

## 포도박이 고지방식을 섭취한 흰쥐의 지질 산화와 항산화 효소 활성화에 미치는 영향\*

장선화 · 최수경 · 서정숙<sup>§</sup>

영남대학교 식품영양학과

### Effect of Dietary Grape Pomace on Lipid Oxidation and Related Enzyme Activities in Rats Fed High Fat Diet\*

Zhang, Xian-Hua · Choi, Soo-Kyong · Seo, Jung-Sook<sup>§</sup>

Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

#### ABSTRACT

The present study was conducted to investigate the effect of dietary supplementation of grape pomace on lipid peroxidation and related enzyme activities of rats fed high fat diet. Male Sprague-Dawley rats weighing about 90 g were assigned to 4 experimental groups of 8 rats on the basis of their body weight. The high fat diet contained additional 15% lard to AIN 93-based diet. Rats were fed experimental diets containing 5% grape pomace for 4 weeks. Dietary supplementation of grape pomace reduced serum concentration of lipid peroxide in rats fed high fat diet. Hepatic concentration of lipid peroxide tended to be lower by feeding grape pomace. Hepatic total glutathione content and GSH/GSSG ratio were increased by grape pomace feeding in normal or high fat diet groups. Hepatic superoxide dismutase activity of grape pomace group with high fat diet was induced significantly compared with high fat diet group without grape pomace. Hepatic catalase activity of high fat fed rats was induced by feeding grape pomace. Grape pomace diet increased glutathione-S-transferase and glutathione peroxidase activities in rat liver fed high fat. Hepatic glucose-6-phosphatase activity was not affected by dietary supplementation of grape pomace in rats fed high fat. These results suggest that dietary supplementation of grape pomace may alleviate lipid peroxidation through antioxidant effect in rats fed high fat. (Korean J Nutr 2009; 42(5): 415~422)

**KEY WORDS:** grape pomace, high fat, lipid peroxidation, antioxidant.

#### 서 론

2007년 통계청 자료에 의하면 각종 암과 순환기계 질환 인 뇌혈관 질환과 심장 질환에 의한 사망자가 한국인 전체 사망자수의 47.6%를 차지하였다.<sup>1)</sup> 이는 최근 국민들의 생활환경과 식생활 양식의 급격한 변화와 관련성이 큰 것으로 의학 및 영양학적 측면에서 심각한 사회문제로 제기되고 있다. 따라서 이러한 만성질환 예방과 관계 깊은 식품의 건강기능성에 대한 관심이 증가되고 있으며, 특히 채소

및 과일류 섭취의 중요성이 강조되고 있다.

포도는 전 세계적인 대표 과일 중의 하나이며, 우리나라 소비자의 선호도도 42.7%를 차지하여 매우 높은 것으로 보고되었다.<sup>2)</sup> 최근 포도 소비량의 증가는 포도에 대한 기호뿐만 아니라 포도 중에 함유된 다양한 피토케미칼 (phytochemicals) 성분이 건강에 유익한 생리활성을 가지는 것과 관계가 높은 것으로 알려지고 있다.

현재까지 포도 과일의 생리활성물질에 대한 연구와 더불어 포도주에 대해서도 많은 연구가 진행되었다. 적포도주는 포도 전체를 발효시켜 제조하므로 알코올과 다량의 폴리페놀 (polyphenol) 화합물을 함유하여 혈중 LDL (low-density lipoprotein)의 지질과산화물을 억제함으로써 각종 암과 동맥경화증을 예방할 수 있다고 보고되었다.<sup>3,4)</sup> 포도 지방을 다량 섭취하는 프랑스인에서 관상동맥질환에 의한 사망률이 상대적으로 낮은 주요 원인은 포도주 소비가 많

접수일 : 2009년 6월 10일 / 수정일 : 2009년 7월 10일

채택일 : 2009년 7월 13일

\*This research was supported by 2005 grant from Agricultural R & D Promotion Center (ARPC).

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

E-mail: Jsseo@ynu.ac.kr

은 것과 관계가 있다고 보고되었다.<sup>5)</sup>

최근 포도주를 가공할 때 생산되는 포도박 폐기물의 자원화에 대한 관심이 증가되고 있다.<sup>6-9)</sup> 포도박은 주로 과피와 씨, 과육을 포함하며, 포도박에는 레스베라트롤 (resveratrol) 등 중요한 생리활성성분이 많이 존재하는 것으로 알려져 있다.<sup>10)</sup> Jeon<sup>11)</sup>은 우리나라에서 많이 소비되는 Campbell Early 포도 중 레스베라트롤의 함량은 주로 포도 과피와 포도씨에 함유되어 있다고 보고하였다. 레스베라트롤은 폴리페놀계 피토케미칼로서 항산화 기능과 항암효과를 가지는 것으로 보고되었다.<sup>12)</sup> 플라보노이드는 hydroxyl, peroxy, superoxide, nitric oxide 등의 free radical 소거능력을 가지며 지질과산화물을 억제하여 항산화 활성을 나타낸다.<sup>13)</sup> 포도박에서 추출한 페놀화합물은 혈액응고를 방지하고,<sup>14)</sup> 활성산소종 (ROS)의 생성을 억제한다는 연구들이 있다.<sup>15-17)</sup>

