

콩 추출물 투여가 흰쥐 혈청의 항산화효소 활성에 미치는 영향

윤홍태*† · 문중경* · 박금룡* · 김용호** · 신미경*** · 김용욱****

*작물과학원, **순천향대학교, ***원광대학교 생활과학대학, ****동국대학교 생명자원과학대학

Activities of Antioxidant Enzymes in Serum of Rats Feeding Soybean Extract

Hong-Tae Yun, Jung-Kyung Moon, Keum-Yong Park, Yong-Ho Kim Mi-Kyung Shin, and Young-Wook Kim

*National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea

**Dep. of Biological Resources and Technology, Soonchunhyang Univ., Asan 336-745, Korea

***College of Human Environmental Science, Wonkwang Univ., Iksan 570-749, Korea

****Dep. of Plant Resources of Life Resources, Dongguk Univ., Seoul 100-715, Korea

ABSTRACT : This study was conducted to determine antioxidative enzyme activity in serum of rats as affected by soybean cultivar, extract feeding concentration and fat dietary. In all cultivars, activities of antioxidant enzymes in treatment of various fat compositions and cholesterol followed by feeding soy-extracts were higher than in non-feeding control, however, no significant differences existed in statistically. The activities of SOD and GSHpx in serum of rats when fed with various fat dietary were higher in Geomjeongkong 1 than in Tawonkong and Hwangkeum-kong. Enzyme activities of SOD and GSHpx with each fat compositions in treatment soy-extracts was no significant differences statistically. There was significant differences among cultivars and concentrations of soy-extracts in interaction effect. Also, the activities of GSHpx was significant differences among cultivars and concentrations of soy-extracts and fat composition in interaction effect.

Keywords: soybean, extract, antioxidant, enzyme, SOD, GSHpx

동물 등 대부분의 생명체는 생명현상을 유지하기 위하여 많은 양의 산소를 생체내에서 이용하는데 이때 산소는 활성산소의 상태이나 free radical의 형태로 작용하여 생체내의 불포화지방산에 쉽게 과산화반응을 일으킬 수도 있고, 이렇게 생긴 과산화물은 직접, 간접으로 조직세포에 손상을 주게 되어 세포의 기능을 저하시켜 간장질환, 노화 및 각종퇴행성 질환을 유발시키게 된다. 따라서 활성화된 산소를 제거하는 일은 여러 가지 질병을 예방하고 노화를 억제하고 지연시킬 수 있다. 이와 관련하여 콩의 항산화 효과는 이미 1930년대부터 많은 연구자들에 의해 보고되었는데(Musher, 1935; Green &

Hiditch, 1937; Dahle & Nelson, 1941; Wall & Kelly, 1951) 주로 사료용 탈지 대두분의 산패에 관한 연구가 주를 이루어졌으며, 이후 콩의 항산화 원인 물질 분리 동정에 관한 연구가 뒤따랐다(Arai *et al.*, 1966; Hammerschmidt & Pratt, 1978; Dabrowski & Sosulski, 1984).

최근에는 콩 및 콩 가공품의 섭취가 실험동물의 항산화효소의 활성에 미치는 영향들에 대한 결과들이 발표되었는데, Kwon *et al.*(1999)은 콩을 섭취한 흰쥐 간에서 항산화효소계인 superoxide dismutase(SOD)와 glutathione peroxidase(GSH-px)의 활성을 측정된 결과 SOD는 검정콩 섭취군에서 높았고 GSH-px는 대조군에 비하여 콩 섭취군이 유의하게 높은 활성을 나타내었다고 하였으며, 콩 섭취군의 높은 항산화효소계 활성의 이유를 콩 섭취군에서 지질과산화물 함량이 낮아지는 것으로 설명하였다. Cai & Wei(1996)는 쥐에 genistein을 섭취시킨 후 항산화효소를 측정된 결과 catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase 및 glutathione-s-transferase의 활성이 쥐의 각 기관에서 증가됨을 관찰함으로써, genistein의 chemopreventive 역할에 대하여 보고하였다.

