

## 흰쥐에서 대두단백질의 Hypolipidemic 효과에 관한 연구

金慶林·金華泳

聖心女子大學校 食品營養學科

梨花女子大學校 食品營養學科

### A Study on the Hypolipidemic Effects of Soyprotein in Rats

Kim Kyung Lim, Kim Wha Young

Department of Food & Nutrition, Song Sim College for Women

Department of Food & Nutrition, Ewha Womans University

#### =ABSTRACT=

The present study was designed to observe the effects of soyprotein and casein with or without cholesterol on serum and liver lipids in male rats.

The 6 experimental groups were as follows : SF ; soyprotein, cholesterol-free diet. SC ; soyprotein, 0.5% cholesterol added diet. CF ; casein, cholesterol-free diet. CC ; casein, 0.5% cholesterol added diet. SCF ; protein mixture of soyprotein and casein(1:1), cholesterol-free diet. SCC ; mixed protein, 0.5% cholesterol added diet. The hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects of soyprotein were observed at 3 weeks, but these effects disappeared at 6 weeks. The hypocholesterolemic effect of soyprotein was more obvious when the 0.5% cholesterol was supplemented in the diets. The serum free cholesterol level was not affected by the dietary protein source or the dietary cholesterol, therefore, the difference in serum total cholesterol among groups seems due to the difference in cholesterol esters. There was a tendency of a higher percentage of HDL in soyprotein groups compared to casein groups at 1 week, however, this tendency disappeared with time. The liver cholesterol and triglyceride contents were not differ among cholesterol-free diet groups, however, with addition of cholesterol, those of soyprotein groups were significantly lower than casein groups. The higher serum arginine/lysine ratio of soyprotein groups may offer the part of explanation of its hypocholesterolemic effect.

## 서 론

식이내 단백질이 동맥경화와 관련이 있다는 보고이래<sup>1,2)</sup> 단백질의 급원이나 양에 따른 혈청 지방농도의 변화에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔으며 그 결과 식물성 단백질은 식물성지방과 마찬가지로 hypocholesterolemic 효과를 가진다고 주장되고 있다<sup>3)</sup>. 그렇다고 모든 식물성 단백질이 hypocholesterolemic 효과를 나타내는 것은 아니지만<sup>3,4)</sup>, 일반적으로 대두단백질은 hypocholesterolemic 효과를 가지며<sup>5)</sup> 이런 효과는 cholesterol 첨가식이를 섭취했을 때 더욱 뚜렷이 나타나고 많은 학자들이 보고했다<sup>6,7,8)</sup>.

또한 혈청내 총 cholesterol 양보다는 각 lipoprotein 내의 cholesterol 농도가 동맥경화와 더욱 밀접한 관계가 있으며, HDL-cholesterol은 동맥경화를 방지하는 기능이 있으며 LDL과 VLDL의 cholesterol은 동맥경화를 촉진하는 역할이 있다고 보고되었다<sup>9,10,11)</sup>.

Eklund 등<sup>3)</sup>에 의하면, 대두단백질을 섭취한 팀의 혈청내 Lower Density Lipoprotein의 양이 casein 섭취군보다 낮았다고 하나, Neves 등<sup>4)</sup>은 쥐의 혈청 HDL-cholesterol 양은 단백질급원의 차이에 따른 영향을 받지 않는다고 주장했다. 반면에 Sautier 등<sup>12)</sup>은 대두단백질을 섭취한 쥐의 혈청 HDL-cholesterol이 casein 식이군보다 유의적으로 낮았다고 발표하여 일반적으로 hypocholesterolemic 효과를 가진 것으로 주장된 대두단백질이 혈청내 lipoprotein fraction에 미치는 영향에 대하여는 실험동물의 종(species)이나 실험조건에 따라 상반된 결과들이 보고되고 있다.

그러므로 본연구에서는 대두단백질이 지질대사에 미치는 영향을 조사하기 위해 casein과 대두단백질을 단백질급원으로하여 cholesterol 첨가 및 식이섭취기간의 변화가 체내 지질대사에 어떠한 영향을 미치는가에 대하여 살펴보고자 한다.

### 실험재료 및 방법

Sprague-Dawley 종의 성장기 흰쥐 수컷 100마리를 구입하여 고형사료(제일사료주식회사)로 5일간 환경에 적응시킨 후 체중에 따라 난피법(randomized complete block design)으로 여섯군으로 나누었고, 이때의 각군의 평균체중은 94.5g이었다. 실험식이의

단백질급원은 대두와 casein을 사용하여, 대두단백질집단, casein집단, 대두단백질과 casein을 1:1로 혼합한 혼합단백질집단으로 나누었으며 각 단백질집단은 0.5% cholesterol 첨가식이군과 cholesterol 무첨가식이군으로 다시 나누어 다음과 같이 6개의 실험군을 만들었다. 대두단백질에 cholesterol을 첨가시키지 않은군은 SF, cholesterol을 첨가시킨 군은 SC, casein에 cholesterol을 첨가시키지 않은군은 CF, cholesterol을 첨가시킨 군은 CC, 혼합단백질에 cholesterol을 첨가시키지 않은군은 SCF, cholesterol을 첨가시킨 군은 SCC라 했으며 각 실험식이의 단백질함량은 25% (w/w), 지방함량은 15% (w/w) (P/S 비 = 1.46)로 했다. casein의 methionine 함량은 2.9g/16gN인 반면에 대두단백질은 1.2g/16gN으로<sup>3)</sup> casein의 41.4%에 불과하므로, methionine 함량차이로 인한 효과를 최소한으로 줄이기 위해 식이조성전에 대두단백질에는 1% (w/w) DL-methionine을 첨가하여 사용했으며, 각 실험식이의 조성은 <Table 1>과 같다.

