

## 식이섬유 첨가가 흰쥐의 간 Xanthine Oxidase 활성에 미치는 영향

이영순\* · 이혜자 · 윤종국†

\*계명전문대학 식품영양과

계명대학교 공중보건학과

## The Effect of Dietary Fiber on The Liver Xanthine Oxidase Activity in Rats

Young-Soon Lee\*, Hye-Ja Lee and Chong-Guk Yoon†

\*Dept. of Food and Nutrition, Keimyung Junior College, Teagu 705-038, Korea

Dept. of Public Health, Keimyung University, Teagu 704-200, Korea

### Abstract

To evaluate the effect of dietary fiber on the protein utilization, Sprague-Dawley rats were fed diet containing 15% or 30% of pectin and 15% or 30%  $\alpha$ -cellulose. Control group was fed fiber free diet. The animals were fed *ad libitum* for 5 weeks. Weight gain was less in the rat fed a pectin supplemented diet than those fed  $\alpha$ -cellulose supplemented or control diet. Furthermore, weight gain decreased more by the addition of 30% pectin than 15% pectin level. The rats fed  $\alpha$ -cellulose or pectin showed a decreasing tendency of food efficiency ratio compared to the control group. The rats fed a diet containing pectin showed an increasing tendency of the liver weight compared to the control group and those fed cellulose. The rats fed a diet containing pectin showed a decreasing tendency of hepatic protein content compared to those fed cellulose or control group fed fiber free diet. The rats fed diet containing pectin (15%, 30%) showed remarkable decreased activity of liver xanthine oxidase compared with those fed  $\alpha$ -cellulose or the control group. These results suggested that the pectin may be alter the absorption of protein in intestinal lumen.

**Key words** : dietary pectin, cellulose, xanthine oxidase

### 서 론

Xanthine oxidase (EC.1.3.2.1)는 purine체의 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로 산화시켜 요산을 생성하는 반응에 관여하는 효소(1,2)이다. 이 효소의 활성은 식이의 섭취와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있으며(3,4), 특히 단백질 영양에 따라 간조직 중 본 효소의 활성차가 크게 나타난다(5-11)고 한다. 여러 선행연구에서 간 xanthine oxidase 활성측정은 실험동물에 있어서 단백질의 생물가를 측정하는 일종의 지표로서 사용된다고 보고(5-11)하고 있다.

또한 식이섬유는 체내 cholesterol치를 낮추어 동맥경화증, 관상동맥성 질환 등에 예방 효과(12,13)가 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 최근 pectin과 같은 식이

섬유의 과다 섭취는 오히려 단백질 흡수에 지장을 초래하여 단백질 영양에 영향을 미친다는 사실이 보고(14-16)되었다.

이에 본 연구자들은 식이섬유를 첨가한 식이로 성장한 흰쥐에 단백질 섭취 양상을 구명하는 일환으로 pectin 및  $\alpha$ -cellulose와 같은 섬유소를 그 함량을 달리하여 첨가한 식이로 5주간 사육한 후 간조직 중 단백질 함량 및 xanthine oxidase 활성을 측정함과 동시에 간장 무게와 사육기간 중 체중 및 사료효율의 변동을 관찰하여 이들을 상호 비교 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험동물과 식이

체중이 70~75g 되는 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종의 흰쥐 숫컷을 표준식이로 1주간 적응시킨 후 무작

† To whom all correspondence should be addressed

Table 1. Composition of experimental diet

(Basal diet : g/kg diet)

Components groups	Control	15% Pectin diet	30% Pectin diet	15% Cellulose diet	30% Cellulose diet
Corn starch	760	760	760	760	760
Pectin		150	300		
$\alpha$ -Cellulose				150	300
Casein	150	150	150	150	150
Corn oil	45	45	45	45	45
Mineral mix <sup>1)</sup>	35	35	35	35	35
Vitamin mix <sup>2)</sup>	10	10	10	10	10

