

쑥(*Pueraria thunbergiana*)추출물 청국장 캡슐의 *ob/ob* Mice에 대한 항비만 효과

김길수¹ · 홍주현² · 김대익^{3*}

¹경북대학교 수의과대학

²대구가톨릭대학교

³(재)대구테크노파크 바이오헬스융합센터

Anti-obesity Effects of Capsule-filled Cheonggukjang Added with Arrowroot (*Pueraria thunbergiana*) Extracts in *ob/ob* Mice

Kil-Soo Kim¹, Joo-Heon Hong², and Dae-Ik Kim^{3*}

¹College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²Dept. of Food Science and Technology, Catholic University, Daegu 712-702, Korea

³Daegu Technopark Bio Health Convergence Center, Daegu 704-801, Korea

Abstract

This study was designed to evaluate the anti-metabolic syndrome effects of capsule-filled cheonggukjang (CGJ) added with arrowroot (*Pueraria thunbergiana*) extracts on body weight, adiposity and lipid metabolism in *ob/ob* mice. Experimental groups were normal control group (NC: basal diet), positive control group (PC: 2% CGJ), CGJ added with arrowroot extracts group (AR: 2% arrowroot in CGJ), and capsule-filled CGJ added with arrowroot extracts group (ARC: 2% arrowroot CGJ capsule). Each group was fed experimental diet for 10 weeks. Final body weight gain and atherogenic index were significantly lower in the ARC than NC group. Serum levels of total cholesterol, LDL-cholesterol, and triglycerides, blood glucose and atherogenic index were significantly lower in the ARC than NC group. Furthermore, fatty liver and regional lipid accumulation in *ob/ob* mice were inhibited in the ARC group. The hepatic activities of superoxide dismutase, catalase and glutathione S-transferase were significantly higher in the ARC than NC group. Therefore, the anti-metabolic syndrome effects of the ARC group were higher than the AR group. In conclusion, these results indicated that CGJ added with arrowroot mediates its anti-obesity effects in *ob/ob* mice by improving lipid metabolism and antioxidant enzyme.

Key words: arrowroot, cheonggukjang, obesity, lipid, *ob/ob* mice

서 론

최근 식생활의 변화, 급격한 환경의 변화, 생물학적 요인 등의 여러 원인이 복합적으로 어울려져서 과체중이나 비만 환자의 수가 급격히 증가하는 추세이다(1). 비만은 지방의 형태로 에너지가 과잉 축적되어 체중이 표준체중보다 20% 이상 증가하여 이로 인해 동맥경화증, 고혈압, 당뇨병 등의 유병율을 증가시키고 조기사망과 밀접한 관련이 있을 뿐 아니라 삶의 질을 저하시키는 것으로 알려져(2) 있는데 20세기 이전에는 드문 질환이었으나 점차 증가하여 심각한 건강문제를 일으킬 수 있다는 점이 인식되어 1997년 세계보건기구에서는 비만을 전 세계적인 보건문제로 규정하였다(3).

최근 성인뿐만 아니라 소아, 청소년에서도 체중 증가 속도가 급격히 증가하고 있어 향후 사회적 문제를 야기할 가능성이 높기 때문에 장기적인 관리와 집중적인 치료가 필요하다

(4). 비만은 체내 지방세포 숫자의 증대와 크기가 확대됨에 따라 비이상적으로 내장지방이 축적됨으로써 진행되는데, 이에 대해 많은 연구자들은 체중과 내장지방의 축적을 줄이기 위한 치료제로 합성 또는 천연소재로부터 찾으려고 노력해오고 있다(5).

청국장과 된장은 예로부터 우리나라의 식생활에서 빠질 수 없는 대두를 발효한 전통발효식품으로 고유의 풍미를 지니고 있으며, 영양적으로 우수한 식품으로(6) 대두발효식품의 재료로 쓰이는 대두는 단백질과 지방이 풍부하고 영양학적으로 우수하며, 혈장 콜레스테롤 농도를 저하시키고 체내 콜레스테롤을 감소시킨다고 알려져 있다(7). 또한, 대두 속에 함유된 linoleic acid 등과 같은 불포화지방산들은 콜레스테롤이 체내에 쌓이는 것을 방지하고 혈액의 흐름을 원활히 하는 역할을 한다고 알려져 있다(8).

쑥(*Pueraria thunbergiana* Benth)은 우리나라를 비롯

*Corresponding author. E-mail: crs3814@hanmail.net
Phone: 82-53-602-1896, Fax: 82-53-602-1898

한 동남아 각지에서 자생하는 두과식물로 우리나라를 비롯하여 중국과 일본 등지에서 숙취 제거, 고혈압, 관상동맥경화증, 협심증, 당뇨병 및 해독 등에 이용되어 왔다(9). 췌의 성분 중에는 해열, 해독 등과 같은 간장 질환에 관련된 약리작용과 항산화 작용이 있는 것으로 알려져 있다(10,11). 이와 같이 청국장과 췌는 각각 비만 및 고지혈증 등을 개선하는 효능에 대한 보고들이 있으나(7-10), 병용하였을 때의 대사성 증후군에 대한 효능에 대한 연구와 다양한 섭취 제형의 효능비교 연구는 거의 찾아볼 수 없었다.

따라서 본 연구는 췌청국장 및 췌청국장 캡슐함유 식이가 선천성 비만의 실험모델 동물인 ob/ob 마우스에서 체중저하효과 및 지방축적과 지질대사의 개선효능에 미치는 영향을 알아보고 제형에 따른 차이를 비교하고자 수행되었다.

재료 및 방법

실험식이의 제조 및 실험군의 배치

1월에서 3월에 걸쳐 경상북도 안동 일원에서 채취한 양질의 췌를 완전히 건조시켜 분쇄한 후 무게당 10배의 증류수를 가하고 60°C에서 24시간 동안 교반하면서 유효성분을 추출하였다. 이를 실온에서 냉각시키고 여과한 다음 감압농축 후 동결건조기에서 분말시료를 획득하였으며 수득율은 19.4%이었다. 분말시료는 장용성 코팅제인 ZEIN-DP와 파손방지 및 충격강도의 향상, 색과 맛의 masking 등의 효과가 있는 위용성 코팅제인 HPMC-FCC로 유동층 공정기를 이용하여 캡슐화하였다.

