

흰쥐의 *Mortierella alpina* 균사체와 추출유의 섭취에 의한 생육 효과와 학습능력 비교

이승교[†] · 강희운* · 박영주

수원대학교 식품영양학과

*아주대학교 분자과학기술학과

The Effects of *Mortierella alpina* Fungi and Extracted Oil (Arachidonic Acid Rich) on Growth and Learning Ability in Dam and Pups of Rat

Seung Gyo Rhie[†], Hui Yoon Kang* and Young Joo Park

Dept. of Food and Nutrition, The University of Suwon, Hwasung 445-743, Korea

*Dept. of Molecular Science and Technology, Ajou University, Suwon 442-749, Korea

Abstract

Mortierella alpina, a common soil fungus, is the most efficient organism for production of arachidonic acid presently known. Since arachidonic acid are important in human brain and retina development, it was undertaken the growing effect containing diet as a food ingredient. Arachidonic acid rich oil derived from *Mortierella alpina*, was subjected to a program of studies to establish for use in diet supplement. This study was compared the growth and learning effect of fungal oil rich in arachidonic acid by incorporated into diets ad libitum. Sprague-Dawley rats received experimental diets 5 groups (standard AIN 93 based control with beef tallow, extract oil 8%, and 4%, and *Mortierella alpina* in diet 10% and 20%) over all experiment duration (pre-mating, mating, gestation, lactation, and after weaning 4 weeks). Pups born during this period consumed same diets after wean for 4 weeks. There was no statistical significance of diet effects in reproductive performance and fertility from birth to weaning. But the groups of *Mortierella alpina* diet were lower of weight gain and diet intake after weaning. The serum lipids were significantly different with diet groups, higher TG in LO (oil 4%) group of dams, and higher total cholesterol in LF (*M. alpina* 10%) of pups, although serum albumin content was not significantly different in diet group. The spent-time and memory effect within 4 weeks of T-Morris water maze pass test in dam and 7-week-age pups did not differ in diet groups. On the count of backing error in weaning period of pups was lower in HO (extracted oil 8%) group. In the group of 10% and 20% *Mortierella alpina* diet, DNA content was lower in brain with lower body weight, but liver DNA relative to body weight was higher than control. Further correlation analyses would be needed DNA and arachidonic acid intakes, with *Mortierella alpina* diet digestion rate.

Key words: growth and learning effects *Mortierella alpina* fungi *M. alpina* extracted oil (arachidonic acid rich)

서 론

식품과학과 의학 분야에서의 필요성이 증가하고 있는 arachidonic acid의 다량 생산이 가능한 균류인 *Mortierella alpina*는 일반적인 토양에서 유래된 곰팡이로 잘 알려져 있으며 인체에는 자주 노출되는 균류이다. 비병원성을 가지고 특별한 mycotoxin을 생산하지 않으며 질병이나 allergic 반응과 관련된 증상도 알려지지 않았으며 식품성분의 일부인 arachidonic acid의 생산에 적합한 것으로 증명되고 있다(1-3). 균류의 대량 배양과 arachidonic acid의 다량생산을 통하여 가격 저하로 쉽게 식품산업이나 의학적인 목적으로 널리 사용할 수 있게 될 것이다. *Mortierella alpina*는 지금까지 고도의 불포화지방산을 함유하고 있는 곰팡이류로서 산업체에서 arachidonic acid를 생산하기 위한 균주로 개발되었고 사용되고 있다. 이는

