

노란콩 및 검정콩의 섭취가 흰쥐의 항산화 및 항노화 시스템에 미치는 영향

류승희 · 문갑순[†]

인제대학교 바이오헬스 소재 연구센터, 식품과학연구소 및 식품생명과학부

Antioxidative and Antiaging Effects of Dietary Yellow and Black Soybean in Rats

Seung-Hee Ryu and Gap-Soon Moon[†]

Biohealth Products Research Center, Food Science Institute, and School of Food and Life Science,
Inje University, Kimhae 621-749, Korea

Abstract

To investigate antioxidative and antiaging effects of yellow and black soybeans *in vivo* system, male SD rats ($n=24$) were fed the diets containing casein (C), yellow soybean (YS) or black soybean (BS) for 8 weeks. Experimental groups showed the preventive effect on lipid and protein oxidation, especially protein oxidation of plasma was significantly inhibited in BS group. SOD and catalase activities were not different among the groups, but hepatic glutathione peroxidase (GSH-px) activity was significantly lowered in YS and BS groups compared with control group. The contents of superoxide anion radical in cytosol were significantly lowered in experimental groups compared with control group. And hydroxyl radical was slightly lowered in soybean groups. Lipofuscin accumulation on the heart and eyes of rats was effectively inhibited by yellow soybean and black soybean, respectively. In conclusion, these results suggest that yellow soybean and black soybean have the antioxidative/antiaging effect *in vivo* system and they have similar activities despite different color of seed coat.

Key words: yellow soybean, black soybean, antioxidative, antiaging

서 론

콩은 단백질과 지질의 함량이 풍부하여 쌀 중심의 우리 식생활을 보완해주는 식품으로 잘 알려져 있으며 장류, 두부, 두유 등으로 중요하게 이용되고 있다(1). 뿐만 아니라 여러 가지 생리적 조절 작용이 보고되고 있으며(2-4), 이 중 콩의 항산화효과에 관한 결과들도 보고되었다(5,6). 콩 단백질 추출물, 탄자 대두분, 전조콩의 열수 추출물에서 항산화효과가 나타났다는 Pratt과 Birac의 보고(7)와 5~10%의 생콩가루의 첨가가 라드의 저장 안정성을 현저하게 증가시켰다는 보고(8), β -carotene과 linoleic acid를 이용하여 측정했을 때 견조된 콩이 항산화효과를 발휘하였다 보고(9) 등 콩의 항산화효과에 대한 많은 보고가 있으며(10,11), 항산화효과를 나타내는 것으로 알려진 물질로는 genistein과 daidzein을 포함하는 isoflavones 및 phenolic acids, tocopherol, phytic acid, trypsin inhibitor와 아미노산 및 peptide들이 있다(12).

콩은 황, 백, 흑, 갈, 청, 반(열록) 등 다양한 종피색을 가지고 있고 노란콩은 장을 담거나 두부나 두유, 또는 콩기름 제조에 주로 이용되며, 검정콩은 밥밑콩이나 약콩이라 하여 한방에서 귀하게 사용되어 왔다(1). 검정콩은 노란콩과는 달-

리 종피에 안토시아닌 색소를 함유하고 있으며(13) *in vitro*에서 종피 색이 다른 콩의 항산화효과를 비교·측정한 Bae와 Moon(14)은 노란콩보다 밤콩, 검정콩, 소립검정콩 등 색이 짙은 콩의 항산화효과가 높았고 콩의 항산화효과의 차이는 콩껍질의 주요 색소인 안토시아닌 함량과 높은 관련성이 있음을 보고하였다(14). 최근 검정콩에 관한 여러 연구(15,16)가 이루어지고 있으며 특히 종피 색소에 관한 연구가 Son 등(17,18)과 Choung 등(19)에 의해 보고되었고, 검정콩을 이용한 청국장에 관한 연구(20)도 보고되었다. 또한 검정콩 섭취 시 식후 지질대사관련 지표나 분변으로의 지질배설에 관한 연구(21)도 있으나 항산화시스템에 관련된 논문은 보고된 바 없다. 따라서 본 실험에서는 *in vivo* system에서 노란콩과 검정콩의 항산화효과를 비교하기 위해 흰쥐를 이용하여 지질과산화 및 단백질 산화, 항산화효소계의 활성, 활성산소 종 함량을 측정하여 비교하고, 리포퓨신 함량을 측정하여 콩의 항노화활성을 평가하였다.

재료 및 방법

재료 및 식이조성

단원콩(영남작물시험장에서 분양) 및 검정콩(수원 155

[†]Corresponding author. E-mail: fdsnmoon@inje.ac.kr
Phone 82-55-320-3234. Fax: 82-55-321-0691

Table 1. Proximate compositions of casein, yellow soybean and black soybean

Ingredients	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash	Total dietary fiber	Carbohydrate (%)
Casein	9.05	83.45	0.50	0.10	0.00	6.85
Yellow soybean ¹⁾	5.84	30.91	18.55	4.81	17.30	22.59
Black soybean ²⁾	8.39	31.11	18.20	4.78	16.00	21.52

¹⁾Powdered yellow soybean (*Danwon*) was autoclaved and dried.

