

탈피 탈지 대두분 식이가 흰쥐에서의 식후 Lipid Profile과 효소, 호르몬 농도에 미치는 영향*

한정희 · 김정인** · 송영선**

인제대학교 기초과학연구소, 식품영양학과 및 식품과학연구소**

Effects of Dehulled Defatted Soy Flour on Postprandial Lipid Profile and Enzyme and Hormone Levels in Rats

Han, Jang Hee · Kim, Jung In** · Song, Young Sun**

Basic Science Institute, Department of Food Science & Nutrition and Food Science Institute,**
Inje University, Kimhae, Korea

ABSTRACT

This study was undertaken to determine whether dehulled defatted soy flour has an effect on postprandial plasma lipoprotein composition, hepatic lipid composition, enzyme and hormone levels in rats. Control(casein) and experimental(dehulled defatted soy flour) diets were fed to rats for 7 weeks. All animals(S.D. rats, male) were sacrificed 2 hrs after the feeding of 5g of each diet. Defatted soy flour feeding significantly lowered postprandial plasma total cholesterol, chylomicron/VLDL-cholesterol, hepatic cholesterol and triglyceride(TG) as compared with casein feeding, whereas no significant effect on plasma TG was observed. Intestinal lipase activity was elevated, whereas trypsin activity was suppressed in the dehulled defatted soy flour group. Plasma glucagon, thyroid hormone and hepatic HMG-CoA reductase levels were not affected by diet treatment. These results hypothesize that dehulled defatted soy flour affects cholesterol digestion and absorption in guts, thus delaying the appearance of chylomicron-cholesterol in plasma or affecting the disappearance of chylomicron remnant to high-density-lipoprotein(HDL). (*Korean J Nutrition* 31(2) : 135~142, 1998)

KEY WORDS : postprandial · dehulled defatted soy flour · cholesterol · rat.

서 론

우리나라의 생활양식과 식생활이 서구화되면서 영양 편중과 불균형을 초래하여 순환기계질환과 암 등 여러 종류의 성인병 발생률이 증가하게 되었다. 이러한 순환기계질환은 혈청 지질 특히 혈청 콜레스테롤의 증가로 인한 동맥경화증 및 이와 연관된 관상동맥질환, 뇌혈관

체택일 : 1997년 12월 1일
*This research was funded by Korea Science & Engineering Foundation(project No. 94-0402-02-02-3).

계 질환과 밀접한 관련을 가지고 있으므로, 혈청 콜레스테롤을 낮추는 식이성분에 대한 연구가 활발하였다¹⁾.

그 중 식이단백질의 종류와 농도수준이 혈중 콜레스테롤 농도와 동맥경화에 영향을 미친다는 보고는 오래 전부터 있어 왔으며, 식물성 단백질(특히 대두단백질)이 동물성 단백질(casein)에 비해 hypocholesterolemic 효과가 현저하다는 연구들이 많은 동물실험이나 임상실험에서 보고되고 있다^{2,3)}. 대두단백질의 혈장 콜레스테롤 저하효과에 대한 기전으로는 대두단백질의 섭취가 변으로의 담즙산 배설을 증가시켜 혈장 콜레스테롤 농도를 저하하고 체내 콜레스테롤 pool을 감소시

킨다는 주장과⁴⁾ 혈중 glucagon/insulin 비의 감소와 thyroxine 농도를 증가시켜 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 농도를 낮춘다는 주장이 제시되고 있다^{5,6)}. 또한 특정 아미노산의 비율이 혈장 콜레스테롤 농도를 감소시킨다는 보고도 있다^{7,8)}.

이러한 대두단백의 콜레스테롤 저하효과와 그 기작에 관한 지금까지의 연구들은 비가열 분리 대두단백질을 장기간 섭취한 동물들에서 나타난 결과이며 우리 콩을 식품 형태로 동물에게 섭취시켜 지질대사나 콜레스테롤 대사에 미치는 영향을 연구한 예는 드문 실정이다. 또한 지금까지의 연구들은 주로 절식상태 동물에서의 lipid profile이나 콜레스테롤 대사를 중심으로 연구되어져 왔다. 그러나 규칙적인 식사를 하는 인간은 절식상태라기 보다는 오히려 식후상태로 더 오래 지속되고 있다고 할 수 있으므로 식후상태에서의 혈장 콜레스테롤이 동맥경화 유발에 중요한 한 요인이 될 수 있다⁹⁾. 뿐만 아니라 장관에서의 식이지방의 흡수와 이동은 혈장 지단백에 의해 조절되어지며¹⁰⁾, 소장에서 합성된 지단백은 동맥경화와 관련되어져 있다⁹⁾. 따라서 대두분의 섭취가 식후 지단백의 조성에 미치는 영향을 살펴보는 것은 대두분이 콜레스테롤의 흡수와 이동에 작용하는 기작을 이해하는데 도움이 된다. 또한 대두단백질은 고온고압으로 처리하면 구조가 변화하여 소화기관내에서 지방과의 복합물을 형성하여 혈장 콜레스테롤 농도를 감소시킨다고 보고되고 있다¹¹⁾. 따라서 대두의 섭취가 식후상태에서의 소장 소화효소 활성, 콜레스테롤 합성효소 활성에 미치는 영향등을 연구하는 것은 대두가 콜레스테롤을 비롯한 지질대사에 작용하는 기작을 이해하는데 큰 도움이 될 것이다.

