J. KOREAN SOC. FOOD NUTR.
13(2) 169~174 (1984)

花粉粒의 營養生化學的 硏究

1. 해바라기 花粉粒의 脂質組成과 Mouse 肝臟 콜레스테롤 代謝에 미치는 影響

鄭永健 · 尹水弘* · 權貞淑** · 裵晩鍾

嶺南大學校 食品加工學科, *嶺南工業專門大學 食品營養學科, **安東大學 家庭學科
(1984년 2월 9일 접수)

Nutritional and Biochemical Studies on the Pollen Loads

1. Studies on Lipld Compositions of Sunflower Pollen Load and Effects of Its Pollen Load on Liver Cholesterol Metabolism in Mouse

Yung-Gun Chung, *Soo-Hong Yoon, **Jung-Sook Kwon and Man-Jong Bae

*Dept. of Food Science and Technology, Yeungnam University, *Dept. of Food Science and Nutrition, Yeungnam Junior College of Technology, **Dept. of Home Economics, Andong National College*
(*Received February* 9, 1984)

Abstract

For the purpose of investigating whether the administration of sunflower pollen load has any influence upon liver cholesterol metabolism in mouse, lipids were isolated from sunflower pollen load, identified and quantitated by thin-layer and gas liquid chromatographies. We also studied changes in liver cholesterol level in mouse according to the amount and the period of pollen load administration. Lipids of sunflower pollen load were constituted 84.10% of neutral lipid, 10.50% of glycolipid and 5.40% of phospholipid. The main fatty acid contents of neutral lipid, glycolipid and phospholipid were ranged 28.48 to 33.70% of linoleic acid, 12.90 to 47.50% of palmitic acid and 11.20 to 12.20% of oleic acid, however, phospholipid contained more palmitic acid than the other lipids. The body weight of the pollen fed mouse significantly increased during experimental period in comparison with control group. From the fact that the ratio of liver weight to body weight of pollen fed mouse was smaller than that of control group, it was proved that liver lipid metabolism of pollen fed mouse was more active than that of control group. During early experimental period, liver cholesterol level had been increased according to pollen load administration(P. O), and then the level decreased rapidly to the similar level to that of control group at the end of the period.

序 論

화분립은 꿀벌이 여러종류의 꽃가루를 강력한 효소와 꿀로 배합한 꿀벌의 먹이로 알려져 있다. 이 화분립은 예로 부터 식이요법제, 화장품 및 생약의 원료로서 사용되어 왔으며, 영양 및 임상효과가 있는 것으로 알려져 있다[1].

화분에 대한 연구로서는 Elser 등의 오리나무, 소나무, 개암나무 화분의 화학적 조성에 관한 연구 발표가 있은 이래, 각종 화분들의 탄수화물, 단백질, 지방, 비타민, 무기물, 핵산, allergens 등의 화학적 성분조사 등에 관한 연구 보고가 있었다[2~8]. 그러나 임상학적으로는 古川[9,10] 등에 의한 화분제재인 cernilton의 약리효과에 관한 연구가 행해졌을 뿐이다. 이들의 연구 결과는 cernilton을 전립선염, 전립선비대증의 치료제로 사용했을 때, 다량 사용시 혈압상승 및 혈중 총 cholesterol 량과 혈당치가 상승하는 현상을 보였다고 했다.

본 실험에서는 해바라기 화분립의 영양 및 임상학적인 기초자료를 얻기 위하여 먼저 지질성분에 관해서 분석하고 이 화분립을 mouse에 투여함으로써 mouse 肝臟 콜레스테롤에 미치는 영향을 연구한 결과를 보고한다.

材料 및 方法

1. 材 料

본 실험에 사용된 해바라기 화분립(sunflower pollen load)은 대구 시중 건재한약방에서 구입하였다.

2. 方 法

(1) 일반성분의 분석

시료중의 수분, 조지방, 조단백질 및 회분의 정량은 AOAC법[14]에 준하였다.

