

## 정어리유 섭취가 흰쥐의 혈장 지질, 적혈구막 인지질의 지방산 조성 및 지질의 과산화에 미치는 영향\*

최 임 순 · 진 복 희\*

동덕여자대학 식품영양학과  
원광보건전문대학 임상병리학과\*

### Effects of Sardine Oil on Plasma Lipids, Fatty Acid Composition of Erythrocyte Membrane Phospholipids and Lipid Peroxide Levels of Plasma and Liver in Rats

Im Soon Choi, Bok Hee Jin\*

*Department of Food and Nutrition, Dongduck Women's University*

*Department of Clinical Pathology, Wonkwang Public Health Junior College\**

#### =ABSTRACT=

Young male rats were fed for 4 weeks on different experimental diets containing 8% (w/w) fat : sardine oil, soybean oil and lard.

In the sardine oil group, total cholesterol and triglyceride concentrations in plasma were significantly lower than in the soybean oil and lard group. The proportions of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids in erythrocyte membrane phospholipids were significantly higher in the sardine oil-fed animals. By sardine oil ingestion, lipid peroxide levels in the plasma and liver were elevated while atocopherol concentrations were lowered, compared to the other groups. However, erythrocyte osmotic fragility was unaffected by the different fat diets.

#### 서 론

순환기질환의 발병율은 지난 세기 동안 계속 증가되어 왔으며, 현재 서구사회에서 가장 높은

사망원인을 나타내고 있다<sup>1)</sup> 우리나라에서도 1985년도 사망원인중 순환기질환이 31.8%로 수위를 차지하였는데<sup>2)</sup> 이는 칼로리의 과다섭취, 동물성 식품의 소비증가 추세 등으로 미루어 앞으로

\* 이 논문은 1986년도 문교부 자유과제 학술연구조성비에 의해서 연구되었음.

접수일자 : 1987년 8월 30일

더욱 문제가 심각해질 것으로 보인다.

이러한 순환기질환을 예방하기 위해서는  $\omega$ -6계 불포화지방산이 다량 함유된 식물유의 섭취가 권장되어 왔으나 최근에는 어류 지질에만 함유되어 있는 eicosapentaenoic acid(EPA) 및 docosahexaenoic acid(DHA) 와 같은  $\omega$ -3계 고도불포화지방산이 순환기 질환 방지에 보다 탁월한 효과가 있는 것으로 밝혀져 관심이 집중되고 있다<sup>3,6)</sup>.

그런데 우리나라 연근해에서는 정어리, 전어, 청어등 지방의 함량이 10%에 달하는 고지방성 어류가 다량 어획되고 있으나 이들의 어유 (fish oil)는 쉽게 산패하므로 아직까지 식용유원으로는 이용되지 못하고 사료나 생선으로서의 소비에 국한되고 있다. 특히 정어리는 그 생산량이 연간 약 18만톤<sup>7)</sup>에 이르고 가격이 저렴할 뿐 아니라 어체(fresh fish)의 기준의 약2.5% 그리고 어유기준으로는 약 30%에 달하는  $\omega$ -3계 고도불포화지방산을 함유하고<sup>8)</sup> 있는 것으로 알려져 있으므로 현재까지는 페인트유등의 공업용으로만 사용되고 있는 어유를 식용으로 하기 위한 다각적인 연구가 절실히 필요하다.

한편 어유에 함유된  $\omega$ -계 고도불포화지방산은 유의한 생리작용을 나타내지만 이들은 구조상이중결합이 많아 체내외에서 쉽게 산화되어 과산화물을 형성함으로 노화나 퇴행성 변화를 유발할 가능성이 지적되고<sup>9,12)</sup> 있으므로 어유가 신체에 미치는 생리적 영향을 조사하여야 할 것이다.

따라서 본 실험에서는 정어리유 섭취시 흰쥐에서 혈액 지질에 미치는 영향을 조사하여 다른 대표적인 유지의 경우와 비교하고, 아울러 고도 불포화지방산의 섭취에 따른 과산화물 생성과 그 생리적인 영향을 조사, 보고하고자 한다.

### 실험재료 및 방법

#### 1) 실험동물

평균체중이 89.5±8.6g인 Sprague-Dawley종의

성장기 수컷 흰쥐를 1주간 시판 고형사료로 적응시킨 후 체중에 따른 난과법에 의하여 6마리씩 3군으로 나누어 4주간 실험식으로 사육하였으며, 물과 실험식은 무제한 공급하였다.

#### 2) 실험식이

실험식은 Table 1과 같이 탄수화물 70.3%, Casein15%로 구성되었으며 각 군의 지방 함량은 8% (w/w)로 일정하게 하되 지방의 급원을 정어리유, 대두유, 돈지로 달리하였다.