<sup>1)</sup>Mineral mixture : Contained (g) : CaCO<sub>3</sub> 300, potassium phosphate dibasic 322.5, MgSO<sub>4</sub> 102, Ca-phosphate monobasic 75, NaCl 167.5, KI 0.8, ZnCl<sub>2</sub> 0.25, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.3, MnSO<sub>4</sub> 5, molybdc acid 0.2

<sup>2)</sup>Vitamin mixture : Contained : Vit. A 20,000I.U., Vit. D<sub>3</sub> 4,000I.U., Vit. E 5I.U., Vit. B<sub>1</sub> 10mg, Vit. B<sub>2</sub> 50mg, Vit. B<sub>6</sub> 5mg, Vit. B<sub>12</sub> 15mg, Vit. K<sub>4</sub> 5mg, Vit. C 5mg, DL-methionine 50mg, L-Lysine 10mg

위 추출로 다음과 같이 5군으로 구분하였다.

본 실험에 사용한 식이는 Table 1에 의하여 조제된 표준식이군, 15% cellulose 첨가군, 30% cellulose 첨가군, 15% pectin 첨가군 및 30% pectin 첨가군의 5종류이다.

각군은 6마리씩을 1군으로 하여 5주간 사육하였으며 이때 한 사육장에 1마리씩을 넣고 실온에서 사육하였으며 물의 양은 제한없이 공급하였다. 각군에 해당하는 식이는 매일 일정량을 측정하여 일정한 시간에 급여하고 매일 섭취한 식이량을 측정하였다. 체중은 1주 1회씩 일정한 시간에 측정하였다.

#### 실험동물의 처치

5주간 사육한 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 가벼운 ether 마취하에서 복부 정중선을 따라 개복한 다음 복부 대동맥에서 혈액을 채취하였다. 채혈 직후에 4°C의 saline액으로 간장을 관류하여 간장내에 남아있는 혈액을 제거한 다음 적출하였다.

#### 사료효율

식이섭취에 대한 체중 증가량을 알아보기 위하여 배주 섭취한 식이량과 같은 기간의 체중 증가량으로 다음 식에 의하여 사료효율을 산출하였다.

$$\text{사료효율 (FER)} = \frac{1\text{주간 체중 증가량}}{1\text{주간 사료 섭취량}}$$

#### 간장 효소액의 조제

간조직은 2~4°C 하에서 절편으로 만들고 그 중 일정량을 평량하여 4배량의 빙냉의 0.25M-sucrose액을 넣어 teflon glass homogenizer로 마쇄하여 간균질액(20w/v%)을 만들었다. 이 균질액을 4°C에서 20분간 22,500rpm으로 원심분리하여 얻은 상층액의 일부는 세포질성 단

백질 정량에 사용하였고 또 다른 일부의 일정량을 투석막에 넣어 20배량의 4°C 0.25M sucrose액 중에서 magnetic stirrer로 저으면서 12시간 투석시킨 것을 간 xanthine oxidase 활성 측정에 사용하였다.

#### 간조직의 xanthine oxidase활성 측정

간 xanthine oxidase 활성 측정은 xanthine을 기질로 하여 30°C에서 20분간 반응시켜 생성된 뇨산을 phosphotungstic acid를 가하여 비색정량하는 윤(17)의 방법에 의하여 측정하였다. 효소의 단위는 wet liver 1g당 unit로 표시하였다.

#### 단백질 정량 및 통계처리

간세포질성 단백질 정량은 Biuret법(18)에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 실시하였다. 얻어진 각종 성적들의 평균치 중 상호비교가 필요한 경우는 student t-검정법에 의하여 검정하였다(19).

