

발생중인 닭의 배자에서 뇌 조직내 인지질의

지방산 조성 변화

김희성 · 최인숙 · 지규만

고려대학교 응용동물학과

Changes of Fatty Acid Compositions in Brain Phospholipids of Developing Chicken Embryos

H. S. Kim, I. S. Choi and K. M. Chee

Department of Animal Science, Korea University

Seoul, Korea 136-701

ABSTRACT

This study was to investigate the effects of dietary linoleic acid(18:2 ω 6, LA) and alpha-linolenic acid(18:3 ω 3, α -LNA) levels on brain development and fatty acid compositions of various lipid classes in the chicken embryo brain tissues. Thirty two ISA Brown layers, 52 weeks-old, were divided into four groups. Birds of each group were given corn-soybean meal based diets added with 1) safflower oil 8%, 2) safflower oil 6% + perilla oil 2%, 3) safflower oil 2% + perilla oil 6%, or 4) perilla oil 8%. After 15 days fed the diets, the layers were artificially inseminated to obtain fertile eggs. During the incubation, embryonic brains were sampled at 15th and 21st days. Fatty acid contents were quantitated by using heptadecanoic acid (17:0) as an internal standard. No significant differences in brain weight and in contents of various lipids such as phospholipid, triglyceride, cholesterol, cholesterol ester and free fatty acid in the tissues were found among the dietary groups ($P < 0.05$). The ratios of AA/LA in the brain lipid classes were lowered as the dietary levels of perilla oil were increased. Higher LA was found in phosphatidylcholine(PC) than arachidonic acid (20:4 ω 6, AA), meanwhile the level of LA was less than AA in phosphatidylethanolamine(PE). Docosahexaenoic acid(22:6 ω 3, DHA) was the major fatty acid in the tissue and its content in PE was 2.5~3 times higher than in PC. DHA level in the phospholipid reached at a peak (1.7~1.8 mg/brain) in dietary groups added with 6% or 8% perilla oil, suggesting that no more increase in that fatty acid level in the brain tissue could be obtained by consuming more α -LNA, the major precursor of DHA.

(Key words: chick embryo, brain, phospholipid, fatty acids)

서 론

뇌는 체내에서 지방조직 다음으로 지질농도가 높은 조직이다. 지방조직과 달리 뇌의 지질은 거의가 세포막의 인지질이며, 중성지방이나 콜레스테롤 에스터(cholesterol ester) 양은 매우 적다. 뇌 인지질의 지방산 조성도 특이해서 linoleic acid(18:2 ω -6)와 linolenic acid(18:3 ω -3)의 양은 극히 적고, 반면에 탄소수 20과 22개의 장쇄 불포화지방산(long chain polyenoic fatty acid)인 arachidonic acid(20:4 ω -6), docosatetraenoic acid(22:4 ω -6) 그리고 docosahexaenoic acid(22:6 ω -3, DHA) 등이 많이 들어있다(Sastry 1985).

인지질(phospholipids, PL)은 세포막을 구성하는 주요 지질로서의 기능 뿐만 아니라, 막구조의 유지와 생체막에 분포된 단백질 활성을 나타내는데 중요한 역할을 하고 있다. 이들은 세포막에서 bilayer를 구성하고 외부 물질 유입으로 부티의 보호 기능과 정보전달에도 관여한다(Mato 1990). 인지질의 지방산 조성이나 cholesterol 함량 등은 막의 물리적 특성을 결정하는데 중요한 역할을 해서 이들은 효소 활성, 막을 통한 물질의 이동과 수용체 기능 등 생체막에 다양한 기능을 주는 것으로 생각되고 있다(Galli et al. 1971). 특히 DHA는 뇌조직 인지질에 가장 많이 들어있는 지방산이면서 세포막의 유동성과 투과성을 유지하며 이온 conduction 및 acetylcholine의 분비 등에 관여(Menon and Dhopeshwarkar 1982, Neuringer et al. 1986)할 뿐 아니라 이 지방산의 결핍은 학습능력을 저하시키며(Lamptey and Walker 1976), 시각장애(Reisbick et al. 1990) 까지 일으킨다고 알려져 최근에 많은 주목을 받고 있다. 그런데 이 DHA의 합성은 linolenic acid로 부터 세 단계의 desaturation 과정(Δ^6 , Δ^5 및 Δ^4)을 거치게 되나 그 합성효율은 포유동물에서 매우 낮다고 한다(Ander-son et al. 1990; Lin et al., 1990). 인지질의 지방산은 섭취한 지방산의 영향을 받기도 하는데, 생쥐 중추신경조직의 인지질 중 phosphatidyleth-

anolamine (PE)의 ω -3지방산 함량은 DHA 섭취가 매우 적어도 별로 영향을 받지 않으며 또한 phosphatidylcholine (PC)이나 PE의 ω -3 지방산 조성은 발육단계에 따라 변한다고 한다(Bazan et al. 1993).

발육중인 동물의 뇌조직에서 ω -3 지방산 대사를 연구하는데 포유동물의 경우 임신 중에는 태반, 출생후에는 모유를 통해 지방산이 공급되기 때문에 태아에 유입되는 지방산 함량을 평가하는 것이 매우 곤란하다. 반면에 조류의 수정란은 난황 지방산 조성이 어미가 섭취한 사료내 지방산을 잘 반영하며, 배 발생에 필요한 모든 영양소를 포함하고 있어서 발생과정 중이나 부화후 모체로부터의 영양공급을 배제하면서 간편하게 실험을 할 수 있는 장점이 있다. 따라서 조류의 이러한 잇점을 활용함으로써 부화과정에서 배자의 지방산을 분석하여 여러 지방산의 양적인 변화에 대한 추적이 가능해진다.

