

정상 또는 고지방식을 섭취한 흰쥐에서 Casein 펩타이드 분획물이 혈청 지질농도에 미치는 영향

오주환 · 이연숙[†]

서울대학교 식품영양학과

Hypolipidemic Effects of Peptide Fractions of Casein on Serum Lipids in Rats Fed Normal or High Fat Diet

Ju-Hwan O and Yeon-Sook Lee[†]

Dept. of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract

In the recent studies, many researchers are interested in foods as functional components rather than nutrient sources. Cow's milk is considered as an excellent food sources because of its many nutrients. Casein is a major milk protein and has been reported to have hyperlipidemic and hypercholesterolemic effects. But several reporters have suggested that peptide fractions and hydrolysate of casein have hypolipidemic effects differing from intact protein, casein. Therefore, the objective of the study was to investigate how the casein peptide fractions affect lipid metabolism in rats fed normal or high fat diets. The peptide fractions and hydrolysate of casein were obtained by casein hydrolysis with trypsin. The male rats (Sprague-Dawley), weighing approximately 150 g, were fed each experimental diet containing casein (CAS), casein hydrolysate (CH), casein hydrolysate precipitate (Cpt) and two kinds of peptide fractions (CL & CB) for three weeks, respectively. In the expt I, the male rats were fed normal fat diets (7% soybean oil & cholesterol-free; Expt. I), and in the expt II, fed high fat diets (18% beef tallow & 1% cholesterol; Expt. II). Crude protein contents were calculated from nitrogen contents. Amino acid composition of each fraction was also analyzed. The concentration of total lipid, total cholesterol and triglyceride in serum, liver and feces were measured. As the results of study, the rats fed peptide fractions with normal fat diets (Expt. I) had no effects on total lipid, total cholesterol and triglyceride concentration in serum and liver and fecal excretion. However, in the rats fed hydrophobic casein peptide fractions (CB) with high fat diet, fecal lipids excretion were significantly increased and the lipids concentration of serum and those of liver tended to decrease, numerically. Also in the rats fed hydrophilic casein peptide fractions (CL) with high fat diet, total lipids and triglyceride concentration of serum were significantly decreased. And the lipids concentration of liver tended to decrease and fecal lipids excretion tended to increase, numerically. These results suggested that the possible hypolipidemic and hypocholesterolemic effects of both casein peptide fractions (CL & CB) could be partly due to increased fecal lipids excretion. And this effects might depend on dietary fat contents, which is high fat diet (18% beef tallow & 1% cholesterol diets).

Key words: casein peptide fractions, hypolipidemic and hypocholesterolemic effects, fecal lipids excretion, high fat diet

서 론

식생활이 다양화 및 서구화되고 건강에 대한 관심이 고조되면서 식품의 1차기능인 '영양소 공급원'으로서의 기능보다는 제 3차 기능인 '기능성 성분'으로서 생리활성 기능이 더 관심이 되고 있다.

식품 중 영양적으로 우수한 우유는 칼슘공급원으로서 뿐만 아니라 단백질 급원 식품으로 그 영양학적 중요성이 많이 논의되어 왔다. 특히, 우유중의 casein 단백질은 일종의 인단백질로 물리적, 화학적 및 효소적 처리를 거쳐서 여러 가지 식품 제조 공정에서 단백질을 변형하여 요구르트나 치즈같은

은 고부가가치 식품을 생산하여 왔다. 또한 여러 가지 원인에 의해 intact protein에 예민한 allergy 증상을 보이는 경우와 단백질의 소화·흡수기능에 문제가 있는 위장관질환의 경우에도 casein을 변형한 가수분해물이나 펩타이드 등이 좋은 질소원으로 이용되어 왔다. 이외에도 casein 가수분해물이나 펩타이드 등이 칼슘흡수촉진인자(1-3), 혈압 강하(4)에 대한 효과 및 면역기능(5)과 위액분비 촉진(6), 정서 기능, 마취 및 스트레스 감소 등의 opioid peptide로서 작용, 성장촉진인자 및 항산화인자로 보고되어 왔다.

또한 식이 단백질이 지질대사에도 영향을 미치는 것으로, 일반적으로 동물성 단백질인 casein은 고콜레스테롤 혈증 및

[†]Corresponding author. E-mail: lysook@snu.ac.kr
Phone: 82-2-880-6832. Fax: 82-2-884-0305

고지혈증 효과를 나타내고, 대두단백질은 저콜레스테롤 혈증 및 저지질혈증 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. Casein 단백질이 고콜레스테롤 혈증 및 고지혈증을 나타내는 요인으로는 3차 구조적 특징(7-8), 낮은 arginine/lysine ratio와 glycine/methionine ratio(9-13) 그리고 담즙산과의 낮은 결합력(14-16) 등으로 보고되고 있다. 그러나 casein을 formaldehyde나 열처리 및 산처리를 한 가수분해물 및 펩타이드의 경우 혈증 콜레스테롤 저하효과를 나타내는 것으로, intact protein인 casein과는 상이한 효과를 나타낸다고 보고하였다(17-20).

즉 식이 단백질이 지질 대사에 미치는 기전은 식이단백질(intact protein) 자체의 성질, 단백질의 아미노산과 아미노산 조성비, 그리고 sterol에 대한 결합력 등의 3가지가 일반적인 견해이다. 그 중에서도 단백질이 지질대사에 미치는 영향에 대해 논쟁되는 여러 요소 가운데 식이 단백질 유래의 펩타이드가 그 주요 기능 요소가 되는 것으로 해석되고 있다. 또한 이제까지 보고되어진 1차 구조의 변화나 직접 bile acid와의 결합력의 증가를 통해서 분중 지질배설량을 증가시키는 기전 이외에도, casein 펩타이드 경우에는 CCK-PZ같은 호르몬 처럼 bile acid를 분비하는 signal로 작용하여 지질과 bile acid와의 결합력을 높여 분중 지질 배설을 촉진시킨다고 보고되어 있다(21).

