

돈피 젤라틴 효소분해물이 난소 적출쥐의 골밀도에 미치는 영향

박정은^{1,2} · 함준상¹ · 김혜경³ · 이치호² · 김동욱¹ · 설국환¹ · 오미화¹ · 김동훈¹ · 장애라*

강원대학교 동물식품응용과학과, ¹농촌진흥청 국립축산과학원,
²건국대학교 식품생물공학과, ³한서대학교 식품생물공학과

Effect of Pig Skin Gelatin Hydrolysates on the Bone Mineral Density of Ovariectomized Rats

Jeong-Eun Park^{1,2}, Jun-Sang Ham¹, Hey-Kyung Kim³, Chi-Ho Lee², Dong-Wook Kim¹,
Kuk-Hwan Seol¹, Mi-Hwa Oh¹, Dong-Hun Kim¹, and Aera Jang*

Department of Animal Products and Food Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

¹National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-706, Korea

²Department of Food Science Biotechnology of Animal Resources, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

³Department of Food and Biotechnology, Hanseo University, Seosan, 356-706, Korea

Abstract

This study was conducted to examine the effects of low molecular weight gelatin hydrolysates (GH, less than 3kDa), extracted from pig skin collagen on the bone metabolism of ovariectomized (OVX) rats. The rats in the experimental groups were randomly segregated into six different treatment groups such as 1) NC, the normal rat fed AIN 93 diet (basal diet) only; 2) OC, the OVX rat fed the basal diet only; 3) GH 0.1, the OVX rat fed the basal diet with 0.1% GH; 4) GH 0.8, the OVX rat fed the basal diet with 0.8% GH; 5) G 0.1, the OVX rat fed the basal diet with 0.1% gelatin; 6) G 0.8, the OVX rat fed the basal diet with 0.8% gelatin. Body weight gain in the GH 0.1, GH 0.8, and G 0.8 was significantly higher than those in the NC and OC. Feed intake of the GH 0.1 and GH 0.8 was higher than that of the NC and OC, while no significant difference was found in feed efficiency ratio (FER). BMD of the GH 0.8 was higher than that of the OC. However, gelatin hydrolysates and gelatin resulted in higher BMC level compare to the OC. Serum HDL-cholesterol of rat fed GH and gelatin was higher than that of OC ($p<0.05$). LDL-C of the GH 0.1 and the GH 0.8 tended to be less than that of OC. Serum alkaline phosphatase (ALP) of the GH 0.1 was lower than that of the OC. The serum of GH 0.8 showed lower osteocalcin value than the OC ($p<0.05$). In addition, GOT and GPT levels significantly decreased in all treatment groups. These results indicated that gelatin hydrolysates from pig skin gelatin hydrolysates enhanced BMD and serum biochemical parameters related to bone metabolism. Therefore, the gelatin hydrolysates could be used as a beneficial material to improve bone health.

Key words: gelatin, collagen, osteoporosis, bone metabolism, pig skin

서 론

최근 고령화 사회로 진입하면서 노인건강과 질병관리가 중요한 과제가 되고 있다. 우리나라 국민의 평균수명도 2025년 남자 80.2세, 여자 86.4세로 증가 될 것으로 전망하고 있으며 평균수명 및 노인인구의 증가에 따라 골다공증 및 골절이 급격히 증가하고 이로 인해 의학적, 사회적,

경제적 차원에서 심각한 보건 문제가 될 것으로 전망된다 (Oh, 2008). Anderson (1999)은 아시아인의 동물성 단백질의 지나친 섭취와 생활양식의 서구화로 아시아에서 골반 골절이 현저하게 증가 할 것으로 전망하였으며, 국내에는 200만 명 이상의 골다공증 환자가 있으며 매년 약 5-10만 명이 골절을 일으키는 것으로 추정되고 있다(Jahng, 1994). 앞으로 50세 이상 골다공증 환자가 2005년 107만 명에서 2008년 146만 명으로 급증하여 인구의 19.3%가 골다공증 환자일 것으로 추정된다. 이처럼 남성에서보다 여성에서 발병률이 높는데 이는 여성이 남성보다 최대 골 질량이 낮고, 골 손실이 빨리 시작되기 때문이다(Chung, 2008). 특히 폐경기 후 estrogen 생성감소로 조골세포(osteoblast)

*Corresponding author: Aera Jang, Department of Animal Products and Food Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea. Tel: 82-33-250-8643, Fax: 82-33-251-7719, E-mail: ajang@kangwon.ac.kr

및 파골세포(osteoclast)에 영향을 미치어 골 교체율이 빨라지고 골 흡수가 골 형성보다 높아 골 손실이 가속화된다(Kanis *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 2005). 골다공증은 흔히 노인의 병으로 생각하기 쉬우나 이것은 어떤 연령에서도 발생하며, 근래에는 젊은 여성의 발병률이 세계적으로 크게 증가하고 있다(Park *et al.*, 2001). 골밀도는 성장과정에서 점진적으로 증가하여 최대 골밀도치에 도달한 후 정상적으로 일정기간 동안 골밀도가 유지되나 여성의 경우에는 30대 이후부터 골 손실이 시작되고 폐경 후에는 매년 2%의 골 손실이 진행된다(Lane *et al.*, 1999).

