

고지방 식이로 유도된 비만 마우스에서 대두 부산물인 순물과 침지수의 항비만 효과

박영미¹, 임재환^{1,2}, 서울원^{1*}

¹안동대학교 자연과학대학 생명과학과, ²안동대학교 해양바이오산업연구소

Anti-Obesity Effect of By-Product from Soybean on Mouse Fed a High Fat Diet

Young Mi Park¹, Jae Hwan Lim^{1,2} and Eul Won Seo^{1*}

¹Department of Biological Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea

²Institute of Marine Biotechnology, Andong National University, Andong 760-740, Korea

Abstract - Here we study the anti-obesity effects of by-product from soybean on mouse fed high fat diet. The body weight gain, visceral and subcutaneous adipose tissue weight, liver and epididymal adipose tissue weight in freeze-dried soybean-soaking-water (SSW) powder fed group showed lower level than those in high fat diet (HFD) group by determining with weight measuring and histological methods. Also, histological analyses of the liver and fat tissues of SSW grouped mice revealed significantly less number of lipid droplets formation and smaller size of adipocytes compared to the HFD group. Moreover, the levels of total serum cholesterol, LDL-cholesterol and the atherogenic index were decreased in the SSW groups. Especially, in SSW group, the levels of phosphorylation of two lipid oxidation enzymes, adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) and acetyl-CoA carboxylase (ACC) were elevated hence that may activate fatty acid oxidation. But AST and ALT levels were not changed in blood. By micro-CT analysis of abdomen, SSW groups significantly showed a tendency to decrease visceral and subcutaneous fats as well as fat-deposited areas compared to HFD group. Taken together, we suggest that soybean soaking water has a function in ameliorating obesity through inhibiting lipid synthesis as well as stimulating fatty acid oxidation.

Key words - Soybean curd whey, Soybean soaking water, Micro-CT, Lipid metabolism, Anti-obesity

서 언

현대 사회에 있어서 중요한 건강문제로 대두되고 있는 비만은 고열량 식품 섭취의 증가, 유전적 감수성 증가, 약물 원인, 스트레스에 의한 신경내분비적 요인 그리고 운동을 비롯한 육체적인 활동 저하 등에 의해 발생되고 있다(Kopelman and Albon, 1997). 이러한 비만은 인체 내 혈중 중성 지질과 LDL-cholesterol의 증가를 초래하여 되어 고지혈증의 발병을 유도하고, 이는 말초조직과 복부를 중심으로 중성 지질을 축적시켜 인슐린에 대한 저항성을 증가시킬 뿐만 아니라 호흡기능 장애, 불임, 월경불순, 골관절염, 암과 같은 여러 합병증을 유발시키게

된다(Lew, 1985). 이에 따라 세계적으로 비만은 건강과 보건에 대해 부정적인 영향을 미치게 된다고 하여 하나의 현상이나 증상이 아닌 질병으로 분류되고 있다(McGee, 2005).

두부의 주 원료인 대두에는 유용한 생리활성물질들이 존재함이 밝혀졌으며, 이 중에서도 isoflavone에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 대두 내 isoflavone은 daidzein과 genistein이 잘 알려져 있으며 혈중 콜레스테롤 저하작용, 항산화작용, estrogen 유사작용 등의 효과가 보고되었다(Choi *et al.*, 1995; Potter, 1995; Bae *et al.*, 1997; Kaufman *et al.*, 1997). 특히 호르몬과 관련된 유방암의 경우 대두 내 genistein은 암세포성장 억제 효과를 포함한 뛰어난 항암효과를 가지고 있음이 *in vivo*, *in vitro* 실험 등을 통해 보고된 바 있다(Adlercreutz *et al.*, 1992; Sharma *et al.*, 1992; Wei *et al.*, 1993). 또한 대두에

*교신저자(E-mail) : ewseo@andong.ac.kr

포함된 단백질인 lunasin 역시 피부암이 유발된 동물에서 종양의 생성을 억제하는 항암효과를 보이는 것으로 알려져 있다 (Galvez and de Lumen, 1999). 대두 추출물과 더불어 두부 순물과 그 고형분에는 매우 높은 함량의 glutamic acid, aspartic acid가 포함되어 있는 것으로 밝혀졌으며, 대두를 열수에 침지한 액인 침지수에는 대두의 올리고당과 대두 단백질 등이 함유되어 있는 것으로 분석된 바 있다(Hackler and Stillings, 1967; Kim *et al.*, 1994; Choi *et al.*, 1995). 그러나 일반적으로 두부 제조 공정 시에 발생하는 순물(soybean curd whey, SCW)과 침지수(soybean soaking water, SSW)는 무용한 물질로 생각되어 폐기되고 있는 형편이다. 최근 체내 지방을 감소시킬 수 있는 천연대체물과 기능성 식품들의 효과에 대해 보고되고 있으며 (Anne and Joyce, 2001; Ahn *et al.*, 2007; Chin *et al.*, 2009), 각종 식품의 생산 후에 폐기되는 부산물의 기능성 소재로서의 가능성에 대한 탐색과 활용방법 등에 대한 연구가 진행되고 있으나 두부 제조 시에 발생하는 대두 부산물은 이의 기능성 소재로서의 가치에 대해 거의 관심을 주지 않고 있는 형편이다. 따라서 본 연구에서는 두부 제조과정 중에 폐기되는 순물과 침지수의 기능성 소재로서의 가치를 살펴보기 위해 대두 부산물이 고지방 식이로 유도된 비만 마우스에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

두부 제조 과정 중에 생산되어 폐기되는 대두(*Glycine max*)의 순물(soybean curd whey, SCW)과 침지수(soybean soaking water, SSW)를 (주)하회종합식품으로부터 제공받아 동결 건조 후 분 실험의 시료로 사용하였다. 실험에 사용한 3 주령 수컷 마우스(C57BL/6)는 (주)샘타코에서 구입하였으며, Dyets 사의 제조법에 따라 제조된 일반사료(AIN-76A purified rodent diet)와 고지방사료(40% beef tallow+AIN-76A diet)는 (주)중앙실험동물로부터 구입하였다. Western blot에 사용한 항체는 Cell Signaling Technology Inc. (Beverly, USA)와 Santa Cruz Biotechnology Inc. (CA, USA)에서 구입하였으며 그 외에 실험에 사용된 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)사의 특급 시약을 사용하였다.