Rho<sup>18)</sup>의 연구에 의하면 동결건조하기 전 Campbell Early 중의 신선한 포도박에는 플라보노이드 (flavonoids), 베타카로틴 ( $\beta$ -carotene), 비타민 C, 비타민 E 등의 성분과 식이섬유의 함량이 많은 것으로 분석되었다. 이는 포도박의 자원화를 통한 고부가가치 가공품 개발에 매우 중요한 가능성을 제시하는 것으로 생각된다. 포도 가공 공정 중 포도씨는 생과 중량의 약 3%, 포도 과피는 약 15% 정도가 폐기물로 생산되는데 이를 자원화하려는 연구가 다각적으로 이루어지고 있다.<sup>19)</sup> 그러나 국내외에서 포도의 부위별 생리활성물질에 대한 연구는 활발히 진행되고 있는 반면에 포도박 자체의 생리활성과 이용성에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 주로 소비되고 있는 Campbell Early 중 포도로 포도박을 제조하여 고지방 식이를 섭취한 흰쥐에게 급여함으로써 포도박의 급여가 흰쥐의 지질 산화와 관련 효소 활성에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 포도박 시료 준비

포도시료는 국내에서 가장 많이 재배되고 있는 Campbell Early (*Vitis labruscana Bailey*)종을 구입하여 포도박을 제조하여 사용하였다. 시료 준비를 위하여 포도를 낱알로 알알이 따서 식초 물에 한 시간 정도 담가두었다가 다시 흐르는 물에 수세한 후 채반에 담아 물기를 제거하였다. 물기가 제거된 포도를 믹서기로 갈아 포도즙을 짜고 30 mesh의 체로 통과하여 남은 찌꺼기인 포도박을 동결 건

조한 다음 40 mesh의 testing sieve를 통과할 수 있도록 분말화 하였고 이것을 실험동물의 식이 제조에 사용하였다. 포도박의 수율은 6.05%이었다.

### 실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 4주령된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 32마리 (Orient, Korea)를 구입하여 1주일간 일반사료로 적응시켰다. 그런 다음 각 실험군마다 평균체중이 약 90 g이 되도록 각 군당 8마리씩 4개 군으로 나누어 stainless steel-bottomed cage에 한마리씩 분리 사육하였다. 실험동물 사육실의 온도는 18~24°C, 상대습도 50~60%로 유지하였으며 명암은 12시간 주기 (8:00~20:00)로 조절하였다.

본 실험에 사용한 기본식이는 AIN-93<sup>20)</sup> 식이조성에 준하여 각 원료로 배합 조제하였다 (Table 1). 고지방식이는 총 열량의 약 40%가 지방으로 공급되도록 lard를 기본식이에 15% 첨가하였다. 조제한 식이는 4°C에 냉장보관하면서 매일 새로운 식이를 급여하였고, 체중은 일주일에 한번씩 측정하였다.

### 시료 채취 및 처리

실험식으로 4주간 사육한 실험동물은 12시간 절식시킨 후, diethyl ether로 마취시켜 개복한 즉시 복부 대대정맥에서 혈액을 채취하였다. 혈액은 실온에서 30분간 방치한 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 분석하기 까지 -70°C에 보관하였다. 간 조직은 혈액 채취 후 즉시 1.15% KCl 완충용액으로 여러번 헹군 후 여과지로 수분을 제거하고 무게를 측정하여 -70°C에서 냉동 보관하였다가 분석에 사용하였다.

간조직 효소원의 조제를 위해서는 간조직 1 g을 10 mL

**Table 1.** Composition of experimental diet

Ingredient	Group			
	C	CP	HF	HFP
Grape powder	—	5	—	5
Casein	20	20	20	20
Lard	—	—	15	15
Corn oil	5	5	5	5
Corn starch	55	50	40	35
Sucrose	10	10	10	10
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
$\alpha$ -Cellulose	5	5	5	5
Mineral mix <sup>1)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix <sup>2)</sup>	1	1	1	1

1) Mineral mixture according to AIN-93 (Teklad, USA)

2) Vitamin mixture according to AIN-93 (Teklad, USA)

C: Control diet, CP: Control diet + Pomace, HF: High fat diet, HFP: High fat diet + Pomace

1.15% KCl buffer로 마쇄하여 균질화 시킨 후 600 g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상등액을 10,000 g에서 20분간 원심분리한 후 나온 pellet은 2 mL의 1.15% KCl buffer로 균질화하여 미토콘드리아 분획을 일정량씩 나누어 액체질소로 급속 냉동시킨 후 -70°C에서 보관하고, 상등액은 다시 105,000 g에서 1시간 원심분리하였다. 여기서 얻은 pellet은 1.15% KCl buffer로 균질화하여 마이크로솜 분획으로, 상등액은 사이토졸 분획으로 하고 각각 일정량씩 나누어 액체질소로 급속 냉동시켜 -70°C에서 보관하였다.

