

고지방식을 섭취한 흰쥐의 체내지질함량에 대한 단백질 가수분해물의 섭취 효과

이연숙 · 박영희 · 오주환 · 김태중* · 이현수*

서울대학교 농업생명과학대학, (주) 삼양제넥스 연구소*

Effects of Protein Hydrolysates on Blood and Liver Lipids in Rats fed Fat-enriched Diet

Lee, Yeon Sook · Park, Young Hee · O, Ju Hwan
Kim, Tae Jong* · Lee, Hyun Soo*

College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon, Korea
Samyang Genex Research Institute,* Daejeon, Korea

ABSTRACT

Two experiments were performed to investigate the effects of protein and protein hydrolysates on lipid metabolism in the hyperlipidemic/hypercholesterolemic rat model induced by feeding fat-enriched diet. In Expt 1 male rats were fed four semi-purified high fat and cholesterol diets that contained different nitrogen sources, casein(C), casein hydrolysate (CH), corn gluten(G) and corn gluten hydrolysate(GH), for 6 weeks. In Expt. 2 rats were fed high fat and cholesterol diet for 4 weeks to induce hyperlipidemia and hypercholesterolemia. Then the rats were divided into 4 groups and were fed the four kinds of above experimental diets for 4 weeks consecutively. The contents of total lipid, cholesterol and triglyceride in blood, liver and feces were determined. Serum lipid concentrations of CH, G and GH were significantly lower than that of C. Serum cholesterol concentrations of hydrolysate groups(CH and GH) were significantly lower than those of intact protein groups(C and G). Serum HDL-cholesterol concentration tended to increase by hydrolysate intake. The total lipid, cholesterol contents in liver showed similarity results as above. Fecal lipid excretions of CH, G, and GH groups were significantly higher than that of C group. These results indicate that hypolipidemic and/or hypocholesterolemic effect of corn gluten or protein hydrolysates were detected in the process of inducing hyperlipidemia by high-fat and cholesterol diet or after inducing hyperlipidemia. (*Korean J Nutrition* 30(6) : 614~621, 1997)

KEY WORDS : gluten · protein hydrolysate · hyperlipidemia · hypercholesterolemia.

서 론

최근 순환기계 질환의 발병율과 그에 따른 사망율이 계속 증가됨에 따라, 발병위험인자와 관련된 식사요인

채택일 : 1997년 6월 27일

에 대하여 많은 연구가 이루어져 왔다¹⁻⁴⁾. 이들 발병위험인자의 하나로 주목되어온 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증에 대한 대두단백질의 혈청 콜레스테롤 저하 작용이 여러 실험 동물 및 인체를 대상으로 한 연구에서 보고되었다^{4,7)}. 그러나 실험 기간, 실험 조건, 동물종, 동물의 연령 등에 따라 효과의 정도에는 차이가 있

며, 실험대상이 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증일 때 대두단백질의 혈청 콜레스테롤 저하효과는 더욱 뚜렷하게 관찰되었다^{6,7)}.

식이 단백질이 혈청 콜레스테롤 수준에 영향을 미치는 작용 기전으로는 첫째로 식이 단백질의 아미노산 및 그 조성, 즉 Cystein, Glycine, Arginine 및 Lysine/Arginine 비 등이 콜레스테롤 대사에 영향을 미치는 주요 요소로 제안되었다⁸⁾. 이들 아미노산 조성은 인슐린 및 글루카곤의 호르몬 분비 변화를 유도하여 HMG Co A reductase 활성을 변화시키는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 둘째는 단백질의 소화 산물인 펩타이드로 대두 단백질로부터 유래된 불소화물 또는 소수성 고분자 펩타이드가 장관 내에서 콜레스테롤과 결합하여 분중 지질 배설을 높여 장관 콜레스테롤 흡수에 영향을 미치는 것으로 보고되었다¹⁰⁾. 이외에도 펩타이드가 장관으로 흡수되어 순환기를 거쳐 혈청 지질 대사에 관여하는 호르몬과 유사한 효과를 발현한다는 제안이 있다¹¹⁾.

글루텐은 옥수수, 밀, 콩 등에 함유되어 있는 주요 식물성 단백질로 대두단백질과 같이 혈청 콜레스테롤 저하효과가 예상되지만, 아직 연구성적은 미흡하다¹²⁻¹³⁾. 한편 단백질가수분해물은 단백질, 펩타이드, 아미노산의 혼합물로서 주로 다양한 펩타이드를 함유하고 있으므로, 이것이 갖는 체내 생리기능은 단백질(intact protein) 또는 아미노산 혼합물(amino acid mixture)과는 다를 것으로 예상된다. 특히 단백질가수분해물의 섭취가 체내지질 및 콜레스테롤 대사에 미치는 영향도 다를 것으로 예측된다¹¹⁾. 특히 단백질의 소화과정(in vivo) 또는 인공소화(in vitro)에 의해 여러 가지 생리 기능성 식이펩타이드가 생성됨이 보고되고 있어서¹⁴⁾, 우선적으로 단백질 가수분해물 섭취에 의한 체내지질 대사변동을 검토해 볼 필요성이 요구된다.

