

사료중 Casein 및 대두단백질의 아미노산 균형이 병아리의 혈액 및 간조직내의 Cholesterol 함량에 미치는 영향

김현숙¹ · 지규만 · 최인숙

고려대학교 응용동물과학과

Effects of Amino Acid Balance of Dietary Casein and Soy Protein on the Plasma and Liver Cholesterol Levels in Young Chicks

H. S. Kim¹, K. M. Chee and I. S. Choi

Department of Animal Science, Korea University

Seoul, Korea 136-701

ABSTRACT

Effects of dietary protein sources and their amino acid compositions on the liver and plasma cholesterol levels in growing Single Comb White Leghorn male chicks were studied. A diet containing isolated soy protein (21% cp) was supplemented with 0.5% DL-methionine and 0.3% L-glycine, and another diet containing casein(21% cp) was supplemented with 1.5% L-arginine HCl, 0.4% DL-methionine, and 1.0% L-glycine. Plasma cholesterol level was markedly lower in groups force-fed the diets containing either soy protein or casein supplemented with amino acids compared to those found in birds fed corresponding diets without amino acids supplementation. The cholesterol lowering effect of the casein diet, when balanced with various supplemental amino acids appeared to be due to arginine instead of methionine or glycine. It is likely that amino acid balance rather than the composition of a specific amino acid is one of the major factors determining the effect of dietary protein sources on the blood cholesterol levels in chicks.

(Key words : amino acid balance, cholesterol, chick)

서론

동물성 단백질에 비하여 식물성 단백질의 섭취는 실험동물의 혈액 콜레스테롤 함량을 떨어뜨린다는 보고가 있는데(Kritchevsky, 1979), 이것은 식물

성인 대두단백질과 동물성인 카제인(casein)의 효과를 확대하여 잘못 일반화 시킨 것이라고 본 연구자들은 믿는다. 많은 실험에서 대두단백질 또는 그와 유사한 조성의 아미노산 혼합물을 급여한 쥐나 토끼에서 혈액 콜레스테롤 함량이 낮아진 반면

¹ 숙명여자대학교 식품영양학과(Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University)

카제인이나 그와 유사한 아미노산 조성의 혼합물을 섭취한 동물에서는 혈액 콜레스테롤 함량의 증가 효과가 나타났다(Nagata 등, 1981). 식이 단백질의 종류가 혈액 및 조직내의 콜레스테롤함량에 미치는 영향은 대체로 세가지의 가설에 의해 설명되고 있다(Horigome와 Cho, 1992). 첫째, 단백질 섭취후 대변으로의 중성 steroid 배설량이 달라져 그것이 혈액 콜레스테롤 함량에 영향을 미친다는 주장이고, 둘째, 대두 단백질의 hypocholesterolemic 효과는 thyroid 호르몬(T4)의 분비를 촉진시킴으로써 야기된다고 주장하고 있으며, 마지막 하나는 식이 단백질의 아미노산 조성에 의해 효과가 나타난다는 주장이다. 최근 Baynen 등(1990)은 카제인 사료를 섭취한 돼지에서 회장과 糞으로의 중성 steroid 배설량이 대두 단백질 급여구에 비해 감소하였음을 보고하였다. 그러나 여러 종류의 식물성 단백질과 대두 단백질에 상응하는 아미노산 혼합물을 사용한 많은 연구에서 糞으로 배설되는 steroid량과 혈액 콜레스테롤 수준 간에 특별한 상관관계가 없었다는 보고(Nagata 등, 1981; Sugano 등, 1984; Sautier 등, 1983)가 있다. 이 보고들을 종합해 보면 식물성과 동물성 단백질의 차이로 인해 나타나는 현상을 중성 steroid 배설량의 차이로만 설명하기에는 충분하지 않은 것 같다. 또한, Forsythe (1995)는 여러 종류의 식이 단백질급원과 혈장 thyroxine 수준을 비교한 결과 대두 단백을 투여한 gerbil군에서 혈장의 T4수준이 casein 투여군에 비해 높게 나타났다고 보고하고 있다. 그러나, 그 사실이 대두가 가지고 있는 hypocholesterolemic 효과의 원인이 되는 기전이라고는 확실히 설명할 수 없었다.

한편 Kritchevsky(1979)와 Czarnecki와 Kritchevsky(1979)는 단백질 급원내 arginine: lysine 비율의 차이 (대두 단백질, 1.13:1; casein, 0.49:1)가 혈액 콜레스테롤 수준에 영향을 미치는 요인임을 지적하였고, 대두 단백질에 lysine을 첨가할 때 粥腫形成度(atherogenecity)가 높아졌다고 하였다. 이에 반해 Jarowski와 Pytlewski(1975)는 식이 lysine이 쥐와 高脂血症 환자들의 혈장 콜레스테롤 수준을 낮추었다고 하였으며, Nagata 등(1980)도 대두 단백질에 lysine

을 첨가하거나 카제인에 arginine을 첨가한 경우 쥐의 혈청 콜레스테롤 수준에 별다른 영향을 미치지 못하였다고 하여 Kritchevsky (1979)등과 다른 결과를 보고하고 있다.

