

콩 이소플라본 첨가 아이스크림이 제2형 당뇨병모델 마우스의 당뇨 지표에 미치는 영향[†]

Effects of ice creams supplemented with soy isoflavones on diabetic biomarkers in type II model mice

양선희 · 최영선*
대구대학교 식품영양학과

Yang, Sun-Hee · Choi, Young-Sun*
Department of Food and Nutrition, Daegu University

Abstract

The aim of this study was to determine whether the addition of soy isoflavones to dairy ice cream modifies diabetic biomarkers in the type 2 diabetic model mice. Forty male C57BL/6J-ob/ob mice were randomly divided into 4 groups and fed control diet (basal, 7% fat), MS diet (milk ice cream with sugar, 20% fat), MS-SI diet (MS ice cream with 0.01% soy isoflavones, 20% fat), or MF-SI diet (milk ice cream with 0.01% soy isoflavones, 5% fructooligosaccharide, 20% fat) for 12 weeks. Blood response area by glucose tolerance test, plasma levels of glucose, insulin, C-peptide, leptin, and blood HbA_{1c} were not significantly different among all the groups. Concentrations of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α secreted from splenocytes induced by Concanavalin A were not significantly different among all the groups. In conclusion, soy isoflavones supplemented to ice cream did not alter diabetic biomarkers in diabetic type 2 model mice.

Key words: soy isoflavones, ice cream, fructooligosaccharide, diabetes

I. 서 론

1. 연구의 필요성

급속한 산업화와 경제적 수준의 향상으로 인하여 생활의 윤택함과 더불어 식생활을 비롯한 생활양식이 서구화되면서 영양과잉, 스트레스, 운동부족, 흡연 및 음주 등의

원인으로 비만, 당뇨병, 고혈압, 관상동맥질환 등의 퇴행성 질환의 발병률이 증가하는 추세에 있다(WHO, 2003). 우리나라에서 당뇨병의 발병률은 급속히 증가하여 국민 보건 및 사회적 문제로까지 대두되고 있는 상황이다(Kim & Choi, 2009). 당뇨병으로 인한 사망률도 90년대 이후부터 해마다 증가하여 2012년 우리나라 전체 사망 순위 5위를 차지하고 있으며, 사망률은 인구 10만 명당 23.0명

[†] 이 논문은 2011학년도 대구대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

* Corresponding author: Choi Young-Sun

Tel: 053-850-6833, Fax: 053-850-6839

E-mail: yschoi@daegu.ac.kr

(Statistics Korea, 2013)으로 높다. 제2형 당뇨병의 경우 체중을 적절한 수준으로 조절하는 것이 당뇨병 관련 위험을 줄이는데 매우 중요하며, 이를 위해서는 체내 에너지 균형을 조절해야 하므로(Korean Dietetic Association, 2008), 당뇨병환자의 경우 식품 선택과 섭취량에 상당한 제한이 있다. 아이스크림은 당뇨병환자에게 권장되지 않는 식품에 해당하나(Kim, 2005), 아이스크림은 계절에 상관없이 많은 사람들이 즐기는 기호식품으로 혈당 관리에 보다 적합한 제품이 개발된다면 당뇨병환자들의 식품 선택에 기여할 수 있다.

아이스크림은 축산물의 가공기준 및 성분규격에 근거하여 유지지방분 6% 이상, 유고형분 16% 이상을 함유해야 한다. 아이스크림의 재료로 사용되는 유크림(whipping cream)은 원유 또는 우유류에서 분리한 유지지방분으로 유지지방분 30% 이상이며, 유지지방을 구성하는 지방산은 2/3 가량이 포화지방산이다. 아이스크림은 유지지방과 설탕을 주재료로서 제조되기 때문에 혈당이나 혈청지질 조절에 바람직하지 않다. 그럼에도 아이스크림을 섭취할 경우 당질 함량을 낮추기 위해 설탕 대신에 xylitol, sorbitol 또는 올리고당 등의 대체감미료들을 이용한 제조법들이 제시되기도 한다(Koo & Lee, 2000). 올리고당은 기능성 당류로서 혈당, 혈중 중성지방과 cholesterol 및 조직 내 지질과산화물을 감소시키고 혈액과 조직의 항산화 효소 활성을 증가시키는 효과를 나타낸다고 보고되었다(Delzenne *et al.*, 1993; Kim *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2003). 그 외에도 빵알 아이스크림(Kim *et al.*, 1999), 젓산발효균 아이스크림(Ko & Kim, 2000), 연잎과 연자육 아이스크림(Hwang *et al.*, 2012) 등 다양한 종류의 아이스크림 개발이 보고되었다.

아이스크림 재료인 탈지분유를 분리대두단백(soy protein isolate)으로 대체하여 분리대두단백 첨가 아이스크림을 개발하는 시도가 있었다(Akesowan, 2009; Dervisoglu *et al.*, 2005; Friedeck *et al.*, 2003). 또 아이스크림의 주원료인 우유, 유단백질, 유지지방을 분리대두단백과 대두유로 대체하고 설탕 대신에 xylitol을 사용하거나(Koo & Lee, 2000), 탄산칼슘 첨가로 칼슘이 강화된 콩 아이스크림 개발 보고가 있다(Kim & Lee 2003). Her *et al.*(2005a)은 볶은 콩가루를 사용하여 올리고당 첨가 콩 아이스크림을 제조하였으며, Park *et al.*(2008)은 콩가루를 발효시킨 베이스를 사용하여 콩 아이스크림을 개발하였다. 콩 아이스크림은 제1형 당뇨병에서 당뇨병지표를 개선하였으며(Her *et al.*, 2005a; Her *et al.*, 2005b), 20대 여성들을 대상으로 경구 혈당반응 결과 우유 아이스크림에 비해 혈당 증

가 억제 효과를 나타내었다(Park *et al.*, 2008).

