

사람에서 n-3계 불포화지방산이 Serum Lipoprotein과 지질조성에 미치는 영향*

박 현 서 · 한 선 화

경희대학교 가정대학 식품영양학과

Effect of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Serum Lipoprotein and Lipid Compositions
in Human Subjects

Hyun Suh Park, Sun Hwa Han

*Dept. of Foods & Nutrition, College of Home Economics, Kyung Hee University,
Seoul, Korea*

=ABSTRACT=

Ten college women were divided into 5 groups and treated in randomized block design for 5 weeks with 1 week interval between treatments and subjects serving as their own controls. The experimental diets were corn oil diet as a source of n-6 linoleic acid, perilla oil diet as a source of n-3 α -linolenic acid, and fish oil diet as a source of n-3 EPA and DHA. Dietary fat was supplied at 30% Cal and modified to give the total amount of saturated fatty acids and monoenoic acids at constant level. There was no significant effect on serum cholesterol level by different PUFA. However, on a gram-for-gram basis, there was a trend that the decrease in serum cholesterol was proportionate to the degree of fat unsaturation. On the other hand, only fish oil diet significantly decreased TG level but no significant effect on the relative proportion of TG in VLDL. The degree of hypotriglyceridemia did not correlate with the degree of unsaturation. The relative proportion of CE in LDL was reduced by all PUFA diets but significant only by perilla oil diet. The relative amount of apoprotein in LDL was significantly reduced by n-3 PUFA. HDL-Chol content was significantly increased only in fish oil diet but no change in the relative proportion of its chemical components of HDL.

*이 논문은 1986년도 문교부 자유과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

접수일자 : 1988년 1월 8일

서 론

Hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia 및 hyperlipoproteinemia 등의 지질대사의 비정상화는 동맥경화증(Atherosclerosis)과 관상동맥성 심장질환(Coronary Heart Disease)등의 발생위험인자로서 중요하다는 것은 수없이 지적되어왔고¹⁻⁵⁾, 식이로 polyunsaturated fatty acid(PUFA)다량 섭취했을 때 hypolipidemic한 영향을 준다는 것은 많이 보고되어 왔다. 서구에서 주로 섭취되는 PUFA는 옥수수기름이나 safflower oil에서 얻은 linoleic acid(C18 : 2, n-6)이지만 Greenland의 Eskimo인들은 바다동물을 많이 먹으므로 n-3계 eicosapentaenoic acid (EPA, C20 : 5)와 docosahexaenoic acid(DHA, C22 : 6)등인데 비하여⁶⁾⁷⁾⁸⁾ 한국인에서는 옥수수기름과 생선 등의 섭취 뿐만 아니라 들기름과 콩기름의 섭취도 높아 n-3계 α -linolenic acid(C18 : 3)의 섭취도 상당히 높아지고 있다. 그런데 옥수수 기름에 많은 지방산 C18 : 2에 비하여 들기름에 많은 지방산 C18 : 3이나 생선에 많은 지방산 EPA와 DHA는 불포화도가 상당히 높기 때문에 충분한 tocopherol을 같이 섭취한다면 사람에서 이와같은 지방들을 다량 섭취했을때 lipoprotein 및 그 이외의 지질대사에 어떤 영향을 주는지 검토하기 위하여 본 연구에서 기본적인 식사는 똑같이 하면서 10명의 여대생에게 C18 : 2의 급원인 corn oil과 C18 : 3의 급원인 perilla oil과 EPA와 DHA의 급원인 어유를 식이와 같이 각각 1주일씩 투여하여 각 지방산 종류의 영향을 관찰하였다.

실험재료 및 방법

실험계획

본연구의 대상자는 대학교에 재학중인 여대생 10명으로 평균 연령은 22세(20~25세), 평균체중은 55kg(48~63kg), 평균 신장은 157.3cm(147.4~163.6cm)이었으며, 최소한 실험이 시작되기 1달전부터

끝날 때까지 어떤 종류의 약물도 복용하지 않았다. 또한 먼저 먹은 실험식이의 지방에 의한 영향을 크게 받도록 피실험자(10명)는 randomized block design(난괴법)에 의해 5군으로 나누어 Table 1에서와 같이 계획하였다. 모든 피실험자들은 실험 2주와 4주 때에는 실험식이를 중단하고, 자유롭게 음식을 먹도록 하였다. 또한 실험기간동안에는 생활활동은 자유롭게 하였으나 실험식이 3끼니는 반드시 실험실에서 같이 식사하였으며 식이지방은 capsule로 만들어 식사와 같이 섭취하도록 하였다. 혈액은 실험식이 처리 전과 후 각자에서 실험기간 동안 6회에 걸쳐 채취되었다.

실험식이

하루에 공급된 모든 실험식이의 총열량은 1800 kcal로 하였고, 그 중 탄수화물은 55%, 단백질은 15%, 지방은 30%로 구성되었다. 이때 공급된 지방은 Table 2에서와 같이 n-6계 linoleic acid 급원으로 corn oil capsule을 공급하였고(CO군), n-3계열의 α -linolenic acid 급원으로 perilla oil(들기름) capsule을 공급하였으며(PO군), n-3계 EPA와 DHA의 급원으로 fish oil(Marinol, 삼진케미주식회사) cap-

Table 1. Experimental design

Block	Weeks				
	1	2	3	4	5
1	CO	Free	PO	Free	FO
2	CO	Free	FO	Free	PO
3	FO	Free	PO	Free	CO
4	PO	Free	FO	Free	CO
5	PO	Free	CO	Free	FO

Each Block : 2 subjects

Free : Each subject was free to have homemade food and activity for 1 week between experimental treatment.

Blood sampling was done before and after each treatment.

CO : Corn Oil Diet

PO : Perilla Oil Diet

FO : Fish Oil Concentrate Diet

Table 2. Fatty acid composition of experimental diet (g/day)

Group	SFA	MFA	SFA+MFA	C18 : 2	C18 : 3	C20 : 5+C22 : 6	PUFA	P/S
CO	Diet except oil	10.40	8.61	18.65	4.29	0.75	0.04	5.18
	Corn oil (36g)	5.84	11.80	17.64	17.73	0.46	-	18.20
	Total	15.88	20.41	36.29	22.02	1.21	0.04	23.38 1.47
PO	Diet except oil	10.04	8.61	18.65	4.29	0.75	0.04	5.18
	Beef tallow(8g)	4.00	3.34	7.34	0.25	0.05	-	0.32
	Perilla oil(28g)	2.36	4.95	7.35	4.19	16.49	-	20.68
	Total	16.40	16.90	33.30	8.73	17.29	0.04	26.18 1.60
FO	Diet except oil	10.51	7.86	18.37	2.23	0.81	0.60	6.64
	Coconut oil(23.5g)	6.53	1.36	7.90	0.42	-	-	0.42
	Fish oil concentrate* (13.5g)	3.43	3.82	7.25	-	-	5.00	5.55
	Total	20.47**	13.04	33.52	2.65	0.81	5.60	12.61 0.62

SFA : saturated fatty acid

MFA : monounsaturated fatty acid

PUFA : polyunsaturated fatty acid

P/S : PUFA/SFA ratio

* Fish oil concentrate contains EPA 25% and DHA 12%

** Saturated fatty acid > C12 : 0

sule을 다량의 생선과 같이 공급하였다(FO 군). 이 때 monoenoic acid(MFA)와 포화지방산의 함이 거의 같게 조절하기 위해서 PO군에서는 beef tallow를 같이 공급하였으며, FO군에서는 coconut oil을 공급하였다. 또한 FO군에서 사용된 fish oil concentrate에는 지방의 산패를 막기 위해서 dl- α -tocopherol acetate(1.2g/100g)가 강화되어 있었기때문에, 다른 두 군 CO와 PO군에도 하루에 200IU의 d- α -tocopherol(그랑페를, 유한양행 주식회사)를 공급하였다.

