州 保健專門大學 論文集 第6輯(1981)
The Journal of Gwang-Ju Health
Junior College Vol. Ⅵ

토끼의 혈청콜레스테롤 함량에 미치는 리놀레산과 리포단백질의 상호작용

식품영양과 교수 남 현 근

Ⅰ. 서 론

집토끼의 혈청콜레스테롤 함량에 영향을 주는 것이 포화지방산과 불포화지방산인데 포화지방산은 콜레스테롤을 증가시킨다고 Kinsell[1], Greon[2]등이 보고하였고 불포화지방산은 콜레스테롤을 감소시킨다고 Kinsell,[3] Ahrens,[4] Malmors[5], Wigand,[6] Nam[7]등이 확인 보고한바 있다. 한편 필수지방산인 리놀레산이 깊이 관여되고 있음은 Holman,[8] Ockner[9] 등에 의하여 보고된 바 있다. 그리고 지방산과 단백질의 상호작용이 혈청콜레스테롤 함량과 관계가 있음도 Hahn[10]에 의하여 보고 되었다. 그리고 Clearing factor에 관하여 Anderson과 Fawcett,[11] Shore,[12] Brown,[13] Gordon,[14]등이 존재를 지적하였고 확인한 바 있다.

또한 단백질과 금속이온의 상호작용이 콜레스테롤에 영향을 준다고 Lae과 Rao[15], Markus,[16] Kolthoff,[17] Nam[18]등에 의하여 보고되였으며 에스테르화된 알부민에 의하여 금속이온이 결합되며 이것이 단백질 분자이동에 영향을 준다고 하였다. 그러나 황산이온에 의하여 분자의 이동도가 감소된다고 하였다. 이같은 상호작용은 리포단백질과 깊은 관계가 있으며 지방산의 음이온과 작용하고 있음이 Goodman과 Shafrir[19]등에 의하여 보고 되었다. 특히 pH7.8에서 올레인산 이온이 베타 리포단백질에 의하여 결합되여 양극이동이 증가한다고 지적하였다. 또한 올레인산/알부민의 몰비가 증가되면 증가될 수록 베타 리포단백질이 증가된다고 하였다.

또한 Hurley[20]는 리포단백질로 부터 지질성분의 손실로 인하여 전기영동에 의한 단백질 성분의 이동 상황이 변한다고 하였으며 Young[21]은 올레인산과 리놀레산이 포화지방산의 체내흡수에 영향을 준다고 보고 하였으며 heparin과의 상호작용에 관하여는 Gordon[22]이 보고하였다. Johansson[23]은 혈청알부민과 지방산의 음이온 사이에 pH 5~9범위에서 탄소수 16 (C=16)을 가진 지방산이 중합체를 형성할 가능성이 있다고 하였다. 그러나 토끼에 리놀레산을 급여하여 리포단백질의 이동에 어떠한 영향을 주며 혈청콜레스테롤과 어떠한 관계가 있는가에 대하여 연구 보고가 없어 이에 필자는 전기영동법에 의하여 이를 조사하여 그 결과를 보고하는 바이다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

생후 30일 경과된 Chin-chilla종 토끼 10마리를 구입하여 일주간동안 기본식이로 먹이면서 환경에 적응시킨 후 Table 1,2와 같은 조성을 가진 식이로 사육하였다. 사육기간 동안 물은 자유로 먹을 수 있도록 하였으며 사료는 하루에 4차례 주었다.

Table 1. Composition of the basal diets for rabbit(unit:%)

Food	Ingredient	Protein	Carbohydrate	Fat	Ash
Corn	25	7.97	1.95	3.28	1.44
Wheat	20	11.98	3.56	1.15	1.49
Wheat bran	15	28.95	5.54	14.01	12.54
Soybean meal	25	29.91	6.57	15.94	15.87
Soybean rind	10	45.47	5.57	1.45	5.67
Rapreed rind	5	37.51	11.86	2.45	7.41

* Vitamin: one tablet daily.
vit. A: 5,000 U.S.P. Units, vit.D: 400 U.S.P. Units, vit.C: 60*mg*, Niacinamide: 20*mg*
vit. B-1: 2*mg*, vit.B-2: 2.5*mg* vit.B-6: 1.2*mg*, vit.B-12: 3mcg, vit. E: 5I.U.

