

trans 지방산 함유 지방이 콜레스테롤대사와 간 세포막 유동성에 미치는 영향

김찬희¹ · 원미숙² · 송영선^{1*}

¹인제대학교 식품생명과학부 및 식품과학연구소
²기초과학연구소 부산분소

Effect of *trans* Fatty acid containing Fats on Cholesterol Metabolism and Hepatic Membrane Fluidity in Rats

Chanhee Kim¹, Misook Won² and Youngsun Song^{1*}

¹School of Food and Life Science & Institutes of Food Sciences, Inje University, Gimhae 621-749, Korea
²Korea Basic Science Institute/Busan Branch, Busan 609-735, Korea

Abstract

Although negative evidences of *trans* fatty acids(tFAs) are gradually increasing, the hypercholesterolemic effect of tFAs are controversial and its biological significances are still not known. The objective of this study was to examine the effect of dietary tFAs on cholesterol metabolism and membrane fluidity in rats. Animals were fed diets containing 0.5% cholesterol and 20% test fats(margarine, butter, corn oil) for 8 weeks. Each test fats(margarine, butter, corn oil) contained 25%, 8.5% and no tFAs, respectively. Plasma total triglyceride(TG) were not different among diet treatments. Feeding *trans* fat diets (margarine and butter) lowered plasma cholesterol. Specially, butter diet elevated LDL-cholesterol and decreased HDL-cholesterol levels, resulting in the highest atherogenic index among diet treatments. Hepatic cholesterol concentration and HMG CoA reductase activity were also decreased, whereas fecal excretion of cholesterol was increased in *trans* fat-fed animals. *trans* fat containing diets also decreased hepatic membrane fluidity. From these results, it can be concluded that hypercholesterolemic effect of tFAs can be modulated by the fatty acid composition of diets, but its spatial configuration may help behave like saturated fatty acid in membrane fluidity.

Key words – *trans* fatty acids, margarine, butter, cholesterol, membrane fluidity

서 론

최근 식생활의 변화로 인해 fast foods, 인스턴트 식품의 소비가 급속하게 증가하고 있다. 이러한 가공식품에는 식품의 안정성과 저장기간 연장 등의 이유로 식물성 유지

경화시킨 지방이 많이 이용되고 있으며 이러한 경화유들은 식물성유지로 만들어졌기 때문에 버터와 같은 동물성지방 보다 인체에 유용하다고 생각되어 대체되어 사용되고 있다 [4,18]. 경화유는 불포화지방산 함량이 높은 식물성 유지를 금속 촉매제의 존재 하에서 수소가스와 반응시키는 과정에서 생성되며 *trans*형의 불포화지방산을 함유하게 된다. *trans* 지방산은 일부 반추동물의 위장관에서 생합성을 통해 합성되기도 하므로 우유 및 유제품, 그리고 육류에도 함유되어

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 055-320-3235, Fax : 055-321-0691
E-mail : fdsnsong@ijnc.inje.ac.kr

있다.

천연에 존재하는 *cis* 형 불포화지방산을 *trans* 형으로 전환한 지방을 지속적으로 섭취하면 심각한 생리적 기능의 변화를 초래할지도 모른다는 우려가 제기되어 왔다. *trans* 지방산의 고콜레스테롤혈증 유발 효과는 아직 논쟁의 여지가 있으나, 여러 연구자들은 *trans* 지방산의 섭취가 관상동맥 질병이나 동맥경화 등의 질환을 더욱 악화시킬 수 있다고 보고하고 있다[25,38]. 특히 *trans* 지방산은 Lipoprotein (a)[Lp(a)]와 LDL-콜레스테롤을 높이고, 항동맥경화인자인 HDL-콜레스테롤을 낮춘다고 보고되었으며[3,24,26,29,30,32], 이러한 *trans* 지방산의 효과는 지단백간의 콜레스테롤 에스테르를 교환하는 cholesteryl ester transfer protein (CETP) 활성의 증진 때문으로 설명되고 있다[13,22,29]. Willett와 Ascherio[42]는 *trans* 지방산이 관상 동맥질환과 밀접한 관계가 있다고 하였으며, 연간 30,000명의 사람들이 경화된 식물성유지를 섭취함으로써 발생하는 질병으로 사망한다고 주장하였다. 그러나 *trans* 지방산이 콜레스테롤 농도에 영향을 미치지 않거나[2,19,43] 혹은 콜레스테롤 농도를 오히려 저하시킨다는 보고도 있다[9,41].

섭취된 *trans* 지방산은 체내 지방조직 등에 축적되며 [27], 세포막 인지질의 지방산 조성을 변화시키거나[5], 세포막 효소활성에 영향을 미친다고 보고되었다[33]. 또한 지방산 합성을 비롯한 대사과정에 관련된 효소들은 고도의 특이성을 가지고 있어 천연지방산과 이중결합의 수, 위치가 다른 이성체인 *trans* 지방산이 *cis* 지방산과는 다른 생체 물질을 만들 가능성도 보고되었다. 즉, 임신부의 *trans* 지방산의 섭취증가는 태아의 필수지방산 대사에 영향을 미쳐 태아의 성장을 저해할 수 있으며[6,21], 모유에 존재하는 프로스타글란딘의 생합성을 감소시키고 뇌세포의 myelination 을 감소시켜 유아의 성장, 발달에 좋지 못한 영향을 줄 수 있다[20]. 건강한 어린이들에게 있어서는 필수지방산 중의 하나인 아라키돈산의 생합성을 방해한다[6,8]. 뿐만 아니라 포화지방산과 유사한 거동을 보이는 *trans* 지방산이 세포막 인지질로 유입되면 세포막의 투과성과 유동성이 변화하여 세포간 물질대사에 영향을 주게 되고 궁극적으로는 동맥경화, 당뇨 등과 같은 대사성 성인병을 유발할 수 있다고 사료된다[20].

따라서 본 연구에서는 한국인이 즐겨 섭취하는 유지 중 *trans* 지방산 함량이 높은 마가린과 소량의 *trans* 지방산과

높은 포화지방산을 함유하고 있는 버터, 그리고 높은 불포화지방산 함량을 갖는 옥수수유를 장기간 섭취시킨 흰쥐에서 이들 지방이 콜레스테롤 대사와 간 세포막 유동성에 미치는 영향을 비교하여 *trans* 지방산 함유 지방의 생리기능성을 제시하고자 하였다.