콜라겐은 동물성 기원이 풍부한 섬유상의 구조단백질로 생체단백질의 30%를 차지하며(Kim *et al.*, 2010), 현재까지 적어도 29 종류의 콜라겐 종류가 확인되었고 각기 다른 아미노산 서열, 구조와 기능을 가지며 피부, 뼈, 연골, 힘줄, 인대, 혈액, 혈관, 치아 및 각막에 많이 존재한다(Liu *et al.*, 2012). 이러한 콜라겐은 연골세포, 근섬유세포, 피부 섬유아세포, 골세포 등 특수한 세포에서만 만들어지며 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포접착의 지탱, 세포분화와 분화의 유도 등의 세포의 증식과 기능을 활성화 하는 작용을 한다(Jerome *et al.*, 1998; Kwon *et al.*, 2007). 또한 생 분해성 및 낮은 항원성 등의 생물학적인 특성 때문에 안전한 생체 적합성을 가진다(Maeda *et al.*, 1999). 식품에서는 젤라틴의 형태로 콜라겐을 흡수하게 되는데 콜라겐 섬유가 지속적으로 공급이 되지 않으면 칼슘과의 결합력이 약해져 뼈대가 붕괴되어 골밀도가 감소되고 콜라겐 가교 형성에 의한 결합조직의 강도가 낮아지게 된다. 이에 뼈의 강도를 증가시키기 위해 칼슘의 이용성이 증진되도록 단백질을 특정 효소로 분해시켜 얻은 칼슘 흡수 펩타이드와 특정 단백질이나 펩타이드를 화학적으로 수식한 인산화 단백질 혹은 펩타이드에 대한 연구가 보고되고 있고(Seguro *et al.*, 1990) 특히 젤라틴 펩타이드는 항산화 기능과 골관절염, 골다공증에 대한 긍정적인 효과가 보고되고 있다(Kim *et al.*, 2009; Pei *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2008). 그러나 식품효소를 이용하여 분해한 저분자 젤라틴 분해물의 골다공증에 관한 연구는 다양하지 않다.

따라서 본 연구에서는 돼지껍질에서 소화흡수에 용이하도록 저분자 젤라틴 효소분해물과 젤형성 능력이 남아있는 10 kDa 이상의 젤라틴을 난소 적출하여 골다공증을 유발시킨 실험쥐에 12주간 농도별로 급여 후 실험동물의 골밀도 변화와 혈중 지표의 변화확인을 통한 골대사에 미치는 효과를 알아보려고 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료

젤라틴의 구성성분은 단백질 85% 이상(unit g/100 g:

glycine 26.9-27.5%, proline 14.8-16.35%, hydroxyproline 14.0-14.5%, glutamic acid 11.1-11.4%, alanine 9.3-11.0%), 수분 8-13%, 회분 2% 이하의 품질로 G사에서 구입하여 사용하였다. 젤라틴에 4배의 물을 가한 후 80°C에서 1시간 수화한 것을 고분자 젤라틴으로 하였으며, 이 물질을 소화효율이 높은 저분자 펩타이드 형태로 만들기 위해 식품첨가물인 단백질 가수분해용 효소 protamex와 flavourzyme (Novozyme, Denmark)을 각각 0.5%씩 첨가하여 pH 7.0 보정 후 50°C에서 4시간 동안 분해 하였다. 이를 membrane filter units(3kDa, Millipore, Ireland)를 이용하여 얻어진 3 kDa 이하 크기의 용액을 분리하여 분말화 한 것을 저분자 젤라틴 효소 분해물로 이용하였다.

식이 및 동물실험

식은 AIN-93 기본 식이에 젤라틴 효소분해물을 0.1과 0.8% 첨가하여 제조하여 이용하였다. 실험동물은 폐경 후 골다공증을 인위적으로 유발하기 위하여 양측 난소 적출술을 시행한 4주령(약 112 g)의 암컷 SD-Rat(Sprague Dawley)를 중앙 실험동물로부터 구입하여 6주간 실험실 환경의 적응과 골다공증을 유도한 후 10주령이 되었을 때 실험에 사용하였다(Fig. 2). 실험동물을 각 군에 10마리씩 무작위로 배정하여 6군으로 나누었으며 난소 적출술을 시행하지 않고 기본사료를 급여한 normal control군(NC), 난소 적출 후 기본사료를 급여한 ovariectomized control군(OC), 난소 적출한 실험쥐에 저분자 젤라틴 효소분해물 0.1%(GH 0.1), 0.8%(GH 0.8) 급여군과 난소 적출한 실험쥐에 고분자 젤라틴 0.1%(G 0.1), 0.8%(G 0.8) 급여군으로 나누어 12주간 급여실험하였다.

체중, 사료섭취량 및 식이효율

고분자 젤라틴과 저분자 젤라틴 효소분해물 식이에 의한 흰쥐의 체중 변화를 알아보기 위해 1주일 단위로 일정 시간 체중을 측정하였으며, 사료섭취량과 음수량은 1주일에 두 번씩 일정시간에 측정하였다. 식이효율(Food efficiency ratio: FER)은 12주간의 총 식이섭취량에 대한 체중 증가량의 비로 계산하였다.

혈액 채취 및 장기무게

실험동물을 희생시키기 전 12시간 절식시킨 후, desiccator 안에 diethyl ether를 적당량 취하여 마취시킨 뒤 하복부를 개복하였다. 멸균주사기를 이용하여 심장 채혈법으로 혈액을 채취한 뒤 신장, 비장, 폐, 간을 적출하였다. 적출한 신장, 지라, 간은 주변의 조직을 모두 제거 하고, 생리식염수로 혈액을 씻은 후 무게를 측정하였으며, -70°C에서 냉동 보관하였다.

