

누에 추출 분말이 흰쥐의 혈장지질 및 혈당농도에 미치는 영향

윤주화* · 이성갑 · † 이근보**

한경대학교 산업대학원 식품생물공학과, 식품생물산업연구소, *용인시 보건소, **영미산업(주) 개발팀

Effects of Silkworm Extract Powder on Plasma Lipids and Glucose in Rats

Joo-Wha Yoon*, Seong-Kap Rhee and † Keun-Bo Lee**

Department of Food and Biotechnology, Graduate School Hankyong National University, Institute of Food Industry & Biotechnology,

*Director, Health Center of Yongin City, KyeongGi Province Korea, **R&D Manager, Youngmi Ind., Co., Ltd.

Abstract

Changes of plasma lipids, total cholesterol and phospholipids content according to diet of silkworm extract powder were as follows. Decrease ratios of plasma lipids at 3, 5%(w/w) treating groups were plasma lipids 5.16, 9.15%, those of total cholesterols were 1.63, 2.76% and those of phospholipids were 1.37, 2.00%, respectively. Decreasing effects of plasma triglyceride content according to diet of silkworm extract powder was higher than those of total cholesterols and phospholipids contents. Decrease of plasma glucose concentrations were 4.62% and 6.46% at 3%, 5%(w/w) treating group than control group, respectively. These results were not proportional decrease according to treating amount. In the other hand, changes of insulin concentration of plasma, pancreas and femur were appeared the similar tendency with plasma glucose concentration. Relationship between treating amount of silkworm extract powder and insulin concentration had not positive relativity. In conclusion, treatment of silkworm extract powder about 3%(w/w) could be expected to prevention and/or medical treatment effect of diabetic patients.

Key words : silkworm extract powder, plasma lipid, insulin, pancreas, cholesterol, phospholipids

서 론

누에고치는 5000년 이상 인류가 사용한 대표적인 동물성 단백질 섬유로서 가볍고 따뜻하여 양모와 함께 고급 천연 섬유 재료로 사용되어 왔다¹⁾. 그러나 인조견의 발견으로 실용성과 가격 면에서 경쟁력을 잃게 되어 누에고치를 옷감 섬유 재료 이외의 새로운 분야로 식품, 화장품, 의료용 재료 등의 기능성 소재로서의 연구가 시도되었다^{2,3)}. 누에고치의 주성분은 30만 이상의 고분자 단백질인 피브로인(fibroin) 으로 구성되어 정

련, 산 또는 알칼리 가수분해, 중화, 분말화 과정을 거쳐 실크 분말로 제조되어 로손, 핸드 크림, 영양 크림, 입욕제, 맛사지 크림 등의 화장품 재료로, 음료수, 국수, 과자, 식품 첨가제, 질병 치료제 등의 식품 분야에, 수술용 봉합사, 인공 피부, 연질 콘택트 렌즈 등의 의료용 재료 또는 분해성 포장재료 등으로 응용하려는 연구가 시도되고 있다^{4,5)} 식재료로서 건 피브로인에 관한 연구는 1980년대에 일본에서 시작되어^{2,3)} 흰쥐에서 알코올 분해 기능, 혈액 콜레스테롤 저하 효과가 있었다는 보고가 있으며⁶⁾ 우리나라에서는 누에고치의

† Corresponding author : Keun-Bo Lee, R&D Manager, Young-Mi Ind., Co., Ltd., 556-1, Mapeyeong, Yongin Kyeonggi 449-929, Korea.

Tel: +82-31-338-0018, E-mail: kblee@ymfood.com

식용화 기술과 건강 증진 효과, 식용 실크 분말의 제조 방법⁷⁾이 소개되었고, 견 피브로인의 약리 치료 효과 검색에 관한 연구⁸⁾에서 인슐린 비의존형 당뇨 유발 흰쥐에 피브로인을 투여한 결과 당뇨병 억제 효과가 있고 누에고치 산가수분해물이 고 지질, 고 당질식이 흰쥐의 혈장지질에 미치는 영향을 연구한 바 있어⁹⁾ 실크 펩타이드는 생리 기능 또는 식용 이외의 화장품 재료, 의약품 재료, 포장재 등 다양한 방면에 이용이 제안되고 있다.