실험재료 및 방법

실험계획 및 실험동물의 사육

실험동물은 이유직후 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(체중 65±5.0 g)를 대한동물실험센터로부터 구입하여 처음 1주일간은 플라스틱 사육상자에 4마리씩 넣어 chow로 예비 사육하였다. 적응기간 후 체중에 따라 난괴법(completely randomized design)으로 각 군 당 10마리씩 세 군(마가린 식이군, 버터 식이군, 옥수수유 식이군)으로 나누어 한 마리씩 사육용 철망 상자 속에 넣고 8주간 해당 식이와 물을 자유급식(*ad libitum* feeding method)하면서 사육하였다. 사육기간 동안 식수로는 지하수를 공급하였으며, 사육실의 온도는 20~25 °C로 실온을 유지하였고, 명암은 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다. 흰쥐의 식이 섭취량은 격일로 측정하였고, 체중은 일주일마다 측정하였다.

식이 조성

본 실험에서는 HP-23(*cis/trans* FAME) column을 장착한 GC/MS(Autospec, Micromass, U. K.)를 이용하여 *trans* 지방산 조성을 분석하여 *trans* 지방산의 함량이 25%인 식물성 마가린, 8.5%의 버터, 그리고 대조군으로 *trans* 지방산이 없는 옥수수유를 식이지방으로 선택하였으며, 그 지방산 조성은 Table 1과 같다. 흰쥐의 체내 지방합성 반응을 촉진시키기 위해 사료 100 g에 대해 설탕을 30 g, cholesterol을 0.5 g씩 식이에 첨가한 각 군의 식이 조성은 Table 2와 같고 식이는 냉동보관하면서 실험동물에게 급여하였다. 마가린은 청정원, 버터는 서울우유, 옥수수유는 동방유지 제품을 사용하였다. 마가린의 표시성분을 고려하여 동일한 식이 조성이 되도록 버터와 옥수수유 섭취군에는 비타민A와 NaCl을 보충하였으며, 에너지 수준이 동일하게 식이(semipurified diet)를 조성하였다. Mineral mixture, vitamin mixture, cellulose, 그리고 DL-methionine은 ICN (Biomedical. Inc, Ohio, USA)제품을 사용하였고, 카제인은

Table 1. Fatty acids composition of dietary fats

Fatty acids	Corn oil	Margarine	Butter
C8	0.307	1.737	1.561
C10	0.230	1.439	3.105
C12	¹⁾	1.984	14.164
C14	0.232	1.568	9.160
C15	-	-	1.351
C16	13.871	12.321	23.060
C16:1 <i>cis</i>	0.318	1.385	2.112
<i>trans</i>	0.238	-	0.689
C17	0.279	-	0.988
C18	3.267	11.037	13.968
C18:1 9 <i>c</i>	32.298	21.475	25.247
9 <i>t</i>	-	14.525	3.944
C19:1	-	-	0.452
C18:2 9 <i>c</i> ,12 <i>c</i>	43.683	15.956	4.274
9 <i>t</i> ,12 <i>c</i>	-	1.472	-
9 <i>c</i> ,12 <i>t</i>	-	2.081	0.587
9 <i>t</i> ,12 <i>t</i>	0.278	2.973	0.914
9 <i>t</i> ,11 <i>t</i>	-	1.388	0.918
C18:3 <i>cis</i>	2.146	1.683	0.613
<i>trans</i>	0.492	1.390	0.539
C20	1.068	1.509	0.600
C20:1	-	1.359	0.545
C20:2	0.235	-	-
C22	0.369	-	-
P/S ²⁾	2.422	0.938	0.127
tFAs ³⁾ (%)	0.364	25.158	8.533

¹⁾not detected.

²⁾polyunsaturated: saturated ratio.

³⁾*trans* fatty acid.

천일상사, 옥수수 전분은 두산, 설탕은 삼양설탕(정제당)을 사용하였다. 콜레스테롤, choline bitartrate, Vitamin A, NaCl은 Sigma(Sigma chemical company, ST. Louis. USA) 제품을 사용하였다.

시료수집 및 실험동물의 처리

8주간 사육한 실험동물을 희생하기 전 16시간 가랑 절식시켜 드라이 아이스를 이용한 호흡기 마취법으로 희생시

Table 2. Composition of experimental diets(%)

Ingredients	Corn oil diet	Margarine diet	Butter diet
Casein	20	20	19.76
Sucrose	30	30	30
Corn starch	18.22	15.69	15.5
Corn oil	20.8	-	-
Margarine	-	23.81	-
Butter	-	-	24
Cellulose	5	5	5
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
AIN-Vitamin mixture	1	1	1
Vitamin A	0.00036	-	0.00036
AIN-Mineral mixture	3.5	3.5	3.5
NaCl	0.48	-	0.24
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3
Cholesterol	0.5	0.5	0.5
Energy density(Cal/g)	4.53	4.43	4.41

켰다. 희생 후 개복하여 혈액은 EDTA(ethylene diamine tetraacetic acid) 처리된 10 cc 주사기를 이용하여 심장과 대동맥궁에서 채혈하였다. 간은 적출하여 0.9% 생리식염수로 씻은 다음 여과지로 물기를 제거하고 무게를 측정하여 액체 질소에 담근 후, -20 °C에서 보관하며 실험에 이용하였다. 분변은 희생하기 전 이들 동안의 분변을 모아 건조하여 -20 °C에 보관하였다가 분석 시에 사용하였다.

혈장과 지단백 획분의 분리 및 지질 조성

혈액은 3000 rpm에서 10 분간 원심분리한 후, 상등액은 혈장 총콜레스테롤 및 중성지방의 농도결정을 위하여 -70°C에 보관하였다. 혈장 지단백 획분은 밀도의 차이를 이용한 sequential floatation ultracentrifugation로 VLDL (d<1.006g/ml), LDL(d=1.006-1.063g/ml) 그리고 HDL(d=1.063-1.210g/ml)로 분리하였다[7].

간의 지질 정량

간지질 추출은 Folch 등[12]의 방법으로 지질을 추출하고 클로로포름으로 25mL이 되도록 정용하여 실험에 사용하였다. 간지질 추출액 중의 콜레스테롤과 중성지방 함량

은 혈장중의 분석과 동일한 효소법을 이용하되 탁도에 의한 오차를 줄이기 위해 Sale 등의 방법[36]을 도입하였다. *trans* 지방산 함량은 methylation 과정을 거치지 않는 Adams 등[1]의 방법을 사용하였다. 즉 추출한 지방을 attenuated total reflection infrared spectroscopy(Bruker IFS 66/FRA 106, Germany)를 사용하여 991~941cm⁻¹에서 흡광도를 측정하고 면적을 % *trans* 지방산값으로 계산하였다. ATR cell(Ge crystal cell, 수직형)에 20 μ l의 시료를 취하여 분석하였으며, 이때 표준물질로는 triolein에 trielaidin 0.5~50%를 첨가하여 검량선을 만들었다.

