

당뇨쥐에서 올리고당 첨가 콩아이스크림이 산화스트레스와 장생태에 미치는 효과

허보영 · 심혜영 · 최영선[†]

대구대학교 식품영양학과

Effects of Oligosaccharide-Supplemented Soy Ice Cream on Oxidative Stress and Fecal Microflora in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Bo-Young Her, Hye-Young Sung and Young-Sun Choi[†]

Dept. of Food and Nutrition, Daegu University, Gyeongbuk 712-714, Korea

Abstract

We have investigated physiological effects of soy ice cream with oligosaccharide on oxidative stress and fecal microflora in streptozotocin-induced diabetic rats. Parched soybean powder (7.6%, w/w) substituted skimmed milk and cream, soybean oil (7.6%, w/w) for milk oil, and fructooligosaccharide (9.5%, w/w) for sucrose. Five types of ice cream were prepared: regular, oligosaccharide-supplemented regular, soy, oligosaccharide-supplemented soy, and oligosaccharide-supplemented black soybean ice cream. Freeze-dried ice cream was supplemented to AIN93-based diets at 30% (w/w) containing 6.5% soy and 4.5% fructooligosaccharide. Diabetes was induced by intramuscular administration of streptozotocin, and experimental diets were given for 4 weeks. Plasma concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) was significantly increased in the diabetic rats compared with the normal rats, then was significantly decreased with feeding soy ice cream containing diet compared with regular ice cream containing diet among the diabetic groups. The levels of TBARS in liver were decreased in the rats that were fed either soy or oligosaccharide ice cream compared with the rats that were fed regular ice cream. Erythrocyte superoxide dismutase activity was significantly increased in the rats fed soy ice cream compared with the rats fed regular ice cream. Erythrocyte glutathione peroxidase and catalase activities were significantly increased in the rats fed black soybean ice cream. Fecal concentrations of Lactobacilli were significantly higher in the rats fed soy ice cream and oligosaccharide-supplemented soy ice cream than that of the rats fed regular ice cream. Fecal concentrations of Bifidobacteria were significantly higher in the rats fed oligosaccharide-supplemented soy ice cream than that of the rats fed regular ice cream. In conclusion, oligosaccharide-supplemented soy ice cream suppressed lipid peroxidation and improved the gut microbiota in diabetic rats compared with milk-based regular ice cream.

Key words: soy ice cream, fructooligosaccharide, diabetic, oxidative stress, microflora

서론

최근 우리나라는 당뇨병의 유병률이 크게 증가하고 있으며(1), 2003년 사망원인통계 결과에 의하면 당뇨병은 암, 뇌혈관질환, 심장병에 이어 사망원인질환 4순위(인구 10만명당 25명)에 해당하며, 내분비, 영양 및 대사질환 중 94.3%를 차지하여 국민건강을 크게 위협하고 있다(2)

당뇨병의 발생에 산화스트레스 증가가 중요한 역할을 하며(3), 또한 당뇨병의 합병증 발생에도 산화스트레스가 관여한다는 많은 연구결과들이 있다(4,5). 생체는 자유라디칼(free radical) 제거 시스템으로 glutathione(GSH), 비타민 E, 비타민 A, 비타민 C, β -carotene과 같은 비효소적 방어계

와 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione S-transferase, catalase와 같은 효소적 방어계를 가지고 있으며, 이들은 생체를 산화스트레스로부터 보호하고 있다. 그러나 이런 자유라디칼 제어계의 활성이 저하되거나 혹은 자유라디칼 생성계의 촉진 등으로 균형이 깨지게 되면 생체 조직은 과산화에 의한 손상을 입게 된다. 산화스트레스에 감수성이 큰 당뇨병의 경우 자유라디칼 제거계가 불안정하여 당뇨병 환자에서는 자유라디칼 생성이 정상인에 비해 더욱 촉진된다(5). 따라서 당뇨병 환자의 혈청, 간조직, 심장근육에서의 과산화지질 함량이 증가하고, 이러한 결과는 뇌졸중이나 심근경색과 같은 심혈관계 질환의 원인이 된다.

[†]Corresponding author. E-mail: yschoi@daegu.ac.kr
Phone: 82-53-850-6833. Fax: 82-53-850-6839

당뇨병 치료를 위한 식사요법의 주요 목표는 혈당과 정상적인 혈중 지질 및 지단백질 농도를 조절하고 동맥경화 등의 합병증 위험을 감소시키는 것이다. 아이스크림은 많은 사람들이 즐기는 식품이나, 주재료 성분인 유지방과 설탕은 혈당이나 혈장 지질 조절에 바람직하지 않아 당뇨병 환자에게는 섭취가 제한될 수 밖에 없다. 전보(6)에 설탕과 유지방을 각각 대체한 올리고당과 대두를 첨가한 아이스크림이 당뇨쥐의 혈당과 혈장 지질 조절에 유익하였음이 보고되었다.

설탕이나 과당 함량이 높은 식이는 동물모델에서 대사증후군인 syndrome X를 유도하기 위해 사용되어 왔으며(7), 고과당식은 산화스트레스를 증가시키는 것으로 지목된데 반해(8), 올리고당 첨가는 산화스트레스를 억제시켰다는 보고들(9,10)이 있다.

대두는 항산화효과를 나타내는 물질을 다량 함유하고 있으며, 그 중에서 genistein, daidzein 등의 polyphenolic isoflavone 등이 대표적인 항산화물질로 밝혀졌다(11). 대두에 함유된 항산화물질로서 isoflavone 외에도, saponin(12), chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid와 p-coumaric acid 등의 phenolic acid도 상당한 항산화효과를 나타낸다(13). 우리나라 전통 대두 품종에도 다양한 종류의 항산화기능을 가진 생리활성물질들이 함유된 것으로 보고되었다(14). 또한 노란콩과는 달리 검정콩은 종피에 anthocyanin과 polyphenol 함량이 월등히 높다는 것이 보고되었다(13,15).

본 연구는 올리고당첨가 콩아이스크림이 streptozotocin에 의해 당뇨가 유발된 흰쥐에서 당뇨병 발병과 합병증 발생의 원인으로 작용하는 산화스트레스에 미치는 효과와 장생태에 미치는 효과를 일반 우유아이스크림의 효과와 비교하였으며, 동시에 올리고당을 첨가한 노란콩아이스크림과 검정콩아이스크림의 효과도 비교하였다.

