

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱 보충 식이가 마우스 혈장 항산화 지표 및 DNA 보호에 미치는 영향

양윤형¹ · 조흔¹ · 패넬로프 펠리프¹ · 이정희¹ · 이선영¹ · 조용식² · 전해경² · 송경빈³ · 김미리^{1†}

¹충남대학교 식품영양학과, ²농촌자원개발연구소 농산물가공이용과, ³충남대학교 식품공학과

Effects of Spirulina Added Salad Dressing on the Antioxidant Index and DNA Protection in Mice

Yun-Hyoung Yang¹, Zhao Xin¹, Penelope Felipe¹, Jung-Hee Lee¹, Sun-Yung Ly¹,
Yong-Sik Cho², Hye-Kyung Chun², Kyung-Bin Song³ and Mee-Ree Kim^{1†}

¹Dept. of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

²Agriproduct Science Division, Rural Resources Development Institute, Suwon 441-853, Korea

³Dept. of Food Sci. & Technol., Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

The effects of spirulina-added salad dressing on lipid profiles and antioxidant biomarkers such as total glutathione, TBARS value, carbonyl value, GPx, GR, SOD and paraoxonase activity in plasma or liver of mice were evaluated. Sixteen male ICR mice weighing 20±2 g were divided into two groups and fed low fat (5% fat) diet (low fat control: LFC) and low fat control plus dressing diet (LFD) for eight weeks. Body weight, tissue weights of liver, heart and kidney, and the distribution of body fat deposition were not significantly different between two groups. Also, the profile of TG, TC, LDL and HDL cholesterol were similar between two groups. The DNA damage was determined using the comet assay (single cell gel assay) with alkaline electrophoresis and quantified by measuring tail length (TL). Spirulina salad dressing consumption resulted in significant decrease in lymphocyte DNA damage expressed by TL (LFC: 28.8 μm, LFD: 20.3 μm). Additionally, salad dressing consumption for 8 wks decreased the lipid peroxidation assayed by TBARS to 12.6 %, compared with the control. The levels of antioxidant vitamins such as β-carotene were significantly higher in plasma of LFD group than those in LFC group based on HPLC method. This study shows that spirulina-added salad dressing exerts degenerative disease-protective effects on oxidative DNA damage and lipid peroxidation possibly via a free radical levels.

Key words : Spirulina salad dressing, mice, lipid peroxidation, antioxidant, comet assay.

서 론

오늘날 국민의 소득이 증가되고 생활이 서구화되어가면서 동물성 지방의 섭취 증가로 성인병의 유발이 증가되고 있다(보건복지부 1997). 샐러드 드레싱은 마요네즈에 비하여 지방 함량이 적어 서구에서는 지방 섭취에 민감한 소비자들의 욕구에 부응하여 저열량 마요네즈나 다양한 샐러드 드레싱이 개발되어 시판되고 있다(Chiralt *et al* 1992).

스피루리나는 지구상에서 가장 오래된 조류(algae)의 하나로 오래전부터 식용되어 왔는데, 단백질의 함량이 55~70%로 높을 뿐 아니라 8가지 필수 아미노산을 포함하고 있으며 지방 6~9%, 탄수화물 15~20% 함유되어 있고 다량의 무기질, 비타민, 섬유질 및 색소 성분을 함유하고 있다(Yang *et al*

1997, Kay RA 1991). 색소 성분으로는 동황색의 카로티노이드, 녹색의 클로로필, 청색의 피코시아닌 등이 함유되어 있는데(Ciferri O 1983), 피코시아닌은 동물의 담즙색소와 같이 지방의 소화를 도우며(Kay RA 1991, Ciferri O 1983), 항염증 및 항산화성(Kay RA 1991, Pinero *et al* 2001)을 나타낸다. 또한 토코페롤, 베타카로틴 등 항산화제를 다량 함유하고 있다(Miranda *et al* 1998). 스피루리나에 대한 동물 실험과 임상 실험 결과에 의하면 콜레스테롤 저하(Ciferri O 1983, Park YI 2000), 체중 감소(Becker *et al* 1986), 면역 증진(Park YI 2000) 및 항산화능(Kay RA 1991, Pinero *et al* 2001, Kim & Park 2003)등에 대한 보고가 많으며 현재 건강기능 식품으로 허가되어 많이 이용되고 있다.

활성 산소는 생체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학 반응 등의 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인에 의하여 발생된다. 특히 생체막을 구성하고 있는 불포화

† Corresponding author : Mee-Ree Kim, Tel : +82-42-821-6837, Fax : +82-42-821-8887, E-mail : mrkim@cnu.ac.kr

지방산의 과산화 반응은 생체내에서 비특이적으로 일어나는 radical 연쇄반응으로, 이때 생성되는 과산화 지질 역시 Fe^{2+} 존재 시 reactive radicals로 바뀌어, 처음 생성된 oxygen radicals과 마찬가지로 가교 결합(cross-linking)을 통해 단백질 구조를 변형시키거나 DNA 가닥을 끊음으로써 돌연변이와 퇴행성 장애를 일으켜 생리적 변화를 초래한다고 알려져 있다 (Tan *et al* 1993, Racker *et al* 1967). 또한, 이들 활성 산소에 의한 지질 과산화 반응 결과 생성되는 지질 과산화물을 비롯하여 여러 가지 체내 과산화물도 세포에 대한 산화적 파괴로 인한 각종 기능 장애를 일으킴으로써 노화, 심장 질환 등 여러 가지 질병의 원인이 된다(Proctor PH 1996, Harman D 1992, Johnson *et al* 1986, Halliwell B 1987, Kedziora & Bartosz 1988, Marnett LJ 1987, McCord JM 1987).

전보(Cho *et al* 2005)에서는 건강 기능성 식품인 스피루리나를 첨가하여 *in vitro*에서 항산화성이 있는 샐러드 드레싱류를 제조하고 그 품질 특성을 분석하였다. 본보에서는 스피루리나 첨가 샐러드 드레싱을 동물에 투여하여 항산화성이 있는지 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

된장(해찬들), 간장(샘표), 설탕(청정원), 볶은참깨, 양파와 마요네즈 제조에 필요한 식초(청정원), 옥수수 식용유(청정원), 겨자(청정원), 후추(오뚜기), 달걀을 시중 슈퍼마켓에서 구입하여 사용하였고 스피루리나는 지구 DIC사 제품을 사용하였다. 이 중 달걀은 시중 슈퍼마켓에서 구입하여 냉장보관(5°C)하였다가 난황을 분리하여 사용하였다.

