

고추씨 물추출물이 고지방과 고콜레스테롤 식이 흰쥐의 항산화 효소활성 및 산화적 손상에 미치는 영향

김유나¹ · 구경형² · 강신권¹ · 최정화^{3*}

한국국제대학교 식품과학과,¹ 한국식품개발원,² 한국국제대학교 식품영양학과³

Effects of Water Extracts of Red Pepper Seeds Powder on Antioxidative Enzyme Activities and Oxidative Damage in Rats Fed High-Fat and High-Cholesterol Diets

Kim, Yu-Na¹ · Ku, Kyung-Hyung² · Kang, Sin-Kwon¹ · Choi, Jeong-Hwa^{3*}

¹Department of Food Science, International University of Korea, Jinju 660-759, Korea

²Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

³Department of Food Science and Nutrition, International University of Korea, Jinju 660-759, Korea

ABSTRACT

The purpose of the present study was to examine the effects of water extracts from red pepper seeds powder on antioxidative enzyme activities and oxidative damage in groups of rats fed high-fat and high-cholesterol diets group (HFC). The rats were divided into the following five experimental groups which are : composed of a normal diet group, a high fat · high cholesterol diet group, and a high fat · high cholesterol diet group supplemented with different amounts contents (1%, 2% and 4%) of red pepper seeds powder water extracts supplemented groups (HFCW1, HFCW2 and HFCW4, respectively). Body weight gains and food intake were lower of the red pepper seed water extracts groups were lower than those in of the HFC group. Hepatic xanthine oxidase (XOD) activity was decreased in the HFCW2 and HFCW4 groups compared to the HFC group. Hepatic glutathione peroxidase (GSH-px) activity was increased in the HFCW4 group compared to the HFC group. Hepatic superoxide radicals within the mitochondria and microsomes of cells were significantly reduced in the HFCW2 and HFCW4 groups compared to the HFC group. Hepatic hydrogen peroxide in the cytosol was significantly reduced in the HFCW3 and HFCW4 groups compared to the HFC group. Hepatic carbonyl values in the microsomes and mitochondria were significantly reduced in the HFCW4 group compared to the HFC group. Hepatic thiobarbituric acid reaction substance (TBARS) activity was decreased in the HFCW2 group compared to the HFC group. These results suggest that water extracts of red pepper seeds powder may reduce oxidative damage by activation of antioxidative defense systems in rats fed high fat · high cholesterol diets. (Korean J Nutr 2011; 44(4): 284 ~ 291)

KEY WORDS: red pepper seeds powder, antioxidative system, high cholesterol, oxidative damage, free radical.

서 론

산소는 인체 내 소화 및 에너지 생성 등 여러 대사과정에 관여하고 생물의 생존에 가장 필수적인 물질이지만, 반응성이 매우 큰 활성산소로 전환되면 생체에 큰 영향을 미친다고 알려져 있다.¹⁾ 유해산소로 알려져 있는 활성산소종 (reactive oxygen

species, ROS)은 산소 라디칼 및 이것으로부터 파생된 여러 가지 산소 화합물을 통칭하는 것으로, 화학적 성질로 인해 환원된 라디칼인 superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$), hydroxyl radical ($\cdot OH$) 및 hydrogen peroxide (H_2O_2) 등이 있다.²⁾ 활성 산소종이 과다하게 생성되거나 항산화 시스템의 기능이 저하되는 상황에서 세포는 이로 인해 유해 작용을 받게 되어 산화적 스트레스 (oxidative stress)를 일으킨다. 특히, 고콜레스테롤 상태에서 산화적 스트레스를 촉진하여 항산화 효소의 양과 활성은 충분하지 않고 생체 내 자유라디칼의 제거계인 항산화 방어계 (antioxidative system)에 불균형을 가져오게 되어 심혈관계 질환을 유발하는데 중요한 병인으로 작용한다고 보고^{3,4)}되었

접수일: 2011년 5월 31일 / 수정일: 2011년 6월 19일
채택일: 2011년 7월 25일

*To whom correspondence should be addressed.
E-mail: jhappychoi@hanmail.net

다. Balka 등⁵⁾의 연구에서 고콜레스테롤 섭취는 산화적 스트레스가 촉진되어 체내 조직의 산화적 손상을 초래한다고 보고하였으며, Rhee 등⁶⁾의 연구에서 조직의 산화적 손상은 생체 내 과잉의 자유라디칼이 축적될 때에 일어나며 정상적인 생리 상태에서는 생체 내 항산화 방어계와 생성계가 균형을 이루고 있으므로 자유라디칼의 제거가 원만히 이루어지나 고콜레스테롤 혈증과 같은 질병상태에서는 그 균형이 깨져 자유라디칼 생성이 촉진되고 나아가 조직은 과산화적 손상을 입게 된다고 보고하였다. 인체는 스스로 산화하여 다른 물질의 산화를 방지하는 비타민 E, 체내 과산화물을 제거하는 SOD 등 체내 산화방지 메커니즘을 가지고 있는데, 체내 산화방지 메커니즘은 급격히 생겨나는 산화물에 대해서는 모두 방어를 할 수 없으므로 외부로부터 항산화물질이 충분히 섭취되어야 한다. 이러한 식이 항산화제는 과일류, 채소류 및 식물성 식품 등에 다량 함유되어 있는데,⁷⁾ 이들은 주로 vitamins, carotenoids, flavonoids와 같은 폴리페놀 등의 생리활성물질에 의한 것으로 보고되었다.⁸⁾