(2) 지질의 분석

① 지질의 추출

화분립에서의 지질의 추출은 Folch법[12]에 따라 Fig. 1과 같이 추출하였다.

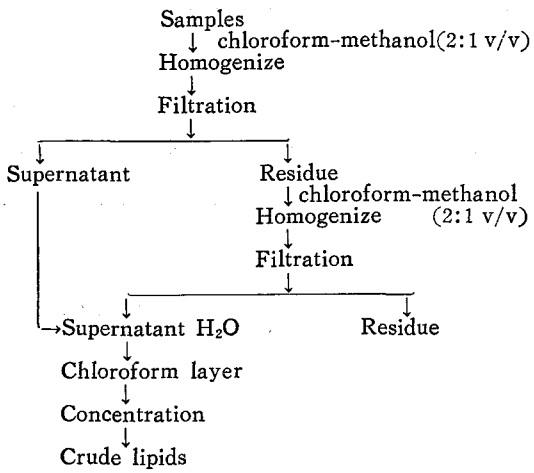

Fig. 1 Extraction of crude lipids from sunflower pollen load.

② 중성지질, 당지질, 인지질의 분리정량

화분립에서 추출된 지질은 Rouser[13] 등의 방법에 따라 silicic acid column chromatography에 의하여 중성지질, 당지질 및 인지질을 분리하여 중량법으로 정량하였다.

③ 중성지질 성분의 분리 및 정량

Thin-layer chromatography를 이용하여 중성지질 성분을 분리하였다. 이때 사용한 전개용매는 pet. ether-diethylether-acetic acid(80:30:1 v/v)를 사용하여 전개하였다. 전개된 plate는 1% iodine-pet. ether용액으로 분문건조하여 표준시료의 Rf치와 비교, 동정하고 각 중성지질 성분은 Amenta법[14]으로 정량하였다.

④ 지방산조성

조지질(CL), 중성지질(NL), 당지질(GN), 인지질(PL) 및 triglyceride(TG)에서 분리한 지방산의 조성은 일본유지 및 유지제품 시험법[14]에 따라 gas-liquid chromatography에 의하여 분리 정량하였다. 이때 사용한 gas-liquid-chromatograghy의 분석조건은 다음 Table 1과 같다.

Table 1. Instument and operating conditions for gas-liquid chromatography

Instrument	Hitachi model-063
Detector	Flame ionization detector
Column	3 m×2 mm, glass column with DEGS (10%) on Chromosorb W (60—70 mesh)
Column temp.	175 °C
Injector temp.	250 °C
Detector temp.	250 °C
Carrier gas	N_2
Flow rate	40 ml/min
Chart speed	10 mm/min

Table 2. Body gain, total liver cholesterol in various amount of pollen fed mouse

Groups' (mg)	Control	50	100	200	300	400	500	600	700	800
Body weight gain (g/week)	1.3	1.2	1.5	1.5	1.8	1.7	2.0	1.8	1.3	1.2
Total cholesterol (mg/g wet liver weight)	2.01 ± 0.17*	3.03 ± 0.40	3.15 ± 0.32	3.34 ± 0.24	3.38 ± 0.21	3.62 ± 0.22	3.65 ± 0,30	2.57 ± 0.24	2.33 ± 0.31	

*Standard deviation

(3) 동물실험

① 실험동물

SWR strain mouse (체중 25±2 g, ♂)를 3마리씩 1개 실험군로 하여 10개 실험군으로 구분하고 각각의 실험군에 Table 2에 표시된 양의 화분을 mouse용 일반사료에 섞어 2주일 간 투여한 후, 체중변화를 조사하고, 도살하여 간장 총 cholesterol치를 측정한 결과, 50 mg 투여군에서는 거의 변화가 없었으며 600 mg 이상 투여군은 식이 섭취량이 매우 적음으로 올바른 결과를 얻을 수가 없었다(Table 2).

