

한국산잣기름이 정상토끼의 혈중 지방질 및 지단백질의 대사에 미치는 영향*

윤태현·이상무

한림대학교 한국영양연구소

Effect on Blood Lipids and Lipoproteins of A Supplement of Korean Pinenut Oil,
rich in 5-Olefinic Acids, in Normocholesterolemic New Zealand White Rabbits

Yoon, Tai Heon · Lee, Sang Mu
Korea Institute of Nutrition, Hallym University, Chuncheon, Korea

ABSTRACT

The present study was carried out in normocholesterolemic New Zealand white(NZW) rabbit, to evaluate the effect of dietary supplementation with Korean pinenut oil, on plasma lipids, plasma lipoproteins, liver lipids and platelet aggregation. NZW rabbits were fed for 80 days on a commercial chow diet supplemented with 5% of energy as fats(soybean oil or pinenut oil) or 10% of energy as fats(soybean oil or pinenut oil). A control group was fed a commercial stock diet. There were no significant effects of pinenut oil on plasma free cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, glucose and lecithin-cholesterol acyltransferase, as compared with those obtained from rabbits fed the soybean oil diet. After 80 days, the concentration of plasma free fatty acid in only the pinenut oil group was significantly decreased by about 50% relative to the control diet. At the end of the dietary treatment, liver triglycerides and phospholipids were significantly decreased in the pinenut oil group, compared to the chow diet, whereas the soybean oil-consuming rabbits had only significantly decreased phospholipid levels. Cholesterol contents of liver were unaffected by type of dietary fat. At the end of 80 days, a diet containing pinenut oil resulted in a decrease in apolipoprotein B and the apo B/apo AI ratio as compared with the stock diet or soybean oil diet. Platelet aggregation induced by collagen or arachidonic acid was depressed significantly in pinenut oil diet.

KEY WORDS : blood lipids · lipoproteins · pinenut oil · NZW rabbit

제작일 : 1994년 4월 1일

*본 연구과제는 1989~1990년도 교육부 학술연구조성비 및 1990~1991년도 한림대학교 학술연구 조성비로 수행되었으며, 파스테르유업주식회사로부터도 연구비 일부를 지원받았음.

서 론

잣나무(*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.)는 해송, 신라송, 오엽송, 홍송이라고도 하는데 우리나라(북한포함)를 비롯하여 만주, 흑룡강 유역 등에 많이 분포되어 있다¹⁾. 우리나라(북한제외)에서는 전국 각지에 자생 또는 조림되어 있으며 연간 총자 생산량이 5십만에서 1백만 kg 전후로서 이 중 약 80~85%는 강원도와 경기도에서 생산되고 있다²⁾.

잣의 일반성분 조성을 보면 지방질이 70% 전후, 단백질 15~19%, 탄수화물 5~18%, 회분 2~3% 수준으로서 지방질을 다량 함유하고 있음을 볼 수 있다¹⁾³⁾⁴⁾. 지금까지 잣에 대한 성분 연구는 주성 분인 지방질에 대한 것이 거의 대부분인데 특히 지방산조성에 관한 논문들이 많이 발표되어 오고 있다¹⁾³⁾⁴⁾⁷⁾. 1926년 松山와 吉田⁵⁾가 최초로 한국산 잣기름으로부터 미리스틴산(14 : 0), 팔미트산(16 : 0), 스테아르산(18 : 0), 올레산(18 : 1), 리놀레산(18 : 2), 리놀렌산(18 : 3) 등 6종의 지방산을 화학적으로 분리·보고하였다.

그후 1980년대까지 가스 크로마토그래피로 여러 연구자들에 의해 지방산 조성이 보고되어 왔지만 올레산과 아라키드산(20 : 0) 사이의 미지의 지방산 동정과 그 함량에 연구자마다 심한 차이를 보이고 있었다¹⁾³⁾⁴⁾⁹⁾. 이에 저자가 조사하여 본 바 5-olefin 계 지방산임을 확인하였다¹⁾. 이 5-olefin 계 지방산은 일반 식물성 기름이나 동물성 기름 등에는 없는 아주 특이한 지방산이며, 최근에 한국산 잣 지방질의 주요 지방산으로 함유되어 있는 이 지방산이 지방질 대사에 중요한 역할을 할 것이라고 발표한 바 있다¹⁰⁾.

5-olefin 계 지방산은 침엽수의 잎과 종자, 연체 동물, 해조류 등에 함유되어 있는 지방산인데¹¹⁾¹²⁾, 탄소수와 이중결합수가 동일한 통상의 지방산에 비하여 산화에 더 안정하다고 한다. 최근 Ikeda¹³⁾은 한의학에서 많이 사용해 온 *Biota orientalis* 종자유의 5-olefin 계 지방산은 리놀레산이나 리놀렌산에 비하여 훤취 혈중 콜레스테롤 저하 효과가 두드러짐을 보고하였다.

그런데 잣은 예부터 우리나라 전통식품 중의 하나이며 건강식품이었음에도 불구하고 영양학적으로 연구된 것은 일반 영양성분과 지방산 조성을 밝힌 것 뿐이다. 그러므로 5-olefin 계 지방산이 들어 있는 잣 지방질의 임상영양학적 연구는 그 어느 때보다도 절실히 요구되고 있다. 본 연구에서는 잣에 함유되어 있는 5-olefin 계 지방산이 정상 토끼에게서 지방질 및 지단백질 대사에 미치는 영향을 조사하여 동맥경화증은 물론 당뇨병, 고혈압, 뇌졸중 등의 각종 성인병의 예방 및 치료에 잣기름의 이용여부를 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

토끼사료는 삼양유지사료주식회사의 토끼사육용 고형사료(pellet)인 “토끼 1호”였으며, 잣기름 추출용 잣은 1989년과 1990년 11월에 강원도 홍천군에서 생산된 것을 직접 구입하였다.

본 실험에 사용한 혁산은 Tedia사(Ohio, 미국)로부터, 클로로포름은 Mallinckrodt Specialty Chemical사(Kentucky, 미국)로부터, 메탄올과 에틸에테르는 BDH Limited사(Poole, 영국)로부터, 콜레스테롤, 아포지단백질(apolipoprotein A-1)과 B 측정 시약은 Sigma사(St. Louis, 미국)로부터, 총콜레스테롤, 유리콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 트리글리세리드, 인지방질, 글루코스 측정용 시약은 和光純薬工業株式會社(大阪, 일본)로부터, 혈소판 aggregation 측정용 시약인 아라키돈산, adenosine diphosphate(ADP), 콜라겐(collagen) 등은 Chrono-Log Corporation사(Pennsylvania, 미국)로부터, 그리고 지방산 표준품과 충진제 등은 Supelco사(Pennsylvania, 미국)로부터, 각각 구입하였다. 기타의 시약은 전부 특급시약을 사용하였다.

