J. of Korean Oil Chemists' Soc.,
Vol. 21, No. 2. June, 2004. 148~155

흰쥐혈장지질 감소에 관한 n-3/n-6 와 P/S 섭취비율의 반응표면분석

박 병 성

강원대학교 동물자원과학대학 동물생명과학전공
(2004년 1월 12일 접수 ; 2004년 4월 9일 채택)

Response Surface Analysis of Dietary n-3/n-6 and P/S Ratio on Reduction of Plasma Lipids in Rats

Byung-Sung Park

Animal Life Science Program, Collage of Animal Resources and Science,
Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea
e-mail : bspark@kangwon.ac.kr
(Received January 12, 2004 ; Accepted April 9, 2004)

Abstract : Response surface analysis was used to study dietary ratios of n-3/n-6 fatty acid and P/S to minimize plasma triglycerides, total cholesterol and LDL · VLDL-C levels and maximize plasma HDL · C levels of rats. Because the dietary components were not statistically independent, they were studied in combinations of two variables. The two-variable combinations were the most useful in locating the desired maximum or minimum plasma triglycerides, total cholesterol and LDL · VLDL-C response in terms of the proportions of the dietary components. Response surface contours and three dimensional plots were developed for each plasma lipid response. The contours and three dimensional plots were used to help determine those combinations of the dietary fatty acid ratios that would produce the desired minimum or maximum lpid responses. The statistical analyses indicated that the minimized plasma cholesterol response levels could be attained with a diet consisting of 2.26 n-3/n-6 fatty acid and 2.15 P/S ratios.

Keywords : dietary n-3/n-6 ratio, dietary P/S ratio, plasma cholesterol, lipoprotein, response surface analysis.

1. 서 론

사람의 혈액내 중성지방과 콜레스테롤 특히 유해한 것으로서 알려진 저밀도 지질단백질 콜레스테롤(LDL · C, low density lipoprotein cholesterol) 수준의 증가는 심장혈관계 질환 및 뇌혈관계 질환의 발병원인이 될 수 있지만 유익한 콜레스테롤 즉 고밀도 지질단백질 콜레스테롤(HDL · C, high density lipoprotein cholesterol) 수준의 증가는 이를 낮출 수 있음이 보고되었다[1-3].

식품으로부터 섭취되는 지질의 량과 형태는

혈액 중성지방과 유해 콜레스테롤 수준에 영향할 수 있다. 포화지방산(saturated fatty acid)의 섭취는 혈액 지질함량을 높이는 반면에 고도불포화지방산(polyunsaturated fatty acid)의 섭취는 혈액 지질함량을 낮추는 것으로 알려졌다. n-3 와 n-6 계열의 지방산은 생체대사 경로 및 기능이 서로 다르고 상호전환이 불가능하며 또한 서로 경쟁적 제어작용을 갖는 동일한 효소체계와 연관되어 있으며[4], 필수지방산으로서 기능이외에 새롭게 혈액 콜레스테롤 감소 및 eicosanoids 대사와 관련한 생리활성 효과들이 입증되고 있다[5]. 혈액 지질함량 감소와 관련하여 n-3/n-6 지방산 비율과 P/S 비율 각각의 중요성이 보고되었으며 특히 혈액 중성지방 및 콜레스테롤의 감소는 P/S 비율 증가보다는 n-3/n-6 지방산 비율증가에 의해서 더욱 큰 것으로 발표되었다[6-8].

지금까지 혈액 지질에 관한 식이 조성분 효과의 대부분 연구는 1회에 단지 하나의 식이 조성분 만을 변화시켜 왔다. 이것은 하나의 종속변수가 한 개이상의 또다른 독립변수에 의해서 달라질 수 있다는 사실을 무시한 것으로 볼 수 있다. 1977년에 혈액 중성지방 과 콜레스테롤에 미치는 고탄수화물과 고섬유질의 효과가 보고되었으나 이는 식이 지질 과 단백질 수준을 무시한 것이었다. 실험동물을 이용한 지질대사 실험에서 모든 영양소 요인을 가능하면 동시에 비교하는 것이 바람직한데 3차원 기법으로서 반응표면 분석방법이 사용되었다[9,10].

