

고지방식이를 섭취한 흰쥐에서 유청단백질 가수분해물의 섭취가 지질 농도 및 식욕 관련 호르몬에 미치는 영향

박정윤¹ · 박미나² · 최유영³ · 윤승섭³ · 전호남³ · 이연숙^{1*}

¹서울대학교 식품영양학과

²생활과학연구소

³매일유업(주) 중앙연구소

Effects of Whey Protein Hydrolysates on Lipid Profiles and Appetite-Related Hormones in Rats Fed High Fat Diet

Jung-Yoon Park¹, Mi-Na Park², You-Young Choi³, Sung-Seob Yun³,
Ho-Nam Chun³, and Yeon-Sook Lee^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, and ²Research Institute of Human Ecology,
Seoul National University, Seoul 151-742, Korea,

³Medicinal & Nutraceutical Food Research Team, R&D Center,
Maeil Dairy Industry Co. Ltd., Gyeonggi-do 451-861, Korea

Abstract

This study was carried out to compare the effects of whey protein concentrate, its hydrolysates and macropeptide fractions obtained from papain treatment of whey protein on lipid levels and appetite-related hormones in obesity model rats induced by high fat diet. Four week-old male Sprague-Dawley rats were fed high fat (18% w/w) and low protein (10% w/w) diet for 4 weeks and then divided into four groups (n=8/group). Rats were fed high fat diets containing various nitrogen sources; 10% whey protein concentrate (10WPC), 25% whey protein concentrate (25WPC), 25% whey protein hydrolysates (25WH), and 25% whey macropeptide fractions (25WP, MW \geq 10,000), respectively for 6 weeks. There were no significant differences in body weight gain and food intake among groups. A significant decrease of total lipid, triglyceride in serum was observed in 25WH and 25WP groups. Total lipid and triglyceride contents of the liver were significantly decreased in 25WPC, 25WH and 25WP groups compared with 10WPC group. However, in the liver, there were no differences in the contents of total lipid and triglyceride among 25WPC, 25WH and 25WP groups. The daily amounts of feces were significantly increased in 25WH and 25WP groups and the excretion of total lipid and triglyceride were significantly increased in 25WH group. Serum glucose and insulin concentration were significantly decreased in 25WH group. The concentration of serum ghrelin was significantly decreased in the 25WPC, 25WH and 25WP groups compared with 10WPC group. However, there was no significant difference in the concentration of serum leptin among groups. These results suggest that whey protein hydrolysates and macropeptide fractions may show beneficial effects on the lipid profile in serum and liver, appetite regulation and insulin resistance in obesity model rats induced by high fat diet.

Key words: whey protein, hydrolysate, macropeptide fraction, lipid profile, appetite-related hormone

서 론

비만은 산업화된 국가에서 가장 심각한 영양문제로 지난 20년 동안 전 세계적으로 급속히 증가하는 추세이다. 세계보건기구(WHO)는 세계 성인 인구 중 약 16억 명이 과체중이며, 최소 4억 명 이상이 비만이라고 추정한다(1). 미국의 경우 체질량 지수(BMI) 30 kg/m² 이상을 비만 기준으로 적용하였을 경우, 2001년에서 2004년 동안 20세 이상 대상자 중

비만 인구의 비율이 32.1%에서 33.9%로 증가하는 추세를 보였다(2). 우리나라의 경우는 체질량 지수(BMI) 25 kg/m² 이상을 비만 기준으로 적용하였을 때, 2001년 국민건강영양조사에서 20세 이상 대상자 중 비만 인구의 비율이 30.6%, 2005년에는 31.8%로 보고되었다(3).

최근 비만 예방과 치료 및 체중 조절을 위한 식이조성 및 영양소에 대한 관심과 더불어 많은 연구들이 보고되고 있다. 그 중 체중 조절을 위해 널리 사용되고 있는 방법 중 하나인

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

열량제한식이(energy restricted diet)는 포만감(satiety)을 감소시키고 식욕(appetite)을 촉진시켜 열량제한식이를 지속해나가기 어렵다는 문제점이 보고되었다(4). 이에 반해, 고단백식이(high protein diet)는 포만감을 증가시키며 열발생(thermogenesis)의 증가 및 체조성 변화를 통해 체중감소에 효과가 있음이 보고됨으로써 체중조절을 위한 방법 중의 하나로 주목받고 있다(5).

유청단백질은 카제인과 함께 유즙을 구성하는 주요 단백질로, 총 우유 단백질의 20%를 차지하며, 풍부한 아미노산 조성과 높은 생물가를 가지고 있다(6). 유청단백질은 필수 아미노산과 측쇄 아미노산이 풍부하여 신체 근육 조직을 유지하는데 도움을 주며 노인이나 활동적인 성인과 체중을 조절하고자 하는 사람들에게 매우 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다(7,8). 그리고 유청단백질은 카제인에 비해 섭취 후 빠르게 흡수되어 혈장의 아미노산 산화를 촉진시킨다고 알려져 있다(9).

한편, 단백질의 기능적·영양적 특성을 향상시키기 위한 방안으로 효소를 이용한 단백질 가수분해 방법이 널리 사용되고 있다(10,11). 단백질 가수분해에 의해 생성된 펩타이드는 intact 단백질보다 작은 분자량과 2차 구조를 가지고 있으며, 등전점 부근에서의 용해도 증가와 점도의 감소 등의 특성을 나타냄으로써 소화능력과 알레르기 반응 등에서 생리적 기능이 향상되어질 수 있다고 한다(12). 또한, 단백질 가수분해물에 의해 생성된 펩타이드나 아미노산은 intact 단백질에 비해 소장으로부터 더 빠르고 완벽하게 흡수되며, 혈청 지질 농도에 미치는 영향도 다르게 보고되고 있다(13,14). 그리고 유청단백질 가수분해에 의해 생성된 펩타이드는 체내 대사율을 증가시키고 glucagon을 일정한 속도로 분비시켜 지방이 축적되는 것을 방지한다는 연구 결과가 보고되었다(7,8). 지금까지는 단백질의 종류나 수준에 따른 비만 감소 효과에 대한 연구가 많이 수행되었으나, intact 단백질과 그 가수분해물이 비만에 미치는 영향을 비교 검토한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 고지방식이를 섭취한 비만모델 흰쥐를 이용하여 유청단백질 및 그 가수분해물 섭취에 따른 체중, 장기 및 체지방, 혈청, 간 및 분 중 지질 농도와 식욕 조절 관련 호르몬 농도 변화를 측정함으로써, 체중 조절시식이보충제로서의 유청단백질 가수분해물의 활용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험설계