실험동물 및 식이

본 실험에서 사용한 마우스는 일정한 조건의 사육실(온도

21.4 ± 0.05°C, 습도 61 ± 1%, 명암 12 시간 주기)에서 1주일간 순치시킨 후 실험에 사용하였다. 이후 8주간 고지방 사료를 섭취시켜 비만을 유도하였으며 일반사료를 섭취한 실험군과 고지방 사료를 섭취한 실험군 간의 체중이 20% 이상 차이가 나는 비만한 개체들만을 선별하였다. 각 실험군은 군당 10마리씩으로 하였으며, Z열 방식으로 4개의 실험군으로 나누어 본 실험에 사용하였다. 각각의 실험군은 비만 유도 후 일반 사료를 섭취시킨 대조군(Control group), 지속적으로 고지방 사료를 섭취시킨 실험군(HFD group), 일반사료에 10% 순물 분말을 첨가한 사료를 섭취시킨 실험군(SCW group) 및 일반사료에 10% 침지수 분말을 포함시킨 사료를 섭취시킨 실험군(SSW group)으로 구분하여 추가로 8주간 사육하였다. 본 실험에서 순물과 침지수의 농도는 예비 실험상에서 10%의 순물과 침지수가 포함된 사료가 항비만 개선에 가장 효과적인 것으로 확인되어 이에 준하여 실험을 진행하였다(data not shown). 사료의 조성은 Table 1에 제시하였으며 식이와 식수는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험 기간 동안 매일 일정한 시간에 체중과 사료 및 식수의 변화량을 조사하였으며, 이를 주당 변화로 환산하였다. 모든 동물실험과정은 안동대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 취한 후(2014-3-1111-04-01) 실시하였다.

Table 1. Composition of experimental diet (g/kg)

Ingredient	Control group ^z	HFD group ^y	SCW group ^x	SSW group ^w
Casein	200	200	200	200
DL-Methionine	3	3	3	3
Corn starch	150	150	150	150
Sucrose	500	150	500	500
Cellulose	50	50	50	50
Corn oil	50	-	50	50
Salt mix	35	35	35	35
Vitamin mix	10	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2	2
Beef tallow	-	400	-	-
Soybean-curd whey	-	-	111	-
Soybean-soaking water	-	-	-	111
Total (g)	1000	1000	1111	1111

^zControl group: AIN-76A purified rodent diet.

^yHFD group: AIN-76A purified rodent diet + 40% beef tallow.

^xSCW group: AIN-76A purified rodent diet + 10% soybean curd whey powder.

^wSSW group: AIN-76A purified rodent diet + 10% soybean soaking water powder.

지방량과 지방세포 관찰

간과 부고환 지방조직의 지방량과 조직 내 지방세포 크기를 조사하기 위하여 간과 부고환을 적출하여 중량을 측정 후 조직의 일부를 4°C FAA 용액에서 24 시간 고정하였다. 이후 수세와 탈수 과정을 거쳐 paraffin block을 만든 후 4-6 μm의 두께로 절편하였다. 간과 부고환 지방조직은 hematoxylin과 eosin에 이중 염색한 후, DP-71 (Olympus, Japan)을 사용해 촬영하였다.

혈액 성분의 분석

혈액은 각 실험 종료시점에 채취하여 3,500 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 혈장만을 회수하여 분석 전까지 -80°C에서 보관하였다. AST (Aspartate aminotransferase), ALT (Alanine aminotransferase)의 활성 측정은 Reitman과 Frankle (1957)의 방법에 준하여 각각의 기질액에 혈장을 첨가하고 37°C에서 ALT는 30분, AST는 60분간 반응시켰다. 이후 발색 시약과 0.4 N NaOH를 가해 10분간 방치 후 505 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선에 준해 활성도를 환산하였다. TC (total cholesterol) 함량 측정은 Richmond (1976)의 효소 측정법에 의하여 조제된 kit (Asan, Gyunggi, Korea)를 사용하였고, 시약 blank를 대조군으로 하여 500 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 준해 혈중 함량은 mg/dl로 표시하였다. HDL-C (high density lipoprotein cholesterol)함량 측정은 Noma *et al.* (1978)의 효소 측정법에 의하여 조제된 kit (Asan, Gyunggi, Korea)를 사용하였으며, 시약 blank를 대조군으로 500 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 준해 혈중 함량은 mg/dl로 표시하였다. LDL-C (low density lipoprotein cholesterol) 함량 측정은 Friedewald *et al.* (1972)의 방법에 따라 산출하였다. TL (total lipid) 함량 측정은 Frings과 Dunn (1970)의 방법에 준하여 조제된 kit (Asan, Gyunggi, Korea)를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였고, 표준 검량선에 준해 혈중 함량은 mg/dl로 표시하였다.

비만 표적 단백질의 인산화비

간 조직에서 비만 표적 단백질인 AMPK (monophosphate-activated protein kinase)와 ACC (acetyl-CoA carboxylase)의 인산화비를 확인하기 위해 western blot 방법을 사용하였다. 간 조직을 lysis buffer (50 mM Tris-HCl pH=7.5, 1 mM EDTA, 0.25% sucrose, 0.4 mg/ml digonin and 1.5 mM PMSF)를 이용하여 균질화 하였으며, 단백질은 Bradford (1976)법에 따라 정량하였다. 간 조직 내 AMPK의 인산화비는 간에서 추출한 단백질 40 μg을 전기영동한 후 1차 antibody (p-AMPK-α) (Cell

signaling Technology, Beverly, USA)를 처리하였고, 2 차 antibody (anti-rabbit IgG-HRP) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA)를 처리하여 확인하였고, ACC의 인산화비는 간에서 추출한 단백질을 전기영동을 한 후 1차 antibody (p-acetyl-CoA)를 처리하였고, 2차 antibody (anti-rabbit IgG-HRP) (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA)를 처리하였다. 이후 ECL detection polaroid camera (Amersham Biosciences, USA)를 사용하여 촬영하였으며, 발현 수준은 Un-SCAN-IT gel Version 5.1 (Silk Scientific, Inc.) 프로그램을 통해 분석하였다.