반응표면 분석은 소화율 시험, 동물의 체중증가를 위한 균형된 식이의 결정 및 혈액 지질 감소에 관한 단백질, 탄수화물, 지질의 조환시험을 위한 하나의 연구방법으로서 사용되었다[10]. 반응표면 분석은 한 개의 독립변수에 관해서 둘 또는 그이상의 종속변수들의 영향을 동시에 조사할 수 있으며 최소한의 실험자료를 이용하여 실험자가 희망하는 최적반응 조건을 예측하는데 도움이 될 수 있다[11,12]. 그러나 혈액지질 감소효과에 관한 n-3/n-6 지방산 비율과 P/S 비율을 동시에 비교한 반응표면 분석 결과는 아직까지 보고된 것이 없다.

본 연구는 흰쥐의 혈장 중성지방 과 유해 콜레스테롤 (LDL-cholesterol) 수준에 관한 식이 지방산 비율(n-3/n-6, P/S)의 조환효과를 조사하기 위하여 반응표면 분석을 수행하였으며, n-3/n-6 지방산과 P/S 비율간의 최소·최대 반응수준을 비교하여 혈장 중성지방 과 유해 콜레스테롤 수준의 최소화를 위한 합리적인 반응수준을 예측하였다.

2. 실 험

2.1. 실험동물 및 사육

실험동물로서 체중 약 100 g의 Sprague Dawley 계통 흰쥐 수컷 35 마리를 구입하여 시판 고형식이로서 1 주일간 적응 시킨 다음 30 일간에 걸쳐서 펠렛형태의 실험식이를 급여하였다. 흰쥐는 평판 플라스틱 케이지에서 사육하였으며 사육실의 온도는 22°C, 습도는 55 %로 유지하였고 조명시간은 12 시간(08:00~20:00) 실시해 주었다. 깔짚으로서는 흰쥐 사육용으로 판매되는 톱밥을 이용하였고 깔짚은 3 일에 1 회씩 교체해 주었으며 물과 실험식이는 무제한 섭취케 하였다.

2.2. 실험설계

총 35 마리 실험동물의 체중을 측정 한 후 비슷한 체중끼리 7개의 처리구로 나누워서 처리구당 5반복으로 완전임의 배치하였으며 반복 케이지당 사육두수는 1 마리씩 구분하여 사육하였다. 실험처리구는 우지, 정어리유 그리고 대두유를 단독 또는 적절하게 혼합하여 동일한 실험식이내 n-3/n-6비율과 P/S 비율을 갖는 7 개의 식이군으로 구분하였다.

2.3. 실험식이

실험식이는 미국영양연구소에서 제시된 흰쥐용 정제식이(purified diet) 로서 AIN'76 배합기준표[13]를 참고로 하여 배합하였으며 실험식이의 구성비율은 Table 1과 같다. 단백질 급원으로서 분리 대두단백질(SPC, soybean protein concentrations)을 이용하였고, 탄수화물 급원으로 옥수수전분과 설탕, 섬유질 급원으로 α-cellulose (Sigma Chemical Co, USA), AIN'76 비타민과 미네랄 혼합제 (ICN biomedicals, USA) 그리고 지방 급원으로서 gas liquid chromatography (Packard, model 439-GLC, USA)를 이용해서 직접 분석된[14,15] 우지(포화지방산), 정어리유 (n-3 지방산) 및 대두유 (n-6 지방산)을 단독 또는 혼합한 후 첨가하였다. 동일한 식이내 서로 다른 n-3/n-6와 P/S 비율을

갖는 7 개의 식이내 P/S의 비율은 0.2~3.2, n-3/n-6 지방산의 비율은 0.1~2.3 이 되도록 조절해 주었다(Table 2). 고도 불포화 지방의 산화를 방지하기 위해서 정어리유 와 대두유에는 항산화제인 BHT를 기름 ℓ당 각각 650 mg 씩 첨가해 주었다. 실험식이내 총 에너지함량은 3,900 kcal/kg이었고 이중 5 % 첨가지방으로서 공급되는 에너지수준은 총 열량의 12 %, 그리고 단백질 수준은 20.5 %로서 동일하였으며 기타 영양소의 공급수준도 동일하게 조절해 주었다(isocaloric 또는 isonitrogenic diets). 배합된 실험식이는 실험식이내 수분함량을 10 % 수준으로 조절하기 위해서 펠렛팅하였으며 20°C의 송풍건조기에서 건조 한 후 비닐백에 넣고 질소가스를 주입해서 10°C이하의 저온실에 보관하면서 흰쥐에게 급여하였다.