### 생화학적 분석

#### 지질과산화물 정량

혈청과 간조직에서의 지질과산화물 함량은 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하여 생성되는 thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) 양을 측정하였다. 혈청 지질과산화물 함량은 Yagi의 방법<sup>21)</sup>에 의해 반응시킨 반응 혼합물에서 TBA 반응물질이 존재하는 n-butanol분획층을 취한 다음, fluorescence spectrophotometer (FP-777, Japan)를 사용하여 excitation 515 nm, emission 553 nm에서 측정하였다. 간 조직과 간 마이크로솜 현탁액 중의 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등의 방법<sup>22)</sup>에 의하여 반응 혼합물을 준비한 후 spectrophotometer (U-1700, Hitachi, Japan)를 이용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다. 이때 표준시약으로는 1, 1, 3, 3-tetraethoxy propane (Sigma, USA)을 사용하였다.

#### Glutathione 정량

간조직 내 총 glutathione의 함량은 Akerboom와 Sies<sup>23)</sup>의 glutathione reductase-DTNB recirculation assay 방법을 이용하였다. 즉 일정량의 간 조직을 1M HClO<sub>4</sub> 용액으로 균질화 시킨 다음, 10,000 rpm에서 2분간 원심분리하여 얻은 상등액에 4M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 가하여 pH 7.0으로 조정 후 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 취한 상등액을 시료로 사용하였다. 일정량의 시료에 NADPH, DTNB, glutathione reductase를 가하여 412 nm에서 흡광도 변화를 5분 동안 측정하였다. 이때 산화형 glutathione (Sigma, USA)을 표준시약으로 한 표준검량선에 의하여 glutathione 함량을 계산하였다.

간조직 내 산화형 glutathione (GSSG) 함량은 NADPH와 glutathione reductase에 의해서 산화형 glutathione이 환원형 glutathione (GSH)으로 전환됨에 따라 감소되는 NADPH를 340 nm에서 측정하였다. 환원형 glutathione (GSH)함량은 총 glutathione과 산화형 glutathione의 차

로 구하였다.

#### 효소 활성 측정

간조직의 catalase 활성은 Aebi의 방법<sup>24)</sup>으로 미토콘드리아 부유액에 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액을 첨가하여 240 nm에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 분해에 따른 흡광도의 감소로 측정하였다. Glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성은 Paglia와 Valentine의 방법<sup>25)</sup>에 의하여 2.2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액에 의해 감소되는 NADPH 흡광도를 측정하여 단백질 mg당 1분 동안 산화되는 NADPH nmol로 나타내었다. 간 사이토졸에서는 Marklund 등의 방법<sup>26)</sup>에 의하여 superoxide dismutase (SOD) 활성을 측정하여 pyrogallol에 의한 자동산화율 50% 저지하는 SOD의 양을 1 unit로 정의하여 단백질 1 mg을 기준으로 표시하였다. Glutathione-S- transferase (GST)의 활성은 Habig 등의 방법<sup>27)</sup>에 준하여 chlorodinitrobenzene (CDNB)을 기질로 하여 측정하였다. Glucose-6-phosphatase (G6Pase) 활성은 Baginski 등의 방법<sup>28)</sup>을 이용하여 간 마이크로솜에서 측정하였으며, 효소의 활성은 단백질 mg 당 1분 동안 방출되는 무기인의 함량으로 표기하였다.

#### 단백질 정량

간조직에서의 단백질 함량은 Lowry등의 방법<sup>29)</sup>에 따라 분석하였으며, 표준액으로 bovine serum albumin을 사용하여 만든 표준검량선을 이용하여 계산하였다.

#### 통계처리

본 실험결과는 SPSS 통계프로그램 (Version 12.0)을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 실험군 간의 유의성 검정은 p<0.05수준에서 ANOVA와 Duncan's multiple range test를 이용하여 분석하였다.

## 결 과

### 흰쥐의 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율

실험기간 동안의 식이 섭취량과 체중 증가량, 식이효율은 Table 2와 같다. 식이 섭취량의 변화는 정상대조군과 고지방대조군에 비하여 포도박을 첨가한 군이 상대적으로 적은 양의 식이를 섭취하였다. 실험기간 동안 실험동물의 체중 변화는 모든 실험군 간에서 유의적인 차이는 없었다. 식이효율은 고지방대조군과 고지방식이에 포도박을 첨가한 군이 정상대조군과 정상식이에 포도박을 첨가한 군보다 유의적으로 높게 나타났다.

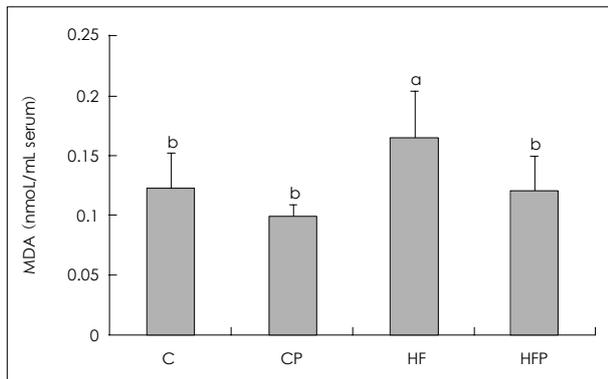
### 혈청과 간조직 중 지질과산화물 함량

혈청, 간조직과 간 마이크로솜에서 지질과산화물 분해산

**Table 2.** Effect of grape pomace diet on food intake, weight gain and feed efficiency ratio in rats fed normal or high fat diet