콩은 glycemic index가 낮기 때문에 혈중 cholesterol을 낮추는 효과가 있다. Lee & Koh(1998)는 고지방식을 8주까지 섭취시킨 흰쥐의 체내 지질함량에 대한 실험에서 콩 분리 단백질이 동물성 단백질인 casein에 비해 유의적인 혈청콜레스테롤의 저하효과가 있었다고 하였다.

본실험은 콩 추출물이 쥐의 질환계 효소활성과 항산화성에 미치는 영향을 검토함으로써 콩 콩의 산업화에 응용될 수 있는 자료를 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

시험재료

시험에 사용한 콩 시료는 검정콩1호, 다원콩 및 황금콩의

†Corresponding author: (Phone) +82-31-290-6723 (E-mail) soy6887@rda.go.kr

methanol 추출물이며, 시험재료는 1996년 작물과학원에서 수확한 종자를 사용하였다. 콩의 추출물은 콩을 마쇄한 후 추출 용기에 넣고 hexane으로 3회 환류추출하여 지질성분을 제거하고, 80% methanol 수용액을 가하고 70°C에서 환류추출하였다.

시험동물의 처리내용

본실험은 1997~2000년 원광대학교 생활과학대학에서 수행되었다. 실험용 쥐는 평균 체중이 100±10 g인 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 고형사료(제일제당제품, 1996년)를 섭취시켜 일주일간 환경에 적응시킨 후 체중에 따른 난괴법으로 각 군당 7마리씩 4주간 사육 한 후, 혈청중의 효소 활성도 및 항산화계 효소 활성도를 측정하였다. 사육조건으로서 사육실의 온도는 23±2°C 습도는 55~60% 조건으로 유지하였고 체중증가는 식이섭취로 인한 일시적인 체중변화를 막기 위해 측정하기 1시간 전에 식이를 제거한 후 일주일마다 같은 시각에 측정하였다. 시험 종료 후 흰쥐를 12시간 절식시킨 ethyl ether로 가볍게 마취시켜 개복한 즉시 심장정맥에서 10 ml 주사기로 3~4 ml의 혈액을 채혈한 후 항산화성 측정에 사용하였다. 혈청은 15°C에서 20분간 방치한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 시료로 사용하였다.

시험동물의 식이조성 및 처리내용

콩추출물이 혈청의 효소활성에 미치는 영향: 흰쥐는 콩 추출물과 기본식이 투여를 위해 일반사료를 공급하였고, 콩 추출물의 투여농도는 체중의 400 mg/kg의 농도를 기준으로 증류수에 희석하여 40 mg/kg, 400 mg/kg 및 4,000 mg/kg로 공급하였다. 대조구는 기본식이 및 물을 섭취시켰다.

지방식이 종류별 콩추출물이 항산화계 효소의 활성에 미치는 영향: Cholesterol 1%를 첨가하여 조제한 식이를 24시간 동안 자유롭게 투여하도록 하였으며, 식이조성은 기본식이, 포화지방식이, 불포화지방식이, 및 고지방식이이며, 기본식이(BD)군은 65% 옥수수전분, 20% 카세인, 4.6% 지방표준식으로 하였고, 포화지방산(SFA)군은 포화지방산 급원으로 돈지 15%, 불포화지방산(UFA)군은 불포화지방산 급원으로 옥수수기름을 15% 수준으로 설정하였고, 고지방식이(HF)군은 고지방식이로 동물성 및 식물성 지방식을 각각 20% 수준으로 하였다. 위와 같은 식이조성에 콩 추출물 400 mg/kg을 기준으로 환산하여 흰쥐에 처리하였다. 대조구는 콩추출물 및 콜레스테롤을 투여하지 않고 물과 기본식이만을 투여한 대조구(A)와 물, 기본식이 및 콜레스테롤을 투여한 대조구(B)로 설정하였다.

