J East Asian Soc Dietary Life
25(2): 278~286 (2015)
http://dx.doi.org/10.17495/easdl.2015.4.25.2.278

청국장과 녹차청국장이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 성장기 쥐의 Lipid Profile 및 항산화효소 활성에 미치는 영향

정 윤 정 · 최 미 자†

계명대학교 식품영양학과

Effects of *Chunggukjang* and Greentea-*Chunggukjang* on Lipid Profile and Antioxidative Enzyme Activity of Liver Tissue in Growing Rats Fed Cholesterol

Yun-Jung Jung and Mi-Ja Choi†

Dept. of Food and Nutrition, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

ABSTRACT

The overall purpose of this study was to investigate the effects of *Chunggukjang* and Greentea-*Chunggukjang* on the lipid profile, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities of liver tissue in growing male rats fed cholesterol. Twenty seven rats were divided into three treatment groups (Control, *Chunggukjang* and Greentea-*Chunggukjang*) and were given experimental diets with 1% cholesterol for 9 weeks. All rats in this study were fed a casein-based diet. *Chunggukjang* groups were fed diet containing 33.1% *Chunggukjang* powder. The *Chunggukjang* and Greentea-*Chunggukjang* groups showed significantly lower weight gain, food efficiency ratio than the control group regardless of *Chunggukjang* type. Serum total cholesterol was significantly lower in the *Chunggukjang* group than in the control group, whereas serum triglyceride and atherogenic index were significantly lower in the Greentea-*Chunggukjang* group than in the control group. Hepatic triglyceride contents was not significantly different among the diets. However, hepatic cholesterol content was significantly lower in the Greentea-*Chunggukjang* group than in the control group. Lipid peroxidation of malondialdehyde (MDA) contents was significantly lower in the *Chunggukjang* and Greentea-*Chunggukjang* groups than in the control group. Activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) in liver tissue of the *Chunggukjang* and Greentea-*Chunggukjang* groups were not significantly different. It can be concluded that *Chunggukjang* and Greentea-*Chunggukjang* influence lipid profile and hepatic malondialdehyde contents in growing male rats fed cholesterol.

Key words: *Chunggukjang*, greentea-*Chunggukjang*, growing male rats fed cholesterol, lipid profile, antioxidative enzyme activity

서 론

활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 심혈관질환, 당뇨병, 암 등 각종 퇴행성 질환의 원인으로 알려져 있다. 활성산소종과 같은 산화스트레스에서 유발되는 각종 퇴행성 질환을 예방하기 위해서는 식사로 섭취하는 식물성 급원의 식품을 충분히 섭취하는 것이 제안되고 있는데, 이는 식물성 식품에 풍부한 항산화 성분이 세포의 산화적 손상을 감소시키기 때문으로 보여진다(Fang *et al* 2002; Hertog *et al* 1995).

대두의 섭취에 따른 혈중 콜레스테롤 감소에 관여하는 주요 성분은 대두에 함유된 생리활성물질인 이소플라본의 작용인 것으로 알려져 있다(Goodman & Kritz 2001). 또한, 발효한 대두제품에서 항산화 profiles의 향상에 큰 관심을 가지게 되면서, 발효된 대두제품에서는 질감의 개선과 더불어 항산화 성분의 유의적 증가가 보고되었다(Ping *et al* 2012). 이러한 성분은 대두를 가공하는 동안 가수분해효소 작용에 의해 생성된 이차적 생리활성성분인 aglycone 형태의 이소플라본이다(Ioku *et al* 1998).

청국장은 증자한 대두에 *Bacillus subtilis*의 작용으로 발효한 대표적인 우리나라 대두발효 식품으로, 발효과정 중 다양한 생리활성 물질이 생성되는데, 청국장 원료인 대두에 함유된 glycoside형 이소플라본은 발효과정 동안 미생물 작용으로 소화흡수율과 생체 이용율이 높은 aglycone 형태로 변화한다(Choi & Sohn 1998; Hutchins *et al* 1995). 청국장의 이소플라본 함량은 발효식품 중 높은 수준으로 이소플라본의 70%가 aglycone으로 전환됨으로써(Choi & Sohn 1998) 이소플라본의 효과를 최대한 증가시킬 수 있을 것으로 보여진다. 청국장 발효과정 중에 생성되는 끈적끈적한 점질물의 성분은

† **Corresponding author :** Mi-Ja Choi, Tel : +82-53-580-5874, Fax : +82-53-580-5885, E-mail : choimj@kmu.ac.kr

gamma-polyglutamic acid(γ-PGA)와 fructose 중합체인 levan이 혼합물로 이루어진 중합체(biopolymer)로 청국장의 생리활성에 관여하며(Lee *et al* 1992), 청국장의 생리활성은 혈전용해능, 혈압 강하, 항산화, 항동맥경화 및 항암작용 등이 알려져 있다(Heo *et al* 1998; Yang *et al* 2003; Byun *et al* 2002). 우리나라의 청국장과 유사한 일본의 natto 점질물의 물 추출물은 콜레스테롤을 섭취한 실험동물의 LDL-콜레스테롤 저하, 지질과산화 감소 등 지방대사 개선효과가 있음이 보고되었다(Iwai *et al* 2002).