미세단층촬영 시스템을 이용한 복부 지방 부피의 측정

마우스의 복부 지방 부피를 측정하기 위하여 실험종료일에 생체 내 미세단층촬영 시스템 (*In-vivo* Micro-CT, Skyscan 1076, SKYSCAN N.V., Belgium)을 이용하여 촬영한 영상으로부터 Mimics 13.0 (materialise N.V., Belgium) 프로그램을 이용하여 마우스 복부 내 조직의 그레이 수치를 구하였다. 경계치 기법(threshold method)을 이용하여 측정된 각 조직의 그레이 수치를 기준으로 영상 내에서 등뼈 (lumbar vertebral), 체지방 조직 (lean tissue), 지방 (adipose tissue), 피부 (skin)로 각 영역을 구분하였고, 추출한 복부 지방 조직을 3 차원 구조로 재구성하여 이로부터 부피를 측정하였다. 측정된 각 개체의 체중량과 복부 전체 지방 부피, 복부 피하 지방 부피 및 복부 내장 지방 부피는 표로 나타내었다(Table 4).

통계 처리

모든 실험은 독립적으로 3회 이상 실시하였으며, 각 실험에서 얻어진 결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 통계처리는 SPSS version 12.0로 분석한 후 t-검정을 실시하여 분산과 평균의 동일성 여부를 검정하였으며, 분석결과는 일원분산분석 (one way ANOVA)에 의한 Duncan 검정을 실시하여 *p*값이 0.05 미만일 때 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

체중 및 식이량

대두 부산물인 순물과 침지수가 비만 마우스의 지방제거에 미치는 효과를 조사하기 위하여 체중 및 식이량의 변화를 살펴 보았다. 대조군의 체중은 8 주간 추가 사육 후 38.6 ± 1.0 g으로 측정되었으며 고지방식이군은 37.3 ± 1.0 g으로 측정되어 두 실

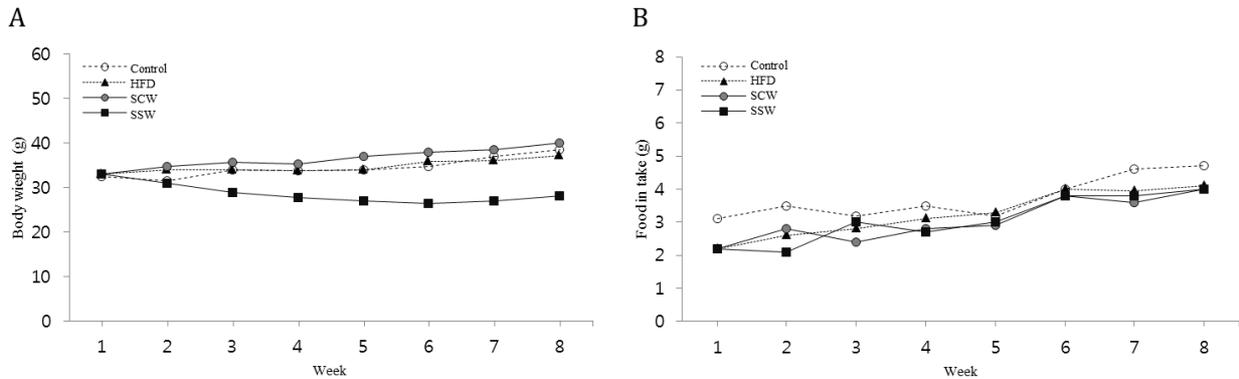


Fig. 1. (A) Body weight and (B) food intake change of the experimental groups. Obesity was induced by a 40% fat diet, and mice were randomly divided into 4 groups after the first 8 weeks on the high-fat diet. Control group : AIN-76A purified rodent diet, HFD group : AIN-76A purified rodent diet with 40% beef tallow, SCW group : AIN 76A purified rodent diet with 10% soybean curd whey powder, SSW group : AIN 76A purified rodent diet with 10% soybean soaking water powder.

험군간의 체중 차이는 거의 없는 것으로 나타났다. 반면 비만 유도 후 10%의 순물이 포함된 일반 사료를 섭취한 실험군의 체중은 40.0 ± 0.6 g로 나타났으며, 10%의 침지수가 포함된 일반 사료를 섭취한 실험군의 체중은 28.2 ± 0.7 g으로 나타나 모든 실험군 중 침지수 식이군이 가장 낮은 체중량을 보여주었다(Fig. 1A). 각 실험군의 식이 섭취량은 대조군이 4.7 ± 0.3 g, 고지방 식이군이 4.1 ± 0.2 g, 순물 식이군이 4.0 ± 0.2 g 및 침지수 식이군이 4.0 ± 0.1 g 으로 나타나 실험군간 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 1B).

간과 부고환의 지방 세포

순물과 침지수가 고지방 식이에 의한 마우스 간과 부고환의 지방조직 무게에 미치는 영향을 조사해보면 고지방 식이군의 간과 부고환 지방조직 무게는 1.5 ± 0.1 g, 2.2 ± 0.1 g으로 대조군에 비해 10% 높은 것으로 나타났다. 또한 순물 식이군의 간과 부고환의 지방 조직 무게는 각각 1.4 ± 0.4 g, 2.2 ± 0.1 g으로 고지방 식이군과 유사하게 나타났으나 침지수 식이군의 간과 부고환의 지방 조직 무게는 1.1 ± 0.1 g, 1.5 ± 0.1 g으로 조사되어 고지방 식이군과 순물 식이군에 비해 현저히 낮은 것으로 확인되었다(Table 2).

순물과 침지수가 비만 마우스의 간 조직과 부고환 지방 조직의 형태에 미치는 변화를 살펴보면 대조군의 간 조직내 세포는 핵이 대체로 둥글고 중앙에 위치하였으며 간세포 사이의 쿠퍼세포가 전체적으로 고르게 퍼져 있는 것으로 관찰되었고(Fig. 2A), 부고환의 지방 세포는 지방구의 크기와 배열이 규칙적인 것으로 관찰되었다 (Fig. 3A). 반면 고지방 식이군의 간 조직은

Table 2. Liver and epididymal fat weight of the experimental groups^z

	Weight (g)	
	Liver	Epididymal fat
Control group	1.4 ± 0.2	1.8 ± 0.1
HFD group	1.5 ± 0.1	2.2 ± 0.1
SCW group	1.4 ± 0.4	2.2 ± 0.1
SSW group	$1.1 \pm 0.1^*$	$1.5 \pm 0.1^*$

^zData are shown as mean \pm SE.