선행연구(20) 결과에서도 흰쥐에게 고지방과 1% 콜레스테롤을 함유한 식이에 단백질과 그 가수분해물을 급여하여 비교해 보았을 때, 단백질 가수분해물의 섭취에 따라 혈청 총지질 및 cholesterol 농도의 감소 효과가 있음을 보고하였다. 특히 고지혈증 동물의 경우 intact protein인 casein 섭취와는 달리 casein 가수분해물의 섭취에 따라 고지혈증의 상태가 더 이상 진전되지 않았음을 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 casein 가수분해물 및 펩타이드 분획물이 숫컷 흰쥐에서 혈청 및 조직의 지질함량에 대한 casein 펩타이드 분획물의 섭취효과를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물 사육 및 방법

실험 I과 실험 II에 사용된 실험동물은 체중 약 150 g의 5주령의 숫컷 흰쥐(Sprague-Dawley male rats: 서울대학교 실험동물 사육장에서 구입)를 정상식으로 약 3일간 적응시키고 각각 6~8마리씩 5군으로 완전임의 배치하여 3주동안 실험식을 급여하였다. 실험 I에서 정상지방식이 급여시 단백질 가수분해물 및 펩타이드 분획물의 효과를 검토한 후에, 다시 실험 II에서는 고지방식(실험 II)에 따른 효과를 검토하였다.

실험에 사용된 식이의 일반 조성(Table 1)은 정제된 원료를 사용한 것으로, 즉 옥수수 전분(미원식품(주)), 비타민 혼합물(AIN-93VX; ICN Co., USA), 그리고 미네랄 혼합물(AIN-93G; ICN Co., USA)을 기본으로 하였다. 질소원으로

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

N sources	CAS	CH	Cpt	CL	CB
Carbohydrate source					
Starch (Expt. I) ¹⁾	604.5	600.5	601.5	577.5	580.5
Starch (Expt. II) ²⁾	484.5	480.5	481.5	457.5	460.5
Nitrogen sources (Expt. I & II) ³⁾					
Alb	75	79	78	102	99
CAS	150	-	-	-	-
CH	-	150	-	-	-
Cpt	-	-	150	-	-
CL	-	-	-	150	-
CB	-	-	-	-	150
Lipid sources					
Soybean oil (Expt. I)	70	70	70	70	70
Beef tallow (Expt. II)	180	180	180	180	180
Cholesterol (Expt. II)	10	10	10	10	10
Other elements (Expt. I & II)					
α -cellulose	50	50	50	50	50
Vit. mix. ⁴⁾	10	10	10	10	10
Min. mix. ⁵⁾	35	35	35	35	35
L-Cystine	3	3	3	3	3
Choline-bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

¹⁾Expt. I: Normal fat diets (7% soybean oil & cholesterol-free).

²⁾Expt. II: High fat diets (18% beef tallow & 1% cholesterol).

³⁾Nitrogen sources

Alb: Egg albumin powder; Kallbergs Co. (Sweden).

CAS: Casein (caseinate, sodium); Maeil Co. (Korea).

CH: Casein hydrolysate; Meiji Co. (Japan).

Cpt: Casein hydrolysate precipitate; Meiji Co. (Japan).

CL: Casein hydrolysate hydrophilic fraction; Meiji Co. (Japan).

CB: Casein hydrolysate hydrophobic fraction; Meiji Co. (Japan).

⁴⁾Vitamin mixture: AIN-93VX; ICN Co. (USA).

⁵⁾Mineral mixture: AIN-93G; ICN Co. (USA).

는 casein(CAS; sodium caseinate), casein 가수분해물(CH; casein hydrolysate), 침전물(Cpt; casein hydrolysate precipitate), 친수성펩타이드 분획물(CL; casein hydrolysate hydrophilic fraction)과 소수성펩타이드 분획물(CB; casein hydrolysate hydrophobic fraction) 등 5종을 사용하였다. 실험에 사용된 casein 가수분해물, 침전물 및 2종의 펩타이드 분획물은 트립신(trypsin)으로 가수분해하여 분획한 것으로 식품산업체(Meiji Co., Japan)에서 제조한 것을 공급받았다. 각 질소원을 식이중 15%로 하고 식이중 질소원간의 질적 차이를 보완하기 위해 알부민(egg albumin powder; Kallbergs Co., Sweden)을 이용하여 식이중의 총질소량을 3.2 N으로 일정하게 조정하였다.

실험 I의 실험식은 정상지방식(7% soybean oil & cholesterol-free diets, w/w)이었고, 실험 II에서는 고지방식(18% beef tallow & 1% cholesterol diets, w/w)이었다(Table 1).

실험기간중 식이와 물은 자유롭게 섭취하게 하였다. 실험동물은 cage에 한 마리씩 분리 사육하였으며, 사육실 환경은 일정하게(온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $65 \pm 5\%$, 조명 7:00 p.m. ~ 7:00 a.m.) 유지하였다.

시료수집

실험 최종일에 ethyl ether로 마취시켜 경동맥에서 혈액을 채취하였으며, 채취한 혈액은 24시간 동안 냉장고에 보관한 후, 3000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 채혈 후 간을 적출하여 냉장 생리식염수로 세척하고 무게를 측정 한 후, 냉동건조하여 건조무게를 측정하였다. 실험종료 3일 간의 분을 수집하여 냉동건조한 후 건조무게를 측정하였다. 각 시료는 분석에 사용되기까지 -60°C에서 냉동보관하였다.

시료분석

질소원의 조단백질 함량과 아미노산 조성 분석 : 동물실험 중 단백질 급원으로 쓰일 질소원의 조단백질(crude protein)함량은 질소자동분석기(Semiauto Nitrogen Analyzer, Böchi Co., Switzerland)를 이용하여 질소함량(N)을 구한 뒤 질소함량에 질소계수를 곱하여 구하였다(N×6.25).

질소원의 아미노산 조성은 질소원 시료를 6 N HCl로 110 °C에서 16시간 가수분해한 후, 아미노산 자동분석기(Auto Amino Acid Analyzer; Biochrom 20, Pharmacia Biotech Co., England)를 이용하여 분석하였다.

조직시료 분석 : 혈청중의 총지질은 Fringe와 Dunn(22), 중성지질, 총콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤은 혈액자동분석기(Fully Automated Dry Chemistry System; SPOTCH-EM; Daiichi Kagaku Co., Japan)로 분석하였고, LDL-콜레스테롤 농도는 Fridewald(23)식에 의해서 산출하였다.