대퇴골 골밀도 및 골미네랄

적출한 대퇴골은 골격에 붙어있는 근육, 인대 및 지방

을 제거하고 50°C에서 건조한 후 골밀도 및 골미네랄 함량을 방사선 골밀도 측정기(pDEXA X-ray bone densitometer, Norland Co., USA)를 사용하여 측정하였다. 해상도는 1.0×1.0 mm, 스피드는 20 mm/sec, 샘플의 길이는 1.60 cm, 폭(너비)은 3.90 cm로 설정하여 측정하였다.

대퇴골 골강도(Breaking force)

대퇴골의 뼈가 부러지기 직전의 breaking force는 대퇴골에 하중이 걸렸을 때 부러지는 순간의 최대응력을 의미하는데 종합물성측정기(Rheo Meter CR-500DX, SUN SCIENTIFIC Co. Ltd., Japan)를 사용하여 측정하였다. 측정항목은 구부림 강도 측정, 진입 깊이는 5.0 mm, 인장/압축은 압축, 테이블(헤드)스피드는 60 mm/min, 로드셀 최대응력은 10 kg, 샘플의 어댑터 거리는 0.0 mm, 아답타와 지지대의 간격은 10 mm로 설정 하였으며, 샘플 타입은 원통형(눅힘), 길이와 높이 설정은 각 샘플의 해당되는 mm를 설정 조건으로 하여 측정하였다.

혈청지질 및 생화학적 지표

실험동물의 심장으로부터 채취한 혈액은 실온에서 30분 방치 후 3,000 rpm, 4°C, 15분간 원심분리(Avanti centrifuge J-20XP, BECKMAN COULTER., USA)하여 분리된 혈청을 -70°C에서 냉동 보관하여 실험에 사용하였다. Triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol, GOT, GPT는 자동 생화학분석기인 ADVIA 2400(Siemens, U.S.A)을 이용하여 분석하였다. 즉, triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol은 UV method를 이용하였고, Friedewald (1972) 계산법에 의한 LDL-cholesterol과 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 아래와 같은 공식에 의하여 산출하였다.

LDL-cholesterol (mg/dL)

= Total cholesterol - (triglyceride/5 + HDL-cholesterol)

AI = Total cholesterol - HDL cholesterol / HDL cholesterol

혈액으로부터 분리한 혈청에서 염기성 인산분해효소 ALP 분석 Kit(ASAN Co. Ltd., Korea)를 사용하였으며, spectrophotometer(384 PLUS)를 이용하여 500 nm에서 정량 하였다. Osteocalcin은 자동 생화학분석기인 ADVIA 2400(Siemens, U.S.A)을 이용하여 분석하였다.

통계분석

본 연구의 모든 결과는 SAS program(ver. 9.2 Statistics Analytical System)의 General Linear Model(GLM)방법을 이용하여 분산 분석하였다. 처리군의 평균값 간의 비교를 위해 Duncan's multiple range test를 이용하여 5% 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

증체량, 사료섭취량 및 식이효율

실험군에 실험식이를 급여하는 12주 동안의 증체 비율(Fig. 1)과 총 사료섭취량, 식이효율을 Table 1에 나타내었다. 사료 급여 후 5주까지는 정상군보다 난소적출군에서 체중증가율이 높은 경향을 보였으나 6주 이후는 난소적출군이 정상군에 비해 오히려 낮아지는 경향을 나타내었다. 일반적으로 난소를 적출한 실험쥐는 난소를 적출하지 않은 NC군에 비해 체중이 증가하고 체중을 증가시키므로써 체중지탱능력(weight bearing activity)을 키우게 되지만(Wronski, 1995) 본 연구에서 사용된 10주령의 난소 적출 쥐는 15주령까지는 체중이 증가되다가 16주령에서 실험 종료일인 22주령에는 난소 적출군의 체중이 정상군보다 낮아지는 결과를 보여 위의 결과와 다소 상이하였다. 또한 사료섭취량은 GH 0.1과 0.8, G0.8 처리군이 NC와 OC

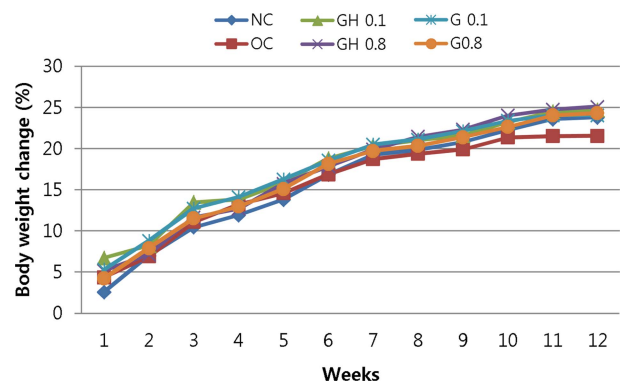


Fig. 1. Effects of gelatin hydrolysates supplementation on body weight change of experimental rats. NC, normal rat fed basal diet; OC, OVX fed basal diet; GH 0.1, OVX fed basal diet with 0.1% gelatin hydrolysates; GH 0.8, OVX fed basal diet with 0.8% gelatin hydrolysates; G 0.1, OVX fed basal diet with 0.1% gelatin; G 0.8, OVX fed basal diet with 0.8% gelatin

Table 1. Final body weight, body weight gain, feed intake and feed efficiency ratio of experimental rats fed gelatin hydrolysates

Treatments ¹⁾	Body weight gain (g/d)	Feed intake (g/d)	Feed efficiency ratio (FER) ²⁾
NC	0.92±0.075 ^b	14.92±0.402 ^b	0.06±0.004
OC	0.92±0.048 ^b	13.90±0.272 ^c	0.07±0.003
GH 0.1	1.16±0.108 ^a	15.79±0.184 ^a	0.07±0.006
GH 0.8	1.14±0.042 ^a	15.81±0.210 ^a	0.07±0.002
G 0.1	1.10±0.051 ^{ab}	14.91±0.145 ^b	0.07±0.003
G 0.8	1.17±0.052 ^a	15.98±0.169 ^a	0.07±0.003

All values are means ± SE

Means with different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

¹⁾Treatments refer to Fig. 1.