Table 2. Composition of fatty acid in the diet oil (unit.%)

Fatty acid	Sesame oil	soybean oil	Perilla oil
Palmitic acid	10.2	12.8	5.9
Stearic acid	2.8	3.9	1.9
Oleic acid	40.1	23.9	18.3
Linoleic acid	41.9	49.2	15.6
Linolenic acid	5.0	7.2	58.3
Arachidonic acid	—	2.0	—

2. 식이방법

식이는 기본사료 60*g* 식물성 식용유 6*g* 리놀레산 2*g* 우유카제인 6*g*을 하루에 먹였고 실험동물은 대조군 참기름급여군 콩기름급여군 들깨기름급여군으로 나누었고 각군 2마리로 하였다.

3. 혈액분석

식이기간이 끝난뒤 공복시에 목동맥을 절단하여 혈액을 채취하고 응고된 다음 혈청을 분

리시켜 4℃에 보관하면서 분석을 행하였다.

혈청 콜레스테롤은 Schoenheimer-Sperry[24]법에 의하여 트리그리세리드는 Carlson-Wadstom[25]법에 의하여 행하였다. 한편 리포단백질은 전기영동법으로 분석하였는데 이온강도(I=0.025), Barbital Sodium Buffer(pH 8.6), Cellulose acetate paper를 사용하였고 흡광도는 자동기록 densicorder에 의하여 정량하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 혈청 콜레스테롤과 트리그리세리드

Schoenheimer-Sperry[24]법과 Carlson-Wadstom[25]법으로 콜레스테롤과 트리그리세리드를 분석하여 Table 3과 같은 결과를 얻었다.

Table 3. Serum cholesterol, triglyceride of rabbit blood (unit:*mg*%)

Group	Serum Cholesterol			Triglyceride
	Total	Ester	Free	
Control	79.55±4.5	45.2	34.35	121.5
Sesame oil	112.65±2.5	65.5	47.15	128.7
Soybean oil	116.55±4.8	70.5	46.05	138.7
Perilla oil	98.0±2.5	53.7	44.30	126.7

* Mean±S.D. Ester and Free state: %

위 표에서 볼 수 있는것과 같이 Total Cholesterol함량은 대조군이 79.55*mg*% 참기름군이 112.65*mg*% 콩기름군이 116.55*mg*% 들깨기름군이 98.0*mg*%을 나타내 대조군이 가장 낮았고 콩기름군이 가장 높게 나타났으며 콜레스테롤 에스테르는 대조군이 45.2%참기름군이 65.5%콩기름군이 70.5% 들깨기름군이 53.7%이었고 유리상태의 콜레스테롤은 대조군에 34.35% 참기름군이 47.15% 콩기름군이 46.05% 들깨기름군이 44.30%로 나타났다. 한편 트리그리세리드는 대조군이 121.5*mg*% 참기름군이 126.7*mg*%를 보였다.

2. 리포단백질

혈청 리포단백질을 전기영동법으로 분석한 결과는 Table 4와 Fig 1과 같다.

다음 표와 그림에서 모든 시험군의 Lipalbumin은 큰차가 없었으나 α_2-lipoprotein을 대조군이 0.64*mg*% 참기름군이 0.42*mg*% 콩기름군이 0.45*mg*% 들깨기름군이 0.85*mg*%로 나타나 참기름군과 콩기름군은 대조군 보다 낮게 나타났으나 들기름군은 상당히 높게 나타났으며 beta-lipoprotein은 대조군이 0.71*mg*% 참기름군이 0.68*mg*%, 콩기름군이 0.80*mg*% 들깨기

Table 4. Electrophoretic lipoprotein component of rabbit serum(unit:*mg*%)

