

## 식물성스테롤 처리가 흰쥐의 혈장지질 및 혈당농도에 미치는 영향

구본순 · 이장우\*

서일대학 식품가공과, (주)세계물산\*  
(2004년 7월 20일 접수)

### Effect of Phytosterol Treatment on Plasma Lipids and Glucose in Rats

Bon-Soon, Koo and Jang-Woo, Lee\*

Department of Food Sci. and Technol., Seoil College, Seoul, Korea  
Segae Trading Co. Ltd., Seoul, Korea\*

(Received July 20, 2004)

#### Abstract

Diet effect of separated-purified phytosterol, obtained from soybean scum, in rats during 4 weeks was as follows. At this experiment, checking points were plasma lipids and glucose concentration as well as insulin level in plasma, pancreas and femur. Purity of above phytosterol was 68.3%, and composition was campesterol 21%,  $\beta$ -stigmasterol 62.3%, sitosterol 11.0% and unknowns 5.8%, respectively. Triglyceride, total cholesterol and phospholipids content was decreased as increasing of phytosterol amount(0~3%, w/w). But excessive treatments more than 3% there was no any additional effect. From these experiment optimum amount of phytosterol level was around 3%(w/w). But phytosterol treating didn't show any effects on the changes of carbohydrate relative tissues like plasma glucose concentration as well as insulin level in plasma, pancreas and femur.

Key Words : phytosterol, lipid, plasma glucose, insulin

#### I. 서론

최근 우리 국민들은 급격한 식생활 구조의 변화로 인해 육류 섭취량이 지속적으로 증가하여 풍부한 영양을 섭취하는 것으로 생각하고 있었으나, 오히려 서구화된 식생활로 인해 영양부족이나 영양불균형이 초래되어 고지혈증, 심장병, 암, 당뇨병, 비만 등과 같은 성인병이 사회문제로 대두되고 있다.<sup>1-4)</sup> 우리 나라 성인의 평균 혈청 콜레스테롤과 중성지방 농도는 유전적 요인과 환경적 요인에 의하여 증가되고 있는데<sup>5)</sup>, 이는 심장질환의 발병률이 지속적

으로 증가하고 있다는 보고<sup>6)</sup>에서 확인되고 있다. 과거 성인병은 성인의 전유물로 인식되어 왔으나 최근에는 청소년층으로 옮겨지고 있으며, 이의 치료 및 예방은 의약품에 의한 치료로도 가능하겠지만<sup>7-8)</sup> 올바른 식생활을 영위하는 것이 무엇보다 중요하다고 하겠다.

이러한 문제점을 해결하기 위한 방안의 하나로 국내에서도 콜레스테롤 감소효과가 알려지고 있는 식물성스테롤을 처리한 음료, 식용유 등에 이어 각종 가공식품들이 등장하고 있다. 식물성스테롤은 식물성 기름이나 견과류, 과일 및 채소 등에서 발견되