미크로솜 HMG-CoA 환원효소 활성의 측정

간 조직에서 미크로솜 획분을 분리하여 콜레스테롤 합성 율속 효소인 HMG-CoA reductase 활성에 미치는 영향을 Shapiro 등[37]과 Hulcher와 Oleson의 방법[16]으로 측정하였다. 간세포는 teflon pestle이 달린 Potter-Elvehjem homogenizer를 이용하여 균질화하고 미크로솜은 차별원심 분리법으로 분리하였다. 간으로부터 조제한 미크로솜은 효소활성 측정 직전 가용화하여 1 mM HMG-CoA와 2 mM NADPH와 혼합하고 350 nm에서 시간에 따른 흡광도의 감소를 측정하고 효소의 활성을 nmole/ min/ mg microsomal protein으로 표시하였다.

분변의 지질 분석

간조하여 분말화한 분변을 300 mg 취하고 에테르 60 mL을 가하여 Soxhlet법으로 지질을 추출한 후, 50 mL로 정용하여 분석시료로 사용하였다. 분변 중의 중성지방, 콜레스테롤 및 *trans* 지방산 함량은 간에서와 동일한 방법으로 측정하였다.

간 세포막 유동성 측정

간의 세포막은 Jorgensen의 방법[17]으로 분리하였으며 세포막의 표지효소(marker enzyme)인 Na⁺, K⁺-ATPase 활성을 측정하여 분리된 세포막의 타당성을 확인하였다. 세포막의 유동성은 ESR spin labeling 법[14-15, 28]을 이용하여 측정하였고, spin labeling agent로는 5-doxyyl stearic acid(Sigma)를 0.1 mg/mL 에타놀의 농도로 희석하여 사용하였다. 100 μ l의 5-doxyyl stearic acid를 취하여 시험관에 넣고 N₂ gas하에서 얇은 필름으로 만들고 1 mL의 세포막

획분을 넣어 혼든 후(37 °C, 10 min.) 분석 전까지 spin reduction을 막기 위해 냉장고에 보관하면서 60분 이내에 측정하였다. ESR은 EMX 300 EPR spectrometer(Bruker, Germany)를 사용하였으며, modulation frequency를 100 kHz, microwave power는 2 mW, sweep time은 167.77 sec, modulation amplitude는 1.0 G로 하여 측정하였다. 5-doxyyl stearic acid의 order parameter value(S)는 outer(2T_{||})와 inner(2T_⊥)간의 거리를 측정하여 Gaffney[15]의 식에 의해 구하였다.

통계처리

실험결과는 평균±표준편차로 표시하였으며, 각 군간의 유의성은 one-way ANOVA 로 조사하여 유의성이 발견된 경우, p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이 효율

각 실험 식이로 8주간 사육한 흰쥐의 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이 효율을 계산한 결과는 Table 3와 같다. 체중증가량과 1일 식이 섭취량은 크게 차이가 없었으나 옥수수유 식이군에 비해 *trans* 지방산을 함유한 식이군(마가린, 버터)에서 식이효율이 유의적으로 감소하였다(P<0.02).

Table 3. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio in rats fed margarine, butter, and corn oil diets

	Corn oil diet	Margarine diet	Butter diet
Weight gain ¹⁾ (g/day)	6.6±1.0 ⁴⁾	6.1±0.3	5.9±1.0
Food intake ²⁾ (g/day)	20.4±1.4	21.2±0.9	20.2±1.9
Food efficiency ratio ³⁾ (%)	32.3±3.4 ^{a)}	28.8±1.9 ^{b)}	29.0±3.2 ^{b)}

¹⁾Body weight gain (g/day) = increased body weight g/56 day.
²⁾Food intake (g/day) = total food intake g/56 day.
³⁾Food efficiency ratio(%) = (weight gain g/food intake g) × 100.
⁴⁾Mean±SD.
^{a)}^{b)}Values in rows without common superscripts are significantly different (p<0.05).

Kaplan과 Greenwood[19]도 경화된 콩기름을 흰쥐에게 공급하였을 때 소화와 흡수율이 낮아졌다고 보고하였는데, 이것은 경화된 기름이 지질의 소화·흡수를 방해함으로써 식이효율을 낮추는 것이라 하겠다.

혈장과 지단백 획득의 지질 함량

8주간 사육 후 채혈한 흰쥐 혈장의 중성지방 농도는 세 군간에 유의적인 차이가 없었으며, 콜레스테롤 농도는 옥수수유 식이군에 비해 trans 지방산을 함유한 마가린, 버터 식이군에서 그 농도가 유의적으로 낮았다(Fig. 1)($P < 0.05$). 본 연구에서는 trans 지방산 함유 식이에 의한 고콜레스테롤혈증 유발효과를 확인할 수 없었으며, 오히려 trans 지방산 식이군에서 총 콜레스테롤이 저하하는 경향을 보였는데, 이것은 건강한 성인에 trans 지방산을 공급하였을 때 혈장 콜레스테롤 농도가 대조군에 비해 감소하였다는 de Roos 등[9]의 결과와 일치한다 하겠다. Morgado 등[31]은 경화 정도가 높은 생선유를 섭취시킨 흰쥐의 혈장 중성지방이 감소하였다고 하였으며, Watanabe 등[41]은 trans 지방산이 담즙산조성과 배설에 영향을 미치지 않았으나 혈청 콜레스테롤을 낮추는 경향을 보였다고 하였으며, Royce 등[35]도 경화된 콩기름을 섭취시킨 흰쥐의 혈청 콜레스테롤이 라드군에 비해 감소하였다는 결과를 보고하였다. 이상의 결과들은 본 연구의 결과와 유사한 경향을 보인다고 하겠다. trans 지방산의 고콜레스테롤혈증 유발가능성을 보고