재료 및 방법

올리고당 첨가 콩아이스크림의 제조

노란콩은 2004년 경북 고령산 백태를, 검정콩(서목태)는 2004년 경남 의령산을 구입하여 볶은 뒤 분쇄하여 체(80 mesh)로 내린 가루를 사용하였다. Fructooligosaccharide는 CJ제품(백설올리고당), 탈지분유는 서울유업제품, 생크림(매일중휘핑크림)과 원유는 매일유업제품, 대두유는 CJ제품(백설식용유)을 사용하였다. 안정제는 Gelatin((주)웅천상사), 유화제는 SP((주)삼립유지), 향신료로는 바닐라 에센스((주)유니크)를 사용하였다. 아이스크림의 재료와 다량영양소 조성은 Table 1과 같으며, 제조 방법은 전보(6)에 보고한 바와 같이 일반 아이스크림 제조 방법과 동일하게 하였다.

동물 사육 및 실험식이

제조된 아이스크림을 동결건조시켜 AIN-93 식이(16)에

Table 1. Ingredients and macronutrient composition of ice creams

Ingredients	Ice cream ¹⁾	MMS	MMO	SSS	SSO	BSO
				g (%)		
Soybean ²⁾	-	-	-	8 (7.62)	8 (7.62)	-
Black soybean	-	-	-	-	-	8 (7.62)
Skimmed milk	4 (3.81)	4 (3.81)	4 (3.81)	-	-	-
Soy oil	-	-	-	8 (7.62)	8 (7.62)	8 (7.62)
Cream ³⁾	35 (33.33)	35 (33.33)	35 (33.33)	8 (7.62)	8 (7.62)	8 (7.62)
Oligosaccharide ⁴⁾	-	-	13.5 (12.86)	-	13.5 (12.86)	13.5 (12.86)
Sugar	10 (9.52)	-	-	10 (9.52)	-	-
Milk	55 (52.38)	51.5 (49.04)	51.5 (49.04)	70 (66.66)	66.5 (63.32)	66.5 (63.32)
Gelatin	0.6 (0.58)	0.6 (0.58)	0.6 (0.58)	0.6 (0.58)	0.6 (0.58)	0.6 (0.58)
Emulsifier	0.3 (0.29)	0.3 (0.29)	0.3 (0.29)	0.3 (0.29)	0.3 (0.29)	0.3 (0.29)
Vanilla essence	0.1 (0.09)	0.1 (0.09)	0.1 (0.09)	0.1 (0.09)	0.1 (0.09)	0.1 (0.09)
Total water, %		66.2	66.5	65.0	65.2	65.2
Carbohydrate						
Sugars, %		9.5	4.4	9.5	4.4	4.4
Fructooligosaccharide, %		0	5.2	0	5.2	5.2
Others, %		5.4	5.2	6.4	6.3	6.3
Lipid, %		14.1	14.0	14.2	14.0	14.0
Protein, %		4.0	3.9	4.2	4.1	4.1

¹⁾MMS: Regular ice cream (skimmed milk, milk oil, sugar).

MMO: Ice cream with oligosaccharide (skimmed milk, milk oil, oligosaccharide).

SSS: Soybean ice cream (soybean, soy oil, sugar).

SSO: Soybean ice cream with oligosaccharide (soybean, soy oil, oligosaccharide).

BSO: Black soybean ice cream with oligosaccharide (black soybean, soy oil, oligosaccharide).

²⁾Parched soybean powder composed of soy protein 23.3%, soy oil 19.8%, and fiber 4.8%.

³⁾Liquid cream composed of milk oil 37%, water 57.7%, and milk protein 2.1%.

⁴⁾Oligosaccharide syrup composed of fructooligosaccharide 41%, water 25%, and the rest of it, glucose and sucrose.

30% 수준으로 혼합하였다. 실험식이 중 대두 함량은 65 g/kg, fructooligosaccharide 함량은 45 g/kg에 해당하였다. 5주령 된 Sprague-Dawley 중 수컷 흰쥐 60마리를 1주일 동안 사육환경에 적응시킨 후, 무작위로 추출하여 당뇨를 유발하지 않는 정상군(Normal)에 10마리를 배정하고 당뇨군(Diabetes) 당 10마리를 배정하였다. Streptozotocin(STZ)을 0.1 M citric acid buffer(pH 4.5) 용액에 용해시킨 후, 체중 kg당 50 mg을 대퇴부에 투여하고 정상군에게도 동량의 0.1 M citric acid buffer 용액을 투여하였으며, 투여일부터 실험 식이를 시작하여 4주 동안 유지시켰다. 정상군은 일반아이스크림인 MMS를 섭취시켰다. 당뇨 유도일로부터 일주일 후 꼬리정맥으로부터 혈액을 취해 혈당을 측정(Superglucocard II, Akaray, Japan)하여 당뇨 유발을 확인하였으며, 이 후 주 1회 일정한 시간에 혈당을 측정하였다. 희생 1주일 전 4일 동안 분변을 수집하여 무게를 측정하여 1일 분변량을 계산하였다.

시료 분석

적혈구 및 조직 채취 : 실험동물을 희생 전 12시간 금식시킨 후 에테르 마취 하에 희생시키고, 복부대동맥에서 해파린 처리한 주사기로 혈액을 채취하여 혈장을 분리하였다. 적혈구는 냉생리식염수로 3번 수세하여 -70°C 에 냉동 보관한 후 분석에 사용하였다. 혈액 채취 후 분리한 간을 냉생리식염수에 씻은 후 물기를 닦고 무게를 측정 후 -70°C 에 냉동 보관하였다. 맹장을 절단하여 무게를 달고, 내용물을 비워낸 후 냉생리식염수에 씻은 후 물기를 닦고 무게를 측정하여 맹장 조직 무게와 내용물의 무게를 구하였다.

지질과산화물 함량 측정 : 혈장과 간의 지질과산화물 함량은 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하여 생성된 thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) 양을 측정하여 malondialdehyde(MDA) 양으로 나타내었다. 혈장에서의 TBARS 함량은 TBARS kit(Oxitek, USA)를 이용하여 측정하였다. 혈장 50 μL 를 취하여 동량의 sodium dodecyl sulfate(SDS) solution을 가하고, TBA buffer 1.25 mL를 가한 후 95°C 에서 60분간 반응시켰다. 실온에서 10분간 냉각 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻어진 상층액을 532 nm에서 비색정량하였다. 간조직 0.5 g을 PBS(50 mM) 3 mL에 넣고 2분간 균질화한 후 50 μL 를 취하여 혈장과 동일한 방법으로 동량의 SDS solution을 가하고 TBA buffer 1.25 mL를 가한 후 95°C 에서 60분간 반응 후 비색정량하였다.