그러므로 본 연구에서는 콩단백의 콜레스테롤 저하효과와 그 기작을 설명하기 위하여 우리나라에서 재배된 대두에서 껍질과 지방을 제거한 탈피 탈지 대두분(이하 대두분으로 약함)의 섭취가 식후 혈장과 간 지질 및 지단백 조성, 호르몬 농도, 콜레스테롤 합성능, 소장에서의 소화효소 활성 등에 미치는 영향을 조사하고 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

실험동물은 체중 100±10g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 한국화학연구소(대전소재)로부터 구입하여 처음 1주일간 plastic cage속에 2마리씩 넣어 stock diet(chow)와 기본 식이(AIN-76 semipurified diet)로 예비사육하였다. 적응기간 후 한 마리씩 사육철망상자

속에 넣고 체중에 따라 난괴법(completely randomized design)으로 분리하여, 동물성 단백질인 casein을 급원료로한 대조군과 식물성 단백질인 대두분(dehulled defatted soy flour)을 급원료로한 실험군으로 나누었다(group당 10마리).

본 실험에서 사용한 대두는 산청산으로 껍질을 제거하여 분쇄한 후, 16ml hexane/g dehulled soy flour로 8시간씩 2회 반복하여 지방을 제거하였다. 대두분의 잔존 hexane을 제거하기 위하여 64시간 동안 후드에서 건조시키고, 대두분의 trypsin inhibitor 작용을 억제시키기 위하여 121℃에서 20분간 autoclave하였다¹²⁾. 이것을 건조시켜 가루로 만들고 80 mesh 체로 쳐서 통과한 가루를 식이에 첨가하였고, 식이조성은 Table 1과 같이 조제하여 냉동보관하면서 사용하였다. Casein의 methionine 함량이 2.9g/16gN인 반면에 대두단백질은 1.2g/16gN¹³⁾으로 casein의 41.1%에 불과하므로, methionine 함량 차이로 인한 효과를 최소한으로 줄이기 위하여 식이조성시 대두분군에 casein군보다 DL-methionine을 0.2% 첨가하여 사용하였다. 또한 실험군에 단백질 함량과 energy value를 고려하여 대두분을 42%로 첨가하였고, 대두분의 첨가에 따른 식이섬유 함량의 차이는 대조식에 cellulose를 6.85%로 첨가하여 보정하였으며, 고콜레스테롤혈증을 유발하기위해 각각의 식이에 0.5% 콜레스테롤과 10% lard를 첨가하였다. 비타민과 무기질은 ICN제, corn starch는 주)세원 옥수수 전분, surcose는 삼양 설당을 사용하였다. 옥수수 기름은 동방유량, 돈지는 동광농산 돈지 쇼트닝, 콜레스테롤과 cellulose는 Sigma 제품을 사용하였다.

흰쥐는 실험동물 사육실에서 해당 식이와 물을 자유롭게 섭취하면서 7주간 사육되었다. 사육실의 온도는

Table 1. Composition of experimental diets(%)

	Casein	Dehulled defatted soy flour
Casein	20	-
Soy flour	-	42.6
D.L-methionine	0.3	0.5
AIN-76 mineral mixture ¹⁾	3.5	3.5
AIN-76 vitamin mixture ²⁾	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2
Sucrose	40	30
Corn starch	12.65	7.51
Corn oil	5	4.19
Lard	10	10
Cellulose	6.85	-
Cholesterol	0.5	0.5

1)2) ICN Biochemical

20~25℃로 실온을 유지하였고, 병암은 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다. 식이섭취량은 1주에 2회, 체중은 매주 한번씩 측정하였다. 이때 식이효율은 실험기간 동안의 체중증가량을 식이섭취량으로 나누어서 구하였다.

2. 시료수집

실험동물은 희생하기 14시간전 절식시킨 후 5.0g의 해당식이를 30분 이내에 섭취하게 하고 2시간이 경과한 후 CO₂ 가스로 마취하여 EDTA(10mg) 함유 주사기를 이용하여 심장에서 채혈하였다. 채취한 혈액은 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 얻었으며, 냉동보관(-20℃)하면서 분석용으로 하였다. 또한 fixed angle rotor를 사용한 sequential floatation method¹⁴에 의해 혈장으로부터 밀도가 다른 VLDL(d<1.006g/ml), LDL(d=1.006~1.063g/ml), HDL(d=1.063~1.210g/ml)의 세가지 지단백 분획을 얻었다. 지단백 분획의 확인을 위해 예비실험에서 sudan black염색액을 사용하였다. 이때 장시간의 ultracentrifugation으로 인한 지단백 조성의 변화를 방지하기 위하여 혈장 2ml에 5,5-dithio-(bis)-(2-nitrobenzoic acid) 0.08 g을 용해시킨 후 세가지 지단백 분획을 얻고, 분리된 각 지단백 분획은 -20℃에서 냉동보관하면서 분석용으로 하였다. 간장은 적출하여 0.9% 생리식염수로 씻은 다음 여과지로 물기를 제거하고 중량을 측정하여 액체 질소에서 급속냉동시킨 후, -70℃에서 냉동 보관하면서 분석용으로 하였다. 소장은 적출하여 두장의 slide glass로 압착하여 소장 내용물을 수집하고 -70℃에서 냉동 보관하였다. 분변은 희생하기전 72시간 동안의 분변을 모아 건조시킨 후, 분변의 부피와 무게를 측정하였다.

