

고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐에 메주 분말 급여가 지질대사에 미치는 영향

김종대 · 이영일 · 김복란* · 최용순 · 이상영†

강원대학교 식품생명공학부

*강원대학교 가정교육과

Effects of Meju Powder Supplementation on Lipid Metabolism in Rats Fed Hypercholesterolemic Diet

Jong-Dai Kim, Young-Il Lee, Bok-Rhan Kim*, Yong-Soon Choi and Sang-Young Lee†

Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

*Dept. of Home Economics Education, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Abstract

This study was performed to examine the effects of Meju supplementation to high cholesterol diet on lipid metabolism in rats. Male Sprague-Dawley rats were divided into two groups (Steamed soybean, Meju) and were fed with 0.5% cholesterol diet. Serum and liver lipid profiles and fecal bile acids excretion were examined after four weeks of experimental diet. Food intake, weight gain and liver weight were not significantly different between the two groups. Total cholesterol concentrations in serum was significantly lower in Meju group compared to steamed soybean group ($p < 0.05$). HDL-cholesterol, triglyceride, phospholipids and nonesterified fatty acid concentrations in serum were not significantly different between the two groups. Cholesterol, triglyceride, and phospholipids concentrations in liver were not significantly different between the two groups. Fecal bile acid excretion were markedly higher in Meju groups than the group fed steamed soybean ($p < 0.05$). These results suggest that the cholesterol lowering effect by Meju supplementation might be resulted from the modulation of fecal bile acid excretion in rats.

Key words: Meju, lipid metabolism, fecal bile acid

서 론

식생활의 서구화에 따른 식습관의 변화는 고지혈증에 기인하는 순환기계 질환의 사망률 증가를 유발하고 있다(1). 순환기계 질환 발생의 주요한 위험인자로는 혈청 중의 콜레스테롤과 중성지방 농도의 증가라 하겠으며, 흡연, 노화, 운동 부족 등도 영향을 미치는 것으로 알려지고 있다(2-4). 한편 식이 구성 요소는 혈청 콜레스테롤 농도를 변화시키는 중요한 인자로 인식되고 있어 이와 관련하여 최근에는 지질대사 개선기능을 갖는 식물성분에 대한 연구들이 많이 보고되고 있다(5,6).

메주는 대두가공식품으로 우리나라 고유의 전통 발효식품인 된장이나 고추장의 원료로서 옛부터 우리나라에서 널리 이용되어 오고 있으며, 단백질 공급원으로 중요한 위치를 차지해 오고 있다(7). 대두단백질

은 동물성단백질인 카제인에 비하여 동물에서 혈청 콜레스테롤 농도를 저하시키는 효과가 크다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. 대두단백질의 혈청 콜레스테롤 저하작용에 관한 메카니즘은 pepsin, trypsin과 같은 소화효소에 의해 가수분해되지 않는 미분해성 분획물이 담즙산과의 결합에 의해서 일어난다는 것이 보고된 바 있다(8,9). Sugano 등은 대두단백질로부터 분리한 미분해성 peptide 분획물의 투여가 쥐의 체내 콜레스테롤 수준을 효과적으로 감소시킴을 밝히고, 나아가 담즙산과 장내의 미분해성 단백질과의 결합에 기인한 담즙산 배설증가로 말미암아 콜레스테롤 저하를 가져온다는 주요한 메카니즘으로 설명한 바 있다(10,11). 메주 단백질은 발효기간 동안 주로 *Aspergillus*속의 미생물에 의해 분해되므로 발효되지 않은 대두단백질과는 다른 단백질 패턴을 갖게 되는데(12), 이러한 새로운 단

† To whom all correspondence should be addressed

백질 패턴은 생체의 생리적 기능에 영향을 미칠 것으로 추정된다. 이러한 측면에서, 저자 등은 일차적으로 개량메주로부터 pH 4.5의 분획물로부터 분리한 단백질이 *in vitro*에서 담즙산과의 결합능을 갖고 있음을 확인한 바 있다(13). 그러나, 메주분말이 *in vivo*에서 담즙산과 결합하여 배설의 증가를 유도할 수 있는지, 또한 그 결과로 체내 콜레스테롤 pool의 변동을 가져올 수 있는지에 대해서는 아직 알려지지 않았다. 그러므로 본 연구에서는 흰쥐에 순수 발효시킨 메주분말을 콜레스테롤과 함께 투여하여 지질 농도 및 담즙산 배설 농도를 측정함으로써 메주의 생리적 기능 및 콜레스테롤 농도의 조절을 갖는 기능성 식품소재로서 메주의 가치를 규명할 목적으로 시도한 몇가지 연구결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