본 연구는 사료내 linoleic acid(LA)와 α -linolenic acid(α -LNA)의 비율을 달리하여 이것이 닭 배자 뇌조직의 발달에 미치는 영향, 뇌 조직에서 총 지질내 각 지질 계열의 상대적 분포에 미치는 영향, 또 인지질과 주요 subclass인 PC와 PE에서 arachidonic acid(AA)와 EPA, DHA로의 전환에 대한 영향과 뇌조직내 DHA 축적에 미치는 영향 등을 알아보고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험설계 및 사료

실험동물은 52주령의 ISA Brown 갈색산란계 32수와 수정란을 생산하기 위해 같은 나이와 같은 계통의 수컷 15수를 사용하여 45일간 실시하였다. 처리별로 8마리씩 배치하였고 한 cage에 두 마리씩 수용하였다. 실험 개시 전까지는 산란계 암탉과 수탉 모두 시판 사료를 급여하였고, 실험 개시 후 암탉은 실험사료를, 수탉은 시판 사료를 계속 급여하였다. 실험 개시시의 산란율은 80% 이상이었으며, 물과 사료는 자유로이 섭취할 수 있도록 하였다.

Table 1. Diet Formulation

Ingredients	%
Oil ¹	8.0
Corn, yellow	44.0
Soybean meal	20.0
Wheat bran	16.7
Calcium phosphate, dibasic	1.0
Limestone	9.5
Vit.-min. premix ²	0.2
Choline chloride ³	0.1
NaCl	0.3
DL-methionine ³	0.3
Total	100.0
Calculated values	
Crude protein, %	14.99
Metabolizable energy, kcal/g	2.92

¹ Stabilized by adding BHT at 0.0125% of added oils.

Treatment 1: safflower oil 8%

Treatment 2: safflower oil 6% + perilla oil 2%

Treatment 3: safflower oil 2% + perilla oil 6%

Treatment 4: perilla oil 8%

² Vitamin and mineral premix supplied followings per kg diet: vit. A 40 IU, vit. D₃ 10 IU, vit. E 60 IU, vit. K₃ 8 mg, vit. B₂ 1 mg, vit. B₆ 120 µg, vit. B₁₂ 3.2 mg, vit. C 4 mg, pantothenic acid 1.2 mg, niacin 3.2 mg, Fe 6 mg, Mn 10 mg, Cu 1 mg, I 120 µg, Zn 4 mg.

³ Koking Korea Co., purity 50%.

실험사료는 황색 옥수수, 대두박과 밀기울을 위주로 구성하고 광물질과 비타민 급원들은 NRC (1984) 요구량을 만족할 수 있도록 첨가하였다 (Table 1). 여기에 홍화유(safflower oil)와 들깨유(perilla oil) 단독으로 또는 혼합하여 8% 수준으로 첨가하여 4가지 처리의 실험사료를 만들었다.

처리 1은 홍화유만 8% (SO군), 처리 2는 홍화유 6%+들깨유 2% (SO+PO군), 처리 3은 홍화유 2%+들깨유 6% (PO+SO군), 처리 4는 들깨유만 8% (PO군) 수준으로 첨가하였다. 결과적으로 각 처리별 사료에서 첨가한 지방만 기준할 때 총 불포화 지방산 함량중 ω -3 지방산 함량의 비율은 처리 순서별로 0, 17, 48 및 62%가 되었다. 물론 배합사료 원료인 옥수수의 지방산함량 때문에 최종적인 ω -3 지방산함량 비율은 이와 달라져서 실제분석치를 기준할 때 각각 1.6, 17.4, 45 및 64.7%가 되었다. 여기서 사용한 홍화유와 들깨유

의 지방산 조성은 Table 2에서와 같다.

홍화유는 제일제당의 제품을 시중에서 구입하였고, 들깨유는 상업적으로 직접 착유한 것이었다.

이들을 선택한 이유는 홍화유는 LA의 함량이 80%에 가까울 정도로 높은 반면 ω -3 지방산이 전혀 없으며, 들깨유는 식용유 중에서 ω -3 지방산, 특히 α -LNA의 함량이 60% 수준으로 가장 많았기 때문이다. 이 두가지 지방급원을 적절한 비율로 혼합하여 사료내 ω -3 지방산의 함량비율을 원하는 조절할 수 있었다.

실험사료는 지방 함량이 8%나 되는 고지방 사료이므로 산패 방지를 위해 항산화제(butylated hydroxy toluene)를 첨가지방의 0.0125% 수준으로 첨가하였으며, 매주 한번씩 배합하여 -20°C의 냉동고에 보관하면서 급여하였다.