2. 실험설계

실험동물은 New Zealand white(NZW) 계 토끼 숫컷으로 생후 100~120령된 것을 국립종축원으로부터 구입하여 한림대학교 실험동물부에서 체중이 평균 2kg 이상 될 때까지(구입 후 약 10일 정도)

Table 1. Composition of the stock diet(commercial chow diet) and the experimental diets(g/100g diet)

	Control		5 % group		10 % group	
	Stock diet	KJ(%)	Stock diet + 5 % fat ^a	KJ(%)	Stock diet + 10 % fat ^a	KJ(%)
Moisture	12.30±	0.27	—	12.09±	0.27	—
Total sugars	38.85±	0.88	57.90	38.20±	0.86	54.70
Protein	21.46±	0.43	31.98	21.10±	0.42	30.21
Total lipids	3.02±	0.15	10.12	4.68±	0.15	15.09
Ash	5.80±	0.69	—	5.71±	0.68	—
KJ/kg diet	11,228.88± 168.47		11,687± 165.00		12,146.67± 161.44	

Each datum represents the average of triplicate samples.

*Supplemented with 5 or 10% fat(soybean oil or pinenut oil) of total energy intakes per day.

예비사육하였다.

실험군은 Table 1에 표시되어 있는 바와 같이 대조군, 콩기름 5% 보충군여군, 콩기름 10% 보충군여군, 잣기름 5% 보충군여군, 잣기름 10% 보충군여군 등 난피법으로 5군으로 나누고, 1군당 예비사육이 끝난 토끼 5마리씩 배정하여 cage당 한 마리씩 넣어 80일 동안 사육하였다. 실험식이의 성분 및 에너지조성은 Table 1과 같다. 대조군은 총에너지 중 당질 58%, 단백질 32%, 지방질 10%로 구성된 시판고형사료(commercial chow diet)를 공급하였다.

콩기름 및 잣기름 5% 군은 콩기름이나 잣기름만 고형사료의 총에너지량에서 총지방질이 고형사료 자체의 지방질을 포함하여 15% 수준이 되게 더 보충하였으며, 이때 지방질 5% 보충군여군의 에너지 구성비를 보면 당질이 55%, 단백질이 30% 수준이었다. 콩기름 및 잣기름 10% 보충군여군도 콩기름이나 잣기름만 고형사료의 총에너지에서 총지방질이 20% 수준이 되게 더 보충하였으며 이때 총에너지 중 당질은 52%, 단백질은 28% 수준이었다. 실험식이인 고형사료와 콩기름 및 잣기름의 지방산 조성은 Table 2와 같다.

실험 80일 전 기간동안 물은 자유로이 섭취시켰으며 사육실 온도는 20~25°C, 습도는 50%로 유지시키고 12시간 간격으로 점등과 소등을 실시하였다. 사료섭취량은 매일 오전 9시에 측정하여

Table 2. Fatty acid composition(% of total fatty acids) of commercial chow diet, soybean oil and pinenut oil

Fatty acid	Commercial chow diet	Soybean oil	Pinenut oil
12 : 0	0.02	trace	—
14 : 0	0.17	0.07	0.01
15 : 0	0.03	0.01	—
16 : 0	14.47	10.32	4.81
16 : 1	0.23	0.03	0.08 ^a
17 : 0	0.12	0.09	0.08
18 : 0	2.26	2.83	1.80
18 : 1	20.48	21.63	28.82 ^b
18 : 2	54.38	54.52	46.55
18 : 3, 5, 9, 12	—	—	13.70
18 : 3 ω3	4.03	8.57	0.15
20 : 0	0.25	0.38	0.31
20 : 1 ω9	0.42	0.21	1.35
20 : 2 ω6	0.14	0.11	0.59
20 : 3, 5, 11, 14	—	—	1.13
22 : 0	0.08	0.34	0.08
22 : 1	0.01	0.02	—
22 : 5 ω3	0.32	—	—
22 : 6 ω3	0.23	—	—
24 : 0	—	0.16	—
24 : 1	—	0.05	—
Others	2.36	0.61	0.54

a) Also contains 16 : 1 ω9, trace.

b) Also contains 18 : 1 ω7, 0.91%.

잣기름과 토끼의 지방질 대사

24시간 사료섭취량을 계산한 다음 종기를 빛 젓기름을 총섭취에너지에서 사료자체의 지방질을 포함하여 각각 15% (평균 2.5g/마리/일)와 20% (평균 4.7g/마리/일)에 해당되는 양을 매일 경구투여하였다. 체중 증가량은 일주일에 한번씩 측정하여 식이효율을 계산하였다.

3. 실험방법

1) 고형사료의 영양성분과 고형사료 및 식이지방의 지방산조성

고형사료의 영양성분은 상법에 따라, 그리고 고형사료와 식이지방의 지방산조성은 전보¹⁰⁾의 방법에 따라 행하였다.

2) 잣기름 추출

종피를 제거한 잣 약 30g을 유발에서 마쇄하여 1,000ml 분액여두에 옮겨 담은 다음 혼산 350ml를 가하여 실온에서 2시간동안 진탕하면서 추출하였고 여과와 농축은 전보와 동일하게 행하였다¹⁰⁾.

3) 혈액채취 및 혈장분리

혈액채취 12시간 전에 절식시킨 후 토끼고정대에 넣어 고정시켜 귀동맥에 크릴렌을 바른 다음 10ml 주사기로 약 10ml를 채취하였다. 혈액은 항응고제 (5% EDTA와 5% NaN₃가 들어 있는 용액) 0.2ml가 들어 있는 15ml polypropylene tube에 조심스럽게 넣고 2~3회 가볍게 기울여 항응고제가 잘 섞이도록 한 다음 늦어도 1시간 이내에 미리 4°C로 조절된 원심분리기로 3,000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈장을 분리해 내었다. 혈장은 소량씩 1.5ml microcentrifuge tube에 분주하여 -70°C freezer에 보관하면서 지방질 측정 시료로 사용하였다.

4) 혈장 지방질, 아포지단백질 및 혈당측정

혈장의 총콜레스테롤, 유리콜레스테롤, 고밀도지단백질-콜레스테롤, 트리글리세리드, 인지방질 등은 효소법¹⁴⁻¹⁷⁾을 이용하여 각각 측정하였다. 콜레스테롤 에스테르는 총콜레스테롤에서 유리콜레스테롤을 뺀 값(esterified cholesterol)에 1.68을 곱하여 계산하였다¹⁸⁾. 초저밀도지단백질-콜레스테롤과 저밀도지단백질-콜레스테롤은 Delogn등¹⁹⁾의 방

법에 따라 계산하였다. 유리지방산은 비색법²⁰⁾으로, 아포지단백질 A-1과 B는 immunoturbidimetry 법으로²¹⁾ 그리고 혈당은 glucose oxidase peroxidase coupled enzyme assay를 이용한 시판 kit로²²⁾ 각각 측정하였다. Lecithin : cholesterol acyltransferase (LCAT)측정은 Dieplinger와 Kostner²³⁾의 방법에 따라 행하였다.

