

Docosahexaenoic Acid의 수준별 섭취가 흰쥐의 뇌인지질 및 혈청, 간의 지질조성에 미치는 영향

이 준 호[§] · 김 현 숙

충남대학교 가정대학 가정교육과

Effects of Dietary Docosahexaenoic Acid Levels on the Brain Phospholipids and Serum and Liver Lipid Compositions in Rats

Lee, Joon Ho[§] · Kim, Hyun Sook

Department of Home Economics Education, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

ABSTRACT

The effects of various dietary docosahexaenoic acid(DHA) levels on the brain phospholipids and serum and liver lipid compositions were studied in rats using DHA concentrated oil and corn oil as a control for 4 weeks. Serum total cholesterol and HDL-cholesterol levels tended to be the lowest by adding 20% DHA to corn oil. Serum triglyceride levels significantly decreased by adding 30% DHA. Liver cholesterol and triglyceride levels were apparently decreased in the groups added above 20% DHA, especially, the lowest at adding 30% DHA. Brain weight and phospholipid content were not different among groups. The ratios of arachidonic to linoleic acids in serum and liver phosphatidylcholine(PC) were significantly decreased by adding dietary DHA and showed a flat form above 20% of dietary DHA. DHA levels of serum PC were gradually increased according to dietary DHA level. The fatty acid compositions of the brain PC and phosphatidylethanolamine(PE) did not appear any changes with accordance of the dietary DHA levels. However, compared with those of serum and liver in general, linoleic and arachidonic acid levels were very low. Oleic acids were apparently higher than those in the other tissues. DHA were higher than those in the other tissues regardless of the dietary DHA, especially in brain PE. The ratios of arachidonic to linoleic acid were not apparent tendency in brain PC and PE. However, the ratios of brain PE were above 2 times higher than those of brain PC. As the results, the hypolipidemic effects of dietary DHA were remarkable in liver. Especially in regard to tendency of liver lipid levels and desaturation indices in serum and liver PC, the effects indicated significantly higher by adding 20-30% DHA to diet(n-6/n-3 ratio, about 4-7). Thus, in this study, these dietary DHA levels seemed to be appropriate, at least in these lipid parameters. (*Korean J Nutrition* 34(2) : 132~140, 2001)

KEY WORDS: DHA, brain phospholipid, fatty acid, n-6/n-3 ratio, desaturation index.

서론

종전에는 n-6계 불포화지방산인 linoleic acid가 많이 들어있는 지방을 더 중요시해 왔으나 요즘은 들기름, 어유에 많이 들어있는 n-3계 지방산에 대하여 더 주목이 되고 있다. 그 이유는 식물성 지방에 다량 함유된 n-6계인 linoleic acid는 중요한 필수지방산이며 혈청 cholesterol저하에 효과적인 기능을 나타내지만, 이로부터 생성되는 thromboxane A₂가 혈전형성을 증대시켜 동맥경화를 유도하고,¹⁾ n-6계 지방산에서 유래된 prostaglandin(PG)E₁, PGE₂, PGF_{2α} 등이 발암성에 관여한다고 보고되었는데^{2,4)}

접수일 : 2000년 11월 2일

채택일 : 2001년 2월 6일

[§]To whom correspondence should be addressed.

한편 생선유, 들기름에 주로 많이 포함된 n-3계 지방산은 n-6계 지방산보다 혈청 triglyceride 저하효과가 더 크고⁵⁾ VLDL-cholesterol을 낮춤으로써 동맥경화를 억제할 수 있다고 하였으며,⁶⁾ 혈소판의 기능과 관련하여 docosahexaenoic acid(DHA C_{22:6}, n-3) 같은 n-3계 지방산의 공급이 이들이 적아구막 또는 성숙된 혈소판막의 인지질층으로 삽입됨으로써 혈소판 응집을 저하시킨다고 보고되었고,^{7,8)} 또한 n-3계 지방산이 생합성과정에서 n-6계의 대사에 경쟁적으로 관여하여 n-6계의 대사물인 2-series PG의 생성을 억제시킴으로써 항혈전성효과^{9,10)}와 암세포의 증식억제^{11,12)} 및 면역성 염증질환의 감소효과¹³⁾가 있다고 보고되었기 때문이다. 암세포에서 흔히 고농도로 발견되는 PGE₂의 암세포증진효과는 indomethacin같은 저해제에 의해 저해되는 데¹⁴⁾ DHA와 같은 n-3계 불포화지방산이 역시 cyclooxy-

genase의 잠재적인 inhibitor로 작용함으로써 PG합성을 저해하여 중앙 증식을 방해하는 것으로 추측되고 있다.^{15,16)}

한편, n-3계 불포화지방산 중에서도 DHA가 뇌기능에 미치는 영향에 관하여 많은 관심이 되고 있다. DHA는 다른 조직의 세포막에 비해 중추신경계의 세포막에 높은 농도로 함유하고 있는데 특히 뇌의 시냅스막과 망막의 광수용체 바깥영역에 DHA가 다량 함유되어 있다.¹⁷⁻¹⁹⁾ 즉 광수용체의 phosphatidylethanolamine(PE)과 phosphatidylserine(PS)의 지방산 중 35~60%가 DHA이고 대뇌피질의 PE와 PS의 지방산 중 약 1/3이 DHA라고 했다.²⁰⁾ 그리하여 적절한 DHA의 수준을 유지하는 것은 신경계의 기능에 있어서 중요하다. 사람의 경우 두뇌형성이 활발하게 이루어지는 시기는 태아기와 영아기로서 DHA와 AA의 수준이 임신 제3기에 3~5배 증가하여 뇌조직내 DHA의 절반 가량이 출생 이전에 축적되며 출생 후에도 DHA가 지속적으로 뇌조직에 축적된다고 한다.¹⁸⁾ 그러나 쥐의 경우는, 뇌세포가 빠르게 분열되는 시기인 생후 20일 안에 DHA가 뇌조직에 축적된다.^{21,22)} 이와 같이 태아기와 출생초기에 세포분화, 활발한 시냅스생성, 광수용체막 생합성이 일어나므로 상당량의 DHA가 두뇌형성에 필요하다.¹⁹⁾ 이러한 뇌조직에 DHA의 축적은 세포막의 유동성과 세포막에서 발생하는 전기적 자극의 전과과정에 변화를 주어 두뇌조직의 기능적인 발달에 중요한 영향을 미치므로써 DHA는 두뇌의 정상적인 성장과 발달에 필수적인 성분이라고 하였다.^{22,24)} 영아는 DHA를 모유로부터 공급받거나, 체내에서 α -linolenic acid(α -LNA)로부터 합성할 수 있다. 그러나 α -LNA로부터 DHA로의 전환이 저조하여 두뇌형성기에 필요량 증가에 대한 충족은 식이로 직접 공급받는 것이 가장 효율적이다. Babara²⁵⁾는 DHA가 함유된 모유를 공급한 영아의 IQ가 DHA가 없는 식이를 공급한 영아의 IQ보다 높다고 보고하였다. 따라서 모유에 함유된 DHA 수준에 해당되는 양을 조제유 또는 이유식에 첨가하여 영아에게 공급해 줄 것을 권장하고 있다. 이와 같은 견해에 의해 최근 유아용식품을 비롯한 각종 식품에 DHA첨가가 보편화되고 있으며 DHA섭취를 위해 생선식품을 선호하는 경향이 높아졌는데 한편으로 DHA는 고도의 불포화된 상태로서 산화되기 쉬워 지나치게 많이 섭취하면 그로인한 지질과산화물의 체내축적은 다른 질병의 원인이 될 수도 있다. 따라서 DHA의 이용에 있어서 뇌의 구성 및 전반적인 지질대사에 대한 그 적정량을 규정함이 필요하다고 생각된다. 그리하여 본 연구에서는 식이내 DHA첨가량의 적절한 수준을 알아보고자, 일상적으로 상용되며 n-3계 지방산이 결여된 옥수수유에 DHA농축유(27%)를 10~40% 첨가하여 흰쥐에게 4주간 공급한 후 혈

