

고지혈증 흰쥐에서 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말의 혈청 지질 대사 영향과 항산화효과

임애경¹ · 정희경¹ · 홍주현¹ · 오정석² · 곽정훈² · 김용해² · 김대익^{1*}

¹(재)대구테크노파크 바이오산업지원센터
²신화제약연구소(주)

Effects of the Soybean Powder with Rich Aglycone Isoflavone on Lipid Metabolism and Antioxidative Activities in Hyperlipidemic Rats

Ae Kyoung Lim¹, Hee Kyoung Jung¹, Joo Heon Hong¹, Jung-Suk Oh²,
Jung Hoon Kwak², Yong Hae Kim², and Dae Ik Kim^{1*}

¹Daegu Technopark Bio Industry Center, Daegu 704-801, Korea
²Shinhwa Pharam Research Inst., Gyeongju 780-921, Korea

Abstract

This study was performed to evaluate the effects of soybean powder with rich aglycone isoflavone through bio-transformation on lipid metabolism and antioxidative activities in diet induced hyperlipidemic rats. The rats were randomly divided into four groups: NO (basal diet normal group), CO (high fat diet control group), BFF10 (soybean powder with rich aglycone isoflavone 10% group), and BFF20 (soybean powder with rich aglycone isoflavone 20% group). After 7 weeks of BFF10 or BFF20 diets consumption, the concentrations in serum triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol, and atherogenic index ratios were significantly decreased in the BFF10 and BFF20 diets groups compared with those in the CO group. The activities of alanine amino transferase and aspartate amino transferase were significantly decreased in the BFF10 and BFF20 than those in the CO group. Thiobarbituric acid reactive substance levels of serum were decreased in BFF10 and BFF20 groups compared to that of the CO group. The super oxide dismutase activities were increased in BFF10 and BFF20 groups compared to that of the CO group.

Key words: hyperlipidemic, isoflavone, aglycone, cholesterol, atherogenic index

서 론

단백질과 지방이 풍부한 식품인 콩은 영양적으로 우수할 뿐만 아니라 폐경기 여성의 각종 증후군(1)을 완화시켜주고, 골다공증(2)과 동맥경화(3)를 예방해 주는 것으로 알려져 있다(4). 콩의 이러한 생리활성은 이소플라본에 기인한 것으로 국내 식생활 양식이 서구화되고 고지혈증 환자가 증가됨에 따라 이소플라본에 의한 혈중 콜레스테롤 저하에 대한 관심은 증가되고 있다(5). 이소플라본에 의한 항 콜레스테롤 작용은 이소플라본의 항산화활성(6,7)과 자유라디칼 소거능에 의해 LDL-콜레스테롤 산화를 억제시키고(8) LDL-콜레스테롤 수용체의 활성을 증가시켜 콜레스테롤 수준을 저하시키는 것으로 알려져 있다(9).

콩 속의 이소플라본은 자연 상태에서 대부분이 genistein, daidzein, glycitin 등의 배당체(glycone) 이소플라본으로 존재한다. 그러나 이러한 형태의 이소플라본은 위산에 의해

분해되지 않고 대장 내에 존재하는 미생물로부터 분비되는 효소에 의해 가수 분해되어 비배당체(aglycone) 이소플라본으로 전환된 후 흡수되기 때문에 흡수율이 낮다. 따라서 산 또는 효소를 이용한 가수분해를 통해 비배당체화 이소플라본을 제조하여 체내에서 전환과정 없이 소장에 직접 흡수시켜 이소플라본의 흡수율을 증가(10)시키고자 하였으며, 최근에 이소플라본 비배당체화는 생물소재를 이용하여 몸에서 이용하기 쉬운 형태로 전환하는 방법인 생물전환(Bio-transformation)법(11)의 이용이 증가되고 있다. 이소플라본 비배당체화를 위한 생물전환법은 β -glucosidase 생산 미생물을 이용하여 배당체 이소플라본을 가수분해하는 것으로 대표적인 미생물로는 *Bifidobacterium* sp., *Lactobacillus* sp. 등이 있다(12). 그러나 아직 미생물을 이용한 생물전환으로 제조된 비배당체 이소플라본에 대한 생리활성에 대한 연구는 거의 없어 비배당체 이소플라본을 기능성 소재로서 산업화하기에는 아직 미진한 실정이다.

*Corresponding author. E-mail: crs3814@hanmail.net
Phone: 82-53-602-1891, Fax: 82-53-602-1898

따라서 본 연구에서는 β -glucosidase 고생산 균주인 *Flammulina velutipes* SHP21001을 이용한 생물전환법으로 비배당체 이소플라본 고탍유 대두분말을 제조하고 실험동물에게 투여하여 최근 건강국민보건 상 큰 문제가 되고 있는 고지혈증 예방을 위한 기능성 소재로 활용 가능성을 타진하고자 하였다.