실험동물은 생후 5주령, 체중 40 g 전후의 수컷 C57BL/6J-ob/ob 마우스를 Japan SLC Inc.(Shizuoka, Japan)에서 구입하였고 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 사육실 및 실험실의 환경은 온도 23±2°C, 상대습도 55±10%, 환기횟수 12회/hour, 조명주기 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300 lux로 조절되었다. 실험동물용 사료로는 pellet형 고형사료 Purina Rat Chow[®]((주)푸리나코리아, 오산, 한국)를, 음수는 살균정제수를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

실험식이의 제조와 체중, 식이섭취량 및 식이효율의 측정

실험식은 건강기능식품 기준 및 규격에 제시된 콜레스테롤저하 가능성을 가지는 대두단백 15 g 이상 섭취의 기준을 따라 총 식이량의 2%로 대두단백 함유량을 설정하였다. 따라서 사료 제조 시 정상대조군 사료는 pellet형 고형사료를 분말화시켜 basal diet로 청국장 2% 함유, 췌청국장 2% 함유, 췌청국장 캡슐 2% 함유 사료를 제조하여 Table 1에서와 같이 분류한 실험군에 10주간 자유섭취 시켰다. 체중 및 식이섭취량은 실험개시일부터 정상적인 식이와 음수를 공급하면서 주 1회 측정하였으며, 식이섭취량은 급여량에서 잔량을 감하여 환산하였다. 식이효율(Food Efficiency Ratio, FER)은 실험기간 동안 체중증가량을 동일한 기간의 식이섭취량으로 환산하였다.

Table 1. Experimental design and animal groups

Groups	Treatment
NC	Nomal control (Purina Rat Chow [®] 5057)
PC	Positive control 2% (contain Cheonggukjang 2% in basal diet)
AR	Arrowroot Cheonggukjang 2% (contain arrowroot Cheonggukjang 2% in basal diet)
ARC	Arrowroot Cheonggukjang capsule (contain arrowroot Cheonggukjang capsule 2% in basal diet)

혈액 생화학적 분석

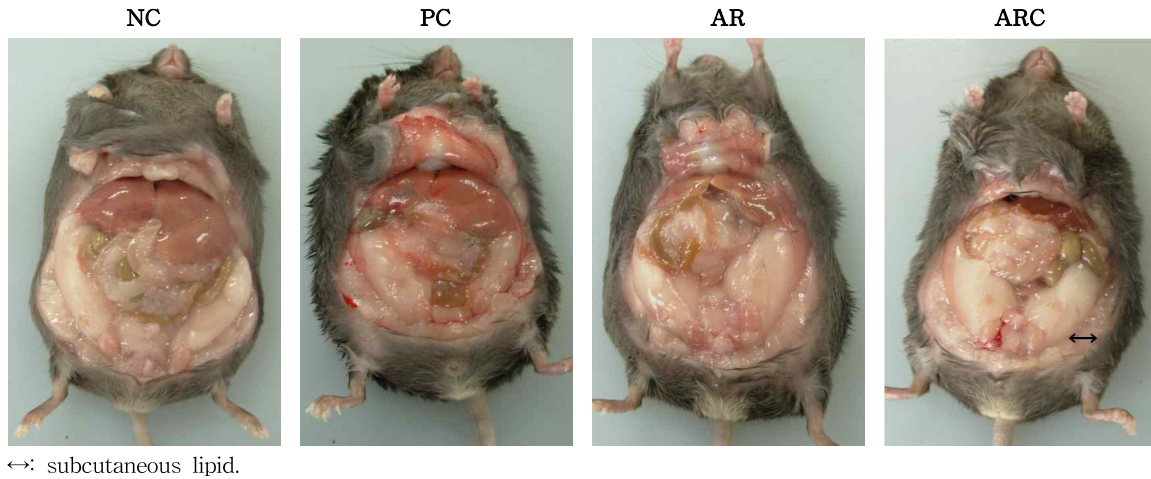
실험 식이가 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 후 안와정맥총(venous orbital plexus)으로부터 혈액을 채취하였고, 채취한 혈액은 원심분리관에 넣어 1시간 방치한 후, 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 혈청을 분리하였으며 분리한 혈청은 자동생화학분석기(KONELAB 20XT, Vantaa, Finland)를 이용하여 ALB(albumin), ALP(alkaline phosphatase), BUN(blood urea nitrogen), TP(total protein), CHOL(total cholesterol), HDL-cholesterol(high density lipoprotein), LDL-cholesterol(low density lipoprotein), TG(triglyceride), GUL(glucose)를 측정하였다. 동맥경화지수(atherogenic index: AI)는 Haglund의 방법(12)에 따라서 AI = (total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol 식으로 계산하였다.

간조직 지질과산화물 측정 및 항산화 효소 측정

Ether 마취 후 개복하여 디지털 카메라로 촬영하여 복강내 지방의 분포 및 정도를 관찰하고 정도를 관찰하고 실험동물을 희생시킨 후 장기무게의 측정과 함께 간조직을 채취하여 지질과산화물 및 항산화효소의 함량을 측정하였다. 환원형 GSH(glutathione) 함량은 Ellman의 방법에 따라 측정하였다(13). 조직 마쇄균질액에 4% sulfosalicylic acid 0.5 mL를 넣고 원심분리한 후, 상층액을 0.1 mM 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) 함유 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 8.0)에 넣고 반응시켜 생성된 p-nitrophenol을 측정하였다. 환원형 GSH 함량은 단백질 mg당 μmole로 나타내었다.

