

ω3계 및 ω6계 지방산 식이가 흰쥐의 모유와 혈청의 지방산 성분 및 비타민 E 수준에 미치는 영향*

황혜진 · 정은정 · 이종호 · 지규만** · 이양자

연세대학교 생활과학대학 식품영양학과

고려대학교 자연자원대학 축산학과**

Effects of ω3 and ω6 Polyunsaturated Fatty Acid Diets on Fatty Acid Composition and Vitamin E Levels in Milk and Serum of the Rat

Hwang, Hye Jin · Chung, Eun Jung · Lee, Jong Ho

Chee, Kew Mahn* · Lee, Yang Cha

Department of Food & Nutrition, College of Human Ecology, Yonsei University, Seoul, Korea

Animal Science Department, College of Natural Resources, Korea University, Seoul, Korea

ABSTRACT

The effects of feeding diets with different fatty acids on the composition of fatty acids and vitamin E status in maternal milk & serum and pup's serum were studied. Dietary fats(10% by wt) include corn oil(CO), soybean oil(SO), perilla seed oil(PO : about 60%, C18 : 3 ω3) and fish oil(FO : rich in C20 : 5ω3, eicosapentaenoic acid=EPA & 22 : 6ω3, docosahexaenoic acid=DHA), Sprague-Dawley rats weighing 200-250g, were fed experimental diets from pregnancy through lactation period. Maternal milk was obtained by gentle squeezing after 30 minutes of oxytocin(0.2 IU, intraperitoneal) injection. The fatty acid compositions of milk and serum were analyzed at day-2 and day-15. The concentrations of vitamin E in maternal milk and serum and pup's serum were also analyzed.

The groups of CO, SO and PO which had no DHA in their diet, contained DHA in their milk. The ratios of EPA+DHA/arachidonic acid(AA) were higher in PO group than those in either CO or SO group. This seemed to be due not only to more conversion from C18 : 3ω3 to C20 : 5ω3 and C22 : 6ω3 but also to inhibition of C18 : 2ω6 conversion to C20 : 4ω6. More DHA was found in day-2 milk than in day-15 milk. It was also noted that milk contained more DHA than serum and this difference was larger in day-2 than in day-15 milk.

Even though the concentrations of vitamin E both in maternal serum and milk were lower in PO and FO groups fed highly unsaturated fat than in CO or SO groups, pup's serum did not show a significant difference among all the experimental groups indicating that the

pups may secure their essential nutrients by the biomagnification mechanism.

KEY WORDS : $\omega 3/\omega 6$ fatty acids · milk · serum · vitamin E.

서 론

$\omega 3$ 계 long chain polyunsaturated fatty acids(LC-PUFA)인 docosahexaenoic acid(DHA)가 두뇌 발달 및 영유아 발달에 중요한 역할을 함이 밝혀져 $\omega 3$ 계 지방산의 필수성이 강조되고 있다¹⁻⁴⁾. DHA는 두뇌 지방의 중요한 성분으로서, 대뇌 피질과 망막의 인지질 성분으로 다량 존재함이 알려졌다⁵⁾, 이의 고갈은 두뇌의 물리적, 기능적 특성의 변화를 초래한다고 보고되기도 하였다⁶⁾.

$\omega 3$ 계 지방산이 질병 예방과 건강 증진에 있어 중요함이 더욱 강조된 것이 영아의 성장에 필수적인 모유의 성분으로 상당량 함유되어 있음이 밝혀진 점이다⁷⁾.

유아기의 신경조직 발달의 myelination과정에서 많은 양의 인지질과 LCPUFA를 필요로 하며, 이들 인지질과 필수 지방산이 시(視)세포에 많이 존재한다고 하여 모유의 지질성분이 유아의 신경계 발달에 중요함도 지적되었다⁸⁻⁹⁾. 모유에는 $\omega 3$ 계 지방산인 α -linolenic acid(α -LNA), EPA 및 DHA가 정상성장을 위해 상당량 함유되어 있음이 알려졌다¹⁰⁻¹¹⁾ 분유로 자란 아이가 모유로 자란 아이보다 학습능력에 있어 차이가 있었으며¹²⁾, 이때 적혈구 내 인지질의 DHA가 결여되어 있음이 보고되었다^{13, 14)}. 또한 영유아의 경우 α -LNA와 linoleic acid(LA)의 LCPUFA로의 전환이 불완전하므로, 뇌 발달에 필수적인 LCPUFA의 공급을 확보해줌이 중요할 것으로 지적되기도 하였다¹⁵⁾. 모유의 지방산 성분이 뇌 발달에 영향을 미친다는 사실이 알려지면서, $\omega 3$ 계 지방산인 α -LNA부터 DHA로의 전환에 관한 이론에 대해, 그리고 태아의 경우 DHA를 태반으로부터 우선적으로 공급받는지, 태아가 DHA를 어느정도 합성하는지 또한 갓 태어났을 때 모유의 공급여하가 신경계 발달에 어느정도 영향을 주는지에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다¹⁶⁻¹⁷⁾.

본 연구에서는 $\omega 3$ 와 $\omega 6$ 계 지방산 조성이 서로

다른 식이가 수유 2일과 15일의 모유성분에 미치는 영향과, 어미 및 제 2 세대 쥐의 혈청 지방산과 비타민 E 수준에 미치는 영향에 대해 알아보았다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험기간

체중이 200~250g인 Sprague Dawley strain의 흰 쥐를 연세대학교 의과대학 동물사육실에서 공급받아 실험에 사용하였다. 각 실험 동물은 3일간 시판 배합사료를 주면서 환경에 적응시켰으며, 임신이 확인된 쥐는 한마리씩 각각의 cage에 넣어 분리 사육하여 식이를 공급하였고, 각 군당 어미쥐는 5~7마리로 하였다. 출산 후 2일째(Day-2)와 수유 15일째(Day-15)의 실험 동물은 모유의 축적을 위해 희생 전날 오후부터, 약 16시간동안 어미쥐와 새끼쥐를 분리시켜 두었다. 모유채취 30분 전에 oxytocin(Sigma Co.)을 0.2 IU 복강내 주사한 뒤, 마취제로는 Ketaset(ketamin hydrochloride, 0.1ml/체중 kg)을 사용하여 마취시킨 후 모유를 채취하였다. 혈액은 복부 대동맥을 통해 채취하였으며, 상온에서 40분 방치후 3000rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었다.