간조직과 분종의 총지질은 Folch 등(24)의 방법으로 추출한 후 중성지질과 총 콜레스테롤은 각각 Biggs 등(25)의 방법과 Zlatkis와 Zak(26)의 방법으로 분석하였다.

통계분석

실험분석 결과는 SAS program을 이용하여 평균과 표준오차(mean±SE)로 제시하였다. 각 처리별 유의성 검증은 ANOVA test후 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 검정하였다.

결 과

질소원의 조단백질(crude protein) 함량과 아미노산 조성 질소원의 조단백질 함량(crude protein)과 아미노산 조성은 Table 2에 제시하였다. Intact protein인 casein(CAS) 중의 조단백질 함량은 약 93%이었고, casein 가수분해물(CH)과 침전물(Cpt)의 조단백질 함량은 90% 이상이었다. 그러나 친·소수성 펩타이드 분획물(CL & CB)의 조단백질 함량은 각각 약 78%와 80%로 낮게 관찰되었다.

총질소량이 3.2 N이 되도록 알부민과 각 분획물을 혼합하여 실험에 사용한 가수분해물 식이(CH), 침전물 식이(Cpt) 및 친·소수성 펩타이드 분획물 식이(CL & CB)의 아미노산 조성을 살펴본 결과, 동물 실험 I과 II의 식이 중 총아미노산량(TAA)과 총필수아미노산양(TEAA)은 각각 약 16.64~18.96

Table 2. Crude protein of each fraction and amino acid composition of experimental diets (g/100 g each diet)

	CAS	CH	Cpt	CL	CB
Crude protein (%) (Frac. + Alb)	93.11 (15+7.5)	90.71 (15+7.9)	91.33 (15+7.8)	78.19 (15+10.2)	80.05 (15+9.9)
EAA¹⁾					
Threonine	0.84	0.88	0.88	0.99	0.95
Valine	1.16	1.16	1.23	1.27	1.21
Methionine	0.69	0.71	0.74	0.77	0.68
Isoleucine	0.95	0.96	0.95	1.22	0.96
Leucine	1.50	1.52	1.68	1.42	1.53
Phenylalanine	0.94	0.97	1.07	0.74	1.01
Lysine	1.38	1.43	1.47	1.69	1.71
Histidine	0.57	0.58	0.65	0.54	0.64
Arginine	1.04	1.07	1.12	1.19	1.04
NEAA²⁾					
Glycine	0.56	0.57	0.59	0.55	0.53
Aspartic acid	1.54	1.59	1.59	1.93	1.60
Serine	0.71	0.75	0.76	1.05	0.68
Glutamic acid	2.78	2.78	2.97	3.84	3.00
Alanine	0.82	0.83	0.86	0.81	0.81
Cystine	0.30	0.32	0.31	0.31	0.32
Tyrosine	0.85	0.89	1.06	0.65	0.72
TAA³⁾					
	16.64	16.99	17.91	18.96	17.41
TEAA⁴⁾					
	9.07	9.27	9.77	9.82	9.74
Arginine/Lysine	0.75	0.75	0.76	0.70	0.61
Glycine/Methionine	0.81	0.81	0.80	0.72	0.78

¹⁾EAA: Essential amino acids.

²⁾NEAA: Non-essential amino acids.

³⁾TAA: Total amino acids.

⁴⁾TEAA: Total essential amino acids.

과 9.07~9.82로 casein 식이의 경우가 가장 낮았고 친수성 펩타이드 식이가 가장 높게 관찰되었다. 아미노산 중 glycine과 methionine함량은 식이에 따른 차이가 없는데, arginine과 lysine함량은 식이에 따라 상당히 다르게 나타났다. 즉, arginine함량이 casein 식이와 소수성펩타이드 식이(CB)에서 낮게 관찰된 반면, lysine함량은 소수성펩타이드 식이에서 1.71로 가장 높았다. 따라서 소수성펩타이드 식이의 arginine/lysine 비는 casein식이(0.75)에 비해 가장 낮은 0.61을 나타내었고, 친수성펩타이드 식이(CL)도 0.70으로 낮게 관찰되었다. 친·소수성펩타이드 식이의 glycine/methionine 비도 각각 0.72와 0.78로 casein 식이의 0.81보다 낮게 관찰되었다. Casein 가수분해물 식이(CH)와 침전물 식이(Cpt)의 arginine/lysine 비와 glycine/methionine 비는 casein식이와 비슷하게 관찰되었다.

체중 및 식이섭취량

실험 I과 실험 II의 각 실험별로 식이 섭취에 따른 식이섭취량 및 체중증가량과 식이섭취효율은 Table 3에 제시하였다. 실험 I과 실험 II의 각 실험별로 intact protein인 casein군(CAS)과 가수분해물군(CH), 침전물군(Cpt) 및 친·소수성 펩타이드 분획물군(CL & CB) 사이에 일일 식이섭취량, 증체량 및 식이섭취효율은 유의적인 차이가 없었다(p<0.05). 단지

Table 3. Body weight, food intake and food efficiency ratio

Groups	Final body weight (g)	Daily food intake (g)	Daily weight gain (g)	FER ¹⁾ (WG/FI) ²⁾
Expt. I (Normal fat diets: 7% soybean oil & cholesterol-free)				
N-CAS	203.8±17.8 ^{3)NS4)}	10.80±0.86 ^{NS}	2.10±0.89 ^{NS}	0.17±0.08 ^{NS}
N-CH	178.1±18.5	10.07±0.97	1.28±0.68	0.11±0.06
N-Cpt	221.1±22.0	12.12±1.43	3.19±0.86	0.25±0.04
N-CL	218.5±17.8	13.10±0.82	2.88±0.82	0.21±0.06
N-CB	208.8±14.7	11.56±1.06	2.36±0.59	0.19±0.03
Expt. II (High fat diets: 18% beef tallow & 1% cholesterol)				
H-CAS	268.0±21.1 ^{NS}	13.79±1.02 ^{NS}	4.63±0.65 ^{NS}	0.13±0.03 ^{NS}
H-CH	257.4±14.4	13.07±0.97	4.41±0.41	0.33±0.01
H-Cpt	262.0±15.9	13.83±0.87	4.46±0.56	0.32±0.02
H-CL	237.8± 9.4	12.35±0.53	3.36±0.34	0.27±0.03
H-CB	256.1±11.5	14.15±0.91	4.32±0.55	0.30±0.03

¹⁾FER: Food efficiency ratio.