2. 샐러드 드레싱의 제조

본 실험에서 제조한 스피루리나 샐러드 드레싱의 배합비는 Table 1과 같다. 난황, 겨자, 소금, 후추를 믹싱볼에 넣고 전기비터(HM-213: Main Power Electrical Factory Co., Ltd)로 10초간 교반시켰다. 여기에 식초를 넣고 다시 10초간 교반시킨 후 식용유를 서서히 주입하는 동시에 계속 교반시키

Table 1. Ingredients of spirulina-added salad dressing

Ingredients	Ratio (%)
Corn oil	27.55
Egg yolk	0.01
Mustard	0.001
Onion	5.51
Water	5.51
Soybean paste	11.02
Sucrose	16.53
Soybean sauce	1.65
Vinegar	22.04
Sesame	8.26
Pepper	0.55
Salt	1.10
Spirulina	0.28
Total	100

면서 10분간 유화시켰다. 유화가 끝난 후에 다시 3분간 더 교반해 준 다음 드레싱 재료로 사용하였다. 된장, 간장, 양파, 참깨, 물, 설탕은 Osterizer blender(SQ-205, (주)일진가전)에서 교반하면서 혼합한 후에 제조한 마요네즈에 소량씩 첨가하면서 전기비터로 교반하면서 혼합하였다. 또한 스피루리나는 전보(Cho *et al* 2005)의 실험 결과에서 최적 농도인 0.28%를 첨가하였다. 샐러드 드레싱은 동결 건조 후 냉동 보관(-70°C)하면서 사료 제조에 사용하였다. 제조한 드레싱의 영양 성분 분석 결과는 Table 2와 같다.

3. 실험 동물

실험에 이용된 동물은 체중 18~22 g 정도의 생후 4 주령된 ICR mice(수컷) 16마리를 구입하여 실험 시작 전 고휘 배

Table 2. Nutrient composition of spirulina-added salad dressing

(100 g)

Energy (kal)	Water (%)	Protein (g)	Fat (g)	Carbohydrate		Ash (g)			
				Sugar(g)	Fiber(g)				
376	35.3	5.3	32.8	19.0	5.0	2.6			
Minerals						Vitamins			
Ca(mg)	P(mg)	Fe(mg)	Na(mg)	K(mg)	Zn(mg)	Mg(mg)	Niacin(mg)	β -Carotene(μ g)	Riboflavin(mg)
123	69	0.5	865	130	0.1	18	0.4	1.139	0.13

합사료(삼양 사료 주식회사)로 1주일간 적응시켰다. 적응기간이 끝난 실험동물은 체중에 따른 난괴법(randomized complete block design)으로 각 군당 8마리씩 2군으로 나누어 8주 동안 사육하였다. 사육실의 온도는 23±2℃, 습도 50~60%로 조절하였고, 매일 광주기 및 암주기를 각각 12시간이 되도록 조절하였다. 실험 동물은 두 마리씩 stainless steel cage에서 사육하였고, 실험 식이와 먹는 물은 24시간 동안 자유 급식으로 공급하였으며, 무기질의 오염 방지를 위해서 사육실에 필요한 모든 기구는 0.4%의 EDTA로 씻은 후 탈이온 증류수로 행구어 사용하였다.

4. 식이 조성

실험식이 Table 3에서 보는 바와 같이 대조군은 총 식이 무게의 5%(열량의 11.7%)를 옥수수유(동방유랑)와 라드(동광농산)로 공급하였고, 드레싱군은 총 식이 무게의 15%를 첨가하였으며 드레싱에 첨가된 설탕의 함량을 대조군에서 제

Table 3. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Control diet	Salad dressing diet
Corn starch	150	150
Sucrose	500	345
Casein	200	200
Lard	30	30
Corn oil	20	20
Vit. mixture ¹⁾	10	10
Mineral. mixture ²⁾	35	35
DL-methionine	3	3
Cellulose	50	50
Choline bitartrate	2	2
Spirulina salad dressing	0	149
Energy(kcal)	3,862	3,862
Fat energy(%)	11.7	24.9

¹⁾ AIN 76 Vitamin mixture(mg/kg) : thiamine-HCl 600, riboflavin 600, pyridoxine-HCl 700, nicotinic acid 3,000, D-calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, D-biothine 20, Vit B₁₂ 2.5, Vit A 400,000 IU, Vit D₃ 100, 000 IU, Vit E 7,500 IU, Vit K 75, finely powdered to make 1,000 g.

²⁾ AIN 76 mineral mixture(g/kg) : calcium lactate 620.0, sodium chloride 74.0, potassium phosphate dibasic 220.0, potassium sulfate 52.0, magnesium oxide 23.0, manganous carbonate 3.3, ferric citrate 6.0, zinc carbonate 1.0, cupric carbonate 0.2, potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 0.5, finely powdered to make 1,000 g.

한 후 대조군과 드레싱군의 총열량은 동일하게 맞추어 조절하였다. 식이 성분으로는 choline bitartrate(ICN Biomedicals Inc Germany), casein(Dae Jung Chemias & Metals Co, Ltd, Korea), cellulose(Aldrich Chemical Co Inc USA), DL-methionine(Reserach Chemicals Ltd, Korea)을 사용하였다. 각 군의 식이는 매주 한 번씩 만들어 사용하였고 지방의 산패를 방지하기 위해 -70℃ 냉동고에 보관하면서 정해진 시간에 매일 일정량을 급여하였다.

5. 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이 효율 및 분변의 양

실험 동물의 식이 섭취량은 매일 오후 2시경에 측정하였으며, 체중 측정은 갑작스런 체중 증가를 막기 위해 1시간 전에 식이 공급을 중단한 후 매주 일정한 시간에 한 번씩 측정하였다. 식이 효율(food efficiency ratio, FER)은 총 체중 증가량을 같은 기간 동안의 총 식이 섭취량으로 나눈 값으로 산출하였다. 분변의 양은 식이 마지막 주, 즉 8주에 3일간 채취하여 동결 건조 후 무게를 측정하였다.

$$\text{식이효율} = \text{총 체중 증가량 (g)} / \text{총 식이 섭취량 (g)}$$

6. 시료채취 및 분석

실험 종료 후 12시간 동안 절식시킨 실험동물을 에틸에테르로 마취시켰다. 마취 상태에서 개복한 즉시 심장에서 혈액을 채취하였으며 채취한 혈액을 실온에서 20분간 방치한 후 3,000 rpm에서 15분 동안 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 -70℃에서 냉동 보관한 후 분석에 사용하였다. 각 장기는 채혈 직후 즉시 적출하여 0.9% 생리 식염수로 행구어 여과지(Whatman No. 2)로 물기를 제거한 후 중량을 측정하였다.