따라서 본 연구는 카제인과 옥수수 글루텐 및 이들 가수분해물이 혈청 지질 및 콜레스테롤 대사에 어떻게 영향을 미치는가를 검토하므로써, 단백질 가수분해물의 혈청 지질 저하 효과를 제시하고자 두가지 실험을 수행하였다. 즉 실험 1에서는 단백질 가수분해물의 섭취가 고지방과 고콜레스테롤을 섭취한 흰쥐에서 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증의 유발과정에 어떻게 영향을 미치는가를, 실험 2에서는 일정기간 고지방과 고콜레스테롤을 함유한 식이를 급여하여 고지혈증 흰쥐모델을 설정한 후, 단백질 가수분해물의 섭취가 고지혈증과 고콜레스테롤혈증의 진전에 어떻게 영향을 미치는가를 검토하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물의 사육과 식이

평균 체중 165g인 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley rats, male; 서울대학교 실험 동물 사육장에서 구입)를 이용하였으며, 실험군당 8마리씩 완전 임의 배치하였다. 실험식이로는 고수준의 지방과 콜레스테롤을 함유한 기본 식이에, 질소 급원으로 일정량의 egg protein을 함유하고, 카제인(casein : C), 카제인 가수분해물(casein hydrolysate : CH), 옥수수 글루텐(gluten : G), 옥수수 글루텐 가수분해물(gluten hydrolysate : GH)을 각각 함유한 4종의 정제식이를 사용하였다. 실험 1에서는 실험식이군에 따라 4군으로 나누어 6주간 사육하였다. 실험 2에서는 흰쥐 40마리에게 4주동안 실험 1에서 사용한 고지방 카제인식(C)을 급여하여, 고지혈증 실험모델 흰쥐를 설정하였다. 이와같이 설정된 고지혈증 모델 흰쥐 중 1군(8마리)은 즉시 희생시켜 대조군(Control period)으로 하였으며, 나머지는 4군으로 나누어 실험 1과 같은 4종의 실험식이를 4주동안 급여하였다.

실험식이의 조성은 Table 1과 같이 기본적으로 AIN-76을 따랐으며 식이지방(beef tallow, 서울농산(주))과 콜레스테롤은 식이 중 각각 18%, 1%씩 함유하도록 하였다. 질소급원으로는 실험식이중 시험단백질의 질적 차이를 줄일 목적으로 egg protein(신우화학(주), 단백질 함량 82%)을 기본으로 식이 중 10%를 함유하도록

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

Ingredients	C	CH	G	GH
Starch	543	543	543	543
Egg protein	100	100	100	100
C ¹⁾	100	-	-	-
CH ²⁾	-	100	-	-
G ³⁾	-	-	100	-
GH ⁴⁾	-	-	-	100
Beef tallow	180	180	180	180
Cholesterol	10	10	10	10
Fiber	5	5	5	5
Choline Chloride	2	2	2	2
Vit. Mix ⁵⁾	10	10	10	10
Min. Mix ⁶⁾	40	40	40	40
PEG ⁷⁾	10	10	10	10

1) Casein 2) Casein hydrolysate

3) Gluten 4) Gluten hydrolysate

5) Vitamin mixture (AIN-76)

6) Mineral mixture (Harper pattern, 1965)

7) PEG : polyethylene glycol #4000

하고, 실험식이에 따라 카제인(매일 유업(주))과 그 가수분해물(매일 유업(주)), 옥수수 글루텐(삼양제넥스 연구소)과 그 가수분해물(papain 효소처리)에 의해 제조, 삼양제넥스 연구소)을 종류별로 10%씩 함유하도록 하였다.

실험기간중 식이와 물은 자유롭게 섭취하게 하였다. 실험동물은 Shoebox cage에 한마리씩 분리사육하였으며, 사육실 환경은 일정하게(온도 22±2℃; 상대 습도 65±5%; 조명 6:00 p.m.~6:00 a.m.) 유지하였다.

2. 시료 수집

실험 동물을 실험최종일에 ethyl ether로 마취시켜 경동맥에서 혈액을 채취하였으며 채취한 혈액은 24시간 동안 냉장고에 보관한 후, 3000 r.p.m.에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 채혈 후 간을 적출하여 냉장 생리식염수로 세척하고 생조직의 무게를 측정 후, 냉동건조하여 건조무게를 측정하였다. 실험 종료 4일간 분을 수집하여 냉동건조한 후 건조무게를 측정하였다. 각 시료는 분석에 사용되기까지 -40℃이하에서 냉동보관하였다.