이와 같이 여러 연구에서 서로 다른 결과가 나타나는 원인은 여러 가지가 있겠으나 본 연구자들은 이것이 연구방법적인 면에서의 차이, 특히 사료섭취량의 차이에 주 원인이 있다고 생각하였다. 대부분의 연구에서 실험동물의 사료섭취는 제한없이 충분히 먹을 수 있도록 배려하였다. 그러나 사료섭취량은 사료내 단백질의 종류 (특히 카제인)나 수준 또는 아미노산의 조성 등이 다를 경우에 큰 차이가 나타나게 되며, 그에 따라 증체량도 역시 심각한 영향을 받게 된다(Chee 1984, Harper 등 1970). 사료섭취량이 달라지면 실험 처리군간에 에너지 및 단백질의 섭취량은 물론이고 사료내 비타민이나 광물질 등 여러 성분의 섭취량에 까지 큰 차이를 주게 된다. 따라서 혈액내 콜레스테롤 함량은 사료 단백질의 종류뿐만이 아니고 에너지 섭취량이나 다른 영양소 등 많은 변수에 의해 영향을 받게 된다(Baldner-Shank 1987, Choi and Chee, 1995).

본 연구자는 카제인과 대두단백질의 아미노산 조성이 혈중 콜레스테롤 함량에 미치는 영향을 보다 명확하게 규명하기 위해서는 사료섭취량을 동일하게 유지하는 조건이 필요하다고 판단하였다(Choi and Chee, 1995). 따라서 성장 중인 병아리에서 강제 급이(forced-feeding) 방법에 의해 동일한 양의 사료를 급여하면서, 종류가 다른 사료 단백질(대두 단백질과 카제인)에 아미노산을 첨가하여 아미노산 수준을 비슷하게 했을 때 혈액 및 간 조직내의 콜레스테롤, 중성지질(triglyceride) 및 총지질(total lipids)의 함량에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

모두 세번의 사양실험을 하였는데 실험동물로 병아리를 선택하였다. 그 이유는 병아리의 혈액 콜레스테롤 함량이 쥐에 비해 사료에 대한 반응이 보다

Table 1. Composition of diets (Experiments 1 & 2)

Ingredients	Soy protein diets		Casein diets	
	+ None	+0.5% Methionine +0.3% Glycine	+ None	+1.5% Arginine +0.4% Methionine +1.0% Glycine
Isolated soy protein ¹	25.0	24.0		
Casein ²	-	-	25.0	22.0
DL-methionine ³	-	0.5	-	0.4
L-glycine ³	-	0.3	-	1.0
L-arginine HCl ³	-	-	-	1.5
Glucose ⁴	61.6	61.8	61.6	61.7
Choline chloride ³	0.2	0.2	0.2	0.2
Corn oil ⁵	4.0	4.0	4.0	4.0
α -Cellulose ³	3.0	3.0	3.0	3.0
Mineral mixture ⁶	6.0	6.0	6.0	6.0
Vitamin mixture ⁷	0.2	0.2	0.2	0.2
	100.0	100.0	100.0	100.0

¹ Supra 620, Ralston Purina Co.(St. Louis).

² New Zealand Dairy Board, Wellington, N. Z.

³ Sigma Chemical Co.(Seoul).

⁴ Mi-won Co.(Seoul).

⁵ Sam-yang Co.(Seoul).

⁶ The mixture provides followings per kg of diet : Ca 9.0 g, P 5.5 g, K 2.0 g, Na 1.5 g, Mn 55 mg, Mg 600 mg, Fe 80 mg, Cu 4 mg, Zn 40 mg, I 0.35 mg, Se 0.1 mg, Co 0.21 mg and B 1.58 mg.

⁷ The mixture provides followings per kg of diet : vit. A acetate, 10,000 IU; vit. D₃, 600 IU; alpha-tocopheryl acetate, 20 mg; menadione, 5 mg; thiamin HCl, 100 mg; riboflavin, 16 mg; pyridoxine HCl, 6.0 mg; Ca-pantothenate, 20 mg; niacin, 100 mg; biotin, 0.6 mg; folic acid, 4 mg; vit. B₁₂, 0.02mg; inositol, 100 mg; PABA, 2 mg; and ascorbic acid, 250 mg.

더 예민하게 나타나며 (Chandler 등, 1979) 소화기의 구조상 사료의 강제급이가 쉽기 때문에 병아리가 더 적절한 동물 model이라고 판단되었기 때문이다.

1) 실험 1 : 자유급식조건에서 사료단백질과 아미노산의 보충급여가 체내 콜레스테롤 수준에 미치는 효과

이 실험은 자유급식의 조건에서 단백질 급원과 아미노산 보충급여가 체내 콜레스테롤 수준에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 실시하였다. 사료단백질 급원으로 카제인 (New Zealand Dairy Board, New Zealand)과 정제된 대두 단백질(isolated soyprotein, Purina Co.) 만을 사용하면서 결핍 또는 불균형된 아미노산을 첨가하여 아미노산의 균

형을 맞춘 것과 그렇지 않은 본래대로의 것을 비교 하면서 4개의 처리구를 두었다. 대두 단백질 사료에는 DL-methionine 0.5%와 L-glycine 0.3%씩을, 카제인에는 L-arginine HCl 1.5%, DL-methionine 0.4%, L-glycine 1.0%씩을 각각 첨가 하였다 (Table 1). L-arginine HCl의 첨가수준은 카제인에 함유된 arginine과 lysine의 비율을 NRC(1994)에서의 요구량 비율(1.0:0.85)에 일치되도록 하기 위한 것이었다. DL-methionine과 glycine의 첨가는 아미노산의 요구량을 맞추기 위한 것이었다. 아미노산의 첨가는 대두 단백질과 카제인을 증량비로 대치하여 이루어졌다. 사료 단백질 수준과 에너지 및 기타 영양소함량은 NRC(1994) 요구량에 충족되도록 하였다.