2. 실험식이 조성

실험식이 조성은 Table 1에서와 같이 4군으로 분류하였으며 지방질 수준은 전체 무게의 10%로서 I(CO)군에서는 $\omega 6$ 계 LA의 급원으로 옥수수기름(두산곡산)을 사용하였고, II군(SO)에서는 α -LNA가 약 6%, LA가 56% 함유되어 있는 콩기름(동방유량)을 지방질 급원으로 사용하였다. III군(PO)에서는 $\omega 3$ 계 α -LNA의 급원으로 들깨기름을 사용하였으며 IV(FO)군에서는 $\omega 3$ 계 LCPUFA인 EPA와 DHA의 급원으로 생선기름(풀무원 식품)을 사용하였다. IV군에서는 LA를 공급하기 위해 지방함량 10%중 1%를 옥수수기름으로 대체하여 공급하였

다. Table 2에는 식험 식이에 있어서 $\omega 3$ 와 $\omega 6$ 계 지방산의 비율과 polyunsaturated/monounsaturated/saturated(P/M/S) 지방산의 비율을 나타내었다.

3. 생화학적 분석

1) 혈청과 모유의 지방산 분석

혈청 150 μ l와 모유 25 μ l을 정확히 취하여 시험

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Experimental Groups			
	CO ¹⁾	SO	PO	FO
	wt %			
Carbohydrate	65	65	65	65
Protein : Casein	18	18	18	18
dl-Met	0.1	0.1	0.1	0.1
Fat : Corn oil	10	—	—	1
Soybean oil	—	10	—	—
Perilla oil	—	—	10	—
Fish oil	—	—	—	9
Salt Mixture ²⁾	4	4	4	4
Vitamin Mixture ²⁾	1	1	1	1
CMC ²⁾	2	2	2	2

1) CO : Corn Oil SO : Soybean Oil

 PO : Perilla Oil FO : Fish Oil

(No additional vitamin E is supplemented)

2) Salt Mixture(g per 100g Salt Mixture)

CaHCO₃ 29.29 ; CaHPO₄ · 2H₂O 0.43 ; KH₂PO₄ 34.31 ; NaCl 25.6 ; MaSO₄ · 7H₂O 9.98 ;

Fe(C₆H₅O)₇ · 6H₂O 0.623 ; CuSO₄ · 4H₂O.156 ; MnSO₄ · H₂O 0.121 ; ZnCl₂ ; KI .0005 ; Na₂SeO₃ · H₂O 0.0015 ; (NH₄)Mo₇O₂₄ · 4H₂O 0.0025

3) Vitamin mixture(mg per kg Diet)

Thiamin chloride 5 ; Riboflavin 5 ; Nicotinamide 25 ; Ca-pantothenate 20 ; Pyridoxine chloride 5 ;

Folic acid .5 ; Biotin 0.2 ; Vitamin B₁₂ 0.03 ; D1- α -tocopherol acetate 100 ; Retinyl palmitate 2.196 ;

Cholcalciferol(μ g) 10 ; Choline chloride 2000 ; Ascorbic acid 50 ; Menadione .5 ; Inositol 100

4) Carboxymethyl Cellulose

Table 2. $\omega 3$ and $\omega 6$ series fatty acids contained in Dietary fats¹⁾

	Experimental Groups			
	CO ¹⁾	SO	PO	FO
	wt %			
$\omega 6$: C18 : 2	58.11	54.74	13.13	3.92
C20 : 4	0.07	0.67	0.18	0.09
$\omega 3$: C18 : 3(α -LNA)	0.82	5.78	56.81	0.14
C20 : 5(EPA)	—	0.01	—	22.32
C22 : 6(DHA)	—	—	—	6.07
$\omega 6/\omega 3$	70.97	9.36	0.23	0.12
P/M/S ²⁾	4.6/2.2/1	4.1/1.5/1	7.7/2.2/1	1.6/1.5/1

1) Values are expressed as the % of total fatty acids

2) Polyunsaturated/Monounsaturated/Saturated Fatty Acids

관에 각각 모은 후, 2ml의 methanol : benzene(4 : 1, v/v) 용액을 첨가하였다. Magnetic stirring bar를 각 시험관에 넣어 저으면서 20 μ l을 acetyl chloride를 1분 동안 천천히 가하였다. Teflon-lined cap으로 시험관을 단단하게 막은 후 100 $^{\circ}$ C에서 1시간동안 methanolysis 과정을 거쳤다. 시험관을 찬물에서 식힌 후 5ml의 6% K₂CO₃ 용액을 넣고, 1500rpm에서 10분간 원심분리하여 분리된 benzene층을 취하였다. 총 혈청지질의 지방산 조성은 gas liquid chromatography(Shimadzu사의 CR-6A)를 이용하여 측정하였다¹⁸⁾. Flame Ionization Detector(FID)를 사용하였으며 column은 30m fused silica capillary column이고 injector와 detector 온도는 모두 270 $^{\circ}$ C로 하였고, carrier gas인 helium의 유속은 43ml/min으로 하였다. Column 온도는 140 $^{\circ}$ C에서 220 $^{\circ}$ C까지 5 $^{\circ}$ C/min씩 상승시켰다. 표준 지방산(NuChek Prep, Inc., Minnesota, USA)을 사용하여 각 지방산의 retention time을 확인하였으며, 지방산 농도는 총 지방산량의 백분율로 표시하였다.

2) 혈청과 모유의 비타민 E 함량 분석

혈청과 모유 각각 0.5ml에 25% Na-ascorbate 0.5ml과 5% NaOH 1ml을 가한후 70 $^{\circ}$ C 수조상에서 30분간 가열하여 검화시켰다. Hexane 5ml을 가하여 vortex mixer로 잘 섞은 후 3000rpm에서 원심분리하였다. 상층액(hexane층) 3.5ml을 취하여 vacuum evaporator를 이용해 40 $^{\circ}$ C에서 건조시켰다. 건조시켜 얻은 각각의 지용성 비타민 시료에 직사광선을 피한 상태에서 HPLC grade methanol 100 μ l을 가하고 vortex mixer로 잘 섞으면서 녹인 후 그중 40 μ l을 취하여 HPLC(Waters 600 multisolvent delivery system)에 주입하였다. Detector로는 Waters 490 programmable multiwavelength detector, Integrator로는 Young-in 520A를, column은 BondapakTMC 18 column을 사용하였으며 유속은 1.5ml/min으로 하여, 파장 285nm에서 UV 검출기로 측정하였다. 표준 비타민 E인 dl- α -tocopherol(Merk Co., USA)의 retention time과 비교하여 측정하였다¹⁹⁾.