1987년 Yamada 등(4)과 Shimizu 등(5)에 의하여 *Mortierella* 계의 균류를 이용하여 arachidonic acid의 다량 생산에 대한 시도가 있었으며 산업체에서도 균주의 분리와 적절한 배양조건을 규명하기 위한 노력이 이어졌다. 즉 최대의 지질함량과 arachidonic acid의 함량을 가지는 *Mortierella elongata*를 추적하였고(6,7) *M. alpina*의 유전자 조작을 통한 지질 최대 생산 품종 개발로서 arachidonic acid 함량을 총 지질함량의 66%로 증가시키는 연구가 진행되었으며 배양조건과 배지의 영양분 함량에 따라 arachidonic acid의 함량에 차이가 있음이 밝혀졌다(8). 상업화에 대한 외국의 사례로서는 미국, 일본 등에서 판매하고 있는 바, 미국의 Martek사는 *Mortierella* 균을 이용하여 아라키돈산을 생산, ARASCO라는 상품명으로 판매하고 있으며, 일본의 Suntory사에서 SUN-TGA라는 상품명으로 판매하고 있다.

[†]Corresponding author. E-mail: sgrhie@mail.suwon.ac.kr
Phone: 82-31-220-2239, Fax: 82-31-220-2189

Arachidonic acid는 필수지방산 중의 하나로 인정되고 있는 바, 정상적인 성장과 건강유지에 필요하면서도 체내에서 합성 되어도 매우 적은 양이어서 식사로 섭취하여야 한다. 생체 내 arachidonic acid는 그 함량이 낮으며 그 자체로서의 생리활성 뿐만 아니라 세포막 인지질의 β 위치에 누적된 arachidonic acid의 산화, 과산화 효소의 의해 다양한 변환 물질(TX계, PGD와 PGI계 및 LT계열 등)을 생성하여 생리 활성 작용을 하는 특유의 기능을 발휘한다. 실제 리놀레산이 polyunsaturated fatty acid (ω -6, 18:2)로서 arachidonic acid 합성의 전구물질로 알려졌다. 그러나 이러한 전환에 대한 대사기능이 낮아 arachidonic acid의 섭취가 필수적이라고 말하고 있으며, 노약자 및 병약자와 유아들은 식이 공급이 필수적이다. 최근 국내에서도 고도 불포화 지방산 관련 건강 지향형 식품시장이 형성되어 있으며, 그 시장규모는 급상승이 예상되며, 따라서 해외로부터의 수입도 급증하리라 예상된다. Arachidonic acid는 현재 돼지의 간, 정어리 및 난황 등에서 추출하여 생산할 수 있으나 그 함량이 5% 이하로서 매우 낮아 최근에는 미생물로부터 arachidonic acid를 대량 생산하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.

미생물을 이용하여 arachidonic acid를 생산, 추출하는 과정에 순수 물질 외 다른 여러 가지 생체 활성물질이나 생체 영향을 줄 수 있는 물질의 존재 여부와 생체에 주는 영향은 아직 알려지지 않았으며 arachidonic acid 다량 함유물인 *Mortierella alpina* 추출유(arachidonic acid로서 40%함유) 직접 사용할 수 있는 방법도 강구할 필요가 있어 추출유와 균주의 섭취로 오는 포유동물의 중추신경계의 영향을 행동발달의 영향과 뇌와 간의 DNA함량을 측정하여 생체조직의 적합성에 미치는 영향을 추적할 필요가 있다.

그러므로 본 연구에서는 *Mortierella alpina*추출유와 *Mortierella alpina*곰팡이 자체의 섭취로서 arachidonic acid를 섭취토록 하여 생육과 뇌발달 및 학습에 미치는 효과를 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

이유 후 4주 경과하여 체중이 200 g 내외의 Sprague-Dawley 암컷 30마리와 수컷 15마리를 Sam-Taco(주)에서 분양 받아 적응기간 1주년을 거쳐 임신을 시키고 새끼를 얻어 어미

와 새끼에 대한 실험을 실시하였다. 각 군당 6마리 씩의 암컷으로 구성된 실험 진행 동안 실험식은 임신부터 출산과 수유기간과 이유 후 4주간 총 11주년을 사육하였고 새끼의 경우에도 이유 후 4주간 어미와 같은 식이를 먹였다. 실험 진행 결과는 Fig. 1과 같다.