재료 및 방법

비배당체 이소플라본 고탍유 대두분말 제조 및 실험 시료 준비

비배당체 이소플라본 고탍유 대두의 제조를 위한 대두 비배당체화는 신화제약에서 분리하여 보관 중인 β -glucosidase 고생산 균주인 *Flammulina velutipes* SHP21001로 생물전환법을 이용하여 수행하였다. 즉, 대두는 안동에서 생산자로부터 직접 구입하였고, 세척 후 12시간 물에 불리고 121°C, 1.5 기압의 조건에서 20분간 살균 및 증자하여 준비하였으며, 여기에 Potato dextrose broth(PDB)에서 7일간 배양한 *F. velutipes* SHP21001 균사체를 5%(v/w) 농도로 접종하고 24°C에서 2주간 배양하여 대두의 배당체 이소플라본을 가수 분해시켜 비배당체 이소플라본 고탍유 대두를 제조하였다. 비배당체 이소플라본 고탍유 대두는 80°C에서 48시간 건조하고 분쇄하여 분말형태로 4°C에서 보관하면서 분석 및 동물 실험에 사용하였다.

총 이소플라본 및 비배당체 이소플라본 분석

이소플라본 및 비배당체 이소플라본 정량을 위한 시료는 생물전환법으로 제조된 비배당체 고탍유 대두 분말 0.5 g에 1 M HCl 2 mL를 첨가한 후 2시간 동안 95°C의 항온수조에서 추출 후 충분히 냉각하고 8 mL의 acetonitrile을 첨가하여 완전히 교반한 다음 2시간 정치하여 상등액을 취해 조정제하여 준비하였다. 총 이소플라본 함량은 조정제된 이소플라본 시료를 105°C에서 24시간 건조시켜 고탍분 함량으로 측정하였으며, 비배당체 이소플라본 정량은 조정제한 이소플라본 시료를 여과한 후 Table 1과 같이 HPLC(SP930D, Younglin Co., Korea)를 이용하여 분석하였다. 이때, 표준물질로는 비배당체 이소플라본인 daidzein(Sigma Co., USA)과 genistein(Sigma Co., USA)을 이용하였으며, 표준물질의 retention time(RT)을 비교한 후 표준물질 peak 면적을 이용

Table 1. Operating conditions of HPLC for analysis of isoflavones

Consist of system	Younglin SP930D Pump, M720 Absorbance Detector
Column	Merck Co. RP-8 (250×4 mm ID)
Mobile phase	Acetonitrile : 0.05 M KH ₂ PO ₄ (pH 2.0 with phosphoric acid)=25:75
Detector	UV (260 nm)
Flow rate	1 mL/min
Injection volume	20 μ L

한 표준정량곡선으로부터 이소플라본 함량을 측정하였다 (Fig. 1).

실험동물 및 식이

실험동물은 체중 200~300 g의 4주령 Sprague-Dawley 계 수컷 흰쥐를 온도 21±2°C, 상대습도 55±10%를 유지하고 밤과 낮의 길이를 12시간씩 인공조명으로 조절하여 사육하였으며 사료와 물은 충분히 공급하였다. 일주일간 적응시킨 후 정상대조군으로 사용할 실험동물을 제외한 나머지 실험동물은 고지혈증을 유발하기 위하여 2마리씩 케이지에 넣어 6주간 고지방식을 자유 급식하여 고지혈증을 유도하였다. 고지혈증이 유도된 동물을 난괴법(randomized complete block design)을 이용하여 정상군(NO), 고지방식이군(CO), 고지방식에 비배당체 이소플라본 고탍유 대두 분말 10%, 20%(w/w)첨가군(BFF10, BFF20)으로 6마리씩 4개의 군으로 나누어 실험하였다. 실험식이 조성은 Table 2와 같으며, 실험식은 비배당체 이소플라본 고탍유 대두분말의 일반성분 분석결과(총탄수화물 28% 총지방 21% 총단백질 40%)를 바탕으로 일반성분비를 조절하여 다른 실험식과 영양 조건의 균형을 맞추어 펠렛 사료 형태로 제조하였다.

체중증가량 및 식이섭취량 측정

실험동물의 체중은 일주일 간격으로 일정시간에 측정하였으며, 식이섭취량은 3일 간격으로 측정 후 급여량에서 잔량을 감하여 계산하였다. 식이효율(food efficiency ratio; FER)은 실험동물의 체중증가량을 같은 기간의 식이섭취량으로 나누어 산출하였다.