Group	Total Protein	Lipalbmin	Lipoprotein			
			α_1-	α_2-	β-	γ-
Control	5.96	3.31	0.34	0.64	0.71	0.96
Sesame oil	5.89	3.45	0.25	0.42	0.68	1.09
Soybean oil	5.85	3.33	0.32	0.45	0.80	0.95
Perilla oil	5.92	3.44	0.32	0.85	0.57	0.74

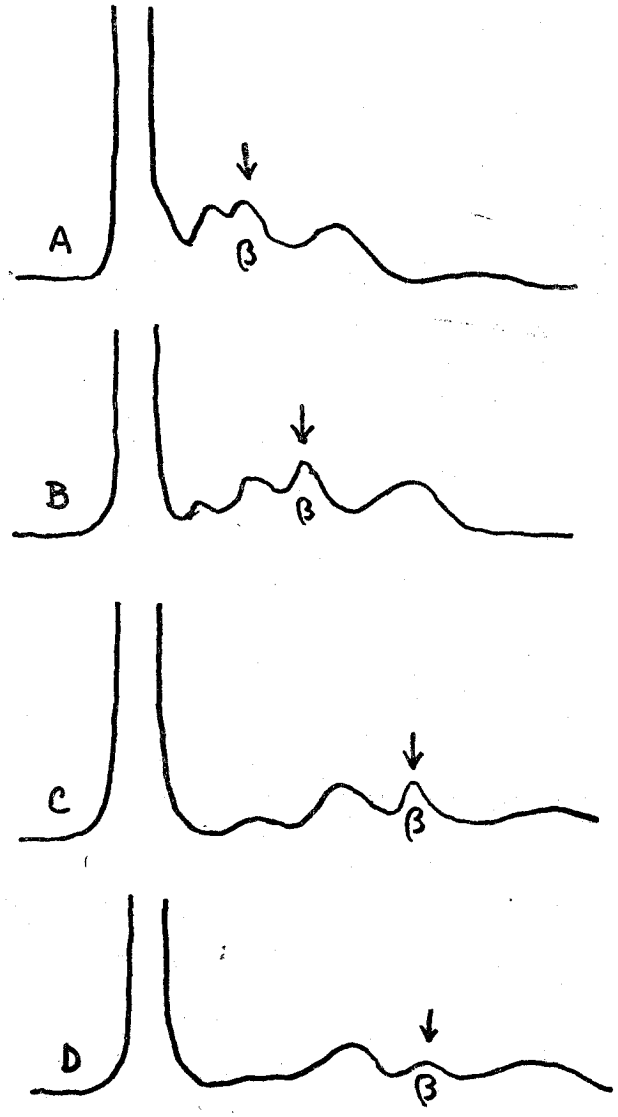

Fig.1. Electrphoretic pattern of effect of linoleic acid on beta-lipoprotein.
The arrows indicate the components of changing mobility. Control(A), Sesame oil(B), Soybean oil(C), Perilla oill(D).

름군이 0.57mg%를 나타내 들깨기름군이 가장 낮게 나타났다.

위에서 알 수 있는 것은 포화지방산과 불포화지방산의 비가 클 수록 혈청 콜레스테롤의 함량이 감소된다는 것은 지금까지 발표된 보문들과 잘 일치함을 알 수 있었다. 그러나 트리그리세리드가 감소된다는 Ahrens,[4] Nestel,[27] Keys,[28] Grande[29]등의 보고도 있었으나 본 연구 실험에서는 대조군의 것과 큰 차이가 없었다. 그러나 다른 기름을 먹인 군보다는 낮게 나타났다.

3. 리포단백질의 이동

토끼 혈청리포단백질을 전기영동법으로 분석하여 Tabe 5,6, Fig.1에 나타난 것과 같다.