²⁾FER, weight gain (g/d)/food intake (g/d).

군에 비해 유의적으로 높은 수준을 나타내었으나 사료효율은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

골밀도(Bone mineral density, BMD) 및 골미네랄(Bone mineral content, BMC)

골 소실 정도를 측정하기 위해 골밀도와 골미네랄을 측정한 결과 난소 적출 수술을 시행 하지 않은 NC군은 각각 $0.128 \pm 0.001 \text{ g/cm}^2$, $0.391 \pm 0.006 \text{ g}$ 을 나타내었다(Fig. 2). 반면에 난소 적출 수술로 인하여 OC군은 각각 $0.111 \pm 0.001 \text{ g/cm}^2$, $0.334 \pm 0.007 \text{ g}$ 와 같은 낮은 골밀도와 골미네랄 수치를 나타내었다. 골밀도의 경우 OC군과 비교하였을 때 저분자, 고분자 젤라틴을 급여한 모든 처리군에서 유의적으로 증가하였으며, 특히 GH 0.8군에서 $0.118 \pm 0.001 \text{ g/cm}^2$ 로 가장 높은 증가를 나타내었다. 골미네랄 수준 또한 OC군보다 모든 처리군에서 유의적으로 증가하였다. Park 등(2010)은 콜라겐을 다량 함유한 말뚝 추출물의 효과에 관한 연구에서 난소 적출한 흰쥐의 골밀도를 7.6% 증가시켜 정상 대조군과 비슷한 수준으로 회복시키는데 효과가 있다고 하였으며, 또한 Lee 등(2008)의 젤라틴 효소분해물 투여가 estrogen 대체작용을 함으로써 난소절제로 인한 골 손실 정도를 완화시켜준 것이라는 연구결과와 유사한 특성을 나타내었다. 그러나 본 연구에서 젤라틴 효소분해물과 젤라틴의 급여에 의한 골밀도는 유의적인 차이가 없는 것으

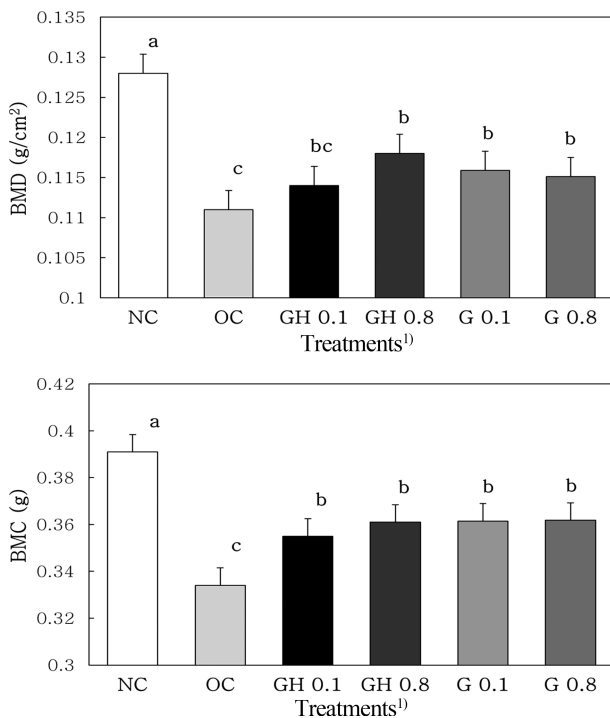


Fig. 2. Effects of gelatin hydrolysates supplementation on femur bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) of experimental rats. All values are means \pm SE. Means with different superscript are significantly different ($p < 0.05$). ¹⁾Treatments refer to Fig. 1.

로 조사되었다. 이는 같은 처리농도이지만 단백질 함량이 젤라틴 급여군이 젤라틴 효소분해물에 비해 약 10배 높은 것에 기인한 것으로 판단된다(data not shown). 한편 Nomura 등(2005)은 상어에서 추출한 젤라틴을 난소 적출쥐에 급여했을 때 과도한 젤라틴 급여는 오히려 골밀도를 감소시킨다고 하였는데 본 연구결과에서는 젤라틴 효소분해물보다 젤라틴 급여군에서 골밀도가 다소 감소함을 나타내었으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

대퇴골 골강도(Breaking force)

난소적출 실험쥐에 저분자 젤라틴 효소분해물 급여에 따른 실험쥐 뒷 다리뼈의 breaking force 변화를 나타내었다(Fig. 3). Lee 등(2005)에 따르면 breaking force의 경우 NC군에 비교하여 OC군에서 유의적인 감소를 나타낸다고 하였다. 본 실험에서도 breaking force는 NC군에서 $12.381 \pm 0.212 \text{ kg}$ 였으나, 난소 적출로 인해 OC군에서 $11.035 \pm 1.201 \text{ kg}$ 로 감소 되었다. 그러나 저분자 젤라틴 효소분해물 0.1% 급여군인 GH 0.1군의 breaking force가 $13.073 \pm 0.371 \text{ kg/mm}$ 로 OC군에 비해 유의적으로 증가하였다. 이는 난소 적출로 인한 estrogen 결핍증상으로 낮아진 골의 강도를 저분자 젤라틴 효소분해물의 급여로 증가시킨 것으로 판단된다. 뼈의 강도를 증가시키기 위해 난소 적출 후 한방추출물을 처리한 군의 breaking force는 OC군에 비해 200% 이상 증가하였고(Lee *et al.*, 2005), 어피 젤라틴 펩타이드 3% 첨가군은 OC군에 비해 12.4% 증가하였다는 결과(Kim *et al.*, 1998)와 마찬가지로 본 연구에서도 난소 적출 수술을 한 후 가수분해 콜라겐을 급여하여 뼈의 강도를 증가시킨 Guillerminet 등(2010)의 보고와 유사하였다.