Group <sup>1)</sup>	Feed intake (g/day)	Weight gain (g/day)	FER
C	21.7 ± 1.42 <sup>2) a</sup>	7.97 ± 0.76 <sup>NS</sup>	0.37 ± 0.03 <sup>b</sup>
CP	19.2 ± 1.49 <sup>b</sup>	8.60 ± 0.72	0.36 ± 0.03 <sup>b</sup>
HF	22.1 ± 1.54 <sup>a</sup>	7.97 ± 0.51	0.45 ± 0.03 <sup>a</sup>
HFP	18.6 ± 1.73 <sup>b</sup>	7.96 ± 0.96	0.43 ± 0.04 <sup>a</sup>

1) Groups are the same as the Table 1  
 2) mean ± SD. Values with the same superscript letter within the column are not significantly different (p < 0.05)  
 FER: Feed Efficiency Ratio, NS: not significant



**Fig. 1.** Effect of grape pomace diet on serum concentration of lipid peroxide in rats fed normal or high fat diet. Means ± S.D. Values with the same superscript letter are not significantly different (p < 0.05).

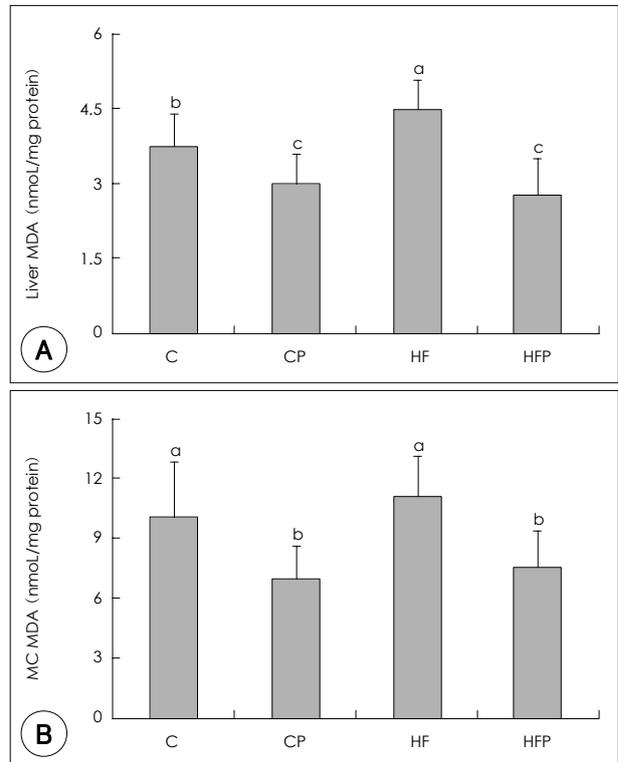
물인 TBARS 함량은 Fig. 1-2에 나타내었다. 혈청의 지질 과산화물 함량 (Fig. 1)은 고지방식이에 포도박을 첨가한 군이 고지방대조군에 비하여 유의적으로 감소하였으나, 정상대조군과 정상식에 포도박을 첨가한 군은 유의적인 차이가 없었다. 간조직 중의 지질과산화물 함량은 고지방대조군이 정상대조군보다 유의적으로 증가하였고, 포도박첨가군이 대조군에 비하여 유의적인 감소를 나타내었다 (Fig. 2). 간 마이크로솜에서의 지질과산화물 함량은 포도박을 첨가한 군이 대조군보다 유의적으로 감소하였다 (Fig. 2).

### Glutathione 함량

간조직 내의 총 glutathione 함량과 GSH/GSSG 비는 포도박첨가군이 대조군에 비하여 모두 유의적으로 증가하였다. 고지방식을 급여한 군에서도 포도박 첨가로 인해 총 glutathione 함량과 GSH/GSSG가 증가되었다 (Fig. 3).

### 간조직의 효소 활성

간조직에서 지질 산화와 관련되어 변화될 수 있는 효소 활성은 Table 3에 나타내었다. 본 실험에서 SOD 활성은 정상식에 포도박을 첨가한 군과 정상대조군에서는 유의적인 차이가 없었지만 고지방식에 포도박을 첨가한 군이



**Fig. 2.** Effect of grape pomace diet on hepatic homogenate (A) and microsomal (B) concentration of lipid peroxide in rats fed normal or high fat diet. Means ± S.D. Values with the same superscript letter are not significantly different (p < 0.05).

고지방대조군보다 유의적으로 증가되었다. 간조직에서 catalase 활성은 포도박을 첨가한 군이 대조군에 비하여 활성이 유의적으로 증가하였다.

간 마이크로솜에서 G6Pase 활성도는 포도박을 첨가한 군이 대조군에 비하여 활성이 증가하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 없었다. 본 실험에서 GST 활성은 정상식이군에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았고, 고지방식에 포도박을 첨가한 군은 고지방대조군보다 유의적으로 증가하였다. GSH-Px 활성은 정상식이군에서는 유의적인 차이가 없었지만 고지방식에 포도박을 첨가한 군이 고지방대조군에 비하여 활성이 유의적으로 증가하였다.

