

식이지방의 종류와 식이급여형태가 흰쥐의 성장 및 지방대사에 미치는 영향

이재준 · 한인규 · 최윤재 · 강정선 · 장영상*

서울대학교 농업생명과학대학

(주) 농심 기술개발연구소*

Effects of Dietary Lipid Sources and Meal Frequency on Growing Performance and Lipid Metabolism in Rats

Lee, Jae Joon · Han, In Kyu · Choi, Yun Jaie

Kang, Jung Sun and Chang, Young Sang*

College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon, Korea

Nong Shim Technology Development Institute*

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the effects of dietary lipid sources and meal frequency on growing performance and lipid metabolism in Sprague-Dawley strain male rats. The experiment was conducted in 4×2 factorial arrangement with 4 sources of dietary lipid(palm oil, beef tallow, soybean oil and hydrogenated soyben oil) and 2 meal frequencies(ad-libitum or meal feeding). During the 4-week feeding period the rats were fed either ad-libitum(AL) or a single daily 3-hour meal(09 : 00-12 : 00) during the dark period. *In vitro* cultures were carried out to study the cholesterol synthetic activity in the liver prepared from rats used in feeding trials. And *in vitro* cultures were also carried out to study the lipogenic and lipolytic activity in the liver and adipose tissues prepared from rats used in feeding trials.

Present data indicated that body weight gain, feed intake and FER of AS(ad-libitum+soybean oil) and AHS(ad-libitum+hydrogenated soybean oil) group were significantly($p<0.05$) higher than those of the other groups. It was found that the feed intake of MF group was much less than that of AL group. Total body weight gained by MF group was only 60% of AL group. Growing performance was not affected by dietary lipid sources.

The cholesterol synthetic activity in liver tissues culture was markedly($p<0.05$) increased in MF diets, especially in soybean oil group.

The lipogenic activity in liver tissues culture of MP(meal feeding+palm oil) and MHS(meal feeding+hydrogenated soybean oil) group was significantly($p<0.05$) higher than that of AP(ad-libitum+palm oil) group and AHS(ad-libitum+hydrogenated soybean oil) group($p<0.05$). Rats fed ad-libitum+beef tallow and fed meal feeding+beef tallow showed significantly($p<0$.

05) higher lipogenesis than the other groups. It was apparent that the lipogenic activity in liver tissues culture was not affected by dietary lipid sources and meal frequency. Lipolytic activity in liver tissue culture was significantly ($p < 0.001$) different with meal frequency; MF group was higher than AL group, but was not greatly affected by dietary lipid sources.

In the *in vitro* studies with adipose tissue, MF diets increased the lipogenic activity and inhibited the lipolytic activity in adipocytes. The lipogenic activity in adipocytes was significantly ($p < 0.001$) different with dietary lipid sources and found to be beef tallow group was the highest, but the sources of lipid in the diet did not exert any effect on the lipolytic activity.

서 론

최근 생활습관과 식습관의 변화로 즉석식품(instant food; fast food)이 대량 생산되고 있으며 기호성향의 변화로 튀김조림식품의 소비가 매년 증가되고 있다. 국내에서 이들 튀김조림식품에 이용되고 있는 튀김유지는 우지와 팜유 그리고 이들 혼합유인데, 일부 사람들에게 의하면 튀김조림식품에 이용되고 있는 동물성지방에 대한 영양학적인 여러 문제를 제기하고 있다. 특히 과도한 동물성지방의 섭취는 비만증, 고지혈증, 동맥경화증, 지방간, 심장질환 등 심맥관계의 질환유발과 관계가 깊다는 연구보고가¹⁾²⁾³⁾ 나와 있어, 이로 인해 식물성유지의 섭취가 증가되는 경향이 있는데, 한국인의 동물성과 식물성지방의 섭취비율을 살펴보면 39 : 61로 나타난다⁴⁾. 그러나 식물성유지는 지방의 산화에 의한 품질저하를 방지하기 위하여 즉, 바람직한 물리적 성질과 향미의 안정성을 증가시키기 위하여 경화시켜 사용하는 경우가 많다. Ohlroyg 등은⁵⁾ 식물성유지의 경화시 불포화지방산의 이중결합 위치가 바뀌고 cis형에서 trans형으로 입체 이성화가 일어나 trans지방산이 생성되므로, 이들 trans지방산의 섭취량과 체내 축적량이 많아지면 동맥경화증이나 암 등의 발병율이 높다고 보고하였으나, trans지방산이 지방대사와 관계된 질병과의 관련 여부는 아직까지 많은 논란이 되고 있다.

아울러 혈액 및 체조직의 지방대사는 식이내 지방의 종류 뿐만 아니라 식이를 급여하는 형태에 의해서도 영향을 받고 있음이 주목되고 있다. 식이

급여형태(ad-libitum, meal feeding 혹은 force feeding)에 따라 체중과 체조성⁶⁾⁷⁾⁸⁾, 기관의 크기⁹⁾, 위장관의 흡수능력¹⁰⁾, 여러 조직내의 gluconeogenesis와 lipogenesis에 관련된 효소의 활성¹¹⁾¹²⁾ 및 기초산소 섭취량¹³⁾ 그리고 혈중 지방 특히 콜레스테롤 등이¹⁴⁾¹⁵⁾ 영향받는 것으로 보고되었다.

따라서 본 연구는 튀김조림식품에 주로 사용하고 있는 유지의 영양학적 문제를 해결하기 위한 방안을 검토하기 위하여 튀김유지(팜유, 우지), 식물성기름(대두유), 경화유(경화대두유)를 식이급여형태(ad-libitum, meal feeding)를 달리하여 성장기 흰쥐에게 급여하였을 때 증체량, 식이섭취량 및 식이효율을 비교하고 지방 및 간조직을 이용한 *in vitro* 상에서의 세포배양을 통하여 콜레스테롤대사와 지방대사에 미치는 영향을 알아보고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시험동물 및 사양관리

시험동물은 체중이 약 100g되는 Sprague-Dawley 계통 흰쥐 수컷 48마리를 서울대학교 시험동물 사육장에서 공급받아 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료(신촌사료 주식회사)로 1주간 사육한 후 체중에 따라 각 처리당 6마리씩 8군으로 나누어 완전임의배치하여 4주간 stainless steel cage에 1마리씩 분리 사육하였다.