3. 시료 분석

혈액의 총지질 농도는 Fringe와 Dunn¹⁵⁾의 방법으로, 혈청 중성지질, 총 콜레스테롤 수준은 각각 Biggs 등¹⁶⁾의 방법과 Zlatkis와 Zak¹⁷⁾의 방법을 이용하여 분석하였다. 혈청 HDL-콜레스테롤은 효소법(영동 제약, HDL-콜레스테롤 정량용 kit)으로 혈청 LDL-콜레스테롤은 Friedwald식¹⁸⁾에 의거해서 산출하였다. 조직과 분중의 콜레스테롤과 중성 지방 함량은 Folch 등¹⁹⁾의 방법을 이용하여 조직 및 분으로부터 총 지질을 추출한 후 혈청과 동일한 방법으로 분석하였다.

4. 통계분석

실험분석 결과는 SAS program을 이용하여 평균과 표준오차(mean±SE)로 제시하였다. 각 처리별 유의성 및 단백질 급원에 따른 효과((C+CH) vs (G+GH))와 가수분해물의 효과((C+G) vs (CH+GH))는 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 체중 및 식이섭취량

실험 1과 실험 2의 각 실험식이 섭취에 따른 체중 증가량 및 식이 섭취량과 사료 효율을 Table 2에 제시하였다. 실험 1에서 각 실험군간에 식이섭취량은 유의적인 차이가 없었음에도 불구하고 체중증가량은 글루텐

Table 2. Body weight, food intake and FER in rats fed experimental diets

	Weight Gain (g/d)	Food Intake (g/d)	FER ⁴⁾
Expt.1			
C	5.4±0.3 ^{a1)}	17.5±0.5 ^{NS3)}	0.31±0.01 ^a
CH	5.3±0.2 ^{a2)}	18.4±1.0	0.26±0.02 ^b
G	4.8±0.2 ^{ab}	17.7±0.7	0.27±0.01 ^b
GH	4.4±0.1 ^b	17.7±0.2	0.25±0.01 ^b
N-Source ⁵⁾	p<0.05	NS	p<0.05
Hydrolysate ⁶⁾	NS	NS	p<0.05
Expt.2			
Control period (4wks) ⁷⁾			
C	6.8±0.2 ^a	17.8±0.3 ^a	0.38±0.01 ^a
Experimental period (4wks)			
C	4.5±0.2 ^b	16.4±0.6 ^{ab}	0.27±0.01 ^b
CH	4.6±0.1 ^b	15.2±0.6 ^b	0.28±0.02 ^b
G	4.4±0.2 ^b	16.1±0.6 ^{ab}	0.27±0.01 ^b
GH	4.4±0.3 ^b	16.0±0.9 ^{ab}	0.25±0.02 ^b
N-Source	NS	NS	NS
Hydrolysate	NS	NS	NS

1) Mean±SE of 8 rats per group

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05

3) NS : not significantly different

4) FER : Weight gain/Food intake

5) (C+CH) vs (G+GH), 6) (C+G) vs (CH+GH)

7) In control period of 4 weeks, rats fed the high fat/cholesterol and casein diet (C diet)

가수분해물 섭취군이 유의적으로 낮았다(p<0.05). 이러한 결과는 단백질 급원에 따른 질적차이 때문으로 사료된다. 실험 2에서 체중증가량, 식이섭취량 및 사료효율은 control period에 비해 각 실험군에서 유의하게 낮았는데, 이것은 control period군이 빠른 성장기에 있으며 질적으로 우수한 카제인을 섭취한 것에 기인한 것으로 보였다. 성장후기의 4주동안 실험식이를 급여한 경우는 실험군간에 차이가 없었다.

2. 혈청 총지질 및 중성지방 농도

혈청 총지질 및 중성지방 농도는 Table 3에 제시하였다. 실험 1에서 혈청 총지질 농도는 카제인 섭취군에 비해 다른 실험군에서 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). 단백질에 비해 각각의 가수분해물 섭취군에서 낮았으며, 카제인에 비해 글루텐 섭취군에서 낮았다. 혈청 중성지방 농도는 실험군간에 차이가 없었다. 실험 2에서 control period군의 총지질 농도는 약 236mg/dl로 흰쥐의 정상적인 총지질 농도를 초과하여²⁰⁾, 고지혈증모델로 설정할 수 있었다. 이 모델에게 계속 카제인식을 급여했을 때, 혈청 총지질 농도는 유의하게 증가한 반면 글루텐 및 단백질 가수분해물 섭취시에는 더

이상 증가되지 않았다. 특히 글루텐 가수분해물 섭취시에 혈청 총지질 농도는 감소경향을 보였다.