## 고 찰

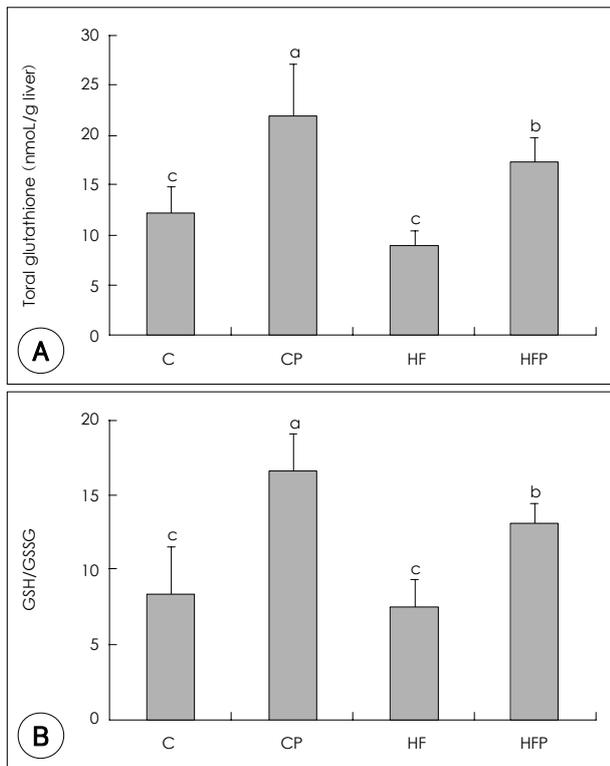
최근 체내 지질 수준 개선과 항산화 효과를 가진 천연식품을 이용하여 만성질환을 예방하고 노화를 지연시키고자 하는 수요가 많아지면서 식물자원에서의 생리활성 성분 관련 연구가 증가되고 있다.<sup>30)</sup> 포도는 소비량이 많은 대표적인 과일로서 씨와 과피에 생리활성을 나타내는 폴리페놀 성분이 풍부하여 건강기능성 가공품 개발이 활성화되고 있

다.<sup>19)</sup> 또한 포도주 제조와 같은 포도 가공의 부산물로 생기는 포도박은 사료로 이용할 경우 소화성이 낮은 문제가 있지만,<sup>10)</sup> 폴리페놀과 식이섬유 등의 기능성분을 다량 함유하고 있어서 포도박의 이용성에 관한 관심이 커지고 있다. 따라서 본 연구에서는 포도 가공 중에 부산물로 생기는 포도박이 고지방식이를 섭취한 흰쥐의 지질 산화에 미치는 영향을 분석하여 포도박의 자원화에 관한 가능성을 탐색하고자 하였다.

본 실험에서 혈청의 지질과산화물 함량은 정상대조군과 정상식이에 포도박을 첨가한 군에서는 유의적인 차이가 없었으나, 고지방식이에 포도박을 첨가한 군의 지질과산화물 함량은 고지방대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 간 조직과 간 마이크로솜에서의 지질과산화물 함량도 포도박

을 첨가한 군에서 대조군보다 유의적으로 감소하여 포도박 첨가가 지질 산화를 억제하는 것으로 나타났다. 이는 생쥐에게 10주 동안 포도분말을 30 mg/day로 섭취시켰을 때 대조군에 비해 혈청 LDL의 지질과산화에 의한 손상을 저하시켰다는 연구 결과와도 관련이 있다.<sup>31)</sup> Um 등<sup>30)</sup>은 노화 과정 중의 흰쥐에게 포도박을 섭취시켰을 때 LDL fraction 내의 지질과산화물 함량이 현저하게 감소되었다고 보고하였다. 이는 포도박에 함유된 플라보노이드와 항산화비타민 등이 free radical을 효과적으로 제거하여 항산화 활성을 증가시킴으로써 LDL 내의 지질과산화물의 축적을 억제하는 것으로 설명하였다.

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 실험에서는 간조직 내의 총 glutathione 함량과 GSH/GSSG 비는 포도박첨가군이 대조군에 비하여 모두 유의적으로 증가하였다. 본 연구에서 대조군 식이에서는 포도박 첨가가 차이를 나타내지 않았지만 고지방식이를 섭취한 실험군에서는 포도박 섭취로 GSH-Px 활성이 유도되었으며, 이는 glutathione 함량이 증가된 것과도 관련이 있을 것으로 여겨진다. Skottova 등<sup>32)</sup>의 연구에서는 10% 고지방식이에 5% polyphenolics를 포함한 식이를 3주 동안 쥐에게 급여한 결과, 혈중 glutathione 함량은 유의적으로 증가하였지만 간조직 중 glutathione의 함량은 대조군에 비하여 유의적인 차이는 없었다고 보고하였다. Alia 등<sup>33)</sup>의 보고에 의하면 10% 포도과피와 씨를 쥐에게 3주간 급여하였을 때 간조직 중 glutathione 함량은 유의적인 차이는 없었지만 acetaminophen으로 간독성을 유도한 그룹에서 포도씨의 급여가 대조군에 비하여 간조직 glutathione의 함량이 유의적으로 증가하였다. 이는 정상상태에서 보다 간 독성이 유발된 상태에서 포도씨의 급여가 간조직 glutathione 합성을 유도한 것으로 사료된다. 또한 포도 과피에 있는 quercetin은 혈소판 응집을 저해하고 LDL 산화 감수성을 저하시켜 관상동맥질환을 예방하는 효과를 가진 것으로 보고되었다.<sup>34)</sup> 포도는 가