고추 (*Capsicum annuum* L.)는 가지과에 속하는 1년초 단일 작목으로 주로 음식의 맛을 내는 향신료로서 사용되어져 왔지만 최근 성인병 및 wellbeing에 대한 관심이 높아지면서 다양하게 연구되고 있다.⁹⁾ 고추는 풍부한 항산화 성분을 함유하고 있어 돌연변이 발생 비율을 감소시키는 것으로 알려져 있으며,¹⁰⁾ 신체 여러 조직에 저항력을 높이고 음식물의 소화흡수를 도와 신진대사를 증진시키며 건강 증진제로서의 역할을 한다. 고추씨 또한 인간 암세포에 강한 항암작용을 나타내며,¹¹⁾ 높은 항산화 활성 성분이 다른 항산화 물질과 상승효과를 나타낸다고 보고되었다.¹²⁾ 한편, 국내 건고추씨는 수분 10% 미만, 조단백질 15~17%, 지방 25~30%, 조섬유 35~45%를 함유하고 있는 양질의 식품소재로 고춧가루 생산과 함께 고추씨의 생산량도 가속화 될 것으로 예측된다. 이러한 고추씨를 보다 효율적으로 활용하기 위해 고추씨의 효능 및 주요 생리활성물질의 생리기능에 대한 체계적이고 종합적인 연구가 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 고추씨 섭취에 의한 질환 예방 및 개선 효능을 규명하고자 고지방과 고콜레스테롤 식이로 유도된 흰쥐에 고추씨 물추출물을 농도별로 공급했을 경우 간조직의 자유라디칼 생성계와 제거계 및 산화적 손상에 미치는 영향을 관찰 하였다.

재료 및 방법

고추씨 물 추출물의 파우더 제조

본 연구에 사용한 고추씨는 안동군에서 2007년 재배된 것으로 남안동 농협에서 제공받아 농가형 열풍건조기를 이용하여 85~80℃로 건조하였다. 건 고추 시료는 종자 분리기로 종자

를 완전 분리한 후 분쇄기 (대성파워 믹서/분쇄기 DA280G, Seoul, Korea)로 분쇄한 고추씨 당 6배에 해당하는 증류수 (w/v)를 가하여 4℃에서 24시간 추출한 후, 위와 같은 조건으로 3회 반복하고 상등액을 모아 Whatman No. 1 여과 지로 여과하였다. 여과한 여액은 rotary vacuum evaporator (HS-2001N, Hanshin Science CO. Korea)를 사용하여 감압 농축하고, 동결건조기 (Bondiro, Ilshin, Korea)로 건조하여 사용하였다. 이때 Ku 등¹³⁾의 방법의 추출 온도를 이용하였고, 본 실험에서 사용한 고추씨물추출물 파우더는 추출한 후 동결 건조시켜 조제한 것으로 동물 실험용 식이재료로 사용하였다. 본 실험에 사용되어진 고추씨 물추출물의 수율은 15.12% 이었다.

실험동물, 식이조성 및 사육

실험동물은 체중 100 ± 10 g 내외의 SpragueDawley 종 수컷을 바이오 제노믹스 (Bio Genomics Inc., Seoul, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 환경에 적응시키기 위해 일주일간 예비사육한 후, 난괴 법 (randomized complete block design)에 의해 대조군과 실험 군으로 나누어 Table 1과 같이 나누어 4주간 사육하였다. 실험 기간 중 식이는 4℃에서 보관하였으며 이때 사육실의 온도는 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 $50 \pm 10\%$ 를 유지하였다. 실험군은 정상군, 고지방과 고콜레스테롤식이 실험 군으로 나누어 후 정상군은 정상식이 대조군 (N group), 고지방과 고콜레스테롤식이 공급군 (HFC), 고지방과 고콜레스테롤식이 +1% 고추씨 파우더 물추출물 공급군 (HFCW1), 고지방과 고콜레스테롤식이 +2% 고추씨 파우더 물추출물 공급군 (HFCW2), 고지방과 고콜레스테롤식이 +4% 고추씨 파우더 물추출물 공급군 (HFCW4)으로 총 5군으로 나누어 사육하였다.

혈액 및 장기채취

사육기간 완료 후 실험동물을 12시간 절식시키고 가벼운 ether마취 하에서 복부대동맥으로부터 혈액을 채취한 후 즉시 간장을 적출하여 생리 식염수로 헹군 후 가아제로 수분을 제거하고 무게를 측정하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분간 방치한 후 3,500 rpm에서 10분간 원심분리 하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 사용하기 전까지 -80℃에 저장하였고 간 조직은 실험에 사용하기 전까지 무게를 측정한 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80℃에 보관하였다.

식이효율

식이효율 (Food Efficiency Ratio, FER)은 전 체중증가량을 같은 기간 동안의 식이섭취량으로 나누어 줌으로 계산하였다.