각종 기능성 식품 중 콩은 양질의 식물성 단백질 식품으로 식이섬유, 올리고당, 무기질 등의 우수한 영양성분과 식물성 에스트로겐(phytoestrogens), 특히 이소플라본(isoflavones) 등의 다양한 생리활성을 가진 기능성물질들을 함유하고 있다(Anderson *et al.*, 1999). 그 중에서 콩 이소플라본은 *in vitro*에서 α -glucosidase 활성을 억제함으로써 항당뇨 특성을 나타냈다(Lee & Lee, 2001). 콩 이소플라본의 하나인 genistein은 식이섭취량 감소, 체중증가 감소, 지방량 감소 효과를 보이며, 염증상태를 개선함으로써 leptin 합성과 분비 억제 등을 통해 leptin resistance를 개선하는 기전에 의해 비만과 당뇨 치료에 효과적이라 보고되었다(Behloul & Wu, 2013). 제2형 당뇨병을 가진 폐경 여성을 대상으로 한 임상실험에서는 12주간 고용량 이소플라본(132 mg/day)과 콩 단백질(30 g/day)을 매일 섭취시킨 결과 인슐린 저항성 감소, 혈당 조절 향상, LDL-cholesterol 감소 등이 있었다(Jayagopal *et al.*, 2002). 반면에 콩 이소플라본이 HDL-cholesterol, 혈당, HbA_{1c} 등에 영향을 미치지 않았다는 보고(Hermansen *et al.*, 2001)도 있어 콩 이소플라본의 항당뇨 효과는 아직 확실하지 않다.

본 연구에서 측정하고자 하는 당뇨 지표 항목들은 혈당 조절 관련 지표인 당부하 혈당반응, 공복 혈당, 당화헤모글로빈, 인슐린과 C-peptide 농도, 비만과 관련성이 높은 렙틴과 중성지방 농도, 세포매개 면역능을 측정하기 위해 mitogen인 Concanavalin A에 의해 활성화된 비장세포 증식능과 사이토카인 분비능이다. 본 연구는 고지방식이에 의해 경중 정도의 비만과 당뇨가 유발되는 제2형 당뇨 모델인 C57BL/6J-ob/ob 마우스에서 콩 이소플라본 단독 또는 콩 이소플라본과 올리고당을 첨가한 아이스크림이 당뇨지표에 미치는 영향을 조사함으로써 콩 이소플라본 첨가 아이스크림의 항당뇨 효능을 평가하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 콩 이소플라본 첨가 아이스크림 제조

콩 이소플라본은 신동방 소이플라제품(Shindongbang Co., Seoul, Korea), 프럭토올리고당(fructooligosaccharide: FOS)은 CJ제품(Incheon, Korea), 원유(ESL, Gyeongsan,

Korea), 대두유는 CJ제품(Incheon, Korea), whipping cream은 남양유업제품(Cheonan, Korea)을 사용하였다. 안정제인 젤라틴은 산미산업(Ansan, Korea), 유화제인 SP는 롯데푸드(Yangsan, Korea)제품을 이용하였다. 아이스크림의 제조방법은 Her *et al.*(2005a)의 방법과 일반 아이스크림 제조방법에 준하였으며, 기본재료 성분은 <Table 1>과 같다.

2. 실험식이와 동물사육

Control 식이는 7%(지방에너지 비율 16%) 지방, 아이스크림식이(MS, MS-SI, MF-SI)는 약 20% 지방(지방에너지 비율 약 40%)를 포함하도록 조제하였다. 아이스크림 식이는 동결 건조한 아이스크림을 AIN-93G 기본 식이(Reeves *et al.*, 1993)에 30% 수준으로 첨가하여 pellet 형태로 만든 후 동결건조 하였다 <Table 2>.

실험식이의 탄수화물, 지방, 단백질 함량과 탄수화물, 지방, 단백질의 에너지 비율은 재료의 성분함량과 식품 성분표(National Academy of Agricultural Science,

2011) 자료에 근거하여 환산하였다. 아이스크림의 sugar 함량은 MS 14.0%, MS-SI 13.94%, MF-SI는 sugar가 6.36%, 프럭토올리고당이 7.7%로 합하면 14.06%로 유사한 수준이다. MF-SI 아이스크림식이 에너지밀도 계산에 프럭토올리고당은 g당 2.27 kcal(Molis *et al.*, 1996)를 적용하였다.

5주령 된 C57BL/6J-ob/ob 수컷 40마리(Central Lab Inc., Seoul, Korea)를 구입하여 1주일간 고품사료 (Samyang Feed Co., Gangwon, Korea)로 적응시킨 후 난괴법에 따라 군별 10마리를 배정하였다. 실험동물은 플라스틱 cage에 한 마리씩 나누어 사육하였고, 실험식이와 물은 자유롭게 12주간 공급하였으며, 사육실 온도는 22± 2°C, 습도는 55±5%로 유지하였다. 실험동물 사육의 전 과정은 대구대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 수행하였다.

3. 혈액 및 장기 채취

실험동물을 희생 전 14시간 절식시킨 후, 안와정맥을 통해 혈액을 채취하고, 비장은 무균적으로 적출하였다. 채

<Table 1> Ingredients of ice cream

(%)

Ingredients	Ice cream ¹⁾		
	MS	MS-SI	MF-SI
Milk	42.0	42.0	42.0
Sugar	14.0	13.94	-
FOS ²⁾	-	-	18.7(7.7)
Water	9.8	9.8	5.1
Whipping cream ³⁾	33.3	33.3	33.3
Soy isoflavones ⁴⁾	-	0.057	0.057
Gelatin	0.6	0.6	0.6
Emulsifier	0.3	0.3	0.3
Total	100.0	100.0	100.0

¹⁾ MS: Milk ice cream with sugar

MS-SI: Milk ice cream with sugar and soy isoflavones

MF-SI: Milk ice cream with fructooligosaccharide and soy isoflavones

²⁾ Fructooligosaccharide syrup composed of fructooligosaccharide 41%, water 25%, and the rest of it, glucose and sucrose. Actual amount of fructooligosaccharide is in parenthesis.

