

식이지방의 종류와 수준에 따라 쥐의 혈장과 조직의 Tocopherol 및 지질과산화상태에 미치는 영향*

남 정 혜** · 박 현 서
경희대학교 가정대학 식품영양학과
경민전문대학 식품영양과**

Effect of Quality and Quantity of Dietary Fats on the Status of Tocopherol and Lipid Peroxidation of Plasma and Tissue in Rats

Nam, Jeong Hye** · Park, Hyun Suh

Department of Foods and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul, Korea

*Department of Food and Nutrition,** Kyungmin Junior College, Euijungbu city, Korea*

ABSTRACT

The study was to compare the effect of dietary fatty acids on fatty acid profile in tissue and the status of tocopherol and lipid peroxidation, and superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities at two fat levels. Male Sprague Dawley rats weighing average 350g(17 weeks) were fed either low fat(LF, 4.3% w/w, 10% kcal) or high fat(HF, 20.8% w/w, 40% kcal) diet for 6 weeks. The fats used were beef tallow as a source of saturated fatty acid, corn oil for n-6 linoleic acid, perilla oil for n-3 α -linolenic acid and fish oil for n-3 eicosapentaenoic acid(EPA) and n-3 docosahexaenoic acid(DHA).

Plasma tocopherol was significantly reduced by fish oil compared to beef tallow at both fat level. However, there was no significant effect on the levels of plasma MDA, RBC MDA and tocopherol, and RBC hemolysis by the type and amount of dietary fat. The peroxidizibility index of fatty acid profile in plasma and liver was increased and liver MDA level was significantly increased by fish oil when dietary fat level was increased. The activities of SOD and GSH-Px tended to be increased by perilla oil and fish oil at both fat level, but it could not prevent the lipid peroxidation in tissue at high fat diet. Perilla oil and fish oil significantly reduced the incorporation of c20 : 4 and increased the incorporation of c20 : 5 into liver compared to corn oil. The incorporation of n-3 fatty acids into tissue by perilla oil rich in α -linolenic acid was significantly higher than corn oil and its effect was improved with higher amount of perilla oil in diet by high fat diet.

Overall, the lipid peroxidation of tissue could be prevented by tocopherol supplementation when dietary fat level was low in diet. However, at high fat diet, tocopherol supplementation

채택일 : 1993년 7월 20일

*본 연구는 1990~92년도 한국과학재단 일반기초 연구과제중의 일부임.

might not be enough to prevent the lipid peroxidation in tissue since the potential for lipid peroxidation was tended to be increased with higher incorporation of highly unsaturated n-3 fatty acids into tissue. Therefore, it could not be recommended to consume large amount of fish oil even with excess amount of tocopherol supplemented to the high fat diet.

KEY WORDS : n-3 fatty acids · lipid peroxidation · superoxide dismutase · glutathione peroxidase · perilla oil · fish oil.

서 론

관상동맥성 심장질환(coronary heart disease ; CHD) 등의 순환기계 질환의 발병율이 계속 증가되고¹⁾, 이러한 질병을 예방하기 위한 방법으로 n-6 linoleic acid가 풍부한 식물성 기름의 섭취가 중요시 되어왔으나²⁾³⁾, 최근에는 생선이나 어유등에 다량 함유되어 있는 n-3 eicosapentaenoic acid(EPA)와 docosahexaenoic acid(DHA) 같은 고도불포화 지방산(polyunsaturated fatty acid, PUFA)의 혈장지질 저하 효과와 혈소판 응집을 억제하는 효과가 더 있음으로서 이에 대한 연구가 더욱 활발하다⁴⁾⁷⁾. 그러나 n-6 PUFA에 비해 n-3 PUFA는 과량 섭취할 경우 cis형의 불안정한 이중결합과 지방산 자체의 높은 불포화도로 인해 peroxide와 free radical 등의 지질 과산화물을 더욱 생성하여 세포의 손상을 초래한다고 하였으며⁸⁾⁹⁾, 실지로 어유중의 EPA에 의해 세포막이 lipid peroxidation에 대한 감수성이 증가되었다고 하였다¹⁰⁾. 따라서 tocopherol과 같은 항산화제의 필요량이 증가되는데 이는 식이내 PUFA양이나 투여기간에 따라 다르다고 하였으며¹¹⁻¹³⁾, 또 저지방식이보다 고지방식이시 plasma tocopherol이 더욱 감소되어 식이 지방수준이 높을수록 tocopherol의 필요량이 증가된다고 하였다¹⁴⁾. 한편 우리나라에서는 들기름의 섭취도 높는데 이 기름의 주요 지방산인 n-3 α -linolenic acid는 EPA와 DHA에 비해 상대적인 불포화도가 낮아 in vitro 에서 lipid peroxidation이 더 적게 일어날 것으로 기대되지만 체내에서 EPA와 DHA로 대사되어 어느 정도 어유와 비슷한 영향을 줄 것으로 보며 충분한 양의 tocopherol을 투여하여도 지방수준에 따라 조직에서 PUFA와 tocopherol의

turn over가 다를지도 모르기 때문에¹³⁾ 세포막의 integrity를 유지하기 위해서는 조직내에서 자동산화에 대한 문제가 고려되어야 한다. 한편 superoxide dismutase(SOD)와 glutathione peroxidase(GSH-Px)는 식이지방의 과산화 반응으로 인한 지질 과산화물을 제거함으로써 세포막 보호 작용을 하는 대표적인 효소로 알려져 있다⁹⁾¹⁰⁾.

그러므로 본 연구에서는 식이의 총 지방량을 두 수준으로 조절하여 먹이면서 각 종류의 기름과 충분한 양의 tocopherol을 투여하여 plasma와 조직의 지방산조성과 tocopherol 함량 및 malondialdehyde(MDA) 형성, 또 그 지질과산화물 대사에 관련된 superoxide dismutase (SOD)와 glutathione peroxidase(GSH-Px)의 활성도에 미치는 영향이 다른지 관찰하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험식이

Sprague Dawley 종 수컷쥐 80마리를 체중에 따라 난괴법(randomized block design)에 의해 크게 2군, 즉 식이내 지방의 수준을 총 열량의 10%(low fat diet, LF)와 40%(high fat diet, HF)로 나누고, 또 각 지방 수준에서 4군씩 모두 8군으로 구성하였다. 실험식이의 기본구성은 Table 1에서와 같이 총 열량중 20%를 단백질로 같게 하였고, 당질의 수준을 변화시켜 지방의 수준을 조절하였으며, 각 지방수준 내에서 포화 지방산의 급원으로 beef tallow를 공급한 군을 BT군, linoleic acid(LA, 18 : 2n-6)의 급원으로 corn oil을 사용한 군을 CO군, α -linolenic acid(LNA, 18 : 3n-3)의 급원으로 들기름(perilla oil)을 사용한 군을 PO군, eicosapentaenoic acid(EPA,