5) 간지방질 추출 및 정량

토끼로부터 간을 적출하여 냉각시킨 생리식염수로 관류시켜 혈액을 제거한 뒤 약 5g을 수술용 가위로 잘게 절단하여 25ml homogenization vessel에 넣고 생리식염수 5ml를 가한 다음 Potter S Homogenizer로 1,000rpm에서 마쇄하였다.

마쇄가 끝난 시료는 250ml 분액여두에 넣고 Follch등²⁴⁾의 방법에 따라 추출하여 총지방질 함량을 구하였다. 이 총지방질을 클로로포름에 녹여 10ml로 정용한 뒤 10~20μl를 각각 취하여 질소 가스로 클로로포름을 전부 날려 보낸 다음 총콜레스테롤, 트리글리세리드 및 인지방질 등을 효소법으로 측정하였다.

6) 혈소판 분리 및 Aggregation 측정

30ml 주사기에 미리 4°C로 냉각시켜 놓은 3.8% 구연산나트륨 2ml를 넣고 복부 대동맥에서 혈액을 18ml채혈 후 가만히 기울여 혼합한 다음 50ml polypropylene 원심분리관에 옮겼다. Platelet rich plasma (PRP)는 실온으로 유지시킨 원심분리기로 960 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻었으며, platelet poor plasma (PPP)는 3,590rpm에서 15분간 원심분리하여 얻었다. PRP와 PPP는 aggregation 측정에 사용할 때까지 37°C Shaking waterbath에 보관하였다²⁵⁾. 혈소판 aggregation은 먼저 37°C로 유지된 PRP를 유리 cuvette에 넣고, 테플론이 괴복된 magnetic bar로 교반시키면서 aggregating agent로 1 ml당 collagen은 10mg, ADP는 5mM, AA는 244mg을 각각 가하여 Platelet Ionized Calcium Aggregometer로 측정하여 Fig. 1에 표시되어 있는 바와 같이 Tmax, Tag, Sag를 계산하였다²⁶⁾.

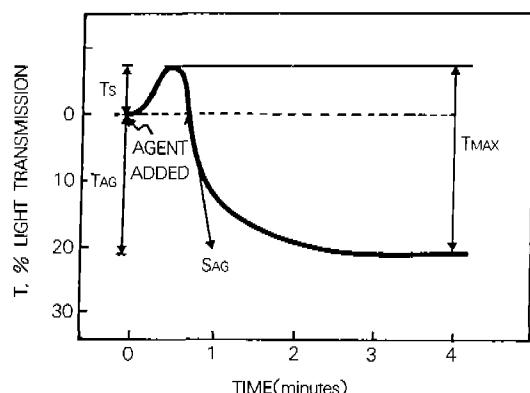


Fig. 1. Quantitation of platelet aggregation curve. Values are measured directly on recorder tracings in mm. TS=change in light transmission due to platelet shape change; TAG=change in light transmission due to platelet aggregation as compared to original transmission level; TMAX=TS+TAG, the maximum change in light transmission; SAG=slope of the initial aggregation curve, respectively.

7) 간 및 대동맥의 조직변화

정상토끼에게 잣기름 및 콩기름 투여시 간조직 변화는 10% neutral formalin으로 고정된 간을 automatic tissue processor로 처리하여 microtome으로 5~7mm의 절편을 만들고 그 다음 Oil Red O로 염색한 후 사진 촬영하였다.

4. 통계처리

각 처리구의 측정값 상호 비교시 유의성은 Student's t-test로 검정하였다.

결과

1. 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

정상토끼에게 시판고형사료, 콩기름 및 잣기름을 80일동안 급여한 뒤 각 식이 처리군별 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율 등을 조사하여 본 바 Table 3과 같은 결과를 얻었다. 잣기름 5% 군은 식이섭취량의 경우 1일당 대조군에 비해서는 200KJ, 콩기름 5%군, 콩기름 10%군, 잣기름 10%군에 비해서는 약 400KJ 각각 많았으며, 체중증가량은 대조군에 비하여 약 400g 정도 더 많았지만 기타 식이처리군들과는 큰 차이가 없었다. 반면에 식이효율의 경우는 대조군에 비하여 콩기름이나 잣기름 투여군 모두 높았는데 잣기름 5%군이 가장 낮았다. 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율 모두 대조군에 비하여 통계적으로는 유의한 차이가 나타나지 않았다.

2. 혈장 지방질 함량

Table 4에 혈장 지방질 함량을 표시하였다. 이 Table에서 볼 수 있는 바와 같이 콩콜레스테롤과 인지방질에서 사육 40일째 5% 잣기름군이 대조군에 비하여 유의한 증가치를 보였고, 사육 80일째 유리지방산에서는 5%와 10% 잣기름군만이 약 50% 정도 유의한 감소가 일어났다. 유리콜레스테롤, 고밀도지단백질-콜레스테롤, 트리글리세리드, 혈당 등에서는 대조군에 비하여 사육기간은 물론 식이지방의 보충수준이나 종류에 따른 차이를 찾아

Table 3. Effect on body-weight gain, food intake and food conversion efficiency of giving rabbits a stock diet or an experimental diet supplemented with soybean oil or pinenut oil

Group	Initial body-wt(g)	Body-wt gain(g) ¹⁾	Food intake ²⁾ KJ/d	Food conversion efficiency ³⁾
Control	2,968±321	621±691	1,615±345	4.64±4.76
5% Soybean oil	2,995±132	998±157	1,427±71	8.73±1.15
10% Soybean oil	2,978±132	847±304	1,384±70	7.47±2.64
5% Pinenut oil	3,094±248	1,015±234	1,830±354	6.69±1.46
10% Pinenut oil	3,098±151	904±464	1,376±179	7.35±3.13

Results expressed as means±SD of four to six rabbits.

1) Body-weight gain during the 80 days.

2) Mean of the food intake measured each day during the 80 days.

3) Food conversion efficiency=(g gained/KJ eaten)×10³.

잣기름과 토끼의 지방질 대사

Table 4. Effect of dietary supplementation with soybean oil or pinenut oil on plasma lipid parameters