³⁾ Liquid composed of milk fat 40.0%, water 54.5%, and protein 2%

⁴⁾ The amount of soy isoflavones product (20.23% content based on aglycones) added to each diet

(Table 2) Composition of experimental diets

Diet ¹⁾ Ingredients	(g/kg diet)			
	Control	MS	MS-SI	MF-SI
Casein	200	140	140	140
Corn starch	529.5	340.85	340.87	340.67
Sucrose	100	70	70	70
Soybean oil	70	49	49	49
Lard	-	29.8	29.78	29.98
AIN mineral mix	35	24.5	24.5	24.5
AIN vitamin mix	10	7	7	7
Fiber	50	35	35	35
L-Cystine	3	2.1	2.1	2.1
Choline bitartrate	2.5	1.75	1.75	1.75
Ice cream (freeze-dried) ²⁾	-	300	300	300
Carbohydrate	629.5	549.2	549.1	549.5 ³⁾
Fat	70	205.1 ⁴⁾	205.1 ⁴⁾	205.1 ⁴⁾
Protein	200	155.8	155.8	155.8
Energy density (kcal/g)	3.948	4.666	4.666	4.556
CHO:Fat:Protein energy ratio	63.8:16.0:20.3	47.8:39.6:13.4	47.8:39.6:13.4	45.8:40.5:13.7

¹⁾ Control: Basal diet

MS: Milk ice cream with sugar

MS-SI: Milk ice cream with sugar and soy isoflavones

MF-SI: Milk ice cream with fructooligosaccharide and soy isoflavones

²⁾ Each experimental diet contained the corresponding ice cream except the control diet

³⁾ The amount of fructooligosaccharide is 67.05 g, and its energy value is assumed 2.27 kcal/g.

⁴⁾ The amount of fat from milk and whipping cream is 126.3 g.

혈한 혈액 중 당화헤모글로빈(HbA_{1c}) 농도 측정에 필요한 50 μ L를 제외하고, 혈장을 분리하여 -70°C에 냉동 보관한 후 분석에 사용하였다.

4. 당뇨병 지표 분석

1) 경구 당부하 검사

실험식이 급여 4주째에 12시간 절식시킨 후 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 공복시 혈당 수준을 측정 후 50% glucose 용액을 존대 니들(Oral Zonde Needle, Daejong

Instrument Industry Co., Seoul, Korea)을 사용하여 1 g glucose/kg B.W.을 경구 투여하고 30분, 60분, 90분 및 120분에 꼬리 정맥으로부터 채혈하여 정맥혈의 혈당 농도 변화를 혈당측정기(Superglucocare II, Akaray, Japan)로 측정하였다. 혈당반응면적(blood glucose response area) 계산은 Wolever & Jenkins(1986)의 방법을 활용하여 실험식이 섭취 후 증가된 혈당반응면적을 계산하였다.

2) 혈액의 혈당대사 관련 성분 분석

혈장의 포도당 농도는 glucose oxidase의 반응을 이용

한 효소시약 kit(Asan Pharm Co., Seoul, Korea)를 사용하여 500 nm에서 분광광도계로 비색 정량하였고, 당화헤모글로빈 농도는 칼럼 크로마토그래피(BioSystem, Spain)를 이용하여 분광광도계 415 nm에서 증류수를 대조로 하여 HbA_{1c}와 Hb_{TOTAL}의 흡광도를 측정 후 당화헤모글로빈치를 산출하였다. 혈장의 인슐린 농도는 mouse insulin ELISA (TMB) kit(Shibayagi Co., Ltd. Gunma, Japan), 인슐린관련 기능성 지표인 C-peptide는 mouse C-peptide ELISA(U-type) kit(Shibayagi Co., Ltd. Gunma, Japan)를 이용하여 450 nm에서 ELISA reader(VICTOR³, Perkin Elmer Life and Analytical Science, Inc., Finland)로 측정하였다.

3) 혈장 렙틴과 중성지방 분석

혈장 렙틴 농도는 mouse leptin ELISA kit(R&D Systems, Minneapolis, USA)를 사용하여 측정하였다. Antibody-coated 96 well plate에 50 µL assay diluent를 첨가한 후 50 µL의 시료와 standard를 넣고 22°C에서 2시간 동안 반응시켰다. Plate를 wash buffer 400 µL로 5번 헹구어 낸 뒤 각 well에 100 µL의 conjugate를 넣고 22°C에서 2시간 동안 반응시켰다. 다시 wash buffer 400 µL로 5번 헹군 후 substrate solution을 100 µL 첨가하여 22°C에서 30분간 반응 시킨 후 100 µL의 stop solution을 넣고 1시간 이내에 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 측정하였다. 혈장 중성지방은 효소법에 의한 중성지방 측정용 시약 kit(Asan Pharm Co.)을 이용하여 측정하였다.

4) 비장세포 증식능과 cytokine 측정

비장을 지방을 제거한 다음 EMEM(Eagle's minimum essential media, Gibco, New York, USA)배지에 넣고 cell dissociation sieve를 이용하여 50 mesh screen에 통과시켜 debris를 제거하고 single cell dispersion을 만들었다. 그 후 즉시 멸균 tube에 옮겨 1,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 세포를 분리한 다음, 적혈구를 제거하기 위해 0.2% NaCl을 1 mL와 EMEM 9 mL를 첨가하여 2~3회 세척한 후 원심분리하여 비장세포를 모았다. 10% fetal bovine serum(Sigma, Saint Louis, USA)을 함유한 EMEM에 분산시켜 0.4% trypan blue(Gibco, New York, USA)로 세포 생존율을 확인하였고, 이 때 생존율은 96% 이상이었다. 비장세포는 5×10⁶ cells/mL 농도로 조정하여

96-well microtiter plate(Nunc, Roskilde, Denmark)에 한 well 당 100 µL씩 넣었다. Mitogen을 넣지 않은 EMEM과 ConA(Concanavalin A, Sigma, Saint Louis, USA, 10 µg/mL)를 함유한 EMEM을 각 well당 100 µL씩 첨가하여 37°C, 5%의 CO₂와 95%의 air 상태로 72시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 1,500 rpm에서 15분간 원심분리한 다음 상등액을 취하여 cytokine 측정을 위해 -70°C에서 냉동보관하였다. 살아있는 세포수는 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)법(Manthorpe *et al.*, 1986)으로 측정하였으며, 비장세포의 증식여부는 mitogen을 첨가하지 않은 세포의 흡광도에 대한 mitogen을 첨가한 세포의 흡광도 비, 즉 stimulation index로 비교하였다. 비장세포의 Interleukin-6 (IL-6)의 분비능은 mouse IL-6 ELISA Ready-SET-Go! kit(eBioscience, San Diego, USA), tumor necrosis factor-α(TNF-α)는 mouse TNF-α ELISA kit(Shibayagi Co., Ltd. Gunma, Japan)를 사용하여 450 nm에서 비색 정량하였다.