혈액채취 방법

피실험자가 3가지 실험식이를 공급받기 전 날과 또 1주일간 실험식이를 공급받은 마지막 날 저녁부터 굶은 뒤(overnight fasting) 다음 날 아침 9시경에 정맥에서 혈액을 30ml씩 채취하여 즉시 serum을 분리하여 일정량에서 polyanionic precipitation 방법을 이용하여 High Density Lipoprotein(HDL)을 분리해 total cholesterol를 측정하였다. Ultracentri-

fugation에 의하여 lipoprotien을 분리하기 위하여 두 사람의 serum을 4ml씩 pool하여 사용하였으며 소량의 serum은 냉동 되기전에 당일로 전기영동하여 lipoprotein pattern을 측정하였다. 나머지 serum은 그 즉시 냉동 보관되었다가 triglyceride(TG), tocopherol, malondialdehyde(MDA)농도 및 지방산 분포를 측정하는데 사용되었다.

생화학적 분석

HDL-cholesterol

Burnstein⁹⁾의 polyanionic precipitation방법으로 β -lipoprotein을 제거하고, 상등액인 HDL-fraction을 분리하였으며, T-choles 5. 효소시약(국제 화학주식회사)을 사용하여 serum과 동시에 cholesterol을 측정하였다. 이 때 효소시약과 발색시약을 혼합한 다음 Mg을 제거하기 위해 Na₂EDTA(ethylene diaminetetra acetic acid)를 최종농도가 8.0mmol/L가 되도록 첨가하여 사용하였다.

Lipoprotein의 Ultracentrifugation

Serum이 부족하여 두 사람에서 각각 4ml씩 pool하여 Hatch와 Lees¹⁰⁾ 방법에 따라 분리하였다. Sorvall Superspeed(Model OTD-75B)의 Rotor T-865 (fixed angle)를 사용하였으며 ultracentrifuge tube(1.5×10cm)에 serum 8ml를 넣고 density 1.006 g/ml로 맞춘 NaCl 용액(0.195 molal)을 tube 끝까지 공기가 들어가지 않게 서서히 채우고는 cap을 단단히 하여 40,000rpm(114,000×g, 16°C)에서 16시간 동안 원심분리하였다. 원심분리가 정지되는데로 시간을 지체하지 않고 tube를 고정시켜 놓고 밝은 등불 밑에서 연한 황색 층 1.5ml 정도를 위에서 syringe로 뽑아내었으며, 이 층을 전기영동 하였을 때 Very Low Density Lipoprotein(VLDL) fraction과 일치되었다. 이때 계속하여 tube의 나머지 용액층 바닥에서 부터 8ml를 다시 syringe로 취하여 새 tube에 넣고 density 1.182g/ml인 NaBr 용액(2.44 molal)을 또 서서히 tube 끝 까지 같은 방법으로 준비하여 40,000rpm(114,000×g, 16°C)에서 20시간 동안 원심분리하여 VLDL층 보다 더 진한 황색 층(1.5ml 정도)을 같은 방법으로 tube 위에서 syringe로 취하였으며 이것을 전기영동 하였을 때 Low Density Lipoprotein(LDL) fraction과 일치되었다. 다음은 실험실 전기 사정상태 이상 장 시간 동안 원심분리 못하고 tube의 밑에서 부터 일정하게 5ml를 취하여 HDL fraction으로 간주하였으며, 이와 같이 얻은 각 lipoprotein fraction은 -40°C에 보관되었다가 lipid composition 분석에 사용되었다.

Lipoprotein의 Thin Layer Chromatography

분리된 lipoprotein fraction의 일정량을 취하여 Folch¹¹⁾의 방법에 의하여 lipid extraction하였다. 이때 지방의 분해를 막기 위해 용매에 butylated hydroxytoluene 0.005%를 첨가하여 지방을 추출하였으며 이것을 다시 N₂ gas로 농축시켜 정량적으로 Silica Gel TLC plate에 spot하여 petroleum ether : diethyl ether : acetic acid(90 : 10 : 1 ; v/v/v) sol-

vent system에서 약 30분간 전개시킨 후 free cholesterol(FC), cholesteryl ester(CE), TG에 해당되는 부위를 끊어서 chloroform에 다시 extraction하여 분석에 사용되었다. 이때 phospholipid(PL) spot는 너무 약하여 lipid extract에서 직접 Bartlett¹²⁾ 방법에 의해서 phosphorous를 분석하여 factor 25를 곱해서 PL 함량을 산출하였다. 또한 chloroform : methanol (2 : 1) mixture로 lipoprotein의 lipid를 추출하고 methanol층의 protein은 원심분리하여 침전물을 0.1 N NaOH에 용해하여 Lowry¹³⁾의 방법에 의하여 protein을 정량하였다. Lipoprotein fraction의 FC와 CE의 분석은 Silica Gel plate에서 끊어 1ml chloroform에 추출하여 원심분리후 상층액 0.2ml씩 duplicate로 취하여 McDougal과 Farmer¹⁴⁾ 방법에 의하여 그 fluorescence intensity를 정량비교하였다. Lipoprotein fraction의 TG spot는 0.5ml chloroform에 추출하여 serum의 TG 정량과 같이 Fletcher¹⁵⁾ 방법으로 분석되었다.

Lipoprotein의 Electrophoresis

Tris-barbital buffer solution (pH 8.6~9.0)과 cellulose acetate plate를 사용하여 20μl의 serum을 electrophoresis(180v, 30min)하여 각 lipoprotein (VLDL, LDL, HDL)을 분리한 뒤, Oil Red Om으로 염색하여 각 fraction의 상대적인 양을 densitometer로 측정하였다.