식이조성

아라키돈산의 함량을 2 단계로 제공하는 식이 조성은 Table 1과 같다. 단세포 생산 유지의 안전성에 대한 Arterburn 등(9)의 체중 kg당 1250~2500 mg의 섭취에서도 전혀 기형이나 독성효과가 없이 안전하다고 하는 결과를 참고하여 Eritsland (10)는 n 3 n-6지방산의 과다 섭취에서 지방산 과산화의 증가 경향을 볼 때 10%이상을 권장하지 않음을 말하고 있어 이에 맞추어 총 지방함량은 식이무게당 10%이며 아라키돈 산 함량이 많은 식이 조성의 효과 규명을 위하여 이루어졌다. 즉 *Mortierella alpina* extract oil의 아라키돈산 함량(총 추출 지방량의 40%)을 근거로 100 g diet당 아라키돈산 3.2 g이 포함되는 군은 high 아라키돈산(HO) 군으로 하였고 1.6 g이 포함되는 군은 low 아라키돈산(LO) 군으로 하였다. *Mortierella alpina*에서의 지방 추출은 Suzuki 등(11)의 US patent를 참고하여 hexan과 methanol을 이용하여 식이제조에 적합하도록 추출하였다. 추출한 기름은 고 불포화도에 의한 산패의 우려가 있어 동일량의 아라키돈 산을 포함하도록 곰팡이 자체를 섭취 시키는(*Mortierella alpina*의 지방함량 40% 기준) HF(high

Table 1. The composition of experimental diet (AIN 93)

%	Control	HO ¹⁾	LO ²⁾	HF ³⁾	LF ⁴⁾
Casein	20	20	20	20	20
Beef tallow	10	2	6	2	6
<i>Mortierella alpina</i> extract oil	.	8	4	.	.
<i>Mortierella alpina</i>	.	.	.	20	10
Corn starch	35	35	35	23	29
Glucose	25	25	25	25	25
Fiber	5	5	5	5	5
Mineral mix. ⁵⁾	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix. ⁵⁾	1	1	1	1	1
DL-methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Cholin bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Total	100	100	100	100	100

¹⁾Added *Mortierella alpina* extract oil 8%.

²⁾Added *Mortierella alpina* extract oil 4%.

³⁾Added *Mortierella alpina* 20%.

⁴⁾Added *Mortierella alpina* 10%.

⁵⁾The vitamin and mineral mixture based on AIN 93.

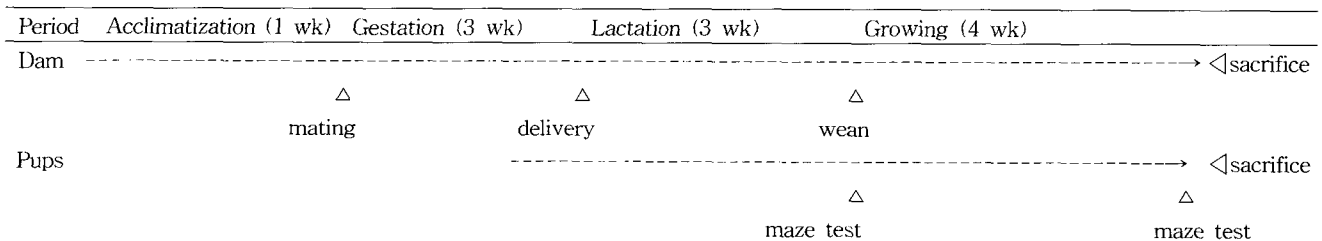


Fig. 1. Schematic diagrams of experimental design.