내부장기 무게

난소 적출하여 골다공증을 유발시킨 실험쥐에 젤라틴 효소분해물을 12주간 급여 후에 희생하여 내부 장기무게를 Table 2에 나타내었다. 신장과 간의 경우 NC군에서 높은 수준을 나타내었고 난소 적출군에서 젤라틴 효소분해물의

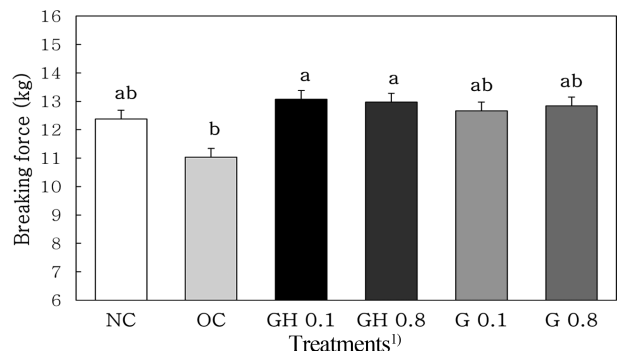


Fig. 3. Effects of gelatin hydrolysates on femur breaking force of experimental rats. All values are means \pm SE. Means with different superscript are significantly different ($p < 0.05$). ¹⁾Treatments refer to Fig. 1.

급여는 감소된 간 무게를 정상수준에 유사하게 증가시키지는 못하는 것으로 나타났다. 또한 지라의 경우 정상군보다 난소 적출군의 무게가 다소 낮은 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 다만, 젤라틴 0.1과 0.8% 처리군간에는 유의적인 차이를 보여 젤라틴 0.8% 처리군이 낮은 지라무게를 나타내었으나 정상군과의 유의적인 차이는 없었다. 본 연구결과 젤라틴 효소분해물의 급여가 난소적출로 인해 감소된 장기무게의 정상군과 유사한 수준으로의 복구에는 효과가 없는 것으로 판단된다.

혈액의 생화학적 특성

실험군에 고분자 젤라틴과 저분자 젤라틴 효소분해물 급여에 따른 ALP와 osteocalcin 함량을 나타내었다(Table 3). GH 0.1 처리군의 ALP는 OC와 GH0.8, G0.1, G0.8보다 유의적으로 낮은 수준을 나타내었으나 NC와는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. ALP는 골아세포에서 골 생성을 하는 동안 생성되는 단백질로 골 신생이 활발하게 진행 될 때 혈중 농도가 훨씬 증가되어 골 생성 작용의 지표가 된다(Lee, 2002; Lee *et al.*, 2005). 한편 체내에서는 갑상선 기능 항진증, 부갑상선 기능 항진증, 선단 거대증 등으로 인하여 골 대사율이 높을 때 볼 수 있다(Notelovitz, 1993). 이러한 혈중 ALP 농도는 폐경 후 골다공증 환자에서 높게 관찰되며 (Nordin *et al.*, 2004), 호르몬 요법이나, 골 흡수 억제제를 사용하는 경우 다시 감소되는 현상을 보인

다(Lee *et al.*, 2004). 본 연구에서는 GH0.1의 처리가 난소 적출하여 폐경을 유도한 골다공증 실험쥐의 ALP의 농도를 감소시켜 골흡수 억제 기능을 하는 것으로 판단된다.

Osteocalcin은 OC군에 비해 GH0.1, G0.1, G0.8처리군은 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 GH0.8 처리군이 유의적으로 낮은 수준을 나타내었다($p<0.05$). 그러나 GH 0.8 처리군의 경우 NC와는 유의적으로 높은 수준을 보여 정상군의 수준에는 미치지 않았음을 나타내었다. Osteocalcin은 골과 상아질에 특이적으로 존재하는 단백질로 조골세포의 활동을 나타내는데 가장 민감하다고 알려져 있으며, 골아세포에서 생성되어 일부는 골 기질에 축적되고, 일부는 혈액 속으로 방출된다(Duda *et al.*, 1988; Price *et al.*, 1980). 골 형성시에는 골아세포의 활성이 증가되어 혈청 내 osteocalcin의 농도가 높아져 골 생성의 지표로 이용된다(Notelovitz, 1993; Yook *et al.*, 2006). 또한 osteocalcin의 농도는 폐경 후에 증가되며, 폐경 후에 나타나는 골 손실율의 예측에 이용된다. 즉, 혈청 osteocalcin 농도 증가는 젊은 연령층에서는 골 형성의 증가를 의미하는 긍정적인 면으로 해석되지만, 폐경 후에는 골밀도와 음의 상관관계를 갖는 것으로 보고되어 골 교체율의 증가를 의미한다(Liu and Peacock, 1998). Osteocalcin의 농도는 성, 연령, 폐경 여부에 따라 급격한 차이를 보이는데, 폐경기 여성은 골 교체율이 증가하여 혈청 osteocalcin의 농도가 약 2배 정도 증가하고(Kim, 2003), 폐경 후 estrogen의 감소에 의해 파골세포에 의한 골 흡수가 폐경 전에 비해 매우 많아져 1-5%의 빠른 골 손실을 초래한다(Price *et al.*, 1980). 본 연구에서는 비록 정상군의 수준에는 미치지 않았으나 GH0.8 처리군에서 OC군에 비해 유의적으로 낮은 수준을 보여 골손실을 유의적으로 억제함을 나타내었다.