3. 시료분석

대두분을 탈지전과 탈지후로 나누어 80 mesh 체로 쳐서 통과한 대두분의 일반성분 분석은 다음과 같은 방법으로 분석하였다. 대두분의 수분은 상압가열건조법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조단백질은 Kjeldahl 법, 조회분은 회화법을 이용하여 분석하였고¹⁵, 대두분의 총식이섬유 함량(TDF)은 Prosky등에 의해 개발 수정된 AOAC법¹⁶으로 측정하였다.

혈장과 지단백 분획 중의 총 콜레스테롤(Sigma kit, No.352-50), 중성지방(Sigma kit, No.339-20) 및 인지질(영인 화학 주식회사, PL-사[®] イム[®]-600 '영연') 함량을 각각 효소법을 이용한 kit로 측정하였다. 각 시료 중의 단백질 함량은 Modified Lowry Method¹⁷를 이용하여 측정하였으며, 표준물질로 bovine serum al-

bumin을 사용하였다. 혈장내 glucagon, triiodothyronine(T₃), thyroxine(T₄)의 농도는 I¹²⁵를 사용하여 radioactivity를 γ -counter로 측정한 radioimmunoassay법으로 측정하였다. 간조직의 지방은 Folch등의 방법을 수정¹⁸하여 지질을 추출하고, 총지방 함량은 chloroform으로 25ml가 되도록 정용하여 비중법으로 계산하였다. 간조직의 콜레스테롤 및 중성지방 함량은 혈장 중의 지질 분석과 같은 효소법을 이용하였다. HMG-CoA reductase 활성은 먼저 간조직을 차별원심분리법¹⁹으로 분리하여 microsomes을 효소활성 측정 직전 가용화하고, 2mM NADPH 100 μ l, 1mM HMG-CoA 100 μ l 및 microsomal fraction 2.8ml를 혼합하여, 350nm에서 시간에 따른 흡광도의 감소를 spectrophotometer를 이용하여 측정하였다. 이때, 효소의 활성은 nmole/min/mg microsomal protein으로 표시하였다. 건조하여 분말화한 변은 Soxhlet법²⁰으로 지방을 추출한 후, 총지방 함량은 비중법으로, 조단백질 정량은 Kjeldahl법²¹을 이용하여 측정하였다. 소장의 소화효소인 amylase와 lipase 활성은 효소법을 이용한 정량용 kit시약(Sigma Kit. No. 575-3, Sigma Diagnostics, No. 800-1, 2, 3)으로 각각 측정하였고, trypsin 활성 측정은 Hummel 법¹⁹에 따랐다.

4. 통계처리

본 연구에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 표시하였으며, 통계적 유의성은 minitab program을 이용하여 p<0.05 수준에서 t-test로 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 대두분의 일반성분 함량

대두분의 수분, 조단백질, 조지방과 조회분 함량은 Table 2에 나타내었고, 식이섬유 함량은 Table 3에 나타내었다. 대두분의 단백질 함량은 42.6%이고, 탈지전의 대두분 지질 함량이 18.2%이었던 것을 탈지하여 지질 함량을 1.9%로 낮추었다. 대두분의 식이섬유 함량은 건량기준으로 TDF 16.6%, IDF 12.9%, SDF 3.4%이었으며, 습량기준으로는 TDF 14.6%, IDF 11.6%, SDF 2.3%이었다. 곡류 중에서 식이섬유의 좋은 공급원으로 알려진 현미(2.6%)나 보리쌀(9.9%)²⁰에 비해 대두분은 식이섬유의 좋은 공급임을 알 수 있다.

2. 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

각 실험식으로 7주간 사육한 흰쥐의 실험식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 1일 평균 체중 증가량은 각 식이군간에 유의

적인 차이를 보이지 않았고, 1일 평균 섭취량은 대두분군이 casein군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 식이효율은 대두분군이 casein군에 비해 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.001$). Table 4에서 보는 바와 같이, casein 섭취군에 비하여 대두분은 유의적 차이는 없지만 다소 낮은 식이 섭취 기호도를 보였다. 최용순과 이상영¹¹⁾은 단백질의 성질은 동물의 섭식기호에 영향을 줌으로써, 자유급식중 식이 섭취량의 변화를 지적하고 있으며, 동물성 단백질에 비하여 식물성 단백질 사료의 섭취량의 감소는 아미노산의 결핍 또는 불균형이나 식이에 대한 감소된 섭식기호에 기인된다는 가능성을 제시하고 있다. 그러나 본 실험에서 대두분 섭취군은 낮은 섭취량에도 불구하고 실험기간동안 체중 증가율은 casein군보다 높게 나타났는데 이러한 실험 결과는 methionin이 보충된 열처리 대두분의 식이효율이 casein에 비해 열등하지 않음을 보고한 Liener²¹⁾와 일치한다 하겠다.