개량메주와 증자대두는 주식회사 샘표 간장(서울)으로부터 기증받아 동결건조시킨 후 분말화하였다. 개량메주는 *Aspergillus oryzae*를 균주하여 발효시켰으며 가공은 회사의 상법에 따라 제조하였다. 단백질 원인 증자대두, 개량메주에 대한 일반성분은 AOAC법(14)을 기준으로 수분은 상압건조법, 조지방은 회화법, 조단백질은 micro Kjeldahl법, 조지방은 soxhlet추출법으로 분석하였다(Table 1). 실험식은 soybean oil 5%, vitamin mix. 1.0%, mineral mix. 1.5%, choline bitartrate 0.2%, DL-methionine 0.3%, cellulose 5%, sucrose 11.5%, corn starch 23%, cholesterol 0.5%에 증자대두와 메주를 단백질원으로 50% 첨가하여 제조하였다.

실험동물의 사육

실험동물은 4주령의 Sprague-Dawley(S.D.)계 수컷 흰쥐(명진실험동물, 서울)를 구입하여, 사육용 사료(삼양유지 사료, 원주)로 일주일간 적응시킨 후, 증자대두 분말, 된장메주 분말 급여군으로 나누어, 각 군당 8마리씩으로 하여 개별 사육케이지에서 각각의 식이로 4

주동안 사육하였다. 사육실 온도는 23~25°C, 12시간 간격으로 점등과 소등하였고, 실험기간 동안 물 및 사료는 자유섭취하도록 하였다. 식이 섭취량과 체중 증가는 매 2일마다 측정하였다.

혈액, 간장 및 분변의 수집 및 처리

실험기간이 완료된 뒤 12시간 절식시킨 후 단두 도살하여 혈액을 채취하였고, 혈액은 30분간 실온에서 방치한 후 원심분리하여 혈청을 얻었으며, 간장은 채혈 후 즉시 적출하여 생리식염수로 씻고 여과지로 수분을 제거한 후 -60°C에서 보관하면서 분석용 시료로 하였다. 분변은 실험종료 2일 전에 사육케이지에서 수집하였고, 수집된 분변은 동결건조시킨 후 마쇄하여 -60°C에 보관하면서 담즙산 분석용 시료로 사용하였다.

혈청 및 간장중의 지질과 분변중의 담즙산 분석

혈청중 총 콜레스테롤(Cholesterol CII, Wako), HDL-cholesterol(아산셋트 HDL-콜레스타제, 아산제약), 중성지방(Cleantech TG-S, 아산제약), 인지지방질(Phospholipids B, Wako), 유리지방산(NEFA, 파이름-S, 榮研化學株)은 각각 효소법으로 측정하였다. 간장 중 지방질은 Folch 등의 방법으로(15) 추출 정제하여 콜레스테롤은 효소법으로, 중성지방 및 인지지방질은 각각 Fletcher(16)와 Rouser 등(17)이 보고한 바에 따라 비색정량하였다.

분변 중의 담즙산 함량은 Roelof 등(18)의 방법에 따라 담즙산을 추출한 후 담즙산 측정용 kit(Sigma kit. No 450)를 사용하여 효소법으로 측정하였다.

통계처리

실험결과로 얻어진 수치는 ANONA로 분석한 후 p<0.05 수준에서 LSD-test로 유의성 검증을 행하였다.

결 과

메주 및 증자대두의 일반성분 함량

단백질원으로 사용된 메주 및 증자대두의 일반성분 분석 결과 조단백질은 약 39%, 조지방질은 18~19%, 탄수화물은 32~34%, 조회분은 4.5%~5.2%를 보였다(Table 1).

식이섭취량, 체중증가량 및 간장 무게

메주 및 증자대두를 50% 수준으로 첨가한 실험식이

Table 1. Composition of dietary protein sources used for animal diet (%)

Ingredients	Steamed soybean	Meju
Moisture	4.0	4.3
Crude ash	5.2	4.5
Crude protein	38.5	39.5
Crude lipid	18.0	19.0
Carbohydrate	34.3	32.7

Table 2. Growth parameters and liver weight in rats

Group	Initial body weight	Weight gain(g/4weeks)	Food intake(g/day)	Liver weight(g)
Steamed soybean	160.3±12.6	116.8±13.5	12.7±1.1	8.5±1.3
Meju	159.3±15.3	119.8±17.4	11.4±0.8	8.3±0.9

