

최 중
연구보고서

지질대사 조절에 의한 고기능성 축산물 생산기술 개발

Development of high-quality animal products by
modifying lipid metabolism

주 관 연 구 기 관
경 북 대 학 교

협 동 연 구 기 관
영 남 대 학 교
대구가톨릭대학교
경 산 대 학 교

농 립 부



최 종 보 고 서

1995 연도 농림기술개발사업에 의하여 완료한 “지질대사 조절에 의한 고기
능성 축산물 생산기술 개발”에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제
출합니다.

- 첨부: 1. 최종보고서 10부
2. 최종보고서 디스켓 1 매

2000 년 12 월 일

주관연구기관: 경북대학교

총괄연구책임자: 여 영근 (인)

주관연구기관장: 경북대학교 총장 직인

농 립 부 장 관 귀 하

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “지질대사 조절에 의한 고기능성 축산물 생산기술 개발”
과제의 최종보고서로 제출합니다.

2000 년 12 월 일

주관연구기관명: 경북대학교

총괄연구책임자: 여 영 근

연 구 원: 이 철 원

최 병 국

김 봉 권

협동연구기관명: 영남대학교

협동연구책임자: 성 삼 경

협동연구기관명: 대구가톨릭대학교

협동연구책임자: 이 신 호

협동연구기관명: 경산대학교

협동연구책임자: 김 수 민

요 약 문

I. 제 목: 지질대사 조절에 의한 고기능성 축산물 생산기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

본 연구진이 개발한 n-3 지방산 강화 축산물이 인체혈액에 미치는 임상학적 효과를 규명하고, 가축의 세포내 desaturase 역가조절을 통한 새로운 기법의 n-3 다가불포화지방산 축적 기술을 개발하고, 가축의 근육세포의 세포막 유동성을 조정함으로써 냉동육의 해동에 따른 품질저하를 방지하고, 지방산패를 방지하므로써 유통기간중 육류의 저장성을 크게 증진시키고자 하였다.

본 연구에서 개발된 기술을 이용하여 WTO 체제하에서의 외국 축산물의 수입 홍수를 근본적으로 방지할 수 있는 고기능성 축산물을 생산하므로써 수입 개방에 따른 축산농가의 고통을 해결해 줄 수 있을것으로 사료된다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 본 연구진에 의하여 개발된 n-3 지방산 축적육류 섭취가 인체의 각종 생리적 질병에 미치는 임상학적 효과를 규명하기 위하여 질병관련 혈액의 각종 지질대사가 n-3 지방산 함유육류에 의해서 어떤 영향을 받는지 입증코자 하였다
2. 가축의 조직내 n-3 지방산을 보다 효율적으로 증가시키기 위하여 n-3 다가불포화지방산 합성을 위한 desaturase의 역가를 조절할 수 있는 desaturase용 effector를 탐색하였다.
3. 확인된 n-3 다가 불포화지방산 합성용 desaturase 역가 조절을 위한 effector들을 소화기관에서 파괴되지 않고 binding 물질과 결합시켜 가축의 조직세포막 내로 유입시키므로써 가축의 각종 조직내 n-3 다가불포화 지방산을 효율적으로 증가시키고자 하였다.
4. 육류는 냉동후 해동시 조직세포막이 파괴되어 품질이 크게 손실되므로 이를 방지하기 위하여 조직세포막의 유동성을 크게 증가시켜 냉동에 의한 품질저하를 방지하고자 유동성의 주요 원인인 세포막 인지질 구성 acyl-chain의 불포화도를 크게 증가시키고 cholesterol를 감소시키고자 한

- 다.
5. 가축이 도살전후 시판에 이르기까지 변질의 주요 원인이 되는 지방의 산패에 따른 화학적 변화를 최소화하므로써 유통과정 중의 육류의 보존기간을 연장하고자 하였다.

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발결과

- 가. n-3 지방산 축적육류 섭취가 인체의 각종 생리적 질병에 미치는 임상학적 효과를 실험한 결과 질병관련 혈액의 각종 지질대사(지방산조성, 혈소판응고, cholesterol 등)가 n-3 지방산 함유육류에 의해서 매우 긍정적인 영향을 받는다는 것이 입증되었다.
- 나. n-3 지방산 합성 효소를 in vitro 와 in vivo(생체내) 에서 조절하므로써 세포 대사차원에서 다가불포화지방산 특히 n-3 지방산의 합성강화로 인한 축산물의 고기능화를 이룩할 수 있었다.
- 다. 육류는 냉동후 해동시 조직 세포막이 파괴되어 품질이 크게 손실되므로 이를 방지하여고 품질의 육류를 유지하고자 하는 시도로서, 다가불포화지방산을 가축의 조직세포막으로 유입시키므로써 세포막의 유동성을 증가시켜 결과적으로 냉동육이 해동후에도 근육조직의 세포막이 파괴되지 않고 근육의 형태를 냉동전과 같이 유지하므로써 품질저하를 방지할 수 있었다.
- 라. 육류의 저장성을 높이기 위한 항산화물질을 효율적으로 가축의 조직세포내로 유입시켜 육류의 산화방지를 통한 각종 산화대사물의 감소를 가져오므로써 매우 효과적으로 육류의 저장성 증진을 가져왔다.

2. 활용에 대한 건의

- 가. 본 연구를 통하여 n-3 지방산 강화 축산물섭취에 의한 임상효과의 입증, desaturase에 의한 n-3 지방산의 불포화도 증가를 위한 새로운 기술의 확보, 냉동시 일어나는 축산물의 품질 (연도 맛, 영양손실 등) 저하를 방지할 수 있는 기술, 육류의 지방산패를 방지하므로써 보존성 증가 등 고기능성 축산물생산에 바람직한 기술이 개발되었으므로 본 기술을 다양하게 이용할 수 있는 방안마련이 필요하다.

- 나. 본 연구과제를 통해 개발된 기술을 참여기업체를 통하여 축산물 생산농가에 널리 보급하여 n-3 지방산 축적 축산물을 비롯한 고기능성의 축산물 생산을 통한 축산물의 부가가치를 높이므로서 축산농가의 경제발전에 기여하며 소비자의 건강에도 크게 기여할 수 있다.
- 다. 참여기업체에서 본 연구결과로 개발된 기술을 활용하므로서 기타 고기능성 식품개발에도 획기적 계기를 마련할 수 있다.
- 라. 본 기술을 이용하면 축산물 생산, 처리, 유통에 이르기까지 효과적인 고부가가 기대되며 국가적 정책지원이 마련되면 가중효과를 기대할 수 있다.

SUMMARY

This studies were carried out to observe the effects of animal products enriched with n-3 fatty acids on human health, to accumulate high n-3 fatty acids in animal products by inducing the desaturase cofactors for fatty acids into animal cells, to increase membrane fluidity to prevent the quality deterioration of meat after freezing and thawing, and to prolong the preservation period of meat by putting antioxidants into animal body.

The consumption of animal products enriched with n-3 fatty acids reduced the platelet aggregation induced by platelet agonists in the human. The plasma LDL-cholesterol was significantly decreased by dietary animal products enriched with n-3 fatty acids. The proportions of n-3 fatty acids in the triacylglycerols and the glycerophospholipids were increased markedly. The greatest changes in the 3-subclasses of glycerophospholipids were in the ether types of the choline and ethanolamine glycerophospholipids. The dietary n-3 fatty acids remarkably reduced the proportion of alkylacyl glycerophosphocholine as precursor of platelet activating factor(PAF) which is associated with the pathophysiological problems in human and animal models.

It is very well known about the importance to n-3 fatty acids for human health. The n-3 polyunsaturated fatty acids were highly increased in animal tissues by enhancing the activity of desaturase enzyme which increases the desaturation degree by adding double bond to fatty acid. The desaturase enzyme activity in vitro and in vivo was efficiently increased by stimulating the enzyme with the newly developed desaturase cofactors in this study.

The meat quality is easily deteriorated during freezing and thawing. This quality deterioration can be prevented by keeping cellular membrane intact in animal tissues. The muscle cell

membranes were not broken when the membrane fluidity was efficiently increased by incorporation of polyunsaturated fatty acids into muscle cell membranes in this study.

It is very important to prolong the preservation period of meat for merchandising. The preservation period is mainly shortened by lipid rancidity(undesirable oxidation) during storage. The lipid rancidity rate was highly reduced by carrying the various antioxidant mixture into animal cell. The byproducts of lipid rancidity were markedly decreased in meat by the help of the antioxidant incorporated into animal tissues effectively.

The results of the studies could possibly contribute to produce the high-quality animal products for human health, to enhance livestock farmer's income, and increase competitive power in the international trading of animal products.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	7
1. Study Aim and Scope	7
Chapter 2. Health Effects of n-3 Fatty Acids on Human Blood Lipid	11
1. Introduction	11
2. Materials and Methods	12
3. Results and Discussion	18
4. Conclusions	50
5. References	51
Chapter 3. Investigation of Effectors for Microsomal $\Delta 6$, 5,	5,
4-desaturase in vitro	55
1. Introduction	55
2. Materials and Methods	56
3. Results and Discussion	59
4. Conclusions	113
5. References	114
Chapter 4. In vivo investigation of Effectors for Microsomal $\Delta 6$, 5,	5,
4-desaturase	120
1. Introduction	120
2. Materials and Methods	121
3. Results and Discussion	130
4. Conclusions	161
5. References	162
Chapter 5. Prevention of Meat Quality Deterioration during Freezing	
and	
Thawing by Increase of Muscle Cell Membrane Fluidity	169
1. Introduction	169
2. Materials and Methods	171
3. Results and Discussion	186
4. Conclusions	210

5. References	211
Chapter 6. Reduction of Lipid Rancidity to Prolong the Meat Preservation	214
1. Introduction	214
2. Materials and Methods	215
3. Results and Discussion	221
4. Conclusions	230
5. References	231

목 차

제 1 장 서 론	11
제 1 절 연구개발의 목적과 범위	11
제 2 장 n-3 지방산 강화 축산물의 인체 혈액 지질대사에 미치는 임상학적 효과	16
제 1 절 서 설	16
제 2 절 연구수행 방법	17
제 3 절 연구결과 및 고찰	25
제 4 절 결 론	60
제 5 절 참고문헌	61
제 3 장 Microsomal $\Delta 6, 5, 4$ -desaturase 역가 증진을 위한 in vitro effector 탐색	67
제 1 절 서 설	67
제 2 절 연구수행 방법	68
제 3 절 연구결과 및 고찰	71
제 4 절 결 론	125
제 5 절 참고문헌	127
제 4 장 생체내 $\Delta 6, 5, 4$ -desaturase 역가 증진을 위한 in vivo effector 탐색	135
제 1 절 서 설	135
제 2 절 연구수행 방법	136
제 3 절 연구결과 및 고찰	147
제 4 절 결 론	186
제 5 절 참고문헌	187
제 5 장 세포막 유동성 증가에 의한 냉동육의 품질저하 방지	199
제 1 절 서 설	199
제 2 절 연구수행 방법	202
제 3 절 연구결과 및 고찰	217
제 4 절 결 론	242
제 5 절 참고문헌	243

제 6 장	육류의 보존성 증대를 위한 지방의 산패방지	248
제 1 절	서 설	248
제 2 절	연구수행 방법	249
제 3 절	연구결과 및 고찰	254
제 4 절	결 론	265
제 5 절	참고문헌	266

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적과 범위

1. 연구개발의 최종 목표

본 연구진이 지금까지 연구를 통하여 개발한 n-3 지방산 강화 축산물이 인체혈액에 미치는 임상학적 효과를 규명하고, 가축의 세포내 desaturase 역가 조절을 통한 새로운 기법의 n-3 다가 불포화지방산 축적 기술을 개발하고, 가축의 근육세포의 세포막 유동성을 조절함으로써 냉동육의 해동에 따른 품질저하를 방지하고, 지방산패를 방지하므로써 유통기간중 육류의 저장성을 크게 증진시키고자 하였다.

2. 연구개발의 목적과 범위

가. n-3 지방산 강화 축산물의 인체 혈액 지질대사에 미치는 임상학적 효과

1) 목적: 본 연구진에 의하여 개발된 n-3 지방산 축적육류 섭취가 인체의 각종 생리적 질병에 미치는 임상학적 효과를 규명하기 위하여 질병관련 혈액의 각종 지질대사가 n-3 지방산 함유육류에 의해서 어떤 영향을 받는지 입증코자 하였다.

2) 범위: 일반적으로 인체의 각종 생리적 질병 (고혈압, 동맥경화증, 혈전증, 심근경색증, 골수염, 피부부종 등) 은 체내 지나친 n-6 지방산의 축적에 의해서 발생하고 있다. 본 연구진은 n-6 지방산에 의한 각종 생리적 질병을 효율적으로 예방하기 위하여 유효성 특수사료를 이용하여 DHA를 비롯한 n-3 지방산이 현저히 축적된 신소재 육류 (우육, 돈육, 계육) 생산기술을 개발하였으므로 본 신소재 육류가 인체 혈액에 미치는 임상학적 효과를 규명하고자하였다.

신소재 육류에 특이적으로 존재하는 n-3 지방산 (18:3n-3, 18:4n-3, 20:4n-3, 20:5n-3, 22:5n-3, 22:6n-6, 24:5n-3, 24:6n-3) 이 가축의 각조직 (피하지방, 근육간지방, 근육내지방, 간장, 신

장, 근육 등) 의 각종 인지질 (PC, PE, PS, PI, SPh 등), 중성 지질 (TG, DG, MG), 당지질, cholesteryl ester 등에 함유된 조성 및 분포도를 확인하였다.

년령이 20~25세 사이의 200명의 사람 (human subject) 을 4 group으로 나누어 각 group별로 n-3 지방산 축적 우육, 돈육, 계육, 닭육 group 및 대조구로 구분하여 6주간 급여한다. 급여 6주후 혈액을 채취하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.

- 가) 각종 혈전 관련 질병의 원인이 되는 혈소판 응고도를 측정하기 위하여 혈액중 혈소판을 분리한 후 collagen, thrombin, ADP, epinephrine 등의 혈소판 응고 agonist 와 반응시켜 aggregometer을 이용하여 n-3 지방산 축적 육류가 인체혈액의 혈소판응고에 미치는 영향을 실험하므로써 n-3 지방산 축적 육류의 항혈전 효과를 규명하였다.
- 나) 혈액 중 적혈구와 혈소판의 세포막을 분리한 후 세포막 인지질 중 PC와 PE의 3-subclasses (alkenylacyl-PC, alkylacyl-PC, diacyl-PC) 을 분석하므로써 DHA 함유 n-3 지방산 축적 육류 섭취에 의해서 platelet activating factor (PAF) 의 전구체인 alkylacyl-PC가 PAF cycle에 미치는 효과를 규명하였다.
- 다) 혈액중 lipoprotein (VLDL, LDL, HDL 등) 을 분리하여 각종 lipoprotein이 운반하는 cholesterol 함량이 n-3 지방산 축적 육류 섭취에 의해서 어떻게 영향을 받는지를 입증하였다.
- 라) 혈액중 적혈구와 혈소판의 세포막 인지질에 존재하는 각종 acyl-chain의 조성이 n-3 지방산 축적 육류섭취에 의해서 어떻게 영향을 받는지를 연구한다. 특히 acyl-chain 중 n-6/n-3의 비율변화를 탐색하였다.

나. Microsomal $\Delta 6,5,4$ -desaturase역가증진을 위한 in vitro effector 탐색

- 1) 목적: 가축의 조직내 n-3 지방산을 보다 효율적으로 증가시키기 위하여 n-3 다가불포화지방산 합성을 위한 desaturase의 역할을 조절할 수 있는 desaturase용 effector을 탐색하였다.

2) 범위: 지금까지 가축의 체내 n-3 지방산을 증가시키기 위하여 n-3 불포화지방산을 함유한 유화성 사료를 이용해왔으나 이는 조제과정이나 산화방지에 문제점이 제기되고 있으므로 이를 극복하기 위하여 훨씬 효율적인 desaturase 역가 조절을 통한 n-3 지방산 합성 증가 기술개발은 매우 중요하다. 가축 (소, 돼지, 닭 등) 으로부터 근육조직 및 지방조직 세포의 microsomal $\Delta 6$ -desaturase, $\Delta 5$ -desaturase, $\Delta 4$ -desaturase을 분리한 후 각종 effector을 기질과 함께 반응시켜 n-3 다가불포화지방산을 합성하기 위하여 다음과 같은 in vitro 실험을 수행하였다.

가) Microsomal $\Delta 6$ -desaturase을 linolenyl-CoA ($\Delta 9$, 12, 15-octadecatrienoyl-CoA) 와 반응시키기 위하여 각종 effector (NADH, NADPH, Malonyl-CoA, ferredxin, ascorbate, Zn, 각종 cofactor) 을 이용한다.

나) Microsomal $\Delta 5$ -desaturase을 $\Delta 11$, 14, 17-eicosatetraenoyl-CoA와 반응시켜EPA를 합성하기 위하여 각종 effector을 이용하였다.

다) Microsomal $\Delta 4$ -desaturase을 $\Delta 13$, 16, 19-docosapentaenyl-CoA와 반응시켜 DHA를 합성하기 위하여 각종 effector를 이용하였다.

다. 생체내 $\Delta 6$, 5, 4-desaturase 역가 증진을 위한 in vivo effector 탐색

1) 목적: 2년차 연구에서 확인한 n-3 다가 불포화지방산 합성용 desaturase 역가 조절을 위한 effector들을 소화기관에서 파괴되지 않고 binding 물질과 결합시켜 가축의 조직세포막 내로 유입시키므로써 가축의 각종 조직내 n-3 다가불포화지방산을 효율적으로 증가시키고자 하였다.

2) 범위: 2년차 연구결과에서 얻어진 $\Delta 6$, $\Delta 5$, $\Delta 4$ -desaturase 역가증진을 위한 정확한 effector을 가축의 소화기관에서 변성이나 파괴없이 각 조직세포내로 유입시켜 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시키기 위하여, effector를 특성별로 강력한 binding 물질로 결합시켜 다음과 같은 형태의 effector 보호막 system을

개발한 후 in vivo 실험을 수행하였다.

- 가) $\Delta 6$, $\Delta 5$, $\Delta 4$ -desaturase 역가 증진을 위한 각각의 effector을 가축의 조직세포막 내로 유입시키기 위하여 각종 amphipathic agent를 이용하여 micelle 형 보호 system을 개발하여 in vivo 실험을 수행하여 가축의 각 조직에서 n-3 다가불포화지방산을 효율적으로 증가시켰다.
- 나) $\Delta 6$, $\Delta 5$, $\Delta 4$ -desaturase 역가 증진을 위한 각 effector을 liposome 형으로 보호 system을 개발하여 in vivo 실험을 수행하였다.
- 다) $\Delta 6$, $\Delta 5$, $\Delta 4$ -desaturase 역가 증진을 위한 각 effector을 bilayer 형으로 보호 system을 개발하여 in vivo 실험을 수행하였다.

라. 세포막 유동성 증가에 의한 냉동육의 품질저하 방지

- 1) 목적: 육류는 냉동후 해동시 조직 세포막이 파괴되어 품질이 크게 손실되므로 이를 방지하기 위하여 조직 세포막의 유동성을 크게 증가시켜 냉동에 의한 품질저하를 방지하고자 유동성의 주요 원인인 세포막 인지질 구성 acyl-chain의 불포화도를 크게 증가시키고 cholesterol를 감소시키고자 하였다.
- 2) 범위: 모든 육류는 저장성을 높이기 위하여 냉동보존 의존하고 있으나 해동시 세포내 수분의 결빙에 의한 부피의 팽창으로 세포막이 파괴되므로서 육류의 연도가 크게 감퇴되고 아울러 세포내 주요영양분의 유출로 영양손실도 가져온다. 이런 냉동에서 오는 품질저하를 방지하기 위하여 세포막 대사조절을 통한 세포막의 유동성 (membrane fluidity) 을 크게 증가시키기 위하여 다음 실험을 수행하였다.
 - 가) 가축의 세포막에 존재하면서 세포막 유동성에 관여하는 각종 인지질 (PC, PE, PS, PI, SPh, lyso-PC 등) 의 구성을 정확히 분석한 후, 각 인지질에 가장 용이하게 ester 결합 (esterification) 할 수 있는 다가불포화지방산의 종류를 확인하였다.
 - 나) 각 인지질별로 ester 결합할 수 있는 가장 불포화도가 높은 지방산을 선택하여 재구성한 후 liposome 형 운반체를 이용하여

세포내로 주입시켜 각 인지질에 결합될 수 있는 acyl-chain의 불포화도를 극대화시켰다.

- 다) 세포막 유동성을 저하시키는 세포막 구성 cholesterol 의 양을 극소화 하기 위하여 cholesterol 합성 전구체의 HMG-CoA 합성효소를 저해하는 n-3 지방산을 liposome을 통하여 세포내로 주입시켰다.

마. 육류의 보존성 증대를 위한 지방의 산패방지

- 1) 목적: 가축이 도살전후 시판에 이르기까지 변질의 주요 원인이 되는 지방의 산패에 따른 화학적 변화를 최소화하므로써 유통과정 중의 육류의 보존기간을 연장하고자 하였다.
- 2) 범위: 기초 실험에서 밝혀진 각종 천연추출물중 생체내 항산화성 (biologically active) 이 뛰어난 물질을 정제하여 운반체 (carrier) 을 이용하여 가축의 근육세포 내로 유입시키므로써 근육세포 내의 항산화 system을 크게 증진시키고자 하였다.

가) 적합한 carrier을 통해 본 연구진이 개발한 천연항산화물질의 세포내 유입을 위해 사료조성물의 소화흡수에 따른 항산화 물질유입 기술을 개발하였다.

나) 항산화성물질을 근육세포내로 유입시킨 후 acid value, peroxide value, malondialdehyde (MDA) value 등을 통하여 생체의 항산화 system을 검정하였다.

다) 가축을 도살한 후 항산화 system 증진이 육류의 품질에 미치는 효과를 측정하기 위해 3, 6, 9일 등 저장기간별로 항산화물질 유입에 따른 산화대사물의 변화를 분석하였다.

제 2 장 n-3 지방산 강화 축산물의 인체 혈액 지질대사에 미치는 임상학적 효과

제 1 절 서 설

육류의 품질을 크게 좌우하는 지방의 대부분은 탄화수소가 16개인 palmitic acid 등 포화지방산과 18개인 stearic acid, oleic acid와 n-6 지방산 계열인 linoleic acid와 arachidonic acid 등으로 구성 되어 있다. 포화지방산은 체내 콜레스테롤의 축적을 비롯한 여러가지 생리적 후유증을 초래하고 있으며 n-6 지방산인 linoleic acid은 체내에서 탄화수소 사슬 연장과 불포화도의 증가로 arachidonic acid으로 전환되며 이렇게 전환된 arachidonic acid과 식품에서 흡수된 arachidonic acid은 체내의 각종 조직의 조직세포 내에서 prostaglandins을 포함한 각종 eicosanoids을 산생하므로써 각종 생리적 질병의 원인이 되고 있어 세계적으로 심각한 문제가 되고 있다. 이 arachidonic acid가 cyclooxygenase의 작용에 의해서 생성된 2 series의 prostaglandins이나 thromboxanes 등과 lipoxygenase의 작용에 의한 4 series의 leukotrienes 등은 고혈압, 심빈혈증, 심근 경색증, 동맥 경화증, 각종 신장병, 골수염, 피부 염증, 피부 부종, 적반점 피부병 등 여러 가지 생리적 질병을 유발하는 물질로서 arachidonic acid 대사의 조절 및 대사저해는 매우 중요한 연구 과제이다.

본 연구진은 지금까지 국제공동연구를 통하여 생체내에서 n-3 지방산 계열인 α -linolenic acid, eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA)을 이용하여, 과다복용시 각종생리적 질환의 원인이 되는 n-6 지방산 계열인 arachidonic acid와 linoleic acid의 대체 효과를 확인한 바 있다.

이러한 연구를 바탕으로 하여 성인병을 비롯한 각종 생리적 질병을 초래하는 포화지방산과 n-6 지방산을 현저히 감소시키고 이를 지방산의 대사를 차단할 수 있는 n-3 지방산을 보다 효율적으로 증가시키기 위하여, 가축에서 기존 유향성 사료와 아울러 효율적인 n-3 다가불포화지방산의 축적을 위하여 가축의 세포내 desaturase의 역가를 증가시키므로써 EPA나 DHA 등의 n-3 지방산을 용이하게 증가시키는 획기적 기술을 개발하였다. 그러나 n-3 지방산 강화 축산물을 섭취시 인체에 미치는 임상학적 효과가 아직 이루어져 있지 않으며 본 연구를 통하여 축산물 강화 n-3 지방산의 임상학적 효과를 밝히고자 하였다. 즉, 특수사료를 이용하여 n-3 지방산 (α -linolenic acid, EPA, DHA) 이 다량 축적시킨 축산물을 급여한 후 인체의 혈액중 혈소판 응고도와 각종 지질대사에 미치는 효과를 규명하므로써, n-3 지방산이 인체의 지질관련 각종 질병에 어떤 긍정적 효과를 나타낼 수 있는가를 입증하고자 하였다.

제 2 절 연구수행 방법

1. n-3 지방산 축적 계육 및 돈육 생산

n-3 지방산이 축적된 계육을 생산하기 위하여 eicosapentaenoic acid (EPA) 와 docosahexaenoic acid (DHA) 가 각각 약 10%씩 함유된 어유와 isolated soy protein (ISP) 가 4:1 되도록 유화시킨 후 대두박과 소맥분을 이용하여 분말한 후 건조시켰다. 건조된 분말이 6.5% 되도록 하여 Table 1에서와 같이 사료조성물을 배합한 사료를 조제하였다. 우선 육계 30마리를 사양하여 가장 합리적인 지방산 조성 시기를 정하기 위하여 1주 간격으로 3주간 10마리씩 도살하여 도체의 부위별 지방산 조성을 GLC을 이용하여 분석하였으며 육계의 부위별 각종 지방산 조성 및 n-6/n-3 지방산 비율이 매우 합리적인 사양기간을 선택하여 육계 300두를 사양하여 인체실험용 시료로 사용하였다.

Table 1. Composition of diet for chicken

INGREDIENT	AMOUNT %	MIN %	MAX %	COST /Tne	REST COST	LOW RANGE	HIGH RANGE
CORN (USA)	62.1518	60.0000		147.29		24.00	171.34
SOYBEAN ML 44%	23.0000	23.0000	25.0000	249.00	1.027	146.30	
Fish Oil POWDER (80/20)	6.5000	5.8000	6.5000	.00	1.468		146.79
C.G.M 60% (PUGIN)	3.0000	3.0000	4.0000	300.00	2.026	147.37	
MEAT&BONE ML 50%	3.0000	3.0000		200.00	1.919	98.05	
LIMESTONE 20	.8482	.8000		34.00			147.29
D.C.P (18%)	.8000	.8000		270.00	1.950	75.01	
SALT (HANJOO)	.4000	.4000		172.00	.246	147.42	
VIT-MIN (BRO)	.2000	.2000		800.00	6.526	147.42	
DL-METHIONINE 50%	.1000	.1000	1.0000	950.00	18.03	147.42	
NUTRIENT SOLUTION:							
NUTRIENT	UNIT	ANALYSIS	MIN	MAX	INCR	R-COST	
WEIGHT	%	1.000	1.000	1.000	.01	1.474	
C. PROTEIN	%	18.533	18.400				
C. FAT	%	6.825	6.000				
C. FIBER	%	3.263		6.000			
C. ASH	%	5.079					
CA	%	1.060	1.000	1.960	010	.329	
TP	%	.608	.600				
AVP	%	.391					
CA/P RATIO	%	1.742					
ME (POULTRY)	Kcal/kg	3108.95	3100.00				
ARGININE	%	1.093	0	2.000			
LYSINE	%	.878		2.000			

- to be continued -

METH+CYS	%	.690	2.000
METHIONINE	%	.392	2.000
THYRONINE	%	.692	2.000
TRYPTOPHAN	%	.218	.140 2.000
Na	%	.242	.500
Cl	%	.303	.500
K	%	.683	.800
Mg	%	.136	
S	%	.216	
VITAMIN E	IU/kg		
VITAMIN A	IU/kg	4400.00	
XANTHOPHYLL	IU/kg	13.823	30.000
BIOTIN	mg/kg	.132	1.000
CHOLINE	mg/kg	949.234	3000.0
PIF	%	19.462	00
N - 6	%	1.721	
N - 3	%	1.265	
DHA	mg/kg	3213.60	

n-3 지방산이 강화된 돈육을 생산하기 위하여 EPA와 DHA가 각각 10% 씩 함유된 어유를 이용하여 계육생산용으로 조제한 것과 같은 유화성 분말을 4.5% 사용하여 Table 2에서와 같이 돈육생산용 배합사료를 조제하였다. 20두의 육돈을 이용하여 사양중 지방산 조성에 따른 적절한 사양시기를 정하기 위하여 1주 간격으로 4주간 우선 부위별 혈액을 채취하여 GLC법으로 지방산 조성 및 n-6/n-3 지방산 비율을 분석하여 매우 바람직한 것으로 간주된 사양기간을 선택된 육돈 20두를 부위별로 조직을 분리하여 지방산 조성을 확인하였으며, 그중 돈육의 목살부위를 분리하여 인체실험용 시료로 이용하였다.

Table 2. Composition of diet for pig

INGREDIENT	AMOUNT %	MIN %	MAX %	COST /Tne	REST COST	LOW RANGE	HIGH RANGE
WHEAT (H-IN)	33.0469		35.0000	142.00		135.02	155.09
WHEAT BRAN	30.0000		30.0000	134.81	.137		148.53
SOYBEAN ML 44%	8.7535		30.0000	249.00		244.30	252.92
CORN (USA)	5.0000	5.0000	10.0000	147.29	.150	132.26	
BARLEY HULLS	5.0000	5.0000	6.0000	150.00	.106	139.40	
FLAX (CANADA)	5.0000	5.0000	10.0000	370.53	1.985	172.02	
ALFALFA ML 17%	5.0000	2.0000	5.0000	128.70	.130		141.71
STAND OIL (10.3%)POWDER	4.5000	4.5000		859.50	7.126	146.91	
LIMESTONE 40	1.2379		2.0000	24.00			51.07
MEAT&BONE ML 50%	1.0833	1.0000	2.0000	290.00		284.64	96.58
LYSINE 98%	.3176		1.0000	2300.00		1311.	
VIT-MIN (HOG)	.3000	.3000	.3000	1522.00	15.22		.14
SALT (HANJOO)	.2500	.2500	.3000	172.00	.830	89.02	5832.6
TRICAL PO4	.1316		1.0000	295.00		263.72	
DL-METHIONINE 50%	.1192		1.0000	1950.00		153.96	
TOCOPHEROL 10%	.1000	.1000		3600.00	35.10	89.65	
FLAVOUR (H)	.1000	.1000		2200.00	21.10	89.65	
ETHOXYQUIN 25%	.0600	.0600		1700.00	16.10	89.65	

NUTRIENT SOLUTION:

NUTRIENT	UNIT	ANALYSIS	MIN	MAX	INCR	R-COST
WEIGHT	%	1.000	1.000	1.000	.01	.897
C. PROTEIN	%	10.000	16.000	19.000	1.00	1.130
C. FAT	%	8.320	8.000	10.000		
C. FIBER	%	6.250		8.000		
C. ASH	%	5.239		8.000		
CA	%	.850	.750	.850	.10	.175
TP	%	.572		1.000		
AVP	%	.300	.300	.500	.01	.144
CA/P RATIO	%	1.486				
ME (HOG)	Kcal/k	3150.00	3150.000		10.00	.057
LYSINE	%	.900	.900		.01	.264
METH+CYS	%	.543	.530			
METHIONINE	%	0300	.300		.01	.366
THYRONINE	%	.519		2.000		
TRYPTOPHAN	%	.222	.160	2.000		
Na	%	.146	.140	.300		
Cl	%	.285	.170			
K	%	.794				
Mg	%	.213				
S	%	.172				
VITAMIN E	IU/kg	102.585				
VITAMIN A	IU/kg	3755.00				
VITAMIN D3	IU/kg					
BIOTIN	mg/kg	.086		1.000		
CHOLINE	mg/kg	1298.25		3000.000		
N - 6	%	1.404				
N - 3	%	1.634				
DHA	mg/kg	4635.00		5000.00		

2. n-3 지방산 강화 계육 및 돈육 섭취에 따른 인체혈액의 혈소판 응고도 실험

20~21세 사이의 20명의 여성 실험대상자 (human subject) 에게 n-3 지방산 (α -linolenic acid, EPA, DHA 등) 함유 계육을 급여하기 전과 매일 200g씩 4주 (28일) 동안 급여한 후 각 임상 실험대상자로부터 혈액 30ml씩 채취하여 혈액의 일부는 혈소판 응고실험을 위한 혈소판 분리용으로 사용하였으며 나머지는 지질 (각종 중성 및 극성지질) 분석용으로 사용하였다. 또 다른 20~21세 사이의 10명의 여성 실험대상자를 대조구로 선정하여 n-3 지방산이 강화되지 않은 일반 시판용 계육을 200g씩 4주간 급여하여 같은 혈소판 응고실험을 수행하였다. 각 실험대상자로부터 혈액을 채취한 후 혈액응고를 방지하기 위한 sodium heparin으로 처리한 vacutainer 사용하였으며 채취한 혈액은 항온수조 37°C에서 항온유지하였다. 채취한 혈액에서 platelet rich plasma (PRP) 를 분리하기 위하여 혈액을 1200rpm으로 원심분리 하였으며 상층액을 분리한 나머지 부분을 2800rpm으로 원심분리하여 platelet poor plasma (PPP) 와 적혈구 (red blood cell, RBC) 를 분리하였다. PRP의 혈소판 응고를 유도하기 위하여 collagen, ADP, epinephrine을 다음과 같이 preparation하여 용액을 만든 후 agonist로 사용하였으며 platelet aggregometer Model 600B-Dual (Ion-Trace Inc. Ontario, Canada) 을 사용하여 혈소판 응고를 측정하였다. 혈소판 응고 측정 이후 남은 PRP와 RBC의 총지질을 추출하여 지방종 분석용으로 이용하였다.

Preparation of agonist solution

COLLAGEN SOLUTION is prepared by reconstituting a vial of Collagen Reagent, Catalog No. 885-1, with 1.0mL deionized water. Allow vial to stand undisturbed for at least 15 minutes at room temperature before use. Warming to 37°C may be necessary for complete dissolution. Swirl to mix prior to each assay. DO NOT VORTEX. Collagen Solution should be kept at room temperature only for the duration of testing.

ADP SOLUTION is prepared by reconstituting ADP Reagent, Catalog No. 885-3, with 1.0mL deionized water to yield solution containing ADP, 2×10^{-4} mol/L. Swirl to mix. Allow vial to stand at room temperature (18-26°C) for 15 minutes before use.

EPINEPHRINE SOLUTION is prepared by reconstituting Epinephrine Reagent, Catalog No. 885-5, with 1.0mL deionized water to yield solution containing epinephrine, 1×10^{-4} mol/L. Allow vial to stand at room

temperature for 15 minutes before use. Epinephrine Solution should be kept at room temperature only for duration of testing.

3. 인체혈액내 인지질 대사 실험

n-3 지방산이 다량 축적된 계육 및 돈육을 섭취하기 전과 섭취한 후 인체 혈액을 채취하여 적혈구와 혈소판을 분리하여 세포막 인지질을 분석하였으며, 인지질중 PC와 PE를 수집하여 3-subclasses로 다시 분리한 후 특히 platelet activating factor (PAF) 의 전구체인 alkyl-acyl-PC의 대사과정을 통하여 n-3 지방산 축적 육류가 인체 혈관질환에 미치는 효과를 실험하였다.

가. PC와 PE 분리를 위한 Thin layer chromatography (TLC)

적혈구와 혈소판에서 추출한 총지질에서의 인지질 분리는 Thin-layer chromatography 1차 전개를 이용하였다. TLC plate는 Merck silica gel 60 glass pre-coated 20*20cm plates (without fluorescein indicator) 를 이용하였고 silicagel 도포 두께는 0.25mm (Art 5721) 이었다.

TLC의 1차 전개를 위한 용매 체계로는 chloroform, methanol, acetic acid, 그리고 H₂O (50: 37.5 : 3.5 : 2, v/v/v/v) 186ml 되게하여 이용하였으며 TLC chamber는 whatman chromatography paper (두께 0.18mm) 로 내부를 lining한 후 chamber 전체가 용매증기로 동일한 조건이 되도록 포화상태가 되게하였다. 전개가 완료되었을 때 plate를 꺼내어 실온에서 공기 건조기로 15분간 건조시킨 후 질소가스를 이용한 분무기로 건조된 plate 표면에 2,7-dichlorofluorescein (BDH chemicals Ltd., England) 용액을 분무하였으며 분무한 plate를 28% ammonium hydroxide (NH₄ OH) 의 증기로 30초간 방치한 후 각종 인지질 band가 선명히 나타나도록 한후 자외선 아래에서 각 band를 standard의 R_f치와 비교하여 인지질종을 확인하였다. 인지질 band 중 PC와 PE band를 수집하여 각각의 시험관에 넣고 8ml의 chloroform, methanol (2 : 1, v/v) 용액에 용해시켰다. Chloroform/ methanol (2 : 1, v/v) 용액에 용해된 PC와 PE에 2ml 증류수를 첨가하여 층분리를 하였으며 지질이 녹아있는 하층액을 다시 분리하여 -70℃ 이하의 냉동고에 보관한 후 alkylacyl, alkenylacyl과 diacyl group 등 3-subclasses 분리를 위한 시료로 사용하였다.

나. Phospholipase C를 이용한 가수분해

PC와 PE의 alkylacyl, alkenylacyl과 diacyl group의 분리를 위하여 phospholipid의 3번 위치의 phosphorous group을 phospholipase C를 이용하여 가수분해시키기 위하여 질소가스를 이용하여 chloroform을 완전히 증발시켜 PC

와 PE가 남아있는 시험관에 1ml diethylether, 17.5mM Tris buffer [103mg Trizma base (sigma Co., No. T-1503) + 50ml H₂O] 4ml과 1% calcium chloride (CaCl₂) 1.3ml을 첨가한 다음 bacillus cereus로 부터 추출한 phospholipase C (1000 units) 를 첨가하여 37℃에서 6시간 가수분해시켰다. 완전히 가수분해된 시료에 다시 diethyl ether 2ml를 첨가하여 10분간 1500rpm으로 원심분리하여 상층액인 diethyl ether 층에 phosphoryl ester가 제거된 diacyl glycerol을 추출해낸 다음 acetylation을 위한 시료를 사용하였다.

다. Acetylation

Acetylation을 위하여 가수분해된 PC와 PE에 100μl의 acetic anhydride을 첨가시킨 후 80℃의 항온 수조에서 1시간동안 반응시켰다. Acetylation 시킨 시료를 질소가스로 용매를 증발시킨 후 1ml의 chloroform, methanol (2 : 1, v/v) 에 녹여 alkylacyl, alkenylacyl과 diacyl group 등 3-subclasses을 분리하기 위한 시료로 준비하였다.

라. 3-subclass 분리용 TLC

CGP와 EGP의 3-subclass인 alkylacyl, alkenylacyl과 diacyl group을 분리하기 위해 TLC 전개를 서로 다른 용매체계에서 두번 실시하였다. Chloroform, methanol (2 : 1, v/v) 용액에 용해된 PC와 PE를 TLC plate에 spotting 하였으며 1차 전개 용매체계로는 petroleum ether/ diethyl ether/ acetic acid (90 : 10 : 1, v/v/v) 혼합액을 이용하였으며 3-subclass를 분리하기 위한 1차 전개는 용매가 TLC plate의 spotting 지점에서 7~10cm 에 도달했을 때 plate를 꺼내어 hood내의 실온 상태에서 완전히 건조시켰다. 완전히 건조시킨 plate를 다시 toluene 용매 100ml의 증기로 포화된 다른 TLC chamber에 동일한 방식으로 넣어 용매가 plate 끝에서 1cm 부근까지 전개될 때까지 두번째 전개시켰다. 전개된 plate를 꺼내어 hood에서 완전히 건조시킨 다음 2,7-difluoresceine solution을 질소가스가 흐르는 분무기로 분무하고 ammonium hydroxide 공기에 노출시켜 3-subclasses인 alkylacyl, alkenylacyl과 diacyl group band가 명확하게 나타나도록 하여 자외선 하에서 standard의 R_f치와 비교 확인 동정하였다.

4. 인체혈액 중 lipoprotein-cholesterol 대사

n-3 지방산이 강화된 계육 및 돈육을 섭취하기 전과 섭취한 후 인체혈액

에 함유된 각종 cholesterol 조성을 분석하기 위하여 계속 섭취전과 4주간 섭취 후 각 실험 대상자로부터 혈액 0.5ml 씩을 채취하여 cholesterol 분석용 Cholestech LDX system (Cholestech Co., CA, USA) 이용하여 total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), glucose (GLU) 등을 분석하였다.

5. 인체혈액의 적혈구와 혈소판 세포막에 존재하는 인지질의 acyl-chain 조성

n-3 지방산이 강화된 계속 및 돈육을 섭취하기 전과 섭취한 후의 인체혈액의 적혈구와 혈소판 세포막의 각종 인지질과 인지질 3-subclasses에 결합된 acyl-chain의 변화를 분석하였다. 적혈구와 혈소판의 총지질을 분리한 후 TLC로 각종 인지질을 분리한 후 분리 동정된 TLC plate의 각종 인지질 band를 수집하여 시험관에 담고 10 μ l internal standard 15:0와 6% methanolic-sulfuric acid를 첨가하여 90 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 90분간 메틸화 (methylation) 시켰다. 메틸화된 지방산을 분리하기 위해 pet·ether를 넣고 교반한 후 H₂O를 첨가하여 2000rpm으로 원심분리한 다음 상층액 (pet·ether 층) 만을 분리하였다. gas-liquid chromatography (GLC)로 분석하기 위해서 질소가스로 ether를 휘발시키고 hexane으로 다시 용해하여 지방산을 분석하였다. GLC의 분석은 Shimadzu GC14A gas chromatograph (Shimadzu Co. Japan)을 사용하였으며 분석조건은 detector temperature 250 $^{\circ}$ C, injector temperature 240 $^{\circ}$ C, column initial temperature 220 $^{\circ}$ C, column final temperature 220 $^{\circ}$ C, 공기압력 0.5kg/cm, 수소압력 0.5kg/cm, 질소압력 0.25kg/cm, chart speed 2mm/min이 되도록 조정하여 지방산을 분석하였다. GLC용 column은 DB-225 megabor column (J&W Scientific, USA)를 이용하였고 분리된 지방산은 Nuchek standard (Nuchek prep., Elysian, USA) GLC-87과 GLC-68로 동정하였다.

제 3 절 연구결과 및 고찰

1. n-3 지방산 축적 계육 및 돈육 생산

육계용 n-3 지방산 축적 특수 유향성 사료를 조제한 후, 우선 n-3 지방산이 합리적으로 축적된 육계의 사양기간을 정하기 위하여 우선 도축한 도체의 부위별 지방산 조성을 1주 간격으로 분석해 본 결과 (Table 3-5) 3주간 사양한 육계의 부위별 각종 지방산 조성 및 n-6/n-3 지방산 비율이 매우 합리적인 것으로 간주되어 인체실험용 급여계육으로 이용하였다.

Table 5에서와 같이 가축의 n-3 지방산 강화를 위한 함유 유향성 사료를 섭취한 육계의 다리 부위에서 n-6/n-3 지방산 비율은 2.1 이었고 가슴 부위의 n-6/n-3 지방산 비율은 1.7로 일반 육계에 비하여 n-3 지방산이 매우 높았으며, n-3 지방산 유향사료 급여에 의해서 육계의 체내 n-3 지방산이 크게 강화되었음을 보여주었다. 총지질량에는 두 group간에 큰 변화가 없었다 (Table 6).

Table 3. Fatty acid composition of chicken affected by diet enriched with n-3 fatty acids^a

Fatty acid	leg		breast	
	Control ^c	Experimental	Control ^c	Experimental
	----- mol% -----			
14 : 0	0.7	1.1	0.7	1.1
14 : 1	0.3	0.1	0.4	tr
15 : 0	0.1	0.1	0.2	tr
16 : 0	19.1	21.1	19.5	22.3
16 : 1	9.8	6.1	10.1	4.8
18 : 0	8.2	8.1	8.4	5.0
18 : 1	32.8	30.8	32.1	32.5
18 : 2n-6	24.7	18.6	24.7	16.7
18 : 3n-3	1.6	1.8	1.2	1.1
18 : 4n-3	tr	0.3	0.1	0.1
20 : 1	0.5	0.6	0.3	0.7
20 : 2n-6	0.1	0.3	0.1	0.5
20 : 3n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 4n-6	0.9	3.3	1.1	4.1
20 : 3n-3	tr	tr	tr	tr
20 : 5n-3	0.1	1.5	0.1	2.0
22 : 1	0.1	tr	0.1	tr
22 : 4 plus	0.2	0.3	0.2	0.5
22 : 5n-6	0.2	0.3	0.2	0.5
22 : 5n-3	tr	1.3	tr	2.8
22 : 6n-3	0.2	3.1	0.4	4.7
Uniden ^b	0.6	1.4	0.3	1.7
n-6/n-3	13.6	2.8	15.2	2.1

^a Values represent means \pm S.E. for 10 animals/group fed for 1 week.

^b Uniden means unidentified fatty acids.

^c Control means chicken fed with commercial diet.

Table 4. Fatty acid composition of chicken affected by diet enriched with n-3 fatty acids^a

Fatty acid	leg		breast	
	Control ^c	Experimental	Control ^c	Experimental
	----- mol% -----			
14 : 0	0.7	1.6	0.7	1.8
14 : 1	0.3	0.2	0.4	0.2
15 : 0	0.1	0.2	0.2	0.1
16 : 0	19.1	20.8	19.5	24.1
16 : 1	9.8	5.9	10.1	3.8
18 : 0	8.2	6.4	8.4	7.2
18 : 1	32.8	30.4	32.1	26.0
18 : 2n-6	24.7	18.0	24.7	15.9
18 : 3n-3	1.6	2.5	1.2	1.3
18 : 4n-3	tr	0.5	0.1	0.2
20 : 1	0.5	1.1	0.3	0.6
20 : 2n-6	0.1	0.4	0.1	0.5
20 : 3n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 4n-6	0.9	2.6	1.1	3.7
20 : 3n-3	tr	tr	tr	tr
20 : 5n-3	0.1	1.8	0.1	2.4
22 : 1	0.1	0.3	0.1	0.2
22 : 4 plus				
22 : 5n-6	0.2	0.3	0.2	0.6
22 : 5n-3	tr	tr	tr	tr
22 : 6n-3	0.2	5.8	0.4	9.8
Uniden ^b	0.6	1.5	0.3	1.6
n-6/n-3	13.6	2.0	15.2	1.5

^a Values represent means \pm S.E. for 10 animals/group fed for 2 weeks.

^b Uniden means unidentified fatty acids.

^c Control means chicken fed with commercial diet.

Table 5. Fatty acid composition of chicken affected by diet enriched with n-3 fatty acids^a

Fatty acid	leg		breast	
	Control ^c	Experimental	Control ^c	Experimental
	----- mol% -----			
14 : 0	0.7	1.3	0.7	1.3
14 : 1	0.3	0.3	0.4	0.1
15 : 0	0.1	0.1	0.2	0.1
16 : 0	19.1	20.1	19.5	23.7
16 : 1	9.8	6.6	10.1	3.9
18 : 0	8.2	5.6	8.4	6.7
18 : 1	32.8	30.6	32.1	27.1
18 : 2n-6	24.7	20.4	24.7	19.3
18 : 3n-3	1.6	3.0	1.2	2.2
18 : 4n-3	tr	tr	0.1	tr
20 : 1	0.5	0.9	0.3	0.7
20 : 2n-6	0.1	tr	0.1	tr
20 : 3n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 4n-6	0.9	2.0	1.1	2.4
20 : 5n-3	0.1	1.7	0.1	2.0
22 : 1	0.1	0.4	0.1	0.3
22 : 4 plus				
22 : 5n-6	0.2	0.2	0.2	0.3
22 : 5n-3	tr	tr	tr	tr
22 : 6n-3	0.2	5.9	0.4	8.7
Uniden ^b	0.6	0.9	0.3	1.2
n-6/n-3	13.6	2.1	15.2	1.7

^a Values represent means for 10 animals/group fed for 3 weeks.

^b Uniden means unidentified fatty acids.

^c Control means chicken fed with commercial diet.

Table 6. Total lipid content of chicken, affected by diet enriched with n-3 fatty acids^a

Leg		Breast	
Control	Experimental	Control	Experimental
----- g/100g tissue -----			
2.42	2.61	0.95	0.95

^a Values represent means \pm S.E. for 10 animals/group.

육돈용 n-3 지방산 축적 특수 유효성 사료를 조제한 후, 20두의 육돈을 사양중 지방산 조성에 따른 적절한 사양시기를 정하기 위하여 1, 2, 4주 간격으로 우선 부위별 혈액을 채취하여 지방산조성 및 n-6/n-3 지방산 비율을 분석해 본 결과 (Table 7~9) 4주간 사양했을시 매우 바람직한 것으로 간주되어 4주간 사양한 육돈 20두를 부위별로 조직을 분리하여 지방산 조성 (Table 10) 을 확인하였으며, 그중 돈육의 목살부위를 분리하여 인체실험용 시료로 이용하였다.

Table 10 에서와 같이 육돈의 목부위에서 n-6/n-3 지방산 비율은 3.3으로서 일반 육돈에 비하여 n-3 지방산이 매우 높았으며 n-3 지방산 유효사료 급여에 의해서 육돈의 체내 n-3 지방산이 크게 강화되었음을 보여주었다. 그러나 n-3 지방산 함유사료 섭취에 의해 두 group간에 총지질량에서는 유의한 차이가 없었다 (Table 11).

Table 7. Fatty acid profile of blood in different carcass sites from pig affected by diet enriched with n-3 fatty acids^a

Fatty acid	Blood			
	Neck	Loin	Shoulder	Ham
	----- mol% -----			
14 : 0	1.4	0.2	0.2	0.1
14 : 1	tr	tr	tr	tr
15 : 0	tr	tr	tr	tr
16 : 0	19.6	17.6	15.4	15.4
16 : 1	2.1	1.5	1.7	2.1
18 : 0	5.2	4.8	5.1	6.7
18 : 1	30.3	25.5	27.7	30.7
18 : 2n-6	22.3	23.0	21.4	21.0
18 : 3n-3	3.4	3.6	2.6	2.6
18 : 4n-3	tr	tr	tr	tr
20 : 0	0.7	0.6	0.5	0.4
20 : 1	0.2	0.4	tr	0.6
20 : 2n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 3n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 4n-6	5.6	7.3	8.2	7.0
20 : 3n-3	tr	tr	tr	tr
20 : 5n-3	4.4	7.9	10.0	5.6
22 : 1	tr	tr	tr	tr
22 : 4 plus	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-3	tr	tr	tr	tr
22 : 6n-3	3.5	5.9	6.0	6.1
Uniden ^b	1.3	1.7	1.2	1.7
n-6/n-3	2.5	1.7	1.6	2.0

^a Values represent means \pm S.E. for 20 animals/group fed for 1 week.

^b Uniden means unidentified fatty acids.

Table 8. Fatty acid profile of blood in different carcass sites from pig affected by diet enriched with n-3 fatty acids^a

Fatty acid	Blood			
	Neck	Loin	Shoulder	Ham
	----- mol% -----			
14 : 0	0.5	0.8	0.6	0.4
14 : 1	tr	tr	tr	tr
15 : 0	0.2	0.2	0.1	tr
16 : 0	19.7	21.2	22.1	17.2
16 : 1	2.1	1.9	1.5	2.3
18 : 0	7.6	7.2	4.5	5.3
18 : 1	30.0	33.5	31.2	30.9
18 : 2n-6	20.8	19.0	19.4	18.7
18 : 3n-3	2.4	0.9	1.7	0.7
18 : 4n-3	tr	tr	tr	tr
20 : 0	tr	tr	tr	tr
20 : 1	tr	tr	tr	tr
20 : 2n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 3n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 4n-6	4.8	3.8	3.8	12.4
20 : 3n-3	tr	tr	tr	tr
20 : 5n-3	5.2	5.7	8.2	5.9
22 : 1	tr	tr	tr	tr
22 : 4 plus	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-3	tr	tr	tr	tr
22 : 6n-3	5.3	4.6	5.3	4.3
Uniden ^b	1.4	1.2	1.6	1.9
n-6/n-3	1.9	2.0	1.5	2.8

^a Values represent means \pm S.E. for 20 animals/group fed for 2 weeks.

^b Uniden means unidentified fatty acids.

Table 9. Fatty acid profile of blood in different carcass sites from pig affected by diet enriched with n-3 fatty acids^a

Fatty acid	Blood							
	Neck		Loin		Shoulder		Ham	
	Con. ^b	Exp.						
	----- mol% -----							
14 : 0	0.3	0.2	0.4	0.2	0.4	0.4	0.8	0.4
14 : 1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
15 : 0	0.2	0.3	0.2	0.3	0.1	0.7	0.2	0.6
16 : 0	18.5	13.5	19.1	12.1	17.3	13.6	21.4	12.9
16 : 1	3.4	2.2	4.1	2.0	1.7	3.8	1.5	4.5
18 : 0	8.8	9.3	8.2	9.3	12.2	9.6	6.6	9.0
18 : 1	27.2	26.4	30.0	24.1	24.5	28.2	30.1	30.2
18 : 2n-6	22.5	13.9	19.4	12.0	13.2	12.3	22.4	13.5
18 : 3n-3	0.2	1.9	0.2	1.1	1.9	0.9	0.7	1.2
18 : 4n-3	3.2	3.3	1.8	2.4	1.3	4.2	4.2	4.3
20 : 0	0.1	1.2	0.1	0.3	0.2	3.0	0.1	2.2
20 : 1	0.8	2.1	1.1	1.0	1.0	1.6	0.7	0.5
20 : 2n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20 : 3n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20 : 4n-6	7.1	3.2	7.1	2.8	8.8	2.5	5.1	2.5
20 : 3n-3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20 : 5n-3	3.3	13.6	3.2	23.7	8.2	8.6	1.6	8.1
22 : 0	tr	1.5	tr	0.9	tr	2.4	tr	2.2
22 : 1	tr	0.2	0.6	0.1	1.1	0.5	0.6	0.2
22 : 4 plus	1.5	1.1	1.4	1.2	2.6	1.4	1.2	1.5
22 : 5n-6								
22 : 5n-3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22 : 6n-3	1.1	4.6	2.1	5.6	3.8	4.8	1.8	4.9
Uniden ^c	1.8	1.5	1.0	0.9	1.7	1.5	1.0	1.3
n-6/n-3	4.0	1.4	3.9	0.5	1.4	0.9	3.5	1.0

^a Values represent means \pm S.E. for 20 animals/group fed for 4 weeks.