**Fig. 3.** Effect of grape pomace diet on hepatic level of total glutathione (A) and liver GSH/GSSG ratio (B) in rats fed normal or high fat diet. Means  $\pm$  S.D. Values with the same superscript letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** Effect of grape pomace diet on SOD, catalase, G6Pase, GST and GSH-Px activities in liver fraction of rats fed normal or high fat diet (unit/min/mg protein)

Group	SOD	Catalase	G6Pase	GST	GSH-Px
C	0.139 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	224.22 $\pm$ 34.76 <sup>bc</sup>	1.44 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>	11.84 $\pm$ 5.66 <sup>b</sup>	20.16 $\pm$ 2.40 <sup>b</sup>
CP	0.141 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	279.06 $\pm$ 40.41 <sup>a</sup>	1.74 $\pm$ 0.56 <sup>ob</sup>	14.91 $\pm$ 3.87 <sup>ab</sup>	20.52 $\pm$ 2.63 <sup>b</sup>
HF	0.143 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	199.61 $\pm$ 10.27 <sup>c</sup>	1.91 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>	10.27 $\pm$ 3.46 <sup>b</sup>	19.36 $\pm$ 3.48 <sup>b</sup>
HFP	0.165 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	250.10 $\pm$ 42.88 <sup>ob</sup>	2.09 $\pm$ 0.75 <sup>a</sup>	16.52 $\pm$ 4.10 <sup>a</sup>	26.78 $\pm$ 5.3 <sup>a</sup>

Means  $\pm$  S.D. Values with the same superscript letter within the column are not significantly different ( $p < 0.05$ )

공과정에서 추출율이 비교적 낮으므로 포도박은 많은 양의 페놀을 함유하고 있으며 주된 페놀 성분으로는 안토시아닌, 카테킨, 프라보놀 글리코사이드, 페놀산, 스틸벤 등을 들 수 있다.<sup>35)</sup> 본 실험결과를 볼 때 포도박 중에 함유된 이러한 폴리페놀 성분들의 항산화능력이 간조직의 glutathione 함량의 증가에 영향을 미친 것으로 사료된다.

항산화효소들의 체내에서의 방어기전은 먼저 소량의 Mn, Cu, Zn, Se와 결합하여 O<sub>2</sub>로부터 일차적인 radical의 형성과 증식을 억제한다. 항산화계 효소인 SOD와 catalase는 세포내 과잉으로 생성되는 free radical을 제거하는데 기여한다. SOD는 NADPH oxidase에 의해 생성된 산소 음이온을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시키며, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 주로 catalase 활성에 의해 H<sub>2</sub>O로 분해된다. 또한 SOD는 superoxide radical을 과산화수소로 전환시키는 과정을 촉매화하고, GSH-Px는 지질과산화물을 분해시키는 작용을 한다. 따라서 이들 효소는 지질과산화의 개시단계에서 지질 산화를 저해하는 효과를 가지는 것으로 보고되었다.<sup>36)</sup> GST는 발암물질과 독성물질의 대사산물 등에 환원형 glutathione을 포함시켜 glutathione thioester를 형성하는 반응을 촉매한다.<sup>37)</sup> 이러한 효소들은 체내 산화·환원계에 영향을 미치는 주된 효소들이므로 본 실험에서 포도박의 항산화능을 평가하기 위해 측정하였다. 간조직의 SOD 활성은 정상식이군에서는 차이가 없었으나 고지방식이에 포도박을 첨가한 군이 고지방대조군에 비하여 활성이 유도되었다. 간조직의 catalase 활성은 대조군에 비하여 포도박 첨가군이 유의적으로 증가하였다. G6Pase 활성은 포도박의 첨가로 인하여 대조군보다 활성이 증가하였지만 실험군 간 유의적인 차이는 없었다. GST와 GSH-Px 활성은 정상식이군에서는 변화되지 않았으나 고지방식이에 포도박을 첨가한 군이 고지방대조군 보다 효소 활성이 유의적으로 증가되었다. 이러한 항산화효소 활성의 변화는 특히 고지방식이군에서 지질과산화물 함량이 유의적으로 감소된 결과를 가져온 것과 관련이 있는 것으로 여겨진다.