지질과산화(TBARS, thiobarbituric acid reactive substance) 함량은 Ohkawa 등(14)의 방법에 따라 측정하였다. 효소 시료 속의 과산화지질을 산성조건 하에서 2-thiobarbituric acid 용액과 가열 반응시켜 생긴 TBARS 함량을 532 nm에서 측정하였다. TBARS 함량은 단백질 mg당 nmole로 표시하였다.

간조직 중 XO(xanthine oxidase)의 활성도는 xanthine을 기질로 사용하여 30°C에서 20분간 반응시켜 생성된 요산을 292 nm에서 흡광도를 측정하는 Stripe과 Della(15)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로 표시하였다.



↔: subcutaneous lipid.

Fig. 1. Macroscopic appearance of abdominal cavity in *ob/ob* mice treated with PC, AR and ARC for 10 weeks. NC: normal control, PC: Cheonggukjang 2%, AR: arrowroot Cheonggukjang 2%, ARC: arrowroot Cheonggukjang capsule 2%.

SOD(superoxide dismutase)의 활성도는 hematoxylin 자동산화의 억제정도를 관찰하는 Martin 등(16)의 방법에 따라 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산 완충액(pH 7.5)에 10 μ M hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시켜 생성된 hematein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않은 반응액 중의 hematoxylin 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하여 단백질 1 mg이 1분 동안 반응한 unit로 표시하였다.

CAT(catalase)의 활성도는 hydrogen peroxide를 기질로 하여 환원되는 정도를 240 nm에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수($E=0.04 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi (17)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 신장조직 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 감소되는 hydrogen peroxide의 양을 nmole로 표시하였다.

GST(glutathione-S-transferase)의 활성도는 Habig 등 (18)의 방법에 따라 측정하였다. 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 glutathione을 기질로 하여 25°C에서 10분간 반응시켜 생성된 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate 양을 340 nm에서 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분간 반응하여 생성시킨 conjugate의 양을 nmole로 나타내었다.

실험동물의 형태학적, 조직병리학적 관찰

동물의 희생 후 복부지방, 간, 비장, 췌장 및 신장을 적출하여 거름종이에 수분을 제거한 다음 무게를 측정하고, 간과 췌장은 조직관찰을 위하여 동일한 부위를 떼어내 10% formaline 용액에 고정시키고 고정이 끝난 조직은 흐르는 물에 수세한 후 순차적으로 증가되는 농도의 순서에 따라 에탄올로 탈수하고 침투과정을 거치고 paraffin에 포매한 다음 rotary microtome(Leica 820, Leica Instruments products, Heerbrugg, Switzerland)으로 4 μ m의 조직절편을 만들어 hematoxylin and eosin 염색을 실시한 후 광학현미경으로

관찰하였다.

통계처리

모든 실험결과는 평균과 표준편차로 나타내었으며, 각 그룹 및 평균간 통계적 유의성은 SPSS 10.0(SPSS Inc, Chicago, IL, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석 후 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test에 의해 검정하였다.

결 과

복강 내 지방의 육안적 관찰

10주간 실험 식이를 자유 섭취시킨 실험동물의 복강 내 지방의 변화를 나타낸 결과는 Fig. 1과 같다. 일반식이군인 NC군에서의 피하지방 두께에 비하여 청국장식이군들의 피하지방 두께가 감소한 것을 관찰할 수 있으며, 특히 칩청국장 캡슐식이군인 ARC군의 피하지방은 다른 실험군에 비하여 가장 많이 감소한 것을 관찰할 수 있다.

체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율의 변화

10주간 실험 식이를 자유섭취 시킨 비만실험동물의 체중

Table 2. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio of obesity mouse fed the experimental diets for 10 weeks

Groups ¹⁾	Body weight gain (g)	Food intake (g/day)	FER ³⁾ (%)
NC	21.70±3.13 ²⁾	4.87±0.34	6.36±0.70
PC	15.10±1.81 ^a	6.28±0.35 ^{ac}	3.43±0.34 ^a
AR	14.00±0.91 ^a	3.39±0.09 ^{ab}	5.89±0.31 ^b
ARC	13.30±5.03 ^a	5.84±0.80 ^c	3.15±0.97 ^{ac}

¹⁾Groups are the same as in Table 1.

²⁾Values are mean±SD (n=5).

³⁾FER: Food Efficiency Ratio (%)=(Body weight/food intake) ×100 (g/day).

^aSignificantly different from NC group ($p<0.05$), ^bSignificantly different from PC group ($p<0.05$), ^cSignificantly different from AR group ($p<0.05$).

Table 3. Organ weight and fat weight of obesity mouse fed the experimental diets for 10 weeks (g)

Groups ¹⁾	Visceral fat	Liver	Spleen	Pancreas	Kidney
NC	10.86±2.79 ²⁾	12.66±1.44	0.14±0.03	0.62±0.20	0.98±0.14
PC	10.17±1.24	10.65±0.85 ^a	0.10±0.01	0.63±0.19	0.92±0.09
AR	9.89±1.15	9.71±1.08 ^a	0.10±0.02	0.55±0.16	0.89±0.03
ARC	9.29±1.51	10.32±2.13 ^a	0.12±0.05	0.55±0.12	0.90±0.05

¹⁾Groups are the same as in Table 1. ²⁾Values are mean mean±SD (n=5).

^aSignificantly different from NC group (p<0.05).

증가량, 식이섭취량 및 식이효율 결과는 Table 2와 같다. 체중증가량은 일반식이군(NC)과 모든 청국장식이군(PC, AR, ARC)간에 유의한 차이를 보였다. 일반청국장식이군인 PC군은 일반 식이를 섭취한 NC군에 비해 체중증가량이 약 30.4% 낮았고 췌장청국장식이군인 AR군은 약 35.5% 낮았으며, 췌장청국장 캡슐 식이군인 ARC군은 약 38.7% 체중증가량이 낮게 나타났다. 식이섭취량은 일반 식이를 섭취한 NC군에 비해 PC군과 ARC군이 높게 나타났으며 식이효율 면에서 NC군에 비해 PC군과 ARC군이 각 46% 및 50% 낮게 나타났다.