		Time on diet		
		0	40 days	80 days
Total cholesterol (mg/100ml)	Control	48.48± 8.40	32.29± 4.38	32.84± 6.41
	5% Soybean oil	48.48± 8.40	39.09± 12.05	35.87± 12.63
	10% Soybean oil	48.48± 8.40	40.06± 4.21	37.76± 11.13
	5% Pinenut oil	48.48± 8.40	49.89± 12.48 ^{a)}	42.92± 12.60
	10% Pinenut oil	48.48± 8.40	45.79± 17.07	40.91± 9.08
Free cholesterol (mg/100ml)	Control	31.26± 4.01	22.52± 2.16	17.25± 3.09
	5% Soybean oil	31.26± 4.01	23.64± 5.47	19.74± 3.72
	10% Soybean oil	31.26± 4.01	21.38± 3.70	14.97± 1.83
	5% Pinenut oil	31.26± 4.01	27.51± 5.12	17.48± 6.38
	10% Pinenut oil	31.26± 4.01	26.60± 7.30	17.59± 3.27
HDL-cholesterol (mg/100ml)	Control	23.68± 6.21	23.56± 4.16	19.61± 4.75
	5% Soybean oil	23.68± 6.21	22.95± 9.41	18.31± 4.63
	10% Soybean oil	23.68± 6.21	25.79± 7.37	23.22± 5.10
	5% Pinenut oil	23.68± 6.21	26.88± 11.67	20.16± 8.90
	10% Pinenut oil	23.68± 6.21	26.55± 2.71	21.24± 4.28
Triglycerides (mg/100ml)	Control	47.15± 27.73	25.28± 9.51	35.77± 10.00
	5% Soybean oil	47.15± 27.73	25.58± 2.94	28.88± 5.21
	10% Soybean oil	47.15± 27.73	39.84± 17.24	33.97± 7.29
	5% Pinenut oil	47.15± 27.73	31.10± 5.40	53.59± 54.48
	10% Pinenut oil	47.15± 27.73	25.58± 9.69	45.20± 31.17
Phospholipids (mg/100ml)	Control	88.28± 6.23	70.44± 9.34	81.25± 6.67
	5% Soybean oil	88.28± 6.23	78.16± 17.80	66.84± 8.25
	10% Soybean oil	88.28± 6.23	77.70± 8.50	81.68± 11.39
	5% Pinenut oil	88.28± 6.23	92.41± 13.64 ^{a)}	75.45± 15.92
	10% Pinenut oil	88.28± 6.23	81.20± 4.63	80.48± 5.15
Free fatty acids (mg/100ml)	Control	5.27± 4.25	5.10± 2.43	5.77± 1.33
	5% Soybean oil	5.27± 4.25	4.05± 1.31	4.53± 0.97
	10% Soybean oil	5.27± 4.25	2.45± 0.90	3.87± 1.38
	5% Pinenut oil	5.27± 4.25	2.74± 1.00	3.05± 1.39 ^{c)}
	10% Pinenut oil	5.27± 4.25	2.26± 0.37	2.83± 0.82 ^{b)}
Glucose (mg/100ml)	Control	120.23± 45.59	111.98± 14.78	117.69± 9.78
	5% Soybean oil	120.23± 45.59	117.69± 15.85	114.11± 7.82
	10% Soybean oil	120.23± 45.59	110.00± 4.12	139.77± 22.70
	5% Pinenut oil	120.23± 45.59	116.11± 9.08	123.04± 15.75
	10% Pinenut oil	120.23± 45.59	108.34± 12.02	110.61± 7.59

Results expressed as means± SD of four to six rabbits.

a) p<0.05, different from control.

b) p<0.01, different from control.

c) p<0.025, different from control.

Table 5. Effect of dietary supplementation with soybean oil or pinenut oil on plasma lecithin-cholesterol acyltransferase activity

Group	Time on diet		
	0	40 days	80 days
Control	39.46 ± 19.22	20.81 ± 15.26	23.98 ± 12.59
5% Soybean oil	39.46 ± 19.22	18.32 ± 16.63	19.15 ± 22.66
10% Soybean oil	39.46 ± 19.22	22.48 ± 19.10	18.32 ± 10.40
5% Pinenut oil	39.46 ± 19.22	30.61 ± 16.77	23.98 ± 4.18
10% Pinenut oil	39.46 ± 19.22	31.41 ± 26.77	28.72 ± 7.77

Results expressed as means± SD of four to six rabbits.

볼 수 없었다.

3. Lecithin-cholesterol acyltransferase 활성

Lecithin-cholesterol acyltransferase 활성은 실험개시 직전(baseline)에 비하여 대조군이나 실험군 모두 10~54% 정도 감소하였으나 유의성은 없었으며 각 사육기간에서 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 5).

4. 간 총지방질 및 지방질조성

콩기름 및 잣기름을 80일동안 투여한 뒤 간 총지방질 및 지방질조성에 미치는 영향을 살펴본 바 Fig. 2와 같은 결과를 얻었다. 총지방질의 경우 대조군에 비하여 콩기름은 26~54% 증가(유의성 없음)하였는데 반면에 잣기름 투여군에서는 대조군과 거의 동일한 수준이었다. 총콜레스테롤은 대조군에 비하여 콩기름이나 잣기름 모두 차이가 없었으며, 트리글리세리드에서는 10% 잣기름군이 49% 감소($p<0.05$)한 값을 나타내었다. 인지방질은 콩기름이나 잣기름 모두 유의한 감소를 보여준 것이 특이하였다.

5. 혈장 아포지단백질 함량

혈장 아포지단백질(Fig. 3) 중에서 아포지단백질 AI은 실험개시 직전이나 각 사육기간의 대조군에 비하여 실험군 모두 거의 대동소이한 값을 표시하였다. 반면에 아포지단백질 B는 사육 80일째에 대조군과 콩기름군이 잣기름군에 비하여 약 3~4배나 높은 수준(유의성은 없음)을 보여 주었다. Apo B/Apo AI의 비도 80일째에 대조군과 콩기름군이 잣기름군에 비하여 1.8~5.0배 높았으며 실험개시 직전에 비하여도 3.3~5.4배나 높았다(5%

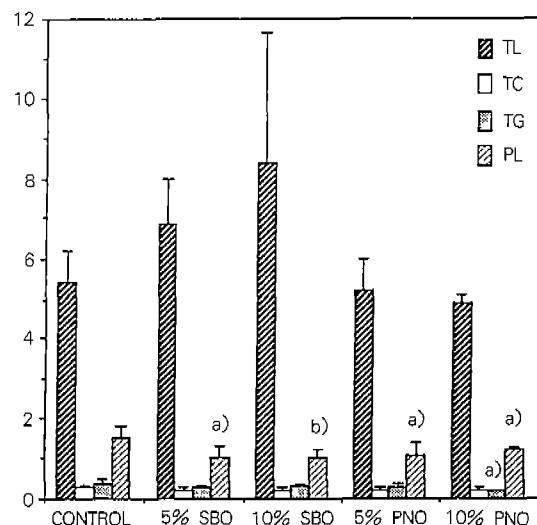


Fig. 2. Effect of dietary supplementation with soybean oil(SBO) or pinenut oil(PNO) on liver composition(g/100g, wet weight).

TL, total lipids ; TC, total cholesterol ;

TG, triglycerides ; PL, phospholipids.

Results expressed as means± SD of four to five rabbits.

a) $p<0.05$, different from control.

b) $p<0.025$, different from control.

콩기름군에서만 유의성 있음).

