

Sodium Alginate와 Cellulose가 흰쥐의 공복 혈장 Lipoprotein 조성과 콜레스테롤 대사에 미치는 영향 (I)

강희정 · 서명자 · 김은희 · 송영선*[†]

부산대학교 식품영양학과

*인제대학교 식품영양학과

Effects of Sodium Alginate and Cellulose on Fasting Plasma Lipoprotein Composition and Cholesterol Metabolism in Rats (I)

Hee-Jung Kang, Myung-Ja Suh, Eun-Hee Kim and Young-Sun Song*[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

*Dept. of Food Science and Nutrition, Inje University, Kimhae 621-170, Korea

Abstract

This study was carried out to determine the effects of sodium alginate and cellulose on the plasma lipoprotein composition and cholesterol metabolism in rats. Each experimental diet contained 10% sodium alginate and cellulose by weight, respectively and rats were fed for 4 weeks. The results obtained were as follows : The feeding of sodium alginate and cellulose decreased total plasma cholesterol slightly. Total cholesterol of Chylomicron/VLDL-, LDL-fraction and liver were decreased significantly in sodium alginate group. HDL-cholesterol was slightly increased in sodium alginate group. The feeding of sodium alginate significantly lowered plasma, Chylomicron/VLDL-, LDL-fraction and liver TG concentrations compared with those fed fiber-free diet. The HMG-CoA reductase activity was not different among diet groups but the lowest activity was observed in sodium alginate group. The feeding of sodium alginate significantly increased fecal cholesterol, TG, and bile acid excretion. In summary, the ingestion of sodium alginate decreased cholesterol and TG concentrations of plasma and liver. This may be explained by the facts that fecal cholesterol, bile acid and TG level were increased significantly in sodium alginate group.

Key words : lipoprotein, cholesterol, sodium alginate, rats

서 론

비열량원으로서 영양적 가치가 크게 없는 것으로 여겨져왔던 식이섬유(Dietary fiber)가 근래에는 중요한 생리적 기능을 가지는 것으로 인정되어¹⁻⁴⁾ 식품 제조나 가공에 이용되고 있으며 식이섬유의 생리적 효능에 관한 연구 또한 활발하게 행해지고 있다. 그 중 식이섬유가 인간과 실험동물의 지질대사에 미치는 영향에 대해서 많은 연구들이 행해져왔으며⁵⁻⁸⁾, 최근에는 pectin, psyllium husk, oat fiber와 같은 수용성 식이섬유의 콜레스테롤 저하 효과와 그 기작연구에 많은 관심이 모아지고 있다⁹⁻¹³⁾. 수용성 식이섬유의 콜레스테롤 저하 효과에

대한 정확한 기작은 알려지지 않았으나 몇가지 가설이 제시되고 있다. 첫째, 식이섬유가 소장에서의 콜레스테롤 및 다른 영양소의 흡수를 저해하여 혈장과 간 콜레스테롤 농도를 낮춘다는 것이다^{2,3,10)}. 둘째, 식이섬유가 소장에서의 담즙산 재흡수를 저해하여 체내 콜레스테롤을 담즙산 합성에 사용함으로써 체내 콜레스테롤 pool 크기를 감소시킨다는 것이다⁶⁾. 셋째, 식이섬유의 발효시 생성되는 propionate, butyrate와 같은 short chain fatty acid가 콜레스테롤 합성 효소인 3-hydroxy 3-methyl glutaryl CoA reductase(HMG-CoA reductase)의 활성을 억제한다는 것이다¹¹⁾. 최근에는 식이섬유가 소장에서의 스테롤 합성에 영향을 미친다는 주장이 보고된 바 있다⁹⁾. 그러므로 식이섬유의 콜레스테롤 저하 효과에 대한 정확한 기작을 밝히기 위해서는 앞으로 보다

[†]To whom all correspondence should be addressed

많은 연구결과와 축적이 요구되어진다 하겠다.

수용성 식이섬유의 일종인 sodium alginate는 해조류에 다량 함유되어 있는 다당류 성분으로서 pectin과 구조적으로 유사한 uronic acid polymer¹⁴⁾이며 우리 민족이 용이하게 섭취할 수 있는 식이섬유의 한 형태이다. 그러나 해조류를 식용으로 하는 나라들이 한정되어 있어 해조류의 생리적 효능에 대한 연구는 제한되어져 있다. 본 연구에서는 해조류의 30~40%을 차지하는 alginate가 콜레스테롤 대사에 미치는 영향에 대해 연구하여 그 생리적 효과를 과학적으로 규명하고 나아가서는 해조류의 이용도를 높이는데 기여하고자 한다. 그리고 식이섬유의 혈중 콜레스테롤 농도 저하능에 관련된 현재까지의 연구들이 혈중 총콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 농도에 미치는 영향을 주로 조사하여 왔으며 HDL과 LDL-콜레스테롤을 제외한 다른 지단백 입자나 지단백을 구성하는 지질과 아포단백질 농도 등을 보고한 예는 드물다. 그러므로 본 연구에서는 무섬유식이군을 대조군으로 하여 수용성 식이섬유인 sodium alginate와 불용성 식이섬유인 cellulose의 섭취가 흰쥐의 혈장 지단백 조성, 콜레스테롤 합성과정 율속 효소인 HMG-CoA reductase의 활성, 분변중의 지질 및 담즙산 배설량에 미치는 영향을 조사하여 식이섬유가 콜레스테롤 대사에 작용하는 기작에 대해 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 평균 체중 100~110g의 Sprague Dawley 중 수컷 흰쥐 30마리를 경북대학교 의대로 부터 구입하여 1주간 고형사료(주 미원)로 적응시킨 다음, 체중에 따라 무작위로 각군을 10마리씩 3종의 실험식이군으로 나누어 한마리씩 stainless steel cage에 넣고 각 해당식이로 4주간 사육하였다. 각 군의 실험식은 무섬유식이, sodium alginate 및 cellulose 10% 첨가식이로서 그 조성은 Table 1과 같이 조제하여 사용하였다.