시험동물 사육실의 환경온도는 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 $65 \pm 5\%$ 로 유지하였으며, 명암은 12시간 주기(09 : 00~21 : 00)로 조절하였다. 체중과 식이섭

취량은 매주 오전 8 : 00시에 측정하였다.

2. 시험 설계

본 연구는 사양시험 및 세포배양 시험으로 나누어 실시하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 성장기 흰쥐에게 지방의 종류와 식이급여형태를 달리하였을때 성장, 지방 대사 및 세포의 성장에

Table 1. Experimental design

Meal frequency	Ad-libitum				Meal feeding			
	P ¹⁾	B	S	HS	P	B	S	HS
Source of lipid								
No. of rat	6	6	6	6	6	6	6	6

1) Abbreviation : P, palmoil; B, beef tallow ; S, Soybean oil ; HS, hydrogenated soybean oil

미치는 영향을 알아보기 위해 4종류의 지방(팜유, 우지, 대두유, 경화대두유) 및 2종류의 식이급여 형태(ad-libitum, meal feeding)를 달리하여 4×2 요인시험으로 실시하였다.

3. 시험식이 및 식이섭취 방법

시험식의 배합율과 영양소합량은 Table 2와 같다. 식이지방 함량은 총 에너지의 11%로 조정하였고 지방의 종류에 따라 팜유군(palm oil, P), 우지군(beef tallow ; B), 대두유군(soybean oil ; S) 및 경화대두유군(hydrogenated soybean oil ; HS)으로 나누고 이를 다시 각각 식이급여형태에 따라 ad-libitum군과 meal feeding군으로 나누어

Table 2. Formula and chemical composition of experimental diets(g/100g diet)

Treatment	AL ¹⁾				MF			
	P	B	S	HS	P	B	S	HS
Ingredient								
Corn starch	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0
Sucrose	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Casein	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
C.M.C. ²⁾	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Palm oil	5.0	—	—	—	5.0	—	—	—
Beef tallow	—	5.0	—	—	—	5.0	—	—
Soybean oil	—	—	5.0	—	—	—	5.0	—
Hydrogenated soybean oil	—	—	—	5.0	—	—	—	5.0
AIN-Mineral mixture ³⁾	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
AIN-Vitamin mixture ⁴⁾	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Gross energy(Kcal) ⁵⁾					386.0			
Crude protein(% of energy)					22.0			
Crude fat(% of energy)					11.0			
Carbohydrate(% of energy)					67.0			

1) Abbreviation : AL, ad-libitum ; MF, meal feeding P; palm oil ; B, beef tallow ; S, soybean oil ; HS, hydrogenated soybean oil ; HS, hydrogenated soybean oil

2) C.M.C. : carboxyl methyl cellulose

3) Mineral mixture(per kg) : CaHPO₄, 500g ; NaCl, 74g ; K₃C₆H₅O₇ · H₂O, 220g ; K₂SO₄, 52g ; MgO, 24g ; MnCO₃, 3.5g ; Fe₂(SO₄)₃(NH₄)₂SO₄ · 24H₂O, 6.0g ; 5ZnO · 2CO₃ · 4H₂O, 1.6g ; CuCO₃ · Cu(OH)₂ · H₂O, 0.3g ; KIO₃, 0.01g ; Na₂SeO₃ · 5H₂O, 0.01g ; CrK(SO₄)₂ · 12H₂O, 0.55g ; and sucrose 118.03g to make 1 kg mineral mixture.

4) Vitamin mixture(per kg) : Thiamin HCl, 600mg ; Riboflavin, 600mg ; Pyridoxine HCl, 700mg ; Nicotinic acid, 3g ; D-Calcium pantothenate, 1.6g ; Folic acid, 200mg ; Cyanocobalamin, 1mg ; Vitamin A, 400,000 IU ; Vitamin E, 5,000 IU ; Vitamin D₃, 2.5mg ; Vitamin K, 5mg ; and sucrose 980.38g to make 1kg vitamin mixture.

5) Calculated value.

식이급여 형태와 지방 대사

AP(ad-libitum + palm oil)군, AB(ad-libitum + beef tallow)군, AS(ad-libitum + Soybeanoil)군, AHS(ad-libitum + hydrogenated soybean oil)군, MP(meal feeding + palm oil)군, MB(meal feeding + beef tallow)군, MS(meal feeding + soybean oil)군, MHS(meal feeding + hydrogenated soybean oil)군 등 8군으로 나누었다. 식이에 사용된 식이지방의 지방산 조성은 Table 3과 같다

Ad-libitum군은 식이를 제한없이 자유롭게 섭취하도록 하였으며, meal feeding군은 1일 1회 즉 09 : 00 ~ 12 : 00까지만 식이를 제한없이 공급하였다. 시험식은 불포화지방산의 산화를 방지하기 위해 식이 배합 후 -80°C 이하의 냉동고에 저장한 후 급여했다.

4. 세포배양 시험

1) 조직채취 및 조사항목

도살시 각 처리별로 체중이 유사한 쥐를 1마리씩

선정하여 간 및 지방조직을 채취하여 BCS(balanced calf solution)에 담아 냉장상태로 보관하면서 간조직에서의 콜레스테롤합성 능력을 측정하였으며, 아울러 간과 지방조직에서의 지방합성 및 지방분해 능력을 측정하였다.