대두단백질과 casein 집단은 실험시작후 1, 3, 6, 주되었을 때, 혼합단백질집단은 3주와 6주되었을 때 체중에 따라 난피법으로 추출하여 4시간 굽진후 단두하여 회생시켰으며, 혈액과 간을 채취하였고 lipoprotein 분리를 위하여 신선한 혈청을 사용했다.

혈청내 총 cholesterol 및 free cholesterol 양은 Sobel과 Fernandez<sup>13)</sup> 방법으로, 혈청 triglyceride 양은 Bigg 등<sup>14)</sup>의 방법으로 정량했다. 혈청의 lipoprotein 분리는 신선한 혈청을 사용했으며, 1주와 3주 후에 회생시킨 쥐들의 혈청은 1% agarose (electrophoresis grade agarose, GIBCO) 1.5mL를 7.5×2.5cm slide에 입혀 만든 strip으로, 6주 후에 회생시킨 쥐들의 경우는 Sephradex<sup>15)</sup> (Cellulose polyacrylate electrophoresis strips)로 HR buffer(High Resolution buffer: Tri Barbital - Sodium Barbital buffer, PH 8.8)을 사용하여 clinical type의 electrophoresis chamber (Deluxe Chamber; Gelman Science Co.)에서 130 volt와 150 volt로 40~45분과 20분간 전기영동시켰다. 그 후에 Fat Red 7B stain solution으로 염색시켜 520nm에서 흡광도를 측정하여 lipoprotein 분포비율을 구하였다. 혈청 단백질 양은 Biuret 법<sup>15)</sup>에 의해 정량했고, 6주 후에 회생시킨 쥐들의 혈청내 아미노산농도는 아미노산 분석기(ALPHA 4150 Amino acid Analyser: L-

— 환경에서 대두단백질의 Hypolipidemic 효과에 관한 연구 —

Table 1. Composition of experimental diet (g/100g)

Ingredient	Soyprotein isolate		Casein		Mixed protein	
	SF	SC	CF	CC	SCF	SCC
Corn starch	52.7	52.2	52.7	52.2	52.7	52.2
Butter	10	10	10	10	10	10
Corn oil	5	5	5	5	5	5
Soyprotein isolate <sup>1)</sup>	25	25	•	•	12.5	12.5
Casein <sup>2)</sup>	•	•	25	25	12.5	12.5
Cholesterol	•	0.5	•	0.5	•	0.5
Vitamin Mixture <sup>3)</sup>	1	1	1	1	1	1
Mineral Mixture <sup>4)</sup>	4	4	4	4	4	4
Choline Cl	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Cellulose powder <sup>5)</sup>	2	2	2	2	2	2
DL-methionine <sup>6)</sup>	0.25	0.25	•	•	0.125	0.125

1) Soyprotein isolate; Soyprotein isolate (General Supply's Co., Ltd.)

2) Casein; Lactic casein (New Zealand)

3) One kilogram of the vitamin mixture was composed of thiamine · HCl, 2g ; pyridoxine, 2g ; riboflavin, 2g ; calcium pantothenate, 6g ; P-amino benzoic acid, 11g ; menadione, 5g ; inositol, 10g ; L-ascorbic acid, 20g ; niacin, 10g ; vitamin B<sub>12</sub>, 3mg ; biotin, 0.06g ; folic acid, 0.4g ; retinol acetate, 2 × 10<sup>6</sup> I.U. ; α-tocopherol, 1 × 10<sup>4</sup> I.U. ; vitamin D<sub>3</sub>, 2 × 10<sup>5</sup> I.U. and starch.

4) One hundred gram of the mineral mixture was composed of calcium acetate · H<sub>2</sub>O, 6.293g ; calcium pyrophosphate · 2H<sub>2</sub>O, 28.525g ; dipotassium phosphate, 28.443g ; ferric citrate · 5H<sub>2</sub>O, 2.44g ; magnesium sulfate · 7H<sub>2</sub>O, 10.053g ; potassium iodine, 0.65g ; sodium diphosphate · 12H<sub>2</sub>O, 14.63g ; sodium chloride, 8.411g ; Zinc chloride, 0.025g ; copper sulfate · 5H<sub>2</sub>O, 0.03g ; manganese sulfate · H<sub>2</sub>O, 0.5g .

5) Cellulose powder ; Methyl cellulose (Chameleon chemical reagent)

6) DL-methionine ; BDH Chemical Ltd. (England)

KB Biochrom Co., Ltd.)로 Sodium column을 사용하여 정량했다. 간의 총지방은 Folch 등의 방법<sup>16)</sup>으로 추출하여 무게를 재어 양을 측정했으며, 이렇게 추출한 지방 sample로 부터 혈청 분석사 사용한 방법과 동일한 방법으로 간의 cholesterol과 triglyceride 양을 정량했다.

본실험의 결과는 분산분석으로 검사한 후, 각군의 평균값간의 차이는 Tukey's test에 의해 유의성을 검증하였고  $p < 0.05$  인것을 통계적으로 유의적인 차이 있다고 보고한다.

### 실험결과

#### 1) 체중증가량과 식이효율

< Table 2 >에는 체중증가량과 식이효율을 수록했

다.

체중증가량은 실험 전 기간을 통해 각군간에 유의적인 차이가 없었으며, 식이효율도 1주와 6주에서는 대두단백질집단과 혼합단백질집단에 따른 차이가 없었으나 6주에서는 대두단백질집단이 casein 집단과 혼합단백질집단보다 유의적으로 낮았다.