3. 혈장의 지질 및 단백질 함량

실험식이를 섭취한지 2시간이 지난 후의 혈장 콜레스테롤, 중성지방, 인지질과 단백질 함량은 Table 5와 같다. 본 실험에서 식후 2시간 후의 지질 profile을 조사한 것은 Luhman 등²²⁾이 시료에 따라 다소간의 차이는

있으나 식후 1시간 뒤에 혈장 콜레스테롤치가 높아지기 시작하여 4시간후 감소하였다는 보고에 근거한 것이다.

대두분군에서 대조군보다 콜레스테롤과 인지질 농도가 각각 42%, 37% 저하되었으며($p < 0.05$), 단백질과 중성지방 농도는 대두분군과 대조군간에 유의적인 차이를 볼 수 없었다. 콩단백질의 장기간 섭취가 동물과 임상실험에서 콜레스테롤을 저하한다는 것은 이미 여러 연구자들에 의해 확인된 바 있다. 즉, Park 등²³⁾은 성숙쥐와 비성숙쥐에서 대두단백질의 hypocholesterolemic 효과를 각각 확인하였으며, Terpstra 등³⁾은 hypocholesterolemic rat에서도 대두단백질이 혈장 콜레스테롤 농도를 낮추는 효과가 있다고 보고하였다. 한편 Hamilton과 Carroll²⁴⁾은 soy protein concentrate와 훨씬 정제도가 높은 soy protein isolate를 동물에 섭취시켜 혈장 콜레스테롤 농도를 비교하였을 때 유의적인 차이가 없었다고 보고하였는데, 이것은 대두 단백질에 여분으로 남아있는 phytic acid와 같은 비단백질 성분이 혈중 콜레스테롤 농도에 영향을 미치지 않음을 반영하는 것이라고 하겠다. 한편, 대두단백질의 섭취기간이 동물에서의 hypocholesterolemic 효과에 영향을 미친다는 주장이 제시되었다. 즉, 김경림과 김화영²⁵⁾은 대두단백질이 casein에 비해 hypocholesterolemic 효과가 있었으며, 식이섭취 3주 후 그 효과가 가장 컸다고 보고 하였다. 이연숙과 고정숙²⁶⁾은 고지방식을 섭취한 흰쥐에서 대두단백질이 4주간의 섭취로는 혈장지질 저하 효과가 없었으나 8주간의 섭취에서는 casein에 비해 유의적인 저하효과를 보였다고 보고하였다. 이러한 차이는 실험에 사용한 동물의 연령, 식이의 조성등에 의한 것으로 보인다.

대두분의 식후 혈장내 콜레스테롤 및 지질 저하 기작으로는 변으로의 담즙산 배설 증가⁴⁾, 혈중 glucagon/insulin 비의 감소와 thyroxine 농도의 증가^{5,6)}, 대두분의 낮은 lysine/arginine 비율^{7,8)} 등이 제시되고 있다. 뿐만 아니라 autoclave로 처리한 대두분의 단백질 구조 변화가 지방과 복합물을 형성하여 혈장 콜레스테롤 농도 저하를 초래한다고 지적하는 연구자도 있다¹¹⁾. 본 연구에서도 식후 2시간후의 혈장 콜레스테롤 농도가

Table 2. Food composition of dehulled soy flour(%)

	Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude ash
Dehulled soy flour	7.1	48.3	18.2	5.7
Dehulled defatted soy flour	10.9	42.6	1.9	5.6

Table 3. Composition of dietary fiber of dehulled defatted soy flour

	Dehulled defatted soy flour	
	Dry %	Wet %
TDF ¹⁾	16.6	14.6
IDF ²⁾	12.9	11.6
SDF ³⁾	3.4	2.3

- 1) total dietary fiber
- 2) insoluble dietary fiber
- 3) soluble dietary fiber

Table 4. Body weight gain, food intake, feeding efficiency in rats fed casein diet and dehulled defatted soy flour diet

	Casein	Dehulled defatted soy flour
Body weight ²⁾ (g/day)	8.3±0.8 ¹⁾	8.8±0.7
Food intake ³⁾ (g/day)	23.8±1.2	21.8±1.9**
Feeding efficiency ⁴⁾ (%)	34.9±2.9	41.4±3.9***

- 1) Values are Means±SD(n=10), ** : $p < 0.05$, *** : $p < 0.001$
- 2) Body weight gain(g/day)=increased body weight(g)/49(day)
- 3) Food intake(g/day)=total food intake(g)/49(day)
- 4) Feeding efficiency(%)=(weight gain g/food intake g)×100

대두분군에서 낮게 나타난 것은 대두분의 섭취가 지방의 소화와 흡수 과정에 영향을 주어 콜레스테롤 농도를 낮추는 것으로 사료된다.