관능적인 면에서 청국장은 독특한 냄새로 인해 성장기 어린이나 청소년의 섭취나 기호도가 떨어지는 식품이므로, 청국장의 이취를 제거하는 방법이나 기능성을 향상시키면서 관능적인 면을 충족시킬 수 있는 방법에 대한 연구가 필요하다. 녹차는 항산화작용 증진 및 이취 제거에 활용되는 기능성 성분으로 다양한 생리활성이 알려져 있는데, 특히 항산화, 항암, 항균 및 혈중지질감소 효과 등이 있다(Khan & Mukhtar 2013). 청국장과 녹차 각각이 지질대사에 미치는 효과에 대한 선행연구는 동물실험(Koh JB 2006b; Raederstorff *et al* 2003)이나 임상실험(Babu & Liu 2008)에서 보고되고 있다.

고콜레스테롤 식이를 섭취한 성숙 쥐에게 청국장 식이를 함께 공급하여 항산화작용을 분석한 연구에서 간조직의 항산화효소 활성이 정상군과 비슷한 수준으로 나타났고(Kim *et al* 2009), 실험실 연구(Park & Cho 2008)를 통해 녹차를 첨가한 청국장의 항산화능이 보고되었으나, 성장기 생체내 실험을 통한 청국장과 녹차청국장의 항산화 profiles을 분석한 연구는 부족한 실정이다. 또한 고지혈증 예방을 위한 기능성 소재로서 청국장과 녹차 두 원료를 함께 사용하였을 때, 기능성의 상승 효과에 관한 연구는 거의 없다. 따라서 본 연구는 고콜레스테롤 식이를 섭취한 성장기 수컷 쥐에서 청국장과 녹차청국장이 혈중지질 농도와 간조직 지질 함량 및 항산화효소인 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) 및 catalase(CAT)활성에 미치는 영향을 분석하였다.

연구방법

1. 실험동물

Sprague-Dawley 수컷 쥐(3주령, 평균 체중 50 g)를 적응사육을 실시한 후 난괴법을 이용하여 각 군당 9마리씩 Control군(casein+1% cholesterol), 청국장군(청국장+1% cholesterol), 녹차청국장군(녹차청국장+1% cholesterol) 세 군으로 나누어 stainless steel wire cage에서 한 마리씩 분리하여 9주간 실험식이를 공급하였다. 실험동물 사육실 온도는 22 ± 2℃, 습도는 63 ± 5%로 유지하고, 매일 광주기, 암주기를 12시간 간격으로 자동조절 장치를 이용하여 조절하였다. 실험기간 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취하게 하였다.

2. 청국장 및 녹차청국장 제조

청국장 제조에 사용한 대두는 경북 상주산 대두를 사용하였고, 녹차청국장 제조 시 첨가한 녹차분말은 아모레퍼시픽 기술연구원(경기도 용인)에서 제공받아 사용하였다. 선별한 대두를 수세하여 15℃의 물에 48시간 동안 침지하고 121℃에서 40분간 증자하였다. 증자한 대두를 40℃로 냉각시킨 후 청국장 발효균인 *Bacillus subtilis*를 접종하여 40℃에서 24시간 발효시켰다. 발효가 끝난 시료는 동결건조한 뒤 분쇄하여 식이로 사용하였다. 녹차청국장 제조는 일반청국장 제조와 같은 방법으로 증자한 대두 중량의 5% 수준으로 녹차분말을 첨가하여 발효하였다(Park & Cho 2008).

3. 실험식이

실험식이의 구성성분은 Table 1에 나타내었다. 실험식이는 1% 고콜레스테롤 식이를 기본으로 하여 AIN-93G 표준식이조성에 근거하였으며, 단백질 급원으로 대조군은 casein을, 실험군은 청국장과 녹차청국장을 각각 사용하였다. 본 연구에서 청국장과 녹차청국장의 함량은 선행연구(Jung SH 2005)의 식이조성에 근거하여 AIN-93G의 기본 조성에 기준으로 식이 100 g당 33.1 g의 청국장과 녹차청국장을 각각 첨가하였으며, 녹차의 카테킨 함량은 13.8%이었다.

4. 실험분석

1) 체중 측정 및 식이 섭취량

실험 기간 동안 식이 섭취량은 이틀에 한 번씩, 체중은 1주일에 한 번씩 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 실험 9주간 총 체중증가량(g)에 총 식이 섭취량(g)을 나누어 산출하였다.

2) 시료 수집 및 전처리

실험동물은 에테르로 마취한 상태에서 복부를 절개하여 대동맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 상온에서 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리하여 분석할 때까지 −70℃에서 냉동 보관하였다. 간 조직은 적출하여 생리식염수로 씻어내고, 무게를 측정한 후 액체질소로 급속 동결시켜 분석 전까지 −70℃에서 냉동 보관하였다가 간조직의 mitochondria 분획은 CAT 활성도 측정, cytosol 분획은 SOD, GSH-Px 활성도 측정용 시료로 사용하였다.

3) 혈청 지질 및 간 지질 분석

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

Ingredient	Control	*Chunggukjang*	Greentea -*Chunggukjang*
Casein[1)]	200	-	-
Corn starch	519.5	468.5	468.5
Sucrose	100	100	100
Soybean oil	70	-	-
α-Cellulose[2)]	50	40	40
Mineral-mix[3)]	35	35	35
Vitamin-mix[4)]	10	10	10
L-Cystine[5)]	3	3	3
Choline[6)]	2.5	2.5	2.5
TBHQ[7)]	0.014	0.014	0.014
Cholesterol[8)]	10	10	10
Chunggukjang	-	331	-
Greentea[9)] -*Chunggukjang*	-	-	331