식이지방의 급원으로 사용된 정어리유는 1987년 4월에 어획한 정어리를 산지(충무)로 부터 냉

Table 1. Composition of Experimental Diet (g/kg diet)

Exp. groups Ingredients	Sardine oil	Soybean oil	Lard
Corn starch	503	503	503
Sucrose	200	200	200
Casein	150	150	150
Sardine oil	80	—	—
Soybean oil	—	80	—
Lard	—	—	80
Cellulose	20	20	20
Salt mixture <sup>1)</sup>	35	35	35
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2

- 1) Salt mixture(g/kg mixture) : Calcium phosphate dibasic, 500 ; Sodium chloride, 74 ; Potassium citrate monohydrate, 220 ; Potassium sulfate, 52 ; Magnesium oxide, 24 ; Manganous carbonate, 3.5 ; Ferric citrate, 6 ; Zinc carbonate, 1.6 ; Cupric carbonate, 0.3 ; Potassium iodate, 0.01 ; Sodium selenite, 0.01 ; Chromium potassium sulfate, 0.55 ; Sucrose to make 1,000 (AIN-76<sup>TM</sup>)
- 2) Vitamin mixture (per kg mixture) : Thiamin · HCL, 600mg ; Riboflavin, 600mg ; Pyridoxine · HCL, 700mg ; Nicotinic acid, 3g ; D-Calcium pantothenate, 1.6g ; Folic acid, 200mg ; D-Biotin, 20mg ; Cyanocobalamin, 1mg ; Vitamin A, 400,000IU ; Vitamin E(dl- $\alpha$ -tocopherol acetate), 5,000 IU ; Cholecalciferol, 2.5mg ; Menaquinone, 5mg ; Sucrose to make 1,000g(AIN-76<sup>TM</sup>)

-정어리유 섭취가 흰쥐의 혈장 지질, 적혈구막 인지질의 지방산 조성 및 지질의 과산화에 미치는 영향-

장상태로 직송하여 마쇄한 다음 물과 1 : 1의 비율로 섞어 boiling하여 압착시킨 후 10,000rpm에서 20분간 원심분리하여 조유를 (crude oil)를 얻었다. 이어서 180°C, 0.25mmHg 의 조건에서 탈취하여 질소가스로 stripping한 후 식이제조사 까지 냉장보관하면서 사용하였다. 대두유는 시판제품을 사용하였고 돈지는 서울식품 연구실에서 공급받아 정어리유와 동일한 조건으로 탈취하여 시료로 사용하였다. 본 실험에 사용된 유지의 지방산의 함량과 peroxide value<sup>13)</sup>는 Table 2와 같다.

### 3) 실험방법

#### (1) 채혈방법

실험기간 종료 후 12시간 단식시킨 실험쥐들을 ethyl ether로 마취하여 heart puncture로 혈액을 채취한 후 heparin 처리가 된 시험관에 받아 즉시 적혈구 취약실험(erythrocyte osmotic fragility test)을 실시하고, 나머지 혈액은 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 얻었다.

#### (2) 혈장 지질성분의 측정

혈장의 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 인지질 및 중성지방의 함량은 효소법에 의한 kit(Wako사, 일본)를 이용하여 측정하였다.

#### (3) 적혈구막 지질의 추출 및 지방산분석

혈장을 제거시킨 적혈구 세포를 동일군 내에서 2마리씩 pooling 하여 isotonic Tris buffer로 세번 세척한 후 hypotonic Tris buffer로 용혈시켜 20,000g에서 40분간 원심분리하여 적혈구막을 분리하였다<sup>14)</sup>. Hypotonic buffer로 세척을 반복하여 hemoglobin을 완전히 제거시킨 적혈구막에서 지질을 추출하고<sup>15)</sup> 인지질을 분리하였다.<sup>16)</sup>

적혈구막 인지질 중 지방산의 조성은 지방산을 methyl ester화 시켜 gas liquid chromatography (GLC)로 분석하였다. GLC분석은 Varian 3700 (FID)기종을 사용하였고 column은 10% Silar 10

Table 2. Fatty acid compositions and peroxide values of the dietary fats used in the experiment

Fatty acid	(area %)		
	Sardine oil	Soybean oil	Lard
14 : 0	7.5	—	2.8
15 : 0	0.6	—	0.1
16 : 0	16.9	10.7	25.0
: 1	10.9	tr <sup>1)</sup>	3.1
: 4ω3	2.6	—	—
17 : 0	1.0	0.1	0.6
: 1	1.7	tr	0.2
18 : 0	4.0	3.8	12.0
: 1	11.1	22.4	42.7
: 2ω6	1.1	53.0	9.2
: 3ω6	0.4	1.2	0.3
: 3ω3	0.6	7.6	—
: 4ω6	2.7	—	—
20 : 1	2.5	—	1.3
: 2ω6	—	0.1	0.3
: 3ω6	—	0.5	—
: 4ω3	0.8	tr	—
: 5ω3	19.0	—	—
22 : 1	3.0	—	—
: 4ω6	1.4	—	—
: 5ω3	2.3	—	—
: 6ω3	9.1	—	—
Unknown <sup>2)</sup>	0.9	0.4	2.6
ω-3 poly <sup>3)</sup>	37.1	7.6	—
ω-6 poly <sup>4)</sup>	2.9	54.8	9.5
P/S ratio <sup>5)</sup>	1.33	4.27	0.24
PI <sup>6)</sup>	233.2	57.06	11.3
Peroxide value <sup>7)</sup> mEq/kg	0.9	0.7	0.2

1) Trace (<0.1%)

2) Unknown fatty acids

3) ω-3 polyenoic fatty acids

4) ω-6 polyenoic fatty acids

5) Polyunsaturated to saturated fatty acid ratio

6) Peroxidizability index of the PUFA(see text for explanation)

CP를 피복한 100-120mesh Chromosorb W-HP 를 충전시킨 glass column(length 2m, 3mm i.d.)을 사용하였다. Column온도는 170°C에서 분당 1.5°C씩 상승시켰으며 운반기체로는 질소가스를 분당 30 ml씩 통과시켰다. Chromatogram에 분리된 지방산 methyl ester의 동정은 표준물질(Sigma Chemical Co.)의 머무름 시간과 비교하여 확인하였으며 각 지방산 조성은 chromatogram의 각 피크 면적을 총면적에 대한 백분율로 나타내었다.