4. 지단백 분획의 지질 및 단백질 함량

실험식이를 섭취한지 2시간이 지난 후의 지단백 분획에서의 콜레스테롤, 중성지방과 단백질 함량을 측정한다. 결과는 Table 6과 같다. 식후 상태의 chylomicron/VLDL의 콜레스테롤 농도는 대두분군이 casein군에 비해 유의적으로 낮게 나타났고(p<0.05), LDL과 HDL의 콜레스테롤 농도에서는 대두분군이 casein군보다 유의적인 차이는 없었지만 낮게 나타났다. LDL과 HDL의 중성지방 함량은 대두분군이 casein군보다 유의적인 차이는 없었지만 낮게 나타났다. LDL의 단백질 함량은 대두분군이 casein군보다 낮게 나타났고(p<0.05), chylomicron/VLDL과 HDL의 단백질 함량은 유의적인 차이가 없었다. 지단백 분획의 지질 조성에 대한 본 실험의 결과는 대두분 섭취에 의한 식후 혈장 콜레스테롤의 저하가 chylomicron/VLDL-콜레스테롤 함량이 저하(p<0.05)한 데서 기인함을 보여준다. Chylomicron은 식사로부터 오는 콜레스테롤을 소장에서 혈액으로 운반하는 지단백이므로, 대두분이 소장에서의 콜레스테롤 흡수를 제어하여 chylomicron 콜레스테롤 농도를 저하시키거나 혹은 atherogenic한 chylomicron remnant⁹⁾가 HDL로 빨리 대사됨으로써 콜레스테롤 저하효과를 초래하는 것으로 사료된다²⁷⁾.

식이섬유나 식이지방이 지방의 흡수에 영향을 미쳐

콜레스테롤 농도에 영향을 미친다는 여러 보고²⁸⁾²⁹⁾처럼, 대두단백질에는 난소화성 펩타이드가 포함되어 있기 때문에 소화율이 동물성 단백질에 비해 낮은 편이며³⁰⁾, 소수성 펩타이드가 회장에서 담즙산과 결합하여 배설됨으로써 콜레스테롤 흡수를 저하한다³¹⁾. 뿐만 아니라 본 실험에 사용한 대두분에는 불용성과 수용성 식이섬유의 비율이 8 : 2로 함유되어 있으므로 수용성 식이섬유의 점성이 장관 내에서의 콜레스테롤 흡수 속도에 영향을 미쳐 식후 혈장 콜레스테롤 농도를 낮추는데 다소 기여했을 것으로 사료된다³²⁾. 이상과 같은 결과를 종합해 볼 때 대두분군에서의 식후 chylomicron/VLDL-콜레스테롤을 저하는 식이내 콜레스테롤 흡수 저하나 lipoprotein turnover 변화에 따른 것으로 사료되며, 이러한 생리적 변화가 대두분 섭취 후 지단백 조성에 변화를 초래하는 것으로 보인다.

5. 혈장의 호르몬 함량

식후 혈장 glucagon, T₃와 T₄의 농도는 Table 7과 같다. Glucagon 농도는 casein군이 272pg/ml, 대두분 섭취군이 323pg/ml, T₃ 농도는 casein군이 0.9ng/ml, 대두분 섭취군이 1.4ng/ml, T₄ 농도는 casein군이 8.4ng/dl, 대두분 섭취군이 9.1pg/dl로 대두분 섭취군이 casein 섭취군보다 다소 높았으나 유의적인 차이는 없었다. 본 실험의 결과는 대두단백질의 섭취가 원위의 내분비계에 변화를 일으켜 콜레스테롤 저하효과를 초래한다는 주장들⁵⁾⁶⁾과는 다소 차이가 있다. Forsythe³³⁾는 대두단백질을 섭취한 gerbil에서 casein 섭취군보다

Table 5. Postprandial plasma cholesterol, TG, phospholipid and protein concentrations in rats fed casein diet and dehulled defatted soy flour diet

	Casein	Dehulled defatted soy flour
Total cholesterol(mg/dl)	224.7±77.8 ^{b)}	129.3±42.6***
Triglyceride(mg/dl)	134.4±55.5	116.2±35.4
Phospholipid(mg/dl)	313.9±22.2	197.9±73.2**
Protein(g/dl)	5.3± 0.9	5.6± 0.9

1) Values are Means±SD(n=10) ** : p<0.05, *** : p<0.001

Table 6. Postprandial plasma lipoprotein cholesterol, TG and protein concentrations in rats fed casein diet and dehulled defatted soy flour diet

		Casein	Dehulled defatted soy flour
Lipoprotein cholesterol	Chylomicron/VLDL(mg/dl)	32.3± 12.7 ¹⁾	20.0± 3.6**
	LDL(mg/dl)	55.4± 24.3	38.5± 13.5
	HDL(mg/dl)	33.4± 11.3	27.8± 12.0
Lipoprotein TG	Chylomicron/VLDL(mg/dl)	40.2± 14.0	43.5± 14.5
	LDL(mg/dl)	40.9± 7.7	32.3± 9.1
	HDL(mg/dl)	16.9± 10.8	8.5± 7.7
Lipoprotein protein	Chylomicron/VLDL(mg/dl)	743.4±454.9	626.3±500.1
	LDL(mg/dl)	136.2± 25.3	93.6± 13.1**
	HDL(mg/dl)	140.4± 54.0	127.2± 36.6