#### 2) 혈청내 Cholesterol과 Triglyceride 함량

Fig. 1에서 보는 바와같이 혈청 총 cholesterol 양은 1주와 3주에서 casein 집단이 대두단백질집단보다 높아 1주에서는 SC와 CC 군, 3주에서는 SF와 CF, SC와 CC 군사이에 유의적인 차이가 있었으며, 이런 경향은 시간이 경과함에 따라 사라졌다. 혼합단백질집단은 casein 집단과 대두단백질집단의 중간값을 보였다. 혈청의 free cholesterol 양은 전 실험기간을 통해 각 군간에 유의적인 차이가 없었으며, 1주와 6

**Table 2.** Effects of different dietary protein and cholesterol on growth and F.E.R. of rats<sup>1)2)3)</sup>

Period	Group	Ingredient	Body wt. gain(g/day)	F.E.R.
1 week	Soyprotein isolate	SF*	5.0±0.8 NS	0.3±0.04 NS
		SC	5.3±0.6	0.3±0.06
	Casein	CF	4.6±0.9	0.4±0.06
		CC	5.6±0.7	0.4±0.04
3 week	Soyprotein isolate	SF	4.4±0.5 NS	0.3±0.02 NS
		SC	4.5±0.6	0.3±0.02
	Casein	CF	4.8±0.5	0.3±0.04
		CC	4.9±0.8	0.3±0.04
	Mixed protein	SCF	5.7±0.4	0.3±0.01
		SCC	5.9±0.2	0.4±0.01
6 week	Soyprotein isolate	SF	4.6±0.2 NS	0.2±0.01 b
		SC	4.2±0.4	0.2±0.01 b
	Casein	CF	5.0±0.3	0.3±0.008 a
		CC	4.6±0.2	0.3±0.02 a
	Mixed protein	SCF	5.1±0.4	0.3±0.03 a
		SCC	5.1±0.2	0.3±0.003 a

1) Each value is mean ± SEM.

2) Values in the same experimental period and vertical column not sharing common superscripts are significantly different at  $p < 0.05$ .

3) NS ; not significant.

\*SF ; Soyprotein, Free cholesterol.

SC ; Soyprotein, added cholesterol.

CF ; Casein, Free cholesterol.

CC ; Casein, added cholesterol.

SCF ; Soyprotein, Casein, Free cholesterol.

SCC ; Soyprotein, Casein, added cholesterol.

주에서보다 3주에서 free cholesterol 농도가 높은 경향을 보였다.

Fig. 2에 나타낸 혈청 triglyceride 양을 보면, 1주와 3주에서 casein 집단이 대두단백질집단보다 높은 경향을 보이다가 차차 감소하여 6주에서는 단백질급원에 따른 혈청 triglyceride 양의 차이는 나타나지 않았다. 또한 1주와 3주에서도 유의적인 차이는 cholesterol 무첨가군 (SF 와 CF 군) 를 사이에 서만 나타

나 CF 군이 SF 군보다 높았으며, 혼합단백질집단은 3주에서는 대두단백질과 casein 집단의 중간값을 나타냈으나 6주에서는 다른 집단들과 비슷한 값을 보였다.

### 3) 혈청의 Lipoprotein 분포 비율

Fig. 3에서 보는 바와 같이 혈청의 lipoprotein 분포비율 (HDL fraction) 은 실험 전 기간을 통해 각 군간에 유의적인 차이는 없었으나, 1주에서의 HDL은 대두단백질집단이 casein 집단보다 높은 경향을 띠었으며 이런 경향은 실험기간이 경과함에 따라 없어졌다. 또한 1주에서는 cholesterol 무첨가군들이 cholesterol 첨가군들보다 HDL fraction 이 높은 경향을 나타냈으나 이런 차이도 그 이후에는 나타나지 않았다.

4) 간의 무게와 총지방, Cholesterol 및 Triglyceride 양

Table 3에는 간의 무게와 지방성분합량을 수록했다.

간의 무개는 체중과 마찬가지로 실험기간이 경과함에 따라 증가하는 추세를 보였으나, 각 실험기간에서 단백질급원에 따른 차이는 없었다. 간의 총지방합량은 1주에서는 각 군간에 차이가 없었고, 3주에서는 대두단백질과 casein 집단사이에는 단백질급원에 따른 차이가 없었으나, 혼합단백질집단에서는 SCC군이 SC군, SC군보다 높았다. 6주에서도 단백질급원에 따른 차이는 없었으나, cholesterol 첨가군들(SC, CC, SCC군)이 무첨가군들(SF, CF, SCF군) 보다 높은 경향을 보였으며 CF와 CC군사이에는 유의적인 차이가 있었다. 간의 cholesterol 양은 실험 전 기간을 통해서 cholesterol 를 석이에 첨가시켰을 경우에만 단백질급원에 따른 차이가 나타나 1주에서는 CC 군이 SC 군보다 높았으며 이런 현상은 3주째 사라졌다가 6주에 다시 나타났다. SCC군은 3주에는 SC 군과 CC 군보다 높은 경향을 보여 SC 군과 SCC 군 사이에는 유의적인 차이가 있었으며 6주에서는 SCC 군이 SC 군과 CC 군의 중간값을 차지하여 SC 군과는 유의적인 차이가 없었고 CC 군보다는 유의적으로 낮았다. 간의 triglyceride 양은 3주와 6주에서 cholesterol 첨가군들 사이에만 단백질급원에 따른 차이가 있어 CC 군이 SC 군보다 유의적으로 높았으며, SCC 군과는 차이가 없었다. 또한 6주후에는 모든 단백질집단에 cholesterol 을 첨가했을 때 간의 triglyceride 양이 증가하여 cholesterol 첨가군들이 cholesterol 무첨가군들보다 높았으며, CC 군과 CF 군사이에는 이미 3주에서부터 유의적인 차이