이상의 결과를 종합 고찰해 보면, 혈청 총지질 농도

Table 3. The concentration of total lipids and triglyceride in serum(mg/100ml)

	Total lipids	Triglyceride
Expt.1		
C	324.1±31.3 ^{a1)}	37.5±3.3 ^{NS3)}
CH	250.2±13.8 ^{b2)}	31.7±4.1
G	245.2±24.4 ^b	34.0±2.5
GH	190.1±19.5 ^b	31.9±3.8
N-Source ⁴⁾	p<0.05	NS
Hydrolysate ⁵⁾	p<0.05	NS
Expt.2		
Control period (4wks)		
C	235.6±12.7 ^b	38.6±4.6 ^{NS}
Experimental period (4wks)		
C	333.8±25.5 ^a	42.3±3.9
CH	244.0±22.9 ^b	38.6±4.7
G	232.8±29.7 ^b	37.0±6.3
GH	187.8±13.9 ^b	35.7±5.1
N-Source	p<0.05	NS
Hydrolysate	p<0.05	NS

1) Mean±SE of 8 rats per group

2) Values with different superscript within the column are significantly different at p<0.05

3) NS : not significantly different

4) (C+CH) vs (G+GH), 5) (C+G) vs (CH+GH)

는 글루텐의 섭취에 따라, 또 단백질 가수분해물의 섭취에 따라 감소 효과가 인정되며, 특히 고지혈증 동물의 경우 글루텐과 가수분해물의 섭취에 따라 고지혈증 상태가 더 이상 진전되지 않은 결과를 나타냈다. 이러한 결과는 옥수수 글루텐이 혈청 지질 농도 저하효과를 갖는다고 하는 새로운 정보를 제공한다. 대두단백질 섭취의 경우, 8주간 이상에서 혈청 지질 저하 효과를 얻을 수 있는 반면²⁾²¹⁾, 본 실험결과 옥수수 글루텐 및 단백질 가수분해물의 경우 4~6주간의 섭취기간에서도 카제인에 비해 혈청 지질 저하 효과가 인정되었다. 혈청 중성지방 농도는 실험 1과 마찬가지로 control period 및 각 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 혈청 중성지방 농도에 있어서 카제인 섭취군에 비해 대두 단백질의 경우 차이가 없었다는 보고²⁾와 유의하게 낮았다는 보고가 있으며²²⁾, 대두단백질의 가수분해물 섭취에 따라 감소되었다는 보고가 있다²³⁾.

3. 혈청 총콜레스테롤 및 지단백 콜레스테롤 농도

Table 4에 혈청 총콜레스테롤, 고밀도 지단백 콜레스테롤(HDL) 및 Friedwald's식¹⁸⁾에 의해 계산된 저밀도 지단백 콜레스테롤(LDL) 농도와 동맥경화지수(Athero-Index : AI)를 제시하였다.

실험 1에서 단백질 섭취군에 비해 각각의 가수분해물 섭취군에서 혈청 총콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤 농도는 낮게, 혈청 HDL 콜레스테롤 농도는 유의적으로

Table 4. The concentration of total cholesterol, HDL- cholesterol, LDL-cholesterol and Athero-Index in serum (mg/100ml)

	Cholesterol			Athero-Index ⁵⁾
	Total	HDL	LDL ⁴⁾	
Expt.1				
C	122.6± 6.9 ^{a1)}	25.8±2.1 ^b	89.5± 6.5 ^a	3.65±0.3 ^a
CH	104.2± 3.9 ^{b2)}	33.4±3.7 ^{ab}	65.7± 6.3 ^b	2.17±0.3 ^b
G	111.8± 2.3 ^{ab}	25.1±1.9 ^b	77.7± 1.8 ^{ab}	3.48±0.3 ^a
GH	104.1± 4.8 ^b	36.1±2.7 ^a	64.5± 5.5 ^b	1.91±0.2 ^b
N-Source ⁶⁾	NS	NS	NS	NS
Hydrolysate ⁷⁾	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
Expt.2				
Control period (4wks)				
C	117.6± 5.7 ^b	33.9±1.1 ^{NS3)}	83.2± 7.6 ^{ab}	2.49±0.2 ^{NS}
Experimental period (4wks)				
C	195.3±17.9 ^a	33.7±4.9	126.5±10.9 ^a	2.90±0.9
CH	134.6±10.5 ^b	38.7±3.9	87.2±34.4 ^{ab}	2.46±0.8
G	125.9± 8.9 ^b	34.8±4.8	82.5±10.3 ^{ab}	2.97±0.9
GH	106.5±11.8 ^b	47.3±6.0	54.5±15.2 ^b	1.90±0.2
N-Source	p<0.05	NS	NS	NS
Hydrolysate	p<0.05	NS	NS	NS

1) Mean ± SE of 8 rats per group

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05

3) NS : not significantly different

4) LDL-cholesterol : Total cholesterol-HDL-TG/5

5) Athero-Index : (Total cholesterol-HDL)/HDL

6) (C+CH) vs (G+GH), 7) (C+G) vs (CH+GH)

높게 나타났다. 또, 동맥경화지수는 유의하게 낮게 나타났다($p < 0.05$).