한편, 누에에 관한 국내 연구도 활발히 진행되어 누에는 5일령이 fibroin 생합 성능 등이 가장 뛰어나며¹⁰⁾ 누에 번데기로부터 단백질 추출 조건 확립¹¹⁾, 누에 분말의 제조조건에 따른 혈당 강하 효과¹²⁾ 등이 연구된 바 있다. 누에는 그 자체가 혈액 성분¹³⁾ 및 혈당 강하 활성¹⁴⁾에 영향을 미치는 것으로 확인된 바 있으며, 누에 분말은 혈청 중의 활성 산소 생성 억제 및 제거 효소(scavenger enzymes)활성에도 영향을 미치는 것¹⁵⁾으로 알려지고 있다. 따라서, 누에 추출물 섭취가 흰쥐의 혈중 중성지질, 총 콜레스테롤, 인지질 함량에 미치는 영향 및 혈장 포도당 농도와 혈장, 췌장 및 근육조직의 인슐린 함량에 미치는 영향 등을 조사하기 위하여 본 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

1. 누에 추출 분말의 제조

본 연구 재료로 사용한 누에는 경북 김천의 잠사 농가에서 암수 비가 80:20 인 4일 잠을 잔 5일령 누에를 분양 받아 외관상태에 따라 선별한 다음 물로 세척하고 -40℃에서 36시간 급속 동결시켜 50~60℃에서 32시간 동안 건조한 누에 100g에 물 700mL을 가하여 100℃에서 6시간동안 추출하였다. 열수 추출물을 분리한 추출 잔사인 박에 protease (noopazyme, Novozymes, Denmark) 2.3%(w/w)를 가하여 50℃에서 8시간 동안 효소 분해한 후 95℃에서 1시간 열처리로 효소 분해 추출물을 얻었다. 위에서 분리한 열수 추출물과 효소 분해물을 합하여 농축하여 얻은 농축물에 동량의 dextrin을 가하여 40Brix 농도로 조절한 다음 분무 건조 및 체질하여 최종적으로 50Brix 농도의 누에 추출 분말 62g을 얻어 시료로 사용하였다.

2. 동물 사료의 조제

누에 추출 분말은 실험용 쥐가 거부감 없이 취식할 수 있도록 일반 동물사료에 누에 추출 분말을 배합한 사료 분말을 coating하여 동결 건조를 실시하여 흰쥐

가 무리없이 먹을 수 있도록 배려하였고 누에 추출 분말의 첨가량은 일반 동물 사료 대비 1, 2, 3, 4, 5%(w/w)로 설정하였다. 수분을 다량 함유한 상태의 반고체를 성형 틀에 충전한 후 즉시 -40℃의 온도에서 8~9시간 동안 급속 동결하고 50~60℃에서 0.2 torr의 진공도 하에서 약 5시간에 걸쳐 건조한 다음 tablet상으로 하여 이취 제거를 확인한 다음 동물 사료로 활용하였다.

3. 동물의 사육 및 혈액 채취

실험동물은 대한실험동물센터에서 구입한 체중 125g 정도의 건강한 Sprague-Dawley 종의 수컷 흰쥐를 시판 동물사료(한국화이자)로 적응시켜 체중 208g 내외로 키워 이들 흰쥐를 4주간 일반사료 및 조제사료를 식이로 사용하였다. 4주 후 공복상태에서 ethyl ether 마취 하에 개복하고, 복부대동맥, 췌장, 뒷다리의 근육 조직 등에서 채취한 혈액을 2,000rpm에서 10분간 원심 분리(Rotor No. 7, 한일과학)한 상등액을 취하여 -60℃에서 보관하며 분석용 시료로 사용하였다.

4. 실험 식이의 투여방법

실험동물은 일반사료로 사육하는 대조군과 누에 추출 분말 1~5%(w/w)를 첨가 조제한 사료 식이의 실험군으로 구분하여 실험기간 중 동일한 양의 식이로 사육하였다. 각 실험군을 각각 20마리씩 설정하여 총 120마리를 4주간 사육하였다.