하고 있는 연구들은 대부분 식품의 형태가 아닌 elaidic acid (trans-C18:1)의 형태로 섭취시켰을 때의 효과를 나타낸 결과[24,29,30,39,43]로 식품의 형태 그대로 섭취시켰을 때와는 다른 결과를 초래할 수도 있다. 왜냐하면 C18:1 trans 이성체 (trans-18:1)와 C18:2 trans 이성체 (trans-18:2)는 다른 생리적, 물리적 특성을 나타낼 수 있다는 주장이 있으며[10], 최근에는 Lemaitre 등[23]이 trans-18:1의 섭취는 심장박동 정지의 위험과는 상관관계가 없으나 trans-18:2의 과다 섭취는 심장박동 정지의 위험을 3배로 증가시킬 수 있다고 보고하고 있기 때문이다. 본 실험에 사용한 마가린에 함유된 trans 지방산의 형태는 C18:1 trans 이성체 (trans-18:1) 함량이 14%, C18:2 trans 이성체 (trans-18:2) 함량이 9%이며, 그 외 이성체 또한 다양하게 분포하고 있다. 그리고 마가린과 버터는 콜레스테롤 대사에 중립적인 효과를 보이는 스테아린산[44]의 함량 (각각 11%, 14%)이 높다. 따라서 마가린, 버터 식이군에서 낮은 콜레스테롤 농도를 보인 것은 이들 식이에 함유된 스테아린산에 의한 지질 배설증가[19,44]와 trans 지방산 이성체들에 의한 생리적 기작[10,23] 때문으로 보여진다. 또한 실험에 사용된 지방의 지방산 조성이나 동물의 종류, 식이 섭취기간 등도 콜레스테롤 농도에 영향을 미칠 수 있는 요인이 될 수 있다고 본다.

혈장에서 분리한 지단백 획득의 지질 조성을 측정할 결과 VLDL 콜레스테롤 농도는 실험군간에 유의적인 차이가 없었으나, LDL 콜레스테롤 농도는 옥수수유 식이군에 비해 마가린 식이군에서 가장 낮았으며 버터 식이군에서 가장 높았다($p < 0.001$). HDL 콜레스테롤의 농도는 옥수수유 식이군과 마가린 식이군에 비해 버터 식이군에서 가장 낮았다(Fig. 2). 그 결과를 동맥경화 지수로 계산해 보면 Table 4에서 보는 바와 같이 옥수수유 식이군, 마가린 식이군에 비해 버터 식이군에서 가장 높았다. 심순환계질환 위험인자로서의 trans 지방산의 역할에 대해서 아직 논쟁이 계속되고 있으나 여러 연구자들은 trans 지방산의 섭취는 LDL-콜레스테롤을 증가시키고 HDL-콜레스테롤을 감소시켜 심순환계 질환의 위험을 증가시킨다고 주장하고 있으며[24,26,30], Papasani 등[34]은 trans 지방산이 lecithin : cholesterol acyltransferase(LCAT)의 위치적 특이성을 변화시킴으로서 HDL-콜레스테롤을 감소시킨다고 하였다. 그러나, Zock와 Katan[45]은 trans 지방산의 함량이 낮은 마가

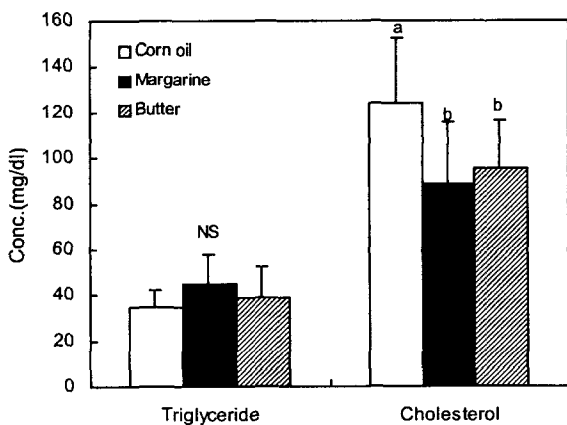


Fig. 1. Plasma triglyceride and cholesterol concentrations in rats fed margarine, butter and corn oil diets. ^{a-b}Values without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$). NS: not significant.

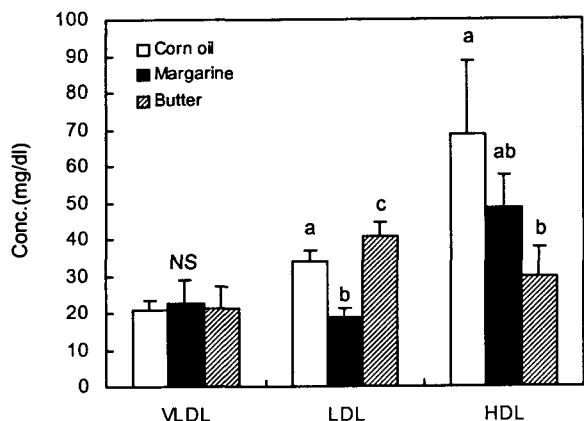


Fig. 2. Cholesterol concentration of lipoprotein fractions in rats fed margarine, butter, and corn oil diets. ^{a,b}Values without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$). NS: not significant.

Table 4. Atherogenic index in rats fed margarine, butter, and corn oil diets

	Corn oil diet	Margarine diet	Butter diet
Atherogenic index	0.9±0.6 ^{a1)}	0.8±0.3 ^a	2.8±1.6 ^b

¹⁾Mean±SD.

^{a,b}Values in rows without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

린은 버터보다 혈액의 지질 조성에 바람직한 영향을 미치며 오히려 관상심장질환(CHD)의 위험을 줄일 수 있다고 보고하였으며, 이것은 버터가 포화 지방을 많이 함유하고 있기 때문이라고 하였다. 본 연구에서도 버터 식이군에서 동맥경화지수가 가장 높게 나온 것은 *trans* 지방산 함량은 많지 않으나 옥수수유와 마가린에 비해 포화지방산, 특히 팔미트산과 미리스틴산의 함량(각각 23%, 9%)이 높기 때문인 것으로 사료된다[46]. 그러나 옥수수유 식이군과 25%의 *trans* 지방산을 함유한 마가린 식이군간에 동맥경화지수에서 차이를 보이지 않았고 특히 마가린 식이군에서 옥수수유 식이군에 비해 LDL-콜레스테롤의 농도가 낮아진 것은 다른 연구자들의 결과[29,32,39]와는 다소 상반된다 하겠다. 그러나 마가린 식이군에서 혈장 총 콜레스테롤 농도가 옥수수유 식이군에 비해 현저하게 낮아진 점을 고려하면 LDL과 HDL을 포함한 지단백 회분에서도 콜레스테

롤 농도가 모두 저하된 것으로 풀이된다.