(4) 혈장 및 간의 lipid peroxide 함량 측정

혈장 및 간의 lipid peroxide 함량은 Ohkawa법<sup>17)</sup>을 이용하여 측정하였으며 TMP(1,1,3,3-tetramethoxypropane, Sigma Chemical Co.)를 external standard로 사용하였다.

(5) 혈장 및 간의 α-tocopherol 함량 측정

혈장에서 지용성비타민을 검화하여 추출한<sup>18)</sup> 후 Tsen<sup>19)</sup>방법에 의하여 α-tocopherol의 함량을 측정하였다. 즉 4,7-diphenyl-1, 10-phenanthroline (bathophenanthroline, Fluka)을 추출한 시료에 가하고 혼합한 다음 0.5ml의 ferric chloride 용액을 이 혼합액에 첨가하여 잘 섞어 spectrophotometer (Beckman, model 25)로 534nm에서 흡광도를 측정하였으며 비타민E 표준물질로는 dl-α-tocopherol(Sigma Chemical Co.)을 사용하였다.

간에서의 α-tocopherol 함량 측정은 10% 간 homogenate 1ml을 취하여 혈장에서와 동일한 방법으로 추출하여 측정하였다.

(6) 적혈구 취약실험(Erythrocyte osmotic fragility test<sup>20)</sup>

Heparin이 처리된 혈액 20 μl를 채혈 즉시 취하여 식염수의 농도가 0.1, 0.2, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45, 0.5, 0.55, 0.6, 0.65, 0.7, 0.8%인 5ml 식염수 용액에 넣고 주의하여 혼합한다. 실온에 20분간 방치한 후 2,000rpm에서 10분간 원심분리시켜 각 농도에서 상층액의 흡광도를 540nm에서 측정하여 % 용혈을 다음과 같이 계산하였다.

$$\% \text{ Hemolysis} = \frac{A_x}{A_0} \times 100$$

A<sub>x</sub> ; 각 식염수 농도에서의 흡광도

A<sub>0</sub> ; 증류수에서의 흡광도

4) 통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군 별로 평균에 차이가 있는가를 검정하기 위하여 분산분석(ANOVA 검정)을 수행하였으며, 분산분석결과 유의성이 발견된 경우 동질적인군과 이질적인 군을 구분하기 위하여 Tukey의 다중비교 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

1) 혈장 지질성분의 변화

혈장 총콜레스테롤은 Table 3에서 보는 바와 같이 정어리유 섭취군에서 대두유나 돈지군에 비하여 유의적인 감소를 나타내었다. 어유나 어유농축물 섭취시 사람과 실험동물에서 총 콜레스테롤이 감소한다는 보고<sup>21)22)</sup>들이 많이 있으나 ω-3 불포화지방산(PUFA)의 종류 및 함량에 따라서는 총콜레스테롤의 함량에 변화를 주지 못했다는 연구<sup>23)24)</sup>들도 발표되고 있다.

한편 대두유와 돈지군 간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 일반적으로 linoleic acid를 다량 함유한 식물성유 섭취시 혈장 콜레스테롤의 저하효과는 여러연구<sup>25)26)</sup>에서 나타났으나 이들 연구의 대부분이 식물성유가 총 칼로리의 40%를 차지하는 경우였으며 본 실험에서와 같은 총 칼로리의 약 18% 정도로 낮은 섭취 수준에서는 P/S ratio(Table 2)가 4.27인 대두유가 0.24로 현저히 낮은 돈지 섭취군에 비해 그 저하효과를 볼 수 없었다. 이러한 결과는 총 지방함량과 P/S ratio를 달리한 실험에서 혈장 총콜레스테롤의 변화에 유의적인 차이를 볼 수 없었던 박<sup>27)</sup>의 결과와 일치된다.

혈장 HDL-콜레스테롤은 정어리유군이 타군에 비하여 증가되는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었으며 총콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 유의성있게 증가되었다. 어유

-정어리유 섭취가 흰쥐의 혈장 지질, 적혈구막 인지질의 지방산 조성 및 지질의 과산화에 미치는 영향-

Table 3. Concentrations of total-cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride and phospholipid in the plasma of rats fed on the experimental diets<sup>1)</sup>

(mg/100 ml plasma %)

Exp. groups	Sardine oil	Soybean oil	Lard
Total-cholesterol	137.37±2.98 <sup>a2)</sup>	155.06±4.18 <sup>b</sup>	156.71±1.42 <sup>b</sup>
HDL-cholesterol	61.00±2.01	60.49±3.08	58.30±2.90
HDL-choi/Total-choi	0.45±0.01 <sup>a</sup>	0.39±0.01 <sup>b</sup>	0.37±0.02 <sup>b</sup>
Triglyceride	103.75±4.23 <sup>a</sup>	141.46±6.27 <sup>b</sup>	163.92±14.18 <sup>b</sup>
Phospholipid	117.19±3.24 <sup>a</sup>	116.25±4.05 <sup>a</sup>	144.07±5.93 <sup>b</sup>

1) Mean±SE(n=6)

2) Values on the same line not sharing a common superscript are significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Turkey's test

( $\omega$ -3 PUFA)와 식물성유( $\omega$ -6 PUFA) 섭취시에 혈장 HDL-콜레스테롤에 미치는 영향에는 일관성있는 보고는 아직 없다.