5. 혈장중성지질, 총 콜레스테롤 및 인지질의 분석

혈액 중의 중성지질 및 총 콜레스테롤 농도는 효소법을 이용하여 각각 Cholestezyme - V 및 Triglyzyme-V (Eiken Co., Japan)를 이용하여 분석하였으며, 인지질 농도는 kit 시약(Iatron, Japan)으로 측정하였다.

6. 혈당, 인슐린 농도 분석

혈당 농도는 효소법을 활용한 GLZyme kit(Eiken Co., Japan)를 이용하여 분석하였고 혈장 인슐린 농도는 rat-insulin RIA kit(Linco Research Inc., USA)를 사용하여 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)법으로 측정하였으며, 근육조직의 인슐린 함량은 Neville의 방법¹⁶⁾에 의하여 각각의 조직에 10배 정도의 1mM NaHCO₃ 용액에서 균질화시킨 후 3,000rpm에서 15분간 원심분리(Rotor No. 7, 한일과학)시킨 다음 상등액을 취하여 혈장과 같은 방법으로 측정하였다.

7. 통계처리

모든 자료는 Statistical Analysis System(SAS) Package

를 이용하여 분석하였고 조사된 모든 항목에 대하여 평균과 표준편차를 구하였다. 각 항목의 평균값의 차이는 유의수준 $p < 0.05$ 에서 분산분석(ANOVA)을 이용하여 검증하였으며, Duncan의 다중범위비교(Duncan's multiple range test)를 통하여 차이를 확인하였다.

결과 및 고찰

1. 누에 추출물의 추출 특성

일반적으로 한약재 등을 이용한 추출물의 제조는¹⁷⁾ 열수 추출 또는 열수 추출과 주정 추출을 병행하는데 본 연구는 누에의 고유 특성을 고려하여 열수 추출과 protease 효소를 이용하여 단백질, peptides까지를 분해할 수 있는 효소 추출을 병행하였다. 건조 실크 분해 추출물의 수율은 62%였으나 같은 양의 dextrin 첨가를 감안해 볼 때, 실제 누에 추출물의 최종 수율은 31% 이하였다.

추출물의 제조는 사용하는 재료의 부위, 수분함량 및 어떤 종류의 생리활성물질을 추출할 것인가에 따라 추출방법이 달라져야 하며¹⁸⁾ 추출용매로는 methanol이 많이 사용되지만 식품 및 의약품의 원료 추출 용매로는 사용이 금지²⁴⁾되었고 ethanol은 사용이 가능하나¹⁹⁾ 일반적으로 계통적 추출법은 n-hexane, ether, chloroform, ethylacetate, alcohol (n-BuOH, MeOH, EtOH)의 순서로 추출하나 최근에는 초임계유체 추출법이 활용되기도 한다²¹⁾. 생산한 추출물의 유용성 물질 규명은 TLC, UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, spectroscopy, X-ray Crystallography 등의 방법^{22,23)}이 채용되고 있다.

2. 흰쥐의 혈장 지질 농도에 미치는 영향

1) 중성지질 함량 변화

누에 추출 분말 투여에 의한 혈장중의 중성지질 변화는 Fig. 1과 같이 대조군이 43.60 mg/dL인데 비하여 1~2% 사육군에서는 거의 변화를 없었으나, 3% 사육군에서는 41.35 mg/dL였고, 5% 사육군은 39.61mg/dL를 나타내어 3%, 5% 첨가 사육에 따른 중성지질의 감소율은 각각 5.16%, 9.15%였다. 누에 추출 분말 2% 이하 사육군에서는 거의 감소 효과가 없는 반면, 3% 이상 첨가군에서만 유의적인 감소 효과를 보였다. 이러한 결과는 해조 추출물 제품을 7일간 흰쥐에 투여한 결과 해조 올리고당 음료식이 및 다시마 추출 음료식이로 중성지질 함량이 각각 30%, 45%가 감소되었다²⁴⁾는 연구 결과와는 사용 재료가 다르기는 하나 그 감소율은 상대적으로 경미한 수준이었다.