²⁾Powdered black soybean (*Suwon 155*) was autoclaved and dried.

호)을 분쇄한 후 trypsin inhibitor의 활성을 저해시키기 위해 (22) 121°C에서 15분간 가압증자하여 건조시킨 뒤 식이 제조에 사용하였다. 수분은 상압가열건조법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조단백질은 Kjeldahl법, 조회분은 회화법(23), 식이 섬유는 Prosky 등에 의해 개발 수정된 AOAC법(24)으로 측정하였고 그 결과는 Table 1에 나타내었다. 이 함량을 바탕으로 단백질, 지질, 식이섬유 함량이 동일하도록 casein, soybean oil, cellulose의 양을 조정하였고 노란콩 및 검정콩의 무기질 함량이 대조군 식이와 동일하도록 부족한 무기질을 보충하여 식이를 제조하였다(Table 2).

실험동물의 사육

100 g 정도의 SD계 흰쥐(n=24)를 실험동물센터(대전)에서 구입하여 고형식이로 일주일간 적응시킨 후 완전임의배치법(completely randomized design)에 의해 평균 체중이 유사하도록 대조군(C), 노란콩 섭취군(YS), 검정콩 섭취군(BS)으로 나누어 8주간 사육하였다. 사육기간동안 식수로 지하수를 자유로이 섭취하도록 충분히 공급하였으며 식이 섭취량 및 체중증가량을 측정하여 식이효율을 구하였다. 사육실의 온도는 20~25°C를 유지하였으며 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다.

시료의 처리

식이섭취 8주 후에 희생시킨 실험동물은 드라이아이스로

Table 2. Compositions of experimental diets for the animal study

Group Ingredients	Control	Yellow soybean	Black soybean
Casein	20.0	-	-
Yellow soybean ¹⁾	-	54.0	-
Black soybean ²⁾	-	-	53.7
D.L-Methionine	0.3	0.5	0.5
Sucrose	30.0	30.0	30.0
Soybean oil	10.0	-	0.3
Corn starch	25.7	12.5	12.4
Cellulose	9.3	-	0.2
Mineral mixture ³⁾	3.5	0.9	0.9
Vitamin mixture ⁴⁾	1.0	1.0	1.0
Cholin bitartrate	0.2	0.2	0.2
CaCO ₃	-	0.8	0.7
NaCl	-	0.1	0.1
Total	100.0	100.0	100.0

^{1,2)}See the legend of Table 1.

³⁾AIN-76 mineral mixture.

⁴⁾AIN-76 vitamin mixture.

마취시켜 심장에서 채혈하였고 간, 심장, 안구 등을 적출하여 0.9% 생리식염수로 세척한 뒤 여과자로 물기를 제거하고 -70°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 혈액은 채혈한 즉시 원심분리하여 혈장을 취해 -70°C에서 보관하면서 지질과 산화 및 단백질 산화를 측정하였다. 간에서는 지질과산화, 단백질 산화, 항산화 효소계 활성 및 활성산소종의 함량을 측정하였고 심장과 눈에서 리포유산 생성정도를 측정하였다.

지질과산화 및 단백질 산화의 측정

혈장에서의 지질과산화물 함량은 Buege와 Aust(25)의 방법으로 측정하였고 간조직에서의 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등(26)의 방법에 따라 측정하였다. 이때 standard로는 1,1,3,3-tetramethoxypropane(TMP)를 사용하였으며 측정된 값을 표준곡선에 대입시켜 malondialdehyde(MDA)의 양으로 환산하였다.

간과 혈장에서 단백질 carbonyl 함량은 DNPH(2,4-dinitrophenyl hydrazine)를 이용한 Oliver 등(27)의 방법에 준하여 측정하였다. 침전된 단백질에 2,4-DNPH시약을 가해 반응시킨 후 에타놀과 에틸아세테이트의 혼합액으로 세척하고 6 M guanidine-HCl용액을 가해 용해시켜 370 nm에서 흡광도의 차를 측정하고 흡광계수($22 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 환산하였다.

항산화 효소계의 활성 측정

SOD 활성 측정 : Total SOD(superoxide dismutase)활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund의 방법(28)을 이용하여 420 nm에서 측정하였다. SOD 1 unit은 1분 동안 pyrogallol의 자동산화를 50%까지 억제하는데 요구되는 효소의 양으로 하였고, Mn-SOD의 활성은 1 mM KCN으로 Cu,Zn-SOD 활성을 저해한 뒤 동일한 방법으로 측정되었고 Cu,Zn-SOD의 활성은 total SOD에서 Mn-SOD활성을 뺀 값으로 계산하였다.