1) Casein, Maeil Dairy Industry Co., Kyunggi-Do, Korea.
2) α-Cellulose, supplied by SIGMA Chemical Co., St. Louis, MO, USA.
3) AIN-93G-MX, Teklad Test Diets, Medison, Wisconsin, USA.
4) AIN-93-VM, Teklad Test Diets, Medison, Wisconsin, USA.
5) L-Cystine, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.
6) Choline bitartate, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.
7) Tert-bultyl hydroquione, Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA.
8) Cholesterol, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA.
9) Greentea, Amore Pacific Co., Kyunggi-Do, Korea

혈청 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤 농도는 kit (Asan Pharmaceutical, Korea)로 spectrophotometer(Uvikon 930, Switzerland)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 혈청 LDL-콜레스테롤은 Friedewald 등의 방법(Friedewald *et al* 1972)을 이용하여 산출하였으며, 동맥경화의 위험률을 예측할 수 있는 변인으로 atherogenic index를 산출하였다. 간 조직의 중성지방과 콜레스테롤의 추출은 Folch 법(Folch *et al* 1957)을 응용하여 혈청 중성지방과 콜레스테롤 분석과 동일한 방법으로 분석하였다.

4) Malondialdehyde(MDA) 측정

간 조직 중의 지질과산화물인 MDA는 Ohkawa의 방법(Ohkawa *et al* 1979)에 따라 측정하였다. 혈액을 제거한 간 절편을 마쇄하여 homogenate를 만든 후 0.8% TBA(thiobarbituric acid) 1 mL와 1 mM $FeSO_4$ in 20% TCA(trichloroacetic acid) 0.5 mL와 증류수 1.3 mL를 첨가한 다음 잘 혼합하여 98℃ 수욕 조에서 30분 동안 반응시킨 후 바로 냉각하였다. 냉각한 tube에 n-buthanol을 가하여 잘 섞고, 4,000 rpm에서 10분간 원심분리 시켜 상층액을 취하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 사용하였고, 지질과산화물 수준은 간조직의 nmol MDA/g 로 나타내었다.

5) 간 조직의 항산화효소 활성도 측정

간 조직 중 SOD 활성도는 hematoxylin 자동산화의 억제 정도를 관찰하는 Martin 등의 방법(Martin *et al* 1987)에 준해 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산 완충액 (pH 7.5)에 10 μM hematoxylin 및 효소액을 가해 25℃에서 반응시켜 생성된 hematein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성을 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않고 반응시킨 액 중의 hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 나타내었다(Unit/mg protein/min). GSH-Px 활성도는 Paglia와 Valentine의 방법(Paglia & Valentine 1967)에 따라 측정하였다. Glutathione 기질과 조효소인 NADPH를 시료와 함께 25℃에서 5분간 반응시켜 340 nm에서 NADPH의 산화로 인한 흡광도 감소율을 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분간 산화시킨 NADPH의 양을 nmole로 표시하였다(NADPH oxidized nmoles/mg protein/min). 간 조직 중 mitochondria 분획의 CAT 활성도는 hydrogen peroxide(H_2O_2)를 기질로 하여 환원되는 정도를 240 nm에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수를 이용하여 활성을 산출하는 Abei의 방법(Aebi H 1974)에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 간조직의 효소액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안에 반응하여 감소시킨 H_2O_2 양을 nmole로 표시하였다(Reduced H_2O_2 nmoles/mg protein/min). 간 조직 중 단백질 함량은 Lowry 등의 방법(Lowry *et al* 1951)에 따라 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 측정하였다.

6) 통계분석

본 연구에서 실험 결과는 SAS package(Version 9.12 : Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 분석하였고, 각 실험군의 변수들은 평균과 표준편차를 구하였다. 각 군 간의 통계적 유의성은 α=0.05 수준에서 ANOVA test를 하여 Duncan's multiple range test에 의하여 검증하였다.

결 과

1. 체중변화

고콜레스테롤 식이에 청국장 및 녹차청국장을 첨가한 식이섭취에 따른 체중변화를 Table 2에 나타내었다. 실험 시작 시 체중은 대조군과 청국장군, 녹차청국장 간의 유의적인 차이가 없었고, 실험 종료 시 체중은 대조군 521.5 g, 청국장군 445.0 g, 녹차청국장군 427.3 g으로 9주간의 실험식이 섭취 후 청국장군과 녹차청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮았으며, 체중증가량은 청국장군과 녹차청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮았다.

2. 식이섭취량 및 식이효율

Table 3은 9주간 청국장식이 공급동안의 평균 식이섭취량과 식이효율을 나타내었다. 평균 식이섭취량은 대조군 22.6 g, 청국장군 21.8 g, 녹차청국장군 22.0 g으로 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다. 실험 9주간 식이효율은 청국장군과 녹차청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮았다.

3. 혈중 지질농도

고콜레스테롤 식이에 청국장 및 녹차청국장을 첨가한 식이 섭취에 따른 성장기 쥐의 혈중 지질농도에 미치는 영향을 Table 4에 나타내었다. 혈중 총 콜레스테롤 농도는 대조군 136.7±18.0 mg/dL, 청국장군 115.8±10.1 mg/dL, 녹차청국장군 125.5±12.4 mg/dL로 청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮았고, 청국장군, 녹차청국장군, 대조군 순으로 나타났다. 혈중 중성지방농도는 대조군 216.9±38.8 mg/dL, 청국장군 182.4±34.9 mg/dL, 녹차청국장군 178.2±30.8 mg/dL로 통계적으로 유의적인 차이는 아니지만 녹차청국장군, 청국장군, 대조군 순으로 혈중 중성지방 농도가 낮은 경향을 보였다. 혈중 HDL-콜레스테롤농도는 대조군 23.4±5.0 mg/dL, 청국장군, 31.1±5.9 mg/dL, 녹차청국장군 31.2±7.6 mg/dL로 청국장군과 녹차청국장군이 대조군보다 유의적으로 높았다. 혈중 LDL-콜레스테롤농도는 대조군 69.9±23.0 mg/dL, 청국장군 48.3±9.9 mg/dL, 녹차청국장군 58.6±17.0 mg/dL로 청국장군이 대조군과 녹차청국장군보다 낮은 경향을 보였다. 동맥경화지수는 대조군 5.0±1.3, 청국장군 2.9±0.9, 녹차청국장군 3.2±1.1로 대조군과 비교하여 청국장군 42%, 녹차청국장군 36% 유의적으로 낮은 수준이었으나, 청국장 종류에 따른 혈중 지질 profile은 유의적 차이가 없었다.