실험동물은 서울대학교 실험동물자원관리원에서 사용하였으며, 실험동물의 구입과 사육의 전 과정은 서울대학교 실험동물자원관리원의 규정에 따라 실행되었다. 실험동물은 3주령 된 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley; male, 45~50 g

BW) 40마리를 오리엔트(주)로부터 구입하여 정상 pellet diet로 1주일간 적응시킨 뒤, 식이성 비만을 유도하기 위하여 1차 실험식으로 고지방·저단백 식이(식이 중 우지 18%, Whey Protein Concentrate 10%)를 4주간 급여하였다. 이들 실험동물을 5군으로 나누어 8마리씩 난괴법에 의해 임의배치한 후, 한 군을 기준군(Basal)으로 설정하여 바로 희생시키고, 나머지 4군은 다시 6주간 2차 실험식이를 공급하면서 사육하였다. 실험군은 18% 우지를 첨가한 고지방식이를 기본으로 질소원에 따라 유청단백질 10%군(10% whey protein concentrate; 10WPC), 유청단백질 25%군(25% whey protein concentrate; 25WPC), 유청단백질 가수분해물 25%군(25% whey protein hydrolysate; 25WH), 유청 Macropeptide fraction 25%군(25% whey macropeptide fraction; 유청단백질 가수분해물 중 분자량 10,000이상; 25WP)으로 나누었으며 실험기간 중 3일 동안 대사케이지에 넣어 분을 수집하였다. 실험식이와 식수는 완전 자유 급여법으로 급여하였다. 사육실의 환경은 온도 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $66\pm 5\%$ 로 유지하였고, 명암은 12시간 주기(7:00 a.m.~7:00 p.m.)로 조절하였다. 실험기간 동안 체중과 식이섭취량은 일주일에 3회씩 일정 시간에 측정하였다.

실험식이

실험식이는 완전정제식이로서 기본적으로 AIN-93M의 패턴(15)을 따랐다. 지방 급원으로는 우지(롯데삼강(주)) 18%를 첨가하였고 식이 내 질소원은 유청단백질(whey protein concentrate 80: WPC80, 매일유업(주))과 WPC80을 파파인을 사용하여 가수분해하여 제조한 유청단백질 가수분해물(whey protein hydrolysate)과 유청단백질 가수분해물의 macropeptide fraction(whey macropeptide fraction; WH중 $\text{MW}\geq 10,000$)을 사용하였다. 이때 식이 내 질소원 수준은 유청단백질 10%와 25% 두 수준과 유청단백질 가수분해물 25% 및 유청 Macropeptide fraction 25%로 나누었으며, 식이 중 질소함량을 동일하도록 조정하였다. 식이 중 비타민과 무기질 급원으로는 각각 AIN-93 vitamin mixture와 AIN-93M mineral mixture를 ICN(USA)에서 구입하여 사용하였다. 실험식이의 조성은 Table 1에 제시하였다.

시료수집

실험동물을 희생시키기 전에 하룻밤 동안 절식시킨 후 다음날 아침에 ether(TEDIA Company Inc., USA)를 사용하여 마취시킨 뒤 혈액과 조직의 시료를 수집하였다. 혈액은 경동맥에서 채취하였으며 4°C 에서 2~3시간 방치 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리(Mega 21; Hanil science industrial Co. LTD, USA)하여 혈청을 얻어 분석 전까지 -80°C 에서 냉동 보관하였다. 혈액을 채취한 후 즉시 개봉하여 간, 신장, 고환, 비장을 적출하여 생리식염수(0.9% NaCl)에 세척하여 여과지에 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다. 신장과 부고환 주변의 지방조직을 떼어 내어 지방조직의 무

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)²⁾

Group ¹⁾	10WPC	25WPC	25WH	25WP
Cornstarch	520.692	370.692	352.23	374.69
Sucrose	100	100	100	100
Protein ³⁾	100	250	268.46	246
Beef tallow	180	180	180	180
Fiber	50	50	50	50
Mineral mix ⁴⁾	35	35	35	35
Vitamin mix ⁵⁾	10	10	10	10
DL-Methionine	1.8	1.8	1.8	1.8
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
t-Butylhydroquinone	0.008	0.008	0.008	0.008

¹⁾10WPC: 18% beef tallow+10% whey protein concentrate, 25WPC: 18% beef tallow+25% whey protein concentrate, 25WH: 18% beef tallow+25% whey protein hydrolysate, 25WP: 18% beef tallow+25% whey macropeptide fraction

²⁾Experimental diets were prepared according to AIN-93M composition.

³⁾Protein source: whey protein concentrate 80 (Maeil Dairy Industry Co., Korea)

⁴⁾Mineral mix: AIN-93M-MX (ICN, USA).

⁵⁾Vitamin mix: AIN-93-VX (ICN, USA).

계를 각각 측정하였다. 무게측정 후 이들을 액체 질소로 즉시 동결시킨 후 분석 전까지 -80°C 에서 냉동 보관하였다. 분은 실험기간 중 3일 동안 수집하였다. 분은 수집 후 털, 식이 등의 이물질들을 제거한 뒤 냉동 건조(Freeze-drier; Labcon, USA)하여 중량을 재고 분쇄하여 분석에 이용하였다.

시료분석

혈청의 지질 분석: 혈청의 총 지질 농도는 Frings와 Dunn의 방법(16)을 이용하여 540 nm에서 Spectrophotometer(Beckman DU-530, USA)로 비색 정량하였다. 혈청의 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 농도는 효소 시약 kit(아산제약(주), 한국)를 이용하여 측정하였다. 혈청의 중성지방 농도는 550 nm, 총 콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤 농도는 500 nm에서 Spectrophotometer(Beckman DU-530, USA)로 비색 정량하였다.