는 천연물질로 현재까지 자연계에서 알려지고 있는 것은 약 40여종 이고, 그 중 sitosterol과 campesterol이 각각 65%, 30%로 가장 많이 존재하며 그 외 stigmasterol이 상당부분을 차지하는 것으로 알려지고 있다. 식물성스테롤은 동물성 세포막 안정화에 기여하는 콜레스테롤처럼 식물의 세포벽 안정성을 위해 꼭 필요한 물질이며, 동물성 콜레스테롤과 유사한 구조를 갖고 있어 체내에서 콜레스테롤의 흡수를 경쟁적으로 억제시키는 작용을 하는데, 이 중 대부분을 sitosterol이 차지하고 있다<sup>9)</sup>. 식물성스테롤이 혈청 콜레스테롤 농도를 저하시키는 기전은 이 물질이 장내 콜레스테롤 및 담즙 콜레스테롤의 흡수를 경쟁적으로 저해하기 때문인데, 콜레스테롤이 담즙산과 micell을 형성할 때 구조적으로 유사한 식물성스테롤이 존재하면 용해도가 감소되기 때문에 micell을 이루지 못하여 콜레스테롤의 흡수가 저해된다. 이 때 식물성스테롤의 혈청 콜레스테롤 강하효과는 식이성 콜레스테롤의 흡수율이 높으면서 콜레스테롤의 체내 합성율이 낮은 대상자에게서 가장 크게 나타나는 것으로 보고된 바 있다<sup>9-10)</sup>. 물론 이와 같이 인위적으로 식물성스테롤을 첨가하여 섭취하지 않더라도 각종 식물성 식용유지 등을 통하여 일정량 섭취할 수는 있겠지만 개인의 식습관에 따라 큰 차이를 나타낼 수 밖에 없는 실정이다. 그러나 식물성 식용유의 경우 그 정제과정 중 최종공정인 탈취공정에서 많은 양의 스테롤 성분이 탈취부산물 즉, scum에 혼입되어 제거되는 문제점이 있다. 따라서, 이 scum으로부터 식물성스테롤을 분리, 정제하고자 하는 연구가 다양하게 시도된 바 있다<sup>11-13)</sup>. 토코페롤과 스테롤은 오래 전부터 식품산업에서 천연 항산화제, 영양강화제 및 기능성 식품의 원료로 중요한 위치를 차지하고 있을 뿐만 아니라 화장품 및 제약산업에서의 원료로도 사용되고 있는 알코올 화합물이다<sup>14)</sup>. 식물성 스테롤의 기능성은 국내·외적으로  $\beta$ -stigmasterol을 중심으로 치주염 예방 및 치료효과가 기대되어 제약 및 기능성 식품의 제조에서도 다양하게 응용되고 있는 실정이다. 그러나 식물성스테롤이 체내에서 콜레스테롤 수준을 감소시켜 준다는 확실한 근거 자료는 찾아 보기가 어려우며, 그 유효 처리량에 대해서도 구체적인 자료가 미비한 실정이기 때문에 본 연구에서는 동물실험을 통하여 좀 더 체계적인 검토를 시도해 보고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료

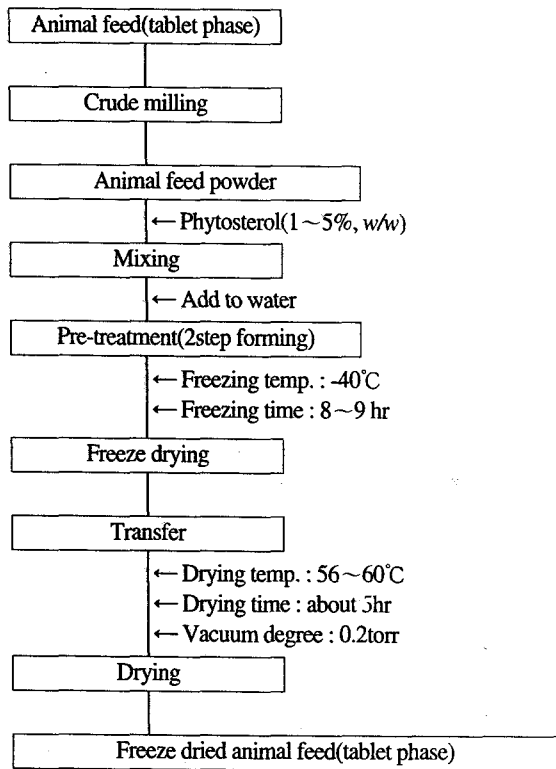
본 연구에서 사용한 식물성스테롤은 식물성 식용유지 전문 제조업체인 영미산업(주)에서 대두유 정제과정 중 마지막 공정인 탈취공정에서 분리된 탈취부산물(scum)로부터 직접 분리·정제하여 사용하였다.