4. 간 지질 및 과산화지질 함량

고콜레스테롤 식이에 청국장 및 녹차청국장을 첨가한 식이섭취에 따른 성장기 쥐의 간 지질 및 과산화지질 MDA 함량에 미치는 영향을 Table 5에 나타내었다. 간의 중성지방 함량은 대조군 107.5±7.6 mg/g, 청국장군 96.8±5.8 mg/g, 녹

Table 2. The effect of *chunggukjang* and greentea *chunggukjang* on body weight and weight gain in growing rats

Group	Control	*Chunggukjang*	Greentea -*Chunggukjang*
Initial weight (g)	55.7±2.6[1)a2]	55.5±2.5[a]	55.3±2.4[a]
Final weight (g)	521.5±31.9[a]	445.0±32.9[b]	427.3±26.8[b]
Weight gain (g)	488.7±36.0[a]	401.7±40.9[b]	389.5±31.9[b]

1) Values were Mean±S.D. of 9 rats per group.
2) Values with different superscripts within the row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 3. The effect of *chunggukjang* and greentea *chunggukjang* on food intake and food efficiency ratio (FER) in growing rats

Group	Control	*Chunggukjang*	Greentea -*Chunggukjang*
Food intake (g/day)	22.6±1.5[1)a2)]	21.8±1.6[a]	22.0±1.8[a]
FER	0.32±0.02[a]	0.27±0.02[b]	0.26±0.03[b]

1) Values were Mean±S.D. of 9 rats per group.
2) Values with different superscripts within the row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 4. The effect of *chunggukjang* and greentea *chunggukjang* on serum lipid concentrations in growing rats

Group	Control	*Chunggukjang*	Greentea -*Chunggukjang*
Total cholesterol (mg/dL)	136.7±18.0[1)a2)]	115.8±10.1[b]	125.5±12.4[ab]
Triglyceride (mg/dL)	216.9±38.8[a]	182.4±34.9[a]	178.2±30.8[a]
HDL-cholesterol (mg/dL)	23.4±5.0[a]	31.1±5.9[b]	31.2±7.6[b]
LDL-cholesterol (mg/dL)	69.9±23.0[ab]	48.3±9.9[a]	58.6±17.0[ab]
Atherogenic index	5.0±1.3[a]	2.9±0.9[b]	3.2±1.1[b]

1) Values were Mean±S.D. of 9 rats per group.
2) Values with different superscripts within the row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 5. The effect of *chunggukjang* and greentea *chunggukjang* on the liver lipid and malondialdehyde contents in growing rats

Group	Control	*Chunggukjang*	Greentea *-Chunggukjang*
Triglyceride (mg/g)	107.5±7.6[1)a2]	96.8±5.8[a]	99.5±5.7[a]
Total cholesterol (mg/g)	137.8±20.2[ab]	111.5±12.2[bc]	101.2±7.6[c]
MDA (nmoleMDA/g)	6.08±0.89[1)a2]	4.66±0.68[b]	4.73±0.73[b]

1) Values were Mean±S.D. of 9 rats per group.
2) Values with different superscripts within the row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 6. The effect of *chunggukjang* and greentea *chunggukjang* on the liver activities of SOD, GSH-Px, catalase in growing rats

Group	Control	*Chunggukjang*	Greentea *-Chunggukjang*
SOD (unit/mg protein/min)	1.0±0.4[1)a2)]	1.2±0.4[a]	1.4±0.7[a]
GSH-Px (nmol NADPH/mg protein/min)	19.7±8.0[a]	19.7±10.3[a]	22.4±5.3[a]
Catalase (nmole H_2O_2 reduced/mg protein/min)	52.4±38.6[a]	61.6±25.7[a]	59.9±15.0[a]

1) Values were Mean±SD of 9 rats per group.
2) Values with different superscripts within the row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

차청국장군 99.5±5.7 mg/g이었고, 간의 콜레스테롤 함량은 대조군 137.8±20.2 mg/g, 청국장군 111.5±12.2 mg/g, 녹차청국장군 101.2±7.6 mg/g으로 녹차청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮게 나타났으나, 청국장 종류에 따른 차이는 없었다. 간의 MDA 함량은 대조군 6.08±0.89 nmolMDA/g, 청국장군 4.66±0.68 nmolMDA/g, 녹차청국장군 4.73±0.73 nmolMDA/g으로 청국장과 녹차청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮았고 청국장 종류에 따른 차이는 없었다.