5. 통계처리

SPSS program package(Ver 18.0)를 이용하여 평균과 표준오차를 구하였으며, one way ANOVA(Analysis of variance)에 의해 p<0.05에서 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 구간 유의차를 검증하였다.

Ⅲ. 연구결과

1. 체중과 식이효율

<Table 3>은 실험동물의 체중증가량, 식이 섭취량 및 식이효율을 측정된 결과이다. 12주째 체중과 체중증가량은 콩 이소플라본 첨가 아이스크림(MS-SI)군과 콩 이소플라본/프럭토올리고당 첨가 아이스크림(MF-SI)군이 Control군에 비해 유의하게 높았으며 우유 아이스크림(MS)군도 높은 경향을 보였다. 식이섭취량은 아이스크림 식이군이 유의하게 낮았으며, 그 중 MF-SI군과 MS-SI군이 MS군에 비해 높았다. 식이효율은 아이스크림식이군이 대조군에 비해 유의하게 높았다.

(Table 3) Body weight gain, food intake, and food efficiency ratio of C57BL/6J- ob/ob mice fed ice cream supplemented with soy isoflavones

Group	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER
Control	19.82±0.31 ¹⁾	24.58±0.53 ^{b2)}	0.05±0.005 ^b	2.67±0.03 ^a	0.02±0.002 ^b
MS	20.02±0.23	26.20±0.50 ^{ab}	0.07±0.006 ^{ab}	2.29±0.03 ^c	0.03±0.002 ^a
MS-SI	20.34±0.17	28.70±0.65 ^a	0.09±0.008 ^a	2.45±0.04 ^b	0.04±0.003 ^a
MF-SI	20.25±0.27	27.88±1.51 ^a	0.09±0.015 ^a	2.50±0.09 ^b	0.03±0.004 ^a

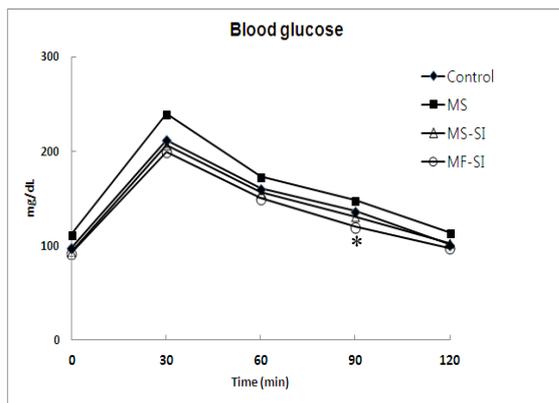
¹⁾ Values are mean±SEM for n=10.

²⁾ Values in the same column not sharing common superscript letters are significantly different at p<0.05.

2. 당뇨병 지표

1) 경구 당부하 혈당 변화

실험식이 급여 4주째에 14시간 절식 후 포도당(1 g/kg B.W.) 용액을 경구 투여하여 혈당변화를 측정된 결과는 <Figure 1>과 같다.



(Figure 1) Effect of ice cream supplemented with soy isoflavones on blood glucose levels by glucose tolerance test in C57BL/6J-ob/ob mice

Each Point is the mean of 10 mice.

Mean and standard error of blood glucose response area: Control; 6971±2430 mg·min/dL, MS;7043±992 mg·min/dL, MS-SI; 6707±558 mg·min/dL, and MF-SI; 6004±675 mg·min/dL (not significant among groups).

*The level of MF-SI group was significantly lower as compared to MS group

경구투여 30분 후에 모든 군들이 가장 높은 혈당치를 보였으나 군간 유의한 차이는 없었다. 90분대에서 MF-SI 군이 MS군에 비해 유의하게 낮은 혈당치를 나타내었다. 혈당반응면적은 전체적으로 MS군(7043±992 mg·min/dL)이 가장 높게 나타났고, 그 다음으로 대조군(6971±2430 mg·min/dL), MS-SI군(6707±558 mg·min/dL), MF-SI군(6004±675 mg·min/dL) 순이었으나 유의한 차이는 없었다.

2) 혈장 포도당, 당화헤모글로빈, 인슐린 및 C-peptide 농도

공복시 혈장 포도당, 당화헤모글로빈, 인슐린 및 C-peptide 농도 모두 군간 유의적인 차이를 보이지 않았다(<Table 4 참조>). 공복시 혈장 포도당 농도와 당화헤모글로빈은 유의하진 않지만 콩 이소플라본/프럭토올리고당 첨가 아이스크림식이군(MF-SI)이 다른 군에 비해 낮은 경향을 보였다. C-peptide는 아이스크림식이군이 대조군에 비해 낮은 경향을 보였다.

3) 혈장 렙틴과 중성지방 농도

혈장 렙틴은 <Figure 2>에서 보는 바와 같이 대조군은 10.12±1.93 ng/mL, MS군 12.46±2.20 ng/mL, MS-SI군 14.02±2.35 ng/mL, MF-SI군은 14.63±5.85 ng/mL로 군간 유의한 차이를 보이지 않았으나 대조군에 비해 아이스크림식이군에서 렙틴 농도가 높은 경향을 보였으며, 중성지방은 콩 이소플라본/프럭토올리고당 첨가 아이스크림군(MF-SI)에서 낮은 경향을 보였다.

<Table 4> Effect of ice cream supplemented with soy isoflavones on diabetic biomarkers in C57BL/6J-ob/ob mice

	Control	MS	MS-SI	MF-SI
Glucose (mg/dL)	108.38±5.86 ¹⁾	106.05±4.68	111.67±7.70	96.86±4.01
HbA _{1c} (%)	4.90±0.24	5.45±0.48	5.10±0.41	4.78±0.31
Insulin (ng/mL)	4.16±0.31	4.15±0.33	4.32±0.21	4.32±0.07
C-peptide (ng/mL)	1.37±0.229	0.97±0.180	1.17±0.265	1.04±0.156

¹⁾ Values are mean±SEM for n=10.