^b Control means pig fed with commercial diet.

^c Uniden means unidentified fatty acids.

Table 10. Fatty acid profile of different tissues from pig affected by diet enriched with n-3 fatty acids^a

Fatty acid	Blood							
	Neck		Shoulder		Loin		Ham	
	Con. ^b	Exp.						
	----- mol% -----							
14 : 0	tr	1.4	tr	1.5	tr	1.5	tr	1.6
14 : 1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
15 : 0	tr	0.1	tr	0.1	tr	0.1	tr	0.1
16 : 0	23.0	21.8	22.0	21.3	21.1	21.3	22.5	22.9
16 : 1	3.9	4.8	4.3	6.1	3.7	5.3	4.4	4.2
18 : 0	11.2	7.1	5.8	5.8	8.5	6.9	9.0	7.5
18 : 1	38.9	43.1	45.2	44.9	44.1	42.0	43.6	39.7
18 : 2n-6	14.7	13.0	15.7	12.1	13.2	13.0	13.4	15.7
18 : 3n-3	0.5	2.2	0.9	2.2	0.3	2.6	0.4	2.3
18 : 4n-3	tr	tr	0.3	tr	0.2	tr	tr	tr
20 : 0	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.3	0.1	0.3
20 : 1	0.6	1.2	0.8	1.0	0.8	1.1	0.6	1.2
20 : 2n-6	0.7	0.4	0.4	0.3	0.5	0.4	0.4	0.3
20 : 3n-6	0.3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20 : 4n-6	2.8	1.1	2.5	1.1	4.4	1.2	3.2	0.8
20 : 3n-3	0.2	0.1	0.1	0.2	tr	0.2	tr	tr
20 : 5n-3	0.2	0.9	tr	1.0	0.2	1.0	0.1	0.8
22 : 0	0.1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22 : 1	tr	0.3	tr	0.2	tr	0.3	tr	0.3
22 : 4 plus	0.5	0.2	0.2	tr	0.9	0.4	0.6	0.2
22 : 5n-6								
22 : 5n-3	0.4	tr	0.2	tr	0.6	tr	0.3	tr
22 : 6n-3	0.2	1.2	0.1	1.1	0.2	1.5	0.1	1.2
Uniden ^c	1.6	0.9	1.5	0.9	1.2	0.9	1.3	0.9
n-6/n-3	13.1	3.3	11.1	3.0	12.7	2.8	18.3	4.0

^a Values represent means for 20 animals/group fed for 4 weeks.

^b Control means pig fed with commercial diet.

^c Uniden means unidentified fatty acids.

Table 11. Total lipid content of pork affected by diet enriched with n-3 fatty acid^a

Neck	
Control	Experimental
----- g/100g tissue -----	
11.51	11.33

^a Values represent means \pm S.E. for 20 animals/group.

2. 인체혈액의 혈소판 응고도 실험

20명의 여성 실험대상자 (human subject) 에게 n-3 지방산 함유 계육을 급여하기 전과 매일 200g씩 4주 (28일) 동안 급여한 후 각 임상 실험대상자로 부터 혈액 30ml씩 채취하여 혈액의 일부는 혈소판 응고 실험을 위한 혈소판 분리용으로 사용하였으며 나머지는 지질 (각종 중성 및 극성지질) 분석용으로 사용하였다.

n-3 지방산 축적 계육 섭취가 인체의 혈소판 응고도에 미치는 효과를 분석해 본 결과 agonist로 epinephrine 20 μ l 반응에는 영향을 받지 않았으나 collagen 10 μ l과 ADP 10 μ l을 사용한 결과 계육 섭취 전에 비해 계육 섭취후에 혈소판 응고가 유의하게 감소하므로써 n-3 지방산 강화 계육이 혈소판 응고를 억제시킬 수 있다는 매우 긍정적 효과를 나타내었다 (Table 12).

20명의 실험 대상자중 계육 섭취전후에 따른 1명의 혈소판 응고도 graph의 변화의 실예는 agonist 종류에 따라 Fig. 1~3과 같다.

Table 12. Degree of human platelet aggregation affected by dietary chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Agonist	Subject	
	Before taking (BT) (n=20)	After taking (AT) (n=20)
	----- % aggregation -----	
Collagen	61.7 \pm 1.9	47.3 \pm 2.5 ^b
ADP	53.9 \pm 1.4	40.7 \pm 2.8 ^b
Epinephrine	1.8 \pm 0.2	1.8 \pm 0.1

^a Values represent means \pm S.E. for 20 human subjects/group.

^b Indicates significant differences from the BT group at the level of P<0.05.

Human Subject #1

Platelet aggregation **after taking**
chicken rich in n-3 fatty acids
Agonist: Collagen 10 μ l

Platelet aggregation **before taking**
chicken rich in n-3 fatty acids
Agonist: Collagen 10 μ l

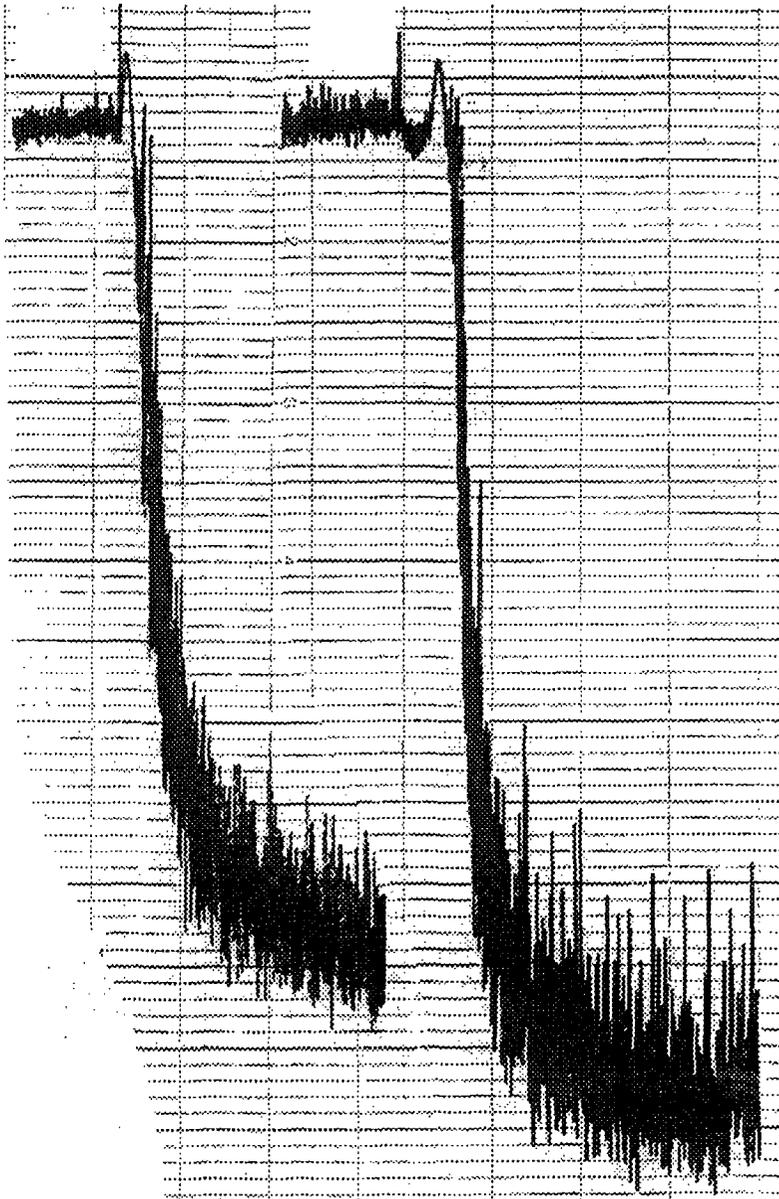


Fig 1. Platelet aggregation before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids.

Human Subject #1

Platelet aggregation **after taking**
chicken rich in n-3 fatty acids

Agonist: ADP 10 μ l

Platelet aggregation **before taking**
chicken rich in n-3 fatty acids

Agonist: ADP 10 μ l

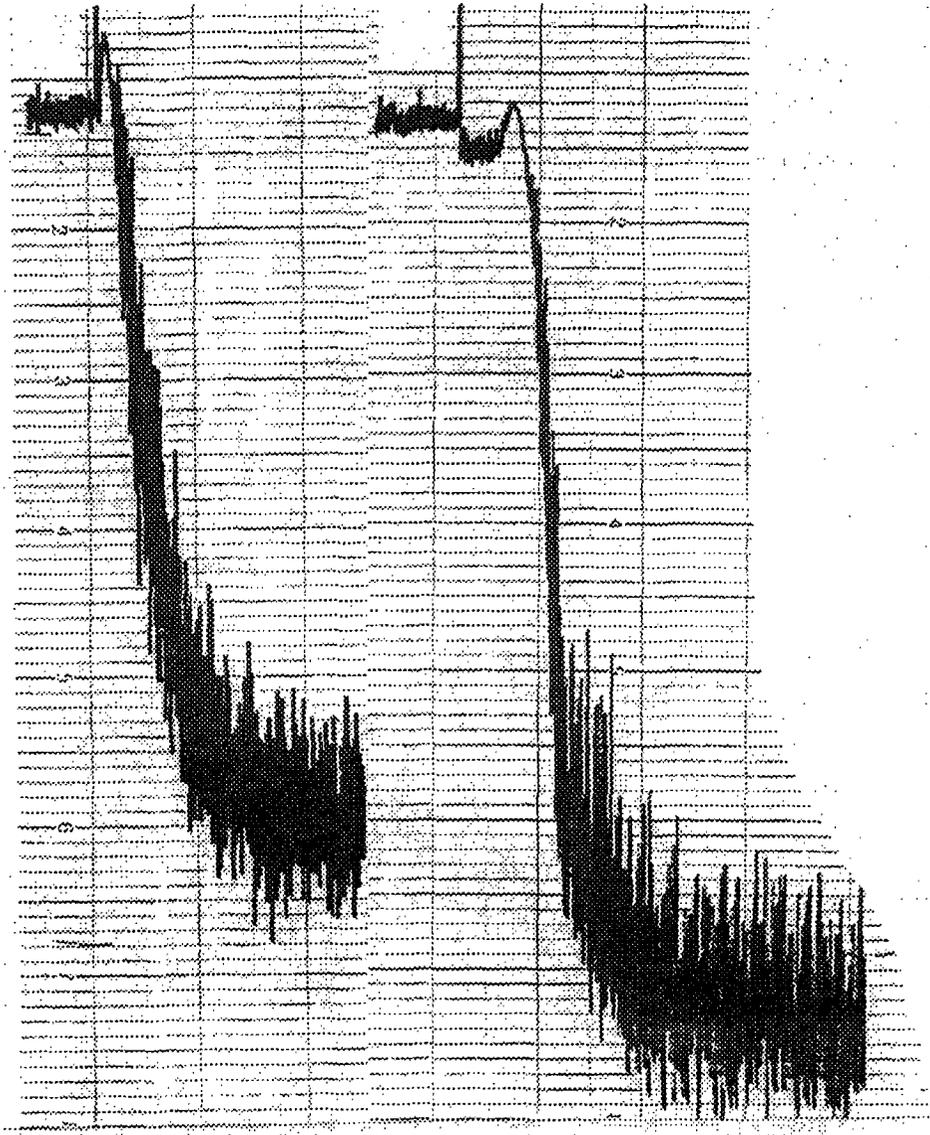


Fig 2. Platelet aggregation before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids.

Human Subject #1

Platelet aggregation **after taking**
chicken rich in n-3 fatty acids

Agonist: Epinephrine 20µl

Platelet aggregation **before taking**
chicken rich in n-3 fatty acids

Agonist: Epinephrine 20µl

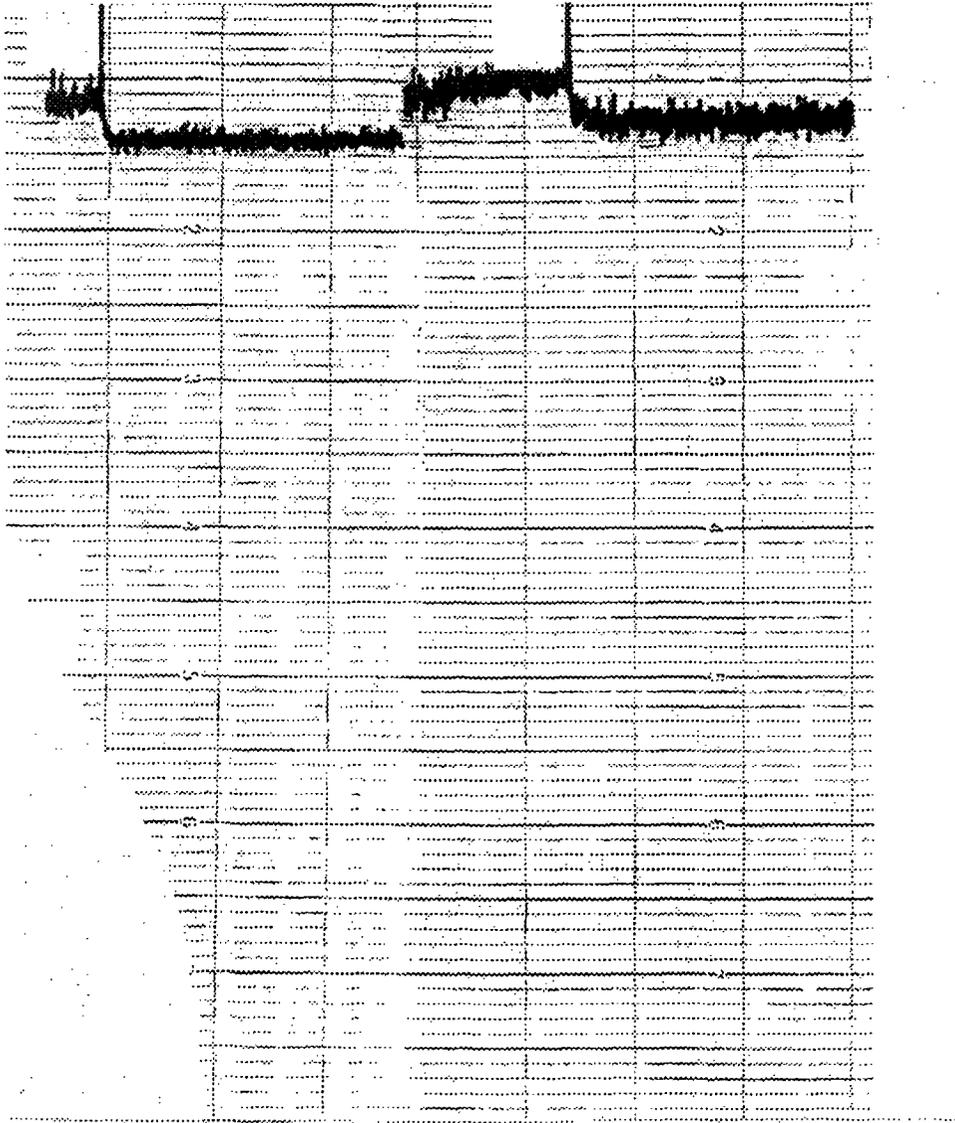


Fig 3. Platelet aggregation before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids.

한편 n-3 지방산을 강화하지 않은 일반 계육을 섭취하기 전과 섭취한 후의 10명의 여성 실험대상자의 혈소판 응고도는 Table 13과 같으며 섭취전에 비해 섭취후 혈소판 응고도의 증가 추세가 나타났으나 유의성은 인정되지 않았다.

Table 13. Degree of human platelet aggregation affected by dietary chicken without fortifying with n-3 fatty acids^a

Agonist	Subject	
	Before taking (BT) (n=10)	After taking (AT) (n=10)
	----- % aggregation -----	
Collagen	58.2 ± 1.2	68.7 ± 3.8
ADP	52.7 ± 1.5	62.5 ± 4.2
Epinephrine	1.2 ± 0.2	1.3 ± 0.3

^a Values represent means ± S.E. for 10 human subjects/group.

^b Indicates significant differences from the BT group at the level of P<0.05.

20명의 여성 실험대상자 (human subject) 에게 n-3 지방산 함유 돈육을 급여하기 전과 매일 200g씩 4주 (28일) 급여한 후 각 임상 실험대상자로부터 혈액 30ml씩 채취하여 혈액의 일부는 혈소판 응고 실험을 위한 혈소판 분리용으로 사용하였으며 나머지는 각종 중성지질과 극성지질 분석용으로 사용하였다.

n-3 지방산 축적 돈육 섭취가 인체의 혈소판 응고도에 미치는 효과를 분석해 본 결과 agonist로 epinephrine 20 μ l 반응에는 영향을 받지 않았으나 collagen 10 μ l과 ADP 10 μ l을 사용한 결과 돈육 섭취 전에 비해 돈육 섭취후에 혈소판 응고가 유의하게 감소하므로써 n-3 지방산 강화 돈육이 혈소판 응고를 효율적으로 억제시킬 수 있다는 것을 보여 주었다 (Table 14). 실험대상자 20명중 실예로 돈육 섭취전후에 따른 1명의 혈소판 응고도 graph의 변화는 agonist 종류별로 Fig 4~6에서 보여주고 있다.

Table 14. Degree of human platelet aggregation affected by dietary pork enriched with n-3 fatty acids^a

Agonist	Subject	
	Before taking (BT) (n=20)	After taking (AT) (n=20)
	----- % aggregation -----	
Collagen	67.5 \pm 2.5	43.7 \pm 1.8 ^b
ADP	63.2 \pm 1.3	42.3 \pm 2.1 ^b
Epinephrine	1.6 \pm 0.3	1.5 \pm 0.2

^a Values represent means \pm S.E. for 20 human subjects/group.

^b Indicates significant differences from the BT group at the level of P<0.05.

Human Subject #1

Platelet aggregation **after taking**
pork rich in n-3 fatty acids

Agonist: Collagen 10µl

Platelet aggregation **before taking**
pork rich in n-3 fatty acids

Agonist: Collagen 10µl

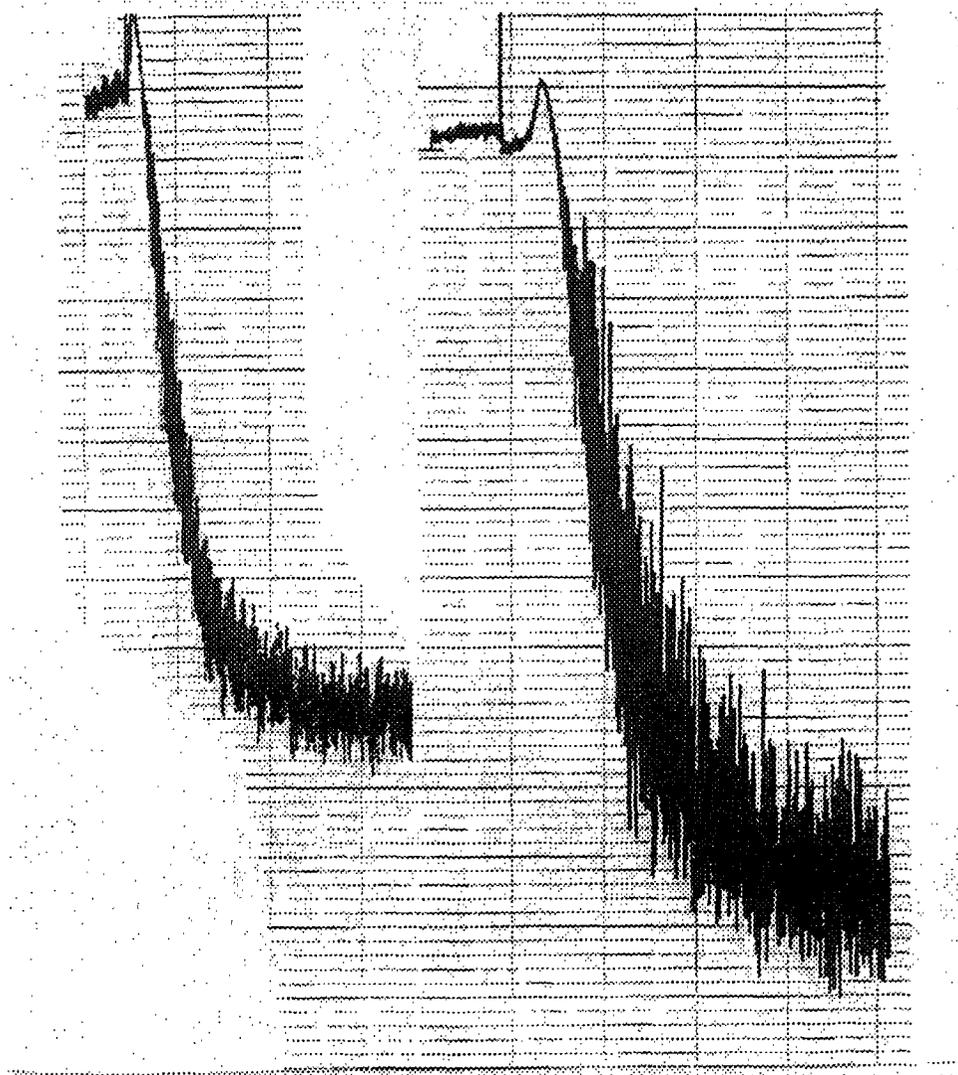


Fig 4. Platelet aggregation before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids.

Human Subject #1

Platelet aggregation **after taking**
pork rich in n-3 fatty acids

Agonist: ADP 10 μ l

Platelet aggregation **before taking**
pork rich in n-3 fatty acids

Agonist: ADP 10 μ l

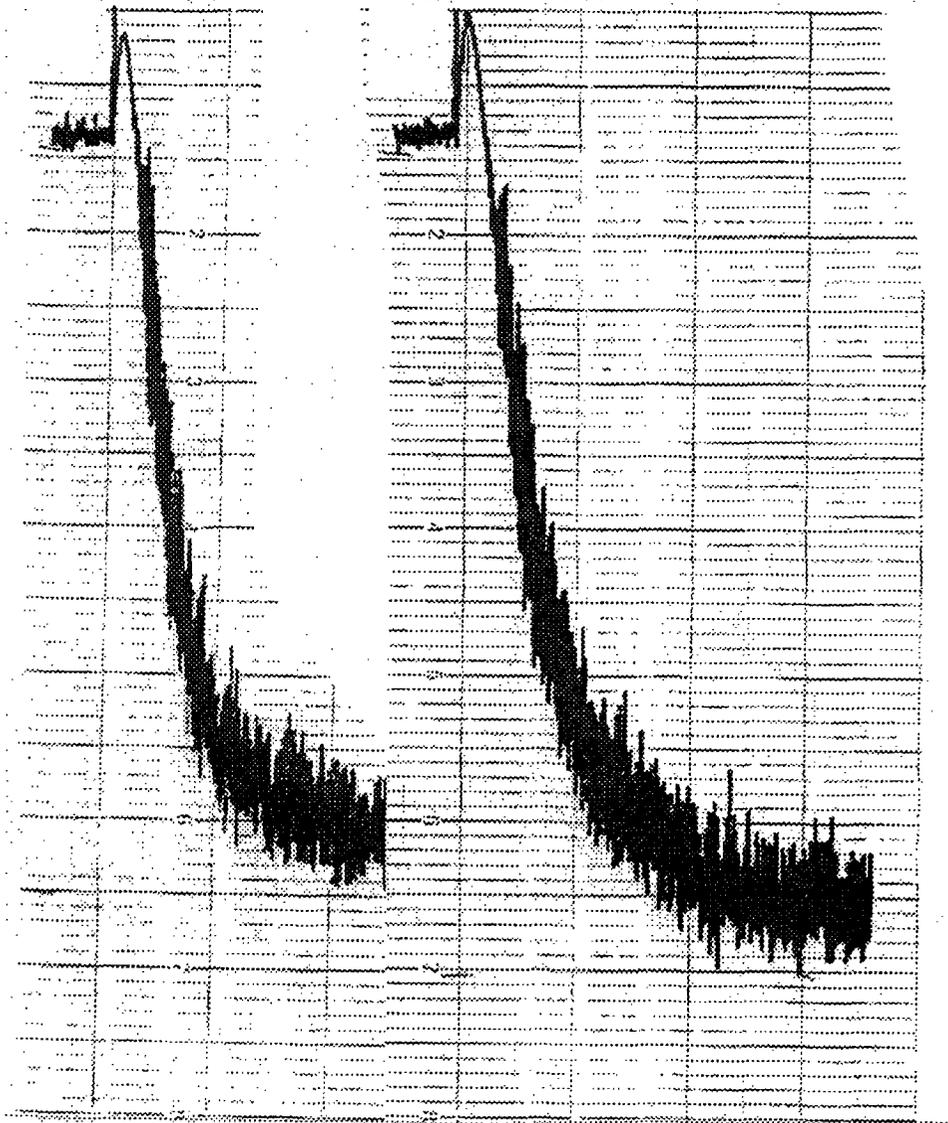


Fig 5. Platelet aggregation before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids.

Human Subject #1

Platelet aggregation **after taking**
pork rich in n-3 fatty acids

Agonist: Epinephrine 20ul

Platelet aggregation **before taking**
pork rich in n-3 fatty acids

Agonist: Epinephrine 20ul

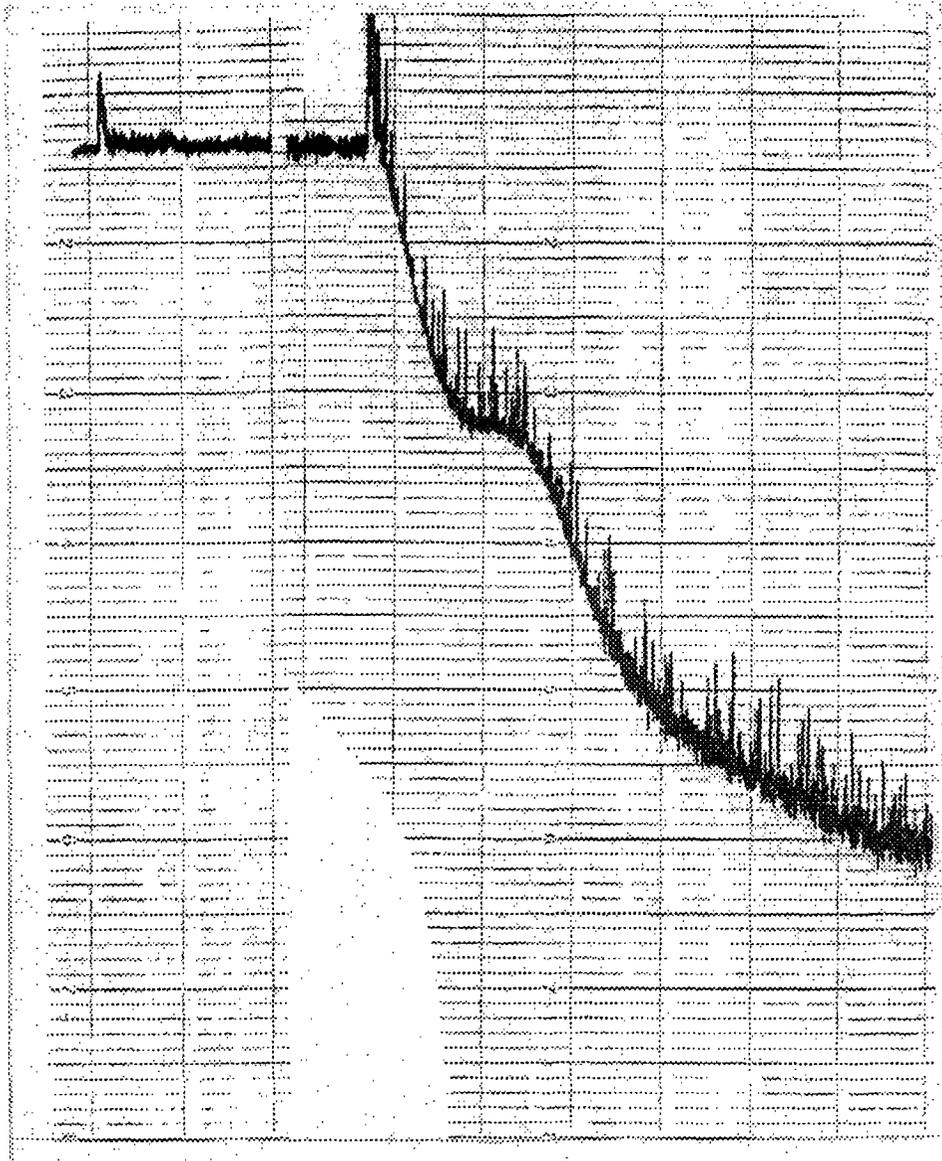


Fig 6. Platelet aggregation before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids.

또 n-3 지방산을 강화하지 않은 돈육을 섭취하기 전과 섭취후의 10명의 여성 실험대상자에서 채취한 혈액의 혈소판 응고도는 Table 15와 같으며 섭취 전 후를 비교해볼 때 유의한 차이가 인정되지 않았으나 일반 돈육 섭취시 n-3 지방산 강화 돈육을 섭취했을 경우와는 달리 증가추세를 나타내었다.

Table 15. Degree of human platelet aggregation affected by dietary pork without fortifying n-3 fatty acids^a

Agonist	Subject	
	Before taking (BT) (n=10)	After taking (AT) (n=10)
	----- % aggregation -----	
Collagen	60.5 ± 2.3	66.8 ± 4.8
ADP	58.6 ± 1.8	65.9 ± 4.6
Epinephrine	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.3

^a Values represent means ± S.E. for 10 human subjects/group.

^b Indicates significant differences from the BT group at the level of P<0.05.

3. 혈액의 적혈구 및 혈소판 세포막 인지질 대사

Table 15 와 16은 α -linolenic acid, EPA, DHA 등 n-3 지방산이 다량 축적된 계육 및 돈육을 섭취하기 전과 섭취후의 인체혈액을 채취하여 적혈구와 혈소판을 분리한 후 각 세포막에 존재하는 인지질의 3-subclasses 및 PAF 대사가 n-3 지방산 축적 육류섭취에 의해서 어떤 영향을 가져올 수 있는 지를 나타내고 있다.

Table 15. Distribution of the 3-subclasses of plasma PC and PE from human before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Subject	Phospholipid subclasses	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
Alkenylacyl PC	1.4 ± 0.4	1.6 ± 0.3 ^b
Alkylacyl PC	6.9 ± 0.6	4.1 ± 0.7
Diacyl PC	91.6 ± 5.2	96.3 ± 12.0
Alkenylacyl PE	7.2 ± 1.7	15.6 ± 3.6 ^c
Alkylacyl PE	3.2 ± 0.5	8.5 ± 1.9 ^b
Diacyl PE	89.6 ± 8.5	75.8 ± 5.1

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g chicken daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 16. Distribution of the 3-subclasses of plasma PC and PE from human before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids^a

Subject	Phospholipid subclasses	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
Alkenylacyl PC	2.2 ± 0.5	1.8 ± 0.3
Alkylacyl PC	9.0 ± 2.2	4.2 ± 0.8 ^c
Diacyl PC	88.8 ± 18.7	94.0 ± 14.4
Alkenylacyl PE	9.2 ± 1.6	21.0 ± 3.6 ^c
Alkylacyl PE	5.2 ± 0.5	12.5 ± 0.9
Diacyl PE	85.6 ± 5.0	66.6 ± 7s6 ^b

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g pork daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

4. Lipoprotein-cholesterol 대사 규명

n-3 지방산 축적 계육을 섭취한 후 인체혈액에 함유된 각종 cholesterol 조성을 분석하기 위하여 계육 섭취전과 4주간 섭취후 각 실험대상자로부터 혈액 0.5ml씩을 다시 채취하여 cholesterol 분석용 Cholestech kit을 이용하여 total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), glucose (GLU) 등을 분석하였다.

계육 섭취 전에 비하여 계육 섭취후 TC, LDL-C, GLU 등에서 유의한 차이를 보여주므로서 n-3 지방함유 계육 섭취가 cholesterol 저하에 상당한 효과가 있음이 입증되었다 (Table 17).

Table 17. Various lipid classes and glucose of blood in human before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Class	Subject	
	Before taking (BT) (n=20)	After taking (AT) (n=20)
	----- mg/dl -----	
TC	155.2 ± 8.8	132.1 ± 8.6 ^b
TG	100.3 ± 13.9	73.1 ± 7.4
GLU	94.0 ± 1.3	88.7 ± 1.9 ^b
HDL-C	49.9 ± 4.4	49.4 ± 4.7
LDL-C	85.2 ± 6.4	68.1 ± 4.4 ^b
TC/HDL-C	3.2 ± 0.2	2.8 ± 0.2

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects/group.

^b Indicates significant differences from the BT group at the level of P<0.05.

또 대조구로서 인체혈액에 함유된 각종 cholesterol 조성을 분석하기 위하여 n-3 지방산이 강화되지 않은 일반계육 섭취전과 4주간 섭취한 각 실험대상자로부터 혈액 0.5ml씩을 다시 채취하여 cholesterol 분석용 Cholestech kit을 이

용하여 total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), glucose (GLU) 등을 분석하였다.

Table 18 에서와 같이 일반계육을 섭취한 실험대상자인 경우 TC, TG, LDL-C 등에서 섭취후 유의하게 증가하였다. 따라서 n-3 지방산이 강화되지 않은 일반계육을 섭취시 n-3 지방산 강화 계육 섭취와는 매우 상이하게 각종 cholesterol과 TG의 증가추세가 뚜렷하게 나타났다.

Table 18. Various lipid classes and glucose of blood in human before and after taking chicken without fortifying with n-3 fatty acids^a

Class	Subject	
	Before taking (BT) (n=10)	After taking (AT) (n=10)
	----- mg/dl -----	
TC	162.3 ± 7.8	192.5 ± 11.8 ^b
TG	105.5 ± 9.5	121.3 ± 10.3 ^b
GLU	98.0 ± 2.5	101.2 ± 3.6
HDL-C	53.7 ± 6.2	50.7 ± 7.2
LDL-C	92.4 ± 7.2	122.6 ± 10.3 ^b
TC/HDL-C	3.4 ± 0.3	4.1 ± 0.5

^a Values represent means ± S.E. for 10 human subjects/group.

^b Indicates significant differences from the BT group at the level of P<0.05.

n-3 지방산 강화 돈육을 섭취한 후 인체혈액에 함유된 각종 cholesterol 조성을 분석하기 위하여 돈육 섭취전과 4주간 섭취후 각 실험대상자로부터 혈액 0.5ml씩을 다시 채취하여 cholesterol 분석용 Cholestech kit을 이용하여 total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), glucose (GLU) 등을 분석하였다.

Table 19에서와 같이 돈육 섭취 전에 비하여 돈육 섭취후 TC, LDL-C, GLU 등에서 유의한 차이를 보여주므로서 n-3 지방함유 돈육 섭취가 cholesterol 저하에 상당한 효과가 있음이 입증되었다. 그러나 TG와 HDL-C에서는 섭취전후에 따라 유의한 차이가 없었으나 TC/HDL-C가 섭취후 낮게 나타나므로서 매우 바람직한 결과를 보여주었다.

Table 19. Various lipid classes and glucose of blood in human before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids^a

Class	Subject	
	Before taking (BT) (n=20)	After taking (AT) (n=20)
	----- mg/dl -----	
TC	180.8 ± 11.4	157.1 ± 10.3 ^b
TG	96.0 ± 16.5	72.1 ± 11.4
GLU	93.3 ± 1.9	89.0 ± 1.7
HDL-C	52.6 ± 4.7	50.9 ± 5.2
LDL-C	110.0 ± 8.0	91.8 ± 7.3 ^b
TC/HDL-C	3.8 ± 0.3	3.3 ± 0.2

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects/group.

^b Indicates significant differences from the BT group at the level of P<0.05.

대조구로서 돈육을 섭취한 후 인체혈액에 함유된 각종 cholesterol 조성을 분석하기 위하여 돈육 섭취전과 4주간 섭취후 각 실험대상자로부터 혈액 0.5ml 씩을 다시 채취하여 cholesterol 분석용 Cholestech kit을 이용하여 total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), glucose (GLU) 등을 분석하였다.

Table 20 에서 보는 바와 같이 TC와 LDL-C는 유의하게 증가하므로서 n-3 지방산이 결여된 일반돈육을 섭취시 혈액내 cholesterol이 증가되므로서 n-3 지방산 강화 돈육을 섭취했을 때 cholesterol이 감소하는 긍정적 효과와는 대조를 보였다.

Table 20. Various lipid classes and glucose of blood in human before and after taking pork without fortifying n-3 fatty acids^a

Class	Subject	
	Before taking (BT) (n=10)	After taking (AT) (n=10)
	----- mg/dl -----	
TC	172.3 ± 10.5	211.5 ± 11.8 ^b
TG	98.2 ± 10.5	118.2 ± 12.3
GLU	101.3 ± 5.3	104.7 ± 4.7
HDL-C	62.3 ± 5.9	58.7 ± 7.2
LDL-C	98.7 ± 9.7	121.3 ± 12.3 ^b
TC/HDL-C	3.5 ± 0.7	4.7 ± 0.5

^a Values represent means ± S.E. for 10 human subjects/group.

^b Indicates significant differences from the BT group at the level of P<0.05.

5. n-3 지방산 축적 육류 섭취에 따른 혈액 세포의 세포막 인지질 acyl-chain 조성변화

n-3 지방산이 강화된 계육 및 돈육을 섭취하기 전과 섭취후의 혈액의 적혈구와 혈소판의 세포막에 함유된 각종 인지질과 인지질 3-subclasses의 Acyl-chain 조성과 acyl-chain 조성에 따른 n-6/n-3 지방산 비율은 Table 21-36에서와 같다.

n-3 지방산이 강화된 계육 및 돈육을 섭취한후 섭취전과 비교하여 혈액의 적혈구와 혈소판의 세포막에 함유된 각종 인지질과 인지질 3-subclasses의 Acyl-chain 은 n-3 지방산이 현저히 증가하였고 n-6지방산은 급격히 감소하였다.

Table 21. Acyl chain composition of plasma phosphatidyl choline from human before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	19.0 ± 1.2	17.2 ± 1.4
18 : 3n-3	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
20 : 4n-6	1.2 ± 1.0	1.0 ± 0.0 ^b
20 : 5n-3	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
22 : 6n-3	0.6 ± 0.1	1.7 ± 0.1 ^c

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g chicken daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 22. Acyl chain composition of plasma phosphatidyl ethanolamine from human before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	mol%	
18 : 2n-6	4.6 ± 1.6	4.4 ± 0.6 ^b
18 : 3n-3	0.5 ± 0.3	1.5 ± 0.1
20 : 4n-6	8.0 ± 0.3	6.3 ± 0.8 ^b
20 : 5n-3	0.2 ± 0.2	1.6 ± 0.5 ^c
22 : 6n-3	1.2 ± 0.2	3.7 ± 0.3 ^c

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g chicken daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 23. Acyl chain composition of alkenylacyl subclass of plasma PC from human before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	mol%	
18 : 2n-6	19.4 ± 1.3	16.0 ± 3.4
18 : 3n-3	3.6 ± 0.8	4.3 ± 1.1
20 : 4n-6	13.1 ± 3.6	10.2 ± 2.1
20 : 5n-3	tr	4.8 ± 0.1 ^b
22 : 6n-3	1.4 ± 0.4	6.1 ± 0.5 ^b

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g chicken daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 24. Acyl chain composition of alkylacyl subclass of plasma PC from human before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	15.9 ± 0.7	14.9 ± 0.5
18 : 3n-3	0.7 ± 0.4	1.9 ± 0.6 ^c
20 : 4n-6	16.0 ± 1.0	14.5 ± 0.5 ^b
20 : 5n-3	0.2 ± 0.1	1.4 ± 0.5 ^c
22 : 6n-3	2.5 ± 0.6	6.3 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g chicken daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 25. Acyl chain composition of diacyl subclass of plasma PC from human before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	18.8 ± 0.4	15.3 ± 1.3
18 : 3n-3	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
20 : 4n-6	5.3 ± 0.8	5.5 ± 0.3
20 : 5n-3	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.0
22 : 6n-3	1.3 ± 0.4	2.3 ± 0.1 ^b

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g chicken daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

Table 26. Acyl chain composition of alkenylacyl subclass of plasma PE from human before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	9.3 ± 1.0	7.3 ± 0.2
18 : 3n-3	2.3 ± 0.3	3.1 ± 1.2
20 : 4n-6	7.3 ± 2.4	5.2 ± 0.2
20 : 5n-3	0.2 ± 0.2	1.6 ± 0.4 ^b
22 : 6n-3	3.9 ± 1.2	18.8 ± 2.1 ^b

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g chicken daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.01

Table 27. Acyl chain composition of alkylacyl subclass of plasma PE from human before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	9.5 ± 2.1	4.9 ± 0.3 ^b
18 : 3n-3	6.5 ± 1.3	16.2 ± 8.2 ^c
20 : 4n-6	12.5 ± 2.8	10.9 ± 1.4
20 : 5n-3	0.5 ± 0.5	2.5 ± 0.7 ^c
22 : 6n-3	1.5 ± 1.0	11.6 ± 2.0 ^c

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g chicken daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 28. Acyl chain composition of diacyl subclass of plasma PE from human before and after taking chicken enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	15.0 ± 4.4	12.5 ± 3.8
18 : 3n-3	1.0 ± 0.8	3.8 ± 0.8 ^b
20 : 4n-6	5.6 ± 0.6	4.5 ± 0.5
20 : 5n-3	0.6 ± 0.4	1.8 ± 0.4 ^c
22 : 6n-3	1.7 ± 0.9	4.5 ± 0.4 ^c

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g chicken daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 29. Acyl chain composition of plasma phosphatidyl choline from human before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	19.0 ± 2.1	15.2 ± 1.4
18 : 3n-3	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0
20 : 4n-6	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.2
20 : 5n-3	0.1 ± 0.0	1.3 ± 0.3
22 : 6n-3	0.6 ± 0.0	1.4 ± 0.1 ^b

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g pork daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 30. Acyl chain composition of plasma phosphatidyl ethanolamine from human before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	8.2 ± 1.7	8.4 ± 0.5 ^b
18 : 3n-3	0.7 ± 0.4	1.5 ± 0.2
20 : 4n-6	7.9 ± 1.3	5.5 ± 0.6
20 : 5n-3	0.4 ± 0.0	2.3 ± 0.0 ^c
22 : 6n-3	2.2 ± 0.6	5.9 ± 0.4 ^b

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g pork daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 31. Acyl chain composition of alkenylacyl subclass of plasma PC from human before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	12.0 ± 2.4	10.5 ± 1.1
18 : 3n-3	0.7 ± 0.1	2.7 ± 1.4
20 : 4n-6	9.0 ± 2.4	7.4 ± 1.2
20 : 5n-3	0.3 ± 0.3	2.3 ± 0.1 ^b
22 : 6n-3	1.9 ± 1.0	5.2 ± 4.4 ^b

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g pork daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.01

Table 32. Acyl chain composition of alkylacyl subclass of plasma PC from human before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	18.6 ± 2.0	16.6 ± 0.9
18 : 3n-3	0.8 ± 0.3	1.1 ± 0.4
20 : 4n-6	15.3 ± 1.0	10.3 ± 1.5 ^b
20 : 5n-3	0.5 ± 0.1	2.3 ± 0.1 ^c
22 : 6n-3	3.8 ± 1.1	6.5 ± 0.5 ^c

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g pork daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 33. Acyl chain composition of diacyl subclass of plasma PC from human before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	16.8 ± 4.0	12.7 ± 4.4
18 : 3n-3	0.3 ± 0.1	1.2 ± 0.3 ^c
20 : 4n-6	6.0 ± 0.6	3.4 ± 0.7 ^c
20 : 5n-3	0.3 ± 0.1	1.2 ± 0.1 ^c
22 : 6n-3	1.9 ± 0.6	3.9 ± 1.3 ^b

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g pork daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 34. Acyl chain composition of alkenylacyl subclass of plasma PE from human before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	17.8 ± 0.1	6.6 ± 0.2 ^c
18 : 3n-3	2.2 ± 0.2	5.3 ± 1.2 ^b
20 : 4n-6	8.9 ± 0.4	7.1 ± 0.4
20 : 5n-3	0.5 ± 0.1	3.2 ± 0.5 ^c
22 : 6n-3	2.5 ± 0.2	20.2 ± 1.1 ^c

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g pork daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the BT group, P<0.01.

Table 35. Acyl chain composition of alkylacyl subclass of plasma PE from human before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	6.7 ± 0.2	1.6 ± 0.1 ^b
18 : 3n-3	6.1 ± 0.5	7.5 ± 0.1
20 : 4n-6	13.9 ± 0.5	6.6 ± 0.2 ^b
20 : 5n-3	tr	2.0 ± 0.3 ^b
22 : 6n-3	31.8 ± 5.2	51.4 ± 2.7 ^b

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g pork daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.01

Table 36. Acyl chain composition of diacyl subclass of plasma PE from human before and after taking pork enriched with n-3 fatty acids^a

Acyl chain	Subject	
	Before taking (BT)	After taking (AT)
	----- mol% -----	
18 : 2n-6	13.9 ± 0.2	8.6 ± 0.0 ^b
18 : 3n-3	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.1
20 : 4n-6	15.9 ± 1.5	13.6 ± 0.6
20 : 5n-3	0.7 ± 0.1	2.2 ± 0.1 ^b
22 : 6n-3	5.8 ± 0.4	7.6 ± 1.4

^a Values represent means ± S.E. for 20 human subjects (female aged 20)/group.

Each subject was taken 200g pork daily for 4 weeks.

^b Indicates significant difference from the BT group, P<0.01

제 4 절 결 론

당초 목표에 따라 각종 n-3 지방산이 현저히 증가된 계육 및 돈육을 생산한 후, 이들 n-3 지방산 축적 계육 및 돈육이 인체의 혈관질환을 포함한 각종 성인병과 관련된 혈소판 응고도 및 혈액의 각종 지질대사에 미치는 영향을 규명하였다.

1. α -linolenic acid, EPA, DHA 등 n-3 지방산이 현저히 축적된 계육 및 돈육을 섭취한 인체혈액중 혈소판의 응고가 epinephrine을 사용했을 경우 큰 변화가 없었으나 collagen이나 ADP를 agonist로 사용했을 때 매우 감소하는 경향을 나타내므로서 n-3 지방산에 의한 혈소판 응고도 검토효과가 입증되었다.
2. 각종 n-3 지방산 축적 계육 및 돈육 섭취가 인체혈액의 총 cholesterol lipoprotein 내 cholesterol에 미치는 영향을 실험한 결과 총 cholesterol과 low density lipoprotein (LDL)-cholesterol이 n-3 지방산 축적 계육 및 돈육 섭취에 의해 유의하게 감소되었음을 보여주었다. triglycerides의 량도 감소하였으나 유의성이 인정되지 않았고 또 혈액내 glucose의 함량도 유의하게 감소하였다. HDL-cholesterol 량에서는 거의 변화가 없었다.
3. 인체혈액중 적혈구와 혈소판의 활성도에 깊은 영향을 주는 platelet activating factor (PAF) 에 미치는 영향을 연구하기 위하여 n-3 지방산 축적 계육 및 돈육을 섭취한 인체혈액의 적혈구와 혈소판에 존재하는 인지질 phosphatidyl choline (PC) 와 phosphatidyl ethanolamine (PE) 의 3-subclasses (alkenylacyl-, alkylacyl-, diacyl-) 을 분리하고 각 3-subclasses에 존재하는 acyl-chain을 분석한결과 n-3지방산 축적 축산물 섭취에의하여 PAF 의 전구체인 alkylacyl-PC이 뚜렷이 감소하였으며 3-subclasses의 acyl-chain조성에서도 n-3지방산이 급격히 증가하였다. 이러한 결과는 n-3지방산 축적 축산물 섭취가 인체에 매우 긍정적인 생리적 효과가 있음을 입증해주고 있다.

제 5 절 참고문헌

1. Artemis, P. S. and M. D. 1988. ω -3 Fatty acids in growth and development and in health and disease. *Nutrition Today* March/April, 10-19.
2. Bazan, H. P., Careaga, M. M., Sprecher, H. and Bazan, N. G. 1982. Chain elongation and desaturation of eicosapentaenoate to docosahexaenoate and phospholipid labeling in the rat retina in vivo. *Biochim. Biophys. Acta*, 712: 123-128.
3. Beckman, J. K., Morley, S. A. and Breene, H. L. 1991. Analysis of aldehydic lipid peroxidation products by TLC/densitometry. *Lipids*, 26: 155-161.
4. Bernert, J. T. and Sprecher, H. 1977. An analysis of partial reactions in the overall chain elongation of saturated and unsaturated fatty acids by rat liver microsomes. *J. Biolo. Chem.* 252: 6736-6744.
5. Brown, J. E. and Wahle, K. W. J. 1990. Effect of fish-oil and vitamin E supplementation on lipid peroxidation and whole-blood aggregation in man. *Clinica. Chimica. Acta*, 193: 147-156.
6. Bruna, E., Petit, E., Beljean-Leymarie, M., Huyuh, S. and Nouvelnt, A. 1989. Specific susceptibility of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid peroxidation in aqueous solution. *Lipids*, 24: 970-975.
7. Clandinin, M. T., Wong, K. and Hacker, R. R. 1984. Synthesis of chain elongation-desaturation products of linoleic acid by liver and brain microsomes during development of the pig. *Biochem. J.* 226: 305-309.
8. Cook, H. W., Byers, D. M., Palmer, F. B. S. C., Spence, M. W., Rakoff, H., Duval, S. M. and Emken, E. A. 1991. Alternate pathways in the desaturation and chain elongation of linolenic acid, 18:3 (n-3), in cultured glioma cells. *J. Lipid Res.* 32: 1991.

9. Cook, H. W. 1981. The influence of trans-acids on desaturation and elongation of fatty acids in developing brain. *JAOCS*. 16; 871-974.
10. Cook, H. W. 1981. The influence of trans-acids on desaturation and elongation of fatty acids in developing brain. *Lipids*, 16: 920-926.
11. Folch, J., Lee, M. and SloaneStanley, G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
12. Fraga, C. G., Tappel, A. L., Leibovitz, B. E., Kuypers, F., Chiu, D., Lacono, J. M. and Kelley, D. S. 1990. Lability of red blood cell membranes to lipid peroxidation: application to humans fed polyunsaturated lipids. *Lipids*, 25: 111-114.
13. Frankel, E. N., Selke, E., Neff, W. E. and Miyashita, K. 1992. Autoxidation of polyunsaturated triacylglycerols, IV. Volatile decomposition products from triacylglycerols containing linoleate and linolenate. *Lipids*, 27: 442-446.
14. Frankel, E. N., Hu, M. L. and Tappel, A. L. 1989. Rapid headspace gas chromatography of hexanal as a measure of lipid peroxidation in biological samples. *Lipids*, 24: 976-981.
15. Garcia, M. C., Sprecher, H. and Rosenthal, M. 1990. Chain elongation of polyunsaturated fatty acids by vascular endothelial cells: studies with arachidonate analogues. *Lipids*, 25: 211-215.
16. Garg, M. L., Sebokova, E., Thomson, A. B. and Clandinin, M. T. 1988. Δ^6 -Desaturase activity in liver microsomes of rats fed diets enriched with cholesterol and/or ω -3 fatty acids. *Biochem. J.* 249: 351-356.

17. Garg, M. L., Thomson, A. B. and Clandinin, M. T. 1988. Effect of dietary cholesterol and/or ω -3 fatty acids on lipid composition and Δ 5-desaturase activity of rat liver microsomes. *American Institute of Nutr.* pp. 661-668.
18. Hagve, T. A., Christophersen, B. O. and Dannevig, B. H. 1986. Desaturation and chain elongation of essential fatty acids in isolated liver cells from rat and rainbow trout. *Lipids*, 21: 202-205.
19. Innis, S. M. and Yuen, D. E. 1988. Microsomal desaturation-elongation of linoleic acid following parenteral feeding with lipid emulsions in the rat. *Lipids*, 23: 546-550.
20. Iritani, N., Fukuda, H. and Matsumura, Y. 1988. Effects of corn oil-and fish oil-supplemented diets on phospholipid fatty acid composition of rat liver nuclei. *Biochem. Biophys. Acta*, 963: 224-230.
21. Janero, D. R. and Burghardt, B. 1989. Cardiac membrane vitamin E and malondialdehyde levels in heart muscle of normotensive and spontaneously-hypertensive rats. *Lipids*, 24: 33-38.
22. Jenkins, R. R., Signore, C. M. D., Sauer, P. and Skelly, C. L. 1992. The effect of beta blocking drugs on lipid peroxidation in rat heart in vitro. *Lipids*, 27: 539-542.
23. Kamisaka, Y., Yokoshi, T., Nakahara, T. and Suzuki, O. 1990. Incorporation of linoleic acid and its conversion to γ -linolenic acid in fungi. *Lipids*, 25: 54-60.
24. Kirstein, D., Hdy, C. E. and Holmer, G. 1984. Effect of dietary fats on the Δ 6-and Δ 5 -desaturation of fatty acids in rat liver microsomes. *J. Nutr.* 50. 114: 749-756.

25. Miyashita, K., Frankel, E. N., Neff, W. E. and Awl, R. A. 1990. Autoxidation of polyunsaturated triacylglycerols. III. Synthetic triacylglycerols containing linoleate and linolenate. *Lipids*, 25: 48-53.
26. Nalbone, G., Leonardi, J., Termine, E., Portugal, H., Lechene, P., Pauli, A. M. and Lafont, H. 1989. Effects of fish oil, corn oil and lard diets on lipid peroxidation status and glutathione peroxidase activities in rat heart. *Lipids*, 24: 179-186.
27. Ninno, R. E., Torrenzo, M. A., Castuma, J. C. and Brenner, R. R. 1974. Specificity of 5- and 6-fatty acid desaturases in rat and fish. *Biochim. Biophys. Acta*, 360: 124-133.
28. Pugh, E. L. and Kates, M. 1977. Direct desaturation of eicosatrienoyl lecithin to arachidonyl lecithin by liver microsomes. *J. Biol. Chem.* 252: 68-73.
29. Rakoff, H. and Rohwedder, W. K. 1992. Catalytic desaturation of alkynols and their tetrahydropyranyl ethers. *Lipids*, 27: 567-569.
30. Rosenthal, M. D. and Hill, J. R. 1986. Elongation of arachidonic acid and eicosapentaenoic acids limits their availability for thrombin-stimulated release from the glycerolipids of vascular endothelial cell. *Biochim. Biophys. Acta*, 875: 382-391.
31. Shimizu, S., Jareonkitmongkol, S., Kawashima, H., Akimoto, K. and Yamada, H. 1992. Inhibitory effect of curcumin on fatty acid desaturation in *Mortierella alpina* B-4 and rat liver microsomes. *Lipids*, 27: 509-512.
32. Singer, P., Berber, I., Wirth, M., Bodicke, W., Jaeger, W. and Voigt, S. 1986. Slow desaturation and elongation of linoleic acid α -linolenic acids as a rationale of eicosapentaenoic acid-rich diet to lower blood pressure and serum lipids in normal hypertensive and hyperlipidemic subjects. *Prostaglandins Leukotrienes and Medicine*, 24: 173-193.