간 조직과 분의 지질 분석: 간과 분은 냉동건조(Freeze-drier; Labcon, USA)하여 균질화한 뒤 Folch 등의 방법(17)을 이용하여 측정하였다. 건조시켜 분쇄한 간 0.3 g을 chloroform과 methanol을 2:1(v/v)로 혼합한 용액 2 mL를 첨가하여 잘 섞는다. 이 용액에 다시 2 mL 증류수를 첨가한 후 잘 혼합하고, 다시 chloroform과 methanol을 2:1(v/v)로

혼합한 용액 2 mL를 첨가하는 과정을 3번 반복하였다. 이 용액을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 아래층의 용액을 취하였다. 취한 용액은 미리 무게를 잰 유리 tube에 넣은 후 후드에서 chloroform을 휘발시킨 후 남은 용액의 무게를 측정하여 간의 총 지질 양으로 정량하였다. 간의 중성지방과 총 콜레스테롤의 농도는 추출한 총 지방을 isopropanol 용매로 녹인 후 각각 cholesterol hydrolase를 포함한 효소 시약 kit(아산제약(주), 한국)를 이용하여 측정하였다. 간의 중성지방 농도는 550 nm에서, 총 콜레스테롤 농도는 500 nm에서 Spectrophotometer(Beckman DU-530, USA)로 비색 정량하였다. 분의 총 지질량과 총 콜레스테롤 농도는 간의 분석 방법에 준하여 측정하였다.

혈청 glucose 농도 측정: 혈청의 glucose 농도는 혈액자동분석기(Spotchem; KDK Co., Japan)를 이용하여 측정하였다.

혈청 호르몬 분석: 혈청 중의 insulin 농도는 Rat Insulin ELISA kit(Mercodia, Sweden)를, 혈청 중의 leptin 농도는 Rat Leptin assay kit(Assay design, USA)를, 혈청중의 ghrelin 농도는 Rat Ghrelin ELISA kit(Phoenix, USA)를 이용하여 각각 Microplate reader(Bio-Rad, USA)로 450 nm에서 측정하였다.

통계분석

실험결과는 SAS Program(SAS 9.1 version)을 이용하여 통계 처리하였다. 모든 결과는 평균과 표준오차(mean \pm SE)로 나타내었다. Basal 군을 제외한 실험군 간의 유의성은 ANOVA test 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

체중, 체중증가량 및 식이섭취량

실험식이에 따른 초기 체중, 최종 체중, 체중증가량 및 식이섭취량을 Table 2에 제시하였다. Control 기간 동안 1차 실험식으로 고지방·저단백 식이를 4주간 공급한 후, 4군으로 나누어 6주간의 실험기간 동안 2차 실험식을 급여하였다. 최종 체중 및 체중 증가량은 유청단백질군(25WPC)에 비해 가수분해물 섭취군들(25WH, 25WP)에서 약간 낮은 경향을 보였으나 유의적 차이는 없었으며, 식이섭취량도 실험

Table 2. Body weight, weight gain and food intake of the rats fed high fat diets containing various nitrogen sources

Group ¹⁾	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	
Control period (for 4 weeks)	Basal 10WPC	100.6 \pm 0.7 ²⁾	238.4 \pm 15.2	5.10 \pm 0.56	14.28 \pm 0.03
Experimental period (for 6 weeks)	10WPC	238.1 \pm 11.2 ^{NS3)}	404.3 \pm 12.4 ^{NS}	4.05 \pm 0.26 ^{NS}	19.7 \pm 1.0 ^{NS}
	25WPC	238.3 \pm 8.8	439.2 \pm 14.1	4.85 \pm 0.28	18.6 \pm 1.1
	25WH	237.6 \pm 8.5	411.4 \pm 7.4	4.31 \pm 0.34	17.6 \pm 0.7
	25WP	238.1 \pm 9.3	424.5 \pm 11.8	4.58 \pm 0.19	18.5 \pm 0.6

¹⁾See Table1. ²⁾Values are means \pm SE of 8 rats per group. ³⁾NS: not significantly different.

군간에 유의적 차이가 없었다.

Aoyama 등(18,19)의 실험동물 연구에서 카제인, 유청단백질 및 대두단백질과 각각의 가수분해물 섭취가 체중감소 및 식이섭취에 영향을 미치지 않았다고 보고하여 본 연구결과와 일치하였다. 그러나 Pilvi 등(20)은 단백질 종류를 카제인과 유청으로 달리하여 식이를 공급하였을 때, 카제인에 비해 유청을 급여한 실험군의 체중증가량이 유의적으로 낮은 경향을 나타내었으며, 식이섭취량에서는 유청을 급여한 실험군이 유의적으로 높은 경향을 보였다고 하였다. 본 연구에 사용된 25% 단백질 수준이 체중감소나 식이섭취에 유의적인 영향을 미치지 못한 것으로 사료되며, 연구들간의 일관되지 못한 결과는 단백질 종류와 수준 및 가수분해 방법, 식이조성 및 섭취기간 등의 요인이 다르게 적용되었기 때문으로 사료된다.

조직의 무게

간, 신장, 고환, 비장 조직의 무게를 Table 3에 제시하였다. 간 조직의 무게는 유청단백질군(25WPC)에 비해 가수분해물군들(25WH, 25WP)에서 유의적으로 낮았다. 그러나 신장, 고환과 비장 조직의 무게는 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Aoyama 등(18)의 연구에서는 가수분해물 섭취군에서 단백질군에 비해 간의 무게가 유의적으로 높은 경향을 나타내었으며, 신장 및 비장의 무게에서는 실험군간 유의적 차이가 없었다는 결과를 보고하였다. 반면, Belobrajdic 등(21)은 수컷 흰쥐에게 red meat과 유청단백질을 8%, 32%씩 수준별로 급여하였을 때, 간의 무게에서는 실험군간 유의적 차이가

없었으나 유청단백질 32%를 공급한 실험군에서 신장의 무게는 유의적으로 높은 경향을 나타내었다는 결과를 보고하였다. L'Heureux-Bouron 등(22)의 연구에서도 간의 무게는 단백질 수준에 따른 영향을 받지 않았으나, 신장의 무게는 고단백 식이군이 저단백 식이군에 비해 무게가 유의적으로 높은 경향을 나타내었다는 결과를 보고하였다. 본 연구에서도 고단백 식이군들(25WPC, 25WH, 25WP)에서 신장의 무게가 저단백 식이군(10WPC)에 비해 유의적으로 높은 경향을 나타내었는데, 이는 식이 중 단백질 수준의 증가는 renal hypertrophy를 초래한다는 연구결과와 일치하였다(23).