4. 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 statistics를 이용

하여 각 실험식이별로 평균치와 표준오차를 산출하였고, 각 실험식이별 평균치간의 유의성은 p=0.05 유의수준에서 one way ANOVA 및 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 모유와 혈청의 지방산 조성의 변화

Table 3과 Table 4에는 출산 후 15일(Day-15)에 채취한 어미쥐의 모유와 혈청의 지방산 조성을 각각 나타내었다. 모유성분의 경우 α -LNA(C18 : 3 ω 3)를 많이 함유한(약 60%) 들깨기름(PO)군에서 약 80%의 α -LNA 농도가 조절되어 나타난 바, PO군의 경우는 7.28%, DHA는 2.4%로, CO군(2.0%) 및 SO군(2.5%)와 유사한 값이었다. 이러한 조절은 간을 비롯한 조직에서의 합성 및 지방조직에 축적된 지방산에 의해 영향을 받을 수 있다고 생각된다. 본 연구팀의 뇌조직에 대한 연구²⁰⁾에서 α -LNA가 매우 소량 존재하는 CO군과 이 지방산이 약 60% 존재하는 PO군과 비교하였을 때, 모든 실험군의 뇌조직에서 α -LNA의 조성비율이 매우 낮은 수준으로 유사하게 나타났으나, DHA는 그 전구체인 α -LNA보다 훨씬 많은 조성(5.34~{ \sum } \langle ±)으로 나타났다 \sum 이를 통하여 α -LNA가 뇌조직에는 매우 낮은 수준으로 유지되는 특이한 blood-brain barrier의 조절기전을 갖고 있음을 알 수 있었다. 본 실험에서도 혈청의 경우 식이내의 α -LNA의 함량이 매우 낮은 CO군의 DHA 수준이 나머지 다른 군과 거의 비슷한 수준을 나타내었다.

Neuringer^{21,22)} 등은 α -LNA가 소량 함유되어 있는 홍화유군의 새끼쥐 혈청 DHA 수준이, α -LNA를 8%나 함유하는 콩기름의 경우보다는 낮은 수준이지만 홍화유군 혈청에 존재하는 것으로 나타나, 이는 DHA가 태반이나 모유로부터 공급받기 때문이라 지적한 바 있다. 모유의 경우, CO, SO 및 PO 식이에 DHA가 존재하지 않음에도 불구하고, 모든 군의 모유에 DHA가 함유(CO : 0.22%, SO : 0.39%, PO : 0.31%)되어 있었다. 이점은 모체의 지방조직에 이미 축적되어 있던^{23,24)} ω 3계 지방산인 α -LNA나 DHA가 모체의 간에서 합성된 DHA가²⁵⁾

모유 DHA의 급원이 될 수 있음을 시사해 준다. 한편 α -LNA가 약 30%나 존재하는 PO군 모유에 있어서 DHA는 다른 군들과 유사한 값을 보여주어 α -LNA로부터 DHA의 전환이 조절됨을 알 수 있다. 사람의 경우 α -LNA로부터 DHA로의 전환은 가능하나 매우 비효율적임이 지적된 바 있다^{26,27)}. 뇌조직 DHA는 그 필수성으로 인해 biomagnification 기전에 의하여 어미 혈청으로부터 태아 뇌조직에 확보됨이 지적되고 있다²⁷⁾. 성장 발달에 있어서

DHA의 중요한 역할을 감안할 때, 특히 미숙아의 DHA 영양상태는 매우 중요한 의미를 갖는다¹³⁾.

혈청과 모유의 P/M/S 비율을 살펴보면 단일불포화지방산의 비율이 포화지방산이나, 고도불포화지방산보다 일률적으로 낮게 나타났으나, 각 실험군간의 차이는 식이지방산의 비율보다 좁혀졌다 (Table 3). 혈청의 $\omega 6/\omega 3$ 지방산 비율은 $\omega 3$ 계인 α -LNA 함량이 매우 높은 PO군과 EPA와 DHA의 함량이 높은 FO군에서 낮게 나타났고, 식이내의

Table 3. Effect of various dietary fats on the fatty acid composition of rat milk at lactation day 15¹⁾

Fatty acid	Experimental Groups			
	CO	SO	PO	FO
	wt %			
14 : 0	10.66 ± 0.77 ^{ab}	6.35 ± 1.62 ^a	12.39 ± 0.92 ^{bc}	15.39 ± 1.24 ^c
16 : 0	21.64 ± 1.28 ^{abc}	19.29 ± 0.97 ^a	19.96 ± 1.36 ^{ab}	25.69 ± 0.90 ^c
16 : 1 $\omega 7$	0.40 ± 0.14 ^a	1.05 ± 0.23 ^a	0.56 ± 0.13 ^a	4.60 ± 0.62 ^b
18 : 0	2.18 ± 0.22	3.89 ± 0.23	3.24 ± 0.08	4.20 ± 0.24
18 : 1 $\omega 9$	21.49 ± 0.86 ^b	21.21 ± 1.79 ^b	14.11 ± 0.57 ^a	13.53 ± 1.08 ^a
18 : 2 $\omega 6$	30.57 ± 1.62 ^b	32.40 ± 1.16 ^b	9.85 ± 0.32 ^a	11.57 ± 0.23 ^a
18 : 3 $\omega 3$	0.59 ± 0.20 ^{ab}	2.30 ± 0.60 ^b	30.32 ± 0.69 ^c	0.78 ± 0.07 ^{ab}
20 : 0	0.37 ± 0.12	0.38 ± 0.21	0.27 ± 0.08	0.60 ± 0.18
20 : 1 $\omega 9$	0.37 ± 0.09	0.30 ± 0.15	0.17 ± 0.05	0.30 ± 0.08
20 : 2 $\omega 6$	0.53 ± 0.07	0.46 ± 0.14	0.28 ± 0.05	0.21 ± 0.10
20 : 3	0.90 ± 0.20 ^b	0.49 ± 0.10 ^{ab}	0.27 ± 0.07 ^a	0.46 ± 0.13 ^{ab}
20 : 4 $\omega 6$	0.78 ± 0.22 ^a	1.52 ± 0.10 ^b	0.30 ± 0.03 ^a	0.58 ± 0.07 ^a
20 : 5 $\omega 3$	0.24 ± 0.14 ^a	0.11 ± 0.08 ^a	1.11 ± 0.15 ^b	7.81 ± 0.89 ^c
22 : 1 $\omega 9$	0.21 ± 0.08	0.25 ± 0.10	0.50 ± 0.12	0.26 ± 0.06
24 : 0	0.22 ± 0.06 ^{bc}	0.38 ± 0.07 ^c	0.00 ± 0.00 ^a	0.12 ± 0.07 ^{ab}
24 : 1 $\omega 9$	0.27 ± 0.10 ^{ab}	0.21 ± 0.05 ^{ab}	0.38 ± 0.04 ^b	0.16 ± 0.06 ^{ab}
22 : 6 $\omega 3$	0.22 ± 0.07 ^a	0.39 ± 0.04 ^a	0.31 ± 0.05 ^a	5.73 ± 0.67 ^b
PUFA ²⁾	33.82 ± 1.85 ^b	37.67 ± 1.00 ^b	42.42 ± 0.68 ^c	27.13 ± 0.85 ^a
MFA ³⁾	22.75 ± 0.91 ^b	22.93 ± 2.08 ^b	15.71 ± 0.60 ^a	18.85 ± 0.73 ^{ab}
SFA ⁴⁾	35.23 ± 2.18 ^a	30.30 ± 2.24 ^a	35.79 ± 2.09 ^a	45.99 ± 2.09 ^b
P/M/S	0.97/0.65/1	1.24/0.76/1	1.19/0.44/1	0.59/0.41/1
Total $\omega 6$ ⁵⁾	32.77 ± 1.78 ^b	34.87 ± 1.29 ^b	10.68 ± 0.31 ^a	12.80 ± 1.76 ^a
Total $\omega 3$ ⁶⁾	1.04 ± 0.23 ^a	2.79 ± 0.64 ^a	31.73 ± 0.61 ^c	14.31 ± 1.49 ^b
$\omega 6/\omega 3$	23.20 ± 1.69 ^c	11.30 ± 2.02 ^b	0.34 ± 0.01 ^a	1.01 ± 0.26 ^a

1) Values are means ± SEM (n=5-7/group) and expressed as the relative % of total fatty acids. Values in a row not sharing a common superscript are significantly different each other (p < 0.05) by Duncan's multiple range test.