fungi)군과 LF(low fungi) 군, 그리고 아라키돈산이 전혀 없는 beef tallow를 제공하는 대조군으로 구분하였다. 식이의 지방 섭취량은 총 에너지 섭취량의 21.95%이며 아라키돈 산의 에너지로서 섭취량은 high군은 7.02% low군은 3.51%가 된다. 이러한 양의 결정은 정상 섭취수준을 970 mg/kg/day로 제안(3)을 근거로 하였으며 더 많은 양의 투여로도 부작용이 없다는 결과(12)를 참고하였다. 본 실험의 목적을 아라키돈산 급여효과에 두었기 때문에 곰팡이 자체의 성분에 따른 효과는 고려하지 않았으나 성분을 보면 지방함량 40% 외에도 섬유소 25.3% 단백질 14.1% 및 탄수화물 20.6%(농촌진흥청 농촌생활연구소 분석 의뢰)이었으며 이는 에너지 섭취량 당 증체량으로 비교하였다.

뇌 기능 평가

미로 테스트: T-water maze 경로실험(Fig. 2)을 이용하여 미로 테스트를 실시하였다(13,14). 쥐의 야행성 성격에 맞추어 12시간 썩 조명으로 밤과 낮을 바꾸어 설정하여 낮에 측정하여도 쥐의 야행성 행동 유형에 맞게 하였다. 각 군간의 차이를 보기 위하여 걸을 수 있는 정도의 따뜻한(±20°C) 물을 넣어

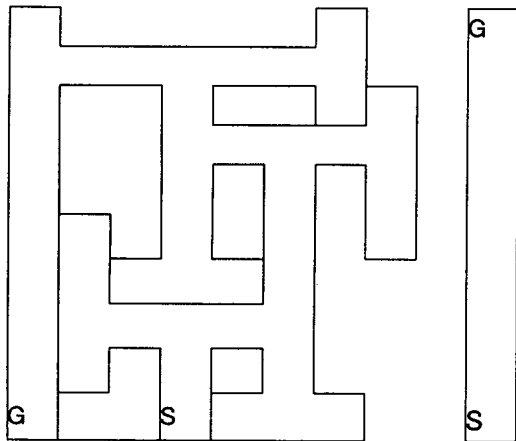


Fig. 2. The T-Morris water maze route. G: goal, S: start. □: direct route.

먼저 실시한 쥐의 냄새를 없이하였으며, 어미의 경우 이틀을, 새끼의 경우 하루를 굶겨서 먹이를 먹고 싶도록 한 후 실시하였다. 어미의 미로 실험은 새끼의 이유직후와 최종기의 2차에 걸쳐 실시하였고 새끼는 이유기(출생후 3주) 및 7주 후 최종 희생 직전의 미로 실험으로 2차 실시하였다. 실험 동안 cam coder를 이용하여 촬영하였고 이후에 화면을 보면서 미로통과 시간과 실수의 종류별 횟수에 대하여 분석하였다.

조직의 DNA함량: 뇌와 간을 분리하여 생검 무게를 비교하였으며, 냉동 건조 후 조직을 분쇄하여 DNA함량을 측정하였다. DNA 추출은 kit(G-DEX Genomic DNA Extraction kit cat No. 17021)를 이용하였으며 260 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈청 지질 성분

혈청은 decapitation에 의한 희생 직후 경동맥을 통한 혈액을 받아 하루 냉장고 방치 후 혈청만을 회수하여 중성지방, 총 콜레스테롤, 알부민을 Auto dry Chemistry Analyzer(Spot-Chem SP4410 DIC Kyoto Japan)를 이용하여 분석에 적합하게 제조된 strip으로 측정하였다.

통계 분석

각 실험의 결과는 SAS통계 프로그램을 이용하여 각 실험 군 마다 평균과 표준오차로 제시하였으며 분석항목에 대한 유의성 검증은 GLM procedure로 얻어진 F값으로 보았다.