Table 1. Formula of Experimental Diet

Ingredients	Composition(%)
SPC(cp 88.07%)[1]	23.00
Corn starch	50.00
Sucrose	12.00
α-Cellulose	5.00
Fat[2]	5.00
dl-Methionine(95%)	0.30
AIN'76-mineral mix.[3]	3.50
AIN'76-vitamin mix.[4]	1.20
Total	100

[1]SPC : soybean protein concentrates, Poong nyeon food Co., Seoul.

[2]Each experimental diets contained different fat in the same as Table 2.

[3]Contained per kg mixture : $CaHPO_4$ 500g, NaCl 74g, $K_3C_6H_5O_7 \cdot H_2O$ 220g, K_2SO_4 52g, MgO 24g, 48% Mn 3.5g, 17% Fe 6.0g, 70% Zn 1.6g, 53% Cu 0.3g, KIO_3 0.01g, $Na_2SeO_3 \cdot 5H_2O$ 0.01g, $CrK(SO_4) \cdot 12H_2O$ 0.55g and sucrose.

[4]Contained per kg mixture; Thiamin-HCl 600 ㎎, Riboflavin 600㎎, Pyridoxine-HCl 700g, Nicotinic acid 3g, D-calcium pantothenate 1.6g, Folic acid 200㎎, D-biotin 20㎎, Vitamin B_{12} ㎎, Vitamin A 400,000 IU(Retinyl acetate), Vitamin E(dL-α-Tocopheryl acetate) 5,000 IU, Vitamin D_3 2.5㎎, Vitamin K 5.0㎎ and sucrose.

2.4. 혈액지질의 생화학적 분석

실험종료일(30 일)에 흰쥐를 에틸에테르로서 가볍게 마취시킨다음 복부를 절개하여 복대동맥(abdominal arota)으로부터 헤파린 처리된 25 G 주사기를 이용하여 8~10 ml의 혈액을 채혈한 후 곧바로 3000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 분리된 혈장을 ependorf tube에 넣어서 액체 질소가스로 급속냉동(-196°C) 한 다음 분석시까지 냉동보관하였다. 혈액 중성지방(TG, triglycerides), 총콜레스테롤(TC, total cholesterol) 및 고밀도 지질단백질 콜레스테롤 (HDL · C, high density lipoprotein cholesterol) 함량은 상업용 효소킷(Sigma, Co, USA)를 이용하여 측정하였고, 저밀도 지질단백질+초저밀도 지질단백질 콜레스테롤(LDL+VLDL-C, low density lipoprotein plus very low density lipoprotein cholesterol) 함량은 총콜레스테롤에서 고밀도 지질단백질 콜레스테롤 함량을 뺀 값(VLDL+LDL-C=TC-HDL · C)으로 계산하였다.

2.6. 반응표면 흰쥐분석 및 통계 처리

본 실험에서는 최근 식품공업분야에서 제품생산을 위한 최적화기법으로 활용되고 있는 반응표면분석법(RSM, response surface methodology)[16]을 사용하였으며 분석모델로서 아래식의 2 차 다항 흰쥐모형에 의하여 contour plots 및 three dimensional plots를 구하였다[9,17].

$$Z=\beta_0+\beta_1X+\beta_2Y+\beta_{11}X^2+\beta_{22}Y^2+\beta_{12}XY+\varepsilon(k=2)$$

즉 독립변수 X, Y의 영향에 의하여 종속변수 Z의 변화를 살펴보고자 X와 Y의 제곱항을 두었고, coefficent로서 β를 그리고 interaction term으로 X, Y와 오차항(ε)를 두었다. 여기서 k는 독립변수의 수이며 종속변수 Z는 혈액 콜레스테롤 수준의 변화이며 독립변수 X, Y는 식이지방산의 비율이다. X는 n-3/n-6지방산 비율로 고정하였고 Y는 P/S 비율로 변화시켰다. 다중회귀분석 결과 측정값의 최소, 최대반응 범위를 contour plots로서 제시하였고 적정반응 예측은 회귀분석 결과를 기초로 하여 구성된 contour plots를 참고로 하여 three dimensional plots에 나타냈다. 얻어진 결과에 대한 통계처리는 SAS program(2001)을 이용하였다[18].