Llobera와 Canellas<sup>38)</sup>는 포도박과 포도줄기에 함유한 식이섬유와 폴리페놀 화합물은 활성산소종을 제거하여 항산화활성을 나타낸다고 보고하였으며, 포도박 중에 함유된 레스베라트롤은 glutathione의 산화 환원 반응계에 영향을 미침으로써 GSH-Px의 활성을 증가시킨다고 보고되었다.<sup>39)</sup> Bobek<sup>36)</sup>의 연구에 의하면 0.3% 콜레스테롤식이에 포도박을 5% 첨가하여 흰쥐에게 급여하였을 때 SOD, catalase의 활성은 실험군 간에 유의적인 차이는 없었지만 GSH-Px 활성이 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였다. Alia 등<sup>33)</sup>은 10% 포도과피와 씨를 쥐에게 3주간 급여하였을 때 SOD

활성은 대조군에 비하여 유의적으로 증가되었다고 하였다. 또한 GSH-Px의 활성은 포도씨를 첨가한 군이 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였으며, catalase 활성은 포도과피를 첨가한 군에서 대조군에 비하여 증가하였다고 보고하였다. 포도박에서 폴리페놀 성분이 주로 포도과피와 포도씨에 함유된 것을 감안할 때 이러한 결과는 본 실험의 결과와 유사한 경향인 것으로 사료된다.

고지방식이에 포도박을 첨가한 군이 고지방대조군에 비하여 SOD, catalase, G6Pase, GST, GSH-Px의 활성이 유의적으로 증가한 것으로 보아 고지방식으로 인하여 증가된 과산화물과 free radical들을 포도박 중의 플라보노이드, 레스베라트롤 등 피토케미칼 성분들이 효과적으로 제거하였기 때문이라고 생각된다. 이러한 작용은 동맥경화성 병변을 유발할 수 있는 상태에서 항산화방어계가 영향을 미쳐 손상을 지연시키는데 잠재적인 효과를 나타낼 수 있는 것을 시사하는 것이다.

## 요 약

본 연구에서는 포도박이 고지방식을 섭취한 흰쥐의 효소 활성과 지질과산화 수준에 미치는 영향을 조사함으로써 포도박의 생리활성과 자원화에 필요한 기초자료를 얻고자 하였다. 고지방식을 섭취한 흰쥐에게 포도박 실험식을 급여한 후 혈청, 간조직 중의 지질과산화물 함량, glutathione 함량과 간조직 효소 활성을 측정하였다.

포도박 첨가군의 식이섭취량은 대조군에 비하여 감소하였고, 체중증가량의 실험군 간 유의적인 차이는 없었다. 식이효율은 고지방식이군이 정상식이군 보다 유의적으로 증가하였다. 지질과산화물 함량은 혈청의 경우 정상식이군에서는 포도박 첨가에 의한 변화가 없었으나 고지방식이군에서 함량이 증가되었고 포도박 첨가에 의해 감소되었다. 간조직과 간 micrososome에서는 포도박을 첨가한 군이 각각의 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 간조직 내의 총 glutathione 함량과 GSH/GSSG 비는 포도박 첨가군이 대조군에 비하여 모두 유의적으로 증가하였다. 간조직의 SOD 활성은 정상식이군에서는 차이가 없었으나 고지방식이에 포도박을 첨가한 군이 고지방대조군에 비하여 활성이 유도되었다. 간조직의 catalase 활성은 대조군에 비하여 포도박 첨가군이 유의적으로 증가하였다. G6Pase 활성은 포도박의 첨가로 인하여 대조군보다 활성이 증가하였지만 실험군 간 유의적인 차이는 없었다. GST와 GSH-Px 활성은 정상식이군에서는 변화되지 않았으나 고지방식이에 포도박을 첨가한 군이 고지방대조군 보다 효소 활성이 유의적으로 증

가되었다.

이상의 결과를 종합해 보면 식이섬유와 폴리페놀 성분을 다량 함유한 포도박 식이는 체내 항산화계를 활성화함으로써 지질 산화와 관련성이 높은 심혈관계 질환의 예방효과를 가져올 수 있는 것으로 기대되었다. 포도박의 이러한 생리활성에 대한 연구결과는 향후 포도 가공 중에 얻어지는 포도박 폐기물을 자원화 할 수 있는 기초자료로 이용될 것으로 사료된다.