²⁾WG: Daily weight gain. FI: Daily food intake.

³⁾Values are mean±SE of 6 or 8 rats per group.

⁴⁾NS: not significantly different between groups by Duncan's multiple range test.

정상지방식이(Expt. I)보다는 고지방식이(Expt. II)를 급여했을 때의 체중 증가량이 높게 나타났다.

즉 질소원을 거의 일정하게 조정하여 주었을 경우, 모든 분획물에서 정상적으로 성장함이 관찰되었다. 이런 결과는 casein을 pepsin으로 가수분해시켜 그 가수분해물을 급여하였을 때 성장에 영향을 주지 않았다고 보고한 결과(27)와 일치하였다.

혈청 총지질 및 중성지방 농도

혈청 총지질과 중성지방 농도는 Fig. 1과 Fig. 2에 제시하였다.

실험 I에서 정상지방식을 급여했을 경우의 혈청 총지질 농도는 casein군에 비해 침전물군(Cpt)과 가수분해물군(CH)은 유의적으로 높았으나, 두 종류의 친·소수성펩타이드 분

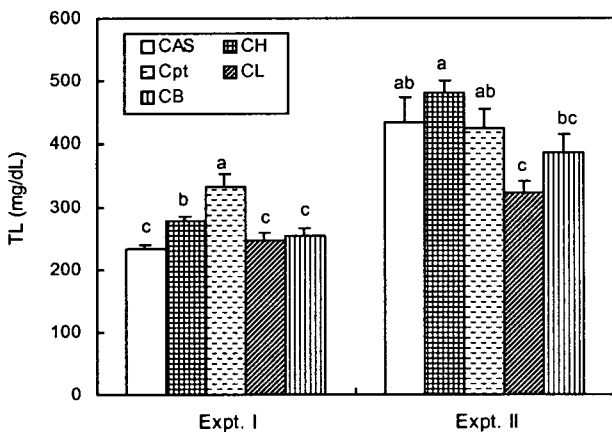


Fig. 1. The concentration of total lipid in serum.

CAS: Casein (caseinate, sodium).
 CH: Casein hydrolysate.
 Cpt: Casein hydrolysate precipitate.
 CL: Casein hydrolysate hydrophilic fraction.
 CB: Casein hydrolysate hydrophobic fraction.

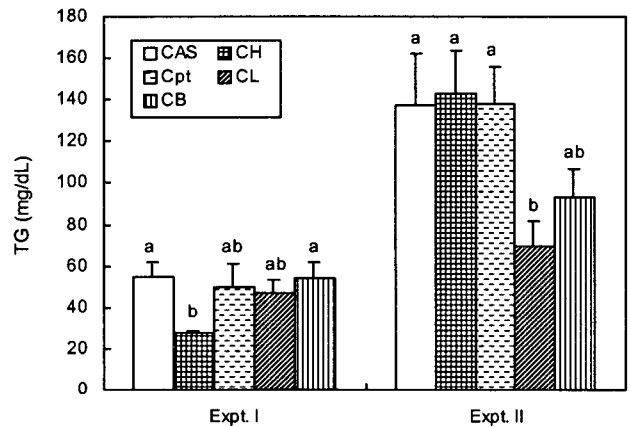


Fig. 2. The concentration of triglyceride in serum. Experimental groups: refer to Fig. 1.

획물군(CL & CB)은 casein군과 유의적인 차이가 없었다. 혈청 중성지방 농도는 casein군에 비해 가수분해물군(CH)은 유의적으로 낮았으나(p<0.05), 다른 군은 casein군과 유의적인 차이가 없었다.

그러나 실험 II에서 고지방식을 급여한 경우, 혈청 총지질 및 중성지방 농도는 정상지방식(Expt. I)을 급여했을 때보다 훨씬 증가되어 있었다. 그렇지만 두 종류의 친·소수성펩타이드 분획물군(CL & CB)에서의 혈청 총지질 및 중성지방의 증가량이 적어서, intact protein인 casein군에 비해 친수성펩타이드 분획물은 혈청 총지질 및 중성지방의 농도는 유의적으로 낮았고, 소수성 펩타이드 분획물은 낮은 경향을 나타내었다(각각 총지질: 약 25%(CL군), 12% 감소(CB군), 중성지방: 약 50%(CL군), 32%(CB군) 감소). 반면, 가수분해물군(CH)과 침전물군(Cpt)의 혈청 총지질과 중성지방 농도는 통계적으로 유의성은 없었다.

혈청 총콜레스테롤 및 지단백 콜레스테롤 농도

혈청 총콜레스테롤 및 지단백 콜레스테롤의 분포는 Table

4에 제시하였다.

실험 I에서 정상지방식을 급여한 경우, 혈중 총콜레스테롤 농도는 casein군에 비해 친수성펩타이드 분획물군(CL)이 casein 군에 비해 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 하지만 정상지방 실험식을 급여하였을 때의 혈중의 각각의 지질농도는 체중 약 200 g 정도 되는 숫컷흰쥐의 혈중 콜레스테롤 농도 (약 50~70 mg/dL) 정도를 나타내었다. 이런 결과는 보통 단백질이 정상지방식이에서는 혈청지질 농도에 영향을 주지 않는다고 보고한 Okida와 Sugano(28)의 결과와 일치하였다. 하지만 순환기계 질환의 주요 위험인자로 주목되고 있는 HDL/LDL 비는 침전물군 및 친수성펩타이드 분획물군에서 유의적으로($p < 0.05$) 높게 관찰되었고, 소수성펩타이드 분획물군에서는 높은 경향을 나타내었다. 총콜레스테롤 중 HDL-cholesterol이 차지하는 비(HDL/TC ratio) 역시 약 36~46%로 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.