7. 혈청 중의 생화학적 성분 분석

총 지질(total lipid), 총 콜레스테롤(total cholesterol), HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 농도는 효소 Kit(영동제약) 시약법에 의해 분광광도계(Model 80-2088-64, Pharmacia Biotech Co, Cambridge, England)를 이용하여 505 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동맥경화지수(AI: Atherogenic Index)는 Hagulund *et al*(1991)에 의한 공식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{AI (Atherogenic Index)} = \frac{(\text{Total cholesterol} - \text{HDL cholesterol})}{\text{HDL cholesterol}}$$

Glutamate pyruvate transaminase(GPT) 및 Glutamate oxaloacetate transaminase(GOT)의 활성도 측정은 Reitman-Frankel 법(Reitman & Frankel 1957)에 따라 AM 101-K Kit(Asan Pharm. Co., Ltd., Korea)에 의한 효소법을 사용하였다.

8. 항산화 지표 분석

1) 지질 과산화물(TBARS) 측정

간과 심장 조직의 지질 과산화물은 thiobarbituric acid(TBA) 방법(Bidlack & Tappel 1973)을 이용하여 생성된 malondialdehyde(MDA) 양을 533 nm에서 흡광도를 측정하였으며, tetramethoxypropane (malonaldehyde bis, TMP)을 표준물질로 사용하였다.

2) 조직내 단백질의 산화도 측정

20% TCA를 600 μ L 넣고 14,000 rpm 초고속원심분리기에 서 10분간 원심분리하고 상등액은 버렸다. 10 mM DNPH 시약을 1 mL씩 가해서 충분히 vortex시킨 후 천천히 다 넣어 50분간 38°C에서 배양시켰다. 매 15분마다 vortex를 시켜 주었고 20%의 TCA를 1 mL씩 넣어 8,000 rpm에서 15분간 원심분리시킨 후 상정액을 버렸다. EtOH/ethyl acetate(EA)를 1 : 1 비율로 혼합하여 각각 1 mL씩 넣고 10분 동안 잘 저은 후 8,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상정액은 버리고, 상정액이 맑아져서 노란색이 보이지 않을 때까지 5회 정도 반복하여 씻어냈다. 침전물(ppt)에 6 M guanidine 용액을 1 mL씩 넣고 incubator(38°C)에서 30분간 배양한 후 380 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) 총 Glutathione 함량

총 glutathione은 Floreani 등의 방법(Floreani *et al* 1997)을 약간 변형하여 사용하였다. 제조한 시료의 상등액 50 μ L를 취해서 500 μ L의 cuvette cell에 0.1 M의 potassium phosphate/EDTA buffer(pH 7.4) 390 μ L를 넣고 10 mM의 [5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB] 25 μ L, 5 mM NADPH 80 μ L를 취해서 3분간 평형을 유지시킨 후에 2 units의 GR(type III Sigma, from bakers yeast, diluted in 0.1 M phosphate buffer pH 7.4)을 넣은 후 반응을 개시 후 412 nm에서 3분간 지속적으로 흡광도를 측정하였다.

4) 항산화 효소 활성도 측정

(1) 시료 제조

Cytosol 분획은 마우스의 조직을 Bansal *et al*(1983)의 방법에 따라서 130 mM KCl을 함유한 30 mM HEPES buffer (pH 7.4)에 균질화시켜서 얻었으며, -70°C 냉장고에 보관하면서 항산화효소계 효소(SOD, GPx, GR) 측정 실험에 사용하였다.

(2) Superoxide Dismutase(SOD)

SOD activity는 McCord와 Fridovich (1988)의 방법에 따라 정량하였다. 반응은 1 unit xanthine oxidase 4 μ L 정도 넣어

흡광도가 0.021 \pm 0.005이 되도록 농도를 조절한 후 cytosol 시료 20 μ L를 반응시켜서 550 nm에서 3분간 측정을 한다. SOD 1 unit는 cytochrome C를 50% 방해하는 데 필요한 SOD의 양으로 정의하였다.

(3) Glutathione Peroxidase(GP) Assay

GP는 Tappel (Tappel AL 1978)의 방법을 사용하여 정량하였다. 4.0 mM EDTA를 함유한 0.3 M sodium phosphate buffer(pH 7.2) 148 mL에 26.56 mM의 H₂O 148 μ L와 catalase의 작용을 억제하기 위해서 sodium azide 75 μ L를 넣고 cytosol enzyme 50 μ L를 미리 넣어 두고, 294.4 mM glutathione 9 μ L, NADPH 16 μ L, GR(1 unit/mL) 4 μ L, 1 mM cumene hydroperoxide 48 μ L를 넣은 후에 340 nm에서 흡광도를 3분간 측정하였다. GP의 활성도 1 unit는 mg protein당 1분간 산화되는 μ M 수로 정한다.

(4) Glutathione reductase(GR)

뇌 조직의 GR 효소의 활성측정은 Pinto *et al*(1984)의 방법에 따라 구하였다. 시료 50 μ L, 26.978 mM EDTA를 함유한 0.1M Tris-HCl buffer(pH 8.0) 406 μ L, 66.0 mM GSSG 용액 35 μ L를 함유된 용액에 9.18 mM, NADPH 9 μ L, 효소 50 μ L를 첨가한 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5) 단백질 정량

단백질 정량은 bovine serum albumin(BSA)을 표준 단백질로 사용하여 Bradford (Bradford MM 1976)의 측정법에 기초를 둔 Bio-Rad 단백질 정량법에 의한 Bio-Rad protein kit를 사용하여 595 nm에서 측정하여 계산하였다.

9. 혈액의 DNA의 손상정도

1) Alkaline Single-cell Gel Electrophoresis

Mice 혈액 중 DNA 손상 정도를 측정하기 위해 alkaline single-cell gel electrophoresis (comet assay)를 실시하였다. Slide에 0.5% Normal melting agarose(NMA)를 50 μ L와 75 μ L로 2번 코팅한 후 전혈 5 μ L와 0.75% Low melting agarose (LMA) 75 μ L 현탁액을 골고루 분산시킨 후 cover glass로 덮어 4°C의 냉장온도에 저장하였다. Gel이 굳으면 그 위에 0.75% LMA 75 μ L 도포하여 한겹 더 코팅하였다. 미리 차게 준비해 두었던 pH 10 lysis buffer에 DMSO와 TritonX-100을 섞은 시약에 slide를 담그어 한시간동안 암실에 보관하면서 lysis 과정을 거쳤다. Lysis 과정을 끝낸 slide는 electrophoresis buffer에 40분에 저장하였다가 electrophoresis chamber에 배열하고 25 V, 300 mA에서 20분 동안 unwinding 시켰다. 전기영동이 끝난 slide는 pH 7.5 tris buffer에 5분씩 3회 세척하

고 마지막으로 에탄올에 5분 담갔다가 말렸다.