5. 간 조직의 항산화 효소 활성

고콜레스테롤 식이에 청국장 및 녹차청국장을 첨가한 식이섭취에 따른 성장기 쥐의 간조직 항산화효소인 SOD, GSH-Px 및 CAT 활성에 미치는 영향을 Table 6에 나타내었다. SOD 활성은 대조군 1.0±0.4 unit/mg protein/min, 청국장군 1.2±0.4 unit/mg protein/min, 녹차청국장군 1.4±0.7 unit/mg protein/min이었고, GSH-Px활성은 대조군 19.7±8.0 nmol NADPH/mg protein/min, 청국장군 19.7±10.3 nmol NADPH/mg protein/min, 녹차청국장군 22.4±5.3 nmol NADPH/mg protein/min이었으며, CAT 활성은 대조군 52.4±38.6 nmol H_2O_2 reduced/mg protein/min, 청국장군 61.6±25.7 nmol H_2O_2 reduced/mg protein/min, 녹차청국장군 59.9±15.0 nmol H_2O_2 reduced/mg protein/min으로 실험군 간에 유의적인 차이는 없었다.

고 찰

본 연구는 고콜레스테롤 식이를 섭취한 성장기 수컷 쥐에서 청국장과 녹차청국장이 혈중 지질농도와 간조직 지질함량 및 항산화효소인 SOD, GSH-Px, CAT 활성에 미치는 영향을 분석하였다. 청국장과 녹차청국장이 성장기 쥐의 체중변화에 미치는 영향에서 9주간의 실험식이 섭취 후 체중증가량은 청국장군과 녹차청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮았다. 성장기 흰쥐에게 청국장식이를 4주간 공급한 선행연구에서는 청국장식이의 체중증가와 식이섭취량이 대조군보다 유의적으로 낮게 나타났고(Kim *et al* 2003), 고지방식이에 콩발효식품인 녹차된장을 10주간 공급한 경우, 녹차된장을 섭취한 쥐가 고지방식이군보다 체중증가율이 낮은 것으로 나타났는데(Park *et al* 2005a), 본 연구에서도 발효식품인 일반청국장과 녹차청국장의 섭취가 대조군보다 체중증가량이 유의적으로 낮아, 고콜레스테롤 식이 섭취 시 청국장 및 녹차청국장의 섭취는 체중 감소효과를 보였다.

청국장 식이가 식이섭취량에 영향을 주는 선행연구를 살펴보면, 고지혈증을 유도한 암쥐에서 상황버섯 균사체 청국장을 공급한 결과, 청국장군의 식이섭취량이 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의한 차이는 없었다고 하였다(Choi MA 2009). 본 연구에서는 평균 식이섭취량이 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나, 체중증가량은 청국장과 녹차청국장 식이가 대조군보다 유의적으로 낮았기 때문에 식이효율이 감소하는 결과를 보였다. 고지방을 섭취한 쥐에게 8주간 청국장식이 섭취는 대조군보다 식이효율이 낮았다는 보고와 일치하였다(Koh JB 2006a). 고콜레스테롤과 시판 청국장 식이를 4주간 공급한 연구에서도 체중증가량과 식이섭취량은 청국장을 섭취한 군이 대조군에 비하여 저하되었다(Kim *et al* 2009). 또한 고혈압 쥐에게 청국장 식이를 공급한 연구(Yang *et al* 2003)에서도 청국장군의 식이섭취량이 대조군보다 감소되었는데, 이러한 식이섭취량의 차이는 청국장 식이의 낮은 섭식기호도 때문인 것으로 보고하였

다. 선행연구에서 식이 중 단백질의 종류나 성질은 동물의 섭식 기호에 영향을 줌으로써 식이섭취량에 영향을 미칠 수 있다고 보고하였다(Choi & Lee 1992). 반면에, 고지방식이 섭취 시 생청국장이 소화를 도와 섭식기호에 좋은 영향을 준다는 보고가 있었다(Min *et al* 2005).

본 연구에서는 청국장과 녹차청국장 모두 대조군과 비교하여 식이섭취량에 영향이 없었고, 또한 청국장의 종류에 따라서도 식이섭취량에 유의적인 차이는 없었으나, 고콜레스테롤 섭취시 식이섭취량 차이 없이 체중감량 효과를 나타내었다.

청국장과 녹차청국장이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 성장기 쥐의 혈중 지질 profile에 미치는 영향은 총 콜레스테롤농도는 청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮았고, HDL-콜레스테롤 농도는 청국장군과 녹차청국장군 모두 대조군보다 유의적으로 높았으며, 동맥경화지수는 청국장군과 녹차청국장군 모두 대조군보다 유의적으로 낮았다. 청국장의 점질물 중합체 첨가식이가 당뇨 쥐의 혈중 중성지방농도를 유의적으로 감소시켰고, HDL-콜레스테롤농도를 유의적으로 증가시켰다고 하였으며(Kim *et al* 2008), 고지방식이를 섭취하는 마우스에게 검은콩을 원료로 한 청국장 추출물은 체중 및 지방조직의 무게 감소와 함께 혈청 지질대사 개선에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다(Jang & Jeong 2011). 이는 검은콩 청국장 추출물은 지질대사를 개선시키고, 지방축적을 억제하여 고지혈증의 예방 및 치료효과와 비만억제효과를 나타내어, 대사성 합병율과 심혈관계 질환의 발생을 감소시키는데 효과가 있을 것으로 추측하였다. 본 연구에서도 고콜레스테롤 식이 섭취 시 일반청국장과 녹차청국장은 대조군과 비교하여 혈중 지질농도를 개선시키는 효과를 보였다.