Table 2. Effects of gelatin hydrolysates on organ weight (g) of experimental rats

Treatments ¹⁾	Kidney	Spleen	Liver
NC	0.54±0.005 ^a	0.16±0.004 ^{ab}	2.32±0.067 ^a
OC	0.45±0.007 ^b	0.15±0.006 ^{ab}	1.83±0.051 ^b
GH 0.1	0.45±0.009 ^b	0.15±0.004 ^{ab}	1.86±0.049 ^b
GH 0.8	0.46±0.011 ^b	0.15±0.007 ^{ab}	1.95±0.061 ^b
G 0.1	0.44±0.007 ^b	0.16±0.004 ^a	1.82±0.029 ^b
G 0.8	0.45±0.015 ^b	0.14±0.002 ^b	1.79±0.050 ^b

All values are means ± SE

Means with different superscripts in the same column are significantly different ($p<0.05$).

¹⁾Treatments refer to Fig. 1.

혈액의 지질특성

젤라틴 효소분해물을 급여한 난소 적출쥐의 혈청지질수준을 Table 4에 나타내었다. TG의 농도는 OC군에 비하여 고분자 젤라틴 급여군에서 유의적인 차이가 없었으나 GH 0.1군에서 유의적으로 증가하였다. 이는 난소 적출 군은 일반 정상군에 비하여 감소된 TG 수치를 Koo 등(2008)은

Table 3. Effects of gelatin hydrolysates on GOT, GPT, serum alkaline phosphatase (ALP) and osteocalcin of experimental rats

Treatments ¹⁾	GOT (U/L)	GPT (U/L)	ALP (U/L)	Osteocalcin (ng/mL)
NC	121.63±3.599 ^c	46.40±2.920 ^{bc}	114.32±5.213 ^{bc}	17.89±0.256 ^c
OC	261.25±22.192 ^a	61.89±3.537 ^a	125.92±13.788 ^{ab}	26.90±1.565 ^a
GH 0.1	198.00±26.626 ^b	50.57±3.415 ^b	86.17±1.863 ^c	28.25±0.697 ^a
GH 0.8	112.43±6.513 ^c	45.75±4.304 ^{bc}	123.20±12.542 ^{ab}	22.93±1.423 ^b
G 0.1	139.75±12.939 ^c	42.44±3.416 ^{bc}	156.25±11.756 ^a	27.20±1.452 ^a
G 0.8	107.00±4.613 ^c	37.67±2.375 ^c	140.59±12.257 ^{ab}	24.76±1.101 ^{ab}

All values are means ± SE

Means with different superscripts in the same column are significantly different ($p<0.05$).

¹⁾Treatments refer to Fig. 1.

Table 4. Effects of gelatin hydrolysates on serum lipid levels of experimental rats

Treatment ¹⁾	Triglyceride (mg/dL)	Total-C (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	LDL-C (mg/dL)	AI
NC	94.63±3.256 ^a	129.50±2.520 ^a	32.70±0.109 ^a	77.87	2.96
OC	55.44±4.625 ^c	117.57±6.636 ^{ab}	27.25±1.652 ^b	79.23	3.31
GH 0.1	88.13±13.734 ^{ab}	115.14±5.837 ^{ab}	33.13±1.109 ^a	64.38	2.48
GH 0.8	65.00±4.008 ^{bc}	107.40±6.313 ^b	31.88±1.797 ^a	62.52	2.37
G 0.1	57.56±8.609 ^c	119.89±4.707 ^{ab}	32.44±1.119 ^a	75.94	2.70
G 0.8	52.89±4.013 ^c	105.57±4.125 ^b	31.86±1.203 ^a	63.13	2.31

All values are means ± SE

Means with different superscripts in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

¹⁾Treatment, refer to Fig. 1.

구기자 추출물 급여로 인해 증가시켰다는 보고와 유사하였다. TC 농도의 경우 저분자와 고분자의 젤라틴을 급여한 모든 처리군은 OC군과 비교하였을 때 감소하는 경향이나 유의성은 인정되지 않았다. TC의 농도는 일정한 데에 반해 난소 적출로 인해 감소된 HDL-cholesterol 농도가 젤라틴을 급여한 모든 처리군에서 유의하게 증가하였으며($p < 0.05$), 특히 GH 0.1군에서 가장 높은 증가를 나타내었다. LDL-cholesterol 농도는 젤라틴을 급여한 모든 처리군에서 감소하는 효과가 있었다. 이는 난소 적출 흰쥐를 대상으로 송어 비늘에서 추출한 콜라겐 펩타이드 급여에 의한 혈청 HDL-cholesterol 농도의 상승(Kim *et al.*, 2009)을 유도했었다는 결과와 일치하였다.