실험 II의 혈중 총콜레스테롤 농도는 모든 실험식이군에서 정상수준(50~70 mg/dL) 이상으로 증가된 것으로 관찰되었다(80~104 mg/dL). 하지만 가수분해물군(CH)과 두 종류의 친·소수성펩타이드 분획물군(CL & CB)에서 유의적이지는 않았지만, 그 증가량이 적어서 casein군에 비해 혈중 총콜레스테롤 농도가 낮게 관찰되었다. 특히, 친·소수성펩타이드 분획물군의 경우 통계적으로 유의성은 없었지만 casein군에 비해 약 20% 정도 낮게 관찰되었다. 이러한 결과는 soybean protein의 가수분해 분획물을 급여하였을 경우에도 intact protein인 soybean protein에 비해 혈청 중의 콜레스테롤 농도가 유의적으로 감소되었다는 보고와도 일치하였다(29). 고지방·1% cholesterol 식이(Expt. II) 급여시 HDL-cholesterol 농도와 LDL-cholesterol 농도는 그룹간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았으나, HDL/LDL비와 HDL/TC비는 가수분해물

군과 친·소수성펩타이드 분획물군에서 증가하는 경향을 보였다. 반면, 침전물군(Cpt)은 casein군에 비해 유의적으로 낮은 HDL/LDL비와 HDL/TC비를 나타내었다.

간조직중의 지질함량

간조직 중의 지질농도는 Table 5에 제시하였다.

실험 I에서 정상지방식이 급여시, 간조직의 습중량 및 상대적 무게는 침전물(Cpt)군과 소수성펩타이드 분획물군(CB)에서 유의적으로 높았고, 가수분해물군(CH)군이 유의적으로 낮았다. 하지만 체중 약 200 g 정도 숫컷 흰쥐의 성장에 비추어 볼 때 모든 군에서 정상적으로 관찰되었다. 간조직중의 총지질과 콜레스테롤 농도는 가수분해물군(CH)과 침전물군(Cpt)은 낮은 경향을 소수성펩타이드 분획물군(CB)에서 유의적으로 낮게 나타났다. 중성지방 농도는 유의적인 차이가 없었다.

실험 II에서 고지방식을 급여시, 간조직의 습중량 및 상대적 무게는 casein군과 유의적인 차이가 없었고, 다만 친수성 펩타이드 분획물에서는 낮은 경향을 나타내었다. 간조직의 총지질은 그룹간 유의적인 차이가 없었고, 총콜레스테롤 농도는 침전물군에서 유의적으로 낮았다. 중성지방의 농도는 친·소수성 펩타이드 분획물군에서 casein군에 비해 낮은 경향을 나타내었다.

분중 지질 배설량

일일 분배설량과 총지질, 콜레스테롤 및 중성지방 배설량은 Table 6에 제시하였다. 실험 I에서 정상지방 급여시의 분배설량은 친수성펩타이드 분획물군(CL)에서 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 또한, 총지질 배설량은 침전물군과 친·소수성펩타이드 분획물군에서 casein군에 비해 증가하는 경향을 보였다. 총콜레스테롤 배설량은 유의적인 차이가 없었고, 중성지

Table 4. The concentration of total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol, and the ratios of HDL/LDL and HDL/TC in serum

Groups	Cholesterol (mg/dL)			HDL/LDL	HDL/TC ²⁾
	Total	HDL	LDL ¹⁾		
Expt. I (Normal fat diets: 7% soybean oil & cholesterol-free)					
N-CAS	56.67 ± 2.06 ^{3) b4)}	20.20 ± 2.22 ^b	25.55 ± 2.21 ^{NS5)}	0.79 ± 0.04 ^b	0.36 ± 0.06 ^{NS}
N-CH	60.92 ± 3.66 ^{ab}	24.40 ± 1.54 ^{ab}	30.96 ± 2.71	0.79 ± 0.06 ^b	0.40 ± 0.02
N-Cpt	69.60 ± 5.02 ^{ab}	30.20 ± 2.82 ^{ab}	29.48 ± 4.02	1.02 ± 0.06 ^a	0.43 ± 0.03
N-CL	70.49 ± 6.03 ^a	32.20 ± 6.37 ^a	28.93 ± 2.17	1.11 ± 0.10 ^a	0.46 ± 0.03
N-CB	69.73 ± 3.00 ^{ab}	28.60 ± 3.09 ^{ab}	30.37 ± 2.55	0.94 ± 0.02 ^{ab}	0.41 ± 0.01
Expt. II (High fat diets: 18% beef tallow & 1% cholesterol)					
H-CAS	98.75 ± 17.67 ^{NS}	23.00 ± 0.71 ^{NS}	48.35 ± 20.18 ^{NS}	0.48 ± 0.02 ^{ab}	0.23 ± 0.02 ^{ab}
H-CH	89.33 ± 3.52	22.83 ± 1.35	37.93 ± 7.92	0.60 ± 0.03 ^a	0.25 ± 0.02 ^a
H-Cpt	103.33 ± 12.82	18.67 ± 2.47	57.10 ± 11.19	0.33 ± 0.02 ^b	0.18 ± 0.05 ^b
H-CL	80.33 ± 2.63	22.50 ± 1.95	43.87 ± 3.15	0.51 ± 0.01 ^a	0.28 ± 0.03 ^a
H-CB	81.00 ± 7.23	22.50 ± 1.59	39.87 ± 7.54	0.56 ± 0.02 ^a	0.28 ± 0.04 ^a

¹⁾LDL = {total cholesterol - HDL - (TG/5)}.

²⁾HDL/TC ratio = HDL/total cholesterol.

³⁾Values are mean ± SE of 6 or 8 rats per group.

⁴⁾Superscripts with different alphabets in same column are significantly different at $p < 0.05$ between groups by Duncan's multiple range test.

⁵⁾NS: not significantly different between groups by Duncan's multiple range test.