— 친주에서 대두단백질의 Hypolipidemic 효과에 관한 연구 —

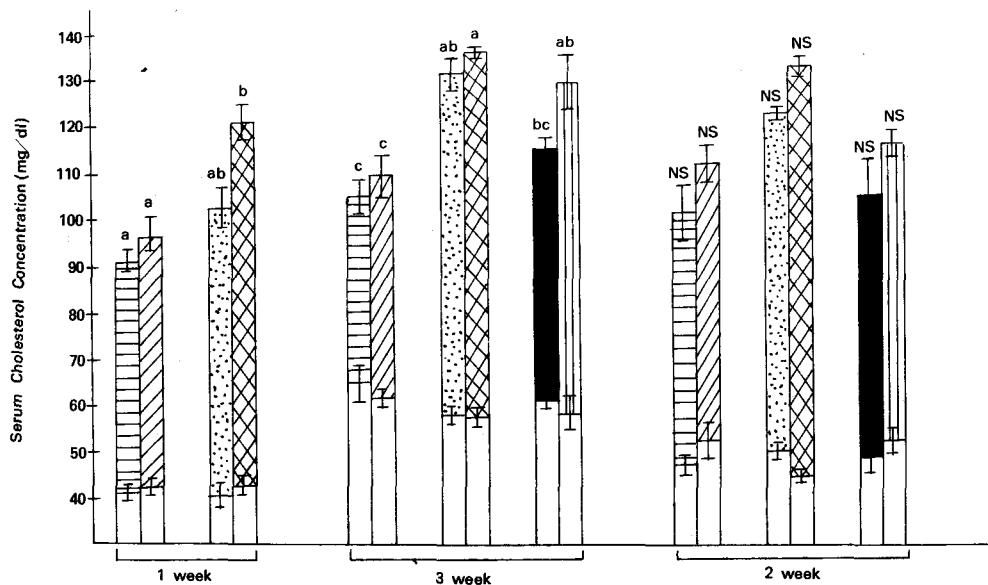


Fig. 1. Serum concentrations of total and free cholesterol in rats fed the diets ; □ : SF diet, ▨ : SC diet, ▨ : CF diet, ▨ : CC diet, ■ : SCF diet, ▨ : SCC diet, unhatched portion represents free cholesterol concentration of each group. Data are given means and SEM. Values of total cholesterol without common superscripts in the same experimental period are significantly different at  $p < 0.05$ . NS : not significant.

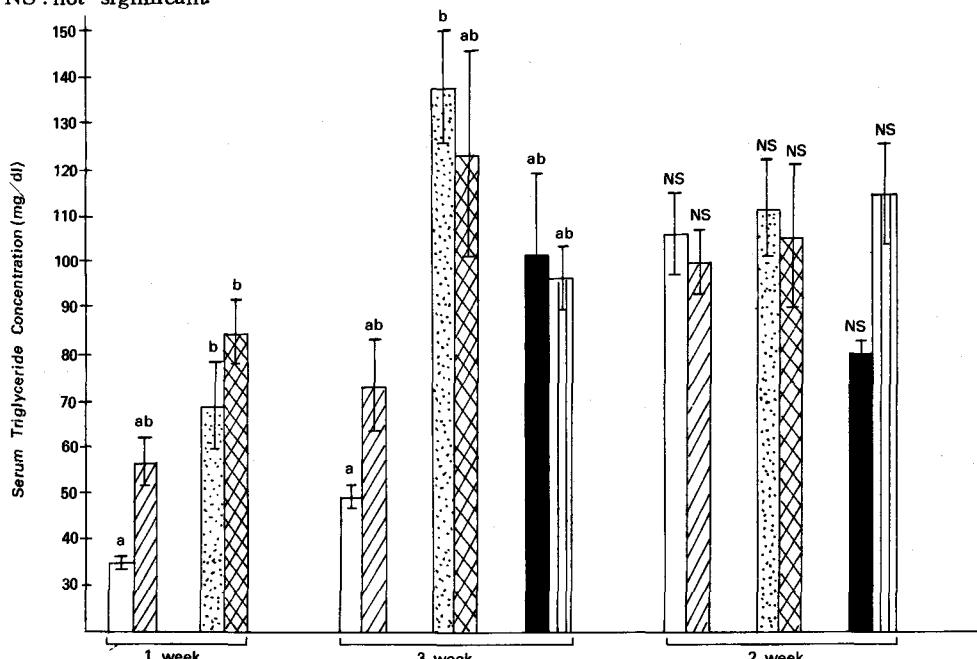


Fig. 2. Concentrations of serum triglyceride in rats fed different protein diets with or without cholesterol ; □ : SF diet, ▨ : SC diet, ▨ : CF diet, ▨ : CC diet, ■ : SCF diet, ▨ : SCC diet. Data are given means and SEM. Values of serum triglyceride without common superscripts in the same experimental period are significantly different at  $p < 0.05$ . NS : not significant.