Table 1. Composition of experimental diets (%)

	Fiber-free	Cellulose	Sodium alginate
Casein	20	20	20
Corn starch	65.8	55.8	55.8
Cellulose	-	10	-
Sodium alginate	-	-	10
Corn oil	10	10	10
AIN-76 mineral mixture	3	3	3
AIN-76 vitamin mixture	1	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2

전 사육기간 동안 실험식사와 물은 자유로이 섭취하게 하고, 사육실의 온도는 20~25°C를 유지하였으며, 명암은 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다.

식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

식이섭취량은 1주에 2회, 체중은 전 실험기간을 통해 매주 한번씩 측정하였다. 식이효율은 실험기간 동안의 체중증가량을 식이섭취량으로 나누어서 구하였다.

혈액, 장기와 분변의 수집 및 처리

혈액은 실험기간 종료 후 사육한 흰쥐를 14시간 절식시킨 후 dry ice로 마취하여 EDTA(10mg) 함유 주사기로 심장에서 채혈하였다. 채취한 혈액은 4,000rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 얻었으며, 냉동보관(-20°C)하면서 분석용으로 하였다. 또한 sequential floatation ultracentrifugation법에 의해 혈장으로 부터 밀도가 다른 Chylomicron/VLDL (d<1.006g/ml), LDL (d=1.006~1.063g/ml), HDL (d=1.063~1.210g/ml)의 세 지단백 분획을 얻었다¹⁶⁾. 이때 지단백 분획의 확인을 위해 예비실험에서 sudan black 염색용액을 사용하였으며, 원심분리도중에 생길 수 있는 지단백 조성의 변화를 방지하기 위하여 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid를 혈장에 첨가하였다. 간장은 채혈 후 즉시 적출하여 생리식염수로 씻고 여과지로 생리식염수를 제거한 뒤 -20°C에서 보관하면서 분석용으로 하였고, 일정량을 취하여 Folch 등의 방법¹⁷⁾으로 지질을 추출하여 지질분석용으로 하였다. 분변은 사육이 시작된 후 실험식에 충분히 적응이 되었다고 생각되는 17일째 부터 2일간 metabolic cage에서 수집하였다. 동결건조된 분변은 마쇄하여 -20°C에서 보관하면서 분석에 사용하였다.

혈장, 지단백, 간의 지질 및 단백질 분석

혈장과 지단백 분획 중의 총 콜레스테롤(Sigma kit, No. 352-50), 중성지질(Sigma kit, No. 339-20) 및 인지질(영연화학주식회사, PL⁺이⁺스⁺-600 '영연')은 각각 효소법을 이용한 kit로 측정하였다. 이들 시료 중의 유리 콜레스테롤 함량은 총 콜레스테롤 정량용 시약에서 cholesterol esterase를 제외한 조성으로 시약을 조제하여 측정하였으며, 총 콜레스테롤 함량과의 차를 esterified 콜레스테롤 함량으로 하였다. 간 지질추출액 중의 총 콜레스테롤, free 콜레스테롤 및 중성지질 함량은 혈장 중의 분석과 같은 효소법을 이용하되 탁도에 의한 오차를 줄이기 위해 Sale 등의 방법¹⁸⁾을 도입하였다. 각 시료 중의 단백질 함량은 Lowry법¹⁹⁾으로 측정하였

으며, 표준물질로 bovine serum albumin을 사용하였다. 상기의 모든 분석은 각 시료에서 2번 측정하였다.

Microsomal HMG-CoA reductase 활성의 측정²⁰⁾

간세포는 teflon pestle이 달린 Potter-Elvehjem homogenizer를 이용하여 균질화하고 microsomes은 차별 원심분리법으로 분리하였다. 간으로부터 조제한 microsomes은 효소활성 측정 직전 가용화하여 기질로서 1mM HMG-CoA와 2mM NADPH를 혼합하고 350nm에서 시간에 따른 흡광도의 감소를 측정하고 효소의 활성을 pmole/min/mg microsomal protein으로 표시하였다.

분변의 지질분석

동결건조하여 분말화한 변에서 Soxhlet법으로 지질을 추출한 후 총지방 함량은 비중법, 콜레스테롤(Sigma kit, No. 352-50) 및 중성지질(Sigma kit, No. 339-20)은 효소법을 이용한 kit로 측정하였다. 분변 중의 담즙산 함량은 최 등의 방법²¹⁾을 이용하여 추출하고 효소법으로 측정하였다(Sigma kit, No.450).

통계처리

실험결과는 means±SEM으로 표시하였으며, 각 식이군간의 유의성은 one-way ANOVA로 조사하여 유의성이 발견된 경우 p<0.05 수준에서 Fisher's least significant difference test로 검정하였다.