청, 간 및 뇌의 지질함량과 이들 조직의 인지질 지방산 및 지방조직 triglyceride의 지방산조성을 분석하여 일상 식생활에서 DHA의 적당한 섭취량을 규정하는데 도움이 될 자료를 얻고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 식이조성 및 동물사육방법

실험용 동물로 체중 106~110g되는 Sprague-Dawley (수컷 흰쥐) 33마리를 대한실험동물센터에서 구입하여 1주일동안 상업용 고형배합사료로 환경에 적응시킨 후 실험식이를 4주간 투여하였다. 실험식은 AIN formula²⁶⁾를 기본으로 하였고 화학적으로 순수한 식이를 사용하였으며, 식이조성은 Casein 20%, Fat 10%, Mineral mixture (AIN-76) 3.5%, Vitamin mixture(AIN-76) 1%, Choline bitartrate 0.2%, DL-metionine 0.3%, Cellulose powder 5%, Corn starch 15%, Sucrose 45%로 하였다. 식이 중 지방은 옥수수유를 기본으로 하여 DHA 농축유(27% DHA 함유)를 10~40% 첨가하였다. 실험군은 Corn oil, DHA 10%, DHA 20%, DHA 30%, DHA 40%의 5군으로 분배하였다. 본 실험에 사용한 식이지방의 지방산 조성은 Table 1과 같이 n-6/n-3계 비율을 적절한 간격이 되도록 고려하였다. 식이지방으로 사용된 DHA 농축유 자체에 함유된 cholesterol함량이 0.9%임을 고려하여 각 군의 식이지방에 함유된 cholesterol함량을 동일하도록 조정하여 첨가시켰고 DHA농축유의 산패를 방지하기 위해 항산화제로 tocopherol(Junsei Chem Co., Ltd) 200ppm

Table 1. Fatty acid composition of dietary fats

Fatty acids	Groups				
	Corn oil	DHA 10%	DHA 20%	DHA 30%	DHA 40%
	(weight %)				
14 : 0	-	0.4	0.7	1.0	1.3
16 : 0	11.1	12.0	12.3	13.4	13.7
16 : 1	-	0.3	0.4	0.4	0.5
18 : 0	2.1	2.5	2.7	3.0	3.3
18 : 1	29.2	28.2	27.2	26.3	24.5
18 : 2(n-6)	53.8	49.3	45.3	41.1	34.7
20 : 4(n-6)	-	0.2	0.5	0.6	0.8
20 : 5(n-3)	-	0.7	1.2	1.9	2.4
22 : 6(n-3)	-	2.6	5.3	8.1	10.5
P/S ratio	4.9	4.3	4.0	3.8	3.2
n-6/n-3 ra-	-	15.1	7.0	4.2	2.8

All the DHA groups were added DHA concentrated oil(27%) to corn oil.

- : undetected

을 DHA 농축유에 첨가시켜 사용하였으며 조제된 사료는 질소충전하여 냉동보관하였고 동물이 남긴 사료는 모두 버렸다. 식이공급방법은 ad libitum으로 하여 매일 1번씩 사료와 증류수를 공급하였다. 사육실은 12시간 명암주기로 하고 온도는 $23 \pm 1.0^\circ\text{C}$, 습도는 60~70%를 유지하였다. 채증은 주 2회 일정한 시간에 측정하였다. 희생시 하루 전날 overnight로 12시간 절식시킨 후 ethylether로 약하게 마취시킨 상태에서 heart puncture로 혈액을 채취한 후 얼음 물에서 방치 후 3000rpm에서 15분간 저온(4°C)원심분리시켜 혈청을 분리하였다. 채혈 직후 해부하여 간, 뇌, 부고환부위의 지방조직을 적출하여 냉각된 생리적 식염수로 세척하고 여과지로 표면의 물기를 제거한 다음 즉시 액체질소를 이용하여 급냉시킨 후 이들 장기를 혈청과 함께 분석시까지 냉동저장(-60°C)하였다.

2. 혈청 및 간의 지질 분석

간과 혈청의 지질분석을 위해 Folch 등의 방법²⁷⁾으로 지질을 chloroform : methanol(2 : 1) 용매에 의해 추출한 뒤, cholesterol 정량 분석을 위해 Sperry-Webb 방법²⁸⁾을 이용하여 측정하였고, triglyceride는 Flecher 방법²⁹⁾에 의해 측정하여 각각 표준 검량선을 기준하여 함량을 산출하였다. 혈청 HDL-cholesterol의 측정은 heparin-Mn결합 침전법에 의한 kit(Wako, Co. Japan)를 이용하여 파장 505 nm에서 흡광도를 측정한 후 표준 용액의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

3. 뇌의 인지질 정량

뇌의 인지질 함량은 Nagata 등³⁰⁾의 논문에서 의해서 파장 820nm에서 흡광도를 측정한 후 KH_2PO_4 (Sigma, chemical Co.)를 표준시약으로 하고 검량선을 기준하여 인지질 함량을 정량하고 25배수를 하여 인지질함량을 산출하였다.