혈액 채취 및 실험동물 처리

사육한 랫드를 14시간 동안 절식시킨 후 CO₂ 마취하여 복부대동맥에서 혈액을 채취하였다. 채혈된 혈액은 실온에서 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 30분간 원심분리하여

Table 2. Composition of experimental diets

Composition	NO	Hyperlipidemic groups		
		CO	BFF10	BFF20
Casein ¹⁾	200.0	200.0	200.0	200.0
DL-Methionine ²⁾	3.0	3.0	3.0	3.0
Choline bitartrate ²⁾	2.5	2.5	2.5	2.5
Corn starch ³⁾	629.5	489.5	414.5	334.5
Cellulose ²⁾	50.0	50.0	50.0	50.0
Mineral mix ⁴⁾	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix ⁴⁾	10.0	10.0	10.0	10.0
Lard ⁵⁾	70.0	200.0	175.0	155.0
Cholesterol ⁶⁾	-	10.0	10.0	10.0
Bioflavone ⁷⁾	-	-	100	200
Total	1000	1000	1000	1000

NO: basial diet. CO: high fat diet. BFF: soybean powder with rich aglycone isoflavone.

Sources of ingredients: ¹⁾ Fonterra Co. (New Zealand). ²⁾ Sigma Co. (USA). ³⁾ Samyang genex Co. (Korea). ⁴⁾ Dyets Co. (USA). ⁵⁾ Cheiljedang Co. (Korea). ⁶⁾ Kanto Co. (Japan). ⁷⁾ Shinhwa pharm Co. (Korea).

혈청을 분리하고 이것을 생화학적 분석에 사용하였다. 장기는 채혈 후 즉시 적출하여 4°C 생리식염수로 씻어내고 수분을 여과지로 제거한 후 무게를 칭량하였다.

혈청 내 생화학적 분석

분리한 혈청은 자동생화학분석기(KONELAB 20XT, Finland)를 이용하여 ALT(alanine amino transferase-GPT), AST(aspartate amino transferase-GOT), CHOL(total cholesterol), HDL-cholesterol(high density lipoprotein), LDL-cholesterol(low density lipoprotein), TG(triglyceride)를 측정하였다. 동맥경화지수(atherogenic index; AI)는 Haglund 등(13)의 방법에 따라서 $AI = (\text{total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol}) / \text{HDL-cholesterol}$ 식으로 계산하였다.

혈청 중 지질과산화물 측정 및 항산화 효소 측정

TBARS(thiobarbituric acid reactive substance) 함량은 Ohkawa 등의 방법(14)에 따라 측정하였다. 효소 시료 속의 과산화지질을 산성조건 하에서 2-thiobarbituric acid 용액과 가열 반응시켜 생긴 TBARS의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. TBARS 함량은 단백질 mg 당 nmole로 표시하였다.

SOD(superoxide dismutase)의 활성도는 hematoxylin 자동산화의 억제정도를 관찰하는 Martin 등의 방법(15)에 따라 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산 완충액(pH 7.5)에 10 μ M hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시켜 생성된 hematein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않은 반응액 중의 hematoxylin 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하여 단백질 1 mg이 1분 동안 반응한 unit로 표시하였다.

통계처리

모든 실험결과는 평균과 표준편차로 나타내었으며, 각 그룹 및 평균간 통계적 유의성은 SPSS 10.0(SPSS Inc, IL, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

생물전환법으로 제조된 비배당체화 대두의 이소플라본 함량

β -glucosidase 고 생산 균주인 *F. velutipes* SHP21001을 이용하여 생물전환법으로 대두의 비배당체화 한 후 HPLC로 분석한 결과 Fig. 1과 같은 크로마토그램을 얻을 수 있었으며, daidzein은 RT 12.88 min, genistein은 RT 33.72 min으로 분석되었다. 또한 daidzein와 genistein 함량은 각각 173.13 μ g/g, 513.44 μ g/g으로 전체 이소플라본의 89%가 비배당체 daidzein과 genistein으로 전환되어 우수한 전환율을 나타내었다. Choi 등(16)은 국내 주요 발효식품인 청국장, 된장, 춘장을 조사한 결과 genistein의 함량 비율은 70~80%