결과 및 고찰

식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

각 실험식이로 4주간 사육한 흰쥐의 실험식이 섭취량, 체중증가량 및 식이효율은 Table 2와 같다. 1일 평균 식이섭취량은 각 식이군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 식이섭취에 따른 1일 평균 체중증가량 및 식

이효율은 무섬유식이군과 cellulose군에 비해 sodium alginate군에서 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 이러한 결과는 고지방 사료로써 비만을 유도한 흰쥐에 alginic acid를 용량별로 첨가급여하였을 때 사료섭취량은 각 식이군간에 유의적인 차이가 없었으나 alginic acid의 농도가 높을수록 체중증가량 및 사료효율은 현저히 감소했음을 보고한 김과 최²²⁾의 연구와 일치한다. 이러한 현상은 식이섬유가 식이열량에 대체되어 칼로리 섭취량을 감소시킬 뿐만 아니라 장에서의 영양소 소화 및 흡수를 감소시키는 기전으로써 설명될 수 있다²³⁾.

혈장의 지질 및 단백질 함량

혈장내의 지질 및 단백질 함량은 Table 3과 같다. 혈장내 총 콜레스테롤 함량은 유의성은 없었으나 무섬유식이군에 비해 식이섬유군에서 감소하는 경향을 보였으며, 콜레스테롤 에스테르 함량은 cellulose군에서 가장 낮은 수치를 나타냈다. 혈장의 중성지질 농도는 무섬유식이군에 비해 식이섬유군에서 유의적으로 감소하여(p<0.05) 식이섬유의 급여가 혈장의 중성지질 농도를 낮출 수 있는 것으로 나타났다. 수용성 식이섬유의 혈장 콜레스테롤 저하효과는 많은 연구자들에 의해 확인되고 있다. 이러한 결과들은 0.1%~1%의 콜레스테

Table 2. Feed intake, body weight gain and feeding efficiency in rats fed a fiber-free diet or diets containing cellulose and sodium alginate¹

	Fiber-free	Cellulose	Sodium alginate
Feed intake (g/day)	23.84±0.51	22.77±0.66	23.72±0.94
Body weight gain (g/day)	5.21±0.16 ^a	4.40±0.47 ^a	2.44±0.41 ^b
Feeding efficiency	21.92±0.75 ^a	19.53±2.21 ^a	10.43±1.88 ^b

¹ Values are means±SEM (n=10). Data were analyzed by one-way ANOVA and Fisher's least significant difference test whether mean values were different. Values in rows without common superscripts are significantly different (p<0.05)

Table 3. Plasma cholesterol, TG, phospholipid and protein concentrations in rats fed a fiber-free diet or diets containing cellulose and sodium alginate¹

	Fiber-free	Cellulose	Sodium alginate
Total cholesterol (mg/dl)	40.53±1.72	36.83±1.22	37.61±1.44
Free cholesterol (mg/dl)	14.73±0.13	17.52±1.47	15.16±1.64
Esterified cholesterol (mg/dl)	25.80±1.42 ^a	19.31±1.17 ^b	22.45±1.22 ^{ab}
Esterified : Free ratio	1.75±0.10 ^a	1.10±0.12 ^b	1.48±0.13 ^a
Triglyceride (mg/dl)	74.46±7.88	49.93±5.71 ^b	45.10±5.41 ^b
Phospholipid (mg/dl)	51.86±0.81	51.11±1.26	48.84±1.15
Protein (mg/dl)	41.14±3.21 ^a	60.28±4.16 ^b	40.93±2.05 ^a

¹ Values are means±SEM (n=10). Data were analyzed by one-way ANOVA and Fisher's least significant difference test whether mean values were different. Values in rows without common superscripts are significantly different (p<0.05)

를 식이를 섭취한 흰쥐^{7,9-10)}, mice²⁴⁾, hamster^{8,25)}, guinea pig^{26,27)} 등을 이용한 동물실험에서 얻어졌으며, 또한 인체실험에서도 확인되고 있다^{5,6)}. 혈장 콜레스테롤 저하 효과가 있는 식이섬유로는 psyllium husk, pectin, oat fiber, guar gum과 prune fiber 등이 보고되고 있으며^{7,24-28)}, psyllium husk의 효과가 가장 큰 것으로 보고되었다⁷⁾. 식이섬유의 콜레스테롤 저하효과는 식이섬유의 점성과 밀접한 관계가 있으며⁸⁾ 식이섬유의 첨가농도에 비례하여 증가(dose-dependent response)하는 것은 아닌 듯하다^{27,28)}. 그러나 무콜레스테롤 식이를 섭취한 동물에서 식이섬유의 혈장 콜레스테롤 저하효과에 대해서는 상반된 결과들이 보고되었다. 최 등²⁹⁾은 무콜레스테롤 식이와 함께 섭취한 sodium alginate, lignin 등이 혈청 콜레스테롤 저하효과가 있다고 보고하였으나, pectin을 비롯한 식이섬유가 혈장 콜레스테롤 농도에 유의적인 차이를 초래하지 않았다는 결과들이 여러 연구자들에 의해 보고되었으며^{13,27,30)} 본 실험에서도 sodium alginate와 cellulose가 혈장 콜레스테롤 농도에 영향을 미치지 않았다. 또한 본 실험에서의 혈장 콜레스테롤 농도는 40mg/dl로 다른 실험들에 비해 다소 낮게 나타났는데, 이것은 실험동물을 이용한 연구의 결과들이 실험동물의 종류, 연령, 사육기간, 식이의 조성에 따라

차이를 보일 수 있음을 반영하는 듯하다³¹⁾.