Catalase 활성 측정 : 간의 catalase활성의 측정은 Aebi의 방법(29)에 의해 50 mM Na-K 인산 완충액(pH 7.0), 기질로 30 mM H₂O₂용액과 시료액을 취해 240 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소의 활성은 1분동안 1 μmol의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

Glutathione peroxidase 활성 측정 : 간의 glutathione peroxidase(GSH-px)활성은 Lawrence와 Burk(30)의 방법에 의해 측정하였다. 즉 효소 활성은 GSH-px가 H₂O₂를 제거하면서 소비된 GSH를 환원형으로 전환시키는데 필요한

NADPH의 양을 340 nm에서 측정하였고 GSH-px 1 unit는 1분간 1 μmol NADPH를 산화시키는 효소의 양으로 정의하였다. Peterson(31)의 방법에 의해 bovine serum albumin (BSA)- $\frac{1}{2}$ 표준단백질로 사용하여 단백질량을 측정하였다.

활성산소종 함량 측정

활성산소종의 함량을 측정하기 위해 간 subcellular fraction을 분리하여 세포질 혈분에서 superoxide anion($\text{O}_2^- \cdot$)을, 미토콘드리아 혈분에서 hydroxyl radical($\cdot\text{OH}$)을 Choi 등(32)의 변형된 방법에 의해 측정하였다. 세포질 혈분에서의 superoxide anion 함량은 시료에 0.1 mM EDTA를 함유한 0.3 M 친산완충액(pH 7.4), 3 mM potassium cyanide, 0.1 mM cytocrome C을 혼합한 용액을 첨가하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였고 1분간의 흡광도 변화에 흡광계수 393.33을 곱한 뒤 단백질 함량을 고려하여 superoxide anion의 농도로 환산하였다.

간의 미토콘드리아 혈분에서 hydroxyl radical 함량은 0.1 M 인산칼륨완충액(pH 7.4), 10 mM NaN_3 , 7 mM deoxyribose, 5 mM ferrous ammonium sulfate, 0.54 M NaCl를 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시켰다. 이 혼합액에 8.1% SDS 75 μL , 20% acetic acid 500 μL , 중류수 25 μL , 그리고 1.2% TBA 333 μL 를 첨가하여 30분간 가열하여 반응시킨 뒤 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 standard로는 TEP(1,1,3,3-tetraethoxypropane)를 사용하였으며 측정된 값을 표준곡선에 대입시켜 malondialdehyde(MDA)의 양으로 환산하였다.

리포유신 함량 측정

Fletcher 등(33)의 방법을 이용하여 심장과 눈에서 리포유신 함량을 측정하였다. 즉 클로로포름:메탄올(2:1, v/v)을 첨가하여 균질화한 뒤 중류수를 가해 혼합하고 3,000 rpm에서 2분간 원심 분리시켰다. 클로로포름층을 취해 메탄올과 혼합한 뒤 excitation 365 nm, emission 450 nm에서 형광스펙트럼을 측정하였고 대조군의 형광도와 비교하여 상대적인 형광도로 나타내었다.

통계처리

실험결과는 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, SPSS program을 이용하여 one-way ANOVA로 처리한 뒤 유의차가 나타날 경우 Turkey test로 각 군간의 유의성을 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

식0 섭취량, 체중 증가량 및 식이 효율

각각의 실험식이로 8주간 사육한 흰쥐의 섭취량, 체중증가량 및 식이 효율을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 1일 평균 섭취량은 대조군 18.81 ± 1.16 g/day, 노란콩 섭취군 16.93 ± 0.98 g/day, 검정콩 섭취군 18.13 ± 1.26 g/day로 대조군에 비해 노란콩 섭취군에서 유의적으로 감소되었고 이는 콩 특유의 비린 냄새에 기인하는 것으로 여겨진다. 1일 평균 체중

Table 3. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio in rats fed yellow soybean and black soybean for 8 weeks

Group	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/day)	Food efficiency ratio ¹⁾ (%)
Control	$18.81 \pm 1.16^{2a3)}$	4.43 ± 0.36^a	$23.54 \pm 1.18^{NS4)}$
Yellow soybean	16.93 ± 0.98^b	3.84 ± 0.39^b	22.70 ± 2.08
Black soybean	18.13 ± 1.26^{ab}	4.28 ± 0.57^{ab}	23.60 ± 2.46

¹⁾Food efficiency ratio = (body weight gain/food intake) $\times 100$.

²⁾Values are mean \pm SD.

³⁾Data with different subscription in the same column are significantly different analyzed by Turkey's test at the level of 0.05.

⁴⁾Data are not significantly different.