2) PUFA : Polyunsaturated fatty acids

3) MFA : Monounsaturated fatty acids

4) SFA : Saturated fatty acids

5) Total $\omega 6$: C18 : 2 + C20 : 2 + C20 : 4

6) Total $\omega 3$: C18 : 3 + C20 : 5 + C22 : 6

모유와 혈청의 w3/w6 지방산과 비타민 E

ω6/ω3 비율이 71.0으로 매우 높은 CO군의 경우 혈청에서의 비율은 11.9로 나타났다(Table 4).

Fig. 1에는 Day-2와 Day-15 모유의 EPA와 DHA 함량비율을 나타내었다. Day-2의 모유는 DHA가 EPA함량 비율보다 모든 군에서 높았으나 Day-15 모유의 경우는 PO와 FO군에서 특히 DHA가 EPA보다 낮은 조성비율을 나타내어, 수유기가 경과되면서 DHA/EPA 비율이 감소되었으며 이러한 사실은 뇌발달이 급격히 일어나는 수유초기에

DHA가 필수적임을 지적해 준다. 이러한 생리적인 변화의 중요성에 대해 Wheeler등⁹⁾은 이들 LC-PUFA가 유아의 뇌세포 및 중추신경의 발달에 중요한 역할을 하며, 포도상구균의 감염으로부터 방어작용을 한다고 하였다. 모유에 함유된 지방산은 혈액 지단백질로부터 유래되든지, 유선의 alveolar cell에서 형성되며, 유선에서 합성되는 지방산은 주로 lauric acid(C12:0)와 myristic acid(C14:0)이고 palmitic acid(C16:0)보다 탄소수가 많은 고

Table 4. Effect of various dietary fats on the fatty acid composition of rat serum at lactation day 15¹⁾

Fatty acid	Experimental Groups			
	CO	SO	PO	FO
	wt %			
14 : 0	0.95 ± 0.15 ^a	1.94 ± 0.21 ^{ab}	2.89 ± 0.35 ^b	1.92 ± 0.41 ^{ab}
16 : 0	13.44 ± 0.82 ^a	16.51 ± 0.57 ^{ab}	17.30 ± 1.36 ^{bc}	20.18 ± 0.48 ^c
16 : 1 ω7	0.51 ± 0.11 ^a	0.42 ± 0.11 ^a	0.64 ± 0.11 ^a	2.27 ± 0.22 ^b
18 : 0	11.87 ± 0.94 ^{ab}	9.13 ± 0.96 ^a	14.93 ± 1.29 ^b	13.83 ± 1.38 ^b
18 : 1 ω9	10.26 ± 0.93 ^b	7.20 ± 0.68 ^a	9.81 ± 0.38 ^{ab}	10.78 ± 0.63 ^b
18 : 2 ω6	14.43 ± 0.88 ^{abc}	20.09 ± 1.66 ^c	16.50 ± 1.56 ^{bc}	8.66 ± 1.01 ^a
18 : 3 ω3	0.76 ± 0.28 ^a	3.01 ± 1.45 ^{ab}	7.28 ± 0.80 ^b	1.52 ± 1.04 ^{ab}
20 : 0	0.88 ± 0.14 ^b	0.49 ± 0.20 ^{ab}	0.21 ± 0.09 ^a	0.34 ± 0.16 ^{ab}
20 : 1 ω9	0.32 ± 0.14	0.63 ± 0.11	0.14 ± 0.06	0.48 ± 0.21
20 : 2 ω6	0.89 ± 0.28	0.40 ± 0.39	0.24 ± 0.11	0.43 ± 0.16
20 : 3	0.59 ± 0.12 ^{ab}	0.79 ± 0.17 ^b	0.21 ± 0.13 ^a	0.20 ± 0.09 ^a
20 : 4 ω6	19.93 ± 0.78 ^b	15.46 ± 1.03 ^b	6.21 ± 0.53 ^a	5.07 ± 0.66 ^a
20 : 5 ω3	0.26 ± 0.11 ^a	0.16 ± 0.06 ^a	11.12 ± 0.88 ^b	19.17 ± 0.42 ^c
22 : 1 ω9	0.16 ± 0.08 ^a	0.32 ± 0.13 ^a	0.19 ± 0.08 ^a	1.39 ± 0.41 ^b
24 : 0	0.32 ± 0.05 ^{ab}	0.69 ± 0.07 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.39 ± 0.41 ^b
24 : 1 ω9	0.55 ± 0.24	0.80 ± 0.36	0.19 ± 0.08	0.18 ± 0.17
22 : 6 ω3	2.03 ± 0.32 ^a	2.51 ± 0.21 ^a	2.40 ± 0.18 ^a	8.88 ± 0.27 ^b
PUFA ²⁾	38.90 ± 0.31	42.45 ± 2.09	44.16 ± 1.87	45.95 ± 1.69
MFA ³⁾	8.65 ± 0.48 ^a	12.34 ± 0.75 ^{bc}	10.98 ± 0.48 ^{ab}	15.15 ± 1.19 ^{cd}
SFA ⁴⁾	26.37 ± 0.17 ^a	29.15 ± 1.26 ^a	35.33 ± 0.81 ^b	36.46 ± 0.90 ^b
P/M/S	1.42/0.32/1	1.46/0.49/1	1.25/0.25/1	1.26/0.33/1
Total ω6 ⁵⁾	35.84 ± 0.47 ^c	36.76 ± 1.36 ^c	23.37 ± 1.23 ^b	14.37 ± 1.01 ^a
Total ω3 ⁶⁾	3.06 ± 0.17 ^a	5.69 ± 1.34 ^a	20.81 ± 1.16 ^b	31.57 ± 1.27 ^c
ω6/ω3	11.87 ± 0.88 ^b	7.57 ± 1.03 ^b	1.14 ± 0.08 ^a	0.45 ± 0.04 ^a

1) Values are means ± SEM (n=5-7/group) and expressed as the relative % of total fatty acids
Values in a row not sharing a common superscript are significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test