실험사료의 탄수화물 급원으로 포도당(주, 선일 포

Table 2. Composition of diets (Experiment 3)

Ingredients	Soy protein diets			Casein diets		
	+ None	+0.3% Glycine	+0.5% Methionine +0.3% Glycine	+None	+0.4% Methionine +1.0% Glycine	+1.5% Arginine +0.4% Methionine +1.0% Glycine
Isolated soy protein ¹	25.0	24.0	23.0	-	-	-
Casein ²	-	-	-	25.0	23.5	22.0
DL-methionine ³	-	0.5	0.5	-	0.4	0.4
L-glycine ³	-	0.3	0.3	-	1.0	1.0
L-arginine HCl ³	-	-	-	-	-	1.5
L-lysine ³	-	-	1.1	-	-	-
Glucose ⁴	61.6	61.8	61.7	61.6	61.7	61.7
Choline chloride ³	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Corn oil ⁵	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
α -Cellulose ³	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Mineral mixture ⁶	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Vitamine mixture ⁷	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

¹⁻⁷ Refer to Table 1.

도당), 필수 지방산 급원으로 옥수수기름, 그리고 α -cellulose(Sigma Chemical Co.)등을 사용하여 정제사료(purified diet)를 만들었다. 사용한 아미노산들은 Sigma 회사 제품들이었다. 이들 사료를 단관백색 레그혼 계통의 10일령 수평아리(천호부화장)에게 16일간 급여(*ad-libitum* feeding)하였고, 각 실험처리구에 3반복을 두고 반복당 6마리씩 배치하였다.

2) 실험 2 : 동량의 사료를 강제급여시 사료단백질과 아미노산의 보충급여가 체내 콜레스테롤 수준에 미치는 효과

실험 2에서는 강제급여 방법에 의해 실험1에 사용한 것과 같은 사료(Table 1)를 급여하였다. 실험 병아리들의 체중이 균일하였기 때문에 급여량에서 개체별 차이를 두지 않았다. 강제로 급여한 양은 자

유 급식군에서의 사료 섭취량을 기준하여 이를 1일 3회로 나누어 매일 일정한 시간 (오전 9시, 오후 1시 및 6시)에 급여하였다. 강제급여는 Leung 등 (1968)의 방법을 사용하여 실시하였으며 50ml 플라스틱 주사기에 미리 정량해 놓은 해당 양의 사료를 넣고 사료무게와 같은 부피의 물(1:1)을 주사기 안에 투입하여 잘 혼합하였다. 이 주사기에 12 cm 정도의 polyethylene tube를 연결하여 병아리의 소낭(crop)에 직접 주입하였다. 사료 급여량은 실험기간중 체중의 증가에 따라 1일 10 g부터 22 g 까지 늘려주었으며 기간중 1일 평균 급여량은 한마리당 17.5g이었다. 실험 1에서와 같이 단관백색 레그혼 계통의 12일령 수평아리를 각 처리당 10수씩 배치하여 13일간 실험하였다.

3) 실험 3 : 대두단백질에 lysine 보충급여가 체

Table 3. Effects of feeding diets containing soy protein or casein, both supplemented with or without amino acids on body weight gain, feed intake, liver weight and levels of cholesterol, triglyceride, total lipids in liver and plasma of chicks fed *ad libitum* (Experiment 1)¹.

Items	Soy protein diets		Casein diets		Standard error
	+ None	+0.3% Glycine	+ None	+1.5% Arginine +0.4% Methionine +1.0% Glycine	
Body weight gain, g/bird	23.08 ^a	98.17 ^b	33.80 ^a	139.87 ^c	7.60
Feed intake, g/bird	115.0	257.4	187.2	281.7	11.9
Feed/Gain	4.98	2.62	5.54	2.01	0.35
Liver					
Weight, g/100 g body weight	3.07	4.29	4.22	3.56	0.37
Cholesterol, mg/g tissue	4.21	4.40	4.09	4.54	0.15
Triglyceride, mg/g tissue	23.52	22.79	35.80	28.05	3.42
Total lipids, %	5.16 ^a	5.89 ^{ab}	7.61 ^b	7.29 ^{ab}	0.56
Plasma, mg/100 ml					
Cholesterol	204.1 ^a	228.4 ^{ab}	273.2 ^b	200.0 ^a	14.5
Triglyceride	416.62	414.25	478.93	430.58	24.07

¹ Initial average body weight per bird was 65.7 g \pm 1.2(SD). Mean values of 6 birds fed diets for 15 days.

^{abc}Means with a common letter are not significantly different ($P < 0.05$).

내 콜레스테롤 수준에 미치는 효과

실험 3은 실험 2의 결과를 한 단계 더 깊이 검토하기 위한 것으로 역시 강제급이 방법으로 실시되었다. 대두단백사료구에서 lysine-arginine 길항작용 효과를 유도하기 위하여 카제인 과 비슷한 수준의 lysine/arginine 비율이 되도록 lysine (1.13%)을 첨가하였다. 또한 카제인에 methionine, glycine, arginine을 첨가하였을 때 나타난 低 콜레스테롤 血症 효과가 methionine과 glycine 때문인지, 아니면 arginine 첨가에 의한 lysine-arginine 길항작용의 방지 효과 때문인지를 알기 위해 카제인에 arginine을 제외한 methi-

onine(0.4%)과 glycine (1.0%)을 첨가한 군을 각각의 대두 단백질과 카제인군에 포함시켜 실험하였다 (Table 2).