결과 및 고찰

암컷의 새끼 출산 및 새끼의 생육 비교

어미의 식이별 체중증가와 식이효율은 Table 2와 같다. 식이군별 암컷의 체중 변화를 보면, 각 식이 종류마다 통계적인 유의차가 없음을 보여주는데, 특히 이유후 새끼를 먹이지 않은 시기에 가장 체중 증가되지 않은 군은 *Mortierella alpina* 섭취군으로 나타났으며 대조군과 추출유 섭취군은 체중 증가가 나타났다. 분만 직후의 체중증가는 수유동안 감소가 일어나 이유

Table 2. The body weight gain and FER in dams

		Control	HO ¹⁾	LO ²⁾	HF ³⁾	LF ⁴⁾	F-value
Weight increase	till delivery (g)	67.0±9.8	50.9±10.7	63.3±15.2	57.7±10.9	52.1±11.9	0.41
	lactation (g)	-3.0±0.9	-3.8±1.5	-0.3±0.8	-1.8±1.5	-0.8±0.3	1.47
	after weaning (g)	20.7±6.0	27.0±10.6	16.0±15.9	0.5±8.7	-0.3±11.1	1.36
Feed efficiency ratio	till delivery (×10 ⁻²)	7.76±1.82	7.40±1.40	8.06±1.83	5.88±0.63	5.30±0.97	0.71
	lactation (×10 ⁻²)	-0.50±0.20	-0.55±0.30	-0.04±0.11	-0.33±0.26	-0.15±0.04	0.94
	after weaning (×10 ⁻²)	9.07±3.91 ^{ab5)}	15.32±5.00 ^a	7.10±7.32 ^{abc}	0.30±3.74 ^{bc}	-5.30±4.91 ^c	2.56*
Energy efficiency	till delivery (×10 ⁻²)	1.89±0.45	1.80±0.34	1.96±0.45	1.51±0.16	1.33±0.25	0.59
	lactation (×10 ⁻²)	-0.11±0.04	-0.14±0.07	0.01±0.03	-0.09±0.07	0.03±0.01	1.02
	after weaning (×10 ⁻²)	2.22±0.96 ^a	3.74±1.22 ^{ab}	1.74±1.78 ^{abc}	0.08±0.96 ^{bc}	-1.32±1.23 ^c	2.52*

¹⁾ Added *Mortierella alpina* extract oil 8%.

²⁾ Added *Mortierella alpina* extract oil 4%.

³⁾ Added *Mortierella alpina* 20%.

⁴⁾ Added *Mortierella alpina* 10%.

⁵⁾ Values within a row with different superscript alphabet are significantly different at alpha=0.1 by Duncan's multiple range test.

*p<0.1.

기까지는 체중 감소가 각 군 모두에서 일어났으며 이유 후 통제군과 추출유 섭취군에서는 체중회복 및 증가가 있었으나 특히 곰팡이 *Mortierella alpina* 섭취군은 체중증가를 볼 수 없었다.

암컷의 식이효율은 실험 개시(mating 직후)부터 분만까지의 섭취량 및 수유기 섭취량과 이유 이후의 섭취량과 각 시기에 따른 증체량을 비교하였고 이 수치로서 식이효율을 계산하였다. 수유기동안 각 식이군 모두 식이효율의 저하를 보였으며 이유 후의 체중 증가는 식이 섭취량이 꾸준히 있음에도 *Mortierella alpina* 균사체 섭취군에서는 체중정체(HF군)와 감소(LF군)가 이어져 매우 낮은 사료효율을 나타내었다. 그러나 *Mortierella alpina* extract oil을 준 군에서는 특히 HO군에서 식이 섭취량에 대한 식이효율이 이유기 이후에 다른 군에 비하여 높음을 나타내었다($p < 0.1$). 이를 섭취 에너지 효율로 비교하여 각 군별 에너지 섭취량의 차이에 대한 보정을 하여 본 결과도 사료효율과 같은 결과를 나타내었다.