2) PUFA : Polyunsaturated fatty acids

3) MFA : Monounsaturated fatty acids

4) SFA : Saturated fatty acids

5) Total ω6 : C18 : 2 + C20 : 2 + C20 : 4

6) Total ω3 : C18 : 3 + C20 : 5 + C22 : 6

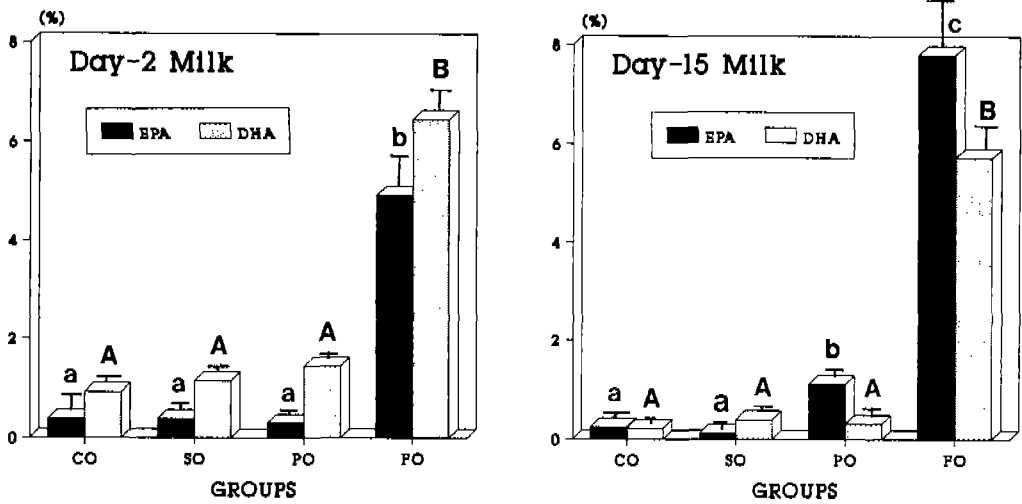
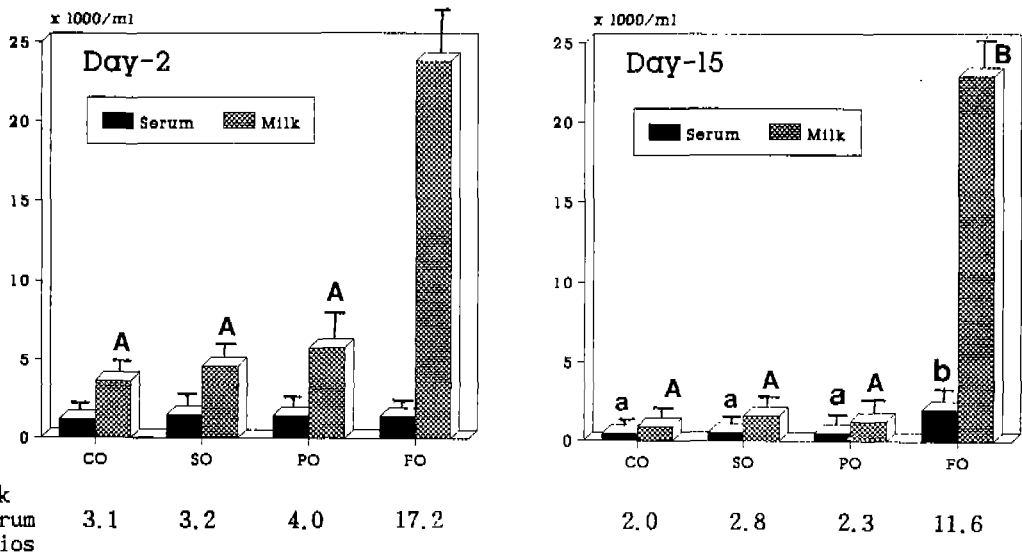


Fig. 1. Comparison between relative percentages of EPA and DHA in Maternal Milk. Values are Mean±S.E.M. Values are expressed as relative % of total fatty acids. Values with different letters(either among small or capital letters) are significantly different at $p < 0.05$.



Milk /Serum Ratios

3.1 3.2 4.0 17.2

2.0 2.8 2.3 11.6

Fig. 2. Relative comparison of amounts of DHA calculated from peak area in gas chromatography between maternal serum and milk. Values are Mean±S.E.M. Values with different letters(either among small or capital letters) are significantly different at $p < 0.05$.

금지지방산은 혈액중의 지방산으로 부터 유래된다고 하였다²⁸⁾. 또한 초유가 성숙유에 비해서 LCPUFA 함량이 높게 존재하여²⁹⁻³¹⁾, 모유의 조성이 유아의

요구에 따라 적절히 조절됨을 보여주고 있다.

모유의 $\omega 3$ 계 지방산 조성비율을 보면 FO군을 제외한 실험군에서 DHA 수준이 1% 미만임을 보

아, 혈청내의 DHA의 조성(%)보다 상당히 낮게 나타났다. 그러나, 모유내 지질 함량이 혈청보다 월등히 높음을 고려하며³²⁾ 모유와 혈청의 일정량 안에 들어있는 DHA의 함량을 비교하였다(Fig. 2). 같은 양의 모유와 혈청으로 부터 추출한 용액을 같은 조건으로 처리하여 methylation시킨 후 gas chromatogram에 나타난 면적을 계산하여 각각의 비율로 나타내었다. 그 결과 간접적인 절대량의 비교에 있어서 모유의 DHA 농도가 혈청보다 훨씬 높음을 알 수 있으며, Day-2의 경우에 모유와 혈청간의 DHA 함유량 차이가 Day-15보다 더 크게 나타남을 알 수 있었다(Fig. 2의 모유/혈청 DHA의 비율 참조).

Fig. 3에는 LCPUFA인 $\omega 3$ 계와 $\omega 6$ 계 지방산의 비율, 즉 EPA+DHA(C20:5+22:6)/AA(C20:4) 비율을 표시하였는데, 이 비율은 모유의 경우 혈청에서 보다 높게 나타났다. 특히 PO군의 경우, EPA+DHA/AA 비율이 CO와 SO군에 비해 유의적으로 높게 나타난 것은, PO군에 다량 함유된 α -LNA($\omega 3$)가 $\omega 3$ 계 LCPUFA로 전환되었을 뿐 아니라, α -LNA가 LA($\omega 6$)의 AA($\omega 6$)로의 전환을 저해함으로써 인해 초래된 결과로 생각된다(Table 3, 4 참조). Don 등³³⁾은 원숭이 뇌에서의 이러한 경쟁

관계를 보고하였는데, 식이내의 $\omega 3$ 계 지방산이 결핍된 경우, 뇌와 망막의 $\omega 6$ 계 지방산이 급속히 감소됨과 동시에 $\omega 6$ 계 지방산이 증가됨을 발견하였고, 이러한 경향은 간조직의 microsome 연구³⁴⁾에서도 유사하게 나타났다. $\omega 3$ 계 지방산과 $\omega 6$ 계 지방산의 이러한 경쟁적 효소 desaturase에 대해 일어나는 것으로 여겨지며 Δ^6 desaturase는 LA가 AA로 전환되는 과정의 rate limiting 단계 효소로서 최종산물에 의한 feed-back inhibition에 민감하여 다른 PUFA에 의해 경쟁적으로 저해를 받는다고 보고되었다³⁵⁾.