실험 2에서 혈청 총콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤 농도는 control period에 비해 카제인 섭취군에서 유의하게 증가하였으며, 다른 세 실험군에서는 거의 같은 수준을 나타냈다. 그 중 글루텐 가수분해물섭취군은 감소하는 경향을 보였다. 혈청 HDL 콜레스테롤 농도 및 동맥경화지수는 글루텐 가수분해물 섭취군만 control period에 비해 증가하는 경향을 보였다.

실험 1과 2를 종합해 볼 때 단백질 가수분해물의 섭취에 의해 혈청 콜레스테롤 농도 저하효과가 나타났으며, 글루텐의 섭취에 의해서는 효과가 인정되지 않았다. 특히 이러한 결과는 HDL콜레스테롤의 증가효과와 LDL콜레스테롤의 감소효과에도 적용되었다. 그러나 실험 1(6주)에 비해 실험식이 섭취기간이 짧은 실험 2(4주)의 결과는 상기와 같은 단백질 가수분해물의 섭취효과가 현저하지 못하였다. 본 실험결과에서 옥수수 글루텐의 혈청 콜레스테롤 저하 효과 및 지단백 분포의 개선효과는 인정되지 않았지만, 단백질에 비해 단백질 가수분해물의 섭취효과는 장기간(6주 이상)섭취시 충분히 인정되었다.

대두단백질 섭취에 의한 혈청 콜레스테롤 농도 저하 효과는 많이 보고되어 왔으며²⁻⁶⁾²²⁻²³⁾, 혈청 HDL 콜레스테롤 농도는 저하하거나 비슷한 것으로 보고되어 왔다⁴⁾. 이러한 대두단백질의 섭취효과에 대한 하나의 기전

으로서 대두단백질의 난소화성 peptide가 담즙산에 결합하여 분 배설을 증가시켜 혈청 콜레스테롤을 저하시키는 것으로 설명되었다²⁾²³⁻²⁴⁾. Yashiro 등은¹⁰⁾ 카제인 가수분해물이 카제인에 비해 혈청 콜레스테롤 농도를 유의하게 감소시킨다고 하였다. 그러나 Asato등은¹¹⁾ 카제인 가수분해물 섭취에 의한 혈청 콜레스테롤 저하 효과는 인정되지 않았으나, HDL 콜레스테롤 농도 증가 및 LDL 콜레스테롤 농도 감소 등 혈청 지단백 콜레스테롤 분배의 변화를 초래한다고 보고하였다.

4. 간조직중 지질 함량

간조직의 건조무게, 건조무게당 총지질, 총콜레스테롤, 중성지방 함량에 대한 결과는 Table 5와 같다. 실험 1에서 간의 건조중량은 카제인에 비해 글루텐 섭취군이 유의하게 낮았으며, 각각의 단백질과 그 가수분해물군간에는 차이가 없었다. 총지질 함량은 카제인에 비해 글루텐 섭취군에서, 각각의 단백질에 비해 그 가수분해물 섭취군이 유의하게 낮았다. 총콜레스테롤 함량은 카제인에 비해 글루텐 섭취군이 유의적으로 낮았으나, 단백질과 그 가수분해물 섭취군간에는 차이가 없었다. 중성지방 함량은 카제인 섭취군에 비해 다른 실험군에서 유의하게 낮았다.

실험 2에서 건조중량은 사육기간의 차이에 의해 각 실험식이군 모두 control period에 비해 유의하게 증가하였으며, 실험군간에 차이는 없었다. 총지질함량은 카제인 및 글루텐 섭취군이 control period에 비해 증가

Table 5. The contents of total lipids, total cholesterol and triglyceride in liver

	Dry Weight (g)	Total lipids (mg/dry wt.g)	Total cholesterol (mg/dry wt.g)	Triglyceride (mg/dry wt.g)
Expt.1				
C	8.5±1.2 ^{a1)}	541.6±12.7 ^{a2)}	30.3±1.4 ^a	105.6± 4.0 ^a
CH	8.2±0.4 ^a	496.4±10.6 ^b	26.8±1.2 ^{ab}	83.1± 7.9 ^b
G	6.8±0.5 ^b	491.2± 8.6 ^b	26.1±1.0 ^b	81.8± 4.8 ^b
GH	6.2±0.2 ^b	456.9±10.6 ^c	24.0±1.4 ^b	71.8± 7.0 ^b
N-Source ³⁾	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
Hydrolysate ⁴⁾	NS	p<0.05	NS	p<0.05
Expt.2				
Control peroid (4wks)				
C	7.2±0.3 ^b	511.6±12.0 ^{ab}	30.1±1.1 ^b	102.6± 6.9 ^{ab}
Experimental peroid (4wks)				
C	10.4±0.8 ^a	553.2± 5.9 ^a	35.1±2.3 ^a	123.4±12.3 ^a
CH	9.1±0.6 ^a	494.6±17.8 ^b	26.2±1.0 ^b	84.4± 5.8 ^b
G	10.1±0.7 ^a	550.7±12.4 ^a	28.7±1.3 ^b	128.3±21.6 ^a
GH	9.3±0.6 ^a	514.9±18.4 ^{ab}	28.5±1.2 ^b	83.8± 7.1 ^b
N-Source	NS	NS	NS	NS
Hydrolysate	NS	p<0.05	p<0.05	p<0.05