실험사료 급여후 15일째부터 매주 2회 인공수정을 실시하였다. 수정란의 부화기 입란전 저장기간은

Table 2. Fatty acid compositions of fat sources added to diets

Fatty acids	Safflower oil ¹	Perilla oil ¹
	----- % -----	
14:0	0.08 ± 0.0 ²	ND ³
14:1 ω 5	ND	ND
16:0	5.45 ± 0.0	6.39 ± 0.2
16:1 T	ND	ND
16:1 ω 7	0.13 ± 0.0	0.17 ± 0.1
18:0	5.84 ± 0.1	1.84 ± 0.1
18:1 ω 9	8.60 ± 0.2	17.47 ± 0.6
18:2 ω 6	77.65 ± 1.1	18.61 ± 0.3
18:3 ω 6	0.16 ± 0.0	ND
18:3 ω 3	ND	54.94 ± 1.6
20:0	ND	0.19 ± 0.0
20:1 ω 9	0.33 ± 0.0	0.23 ± 0.1
20:2 ω 9	ND	ND
20:3 ω 6	ND	ND
20:4 ω 6	0.18 ± 0.1	ND
20:5 ω 3	ND	ND
22:0	ND	ND
22:1 ω 9	ND	ND
22:6 ω 3	ND	ND
24:0	ND	ND
24:6 ω 9	ND	ND
Total ω 3	ND	58.94 ± 1.6
Total ω 6	77.99 ± 1.0	18.61 ± 0.3
Total ω 9	8.93 ± 0.2	17.69 ± 0.5
SFA ⁴	11.37 ± 0.1	8.42 ± 0.2
MUFA ⁵	9.06 ± 0.2	17.86 ± 0.5
PUFA ⁶	77.99 ± 1.0	77.55 ± 1.9

¹ Cheil Foods & Chemicals Inc.,(Seoul).² Mean ± SD.³ Not detected.⁴ Saturated fatty acids.⁵ Monounsaturated fatty acids.⁶ Polyunsaturated fatty acids.

최대 7일이었다. 수정란의 저장조건 및 부화기와 발생좌의 온도, 습도는 표준 조건에 따라 설정하였다 (North 1978, 오봉국 1988).

부화 개시 15, 17, 19일 및 21일째 4회에 걸쳐 검란기를 사용하여 부화 중인 수정란의 胚가 살아

있음을 확인한 후 각 처리당 4개씩 선택, 희생시켜 -20℃ 냉동고에 넣어 냉동시켰다. 뇌 시료를 부화 15일령 부터 채취한 이유는 이 나이 때 뇌 조직이 육안으로 명확히 구분할 수 있을 정도로 컸기 때문이다.

2. 조사방법

실험기간동안 처리별 사료섭취량, 체중변화, 산란율, 난중 등을 측정하였으나 이 data는 공시동물의 마릿수도 적을 뿐더러 본 연구의 성격상 중요한 의미가 없으므로 보고하지 않겠다. 뇌조직은 대뇌, 소뇌, 간뇌와 중뇌를 포함한 무개를 재었다. 뇌조직의 총지질은 Hera와 Radin 방법(1974)을 변형한 Fletcher 등(1984)의 방법에 의해 hexane과 isoprophy alcohol로 추출하였다.

추출한 총 지질에서 Thin layer chromatography로 인지질(PL)과 cholesterol ester, cholesterol, free fatty acids, triglyceride 등을 분리하였고(Christie 1989), PL으로부터 다시 subclass인 PC 및 PE를 분리하였다. 이들 지방 subclass는 표준물질(TLC-reference standard, 18-5-A, NU-CHEK-PREP, Inc.)을 같이 전개시켜 확인하였다. TLC plate를 사용한 1차 전개에서는 diethyl ether:petroleum ether:acetic acid를 20:80:1(v/v/v)의 비율로 혼합한 것을 이용하여 PL을 분리하였고, 2차 전개에서 제시한 용매 chloroform:methanol:acetic acid:water (100:75:7:4)를 이용하여 PC와 PE를 분리하였다. 이렇게 분리된 것을 10% 황산용액으로 charring한 후 TLC Scanner (Shimadzu CS-9000)로 540 nm에서 scanning 하였다.

사료 및 각 인지질의 지방산을 정량분석하기 위해 Lepage와 Roy(1989)의 방법을 변형한 Chee등(1990)의 방법에 의해 시료를 methylation시켰다. FID가 장치된 Shimadzu GC-9A gas liquid chromatography에 50m길이의 fused silica capillary column(0.25 mm I.D., 0.25 μ film thickness)에 carrier gas로 He을 사용하여 initial temperature 90°C, final temperature 220°C로 program하여 분석하였다. Internal standard로 heptadecanoic acid(17:0)을 사용하여 시료내 각 지방산의 절대량을 측정하였다. 본 실험의 모든 실험 결과는 One Way Analysis of Variance에 의해 분산 분석되었다. 각 평균간의 유의성검정은 Duncan's Multiple Range Test에

의하여 실시되었으며 모든 처리는 5% 수준에서 비교되었다(Steel and Torrie, 1960).

결 과

부화기간 동안 배자의 뇌무게와 뇌조직의 총지질 함량의 변화는 Table 3에서 보는 바와 같다. 부화 15일령의 배자에서 뇌의 무게는 모든 실험구에서 0.34~0.43g 수준이었고, 19일령 까지의 사이에 그 두 배의 무게로 증가하였다. 부화 19일령의 뇌조직 무게는 발생일(21일령)에 비해 85~95%에 도달하였다. 발생일의 뇌 평균 무게는 0.85~0.87g 수준으로 전반적으로 매우 비슷하였다. 뇌의 무게는 각 발육 일령에서 처리군간에 유의한 차이가 보이지 않았다.

뇌의 총지질함량은 모든 처리구에서 발생기간에 따라 증가하는 경향이 뚜렷하였으며, 부화 15일령(9.4~11.7 g)에 비해 발생일(39~43g)에는 4배 가까이 증가하였는데 부화 15일에서 17일 사이에 비례적으로 가장 큰 변화가 일어났다. 뇌조직의 지방함량이 증가하는 것은 조직의 무게 증가뿐만 아니라 지방 농도가 증가되는 데에도 기인한다. 측정 기간동안에 뇌조직의 총지방함량도 평균 2.6%에서 4.8% 수준으로 증가하였다(Table 3). 뇌의 총지방량이나 지방 농도 역시 처리군간에 유의한 차이가 없었다. 이와 같은 경향은 최진호(1992)의 실험에서도 관찰되었다.