* $p < 0.05$ indicates a significant difference between the untreated group and the treated group.

세포 내에 지방구의 모양과 크기가 매우 불규칙하였으며 지방 침착으로 인한 심각한 간세포의 변형과 쿠퍼세포의 수적 감소가 관찰되었고(Fig. 2B), 부고환의 지방 세포는 심각한 지방 침착 현상이 나타났으며 지방구의 크기가 매우 크게 발달된 것으로 관찰되었다(Fig. 3B). 순물 식이군의 간 조직은 세포 내에 산발적으로 분포하던 지방 공포 현상은 감소하였으나 간세포의 비대화와 부고환 지방구의 크기는 고지방 식이군과 유사한 것으로 확인되었다(Figs. 2C, 3C). 반면 침지수 식이군의 간 조직은 세포의 변형이나 쿠퍼세포의 감소현상이 관찰되지 않았으며 부고환 지방구의 크기도 고지방 식이군에 비해 크게 발달하지 않은 것으로 조사되었다(Figs. 2D, 3D).

혈액 성분 분석

순물과 침지수가 비만에 의한 간 손상 지표 효소와 지질 농도에 미치는 영향을 알아보기 위하여 각 실험군별로 혈액 내 AST

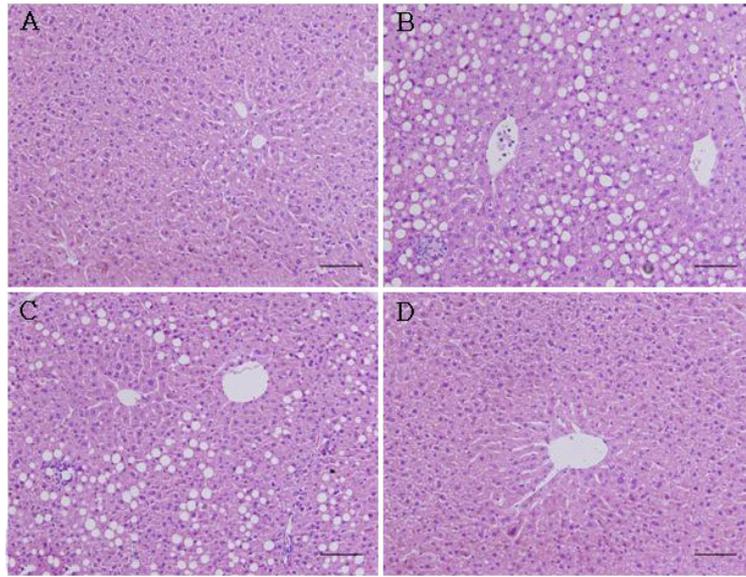


Fig. 2. Effects of soybean curd whey and soybean soaking water on liver tissue. The dissected tissues were fixed in FAA for histological analysis and embedded in paraffin. The paraffin embedded sections were cut at a thickness of 4 μm and stained with hematoxylin and eosin. (X 20)-Scale bar = 100 μm . (A) : Control group, (B) : HFD group, (C) : SCW group, (D) : SSW group.

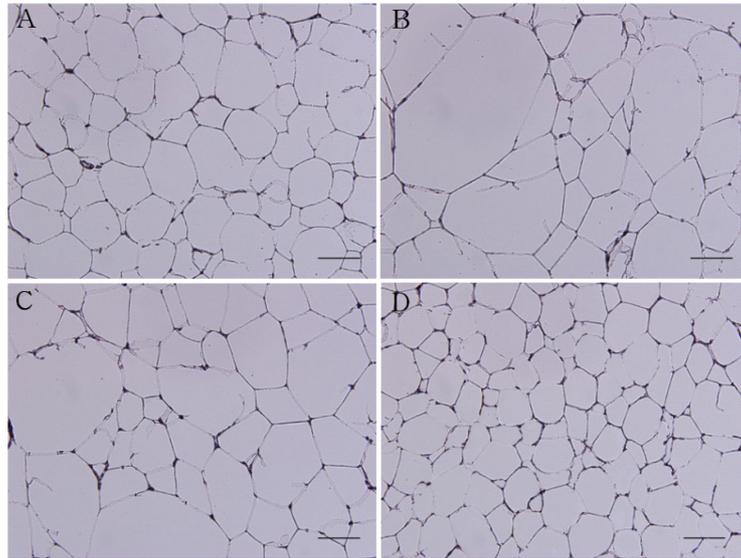


Fig. 3. Effects of soybean curd whey and soybean soaking water on epididymal adipose tissue. The dissected tissues were fixed in FAA for histological analysis and embedded in paraffin. The paraffin embedded sections were cut at a thickness of 4 μm and stained with hematoxylin and eosin. (X 20)-Scale bar = 100 μm . (A) : Control group, (B) : HFD group, (C) : SCW group, (D) : SSW group.