간 조직의 지질 조성 및 HMG-CoA reductase 활성 *trans* 지방산 함유 지방의 섭취가 간조직의 지질조성에 미치는 영향을 조사한 결과, 간의 중성지방 농도는 옥수수유 식이군과 마가린 식이군에 비해 버터 식이군에서 유의적으로 낮았고, 콜레스테롤 농도는 옥수수유 식이군에 비해 마가린 식이군과 버터 식이군에서 유의적으로 낮았다 (Table. 5)($P < 0.05$) 그러나, 간의 *trans* 지방산 함량은 옥수수유와 버터 식이군에 비해 마가린 식이군에서 가장 높았다(Fig. 3)($P < 0.05$). *Trans* 지방산이 간 콜레스테롤 합성에 미치는 영향을 조사하기 위해 콜레스테롤 합성반응의 속도 조절 효소인 HMG-CoA reductase 활성을 측정된 결과,

Table 5. Hepatic triglyceride and cholesterol concentrations in rat fed margarine, butter, and corn oil diets

	Cholesterol(mg/g)	Triglyceride(mg/g)
Margarine	18.46 ± 5.12 ^{b1)}	29.02 ± 3.94 ^a
Butter	13.23 ± 4.19 ^b	19.95 ± 5.01 ^b
Corn oil	24.14 ± 8.5 ^a	32.47 ± 3.93 ^a

¹⁾Mean±SD.

^{a,b}Values without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

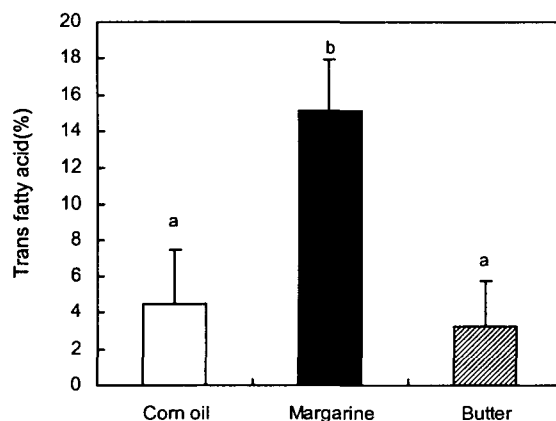


Fig. 3. Hepatic *trans* fatty acid concentration in rats fed margarine, butter, and corn oil diets.

^{a,b}Values without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

옥수수유 식이군에 비해 마가린 식이군과 버터 식이군에서 유의적인 차이는 없으나 다소 낮은 효소활성을 보였다 (Fig. 4).

trans 지방산의 섭취가 간의 지질 조성에 미치는 영향에 관한 연구에서는 버터와 마가린의 섭취가 간 조직의 지방 축적을 억제함이 관찰되었고 마가린 중의 trans 지방산은 간 조직으로 축적됨이 확인되었다. Huang 과 Fang[26]은 포화지방산과 trans 지방산 섭취 시 콜레스테롤 농도 상승은 간에서의 acyl-CoA cholesterol acyltransferase (ACAT) 활성 증가 때문으로 설명하고 있다. 즉, 포화지방산과 trans 지방산이 콜레스테롤을 에스테르형으로 축적하는 ACAT의 활성에 영향을 미침으로서 조직의 콜레스테롤 수준에 영향을 미친다고 주장하였다. 본 연구에서는 이들의 결과와는 상이한 결과를 얻었으며, 이것은 마가린과 버터에 함유된 다양한 종류의 trans 지방산 이성체가 HMG-CoA reductase 활성을 저하시킨 때문으로 사료된다.

분변으로의 지질 배설능

Trans 지방산의 섭취가 지질의 소화·흡수에 미치는 영향을 조사하여 콜레스테롤 대사에 미치는 기작을 알아보고자 하였다. 분변의 무게는 식이군간에 차이가 없는 반면 (2.5~2.6g/day), 분변으로 배설된 중성지방 함량은 마가린과 옥수수유 식이군에 비해 버터 식이군에서 유의적으로 낮았으며 (Fig. 5) (P<0.05), 콜레스테롤의 배설되는 정도는 옥수수유 식이군에 비해 trans 지방산 함유 식이군에서 유

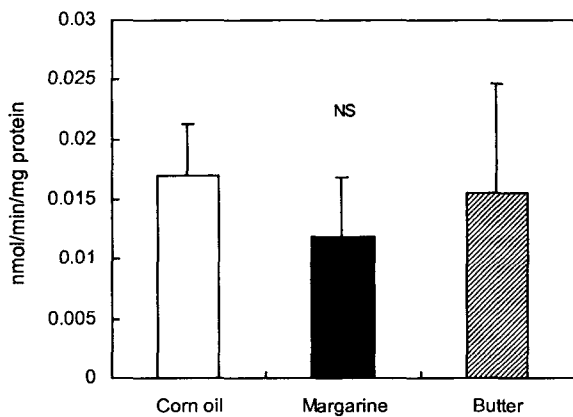


Fig. 4. Hepatic HMG-CoA reductase activity in rats fed margarine, butter, and corn oil diets. NS: not significant.

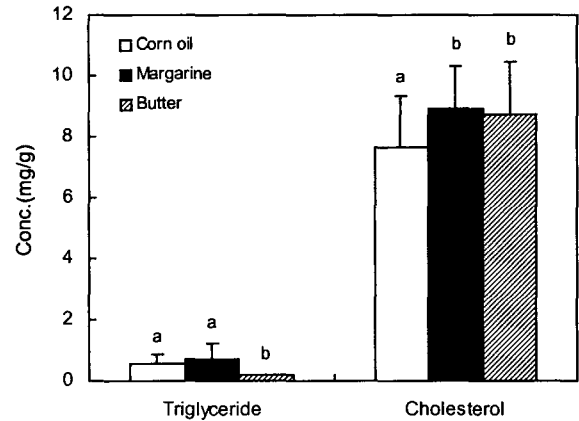


Fig. 5. Fecal triglyceride and cholesterol excretion in rats fed margarine, butter, and corn oil diets.

^{a-b}Values without common superscripts are significantly different (p<0.05).