지방조직의 무게

신장 주변 지방, 부고환 주변 지방조직의 무게는 Table 4에 제시하였다. 신장 주변 지방, 부고환 주변 지방조직의 무게는 유청단백질군(25WPC)에 비해 가수분해물군들(25WH, 25WP)에서 감소하는 경향을 보였으나, 실험군간 유의적인 차이가 없었다.

유청단백질과 그 가수분해물의 섭취가 신장 주변 지방과 부고환 주변 지방조직의 무게에 유의적 영향을 미치지 않았다(18,19)는 연구 결과도 있었으며, 고단백식이 저단백식에 비해 신장과 부고환 주변 지방조직의 무게가 유의적으로 낮은 경향을 나타내었다는 결과도 보고되었다(21). 또한, 단백질의 종류에 따라서는 유청의 섭취가 카제인에 비해 체지방 무게에 유의적인 감소 효과를 나타냄으로써 체중 감소에 단백질 종류가 영향을 미친다고 하였다(20). 본 연구 결과에서는 유청단백질이나 가수분해 정도가 체내 지방조직의 무게에 유의적인 영향은 미치지 않은 것으로 나타났다.

Table 3. Fresh weight of liver, kidney, testis and spleen in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources Fresh wt (g)

Group ¹⁾		Liver	Kidney	Testis	Spleen
Control period (for 4 weeks)	Basal 10WPC	8.31±1.10 ²⁾	1.76±0.12	2.65±0.07	0.58±0.08
	10WPC	12.39±0.72 ^{ab3)}	2.40±0.09 ^b	3.07±0.06 ^{NS4)}	0.66±0.04 ^{NS}
Experimental period (for 6 weeks)	25WPC	13.95±0.55 ^a	2.92±0.13 ^a	2.97±0.09	0.76±0.03
	25WH	11.57±0.59 ^b	2.71±0.08 ^a	3.05±0.04	0.66±0.03
	25WP	11.16±0.65 ^b	2.78±0.11 ^a	3.11±0.10	0.67±0.03

¹⁾See Table1.

²⁾Values are means±SE of 8 rats per group.

³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 ANOVA test by Duncan's multiple test.

⁴⁾NS: not significantly different.

Table 4. Fresh weight of perirenal fat and epididymal fat in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources

Group ¹⁾		Perirenal fat		Epididymal fat	
		Fresh wt (g)	(g/100 g BW)	Fresh wt (g)	(g/100 g BW)
Control period (for 4 weeks)	Basal 10WPC	4.58±0.82 ²⁾	1.86±0.20	3.71±0.45	1.54±0.11
	10WPC	10.92±1.36 ^{NS3)}	2.62±0.26 ^{NS}	9.63±0.82 ^{NS}	2.32±0.14 ^{NS}
Experimental period (for 6 weeks)	25WPC	14.00±1.25	3.01±0.21	11.98±0.84	2.57±0.14
	25WH	11.71±0.70	2.85±0.16	10.22±0.43	2.49±0.11
	25WP	12.25±1.23	2.73±0.22	10.75±0.72	2.50±0.15

¹⁾See Table1. ²⁾Values are means±SE of 8 rats per group. ³⁾NS: not significantly different.

혈청의 지질농도

혈청의 총 지질, 중성지방 및 콜레스테롤의 농도는 Table 5에 제시하였다. 혈청 중 총 지질은 유청단백질군(25WPC)에 비해 가수분해물군들(25WH, 25WP)에서 유의적으로 낮았다. 중성지방 농도에서도 유청단백질군(25WPC)에 비해 가수분해물군들(25WH, 25WP)에서 농도가 유의적으로 낮았으며, 그 중 25WH군에서 농도가 가장 낮았다($p < 0.05$). 그러나 총 콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤은 각 실험군간 유의적인 차이가 없었다.

본 연구의 결과는 유청단백질 가수분해물 섭취에 따라 혈액 중 중성지방 농도에서 유의적인 차이를 보였으나, 총 콜레스테롤 농도에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다는 Aoyama 등(18)의 연구결과와 일치하였다. 그러나 그의 또 다른 연구(19)에서는 카제인과 대두단백질 및 그 가수분해물 섭취 시 혈중 중성지방은 유의적 차이가 나타나지 않았으며, 총 콜레스테롤은 대두단백질 및 그 가수분해물의 섭취에 의해 유의적으로 낮은 경향을 나타내었으며, HDL 콜레스테롤은 카제인과 대두단백질 및 그 가수분해물을 섭취하였을 때 유의적으로 높은 경향을 나타내었다.

일반적으로 대두단백질은 콜레스테롤을 저하하는 물질로 잘 알려져 있다. 그리고 유청단백질과 그 펩타이드물은 대두단백질과 유사하게 작용하여 혈청 콜레스테롤을 감소시킨다고 알려져 있다(24,25). 본 연구에서 유청단백질 가수분해물의 섭취에 따른 혈청 중 총 지질과 중성지방에서 유의적인

지질 개선 효과를 나타내었다. 이는 유청단백질 가수분해로 생성된 작은 펩타이드들이 체내 지질 수준을 낮추는데 중요한 영향을 미친 것으로 사료된다.

간 조직의 지질함량

간 조직의 총 지질, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량은 Table 6에 제시하였다. 간 조직의 총 지질함량, 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량은 유청단백질군(25WPC)에 비해 가수분해물군들(25WH, 25WP)에서 낮은 경향을 나타내었으나, 각 실험군간에 통계적 유의성은 없었다.