2. 혈청과 모유의 비타민 E 함량

Fig. 4에는 혈청과 모유의 비타민 E 농도를 나타내었다. 어미 혈청의 경우 식이지방의 불포화도가 높은 PO와 FO군에서 비타민 E 농도가 감소됨을 볼 수 있는데, 이는 지방의 높은 불포화도에 의해 체내 비타민 E의 요구량 및 파괴량이 증가되었거나 비타민 E의 장내 흡수가 PUFA에 의해 방해받기 때문³⁶⁾으로 설명될 수 있겠다. 본 연구팀의 이전의 연구들^{37,38)}에서 식이지방의 불포화도가 높을수록 혈청 비타민 E가 감소됨을 보고한 바 있다. Yu 등³⁹⁾은 다량의 PUFA와 비타민 E 결핍 식이로 사육한 닭의 뇌혈관 내피세포에서 subcellular 성분의 변

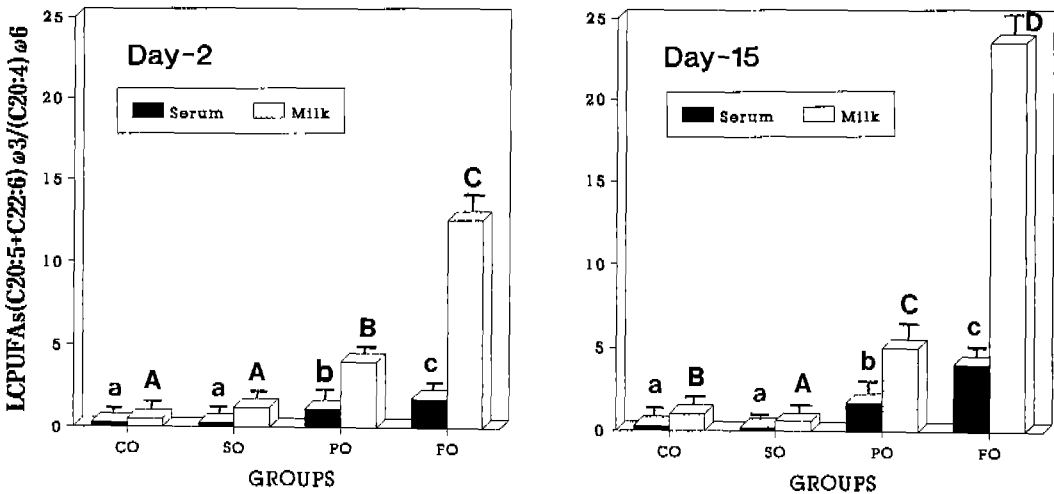


Fig. 3. Relative of long chain polyunsaturated fatty acids(LCPUFAs) in Maternal serum and milk. Values are Mean±S.E.M. Values with different letters(either among small or capital letters) are significantly different at $p < 0.05$.

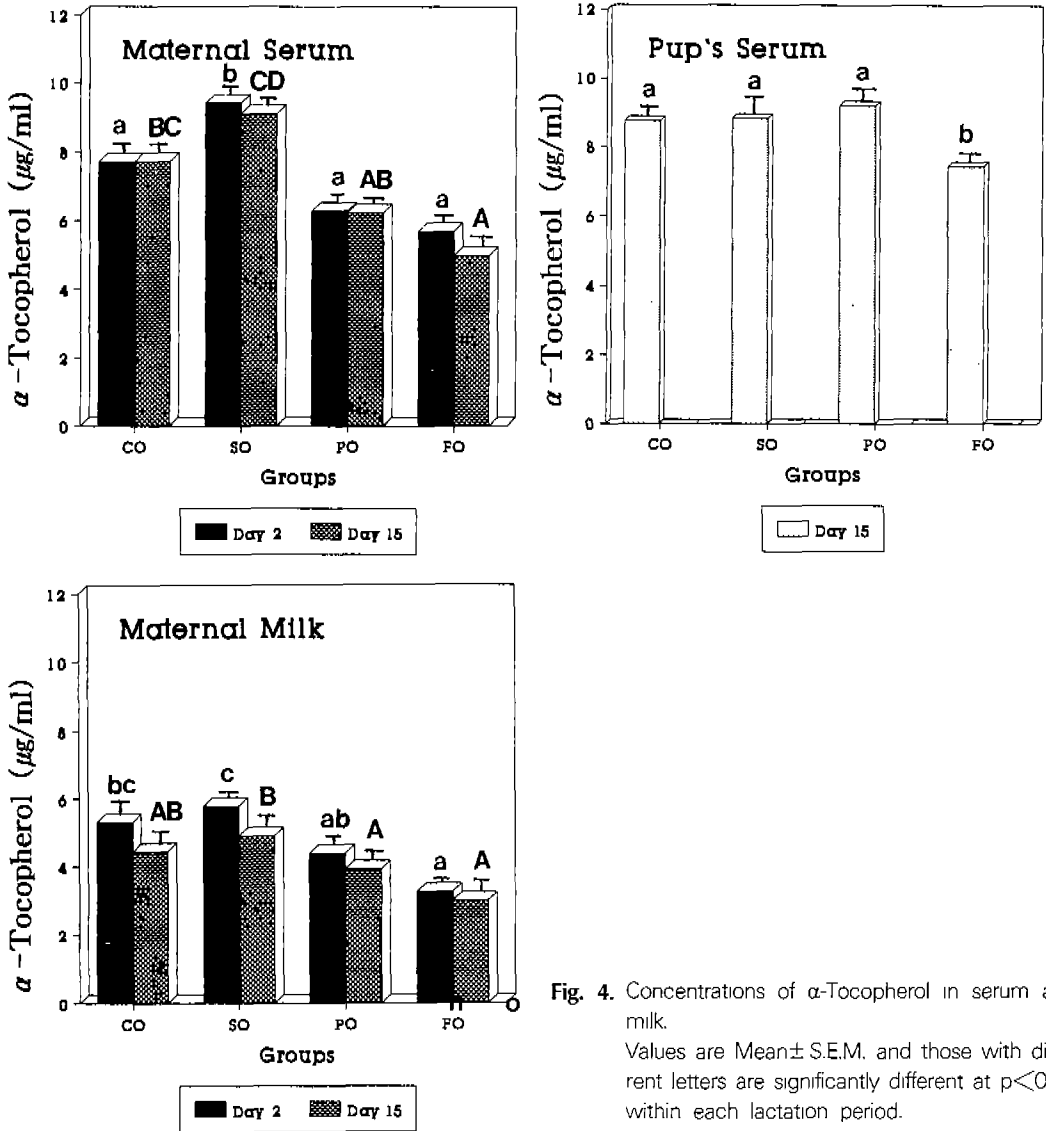


Fig. 4. Concentrations of α -Tocopherol in serum and milk.