SOD 활성도 측정 : 알칼리상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund(17)의 방법을 수정하여 효소 활성도를 측정하였다. 적혈구를 4배의 증류수로 용혈시킨 후, 증류수로 10배 희석하여 효소원으로 사용하였다. 320 nm에서 2분 동안 흡광도를 측정하였으며, 효소의 활성은 1분 동안 pyrogallol의 자동산화를 50% 억제하는데 요구되는 효소의 양을 1 unit로 계산하여 단백질량으로 보정하였다. 간조직 0.5 g을 0.25 M sucrose(0.5 mM

EDTA, 50 mM PBS, pH 7.4) 5 mL에 넣고 2분간 균질화시킨 후 12,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 상층액을 PBS(10 mM)에 12배 희석하여 효소원으로 사용하였으며 적혈구와 동일한 방법으로 측정된 활성도를 단백질량으로 보정하였다.

GSH-Px 활성도 측정 : 적혈구와 간의 GSH-Px 활성도는 Flohé(18)의 방법을 수정하여 측정하였다. 적혈구를 4배의 증류수로 용혈시킨 후 증류수로 희석한 적혈구를 Drabkin 용액(3.2 mM KCN, 2.4 mM $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 47.6 mM NaHCO_3)으로 1:1의 비율로 혼합한 후 효소원으로 사용하였다. GSH-Px가 H_2O_2 를 제거하면서 소모된 GSH를 환원형으로 전환시키는데 필요한 NADPH 양을 340 nm에서 측정하였다. 효소 활성은 1분 동안 1 μmole NADPH를 산화시키는 효소의 양을 1 unit로 계산하였으며, 단백질량으로 보정하였다. 간조직 0.5 g을 0.25 M sucrose에 넣고 2분간 균질화시킨 후 12,000 rpm, 4°C 에서 20분간 원심분리하였다. 상층액을 다시 20,000 rpm에서 60분간 원심분리한 후 상층액을 효소원으로 사용하였으며, 적혈구와 동일한 방법으로 측정된 값을 단백질 값으로 보정하였다.

Catalase 활성도 측정 : Aebi(19)의 방법에 따라 적혈구와 간의 catalase 활성도를 측정하였다. 적혈구를 4배의 증류수로 용혈시킨 후 50 mM PBS(pH 7.0)로 500배 희석하여 효소원으로 사용하였으며, 30 mM H_2O_2 를 첨가하여 240 nm에서 2분 동안 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성은 1분 동안 H_2O_2 1 μmole 을 분해시킨 양을 1 unit로 계산하고 단백질량으로 보정하였다. 간조직 0.5 g을 PBS(50 mM)에 넣고 2분간 균질화시킨 후 2,500 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 50 mM PBS로 250배 희석하여 효소원으로 사용하고, 적혈구와 동일한 방법으로 측정된 값을 단백질량으로 보정하였다.

장내 미생물 동정 : 분변의 미생물 동정은 Hartemink 등(20), Ji 등(21)과 Maeng 등(22)의 방법을 이용하여 측정하였다. 희생 1일 전에 채취한 분변 0.5 g을 멸균 phosphate buffer(pH 7.0, 0.1% polypeptone) 4.5 mL로 균질화 하였다. Bifidobacteria, Lactobacilli, Bacteroides를 동정하기 위해 각각 RB(raffinose-bifidobacterium), MRS(de Man, Rogosa and Sharp), VA(vancomycin-added) 배지를 사용하였으며, 배지의 기본성분은 Table 2와 같다. 제조된 배지에 분변을 접종한 후 anaerobic jar에 넣어 37°C 에서 72시간 혐기적으로 배양시킨 뒤 균수를 측정하였으며, 희석배수를 곱하여 분변의 g당 균수(colony-forming unit/g: CFU/g)로 나타내었다.

통계처리

SAS package를 사용하여, 평균과 표준오차를 구하였으며, One way ANOVA에 의해 $p < 0.05$ 에서 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 구간 평균의 유의차를 검증하였다.

Table 2. Compositions of RB, MRS and VA¹⁾ medium*

Agar medium	Components	Amount (per liter)	
RB	Agar bacteriological No.1	18.0 g	
	D(+)-raffinose	7.5 g	
	Sodium caseinate	5.0 g	
	Yeast extract	5.0 g	
	Lithium chloride	3.0 g	
	Sodium propionate	15.0 g	
	Sodium thioglycollate	0.5 g	
	Bromocresolpurple 1% solution	15 mL	
	Salt solution (g/L):	40 mL	
	MgSO ₄ (0.2 g), CaCl ₂ (0.2 g), K ₂ HPO ₄ (1 g), KH ₂ PO ₄ (1 g), NaHCO ₃ (10 g), NaCl (2 g)		
	pH: 6.6~6.8		
	MRS	Salt solution I: K ₂ HPO ₄ (0.78%, w/v)	37.5 mL
		Salt solution II:	37.5 mL
KHPO ₄ (0.47%), NaCl (1.18%), CaCl ₂ (0.12%), (NH ₄) ₂ SO ₄ (0.20%), MgSO ₄ · 7H ₂ O (0.25%)			
Resazurin (0.1% solution)		1.0 mL	
L-cysteine (C ₃ H ₇ NO ₂ S · HCl)		0.5 g	
L-ascorbic acid (25% solution)		2.0 mL	
Na ₂ CO ₃ (8% solution)		5.0 mL	
Agar		0.5 g	
VA		Lab-lemco powder (Oxoid)	2.4 g
		Protenose peptone No.3 (Difco)	10.0 g
	Yeast extract	5.0 g	
	Potassium phosphate, dibasic (Na ₂ HPO ₄)	4.0 g	
	Glucose	1.5 g	
	Starch, soluble	0.5 g	
	L-cystine	0.2 g	
	Silicon antifoamer	1 mL	
	Bacto-agar	15.0 g	
	L-cysteine-HCl	0.5 g	
Horse blood	50 mL		
vancomycin	1.5 mg		
pH: 7.6~7.8			

¹⁾RB: raffinose-bifidobacterium, MRS: de Man, Rogosa and Sharp, VA: vancomycin-added.
*ref: 20-22.

결과 및 고찰

혈장 및 간조직 지질과산화물 함량

올리고당첨가 콩아이스크림이 당뇨쥐에서 혈당과 지질 개선에 미치는 효과는 이미 전보(6)에 소개되었다. 혈당조절과 혈장 및 간 지질 개선에 콩 또는 올리고당 첨가 아이스크림이 효과를 보였는데, 특히 콩과 올리고당을 동시에 첨가한 올리고당첨가 콩아이스크림의 효과가 가장 컸다.