항산화성 측정

Superoxide dismutase(SOD) 활성은 xanthine oxidase에 의해 xanthine에서 생성된 superoxide가 ferric cytochrome을 ferrous cytochrome C로 환원시키는데 이때 SOD가 존재하면

이 반응이 방해받게된다는 원리를 이용하여 xanthine과 cytochrome C가 들어있는 buffer에 효소원과 xanthine oxidase용액을 넣어 cytochrome C의 환원을 방해하는 정도로써 측정하였고 cytochrome C의 환원을 50% 방해하는 SOD량을 1unit으로 하여 활성정도를 나타내었다. 적혈구의 SOD 측정을 위해 적혈구 현탁액을 용혈시킨 후 McCord & Fridovich(1992)의 방법에 의해 헤모글로빈을 제거시켜 원심분리한 후 얻어진 상층액을 효소원으로 하여 자동분석기로 분석하여 나온 결과치를 10×Hb value으로 나누어었다. Glutathione peroxidase는 H₂O₂와 환원형의 glutathione의 반응에 관여하여 산화형의 glutathione을 생성하며 glutathione은 glutathione reductase의 도움으로 NADPH에 의해 다시 glutathione으로 환원되는데 이 원리를 이용하여 Floche & Gunzler(1984)의 방법에 따라 분당 산화되는 NADPH량을 측정하여 glutathione peroxidase의 활성을 나타내었다. 적혈구의 glutathione peroxidase 활성은 적혈구를 용혈시킨 후 적당량 희석해서 drabkin 용액을 1:1 비율로 혼합하여 hemoglobin (Hb)을 cyanomet Hb으로 전환시킨 것을 효소원으로 측정하였다.

결과 및 고찰

지방식이 및 콜레스테롤을 투여한 후 측정된 대조구 및 콩 시제품에 따른 SOD의 활성은 Table 1과 같다. 기본식이만을 투여한 대조구(A)는 1261 µg/g의 측정치를 나타냈으며, 기본식이와 콜레스테롤을 같이 투여한 대조구(B)는 922 µg/g의 측정치를 나타냈다. 공시제품중 검정콩1호의 처리에서 SOD활성은 1427 µg/g으로 대조구(A)에 비하여 높은 효소활성도를 나타냈으며, 다원콩 과 황금콩의 추출물 처리구는 대조구(A)에 비하여 통계적으로는 유의차가 없었다. 대조구(B)에 비하여 전 공시제품의 콩추출물 처리구는 높은 효소활성도를 보였다. 콩 추출물 농도에 따른 SOD의 활성은 기본식이만을 투여한 대

Table 1. Antioxidative enzyme activity in serum of rats as affected by different types of soybean extract.

Cultivar	Enzyme activity	
	SOD ¹⁾ (µg of Hb)	GSHpx ²⁾ (µg of Hb)
Control(A) ³⁾	1,261ba*	315b
Control(B) ³⁾	922c	351ba
Geomjongkong#1	1,427a	374a
Tawonkong	1,286ba	360a
Hwangkeumkong	1,134ba	350ba

*The same letters with in a columns are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test.

¹⁾ SOD : Superoxide Dismutase, unit : µg of Hb

²⁾ GPX : Glutathione peroxidase, unit : µg of Hb

³⁾ Control(A) : without cholesterol treatment.

³⁾ Control(B) : with cholesterol treatment.

Table 2. Antioxidative enzyme activity in serum of rats as affected by soybean cultivar and extract concentration.

Soybean extract concentration (mg/kg)	Enzyme activity	
	SOD (μg of Hb)	GSHpx (μg of Hb)
Control(A)	1,261a*	315b
Control(B)	922b	351ba
40	1,299a	355a
400	1,280a	361a
4,000	1,267a	368a

*The same letters with in a columns are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test.