실험동물의 장기무게 측정

실험동물의 복부지방, 간, 비장, 췌장 및 신장의 무게 변화를 나타낸 결과는 Table 3과 같다. 복부지방의 무게는 일반식이군인 NC군에 비해 ARC군에서 14.4% 낮게 나타났으나 유의한 차이는 보이지 않았으며 간의 무게는 일반식이군에 비해 모든 청국장식이군에서 유의하게 낮은 수치를 나타냈는데, PC군, AR군과 ARC군의 간 무게는 NC군에 비해 각각 15.9%, 23.3%, 18.5% 낮게 나타났다. 비장, 췌장과 신장의 경우 일반식이군에 비해 모든 췌장청국장식이군에서 낮은 수치를 보였다.

혈액 생화학적 지표의 변화

실험동물의 혈청 내 생화학 지표들의 분석결과는 Table 4와 같다. ALB은 일반식이군에 비해 모든 췌장청국장식이군에서 유의하게 높은 수치를 보였으며, AR군과 ARC군은 NC군에 비해 7.8% 높았다. ALP는 일반식이군에 비해 모든 청국장식이군에서 유의하게 낮은 수치를 보였으며, PC군, AR군 및 ARC군은 NC군에 비해 각각 44.2%, 43.2% 및 46.4% 낮았다. BUN은 일반식이군에 비해 모든 청국장식이군에서 낮은 수치를 보였으나 통계학적 유의성은 AR군에서만 인정되었다. T PROT(total protein)은 실험식이군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다.

혈청 지질성분 및 혈당의 변화

실험동물의 혈청 내 지질수준 및 혈당의 변화는 Table 5에 나타내었다. CHOL은 일반식이군에 비해 모든 청국장식이군에서 유의하게 낮은 수치를 보였으며, PC군, AR군 및 ARC군은 NC군에 비해 각각 8.9%, 9.1% 및 9.6% 감소된 수준을 나타내었다. HDL-cholesterol은 일반식이군에 비해 모든 청국장식이군에서 유의하게 높은 수치를 보였으며, PC군, AR군 및 ARC군은 NC군에 비해 각각 23.4%, 24.9% 및 29.3% 높게 나타났다. LDL-cholesterol의 경우 PC군, AR군

Table 4. Effect on serum biochemistry index levels in obesity mouse fed the experimental diets for 10 weeks

Groups ¹⁾	ALB (g/dL)	ALP (U/L)	BUN (mg/dL)	T PROT (mg/dL)
NC	3.45±0.06 ²⁾	978.13±52.08	20.41±0.73	6.21±0.12
PC	3.56±0.06 ^{ac}	545.98±79.02 ^a	18.70±2.50	6.22±0.34
AR	3.73±0.09 ^{ab}	555.98±79.02 ^a	17.28±0.80 ^a	6.28±0.68
ARC	3.72±0.09 ^a	524.09±24.06 ^a	17.45±2.15	6.21±0.57

¹⁾Groups are the same as in Table 1. ²⁾Values are mean mean±SD (n=5).

ALB: albumin, ALP: alkaline phosphatase, BUN: blood urea nitrogen, T PROT: total protein.

^aSignificantly different from NC group (p<0.05), ^bSignificantly different from PC group (p<0.05), ^cSignificantly different from AR group (p<0.05).

Table 5. Effect on serum lipid and glucose levels in obesity mouse fed the experimental diets for 10 weeks

Groups ¹⁾	CHOL (mg/dL)	HDL-Chol (mg/dL)	LDL-Chol (mg/dL)	TG (mg/dL)	AI index ³⁾	GLU (mg/dL)
NC	267.06±7.44 ²⁾	169.07±7.14	65.09±9.80	164.46±3.31	0.58±0.08	358.13±10.24
PC	243.37±15.53 ^a	208.65±7.63 ^a	16.65±5.43 ^{ad}	90.31±18.56 ^{ad}	0.17±0.04 ^{ad}	348.05±23.05 ^{ac}
AR	242.84±4.64 ^a	211.18±8.73 ^a	11.78±3.06 ^a	99.37±17.07 ^a	0.15±0.03 ^{ad}	341.98±9.23 ^{ab}
ARC	241.46±6.77 ^a	218.64±6.68 ^a	7.96±2.87 ^{ab}	74.30±5.16 ^{ab}	0.10±0.01 ^{abc}	317.46±19.08 ^a

¹⁾Groups are the same as in Table 1.

²⁾Values are mean mean±SD (n=5).

³⁾Atherogenic index (AI)=(total cholesterol-HDL cholesterol)/HDL cholesterol.

CHOL: total cholesterol, HDL-Chol: high density lipoprotein, LDL-Chol: low density lipoprotein, TG: triglyceride.

^aSignificantly different from NC group (p<0.05), ^bSignificantly different from PC group (p<0.05), ^cSignificantly different from AR group (p<0.05), ^dSignificantly different from ARC group (p<0.05).

및 ARC군은 NC군에 비해 각 74.4%, 81.9% 및 87.8% 유의하게 감소하였으며, ARC군은 PC군보다 유의한 감소를 나타내었다. TG의 변화로 PC군, AR군 및 ARC군은 NC군에 비해 각각 45.1%, 39.1% 및 54.8% 유의하게 감소하였으며, ARC군은 PC군보다도 유의하게 감소되었다. 동맥경화지수를 나타내는 AI는 일반식이군에 비해 모든 청국장식이군에서 유의하게 낮은 수치를 보였으며, PC군, AR군 및 ARC군은 NC군에 비해 각 70.7%, 74.1% 및 82.8% 감소를 나타내었고 ARC군은 다른 모든 실험군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다. 혈중 포도당 농도는 일반식이군에 비해 모든 청국장식이군에서 낮아지는 경향을 나타내었는데, ARC군은 NC군에 비해 11.4%의 유의한 감소를 나타내었다.