Fig. 1은 정상쥐와 당뇨쥐에서 4주 동안 아이스크림 섭취 후 생체내 산화스트레스를 반영하는 혈장과 간에서의 지질과산화물 농도를 측정된 결과이다. 혈장의 지질과산화물 농도는 정상군에 비해 당뇨군에서 유의하게 높게 나타났다. 당뇨군 중에서 우유아이스크림(MMS)군의 혈장 지질과산화물의 농도가 가장 높았으며, 콩아이스크림(SSS)군과 올리고당 첨가 검정콩아이스크림(BSO)군의 지질과산화물의

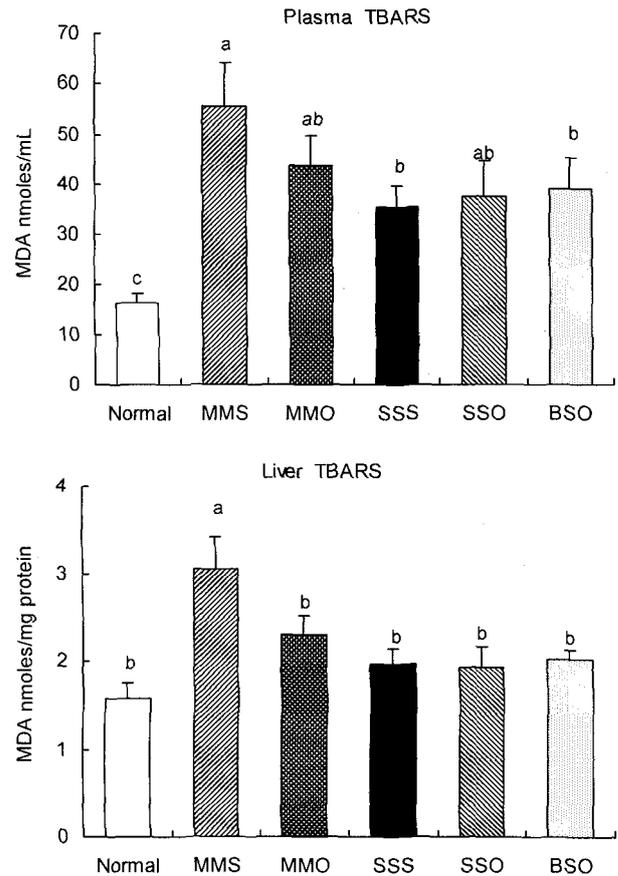


Fig 1. Plasma and liver lipoperoxides in streptozotocin-induced diabetic rats fed ice creams.

Gooup: See the legend of Table 1.

Values are means with SE bar (n=10).

Values not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05.

농도가 MMS군에 비해 유의하게 낮았다. 간조직 지질과산화물 농도는 MMS군만이 정상군(Normal)에 비해 유의하게 높은 반면에, 올리고당첨가 우유아이스크림(MMO), 콩아이스크림(SSS), 올리고당첨가 콩아이스크림(SSO), 올리고당첨가 검정콩아이스크림(BSO) 군은 정상군과 차이를 보이지 않았다.

생체 내 지질과산화 반응은 노화나 동맥경화를 비롯한 많은 퇴행성 질환의 중요한 위험인자이다. 당뇨병 상태에서 지속적인 고혈당은 산소유리의 생성을 증가시키고 세포막 인지질의 과산화를 초래하며, 생성된 과산화지질은 세포 기능을 손상시키고, lipofuscin을 축적시키는 등 생체에 유해한 영향을 미치게 된다(5,23,24).

Busserolles 등의 연구(7)에 의하면 전분 식이에 비해 설탕 함유량이 높은 식이를 2주 동안 먹인 흰쥐의 뇨와 혈장에서 지질과산화의 지표인 TBARS 함량이 유의하게 높았으며, 설탕 함유량이 높은 식이는 자유라디칼 생성 균형을 깨며 항산화계에 부정적인 영향을 미쳤다. 이어 Busserolles 등은 고과당식이를 먹인 흰쥐에서 oligofructose가 고중성지

방혈증과 산화축진을 억제하였다고 보고하였다(25). 이러한 결과는 아이스크림의 재료로서 설탕 대신에 첨가된 올리고당이 산화스트레스 억제에 기여할 수 있음을 제시한다. Kim 등(10)은 5% 대두올리고당을 6주 동안 섭취시킨 당뇨유발 흰쥐에서 올리고당 첨가가 혈장의 지질과산화물 농도에는 영향을 미치지 않았으나, 간의 지질과산화물의 농도를 유의하게 감소시켰다고 보고하여, 본 연구결과와 같은 경향을 보였다. 또한 Kim 등(9)도 식이의 1%와 2% 수준으로 보충한 키토산 올리고당이 간조직의 TBARS 함량을 유의하게 감소시켰다고 보고하였다. 본 연구에서 올리고당 첨가 우유 아이스크림이 우유아이스크림에 비해 혈장 TBARS 농도를 유의하게 감소시키지는 못했으나, 간 TBARS 농도는 유의하게 낮추는 효과를 보였다. 이와 같은 올리고당의 산화스트레스 감소 효과는 올리고당이 과산화를 억제하는 직접적인 효과라기보다는 산화스트레스를 증가시키는 설탕을 대체한 효과로 보여진다.

포화지방산에 비해 다불포화지방산은 지질과산화에 취약하며, 특히 대두유에 함유된 α -linolenic acid는 산화되기 쉬운 매우 불안정한 지방산이다. Table 1에서 보는 바와 같이 5가지 아이스크림의 지질함량은 약 14%로 동일하며, MMS와 MMO는 유지방만으로 구성되었고, SSS, SSO, BSO는 cream 중의 유지방을 대두유(아이스크림의 약 9%)로 대체하였으므로 아이스크림 섭취로 인해 SSS, SSO, BSO 군의 혈장과 간조직에 다불포화지방산이 상대적으로 높을 것으로 추정된다. 따라서 TBARS 생성이 더 높아질 가능성이 있음에도 불구하고, 오히려 이들 군에서 TBARS 함량이 유의하게 낮았다.

대두가 당뇨병에 유익하다는 많은 인체실험과 동물실험 결과들이 보고되었으며, 그 효과의 원인물질로서 대두단백질이나 식이섬유보다 대두 이소플라본에 의한 효과일 가능성이 크다(26). 대두 이소플라본은 항산화능을 나타내며(11, 27), 그 중 genistein은 대두의 주된 isoflavone으로 포도당의 자동산화에 의해 생성되는 LDL의 동맥경화성 변형을 억제하였다는 보고도 있다(23).