아미노산은 NRC(1984) 요구량을 충족할 수 있도록 대두단백질사료에 DL-methionine 0.5%, L-glycine 0.3%와 DL-methionine 0.5%, L-glycine 0.3%, L-lysine 1.13%를 각각 첨가하였으며, 카제인에는 DL-methionine 0.4%, L-glycine 1.0%와 DL-methionine 0.4%, L-glycine 1.0%, L-arginine 1.5%씩을 각각 첨가하였다. 모든 아미노산의 첨가 수준은 실험 2에서와 마찬가지로 NRC(1984) 요구량에 맞추어진 것

이며, 각 아미노산의 첨가는 대두 단백질과 카제인을 중량비로 대치하여 모든 사료의 단백질 함량이 같도록 하였다. 이들 사료를 단판 백색 레그혼 계통의 2주령 되는 수평아리에게 14일간 강제급여하였으며, 각 처리에 12마리씩 배치하였다. 강제급여 방법은 실험 2에서와 동일하였다.

모든 실험에서 병아리들은 난방시설이 되어있는 방의 철제 battery에서 사육되었고, 실험 시작 전까지는 시판 사료를 임의로 급여하였으며 물은 항상 자유롭게 마시도록 하였다. 실험 사료 급여전 6시간 정도 절식시킨 후 개체별로 체중을 측정하여 각 실험 군의 실험 개시 체중이 가능한 비슷하게 하였다.

실험종료후 병아리를 마취시키지 않은 상태로 심장에서 혈액을 채취한 후 potassium oxalate용액을 사용 (혈액 1 cc당 1 mg 비율) 하여 혈액 응고를 방지하여 혈장(plasma)을 분리하였다. 경추골 분리에 의해 사망시킨 후 간 조직을 채취하여 중량을 달고 혈장과 같이 -20°C 에 보관하였다.

간 조직을 잘 혼합한 후 1~2g을 채취하여 Folch 등(1957)의 방법에 의해 지방을 추출하였다. 이 추출용액으로 부터 총지질, 콜레스테롤과 중성지질을 분석하였다. 혈장에서는 총 콜레스테롤과 중성지질을 조사하였다. 총 콜레스테롤은 ferric chloride-acetic acid 침전법(Zlatkis 등, 1953)에 의하여 분석되었으며, 중성지질은 Neri와 Frings의 방법(1973)을 채택하였다. 간 조직의 총지질 함량은 Folch 등(1957)의 방법에 의하여 분석되었다. 모든 data는 one way analysis에 의해 분산분석 후 Tukey's test에 의해 처리 평균간의 유의성 검정을 조사하였다(Steel과 Torrie, 1960).

결과 및 고찰

1) 실험 1; 자유급식조건에서 사료단백질과 아미노산의 보충급여가 체내 콜레스테롤 수준에 미치는 효과

실험 1의 결과는 Table 3에 나타나 있다. 대두 단백질과 카제인 사료에 아미노산을 첨가하지 않은

경우 증체량이 평균 30 g 정도인데 비해, 아미노산 첨가군에서는 각각 100 g 및 140 g 정도가 되어 아미노산 첨가군이 무첨가군에 비해 현저히 높은 증체를 나타냈다($P < 0.05$). 사료 섭취량도 아미노산 첨가군이 100~140 g을 더 섭취하여 사료요구율(Feed/Gain)도 5.0~5.5 수준에서 2.0~2.6 수준으로 개선되었다. 이는 각 단백질에 아미노산을 첨가하여 그들의 균형을 맞추었을 때 성장율과 사료 효율에 미치는 효과가 지대함을 말해주며, 이러한 현상이 동물의 전반적인 지질대사에도 중대한 영향을 미칠 수 있음을 짐작할 수 있다.

혈액내 콜레스테롤 함량은 아미노산 무첨가사료군끼리 비교할 때 대두 단백질군이 카제인군보다 유의하게 더 낮았고($P < 0.05$), 아미노산이 첨가된 경우에는 두 단백질 사료군간에 차이가 없었다. 아미노산의 첨가효과는 카제인군에서 특히 현저하게 나타나 혈액내 콜레스테롤 함량을 37%나 크게 저하시켰다. Kritchevsky (1979)와 Czarnecki와 Kritchevsky(1979) 및 arginine:lysine의 비율이 대두 단백질에서는 높고 카제인 단백질에서는 낮아서 (대두단백질, 0.95; 카제인, 0.41), 이것이 카제인 섭취시 혈액 콜레스테롤 함량을 높이는 주요 원인이라고 지적했으며 대두 단백질의 혈액 콜레스테롤 저하 효과는 특정한 아미노산(lysine)의 첨가에 의해 강화된다고 결론지었다.

Jarowski와 Pytelewski(1975)도 lysine의 섭취가 쥐와 高脂肪血症 환자의 혈액 콜레스테롤 함량을 낮추었다고 하였다. 그러나 Nagata 등(1981)은 쥐에서 대두 단백질에 lysine을 첨가하여 아미노산의 균형을 악화시키거나, 카제인에 arginine을 첨가하여 lysine:arginine 비율을 개선해도 혈액 콜레스테롤 함량에 미치는 이들 단백질 본래의 효과에 변화가 없었다고 하였다. Nagata 등(1981)을 비롯한 쥐를 사용한 다른 연구자들의 보고와 병아리를 사용한 본 연구 결과와의 차이는 사용한 실험동물의 종류가 다른데에 기인한다고 생각된다. NRC(1978)에서 성장중인 쥐의 arginine과 lysine요구량 비율 (0.60: 0.70%)은 병아리의 NRC(1984) 요구량 비율(1.00:0.85%)에 비해 더 낮기 때문에, 다리간에 유의한 차이가 없었고, 중성

지질함량은 혈액과 간장에서 카제인군이 높은 경향을 보였으나 유의한 수준의 차이는 보이지 않았고, 아미노산이 첨가된 두 단백질 사료군 간에는 모두 비슷한 경향을 보였다. 그러나 간장내 총지질 함량은 카제인군이 대두 단백질군에 비해 현저히 더 많았으며($P < 0.05$), 역시 아미노산의 첨가 효과는 보이지 않았다.