혈장 중성지방의 변화를 조사한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 정어리유군이 타군에 비하여 유의적으로 크게 감소되었다. 어유의 혈장 중성지방 저하효과는 잘 알려져 왔으며 그 기작은 아마도  $\omega$ -3 고도불포화지방산이 hepatic lipogenesis와 adipose tissue의 lipolysis를 감소시키고, lipoprotein의 유동화현상(fluidity)을 일으켜 lipolytic enzyme에 의한 VLDL(very low density lipoprotein)의 제거에 보다 용이해진<sup>25,26)</sup> 것 등에 기인하는 것으로 보인다.

혈장 인지질은 정어리유군이 돈지군에 비하여 유의적인 감소를 나타냈으나 대두유군과는 그 차이를 볼 수 없었으며, Hamazaki<sup>29)</sup>도 EPA가 다량 함유된 어유를 섭취시킨 사람에게서 인지질의 감소를 보고하였다.

한편 8% (w/w) 정어리유를 섭취시킨 본 실험과 파이미 발표된 4% 정어리유를 섭취시킨 결과<sup>30)</sup>를 비교하여 보면 혈장 중성지방과 총콜레스테롤 함량은 4% 섭취군에서는 유의적인 변화를 볼 수 없었으나 8% 섭취군에서는 유의적인 감소를 나타내었다. 이러한 결과는 EPA농축물을 10g이상 사람에게 섭취시켰을 경우 중성지방의 저하를 관찰할 수 있었으나 그 이하의 섭취 수준에서는 감소 효과를 볼 수 없었다는 Sanders<sup>31)</sup>의 결과와도 일치되며, 이들 혈장 지질의 감소를 가져올 수

있는  $\omega$ -3 PUFA의 최소량이 있을 것으로 추측된다. 반면 혈장HDL-콜레스테롤은 4% 섭취군에서는 증가하였으나 8% 섭취군에서는 유의적인 변화를 나타내지 않았다. Nestel<sup>32)</sup>은 다량의  $\omega$ -3 PUFA 섭취시 혈장HDL-콜레스테롤이 감소되고, 보다 적은 양을 공급할 경우 증가되거나 변화를 일으키지 않는다고 지적하였으며, Sanders<sup>29)</sup>도 대구간유나 EPA농축물을 섭취 시켰을 때 HDL<sub>2</sub>-콜레스테롤은 증가되는 반면 HDL<sub>2</sub>-콜레스테롤은 실제로 감소된다고 보고하고 있다. 따라서 혈장 HDL-콜레스테롤의 함량은  $\omega$ -3 PUFA 섭취 수준에 따른 영향도 받는 것으로 생각된다.

## 2) 적혈구막 인지질의 지방산조성

적혈구막 인지질에서의 지방산조성(Table 4)을 보면, 정어리유 섭취군이 다른 군에 비하여 EPA(20 : 5  $\omega$ -3)와 DHA(22 : 6  $\omega$ -3)의 함량이 크게 증가되고 있는데 이는 식이지방 조성(Table 2)이 조직 지질의 지방산 함량에 영향을 미친다는 것을 잘 나타내 주고 있다. 어유나 어유농축물의 섭취시 조직 지질에서 이들  $\omega$ -3 PUFA의 증가는 잘 알려져 있으며<sup>33,36)</sup> 이는 조직인지질에서 불포화지방산은 glycerol의 sn-2탄소에 대부분 위치하고<sup>37)</sup> 있어서  $\omega$ -6와  $\omega$ -3 PUFA들이 동일한 이 위치에 경합하게 되는데,  $\omega$ -3 PUFA가 상대적으로 많은 정어리유 섭취시 조직에서  $\omega$ -3 PUFA가 증가되고, 반면  $\omega$ -6계의 linoleic acid(18 : 2)와 ara-

Table 4. Fatty acid composition in erythrocyte membrane phospholipids of rats fed on the experimental diets<sup>1)</sup>

(area%)