검정콩은 약콩(서목태)이라 하여 한방에서 귀하게 사용되어 왔다. Bae와 Moon(13)에 의하면 검정콩의 과산화물가가 밤콩과 노란콩에 비해 낮은 값을 나타내었으며, Kim 등(28)은 검정콩에 함유된 anthocyanin과 phenolic acid에 해당하는 genistic acid, p-coumaric acid, ferulic acid의 항산화효과가 컸다고 보고하였다. Takahashi 등(15)은 *in vitro* 시험 결과 노란콩 추출물에 비해 검정콩 추출물이 LDL 산화억제 효과가 더 컸으며, 콩을 종피(seed coat)와 배아(germ) 및 떡잎(cotyledon)으로 구분하여 추출한 용액을 비교한 결과, 검정콩 종피(29.0 mg/g)의 polyphenol 함량이 노란콩(0.45 mg/g)에 비해 훨씬 높은 수준을 보였고, 종피추출물은 LDL 산화억제효과가 있는 반면에 배아 및 떡잎 추출물은 효과가 없었다고 보고하였다. Ryu와 Moon(29)은 *in vivo* 실험에서

간조직의 지질과산화 정도가 대조군에 비해 노란콩과 검정콩 섭취군에서 약간 감소하였으나, 검정콩섭취군과 노란콩 섭취군 간에 차이는 없었다고 보고하였다.

본 연구에서는 간조직의 지질과산화물 농도가 콩아이스크림군에서 유의하게 감소하였고, 검정콩아이스크림군과 노란콩아이스크림군 간에는 지질과산화 억제에 있어 유의한 차이를 나타내지 않았는데, 이는 종피만이 아닌 콩 전체를 분말화했기 때문으로 사료된다. 따라서 본 결과에 의하면 올리고당, 노란콩 또는 검정콩이 첨가된 아이스크림은 일반 아이스크림에 비하여 산화스트레스를 억제하는 효과를 보였으며, 당뇨환자에게 일반아이스크림보다 나은 식품으로 판단된다.

적혈구의 항산화효소계 활성도

Table 3에서 보는 바와 같이 적혈구의 항산화계 효소인 SOD, GSH-Px, catalase의 활성도를 비교한 결과는 다음과 같다. 적혈구 SOD활성은 SSS군이 MMS군에 비하여 유의하게 높았다. MMO, SSO, BSO 군도 MMS군에 비해 높은 경향을 보였다.

SOD는 세포내 호흡 작용의 부산물로 생성되는 superoxide radical을 효소 반응에 의해 제거함으로써 과산화수소가 세포내 축적되는 것을 막아 세포내 항산화능을 증가시킨다(30). SOD활성은 올리고당 또는 콩을 첨가한 아이스크림군이 일반아이스크림군에 비해 높거나 높은 경향을 나타내었으므로 콩 또는 올리고당을 함유한 아이스크림이 SOD 활성을 증가시킴으로써 적혈구의 산화스트레스 저하에 기여할 수 있음을 보였다.

적혈구에서의 GSH-Px 활성도는 BSO군을 제외한 모든 당뇨군이 정상군과 유의한 차이가 없었으나, BSO군만이 정상군은 물론 MMS군에 비해서도 유의하게 높았다. Kim 등(10)은 대두올리고당을 섭취시킨 당뇨쥐의 혈장 GSH-Px 활성도가 대조식에 비하여 유의하게 높은 수준을 보였다고 하였으나, 본 연구에서는 올리고당의 효과는 관찰되지 않았다.

적혈구 catalase 활성도는 MMS군이 정상군에 비하여 유

Table 3. Activities of antioxidative enzymes of erythrocytes of streptozotocin-induced diabetic rats fed ice cream

Group ¹⁾	SOD	GSH-Px	Catalase
	(unit/min/mg protein)		
Normal	10.60±0.698 ^{2)ab3)}	8.86±1.42 ^b	3.57±0.319 ^a
MMS	9.48±0.555 ^b	13.22±0.93 ^b	2.15±0.305 ^b
MMO	10.93±0.741 ^{ab}	10.34±1.55 ^b	2.42±0.477 ^{ab}
SSS	11.61±0.465 ^a	14.94±3.42 ^b	2.81±0.374 ^{ab}
SSO	11.19±0.590 ^{ab}	10.55±1.48 ^b	2.83±0.397 ^{ab}
BSO	9.97±0.246 ^{ab}	24.11±4.19 ^a	3.71±0.712 ^a

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Values are mean±SE for n=10.

³⁾Values in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05.

의하게 낮아졌으나 BSO군만은 MMS군에 비교하여 유의하게 높았으며, 정상군과 같은 수준을 보였다. MMO, SSS, SSO 군도 MMS군에 비해 높은 경향을 보였다. 올리고당첨가 검정콩아이스크림군 적혈구의 catalase 활성도는 높은 수준을 나타내어, 적혈구의 높은 GSH-Px 활성도와 동일한 경향을 나타내었다. 이처럼 적혈구의 GSH-Px와 catalase 활성도에 있어 검정콩이 노란콩에 비해 유의하게 높은 이유는 검정콩에 항산화 효과가 탁월한 polyphenol이 다량 함유되어있는 것과 관련이 있을 수 있으나, 이를 증명하는 연구가 필요하다고 사료된다.

간조직의 항산화효소계 활성도

간조직의 SOD 활성은 MMO, SSS, SSO, BSO 군이 MMS군에 비해 높은 경향을 보였으나, 군간 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 4). Kim 등(10)의 연구에서 간의 SOD 활성은 올리고당 섭취군과 일반식이군 사이에 유의한 차이를 보이지 않았으며, Ryu와 Moon(29)의 연구에서도 간의 SOD 활성이 콩섭취군과 일반식이군 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다.

간에서의 GSH-Px 활성도와 catalase 활성도도 군간 유의한 차이를 보이지 않았다. Kim 등(10)의 연구에서 당뇨유발 후 올리고당을 섭취한 군이 일반식이군에 비해 간에서의 GSH-Px 활성도가 높았으나, 본 연구에서는 군간 유의한 차이를 보이지 않았다.