실험동물 간조직내 GSH 및 TBARS 함량 변화

비만실험동물의 간조직 내 GSH와 TBARS 함량을 나타낸 결과는 Table 6과 같다. GSH(glutathione)의 함량은 칩청국장 캡슐 식이군인 ARC군에서 일반식이군인 NC군에 비해 23% 유의한 증가를 나타내었으며, 지질과산화물을 나타내는 TBARS의 함량은 AR군과 ARC군에서 NC군에 비해 각각 13.9%와 16.9%의 유의한 감소를 나타내었다.

실험동물 간조직 내 XO, SOD, CAT 및 GST 활성 변화

실험동물의 간조직 내 항산화 효소인 XO, SOD, CAT 및 GST 활성의 변화는 Table 7과 같다. XO 활성은 모든 청국장식이군에서 NC군에 비해 낮은 수치를 나타내었다. SOD 활성은 모든 칩청국장식이군에서 NC군에 비해 유의하게 높

은 수치를 보였으며, AR군과 ARC군에서 NC군에 비해 각각 28.7%, 37.9%의 유의한 증가를 나타내었다. CAT 활성은 NC군에 비하여 칩청국장을 급여한 모든 실험군에서 증가되는 양상을 나타내었고 ARC군은 PC군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다. GPX(glutathione peroxidase) 활성은 모든 칩청국장식이군에서 NC군에 비해 높은 수치를 나타내었으며 PC군과 ARC군은 NC군에 비해 각각 18.8%와 21.8%의 유의한 증가를 나타내었다.

간장 및 췌장의 조직병리학적 변화

10주간 실험 식이를 자유섭취 시킨 실험동물 간장과 췌장의 조직학적 변화를 나타낸 결과는 Fig. 2 및 Fig. 3과 같다. NC군은 *ob/ob* 마우스의 전형적인 지방간 형태를 보이면서 간세포에 지방적(lipid droplet)의 축적이 명확하였으며, 청국장식을 투여한 PC군 마우스에서는 중심정맥(central vein)을 둘러싸는 부위의 지방축적의 감소와 일부 지방적의 크기는 확장되는 양상을 나타내었다. 칩청국장을 투여한 AR군의 간은 전체적으로 지방적의 크기증대와 함께 지방적의 수가 많이 축적되어 있는 양상을 나타내고 있는데 칩청국장 캡슐을 투여한 ARC군에서는 중심정맥 주위의 지방침착 및 지방적의 수가 현저하게 감소되었고 지방적의 크기는 증대

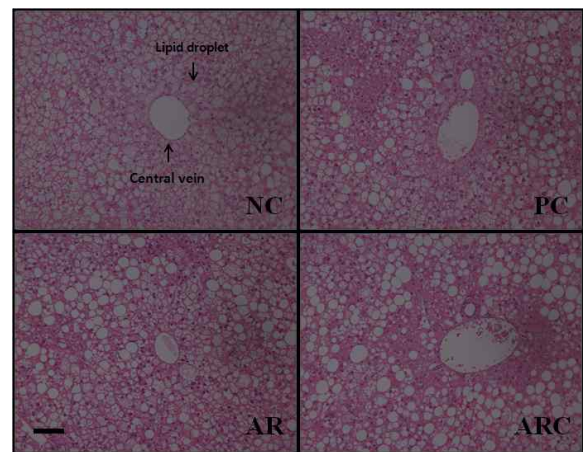


Fig. 2. Histopathology of liver in *ob/ob* mice treated with PC, AR and ARC for 10 weeks. Hematoxylin and eosin stain. Original magnification, $\times 200$. Scale bar=100 μm . NC: normal control, PC: Cheonggukjang 2%, AR: arrowroot Cheonggukjang 2%, ARC: arrowroot Cheonggukjang capsule 2%.

Table 6. Liver glutathione and thiobarbituric acid reactive substance levels of obesity mouse fed the experimental diets for 10 weeks

Groups ¹⁾	GSH ($\mu\text{mole/g}$ of tissue)	TBARS ($\mu\text{mole/g}$ of tissue)
NC	1.39 \pm 0.24 ²⁾	10.41 \pm 0.58
PC	1.59 \pm 0.17 ^{d)}	9.71 \pm 0.56 ^{cd)}
AR	1.34 \pm 0.17	8.96 \pm 0.55 ^{ab)}
ARC	1.71 \pm 0.20 ^{ac)}	8.65 \pm 0.70 ^{ab)}

¹⁾Groups are the same as in Table 1.

²⁾Values are mean \pm SD (n=5).

^{a)}Significantly different from NC group (p<0.05), ^{b)}Significantly different from PC group (p<0.05), ^{c)}Significantly different from AR group (p<0.05), ^{d)}Significantly different from ARC group (p<0.05).

Table 7. Hepatic XO, SOD, CAT, GST activities of obesity mouse fed the experimental diets for 10 weeks

Groups ¹⁾	XO ²⁾	SOD ³⁾	CAT ⁴⁾	GST ⁵⁾
NC	1.23 \pm 0.11 ⁶⁾	8.53 \pm 0.39	226.11 \pm 28.95	50.61 \pm 5.69
PC	1.19 \pm 0.08	9.16 \pm 0.26 ^{acd)}	239.04 \pm 14.94 ^{d)}	60.17 \pm 3.99 ^{a)}
AR	1.12 \pm 0.11	10.98 \pm 0.61 ^{ab)}	254.30 \pm 31.74	57.20 \pm 5.02
ARC	1.09 \pm 0.10	11.76 \pm 0.84 ^{ab)}	268.55 \pm 17.40 ^{b)}	61.62 \pm 6.98 ^{ac)}

¹⁾Groups are the same as in Table 1. ²⁾Unit: μmole uric acid formed/mg protein.