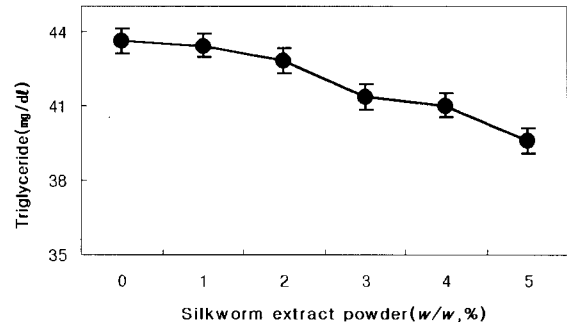


Fig. 1. Effect of silkworm extract powder treating of triglyceride in rat fed.

2) 총 콜레스테롤 함량 변화

누에 추출 분말 투여에 의한 혈장 중의 총 콜레스테롤 변화는 Fig. 2와 같이 대조군이 103.38mg/dL인데 비하여 1~2% 첨가군에서는 거의 차이를 보이지 않았으나, 3% 첨가군에서는 101.70mg/dL, 5% 첨가군은 100.53mg/dL를 나타내어 총콜레스테롤 감소율은 각각 1.63%, 2.76%을 보여 주 등²⁴⁾이 식이성 고지혈증에 해조 올리고당의 투여로 cholesterol 함량이 혈청과 같이 크게 감소하였다는 보고와 정의 상관관계가 있는 것으로 판단된다.

3) 인지질 함량 변화

누에 추출 분말 투여에 의한 혈장 중의 인지질 변화는 Table 1과 같이 정상 식이 군에서는 175.92mg/dL인데 비하여 1~2% 첨가군에서는 효과가 없었다. 그러나 3% 첨가군에서는 173.51mg/dL, 5% 첨가군에서는 172.40 mg/dL를 보여 인지질 감소율은 각각 1.37%, 2.00%의 효과를 보였다. 이상의 결과, 중성지질에서 가장 높은 감소율을 보인 반면 총 콜레스테롤 및 인지질 함량 감소는 상대적으로 그 효과가 낮은 것으로

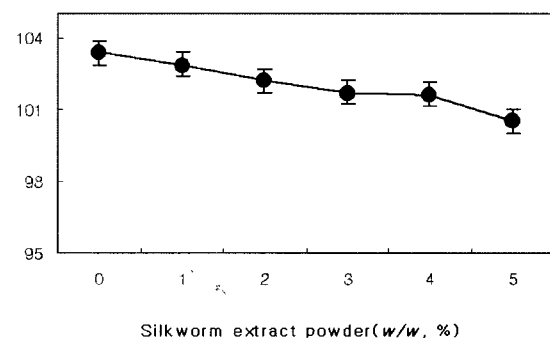


Fig. 2. Effect of silkworm extract powder treating of total cholesterol in rat fed.

Table 1. Effect of silkworm extract powder on the concentration of phospholipid in rat fed

Silkworm extract powder (w/w, %)	Phospholipid (mg/dL)
0	175.92±3.74 ^{1,2)}
1	175.03±4.31
2	174.27±6.64
3	173.51±8.30
4	172.98±5.12
5	172.40±3.38

¹⁾ Mean±SD(n=20).

²⁾ Values with different superscripts in the same row are significantly different($p < 0.05$) between groups by SAS, ANOVA.

판명되었다.

즉, 누에의 경우 일반적으로 알려진 바와 같이 당뇨에는 효과가 인정^{8,25)} 되었더라도 중성지질을 제외한 총 콜레스테롤과 인지질 함량 감소에는 큰 효과가 나타나지 않은 것으로 볼 때, 혈관계 및 심장병 등에는 특별한 효능이 없다고 판단되었다.