GOT와 GPT는 간장이나 심장 등에 다량 존재하여 아미노산을 분해하는 효소로 간세포가 손상을 받는 경우에 혈중으로 방출되어 이 수치가 상승하게 되므로 간계질환의 지표가 된다(Kim *et al.*, 2010). 본 실험에서는 젤라틴 효소분해물을 장기간 섭취하였을 경우 나타날 수 있는 간장에 대한 영향을 알아보기 위해 혈청 중의 GOT와 GPT를 측정된 결과, 일반 대조군인 NC군의 수치 각각 121.63±3.599 U/L, 46.40±2.920 U/L에서 난소 적출로 인해 OC군의 수치 각각 261.25±22.192 U/L, 61.89±3.53 U/L로 매우 증가하였으나, 젤라틴을 급여한 모든 군의 수치가 유의하게 감소하였다. 즉, GOT에서 GH0.1군을 제외한 모든 처리군과, GPT의 모든 처리군은 NC군의 수치 수준으로 유의하게 감소하는 효과가 있었다. 이는 송어 비늘에서 추출한 콜라겐 펩타이드 급여로 GOT와 GPT 수치를 감소시켰다는 보고와 유사하였다(Kim *et al.*, 2009).

요 약

본 연구에서는 난소 제거로 인위적으로 골다공증이 유발된 흰쥐를 대상으로 돼지껍질에서 추출한 젤라틴과 저분자 젤라틴 효소분해물 급여가 골밀도에 미치는 영향을 조사하였다. 실험군의 구성은 10주령의 암컷 총 6군으로 난소 적출을 시행 하지 않은 일반 대조군과 난소 적출 한 대조군은 일반식을 급여하였으며, 난소 적출한 실험집

에 3kDa 이하의 저분자 젤라틴 효소분해물을 0.1, 0.8% 첨가하고, 고분자 젤라틴을 0.1과 0.8% 첨가하여 급여한 후 그 효과를 비교하였다. 체중 증가량은 GH0.1, GH0.8 및 G0.8 급여구에서 NC와 OC에 비해 유의적으로 증가하였으며 특히 GH0.1과 GH0.8처리군은 사료섭취량이 NC와 OC에 비해 증가하였으나 사료효율은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 대퇴골의 골밀도는 GH0.8처리군이 OC군에 비해 높았으나($p < 0.05$) NC의 수준에는 미치지 못하였다. 혈중 총 콜레스테롤 함량은 처리군간의 유의적인 차이를 보이지 않았으나 젤라틴 급여군과 GH 급여군의 HDL-C은 OC군에 비해 유의적인 증가를 나타내었다. 혈중 alkaline phosphatase(ALP)와 osteocalcin은 각각 GH0.1과 GH0.8에서 유의적인 감소를 나타내었다($p < 0.05$). 간질환의 지표인 혈중 GOT와 GPT도 모든 처리구에서 OC에 비해 유의적으로 감소하였다. 따라서 본 연구결과 돼지껍질에서 분리한 저분자 젤라틴 효소분해물은 골밀도를 증진시키고 폐경기 여성의 골건강에 도움을 줄 수 있는 수용성 기능성 소재로 이용 가능성이 있을 것으로 기대되지만 젤라틴 급여구의 높은 단백질 함량으로 젤라틴 효소분해물의 효과가 미미하여 비교시 골밀도 증진 효과의 유의적인 차이가 없어 추후 적정농도 설정에 관한 연구가 추가되어야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호:PJ008483)의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- Anderson, J. J. B. (1999) Plant-based diets and bone health : nutritional implications. *Am. J. Clin. Nutr.* **70**, 593-42.
- Chung, H. Y. (2008) Osteoporosis diagnosis and treatment 2007. *Korean J. Soc. End.* **23**, 76-108.
- Duda, R. J. Jr., O'Brien, J. F., Katzmann, J. A., Peterson, J. M., Mann, K. G., and Riggs, B. L. (1988) Concurrent assays of circulating bone Gla-protein and bone alkaline phos-