2) 실험 2 : 동량의 사료를 강제급여시 사료단백질 과 아미노산의 보충급여가 체내 콜레스테롤 수준에 미치는 효과

실험 2의 결과는 Table 4에 보여주고 있으며 각 실험군별로 실험기간중 약간의 폐사가 생겨 실험 종료시 사료 수에 차이가 있었다(Table 4). 강제급여에 의해 사료 섭취량을 동일하게 한 경우 아미노산의 균형이 이루어진 사료를 섭취한 실험군의 체중 증가량이 더 좋았으며, 카제인에 아미노산을 첨가하지 않은 사료를 급여한 병아리의 경우 체중에 반비례로 간장 중량이 크게 증가하였다. 이는 간조직내 중성지질을 포함한 총지질 함량이 크게 증가되었기 때문이며 카제인군에서 아미노산 간의 심한 길항작용(Kritchevsky, 1979)에 의한 단백질 대사의 이상과 관련이 있을 것으로 짐작된다. 카제인에 arginine을 첨가하여 lysine과의 길항작용을 예방한 경우 병아리의 간장 중량이 대조군과 같은 수준으로 회복되었다(Table 4).

혈액내 콜레스테롤 함량은 아미노산을 첨가하지 않은 경우 대두 단백질군이 카제인군보다 더 낮았으나, 이 두 실험군의 콜레스테롤 함량은 아미노산 첨가군들에 비해 유의하게 더 높았다(Table 4). 혈액내의 중성지질 수준은 카제인에 아미노산을 첨가하지 않은 사료군이 다른 실험군에 비해 현저히 높았다($P < 0.05$). 간의 콜레스테롤 수준은 혈액 콜레스테롤 함량과 거의 유사한 경향을 보였고, 간장내 중성지질은 대두 단백질과 카제인군에서 모두 아미노산 첨가군이 무첨가군에 비해 그 함량이 현저히 낮았으며 그 효과는 카제인군에서 더욱 뚜렷하였다. 간장내 총지질 함량은 아미노산 무첨가군끼리 비교해 볼 때 카제인군이 대두 단백질군에 비해 현저히 더 높았으나, 아미노산을 첨가해 줌으로써 대두 단

백질군과 비슷한 수준으로 낮아졌다 (Table 4).

카제인은 대두 단백질에 비해 2배의 methionine을 함유하고 있으나(NRC, 1984) 이 함유량 아미노산은 두 가지 단백질급원에서 모두 제한 아미노산이기 때문에 Hamilton과 Carroll (1976), Gatti와 Sirtori(1977), Kim 등(1978)은 식이내 methionine 함량의 차이가 혈액 cholesterol 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 즉, Kim 등(1978)은 대두 단백질에 DL-methionine을 첨가해도 그 단백질의 혈액 콜레스테롤 저하 효과가 달라지지 않았다고 했으며, 한편 Hagemester 등(1990)이나 Sugiyama등(1987)은 각각 miniature pig나 쥐 사료에 methionine, cyst(e)ine의 첨가가 혈중 콜레스테롤 함량을 저하시킨다고 보고하였다. 반면에 Hamilton과 Carroll(1976), Gatti와 Sirtori (1977)는 대두 단백질에 methionine을 첨가하면 혈청 콜레스테롤 수준이 약간 증가된다고 하였다. 본 실험에서 강제급여에 의해 사료섭취량을 동일하게 한 경우 methionine 첨가군과 무첨가군의 증체량이 비슷해졌으며, 이때 혈중 콜레스테롤함량은 대두단백질+methionine군에서 유의하게 낮았다($p < 0.05$).

Kritchevsky(1979)와 Czarnecki와 Kritchevsky(1979)는 arginine:lysine의 비율이 대두 단백질에서는 높고 카제인 단백질에서는 낮아서 (대두단백질, 0.95; 카제인, 0.41), 이것이 카제인 섭취시 혈액 콜레스테롤 함량을 높이는 주요 원인이라고 지적했으며 대두 단백질의 혈액 콜레스테롤 저하 효과는 특정한 아미노산(lysine)의 첨가에 의해 강화된다고 결론지었다. Jarowski와 Pytelewski (1975)도 lysine의 섭취가 쥐와 高脂肪血症 환자의 혈액 콜레스테롤 함량을 낮추었다고 하였다. 그러나 Nagata 등(1981)은 쥐에서 대두 단백질에 lysine을 첨가하여 아미노산의 균형을 악화시키거나, 카제인에 arginine을 첨가하여 lysine:arginine 비율을 개선해도 혈액 콜레스테롤 함량에 미치는 이들 단백질 본래의 효과에 변화가 없었다고 하였다. Nagata등(1981)을 비롯한 쥐를 사용한 다른 연구자들의 보고와 병아리를 사용한 본 연구 결과와의 차이는 사용한 실험동물의 종류가 다른데

에 기인한다고 생각된다. NRC(1978)에서 성장중인 쥐의 arginine과 lysine요구량 비율 (0.60:0.70%)은 병아리의 NRC(1984) 요구량 비율 (1.00:0.85%)에 비해 더 낮기 때문에, 다시 말하면 arginine의 요구량 비율이 lysine에 비해 낮으므로 쥐는 두 아미노산의 길항작용 효과에서 병아리보다 예민하지 못하다고 보는 것이 타당하다고 판단된다.