## 결과 및 고찰

#### 사육기간중 체중변동 및 사료효율

실험동물의 사육기간중 체중변동에 있어서  $\alpha$ -cellulose 첨가군은 대조군과 유사하게 처음 체중의 약 3.5배로 유사하게 증가되었으나 15% pectin 첨가군은 약 2.9배, 30% pectin 첨가군은 약 1.9배로 증가되었다. 따라서 15% pectin 첨가군은 대조군 보다 약 24% 유의하게 저하되었으며 30% pectin군은 15% pectin군에 비하여 약 38%로 현저히 감소되었다(Fig. 1). 한편 사육기간중 사료효율을 관찰한 것은 Table 2와 같다.  $\alpha$ -Cellulose 및 pectin 첨가군은 대조군에 비하여 사료효율이 떨어지는 경향을 보였으며 섬유소 첨가 함량에 비례해서 사료효율이 역시 떨어지는 경향을 보였다.

식이 중 단백질 함량을 감소시키면 체중에 지장이 초래된다는 잘 알려진 사실(10,20,21)이며, Meyes 등(22)은 실험동물에 타 영양소 보다 상대적으로 단백질 함량을 감소시키면 에너지 섭취에 제한을 받기 때문에 사료효율 및 체중 증가율이 감소된다고 보고하였다. 또한 비록 단백질 공급이 충분하더라도 장에서 소화흡수 생리도 단백질 영양가에 영향을 미치는 하나의 요인으로 작용한다고 한다(22,23).

본 실험에서 식이에 단백질 함량이 동일 조건임에도 불구하고 대조군과  $\alpha$ -cellulose 첨가군에서는 체중 증가율과 사료효율이 별다른 차이를 볼 수 없었으나 pectin 첨가군은 체중 증가율과 사료효율이 감소되었다. 이것은 본 실험조건에서 첨가된 식이섬유에 의한 탄수화물의 희석으로 인한 에너지 섭취의 부족 때문이라고 볼 수 없으며 또한 pectin 첨가군과 동일한 비율로 식이가 희석된 cellulose 첨가군은 체중 증가율이 대조군과 별다른 차이를 볼 수 없는 것으로 보아 pectin 섬유소가 공급된 단백질의 흡수에 영향을 미치는 것으로 일단 생각할 수 있다.

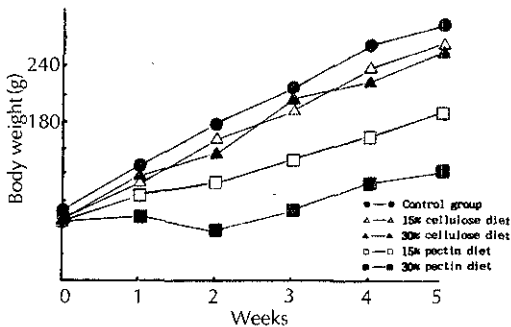


Fig. 1. Body weight gain in rats fed pectin or  $\alpha$ -cellulose. Each value indicates the mean  $\pm$  SE of 6 rats.

Table 2. Food efficiency ratio (FER) with dietary pectin or  $\alpha$ -cellulose levels

Groups	Control	15% Pectin diet	30% Pectin diet	15% Cellulose diet	30% Cellulose diet
FER	0.367 $\pm$ 0.037	0.322 $\pm$ 0.020	0.280 $\pm$ 0.051	0.331 $\pm$ 0.030	0.280 $\pm$ 0.069

Each value represents the mean  $\pm$  SE of 7rats

Table 3. Effect of dietary fiber on the hepatic protein content and liver weight in rats

Groups	Control	15% Pectin diet	30% Pectin diet	15% Cellulose diet	30% Cellulose diet
Liver wt/body wt (%)	2.80 $\pm$ 0.08 <sup>a)</sup>	3.28 $\pm$ 0.20	3.69 $\pm$ 0.19	2.51 $\pm$ 0.16	2.50 $\pm$ 0.04
Liver protein <sup>b)</sup>	130.50 $\pm$ 4.41	93.28 $\pm$ 5.25	90.20 $\pm$ 4.20	110.95 $\pm$ 4.82	115.81 $\pm$ 4.00