지방의 종류와 수준에 따라 지질과산화상태에 미치는 영향

20 : 5n-3)와 docosahexaenoic acid(DHA, 22 : 6n-3)의 급원으로서 fish oil concentrate를 사용한 군을 FO군이라 하였다. 이 때 실험식은 6주간 ad libitum으로 공급하였으며, 사료는 매주 한번씩 동시에 만들어 냉동하여 두고 먹였다. Table 2에서 보는 바와 같이 식이지방산중 c12-18의 포화지방산과 monounsaturated fatty acids의 합을 거의 같게 조절하기 위하여 CO, PO, FO군에 일정량의 coconut oil을 공급하였다. 특히 FO군은 필수지방산의 결핍을 예방하기 위해 LA가 총 섭취열량의 약 0.5~1

%가 될수 있도록 corn oil을 공급하였다. 또한 FO군에 사용된 fish oil concentrate에 지방의 산패를 방지하기 위해 dl- α -tocopherol(0.2g%)이 강화되어 있으므로 BT, CO, PO군에도 자체내에 함유되어 있는 tocopherol 외에 식이 제조시 dl- α -tocopherol을 더 첨가하여 FO군에 함유되어 있는 dl- α -tocopherol 함량과 같게 조절하여 주었다.

Table 1. Composition of experimental diets

Constituents(g)	Low fat	High fat
Corn starch	67.4	46.8
Casein	19.3	23.4
DL-Methionine	0.3	0.3
Fat or oil ¹⁾	4.3	20.8
Salt mixture ²⁾	3.2	3.2
Zinc mixture ³⁾	0.8	0.8
Vitamin mixture ⁴⁾	1.0	1.0
α -Cellulose	3.7	3.7

¹⁾ 3mg vitamin A and 1.5mg vitamin D were dissolved in 150g oil

²⁾ Hubble mendel wakeman mixture(per 100g)(ref. 33)

³⁾ Zinc mixture : 1.67g Zn-acetate/kg corn starch

⁴⁾ Vitamin mixture(per 100g)(ref. 33)

2. 시료준비

Overnight fasting후 복부 대정맥으로부터 혈액을 채취하여 hemolysis를 측정하였고 즉시 plasma를 분리하였다. 적혈구는 saline phosphate buffer(pH 7.4)로 씻어낸 다음 hematocrit이 약 50%가 되도록 RBC suspension을 만들어 -40°C에 냉동 보관하였다가 tocopherol과 MDA농도를 측정하였다. 간 조직은 채취후 즉시 Geller와 Winge의 방법¹⁵⁾에 의해 cytosol fraction을 분리하여 -40°C에 보관하였다가 단백질, SOD, GSH-Px, tocopherol, MDA 함량을 측정하는데 사용하였다.

3. 생화학적 분석

Plasma와 RBC suspension의 tocopherol 함량은 Desai 방법¹⁶⁾으로, MDA 함량은 Yagi 방법¹⁷⁾으로 각각 분석하였고, 간조직의 tocopherol 함량은 Taylor 등의 방법¹⁸⁾으로, MDA 함량은 Buckingham

Table 2. Fatty acid composition of experimental diets(g/100g diet)

Dietary groups	SFA ¹⁾	MFA	PUFA	LA	LNA	EPA+DHA ²⁾
LF BT (bt 4.3)	2.14	1.80	0.17	0.13	0.03	-
CO (co 2.2, cc 2.1)	1.88	0.84	1.15	1.12	0.03	-
PO (po 2.0, co 0.2, cc 2.1)	1.72	0.54	1.62	0.44	1.18	-
FO (fo 2.0, co 0.3, cc 2.0)	2.01	0.79	1.01	0.19	-	0.74
HF BT (bt 20.8)	10.36	8.69	0.83	0.65	0.13	-
CO (co 10.2, cc 10.6)	9.32	3.97	5.35	5.22	0.14	-
PO (po 9.7, co 0.5, cc 10.6)	8.57	2.50	7.60	1.89	5.71	-
FO (fo 9.7, co 0.8, cc 10.3)	10.06	3.61	4.59	0.58	0.01	3.59

¹⁾ Saturated fatty acid \geq C12 : 0

BT : Beef tallow group

PO : Perilla oil group

cc : Coconut oil

MFA : Monounsaturated fatty acid

LA : Linoleic acid(n6)

EPA : Eicosapentaenoic acid(n3)

CO : Corn oil group

FO : Fish oil group

SFA : Saturated fatty acid

PUFA : Polyunsaturated fatty acid

LNA : α -Linolenic acid(n3)

DHA : Docosahexaenoic acid(n3)

방법¹¹⁾으로 각각 측정하였다. RBC hemolysis는 whole blood에서 Drapper와 Csallany 방법¹⁹⁾으로 측정하였다. Cytosol fraction의 SOD의 activity는 Winterbourn 등의 방법²⁰⁾으로 분석하였으며 1 enzyme unit는 nitroblue tetrazolium이 최대 환원을 나타내는 absorbance값의 1/2로서 산출하였고, GSH-Px activity는 Paglia와 Valentine 방법²¹⁾으로 분석하였고 enzyme unit는 1분 동안 산화된 NADPH의 μmole 로 표시하였으며 단백질 함량은 Lowry 등의 방법²²⁾으로 분석하여 specific activity로 나타내었다. Plasma와 간조직의 지방산조성은 Folch 등의 방법²³⁾으로 지질을 추출하여 Morrison과 Smith 방법²⁴⁾으로 methylation 시킨 후 gas chromatography를 이용하여 측정하였다. 이때 사용된 조건은 2m \times 1/4" \times 2mm, resin GP 10% SP-2330 on chromosorb W/AW, flame ionization detector(FID)를 사용하였으며, injection temp 200°C, detector temp 230°C, sensitivity 1×10^{-9} , N₂, O₂, H₂ gas의 flow rate는 각각 15ml/min, 40ml/min, 60ml/min로 하였다.

4. 통계처리

실험식이 투여후 각 군간의 차이는 one way ANOVA를 이용하여 $P < 0.05$ 의 수준에서 분석하고

Scheffé test를 이용하여 평균간의 통계적 유의성을 검증하였다.

결 과

본 연구에서 Sprague Dawley 종 수컷쥐에게 총 열량중 단백질을 20%로 같게 하고, 지방의 수준을 10%와 40%로 조절하여 먹일 때 지방의 수준에 따라 불포화도와 지방산의 조성이 다른 beef tallow, corn oil, perilla oil, fish oil이 각각 plasma와 RBC의 tocopherol 및 MDA 수준에 미치는 영향과 또한 간조직의 tocopherol, MDA, fatty acid 조성, SOD, GSH-Px 활성에 미치는 영향을 서로 비교검토 하였다.