Values are Mean \pm S.E.M. and those with different letters are significantly different at $p < 0.05$ within each lactation period.

성과 과산화적 손상을 지적하였고, 아울러 endothelium cell lysosome의 활성이 일어난다고 보고함으로써, PUFA의 과산화와 이를 억제할 수 있는 항산화 system과의 밀접한 관련성이 지적되었다. 어미와 새끼의 혈청 비타민 E 농도를 비교해 볼 때, 어미의 경우는 식이지방의 높은 불포화도가 비타민 E 농도를 감소시킨다는 이전의 결과들과 일치하는 결과를 보여주지만, 제 2 세대 혈청의 경우 실험군 간의 차이가 감소되고, 비타민 E의 농도가 어미보다

높게 나타나 신생동물에서 필수영양소를 확보하는 생리적인 기전이 있음을 지적해준다.

모유에서도 역시 비타민 E가 식이지방의 불포화도에 따라 낮아짐을 관찰할 수 있었는데, 이러한 관련성은 사람의 모유에서도 볼 수 있었다⁴⁰⁾ 모유내 비타민 E 함량은 0.3~0.6 μ g/ml인데 이 양은 현재 사람의 유아에게 권장되고 있는 최소 한계선인 0.3 μ g/ml에 해당하며 최고 한계선은 이 보다 20배 많은 30 μ g/ml으로 약 10mg/100kcal에 해당한다⁴¹⁾

Day-2 모유의 경우 Day-15보다 비타민 E의 수준이 더욱 높게 나타남은 두뇌의 중요 성분인 DHA 농도에서와 같은 방향으로 나타나, 초유의 중요성을 지적해 준다. 이 등⁴²⁾은 사람의 경우, 초유가 성숙유에 비해서 비타민 E의 수준이 2.6배라고 보고한 바 있다. 이와 같이 초유에서의 높은 비타민 E의 수준은 임신한 어미의 혈장내의 LDL에 의하여 운반된 비타민 E의 높은 함량과 관련되어 있다고 하였다. Kobayashi 등⁴³⁾은 사람의 경우, 임신 말기에 가장 높은 비타민 E 수준을 유지하다가, 분만시까지 유즙으로의 분비되므로 초유가 가장 높은 비타민 E의 농도를 유지하는 것으로 설명하였다. 유아의 영양에서 $\omega 3$ 계 특히 DHA의 필수성과 함께 비타민 E의 수준과 과산화물 형성과의 관련성에 유의해야 하겠다.

결론 및 제언

CO, SO 및 PO 식이에 DHA가 존재하지 않아도 모든 군의 모유에 DHA가 함유되어 있음을 재확인하였다. 그리고 모유의 EPA+DHA/AA 비율이 PO군의 경우에, CO와 SO군보다 높게 나타난 것은 PO군에 함유된 C18 : 3 $\omega 3$ 로부터의 전환이 촉진되고, C18 : 2 $\omega 6$ 의 C20 : 4 $\omega 6$ 로의 전환이 저해 받은 데 원인이 있다고 생각된다.

출생후 제 2일 모유의 DHA 함량 비율이 모든 군에서 EPA보다 높게 나타났으나, 수유기간이 경과되면서 DHA/EPA 비율이 감소됨을 보여주어, 수유초기에 두뇌발달을 위해 DHA가 더욱 필요함을 지적해주었다. 또한 모유는 혈청보다 더 많은 DHA를 함유하고 있으며, 출생 후 제 2일의 모유에 있어서 제 15일의 모유보다, 혈청과의 차이가 더욱 크게 나타났다.

어미취와 새끼취의 비타민 E 농도를 비교할 때, 어미혈청의 경우는 식이지방의 불포화도가 매우 높은 PO군과 FO군의 비타민 E 농도가 감소되는 경향을 보였지만, 새끼취 혈청의 경우는 실험군간의 차이가 감소되고 어미보다 높은 경향으로 나타났는데, 이는 어미와 새끼취간의 biomagnification 현상으로 간주된다.

앞으로 혈청, 모유, 지방조직, 그리고 뇌조직에 존재하는 DHA의 급원에 대해, 즉 식이 자체, 간에서의 합성을 통합 혈청으로서의 공급, 유선 조직에서의 합성 또는 지방조직의 저장이나 뇌조직 자체의 합성 등 자세한 급원과 급원 정도를 밝히는 연구가 필요하다. 또한 어미와 제 2 세대간에 나타나는 biomagnification 현상의 기전과 생체내에서의 DHA의 구조적 및 대사적 기능규명이 각 조직의 특수성을 고려한 측면에서 종합적으로 이루어져야 하겠다.

• 감사의 글

본 연구를 위하여 재정적 지원을 해 주신 한국과학재단과 실험기기 사용에 도움을 주신 고려대학교 축산학과 영양연구실의 최진호씨의 여러분들과 들깨 기름과 생선기름을 공급해주신 풀무원식품(주) 관계자에게 진심으로 감사드립니다.

Literature cited

- 1) Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 54 : 438-63, 1991
- 2) Wainwright P. Alpha-linolenic acid, long chain omega-3 fatty acids and neonatal brain development. 3rd Toronto Workshop on Essential Fatty acids, Department of Nutrition Sciences and Continuing Education, P3, 1991
- 3) William E, Conner MD, Neuringer M and Reisbick S. Essential fatty acids : The importance of n-3 fatty acids in the retina and brain. *Nutr Rev* 50 : 21-29, 1992
- 4) Crawford MA. The role of essential fatty acids in development : Implications for perinatal nutrition. *Am J Clin Nutr* 57(suppl) : 703-710, 1993
- 5) Marine oils and platelets function in man. *Nutr Rev* 42 : 189-191, 1984
- 6) Simopoulos AP. Summary of the conference on the health effect of polyunsaturated fatty acids in seafoods. *J Nutr* 116 : 2350-2354, 1986
- 7) Dietary fish oil increase $\omega 3$ long chain polyunsaturated fatty acids in human milk. *Nutr Rev* 43 : 3002-303, 1985