또한 청국장에 생리활성물질이 함유된 성분을 첨가한 기능성 청국장의 효과를 보고한 선행연구를 살펴보면, 고지방식이로 4주간 고지혈증을 유도한 성숙한 암쥐에 청국장 분말을 4주간 급여한 후 혈중 지질농도 변화를 보고한 선행연구(Choi MA 2009)에서 혈중 중성지질, 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 농도 및 동맥경화지수는 청국장군 및 상황버섯 균사체 청국장군이 대조군보다 유의하게 감소하여 청국장이 지질대사의 개선효과가 있는 것으로 나타났다. 상황버섯 균사체 청국장군이 청국장군보다 혈중 총 지질, 중성지질, LDL-콜레스테롤 농도 및 동맥경화지수를 다소 감소시키는 경향을 나타낸 것은 상황버섯에 함유된 다당류 및 식이섬유에 의한 효과인 것으로 보고하였다(Choi MA 2009). 그러나 본 연구에서는 혈중 지질농도가 녹차청국장과 일반청국장을 비교하여 녹차 첨가로 인한 기능성 물질의 결합으로 기대되는 유의적인 상승효과는 나타나지 않았다.

고혈압 쥐에게 청국장을 공급한 결과, 간의 총 지질과 중성지질이 대조군보다 감소하였고, 간세포에서 콜레스테롤 합성속도 조절단계에서 요구되는 HMG-CoA reductase 활성이 청국장군이 대조군보다 유의적으로 감소하는 것으로 보고되었다(Yang *et al* 2003). 간의 콜레스테롤 합성과 HMG-CoA reductase 활성은 생리적 조건이나 영양상태에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Choi & Lee 1992). 본 연구에서 녹차청국장이 간의 콜레스테롤 함량을 대조군과 비교하여 유의적으로 감소시킨 결과를 보인 것은, 청국장 발효과정 중 생성된 유익한 성분인 단백질 분해물과 난소화성 다당류인 식이섬유, 이소플라본 등과 녹차의 주된 성분인 카테킨과 식이섬유가 콜레스테롤 흡수를 방해하고, 변을 통한 배설을 촉진함으로써 간의 콜레스테롤 함량을 감소시키는 것으로 사료된다. 이러한 녹차청국장의 작용은 청국장과 녹차 각각에 함유된 생리활성물질을 함께 섭취하여 동시에 작용하여 상승효과로 인해 간 지질대사에 영향을 주는 것으로 생각되어진다.

청국장과 녹차청국장이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 성장기 쥐의 간조직 과산화지질 함량에 미치는 영향에서는 대조군보다 유의적으로 낮았으나, 청국장 종류에 따른 차이는 없었다. 실험동물에게 1~1.5%의 콜레스테롤이 함유된 고콜레스테롤 식이를 공급한 경우 간조직의 microsome 분획 내 지질과산화물 함량이 증가하는 것으로 보고되었고(Tsai *et al* 1997), 고콜레스테롤과 청국장 분말식이를 20주령 성숙 쥐에게 4주간 공급한 연구에서 간조직 중 과산화지질 함량은 대조군보다 22.0~29.1% 낮은 수준으로 청국장의 섭취가 지질과산화물 생성을 억제하였다(Kim *et al* 2009). 본 연구에서도 고콜레스테롤 식이의 섭취로 간조직의 지질과산화가 촉진된 상태에서 청국장과 녹차청국장의 섭취는 간조직의 MDA 함량을 대조군과 비교하여 각각 23.4%, 22.2% 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났으나, 청국장 종류에 따른 차이는 없었다.

청국장의 섭취가 항산화효소 활성에 미치는 영향을 보고한 선행연구를 살펴보면, 20주령 성숙 쥐에게 4주간 고콜레스테롤과 청국장을 함께 공급한 결과, 간조직의 SOD와 catalase 활성은 정상군과 비슷한 수치로 감소되었고, 간 조직 중 GSH-Px 활성은 각 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. 고콜레스테롤 섭취로 인하여 불포화지방산의 함량이 높은 생체막의 지질과산화가 촉진되어 세포 소기관의 산화적 손상이 가속화된 상태에서 청국장 섭취는 고콜레스테롤 식이에 의한 산화적 손상을 감소시키는 것으로 보고하였다(Kim *et al* 2009). 자발성 고혈압 쥐에게 대두 이소플라본을 섭취시킨 군에서는 대조군과 비교하여 DNA 산화적 손상이 억제되는 것으로 나타났다(Park *et al* 2005b). 본 연구와 비슷하게 청국장의 생리활성 증진을 목적으로 청국장에 항산화작용이 있는 흑마늘을 대두량의 10% 첨가한 청국장의 항산화활성을 분석한 연구에서는 흑마늘 첨가 청국장 물추출물의 전자공여능, SOD유사활성, 지질산패 억제능이 일반청국장과 비

교하여 우수한 것으로 나타났다(Jeong *et al* 2013).

그러나 본 연구에서 간조직 중 활성산소에 의하여 생성되는 과산화지질 함량은 청국장과 녹차청국장의 섭취로 감소되었으나, 과산화지질에 대한 방어시스템인 항산화효소 활성은 유의적인 차이가 없었다. 이는 성숙 쥐(Kim *et al* 2009)나 질환상태 모델(Park *et al* 2005b)을 대상으로 청국장의 항산화활성을 보고한 선행연구와 달리, 본 연구에서는 성장기 쥐를 대상으로 고콜레스테롤 식이를 유도하여 9주간 실험식이를 공급하였기 때문에, 일상적인 장기간 청국장 식이 섭취에 따른 내인성 항산화체계의 항상성으로 인해 유의적인 차이는 없는 것으로 보여진다. 또한, 본 연구에서 공급한 청국장에 첨가한 녹차분말의 양은 식이 100 g당 3.3% 수준으로 생체내 실험에서 항산화의 상승작용을 나타내는 수준은 아닌 것으로 나타났다. 이는 실제 생체 내 실험을 통한 녹차청국장의 효과를 보고한 선행연구가 없어 직접적인 비교는 할 수 없지만, 증자한 콩에 녹차 0.5%, 2%, 5%의 세 수준별 첨가에 따른 항산화능을 비교한 선행연구(Park & Cho 2008)는 5% 녹차청국장의 항산화능이 가장 우수한 것으로 보고하였다. 본 연구의 청국장에 첨가한 녹차수준과 비슷하지만, 다른 결과를 보인 것은 선행연구는 실험실 연구 결과인 반면, 본 연구는 동물실험을 통한 생체 내 간조직의 항산화활성을 분석한 결과이므로, 추후 녹차첨가 수준을 달리한 청국장을 제조하여 생체 내 유효한 상승작용을 나타내는 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