뇌조직의 총지질중 여러 지질 종류별 함량은 Table 4에서와 같다. 부화 15일령의 뇌조직에 들어있는 지질의 64%가 인지질이며, 그 다음으로 많은 것이 콜레스테롤 (21~27%)과 콜레스테롤 에스터(CE, 8~11%)였다. 중성지방 함량은 0.5% 미만이었으며, 유리지방산은 거의 나타나지 않았다. 이들의 함량은 실험처리군 간에 유의한 차이가 없었다. 그후 21일령의 배자에서는 인지질 농도는 변화가 없는 반면 콜레스테롤 농도가 27%에서 22% 수준으로 평균 20% 감소하였고, 콜레스테롤 에스터 농도도 마찬가지로 20~40% 저하되었다. 반면에 유리지방산 농도가 현저히 증가하여 5~8% 수준으로 나타났으나, 중성지방 함량은 여전히 전반적

Table 3. Change of brain Weight and total lipid contents of embryo brains during incubation

Chick embryo incubation Days	Diets containing			
	SO ¹	SO+PO ¹	PO+SO ¹	PO ¹
	----- Brain weight, g -----			
15	0.42±0.08 ²	0.43±0.07	0.39±0.10	0.34±0.05
17	0.76±0.03	0.62±0.10	0.69±0.04	0.75±0.10
19	0.74±0.16	0.82±0.04	0.81±0.03	0.87±0.04
21	0.87±0.04	0.87±0.05	0.87±0.03	0.85±0.02
	----- Brain total lipids, mg/brain -----			
15	9.38±1.08	11.67±1.18	9.38±2.07	10.38±2.36
17	24.38±2.07	22.50±3.06	23.13±2.07	24.38±4.10
19	37.50±2.50	37.50±3.95	36.67±3.12	33.75±1.25
21	43.13±4.80	41.25±3.75	41.67±3.12	39.17±3.12
	----- Brain total lipids, % -----			
15	2.26±0.21	2.79±0.37	2.49±1.06	3.04±0.48
17	3.23±0.41	3.64±0.30	3.36±0.56	3.22±0.17
19	3.65±0.33	4.58±0.27	4.79±0.75	3.88±0.19
21	5.03±0.93	4.70±0.28	4.71±0.13	4.69±0.23

¹ SO = 8% safflower oil

SO + PO = 6% safflower oil + 2% perilla oil

PO + SO = 6% perilla oil + 2% safflower oil

PO = 8% perilla oil

² Mean±SD. Means of 4 embryos. No significant differences were observed among dietary groups in all rows (P>0.05).

으로 매우 미미하였다. 역시 실험군간에 각 지질농도에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

부화 15일령 되는 배 뇌조직내 총인지질 및 PC와 PE의 지방산 조성은 Table 5에서와 같다. 총인지질의 LA와 α -LNA 함량은 처리군간에 전혀 차이가 없었다. 그러나 AA 농도는 SO군과 SO+PO군은 비슷한 수준인 반면 들깨유의 첨가수준이 많은 실험군으로 갈수록 그 농도가 현저히 감소하였다. EPA 함량은 예상대로 들깨유가 많이 첨가된 실험군일수록 증가하는 경향이 뚜렷하였고, DHA는 SO군만 유의하게 낮을 뿐 SO+PO군, PO+SO군 및 PO군에서는 SO군의 4배나 되는 높은 수준에서 서로 비슷한 농도를 보였다 (P<0.05). 전반적으로 DHA함량은 EPA함량에 비해 15~38배 수준으로

매우 많았으며, 들깨유의 첨가량이 많은 실험군일수록 DHA/EPA비율이 38, 26 및 15 (SO+PO, PO+SO, PO군의 순)로 낮아지는 경향이였다.

인지질중 PC는 총인지질내 지방산의 40~60%를 차지하여 PE (10~30%)에 비해 현저히 더 많았다. 총인지질에 비교해 특징적인 것은 ω -6계열 지방산에서 LA/AA의 비율이 총인지질에서는 0.3~1.0수준인데 비해 PC에서는 2.0~5.0으로 전구체 지방산의 함량 비율이 더 높다는 점이다. ω -3 지방산에서는 특별히 다른 경향이 보이지 않았다. PE의 지방산 조성은 PC에 비해 여러 지방산들이 비교적 고르게 분포되어 있었다. PE내 LA와 AA의 비율은 0.5~0.7로서 총인지질에서와 비슷한 경향을 보였다. DHA와 EPA함량 비율은 10~25 정도

Table 4. Lipid class distribution in total lipid of embryonic brains during incubation¹

Embryo incubation	Lipid classes ²	Diets containing			
		SO ³	SO + PO ³	PO + SO ³	PO ³
Days		-----		%	-----
15	PL	64.1±2.2	64.2±1.4	63.6±1.6	64.4±5.43
	CL	27.3±0.5	27.9±2.0	25.2±1.5	21.0±2.1
	FFA	ND ⁴	ND	ND	ND
	TG	ND	ND	0.3±0.4	0.5±0.7
	CE	8.6±2.7	7.9±3.2	11.0±1.8	8.2±6.8
21	PL	67.1±1.9	64.4±2.9	64.4±1.3	64.4±1.5
	CL	22.3±0.9	22.7±3.0	21.2±0.3	21.9±1.0
	FFA	5.4±0.6	7.1±1.0	7.7±0.5	6.2±1.7
	TG	0.2±0.2	0.1±0.2	ND	0.1±0.2
	CE	4.7±0.8	5.3±1.2	0.2±0.9	0.4±0.5
	UN ⁵	0.3±0.2	0.4±0.4	0.2±0.2	ND

¹ Means of 3 embryonic brains, expressed as mean ± SD.