의적으로 높았다 (P<0.05). Trans 지방산 배설량은 마가린을 섭취한 군에서 가장 높았으며 (Fig. 6) (P<0.05), 버터 식이군은 옥수수유 식이군보다 유의적인 차이는 없으나 다소 높은 배설량을 보였다. Kaplan과 Greenwood[19]는 경화된 콩기름을 섭취한 흰쥐에게서 분변으로 배설되는 지질의 함량이 높았다고 하였다. 또한 장쇄지방산인 스테아린산은 소화율이 41%로 리놀레산이 많은 대두유의 97%에 비해 매우 낮다고 보고되고 있는데 [19] 이러한 특성이 스테아린산 함유 식품의 지방과 에너지 이용률을 낮추는 결과를 초래한다고 하겠다. 따라서 본 연구에서 trans 지방산을 함유

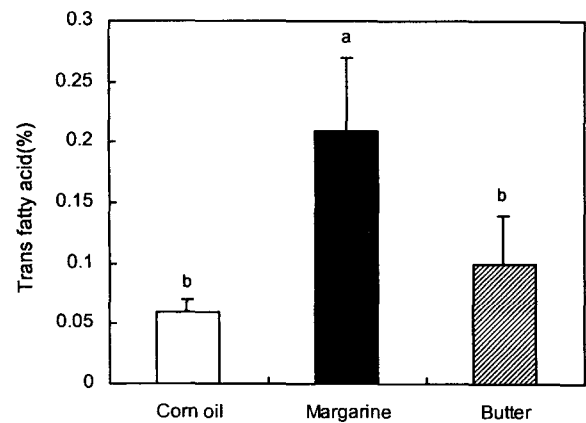


Fig. 6. Fecal trans fatty acid excretion in rats fed margarine, butter, and corn oil diets.

^{a-b}Values without common superscripts are significantly different (p<0.05).

한 식이군에서 낮은 식이 효율과 혈중 콜레스테롤 농도를 보인 것은 마가린에 풍부한 *trans* 지방산과 버터에 많이 들어있는 스테아린산이 *trans* 형 지방산과 콜레스테롤의 흡수를 방해하기 때문으로 사료된다.

간 세포막 유동성

Trans 지방산 함유 지방의 섭취가 세포막 유동성에 미치는 영향을 ESR을 이용하여 측정하였으며 간 세포막의 전형적인 ESR spectrum은 Fig. 7과 같다. 이 spectrum으로부터 order parameter value(S) 값을 계산한 결과, 옥수수유 식이군에 비해 마가린과 버터 식이군에서 높은 값을 나타내었다(Fig. 8). 세포막의 유동성은 막을 구성하는 지방산의 조성에 의해서 큰 영향을 받는데, 불포화지방산에 비해 포화지방산은 질서정연하게 배치되어 세포막의 유동성을 저하시키는 것으로 알려져 있다. Tsuda 등[40]은 고혈압 쥐의 적혈구막을 이용한 ESR 연구에서 S 값의 감소는 세포막 유동성의 증가를 의미한다고 하였으며, S 값의 감소 시 지단백의 유동성은 증가하였다는 보고도 있다[13]. 따라서 본 연구에서 마가린과 버터 식이군의 S 값이 옥수수유 식이군에 비해 유의적으로 증가한 것은 *trans* 지방산 함유 식이의 섭취가 포화지방산과 마찬가지로 세포막 유동성을 감소시킴을 보여주는 것이라 하겠다. Felton 등[11]도 *trans* 지방산의 축적이 막 유동성을 감소시킬 수 있으며, 또한 막지질에 합병된 *trans* 지방산은 막의 물리적 특성과 막에 결합된 효소에 영향을 줄 수 있다고 보고하였다. Morgado 등[31]도 경화정도가 높은 유지를 섭취할수록 조직 내에서

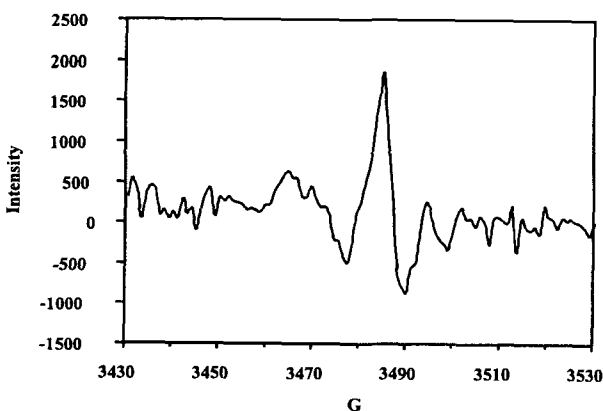


Fig. 7. ESR spectrum of liver membranes labeled with 5-doxyl stearic acid.

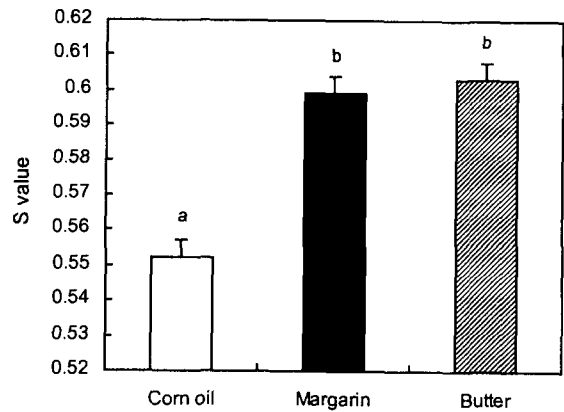


Fig. 8. Membrane fluidity of liver in rats fed margarine, butter, corn oil diets.

^{a,b}Values in rows without common superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

단일 불포화지방산은 증가하고 다가 불포화지방산은 감소하는 등의 지질조성 변화를 가져오며 *trans* 지방산은 포화지방산과 유사한 효과를 나타낸다고 하였다. 본 실험에서 P/S 비율이 가장 낮은 버터 식이군(0.13)에서 S값이 가장 높았고, P/S 비율이 가장 높은 옥수수유 식이군(2.4)의 S값이 가장 낮았으며, *trans* 지방산의 함량이 높은 마가린은 S값이 버터 식이군과 유사하였다. 이와 같은 결과로부터 세포막의 유동성은 포화지방산의 비율이 높을수록 감소됨을 알 수 있으며, *trans* 지방산 또한 포화지방산과 유사한 거동을 보이는 것으로 사료된다.

요 약

식생활의 변화로 인해 fast food 및 가공식품의 소비가 급속히 증가하고 있으며 이러한 식품에 많이 함유되어 있는 *trans* 지방산의 생리적 기능에 대한 관심이 모아지고 있다. 따라서 본 연구에서는 한국인이 즐겨 섭취하는 유지 중 *trans* 지방산 함량을 함유하고 있는 마가린, 버터의 장기간 섭취가 흰쥐의 콜레스테롤 대사와 세포막 유동성에 미치는 영향을 옥수수유와 비교하여 *trans* 지방산 함유 식품의 생리기능성을 제시하고자 하였다. 이유 직후의 흰쥐(S.D. male)를 *trans* 지방산 함량이 다른 마가린(25%)과 버터(8.5%), 옥수수유를 포함하는 식이로 각각 8주간 섭취시켜 사육한 결과, 체중증가와 1일 식이 섭취량은 식이군간에 차이가 없었으나 *trans* 지방산을 함유한 식이군(마가린,