Table 2. Fat Sources and Fatty Acid Ratios of Experimental Diets

Items	Groups						
	A	B	C	D	E	F	G
n-3/n-6 ratio	0.1	0.2	0.4	0.6	1.1	1.8	2.3
P/S ratio	0.2	3.2	2.1	1.6	1.3	0.7	0.7
Fat(%)							
Tallow	100	50	25	-	-	-	-
Sardine oil	-	50	75	50	75	-	25
Soybean oil	-	-	-	50	25	100	75

Table 3. Concentration of Triglycerides, Total Cholesterol, Lipoprotein Cholesterol in Plasma of Rats Fed Experimental Diets for 30 Days

Items[1]	Groups							
	A	B	C	D	E	F	G	SEM[2]
TG, mg/dℓ	209.4^{b}	332.8^{a}	204.5^{b}	173.3^{b}	86.67^{c}	129.7^{bc}	131.3^{bc}	42.237
TC, mg/dℓ	96.67^{a}	90.99^{a}	82.46^{a}	62.55^{b}	62.55^{b}	62.56^{b}	61.13^{b}	8.428
LDL · VLDL-C, mg/dℓ	71.08^{a}	71.37^{a}	58.58^{a}	25.59^{b}	18.53^{c}	34.13^{b}	33.63^{b}	8.728
HDL-C, mg/dℓ	25.59^{bc}	19.62^{c}	23.88^{bc}	36.96^{b}	44.02^{a}	28.43^{bc}	27.50^{bc}	7.440
HDL-C/TC	0.27^{d}	0.22^{e}	0.29^{d}	0.59^{b}	0.70^{a}	0.47^{c}	0.46^{c}	0.026

[1]TG, triglycerides ; TC, total cholesterol ; LDL · VLDL-C, low density lipoprotein plus very low density lipoprotein cholesterol ; HDL · C, high density lipoprotein cholesterol.

[2] SEM, stardard error of means.

[a,b,c,d,e] Mean values with the different letters in the same row indicate a significant difference($p<0.05$).

3. 결과 및 고찰

본 실험에서 실제 측정된 혈액의 중성지방(TG, triglyceride), 총콜레스테롤(TC, total cholesterol), 고밀도 지질단백질 콜레스테롤(HDL · C, high density lipoprotein cholesterol), 저밀도와 초저밀도 지질단백질의 혼합콜레스테롤 (LDL · VLDL-C) 함량 및 TC에 대한 HDL · C의 비율(HDL · C/TC)은 Table 3 과 같다.

혈액 100 ml당 지질함량범위는 TG 87~333 mg, TC 61~97 mg, LDL · VLDL-C 19~71 mg, HDL · C 20~44 mg 이였고 HDL · C/TC 비율범위는 0.2~0.7로 나타났으며 이 값들은 Stewart 등(1987)이 제시한 흰쥐의 생리적인 혈액지질 값과 비슷하였다[10]. 일반적으로 혈액 지질함량의 수준 변화는 HDL · C를 제외하면 식이내 n-3/n-6지방산 비율 또는 P/S 비율이 증가함에 따라서 유의적인 감소 경향을 나타냈다($p<0.05$).

혈액 TG,TC 및 LDL · VLDL-C의 변화양상을 각 식이내 존재하는 지방산 비율에 따라서 반응표면 다중회귀분석을 실시한 결과는 Fig. 1~6에서 보는 바와 같다. 흰쥐는 생물이라는 특수성 때문에 식이지방산 급여로부터 측정된 생체조직내 매개 변수들의 변화에 대한 최소, 최대 반응점을 정확하게 평가한다는 것은 불가능하다. 그러나 추정된 이차다항회귀식을 각각 X와 Y로 편미분하여 영으로 놓고 풀면 실측치

로부터 실험자가 희망하는 최적 반응조건을 예측할 수 있다. 반응표면에서 실험자는 모든 반응 곡선의 독립변수 값에서 만족할 필요는 없으며 실험자의 흥미영역(region)을 가지고 있는 독립변수들의 흥미영역에서만 만족하면 된다[9]. 그러므로 최적반응조건의 결정을 위해서는 Y가 최대가 되는 X의 점, Y가 최소가 되는 X의 점 그리고 Y가 최대, 최소도 아닌 X의 점(안정점, saddle point)을 선택하는 것이 가장 합리적이 된다. 본 연구에서는 최적반응 조건의 결정을 위한 흥미조건으로서 혈액 지질 함량이 낮은 X와 Y의 점(X=n-3/n-6 지방산 비율, Y=P/S 비율)을 선택하였으며 실제측정치를 참고하여 가능한 최소반응 범위에서 합리적인 최적반응 수준을 제시하였다. 여기서 제시한 three dimensional plots와 contour plots는 서로 일치하는 이차다항 회귀방정식을 가지며 이를 three dimensional plots와 동일한 contour plots로부터 구할 수 있다. 그리고 이러한 three dimensional plots는 공간에서 실제로 일어나는 반응모습을 잘 보여 주는데 효과적이며 또한 이차다항 회귀방정식으로부터 예견된 최적반응 수준은 contour plots와 three dimensional plots의 최소, 최대 반응 범위내 어는 지점에서라도 나타날 수 있다[6,9,10]. n-3/n-6지방산 비율과 P/S 비율에 의해서 나타난 혈액 TG함량에 대한 반응표면 회귀식은 다음과 같다.