2) 간조직에서의 콜레스테롤합성 능력 측정

간에서 15~20mg의 조직을 떼어내어 0.3mCi의 acetate- $1-^{14}\text{C}$ 을 함유하는 3ml의 KRB(Krebs-ringer bicarbonate) buffer에 넣어 shaking water bath에서 37°C , 18시간 동안 90stroke/min으로 배양한 후 얼음위에 올려 놓아 배양을 마친 후 간조직을 꺼내 습기를 제거하고 무게를 정량하였다. 간조직은 다시 20ml scintillation vial에 넣고 Folch등의¹⁶⁾ 방법에 의해 지방을 추출하고 지방이 포함된 유기용매를 수거하였다. 유기용매를 증발시킨 후 이것을 다시 500 μl hexane에 녹여 silica gel TLC (thin-layer chromatography) plate에 spot하여 hexane : diethylether : acetic acid(90 : 10 : 1 ; V/V/

Table 3. Fatty acid composition of the dietary lipids¹⁾

Fatty acid ²⁾	Palm oil	Beef tallow	Soybean oil	Hydrogenated soybean oil
			area%	
12 : 0	0.1	0.1	—	—
14 : 0	1.0	3.2	0.1	—
14 : 1	—	0.9	—	—
15 : 0	—	0.5	—	—
16 : 0	44.4	24.3	10.6	0.9
16 : 1	0.2	3.7	—	—
17 : 0	—	1.5	—	—
17 : 1	—	1.5	—	—
18 : 0	4.1	18.6	4.0	4.2
18 : 1	39.3	42.6	23.3	51.3
18 : 2($\omega 6$)	10.0	2.6	53.7	30.9
18 : 3($\omega 3$)	0.4	0.7	7.6	0.5
20 : 0	0.3	0.2	0.3	—
Saturated(S)	49.9	48.4	15.0	5.1
Polyunsaturated(P)	10.4	3.3	61.3	31.4
P/S	0.2	0.1	4.1	6.2
($\omega 6$)/($\omega 3$)	25.0	3.7	7.1	61.8

1) Results are expressed as the percentage(area %) of total fatty acid methyl ester

2) Number of carbon atoms : number of double bonds(location of terminal double bond)

V) solvent system에서 약 1시간 전개시켰으며, 그 후 콜레스테롤에 해당되는 부위를 긁어서 15ml의 cocktail solution을 넣어 radioactivity를 측정 한 후 콜레스테롤에 편입된 acetate의 양을 산출하여 콜레스테롤합성 능력을 측정하였다.

3) 간 및 지방조직에서의 지방합성 및 지방분해 능력 측정

(1) 지방합성

3.0ml KRB buffer와 0.5 μ Ci 14 C-glucose를 20ml scintillation vial에 넣어 배지를 만든 후 도체에서 채취한 간과 지방조직을 10~15mg의 크기로 잘라 KRB 용액에 잠시 넣어둔 후 이 배지에 담아 37 $^{\circ}$ C의 항온수조에서 흔들면서 배양시켰다. 2시간 후 꺼내 얼음에 30분간 올려놓아 배양을 중지시킨 후 간 및 지방조직을 꺼내 습기를 제거하고 무게를 정량하였다. 다시 20ml scintillation vial에 5ml의 Dole's solution을 넣고 30분간 지방을 추출한 후 3ml의 hexane을 넣고 흔든 다음 30분 후에 지방이 포함된 유기용매를 수거하였다. 유기용매를 증발시킨 후 10ml의 cocktail solution을 넣어 radioactivity를 측정 한 후 총지방에 편입된 glucose양을 산출하여 지방합성 능력을 측정하였다.

(2) 지방분해

지방분해 능력은 Mersmann의¹⁷⁾ 방법에 따라 측정하였다. 약 100mg의 간과 지방조직을 5.56mM glucose, 4% BSA(bovine serum albumin)가 포함된 KRB 용액에 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 2시간동안 배양하여 생성된 nonesterified fatty acid 양으로 지방분해 능력을 측정하였다.

5. 통계분석

시험식이의 처리에 의한 시험결과는 SAS 통계¹⁸⁾ package의 general linear models을 이용하였고 전체 처리간과 평균치간의 유의성 검정은 요인 분석법에 의한 Duncan의 다중비교 분석법으로 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 증체량, 식이섭취량 및 식이효율

식이내 지방의 종류와 식이급여형태가 성장중인

흰쥐의 증체량, 식이섭취량 및 식이효율에 미치는 영향은 Table 4에 나타난 바와 같다. 평균하여 살펴본 결과에 의하면 증체량, 식이섭취량 및 식이효율은 MF군이 AL군에 비해 전 시험기간 동안 현저히 낮은 것으로 나타났다. 이것은 제한된 시간 내에 1일의 에너지 필요량을 충족시킬 수 없었기 때문이다. 식이지방의 종류에 따른 차이는 보이지 않았으나, 경화대두유(HS)군이 다른지방첨가(P, B 및 S)군에 비해 증체량 및 식이섭취량이 다소 높은 경향이였다.

전체 처리별로 보았을 때 AS(ad-libitum + soybean oil)군과 AHS(ad-libitum + hydrogenated soybean oil)군이 다른군에 비해 증체량과 식이효율이 유의하게($p < 0.05$) 높았으며, AL군이 MF군에 비해 유의성 있게($p < 0.05$) 높은 경향을 보였으나, MF군 간에는 경화대두유(HS)군이 다른 지방군에 비해 증체량 및 식이섭취량이 유의성있게($p < 0.05$) 높은 경향이였다.