버터)의 식이효율이 감소하였다. 혈장 지질 조성에서 중성 지방 농도는 차이가 없었지만, 콜레스테롤 농도는 옥수수유 식이군에 비해 trans 지방산을 함유한 식이군에서 유의적으로 낮았다. 지단백 획득 중 LDL 콜레스테롤 농도는 옥수수유 식이군에 비해 마가린 식이군에서 유의적으로 낮았으며, 버터 식이군에서 유의적으로 높았다. HDL 콜레스테롤 농도는 버터 식이군이 다른 식이군에 비해 낮았으며 그 결과 버터 식이군의 동맥경화지수가 가장 높았다. 또한 간 중성지방 함량은 마가린과 옥수수유 식이군에 비해 버터 식이군에서 낮았으며 콜레스테롤의 농도는 옥수수유 식이군에서 가장 높았다. 간 조직으로의 trans 지방산의 축적 정도는 마가린 식이군에서 가장 높았으며 간의 HMG-CoA reductase 활성은 버터와 마가린 식이군에서 다소 감소하였다. 분변으로의 콜레스테롤 배설량은 trans 지방산을 함유한 마가린과 버터 식이군에서 유의적으로 높았으며 배설되는 trans 지방산 함량은 마가린 식이군에서 가장 높았다. 세포막 유동성은 옥수수유군에 비해 마가린과 버터식이군에서 유의적으로 감소하였다. 본 연구의 결과로 미루어 볼 때 trans 지방산 함유 지방 섭취에 의한 고콜레스테롤혈증 유발효과는 확인할 수 없었으며, trans 지방산의 섭취가 분변으로의 콜레스테롤 배설을 증가시키고 HMG-CoA reductase 활성을 저하시켜 혈장 콜레스테롤을 감소시킨 것으로 사료되며 버터군에서 동맥경화지수가 가장 높게 나타난 것은 버터의 포화지방산, 특히 미리스틴산과 팔미트산의 높은 함량 때문으로 사료된다. 그러나 마가린과 버터 식이군의 세포막 유동성이 현저히 감소한 것은 세포막에서 trans 지방산이 포화지방산과 유사한 거동을 보이는 때문으로 풀이된다.

감사의 글

본 연구는 인제장학재단의 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 기초과학연구소 부산분소의 GC/MS, Infrared spectrophotometer와 ESR을 사용하여 각각 trans 지방산 이성체 조성, trans 지방산 함량과 세포막 유동성을 조사하였다. 이에 저자들은 사의를 표하는 바입니다.

참 고 문 헌

1. Adams, M., M. chew, S. Wasserman, A. McCollm, R.

E. McDonald and M. M. Mossoba. 1998. Determination of trans fatty acids in hydrogenated vegetable oils by attenuated total refraction infrared spectroscopy : two limited collaborative studies. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **75**, 353-358.

2. Aro A., M. Jauhiainen, R. Partanen, I. Salminen and M. Mutanen. 1997. Stearic acid, trans fatty acids and dairy fat : effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein(a), and lipid transfer proteins in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **65**, 1419-1426.

3. Ascherio, A. and C. Willet. 1997. Health effects of trans fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* **66(s)**, 1006s-10s.

4. Bethesda, M. D. 1996. Position paper on trans fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* **63**, 663-700.

5. Blomstrand, R., U. Diczfalusy, L. Sisfontes and L. Svensson. 1985. Influence of dietary partially hydrogenated vegetable and marine oils on membrane composition and function of liver microsomes and platelets in the rat. *Lipids* **20**, 283-295.

6. Calson, S. E., M. T. Clandinin, H. W. Cook, E. A. Emken and L. T. Filer. 1997. Trans fatty acids infant and fetal development. *Am. J. Clin. Nutr.* **66**, 717s-736s.

7. Converse, C. A. and R. E. Skinner. 1992. Lipoprotein analysis : A practical approach, p.11, Oxford university press, London.

8. Decsi, T. and B. Koletzko. 1995. Do trans fatty acids impair linoleic acid metabolism in children. *Am. Nutr. Metab.* **39**, 36-41.

9. de Roos, N. M., M. L. Bots and M. B. Katan. 2001. Replacement of dietary saturated fatty acids by trans fatty acids lowers serum HDL cholesterol and impairs endothelial function in healthy men and women. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **21**, 1233-1237.

10. Emken, E. A. 1984 Nutrition and biochemistry of trans fatty acid isomers in hydrogenated oils. *Annu. Rev. Nutr.* **4**, 339-376.

11. Felton, C. V., D. Crook, J. C. Stevenson. 1995. Trans fatty acids and the composition of human aortic plaques. *Atherosclerosis* **115**, 3s-42s.

12. Folch, J., M. Lees and S. H. S. Stanley. 1956. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue, *J. Biol. Chem.* **223**, 498-503.