$$Z=203.7.351-44.5601X+50.3029Y+38.9766X^2+3.0474Y^2-130.8449XY$$

R^2는 0.9302로 유의성이 0.0052로 1 %이내의 유의수준에서 유의성이 있었다. Fig. 1에서 나타난 혈액 TG 함량의 최소,최대 반응점은 각각 -361.147과 278.849 이었다. 그러나 Fig. 1에서 나타난 최소반응범위 -361.147은 마이너스 부호를 띠며 이 값은 실제 측정 최소치인 혈액 100 ml당 86.67 mg 과는 거리가 먼 수학적 수치가 되기 때문에 생물학적으로 의미가 없다. 한편 Fig. 1에서 혈액 TG의 반응은 n-3/n-6지방산 비율과 P/S 비율이 동시에 높을 때 최소값으로 감소하는 경향을 보였고 최대 반응점에서 멀어질수록 최소반응 영역시 생존함을 보여주었다. 따라서 혈액 TG 함량의 최소화를 위한 최적 반응조건은 실제 측정치와 근접한 최소반응점에서 결정하는 것이 합리적으로 볼 수 있다. 이 같은 이유 때문에 본 실험결과로부터 얻어질 수 있는 혈액 100 ml당 최소 반응 수준의 범위를 실제 측정치와 근접한 75.0152 mg 범위로 예시하였고, 이값은 Fig. 1 과 Fig. 2에서 n-3/n-6 지방산 비율이 1.24 이고 P/S 비율이 1.23 일 때 얻어질 수 있었다.

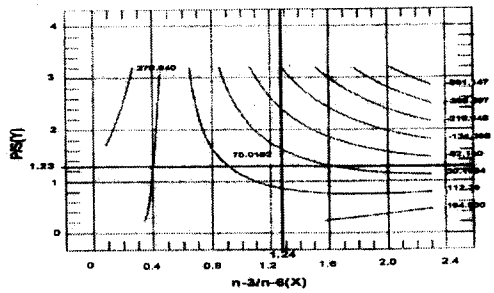

Fig. 1. Contour plot of triglyceride as a function of dietary n-3/n-6 and P/S ratio in rat plasma.

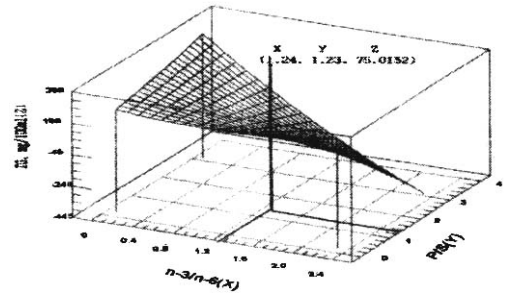

Fig. 2. Three-dimensional plot of triglyceride as a function of dietary n-3/n-6 and P/S ratio in rat plasma.

n-3/n-6 지방산 비율과 P/S 비율에 의해서 나타난 혈액 TC 함량에 대한 반응표면 회귀식은 다음과 같다.

$$Z=102.2129-15.6133X-30.5889Y+4.4509X^2+8.7430Y^2-4.6361XY$$

TC에 대한 R^2는 0.9732로 높게 나타났으며 유의성은 0.0031로 1 %이내의 유의성이 인정되었다. TC함량의 최소, 최대반응 범위는 Fig. 3에서와 같이 contour plots에서 각각 41.7913 과 89.082로 나타났기 때문에 이 경우 실제 측정최

소치인 혈액 100 ml당 61.13 mg에 근접한 41.76 mg범위에서 합리적인 최소반응점이 결정될 수 있다. 한편 Fig. 3에서 혈액 TC의 반응은 n-3/n-6 지방산 비율이 높고 P/S 비율이 동시에 높을 때 감소 하는 경향을 보여 줬다. 그러므로 혈액 TC에 대한 합리적인 최소 반응수준은 식이내 n-3/n-6 지방산 비율과 P/S비율을 혈액 TC 함량이 최소값에 이르는 일정수준으로 동시에 높여 줄 때 결정될 수 있을것으로 보인다. Fig. 4의 three dimensional plots에서 혈액 100 ml당 TC함량이 41.76 mg으로 최소화 할 수 있는 반응조건은 n-3/n-6지방산 비율이 2.26 이고 P/S 비율이 2.15 일 때 얻어질 수 있음을 예측할 수 있었다.