와 ALT의 활성, TC, HDL-C, LDL-C 및 TL의 수준을 분석하였다. 혈액 성분 중 AST 활성은 대조군과 각 실험군을 비교하였을 때에 고지방 식이군은 37.0%, 순물 식이군은 43.31%, 침지수 식이군은 20.8% 정도의 증가율을 보였으며 ALT 활성은 대조군에 비해 고지방 식이군과 순물 식이군이 모두 증가하였으나 침지수 식이군의 경우 대조군과 유사한 수치를 나타내었다. 이와 더

불어 혈장 중 총 콜레스테롤 수치(TC)는 대조군에 비하여 고지방 식이군이 16.5%, 순물 식이군이 18.0%, 침지수 식이군이 13.6% 높은 것으로 측정되었고, 특히 중성지방 함량(TL)은 고지방 식이군이 대조군에 비해 23.9% 높은 것으로 측정되어 매우 큰 폭의 수치변화를 보였으며, 순물 식이군이 11.0%, 침지수 식이군이 3.8% 높은 것으로 나타나 침지수 식이군이 고지방 식이

Table 3. Analysis of serum components of the experimental groups^z

	Control group	HFD group	SCW group	SSW group
^y AST (IU/L)	103.0 ± 36.2*	163.5 ± 1 2.6	180.7 ± 8.6*	130.0 ± 12.9*
^x ALT (IU/L)	251.0 ± 3.0*	290.3 ± 5.1	289.3 ± 3.2	254.3 ± 2.5
^w TC (mg/dl)	195.8 ± 7.7	234.5 ± 5.4	238.7 ± 3.8	226.7 ± 6.1*
^y HDL-C (mg/dl)	156.3 ± 4.4	165.9 ± 2.1	167.5 ± 3.1	163.2 ± 2.0*
^u LDL-C (mg/dl)	38.5 ± 1.9*	43.0 ± 0.9	41.0 ± 1.0	39.0 ± 1.0
^t TL (mg/dl)	517.5 ± 41.2	680.0 ± 17.8	581.3 ± 27.9	537.7 ± 6.4*

^zData are shown as mean ± SE.

* $p < 0.05$ indicates a significant difference between the untreated group and the treated group.

^yAST: Aspartate aminotransferase.

^xALT: Alanine aminotransferase.

^wTC: Total cholesterol.

^yHDL: High density lipoprotein cholesterol.

^uLDL: Low density lipoprotein cholesterol.

^tTL: Total lipid.

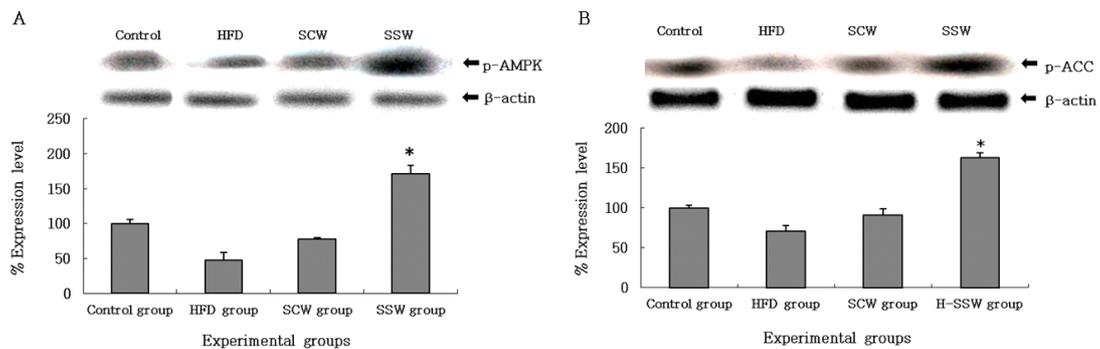


Fig. 4. Expression level of (A) phospho-AMPK and (B) phospho-ACC in soybean by-products. Lane 1 is control group and lane 2 is HFD group, lane 3 is SCW group, lane 4 is SSW group. The tissues were lysed with lysis buffer (50 mM Tris-HCl pH 7.4, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTGA, 10 μ g/ml aprotinin, 10 μ g/ml leupeptin, 5 mM phenylmethylsulfonyl fluoride and 1 mM DTT containing 1% Triton X-100. The membranes were treated with the detection agent (Amersham Biosciences) and immediately developed in polaroid film. * $p < 0.05$ indicates a significant difference between the untreated group and the treated group. Data are shown as mean ± SE.

로 인한 체내 콜레스테롤과 중성 지방의 함량을 낮춰주는데 효과적으로 작용하는 것으로 확인되었다. 또한 HDL-콜레스테롤 수치는 실험군별 큰 차이를 보이지 않았으나, LDL-콜레스테롤 수치는 침지수 식이군이 고지방 식이군과 순물 식이군에 비하여 가장 낮은 수준을 보였다(Table 3).

비만 표적 단백질의 인산화

순물과 침지수가 비만 표적 단백질인 AMPK와 ACC의 활성화에 미치는 효과를 조사하기 위하여 간조직에서 p-AMPK와 p-ACC의 상대적 인산화비를 비교 분석하였다. AMPK의 인산

화비는 대조군의 발현에 대해 상대적인 인산화비로 조사한 결과 고지방 식이군은 대조군에 비해 상대적으로 낮은 47.3%, 순물 식이군에서는 78.1% 수준을 보여주고 있으나 침지수 식이군에서는 171.4% 수준으로 매우 높은 상대적 인산화비를 갖는 것으로 분석되었다(Fig. 4A). 또한 p-ACC의 인산화비는 대조군에 비해 고지방 식이군은 70.9%, 순물 식이군은 91.3%로 조사되었으나, 침지수 식이군은 162.8%로 조사되었다(Fig. 4B).

복부 지방조직의 분포

생체 내 미세단층 촬영 시스템(*In vivo* Micro-CT, Skyscan

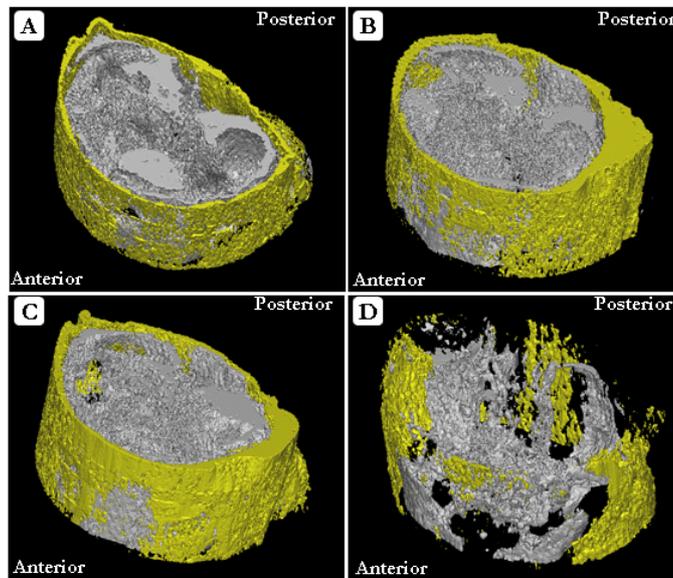


Fig. 5. Representative 3D images of abdominal part. White area; visceral adipose tissue, Yellow area; subcutaneous adipose tissue. The gray values in each intra-abdominal tissue of male C57BL/6 mice were obtained. Based on the gray values assessed using threshold methods, volumes in each classified section of lumbar vertebral, lean tissue, adipose tissue and skin were assessed by recomposing extracted abdominal adipose tissues into 3D structures. (A) : Control group, (B) : HFD group, (C) : SCW group, (D) : SSW group.