분석 시료의 전처리

간장을 각 간엽에서 고르게 일정량을 취하여 Potter Elve-

Table 1. Composite of experiment groups (g/kg diet)

| Ingredients | Groups ¹⁾ | N | HFC | HFCW1 | HFCW2 | HFCW4 |
|--------------------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Corn starch | | 539 | 429 | 419 | 409 | 389 |
| Casein | | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 |
| Sucrose | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Corn oil | | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| Mineral mixture ²⁾ | | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 |
| Vitamin mixture ³⁾ | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Cellulose | | 50 | 50 | 50 | 0 | 0 |
| DL-methionine | | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Choline chloride | | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Lard | | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Cholesterol | | 0 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Red pepper seeds ⁴⁾ | | 0 | 0 | 10 | 20 | 40 |
| Total | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

1) N: normal diet. HFC: high fat · high cholesterol diet, HFCW1: high fat · high cholesterol diet + water extracts from red pepper seeds 10 g/kg, HFCW2: high fat · high cholesterol diet + water extracts from red pepper seeds 20 g/kg, HFCW4: high fat · high cholesterol diet + water extracts from red pepper seeds 40 g/kg 2) AIN-76 mineral mixture (g/kg mixture) 3) AIN-76 vitamin mixture (g/kg mixture) 4) Red pepper seeds: cultivated in andong

jhem homogenizer를 사용하여 0.25 M sucrose/0.5 mM ethylene diamine teraacetic acid (EDTA)/5 mM N-2-hydroxyethyl-piperazine-N-2-ethane sulfonic acid (HEPES) 용액으로써 10% (w/v) 마쇄 액을 만들었다. 마쇄 액의 일부를 8,000 × g에서 20분간 원심 분리하여 그 상층 액을 과산화지질 정량에 사용하였고, 나머지는 10,000 × g에서 30분간 원심 분리하여 그 상층 액 중 일정량을 취하여 0.4배량의 ethanol: chloroform 냉혼합액 (5 : 3) 을 가하고 2분간 진탕한 다음 10,000 × g에서 30분간 원심 분리하여 얻은 상층 액을 세포질 SOD원액으로 사용하였다. 또 10,000 × g상층 액의 일부는 다시 105,000 × g에서 30분간 원심 분리하여 얻은 cytosol은 GSH-px의 활성도를 측정하였다. 모든 실험 조건은 4℃를 유지하면서 행하였다.

간조직의 xanthine oxidase (XOD) 함량 측정

간조직의 XOD 활성도 측정은 xanthine을 기질로 하여 30℃에서 10 분간 반응시켜 생성된 uric acid를 파장 292 nm에서 흡광도를 측정하는 Stirpe와 Della Corte의 방법¹⁴⁾을 이용하였다. 활성도 단위는 간조직의 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 기질로부터 생성된 uric acid량을 nmole 농도로 표시하였다.

SOD, GSH-px, Catalase 활성 측정

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund¹⁵⁾의 방법에 따라 측정하였다. GSH-px활성은 산화형 glutathione (GSSG)이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 340 nm에서 NADPH의 흡광도가 감소하는 것을 이용한 Lawrence 및 Burk¹⁶⁾의 방법에 따라 측정하였다. 간조직의 CAT 활성은

Aebi 등¹⁷⁾의 방법으로 측정하였다. 즉 50 mM potassium phosphate buffer (PH 7.0) 2.89 mL에 기질인 30 mM H₂O₂를 100 μL를 넣어 25℃에서 5분간 반응 시켰다. 여기에 시료 10 μL를 가하여 3.0 mL가 되도록 하고 25℃, 240 nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다. H₂O₂의 흡광도 변화와 H₂O₂의 몰 흡광계수로 H₂O₂의 농도를 구하여 효소활성도를 계산하였다.

Hydrogen peroxide (H₂O₂), superoxide radical (O₂^{·-}) 함량 측정

간 조직 중의 H₂O₂와 O₂^{·-}함량을 측정하기 위하여 1 g의 간 조직을 0.25 M sucrose 용액으로 균질화 시킨 후 8,000 × g에서 원심 분리 하여 mitochondria 분획을 얻은 후 다시 105,000 × g에서 원심 분리하여 cytosol과 microsome 분획을 얻었다. H₂O₂생성량 측정은 Gay와 Gebicki¹⁸⁾의 방법에 따라 xylenol orange를 이용하여 560 nm에서 흡광도 증가로 측정하였다. O₂^{·-}함량 측정은 Azzi¹⁹⁾등의 방법에 준해 실시하였다.

간 조직중의 Carbonyl 함량 측정

간조직의 microsome 및 mitochondria 중의 산화된 단백질의 함량은 Levine²⁰⁾ 등의 방법에 따라 측정하였다. 0.1 mL의 시료에 trichloroacetic acid (TCA) 0.5 mL를 혼합한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 얻어진 상층 액을 제거한 뒤 잔사에 다시 10 mM dinitrophenylhydrazine (DNPH) 0.5 mL 가하여 15분마다 교반하면서 1시간 동안 실온에 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 이때 얻어진 상층 액을 제거한 후 잔사에 ethanol/ethyl acetate (1 : 1, v/v) 3 mL를 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 다음 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 얻어진 잔사를 6 M guanidine [20 mM potassium phosphate buffer (pH 7.3)에 용해] 1.0 mL

를 첨가하여 혼합한 후 37℃의 항온수조에서 15분간 가온한 후 3,500 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl value의 양은 360 nm 흡광도의 파장에서 분자흡광계수 ($\epsilon = 22,000$)를 이용하여 계산하였다.

Thiobarbituric acid reaction substance (TBARS)

정량

과산화지질 정량은 간 조직의 마쇄 액을 $8,000 \times g$ 에서 처리하여 얻은 상층액과 TCA용액을 섞은 후, 실온에서 10분간 방치한 다음 0.05 M 황산으로 세척한 후 그 침전물과 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하여 생성되는 malondialdehyde를 측정하는 Satho²¹⁾법을 이용하였다.