4. 각 조직의 지방산 분석

혈청, 간, 뇌의 막인지질의 조성에서 대표적인 phosphatidylcholine(PC)와 뇌조직의 phosphatidylethanolamine(PE)의 지방산 조성, 부고환부위 지방조직에 함유된 triglyceride의 지방산조성을 관찰하였다. 분석방법은 각 조직의 일부를 Folch 등의 방법²⁷⁾에 의해 지질을 추출하여 Wada 등의 방법³¹⁾으로 thin layer chromatography에 의해 각 조직의 PC와 뇌조직의 PE의 지방산 조성을 분리 동정하였다. 전개 용매로는 chloroform : methanol : H_2O (65 : 25 : 4) 용액을 사용하여 전개 시킨 후 UV 형광등(Ultraviolet lamps Spectroline Q-Serires, U.S.A)으로 RF치를 확인한 후 PC 및 PE 부분을 끓여 CHCl_3 : me-

thanol : CH_3COOH : H_2O (50 : 39 : 1 : 10)의 용액으로 용출하였다. 4N NH_4OH 를 넣어 지질층만 분리하고 ethanol성 KOH로 검화시킨 후 petroleum ether로 지방산을 용출하여 methylation 하였다. Methylation은 Morrison 등의 방법³²⁾을 이용하여 boron trifluoride methanol solution(abs 14%)을 사용하였다. 이것을 SP2340 capillary column으로 gas liquid chromatography(HP 5890)에 의해 PC와 PE의 지방산조성을 분석하였다. 지방조직은 지질을 추출하여 그대로 검화, methylation 과정을 거쳐 위와 동일하게 하여 triglyceride 지방산 조성을 분석하였다. 각 조직의 지방산조성에서 desaturation 반응의 지표가 될 수 있는 arachidonic/linoleic acid 비율을 계산하여 그 반응정도를 간접 추정하였다.

5. 통계처리

모든 측정치들은 SAS package를 이용하여 실험결과로부터 각 군별 평균과 표준편차를 산출하였다. 각 군간의 지질수준 및 지방산구성 등의 평균치 비교와 차이의 유의성은 일원분산분석과 Duncan의 multiple-range test를 이용하여 검증하였다. 그 결과는 모두 $p < .05$ 수준에서 유의적 차이를 인정하였다.

결과 및 고찰

1. 동물의 성장과 사료섭취량

실험 4주 동안의 흰쥐의 성장과 사료섭취량 및 체중 100 g당 간 중량의 변화는 Table 2와 같다. 체중증가는 그룹간에 유의적 차이를 나타내지 않았으나 1일 평균 사료섭취량은 옥수수유에 DHA 30%, 40% 첨가군들이 다른 군에 비해 높았는데 식이효율은 대체로 비슷한 값을 나타내었다. 체중 100g당 간중량은 40% DHA 군에서 가장 높은 수치를 나타냈고 20% DHA 군에서 가장 낮은 값을 나타내었다.

2. 혈청지질함량

Fig. 1에서 보는 바와 같이 혈청 총 cholesterol 함량은 옥수수유에 20% DHA 첨가군에서 가장 낮은 수치를 나타내었으나 실험군간에 유의적인 차이는 없었다. Harris 등³³⁾과 Saynor 등³⁴⁾은 사람에게 연어유와 어유 농축액인 Max EPA를 각각 4주 또는 24개월동안 투여하였을 때 혈청 cholesterol수준이 감소되었다고 하였다. Hartog 등³⁵⁾과 Hamazaki 등³⁶⁾도 쥐에게 각각 정어리유나 고등어유를 8주간 투여했을 때 혈청 cholesterol농도가 현저하게 감소되었다고 하였으며 Kim 등³⁷⁾도 사람에게서 들기름 섭취군이 혈청 cholesterol농도를 약간 감소시킨 반면 어유 섭취군에

Table 2. Growth parameters and liver weight

Groups	Body weight		Food Intake (g/day)	FER	Liver weight (g/100gB.W.)
	Initial (g)	Gain (g/4week)			
Corn oil	108 ± 5	182 ± 20	16.4 ± 1.2 ^b	0.40 ± 0.04	4.02 ± 0.4 ^{ab}
DHA 10%	109 ± 5	182 ± 16	16.4 ± 1.1 ^b	0.40 ± 0.03	3.95 ± 0.3 ^{ab}
DHA 20%	106 ± 10	179 ± 13	16.4 ± 0.6 ^b	0.39 ± 0.02	3.87 ± 0.2 ^b
DHA 30%	108 ± 11	203 ± 26	18.0 ± 1.6 ^{ab}	0.39 ± 0.02	4.31 ± 0.5 ^{ab}
DHA 40%	110 ± 8	190 ± 28	18.5 ± 2.2 ^a	0.37 ± 0.04	4.40 ± 0.5 ^a

Values were mean ± SD of 6 to 7 rats per group.

^{a,b}Values with different superscript letters are significantly different at $p < .05$. All the DHA groups were added DHA concentrated oil(27%) to corn oil. FER: Food efficiency ratio

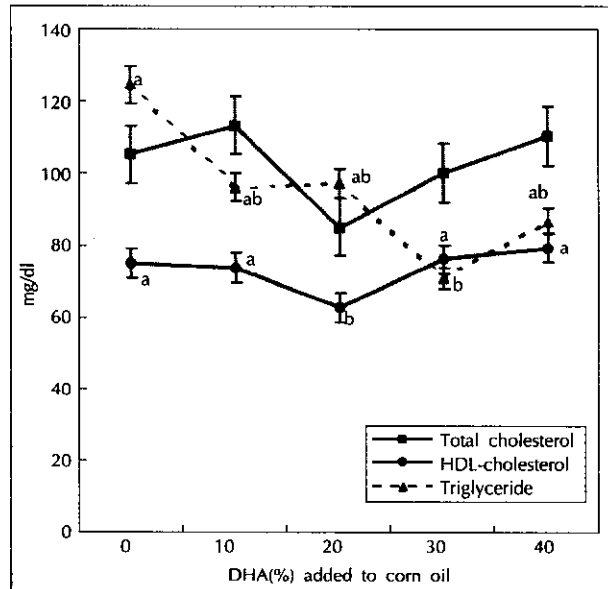


Fig. 1. Concentration of serum lipid. Values were mean ± SD of 6 to 7 rats per group. a, b : Values with different superscript letters are significantly different at $p < .05$.