Table 4. Final weight and volume of visceral and subcutaneous adipose tissue of the experimental groups^z

	Weight (g)	Total (mm ³)	Visceral (mm ³)	Subcutaneous (mm ³)
Control group	38.6 ± 1.0	2616.5 ± 155.0**	2062.9 ± 100.3*	553.6 ± 54.7*
HFD group	37.3 ± 1.0	2861.8 ± 532.6	2260.2 ± 429.5	601.6 ± 103.1
SCW group	40.0 ± 0.6	3615.1 ± 358.6*	2954.4 ± 349.9	660.7 ± 8.7
SSW group	28.2 ± 0.7	2479.5 ± 177.9	1947.0 ± 5.7	532.5 ± 172.2

^zData are shown as mean ± SE.

**p* < 0.05 indicates a significant difference between the untreated group and the treated group.

1076, SKYSCAN N.V., Belgium)을 통해 각 실험군별 복부 지방 조직의 분포를 확인해보면 고지방 식이군과 순물 식이군은 상당량의 피하지방과 내장지방이 복부에 넓게 분포하고 있으나 침지수 식이군의 경우 고지방 식이군에 비해 복부 내 지방이 비교적 덜 발달된 것으로 확인되었다(Fig. 5). 각 실험군별 복부 지방 면적을 비교하여 보면 고지방 식이군의 내장지방과 피하지방의 면적은 각각 2260.2 ± 429.5 mm³와 601.6 ± 103.1 mm³로 나타났으며 순물 식이군은 2954.4 ± 349.9 mm³와 660.7 ± 8.7 mm³로 오히려 고지방 식이군보다 복부 내 지방이 발달된 것으로 조사되었다. 반면 침지수 식이군의 내장지방과 피하지방은 각각 1947.0 ± 5.7 mm³와 532.5 ± 172 mm³로 고지방 식이군에 비해 낮은 것으로 조사되었다(Table 4).

고 찰

본 연구는 두부 제조과정 중에 생성되는 대두 부산물인 순물과 침지수가 비만 마우스에 미치는 영향을 조사하였다. 우선 사료에 따른 마우스 체중의 변화를 살펴보면 비만 유도 후 지속적으로 고지방사료를 섭취시킨 고지방 식이군의 체중은 일반사료만을 섭취시킨 대조군과 비교하여 약 3.4% 체중이 감소되었으나, 순물 식이군에서 체중이 3.6% 증가한 것으로 나타났다. 그러나 침지수 식이군에서는 대조군에 비해 체중이 26.9% 감소된 것으로 조사되었다 (Fig. 1A, Table 4). Lee *et al.* (2012)은 함초 (*Salicornia herbacea*) 열수 추출물이 첨가된 식이가 비만이 유도된 흰쥐에 미치는 영향을 조사한 결과 고지방 식이군에 비해

체중 증가가 억제되는 것으로 보아 함초는 체중 감소 효과가 높을 것이라고 하였다. 또한 Villanueva *et al.* (2011)은 비지콩 부산물이 첨가된 식이가 비만이 유도된 동물모델에 미치는 영향을 조사한 결과 고지방 식이군에 비해 체중량이 낮은 것으로 보아 체중량의 감소 효과가 높을 것이라고 한 바 있다. 본 연구에서 실험군의 식이섭취량은 실험군간 유의적인 차이를 보이지 않았으나 체중은 대조군, 고지방 식이군 및 순물 식이군 간에는 유의적 차이를 나타내지 않았지만 침지수 식이군의 체중은 대조군에 비해 26.7% 낮게 조사된 것으로 보아 대두 부산물 중 침지수가 체중 감소 혹은 지방 제거에 매우 효과적인 기능성 소재로서의 가능성을 시사해주고 있다.

Sollof *et al.* (1973)은 고지방 식이 급여가 간과 부고환조직 내 지방 축적을 유도하고 중량을 증가시킴으로서 각종 대사질환을 유발한다고 하였으며, Despres (1993)는 체지방 함량이 동일하더라도 내장지방 및 복부지방 함량이 증가할수록 대사성 합병률이 증가한다고 한 바 있다. 또한 Kim *et al.* (2012)은 쉐(*Pueraria thunbergiana*) 추출물은 고지방 식이로 인한 간세포 중심정맥 주위의 지방침착 및 지방적의 수 증가를 현저하게 감소시켜 체내 지방함량을 저하시키는데 효과적이라고 하였고, Matsumoto *et al.* (2007)에 따르면 콩 부산물인 비지는 고지방 식이로 인한 간세포 중심정맥 주위의 지방증과 세포 손상을 감소시켜 비만 예방 효과가 높다고 한 바 있다. 본 연구에서도 간과 부고환의 지방 조직의 중량은 대조군에 비해 고지방 식이군과 순물 식이군이 약 10% 높았으나 침지수 식이군에서는 대조군보다 낮은 것으로 확인되었다(Table 2). 또한 각 실험군별 간과 부고환의 지방 조직을 관찰해보면 고지방 식이군과 순물 식이군의 지방세포는 지방 침착과 지방구의 크기가 비대해져 지방 공포 현상과 세포 비대화가 확인되었으나 침지수 식이군은 지방세포 내 지방 침착과 공포 현상이 완화되었으며 지방구의 크기가 크게 발달하지 않은 것으로 확인되어 침지수는 지방 축적을 억제하거나 저하시켜 비만 해소에 효과적으로 작용하는 것으로 사료된다(Figs. 2, 3).