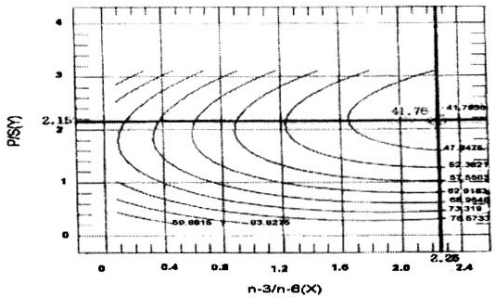

Fig. 3. Contour plot of total cholesterol as a function of dietary n-3/n-6 and P/S ratio in rat plasma.

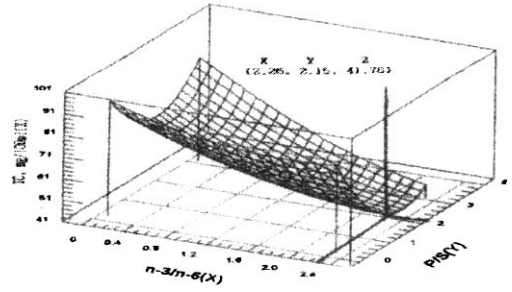

Fig. 4. Three-dimensional plot of total cholesterol as a function of dietary n-3/n-6 and P/S ratio in rat plasma.

n-3/n-6지방산 비율과 P/S 비율에 의해서 나타난 혈액 LDL · VLDL-C 함량에 대한 반응표면 회귀식은 다음과 같다.

$$Z=71.7639-27.4486X+7.4871Y+16.0720X^2-0.3134Y^2-39.2807XY$$

혈액 LDL · VLDL-CDP 대한 R^2는 0.9147로 높게 나타났으며 유의성은 0.0082로 1 %이내의 유의성이 인정되었다. 혈액 LDL · VLDL-C 함량의 최소,최대반응점은 Fig. 5의 contour plot에서 각각 -149.196 과 54.857이었다. 그런데 Fig. 5에서 나타난 최소반응범위 값은 마이너스 부호를 띠고 있으므로 본 실험에서의 실제 측정치와 근접한 수준을 합리적인 최소반응 범위로 간주하기로 하였다. Fig. 5에서 혈액 LDL · VLDL-C의 반응은 n-3/n-6지방산 비율이 P/S 비율보다 높을 때 감소하는 경향을 나타냈기 때문에 합리적인 최소 반응수준은 식이내 n-3/n-6 지방산 비율이 P/S 비율보다 높은 값으로 조절해줄 때 결정될 수 있을 것으로 보인다. 이 값은 Fig. 6의 three dimensional plots에서 혈액 100 ml당 LDL · VLDL-C 함량이 31.22 mg으로 최소화 할 수 있는 반응 조건으로 n-3/n-6 지방산 비율이 1.20이고 P/S 비율이 0.77 일 때 얻어질 수 있음을 예측할 수 있었다. 흰쥐 혈장내 총콜레스테롤, LDL 콜레스테롤량은 식이 지방산의 P/S 비율이 증가하면 감소하며 n-6/n-3비율에 의한 영향은 나타나지 않으며 혈장내 총중성지방,VLDL 중성지방량은 P/S 비율에 의한 영향없이 n-6/n-3 비율이 낮을 때 감소하는 것으로 보고되어서 혈액내 지방성분에 대해 식이지방산의 P/S 비율과 n-6/n-3 비율이 독립적으로 작용하는 것 같다는 보고(19)가 있으나 이는 동일한 식이내 P/S 비율 및 n-3/n-6 비율이 동시에 높아지게 되면 혈액지질 감소효과가 나타난다는 본 실험결과와 서로 다르기 때문에 앞으로 이에대한 계속적인 연구가 필요하다고 본다. 간암모델 쥐에서 P/S와 n-6/n-3 비율을 고정시켰을 때 n-3 지방산의 급원에 따라서 항암작용의 차이가 있으며(20) 동일한 식이내 n-3/n-6 비율과 P/S 비율을 높이면 간장에서의 콜레스테롤 합성효소 즉 HMG-CoA reductase 의 역가가 낮아져서 생체내 콜레스테롤의 생합성,분비량을 줄이며 이와함께 분을 통해서 배설되는 스테로이드량을 높여줌으로서 혈장지질 감소효과를 갖는 것으로 발표되었다(21). 많은 연구결과에서 혈장 총콜레스테롤 과 중성지방은 식이내 n-3/n-6 비율이 증가함으로서 낮아졌다고 하였는데 이러한 감소는 식이지방의