단백질 정량

각 시료의 단백질량은 Lowry 등²²⁾의 방법으로 하였으며, bovin serum albumin을 표준 품으로 사용하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험 군별로 표준차이가 있는가를 검증하기 위해 분산분석을 수행하였으며 분산분석 (ANOVA 검증) 결과 유의성이 발견된 경우 Tukey's HSD test²³⁾에 의해 군 간의 유의도를 분석하였다.

결 과

체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

고추씨 물추출물의 농도별 실험에서 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 관찰한 결과는 Table 2와 같다. 체중증가량은 고추씨 물추출물 파우더를 공급한 모든 군에서 HFC군에 비해 낮고 정상군과 유사한 수준을 보였다. 특히 고추씨 물추출물을 4% 공급한 HFCW4군에서는 HFC군에 비해 유의적으로 낮았다. 식이섭취량은 군간에 유의적인 차이는 없었으나 고추씨 물추출물 공급군이 N군과 HFC군에 비해 낮은 경향을 보였으며, 식이효율은 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다.

Table 2. Effects of water extracts from red pepper seeds on body weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER) in rat fed high fat · high cholesterol diets

| Group | Body weight gains (g) | Food intake (g/day) | FER |
|-------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| N | 188.5 ± 14.82 ^{ab} | 20.31 ± 2.238 ^{NS} | 0.331 ± 0.008 ^{NS} |
| HFC | 200.0 ± 16.15 ^{ab} | 20.81 ± 3.123 ^{bbb} | 0.343 ± 0.019 ^{bbb} |
| HFCW1 | 169.0 ± 12.90 ^{ab} | 16.95 ± 2.367 ^{bbb} | 0.356 ± 0.038 ^{bbb} |
| HFCW2 | 167.0 ± 5.292 ^{ab} | 17.70 ± 2.058 ^{bbb} | 0.336 ± 0.027 ^{bbb} |
| HFCW4 | 164.0 ± 3.478 ^{ab} | 17.17 ± 1.836 ^{bbb} | 0.341 ± 0.015 ^{bbb} |

All values are mean ± SE (n = 10). Those with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The experimental groups are the same as in Table 1. NS: not significant

간 조직중의 Xanthine oxidase (XOD) 저해활성

생체 내 유리 생성계의 하나로 유해활성산소를 증가시켜 산화적 스트레스를 유발하는데 원인이 되는 XOD 활성을 간 조직에서 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 정상군에 비해 HFC군에서 유의적으로 증가하였고, 고추씨 물추출물 파우더를 공급한 모든 군에서 HFC군에 비해 낮아지는 경향을 보였다. 특히 HFCW2와 HFCW4군에서 각각 18%, 23%로 유의적인 감소를 보였다.

간 조직중의 SOD 및 GPx, CAT 활성

생체 내 항산화방어기구 중 효소적 방어계의 하나로서 NADPH oxidase에 의해 생성된 산소 음이온을 H_2O_2 로 전환시키며, superoxide radical을 과산화수소로 전환시키는 과정을 촉매화하는 SOD 활성을 간에서 관찰한 결과는 Table 4와 같다. N군에 비해 HFC군에서 유의적으로 증가하였으며, HFCW2와 HFCW4군은 HFC군에 비해 SOD활성이 높아졌으나 유의적인 차이는 없었다. Selenium을 함유하는 항산화효소로 비타민 E와 함께 과산화물을 제거함으로써 세포막의 손실을 방어하는 GSH-px의 활성을 간 조직에서 관찰한 결과 (Table 4) 고추씨 물추출물 파우더를 공급한 모든 군에서 HFC군에 비해 높아졌고, 특히 고추씨 물추출물 농도를 4%공급한 HFCW4군은 유의적인 차이를 나타냈다. 조

Table 3. Effects of water extracts from red pepper seeds on hepatic xanthine oxidase (XOD) activities in rats fed high fat · high cholesterol diets

| Groups | XOD (nmol/mg protein/min) |
|--------|-----------------------------|
| | Cytosol |
| N | 2.546 ± 0.177 ^{cc} |
| HFC | 3.922 ± 0.193 ^{ac} |
| HFCW1 | 3.609 ± 0.290 ^{ac} |
| HFCW2 | 3.264 ± 0.297 ^{bc} |
| HFCW4 | 3.075 ± 0.269 ^{bc} |

All values are mean ± SE (n = 10). Those with different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The experimental groups are the same as in Table 1

Table 4. Effects of water extracts from red pepper seeds on hepatic superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase activities in rats fed high fat · high cholesterol diets

| Groups | SOD (unit/mg protein/min) | GSH-PX (nmol NADPH/mg protein min) | Catalase (mol/min/mg protein) |
|--------|----------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| | Liver | Cytosol | Microsome |
| N | 1.016 ± 0.029 ^b | 394.5 ± 38.51 ^{az} | 18.07 ± 2.997 ^{ao} |
| HFC | 1.353 ± 0.090 ^a | 339.3 ± 25.35 ^{bz} | 11.90 ± 1.444 ^{bo} |
| HFCW1 | 1.314 ± 0.108 ^a | 352.6 ± 23.87 ^{ab} | 12.39 ± 2.471 ^{ab} |
| HFCW2 | 1.404 ± 0.175 ^a | 379.0 ± 11.52 ^{ab} | 14.80 ± 2.506 ^{ab} |
| HFCW4 | 1.523 ± 0.274 ^a | 393.8 ± 13.76 ^{az} | 15.29 ± 2.042 ^{ab} |

All values are mean ± SE (n = 10). Those with different superscripts in the same column are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test. The experimental groups are the same as in Table 1