### 2. 탈취부산물로부터 식물성스테롤 성분의 분리·정제

식물성스테롤 성분의 분리, 정제는 김 등<sup>15)</sup>의 방법을 일부 수정하여 실시하였다. 즉, 대두유 정제과정 중 최종 공정인 탈취공정에서 발생하는 탈취부산물을 KOH로 비누화하여 n-hexane을 용매로 하여 층분리를 시도하였다. 여기서 얻어진 비비누화물을 온수로 3~4회 수세하고 건조하여 토코페롤과 스테롤의 혼합물을 얻은 후 GC를 이용하여 최종적으로 스테롤 성분을 분리·정량하였다. 한편, 비비누화물 중 스테롤류의 분리 및 정량은 FID가 부착된 GC(model 5890, Hewlett-Packard, USA)에 의하였고, 관은 HP-5 capillary column(0.32mm ID×30m length, Hewlett-Packard, USA)을 이용하였다. 이 때 관의 온도는 295°C, 시료주입구와 검출기의 온도는 각각 310°C와 320°C로 하였으며, 이동기체는 N<sub>2</sub>로 하고, 유속은 3mL/min, split ratio는 50:1로 하였다. 크로마토그램상의 봉우리 면적은 기기에 부착된 적분계(model 3390A, Hewlett-Packard, USA)에 의하였고, 내부 표준물질의 면적과 각 봉우리의 면적비에 의해 스테롤의 함량을 mg/g oil로 나타내었다.

### 3. 동물사료의 조제

동물사료의 조제는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 일반 동물사료(한국 화이자)를 분쇄하여 식물성스테롤물질 1~5%(w/w)를 단순 혼합한 후 가수하여 수분을 다량 함유한 상태의 반고체를 성형틀에 충전하였다. 충전이 끝난 후 건조설비로 이송하여 50~60°C의 온도조건에서 건조하여 이를 동물사육용 조제사료로 이용하였다.



<Fig. 1> Manufacturing process of freeze dried animal feed

4. 동물의 사육 및 혈액채취

실험동물은 대한실험동물센터에서 체중 125g 내외의 건강한 Sprague-Dawley종의 웅성 흰쥐를 구입한 후 시판용 동물사료(한국화이자)를 급식시켜 체중 208g 내외가 된 것을 사용하였다. 이들 흰쥐를 4주간 일반사료 및 조제사료를 식이로 하여 사육한 후 공복상태에서 ethyl ether 마취 하에 개복하고, 복부대동맥, 췌장, 뒷 다리의 근육조직 등에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 2000rpm에서 10분간 원심분리(Rotor No. 7, 한일과학)시킨 다음 상등액을 취하여 -60°C에서 보관하며 분석용 시료로 사용하였다.

5. 혈장 중성지질, 총 콜레스테롤 및 인지질의 분석

혈액 중의 중성지질 및 총 콜레스테롤 농도는 한 등<sup>16)</sup>의 방법에 따른 효소법을 이용하여 각각 Cholestezyme-V 및 Triglyzyme-V(Eiken Co., Japan)를 이용하여 분석하였으며, 인지질 농도는 kit 시약(Iatron, Japan)으로 측정하였다.

6. 혈당, 인슐린 농도 분석

혈당농도는 효소법을 활용한 GLZyme kit(Eiken Co., Japan)를 이용하여 분석하였다. 혈장 인슐린 농도는 한 등<sup>16)</sup>의 방법에 따른 rat-insulin RIA kit(Linco Research Inc., USA)를 사용하여 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법으로 측정하였으며, 근육조직의 인슐린 함량은 Neville의 방법<sup>17)</sup>에 의하여 각각의 조직에 10배 정도의 1mM NaHCO<sub>3</sub> 용액에서 균질화시킨 후 3000rpm에서 15분간 원심분리(Rotor No. 7, 한일과학)시키고 상등액을 취하여 혈장과 같은 방법으로 측정하였다.