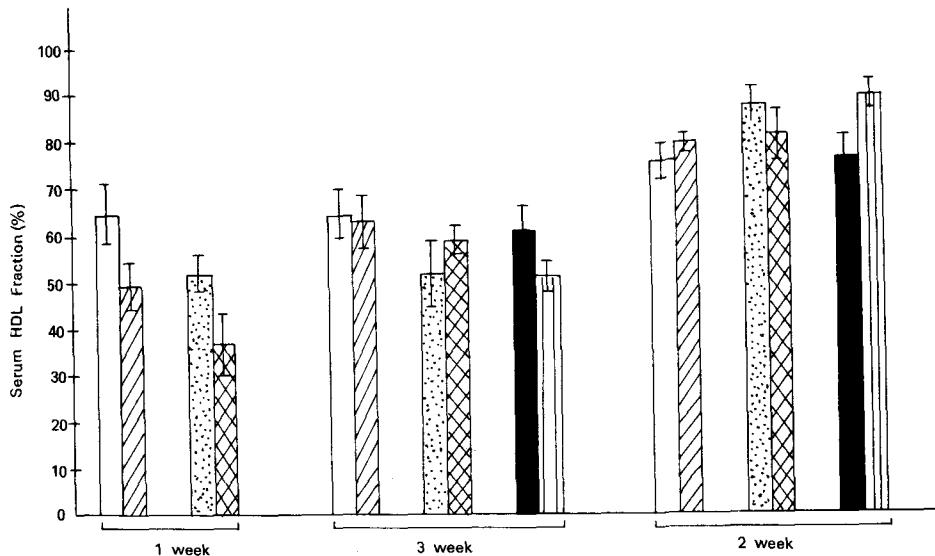


Fig. 3. Percentage of serum HDL fraction in rats fed experimental diets; □ : SF diet, ▨ : SC diet, ▨ : CF diet, ▨ : CC diet, ■ : SCF diet, ▨ : SCC diet.

Data are given means and SEM. There was no significant difference of HDL fraction among groups in the same experimental period.

를 보였다.

#### 5) 혈청내 아미노산농도

Table 4에 수록한 6주후에 희생시킨 쥐들의 혈청 아미노산농도를 보면, glycine을 제외하고는 단백질 급원에 따른 유의적인 차이가 없었으나 valine과 proline은 casein군들이, arginine, methionine, glycine은 대두단백질군들이 높은 경향을 띠었으며 대체로 혼합단백질집단은 그 중간값을 나타냈다.

### 고 찰

본실험에서 식이효율이 실험초기에는 단백질급원에 따른 차이가 없었으나, 6주에서는 대두단백질집단이 casein집단이나 혼합단백질집단보다 낮은것은 대두단백질과 casein식이의 질적 차이가 식이섭취기간이 걸어지면서 나타난 결과라 하겠다.

본연구에서 대두단백질의 hypocholesterolemic 효과는 실험초기인 1주에서는 cholesterol을 첨가했을 때만 나타났으나, 3주에서는 cholesterol 첨가유무와 상관없이 나타났으며 이런 효과는 실험기간이 지속됨에 따라 완화됨으로써 쥐들이 대두단백질에 적응됨을 보여주었다. 또한 다른 여러학자들도 대두단백질의 hypocholesterolemic 효과는 2~3주에서 가장 커다

가 차차 감소하여 5~6주에는 대두단백질식이군과 casein식이군의 혈청 cholesterol 양에 차이가 없어졌다고 보고하고 있으며<sup>17)18)19)</sup>, 혼합단백질집단의 혈청 총cholesterol 양이 대두단백질과 casein 집단의 중간값을 보인것으로 미루어보아 casein에 대두단백질을 첨가시켜도 대두단백질의 hypocholesterolemic 효과를 관찰할 수 있었다.

간의 단위 무게당 총지방함량 및 cholesterol 양은 식이에 cholesterol을 첨가했을 때만 casein군이 대두단백질군보다 높은 경향을 보였으므로 casein에 cholesterol의 첨가는 간의 총지방 및 cholesterol양을 증가시키는 역할을 한다고 하겠으며, 이러한 결과는 milk replacer에 9.4% cholesterol을 첨가시킴으로써 소의 간 cholesterol양을 약 2배가량 증가시킬수 있었다는 Beynen 등<sup>19)</sup>의 보고와도 일치한다. 본실험에서 각 단백질급원에 cholesterol을 첨가했을 때 혈청 cholesterol양은 3.3~18%가 증가한데 비해, 간 cholesterol 양은 24~135%가 증가했고, 간 cholesterol양의 증가는 대두단백질군보다 casein과 혼합단백질군에서 크게 나타나며 혈청보다 간에 더 큰 영향을 미쳤다. 또한 혈청cholesterol양이 3주에는 CC군이 가장 높았으나, 간의 경우는 3주의 CC군은 3주의 SC군 및 1주의 CC군과 차이가 없다가 6주에서

— 흰쥐에서 대두단백질의 Hypolipidemic 효과에 관한 연구 —

Table 3. Effects of dietary protein sources and cholesterol on liver weight and lipids in rats<sup>1)2)3)</sup>

Period	Group	Ingredient	Liver wt. (g)	Total lipids (mg/g liver)	Cholesterol (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)
1 week	Soyprotein isolate	SF	6.4±0.5 NS	27.3±1.2 NS	2.5±0.2a	1.8±0.2NS
		SC	6.5±0.4	25.8±2.3	3.1±0.5a	1.6±0.2
	Casein	CF	6.5±0.4	25.8±2.6	2.5±0.3a	1.9±0.3
		CC	7.6±0.4	37.7±5.7	5.2±0.8b	2.1±0.2
3 week	Soyprotein isolate	SF	8.3±0.5 NS	36.6±2.0 abc	4.1±0.3ab	1.5±0.2a
		SC	9.6±0.6	33.7±2.5 ab	4.8±0.6ab	1.4±0.3a
	Casein	CF	9.0±0.6	30.8±2.4 ab	3.5±0.3ab	1.8±0.2a
		CC	10.5±1.0	41.8±1.3 bc	5.4±0.5bc	3.8±0.4b
	Mixed protein	SCF	10.3±0.5	31.0±0.9 ab	3.1±0.4a	1.4±0.3a
		SCC	11.1±0.3	49.5±5.8 c	7.3±0.8c	2.3±0.5ab
6 week	Soyprotein isolate	SF	11.5±0.5 NS	32.9±2.4 a	5.7±0.2a	1.6±0.07 a
		SC	11.4±0.6	48.7±5.8 ab	8.1±0.7b	3.0±0.4bc
	Casein	CF	12.7±0.7	37.2±5.4 a	5.7±0.4a	2.9±0.4abc
		CC	12.6±0.8	67.5±3.1 b	12.5±0.5c	4.8±0.1d
	Mixed protein	SCF	12.4±1.0	32.8±1.1 a	5.7±0.3a	2.0±0.2ab
		SCC	14.0±0.7	50.9±4.4 ab	9.7±0.8b	4.1±0.1cd

1) Each value is mean±SEM.