식이내 지방의 종류가 다른 식이를 ad-libitum과 meal feeding으로 급여하였을 때 흰쥐의 성장에 미치는 연구에 관한 많은 보고가 있는데, 본 시험과 마찬가지로 식이지방의 종류보다는 식이급여형태에 의해 영향을 받아 meal feeding시가 ad-libitum시보다 증체율, 식이효율, 식이섭취량 및 에너지섭취량이 현저하게 낮았음을 보고하였다.¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾ 박과 한은⁷⁾ meal feeding시 식이섭취량은 ad-libitum보다 66~68%로 저하되었으며, 증체량 역시 저하되었음을 관찰하여 본 연구와 일치한다. Carlson과 Arnrich는²²⁾ MF군이 AL군에 비해 에너지섭취량이 80~90%로 유의성있게 낮았지만 식이효율은 MF군이 AL군과 비슷한 경향이라 보고하였다. 한은⁶⁾ 식이급여형태가 증체량에 영향을 미치지 않았다고 보고하여 본 연구와 상반된 견해를 관찰하였는데, 이는 1일 2회 급식군이나 ad-libitum군의 식이섭취량을 동일하게 조절하였기 때문이다.

2. 간조직에서의 *in vitro* 콜레스테롤대사

식이내 지방의 종류와 식이급여형태가 흰쥐의 간조직에서의 콜레스테롤 합성 능력에 미치는 영향을 살펴보면 Table 5에 나타난 바와 같다.

식이급여 형태와 지방 대사

전체 처리별로 살펴 본 간조직에서의 콜레스테롤합성 능력은 MF식이 AL식에 비해 유의성 있게($p < 0.001$) 높은 경향을 보였으나, AL식이간에는 지방종류에 따른 통계적 유의차가 없었다. 다만 MF 식이에 있어 불포화도가 높은 대두유군(MS)과 경화대두유군(MHS)에서 콜레스테롤합성 능력이 유의성있게($p < 0.05$) 증가된 경향이였다. 평균하여 살펴 본 결과에 의하면 간조직내 콜

레스테롤합성 능력이 MF군이 AL군에 비해 유의성있게($p < 0.001$) 높게 나타났으나, 식이지방의 종류에 의한 영향을 받지 않았으며, 불포화도가 높은 대두유군이 다른 지방군에 비해 높은 경향이였다.

본 시험과 관련된 연구 결과로는 Triscari 등이²³⁾ 옥수수기름과 경화유를 meal feeding에 의해 급여 시킨 후 $^3\text{H}_2\text{O}$ 와 ^{14}C -alanine을 이용하여 *in vivo*상

Table 4. Effects of dietary lipid sources and meal frequency on growing performance of rats

Treatman ¹⁾	Initial body wt. (g)	Final body wt. (g)	Body weight gain(g)	Feed intake (g)	FER
Meal Frequency	Source of Lipid				
	P 99.92	279.25 ^{b3)}	180.33 ^b	511.33 ^a	0.35 ^b
AL	B 99.22	280.72 ^b	181.50 ^b	519.55 ^a	0.35 ^b
	S 99.52	294.82 ^a	195.30 ^a	515.63 ^a	0.38 ^a
	HS 99.52	289.37 ^a	189.82 ^a	505.67 ^a	0.37 ^a
MF	P 99.13	180.60 ^d	81.50 ^d	284.28 ^{cd}	0.29 ^d
	B 99.33	187.87 ^d	88.53 ^d	290.65 ^c	0.31 ^c
	S 99.33	183.13 ^d	83.77 ^d	273.08 ^d	0.31 ^c
	HS 99.37	199.08 ^c	99.72 ^c	314.02 ^b	0.32 ^c
SEM ²⁾	0.60	7.31	7.28	16.38	0.0051
MEAN					
Meal	AL 99.29	286.04 ^a	187.74 ^a	513.05 ^a	0.36 ^a
Frequency	MF 99.30	187.67 ^b	88.38 ^b	290.51 ^b	0.30 ^b
SEM	0.60	7.31	7.28	16.38	0.0051
Source of Lipid	P 99.03	229.93	130.92	397.81	0.32
	B 99.28	234.29	135.02	405.10	0.33
	S 99.44	238.98	139.53	394.36	0.34
	HS 99.44	244.23	144.77	409.84	0.34
SEM	0.60	7.31	7.28	16.38	0.0051
Analysis of variance					
Meal frequency	NS	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Source of lipid	NS	NS	NS	NS	NS
Meal frequency × Source of lipid	NS	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	NS

1) Abbreviations : AL, ad-libitum ; MF, meal feeding ; P, palm oil ; B, beef tallow ; S, soybean oil ; HS, hydrogenated soybean oil

2) Pooled standard error of the mean

3) a, b, c, d : values within the same column with different superscripts are significantly different($p < 0.05$)

에서 간내 콜레스테롤합성 능력을 측정하였는데 trans지방산을 많이 함유하고 있는 경화유균에서 증가되었음을 보고 하였는데, 본 실험에서도 meal feeding시 경화대두유가 대두유보다 간조직내 콜

레스테롤합성 능력이 증가된 경향이었으나, 통계적 유의성은 보이지 않았다. Ide 등도²⁴⁾ ¹⁴C-mevalonic acid를 이용하여 *in vitro*상에서 safflower oil과 hydrogenated safflower oil을 ad-libitum으로 2주 혹은

Table 5. Effects of dietary lipid sources and meal frequency on cholesterol synthesis, lipogenic and lipolytic activity in rat liver tissue culture