- phatase : effects of sex, age, and metabolic bone disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **66**, 951-957.
4. Friedewald, W. T., Ley, R. I., and Fredrickson, D. S. (1972) Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* **18**, 499-502.
 5. Guillerminet, F., Beaupied, H., Fabien-Soule, V., Tome, D., Benhamou, C-L., Roux, C., and Blais, A. (2010) Hydrolyzed collagen improves bone metabolism and biomechanical parameters in ovariectomized mice : An in vitro and in vivo study. *Bone* **46**, 827-834.
 6. Jahng, J. S. (1994) Prevention and treatment of the osteoporotic fracture. *Korean J. Soc. Bone Metab.* **1**, 147-155.
 7. Jerome, S. P., Gabrielle, L., and Raul, F. (1998) Identification of collagen fibrils in scleroderma skin. *J. Invest. Dermatol.* **90**, 48-54.
 8. Kanis, J. A., Melton, L. J., Christiansen, C., Johnston, C. C., and Khaltaev, N. (1994) The diagnosis of osteoporosis. *J. Bone. Min. Res.* **9**, 1137-1141.
 9. Kim, G. H., Jeon, Y. J., Byun, H. G., Lee, Y. S., Lee, E. H., and Kim, S. K. (1998) Effect of calcium compounds from oyster shell bound fish skin gelatin peptide in calcium deficient rats. *Korean J. Fish. Soc.* **32**, 149-159
 10. Kim, H. S., Yoon, H. D., Seong, J. H., Lee, Y. G., Xie, C. L., Kim, S. H., and Choi, W. S. (2009) Effects of soluble collagen peptides extract derived from Mugil cephalus scale on the blood glucose and lipid metabolism in diabetic rats. *Korean J. Life Sci.* **19**, 1794-1801.
 11. Kim, J. W., Kim, D. K., Kim, M. J., and Kim, S. D. (2010) Extraction and bleaching of acid-and pepsin-soluble collagens from shark skin and muscle. *Korean J. Food Preserv.* **17**, 91-99.
 12. Kim, S. J. (2003) Study on the relationship between osteoporosis-cause factor and bone mineral density, Biochemical Marker. Pukyong National University.
 13. Koo, Y. M., Kim, S. H., Kim, E. Y., Lee, H. S., Choi, H., Sohn, Y. J., Jung, H. S., and Sohn, N. W. (2008) Effects of *Lycii Fructus* on the ovariectomized osteoporosis of rats. *Korean J. Oriental Med.* **29**, 144-154.
 14. Kwon, M. C., Kim, C. H., Kim, H. S., Abdul Qadir Syed., Hwang, B. Y., and Lee, H. Y. (2007) Anti-wrinkle activity of low molecular weight peptides derived. *Korean J. Food Sci. Technol.* **39**, 625-629.
 15. Lane, J. M. and Nydick, M. (1999) Osteoporosis: Current modes of prevention and treatment. *Am. J. Acad. Orthop. Surg.* **7**, 19-31.
 16. Lee, H. J. (2002) Review of biochemical bone metabolism marker's change in osteoporosis incidence factors. *Korean J. Soc. Phys. Therapy* **14**, 213-220.
 17. Lee, J. W., Kim, H. J., Jhee, O. H., Won, H. D., Yu, Y. J., Lee, M. H., Kim, T. H., Om, A. S., and Kang, J. S. (2005) Effects of alternative medicine extract on bone mineral density, bone strength and biochemical markers of bone metabolism in ovariectomized rats. *Korean J. Food Nutr.* **18**, 72-80.
 18. Lee, Y. A. and Kim, M. H. (2008) Effects of sea tangle extract on formation of collagen and collagen cross-link in ovariectomized rats. *Korean J. Life Sci.* **18**, 1578-1583.
 19. Lee, Y. B., Lee, H. J., Kim, K. S., Lee, J. Y., Nam, S. Y., Cheon, S. H., and Shon, H. S. (2004) Evaluation of the preventive effects of isoflavone extract on bone loss in ovariectomized rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **68**, 1040-1045.
 20. Liu, D., Liang, L., Regenstein, J. M., and Zhou, P. (2012) Extraction and characterization of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, skins, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Food Chem.* Doi:10.1016/j.foodchem.2012.02.032.
 21. Liu, G. and Peacock, M. (1998) Age-related changes in serum undercarboxylated osteocalcin and its relationships with bone density, bone quality, and hip fracture. *Calcif. Tissue Int.* **62**, 286-289.
 22. Maeda, M., Tani, S., Sano, A., and Fujioka, K. (1999) Microstructure and release characteristics of the mini pellet, a collagen-based drug delivery system for controlled release of protein drugs. *J. Con. Release* **62**, 313-324.
 23. Nomura, Y., Oohashi, K., Watanabe, M., and Kasugai, S. (2005) Increase in bone mineral density through oral administration of shark gelatin to ovariectomized rats. *Nutrition* **21**, 1120-1126.
 24. Nordin, B. E. C., Wishart, J. M., Clifton, P. M., McArthur, R., Scopacasa, F., Need, A. G., Morris, H. A., O'Loughlin, P.D., and Horowitz, M. (2004) A longitudinal study of bone-related biochemical changes at the menopause. *J. Clin. Endocrinol.* **61**, 123-130.
 25. Notelovitz, M. 1993. Osteoporosis: screening, prevention, and management. *Fert. Ster.* **59**, 707-725.
 26. Oh, K. W. (2008) Diabetes and osteoporosis. *Korean J. Bone Metab.* **15**, 91-98.
 27. Park, S. S., Lee, H. J., Yoon, W. J., Kang, G. J., Yang, E. J., Kim, H. S., Choo, C. S., Kang, H. K., and Yoo, E. S. (2010) Effects of horse bone extracts on the induced postmenopausal osteoporosis in rats. *Korean J. Pharmacogn.* **41**, 204-209.
 28. Park, Y. H., Yoon, S., Chung, S. Y., Yang, S. O., Yoo, T. M., Yang, J. S., and Kwon, D. J. (2001) The effect of isoflavone supplementation on bone metabolism in ovariectomized SD rats. *Korean J. Food Sci. Nutr.* **30**, 657-666.
 29. Pei, M., Yu, C., and Qu, M. (2000) Expression of collagen type I, II, and III in loose body of osteoarthritis. *J. Orthop. Sci.* **5**, 288-293.
 30. Price, P. A., Parthemore, J. G., and Deftos, L. J. (1980) New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone GLA protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J. Clin. Invest.* **66**, 878-883.
 31. Seguro, K. and Motoki, M. (1990) Functional properties of enzymatically phosphorylated soybean proteins. *Agric. Biol. Chem.* **54**, 1271-1276.
 32. Wronski, L. (1995) Response of femoral neck to estrogen depletion and parathyroid hormone in age rats. *J. Bone.* **16**, 551-557.
 33. Yook, T. H., Bae, J. S., Kim, Y. J., Kim, D. K., Jang, I. K., and Lee, C. H. (2006) Effects of *cervi pontotrichum cornu* and *Carthami* semen on the experimental osteoporosis induced by ovariectomy in rats. *Korean J. Oriental Phys Path.* **20**, 1226-1232.