지단백의 지질 및 단백질 함량

각 혈장 지단백 분획의 지질 및 단백질 함량은 Table 4~6에 나타나있다. Chylomicron/VLDL 분획에서 총 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르 함량은 다른 식이군에 비해 sodium alginate군에서 유의적으로 감소하였으며, 콜레스테롤 에스테르와 유리콜레스테롤의 비율도 다른 식이군에 비해 sodium alginate군에서 유의적인 수준으로 감소하였다($p < 0.05$). 중성지질 농도 역시 다른 식이군에 비해 sodium alginate군에서 유의적인 감소를 보였으나($p < 0.05$), 인지질 및 단백질 농도는 각 식이군간에 큰 차이를 보이지 않았다. LDL 분획에서는 총 콜레스테롤 함량이 sodium alginate군에서 유의적으로 감소하였을 뿐, 중성지질, 인지질 및 단백질 함량은 각 식이군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. HDL 분획에서는 총 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르 함량이 무섬유식이군에 비해 식이섬유군에서 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었으며, 콜레스테롤 에스테르와 유리 콜레스테롤의 비율은 sodium alginate군에서 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). HDL의 중성지질, 인지질 및 단백질 함량은 각 식이군

Table 4. Chylomicron/VLDL cholesterol, TG, phospholipid and protein concentrations in rats fed a fiber-free diet or diets containing cellulose and sodium alginate¹

	Fiber-free	Cellulose	Sodium alginate
Total cholesterol (mg/dl)	6.03±0.13 ^a	5.84±0.52 ^{ab}	4.64±0.13 ^b
Free cholesterol (mg/dl)	2.35±0.12	2.55±0.23	2.86±0.07
Esterified cholesterol (mg/dl)	3.68±0.14 ^a	3.39±0.51 ^a	1.78±0.15 ^b
Esterified : Free ratio	1.57±0.02 ^a	1.33±0.28 ^b	0.62±0.54 ^b
Triglyceride (mg/dl)	34.63±1.44 ^a	28.12±1.63 ^b	21.05±2.62 ^b
Phospholipid (mg/dl)	7.43±0.17	8.24±2.28	3.73±0.34
Protein (mg/dl)	14.25±2.61	15.59±2.63	10.41±1.25

¹ Values are means±SEM(n=10). Data were analyzed by one-way ANOVA and Fisher's least significant difference test whether mean values were different. Values in rows without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

Table 5. LDL cholesterol, TG, phospholipid and protein concentrations in rats fed a fiber-free diet or diets containing cellulose and sodium alginate¹

	Fiber-free	Cellulose	Sodium alginate
Total cholesterol (mg/dl)	8.01±0.23 ^{ab}	8.73±0.25 ^a	7.49±0.18 ^b
Free cholesterol (mg/dl)	3.93±0.22	3.44±0.25	3.51±0.13
Esterified cholesterol (mg/dl)	4.08±0.34	5.29±0.31	3.98±0.12
Esterified : Free ratio	1.04±0.22 ^a	1.55±0.13 ^b	1.14±0.06 ^{ab}
Triglyceride (mg/dl)	12.02±0.53	11.83±1.53	9.98±1.16
Phospholipid (mg/dl)	11.27±0.75	11.81±0.66	12.08±0.38
Protein (mg/dl)	13.52±2.63 ¹	12.74±1.31	10.46±0.90

¹ Values are means±SEM(n=10). Data were analyzed by one-way ANOVA and Fisher's least significant difference test whether mean values were different. Values in rows without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

간에 유의성이 없었다.

지단백 분획에서의 콜레스테롤 분포는 관상심장질환의 위험율을 가늠할 수 있는 좋은 척도가 된다⁴¹. 따라서 혈장 콜레스테롤 농도와 함께 LDL, HDL-콜레스테롤의 분포를 조사하는 것은 식이섬유가 콜레스테롤 대사에 미치는 영향을 이해하는데 도움이 된다. 지금까지의 연구들에 따르면, 고콜레스테롤 식이와 함께 섭취된 수용성 식이섬유는 혈장 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 농도를 낮추고 HDL-콜레스테롤 농도를 상승시킨다고 보고되고 있다^{7,8,26,29}. 따라서 관상심장질환의 발생은 LDL 콜레스테롤 농도와 밀접한 상관관계가 있는 반면, HDL-콜레스테롤 농도와는 역관계에 있는 것으로 이해되고 있다⁴². 본 연구에서는 sodium alginate의 섭취가 VLDL과 LDL의 콜레스테롤 농도를 감소시켰으나 HDL-콜레스테롤 농도에는 영향을 미치지 않았다. 이와 유사한 결과들이 몇몇 연구자들에 의해 보고되어졌다. Jonnalagadda 등²⁵은 hamster에서 oat bran, xylan, guar gum이 혈장 콜레스테롤과 VLDL/LDL-콜레스테롤 농도를 낮추었으며 HDL-콜레스테롤 농도 또한 감소시켰다고 보고하였다. 특히 콜레스테롤 농도 저하효과가 없는 것으로 알려진 cellulose군의 LDL-콜레스테롤 농도가 가장 낮았으며 HDL-콜레스테롤 농도는 가

장 높았다. Nishina 등¹²도 pectin의 섭취가 LDL과 HDL을 망라한 모든 지단백 분획에서 콜레스테롤 농도의 감소를 초래하였다고 보고하고 있다. 이상에서 볼 때, 식이섬유의 콜레스테롤 저하효과는 LDL-콜레스테롤의 저하에 따른 것으로 사료되며 간조직에서의 지방 합성이나 VLDL 합성 저하에 의한 것으로 제시되고 있다²⁷. 특히 HDL-콜레스테롤에 대한 VLDL+LDL-콜레스테롤 비로 계산된 동맥경화 지수는 무섬유식이군에서 0.73, cellulose군에서 0.68, sodium alginate군에서 0.53으로 sodium alginate군에서 가장 낮았으며, 이것은 sodium alginate가 관상심장질환에 대한 위험율을 감소시킬 수 있음을 반영하는 것이라 하겠다.