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

Groups	Wet wt. (g)	Re-Wt. ¹⁾ (g/100 g BW)	Total lipids (mg/g dry wt.)	Total Cholesterol (mg/g dry wt.)	Triglyceride (mg/g dry wt.)
Expt. I (Normal fat diets: 7% soybean oil & cholesterol-free)					
N-CAS	5.56±0.67 ^{2)ab3)}	2.69±0.11 ^b	147.7± 9.07 ^a	9.27±0.54 ^{ab}	38.18±11.12 ^{NS4)}
N-CH	5.07±0.55 ^b	2.85±0.15 ^{ab}	134.4± 6.32 ^{ab}	8.99±0.38 ^{ab}	22.03± 9.68
N-Cpt	7.35±1.02 ^a	3.29±0.19 ^a	133.0± 7.39 ^{ab}	8.90±0.48 ^{ab}	21.56± 3.50
N-CL	6.93±0.43 ^{ab}	3.23±0.22 ^a	143.9± 5.92 ^{ab}	9.82±0.21 ^a	34.41± 6.39
N-CB	7.21±0.52 ^a	3.31±0.11 ^a	122.0± 8.99 ^b	7.82±0.61 ^b	22.03± 9.52
Expt. II (High fat diets: 18% beef tallow & 1% cholesterol)					
H-CAS	10.48±1.28 ^{NS}	3.89±0.26 ^{ab}	338.7±28.21 ^{NS}	51.16±1.99 ^a	153.6±34.31 ^{ab}
H-CH	11.09±0.86	4.32±0.25 ^a	351.8±25.52	53.85±6.14 ^a	181.4±18.02 ^a
H-Cpt	10.32±1.27	4.06±0.20 ^a	336.6±38.61	25.93±4.82 ^b	163.7±28.15 ^{ab}
H-CL	8.07±0.65	3.38±0.21 ^b	300.5±20.90	42.13±4.37 ^a	117.3±25.22 ^b
H-CB	10.48±0.73	4.08±0.11 ^a	314.7±19.13	43.14±2.14 ^a	131.5±18.83 ^b

¹⁾Relative Wt. (Re-Wt.): liver wet wt. (g) / final 100 g body wt. (g).

²⁾Values are mean±SE of 6 or 8 rats per group.

³⁾Superscripts with different alphabets in same column are significantly different at p<0.05 between groups by Duncan's multiple range test.

⁴⁾NS: not significantly different between groups by Duncan's multiple range test.

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

Groups	Dry weight (g/d)	Total lipids (mg/d)	Total cholesterol (mg/d)	Triglyceride (mg/d)
Expt. I (Normal fat diets: 7% soybean oil & cholesterol-free)				
N-CAS	0.64±0.11 ^{1)ab}	55.77± 8.84 ^{ab2)}	8.09±1.50 ^{NS3)}	1.71±0.21 ^{ab}
N-CH	0.63±0.11 ^b	47.83±10.49 ^b	5.91±1.33	1.51±0.22 ^{ab}
N-Cpt	0.78±0.07 ^b	62.30± 7.15 ^{ab}	9.44±1.22	2.17±0.35 ^a
N-CL	1.15±0.10 ^a	73.99± 5.19 ^a	9.60±1.50	1.83±0.26 ^{ab}
N-CB	0.74±0.09 ^b	63.01± 6.82 ^{ab}	8.69±1.37	1.30±0.13 ^b
Expt. II (High fat diets: 18% beef tallow & 1% cholesterol)				
H-CAS	0.97±0.06 ^b	151.23±19.26 ^b	42.81±8.17 ^{NS}	4.14±0.92 ^{bc}
H-CH	0.92±0.10 ^b	161.76±14.67 ^{ab}	49.45±5.33	5.50±0.45 ^{ab}
H-Cpt	0.92±0.10 ^b	162.57±15.92 ^{ab}	51.86±6.66	2.72±0.27 ^c
H-CL	1.11±0.14 ^a	169.73±15.00 ^{ab}	49.49±5.35	5.86±0.63 ^{ab}
H-CB	1.16±0.12 ^a	190.28±17.98 ^a	56.02±5.73	6.66±0.61 ^a

¹⁾Values are mean±SE of 6 or 8 rats per group.

²⁾Superscripts with different alphabets in same column are significantly different at p<0.05 between groups by Duncan's multiple range test.

³⁾NS: not significantly different between groups by Duncan's multiple range test.

질 배설량은 침전물군에서 유의적으로 증가하였고 소수성 펩타이드 분획물군에서 유의적으로 감소되었다.

실험 II에서 고지방식이 급여시, 일일 분배설량은 두 종류의 친·소수성 펩타이드 분획물군(CL & CB)에서 유의적으로 높게 나타났다. 총지질 배설량은 소수성 펩타이드 분획물군이 casein군에 비해 유의적으로 높았고, 다른 군들은 높은 경향을 나타내었다. 총콜레스테롤 배설량은 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 중성지질 배설량은 소수성 펩타이드 분획물군은 유의적으로 높았고, 가수분해물군과 친수성 펩타이드 분획물군에서는 유의적이진 않았지만 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 흰쥐에서 식이 casein 가수분해물이 분중

sterol 배설량에 영향을 미치려면 약 8주 정도부터 유의적으로 증가한다는 보고(30,31)를 감안해 볼 때, 식이 섭취에 따른 콜레스테롤 배설량이 유의적이지 않은 것은 급여기간이 3주 정도로 짧았기 때문인 것으로 사료되었다. 따라서 casein 펩타이드 분획물의 급여기간을 더욱 장기간으로 한다면 분중 배설량의 증가를 통해 혈중과 조직 중의 지질농도를 유의적으로 감소시킬수 있을 것으로 기대된다.

고 찰

3주령된 숫컷 흰쥐의 혈중 지질 및 간조직 중의 지질 농도는 정상지방식(7% soybean oil & cholesterol free; Expt. I)을 급여했을 때보다 고지방식(18% beef tallow & 1% cholesterol; Expt. II)을 급여했을 때 더 증가되었다. 즉 정상지방식이(Expt. I)를 급여하였을 때 casein 펩타이드 분획물군의 지질농도는 질소원에 따른 차이없이 체중 200 g 정도 숫컷 흰쥐의 체내 지질농도 수준을 나타내는 것으로 관찰되었다. 하지만 고지방식을 급여하였을 때는 혈중 및 간조직 중의 증가된 지질 양이 지질 농도별로 다르기는 하지만, casein군의 지질농도 증가량에 비해 두 종류의 친·소수성 펩타이드 섭취군(CL & CB)에서 지질농도 증가량이 낮게 관찰되었다. 또한 순환기계 질환의 지표로 고려되어지는 HDL/LDL ratio의 경우, 정상지방식을 급여했을 때(0.79~1.11 in Expt. I)는 거의 정상수준을 유지하고 있으나, 고지방식이(0.33~0.60 in Expt. II) 급여했을 때는 낮게 관찰되었다. 그러나, 고지방식을 급여하였을 때 casein군에 비해 친·소수성 펩타이드 분획물군(CL & CB)에서 HDL/LDL 비가 높은 경향을 나타내는 것으로, 친·소수성 펩타이드 분획물이 고지혈증의 진전을 어느 정도 막아 줄 것으로 시사되었다.