증가량도 노란콩 섭취군의 경우 3.84 ± 0.39 g/day로 대조군 4.43 ± 0.36 g/day와 비교해서 유의적으로 낮은 값을 나타내었고, 검정콩 섭취군은 4.28 ± 0.57 g/day으로 유의적인 차이는 없었다. 그러나 식이효율은 대조군 $23.54 \pm 1.18\%$, 노란콩 섭취군 $22.7 \pm 2.08\%$, 검정콩 섭취군 $23.60 \pm 2.46\%$ 로 세 군간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 콩은 trypsin inhibitor와 가스생성 인자 등이 있어 소화율이 저하되는 것으로 알려져 있으나(34) 본 실험에서 methionine이 보충된 열처리 대두분의 식이효율은 대조군에서 이용된 카제인과 유사한 것으로 나타나 이는 Liener의 결과(34)와 일치하였다.

지질과산화 억제효과

노란콩 및 검정콩 식이를 제조하여 S.D계 흰쥐에 8주간 섭취시킨 후 희생시켜 혈장과 간의 지질과산화 함량을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 혈장에서 지질과산화 정도는 유의적인 차이는 없었으나 노란콩 섭취군에서 0.57 ± 0.09 nmole MDA/mg protein으로 가장 낮았고 검정콩 섭취군(0.72 ± 0.16 nmole MDA/mg protein)은 대조군(0.75 ± 0.25 nmole MDA/mg protein)과 유사한 것으로 나타났다. 간에서의 지질과산화 정도는 대조군(0.91 ± 0.23 nmole MDA/mg protein)

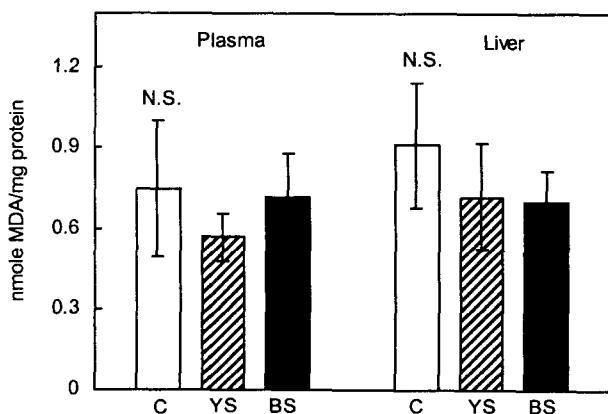


Fig. 1. TBARS values of plasma and liver in rats fed experimental diets for 8 weeks.

C, YS and BS mean control, yellow soybean and black soybean group respectively.

Values are mean \pm SD ($n=8$).

^{NS}Data are not significantly different.

에 비해 노란콩 섭취군(0.72 ± 0.20 nmole MDA/mg protein) 및 검정콩 섭취군(0.70 ± 0.11 nmole MDA/mg protein)에서는 유의적인 차이는 없었으나 약간 감소하는 것으로 나타났다. 생체 내 지질과산화 반응은 노화나 동맥경화를 비롯한 많은 퇴행성 질환의 중요한 위험인자이다(35). Shin과 Han(15)의 연구에 따르면 고지방과 고콜레스테롤 식이를 금여한 고지혈증 환쥐에 있어 검정콩 추출물의 섭취는 lipid profile의 개선효과를 나타내었다. 본 연구에서 사용되어진 식이는 지방이 많이 함유되어 있지 않았고 따라서 8주간의 섭취동안 지질과산화를 과격하게 유발하지 않아 콩의 지질과산화 억제효과가 뚜렷하지는 않은 것으로 사료된다.

단백질 산화 억제효과

혈장의 경우 대조군(87.54 ± 4.57 nmole carbonyls/mg protein)에 비해 노란콩 섭취군(79.50 ± 7.69 nmole carbonyls/mg protein)과 검정콩 섭취군(55.82 ± 6.79 nmole carbonyls/mg protein)에서 단백질 산화를 각각 9.2%와 36.2% 억제하였고 특히 검정콩은 대조군에 비해 단백질의 산화를 유의적으로 감소시켰다. 간에서는 검정콩 섭취군(62.65 ± 12.14 nmole carbonyls/mg protein)이 대조군(77.16 ± 16.30 nmole carbonyls/mg protein)에 비해 유의적인 차이가 없었고, 노란콩 섭취군(70.09 ± 10.11 nmole carbonyls/mg protein)도 대조군과 유사한 것으로 나타냈다(Fig. 2). Protein carbonyl법은 대사과정 중 생성된 활성산소나 지질의 과산화물이 지니고 있는 유리 라디칼에 의한 생체내 단백질 손상을 민감하게 측정할 수 있는 방법이다(35). 본 실험에서 검정콩의 섭취는 혈장의 단백질 산화를 유의적으로 억제하였고 이는 검정콩이 체내 활성라디칼을 소거한 것으로 여겨진다. Ramirez-Tortosa 등(36)은 비타민 E 결핍쥐에게 안토시아닌이 풍부한 추출물을 섭취시킨 결과 지질과산화 및 DNA 손상이 감소하였다고