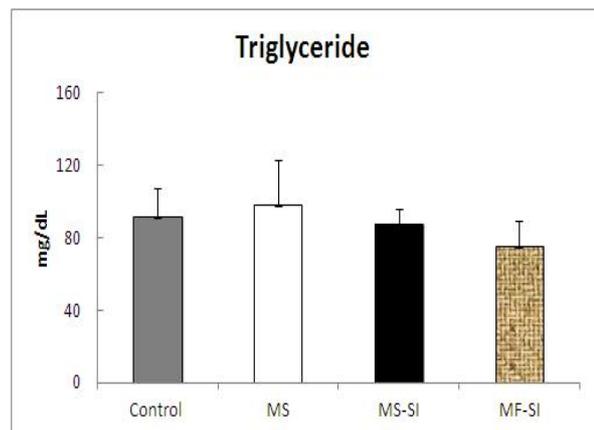
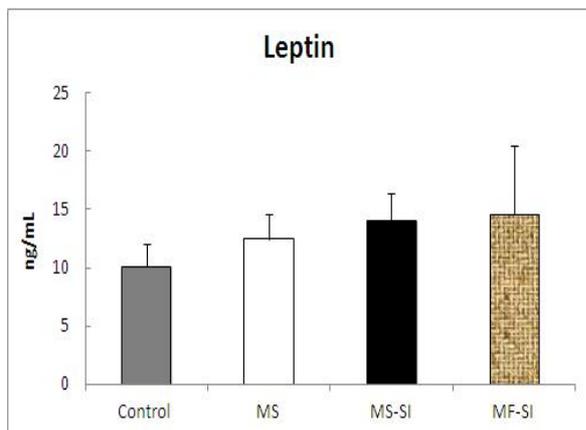
<Table 5> Proliferation of splenocytes of C57BL/6J-ob/ob mice and secreted levels of IL-6 and TNF- α secreted from splenocytes

Group	Stimulation index by Con A	IL-6		TNF- α	
		(ng/mL)			
Control	1.097±0.098 ¹⁾	0.802±0.182	1.21±0.22		
MS	1.049±0.066	0.923±0.209	1.59±0.38		
MS-SI	1.138±0.077	0.966±0.205	1.40±0.27		
MF-SI	1.076±0.059	0.918±0.242	1.21±0.27		

¹⁾ Values are mean±SEM for n=10.

4) 면역능

T cell의 증식을 자극하는 ConA에 대한 비장세포 증식능 결과는 군간 유의적인 차이를 보이지 않았다. ConA를 첨가하여 증식을 유도한 비장세포에서 분비된 IL-6과 TNF- α 의 수준은 <Table 5>와 같으며 군간 유의적인 차이를 보이지 않았다.



<Figure 2> Plasma concentrations of leptin and triglycerides in C57BL/6J-ob/ob mice fed ice cream supplemented with soy isoflavones

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

IV. 고찰

아이스크림은 원유, 유가공품을 원료로 하여 이에 다른 식품 또는 식품첨가물 등을 가한 후 냉동, 경화한 것으로 주재료가 유지방분 6% 이상, 유고형분 16% 이상의 조건을 충족해야 하며(축산물의 가공기준 및 성분규격) 감미 성분으로 설탕, 물엿, 포도당 등이 사용되므로 혈당을 높이기 쉬운 식품으로 알려져 있다. 흰빵 100을 기준으로 하여 측정된 일반(regular) 아이스크림의 glycemic index(GI)는 87로 GI가 상대적으로 매우 높은 식품에 속한다(Foster-Powell *et al.*, 2002). 따라서 혈당 조절이 매우 중요한 당뇨병자에게 아이스크림은 제한해야 할 식품으로 분류된다.

1998년 미국 FDA에서 대두단백질의 혈청 지질 개선 효과에 관한 건강강조표시(FDA, 2013)를 승인한 이래, 분리대두단백(soy protein isolate: SPI) 활용에 대한 관심이 높아졌으며, 아이스크림에도 분리대두단백을 첨가하려는 노력이 있었다(Akesowan, 2009; Dervisoglu *et al.*, 2005; Friedeck *et al.*, 2003). 연구자들은 아이스크림에 첨가된 분리대두단백의 함량이 증가할수록 우유아이스크림에 비해 화학적, 물리적, 관능적 특성이 나빠지는 것을 관찰하였다. 전반적으로 탈지방유의 50% 정도를 분리대두단백으로 대체할 경우(Akesowan, 2009), 그리고 아이스크림 formula의 1.5~3% 수준으로 첨가할 경우(Dervisoglu *et al.*, 2005)에 품질특성에 유의한 영향이 없다고 보고하였다. 그러나 분리대두단백 첨가 아이스크림의 경우 분리대두단백이 첨가되었을 뿐, 일반 아이스크림에 비해 우유, 유지방 등 다른 성분들의 함량에는 큰 차이가 없다.

항당뇨 기능성 아이스크림을 개발하기 위해서는 주재료인 우유, 유지방, 유단백을 콩으로 대체하거나 분리대두단백과 대두유로 대체하는 것이 바람직하다. Koo와 Lee(2000)는 우유 대신에 분리대두단백을 효소 처리하여 사용하고, 유지방 대신에 대두유를, 설탕 대신에 sorbitol 또는 xylitol을 대체한 대두 아이스크림 제조 방법을 제시하였다. 그러나 이 경우 분리대두단백을 효소처리한 가수분해물을 사용하였고, 실험군에 일반 아이스크림이 포함되지 않아 대두 아이스크림의 상대적인 품질특성을 비교하기 어렵다.

본 연구진은 붉은 노란콩과 검정콩 분말을 이용한 콩 아이스크림(Her *et al.*, 2005a) 및 대두분말 발효베이스를 이용한 콩 아이스크림(Park *et al.*, 2008)을 개발하여 항당

뇨 가능성을 시험한 결과, 제1형 당뇨병모델쥐에서 우유 아이스크림에 비해 혈당과 지질 개선 효능이 있었으며(Her *et al.*, 2005a), 장내 유익한 세균 증식과 산화스트레스 감소 효과를 관찰하였다(Her *et al.*, 2005b). 이처럼 콩 아이스크림이 혈당과 지질 개선 효과를 보이거나 그 효과가 콩이 가진 다양한 성분들의 복합적인 효과에 의한 것인지 알 수 없다. 콩 아이스크림이 가지는 관능 특성이 우유 아이스크림에 미치지 못하므로(Her *et al.*, 2005a) 비만과 당뇨 개선에 효과가 있는 것으로 알려진 콩 이소플라본을 우유 아이스크림에 첨가함으로써 관능 품질 문제의 영향 없이 항당뇨 가능성을 조사하고자 하였다. 대두는 식사에서 이소플라본의 주 공급원이며 생콩 kg 당 0.6~3.8 g의 이소플라본을 함유하고 있으며, 대두 이소플라본의 주 성분은 genistein, daidzein과 glycitein으로서 농도 비율은 1:1:0.2 수준이다(Behloul & Wu, 2013). 본 연구에서 아이스크림에 첨가한 콩 이소플라본은 식이 기준으로 kg 당 100 mg(우리나라 사람들의 식이 이소플라본 섭취량의 90 백분위수에 해당하는 양의 2배 수준)(Lee *et al.*, 2000)에 해당하는 수준이며 사람의 섭취량에 비교하면 이 수준은 콩 및 콩제품을 다량으로 섭취하는 경우에 해당한다.