2) Image Analysis

Comet image 분석을 하기 위해 ethidium bromide(20 μL/mL)로 nucleotide를 염색하여 형광현미경에서 관찰하고 카메라를 통해 comet image analyzing system이 설치된 컴퓨터에서 분석하였다. DNA 손상 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리(tail length, TL), tail 내 함유된 DNA% (tail DNA%) 그리고 TL값에 tail DNA를 곱해준 tail moment(TM) 값을 측정하였다(Wim *et al* 2001).

10. 통계 처리

모든 실험 결과는 실험 동물 8 마리의 평균치±표준편차로 표시하였으며, 유의성 검증은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences. SPSS Inc., Chicago IL, USA) software package 프로그램을 이용하여 Student *t*-test에 의하여 각 실험군의 평균치간 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율 및 변의 양

식이를 통한 Spirulina salad dressing의 급여로 인한 mouse의 실험기간 동안의 체중 변화는 Fig. 1과 같으며, 식이 섭취량, 식이 효율 및 변의 양은 Table 4와 같다. 식이 섭취량은 대조군(LFC: Low Fat Control)과 드레싱 투여군(LFD: Low Fat Dressing) 사이에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 체중은 드레싱 섭취 4주 후부터 대조군에 비하여 감소하여 8주후에는 체중이 41.4 g으로 대조군의 42.9 g에 비하여 적었고 체중 증가량 역시 적었으나 유의적인 차이는 없었다. 식이효율은 LFD군이 LFC군에 비해 유의적으로 낮았다($p<0.05$). 변의 양은 LFD군이 LFC군보다 많았지만 유의적인 차이는 인정

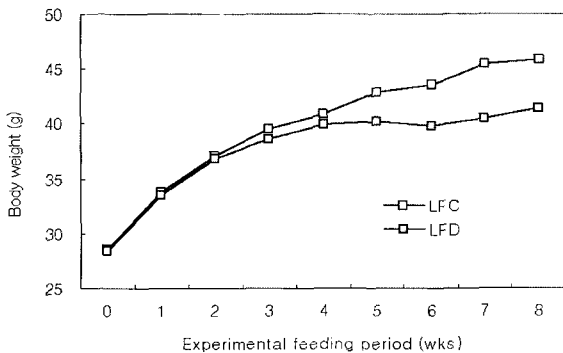


Fig. 1. Changes in mean body weight of mice fed with or without spirulina dressing.

LFC : control, LFD : control added dressing.

Table 4. Food intake, body weight gain, food efficiency ratio(FER) and feces weight of mice fed with experimental diets during 8 weeks

Group	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/8weeks)	Food efficiency (%)	Feces weight (g)
LFC	¹⁾ 5.2±0.5	15.1±2.2	5.7±0.4	0.7±0.1
LFD	5.3±0.6 ^{NS}	11.5±3.2 ^{NS}	3.6±0.5 ^{*2)}	1.0±0.1 ^{NS}

LFC : control, LFD : control added dressing.

¹⁾ Mean±SD(n=8).

²⁾ * Values within the same column are significantly different by student's *t*-test at $p<0.05$.

^{NS} : Not significant.

되지 않았다. Becker *et al*(1986)은 비만 환자에게 스피루리나 2.8 g을 하루에 3회 복용하였을 때 체중이 감소되었다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 샐러드 드레싱에 함유된 스피루리나의 양이 0.28%로 하루에 mice가 먹은 양으로 환산하면 매우 작은 양이었던 데 기인된 것으로 생각된다.

2. 장기 무게

식이를 통한 Spirulina salad dressing의 급여가 mouse의 간, 심장, 신장의 무게에 미치는 영향은 Table 5와 같다. 간과 심장 무게의 경우 대조군(LFC)보다 드레싱 투여군(LFD)이 높은 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 없었다.

3. 부위별 지방 조직의 무게

식이를 통한 Spirulina salad dressing의 급여가 mouse의 복강 뒤, 복강 내, 고환 주위, 허벅지, 비장 주위의 지방 무게에 미치는 영향은 Table 6과 같다. 복강 뒤, 복강 내 지방 무게는 대조군(LFC)과 드레싱 투여군(LFD)간에 차이가 없었고 고환 주위, 허벅지, 비장 주위의 지방 무게가 낮은 경향을 나타내었지만 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 전체적인 지방 무게도 LFD군이 LFC군보다 낮은 경향을 나타내었지만 유의적인 차이는 없었다.

Table 5. Organ weight of mice fed with experimental diets during 8 weeks (g/100 g BW)

Group	Liver	Heart	Kidney
LFC	¹⁾ 3.9±0.7	0.498±0.127	0.015±0.001
LFD	4.1±1.9 ^{NS}	0.602±0.131 ^{NS}	0.016±0.002 ^{NS}

LFC : control, LFD : control added dressing.

¹⁾ Mean±SD(n=8).

^{NS} : Not significant.

Table 6. Fat pad weight of mice fed with experimental diets during 8 weeks (g)

	LFC	LFD
Total fat pad	¹⁾ 9.00±1.69	8.42±2.07 ^{NS}
Retroperitoneal	1.47±0.39	1.45±0.37 ^{NS}
Mesentric	1.72±0.45	1.72±0.37 ^{NS}
Epididymal	3.67±0.70	3.37±0.93 ^{NS}
Inguinal	1.60±0.42	1.46±0.51 ^{NS}
Spleen	0.55±0.12	0.42±0.15 ^{NS}

LFC : control, LFD : control added dressing.

¹⁾ Mean±SD (n=8).

^{NS} : Not significant.