Mean±S.D. of 8 rats

Table 3. The concentration of serum lipids in rats

Group	TC(mg/dl)	HDL-C(mg/dl)	HDL-C/TC(%)	TG(mg/dl)	PL(mg/dl)	NEFA(μEq/L)
Soybean	66.0±9.9 ^a	38.6±4.8	54.5±5.54 ^a	60.6±17.3	118.8±14.4	922.0±108.0
Meju	55.3±8.3 ^b	40.8±4.3	73.8±3.24 ^b	54.9±11.6	110.6±11.9	878.0±171.0

Mean±S.D. of 8 rats

^{ab}Values in the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05)

TC: Total cholesterol, HDL-C: High density lipoprotein-cholesterol, TG: Triglyceride, PL: Phospholipid, NEFA: Nonesterified fatty acids

로 4주간 사육한 흰쥐의 실험식이 섭취량, 체중 증가량 및 간장 무게는 Table 2와 같다. 일일 평균 식이 섭취량 및 체중 증가량, 간장 무게는 두 식이군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

혈청과 간장중의 지질함량

메주의 단백질 패턴이 발효에 의해 가공하지 않은 대두단백질과는 다른 양상을 보임으로써(12) 체내에서 생리기능에도 차이를 보일 것으로 생각되어 본 연구에서는 Sprague-Dawley 쥐를 사용하여 증자대두 또는 메주를 50% 수준으로 첨가한 식이를 4주간 자유 급식제한 후 혈청과 간장 중의 지질 함량 및 분변 중의 담즙산 배설량을 측정하여 보았다. Table 3에서와 같이 혈청 총 콜레스테롤 농도는 메주분말 섭취군이 증자대두 섭취군에 비해 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 일반적으로 대두단백질은 동물성 단백질인 카제인에 비해 혈청 콜레스테롤 저하 기능이 큰 것으로 알려져 있는데 그 예로서 Horri 등은 단백질원으로 일본식 탈염된 장을 식이의 20% 수준으로 급여한 결과 동물의 혈청 콜레스테롤 함량이 대조군인 카제인군에 비해 유의적으로 낮아졌다고 보고한 바 있다(19). 현재까지 사람이나 동물에서 콜레스테롤 저하 기능을 갖는 대두성분으로는 phytosterol(20)과 대두단백질(21), 사포닌(22), 식이섬유(19) 등이 알려진 바 있다. 혈청 중 HDL-콜레스테롤 농도는 각 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 혈청 총 콜레스테롤 농도가 메주분말 섭취군이 증자대두 섭취군에 비해 유의적으로 낮은 수준을 보여 메주분말 급여에 의한 총 콜레스테롤 농도의 감소는 VLDL과 LDL-콜레스테롤 농도 저하에 기인함을 암시한다. 한편 지금까지 보고된 대두단백질의 혈청 콜레스테롤 농도 저하 기작은 구성 아미노산에 기인한

다는 가설(23)과 소화관에서 생성되어 흡수된 peptide가 간에서 콜레스테롤 합성을 저해한다는 가설(24) 및 흡수되지 않은 peptide가 소장에서 담즙산염과 결합하여 체외로 배출되기 때문이라는 가설(9) 등이 있다. 본 실험에서 메주 섭취군의 혈청 중 총 콜레스테롤 함량이 증자대두 섭취군에 비해 유의적으로 감소하는 경향을 보였는데 이것은 메주 중의 가수분해 되지 않은 peptide가 담즙산과 결합되어 분변 중으로 배설됨으로서 담즙산 배설량이 많아진 결과로 생각된다(Table 4). 이에 대한 논증은 저자 등이 이미 *in vitro*에서 메주 단백질이 담즙산과 결합능을 갖고 있는 것을 확인한 바 있기 때문에 이와 같은 결과는 위에서 언급한 몇가지 가설 중에서 소장으로 분비된 담즙산염이 소화관에서 형성된 peptide와 결합하여 혈청 콜레스테롤 농도가 낮아진다는 가설을 뒷받침한다고 하겠다. HDL-콜레스테롤/총 콜레스테롤 농도의 비는 메주 섭취군이 증자대두 섭취군에 비해 현저히 높은 수준을 보여줌으로서 메주는 심혈관계 질환예방, 고콜레스테롤 혈증을 개선할 수 있는 유용한 식품 소재임을 암시한다. 혈청 중성지질 농도는 두 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 메주 섭취군이 증자대두 섭취군에 비해 감소하는 경향을 나타내었다. 혈청 인지질 농도와 유리지방산 농도는 메주 분말과 증자대두 섭취군 사이에 통계적인 유의성은 보이지 않았다. Ide 등도 일본식 탈염된 된장을 쥐에 급여한 결과 혈청 중성지질과 인지질 농도에는 변화가 없었다고 보고한 바 있다(25). 간장 중의 지질 함량을 측정한 결과(Table 5) 각군간에 유의적인 차이를 보이지 않아 증자대두나 된장메주 급여는 간장 중의 중성지질, 인지질, 콜레스테롤 함량에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