² PL = phospholipid, CL = cholesterol, FFA = free fatty acids,

TG = triglyceride, CE = cholesterol ester.

³ Refer to Table 3.

⁴ ND = not detected.

⁵ UN = unknown.

로 DHA함량이 많았으며 이것 역시 총 인지질에서의 비율과 비슷한 경향이였다.

부화 21일령 즉 발생일의 배자 뇌조직의 총 인지질 지방산 함량과 PC 및 PE의 지방산 함량은 Table 6에 보고된 바와 같다. 이때의 뇌조직내 지방산 함량은 배자 15일령 때에 비해 전반적으로 6~7배 더 많아졌다. 총 인지질의 LA 함량은 전체적으로 실험군간에 비슷한 수준이였다. 그러나 AA 함량은 SO군에 비해 PO군이 유의하게 더 적었으며 ($P < 0.05$), SO+PO와 PO+SO군은 그 중간이였다. α -LNA와 EPA 함량은 들깨유가 더 많이 첨가된 실험군일수록 더 많아지는 경향이였으나 그 함량은 미미한 수준이였다. 그에 비해 DHA 함량은 전체적으로 크게 증가하였지만 SO군만은 430 μ g에 불과해 다른 실험군에 비해 1/2 내지 1/4의 수준으로 매우 적었다. 여기서 중요한 것은 PO+SO군과 PO군의 DHA함량이 전혀 차이가 없었는데, 이

는 PO군과 같이 들깨유의 섭취량이 더 많다고 해서 PO+SO군에 비해 뇌조직 인지질내 DHA함량이 계속 더 많아지는 것이 아니고, 어느 일정수준 (1,590~1,760 μ g)에 도달하면 더 이상 증가하지 않았다는 것이다. 전체 ω -3 지방산의 함량도 이와 같은 경향을 보였고, 총 ω -6 지방산 함량은 이와 반대로 들깨유의 첨가 수준이 증가함에 따라 점차 감소하였다.

PC내 전체 지방산 함량도 배자의 나이에 따라 현저히 증가하였다. LA와 AA함량은 사료내 들깨유의 첨가수준이 높아질수록 적어지는 경향이 뚜렷하였고, AA/LA 비율도 마찬가지로 실험군 순서대로 84, 60, 58, 32%로 점차 감소하였다. 반면에 α -LNA와 EPA함량은 그와 반대 방향으로 계속 증가하는 경향이였다. 그러나 PC내 DHA는 그 함량이 가장 적은 SO군을 제외하고 다른 세 실험군에서는 유의하게 높은 ($P < 0.05$) 69~75 μ g 범위에

Table 5. Major fatty acid composition of the embryonic brains at 15th day of incubation

Fatty acids in lipid classes	Diets containing			
	SO ¹	SO + PO ¹	PO + SO ¹	PO ¹
----- µg/brain -----				
Total phospholipids				
C18:2ω6	58.42±8.242	77.92±17.402	67.11±12.612	53.41±4.082
C18:3ω3	1.3±1.84	ND	4.98±1.68	2.44±1.73
C20:4ω6	160.90±2.57 ^a	155.87±29.44 ^a	123.95±49.36 ^{ab}	66.96±12.62 ^b
C20:5ω3	ND	6.03±1.71 ^a	8.01±1.91 ^{ab}	11.50±1.84 ^b
C22:6ω3	52.95±5.66 ^a	233.93±19.05 ^b	212.16±87.20 ^b	173.45±44.10 ^b
Total ω3	54.25±5.56 ^a	239.97±19.98 ^b	225.15±89.81 ^b	187.38±44.18 ^b
Total ω6	236.37±11.86 ^a	258.42±46.11 ^a	215.16±69.45 ^{ab}	133.09±8.79 ^b
Total ω9	322.96±2.58	361.27±51.51	355.19±108.36	274.57±50.37
Phosphatidylcholine				
C18:2ω6	25.26±7.65	38.76±9.06	40.29±5.27	32.45±11.56
C18:3ω3	ND	ND	1.63±0.75	ND
C20:4ω6	11.81±5.37	8.67±2.15	15.59±1.24	6.21±2.68
C20:5ω3	ND	ND	1.62±0.75	ND
C22:6ω3	1.12±0.33	6.55±4.23	9.97±1.35	3.87±0.70
Total ω3	1.12±0.33	6.55±4.23	13.22±2.84	3.87±0.70
Total ω6	37.63±13.57	53.82±12.02	59.20±7.01	38.71±14.24
Total ω9	297.82±71.64	362.00±38.00	387.94±168.43	248.69±54.13
Phosphatidylethanolamine				
C18:2ω6	6.06±0.45	12.79±4.90	12.57±5.56	7.67±0.77
C18:3ω3	0.30±0.30	1.72±0.28	1.81±1.20	0.28±0.28
C20:4ω6	8.25±4.72	28.42±2.78	23.90±12.05	16.01±2.46
C20:5ω3	0.33±0.33	1.70±0.03	1.99±0.84	4.04±2.21
C22:6ω3	2.83±2.33	35.05±1.34	48.68±30.70	45.22±24.40
Total ω3	3.46±2.96 ^a	38.47±1.59 ^b	52.47±32.74 ^b	49.53±26.34 ^b
Total ω6	18.27±6.90 ^a	47.20±1.55 ^b	42.31±23.03 ^b	28.94±6.33 ^{ab}
Total ω9	35.99±10.69	88.28±46.00	60.01±32.05	48.35±14.69

¹ Refer to Table 3.² Means of 3 embryonic brains, expressed as mean ± SD.

a,b P<0.05.