Lee 등(14)의 연구에서 카제인 가수분해물의 급여에 의해 간 조직 중의 지질 농도가 유의적으로 낮게 나타났다고 보고하였다. Nagaoka 등(26)은 카제인에 비해 유청단백질의 섭취 시 간의 총 지질, 중성지방 및 콜레스테롤 농도 감소에 있어서 유의적인 개선 효과를 나타내었다. 본 연구에서 유청단백질의 섭취에 따라 간 조직의 지질이 저하한 결과는 단백질 수준이 더 큰 영향을 미친 것으로 생각된다. 또한, 혈청의 지질 농도에서 유청단백질 가수분해물 섭취에 의해 유의적으로 감소 효과를 보였으나, 간 조직에서의 지질 함량에 있어서는 유의적인 감소 효과가 없었다.

분의 지질함량

일일 분량 및 분의 총 지질, 중성지방과 총 콜레스테롤 배설량은 Table 7에 제시하였다. 일일 분량은 유청단백질군(25WPC)에 비해 가수분해물군들(25WH, 25WP)에서 배설

Table 5. The concentration of serum total lipid, triglyceride, total cholesterol and HDL cholesterol in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources (mg/dL)

Group ¹⁾		Total lipid	Triglyceride	Total cholesterol	HDL cholesterol
Control period (for 4 weeks)	Basal 10WPC	318.0±8.9 ²⁾	59.08±3.77	63.80±3.83	36.22±2.33
	10WPC	375.7±21.0 ^{a3)}	107.6±8.60 ^a	60.62±2.55 ^{NS4)}	33.94±1.32 ^{NS}
Experimental period (for 6 weeks)	25WPC	359.4±19.9 ^a	98.60±11.17 ^{ab}	60.62±3.01	36.61±2.63
	25WH	291.4±18.4 ^b	65.93±9.09 ^c	58.94±5.77	37.59±3.56
	25WP	290.3±17.3 ^b	77.44±8.13 ^{bc}	58.87±2.21	39.41±1.38

¹⁾See Table1.

²⁾Values are means±SE of 8 rats per group.

³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.05$ ANOVA test by Duncan's multiple test.

⁴⁾NS: not significantly different.

Table 6. The contents of liver total lipid, triglyceride and total cholesterol in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources (mg/g)

Group ¹⁾		Total lipid	Triglyceride	Total cholesterol
Control period (for 4 weeks)	Basal 10WPC	178.5±8.8 ²⁾	76.35±5.79	15.83±0.75
	10WPC	197.0±15.5 ^{a3)}	111.3±12.43 ^a	20.06±2.02 ^a
Experimental period (for 6 weeks)	25WPC	171.1±6.1 ^b	56.25±7.59 ^b	15.81±1.03 ^b
	25WH	165.7±5.4 ^b	51.75±5.72 ^b	15.01±0.84 ^b
	25WP	169.4±6.0 ^b	50.44±8.71 ^b	14.36±0.59 ^b

¹⁾See Table1.

²⁾Values are means±SE of 8 rats per group.

³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.05$ ANOVA test by Duncan's multiple test.

Table 7. Fecal excretion of total lipid, triglyceride and total cholesterol in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources

Group ¹⁾		Fecal weight (g/day)	Total lipid (mg/g)	Triglyceride (mg/g)	Total cholesterol (mg/g)	
Control period (for 4 weeks)		Basal 10WPC	1.85±0.19 ²⁾	130.0±6.2	5.96±0.91	34.80±0.95
Experimental period (for 6 weeks)		10WPC	1.94±0.10 ^{b3)}	158.6±6.1 ^b	11.10±0.71 ^c	40.30±1.96 ^{NS4)}
		25WPC	2.24±0.19 ^{ab}	178.3±3.1 ^b	13.97±1.54 ^{bc}	43.20±2.14
		25WH	2.48±0.16 ^a	203.1±11.4 ^a	27.16±1.24 ^a	47.60±1.86
		25WP	2.41±0.06 ^a	181.7±6.8 ^{ab}	20.14±3.45 ^b	44.60±2.91

¹⁾See Table 1.²⁾Values are means±SE of 8 rats per group.³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 ANOVA test by Duncan's multiple test.⁴⁾NS: not significantly different.

량이 유의적으로 높았다(p<0.05). 분의 총 지질과 중성지방 함량은 유청단백질 가수분해물군(25WH)에서 유청단백질군(25WPC)에 비해 함량이 유의적으로 높았으며(p<0.05), 25WP군은 유의적이지는 않았지만 유청단백질군(25WPC)에 비해 높은 경향을 보였다. 그러나 분의 총 콜레스테롤 함량은 총 지질 및 중성지방 함량과 비슷한 경향을 보였으나, 실험군간 유의적인 차이를 보이지는 않았다.

카제인과 대두단백질 및 그 가수분해물 섭취 시 분 배설량에 따른 유의적인 차이를 관찰하지 못했다고 보고한 결과(18)도 있으나, O와 Lee(27)의 연구에서는 카제인과 그 가수분해물 섭취 시 가수분해물 섭취군에서 일일 분 배설량, 총 지질과 총 콜레스테롤 및 중성지방 배설량이 유의적으로 증가하였다. 본 연구에서 일일 분 배설량, 분 중 총 지질 함량 및 분 중 중성지방 함량은 유청단백질 수준 증가 및 그 가수분해물의 섭취에 따라 유의적인 감소를 보였는데, 이는 단백질 수준의 증가와 그 가수분해물들이 분 중으로의 지질 배설을 촉진시킴으로써 혈중 및 간 조직 중의 지질 농도를 저하시키는 것으로 사료된다.

혈청의 glucose와 insulin 농도

혈청의 glucose 농도와 insulin 농도는 Fig. 1에 제시하였다. 혈청의 glucose 농도는 유청단백질군(25WPC)에 비해

가수분해물군들(25WH, 25WP)에서 낮은 경향을 보였으며, 25WH군에서는 11% 감소하였다(p<0.05). 혈청의 insulin 농도는 유청단백질군(25WPC)에 비해 가수분해물군들(25WH, 25WP)에서는 50% 이하로 감소하였다(p<0.05).