본 실험 2 (Table 4)에서 대두 단백질군중 아미노산 무첨가군과 첨가군간의 혈액 콜레스테롤 함량 비율은 1.4 : 1인 반면, 카제인군에서는 1.6 : 1이었다. 이 결과는 카제인군에서의 lysine:arginine 길항작용이 대두 단백질군에서 methionine 결핍 정도가 미치는 영향보다 더 심하게 간장의 무게나 혈액 콜레스테롤 함량에 영향을 미칠 수도 있음을 시사해 준다.

3) 실험 3 : 대두단백질에 lysine 보충급여가 체내 콜레스테롤 수준에 미치는 효과

실험 3의 결과는 Table 5에 수록되어 있으며, 체중 증가량은 대두 단백질군과 카제인 군에서 모두 결핍 아미노산을 보충해 준 쪽이 유의하게 높았다. 카제인군에서는 methionine, glycine, arginine을 첨가해준 실험군이 현저히 좋게 나타났다($P < 0.05$). 아미노산 무첨가군 끼리의 비교에서는 실험 2의 결과와는 달리 대두 단백질군의 체중증가가 더 좋았는데($P < 0.05$), 이는 체중이 비슷한 동일계통의 실험동물들을 사용했음에도 불구하고 각기 다른 기간의 실험동물간에 보여지는 개체별 차이에서 오는 결과로 생각된다. 간장의 무게는 카제인+무첨가 아미노산군과 methionine, glycine만을 첨가해준 실험군에서 가장 무거웠으며, 아미노산 첨가군간에는 차이가 없었다.

혈액내 콜레스테롤과 중성지질 함량은 카제인 + 무첨가아미노산군과 methionine, glycine 만을 첨가한 군에서 현저히 높았으며($P < 0.05$), 대두단백질군에서는 차이가 없었다. 간장내 중성지질과 총지질 함량 역시 아미노산 무첨가 카제인군과 methionine, glycine만을 첨가해준 군이 arginine 첨가군에 비해 현저히 더 많았으며 ($P < 0.05$), 대두 단

백질군에서는 처리군간에 차이가 없었다.

따라서 실험 3에서의 일반적인 경향은 아미노산 무첨가군끼리 비교해 볼 때 대두단백질군이 카제인군에 비해 간장의 무게가 가볍고, 간장과 혈액내 콜레스테롤과 중성지질, 총지질함량 등도 낮았으며, 아미노산 첨가 효과는 대두 단백질군보다 카제인군에서 월등히 높게 나타나 이는 실험 2의 결과와 일치한다. 또한 카제인에 methionine과 glycine만을 첨가해준 실험군은 혈액 콜레스테롤 함량 저하 효과가 전혀 나타나지 않은 반면 arginine까지 포함시켜 첨가해준 실험군에서는 그 효과가 현저히 크게 나타난 것으로 보아 앞에서 서술한 Kritchevsky 등(1979)의 주장과 같이 카제인에서는 역시 lysine-arginine 길항작용이 병아리의 혈액 콜레스테롤 함량을 높이는 것이 분명하다고 판단된다.

한편 대두 단백질군에서의 lysine-arginine 길항작용을 조사하기 위해 대두 단백질에 인위적으로 카제인과 비슷한 수준의 lysine/arginine 비율이 되도록 lysine을 첨가한 경우 lysine 무첨가군(methionine과 glycine 첨가)에 비해 hypocholesterolemic 효과가 나타나지 않은 것으로 미루어 대두 단백질에는 lysine-arginine 길항작용을 능가하는 다른 어떤 기전이 작용하고 있는 것으로 생각된다. Hagemester 등(1990)에 의하면 대두 단백질 식이를 먹인 쥐에서 혈청 아미노산중 branched-chain 아미노산인 valine, leucine, 그리고 tyrosine이 혈청 콜레스테롤 수준을 낮춘 것으로 보아 대두 단백질의 혈액 콜레스테롤 함량 저하효과는 이들 특수 아미노산과 어떤 연관성이 있을 수 있다고 하였다. 한편 본 실험 2와 3에서 대두단백질에 첨가한 methionine이 혈중 콜레스테롤함량에 미치는 영향이 달리 나타났고, 또 실험 3에서 카제인에 첨가한 methionine은 오히려 혈중 콜레스테롤함량을 증가시켰다. 본 연구에서 함유황아미노산이 혈액 콜레스테롤에 미치는 영향에 대해 결론을 내리기는 미흡하나 함유황아미노산의 독자적인 영향이 대두 단백질의 경우 아미노산 균형의 개선에 의해 지질대사가 원활해짐에 따른 차이로 보는 것이 타당하리라 생각된다. 이 문제는 함유황 아미노산이 제한되지 않은 단백질 원료를 사용하여 별도

Table 4. Effects of forced feeding the diets containing soy protein or casein, both supplemented with or without amino acids on body weight gain, feed intake, liver weight and levels of cholesterol, triglyceride, total lipids in liver and plasma of chicks (Experiment 2)¹

Items	Soy protein diets		Casein diets		Standard error
	+ None	+0.3% Glycine	+ None	+1.0% Glycine	
Body weight gain, g/bird	33.4	77.2	66.1	79.95	1.34
Feed/Gain	6.80	2.94	3.43	2.84	0.58
Liver					
Weight, g/100 g body weight	3.31 ^a	2.77 ^a	4.23 ^b	2.87 ^a	0.18
Cholesterol, mg/g tissue	4.57 ^a	4.00 ^a	5.28 ^b	3.93 ^a	0.18
Triglyceride, mg/g tissue	26.53 ^a	15.62 ^b	51.86 ^c	16.14 ^b	2.05
Total lipids, %	6.63 ^a	5.64 ^a	10.42 ^b	5.47 ^a	0.62
Plasma, mg/100 ml					
Cholesterol	276.3 ^a	199.3 ^b	358.7 ^c	223.4 ^{ab}	16.0
Triglyceride	377.47 ^a	354.95 ^a	551.61 ^b	401.60 ^a	22.11

¹ Initial average body weight per bird was 91.6 g \pm 0.2(SD). Number of birds to provide the mean value for each dietary group from left to right was, in the order, 6, 10, 7 and 10, respectively. Each bird was force-fed a total of 227 g of the corresponding diets for 13 days.