본 연구에서 사용한 청국장은 선행연구(Jung SH 2005)에서와 동일하게 제조하였으며, 일반조성은 수분 3.74%, 조단백 54.78%, 조지방 24.66%, 회분 5.70%, 식이섬유 2.88%, 탄수화물 8.24%이었으며, 청국장 발효 후 이소플라본 함량은 49.69 mg%로 나타났다. 또한 녹차청국장 제조 시 사용한 녹차분말에 함유된 카테킨량은 13.80%이었다. 따라서 본 연구에서 성장기 쥐가 고콜레스테롤 식이와 함께 9주간 공급한 실험식이의 주된 기능성 성분인 이소플라본과 카테킨의 함량을 산출하면, 실험동물의 하루 평균 식이섭취량이 청국장군 21.8 g/day, 녹차청국장군 22.0 g/day이었으므로, 실험동물 체중 kg당 이소플라본 섭취량은 약 8.05 mg, 카테킨 섭취량은 약 234.0 mg에 해당되는 양이다. 이는 성장기 실험동물에서 이소플라본 약 8.05 mg/kg body weight, 카테킨 약 234.0 mg/kg body weight 수준의 섭취는 혈중 지질 profile과 간조직의 총콜레스테롤 및 과산화지질 함량을 개선시키는 작용을 하였으나, 항산화효소 활성에는 영향을 미치지 않는 수준이었다. 식이섭취의 영향은 생애주기, 생리적 조건, 영양상태 등에 따라 차이가 있으므로, 이를 감안하여 대상별에 따른 일상적인 식이에서 청국장의 섭취량이나 녹차청국장에서 녹차 첨가수준을 고려한 연구가 추후에 이루어져야 할 것으로 보여진다.

요약 및 결론

고콜레스테롤 식이를 섭취한 성장기 수컷 쥐에서 청국장과 녹차청국장이 혈중 지질농도와 간 지질 함량 및 간 조직 항산화효소인 SOD, GSH-Px 및 CAT 활성에 미치는 영향을 분석하였다. 실험식이는 대조군, 청국장군, 녹차청국장군 세 군으로 나누어 9주간 1% cholesterol 식이를 기본으로 청국장식이를 공급한 후 혈중 및 간 지질, 과산화지질 함량, 항산화효소 활성을 분석한 실험결과는 다음과 같다. 체중증가량과 식이효율은 청국장군과 녹차청국장군 모두 대조군보다 유의적으로 낮았으나, 청국장 종류에 따른 차이는 없었다. 혈중 총 콜레스테롤농도는 청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮았고, 혈중 중성지방농도와 동맥경화지수는 청국장군과 녹차청국장군 모두 대조군보다 유의적으로 낮았다. 혈중 HDL-콜레스테롤농도는 청국장군과 녹차청국장군이 대조군보다 유의적으로 높았다. 간의 중성지방함량은 실험식이에 따른 유의적인 차이가 없었고, 간의 총 콜레스테롤함량은 녹차청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮았다. 간조직의 MDA함량은 청국장군과 녹차청국장군이 대조군보다 유의적으로 낮았으나, 간조직의 SOD, GSH-Px 및 CAT 활성은 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다.

결론적으로 고콜레스테롤 식이를 섭취한 성장기 쥐에서 청국장은 혈중 총콜레스테롤 농도를, 녹차청국장은 간의 총콜레스테롤함량을 유의적으로 감소시켰고, 청국장과 녹차청국장 각각은 간 조직의 과산화지질 함량을 감소시켰으나, 청국장 종류에 따른 차이는 없었으며, 항산화효소 활성은 청국장과 녹차청국장 섭취에 따른 유의적인 영향이 없는 것으로 나타났다. 본 연구에서 고콜레스테롤 식이를 섭취한 성장기 쥐를 대상으로 청국장과 녹차청국장의 섭취는 혈중 지질 profile과 간조직의 총콜레스테롤 및 과산화지질 함량을 낮추는 작용을 하였으나, 항산화효소 활성에는 영향을 미치지 않는 수준이었으므로 추후연구에서 청국장의 섭취량이나 녹차청국장에 녹차 첨가수준을 고려한 연구가 필요한 것으로 생각되어진다.

감사의 글

본 연구에 녹차를 지원해 주신 ㈜아모레퍼시픽 기술연구원에 감사드립니다.

REFERENCES

Aebi H (1974) Catalase in Method of Enzymatic Analysis. Bergmeyer HU, 2nd ed. Academic Press, New York. p 673-684.

Babu PV, Liu D (2008) Green tea catechins and cardiovascular health: an update. *Curr Med Chem* 15: 1840-1850.

Byun MW, Son JH, Yook HS, Jo C, Kim DH (2002) Effect of gamma irradiation on the physiological activity of Korean soybean, fermented foods, *Chungkookjang* and *Doenjang*. *Radiat Phys Chem* 64: 245-248.