Serum Fatty Acid Composition

Serum의 일정량을 취하여 Folch¹¹⁾ 방법으로 lipid extraction하고, 이 지방추출액을 Morrison¹⁶⁾ 방법에 의하여 methylation시킨 뒤 gas chromatography에 의하여 각 sample의 지방산 분포를 측정하였다. 이때 사용된 조건은, GP 10% SP-2330 on 100/120 Chromosorb WAW로 packing된 glass column(6ft × 2mm ID)에 flame ionization detector를 사용하였고, injection temperature 200°C, detection temperature 230°C, sensitivity 1 × 10⁻⁹, gas flow rate는 N₂ 15ml/min, H₂ 40ml/min, O₂ 60ml/min으로 하여 사용되었다.

Serum의 Tocopherol과 Malondialdehyde

Serum의 총 tocopherol량은 Desai¹⁷⁾의 방법을 사용하여 spectrofluorometer에서 excitation 286nm, emission 340 nm에서 fluorescence intensity를 측정하여 표준용액의 값과 비교정량하였다. 또한 MDA량은 Yagi¹⁸⁾ 방법에 의하여 spectrofluorometer에서 excitation 550nm, emission 515nm에서 fluorescence intensity를 측정하여 표준액과 비교하여 정량하였다.

통계처리

각 군의 실험식이 투여 전과 후에 대해서 serum lipid조성과 lipoprotein의 chemical composition 및 tocopherol, MDA 함량, 지방산분포에 대한 차이를 Student's t-test에 의해 통계적 유의성을 검증하였다.

실험결과 및 고찰

본 연구의 대상자는 20~25세 여대생 10명으로 실험식이 투여 후 체중에는 거의 변화가 없었고(56 kg), hematocrit도 실험식이 투여 전이나 후 모두 34~37%로써 실험식에 의한 변화가 없었다. Bleeding time은 실험식이 투여 후 CO군은 3.82→2.81분으로, PO군은 3.25→3.08분, FO군은 2.88→3.35분으로 각각 변화하였는데 세 군 모두 유의성은 없었

지만 CO군은 감소하였고, FO군은 증가하여 n-3계 EPA와 DHA를 많이 섭취하는 Eskimo인들에게서 출혈성질환의 발생확률이 높다는 보고⁴⁾⁷⁾와 일치하였다. EPA와 DHA섭취시 bleeding time이 길어지는 것은 EPA와 DHA로부터 만들어지는 Prostaglandin I-3(PGI-3)가 높아져 arachidonic acid에서 만들어지는 응고촉진 물질 Thromboxane A-2(TXA-2)의 상대적 함량을 감소시킴으로써 혈소판 응집작용을 억제한다고 알려졌다⁴⁾⁵⁾⁷⁾.

Serum Cholesterol

본 연구에서는 Table 3에서와 같이 CO, PO, FO 세 군 모두 serum cholesterol에는 유의성있는 변화가 없었으며, CO군은 실험식이 투여 전과 거의 같은 수준이었으나, FO군에서는 실험식이 투여 후 오히려 증가되었으며, PO군에서만 약간 감소된 경향을 보였다. Harris등¹⁹⁾과 Saynor등²⁰⁾은 salmon oil과 MaxEPA(정제어유)를 각각 4주 또는 24개월 동안 투여하였을 때 serum cholesterol이 감소되었고, Mortensen등²¹⁾과 Ruiter 등²²⁾은 MaxEPA의 고등어유를 4주동안 투여하였을 때 serum cholesterol에 영향을 주지않았다고 보고했다. 이들의 연구 기간에 비하여 본 연구에서는 각 실험식이 투여기간이 1주일에 불과하므로 유의성있는 결과를 보기에는 너무 짧은 기간이라고 사려된다. 한편, Harris등¹⁹⁾의 보고에 의하면 n-6계 PUFA의 경우도 n-3계

Table 3. Effect of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on serum total cholesterol, HDL-cholesterol and triglyceride levels in human subjects

	Corn oil		Perilla oil		Fish oil	
	Before	After	Before	After	Before	After
T-Chol	170.3 ± 31.5	173.6 ± 28.0	178.1 ± 44.7	165.9 ± 30.5	155.1 ± 19.4	171.9 ± 27.1
HDL-Chol	84.6 ± 8.9	85.8 ± 7.8	92.0 ± 25.6	84.8 ± 7.8	80.0 ± 3.7 ^a	89.6 ± 9.8 ^b
TG	164.7 ± 33.4	175.1 ± 22.2	180.9 ± 29.8	173.4 ± 16.0	195.5 ± 42.1 ^a	154.5 ± 11.1 ^b

Values are Mean ± S.D. and expressed in mg/dl

T-Chol : Total Cholesterol

HDL-Chol : High Density Lipoprotein-Cholesterol

TG : Triglyceride

Superscript a or b : Values with different alphabet within the row were significantly different at p ≤ 0.05 by Student's t-test

PUFA와 마찬가지로 cholesterol을 감소시켰다고 하였다. 여기에 그들의 이론은 PUFA의 hypocholesterolemic effect는 n-3계와 n-6계 fatty acid 자체간의 차이가 아닌 불포화도에 기인한다고 하였다. 즉 n-6계 PUFA의 대표적인 linoleic acid는 1분자당 2개의 이중결합을 갖고있는 반면, n-3계 PUFA인 α -linolenic acid는 3개이고, EPA와 DHA는 약 5.5개의 이중결합이 있으므로, n-6계 PUFA에 비교해 볼 때 불포화도가 각각 1.5배와 2.75배가 되어 불포화도를 거의 같게 조절하여 실험한 결과 n-6계 PUFA와 n-3계 PUFA 모두 똑같은 hypocholesterolemic effect를 보였다고 하였다. 이와같은 방법으로 본 연구에서도 2개의 이중결합을 갖고있는 PUFA의 양으로 환산하여 보았을때, CO군을 100%로 가정한다면 PO군은 145% (1.45배)에 해당되고, FO군은 80% (0.8배)가 되므로, 실험시기를 1주일밖에 투여하지 않았지만 CO군에서는 거의 차이가 없었고, FO군에서는 오히려 더 증가되었고, PO군에서만 약간 감소된 것이 Harris¹⁹⁾의 이론과 일치되었다. 본 연구에서는 MFA와 saturated fatty acid(SFA) 함량에 의한 영향을 배제하기 위해서 MFA와 SFA의 합을 거의 같게 조절하였기 때문에, Harris등¹⁹⁾의 결과에서 제시된 바와 같이 본 연구에서도 각 군의 serum cholesterol 변화는 불포화도에 의한 영향이 아닌가 사려된다.