1. Plasma Tocopherol, MDA

저지방식이(10% kcal)의 경우 plasma tocopherol 함량은 Table 3에 제시된 바와 같이 BT와 CO군에 비해 PO군과 FO군에서 더 감소된 경향을 보였고 FO군에서 유의성있게 낮았으며, plasma MDA 함량은 지방의 종류에 따른 차이가 없었다. 고지방식이(40% kcal)에서는 plasma tocopherol은 BT군에 비해 FO군에서만 유의성있게 낮았으며 MDA 함

Table 3. Effect of dietary fats on the levels of plasma tocopherol and malondialdehyde

		B T	C O	P O	F O
Tocopherol ($\mu\text{g/ml}$ plasma)	LF	7.99 \pm 1.55 ^a	7.61 \pm 0.99 ^a	5.73 \pm 1.02 ^{ab}	4.94 \pm 0.51 ^b
	HF	8.90 \pm 1.55 ^a	7.70 \pm 1.69 ^{ab}	7.73 \pm 0.90 ^{ab}	4.29 \pm 1.59 ^b
Malondialdehyde (nmole/ml plasma)	LF	1.34 \pm 0.27	1.34 \pm 0.21	1.27 \pm 0.14	1.37 \pm 0.22
	HF	1.33 \pm 1.19	1.51 \pm 0.28	1.43 \pm 0.15	1.48 \pm 0.15

Values are Mean \pm SD of 9-10 rats.

Values sharing common superscript were not significantly different at $p < 0.05$ by Scheffe test.

Table 4. Effect of dietary fats on the levels of RBC tocopherol, malondialdehyde and hemolysis

		B T	C O	P O	F O
Tocopherol ($\mu\text{g/ml}$ blood)	LF	3.69 \pm 0.91	3.51 \pm 0.64	4.03 \pm 0.77	3.50 \pm 0.59
	HF	4.43 \pm 1.64	4.71 \pm 0.84	4.14 \pm 1.21	4.29 \pm 1.59
Malondialdehyde (nmole/ml blood)	LF	1.44 \pm 0.50	1.24 \pm 0.16	1.58 \pm 0.66	1.84 \pm 0.74
	HF	1.52 \pm 0.68	1.84 \pm 0.46	1.70 \pm 0.48	2.64 \pm 1.40
Hemolysis (%)	LF	55.3 \pm 20.0	57.9 \pm 12.7	64.7 \pm 13.4	66.6 \pm 17.1
	HF	64.9 \pm 23.0	55.7 \pm 14.5	69.0 \pm 15.5	69.0 \pm 14.3

Values are Mean \pm SD of 8-10 rats.

지방의 종류와 수준에 따라 지질과산화상태에 미치는 영향

량은 저지방 식이에서와 같게 거의 같은 수준이었다.

2. RBC Tocopherol, MDA, Hemolysis

Table 4에서 RBC tocopherol은 식이지방의 총량과 지방의 종류에 따라서 유의성있는 차이를 보이지는 않았으며, 또한 RBC MDA 함량도 지방의 총량과 종류에 따른 유의성있는 차이가 없었고 HF에서만 FO 투여군에서 증가된 경향을 보였다. 이와 같은 경향으로 적혈구의 hemolysis도 지방의 총량이나 종류에 따른 영향을 받지 않았으나 PO와 FO 투여군에서 약간 증가된 경향만을 보였다.

3. Liver Tocopherol, MDA, SOD, GSH-Px

Table 5에서 간조직의 단위무게당 tocopherol 함량은 지방의 총량과 종류에 의해서 유의성있는 차이가 없었으나 저지방의 경우 PO와 FO군에서는 더 낮은 경향을 보였으며 고지방의 경우에는 일관성이 없었다. 간의 MDA 함량은 저지방수준에서는 지방의 종류에 의한 유의성있는 차이가 없었으나 고지방수준에서는 BT와 CO군에 비해 n-3 PUFA 함량이 높은 PO군에서는 증가된 경향이었고 FO군에서는 유의성이 있게 높았다. 또한 SOD와 GSH-Px의 활성도는 개체간의 변화가 너무 커서 유의성있는 차이를 보이지 않았으며 두 지방수준에서 PO와 FO군에서 증가된 경향만을 보였으며

식이지방의 투여량에 의한 영향을 볼 수 없었다. SOD 활성도 마찬가지로 두 지방수준에서 모두 PO와 FO군에서 증가된 경향만을 보였다.

4. Fatty Acid와 Peroxidizibility Index

저지방식이 경우(Table 6), plasma에서 지방산 c18 : 2의 분포는 군간에 유의성있는 차이가 없었으며 지방산 c20 : 4의 분포는 FO군은 CO군에 비해 유의성있게 낮았다. 지방산 c20 : 5와 c22 : 6는 FO군에서만 유의성있게 높았으며 지방산 c18 : 3은 PO군에서는 유의성있게 높았는데 같은 계열의 c20 : 5와 c22 : 6는 BT와 CO군에 비하면 약간 높아서 총 n-3 지방산의 분포는 더 높아지긴 했으나 유의성은 없었다. 간의 지방산조성(Table 7)에서 c18 : 2의 분포는 CO와 PO군에서 다른 두 군에 비해 유의성있게 높았으며, PO와 FO군에서는 c20 : 4로 전환이 미약하여 CO군에 비해 그 분포가 유의성있게 더 낮았다. c20 : 5와 c22 : 6의 분포는 plasma에서와 같은 양상으로 FO군에서만 유의성있게 증가되었다. PO군에서는 c20 : 5와 c22 : 6의 분포가 BT와 CO군에 비해 더 높긴 했으나 유의성이 없었으며 FO군에 비해 낮았다.

다음은 고지방식이 경우(Table 8), plasma에서 지방산 c18 : 2의 분포는 군간에 유의성있는 차이가 없었으며 c20 : 4의 분포는 PO와 FO군은 BT와 CO군에 비해 유의성있게 더 낮았다. c20 : 5와 c22

Table 5. Effect of dietary fats on the levels of tocopherol, malondialdehyde, superoxide dismutase and Glutathione peroxidase activities in rat liver

		B T	C O	P O	F O
Tocopherol ($\mu\text{g/g}$ liver)	LF	1.76 \pm 0.54(7)	1.92 \pm 1.21(7)	1.26 \pm 0.68(7)	1.17 \pm 0.36(7)
	HF	1.95 \pm 0.59(6)	1.69 \pm 0.51(7)	2.32 \pm 0.88(6)	2.01 \pm 0.86(6)
Malondialdehyde (nmole/g liver)	LF	2.77 \pm 0.84(9)	2.14 \pm 0.66(9)	2.39 \pm 0.68(10)	2.33 \pm 0.96(10)
	HF	1.65 \pm 0.30(10) ^a	1.83 \pm 0.49(10) ^a	3.11 \pm 1.54(9) ^{ab}	3.27 \pm 1.31(8) ^b
Superoxide dismutase (U/mg pro)	LF	7.31 \pm 2.99(10)	6.72 \pm 1.64(10)	8.65 \pm 4.90(10)	10.39 \pm 6.69(10)
	HF	6.01 \pm 1.25(10)	6.52 \pm 1.73(9)	7.73 \pm 3.48(10)	9.15 \pm 4.92(10)
Glutathione ¹⁾ peroxidase	LF	1.95 \pm 0.61(9)	2.37 \pm 1.19(8)	3.01 \pm 2.52(9)	2.75 \pm 1.20(8)
	HF	2.28 \pm 0.78(9)	2.58 \pm 1.36(9)	3.92 \pm 2.83(9)	2.98 \pm 1.73(9)

Values are Mean \pm S.D. () : number of rats

¹⁾ : Enzyme unit was expressed in μmoles of NADPH/min/mg protein

Values sharing common superscript were not significantly different at $p < 0.05$ by Scheffe test.