서는 유의적으로 감소시켰다고 하였다. Chung 등의 연구³⁸⁾에서도 어유의 EPA식이 섭취에 의해 혈청 cholesterol 농도가 감소되었다고 하였다. 혈청 HDL-cholesterol 농도는 DHA 20% 첨가군에 비하여 DHA 10%, 30%, 40% 첨가군에서 모두 유의적으로 높았다(Fig. 1). Saynor 등³⁴⁾에 의하면 사람에게 Max EPA를 매일 20ml씩 24개월동안 투여하였을 때, HDL-cholesterol 농도가 증가되었고 그 외에 Sanders 등³⁹⁾ Lossonczy 등⁴⁰⁾의 연구에서도 이와 유사한 결과를 보였다. 그런데 Hartog 등⁴¹⁾의 보고에서는 돼지에 고등어유를 8주간 투여하였을 때 HDL-cholesterol 농도가 유의성있게 감소되었다고 하였고, Sanders와 Roshanai⁴²⁾는 3주간 어유(EPA + DHA, 5.96g)를 투여했을 때 HDL-cholesterol 농도가 유의성있게 증가되었으나 어유를 다량 투여하였을 때는 오히려 HDL-cholesterol 농도의 증가가

미약하였다고 하였다. 이와 같이 n-3계 지방산이 HDL-cholesterol 농도에 미치는 영향이 다르게 나타나는 것은 Illingworth 등⁴³⁾에 의하면 n-3계 지방산을 많이 섭취하면 혈청내 중성지방과 VLDL은 낮추어지는데 비하여 다른 lipoprotein에 주는 효과는 매우 다르다고 보고한 바 있다. 한편 혈청 triglyceride 농도는 대조군에 비해 DHA 농축유 첨가에 의해 뚜렷하게 저하되었고 특히 n-6/n-3계 비율이 4.2인 DHA 30% 첨가군에서 유의적으로 낮았다(Fig. 1). Lee 등의 논문⁴⁴⁾에서도 n-6/n-3계 비율이 4이하에서 혈청 triglyceride 농도가 현저하게 저하하여 본 결과와 유사하였다. 이에 대하여 Wong 등⁴⁵⁾은 n-3계의 지방산이 LDL-apo B 생산물을 저해함으로써 triglyceride 수치를 저하시키는 것으로 보고하였다.

3. 간장 지질의 함량

Fig. 2에 의하면 간장의 cholesterol 농도는 옥수수유만을 공급한 대조군에 비하여 DHA 첨가한 군들에서 그 양에 따라 뚜렷하게 저하되어 DHA를 20%(n-6/n-3계 비율, 7.0) 이상 첨가한 군들에서 모두 유의적인 감소를 보였다. 이와 비슷한 결과는 Chung의 연구⁴⁶⁾에서도 관찰되는데 그의 연구에서 간장의 총 cholesterol 함량은 n-3계 EPA(eicosapentaenoic acid, C_{20:5})와 DPA(docosapentaenoic acid, C_{22:5})의 함량이 많은 어유급식군과, n-3계 α-linolenic acid의 함량이 많은 들깨유 급식군이 올리브유군에 비해 유의적으로 낮은 함량을 보였다. Yoon 등의 연구⁴⁷⁾에서도 이와 유사하였다. 간장의 triglyceride 함량도 간 cholesterol 함량과 유사한 경향으로 대조군에 비해 DHA 농축유의 첨가량에 따라 현저하게 감소되어 특히 DHA 농축유 30%(n-6/n-3계 비율, 4.2) 첨가의 경우 유의적인 차이를 나타내었다(Fig. 2). Chung의 연구⁴⁶⁾에서도 n-3계 고도불포화 지방산의 함량이 많은 어유 및 들깨유 급식군에서 본 결과와 유사하였다. 따라서 n-6계 지방산보다 n-3계 지방산이

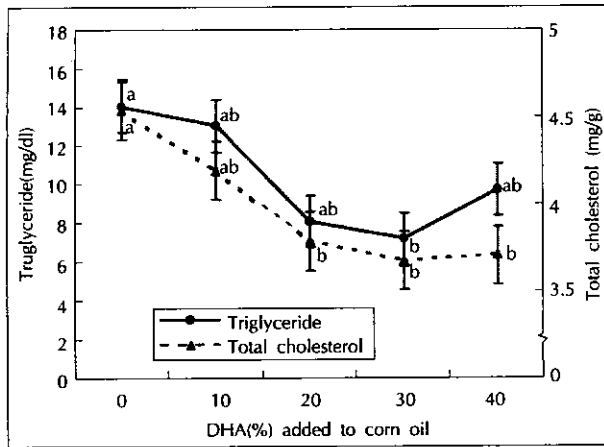


Fig. 2. Concentration of liver lipid. Values were mean \pm SD of 6 to 7 rats per group. a, b: Values with different superscript letters are significantly different at $p < .05$.

Table 3. Wet weights and phospholipid amounts of whole brain

Groups	Wet weight(g)	Phospholipid (mg/g)
Corn oil	1.14 \pm 0.21	48.9 \pm 3.20
DHA 10%	1.03 \pm 0.26	51.1 \pm 1.78
DHA 20%	0.98 \pm 0.27	52.5 \pm 2.46
DHA 30%	1.05 \pm 0.25	52.1 \pm 3.89
DHA 40%	1.03 \pm 0.22	50.1 \pm 2.38

Values were mean \pm SD of 6 to 7 rats per group. All the DHA groups were added DHA concentrated oil(27%) to corn oil.

간장 triglyceride의 함량저하효과가 더 큰 것으로 사료된다.

4. 뇌의 무게 및 인지질함량

Table 3에서와 같이 DHA 농축유의 첨가에 의해 뇌의 무게와 인지질함량에 유의적인 차이는 초래되지 않았으나 뇌의 인지질함량이 대조군에 비하여 DHA 농축유를 첨가한 군들에서 대체적으로 높은 경향을 나타내었다. Chung의 연구⁴⁶⁾에서도 뇌의 인지질함량이 n-3계 지방산함량이 많은 어유군에서 다른 종자유군에 비해 유의적으로 높게 나타났다고 했다.

5. 각 조직의 지방산 조성

Fig. 3의 혈청 phosphatidylcholine(PC) 지방산조성에서 옥수수유에 DHA의 첨가량이 증가함에 따라 linoleic acid 비율은 전반적으로 증가하였고, arachidonic acid 비율은 현저하게 감소하였다. 따라서 다가불포화지방산의 desaturation의 지표가 되는 arachidonic/linoleic acid의 비율이 옥수수유에 DHA농축유 20%를 첨가한 군(n-6/n-3계 비율, 7.0)까지는 현저한 감소를 보이다가 그 이후에는 큰 변화가 없었다. 이 결과는 n-3계의 지방산이 n-6계 desaturation 반응과정에 대하여 경쟁적인 간섭을 하여

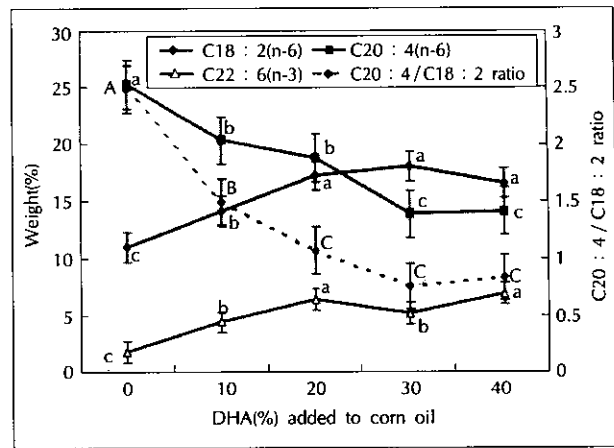


Fig. 3. Fatty acid compositions of serum phosphatidylcholine. Values were mean \pm SD of 6 to 7 rats per group. a, b, c: Values with different superscript letters in the same fatty acid are significantly different at $p < .05$.