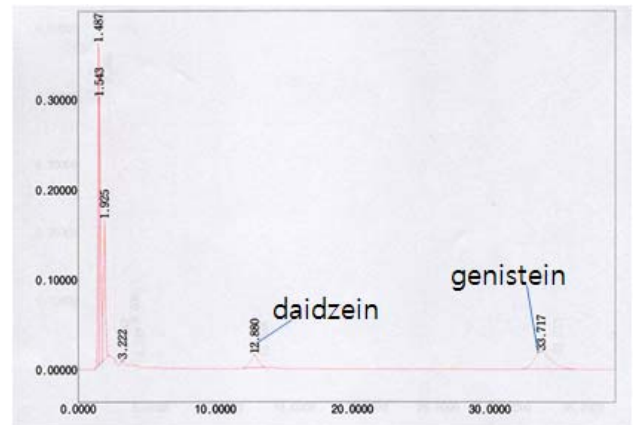


Fig. 1. Chromatogram of isoflavones from soybeans fermented with *F. velutipes* SHP21001 (solvent, acetonitrile: 0.05 M KH_2PO_4 (pH 2.0 with phosphoric acid) (25:75) for 50 min, 1 mL/min, 20 μ L injected).

Table 3. Contents of isoflavones in soybean fermented with *F. velutipes* SHP21001

Total isoflavone (μ g/g)	Aglycone isoflavone (μ g/g)		Conversion yield (%) ¹⁾
	Daidzein	Genistein	
773.77	173.13	513.44	89

¹⁾Conversion yield (%) = (contents of daidzein and genistein / contents of total isoflavone) \times 100.

After *F. velutipes* SHP21001 was cultured with potato dextrose broth, mycelia collected *F. velutipes* SHP21001 were inoculated in soybean and cultured at 24°C for 14 day.

정도인 것으로 보고하였는데 Table 3과 같이 *F. velutipes* SHP21001을 이용한 생물전환법 대두 비배당체화는 89%로 다소 높았다. 따라서 *F. velutipes* SHP21001의 초기 접종량이나 배양시간 등에 환경요인의 최적 조건의 확립을 통해 생물전환에 의한 비배당체 전환율은 충분히 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

7주간 일반식이 및 고지방식이 또는 고지방식이와 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말을 자유 급식시켜 사육한 각 실험동물의 체중증가량은 Table 4와 같다. 고지혈의 위험인자 중 하나는 비만 유도로서 고지혈증을 유도한 흰쥐에서는 정상군과 비교시 체중이 증가되는 것(17)으로 알려져 있는데, 본 연구에서도 고지방 식이만을 시킨 CO군은 553.2 ± 5.3 g, 일반사료 식이군인 NO군의 502.0 ± 29.3 g으로 고지방식이군에서 현저한 체중 증가를 확인할 수 있었다. 그러나 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말을 고지방식이와 같이 급식시킨 BFF10군과 BFF20군은 7주째 체중이 각각 548.8 ± 38.2 g, 499.2 ± 17.0 g으로 CO군과 비교 시 약 9~10%정도로 감소 경향을 나타내었으며, 특히 BFF20군은 NO군과 유사하여 BFF20의 지속적 자유 급식은 고지혈증에 의한 체중증가를 예방시킬 수 있을 것으로 사료된다.

식이량은 실험식이에 따라 다소 차이가 있었으며, 특히

Table 4. Body weight, water intake, food intake, body weight gain and food efficiency ratio in rats fed the experimental diets for 7 weeks

Groups ¹⁾	NO	CO	Hyperlipidemic groups	
			BFF10	BFF20
Body weight (g)	502.0±29.3 ⁴⁾	553.2±5.3	548.8±38.2	499.2±17.0
Water intake (mL/day)	50.0±5.3 ⁵⁾	40.0±4.3 ^a	39.0±4.3 ^a	50.0±5.3 ^b
Food intake (g/day)	24.5±1.7 ^b	16.8±1.1 ^a	19.1±1.4 ^a	19.0±0.2 ^a
Body weight gain (g/day) ²⁾	0.8±0.1 ^{NS6)}	1.1±0.2	1.1±0.3	0.2±0.2
Food efficiency ratio (%) ³⁾	4.7±0.4 ^{NS}	3.6±0.3	5.8±0.7	1.3±0.2

¹⁾Refer to Table 2.

²⁾Body weight gain=(final weight-first weight)/49 days.

³⁾Food efficiency ratio=(body weight gain/food intake)×100.

⁴⁾The values are mean±SD of 6 rats.

⁵⁾Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05.

⁶⁾Not significant.