조구(A)대하여 콩 추출물 처리는 농도에 관계없이 유의성이 없었으나, 대조구(B)에 비하여 모든 처리구에서 높은 활성을 나타냈다(Table 2). 지방식이 종류에 따른 SOD의 활성은 포화 지방산(SFA), 불포화지방산(UFA) 및 고지방(HF)을 콜레스테롤과 함께 투여한 모든 콩추출물 처리구는 대조구(A)와 비교하여 활성은 큰 차이가 없었으나, 대조구(B)에 비하여 모든 처리구에서 높은 활성을 나타냈다(Table 3).

Fig. 1은 공시품종과 콩추출물농도에 따른 SOD활성을 나타낸 결과이다. 전 공시품종에서 콩 추출물 농도의 증가에 따른 효소의 활성이 증가하는 경향은 나타나지 않았다. 이러한 결과의 원인은 콩 추출물의 처리농도가 낮음으로써 나타난 결과로 생각되며, 콩 추출물 농도를 증가시키면 농도에 따른 차이

Table 3. Antioxidative enzyme activity in serum of rats as affected by fat composition of soybean extract.

Fat composition	Enzyme activity	
	SOD (μg of Hb)	GSHpx (μg of Hb)
Control(A)	1,261a	315a
Control(B)	922b	351a
SFA ¹⁾	1,291a	360a
UFA ²⁾	1,291a	368a
HF ³⁾	1,264a	355a

*The same letters with in a columns are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test.

¹⁾FA: Saturated Fatty Acid group

²⁾UFA: Unsaturated Fatty Acid group

³⁾HF : High Fat group

점이 나타날 것으로 사료된다. 한편 모든 처리농도에서 검정콩1호 추출물의 처리가 황색콩의 추출물의 처리에 비하여 활성이 높았는데 이러한 결과는 Kwon *et al.*(1998)이 보고한 검정콩 추출물 섭취군이 황색콩 추출물 섭취군보다 활성이 높았다는 결과와 같은 경향이였다. 또한 지방식이종류에 따른 뚜렷한 유의차는 보이지 않았으나, 모든 지방식이의 처리에서 검정콩1호의 추출물 처리에서 가장 높은 활성을 나타냈다. 이러한 결과는 Table 3의 결과와 관련하여 물과 기본식이를 섭취시킨 대조구(A)와 지방식이종류별 SOD의 활성이 통계적으로