3. 흰쥐의 혈장 포도당 농도에 미치는 영향

누에 추출 분말 투여에 의한 혈장 포도당 농도에 미치는 영향은 Fig. 3과 같이 혈장 포도당 농도는 누에 분말 첨가량이 증가할수록 포도당 농도가 감소되는 반비례의 관계로 대조군이 326.5mg/dL인데 비하여 5% 첨가군에서는 305.4mg/dL로 나타나 약 6.46%의 감소율을 보여 누에 추출 분말이 당뇨병 치료 효능이 인정⁸⁾되고 있는 것을 재차 확인시켜 주었다.

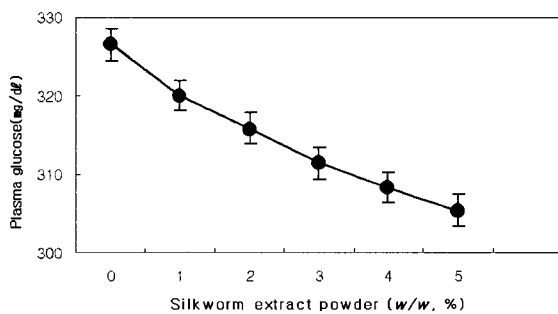


Fig. 3. Effect of silkworm extract powder treating of plasma glucose level in rat fed for 4 weeks.

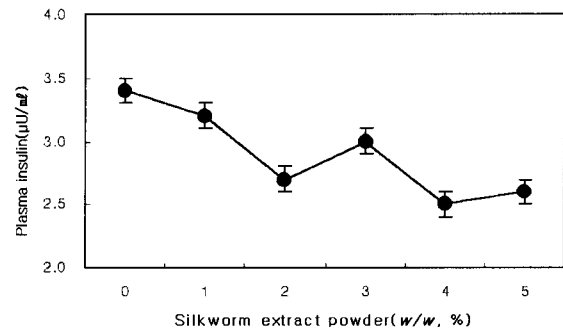


Fig. 4. Effect of silkworm extract powder treating of plasma insulin level in rat fed for 4 weeks.

1) 혈장 인슐린 함량에 미치는 영향

누에 추출 분말 처리가 혈장 인슐린 함량에 미치는 영향은 Fig. 4와 같이 대조군에서의 인슐린 함량이 $3.4 \pm 2.9 \mu\text{U/mL}$ 인데 비하여 첨가량이 많아질수록 점진적인 감소를 나타나 2% 첨가군이 $2.7 \pm 6.4 \mu\text{U/mL}$ 를 나타내었다. 그러나 상호간에 편차가 지나치게 심하여 증감을 판단하기에는 상당한 어려움이 있었다. 그러나 3% 첨가군에서는 $3.0 \pm 4.1 \mu\text{U/mL}$ 로 다시 증가하는 경향을 보였으며, 4%, 5% 처리군에서는 각각 $2.5 \pm 4.7 \mu\text{U/mL}$, $2.6 \pm 5.3 \mu\text{U/mL}$ 를 나타내었다.

2) 췌장 인슐린 함량에 미치는 영향

누에 추출 분말 투여가 췌장 인슐린 함량에 미치는 영향은 Fig. 5와 같이 대조군 인슐린이 $28.1 \pm 20.6 \mu\text{U/mL}$ 에서 그 첨가량이 증가할수록 전체적으로는 감소현상을 나타내었으나 부분적으로는 증감을 거듭하는 양상을 보였다. 0~5% 처리군 중 3% 처리군에서 $20.3 \pm 30.1 \mu\text{U/mL}$ 로 최저치를 나타내어 대조군 대비 약 27.76%의 감소를 나타내었다.

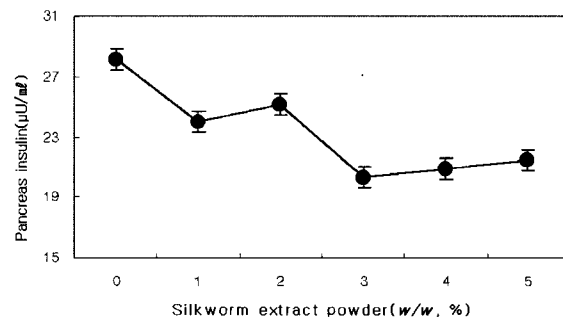


Fig. 5. Effect of silkworm extract powder treating of pancreas insulin level in rat fed for 4 weeks.