13. Foucher, C., L. Lagrost, M. Maupoil, L. Rochette and P. Gambert. 1996. Alterations of lipoprotein fluidity

- by non-esterified fatty acids known to affect cholesteryl ester transfer protein activity. An electron spin resonance study. *Eur. J. Biochem.* **236**, 436-442.
14. Foucher, C., M. L. Narce, M. C. Nasr, Delachambre and J. P. Poisson. 1997. Liver microsomal membrane fluidity and microsomal desaturase activities in adult spontaneous hypertensive rats. *J. Hypertension* **15**, 863-869.
 15. Gaffney, B. J. 1976. *Spin labeling theory and application*, pp. 567-571, Academic press, New York.
 16. Hulcher, H. and W. H. Oleson. 1973. Simplified spectrophotometric assay for microsomal HMG-CoA reductase by measurement of coenzyme A. *J. Lipid Res.* **14**, 625-629.
 17. Jorgensen, P. L. 1988. Purification of Na⁺, K⁺-ATPase : enzyme sources preparative problems & preparation from mammalian kidney, pp.36-38, *In* Fleischer S. and B. Fleischer (eds.), *Methods in Enzymology*, Vol. **156**, Academic Press, New York.
 18. Judd, J. T., D. J. Baer, B. A. Clevidence, R. A. Muesing, S. C. Chem, J. A. Wesstrate, G. W. Meijer, J. Wittes, A. H. Lichtenstein, M. Vilella-Bach and E. J. Schaefer. 1998. Effects of margarine compared with those of butter on blood lipid profiles related to cardiovascular disease risk factors in normolipemic adults fed controlled diets. *Am. J. Clin. Nutr.* **68**, 768-77.
 19. Kaplan, R. J., C. E. Greenwood. 1998. Poor digestibility of fully hydrogenated soybean oil in rats : A potential Benefit of hydrogenated fats and oils. *J. Nutr.* **128**, 875-880.
 20. Kinsella, J. E., G. Bruckner, J. Mari and J. Shimp. 1981. Metabolism of *trans* fatty acids with emphasis on the effects of *trans*, *trans*- octadecadienoate on lipid composition, essential fatty acid, and prostaglandins : an overview. *Am. J. Clin. Nutr.* **34**, 2307-2318.
 21. Kolezko, B. 1992. *Trans* fatty acids may impair biosynthesis of long-chain polyunsaturateds and growth in man. *Acta. Paediatr.* **81**, 302-306.
 22. Lagrost, L. L. 1992. Differential effects of *cis* and *trans* fatty acid isomers, oleic and elaidic acids, on the cholesteryl ester transfer protein activity. *Biochem. Biophys. Act.* **1124**, 159-162.
 23. Lemaitre, R. N., I. B. King, T. E. Raghunathan, M. C. Copass, L. A. Cobb and D. S. Siscovick. 2002. Cell membrane *trans*-fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *Circulation.* **105**, 697-701.
 24. Lichtenstein, A. H. 1998. *Trans* fatty acids and blood lipid levels, Lp(a), parameters of cholesterol metabolism, and hemostatic factors. *J. Nutr. Biochem.* **9**, 244-248.
 25. Lichtenstein, A. H. 2000. *Trans* fatty acids and cardiovascular disease risk, *Curr. Opin. Lipidol.* **11**, 37-42.
 26. Lichtenstein, A. H., L. M. Ausman, W. Carrasco, J. L. Jenner, etc. 1993. Hydrogenation impairs the hypolipidemic effect of corn oil in humans. Hydrogenation, *trans* fatty acid, and plasma lipids. *Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* **13**, 154-161.
 27. Loi, C., J. M. Chardigny, S. Almanza, L. Leclere, C. Gini, J. L. Sebedio. 2000. Incorporation and metabolism of dietary *trans* isomers of linolenic acid alter the fatty acid profile of fat tissues. *J. Nutr.* **130**, 2550-2555.
 28. Lutz, M., J. Alvarado, P. Barraza, S. Bonilla and L. Luna. 1999. Effects of dietary oils and cholesterol supplement on fluidity and enzyme activities of liver microsomes in the rat. *Lipids.* **34**, 119s.
 29. Mensink, R. P. and M. B. Katan. 1990. Effect of dietary *trans* fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N. Engl. J. Med.* **323**, 439-445.
 30. Mensink, R. P., P. L. Zock, M. B. Katan and G. Hornstra. 1992. Effect of dietary *cis* and *trans* fatty acids on serum lipoprotein(a) levels in humans. *J. Lipids Res.* **33**, 1493-1501.
 31. Morgado, N., J. Sanhueza, A. Galleguillos, etc. 1999. Effect of dietary hydrogenated fish oil on the plasma lipoprotein profile and on the fatty acid composition of different tissues of rat. *Annals of Nutr. & Meta.* **43**, 310-318.
 32. Nestel, P., M. Noakes, B. Belling, R. McArthur, P. Clifton, E. James and M. Abbey. 1992. Plasma lipoprotein lipid and Lp(a) changes with substitution of elaidic acid for oleic acid in the diet. *J. Lipids Res.* **33**, 1029-1036.
 33. Ostlund-Lindquist, A. M., I. Albanus and I. B. Croon. 1985. Effect of dietary *trans* fatty acids on microsomal enzymes and membranes. *Lipids* **20**, 620-624.
 34. Papasani, V. S., S. S. Veeramali and L. Mig. 1998. *Trans* unsaturated fatty acids inhibit lecithin :

- cholesterol acyltransferase and alter its positional specificity. *J. Lipids Res.* **39**, 1438-1447.
35. Royce, S. M., P. P. Holme, T. Takagi and F. A. Kummerow. 1984. Influence of dietary isomeric and saturated fatty acids on atherosclerosis and eicosanoid synthesis in swine. *Am. J. Clin. Nutr.* **39**, 215-222.
36. Sale, F. O., S. Marchesini, P. H. Fishman and B. Berra. 1984. A sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extract. *Anal. Biochem.* **142**, 347-351.
37. Shapiro, D. J., J. L. Nordstrom, V. W. Rodwell and J. J. Mitschelen. 1974. 3-Hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase in rat liver and in L-cell fibroblasts. *Biochem. Biophys. Acta.* **370**, 369-373.
38. Shapiro, S. 1997. Do trans fatty acids increase the risk of coronary artery disease? A critique of the epidemiologic evidence. *Am. J. Clin. Nutr.* **66(s)**, 1011s-1017s.
39. Sundram, K., A. K. C. Ismail, R. Kayes, Jeyamalar and R. Pathmanathan. 1997. Trans (elaidic) fatty acids adversely affect the lipoprotein profile relative to specific saturated fatty acids in humans. *J. Nutr.* **127**, 514s-520s.
40. Tsuda, K., Y. Ueno, I. Nishio and Y. Masuyama. 1992. Membrane fluidity as a genetic marker of hypertension. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **19**, 11-16.
41. Watanabe, M., T. Koga, M. Sugano. 1985. Influence of dietary cis- and trans-fat on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon tumors and fecal steroid excretion in Fischer 344 rats. *Am. J. Clin. Nutr.* **42**, 475-484.
42. Willett, W. C. and A. Ascherio. 1994. Trans fatty acids : are the effects only marginal. *Am. J. Public Health* **84**, 722-724.
43. Wood, R., K. Kubena, B. O'Brien, S. Tseng and G. Martin. 1993. Effect of butter, mono- and polyunsaturated fatty acid-enriched butter, trans fatty acid margarine, and zero trans fatty acid margarine on serum lipids and lipoproteins in healthy men. *J. Lipid Res.* **34**, 1-11.
44. Yu, S., J. Derr, T. D. Etherton and P. M. Kris-Etherton. 1995. Plasma cholesterol-predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monounsaturated fatty acids are hypocholesterolemic. *Am. J. Clin. Nutr.* **61**, 1129-1139.
45. Zock, P. L. and M. B. Katan. 1997. Butter, margarine and serum lipoproteins. *Atherosclerosis* **131**, 7-16.
46. Zock, P. L., J. H. M. de Vries and M. B. Katan. 1994. Impact of myristic acid versus palmitic acid on serum lipid and lipoprotein levels in healthy women and men. *Arterioscler. Thromb.* **14**, 567-575.

(Received October 14, 2002; Accepted December 20, 2002)