33. Sprecher, H. 1974. Feeding studies designed to determine whether competitive reactions between acids of the oleate and linoleate families for desaturation chain elongation or incorporation regulate the fatty acid composition of rat liver lipids. *Biochim. Biophys. Acta*, 369: 34-44.
34. Strum-odin, R., Adkins-finke, B., Blake, W. L., Phinney, S. D. and Clarke, S. D. 1987. Modification of fatty acid composition of membrane phospholipid in hepatocyte monolayer with n-3, n-6 and n-9 fatty acid and its relationship to triacylglycerol production. *Biochim. Biophys. Acta*, 921: 378-391.
35. Thomas, C. E., McLean, L. R., Parker, R. A. and Ohlweiler, D. F. 1992. Ascorbate and phenolic antioxidant interactions in prevention of liposomal oxidation. *Lipids*, 27: 543-550.
36. Tocher, D. R., Mourente, G. and Sargent, J. R. 1992. Metabolism of [1-14C] docosahexaenoate (22:6n-3) in brain cells from juvenile turbot *scophthalmus maximus*. *Lipids*, 27: 494-499.
37. Voss, A., Reinhart, M., Sankarappa, S. and Sprecher, H. 1991. The metabolism of 7, 10, 13, 16, 19-docosapentaenoic acid to 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoic acid in rat liver is independent of a 4-desaturase. *J. Biol. Chem.* 266: 19995-20000.
38. Yamazaki, K., Fujikawa, J., Hamazaki, T., Yano, S. and Shone, T. 1991. Comparison of the conversion rates of α -linolenic acid (18:3(n-3)) and stearidonic acid (18:4(n-3)) to longer polyunsaturated fatty acids in rats. *Biochem. Biophys. Acta*, 1123: 18-26.
39. Yeo, Y. K. and Holub, B. J. 1990. Influence of dietary fish oil on the relative synthesis of triacyl glycerol and phospholipids in rat liver in vivo. *Lipids*, 25: 811-814.
40. Yeo, Y. K., Park, J. H., Park, E. J. and Kim, H. J. 1992. Antioxidant action of oriental herb on lipid peroxidation. *Inform*, 3: H18.

41. Yeo, Y. K., Philbrick, D. J. and Holub, B. J. 1989. The effect of long-term consumption of fish oil on platelet-activating factor synthesis in rat renal microsomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 160: 1238-1242.

제 3 장 Microsomal $\Delta 6, 5, 4$ -desaturase 역가 증진을 위한 *in vitro* effector 탐색

제 1 절 서 설

n-3 지방산과 n-6 지방산은 상호전환이 불가능하며 사슬연장과 불포화의 반복으로 같은 계열의 다가불포화지방산을 생성한다. 식품중의 n-3 지방산과 n-6 지방산의 적절한 비율은 인체의 지방대사에 매우 중요한 역할을 하며 인체의 정상적인 발육이나 생리적 기능에 크게 영향을 미치고 있다. 이들 지방산 비율의 불균형 즉, n-6 지방산의 과다 섭취는 강력한 혈소판응집인자, 혈관수축인자 등을 과다 생성하게 되어 혈관 내에서 각종 성인병의 원인인 혈전을 생성하고 이로 인해 고혈압, 동맥경화, 심근경색증, 관절염, 피부병, 심장병을 유발하게 된다. 이에 반해 EPA와 DHA같은 n-3 지방산은 이러한 유해인자의 생성을 방지하므로 혈전의 생성을 예방하여 원활한 혈액순환을 하도록 하며, 유아의 두뇌발육 및 학습능력을 향상시키고 망막과 시신경의 주성분으로서 시력증진에도 필수적인 역할을 담당한다. 그러나 산업혁명 이후 급격한 생태계의 파괴로 인하여 n-3 지방산과 n-6 지방산의 비율이 크게 파괴되어 n-6 지방산의 식품중에 너무 많이 함유되므로서 각종 대사차질을 통한 성인병 등 인체의 각종 생리적 질병의 발병율을 현저히 증가시키고 있다. 따라서 n-3 지방산의 섭취를 증가시키고 n-6 지방산을 감소시키므로서 인체의 지방대사의 균형을 가져오고 지방대사 차질에 따른 각종 생리적 질병을 예방하는 것은 매우 중요한 과제이다. 주요 n-3 지방산인 α -linolenic acid, eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) 는 인체의 각종 생리적 기능에 필수적인 물질로서 체내에서 거의 합성되지 않기 때문에 음식을 통하여 섭취하여야만 하기 때문에 식품중의 n-3 지방산의 함유량을 증가시키는 것이 매우 중요하다. 따라서 본 연구에서는 n-3 지방산이 많이 함유된 축산물을 생산하기 위하여 가축의 간장과 근육 조직내 n-3 지방산을 보다 효율적으로 증가시키고자 n-3 다가불포화 지방산 합성을 위한 $\Delta 6, \Delta 5, \Delta 4$ -desaturase의 역가를 조절할 수 있는 desaturase (불포화 효소) 용 각종 cofactor와 effector를 탐색하여 효소 stimulant로 이용하여 효소기질인 linolenyl-CoA ($\Delta 9, 12, 15$ -octadecatrienoyl-CoA), eicosapentaenoyl-CoA ($\Delta 7, 10, 13, 16, 19$ - eicosapentaenoyl-CoA), docosapentaenoyl-CoA ($\Delta 4, 7, 10, 13, 16, 19$ - docosapentaenoyl-CoA) 와의 각각의 반응을 통하여 eicosapentaenoic acid (EPA) 와 docosahexaenoic acid (DHA) 같은 n-3 지방산의 합성을 크게 증가시키고자 하였다.

제 2 절 연구수행 방법

1. 실험동물

실험동물로서는 생후 2개월 된 육계와 생후 5개월 된 육돈을 10두씩 선정하였으며 육계와 육돈을 해부한 후 즉시 간장과 근육조직을 채취하여 효소측정을 위한 microsomes 분리용으로 이용하였다.

2. 실험동물의 조직채취

다가불포화지방산 생성을 규명하기 위하여 육계와 육돈 10마리로부터 간장과 근육조직을 채취하여 다음과 같이 microsomes를 분리하였다.

Microsomal fractionation of chicken liver, chicken muscle, pig liver and pig muscle

1. Remove tissues from animals.
2. Perfuse with 0.9% saline solution.
3. Add 20ml buffer solution including 0.25M sucrose, 20mM Tris and 1.0mM EDTA.
4. Homogenize with Polytron homogenizer for 1min and centrifuge at 3,000rpm for 10min at 4°C.
5. Transfer the supernatant to other tube and centrifuge at 10,000rpm for 10min at 4°C by Beckman Model B-60 (Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, U.S.A).
6. Take the supernatant and centrifuge at 31,000rpm for 1hr and 10min at 4°C.
7. Remove supernatant and take pellet (microsomes).
8. Resuspend in 0.25M sucrose buffer solution.
9. Keep in deep freezer after freezing in liquid nitrogen.

위와 같이 분리한 육계와 육돈의 각 조직 microsomes에 함유된 단백질량을 Lowry방법으로 측정하였다. 분리된 microsomal protein의 농도는 protein standard로 BSA (bovine serum albumin)을 30 μ l, 60 μ l, 90 μ l, 120 μ l, 150 μ l를 각각 시험관에 넣은 후 H₂O를 첨가하여 300 μ l를 맞춘 후 mixed reagent (1g Na₂CO₃/50ml 0.1N NaOH, 0.25g CuSO₄/50ml H₂O,

0.5g Sodium tartrate/50ml H₂O) 3ml를 첨가 후 10분 뒤에 300 μ l의 Folin reagent를 넣은 후 10분 후에 650nm에서 흡광도를 측정하여 standard curve를 작성하였으며 microsomes의 protein 함량을 측정하기 위하여 standard curve와 비교하여 정량하였다. Microsomes의 단백질을 측정 한 후 다음과 같은 반응조건으로 n-3 다가불포화지방산 합성을 위한 효소역가를 증진시키기 위하여 각 조직 microsomes 별로 효소기질로서 linolenyl-CoA, eicosapentaenoyl-CoA, docosapentaenoyl-CoA와 desaturase용 각종 stimulant (cofactor, effector)를 첨가하여 incubation시켰다.

Incubation of the microsomes with individual substrate and desaturase cofactor

1. Make 2ml of final volume including 41.7mM potassium phosphate (pH 7.4), 0.25M sucrose, 0.15M potassium chloride, 41.7mM sodium fluoride, 5mM magnesium chloride, 1.6mM N-acetyl-cystein, 1.3mM ATP, 1mM NADH, and 60 μ M Coenzyme A.
2. Add 60 μ M of each enzyme substrate (linolenyl-CoA, eicosapentaenoyl-CoA, docosapentaenoyl-CoA) and 5mg microsomal protein.
3. Add individual cofactor, such as 1mM gallic acid, 1mM gallic acid lauryl ester, 1mM curcumin, 1mM deoxycorticosterone, 1mM ascorbic acid, 1mM clofibrate, 1mM triiodothyronine, 1mM phenol, 1mM NADH, 1mM tocopherol, 1mM retinol, 15 μ M insulin, 0.1mM NADP, 0.1mM NADPH and 50 μ M malonyl-CoA.
4. Incubate at 36°C for 20min in shaking water bath.

3. 지방산 측정

Incubation 시킨 후 각종 cofactor에 의한 다가불포화지방산의 합성정도를 측정하기 위하여 다음과 같이 GLC에 의해서 지방산 조성을 분석하였다.

Analysis of polyunsaturated fatty acid

1. The incubation reaction was stopped with 5ml of Chloroform/Methanol (2:1).

2. Add H₂O 1ml and centrifuge at 2,000rpm for 10 min.
3. Total lipid was extracted with Chloroform/Methanol (2:1).
4. Add 15:0 as internal std and 6ml of 6% methanolic H₂SO₄ for methylation.
5. Add 5ml pet. ether and 2ml H₂O and centrifuge at 2,000rpm for 10min.
6. Take pet. ether and evaporation under N₂.
7. Add hexane for GLC analysis.
8. Operating condition for GLC analysis.

GLC는 Shimadzu GC 14A gas chromatograph (Shimadzu Co., Tokyo, Japan)을 사용하였으며 분석조건은 다음과 같다.

Detector temperater : 260°C

Injector temperater : 240°C

Carrier gas : 1.3 N₂

Column : DB-123-2361 capillary column (J&W Scientific, USA)

Column temperater : 60°C ~ 220°C

Resolution time : 30min

이와 같이 분리한 지방산은 Nu Chek standard GLC-87 (Nu Chek Prep, Elysian, MN, USA) 로 각 peak를 동정하였다.

4. 총 microsomal 지방산 생성량 측정

각 조직에서 분리한 반응 microsomes에서 합성된 총지방산 함량은 pentadecanoin을 internal standard로 사용하여 GC로 분석된 지방산을 각 지방산의 분자량에 따라 computer로 정량분석한 후 합산하였다.

5. 효소 역가 측정

Δ^5 -desaturase의 역가를 나타내기 위하여 EPA synthase 역가를 측정하였으며 Δ^4 -desaturase 의 역가를 보기 위하여 DHA synthase을 측정하였다. EPA와 DHA synthase 역가는 각 기질과 각종 효소 stimulant 첨가에 따라 조직 microsomes에서 합성된 총지방산 합성량에서 18:4n-3와 EPA와 DHA의 합성량을 분석하여 nanomoles of fatty acids (EPA or DHA)/mg protein/min의 단위로 표시하였다.

제 3 절 연구결과 및 고찰

1. 육계의 간장조직

육계의 간장조직에서 분리한 microsomes를 $\Delta 6$ -desaturase의 기질인 linolenyl-CoA와 각종 stimulant와 반응시킨 후 불포화지방산의 합성을 측정 한 결과 Table 1에서와 같이 stimulant로 clofibrate를 사용했을 때 EPA mol%가 가장 높았으며 DHA mol%도 clofibrate에서 가장 높았다. EPA와 DHA synthase의 specific activity는 stimulant로 NADP와 deoxycorticosterone을 반응시켰을 때 가장 높았다 (Table 2).

효소기질로서 eicosapentaenoyl-CoA를 사용했을 경우 EPA의 mol%는 효소 stimulant에 따라 유사한 경향을 보였으며 DHA mol%는 malonyl-CoA를 반응시켰을 때 가장 높았다 (Table 3). Specific activity는 EPA synthase와 DHA synthase에서 insulin과 malonyl-CoA를 사용했을 경우 가장 높았다 (Table 4).

$\Delta 4$ -desaturase 기질로서 docosapentaenoyl-CoA를 사용했을 경우 stimulant에 따라 EPA의 mol%는 큰 변화가 없었으며 DHA mol%는 NADP를 사용했을 때 5.2 mol%로 가장 높았다 (Table 5). Specific activity는 EPA synthase와 DHA synthase에서 stimulant로 ascorbic acid를 사용했을 때 모두 가장 높았다 (Table 6).

육계의 간장조직 microsomes에서 합성된 총지방산 함량은 기질과 stimulant에 따라 다양하게 나타났으며 linolenyl-CoA를 사용했을 때는 deoxycorticosterone와 반응했을 때 10,814 nanomoles이었으며 eicosapentaenoyl-CoA와 docosapentaenoyl-CoA를 기질로 사용했을 경우는 효소 stimulant로 NADH와 ascorbic acid에서 각각 2,894와 6,110 nanomoles로 가장 높았다 (Table 7).

Table 1. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in chicken liver microsomes with linolenyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	17.0 ± 1.2	18.9 ± 1.9	16.4 ± 1.3
20:2n-6	0.3 ± 0.1	tr	0.4 ± 0.1
20:3n-6	tr	tr	0.5 ± 0.1
20:4n-6	12.0 ± 1.3	11.6 ± 0.9	13.2 ± 1.3
22:4n-6	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.9 ± 0.2
22:5n-6	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.1
18:3n-3	1.6 ± 0.3	1.6 ± 0.3	1.9 ± 0.5
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	tr	tr	0.2 ± 0.1
22:5n-3	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1	1.0 ± 0.3
22:6n-3	2.0 ± 0.3	1.8 ± 0.2	2.5 ± 0.2

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	16.6 ± 1.2	19.7 ± 1.8	17.0 ± 1.5
20:2n-6	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1
20:3n-6	0.4 ± 0.1	tr	0.4 ± 0.1
20:4n-6	12.9 ± 0.8	14.7 ± 1.0	12.4 ± 1.3
22:4n-6	1.0 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.9 ± 0.2
22:5n-6	0.9 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.2
18:3n-3	1.7 ± 0.2	1.8 ± 0.2	1.7 ± 0.2
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	0.2 ± 0.1	tr	0.2 ± 0.1
22:5n-3	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.2
22:6n-3	2.6 ± 0.3	2.4 ± 0.2	2.4 ± 0.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM triiodothyronine	1mM phenol
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	12.7 ± 1.8	16.4 ± 1.6	16.7 ± 1.4
20:2n-6	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	tr
20:3n-6	0.6 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2
20:4n-6	7.4 ± 0.5	11.6 ± 1.2	11.6 ± 1.2
22:4n-6	0.6 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.3
22:5n-6	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.3	0.5 ± 0.1
18:3n-3	1.8 ± 0.3	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.2
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	1.0 ± 0.1	tr	tr
22:5n-3	1.2 ± 0.2	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.2
22:6n-3	7.5 ± 0.5	2.1 ± 0.2	2.1 ± 0.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added			
	1mM tocopherol	1mM retinol	15uM insulin	0.1mM NADP
	----- mol% ^c -----			
18:2n-6	17.4 ± 1.6	18.5 ± 1.4	18.4 ± 1.5	13.9 ± 1.2
20:2n-6	tr	tr	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
20:3n-6	tr	tr	tr	0.6 ± 0.2
20:4n-6	11.7 ± 1.5	10.4 ± 0.7	12.2 ± 1.3	8.3 ± 0.7
22:4n-6	0.6 ± 0.3	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.3	0.7 ± 0.2
22:5n-6	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1
18:3n-3	1.6 ± 0.2	2.2 ± 0.3	1.8 ± 0.2	1.9 ± 0.2
18:4n-3	tr	tr	tr	tr
20:5n-3	tr	tr	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.2
22:5n-3	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.0 ± 0.1
22:6n-3	1.8 ± 0.2	1.6 ± 0.2	1.8 ± 0.3	5.4 ± 0.4

^a Chicken liver microsomes were incubated with individual stimulant and linolenyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 2. Specific enzyme activity in chicken liver microsomes incubated with linolenyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	tr	tr	0.02	0.05
DHA synthase	0.51	0.35	0.24	0.66

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	clofibrate	triiodothyronine
EPA synthase	tr	0.05	0.01	tr
DHA synthase	2.60	0.55	0.05	0.50

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added				
	phenol	tocopherol	retinol	insulin	NADP
EPA synthase	tr	tr	tr	0.06	0.14
DHA synthase	0.41	0.44	0.39	0.54	1.08

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 3. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in chicken liver microsomes with eicosapentaenoyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	12.6	12.0	12.3
20:2n-6	0.5	0.5	0.5
20:3n-6	1.1	1.1	1.0
20:4n-6	12.1	12.2	12.7
22:4n-6	0.9	0.9	1.0
22:5n-6	1.0	1.0	1.1
18:3n-3	0.3	0.3	0.3
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	1.9	1.8	2.0
22:5n-3	1.2	1.3	1.3
22:6n-3	3.9	4.1	4.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	11.1	12.6	12.3
20:2n-6	0.9	0.5	0.5
20:3n-6	2.0	1.1	1.0
20:4n-6	12.6	12.5	13.0
22:4n-6	1.0	0.9	0.9
22:5n-6	1.1	1.0	1.1
18:3n-3	0.3	0.3	0.3
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	1.7	1.7	1.9
22:5n-3	1.3	1.3	1.3
22:6n-3	4.4	4.2	4.4

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM triiodothyronine	1mM phenol
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	17.5	14.2	13.4
20:2n-6	0.5	0.5	0.5
20:3n-6	1.0	1.3	0.9
20:4n-6	12.4	12.6	12.7
22:4n-6	0.9	0.9	0.9
22:5n-6	1.0	1.0	1.1
18:3n-3	0.3	0.3	0.3
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	1.9	1.8	1.8
22:5n-3	1.3	1.2	1.3
22:6n-3	4.1	4.0	4.4

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM NADH	1mM tocopherol	1mM retinol
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	15.2	14.6	13.2
20:2n-6	0.5	0.5	tr
20:3n-6	0.9	1.0	0.9
20:4n-6	12.7	11.5	12.8
22:4n-6	1.1	0.9	0.9
22:5n-6	1.3	0.9	1.0
18:3n-3	tr	0.4	0.4
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	1.9	1.9	2.1
22:5n-3	1.3	1.1	1.3
22:6n-3	4.4	3.5	4.4

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added			
	15uM insulin	0.1mM NADP	0.1mM NADPH	50uM malonyl-CoA
	----- mol% ^c -----			
18:2n-6	14.1	12.8	13.7	13.4
20:2n-6	0.5	0.5	0.5	0.5
20:3n-6	0.9	0.9	0.9	0.9
20:4n-6	12.9	12.6	12.9	12.7
22:4n-6	0.9	0.9	0.3	1.0
22:5n-6	1.1	1.1	1.0	1.1
18:3n-3	0.3	0.3	0.3	0.3
18:4n-3	tr	tr	tr	tr
20:5n-3	2.3	1.8	1.6	1.8
22:5n-3	1.3	1.3	1.1	1.3
22:6n-3	4.4	4.4	1.3	4.5

^a Chicken liver microsomes were incubated with individual stimulant and eicosapentaenoyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 4. Specific enzyme activity in chicken liver microsomes incubated with eicosapentaenoyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.48	0.46	0.48	0.19
DHA synthase	0.98	1.06	1.04	0.48

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	clofibrate	triiodothyronine
EPA synthase	0.43	0.45	0.17	0.44
DHA synthase	1.07	1.04	0.36	0.99

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	phenol	tocopherol	retinol	insulin
EPA synthase	0.52	0.52	0.52	0.62
DHA synthase	1.26	0.93	1.09	1.18

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added		
	NADP	NADPH	malonyl-CoA
EPA synthase	0.50	0.39	0.52
DHA synthase	1.23	0.32	1.29

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 5. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in chicken liver microsomes with docosapentaenoyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	13.2	12.9	11.8
20:2n-6	0.5	0.4	0.5
20:3n-6	1.0	0.8	1.0
20:4n-6	11.7	11.2	11.4
22:4n-6	0.8	0.8	0.8
22:5n-6	1.0	1.0	0.9
18:3n-3	0.3	0.3	0.3
18:4n-3	tr	0.2	0.2
20:5n-3	1.4	2.2	1.7
22:5n-3	1.6	1.6	1.7
22:6n-3	4.7	4.9	5.0

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	11.9	13.3	13.9
20:2n-6	0.5	0.5	0.5
20:3n-6	1.2	0.9	1.0
20:4n-6	10.8	11.3	11.4
22:4n-6	0.8	0.8	0.9
22:5n-6	0.9	0.9	1.0
18:3n-3	0.3	0.3	0.3
18:4n-3	0.2	tr	tr
20:5n-3	1.5	1.6	1.3
22:5n-3	1.5	1.6	1.5
22:6n-3	4.7	4.7	4.5

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM triiodothyronine	1mM phenol	1mM NADH
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	12.2	13.2	12.8
20:2n-6	0.5	0.5	0.7
20:3n-6	0.9	0.9	tr
20:4n-6	11.1	11.8	11.4
22:4n-6	0.8	0.8	0.7
22:5n-6	0.9	1.0	0.8
18:3n-3	0.3	0.3	0.3
18:4n-3	0.3	tr	0.2
20:5n-3	1.8	1.5	1.7
22:5n-3	1.6	1.5	1.5
22:6n-3	4.9	4.7	4.6

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM tocopherol	1mM retinol	15uM insulin
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	11.8	13.4	14.2
20:2n-6	0.4	0.4	0.5
20:3n-6	0.8	0.8	0.8
20:4n-6	10.9	11.5	12.2
22:4n-6	0.8	0.9	1.0
22:5n-6	0.9	1.0	1.1
18:3n-3	0.4	0.3	0.3
18:4n-3	0.3	0.4	tr
20:5n-3	1.8	1.3	1.3
22:5n-3	1.6	1.4	1.5
22:6n-3	4.8	4.4	4.9

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	0.1mM NADP	0.1mM NADPH	50uM malonyl-CoA
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	11.3	13.8	13.8
20:2n-6	0.4	1.0	0.5
20:3n-6	0.7	2.1	0.9
20:4n-6	10.0	12.6	12.1
22:4n-6	0.8	0.9	0.9
22:5n-6	0.9	1.0	1.0
18:3n-3	0.3	0.3	tr
18:4n-3	0.4	tr	tr
20:5n-3	2.2	1.3	1.3
22:5n-3	1.9	1.4	1.5
22:6n-3	5.2	4.5	4.7

^a Chicken liver microsomes were incubated with individual stimulant and docosapentaenoyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 6. Specific enzyme activity in chicken liver microsomes incubated with docosapentaenoyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.33	0.70	0.51	0.39
DHA synthase	1.10	1.56	1.50	1.23

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	triiodothyronine	phenol
EPA synthase	0.64	0.79	0.53	0.42
DHA synthase	1.89	2.75	1.44	1.34

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	NADH	tocopherol	retinol	insulin
EPA synthase	0.68	0.56	0.36	0.46
DHA synthase	1.83	1.50	1.22	1.74

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added		
	NADP	NADPH	malonyl-CoA
EPA synthase	0.73	0.39	0.38
DHA synthase	1.72	1.36	1.39

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 7. Amounts of fatty acid produced in chicken liver microsomes after incubated with various substrates and stimulants^a

Stimulant	Substrate added		
	Linolenyl-CoA	Eicosapentaenoyl-CoA	Docosapentaenoyl-CoA
	----- nmoles of fatty acid ^b -----		
Not added	2552.26	2507.42	2330.26
Gallic acid	1940.88	2576.75	3177.23
Gallic acid lauryl ester	970.44	2411.12	3020.27
Curcumin	2544.73	1100.62	2605.70
Deoxycorticosterone	10814.28	2539.29	4009.85
Ascorbic acid	2297.60	2353.28	6110.38
Clofibrate	842.51	885.13	-
Triiodothyronine	2364.13	2464.97	2947.94
Phenol	1939.08	2867.40	2849.99
NADH	-	2893.81	3983.42
Tocopherol	2424.38	2642.16	3131.39
Retinol	2455.13	2487.35	2768.31
Insulin	3006.73	2683.38	3542.62
NADP	1999.02	2788.73	3309.69
NADPH	-	2420.71	3012.66
Malonyl-CoA	-	2872.24	2956.59

^a 5mg of microsomal protein in chicken liver were incubated with each substrates and stimulants for 20mins.

^b means total nanomoles of fatty acid produced in the microsomes from chicken liver.

2. 육계의 근육조직

육계의 근육조직에서 분리한 microsomes를 $\Delta 6$ -desaturase의 기질인 linolenyl-CoA와 각종 stimulant와 반응시킨 후 불포화지방산의 합성을 측정한 결과 Table 8에서와 같이 stimulant로 gallic acid lauryl ester를 사용했을 때 EPA mol%가 가장 높았으며 DHA mol%는 NADP에서 가장 높았다. EPA와 DHA synthase의 specific activity는 stimulant로 NADP와 triiodothyronine을 반응시켰을 때 가장 높았다 (Table 9).

효소기질로서 eicosapentaenoyl-CoA를 사용했을 경우 EPA의 mol%는 효소 stimulant에 따라 유사한 경향을 보였으며 DHA mol%는 gallic acid lauryl ester를 반응시켰을 때 가장 높았다 (Table 10). Specific activity는 EPA synthase와 DHA synthase에서 gallic acid를 사용했을 경우 모두 가장 높았다 (Table 11).

$\Delta 4$ -desaturase 기질로서 docosapentaenoyl-CoA를 사용했을 경우 stimulant로 triiodothyronine를 사용했을 때 EPA mol%가 가장 높았으며 DHA mol%도 triiodothyronine에서 가장 높았다 (Table 12). Specific activity는 EPA synthase와 DHA synthase에서 NADP와 gallic acid를 사용했을 경우 가장 높았다 (Table 13).

육계의 근육조직 microsomes에서 합성된 총지방산 함량은 기질과 stimulant에 따라 다양하게 나타났으며 linolenyl-CoA를 사용했을 때는 gallic acid와 반응했을 때 2,590 nanomoles이었으며 eicosapentaenoyl-CoA와 docosapentaenoyl-CoA를 기질로 사용했을 경우는 효소 stimulant로 tocopherol과 gallic acid에서 각각 7,128과 4,468 nanomoles로 가장 높았다 (Table 14).

Table 8. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in chicken muscle microsomes with linolenyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	7.5 ± 0.5	8.5 ± 0.5	7.2 ± 0.4
20:2n-6	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1
20:3n-6	0.7 ± 0.3	0.8 ± 0.3	0.2 ± 0.1
20:4n-6	10.2 ± 1.2	17.0 ± 1.5	10.2 ± 0.9
22:4n-6	2.7 ± 0.3	6.6 ± 0.4	2.6 ± 0.3
22:5n-6	tr	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.1
18:3n-3	1.7 ± 0.2	3.0 ± 0.2	1.8 ± 0.2
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	0.9 ± 0.3	tr	0.9 ± 0.2
22:5n-3	1.8 ± 0.2	1.1 ± 0.3	1.9 ± 0.2
22:6n-3	3.2 ± 0.3	1.1 ± 0.1	3.3 ± 0.4

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	7.6 ± 0.8	7.4 ± 0.6	7.4 ± 0.3
20:2n-6	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
20:3n-6	0.9 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2
20:4n-6	10.2 ± 1.0	9.6 ± 0.8	9.7 ± 0.7
22:4n-6	2.4 ± 0.4	2.4 ± 0.3	2.4 ± 0.2
22:5n-6	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
18:3n-3	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.2
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	0.9 ± 0.3	0.8 ± 0.3	0.9 ± 0.2
22:5n-3	1.8 ± 0.2	1.7 ± 0.2	1.7 ± 0.5
22:6n-3	3.1 ± 0.3	2.9 ± 0.3	2.9 ± 0.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM triiodothyronine	1mM phenol
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	7.5 ± 0.8	7.5 ± 0.5	9.8 ± 0.7
20:2n-6	0.3 ± 0.1	tr	0.4 ± 0.1
20:3n-6	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2
20:4n-6	10.8 ± 0.9	10.4 ± 1.0	14.6 ± 1.3
22:4n-6	2.9 ± 0.3	2.9 ± 0.3	5.6 ± 0.5
22:5n-6	tr	tr	0.5 ± 0.1
18:3n-3	1.7 ± 0.3	1.7 ± 0.2	3.3 ± 0.3
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.1	tr
22:5n-3	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.2	0.9 ± 0.2
22:6n-3	3.5 ± 0.4	3.5 ± 0.3	0.9 ± 0.1

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added			
	1mM tocopherol	1mM retinol	15uM insulin	0.1mM NADP
	----- mol% ^c -----			
18:2n-6	9.1 ± 0.8	8.2 ± 0.6	8.2 ± 0.7	7.5 ± 0.8
20:2n-6	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	tr
20:3n-6	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2
20:4n-6	13.1 ± 1.2	13.7 ± 1.2	15.2 ± 1.3	10.6 ± 1.0
22:4n-6	3.3 ± 0.4	3.8 ± 0.4	5.6 ± 0.4	tr
22:5n-6	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.1	tr
18:3n-3	2.2 ± 0.2	1.9 ± 0.5	3.5 ± 0.2	2.0 ± 0.2
18:4n-3	tr	tr	tr	tr
20:5n-3	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	tr	1.0 ± 0.2
22:5n-3	1.1 ± 0.2	1.2 ± 0.3	1.5 ± 0.2	1.8 ± 0.3
22:6n-3	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.5 ± 0.2	3.6 ± 0.4

^a Chicken muscle microsomes were incubated with individual stimulant and linolenyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 9. Specific enzyme activity in chicken muscle microsomes incubated with linolenyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.22	tr	0.21	0.20
DHA synthase	0.78	0.29	0.75	0.68

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	clofibrate	clofibrate	triiodothyronine
EPA synthase	0.16	0.10	0.01	0.22
DHA synthase	0.60	0.34	0.02	0.84

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added				
	phenol	tocopherol	retinol	insulin	NADP
EPA synthase	tr	0.03	0.04	tr	0.23
DHA synthase	0.15	0.10	0.14	0.20	0.81

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 10. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in chicken muscle microsomes with eicosapentaenoyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	15.5	15.9	19.8
20:2n-6	tr	0.2	0.2
20:3n-6	1.6	1.7	1.7
20:4n-6	5.7	5.2	5.9
22:4n-6	1.5	1.4	1.6
22:5n-6	0.5	0.4	0.4
18:3n-3	0.4	0.4	0.4
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	1.9	2.3	tr
22:5n-3	1.2	1.2	1.3
22:6n-3	1.9	1.9	2.1

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	19.7	18.9	16.8
20:2n-6	0.2	0.3	0.3
20:3n-6	1.6	1.7	1.7
20:4n-6	5.1	5.2	5.2
22:4n-6	1.5	1.5	1.5
22:5n-6	0.4	0.4	0.4
18:3n-3	0.4	0.3	0.4
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	1.6	1.4	1.4
22:5n-3	1.2	1.2	1.2
22:6n-3	1.9	1.9	2.0

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM triiodothyronine	1mM phenol
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	15.5	16.3	16.4
20:2n-6	0.2	0.3	0.2
20:3n-6	1.6	1.8	1.7
20:4n-6	5.3	5.3	5.2
22:4n-6	1.4	1.5	1.5
22:5n-6	0.4	0.4	0.4
18:3n-3	0.4	0.4	0.4
18:4n-3	tr	t	tr
20:5n-3	1.9	1.5	1.7
22:5n-3	1.2	1.2	1.2
22:6n-3	1.9	1.9	1.9

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM NADH	1mM tocopherol	1mM retinol
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	16.1	16.0	15.9
20:2n-6	0.3	0.4	0.2
20:3n-6	1.7	2.6	1.6
20:4n-6	5.0	3.7	5.2
22:4n-6	1.5	1.4	1.5
22:5n-6	0.4	0.4	0.4
18:3n-3	0.4	0.5	0.4
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	1.7	1.7	1.7
22:5n-3	1.1	1.1	1.2
22:6n-3	1.9	1.7	1.9

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added			
	15uM insulin	0.1mM NADP	0.1mM NADPH	50uM malonyl-CoA
	----- mol% ^c -----			
18:2n-6	15.8	16.1	16.3	17.9
20:2n-6	0.2	0.3	0.2	0.3
20:3n-6	1.7	1.7	1.7	1.9
20:4n-6	5.1	5.1	5.2	5.0
22:4n-6	1.4	1.5	1.4	1.4
22:5n-6	0.4	0.4	0.4	0.4
18:3n-3	0.4	0.4	0.4	0.4
18:4n-3	tr	tr	tr	tr
20:5n-3	1.1	1.8	2.1	1.6
22:5n-3	1.1	1.2	1.2	1.1
22:6n-3	1.9	1.9	1.9	1.8

^a Chicken muscle microsomes were incubated with individual stimulant and eicosapentaenoyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 11. Specific enzyme activity in chicken muscle microsomes incubated with eicosapentaenoyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.41	1.50	tr	0.52
DHA synthase	0.41	1.24	0.71	0.61

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	clofibrate	triiodothyronine
EPA synthase	0.74	0.31	0.17	0.25
DHA synthase	1.00	0.45	0.17	0.31

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	phenol	NADH	tocopherol	retinol
EPA synthase	0.69	0.44	1.21	1.04
DHA synthase	0.77	0.49	1.21	1.16

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	insulin	NADP	NADPH	malonyl-CoA
EPA synthase	0.27	0.76	0.52	0.37
DHA synthase	0.46	0.80	0.47	0.42

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 12. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in chicken muscle microsomes with docosapentaenoyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	17.6	18.2	15.4
20:2n-6	0.2	0.2	0.3
20:3n-6	1.5	1.5	1.6
20:4n-6	4.4	5.0	4.4
22:4n-6	1.3	0.5	1.3
22:5n-6	0.4	1.5	0.3
18:3n-3	0.4	0.4	0.3
18:4n-3	0.2	tr	0.2
20:5n-3	1.5	1.3	1.3
22:5n-3	1.5	1.5	1.4
22:6n-3	2.6	2.5	2.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	13.0	16.5	16.9
20:2n-6	tr	tr	tr
20:3n-6	1.0	1.3	1.3
20:4n-6	3.7	4.4	4.3
22:4n-6	1.0	1.2	1.3
22:5n-6	0.3	tr	0.4
18:3n-3	0.4	tr	0.4
18:4n-3	0.3	tr	0.4
20:5n-3	2.3	2.3	2.3
22:5n-3	1.5	1.8	1.9
22:6n-3	3.0	3.3	3.2

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM triiodothyronine	1mM phenol
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	22.0	17.0	17.7
20:2n-6	0.2	tr	tr
20:3n-6	1.4	2.1	1.4
20:4n-6	3.9	4.2	4.6
22:4n-6	1.1	1.2	1.4
22:5n-6	0.3	tr	0.4
18:3n-3	0.3	tr	0.5
18:4n-3	0.2	tr	0.3
20:5n-3	1.4	2.5	1.8
22:5n-3	1.3	2.0	1.7
22:6n-3	2.3	3.5	3.0

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM NADH	1mM tocopherol	1mM retinol
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	15.2	18.8	14.9
20:2n-6	0.4	0.4	0.4
20:3n-6	1.6	1.9	1.6
20:4n-6	4.3	4.0	4.1
22:4n-6	1.3	1.1	1.2
22:5n-6	0.3	0.3	0.3
18:3n-3	0.4	0.3	0.3
18:4n-3	0.2	0.2	0.3
20:5n-3	1.4	1.2	1.3
22:5n-3	1.5	1.3	1.5
22:6n-3	2.5	2.1	2.4

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added			
	15uM insulin	0.1mM NADP	0.1mM NADPH	50uM malonyl-CoA
	----- mol% ^c -----			
18:2n-6	15.6	17.0	15.1	14.9
20:2n-6	0.4	0.9	0.2	0.3
20:3n-6	1.7	1.3	1.5	1.5
20:4n-6	5.3	4.3	4.6	4.1
22:4n-6	1.3	1.3	1.3	1.2
22:5n-6	0.4	0.4	0.4	0.3
18:3n-3	0.6	0.5	0.4	0.3
18:4n-3	0.2	0.3	0.2	0.3
20:5n-3	tr	2.1	1.5	1.8
22:5n-3	1.4	1.7	1.5	1.5
22:6n-3	2.5	3.1	2.6	2.4

^a Chicken muscle microsomes were incubated with individual stimulant and docosapentaenoyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 13. Specific enzyme activity in chicken muscle microsomes incubated with docosapentaenoyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.38	0.58	0.39	0.33
DHA synthase	0.66	1.12	0.70	0.44

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	clofibrate	triiodothyronine
EPA synthase	0.33	0.29	0.14	0.33
DHA synthase	0.48	0.41	0.23	0.47

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	phenol	NADH	tocopherol	retinol
EPA synthase	0.26	0.35	0.30	0.33
DHA synthase	0.44	0.62	0.53	0.60

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	insulin	NADP	NADPH	malonyl-CoA
EPA synthase	tr	0.61	0.18	0.46
DHA synthase	0.81	0.89	0.31	0.61

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 14. Amounts of fatty acid produced in chicken muscle microsomes after incubating with various substrates and stimulants^a

Stimulant	Substrate added		
	Linolenyl-CoA	Eicosapentaenoyl-CoA	Docosapentaenoyl-CoA
	----- nmoles of fatty acid ^b -----		
Not added	2425.09	2147.33	2541.62
Gallic acid	2590.11	6521.96	4467.68
Gallic acid lauryl ester	2276.08	3372.67	3024.01
Curcumin	2187.95	3222.90	1449.30
Deoxycorticosterone	2051.03	5264.91	1442.82
Ascorbic acid	1154.59	2240.64	1265.02
Clofibrate	64.56	882.91	994.89
Triiodothyronine	2404.38	1646.63	1328.09
Phenol	1691.24	4057.68	1460.93
NADH	-	2588.15	2461.16
Tocopherol	1690.36	7128.02	2506.24
Retinol	1938.75	6116.30	2497.41
Insulin	1302.84	2420.76	3234.67
NADP	2257.29	4218.04	2878.96
NADPH	-	2496.86	1190.84
Malonyl-CoA	-	2331.93	2535.78

^a 5mg of microsomal protein from chicken muscle were incubated with each substrate and stimulant for 20 mins.

^b means total nanomoles of fatty acids produced in chicken muscle microsomes.

3. 육돈의 간장조직

육돈의 간장조직에서 분리한 microsomes를 $\Delta 6$ -desaturase의 기질인 linolenyl-CoA와 각종 stimulant와 반응시킨 후 불포화지방산의 합성을 측정한 결과 Table 15에서와 같이 stimulant로 deoxycorticosterone을 사용했을 때 EPA mol%가 가장 높았으며 DHA mol%도 deoxycorticosterone에서 가장 높았다. EPA와 DHA synthase의 specific activity는 stimulant로 curcumin과 malonyl-CoA를 반응시켰을 때 가장 높았다 (Table 16).

효소기질로서 eicosapentaenoyl-CoA를 사용했을 경우 EPA와 DHA의 mol%는 효소 stimulant에 따라 유사한 경향을 보였으나 gallic acid lauryl ester와 NADP를 반응시켰을 때 가장 높았다. (Table 17). Specific activity는 EPA synthase에서는 deoxycorticosterone과 NADP stimulant에서 가장 높았고 DHA synthase에서는 tocopherol을 포함한 2가지 stimulant에서 가장 높았다. (Table 18).

$\Delta 4$ -desaturase 기질로서 docosapentaenoyl-CoA를 사용했을 경우 clofibrate를 포함한 6가지 stimulant를 각각 사용했을 때 EPA mol%가 가장 높았으며 DHA mol%는 phenol에서 가장 높았다 (Table 19). Specific activity는 EPA synthase와 DHA synthase에서 phenol을 사용했을 경우 모두 가장 높았다 (Table 20).

육돈의 간장조직 microsomes에서 합성된 총지방산 함량은 기질과 stimulant에 따라 다양하게 나타났으며 linolenyl-CoA를 사용했을 때는 malonyl-CoA와 반응했을 때 4,327 nanomoles이었으며 eicosapentaenoyl-CoA와 docosapentaenoyl-CoA를 기질로 사용했을 경우는 효소 stimulant로 tocopherol과 phenol에서 각각 3,765와 20,031 nanomoles로 가장 높았다 (Table 21).

Table 15. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in pig liver microsomes with linolenyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	15.9	16.3	16.1
20:2n-6	0.2	0.2	0.2
20:3n-6	tr	tr	tr
20:4n-6	13.3	13.6	13.7
22:4n-6	0.9	0.9	0.9
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	2.9	2.6	2.8
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	0.4	0.4	0.4
22:5n-3	1.6	1.8	1.7
22:6n-3	2.1	2.2	2.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	16.1	8.2	16.2
20:2n-6	0.2	0.3	0.2
20:3n-6	tr	tr	tr
20:4n-6	13.7	15.0	13.3
22:4n-6	0.9	1.0	0.9
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	2.6	2.9	2.7
18:4n-3	tr	0.1	tr
20:5n-3	0.6	0.5	0.4
22:5n-3	1.8	2.1	1.7
22:6n-3	2.3	2.4	2.2

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM phenol	1mM NADH
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	15.6	16.0	15.3
20:2n-6	tr	0.2	0.2
20:3n-6	tr	tr	tr
20:4n-6	14.5	12.8	17.3
22:4n-6	0.9	0.9	0.7
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	2.6	2.7	3.1
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	0.4	0.5	0.5
22:5n-3	1.7	1.7	1.6
22:6n-3	2.2	2.1	2.1

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM tocopherol	1mM retinol	15uM insulin
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	16.0	27.2	15.8
20:2n-6	0.2	0.2	0.2
20:3n-6	tr	tr	tr
20:4n-6	13.7	10.9	13.0
22:4n-6	0.9	0.8	0.8
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	2.7	2.3	3.0
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	0.4	0.3	0.4
22:5n-3	1.6	1.3	1.6
22:6n-3	2.2	1.8	2.0

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	0.1mM NADP	0.1mM NADPH	50uM malonyl-CoA
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	15.7	16.4	16.5
20:2n-6	0.2	0.2	0.2
20:3n-6	tr	tr	tr
20:4n-6	13.6	13.6	14.5
22:4n-6	0.8	0.9	0.9
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	2.7	2.7	2.4
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	0.5	0.4	0.4
22:5n-3	1.6	1.7	1.7
22:6n-3	2.1	2.3	2.3

^a Pig liver microsomes were incubated with individual stimulant and linolenyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 16. Specific enzyme activity in pig liver microsomes incubated with linolenyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.13	0.14	0.14	0.22
DHA synthase	0.69	0.75	0.78	0.86

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	clofibrate	phenol
EPA synthase	0.16	0.13	0.04	0.17
DHA synthase	0.76	0.71	0.21	0.71

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	NADH	tocopherol	retinol	insulin
EPA synthase	0.20	0.14	0.12	0.13
DHA synthase	0.84	0.77	0.73	0.66

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added		
	NADP	NADPH	malonyl-CoA
EPA synthase	0.17	0.15	0.17
DHA synthase	0.71	0.86	1.00

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 17. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in pig liver microsomes with eicosapentaenoyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	16.8	16.1	16.3
20:2n-6	0.2	0.2	0.2
20:3n-6	tr	tr	tr
20:4n-6	14.9	15.6	13.9
22:4n-6	0.9	0.9	0.8
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.4	0.4	0.4
18:4n-3	0.1	tr	tr
20:5n-3	0.9	0.8	0.8
22:5n-3	1.8	1.7	1.9
22:6n-3	2.2	2.3	2.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	16.3	16.3	16.3
20:2n-6	0.2	0.2	0.2
20:3n-6	tr	tr	tr
20:4n-6	13.9	13.8	14.6
22:4n-6	0.9	0.9	1.0
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.4	0.4	0.5
18:4n-3	tr	0.1	tr
20:5n-3	0.9	0.9	0.8
22:5n-3	1.8	1.8	1.8
22:6n-3	2.2	2.2	2.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM phenol	11mM NADH
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	16.5	16.3	16.3
20:2n-6	0.4	0.2	0.2
20:3n-6	tr	tr	tr
20:4n-6	13.7	14.0	13.7
22:4n-6	0.9	1.0	1.4
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.6	0.6	0.6
18:4n-3	tr	0.1	tr
20:5n-3	0.7	0.8	0.9
22:5n-3	1.7	1.8	1.6
22:6n-3	2.3	2.3	2.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM tocopherol	1mM retinol	15uM insulin
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	16.6	15.9	16.3
20:2n-6	0.2	0.2	0.2
20:3n-6	tr	tr	tr
20:4n-6	14.0	13.6	13.7
22:4n-6	0.9	0.9	0.9
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.7	0.5	0.7
18:4n-3	0.1	0.2	0.2
20:5n-3	0.8	0.8	0.8
22:5n-3	1.8	1.6	1.8
22:6n-3	2.3	2.3	2.2

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	0.1mM NADP	0.1mM NADPH	50uM malonyl-CoA
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	16.4	16.4	16.5
20:2n-6	0.2	0.5	0.2
20:3n-6	tr	tr	tr
20:4n-6	13.3	13.4	13.6
22:4n-6	1.0	0.9	0.9
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.6	0.4	0.7
18:4n-3	tr	tr	0.1
20:5n-3	0.8	0.7	0.8
22:5n-3	1.7	1.6	1.7
22:6n-3	2.4	2.2	2.3

^a Pig liver microsomes were incubated with individual stimulant and eicosapentaenoyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 18. Specific enzyme activity in pig liver microsomes incubated with eicosapentaenoyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.31	0.25	0.26	0.29
DHA synthase	0.77	0.72	0.74	0.71

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	clofibrate	phenol
EPA synthase	0.32	0.29	0.09	0.28
DHA synthase	0.78	0.83	0.28	0.80

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	NADH	tocopherol	retinol	insulin
EPA synthase	0.32	0.30	0.29	0.28
DHA synthase	0.82	0.87	0.84	0.77

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added		
	NADP	NADPH	malonyl-CoA
EPA synthase	0.29	0.24	0.28
DHA synthase	0.87	0.76	0.80

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 19. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in pig liver microsomes with docosapentaenoyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	14.8	15.3	15.1
20:2n-6	0.4	0.2	0.3
20:3n-6	0.5	0.4	0.4
20:4n-6	15.2	14.7	14.1
22:4n-6	0.4	0.2	tr
22:5n-6	0.1	tr	tr
18:3n-3	0.4	0.1	0.3
18:4n-3	0.1	tr	tr
20:5n-3	1.8	1.4	1.5
22:5n-3	2.2	1.6	1.6
22:6n-3	4.1	3.5	3.4

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	14.4	15.0	14.7
20:2n-6	0.2	0.2	0.2
20:3n-6	0.7	0.6	0.7
20:4n-6	15.6	15.9	15.6
22:4n-6	0.3	tr	0.3
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.5	0.4	0.5
18:4n-3	0.1	tr	tr
20:5n-3	1.7	1.8	1.8
22:5n-3	1.9	1.8	1.8
22:6n-3	3.7	3.6	3.7

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM triiodothyronine	1mM phenol
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	14.8	14.5	14.7
20:2n-6	0.4	tr	0.4
20:3n-6	0.5	tr	tr
20:4n-6	15.4	15.8	16.0
22:4n-6	0.3	0.4	0.4
22:5n-6	tr	tr	0.1
18:3n-3	0.3	0.5	0.4
18:4n-3	tr	0.1	0.1
20:5n-3	1.8	1.7	1.8
22:5n-3	2.2	1.9	2.2
22:6n-3	4.2	3.6	4.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM NADH	1mM tocopherol	1mM retinol
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	14.6	14.9	14.8
20:2n-6	0.3	0.3	0.3
20:3n-6	tr	tr	0.5
20:4n-6	15.4	16.0	15.2
22:4n-6	0.3	0.3	0.3
22:5n-6	0.1	0.1	tr
18:3n-3	0.4	0.4	0.4
18:4n-3	0.1	0.1	tr
20:5n-3	1.8	1.8	1.8
22:5n-3	2.2	2.2	2.1
22:6n-3	4.2	4.2	4.1

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added			
	15uM insulin	0.1mM NADP	0.1mM NADPH	50uM malonyl-CoA
	----- mol% ^c -----			
18:2n-6	14.7	14.8	14.5	14.8
20:2n-6	0.3	0.4	0.4	0.4
20:3n-6	0.5	0.5	0.5	tr
20:4n-6	15.0	15.0	15.4	16.0
22:4n-6	0.3	0.3	0.3	0.3
22:5n-6	0.1	tr	tr	0.1
18:3n-3	0.4	0.4	0.3	0.4
18:4n-3	0.1	tr	0.1	0.1
20:5n-3	1.8	1.9	1.8	1.8
22:5n-3	2.1	2.1	2.2	2.2
22:6n-3	4.1	4.1	4.1	4.2

^a Pig liver microsomes were incubated with individual stimulant and docosapentaenoyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 20. Specific enzyme activity in pig liver microsomes incubated with docosapentaenoyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.85	0.83	0.84	0.89
DHA synthase	1.94	2.07	1.91	1.94

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	clofibrate	triiodothyronine
EPA synthase	0.98	0.95	0.23	0.84
DHA synthase	1.97	1.96	0.53	1.78

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	phenol	NADH	tocopherol	retinol
EPA synthase	3.61	0.94	0.94	0.98
DHA synthase	8.61	2.02	2.18	2.23

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	insulin	NADP	NADPH	malonyl-CoA
EPA synthase	0.94	0.98	0.90	1.01
DHA synthase	2.13	2.12	2.06	2.35

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 21. Amounts of fatty acid produced in pig liver microsomes after incubated with various substrates and stimulants^a

Stimulant	Substrate added		
	Linolenyl-CoA	Eicosapentaenoyl-CoA	Docosapentaenoyl-CoA
	----- nmoles of fatty acid ^b -----		
Not added	3286.78	3479.00	4725.26
Gallic acid	3400.75	3119.19	5923.80
Gallic acid lauryl ester	3378.94	3228.01	5610.45
Curcumin	3718.34	3229.63	5246.24
Deoxycorticosterone	3183.58	3549.66	5464.35
Ascorbic acid	3239.92	3617.81	5300.29
Clofibrate	956.33	1226.93	1270.15
Triiodothyronine	-	-	4939.51
Phenol	3370.89	3457.63	20031.57
NADH	4017.83	3574.82	5242.69
Tocopherol	3496.67	3765.27	5193.36
Retinol	4056.73	3635.09	5446.61
Insulin	3316.40	3481.37	5192.85
NADP	3363.85	3604.72	5170.44
NADPH	3739.96	3469.90	5019.55
Malonyl-CoA	4327.56	3477.05	5595.31

^a 5mg of microsomal protein in pig liver were incubated with each substrates and stimulants for 20mins.

^b means total nanomoles of fatty acid produced in the microsomes from chicken liver.

4. 육돈의 근육조직

육돈의 근육조직에서 분리한 microsomes를 $\Delta 6$ -desaturase의 기질인 linolenyl-CoA와 각종 stimulant와 반응시킨 후 불포화지방산의 합성을 측정할 결과 Table 22에서와 같이 stimulant로 curcumin을 사용했을 때 EPA mol%가 가장 높았으며 DHA mol%도 curcumin에서 가장 높았다. EPA와 DHA synthase의 specific activity는 stimulant로 curcumin을 반응시켰을 때 모두 가장 높았다 (Table 23).

효소기질로서 eicosapentaenoyl-CoA를 사용했을 경우 EPA의 mol%는 효소 stimulant에 따라 유사한 경향을 보였으며 DHA mol%는 malonyl-CoA를 반응시켰을 때 가장 높았다 (Table 24). Specific activity는 EPA synthase와 DHA synthase에서 stimulant로 phenol을 사용했을 때 모두 가장 높았다 (Table 25).

$\Delta 4$ -desaturase 기질로서 docosapentaenoyl-CoA를 사용했을 경우 gallic acid lauryl ester를 사용했을 때 EPA mol%와 DHA mol%가 가장 높았다 (Table 26). Specific activity는 EPA synthase와 DHA synthase에서 NADH를 사용했을 경우 모두 가장 높았다 (Table 27).

육돈의 근육조직 microsomes에서 합성된 총지방산 함량은 기질과 stimulant에 따라 다양하게 나타났으며 linolenyl-CoA를 사용했을 때는 curcumin과 반응했을 때 2,625 nanomoles이었으며 eicosapentaenoyl-CoA와 docosapentaenoyl-CoA를 기질로 사용했을 경우는 효소 stimulant로 NADP와 gallic acid lauryl ester에서 각각 1,318과 1,740 nanomoles로 가장 높았다 (Table 28).