4. 혈장 내 중성 지질, 총 콜레스테롤, 고밀도 지단백질 콜레스테롤, 저밀도 지단백질 콜레스테롤 및 동맥경화지수

식이를 통한 Spirulina salad dressing의 급여로 인한 mouse의 혈장 내 중성 지질, 총 콜레스테롤, 고밀도 지단백질 콜레스테롤, 저밀도 지단백질 콜레스테롤 및 동맥경화지수는 Table 7과 같다. 모든 실험 항목에서 드레싱 투여군(LFD)과 대조군(LFC)간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이 같은 결과는 식이 조성이 드레싱 첨가군은 지방에서 공급되는 열량이 24.9%로 대조군의 11.7%에 비하여 지방의 양이 2배 이상 많았기 때문에 드레싱 투여 mice에서 중성지질, 총콜레스테롤 등의 지표가 높아질 것으로 예상되었으나 대조군과 유의적인 차이가 없었기 때문에 실질적으로는 낮추는 효과라고 생각되었다. 또한, 샐러드 드레싱에 함유된 스피루리나의 양이 0.28%로 매우 적으며, 하루에 mice가 먹은 양으로 환산하면 매우 작은 양이었던 데 기인된 것으로 생각된다. Gonzalez *et al*(1993)은 5% 스피루리나 첨가 식이를 공급한

Table 7. Plasma triglyceride, total cholesterol, HDL- and LDL-cholesterol concentration and atherogenic index(AI) of mice fed with experimental diets during 8 weeks (mg/dL)

	Triglyceride	Total cholesterol	HDL cholesterol	LDL cholesterol	²⁾ AI
LFC	¹⁾ 56±25	178±28	145±27	22±10	0.23
LFD	64±14	180±15 ^{NS}	142±15 ^{NS}	25±10 ^{NS}	0.27 ^{NS}

LFC : control, LFD : control added dressing.

¹⁾ Mean±SD(n=8).

²⁾ AI(Atherogenic Index) = (Total cholesterol - HDL cholesterol) / HDL cholesterol.

^{NS} : Not significant.

쥐에서 총 콜레스테롤은 감소하였고 중성 지질과 HDL 콜레스테롤 농도는 증가하였다고 보고하였다. Salazar *et al*(1998)도 스피루리나가 동물의 총콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤 농도를 증가시킨다고 보고하였다. 이는 스피루리나가 lipoprotein lipase와 간의 triglyceride lipase의 활성을 증가시켜 혈중 지질상태를 양호하기 때문이다(Iwata *et al* 1990).

5. 단백질 함량

식이를 통한 Spirulina salad dressing의 급여로 인한 mouse의 단백질 함량은 Table 8에서 나타난 바와 같이 적혈구와 간에서 단백질 함량에는 유의적인 차이가 없었다.

6. 조직의 파괴도(Carbonyl Value, GOT, GPT)

식이를 통한 Spirulina salad dressing의 급여로 인한 mouse의 조직 파괴 정도를 Carbonyl value, GOT, GPT를 통해 알아본 결과는 Table 9와 같다. 간과 심장에서의 Carbonyl value를 비교할 때 실험군과 정상군 사이에 유의적인 차이는 없었고 GOT와 GPT도 현저한 차이가 없었다.

혈청 중의 GOT, GPT의 활성은 알코올, 사염화탄소, 유기용매와 기타 독성물질에 의한 간 실질세포의 장애 발생시 혈중으로의 방출이 항진되어 나타나는 간 장애의 지표로 이때 GOT의 활성이 GPT에 비하여 높게 나타나는 것으로 알려졌다. 이처럼 GOT, GPT의 활성은 정상상태에서는 효소의 활성이 낮으나 조직이 병적 상태에 빠지거나 혹은 붕괴되어 질

Table 8. Protein of mice fed with experimental diets during 8 weeks (mg/mL)

	RBC	Liver
LFC	¹⁾ 291.6±21.8	18.6±2.1
LFD	277.9±31.3 ^{NS}	19.9±1.6 ^{NS}

LFC : control, LFD : control added dressing.

¹⁾ Mean±SD(n=8).

^{NS} : Not significant

Table 9. Carbonyl value, GOT and GPT in plasma of mice fed with experimental diets during 8 weeks

	Carbonyl value of liver (umole/mL)	Carbonyl value of heart (umole/mL)	GOT (unit/mL)	GPT (unit/mL)
LFC	¹⁾ 0.20±0.13	0.42±0.13	1779±611	908±331
LFD	0.25±0.04 ^{NS}	0.39±0.13 ^{NS}	2146±749 ^{NS}	852±389 ^{NS}

LFC : control, LFD : control added dressing.

¹⁾ Mean±SD(n=8).

^{NS} : Not significant.

병이 발생하면 세포내에 존재하는 효소가 다량으로 혈중에 이동하여 효소 활성도의 농도가 높아지기 때문에 일반적으로 만성 간염, 급성 간염, 지방간, 알코올성 간염, 간암 등 주로 간세포의 변성이나 괴사를 반영할 수 있는 효소이다 (Bergmeyer HU 1974). 본 결과로 볼 때 샐러드 드레싱은 간 조직의 손상을 유발하지 않고 간 장애에 대한 보호 효과가 있을 것으로 생각된다.

7. 항산화능

1) 항산화제의 농도

식이를 통한 Spirulina salad dressing의 급여로 인한 mouse의 혈장 항산화능은 Table 10과 같다. HPLC를 사용하여 측정된 베타카로틴의 경우 대조군(LFC)에서 발견되지 않았고 드레싱 첨가군(LFD)에서는 혈장 1 mL 당 0.011 nmole 농도의 베타카로틴이 존재하였다($p < 0.05$). Annapurna *et al* (1991)은 쥐에서 스피루리나 첨가군이 스피루리나로부터 공급받은 것과 같은 양의 베타카로틴을 공급한 대조군에 비해 혈장 및 간에서 카로틴 및 비타민 A의 농도가 높았다고 보고하였고 노인에게 스피루리나를 복용한 경우 혈장 비타민 A가 증가

하였다(Kim & Park 2003)는 보고와 일치하였다. Buiatti *et al* (1996)은 혈장 카로티노이드 수준은 섭취한 식품에 함유되어 있는 카로티노이드 함량을 반영한다고 하였다. 본 연구에서 스피루리나 샐러드 드레싱을 투여한 mice 혈장중의 베타카로틴 농도가 높은 것은 스피루리나 중의 베타카로틴 (1,139 $\mu\text{g}/100\text{ g}$)에 기인된 것이다(Table 2 참조). 한편, 총 GSH 함량은 간 조직에서는 샐러드 드레싱 투여군이 6.32 mg/mL로 대조군의 5.37 mg/mL에 비하여 높았으나 개체간의 차이가 커서 유의적인 차이는 없었다. 또한 혈장 중의 총 GSH 함량은 샐러드 드레싱 투여군이 대조군에 비하여 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 한편, 간 조직에서 glutathione의 함량이 20% 이상 감소하는 경우 간독성이 유발되는 조건(Mitchell *et al* 1985)으로 알려져 있다. 생체 내에는 산화반응에 의한 손상에 대한 방어 기구로서 carotenoids, vitamin E, ascorbate, glutathione, ubiquinone, uric acid와 같은 항산화물질이 존재하여 자기보호에 관여하고 있다(Halliwell B 1978, Roberts & Francetic 1993, Raymond *et al* 1995, Marcos *et al* 1995, Hoekstra WG 1975, McCord JM 1987, Habig *et al* 1974, Maura *et al* 1997, Prestera *et al* 1993). 이들 중 carotenoids는 $^1\text{O}_2$ scavenger이고, ascorbate 및 glutathione은 O_2^- 등의 free radicals의 scavengers이며 vitamin E는 지질 과산화를 방지해 주는 항산화제이다.