Table 3은 출산한 새끼의 수를 비교하였다. *Mortierella alpina* 섭취군이 비교적 적은 수이었으나 통계적인 유의차를 보이지 않았고 수유하는 새끼의 수에서도 low *Mortierella alpina* extract oil 군이 11마리 평균으로 좀 많았으나 통계적인 유의성은 보이지 않았다. 필수지방산은 구조적으로 모든 세포의 구성분으로서 필요하지만 합성능력이 부족하기에 식이로서 섭취하여야 함은 특히 어린시기에 중요하며, 아라키돈산

은 출생후 3주까지 급격한 증가(15)를 보인다고 하지만, 어미의 식이에서 아라키돈산을 풍부하게 공급한 경우에도 새끼의 성장에는 출생시의 체중이나 이유기의 체중에서도 유의적인 차이를 볼 수 없었다.

이유기 이후 새끼의 성장 변화를 비교하여 본 결과는 Table 4와 같다. 이유기까지의 새끼의 체중으로 본 성장에는 큰 차이가 없었으나 이유기 후의 증체량은 군간 차이를 보여 특히 어미와 같이 *Mortierella alpina* 섭취군에서 체중증가가 낮았고 통제군과 HO군은 체중이 현저히 증가하였다. 체중 변화를 식이 섭취량과 식이효율로서 비교하면 *Mortierella alpina* 섭취군에서의 증체량이 적었으며 이는 식이 섭취량이 적음으로 나타났다. 이를 식이효율로 비교할 때 적은 섭취량에 비하여 적으나 증체량이 있기 때문에 식이효율은 오히려 높았으나 통계적 유의성을 볼 수는 없었다. 이유기까지의 어미 식이에 포함되는 아라키돈산의 중요성은 Chung과 Park(16)의 연구와, Innis(17)와 또 Presa Owens와 함께 한 결과(18)에 의하여 새끼의 뇌조직 함량 증가에 영향을 준다고 말하고 있으며 그밖에도 주의 결핍 과행동 장애를 가지는 어린이에게 일반적으로 혈중 긴사슬 불포화 지방산함량이 낮은 것으로 보고되고(19) 있으며, Crawford(20)는 세포막과 뇌혈관에 중요한 AA와 DHA는 자궁 태반에서 선택적으로 모체로부터 흡수하여 태아순환계에 공급하므로 모체에서의 섭취에 대한 중요성을 말

Table 3. The birth weight and number of siblings (mean ± SE)

	Control	HO ¹⁾	LO ²⁾	HF ³⁾	LF ⁴⁾	F value
Number of litter	11.1 ± 1.2	11.7 ± 1.0	11.8 ± 0.9	9.3 ± 1.4	9.7 ± 1.9	0.71
Birth weight	6.3 ± 0.4	6.2 ± 0.4	6.1 ± 0.3	7.1 ± 0.4	7.1 ± 0.4	1.68
Weaning weight of sibling	55.2 ± 2.6	48.8 ± 2.5	51.7 ± 1.8	49.4 ± 2.1	51.8 ± 3.5	0.88

¹⁾ Added *Mortierella alpina* extract oil 8%.
²⁾ Added *Mortierella alpina* extract oil 4%.
³⁾ Added *Mortierella alpina* 20%.
⁴⁾ Added *Mortierella alpina* 10%.

Table 4. Body and organ weight and serum lipids contents in pups (mean ± SE)