<sup>a)</sup>Liver protein unit : mg/g, wet liver

<sup>b)</sup>Values are means $\pm$ SE of 7rats

No significant differences were noted

### 간 무게 및 단백질함량 변동

식이성 pectin이 단백질 흡수에 영향을 미치는 지를 알아보기 위하여 체중 당 간 무게 및 간 단백질 함량을 측정하는 것은 Table 3과 같다. Pectin 첨가군이 체중당 간 무게의 백분율이 대조군 및  $\alpha$ -cellulose 첨가군 보다 증가되었고, 이때 pectin 첨가량에 비례하였다. 따라서 pectin이 간의 기질적 변화 즉 간세포의 비대를 야기시킬 수 있으며 이와 같은 현상은 단백질 영양부족으로 기인된 것으로 생각된다. 또한 간세포성 단백질 함량치도 pectin 첨가군이 cellulose 첨가군 및 대조군 보다 약 16% 저하되었다. 그러나 cellulose 첨가군은 대조군과 별다른 차이를 볼 수 없었다. 따라서 pectin이 단백질 섭취에 지장을 초래한 것임을 암시해 주고 있다.

최근 Delorme와 Gordon(14) 및 Shah 등(15)은 pectin과 같은 식이섬유가 분변 중 nitrogen 배설을 증가시켜 단백질 섭취에 지장을 초래시킨다고 하였다. 이와같이 고농도의 식이섬유가 단백질 섭취를 감소시키고 nitrogen 배설은 증가되어 체내 단백질 영양가가 저하된다고 한다. 따라서 이를 확인할 목적으로 간 xanthine oxidase 활성을 본 실험조건에서 관찰하였다.

### 간조직의 xanthine oxidase활성 변동

간조직 중 xanthine oxidase 활성치는 15% pectin 첨가군과 30% pectin 첨가군 공히 대조군에 비하여 약 40%의 유의한 감소를 보였으나 cellulose 첨가군은 대조군과 별다른 차이를 볼 수 없었다(Table 4).

Xanthine oxidase는 purine체 대사에 관여하는 일종의 효소로서 간조직 중 그 활성이 단백질 식이에 민감한 작용으로 나타나기 때문에 단백질 영양가 측정의 지표로 이용되는 것으로 알려져 있다(3-11). 본 실험에서 pectin 첨가군이 대조군에 비하여 xanthine oxidase 활

Table 4. Effect of dietary fiber (pectin or  $\alpha$ -cellulose) on the liver xanthine oxidase activity in rats

	Dietary fiber levels				
	Control	15% Pectin diet	30% Pectin diet	15% Cellulose diet	30% Cellulose diet
Xanthine oxidase activity <sup>a</sup>	3.20±0.25 <sup>a</sup>	2.26±0.13 <sup>b</sup>	2.34±0.24 <sup>b</sup>	3.23±0.13 <sup>a</sup>	3.22±0.23 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unit : n mole uric acid formed n mole/min/mg protein

<sup>a</sup>Values are means±SE of 7 rats

<sup>a,b</sup>Means with different superscripts are significantly different at  $p < 0.01$

성이 현저히 감소되었으며 cellulose 첨가군 간에는 별 다른 차이를 볼 수 없었다. 이러한 결과로 보아 체중 증가율, 사료효율 및 간세포질성 단백질 함량의 변동과 간 xanthine oxidase 활성과는 서로 상관관계가 있는 것으로 생각된다.