Treatment ¹⁾		Cholesterol synthesis ²⁾ (dpm×10 ² /mg)	Lipogenic activity ³⁾ (n mole/mg)	Lipolytic activity ⁴⁾ (μeq/mg)
Meal Frequency	Source of Lipid			
AL	P	11.89 ^{cd}	4.09 ^d	4.67 ^c
	B	12.16 ^c	4.85 ^{ab}	3.92 ^d
	S	12.18 ^c	4.26 ^{cd}	4.70 ^c
	HS	11.99 ^c	4.47 ^{cd}	3.90 ^d
MF	P	15.19 ^b	4.93 ^{ab}	5.02 ^b
	B	14.93 ^b	5.07 ^a	5.28 ^a
	S	15.97 ^a	4.63 ^{bc}	4.96 ^b
	HS	15.40 ^{ab}	4.86 ^{ab}	5.12 ^{ab}
SEM ⁶⁾		0.26	0.06	0.08
MEAN				
Meal	AL	12.01 ^b	4.42	4.30 ^b
Frequency	MF	15.37 ^a	4.87	5.10 ^a
SEM		0.26	0.06	0.08
Source of Lipid	P	13.54	4.51	4.85
	B	13.54	4.96	4.60
	S	14.08	4.45	4.83
	HS	13.70	4.67	4.51
SEM		0.26	0.06	0.08
Analysis of variance				
Meal frequency		p<0.001	NS	p<0.001
Source of lipid		NS	NS	NS
Meal frequency × Source of lipid		NS	NS	p<0.001

1) Abbreviations : AL, ad-libitum ; MF, meal feeding ; P, palm oil ; B, beef tallow ; S, soybean oil ; HS, hydrogenated soybean oil

2) Values(unesterified cholesterol) iriginated from radioactivity(¹⁴C-acetate) in total cells after removal of media(18 hr incubation)

3) n mole ¹⁴C-glucose incorporated into total lipids/mg in 2 hours

4) μeq nonesterified fatty acid(NEFA) released/mg in 2 hours

5) a, b, c, d : values within the same column with different superscripts are significantly different(p<0.05)

6) Pooled standard error of the mean

4주간 급여한 후 간조직에서의 콜레스테롤합성 능력을 측정하였는데, 2주 급여한 군이나 4주 급여한 군 모두 trans지방산을 많이 함유한 hydrogenated safflower oil에서 유의성있게 높았음을 보고하였다.

Brice와 Okey는²⁵⁾ 식이급여형태가 간조직의 콜레스테롤합성 능력에 미치는 효과에 대하여 보고하였는데 총 에너지의 5%와 40%의 지방식이를 ad-libitum과 pair-fed에 의해 3주간 급여한 후 acetate-2-¹⁴C을 이용한 *in vivo* 실험에서 40% pair-fed의 지방식이군이 ad-libitum군들에 비해 간조직의 콜레스테롤로 편입되어진 양이 현저히 높았음을 보고하였다.

이상의 결과 acetate-1-¹⁴C이 간조직에서의 콜레스테롤합성 능력에 미치는 효과는 지방의 종류에 의한 영향을 받아 불포화도가 높은 대두유군이나 경화대두유군에서 콜레스테롤합성 능력이 증가되었다. 이는 Nestle 등과²⁶⁾ Ramesha 등이²⁷⁾ 불포화 지방산이 간조직의 콜레스테롤합성 능력을 증가시키는 요인은 혈장 콜레스테롤 pools의 신속한 제거, 담즙을 통한 배설증대 및 내인성 콜레스테롤합성 억제 기전과 관련이 있다고 보고하였는데, 본 실험에서도 식이내 불포화지방산에 의해 혈청 콜레스테롤농도가 저하되었고, 그로 인해 간조직의 콜레스테롤합성 능력이 증가된 것이 아닌가 사료된다.

3. 간조직에서의 *in vitro* 지방대사

식이내 지방의 종류와 식이급여형태가 흰쥐의 간조직내 지방합성 및 분해능력에 미치는 영향을 살펴보면 Table 5에 나타난 바와 같다.

전체 처리별로 살펴보면 지방합성 능력은 MP (meal feeding+ palm oil) 군이 AP(ad-libitum+ palm oil)군에 비해, MHS(meal feeding+hydrogenated soybean oil)군이 AHS(ad-libitum+hydrogenated soybean oil)군에 비해 각각 유의하게 ($p < 0.05$) 높았고, 식이지방의 효과로는 포화도가 높은 AB(ad-libitum+beef tallow)군과 MB(meal feeding+beef tallow)군에서 다른 지방보다 유의적으로 ($p < 0.05$) 증가하였다.

평균하여 살펴 본 결과에 의하면 간조직의 지방합성 능력은 식이급여형태나 식이지방의 종류에

의한 통계적 유의성이 관찰되지 않았다.

이와 관련된 연구 결과로 Hill 등은²⁸⁾ 무지방식이군, 식물성유지군, 경화식물성유지군 및 라아드군을 이용하여 식이를 3일간 급여한 후 ¹⁴C-acetate를 사용하여 간조직의 지방합성 능력을 측정하였는데, 무지방식이군이 가장 높은 경향이었으나, 포화도가 높은 라아드군은 식물성유지군 및 경화식물성유지군과 비슷한 경향을 나타내어 간조직의 지방합성에는 포화지방산이든 불포화지방산이든 영향이 없다고 보고하여 본 연구와 상반된 견해를 보였는데, 이는 meal feeding으로 단기간 연구한 것이기 때문이라 사료된다. Clarke 등은²⁹⁾ 3% stearic acid와 3% linoleic acid로 각각 첨가한 식이를 meal feeding으로 8일간 흰쥐에게 급여시킨 후 간대사에 미치는 식이지방산의 영향은 ¹⁴C-glucose를 이용한 *in vitro* 실험에서 PUFA에 의해 지방합성이 감소되는 경향을 보여 본 실험과 일치했다.

지방합성의 제어에는 단기조절인 효소활성의 조절에 의한 제거기전과 장기조절인 효소의 양을 제어하는 기전으로 적응조절(adaptive control)이라고도 한다. 지방합성의 장기조절 즉 적응조절의 변화는 외부의 자극제(영양이나 호르몬)나 발육상에 따라 일어나며 이때의 조절기능은 지방합성에 관여하는 효소단백의 생합성 및 분해를 조절하므로써 이루어지는 것이라고 보고하였다³⁰⁾. Clarke²⁹⁾ 등은 PUFA를 첨가하면 간장내 지방합성 능력이 감소되는데, 이것은 지방산합성의 감소와 지방산합성에 관여하는 효소와 서로 밀접한 관계가 있다고 보고하였다.