1) Mean±SE of 8 rats per group

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at $p < 0.05$

3) (C+CH) vs (G+GH)

4) (C+G) vs (CH+GH)

Table 6. The fecal excretion of total lipids and total cholesterol

	Dry weight (g/d)	Total lipids (mg/d)	Total cholesterol (mg/d)
Expt.1			
C	1.61±0.12 ^{NS1)}	181.7±10.9 ^{b2)}	15.6±1.3 ^{NS3)}
CH	1.81±0.17	228.9±12.5 ^a	17.0±1.4
G	1.72±0.13	224.5±14.5 ^a	19.4±1.1
GH	1.51±0.06	221.7± 8.8 ^a	18.9±1.4
N-Source ⁴⁾	NS	NS	p<0.05
Hydrolysate ⁵⁾	NS	NS	NS
Expt.2			
Control period (4wks)			
C	1.29±0.12 ^b	187.5±14.7 ^{ab}	16.5±1.5 ^{NS}
Experimental period (4wks)			
C	1.40±0.07 ^{ab}	165.6± 5.1 ^b	16.0±2.0
CH	1.48±0.09 ^{ab}	185.7±19.8 ^{ab}	16.2±2.0
G	1.39±0.05 ^{ab}	193.0± 8.0 ^{ab}	18.6±1.9
GH	1.61±0.08 ^a	217.2±14.1 ^a	18.3±1.2
N-Source	NS	p<0.05	NS
Hydrolysate	NS	NS	NS

- 1) Mean±SE of 8 rats per group
- 2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05
- 3) NS : not significantly different

경향을 보였으나, 각각의 가수분해물 섭취군은 control period에 비해 차이가 없었고 단백질 섭취군에 비해 각각 감소하였다. 총콜레스테롤 함량은 control period에 비해 카제인 섭취군에서만 유의하게 증가할 뿐 다른 실험식이군에서는 비슷한 수준을 보였다. 중성 지방 함량은 control period에 비해 단백질 섭취에 따라 증가한 반면 각각의 가수분해물 섭취에 따라 감소하였다. 특히 단백질 섭취군에 비해 각각의 가수분해물 섭취군에서 유의적으로 감소하였다. 이상의 실험 1과 실험 2를 종합 고찰해 보면 간의 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지방 함량에 있어서 단백질 가수분해물 섭취에 의한 저하 효과가 대체로 인정되었으며, 사육기간이 길어지면(실험 1) 글루텐에 의한 섭취효과도 인정되었다. 지금까지 많은 실험연구에서 대두단백질 섭취에 따른 혈청지질 및 콜레스테롤 저하 효과와 함께 간지질 및 콜레스테롤 함량 저하 효과도 보고되었으며, 이는 소장 내 지질의 흡수저하와 조직의 재분배 변화 및 간조직의 pool size 감소 등 여러 가지 기전으로 설명되고 있다¹¹⁻¹³⁾²⁵⁾. 특히 대두단백질의 어떤 peptide 구조가 이와 같은 기전에 중요한 역할을 수행하는 것을 시사하였다²³⁾²⁶⁾.

6. 분중 지질 배설량

실험식이에 따른 1일 분배설량 및 총지질, 총콜레스

테롤 배설량 등을 Table 6에 제시하였다.

실험 1에서 분배설량은 각 실험군간에 차이가 없었으나, 총지질 배설량은 카제인 섭취군에 비해 다른 실험군에서 유의적으로 많았다. 총콜레스테롤 배설량은 카제인에 비해 다른 실험군에서 대체로 높은 경향을 보였다.