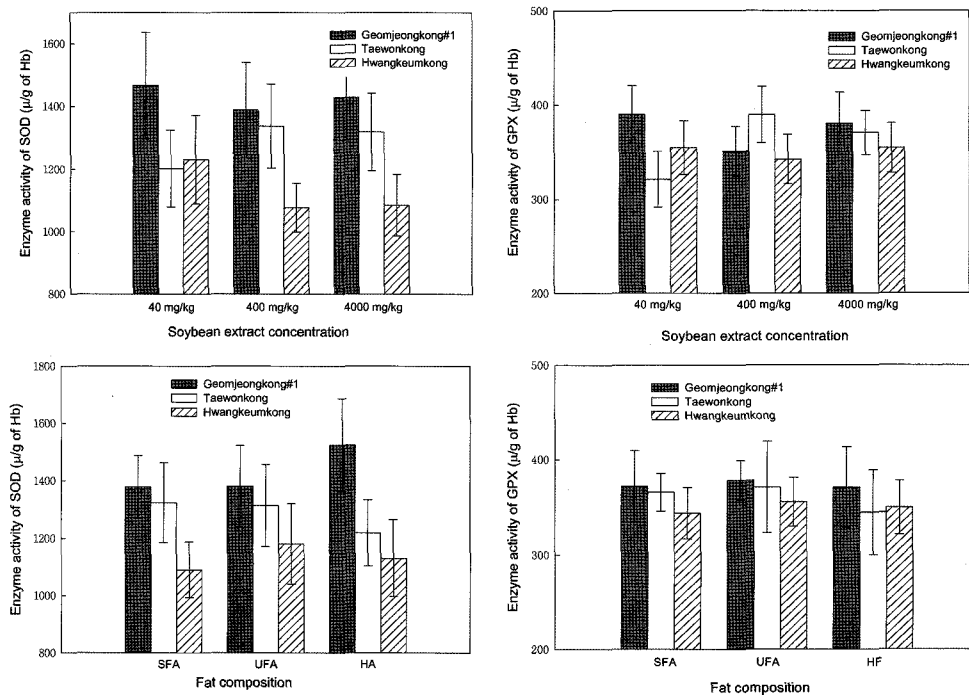


Fig. 1. Antioxidative enzyme activity in serum of rats as affected by soybean cultivar with extract concentration (up) and fat diet (down). FA: saturated fatty acid group, UFA: unsaturated fatty acid group, and HF : high fat group.

유의차가 없는 것으로 나타나 콩 추출물을 처리함으로써 지방의 항산화성 역할을 한 것으로 사료된다.

Table 4는 공시품종과 콩 추출물 처리 농도 및 지방식이 종류에 따른 항산화효소의 활성을 나타낸 결과이며, 검정콩1호 추출물 처리에서 가장 높은 SOD활성을 나타냈다. 그러나 콩 추출물 농도간, 지방식이 종류간의 유의차는 없었다. 각 처리간의 상호작용에서 공시품종과 콩 추출물 농도간, 공시품종과 지방식이종류간, 콩 추출물 농도와 지방식이 종류간의 상호작용의 효과는 인정되었다. 그러나 공시품종, 콩추출물 농도 및 지방식이 종류간의 상호작용 효과는 나타나지 않았다.

GSHpx(Glutathione peroxidase)의 지방식이 및 콜레스테롤을 투여한 후 측정된 대조구 및 공시품종에 따른 활성은 Table 1과 같다.

물과 기본식이만을 투여한 대조구(A)는 315 µg의 측정치를 나타냈으며, 기본식이와 콜레스테롤을 같이 투여한 대조구(B)는 351 µg의 측정치를 나타냈다. 대조구(A)의 활성이 대조구(B)보다 낮게 나타난 이유는 시험용 흰쥐의 개체수(처리당 7 마리)의 부족으로 인한 실험오차로 추정되며 이러한 이유로 인하여 결과의 비교는 대조구(A)로 설정하였다.

물과 기본식이물 투여한 대조구(A)에 비하여 흑색종피종인 검정콩1호와 다원콩의 추출물 처리구에서 높은 GSHpx활성을 나타냈고, 황금콩 처리구 또한 높은 활성을 나타냈다(Table 1). 이러한 결과는 검정콩과 황색콩의 GSHpx활성이 대등하다는 Kwon *et al.*(1998)의 결과와는 다소 다른 경향이었으나, 대조구에 비하여 콩 추출물 처리구에서 GSHpx 활성이 높았다는 결과와는 같은 경향이였다. 콩 추출물농도에 따른 GSHpx 활성은 대조구(A) 비하여 모든 처리구에서 통계적으로 유의차가 나타났으며, 콩 추출물 농도간에는 농도를 높일수록 GSHpx의 활성이 다소 증가하였으나 통계적으로 유의성은 없었다(Table 2). 지방식이에 따른 GSHpx의 활성은 모든 지방식이 처리구에서 높은 GSHpx활성을 보였으나 통계적으로 유의차는 없었다(Table 3).

Table 4. ANOVA of antioxidative enzyme activity in serum of rats as affected by soybean cultivar, extract feeding concentration and fat dietary.