Table 22. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in pig muscle microsomes with linolenyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	30.0	26.6	26.2
20:2n-6	0.3	tr	tr
20:3n-6	1.1	1.0	0.9
20:4n-6	8.2	7.7	7.5
22:4n-6	1.0	0.9	1.0
22:5n-6	0.1	tr	tr
18:3n-3	4.8	0.6	0.6
18:4n-3	tr	0.2	tr
20:5n-3	0.3	1.1	1.1
22:5n-3	0.8	1.2	1.2
22:6n-3	0.3	1.0	1.1

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	15.5	25.7	26.5
20:2n-6	tr	0.2	0.2
20:3n-6	0.4	0.9	1.0
20:4n-6	3.5	7.2	7.6
22:4n-6	0.4	0.9	1.0
22:5n-6	tr	tr	0.1
18:3n-3	0.5	0.6	0.6
18:4n-3	1.0	0.2	0.2
20:5n-3	4.4	1.2	1.1
22:5n-3	2.5	1.2	1.2
22:6n-3	4.4	1.1	1.0

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM triiodothyronine	1mM phenol
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	27.0	16.9	27.8
20:2n-6	0.3	tr	0.3
20:3n-6	1.1	tr	1.1
20:4n-6	7.7	4.9	8.4
22:4n-6	1.0	0.5	1.1
22:5n-6	0.8	tr	0.1
18:3n-3	4.8	0.7	5.1
18:4n-3	tr	0.9	tr
20:5n-3	0.3	4.0	0.3
22:5n-3	0.3	2.0	0.9
22:6n-3	0.7	3.4	0.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM NADH	1mM tocopherol	1mM retinol
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	30.6	28.2	27.6
20:2n-6	tr	0.2	0.3
20:3n-6	1.1	1.0	1.0
20:4n-6	8.5	8.2	8.0
22:4n-6	1.1	0.6	1.0
22:5n-6	tr	1.1	tr
18:3n-3	4.5	4.5	4.6
18:4n-3	tr	tr	0.3
20:5n-3	0.3	0.3	0.3
22:5n-3	0.8	0.9	0.8
22:6n-3	0.3	0.3	0.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added			
	15uM insulin	0.1mM NADP	0.1mM NADPH	50uM malonyl-CoA
	----- mol% ^c -----			
18:2n-6	31.0	30.1	30.5	27.9
20:2n-6	0.4	0.3	0.3	0.3
20:3n-6	1.1	1.0	1.1	1.1
20:4n-6	8.6	8.3	8.5	8.1
22:4n-6	1.1	1.0	1.1	1.0
22:5n-6	tr	tr	tr	0.1
18:3n-3	4.5	4.3	4.5	4.6
18:4n-3	tr	tr	tr	tr
20:5n-3	0.4	0.4	0.3	0.5
22:5n-3	1.0	0.9	0.9	0.8
22:6n-3	0.6	0.3	0.3	0.3

^a Pig muscle microsomes were incubated with individual stimulant and linolenyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 23. Specific enzyme activity in pig muscle microsomes incubated with linolenyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.05	0.12	0.14	1.16
DHA synthase	0.05	0.11	0.14	1.16

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	clofibrate	triiodothyronine
EPA synthase	0.18	0.14	0.01	0.83
DHA synthase	0.17	0.13	0.02	0.71

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	phenol	NADH	tocopherol	retinol
EPA synthase	0.05	0.05	0.05	0.04
DHA synthase	0.05	0.05	0.05	0.04

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	insulin	NADP	NADPH	malonyl-CoA
EPA synthase	0.06	0.07	0.04	0.07
DHA synthase	0.10	0.05	0.04	0.04

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 24. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in pig muscle microsomes with eicosapentaenoyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	31.5	32.4	29.6
20:2n-6	0.4	0.3	tr
20:3n-6	0.9	1.3	1.8
20:4n-6	12.3	12.1	12.8
22:4n-6	0.7	0.7	0.7
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.7	0.4	0.3
18:4n-3	0.2	tr	tr
20:5n-3	2.6	2.3	2.2
22:5n-3	0.9	0.9	1.0
22:6n-3	0.3	0.3	0.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	31.5	29.1	29.5
20:2n-6	0.3	0.3	0.5
20:3n-6	1.1	0.9	0.9
20:4n-6	12.7	12.1	12.5
22:4n-6	0.7	0.7	0.8
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.4	0.3	0.3
18:4n-3	tr	tr	tr
20:5n-3	2.3	2.3	2.3
22:5n-3	0.9	0.9	0.9
22:6n-3	0.3	0.3	0.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM triiodothyronine	1mM phenol
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	30.9	28.7	31.1
20:2n-6	tr	tr	tr
20:3n-6	0.8	1.4	0.9
20:4n-6	11.6	12.3	12.7
22:4n-6	0.7	0.7	0.8
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.7	0.3	0.8
18:4n-3	0.4	0.2	0.4
20:5n-3	2.5	2.3	2.5
22:5n-3	0.9	0.9	0.9
22:6n-3	0.3	0.3	0.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM NADH	1mM tocopherol	1mM retinol
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	31.5	31.3	30.9
20:2n-6	0.4	0.3	0.2
20:3n-6	1.0	0.9	0.9
20:4n-6	12.7	13.4	12.4
22:4n-6	0.7	0.8	0.7
22:5n-6	tr	0.1	0.1
18:3n-3	0.7	0.6	0.5
18:4n-3	0.1	0.3	0.6
20:5n-3	2.7	2.4	2.4
22:5n-3	0.9	1.0	0.9
22:6n-3	0.4	0.3	0.3

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added			
	15uM insulin	0.1mM NADP	0.1mM NADPH	50uM malonyl-CoA
	----- mol% ^c -----			
18:2n-6	30.7	29.8	31.2	31.3
20:2n-6	0.7	0.3	0.5	0.4
20:3n-6	1.5	1.0	1.5	0.9
20:4n-6	13.0	12.8	12.8	12.9
22:4n-6	0.7	0.6	0.7	0.7
22:5n-6	0.1	tr	0.1	tr
18:3n-3	0.7	0.5	0.7	0.8
18:4n-3	0.2	0.6	0.2	0.2
20:5n-3	2.7	1.9	2.3	2.6
22:5n-3	0.9	0.8	0.9	1.0
22:6n-3	0.3	0.3	0.3	0.6

^a Pig muscle microsomes were incubated with individual stimulant and icosapentaenoyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 25. Specific enzyme activity in pig muscle microsomes incubated with eicosapentaenoyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.26	0.24	0.23	0.25
DHA synthase	0.03	0.03	0.03	0.03

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	clofibrate	triiodothyronine
EPA synthase	0.22	0.24	0.14	0.22
DHA synthase	0.03	0.03	0.02	0.03

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	phenol	NADH	tocopherol	retinol
EPA synthase	0.29	0.24	0.32	0.22
DHA synthase	0.40	0.04	0.04	0.03

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	insulin	NADP	NADPH	malonyl-CoA
EPA synthase	0.26	0.25	0.25	0.25
DHA synthase	0.03	0.04	0.03	0.06

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 26. Polyunsaturated fatty acid composition affected by various desaturase stimulants incubated in pig muscle microsomes with docosapentaenoyl-CoA as a substrate^a

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	Not added	1mM gallic acid	1mM gallic acid lauryl ester
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	26.0	28.8	20.1
20:2n-6	0.3	tr	tr
20:3n-6	1.1	tr	0.6
20:4n-6	10.6	11.6	7.4
22:4n-6	0.6	0.6	0.4
22:5n-6	0.1	tr	tr
18:3n-3	0.4	tr	0.4
18:4n-3	0.4	tr	0.6
20:5n-3	2.0	1.3	2.9
22:5n-3	1.6	1.5	2.0
22:6n-3	2.0	1.3	3.1

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM curcumin	1mM deoxycorticosterone	1mM ascorbic acid
	----- mol% ^c -----		
18:2n-6	27.0	26.2	27.0
20:2n-6	0.2	0.2	0.3
20:3n-6	0.7	0.8	0.8
20:4n-6	10.5	10.2	10.8
22:4n-6	0.6	0.6	0.6
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.3	0.4	0.4
18:4n-3	0.3	0.3	0.3
20:5n-3	1.3	1.5	1.4
22:5n-3	1.3	1.4	1.5
22:6n-3	1.3	1.5	1.6

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM clofibrate	1mM triiodothyronine	1mM phenol
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	25.9	25.6	27.0
20:2n-6	0.2	0.2	0.3
20:3n-6	0.7	0.8	0.8
20:4n-6	10.5	10.2	11.0
22:4n-6	0.6	0.6	0.7
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.4	0.3	0.4
18:4n-3	0.4	0.3	0.6
20:5n-3	2.0	1.5	1.9
22:5n-3	1.7	1.4	1.7
22:6n-3	2.1	1.6	1.9

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added		
	1mM NADH	1mM tocopherol	1mM retinol
		----- mol% ^c -----	
18:2n-6	26.8	27.3	26.7
20:2n-6	0.3	0.2	0.2
20:3n-6	0.8	0.8	0.8
20:4n-6	10.8	11.0	9.9
22:4n-6	0.7	0.7	0.6
22:5n-6	tr	tr	tr
18:3n-3	0.4	0.5	0.4
18:4n-3	0.5	0.3	0.9
20:5n-3	2.0	1.9	1.8
22:5n-3	1.7	1.6	1.6
22:6n-3	2.0	1.8	1.9

- continued -

Fatty acid ^b	Stimulant added			
	15uM insulin	0.1mM NADP	0.1mM NADPH	50uM malonyl-CoA
	----- mol% ^c -----			
18:2n-6	26.5	27.2	27.2	25.9
20:2n-6	tr	0.3	tr	0.2
20:3n-6	0.8	0.7	0.8	0.8
20:4n-6	10.8	11.0	11.3	10.6
22:4n-6	0.6	0.7	0.7	0.6
22:5n-6	tr	tr	tr	tr
18:3n-3	0.4	0.4	0.4	0.4
18:4n-3	0.5	0.5	0.7	0.6
20:5n-3	2.0	1.8	2.1	1.9
22:5n-3	1.7	1.5	1.8	1.7
22:6n-3	2.0	1.7	2.0	2.0

^a Pig muscle microsomes were incubated with individual stimulant and docosapentaenoyl-CoA for 20 minutes.

^b Saturated and monounsaturated fatty acids have been excluded from the table.

^c Values represent means for 10 animals/group.

Table 27. Specific enzyme activity in pig muscle microsomes incubated with docosapentaenoyl-CoA and various enzyme stimulants^a

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	Not added	gallic acid	gallic laury ester	curcumin
EPA synthase	0.21	0.14	0.51	0.17
DHA synthase	tr	0.14	0.54	0.17

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	deoxycorticosterone	ascorbic acid	clofibrate	triiodothyronine
EPA synthase	0.21	0.18	0.15	0.17
DHA synthase	0.21	0.21	0.15	0.18

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	phenol	NADH	tocopherol	retinol
EPA synthase	0.26	0.30	0.21	0.20
DHA synthase	0.26	0.30	0.20	0.21

- continued -

Specific enzyme activity (nmol/mg protein/min)	Stimulant added			
	insulin	NADP	NADPH	malonyl-CoA
EPA synthase	0.28	0.23	0.29	0.26
DHA synthase	0.28	0.22	0.28	0.28

^a Values are means for 10 animals/group.

Table 28. Amounts of fatty acid produced in pig muscle microsomes after incubated with various substrates and stimulants^a

Stimulant	Substrate added		
	Linolenyl-CoA	Eicosapentaenoyl-CoA	Docosapentaenoyl-CoA
	----- nmoles of fatty acid ^b -----		
Not added	1530.88	1007.70	1027.67
Gallic acid	1118.31	1028.99	1100.11
Gallic acid lauryl ester	1260.36	1036.37	1740.13
Curcumin	2625.47	1064.24	1266.70
Deoxycorticosterone	1527.90	941.97	1406.13
Ascorbic acid	1307.07	1036.79	1314.15
Clofibrate	329.08	544.41	726.60
Triiodothyronine	2078.00	965.02	1146.14
Phenol	1495.95	1156.59	1373.06
NADH	1582.62	899.65	1489.28
Tocopherol	1612.45	1315.08	1089.59
Retinol	1164.99	918.73	1124.73
Insulin	1577.64	944.82	1408.41
NADP	1653.67	1318.39	1275.34
NADPH	1397.60	1084.41	1387.62
Malonyl-CoA	1391.70	959.18	1388.49

^a 5mg of microsomal protein in pig muscle were incubated with each substrates and stimulants for 20mins.

^b means total nanomoles of fatty acid produced in the microsomes from chicken liver.

제 4 절 결 론

지금까지 가축의 체내 n-3 다가불포화지방산을 증가시키기 위하여 n-3 불포화지방산을 함유한 사료를 급여하여 체내 지방산의 불포화 도를 높이기 위한 시도를 수행해왔으나 이는 조제과정의 복잡성이나 산화방지에 문제점과 소화흡수의 비효율성 등이 제기되고 있으므로 이를 극복하기 위하여 훨씬 효율적인 desaturase 역가 즉 n-3 다가불포화지방산 합성효소의 활성 조절을 통한 n-3 지방산 합성증가 기술개발은 매우 중요하다. 따라서 본 연구에서는 가축에서 n-3 다가불포화지방산의 합성을 증가시키기 위한 연구로서 육계와 육돈의 간장과 근육조직에서 microsomes를 분리하여 n-3 지방산 합성을 위한 desaturase의 역가를 증진시키기 위하여 3가지 기질과 효소 stimulant를 반응시켜 다음과 같은 연구를 수행하였다. 당초 desaturase의 기질로서 linolenyl-CoA, docosapentaenoyl-CoA는 사용하였으나 eicosatetraenoyl-CoA는 미국 시약회사에서 생산이 중단되므로써 대신 eicosapentaenoyl-CoA를 이용하였다.

1. 육계의 간장조직의 microsomes를 분리하여 기질로서 linolenyl-CoA, eicosapentaenoyl-CoA, docosapentaenoyl-CoA를 사용하였으며 효소 stimulant로서 각종 cofactor나 effector를 이용한 결과 $\Delta 6$ -desaturase 역가는 원래 동물조직에서 너무 낮기 때문에 활성도가 거의 없었으며 $\Delta 5$ -desaturase로서 EPA 합성효소 (EPA synthase) 는 기질에 따라 NADP, insulin, ascorbic acid 등에 의해서 가장 효소역가가 증가되었으며 $\Delta 4$ -desaturase로서 DHA 합성효소 (DHA synthase) 는 3가지 기질에 따라 각각 deoxycorticosterone, malonyl-CoA, ascorbic acid에 의해서 효소역가가 가장 증가되었다.
2. 육계의 근육조직에서는 $\Delta 6$ -desaturase 역가는 모든 stimulant에 의해서 거의 나타나지 않았으며 효소 stimulant로서 3가지 기질에 따라 NADH, gallic acid, NADP로 반응시켰을 경우 EPA synthase가 가장 증가하였고 DHA synthase는 3가지 기질에 따라 triiodothyronine, gallic acid, gallic acid를 사용했을 때 가장 역가가 높았다.
3. 육돈의 간장조직에서는 3가지 효소기질에 따라 EPA synthase는 curcumin, deoxycorticosterone, phenol과 반응시켰을 때 효소역가가 가장 높았고 DHA synthase는 malonyl-CoA, NADP, phenol에서 가장 높았다.
4. 육돈의 근육조직에서는 linolenyl-CoA, eicosapentaenoyl-CoA, docosapentaenoyl-CoA 등 3가지 기질에 따라 EPA synthase는 curcumin, phenol, gallic acid lauryl ester를 stimulant로 사용했을 경우

가장 높았고 DHA synthase는 curcumin, malonyl-CoA, gallic acid lauryl ester를 사용했을 때 가장 높았다.

5. 육계와 육돈의 간장과 근육조직으로부터 분리된 microsomes에서 합성된 총지방산 함량은 육계의 간장조직 microsomes에서는 효소기질인 linolenyl-CoA, eicosapentaenoyl-CoA, docosapentaenoyl-CoA에 따라 효소 stimulant 중 deoxycorticosterone, NADH, ascorbic acid에서 10,814, 2,894, 6,110 nanomoles로 가장 높았다. 육계의 근육조직에서는 각 기질에 따라 효소 stimulant로 gallic acid, tocopherol, gallic acid를 사용했을 때 총지방산량은 2,590, 7,128, 4,468 nanomoles로 가장 높았다. 육돈의 간장에서는 3가지 기질에 따라 효소 stimulant로 malonyl-CoA, tocopherol, phenol을 반응시켰을 때 총지방산 생성량은 4,327, 3,765, 20,032 nanomoles로 가장 높게 나타났으며 육돈의 근육조직에서 분리한 microsomes에서는 기질에 따라 효소 stimulant로 curcumin, NADP, NADH와 반응시켰을 때 총생성 지방산량은 2,625, 1,318, 1,489 nanomoles로 가장 높은 함량을 나타냈다. 이러한 연구결과의 도출은 당초 연구목표에 부합되어 목표가 달성되었으며 실용성 있는 연구성과를 거둔 것으로 사료된다.

제 5 절 참고문헌

1. Alam, S. Q. and Alam, B. S. 1985. Microsomal fatty acid desaturase activity in vitamin A-deficient rat liver. *Biochim. Biophys. Acta* 833: 175-177.
2. Ana, V-L. and Peluffo, R. O. 1989. Effect of L-triiodothyronine on $\Delta 9$ desaturase activity in liver microsomes of male rats. *Lipids* 24: 931-935.
3. Ana, V-L. and Peluffo, R. O. 1993. Effect of L-triiodothyronine on liver microsomal $\Delta 6$ and $\Delta 5$ desaturase activity of male rats. *Biochim. Biophys. Acta* 121: 149-153.
4. Bazan, H. P., Careaga, M. M., Sprecher, H. and Bazan, N. G. 1982. Chain elongation and desaturation of eicosapentaenoate to docosahexaenoate and phospholipid labeling in the rat retina in vivo. *Biochim. Biophys. Acta* 712: 123-128.
5. Bernert, J. T. and Sprecher, H. 1977. An analysis of partial reactions in the overall chain elongation of saturated and unsaturated fatty acids by rat liver microsomes. *J. Biol. Chem.* 252: 6736-6744.
6. Bourre, J. M., Piciotti, M. and Dumont, O. 1990. $\Delta 6$ Desaturase in brain and liver during development and aging. *Lipids* 25: 354-6.
7. Boustani, S. E., Causse, J. E., Descomps, B., Monnier, L., Mendy, F. and de Paulet, A. C. 1989. Direct in vivo characterization of delta 5 desaturase activity in humans by deuterium labeling : Effect of insulin : *Metabolism* 38: 315-321.
8. Brenner, R. R. 1990. Endocrine control of fatty acid desaturation. *Biochim. Soc. Trans.* 18: 773-5.

9. Campbell, K. L. and Davis, C. A. 1990. Effects of thyroid hormones on serum and cutaneous fatty acid concentrations in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 51: 752-756.
10. Clandinin, M. T., Wong, K. and Hacker, R. R. 1984. Synthesis of chain elongation-desaturation products of linoleic acid by liver and brain microsomes during development of the pig. *Biochem. J.* 226: 305-309.
11. Cook, H. W. 1981. The influence of trans-acids on desaturation and elongation of fatty acids in developing brain. *JAOCS.* 16: 871-974.
12. Cook, H. W. 1981. The influence of trans-acids on desaturation and elongation of fatty acids in developing brain. *Lipids* 16: 920-926.
13. Cook, H. W., Byers, D. M., Palmer, F. B. S. C., Spence, M. W., Rakoff, H., Duval, S. M. and Emken, E. A. 1991. Alternate pathways in the desaturation and chain elongation of linolenic acid, 18:3 (n-3), in cultured glioma cells. *J. Lipid Res.* 32: 1991.
14. de Alaniz, M. J. T. and Narra, C. A. 1992. Glucocorticoid and mineralocorticoid hormones depress liver $\Delta 5$ desaturase activity through different mechanisms. *Lipids* 27: 599-604.
15. Dinh, K. L., Bourre, J. M. and Durand, G. 1993. Effect of age and α -linolenic acid deficiency on $\Delta 6$ -desaturase activity and liver lipids in rats. *Lipids* 28: 517-523.
16. Folch, J., Lee, M. and Sloane-Stanley, G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
17. Garg, M. L., Sebokova, E., Thomson, A. B. and Clandinin, M. T. 1988. $\Delta 6$ -Desaturase activity in liver microsomes of rats fed diets enriched with cholesterol and/or ω -3 fatty acids. *Biochem. J.* 249: 351-356.

18. Garg, M. L., Thomson, A. B. and Clandinin, M. T. 1988. Effect of dietary cholesterol and/or ω -3 fatty acids on lipid composition and Δ 5-desaturase activity of rat liver microsomes. *American Institute of Nutr.* pp. 661-668.
19. Gronn, M., Christensen, E., Hagve, T-A. and Christophersen, B. O. 1992. Effects of colfibrate feeding on essential fatty acid desaturation and oxidation in isolated rat liver cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1123: 170-6.
20. Hagve, T. A., Christophersen, B. O. and Dannevig, B. H. 1986. Desaturation and chain elongation of essential fatty acids in isolated liver cells from rat and rainbow trout. *Lipids* 21: 202-205.
21. Horrobin, D. F. 1993. Fatty acid metabolism in health and disease : the role of Δ -6-desaturase. *Am. J. Clin. Nutr.* 57: 732S-7S.
22. Innis, S. M. and Yuen, D. E. 1988. Microsomal desaturation-elongation of linoleic acid following parenteral feeding with lipid emulsions in the rat. *Lipids* 23: 546-550.
23. Irazu, C. E., S, G-R. and Brenner, R. R. 1993. Δ 5 Desaturase activity in rat kidney microsomes. *Molecular and Cellular Biochem.* 129: 31-37.
24. Kirstein, D., Hdy, C. E. and Holmer, G. 1984. Effect of dietary fats on the Δ 6-and Δ 5 -desaturation of fatty acids in rat liver microsomes. *J. Nutr.* 114: 749-756.
25. Lin, C-C., Lin, S-Y. and Hwang, L. S. 1995. Microencapsulation of squid oil with hydrophilic macromolecules for oxidative and thermal stabilization. *J. Food Sci.* 60: 36-39.
26. Lin, S-Y. 1985. Influence of coacervation-inducing agents and cooling rates on the preparation and in vitro release of bleomycin hydrochloride microcapsules. *J. Microencapsulation* 2: 91-101.

27. Lin, S-Y. 1987. In vitro release behaviour of theophylline from PIB-induced ethylcellulose microcapsules interpreted by simple mathematical functions. *J. Microencapsulation* 4: 213-216.
28. Lin, S-Y. 1988. Effect of excipients on tablet properties and dissolution behavior of theophylline-tableted microcapsules under different compression forces. *Journal of Pharmaceutical Sci.* 77: 229-232.
29. Lin, S-Y. and Kao, Y-H. 1991. Tablet formulation study of spray-dried sodium diclofenac enteric-coated microcapsules. *Pharmaceutical Res.* 8: 919-924
30. Lin, S-Y. and Kawashima, Y. 1987. Drug release from tablets containing cellulose acetate phthalate as an additive or enteric-coating material. *Pharmaceutical Res.* 4: 70-74.
31. Lin, S-Y. and Lin, P-C. 1992. Effect of acid type, acetic acid and sodium carboxymethyl cellulose concentrations on the formation, micromeritic, dissolution and floating properties of theophylline chitosan microcapsules. *Chem. Pharm. Bull.* 40: 2491-2497.
32. Lin, S-Y. and Yang, J-C. 1985. Effect of ethylene-vinyl acetate concentration on ethylcellulose-walled microcapsules: preparation and release kinetics of theophylline microcapsules. *J. Microencapsulation* 2: 315-325.
33. Lin, S-Y. and Yang, J-C. 1986. Effect of ethylene-vinyl acetate as a coacervation-inducing agent on the production and release behavior of chlorpromazine hydrochloride microcapsules and tableted microcapsules. *Journal of Controlled Release* 3: 221-228.
34. Lin, S-Y. and Yang, J-C. 1987. Bioavailability studies of theophylline ethylcellulose microcapsules prepared by using ethylene-vinyl acetate copolymer as a coacervation-inducing agent. *Journal of Pharmaceutical Sci.* 76: 219-223.

35. Lin, S-Y., Chang, H-N., Wang, S-R. and Yang, J-C. 1987. Theophylline bioavailability after single oral administration of sustained-release microcapsules. *Current Therapeutic Res.* 42: 564-573.
36. Lin, S-Y., Hwang, L. S. and Lin, C-C. 1995. Thermal analyser and micro FT-IR/DSC system used to determine the protective ability of microencapsulated squid oil. *J. Microencapsulation* 12: 165-172.
37. Lin, S-Y., Wang, S-R. and Chang, H-N. 1990. Bioavailability and pharmacokinetics of new sustained-release theophylline microcapsules after single and multiple oral administration. *Current Therapeutic Res.* 48: 524-534.
38. Lin, S. Y. and Lin, P. C. 1992. The influence of sodium bicarbonate and sodium tripolyphosphate and the adding sequence on the formation and dissolution of theophylline chitosan microcapsules. *Pharma Sci.* 2: 500-505.
39. Lin, S. Y., Wu, M. J., Chen, S. M., Chen, C. F. and Han, S. H. 1986. An experimental study of the antitumour effect of bleomycin hydrochloride microcapsules. *J. Microencapsulation* 3: 283-291.
40. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
41. Marra, C. A. and de Alaniz, N. J. T. 1991. 11-Deoxycorticosterone, an inducer of factor stimulating $\Delta 9$ desaturase activity in liver microsomes. *APPTLA* 41: 277-285.
42. Mimouni, V. and Poisson, J-P. 1992. Altered desaturase activities and fatty acid composition in liver microsomes of spontaneously diabetic Wistar BB rat. *Biochim. Biophys. Acta* 1123: 296-302.

43. Mimouni, V., Christiansen, E. N., Blond, J. P., Ulmann, Li., Poisson, J-P. and Bezard, J. 1991. Eonogation and desaturation of arachiconic and eicosapentaenoic acids in rat liver. Effect of clofibrate feeding. *Biochim. Biophys. Acta* 1086: 349-53.
44. Ninno, R. E., Torrenco, M. A., Castuma, J. C. and brenner, R. R. 1974. Specificity of 5-and 6-fatty acid desaturases in rat and fish. *Biochim. Biophys. Acta* 360: 124-133.
45. Oshino, N. Y. and Sato, R. 1966. Electon-transfer mechanism associated with fatty acid desaturation catalyzed by liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta* 128: 3.
46. Pugh, E. L. and Kates, M. 1977. Direct desaturation of eicosatrienoyl lecithin to arachidonyl I ecithin by liver microsomes. *J. Biol. Chem.* 252: 68-73.
47. Rakoff, H. and Rohwedder, W. K. 1992. Catalytic desaturation of alkynols and their tetrahydropyranyl ethers. *Lipids* 27: 567-569.
48. Rosenthal, M. D. and Hill, J. R. 1986. Elongation of arachidonic acid and eicosapentaenoic acids limits their availability for thrombin-stimulated release from the glycerolipids of vascular endothelial cell. *Biochim. Biophys. Acta*, 875: 382-391.
49. Shimizu, S., Jareonkitmongkol, S., Kawashima, H., Akimoto, K. and Yamada, H. 1992. inhibitory effect of curcumin on fatty acid desaturation in Nortierella alpina 1s-4 and rat liver microsomes. *Lipids* 27: 509-12.
50. Shimizu, S., Jareonkitmongkol, S., Kawashima, H., Akimoto, K. and Yamada, H. 1992. inhibitory effect of curcuminon fatty acid desaturation in mortierella alpina B-4 and rat liver microsomes. *Lipids* 27: 509-512.

51. Singer, P., Berber, I., Wirth, M., Bodicke, W., Jaeger, W. and Voigt, S. 1986. Slow desaturation and elongation of linoleic acid α -linolenic acids as a rationale of eicosapentaenoic acid-rich diet to lower blood pressure and serum lipids in normal hypertensive and hyperlipidemic subjects. *Prostaglandins Leukotrienes and Med.* 24: 173-193.
52. Sprecher, H. 1974. Feeding studies designed to determine whether competitive reactions between acids of the oleate and linoleate families for desaturation chain elongation or incorporation regulate the fatty acid composition of rat liver lipids. *Biochim. Biophys. Acta* 369: 34-44.
53. Thomas, C. E., McLean, L. R., Parker, R. A. and Ohlweiler, D. F. 1992. Ascorbate and phenolic antioxidant interactions in prevention of liposomal oxidation. *Lipids* 27: 543-550.
54. Tocher, D. R., Mourente, G. and Sargent, J. R. 1992. Metabolism of [1-¹⁴C] docosahexaenoate (22:6n-3) in brain cells from juvenile turbot *scophthalmus maximus*. *Lipids* 27: 494-499.
55. Voss, A., Reinhart, M., Sankarappa, S. and Sprecher, H. 1991. The metabolism of 7, 10, 13, 16, 19-docosapentaenoic acid to 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoic acid in rat liver is independent of a 4-desaturase. *J. Biol. Chem.* 266: 19995-20000.
56. Voss, A., Reinhart, M., Sankarappa, S. and Sprecher, H. 1991. The metabolism of 7, 10, 13, 16, 19-docosapentaenoic acid to 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoic acid in rat liver is independent of a 4-desaturase. *J. Biol. Chem.* 266: 19995-20000.
57. Yamazaki, K., Fujikawa, J., Hamazaki, T., Yano, S. and Shone, T. 1991. Comparison of the conversion rates of α -linolenic acid (18:3(n-3)) and stearidonic acid (18:4(n-3)) to longer polyunsaturated fatty acids in rats. *Biochem. Biophys. Acta* 1123: 18-26.

58. Yeo, Y. K., Philbrick, D. J. and Holub, B. J. 1989. The effect of long-term consumption of fish oil on platelet-activating factor synthesis in rat renal microsomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 160: 1238-1242.
59. Yeo, Y. K., Park, E. J., Lee, C. W., Joo, H. T. and Farkas, T. 1997. Ether lipid composition and molecular species alterations in carp brain (*Cyprinus carpio* L.) during normoxic temperature acclimation. *Neurochem. Res.* 22: 1257-1264.
60. Yerram, N. R., Moore, S. A. and Spector, A. A. 1989. Eicosapentaenoic acid metabolism in brain microvessel endothelium : effect on prostaglandin formation. *J. Lipid Res.* 30: 1747-57.

제 4 장 생체내 $\Delta 6$, 5, 4-desaturase 역가 증진을 위한 in vivo effector 탐색

제 1 절 서 설

n-3 다가불포화지방산 합성을 위한 desaturase 역가조절은 새로운 시도로 간주된다. 필수지방산인 linoleic acid (LA) 와 α -linolenic acid (ALA) 는 같은 효소들에 의해 대사된다. LA는 6-desaturase에 의해 gammalinolenic acid (GLA, 18:3n-6) 로 전환되며 이는 사슬 연장 (chain elongation) 하여 1계열 prostaglandins (PGs) 의 전구체인 dihomogammalinolenic acid (DGLA, 20:3n-6) 를 생성한다. DGLA는 5-desaturase 에 의해 arachidonic acid (AA) 로 전환되며 이 AA는 2계열 PGs, thromboxanes (TXs), leukotrienes (LTs) 의 전구체이다. ALA가 eicosapentaenoic acid (EPA) 로 전환할 경우에도 LA와 동일하게 6-desaturase에 의한 불포화, elongase의 촉매로 사슬연장 (elongation), 그리고 5-desaturase에 의해 대사된다. 최근 ALA의 체내대사 중 docosapentaenoic acid (DPA, 22:5n-3) 로 부터 docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) 합성은 기존의 4-desaturase에 의한 직접적인 합성이 아니라 tetracosapentaenoic acid (24:5n-3)로 사슬연장과 tetracosahexaenoic acid (24:6n-3) 로 불포화 그리고 Beta-oxidation에 의해 이루어지는 것으로 알려지고 있다. n-3 계열 지방산과 n-6 계열 지방산은 사람의 체내에서 상호 전환될 수 없으며 같은 효소에 의해 불포화되므로 서로 경쟁적 저해관계에 있으며 4-desaturase 와 6-desaturase는 n-6 계열 보다 n-3 계열 지방산을 더 선호한다. LA에서 GLA로의 불포화반응단계는 속도제한단계로서 6-desaturase는 LA로부터 AA의 합성에 중요한 역할을 한다. 아마인유 (linseed oil)와 어유 (fish oil) 의 급여는 이 효소가 촉매하는 LA로 부터 GLA로의 불포화반응을 감소시켰으며 6-desaturase의 활성은 LA보다 ALA에서 더 높은 것으로 보고되고있다.

본 연구에서는 지금까지 기초연구에서 확인한 n-3 다가불포화 지방산 합성용 desaturase 역가조절을 위한 stimulant들을 소화기관에서 파괴되지 않고 binding 물질과 결합시켜 가축의 조직세포막 내로 유입시키므로서 EPA와 DHA synthase의 역가를 증진시켜 가축의 조직세포내 n-3 다가불포화지방산을 효율적으로 증가시키고자 하였다.

제 2 절 연구수행 방법

1. Micelles system 개발

전년도 in vitro 연구에서 육계와 육돈의 간장과 근육세포의 microsomes를 이용하여 EPA와 DHA 합성을 위한 가장 효율적인 합성효소 stimulants (cofactor or effector)로서 육계용으로 NADP, triiodothyronine, gallic acid 와 육돈용으로 curcumin, phenol, gallic acid laurylester 등을 확인한 바 있다. 이를 기초로 하여 in vivo 실험을 위해 육계의 근육 세포내의 EPA와 DHA 생합성효소 활성을 증진시키는데 효율적인 NADP, triiodothyronine, gallic acid와 육돈의 근육세포내로 EPA와 DHA 합성효소 활성을 효율적으로 증진시키는 curcumin, phenol, gallic acid laurylester 등의 효소 stimulant가 파괴되지 않고 각각 육계와 육돈의 소화기관을 통하여 근육 세포내로 유입시키기 위하여 micelles system을 개발하였다.

Preparation of micelles system with stimulants

1. For chicken, combine 100mg of NADP, 100mg of triiodothyronine and 100g of gallic acid as enzyme stimulants for EPA and DHA biosynthesis in chicken. For pig, combine 100mg of curcumin, 100mg of phenol and 100g of gallic acid lauryester as enzyme stimulants for EPA and DHA biosynthesis in pig.
2. Mix the stimulants with at room temperature for 5 min slowly.
3. Add monoglyceride ester and lecithin to the mixed stimulants (The proportion of the stimulants/ monoglyceride ester/ lecithin is 1:10:20 by weight).
4. Mix them in emulsifier for 10 min.
5. Micelles are formed by the procedure.

가. 동물사양실험

실험구로서 생후 15일 된 육계 30두를 Table 1의 배합비로 조제하였으며 3.2%의 micelles 조제물 (enzyme stimulants가 함유 된) 이 첨가되었다. 조제된 사료를 3주간 ad libitum으로 사양하였으며 대조구로는 생후 15일 된 10두의 육계를 enzyme stimulant가 함유되지 않은 micelles 조제물을 첨가한 사료로 3주간 사양하였다. 사양 3주 후 실험구와 대조구의 모든 육계를 도살하여 간장

조직과 다리 및 가슴부위를 채취하여 지방분석용으로 이용하였다.

또 5주령 육돈 30두를 Table 2의 배합비와 같이 3.0%의 micelles 조제물 (enzyme stimulants가 함유 된) 이 첨가하여 조제하였으며 2주간 사양하였다. 2주간 사양한 육돈을 Table 2와 Table 3의 배합비로 조제된 사료를 50:50으로 혼합하여 1주간 사양한 후 다시 Table 3의 배합비로 1주간 ad libitum으로 사양 하였다. 대조구로는 같은 5주령의 10두의 육돈을 enzyme stimulant가 함유되지 않은 micelles 조제물을 첨가한 사료를 실험구와 같은 방법으로 4주간 사양 하였다. 사양 4주 후 실험구와 대조구의 모든 육계를 도살하여 간장조직과 다리 및 가슴부위를 채취하여 지방분석용으로 이용하였다.

Table 1. Composition of feedstuffs including **micelles** either with or without enzyme stimulants for **chicken**

Ingredients	Composition (wt%)	
	Control	Experimental
Corn	30.8	30.8
Wheat	35.2	35.2
Wheat bran	2.4	2.4
Soybean meal	19.0	19.0
Flax (ground)	3.0	3.0
Corn gluten meal	3.0	3.0
Lime stone	1.2	1.2
Salt	0.2	0.2
Calcium phosphate	1.5	1.5
Methionine	0.3	0.3
Lysine	0.2	0.2
Biotin	0.04	0.04
Tocopherol	0.02	0.02
Saccharo-culture	0.06	0.06
Vitamin mix	0.06	0.06
Choline chloride	0.1	0.1
Coxistac	0.1	0.1
Binder (gelatin)	0.1	0.1
Micelle products ^a	3.2	0.0
(without stimulants)		
Micelle products ^b	0.0	3.2
(with stimulants)		

^a The micelles are formed without enzyme stimulants.

^b The micelles are formed with enzyme stimulants.

Table 2. Composition of feedstuffs including **micelles** either with or without enzyme stimulants for **pig**

Ingredients	Composition (wt%)	
	Control	Experimental
Corn	20.0	20.0
Wheat	5.0	5.0
Corn flour	5.0	5.0
Soybean meal	5.0	5.0
Fish meal	5.0	5.0
Cheese meal	2.0	2.0
Blood protein	1.5	1.5
Plasma protein	1.8	1.8
Potato protein	4.5	4.5
Lime stone	0.75	0.75
Calcium phosphate	1.5	1.5
Lard	1.0	1.0
Soybean oil	3.8	3.8
Glucose	10.0	10.0
Milk replacer	25.0	25.0
Others	5.15	5.15
Micelle products ^a	3.0	0.0
(without stimulants)		
Micelle products ^b	0.0	3.0
(with stimulants)		

^a The micelles are formed without enzyme stimulants.

^b The micelles are formed with enzyme stimulants.

Table 3. Composition of feedstuffs including **micelles** either with or without enzyme stimulants for **pig**

Ingredients	Composition (wt%)	
	Control	Experimental
Corn	38.0	38.0
Wheat	25.0	25.0
Soybean meal	22.0	22.0
Fish meal	3.0	3.0
Meat and born meal	2.5	2.5
Calcium phosphate	0.6	0.6
Salt	0.25	0.25
Lard	2.65	2.65
Molasses cane	3.5	3.5
Others	4.5	4.5
Micelle products ^a (without stimulants)	3.0	0.0
Micelle products ^b (with stimulants)	0.0	3.0

^a The micelles are formed without enzyme stimulants.

^b The micelles are formed with enzyme stimulants.

나. 지방분석

1) 총지질 분리

분리할 육계와 육돈의 간장, 다리, 가슴 조직을 Folch 등의 방법으로 chloroform/methanol (2:1, v/v) 혼합용액에 넣고 1시간 방치시킨 다음 polytron homogenizer (Kinematica ag., Switzwerland) 로 미세하게 파쇄한 후 완전히 지질이 추출되도록 2시간 동안 방치하였다. 증류수를 첨가하여 교반한 뒤 2000rpm에서 10분간 원심분리하여 chloroform층을 추출하였다. 질소가스를 이용하여 하층액의 chloroform을 휘발시킨 뒤 총지질의 양을 측정하였으며 총지질에 2ml chloroform/methanol (2:1, v/v) 혼합용액을 첨가하여 용해시켜 -20℃ 냉동고에 보관하였다.

2) 중성지질 및 극성지질 분리

총지질로부터 중성지질을 분리하기 위하여 thin layer chromatography (TLC) 를 이용하였다. TLC plates는 Merck silicagel 60 glass procoated 20 × 20cm plates (without fluorescein indicator) 를 이용하였으며 총지질을 spotting 하기전에 TLC plates을 100℃ 건조기에서 1시간 동안 활성화시켰고, TLC판의 전개 용매인 heptane/isopropyl ether/acetic acid (60:40:3, v/v/v) 혼합용액을 TLC 용매조에 넣고 1~2시간 동안 방치하여 포화시켰다.

TLC plates의 하단부로부터 1.5cm 지점에 hemilton syringe로 2ml chloroform/methanol (2:1, v/v) 혼합용액에 용해되어 있는 총지질을 일정량 점적한 다음 hood내에서 완전히 건조시켜 TLC plates를 용매조에 넣어 상단부로부터 1cm 지점까지 전개하였다. 전개가 완료된 plate를 꺼내어 건조시킨 뒤, 2,7-dichlorofluoresceine (BHD indicator, England) 용액을 분사하였다. 분사된 plate를 28% ammonium hydroxide (NH₄OH) 증기에 노출시켜 각종 중성지질 band가 선명하게 보이도록 한 뒤 자외선 아래에서 중성지질중 triglycerides (TG) band를 standard R_f치와 비교하여 동정하여 확인하였다.

총지질로부터 주요 극성지질인 phosphatidylcholine (PC) 와 phosphatidylethanolamine (PE) 을 분리하기 위하여 Thin-layer chromatography를 이용하였으며 TLC plate는 중성지질분리 때와 같은 plate를 이용하였다.

TLC의 전개를 위한 용매 체계로는 chloroform, methanol, acetic acid, 그리고 H₂O을 50:37.5:3.5:2 (v/v/v/v)의 비율로 186ml 되게 하여 이용하였으며 TLC chamber는 whatman chromatography paper (두께 0.18mm) 로 내부를 lining한 후 chamber 전체가 용매증기로 동일한 조건이 되도록 포화상태가 되

게 하였다. 전개가 완료되었을 때 plate를 꺼내어 실온에서 공기 건조기로 15분간 건조시킨 후 질소가스를 이용한 분무기로 건조된 plate 표면에 2,7-dichlorofluorescein (BDH chemicals Ltd., England) 용액을 분무하였으며 분무한 plate를 28% ammonium hydroxide (NH₄OH) 의 증기로 30초간 방치한 후 각종 인지질 band가 선명히 나타나도록 한 후 자외선 아래에서 각 band를 standard의 Rf치와 비교하여 PC와 PE 인지질종을 확인하였다. 인지질 band 중 PC와 PE band를 수집하여 각각의 시험관에 넣고 8ml의 chloroform, methanol (2:1, v/v) 용액에 용해시켰다. Chloroform/ methanol (2:1, v/v) 용액에 용해된 PC와 PE에 2ml 증류수를 첨가하여 층분리를 하였으며 지질이 녹아 있는 하층액을 다시 분리하여 -30℃ 이하의 냉동고에 보관하였다.

3) 지질종의 지방산 분석

분리 동정된 TLC 판의 중성지질 중 TG와 인지질 중 PC와 PE band를 끊어서 시험관에 담고 internal standard로 10 μ l의 15:0를 첨가한 다음 methylation 시키기 위해서 6% methanolic-sulfuric acid를 첨가하여 90℃ 항온 수조에서 90분간 반응시켰다. 지방산을 methylation 시킨 후 methyl-ester를 분리하기 위하여 petroleum ether를 넣고 교반한 후 H₂O를 첨가하여 2000rpm으로 원심분리한 다음 petroleum ether층만을 분리하였다. Gas liquid chromatography (GLC) 로 분석하기 위하여 질소가스로 ether를 휘발시키고 hexane으로 다시 용해하여 지방산을 분석하였다. GLC는 Shimadzu GC 14A gas chromatograph (Shimadzu Co., Tokyo, Japan)을 사용하였으며 분석조건은 다음과 같다.

Detector temperature : 260℃

Injector temperature : 240℃

Carrier gas : 1.3 N₂

Column : DB-123-2361 capillary column (J&W Scientific, USA)

Column temperature (temperature programming) : 60℃ ~ 220℃

Resolution time : 30min

이와 같이 분리한 지방산은 Nu Chek standard GLC-87 (Nu Chek Prep, Elysian, MN, USA) 로 각 peak를 동정하였다.

2. Liposomes system 개발

In vitro 연구에서 육계와 육돈의 간장과 근육세포의 microsomes를 이용하여 EPA와 DHA 합성을 위한 가장 효율적인 합성효소 stimulants (cofactor

or effector)로서 육계용으로 NADP, triiodothyronine, gallic acid 와 육돈용으로 curcumin, phenol, gallic acid laurylester 등을 확인한 바 있다. 이를 기초로 하여 in vivo 실험을 위해 육계의 근육 세포내의 EPA와 DHA 생합성효소 활성을 증진시키는데 효율적인 NADP, triiodothyronine, gallic acid와 육돈의 근육세포내로 EPA와 DHA 합성효소 활성을 효율적으로 증진시키는 curcumin, phenol, gallic acid laurylester 등의 효소 stimulant가 파괴되지 않고 각각 육계와 육돈의 소화기관을 통하여 근육 세포내로 유입시키기 위하여 liposomes 운반 system을 개발하였다.

Preparation of liposomes system with stimulants

1. For chicken, combine 100mg of NADP, 100mg of triiodothyronine and 100g of gallic acid as enzyme stimulants for EPA and DHA biosynthesis in chicken. For pig, combine 100mg of curcumin, 100mg of phenol and 100g of gallic acid lauryester as enzyme stimulants for EPA and DHA biosynthesis in pig.
2. Mix the stimulants with at room temperature for 5 min slowly.
3. Add monoglyceride ester and lecithin to the mixed stimulants (The proportion of the stimulants/ monoglyceride ester/ lecithin is 1:10:15 by weight).
4. Add water to the mixture to make the ratio 1:10:15:5 (stimulants/ monoglyceride ester/ lecithin/ water, by weight).
5. Mix them in emulsifier for 10 min.
6. Liposomes are formed by the above procedure.

가. 사양실험

Micelle system과 동일하게 실시하였다.

나. 지방분석

Micelle system과 동일하게 실시하였다.

3. Bilayers system 개발

n-3 다가불포화지방산의 생체내 생합성을 증가시키기 위한 EPA와 DHA 합성효소 활성증진 stimulant를 탐색한 전년도 연구결과를 토대로 하여, 육계와 육돈의 간장과 근육세포의 EPA와 DHA 합성을 효율적으로 증가시키는 합성효

소 stimulants (cofactor or effector) 로서 육계용으로 NADP, triiodothyronine, gallic acid 와 육돈용으로 curcumin, phenol, gallic acid laurylester 등을 이용하였다. In vivo 실험을 위해 육계의 근육 세포내의 EPA와 DHA 생합성효소 활성을 증진시키는데 효율적인 NADP, triiodothyronine, gallic acid와 육돈의 근육세포내로 EPA와 DHA 합성효소 활성을 효율적으로 증진시키는 curcumin, phenol, gallic acid laurylester 등의 효소 stimulant가 파괴되지 않고 각각 육계와 육돈의 소화기관을 통하여 근육 세포내로 유입시키기 위하여 bilayers system을 개발하였다.

Preparation of bilayers system with stimulants

1. For chicken, combine 100mg of NADP, 100mg of triiodothyronine and 100g of gallic acid as enzyme stimulants for EPA and DHA biosynthesis in chicken. For pig, combine 100mg of curcumin, 100mg of phenol and 100g of gallic acid lauryester as enzyme stimulants for EPA and DHA biosynthesis in pig.
2. Mix the stimulants with at room temperature for 5 min slowly.
3. Add monoglyceride ester and lecithin to the mixed stimulants (The proportion of the stimulants/ monoglyceride ester/ lecithin is 1:5:10 by weight).
4. Add water to the mixture to make the ratio 1:5:10:15 (stimulants/ monoglyceride ester/ lecithin/ water, by weight).
5. Mix them in emulsifier for 10 min.
6. Bilayers are formed by the above procedure.

가. 사양실험

세부과제 1의 사양실험에서와 같이 실험구로서 생후 15일 된 육계 30두를 Table 1의 배합비로 조제하였으며 3.2%의 micelles 조제물 (enzyme stimulants가 함유 된) 이 첨가되었다. 조제된 사료를 3주간 ad libitum으로 사양하였으며 대조구로는 생후 15일 된 10두의 육계를 enzyme stimulant가 함유되지 않은 micelles 조제물을 첨가한 사료로 3주간 사양하였다.

사양 3주 후 실험구와 대조구의 모든 육계를 도살하여 간장조직과 다리 및 가슴부위를 채취하여 지방분석용으로 이용하였다.

또 5주령 육돈 30두를 Table 2의 배합비와 같이 3.0%의 micelles 조제물 (enzyme stimulants가 함유 된) 이 첨가하여 조제하였으며 2주간 사양하였다.

2주간 사양한 육돈을 Table 1과 Table 2의 배합비로 조제된 사료를 50:50으로 혼합하여 1주간 사양한 후 다시 Table 2의 배합비로 1주간 ad libitum으로 사양하였다. 대조구로는 같은 5주령의 10두의 육돈을 enzyme stimulant가 함유되지 않은 micelles 조제물을 첨가한 사료를 실험구와 같은 방법으로 4주간 사양하였다.

사양 4주 후 실험구와 대조구의 모든 육계를 도살하여 간장조직과 다리 및 가슴부위를 채취하여 지방분석용으로 이용하였다.

나. 분석실험

1) 총지질 분리

분리한 육계와 육돈의 간장, 다리, 가슴 조직을 Folch 등의 방법으로 chloroform/methanol (2:1, v/v) 혼합용액에 넣고 1시간 방치시킨 다음 polytron homogenizer (Kinematica ag., Switzweland) 로 미세하게 파쇄한 후 완전히 지질이 추출되도록 2시간 동안 방치하였다. 증류수를 첨가하여 교반한 뒤 2000rpm에서 10분간 원심분리하여 chloroform층을 추출하였다. 질소가스를 이용하여 하층액의 chloroform을 휘발시킨 뒤 총지질의 양을 측정하였으며 총지질에 2ml chloroform/methanol (2:1, v/v) 혼합용액을 첨가하여 용해시켜 -20℃ 냉동고에 보관하였다.

2) 중성지질 및 극성지질 분리

총지질로부터 중성지질을 분리하기 위하여 thin layer chromatography (TLC) 를 이용하였다. TLC 판은 Merck silicagel 60 glass precoated 20 × 20cm plates (without fluorescein indicator) 를 이용하였으며 총지질을 점적하기 전에 TLC 판을 100℃ 건조기에서 1시간 동안 활성화시켰고, TLC판의 전개용매인 heptane/isopropyl ether/acetic acid (60:40:3, v/v/v) 혼합용액을 TLC 용매조에 넣고 1~2시간 동안 방치하여 포화시켰다.

TLC 판의 하단부로부터 1.5cm 지점에 hemilton syringe로 2ml chloroform/methanol (2:1, v/v) 혼합용액에 용해되어 있는 총지질을 일정량 점적한 다음 hood내에서 완전히 건조시켜 TLC 판을 용매조에 넣어 상단부로부터 1cm 지점까지 전개하였다. 전개가 완료된 plate를 꺼내어 건조시킨 뒤, 2,7-dichlorofluoresceine (BHD indicator, England) 용액을 분사하였다. 분사된 plate를 28% ammonium hydroxide (NH₄OH) 증기에 노출시켜 중성지질 band가 선명하게 보이도록 한 뒤 자외선 아래에서 중성지질 band를 standard Rf치와 비교하여 동정하였다.

총지질로부터 주요 극성지질인 phosphatidylcholine (PC) 와 phosphatidylethanolamine (PE) 을 분리하기 위하여 Thin-layer chromatography를 이용하였으며 TLC plate는 중성지질분리 때와 같은 plate를 이용하였다.

TLC의 전개를 위한 용매 체계로는 chloroform, methanol, acetic acid, 그리고 H₂O (50:37.5:3.5:2, v/v/v/v) 186ml 되게 하여 이용하였으며 TLC chamber는 whatman chromatography paper (두께 0.18mm) 로 내부를 lining한 후 chamber 전체가 용매증기로 동일한 조건이 되도록 포화상태가 되게 하였다. 전개가 완료되었을 때 plate를 꺼내어 실온에서 공기 건조기로 15분간 건조시킨 후 질소가스를 이용한 분무기로 건조된 plate 표면에 2,7- dichlorofluorescein (BDH chemicals Ltd., England) 용액을 분무하였으며 분무한 plate를 28% ammonium hydroxide (NH₄OH) 의 증기로 30초간 방치한 후 각종 인지질 band가 선명히 나타나도록 한 후 자외선 아래에서 각 band를 standard의 R_f치와 비교하여 PC와 PE 인지질종을 확인하였다. 인지질 band 중 PC와 PE band를 수집하여 각각의 시험관에 넣고 8ml의 chloroform, methanol (2:1, v/v) 용액에 용해시켰다. Chloroform/ methanol (2:1, v/v) 용액에 용해된 PC와 PE에 2ml 증류수를 첨가하여 층분리를 하였으며 지질이 녹아있는 하층액을 다시 분리하여 -30℃ 이하의 냉동고에 보관하였다.

3) 지질종의 지방산 분석

분리 동정된 TLC 판의 중성지질 중 triglycerides (TG) 와 인지질 중 PC 와 PE band를 끊어서 시험관에 담고 internal standard로 10μl의 15:0를 첨가한 다음 methylation 시키기 위해서 6% methanolic-sulfuric acid를 첨가하여 90℃ 항온수조에서 90분간 반응시켰다. 지방산을 methylation 시킨 후 methyl-ester를 분리하기 위하여 petroleum ether를 넣고 교반한 후 H₂O를 첨가하여 2000rpm으로 원심분리한 다음 petroleum ether층만을 분리하였다. Gas liquid chromatography (GLC) 로 분석하기 위하여 질소가스로 ether를 휘발시키고 hexane으로 다시 용해하여 지방산을 분석하였다. GLC의 분석조건은 detector temperature 220℃, column final temperature 220℃, 공기압력 0.5kg/cm, 수소압력 0.5kg/cm, 질소압력 0.25kg/cm, chart speed 2mm/min이 되도록 조정하여 지방산을 분석하였다. Column은 DB-225 megabor column (J&W Scientific, U.S.A.) 을 이용하였고 EPA와 DHA를 포함한 분리된 지방산은 Nuchek standard GLC-87과 GLC-68로 동정하였다.

제 3 절 연구결과 및 고찰

1. Micelles system 개발

가. 육 계

EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시키기 위하여 EPA와 DHA 합성효소용 stimulants를 micelles 형태로 조제한 보호 system을 육계에 3주간 급여한 결과 간장과 다리와 가슴조직의 총지방 함량은 Table 4와 같다.

Table 4. Total lipid composition of various chicken tissues affected by dietary micelles either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Dietary micelles	Liver	Leg	Breast
	----- % , total lipid/100g tissue -----		
WOES	8.7 ± 1.5	6.0 ± 0.8	1.8 ± 0.5
WES	9.1 ± 1.2	5.7 ± 0.7	1.6 ± 0.3

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

Table 4에서와 같이 총지질의 조성은 두 group간에 큰 차이가 없었으며 이는 EPA와 DHA 합성 효소 stimulants에 의해서 총지질의 합성은 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

Table 5는 총지질의 지방산 조성을 나타내고 있다. Table 5에서와 같이 WES (EPA와 DHA 합성 효소 stimulants를 함유한 micelles 조제물)을 섭취한 육계 group을 WOES (stimulants를 함유하지 않은 micelles 조제물)을 섭취한 육계 group에 비해 EPA와 DHA 등의 n-3 불포화지방산이 간장, 다리, 가슴조직 모두에서 현저히 증가된 조성을 보여주었으며 n-6/n-3 지방산의 비율도 간장조직에서 8.2에서 1.3, 다리조직에서 15.2에서 3.0, 가슴조직에서 17.3에서 2.1로 크게 감소하였다. 이러한 결과는 효소 stimulants를 함유한 micelles이 매우 효율적으로 육계의 소화기관과 혈관을 통과하여 endocytosis로 target cell내에 유입되어 EPA와 DHA 합성효소에 결합되어 효소를 활성화시킨 것으로 사료된다.