Table 5. Lipalbumin and beta-lipoprotein of rabbit serum (unit:%)

Group	Lipalbumin	β-lipoprotein	β-lipoprotein / Lipalbumin
Control	57.3	12	0.21
Seasam oil	64.1	11.5	0.18
Soybean oil	47.0	13.7	0.29
Perilla oil	49.0	9.6	0.19

Table 6. The mobility of lipalbumin and beta-lipoprotein of rabbit serum

Group	Lipalbumin	β-lipoprotein	Linoleic acid / Lipalbumin
Control	3.5	0.8	—
Sesame oil	3.3	0.6	2.5
Soybean oil	5.8	1.1	2.1
Perilla oil	4.3	0.7	1.9

* Mobility in cm^2/volt.sec$\times 10^5$
The ordinates of several pattern are only approximately comparable.

위 표에서 보면 Lipalbumin은 대조군이 57.3% 참기름군이 64.1% 콩기름군이 47.0%, 들깨기름군이 49.0%로 참기름군만이 대조군보다 높았으며 Beta-lipoprotein의 경우도 대조군이 12%, 참깨기름군이 11.5%, 콩기름군이 13.7% 들깨기름군이 9.6%로 나타나 들기름군만이 상당히 낮게 나타났고 Beta-lipoprotein/Lipalbumin은 대조군이 0.21, 참기름군이 0.18, 콩기름군이 0.29, 들깨기름군이 0.19로 나타났다. Beta-lipoprotein의 양이 적으면 Cholesterol level도 적게 나타나 긴밀한 관계가 있음을 말한다고 생각된다. 이는 White[30]에서 나타난것에 의하면 Beta-lipoprotein에 cholesterol이 많이 함유되어 있으므로 Beta-lipo-

protein의 함량이 적으면 cholesterol의 함량이 적을 것으로 생각된다. 그런데 본 실험에서 들깨기름을 먹인군에서 Beta-lipoprotein의 함량이 작고 cholesterol level도 낮은것은 잘일치된다고 보여진다. 그리고 lipalbumin과의 비도 들깨기름군이 낮아 cholesterol level은 상호관계가 있는 것으로 사료된다.

한편 분자 이동을 살펴보면 대조군에서 Lipalbumin 3.5, Beta-lipoprotein 0.8을 보였는데 참기름군에서는 Lipalbumin 3.3, Beta-lipoprotein 0.6을 콩기름군에서는 Lipalbumin 5.8, Beta-lipoprotein 1.1을 들깨기름군에서는 Lipalbumin 4.3, Beta-lipoprotein 0.7을 보여 lipalbumin의 이동은 참기름군이 가장 낮았고, 콩기름군이 가장 높았다. 한편 Beta lipoprotein의 경우는 역시 콩기름군이 가장 높았고 참깨기름군이 가장 낮았다. 이는 electrokinetics적인 분자의 이동이 일어날 것이고 음하전력이 더 강하여져서 양극방향으로 분자의 이동이 될 것으로 사료된다.

한편 Lipalbumin과 Beta-lipoprotein들이 원점으로 부터의 이동거리를 Fig. 2,3에 나타냈다.

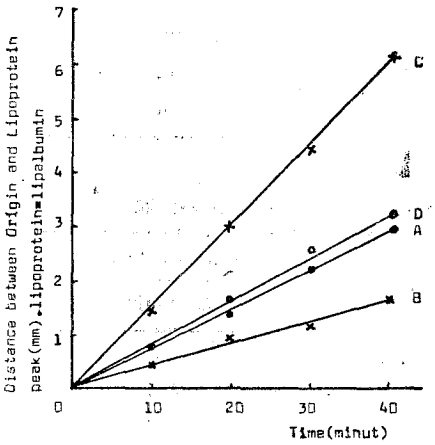

Fig.2. Time migration distancrelationship at constant voltage for rabbit serum
250 volt, 0.5 mA, pH 8.6
A:Control, B:Sesame oil, C:Soybean oil
D:Perilla oil