즉 고지방·콜레스테롤식이(Expt. II)를 급여하였을 경우,

소수성펩타이드 분획물군(CB)에서 분중으로의 총지질과 중성지방 배설량을 유의적으로 증가되었다. 또한 친수성펩타이드 분획물군(CL)도 유의적이진 않았지만 분중으로의 지질 배설량이 증가하는 경향이 있었다. 결국 친·소수성펩타이드 분획물군(CL & CB)이 casein군에 비해 분중으로의 지질배설량을 증가시켜 혈중 및 간조직 중의 지질 농도를 낮추는 것으로 사료되었고 이러한 효과는 연구기간을 증가시킨다면 좀 더 확실해질 것으로 기대되었다. 물론 친수성 펩타이드 분획물보다는 소수성 펩타이드 분획물의 지질배설량이 더 높게 나타나는데, 소수성 펩타이드가 친수성 펩타이드보다 bile acid와의 결합력이 높아서 배설량을 증가시키는 것으로 사료되었고, 이에 대해 연구를 더 해볼 필요성이 제기되었다.

이러한 현상은 정상지방식이를 급여할 때보다 고지방식이·cholesterol 식이를 급여하였을 때 casein 펩타이드 분획물들이 혈중 및 간조직 중의 지질 농도에 미치는 영향이 있는 것으로 고려되었다. 이것은 질소공급원으로 soybean protein과 casein으로 비교해 보았을 때도 soybean protein의 경우 분중 sterol 배설량을 증가시켜 혈청지질 농도에 미치는 영향이 고지방식에서는 유의적인 반면 정상지방식에서는 별로 효과가 없다고 보고(13,28)되는 것에 의해 일부 설명될 수 있었다. 그러므로 이들 펩타이드의 지질 저하효과에 대한 기능은 고지혈증에서 일반적인 것으로 사료되었다. 또한 실험식이에 따른 혈청지질 저하효과에 대한 작용 기전으로는 분중으로의 지질 배설량을 증가시켜 혈중 및 조직 중의 지질농도를 낮추는 것으로 사료되었다.

지질 대사에 영향을 주는 것으로 고려되어지는 아미노산 조성비 즉, 높은 arginine/lysine비와 높은 glycine/methionine비는 혈중 지질저하 효과가 있는 것으로 보고되어 왔다. 본 실험에서 각 실험식이의 아미노산 조성비와 조성비를 가지고 동물실험을 고찰해 보았을 때 정상지방식이(Expt. I)를 급여했을 때에는 질소원에 따른 별다른 효과가 없었다. 그러나 고지방식을 급여한(Expt. II) 경우, arginine/lysine비가 가장 낮았던 친·소수성 분획물에서 오히려 혈중 지질 농도가 낮아지는 경향을 나타내는 것으로 더 많은 연구의 필요성이 제기되었다. 따라서 casein 펩타이드 분획물의 아미노산 조성비의 차이라기보다는 펩타이드 자체의 효과인 것으로 사료되었다.

요 약

본 연구에서는 casein 펩타이드 분획물이 정상 및 고지방식을 섭취한 흰쥐에서의 혈청 및 조직의 지질 농도에 미치는 섭취효과를 검토하고자 하였다. 정상 지방식이(7% soybean oil & cholesterol-free; Expt I)를 섭취한 흰쥐는 정상 혈청 지질농도를 나타내는 것으로, 분배설량이 약간 증가하는 경향을 나타내긴 하였지만 이때 casein 펩타이드 분획물군의 혈청, 간조직의 지질농도에 대한 효과는 유의적인 차이가 없

었다. 하지만, 순환기계질환의 주요 인자인 HDL/LDL비는 친·소수성 펩타이드에서 유의적으로 높은 경향을 나타내었다. 고지방·콜레스테롤식이(18% beef tallow & 1% cholesterol; Expt II)를 급여하였을 경우, 친·소수성펩타이드 분획물군에서 분중으로의 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지방의 배설량이 유의적($p < 0.05$)으로 또는 증가하는 경향을 나타내었다. 이런 결과, 고지방식을 급여했을 때 친·소수성펩타이드 분획물군이 casein군에 비해 혈중 및 간조직 중의 지질 농도가 낮아지는 경향을 나타냈다. 또한 HDL/LDL비도 casein군에 비해 친·소수성 펩타이드 분획물군에서 높게 관찰되는 것으로, 이는 고지혈증 위험요소를 저하시키는 효과가 있는 것으로 사료되었다. 친·소수성 펩타이드 분획물(CL & CB)의 아미노산 조성 결과, 친·소수성 펩타이드 식이의 glycine과 methionine함량은 casein 식이의 조성비와 거의 비슷한데, arginine과 lysine함량은 casein 식이의 조성비와 상당히 달랐다. 또한 혈중 지질농도를 낮추는 것으로 보고되어지는 arginine/lysine 비와 glycine/methionine 비는 친·소수성 펩타이드분획물 식이(CL & CB)에서 낮게 관찰되었다. 이러한 결과는 동물실험 결과와 같이 고찰해볼 때, 아미노산 조성비 혈중 및 조직 중의 지질저하 효과에 미치는 영향이 그다지 크지 않은 것으로 사료되었고, 앞으로 이에 대한 연구가 더욱 필요하였다. 친·소수성 casein 펩타이드 분획물의 지질 대사에 미치는 영향을 관찰하여 보았을 때, 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증 흰쥐에서 혈중 및 간조직의 지질함량을 저하시키는 효과가 있는 것으로 나타났다. 이에 가능한 기전으로는 분중으로의 지질 배설량을 증가시킨 것에 기인한 것으로 해석되었으며, 섭취기간이 길어질수록 효과가 확실해질 것으로 기대되었다. 또한 casein 펩타이드 분획물의 아미노산 조성비의 차이라기보다는 펩타이드 자체의 효과임이 시사되었다.