일반적으로 식이 단백질은 인슐린과 글루카곤의 분비를 유도하는 것으로 잘 알려져 있다(28). Belobrajdic 등(21)은 단백질 종류가 체중, 지방 저장량과 insulin sensitivity(insulin: glucose 비율)에 영향을 미쳤다는 결과를 보고하였다. 그리고 유청단백질 수준의 증가는 체중증가량을 감소시키며 혈액 중 insulin 농도의 감소에 의해 insulin sensitivity를 증가한다고 보고하였으나, red meat 수준의 증가는 아무런 영향을 미치지 않았다. 한편, 단백질 수준의 증가는 지방 저장을 감소시켰으나, insulin과 glucose 농도와 insulin sensitivity에는 영향을 미치지 않았다는 보고도 있었다(29). Claessens 등(28)이 사람을 대상으로 대두단백질과 유청단백질 및 그 가수분해물들을 수준별로 섭취시켰을 때, insulin과 glucagon이 분비되는 정도는 단백질의 종류별로 차이를 보였으며, 전반적으로는 섭취한 단백질의 양이 증가함에 따라 이들 호르몬의 분비가 증가한 것으로 나타났다. 본 연구 결과에서도 단백질의 수준 증가에 따른 glucose와 insulin의 유의적인 증가를 보였으며, 유청단백질군(25WPC)에 비해

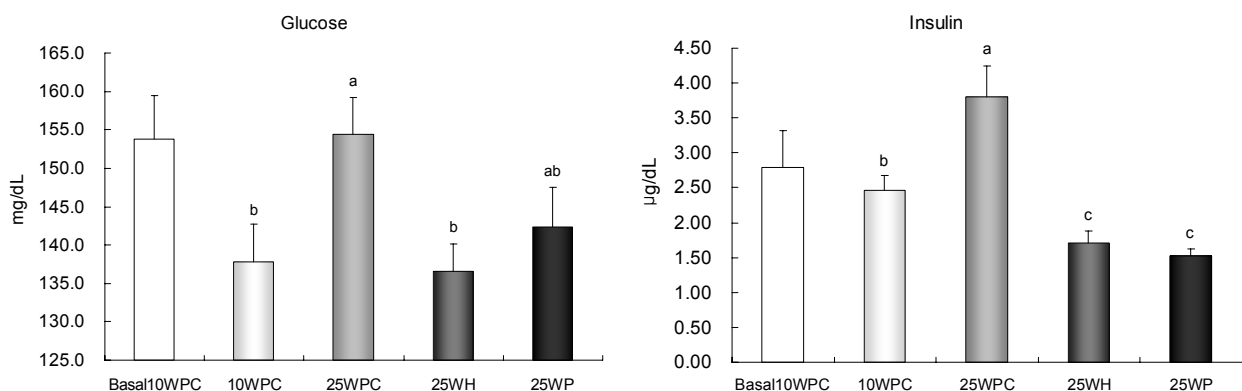


Fig. 1. The concentration of serum glucose and insulin in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources. Groups are the same as in Table 1. Values are means±SE of 8 rats per group. Bars with different superscripts are significantly different at p<0.05 ANOVA test by Duncan's multiple test.

가수분해물군(25WH)의 혈중 glucose와 insulin 농도가 유의적으로 감소한 것은 intact 단백질에 비해 그 가수분해물의 섭취가 인슐린 저항성을 개선시킬 수 있음을 시사하였다.

혈청 중 식욕 관련 호르몬 농도

혈청 중 식욕 조절 관련 호르몬으로 혈청 중 leptin 농도는 Fig. 2에, 혈청 중 ghrelin 농도는 Fig. 3에 각각 제시하였다. Leptin 농도는 실험군간 유의적인 차이가 없었다. 한편, ghrelin 농도는 유청단백질군(25WPC)에 비해 가수분해물군들(25WH, 25WP)이 감소한 경향을 나타내었으며, 저단백식이군(10WPC)에 비해 고단백식이군들(25WPC, 25WH, 25WP)에서 유의적으로 낮았다($p < 0.05$).

Leptin은 비만유전자(ob)의 산물로, 염색체 7q32에 위치한 167개의 아미노산 단백질로서 지방세포에서 합성되고 분비된다. Leptin은 시상하부에 작용하여 식이 섭취를 억제하고 말초조직에서 에너지 소비를 증가시켜 비만을 조절하는 역할을 한다. 혈중 leptin 수치는 동물과 사람 모두에서 지방

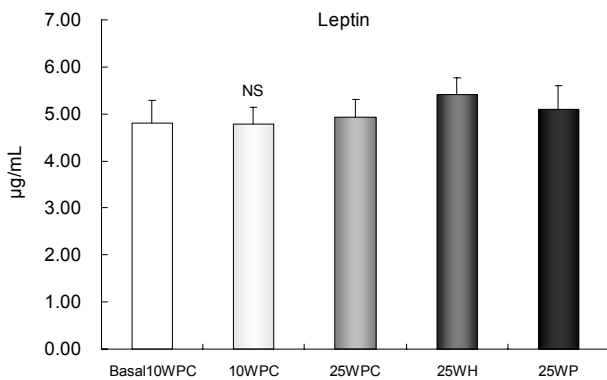


Fig. 2. The concentration of serum leptin in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources.

Groups are the same as in Table 1. Values are means \pm SE of 8 rats per group. Bars with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ ANOVA test by Duncan's multiple test.

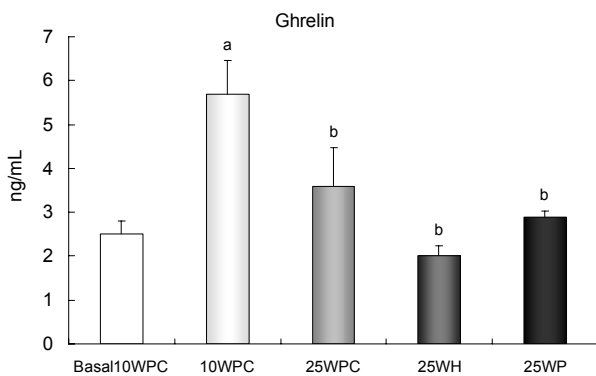


Fig. 3. The concentration of serum ghrelin in rats fed high fat diets containing various nitrogen sources.

Groups are the same as in Table 1. Values are means \pm SE of 8 rats per group. Bars with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ ANOVA test by Duncan's multiple test.

조직의 양과 비례하며, 체중보다는 체지방량과 상관관계가 크다고 알려져 있으며, 지방조직에서 축적된 지방의 양에 따라 렙틴의 발현이 조절된다고 보고되었다(30).