Table 5. Effects of water extracts from red pepper seeds on hepatic superoxide radical contents in rats fed high fat · high cholesterol diet

| Groups | Superoxide Radical (nmoles/mg protein/min) |
|--------|--|
| | Mitochondria |
| N | 12.57 ± 1.297 ^c |
| HFC | 27.00 ± 2.887 ^a |
| HFCW1 | 24.66 ± 2.571 ^a |
| HFCW2 | 18.54 ± 3.298 ^b |
| HFCW4 | 15.95 ± 2.228 ^c |

All values are mean ± SE (n = 10). Those with different superscripts in the same column are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test. The experimental groups are the same as in Table 1

직 세포 속에 존재하여 대사산물인 H₂O₂를 순간적으로 산화시켜 H₂O와 O₂로 분해하고 생체를 산소독으로부터 보호함으로써 과산화적 손상을 방지하는 간조직의 catalase를 관찰한 결과 (Table 4) N군에 비해 HFC군에서 유의적으로 높고, HFC군에 비해 고추씨 물추출물 파우더 공급군에서 감소하는 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

간조직의 Superoxide radical (O₂^{·-}) 함량

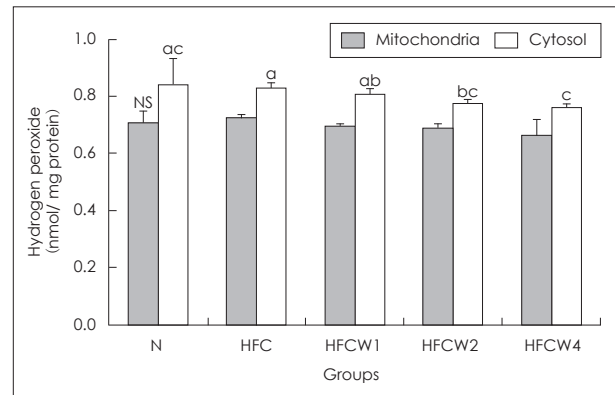
지질과산화물의 생성으로 조직과 세포 등에 손상을 주어 기능적인 작용에도 영향을 주는 지표 중 하나인 superoxide radical 함량을 간 조직에서 관찰한 결과는 Table 5와 같다. HFCW2와 HFCW4군에서 유의적으로 감소하였으며, 고추씨 물추출물 공급 농도에 따라 낮아지는 경향을 보였다.

간조직의 Hydrogen peroxide (H₂O₂) 함량

간조직의 mitochondria에서 H₂O₂의 함량을 측정한 결과 (Fig. 1) HFC군에 비해 고추씨 물추출물 파우더 공급군에서 모두 낮아졌으나 유의적인 차이는 없었다. 간조직의 cytosol에서는 고추씨 물추출물 파우더 공급군 모두 HFC군에 비해 낮고, 특히 HFCW2와 HFCW4군에서 유의적인 차이를 나타냈다.

간 Microsome 및 mitochondria의 carbonyl value 함량

간 조직의 산화적 손상의 지표로 삼고 있는 산화단백질의

**Fig. 1.** Effects of water extracts from red pepper seeds on hepatic hydrogen peroxide contents in rats fed high fat · high cholesterol diets. All values are the means ± SE (n = 10). Those with different superscript letters are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test.

생성지표인 carbonyl가 함량을 측정한 결과 (Fig. 2) microsome에서는 정상군에 비해 HFC군에서 유의적으로 증가하였고, HFC군에 비해 고추씨 물추출물 파우더 공급군에서 모두 낮았다. 특히 고추씨 물추출물 파우더를 4% 공급한 HFCW4군에서 유의적으로 낮아졌다. 간 조직의 mitochondria에서 산화단백질 함량을 측정한 결과 (Fig. 2) HFC군에 비해 고추씨 물추출물 파우더를 2%와 4% 공급한 두 군이 유의적으로 낮아졌다.

간 조직의 과산화 지질 (TBARS) 함량

조직의 과산화적 손상 지표가 되는 간조직의 TBARS 함량을 관찰한 결과 N군에 비해 HFC군은 유의적으로 증가되어졌고, HFC군에 비해 고추씨 물추출물 파우더 공급군 모두 낮고 특히 고추씨 물추출물 파우더를 2%공급한 HFCW2군은 유의적인 차이를 나타냈다.

고 찰

최근 항산화 효과를 가진 천연식품을 이용하여 만성질환을 예방하고 노화를 지연시키고자하는 수요가 많아지면서 식

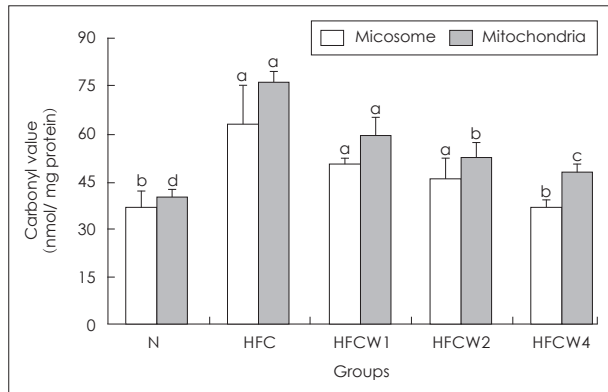


Fig. 2. Effects of water extracts from red pepper seeds on hepatic carbonyl value contents in rats fed high fat · high cholesterol diets. All values are the means \pm SE (n = 10). Those with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