2) Values in the same experimental period and vertical column not sharing common superscripts are significantly different at  $p < 0.05$ .

3) NS ; not significant.

CC 군의 간 cholesterol 양이 SC 군보다 높아진 반면에 혈청 cholesterol 양이 6 주에서 SC 군과 CC 군사이에 차이가 없었던것으로 미루어보아 casein 이 처음에는 혈청 cholesterol 양의 증가를 가져오나, 차차 간에 cholesterol 을 축적시키므로써 시간이 지남에 따라 혈청 cholesterol 양을 일정하게 유지시키려는 경향이 있음을 시사해준다 하겠다. 특히 식이에 cholesterol 을 첨가했을때 casein 군의 혈청과 간내 cholesterol 함량이 대두단백질군보다 현저히 높음은 대두단백질이 casein 보다 cholesterol 흡수율이 낮고 대변을 통한 steroid 배설이 많기 때문이라고<sup>20)</sup> 부분적으로 설명될 수 있을것이며, 혹은 cholesterol 의 섭취로 인해 cholesterol challenge 가 커졌을때 대두단백질의 효과가 더욱 큰것이라고도 생각할 수 있다. 김과 김<sup>5)</sup>은 대두단백질과 casein에 1% cholesterol 을 첨가시킨 식이로

쥐를 4주간 사육시켜 혈청과 간의 cholesterol 농도를 측정하였으나 본연구에서와 같은 현저한 효과가 나타나지 않았는데, 이런 결과의 차이는 cholesterol 첨가량의 차이때문이거나 실험기간의 차이때문이라 생각된다. 즉 본실험에서도 대두단백질과 casein 식이군의 차이가 3주에서 현저했다가 6주에는 사라졌던점으로 미루어보아 김과 김은 4주에만 측정하였으므로 이미 적응현상이 나타났기 때문이 아닌가 사려된다.

Fig 1을 보면, 혈청 free cholesterol 양은 단백질급 원이나 cholesterol 첨가유무에 따른 차이가 실험 전 기간을 통해 나타나지 않았으므로 혈청 총cholesterol 양의 증가는 곧 cholesterol ester form의 증가를 의미하며 이는 일반적으로 혈청 free cholesterol 양은 일정한 수준에서 유지된다는 Rogers<sup>25)</sup>의 주장을 뒷받침한다.

Table 4. Concentrations of serum amino acids of rats killed at 6 weeks of the experimental period<sup>1)2)3)</sup>  
(μmole/100 ml)

Group		Soyprotein isolate		Casein		Mixed protein	
		SF	SC	CF	CC	SCF	SCC
Nonessential Amino Acid	Thr	57.3 ± 11.3 NS	47.6 ± 4.3	53.4 ± 4.5	61.1 ± 8.1	63.4 ± 10.1	56.9 ± 5.8
	Ile	10.2 ± 1.4 NS	9.9 ± 0.9	9.6 ± 0.9	13.3 ± 3.4	10.2 ± 1.4	10.3 ± 0.9
	Leu	15.8 ± 2.4 NS	12.0 ± 1.6	15.8 ± 1.2	18.0 ± 2.5	16.3 ± 2.2	16.2 ± 1.0
	Met	5.9 ± 0.9 NS	5.4 ± 0.4	4.5 ± 0.3	3.8 ± 1.1	4.6 ± 1.3	4.3 ± 0.5
	Phe	6.1 ± 1.0 NS	6.5 ± 1.1	5.4 ± 0.5	6.2 ± 0.5	6.5 ± 0.6	6.9 ± 1.2
	Val	17.8 ± 3.2 NS	15.8 ± 1.2	20.9 ± 1.9	22.8 ± 3.0	21.1 ± 2.9	19.9 ± 2.2
	Lys	55.3 ± 7.2 NS	39.7 ± 2.8	45.3 ± 3.7	45.4 ± 3.1	45.7 ± 4.1	45.2 ± 2.3
	His	10.3 ± 1.0 NS	8.0 ± 1.1	8.9 ± 0.5	10.4 ± 0.6	9.9 ± 1.0	10.5 ± 0.2
	Arg	24.7 ± 4.7 NS	20.1 ± 1.4	12.4 ± 2.5	13.4 ± 1.6	17.6 ± 3.4	18.8 ± 2.6
Essential Amino Acid	Ala	44.8 ± 7.6 NS	33.0 ± 2.0	35.1 ± 2.8	41.8 ± 6.0	32.9 ± 1.7	44.7 ± 5.3
	Gly	30.6 ± 3.8 b	21.7 ± 1.5 ab	13.8 ± 1.2 a	17.7 ± 2.3 a	25.4 ± 3.1 ab	21.4 ± 2.3 ab
	Asp	3.8 ± 0.6 NS	4.3 ± 0.6	3.6 ± 0.7	3.7 ± 0.2	3.2 ± 0.4	3.7 ± 0.4
	Glu	18.2 ± 2.8 NS	16.5 ± 1.5	15.7 ± 1.7	17.8 ± 2.4	19.5 ± 2.5	18.8 ± 2.1
	Pro	30.2 ± 7.3 NS	19.1 ± 1.9	38.9 ± 10.0	32.9 ± 7.5	23.2 ± 2.0	31.1 ± 4.3
	Ser	31.3 ± 5.4 NS	23.4 ± 1.9	20.5 ± 1.1	24.9 ± 2.9	27.4 ± 3.9	25.6 ± 2.1
	Thr	6.9 ± 1.2 NS	5.2 ± 0.3	6.9 ± 0.6	6.9 ± 0.8	7.7 ± 1.0	5.9 ± 0.5

1) Each value is mean ± SEM.