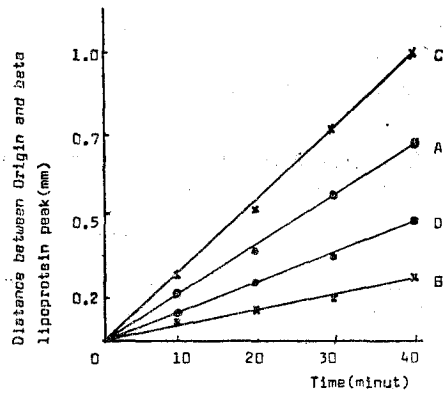

Fig.3. Time migration distance relationship at constant voltage for rabbit serum
250 volt, 0.5mA, pH8.6
A:Control, B:Sesame oil, C:Soybean oil
D:Perilla oil

위에서 알 수 있는 바와 같이 lipalbumin에 있어서는 control group보다 참기름군만이 이동거리가 적고, 콩기름군이 가장 크게 나타났다. 한편 Beta-lipoprotein의 경우는 control group보다 큰것이 콩기름군이고 참기름군이 가장 적었다. 여기서 유의할 것은 Beta-lipoprotein이 들깨기름을 먹인군에 있어서 control group보다 적게 되었다는 것이다. 첨가한 식물성 기름의 함량에서 콩기름의 경우 리놀레산이 49.2%로 가장 많고 참기름에 있어서

41.9%, 들깨기름에 있어서 15.6%를 보여 콩기름을 먹인군의 lipalbumin과 beta-lipoprotein이 원정에서 부터의 이동거리가 크게 나타났고, 참기름의 경우는 이동거리가 가장 적게 나타났으며 들깨기름의 경우는 참기름군보다 다소 크게 나타났다. 이것은 올레인산과 리놀레산의 함량에 크게 영향이 있는 것으로 사료되며 리포단백질 각 성분의 함량과도 관계가 있는것 같다. Table 5.에서 볼 수 있는 바와 같이 β-lipoprotein/lipalbumin의 값과 β-lpoprotein의 이동도와 관계가 있음을 알 수 있었다.

Ⅳ. 결 론

토끼에 식물성기름 우유카제인 리놀레산을 기본식이에 첨가하여 일정기간동안 사육한 다음 도살하여 혈청을 분리시킨 다음 콜레스테롤 리포단백질을 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈청콜레스테롤은 대조군, 참기름군, 콩기름군, 들깨기름군에 있어서 Total cholestesterol, Cholesterol ester, Free Cholesterol이 각각 79.55, 45.2, 34.35㎎% 112.65, 65.5, 47.15㎎%, 116.55, 70.5, 46,05㎎%; 98.0, 44.30㎎%로 나타났다.

2. 혈청트리그리세리드는 대조군, 참기름군, 콩기름군, 들깨기름군에 있어서 각각 121.5, 128.7, 138.7, 126.7㎎%를 나타내 들깨기름군이 control group보다는 높았지만 식물성기름 첨가군에서는 가장 낮은 값을 보였다.

3. 전기영동법에 의하여 분석하여 Lipalbumin, α_2-lipoprotein, β-lipoprotein이 대조군에 있어서 3.31, 0.64, 0.71㎎%, 참기름군에 있어서 3.45,0.42,0.68㎎%, 콩기름군에 있어서 3,33, 0.45, 0.80㎎% 들깨기름군에 있어서 3.44,0.85,0.57㎎%을 나타내 α_2-lipoprotein은 들깨기름군이 가장 높았고 β-lipoprotein도 들깨기름군이 가장 낮았음을 알 수 있었다.

4. Lipalbumin과 β-Lipoprotein의 함량을 보면 대조군, 참기름군, 콩기름군, 들깨기름군이 각각 57.3, 12%, 64.1, 11.5%, 47.0, 13.7%, 49.0, 9.6%를 보여 β-lipoprotein이 가장 적었다.

5. Lipalbumin과 β-lipoprotein의 이동도는 대조군, 참기름군, 콩기름군, 들깨기름군에 있어서 각각 3.5, 0.8㎠/v. sec×10^5; 3.3, 0.6㎠/v. sec×10^5; 5.8, 1.1㎠/v. sec×10^5; 4.3, 0.7㎠/v. sec×10^5을 보였다.