6. 혈소판 Aggregation

혈장으로부터 분리한 혈소판에 aggregating agent로 콜라겐, ADP, 아라키돈산을 각각 가하여 aggregation curve로부터 T_{max} , Tag, Sag를 계산하여 aggregation 여부를 확인하였다(Table 6). 먼저 콜라겐을 가하였을 시 T_{max} 에서 잣기름에서만 유의

잣기름과 토끼의 지방질 대사

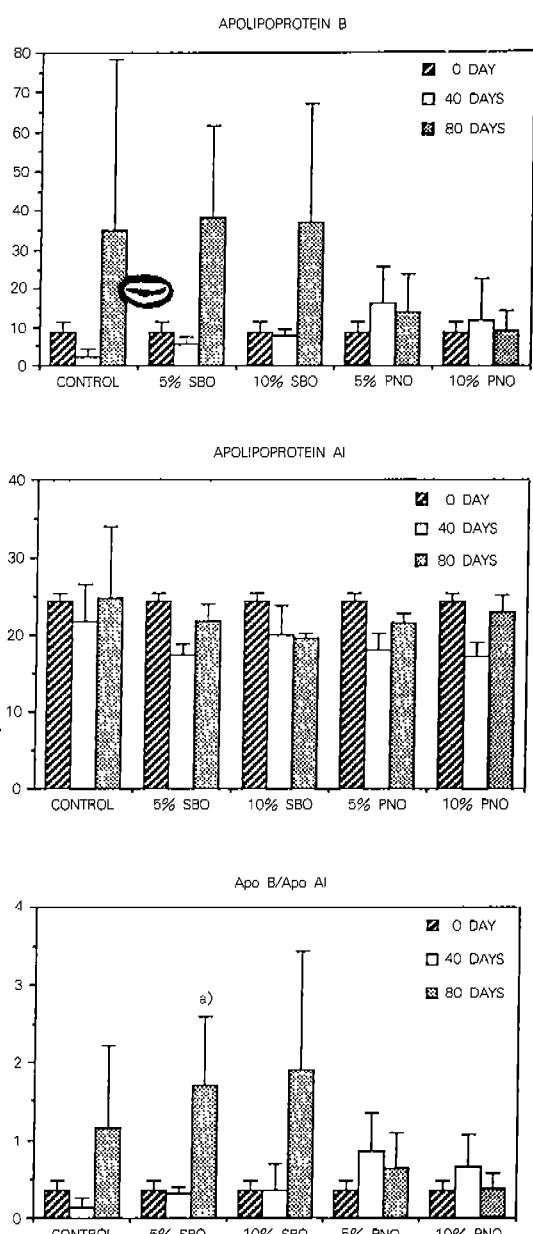


Fig. 3. Effect of dietary supplementation with soybean oil(SBO) or pinenut oil(PNO) on plasma apolipoprotein AI(apo AI), apolipoprotein(apo B) and apo B/apo AI ratio.
Results expressed as means \pm SD of four to six rabbits.
a) p<0.05 different from pinenut oil group.

한($p<0.05$) 감소가 일어났고 Tag나 Sag에서는 대조군에 비하여 차이는 없었으나, ADP를 가하였을 경우는 콩기름군이나 잣기름군 모두 Tmax, Tag, Sag에서 변화가 일어나지 않았다. 아라키돈산을 가하였을 시 대조군에 비하여 10% 콩기름군과 5%와 10% 잣기름군에서 Tmax, Tag의 값이 유의하게 감소하는 경향을 보여주었고, Sag의 값에는 실험군 모두 변화가 일어나지 않았다.

7. 간의 조직변화

콩기름이나 잣기름을 80일동안 투여시 간조직에 지방 침착 여부를 광학현미경으로 관찰하였다. Fig. 4에서 볼 수 있는 바와 같이 콩기름 투여시 간지방세포에 지방이 침착하는 경향이 나타난 반면 잣기름 투여시는 지방침착이 일어나지 않았다.

고 찰

잣 열매는 생식 이외에 과자를 비롯한 기타 전통식품의 향미 특성을 증진시켜 주는 요소로서 중요시 되고 있다²⁷⁾. 잣기름 5%군의 식이 섭취량 증가는 아마 잣의 향기 성분이 식욕을 일부 촉진한 것에 기인한 것으로 간주된다. 그러나 이 식이 섭취량증가가 체중증가로 직접 연결되지는 않았다. 지금까지 보고된 바에 따르면 동물의 혈액에 있는 콜레스테롤과 조직중에 저장된 콜레스테롤은 다같이 식이 지방의 종류에 영향을 받는다고 한다. 젖을 먹고 있는 송아지(suckling calf)와 기니피그²⁸⁾²⁹⁾를 제외한 대부분의 동물과 사람은 포화지방산 섭취 시보다 불포화지방산 섭취시 혈액 중의 콜레스테롤은 함량은 낮다. 더 구체적으로 말하면 식이지방의 고도불포화지방(polyunsaturates ; P), 포화지방산(saturates ; S), monounsaturates의 함량, 그리고 P/S비 등이 혈장 지방질함량의 변동에 직접 관련되어 있다는 점이다.

본 연구에서는 시판고형사료의 P/S의 비가 3.4였고 콩기름이 4.5, 잣기름이 8.6으로서 모두 P/S비가 높았는데도 불구하고 혈장 지방질성분 즉 콜레스테롤, 유리콜레스테롤, 콜레스테롤에스테르, 트리글리세리드, 인지방질 모두 저하경향이

윤태현 · 이상무

Table 6. Effect of dietary supplementation with soybean oil or pinenut oil on platelet aggregation

Aggregating agent	Before	Control	After 80 days					
			5% Soybean oil	10% Soybean oil	5% Pinenut oil	10% Pinenut oil		
Collagen								
T max	87.06±14.72	90.00± 4.33	89.93± 8.63	84.21± 7.07	76.90± 10.05 ^{a)}	74.66± 7.50 ^{a)}		
T ag	59.75±18.93	66.66± 4.58	64.06± 11.11	65.40± 8.82	58.10± 11.50	52.50± 18.08		
S ag	68.50± 7.18	72.08± 1.01	71.93± 8.07	73.59± 1.70	74.35± 4.84	68.50± 13.07		
ADP								
T max	58.50± 4.27	42.41± 1.23	44.48± 14.81	41.00± 8.35	38.50± 6.25	39.43± 4.45		
T ag	27.05± 4.91	19.41± 5.24	17.25± 15.52	14.12± 4.62	17.40± 5.48	16.31± 10.42		
S ag	69.55± 1.70	64.41± 6.42	61.50± 17.97	64.75± 4.66	69.10± 3.57	63.98± 13.25		
AA								
T max	84.75± 21.46	93.66± 5.20	87.98± 7.51	78.88± 10.42 ^{a)}	67.00± 4.18 ^{c)}	69.81± 10.69 ^{d)}		
T ag	52.50± 17.63	69.00± 4.92	57.31± 14.01	54.12± 4.47 ^{b)}	47.05± 6.30 ^{b)}	42.06± 10.36 ^{b)}		
S ag	69.75± 4.29	70.66± 5.68	66.62± 12.31	70.37± 0.75	74.15± 2.97	73.00± 7.48		

Results expressed as means± SD of four to six rabbits.

a) p<0.05, different from control. b) p<0.025, different from control.

c) p<0.01, different from control. d) p<0.001, different from control.