³⁾Unit: U (50% inhibition of autoxidation of hematoxylin)/mg protein. ⁴⁾Unit: μmole H₂O₂ reduced/mg protein.

⁵⁾Unit: μmole 2,4-dinitrobenzene-glutathion conjugate/mg protein. ⁶⁾Values are mean \pm SD (n=5).

^{a)}Significantly different from NC group (p<0.05), ^{b)}Significantly different from PC group (p<0.05), ^{c)}Significantly different from AR group (p<0.05), ^{d)}Significantly different from ARC group (p<0.05).

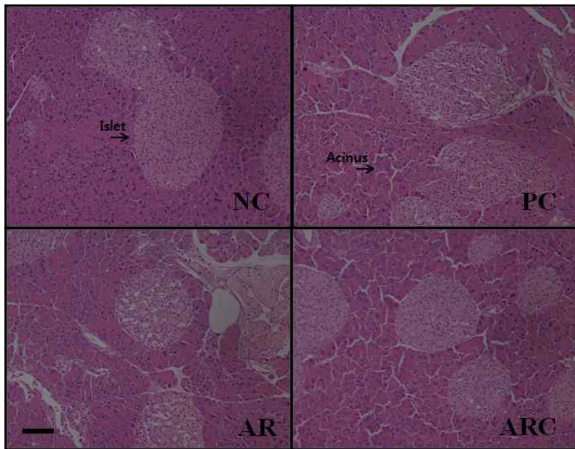


Fig. 3. Histopathology of pancreas in *ob/ob* mice treated with PC, AR and ARC for 4 weeks. Hematoxylin and eosin stain. Original magnification, $\times 200$. Scale bar=100 μ m. NC: normal control, PC: Cheonggukjang 2%, AR: arrowroot Cheonggukjang 2%, ARC: arrowroot Cheonggukjang capsule 2%.

되는 양상을 보였다.

췌장의 조직학적 변화는 NC군에 비하여 청국장식을 투여한 PC군에서 췌도(islet)의 공포성 변화와 샘포(acinus)의 간격 확장이 관찰되었다. 췌청국장을 투여한 AR군에서는 췌도의 크기 감소가 명확하게 관찰되었고 특히 췌청국장 캡슐을 투여한 ARC군은 대조군에 비하여 전체적으로 췌도의 크기가 현저히 작아진 것을 관찰할 수 있다.

고 찰

본 연구는 *ob/ob* 마우스에서 췌청국장 및 췌청국장 캡슐 함유 식이로 인한 체중, 지방축적, 지질대사 등의 개선효능을 알아보기 위하여, *ob/ob* 마우스를 5마리씩 정상대조군(NC: 일반식이군), 양성대조군(PC: 2% 청국장함유군), 췌청국장 2% 함유군(AR: 2% 췌청국장), 췌청국장 캡슐군(ARC: 2% 췌청국장 캡슐함유)으로 나누어 10주간 실험하였다.

비만마우스인 *ob/ob* 마우스에서 일반식이군보다 청국장식이군에서 체중증가량이 감소하였으며 식이효율에서도 췌청국장식이군이 정상식이군에 비해 약 50% 낮은 것으로 나타나, 췌청국장 분말캡슐의 섭취는 정상적인 섭취량 및 보다 과량의 식이를 섭취하여 체중 감소에 긍정적 효과가 있는 것으로 나타났다.

간의 무게를 측정된 결과 일반식이군에 비해 청국장 함유식이 군에서 간의 무게가 많이 감소하였으며 일반 청국장보다는 췌 함유청국장이 더욱 큰 효과를 나타내었다. C57BL6/J *ob/ob* 마우스는 1949년 처음 발견된 랩틴 호르몬이 결여된 돌연변이 개체로서 *db/db* 마우스와 함께 당뇨병 및 인슐린 저항성에 대한 연구에 이용되는 대표적인 동물 모델로서 체내 지방대사 및 당대사가 비정상적으로 일어나 간 내 지질 성분이 축적함으로 간의 무게가 증가하게 된다고 알려져 있다(19,20). 이로써 간장의 비대로 특징되는 지방간에서의 간의

무게 증가는 ARC군에서 NC군에 비해 18.5% 감소한 것으로 나타났으며 간장의 조직병리학적 결과에서도 현저하게 지방침착이 억제되는 양상이 확인되어서 간실질세포의 기능 회복이 청국장 및 췌함유 청국장에서 있을 수 있다는 사실을 알 수 있었다. AR군이나 ARC군의 마우스 간의 조직병리소견에서 NC군에 비하여 lipid droplet의 수는 줄어들고 크기가 커지는 부분은 명확한 기전에 대한 증거를 본 실험에서 확인할 수 없으나 지방의 상호 결합을 증가시킬 수 있는 효과도 있는 것으로 생각되었다. 혈청 albumin의 변화는 간경변증, 간괴사, 간염 등과 관련이 있으며 간 손상 시 낮은 수치를 보이는 것으로 알려져 있는데(21), ARC군에서 증가되는 양상을 나타내 간 손상 개선에 췌청국장 캡슐이 효과가 있다는 것을 알 수 있었다. 알칼리성 인산분해효소인 ALP는 간세포 내의 담관에 존재하는 효소로, 주로 담즙배설 장에서 빠르게 상승하며(22) 간 이외에 뼈에도 많이 존재하므로 여러 뼈 질환에서도 증가할 수 있다고 알려져 있다(23,24). 본 연구에서 ALP 수치는 NC군에 비하여 청국장 함유식이를 급여한 실험군들에서 43~46%의 유의한 감소를 나타내었으며, 특히 ARC군에서는 46%가량의 감소효과를 나타내어 췌청국장 캡슐 식이는 주로 지방 대사를 담당하고 있는 담낭의 담즙분비기능의 회복에 매우 효능이 있는 것으로 사료되었다.