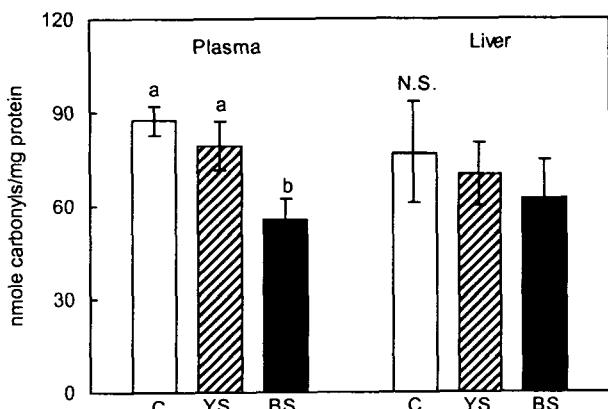


Fig. 2. Protein carbonyl values of plasma and liver in rats fed experimental diets for 8 weeks.

C, YS and BS mean control, yellow soybean and black soybean group respectively.

Values are mean \pm SD ($n=8$).

^{NS}Data are not significantly different.

^{a,b}Data are significantly different analyzed by Turkey's test at the level of 0.05.

보고하면서 안토시아닌의 생체내 항산화작용을 확인하였다. 그러나 이 추출물에는 다른 성분이 같이 함유되어 있었으므로 안토시아닌 만의 작용으로 단정지울 수 없으며 실제로 섭취시 어떤 경로로 대사되는지에 관한 연구가 더 필요하다고 여겨진다.

항산화 효소계 활성

노란콩 및 검정콩 섭취군의 항산화 효소계 활성을 측정한 결과를 Table 4에 나타내었다. SOD 활성 및 catalase 활성은 세 군간에 유의적인 차이가 나타나지 않았고 GSH-px의 경우에 있어서는 대조군에 비해 콩섭취군의 경우 유의적으로 그 활성이 낮았는데 대조군과 비교해서 50% 이상 낮아졌다. 콩 섭취군에서 이를 효소계가 induction되지 않은 것은 고혈 암 유발쥐(SHR)에 콩을 7주간 섭취시키고 지질과산화나 항산화 효소계의 활성을 측정한 결과 SOD와 catalase는 유의적인 차이가 없었던 반면 GSH-px의 활성은 콩 섭취군에서 유의적으로 낮아진 결과를 얻은 Yang의 결과(37)와 일치하였다.

체내 항산화 효소계는 간에 주로 함유되어 있고, 이를 효소계는 대사 과정 중 발생하는 활성산소 중의 유리기를 제거하여 생체를 보호하려는 목적으로 생물체와 더불어 발달되어 왔다(38). Orr와 Sohal(39)은 초파리의 Cu,Zn-SOD와 catalase의 과발현은 수명을 연장시키고 노화와 관련된 생화학적, 기능적 변화를 지연시켰으며 또한 항산화효소계를 과발현시킨 군은 대조군에 비해 단백질 카르보닐 함량도 상대적으로 적었음을 보고하였다. GSH-px의 활성 또한 나이, 성, 환경적인 요인, 그리고 과산화된 지질의 섭취 등 여러 가지 인자에 의해 영향을 받는 것으로 보고되어 있으며(30), 본 연구에서 생체내에서 과산화를 유발하는 극심한 산화적 스트레스가 존재하지 않는 상황에서 노란콩 및 검정콩의 섭취는 항산화 효소계의 induction 없이 지질과산화나 단백질의 산화를 억제하였고 이를 중에 풍부하게 존재하는 항산화 물질들이 작용하여 생체를 효과적으로 보호하였다고 보아진다.

활성산소종 생성 억제효과

간의 세포질에서 superoxide anion radical의 함량을 측정

Table 4. Hepatic SOD, catalase, GSH-px activities of rats fed yellow soybean and black soybean diets
(unit/mg protein)

Group	Control	Yellow soybean	Black soybean
Total SOD	$15.05 \pm 2.65^{\text{NS}}$	14.81 ± 2.14	14.69 ± 1.89
SOD Mn-SOD	$10.19 \pm 1.54^{\text{NS}}$	10.02 ± 1.21	10.67 ± 1.80
CuZn-SOD	$4.86 \pm 1.97^{\text{NS}}$	4.78 ± 1.69	4.03 ± 0.93
Catalase	$4.20 \pm 0.64^{\text{NS}}$	4.27 ± 0.41	4.19 ± 0.60
GSH-px	$334.44 \pm 41.10^{\text{a}}$	$146.30 \pm 34.88^{\text{b}}$	162.66 ± 29.38

Values are mean \pm SD.

^{NS}Data were not significantly different.

^{a,b}Data with different subscription in the same row are significantly different analyzed by Turkey's test at the level of 0.05.