7. 통계처리

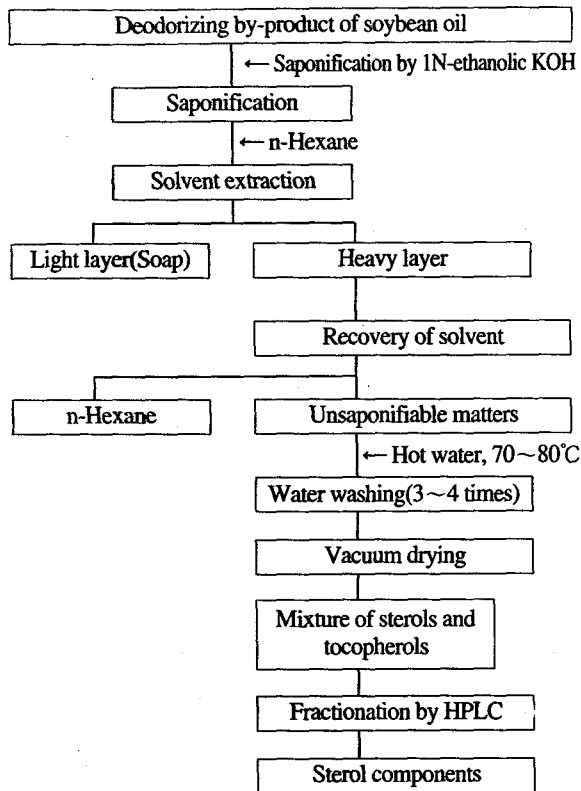
모든 자료는 Statistical Analysis System(SAS) Package를 이용하여 분석하였다. 조사된 모든 항목에 대하여 평균과 표준편차를 구하였다. 각 항목의 평균값의 차이는 유의수준 p < 0.05에서 분산분석(ANOVA)을 이용하여 검증하였으며, Duncan의 다중범위비교(Duncan's multiple range test)를 통하여 차이를 확인하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 식물성스테롤의 분리 및 정제

대두유 탈취 부산물로부터 식물성스테롤 성분의 분리 및 정제는 Fig. 2~3에 나타낸 바와 같았다. 즉, 대두유 정제과정 중 탈취공정에서 발생하는 탈취부산물을 KOH로 비누화 시킨후 n-hexane을 용매로 층분리시키고 여기서 얻어진 비비누화물을 수세, 건조하여 토크페롤과 스테롤의 혼합물을 얻은 후 GC를 이용하여 분리·정량한 스테롤 성분은 다음과 같았다.

식물성스테롤 성분의 순도는 68.3%였으며, 그 조성은 campesterol 21.4%, β-stigmasterol 62.3%, sitosterol 11.0% 및 미확인물질 5.8%였다. 이러한 결과는 대두유를 대상으로 스테롤 성분을 분석한 차<sup>18)</sup>의 보고와는 상당한 차이를 보였다. 즉, 대두유에서 분리한 비비누화물 중 스테롤 성분 함량을 조사한

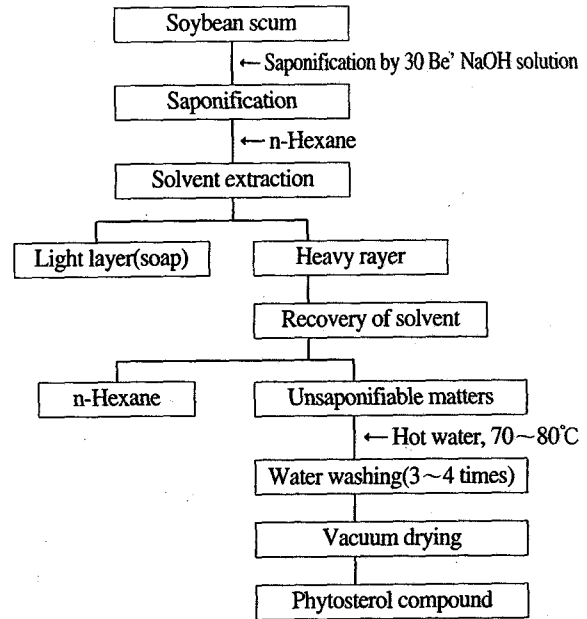


<Fig. 2> Separation-purification process of phytosterol component from deodorizing distillates as refining by-product of soybean oil

