatic lipid peroxidation of Swiss mice on a high fat diet. *Food Chemistry* 77 (4): 393-399
- Murakami S, Kondo Y, Sakurai T, Kitajima H, Nagate T (2002): Taurine supresses development of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbits. *Atherosclerosis* 163 (1): 79-87
- Hsu HC, Lee YT, Chen MF (2001): Effects of fish oil and vitamin E on the antioxidant defense system in diet-induced hypercholesterolemic rabbits. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 66 (2): 99-108
- Shea TB, Rogers E, Ashline D, Ortiz D, Sheu MS (2003): Quantification of antioxidant activity in brain tissue homogenates using the 'total equivalent antioxidant capacity'. *Journal of Neuroscience Methods* 125 (1): 55-58
- Tamer L, Sucu N, Polat G, Ercan B, Barlas A, Yucebilgic G, Unlu A, Dikmengil M, Atik U (2002): Decreased serum total antioxidant status and erythrocyte-reduced glutathione levels are associated with increased serum malondialdehyde in atherosclerotic patients. *Archives of Medical Research* 33 (3): 257-260