이 예비실험 결과에 따라 본 실험동물의 화분투여량을 100 mg (group 1), 250 mg (group 2), 500 mg (group 3)의 3개 군으로 정하고 15마리씩 1개 실험군으로 하였으며, mouse용 일반사료로만 사육한 것을 대조군으로 하였다. 일반사료의 구성성분은 Table 3과 같다.

Table 3. General diet composition for mouse

Ingredients	%
Wheat grits	55
Soybean meals	28
Skim milk	8
Fish meal	7
Rice bran	2
Vitamin mixtures*	trace

*Vitamin mix/kg contain

Vit. A	1,760,000 I. U,	Niacin	1,000 mg
Vit. D_3	400,000 I. U,	Ca pantothenide	600 mg
Vit. E	800 I. U,	Pyridoxine	600 mg
Vit. K	100 mg,	Folacin	50 mg
Vit. B_2	1,000 mg,	Vit. B_{12}	2 mg

이상의 각 군을 3주일 사육하였으며, 식이는 일정량씩 1일 1회 공급하고 수분은 자연급수법으로 충분히 급수하였으며, 식이 섭취량을 매일 측정하였고, 3주일 사육하면서 1주일마다 5마리씩 도살한 후 간장을 적출하여 실험재료로 하였다.

② Liver cholesterol의 분석

mouse간장의 총 cholesterol함량은 Kim[16]에 따라 정량하였다. 즉 적출한 간장조직을 생리식 염수로 세척하여 여지상에서 수분을 제거하고, 조직 1.0 g을 칭량하여 ethanol-ether용액 10 ml를 가해 약 5분간 Potter-Ervejehm homogenizer로 homogenize(2,000 r.p.m.)하고, 40°C의 수욕에서 약 10분간 가온한 후 이를 여과하여 ethanol-ether용액 20 ml에 여액 2 ml를 흔들면서 첨가한 후 끓는 수욕상에서 끓인 다음, 식혀서 ethanol-ether용액으로 전량 25 ml로 하여 여과하였다. 여액 10 ml를 비이커에 취하고 hot plate상에서 증발 건조한 후 chloroform 2 ml를 가하여 hot plate상에서 끓으면 시험관(T)에 옮기기를 3회 반복하여 5 ml되게 한다. 이때 chloroform 5 ml만 넣은 시험관(B)을 공시험군(blank)으로 하였다. 시험관을 25°C 수욕상에 놓고 발색시약 5 ml씩을 가하여 잘 섞어서 25°C에서 20분간 차광 발색시킨 후 640 nm에서 흡광도(OD)를 측정하였다.

結果 및 考察

1. 일반성분의 비교

해바라기 화분립의 일반성분의 분석결과는 Table 4와 같다. 탄수화물인 N-free extract가 59.72%로 가장 많은 량을 차지했다. 윤[17]이 보고한 바 있는 각종 채·종실의 일반성분과 비교해 보면 해바라기 화분립의 조단백질 조지방이 채·종실의 것보다 그 함량이 적었다. Elser 등[18]이 보고한 오리나무, 소나무, 개암나무, 화분의 조지방 함량은 각각 23.55, 23.44, 14.59 조단백질 함량은 각각 12.55, 8.81, 16.19% 로서 해바라기 화분립에 비해 조지방은 많았으나 조단백질은 적었다.

Table 4. Chemical compositions of sunflower pollen load (fresh weight %)

Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	N-free extract
12.29	18.90	4.80	5.00	59.72

2. 중성지질, 당지질 및 인지질의 함량비교

화분립에서 추출한 지질을 silicic acid column chromatography를 이용하여 중성지질, 당지질 및 인지질을 분리하여 정량한 결과는 Table 5와 같다. 중성지질이 84.10%로 현저하게 많았으며 당지질이 10.5%, 인지질이 5.4% 였다. 윤[17], 한[19] 등의 연구보고에 의하면 각종 채·종실유에서의 중성지질의 함량은 95.00% 내외, 당지질 0.50~1.50%, 인지질 2.27~3.43% 였던 바, 해바라기 화분립과는 상당한 차이가 있었다. 인지질에 있어서는 Mcllwain 등[5]이 pinus ponderosa pollen에서의 3.00%와는 해바라기 화분립에서 다소 많은 함량을 보여주고 있다.