Treatment	Enzyme activity	
	SOD (µg of Hb)	GPX (µg of Hb)
Cultivar(V)	**	**
Extract feeding concentration(C)	NS	NS
Fat composition(F)	NS	NS
V×C.	**	**
V×F	**	NS
C×F	**	**
V×C×F	NS	**

** : Significant different at 0.01 of probability levels, respectively.
NS : Not Significant.

Fig. 1의 우측그림은 공시품종에 대한 콩 추출물농도와 지방식이종류에 따른 GSHpx의 활성을 나타낸 결과이며, 콩 추출물농도와 지방식이에 따른 GSHpx의 활성은 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 Table 1, 2, 3과 관련하여, 대조구에 대비 콩 추출물 처리구에서 GSHpx의 활성이 높거나, 통계적으로 유의차가 없는 것으로 나타내 이는 콩 추출물을 처리함으로써 지방의 항산화성 역할을 하며, 콩 처리구에서 지질 과산화물 함량이 낮은 것을 설명한다.

GSHpx의 활성은 공시 품종간에는 유의적인 차이가 나타났으나, 콩추출물 농도간, 지방식이 종류간에는 통계적 유의성은 없었다. 공시품종과 추출물 농도간, 콩추출물 농도와 지방식이 종류간의 상호작용효과는 인정되었으나, 공시품종과 지방식이 종류간의 상호작용효과는 없었다. 그러나 공시품종, 콩추출물 농도, 지방식이 종류간의 상호작용효과는 인정되었다.

위의 결과를 종합하면 항산화계 효소활성도가 대조구에 활성이 높거나, 별다른 차이를 보이지 않는 것으로 미루어 고지방식이, 포화, 불포화지방산 및 콜레스테롤에 콩추출물을 같이 투여함으로써 콩추출물이 지방의 항산화성 역할을 한 것으로 사료되며, 특히 콩에는 saponin성분이 0.5%~0.6% 함유되어 몸속의 지방을 감소시키므로써 세포가 과산화지질이 되는 것을 막고 지방간을 예방한다는 연구 보고(Oakenfull *et al.*, 1990)와 연계시킬 수 있는 콩 추출물 처리효과가 있다고 생각된다. Kritchevsky(1995) 및 Sitori *et al.*(1995)은 콩 단백질을 쥐에 섭취시키면 혈청 및 LDL 콜레스테롤 농도가 저하되는 것으로 보고하였는데 본 시험결과 중 Table 1에서 콜레스테롤을 처리한 후 콩 추출물을 섭취시킨 처리구에서 항산화계 효소의 활성이 높거나, 통계적으로 유의차가 없는 것으로 나타나 콩 추출물을 처리함으로써 지방의 항산화성 역할을 하였으며 이러한 시험결과로부터 콩을 섭취시킴으로써 콜레스테롤의 농도를 저하시키는 것으로 사료된다. Huang & Fwu(1992)는 포화지방산인 lactalbumin diet와 soy-oil을 농도를 달리해서 쥐에 섭취시킨 후 항산화계효소의 활성을 측정할 결과 soy-oil을 섭취시킨 쥐에서 SOD와 GSHpx의 활성이 높아 단백질 섭취시킨 쥐에서 항산화 효과가 높았다고 하였는데, 이와 비교하여 콩 추출물의 처리가 지방식이 섭취군에서 항산화계 효소활성이 높거나, 통계적으로 유의차가 없는 것으로 나타나서 콩 추출물을 처리함으로써 지방의 항산화성 역할을 한 시험결과 유사한 경향이였다. 이러한 콩의 항산화 효과는 지방섭취와 관련된 질병의 위험요소와 콜레스테롤 함량이 높은 식품섭취에 의한 체내 과산화물 생성에 예방과 치료에 효과가 있을 것으로 사료된다.

적 요

본 시험은 콩 추출물의 흰쥐 투여에 따른 항산화 효소의 활성을 분석하고, 추출물의 원료인 콩 품종간, 추출물의 투여량

및 지방식이조성에 따른 효소활성도를 측정하였다. 시험결과를 요약하면 아래와 같다.

1. 콩추출물을 투여한 처리구에서 SOD와 GSHpx의 활성이 대조구에 비하여 높게 나타났으나, 통계적 유의성은 인정되지 않았다.