HDL-cholesterol

HDL-cholesterol 함량은 CO군에서는 거의 변화가 없었고, PO군에서는 약간 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없는 반면, FO군에서는 유의성있게 증가되었다(Table 3). Saynor등²⁰⁾에 의하면 MaxEPA 20 ml/day를 2개월동안 투여하였을 때 지속적으로 HDL-cholesterol이 증가하였다고 했으며 그 외에도 여러보고²³⁾²⁴⁾에 의하면 cod liver oil과 고등어를 3주 내지 4주간 섭취시켰을 때에도 HDL-cholesterol이 증가했다고 하였다. 본 연구에는 fish oil concentrate를 1주일이라는 짧은 기간동안 투여했는데도 FO군에서는 HDL-cholesterol양이 유의성있게 증가

되었다. 한편, Sanders와 Roshanai²⁵⁾에 의하면 본 연구에서와같이 2주일의 짧은 기간동안 같은 수준의 fish oil(EPA and DHA, 5.96g)을 섭취시켰을 때, HDL-cholesterol과 plasma cholesterol에는 변화가 없었고 같은 양을 3주동안 투여했을 때에는 HDL-cholesterol이 유의성있게 증가되었으며 total cholesterol에는 변화가 없었으나, 다량 투여했을 때에만 HDL-cholesterol이 약간 증가되고 plasma cholesterol은 약간 감소되었다고 하였다. 이와같이 EPA와 DHA가 plasma cholesterol과 HDL-cholesterol에 주는 영향은 이 지방을 투여하는 기간과 투여량에 따라서 달랐으며 때로는 오랜 기간(11개월) 동안 투여하였을 때에는 HDL-cholesterol양이 투여 전과 같은 수준으로 환원된 경우도 있었다²⁶⁾. PO군의 α -linolenic acid가 다량 투여되었을 때에는 HDL-cholesterol이 오히려 감소되었는데 Sanders와 Roshanai²⁵⁾의 보고에 의하면 사람에게 α -linolenic acid 급원으로 linseed oil 9.38g을 2주간 투여하였을 때, plasma cholesterol이나 HDL-cholesterol에 영향을 보지 못하였다. 그러므로 아직도 식이지방의 PUFA 함량이 HDL-cholesterol에 미치는 영향에 대해서는 규명된 기전이 없었다.

Serum Triglyceride

Serum TG 함량은 CO군에서만 약간 증가되었고 PO군과 FO군에서는 모두 감소하는 경향을 보였으며, FO군에서만 TG농도가 유의성 있게 감소되었다(Table 3). 이와같은 결과는 이미 보고된 바에 의하면 n-6계 linoleic acid¹⁹⁾²¹⁾²⁷⁾나, n-3계 α -linolenic acid²⁵⁾를 투여했을 때에는 serum TG 농도가 크게 감소되지 않았으나, n-3계 long chain PUFA(C20 : 5, C22 : 5, C22 : 6)를 투여시켰을 때에는 serum TG가 유의성 있게 감소되었다고 하였다²⁰⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾²⁸⁾. 본 연구에서도 FO군에서만 serum TG농도가 감소되었는데, 이것은 2가지의 가능성으로 설명될 수 있다. 첫째, n-3계 long chain PUFA가 간에서의 TG 합성을 줄였을 가능성도 있고, 둘째, serum에서 chylomicron과 VLDL의 clearance가 증가되어 그 결과 serum TG 농도가 감소된

Table 4. Effect of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on the relative proportion of each lipoprotein in human serum

	Corn oil		Perilla oil		Fish oil	
	Before	After	Before	After	Before	After
VLDL (%)	6.68 ± 3.79	8.75 ± 5.43	11.43 ± 15.48	7.60 ± 4.67	9.40 ± 4.90	10.72 ± 10.59
LDL (%)	48.34 ± 2.55	50.65 ± 7.54	42.76 ± 14.60	49.88 ± 8.35	47.52 ± 2.43 ^a	50.19 ± 12.94 ^b
HDL (%)	44.98 ± 4.71	40.60 ± 11.33	45.81 ± 5.37	42.51 ± 10.37	43.07 ± 3.34	39.08 ± 12.37

Values are Mean ± S.D.

VLDL : Very Low Density Lipoprotein

LDL : Low Density Lipoprotein

HDL : High Density Lipoprotein

Superscript a or b : Values with different alphabet within the row were significantly different at $p \leq 0.05$ by Student's t-test

것으로도 볼 수 있다. 그러나 Goodnight²⁹⁾의 보고에 의하면 n-3계 PUFA식이와 포화지방식을 각각 투여한 뒤 plasma lipoprotein lipase를 측정 한 결과 차이가 없었다고 하였다. 한편, Iritani³⁰⁾의 보고에 의하면 n-3계 PUFA는 간에서 acetyl CoA carboxylase activity를 감소시켜 fatty acid합성을 저하시킴으로써 TG 합성이 감소되었다고 하였다. 또한 Saynor²⁰⁾의 보고에서도 어유를 1개월동안 섭취 시킴으로써 낮아졌다고 했다. 그러므로 본 연구결과에서도 FO군에서만 serum TG가 감소된 것은 n-3계 PUFA가 간에서의 TG 합성을 저하시킴으로써 혈액으로 TG의 유출이 감소되었기 때문으로 사려된다. 한편, 이때 TG가 감소된 정도는 다른 보고¹⁹⁾³³⁾와 마찬가지로 plasma cholesterol의 경우에서처럼 지방산의 불포화도에 비례하지는 않았다.

Serum Lipoprotein의 Pattern과 지질조성

Table 4에서 보는 바와같이 본 연구에서는 지방 섭취에 따라 CO, PO, FO군 간의 lipoprotein pattern에 유의성있는 변화를 찾아볼 수 없었으나, 세군 모두 지방을 투여함으로써 LDL (%)는 증가된 반면 HDL (%)은 감소된 경향이었다. 대부분의 연구 보고에 의하면 fish oil이나 MaxEPA등을 섭취하였을 때 VLDL이 감소되었고 HDL은 증가되었다²⁰⁾²²⁾²⁸⁾³¹⁾. 한편 LDL (%)은 일정하지 않아서 대부분 증가되었거나²²⁾²⁴⁾²⁸⁾ 변화가 없었다²¹⁾. 그러나 본 연구에서는

VLDL이 PO군에서만 약간 감소되었고 CO, FO군은 모두 약간 증가되었다. 이와같이 본 연구에서 lipoprotein pattern에 유의성있는 변화를 볼 수 없었던 것은, 식이지방 투여기간이 4주 이상 이었던 대부분의 보고와 다르게, 본 연구에서는 짧은 기간(1주일)이었기 때문이라고 사려된다. 따라서 기간을 좀 더 길게하여 관찰하였다면 변화가 있었을 것으로 기대된다. 한편, plasma tocopherol은 LDL에 함유되어 운반된다고 하였는데³¹⁾³²⁾, Table 6에서 보는 바와같이, CO, PO, FO군 모두에서 serum tocopherol이 증가한 양상을 볼 수 있었다. 따라서 본 연구에서 LDL이 증가된 것은 식이에 의해서 증가된 tocopherol을 운반하기 위하여 LDL이 증가되었을 가능성도 있었으며, 또 각 실험식이 투여 전에 섭취한 지방량(총 calorie의 약 8~24%)보다 실험식이의 지방량이 더 높았기 때문에 LDL이 증가되었을 가능성도 배제할 수 없다고 사려된다. 또한 Table 5의 lipoprotein fraction의 chemical composition을 살펴 볼 때 VLDL fraction의 FC과 CE를 합해서 볼 때 그 상대적 양이 실험식이 전에도 CO군, PO군, FO군 순으로 낮았으나 유의성은 없었으며 실험식이 투여후에는 다같이 약간 감소되기는 했으나 그 pattern은 같았으며 유의성있는 차이는 아니었으므로 electrophoresis에 의한 결과와 일치하였다. VLDL의 TG의 상대적 량(%)도 실험시작 전에는 거의 같은 수준이었으나 실험식이 기름을 투여후에는 모든군