저지방식이 섭취군인 대조군에 비해 고지방식이를 섭취한 아이스크림식이군들에서 체중증가량과 식이효율이 유의하게 높았으나 아이스크림식이군 간에는 유의한 차이를 보이지 않았다. McClain *et al.*(2006)의 연구에서는 흰쥐에 genistein 0, 5, 50 또는 500 mg/kg B.W./day을 13 주 또는 52주 동안 공급하였을 때 500 mg/kg B.W./day 공급받은 군에서는 식이 섭취량과 몸무게가 대조군에 비해 현저히 감소하였다고 보고하였는데, 본 연구에 사용한 이소플라본의 용량은 9.8 mg/kg B.W./day 수준으로 마우스의 체중증가와 식이섭취량 및 식이효율에 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다. Seo *et al.*(2011)은 제2형 당뇨병 마우스에서 kg 식이 당 37.5 mg genistein이 혈당을 낮추었다고 하였다. 제1형 당뇨병쥐에서 kg 체중 당 80 mg/day 콩 이소플라본(Hamden *et al.*, 2011)과 600 mg/day genistein(Lee, 2006)이 혈당 저하, 지질 개선 효능을 나타냈으며, 제2형 당뇨병마우스에서 식이 kg 당 250 mg의 genistein이 고혈당증을 개선했다(Fu *et al.*, 2012). 이상의 연구에서 사용된 이소플라본 용량과 비교하면 본 연구에서 사용된 이소플라본의 용량은 매우 낮은 수준이며 genistein 기준으로 식이 kg 당 10.9 mg에 해당한다.

Wagner *et al.*(2008)의 연구에서 원숭이를 대상으로 고용량(사람으로 환산하여 1일 150 mg 섭취 수준)의 이소

플라본 함유 대두단백질이 인슐린저항성을 높이고 혈장 adiponectin을 감소시킨 반면에 이소플라본이 제거된 대두단백질은 체중 감소 효과를 보였으며, 혈장 adiponectin에 영향을 미치지 않아 고용량 이소플라본이 인슐린과 포도당 대사에 오히려 유해할 가능성이 있다고 보고하였다. 한편, Gonzalez *et al.*(2007)은 제2형 당뇨병환자를 대상으로 심혈관질환 위험인자에 관한 중재실험 연구에서 1일 이소플라본 132 mg의 보충효과가 없다고 보고하였다.

대사경로와 면역경로는 밀접하게 연결되고 상호의존적이며, 대사계와 면역계는 서로를 조절한다. 제2형 당뇨병은 비만과 밀접하게 연관된 염증성 질환으로 본다. 비만할 경우 TNF- α , IL-6, leptin이 증가하고 이들은 인슐린저항성을 초래하거나 면역작용에 영향을 미치며 당뇨를 유발하는 원인으로 작용한다(Wellen & Hotamisligil, 2005). 제2형 당뇨병의 주된 비정상적 생리 특성은 인슐린저항성과 인슐린분비 장애이다. 제2형 당뇨병의 발생 전에 잠재적인 염증성 반응이 먼저 일어나며 IL-6은 당뇨병의 위험을 증가시키는 급성기 단백질 합성을 촉진하고 TNF- α 는 염증성 반응의 중추적인 매개자 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Spranger *et al.*, 2003). 당뇨병환자에서 IL-6, TNF- α 농도가 정상인에 비해 높으며, 제2형 당뇨병환자의 혈액을 mitogen인 lipopolysaccharide의 자극 하에 배양한 결과 IL-6와 TNF- α 농도가 증가하는 것을 관찰하였다(Pickup *et al.*, 2000). 그러나 본 연구에서 12주간의 실험식이 후 공복시 혈장 포도당, 인슐린, C-peptide, 렙틴, 중성지방 농도 등, 모든 당뇨 지표들에 있어서 군간 유의적인 차이가 없었다. 또한 비장 T 세포에서의 염증 지표인 IL-6과 TNF- α 분비량도 군간 유의한 차이를 보이지 않았다.

본 연구에서 우유 아이스크림에 콩 이소플라본을 첨가하여 아이스크림을 제조하였으므로 식이 중 대두에 함유된 단백질, 식이섬유, 피니톨, phytic acid(Kim, 2006), 올리고당(Kim *et al.*, 2003)과 같은 다른 생리활성 물질은 함유되어있지 않다. Zimmermann *et al.*(2012)은 당뇨병모델 db/db 마우스에서 대두의 다량 섭취는 췌장 β 세포 소실을 억제하고 포도당 부하에 따른 인슐린 분비를 증가시켰으나, 이러한 효과는 콩 이소플라본과는 관련성이 없다고 보고하였다. 선행연구에서 관찰된 콩 아이스크림의 혈당 강하 및 지질 개선 효과는 콩 단백질을 포함한 다양한 생리활성물질을 함유한 콩 자체에 의한 효과일 가능성이 크다고 본다.