Table 6. Effects of water extracts from red pepper seeds on hepatic thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in rats fed high fat · high cholesterol diets

| Groups | TBARS (MDA nmole/mg protein) | |
|--------|---------------------------------|--|
| | Liver | |
| N | 12.10 \pm 0.890 ^c | |
| HFC | 25.44 \pm 3.360 ^a | |
| HFCW1 | 22.46 \pm 1.810 ^{ab} | |
| HFCW2 | 19.28 \pm 0.782 ^b | |
| HFCW4 | 20.01 \pm 1.170 ^{ab} | |

물자원에서 생리활성 성분에 관한 연구가 증가되고 있다.²⁴⁾ 따라서 본 연구에서는 고추씨 섭취에 의한 질환 예방 및 개선 효능을 규명하고자 고지방과 고콜레스테롤 식이로 유도된 흰쥐에 고추씨 물추출물을 농도별로 공급했을 경우 간조직의 자유라디칼 생성계와 제거계 및 산화적 손상에 미치는 영향을 관찰 하였다.

본 실험에서 체중증가량을 비교한 결과 고추씨 물추출물 파우더를 공급한 농도에 따라 고지방과 고콜레스테롤 식이를 공급한 군 (HFC)에 비해 낮아지는 경향을 보였다. Ku 등¹³⁾의 연구에서 고추씨의 총 식이섬유 함량을 품종에 따라 비교한 결과 40~65%로 다량의 식이섬유를 함유하고 있다고 보고되었으며, 이러한 고추씨의 높은 섬유소 함량 때문에 본 연구 결과 체중감소 효과를 유발하였다고 사료되어진다. 이는 Suh 등²⁵⁾의 연구에서 작약씨 추출물 내의 식이섬유 성분이 고콜레스테롤로 유도된 흰쥐의 체중증가량 및 식이효율의 감소에 관여한다는 연구내용과 유사하였다. 생체 내 유리 생성계의 하나인 XOD는 purine, pyrimidine, aldehyde류 및 heterocyclic compounds 등의 대사에 관여하는 비특이적 효소로서 생체 내에는 주로 purine체의 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 산화시켜 요산을 생성하는

반응의 촉매로 작용한다.²⁶⁾ 또한 XOD는 당뇨 및 고지혈에 의해서 활성이 증가되어 유해활성산소를 증가시켜 산화적 스트레스를 유발^{27,28)}하게 되는데 이에 원인이 되는 XOD 활성을 간 조직에서 관찰한 결과 HFC군에 비해 HFCW2군과 HFCW4군에서 유의적으로 낮아졌으며, 고추씨 물추출물 공급 농도에 따라 낮아졌다. 일반적으로 flavonoid류는 XOD 저해활성이 있다고 보고되고 있으며, Kim의 연구²⁹⁾에서 풋고추씨와 홍고추씨의 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과 8.71 ± 0.1 g, 7.06 ± 0.4 g으로 나타났다고 보고하였다. 따라서 고추씨의 물추출물에도 다량의 플라보노이드가 있을 것으로 사료되며, 이러한 flavonoid 성분들이 고지방·고콜레스테롤 식이로 인한 유해활성산소 발생을 억제하는데 관여 한 것이라 보여진다.

항산화 효소는 세포막의 지질과산화 손상, sulfhydryl 함유 효소의 불활성화 및 구성 단백질의 교차결합 등을 일으키는 reactive oxygen species (ROS)를 불활성화 시키거나 제거함으로써 항산화 작용을 한다. 생체 내 항산화방어기구 중 효소적 방어계의 하나로서 NADPH oxidase에 의해 생성된 산소 음이온을 H_2O_2 로 전환 시키며, superoxide radical을 과산화수소로 전환시키는 과정을 촉매화하는 SOD 활성을 간에서 관찰한 결과 고추씨 물추출물 파우더 군에서 HFC군에 비해 유의적이지는 않지만 고추씨 첨가 농도에 따라 SOD활성이 증가하는 경향을 나타냈다. Song³⁰⁾의 연구에서 고추씨 에탄올추출물의 SOD활성 결과에 비해 본 연구에서 관찰한 고추씨 물추출물이 더 높은 SOD 유사활성을 나타냈다. Glutathione은 85~90%에 상당하는 부분이 cytoplasm에 존재하면서 외부로부터의 산화적 스트레스나 생체 내 free radical을 포획하는 능력을 보유하고 있으며, 과산화수소와 과산화지질을 대사시키는 GSH-px의 기질로서 세포 방어체계에서 중요한 역할을 한다. 본 연구에서 selenium을 함유하는 항산화효소로 비타민 E와 함께 과산화물을 제거함으로써 세포막의 손실을 방어하는 GSH-px의 활성을 간 조직에서 관찰한 결과 고추씨 물추출물 농도를 4% 공급한 HFCW4군에서는 HFC군에 비해 16% 증가되어 정상군 수준이었다. 조직 세포 속에 존재하여 대사산물인 H_2O_2 를 순간적으로 산화시켜 H_2O 와 O_2 로 분해하고 생체를 산소독으로부터 보호함으로써 과산화적 손상을 방지하는 간조직의 catalase를 관찰한 결과 HF군에 비해 고추씨 물추출물 파우더 공급 농도에 따라 각각 3%, 24%, 28%로 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. Kim²⁹⁾은 고추씨에서 과육보다 폴리페놀 함량이 높았다고 보고하였다. 또한 Ku³³⁾의 연구에서 품종별 고추씨의 폴리페놀 함량을 조사한 결과 물추출의 경우 $10.22 \pm 1.29 \sim 25.98 \pm 0.55$ mg/g로 나타났으며, 이는 종실류에 속하는 들깨 0.83 mg/g, 살구씨는 0.12 mg/g, 호두 2.06 mg/g, 호

박씨 0.13 mg/g에 비하여 높은 폴리페놀 함량을 가지고 있다고 보고³⁴⁾하였다. 이러한 폴리페놀 화합물들은 혈관에서 흡수되어 항산화³⁵⁾ 및 free radical 소거효과³⁶⁾ 등의 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 따라서 고추씨 물추출물의 공급으로 폴리페놀 함량이 증가되어 항산화효소 활성 또한 증가된 것으로 사료되어진다.