2. 지방식이 및 콜레스테롤을 흰쥐에 투여한 결과 콩추출물 섭취에 따른 항산화계 효소 SOD와 GSHpx의 활성은 김정콩 1호가 다원콩 및 황금콩에 비하여 높았다.

3. 지방식이조성 및 추출물의 투여량에 따른 항산화계 효소 활성도는 통계적으로 유의성이 인정되지 않았다.

4. 각 지방식이에 따른 콩추출물의 SOD와 GSHpx 활성도에서 품종과 콩추출물 농도간에서는 상호작용효과가 인정되었다.

5. GSHpx 활성도에서 품종, 콩추출물 농도 및 지방식이간에서 상호작용효과가 인정되었다.

인용문헌

- Arai, S, H. Suzuki, M. Fujimaki, and Y. Sakurai. (1966) Studies on flavor components in soybean: Part II. Phenolic acids in defatted soybean flour. *Agric. Biol. chem.*, 30 : 364~374.
- Cai, Q. and H. Wei. (1996) Effect of dietary genistein on antioxidant enzyme activities in SENCAR mice. *Nutrition and Cancer*. 25 : 1~7.
- Dabrowski, K. J. and F. W. Sosulski. (1984) Composition of free and hydrolyzable phenolic acid in defatted flours of ten oilseeds. *J. Agric. Food Chem.*, 32 : 128~132.
- Dahle, C. E. and D. H. Nelson. (1941) Antioxygenic fractions of oat and soybean flour. *J. Dairy Sci.* 24 : 29~33.
- Floche, L, W. A. Gunzler. Assays of glutathione peroxidase. In *Methods in enzymology* Ed. by Lowenstein Academic press Inc, New York, 105 : 114-126.
- Green, T. G. and T. P. Hiditch. (1937) Studies on the nature of anti-oxigenic compounds present in natural fat. 3. The occurrence of anti-oxigenic compounds in extracted soybean oil cake. *J. Soc. Chem. Ind.*, 56 : 23~27.
- Hammerschmidt, P.A. and D. E. Pratt. (1978) Phenolic antioxidants of dried soybean. *J. Food Sci.*, 4 : 556~559.
- Huang, C.J. and M. L. Fwu. (1992) Protein sufficiency aggravates the enhanced lipid and reduced activities of antioxidative enzymes in rat fed diets high in polyunsaturated fat. *Journal of Nutrition*. 122(5) : 1182~1189.
- Kritchevsky, D., Tepper, S.A., Czarncki, S.K., Kourfeld, D.M., and Stori, J.A. (1981) Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol free diets part 9. Beef protein and textured vegetable protein, *Atherosclerosis*. 39 : 169~175.
- Kwon, T.W., Y.S. Song., J.S. Kim., G.S. Moon., J.I. Kim and J.H. Hong. (1998) Current research on the bioactive functions of soyfoods in Korea. *Korea Soybean Digest*. 15(2) : 147~160.
- McCord J. M. and I. Fridovich. (1992) Superoxide dismutase. In Miquel J, Quintanilha AT, Weber J. *CRC handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*. pp287~288.
- Musher, S. (1935) Cereals and seeds inhibit rancidity in lard. *Food Ind.*, 7 : 167~176.
- Oakenfull, D. and G. S. Sidhu (1990) Could saponins be as useful treatment for hypercholesterolaemia? *Eur. J. Clin. Nutr.* 44 : 79~88
- Sitori, C. R, M. R. Lovatiri, C. Manzoni, M. Monetti, F. Pazzucconi, and E. Gatti. (1995). Soy and cholesterol reduction: Clinical experience. *Journal of Nutrition*. 125 : 598~605.
- Wall, M.E. and E. G. Kelly (1951) Stability of carotene and vitamin A in dry mixtures. *Ind. Eng. Chem.* 43~46.