간에서의 지방분해 능력을 전체 처리별로 살펴보면 MF식이 AL식에 비해 다소 증가된 경향으로 MP(meal feeding+ palm oil)군이 AP(ad-libitum+ palm oil)군에 비해, MB(meal feeding+beef tallow)군이 AB(ad-libitum+beef tallow)군에 비해, MS(meal feeding+soybean oil)군이 AS(ad-libitum+soybean oil)군에 비해, MHS(meal feeding+hydrogenated soybean oil)군이 AHS(ad-libitum+hydrogenated soybean oil)군에 비해 유의성있게 ($p < 0.05$) 증가하였고, MB(meal feeding+beef tallow)군과 MHS(meal feeding+hydrogenated soybean

oil)군이 다른군에 비해 현저하게 높은($p < 0.05$) 경향이였다. 평균하여 살피 본 간조직의 지방분해 능력은 MF군이 AL군에 비해 유의성있게($p < 0.001$) 증가하였다. 식이지방의 종류에 의한 영향은 받지 않았으나, 팜유군에서 가장 높은 경향이였다.

이상의 결과 간조직의 지방합성 및 분해 능력은 식이내 지방의 종류보다 식이급여형태에 의해 영향을 받아 MF군이 AL군에 비해 지방합성 및 분해 능력이 증가하는 경향을 보였다. 지방합성 및 분해 능력이 MB(meal feeding+beef tallow)군이 다른군에 비해 유의성있게($p < 0.05$) 높았으며, 불포화 지방산인 대두유군에서 지방합성의 제어 효과를 관찰하였다.

4. 지방조직에서의 *in vitro* 지방대사

식이내 지방의 종류와 식이급여형태가 흰쥐의 지방조직에서의 측정된 *in vitro* 지방합성 및 지방분해 능력을 보면 Table 6에 나타난 바와 같다.

전체 처리별로 살펴보면 지방조직의 지방합성 능력은 AHS(ad-libitum+hydrogenated soybean oil)군이 MHS(meal feeding+hydrogenated soybean oil)군에 비해 유의하게($p < 0.05$) 낮은 경향이였으며, 불포화도가 높은 대두유군이 다른 지방군에 비해 유의적으로($p < 0.05$) 감소하였다.

평균하여 살피 본 결과에 의하면 지방조직의 지방합성 능력은 식이급여 형태에 의해 영향을 받아 MF군이 AL군에 비해 유의성있게($p < 0.05$) 증가된 경향이였으며, 식이내 지방의 종류에 의해서도 영향을 받아 우지군이 가장 높았고, 경화대두유군, 팜유군, 대두유군 순으로 나타났다.

Waterman 등은³¹⁾ safflower oil과 우지를 흰쥐, 닭 및 돼지에게 급여한 후 간장 조직내 지방합성 능력은 불포화지방산인 safflower oil을 급여한 군에서 저하된 반면 지방조직의 지방합성 능력은 포화지방산인 우지를 급여한 군에서 현저히 저하되었음을 보고하여 본 연구와 상반된 결과를 나타냈다. Clarke 등은²⁹⁾ 3% stearic acid(C18:0)와 3% linoleic acid(C18:3)를 meal feeding에 의해 급여한 후 ¹⁴C-glucose를 사용하여 *in vitro*상에서 지방조직의 지방산 합성을 조사한 결과 stearic acid

Table 6. Effects of dietary lipid sources and meal frequency on lipogenic and lipolytic activity in rat adipocytes *in vitro*

Treatment ¹⁾		lipogenic activity ²⁾ (n mol/mg)	lipolytic activity ³⁾ (µeq/mg)
Meal Frequency	Source of Lipid		
	P	16.57 ^{bc4)}	6.12 ^b
AL	B	18.52 ^{ab}	5.92 ^c
	S	16.67 ^{bc}	6.90 ^a
	HS	16.73 ^{bc}	6.91 ^a
	P	18.47 ^{ab}	6.17 ^b
MF	B	20.73 ^a	5.67 ^d
	S	15.90 ^c	4.99 ^e
	HS	19.45 ^a	5.64 ^d
	SEM ⁵⁾	0.31	0.09
MEAN			
Mean	AP	17.12 ^b	6.46 ^a
Frequency	MF	18.64 ^a	5.62 ^b
SEM		0.31	0.09
Source of Lipid	P	17.52 ^{bc}	6.14
	B	19.63 ^a	5.79
	S	16.28 ^c	5.95
	HS	18.09 ^b	6.28
SEM		0.31	0.09
Analysis of variance			
Meal frequency		$p < 0.05$	$p < 0.001$
Source of lipid		$p < 0.001$	NS
Meal frequency × Source of lipid		$p < 0.05$	$p < 0.001$

1) Abbreviations : AL, ad-libitum ; MF, meal feeding ; P, palm oil ; B, beef tallow ; S, soybean oil ; HS, hydrogenated soybean oil

2) n mole ¹⁴C-glucose incorporated into total lipids/mg in 2 hours

3) µeq nonesterified fatty acid(NEFA) released/mg in 2 hours

4) a, b, c, d, e : values within the same column with different superscripts are significantly different($p < 0.05$)

5) Pooled standard error of the mean

처리구에서 지방산 합성이 증가하였다고 보고하여 본 실험과 일치하였다. Leveille와 Hanson은¹⁹⁾ 지방조직의 지방합성은 식이급여형태에 의해 영향을 받아 meal feeding시 dc novo 합성과 관련된 효소의 역가를 증가시킴으로써 지방조직의 지방합성 능력을 증가시켰다는 보고와도 일치하였다.