결과 campesterol 0.52%, stigmasterol 0.48%,  $\beta$ -sitosterol 1.48% 및 미확인물질 2종의 함량이 0.24%였다고 보고한 바 있다. 이러한 차이는 실험방법의 차이 보다는 시료가 대두유 탈취부산물과 대두유로 차이를 보이는데 따른 현상의 일부인 것으로 판단된다.

## 2 식물성스테롤 처리가 혈장지질 농도에 미치는 영향

대두유 탈취과정에서 부산물로 생성된 scum으로부터 분리·정제한 식물성스테롤 식이군의 혈장지질 농도 변화는 Table 1에 나타낸 바와 같았다. 즉, 일반사료 식이군에서는 중성지질 43.60mg/dL이 검출된 반면 식물성스테롤 식이군에서는 그 첨가량이 증가할수록 중성지질은 지속적인 감소경향을 보여 1%, 3%, 5%(w/w) 식이군에서 각각 42.28 mg/dL, 39.52 mg/dL, 38.69mg/dL를 나타내었다. 이러한 감소현상은 처리량에 비례하는 상관관계를 나타내지는 않았으며, 3~5%(w/w) 처리군에서는 각각



<Fig. 3> Separation-purification process of phytosterol compound from soybean scum

39.52mg /dL, 39.38mg/dL, 38.69mg/dL로 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 이러한 경향은 총 콜레스테롤 함량에서도 유사한 특성을 보였다. 즉, 무처리 식이군에서는 103.38mg/dL이 검출된 반면, 식물성스테롤 처리군에서는 각각 101.85mg/dL, 100.25mg/dL, 97.47mg/dL, 96.51mg/dL, 96.12mg/dL가 검출되었다. 이러한 감소추세는 중성지질에서의와 유사한 경향으로 특히 식물성스테롤 3% 이상의 첨가는 중성지질과 총 콜레스테롤 농도 하락에 대한 상승효과를 거의 기대할 수 없는 것으로 밝혀졌다. 중성지질, 총 콜레스테롤 함량 뿐 만 아니라 인지질 함량 변화에서도 이러한 경향은 거의 동일하게 나타나 무처리군에서 검출된 인지질 함량은 175.92mg/dL인데 비하여 식물성스테롤 처리량이 증가할수록 그 함량은 감소하여 1%, 3%, 5%(w/w) 처리군에서 각각 175.37mg/ dL, 164.19mg/dL, 162.45mg/dL로 측정되었다. 그러나 3~5%(w/w) 처리군에서는 그 편차가 현저히 둔화되는 현상을 보였다.

이상의 결과로부터 식물성스테롤의 적정 처리농도는 3% 내외 수준이 적정선인 것으로 판단할 수 있으며, 이 농도에서 중성지질, 총콜레스테롤, 인지질의 함량을 낮추어 성인병 예방에 효과가 있을 것으로 기대된다. 이러한 결과는 마요네즈에 기능성을 부여하기 위한 방안의 하나로 식물성스테롤을 처리

<Table 1> Effect of phytosterol treating of triglyceride, total cholesterol and phospholipid in rat fed

Treating amount of phytosterol(w/w, %)	Concentration(mg/dL)		
	Triglyceride	Total cholesterol	Phospholipid
0	43.60±1.25*	103.38±2.63**	175.92±12.51
1	42.28±3.31	101.85±1.94	175.37±15.34
2	41.83±2.69	100.25±13.08	170.12±9.48
3	39.52±1.07	97.47±8.36	164.19±14.47
4	39.38±2.23	96.51±11.29	165.03±18.28
5	38.69±3.28	96.12±2.63	162.45±13.86

\* Mean ± SE(n=10)

\*\* Values with different superscripts in the same row are significantly different(p < 0.05) between groups by Tukey (T) test.