Table 5. Effects of dietary fats on chemical composition of lipoprotein fractions in human serum

	Corn oil		Perilla oil		Fish oil		
	Before	After	Before	After	Before	After	
VLDL	FC	2.87 ± 0.71(4)	3.51 ± 1.81(5)	3.25 ± 0.93(5)	2.85 ± 0.59(5)	2.62 ± 1.00(4)	3.00 ± 0.84(5)
	CE	17.04 ± 9.16(4)	13.41 ± 6.35(5)	14.17 ± 5.89(5)	11.53 ± 5.50(4)	12.46 ± 4.99(4)	7.10 ± 4.64(5)
	TG	69.51 ± 5.80(4)	76.29 ± 6.84(5)	69.77 ± 9.41(5)	80.66 ± 11.79(5)	68.66 ± 10.32(4) ^a	84.79 ± 8.30(5) ^b
	PL	9.60 ± 5.80(4)	5.78 ± 2.98(5)	12.35 ± 12.78(5)	7.63 ± 2.06(4)	15.54 ± 14.10(4)	4.05 ± 2.76(5)
	PR	0.98 ± 0.56(5)	1.02 ± 0.76(4)	0.43 ± 0.38(5)	0.51 ± 0.51(5)	0.80 ± 0.36(4)	1.06 ± 0.67(5)
LDL	FC	1.55 ± 0.54(5)	1.93 ± 0.92(5)	2.10 ± 2.10(4)	1.64 ± 0.79(5)	1.89 ± 1.14(5)	2.67 ± 0.96(5)
	CE	43.24 ± 16.00(5)	29.44 ± 20.27(5)	43.77 ± 6.48(4) ^a	26.65 ± 8.90(5) ^b	37.69 ± 15.70(5)	28.79 ± 15.65(5)
	TG	28.36 ± 14.91(5)	31.94 ± 17.34(5)	24.70 ± 13.19(4)	26.45 ± 8.90(5)	25.98 ± 10.41(5)	34.39 ± 14.56(5)
	PL	22.05 ± 10.24(4)	16.28 ± 6.14(4)	21.95 ± 1.87(3) ^a	38.51 ± 17.91(5) ^b	33.65 ± 10.41(3)	24.07 ± 12.56(5)
	PR	9.21 ± 4.08(5) ^a	23.68 ± 14.03(5) ^b	12.97 ± 3.56(4) ^a	8.29 ± 1.67(4) ^b	17.35 ± 14.64(4)	10.07 ± 5.99(5)
HDL	FC	0.40 ± 0.29(5)	0.15 ± 0.04(4)	0.22 ± 0.13(5)	0.17 ± 0.07(5)	0.40 ± 0.61(5)	0.26 ± 0.14(5)
	CE	3.54 ± 2.97(5)	2.26 ± 2.12(4)	3.19 ± 1.74(5)	3.32 ± 3.38(5)	2.41 ± 1.34(5)	1.65 ± 1.41(5)
	TG	4.37 ± 2.92(5)	2.87 ± 0.43(4)	2.54 ± 1.59(5)	2.90 ± 0.56(5)	3.85 ± 3.30(5)	3.14 ± 0.84(5)
	PL	26.46 ± 3.65(4)	24.50 ± 4.47(4)	26.08 ± 3.54(4)	29.54 ± 6.79(3)	27.09 ± 5.87(5)	23.50 ± 3.70(3)
	PR	66.52 ± 5.94(5)	70.23 ± 5.20(4)	69.21 ± 3.31(5)	67.89 ± 7.97(5)	66.05 ± 7.58(5)	72.85 ± 3.26(5)

Values are expressed in the relative % of total contents of each lipoprotein.

() : Number of pooled samples

Superscript a or b : Values with different alphabet within the row were significantly different at $p \leq 0.05$ by Student's t-test

VLDL : Very Low Density Lipoprotein

LDL : Low Density Lipoprotein

HDL : High Density Lipoprotein

FC : Free Cholesterol

CE : Cholesteryl Ester

TG : Triglyceride

PL : Phospholipid

PR : Protein

이 약간 증가되었으며(유의성은 없음) 그중 FO군이 가장 높았으나 이것 역시 군간에 유의성있는 차이는 아니었다. VLDL의 PL의 상대적 량(%)은 개체간의 차이도 넓었으나 실험식이전에는 군간에 큰 차이가 있었다(유의성은 없음). 그러나 실험식이 기름을 투여한 후 모든 군에서 감소되었으며 특히 PO군에 비해 FO군은 유의성있게 낮았다. 또한 VLDL의 protein 량(%)도 모든군에서 유의성있는 차이가 없었을 뿐만아니라 다른 보고³⁴⁾에서 보다 낮은 수준이었다. 이것은 protein의 량이 낮기때문에 chloroform : methanol로 지질을 추출한후에 원심분리했을 때 protein이 다 회수되지 못했기 때문이 아닌가한다. 위에서 plasma TG가 FO군에서 낮았을 때 기대되었던 것 처럼 endogenous TG를 운반하는 VLDL fraction에서 TG의 상대적 량이 감소될 것으로 기대했으나 거의 같은 수준으로 유지되었다. Harris등¹⁹⁾의 설명에 의하면 plasma TG량이 낮아진것은 VLDL의 lipid조성의 변화에 의한것 보다는 VLDL 총량이 감소되었기 때문으로 해석했다³⁵⁾. 이것은 위에서도 언급된것 처럼 n-3계 지방산으로 구성된 VLDL은 더 빨리 가수분해되어 제거되었거나 또는 VLDL 합성 자체나 분비가 억제되어 그럴수도 있다고 하였으나 본 연구로서는 이와같은 것을 규명할수는 없었다. LDL fraction은 CE량이 상대적으로 가장 많았으며, 실험식이 투여전에는 거의 비슷한 수준이었으나 실험식이 7일 후에는 모든군에서 감소되었으며 그중 PO군에서는 유의성있는 차이를 보였다. Plasma cholesterol의 운반을 하는데 주요한 LDL 총량이나 plasma의 총 cholesterol량에는 큰 차이가 (Table 3와 4)없었으나 LDL의 lipid 조성 중 CE량이 감소된 것이 흥미롭다. 이와같은 결과는 Parks와 Bullock³⁶⁾의 보고와 같았는데 lard를 먹인 경우에 비하면 fish oil을 먹인경우 LDL의 particle자체의 크기가 적어졌을 뿐만아니라 그 지질조성에서도 PL, CE, FC의 상대적량이 감소되었다고 하였으나 그 기전은 아직 밝혀지지 않았다. LDL의 apoprotein의 총량(%)은 실험식이전에 군간에 차이가 있었지만 유의성은 없었으며, 실험식이 투여후에는 오히려