Fatty acid	Sardine oil	Soybean oil	Lard
14 : 0	1. 3±0. 6	1.4±0. 8	1. 6±0. 3
: 1	tr <sup>2)</sup>	tr	0. 1±0. 1
15 : 0	2. 1±0. 1	1.9±0. 1	2. 0±0. 1
16 : 0	22. 6±1. 6	20.7±3. 2	23. 5±0. 9
: 1	1. 9±0. 1	0.9±0. 5	0. 8±0. 5
: 4w3	—	0. 4±0. 2	—
17 : 0	1. 8±0. 1	1.9±0. 4	1. 6±0. 4
: 1	0. 3±0.01	0.4±0. 1	0. 4±0. 2
18 : 0	17. 5±0. 5	16.8±2. 1	18. 0±1. 2
: 1	14. 1±0. 5	13.1±1. 2	14. 8±3. 1
: 2ω6	6. 5±0. 2 <sup>3)</sup>	12.3±0. 9 <sup>b</sup>	9. 2±0. 7 <sup>c</sup>
: 3ω6	tr	1.2±1. 2	tr
: 4ω3	0. 8±0. 1	1.1±0. 5	tr
20 : 1	0. 4±0. 1	—	tr
: 2ω6	tr	1.2±0. 9	0. 7±0. 6
: 3ω6	1. 0±0. 1	3.1±2. 0	2. 4±0. 9
: 4ω6	11. 5±0. 5 <sup>a</sup>	14.2±1. 0 <sup>b</sup>	18. 3±1. 3 <sup>c</sup>
: 4ω3	0. 4±0. 2	0.8±0. 6	0. 4±0. 3
: 5ω3	5. 9±0. 8 <sup>a</sup>	0.4±0. 3 <sup>b</sup>	tr <sup>b</sup>
22 : 4ω6	1. 9±0. 8	2.2±0. 9	2. 3±0. 9
: 5ω6	—	0.3±0. 2	0. 3±0. 2
: 5ω3	2. 1±0. 1 <sup>a</sup>	1.0±0. 4 <sup>b</sup>	0. 3±0. 2 <sup>b</sup>
: 6ω3	4. 5±0. 1 <sup>a</sup>	1.4±0. 2 <sup>b</sup>	0. 8±0. 4 <sup>b</sup>
24 : 1	—	0.6±0. 6	—
unknown <sup>4)</sup>	3. 2±0. 9	2.8±0. 2	2. 6±1. 2
ω-3 poly <sup>5)</sup>	13. 9±0.38 <sup>a</sup>	5.0±1.02 <sup>b</sup>	1. 4±0.62 <sup>c</sup>
ω-6 poly <sup>6)</sup>	21. 0±1.11 <sup>a</sup>	34.6±1.29 <sup>b</sup>	33. 4±1.35 <sup>b</sup>
P/S ratio <sup>7)</sup>	0.77±0.06	0.91±0.16	0.74±0.02
PI <sup>8)</sup>	152.0 ±5.05 <sup>a</sup>	117.0 ±3.62 <sup>b</sup>	108.0 ±5.47 <sup>b</sup>

1) Mean ± SE(n=3)

2) trace( <0.1%)

3) Values on the same line not sharing a common superscript are significantly different at α=0.05 level by Turkey's test

4) Unknown fatty acids

5) ω-3 polyenoic fatty acids

6) ω-6 polyenoic fatty acids

7) Polyunsaturated to saturated fatty acid ratio

8) Peroxidizability index of the PUFA(see text for explanation)

chidonic acid(20 : 4)가 감소되는 것으로 보인다.

대두유군에서 linoleic acid가 다른 군에 비해서 증가된 것은 식이 대두유의 높은 linoleic acid가 조직(적혈구막) 지질에도 영향을 미친 것이라 생각된다. 반면 arachidonic acid는 돈지군에 비하여 감소되었는데 이러한 결과는 옥수수수유를 섭취시킨 실험동물의 조직 인지질에서 동물성지방(butter fat)을 섭취시킨 군에 비하여 linoleic acid가 증가되고 arachidonic acid가 감소되었다는 보고와<sup>38)</sup> 일치되는 경향을 보인다. Arachidonic acid의 감소는 linoleic acid가 간이나 fibroblasts와 같은 세포에서는 신속히 arachidonic acid로 전환되는<sup>35)</sup> 것에 비하여 적혈구막에서는 이러한 변화가 효율적이지 못하다는 것을 나타낸다. In vitro에서 linoleic acid가 다량 첨가된 배지에 human endothelial cell을 배양했을 때 이 세포의 인지질에서 linoleic acid가 증가되고 반면 arachidonic acid가 감소하였다고 보고하고 있으며 이러한 감소는 C18 : 2에서 C20 : 4로 전환되는데 필요한  $\Delta 6$  desaturase가 endothelial cell에서 결핍된 데 기인한 것으로 추정하고<sup>39)</sup> 있다.

한편 정어리유군에서 palmitic acid(16 : 0)와 stearic acid(18 : 0)와 같은 포화지방산의 함량은 타군에 비하여 유의적인 차이를 볼 수 없었으며 이는 사람에게 간유를 섭취시킨 결과 적혈구막 인지질에서 이들 포화지방산의 변화를 볼 수 없었던 보고<sup>33,34)</sup>와 일치된다. 포화지방산의 비율이 실험군 사이에서 유의적으로 변화되지 않았기 때문에 적혈구막 인지질에서 P/S ratio는 대두유군에서 증가되는 경향을 보였으나 표준오차로 인하여 유의적인 변화를 나타내지는 못하였다. 많은 경우에 조직에서의 포화지방산(특히 C16 : 0, C18 : 0)의 비율은 상당히 일정한 수준으로 유지되는데 반하여, 식이에서의 지방산 조성이 변화하면 조직의 불포화지방산 조성은 이들 불포화지방산들 사이에서의 치환에 의하여 조절되리라 생각된다<sup>37)</sup>.

### 3) 혈장 및 간의 lipid peroxide와 $\alpha$ -tocopherol 함량

혈장 및 간에서의 lipid peroxide(LPO) 함량은

Table 5에 나타난 바와 같이 정어리유군이 타군에 비해서 유의적으로 증가되었으며  $\alpha$ -tocopherol 함량은 감소되었다. 본 실험에 시료로 사용된 식이 지방은 peroxide value(POV)가 극히 낮은 수준(Table 2)으로 탈취시켜 사용하였으므로 식이공급원의 POV로부터 직접적으로 오는 영향은 크지 않았을 것이다.