한 결과 대조군이 2.13 ± 0.38 nmole/mg protein인 것에 비해 노란콩 및 검정콩 섭취군은 1.37 ± 0.40 nmole/mg protein과 1.27 ± 0.35 nmole/mg protein으로 대조군에 비해 유의적으로 낮아짐을 알 수 있었다(Fig. 3). 미토콘드리아 회분에 있는 hydroxyl radical 함량은 개체간의 차이가 커서 유의적이지는 않았으나 대조군(3.05 ± 1.20 nmole/mg protein)에 비해 노란콩 섭취군(2.33 ± 1.21 nmole/mg protein)은 24% 감소되었고, 검정콩 섭취군(2.57 ± 0.95 nmole/mg protein)도 16% 감소되었다(Fig. 3).

노란콩 및 검정콩을 섭취시켰을 때 항산화 효소계가 inductior 되지 않았음에도 불구하고 간이나 혈장의 MDA나 단백질 carbonyl level이 증가하지 않았으며 또한 superoxide anion의 생성도 유의적으로 억제되었다는 것은 노란콩 및 검정콩에 존재하는 genistein과 daidzein을 포함하는 isoflavones 및 phenolic acids 등의 항산화 물질이 일차적으로 활성산소 종의 생성을 억제하고 지질과산화나 단백질의 산화를 일으키지 않았기 때문으로 생각할 수 있다. 또한 단백질이 풍부한 노란콩 및 검정콩이 소화·대사되는 과정에서 항산화 활성이 있는 peptide 및 아미노산으로 일부 분리되어 작용하였을 것으로 여겨진다.

리포퓨신 생성 억제효과

흰쥐에게 콩 식이를 섭취시켜 노화와 더불어 축적되는 리포퓨신 함량을 측정하였다. 리포퓨신은 퇴화에 따른 고지방 물질의 외부 또는 내부 라이소좀 과산화 교체의 결과로 형성되는 물질로서 이것이 세포에 축적되면 세포퇴화가 일어나고 세포가 죽게 되므로 리포퓨신 함량은 노화측정의 좋은 지표가 된다(40,41). 리포퓨신의 축적이 잘 일어나는 심장과 눈에서 리포퓨신의 함량을 측정한 결과는 Fig. 4와 같았다. 심장에서 대조군에 비해 유의적으로 리포퓨신의 축적이 낮아

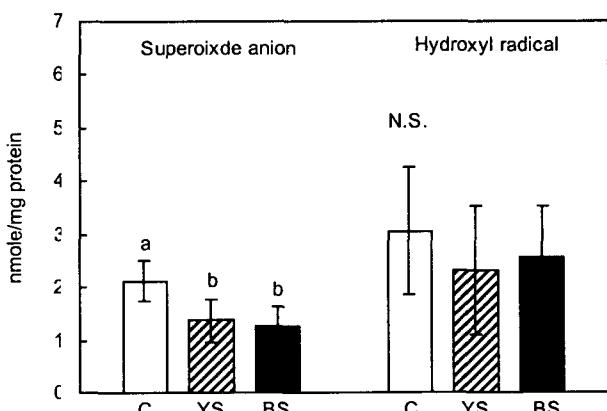


Fig. 3. Superoxide anion and hydroxyl radical contents of liver in rats fed experimental diets.

C, YS and BS mean control, yellow soybean and black soybean group respectively.

Values are mean \pm SD ($n=8$).

^{a,b}Values with different alphabets on the bar are significantly different analyzed by Turkey's test at the level of 0.05.

^{NS}Data are not significantly different.

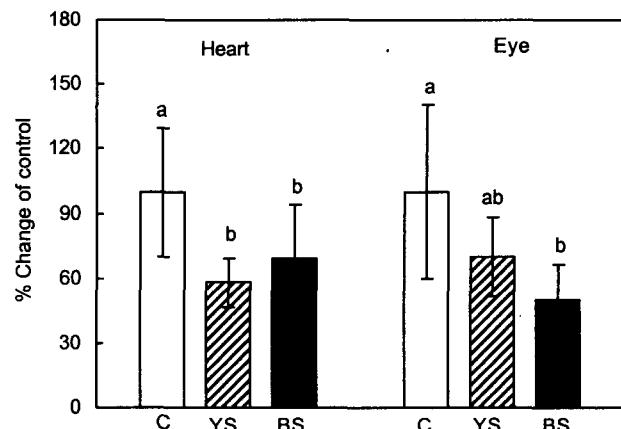


Fig. 4. Relative fluorescence of lipofuscin of heart and eye in rats fed experimental diets for 8 weeks.

C, YS and BS mean control, yellow soybean and black soybean group respectively.

Values are mean \pm SD ($n=8$).

^{a,b}Values with different alphabets on the bar are significantly different analyzed by Turkey's test at the level of 0.05.