대표적인 metabolic sensor인 AMPK는 활성을 갖게되면 ACC를 인산화시키고 이를 통해 ACC의 작용을 억제시킴으로써 malonyl-CoA 농도의 감소를 유도하게 되며, CPT-I을 통한 미토콘드리아내로의 LCFA-CoA의 이송을 증가시켜 지방산의 산화를 일으키는 것으로 보고되어 있다(Ruderman *et al.*, 1999; Saha, 2003). 이로 인해 나타나는 고지혈증은 혈중 지질 함량의 증가로 인해 나타나며 metabolic sensor에 해당하는 단백질의 발현에 영향을 받아 관상심혈관계 질환 위험을 증대시킨다고도

알려져 있다(Wat *et al.*, 2009; Koo *et al.*, 2014). Chen *et al.* (2003)은 성장기의 wistar 쥐에 10%의 대두단백 분획물을 급여한 결과 콜레스테롤 및 중성 지질 농도가 감소된 것으로 보아 항비만 효과가 뛰어나다고 시사한 바 있다. 또한 Kim *et al.* (2012)은 콩나물 콩을 이용한 대두, 청국장 및 된장 분말이 당뇨 유발로 증가된 혈청 지질대사를 개선시켜 당뇨증세 완화에 긍정적으로 작용할 것이라 하였다. 본 연구에서도 고지방 식이에 의해 혈액 내 지질 함량은 증가되고 AMPK와 ACC의 인산화는 감소되는 것으로 나타났으나 침지수 식이군의 경우 혈액 내 콜레스테롤 함량과 중성 지질 농도가 현저히 감소되었으며, metabolic sensor에 해당하는 단백질 활성도가 억제되는 것으로 나타나 비만으로 인한 심혈관계 질환에 대한 위험성을 감소시킬 수 있을 것으로 사료된다(Table 3, Fig. 4).

일반적으로 비만은 체중의 증가보다 체지방의 증가, 특히 피하지방보다는 복강 내에 위치한 지방조직의 증가가 건강상의 위해 요인으로 작용한다(Bjorntorp, 1988). Won *et al.* (2008)은 micro-CT를 이용하여 마황(*Ephedra sinica*)과 마우(*Amorphophallus riveri*)가 고지방 식이로 인한 피하지방, 내장지방, 갈색지방, 전체지방의 면적에 미치는 영향을 조사한 결과 고지방 식이군에 비하여 마황과 마우를 함께 처리하였을 때 지방 축적량이 감소한다고 보고한 바 있다. 본 연구에서도 마우스의 총 지방과 피하지방 및 내장지방의 분포를 분석해 보면 침지수 식이군은 고지방 식이군과 순물 식이군에 비해 복부 내 지방이 많이 발달되어 있지 않은 것으로 확인되어 침지수가 체지방의 축적을 억제하는 것으로 생각된다(Table 4, Fig. 5).

이러한 결과로 미루어 보아 대두 부산물인 순물과 침지수가 비만 마우스의 지방 제거에 미치는 영향을 살펴본 결과 침지수는 간과 부고환의 지방 조직 내 지방 축적을 억제하고 있으며, 혈액 내 AST와 ALT의 활성은 대조군 수준으로 유지시키고 있으며 혈중 콜레스테롤 및 중성 지질의 농도도 감소시키는 것으로 확인되었다. 또한 micro-CT 분석에 따르면 침지수는 복부 및 피하의 지방이 축적되는 것을 억제하거나 제거하는 것으로 분석되었다. 따라서 대두의 침지수는 비만이 유도된 마우스의 혈중 지질 함량을 개선할 뿐만 아니라 체내 조직의 지방 축적을 완화시키거나 제거하는 데 효과적일 것으로 사료된다.

적 요

본 연구는 대두 부산물인 순물과 침지수가 고지방 식이에 의해 비만이 유도된 마우스의 지방 제거에 미치는 영향을 조사하

였다. 침지수가 포함된 일반 사료를 섭취한 실험군의 체중 및 간과 부고환 지방 조직 내 지방 축적은 현저히 적은 것으로 나타났으며, 복부 내 내장 지방과 피하지방도 크게 발달하지 않은 것으로 나타나 침지수는 체내 축적된 지방량을 효과적으로 감소시키는 것으로 조사되었다. 침지수 식이군의 혈중 AST와 ALT의 활성은 대조군 수준으로 유지되었으며, 콜레스테롤 함량과 중성 지질 농도가 감소되는 것으로 나타나 침지수가 고지방 식이로 인한 혈중 효소 활성과 지질농도를 개선하는 것으로 조사되었다. 특히 침지수는 metabolic sensor 단백질인 AMPK와 ACC의 인산화를 촉진시켜 체내 지방산 산화에 영향을 주는 것으로 확인되었다. 또한 침지수는 복부 내 피하지방과 내장지방의 축적을 억제하는 것으로 확인되었다. 따라서 대두 부산물 중 침지수는 비만이 유도된 마우스의 혈중 지질 함량을 개선할 뿐만 아니라 체내 조직의 지방 축적을 완화시키거나 제거하는 데 효과적인 것으로 사료된다.

사 사

본 논문은 중소기업청에서 지원하는 2011년도 산학연협력 기업부설연구소 지원사업(No. 000456600211)의 연구수행으로 인한 결과물임.

References

Adlercreutz, H., Y. Mousavi, J. Clark, K. Hockerstedt, E. Hamalainen, K. Wahala, T. Makela and T. Hase. 1992. Dietary phytoestrogens and cancer: *in vitro* and *in vivo* studies. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 41:331-337.

Ahn, I.S., K.Y. Pack and M.S. Do. 2007. Weight control mechanisms and antiobesity functional agents. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36:503-513 (in Korean).

Anne, W.H. and B.H. Joyce. 2001. Differential effects of flavonoids on 3T3-L1 adipogenesis and lipolysis. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 280:C807-C813.

Bae, E.A., T.W. Kwon and G.S. Moon. 1997. Isoflavone contents and antioxidative effects of soybean, soybean curd and their by-products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26:371-375 (in Korean).

Bjorntorp, P. 1988. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta. Med. Scand.* 723:121-134.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the

principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.