본 연구에서 우유아이스크림을 먹인 당뇨쥐의 간조직 TBARS가 정상쥐에 비하여 유의하게 증가하였고, 콩 또는 올리고당 첨가 아이스크림을 섭취한 흰쥐에서는 간조직 TBARS가 정상 수준으로 낮아졌음에도 불구하고, 간조직의 항산화계 효소 활성도에는 차이가 없었다. 따라서 콩 또는 올리고당 첨가 아이스크림을 섭취한 당뇨쥐에서 과산화지질의 감소 기전으로 유리 라디칼 제거를 위한 비효소적 방어계가 작용하였을 것으로 추측된다. 이는 즉, 이소플라본을 포함한 대두의 항산화물질들이 간조직에서 항산화제로 직접 작용했을 가능성이 있다. Djuric 등(31)은 대두 이소플라본을 보충한 남녀에서 산화스트레스의 지표인 DNA 손상이 유의하게 낮아졌다고 보고하였다.

Table 4. Activities of antioxidative enzymes of livers of streptozotocin-induced diabetic rats fed ice cream

Group ¹⁾	SOD	GSH-Px	Catalase
	(unit/min/mg protein)		
Normal	29.61 ± 2.35 ²⁾	25.66 ± 6.64	8.67 ± 0.963
MMS	22.65 ± 4.56	20.24 ± 2.30	11.30 ± 2.130
MMO	31.27 ± 3.93	21.78 ± 3.44	10.37 ± 0.934
SSS	27.17 ± 2.96	18.50 ± 1.23	9.73 ± 1.909
SSO	34.02 ± 7.47	23.41 ± 3.26	11.19 ± 1.372
BSO	29.01 ± 4.30	24.07 ± 6.37	11.44 ± 1.166

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Values are mean ± SE for n=10.

맹장 조직, 내용물 무게 및 변량

당뇨쥐의 맹장조직은 콩아이스크림을 제외한 모든 군에서 정상군에 비해 유의하게 높은 무게를 보였다. 특히 SSO 군은 SSS군에 비해 유의하게 높은 조직 무게를 보였다(Table 5). 맹장내용물 무게도 당뇨군이 정상군에 비하여 높은 수준을 보였으며, BSO, SSO군이 MMS군에 비해 유의하게 높은 수준을 나타내었고, MMO와 SSS는 MMS에 비해 높은 경향이었으나 유의한 차이는 아니었다. 이는 콩과 올리고당이 맹장내용물 증가에 미치는 효과에 있어 상승작용을 보인 것을 의미한다.

당뇨는 소장과 대장의 용모 증식과 비대를 촉진시켜 장 길이를 증가시킨다(32). 정상쥐에 비해 streptozotocin에 의해 유도된 당뇨쥐(33,34)와 제2형 당뇨병 모델 쥐(35)에서 소장 점막 증식과 비대가 촉진되었으며,식이섬유를 섭취한 당뇨군의 맹장 조직의 무게가 대조군이나 무섬유식을 섭취한 당뇨군에 비해 현저히 증가하였다(36). 수용성 식이섬유는 당뇨 상태에서 장의 증식을 더 촉진하는 역할을 하며, 이는 장 내용물의 점성 증가로 인해(37), 점막세포 성장을 자극하는 glucagons-like peptide 2(GLP-2)와 같은 조절호르몬의 방출을 유발하기(36) 때문이다. 또한 식이섬유 또는 올리고당 섭취 시 발효되는 과정에서 생성된 short-chain fatty acids, 특히 butyrate는 결장 조직의 증식을 촉진한다고 알려져 있다(38). 본 연구에서도 맹장조직 무게의 증가가 모든 당뇨쥐에서 관찰되었으며, 올리고당 첨가시 더 증가하였다.

분변량은 모든 당뇨군에서 높았으며, 특히 BSO군이 MMS, MMO, SSO 군에 비해 높았다. 당뇨쥐의 맹장 내용물과 분변량이 정상군에 비해 유의하게 높은 이유는 다음(多飲) 증상으로 인해 장 내용물이 희석된 것도 원인의 하나로 사료된다.

분변 미생물생태에 미치는 효과

Fig. 2에서 보는 바와 같이 분변 중 유익한 혐기성 젖산생성균인 Lactobacilli의 군수의 경우 SSO군이 가장 높았으며, MMS군에 비해서 18배 이상 유의하게 증가한 결과를 보였다. BSO와 SSS 군의 군수도 MMS군에 비해 유의하게 증가하였다. Bifidobacteria는 올리고당이 첨가된 노란콩과

Table 5. Weights of cecal tissue and content, and feces in diabetic rats fed ice cream (g)

Group ¹⁾	Cecal tissue weight	Cecal content weight	Fecal weight
Normal	0.515 ± 0.027 ²⁾³⁾	2.637 ± 0.171 ^d	3.204 ± 0.203 ^e
MMS	0.855 ± 0.112 ^{ab}	5.711 ± 0.400 ^c	5.329 ± 0.629 ^b
MMO	0.929 ± 0.057 ^{ab}	7.415 ± 0.756 ^{bc}	5.832 ± 0.327 ^b
SSS	0.799 ± 0.096 ^{bc}	6.707 ± 1.356 ^{bc}	6.851 ± 0.428 ^{ab}
SSO	1.155 ± 0.189 ^a	8.646 ± 1.037 ^{ab}	6.004 ± 0.424 ^b
BSO	1.022 ± 0.103 ^{ab}	10.416 ± 1.622 ^a	7.695 ± 0.889 ^a

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Values are mean ± SE for n=10.

³⁾Values in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05.