이와 같이 실험결과를 종합하여 볼 때 식이 중 고농도의 pectin이 단백질의 영양가를 낮추는 인자로 작용함을 알 수 있었으며, 따라서 본 실험조건으로 성장한 실험동물에서 pectin 첨가군이 단백질 영양가가 떨어지는 원인은 pectin이 단백질 흡수에 일종의 장애요인으로 작용하는 것으로 사료된다. Pectin이 단백질 흡수에 영향을 미치는 기전에 대해서는 아직 까지 알려져 있지 않고 있으며 다만 pectin이 galacturonic acid의 ion성인 carboxylic group을 가지는 친수성 polymer로서 점성이 있는 gel-matrix를 형성할 수 있고 이러한 점성은 단백질 분자와 소화효소간 또는 흡수면과 소화생성물 간의 접촉을 감소시킬 것이라는 설 등 몇가지 설(24,25)이 있을 뿐이며 이는 앞으로 추구할 과제로 남아있으며, 이상의 본 실험결과와 문헌상의 지견을 종합하여 볼 때 pectin과 같은 식이성 섬유는 소장에서 단백질 흡수에 영향을 미칠 것으로 생각되며 또한 이의 모니터링의 일환으로 간 xanthine oxidase 측정이 가능할 것으로 사료된다.

## 요 약

식이섬유가 단백질 흡수에 미치는 영향을 알아보기 위하여 흰쥐에 pectin 및  $\alpha$ -cellulose를 첨가(0%, 15%, 30%)한 식이로 5주간 사육한 후 간조직 중 단백질 함량 및 xanthine oxidase 활성을 측정함과 동시에 장기 무게와 사육기간 중 사료효율의 변동을 관찰하여 이들을 상호 비교 검토하였다. 실험동물의 사육기간 중 체중의 변동은 대조군에서는 처음 체중의 약 3.6배, 10%, 30%  $\alpha$ -cellulose 첨가군은 두군 모두 약 3.5배, 15% pectin 첨가군은 약 2.9배, 30% pectin 첨가군은 약 1.9배로 증가되었다. 세 군간에 체중 증가량이 있어서는 대조군과  $\alpha$ -cellulose 첨가군 간에는 체중 증가율이 거의 유사하게 관찰

되었으나 15% pectin 첨가군은 대조군 보다 약 24% ( $p < 0.01$ ) 저하되었으며 30% pectin 첨가군은 15% pectin 첨가군에 비하여 약 38%의 현저한 감소를 보였다. 한편 사료효율은  $\alpha$ -cellulose 및 pectin 첨가군은 대조군에 비하여 떨어지는 경향을 보였으며 식이섬유의 첨가 함량에 비례하여 사료효율이 역시 떨어지는 경향을 관찰할 수 있었다. 최종 장기의 체중당 백분율에 있어서는 대체적으로 pectin 첨가군이 대조군 및  $\alpha$ -cellulose 첨가군에 비하여 높은치를 나타내는 경향을 보였으며 특히 간장에 있어서 그 차이가 심했다. 이때 간조직 중 단백질 함량은 15%, 30% pectin 첨가군의 두군 모두 대조군에 비하여 약 16% 감소되었으며 간 xanthine oxidase 활성치는 15% pectin 첨가군과 30% pectin 첨가군 공히 대조군 보다 약 40%의 유의한 ( $p < 0.01$ ) 감소를 보였다. 또한  $\alpha$ -cellulose 첨가군은 대조군과 별다른 차이를 볼 수 없었다.

## 문 헌

1. Watts, R. W. E., Watts, J. E. M. and Seegmiller, J. E. : Xanthine oxidase activity in human tissues and its inhibition by allopurinol. *J. Lab. Clin. Med.*, **66**, 688 (1965)
2. Ramboer, C. R. H. : A sensitive and radioactive assay for serum and tissue xanthine oxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **74**, 828 (1969)
3. Row, P. B. and Wyngaarden, J. B. : The mechanism of dietary alterations in rat hepatic xanthine oxidase levels. *J. Biol. Chem.*, **241**, 5571 (1966)
4. 윤종국 : 저단백 식이로 성장한 흰쥐에 있어서 급성기 이상태가 단백질 및 핵산 대사에 미치는 영향. 과학논집 제9집, p.139 (1983)
5. Litwack, G., Williams, J. M. Jr., Chen, L. and Elvehjem, C. A. : A study of the relationship of liver xanthine oxidase to quality of dietary protein. *J. Nutr.*, **47**, 299 (1952)
6. Litwack, G., Williams, J. M. Jr., Fatterpaker, P., Chen, L. and Elvehjem, C. A. : Further studies relating liver xanthine oxidase to quality of dietary protein. *J. Nutr.*, **49**, 579 (1953)
7. Litwack, G., Fatterpaker, P., William, J. M. Jr and Elvehjem, C. A. : Studies on the response of liver xanthine oxidase to dietary protein in weanling rats. *J. Nutr.*, **52**,