감사의 글

본 연구는 서울대학교 생활과학연구소와 생활과학대학 두뇌한국(BK) 핵심분야 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Lee YS, Noguchi T, Naito H. 1983. Intestinal absorption of calcium in rats given diets containing casein or amino acid mixture. Role of casein phosphopeptides. *Br J Nutr* 49: 67-76.
2. Lee YS, Park J, Naito H. 1992. Supplemental effect of casein phosphopeptides (CPP) on the calcium balance of growing rats. *J Japan Soc Nutr Food Sci* 45: 155-162.
3. Ono T, Takagi Y, Kunishi I. 1998. Casein phosphopeptides from casein micelles by successive digestion with pepsin and trypsin. *Biosci Biotechnol Biochem* 62: 16-21.
4. Maeno M, Yamamoto N, Takano T. 1996. Identification of

- an antihypertensive peptide from casein hydrolysate produced by a proteinase for *Lactobacillus helveticus* CP790. *J Dairy Sci* 79: 1316-1321.
5. Yamauchi F, Suetsuna K. 1993. Immunological effects of dietary peptide derived from soybean protein. *J Nutr Biochem* 4: 450-457.
 6. Chernikov MP, Stan EV. 1983. Physiological activity of products of limited (partial) κ -casein proteolysis. XXI International Dairy Congress. *Dairy Sci Abstract* 45: 402.
 7. Van der Meer R. 1983. Is the hypercholesterolemic effect of dietary casein related to its phosphorylation state? *Atherosclerosis* 49: 339-341.
 8. Carroll KK. 1991. Review of clinical studies on cholesterol-lowering response to soy protein. *J Am Diet Assoc* 91: 820-827.
 9. Bassat M, Mokady S. 1985. The effect of amino-acid supplemented wheat gluten on cholesterol metabolism in the rat. *Br J Nutr* 53: 25-30.
 10. Kayashita J, Shimaoka I, Nakajyo M. 1995. Hypocholesterolemic effect of buckwheat protein extract in rats fed cholesterol enriched diets. *Nutr Res* 15: 691-698.
 11. Kritchevsky D, Tepper SA, Czarnecki SK, Klurfeld DM. 1982. Atherogenicity of animal and vegetable protein. *Atherosclerosis* 41: 429-431.
 12. Kurowska EM, Carroll KK. 1994. Hypercholesterolemic responses in rabbits to selected groups of dietary essential amino acids. *J Nutr* 124: 364-370.
 13. Morita T, Oh-hashii A, Takei K, Ikai M, Kasaoka S, Kiriyama S. 1997. Cholesterol-lowering effects of soybean, potato and rice proteins depend on their low methionine contents in rats fed a cholesterol-free purified diet. *J Nutr* 127: 470-477.
 14. Huff MW, Carroll KK. 1980. Effects of dietary of dietary protein on turnover, oxidation and absorption of cholesterol and on steroid excretion in rabbit. *J Lipid Res* 21: 546-558.
 15. Eaton A, Klassen M. 1976. Effect of acute administration of taurocholic and taurochenodeoxycholic acid on biliary lipid excretion in the rat. *Proc Soc Experimental Biol Med* 151: 198-202.
 16. Eastwood MA, Hamilton D. 1968. Studies on the adsorption of bile salts to nonabsorbed components of diet. *Biochim biophys Acta* 152: 165-173.
 17. West CE, Spaij CJK, Clous WM, Twisk SP, Goertz MPH, Hubard RW, Kuyenhoven MW, Van der Meer R, Roszkowski WF, Sanchez A, Beynen AC. 1989. Comparison of the hypocholesterolemic effects of dietary soy bean protein with those of formaldehyde-treated casein in rabbits. *J Nutr* 119: 843-856.
 18. Lefevre A, Schbeeman A. 1982. Comparison of the mechanisms proposed to explain the hypocholesterolemic effect of soybean protein versus casein in experimental animals. *Federation Proceeding* 41: 720-729.
 19. Yashiro A, Oda S, Sugano M. 1985. Hypocholesterolemic effect of soybean protein in rats and mice after peptic digestion. *J Nutr* 115: 1325-1336.
 20. Lee YS, Park YH, O JH, Kim TJ, Lee HS. 1997. Effects of protein hydrolysates on blood and liver lipids in rats fed fat-enriched diet. *K J Nutr* 30: 614-621.
 21. Asato L, Kina T, Sugiyama M, Shimabukuro T, Yamamoto S. 1994. Effect of dietary peptides on plasma lipids and its mechanism studied in rats and mice. *Nutr Res* 14: 1661-1669.
 22. Fringe CS, Dunn RM. 1980. The colorimetric method for the determination of serum total lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Patho* 53: 89-92.
 23. Friedwald WT, Levy RT, Fridrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Nutr* 18: 499-502.
 24. Folch J, Less M, Stanley GHS. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-502.
 25. Biggs HG, Erikson MJ, Wells RM. 1975. A manual colorimetric assay of triglycerides in serum. *Clin Chem* 21: 437-441.
 26. Zlatkis A, Zak, B. 1969. Study of a new cholesterol reagent. *Anal Biochem* 29: 143-146
 27. Kim JH. 1991. Study on the effects of pepsin hydrolysate of casein on serum lipids in rats. *PhD Thesis*. Seoul National University, Korea.
 28. Okida T, Sugano M. 1989. Effects of the type and level of dietary proteins on the plasma lipids fatty acid profiles and fecal steroid excretion in rats. *Agri Biol Chem* 53: 659-666.
 29. Sugano M, Yamada Y, Yoshida K, Hashimoto Y, Matsuo T, Kimoto M. 1990. Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soybean protein in rats. *J Nutr* 120: 977-985.
 30. Lee YS, Koh JS. 1994. Effects of dietary soy protein and calcium on blood and tissue lipids in rats fed fat-enriched diet. *K J Nutr* 7: 3-11.
 31. Terpstra AHM, Sanchez-Muriz FJ. 1982. Time course of the development of hypercholesterolemia in rabbits fed semi-purified diets containing casein or soybean protein. *Atherosclerosis* 39: 217-222.

(2001년 8월 13일 접수; 2002년 3월 21일 채택)