본 연구에서 사용된 C57BL/6J-ob/ob mice는 고지방식

이에 의해 비만과 제2형 당뇨병이 유도되는 모델로서 경증 정도의 비만, 고혈당증과 고인슐린혈증을 나타내게 하는데 있어 고지방식이의 기준이 60 kcal% fat diet이며 대조식이 10 kcal% fat diet이다(The Jackson Laboratory, 2014). 이러한 조건에서 사육할 경우 16주 동안의 실험식이 후 고지방식이군은 대조군에 비해 공복혈당이 46.6% 증가하였다(Surwit *et al.*, 1988). 본 연구에서 적용한 고지방식은 지방에너지 40%, 대조식은 15% 수준으로 좀 더 현실적인 식이 조성으로 판단되나, 이 것이 실험동물들이 당뇨병 유발 상태에 이르지 못하게 한 원인으로 작용하고, 그 결과 당뇨 지표들이 실험식이에 민감하게 반응하지 못한 것이 아닌가 추측된다.

결론적으로 콩 아이스크림과 같은 기능성 식품은 공복 혈당장애 혹은 내당능장애와 같은 경한 혈당수준을 나타내는 당뇨병환자의 혈당 개선에는 유의할 수 있을 것으로 본다. 그러나 생리활성을 가진 특정 성분 한 두가지를 첨가한 식품 섭취로 인해 혈당 개선 효과를 기대하기 어려우며, 특히 유지방이 다량 함유된 아이스크림으로 항당뇨 효과를 얻기 어려울 것으로 사료된다. 따라서 콩 아이스크림의 관능 및 품질 특성을 높이는 방향으로 기능성 아이스크림을 개발하는 것이 더 바람직하다고 사료된다. 예를 들어 삶은 콩을 분말화한 후 유산균 종균을 배양시켜 대두분말 발효 베이스를 만든 다음 올리고당을 첨가하여 제조한 저열량 콩 아이스크림(Park *et al.*, 2008)이 당뇨병환자를 위한 기능성 아이스크림으로 적합한 제품이 될 수 있다.

V. 요약

고지방식에 의해 경증 정도의 비만과 당뇨가 유발되는 제2형 당뇨병동물 모델인 C57BL/6J-ob/ob 마우스에서 콩 이소플라본 단독 또는 콩 이소플라본과 올리고당을 첨가한 우유 아이스크림이 당뇨지표에 미치는 영향을 조사함으로써 콩 이소플라본 첨가 아이스크림의 항당뇨 효능을 조사하였다. 5주령 된 C57BL/6J-ob/ob 수컷 마우스를 1주일간 적응시킨 후 대조군과 설탕 첨가 아이스크림(MS), 콩 이소플라본 첨가 아이스크림(MS-SI), 콩 이소플라본/프럭토올리고당 첨가 아이스크림(MF-SI)을 대조식에 30% 첨가하여 12주 동안 자유롭게 섭취시켰다. 희생 후 당뇨 지표에 해당하는 경구 당부하 혈당 반응, 공복 혈당, 인슐린, C-peptide, HbA_{1c} 및 렙틴 농도와 중성지

방, 그리고 비장세포 증식능과 비장세포에서 분비되는 사이토카인인 IL-6과 TNF- α 에 미치는 효과를 측정된 결과 군간 유의한 차이를 보이지 않았다. 결론적으로 제2형 당뇨병모델 마우스에서 우유 아이스크림에 첨가된 콩 이소플라본이 당뇨 지표에 긍정적인 효과를 나타내지 않았다.

주제어: 콩 이소플라본, 아이스크림, 프럭토올리고당, 당뇨병

REFERENCES

- Akesowan, A. (2009). Influence of soy protein isolate on physical and sensory properties of ice cream. *J Agricultural Science*, 42(1), 1-6.
- Anderson, J. W., Smith, B. M., & Washnock, C. S. (1999). Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. *Am J Clin Nutr*, 70(suppl), 464S-474S.
- Behloul, N. & Wu G. (2013). Genistein: A promising therapeutic agent for obesity and diabetes treatment. *European J Pharmacol*, 698, 31-38.
- Delzenne, N., M. Kor, N., Fiordaliso, M., F. Deboysier, D. M., Goethals, F. M., & Roberfroid, M. B. (1993). Dietary fructooligosaccharides modify lipid metabolism in rats. *Am J Clin Nutr*, 57, 820.
- Dervisoglu, M., Yazici, F., & Aydemir, O. (2005). The effect of soy protein concentrate addition on the physical, chemical, and sensory properties of strawberry flavored ice cream. *Eur Food Res Technol*, 221, 446-470.
- FDA. (2013). *Health claims: Soy protein and risk of coronary heart disease. Code of Federal Regulations Title 21, Pt 101.82*, Washington, D. C.: Food and Drug Administration.
- Foster-Powell, K., Holt, S. H. A., & Brand-Miller, J. C. (2002). International table of glycemic index and glycemic load values. *Am J Clin Nutr*, 76, 55-56.
- Friedeck, K. G., Karagul-Yuceer, Y., & Drake, M. A. (2003). Soy protein fortification of a low-fat dairy-based ice cream. *J Food Science*, 68, 2651-2657.
- Fu, Z., Gilbert, E. R., Pfeiffer, L., Zhang, Y., Fu, Y., & Liu D. (2012). Genistein ameliorates hyperglycemia in a mouse model of nongenetic type 2 diabetes. *Appl Physiol Nutr Metab*, 37, 480-488.
- Gonzalez, S., Jayagopal, V., Kilpatrick, E. S., Chapman, T., & Atkin, S. L. (2007). Effects of isoflavone dietary supplementation on cardiovascular risk factors in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 30(7), 1871-1873.
- Hamden, K., Jaouadi, B., Carreau, S., Aouidet, A., & Elfeki, A. (2011). Therapeutic effects of soy isoflavones on α -amylase activity, insulin deficiency, liver-kidney function and metabolic disorders in diabetic rats. *Natural Product Research*, 25(3), 244-255.
- Her, B. Y., Sung, H. Y. & Choi, Y. S. (2005a). 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(8), 663-671.
- Her, B. Y., Sung, H. Y., & Choi, Y. S. (2005b). Effects of oligosaccharide-supplemented soy ice cream on oxidative stress and fecal microflora in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 34(10), 1536-1544.
- Hermansen, K., Søndergaard, M., Høie, L., Carstensen, M., Brock, B. (2001). Beneficial effects of a soy-based dietary supplement on lipid levels and cardiovascular risk markers in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care*, 24(2), 228-233.
- Hwang, E., Jung, S. Y., & Jung D. M. (2012). Development of ice cream prepared Lotus(Nelumbo nucifera Gaertner) leaf and seeds. *Korean J Human Ecology*, 21(2), 377-388.
- Jayagopal, V., Albertazzi, P., Kilpatrick, E. S., Howarth, E. M., Jennings, P. E., Hepburn, D. A., & Atkin, S. L. (2002). Beneficial effects of soy phytoestrogen intake in postmenopausal women