실험 2에서 분배설량 및 총지질배설량은 control period에 비해 글루텐 가수분해물 섭취군이 유의하게 증가하였을 뿐 다른 실험군에서 큰 차이를 보이지 않았다. 총콜레스테롤 배설량은 실험군간에 차이가 없었다. 실험 1과 2에서 단백질 및 가수분해물 섭취에 따라 분배설량은 거의 차이가 없었으나, 총지질 배설량은 실험식이 섭취기간에 따라 다소 다르게 평가되지만 대체로 카제인에 비해 옥수수 글루텐 섭취에 의해, 단백질에 비해 그 가수분해물의 섭취에 의해 증가하였다. 반면 총콜레스테롤 배설량은 유의적인 차이를 볼 수 없었다. 분의 지질배설량 증가는 대두단백질 및 글루텐 등 식물성 단백질이 혈중 지질 대사에 영향을 미치는 하나의 주요기작으로 보고되어 왔다²¹⁾²³⁾²⁴⁾. 즉 단백질에 소수성 peptide가 많을수록 담즙산 결합이 증가하여 분중 steroid 배설을 증가시켜 장의 cholesterol 흡수를 저하시킨다고 보고되었다²³⁾²⁶⁾. 그러나 본 연구결과 옥수수 글루텐 또는 단백질 가수분해물의 섭취 효과를 분중 지질 및 콜레스테롤 배설량 증가로 설명하기에는 미흡하며 더 많은 연구가 요구됨이 시사되었다.

요약 및 결론

본 연구는 단백질가수분해물이 외인성 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증의 유발 및 진전에 미치는 효과를 검토하기 위해 수행되었다.

실험 1에서는 고수준의 지방과 콜레스테롤을 함유한 기본식에 카제인(C), 카제인 가수분해물(CH), 옥수수 글루텐(G), 글루텐 가수분해물(GH)의 4종을 포함한 실험식이를 6주동안 급여하였으며, 실험 2에서는 고수준의 지방 및 콜레스테롤 식이를 4주동안 급여하여 고지혈증 모델 동물을 설정한 후, 실험 1의 4종의 실험식이를 4주간 급여하였다. 혈청과 간조직의 지질 함량 및 분중 지질 배설량을 측정하였다. 실험 1과 실험 2의 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 카제인에 비해 옥수수 글루텐의 섭취에 따라, 또 단백질에 비해 단백질 가수분해물의 섭취에 따라 혈청 총지질 농도의 감소 효과가 인정되었으며, 특히 고지혈증 동물의 경우 옥수수 글루텐과 단백질 가수분해물의 섭취에 따라 고지혈증 상태가 더 이상 진전되지 않았다. 한편 혈청 중성지방 농도는 각 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.

2) 단백질 가수분해물의 섭취에 의해 혈청 콜레스테롤 농도 저하효과가 나타났으며, 옥수수 글루텐의 섭취에 의해서는 효과가 인정되지 않았다. 특히 이러한 결과는 HDL의 증가효과와 LDL의 감소 효과에도 적용되었다. 그러나 실험식이의 섭취기간이 짧은 경우(4주), 단백질 가수분해물의 혈청 콜레스테롤 저하 효과가 현저하지 못하였다.

3) 간의 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지방 함량에 있어서 단백질 가수분해물 섭취에 의한 저하 효과가 대체로 인정되었으며, 실험식이의 섭취 기간이 길어지면(6주) 글루텐 단백질에 의한 섭취효과도 인정되었다.

4) 단백질 및 그 가수분해물 섭취에 따라 분배설량은 거의 차이가 없었다. 총지질 배설량은 실험식이 섭취기간에 따라 다소 다르게 평가되지만 대체로 카제인에 비해 옥수수 글루텐 섭취에 따라, 단백질에 비해 그 가수분해물의 섭취에 따라 증가하였다. 반면 총콜레스테롤 배설량은 유의적인 차이를 볼 수 없었다.

이상의 결과에서 고지방식이 섭취에 의한 고지혈증 유발과정에서 옥수수 글루텐 및 단백질의 가수분해물의 혈청 지질 및 콜레스테롤 농도 저하 효과(hypolipidemic and/or hypocholesterolemic effect)가 대체로 인정되었으며, 간조직에서도 동일한 섭취효과가 인정되었다. 또한 고지혈증 동물 모델에서도 옥수수 글루텐 및 단백질 가수분해물 섭취에 의해 고지혈증 및 고콜레스테롤 혈증의 악화에 대한 억제효과가 인정되었다. 이러한 옥수수 글루텐 및 단백질 가수분해물의 섭취효과는 분중 지질 및 콜레스테롤 배설량의 증가로 일부 설명될 수 있으나 미흡하였다. 본 연구성적은 대두단백질 이외에도 옥수수 단백질의 혈청 지질 함량 저하 효과를 나타낸 것이며, 특히 최근 식품산업공학의 발전과 함께 금후 기능성 식품 신소재로서 활용가치가 높은 단백질 가수분해물의 생리기능의 일부를 규명한 것이다.