서 일정한 수준을 유지하였다. 총 ω-3지방산 함량도 이와 같은 경향이었는데, 총 ω-6 지방산은 그와 반대되는 경향이 뚜렷하였다. 총 ω-9 지방산함량은 전체 실험군간에 유의한 차이가 없었다.

PE의 전체 지방산 함량도 15일령의 배자에 비해 5~10배 더 증가하였다. PC에서와 마찬가지로 사료내 들깨유 첨가량이 많아질수록 LA와 AA함량은 현저히 감소하였다. 그러나 PC에서와 달리 AA가 LA

Table 6. Major fatty acid compositions of the embryonic brains at 21st day of incubation

Fatty acids in lipid classes	Dietary groups			
	SO ¹	SO + PO ¹	PO + SO ¹	PO ¹
	----- µg/brain -----			
Total phospholipids				
C18:2ω6	353.92±37.332	360.41±34.152	326.82±30.352	331.94±27.39 ²
C18:3ω3	3.85±5.45 ^a	3.72±2.69 ^a	14.99±2.93 ^{ab}	24.56±8.62 ^b
C20:4ω6	852.69±105.14 ^a	697.89±53.71 ^{ab}	755.85±146.27 ^{ab}	547.26±126.38 ^b
C20:5ω3	ND	10.03±2.06 ^a	25.11±20.22 ^a	68.98±16.48 ^b
C22:6ω3	430.81±134.01 ^a	1012.16±23.00 ^{ab}	1759.94±251.90 ^c	1588.66±471.94 ^{bc}
Total ω3	434.67±136.40 ^a	1025.91±22.62 ^a	1800.04±234.16 ^b	1682.19±493.21 ^b
Total ω6	1236.78±108.90	1111.17±88.86	1160.67±195.29	941.11±170.65
Total ω9	1964.81±64.29 ^{ab}	1747.85±64.68 ^a	2226.47±207.55 ^b	2205.37±109.58 ^b
Phosphatidylcholine				
C18:2ω6	184.21±26.86 ^{ab}	200.77±13.71 ^a	151.03±12.39 ^b	147.18±4.76 ^b
C18:3ω3	2.50±2.11 ^a	2.61±0.02 ^a	5.29±1.36 ^{ab}	8.01±0.89 ^b
C20:4ω6	156.28±21.56 ^a	121.53±2.10 ^b	87.05±8.77 ^c	47.66±1.59 ^a
C20:5ω3	ND	1.41±2.00 ^a	3.59±2.89 ^{ab}	7.14±0.68 ^b
C22:6ω3	46.75±6.73 ^a	70.98±8.59 ^b	74.98±11.66 ^b	68.90±9.31 ^b
Total ω3	49.24±4.83 ^a	75.00±10.59 ^b	83.86±15.89 ^b	84.05±8.96 ^b
Total ω6	358.41±45.56 ^a	334.80±13.15 ^a	254.93±22.37 ^b	212.40±6.40 ^b
Total ω9	1477.10±419.72	1621.41±407.30	2108.14±112.35	2208.95±227.68
Phosphatidylethanolamine				
C18:2ω6	64.56±5.64 ^{ab}	69.66±15.25 ^a	46.08±6.46 ^{bc}	38.56±6.88 ^c
C18:3ω3	7.39±1.08 ^a	5.63±1.32 ^{ab}	5.76±0.64 ^{ab}	4.71±0.57 ^b
C20:4ω6	340.55±5.73 ^a	265.17±40.46 ^b	141.83±29.44 ^c	90.84±28.42 ^c
C20:5ω3	9.92±2.69	9.52±2.05	8.76±3.87	16.01±2.93
C22:6ω3	160.12±19.91 ^a	363.84±84.00 ^b	179.79±69.26 ^a	163.24±45.09 ^a
Total ω3	177.44±19.49 ^a	378.99±84.78 ^b	194.30±72.26 ^a	183.96±45.69 ^a
Total ω6	418.75±4.68 ^a	349.59±50.93 ^a	200.24±36.99 ^b	141.40±36.31 ^b
Total ω9	355.23±25.18	321.93±32.42	313.12±12.90	329.72±22.28

¹ Refer to Table 3² Means of 3 embryonic brains, expressed as Mean ± SD.^{a-c} Means in the same row without common superscripts differ significantly (P<0.05)

함량보다 3~5배 더 많았다. AA/LA 비율도 SO에서 PO군으로 갈수록 5.3, 3.8, 3.1 및 2.3배로 감소하는 경향이였다. α-LNA는 실험군간에 통계적인 유의성이 있음에도 불구하고 4.7~7.4 µg 범위의 비슷한 수준이였고, EPA함량은 처리간에 유의한 차이가 없었다. DHA함량은 SO+PO군에서만 유난히

많았고 다른 실험군들은 160~180 µg의 범위로 비슷하였다. 여기서 SO+PO군에서만 DHA 함량이 특별히 더 높아질 이유가 없어 이 경우 실험오차로 보는 것이 타당하다고 판단된다. 따라서 총 ω-3 지방산의 함량도 같은 이유로 잘못된 것으로 볼 때 ω-3 지방산 함량은 실험군간에 차이가 없는 것으로 보

는 것이 타당하다고 생각된다. 총 $\omega 9$ 지방산도 같은 경향이었는데 비해 총 $\omega 6$ 지방산은 사료내 들깨유의 영향을 받아 들깨유의 첨가량이 많은 실험군일수록 총 $\omega 6$ 지방산 함량이 뚜렷이 더 적어지는 경향이 있었다.