CO군에서는 유의성있게 증가되었으며, PO와 FO군에서는 유의성있게 감소되었고 CO군과 PO군 사이의 차이는 유의성이 있었다. 이와같은 결과는 Vega등³⁴⁾의 보고와도 같았으며 이때 LDL의 주요한 β -apoprotein의 합성은 n-6계 지방산보다 n-3계 지방산에 의해서 더욱 효과적으로 감소된것이 아닌가 사려된다. 그러나 본 연구로서는 이것이 LDL의 β -apoprotein의 합성이 감소되어 그런것인지 또는 분해가 증가되어 그런지는 알수없었다. HDL-cholesterol량은 (Table 3) FO군에서 유의성있게 증가되었으나 실제로 그 지질조성과 apoprotein의 량(%)에는 큰 변화가 없었다 (Table 5). Vega 등³⁴⁾의 보고에 의하면 PUFA에 의하여 HDL의 각 구성요소가 약간 감소되었으나 HDL의 cholesterol과 apoprotein등의 상대적 구성비에는 아무 변화가 없었다.

Serum의 Tocopherol과 Malondialdehyde 함량

실험식이 투여 후에 serum tocopherol과 MDA 함량 (Table 6)이 모든군에서 증가되었다. 피실험자가 평소에 tocopherol을 복용하지 않고 있었는데 실험식이 기름에 첨가된 tocopherol의 함량이 높았기 때문에 모든 군에서 serum tocopherol이 증가되었다고 생각한다. Bieri와 Poukka³⁷⁾의 보고에서도 식이와 같이 tocopherol을 섭취시켰을 때 serum tocopherol량이 증가되었다. 지금까지 보고된 바에 의하면 tocopherol은 세포내에서 항산화작용을 하기 때문에 tocopherol이 부족할 경우 lipid peroxidation이 증가되었으며 쥐에게 10% corn oil(w/w)을 투여하였을 때 vitamin E 결핍으로 serum MDA의 함량이 증가되었다^{38,39)}.

Witting과 Horwitt⁴⁰⁾가 제시한 바와같이 지방산의 불포화도에 따라 산화가능성을 측정하는 peroxidizability index(PI; monoenoic acid(%) \times 0.25 + dienoic acid(%) \times 1 + trienoic acid(%) \times 2 + tetraenoic acid(%) \times 4 + pentaenoic acid(%) \times 6 + hexaenoic acid(%) \times 8)도 함께 계산해서 serum MDA 함량과 같이 Fig. 1에 표시하였다. 이 때 세군 모두 실험식이 투여후 serum PI 값이 증가되었으며

Table 6. Effect of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on levels of tocopherol and malondialdehyde in human serum

	Corn oil		Perilla oil		Fish oil	
	Before	After	Before	After	Before	After
Serum tocopherol (ug/ml serum)	7.32± 1.27	9.44± 3.26	8.07± 1.86 ^{2a}	10.16± 1.71 ^{2b}	7.11± 1.25 ^{1a}	10.38± 1.85 ^{1b}
Serum MDA (nmol/ml serum)	1.78± 0.35	1.97± 0.33	1.75± 0.13 ^{1a}	2.14± 0.33 ^{1b}	1.89± 0.29 ^{1a}	2.35± 0.37 ^{1b}

Values are Mean± S.D.

MDA : Malondialdehyde

Superscript a or b : Values with different alphabet within the row were significantly different by Student's t-test

Superscript 1 : significant at $p \leq 0.005$

2 : significant at $p \leq 0.05$

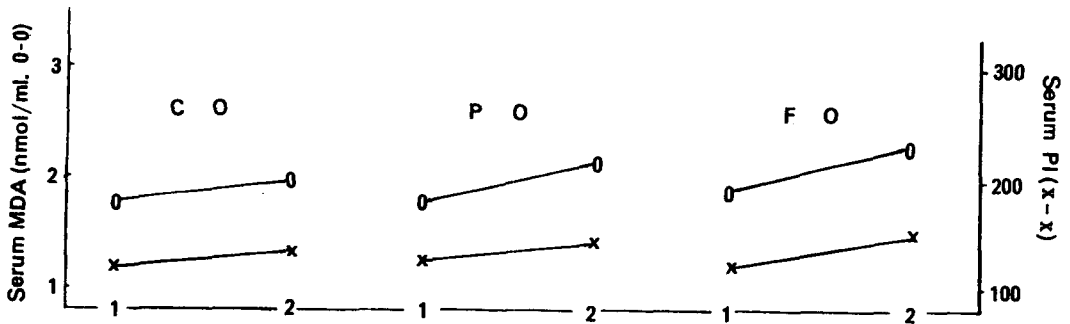


Fig. 1. Relationship between serum PI and MDA levels.

PI : peroxidizability index : (monoenoic acid x 0.025 + dienoic acid x 1 + trienoic acid x 2 + tetraenoic acid x 4 + pentaenoic acid x 6 + hexaenoic acid x 8)

1 : before diet

2 : after diet

그양상이 serum MDA 증가와 거의 같았다. 따라서 이중결합이 많을수록 자동산화되기 쉽다는 이론과 거의 일치되었다. 그러나 실험식이 투여후 serum tocopherol은 유의성있게 증가 되었어도 MDA 형성은 막아주지 못하였으므로, 이 때 serum tocopherol 함량은 serum 자체내의 자동 산화를 막아 준다고는 결론내리기가 힘들었다. 또한 이외에도 실험식이 투여후 serum의 지방산 구성에 의한 산화가능성은 실험식이지방의 어느 것이었든 체내에서 산화될 가능성은 거의 같은 수준이었다.