Peroxidizability index (PI = (% monoenoic acid  $\times$  0.025) + (% dienoic acid  $\times$  1) + (% trienoic acids  $\times$  2) + (% tetraenoic acids  $\times$  4) + (% pentaenoic acid  $\times$  6) + (% hexaenoic acid  $\times$  8)<sup>40)</sup>의 증가에 따른 vitamin E 요구량의 증가는 Bieri<sup>40)</sup>와 Witting<sup>41)</sup> 등의 연구에 잘 나타나 있으며 본 실험에서도 식이에서의 PI가 높고 따라서 조직(적혈구막) 인지질에서도 PI가 높게 나타난 정어리유를 섭취시킨 군에서 LPO의 함량이 간과 혈장에서 각각 증가되고  $\alpha$ -tocopherol이 감소되는 일치하는 경향을 보였다.

한편 식이지방의 공급원으로 쓰인 정어리유, 대두유, 돈지 자체의  $\alpha$ -tocopherol 함량은 100g의 지방중 각각 2.4mg, 81mg, 3.1mg으로서 식이 1kg이 공급하는 총  $\alpha$ -tocopherol의 양은 대두유군이 114.8mg으로 이중 절반 이상이 대두유로부터 공급된 반면 정어리유군과 돈지군의 경우는 51.9mg과 52.4mg으로서 대부분 vitamin mixture(50-mg  $\alpha$ -tocopherol/kg diet)에서 공급된 것이었다. 정어리유 섭취군의 혈장과 간에서  $\alpha$ -tocopherol 함량이 감소되고 LPO가 증가되는 것은 정어리유군이 대두유군에 비하여 식이에서 공급되는 vitamin E 공급량이 적은 데도 기인할 수 있다고 생각할 수 있지만, 이는 이미 발표된 논문<sup>30)</sup>에서 정어리유 1kg 당 2000mg의  $\alpha$ -tocopherol을 첨가시켰을 경우에도 조직(간)에서 LPO를 감소시킬 수 없었던 점으로 미루어 조직에서 LPO의 증가는 단지 vitamin E의 첨가만으로 억제 될 수는 없는 것으로 보인다. 따라서 어유의 섭취로 인한 조직의 과산화를 방지하기 위한 적절한 항산화제의 선정과 적정 항산화제의 양을 결정하기 위한 연구는 앞으로 계속적으로 이루어져야 할 과제라고 생각된다.

### 4) 적혈구 취약 실험

Dacie방법<sup>20)</sup>에 의한 적혈구 취약 실험의 결과는

Table 5. Lipid peroxide level and a-tocopherol content in the plasma and liver of rats fed on the experimental diets<sup>1)</sup>

		Sardine oil	Soybean oil	Lard
-Plasma	Lipid peroxide (nmol MDA <sup>3)</sup> /ml)	3. 5± 0.24 <sup>2)</sup>	2.15±0.18 <sup>b</sup>	1.56±0.08 <sup>b</sup>
	α-tocopherol (μg/ml)	11.57±1.42 <sup>a)</sup>	16.60±0.29 <sup>b</sup>	19.96±1.62 <sup>b</sup>
-Liver	Lipid peroxide (nmol MDA/g wet wt.)	340. 8±22. 8 <sup>a)</sup>	178. 5±7. 2 <sup>b</sup>	142. 6±7. 1 <sup>b</sup>
	α-tocopherol (μg/g wet wt.)	34.98±1.70 <sup>a)</sup>	43.11±1.62 <sup>b</sup>	47.07±1.15 <sup>b</sup>

1) Mean ± SE(n=6)

2) Values on the same line not sharing a common superscript are significantly different at α=0.05 level by Turkey's test

3) Malondialdehyde

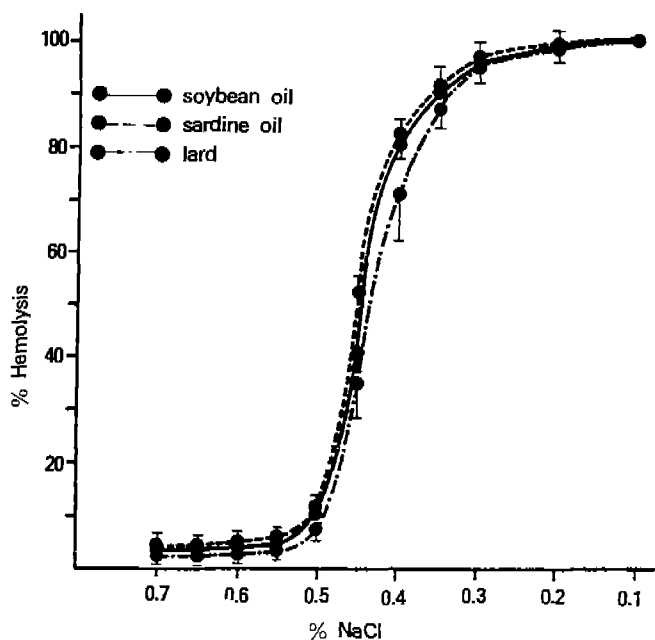


Fig. 1. Erythrocyte osmotic fragility. Mean ± SE

적혈구막 지방산조성(Table 4)의 변화에도 불구하고 Fig. 1에 나타난 바와 같이 전체적으로 각 실험군 사이에서 차이를 나타내지 않았다. 다만 0.45% NaCl농도에서는 정어리유군이 타군에 비하여 hemolysis가 증가하는 경향을 보였으며 0.4

%NaCl농도에서는 정어리유군과 대두유군이 돈지군에 비하여 himolysis가 증가되었으나 이렇게 10여 농도 중 어느 한 농도에서의 변화만을 가지고 정어리군의 hemolysis가 증가되었다고 단정할 수는 없을 것이다. 한편 본 실험에서 조사된 적



혈구 취약 곡선은 3군 모두 인체에서의 정상적인 취약 곡선의 범위내에 속하였다<sup>42)</sup>.