linoleic acid 잔존량이 많아지고 arachidonic acid 생성이 저조한 때문일 것으로 Lee와 Kim의 연구⁴⁴⁾에서 보고하였다. 한편 n-3계 지방산인 DHA의 함량은 DHA농축유 첨가 수준에 따라 유의적인 증가를 보였다. Shon 등²¹⁾은 영아를 대상으로 한 연구에서 DHA가 없는 분유군보다 DHA 보충군이 혈청 PC에서 DHA 수준이 더 높았으며, Hwang 등의 연구⁴⁸⁾에서도 흰쥐의 모유와 혈청 PC에서 DHA와 EPA의 급원인 어유군이 옥수수유, 콩기름, 들기름군보다 DHA의 수준이 현저히 높게 나타나고 있어 본 실험과 비슷한 결과를 보이고 있다. 간장 PC의 지방산 조성은 식이내 DHA 농축유의 첨가수준이 높아짐에 따라 linoleic acid 비율이 유의적으로 많아졌고, arachidonic acid 비율은 유의적으로 감소하였으며, arachidonic / linoleic acid의 비율이 옥수수유에 DHA 20% 첨가군(n-6/n-3계 비율, 7.0)까지 비례적인 감소를 보이다가 그 이상에서는 비슷한 수준을 나타내었다(Fig. 4). 간 PC의 지방산에서 DHA 농축유 첨가량에 따른 변화는 혈청 PC와 같은 경향을 보이면서 혈청보다 더 확실하게 유의적인 차이를 나타내었으며, 여기에서 DHA 농축유의 첨가량에 의해 조직의 인지질 지방산조성에 대한 영향은 옥수수유에 DHA농축유 20%를 첨가한 수준(n-6/n-3계 비율, 7.0)이 뚜렷한 변화를 줄 수 있는 한계 지점에 근접함이 파악되었다. 또한 n-3계 지방산인 EPA와 DHA함량이 혈청 PC의 경우보다 간에서 더욱 DHA농축유 첨가량에 따라 용량 의존적으로 유의적인 증가를 나타내었다. Table 4에서 뇌 PC의 지방산조성은 DHA 농축유 첨가에 따른 영향이 직접적으로 나타나지 않았다. Saito 등의 보고⁴⁹⁾에서도 뇌조직은 다른 조직에 비해 식이 DHA 공급에 따른 반응이 뚜렷하지 않았다고 보고하였다. 그런데 뇌

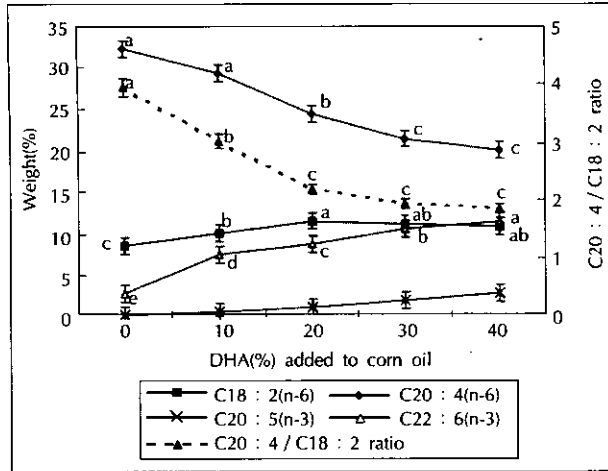


Fig. 4. Fatty acid compositions of liver phosphatidylcholine. Values were mean \pm SD of 6 to 7 rats per group. a,b,c: Values with different superscript letters in the same fatty acid are significantly different at $p < .05$.

조직 PC의 지방산 조성은 혈청 및 간의 PC에 비하여 전반적으로 포화지방산 함량이 높은 수준이며 linoleic acid 함량이 미량 함유되었고 arachidonic acid 함량이 다른 조직의 반이하의 수준을 보였다. 한편 혈청 및 간에서 나타나지 않은 n-9계의 docosamonoenoic acid(C_{22:1}, n-9)가 뇌조직에 상당량 함유되었으며 oleic acid도 다른 조직보다 3~10배 정도 높았고 뇌조직 PC에서 DHA함량이 다른 조직보다 비교적 높은 수준을 나타내고 있었으며 특히 옥수수유군에 비하여 DHA 첨가한 군들에서 유의적으로 높게 나타났다. 그리고 desaturation의 지표가 되는 arachidonic/linoleic acid의 비율에서 유의적인 차이는 보이나 DHA 농축유 첨가에 따른 효과는 보이지 않았다. 한편 뇌 phosphatidylethanolamine(PE)의 지방산조성(Table 5)은 DHA첨가량에 따른 변화는 보이지 않았으나 arachidonic/linoleic acid의 비율은 뇌 PC보다 2배이상으로 높은 값을

Table 4. Fatty acid compositions of brain phosphatidylcholine

Fatty acids	Groups				
	Corn oil	DHA 10%	DHA 20%	DHA 30%	DHA 40%
	(weight%)				
16 : 0	34.0 \pm 1.33	33.5 \pm 2.87	31.9 \pm 1.44	33.9 \pm 1.49	34.3 \pm 5.09
18 : 0	19.7 \pm 1.78 ^{bc}	18.2 \pm 2.24 ^c	22.0 \pm 0.91 ^a	18.3 \pm 2.26 ^c	20.8 \pm 1.40 ^{ab}
18 : 1	22.8 \pm 0.53	23.8 \pm 1.28	23.1 \pm 0.82	23.7 \pm 0.52	23.2 \pm 1.78
18 : 2(n-6)	1.45 \pm 0.45 ^a	1.20 \pm 0.25 ^{ab}	0.73 \pm 0.06 ^b	1.66 \pm 0.94 ^a	0.71 \pm 0.04 ^b
20 : 4(n-6)	7.32 \pm 0.50 ^a	7.61 \pm 1.00 ^a	7.40 \pm 0.46 ^a	6.46 \pm 0.73 ^b	6.89 \pm 0.68 ^{ab}
22 : 1(n-9)	2.74 \pm 1.13 ^a	2.40 \pm 0.71 ^{ab}	1.77 \pm 0.13 ^b	1.68 \pm 0.63 ^b	1.88 \pm 0.72 ^{ab}
22 : 6(n-3)	8.24 \pm 0.63 ^b	9.94 \pm 1.85 ^a	10.2 \pm 0.89 ^a	9.18 \pm 0.69 ^{ab}	10.1 \pm 1.80 ^a
20 : 4/18 : 2 ratio	4.75 \pm 2.01 ^b	6.23 \pm 1.20 ^b	10.1 \pm 1.05 ^a	4.96 \pm 2.46 ^b	9.75 \pm 1.04 ^a

Values were mean \pm SD of 6 to 7 rats per group.