	Control	HO ¹⁾	LO ²⁾	HF ³⁾	LF ⁴⁾	F-value
3 wks						
Body weight (g)	55.2 ± 2.6	48.8 ± 2.5	51.7 ± 1.8	49.4 ± 2.1	51.8 ± 3.5	0.88
Brain weight (g)	1.61 ± 0.14	1.43 ± 0.05	1.45 ± 0.02	1.54 ± 0.03	1.55 ± 0.02	1.61
Liver weight (g)	2.26 ± 0.15	2.45 ± 0.18	2.32 ± 0.11	2.18 ± 0.10	2.43 ± 0.12	1.22
7 wks						
Body weight (g)	175.2 ± 12.1 ⁴⁵⁾	167.2 ± 13.9 ^{a)}	158.5 ± 15.8 ^{a)}	141.7 ± 9.1 ^{b)}	119.9 ± 13.7 ^{c)}	3.06*
Brain weight (g)	1.89 ± 0.02 ^{a)}	1.90 ± 0.02 ^{a)}	1.86 ± 0.03 ^{a)}	1.85 ± 0.02 ^{ab)}	1.80 ± 0.02 ^{b)}	2.81*
Liver weight (g)	5.86 ± 0.22 ^{a)}	6.04 ± 0.28 ^{a)}	5.50 ± 0.36 ^{a)}	5.73 ± 0.34 ^{a)}	4.06 ± 0.29 ^{b)}	6.76***
diet intake (g)	278.3 ± 14.3	295.2 ± 24.8	255.4 ± 21.3	205.6 ± 36.0	143.8 ± 31.4	6.21**
FER (× 10 ⁻²)	42.87 ± 2.88	39.22 ± 2.90	41.30 ± 2.28	51.95 ± 9.86	61.33 ± 15.90	0.97
Energy intake efficiency (× 10 ⁻²)	10.46 ± 0.70	9.57 ± 0.70	10.08 ± 0.56	13.32 ± 2.53	15.33 ± 3.98	1.1
Serum TG (mg/100 mL)	56.1 ± 3.0 ^{b)}	50.1 ± 5.0 ^{b)}	52.6 ± 3.3 ^{a)}	56.9 ± 7.8 ^{b)}	51.9 ± 4.0 ^{b)}	2.75
Serum Tcholesterol (mg/100 mL)	70.4 ± 3.2 ^{ab)}	87.3 ± 5.8 ^{ab)}	72.4 ± 5.6 ^{b)}	83.7 ± 7.0 ^{b)}	118.1 ± 9.3 ^{a)}	2.20
Serum albumin (g/100 mL)	3.8 ± 0.1	3.9 ± 0.1	3.5 ± 0.2	3.6 ± 0.1	3.6 ± 0.1	0.38

¹⁾ Added *Mortierella alpina* extract oil 8%.
²⁾ Added *Mortierella alpina* extract oil 4%.
³⁾ Added *Mortierella alpina* 20%.
⁴⁾ Added *Mortierella alpina* 10%.
⁵⁾ Values within a row with different superscript alphabet are significantly different at alpha=0.1 by Duncan's multiple range test. The significance within groups by F-value * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

하고 있는데, 태반에서는 이러한 긴사슬 불포화지방산의 생성 능력이 없기 때문에 미숙아에서 부족한 AA, DHA는 모체에서 공급되어야 뇌의 성장기에 필요량을 충족할 수 있다고 말하고 있어 그 중요성을 인식할 수 있으나 본 실험의 이유기 새끼의 체중증가량이나 뇌와 간의 무게 상으로 볼 때에는 그 영향을 볼 수 없었다.

또한 7주된 새끼의 혈중 지방함량에서 보면 콜레스테롤의 함량은 아라키돈산 풍부 기름의 섭취로서 오히려 억제되기보다는 증가하였으며 중성지방 함량은 영향을 보이지 않았다. 이는 n-3지방인 참치유와 들기름 첨가시 혈청 콜레스테롤 함량 감소(21) 결과와는 상반된 결과이었다.

Mortierella alpina 균체 섭취군의 성장 지연은 출생 후 낮은 아라키돈산 함량이 임신수유기의 어미쥐의 새끼에 발달지연과 밀접한 관련이 있다는 보고(22)에서 볼 때 식이에 고품질 자체를 이용하지 못한 원인으로 추정할 수 있다.