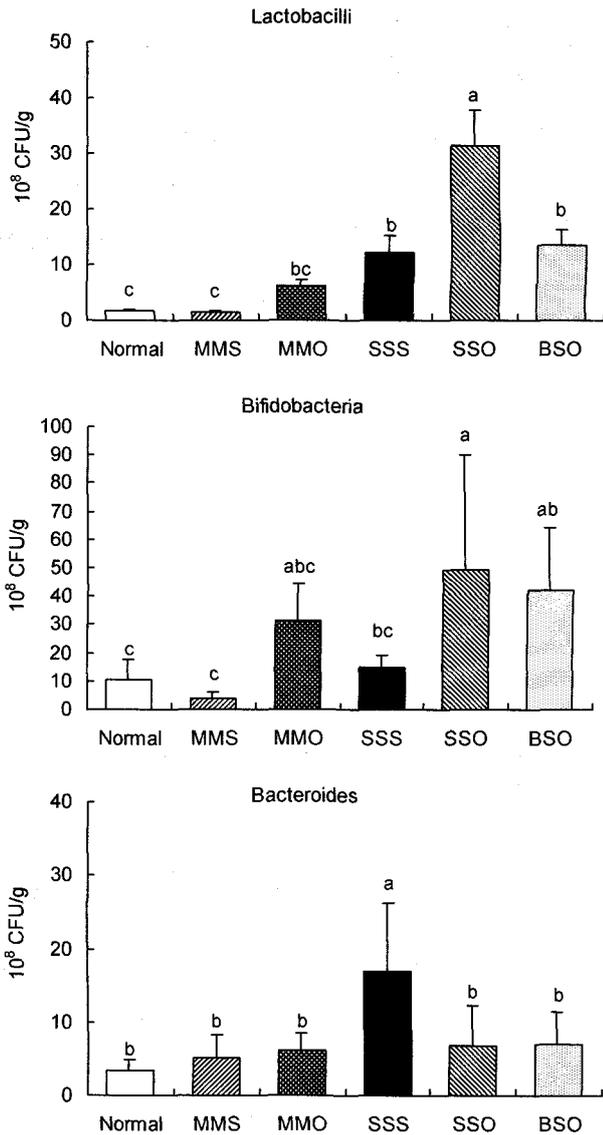


Fig. 2. Fecal concentrations of Lactobacilli, Bifidobacteria and Bacteroides in streptozotocin-induced diabetic rats fed ice cream.
 Group: See the legend of Table 1.
 Values are means with SE bar (n=10).
 Values not sharing common superscript letters are significantly different at $p < 0.05$.

검정콩 아이스크림군의 군수가 MMS군에 비해 유의하게 증가한 반면에 올리고당 첨가한 우유아이스크림이나 콩아이스크림은 우유아이스크림에 비해 유의한 군수 증가를 초래하지 않았다. 반면 유해한 혐기성균인 Bacteroides의 경우 SSS군만이 MMS군에 비해 증가하였으나, 올리고당을 첨가한 아이스크림을 먹인 쥐의 분변에서는 어떤 증가 경향도 보이지 않았다. Tamura 등(39)에 의하면 이소플라본이 첨가된 콩단백질 또는 casein 식이를 4주 동안 생쥐에게 먹인 결과 콩-이소플라본 식이 섭취는 Lactobacilli 군수를 유의하게 증가시켰으며, Kim 등(10)도 당뇨대조군에 비해 올리고당섭취 당뇨군에서 유의하게 증가한 Bifidobacteria 군수

를 보고하여 본 연구결과와 유사하였다.

본 연구에서는 전반적으로 올리고당 첨가 콩아이스크림(SSO와 BSO)이 장내 유익한 균인 Lactobacilli와 Bifidobacteria의 성장에 좋은 효과를 보임으로써 장내 미생물생태 개선에 있어서 콩과 올리고당이 상승작용을 보였다. Choung과 Lee(40)에 의한 우리나라의 주 대두 품종의 평균 stachyose와 raffinose 함량이 각각 1.36%, 0.86%인 점을 감안하면 콩아이스크림에 첨가된 콩으로부터의 올리고당은 0.17%로 fructooligosaccharide 5.2%에 비하면 미미한 정도에 불과하여 콩올리고당에 의한 상승 효과라고 결론내기는 어렵다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 올리고당 또는 콩을 첨가한 아이스크림이 일반아이스크림에 비하여 혈장과 간조직의 지질과산화물 농도를 낮추고 일부 항산화계 효소활성을 증가시킴으로써 산화스트레스를 감소시키는 효과를 보였으며, Latobacilli와 Bifidobacteria 균 등의 장내 유익한 혐기성균의 증식을 촉진함으로써 장생태를 개선하였으므로 당뇨환자를 위한 유용한 식품으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 당뇨환자를 위한 아이스크림을 개발할 목적으로 아이스크림의 주원료인 우유단백질, 유지방과 설탕의 일부를 노란콩과 검정콩, 대두유 및 프럭토올리고당으로 대체한 아이스크림을 제조하여 동물실험을 통하여 산화스트레스 완화와 장 미생물생태 개선에 미치는 효과를 규명하였다. 동결건조한 아이스크림을 AIN-93 식이의 30% 수준으로 첨가하여 실험식이를 제조하였다. 5주령 된 Sprague-Dawley 중 수컷 쥐를 당뇨를 유발하지 않은 정상군과 당뇨군 5군으로 나누고, streptozotocin으로 당뇨를 유발하고, 실험식이를 자유롭게 4주 동안 섭취시켰다. 희생된 쥐의 장기와 혈액을 취하고, 항산화능 및 장내미생물생태에 미치는 효과를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 혈장의 지질과산화물 농도는 당뇨군이 정상군보다 유의하게 높았다. 당뇨군 중에서 콩아이스크림군과 올리고당첨가 검정콩아이스크림군이 우유아이스크림군에 비해 혈장 지질과산화물의 농도가 유의하게 낮았으며, 올리고당 첨가 우유아이스크림과 올리고당 첨가 노란콩아이스크림을 섭취한 군도 낮은 경향을 보였다. 간에서의 지질과산화물 농도는 우유아이스크림군만이 정상군에 비해 유의하게 높았으며, 올리고당 또는 콩 첨가 아이스크림군 모두 정상군과 유의한 차이를 보이지 않았다. 적혈구의 SOD 활성은 콩아이스크림군이 우유아이스크림군에 비하여 유의하게 높았다. 적혈구에서의 GSH-Px 활성과 catalase 활성은 올리고당첨가 검정콩아이스크림군이 다른 군에 비해 유의하게 높았다. 유익한 혐기성균인 Latobacilli 군수와 Bifidobacteria 군수가 올리고당첨가 콩아이스크림군에서 분변 중에 유의하게 증가하였으며, 콩아이스크림과 올리고당첨가 아이스크림도 우유아이스크림에

비해 유익한 세균의 증식을 촉진시켰다. 결론적으로 올리고당 첨가 콩아이스크림은 당뇨쥐에서 산화스트레스를 억제하고 장생태를 개선하는 효과를 보였다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 한국과학재단 지정 대구대학교 농산물저장·가공 및 산업화연구센터의 지원에 의한 것입니다.