^{a,b,c}Values with different superscript letters in the same fatty acid are significantly different at $p < .05$.

All the DHA groups were added DHA concentrated oil(27%) to corn oil.

Table 5. Fatty acid compositions of brain phosphatidylethanolamine

Fatty acids	Groups				
	Corn oil	DHA 10%	DHA 20%	DHA 30%	DHA 40%
	(weight%)				
16 : 0	5.95 \pm 1.02	6.23 \pm 0.89	5.52 \pm 0.63	5.78 \pm 0.67	5.69 \pm 0.54
16 : 1	6.05 \pm 1.44 ^a	5.39 \pm 1.29 ^a	2.03 \pm 1.63 ^c	3.93 \pm 1.13 ^b	3.28 \pm 0.76 ^{bc}
18 : 0	14.9 \pm 0.85 ^b	15.3 \pm 1.40 ^{ab}	16.2 \pm 0.60 ^a	14.6 \pm 0.87 ^b	15.3 \pm 1.24 ^{ab}
18 : 1	12.0 \pm 0.83 ^b	13.1 \pm 1.33 ^{ab}	13.6 \pm 1.28 ^a	12.2 \pm 1.00 ^{ab}	12.9 \pm 1.15 ^{ab}
18 : 2(n-6)	0.89 \pm 0.38	0.63 \pm 0.08	0.79 \pm 0.05	0.82 \pm 0.25	0.71 \pm 0.20
20 : 4(n-6)	11.6 \pm 1.06 ^{ab}	11.2 \pm 1.03 ^{bc}	12.2 \pm 0.66 ^a	10.3 \pm 0.58 ^c	10.6 \pm 0.90 ^{bc}
22 : 1(n-9)	5.78 \pm 0.49 ^a	5.23 \pm 0.23 ^{bc}	5.57 \pm 0.53 ^{ab}	4.65 \pm 0.28 ^d	4.80 \pm 0.45 ^{cd}
22 : 6(n-3)	18.1 \pm 1.38 ^c	20.7 \pm 2.03 ^b	23.1 \pm 1.35 ^a	20.9 \pm 1.14 ^b	22.2 \pm 2.18 ^{ab}
20 : 4/18 : 2 ratio	14.9 \pm 5.75	17.9 \pm 1.98	15.4 \pm 1.08	13.6 \pm 4.06	16.0 \pm 4.81

Values were mean \pm SD of 6 to 7 rats per group.

^{a,b,c,d}Values with different superscript letters in the same fatty acid are significantly different at $p < .05$.

All the DHA groups were added DHA concentrated oil(27%) to corn oil.

Table 6. Fatty acid compositions of adipose tissue triglyceride

Fatty acids	Groups				
	Corn oil	DHA 10%	DHA 20%	DHA 30%	DHA 40%
	(weight%)				
14 : 0	1.24 ± 0.08 ^d	1.39 ± 0.05 ^c	1.45 ± 0.07 ^c	1.72 ± 0.10 ^b	1.97 ± 0.17 ^a
16 : 0	23.9 ± 1.44	24.2 ± 3.59	23.3 ± 3.36	24.4 ± 1.20	26.0 ± 1.68
18 : 0	2.53 ± 0.27 ^b	2.73 ± 0.29 ^b	3.16 ± 0.43 ^a	3.12 ± 0.22 ^a	3.30 ± 0.27 ^a
18 : 1	31.5 ± 0.88 ^a	30.4 ± 0.95 ^a	30.4 ± 1.58 ^a	29.1 ± 0.74 ^b	29.0 ± 1.01 ^b
18 : 2(n-6)	33.3 ± 1.09 ^a	32.2 ± 2.09 ^a	31.6 ± 0.50 ^a	27.3 ± 1.55 ^b	24.3 ± 1.58 ^c
20 : 4(n-6)	1.07 ± 0.35 ^a	0.75 ± 0.16 ^b	0.69 ± 0.11 ^b	0.78 ± 0.07 ^b	0.74 ± 0.15 ^b
20 : 5(n-3)	-	0.27 ± 0.08 ^d	0.63 ± 0.18 ^c	0.81 ± 0.10 ^b	1.00 ± 0.18 ^a
22 : 6(n-3)	-	0.89 ± 0.30 ^d	1.86 ± 0.37 ^c	3.66 ± 0.31 ^b	4.69 ± 0.59 ^a

Values were mean ± SD of 6 to 7 rats per group.

^{a,b,c,d}Values with different superscript letters in the same fatty acid are significantly different at $p < .05$. All the DHA groups were added DHA concentrated oil(27%) to corn oil. - : undetected

나타내었고 DHA 함량도 뇌의 PC의 경우보다 2배이상으로 훨씬 더 많이 함유되었으며 그 대신 뇌의 PC보다 포화지방산이 소량 함유되었다. Kim과 Kim의 연구⁵⁰⁾에서는 2% 어유첨가군에서 대조군에 비하여 뇌조직에 DHA수준이 높은 경향을 보여 소량의 어유첨가라도 뇌조직에 DHA 축적이 가능하다는 것을 제시해 주었다. Lee 등⁵¹⁾의 연구에서 뇌지방산조성과 학습모형에 대한 어유의 영향을 보면 정어리유군과 참치유군에서 뇌 EPA와 DHA가 옥수수유군과 쇠기름군에 비해서 많았으며, 미로검사에서 어유첨취군이 다른군보다 빠른 경향을 보여 n-3계 지방산이 학습효과를 증진시킬 것으로 추정하였다. Table 6에서 부고환부위의 지방조직 triglyceride의 지방산조성은 식이지방의 조성에 따르는 경향을 나타내었다. Oleic acid와 Linoleic acid는 식이에서 DHA 함량이 높을수록 감소하다가 DHA 30%, 40% 첨가군에서 더욱 유의적으로 감소하였다. Arachidonic acid도 DHA 첨가군에서 대조군에 비해 크게 감소되었다. n-3계 지방산인 DHA와 EPA수준은 예상대로 DHA농축유 첨가량에 따라 용량 의존적으로 현저한 증가를 나타내었다.

요약 및 결론

DHA의 수준별 섭취가 흰쥐의 뇌 인지질 및 혈청, 간의 지질대사에 미치는 영향을 알아보기 위해 Sprague-Dawley(수컷 흰쥐) 33마리를 5군으로 나누어 옥수수유를 기본으로 하고 DHA를 10~40% 각각 첨가한 군으로 하여 4주 동안 사육하였다. 사육 후 뇌의 중량과 뇌인지질함량 및 혈청, 간장의 지질함량을 측정하였고, 이들 조직의 인지질 지방산 및 지방조직 triglyceride의 지방산조성을 분석하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 실험동물의 체중증가는 유의적 차이가 없었고 1일 평균 사료섭취량은 옥수수유에 DHA 30%, 40% 첨가군들에서 많았으나 식이효율은 군간에 비슷하였다. 체중 100g당 간 중량은 DHA 40% 첨가군에서 가장 높고 DHA 20% 첨가군에서 가장 낮은 값을 나타내었다.