2) Values in the same horizontal column not sharing common superscripts are significantly different at  $p < 0.05$ .

3) NS : not significant.

대두단백질의 hypcholesterolemic 효과에 대한 기전은 여러가지로 설명되고 있는데, 학자에 따라서는 특정 아미노산이나 이들의 비율이 혈청 cholesterol 양에 영향을 미친다고 주장하고<sup>3)12)21)22)</sup> 있다. Sautier<sup>12)</sup> 등은 tyrosine + glutamate / cystine + alanine 비와 관련이 있다고 했고, Eklund 등<sup>3)</sup>과 Forsythe 등<sup>21)</sup>은 대두단백질의 hypcholesterolemic 효과는 대두단백질 식이내 arginine / lysine 비가 높기 때문이라 보고했다. 본 연구에서 6주후에 회생시킨 쥐들의 혈청내 tyrosine + glutamate / cystine + alanine 비는 단백질 급원 및 cholesterol 첨가유무에 따른 차이가 없었으나, arginine / lysine 비는 SF 군과 SC 군은 0.45와 0.51, CF 군과 CC 군은 0.27과 0.30을, SCF 군과 SCC 군은 0.39와 0.42를 나타내어 arginine / lysine 비가 casein 집단보다 대두단백질집단이 높았으며 이는 식이내 arginine / lysine 비<sup>3)</sup>를 반영한다. 본 연구 결과는 대두단백질의 hypcholesterolem-

ic 효과가 가장 크게 나타난 3주된 쥐들의 혈청을 분석하지 않아 단정지어 말할수는 없으나, 식이내 혹은 혈청내 arginine / lysine 비가 높아지는것이 혈청 cholesterol 양을 낮추는데 기여하지 않는가 생각된다. 이는 Milner 등<sup>23)</sup>과 Aoyama 등<sup>24)</sup>의 보고에 의하면, arginine 이 결핍된 식이를 쥐에게 공급하면 간의 총지방량과 지방산합성능력이 증가하나 여기에 arginine을 보충해주면 혈청내 triglyceride 및 cholesterol 양이 감소했다. 즉 arginine / lysine 비가 증가할수록 혈청 cholesterol 양이 감소한다는 것을 뒷바침한다.

대두단백질의 hypotriglyceridemic 효과도 cholesterol양에 미친 영향과 마찬가지로 1주와 3주의 SF 군에서만 나타났다가 실험기간이 지속됨에 따라 사라져 6주에는 모든군들의 혈청 triglyceride 양이 같아진 반면에 간의 triglyceride 양은 실험초기에는 단백질급원에 따른 차이가 없었으나 3주와 6주에서 CC 군이 SC 군보다 높았다. 또한 식이에 cholesterol을 첨가했

## — 흰쥐에서 대두단백질의 Hypolipidemic 효과에 관한 연구 —

을 때 간 triglyceride 양의 증가는 대두단백질식이군보다 casein 식이군에서 먼저 일어났는데 이는 대두단백질이 casein 과 비교시 혈청내 insulin 의 수준을 낮추는 경향이 있으며 또한 casein 은 간에서의 지방산합성의 증가 및 간으로부터의 triglyceride 분비를 증가시킨다는 Sugano 등<sup>26)</sup>의 보고로 미루어보아 대두단백질을 섭취한 쥐들은 혈청내 insulin 的 감소로 인해 간에서의 지방산합성속도가 감소했기 때문이 아닌가 사려되어며, 대두단백질이 간에서의 지방산합성속도 및 triglyceride 분비에 미치는 영향에 대한 연구가 이루어져야 하겠다.

Fig. 3 을 보면, HDL fraction 이 대두단백질집단에서 또한 cholesterol 무첨가군들에서 높은 경향을 보였는데 이는 대두단백질과 cholesterol 무첨가식이가 혈청 cholesterol의 감소를 초래할 뿐만 아니라 HDL fraction 을 증가시키므로 동맥경화의 예방에 효과가 있음을 시사해준다고 하겠으나, 이런 현상이 실험초기에만 나타났다가 시간이 경과함에 따라 사라졌으므로 식이의 적응에 대한 재고가 필요하다.

### 결론 및 요약

대두단백질은 casein 에 비해 hypolipidemic 효과를 보였으며 이는 3 주에서 가장 크게 나타났으며, 실험기간이 지속됨에 따라 감소하는 경향을 보였고 혼합단백질집단은 대체로 대두단백질집단과 casein 집단의 중간값을 보였다. 혈청내 free cholesterol 양은 식이형태에 따른 영향을 받지 않으므로 혈청내 총cholesterol 양의 감소는 곧 cholesterol ester form 의 감소를 의미한다. 대두단백질의 혈청 HDL fraction 을 증가시키는 효과는 실험초기에만 나타났다가 실험기간이 지속됨에 따라 사라졌으며, 혈청내 아미노산농도는 식이내 아미노산농도의 영향을 많이 받았다. 결론적으로 대두단백질의 hypocholesterolemic 효과가 3 주이후에 차차 감소하므로 쥐에는 대두단백질의 효과에 적응하는 능력이 있다고 하겠으며, 실험기간을 좀 더 연장시켜 볼 것으로써 대두단백질의 hypocholesterolemic 효과를 강조하는데 재고가 필요하리라고 생각된다.