간의 지질 및 단백질 함량

간장 중의 지질 및 단백질 함량을 측정된 결과는 Table 7과 같다. 간장 중 총 콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르 함량은 무섬유식이군에 비해 cellulose군과 sodium alginate군에서 유의적인 수준으로 감소하였으나 ($p < 0.05$), 유리콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르와 유리콜레스테롤의 비율은 각 식이군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 간장 중의 중성지질 함량에 있어서는 sodium alginate군이 무섬유식이군과 cellulose 군에 비

Table 6. HDL cholesterol, TG, phospholipid and protein concentrations in rats fed a fiber-free diet or diets containing cellulose and sodium alginate¹

	Fiber-free	Cellulose	Sodium alginate
Total cholesterol (mg/dl)	19.40±1.13	21.14±1.65	22.00±0.61
Free cholesterol (mg/dl)	3.39±0.42	2.81±0.25	2.53±0.11
Esterified cholesterol (mg/dl)	16.01±1.53	18.33±1.41	19.47±0.50
Esterified : Free ratio	4.72±0.63 ^a	6.54±0.47 ^{ab}	7.70±0.22 ^b
Triglyceride (mg/dl)	9.10±0.87	7.23±0.33	7.41±0.34
Phospholipid (mg/dl)	21.00±0.71	22.65±1.35	25.07±0.22
Protein (mg/dl)	23.43±2.31	24.48±1.57	20.15±0.44

¹ Values are means±SEM(n=10). Data were analyzed by one-way ANOVA and Fisher's least significant difference test whether mean values were different. Values in rows without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

Table 7. Liver cholesterol, TG, phospholipid and protein concentrations in rats fed a fiber-free diet or diets containing cellulose and sodium alginate¹

	Fiber-free	Cellulose	Sodium alginate
Total cholesterol (mg/g)	2.64±0.14 ^a	1.90±0.08 ^b	1.77±0.11 ^b
Free cholesterol (mg/g)	1.08±0.10	0.99±0.10	0.89±0.10
Esterified cholesterol (mg/g)	1.56±0.20 ^a	0.91±0.15 ^b	0.88±0.12 ^b
Esterified : Free ratio	1.63±0.33	1.05±0.22	1.11±0.23
Triglyceride (mg/g)	8.43±0.78 ^a	8.72±0.26 ^a	6.44±0.49 ^b
Phospholipid (mg/g)	12.50±0.15 ^a	12.44±0.22 ^a	9.99±0.95 ^b
Protein (mg/g)	11.62±0.15	10.19±0.19	10.39±0.11

¹ Values are means±SEM(n=10). Data were analyzed by one-way ANOVA and Fisher's least significant difference test whether mean values were different. Values in rows without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

해 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$). 인지질 함량은 다른 식이군에 비해 sodium alginate군에서 유의적인 감소를 보였으며 ($p < 0.05$), 단백질 함량은 각 식이군 간에 차이를 보이지 않았다. 수용성 식이섬유가 간의 콜레스테롤 농도 저하 효과가 있음은 여러 연구자들에 의해 보고되고 있다^{7-9,28}). 본 실험에서 관찰된 sodium alginate의 간 중성지방 및 콜레스테롤 농도 저하 효과는 식이중의 영양성분이 점성다당류인 sodium alginate에 의해 소장에서 흡수가 지연되거나 방해되어 콜레스테롤 합성을 위한 기질저하를 초래한 때문이거나^{8,12} 간세포에서의 VLDL 합성감소 때문으로 추정된다²⁷). 후자의 추측에 대한 해답은 혈장 VLDL과 LDL의 중성지방과 콜레스테롤 농도 저하에서 확인되어진다 (Table 4, 5).

Microsomal HMG-CoA reductase의 활성

간에서 콜레스테롤의 합성속도 조절에 관여하는 중요 효소인 HMG-CoA reductase의 활성을 측정된 결과는 Table 8과 같다. HMG-CoA reductase 활성은 각 식이군 간에 유의적인 차이를 보이지는 않았으나 sodium alginate군에서 가장 낮은 활성을 보였다. 수용성 식이섬유가 콜레스테롤 농도를 저하시키는 기작 중의 하나는 콜레스테롤의 합성에 관여하는 효소인 HMG-CoA reductase가 식이섬유의 장내 발효시 생기는 propionate, butyrate와 같은 저급지방산에 의해 활성이 억제된다고 하는 것이다¹¹). 그러나 Gallaher 등⁸은 발효성 식이섬유의 간 콜레스테롤 합성능이 cellulose군에 비해 훨씬 높았다고 보고하면서 수용성 식이섬유의 발효시