1) Values are Means±SD(n= f0) ** : p<0.05

혈장내 thyroxine과 thyroid-stimulating hormone 농도가 높게 나타났지만, triiodothyronine에는 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 그 이유로는 대두단백질의 섭취가 hyperthyroidism을 유발하여 LDL receptor, HMG-CoA reductase 활성과 담즙산 배설을 증가시켜 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤을 감소시키는 때문이라고 하였다. 또한 Tsai 등³⁴⁾은 noninsulin dependent diabetes(NIDDM)인 비만 환자에게 soypolysaccharide를 섭취시켰을때 식후 혈중 glucagon 농도는 감소하고 somatostatin 농도는 증가되었으며 이는 soy polysaccharide의 섭취시 소화와 흡수가 지연되어 혈중 glucose와 중성지방의 농도가 감소된 때문이라고 하였다. 그러나 흰쥐를 이용한 본 실험에서는 대두분 섭취군의 glucagon, thyroxine 농도가 casein 섭취군과 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났는데, 이것은 혈액을 채취한 시점이 중요한 변수로 작용한 것 같다.

6. 간의 지질 함량

실험식을 섭취한지 2시간이 지난 후의 간장 중의 총지방, 콜레스테롤과 중성지방의 함량은 Table 8과 같다. 대두분 섭취는 casein 섭취에 비해 간의 총지방, 총콜레스테롤, 중성지방 함량을 유의적으로 감소하였

Table 7. Postprandial glucagon, T₃ and T₄ levels of plasma in rats fed casein diet and dehulled defatted soy flour diet

	Casein	Dehulled defatted soy flour
Glucagon(pg/ml)	272.3 ± 364.8 ¹⁾	323.8 ± 363.2
T ₃ (ng/ml)	0.9 ± 0.4	1.4 ± 0.8
T ₄ (µg/dl)	8.4 ± 0.4	9.1 ± 1.9

1) Values are Means ± SD(n=10)

Table 8. Postprandial liver total lipid, cholesterol, TG concentrations and HMG-CoA reductase activity in rats fed casein diet and dehulled defatted soy flour diet

	Casein	Dehulled defatted soy flour
Total lipid(%)	20.6 ± 2.5 ¹⁾	17.8 ± 2.6**
Cholesterol(mg/g)	34.2 ± 5.4	27.9 ± 4.4**
Triglyceride(mg/g)	26.9 ± 7.1	20.8 ± 3.4**
HMG-CoA reductase activity (nmole/min/mg protein ²⁾)	196.1 ± 66.5	181.9 ± 62.7

1) Values are Means ± SD(n=10) ** : p<0.05, *** : p<0.001

2) Units are in terms of milligrams of microsomal protein

Table 9. Small intestinal amylase, trypsin and lipase activity in rats fed casein diet and dehulled defatted soy flour

	Casein	Dehulled defatted soy flour
Amylase activity(units/total small intestine)	1.9 ± 1.5 ¹⁾	0.8 ± 0.3**
Trypsin activity(units/total small intestine)	29.2 ± 1.3	13.4 ± 2.4**
Lipase activity(units/total small intestine)	329.0 ± 1.4	477.4 ± 1.4**

1) Values are Means ± SD(n=10) **p<0.05

다(p<0.05). 간의 콜레스테롤 농도는 실험식의 장기간 섭취에 따른 콜레스테롤 저하효과를 반영하는 것이며, 식후 상태에 따른 단기간 적응현상은 아니다. 따라서 본 실험의 결과는 비가열 대두단백질을 장기간 섭취한 동물에서 얻어진 연구 결과와 일치하였으며²³⁾³⁵⁾, 이러한 체내 콜레스테롤 pool의 감소는 콜레스테롤 합성 및 LDL-receptor 활성 조절에 의한 것이거나⁵⁾ 감소된 담즙산의 장간재순환에 기인한 것으로 보인다.

7. Microsomal HMG-CoA reductase의 활성 측정

대두분 섭취가 간에서의 식후 콜레스테롤 합성능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 간세포로부터 분리한 microsomal fractions에서 HMG-CoA reductase 활성을 측정하였으며, 그 결과는 Table 8과 같다. 간에서의 HMG-CoA reductase의 활성은 casein 섭취군보다 낮게 나타났지만 유의적인 차이는 없었다. 대두분 섭취가 콜레스테롤 합성능에 미치는 영향에 대해서는 상반된 결과가 보고되고 있다. 즉 최용순과 이상영³⁶⁾은 대두단백질이 casein에 비하여 HMG-CoA reductase 활성을 감소시켜 체내 콜레스테롤 pool을 감소시킨다고 보고하였으나, Nagata 등³⁰⁾은 대두단백질 섭취로 인해 감소된 간장 중의 콜레스테롤을 보충하기 위해 간의 LDL-receptor와 HMG-CoA reductase 활성을 상승시켜 콜레스테롤 생합성을 향진시킨다고 하였다. 콜레스테롤 합성에서 율속 효소로 알려져 있는 HMG-CoA reductase는 뚜렷한 diurnal variation을 나타내므로³¹⁾³⁵⁾ 본 실험이 행해진 시간(오후 1시)과 식이섭취 상태가 간세포에서의 콜레스테롤 합성능과 간세포의 콜레스테롤의 유입에 의해 영향을 줄 수 있다고 보아진다.