Table 7. Effect of dietary supplementation with soybean oil or pinenut oil on plasma apolipoprotein AI(apo AI), apolipoprotein B(apo B) and apo B/apo AI ratio

	Group	Time on diet		
		0	40 days	80 days
Apolipoprotein AI (mg/100ml)	Control	24.33± 1.08	21.86± 4.79	24.84± 9.13
	5% Soybean oil	24.33± 1.08	17.34± 1.37	21.88± 2.02
	10% Soybean oil	24.33± 1.08	20.03± 3.76	19.63± 0.56
	5% Pinenut oil	24.33± 1.08	17.90± 2.22	21.65± 1.16
	10% Pinenut oil	24.33± 1.08	17.11± 1.97	23.06± 2.11
Apolipoprotein B (mg/100ml)	Control	8.58± 2.89	2.38± 2.03	35.11± 43.23
	5% Soybean oil	8.58± 2.89	5.58± 1.68	38.31± 23.30
	10% Soybean oil	8.58± 2.89	7.89± 9.46	37.00± 30.00
	5% Pinenut oil	8.58± 2.89	16.15± 10.59	13.92± 9.80
	10% Pinenut oil	8.58± 2.89	11.70± 8.44	9.05± 5.29
Apo B/Apo AI	Control	0.35± 0.12	0.13± 0.13	1.14± 1.08
	5% Soybean oil	0.35± 0.12	0.32± 0.07	1.70± 0.89
	10% Soybean oil	0.35± 0.12	0.35± 0.34	1.90± 1.54
	5% Pinenut oil	0.35± 0.12	0.86± 0.49	0.64± 0.45
	10% Pinenut oil	0.35± 0.12	0.65± 0.41	0.38± 0.20

Results expressed as means± SD of four to six rabbits.

나타나지 않았다. 이는 본 실험의 지방보충수준이 콩기름이나 잣기름과 같이 총에너지의 5%와 10% 수준으로서 저지방식이였고 실험기간도 짧았는데

기인한 결과로 간주된다. 지방질이 총에너지의 30% 이상인 고지방식이 조건에서는 콩기름이나 잣기름 모두 혈장지방질 특히 콜레스테롤과 트리글리세리

잣기름과 토끼의 지방질 대사

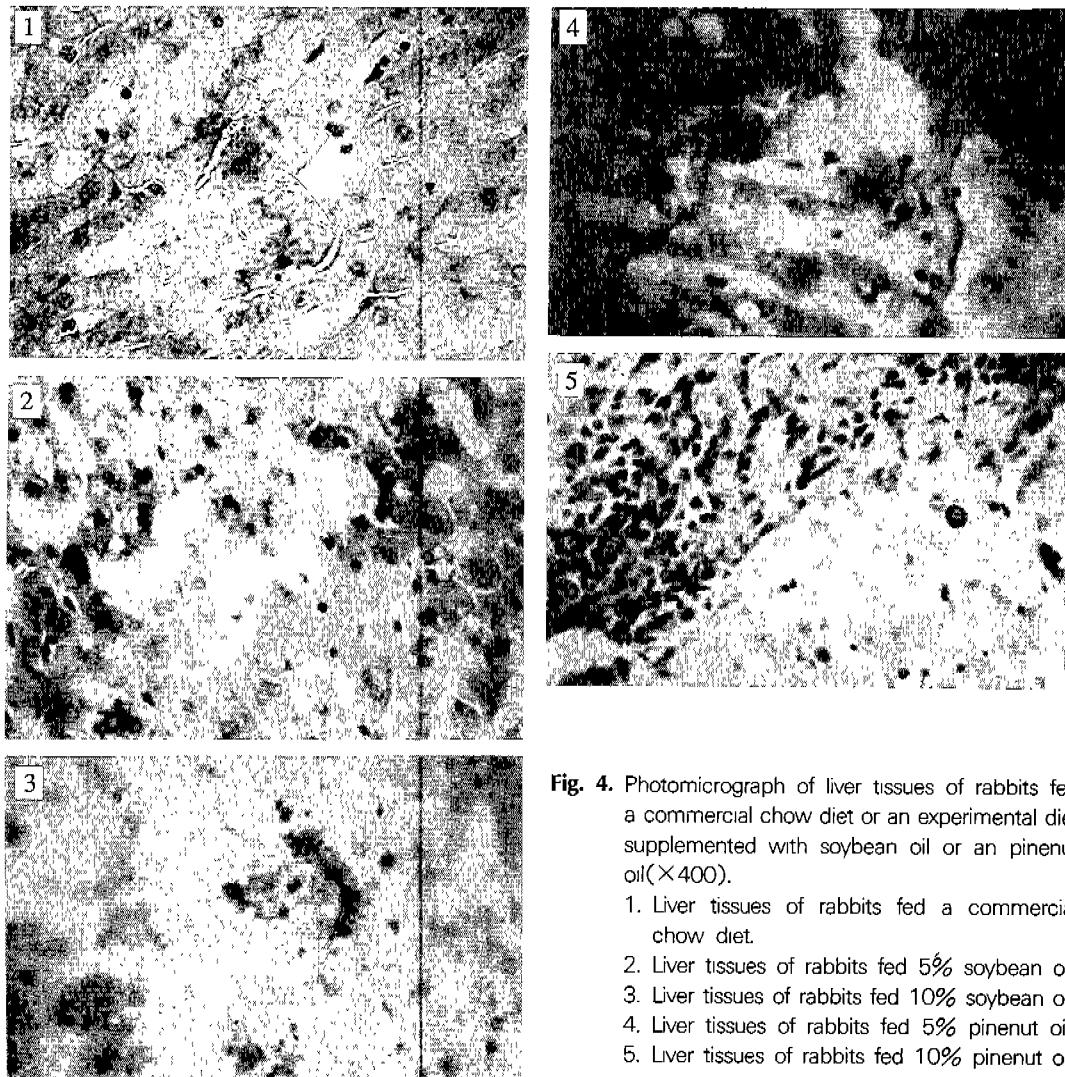


Fig. 4. Photomicrograph of liver tissues of rabbits fed a commercial chow diet or an experimental diet supplemented with soybean oil or an pinenut oil($\times 400$).

1. Liver tissues of rabbits fed a commercial chow diet.
2. Liver tissues of rabbits fed 5% soybean oil.
3. Liver tissues of rabbits fed 10% soybean oil.
4. Liver tissues of rabbits fed 5% pinenut oil.
5. Liver tissues of rabbits fed 10% pinenut oil.

드의 수준저하가 기대된다. 앞으로 고지방식이 상태에서 장기간의 실험이 필요하다고 본다. 총콜레스테롤이 40일째 5% 잣기름군에서 유의적인 증가가 있었지만 지금 현재로서는 어떤 생리적인 의미를 부여하기가 곤란하다.