졌으며 상대적인 형광도가 노란콩 섭취군의 경우 58%, 검정콩 섭취군에서는 69%로 콩의 섭취가 리포퓨신의 축적을 억제하는 것으로 나타났다. 눈에서도 대조군에 비해 리포퓨신의 축적이 낮아졌으며 노란콩 섭취군은 70%, 검정콩 섭취군은 50%로 검정콩의 효과가 더 우수한 것으로 나타났다. 동의 보감에 의하면 검정콩의 종피(黑大豆皮)가 혈액을 자양(慈養)하고, 풍을 소통(疏通)시키며, 시력 증진 및 뇌를 맑게 하고 두통치료에 효과가 있다고 하였다. 검정콩을 섭취시켰을 때 눈에서 리포퓨신 함량이 대조군에 비해 절반정도로 감소되어진 것은 검정콩 종피에 함유되어 있는 안토시아닌 색소에 기인한 것으로 여겨진다. 식물의 열매, 과실, 줄기 등에 함유되어 있는 안토시아닌은 식품자체의 색을 보존하거나 미화시켜 식품의 가치를 높이는 효과가 있을 뿐 아니라 식품의 저장성을 증가시키는 식품보존제, 천연화장품 원료, 천연착색제로도 이용되고 있다(17). Bae와 Moon(14)의 연구에 따르면 linoleic acid emulsion에 콩 껍질을 첨가하여 과산화물을 조사한 결과 밤콩 및 검정콩 등 유색콩의 항산화효과는 매우 강력하여 노란콩의 항산화효과보다 월등하였고 전체를 이용하였을 경우에도 노란콩보다는 유색콩들의 항산화효과가 탁월하였다. 그러나 본 연구에서 정상식이에 노란콩 및 검정콩을 첨가시켜 8주간 섭취시켰을 때 검정콩과 노란콩은 유사한 정도의 항산화효과를 나타내었다. 안토시아닌 색소는 매우 불안정한 특성을 가지고 있으므로 식이 제조시 가열처리하는 과정이나 소화과정에서 안토시아닌 일부가 파괴된 것으로 보이므로 이에 관련된 연구가 더 진행되어야 한다고 여겨진다.

요약

노란콩과 검정콩의 항산화효과를 생체 시스템에서 살펴보

기 위해 S.D계 흰쥐에게 8주간 섭취시킨 후 지질 및 단백질 산화를 측정한 결과 실험군은 대조군에 비해 산화를 억제하는 경향을 나타내었고 특히 검정콩의 경우 혈장에서 단백질 산화를 유의적으로 억제하였다. SOD 및 catalase 활성은 대조군과 실험군간에 유의적인 차이가 나타나지 않았고, GSH-px의 경우 대조군에 비해 노란콩 및 검정콩 섭취군에서 유의적으로 활성이 감소하였다. 간의 세포질에서 활성산소인 superoxide anion 함량을 측정한 결과 대조군에 비해 실험군 모두 superoxide anion 함량이 유의적으로 감소하였고 hydroxyl radical의 경우는 유의적인 차이는 없었으나 콩 섭취군에서 약간 감소하였다. 심장과 눈의 리포유신 함량을 측정한 결과 심장에서 대조군에 비해 실험군 모두 리포유신 축적을 유의적으로 억제하였고 눈에서도 대조군에 비해 검정콩 섭취군의 경우 유의적으로 리포유신 생성을 억제하였다. 전체적으로 생체 내에서 노란콩 및 검정콩의 항산화효과는 인정되었으며 종피 색의 차이는 크지 않은 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 지역협력연구센터인 인제대학교 바이오헬스 소재 연구센터(Biohealth Products Research Center) 및 한국과학재단 특정기초연구(R01-2000-000-00187-0) 연구비 지원으로 수행되었고 이에 감사드립니다.

문 현

- Kwon TW. 2000. Soybean in the 21st century. *Korea Soybean Digest* 17: 1-4.
- Stephens FO. 1999. The rising incidence of breast cancer in women and prostate cancer in men. Dietary influence: A possible preventive role for nature's sex hormone modifiers—the phytoestrogens. *Oncol Rep* 6: 865-870.
- Peterson G. 1995. Evaluation of the biochemical targets of genistein in tumor cells. *J Nutr* 125: 784-789.
- Barnes S. 1998. Evolution of the health benefits of soy isoflavones. *Proc Soc Exp Biol Med* 217: 386-392.
- Wei H, Bowen R, Cai Q, Barnes S, Wang Y. 1995. Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein. *Proc Soc Exp Biol Med* 280: 124-130.
- Giles D, Wei H. 1997. Effect of structurally related flavones/isoflavones on hydrogen peroxide production and oxidative DNA damage in phorbol ester-stimulated HL-60 cells. *Nutr Cancer* 29: 77-82.
- Pratt DE, Birac PM. 1979. Source of antioxidant activity of soybean and soy products. *J Food Sci* 44: 1720-1722.
- Musher S. 1935. Cereals and seeds inhibit rancidity in lard. *Food Ind* 7: 167-169.
- Hammerschmidt PA, Pratt DE. 1978. Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J Food Sci* 43: 556-559.
- Wei H, Cai Q, Rahn RO. 1996. Inhibition of UV light and Fenton-induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein. *Carcinogenesis* 17: 73-77.
- Wei H, Wei L, Frenkel K, Bowen R, Barnes S. 1993. Inhibition of tumor promoter-induced hydrogen peroxide for-