8. 소장내 소화효소 활성

소장의 소화효소인 trypsin, amylase와 lipase의 활

성은 Table 9에 나타내었다. 대부분 섭취군의 소장 trypsin과 amylase 활성은 casein군에 비해 유의적으로 낮게 나타났고, lipase 활성은 대두분군에서 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 본 실험의 결과는 trypsin inhibitor를 함유한 대두단백질 섭취시 casein 섭취시보다 trypsin 활성이 낮아졌다는 Roy와 Schneeman³⁷⁾의 결과와 일치한다. 콩을 장기간 섭취하면 체장이 비대해지고 trypsin의 함성도 증진된다고 보고³⁸⁾되고 있으나 대두분을 섭취한 2시간 후의 trypsin 활성이 이렇게 저하한 것은 trypsin inhibitor에 의한 trypsin의 불활성화 때문으로 사료된다. 본 실험에 사용한 대두분은 autoclave로 열처리하여 trypsin 방해작용이 90% 이상 제거되었다고 할 수 있으나³⁸⁾, 대두분 섭취에 따른 trypsin 활성의 저하는 식이에 trypsin inhibitor 활성이 다소 남아있음을 반영한다. 반면 lipase 활성은 대두분 섭취군에서 높아졌는데, lipase 활성의 증가는 장기간 대두분 섭취에 따른 체내 지질 농도 저하를 보상하려는 생체의 homeostasis로 간주된다.³⁹⁾

요약 및 결론

본 실험은 대두분 첨가 식이가 콜레스테롤 대사에 작용하는 기작에 대해 알아보기 위하여 대두분을 섭취한 2시간 후의 식후 상태 혈장, 지단백 조성, 간지질 조성, 콜레스테롤 합성효소 활성, 소장에서의 소화효소 활성, 호르몬 농도에 미치는 영향을 흰쥐를 이용하여 조사하였다. 대조군은 동물성 단백질인 casein을 급식한 군으로 하였다. 7주간의 대두분 급여 효과로 1일 평균 체중 증가량은 각 식이군간에 유의적인 차이를 보이지 않았고, 1일 평균 섭취량은 대두분군이 casein군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 식이효율은 대두분군이 casein군에 비해 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.001$). 혈장 내의 콜레스테롤과 인지질 농도는 대두분 섭취군에서 낮았으며($p < 0.05$), 단백질과 중성지방의 농도는 두 군간에 차이가 없었다. 특히 chylomicron/VLDL-콜레스테롤 농도가 대두분군에서 유의적으로 낮았다. 간의 콜레스테롤 농도, 중성지방과 총지방의 농도는 대두분 섭취군에서 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 간의 HMG-CoA reductase 활성은 casein에 비하여 대두분군에서 낮게 나타났지만 유의적인 차이는 없었다. 호르몬 상태에서도 유의적 차이는 없었지만, 대두분 섭취군의 T_3 와 T_4 의 농도는 casein군보다 증가하였다. 소장에서의 소화효소 활성은 대두분 섭취군의 trypsin과 amylase 활성은 casein군에

비해 유의적으로 낮게 나타났고, lipase 활성은 대두분군이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 이상의 결과를 통해 볼 때 대두분 첨가 식이는 식후 흰쥐에서의 콜레스테롤 소화와 흡수에 영향을 미쳐 chylomicron-콜레스테롤 농도를 낮추거나 chylomicron remnant의 HDL로의 대사에 영향을 미치는 것으로 보인다. Glucagon이나 T_4 등의 호르몬이나 HMG CoA reductase 활성등은 대두분을 섭취한 흰쥐의 식후 lipid profile에 영향을 미치는 것으로 보이지 않는다.

Literature cited

- 1) Cho SH. Dietary lipid and atherosclerosis. *J Korean Soc Food Nutr* 23(1) : 170-179, 1994
- 2) Kritchevsky D. Dietary protein, cholesterol and atherosclerosis : A review of the early history. *J Nutr* 125 : 589S-593S, 1995
- 3) Terpstra AHM, Tintelen G, West CE. The hypocholesterolemic effects of dietary soy protein in rats. *J Nutr* 112 : 810-817, 1982
- 4) Tanaka K, Aso B, Sugano M. Biliary steroid excretion in rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixtures. *J Nutr* 114 : 26-32, 1984
- 5) Potter SM. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. *J Nutr* 125 : 606S-611S, 1995
- 6) Forsythe WAIII. Soy protein, thyroid regulation and cholesterol metabolism. *J Nutr* 125 : 619S-623S, 1995
- 7) Milner JA, Hassan AS. Species specificity of arginine deficiency-induced hepatic steatosis. *J Nutr* 111 : 1067-1073, 1981
- 8) Park JR, Choi SH. Effects of sulfur-containing amino acids on lipid metabolism in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 24(6) : 978-983, 1995
- 9) Zilversmit DB. Atherogenesis : A postprandial phenomenon. *Circulation* 60 : 473-485, 1979
- 10) Bisgair CL, Hickman RM. Intestinal synthesis, secretion, and transport of lipoproteins. *Annu Rev Physiol* 45 : 625-636, 1983
- 11) Choi YS, Lee SY. Cholesterol-lowering effects of soybean products (curd or curd residue) in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 22(6) : 673-677, 1993
- 12) Jonalagadda SS, Sabharwal P, Pratt CA, Barbeau W. The effect of dry heat on the bioavailability of iron in soy flour. *J Am Oil Chem Soc* 68 : 944-948, 1991
- 13) Eklund A, Sjoblom L. Effect of the source dietary protein on serum lower density lipoprotein (VLDL+LDL) and tocopherol levels in female rats. *J Nutr* 110 : 2321-2335, 1980