1일 약 100g의 고등어유를 섭취시킨 성장기 돼지에서 vitamin E의 결핍증세인 yellow fat disease가 보고되었고<sup>11)</sup> Terano<sup>30)</sup>는 EPA농축물을 섭취시킨 사람에게서 erythrocyte deformability를 발견하였으며 이는 적혈구막 인지질의 EPA함량과 연관되어 있다고 주장하였다. 일반적으로 지질의 과산화를 방지하는데 필요한 vitamin E의 요구량은 불포화지방산의 섭취량에 의존하는 것으로 알려져 왔으나 ω-3 고도불포화지방산을 다량 함유한 어유의 경우에는 P/S ratio보다는 PI가 지질의 과산화와 vitamin E의 결핍을 예견할 수 있는 보다 정확한 지표일 것이다. Dacie의 방법에 의한 적혈구 취약실험 결과가 전체적으로 정상적인 수준에는 머물렀으나 혈장과 간에서의 lipid peroxide가 증가된 것으로 미루어 지질의 과산화에 의한 다른 생리적인 변화가 일어났을 가능성이 있으며 따라서 어유나 ω-3 고도불포화지방산의 섭취시 vitamin E 또는 보다 유효한 산화방지제의 첨가량에 대해서는 다각적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

## 결 론

본 연구에서는 지방의 종류를 정어리유, 대두유, 돈지로 달리하여 실험 식이를 제조하여 흰쥐의 혈액 지질, 적혈구막 인지질의 지방산조성 및 혈장과 간에서의 지질 과산화에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 정어리유군에서 혈장 총콜레스테롤과 중성지방의 함량이 대두유나 돈지군에 비하여 낮았다.
- 2) 적혈구막 인지질의 지방산조성은 정어리유군에서 다른군에 비하여 ω-3 불포화 지방산이 증가한 반면 ω-6불포화지방산은 감소되었다.
- 3) 정어리유 섭취군에서는 혈장과 간에서 lipid peroxide의 함량이 증가되면서 α-tocopherol의 함량은 감소되었으나 적혈구 취약 실험 결과 hemolysis에는 변화를 볼 수 없었다.

## REFERENCES

1) Stamler J. *Introduction to risk factors in coro-*

*nary artery disease.* in : McIntosh HD. eds. *Baylor college of Medicine Cardiology Series. Medical Communication, Northfield 1 (3), 1981*

- 2) 경제기획원 조사통계국. 1985년도 한국인 사망원인 통계. 국민영양 84 : 41-49, 1986
- 3) Hirai A, Hamazaki J, Terano T, Nishikawa T. *Eicosapentaenoic acid and platelet function in Japanese. Lancet 1132-1133, 1980*
- 4) Dyerberg J, Bang HO. *Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. Lancet 117-119, 1978*
- 5) Bang HO, Dyerberg J, Hiorne N. *The composition of food consumed by Greenland eskimos. Acta Med Scand 200 : 69-73, 1976*
- 6) Bang HO, Dyerberg J. *Lipid metabolism and ischemic heart disease in Greenland eskimos. Adv Lipid Res 1 : 22-29, 1983*
- 7) 농수산부. 1985년 농림 수산 통계 연보. 269-295, 1983
- 8) 안병학, 신현경. 한국 주요어종의 지방산조성 및 ω-3 고도 불포화지방산의 함량. 한국식품과학회지 19 (3) : 181-187, 1987
- 9) Pederson TC, Buege JA, Aust SD. *Microsomal electron transport. The role of reduced NADP-cytochrome reductase in liver microsomal peroxidation. J Biol Chem 248 (20) : 7134-7139, 1973*
- 10) Freeman BA, Grapo JD. *Biology of disease. Lab Invest 47(5) : 412-417, 1982*
- 11) Ruiter A, Jongbloed AW, van Gerit CM, Danse LHJC, Metg SHM. *The influence of dietary mackerel oil on the condition of organs and on blood lipid composition in the young growing pig. Am J Clin Nutr 31 : 2159-2166, 1978*
- 12) Danse LHJC, Steenbergen-Botterweg WA. *Early changes of yellow fat disease in mik fed a vitamin E deficient diet supplemented with fresh or oxidized fish oil. Zbl Vet Med A 23 : 645-648, 1976*
- 13) A.O.C.S. *Official Method Cd 8-53*
- 14) Hanahan DJ, Ekholm JE. *The preparation of red cell ghosts.* In : Fleisher S, Packer L. eds. *Methods in Enzymology. vol 31. Academic Press*