Table 5. Fatty acid composition of total lipids in various **chicken tissues** affected by dietary **micelles** either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	Liver		Leg		Breast	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.2
14:1	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
16:0	24.3 ± 2.7	28.1 ± 2.3	23.6 ± 2.3	22.7 ± 2.7	24.2 ± 1.7	24.0 ± 2.3
16:1	1.5 ± 0.5	4.1 ± 0.5	5.3 ± 1.2	5.9 ± 1.0	5.5 ± 0.7	4.4 ± 0.5
18:0	23.0 ± 4.5	15.1 ± 1.6	7.2 ± 1.3	6.9 ± 0.8	8.1 ± 0.6	6.9 ± 0.5
18:1	20.6 ± 2.2	30.8 ± 2.5 ^b	36.5 ± 2.3	33.2 ± 2.1	30.5 ± 2.1	29.2 ± 1.8
18:2n-6	13.7 ± 2.8	8.7 ± 0.9 ^b	22.9 ± 1.6	19.7 ± 1.5	25.3 ± 3.4	17.6 ± 1.8
18:3n-3	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.3	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.2
20:1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	tr	0.3 ± 0.1 ^c	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1
20:2n-6	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1
20:3n-6	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.1 ^c
20:4n-6	9.5 ± 1.8	1.8 ± 0.3 ^c	1.1 ± 0.2	1.3 ± 0.3	1.8 ± 0.5	1.3 ± 0.3
20:5n-3	0.3 ± 0.1	1.6 ± 0.3 ^c	0.3 ± 0.2	1.2 ± 0.2 ^c	0.2 ± 0.1	1.4 ± 0.3 ^c
22:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:4n-6	0.8 ± 0.2	0.1 ± 0.1 ^c	tr	tr	tr	tr
22:5n-6	0.7 ± 0.3	0.1 ± 0.1 ^c	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-3	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.1 ± 0.1	1.1 ± 0.2	tr	1.5 ± 0.3
22:6n-3	2.1 ± 0.5	5.9 ± 0.6 ^c	0.3 ± 0.1	3.7 ± 0.4 ^c	0.3 ± 0.1	5.5 ± 0.4 ^c
Unidentified	1.5 ± 0.5	1.9 ± 0.5	1.2 ± 0.3	1.8 ± 0.8	1.7 ± 0.5	1.5 ± 0.4
n-6/n-3	8.2 ± 0.5	1.3 ± 0.2 ^c	15.2 ± 0.8	3.0 ± 0.3 ^c	17.3 ± 1.5	2.1 ± 0.3 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 6은 두 group의 간장조직 중 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 보여주고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 지방산이 급격히 증가하였으며 n-6 지방산은 상대적으로 감소추세를 보여주었다. 이러한 결과는 육계의 간장조직의 주요 3 가지 지질종에서도 효소 stimulants 함유 micelles 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성력을 증가시킨 것으로 간주된다.

Table 6. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in chicken liver affected by dietary micelles either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.8 ± 0.5	2.2 ± 0.5	1.0 ± 0.3	1.3 ± 0.5
14:1	tr	0.1 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.2	1.8 ± 0.8	1.3 ± 0.7
16:0	34.6 ± 3.2	38.0 ± 4.0	34.4 ± 4.1	33.9 ± 3.7	26.7 ± 1.9	24.0 ± 1.8
16:1	1.8 ± 0.5	4.2 ± 0.6 ^b	2.2 ± 0.4	2.8 ± 0.5	2.3 ± 0.4	2.9 ± 0.3
18:0	24.2 ± 2.3	14.0 ± 1.2 ^c	20.3 ± 1.8	22.0 ± 2.1	28.2 ± 3.2	35.6 ± 4.1
18:1	28.1 ± 4.1	36.3 ± 3.1	12.3 ± 1.2	15.7 ± 1.3	8.2 ± 0.5	6.3 ± 0.8
18:2n-6	5.5 ± 0.5	3.7 ± 0.7	19.7 ± 1.2	11.4 ± 0.8 ^b	19.7 ± 0.6	9.1 ± 0.7 ^c
18:3n-3	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	1.1 ± 0.4	1.7 ± 0.6	2.9 ± 0.5	2.4 ± 0.5
20:1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.9 ± 0.3	0.8 ± 0.2	1.5 ± 0.4
20:2n-6	tr	tr	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1
20:3n-6	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0 ^b	0.7 ± 0.3	0.6 ± 0.2	tr	tr
20:4n-6	2.5 ± 0.8	0.1 ± 0.0 ^c	3.5 ± 0.8	1.2 ± 0.3 ^b	5.7 ± 0.7	2.8 ± 0.4
20:5n-3	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	1.4 ± 0.4 ^c	0.4 ± 0.1	1.9 ± 0.4 ^c
22:1	tr	tr	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.2	tr	tr
22:4n-6	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.2
22:5n-6	tr	tr	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2
22:5n-3	tr	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.4 ± 0.2 ^b	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.3
22:6n-3	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	2.7 ± 0.4 ^c	1.2 ± 0.4	8.6 ± 0.7 ^c
Unidentified	1.8 ± 0.5	1.5 ± 0.8	1.1 ± 0.3	1.6 ± 0.4	1.5 ± 0.3	0.9 ± 0.2
n-6/n-3	16.8 ± 3.3	4.3 ± 0.3 ^c	14.8 ± 1.2	2.3 ± 0.3 ^c	5.7 ± 0.4	1.0 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 7은 육계의 다리조직 중에 존재하는 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 보여주고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산이 급격히 증가하였으며 n-6 지방산은 상대적으로 감소추세를 보여주었다. 이러한 결과는 Table 6의 간장조직에서와 같이 육계의 다리조직의 중요한 3가지 지질종에서도 효소 stimulants 함유 micelles 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화 지방산의 생합성을 증가시킨 것으로 사료된다.

Table 7. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in chicken leg affected by dietary micelles either with (WES) or without (WOES) enzyme stimulants^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.3	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2
14:1	tr	0.1 ± 0.0	0.8 ± 0.2	1.7 ± 0.3	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
16:0	35.7 ± 3.2	37.9 ± 4.1	35.8 ± 3.2	32.5 ± 2.8	18.5 ± 1.2	14.4 ± 1.2
16:1	3.2 ± 0.5	3.7 ± 0.8	5.2 ± 0.5	4.2 ± 0.5	6.5 ± 0.5	7.8 ± 0.5
18:0	7.2 ± 1.2	7.5 ± 1.2	15.7 ± 1.2	14.4 ± 1.5	22.5 ± 4.1	22.7 ± 2.4
18:1	28.1 ± 2.8	28.7 ± 3.2	10.0 ± 1.5	18.4 ± 0.2 ^b	16.4 ± 1.5	13.7 ± 1.5
18:2n-6	18.5 ± 1.3	12.3 ± 1.3	14.7 ± 1.1	9.0 ± 1.0 ^b	13.8 ± 1.2	7.9 ± 0.8 ^c
18:3n-3	1.1 ± 0.5	0.7 ± 0.2	3.5 ± 1.2	4.2 ± 0.4	6.1 ± 0.7	6.8 ± 0.5
20:1	0.5 ± 0.2	1.0 ± 0.2	2.2 ± 0.3	2.8 ± 0.5	1.8 ± 0.7	2.5 ± 0.6
20:2n-6	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	2.5 ± 0.9	2.8 ± 0.3	0.3 ± 0.1	tr
20:3n-6	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.1
20:4n-6	1.8 ± 0.3	1.0 ± 0.3	3.8 ± 0.7	2.1 ± 0.3 ^b	6.7 ± 0.8	4.7 ± 0.5
20:5n-3	tr	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	1.6 ± 0.5 ^c	0.3 ± 0.2	2.6 ± 0.3 ^c
22:1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.8 ± 0.2	1.0 ± 0.2
22:4n-6	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2	1.0 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.0 ± 0.3
22:5n-6	0.5 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2	1.5 ± 0.3	1.2 ± 0.2
22:5n-3	tr	0.2 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.3 ^b	0.2 ± 0.1	1.9 ± 0.4 ^c
22:6n-3	0.5 ± 0.2	3.5 ± 0.4 ^c	0.3 ± 0.2	1.1 ± 0.4	0.5 ± 0.2	8.4 ± 0.7 ^c
Unidentified	1.6 ± 0.5	1.1 ± 0.3	1.7 ± 0.5	1.5 ± 0.4	1.8 ± 0.5	2.2 ± 0.3
n-6/n-3	13.6 ± 1.2	3.3 ± 0.3 ^c	5.3 ± 0.4	2.1 ± 0.3 ^c	3.4 ± 0.3	0.8 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 8은 두 group의 가슴조직에 존재하는 TG, PC, PE의 지방산 조성을 나타내는 것으로서 TG에서 WES group인 경우 DHA가 3배로 증가하였고 PC에서는 5배 PE에서는 8.3배 증가하므로써 n-6/n-3 비율이 WES group에서 급격히 감소하는 원인이 되었다.

Table 8. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in chicken breast affected by dietary micelles either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.8 ± 0.2	1.3 ± 0.5
14:1	tr	0.1 ± 0.1 ^c	1.5 ± 0.5	1.3 ± 0.3	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.2
16:0	30.5 ± 2.8	27.2 ± 2.5	38.2 ± 3.2	41.3 ± 3.8	18.8 ± 1.6	13.0 ± 1.5
16:1	5.7 ± 0.6	6.6 ± 0.7	3.2 ± 0.4	2.5 ± 0.3	3.5 ± 0.7	4.9 ± 0.4
18:0	4.2 ± 0.5	5.8 ± 0.5	5.3 ± 0.7	7.4 ± 0.5	28.6 ± 2.7	24.1 ± 2.1
18:1	29.4 ± 3.0	36.3 ± 3.5	22.5 ± 1.8	24.0 ± 2.5	13.6 ± 1.2	13.1 ± 1.1
18:2n-6	25.8 ± 2.3	19.7 ± 2.0	19.2 ± 1.2	13.8 ± 1.2	16.2 ± 0.9	8.7 ± 0.7 ^c
18:3n-3	1.5 ± 0.4	1.2 ± 0.3	1.5 ± 0.3	1.6 ± 0.5	3.9 ± 0.5	4.2 ± 0.6
20:1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.8 ± 0.3	1.0 ± 0.2	1.8 ± 0.5	2.4 ± 0.4
20:2n-6	0.3 ± 0.2	tr ^c	0.6 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.2
20:3n-6	0.2 ± 0.1	tr ^c	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.3	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1
20:4n-6	0.2 ± 0.1	tr ^c	2.8 ± 0.5	0.8 ± 0.2 ^c	5.8 ± 0.7	3.4 ± 0.5 ^b
20:5n-3	tr	0.4 ± 0.2 ^c	tr	0.5 ± 0.2 ^c	0.3 ± 0.3	2.0 ± 0.3
22:1	tr	tr	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.3	0.5 ± 0.2
22:4n-6	tr	tr	tr	0.2 ± 0.1 ^c	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2
22:5n-6	tr	tr	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.2
22:5n-3	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.2 ^b	0.5 ± 0.2	2.6 ± 0.3 ^c
22:6n-3	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.2 ^b	0.2 ± 0.1	1.0 ± 0.2 ^c	1.8 ± 0.7	14.9 ± 0.8 ^c
Unidentified	1.3 ± 0.3	1.2 ± 0.5	1.8 ± 0.5	1.4 ± 0.4	1.5 ± 0.5	1.8 ± 0.4
n-6/n-3	14.7 ± 1.3	8.3 ± 1.2 ^b	12.5 ± 1.2	4.3 ± 0.5 ^c	3.7 ± 0.4	1.6 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

나. 육 돈

EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시키기 위하여 EPA와 DHA 합성효소용 stimulants를 micelles 형태로 조제한 보호 system을 육계에 3주간 급여한 결과 간장과 다리와 가슴조직의 총지방 함량은 Table 9와 같다.

Table 9. **Total lipid** composition of various **pig tissues** affected by dietary **micelles** either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Dietary micelles	Liver	Leg	Breast
	----- %, total lipid/100g tissue -----		
WOES	3.8 ± 0.3	3.2 ± 0.5	2.7 ± 0.5
WES	3.2 ± 0.1	2.8 ± 0.4	2.1 ± 0.4

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

Table 9에서와 같이 총지질의 조성은 육돈의 두 group간에 큰 차이가 없었으며 이는 EPA와 DHA 합성 효소 stimulants에 의해서 총지질의 합성은 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

Table 10은 총지질의 지방산 조성을 나타내고 있다. Table 10에서와 같이 WES (EPA와 DHA 합성 효소 stimulants를 함유한 micelles 조제물)을 섭취한 육돈 group을 WOES (stimulants를 함유하지 않은 micelles 조제물)을 섭취한 육돈 group에 비해 EPA와 DHA 등의 n-3 불포화지방산이 간장, 다리, 가슴 조직 모두에서 현저히 증가된 조성을 보여주었으며 n-6/n-3 지방산의 비율도 간장조직에서 10.9에서 2.0, 다리조직에서 15.9에서 5.6, 가슴조직에서 17.7에서 5.3로 크게 감소하였다. 이러한 결과는 효소 stimulants를 함유한 micelles이 매우 효율적으로 육돈의 소화기관과 혈관을 통과하여 endocytosis로 target cell 내에 유입되어 EPA와 DHA 합성효소에 결합되어 효소를 활성화시킨 것으로 사료된다.

Table 10. Fatty acid composition of total lipids in various **pig tissues** affected by dietary **micelles** either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	Liver		Leg		Breast	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	1.8 ± 0.5	1.7 ± 0.3	1.6 ± 0.5	1.5 ± 0.3
14:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
16:0	17.3 ± 1.2	18.2 ± 1.5	27.8 ± 1.8	25.4 ± 2.5	24.7 ± 2.5	25.1 ± 1.8
16:1	1.2 ± 0.5	0.9 ± 0.3	3.5 ± 0.5	2.8 ± 0.5	2.5 ± 0.4	2.7 ± 0.5
17:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr
18:0	28.9 ± 2.5	30.3 ± 2.7	25.5 ± 2.7	27.6 ± 2.3	25.4 ± 1.8	27.8 ± 2.5
18:1	14.4 ± 1.2	8.3 ± 0.5 ^b	18.1 ± 1.5	16.6 ± 0.9	16.5 ± 1.4	16.7 ± 1.6
18:2n-6	19.8 ± 0.7	17.8 ± 0.5	17.8 ± 1.2	19.7 ± 1.1	23.3 ± 2.1	19.3 ± 1.3
18:3n-3	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.1	1.5 ± 0.3 ^c	0.8 ± 0.2	1.3 ± 0.3 ^b
18:4n-3	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:0	tr	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	tr	0.2 ± 0.1 ^c
20:1	tr	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.2 ^b	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2
20:2n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	tr	0.8 ± 0.2	tr	0.2 ± 0.1	tr	0.3 ± 0.1 ^c
20:4n-6	13.2 ± 0.8	8.5 ± 0.7 ^b	2.5 ± 0.3	1.0 ± 0.2 ^c	2.8 ± 1.5	1.4 ± 0.5
20:3n-3	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:5n-3	0.2 ± 0.1	4.7 ± 0.8 ^c	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.2 ^b
22:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:4n-6	0.9 ± 0.3	0.2 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1 ^c
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:5n-3	1.1 ± 0.2	2.4 ± 0.3 ^c	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.2 ^b	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.2 ^b
22:6n-3	1.2 ± 0.2	6.1 ± 0.4 ^c	0.4 ± 0.1	1.2 ± 0.2 ^c	0.3 ± 0.1	1.3 ± 0.4 ^c
24:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Unidentified	0.7 ± 0.2	0.2 ± 0.1 ^b	0.8 ± 0.2	0.2 ± 0.1 ^b	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.1 ^c
n-6/n-3	10.9 ± 1.2	2.0 ± 0.3 ^c	15.9 ± 1.5	5.6 ± 0.7 ^c	17.7 ± 1.2	5.3 ± 0.4 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 11은 육돈의 두 group의 간장조직 중 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 보여주고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 지방산이 급격히 증가하였으며 n-6 지방산은 상대적으로 감소추세를 보여주었다. 이러한 결과는 육돈의 간장조직의 주요 3가지 지질종에서도 효소 stimulants 함유 micelles 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성력을 증가시킨 것으로 간주된다.

Table 11. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in pig liver affected by dietary micelles either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.7 ± 0.3	0.8 ± 0.4	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.1
14:1	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.3	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
16:0	19.8 ± 3.5	18.9 ± 4.2	28.6 ± 2.2	28.7 ± 0.8	9.3 ± 2.0	10.9 ± 0.1
16:1	0.5 ± 0.2	0.9 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0
17:0	0.3 ± 0.2	0.8 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.1	0.9 ± 0.2 ^c	1.2 ± 0.5	1.5 ± 0.2
18:0	15.0 ± 2.2	13.6 ± 1.6	33.2 ± 3.5	32.1 ± 1.5	44.6 ± 5.3	45.2 ± 0.6
18:1	24.2 ± 3.5	26.4 ± 0.8	8.7 ± 1.5	10.0 ± 0.3	8.5 ± 0.8	7.4 ± 0.4
18:2n-6	28.3 ± 0.7	24.2 ± 0.7	19.8 ± 1.2	17.7 ± 1.0	20.5 ± 1.2	17.3 ± 0.8
18:3n-3	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.2 ^c	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	0.2 ± 0.0 ^c
18:4n-3	0.5 ± 0.2	1.1 ± 0.2 ^b	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.1 ^c
20:0	tr	0.1 ± 0.0	tr	tr	tr	tr
20:1	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:2n-6	0.3 ± 0.2	tr ^c	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0
20:4n-6	6.3 ± 0.8	3.2 ± 0.7 ^c	5.7 ± 0.8	3.5 ± 0.2	12.2 ± 1.5	8.3 ± 0.3
20:3n-3	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:5n-3	0.5 ± 0.2	2.0 ± 0.2 ^c	0.5 ± 0.2	2.5 ± 0.1 ^c	0.7 ± 0.7	2.9 ± 0.2 ^c
22:0	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr
22:1	tr	tr	tr	0.1 ± 0.1 ^c	tr	tr
22:4n-6	0.3 ± 0.2	tr ^c	tr	tr	tr	0.1 ± 0.1 ^c
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:5n-3	0.3 ± 0.1	1.5 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.0 ^c
22:6n-3	0.6 ± 0.2	2.4 ± 0.3 ^c	0.2 ± 0.1	2.2 ± 0.3 ^c	0.5 ± 0.1	3.7 ± 0.5 ^c
24:1	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.5	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	tr	0.2 ± 0.1 ^c
Unidentified	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.8 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c
n-6/n-3	17.0 ± 1.2	3.5 ± 0.5 ^c	28.0 ± 1.8	3.8 ± 0.4 ^c	23.6 ± 2.1	3.3 ± 0.4 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 12는 육돈의 다리조직 중에 존재하는 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 보여주고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산이 급격히 증가하였으며 n-6 지방산은 상대적으로 감소추세를 보여주었다. 이러한 결과는 Table 11의 간장조직에서와 같이 육돈의 다리조직의 중요한 3가지 지질종에서도 효소 stimulants 함유 micelles 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시킨 것으로 사료된다.

Table 12. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in pig leg affected by dietary micelles either with (WES) or without (WOES) enzyme stimulants^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	1.3 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.1 ^b	0.8 ± 0.2	1.3 ± 0.1
14:1	tr	tr	tr	0.4 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.2 ^b
16:0	24.1 ± 2.8	25.7 ± 1.4	40.5 ± 2.5	43.0 ± 1.7	15.3 ± 1.4	14.6 ± 4.1
16:1	2.5 ± 0.3	2.2 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.2	1.0 ± 0.1
17:0	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	0.4 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	1.1 ± 0.2 ^c
18:0	10.2 ± 1.2	8.9 ± 0.8	10.1 ± 0.9	7.3 ± 0.1	28.7 ± 2.7	28.3 ± 6.9
18:1	38.7 ± 3.5	40.0 ± 0.7	12.5 ± 1.2	13.9 ± 1.0	15.3 ± 1.2	16.9 ± 6.5
18:2n-6	21.5 ± 0.8	17.8 ± 0.7	32.4 ± 3.8	30.0 ± 1.2	23.8 ± 1.5	20.9 ± 0.5
18:3n-3	0.3 ± 0.1	0.9 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1
18:4n-3	tr	tr	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.2 ^b	0.5 ± 0.2	1.1 ± 0.3 ^b
20:0	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.0 ^b	tr	0.1 ± 0.1 ^c	tr	0.2 ± 0.1 ^c
20:2n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	tr	0.2 ± 0.0 ^c	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1
20:4n-6	0.5 ± 0.1	0.1 ± 0.0 ^b	1.5 ± 0.5	0.6 ± 0.1 ^c	8.5 ± 0.9	6.1 ± 1.9
20:3n-3	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.3 ± 0.2 ^c	tr	0.5 ± 0.1 ^c
20:5n-3	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.0 ^b	0.5 ± 0.1	0.8 ± 0.0 ^b	0.5 ± 0.2	1.5 ± 0.6 ^b
22:0	tr	tr	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:1	tr	tr	tr	tr	tr	0.2 ± 0.1 ^c
22:4n-6	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.2 ^c
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:5n-3	tr	0.2 ± 0.0 ^c	tr	0.5 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	1.5 ± 0.6 ^c
22:6n-3	0.2 ± 0.1	1.2 ± 0.0 ^c	0.1 ± 0.1	1.8 ± 0.3 ^c	0.5 ± 0.2	2.6 ± 0.8 ^c
24:1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.3
Unidentified	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.3	0.4 ± 0.1
n-6/n-3	32.0 ± 2.5	6.2 ± 0.7 ^c	34.0 ± 3.1	6.9 ± 0.7 ^c	17.2 ± 0.5	3.6 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 13은 두 group의 가슴조직에 존재하는 TG, PC, PE의 지방산 조성을 나타내는 것으로서 TG에서 WES group인 경우 DHA가 6배로 증가하였고 PC에서는 7배 PE에서는 5배 증가하므로서 n-6/n-3 비율이 WES group에서 급격히 감소하는 원인이 되었다.

Table 13. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in pig breast affected by dietary micelles either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	1.4 ± 0.0 ^b	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.2	1.7 ± 0.0 ^b
14:1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.3 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.2	1.2 ± 0.2 ^b
16:0	30.3 ± 3.2	32.0 ± 0.3	48.5 ± 4.2	50.9 ± 0.7	15.2 ± 1.2	12.8 ± 0.1
16:1	2.4 ± 0.4	2.0 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.1
17:0	tr	0.2 ± 0.0 ^c	tr	0.4 ± 0.0 ^c	0.8 ± 0.3	5.1 ± 0.1 ^c
18:0	12.3 ± 1.0	10.7 ± 0.2	11.5 ± 1.3	10.1 ± 0.3	49.2 ± 3.8	47.2 ± 3.0
18:1	37.1 ± 3.2	39.9 ± 0.7	11.3 ± 1.0	12.3 ± 0.2	10.2 ± 1.4	7.0 ± 0.6
18:2n-6	15.3 ± 1.3	10.6 ± 1.1	25.3 ± 1.9	20.1 ± 0.7	13.8 ± 1.5	9.5 ± 0.5
18:3n-3	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.1 ^b	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1
18:4n-3	tr	tr	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.0	0.5 ± 0.2	1.7 ± 0.2 ^c
20:0	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	tr	0.2 ± 0.1 ^c
20:1	tr	0.3 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:2n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.0 ^c	tr	0.3 ± 0.1 ^c
20:4n-6	1.2 ± 0.3	0.1 ± 0.0 ^c	1.3 ± 0.3	0.5 ± 0.1 ^b	6.3 ± 0.8	4.8 ± 1.3
20:3n-3	tr	tr	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	0.7 ± 0.0 ^c
20:5n-3	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.1	1.0 ± 0.3 ^c
22:0	tr	tr	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	tr
22:1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr
22:4n-6	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-3	tr	0.5 ± 0.0 ^c	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.1	1.1 ± 0.4 ^c
22:6n-3	0.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	1.5 ± 0.4 ^b	0.5 ± 0.2	2.8 ± 0.3 ^c
24:1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1 ^b
Unidentified	0.5 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^b	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.0
n-6/n-3	41.3 ± 2.2	4.9 ± 0.5 ^c	23.6 ± 1.5	6.5 ± 0.5 ^c	11.4 ± 0.8	1.9 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

2. Liposomes system 개발

가. 육 계

EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시키기 위하여 EPA와 DHA 합성효소용 stimulants를 liposomes 형태로 조제한 보호 system을 육계에 3주간 급여한 결과 간장과 다리와 가슴조직의 총지방 함량은 Table 14와 같다. 총지질의 조성은 두 group간에 큰 차이가 없었으며 이는 EPA와 DHA 합성 효소 stimulants가 육계의 각 조직에 존재하는 총지질의 합성에는 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

Table 14. Total lipid composition of various **chicken tissues** affected by dietary **liposomes** either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Dietary liposomes	Liver	Leg	Breast
	----- % , total lipid/100g tissue -----		
WOES	4.7 ± 1.6	5.7 ± 1.1	1.7 ± 0.5
WES	4.5 ± 1.4	5.3 ± 0.8	1.6 ± 0.4

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

Liposomes 조제물에 의한 각 조직의 총지질에 존재하는 지방산 조성은 Table 15와 같다. Table 15에서와 같이 WES (EPA와 DHA 합성 효소 stimulants를 함유한 liposomes 조제물) 을 섭취한 육계 group을 WOES (stimulants을 함유하지 않은 liposomes 조제물) 을 섭취한 육계 group에 비해 EPA와 DHA 등의 n-3 불포화지방산이 간장, 다리, 가슴 조직 모두에서 현저히 증가된 조성을 보여주었으며 n-6/n-3 지방산의 비율도 간장조직에서 9.7에서 1.2, 다리조직에서 13.2에서 3.2, 가슴조직에서 12.3에서 1.9로 크게 감소하였다. 이러한 결과는 효소 stimulants를 함유한 liposomes이 매우 효율적으로 육계의 소화기관과 혈관을 통과하여 각 조직의 세포내로 유입되어 EPA와 DHA 합성 효소에 결합되어 효소를 자극시킨 것으로 사료된다.

Table 15. Fatty acid composition of total lipids in various **chicken tissues** affected by dietary **liposomes** either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	Liver		Leg		Breast	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.2
14:1	tr	tr	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1
16:0	23.3 ± 2.1	26.9 ± 2.3	26.3 ± 3.2	22.4 ± 1.8	29.3 ± 3.2	22.9 ± 0.9
16:1	1.4 ± 0.5	1.3 ± 0.3	3.5 ± 0.5	4.7 ± 0.4 ^b	1.8 ± 0.5	2.9 ± 0.3
18:0	22.3 ± 2.4	19.6 ± 1.2	10.2 ± 1.3	7.9 ± 0.7	11.8 ± 1.2	7.7 ± 0.8
18:1	14.5 ± 1.5	13.6 ± 1.1	28.0 ± 2.2	26.7 ± 2.5	26.1 ± 2.2	23.7 ± 2.1
18:2n-6	20.8 ± 2.5	14.2 ± 1.2 ^b	25.1 ± 3.0	21.9 ± 2.1	22.2 ± 2.1	18.0 ± 1.5
18:3n-3	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.1	1.2 ± 0.4	1.1 ± 0.3	1.3 ± 0.3	0.9 ± 0.3
20:1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.1 ^c	tr	0.5 ± 0.2
20:2n-6	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1
20:3n-6	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
20:4n-6	10.3 ± 0.9	4.4 ± 0.5 ^c	2.2 ± 0.4	1.9 ± 0.4	4.2 ± 0.3	2.7 ± 0.5
20:5n-3	0.2 ± 0.1	3.7 ± 0.3 ^c	0.2 ± 0.1	1.4 ± 0.3 ^c	0.2 ± 0.1	1.1 ± 0.3
22:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:4n-6	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.1 ^c	tr	tr	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
22:5n-6	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.1 ^b	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-3	0.4 ± 0.2	1.4 ± 0.3 ^c	0.2 ± 0.1	1.3 ± 0.4 ^c	0.1 ± 0.1	2.2 ± 0.4
22:6n-3	2.5 ± 0.7	10.9 ± 1.0 ^c	0.5 ± 0.2	4.2 ± 0.5 ^c	0.6 ± 0.2	7.0 ± 0.5
Unidentified	1.7 ± 0.5	1.2 ± 0.3	1.6 ± 0.6	1.5 ± 0.3	1.3 ± 0.4	1.8 ± 0.4
n-6/n-3	9.7 ± 1.2	1.2 ± 0.2 ^c	13.2 ± 1.5	3.1 ± 0.3 ^c	12.3 ± 1.2	1.9 ± 0.3 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 16은 liposomes 조제물을 함유한 사료를 섭취한 두 group의 간장조직 중 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 보여주고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 지방산이 급격히 증가하였으며 n-6 지방산은 현저한 감소추세를 보여주었다. 이러한 결과는 육계의 간장조직의 주요 3가지 지질종에서도 효소 stimulants 함유 liposomes 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성력을 증가시킨 것으로 간주된다.

Table 16. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in chicken liver affected by dietary liposomes either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.6 ± 0.2
14:1	tr	0.1 ± 0.1 ^b	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1
16:0	40.7 ± 3.8	42.8 ± 5.2	43.3 ± 4.1	40.5 ± 4.4	25.7 ± 2.1	21.2 ± 1.8
16:1	2.2 ± 0.3	1.8 ± 0.4	2.2 ± 0.3	1.6 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.8 ± 0.3
18:0	23.5 ± 2.3	24.0 ± 2.2	17.5 ± 1.2	19.4 ± 1.2	36.2 ± 4.2	33.9 ± 3.0
18:1	19.1 ± 1.2	23.3 ± 2.1	10.8 ± 1.2	14.2 ± 1.3	5.2 ± 1.0	3.9 ± 0.5
18:2n-6	6.7 ± 0.5	3.8 ± 0.5 ^b	17.4 ± 1.3	13.3 ± 1.0	15.2 ± 1.3	10.3 ± 1.0
18:3n-3	0.8 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.3 ± 0.3	1.0 ± 0.2
20:1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2
20:2n-6	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1
20:3n-6	0.1 ± 0.1	tr ^b	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1	tr	tr
20:4n-6	3.8 ± 0.5	0.1 ± 0.1 ^c	4.5 ± 0.5	1.5 ± 0.4 ^c	8.7 ± 0.7	6.5 ± 0.4 ^b
20:5n-3	tr	0.1 ± 0.1 ^b	0.2 ± 0.1	1.1 ± 0.3 ^c	0.3 ± 0.1	3.6 ± 0.3 ^c
22:1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	tr	0.3 ± 0.1 ^c	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:4n-6	0.1 ± 0.1	tr ^b	tr	0.1 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-6	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2
22:5n-3	tr	0.2 ± 0.1 ^b	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	1.2 ± 0.3 ^c
22:6n-3	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.2	3.1 ± 0.4 ^c	1.8 ± 0.3	14.3 ± 1.2 ^c
Unidentified	1.8 ± 0.4	0.1 ± 0.4	1.7 ± 0.4	2.2 ± 0.3	2.0 ± 0.3	0.3 ± 0.3
n-6/n-3	12.1 ± 0.9	4.4 ± 0.5 ^c	18.9 ± 1.5	3.0 ± 0.3 ^c	6.7 ± 1.1	0.9 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 17은 육계의 다리조직 중에 존재하는 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 나타내고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산이 급격히 증가하였으며 추측대로 n-6 지방산은 상대적으로 감소추세를 보여주었다. 이러한 결과는 육계의 다리조직의 중요한 3가지 지질종에서도 효소 stimulants 함유 liposomes 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시킨 것으로 사료된다.

Table 17. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in chicken leg affected by dietary liposomes either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.5 ± 0.2	1.9 ± 0.5	2.1 ± 0.5	5.1 ± 0.4 ^b
14:1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1
16:0	32.3 ± 4.2	27.2 ± 2.2	44.3 ± 5.2	42.3 ± 4.2	19.2 ± 1.3	17.0 ± 1.5
16:1	5.4 ± 0.6	6.1 ± 0.7	4.2 ± 0.3	3.7 ± 0.7	5.2 ± 0.5	5.4 ± 0.6
18:0	8.7 ± 0.8	6.5 ± 0.5	12.6 ± 1.8	14.8 ± 2.0	26.3 ± 2.9	23.2 ± 2.4
18:1	24.3 ± 2.2	34.5 ± 4.1	18.6 ± 1.5	20.5 ± 2.5	17.3 ± 1.5	14.9 ± 1.5
18:2n-6	24.1 ± 2.7	20.7 ± 2.3	11.2 ± 1.3	7.7 ± 0.8	15.3 ± 1.2	10.1 ± 1.1
18:3n-3	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.8 ± 0.4	2.0 ± 0.3	2.6 ± 0.3	2.7 ± 0.5
20:1	0.2 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.2	1.5 ± 0.3
20:2n-6	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1
20:3n-6	tr	tr	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.1	tr	tr
20:4n-6	1.5 ± 0.3	0.1 ± 0.1 ^c	2.3 ± 0.3	0.6 ± 0.2 ^c	5.7 ± 0.7	3.1 ± 0.4
20:5n-3	tr	0.3 ± 0.1 ^c	0.1 ± 0.1	0.6 ± 0.2 ^b	0.3 ± 0.1	2.2 ± 0.5 ^c
22:1	tr	0.1 ± 0.1 ^c	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.3	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2
22:4n-6	tr	tr	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
22:5n-6	tr	tr	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.3	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2
22:5n-3	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.2	1.6 ± 0.4 ^b
22:6n-3	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.2 ^b	0.2 ± 0.1	1.1 ± 0.3 ^c	1.2 ± 0.3	9.9 ± 0.8 ^c
Unidentified	1.5 ± 0.5	0.4 ± 0.2 ^b	1.7 ± 0.5	1.3 ± 0.4	1.5 ± 0.3	1.1 ± 0.3
n-6/n-3	21.5 ± 2.0	10.0 ± 1.2 ^c	6.2 ± 0.5	2.3 ± 0.4 ^c	4.8 ± 1.0	0.9 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 18은 두 group의 가슴조직에 존재하는 TG, PC, PE의 지방산 조성을 나타내는 것으로서 TG에서 WES group인 경우 WOES group에 비하여 DHA가 11배로 증가하였고 PC에서는 4배 PE에서는 5.2배 증가하므로서 n-6/n-3 비율이 WES group에서 각각 1.2, 5.4, 0.5로 급격히 감소하는 원인이 되었다.

Table 18. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in chicken breast affected by dietary liposomes either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	2.2 ± 0.4	3.5 ± 1.2	0.5 ± 0.2	1.1 ± 0.3	0.8 ± 0.2	1.4 ± 0.3
14:1	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.4 ± 0.2
16:0	31.7 ± 3.7	28.7 ± 3.1	46.2 ± 5.2	45.2 ± 5.0	18.7 ± 1.5	12.5 ± 1.4
16:1	3.9 ± 0.5	4.6 ± 0.5	2.3 ± 0.4	1.7 ± 0.4	3.8 ± 0.5	3.5 ± 0.5
18:0	19.7 ± 1.7	19.0 ± 1.3	7.8 ± 0.7	8.9 ± 0.7	27.2 ± 2.5	25.0 ± 2.2
18:1	16.9 ± 1.3	17.7 ± 1.5	18.4 ± 1.5	23.6 ± 2.1	17.2 ± 1.5	13.1 ± 1.2
18:2n-6	12.7 ± 2.0	8.9 ± 0.5	17.8 ± 1.2	13.7 ± 1.4	10.5 ± 0.8	7.2 ± 0.5
18:3n-3	2.6 ± 0.5	2.4 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.0 ± 0.2	2.0 ± 0.4	1.8 ± 0.3
20:1	0.8 ± 0.2	1.2 ± 0.3	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.2
20:2n-6	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.2
20:3n-6	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.1	tr ^c	1.3 ± 0.4	1.2 ± 0.4
20:4n-6	4.7 ± 0.5	1.9 ± 0.4 ^c	2.7 ± 0.5	0.6 ± 0.2 ^c	7.6 ± 0.8	4.6 ± 0.5
20:5n-3	0.3 ± 0.1	1.4 ± 0.2 ^c	tr	0.4 ± 0.2 ^c	1.1 ± 0.2	2.7 ± 0.3
22:1	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.2	tr	0.1 ± 0.1 ^c	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:4n-6	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	tr	0.1 ± 0.1 ^c	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2
22:5n-6	0.4 ± 0.2	0.6 ± 0.1	tr	tr	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-3	0.2 ± 0.1	1.1 ± 0.2 ^c	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.2	1.2 ± 0.4	3.4 ± 0.3 ^b
22:6n-3	0.5 ± 0.1	5.5 ± 0.3 ^c	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.2 ^b	3.8 ± 0.5	19.8 ± 1.2 ^c
Unidentified	1.5 ± 0.4	1.1 ± 0.3	1.3 ± 0.3	1.0 ± 0.3	1.5 ± 0.3	1.0 ± 0.2
n-6/n-3	5.2 ± 0.5	1.2 ± 0.3 ^c	13.1 ± 1.0	5.4 ± 0.3 ^c	2.6 ± 0.5	0.5 ± 0.1 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

나. 육 돈

EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시키기 위하여 EPA와 DHA 합성효소용 stimulants를 liposomes 형태로 조제한 보호 system을 육돈에 4주간 급여한 결과 간장과 다리와 가슴조직의 총지방 함량은 Table 19와 같다. 총지질의 조성은 두 group간에 큰 차이가 없었으며 이는 EPA와 DHA 합성 효소 stimulants가 육돈의 각 조직에 존재하는 총지질의 합성에는 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

Table 19. Total lipid composition of various pig tissues affected by dietary liposomes either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Dietary liposomes	Liver	Leg	Breast
	----- % , total lipid/100g tissue -----		
WOES	3.5 ± 0.5	2.5 ± 0.5	2.0 ± 0.5
WES	3.2 ± 0.4	2.1 ± 0.1	1.9 ± 0.4

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

Liposomes 조제물에 의한 각 조직의 총지질에 존재하는 지방산 조성은 Table 20과 같다. Table 20에서와 같이 WES (EPA와 DHA 합성 효소 stimulants를 함유한 liposomes 조제물) 을 섭취한 육돈 group을 WOES (stimulants을 함유하지 않은 liposomes 조제물) 을 섭취한 육돈 group에 비해 EPA와 DHA 등의 n-3 불포화지방산이 간장, 다리, 가슴 조직 모두에서 현저히 증가된 조성을 보여주었으며 n-6/n-3 지방산의 비율도 간장조직에서 10.9에서 1.8, 다리조직에서 15.9에서 6.6, 가슴조직에서 17.7에서 5.1로 크게 감소하였다. 이러한 결과는 효소 stimulants를 함유한 liposomes이 매우 효율적으로 육돈의 소화기관과 혈관을 통과하여 각 조직의 세포내로 유입되어 EPA와 DHA 합성 효소에 결합되어 효소를 자극시킨 것으로 사료된다.

Table 20. Fatty acid composition of total lipids in various **pig tissues** affected by dietary **liposomes** either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	Liver		Leg		Breast	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	1.8 ± 0.5	1.4 ± 0.5	1.6 ± 0.5	1.0 ± 0.3
14:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
16:0	17.3 ± 1.2	16.0 ± 1.2	27.8 ± 1.8	25.8 ± 2.5	24.7 ± 2.5	23.0 ± 1.8
16:1	1.2 ± 0.5	0.9 ± 0.3	3.5 ± 0.5	3.0 ± 0.8	2.5 ± 0.4	2.5 ± 0.5
17:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr
18:0	28.9 ± 2.5	30.8 ± 2.5	25.5 ± 2.7	16.7 ± 1.3 ^b	25.4 ± 1.8	21.3 ± 1.5
18:1	14.4 ± 1.2	12.1 ± 0.8	18.1 ± 1.5	24.0 ± 1.9	16.5 ± 1.4	20.7 ± 1.8
18:2n-6	19.8 ± 0.7	17.3 ± 1.2	17.8 ± 1.2	22.2 ± 2.1	23.3 ± 2.1	23.0 ± 1.5
18:3n-3	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	1.4 ± 0.3 ^c	0.8 ± 0.2	1.6 ± 0.3 ^b
18:4n-3	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:0	tr	0.4 ± 0.2 ^c	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	tr	0.2 ± 0.1 ^c
20:1	tr	0.3 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.2
20:2n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	tr	0.8 ± 0.2 ^c	tr	0.3 ± 0.1 ^c	tr	0.4 ± 0.1 ^c
20:4n-6	13.2 ± 0.8	6.5 ± 0.8 ^c	2.5 ± 0.3	1.7 ± 0.3	2.8 ± 1.5	1.8 ± 0.3
20:3n-3	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:5n-3	0.2 ± 0.1	5.9 ± 0.5 ^c	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.2 ^c
22:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:4n-6	0.9 ± 0.3	0.2 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:5n-3	1.1 ± 0.2	2.7 ± 0.5 ^b	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.2 ^b	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.2 ^c
22:6n-3	1.2 ± 0.2	5.0 ± 0.5 ^c	0.4 ± 0.1	1.4 ± 0.3 ^c	0.3 ± 0.1	1.6 ± 0.4 ^c
24:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Unidentified	0.7 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.3 ± 0.1 ^b
n-6/n-3	10.9 ± 1.2	1.8 ± 0.3 ^c	15.9 ± 1.3	6.6 ± 0.6 ^c	17.7 ± 1.1	5.1 ± 0.5 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 21은 liposomes 조제물을 함유한 사료를 섭취한 두 group의 간장조직 중 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 보여주고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 지방산이 급격히 증가하였으며 n-6 지방산은 현저한 감소추세를 보여주었다. 즉 DHA인 경우 TG에서 0.6에서 1.0으로 PC에서 0.2에서 1.3으로 PE에서 0.5에서 2.4로 WES group에서 현저한 증가를 보여주었다. 이러한 결과는 육돈의 간장조직의 주요 3가지 지질종에서도 효소 stimulants 함유 liposomes 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성력을 증가시킨 것으로 간주된다.

Table 21. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in pig liver affected by dietary liposomes either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
----- mol% -----						
14:0	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.0	0.7 ± 0.2	0.3 ± 0.1
14:1	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.0 ^b	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
16:0	19.8 ± 3.5	25.9 ± 4.1	28.6 ± 2.2	29.7 ± 5.2	9.3 ± 2.0	13.7 ± 3.8
16:1	0.5 ± 0.2	1.5 ± 0.2 ^c	0.7 ± 0.2	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0
17:0	0.3 ± 0.2	0.9 ± 0.3	0.3 ± 0.1	1.3 ± 0.2 ^c	1.2 ± 0.5	1.8 ± 0.2
18:0	15.0 ± 2.2	14.9 ± 1.7	33.2 ± 3.5	36.2 ± 3.0	44.6 ± 5.3	55.6 ± 0.5
18:1	24.2 ± 3.5	29.7 ± 0.3	8.7 ± 1.5	11.3 ± 1.1	8.5 ± 0.8	6.0 ± 0.6
18:2n-6	28.3 ± 0.7	18.7 ± 1.1 ^b	19.8 ± 1.2	15.7 ± 1.2	20.5 ± 1.2	11.4 ± 3.1 ^c
18:3n-3	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.1 ^b	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	0.2 ± 0.1 ^c
18:4n-3	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.1 ^c
20:0	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	tr	tr	tr
20:1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.2	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:2n-6	0.3 ± 0.2	tr ^c	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	0.8 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0
20:4n-6	6.3 ± 0.8	2.0 ± 0.9 ^c	5.7 ± 0.8	1.5 ± 0.2 ^c	12.2 ± 1.5	5.0 ± 0.5 ^c
20:3n-3	tr	0.4 ± 0.1 ^c	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:5n-3	0.5 ± 0.2	1.4 ± 0.3 ^c	0.5 ± 0.2	1.3 ± 0.4 ^b	0.7 ± 0.7	1.8 ± 0.2 ^c
22:0	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:1	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:4n-6	0.3 ± 0.2	tr ^c	tr	tr	tr	tr
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:5n-3	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1 ^b
22:6n-3	0.6 ± 0.2	1.0 ± 0.0 ^b	0.2 ± 0.1	1.3 ± 0.4 ^c	0.5 ± 0.1	2.4 ± 0.2 ^c
24:1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0	tr	0.2 ± 0.0 ^c
Unidentified	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.0	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.8 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c
n-6/n-3	17.0 ± 1.2	4.6 ± 0.5 ^c	28.0 ± 1.7	5.1 ± 0.4 ^c	23.6 ± 2.2	3.1 ± 0.5 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 22는 육돈의 다리조직 중에 존재하는 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 나타내고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산이 급격히 증가하였으며 추측대로 n-6 지방산은 상대적으로 감소추세를 보여주었다. 이러한 결과는 육돈의 다리조직의 중요한 3가지 지질중에서도 효소 stimulants 함유 liposomes 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시킨 것으로 사료된다.

Table 22. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in pig leg affected by dietary liposomes either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	1.3 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2	1.6 ± 0.7
14:1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.4 ± 0.2 ^c	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.1 ^c
16:0	24.1 ± 2.8	26.5 ± 0.4	40.5 ± 2.5	51.4 ± 3.8 ^b	15.3 ± 1.4	9.4 ± 1.5
16:1	2.5 ± 0.3	2.2 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.5 ± 0.0	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.1
17:0	tr	0.2 ± 0.0 ^c	tr	0.5 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	3.9 ± 0.2 ^c
18:0	10.2 ± 1.2	8.6 ± 0.8	10.1 ± 0.9	11.1 ± 0.8	28.7 ± 2.7	51.7 ± 2.8 ^c
18:1	38.7 ± 3.5	37.3 ± 0.7	12.5 ± 1.2	10.5 ± 0.0	15.3 ± 1.2	5.9 ± 0.5 ^c
18:2n-6	21.5 ± 0.8	19.9 ± 0.7	32.4 ± 3.8	20.5 ± 0.7 ^c	23.8 ± 1.5	10.1 ± 0.4 ^c
18:3n-3	0.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.1 ^b
18:4n-3	tr	tr	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.2	2.7 ± 0.3 ^c
20:0	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.0	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:2n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	tr	0.3 ± 0.0 ^c	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.0
20:4n-6	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1	1.5 ± 0.5	0.6 ± 0.1	8.5 ± 0.9	5.0 ± 0.7 ^b
20:3n-3	tr	0.1 ± 0.0	tr	0.3 ± 0.0 ^c	tr	1.1 ± 0.2 ^c
20:5n-3	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.5 ± 0.2	1.3 ± 0.1 ^b
22:0	tr	tr	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	tr
22:1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.0 ^c	tr	tr
22:4n-6	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.5 ± 0.0 ^c
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	tr	0.2 ± 0.1 ^c
22:5n-3	tr	0.3 ± 0.0 ^c	tr	0.5 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	1.0 ± 0.2 ^c
22:6n-3	0.2 ± 0.1	1.7 ± 0.4 ^c	0.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1 ^c	0.5 ± 0.2	1.7 ± 0.2 ^b
24:1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.3 ^b
Unidentified	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.0 ^b	0.8 ± 0.3	0.6 ± 0.1
n-6/n-3	32.0 ± 2.3	6.1 ± 0.5 ^c	34.0 ± 2.5	7.2 ± 0.6 ^c	17.2 ± 1.1	1.9 ± 0.6 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 23은 두 group의 가슴조직에 존재하는 TG, PC, PE의 지방산 조성을 나타내는 것으로서 TG에서 WES group인 경우 WOES group에 비하여 DHA가 7배로 증가하였고 PC에서는 6배 PE에서는 4배 증가하므로서 n-6/n-3 비율이 WES group에서 각각 5.4, 6.1, 4.5로 급격히 감소하는 원인이 되었다.

Table 23. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in pig breast affected by dietary liposomes either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
----- mol% -----						
14:0	0.5 ± 0.2	1.4 ± 0.1 ^b	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2
14:1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.2	0.5 ± 0.1
16:0	30.3 ± 3.2	26.3 ± 0.2	48.5 ± 4.2	39.2 ± 1.5	15.2 ± 1.2	19.5 ± 2.4
16:1	2.4 ± 0.4	2.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.1
17:0	tr	0.2 ± 0.0 ^c	tr	0.3 ± 0.1 ^c	0.8 ± 0.3	0.8 ± 0.0
18:0	12.3 ± 1.0	8.3 ± 0.2	11.5 ± 1.3	7.9 ± 0.0	49.2 ± 3.8	28.0 ± 2.4 ^c
18:1	37.1 ± 3.2	36.2 ± 1.6	11.3 ± 1.0	32.2 ± 1.5 ^c	10.2 ± 1.4	17.6 ± 3.5 ^b
18:2n-6	15.3 ± 1.3	20.9 ± 0.8	25.3 ± 1.9	15.4 ± 1.1 ^c	13.8 ± 1.5	18.9 ± 2.0
18:3n-3	0.2 ± 0.1	1.0 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1
18:4n-3	tr	tr	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.0	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.1
20:0	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	tr	tr
20:1	tr	0.3 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:2n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.0 ^c	tr	0.3 ± 0.1 ^c
20:4n-6	1.2 ± 0.3	0.1 ± 0.0 ^c	1.3 ± 0.3	0.9 ± 0.2	6.3 ± 0.8	6.3 ± 0.8
20:3n-3	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	tr	tr
20:5n-3	tr	0.5 ± 0.0 ^c	tr	0.3 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.1	1.4 ± 0.0 ^c
22:0	tr	tr	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:1	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:4n-6	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-3	tr	0.8 ± 0.1 ^c	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.1	1.2 ± 0.1 ^c
22:6n-3	0.2 ± 0.1	1.5 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.1	1.3 ± 0.2 ^c	0.5 ± 0.2	2.2 ± 0.2 ^c
24:1	tr	tr	tr	0.2 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.0
Unidentified	0.5 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.6 ± 0.1	0.1 ± 0.0 ^c
n-6/n-3	41.3 ± 2.4	5.4 ± 0.4 ^c	23.6 ± 2.6	6.1 ± 0.5 ^c	11.4 ± 0.4	4.5 ± 0.3 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

3. Bilayer system 개발

가. 육 계

EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시키기 위하여 EPA와 DHA 합성효소용 stimulants를 bilayers 형태로 조제한 보호 system을 육계에 3주간 급여한 결과 간장과 다리와 가슴조직의 총지방 함량은 Table 24와 같다. 총지질의 조성은 두 group간에 큰 차이가 없었으며 이는 micelles나 liposomes를 급여했을 때와 같이 EPA와 DHA 합성 효소 stimulants가 육계의 각 조직에 존재하는 총지질의 합성에는 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

Table 24. Total lipid composition of various chicken tissues affected by dietary bilayers either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Dietary micelles	Liver	Leg	Breast
	----- % , total lipid/100g tissue -----		
WOES	6.7 ± 1.7	6.2 ± 0.7	1.7 ± 0.4
WES	5.6 ± 1.0	5.7 ± 0.5	1.7 ± 0.3

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

Table 25는 총지질의 지방산 조성을 나타내고 있다. WES (EPA와 DHA 합성 효소 stimulants를 함유한 bilayers 조제물) 을 섭취한 육계 group은 WOES (stimulants을 함유하지 않은 bilayers 조제물) 을 섭취한 육계 group에 비해 EPA와 DHA 등의 n-3 불포화지방산이 간장, 다리, 가슴 조직 모두에서 현저히 증가된 조성을 보여주었으며 n-6/n-3 지방산의 비율도 간장, 다리, 가슴 조직에서 1.2, 2.9, 1.5로서 WOES group의 6.6, 9.3, 8.0에 비하여 급격한 감소를 나타내었다.

Table 25. Fatty acid composition of total lipids in various **chicken tissues** affected by dietary **bilayer** either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	Liver		Leg		Breast	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.2
14:1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.1
16:0	26.8 ± 2.7	24.6 ± 2.5	22.5 ± 2.3	20.4 ± 2.1	25.1 ± 2.2	20.3 ± 1.8
16:1	3.5 ± 0.5	2.7 ± 0.7	4.7 ± 0.5	5.5 ± 0.7	3.5 ± 0.5	3.6 ± 0.4
18:0	20.4 ± 2.5	17.2 ± 0.8	9.2 ± 0.7	7.8 ± 0.5	10.2 ± 1.0	8.1 ± 0.5
18:1	22.0 ± 1.9	23.4 ± 2.5	31.2 ± 4.3	29.1 ± 2.3	31.5 ± 4.5	24.3 ± 2.1
18:2n-6	15.4 ± 1.0	11.8 ± 1.2	22.4 ± 2.1	19.8 ± 1.8	19.6 ± 1.5	16.0 ± 1.3
18:3n-3	0.8 ± 0.2	0.2 ± 0.1 ^c	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.2	0.7 ± 0.2
20:1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2
20:2n-6	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1
20:3n-6	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
20:4n-6	4.8 ± 0.5	2.9 ± 0.5	3.8 ± 0.6	1.5 ± 0.5 ^c	3.5 ± 0.5	1.4 ± 0.2 ^c
20:5n-3	0.5 ± 0.2	2.9 ± 0.4 ^c	0.3 ± 0.1	1.3 ± 0.3 ^c	0.4 ± 0.2	1.8 ± 0.4 ^c
22:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:4n-6	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1
22:5n-6	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-3	0.5 ± 0.2	1.3 ± 0.3 ^b	0.5 ± 0.2	1.3 ± 0.4 ^c	0.5 ± 0.2	2.3 ± 0.3 ^c
22:6n-3	1.5 ± 0.5	8.8 ± 0.7 ^c	0.8 ± 0.2	4.0 ± 0.3 ^c	1.2 ± 0.3	7.3 ± 0.5 ^c
Unidentified	1.7 ± 0.4	1.5 ± 0.5	1.8 ± 0.4	1.7 ± 0.3	1.8 ± 0.5	1.2 ± 0.3
n-6/n-3	6.6 ± 0.7	1.2 ± 0.3 ^c	9.3 ± 0.8	2.9 ± 0.4 ^c	8.0 ± 0.7	1.5 ± 0.4 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 26은 두 group의 간장조직 중 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 보여주고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 지방산이 급격히 증가하였으며 n-6 지방산은 상대적으로 감소추세를 보여주었다. 이러한 결과는 육계의 간장조직의 주요 3가지 지질종에서도 효소 stimulants 함유 bilayers 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성력을 증가시킨 것으로 간주된다.