### REFERENCES

- 1) Kritchevsky, D.: *Diet and Atherosclerosis*. Am. J. Pathol. 84:615-632, 1976.
- 2) Yudkin, J.: *Diet and coronary thrombosis: Hypothesis and fact*. Lancet. 2:155-162, 1957.
- 3) Eklund, A. & Sjöblom, L.: *Effects of the source of dietary protein on serum lower density lipoprotein (VLDL+LDL) and tocopherol levels in female rats*. J. Nutr. 110:2321-2335, 1980.
- 4) Neves, L.B., Clifford, C.K., Kohler, G.O., Fremery, D.D.E., Knuckles, B.E., Cheowtirakul, C., Miller, M.W., Weir, W.C. & Clifford, A.J.: *Effects of dietary proteins from a variety of sources on plasma lipids and lipoproteins of rats*. J. Nutr. 110:732-742, 1980.
- 5) Kim, Y.S. & Kim, W.Y.: *Effects of dietary protein on growth and lipid metabolism in growing rats*. Korean J. Nutr. 15:119-128, 1982.
- 6) Mol, M.A.E., Smet, R.C., Terpstra, A.H.M. & West, C.E.: *Effect of dietary protein and cholesterol on cholesterol concentration and lipoprotein pattern in the serum of chickens*. J. Nutr. 112:1029-1037, 1982.
- 7) Sirtori, C.R., Agradi, E., Conti, F., Gatti, E., Mantiero, O., Tremoli, E., Sirtori, M., Fraterrigo, L., Tavazzi, L. & Kritchevsky, D.: *Clinical experience with the soybean protein diet in the treatment of hypercholesterolemia*. Am. J. Clin. Nutr. 32:1645-1658, 1979.
- 8) Descovich, G.C., Gaddi, A., Mannino, G., Cattin, L., Senin, U., Caruzzo, C., Fragiocomo, C., Sirtori, M., Ceredi, C., Benassi, M.S., Colombo, L., Fontana, G., Mannarino, E., Bertelli, E., Noseda, G. & Sirtori, C.R.: *Muticentre study of soybean protein diet for outpatient hypercholesterolemic patients*. Lancet 2:709-715, 1980.
- 9) Glomset, J.A.: *Physiological role of lecithin-cholesterol acyltransferase*. Am. J. Clin. Nutr. 23:1129-1136, 1970.
- 10) Miller, G.J. & Miller, N.E.: *Plasma-HDL concentration and development of ischemic heart disease*. Lancet. Jan. 4:16-19, 1975.
- 11) Berg, K. & Borrenses, A.L.: *Serum HDL and atherosclerotic heart disease*. Lancet Mar. 6:499-501, 1976.
- 12) Sautier, C., Dieng, K., Flament, C., Doucet, C., Saquet, J.P. & Lemonnier, D.: *Effects of whey protein, casein, soya-bean and sunflower pro-*

- teins on the serum, tissue and faecal steroids in rats. *Br. J. Nutr.* 49:313-319, 1983.
- 13) Sobel, C. & Fernandez, A.: Determination of total and esterified cholesterol in serum. *Clin. Chem.* 12:739-747, 1966.
- 14) Biggs, H.G., Erikson, J.M. & Moorehead, W.R.: A manual colorimetric assay of triglycerides in serum. *Clin. Chem.* 21:437-441, 1975.
- 15) Cooper, T.G.: Biuret protein determination; The tools of biochemistry. 51. John Wiley & Sons. New York U.S.A. 1977.
- 16) Folch, J., Lee, M. & Stanley, G.H.S.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-509, 1957.
- 17) Raaij, J.M.A., Katan, M.B., Hautvast, J.G.A.J. & Hermus, R.J.J.: Effects of casein versus soy-protein diets on serum cholesterol and lipoprotein in young healthy volunteers. *Am. J. Clin. Nutr.* 34:1261-1271, 1981.
- 18) Shorey, R. A.L., Belinda, B.M.A., Grace, S. Lo. & Steinke, F.H.: Determinants of hypocholesterolemic response to soy and animal protein-based diets. *Am. J. Clin. Nutr.* 34:1769-1778, 1981.
- 19) Beyen, A.C., Van Gils, L.G.M., Scholz, K.E. & West, C.E.: Serum cholesterol levels of calves and rabbits fed milk replacers containing skim milk powder or soybean protein concentrate. *Nutr. Rep. Inter.* 27:757-764, 1983.
- 20) Nagata, Y., Ishiwaki, N. & Sugano, M.: Studies on the mechanism of antihypercholesterolemia. *action of soyprotein and soyprotein-type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats. J. Nutr.* 112:1614-1625, 1982.
- 21) Forsythe, W.A., Miller, E.R., Hill, G.M., Romos, D.R. & Simpson, R.C.: Effects of dietary protein and fat sources on plasma Cholesterol parameters, LCAT activity and amino acid levels on tissue lipid content of growing pigs. *J. Nutr.* 110:2467-2479, 1980.
- 22) Hevia, P., Kari, F.W., Ulman, E.A. & Visek, W. J.: Serum and liver lipids in growing rats fed casein with L-lysine. *J. Nutr.* 110:1224-1230, 1980.
- 23) Milner, J.A. & Hassan, A.S.: Species specificity of arginine deficiency-induced hepatic steatosis. *J. Nutr.* 111:1067-1073, 1981.
- 24) Aoyama, Y., Yoshida, A. & Ashida, K.: Effect of some dietary additions to either an arginine-devoid diet or a diet supplemented with orotic acid refed after starvation on liver lipid content during essential fatty acid deficiency in rats. *J. Nutr.* 111:895-906, 1981.
- 25) Rogers, K.S., Higgins, E.S. & Grogan, W.M.: Influence of dietary cholesterol on mitochondrial function in the rat. *J. Nutr.* 110:248-254, 1980.
- 26) Sugano, M., Tanaka, K. & Ide, T.: Secretion of cholesterol, triglycerides and apolipoprotein A-I by isolated perfused liver from rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixtures. *J. Nutr.* 112:855-862, 1982.