Table 5. Contents of neutral lipid, glycolipid and phospholipid in sunflower pollen load (relative weight %)

Neutral lipid	Glycolipid	Phospolipid
84.10	10.50	5.40

3. 중성지질의 구성지방질

silicic acid column chromatography를 이용하여 분리한 중성지질을 thin-layer chromatography에 의하여 분석, 정량한 결과는 Table 6과 같다. triglyceride가 71.20%로 가장 많이 함유 되었으며 sterol ester 9.35%, diglyceride가 8.60% 순이었고 monoglyceride가 1.23%로 소량 함유된 것으로 나타났다. 이상의 결과는 윤[17], 한[19] 등이 보고한 채·종실유에서 triglyceride 80.00~93.00%, free fatty acid 0.56~9.44%, sterol ester 3.00~6.00%, sterol 2.00~4.00%, monoglyceride trace~5.30%, diglyceride 1.00~4.00%의 함유량과는 상당한 차이가 있었다. Chung 등[8]이 보고한 gymnosperm pollen에서는 확인되지 않았으나 해바라기 화분립에서는 diglyceride, monoglyceride가 각각 8.60, 1.23%가 함유되어 있음이 확인되었다.

Table 6. Compositions of neutral lipids in sunflower pollen load (relative weight %)

SE	TG	DG	MG	FFA	S
9.35	71.20	8.60	1.23	6.47	3.13

SE, sterol ester ; TG, triglyceride ; DG, diglyceride ; MG, monoglyceride ; FFA, free fatty acid ; S, sterol

4. 지방산 조성

중성지질, 당지질, 인지질의 구성 지방산을 gas-liquid chromatography에 의하여 분리 정량한 결과는 Table 7과 같다. 해바라기 화분립지질의 neutral lipid, glycolipid, phospholipid에서의 구성지방산은 확인할 수 없었던 물질을 포함해서 모두 11종의 지방산을 확인할 수 있었으며 주요 지방산은 linoleic acid 28.48~33.70%, palmitic acid 12.90~47.50%, oleic acid 11.20~12.20%였다. 채·종실유에서도 주요 구성지방산은 linoleic acid, palmitic acid, oleic acid였으나, 그 함량에는 상당한 차이가 있었으며, 또한 구성지방산의 종류에 있어서도채·종실유의 5~8종류 보다 해바라기 화분립은 11종류로 다양했다.

Table 7. Fatty acid composition of the various lipids in sunflower pollen load (relative weight %)

Fatty acids	Lipid composition		
	NL	GL	PL
Unknown	1.30	2.50	t
12:0	1.30	2.37	t
14:0	2.30	2.24	3.70
16:0	12.90	16.04	47.50
16:1	2.10	2.30	4.50
18:0	11.20	11.53	3.70
18:1	12.20	11.20	11.90
18:2	33.70	28.48	28.50
18:3	7.30	8.09	t
20:0	—	—	—
22:0	16.10	15.23	—

NL, neutral lipid ; PL, phospholipid ; GL, glycolipid ; t, trace

5. 동물실험

(1) 체중과 간장중량

실험기간 중 각 group별 체중변화, 식이섭취량 및 도살 시 체중에 대한 간장중량의 비는 Table 8에서 보는 바와 같다. 이들의 결과에서 mouse의 식이 섭취량은 각 group 간에 유의차가 없었으며, 체중 증가율은 화분투여군이 대조군 보다 유의적으로 높았고 화분투여량 간에도 투여량이 많을수록 체중 증가율이 높은 것으로 나타났는데 이는 화분이 좋은 영양식품이며 이를 섭취하면 체중이 증가된다는 사실과도 일치했다[1].