Table 10. Antioxidants in plasma and liver of mice fed with experimental diets during 8 weeks

	β -carotene in plasma (nmole/mL)	GSH (mg/mL)	
		Plasma	Liver
LFC	¹⁾ 0.000±0.000	0.053±0.010	5.37±1.56
LFD	0.011±0.012 ²⁾	0.058±0.027 ^{NS.}	6.32±0.82 ^{NS.}

LFC : control, LFD : control added dressing.

¹⁾ Mean±SD($n=8$).

²⁾ * Values within the same column are significantly different by student's *t*-test at $p < 0.05$.

^{NS.} : Not significant.

2) 항산화 효소 활성도

생체 내에는 산화반응에 의한 손상에 대한 방어기구로서 항산화 효소계가 있다. Spirulina salad dressing의 급여로 인한 mouse의 적혈구와 간 조직에서의 항산화 효소계 즉, glutathione peroxidase(GP), glutathione reductase(GR), superoxide dismutase(SOD)의 활성도를 측정된 결과는 Table 11과 같다. 측정된 결과 드레싱 투여군(LFD)가 대조군(LFC)에 대하여 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 그러나 GR과 SOD는 LFD군이 LFC군보다 높은 경향을 나타내는 것을 볼 수

Table 11. Total glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase and superoxide dismutase antioxidant activity in liver of mice fed with experimental diets during 8 weeks

	GPx (unit/mg prot.) in liver	GR (unit/mg prot.) in liver	SOD (unit/mg prot.)		Paraoxonase (U) in plasma
			liver	RBC	
LFC	¹⁾ 3.51±0.48	0.46±0.04	1.73±0.64	0.033±0.013	40.8±3.8
LFD	3.37±0.37 ^{NS.}	0.51±0.07 ^{NS.}	1.90±0.57 ^{NS.}	0.041±0.010 ^{NS.}	48.8±7.6*

LFC : control, LFD : control added dressing.

¹⁾ Mean±SD($n=8$).

²⁾ * Values within the same column are significantly different by student's *t*-test at $p < 0.05$.

^{NS.} : Not significant.

있었다. 일찌기 SOD(Hoekstra WG 1975, McCord JM 1987), GP(McCord JM 1987, Roberts & Francetic 1993), GR(Maura *et al* 1997) 등은 활성산소종의 형성을 막아주거나 제거해 주는 것으로 알려져 있다. SOD는 O_2^- 을 H_2O_2 로 dismutation 하는 것을 촉매하여 O_2^- 을 제거시키는 효소로, 이 때 생성된 H_2O_2 는 catalase나 GP 에 의하여 H_2O 와 O_2 로 전환된다. GP는 또한 lipid hydroperoxides를 불활성시키는데, 독성이 적은 알코올(OH)로 전환시키는 역할을 한다. 이들 과정에서 glutathione은 GP의 중요한 기질이다. 환원형 glutathione (GSH)은 free sulfhydryl로 된 tripeptide이며 수 mM 농도로 세포 내 존재한다(Slivka & Spina 1987). H_2O_2 나 lipid hydroperoxides를 환원시키는 과정에서 glutathione이 glutathione disulfide(GSSG)로 산화되는데, 이 때 세포 내 대사과정에서 유도된 NADPH의 존재하에 GR은 GSSG를 환원하여 GSH를 재생시킨다. 한편, 몸 속의 에스테르 화합물을 분해하여 phenolic 성 물질을 형성시켜주는 paraoxonase는 LFC군보다 LFD군에서 유의적으로 높게 나타났다($p<0.05$).

3) 지질 과산화 정도

스피루리나 첨가 샐러드 드레싱 투여가 mice 조직내 지질 과산화 정도에 미치는 영향을 알아보기 위하여 지질 과산화 물의 지표인 TBARS를 혈장, 간, 심장, 신장에서 분석하여 Fig. 2에 나타내었다. 간 조직의 경우, 스피루리나 샐러드 드레싱 첨가군은 16.60 $\mu\text{g/mL}$ 로 대조군의 19.02 $\mu\text{g/mL}$ 에 비하여 유의적으로 낮았다($p<0.05$). 이는 대조군에 비하여 지질 과산화가 12.6% 억제된 것이다. 이 같은 결과는 Miranda *et al*(1998)과 Rodriguez-Hernandez *et al*(2001)이 동물 실험에서 스피루리나 투여가 간과 혈청의 TBARS 수준이 감소되었다는 보고와 일치하였다. 그러나 본 실험에서 mice 혈장, 심장,

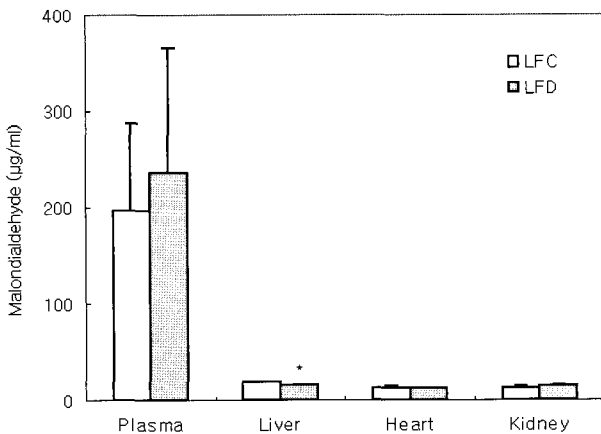


Fig. 2. Lipid peroxidation value of plasma and different organs. LFC : control, LFD : control added dressing.

신장 조직에서의 지질 과산화 정도는 유의적인 차이가 없었다. 혈장에서의 결과는 스피루리나를 복용한 노인의 혈장중의 TBARS 값이 유의적으로 낮아졌다는 보고(Kim & Park 2003)와는 차이가 있었다. 이는 샐러드 드레싱에 첨가된 스피루리나의 양이 0.25%로 미량인데 기인되는 것으로 생각된다. 한편, 지질 과산화 억제는 스피루리나 성분인 phenolicacids, 피코시안, 토코페롤, 베타카로틴 등에 의한 항산화 작용에 기인된 것이다(Miranda *et al* 1998, Kapoor & Mehta 1998). 그 외에도 드레싱에 함유된 참깨 중의 리그난, 비타민 E, 된장 중의 polyphenol 등 다양한 항산화 물질에 의한 것으로 생각된다.