- 14) Converse CA, Skinner RE. Lipoprotein analysis, A practical approach. pp.20-22, 205-208. Oxford University Press, Oxford, 1992
- 15) Shin HS. Food analysis. pp.69-87, Shin Kwang Pub. Com., Seoul, 1992
- 16) Prosky L, Asp N, Scheizer TF, Devries JW, Furda I. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products : Interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem* 77 : 1017-1023, 1988
- 17) Lowry OH, Rosebrouh NJ, Farr AL and Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 18) Folch I, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 226 : 497-509, 1956
- 19) Hummel BCW. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Can J Biochem Physiol* 37 : 1393-1399, 1959
- 20) Hwang SH, Sung CJ, Kim JL. Analysis of dietary fiber contents of common Korean foods. *J Kor Soc Food Nutr* 24(3) : 396-403, 1995
- 21) Liener IE. Factors affecting the nutritional quality of soya products. *J Am Oil Chem Soc* 58 : 406-415, 1981
- 22) Luhman CM, Faidley TD, Beitz DC. Postprandial lipoprotein composition in pigs fed diets differing in type and amount of dietary fat. *J Nutr* 122 : 120-127, 1992
- 23) Park MS, Kudchodkar BJ, Liepa GU. Effect of dietary animal and plants proteins on the cholesterol metabolism in immature and mature rats. *J Nutr* 117 : 30-35, 1987
- 24) Hamilton RMG, Carroll KK. Effects of dietary protein and carbohydrate on plasma cholesterol levels in relation to atherosclerosis. *J Food Sci* 40 : 18-23, 1976
- 25) Kim KL, Kim WY. A study on the hypolipidemic effects of soy protein in rats. *Korean J Nutr* 17(1) : 68-77, 1984
- 26) Lee YS, Koh JS. Effects of dietary soy protein and calcium on blood and tissue lipids in rats fed fat-enriched diet. *Korean J Nutr* 27(1) : 3-11, 1994
- 27) Redgrave TG, Carlson LA. Changes in plasma very low-density and low-density lipoprotein content, composition and size after a fatty meal in normal and hypertriglyceridemic man. *J Lipid Res* 20 : 217-229, 1979
- 28) Ikeda L, Tomari Y, Sugano M. Interrelated effects of dietary fiber and fat on lymphatic cholesterol and triglyceride absorption in rats. *J Nutr* 119 : 1383-1387, 1989
- 29) Song YS, Yang JL, Suh MJ. Effects of sodium alginate and cellulose on gastrointestinal physiology in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25(4) : 551-559, 1996
- 30) Han JH. Effects of dehulled defatted soy flour on the hormonal status and cholesterol metabolism in rats. Thesis, Inje University, 1996
- 31) Lee SY, Choi YS. Cholesterol, pp.91-102, Shin Kwang Pub. Com., Seoul, 1990
- 32) Kang HJ, Suh MJ, Song YS. Effects of sodium alginate and cellulose on postprandial plasma lipoprotein and cholesterol metabolism in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 23(6) : 887-893, 1994
- 33) Forsythe WAlII. Dietary protein, cholesterol and thyroxine : A proposed mechanism. *J Nutr Sci Vitaminol* 36(Suppl) : 595-598, 1990
- 34) Tsai AC, Vinik AI, Lasichak A and Lo GS. Effects of soy polysaccharide on postprandial plasma glucose, insulin, glucagon, pancreatic polypeptide, somatostatin and triglyceride in obese diabetic patients. *Am J Clin Nutr* 45 : 596-601, 1987
- 35) Choi YS, Lee SY. Serum cholesterol and 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A reductase. *J Korean Soc Food Nutr* 21(5) : 580-593, 1992
- 36) Nagata Y, Tanaka K, Sugano M. Further studies on the hypocholesterolemic effect of soya-bean protein in rats. *Br J Nutr* 45 : 233-241, 1981
- 37) Roy DM, Schneeman BO. Effect of soy protein, casein and trypsin inhibitor on cholesterol, bile acids and pancreatic enzymes in mice. *J Nutr* 111(5) : 878-885, 1981
- 38) Rackis JJ. Biologically active substances in soy products. In Soybean : Chemistry and technology. pp.158-202, Ed by Smith and Circle. Avi. Pub. Co. Westport, 1972
- 39) Yang JL, Suh MJ, Song YS. Postprandial plasma lipid levels and digestive enzyme activities after high fat meal in rats adapted to dietary fiber. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26(1) : 116-122, 1997