n-6/n-3 비율이 낮아짐(즉 n-3/n-6 비율 증가)과 일치하는 것으로 입증되었다(4,6-9,21,22).

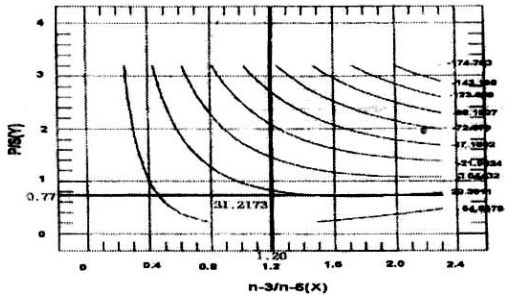

Fig. 5. Contour plot of plasma LDL·VLDL-cholesterol as a function of dietary n-3/n-6 and P/S ratio in rat plasma.

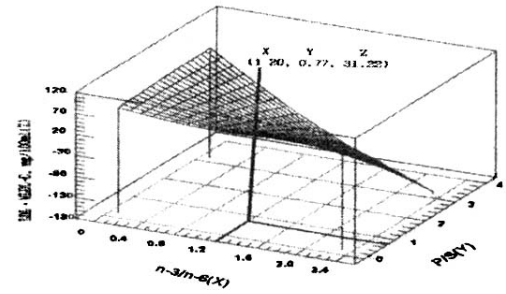

Fig. 6. Three dimensional plot of LDL·VLDL-cholesterol as a function of dietary n-3/n-6 and P/S ratio in rat plasma.

본 실험결과는 흰쥐를 모델로 한 동물실험으로부터 얻어진 실제 측정치를 이용하여 생체 내 혈액지질 수준의 최소화 반응점을 예측코자 할 때 반응표면 분석기법이 효율적으로 활용 될 수 있으며, 예로써 혈액 콜레스테롤의 최소화 반응수준은 동일한 식이내 n-3/n-6 지방산 비율 2.26 및 P/S 비율 2.15 함유식이를 섭취함으로서 얻어질 수 있음을 나타낸 것이다.

4. 결 론

흰쥐에서 혈액 중성지방, 총콜레스테롤 및 LDL · VLDL-C 수준의 최소화 및 HDL · C의 최대화를 위한 식이중 n-3/n-6지방산 비율과 P/S 비율의 조환효과을 조사하기 위하여 반응표면 회귀분석을 사용하였다. 식이 지방산 비율을 제외한 조성분은 동일하였고 식이는 n-3/n-6지방산 과 P/S 비율을 함유하고 있으므로 앞의 2 가지 변수들을 조환하여 실험하였다. 반응표면 등고선과 3 차원 반응곡선으로 혈액 중성지방, 총콜레스테롤 및 LDL · VLDL-C 수준의 최소화 반응점 및 HDL · C의 최대화 반응점을 예측할 수 있었다. 반응표면 등고선과 3 차원 반응곡선은 혈액 지질 수준의 최소화 및 최대화 반응을 예측하는데 있어서 식이지방산 비율의 조환을 결정하는데 큰 도움이 되었다. 이 결과는 혈액 콜레스테롤 함량의 최소화를 위해서는 동일한 식이 내 n-3/n-6 지방산 비율이 2.26 및 P/S 2.15 로 유지될 때 얻어질 수 있음을 나타낸 것이다.