2) 혈청 총 cholesterol 함량은 식이 DHA 첨가량의 증가에 따른 유의적인 차이가 없었으며 혈청 HDL-cholesterol함량은 DHA 20% 첨가군에 비하여 그외의 DHA 첨가군들에서 유사한 값으로 유의적으로 높았다. 혈청 triglyceride함량은 식이 DHA 함량이 증가될수록 낮아지는 경향을 보였고 특히 DHA 30%(n-6/n-3계 비율, 4.2) 첨가군에서 대조군에 비해 유의적으로 낮았다.

3) 간장의 cholesterol농도는 대조군에 비하여 DHA 첨가량에 의하여 뚜렷하게 저하되어 DHA를 20%(n-6/n-3계 비율, 7.0)이상 첨가한 군에서 모두 유의적인 차이를 보였다. 간장의 triglyceride함량도 대조군에 비하여 DHA 첨가량에 따라 현저하게 감소되어 특히 DHA를 30%이상 첨가한 군들에서 유의적인 차이를 보였다.

4) 뇌의 무게와 인지질함량은 DHA 식이수준에 따라 유의적인 차이가 없었으나 뇌의 인지질함량이 대조군에 비하여 DHA첨가군 모두에서 대체로 높은 값을 나타내었다.

5) 혈청 및 간에서 PC의 지방산 조성은 대체로 유사하였고 desaturation의 지표인 arachidonic/linoleic acid의 비율은 식이내 DHA첨가에 따라 유의적으로 감소하여 DHA 20% 첨가군(n-6/n-3계 비율 7.0)까지 현저한 감소를 보이다가 그 이상에서는 큰 변화가 없었다. 이들 PC에서 DHA 수준은 식이내 DHA첨가에 따라 비례적으로 증가하였으며 그효과가 혈청보다 간에서 더 현저하게 나타났다. 뇌 PC 및 PE의 지방산 조성은 DHA의 첨가식에 따른 영향은 미약하였으나 혈청 및 간 PC의 지방산 조성과 비교하

면 전반적으로 linoleic acid 함량과 arachidonic acid 함량이 매우 낮고 n-9계의 docosamonoenoic acid와 oleic acid가 상당량 함유되었으며 DHA 함량과 arachidonic/linoleic acid 비율이 식이내 DHA 첨가량에는 관계없었으나 다른 조직보다 많았으며 특히 뇌 PC보다 뇌 PE에서 상당히 높은 수준이었다. 지방조직 총지질의 지방산 조성은 식이지방의 지방산 조성을 현저하게 반영하였다.

본 연구결과를 종합해 보면 n-3계 지방산인 DHA 농축유의 첨가에 따라 혈청보다도 간의 지질함량을 현저하게 감소시켰고, 특히 간과 혈청의 인지질지방산에서 desaturation 지표의 변화추이를 종합적으로 고려해 보면 옥수수유에 DHA 농축유 20~30%를 첨가한 수준(n-6/n-3계 비율, 4~7정도)이 지질대사에 변화를 주는 한계지점에 근접한 값임이 파악되어 이 수준이 DHA 섭취의 적당한 양으로 추측되며 이에 대하여 좀 더 많은 연구가 뒷받침되어야 할 것으로 사료된다.

■ 감사의 글

본 연구를 위해 DHA 농축유(27%)를 제공해주신 고려함섭연구소의 임건진 박사님께 깊이 감사드립니다.

Literature cited

- 1) Jorgensen KA, Dyerberg J. Prostacyclin, thromboxane and atherosclerosis In: Draper HH ed. *Adv Nutr Res* 5: 64-66, 1983
- 2) Jaffe B, Parker C, Philpott GP. Prostaglandins in celler biology and the inflammatory process. In Karmlı RA, ed. *Prostagl and Cancer Prost Med* 5: 11-28, 1980
- 3) Hong SL, Polskin R, Levin L. Stimulation of prostaglandin biosynthesis by vasoactive substances in methylcholanthrene-transformed mouse BALB/3T3. *Chem J Biol* 251: 776, 1976
- 4) Fisher PB, Weinstein IB, Eisenberg D. Interactions between adenovirus, a tumor promoter and chemical carcinogen in transformed of rat embryo cell cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 2311, 1978
- 5) Harris WG, Vergroesen AJ, Lipids 47-88, In: Shils ME, Olson JA, Shike M. *Modern nutrition in health & disease*, 8th ed. Lea & Febiger, 1993
- 6) Phillipson BE, Rothrock DW, Conner WE, Harris W, Ellingworth R. Reduction of plasma lipoprotein and apoprotein by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia. *New Engl J* 312(19): 1210, 1985
- 7) Carrill KK. Biological effects of fish oils in relation to chronic disease. *Lipids* 21: 732, 1986
- 8) Mehta J. EPA. its relevance in atherosclerosis and coronary heart disease. *Am J Cardiol* 59: 155, 1987
- 9) Schacky C, Fisher S, Weber PC. Long-term effects of dietary marine n-3 fatty acids upon plasma and cellular lipid, platet fuction, and eicosanoid formation in humans. *J Clin Invest* 76: 1626-1631, 1985
- 10) Lorenz R, Spengler U, Fisher S, Duhm J, Weber PC. Platelet function, thromboxane formation and blood pressure control during supplementation of the western diet with cod liver oil. *Circulation* 67: 504-511, 1983
- 11) Jurkowski JJ, Cave WT. Dietary effect of menhaden oil on the growth