Reference

1. Kinsell, L.W., J. Partridge, L. Boling and G. D. Michaels: Dietary modification of serum cholesterol and phospholipid level. *J. Clin. Invest.* **12**:909-915, 1952.
2. Groen, J., B. K. Tinong, C. E. Kamminga and A. E. Willebrands: The influence of nutrition individuality and some other factors including various factors of stres on the serum cholesterol. *Voeding* **13**:556-561, 1952

3. Kinsell, L. W., G. D. Michaels, J. W. Partidge, L. A. Boling, H. E. Balch and G. C. Cochranl: Effect upon serum cholesterol and phospholipids of diets containing larger amount of vagetable fat. *J. Clin. Nutr.* **1**:224-234, 1953.
4. Ahrens, E. H. Jr., J. Hirsh, W. Insull, Jr., T. T. Tsalts, R. Blomstand and M. L. Patersoon: The influence of dietary fats on serum lipid levels in man. *Lancet* 1:943-953, 1957
5. Malmros. H. and G. Wigard: The effect on serum cholesterol of diets containing different fat. *Lancet* **2**:1-12, 1957
6. Wigard, G.: Production of hypercholesterolamia and atherosclerosis in rabbit by feeding different diets without supplementary cholesterol. Acta Med. Scand. 166 suppl 351, 1960
7. Nam, H. K. and Y.O. Lee: The effect of dietary vegetable oils on the blood cholesterol level of rabbit. *Korean J. Food Sci. Techn.* **12**:77-83, 1980
8. Holman, R. T. :Essential fatty acid deficiencey, In progress in the chemisty of fatst and ether lipid. Vol. 9 pp. 275-348, Pergamon press, %xford, 1971
9. Ockner, R. K. F. B. Hughen and K. J. Issenbacher:Very low density lipoprotein in intestine lymph. *J. Clin. Invest.* **48**:2367-2375, 1969
10. Hahn, P. E.: Abolishment of almentary lipemia following injection of heparin. *Science* 98:19-25, 1943
11. Anderson, N. G. and Fawcett, B.: An antichylomicroemic substance produced by heparin injection. *Proc. Soc. Exper. Biol.* & Med. **74**:768-775, 1950.
12. Shoye, B., A. V. Nichols and Freeman, N. K.: Evidence for lipolytic action by plasma obtained after intravenous administration of heparin. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* **83**:216-226, 1953.
13. Brown, R. K., Boyle, E. and Antinsen, C. B.: The enzymatic transformation of lipoproteins. *J. Biol. Chem.* **204**:423-430, 1953
14. Gordon, R. S. Jr., Boyle, E., Brown, R. K., Cherkers, A. and Arginser, C. B.:Role of serum albumin in lipemia clearing reaction. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 84:168-174, 1953
15. Hira Lal and M. S. N. Rao: Metal protein interaction in buffer solution. *J. Am. Chem. Soc.* **79**:3050-3056, 1956
16. Markus, G. and F. Karush: Structural effect of the interaction of Human serum albumin with sodium decylsulfate. *J. Am. Chem. Soc.* **79**:3264-3269, 1957
17. Kolthoff, I. M. and B. R. Willeford, Jr.: The interaction of Copper(Ⅱ) with bovine serum albumin. *J. Am. Chem. Soc.* **80**:5673-5678, 1958
18. Nam, H. K. and Y. T. Chung: The effect of Mg++, Ca++ concentration on the total cholesterol level of rabbit. *J. of Gwangju Health Junior College* **5**:41-47, 1980
19. Goodman, D. S. and E. Shafrir: The interaction of Human low density lipoprotein with long chain fatty acid anions. *J. Am. Chem. Soc.* **81**:364-370, 1958
20. Hurley, N. A. and Herbst, F. S. M.: Effect of haparin on alimentary hyperlipemia. An electrophoretic study. *J. Clin. Invest.* **33**:907-912, 1954
21. Young, R. J. and R. l. Garrett: Effect of oleic and linoleic acids on the absorption of satureted fatty acids in the chicks. *J. Nutr.* **81**:321-329, 1963