Table 4. Fecal weight and fecal bile acid excretion in rats

Group	Fecal weight(g/day)	Fecal bile acid(μ mol/day)
Soybean	2.4 \pm 0.6	50.9 \pm 5.5 ^a
Meju	2.5 \pm 0.7	65.8 \pm 8.8 ^b

Mean \pm S.D. of 8 rats^{ab}Values in the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05)**Table 5. The contents of liver lipids in rats**

Group	TC (mg/g liver)	TG (mg/g liver)	PL (mg/g liver)
Soybean	3.4 \pm 0.4	8.2 \pm 3.0	24.2 \pm 1.8
Meju	3.2 \pm 0.4	7.1 \pm 2.6	27.6 \pm 2.2

Mean \pm S.D. of 8 rats

Refer to Table 1 for the abbreviations

분변량 및 분변중의 담즙산 함량

분변량 및 분변 중의 담즙산 함량을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 증자대두나 된장메주 섭취군의 분변량은 두 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 분변 중의 담즙산 함량은 메주분말군이 증자대두군에 비해 유의적으로 높은 수준을 보였다(p<0.05). Ide 등에 의하면 일본식 탈염 된장을 쥐에 급여한 결과 분변량이 대조군에 비해 증가하였으며 특히 acidic steroid의 분변 중 배설량이 증가하였다고 보고한 바 있다(25). 이러한 결과로부터 메주분말 섭취에 의한 혈청 콜레스테롤 농도의 저하는 분변 중 담즙산 배설량 증가와 밀접한 관계가 있는 것으로 판단되며, 미생물에 의해 발효된 대두단백질(메주)은 발효되지 않은 증자대두단백질에 비하여 강한 콜레스테롤 저하작용이 있어 심혈관계 질환 예방에 유용한 전통식품 소재로서의 이용가치가 높다고 생각된다.

요 약

본 연구에서는 *in vivo*에서 메주단백질이 콜레스테롤 대사에 미치는 효과를 검토하기 위해, 4주령의 Sprague-Dawley rats를 이용하여 0.5% 콜레스테롤을 함유한 식이에 증자대두분말, 메주분말을 단백질원으로 첨가하여 4주간 자유 급식한 후 혈청 및 간장 중의 지질 농도와 분변 중 담즙산 함량을 분석하였다. 증자대두, 메주분말을 포함한 식이를 섭취시켰을 때 실험기간 동안 평균 식이 섭취량, 체중 증가량 및 간장의 무게는 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다. 혈청 총콜레스테롤 농도는 메주분말 섭취군이 증자대두 섭취군에 비해 유의적으로 낮았으나(p<0.05), 혈청 HDL-콜레

스테롤 농도에 유의한 차이는 군간 관찰되지 않아, 메주분말 투여에 의한 혈청 콜레스테롤 농도의 감소는 VLDL-, LDL-콜레스테롤 농도 저하에 기인함을 보여 주었다. 혈청 중 인지질, 중성지질, 유리지방산 농도는 두 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 간장 중 중성지질, 인지질, 콜레스테롤 농도는 두 군간에 유의적인 차이는 없었다. 한편, 분변 중의 담즙산 함량은 메주분말 투여군이 대조군과 증자대두군에 비해 유의적으로 높은 수준을 보였다(p<0.05). 이러한 결과로부터 메주분말 투여에 의한 혈청 콜레스테롤 농도의 저하 효과는 담즙산 배설량의 증가에 기인된 것으로 판단되며, 미생물에 의해 발효된 대두단백질(메주)은 발효되지 않은 대두단백질에 비하여 강한 콜레스테롤 저하작용이 있음을 시사한다.