복부지방의 무게를 측정된 결과 NC군에 비해 청국장 함유식이 실험군에서 복부지방의 무게가 감소하였으며 일반 청국장보다는 췌 함유청국장을 급여한 실험군에서 보다 큰 지방량 감소효과를 나타내었다. 실험동물의 복강 내 육안적 관찰에서도 피하 및 복강 내 지방량이 청국장식이군에서 감소한 것으로 나타나 청국장 함유 식이가 지방의 흡수 및 분해 효과가 있는 것으로 추정할 수 있었다. 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, 중성지방은 일반식이군에 비하여 AR군에서 낮게 나타났으며, 특히 ARC군은 NC군에 비해 각각 9.6%, 87.8%, 54.8% 낮았다. 총 콜레스테롤의 함량의 저하는 LDL-콜레스테롤 농도의 저하에 의한 것으로 사료되며, 췌청국장 캡슐의 섭취는 동맥혈관 벽이나 말초조직에 콜레스테롤을 운반 및 축적시켜 동맥경화를 촉진시키는 지단백 혈장인 LDL-콜레스테롤 농도를 낮추는 것으로 추측되었다. 심혈관질환의 위험도 판정에 널리 이용되는 동맥경화지수도 NC군에 비하여 ARC군에서 82%가량 유의한 감소를 보여 췌청국장 캡슐의 일정기간 섭취는 LDL-콜레스테롤 농도의 저하와 함께 동맥경화지수를 낮추어서 비만, 고지혈증 및 고콜레스테롤증과 같은 대사성 증후군 및 순환기계 질환을 개선하거나 발생을 방지할 가능성이 있을 것으로 사료되었다.

선천적으로 인슐린 비의존형의 당뇨의 특징을 가지고 있는 *ob/ob* 마우스의 포도당 농도는 NC군에 비하여 ARC군에서 약 6% 정도 강하효과를 나타내었다. Kim과 Kim(25)의 연구에 의하면 청국장은 혈당개선 효과가 있다고 보고하였는데, 본 연구에서도 청국장 섭취군이 일반식이군보다 전체

적으로 혈당 수치가 낮았으며 특히 칩청국장 캡슐군에서 유의하게 낮은 수치를 보였다.

활성산소는 체내 조직에 축적되어 세포막 지질의 산화를 야기하여 지질과산화물이 생성되고 생체 내에서 다양한 질병을 야기함과 동시에 노화를 촉진시키는데, 활성산소에 의한 세포 손상에 있어 GSH와 TBARS 수치는 상당한 영향을 미친다고 보고되어져 있다(26). *ob/ob* 마우스의 간조직에서 GSH 함량은 NC군에 비하여 ARC군에서 23%의 증가를 나타내었으며, TBARS의 함량도 16.9% 감소하여 칩청국장 캡슐의 섭취는 생체 내 항산화 효소인 GSH는 증가시키면서 지질과산화량을 줄이는 것으로 나타났는데, 활성산소에 의해 일어나는 과산화손상에 대해서 칩청국장 및 칩청국장 캡슐은 활성산소의 생성억제나 항산화기능의 회복으로 세포막의 방어효과를 나타내는 것으로 예상되었다. 그러나 과산화손상의 억제와 항비만기능과의 관련성에 대해서는 명확한 기전을 확인할 수 없었다.

세포상해와 관련한 유해산소 생성계 효소로 알려져 있는 XO는 생체조직에 존재하고 생성된 superoxide anion radical은 세포상해의 직접적인 원인으로 작용한다고 알려져 있다(27,28). 실험동물 간조직의 XO 활성도는 모든 청국장 함유식이군에서 NC군에 비해 감소하였으며 특히 ARC군에서 약 11.3%가량의 큰 감소효과를 보였다. 산화적 스트레스는 생체대사 과정 중에 oxygen free radical을 생성하여 세포에 상해를 주며, 특히 세포막의 다가불포화 지방산에 작용하여 지질과산화물을 끊임없이 생성하고 이로 인해 세포의 기능 손상을 초래한다고 알려져 있다(29). Superoxide anion radical은 SOD에 의해 hydrogen peroxide(H_2O_2)로 전환되고 CAT 및 GPX에 의해 물로 전환되어 해독화되며 GST도 유해산소 해독에 관여하는 것으로 알려져 있다(30). *ob/ob* 마우스 간조직의 SOD, CAT 및 GST 효소활성은 NC군에 비해 모든 청국장식이군에서 높은 활성을 보였으며, 특히 ARC군에서의 활성은 각각 37.9%, 18.8%, 21.8% 높게 나타났다. 이 결과로 칩청국장 캡슐 함유식이가 활성산소 생성계 효소인 XO의 활성도를 낮춤으로써 oxygen free radical의 생성을 감소시키며 SOD, CAT 및 GST 효소를 통해 oxygen free radical을 체내에서의 빠르게 제거하는 것으로 사료되었다.

본 연구의 결과를 종합하면 *ob/ob* 마우스에서 칩청국장 및 칩청국장 캡슐을 투여하여 지방함량의 저하효과, 혈당강하효과, 항산화계의 활성도 증가 등의 효과를 통하여 항비만기능이 있음을 확인할 수 있었으며, 캡슐화 처리를 한 칩청국장 제형의 기능성이 칩청국장 분말보다 높은 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과들은 칩청국장 캡슐형이 항후 대사증후군의 개선 및 지질대사이상의 질환에 있어서의 개선제품의 개발에 중요한 기능성 물질로서의 유용성이 있는 것으로 사료되었다.