생기는 propionate가 콜레스테롤 합성을 방해하는 것 같지 않다고 하였다. Nishina 등은 8% 수준으로 첨가한 pectin이 혈장 콜레스테롤 농도를 저하하였으나 콜레스테롤 합성능에 영향을 미치지 않거나¹⁰ 오히려 간 HMG-CoA reductase의 활성 및 내인성 스테롤 합성을 2배 증가시켰음을 보고하였으며¹¹, 이것은 식이섬유의 섭취가 체내 콜레스테롤의 turnover를 증가시킴을 의미한다고 하였다. 이러한 결과는 인체실험에서도 확인되어졌는데, Miettien⁶은 스테롤 balance studies를 통해 분변으로 배설되는 스테롤의 양이 많은 사람에게서 간 콜레스테롤 합성이 증진되었다고 보고하고 있다.

분변중의 지질조성 및 담즙산 함량

분변중의 지질 조성 및 담즙산 함량을 측정된 결과는 Table 9와 같다. 변중의 %농도로 나타낸 총지방 함량은 cellulose군에서 가장 낮은 수치를 보였으나 하루 총 배설량 (g/day)으로 계산한 총지방 함량은 무섬유 식이군에 비해 다소 높은 수치를 나타내었다. 특히 sodium alginate군의 총지방 함량은 가장 높았으며 무섬유 식이군에 비해 2배나 많은 함량을 보였다 ($p < 0.05$). 식이섬유는 인간의 소화효소로 소화되지 않으므로 대장으로 들어가는 주된 유기물이 된다. 일부 섬유는 장내 박테리아에 의해 발효되고 나머지는 bacterial mass와 함께 분변이 된다⁸. 따라서 발효가 되지않는 cellulose는 다른 식이군에 비해 분변의 양이 많게 되어³² 분변 중의 지질농도를 희석시키게 된다. 본 실험에서도 % 함량으로 나타낸 분변 중 총지방 함량이 cellulose군에서 가장 낮았으나 하루 배설량으로 계산한 총지방

Table 8. Activity of HMG-CoA reductase in rats fed a fiber-free diet or diets containing cellulose and sodium alginate¹

	Fiber-free	Cellulose	Sodium alginate
HMG-Co A reductase (pmole/min/mg) ²	105.13±38.23	84.08±31.78	56.06±8.00

¹ Values are means±SEM (n=10). Data were analyzed by one-way ANOVA and Fisher's least significant difference test whether mean values were different. Values in rows without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

² Units are in terms of milligrams of microsomal protein

Table 9. Fecal total fat, TG, cholesterol and bile acid concentrations in rats fed a fiber-free diet or diets containing cellulose and sodium alginate¹

	Fiber-free	Cellulose	Sodium alginate
Fecal total fat (%)	0.96±0.15 ^a	0.39±0.07 ^b	1.19± 0.14 ^a
Fecal total fat (mg/day)	8.11±0.4 ^a	19.56±2.9 ^{ab}	25.32± 2.90 ^b
Fecal triglyceride (mg/day)	1.08±0.16 ^a	4.53±0.42 ^b	6.34± 0.53 ^c
Fecal cholesterol (mg/day)	0.04±0.00 ^a	0.13±0.02 ^b	0.23± 0.03 ^c
Fecal bile acid (mole/day)	84.32±9.06 ^a	212.84±9.81 ^b	254.80±15.03 ^b

¹ Values are means±SEM (n=10). Data were analyzed by one-way ANOVA and Fisher's least significant difference test whether mean values were different. Values in rows without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

요 약

함량은 무섬유식이군 보다 증가함을 볼 수 있었다. 분변 중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 역시 무섬유식이군에서 보다 식이섬유이군에서 유의적으로 증가하였으며, sodium alginate군은 cellulose군 보다 훨씬 많은 함량을 보였다 ($p < 0.05$). 변중 담즙산 함량 역시 sodium alginate군에서 가장 높은 수치를 나타냈으며, cellulose군 역시 무섬유식이군 보다 유의적으로 증가한 담즙산 함량을 보여주었다 ($p < 0.05$). 식이섬유는 영양소의 소화와 흡수에 영향을 미친다고 보고되고 있다. 본 실험에서도 sodium alginate군의 분변 중 총지방, 중성지방 그리고 담즙성 콜레스테롤 함량이 다른 식이군에 비해 현저하게 증가하였는데, 이것은 sodium alginate의 점성이 실험동물의 소장에서 콜레스테롤과 중성지방의 흡수를 저해하여 이들의 배설을 촉진하며, 또한 gel을 형성하는 기전을 통하여 장관에서 콜레스테롤 및 중성지방과 직접 결합하여 이들의 배설을 증가시키게 되어 흡수를 억제하기 때문이다²¹. 또한 식이섬유의 섭취가 소장상피세포에 닿아있는 goblet cell로부터 mucin의 분비를 촉진시켜 영양소의 흡수를 제한하는 diffusion barrier로 작용함으로써 영양소의 흡수가 저해된다고 보고되기도 한다¹⁹. 이러한 sodium alginate의 영양소 흡수 저해 효과는 혈장 중성지방의 농도와 간장 중의 중성지방 및 콜레스테롤 농도를 저하시키는 기작으로 보인다. 수용성 식이섬유는 또한 소장에서 담즙의 재흡수를 방해하여 혈장 콜레스테롤 농도를 낮춘다고 알려져 있다^{16,20}. 그러나 본 실험에서는 수용성인 sodium alginate와 불용성인 cellulose 모두 담즙산 흡착효과가 있으며 분변으로의 담즙산 배설량이 무섬유식이군에 비해 크게 증가하였음을 보여주었다. 혈장 콜레스테롤 저하 효과가 없는 불용성 식이섬유인 cellulose의 담즙산 흡착능력은 몇몇 연구자들에 의해 보고되고 있다^{32,35,36}. Vahouny 등³²은 무콜레스테롤 식이와 함께 첨가한 psyllium husk, pectin, cellulose 등이 담즙산 및 중성 스테로이드의 배설량을 증가시켰다고 보고하면서 pectin의 분변 중 담즙산 흡착능은 methoxylation 정도에 따라 변화한다고 보고하였다. 그러므로 식이 섬유 첨가에 따른 분변 중 담즙산 및 중성 스테로이드 배설량은 식이섬유가 혈장 콜레스테롤 농도에 미치는 영향과 직접적인 상관관계를 보이지 않는다고 주장하였다. 이러한 보고들을 종합해 볼 때 식이섬유 섭취에 의한 콜레스테롤 농도 저하 효과는 전적으로 담즙산 재흡수 저하에 의한 것은 아니며, 중성지방과 콜레스테롤 외에 다른 영양성분의 흡수저하가 복합적으로 작용한 것으로 보인다.