지방분해를 조절하는 것으로는 호르몬을 비롯하여 여러물질이 알려져 있는데 특히 인슐린과 카데콜아민이 가장 중요한 역할을 수행한다³⁰⁾. 본 연구에서의 유리지방산 수준저하는 어떤 지방분해 조절기(regulator)를 통하여 이루어졌는지 확실하지 않다. 초저밀도지단백질의 기질로 사용되는 유리

지방산의 수준이 잣기름 투여군에서 유의적인 감소가 있었고 간에서 트리글리세리드 합성을 저하시키는 작용도 있어서 지방분해가 많이 일어나는 당뇨병 환자나 고트리글리세리드 환자에게 잣기름 투여시 혈 중의 유리지방산 및 트리글리세리드 저하 효과가 기대된다.

간은 콜레스테롤 합성 및 분해장소로서 아주 중요하며 과잉의 콜레스테롤 저장고로서의 역할도 수행한다³¹⁾. Richard 등³²⁾에 따르면 토끼 간의 콜레스테롤은 지방 종류보다는 섭취지방의 양에 영향을 받는다고 한다. 본 연구에서도 콜레스테롤

종류에 따른 차이도 없었고 양에 따른 차이도 없었다. 양에 따른 차이가 없는 것은 역시 저지방 상태에 기인한 결과로 본다. 트리글리세리드의 경우 10% 잣기름군에서 저하가 인정되었는데 이것은 혈중 유리지방산이 저하되어 간에서 트리글리세리드 합성이 줄어들었기 때문이다.

관상동맥경화증은 초기 예측인자(early predictor)로 Apo B/Apo AI의 비를 이용하고 있다³³⁾. 본 연구에서 이 비를 계산하여 본 바 80일째 대조군이 1.1, 콩기름군이 1.7~1.9인데 비하여 잣기름 투여군이 0.4~0.6으로 대조군이나 콩기름군 등에 비하여 유의성은 없었으나 훨씬 낮아 잣기름 장기복용시(최소 80일) 동맥경화 위험인자를 제거하는데 기여한다고 사료된다.

혈소판이 동맥경화 발생에 중요한 역할을 수행한다는 사실은 잘 알려져 있다. 흡연자나 혈관장애를 갖고 있는 환자, 고지혈증환자, 고혈압환자들에게서 혈소판활성이 증가해 있다. 혈소판의 기능항진(hyperactivity)은 동맥경화 과정을 촉진한다. 본 실험에 사용한 콩기름과 잣기름의 지방산 조성을 살펴보면 콩기름의 경우 리놀레산과 α -리놀렌산이 많은데 비하여, 잣기름은 5-olefin 계 지방산이 많은 것이 큰 차이점이다. 토끼는 리놀레산을 아라키돈산으로 전환시키는 능력이 약하기 때문에 α -리놀렌산을 식이에 보충하더라도 혈소판에는 물론 혈장 인지방질의 아라키돈산 수준에는 영향을 미치지 않는다고 한다³⁴⁾. 그러므로 콩기름과 잣기름의 아라키돈산에 의한 혈소판 aggregation의 저해는 각각 α -리놀렌산과 5-olefin 계 지방산에 의한 것이다. α -리놀렌산은 cyclooxygenase를 저해시켜 프로스타그란딘 생합성을 억제한다.

잣기름의 혈소판 aggregation 저해는 EPA나 DHA처럼 cyclooxygenase만 저해하여 아라키돈산이 thromboxane으로의 전환을 차단시킨 것에 기인한 것인가³⁵⁾³⁷⁾, 아니면 마늘이나 양파기름처럼 lipooxygenase와 cyclooxygenase에 의한 아라키돈산의 산화를 전부 저해한 것에 기인한 것인지는 확실치 않다³⁸⁾.

5-olefin 계 지방산은 쥐의 대동맥에서 프로스타그란딘 I₂ 생성을 저해시킨다고 한다¹⁸⁾. 본 연구

에서는 혈관벽에서 프로스타글란딘 I₂의 생성량을 측정하지 않았지만 잣기름의 5-olefin 계 지방산도 역시 혈관벽의 프로스타글란딘 I₂의 생성을 저해시킨다고 본다. 따라서 잣기름을 투여하던 프로스타글란딘 I₂에 의한 혈소판 aggregation이 감소된다고 사료된다³⁹⁾.

요약 및 결론

잣기름에 함유되어 있는 5-olefin 계 지방산을 정상토끼에게 보충급여하였을 때 지방질, 지단백질, 혈소판 aggregation 등의 변화를 조사하여 동맥경화증의 예방 및 치료여부를 검토하였다. 80일동안 사육한 뒤 잣기름 5% 군은 대조군에 비하여 1일당 식이섭취에너지 200KJ 더 많았고 체중은 400g 정도 더 높았다. 반면에 식이효율은 가장 낮았다. 이들 변화 모두 유의적인 차이는 아니었다. 잣기름 투여군에서 사육 80일째 유리지방산이 유의하게 감소하였고, 사육 40일째에는 총콜레스테롤과 인지지방질이 다소 유의하게 증가하는 경향을 띠었으나 생리적인 중요성을 내포하지는 않았다. 유리콜레스테롤, 고밀도지단백질-콜레스테롤, 트리글리세리드, 혈당, lecithin : cholesterol acyltransferase 등은 사육기간이나 실험식이에 따른 차이가 나타나지 않았다.

간 지방질 중 잣기름군에서 트리글리세리드와 인지방질은 유의하게 낮았으며, 콩기름군에서 총지방질이 증가하는 경향이었고 인지방질은 유의하게 낮았다. 총콜레스테롤은 실험군에 따른 차이가 없었다.

혈장 아포지단백질 AI은 각 실험군 모두 대조군에 비하여 전 사육기간 동안 별 변동이 없었다. 아포지단백질 B는 잣기름군이 사육 80일째 대조군이나 콩기름군에 비하여 약 3~4배 낮았고 Apo B/Apo AI비도 3~5배 낮았다.

잣기름군은 콜라겐과 아라키돈산에 의한 혈소판 aggregation을 저해하였으며, 콩기름군은 아라키돈산에 의한 aggregation만 저해하였다. 콩기름 투여시 간지방세포에 지방이 침착하는 경향이 나타난 반면 잣기름투여시는 지방침착이 일어나지 않았다.