Table 6. Effect of dietary fats on plasma fatty acid profile in rats fed low fat diet

Fatty acids	B T	C O	P O	F O
14 : 0	4.63±2.55	4.26±0.88	3.56±1.74	4.30±1.68
16 : 0	22.89±2.15	22.05±1.94	21.22±2.54	23.17±3.05
16 : 1	1.02±0.44	0.95±0.20	1.23±0.96	0.84±0.45
18 : 0	13.00±1.60 ^a	10.87±1.12 ^{ab}	11.67±3.85 ^{ab}	8.85±1.21 ^b
18 : 1	19.11±3.20 ^a	14.39±1.19 ^b	13.87±2.32 ^b	13.11±1.39 ^b
18 : 2	12.83±2.31	14.25±1.39	15.80±2.04	13.64±0.84
18 : 3	1.32±0.40 ^a	1.89±0.91 ^{ab}	3.01±1.64 ^b	2.16±0.86 ^{ab}
20 : 0	0.51±0.19 ^a	1.55±0.61 ^{ab}	2.46±0.98 ^b	0.65±0.24 ^a
20 : 2	7.50±2.90	6.86±2.67	3.83±1.03	6.88±2.43
20 : 4	8.60±1.54 ^{ab}	8.96±1.49 ^a	7.47±2.04 ^{ab}	4.63±2.50 ^b
20 : 5	0.58±0.24 ^a	0.55±0.10 ^a	1.35±0.87 ^a	6.12±1.77 ^b
22 : 0	1.67±0.46	5.38±3.59	4.26±2.12	2.17±1.40
22 : 1	1.29±0.97	1.69±0.69	3.81±1.85	3.81±3.59
22 : 4	3.50±0.78	4.36±1.13	3.23±0.65	3.10±1.47
22 : 5	0.57±0.60	0.67±1.04	1.39±0.65	1.77±1.04
22 : 6	1.98±0.61 ^{ab}	1.23±0.25 ^a	2.83±0.96 ^{ab}	3.59±1.85 ^b
24 : 0	0.83±0.51	1.00±0.21	0.76±0.21	0.91±0.57
24 : 1	3.31±0.73	4.72±1.04	7.69±2.38	7.06±3.21
PI	52.4±24.0	58.9±25.1	54.6±25.9	53.0±14.7
Σ n-3	4.45	4.34	8.58	13.64
Σ n-6	24.93	27.57	26.5	21.37
n-3/n-6	0.18	0.16	0.32	0.64
20 : 4/20 : 5	14.8	16.3	5.53	0.76

Values are Mean±SD of 7-8 rats and expressed as the relative % of total fatty acids.

Values sharing common superscript were not significantly different at $p < 0.05$ by Scheffe t-test.

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

Table 7. Effect of dietary fats on liver fatty acid profile in rats fed low fat diet

Fatty acids	B T	C O	P O	F O
14 : 0	2.00±1.22	1.76±0.47	1.81±0.20	1.81±0.20
16 : 0	20.97±2.25 ^a	20.33±1.05 ^a	20.82±1.10 ^a	25.17±4.83 ^b
16 : 1	4.51±0.88	4.44±1.38	3.13±1.49	4.12±0.65
18 : 0	16.06±1.91	13.22±1.43	13.96±1.47	14.77±2.01
18 : 1	21.62±3.45 ^a	16.28±2.10 ^b	14.88±1.17 ^b	12.90±1.54 ^b
18 : 2	12.01±1.53 ^a	15.84±1.80 ^b	16.05±1.57 ^b	11.55±1.48 ^a
18 : 3	0.27±0.14	0.50±0.28	0.70±0.13	0.53±0.20
20 : 0	0.35±0.17	0.61±0.32	0.52±0.30	0.41±0.25
20 : 2	1.02±0.42	0.87±0.46	0.76±0.29	0.61±0.40
20 : 4	14.71±3.16 ^{ab}	17.47±1.59 ^a	11.43±2.29 ^b	7.37±1.44 ^c
20 : 5	0.64±0.88 ^a	0.80±0.69 ^a	2.82±1.22 ^a	6.76±1.53 ^b
22 : 0	0.75±0.27	0.95±0.33	0.88±0.26	0.54±0.09
22 : 1	0.43±0.12	0.26±0.03	0.26±0.20	0.27±0.14
22 : 4	0.65±0.47	0.85±0.57	0.46±0.36	0.69±0.49
22 : 5	0.37±0.07	0.34±0.11	2.84±2.36	5.54±0.55
22 : 6	1.97±1.82 ^a	3.62±2.73 ^{ab}	4.26±2.84 ^{ab}	7.62±2.30 ^b
24 : 0	0.28±0.10	0.52±0.22	0.45±0.41	0.93±0.59
24 : 1	0.53±0.16	0.65±0.26	0.61±0.35	0.54±0.55
PI	87.5±40.7	96.1±32.0	90.7±39.3	130.2±44.4
Σ n-3	3.25	5.26	10.6	20.5
Σ n-6	27.4	34.2	27.9	19.6
n-3/n-6	0.12	0.15	0.38	1.04
20 : 4/20 : 5	23.0	21.8	4.05	1.09

Values are Mean±SD of 8-10 rats and expressed as the relative % of total fatty acids.

Values sharing common superscript were not significantly different at $P < 0.05$ by Scheffe t-test.