본 연구에서 superoxide radical 함량을 간 조직에서 관찰한 결과 HFCW2와 HFCW4군에서 유의적으로 감소하였으며, 고추씨 물추출물 공급 농도에 따라 낮아지는 경향을 보였다. 이는 Ku³³⁾의 고추씨 물추출물의 아질산염 소거작용을 품종별로 측정한 결과 $70.11 \pm 0.71 \sim 94.07 \pm 0.86\%$ 로 높은 소거능을 보였다는 보고와 유사하다. 또 Ki³⁷⁾의 연구에서 고추씨의 함량이 superoxide radical에 영향을 주어 산화방지 역할을 한다고 보고하였으며, 본 연구에서 고추씨의 물추출물에 함유된 페놀성분과 flavonoid 성분이 고지방 식이로 인해 생성된 지질과산화물로 인해 손상된 세포기능을 회복시킨 것으로 사료 된다.

H₂O₂는 세포에 상해를 주며 특히 세포막의 다불포화 지방산에 작용하여 지질과산화물을 생성하고 이로 인해 세포의 기능을 손상시키는 것으로 알려져 있다.²⁹⁾ 간조직의 cytosol에서 H₂O₂의 함량을 측정할 결과 HFCW2군과 HFCW4군에서 유의적으로 감소하였다. 이러한 결과는 Song³⁸⁾의 연구에서 고지방과 고콜레스테롤 식이 공급군이 고추씨의 공급으로 정상군 수준으로 감소하였다는 결과와 유사하며, 고추씨 물추출물 파우더의 항산화 성분이 효과적으로 활성산소종의 소거에 관여한 것으로 사료된다. 산화단백질 함량을 간 조직에서 관찰한 결과 microsome에서는 HFC군에 비해 HFCW군에서 유의적으로 낮아졌으며, mitochondria에서는 HFCW2와 HFCW4군에서 유의적으로 낮아졌다. 이러한 결과는 고추씨에 항산화력의 지표가 되는 페놀성 물질 및 flavonoid 물질 함량이 다량 함유되어 있다는 보고³³⁾와 같이 고추씨의 다량의 항산화 성분이 단백질 산화를 억제시킨 것이라 사료되어진다.

지질 과산화 반응은 생체조직막의 다가불포화지방산 유리기에 의해 산화적 분해를 일으키는 것으로, 지표로 TBARS 수준을 사용하며 이의 증가는 산화적 스트레스의 증가를 나타낸다. 이는 결과적으로 생체막의 기능저하, 유동성 감소, 항상성 유지 장애 등을 초래하여 암과 같은 만성적 성인병을 발생시키는 주요 원인이 되고 있으며 특히 세포의 노화와 관련성이 있다고 보고된다.³⁹⁾ 조직의 과산화적 손상 지표가 되는 간조직의 TBARS 함량을 관찰한 결과 HFCW2군에서 HFC군에 비해 유의적으로 감소하였다. 이는 고추씨의 풍부한 항산화 성분들로 인하여 체내에서 생성된 free radical의 영향으

로³⁸⁾ 지질 과산화반응을 억제 시킨 것으로 사료된다. 이상과 같이 고지방과 고콜레스테롤 식이 흰쥐에서 고추씨 물추출물의 공급은 간조직의 자유기 생성체를 억제시키고 제거체인 항산화 방어 효소의 활성을 증가시키며 지질과산화물 축적을 감소시킴을 알 수 있다. 따라서 고추씨 물추출물은 산화적 스트레스에 의한 조직의 손상을 완화 시킬 수 있을 것으로 사료되며 본 연구에서 고추씨 물추출물은 고지방과 고콜레스테롤 식이 흰쥐의 간조직에서 항산화 강화작용과 산화적 손상 완화 작용이 뚜렷하게 관찰 되었다.