Table 26. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in chicken liver affected by dietary bilayer either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2
14:1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	tr
16:0	30.3 ± 2.7	38.6 ± 3.5	38.6 ± 3.9	35.1 ± 3.2	25.3 ± 2.7	21.0 ± 2.3
16:1	4.0 ± 0.5	3.1 ± 0.3	1.8 ± 0.5	2.1 ± 0.3	2.7 ± 0.3	2.2 ± 0.3
18:0	20.1 ± 2.2	17.1 ± 1.5	18.5 ± 1.6	20.2 ± 2.5	37.7 ± 4.0	35.3 ± 3.1
18:1	32.2 ± 2.8	33.3 ± 3.5	13.2 ± 0.7	14.9 ± 1.1	4.9 ± 0.7	3.7 ± 0.5
18:2n-6	6.2 ± 0.7	4.4 ± 0.5	16.3 ± 0.9	13.9 ± 1.3	12.8 ± 1.5	9.6 ± 0.7
18:3n-3	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	2.2 ± 0.5	2.1 ± 0.4	3.0 ± 0.5	2.7 ± 0.3
20:1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.2 ± 0.2
20:2n-6	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	tr	0.1 ± 0.1 ^c
20:3n-6	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.2
20:4n-6	3.5 ± 0.5	0.1 ± 0.1 ^c	3.7 ± 0.8	1.6 ± 0.3 ^c	6.5 ± 0.7	5.0 ± 0.5
20:5n-3	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.1	1.5 ± 0.4 ^c	0.5 ± 0.2	3.8 ± 0.4 ^c
22:1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.1
22:4n-6	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	tr	tr	0.2 ± 0.1	tr ^c
22:5n-6	tr	0.1 ± 0.1 ^c	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.2
22:5n-3	tr	0.2 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1	1.1 ± 0.2 ^b
22:6n-3	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.7 ± 0.2	3.7 ± 0.5 ^c	2.1 ± 0.3	10.6 ± 0.8 ^c
Unidentified	1.8 ± 0.5	1.2 ± 0.3	1.5 ± 0.3	1.4 ± 0.5	1.2 ± 0.3	1.6 ± 0.5
n-6/n-3	12.8 ± 1.5	4.2 ± 0.4 ^c	6.1 ± 0.5	2.1 ± 0.3 ^c	3.4 ± 0.5	0.9 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 27은 육계의 다리조직에 중에 존재하는 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 보여주고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산이 급격히 증가하였으며 n-6 지방산은 상대적으로 감소추세를 보여주었다. 이러한 결과는 다른 조직에서와 같이 육계의 다리조직의 중요한 3가지 지질종에서도 효소 stimulants 함유 bilayers 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시킨 것으로 사료된다.

Table 27. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in chicken leg affected by dietary bilayer either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	1.2 ± 0.5	0.8 ± 0.2	1.2 ± 0.5	0.5 ± 0.2	2.0 ± 0.5
14:1	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	tr ^c
16:0	40.8 ± 3.7	39.1 ± 4.2	32.3 ± 4.0	34.7 ± 3.5	18.3 ± 1.5	11.7 ± 1.2 ^b
16:1	3.8 ± 0.5	4.0 ± 0.3	4.2 ± 0.5	3.7 ± 0.4	5.3 ± 0.4	6.9 ± 0.5
18:0	10.3 ± 0.9	9.5 ± 0.7	14.5 ± 1.5	12.7 ± 1.3	23.5 ± 2.7	22.0 ± 2.3
18:1	17.4 ± 1.8	20.6 ± 2.7	14.8 ± 1.7	16.8 ± 1.5	10.1 ± 1.2	7.8 ± 0.7
18:2n-6	15.3 ± 0.8	10.4 ± 1.5 ^b	19.2 ± 1.8	16.3 ± 1.5	16.9 ± 1.7	13.5 ± 1.5
18:3n-3	1.5 ± 0.3	1.2 ± 0.4	5.2 ± 0.7	4.8 ± 0.5	9.7 ± 0.5	8.8 ± 0.9
20:1	0.2 ± 0.2	0.6 ± 0.2	1.5 ± 0.5	2.8 ± 0.4	1.5 ± 0.4	5.3 ± 0.4 ^c
20:2n-6	1.2 ± 0.3	1.8 ± 0.4	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	tr	tr
20:3n-6	tr	0.1 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	tr ^c	tr	tr
20:4n-6	5.7 ± 0.5	3.4 ± 0.5	3.8 ± 0.2	1.1 ± 0.3 ^c	8.5 ± 0.7	6.9 ± 0.5
20:5n-3	tr	0.1 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.2 ^b	0.4 ± 0.1	1.8 ± 0.3 ^c
22:1	0.1 ± 0.1	tr ^c	tr	tr	0.2 ± 0.1	tr ^c
22:4n-6	tr	0.1 ± 0.1 ^c	tr	tr	0.5 ± 0.2	0.4 ± 0.2
22:5n-6	tr	0.1 ± 0.1 ^c	0.8 ± 0.2	1.2 ± 0.3	1.8 ± 0.4	2.2 ± 0.5
22:5n-3	tr	0.1 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.3 ^c	0.7 ± 0.2	1.9 ± 0.3 ^c
22:6n-3	1.2 ± 0.4	6.3 ± 0.3 ^c	0.3 ± 0.1	2.0 ± 0.2 ^c	1.2 ± 0.3	6.6 ± 0.6 ^c
Unidentified	1.8 ± 0.3	1.3 ± 0.5	1.6 ± 0.4	1.3 ± 0.4	1.7 ± 0.4	1.8 ± 0.3
n-6/n-3	8.2 ± 0.5	2.1 ± 0.4 ^c	4.1 ± 0.7	2.3 ± 0.5 ^b	2.3 ± 0.4	1.2 ± 0.3 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 28은 두 group의 가슴조직에 존재하는 TG, PC, PE의 지방산 조성을 나타내는 것으로서 TG에서 WES group인 경우 EPA와 DHA 등의 n-3 불포화지방산이 모든 지질종 (TG, PC, PE) 에서 급격한 증가를 나타내었고 따라서 n-6/n-3 비율이 WES group에서 급격히 감소하였다.

Table 28. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in chicken breast affected by dietary bilayer either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	1.0 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.8 ± 0.2	1.1 ± 0.3
14:1	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	tr	tr	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1
16:0	38.2 ± 4.0	40.8 ± 4.2	42.3 ± 4.7	40.4 ± 4.2	18.8 ± 1.5	10.7 ± 1.2 ^b
16:1	4.1 ± 0.7	3.1 ± 0.3	3.2 ± 0.5	2.3 ± 0.3	4.3 ± 0.5	5.0 ± 0.4
18:0	10.2 ± 1.3	8.8 ± 0.7	8.7 ± 0.7	7.6 ± 0.5	28.2 ± 3.2	26.0 ± 1.8
18:1	13.8 ± 1.5	19.0 ± 1.8	14.6 ± 1.5	20.0 ± 2.2	11.3 ± 0.8	10.6 ± 1.2
18:2n-6	24.7 ± 2.5	22.2 ± 1.9	19.0 ± 1.2	15.0 ± 1.2	15.3 ± 0.7	11.0 ± 0.8 ^b
18:3n-3	1.8 ± 0.4	1.5 ± 0.4	2.5 ± 0.4	2.2 ± 0.4	5.7 ± 0.6	5.5 ± 0.3
20:1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.2	1.5 ± 0.3	3.1 ± 0.3 ^b
20:2n-6	0.5 ± 0.2	tr ^c	0.7 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.2	0.4 ± 0.1
20:3n-6	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.1 ^b	0.8 ± 0.2	0.5 ± 0.2	tr	tr
20:4n-6	2.7 ± 0.5	0.2 ± 0.1 ^c	3.2 ± 0.5	1.5 ± 0.3 ^b	7.9 ± 0.7	4.3 ± 0.5 ^c
20:5n-3	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1 ^c	0.5 ± 0.1	2.6 ± 0.5 ^c
22:1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.2	tr	tr
22:4n-6	tr	0.1 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.1	tr ^c	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-6	tr	0.1 ± 0.1 ^c	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	1.2 ± 0.3	1.6 ± 0.4
22:5n-3	tr	0.3 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.1	1.8 ± 0.5 ^c	0.7 ± 0.2	2.6 ± 0.4 ^c
22:6n-3	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.2 ^b	0.5 ± 0.1	3.1 ± 0.7 ^c	2.2 ± 0.8	13.8 ± 1.5 ^c
Unidentified	1.7 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.6 ± 0.4	1.5 ± 0.3	1.2 ± 0.4	1.6 ± 0.4
n-6/n-3	11.8 ± 1.2	8.7 ± 0.7 ^b	6.9 ± 0.7	2.2 ± 0.3 ^c	2.7 ± 0.5	0.7 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E for 30 chicken for WES group and 10 chicken for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

나. 육 돈

EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시키기 위하여 EPA와 DHA 합성효소용 stimulants를 bilayers 형태로 조제한 보호 system을 육돈에 3주간 급여한 결과 간장과 다리와 가슴조직의 총지방 함량은 Table 29와 같다. 총지질의 조성은 두 group간에 큰 차이가 없었으며 이는 micelles나 liposomes를 급여했을 때와 같이 EPA와 DHA 합성 효소 stimulants가 육계의 각 조직에 존재하는 총지질의 합성에는 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

Table 29. Total lipid composition of various pig tissues affected by dietary bilayers either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Dietary micelles	Liver	Leg	Breast
	----- %, total lipid/100g tissue -----		
WOES	3.5 ± 0.5	2.5 ± 0.5	2.0 ± 0.5
WES	3.0 ± 0.2	2.4 ± 0.5	1.6 ± 0.1

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

Table 30은 총지질의 지방산 조성을 나타내고 있다. WES (EPA와 DHA 합성 효소 stimulants를 함유한 bilayers 조제물) 을 섭취한 육돈 group은 WOES (stimulants을 함유하지 않은 bilayers 조제물) 을 섭취한 육돈 group에 비해 EPA와 DHA 등의 n-3 불포화지방산이 간장, 다리, 가슴 조직 모두에서 현저히 증가된 조성을 보여주었으며 n-6/n-3 지방산의 비율도 간장, 다리, 가슴 조직에서 2.5, 5.6, 2.2로서 WOES group의 10.9, 15.9, 17.7에 비하여 급격한 감소를 나타내었다.

Table 30. Fatty acid composition of total lipids in various pig tissues affected by dietary bilayer either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	Liver		Leg		Breast	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.1	1.8 ± 0.5	1.2 ± 0.3	1.6 ± 0.5	1.2 ± 0.3
14:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
16:0	17.3 ± 1.2	21.0 ± 0.5	27.8 ± 1.8	24.5 ± 2.1	24.7 ± 2.5	25.5 ± 1.7
16:1	1.2 ± 0.5	0.6 ± 0.2	3.5 ± 0.5	2.8 ± 0.4	2.5 ± 0.4	2.2 ± 0.4
17:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr
18:0	28.9 ± 2.5	35.4 ± 1.8	25.5 ± 2.7	27.5 ± 1.8	25.4 ± 1.8	30.3 ± 2.5
18:1	14.4 ± 1.2	13.5 ± 0.5	18.1 ± 1.5	17.9 ± 1.3	16.5 ± 1.4	12.1 ± 1.1
18:2n-6	19.8 ± 0.7	10.2 ± 0.4 ^c	17.8 ± 1.2	19.2 ± 0.9	23.3 ± 2.1	20.7 ± 1.8
18:3n-3	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1	1.2 ± 0.3 ^b	0.8 ± 0.2	1.1 ± 0.3
18:4n-3	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:0	tr	tr	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	tr	0.2 ± 0.1 ^c
20:1	tr	0.7 ± 0.2 ^c	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.1
20:2n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	tr	2.7 ± 0.4 ^c	tr	0.3 ± 0.1 ^c	tr	0.4 ± 0.1 ^c
20:4n-6	13.2 ± 0.8	6.6 ± 0.6 ^c	2.5 ± 0.3	1.5 ± 0.3 ^b	2.8 ± 1.5	2.0 ± 0.4
20:3n-3	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:5n-3	0.2 ± 0.1	2.3 ± 0.3 ^c	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.2 ^b	0.2 ± 0.1	1.0 ± 0.2 ^c
22:0	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:4n-6	0.9 ± 0.3	tr ^c	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.0 ^b	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:5n-3	1.1 ± 0.2	1.9 ± 0.4	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.2 ^b	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.2 ^c
22:6n-3	1.2 ± 0.2	4.0 ± 0.5 ^c	0.4 ± 0.1	1.2 ± 0.3 ^c	0.3 ± 0.1	1.6 ± 0.3 ^c
24:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Unidentified	0.7 ± 0.2	0.2 ± 0.1 ^b	0.8 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c
n-6/n-3	10.9 ± 0.9	2.2 ± 0.5 ^c	15.9 ± 1.0	5.6 ± 0.7 ^c	17.7 ± 1.2	5.2 ± 0.5 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 31은 두 group의 간장조직 중 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 보여주고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 지방산이 급격히 증가하였으며 n-6 지방산은 상대적으로 감소추세를 보여주었다. 이러한 결과는 육돈의 간장조직의 주요 3가지 지질중에서도 효소 stimulants 함유 bilayers 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성력을 증가시킨 것으로 간주된다.

Table 31. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in pig liver affected by dietary bilayer either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.7 ± 0.3	0.6 ± 0.0	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.4 ± 0.2
14:1	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.0 ^b	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.0
16:0	19.8 ± 3.5	21.0 ± 1.0	28.6 ± 2.2	24.9 ± 0.1	9.3 ± 2.0	8.8 ± 0.3
16:1	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0
17:0	0.3 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.1 ^b	1.2 ± 0.5	0.9 ± 0.1
18:0	15.0 ± 2.2	13.7 ± 2.5	33.2 ± 3.5	30.2 ± 0.1	44.6 ± 5.3	44.7 ± 1.4
18:1	24.2 ± 3.5	26.1 ± 3.0	8.7 ± 1.5	10.2 ± 0.6	8.5 ± 0.8	5.8 ± 1.0
18:2n-6	28.3 ± 0.7	24.1 ± 3.9	19.8 ± 1.2	18.9 ± 1.0	20.5 ± 1.2	13.0 ± 0.1 ^c
18:3n-3	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
18:4n-3	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.0 ^c
20:0	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1 ^b	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:2n-6	0.3 ± 0.2	tr ^c	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.0
20:4n-6	6.3 ± 0.8	3.7 ± 0.8	5.7 ± 0.8	5.8 ± 0.2	12.2 ± 1.5	12.9 ± 0.2
20:3n-3	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:5n-3	0.5 ± 0.2	1.8 ± 0.4 ^c	0.5 ± 0.2	3.3 ± 0.3 ^c	0.7 ± 0.7	4.3 ± 0.6 ^c
22:0	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:1	tr	0.2 ± 0.1 ^c	tr	tr	tr	0.1 ± 0.1 ^c
22:4n-6	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.2	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:5n-6	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:5n-3	0.3 ± 0.1	1.5 ± 0.5 ^c	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.1	1.3 ± 0.0 ^c
22:6n-3	0.6 ± 0.2	1.7 ± 0.5 ^b	0.2 ± 0.1	3.5 ± 0.2 ^c	0.5 ± 0.1	6.5 ± 0.4 ^c
24:1	0.3 ± 0.1	0.8 ± 0.0 ^c	0.1 ± 0.1	tr ^c	tr	0.1 ± 0.1 ^c
Unidentified	0.5 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.8 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c
n-6/n-3	17.0 ± 1.2	4.4 ± 0.5 ^c	28.0 ± 1.8	3.2 ± 0.5 ^c	23.6 ± 1.5	2.1 ± 0.3 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 32는 육돈의 다리조직에 중에 존재하는 중성지질로서 TG, 극성지질로서 PC와 PE에 결합된 각종 지방산 조성을 보여주고 있으며 WOES group에 비해 WES group에서 EPA와 DHA 등의 n-3 다가불포화지방산이 급격히 증가하였으며 n-6 지방산은 상대적으로 감소추세를 보여주었다. DHA인 경우 TG는 0.2에서 1.4로 PC는 0.1에서 2.2로 PE는 0.5에서 2.7로 WES group에서 크게 증가하였다. 이러한 결과는 다른 조직에서와 같이 육돈의 다리조직의 중요한 3가지 지질종에서도 효소 stimulants 함유 bilayers 조제물 섭취가 매우 효과적으로 n-3 다가불포화지방산의 생합성을 증가시킨 것으로 사료된다.

Table 32. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in pig leg affected by dietary bilayer either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	1.4 ± 0.2 ^c	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.5 ± 0.1
14:1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.3 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1
16:0	24.1 ± 2.8	27.6 ± 1.8	40.5 ± 2.5	36.9 ± 1.3	15.3 ± 1.4	11.0 ± 1.8
16:1	2.5 ± 0.3	2.4 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1
17:0	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.3 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1 ^c
18:0	10.2 ± 1.2	8.4 ± 0.1	10.1 ± 0.9	7.8 ± 1.0	28.7 ± 2.7	30.5 ± 0.9
18:1	38.7 ± 3.5	39.6 ± 3.1	12.5 ± 1.2	24.4 ± 0.4 ^c	15.3 ± 1.2	13.8 ± 2.3
18:2n-6	21.5 ± 0.8	16.3 ± 0.8	32.4 ± 3.8	23.9 ± 3.0 ^b	23.8 ± 1.5	25.0 ± 3.7
18:3n-3	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1
18:4n-3	tr	tr	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2
20:0	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:2n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	tr	0.2 ± 0.0 ^c	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.0
20:4n-6	0.5 ± 0.1	0.1 ± 0.0	1.5 ± 0.5	0.4 ± 0.0	8.5 ± 0.9	7.4 ± 1.0
20:3n-3	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	tr	0.6 ± 0.2 ^c
20:5n-3	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.1	0.9 ± 0.1 ^c	0.5 ± 0.2	1.8 ± 0.3 ^c
22:0	tr	tr	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:1	tr	tr	tr	tr	tr	0.2 ± 0.1 ^c
22:4n-6	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	tr	0.4 ± 0.1 ^c
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	tr	0.2 ± 0.1 ^c
22:5n-3	tr	0.5 ± 0.0 ^c	tr	0.8 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.1	1.3 ± 0.2 ^c
22:6n-3	0.2 ± 0.1	1.4 ± 0.0 ^c	0.1 ± 0.1	2.2 ± 0.1 ^c	0.5 ± 0.2	2.7 ± 0.5 ^c
24:1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.4
Unidentified	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.6 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.3	0.3 ± 0.1 ^b
n-6/n-3	32.0 ± 2.1	4.7 ± 0.5 ^c	34.0 ± 1.8	5.2 ± 0.5 ^c	17.2 ± 0.7	4.4 ± 0.2 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

Table 33은 두 group의 육돈의 가슴조직에 존재하는 TG, PC, PE의 지방산 조성을 나타내는 것으로서 TG에서 WES group인 경우 EPA와 DHA 등의 n-3 불포화지방산이 모든 지질종 (TG, PC, PE) 에서 급격한 증가를 나타내었다. DHA인 경우 TG는 0.2에서 1.3으로 PC는 0.2에서 1.4로 PE는 0.5에서 4.4로 WES group에서 크게 증가하였다. 따라서 n-6/n-3 비율도 WES group에서 급격히 감소하였다.

Table 33. Fatty acid composition of triglycerides (TG), phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) in pig breast affected by dietary bilayer either with (WES) or without enzyme stimulants (WOES)^a

Fatty acid	TG		PC		PE	
	WOES	WES	WOES	WES	WOES	WES
	----- mol% -----					
14:0	0.5 ± 0.2	1.4 ± 0.2 ^c	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2
14:1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.2	0.6 ± 0.3
16:0	30.3 ± 3.2	29.5 ± 1.2	48.5 ± 4.2	40.5 ± 1.4	15.2 ± 1.2	11.0 ± 0.2
16:1	2.4 ± 0.4	2.1 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.0	0.7 ± 0.2	0.4 ± 0.1
17:0	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.2 ± 0.0 ^c	0.8 ± 0.3	1.8 ± 0.1 ^b
18:0	12.3 ± 1.0	9.6 ± 0.1	11.5 ± 1.3	7.2 ± 0.2	49.2 ± 3.8	36.6 ± 1.7
18:1	37.1 ± 3.2	39.3 ± 1.6	11.3 ± 1.0	24.8 ± 0.6 ^c	10.2 ± 1.4	9.4 ± 0.1
18:2n-6	15.3 ± 1.3	14.4 ± 0.0	25.3 ± 1.9	21.6 ± 1.0	13.8 ± 1.5	16.7 ± 1.4
18:3n-3	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.0
18:4n-3	tr	tr	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.0
20:0	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr	tr	tr
20:1	tr	0.3 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:2n-6	tr	tr	tr	tr	tr	tr
20:3n-6	tr	tr	tr	0.3 ± 0.1 ^c	tr	0.4 ± 0.0 ^c
20:4n-6	1.2 ± 0.3	0.1 ± 0.0 ^c	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.2	6.3 ± 0.8	10.9 ± 0.4 ^b
20:3n-3	tr	tr	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
20:5n-3	tr	0.6 ± 0.0 ^c	tr	0.8 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.1	2.8 ± 0.4 ^c
22:0	tr	tr	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c
22:1	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22:4n-6	tr	tr	tr	0.1 ± 0.0 ^c	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.2
22:5n-6	tr	tr	tr	tr	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.2
22:5n-3	tr	0.5 ± 0.0 ^c	0.1 ± 0.1	0.8 ± 0.1 ^c	0.3 ± 0.1	1.9 ± 0.1 ^c
22:6n-3	0.2 ± 0.1	1.3 ± 0.1 ^c	0.2 ± 0.1	1.4 ± 0.1 ^c	0.5 ± 0.2	4.4 ± 0.2 ^c
24:1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	0.1 ± 0.0 ^c	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.0 ^c
Unidentified	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0 ^c	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1
n-6/n-3	41.3 ± 3.2	5.0 ± 0.3 ^c	23.6 ± 2.2	7.0 ± 0.6 ^c	11.4 ± 0.8	2.7 ± 0.3 ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 pigs for WES group and 10 pig for WOES group.

^b Indicates significant difference from the WOES group, P<0.05.

^c Indicates significant difference from the WOES group, P<0.01.

육계와 육돈의 체내조직 중 특히 근육조직의 세포내에서 n-3 다가불포화 지방산이 EPA와 DHA의 생합성을 증가시키기 위한 본 연구에서 볼 때, 효소 stimulant 운반 system으로 micelles와 liposomes와 bilayers를 이용했을 경우에 육계와 육돈에 따라서 또 각 조직의 지방종에 따라서도 다양하게 n-3 불포화지방산의 증진효과를 보여주었다. 따라서 세가지 운반 system 중 전체적으로 가장 효과적인 것을 지적하기에는 매우 어려우나 육계와 육돈의 특정 부위나 특정 지방종에 입각하여 EPA와 DHA등의 n-3 다가불포화지방산 합성을 증가시키기 위해서는 모든 Table들을 참고로 micelles나 liposomes나 bilayers 등의 운반 system을 경우에 맞게 선택하여 효율적으로 n-3 지방산을 증가시켜야 할 것으로 사료된다.

제 4 절 결 론

가축의 생체실험을 통하여 n-3 다가불포화지방산의 합성을 증가시키기 위한 연구로서 기초연구에서 확인한 n-3 다가불포화 지방산 합성용 desaturase 역가 조절을 위한 stimulant들을 소화기관에서 파괴되지 않고 binding 물질과 결합시켜 가축의 조직세포막 내로 유입시키므로서 EPA와 DHA synthase의 역가를 증진시켜 가축의 조직 세포내 n-3 다가불포화 지방산을 효율적으로 증가시키므로서 당초의 연구목표를 달성하였다.

1. EPA와 DHA synthase (desaturase) 역가증진을 위한 각각의 stimulant를 가축 (육계 및 육돈) 의 조직세포막 내로 파괴되지 않고 유입시키기 위하여 각종 amphipathic agent를 이용하여 micelle 형 보호 system을 개발하여 in vivo 실험을 수행하여 가축의 각 조직에서 n-3 다가불포화지방산을 효율적으로 증가시켰다.
2. 가축의 체내 각종 조직세포 내에서 n-3 다가불포화지방산의 합성을 증가시키기 위하여 EPA와 DHA synthase (desaturase) 역가증진을 위한 적절한 stimulant를 liposome 형으로 보호 system을 개발하여 in vivo 실험을 수행하여 효율적으로 n-3 다가불포화지방산을 증가시켰다.
3. 가축의 조직세포 내에서 EPA와 DHA의 생합성을 증가시키기 위하여 EPA와 DHA synthase 효소 역가증진을 위한 stimulant를 bilayer 형으로 보호 system을 개발하여 가축의 조직세포막 내로 유입시키므로서 in vivo 실험을 통하여 n-3 다가불포화지방산의 합성을 증가시켰다.

제 5 절 참고문헌

1. Alshaikh, J. 1991. Desaturation During Total Knee Replacement. *British J. Anaesthesia*, 67: 502.
2. Alshaikh, B. 1991. Effect of Inspired Oxygen Concentration on the Incidence of Desaturation in Patients Undergoing Total Hip Replacement. *British J. Anaesthesia*, 66: 580-582.
3. Arthington, B. A., Bennett, L. G., Skatrud, P. L., Guynn, C. J., Barbuch, R. J., Ulbright, C. E. and Bard, M. 1991. Cloning, Disruption and Sequence of the Gene Encoding Yeast C-5 Sterol Desaturase. *Gene*, 102: 39-44.
4. Bartley, G. E., Viitanen, P. V., Pecker, I., Chamovitz, D., Hirschberg, J. and Scolnik, P. A. 1991. Molecular Cloning and Expression in Photosynthetic Bacteria of a Soybean cDNA Coding for Phytoene Desaturase, an Enzyme of the Carotenoid Biosynthesis Pathway. *PNAS*. 88: 6532-6536.
5. Borlakoglu, J. T., Edwardswebb, J. D. and Dils, R. R. 1991. Evidence for the Induction of Fatty Acid Desaturation in Proliferating Hepatic Endoplasmic Reticulum in Response to Treatment with Polychlorinated Biphenyls - Are Fatty Acid Desaturases Cytochrome P-450 Dependent Monooxygenases. *Int. J. Biochem.* 23: 925-932
6. Brenner, R. R. 1990. Endocrine Control of Fatty Acid Desaturation. *Agr. Biol. Chem.* 54: 773-774.
7. Britsch, L. 1990. Purification and Characterization of Flavone Synthase I, a 2-Oxoglutarate-Dependent Desaturase. *Arch. Biochem. Biophys.* 282: 152.

8. Brochard, L., Mion, G., Isabey, D., Bertrand, C., Messadi, A. A., Mancebo, J., Boussignac, G., Vasile, N., Lemaire, F. and Harf, A. 1991. Constant-Flow Insufflation Prevents Arterial Oxygen Desaturation During Endotracheal Suctioning. *Am. Review of Respiratory Disease*, 144: 395-400.
9. Christiansen, E. N., Lund, J. S., Rortveit, T. and Rustan, A. C. 1991. Effect of Dietary n-3 and n-6 Fatty Acids on Fatty Acid Desaturation in Rat Liver. *Biochim. Biophys. Acta*, 1082: 57-62.
10. Coffey, M. J., Fitzgerald, M. X. and McNicholas, W. T. 1991. Comparison of Oxygen Desaturation During Sleep and Exercise in Patients with Cystic Fibrosis. *Chest*, 100: 659-662.
11. Cook, H. W., Byers, D. M., Palmer, F. B. S., Spence, M. W., Rakoff, H., Duval, S. M. and Emken, E. A. 1991. Alternate Pathways in the Desaturation and Chain Elongation of Linolenic Acid, 18:3(n-3), in Cultured Glioma Cells. *J. Lipid Res.* 32: 1265-1274.
12. Croughwell, N. D., Frasco, P., Blumenthal, J. A., Leone, B. J., White, W. D. and Reves, J. G. 1992. Warming During Cardiopulmonary Bypass Is Associated with Jugular Bulb Desaturation. *Annals of Thoracic Surgery*, 53: 827-832.
13. Davies, S. W., John, L. M., Wedzicha, J. A. and Lipkin, D. P. 1991. Overnight Studies in Severe Chronic Left Heart Failure - Arrhythmias and Oxygen Desaturation. *British Heart J.* 65: 77-83.
14. Donner, C. F., Braghiroli, A., Sacco, C. and Carone, M. 1990. Non-Apnoeic Nocturnal O-2 Desaturations in COPD Patients with Daytime Borderline Hypoxaemia. *European Respiratory J.* 3: S538.

15. Dunkley, E. A., Guffanti, A. A., Clejan, s. and Krulwich, T. A. 1991. Facultative Alkaliphiles Lack Fatty Acid Desaturase Activity and Lose the Ability to Grow At Near-Neutral pH When Supplemented with an Unsaturated Fatty Acid. *J. Bacteriol.* 173: 1331-1334.
16. Fletcher, E. C., Goodnight, S., Miller, T., Luckett, R. A., Rosborough, J., Munafo, D. and Muniz, S. 1990. Atelectasis Affects the Rate of Arterial Desaturation During Obstructive Apnea. *J. Applied Physiol.* 69: 1863-1868.
17. Fletcher, E. C., Goodnightwhite, S., Munafo, D., Miller, C. C., Luckett, R. and Qian, W. 1991. Rate of Oxyhemoglobin Desaturation in Obstructive Versus Nonobstructive Apnea. *Am. Review of Respiratory Disease*, 143: 657-660.
18. Fletcher, E. C., Scott, D., Qian, W., Luckett, R. A., Miller, C. C. and Goodnightwhite, S. 1991. Evolution of Nocturnal Oxyhemoglobin Desaturation in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and a Daytime PaO₂ Above 60-mm Hg. *Am. Review of Respiratory Disease*, 144: 401-405.
19. Fletcher, E. C., White, S. G., Munafo, D., Miller, C. C., Luckett, R. and Qian, W. 1991. Effect of Cardiac Output Reduction on Rate of Desaturation in Obstructive Apnea. *Chest*, 99: 452-456.
20. Fraser, P. D., Delasrivas, J., Mackenzie, A. and Bramley, P. M. 1991. *Phycomyces-Blakesleeanus carB* Mutants - Their Use in Assays of Phytoene Desaturase. *Phytochem.* 30: 3971-3976.
21. Garces, R. and Mancha, M. 1991. In vitro Oleate Desaturase in Developing Sunflower Seeds. *Phytochem.* 30: 2127-2130.

22. Giesbrecht, G. G., Puddy, A., Ahmed, M., Younes, M. and Anthonisen, N. R. 1991. Exercise Endurance and Arterial Desaturation in Normobaric Hypoxia with Increased Chemosensitivity. *J. Applied Physiol.* 70: 1770-1774.
23. Giner, J. L., Silva, C. J. and Djerassi, C. 1990. Biosynthesis - Enzymatic Desaturation of 24(S)-Ethylcholesterol. *J. Am. Chemical Society*, 112: 9626.
24. Glenn, E. B., Thomas, J. S., Charles, Y. and Pablo, A. S. 1990. Carotenoid desaturases from *Rhodobacter capsulatus* and *Neurospora crassa* are structurally and functionally conserved and contain domains homologous to flavoprotein disulfide oxidoreductases. *J. Biol. Chem.* 265: 16020.
25. Heemskerk, J. W. M., Schmidt, H., Hammer, U. and Heinz, E. 1991. Biosynthesis and Desaturation of Prokaryotic Galactolipids in Leaves and Isolated Chloroplasts from Spinach. *Plant Physiol.* 96: 144-153.
26. Horvath, I., Torok, Z., Vigh, L. and Kates, M. 1991. Lipid Hydrogenation Induces Elevated 18:1-CoA Desaturase Activity in *Candida-lipolytica* Microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1059: 126-130.
27. Kamisaka, Y., Yokochi, T., Nakahara, T. and Suzuki, O. 1990. Modulation of Fatty Acid Incorporation and Desaturation by Trifluoperazine in Fungi. *Lipids*, 25: 787-792.
28. Kang, E. S., Johnson, S. B. and Holman, R. T. 1991. Fatty Acid Composition of Hepatic Triglycerides in Rey's Syndrome - Implications for Hepatic Desaturase Abnormalities. *Clinica Chimica Acta*, 204: 167-178.
29. Kearns, E. V., Hugly, S. and Somerville, C. R. 1991. The Role of Cytochrome-b₅ in Δ 12 Desaturation of Oleic Acid by Microsomes of Safflower (*Carthamus-Tinctorius* L). *Arch. Biochem. Biophys.* 284: 431.

30. Knutzon, D. S. and Scherer, D. E. 1991. Nucleotide Sequence of a Complementary DNA Clone Encoding Stearoyl-Acyl Carrier Protein Desaturase from Castor Bean, *Ricinus-Communis*. *Plant Physiol.* 96: 344-345.
31. Koba, K., Abe, K. and Sugano, M. 1990. Effects of Amino Acid Composition of Dietary Protein on Linoleic Acid Desaturation in Rats. *Agr. Biol. Chem.* 54: 2711-2718.
32. Kouchiyama, S., Honda, Y. and Kuriyama, T. 1990. Influence of Nocturnal Oxygen Desaturation on Circadian Rhythm of Testosterone Secretion. *Respiration*, 57: 359-363.
33. Kowalcczykschroder, S. and Sandmann, G. 1992. Interference of Fluridone with the Desaturation of Phytoene by Membranes of the Cyanobacterium *Aphanocapsa*. *Pesticide Biochem. Physiol.* 42: 7-12.
34. Kudo, N., Nakagawa, Y., Waku, K., Kawashima, Y. and Kozuka, H. 1991. Prevention by Zinc of Cadmium Inhibition of Stearoyl-CoA Desaturase in Rat Liver. *Toxicology*, 68: 133-142.
35. Lanigan, C. J. 1992. Oxygen Desaturation After Dental Anaesthesia. *British J. Anaesthesia*, 68: 142-145.
36. Legrand, P. and Bensadoun, A. 1991. Stearyl-CoA Desaturase Activity in Cultured Rat Hepatocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1086: 89-94.
37. Legrand, P. and Hermier, D. 1992. Hepatic $\Delta 9$ Desaturation and Plasma VLDL Level in Genetically Lean and Fat Chickens. *Int. J. Obesity*, 16: 289-294.
38. Linden, H., Misawa, N., Chamovitz, D., Pecker, I., Hirschberg, J. and Sandmann, G. 1991. Functional Complementation in *Escherichia-Coli* of Different Phytoene Desaturase Genes and Analysis of Accumulated Carotenes. *Zeitschrift fur Naturforschung Section C.* 46: 1045-1051.

39. Lindholm, M. and Eklund, A. 1991. The Effects of Dietary Protein on The Fatty Acid Composition and $\Delta 6$ Desaturase Activity of Rat Hepatic Microsomes. *Lipids*, 26: 107-110.
40. Lyudnikova, T. A., Chernysheva, E. K., Bezzubov, A. A. and Kritskii, M. S. 1990. Interrelationship of Desaturation of Fatty Acids of Phospholipids and the Synthesis of Carotenoids During Adaptation of Neurospora-Crassa Cells to Temperature and Light Influence. *Biochem. -USSR*, 55: 1647-1653.
41. Marra, C. A. and Dealaniz, M. J. T. 1990. Mineralocorticoids Modify Rat Liver $\Delta 6$ Desaturase Activity and Other Parameters of Lipid Metabolism. *Biochem. Int.* 22: 483-494.
42. Messinezy, M., Aubry, S., Oconnell, G., Treacher, D. F. and Pearson, T. C. 1991. Oxygen Desaturation in Apparent and Relative Polycythaemia. *British Medical J.* 302: 216.
43. Mihara. K. 1990. Structure and Regulation of Rat Liver Microsomal stearoyl-CoA Desaturase Gene. *J. Biochem.* 108: 1022-1029.
44. Miller, R. F., Buckland, J. and Semple, S. J. G. 1991. Arterial Desaturation in HIV Postive Patients Undergoing Sputum Induction. *Thorax*, 46: 449-453.
45. Mimouni, V., Christiansen, E. N., Blond, J. P., Ulmann, L., Poisson, J. P. and Bezar, J. 1991. Elongation and Desaturation of Arachidonic and Eicosapentaenoic Acids in Rat Liver - Effect of Clofibrate Feeding. *Biochim. Biophys. Acta*, 1086: 349-353.
46. Mimouni, Virginie, J. -P. Poisson. 1990. Spontaneous Diabetes in BB Rats: Evidence for Insulin Dependent Liver Microsomal $\Delta 6$ and $\Delta 5$ Desaturase Activities. *Hormone and Metabolic Res.* 22: 405.

47. Morita, N., Gotoh, M., Okajima, N., Okuyama, H., Hayashi, H., Higashi, S. and Murata, N. 1992. Both the Anaerobic Pathway and Aerobic Desaturation Are Involved in the Synthesis of Unsaturated Fatty Acids in *Vibrio Sp* Strain ABE-1. *Febs Letters*, 297: 9-12.
48. Norman, H. A., Pillai, P. and Stjohn, J. B. 1991. In vitro Desaturation of Monogalactosyldiacylglycerol and Phosphatidylcholine Molecular Species by Chloroplast Homogenates. *Phytochem.* 30: 2217-2222.
49. Poisson, J. P. G. and Cunnane, S. C. 1991. Long-Chain Fatty Acid Metabolism in Fasting and Diabetes - Relation Between Altered Desaturase Activity and Fatty Acid Composition. *J. Nutr. Biochem.* 2: 60-71.
50. Rolph, C. E., Moreton, R. S. and Harwood, J. L. 1990. Control of Acyl Lipid Desaturation in the Yeast *Rhodotorula-Gracilis* via the Use of the Cyclopropenoid Fatty Acid, Stercolate. *Applied Microbiol. Biotechnol.* 34: 91-96.
51. Rosenberg, J. and Kehlet, H. 1991. Postoperative Episodic Oxygen Desaturation in the Sleep Apnoea Syndrome. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 35: 368-369.
52. Rosenthal, M. D., Garcia, M. C. Jones, M. R. and Sprecher, H. 1991. Retroconversion and Δ -4 Desaturation of Docosatetraenoate (22:4(n-6)) and Docosapentaenoate (22:5(n-3)) by Human Cells in Culture. *Biochim. Biophys. Acta*, 1083: 29-36.
53. Ruizgutierrez, V. and Muriana, F. J. G. 1992. Effect of Ingestion of Thermally Oxidized Frying Oil on Desaturase Activities and Fluidity in Rat-Liver Microsomes. *J. Nutr. Biochem.* 3: 75-79.

54. Sandmann, G., Kowalczyk-Schroder, S., Taylor, H. M. and Boger, P. 1992. Quantitative Structure Activity Relationship of Fluridone Derivatives with Phytoene Desaturase. *Pesticide Biochem. Physiol.* 42: 1-6.
55. Sandmann, G., Ward, C. E., Lo, W. C., Nagy, J. O. and Boger, P. 1990. Bleaching Herbicide Flurtamone Interferes with Phytoene Desaturase. *Plant Physiol.* 94: 476-478.
56. Schmidt, H. and Heinz, E. 1990. Desaturation of Oleoyl Groups in Envelope Membranes from Spinach Chloroplasts. *PNAS.* 87: 9477-9480.
57. Schmidt, H. and Heinz, E. 1990. Involvement of Ferredoxin in Desaturation of Lipid-Bound Oleate in Chloroplasts. *Laboratory Anim. Sci.* 40: 214-220.
58. Schnapf, B. M. 1991. Oxygen Desaturation During Fiberoptic Bronchoscopy in Pediatric Patients. *Chest*, 99: 591-594.
59. Serrano, A., Gimenez, P., Schmidt, A. and Sandmann, G. 1990. Immunocytochemical Localization and Functional Determination of Phytoene Desaturase in Photoautotrophic Prokaryotes. *J. General Microbiol.* 136: 2465-2470.
60. Shanklin, J., Mullins, C. and Somerville, C. 1991. Sequence of a Complementary DNA from *Cucumis-Sativus L* Encoding the Stearoyl-Acyl-Carrier Protein Desaturase. *Plant Physiol.* 97: 467-468.
61. Shanklin, J. and Somerville, C. 1991. Stearoyl-Acyl-Carrier-Protein Desaturase from Higher Plants Is Structurally Unrelated to the Animal and Fungal Homologs. *PNAS.* 88: 2510-2514.

62. Shimizu, S., Akimoto, K., Shinmen, Y., Kawashima, H., Sugano, M. and Yamada, H. 1991. Sesamin Is a Potent and Specific Inhibitor of $\Delta 5$ Desaturase in Polyunsaturated Fatty Acid Biosynthesis. *Lipids*, 26: 512-516.
63. Silva, C. J., Giner, J. L. and Djerassi, C. 1992. Biosynthetic Studies of Marine Lipids .37. Enzymatic Desaturation of 24(S)- Methylcholesterol to 23, 24-Methylenecholesterol, Norficesterol, and Northebesterol- Further Evidence for a Unified Biosynthesis of Marine Sterols with Unique Side Chains. *J. Am. Chem. Society*, 114: 295-298.
64. Stuke, J. E., McDonough, V. M. and Martin, C. E. 1990. The OLE1 Gene of *Saccharomyces-Cerevisiae* Encodes the Delta-9 Fatty Acid Desaturase and Can Be Functionally Replaced by the Rat Stearoyl-CoA Desaturase Gene. *J. Biol. Chem.* 265: 20144-20149.
65. Suneja, S. K., Nagi, M. N., Cook, L., Osei, P. and Cinti, D. L. 1991. Do Rat Kidney Cortex Microsomes Possess the Enzymatic Machinery to Desaturate and Chain Elongate Fatty Acyl-CoA Derivatives. *Lipids*, 26: 359-363.
66. Thompson, G. A., Scherer, D. E., Aken, S. F., Kenny, J. W., Young, H. L., Shintani, D. K., Kridl, J. C. and Knauf, V. C. 1991. Primary Structures of the Precursor and Mature Forms of Stearoyl-Acyl Carrier Protein Desaturase from Safflower Embryos and Requirement of Ferredoxin for Enzyme Activity. *PNAS*. 88: 2510-2514.
67. Ulmann, L., Blond, J. P., Maniongui, C., Poisson, J. P., Durand, G., Bezard, J. and Pascal, G. 1991. Effects of Age and Dietary Essential Fatty Acids on Desaturase Activities and on Fatty Acid Composition of Liver Microsomal Phospholipids of Adult Rats. *Lipids*, 26: 127-133.

68. Ulmann, L., Poisson, J. P., Blond, J. P. and Bezard, J. 1991. Incorporation into Liver Microsomal Lipids of Linoleic and Stearic Acids and of Their Respective Products of Δ -6 and Δ 9 Desaturation, γ -Linolenic and Oleic Acids - Effect of Age and of Blackcurrant Seed Oil. *Biochem.* 30: 230-236.
69. Uy-Yu, N., Kawashima Y., Horii, S. and Kozuka, H. 1990. Effects of Chronic Administration of Perfluorooctanoic Acid on Fatty Acid Metabolism in Rat Liver: Relationship among Stearoyl-Coenzyme A Desaturase, 1-Acylglycero-phosphocholine Acyltransferase, and Acyl Composition of Microsomal Phosphatidyl-choline. *J. Pharmacobio-Dynamics*, 13: 581.
70. Venkatesan, S., Rideout, J. M. and Simpson, K. J. 1990. Microsomal Delta-9, Delta-6 and Delta-5 Desaturase Activities and Liver Membrane Fatty Acid Profiles in Alcohol-Fed Rats. *Biomed. Chromatogr.* 4: 234-238.
71. Waltherlarsen, S., Sloth, M. and Valentin, N. 1991. Arterial Desaturation in Healthy Children During and After Minor Surgery. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 35: 621-625.
72. Weiner, F. R., Smith, P. J., Wertheimer, S. and Rubin, C. S. 1991. Regulation of Gene Expression by Insulin and Tumor Necrosis Factor- α in 3T3-L1 Cells- Modulation of the Transcription of Genes Encoding Acyl-CoA Synthetase and Stearoyl-CoA Desaturase-1. *J. Biol. Chem.* 266: 23525-23528.
73. Yabe, K., Ando, Y. and Hamasaki, T. 1991. Desaturase Activity in the Branching Step Between Aflatoxin-B1 and Aflatoxin-G1 and Aflatoxin-B2 and Aflatoxin-G2. *Agr. Biol. Chem.* 55: 1907-1912.

74. Yasni, S., Imaizumi, K. and Sugano, M. 1991. Effects of an Indonesian Medicinal Plant, Curcuma-Xanthorrhiza Roxb, on the Levels of Serum Glucose and Triglyceride, Fatty Acid Desaturation, and Bile Acid Excretion in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Agr. Biol. Chem.* 55: 3005-3038.
75. Zhao, C., Lofstedt, C. and Wang, X. 1990. Sex Pheromone Biosynthesis in the Asian Corn Borer *Ostrinia furnacalis* (II): Biosynthesis of (E)- and (Z)-12-Tetradecenyl Acetate Involves Δ 14 Desaturation. *Archivew of Insect Biochem. Physiol.* 15: 57.

제 5 장 세포막 유동성 증가에 의한 냉동육의 품질저하 방지

제 1 절 서 설

세포막 유동성 조절을 통한 고품질의 축산물을 생산하기 위한 지질대사 조절은 축산물의 저장성 향상에 매우 중요하다. 축산물은 유통시 냉동에 따른 냉동육류의 질적저하로 인하여 많은 경제적 손실때문에 육류의 질적저하를 방지하기 위한 대책이 시급한 실정이다. 특히 우리나라와 같은 WTO 체제하에서 값싼 수입육류들이 대량으로 수입되고 있는 실정에서 국내 육류의 고품질을 유지하기 위하여 냉동 및 해동에 따른 품질의 저하를 방지하는 것은 매우 중요하다. 더욱이 외국에서 냉장육류들이 도입될 경우 우리나라의 육제품은 더욱 더 큰 타격을 받을 수 있기 때문에 본 연구를 통하여 근육조직의 세포막 유동성을 조절하므로써 냉동시에도 신선육과 같은 질적 수준을 유지하는 것은 현실적으로 유통과정에서의 편의나 경제적으로 큰 의미를 갖는다. 가축의 근육조직에 존재하는 세포막의 지질에서 phosphatidyl choline (PC)와 phosphatidyl ethanolamine (PE)가 가장 높은 비율을 점유하고 있으며 이들 지질은 또한 alkylacyl, alkenylacyl 그리고 diacyl이라는 3종류의 지방종으로 분류할 수 있다. 그중 alkylacyl과 alkenylacyl group은 glycerol 분자 1번 위치에 ether bond를 포함하고 있어서 ether containing lipid에 속하며 alkenylacyl group은 ether bond 뒤에 이중결합이 있는 지방종으로 plasmalogen 이라고 부른다. 포유동물에서의 ether lipid는 주로 신경조직과 심근, 신장, 근육, 혈소판 그리고 등에 분포되어 있으며 특히 신경조직의 myelin sheath에 ethanolamine plasmalogen이 다량 함유되어 있다. 보통 ether lipid의 1번 위치는 포화지방산인 C16:0, C18:0 그리고 이중결합이 1개인 18:1이 주로 결합되고 있고 sn-2 position에는 AA 등 PUFA들이 결합하므로써 세포막 유동성에 큰 비중을 차지하고 있다. Alkylacyl group은 PC에 많이 분포되어 있고 alkenylacyl group은 PE에 많이 분포되어 있으나 특이하게 심근에서는 PC에 다량의 alkenylacyl group이 분포되어 있다. Ether lipid의 전구체는 glycolysis 과정중에 발생하는 dihydroxyacetone phosphate (DHAP) 와 fatty acyl-CoA가 acyl-CoA: DHAP acyltransferase에 의해 생성되는 acyldihydroxyacetone phosphate 이다. 이 acyl DHAP에 CoA가 환원된 long chain acyl fatty alcohols이 alkyl DHAP synthase에 의해 alkyl DHAP가 되며 이것이 alkyl desaturatedp에 의해 plasmalogen으로 전환된다. Alkyl DHAP의 환원과 sn-2 position에 fatty

acyl chain의 결합으로 1-alkyl-2-acyl-sn-glycero-3-phosphate가 되며 이 alkyl group을 포함한 ether lipid가 혈소판 활성화인자 (platelet-activating factor, PAF) 로 전환된다. Ether lipid의 생물학적 기능은 잘 알려져 있지 않으나 phospholipase A1과 A2를 작용시켰을 때 plasmalogen의 acyl chain의 가수분해가 diacyl group의 가수분해보다 낮았으며 ether lipid의 AA는 오랫동안 저장되어 있었다는 보고가 있으므로 ether lipid는 polyunsaturated fatty acid (PUFA) 를 저장하는 기능이 높기 때문에 세포막 유동성에 긍정적 효과를 준다. 혈소판 활성화인자인 PAF의 합성 경로는 1-alkyl-2-acyl-sn-glycero-3-phosphocholine이 phospholipase A2에 의해 sn-2 position의 acyl chain이 분리되어 1-alkyl-2-lyso-sn-glycero-3-phosphocholine (lyso-PAF) 이 되고 이 lyso-PAF가 acetyltransferase에 의해 PAF로 되는 경로와 둘째 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol에 choline phosphotransferase의 작용에 의해 CDP-choline이 결합되어 PAF로 되는 2가지 경로가 있다. 효소 choline phosphotransferase의 활성도가 acetyltransferase 활성도에 비해 약 100배 정도 높으며 위의 2경로를 관찰해 볼 때 sn-2 position에 짧은 사슬인 acetate나 propionate가 결합되어 있을 때는 choline phosphotransferase가 작용하는 반면 acetyltransferase는 sn-2 position에 긴사슬의 PUFA 즉 주로 AA가 결합되어 있을 때 작용하는 특성을 지니고있기 때문에 세포막의 불포화도에 큰 영향을 끼쳐 유동성 증가에 효과를 미칠 수 있다. 아직까지 PAF의 생물학적 기능은 명확하게 밝혀지지 않았지만 강력한 생물학적 활성화인자로 혈소판 응고, 화학적 유도에 대한 반응과 화학적 활성을 유도하며 세포결착 증가, 기관지, 고혈압, 알레르기 등과도 관계가 있어 생체의 여러가지 기능을 조절하는데 깊이 관련되어 있는 물질이다. PAF가 AA의 유리화 PGE₂, 생성의 원인이었으며 lyso-PAF로 전환되면서 sn-2 position에 결합되어 있는 AA를 유리시키기 때문에 AA 대사물인 2 series의 prostaglandins과 4series의 leucktrienes로 전환되어 세포막 대사에 큰 영향을 끼치게 된다. n-3 지방산 섭취가 PAF 합성에 미치는 영향에서 EPA가 다량 함유된 물고기유를 섭취한 쥐의 혈장에서 lyso-PAF의 양이 상당히 감소되었고 혈청의 TXB₂ 수준도 매우 낮아졌다고 하였으며 6주간 EPA를 섭취한 사람의 혈소판의 PAF의 양이 47% 줄어들었으나 DHA는 PAF에 영향을 주지 않는다고 보고하였다. 외부 lyso-PAF의 없이 EPA와 DHA를 섭취한 쥐가 해바라기유를 섭취한 group 보다 신장 조직에서의 PAF 합성을 위한 acetyltransferase의 활성도가 40% 낮았다고 보고하였다. 이는 n-3 지방산 섭취가 PAF의 합성을 낮추고 아울러 lyso-PAF의 sn-2 position에 결합되어 있는 acyl chain의 조성을 변화시켜 세포막의 지질 대사에 큰 영향을 미칠 수 있음을 알 수 있다. n-3 지방산이 풍부한 물고기유를 7주간 쥐에게 섭취시켰을 때

CGP와 EGP의 3 subclasses 전체에 n-6 지방산인 C18:2, C22:5 등은 상당히 줄어든 반면 n-3 지방산인 EPA, DPA 그리고 DHA는 상당히 증가되었다. 그리고 오히려 DHA가 EPA의 증가보다 전반적으로 높았으며 ether containing lipid 인 alkylacyl과 alkenylacyl group에서 DPA가 diacyl group의 DPA에 비해 높은 비율로 증가되었다. 마찬가지로 물고기유를 섭취한 사람의 alkenylacyl group에서의 EPA를 분석한 실험에서도 이와 비슷한 결과를 보였으므로 n-3 지방산 섭취로 3 subclasses의 acyl chain의 n-6 지방산의 결합을 차단시키고 대신 n-3 지방산이 많은 비율로 결합되므로 eicosanoid 합성과 대사에 좋은 영향을 미친다. 또한 [1-14C] hexadecanol을 복강에 주사하여 n-3 지방산 섭취시 3-subclasses의 변화를 측정하였을 때 ether lipid인 alkylacyl과 alkenylacyl group의 양이 줄어들었고 EPA 섭취구에서는 alkylacyl group은 줄어든 반면 alkenylacyl과 diacyl group의 양은 n-6 지방산 섭취 group과 비교하여 변화를 보이지 않았다. Alkylacyl group은 PAF 합성의 전구체로서 n-3 지방산 섭취시 감소되었으므로 n-3 지방산 섭취가 PAF 합성 대사조절에도 효과가 있음을 알 수 있다.

또 세포막 유동성을 저하시키는 세포막 구성 cholesterol의 양을 최소화 하기 위하여 cholesterol 합성 대사조절을 위한 cholesterol 전구체인 HMG-CoA 합성효소를 저해하는 n-3 다가불포화지방산을 운반 system을 통하여 세포내로 주입시키는 방법이 매우 유효한 것으로 간주된다. 이러한 지방대사에 조절기능을 이용하여 PUFA를 세포막 인지질에 많이 결합할 수 있게 대사를 조절하므로써 세포막에 존재하는 인지질을 통한 세포막 유동성을 매우 효율적으로 조절할 수 있다. 따라서 diet에 의한 지방섭취는 PAF의 합성을 저하시켜 생리적 질병을 예방할 수 있을뿐만 아니라 가축의 근육조직내에 세포막 유동성을 크게 증가시키므로써 전반적인 축산물의 품질을 크게 증가시킬 수 있다.

제 2 절 연구수행 방법

1. 가축의 세포막 인지질의 구성 및 다가불포화지방산에 따른 세포막 유동성의 변화

가. 육계실험

1) 세포막 유동성 증가용 첨가제 개발

육계의 세포막 유동성을 증가시키기 위하여 불포화도가 매우 높은 지방산을 많이 함유한 지질 (Table 1) 을 이용하여 효율적으로 육계의 근육 세포막으로 유입시키기 위하여 Fig. 1과 같은 방법으로 사료 첨가제를 개발하였으며 사료첨가제를 함유한 실험용 육계사료는 Table 2와 같다.

2) 사양실험

생후 2주된 육계 60두를 2 group로 나누어 30두는 대조구로 나머지 30두는 실험구로 이용하였다. 대조구는 시판 육계용 사료를 급여하였으며 실험구는 본 실험을 위해서 조제한 실험용사료를 ad libitum으로 3주간 급여하였다.

3) 시료채취 및 세포막 지질분석

사양실험을 마친 대조구와 실험구의 육계를 도살 후 -10°C 의 냉동실에서 3일간 냉동보관하였다. 냉동된 계육을 상온에서 10시간 해동한 후 가슴부위 근육을 채취하여 일부는 근육세포의 plasma membrane fractionation을 통한 각종 인지질 및 인지질 acyl-chain과 cholesterol을 포함한 중성지질 조성을 위하여 사용하였으며, 일부는 세포막의 ultra structure를 측정하기 위한 전자현미경 시료를 이용하였다. Plasma membrane은 Fig. 2에서와 같이 fractionation한 후 총지질을 추출하였다.