Chen, J.R., S.F. Chiou, K. Suetsuna, H.Y. Yang and S.C. Yang. 2003. Lipid metabolism in hypercholesterolemic rats affected by feeding cholesterol-free diets containing different amounts of non dialyzed soybean protein fraction. *Nutrition* 19:676-680.

Chin, H.S., K.J. Pack, S.H. Pack and J.K. Kim. 2009. The effects of herbal extract mixture on anti-obesity. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38:32-38 (in Korean).

Choi, Y.B., K.S. Kim and H.S. Sohn. 1995. Recovery of soy-oligosaccharides using calcium oxide. *J. Food Sci.* 27:225-229 (in Korean).

Despres, J.P. 1993. Abdominal obesity as important component of insulin-resistant syndrome. *Nutrition* 19:452-459.

Friedewald, W.T., R.I. Levy and D.S. Fredrickson. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18:499-502.

Frings, C.S. and R.M. Dunn. 1970. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Am. J. Clin. Pathol.* 53:89-91.

Galvez, A.F. and B.O. de Lumen. 1999. A soybean cDNA encoding a chromatin-binding peptide inhibits mitosis of mammalian cells. *Nat. Biotechnol.* 17:495-500.

Hackler, L.R. and B.R. Stillings. 1967. Amino acid composition of heat-processed soymilk and its correlation with nutritive value. *Cereal Chem.* 44:70-77.

Kaufman, P.B., J.A. Duke, H. Brielmann, J. Boik and J.E. Hoyt. 1997. A comparative survey of leguminous plants as sources of the isoflavones, genistein and daidzein: implications for human nutrition and health. *J. Altern. Complement Med.* 3:7-12.

Kim, A.R., J.J. Lee, S.S. Cha, H.C. Chang and M.Y. Lee. 2012. Effect of soybeans, chungkukjang, and doenjang on blood glucose and serum lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41:621-629 (in Korean).

Kim, K.S., H.K. Chun and H.S. Sohn. 1994. Purification of oligosaccharides from soybean using activated charcoal. *Korean J. Food Sci. Technol.* 3:156-156 (in Korean).

Kim, K.S., J.H. Hong and D.I. Kim. 2012. Anti-obesity effects of capsule-filled cheonggukjang added with arrowroot (*Pueraria thunbergiana*) extracts in *ob/ob* mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41:782-789 (in Korean).

Koo, H.J., S.C. Kang, S.A. Jang, J.E. Kwon, E.S. Sohn and E.H. Sohn. 2014. Effects of protocatechuic acid derived from

- Rubus coreanus* on the lipid metabolism in high cholesterol diet induced mice. Korean J. Plant Res. 27:271-278 (in Korean).
- Kopelman, P.G. and L. Albon. 1997. Obesity, non-insulin-dependent diabetes mellitus and the metabolic syndrome. Brit. Med. Bull. 53:322-340.
- Lee, H.S., J.H. Choi, Y.E. Kim and C.H. Lee. 2012. Effect of dietary intake of *Salicornia herbacea* L. hot water extract on anti-obesity in diet-induced obese rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41:950-956 (in Korean).
- Lew, E.A. 1985. Mortality and weight: insured lives and the american cancer society studies. Ann. Intern. Med. 103:1024-1029.
- Matsumoto, K., Y. Watanabe and S. Yokoyama. 2007. Okara, soybean residue, prevents obesity in a diet-induced murine obesity model. Biosci. Biotechnol. Biochem. 71:720-727.
- McGee, D.L. 2005. Body mass index and mortality: a meta-analysis based on person-level data from twenty-six observational studies. Ann. Epidemiol. 15:87-97.
- Noma, A., K. Nezu-Nakayama, M. Kita and H. Okabe. 1978. Simultaneous determination of serum cholesterol in high- and low-density lipoproteins with use of heparin, Ca²⁺, and an anion-exchange resin. Clin. Chem. 24:1504-1508.
- Potter, S.M. 1995. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. J. Nutr. 125:606S-611S.
- Reitman, S. and S.A. Frankel. 1957. Colorimetric method for determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am. J. Clin. Pathol. 28:56-63.
- Richmond, W. 1976. Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum by continuous flow analysis. Clin. Chem. 22:1579-1588.
- Ruderman, N.B, A.K. Saha, D. Vavvas and L.A. Witters. 1999. Malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. Am.J. Physiol. 276:1-18.
- Saha, A.K.R.N. 2003. Malonyl-CoA and AMP-activated protein kinase: An expanding partnership. Mol. Cell Biochem. 253:65-70.
- Sharma, O.P., H. Adlercreutz, J.D. Strandberg, B.R. Zirkin, D.S. Coffey and L.L. Exing. 1992. Soy of dietary source plays a preventive role against the pathogenesis of prostatitis in rats. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 43:557-564.
- Sollof, L.A., H.L. Futenberg and A.G. Lacko. 1973. Serum cholesterol esterification in patients with coronary artery disease. Am. Heart J. 85:153-161.
- Villanueva, M.J., W.H. Yokoyama, Y.J. Hong, G.E. Bartley and P. Rupérez. 2011. Effect of high-fat diets supplemented with okara soybean by-product on lipid profiles of plasma, liver and faeces in syrian hamsters. Food Chem. 124:72-79.
- Wat, E., S. Tandy, E. Kapera, A. Kamili, R.W.S. Chung, A. Brown, A. Brown, M. Rowney and J.S. Cohn. 2009. Dietary phospholipid-rich dairy milk extract reduces hepatomegaly, hepatic steatosis and hyperlipidemia in mice fed a high fat diet. Atherosclerosis 205:144-150.
- Wei, H.L., F. Frenkel, R. Browen and S. Barnes. 1993. Inhibition of tumor promoter-induced hydrogen peroxide formation *in vitro* and *in vivo* by genistein. Nutr. Cancer 20:1-20.
- Won, C.U., Y.S. Jung, K.H. Yoon, H.Y. Lee, M.C. Yoon, B.K. Kim, S.D. Park and S.S. Shin. 2008. *Herba ephedrae* and *Rhizoma amorphophalli* modulates visceral obesity in micro-CT of high fat induced obese male mice. J. Korean Ori. Med. Pres. 16:205-217 (in Korean).

(Received 1 October 2014 ; Revised 21 November 2014 ; Accepted 8 December 2014)