Serum Fatty Acid Composition :

Table 7에 제시된바와 같이 CO군에서 C22 : 0와 C20 : 2가 유의성있게 증가된 반면 C18 : 2와 C20 : 3 + C20 : 4는 오히려 유의성있게 감소되었다. PO군에서는 C22 : 4와 C22 : 5가 유의성있게 감소되었는데 FO군에서는 C20 : 5만 유의성있게 증가되었다. C18 : 2가 많이 함유된 corn oil을 섭취한 CO군에서 예상과는 달리 C18 : 2와 C20 : 4가 감소되었고, PO군에서는 C18 : 3이 많이 함유된 perilla oil을 섭

Table 7. Effect of different dietary PUFA on serum fatty acid composition in human subjects

Fatty acids	Corn oil		Perilla oil		Fish oil	
	Before	After	Before	After	Before	After
C14 : 0	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.02	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	trace	0.00 ± 0.00
C16 : 0	14.60 ± 6.03	18.74 ± 5.57	16.52 ± 5.79	18.73 ± 6.13	17.04 ± 7.12	16.28 ± 3.19
C16 : 1	15.04 ± 12.72 ^{2a}	11.12 ± 13.11 ^{2b}	13.18 ± 11.18	16.63 ± 16.48	18.30 ± 14.69	14.41 ± 9.34
C18 : 0	6.61 ± 1.93	7.24 ± 1.77	7.89 ± 1.30	7.78 ± 2.37	7.73 ± 1.25	7.61 ± 1.20
C18 : 1	10.90 ± 2.99	9.25 ± 1.75	11.41 ± 1.92	10.60 ± 1.81	11.41 ± 1.59	10.10 ± 2.23
C18 : 2	16.90 ± 5.01 ^{2a}	12.61 ± 2.32 ^{2b}	17.42 ± 5.44	13.70 ± 8.01	14.58 ± 4.20	12.28 ± 4.34
C18 : 3 ± C20 : 1	1.99 ± 2.39	0.62 ± 1.10	1.36 ± 1.19	1.76 ± 1.49	0.87 ± 0.91	0.86 ± 1.23
C22 : 0	6.74 ± 3.65 ^{1a}	10.97 ± 2.86 ^{1b}	6.00 ± 2.70	5.62 ± 4.88	0.75 ± 4.92	5.27 ± 2.33
C22 : 1	3.02 ± 2.84	2.51 ± 1.73	2.19 ± 2.53	1.32 ± 1.70	2.34 ± 2.93	5.08 ± 4.02
C20 : 2	4.71 ± 3.21 ^{2a}	8.67 ± 3.40 ^{2b}	4.33 ± 2.47	9.65 ± 8.10	4.62 ± 5.33	7.63 ± 3.87
C20 : 3 ± C20 : 4	5.78 ± 1.89 ^{1a}	2.89 ± 2.44 ^{1b}	4.89 ± 1.25	3.54 ± 2.51	4.11 ± 1.60	4.59 ± 2.13
C20 : 5	4.70 ± 2.43	6.31 ± 3.25	4.19 ± 2.65	3.77 ± 2.97	3.41 ± 1.85 ^{2a}	5.61 ± 2.30 ^{2b}
C20 : 6	2.24 ± 1.53	1.84 ± 1.61	2.07 ± 0.93 ^{2a}	1.03 ± 1.01 ^{2b}	2.09 ± 2.12	3.00 ± 1.72
SFA	5.53 ± 2.81	5.80 ± 2.73	6.08 ± 2.07 ^{2a}	3.89 ± 2.31 ^{2b}	5.20 ± 1.67	5.01 ± 3.38
MFA	1.23 ± 1.95	1.38 ± 0.90	2.46 ± 1.52	1.99 ± 1.72	1.55 ± 1.19	2.27 ± 1.22
P/S	27.96 ± 6.70 ^{2a}	36.96 ± 6.67 ^{2b}	30.41 ± 7.03	32.13 ± 11.78	31.53 ± 6.17	29.16 ± 5.97
SFA + MFA	28.97 ± 11.13	22.88 ± 11.98	26.77 ± 9.76	28.55 ± 14.09	32.05 ± 11.62	29.59 ± 7.80
PUFA	56.93	59.84	57.18	60.68	63.58	58.75
P/S	43.08 ± 9.54	40.13 ± 7.84	42.81 ± 7.32	39.32 ± 6.98	36.43 ± 9.39	41.24 ± 5.83
P/S	1.66 ± 0.81	1.10 ± 0.23	1.48 ± 0.43	1.39 ± 0.56	1.20 ± 0.42	1.48 ± 0.46

Values are Mean ± S.D. and expressed as the relative % of total fatty acids.

SFA : Saturated Fatty Acid

MFA : Monounsaturated Fatty Acid

PUFA : Polyunsaturated Fatty Acid

P/S : PUFA/SFA ratio

Superscript a or b : values with different alphabet within the row were significantly different

by Student's t-test

Superscript 1 : significant at $p \leq 0.01$

2 : significant at $p \leq 0.05$

취시켰는데 낮은 수준이었지만 유의성있게 증가되었다. FO군에서만 C20 : 5가 증가되었고 C22 : 6은 유의성있는 증가는 아니었다. 이와같이 실험식이 투여 후 serum 지방산 각각에 대해서는 약간의 변화가 있었지만, 전체적으로 볼 때 serum에서 포화 지방산과 MFA의 합이 CO, PO, FO세 군 모두에서, 지방산 전체의 59~61% 이었고, PUFA의 함량은 각각 다른 양을 투여했지만 3군 모두 39~41%이었다. 실험식이 지방의 P/S ratio가 0.62~1.60이었는데 serum지방산의 P/S ratio는 1.10~1.48로 거의 변화없이 유지되었다. Bronsgeest-Schoute등²⁸⁾의 보고에 의하면 n-3계 PUFA를 4주간 투여시켰을 때 plasma 지방산분포는 1~2주 사이에 가장 크게 변화했다고 하였는데, 본 연구에서는 실험식이 투여기간이 1주일로 짧았기때문에 전체적으로 큰 변화를 줄 수 없었던 것으로도 볼 수 있으며, 그 반대의 경우로, 실험식이 섭취 바로 후에는 섭취지방의 종류에 따라 serum지방산 조성에 변화가 있었을 수도 있었지만, 식이지방내에 특별히 더 많이 함유된 지방산은 더 빨리 대사하려는 기전이 있을 수도 있어서 1주일 동안에 이미 적응이 되어 serum 지방산 분포를 거의 비슷하게 유지하게된 것으로 가정할 수도 있다고 본다.

결 론

여대생 10명에게 식이지방(총 calorie 섭취의 30%)의 포화지방산과 MFA의 총량을 같게 조절하고 n-6계 linoleic acid(C18 : 2, 22.0g)와 n-3계 α -linolenic acid (C18 : 3, 17.3g)와 EPA+DHA(C20 : 5 + C22 : 6 ; 총량 5.6g)를 충분한 량의 tocopherol과 함께 각각 1주일간 투여하여 불포화지방산 종류에 따라 serum의 lipoprotein과 지질조성, tocopherol, MDA 형성에 미치는 영향을 관찰하였다.

1) Serum cholesterol량은 불포화지방산 종류 그 자체에 의한것 보다는 식이지방의 총 불포화도에 비례해서 낮아진 경향이였다.

2) HDL-cholesterol 함량은 n-3계 C20 이상의 long

chain PUFA인 EPA와 DHA에 의해서만 유의성있게 증가되었으나, HDL 입자의 화학적 조성에는 변화가 없었다.

3) Serum TG량은 EPA와 DHA에 의해서만 유의성있게 감소되었는데 VLDL 입자의 TG량(%)에는 변화가 없었다.

4) LDL 입자의 CE량(%)은 3가지 PUFA에 의해서 감소된 경향이였으나 α -linolenic acid에 의해서만 유의성있게 감소되었고, LDL의 apoprotein의 량(%)은 n-6 PUFA에 비해 n-3 PUFA에 의해서 유의성있게 낮았다.