체중에 대한 간장 중량비는 화분립 투여군이 대조군보다 훨씬 적었으며 이는 화분을 섭취함으로써 간장의 지방대사에 크게 영향을 미친 것으로 생각된다.

Table 8. Body weight gain, relative liver size (RLS) and food intake in various amount of pollen fed mouse groups

Gain	Body weight (g/week)	RLS(%)*	Food intake (g/day)
Control	1.50	5.36±0.43**	5.50
Group 1	1.70	5.03±0.28	5.70
2	1.85	4.95±0.29	5.40
3	2.20	5.06±0.33	5.20

*Relative liver size (RLS)=liver weight×100/final body weight, **Standard deviation

(2) 간장 총 cholesterol치

각각의 실험군을 3주일 사육한 변화는 Table 9와 Fig. 2에 나타나있다. 화분 투여군의 간 cholesterol치가 사육 후 1주일까지는 대조군보다 증가함을 보였고 이 기간 중 모든 실험군에서 대조군의 간장 cholesterol치 보다 거의 2배까지 상승한 것으로 나타났다. 이는 지질의 분석실험에서 보여준 해바라기 화분립이 다량의 인지질과 불포화지방산을 함유하고 있는 바, 화분 투여 후 초기에 나타나는 mouse의 간장 cholesterol치의 증가는 화분내에 다량 함유되어 있는 불포화지방산으로 인한 feed back inhibition 때문에 상승한다고 추정된다. 이는 Mukhejee[20] 등이 불포화지방산을 많이 함유하고 있는 식물유를 rat에 투여했을 때 간장에서의 cholesterol합성이 활성화하였고, 이와 동일한 연구결과를 발표한 Siperstein 등[21]의 보고와도 일치했다.

1주일 이후 간 cholesterol치가 급격히 저하하여

Table 9. The effect of various amount of sunflower pollen load on liver cholesterol level in mouse

Groups	week	Total cholesterol* (mg/g)
Control		2.01±0.17**
Group 1	1	3.78±0.51
	2	3.20±0.22
	3	2.41±0.32
2	1	3.29±0.38
	2	3.28±0.47
	3	2.56±0.13
3	1	4.0 ±0.37
	2	3.58±0.26
	3	2.73±0.43

*P<0.05
**Standard deviation

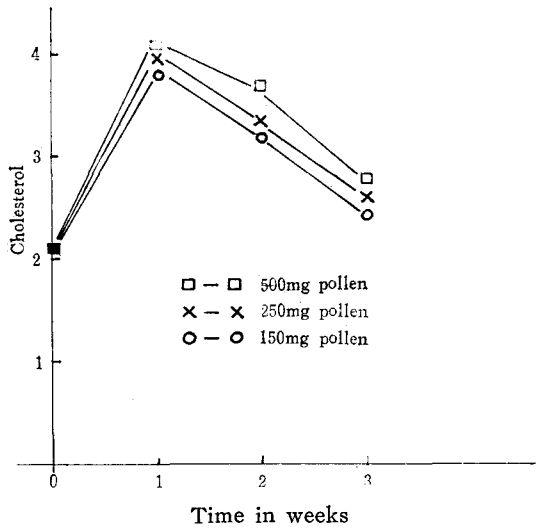

Fig. 2. The effect of various amount of pollen on the levels of liver cholesterol in mice.

3주일에는 대조군의 간장 cholesterol치와 거의 비슷한 수준을 나타내는 것은 화분에 함유되어 있는 cholesterol저하물질들, 즉 화분의 주성분인 plant protein[22], plant sterol[23,24], fiber, nucleotide 및 각종 vitamin, 무기질 등에 의한 것으로 추정되나, 간의 cholesterol 대사와 관련이 있는 화분내의 유효성분이 어떤 물질인지, 화분내에만 함유되어 있는

특이한 것인지에 관해서는 앞으로 계속적인 연구가 요구된다.