Akahoshi 등(31)의 연구에서 혈청 leptin 농도는 식이지방 수준의 증가 또는 체지방의 증가에 따라 증가하였으며, 체중의 증가에 따른 영향을 받지 않았다고 보고하였다. 본 실험에서 고단백식이 또는 유청단백질 가수분해물의 섭취는 신장 주변 및 부고환 주변의 지방 무게에 유의적인 영향을 미치지 않았다. 이러한 지방 무게의 유의적인 차이를 보이지 않은 것이 혈청 leptin 농도에도 유의적인 영향을 주지 않았다고 사료된다.

Ghrelin은 28개의 아미노산으로 구성된 펩타이드로 위의 상피세포의 내분비세포에서 주로 합성, 분비된다. Ghrelin은 성장호르몬 분비를 강력하게 촉진시키는 이외에 식욕 촉진 효과와 지방 형성 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다(32). 최근에는 비만하거나 체중이 급격히 증가한 경우에 혈중 ghrelin의 농도가 감소하고 장기간 공복 상태나 체중이 감소한 경우에 증가하므로 ghrelin이 에너지 항상성 조절에 직접 관여하는 것으로 알려져 있다. 또한, ghrelin은 glucose homeostasis에 중요한 역할을 할 것이라고 알려져 있다. 그러나 현재 ghrelin이 비만의 진행에 있어서 중요한 역할을 하는지, 그리고 인간에게서 비정상적 glucose 조절에 대해 어떠한 역할을 하는지에 대하여는 아직 명확하지 않다(33).

단백질과 그 가수분해물을 섭취하였을 때, 소화관 호르몬의 분비 정도는 단백질 대사 뿐만 아니라 전체적인 에너지 대사에 중요한 역할을 한다. Calbet과 Holist(13)가 인간을 대상으로 유청단백질(카제인과 유청단백질)과 그 가수분해물을 섭취시켰을 때, intact 단백질에 비해 가수분해물 섭취군에서 소화관 호르몬들의 분비가 유의적으로 증가하였다. 본 연구에서는 혈청 중 ghrelin 농도가 고단백식이 섭취에 의해 유의적으로 감소하였으며, 그 중에서 유청단백질보다 그 가수분해물을 섭취한 군들(25WH, 25WP)에서 ghrelin 분비가 더 낮은 경향을 보였다. 따라서 유청단백질 가수분해물의 섭취는 뇌의 식욕 유발 및 식욕 부진 펩타이드와 상호작용하여 섭취 행동을 제어하고 체중을 조절하는 역할에 있어서 다른 단백질 급원보다 더 효과적일 것이라고 사료된다.

요 약

본 연구에서는 고지방식으로 유도한 식이성 비만 모델 수컷 흰쥐에게 고지방식이와 함께 유청단백질 및 유청단백질 가수분해물을 급여하였을 때, 유청단백질 가수분해물의 섭취에 따른 체중, 장기 및 체지방, 지질 농도 및 식욕 조절 호르몬에 대한 영향을 살펴보았다. 즉, 실험동물 흰쥐에게 18% 우지를 첨가한 고지방식을 기본으로 하여 질소원으로 유청단백질(whey protein concentrate 80: WPC80, 매일유

업(주) 10%를 4주간 공급한 후(control period), 4군으로 나누어서 고지방식을 기본으로 유청단백질, 유청단백질 가수분해물(whey protein hydrolysate), 유청 macropeptide fraction(whey macropeptide fraction; WH중 MW \geq 10,000)의 3종을 함유한 실험식이를 각각 6주 동안 급여하였다. 그 결과는 다음과 같다. 체중증가량 및 식이섭취량은 유청단백질 수준이나 가수분해물 섭취에 따른 실험군간 유의적 차이가 없었다. 간의 무게는 가수분해물 섭취에 의해 감소하였으나, 신장, 고환 및 비장의 무게는 실험군간 유의적 차이가 없었다. 한편, 신장의 무게는 고단백 식이에 의해 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). 지방조직의 무게는 신장 주변 지방과 부고환 주변 지방 모두 유청단백질 수준이나 가수분해물 섭취에 따른 차이를 보이지 않았다. 혈청의 총 지질과 중성지방은 가수분해물 섭취에 의해 유의적으로 낮게 나타났다($p<0.05$). 반면, 혈청의 총 콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤은 유청단백질 수준과 가수분해물 섭취에 따른 차이를 보이지 않았다. 간 조직의 총 지질, 중성지방과 총 콜레스테롤은 가수분해물 섭취에 따라 차이가 없었으며, 고단백 식이에 의해 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). 일일 분 배설량은 고단백 식이에 의해 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). 분 중 총 지질 함량과 중성지방 함량은 가수분해물 섭취 시 그 함량이 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). 반면, 분 중 총 콜레스테롤 함량은 유청단백질 수준이나 가수분해물 섭취에 따른 영향을 받지 않았다. 혈청 중 glucose와 insulin 농도는 가수분해물 섭취 시 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). 혈청 중 leptin 농도는 유청단백질 수준이나 가수분해물 섭취에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다. 혈청 중 ghrelin 농도는 고단백 식이에 의해 유의적으로 감소하였으며($p<0.05$), 특히, 가수분해물 섭취 시 감소하는 경향을 보였다. 이상의 결과로부터 유청단백질 가수분해물의 섭취는 intact 유청단백질보다 흰쥐의 혈청과 간의 지질 농도를 저하시키고, 분 중으로의 지질 배설량을 증가시키는 것으로 나타났다. 또한 혈청 glucose 농도와 insulin 농도를 감소시킴으로서 인슐린 저항성을 개선시켰으며, ghrelin 감소를 통한 식욕조절 효과를 보였다. 한편, 본 연구에서 유청단백질 가수분해물이 체중감소나 조직의 지방량에는 영향을 미치지 않았는데, 이것은 본 연구에서 사용된 25% 단백질 수준이 체중감소나 조직 지방량에 영향을 미치기에는 부족한 수준이라 사료되며, 단백질 수준에서의 증가 또는 보다 장기간 동안의 섭취가 수행되어진다면 식욕 촉진 호르몬 분비 감소를 통해 체중 감소에 있어서 더 유의적인 효과가 나타날 것으로 사료된다.