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

지방의 종류와 수준에 따라 지질과산화상태에 미치는 영향

Table 8. Effect of dietary fats on plasma fatty acid profile in rats fed high fat diet

Fatty acids	B T	C O	P O	F O
14 : 0	2.89±1.09	3.69±1.23	4.09±0.76	4.73±1.04
16 : 0	20.92±2.18	19.68±2.75	18.24±2.04	16.31±4.78
16 : 1	1.06±0.85	1.21±1.45	0.90±0.42	1.95±2.48
18 : 0	15.23±2.38 ^a	11.16±2.24 ^{ab}	11.04±1.73 ^{ab}	9.96±2.10 ^b
18 : 1	19.47±2.31 ^a	11.26±1.64 ^b	10.37±1.55 ^b	11.38±2.21 ^b
18 : 2	12.48±1.57	16.60±3.06	14.69±3.37	13.33±3.79
18 : 3	1.51±0.88	1.12±0.69	1.82±1.37	1.50±0.51
20 : 0	0.96±0.52	0.82±0.56	2.37±1.41	2.85±1.60
20 : 2	2.12±0.99	2.90±1.40	2.69±0.58	2.53±0.53
20 : 4	12.24±2.13 ^a	12.43±2.38 ^a	6.96±2.88 ^b	5.12±1.75 ^b
20 : 5	2.12±1.14 ^a	0.81±0.32 ^a	2.91±1.16 ^a	6.15±1.47 ^b
22 : 0	4.38±2.55	3.73±2.56	3.14±0.54	3.59±2.39
22 : 1	1.38±0.60	0.92±0.72	1.30±1.29	6.92±2.35
22 : 4	4.30±2.87	4.96±2.67	4.14±2.03	3.22±1.10
22 : 5	0.39±0.25	0.70±0.56	2.06±0.97	1.60±0.67
22 : 6	2.92±1.15 ^a	2.29±1.18 ^a	3.27±0.66 ^{ab}	5.89±1.75 ^b
24 : 0	0.77±0.23	0.42±0.23	1.65±0.99	1.01±0.72
24 : 1	4.37±1.93	3.91±2.96	0.91±0.72	3.64±3.63
PI	42.0±22.6	82.2±31.8	86.8±21.3	83.7±32.6
Σ n-3	6.94	4.92	10.1	15.1
Σ n-6	29.0	34.0	25.3	21.7
n-3/n-6	0.24	0.14	0.39	0.70
20 : 4/20 : 5	5.77	15.3	2.39	0.83

Values are Mean±SD of 6-8 rats and expressed as the relative % of total fatty acids.

Values sharing common superscript were not significantly different at P<0.05 by Scheffe test.

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

Table 9. Effect of dietary fats on liver fatty acid profile in rats fed high fat diet

Fatty acids	B T	C O	P O	F O
14 : 0	1.46±0.52	2.12±0.36	2.20±0.61	2.01±0.86
16 : 0	18.26±1.08	19.30±1.46	18.57±1.64	21.65±2.81
16 : 1	2.51±0.38	2.01±0.38	1.44±0.28	2.40±0.26
18 : 0	16.96±1.14 ^a	12.80±1.48 ^b	16.59±1.80 ^a	18.51±2.91 ^a
18 : 1	23.75±2.09 ^a	13.90±1.94 ^b	12.72±2.08 ^b	11.49±1.17 ^b
18 : 2	11.41±2.17 ^a	19.52±2.23 ^b	17.61±1.53 ^b	11.35±1.51 ^a
18 : 3	0.29±0.16	0.37±0.06	0.75±0.33	0.46±0.17
20 : 0	0.37±0.17	0.46±0.26	0.44±0.24	0.52±0.27
20 : 2	0.77±0.14	0.49±0.31	0.75±0.44	0.30±0.29
20 : 4	16.97±2.15 ^a	16.98±1.40 ^a	11.57±1.91 ^b	9.43±1.64 ^b
20 : 5	0.48±0.38 ^a	0.31±0.24 ^a	4.36±0.78 ^b	6.62±0.95 ^c
22 : 0	0.60±0.10	0.58±0.13	0.63±0.19	0.68±0.13
22 : 1	0.42±0.27	0.54±0.28	0.45±0.23	0.49±0.07
22 : 4	0.54±0.30	0.84±0.41	0.56±0.62	0.58±0.70
22 : 5	3.44±3.00	2.23±2.18	5.66±2.79	2.71±0.58
22 : 6	2.91±1.36 ^a	3.65±1.53 ^{ab}	4.58±2.94 ^{ab}	10.41±5.15 ^b
24 : 0	0.30±0.08	0.54±0.21	0.36±0.29	0.36±0.08
24 : 1	0.60±0.42	1.09±0.87	0.81±0.80	1.24±1.75
PI	114.7±29.2	113.4±18.8	120.3±31.8	167.5±53.4
Σ n-3	7.12	6.56	15.4	20.2
Σ n-6	28.9	37.3	29.7	21.4
n-3/n-6	0.25	0.18	0.52	0.95
20 : 4/20 : 5	35.4	54.8	2.65	1.42

Values are Mean±SD of 8-10 rats and expressed as the relative % of total fatty acids.

Values sharing common superscript were not significantly different at P<0.05 by Scheffe test.

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

: 6는 마찬가지로 FO군에서만 유의성있게 높았다. 간조직의 지방산조성(Table 9)에서는 저지방 경우와 같은 양상으로 c18:2는 CO와 PO군에서 유의성있게 더 높게 분포되었으며 c20:4는 PO와 FO군에서 유의성있게 그 분포가 더 낮았다. c20:5와 c22:6는 같은 방법으로 FO군에서 가장 높았으며 PO군에서도 고지방식으로 투여한 기름의 양이 높았을 때는 c20:5로 그 전환이 좀 이루어져 유의성있게 증가되었으며 c22:6는 유의성있는 차이는 아니었으나 총 n-3 지방산의 분포가 저지방식일 때보다 고지방식일 때 증가되었다.

다음은 지방산의 불포화도에 따라 산화가능성을 나타내주는 peroxidizability index(PI; monoenoic acid(%) \times 0.025+dienoic acid(%) \times 1+trienoic acid(%) \times 2+tetraenoic acid(%) \times 4+pentaenoic acid(%) \times 6+hexaenoic acid(%) \times 8)를 살펴보면 plasma에서는 저지방 수준일 때 지방의 종류에 따른 차이가 없었으나 고지방 수준에서는 BT군에 비해 CO, PO, FO군 모두 PI값이 유의성은 없었지만 증가된 경향이었고 PO군에서만 유의성이 있었다. 그러나 간조직에서는 전체적으로 PI값이 증가되었으며 저지방식이에 비해 고지방수준에서 증가된 경향이였다. 개체간의 변화가 커서 유의성은 없었지만 지방의 수준과 관계없이 BT, CO, PO군에서는 거의 같은 수준을 보였으나 FO군에서만 더욱 증가되었다.

고 찰

이미 보고된 바에 의하면¹⁰⁻¹³⁾ 투여한 식이 지방산의 불포화도가 증가될수록 불포화지방산 자체의 산화를 막기 위해 세포내 tocopherol의 이용률이 높아져 plasma tocopherol 수준이 감소되었다고 하였는데, 본 연구에서도 마찬가지로 어유를 투여한 군의 plasma tocopherol 수준이 유의성있게 더 낮았다. Tocopherol은 세포내에서 항산화작용을 하므로 부족될 경우 lipid peroxidation이 증가되었다는 보고들²⁵⁾²⁶⁾이 많은데 본 연구에서는 불포화도가 높은 기름의 투여로 plasma tocopherol이 감소되었음에도 불구하고 plasma MDA 수준에는 아무런

영향이 없었던 것으로 미루어 PUFA량에 비례해서 최소량을 투여하기 전에는 그 관계를 정확하게 규명하기는 어렵지만, 한편 실험식이와 함께 투여한 tocopherol이 plasma 내 MDA 형성을 막기에 충분한 양이었기 때문이라고도 생각할 수 있다고 본다.