Sodium alginate와 cellulose가 흰쥐의 혈청 지단백 조성 및 지질대사에 미치는 영향을 조사하였다. 각 식이 섬유를 10% 수준으로 첨가한 식이로 흰쥐를 4주간 사육한 후, 혈장 지단백 조성, 간 지질 조성, microsomal HMG-CoA reductase 활성과 분변 중의 지질 조성 및 담즙산 함량을 측정하였다. 식이섬유 첨가군의 혈장 콜레스테롤 농도는 무섬유식이군에 비해 다소 감소되었으나 유의적인 차이를 보이지 않았다. Sodium alginate 첨가군의 Chylomicron/VLDL과 LDL 및 간의 콜레스테롤 농도와 혈장과 Chylomicron/VLDL 및 간의 중성지방 농도는 cellulose 첨가군과 무섬유식이군에 비해 유의적으로 감소되었다 ($p < 0.05$). Sodium alginate 첨가군의 HDL 콜레스테롤 농도는 다른 식이군에 비해 다소 증가하였다. Sodium alginate 첨가군의 분변 중 콜레스테롤, 담즙산 및 중성지방의 배설량은 다른 식이군에 비해 유의적으로 증가되었으며 ($p < 0.05$), microsomal HMG-CoA reductase 활성은 식이군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 sodium alginate의 섭취가 혈장과 간의 중성지방 및 콜레스테롤 농도를 낮추는 효과 (hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effect)가 있음을 시사한다 하겠다.

문 헌

1. Anderson, J. W. and Bridges, S. R. : Plant-fiber metabolites alter hepatic glucose and lipid metabolism. *Diabetes (Suppl.)*, **1**, 133 (1983)
2. Cummings, J. H., Southgate, D. A. T., Branch, W., Wiggens, H. S., Houston, H., Jenkins, D. J. A., Jibraj, T. and Hill, M. W. : The digestion of dietary pectin in the human gut and its effect on calcium absorption and large bowel function. *Br. J. Nutr.*, **41**, 477 (1979)
3. Cummings, J. H. : The effect of dietary fiber on fecal weight and composition. In "CRC handbook of dietary fiber in human nutrition" Spiller, G. A. (ed.), CRC Press, Boca Raton, p.211 (1986)
4. Eder, H. A. and Gidez, L. I. : The clinical significance of the plasma high density lipoproteins. *Med. Clin. North Am.*, **66**, 431 (1982)
5. Kirby, R. W., Anderson, J. W., Sieling, B., Rees, E. D., Chen, W. L., Miller, R. E. and Kay, R. M. : Oat bran intake selectively lowers serum low-density lipoprotein cholesterol concentration of hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 824 (1981)
6. Miettien, T. A. : Dietary fiber and lipids. *Am. J. Clin. Nutr.*, **45**, 1237 (1987)
7. Anderson, J. W., Jones, A. E. and Riddle-Mason, S. : Ten different dietary fibers have significantly different

- effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J. Nutr.*, **124**, 78(1994)
8. Gallaher, D. A., Hassel, C. A., Lee, K. J. and Gallaher, C. M. : Viscosity and fermentability as attributes of dietary fiber responsible for the hypocholesterolemic effect in hamsters. *J. Nutr.*, **123**, 244(1993)
 9. Arjmandi, B. H., Craig, J., Nathani, S. and Reeves, R. D. : Soluble dietary fiber and cholesterol influence *in vivo* hepatic and intestinal cholesterol biosynthesis in rats. *J. Nutr.*, **122**, 1559(1992)
 10. Nishina, P. M. and Freeland, R. A. : The effects of dietary fiber feeding on cholesterol metabolism in rats. *J. Nutr.*, **120**, 800(1990)
 11. Nishina, P. M. and Freeland, R. A. : Effect of propionate on lipid biosynthesis in isolated rat hepatocytes. *J. Nutr.*, **120**, 668(1990)
 12. Nishina, P. M., Schneeman, B. O. and Freedland, R. A. : Effects of dietary fiber in nonfasting plasma lipoprotein and apolipoprotein levels in rats. *J. Nutr.*, **121**, 431(1991)
 13. Schneeman, B. O., Cimmarusti, J., Cohen, W., Downes, L. and Lefevre, M. : Composition of high density lipoproteins in rats fed various dietary fibers. *J. Nutr.*, **114**, 1320(1984)
 14. Mabeau, S. and Fleurence, J. : Seaweed in food products : biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science and Technology*, **4**, 103(1993)
 15. 한재금, 고진복 : 미역첨가급식이 흰쥐의 간 및 혈청의 지질농도에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **15**, 17(1986)
 16. Mackness, M. I. and Durrington, P. N. : Lipoprotein separation and analysis for clinical studies. In "Lipoprotein analysis : A practical approach" Converse, C. A. and Skinner E. R. (eds.), Oxford University Press, New York, p.17(1992)
 17. Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.*, **223**, 498(1956)
 18. Sale, F. O., Marchesini, S., Fishman, P. H. and Berra, B. : A sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extracts. *Anal. Biochem.*, **142**, 347(1984)
 19. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
 20. Shapiro, D. J., Nordstrom, J. L., Rodwell, V. W. and Mitschelen, J. J. : 3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase in rat liver and in L-cell fibroblasts. *Biochem. Biophys. Acta*, **370**, 369(1974)
 21. 최면, 김중대, 주진순 : Polydextrose와 hydrolysed Guar gum이 지방량을 달린 식이를 섭취한 정상백서의 지질대사에 미치는 영향. *한국영양학회지*, **25**, 211(1992)
 22. 김재일, 최진호 : 고지방 사료로 유도한 비만 흰쥐의 비만에 미치는 미역성분의 영향. 1. 체중, 사료, 효율, 에너지 효율, 체지방 함유 및 비만지수. *한국노화학회지*, **2**, 142(1993)
 23. Nauss, K. M., Jacobs, L. R. and Newberne, P. M. : Dietary fat and fiber : relationship to caloric intake, body growth, and colon tumorigenesis. *Am. J. Clin. Nutr.*, **45**, 243(1987)
 24. Hundemer, L. K., Nabar, S. P., Shriver, B. J. and Forman, L. P. : Dietary fiber sources lower blood cholesterol in C57BL/6mice. *J. Nutr.*, **121**, 1360(1991)
 25. Jonnalagadda, S. S., Thye, F. W. and Robertson, J. L. : Plasma total and lipoprotein cholesterol, liver cholesterol and fecal cholesterol excretion in hamsters fed fiber diets. *J. Nutr.*, **123**, 1377(1993)
 26. Fernandez, M. L., Trejo, A. and McNamara, D. J. : Pectin isolated from prickly pear (*Opuntia* sp.) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. *J. Nutr.*, **120**, 1283(1990)
 27. Fernandez, M. L., Sun, D. M., Tosca, M. A. and McNamara, D. J. : Citrus pectin and cholesterol interact to regulate hepatic cholesterol homeostasis and lipoprotein metabolism : A dose-response study in guinea pigs. *Am. J. Clin. Nutr.*, **59**, 869(1994)
 28. Tinker, L. F., Davis, P. Q. and Schneeman, B. O. : Prune fiber or pectin compared with cellulose lowers plasma and liver lipids in rats with diet-induced hyperlipidemia. *J. Nutr.*, **124**, 31(1994)
 29. 최진호, 임채환, 김재연, 양종순, 최재수, 변대석 : 비만치료식 개발을 위한 기초연구 1. 식물섬유로서의 알긴산의 비만억제 효과. *한국수산학회지*, **19**, 303(1986)
 30. Kelly, J. J. and Tsai, A. C. : Effect of pectin, gum arabic, and agar on cholesterol absorption, synthesis and turnover in rats. *J. Nutr.*, **108**, 630(1978)
 31. Schneeman, B. O. and Lefevre, M. : Effects of fiber on plasma lipoprotein composition. In "Dietary fiber. Basic and clinical aspects" Vahouny, G. V. and Kritchevsky, D. (eds.), Plenum Press, New York, p.309(1986)
 32. Vahouny, G. V., Khalafi, R., Satchithanandam, S., Watkins, D. W., Story, J. A., Cassidy, M. M. and Kritchevsky, D. : Dietary fiber supplementation and fecal bile acids, neutral steroids and divalent cations in rats. *J. Nutr.*, **117**, 2009(1987)
 33. Smithson, K. W., Millar, D. B., Jacob, L. K. and Gray, G. M. : Intestinal diffusion barrier unstirred water layer or membrane surface mucous coat ? *Science*, **214**, 1241(1990)
 34. Story, J. A. : Modification of steroid secretion in response to dietary fiber. In "Dietary fiber. Basic and clinical aspects" Vahouny, G. V. and Kritchevsky, D. (eds.), Plenum Press, New York, p.253(1985)
 35. Lafont, H., Lairon, D., Vigne, J. L., Chanussot, F., Chabert, C., Portugal, H., Pauli, A. M., Crotte, C. and Hauton, J. C. : Effect of wheat bran, pectin and cellulose on the secretion of bile lipids in rats. *J. Nutr.*, **115**, 849(1985)
 36. Stanley, M. M., Dharam, P., Gacke, D. and Murphy, J. : Effects of cholestyramine, metamucil and cellulose on fecal bile salt excretion in man. *Gastroenterology*, **65**, 889(1973)

(1994년 9월 8일 접수)