분리한 육계의 가슴조직을 Folch 등의 방법으로 chloroform/methanol (2:1, v/v) 혼합용액에 넣고 1시간 방치시킨 다음 polytron homogenizer (Kinematica ag., Switzerland) 로 미세하게 파쇄한 후 완전히 지질이 추출되도록 2시간 동안 방치하였다. 증류수를 첨가하여 교반한 뒤 2000rpm에서 10분간 원심분리하여 chloroform 층을 추출하였다. 질소가스를 이용하여 하층액의 chloroform을 휘발시킨 뒤 총지질의 양을 측정하였으며 총지질에 2ml chloroform/methanol (2:1, v/v) 혼합용액을 첨가하여 용해시켜 -20°C 냉동고에 보관하였다.

Table 1. Acyl chain composition of marine oil for chicken and pig diet

Acyl chain ^a	Composition (mol%)	
	Fish Oil	
14 : 0	3.2	
16 : 0	21.4	
16 : 0	3.9	
18 : 0	6.2	
18 : 1	15.2	
18 : 2n-6	2.5	
18 : 3n-3	1.3	
18 : 4n-3	1.9	
20 : 0 & 20 : 1	7.8	
20 : 4n-6	1.4	
20 : 5n-3	9.5	
22 : 1	4.7	
22 : 4 & 22 :	0.7	
5n-6		
22 : 6n-3	18.3	
n-6/n-3	0.1	

^a Minor fatty acids have been excluded from the table.

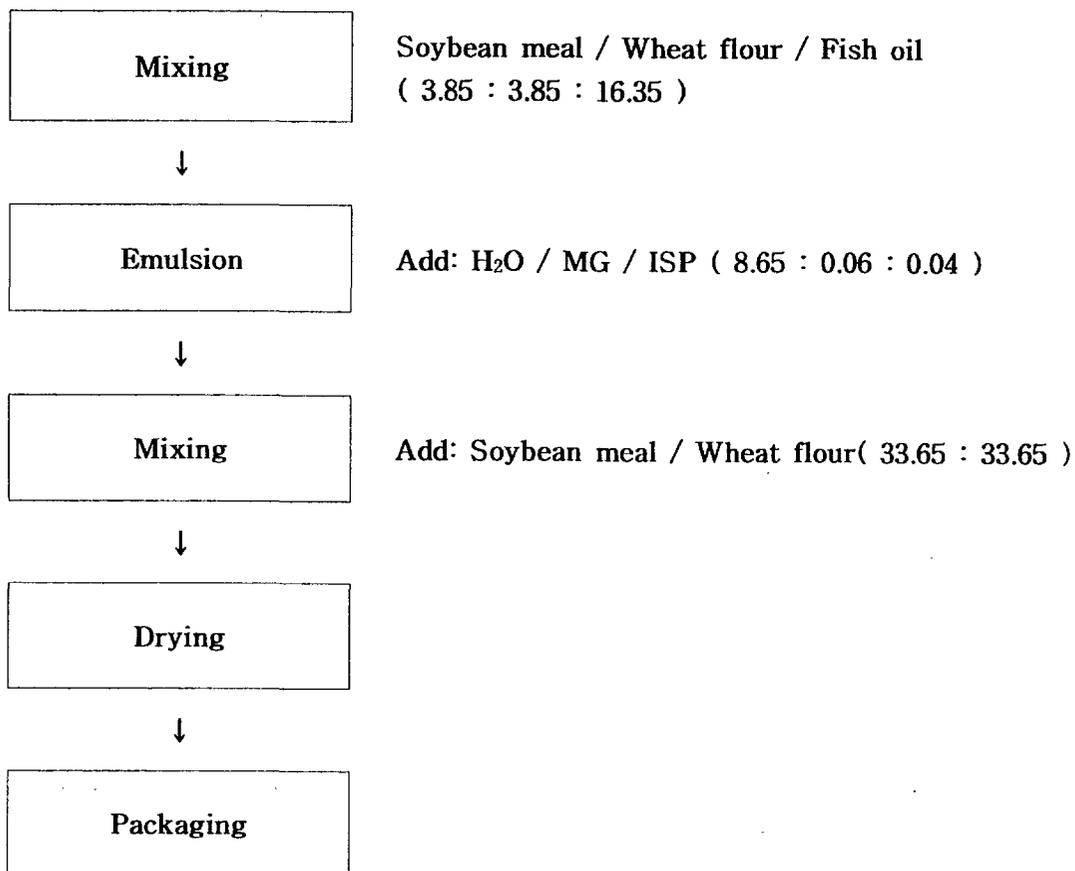


Fig. 1. Procedure for marine oil emulsion as feed additive for chicken.

Table 2. Ingredients of feedstuffs for chicken

Ingredients	Chicken feedstuffs (wt%)
Corn	24.4
Wheat	40.0
Soybean Meal(44% protein)	23.3
Rapeseed Meal(made in China)	4.0
Rice bran	0.13
Digesta	0.3
Beef fat	0.9
Lime stone	0.5
Tricalcium Phosphate (18% phosphate)	1.5
Salt (toasted)	0.2
Lysine (98%)	0.19
Methionine (50%)	0.4
Choline (25%)	0.2
Vit.-Min. Mix (Layer)	0.6
베타핀	0.05
Marine oil emulsion	3.2
Ethoxyquin (25%)	0.03
Tocopherol (10%)	0.05
코리나복스	0.05
Total	100.0

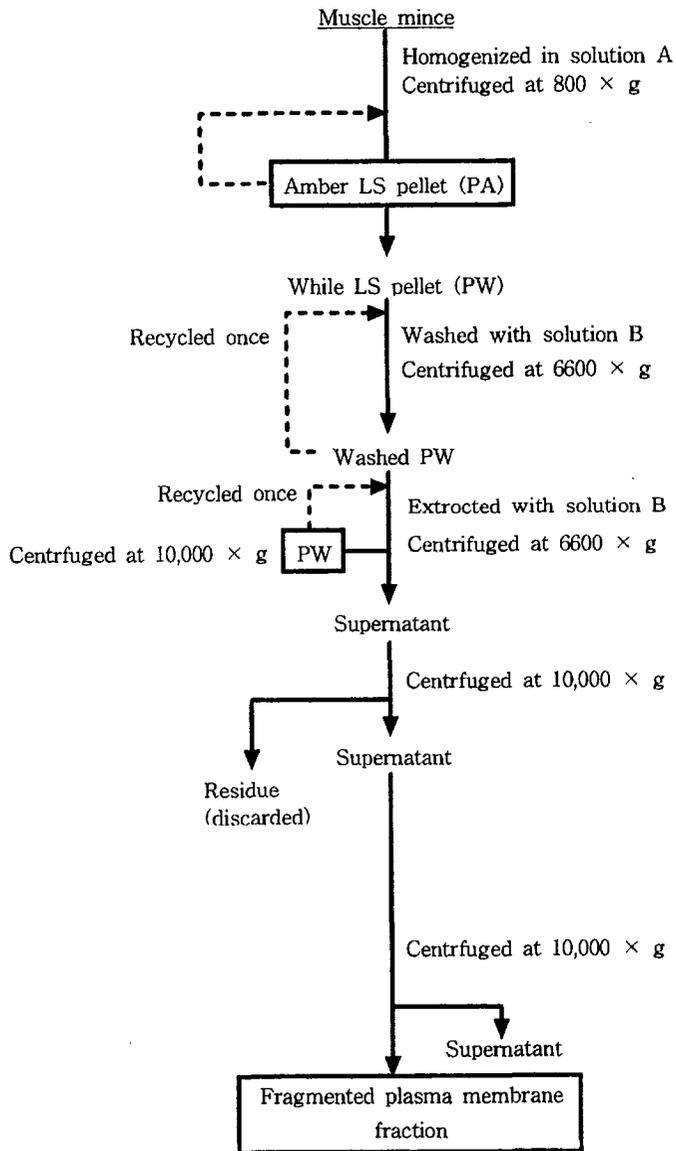


Fig. 2. Procedure for isolation of subcellular fractions. LS, low-speed; PA amber pellet; PW, white pellet.

총지질로부터 인지질을 분리하기 위하여 thin layer chromatography (TLC) 를 이용하였다. TLC 판은 Merck silicagel 60 glass precoated 20 × 20cm plates (without fluorescein indicator) 를 이용하였으며 총지질을 점적하기 전에 TLC 판을 100℃ 건조기에서 1시간 동안 활성화시켰고 TLC의 전개를 위한 용매 체계로는 chloroform, methanol, acetic acid, 그리고 H₂O (50:37.5:3.5:2, v/v/v/v) 186ml 되게 하여 이용하였으며 TLC chamber는 whatman chromatography paper (두께 0.18mm) 로 내부를 lining한 후 chamber 전체가 용매증기로 동일한 조건이 되도록 포화상태가 되게 하였다.

TLC 판의 하단부로부터 1.5cm 지점에 hemilton syringe로 2ml chloroform/methanol (2:1, v/v) 혼합용액에 용해되어 있는 총지질을 일정량 점적한 다음 hood내에서 완전히 건조시켜 TLC 판을 용매조에 넣어 상단부로부터 1cm 지점까지 전개하였다. 전개가 완료된 plate를 꺼내어 건조시킨 뒤, 2,7-dichlorofluoresceine (BHD indicator, England) 용액을 분사하였다. 분사된 plate를 28% ammonium hydroxide (NH₄OH) 증기에 노출시켜 인지질 band가 선명하게 보이도록 한 뒤 자외선 아래에서 각종 인지질 band (PC, PS, PI, PE, LPC, SM) 를 standard R_f치와 비교하여 동정하였다.

분리 동정된 TLC 판의 인지질 중 PC, phosphatidyl serine(PS), phosphatidyl inositol(PI), PE, lysophosphatidyl choline(LPC), sphingomyelin(SM) band를 긁어서 시험관에 담고 internal standard로 10 μl의 15:0를 첨가한 다음 methylation 시키기 위해서 6% methanolic-sulfuric acid를 첨가하여 90℃ 항온수조에서 90분간 반응시켰다. 지방산을 methylation 시킨 후 methyl-ester를 분리하기 위하여 petroleum ether를 넣고 교반한 후 H₂O를 첨가하여 2000rpm으로 원심분리한 다음 petroleum ether층만을 분리하였다. Gas liquid chromatography (GLC) 로 분석하기 위하여 질소가스로 ether를 휘발시키고 hexane으로 다시 용해하여 지방산을 분석하였다. GLC의 분석조건은 detector temperature 220℃, column final temperature 220℃, 공기압력 0.5kg/cm, 수소압력 0.5kg/cm, 질소압력 0.25kg/cm, chart speed 2mm/min이 되도록 조정하여 지방산을 분석하였다. Column은 DB-225 megabor column (J&W Scientific, U.S.A.) 을 이용하였고 EPA와 DHA를 포함한 분리된 지방산은 Nuchek standard GLC-87과 GLC-68로 동정하였다.

4) 세포막의 ultra structure 확인

대조구와 실험구의 계육을 -10℃에서 3일간 냉동 후 상온에서 10시간 해동한 계육의 가슴부위 근육이 냉동과 해동에 따른 세포막 파괴현상을 측정하기

위하여 전자현미경 (EM109, Zeiss, Germany) 을 이용하여 다음과 같이 세포막 ultra structure를 관찰하였다.

가) TEM (전자현미경) 시료 제작 방법

원리 : 물체는 투과되지 않고 그 외의 부분은 투과됨

cf) SEM은 물체표면을 관찰함

모델명 : EM109

회사명 : ZEISS(독일)

나) Fixation (소요시간: 1일)

1. Karnovsky 2 hours in weak vaccum
2. Wash in 0.05M Cacodylate buffer (PH 7.2) for 20min × 2 times
3. 1% o'smium tetroxide, for 2 hours, under the hood
4. Wash distilled water for 1-2 min
5. Overnight in 0.5% ruanyl acetate in the refrigerator

다) Dehydration (소요시간 : 1일)

1. Ethanol series of 30%, 50%, 70%, 80%, 95%, 100%, 100%, 100% for 20 min each
2. Propylene oxide 20 min × 2 times under the hood

라) Infiltration with Embedding Medium (소요시간 : 1일)

1. Infiltrate with 50%-50% propylene:spurr.under the hood for 2 hours
2. Infiltrate with 100% spurr for next 4 hours or overnight keep this in desiccator with a vaccum
3. Put freshly made spurr in beem capsules or in flat embedding molds that have been oven-dried (70°C). Be sure that you have made labels (using pencil) and have cut them out and put them in the molds

마) Embeding (소요시간 : 1일)

1. Using dental canal pick, remove the specimens from the vials that they were processed in and place the specimens in the capsules or molds so that they are ever so slightly overfilled. the embedding medium shrink somewhat during the polymerizing process

2. place capsules or molds in the 70°C oven for at least 8 hours

바) 초박절편 (소요시간 : 4일)

사) 촬영, 현상 및 인화 (소요시간 : 3일)

나. 육돈실험

1) 육돈의 근육 세포막 유동성 증가용 사료 첨가제 개발

육돈의 세포막 유동성을 증가시키기 위하여 불포화도가 매우 높은 지방산 함유 지질 (Table 1) 을 이용하여 효율적으로 육돈의 근육 세포내로 유입시키기 위하여 Fig. 1과 같은 방법으로 사료 첨가제를 개발하였으며 사료첨가제를 함유한 실험용 육돈사료는 Table 3과 같다.

2) 육돈의 사양관리

생후 28일된 육돈 20두를 2 group로 나누어 10두는 대조구로 나머지 10두는 실험구로 이용하였다. 대조구와 실험구는 본 실험을 위해서 조제한 대조구용과 실험용사료를 ad libitum으로 4주간 급여하였다.

3) 분석 시료채취 및 세포막 지질분석

육계실험의 경우와 동일함

4) 세포막의 ultra structure 확인

육계실험의 경우와 동일함

Table 3. Ingredients of feedstuffs for control and experimental (exp) groups of pigs

Ingredients	Control (Wt%)	Exp (Wt%)
Corn	10.0	10.0
Wheat	40.0	40.0
Wheat bran	6.1	6.1
Molasses	3.0	3.0
Soybean meal(44% protein)	30.1	30.1
Rapeseed meal(made in China)	3.0	3.0
Digesta	0.6	0.6
Lime stone	0.6	0.6
Tricalcium phosphate (18% phosphate)	1.4	1.4
Salt (toasted)	0.3	0.3
Lysine (98%)	0.04	0.04
Methionine (50%)	0.03	0.03
Vit.-Min. mix (Layer)	0.1	0.1
Marine oil emulsion		4.7
Tallow emulsion	4.7	
Ethoxyquin (25%)	0.03	0.03
Total	100.00	100.00

2. 인지질에 친화적인 다가불포화지방산의 가축 조직 세포 내로의 유입

가. 육계실험

1) 다가불포화지방산의 인지질 친화력 실험

가장 중요한 다가불포화지방산인 n-3 지방산과 n-6지방산의 인지질로의 친화력을 실험하기 위하여 eicosapentaenoic acid (EPA) 나 docosahexanoic acid (DHA) 와 같은 n-3 지방산이 다량 함유된 어유지방과 linoleic acid (LA) 나 arachidonic acid (AA) 와 같은 n-6 지방산이 다량 함유된 옥수수 지방 (Table 4) 을 이용하여 유화성 사료를 Table 2에서와 같이 조제하였다.

육계 10두를 5두씩 2 group으로 나누어 5두는 n-3 지방산 함유사료를 나머지 5두는 n-6 지방산 함유사료를 3주간 급여하였다. 3주후 육계의 가슴 근육을 채취하여 총지질을 추출한 후 총 인지질 중의 지방산을 분석하였다.

Table 4. Fatty acid composition of either corn oil (CO) or fish oil (FO) diet

Fatty acid	Composition (mol%)	
	CO	FO
14 : 0	0.5	4.7
16 : 0	12.5	18.7
16 : 1	0.2	7.6
17 : 0	tr	1.1
18 : 0	2.8	6.7
18 : 1	28.6	24.7
18 : 2n-6	52.8	6.6
18 : 3n-6	-	0.4
18 : 3n-3	0.7	1.4
20 : 0	tr	-
20 : 1	tr	7.5
20 : 3n-6	-	0.1
20 : 4n-6	0.1	0.6
20 : 5n-3	-	6.0
22 : 0	0.6	-
22 : 1	0.2	6.8
22 : 5n-3	-	0.6
22 : 6n-3	-	5.2
Unidentified ^a	1.0	1.3

^a Unidentified fatty acids.

나. 육돈실험

1) 육돈에서 다가불포화지방산의 인지질 친화력 실험

불포화도가 높은 다가불포화지방산인 n-3 지방산과 n-6 지방산의 인지질로의 친화력을 실험하기 위하여 육계의 경우와 같이 eicosapentaenoic acid (EPA) 나 docosahexanoic acid (DHA) 와 같은 n-3 지방산이 다량 함유된 어유지방과 linoleic acid (LA) 나 arachidonic acid (AA) 와 같은 n-6 지방산이 다량 함유된 옥수수 지방 (Table 4) 을 이용하여 유화성 사료를 Table 3에서와 같이 조제하였다.

육돈 10두를 5두씩 2 group으로 나누어 5두는 n-3 지방산 함유사료를 나머지 5두는 n-6 지방산 함유사료를 4주간 급여하였다. 사양 4주후 육돈의 등심 근육을 채취하여 총지질을 추출한 후 총 인지질 중의 지방산을 분석하였다.

3. 세포막 유동성 증진을 위한 세포막 구성 cholesterol의 합성저해

가. 육계실험

1) n-3 다가불포화지방산의 운반

본 실험에서는 n-3 지방산이 다른 종류의 불포화지방산에 비하여 근육의 세포막 인지질의 불포화에 가장 크게 기여한다는 점을 고려하여, 실험구용 사료 조제를 위하여 불포화도가 높은 n-3 다가불포화지방산이 다량 함유된 fish oil (Table 5) 을 사용하여 Table 2에서 사용한 marine oil emulsion 대신에 fish oil emulsion을 이용하였고 나머지 육계용 사료 조성분은 Table 2에서와 같게 조제하였다. 대조구용 사료는 일반시판 육계용 사료를 이용하였다.

육계의 가슴 조직을 이용하여 불포화지방산의 세포내 유입이 cholesterol의 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 육계 10두를 2 group으로 나누어 5두는 일반 육계사료를 나머지 5두는 본 실험을 위해서 조제한 사료를 3주간 급여하였다.

Table 5. Acyl chain composition of fish oil for dietary study

Acyl chain ^a	Composition (mol%)
	Fish oil
14 : 0	3.3
16 : 0	20.7
16 : 1	5.7
18 : 0	7.1
18 : 1	19.2
18 : 2n-6	1.8
18 : 3n-3	1.1
18 : 4n-3	1.7
20 : 0 & 20 : 1	4.2
20 : 4n-6	0.5
20 : 5n-3	11.3
22 : 1	4.5
22 : 4 & 22 : 5n-6	0.8
22 : 6n-3	14.5
n-6/n-3	0.1

^a Minor fatty acids have been excluded from the table.

2) 육계의 가슴조직내 cholesterol의 변화

Cholesterol 측정을 위한 standard curve 작성을 위하여 먼저 cholesterol 분석용 시약을 조제하였다.

Stock Ferriz chloride solution: 2.5g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Ferriz chlorid) 을 100ml phosphoric acid에 녹인다.

Color reagent: Stock Ferriz chlorid solution의 4ml에 황산 (Sulfuric acid) 을 첨가하여 50ml가 되게 한다 (50ml 메스 플라스크를 이용한다.)

순수한 cholesterol을 15ml T-tube에 각각 $10\mu\text{l}$, $20\mu\text{l}$, $30\mu\text{l}$, $40\mu\text{l}$, $50\mu\text{l}$, $60\mu\text{l}$ 담는다. 각 표준 cholesterol을 건조시킨 후 acetic acid 6ml를 주입하여 vortex한다. 그 후 color reagent 4ml을 첨가한 후 10번 흔든 후 (inversion) 10분 후 spectrophotometer로 standard curve을 작성한다. 총지질 $50\sim 100\mu\text{l}$ 을 취하여 시료중의 cholesterol을 측정하기 위하여 육계의 가슴 근육조직에 존재하는 총지질을 추출한 후 standard curve 작성시와 같은 방법으로 cholesterol을 측정하였다.

나. 육돈실험

1) 육돈 근육 세포내로의 n-3 다가불포화지방산 유입

육돈용 실험사료를 조제하기 위하여 불포화도에 가장 큰 영향을 주는 n-3 지방산이 육돈의 근육 세포막 인지질의 불포화에 가장 크게 기여한다는 점을 고려하여 불포화도가 높은 n-3 다가불포화지방산이 다량 함유된 fish oil (Table 5) 을 이용하여 Table 3에서 사용한 marine oil emulsion 대신에 fish oil emulsion을 이용하였고 나머지 육돈용 사료 조성분은 Table 3에서와 같게 조제하였다. 대조구용 육돈사료는 Table 3에서와 같이 조제하여 이용하였다.

불포화지방산에 의한 육돈의 등심 근육 세포내 cholesterol의 변화를 관찰하기 위하여 육돈 10두를 2 group으로 나누어 5두는 대조구용 육돈사료를 나머지 5두는 본 실험을 위해서 조제한 육돈사료를 4주간 급여하였다.

2) 육돈의 등심 근육조직내 cholesterol의 변화

육계실험에서와 같이 cholesterol 측정을 위한 standard curve 작성을 위하여 먼저 cholesterol 분석용 시약으로 Stock Ferriz chloride solution 과 Color reagent을 육계의 경우와 같이 조제하였다.

순수한 cholesterol을 15ml T-tube에 각각 $10\mu\text{l}$, $20\mu\text{l}$, $30\mu\text{l}$, $40\mu\text{l}$, $50\mu\text{l}$, $60\mu\text{l}$ 담는다. 각 표준 cholesterol을 건조시킨 후 acetic acid 6ml를 주입하여 vortex한다. 그 후 color reagent 4ml을 첨가한 후 10번 흔든 후 (inversion) 10

분 후 spectrophotometer로 standard curve을 작성한다. 총지질 50~100 μ l을 취하여 시료중의 cholesterol을 측정하기 위하여 육돈의 등심 근육조직에 존재하는 총지질을 추출한 후 standard curve 작성시와 같은 방법으로 cholesterol을 측정하였다.

제 3 절 연구결과 및 고찰

1. 가축의 세포막 인지질의 구성 및 다가불포화지방산에 따른 세포막 유동성의 변화

가. 육계실험

1) 세포막 지질 분석

육계의 가슴 근육조직의 세포막 유동성을 증가시키기 위하여 세포막 인지질의 acyl-chain 불포화도를 상승시키기 위한 사양실험을 수행하였다. 실험결과 Table 6~9에서와 같이 대조구에 비하여 세포막 인지질 내의 acyl-chain의 불포화도를 증가시킨 실험구에서는 EPA나 DHA와 같은 다가불포화지방산이 크게 증가하므로써 세포막 유동성을 현저히 증가시킨 것으로 사료된다.

PC인 경우 DHA가 0.5에서 4.5mol%로 PE인 경우는 DHA가 1.3에서 4.8mol%로 증가하였다 (Table 4). Table 5는 PS와 PI의 acyl-chain 조성을 보여주고 있으며 가장 불포화도가 높은 DHA인 경우 PS에서는 본 실험용 사료를 급여시켰을 경우 0.6에서 4.7mol%로 증가하였고 PI에서는 trace에서 3.8mol%로 증가하였다. Table 6은 육계의 가슴 근육조직에 존재하는 세포막 인지질 중 LPC와 SM의 acyl-chain 조성을 나타내고 있으며 LPC인 경우 DHA가 control에서는 trace 였으나 실험구에서는 2.7mol%로 크게 증가하였고 SM인 경우 DHA가 trace에서 3.0mol%로 크게 증가하였다. Table 7은 CL의 acyl-chain을 보여주고 있으며 CL 역시 다른 인지질과 같이 DHA가 0.7에서 4.5mol%로 증가하였다. 따라서 본 실험용 사료를 육계에게 급여하였을 경우 육계의 가슴 근육조직 세포막에 존재하는 인지질의 다가불포화지방산 특히 n-3 지방산이 크게 증가하므로써 세포막의 인지질 불포화도가 현저히 높아졌다. 이러한 세포막 인지질의 불포화도 증가에 따라 세포막의 유동성이 비례하여 증가하므로써 냉동 후 근육 세포막 파괴에 의한 급격한 육질의 저하를 방지할 수 있는 것으로 사료된다.

Table 6. Acyl chain composition of phosphatidyl choline (PC) and phosphatidyl ethanolamine (PE) of chicken fed diets either without (control) or with (exp) marine oil^a

Acyl chain	Composition (mol%)			
	PC		PE	
	Control	Exp	Control	Exp
14 : 0	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	1.1 ± 0.3	0.5 ± 0.2
14 : 1	tr	tr	tr	tr
16 : 0	45.1 ± 8.0	42.0 ± 7.2	25.6 ± 6.8	18.2 ± 1.2
16 : 1	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.2	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.3
17 : 0	tr	tr	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1
18 : 0	14.5 ± 1.5	12.7 ± 1.3	32.3 ± 5.8	20.1 ± 2.3 ^b
18 : 1	20.9 ± 3.4	21.3 ± 1.5	14.2 ± 2.8	15.7 ± 1.5
18 : 2n-6	13.3 ± 3.4	11.8 ± 0.8	7.4 ± 1.8	4.3 ± 0.8
18 : 3n-3	tr	tr	tr	tr
20 : 0	tr	tr	tr	tr
20 : 1	tr	tr	tr	tr
20 : 2n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 3n-6	0.1 ± 0.0	tr	0.1 ± 0.1	tr
20 : 4n-6	2.3 ± 0.6	1.5 ± 0.4	10.7 ± 2.1	6.2 ± 0.7
20 : 5n-3	tr	1.8 ± 0.5	tr	tr
22 : 0	tr	tr	tr	tr
22 : 1	tr	tr	tr	tr
22 : 4n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-3	0.4 ± 0.1	1.2 ± 0.4 ^b	0.9 ± 0.1	1.5 ± 0.3
22 : 6n-3	0.5 ± 0.2	4.5 ± 0.8 ^c	1.3 ± 0.7	4.8 ± 1.0 ^c
24 : 1	tr	tr	tr	tr
Unidentified	2.0 ± 0.7	2.5 ± 0.5	1.1 ± 0.3	1.7 ± 0.4

^a Values represent means ± S.E for 30 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

Table 7. Acyl chain composition of phosphatidyl serine (PS) and phosphatidyl inositol (PI) of chicken fed diets either without (control) or with (exp) marine oil^a

Acyl chain	Composition (mol%)			
	PS		PI	
	Control	Exp	Control	Exp
14 : 0	2.4 ± 0.5	1.2 ± 0.5	3.9 ± 1.6	2.1 ± 0.4
14 : 1	tr	tr	tr	tr
16 : 0	29.0 ± 4.0	31.8 ± 3.1	30.9 ± 2.0	30.5 ± 1.8
16 : 1	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	tr	tr
17 : 0	tr	tr	tr	tr
18 : 0	45.6 ± 7.4	41.5 ± 4.5	45.2 ± 5.1	42.6 ± 3.8
18 : 1	11.6 ± 2.4	13.2 ± 1.5	5.7 ± 0.9	9.2 ± 0.7
18 : 2n-6	5.2 ± 2.1	3.2 ± 0.4	1.5 ± 0.4	1.0 ± 0.2
18 : 3n-3	tr	tr	tr	tr
20 : 0	tr	tr	tr	tr
20 : 1	tr	tr	tr	tr
20 : 2n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 3n-6	tr	tr	1.5 ± 0.5	0.5 ± 0.2 ^c
20 : 4n-6	1.5 ± 0.6	0.7 ± 0.2	8.8 ± 2.6	6.7 ± 1.2
20 : 5n-3	0.4 ± 0.4	1.5 ± 0.3 ^b	tr	1.3 ± 0.3 ^c
22 : 0	tr	tr	tr	tr
22 : 1	tr	tr	tr	tr
22 : 4n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-3	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.2	tr	0.3 ± 0.1 ^c
22 : 6n-3	0.6 ± 0.3	4.7 ± 0.4 ^c	tr	3.8 ± 0.2 ^c
24 : 1	tr	tr	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1
Unidentified	1.6 ± 0.5	1.5 ± 0.4	2.1 ± 0.3	1.8 ± 0.5

^a Values represent means ± S.E for 30 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

Table 8. Acyl chain composition of lysoglycerophosphocholine (LPC) and sphingomyelin (SM) of chicken fed diets either without (control) or with (exp) marine oil^a

Acyl chain	Composition (mol%)			
	LPC		SM	
	Control	Exp	Control	Exp
14 : 0	2.4 ± 0.8	2.1 ± 0.4	2.3 ± 0.6	1.5 ± 0.4
14 : 1	tr	tr	tr	tr
16 : 0	44.0 ± 4.6	40.2 ± 3.2	30.4 ± 2.2	35.3 ± 3.2
16 : 1	tr	tr	tr	tr
17 : 0	tr	tr	tr	tr
18 : 0	25.9 ± 1.8	29.9 ± 2.1	38.0 ± 3.7	39.1 ± 4.1
18 : 1	19.1 ± 0.8	18.5 ± 1.8	3.9 ± 1.1	4.2 ± 0.5
18 : 2n-6	7.1 ± 0.5	4.2 ± 0.5 ^b	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.2
18 : 3n-3	tr	tr	tr	tr
20 : 0	tr	tr	4.7 ± 0.5	2.1 ± 0.6 ^b
20 : 1	tr	tr	tr	tr
20 : 2n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 3n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 4n-6	tr	tr	5.5 ± 4.1	2.8 ± 0.5
20 : 5n-3	tr	0.2 ± 0.1 ^c	0.7 ± 0.7	1.5 ± 0.4
22 : 0	tr	tr	6.7 ± 1.3	3.2 ± 0.8
22 : 1	tr	tr	tr	tr
22 : 4n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-3	tr	0.5 ± 0.1 ^c	tr	0.7 ± 0.2 ^c
22 : 6n-3	tr	2.7 ± 0.4 ^c	tr	3.0 ± 0.5 ^c
24 : 1	tr	tr	5.3 ± 1.4	4.2 ± 0.7
Unidentified	1.5 ± 0.5	1.7 ± 0.5	2.0 ± 0.3	1.8 ± 0.5

^a Values represent means ± S.E for 30 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

Table 9. Acyl chain composition of cardiolipin (CL) of chicken fed diets either without (control) or with (exp) marine oil^a

Acyl chain	Composition (mol%)	
	CL	
	Control	Exp
14 : 0	1.9 ± 0.2	1.2 ± 0.3
14 : 1	tr	tr
16 : 0	22.6 ± 1.1	23.1 ± 1.5
16 : 1	2.2 ± 0.2	1.8 ± 0.5
17 : 0	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.1
18 : 0	9.2 ± 0.8	8.5 ± 1.2
18 : 1	26.9 ± 2.0	27.2 ± 2.5
18 : 2n-6	25.7 ± 2.1	23.2 ± 2.0
18 : 3n-3	tr	tr
20 : 0	tr	tr
20 : 1	tr	tr
20 : 2n-6	tr	tr
20 : 3n-6	1.0 ± 1.0	0.7 ± 0.2
20 : 4n-6	6.5 ± 1.1	5.5 ± 0.4
20 : 5n-3	1.0 ± 0.4	1.8 ± 0.3
22 : 0	tr	tr
22 : 1	tr	tr
22 : 4n-6	tr	tr
22 : 5n-6	tr	tr
22 : 5n-3	0.1 ± 0.1	0.7 ± 0.2 ^b
22 : 6n-3	0.7 ± 0.3	4.5 ± 0.8 ^c
24 : 1	tr	tr
Unidentified	1.9 ± 0.5	1.5 ± 0.4

^a Values represent means ± S.E for 30 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

2) 세포막의 ultra structure 확인

실험방법에서와 같이 대조구와 실험구의 계육을 -10°C 에서 3일간 냉동 후 상온에서 해동하여 가슴부위 근육조직의 세포막 변화를 관찰하였다. 전자현미경을 이용하여 세포막의 ultra structure를 관찰하므로써 대조구와 실험구간의 냉동에 따른 세포막 파괴현상을 비교하였다.

Fig. 3에서 보여주는 것과 같이 일반 시판사료를 급여한 대조구인 경우 냉동 후 육계 가슴 근육조직의 세포막이 완전히 파괴되므로써 계육의 품질을 크게 손상시켰음을 나타내고 있다. 한편 Fig. 4에서는 본 실험을 위하여 marine oil emulsion을 이용하여 조제한 실험사료를 급여한 육계의 가슴 근육조직에서의 세포막이 전혀 파괴되지 않고 완전히 보존되므로써 계육의 품질을 냉동전과 같이 유지할 수 있음을 보여주고 있다. 따라서 본 실험용으로 조제한 육계사료를 급여시 계육의 품질이 냉동에 의해서 저하되지 않고 냉동전과 같이 유지될 수 있다는 것은 장차 고품질의 육류생산에 크게 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

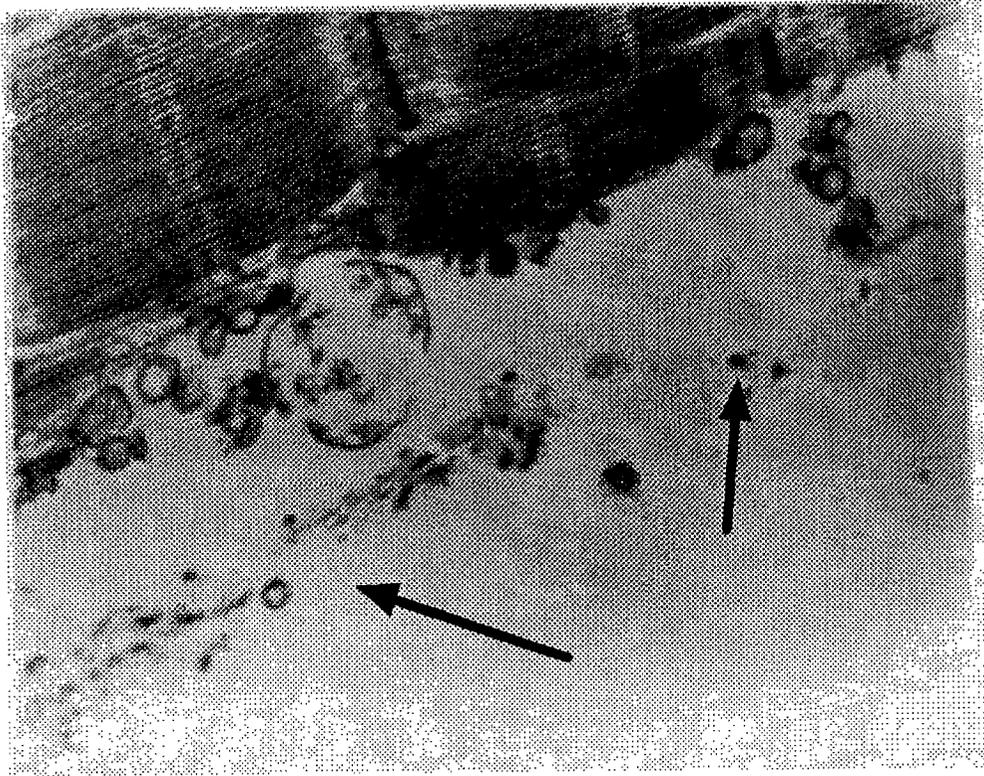


Fig. 3. Electron photomicrograph, showing portions of myofibrils and sarcolemma of breast muscle cell in chicken (fed control feedstuff) after freezing at -10°C for 3 days. Arrow shows broken sarcolemma.

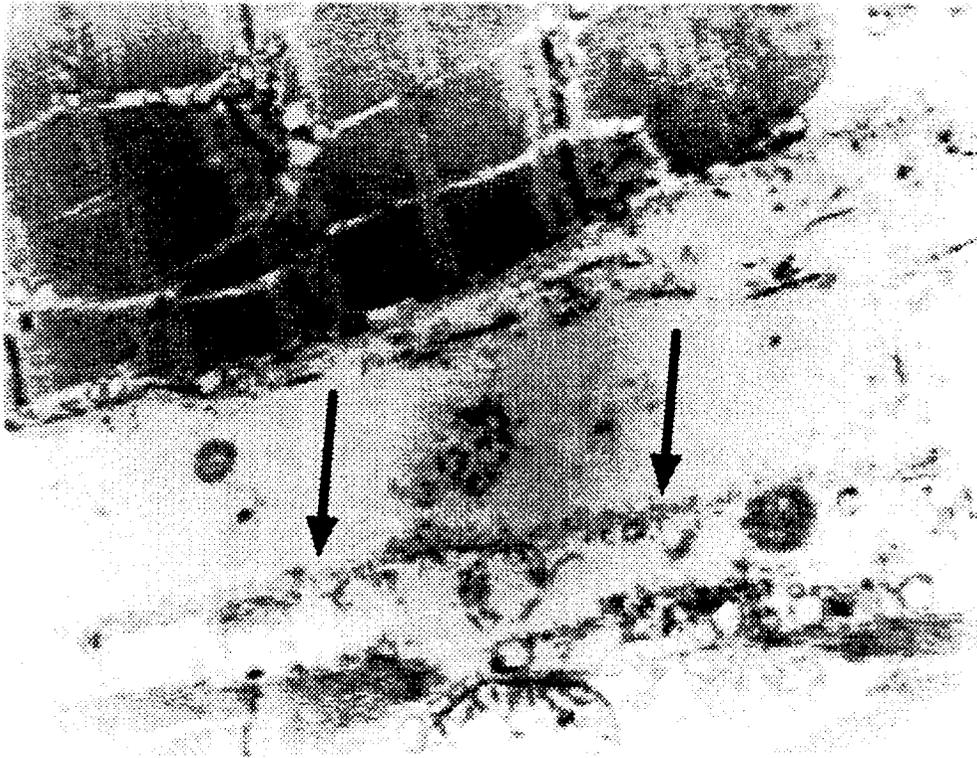


Fig. 4. Electron photomicrograph, showing portions of myofibrils and sarcolemma of breast muscle cell in chicken (fed feedstuff with marine oil emulsion) after freezing at -10°C for 3 days. Arrow shows intact sarcolemma.

나. 육돈실험

1) 세포막 지질 분석

육돈의 등심 근육조직의 세포막 유동성을 증가시키기 위하여 세포막 인지질의 acyl-chain 불포화도를 상승시키기 위한 사양실험을 수행하였다. 실험결과 Table들에서와 같이 대조구에 비하여 세포막 인지질 내의 acyl-chain의 불포화도를 증가시킨 실험구에서는 EPA나 DHA와 같은 다가불포화지방산이 크게 증가하므로써 세포막 유동성을 현저히 증가시킨 것으로 사료된다 (Table 10~13).

실험구인 경우 대조구에 비하여 PC에서 DHA가 0.1에서 1.3mol%로 PE인 경우는 DHA가 1.2에서 10.7mol%로 증가하였다 (Table 10). Table 11은 PS와 PI의 acyl-chain 조성을 보여주고 있으며 가장 불포화도가 높은 DHA인 경우 PS에서는 본 실험용 사료를 급여시켰을 경우 1.2에서 5.5mol%로 증가하였고 PI에서는 trace에서 4.0mol%로 증가하였다. Table 12은 육돈의 등심 근육조직에 존재하는 세포막 인지질 중 LPC와 SM의 acyl-chain 조성을 나타내고 있으며 LPC인 경우 DHA가 control에서는 0.5mol% 였으나 실험구에서는 1.5mol%를 나타냈으며, 인지질 중 비교적 낮은 조성을 보여주고 있는 SM인 경우 DHA는 변화가 없었다. Table 13은 CL의 acyl-chain을 보여주고 있으며 CL역시 다른 인지질과 같이 DHA가 0.5에서 4.1mol%로 증가하였다. 따라서 본 실험용 사료를 육돈에게 급여하였을 경우 육돈의 등심 근육조직 세포막에 존재하는 인지질의 다가불포화지방산 특히 n-3 지방산이 크게 증가하므로써 세포막의 인지질 불포화도가 현저히 높아졌다. 이러한 세포막 인지질의 불포화도 증가에 따라 세포막의 유동성이 비례하여 증가하므로써 냉동 후 근육 세포막 파괴에 의한 급격한 육질의 저하를 방지할 수 있는 것으로 사료된다.

Table 10. Acyl chain composition of phosphatidyl choline (PC) and phosphatidyl ethanolamine (PE) in loin of pig fed diets either without (control) or with (exp) marine oil^a

Acyl chain	Composition (mol%)			
	PC		PE	
	Control	Exp	Control	Exp
14 : 0	0.2 ± 0.0	0.6 ± 0.0 ^c	3.0 ± 0.5	2.9 ± 0.4
14 : 1	tr	tr	tr	tr
16 : 0	29.6 ± 2.2	45.9 ± 0.2 ^b	7.5 ± 0.9	8.7 ± 1.1
16 : 1	0.8 ± 0.1	1.2 ± 0.1	2.4 ± 0.1	2.1 ± 0.3
17 : 0	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.0	1.0 ± 0.2
18 : 0	5.2 ± 0.3	3.7 ± 0.1	22.2 ± 0.5	25.6 ± 0.5
18 : 1	28.1 ± 0.6	14.4 ± 1.2 ^b	13.3 ± 1.1	8.3 ± 0.7
18 : 2n-6	31.6 ± 1.2	24.2 ± 1.2	21.6 ± 2.2	11.2 ± 0.7 ^b
18 : 3n-3	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0
20 : 0	tr	tr	tr	tr
20 : 1	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.1
20 : 2n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 3n-6	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.6 ± 0.0
20 : 4n-6	2.4 ± 0.4	1.9 ± 0.3	23.3 ± 3.3	10.9 ± 0.7 ^b
20 : 5n-3	0.2 ± 0.0	4.9 ± 0.8 ^c	1.2 ± 0.2	14.7 ± 1.2 ^c
22 : 0	tr	tr	tr	tr
22 : 1	tr	tr	tr	tr
22 : 4n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-3	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.1	1.9 ± 0.4	2.2 ± 0.1
22 : 6n-3	0.1 ± 0.0	1.3 ± 0.3 ^c	1.2 ± 0.2	10.7 ± 1.3 ^c
24 : 1	tr	tr	tr	tr
Unidentified	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.1 ± 0.1

^a Values represent means ± S.E for 10 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

Table 11. Acyl chain composition of phosphatidyl serine (PS) and phosphatidyl inositol (PI) in loin of pig fed diets either without (control) or with (exp) marine oil^a

Acyl chain	Composition (mol%)			
	PS		PI	
	Control	Exp	Control	Exp
14 : 0	11.8 ± 4.1	7.6 ± 1.2	4.6 ± 3.4	3.3 ± 0.4
14 : 1	tr	tr	0.1 ± 0.1	tr
16 : 0	18.3 ± 3.3	22.1 ± 1.1	11.1 ± 2.6	16.4 ± 1.6
16 : 1	tr	tr	tr	tr
17 : 0	0.8 ± 0.4	1.9 ± 0.2	0.5 ± 0.5	1.5 ± 0.1
18 : 0	34.6 ± 4.0	29.8 ± 3.2	51.6 ± 11.4	42.1 ± 1.9
18 : 1	19.5 ± 1.8	16.0 ± 1.8	8.4 ± 3.1	10.2 ± 0.5
18 : 2n-6	7.9 ± 1.7	6.8 ± 0.4	4.8 ± 0.9	5.9 ± 0.6
18 : 3n-3	tr	tr	tr	tr
20 : 0	tr	tr	3.6 ± 3.4	0.4 ± 0.2 ^c
20 : 1	0.5 ± 0.1	0.8 ± 0.0	0.7 ± 0.6	0.4 ± 0.2
20 : 2n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 3n-6	0.6 ± 0.3	0.8 ± 0.0	0.6 ± 0.3	1.0 ± 0.1
20 : 4n-6	2.9 ± 0.7	2.5 ± 0.4	10.1 ± 4.2	10.3 ± 1.1
20 : 5n-3	tr	4.0 ± 0.6 ^c	tr	3.5 ± 1.4 ^c
22 : 0	0.3 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.2 ± 0.2	tr ^c
22 : 1	0.8 ± 0.4	tr ^c	2.9 ± 2.9	tr ^c
22 : 2n-6	0.1 ± 0.0	tr ^c	0.1 ± 0.1	tr
22 : 4n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-3	0.7 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	1.0 ± 0.1 ^c
22 : 6n-3	1.2 ± 0.2	5.5 ± 1.2 ^c	tr	4.0 ± 0.3 ^c
24 : 1	tr	tr	tr	tr
Unidentified	0.3 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.1	tr ^c

^a Values represent means ± S.E for 10 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

Table 12. Acyl chain composition of lysoglycerophosphocholine (LPC) and sphingomyelin (SM) in loin of pig fed diets either without (control) or with (exp) marine oil^a

Acyl chain	Composition (mol%)			
	LPC		SM	
	Control	Exp	Control	Exp
14 : 0	1.5 ± 0.3	3.3 ± 0.9	tr	tr
14 : 1	tr	0.1 ± 0.0 ^c	tr	tr
16 : 0	39.7 ± 4.6	49.6 ± 0.5	14.7 ± 5.9	21.0 ± 4.7
16 : 1	tr	tr	tr	tr
17 : 0	0.7 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1
18 : 0	9.9 ± 0.2	9.1 ± 1.3	59.9 ± 02.2	54.2 ± 2.0
18 : 1	21.5 ± 1.8	15.9 ± 0.6	1.1 ± 0.3	1.6 ± 0.2
18 : 2n-6	23.6 ± 3.0	0.3 ± 0.0 ^c	1.1 ± 0.1	1.9 ± 0.5
18 : 3n-3	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.0	tr	tr
20 : 0	tr	tr	3.4 ± 0.7	3.2 ± 0.5
20 : 1	tr	0.4 ± 0.1 ^c	tr	tr
20 : 2n-6	tr	tr	tr	tr
20 : 3n-6	0.4 ± 0.2	1.5 ± 0.1 ^c	tr	tr
20 : 4n-6	1.2 ± 0.1	tr ^c	tr	tr
20 : 5n-3	tr	6.9 ± 2.0 ^c	tr	0.1 ± 0.1
22 : 0	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.1	4.3 ± 1.2	2.9 ± 0.4
22 : 1	tr	tr	tr	tr
22 : 2n-6	tr	tr	1.3 ± 0.5	0.7 ± 0.1 ^b
22 : 4n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-6	tr	tr	tr	tr
22 : 5n-3	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.0 ^c	tr	tr
22 : 6n-3	0.5 ± 0.1	1.5 ± 0.2 ^c	tr	tr
24 : 1	tr	tr	13.6 ± 5.5	13.6 ± 1.7
Unidentified	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.0	tr	tr

^a Values represent means ± S.E for 10 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

Table 13. Acyl chain composition of cardiolipin (CL) in loin of pig fed diets either without (control) or with (exp) marine oil^a

Acyl chain	Composition (mol%)	
	CL	
	Control	Exp
14 : 0	0.4 ± 0.2	1.7 ± 0.4 ^b
14 : 1	tr	tr
16 : 0	23.5 ± 1.2	30.6 ± 0.9
16 : 1	1.5 ± 0.2	2.2 ± 0.3
17 : 0	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.2
18 : 0	8.6 ± 0.7	8.5 ± 1.3
18 : 1	39.5 ± 4.5	29.3 ± 5.8
18 : 2n-6	19.0 ± 3.8	7.7 ± 0.9 ^b
18 : 3n-3	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.1
20 : 0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
20 : 1	0.6 ± 0.3	1.2 ± 0.2 ^b
20 : 2n-6	tr	tr
20 : 3n-6	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.0
20 : 4n-6	3.8 ± 1.1	1.4 ± 0.7
20 : 5n-3	0.3 ± 0.2	4.0 ± 2.2
22 : 0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
22 : 1	tr	tr
22 : 4n-6	tr	tr
22 : 5n-6	tr	tr
22 : 5n-3	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.2
22 : 6n-3	0.5 ± 0.1	4.1 ± 1.1 ^c
24 : 1	tr	tr
Unidentified	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.0

^a Values represent means ± S.E for 10 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

2) 세포막의 ultra structure 확인

실험방법에서와 같이 대조구와 실험구의 돈육을 -10°C 에서 3일간 냉동 후 상온에서 해동하여 등심부위 근육조직의 세포막 변화를 관찰하였다. 전자현미경을 이용하여 세포막의 ultra structure를 관찰하므로써 대조구와 실험구간의 냉동에 따른 세포막 파괴현상을 비교하였다.

Fig. 3에서 보여주는 것과 같이 일반시판 사료를 급여한 대조구인 경우 냉동 후 육돈 등심 근육조직의 세포막이 완전히 파괴되므로써 돈육의 품질을 크게 손상시켰음을 나타내고 있다. 한편 Fig. 4에서는 본 실험을 위하여 marine oil emulsion을 이용하여 조제한 실험사료를 급여한 육돈의 등심 근육조직에서의 세포막이 전혀 파괴되지 않고 완전히 보존되므로써 돈육의 품질을 냉동전과 같이 유지할 수 있음을 보여주고 있다. 따라서 본 실험용으로 조제한 육돈사료를 급여시 돈육의 품질이 냉동에 의해서 저하되지 않고 냉동전과 같이 유지될 수 있다는 것은 장차 고품질의 육류생산에 크게 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

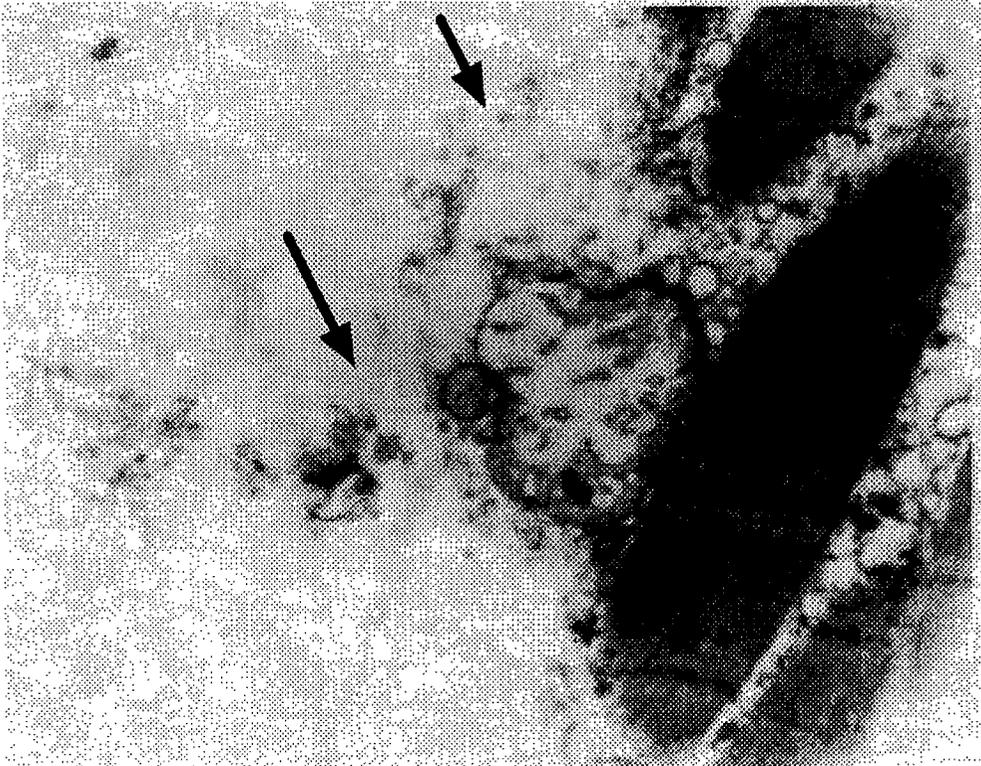


Fig. 5. Electron photomicrograph, showing portions of myofibrils and sarcolemma of breast muscle cell in loin of pig (fed control feedstuff) after freezing at -10°C for 3 days. Arrow shows broken sarcolemma.



Fig. 6. Electron photomicrograph, showing portions of myofibrils and sarcolemma of breast muscle cell in loin of pig (fed feedstuff with marine oil emulsion) after freezing at -10°C for 3 days. Arrow shows intact sarcolemma.

3. 인지질에 친화적인 다가불포화지방산의 가축 조직 세포 내로의 유입

가. 육계실험

1) 다가불포화지방산의 인지질로의 친화력

식이성 지방을 이용하여 육계에 급여한 후 다가불포화지방산이 계육의 가슴 근육조직 세포막 총 인지질로 결합되는 지방산의 조성은 Table 14에서와 같다. 다가불포화지방산인 경우 CO와 FO group에서 각각 18:1은 8.2와 16.7% 18:2n-6은 15.8과 5.6%, 20:4n-6은 8.4와 3.5%, 22:5n-6은 1.7과 0.5%, 22:5n-3은 tr과 0.7%, 22:5n-3은 0.2와 1.3%, 22:6n-3은 tr과 4.7%로서 다양한 분포를 보여 주고 있으나 전체적으로 CO group에 비하여 FO group에서 불포화도의 증가가 현저한 것으로 나타났다.

Table 14. Fatty acid composition of total phospholipids in breast of chicken fed either corn oil (CO) or fish oil (FO) diets^a

Fatty acid	Composition (mol%)	
	CO	FO
14 : 0	0.3 ± 0.02	0.5 ± 0.2
16 : 0	25.2 ± 0.7	38.4 ± 2.7
16 : 1	0.9 ± 0.07	0.5 ± 0.1
18 : 0	37.1 ± 2.5	25.0 ± 2.3
18 : 1	8.2 ± 0.8	16.7 ± 1.8 ^a
18 : 2n-6	15.8 ± 0.7	5.6 ± 0.5 ^b
18 : 3n-3	0.2 ± 0.01	tr
20 : 4n-6	8.4 ± 1.5	3.5 ± 0.4 ^b
20 : 5n-3	tr	0.7 ± 0.2 ^b
22 : 1	0.7 ± 0.2	0.3 ± 0.1
22 : 4n-6	0.4 ± 0.08	tr ^b
22 : 5n-6	1.7 ± 0.8	0.5 ± 0.2 ^b
22 : 5n-3	0.2 ± 0.03	1.3 ± 0.3 ^b
22 : 6n-3	tr	4.7 ± 0.5 ^b
Unidentified	1.9 ± 1.1	2.3 ± 0.5

^a Values represent means ± S.E for 5 chicken/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

2) 인지질 친화력 증가용 불포화지방산의 재구성

식이성 지방 다가불포화지방산이 육계의 가슴 근육조직 세포막 인지질로의 상대적 전환을 나타내기 위하여 사료조제를 위한 지방의 지방산 조성을 나타낸 Table 4와 사료 섭취 후 육계의 가슴 근육조직 세포막 총 인지질의 지방산 조성을 보여준 Table 14를 이용하여 친화력 정도를 Table 15에서 표시하였다. 친화력 %는 총 인지질의 지방산을 사료용 oil에 존재하는 지방산으로 나누어 표시하였으며, 실험구인 경우 대조구에 존재하는 지방산 mol%를 제외한 나머지 부분을 사료용 oil에 존재하는 지방산으로 나누어 표시하였다. Table 15에서와 같이 n-6 지방산을 다량 함유한 CO group에 비하여 n-3 지방산을 다량 함유한 FO group에서 불포화지방산의 친화력이 높으며, 특히 불포화도가 매우 높은 22:6n-6의 친화력이 매우 높게 나타나므로서 FO group인 경우 육계의 가슴조직 세포막 유동성에 크게 기여할 것으로 사료된다.