8. DNA 손상 정도

식이를 통한 Spirulina salad dressing의 급여로 인한 mouse 전혈의 DNA 손상 정도를 tail DNA(TD), tail length(TL), olive tail moment(OTM)를 분석하여 Fig. 3에 나타내었다. Tail DNA(%)는 LFC군이 13.87%인데 비하여 LFD군은 9.58%로 유의적으로 낮았으며, tail length도 LFC군이 28.8 μm , LFD

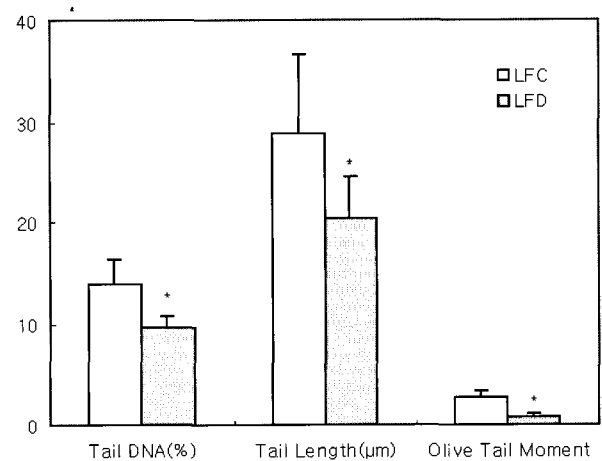


Fig. 3. Tail DNA, tail length and olive tail moment by single cell electrophoresis (Comet Assay). LFC : control, LFD : control added dressing.

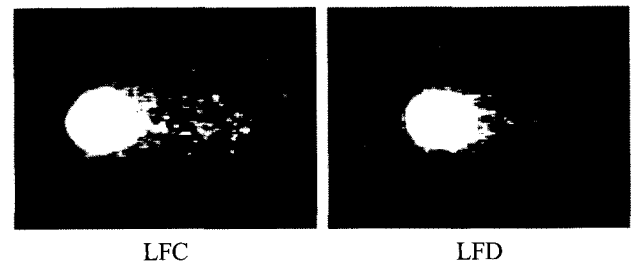


Fig. 4. Comet image of white blood cell of mice fed with or without spirulina dressing. LFC : control, LFD : control added dressing.

군이 20.3 μm 로 작았으며, tail moment 역시 LFC 군이 2.66, LFD 군이 0.78로 유의적으로 적게 나타났는데($p < 0.05$), 이는 DNA의 손상이 적게 일어났기 때문이다. Fig. 4는 comet image를 촬영한 사진인데 tail length의 길이와 세포의 손상 정도를 육안으로 확인할 수 있었다. 따라서 Spirulina salad dressing의 급여가 혈액중의 DNA 보호능이 있음으로 해석되어진다.

요약 및 결론

저지방 식이에 스피루리나 첨가 샐러드 드레싱을 8주간 보충급여한 mice의 식이 섭취량, 체중 증가량, 변의 무게는 정상식을 섭취한 mice와 유의한 차이를 나타내지 않았다. 또한, 각 장기 즉, 간, 심장, 신장 조직의 무게 및 부위별 지방 조직의 무게도 대조군(LFC)과 드레싱 투여군(LFD)간에 유의적인 차이는 없었다. 혈장 중의 지질조성 즉, 총 중성지질, 총 콜레스테롤, LDL, HDL cholesterol 함량 또한, LFC군과 LFD군간에 차이가 없었다. GOT 및 GPT 활성도 역시 유의적인 차이는 없었다. 혈장에서의 β -carotene 함량은 LFD군이 유의적으로 높았으며, 총 GSH 함량 역시 스피루리나 샐러드 드레싱 급여군이 높았으나 유의적인 차이는 없었다. 항산화 효소계(GPx, GR, SOD)의 활성은 유의적인 차이가 없었으나 paraoxonase의 활성은 유의적으로 높았다. 간 조직에서의 TBARS 값은 1.66 mg/mL로 LFC군의 1.90 mg/mL에 비하여 유의적으로 낮아 지질 과산화가 억제되었다($p < 0.05$). 또한 DNA 손상 정도를 comet assay로 분석한 결과, LFD군이 LFC군에 비하여 tail length 및 tail moment가 유의적으로 높아 혈액중의 DNA 손상을 보호하였다. 이상의 결과로부터 스피루리나 첨가 샐러드 드레싱 급여는 마우스 혈액에서의 DNA 손상을 보호해 주고 간 조직에서의 지질 과산화를 억제함으로써 항산화능을 높여줄 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 농림기술관리센터의 농림기술개발사업의 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사를 표합니다.

문헌

보건복지부 자료 (1997) 보건복지부.
 육창수 (1989) 원색 한국약용식물도감. 아카데미서적. p 219.
 허준 (1998) 동의보감. 동의보감 편집위원회. p 1148-1150.
 2000 Annual Report on the Cause of Death Statistics (2001) National Statistics Office. Republic of Korea.

Annapurna VV, Deosthale YG, Bamji MS (1991) Spirulina as a source of vitamin A. *Plant Food Hum Nutr* 41: 125-134.
 Bansal SK, Love J, Gurtoo HL (1983) High pressure liquid chromatographic separation of multiple forms of cytochrome p-450. *Biochem Biophys Res Commun* 117: 268-274.
 Becker EW, Jakober R, Luft D, Schmullig RM (1986) Clinical and biochemical evaluation of the alga Spirulina with regard to its application in the treatment of obesity. a couple-blind cross-over study. *Nutr Rep Int* 33: 565-572.
 Bergmeyer HU (1974) Methods of enzymatic analysis. Verlag Chemie. Academic press Weinheim. 1: 20-28.
 Bidlack WT, Tappel AL (1973) Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipids* 8: 177-182.
 Bradford MM (1976) A rapid and serum sensitivities method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-250.
 Buiatti E, Munoz N, Kato I, Vivas J, Muggli R, Plummer M, Benz M, Franceschi S, Oliver W (1996) Determinants of plasma antioxidant vitamin levels in a population at high risk for stomach cancer. *Int J Cancer* 65: 317-322.
 Chen W-JL, Anderson JW, Fenning D (1984) Propionate may mediate the hypocholesterolemic effect of certain soluble plant fibers in cholesterol-fed rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 175: 215-218.
 Cho H, Yang YH, Cho YS, Chun HK, Song KB, Kim MR (2005) Development and quality characteristics of spirulina added salad dressing. *J East Asian Soc Dietary Life* 15: 292-299.
 Ciferri O (1983) Spirulina the edible microorganism. *Microbiol Rev* 47: 551-578.
 Floreani M, Skaper DS, Facci L, Lipartiti M, Giusti P (1997) Melatonin maintains glutathione homeostasis in kainic acid-exposed rat brain tissues. *FASEB J* 11: 1309-1315.
 Gonzalez de Rivera C, Miranda-Zamora R, Diaz-Zagoya JC, Juarez-Oropeza MA (1993) Preventive effect of spirulina maxima on the fatty liver induced by a fructose-rich diet in the rat, a preliminary report. *Life Sci* 53: 57-61.
 Habig WH, Pabest MJ, Jakoby WB (1974) Glutathione S-transferase. *J Biol Chem* 249: 7130-7139.
 Halliwell B (1978) Biochemical mechanisms accounting for the toxic action of oxygen on living organisms : the key role of superoxide dismutase. *Cell Biol Int Rep* 2: 113-128.
 Halliwell B (1987) Oxidant and human disease: Some new