Hemolysis test는 일반적으로 tocopherol의 영양상태 판정에 사용되어 온 방법으로 tocopherol이 결핍되면 RBC 세포막의 integrity가 불안정해져 지질과산화물을 일으키기 쉽고, 따라서 RBC hemolysis가 증가된다고 하였다²⁷⁾. 또한 RBC hemolysis는 plasma tocopherol과 역의 상관관계가 있었으며 RBC tocopherol보다는 plasma tocopherol이 증가됨에 따라 RBC hemolysis가 감소되었다고 하였다²⁷⁻³¹⁾. 본 연구에서는 식이지방의 불포화도가 높을수록 RBC MDA와 RBC hemolysis가 증가된 경향이었고, 지방의 투여량이나 종류에 따라 RBC tocopherol과 MDA 생성에 유의성있는 영향이 없었다. Hemolysis도 지방의 투여량과 종류에 의한 유의성있는 영향이 없었다. 그러나 들기름과 어유를 투여한 군에서 증가된 경향을 보였으므로 지방과 같이 tocopherol을 첨가한다 해도 PUFA 섭취량이 높을 때는 hemolysis에 대한 민감도가 증가된다고 사려된다.

Bieri등¹³⁾에 의하면 간조직내의 tocopherol 함량은 plasma tocopherol 수준을 가장 잘 반영한다고 하였으나, 본 연구에서는 각 지방수준에서 투여한 지방산의 종류에 의한 유의성있는 차이를 관찰할 수 없었다. Bieri와 Evar³²⁾에 의하면 쥐에게 고불포화지방 식이를 tocopherol과 함께 투여했을 때 간의 tocopherol은 식이중 PUFA에 의해 아무런 영향이 없었다고 하였다. 본 연구에서는 고지방식이로 인해 지방과 함께 tocopherol의 섭취가 많기도 하였지만 고지방식이시 간에 TG가 더 유입되어 TG 함량이 높았다는 우리의 전 보고³³⁾로 미루어 지방과 함께 운반되어 지방량에 비례해서 같이 저장되었을 수도 있다고 본다. 한편 고지방식이군에서 tocopherol 저장량이 더 높았지만 간의 MDA는 BT군에 비해 FO군에서 유의성있게 증가되었다. 이와같이 어유를 투여할 경우 MDA 형성이 증가된 결과는 많이 보고되었으며⁸⁾⁹⁾¹²⁾, 불포화도가 높은

지방산으로 구성된 기름을 투여할 때는 다량의 tocopherol을 첨가해도 조직의 지질 과산화반응을 억제하지는 못하였다³⁴⁾. Iritani²⁸⁾의 보고에 의하면 식이에 kg당 dl- α -tocopherol을 400mg까지 첨가하여도 PUFA의 자동산화를 막지 못하였다고 하였다. Garrido등⁹⁾에 의하면 이는 식이중 n-3 EPA에 의해 RBC membrane과 간의 microsome에 EPA와 DHA의 incorporation이 증가되어 지질 과산화반응이 빠르게 진행되었기 때문이라고 하였다. 또한 FO군에 비해 유의성은 없었지만 PO군에서도 간 MDA 함량은 증가된 것을 보면 들기름의 n-3 α -linolenic acid가 세포내에서 대사되어 총 n-3 fatty acids의 분포가 증가된 것과 일치하였다.

SOD는 superoxide anion을 제거시키는 효소로 SOD의 활성이 억제되면 superoxide anion이 hydrogen peroxide와 반응하여 hydroxyl radical을 생성하고 지질 과산화반응이 촉진되어 세포막의 integrity가 손상되는 것으로 알려져 왔다³⁵⁾³⁶⁾. Cherr등³⁷⁾은 간의 MDA가 증가됨에 따라 SOD의 활성이 높아지는 정의 상관관계를 보였다고 하였으며, 그런가 하면 우리의 전 보고에서는³⁴⁾ liver MDA는 SOD의 활성과 유의성있는 상관관계를 보이지는 않았다. 본 연구에서는 SOD 활성이 개체간의 변화가 너무 커서 유의성있는 차이를 보이지는 않았지만 두 지방수준에서 모두 CO군에 비해 PO군과 FO군에서 증가된 경향을 보였고 FO군에서 더욱 높았다. 결국 지방산의 불포화도가 높아짐에 따라 지질 과산화반응이 촉진되고 그 결과 생성된 과산화물에 대응하기 위해서 SOD의 활성이 증가되어 integrity가 유지되었다고 사려된다. GSH-Px는 selenium을 함유하고 intracellular phospholipase A₂에 의해 분비되어 지질과산화물의 해독기능을 갖고 있는 효소로서 식이내 불포화 지방산의 섭취가 증가됨에 따라 생체막에서 과산화 반응이 촉진되어 그 방어기전으로서 효소의 활성이 증가된다고 하였다³⁸⁾. 본 연구에서는 지방수준에 관계없이 CO군에 비해 PO군과 FO군에서 GSH-Px의 활성이 증가된 경향이었으나 SOD보다는 식이 지방산에 의한 영향이 약하였다. Yoshioka등³⁹⁾의 보고에 의하면 쥐에게 vit E-결핍식이(1.6mg α -tocopherol

acetate/100g diet)를 먹었을 때 plasma와 간의 tocopherol량이 감소되었고 동시에 lipid peroxide 농도도 감소되었는데 이는 tocopherol의 결핍으로 SOD, GSH-Px, catalase와 같은 peroxide를 제거해주는 효소의 활성이 증가되어 lipid peroxide가 조직에 축적되는 것을 막아주었기 때문이라고 했다. 그러므로 저지방 식이의 경우 식이 지방산의 불포화도의 증가로 plasma와 간의 tocopherol이 감소되었지만 SOD와 GSH-Px 활성의 증가로 지질과산화물이 제거되어 plasma와 간의 MDA가 낮아졌으므로 결국 저지방 식이를 할 때는 지방의 양이 적으므로 투여된 tocopherol이 식이중 PUFA의 자동산화를 어느 정도 막아주어 적응이 가능하였지만, 고지방식이의 경우에는 tocopherol 투여량이 높아서 조직에 더욱 저장되었고 SOD와 GSH-Px의 활성도 증가되었지만 조직중의 MDA 생성도 더욱 증가되어 투여된 tocopherol이 고지방식이로 인하여 조직에 incorporation된 PUFA의 지질 과산화물의 생성을 전부 억제하지는 못하였다고 사려된다.