Table 15. Affinity of dietary polyunsaturated fatty acid into membrane phospholipids of chicken breast^a

Fatty acid	% Affinity	
	CO	FO
18 : 1	28.7	4.0
18 : 2n-6	29.9	84.8
18 : 3n-3	-	-
20 : 5n-3	-	16.7
22 : 6n-3	-	90.4

^a Values, which are higher than 100%, have been excluded because they were synthesized from their precursors.

나. 육돈실험

1) 다가불포화지방산의 육돈 근육조직 세포막 인지질로의 친화력

식이성 지방을 이용하여 육돈에 급여한 후 다가불포화지방산이 돈육의 등심 근육조직 세포막 총 인지질로 결합되는 지방산의 조성은 Table 16에서와 같다. 다가불포화지방산인 경우 CO와 FO group에서 각각 18:1은 21.9와 14.0mol%, 18:2n-6는 21.6과 15.7mol%, 20:4n-6는 9.6과 5.4mol%, 20:5n-3는 0.6과 8.0mol%, 22:5n-3는 0.9와 1.5mol%, 22:6n-3는 0.7과 4.8mol%를 보여주고 있으며 CO group에 비하여 FO group에서 불포화도가 높은 acyl-chain이 크게 증가한 것으로 나타났다.

Table 16. Fatty acid composition of total phospholipids in loin of pig fed either corn oil (CO) or fish oil (FO) diets^a

Fatty acid	Composition (mol%)	
	CO	FO
14 : 0	1.4 ± 0.2	2.5 ± 0.1
16 : 0	16.3 ± 4.4	25.5 ± 1.3
16 : 1	0.5 ± 0.3	1.1 ± 0.3
17 : 0	0.6 ± 0.1	1.2 ± 0.1 ^b
18 : 0	16.8 ± 2.9	15.4 ± 0.1
18 : 1	21.9 ± 1.8	14.0 ± 0.4 ^b
18 : 2n-6	21.6 ± 3.6	15.7 ± 0.8
18 : 3n-3	0.7 ± 0.3	0.3 ± 0.0 ^b
20 : 0	1.1 ± 0.1	0.4 ± 0.1 ^c
20 : 1	0.5 ± 0.4	0.7 ± 0.4
20 : 3n-6	2.0 ± 1.0	0.1 ± 0.1
20 : 4n-6	9.6 ± 2.3	5.4 ± 0.8
20 : 5n-3	0.6 ± 0.4	8.0 ± 0.4 ^c
22 : 0	0.7 ± 0.5	0.3 ± 0.1
22 : 1	3.5 ± 2.6	2.4 ± 0.2
22 : 2n-6	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.3
22 : 5n-3	0.9 ± 0.2	1.5 ± 0.6
22 : 6n-3	0.7 ± 0.1	4.8 ± 0.2 ^c
24 : 1	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.2
Unidentified	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1

^a Values represent means ± S.E for 5 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

2) 육돈에서 인지질 친화력 증가용 불포화지방산의 재구성

식이성 지방 다가불포화지방산이 육돈의 등심 근육조직 세포막 인지질로의 상대적 전환을 나타내기 위하여 사료조제를 위한 지방의 지방산 조성을 나타낸 Table 4와 사료 섭취 후 육돈의 등심 근육조직 세포막 총 인지질의 지방산 조성을 보여준 Table 16을 이용하여 친화력 정도를 Table 17에서 표시하였다. 친화력 %는 총 인지질의 지방산 (Table 16) 을 사료용 oil에 존재하는 지방산 (Table 4) 으로 나누어 표시하였으며, 실험구인 경우 대조구에 존재하는 지방산 mol%를 제외한 나머지 부분을 사료용 oil에 존재하는 지방산으로 나누어 표시하였다. Table 17에서와 같이 n-6 지방산을 다량 함유한 CO group에 비하여 n-3 지방산을 다량 함유한 FO group에서 불포화지방산의 친화력이 높으며, 특히 불포화도가 매우 높은 22:6n-6의 친화력이 매우 높게 나타나므로서 FO group인 경우 육돈의 등심조직 세포막 유동성에 크게 기여할 것으로 사료된다.

Table 17. Affinity of dietary polyunsaturated fatty acid into membrane phospholipids of pig loin^a

Fatty acid	% Affinity	
	CO	FO
18 : 1	77.0	57.0
18 : 2n-6	41.0	-
18 : 3n-3	-	-
20 : 5n-3	-	-
22 : 6n-3	-	79.0

^a Values, which are higher than 100%, have been excluded because they were synthesized from their precursors.

4. 세포막 유동성 증진을 위한 세포막 구성 cholesterol의 합성저해

가. 육계실험

1) n-3 다가불포화지방산의 육계 가슴 근육 세포내로의 운반

Table 4에서와 같이 n-3 불포화지방산이 높게 함유된 fish oil (FO) emulsion으로 조제한 실험구 (exp) 용 사료와 대조구 (control) 용으로 사용한 시판 육계사료를 급여한 육계의 가슴 근육내의 세포막 총 인지질에 존재하는 불포화지방산의 조성은 Table 18과 같다. Fish oil emulsion 사료를 급여한 경우 시판 육계사료를 급여한 group에 비해 다가불포화지방산이 크게 증가하였고 특히 n-3 지방산 중 불포화도에 가장 큰 영향을 주는 DHA의 조성이 크게 증가하였다. 이러한 결과는 불포화지방산 증가에 따른 cholesterol의 감소효과를 예상할 수 있는 사실로 간주될 수 있다.

Table 18. Fatty acid composition of total phospholipids in breast of chicken fed either control or experimental diets^a

Fatty acid ^b	Composition (mol%)	
	Control	Exp
16 : 0	28.3 ± 2.5	33.5 ± 2.7
18 : 0	39.2 ± 2.9	27.4 ± 1.5
18 : 1	7.3 ± 0.5	17.3 ± 0.7 ^d
18 : 2n-6	10.5 ± 0.8	5.3 ± 0.6 ^d
20 : 4n-6	6.4 ± 0.7	2.7 ± 0.4 ^c
20 : 5n-3	tr	0.8 ± 0.2 ^d
22 : 5n-6	1.5 ± 0.5	0.3 ± 0.2 ^d
22 : 5n-3	0.2 ± 0.1	1.2 ± 0.3 ^d
22 : 6n-3	tr	3.5 ± 0.5 ^d

^a Values represent means ± S.E for 5 animals/group.

^b Minor fatty acids have been excluded from the table.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^d Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

2) 육계의 가슴조직 내 cholesterol의 변화

n-3 다가불포화지방산이 높게 함유된 fish oil (FO) emulsion을 이용하여 조제한 사료를 급여한 육계의 가슴 근육 세포에 존재하는 cholesterol을 일반시판용 육계사료 (control) 를 급여한 구와 비교한 결과는 Table 19와 같다. 아래 표에서와 같이 FO group에서 cholesterol의 양이 유의하게 감소하였고 (93.1에서 77.4mg/100g tissue), 총지질은 유의한 차이가 없었다. Cholesterol의 감소는 세포막 유동성의 증가를 가져온다는 사실에 입각하여 불 포화지방산 급여에 따른 육계 가슴 근육의 지방산 불포화도 증가로 인하여 육계 가슴 근육 세포내 cholesterol이 감소되므로서 세포막 유동성의 증가에 크게 기여한 것으로 사료된다.

Table 19. Cholesterol content in breast of chicken fed either control or experimental diets^a

	Composition	
	Control	Exp
Cholesterol (mg/100g tissue)	93.1 ± 2.7	77.4 ± 0.7 ^b
Total lipid (g/100g tissue)	1.5 ± 0.02	1.5 ± 0.04

^a Values represent means ± S.E for 5 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

나. 육돈실험

1) n-3 다가불포화지방산의 육돈 등심 근육 세포내로의 운반

육돈 실험을 위하여 Table 4에서와 같이 n-3 불포화지방산이 높게 함유된 fish oil (FO) 을 이용하여 emulsion으로 조제한 실험구용 사료와 FO 대신 tallow를 사용한 대조구용 육돈사료를 Table 3과 같이 조제하였다. 대조구 (control) 용 사료와 실험구 (exp) 용 육돈사료를 급여한 육돈의 등심 근육내의 세포막 총 인지질에 존재하는 불포화지방산의 조성은 Table 20과 같다. Fish oil emulsion 사료를 급여한 경우 대조구용 육돈사료를 급여한 group에 비해 다가불포화지방산이 크게 증가하였고 특히 n-3 지방산 중 불포화도에 가장 큰 영향을 주는 DHA의 조성이 크게 증가하였다. 이러한 결과는 불포화지방산 증가에 따른 cholesterol의 감소효과를 예상할 수 있는 사실로 간주될 수 있다.

Table 20. Fatty acid composition of total phospholipids in loin of pig fed either control or experimental diets^a

Fatty acid ^b	Composition (mol%)	
	Control	Exp
16 : 0	14.2 ± 2.4	23.4 ± 1.5 ^c
18 : 0	18.7 ± 2.5	13.7 ± 0.4
18 : 1	19.5 ± 2.3	14.8 ± 0.7
18 : 2n-6	10.3 ± 2.6	15.4 ± 0.5
20 : 4n-6	3.2 ± 0.5	6.2 ± 0.6
20 : 5n-3	tr	5.8 ± 0.6 ^d
22 : 5n-3	tr	0.8 ± 0.2 ^d
22 : 6n-3	tr	3.7 ± 0.5 ^d

^a Values represent means ± S.E for 5 animals/group.

^b Minor fatty acids have been excluded from the table.

^c Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

^d Indicates significant difference from the control at the level of P<0.01.

2) 육돈의 등심 근육조직 내 cholesterol의 변화

n-3 다가불포화지방산이 높게 함유된 fish oil (FO) emulsion을 이용하여 조제한 실험구 (exp) 용 사료를 급여한 육돈의 등심 근육 세포에 존재하는 cholesterol을 FO 대신 tallow를 사용한 대조구 (control) 용 육돈사료를 급여한 구와 비교한 결과는 Table 21과 같다. 아래 표에서와 같이 실험구에서 cholesterol의 량이 60.8에서 54.9mg/100g tissue로 유의하게 감소하였고, 총지질은 유의한 변화를 보여주지 않았다. 불포화지방산에 의한 cholesterol의 감소는 세포막 유동성의 증가를 가져온다는 사실에 입각하여 볼 때, 불포화지방산 급여에 따른 육돈 등심 근육의 지방산 불포화도 증가로 인하여 육돈 등심 근육 세포내 cholesterol이 감소되므로서 세포막 유동성의 증가에 크게 기여한 것으로 간주할 수 있다.

Table 21. Cholesterol content in loin of pig fed either control or experimental diets^a

	Composition	
	Control	Exp
Cholesterol (mg/100g tissue)	60.8 ± 0.4	54.9 ± 0.3 ^b
Total lipid (g/100g tissue)	1.3 ± 0.008	1.3 ± 0.016

^a Values represent means ± S.E for 5 animals/group.

^b Indicates significant difference from the control at the level of P<0.05.

제 4 절 결 론

모든 육류는 저장성을 높이기 위하여 냉동보존에 의존하고 있으나 해동시 세포내 수분의 결빙에 의한 부피의 팽창으로 세포막이 파괴되므로서 육류의 연도가 크게 감퇴되고 아울러 세포내 주요영양분의 유출로 영양손실로 인하여 급격한 품질의 저하를 가져온다. 이런 냉동에서 오는 품질저하를 방지하기 위하여 세포막 대사조절을 통한 세포막의 유동성 (membrane fluidity) 을 크게 증가시키기 위하여 본 실험을 수행한다. 이를 위하여 유동성의 주요 원인인 세포막 인지질 구성 acyl-chain의 불포화도를 크게 증가시키고 cholesterol을 감소시키고자 하는 연구를 진행한 결과 다음과 같은 결과를 도출하므로서 목표를 달성하였다.

1. 가축 (육계, 육돈) 의 세포막에 존재하면서 세포막 유동성에 관여하는 각종 인지질 (PC, PE, PS, PI, Sph, lyso-PC 등) 의 구성을 정확히 분석한 후, 각 인지질에 가장 용이하게 ester 결합 (esterification) 할 수 있는 다가불포화지방산의 종류를 확인하였다.
2. 각 인지질별로 ester 결합할 수 있는 가장 불포화도가 높은 지방산을 선택하여 재구성한 후 liposome 형 운반체를 이용하여 세포내로 주입시켜 각 인지질에 결합될 수 있는 acyl-chain의 불포화도를 크게 증가시켰고, 세포막 유동성을 저하시키는 세포막 구성 cholesterol의 량을 감소시키므로서 세포막 유동성을 크게 증가시킬 수 있었다.
3. 가축의 근육조직내 세포막의 변화를 관찰하기 위하여 전자현미경을 이용하여 세포막의 파괴정도를 측정한 결과 본 실험에서 시도한 실험구인 경우 대조구에 비하여 세포막이 파괴되지 않고 매우 안정되어있는 것이 확인되므로서 냉동시 육류의 품질저하를 방지할 수 있었다.

제 5 절 참고문헌

1. Albert, A. D., Sen, A. and Yeagle, P. L. 1984. The effect of calcium on the bilayer stability of lipids from bovine rod outer segment disk membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 771: 28-34.
2. Arion, W. J., Ballas, L. M., Lange, A. J. and Wallin, B. K. 1976. Microsomal membrane permeability and the hepatic glucose-6-phosphatase system. *J. Biol. Chem.* 251: 4901-4907.
3. Awad, A. B., Brown, G. P., Fink, C. S. and Helinski, J. D. 1993. Effect of dietary fat on glomerular lipid composition and angiotensin II receptors. *Jpn. J. Physiol.* 43: 775.
4. Berlin, E., Bhatena, S. J., Judd, J. T., Clevidence, B. A. and Peters, R. C. 1994. Human erythrocyte membrane fluidity and insulin binding are independent of dietary trans fatty acids. *J. Nutr. Biochem.* 5: 591-598.
5. Berlin, E., Hannah, J. S., Yamane, K., Peters, R. C. and Howard, B. V. 1996. Fatty acid modification of membrane fluidity in chinese hamster ovary (tr715-19) cells. *International J. Biochem. Cell Biology.* 28: 1131-1139.
6. Bittman, R., Clejan, S., Katz, S. L. and Phillips, M. C. 1984. Influence of cholesterol on bilayers of ester- and ether-linked phospholipids permeability and c-nuclear magnetic resonance measurements. *Biochim. Biophys. Acta*, 772: 117-126.
7. Dale, R. E., Chen, L. A. and Brand, L. 1977. Rotational relaxation of the "microviscosity" probe diphenylhexatriene in paraffin oil and egg lecithin vesicles. *J. Biol. Chem.* 252: 7500-7510.

8. Galeotti, T., Borrello, S., Minotti, G., Palombini, G., Masotti, L., Sartor, G., Cavatorta, P., Arcioni, A. and Zannoni, C. 1984. Lipid composition, physical state, and lipid peroxidation of tumor membranes. *Toxicol. Pathol.* 12: 324.
9. Galeotti, T., Borrello, S., Palombini, G., Masotti, L., Ferrari, M. B., Cavatorta, P., Arcioni, A., Stremmenos, C. and Zannoni, C. 1984. Lipid peroxidation and fluidity of plasma membranes from rat liver and morris hepatoma 3924A. *Federation of European Biochem. Societies*, 169: 169-173.
10. Ganong, B. R. and Bell, R. M. 1984. Transmembrane movement of phosphatidylglycerol and diacylglycerol sulfhydryl analogues. *Biochem.* 23: 4977-4983.
11. Holmes, R. P., Mahfouz, M., Travis, B. D., Yoss, N. L. and Kenan, M. J. 1983. The effect of membrane lipid composition on the permeability of membranes to Ca^{2+} . *Annals New York Acad. Sci.* 30: 44-56.
12. Kumar, V. and Misra, U. K. 1991. Hepatic plasma membrane fluidity and dietary proteins. *Indian J. Biochem. Biophys.* 128: 301.
13. Lakowicz, J. R. and Prendergast, F. G. 1978. Quantitation of hindered rotations of diphenylhexatriene in lipid bilayers by differential polarized phase fluorometry. *Sci.* 200: 1399-1401.
14. Lewin, M. B. and Timiras, P. S. 1984. Lipid changes with aging in cardiac mitochondrial membranes. *Mech. Ageing. Dev.* 24: 343-51.
15. Lyte, M. and Shinitzky, M. 1985. A special lipid mixture for membrane fluidization. *Biochim. Biophys. Acta*, 812: 133-138.

16. Maddaiah, V.T., Stemmer, C.L., Clejan, S. and Collipp, P. J. 1981. Hepatic microsomal glucose-6-phosphatase of normal and alloxan-diabetic rats. Thermotropic effects on kinetics and interaction with deoxycholate and 1-anilino-8-naphthalene sulfonate. *Biochim. Biophys. Acta*, 657: 106-21.
17. Mio, M., Okamoto, M., Akagi, M. and Tasaka, K. 1984. Effect of n-methylation of phosphatidylethanolamine on the fluidity of phospholipid bilayers. *Biochem. and biophys. Res. communications*, 120: 989-995.
18. Muriana, F.J., Vazquez, C. M. Ruiz, and G. V. 1992. Fatty acid composition and properties of the liver microsomal membrane of rats fed diets enriched with cholesterol. *J. Biochem.* 112: 562.
19. Perez, R. P., Montanes, I. and Lopez, N. J. M. 1996. Biochemical and functional characterization of renal cortical brush border and basolateral membranes in dogs. *Kidney Blood Press. Res.* 19: 236-40.
20. Pilarska, M., Wrzosek, A., Pikula, S. and Famulski, K. S. 1991. Thyroid hormones control lipid composition and membrane fluidity of skeletal muscle sarcolemma. *Biochim. Biophys. Acta*, 1991. 1068(2): 167, 73
21. Popp, S. C., Schouten, J. A., van Blitterswijk, W. J. and van der Veen, E. A. 1986. Changes in membrane lipid composition of human erythrocytes after dietary supplementation of (n-3) polyunsaturated fatty acids. Maintenance of membrane fluidity. *Biochim. Biophys. Acta*, 854: 31-7.
22. Popp, S. C., Schouten, J. A., van der Meer, J. and van der Veen, E. A. 1986. Fatty fish-induced changes in membrane lipid composition and viscosity of human erythrocyte suspensions. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 146: 253-8.

23. Ramsammy, L. S., Boos, C., Josepovitz, C. and Kaloyanides, G. J. 1993. Biophysical and biochemical alterations of renal cortical membranes in diabetic rat. *Biochim. Biophys. Acta*, 1146: 1.
24. Rand, M. L., Hennissen, A. A. H. M. and Hornstra, G. 1988. Effects of dietary palm oil on arterial thrombosis, platelet responses and platelet membrane fluidity in rats. *Lipids*, 23: 1019-1023.
25. Salesse, R. and Garnier, J. 1984. Adenylate cyclase and membrane fluidity. *Molecular and Cellular Biochem.* 60: 17-31.
26. Schwarz, S. M., Lambert, A. S. and Medow, M. S. 1992. Ontogeny of proximal colon basolateral membrane lipid composition and fluidity in the rabbit. *Biochim. Biophys. Acta*, 1107: 70.
27. Shinitzky, M. and Barenholz, Y. 1978. Fluidity parameters of lipid regions determined by fluorescence polarization. *Biochim. Biophys. Acta*, 515: 367-394.
28. Smith, I. C. P. and Ekiel, I. H. 1984. Phosphorus-31 NMR of phospholipids in membranes. *NMR Principles and Applications*. 15: 448-475.
29. Stubbs, C. D. and Smith, A. D. 1984. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Biochim. Biophys. Acta*, 779: 89-137.
30. Usher, J. R., Epan, R. M. and Papahadjopoulos, D. 1978. The effect of free fatty acids on the thermotropic phase transition of dimyristoyl glycerophosphocholine. *Chem. Phys. Lipids*, 22: 245-253.
31. Van Duijn, G., Verkleij, A. J. and De Kruijff, B. 1984. Influence of phospholipid peroxidation on the phase behavior of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in aqueous dispersions. *Biochem.* 23: 4969-4977.

32. Wodtke, E. 1978. Lipid adaptation in liver mitochondrial membranes of carp acclimated to different environmental temperatures: phospholipid composition, fatty acid pattern and cholesterol content. *Biochim. Biophys. Acta*, 529: 280-91.
33. Yegutkin, G. G., Sambursky, S. S., Zhitkovitch, A. V. and Gatsko, G. G. 1991. Evaluation of age, related changes of physicochemical properties and functional activity of rat adipose plasma membranes and their possible relationship. *Mech. Ageing. Dev.* 59: 1.

제 6 장 육류의 보존성 증대를 위한 지방의 산패방지

제 1 절 서 설

WTO 체제하에서 값싼 수입육류들이 대량으로 수입되고 있는 실정에서 국내 육류의 고품질을 유지하고 보존성을 증가시키는 것은 매우 중요하다.

이를 위하여 특히 지방의 산패 방지를 통한 육류의 저장성 증진은 매우 시급한 문제이다. 지방의 산패를 방지하므로서 식품의 보존성 증진을 위한 많은 시도가 있었으며, 천연 및 인공 항산화제를 이용한 산패방지 효과에 대한 연구결과도 많이 보고되고 있으나 아직 육류의 저장성 증진을 위해 천연 항산화 물질을 가축의 각 조직세포막으로 유입시켜 근본적으로 지방산패를 방지하려는 시도는 성공하지 못하였으며, 특히 항산화 물질의 세포내 대량 유입은 기술적으로 매우 어려운 과제로 남아있다. 국내외의 경우 본 연구개발기술에 대한 연구결과가 보고된 바가 없으며 미국이나 캐나다 등지에서 본 연구를 통해서 생산하고자 하는 제품과 유사한 제품을 생산하기 위한 시도가 있었으나 실용화할 만한 결과를 도출하지 못하였다. 주로 외국에서 보고되고 있는 본 연구와 관련된 많은 연구는 기초 연구결과에 국한된다.

오랫동안의 연구를 통하여 본 연구진은 유화성 사료 개발을 통하여 각종 축산물에 EPA와 DHA 등의 n-3 불포화지방산을 현저히 증가시키는 기술을 개발하여 국내외에서 여러 개의 특허권을 획득하였으며, 우수한 품질을 가진 축산 식품에 대한 소비자의 욕구는 동물의 세포지방대사를 조절하므로서 가능하다는 과학적 근거와 지금까지의 기초실험결과를 통한 기술 축적으로 좋은 결과가 도출될 수 있을 것으로 사료된다. 본 연구를 통하여 저장성이 뛰어난 축산물을 개발하므로서 우리 나라 축산 농가의 국제 경쟁력 확보를 통한 농가소득증대에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

제 2 절 연구수행 방법

1. 육류의 산패 방지를 위한 천연 항산화 물질의 근육 세포내 유입

가. 육계실험

육계실험을 위하여 항산화제로서 Ethoxyquin, Tocopherol, Ascorbate, Xanthophyll, 항산화제 Mixture (4종의 항산화제를 같은 비율로 혼합) 등을 liposome (Casein: MG: Lecithin, 1:1:1) 으로 결합시킨 후 Table 1과 같은 방법으로 육계용 시험사료를 조제하였다. 생후 16일된 육계 60두를 Control, group 1 (Ethoxyquin 함유), group 2 (Tocopherol 함유), group 3 (Ascorbate 함유), group 4 (Xanthophyll 함유), group 5 (4종의 항산화제를 같은 비율로 Mixture 하여 함유) 등 6 group으로 나누어 각 group당 10마리씩으로 나누었다. Group 1에서 group 5까지는 각 group에 해당되는 항산화제 0.3%(wt.%)을 liposome 으로 보호system을 개발한 후 사료조성물에 첨가하여 4주간 사양하므로써 각 항산화제들이 충분히 육계의 근육세포내로 유입될 수 있도록 하였다.

Table 1. Composition of diet for chicken^a

Group 원료명	Control (n=10)	Group 1 (n=10)	Group 2 (n=10)	Group 3 (n=10)	Group 4 (n=10)	Group 5 (n=10)
옥수수	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
소맥	39.8	39.8	39.8	39.8	39.8	39.8
대두박	15.6	15.6	15.6	15.6	15.6	15.6
옥골분	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
글루텐밀	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8
채종박	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
석회석	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
소금	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
우지	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
인산칼슘	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
어분	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
크리나콕스	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
베타핀	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
라이신	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22
비고	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
다이제스타	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
메치오닌	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
소맥분	0.315	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015
베르다-K	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
염화코린	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
어유	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
황산구리	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035
Ethoxyquin	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
Tocopherol	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0
Ascorbate	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0
Xanthophyll	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0
항산화제 Mixture	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3
합 계	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

^a Values represent weight %.

나. 육돈실험

육돈실험을 위하여 항산화제로서 Ethoxyquin, Tocopherol, Ascorbate, Xanthophyll, 항산화제 Mixture (4종의 항산화제를 같은 비율로 혼합) 등을 liposome (Casein: MG: Lecithin, 1:1:1) 으로 결합시킨 후 Table 2와 같은 방법으로 육돈용 시험사료를 조제하였다. 생후 35일된 육돈 30두를 Control, group 1 (Ethoxyquin 함유), group 2 (Tocopherol 함유), group 3 (Ascorbate 함유), group 4 (Xanthophyll 함유), group 5 (4종의 항산화제 Mixture 함유) 등 6 group으로 나누어 각 group당 5마리씩으로 나누었다. Group 1에서 group 5 까지는 각 group에 해당되는 항산화제 0.5%(wt.%)을 liposome 으로 보호system을 개발한 후 사료조성물에 첨가하여 5주간 사양하므로써 각 항산화제들이 충분히 육돈의 근육세포내로 유입될 수 있도록 하였다.

Table 2. Composition of diet for pig^a

Group	Control (n=5)	Group 1 (n=5)	Group 2 (n=5)	Group 3 (n=5)	Group 4 (n=5)	Group 5 (n=5)
원료명						
옥수수	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
소맥	40.5	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
대두박	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4
소맥피	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
어유	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
채종박	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
당밀	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
인산칼슘	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6
다이제스타	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
석회석	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
비타민- 미네랄 믹스	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
라이신	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
소금	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
메치오닌	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
콜린	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Ethoxyquin	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0
Tocopherol	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0
Ascorbate	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0
Xanthophyll	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
항산화제 Mixture	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5
합 계	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

^a Values represent weight %.

2. 육류의 지방 산화 대사물 측정

가. 육계실험

생후19일령 된 육계를 Control, Ethoxyquin, Tocopherol, Ascorbate, Xanthophyll, 항산화Mixture 등 6개 군으로 나누어 4주간 사양한후 뼈와 껍질은 제외한 나머지 부분을 모두 균질화하여 각 군의 계육을 비닐커버내에서 실온에 기간별로 0일, 3일, 6일, 9일간 방치하였다. 각 시료를 이용하여 기간별 산화에 영향을 받는 산화관련 실험을 수행하였다.

- 1) 산가 (Acid Value) 실험: AOAC Official method을 이용하여 유지 1g 중에 함유되어 있는 유리지방산을 중화하는데 필요한 KOH의 mg수를 측정하였다.

Reagents

0.1N alcoholic potassium hydroxide solution.

Alcohol-ether mixture: 동일한 volume의 alcohol-ether 100ml에 1% phenolphthalein solution 0.3ml 넣고 0.1N alcoholic potassium hydroxide solution을 연한 핑크빛을 띠때까지 첨가한다 (1% Phenolphthalein solution in alcohol).

Determination

1. Sample 3g에 30ml의 alcohol-ether mixture를 넣고 magnetic bar를 이용해 잘 용해시킨다.
 2. 1% Phenolphthalein solution in alcohol을 3방울 첨가한다.
 3. 0.1N alcoholic potassium hydroxide solution으로 적정하되, 연한 분홍색이 10초간 유지될 때를 end point로 한다.
-
- 2) Peroxide Value 실험: AOAC Official method을 이용하여 유지 1kg 당 형성하는 iodine의milliequivalents를 측정하였다.
 - 3) Malondialdehyde(MDA) Value 실험: MDA 표준용액은 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP)을 이용하여조제하였다. 1mM의 TMP를 0.01N HCl 100ml에 녹인후 50C의 항온수조에서 60분간 가수분해하였다. 가수분해된 0.1ml의 TMP용액을 1.15% KCl 용액 (pH8-10) 100ml에 희석시켜 MDA표준용액을 제조하였다. 파장 267nm에서 MDA 흡광도를 구한 다음 MDA의 molar extinction

coefficient 에 의해 정확한 농도를 계산하여 표준곡선을 작성하였다.

Thiobarbituric acid(TBA) test는 sample과 sodium dodecyl sulfate(SDS), acetic acid, TBA(in 0.01M NaDH) 용액을 이용하여 증류수와 잘 교반한후 95C 의 항온수조에서 60분간 반응 시켰다. 상온에서 냉각시킨후 butanol:pyridine 혼합용액과 증류수를 혼합한후 원심분리하여533nm에서 상층액의 흡광도를 측정하여 작성된 표준곡선과 비교하여 MDA의 양을 산출하였다.

나. 육돈실험

생후35일령 된 육돈을 Control, Ethoxyquin, Tocopherol, Ascorbate, Xanthophyll, 항산화Mixture 등 6개 군으로 나누어 5주간 사양한후 뼈와 껍질은 제외한 나머지 부분을 모두 균질화하여 각 군의 계육을 비닐커버내에서 실온에 기간별로 0일, 3일, 6일, 9일간 방치하였다. 각 시료를 이용하여 기간별 산화에 영향을 받는 산화관련 실험을 육계실험과 같은 방법으로 수행하였다.

- 1) 산가 (Acid Value) 실험: 돈육의 산가를 측정하기위하여 AOAC Official method을 이용하여 유지 1g 중에 함유되어 있는 유리지방산을 중화하는데 필요한 KOH의 mg수를 측정하였다.
- 2) Peroxide Value 실험: AOAC Official method을 이용하여 유지 1kg 당 형성하는 iodine의 milliequivalents를 측정하였다.
- 3) Malondialdehyde(MDA) Value 실험: 돈육의 MDA를 측정하기위한 Thiobarbituric acid(TBA) test는 sample과 sodium dodecyl sulfate(SDS), acetic acid, TBA(in 0.01M NaDH) 용액을 이용하여 증류수와 잘 교반한후 95C의 항온수조에서 60분간 반응 시켰다. 상온에서 냉각시킨후 butanol:pyridine 혼합용액과 증류수를 혼합한후 원심분리하여533nm에서 상층액의 흡광도를 측정하여 미리 작성된 MDA 표준곡선과 비교하여 MDA의 양을 산출하였다.

제 3 절 연구결과 및 고찰

1. 육류의 지방 산화 대사물 측정

가. 육계실험

육계 6 group (Control, Ethoxyquin 함유 group, Tocopherol 함유 group, Ascorbate 함유 group, Xanthophyll 함유 group, 4종의 항산화제 Mixture 함유 group)을 4주간 사양한 후 도체의 Acid value, Peroxide value, MDA (TBA-reactive substances) value를 측정한 결과는 Table 3와 같다. Table 3에서와 같이 항산화제를 육계에 유입시킨 경우 Control에 비하여 Acid value, Peroxide value, MDA (TBA-reactive substances) value가 크게 낮았으며 특히 group 5인 경우 가장 낮은 수치를 보여주므로서 여러 가지 항산화제를 혼합할 경우 항산화 상승효과를 가져온다는 사실을 보여주고 있다.

Table 3. Values of acid, peroxide and MDA of chicken meat from chicken fed with feedstuffs including antioxidant for 4 weeks^a

Value Group ^b	Acid	Peroxide (meq/kg tissue)	MDA (nmol/g tissue)
Control (n=10)	3.4 ± 0.04	4.1 ± 0.1	212.2 ± 10.0
Group 1 (n=10)	1.7 ± 0.1	1.5 ± 0.1	101.0 ± 2.7
Group 2 (n=10)	1.5 ± 0.1	1.7 ± 0.001	99.6 ± 0.4
Group 3 (n=10)	1.6 ± 0.003	1.2 ± 0.1	96.2 ± 0.1
Group 4 (n=10)	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.3	44.2 ± 0.6
Group 5 (n=10)	1.0 ± 0.1	1.3 ± 0.04	70.3 ± 0.5

^a Values represent means ± S.E. for 10 animals/group, and were measured right after slaughtering chicken.

^b Control group does not include any antioxidant; group 1 includes Ethoxyquin; group 2 includes Tocopherol; group 3 includes Ascorbate; group 4 includes Xanthophyll; group 5 includes mixture with 4 antioxidants.

나. 육돈실험

육돈 6 group (Control, Ethoxyquin 함유 group, Tocopherol 함유 group, Ascorbate 함유 group, Xanthophyll 함유 group, 4종의 항산화제 Mixture 함유 group)을 5주간 사육한 후 도체의 Acid value, Peroxide value, MDA (TBA-reactive substances) value를 측정된 결과는 Table 4와 같다. 항산화제를 육돈에 유입시킨 경우 Control에 비하여 Acid value, Peroxide value, MDA (TBA-reactive substances) value가 상대적으로 현저히 낮았으며 특히 group 5인 경우 가장 낮은 수치를 보여주므로서 여러 가지 항산화제를 혼합할 경우 항산화 상승효과를 가져온다는 사실을 보여주고 있다(Table 4).

Table 4. Values of acid, peroxide and MDA of pork from pig fed with feedstuffs including antioxidant for 5 weeks^a

Value Group ^b	Acid	Peroxide (meq/kg tissue)	MDA (nmol/g tissue)
Control (n=5)	3.8 ± 0.1	2.0 ± 0.1	253.0 ± 68.8
Group 1 (n=5)	3.0 ± 0.4	1.3 ± 0.1	171.8 ± 38.5
Group 2 (n=5)	2.8 ± 0.2	1.3 ± 0.1	84.8 ± 8.9
Group 3 (n=5)	2.9 ± 0.2	1.6 ± 0.5	202.3 ± 62.5
Group 4 (n=5)	2.4 ± 0.0	1.5 ± 0.3	212.5 ± 68.2
Group 5 (n=5)	2.0 ± 0.2	1.3 ± 0.1	75.3 ± 15.5

^a Values represent means ± S.E. for 5 animals/group, and were measured right after slaughtering pig.

^b Control group does not include any antioxidant; group 1 includes Ethoxyquin; group 2 includes Tocopherol; group 3 includes Ascorbate; group 4 includes Xanthophyll; group 5 includes mixture with 4 antioxidants.

2. 천연 항산화 물질의 활성에 따른 기간별 육류의 산패율 변화

가. 육계실험

4주간 사양한 육계 6 group (Control, Ethoxyquin 함유 group, Tocopherol 함유 group, Ascorbate 함유 group, Xanthophyll 함유 group, 4종의 항산화제 Mixture 함유 group)을 도체별로 3, 6, 9일 간격으로 Acid value, Peroxide value, MDA value를 측정된 결과는 Table 5, 6, 7과 같다.

Table 5에서와 같이 저장기간이 증가함에 따라 Acid value가 계속 증가하고 있으나 항산화제를 육계에 유입시킨 경우 Control에 비하여 Acid value가 모든 group에서 낮았으며 특히 group 5인 경우 가장 낮은 수치를 보여주므로서 여러 가지 항산화제를 혼합할 경우 Acid value 감소효과가 증가된다는 사실을 보여주고 있다.

Table 6에서와 같이 저장기간이 증가함에 따라 Peroxide value가 계속 증가하고 있으나 항산화제를 육계에 유입시킨 경우 Control에 비하여 Peroxide value가 모든 group에서 낮았으며 특히 group 5인 경우 가장 낮은 수치를 보여주므로서 여러 가지 항산화제를 혼합할 경우 Peroxide value 감소효과에 긍정적으로 작용한다는 사실을 보여주고 있다.

Table 7에서와 같이 저장기간에 따라 MDA value가 전체적으로 증가하고 있으나 항산화제를 육계에 유입시킨 경우 Control에 비하여 MDA value가 모든 group에서 낮았으며 특히 group 5인 경우 가장 낮은 수치를 보여주므로서 여러 가지 항산화제를 혼합할 경우 MDA value가 더욱 감소한다는 사실을 보여주고 있다.

Table 5. Acid values during 3, 6, 9 days of storage of chicken meat from chicken fed with feedstuffs including antioxidant for 4 weeks^a

Storage period Group ^b (day)	3	6	9
Control (n=10)	25.3 ± 0.02	38.7 ± 0.04	177.5 ± 0.2
Group 1 (n=10)	18.2 ± 0.03	23.2 ± 0.1	45.1 ± 0.2
Group 2 (n=10)	16.4 ± 0.03	30.5 ± 0.1	51.3 ± 0.1
Group 3 (n=10)	13.1 ± 0.1	23.9 ± 0.03	46.2 ± 0.1
Group 4 (n=10)	11.9 ± 0.01	23.3 ± 0.4	52.5 ± 0.2
Group 5 (n=10)	12.6 ± 0.04	25.6 ± 0.1	48.7 ± 0.1

^a Values represent means ± S.E. for 10 animals/group.

^b Control group does not include any antioxidant; group 1 includes Ethoxyquin; group 2 includes Tocopherol; group 3 includes Ascorbate; group 4 includes Xanthophyll; group 5 includes mixture with 4 antioxidants.

Table 6. Peroxide values during 3, 6, 9 days of storage of chicken meat from chicken fed with feedstuffs including antioxidant for 4 weeks^a

Storage period (day) Group ^b	3	6	9
Control (n=10)	6.5 ± 0.2	8.0 ± 0.01	12.2 ± 0.003
Group 1 (n=10)	2.4 ± 0.1	3.8 ± 0.1	5.2 ± 0.2
Group 2 (n=10)	2.3 ± 0.1	3.9 ± 0.1	6.7 ± 0.1
Group 3 (n=10)	2.4 ± 0.1	4.2 ± 0.01	8.9 ± 0.1
Group 4 (n=10)	3.0 ± 0.003	5.7 ± 0.1	8.2 ± 0.02
Group 5 (n=10)	1.6 ± 0.1	1.8 ± 0.1	2.2 ± 0.2

^a Values represent means ± S.E. for 10 animals/group.

^b Control group does not include any antioxidant; group 1 includes Ethoxyquin; group 2 includes Tocopherol; group 3 includes Ascorbate; group 4 includes Xanthophyll; group 5 includes mixture with 4 antioxidants.

Table 7. MDA values during 3, 6, 9 days of storage of chicken meat from chicken fed with feedstuffs including antioxidant for 4 weeks^a

Storage period (day) \ Group ^b	3	6	9
Control (n=10)	260.0 ± 4.4	285.8 ± 2.6	302.3 ± 2.9
Group 1 (n=10)	120.2 ± 12.1	151.4 ± 0.2	204.2 ± 0.4
Group 2 (n=10)	124.4 ± 0.6	141.3 ± 0.3	170.4 ± 0.2
Group 3 (n=10)	138.5 ± 23.2	150.6 ± 8.5	212.4 ± 0.4
Group 4 (n=10)	121.4 ± 1.4	158.2 ± 5.1	197.4 ± 1.7
Group 5 (n=10)	92.3 ± 9.6	105.2 ± 5.4	123.6 ± 0.5

^a Values represent means ± S.E. for 10 animals/group.

^b Control group does not include any antioxidant; group 1 includes Ethoxyquin; group 2 includes Tocopherol; group 3 includes Ascorbate; group 4 includes Xanthophyll; group 5 includes mixture with 4 antioxidants.

나. 육돈실험

육돈 6 group를 을 5주간 사양한 후(Control, Ethoxyquin 함유 group, Tocopherol 함유 group, Ascorbate 함유 group, Xanthophyll 함유 group, 4종의 항산화제 Mixture 함유 group)도체별로 3, 6, 9일 간격으로 Acid value, Peroxide value, MDA value를 측정된 결과는 Table 8, 9, 10과 같다.

Table 8에서와 같이 저장기간이 증가함에 따라 Acid value가 계속 증가하고 있으나 항산화제를 육돈에 유입시킨 경우 Control에 비하여 Acid value가 모든 group에서 낮았으며 육계의경우와 같이 특히 group 5인 경우 가장 낮은 수치를 보여주므로서 여러 가지 항산화제를 혼합할 경우 Acid value 감소효과가 증가된다는 사실을 보여주고 있다.

Table 9에서와 같이 저장기간이 증가함에 따라 Peroxide value가 계속 증가하고 있으나 항산화제를 육돈에 유입시킨 경우 Control에 비하여 Peroxide value가 모든 group에서 낮았으며 특히 group 5인 경우 가장 낮은 수치를 보여주므로서 여러 가지 항산화제를 혼합할 경우 Peroxide value 감소효과에 긍정적으로 작용한다는 사실을 보여주고 있다.

육계의 경우에서와 같이 Table 10에서는 저장기간에 따라 MDA value가 전체적으로 증가하고 있었으며 항산화제를 육계에 유입시킨 경우 Control에 비하여 MDA value가 모든 group에서 낮았으며 특히 group 5인 경우 가장 낮은 수치를 보여주므로서 여러 가지 항산화제를 혼합할 경우 MDA value가 더욱 감소한다는 사실을 입증해주고 있다.

Table 8. Acid values during 3, 6, 9 days of storage of pork from pig fed with feedstuffs including antioxidant for 5 weeks^a

Storage period Group ^b (day)	3	6	9
Control (n=10)	10.1 ± 0.7	13.1 ± 0.6	16.0 ± 0.3
Group 1 (n=10)	7.5 ± 1.4	9.7 ± 2.5	12.5 ± 1.4
Group 2 (n=10)	6.3 ± 0.5	8.8 ± 0.4	10.7 ± 0.1
Group 3 (n=10)	8.0 ± 0.9	10.1 ± 0.7	13.8 ± 1.5
Group 4 (n=10)	8.2 ± 0.5	12.5 ± 0.1	14.7 ± 0.5
Group 5 (n=10)	4.2 ± 0.2	6.7 ± 1.0	8.2 ± 3.1

^a Values represent means ± S.E. for 5 animals/group.

^b Control group does not include any antioxidant; group 1 includes Ethoxyquin; group 2 includes Tocopherol; group 3 includes Ascorbate; group 4 includes Xanthophyll; group 5 includes mixture with 4 antioxidants.

Table 9. Peroxide values during 3, 6, 9 days of storage of pork from pig fed with feedstuffs including antioxidant for 5 weeks^a

Storage period Group ^b (day)	3	6	9
Control (n=10)	3.1 ± 0.1	6.6 ± 0.3	6.7 ± 0.8
Group 1 (n=10)	1.6 ± 0.1	1.7 ± 0.4	2.4 ± 0.4
Group 2 (n=10)	1.6 ± 0.1	1.8 ± 0.2	2.2 ± 0.1
Group 3 (n=10)	2.6 ± 0.1	2.8 ± 0.2	4.1 ± 0.2
Group 4 (n=10)	3.1 ± 0.2	3.5 ± 0.5	3.8 ± 1.0
Group 5 (n=10)	1.5 ± 0.5	1.7 ± 0.5	2.0 ± 0.2

^a Values represent means ± S.E. for 5 animals/group.

^b Control group does not include any antioxidant; group 1 includes Ethoxyquin; group 2 includes Tocopherol; group 3 includes Ascorbate; group 4 includes Xanthophyll; group 5 includes mixture with 4 antioxidants.

Table 10. MDA values during 3, 6, 9 days of storage of pork from pig fed with feedstuffs including antioxidant for 5 weeks^a

Storage period (day) Group ^b	3	6	9
Control (n=10)	278.0 ± 20.2	287.5 ± 13.6	308.3 ± 12.1
Group 1 (n=10)	180.3 ± 11.1	195.2 ± 11.2	202.8 ± 14.3
Group 2 (n=10)	95.0 ± 13.0	107.5 ± 23.4	121.6 ± 17.8
Group 3 (n=10)	225.3 ± 46.7	220.2 ± 29.7	245.0 ± 38.0
Group 4 (n=10)	230.4 ± 32.5	238.2 ± 57.4	250.6 ± 36.6
Group 5 (n=10)	82.1 ± 9.7	101.8 ± 17.3	118.4 ± 21.6

^a Values represent means ± S.E. for 5 animals/group.

^b Control group does not include any antioxidant; group 1 includes Ethoxyquin; group 2 includes Tocopherol; group 3 includes Ascorbate; group 4 includes Xanthophyll; group 5 includes mixture with 4 antioxidants.

제 4 절 결 론

육계와 육돈 각 6 group를 을 4 주와 5주간 사양한 후(Control, Ethoxyquin 함유 group, Tocopherol 함유 group, Ascorbate 함유 group, Xanthophyll 함유 group, 4종의 항산화제 Mixture 함유 group)도체별로 3, 6, 9 일 간격으로 Acid value, Peroxide value, MDA value를 측정하였다.

1. 저장기간이 증가함에 따라 Acid value가 계속 증가하고 있으나 항산화제를 육계와 육돈에 유입시킨 경우 Control에 비하여 Acid value가 모든 group에서 낮았으며 특히 여러 가지 항산화제를 혼합할 경우 Acid value 감소효과가 현저하게 나타난다는 사실을 보여주고 있다.
2. 저장기간이 증가함에 따라 Peroxide value가 계속 증가하고 있으나 항산화제를 유입시킨 경우 Control에 비하여 Peroxide value가 모든 group에서 낮았으며 여러 가지 항산화제를 혼합할 경우 Peroxide value 감소효과에 긍정적으로 작용한다는 사실을 보여주고 있다.
3. MDA value도 전체적으로 증가하고 있었으며 항산화제를 육계에 유입시킨 경우 Control 에 비하여 MDA value가 모든 group에서 낮았으며 특히 각종 항산화제를 혼합할 경우 MDA value가 더욱 감소한다는 사실을 입증해주고 있다.

이러한 결과를 볼 때 본 연구에서 수행한 육류의 저장성을 높이기 위한 항산화물질의 가축내 유입은 매우 긍정적인 방법인 것으로 간주되며, 각종 산화대사물의 감소는 이를 증명해주고 있다.

제 5 절 참고문헌

1. Asayama, K., Dobashi, K., Hayashibe, H. and Kato, K. 1989. Effects of beta-adrenergic blockers with different ancillary properties on lipid peroxidation in hyperthyroid rat cardiac muscle. *Endocrinol. Jpn.* 36: 687-694.
2. Asayama, K., Dobashi, K., Hayashibe, H. and Kato, K. 1989. Vitamin E protects against thyroxine-induced acceleration of lipid peroxidation in cardiac and skeletal muscles in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. Tokyo*, 35: 407-418.
3. Asayama, K., Hayashibe, H., Dobashi, K. and Kato, K. 1989. Lipid peroxide and antioxidant enzymes in muscle and nonmuscle of dystrophic mouse. *Muscle Nerve*, 12: 742-748.
4. Asayama, K., Hayashibe, H., Dobashi, K. and Kato, K. 1990. Differential effects of 3 beta blockers on lipid peroxidation in hyperthyroid muscle. *Endocrinol. Jpn.* 37: 471-478.
5. Carlin, G. 1985. Peroxidation of linolenic acid promoted by human polymorphonuclear leucocytes. *J. Free Radic. Biol. Med.* 1: 255-261.
6. Chan, P. H. and Fishman, R. A. 1980. Transient formation of superoxide radicals in polyunsaturated fatty acid-induced brain swelling. *J. Neurochem.* 35: 1004-1007.
7. Chan, P. H., Chen, S. F. and Yu, A. C. 1988. Induction of intracellular superoxide radical formation by arachidonic acid and by polyunsaturated fatty acids in primary astrocytic cultures. *J. Neurochem.* 50: 1185-1193.
8. Coudray, C., Pucheu, S., Boucher, F., de Leiris, J. and Favier, A. 1992. Ischemia and reperfusion injury in isolated rat heart: effect of reperfusion duration on xanthine oxidase, lipid peroxidation, and enzyme antioxidant systems in myocardium. *Basic Res. Cardiol.* 87: 478-488.

9. Das, U. N. 1991. Tumoricidal action of cis-unsaturated fatty acids and their relationship to free radicals and lipid peroxidation. *Cancer Lett.* 56: 235-243.
10. de Gritz, B. G. 1995. Copper-zinc superoxide dismutase (CuZnSOD) in antioxidant deficient pigs. *Zentralbl. Veterinarmed. A.* 42: 561-573.
11. de Gritz, B. G. and Rahko, T. 1995. Diet-induced residual formation in pigs. *Gerontology.* 2: 305-317.
12. de Gritz, B. G., Rahko, T. and Korpela, H. 1994. Diet-induced lipofuscin and ceroid formation in growing pigs. *J. Comp. Pathol.* 110: 11-24.
13. Do, T. Q., Schultz, J. R. and Clarke, C. F. 1996. Enhanced sensitivity of ubiquinone-deficient mutants of *Saccharomyces cerevisiae* to products of autoxidized polyunsaturated fatty acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93: 7534-7539.
14. Duthie, G. G., Robertson, J. D., Maughan, R. J. and Morrice, P. C. 1990. Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Arch. Biochem. Biophys.* 282: 78-83.
15. Engberg, R. M., Lauridsen, C., Jensen, S. K. and Jakobsen, K. 1996. Inclusion of oxidized vegetable oil in broiler diets. Its influence on nutrient balance and on the antioxidative status of broilers. *Poult. Sci.* 75: 1003-1011.
16. Gonzalez, M. J., Gray, J. I., Schemmel, R. A., Dugan, L. Jr. and Welsch, C. W. 1992. Lipid peroxidation products are elevated in fish oil diets even in the presence of added antioxidants. *J. Nutr.* 122: 2190-2195.

17. Guarnieri, C., Muscari, C., Manfroni, S., Caldarera, I., Stefanelli, C. and Pretolani, E. 1987. The effect of treatment with coenzyme Q10 on the mitochondrial function and superoxide radical formation in cardiac muscle hypertrophied by mild aortic stenosis. *J. Mol. Cell Cardiol.* 19: 63-71.
18. Guarnieri, C., Ventura, C., Georgountzos, A., Muscari, C. and Budini, R. 1985. Involvement of superoxide radicals on adrenochrome formation stimulated by arachidonic acid in bovine heart sarcolemmal vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, 838: 355-360.
19. Guarnieri, C., Ventura, C., Georgountzos, A., Muscari, C. and Budini, R. 1985. Involvement of superoxide radicals on adrenochrome formation stimulated by arachidonic acid in bovine heart sarcolemmal vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, 838: 355-360.
20. Gudz', T. I. and Goncharenko, E. N. 1982. Inhibition of superoxide dismutase activity by linolenic acid hydroperoxide. *Radiobiologia*. 122: 674-677.
21. Horrigan, S., Campbell, J. H. and Campbell, G. R. 1991. Oxidation of beta-very low density lipoprotein by endothelial cells enhances its metabolism by smooth muscle cells in culture. *Arterioscler. Thromb.* 11: 279-289.
22. Huang, C. J. and Fwu, M. L. 1992. Protein insufficiency aggravates the enhanced lipid peroxidation and reduced activities of antioxidative enzymes in rats fed diets high in polyunsaturated fat. *J. Nutr.* 122: 1182-1189.
23. Huang, C. J. and Fwu, M. L. 1993. Degree of protein deficiency affects the extent of the depression of the antioxidative enzyme activities and the enhancement of tissue lipid peroxidation in rats. *J. Nutr.* 123: 803-810.

24. Kaasgaard, S. G., Holmer, G., Hoy, C. E., Behrens, W. A. and Beare Rogers, J. L. 1992. Effects of dietary linseed oil and marine oil on lipid peroxidation in monkey liver in vivo and in vitro. *Lipids*, 27: 740-745.
25. Kar, N. C. and Pearson, C. M. 1979. Catalase, superoxide dismutase, glutathione reductase and thiobarbituric acid-reactive products in normal and dystrophic human muscle. *Clin. Chim. Acta*, 94: 277-280.
26. Larsson, R., Ross, D., Berlin, T., Olsson, L. I. and Moldeus, P. 1985. Prostaglandin synthase catalyzed metabolic activation of p-phenetidine and acetaminophen by microsomes isolated from rabbit and human kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 235: 475-480.
27. Mizuno, Y. 1984. Changes in superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activities and thiobarbituric acid-reactive products levels in early stages of development in dystrophic chickens. *Exp. Neurol.* 84: 58-73.
28. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. 1978. Reaction of linoleic acid hydroperoxide with thiobarbituric acid. *J. Lipid Res.* 19: 1053-1057.
29. Ohta, A., Mohri, T. and Ohyashiki, T. 1989. Effect of lipid peroxidation on membrane-bound Ca^{2+} -ATPase activity of the intestinal brush-border membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 984: 151-157.
30. Ohta, K. and Mizuno, Y. 1984. Studies on pathogenesis of muscular dystrophy: levels of thiobarbituric acid-reactive products in avian muscular dystrophy. *No. To. Shinkei.* 36: 333-337.
31. Persson, N. H., Bergqvist, D., Fex, G., Marklund, S. L., Nilsson, B. and Takolander, R. 1989. Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in muscle of the lower leg before and after arterial reconstruction. *Eur. J. Vasc. Surg.* 3: 399-403.

32. Purucker, E., Egri, L., Hamar, H., Augustin, A. J. and Lutz, J. 1991. Differences in glutathione status and lipid peroxidation of red and white muscles: alterations following ischemia and reperfusion. *Res. Exp. Med. Berl.* 191: 209-217.
33. Romans, J. R., Wulf, D. M., Johnson, R. C., Libal, G. W. and Costello, W. J. 1995. Effects of ground flaxseed in swine diets on pig performance and on physical and sensory characteristics and omega-3 fatty acid content of pork: II. Duration of 15% dietary flaxseed. *J. Anim. Sci.* 73: 1987-1999.
34. Strange, R. C., Cotton, W., Fryer, A. A., Jones, P., Bell, J. and Hume, R. 1990. Lipid peroxidation and expression of copper-zinc and manganese superoxide dismutase in lungs of premature infants with hyaline membrane disease and bronchopulmonary dysplasia. *J. Lab Clin. Med.* 116: 666-673.
35. Walsh, D. M., Kennedy, D. G., Goodall, E. A. and Kennedy, S. 1993. Antioxidant enzyme activity in the muscles of calves depleted of vitamin E or selenium or both. *Br. J. Nutr.* 70: 621-630.
36. Ward, P. H., Maldonado, M. and Vivaldi, E. 1992. Oxygen-derived free radicals mediate liver damage in rats subjected to tourniquet shock. *Free Radic. Res. Commun.* 17: 313-325.