잣기름과 토끼의 지방질 대사

본 실험의 결과로 미루어 보아 잣기름을 토끼에게 투여하면 혈장 유리지방산을 낮추어 간에서 트리글리세리드 합성을 저해함과 동시에 간에 지방질 축적을 방지하는 작용을 가지고 있다고 보인다. 뿐만 아니라 혈소판 aggregation를 저해하고 동맥 경화 예측인자인 Apo B/Apo AI의 비를 낮추어서 동맥경화증예방에 기여하는 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) 윤태현. 한국산 잣 지방질의 지방산 조성. *한국영양식학회지* 16 : 93-97, 1987
- 2) 농림수산부. 농림수산통계연보 p232, 1993
- 3) 金智文·尹漢教. 잣나무 種質의 脂肪酸 및 amino 酸組成에 관한 研究. 忠南大學校 農業技術研究報告 2 : 469-474, 1975
- 4) 日本科學技術廳資源調査會編. 日本食品標準成分表(四訂) pp92-93, 大藏省印刷局, 東京, 1982
- 5) 松山芳彦·吉田正信. 海松子油の理化學的性質に就て. 日本農藝化學會誌 2 : 555-563, 1926
- 6) 伊豫田潤子·野口駿. ナツツの油脂の脂肪酸組成. 日本家政學雜誌 24 : 169-175, 1973
- 7) 牟壽美. 韓國產 各種 種實油의 脂肪酸에 關한 研究. *한국영양학회지* 8 : 83-90, 1975
- 8) 韓在淑. 잣의 脂質成分에 關하여. 嶺南大學校 食糧資源開發研究所 3 : 7-13, 1979
- 9) 金明·李淑熙·崔弘植. 잣지질 성분의 분획정량 및 각 획분의 지방산조성. *한국영양식학회지* 13 : 406-412, 1984
- 10) Yoon TH, Im KJ T, Koh E, Ju JS. Fatty acid composition of *Pinus koraiensis* seed. *Nutr Res* 9 : 357-361, 1989
- 11) 윤태현. 소나무 및 잣나무의 잎과 꽃가루의 지방산 조성. *韓國油化學會誌* 9 : 25-30, 1992
- 12) Kaneniwa M, Miyashita K, Takagi T. Autoxidation rates of 5-olefinic monoenoic and dienoic fatty acids from sea urchin lipids and meadowfoam oils. *JAOCS* 65 : 1470-1474, 1988
- 13) Ikeda I, Oka T, Koba K, Sugano M, Lie Ken Jie MSF. 5c, 11c, 14c-eicosatrienoic acid and 5c, 11c, 14c, 17c-eicosatrienoic acid of *Biota orientalis* seed oil affect lipid metabolism in the rat. *Lipids* 27 : 500-504, 1992
- 14) Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 20 : 470-475, 1974
- 15) Gidez LI, Miller GJ, Burstein M, Slagle S, Eder HA. Separation and quantitation of subclasses of human plasma high density lipoproteins by a simple precipitation procedure. *J Lipid Res* 23 : 1206-1223, 1982
- 16) Nagele U, Hagele EO, Sauer G, Wiedemann E, Lehmann P, Wahlefeld AW, Gruber W. Reagent for the enzymatic determination of serum total triglycerides with improved lipolytic efficiency. *J Clin Chem Clin Biochem* 22 : 165-174, 1984
- 17) Warnick GR. Enzymatic methods for quantification of lipoprotein lipids. *Methods Enzymol* 129 : 101-123, 1986
- 18) Yoon TH, Mori N, Kitamura K, Ishibashi S, Shimano S, Mokuno H, Gotoda T, Takaku F and Yamada N. Characterization of monoclonal anti-rabbit apolipoprotein E antibodies and chemical composition of lipoproteins separated by antiapolipoprotein E immunoaffinity chromatography. *J Biochem* 109 : 204-210, 1991
- 19) DeLong DM, DeLong ER, Wood PD, Lippel K, Rifkind BM. A comparison of methods for the estimation of plasma low-and very low-density lipoprotein cholesterol. *JAMA* 256 : 2372-2377, 1986
- 20) Brunk SD, Swanson JR. Colorimetric method for free fatty acids in serum validated by comparison with gas chromatography. *Clin Chem* 27 : 924-926, 1981
- 21) Rifai N, King ME. Immunoturbidimetric assays of apolipoproteins A, A-I, A-II, and B in serum. *Clin Chem* 32 : 957-961, 1986
- 22) Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann Clin Biochem* 6 : 24-27, 1969
- 23) Dieplinger H, Kostner GM. The determination of lecithin: cholesterol acyltransferase in the clinical laboratory: Modified enzymatic procedure. *Clin Chim Acta* 106 : 319-324, 1980
- 24) Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total

- lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226 : 497-509, 1957
- 25) Berlin E, Shapiro SG, Friedland M. Platelet membrane fluidity and aggregation of rabbit platelets. *Atherosclerosis* 51 : 223-239, 1984
 - 26) Yamazaki H, Takahashi T, Sano T. Hyperaggregability of platelets in thromboembolic disorders. *Thrombos Diathes Haemorrh* 34 : 94-105, 1975
 - 27) 金容甲 · 鄭奎能 · 石井尋 · 村木繁. 잣의 향기성분에 관한 연구. *한국식품과학회지* 18 : 105-109, 1986
 - 28) Barrows KK, Heeg TR, Mcgilliard AD, Richard MJ, Jacobson NL. Effect of type of dietary fat on plasma and tissue cholesterol of calves. *J Nutr* 110 : 335-342, 1980
 - 29) Crocker PJ, Fitch M, Ostwald R. Effect of the unsaturation of dietary fat and of arachidonate supplementation on cholesterol pool expansion in the guinea pigs. *J Nutr* 109 : 927-938, 1979
 - 30) Coppack SW, Jensen MD, Miles JM. In vivo regulation of lipolysis in humans. *J Lipid Res* 35 : 177-193, 1994
 - 31) Krause BR, Phares F, Serbin V, Krause L, Hartman AD. Adipocyte cholesteol storage : Effect of experimental hypercholesterolemia in the rat. *J Nutr* 109 : 2213-2225, 1979
 - 32) Richard MJ, Serbus DC, Beitz DC, Jacobson NL. Effect of type and amount of dietary fat on concentration of cholesterol in blood plasma and tissues of rabbits. *Nutr Res* 2 : 175-183, 1982
 - 33) Van Stiphout WAHJ, Hofman A, Kruijssen HACM, Vermeeren R and Groot PHE. Is the ratio of apo B/apo A-I and early predictor of coronary atherosclerosis ? *Atherosclerosis* 62 : 179-182, 1986
 - 34) Masi I, Giani E, Gilli C, Tremoli E, Sirtori CR. Diets rich in saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids differently affect plasma lipids, platelet and arterial wall eicosanoids in rabbits. *Ann Nutr Metab* 30 : 66-72, 1986
 - 35) Adam O, Wolfram G, Zollner N. Effect of α -linolenic acid in the human diet on linoleic acid metabolism and prostaglandin biosynthesis. *J Lipid Res* 27 : 421-426, 1986
 - 36) Needleman P, Raz A, Minkes MS, Ferrendlli JA, Sprecher H. Triene prostaglandins : Prostacyclin and thromboxane biosynthesis and unique biological properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 76 : 944-948, 1979
 - 37) Corey EJ, Shih C, and Cashman JR. Docosahexaenoic acid is a strong inhibitor of prostaglandin but not leucotriene biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 80 : 3581-3584, 1980
 - 38) Lau BHS. Anticoagulant and lipid regulating effects of garlic(*Allium sativum*). In : Spiller GA and Scala J, ed. New Protective Roles for Selected Nutrients, pp295-325, Alan R Liss Inc, New York, 1989
 - 39) Tremoli E, Socini A, Petroni A, Galli C. Increased platelet aggregability in associated with increased prostacyclin production by vessel walls in hypercholesterolemic rabbits. *Prostaglandins* 24 : 397-404, 1982