고 찰

본 실험에서 실험사료 급여후 15일째부터 인공수정에 의해 수정란 채취를 시작한 것은 지방산 조성이 다른 사료를 급여시 10일 정도의 기간이 지나면 계란내 지방산 조성이 사료의 지방산 조성을 완전하게 반영하였기 때문이다(박성열 1990, 최진호 1992). 본 연구에서 사료내 지방산 조성이 배자의 뇌 무게에 어떤 영향을 주지 않은 것은 Cherian과 Sim(1991)이 보고한 바와 같다. 이들은 완전히 발생된 병아리의 뇌 무게를 측정할 반면, 본 연구에서는 부화 15일령부터 21일령 사이의 뇌 무게, 전체 뇌조직중 지질 함량을 절대 무게(mg)와 뇌무게에 대한 %로 조사해 본 결과 실험군간에 여러 부화단계별로도 차이가 없었다. 뿐만 아니라 뇌조직의 여러 지질군, 즉 인지질, 콜레스테롤, 유리지방산, 중성지방 및 콜레스테롤 에스터 등의 함량에서도 실험군간에, 또한 부화 단계간에 차이가 없었음을 보였다. 이 부분은 다른 연구에서 보고된 것을 찾지 못해 다른 연구자의 결과와 비교, 확인하는 것이 불가능하였다.

Table 4에서 뇌조직에서 가장 분포가 많은 지질은 인지질이었으며 본 연구에서는 인지질내 지질을 다시 PC와 PE로 분리하고 두가지 subclass 지질내 지방산 조성의 차이를 검토하였다. 또 각 지방산 함량을 전체 지방산 중의 백분율(%)이 아닌 절대량(μg)으로 조사한 점이 다른 연구들 (Cherian과 Sim 1991, Geetha와 Sim 1992)과 다르다. Sim이 주도한 앞의 연구들에서는 PC와 PE에서 어느 실험군이든 LA함량이 AA보다 더 많았는데 본 연구에서는 PE의 경우 AA가 LA 함량보다 많았고, 이는 부화 15일과 21일령에서 모두 같은 경향이였다. 이는 두 연구자 간에 가장 현저하게 나타

나는 차이점으로서 앞으로 이에 대한 확인 실험이 필요하다고 본다. 한편 Geetha와 Sim(1992)이 DHA의 축적은 병아리 뇌속의 PC에 비해 PE에 주로 일어난다고 하였는데 이는 본 실험에서도 2.5~3배 정도 더 많이 축적되고 있어 두 실험의 결과가 일치한다.

들깨유의 첨가 수준이 높은 실험군일수록 LA/AA의 비율이 감소하는 경향은 $\omega 3$ 지방산, 특히 α -LNA가 EPA와 DHA로 elongation되는 과정에서 desaturase에 대한 경합으로 인해 LA로부터 AA의 합성이 방해되고 있다는 것을 의미할 수 있다. PE내 AA함량이 LA보다 더 많은 것은 PE의 DHA함량이 PC보다 더 많은 것과 관련될 수 있는 가능성을 생각해 볼 수 있다. DHA는 산화되어 eicosanoids에 유사한 물질로 될 수 있으며 이는 AA 대사에 강력한 조절기능을 가질 수 있기 때문이다 (Salem et al. 1986).

Table 5와 Table 6의 결과가 지방산 조성 비율에서 비슷한 경향을 보이는 것은 배자 뇌조직의 지방산 대사에 관여하는 효소들이 부화 15일령이면 충분한 활성을 발휘하며, 그 이후 21일까지의 사이에 지방산의 변화는 동일한 pattern을 유지하면서 주로 양적인 축적에만 의존하고 있다는 것을 의미한다(Jeffcoat와 James, 1984). 부화 15일령 부터 벌써 뇌조직에는 DHA가 우선적으로 축적되는 것이 현저하며 DHA의 전구체인 α -LNA가 심각하게 부족할 경우 (SO군) $\omega 6$ 지방산인 AA가 그것을 대체하고 있었다. 그러나 SO+PO군 처럼 소량의 α -LNA라도 공급되면 뇌는 이로부터 만들어지는 DHA를 우선적으로 축적하는 능력이 매우 강하며, 한편 충분한 양의 α -LNA가 공급되는 경우라도 (PO군) 뇌조직의 어느 지질 subclass든지 DHA 함량 또는 총 $\omega 3$ 지방산 함량이 더 많아지지는 않았다. 이는 매우 중요한 관찰로 정상인의 경우에도 뇌조직내 DHA함량이 어느 수준에서 peak에 도달하며, DHA 또는 α -LNA를 추가로 섭취하더라도 그 수준 이상으로 더 증가하지 않는다는 것을 의미할 수 있으며 이 부분에 대한 추가 연구가 필요하다.

적 요

본 연구는 산란계에게 LA와 α -LNA 함량 비율이 다른 4가지 사료를 급여하여 계란(수정란) 난황내 지방산 조성을 변화시켜 이것이 부화중인 배자의 뇌 조직 발달, 뇌조직의 지질 조성, 지질 분류별 지방산함량 등에 미치는 영향을 조사하고자 실시하였다. LA급원으로 홍화유, α -LNA 급원으로 들깨유를 사용하여 홍화유 8%, 홍화유 6%+들깨유 2%, 홍화유 2%+들깨유 6%, 들깨유 8%를 기초사료에 첨가하여 4가지 실험사료를 만들어 산란계에게 급여하였다. 수정란을 부화기에 넣어 부화 15, 17, 19 및 21일령 때 뇌조직을 채취하였는데 그중에서 17 및 19일령은 뇌무게와 뇌의 총지질 함량만을 측정하였다.