감사의 글

이 연구는 강원대학교 우당학술진흥재단의 연구비로 이루어졌으며 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. 대한통계협회 : 사망원인 통계연보(1994)
2. Krichevsky, D. : Diet and atherogenesis. *Am. J. Pathol.*, **84**, 615(1976)
3. Akira, E., Yoshio, T., Masao, K. and Kazuhiko, T. : Inhibition of cholesterol synthesis *in vitro* and *in vivo* by MI-236 and MI-236B, competitive inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase. *Eur. J. Biochem.*, **77**, 31(1977)
4. Isao, K., Yoko, H. S. and Akira, E. : Inhibitory effects on lipid metabolism in cultured cells of MI-236B, a potent inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase. *Eur. J. Biochem.*, **87**, 313(1978)
5. 이윤형, 신용목, 이재은, 최용순, 이상영 : 식물추출물로부터 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase의 활성저해제의 탐색. *한국생물공학회지*, **6**, 55(1991)
6. 최용순, 서정호, 김천호, 김영미, 함승시, 이상영 : 흰쥐에 있어서의 메밀채소의 투여가 지질대사에 미치는 효과. *한국영양식량학회지*, **23**, 212(1994)
7. 이종호, 김미혜, 임상진 : 재래식 메주 및 된장 중의 항산화성 물질에 관한 연구. *한국영양식량학회지*, **20**, 148(1991)
8. Sugano, M. and Yamada, Y. : The hypocholesterolemic action of the undigested fraction of soybean protein in rats. *Atherosclerosis*, **72**, 115(1988)
9. Sugano, M. and Yamada, Y. : Hypocholesterolemic effect of the undigested fraction of soybean protein in rats. *Atherosclerosis*, **16**, 85(1990)
10. Sugano, M. : Nutritional studies on the regulation of cholesterol metabolism(The effects of dietary protein). *J. Jap Soc. Nutr. Food Sci.*, **40**, 93(1987)
11. 蒼野道度 : 食餌蛋白質の 脂肪代謝 調節機能. *日本農藝*

- 化學會誌, **63**, 1924(1989)
12. 안봉전, 손규목, 최청 : 재래식 메주의 발효과정에 있어서 단백질 및 아미노산 조성 변화. 한국영양식량학회지, **15**, 152(1986)
 13. 김영미, 이영일, 김복란, 김종대, 이해익, 이상영 : 대두 미분해성 단백질을로부터 chemiluminescence법에 의한 담즙산 결합 peptides의 탐색. 한국영양식량학회지, **25**, 193(1996)
 14. A.O.A.C. : *Official method of analysis*. 15th ed., Association of official analytical chemists, Washington D.C. (1992)
 15. Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanly, G. H. : A simple method for total lipids extraction and purification. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497(1957)
 16. Fletcher, M. J. : A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin. Chim. Acta*, **22**, 393(1968)
 17. Rouser, G., Siakatos, A. N. and Fleischer, S. : Quantitative analysis of phospholipids by thin layer chromatography. *Lipids*, **1**, 85(1966)
 18. Roelof, D. M., Hielke, D. V. and Jan, F. C. : t-Butanol extraction of feces : A rapid procedure for enzyme determination of fecal bile acids. *Cholesterol Metabolism in Health and Disease*, **1**, 113(1985)
 19. Masaharu, H., Takashi, I., Kenji, K. and Tadashi, Y. : Hypocholesterolemic activity of desalted Miso in rats fed and atherogenic diet. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **37**, 148(1990)
 20. 이상영, 최용순 : 콜레스테롤. 신광출판사, 서울, p. 80 (1990)
 21. Sugano, M. : Hypocholesterolemic effect of plant protein in relation to animal protein : Mechanism of action. In "Animal and vegetable proteins in lipid metabolism and atherosclerosis" Gibney, M. J. and Kritchevsky, D.(eds.), Alan R. Inc., New York, p.51(1983)
 22. Sidhu, G. S., Upson, B. and Malinow, M. R. : Effects of soy saponins and tigogenin cellobioside on intestinal uptake of cholesterol, cholate and glucose. *Nutr. Rep. Int.*, **35**, 615(1987)
 23. Mercer, N. J. H., Steinke, F. H. and Wolfe, B. M. : Effects on human plasma lipids of substituting soybean protein isolate for milk protein in the diet. *Nutr. Rep. Int.*, **35**, 279(1987)
 24. 吉川正明 : 食品起源の生理活性ペプチド..食品と開発, **23**, 39(1988)
 25. Ide, T., Kano, S. and Moriuch, H. : Activities of hepatic rate limiting enzymes in cholesterol biosynthesis and degradation in rats fed desalted Miso. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **38**, 435(1991)

(1996년 11월 11일 접수)