Literature cited

- Linder MC. Nutrition and Atherosclerosis. In : Linder MC, ed. *Nutritional Biochem & Metabolism*, pp449-471, Elsevier Science Pub Co Inc NY, 1991
- 이연숙 · 고정숙. 고지방식을 섭취한 흰쥐의 체내 지질 함량에 대한 대두 단백질과 칼슘의 섭취효과. *한국영양학회지* 27(1) : 3-11, 1994
- 하태열 · 김혜영. 탄수화물 급원의 차이가 흰쥐 체내 지질 함량에 미치는 영향. *한국영양학회지* 29(2) : 199-205, 1996
- Park MS, Kudchodkar BJ, Liepa GU. Effects of dietary animal and plant proteins on the cholesterol metabolism in immature and mature rats. *J Nutr* 117 : 30-35, 1987
- Terpstra AHM, West CE, Fennis J, Schouten JA, Vanderveen EA. Hypocholesterolemic effect of dietary soy protein versus casein in rhesus monkeys. *Am J Nutr* 39 : 1-7, 1984
- Meinertz H, Nilausen K, Faergeman O. Soy protein and casein in cholesterol-enriched lipoproteins in normolipidemic subjects. *Am J Clin Nutr* 50 : 786-793, 1989
- Terpstra AHM, Holmes JC, Nicolosi RJ. The hypocholesterolemic effect of dietary soybean protein vs. casein in hamsters fed cholesterol-free or cholesterol-enriched semi-purified diets. *J Nutr* 121 : 944-947, 1991
- Aoyama Y, Ohmura E, Kato T, Yoshida A. Effect of dietary lysine & arginine addition on growth performance and serum cholesterol level in chickens. *Animal Sci Tech* 66 : 412-421, 1995
- Scholz-ahrens KE, Hagemester H, Unshelm J. Response of hormones modulation plasma cholesterol to dietary casein or soy protein in minipigs. *J Nutr* 120 : 1387-1392, 1990
- Yashiro A, Oda S, Sugano M. Hypocholesterolemic effect of soybean protein in rats and mice after peptic digestion. *J Nutr* 125 : 1325-1336, 1995
- Asato L, Kina T, Sugiyama M, Shimabukuro T, Yamamoto S. Effect of dietary peptides on plasma lipids and its mechanism studied in rats and mice. *Nutr Res* 14 : 1661-1669, 1994
- Bassat M, Mokady S. The effect of amino-acid-supplemented wheat gluten on cholesterol metabolism in the rat. *Br J Nutr* 53 : 25-30, 1985
- De Schrijvar R. Cholesterol metabolism in mature and immature rats fed animal and plant protein. *J Nutr* 120 : 1624-1632, 1990
- Lee YS, Park J, Naito H. Supplemental effect of casein-phosphopeptides(CPP) on the calcium valance of growing rats. *J Jap Soc Nutr Food Sci* 45 : 333-338, 1992
- Fringe CS, Dunn RM. The colorimetric method for the determination of serum total lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Patho* 53 : 89-92, 1980
- Biggs HG, Erikson MJ, Wells RM. A manual colorimetric assay of triglycerides in serum. *Clin Chem* 21 : 437-441, 1975
- Zlatkis A, Zak B. Study of a new cholesterol reagent. *Anal Biochem* 29 : 143-146, 1969
- Friedwald WT, Levy RT, Fridrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Nutr* 18 : 499-502, 1972
- Folch J, Less M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tis-

- sues. *J Biol Chem* 226 : 497-502, 1957
- 20) Mitruka BM, Rawnsley HM. Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans(2nd ed.). pp160, Masson publishing USA Inc, 1981
 - 21) Terpstra AHM, Sanchez-Muriz FJ. Time course of the development of hypercholesterolemia in rabbits fed semi-purified diets containing casein or soybean protein. *Atherosclerosis* 39 : 217-22, 1982
 - 22) Horigome T, Cho YS. Dietary casein and soybean protein affect the concentrations of serum cholesterol, triglyceride and free amino acids in rats. *J Nutr* 122 : 2273-2282, 1992
 - 23) Sugano M, Goto S, Yamada Y, Yoshida K, Hashimoto Y, Matsuo T, Kimoto M. Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soybean protein in rats. *J Nutr* 120 : 977-985, 1990
 - 24) Wang MF, Yamamoto S, Chung HM, Chung SY, Miyatani S, Mori M, Okita T, Sugano M. Antihypercholesterolemic effect of undigested fractions of soybean protein in young female volunteers. *J Nutr Sci Vitaminol* 41 : 187-195, 1995
 - 25) Sugano M, Tanaka K, Ide T. Secretion of cholesterol, triglyceride and apolipoprotein A-1 by isolated perfused liver from rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixtures. *J Nutr* 112 : 855-862, 1982
 - 26) Iwami K, Sakakibara S. Involvement of post-digestion 'hydrophobic' peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins. *Agric Biol Chem* 50 : 1217-1222, 1986