Literature cited

- 1) Ko SC, Kang SM, Ahn G, Yang HP, Kim KN, Jeon YJ. Antioxidant activity of enzymatic extracts from sargassum coreanum. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2010; 39(4): 494-499
- 2) Jang JR, Hwang SY, Lim SY. Effects of extracts from dried Yam on antioxidant and growth of human cancer cell lines. *J Life Sci* 2010; 20(9): 1365-1372
- 3) Yokozawa T, Nakagawa T, Kitani K. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem* 2002; 50(12): 3549-3552
- 4) Bok SH, Park SY, Park YB, Lee MK, Jeon SM, Jeong TS, Choi MS. Quercetin dihydrate and gallate supplements lower plasma and hepatic lipids and change activities of hepatic antioxidant enzymes in high cholesterol-fed rats. *Int J Vitam Nutr Res* 2002; 72(3): 161-169
- 5) Balkan J, Kanbağlı O, Hatipoğlu A, Küçük M, Cevikbaş U, Aykaç-Toker G, Uysal M. 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* 2002; 66(8): 1755-1758
- 6) Rhee SJ, Ahn JM, Ku KH, Choi JH. Effects of radish leaves powder on hepatic antioxidative system in rats fed high-cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2005; 34(8): 1157-1163
- 7) Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park DS. Antioxidant activity in water and methanol extracts from korean edible wild plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2011; 40(1): 29-36
- 8) Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(3 Suppl): 517S-520S
- 9) Yoon J, Jun JJ, Lim SC, Lee KH, Kim HT, Jeong HS, Lee J. Changes in selected components and antioxidant and antiproliferative activity of peppers depending on cultivation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2010; 39(5): 731-736
- 10) Sim KH, Han YS. The Antimutagenic and Antioxidant effects of red pepper seed and red pepper pericarp (*Capsicum annuum* L.). *J Food Sci Nutr* 2007; 12(4): 273-278
- 11) Choi SM, Jeon YS, Jung KO, Park KY. Antimutagenic effects of different kinds and parts of red pepper/powder on the N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)-induced mutagenicities. *J Korean Assoc Cancer Prev* 2001; 6(2): 108-115
- 12) Sim KH, Kim SI, Cho YK, Cho YS, Han YS. The effects of red pepper seed on Kimchi quality during fermentation. *Food Qual Cult* 2007; 1(1): 27-33.
- 13) Ku KH, Choi EJ, Park JB. Chemical component analysis of red pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds with various cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2008; 37(8): 1084-1089

- 14) Stirpe F, Corte ED. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem* 1969; 244(14): 3855-3863
- 15) 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* 1974; 47(3): 469-474
- 16) Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71(4): 952-958
- 17) Aebi H, Wyss SR, Scherz B, Skvaril F. Heterogeneity of erythrocyte catalase II. Isolation and characterization of normal and variant erythrocyte catalase and their subunits. *Eur J Biochem* 1974; 48(1): 137-145
- 18) Gay C, Gebicki JM. A critical evaluation of the effect of sorbitol on the ferric-xylenol orange hydroperoxide assay. *Anal Biochem* 2000; 284(2): 217-220
- 19) Azzi A, Montecucco C, Richter C. The use of acetylated ferricytochrome c for the detection of superoxide radicals produced in biological membranes. *Biochem Biophys Res Commun* 1975; 65(2): 597-603
- 20) Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 1990; 186: 464-478
- 21) Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 1978; 90(1): 37-43
- 22) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-275
- 23) Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedures of statistics. New York, USA: McGraw-Hill; 1990
- 24) Zhang XH, Choi SK, Seo JS. Effect of dietary grape pomace on lipid oxidation and related enzyme activities in rats fed high fat diet. *Korean J Nutr* 2009; 42(5): 415-422
- 25) Suh SH, Lee HR, Rhee SJ, Choi SW, Cho SH. Effects of peonia seed extracts and resveratrol on lipid metabolism in rats fed high cholesterol diets. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2003; 32(7): 1102-1107
- 26) Duke EJ, Joyce P, Ryan JP. Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. *Biochem J* 1973; 131(2): 187-190
- 27) Ham YK, Kim SW. Protective effects of plant extract of plant extracts on the hepatocytes of rat treated with carbon tetrachloride. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2004; 33(8): 1246-1251
- 28) Urano S, Hoshi-Hashizume M, Tochigi N, Matsuo M, Shiraki M, Ito H. Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposomes to oxidative stress in aged diabetics. *Lipids* 1991; 26(1): 58-61
- 29) Kim HJ. Antioxidant and physiological activities of capsicum annum extract [dissertation]. Seoul: Korea University; 2010
- 30) Song WY, Ku KH, Choi JH. Effect of ethanol extracts from red pepper seeds on antioxidative defense system and oxidative stress in rats fed high-fat, high-cholesterol diet. *Nutr Res Pract* 2010; 4(1): 11-15
- 31) Park YS. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of medicinal herb extracts. *J East Asian Soc Diet Life* 2002; 12(1): 23-31
- 32) Kim SM, Jung YJ, Pan CH, Um BH. Antioxidant activity of methanol extracts from the genus lespedeza. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2010; 39(5): 769-775
- 33) Ku KH, Choi EJ, Park WS. Functional activity of water and ethanol extracts from red pepper (*Capsicum annum* L.) seeds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2008; 37(10): 1357-1362
- 34) Lee J, Lee SR. Analysis of phenolic substances content in Korean plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 1994; 26(3): 310-316
- 35) Moon SH, Lee MK. Inhibitory effects of xanthine oxidase by boiled water extract and tannin from persimmon leaves. *Korean J Food Nutr* 2001; 11(3): 354-357
- 36) Yeo SG, Park YB, Kim IS, Kim SB, Park YH. Inhibitory effects of xanthine oxidase by tea extract from green tee, oolong tea, and black tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1995; 24: 154-159
- 37) Ki HS, Han YS. Antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annum*) pericarp and seed extracts. *Int J Food Sci Technol* 2008; 43(10): 1813-1823
- 38) Song WY, Yang JA, Ku KH, Choi JH. Effect of red pepper seeds powder on antioxidative system and oxidative damage in rats fed high-fat, high-cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2009; 38(9): 1161-1166
- 39) Joo HY, Lim KT. Protective effect of glycoprotein isolated from *Cudrania tricuspidata* on liver in CCl4-treated A/J mice. *Korean J Food Sci Technol* 2009; 41(1): 93-99