Plasma와 조직의 지방산 조성은 체내에서 생합성된 것 뿐만 아니라 식이로 섭취하는 지방산의 영향을 받는다고 보고되어 왔다⁴⁰⁾⁴¹⁾. 본 연구에서도 plasma와 간조직은 식이지방의 지방산조성을 잘 반영하였다고 본다. 저지방식이 경우, plasma에서 c20 : 4 분포가 FO군에 비해 BT와 CO군에서 유의성있게 더 높았던 것은 c18 : 2가 빠르게 대사되어 c20 : 4로 전환되었을 것이며, FO군에서는 식이에 함유된 c20 : 5와 c22 : 6 지방산에 의해서 c20 : 4의 상대적 분포가 더 낮아졌다고 본다. 지방산 c18 : 3은 들기름에만 함유되어 있으며 같은 계열의 n-3 c20 : 5와 c22 : 6로 전환이 되어 이 지방산들의 분포가 PO군에서는 더 높을 것을 기대했으나 유의성있게 높아지지는 않았던것은 c18 : 3이 전환되는 정도가 미약한데다가 개체간의 변화가 커서 유의성이 있을 정도로 그 분포가 높아지지는 않았지만 모든 종류의 n-3 지방산의 분포도는 BT나 CO군에 비해 PO군에서 더 증가되었으며, FO군에서는 preformed 된 n-3 지방산으로 투여하여 CO군에 비해 유의성있게 더 높았고 총 n-3 지방산의 분포도 가장 높았다. 간조직에서 특히 PO군의 c18 : 2의 분포가 CO군과

거의 같은 수준이었으나 c20 : 4의 분포는 CO군에 비해 유의성있게 더 낮았던 것은 c18 : 3이 간세포 내에서 같은 계열의 c20 : 5, c22 : 5, c22 : 6로 어느정도 전환되어 이 n-3 지방산에 의해 방해받았을 것이라고 본다. FO군에서는 식이에 이미 함유된 n-3 지방산에 의해서 방해받았을 것이며 또 c20 : 5와 c22 : 6이 더 많이 분포되었기 때문에 상대적으로 c20 : 4의 분포가 더욱 낮게 되었다고 사려된다. 고지방식의 경우, plasma와 간조직에서 전체적인 지방산 profile은 저지방식의 경우와 같은 경향이었으나 간조직에서 PO군의 c20 : 5와 c22 : 5의 분포가 더 높아져서 총 n-3 지방산의 분포가 증가되었다는 것은 c18 : 3 지방산의 투여량이 더 많았기 때문에 더욱 전환이 된 것으로 사려되며, 더욱 많은 양을 투여한다면 c22 : 6까지도 증가될 것으로 생각한다.

Peroxidizability index란 지방산의 불포화도에 따라 산화가능성을 나타내 주는데⁴²⁾ plasma에서 보편 식이의 지방산조성처럼 변화가 있는 것은 아니었으며 지방투여량이 증가되었을 때 불포화지방산의 함량이 높은 식이군에서 더 높았지만 지방의 종류에 의한 차이를 보이지는 않았다. 그러나 간조직에서는 어유를 투여한 군에서만 다른 군에 비해서 PI값이 더 높았던 것은 n-3 지방산이 더 분포되었기 때문이며 지방의 투여량이 증가되면 PI값도 더욱 증가되었으므로 불포화도가 높은 지방산의 섭취가 높으면 그만큼 조직으로 incorporation된 지방산의 함량이 높으므로 세포막의 integrity가 손상될 가능성이 더욱 크다고 본다. 항산화효소가 증가되어 free radical 형성을 막아주도록 적응이 생긴다고 하지만 고불포화지방을 투여할 때는 tocopherol을 아무리 같이 많이 섭취한다 해도 이와같은 산화가능성을 완전히 배제할 수는 없다고 본다.

결 론

본 연구에서는 Sprague Dawley종 수컷쥐에게 지방산의 조성이 다른 지방을 투여하였을 때 식이 지방의 총섭취량(10%, 40% kcal)에 따라 beef tallow, corn oil, perilla oil, fish oil이 plasma와 조직의

지방산조성과 과산화상태 및 항산화효소(SOD, GSH-Px) 수준에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Plasma tocopherol은 지방의 투여량과 관계없이 beef tallow에 비해서 n-3 EPA와 DHA 함량이 높은 fish oil을 투여한 군에서 유의성있게 더 낮았다. 지방의 수준이 높았을 때는 BT에 비해 CO, PO, FO에 의해서 plasma의 PI값이 증가되었으나 plasma MDA 함량은 지방의 수준과 종류에 의해서 영향을 받지 않았다. RBC membrane의 tocopherol과 MDA 함량은 지방의 총량과 종류에 의해서 유의성있는 영향을 받지 않았으며 hemolysis는 PO와 FO에 의해서 증가되는 경향이였다.

2) 간의 tocopherol 함량은 지방의 투여량과 종류에 의해서 유의성있는 영향을 받지 않았으며 MDA 함량은 지방의 수준이 높을 때 fish oil에 의해서만 유의성있게 증가되었다. 지방의 수준이 높을 때 PI값은 같이 증가된 경향이였으며, 지방의 투여량과 관계없이 fish oil에 의해서는 증가된 경향이였다. 간조직의 항산화효소인 SOD와 GSH-Px 활성도도 지방량에 관계없이 불포화도가 높은 perilla oil과 fish oil에 의해서는 증가된 경향이였다. Corn oil에 비하여 perilla oil과 fish oil에 의해서 간조직의 c20 : 4 지방산의 분포는 감소되었고 c20 : 5는 증가되었으며, perilla oil의 투여량이 증가되었을 때 조직의 n-3 fatty acids의 분포는 증가되었다.

결론적으로, 저지방식을 할 때는 투여한 tocopherol에 의해서 조직내의 PUFA의 자동산화를 막아줄 수 있었으나 고지방식에서는 SOD와 GSH-Px 활성이 높아져도 RBC와 간조직의 MDA는 오히려 증가되어 지질 과산화물의 생성을 막아주지 못하였다. 그러므로 고도로 불포화된 EPA와 DHA가 다량 함유된 fish oil을 장기간 섭취할 때, 다량의 tocopherol을 아무리 같이 섭취한다고 해도 세포막의 산화 가능성이 증가되므로 다량 장기간 섭취하는 것은 권장할 수 없다고 사려된다.