^{a-c} Means with a common letter are not significantly different ($P > 0.05$).

로 실험하는 것이 바람직하다고 본다.

실험 1과 2의 비교에서 아미노산이 불균형된 사료를 자유급식시키면 사료 섭취량이 크게 달라져 (Table 3) 혈중 콜레스테롤함량에 영향을 미치는 주요 변수가 될 수 있으며, 따라서 이런 실험에서는 사료 섭취량을 균일하게 유지할 필요가 있음을 알 수 있다.

이상의 실험 결과에서 볼 때 대두 단백질이 카제인에 비해 혈액 콜레스테롤 함량을 저하시키는 효과가 있음은 앞의 여러 연구자들의 견해와 일치한다. 또한 아미노산 균형이 이루어진 카제인과 대두 단백질 사료구가 모두 비슷한 혈액 콜레스테롤 함량을 보인 것은 결과적으로 아미노산 균형이 혈액 콜레스

테롤 함량의 증가를 방지하는 중요한 요소임을 입증하는 것으로 판단된다. 그럼에도 불구하고 대두 단백질에 lysine을 첨가하여 카제인 단백질의 arginine: lysine 비율과 같이 되도록 한 경우에 두 아미노산 간에 길항작용이 나타나지 않은 것은 대두단백질에 아미노산의 불균형으로 인한 영향보다 더 효과적인 다른 hypocholesterolemic한 인자가 존재할 가능성을 제시해 주고 있다.

적 요

일반적으로 대두 단백질이 카제인에 비해 hypo-

Table 5. Effects of forced feeding the diets containing soy protein or casein, both supplemented with or without amino acids on body weight gain, feed intake, liver weight and levels of cholesterol, triglyceride, total lipids in liver and plasma of chicks (Experiment 3)¹.

Items	Soy protein diets				Casein diets		Standard error
	+ None	+0.3% Glycine	+0.5% Methionine	+1.13% Lysine +0.5% Methionine	+1.0% Glycine	+1.5% Arginine +0.4% Methionine	
Body weight gain, g/bird	93.85 ^a	128.75 ^b	106.45 ^a	32.80 ^d	57.30 ^a	116.90 ^c	1.86
Feed/Gain	2.82 ^a	2.06 ^a	2.49 ^a	8.10 ^c	4.62 ^b	2.27 ^a	0.21
Liver							
Weight, g/100 g body weight	2.69 ^a	2.24 ^a	2.70 ^a	3.91 ^c	3.80 ^c	2.49 ^{ab}	0.09
Cholesterol, mg/g tissue	4.55	4.92	4.45	5.10	4.78	4.46	0.24
Triglyceride, mg/g tissue	19.01 ^a	20.55 ^a	19.97 ^a	26.67 ^b	28.05 ^b	18.09 ^a	1.16
Total lipids, %	4.50 ^{ab}	4.85 ^{abc}	4.28 ^a	5.99 ^c	5.88 ^{bc}	4.14 ^a	0.32
Plasma, mg/100 ml							
Cholesterol	252.74 ^a	229.83 ^a	257.87 ^a	428.57 ^c	548.72 ^c	261.77 ^a	16.76
Triglyceride	220.10 ^a	251.50 ^a	265.28 ^{ab}	329.35 ^c	372.0 ^c	256.28 ^{ab}	15.76

¹ Initial average body weight of bird was 112.9 g ± 0.37(SD). Mean values of 12 chicks forced-fed a total of 264.5 g of the corresponding diets per bird for 14 days.

^{a-c} Means with a common letter are not significantly different (P>0.05).

cholesterolemic 효과가 있는 것으로 알려지고 있다. 그 기전을 연구하는 방법에 있어 두 단백질에 결핍아미노산을 첨가하지 않은 채 임의로 급여시켰을 경우엔 사료 섭취량에 큰 차이가 나타나게 되므로 사료내 에너지 및 단백질의 섭취량은 물론 비타민이나 광물질 등 여러 성분의 섭취량에 차이가 나타나게 된다. 따라서 이러한 결과로서 혈액 콜레스테롤 수준을 논하기는 애매한 일이다. 그러므로 본 연구에서는 강제급여 방법을 채택하여 모든 실험동물의 사료 섭취량을 균일하게 하고 단백질의 종류와 아미노산 균형만이 변수로 작용할 경우 성장 중인 병아리의 혈액 및 간 조직내의 콜레스테롤, 중성지방 및 총지방 함량 등을 조사하였다. 그 결과 대두 단백질이나 카제인 모두 각각의 결핍 아미노산을

첨가해줌으로서 혈액내 콜레스테롤 함량을 현저히 낮출 수 있었다. 특히 카제인에서는 methionine과 glycine만을 첨가한 경우에 비해 arginine을 첨가하여 카제인 자체가 가지고 있는 lysine-arginine 길항작용을 방지해 줌으로서 대두 단백질과 같은 수준의 hypocholesterolemic 효과를 볼 수 있었다. 대두 단백질도 methionine과 glycine을 첨가하여 줌으로서 혈액 콜레스테롤 함량을 낮출 수 있었다. 간 조직내 콜레스테롤 함량은 혈액에 비해 예민한 반응을 보이지는 않았지만 대체로 실험 처리에 의한 혈액내 콜레스테롤 함량의 변화와 비슷한 경향을 나타냈다. 한편 대두 단백질에 인위적으로 카제인과 비슷한 수준의 lysine/arginine 비율이 되게 lysine을 첨가한 경우엔 기대했던 hyperchole-

sterol emic효과가 나타나지 않았으며 이 분야에 대해서는 앞으로 더 연구가 되어져야 한다. 이상의 결과로 살펴볼 때 단백질의 종류가 혈액 콜레스테롤 함량에 미치는 영향은 어떤 특정 아미노산의 영향 때문이라기 보다는 그 단백질의 아미노산 균형 상태가 중요한 요인인것 같다.