Choi MA (2009) Effects of *cheonggukjang* added *Phellinus linteus* myceria on lipid metalbolism in adult female rats. *J Life Sci* 19: 1679-1683.

Choi YS, Lee SY (1992) Serum cholesterol and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 580-593.

Choi YB, Sohn HS (1998) Isoflavone content in Korean fermented and unfermented soybean foods. *Korean J Food Sci Technol* 30: 745-750.

Fang YZ, Yang S, Wu G (2002) Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutr* 18: 872-879.

Folch J, Lees M, Sloanestanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 226: 497-509.

Friedewald WT, Levy RI, Fredricson DS (1972) Estimation of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499- 502.

Goodman GD, Kritz SD (2001) Usual dietary isoflavone intake is associated with cardiocascular disease risk factors in postmenopausal women. *J Nutr* 131: 1202-1206.

Heo S, Lee SK, Joo HK (1998) Isolation and identification of fibrinolytic bacteria from Korean traditional *Chungkookjang*. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 41: 119-124.

Hertog MG, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, Jansen A, Menotti A, Nedelijkovic S, Pekkarinen M, Simic BS, Toshoma H, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan M (1995) Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Intern Med* 155: 381-386.

Hutchins AM, Slavin JL, Lampe JW (1995) Urinary isoflavonoid phytoestrogen and lignan excretion after consumption of fermented and unfermented soy products. *J Am diet Assoc* 95: 545-551.

Ioku K, Pongpiriyadacha Y, Konishi Y, Takei Y, Nakatani N, Terao J (1998) Beta-glucosidase activity in the rat small intestine toward quercetin monoglucosides. *Biosci Biotechnol Biochem* 62: 1428-1431.

Iwai K, Nakaya N, Kawasaki Y, Matsue H (2002) Antioxidative fenctions of natto, a kind of fermented soybeans: Effect on LDL oxidation and lipid metabolism in cholesterol-fet rats. *J Agric Food Chem* 50: 3597-3601.

Jang YS, Jeong JM (2011) Anti-obesity effects of black bean *chungkugjang* extract in 3T3-L1 adipocytes and obese mice induced by high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40 : 1235-1243.

Jeong TS, Kim JH, An SA, Won YD, Lee SH (2013) Effect of black garlic on antioxidant activity and amino acids composition in *cheonggukjang*. *Korean J Food Preserv* 20: 643-649.

Jung SH (2005) The effects of *chungkookjang* and *chungkookjang* biopolymer on lipid and bone metabolism in rats. *Ph. D Dissertation* Keimyung University. Daegu. pp 29, 33.

Khan N, Mukhtar H (2013) Tea and health: Studies in humans. *Curr Pharm Des* 19: 6141-6147.

Kim SH, Jung SH, Kim IH, Lee YS, Lee JM, Kim JG, Lee MC, Choi MJ, Kim DJ (2008) The effects of *chungkookjang* biopolymer on blood glucose and serum lipid lowering in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 35-41.

Kim JI, Kang MJ, Kwon TW (2003) Antidiabetic effect of soybean and *chongkukjang*. *Korea Soybean Digest* 20: 44-52.

Kim AR, Lee JJ, Chang HC, Lee MY (2009) Antioxidative effects of *chungkukjang* fermented using *Bacillus subtilis* DJI in rats fed a high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1699-1706.

Koh JB (2006a) Effects of *cheonggukjang* on lipid metabolism in hyperlipidemic female rats. *Korean J Nutr* 39: 331-337.

Koh JB (2006b) Effects of *cheonggukjang* added *Phellinus linteus* on lipid metabolism in hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 410-415.

Lee YL, Kim SH, Choung NH, Yim MH (1992) A study on the production of viscous substance during *Chungkookjang* fermentation. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 35: 202-209.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Fan AL, Randall RG (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.

Martin JP, Dailey M, Sugarman E (1987) Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys* 255: 329-336.

Min KO, Kim SH, Lee HK, Kim HY (2005) Effect of *chongkukjang* intake on body weight gain and body composition in high fat diet-induced obese rats. *Bull Nat Sci* 10: 93-102.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979) Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.

Paglia DE, Valentine WN (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169.

Park HY, Cho EJ (2008) Radical scavenging effects and physicochemical properties of *seolitae chungkukjang* added with green tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 401-404.

Park JH, Ha AW, Cho JS (2005a) Effects of green tea-soybean paste on weights and serum lipid profiles in rats fed high fat diet. *Korean J Food Sci Technol* 37: 806-811.

Park E, Shin JI, Park OJ, Kang MH (2005b) Soy isoflavone supplementation alleviates oxidative stress and improves systolic blood pressure in male spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 51: 254-259.

Ping SP, Shih SC, Rong CT, King WQ (2012) Effect of isoflavone aglycone content and antioxidation activity in natto by various cultures of *Bacillus subtilis* during the fermentation period. *Nutrition & Food Science* 2: 153-158.

Raederstorff DG, Schlachter MF, Elste V, Weber P (2003) Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. *J Nutr Biochem* 14: 326-332.

Tsai AC, Thie GM, Lin CR (1997) Effect of cholesterol feeding on tissue peroxidation, glutathione peroxidase activity and liver microsomal function in rats and guinea pigs. *J Nutr* 107: 310-319.

Yang JL, Lee SH, Song YS (2003) Improving effect of powders of cooked soybean and *Chongkukjang* on blood pressure and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 899-905.

Date Received Mar. 9, 2015
Date Revised Apr. 14, 2015
Date Accepted Apr. 15, 2015