참고문헌

1. L. A. Carlson and L. E. Bettinger, Ischemic Heart Disease in Relation to Fasting Values of Plasma Triglyceride and Cholesterol, *Lancet.*, **1**, 865 (1972).
2. M. B. Moir, V. A. Zammit, and B. S. Park, Quantification in Vivo of the Effects of Different Types of Dietary Fat on the Loci of Control Involved in Hepatic Triacyglycerol Secretion, *Biochem. J.*, **308**, 537 (1995).
3. E. Mantzioris, L. G. Cleland, R. A. Gibson, and M. J. James, Biochemical Effects of a Diet Containing Foods Enriched with n-3 Fatty acids, *Am. J. Clin. Nutr.*, **72**, 42 (2000).
4. M. Y, Abeywardena, P, L. Molenman, and J. S. Charnock, Long-term Saturated Fat Supplementation in the Rat Cause an Increase in PGI_3 /TXB_2 Ratio of Platelet and Vessel Wall Compared to n-3 and n-6 Dietary Fatty Acids, *Atherosclerosis.*, **66**, 181(1987).
5. W. E. Connor, Importance of n-3 Fatty Acids in Health and Disease, *Am. J, Clin, Nutr.*, **71**, 171S (2000).
6. T. Takita, K. Nakamura, K, Suzuki, and

S. Innami, Effect of n-3/n-6 Polyunsaturated Fatty Acid Ratios on Lipids Metabolism in Rats Fed on Hypercholesterolemic Diets, *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, **45**, 317 (1992).
7. B. S. Park and Y. C. Rhee, Correlation between Ratios of Dietary ω3/ω6, PUFA/SFA, MUFA/SFA and Contents of Plasma, Muscle, Liver Fatty Acid and Cholesterol in Rat, *Kor. J. Anim. Sci.*, **36**, 312 (1994).
8. T. Takita, K. Nakamura, and S. Innami, Effects of Dietary Fats with Diferent n-3 Polyunsaturated Fatty Acid and n-6 Polyunsaturated Fatty Acid on Lipid Metabolism in Rats, *Jpn. J. Nutr.*, **47**, 141 (1989).
9. B. S. Park, B. D. Ko, Y. C. Rhee, and N. H. Lee, Response Surface Analysis of the Dietary n-3/n-6, PUFA/SFA and MUFA/SFA Ratios on Cholesterol Levels of Muscle and Liver in Rats, *Kor. J. Anim. Nutr. Feed.*, **19**, 345 (1995).
10. J. R. Stewart, E. B. Fryer, and H. C. Fryer, Effects of Dietary Fiber, Carbohydrate, Lipid and Protein Levels on Serum and Liver Lipids in Rats, *J. Nutr.*, **117**, 650 (1987).
11. M. Toyomizu, Y. Akiba, T. Matsumoto, and M. Horiguchi, Response Surfaces of Body Protein and Energy Gains in Growing Chicks Fed Diets over the Entire Range of Compositions of Protein, Fat and Carbohydrate, *J. Nutr.*, **115**, 61 (1985).
12. M. Glovanni, Response Surface Methodology and Product Optimization, *Food Tech.*, **37**, 41 (1983).
13. American Institute of Nutrition, Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies, *J. Nutr.*, **107**, 1340 (1977).
14. J. M. Folch, M. Lees, and G. A. S. Stanley, A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissues, *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957).
15. W. R. Morrison, and L. M. Smith, Preparation of Fatty Acid Methylesters and Dimethylacetals from Lipid with Boron Fluoride-methanol, *J. Lipid Res.*, **5**, 600 (1964).
16. R. H. Myers, Response . Surface Methodology, P. 127, Allyn and Bacon Inc., Boston (1971).
17. Statistical Graphics Corporation : User's Guide, Statgraphics, Statistical Graphics System, STSC Inc., USA (1987).
18. SAS, SAS User's Guide : Statistics, Version 8 ed, SAS Institute INC., Cary, NC, USA (2001).
19. S. H. Kim, W. K. Kim, and C. E. Chung, The Effects of n-6/n-3 and P/S Ratio of Dietary Lipid on Lipid Metabolism of Rats at Different Age, *Kor. J. Nutr.*, **27**, 687 (1994).
20. H. J. Lee, H. K. Kim, and H. M. Choi, Different Sources of ω3 Fatty Acids at the Fixed Ratio of P/S Affect Glutathione Dependent Enzymes in Rat Hepatocarcinogenesis, *Kor. J. Nutr.*, **36**, 785 (2003).
21. B. S. Park, Combination Effects of Various Dietary Ratios n-3/n-6 and PUFA/SFA on Cholesterol Metabolism in Rats, *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.*, **16**, 79 (1996).
22. N. Yamada, T. Takita, and M, Wada, Effects of Dietary n-3/n-6 and Polyunsaturated Fatty Acid/Saturated Fatty Acid Ratios on Platelet Aggregation and Lipid Metabolism in Rats, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **42**, 423 (1996).