22. Gordon, R. S. Jr.: Interaction between oleate and the lipoproteins of Human serum. *J. Clin. Invest.* ***33***:477-485, 1954
23. Johansson, G.and V. P. Shanbhag: Interaction of Human serum albumin with fatty acids. *Eur. J. Biochem.* ***93***:363-367, 1979
24. Sperry, W. M.: A micromethod for the determination of total and free cholesterol. *J. Biol. Chem.* 150:315-321, 1943
25. Henry, R. J.: *Clinical Chemistry*, pp.864-870, Harper & Row, N. Y., 1965
26. Henry, R. J.: *Clinical Chemistry*, pp. 246-253, Harper & Row, N. Y., 1965
27. Nestel, P. J., Caroll,, K. F. and Harvenstein, N.: Plasma triglyceride response to fats, carbohydrate and calorie intake. *Metabolism* ***19***:1-18, 1970
28. Keys, A., Anderson, J. T. and Grande, F.: Serum cholesterol response to changes in the diets. *Metabolism* ***14***:747-758, 1965
29. Grande, F., Anderson, J. T. and Keys, A.: Diets of different fatty acid composition producing indentical serum cholesterol level in man. *Am. J. Clin. Nutr.* ***25***:53-60, 1972
30. White, A., P. Handler, and E. L. Smith: Princilpes of Biochemistry,5th ed., pp.547, 806 McGraw-Hill, N. Y., 1973

The effect of inferaction between cinoleic acid and Lipoprotein on serum cholesterol level in the rabbit

Hyun Keun Nam
Dept. of Food & Nutrition
Gwang-Ju Health Junior College

>***Abstract***<

The effect of interaction between linoleic acid and lipoprotein on rabbit blood serum cholesterol level was studied for a period of 4 weeks using isocalories and isonitrogenous diets. Linoleic acid added to the basal diet and vegetable oils. The subject rabbits were divided into 4 feeding groups such as A(basal diet only), B(basal+sesame oil+casein+linoleic acid), C(basal+soybeanoil+casein+linoleic acid) and D(basal+perilla oil+casein+linoleic acid).

The results are summarized as follows:

1. Serum cholesterol(*mg*/1*mℓ*. serum) of the A,B,C and D group was 79.55, 112.65, 116.55 and 98.0 respectively. Cholesterol ester was 45.2% for A group, 65.5% for B group, 70.5% for C group and 53.7% for D group.

2. Serum triglyceride(*mg*/100*mℓ*.serum) of the A,B,C and D was 121.5, 128.7, 138.7 and 130.7 repsectively.

3. Serum lipalbumin(*mg*/100*mℓ*.serum) of the A,B,C and D group was 3.31, 3.45, 3.33 and 3.44 respectively. Beta-lipoprotein was 0.71 for A group, 0.68 for B group, 0.80 forC group and 0.57 for D group.

4. The percentage of lipalbumin and beta-lipoprotein were 57.3, 12 for A group; 64.1, 11.5 for B group; 47.0, 13.7 for C group and 49.0, 9.6 for D group. The ratio of beta-lipoprotein per lipalbumin was 2.4 for A group, 1.97 for B group, 2.14 for C group and 1.65 for D group.

5. The mobility of lipalbumin and beta-lipoprotein of the A,B,C and D group were 3.8, 9.4, 4.4, 11.6; 4.4, 12.6, 5.0, 12.8 respectively. The ratio of linoleic acid per ilpalbumin was 2.5 for B group, 2.1 for C group and 1.9 for D group.

6. Addition of linoleic acid causes an increase in the mobility of beta-lipoprotein, and this effect is considered to be due to association of linoleic anions with the lipoprotein. This electrokinetic anion causes more mobility increase to the anodic direction.