<Table 2> Effect of phytosterol treating of plasma glucose level and plasma, pancreas, and femur insulin levels in diabetic fed the experimental diets for 4 weeks

Treating amount of phytosterol(w/w,%)	Glucose(mg/dL)	Insulin		
		Plasma	Pancreas	Femur
		(micro U/mL)	(micro U/g wet wt)	(micro U/g wet wt)
0	326.5±19.8 <sup>1)2)</sup>	3.4±2.9	28.1±20.6	6.8±1.3
1	328.5±11.5	3.3±3.1	28.7±53.7	6.8±2.1
2	323.0±21.3	3.3±2.4	27.2±39.0	7.0±2.7
3	323.7±13.6	3.2±4.8	28.2±42.5	6.9±2.2
4	325.1±9.0	3.3±2.9	28.9±29.4	6.8±1.8
5	324.2±14.1	3.2±3.7	29.3±33.1	7.0±2.6

1) Values are mean ± standard deviation.

2) Values with different superscripts in the same row are significantly different by Duncan's multiple range test at p < 0.05.

하여 그 품질특성을 검토해 본 결과 soybean sterol 및 wood sterol 각각 0.3~0.5%(w/w) 처리군이 적당하였다고 보고한 최<sup>9)</sup>의 결과와 유사하였다.

### 3. 식물성스테롤 처리가 흰쥐의 혈장 포도당 농도와 혈장, 췌장 및 근육조직의 인슐린 함량에 미치는 영향

흰쥐에게 대두유 정제과정에서 생성된 탈취부산물(scum)로부터 분리·정제한 식물성스테롤 첨가 식이를 4주간 식이로 제공한 후 혈장 포도당 농도와 혈장, 췌장 및 근육조직의 인슐린 함량을 측정한다. 결과는 Table 2 나타낸 바와 같았다. 혈장 포도당 농도의 변화는 식물성스테롤 처리량과 정비례 또는 반비례의 상관관계가 성립되지 않는 것으로 나타났다. 즉, 무처리군에서의 혈장 포도당 농도는 326.5mg/dL인데 비하여 1%(w/w) 처리군에서는 오

히려 상승한 328.3mg/dL로 측정되었고, 2%(w/w) 처리군에서는 323.0mg/dL로 감소하였다. 이러한 상승-감소는 식물성스테롤 처리량의 변화에 따라 일정한 상관관계의 성립없이 변화하여, 이 물질이 혈장 포도당 농도변화와는 거의 무관한 것으로 판단할 수 있었다. 식물성스테롤 처리량에 따른 혈장, 췌장, 근육조직에서의 인슐린 함량의 변화는 포도당 농도와는 또 다른 양상을 나타내었다. 즉, 인슐린 함량은 혈장, 췌장, 근육조직 모두에서 본 물질의 처리량 증가에 따라 특별한 상관관계를 보이지 않았다.

이러한 결과로 볼 때, 식물성스테롤 처리가 혈장 지질 농도와는 밀접한 상관관계가 있으나 혈장 포도당 농도와 혈장, 췌장 및 근육조직의 인슐린 함량 변화 등의 탄수화물 관련 조직에는 거의 영향을 미치지 않는 것으로 밝혀졌다.