- with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 25, 1709-1714.
- Kim, H. B., Choung, W. Y., & Ryu, K. S. (1999). Sensory characteristics and blood glucose lowering effect of ice-cream containing mulberry leaf powder. *Korean J Seric Sci*, 41(3), 129-134.
- Kim, H. Y., Kim, M. H., Kim, J. Y., Kim, W. K., & Kim, S. H. (2003). Soybean oligosaccharide reduces oxidative stress in streptozotocin-injected rats. *Korean J Nutr*, 6(2), 67-72.
- Kim, I. J. (2005). Seasonal lifestyle management of diabetic patients. Clinical Med, April 2005. from: <http://www.Zonedoctor.co.kr>.
- Kim, J. Y. & Lee, S. Y. (2003). Quality characteristics of soy ice cream as affected by enzyme hydrolysis times and added calciums. *Korean J Soc Food Cookery Sci*, 19(2), 216-222.
- Kim, M. H., Kim, H. Y., Kim, W. K., Kim, J. Y., & Kim, S. H. (2001). Effects of soyoligosaccharides on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin- induced diabetic rats. *Korean J Nutr*, 34(1), 3-13.
- Kim S. G. & Choi, D. S. (2009). Epidemiology and current status of diabetes in Korea. *Hanyang Medical Reviews*, 29(2), 122-129.
- Kim, S. O. (2006). Research and industrial trend of the functional components of soybean. *Food Sci Ind*, 39(1), 2-10.
- Ko, Y. T. & Kim, T. E. (2000). Development of ice cream prepared from lactic fermented egg white food added with cream. *Korean J Food Sci Technol*, 32(5), 1173-1178.
- Koo, S. H. & Lee, S. Y. (2000). Influence of sugar alcohol and enzyme treatment on the quality characteristics of soy ice cream. *Korean J Soc Food Sci*, 16(2), 151-159.
- Korean Dietetic Association. (2008). *Manual of medical nutrition therapy* (3rd ed.). pp. 212-246, Seoul.
- Lee, D. S. & Lee, S. H. (2001). Genistein, a soy isoflavone, is a potent α -glucosidase inhibitor. *FEBS Letters*, 501(1), 84-86.
- Lee, J. S. (2006). Effects of soy protein and genistein on blood glucose, antioxidant enzyme activities, and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci*, 79, 1578-1584.
- Lee, S. K., Lee, M. J., Yoon, S., & Kwon, D. J. (2000). Estimated isoflavone intake from soy products in Korean middle-aged women. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 29(5), 948-956.
- Manthorpe, M., Fagnani, R., Skaper, S. D., & Varon, S. (1986). An automated colorimetric microassay for neurotrophic factors. *Developmental Brain Research*, 25(2), 191-198.
- McClain, R. M., Wolz, E., Davidovich, A., Pfannkuch, F., Edwards, J. A., Bausch, J. (2006). Acute, subchronic and chronic safety studies with genistein in rats. *Food Chem Toxicol*, 44(1), 56-80.
- Molis, C., Flourié, B., Ouarne, F., Gailing, M-F., Lartigue, S., Guibert, A., Bornet, F., & Galmiche, J-P. (1996). Digestion, excretion, and energy value of fructooligosaccharides in healthy humans. *Am J Clin Nutr*, 64, 324-328.
- National Academy of Agricultural Science. (2011). Food Composition Table, 8th revision. Suwon: Rural Development Administration.
- Park, I. K., Yang, S. H., & Choi, Y. S. (2008). Quality characteristics of soy ice cream prepared with fermented soybean powder base and oligosaccharide and its blood glucose lowering effect. *Korean J Food Sci Technol*, 40(1), 88-95.
- Pickup, J. C., Chusney G. D., Thomas, S. M., & Burt, D. (2000). Plasma interleukin-6, tumour necrosis factor α and blood cytokine production in type 2 diabetes. *Life Sciences*, 67, 291-300.
- Reeves, P. G., Nielsen, F. H., & Fahey, G. C. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, 123, 1939-1951.
- Seo, B. H., Kim, K. O., Lee, J. H., & Lee, H. S. (2011). Effects of phytoestrogens on glucose metabolism in C57BL/KsOlaHsd-db/db mice.

- Korean J Nutrition*, 44(4), 275-283.
- Spranger, J., Kroke, A., Möhlig, M., Hoffmann, K., Bergmann, M. M., Ristow, M., Boeing, H., & Pfeiffer, A. F. H. (2003). Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes*, 52(3), 812-817.
- Statistics Korea. (2013). Annual Report on the cause of 2012 death statistics. Daejeon: The Statistics Korea.
- Surwit, R. S., Kuhn, C. M., Cochrane, C., McCubbin, J. A., & Feinglos M. N. (1988). Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes*, 37, 1163-1167.
- The Jackson Laboratory. (2014). Retrieved February 7, 2014, from <http://jaxmice.jax.org/diomice.index.html>
- Wagner, J. D., Zhang, L., Shadoan, M. K., Kavanagh, K., Chen, H., Trenasari, K., Kaplan J. R., & Adams, M. R. (2008). Effects of soy protein and isoflavones on insulin resistance and adiponectin in male monkeys. *Metabolism Clinical Experimental*, 57(Suppl 1), S24-S31.
- Wellen, K. E. & Hotamisligil, G. S. (2005). Inflammation, stress, and diabetes. *J Clinical Investigation*, 115(5), 1111-1119.
- WHO. (2003) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva: World Health Organization.
- Wolever, T. M. S. & Jenkins, D. J. A. (1986). The use of the glycemic index in predicting the blood glucose response to mixed meals. *Am J Clin Nutr*, 43(1), 167-172.
- Zimmermann, C., Cederroth, C. R., Bourgoin, L., Foti, M., & Nef S. (2012). Prevention of diabetes in db/db mice by dietary soy is independent of isoflavone levels. *Endocrinology*, 153, 5200-5211.

접 수 일: 2014. 01. 28

최종수정일: 2014. 02. 14

게재확정일: 2014. 02. 17