- concepts. *FASEB J* 1: 358-364.
- Harman D (1992) Free radical theory of aging: Role of free radicals in the origination and evolution of life, aging, and disease processes. *Mutation Research/DNAging* 275: 257-266.
- Hoekstra WG (1975) Biochemical function of selenium and its relation to vitamin E. *Fed Proc* 34: 2083-2089.
- Iwata K, Inayama T, Kato T (1990) Effects of spirulina platensis on plasma lipoprotein lipase activity in fructose-induced hyperlipidemic rats. *J Nutritional Science & Vitamology* 36: 165-171.
- Johnson JE, Walford R, Harmon D, Miquel J (1986) Free radicals, aging and degenerative disease. *Alan R Liss New York* pp 3-49.
- Kapoor R, Mehta U (1998) Supplementary effect of mast spirulina on hematological status of rats during pregnancy and lactation. *Plant Foods for Human Nutrition* 52: 315-324.
- Kay RA (1991) Microalgae as food and supplement. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition* 30: 555-573.
- Kedziora J, Bartosz G (1988) Down's syndrom : a pathology involving the lack of balance of reactive oxygen species. *Free Radical Bio Med* 4: 317-330.
- Kim HY (2002) True digestibility spirulina protein and effects of spirulina on growth and lipid metabolism in rats. *Thesis for Master's degree*. Ewha Womans Univ.
- Kim HY, Park JY (2003) The effect of spirulina on lipid metabolism, antioxidant capacity and immune function in Korean elderlies. *Korean J Nutr* 36: 287-297.
- Kwon MN, Chol JS, Byun DS (1993) Effect of flavonoid (+)-catechin as stabilizer in rat fed fresh and peroxidizes fish oil. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 381-391.
- Marcos M, Maria LF, Araceli D, Jaime M (1995) Depletion of cytosolic GSH decreases the APT levels and viability of synaptosomes from aged mice but not from young mice. *J Mechanisms of Ageing and Development* 84: 77-81.
- Marnett LJ (1987) Peroxyl free radicals: potential mediators of tumor initiation and promotion. *Carcinogenesis* 8: 1365-1373.
- Maura F, Stephen D, Skaper LF, Maria L, Pierto GM (1997) Maintains glutathione homeostasis in kainic acid-exposed rat tissues. *FASEB* 11: 1309-1315.
- McCord JM (1987) Oxygen-derived radicals : a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed Proc* 46: 2402-2406.
- McCord JM, Fridovich I (1988) Superoxide dismutase : The first twenty years (1968 - 1988). *Free Radical Biology and Medicine* 5: 363-369.
- Miranda MS, Cintra R, Barros SBM, Mancini-Filho J (1998) Antioxidant activity of the miroalga *Spirulina maxima*. *Brazilian J Medical and Biological Res* 30: 1075-1079.
- Mitchell DB, Acosta D, Bruckner JV (1985) Role of glutathione depletion in the cytotoxicity of acetaminophen in a primary culture system of rat hepatocytes. *Toxicology* 37: 127-146.
- Oh HM, Min MK (2001) Effects of dried powders, water and ethanol extracts of perimmon and green tea leaves on lipid metabolism and antioxidative capacity on 12-month-old rats. *J Korean Nutr Society* 34: 285-298.
- Park YI (2000) Isolation and purification of antiallergic substance from spirulina. *K J Microbiol Symposium Book* 80-82.
- Pinero Estrada JE, Bermejo Descos P, Villar del Fresno AM (2001) Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Farmaco* 56: 497-500.
- Pinto MC, Mata AM, Lopes-Barea J (1984) Reversible inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* glutathione reductase under reducing conditions. *Arch Biochem Biophys* 228: 1-12.
- Prester T, Holtzclaw DW, Zhang Y, Talalay P (1993) Chemical and molecular regulation of enzymes that detoxify carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 2969.
- Proctor PH (1996) Free radicals, uric acid, and human disease. *Free Radical Biology and Medicine* 20: 761.
- Racker L, Deamer DW, Health RL (1967) Regulation and distribution of structure in membranes. *Adv Gerontol Res* 2: 77-120.
- Raymond C, Rahma BH, Georges D (1995) Dietary polyunsaturated fatty acids and ageing modulate glutathione-related antioxidants in rat liver. *J Nutr* 125: 3062-3070.
- Roberts JC, Francetic DJ (1993) The importance of sample preparation and storage in glutathione determination analysis. *Anal Biochem* 211: 183-187.
- Rodriguez-Hernandez A, Ble-castillo JL, Juarez-Oropeza MA, Diaz-Zagoya JC (2001) *Spirulina maxima* prevents fatty liver formation in CD-1 male and female mice with experimental diabetes. *Life Sci* 20: 69: 1029-1037.
- Salazar M, Martinez E, Madrigal E, Ruiz LE, Chamorro GA

- (1998) Subchronic toxicity study in mice fed *Spirulina maxima*. *J Ethnopharmacology* 62: 235-241.
- Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ (1993) Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine J* 1: 57-60.
- Tappel AL (1978) Glutathione peroxidase hydroperoxides. In: *Methods in enzymology*(Fleischer, S. and Packer, L. eds.). *Academic Press New York* 52: 506-523.
- Wim M, Michel WM-K, Guide RY-D-M, Arnold G-H, Mark M-K (2001) Oxidative DNA damage and repair in experimental atherosclerosis are reversed by dietary lipid lowering. *Circ Res* 88: 733-739.
- Yang HN, Lee EH, Kim HM (1997) *Spirulina platensis* inhibits anaphylactic reaction. *Lif Sci* 61: 1237-1244.
(2005년 6월 2일 접수, 2005년 8월 20일 채택)