#### Literature cited

- 1) 2006 Annual report on the cause of death statistics. Korea National statistical Office; 2007
- 2) Agricultural Products Consumption Actual Condition. Korea Agro-Fisheries Trade Corp; 2006
- 3) Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *J Clin Lab Anal* 1997; 11(5): 287-313
- 4) Waddington E, Puddey IB, Croft KD. Red wine polyphenolic compounds inhibit atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice independently of effect on lipid peroxidation. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 54-61
- 5) Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339(8808): 1523-1526
- 6) Ana MGP, Sara ER, Celestino SB, Sonia DPT, Julian CRG. Flavanol content and antioxidant activity in winery byproducts. *J Agric Food Chem* 2004; 52(2): 234-238
- 7) Amico V, Napoli EM, Renda A, Ruberto G, Spatafora C, Tringali C. Constituents of grape pomace from the sicilian cultivar Nerello Mascales. *Food Chem* 2004; 88: 599-607
- 8) Careri M, Cioeadini C, Elviri L, Nicoletti I, Zagnon I. Lipid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry of cis-resveratrol and trans-resveratrol: Development, validation, and application of the method to red wine, grape, and wine making byproducts. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 6868-6874
- 9) Baumgartel T, Kluth H, Epperlein K, Rodehutschord M. A note on digestibility and energy value for sheep of different grape pomace. *Small Ruminant Res* 2007; 67: 302-306
- 10) Kammerer D, Claus A, Carle R, Schieber A. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties by HPLC-DAD-MS/MS. *J Agric Food Chem* 2004; 52(14): 4360-4367
- 11) Jeon SH. Factors affecting resveratrol content in 'Campbell Early' Grape [Ph.D. dissertation], Jechon: Chungbuk National University; 2003
- 12) Harper CE, Patel BB, Wang Jun, Arabshahi A, Eltoum IA, Lamartiniere CA. Resveratrol suppresses prostate cancer progression in transgenic mice. *Carcinogenesis* 2007; 28(9): 1946-1953
- 13) Yilmaz Y, Toledo RT. Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends Food Sci Technol* 2004; 15: 422-433
- 14) Olas B, Wachowicz B. Resveratrol, a phenolic antioxidant with effects on blood platelet functions. *Platelets* 2005; 16(5): 251-260
- 15) Marhinez J, Moreno JJ. Effect of resveratrol a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochem Pharmacol* 2000; 59(7): 865-870
- 16) Leonard S, Chang X, Jiang BH, Stinefelt B, Klandorf H, Harris GK, Shi X. Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular response. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 1017-1026
- 17) Vitseva O, Varghese S, Chakrabarti S, Folts JD, Freedman JE. Grape seed and skin extracts inhibit platelet function and release of reactive oxygen intermediates. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46(4): 445-451
- 18) Rho Kyoung-A. Effect of grape intake on antioxidative and anti-thrombogenic capacity of Cd-administered rats during aging [Ph.D. dissertation], Seoul: Ewha Womans University; 2002
- 19) Yoo MA, Chung HK, Kang MH. Optimal extract methods of antioxidant compounds from coat of grape dreg. *Korean J Food Sci Technol* 2004; 36(1): 134-140
- 20) Philip GR, Forrest NH, George CF. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the american institute of nutrition AdHoc Writing committee on the reformulation of the AIN76 A rodent diet. *J Nutr* 1993; 123(11): 1939-1951
- 21) Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med* 1976; 15(2): 212-216
- 22) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2): 351-358
- 23) Akerboom TPM, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Method in Enzymology* 1981; 77: 373-382
- 24) Aebi H. Catalase. *Methods of Enzymatic Analysis* 1974; 2: 673-389
- 25) Paglia DE, Valentine WN. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Lab Clin Med* 1967; 70(1): 158-166
- 26) 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
- 27) Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249(22): 7130-7139
- 28) Baginski ES, Foa PP, Zak B. Glucose-6-phosphatase. In: *Methods of Enzymatic Analysis 2*. New York: Academic Press; 1983. p.876-880
- 29) Lowry OH, Resebrough NJ, Farr AL, Randall TJ. Protein measurement with folin reagent. *J Bio Chem* 1951; 193(1): 265-272
- 30) Um MY, Kim MK. Effect of grape intakes on lipid metabolism of rats during aging. *Korean J Nutr* 2002; 35(7): 713-728
- 31) Fuhrman B, Volkova N, Coleman R, Aviram M. Grape powder polyphenols attenuate atherosclerosis development in apolipoprotein E deficient (E<sup>0</sup>) mice and reduce macrophage atherogenicity. *J Nutr* 2005; 135: 722-728
- 32) Skottova N, Vecera R, Urbanek K, Vana P, Walterova D, Cvak L. Effects of polyphenolic fraction of silymarin on lipoprotein profile in rats fed cholesterol-rich diets. *Pharma Res* 2003; 47(1): 17-36
- 33) Alia M, Horcajo C, Bravo L, Goya L. Effect of grape antioxidant

- dietary fiber on the total antioxidant capacity and the activity of liver antioxidant enzymes in rats. *Nutr Res* 2003; 23: 1251-1267
- 34) Demrow HS, Slane PR, Folts JD. Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* 1995; 91 (4) : 1182-1188
- 35) Schieber A, Stintzing FC, Carle R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments. *Trends Food Sci Technol* 2001; 12: 401-413
- 36) Bobek P. Dietary tomato and grape pomace in rat: effect on lipid in serum and liver, and on antioxidant status. *Brit J Biomed Sci* 1999; 56 (2) : 109-113
- 37) Johan JP, Joenje H. Biological significance of oxygen toxicity: An introduction. In: Vigo-Pelfrey C, editor. Membrane lipid oxidation Volume III. Florida: CRC Press; 1993. p.7-8
- 38) Llobera A, Canellas J. Dietary fibre content and antioxidant activity of manto negro red grape (*Vitis vinifera*) : pomace and stem. *Food Chem* 2007; 101: 659-666
- 39) Reiter RJ, Tan DX, Gatto E, Sainz RM, Mayo JC, Leon J, Manchester LC, Vijaylaxmi, Kilic E, Kilic U. Pharmacological utility of melatonin in reducing oxidative cellular and molecular damage. *Pol J Pharmacol* 2004; 56: 159-170