요 약

본 연구는 칩청국장 및 칩청국장 캡슐함유 식이가 체중, 지방축적, 지질대사 등에 미치는 효능을 알아보기 위하여 선천성 비만 및 인슐린 비의존성 당뇨병의 모델동물인 *ob/ob* 마우스를 대상으로 정상대조군(NC: 일반식이군), 양성대조군(PC: 2% 청국장함유군), 칩청국장 2% 함유군(AR: 2% 칩청국장), 칩청국장 캡슐군(ARC: 2% 칩청국장 캡슐함유)으로 나누어 10주간 실험하였다. 체중 및 식이효율은 칩청국장 캡슐군에서 정상대조군에 비하여 유의하게 감소하였다. 혈청 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지방, 혈당 및 동맥 경화지수는 칩청국장 캡슐군에서 정상대조군에 비하여 유의하게 감소하였다. 칩청국장 캡슐군에서 지방간의 전형적인 지방축적의 억제효과를 보였다. 간조직의 SOD, CAT, GST 활성은 칩청국장 캡슐군에서 정상대조군에 비하여 유의하게 증가하였다. 이에 칩 추출물 청국장 및 캡슐형태의 투여는 지방함량의 저하효과, 혈당강하효과, 항산화계의 활성도 증가 등의 효과를 통하여 항비만기능이 있으며, 칩청국장 캡슐형의 기능성이 높다는 사실을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 대구광역시 지역기반육성기술개발사업(과제번호: RD20100027)의 지원에 의한 연구결과물의 일부로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Yeo JH, Chon JW, Lee KG, Woo SO, Nam SH, Kweon HY, Han SM, Jo YY, Lee HS, Lee MR, Choi YS, Park YK. 2009. Effect of weight loss and lipid metabolism in diet-induced obesity mice by Korean mixed pollen. *Korean J Apiculture* 24: 191-199.
2. Kim CS. 2000. Amylin analogue in the treatment of obesity. *The Korean J Obesity* 19: 39-48.
3. World Health Organization. 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. World Health Organization (WHO technical report series 894), Geneva, Switzerland.
4. Lee SK, So SH, Hwang EI, Koo BS, Han GH, Ko SB, Kim NM. 2008. Effect of ginseng and herbal plant mixtures on anti-obesity in obese SD rat induced by high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 437-444.
5. Yang CY, Cho MJ, Lee CH. 2011. Effect of fermented turmeric extracts on the obesity in rats fed a high-fat diet. *J Anim Sci Tech* 53: 75-81.
6. Lee JJ, Kim AR, Lee H, Kim CH, Chang HC, Lee MY. 2011. Effect of soybean, cheonggukjang and doenjang on serum cholesterol level and weight reduction in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet. *Korean J Food Preserv* 18: 226-235.
7. Tanaka K, Aso B, Sugano M. 1984. Biliary steroid excretion in rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixtures. *J Nutr* 114: 26-32.
8. Phinney SD, Odin RS, Johnson SB, Holman RT. 1990.

- Reduced arachidonate in serum phospholipids and cholesterol esters associated with vegetarian diets in human. *Am J Clin Nutr* 51: 385-392.
9. Oh MJ, Son HY, Kang JC, Lee GS. 1990. Antioxidative effect of pueraria root extract on edible oils and fats. *J Korean Soc Food Nutr* 19: 448-456.
 10. Tesung KY, Chou YP, Chang LY, Fan LL. 1975. Pharmacological studies on Radix Puerariae I. *Chin Med J Engl* 1: 335-342.
 11. Fan LL, Dennis DO, Wand WJP. 1985. Pharmacologic studies on Radix puerariae. Effect of puerariae on regional myocardial blood-flow and cardiac hemodynamics in dogs with acute myocardial ischemia. *Chin Med J* 98: 821-832.
 12. Haglund O, Loustarinen R, Wallin R, Wibell I, Saldeen T. 1991. The effect of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in mans supplemented with vitamin. *Eur J Nutr* 121: 165-172.
 13. Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77.
 14. Ohkawa H, Ohishi N, Yake K. 1979. Assay fro lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annal Biochem* 95: 351-358.
 15. Stirpe F, Della CE. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) oxidase (type O). *J Biol Chem* 244: 3855-3863.
 16. Martin JP, Dailey M, Sugarman E. 1987. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys* 255: 329-336.
 17. Aebi H. 1974. Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU, ed. Academic Press, New York, NY, USA. Vol 1, p 674.
 18. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. 1974. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid and formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139.
 19. Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. 1950. Obese a new mutation in the house mouse. *J Hered* 41: 317-318.
 20. Park ST, Jeong JC. 2008. Effects of Cheonghyul-san on blood glucose, hyperlipidemia, polyol pathway and reactive oxygen species in *ob/ob* mice. *Korean J Oriental Physiology and Pathology* 22: 350-356.
 21. Kleinman JC, Donahue RP, Harris MI, Finrcane FF, Madaus JH, Brock DB. 1988. Mortality among diabetes in a national sample. *Am J Epidemiol* 128: 389-401.
 22. Pesce AJ, Kaplan LA. 1987. *Methods in Clinical Chemistry*. CV Mosby Co, St. Louis, MO, USA. p 1074-1079.
 23. Aloia JF, Cohr SH, Vaswani A, Yeh JK, Yuen K, Ellis K. 1985. Risk factors for postmenopausal osteoporosis. *Am J Med* 78: 95-100.
 24. Moon SJ, Kim JH, Lim SK. 1996. Investigation of risk of low serum 25-hydroxyvitamin D levels in Korean menopausal women. *Korean J Nutr* 29: 981-990.
 25. Kim HJ, Kim YC. 2006. Antidiabetic and antioxidant effects of chunggugjang powder in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Environ Toxicol* 21: 139-246.
 26. Saito M. 1988. Interaction between lipid peroxide formation and nutritional status. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* 41: 343-349.
 27. Im MJ, Manson PN, Bulkley GB, Hoopes JE. 1985. Effects of superoxide dismutase and allopurinol on the survival of acute island skin flaps. *Ann Surg* 201: 357-359.
 28. Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkley GB, Hoopes JE. 1983. The role of oxygen free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 198: 87-90.
 29. Morel DW, Chisolm GM. 1989. Antioxidative treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. *J Lipid Res* 30: 1827-1834.
 30. Deisseroth A, Dounce AL. 1970. Catalase physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. *Physiol Rev* 50: 3-24.

(2012년 2월 23일 접수; 2012년 5월 7일 채택)