문헌

1. Cho NH. 2005. Prevalence of diabetes and management status in Korean population. *Korean J Med* 68: 1-2.
2. NSOK. 2003. *Annual Report on the Cause of Death Statistics*. National Statistical Office of Korea. Seoul, Korea.
3. Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J. 2000. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab* 26: 163-176.
4. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB 3rd. 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol* 17: 24-38.
5. Ihara Y, Toyokuni S, Uchida K, Odaka H, Tanaka T, Ikeda H, Hiai H, Seino Y, Yamada Y. 1999. Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic beta-cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes* 48: 927-932.
6. Her BY, Sung HY, Choi YS. 2005. Oligosaccharide-supplemented soy ice cream for diabetic patients: Quality characteristics and effects on blood sugar and lipids in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 38: 663-671.
7. Busserolles J, Rock E, Gueux E, Mazor A, Grolier P, Rayssiguier Y. 2002. Short-term consumption of a high-sucrose diet has a pro-oxidant effect in rats. *Br J Nutr* 87: 337-342.
8. Donald RB. 1995. Influence of dietary sucrose on biological aging. *Am J Clin Nutr* 62: 284S-293S.
9. Kim KN, Joo ES, Kim KI, Kim SE, Yang HP, Jeon YJ. 2005. Effect of chitosan oligosaccharides on cholesterol level and antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 36-41.
10. Kim HY, Kim MH, Kim JY, Kim WK, Kim SH. 2003. Soybean oligosaccharide reduces oxidative stress in streptozotocin-injected rats. *Nutritional Sciences* 6: 67-72.
11. Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G, Miller NJ, Bolwell GP, Rice-Evans CA. 1997. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. *Free Radic Res* 26: 63-70.
12. Rodrigues HG, Diniz YS, Faine LA, Galhardi CM, Burneiko RC, Almeida JA, Ribas BO, Novelli EL. 2005. Antioxidant effect of saponin: potential action of a soybean flavonoid on glucose tolerance and risk factors for atherosclerosis. *Int J Food Sci Nutr* 56: 79-85.
13. Bae EA, Moon GS. 1997. A study on the antioxidative activities of Korean soybeans. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 203-208.
14. Kim KS, Kim MJ, Park JS, Sohn HS, Kwon DY. 2003. Compositions of functional components of traditional Korean soybeans. *Food Sci Biotechnol* 12: 157-160.
15. Takahashi R, Ohmori R, Klyose C, Momiyama Y, Ohsuzu F, Kondo K. 2005. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidation. *J Agric Food Chem* 53: 4578-4582.
16. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
17. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
18. Flohé L. 1992. Determination of glutathione peroxidase. In *CRC Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine*. Miquel J, Quintanilha AT, Weber H, eds. CRC Press, Inc, Boca Roton, USA. Vol 3, p 281-286.
19. Aebi H. 1984. Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. 3rd ed. Bergmeyer HU, ed. Academic Press, New York, USA. Vol 2, p 673-684.
20. Hartemink R, Kok BJ, Weenk GH, Rombouts FM. 1996. Raffinose-bifidobacterium (RB) agar, a new selective medium for bifidobacteria. *J Microbiol Methods* 27: 33-43.
21. Ji GE, Kim IH, Lee SK. 1994. Investigation of selective medium for isolation and enumeration of bacteroides sp. from the feces of the Korean people. *Korean J Food Sci Technol* 26: 295-299.
22. Maeng KJ, Kim JS, Ji GE, Kim JH. 1997. Isolation of bacteriocin-producing lactic acid from human intestines and the characteristics of their bacteriocins. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 26: 1228-1236.
23. Robertson RP. 2004. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. *J Biol Chem* 279: 42351-42354.
24. Exner M, Hermann M, Hofbauer R, Kapiotis S, Quehenberger P, Speiser W, Held I, Gmeiner BM. 2001. Genistein prevents the glucose autooxidation mediated atherogenic modification of low density lipoprotein. *Free Radic Res* 34: 1010-112.
25. Busserolles J, Gueux E, Rock E, Demigné C, Mazur A, Rayssiguier Y. 2003. Oligofructose protects against the hypertriglyceridemic and pro-oxidative effects of a high fructose diet in rats. *J Nutr* 133: 1903-1908.
26. Bhatena SJ, Velasquez MT. 2002. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr* 76: 1191-1201.
27. Liu J, Chang SK, Wiesenborn D. 2005. Antioxidant properties of soybean isoflavone extract and tofu *in vitro* and *in vivo*. *J Agric Food Chem* 53: 2333-2340.
28. Kim SH, Kwon TW, Lee YS, Choung MG, Moon GS. 2005. A major antioxidative components and comparison of antioxidative activities in black soybean. *Korean J Food Sci Technol* 37: 73-77.
29. Ryu SH, Moon GS. 2003. Antioxidative and antiaging effects of dietary yellow and black soybean in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 591-597.
30. Ross D, Moldeus P. 1993. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In *CRC Membrane Lipid Oxidation*. Vigo-Pelfrey C, ed. CRC Press Inc, Boston, USA. Vol II, p 151-170.
31. Djuric Z, Chen G, Doerge DR, Heilbrun LK, Kucuk O. 2001. Effect of soy isoflavone supplementation on markers of oxidative stress in men and women. *Cancer Letters* 172: 1-6.
32. Ettarh RR, Carr KE. 1997. A morphological study of the enteric mucosal epithelium in the streptozotocin-diabetic mice. *Life Sciences* 61: 1851-1858.
33. Zoubi SA, Mayhew TM, Sparrow RA. 1995. The small intestine in experimental diabetes: cellular adaptation in crypts and villi at different longitudinal sites. *Virchows*

- Arch 426: 601-507.
34. Tahara T, Yamamoto T. 1988. Morphological changes of the villous microvascular architecture and intestinal growth in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Virchows Arch A Pathol Anat Histophthol* 413: 151-158.
 35. Adachi t, Mori C, Sakurai K, Shihara N, Tsuda K, Yasuda K. 2003. Morphological changes and increased sucrase and isomaltase activity in small intestines of insulin-deficient and type 2 diabetic rats. *Endocrine Journal* 50: 271-279.
 36. Thulesen J, Hartmann B, Nielsen C, Holst JJ, Poulsen SS. 1999. Diabetic intestinal growth adaptation and glucagons-like peptide 2 in the rat: effects of dietary fibre. *Gut* 45: 672-678.
 37. Elsenhans B, Zenker D, Caspary WF. 1984. Guaran effect on rat intestinal absorption. A perfusion study. *Gastroenterology* 86: 645-653.
 38. Roediger WE. 1982. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells for the rat colon. *Gastroenterol* 83: 424-429.
 39. Tamura M, Hirayama K, Itoh K, Suzuki H, Shinohara K. 2002. Effects of soy protein-isoflavone diet on plasma isoflavone and intestinal microflora in adult mice. *Nutrition Res* 22: 705-713.
 40. Choung MG, Lee JC. 2003. Functional characteristics of soybean oligosaccharide. *Korean J Crop Sci* 48: 58-64.

(2005년 8월 24일 접수; 2005년 11월 28일 채택)