고지방식을 투여하는 CO군은 정상식을 먹인 NO군이 24.5±1.7 g인 것에 비해 25% 내외로 적게 섭취하는 것을 볼 수 있다. Mitchell 등(18)은 첨가되는 식이조성에 따라 동물의 섭취기호에 영향을 줌으로 식이섭취량에 영향을 미친다고 하였다. 따라서 NO군과 CO군의 식이량의 차이는 실험식이중 첨가되는 지방이나 단백질 조성차에 의한 섭취 기호도에 따른 것으로 사료된다. 음수량과 식이효율에 있어서는 별다른 유의적 차이는 없었다.

장기무게 측정

7주 후 실험동물의 단위 체중당 각종 장기 중량을 측정된 결과, 신장에서는 실험군 간에 유의적 차이는 없었으나 정소 및 비장에서는 정상군과 비교 시 고지방식이군에서 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다(Table 5). 고지방식은 특히 간 조직 중의 지방 축적을 유도하여 간의 중량을 높이는 데(19), 본 연구에서도 일반식이군과 비교 시 고지방식이만을 시킨 CO군에서 간의 중량은 유의적으로 높게 나타나 선행 연구들(20-23)과 그 결과가 일치하였다. 그러나 비배당체 고함량 대두분말을 식이시킨 BFF10과 BFF20군에서의 간의 중량은 각각 CO군에 비교 시 각각 8.7%, 9.3%로 유의적으로 감소하여 NO군과 유사하였으며, 이는 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말이 간의 지방축적을 억제할 수 있음을 보여준다. 과량 콜레스테롤이 간에 유입된 후 지방수용

Table 5. Organ weights¹⁾ in hyperlipidemic rats fed the experimental diets for 7 weeks (g)

Groups ²⁾	NO	CO	Hyperlipidemic groups	
			BFF10	BFF20
Liver	3.11±0.19 ³⁾⁴⁾	3.33±0.21 ^c	3.04±0.39 ^{ab}	3.02±0.55 ^{ab}
Kidney	0.58±0.07 ^{NS5)}	0.61±0.08	0.59±0.06	0.64±0.04
Testis	0.80±0.13 ^c	0.65±0.08 ^a	0.69±0.05 ^{ab}	0.75±0.05 ^{bc}
Spleen	0.16±0.02 ^c	0.12±0.02 ^a	0.14±0.01 ^{ab}	0.15±0.02 ^{bc}

¹⁾Relative organ weight (g/100 g body weight).

²⁾Refer to Table 2.

³⁾The values are mean±SD of 6 rats.

⁴⁾Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05.

⁵⁾Not significant.

체인 apoprotein과 결합하여 lipoprotein으로 배출되지 못하고 축적 시에는 지방간으로 되거나 간세포 손상을 일으킬 수 있다(24). 현재 국민 식생활은 1인 1일 평균 지방의 섭취량이 계속적으로 증가하고 있는 실정(25)으로 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말의 자유 섭취는 지방의 축적을 다소 방지하여 상기와 같은 지방간이나 간세포 손상을 방지할 수 있을 것으로 사료된다.

혈청 내 지질수준

7주간 실험 식이를 자유 섭취시킨 실험동물의 혈청 내 지질수준을 조사한 결과, BFF20군에서 고지방식이군 CO와 비교 시 혈청의 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지질 농도를 각각 30%, 36%, 48% 유의적으로 감소시켰으나 HDL-콜레스테롤 농도에서는 모든 실험군 간에 유의적 차이를 관찰할 수 없었다. 따라서 총 콜레스테롤의 함량의 저하는 LDL-콜레스테롤 농도의 저하에 의한 것으로 사료되며 이는 Kim 등(26)의 보고와 일치하였다. 특히 BFF20의 자유 섭취는 동맥혈관 벽이나 말초조직에 콜레스테롤을 운반, 축적시켜 동맥경화를 촉진시키는 지단백 혈장(27)인 LDL-콜레스테롤 농도를 NO군의 수치와 동일하게 일반 수준까지 낮추었다(Table 6).

또한 심혈관질환의 위험도 판정에 이용되는 AI(동맥경화 지수)도 Fig. 2에서와 같이 BFF20군에서 36%가량 유의한 감소를 보여, 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말의 일정

Table 6. Effect on serum lipid levels in rats fed the experimental diets (mg/dL)

Groups ¹⁾	Total cholesterol	HDL-Cholesterol	LDL-Cholesterol	Triglyceride
CO	130.5±12.6 ^b	60.2±3.1	30.1±6.5 ^b	180.7±9.4 ^c
BFF10	103.4±4.9 ^b	66.9±5.0	24.5±3.6 ^{ab}	134.7±8.6 ^b
BFF20	90.4±6.8 ^a	61.0±3.9	19.2±2.1 ^a	93.2±7.4 ^a

¹⁾Refer to Table 2.

²⁾The values are mean±SD of 6 rats.