감사의 글

이 연구는 2단계 BK21사업의 지원을 일부 받아 수행되었습니다.

문헌

1. World Health Organization. Fact sheet: obesity and overweight. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> (accessed October, 2005)
2. U.S. Department of Health and Human Services. 2006. Health, United States.
3. Ministry of Health and Welfare. 2005. National Health and Nutrition Survey. Seoul.
4. Kelley DE, Wing R, Buonocore C, Sturis J, Polonsky D, Fitzsimmons M. 1993. Relative effects of calorie restriction and weight loss in non insulin-dependent diabetes melitus. *J Clin Endocrinol Metab* 77: 1287-1293.
5. Bensaid A, Tome D, Gietzen D, Even P, Morens C, Gausseres N, Fromentin G. 2002. Protein is more potent than carbohydrate for reducing appetite in rats. *Physiol Behav* 75: 577-582.
6. Marshall K. 2004. Therapeutic applications of whey protein. *Altern Med Rev* 9: 136-156.
7. Kimball SR, Jefferson LS. 2001. Regulation of protein synthesis by branched-chain amino acids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 4: 39-43.
8. Lagrange V. 1998. Whey proteins and new fractions as ingredients in functional dairy products and innovative nutraceuticals. *Korean Dairy Techno* 16: 106-118.
9. Hall WL, Millward DJ, Long SJ, Morgan LM. 2003. Casein and whey exert different effects on plasma amino acid profiles, gastrointestinal hormone secretion and appetite. *Br J Nutr* 89: 239-248.
10. Doucet D, Gauthier SF, Foegeding EA. 2001. Rheological characterisation of a gel formed during extensive enzymatic hydrolysis. *J Food Sci* 66: 711-715.
11. Molina OSE, Wagner JR. 2002. Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structural characteristics, solubility and foaming properties. *Food Res Inter* 35: 511-518.
12. Yang HJ, Lee SW. 2003. Emulsifying properties of whey protein hydrolysates. *Korean J Food Sci* 23: 63-69.
13. Calbet JAL, Holst JJ. 2004. Gastric emptying, gastric secretion and enterogastrone response after administration of milk proteins or their peptide hydrolysates in humans. *Eur J Nutr* 43: 127-139.
14. Lee YS, Park YH, O JH, Kim TJ, Lee HS. 1997. Effect of protein hydrolysates on blood and liver lipids in rats fed fat-enriched diet. *Korean J Nutr* 30: 614-621.
15. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
16. Frings CS, Dunn RT. 1970. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfo-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Pathol* 53: 89-91.
17. 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.
18. Aoyama T, Fukuki K, Toshihiro N, Yukio H, Takashi Y, Kiyoharu T, Michihiro S. 2000. Effect of soy and milk whey protein isolates and their hydrolysates on weight reduction in genetically obese mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 64: 2594-2600.
19. Aoyama T, Kensuke F, Kiyoharu T, Yukio H, Takashi Y. 2000. Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (Yellow

- KK). *Nutrition* 16: 349-354.
20. Pilvi KT, Riitta K, Minna H, Heikki V, Eero MM. 2007. High-calcium diet with whey protein attenuates body-weight gain in high-fat-fed C57Bl/6J mice. *Br J Nutr* 98: 900-907.
 21. Belobrajdic DP, McIntosh GH, Owens JA. 2004. A high-whey-protein diet reduces body weight gain and alters insulin sensitivity relative to red meat in Wistar rats. *J Nutr* 134: 1454-1458.
 22. L'Heureux-Bouron D, Tome D, Bensaid A, Morens C, Gaudichon C, Fromentin G. 2004. A very high 70%-protein diet does not induce conditioned taste aversion in rats. *J Nutr* 134: 1512-1515.
 23. Hammond KA, Janes DN. 1998. The effects of increased protein intake on kidney size and function. *J Expe Bioll* 201: 2081-2090.
 24. Nagaoka S, Kanamaru Y, Kuzuya Y. 1991. Effect of whey protein and casein on the plasma and liver lipid in rats. *Agric Biol Chem* 55: 813-818.
 25. Nagaoka S, Kanamaru Y, Kojima T, Kuwata T. 1992. Comparative studies on the serum cholesterol lowering action of whey protein and soybean protein in rats. *Biol Biotechnol Biochem* 56: 1484-1485.
 26. Nagaoka S. 1996. Studies on regulation of cholesterol metabolism induced by dietary food constituents or xenobiotics. *J Japan Nutr Soc Food Sci* 49: 303-313.
 27. O JH, Lee YS. 2002. Hypolipidemic effects of peptide fractions of casein on serum lipids in rats fed normal or high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 263-270.
 28. Claessens M, Saris WHM, van Baak MA. 2008. Glucagon and insulin responses after ingestion of different amounts of intact and hydrolysed proteins. *Br J Nutr* 2008 Jan 2:1-9 [Epub ahead of print]
 29. Lee HJ, Choi SS, Park MK, An YJ, Seo SY, Kim MC, Hong SH, Hwang TH, Kang DY. 2002. Fenofibrate lowers abdominal and skeletal adiposity and improves insulin sensitivity in OLETF rats. *Biochem Biophys Res Commun* 296: 293-299.
 30. Havel PJ. 2000. Role of adipose tissue in body-weight regulation: mechanisms regulating leptin production and energy balance. *Proceedings of the Nutrition Society* 59: 359-371.
 31. Akahoshi A, Koba K, Enmoto R, Nishimura K, Honda Y, Minami M, Yamamoto K, Iwata T, Yamauchi Y, Tsutsumi K, Sugano M. 2005. Combined effects of dietary protein type and fat level on the body fat-reducing activity of conjugated linoleic acid (CLA) in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 2409-2415.
 32. Gil-Campos M, Aguilera CM, Canete R, Gil A. 2006. Ghrelin: a hormone regulating food intake and energy homeostasis. *Br J Nutr* 96: 201-226.
 33. Dimaraki EV, Jaffe CA. 2006. Role of endogenous ghrelin in growth hormone secretion, appetite regulation and metabolism. *Rev Endocr Metab Disord* 7: 237-249.

(2007년 12월 3일 접수; 2008년 3월 5일 채택)