5) Serum의 지방산분포는 식이의 포화지방산과 MFA의 총량을 같이 주었을 때는 식이내 PUFA 종류에 따른 변화를 거의 볼 수 없었다.

REFERENCES

- 1) Bang HO and Dyerberg J. *Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic west coast Eskimos. Acta Med Scand* 192 : 85~94, 1972
- 2) Dyerberg J, Bang HO and Hjorne N. *Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. Am J Clin Nutr* 28 : 958~966, 1975
- 3) McGandy RB, Hegsted DM and Stare FJ. *Dietary fats, carbohydrate and atherosclerotic vascular disease. N Engl J Med* 277 : 417, 1967
- 4) Bang HO and Dyerberg J. *Lipid metabolism and Ischemic Heart Disease in Greenland Eskimos. Adv Nutr Res* 3 : 1~22, 1980
- 5) Kinsella JE. *Dietary fish oils. Possible effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in reduction of thrombosis and heart disease. Nutr Today Nov/Dec.* 7~14, 1986
- 6) Bang HO, Dyerberg J and Sinclair HM. *The composition of the Eskimo food in north western Greenland. Am J Clin Nutr* 33 : 2657~2661, 1980
- 7) Herold PM and Kinsella JE. *Fish oil consump-*

- tion and decreased risk of cardiovascular disease : a comparison of findings from animal and human feeding trials. *Am J Clin Nutr* 43 : 566~598, 1985
- 8) Miller GI and Miller NE. Plasma high density lipoprotein concentration and development of ischemic heart disease. *Lancet* 1 : 16, 1975
- 9) Burnstein M, Scholnick HR and Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res* 11 : 583~586, 1970
- 10) Hatch FT and Lees RS. Practical methods for plasma lipoprotein analysis. In *Advances in Lipid Research*(Paoletti, R. and Kritchevsky, D. eds). vol 6 : pp1~68, Academic New York. 1968
- 11) Folch J, Lees M and Sloane-Stanley GH. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226 : 497~509, 1957
- 12) Bartlett GR. Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 234 : 466~468, 1959
- 13) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RT. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265~275, 1951
- 14) McDougal DB and Farmer, HS. A fluorometric method for total serum cholesterol. *J Lab Clin Med* 50 : 485~488, 1957
- 15) Fletcher MJ. A colorimetric method for establishing serum triglyceride. *Clin Chem Acta* 22 : 393~398, 1968
- 16) Morrison WR and Smith LM. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boronfluoride-methanol. *J Lipid Res* 5 : 600~608, 1964
- 17) Desai ID. Vitamin E analysis methods for animal tissues. *Meth in Enzymology* 105 : 138~155, 1984
- 18) Yagi K. Lipid peroxidations in biology and medicine. p223 Academic Press NY 1982
- 19) Harris WS, Connor WE and MCMurry MP. The comparative reductions of the plasma lipids and lipoproteins by dietary polyunsaturated fats : salmon oil versus vegetable oils. *Metabolism* 32(2) : 179~184, 1983
- 20) Saynor R, Verel D and Gillott T. The long-term effect of dietary supplementation with fish lipid concentrate on serum lipids, bleeding time, platelet and angina. *Atherosclerosis* 50 : 3~10, 1984
- 21) Mortensen JZ, Schmidt EB, Nielsen AH and Dyerberg J. The effect of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on hemostasis, blood lipids and blood pressure. *Thromb Haemostasis* 50(2) : 543~546, 1983
- 22) Ruiter A, Jongbloed AW, van Gent CM, Danes LHJC and Metz 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
- 23) Sanders TAB, Vickers M and Haines AP. Effect on blood lipids and haemostasis of a supplement of cod-liver oil, rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in healthy young men. *Clin Sci* 61 : 317~324, 1981
- 24) Von Lossonczy TO, Ruiter A, Bronsgeest-Schoute HC, Van Gent CM and Hermus RJJ. The effect of a fish diet on serum lipids in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr* 31 : 1340~1346, 1978
- 25) Sanders TAB and Roshanai F. The influence of different type of w-3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin Sci* 64 : 91~99, 1983
- 26) Saynor R and Verel D. Eicosapentaenoic acid, bleeding time, and serum lipids. *Lancet* 2 : 272, 1982
- 27) Sanders TAB and Hochland M. A comparison

- of the influence on plasma and platelet function of supplements of w3 and w6 polyunsaturated fatty acids. Br J Nutr 50 : 521~529, 1983*
- 28) Bronsgeest-Schoute HC, van Gent CM, Luten JB and Ruiter A. *The effect of various intake of w-3 fatty acids on the blood lipid composition in healthy human subjects. Am J Clin Nutr 34 : 1752~1757, 1981*
- 29) Goodnight SH, Harris W, Connor W and Illingworth DR. *Polyunsaturated fatty acids, hyperlipidaemia and thrombosis. Atherosclerosis 2(2) : 875, 1982*
- 30) Irritani N, Iuoguchi K, Endo M, Fukuda E and Moreta M. *Identification of shellfish fatty acids and their effects on lipogenic enzymes. Biochim Biophys Acta 618 : 378, 1980*
- 31) Farrell PM and Bieri JG. *Megavitamin E supplementation in man. Am J Clin Nutr 28 : 1381~1386, 1975*
- 32) Rubinstein HM, Dietz AA and Srinavasan R. *Relation of vitamin E and serum lipids. Clin Chim Acta 23 : 1~6, 1969*
- 33) Reduction of plasma lipids and lipoproteins by marine fish oils. *Nutr Rev 43 : 268~270, 1985*
- 34) Vega GL, Groszek E, Wolf R and Grundy SM. *Influence of polyunsaturated fats on composition of plasma lipoproteins and apolipoproteins. J Lipid Res 23 : 811~822, 1982*
- 35) Nestel PJ, Connor WE, Reardon MF, Connor S, Wong S and Boston R. *Suppression by diets rich in fish oil of very low density lipoprotein production in man. J Clin Invest 74 : 82~89, 1984*
- 36) Parks JS and Bullock BC. *Effect of fish oil versus lard diets on the chemical and physical properties of low density lipoproteins of nonhuman primates. J Lipid Res 28 : 173~182, 1987*
- 37) Bieri JG and Poukka RKH. *In vitro hemolysis as related to rat erythrocyte content of α -tocopherol and polyunsaturated fatty acids. J Nutr 100 : 557~564, 1970*
- 38) Iritani N, Fukuda E and Kitamura Y. *Effect of corn oil feeding on lipid peroxidation in rats. J Nutr 110 : 924~930, 1980*
- 39) Buckingham KW. *Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. J Nutr 115 : 1425~1435, 1985*
- 40) Witting LA and Horwitt MK. *Effect of degree of fatty acid unsaturation in tocopherol-deficiency induced creatinuria. J Nutr 82 : 19, 1964*