(색인 : 아미노산 균형, 콜레스테롤, 병아리)

인용문헌

- Beynen A, West C, Spaaij C, Huisman J, Leeuwen P, Schutte J and Hackeng W 1990 Cholesterol metabolism, digestion rates and postprandial changes in serum of swine fed purified diets containing either casein or soybean protein. *J Nutr* 120:422-432.
- Baldner-Shank GL, Richard MJ, Beitz DC and Jacobson NL 1987 Effect of animal and vegetable fats and proteins on distribution of cholesterol in plasma and organs of young growing pigs. *J Nutr* 117:1727-1733.
- Chandler R, Hooper S and Ismail H 1979 Antihypercholesterolemic studies with sterols: Comparison of rats and chicks as animal model. *Canad J Pharmac Sci* 14:15-20.
- Chee KM 1984 Identification of limiting amino acids and determination of requirement of total sulfur-containing amino acids in a low protein diet in young chicks. *K J Poul Sci* 11(1):1-12.
- Choi IS and Chee KM 1995 Effects of paired-fed diets containing soy protein, casein and fish oil on cholesterol levels in plasma and liver of young chicks. *Korean J Anim. Sci.*, 37(2),117-126.
- Czarnecki S and Kritchevsky D 1979 The effect of dietary proteins on lipoprotein metabolism and atherosclerosis in rabbits. *J Am Oil Chemists' Soc* 56:388-398.
- Folch J, Lees M and Stanley G 1957 A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497-507.
- Forsythe III W. 1995 Soy protein, thyroid regulation and cholesterol metabolism. *J Nutr* 125:619-829.
- Gatti E and Sirtori C 1977 Soybean protein diet and plasma cholesterol. *Lancet* 1:805-810.
- Hagemeister H, Scholz-ahrens K, Schult-coerne H and Barth C 1990 Plasma amino acids and cholesterol following consumption of dietary casein or soy protein in minipigs. *J Nutr* 120:1305-1315.
- Hamilton R and Carroll K 1976 Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, low-cholesterol diets. *Atherosclerosis* 24:47-52.
- Harper AE, Benevenga NJ and Wohlhueter RM 1970 Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. *Physiol. Reviews* 50:428-558.
- Hermus R and Dallinga-Thie G 1979 Soya, saponins and plasma-cholesterol. *Lancet* 7:48-58.
- Horigome T and Cho Y 1992 Dietary casein and soybean protein affect the concentrations of serum cholesterol, triglyceride and free amino acids in rats. *J Nutr* 122:2273-2283.
- Jarowski C and Pytelewski R 1975 Utility of fasting essential amino acid plasma levels in formulation of nutritionally adequate diets III: Lowering of rat

- serum cholesterol levels by lysine supplementation, *J Pharmac Sci* 64:690-895.
- Kim D, Lee K, Reiner J and Thomas W 1978 Effects of a soy protein product on serum and tissue cholesterol concentrations in swine fed high-fat, high-cholesterol diets. *Exp Mol Pathol* 29:385-395.
- Kritchevsky D 1979 Vegetable protein and atherosclerosis. *J Am Oil Chemists' Soc* 56:135-145.
- Leung PMB, Rogers QR, Harper AE 1968 Effect of amino acid imbalance in rats fed *ad libitum*, interval-fed, or force-fed. *J Nutr* 95:474-481.
- Nagata Y, Imaizumi K, Sugano M 1980 Effects of soya-bean protein and casein on serum cholesterol levels in rats. *Br J Nutr* 44:113-121.
- Nagata Y, Tanaka K and Sugano M 1981 Further studies on the hypocholesterolemic effect of soya-bean protein in rats. *Br J Nutr* 45:233-243.
- National Research Council 1978 Nutrient requirements of laboratory animals (3rd ed.) National Academy of Sciences. Washington, D.C.
- National Research Council 1984 Nutrient requirements of poultry (9th ed.) National Academy of Sciences. Washington, D.C.
- Neri BP and Frings CS 1973 Improved method for determination of triglyceride in serum. *Clin Chem* 19:1201-1202.
- Sautier A, Dieng K, Flament C, Doucet S, Suquet J and Lemonnier D 1983 Effects of whey protein, casein, soya-bean and sunflower proteins on the serum, tissue and fecal steroids in rats. *Br J Nutr* 49:313-323.
- Steel RG, Torrie JH 1960 Principles and procedures of statistics. McGraw Hill Book Co., New York.
- Sugano M, Ishikawa N and Nakashima K 1984 Dietary protein-dependent modification of serum cholesterol level in rats. *Ann Nutr Metab* 28:19-25.
- Sugiyama K, Dhishi K and Muramatsu K 1987 Effects of dietary glutathione on plasma and liver lipid levels in rats fed on a high cholesterol diet. *Agric Biol Chem* 51:1601-1606.
- Zlatkis A, Zak B, Boyle J 1953 A new method for the direct determination of serum cholesterol. *J Lab Clin Med* 41:486-492.