- and membrane lipid composition of rat mammary tumors. *J Natl Cancer Res* 74: 1145-1150, 1985
- 12) Gobor H, Abraham S. Effects of dietary menhaden oil on tumor cell loss and the accumulation of mass of a transplantable mammary adenocarcinoma in BALB/C mice. *J Natl Cancer Res* 76: 1223-1229, 1986
- 13) Lokesh BR, Hsieh HL, Kinsella JE. Peritoneal macrophages from mice fed dietary n-3 polyunsaturated fatty acids secrete low levels of prostaglandins. *J Nutr* 116: 2547-2552, 1986
- 14) Goodwin JS, Ceuppens J. Regulation of the immune response by prostaglandins. *J Clin Immunol* 3: 295, 1985
- 15) Spector AA, Burn CP. Biological and therapeutic potential of membrane lipid modification in tumors. *Cancer Res* 47: 4529, 1987
- 16) Lokesh BR, Hsieh HL, Kinsella JE. Peritoneal macrophage form mice fed dietary n-3 unsaturated fatty acids secrete low levels of prostaglandins. *J Nutr* 116: 2547, 1986
- 17) Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of retina and brain. *Ann Rev Nutr* 8: 517-541, 1988
- 18) Neuringer M, Connor WE. N-3 fatty acids in the brain and retina: evidence for thier essentiality. *Nutr Rev* 44(9): 285-294, 1986
- 19) Connor WE, Neuringer M, Reisbick S. Essential fatty acids: The importance of ω3 fatty acids in the retina and brain. *Nutr Rev* 50(4): 21-29, 1992
- 20) Aveloano MI, Sprecher H. Very long chain(C24-36) dipolyunsaturated fatty acid phosphatidylcholines from bovine retina. *J Biol Chem* 262: 1180-1186, 1987
- 21) Shon BY, Choue RW, Bae CW. The effects of DHA-supplemented formula on the fatty acid composition of erythrocyte and brain development in full-term infants. *Korean J Nutr* 30(5): 478-488, 1997
- 22) Enslin M, Milon H, Malnoe A. Effect of lfw intake of n-3 fatty acids during development on brain phospholipid fatty acid composition and exploratory behavior in rats. *Lipids* 26: 203-208, 1991
- 23) Bourre JM, Francois M, Youyou A, Dumont O, Piciotti M, Psacal G, Durand G. The effects of dietary α-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J Nutr* 119: 1880-1892, 1989
- 24) Wainwright PE, Huang YS, Bulman-Fleming B, Mills DE, Redden P, Cutchen D. The role of n-3 essential fatty acid in brain and behavioral development: A cross-fostering study in the mouse. *Lipids* 26: 37-45, 1991
- 25) Babara L. DHA in health and disease. *Patient Care* 32(2): 87, 1998
- 26) American Institute of Nutrition, Report of AIN Ad. Hoc Committee on Standards for Nutrition Studirs. *J Nutr* 107: 1340, 1977
- 27) Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509, 1957
- 28) Sperry WM, Webb M. A revision of the Schoenheimer-Sperry method forcholesterol determination. *J Biol Chem* 187: 97-106, 1950
- 29) Fletcher MJ. A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin Chim Acta* 22: 393-397, 1968
- 30) Nagata T, Imaizumi K, Sugano M. Effects of soyabean protein and casein on serum cholesterol levels in rats. *Br J Nutr* 44: 113-121, 1980
- 31) Wada M, Sugano M, The practical methods for utilization of thin-layer chromatography to the analysis of glycerolipids from animal tissues. *Sci Bull Fac Agric Kyushu Univ* 26: 505-516, 1972
- 32) Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acid methylesters and dimethylacetyl form lipids with boron flouride-methanol. *J Lipid Res* 5: 600, 1964
- 33) Harris WS, Connor WE, 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
- 34) Saynor R, Verel D, Gillot T. The long term effect of dietary supplementation with fish lipid concentrate on serum lipids, bleeding time, plates and angina. *Atherosclerosis* 50: 3-10, 1984
 - 35) Hartog JM, Verdow PD, Klompe M, Lamers MJ. Dietary mackerel oil in pigs: Effect on plasma lipids, cardiac sarcolemmal phospholipids and cardiovascular parameters. *J Nutr* 117: 1371-1378, 1987
 - 36) Hamazaki T, Nakazawa R, Tateeno S, Sshishhido H, Isoda K, Hattori Y, Yoshhida T, Fujita T, Yano S, Kumagai A. Effects of fish oil rich eicosapentaenoic acid on serum lipid in hyperlipidemic hemodialysis patients. *Kidney Internat* 26: 81-84, 1984
 - 37) Kim CJ, Park HS. Influence of different dietary fats and fat unsaturation on plasma lipid composition in healthy young women. *Korean J Nutr* 24: 150-158, 1991
 - 38) Chung YJ, Park JS, Park HJ, Chang YK. Effect of dietary eicosapentaenoic acid on serum and liver lipids patterns of male rats. *Korean J Nutr* 27: 537-551, 1994
 - 39) Sanders TAB, Vicker M, Haines AP. Effect on blood lipids and haemostasis of a supplement of cod-liver oil, rich in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in healthy young men. *Clin Sci* 61: 317-324, 1981
 - 40) Lossonczy von TO, Ruiter A, Bronsgeest-Schoute HC, Gent. van CM, Hermuss RJ. The effect of a fish diet on serum lipids in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr* 31: 1340-1346, 1978
 - 41) Hartog JM, Lamars MJ, Montfoort A. Comparison of mackerel-oil and lard-fat enriched diets on plasma lipids, cardiac membrane phospholipids, cardiovascular performance and morphology in young pig. *Am J Clin Nutr* 46: 258-266, 1987
 - 42) Sanders TAB and Roshanai F. The influence of different type of ω -3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin Sci* 64: 91-99, 1983
 - 43) Illingworth DG, Ullmann D. Effect of omega-3 fatty acids on risk factors for cardiovascular disease. In: Lees RS, Karel M ed. Omega-3 fatty acids in the health and disease, pp39-69, Marcel Dekker Inc. NY, 1990
 - 44) Lee JH, Kim JI. The age-related effect of n-6/n-3 ratio of dietary fats on lipid levels and prostaglandin production in rats. *Korean J Nutr* 28(2): 29-106, 1995
 - 45) Wong S, Nestel PJ. Eicosapentaenoic acid inhibits the secretion of triglycerol and of apoprotein B and the binding of LDL in Hep G2 Cells. *Atherosclerosis* 64: 139-146, 1987
 - 46) Chung HS. Effects of fish oil and some seed oils on lipid composition of serum, brain and liver of dietary hypertriglyceridemic rats. Ph. D. thesis of Kyungsang Natl. Univ, pp.31-33, 1991
 - 47) Yoon GA, Chung HK, Kim SH. The effect of diet varying linolenic acid and linoleic acid content on lipid metabolism and antithrombosis in different aged rats. *Korean J Nutr* 27(10): 967-978, 1994
 - 48) Hwang HJ, Chung EJ, Lee JH, Chee KM, Lee YC. Effects of ω 3 and ω 6 polyunsaturated fatty acid diets on fatty acid composition and vitamin E levels in milk and serum of the rats. *Korean J Nutr* 27(2): 141-152, 1994
 - 49) Satio M, Ueno M, Kubo K, Yamaguchi M. Dose-response effect of dietary docosahexaenoic acid on fatty acid profiles of serum and tissue lipids in rats. *J Agric and Food Chem* 46(1): 184-193, 1998
 - 50) Kim MJ, Kim SH. Effect of DHA and environmental enrichment on brain fatty acid composition and acetylcholine esterase activity. *Korean J Nutr* 29(1): 32-40, 1996
 - 51) Lee HJ, Kim SH. Effect of fish oils on brain fatty acid composition and learning performance in rats. *Korean J Nutr* 27(9): 901-909, 1994