- 187(1954)
8. Muramatsu, K. and Ashida, K. : Effect of dietary protein level on growth and liver enzyme activities of rats. *J. Nutr.*, **76**, 143(1962)
  9. Muramatsu, K. and Ashida, K. : Relationship between the nutritive value of dietary protein and liver xanthine oxidase activity in young rats. *Agr. Biol. Chem.*, **26**, 25 (1962)
  10. Rowe, P. B. and Wyngaarden, J. B. : The mechanism of dietary alteration in rat hepatic xanthine oxidase levels. *J. Biol. Chem.*, **241**, 5571 (1966)
  11. 윤종국, 이상일, 신중규 : 식이성 단백질 함량에 따른 흰쥐의 사염화탄소 투여가 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **20**, 527(1991)
  12. Goodhart, R. J. and Shills, M. E. : Modern nutrition in health and disease. 6th ed., Lea and Febiger, p.1045 (1980)
  13. Anderson, J. W. : Carbohydrate and lipid metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 346(1979)
  14. Delorme, C. B. and Gordon, C. I. : The effect of pectin on the utilization of marginal levels of dietary protein by weanling rats. *J. Nutr.*, **113**, 2432(1983)
  15. Shah, N., Atallah, M. T., Mahoney, R. R. and Pellett, P. L. : Effect of dietary fiber components on fecal nitrogen excretion and protein utilization in growing rats. *J. Nutr.*, **112**, 658(1982)
  16. 윤종국, 이영순, 이방자 : 식이내 섬유질 (pectin 및 cellulose) 수준이 lipoprotein fraction에 미치는 영향. *계명연구논총 제4집*, p.457(1986)
  17. 윤종국 : 비색법에 의한 흰쥐 간조직의 xanthine oxidase 활성 측정법. *계명 연구논총 제2집*, p.295 (1984)
  18. Gornall, A. G., Bardawill, C. J. and David, M. M. : Determination of serum protein by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**, 751 (1949)
  19. Geigy, J. R. : Documenta geigy scientific table. 6th ed., Basile, Switzerland (1962)
  20. Muramatsu, K. and Ashida, K. : Effect of dietary protein level on growth and liver enzyme activities of rats. *J. Nutr.*, **76**, 143(1962)
  21. Harper, A. E. : Effect of variations in protein intake on enzyme of amino acid metabolism. *Can. J. Biochem.*, **44**, 1589(1965)
  22. Meyer, J. H. and Hargus, W. A. : Factors influencing food intake of rats fed low protein rations. *Am. J. Physiol.*, **197**, 1350(1959)
  23. Bodwell, C. E., Satterlee, L. D. and Hackler, L. R. : Protein digestibility of same protein preparations by human and rat assays and by in vitro enzyme digestion methods. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 677(1980)
  24. Arnal-Peyrot, F. and Adrian, J. : Role des gommes des Mucilages sur la digestibilité. *Ann Nutr. Aliment.*, **28**, 505(1974)
  25. Forman, L. P. and Schneeman, B. O. : Effects of dietary pectin and fat on the small intestinal contents and exocrine pancreas of rats. *J. Nutr.*, **110**, 1992(1980)

(1995년 8월 28일 접수)