- s, New York 168-172, 1974
- 15) Folch J, Lees M, Sloane-Stanley H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226 : 497-509, 1957
  - 16) Schacky C von, Siess W, Fischer S, Weber PC. A comparative study of eicosapentaenoic acid metabolism by human platelets in vivo and in vitro. *J Lipid Res* 26 : 457-464, 1985
  - 17) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95 : 351-358, 1973
  - 18) Kayden HJ, Chow CK, Bjornson LK. Spectrophotometric method for determination of tocopherol in red blood cells. *J Lipid Res* 14 : 533-540, 1973
  - 19) Tsen CC. An improved spectrophotometric method for the determination of tocopherols using 4, 7-diphenyl-1, 10-phenanthroline. *Anal Chem* 33(7) : 849-851, 1961
  - 20) Dacie JV. The hemolytic anemias, congenital and acquired. In : *The congenital anemias. part 1.* J. & A. Churchill, London, 1960
  - 21) Singer P, Jaeger W, Wirth M, Voigt S, Naumann E, Zimontkowski S, Hajdu I, Goedicke W. Lipid and blood pressure-lowering effect of mackerel diet in man. *Atherosclerosis* 49 : 99-108, 1983
  - 22) Nagakawa Y, Orimo H, Harasawa M, Morita I, Yashiro K, Murota S. Effect of eicosapentaenoic acid on the platelet aggregation and composition of fatty acid in man. *Atherosclerosis* 47 : 71-75, 1983
  - 23) Sanders TAB, Hochland MC. A comparison of the influence on Plasma lipids and platelet function of supplements of w3 and w6 polyunsaturated fatty acids. *Bri J Nutr* 50 : 521-529, 1983
  - 24) Fehily AM, Burr MC, Phillips KM, Deadman NM. The effect of fatty fish on plasma lipid and lipoprotein concentration. *Am J Clin Nutr* 38 : 349-351, 1983
  - 25) Goodnight SH, Harris WS, Connor WE, Illingworth DR. Polyunsaturated fatty acids, hyperlipidemia and thrombosis. *Arteriosclerosis* 2 : 87-113, 1982
  - 26) Shepherd J, Packard CJ, Patsch JR, Gotto AM, Taunton OL. Effects of dietary polyunsaturated and saturated fat on the properties of high density lipoprotein and the metabolism of apolipoprotein A-I. *J Clin Invest* 61 : 1582-1592, 1978
  - 27) 박현서. 식이의 총지방과 P/S ratio가 plasma HDL-cholesterol과 혈장 및 조직내의 지질함량에 미치는 영향. *한국 영양 학회지* 16(3) : 200-208, 1983
  - 28) Sanders TAB. Influence of fish oil supplements on man. *Proc Nutr Soc* 44 : 391-397, 1985
  - 29) Hamazaki T, Nakazawa R, Tateno S, Shishido H, Isoda K, Hattori Y, Yoshida T, Fujita K, Yano S, Kunagai A. Effects of fish oil rich in eicosapentaenoic acid on serum lipid in hyperlipidemic hemodialysis patients. *Kidney Int* 26 : 81-84, 1984
  - 30) 최임순, 진복희. 정어리유의 식용유지 대체가 흰쥐의 혈청 지질에 미치는 영향. *한국 영양 학회지* 20(4), 237-245, 1987
  - 31) Sanders TAB, Roshanai F. The influence of different types of w-3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin Sci* 64 : 91-99, 1983
  - 32) Nestel PJ. Polyunsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr* 45 : 1161-1167, 1987
  - 33) Sanders TAB, Vickers M, Haines AP. Effect on blood lipids and haemostasis of a supplement of cod-liver oil, rich in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acids, in healthy young men. *Clin Sci* 61 : 317-324, 1981
  - 34) Terano T, Hirai A, Hamazaki T, Kobayashi S, Fujita T, Tamura Y, Kumagai A. Effect of oral administration of highly purified eicosapentaenoic acid on platelet function, blood viscosity and red cell deformability in healthy human subjects. *Atherosclerosis* 46 : 321-331, 1983
  - 35) Hornstra G, Christ-Hazelhof E, Haddeman E, Nugteren DH. Fish oil feeding lowers thro-

- mbxane-and prostacyclin production by rat platelets and aorta and does not result in the formation of protaglandin F<sub>2</sub>. Prostaglandins* 21 : 727-738, 1981
- 36) Stacky C von, Fischer S, Weber PC. *Long-term effects of dietary marine w-3 fatty acid upon plasma and cellular lipids, platelet function, and eicosanoid formation in human. J Clin Invest* 76 : 1626-1631, 1985
- 37) Stubbs CD, Smith AD. *The modification of mamalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. Biochim Biophys Acta* 779 : 89-137, 1984
- 38) Galli C, Agradi E, Petroni A, Tromoli E. *Differential effects of dietary fatty acids on the accumulation of arachidonic acid and its metabolic conversions through the cyclooxygenase and lipoxygenase in platelets and vascular tissue. Lipids* 16 : 165-172, 1981
- 39) Spector AA, Kaduce TL, Hoak JC, Fry GL. *Utilization of arachidonic and linoleic acids by cultured human endothelial cells. J Clin Invest* 68 : 1003-1011, 1981
- 40) Bieri JG, Poukka RKH. *In vitro hemolysis as related to rat erythrocyte content of  $\alpha$ -tocopherol and polyunsaturated fatty acid. J Nutr* 100 : 557-564, 1970
- 41) Witting LA, Horwitt MK. *Effect of degree of fatty acid unsaturation in tocopherol deficiency-induced creatinuria. J Nutr* 82 : 19-33, 1964
- 42) Henry TB. *Erythrocytic disorders. In : Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Method. W.B. Saunders Company, Philadelphia* 671-673, 1984