要 約

해바라기 화분립이 mouse의 간장에서 cholesterol 대사에 어떤 영향을 미치는가를 조사하기 위해서 해바라기 화분립으로부터 추출한 지질을 column chromatography, thin-layer chromatography 및 gas-liquid chromatography를 이용해서 분석했다. 또한 mouse에 화분립을 투여하였을 때 간장에서의 cholesterol치에 미치는 영향에 대해서도 조사하였다.

1. 화분립의 지질은 neutral lipid 84.10%, glycolipid 10.50%, phospholipid 5.40%를 함유했다.

2. 중성지방질의 조성은 triglyceride가 71.20%로 가장 많고, sterol ester, diglyceride, monoglyceride, free fatty acid, sterol의 순이다.

3. neutral lipid, glycolipid, phospholipid의 주요지방산은 linoleic acid 28.48~33.70%, palmitic acid 12.90~47.50%, oleic acid 11.20~12.20%이다. 그러나 phospholipid는 다른 지질보다 palmitic acid를 더 많이 함유하고 있다.

4. 해바라기 화분립 투여 mouse의 체중은 대조군보다 현저하게 증가했다.

5. 화분립을 투여한 mouse의 간장지질대사가 대조군보다 활발함을 알 수 있었다.

6. 화분립 투여 mouse의 간 cholesterol치가 초기에는 증가했으나, 말기에는 대조군과 비슷한 수준으로 감소했다.

문 헌

1. 金丙鎬：신양봉학(선진문화사, 서울), 242(1982)
2. Ohmoto, T., Yoshida, O., Kano, M. and Ikuse, M.: *Shoyakugaku Zasshi*, **34**(2), 145 (1980)
3. Malley, A., Baecher, L. and Begley, D: *Immuno chemistry*, **12**(6), 551(1975)
4. Bae, K.W. and Lee J. H.: *Kangwon Taehak Tongu Nonmunjip*, **8**, 69(1974)
5. Mcllwain D. L. and Chuton E.: *Biochemistry*, **5**(12), 4051(1966)
6. Robert, G. S. and Andrew, W.G.: *Nature*, **210**, 181(1966)
7. Staguo, G. and Trozzi M.: *Giorn. Biochemistry*, **6**, 102(1957)
8. Chung, H. C. and Lee, K. Y.: *The Seoul J. of Medicicine*, **18**(2), 125(1977)
9. 古川敏議：東邦醫會誌, **15**(2), 190(1968)
10. 古川敏議：東邦醫會誌, **15**(2), 201(1968)
11. A.O.A.C., *Official Methods of Analysis*, 13th ed., Washington D.C. Association of Official Analytical Chemists, 245(1980)
12. Folch, J. and Lees, M.: *J. Biol. Chem.*, **226** 497(1957)
13. Rouser, G. and Kritchevsky, G.: *Lipids*, **2** 37(1967)
14. Amenta, J. S.: *J. Lipid, Res.*, **5**, 270(1964)
15. 油脂および油脂製品試驗法部令，油化學, **19**, 337 (1970)
16. Kim, G. H.: *Laboratory Methods in clinical chemistry*, 77(1976)
17. 윤형식：충남대학교박사학위논문집, (1982)
18. Elser, E. and Gangmuller, J.: J. of *Physiol. chem.*, **194**, 21(1921)
19. 한재숙：嶺南大學校食糧資源研究論文集, **3**, 7 (1979)
20. Mukheijee, S.: *Arech. Bioehem. Biophys.*, **73** 359 (1958)
21. Siperstein, M.D.: *Curr. Top. Cell. Regul.*, **2**, 65(1970)
22. Terpstra, A. H. M.: *World Rev. Natr.* Diet in press, (1982)
23. Pollack, O. J.: *Circulation*, **7**, 702(1953)
24. O'Brein, B. C.: *J. Nutr.*, **107**, 1444(1977)