Literature cited

- 1) Lipid Research Clinics Program : The lipid re-

- search clinics, coronary primary prevention trial results. *J Am Med Assoc* 251 : 365-374, 1984
- 2) Kramer FB, Greenfield M, Tobey TA, Reaven GM. Effect of moderate increase in dietary polyunsaturated : saturated fat on plasma triglyceride and cholesterol levels in man. *Br J Nutr* 47 : 259-268, 1982
 - 3) Paul R, Ramesha CS, Ganguly J. On the mechanism of hypocholesterolemic effects of polyunsaturated lipids. *Adv Lipid Res* 17 : 155-177, 1980
 - 4) Hwang DH, Boudreau M, Chanmugam P. Dietary linoleic acid and longer chain n-3 fatty acids : comparison of effects on arachidonic acid metabolism in rats. *J Nutr* 118 : 427-437, 1988
 - 5) Gorlin R. The biological actions and potential clinical significance of dietary w-3 fatty acids. *Arch Intern Med* 148 : 2043-2048, 1988
 - 6) Simopoulos AP. Summary of the NATO advanced research workshop on dietary w3 and w6 fatty acids : Biological effects and nutritional essentiality. *J Nutr* 119 : 521-528, 1989
 - 7) Stacpoole P, Alig J, Ammon L, Crockett SE. Dose response effects of dietary marine oil on carbohydrate and lipid metabolism in normal subjects and patients with hypertriglyceridemia. *Metabolism* 38 (10) : 946-956, 1989
 - 8) Hu ML, Frankel EN, Leiboritz BE, Tappel ALL. Effect of dietary lipids and vitamin E on in vitro lipid peroxidation in rat liver and kidney homogenates. *J Nutr* 119 : 1574-1582, 1989
 - 9) Garrido A, Garrido F, Guerra R, Valenzuela A. Ingestion of high doses of fish oil increases the susceptibility of cellular membranes to the induction of oxidative stress. *Lipids* 24 : 833-835, 1989
 - 10) Meydani M, Macauley JB, Blumberg JB. Effect of dietary vitamin E and selenium on susceptibility of brain regions to lipid peroxidation. *Lipids* 23 : 405-409, 1988
 - 11) 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
 - 12) Mouri K, Ikesu H, Esaka T, Igarashi O. The influence of marine oil intake upon levels of α -tocopherol and lipid peroxidation in serum and liver of rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 30 : 307-318, 1984
 - 13) Bieri JG, Thorp SL, Tolliver TJ. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on tissue vitamin E status. *J Nutr* 108 : 392-398, 1978
 - 14) Lehmann J, Marshall MW, Slorer HT, Lacono JM. Influence of dietary fat level and dietary tocopherols on plasma tocopherols of human subjects. *J Nutr* 107 : 1006-1015, 1977
 - 15) Geller BL, Winge DR. Subcellular distribution of superoxide dismutase in rat liver. *Methods in Enzymology* 105 : 114-130, 1984
 - 16) Desai ID. Vitamin E analysis methods for animal tissues. *Methods in Enzymology* 105 : 138-155, 1984
 - 17) Yagi K. Lipid peroxidations in biology and medicine. P223, Academic press, N.Y. 1982
 - 18) Taylor SL, Lamden MP, Trappel AL. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis. *Lipids* 11 : 530-538, 1976
 - 19) Drapper HH, Csallany AS. A simplified hemolysis test for vitamin E deficiency. *J Nutr* 98 : 390-394, 1969
 - 20) Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *Methods in Enzymology* 105 : 88-93, 1984
 - 21) Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione. *J Lab Clin Med* 70 : 158-169, 1967
 - 22) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RT. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
 - 23) Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226 : 497-509, 1957
 - 24) Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acids methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J Lipid Res* 5 : 600-608, 1968
 - 25) Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage : protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1 : 441-445, 1987

- 26) Braugher JM, Travis MA, Chase RL. Dietary α -tocopherol and lipid peroxidation <letter>. *Free Radical Biol Med* 3 : 363-364, 1987
- 27) Bieri JG, Poukka RKH. In vitro hemolysis as related to rat erythrocyte content of α -tocopherol and polyunsaturated fatty acids. *J Nutr* 100 : 557-564, 1970
- 28) Iritani N, Fukuda E, Kitamura Y. Effect of corn oil feeding on lipid peroxidation in rats. *J Nutr* 110 : 924-930, 1980
- 29) Horwitt MK, Harvey CC, Dahm CC, Searay MT. Relationship between tocopherol and serum lipids levels for determination of nutritional adequacy. *ANN NY Acad Sci* 203 : 223-236, 1972
- 30) Vatassery GT, Krezowski AM, Eckfeldt AM. Vitamin E in concentrations in human blood plasma and platelets. *Am J Clin Nutr* 37 : 1020-1024, 1983
- 31) Park HS, Han SH. Effect of n3 polyunsaturated fatty acids on serum lipoprotein and lipid compositions in human subjects. *Korean J Nutr* 21(1) : 61-74, 1988
- 32) Bieri JB, Ewart RP. Effect of plasma lipid level and obesity on tissue stores of α -tocopherol. *Proc Soc Exp Biol Med* 149 : 500-502, 1975
- 33) Nam JH, Park HS. Differential effect of n6 and n3 polyunsaturated fatty acids on plasma lipids in rats fed low and high fat diets. *Korean J Nutr* 24(4) : 314-325, 1991
- 34) Park HS, Song JH. Effect of dietary fatty acids and the degree of fat unsaturation on fatty acid profile and lipid peroxidation status in rats. *Korean Biochem J* 25(7) : 609-617, 1992
- 35) Keen CL, Tamura T, Lonnerdal B, Hurley LS, Halsted CH. Changes in hepatic superoxide dismutase activity in alcoholic monkeys. *Am J Clin Nutr* 41 : 929-932, 1985
- 36) L'abbe MR, Trick KD, Beare-Rogers JL. Dietary n-3 fatty acids affect rat heart, liver and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J Nutr* 121 : 1331-1340, 1991
- 37) Cherr SZ, Keen CL, Lonnerdal B, Hurley LS. Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in the rat : developmental correlations affected by manganese deficiency. *J Nutr* 113 : 2498-2504, 1983
- 38) Leibovitz B, Hu ML, Tappel ALL. Dietary supplemented of vitamin E, β -carotene, coenzyme Q₁₀ and selenium protect tissues against lipid peroxidation in rat tissue slices. *J Nutr* 120 : 97-104, 1990
- 39) Yoshioka T, Motoyama H, Yamasaki F, Ando M, Yamasaki M, Takehara Y. Protective effect of vitamin E against lipoperoxides in developing rats. *Biol Neonate* 51 : 170-176, 1987
- 40) Bronsgeest-Schoute HC, van Gent CM, Luten JB, Ruiten A. The effect of various intakes of w3 fatty acids on the blood lipid composition in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 34 : 1752-1757, 1981
- 41) Boudreau MD, Chanmugam PS, Hart SB, Lee SH, Hwang DH. Lack of dose response by dietary n-3 fatty acids at a constant ratio of n-3 to n-6 fatty acids in suppressing eicosanoid biosynthesis from arachidonic acid. *Am J Clin Nutr* 54 : 111-117, 1991
- 42) Witting LA, Horwitt MK. Effect of degree of fatty acid unsaturation in tocopherol-deficiency induced creatinuria. *J Nutr* 82 : 19-24, 1964