³⁾Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05.

⁴⁾Not significant.

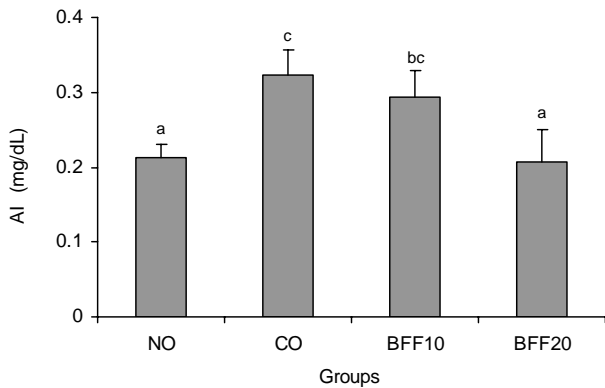


Fig. 2. Serum AI (atherogenic index) levels in hyperlipidemic rats fed the experimental diets.
The values are mean±SD of 6 rats. ^{a-c}Values with different superscripts letters on the bar are significantly different each other groups at p<0.05.

기간 섭취는 LDL-콜레스테롤 농도를 낮추어 동맥경화지수를 낮출 수 있으므로 고지혈증 및 고콜레스테롤증과 같은 심장 순환기계 질환을 개선하거나 발생을 방지할 수 있을 것으로 사료된다.

혈청내 ALT(GPT), AST(GOT) 활성

고지방식이와 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말의 식이가 혈청의 간지표 효소인 ALT와 AST 활성에 미치는 영향을 조사한 결과, Fig. 3과 같이 ALT는 고지방식이만을 시킨 CO군이 58.0±6.7 unit 인 것에 비하여 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말을 식이시킨 BFF20군에서 39.4±6.7 unit로 약 32% 유의하게 감소되었으며, AST도 CO군의 244.3±11.7 unit와 비교시 BFF20군에서 131.0±15.5 unit로 약 46% 유의하게 감소되어 일반사료 식이시킨 NO군 수준과 유사하였다. ALT와 AST는 생체내 아미노산을 형성하는 역할을 하는 효소로서 간에 가장 많은 양이 존재하며, 약물이나 외부적 스트레스에 의해 간조직이 손상을 받으면 혈액 중 이들 효소들의 활성이 증가(28)하게 되는데 특히 고지방식은 간 실질세포의 장애를 발생시켜 ALT와 AST가 혈액 중으로 방출이 항진되면서 혈액 중 ALT와 AST 활성은 증가되는 것으로 보고(29)되고 있다. 본 연구에서도 CO군의 경우 NO군보다 ALT와 AST의 활성이 유의적으로 증가되어 고지방식은 간의 장애를 유발함을 재확인할 수 있었다. 또한 ALT와 AST 활성의 증가는 간장에서 담즙산 배설

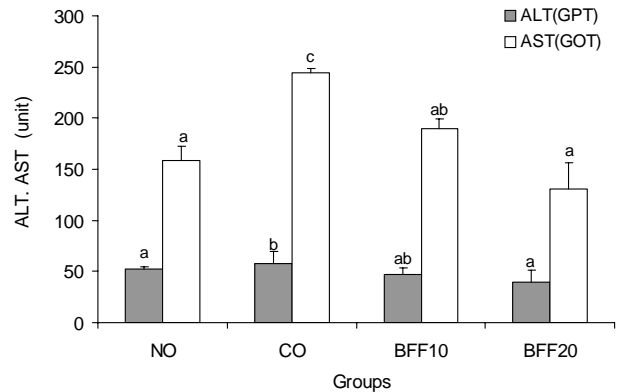


Fig. 3. Serum enzyme levels in hyperlipidemic rats fed the experimental diets.
The values are mean±SD of 6 rats. ^{a-c}Values with different superscripts letters on the bar are significantly different each other groups at p<0.05.

장애를 유발하여 혈청 콜레스테롤의 농도를 상승시킨다(29). 따라서 상기의 비배당체 고함량 이소플라본에 의한 혈청 중 콜레스테롤 감소는 비배당체 고함량 이소플라본이 간에서 지방식에 의한 ALT와 AST 활성 증가를 감소시켜 간장 장애를 지연시키기 때문이다. 이러한 결과로 볼 때, 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말 섭취는 혈청 지질대사를 개선시킬 수 있을 뿐만 아니라 고지혈증으로 인한 간의 손상을 방지하여 간 기능을 유지시킬 수 있을 것으로 사료된다.