- 8) Cuthbertson WF. Essential fatty acid requirements in infancy. *Am J Clin Nutr* 29 : 559-568, 1976
- 9) Wheeler TG, Anderson RE. Visual membranes : Specificity of fatty acid precursors for the electrical response to illumination. *Science* 988 : 1312-1314, 1975
- 10) Simopoulos AP. ω 3 fatty acids in growth & development and in health and disease. *Nutr Today* 2 : 10-19, 1988
- 11) Harris WS, Connor WE, Lindsey S. Will dietary ω 3 fatty acids change composition of human milk ? *Am J Clin Nutr* 40 : 780-785, 1984
- 12) Martinez M, Ballabriga A. Effects of parenteral nutrition with high dose of linoleate on the developing human liver and brain. *Lipids* 22 : 133-138, 1987
- 13) Carlson SE, Rhodes PG, Ferguson MG. Docosahexaenoic acid status of preterm infants at birth and following feeding with human milk or formula. *Am J Clin Nutr* 44 : 798-804, 1986
- 14) Putnam JC, Carlson SE, De Voe PW, Barness LA. The effect of variations in dietary fatty acids on the fatty acid composition of erythrocyte phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in human infants. *Am J Clin Nutr* 36 : 106-114, 1982
- 15) Bourre JM, Pascal G, Durand G. Essential fatty acids and brain development and function. Proceedings of the 14th International Congress of Nutrition, p97-101, 1989
- 16) Lee-Kim YC, Kim MK, Chung EJ, and Chee KM. The requirement of linolenic acid for rat is minimal. Proceedings of Fifth Scientific Meeting of the Society for Research on Polyunsaturated Fatty Acids, Tokyo Japan, P52, 1992
- 17) Arbuckle LD, Rioux FU, Mackinnon MJ and Innis SM. Formula α -linolenic and linoleic acid influence neonatal piglets liver, brain saturated fatty acid, as well as docosahexaenoic acid. *Biochem. Biophys Acta* 1125 : 262-267, 1992
- 18) McNair HN, Bonelli EJ. Basic gas chromatography. 5th Ed., Varian Instrument Division, 1968
- 19) Taylor SL. Sensitive fluorometric micro-method for fat tocopherol analysis, *Lipids* 11 : 530-538, 1976
- 20) 김미경 · 지규만 · 이양자. 어미 쥐의 ω 3계 및 ω 6계 지방산 식이가 제 2 세대 쥐의 뇌조직 지방산 성분에 미치는 영향. *한국영양학회지* 26(6) : 661-671, 1993
- 21) Neuringer M, Connor WE, Van Petten C and Barstad L. Dietary ω 3 fatty acid deficiency and visual loss in infant rhesus monkey. *J Clin Invest* 73 : 272-276, 1984
- 22) Neuringer M, Connor WE, Lin DS, Barstad L and Luck S. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal ω 3 fatty acid deficiency on retina and brain in rhesus monkey. *Proc Natl Acad Sci* 83 : 4021-4025, 1986
- 23) Anderson GJ, Connor WE, Corliss J. DHA is the preferred dietary ω 3 fatty acid for the development of the brain and retina. *Pediatr Res* 27 : 89-97, 1990
- 24) Chung HY, Choi YJ, Lee JH and Lee-Kim YC. Effect of n-3/n-6 polyunsaturated fatty acid diets on fatty acid composition of mesenteric and subcutaneous fat of lactating rat. The 6th Asian Congress of Nutrition, Malaysia, Abstract p390, 1991
- 25) Chen ZY, Yang J, Menard CR, and Cunnane SC. Linoleic acid enriched triglycerol species increase in maternal liver during late pregnancy in the rat. *Lipids* 27 : 21-24, 1992
- 26) Sanders TAB, Roshanai F. The influence of different types of ω 3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin Sci* 64 : 91-99, 1983
- 27) Nettleton JA. ω 3 fatty acids : Comparison of plant and seafood sources in human nutrition. *J Am Diet Assoc* 91 : 331-337, 1991
- 28) Jensen RG, Hagerty MM, McMahon K. Lipids of human milk and infant formulas : A review. *Am J Clin Nutr* 31 : 990-1016, 1978
- 29) Gibson RA, Kneebone GM. Fatty acid composition of human colostrum and mature breast milk. *Am J Clin Nutr* 34 : 252-258, 1981
- 30) Jansson L, Akesson B and Holmberg L. Vitamin E and fatty acid composition of human milk. *Am J Clin Nutr* 34 : 8-13, 1981
- 31) Bauman DE and Davis CL. Biosynthesis of Milk Fat. New York, NY, Academic Press 31-69, 1974

- 32) Spear ML, Hamosh M, Bitman J, Spear ML and Wood DL. Milk and blood fatty acid during two lactations in the same woman. *Am J Clin Nutr* 56 : 65-70, 1992
- 33) Don SL, William EC, Gregory JA, Neuringer M. Effect of dietary ω 3 fatty acids on the phospholipid molecular species of monkey brain. *J Neurochem* 55 : 1200-1207, 1990
- 34) Choi YJ, Lee-Kim YC, Park JS, Cha YN. Enhancement of hepatic drug metabolism in 3-week-old pups by maternal feeding of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Nutr Biochem* 3 : 580-586, 1992
- 35) Fragisko B, Chan AC and Choy PC. Competition of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid in the isolated perfused rat heart. *Ann Nutr Metab* 30 : 331-334, 1986
- 36) 정은정 · 박연희 · 이양자. 과량의 비타민 E 첨가 및 다불포화 지방식이 Age가 다른 Chick의 혈청과 조직 비타민 E 농도에 미치는 영향. *한국영양학회지* 22(3) : 209-217, 1989
- 37) 이양자 ·곽동경 ·이기열. 비타민 E와 불포화지방산의 관계-들깨유를 중심으로 한 동물의 비교 연구. *한국영양학회지* 9 : 283-292, 1976
- 38) 이양자 · 조혜영 · 김정숙 · 한성수. 비타민의 기능 규명을 위한 영양 생화학적 및 병리학적 연구-들깨기름 식이를 섭취한 병아리와 혈청과 간의 비타민 E 수준 및 간세포의 전자현미경 조사를 중심으로. *한국영양학회지* 15 : 1-9, 1982
- 39) Yu WA and Young PA. Ultrastructural changes in the cerebrovascular endothelium induced by a diet high in linoleic acid and deficient in vitamin E. *Exp Mol Path* 21 : 289-299, 1974
- 40) 둔수재 · 안홍석 · 이민준 · 김정현 · 김철재 · 김상용. 수유기간에 따른 모유의 총지질, 총콜레스테롤 및 비타민 E 함량과 총지방산 조성의 변화에 관한 연구. *한국영양학회지* 26 : 758-771, 1993
- 41) Bell EF. Upper limit of vitamin E in infant formulas. *J Nutr* 119 : 1829-1834, 1989
- 42) 이상길 · 정태인. 한국인 모유의 수유기간 별 각종 지질 분획과 지방산 조성. *인간과학* 8 : 537-553, 1984
- 43) Kobayashi H, Kanno C, Yamauchi T and Tsugo TP. Identification of α -, β -, γ -tocopherols and their contents in human milk. *Biochim Biophys Acta* 380 : 282, 1975