- mation *in vitro* and *in vivo* by genistein. *Nutr Cancer* 20: 1-12.
- Hayes RE, Bookwalter GN, Bagley EB. 1977. Antioxidant activity of soybean flour and derivatives—A review. *J Food Sci* 42: 1527-1531.
- Kim YH, Yun HT, Park KY, Kim SD. 1997. Extraction and separation of anthocyanins in black soybean. *RDA J Crop Sci* 39: 35-38.
- Bae EA, Moon GS. 1997. A study of the antioxidative activities of Korean soybeans. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 203-208.
- Shin MK, Han SH. 2002. Effects of black soybean extracts on serum lipid concentrations in fed fat diet rats. *Korean Soybean Digest* 19: 48-54.
- Liao HF, Chou CJ, Wu SH, Khoo KH, Chen CF, Wang SY. 2001. Isolation and characterization of an active compound from black soybean [*Glycine max (L.) Merr.*] and its effect on proliferation and differentiation of human leukemic U937 cells. *Anti-Cancer Drugs* 12: 841-846.
- Son JH, Choung MG, Choi HJ, Jang UB, Son GM, Byun MW, Choi C. 2001. Physiological effect of Korean black soybean pigment. *Korean J Food Sci Technol* 33: 764-768.
- Son JH, Choung MG, Choi HJ, Jang UB, Bae JH, Lee HD, Choi C. 2002. Stability of black soybean pigment extract. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 45: 179-184.
- Choung MG, Baek IY, Kang ST, Han WY, Shin DC, Moon HP, Kang KH. 2001. Isolation and determination of anthocyanins in seed coats of black soybean [*Glycine max (L.) Merr.*]. *J Agric Food Chem* 49: 5848-5851.
- Son MH, Seo KI, Lee SW, Choi SH, Sung NJ. 2000. Biological activities of chongkukjang prepared with black bean and changes in phytoestrogen content during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 32: 936-941.
- Ko MK, Kwon TW, Song YS. 1998. Effects of yellow and black soybeans on plasma and hepatic lipid composition and fecal lipid excretion in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 126-131.
- Jonalagadda SS, Sabharwal P, Pratt CA, Barbeus W. 1991. The effect of dry heat on the bioavailability of iron in soy flour. *J Am Oil Chem Soc* 68: 944-948.
- AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. Association of official analytical chemists, Washington DC.
- Prosky L, Asp N, Scheizer TF, Devries JW, Funda I. 1988. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: Interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem* 77: 1017-1023.
- Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol* 52: 302-306.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.
- Oliver CN, Ahn B, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER. 1987. Age-related changes in oxidized proteins. *J Biol Chem* 262: 5483-5492.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymol* 105: 121-126.
- Lawrence RA, Burk F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Comm* 71: 952-958.
- Peterson GL. 1977. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analyt Biochem* 83: 346-356.

32. Choi JH, Kim DI, Park SH, Kim DW, Lee JS, Kim HS. 1999. Investigation of anti-aging effect and determination of chemical structures of pine needle extract (PNE) through the animal experiments. 1. Effects of PNE on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver of SD rats. *Korean J Life Science* 9: 466-472.
33. Fletcher BL, Dillard CJ, Tappel AL. 1973. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Analytical Biochemistry* 52: 1-9.
34. Lierer IE. 1981. Factors affecting the nutritional quality of soybean products. *J Am Oil Chem Soc* 58: 406-415.
35. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climet I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymol* 186: 464-478.
36. Ramirez-Tortosa C, Andersen OM, Gardner PT, Morrice PC, Wood SG, Duthie SJ, Collins AR, Duthie GG. 2001. Antioxyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats. *Free Radical Biol Med* 31: 1033-1037.
37. Yang JL. 2000. Antiatherogenic effect of chongkukjang. *PhD Thesis*. Pusan National University, Korea. p 91-96.
38. Harabin AL, Braisted JC, Flynn ET. 1990. Response of antioxidant enzymes to intermittent and continuous hyperbaric oxygen. *J Appl Physiol* 69: 328-335.
39. Orr WC, Sohal RS. 1994. Extension of life-span by over-expression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science* 263: 1128-1130.
40. Dazhong Yin. 1996. Biochemical basis of lipofuscin, ceroid, and age pigment-like fluorophores. *Free Radical Biol Med* 21: 871-888.
41. Wihlmark U, Wrigstad A, Roberg K, Nilsson SEG, Brunk UT. 1997. Lipofuscin accumulation in cultured retinal pigment epithelial cells causes enhanced sensitivity to blue light irradiation. *Free Radical Biol Med* 22: 1229-1234.

(2003년 2월 12일 접수; 2003년 4월 26일 채택)