지방조직에서의 지방분해 능력은 전체 처리별로 살펴보면 AL식이 MF식에 비해 다소 증가된 경향으로 AB(ad-libitum+beef tallow)군이 MB(meal feeding+beef tallow)군에 비해, AS(ad-libitum+soybean oil)군이 MS(meal feeding+soybean oil)군에 비해, AHS(ad-libitum+hydrogenated soybean oil)군이 MHS(meal feeding+hydrogenated soybean oil)군에 비해 유의적으로($p<0.05$) 증가하였으며, AS(ad-libitum+soybean oil)군과 AHS(ad-libitum+hydrogenated soybean oil)군이 다른 군에 비해 다소 높은 경향이였다. 평균하여 살펴본 결과에 의하면 지방조직의 지방분해 능력은 식이급여형태에 의해 유의성이 ($p<0.001$) 보여 AL군이 MF군에 비해 증가된 경향이였으나, 지방의 종류에 따른 유의차는 나타나지 않았다. 이와 관련된 연구 결과로는 지방조직을 가지고 연구한 결과는 아니지만 Weintraub 등이³²⁾ 건강한 성인에게 SFA(saturated fatty acid), $\omega 6$ PUFA(polyunsaturated fatty acid) 및 $\omega 3$ PUFA식을 ad-libitum으로 25일간 급여한 후 혈액내 지방분해 능력을 측정하였는데 SFA군이 유의성있게 감소되었다고 보고하여 본 연구에서도 AL군에서 포화도가 높은 우지군의 지방분해 능력이 가장 저하되었음이 관찰되었다. 식이급여형태가 지방분해 능력에 영향을 주어 nibbing 시킨 쥐가 meal feeding 시킨 쥐에 비해 지방분해 능력이 증가하였다는 Wiley와 Leveille³³⁾의 보고와도 비슷한 경향이였다.

이상의 결과 지방조직의 지방합성 능력이 meal feeding시 포화지방이 많이 함유된 식이를 섭취시 증가되는 것으로 나타났으며, 지방분해 능력은 AL군이 MF군에 비해 증가된 경향을 보여 식이급여형태가 지방조직의 지방분해에 유의적인($p<0.001$) 영향을 미친다는 결론을 얻을 수 있었다.

요 약

본 시험은 Sprague-Dawley 계통 흰쥐 수컷에게 지방의 종류와 식이급여 횟수를 달리하면서 급여하였을 때 성장 및 지방대사에 미치는 영향을 알아보고자 4종류의 지방(팜유, 우지, 대두유 및 경화대두유) 및 2종류의 식이급여형태(ad-libitum, meal feeding)를 달리하여 4×2 요인시험으로 실시하였다. 4주간 시험식을 ad-libitum(AL)군은 식이를 제한없이 자유롭게 섭취하도록 하였으며, meal feeding(MF)군은 1일 1회 즉, 09:00~12:00 까지만 식이를 제한없이 급여하였다. 사양시험 종료후 간조직에서의 콜레스테롤합성 능력을 알아보기 위해 흰쥐의 간조직을 채취하여 *in vitro* 배양 시험을 실시하였다. 또한 간과 지방조직에서의 지방합성 및 분해 능력을 알아보기 위해 사양시험이 끝난 흰쥐의 간과 지방조직을 채취하여 *in vitro* 세포배양상에서의 지방합성 능력과 지방분해 능력을 측정하였다. 본 시험에서 얻어진 결과를 요약 하면 다음과 같다.

1) 성장하는 흰쥐의 증체량, 식이섭취량 및 식이효율은 AS(ad-libitum+soybean oil)군과 AHS(ad-libitum+hydrogenated soybean oil)군이 다른 군에 비해 유의하게($p<0.05$) 증가하였다. 식이지방의 종류에 의한 영향은 받지 않고, 식이급여형태에 의한 차이를 보여 MF군이 AL군에 비해 식이섭취량이 감소하였고, 증체량도 60%정도로 유의성있게($p<0.05$) 감소했다.

2) 간조직의 콜레스테롤합성 능력은 식이급여형태에 의한 차이를 보여 MF군이 AL군에 비해 간조직의 콜레스테롤합성 능력이 증가되는 경향을($p<0.001$) 보였는데 특히 불포화도가 높은 대두유군에서 유의성있게($p<0.05$) 증가되었다.

3) 간조직의 *in vitro* 지방합성 능력은 MP(meal feeding+palm oil)군이 AP(ad-libitum+palm oil)군보다, MHS(meal feeding+hydrogenated soybean oil)군이 AHS(ad-libitum+hydrogenated soybean oil)군보다 유의하게($p<0.05$) 증가했고, AB(ad-li-

bitum + beef tallow)군과 MB(meal feeding + beef tallow)군에서 지방합성 능력이 현저하게 증가되는 경향을($p < 0.05$) 보였다. 식이급여형태나 식이지방의 종류에 의한 차이는 보이지 않았다. 간조직에서의 *in vitro* 지방분해 능력은 MF군이 AL군에 비해 유의하게($p < 0.001$) 증가했고, 식이지방의 종류에 의한 차이는 나타나지 않았다.

4) 지방조직의 *in vitro* 시험에 의하면 MF식이 AL식에 비해 지방합성 능력이 유의성있게($p < 0.05$) 증가하였으나, 지방분해 능력은 저하되었다($p < 0.001$). 식이지방의 종류에 의한 영향을 받아 우지군이 다른 지방군에 비해 지방합성 능력이 유의성있게($p < 0.001$) 증가되는 경향을 보였으나, 지방분해 능력은 식이지방의 종류에 의한 영향을 받지 않았다.