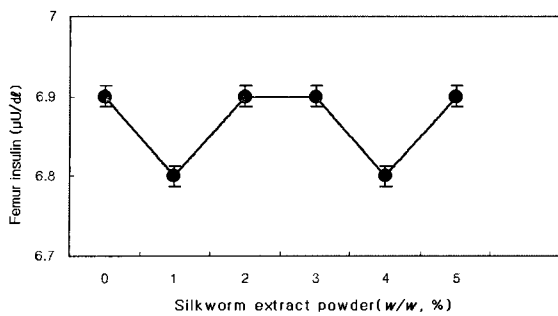


Fig. 6. Effect of silkworm extract powder treating of femur insulin level in rat fed for 4 weeks.

3) 근육조직 인슐린 함량에 미치는 영향

누에 추출 분말 투여가 근육조직 인슐린 함량에 미치는 영향은 Fig. 6과 같이 대조군의 인슐린 6.9 ± 2.0 $\mu\text{U/mL}$ 에서 첨가량의 증가에 따라 거의 변화를 나타내지 않아 혈장, 췌장에서와 달리 근육조직에서의 인슐린 함량에 대한 누에 추출 분말 처리는 거의 영향을 나타내지 않는 것으로 판단된다.

4) 혈장, 췌장 및 근육조직의 인슐린 함량에 미치는 영향

혈장, 췌장, 근육조직의 인슐린 분비량의 변화는 혈장 포도당 농도 변화와 거의 유사한 경향을 보였는데, 결과적으로 누에 추출 분말의 처리량과 인슐린 분비량 사이에 어떠한 양 반응 관계(Dose-Response)는 도출되지 않았다. 이는 위에서 밝힌 바와 같이 대상 동물이 인위적으로 당뇨를 유발시킨 동물이 아니라 비 당뇨성 실험동물을 대상으로 본 연구가 수행된 것이 가장 큰 원인 중의 하나인 것으로 생각된다. 이와 같은 결과들로 볼 때, 3% 내외의 누에 추출 분말 식이가 당뇨병 환자에게 있어 예방 또는 치료 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

이와 같이 당뇨 쥐의 경우에도 인슐린 의존성 여부, 식이방법 및 식이량 등에 따라 서로 간에 차이를 보이고 있으며, 비당뇨 쥐의 경우에도 확실적인 효과 여부를 가늠하는 것은 무리인 것으로 판단되었다.

요 약

누에 추출 분말 투여에 의한 혈중 중성 지질, 총 콜레스테롤 및 인지질 함량의 변화 양상은 투여량 3~5%에 따른 각 성분의 감소율이 각각 중성 지질은 5.16~9.15%, 총 콜레스테롤은 1.63~2.76%였으며, 인지질은 1.37~2.00%였다. 이러한 결과로 볼 때, 중성 지질에서

가장 뛰어난 효과를 보인 반면 총 콜레스테롤 및 인지질 함량 감소에는 상대적으로 그 효과가 낮은 것으로 판명되었다. 혈장 포도당 농도의 감소는 3% 첨가군의 경우 대조군에 비하여 약 4.62%의 감소율을 나타내었으나 5% 첨가군의 경우는 대조군에 비하여 약 6.46%를 나타내었다.

한편, 혈장, 췌장, 근육조직의 인슐린 농도의 변화는 혈장 포도당 농도 변화와 거의 유사한 경향을 보였는데, 결과적으로 누에 추출 분말의 첨가량과 인슐린 분비량 사이에 어떠한 정도의 상관관계는 도출되지 않았다. 이와 같은 결과들로 볼 때, 3% 내외의 누에 추출 분말 처리가 당뇨병 환자에게 있어 예방 또는 치료 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