#### IV. 요약

대두 탈취부산물(scum)로부터 분리·정제한 식물성스테롤 처리 식이를 흰쥐에게 4주간 공급하며 혈장지질, 포도당 농도 및 혈장, 췌장, 근육조직의 인슐린 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 대두 탈취부산물로부터 분리·정제한 식물성스테롤 성분의 순도는 68.3%였으며, 그 조성은 campesterol 21.4%,  $\beta$ -stigmasterol 62.3%, sitosterol 11.0% 및 미확인물질 5.8%였다. 식물성스테롤 처리량의 증가에 따라 0~3%(w/w) 처리군 에서의 중성지질, 총 콜레스테롤 및 인지질 함량의 감소는 비례관계가 성립하였으나 그 이상의 처리는 큰 차이가 없었다. 따라서 식물성스테롤 처리가 혈장지질 농도와 밀접한 상관관계가 있으며, 식물성 스테롤의 적정 처리량은 3%(w/w) 내외인 것으로 밝혀졌다. 한편 혈장, 근육조직의 인슐린 함량변화 등의 탄수화물 관련 조직에는 거의 영향을 미치지 않는 것으로 밝혀졌다.

#### 감사의 글

본 연구는 중소기업청 기술지도 및 (주)세계물산의 연구비 지원으로 수행된 결과의 일부로 이에 감사 드립니다.

#### ■ 참고문헌

- 1) Kang, H.J. and Song, Y.S. : Dietary fiber and cholesterol metabolism. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.*, 26, 358-369, 1997.
- 2) 이해양 : 한국 성인의 영양 섭취실태와 노화현상에 관한 조사 연구. 이화여자대학교 대학원 박사학위 논문, 1993.
- 3) Kasim, S. : Cholesterol changes with aging. *Geriatrics*, 42, 73-78, 1987.
- 4) Carlson, L.A. : Serum lipids in normal men. *Acta. Med. Scand.*, 167, 337-333, 1960.
- 5) 김영철 : 내분비 대사분야의 지질연구 문헌고찰. 한국지질학회지, 1, 1-7, 1991.
- 6) Stamler, J., Weutworth, D. and Neaton, J.D. : Is the relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded finding in 356, 222 primary screeness of the multiple risk factor intervention trial screening(MRFIT). *J. Eco. Med. Acta.*, 256, 2823-2829, 1986.
- 7) Pyorala, K. : Dietary cholesterol in relation to plasma cholesterol and coronary heart disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 45, 1176-1182, 1987.
- 8) Anderson, J.W., Spencer, D.B. and Hamilton, C.C. : Oat-bran cereal lowers serum total and LDL-cholesterol in hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 52, 495-501, 1990.
- 9) 최용재 : 스테롤이 첨가된 마요네즈의 품질특성. 경희대학교 산업정보대학원 석사학위논문, 2002.
- 10) Daniel Swern : Bailey's industrial oil and fat products, John Wiley & Sons, Inc., p.55-57, 1979.
- 11) 전세진, 이미숙, 구본순, 이근보 : 식용유저 정제공정에서 발생하는 산업폐기물의 재활용 가능성에 관한 연구(II). 환경관리학회지, 5, 1999.
- 12) Maxwell, R.J., Reimann, K.A. and Percell, K. : Determination of the unsaponifiable matter in fatty acids by a rapid column method. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58, 1002-1005, 1981.
- 13) Worthington, R.E. and Hitchcocke, H.L. : A method for the separation of seed oil steryl esters and free sterols : Application to peanut and corn oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58, 1002-1005, 1981.
- 14) Kim, S.K. and Rhee, J.S. : Isolation and purification of tocopherols and sterols from distillates of soy oil deodorization. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 14, 174-178, 1982.
- 15) 김덕숙, 구본순, 이근보 : 옥수수기름 정제부산물로부터 스테롤과 토크페롤의 분리정제. 한국산업식품제조학회지, 2, 13-17, 1988.
- 16) 한명규, 양중범, 이근보, 박상순 : 다이어트 식품이 흰쥐의 체중, 혈중지질 및 혈당농도에 미치는 영향. 한국식품영양학회지, 16, 340-346, 2003.
- 17) Neville, D.M. : Isolation of an organ specific protein antigen from cell-surface membrane of rat liver. *Biochim. Biophys. Acta.*, 154, 540-552, 1968.
- 18) 차윤환 : 혼합 참기름 중 개별 식용유 조성의 분석. 동국대학교 대학원 석사학위논문, 1995.