Literature cited

- 1) Widdowson EH, Dauncey MJ. Obesity. Nutrition review's present knowledge in nutrition. Nutrition Foundation Publications, Inc. New York, p17, 1976
- 2) Wood JD, Reid JT. The influence of dietary fat on fat metabolism and body fat deposition in meal-feeding and nibbling rats. *Br J Nutr* 34 : 15, 1975
- 3) De Bont AJ, Romsos DR, Tsai AC, Waterman RA, Leveille GA. Influence of alterations in meal frequency on lipogenesis and body fat content in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 149 : 849, 1975
- 4) 이기열. 한국인의 식생활: 어제, 오늘 그리고 내일. 한국전통음식문화연구원 지원연구보고서. 1989
- 5) Ohlrogy JB, Emken EA, Gulley RM. Occurance of fatty acid isomers from dietary hydrogenated oils in human tissues. *J Lipid Res* 22 : 955, 1981
- 6) 한인규. 쥐의 급식 회수와 체지방 과다 합성. 한국농화학회지 7 : 21, 1966
- 7) 박양자 · 한인규. 식이단백질과 급식형태가 흰쥐의 성장, 대사 및 체조성에 미치는 영향. *한국영양학회지* 15(4) : 301, 1982
- 8) Romsos DR, Belo PS, Bergen WG, Leveille GA. Influence of meal frequency on body weight, plasma metabolites, and glucose and cholesterol metabolism in the dog. *J Nutr* 108 : 238, 1978
- 9) Armstrong MK, Romsos DR, Leveille GA. Time sequence of lipogenic changes in adipose tissue of rats when converted from ad-libitum feeding to meal-eating. *J Nutr* 106 : 884, 1976
- 10) Fabry P, Tepperman J. Meal frequency-a possible factor in human pathology. *Am J Clin Nutr* 23 : 1059, 1970
- 11) Leveille GA. Influence of dietary fat level on the enzyme and lipogenic adaptation in adipose tissue of meal-fed rats. *J Nutr* 91 : 267, 1967
- 12) Chakrabarty K, Leveille GA. Influence of periodicity of eating on the activity of various enzymes in adipose tissue, liver and muscle of the rat. *J Nutr* 96 : 76, 1969
- 13) Leveille GA, O'Hea EK. Influence of periodicity of eating on energy metabolism in the rat. *J Nutr* 93 : 541, 1967
- 14) Young CM, Hutter LF, Scanlan SS, Rand CE, Lutwak L, Simko V. Metabolic effects of meal frequency on normal young men. *J Am Diet Ass* 61 : 391, 1972
- 15) Gwinup G, Byron RC, Rouch WH, Kruger FA, Hamwi GJ. Effect of nibbling versus gorging on serum lipids in man. *Am J Clin Nutr* 13 : 209, 1963
- 16) Folch J, Lees M, Sloane-Stanely GH. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J Biol Chem* 226 : 497, 1957
- 17) Mersmann HJ. Acute effects of metabolic hormones in swine. *Comp. Biochem Physiol* 83A : 653, 1986
- 18) SAS. Procedures guide for personal computers. Version 6 edition. SAS institute. Cary, N.C. 1985
- 19) Leveille GA, Hanson RW. Influence of periodicity eating on adipose tissue metabolism in the rat. *J Physiol Pharmacol* 43 : 857, 1965
- 20) Leveille GA, Charkrabarty K. Absorption and utilization of glucose by meal fed and nibbling rats. *J Nutr* 96 : 69, 1968
- 21) Robinson DS, Wing DR. Clearing factor lipase and its role in the regulation of triglyceride utilization. Studies on the enzyme in adipose tissue. *Adv Exp Med Biol* 26 : 71, 1972
- 22) Carlson S, Arnrich L. Influence of dietary lipid and

- meal pattern on body composition and lipogenesis in adult rats. *J Nutr* 108 : 1162, 1978
- 23) Triscari J, Hamilton JG, Sullivan AC. Comparative effects of saturated and unsaturated lipids on hepatic lipogenesis and cholesterogenesis *in vivo* in the meal-fed rat. *J Nutr* 108 : 815, 1978
- 24) Brice EG, Okey R. The effect of fat intake on incorporation of acetate-2-¹⁴C into liver lipid and expired carbon dioxide. *J Biol Chem* 223 : 115, 1956
- 25) Nestle P, Homma Y, Scott TW, Cook LJ, Havenstein LJ. Increased sterol excretion with polyunsaturated sterol excretion with polyunsaturated-fat high-cholesterol diets. *Metabolism* 24 : 189, 1975
- 26) Ramesha CS, Paul R, Ganguly J. Effect of dietary unsaturated oils on the biosynthesis of cholesterol and on biliary and fecal excretion of cholesterol and bile acids in rats. *J Nutr* 110 : 2149, 1980
- 27) Hill R, Linazasoro JM, Chevalier F, Chaikoff IL. Regulation of hepatic lipogenesis : the influence of dietary fats. *J Biol Chem* 233 : 305, 1958
- 28) Ide T, Okamatsu H, Sugano M. Regulation by dietary fats of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A reductase in rat liver. *J Nutr* 108 : 601, 1978
- 29) Clarke SD, Romsos DR, Leveille GA. Differential effects of dietary methyl esters of long chain saturated and polyunsaturated fatty acids on rat liver and adipose tissue lipogenesis. *J Nutr* 107 : 1170, 1977
- 30) Bloch K, Vance D. Control mechanisms in the synthesis of saturated fatty acids. *Ann Rev Biochem* 46 : 263, 1977
- 31) Waterman RA, Romsos DR, Tsai AC, Miller ER, Leveille GA. Effects of dietary safflower oil and tallow on growth, plasma lipids and lipogenesis in rats, pigs and chicks. *Proc Soc Exp Biol Med* 150 : 347, 1975
- 32) Weintraub MS, Zechner R, Brown A, Eisenberg S, Breslow JL. Dietary polyunsaturated fats of the ω -6 and ω -3 series reduce postprandial lipoprotein levels : chronic and acute effects of fat saturation on postprandial lipoprotein metabolism. *J Clin Invest* 82 : 1884, 1988
- 33) Wiley JC, Leveille GA. Significance of insulin in the metabolic adaptation of rats to meal ingestion. *J Nutr* 100 : 1073, 1970