혈청내 TBARS와 SOD 수준

비배당체 이소플라본 고함유 대두분말이 지질과산화물 생성에 미치는 영향을 실험군별 혈청 내 지질과산화물 함량을 측정하여 조사한 결과, BFF10 및 BFF20군의 지질과산화물 함량은 CO군과 비교시 각각 72%, 83% 유의하게 감소하였으며, BFF10과 BFF20간의 유의적 차이는 없었다(Table 7). 또한 최근 고지혈증으로 인한 심혈관계 질환의 발생에 free radical이 관여하는 것으로 보고(30)되고 있어 세포내 호흡 부산물로서 생성되는 free radical 방어기구 기전 중 하나인 SOD 활성에 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말이 미치는 영향을 실험군 별로 조사한 결과, Table 7과 같이 고지방식은 SOD 활성을 낮추었으며, BFF10군은 CO군의 1.040±0.284 unit와 비교 시 약 14% 활성이 증가되었다. 특히 BFF20군에서는 NO군보다 SOD 활성이 57% 증가되어 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말은 SOD 활성을 높일

Table 7. Serum TBARS and SOD activities in hyperlipidemic rats fed the experimental diets

Enzymes	NO	Hyperlipidemic groups		
		CO	BFF10	BFF20
TBARS ¹⁾	0.069±0.014 ^{3)a4)}	0.283±0.025 ^b	0.079±0.019 ^a	0.047±0.012 ^a
SOD ²⁾	1.197±0.331 ^{NS5)}	1.040±0.284	1.189±0.337	1.639±0.307

¹⁾Unit: nmole/mg protein. ²⁾Unit: U (50% inhibition of autoxidation of hematoxylin)/mg protein/min.

³⁾The values are mean±SD of 6 rats.

⁴⁾Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05.

⁵⁾Not significant.

수 있음을 확인하였다. SOD 활성 증가는 free radical 생성을 감소시켜 세포막의 다가불포화지방산으로부터 지질과산화물의 생성을 억제하는 것(31)으로 보고되고 있다. 따라서 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말 섭취에 의한 SOD 활성의 증가는 지질과산화물 생성을 감소시킴으로써 동맥경화증에서 혈관 변화를 늦추어 관상동맥질환의 예방효과를 볼 수 있을 것으로 기대된다.

본 연구 결과에 따르면 생물전환법을 이용한 친환경적으로 제조된 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말은 고지혈을 유도한 실험동물에서 혈청 내 SOD 활성 및 ALT와 AST 활성을 증가시킴으로써 지질과산화물 함량과 LDL-콜레스테롤을 감소시킬 수 있음을 확인하였다. 따라서 혈청 지질대사 및 간의 장해 개선을 통해 고지혈증, 고콜레스테롤증, 관상동맥질환 등과 같은 심장 순환기계 질환의 예방 및 개선을 위한 건강 기능성식품 소재로 활용하기 충분하였다.

요 약

비배당체 이소플라본 고함유 대두분말이 고지방식을 섭취한 흰쥐의 지질대사와 항산화 효과에 미치는 영향을 조사하고자 식이성 고지혈 흰쥐를 정상군(NO), 고지방식이군(CO), 고지방식이에 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말 10%, 20%(w/w) 첨가군(BFF10, BFF20)으로 나누어 7주간 사육한 결과는 다음과 같다. 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말 섭취는 체중과 간 무게를 유의적으로 감소시켰으며, CO군에 비해 혈청의 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지질 농도가 유의적으로 감소하였다. 간조직 손상시 활성증가가 우려되는 alanine amino transferase와 aspartate amino transferase 수준도 유의적으로 감소하였다. Thiobarbituric acid reactive substance의 생성량은 비배당체 이소플라본 고함유 대두분말의 첨가량이 높을수록 현저하게 감소되었으며 superoxide dismutase 활성은 농도 의존적으로 증가시키는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역산업기술개발사업(과제번호: 70000210)의 연구비 지원에 의해 이루어진 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

문 헌

- Cassidy A. 1996. Physiological effects of phytoestrogens in relation cancer and other human health risks. *Proc Nutr Soc* 55: 399-417.
- Messina M, Perky V, Setchell KDR, Barnes S. 1994. Soy intake and cancer risk. A review of *in vitro* and *in vivo* data. *Nutr Cancer* 21: 113-131.
- Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. 1995.

- Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *New Engl J Med* 333: 276-282.
- Bibgham SA, Atkinson C, Liggins J. 1998. Phytoestrogen: where are we now? *British J Nutr* 79: 393-406.
- Picard F, Deshaies Y, Lalonde J. 2000. Effects of the estrogen antagonist EM-652.HCl on energy balance and lipid metabolism in ovariectomized rats. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24: 830-840.
- Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G. 1997. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. *Free Radic Res* 26: 63-70.
- Wei HC, Wei LH, Frenkel K. 1993. Inhibition of tumor promoter-induced hydrogen peroxid formation *in vitro* and *in vivo* by genistein. *Nutr Cancer* 20: 1-12.
- Kwoon TW, Song YS, Hong JH, Moon GS, Kim JI, Hong JH. 1998. Current research on the bioactive functions of soyfoods in Korea. *Korea Soybean Digest* 15: 1-12.
- Kirk EA, Sutherland P, Wang SA. 1998. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. *J Nutr* 128: 954-959.
- Lee KH, Chung HK, Han JH, Sohn HS. 2003. Soy isoflavone: current usage and production. *Korea Soybean Digest* 20: 28-36.
- Moon SW, Park MS, Ahn JB, Ji GE. 2003. Quality characteristics of chocolate blended with *Bifidobacterium*-fermented isoflavone powder. *Korean J Food Sci Technol* 6: 1162-1168.
- Jeon KS, Hwang IK. 2002. The hydrolysis of isoflavones by *Bifidobacterium* sp. Int-57 during soymilk fermentation. *Korea Soybean Digest* 19: 42-47.
- Haglund O, Loustarinen R, Wallin R, Wibell I, Saldeen T. 1991. The effect of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in mans supplemented with vitamin. *Eur J Nutr* 121: 165-172.
- Ohkawa H, Ohisi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.
- Martin JP, Dailey M, Sugarman E. 1987. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys* 255: 329-336.
- Choi YB, Woo JG, Noh WS. 1999. Hydrolysis of β -glycosidic bonds of isoflavone conjugates in the lactic acid fermentation of soy milk. *Korean J Food Sci Technol* 31: 189-195.
- Ju DS, Lee JG, Kim OS, Jo SY, Lee DS, Gwon JO, Choe JW. 2003. Effect of seatangle oligosaccharide drink on oxidation of serum lipid and bleeding and plasma clotting time in rats fed a hyperlipidemic diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1364-1369.
- Mitchell GV, Jenkins MY, Grundel E. 1989. Protein efficiency ratios and net protein ratios of selected protein foods. *Plant Foods Hum Nutr* 39: 53-58.
- Kim YH, Lee JH, Koo BK, Lee HS. 2007. Isoflavone-rich bean sprouts improves hypelipidemia. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1248-1256.
- Wang H, Murphy PA. 1994. Isoflavone content in commercial soybean foods. *J Agric Food Chem* 42: 1666-1673.
- Choi YS, Lee SY. 1993. Cholesterol-lowering effect of soybean product (curd or crud residue) in rat. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 673-677.
- Kim MJ, Lee SS. 1995. The of dietary fiber on the lipid level and bowel function in rat. *Kor J Nutr* 28: 23-32.
- Cha JY, Kim HJ, Jun BS, Cho YS. 2000. Effect of water extract of leaves from *Moms alba* and *Cudrania tricuspidata* on the lipid concentration of serum and liver in rats.

- Agric Chem Biotechnol* 43: 303-308.
24. Myant NB. 1990. *Cholesterol metabolism, LDL, and the LDL receptor*. Academic Press Inc., New York. p 407.
25. Lee YN, Lee HS, Jang YA, Lee HJ, Kim BH, Kim CI. 2006. Dietary intake pattern of the Korean adult population by weight status 2001 national health and nutrition survey. *Korean J Comm Nutr* 11: 317-326.
26. Kim JD, Lee YI, Kim BR, Choi YS, Lee SY. 1997. Effects of Meju powder supplementation on lipid metabolism in rats fed hypercholesterolemic diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 314-318.
27. Smith EB. 1974. The relationship between plasma and tissue lipids in human atherosclerosis. *Adv Lipid Res* 11: 1-49.
28. Kang BH, Son HY, Ha CS, Lee HS, Song SW. 1995. Reference value of hematology and serum chemistry in Krc: Sprague-Dawley rats. *Korean J Lab Anal Sci* 11: 141-145.
29. Lee JJ, Lee YM, Shin HD, Jeong YS, Lee MY. 2007. Effect of vegetable sprout powder mixture on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 965-974.
30. Song YO, Chyun JH. 2004. Effect of β -carotene supplementation on lipid peroxides and antioxidative enzyme activities in hyperlipidemic rat. *Korean J Nutr* 37: 771-779.
31. Morel D, Chisolm GM. 1989. Antioxidative treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. *J Lipid Res* 30: 1827-1834.

(2008년 2월 20일 접수; 2008년 3월 4일 채택)