사료내 ω 3와 ω 6 지방산 조성 비율이 크게 달라 도 실험군간에 배자 뇌의 무게, 뇌조직의 여러 지질군 함량, 즉 인지질, 콜레스테롤, 유리지방산, 중성지방 및 콜레스테롤 에스터 등의 함량에 어떤 차이가 나타나지 않았다. PC에서는 LA함량이 AA보다 더 많았고 반면에 PE에서는 AA가 LA보다 더 많았다. DHA는 PC보다 PE에 2.5~3배 더 많이 축적되었다. 들깨유가 많이 첨가된 실험군일수록 뇌조직내 AA/LA 비율이 낮았다. 들깨유가 가장 많이 첨가된 실험군(8%)이나 6%만 첨가된 실험군의 뇌조직내 DHA 함량이 같은 수준으로 나타났으며, 이는 ω 3 지방산을 추가 공급해도(PO군) 뇌조직의 DHA함량이 더 이상 증가되지 않고 peak에 도달한 상태로 일정 수준을 유지한다는 것을 의미한다.

(색인 : 닭의 배자, 뇌, 인지방, 지방산)

인용문헌

- Anderson GJ, Connor WE, Corliss JD 1990 Docosahexaenoic acid is the preferred dietary ω -3 fatty acid for the development of the brain and retina. *Pediatr Res* 27:89-97.
- Bazan NG, Rodriguez de Turco EB, Gordon WC 1993 Supply, uptake, and retention of docosahexaenoic acid by the developing and mature retina and brain. In *Lipids, learning and the brain: Fats in infant and formulas*, Ross Conferences on Pediatric Research Chapter 2.
- Chee KM, Gang XJ, Rees DMG, Meydani M, Ausman L, Johnson J, Siguel EN, Schaefer EJ 1990 Fatty Acid Content of Marine Oil Capsules. *Lipids* 25:523-528.
- Cherian G, Sim JS 1991 Effect of feeding full fat flax and canola seeds to laying hens on the fatty acid composition of eggs, embryos and newly hatched chicks *Poultry Sci* 70:917-922.
- Christie WW 1989 Gas Chromatography and Lipids. A practical Guide.
- Fletcher DL, Britton JAC 1984 A composition of various procedures for determining total yolk lipid content. *Poultry Sci* 63: 1759-1763.
- Galli C, Trzeciak HI, Paoletti R 1971 Effects of dietary fatty acids on the fatty acid composition of brain ethanolamine phosphoglyceride. Reciprocal replacement of ω -6 and ω -3 polyunsaturated fatty acids. *Biochim Biophys Acta* 6:378-387.
- Geetha C, Sim J 1992 Preferential Accumulation of ω -3 Fatty Acids in the Brain of Chicks from Eggs Enriched with ω -3 Fatty Acids. *Poultry Sci* 71:1658-1668.
- Hera A, Radin NS 1974 Lipid extraction of tissue with a low toxicity solvent. *Anal Biochem* 90:420-426.
- Jeffcoat R, James AT 1984. The regulation of desaturation and elongation of fatty acids in mammals. in: *Fatty acid metabolism and its regulation* (Ed. Numa, Elsevier, New York.

- King ME, Spector AA 1978 Effect of specific fatty acyl enrichments on membrane physical properties detected with a spin label probe. *J Biol Chem* 253:6493-6501.
- Lamprey MS, Walker BL 1976 Possible essential role for dietary linolenic acid in the development of the young rats. *J Nutr* 106:86-93.
- Lepage G, Roy CC 1989 Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 27:114-120.
- Lin DS, Connor WE, Anderson GJ and Neuringer M 1990 Effects of dietary ω -3 fatty acids on the phospholipid molecular species of monkey brain. *J Neurochem* 5(4):1200-1207.
- Mato JM 1990 Phospholipid Metabolism in Cellular Signaling, CRC Press Inc.
- Menon NK, Dhopeswarkar GA 1982 Essential fatty acid deficiency and brain development. *Prog Lipid Res* 21:309-326.
- National Research Council 1984 Nutrient requirements of poultry. 7th ed. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- Neuringer M, Connor WE, Lin DS, Barstad L and Luck S 1986 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.
- North MO 1978 Chicken Production Manual. 2 ed. The Avi Publishing company, INC. pp 35-140.
- Reisbick SM, Neuringer R, Hasnain R and Connor WE 1990 Polydipsia in rhesus monkeys deficient in omega-3 fatty acids. *Physiol Behav* 47:315-323.
- Salem N Jr, Kim HY and Yergey YA 1986. Docosahexaenoic acid: membrane function and metabolism. Pages 263-317 in: Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafood (eds. Simopoulos AP, Kifer RR and Martin RE), Academic Press, San Diego.
- Sastry PS 1985 Lipids of nervous tissue: Composition and metabolism. *Prog Lipid Res* 24:69-176.
- Steel RG, Torrie JH 1960 Principles and procedures of statistics. McGraw Hill Book Co. N.Y.
- 박성열 1990 산란계에서 급여지방이 난황 cholesterol 함량 및 지방산 조성에 미치는 영향. 고려대학교 석사 학위 논문.
- 오봉국 1988 현대가금학 문운당 p. 211-246.
- 최진호 1992 발생중인 닭의 배자에서 조직내 지방산의 분포에 관한 연구. 고려대학교 석사 학위 논문.