참고문헌

1. 남중희, 신봉섭. 실크과학, p.20-89, 서울대학교 출판부. 1998
2. 平林 潔:絹. ヱイブロインの食品素材としての活用. *New Food Industry*, 31:1-4. 1991
3. Chen, K., Iura, K., Aizawa, R and Hirabayashi, K. The digestion of fibroin by rat. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 60:402-403. 1991
4. 平林 潔, 陣 開利. 絹利用の多面的展開. *蠶絲科學の技術*, 32:24-27. 1994
5. Lee, YW. Method and preparation of silk powder. *Kor. J. Monthly Seric.* 16:16. 1991
6. Sugiyama, K., Kushima, Y and Muramatsu, K. Effect of sulfur containing amino acid and glycine on plasma cholesterol level in rats fed on a high cholesterol diet. *Agric. Bio. Chem.* 49:3455-3461. 1985
7. 이성갑. 기능성 식품으로서 누에고치의 식용화 이용 기술. *Kor. J. Food Industry* 136:7-13. 1996
8. Nam, JK. and Oh, YS. A study of pharmacological effect of silk fibroin. *RDA, Kor. J. Agric. Sci.*, 37:145-157. 1995
9. 황은희, 강병기, 김복량, 이형자. 누에고치 산 가수 분해물의 단백질의 질적 평가와 고콜레스테롤, 고지질, 고당질식이 흰쥐의 혈장 지질에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지* 30:1004-1009. 2001
10. 여주홍, 이인진. 5령 누에에 있어서 Fibroin 생합성의 특성. *한국잠사학회지* 38:206-219. 1996
11. 조철형, 차월석. 누에 번데기의 단백질 추출에 관한 연구. *한국생물공학회지* 4:65-68. 1989
12. 정성현, 류강선, 강필돈, 이희삼. 누에분말 제조조

- 건에 따른 혈당 강하 효과. *한국잠사학회지* 39:79-85. 1997
13. 남장호, 강영국, 추상규. 누에 체성분이 생쥐의 혈액성분에 미치는 영향. *한국곤충학회지* 31:243-247. 2001
 14. 정성현, 김은주, 류강선, 류정화. 누에와 혈당강하 활성. *경희약대논문집*, 24:95. 1996
 15. 김대익, 이종수, 최진호, 박수현, 김동우, 류강선, 이희삼. 누에분말이 혈청 중의 활성산소 및 제거효소에 미치는 영향. *한국잠사학회지* 41:141-146. 1997
 16. Neville, DM. Isolation of an organ specific protein antigen from cell-surface membrane of rat liver. *Biochim. Biophys. Acta.*, 154:540-552. 1968
 17. 이미숙, 이근보, 한명규, 박상순. 황기, 당귀 추출물의 추출조건이 추출물의 수율 및 품질에 미치는 영향. *한국식품영양학회지* 14:543-547. 2001
 18. 정하숙. 신기능성 생리활성 천연물의 분리. *식품산업과 영양* 6:53-59. 2001
 19. 이성갑 외. 식품첨가물총서. 한국식품기술사협회, 2003
 20. Chung, HS, Woo, WS and Lim, SJ. Dentalactone. A sesquiterpene from *Ixeris dentata*. *Phytochem.* 35: 1583-1587. 1991
 21. Bruno, TJ and Ely, JF. Supercritical fluid technology. In *Modern Theory and Applications*. CRC. Boca Raton, 1991
 22. Simon, G. and Alexander, LG. Isolation by planar chromatography. In *Natural Products Isolation*. Richard. J.P.C. (ed.) Human press, New Jersey, p.209. 1998
 23. Stout, GH and Jensen, LH. X-ray structure determination. A practical guide. Macmillan, New York, 1968
 24. 주동식, 이진경, 최용석, 최종원. 해조 올리고당 음료의 고지혈증 유도 쥐에 있어서 혈청 및 간장의 지질변화에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지* 32:1364-1369. 2003
 25. Kim, MS, Choue, RW, Chung, SH and Koo, SJ. Blood glucose lowering effect of mulberry leaves and silkworm extracts on mice fed with high-carbohydrate diet. *Korean J. Nutr.* 31:117-125. 1998
-
- (2005년 4월 6일 접수; 2005년 6월 10일 채택)