어미의 최종 무게와 간 및 뇌의 무게는 Table 5와 같다. 군별로 볼 때 *Mortierella alpina* 섭취군에서 체중의 감소와 뇌무게의 감소경향을 볼 수 있었으며 혈액성분에서 보면 LO군에서 총 콜레스테롤은 가장 낮은 함량을 보였고 중성지방은 가장 높은 함량을 나타내어 관계를 설명하기에 어려움이 있으며 알부민 함량에서는 *Mortierella alpina* 섭취군에서 약간의 상승을 보이지만 통계적인 유의성은 없었다.

행동 발달 평가

아라키돈산과 DHA는 뇌의 중요한 구성 지방산으로서 행동평가가 실행되어야 함(23)을 고려할 때 검증된 T-Morris water maze(13,14,24)를 이용하여 암컷 어미와 새끼의 행동 발달로서 미로상의 zone error, selecting error 및 backing error와 통과시간을 측정하였다.

먼저 암컷 어미의 결과를 보면 식이 종류에 따른 차이를 볼 수 없으며 또한 미로 통과 시간의 결과에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 6). 또한 이유 직후에 측정된 결과와 이유 후 4주간을 더 키운 다음 측정된 결과에서도 섭취 식이 간의 차이가 보이지 않으며 또한 학습효과를 기대하기 어려웠다. 이는 개체간 차이가 매우 커서 식이군의 차이로 보기에 어려움이 있었으며, 또한 흰쥐의 미로측정에 4주이후에 학습효과를

기대하는 것이 어려운 요인으로 보이고, 새끼를 이유 시킨 어미에서 식이 섭취 감소와 체중 감소 및 식욕저하도 원인 중 하나인 것으로 추정된다.

어미의 행동발달 상태에 대하여 아라키돈산 함유 조절 물질(cannabinoid)의 수용체와 관련이 있다(25)고 하며 아라키돈산의 뇌의 함량이 노화과정에서 오는 인지기능의 상실과 함께 감소(26)하고 알츠하이머 질환에 뇌의 불포화지방산 농도 감소가 인지기능 부진과 관련된다(27)고 말하고 있어(27) 노화과정에 불포화 지방산의 함량이 영향을 미칠 것으로 보지만 본 암컷 어미의 경우 새끼 출산을 통하여 식이에 든 아라키돈산의 함량에 따른 행동발달 상의 변화는 보이지 않는 것으로 추정되었다.

새끼에 대한 측정을 보면 먼저 3주령이 되어 이유시킬 단계에서 실시한 테스트에서는 high *Mortierella alpina* extract oil 섭취군(HO)이 통제군보다 zone error, selecting error 및 backing error 모두에서 낮음을 보였다(Table 6). 그러나 다시 4주를 더 키워서 7주령에서 조사한 결과에서는 유의적인 차이를 보이지 않아 이유기에 HO군에서 우수함을 나타내 주는 것으로만 설명할 수 있었다.

즉 통제군과 high *Mortierella alpina* extract oil군을 비교하면 이유기에 selecting error, zone error 및 backing error 모두에서 아라키돈산 다량 섭취군에서 실수에 대한 수의 감소로 우수함을 보였다. 그러나 Low *Mortierella alpina* extract oil군에서는 모두 통제군과 비교할 때 통계적 유의차를 볼 수 없었다. Choi 등(28)은 세포의 신경전달물질 분비에 아라키돈산의 작용 메커니즘을 보았으며 Carlson(23)은 긴사슬 불포화 지방산인 ARA와 DHA의 부족으로 오는 행동장애를 말하고 있으나 Wainwright 등(29)은 AA와 DHA의 첨가로서 Morris 수중미로테스트에서 구간 차이를 얻지 못하였고 기억력 측정에서도 AA와 DHA의 함량과 일의 기억 수행간에 상관을 얻지 못하여 행동발달에 영향을 준다는 내용을 지지하지 못하였고 하는 등 상반된 견해가 공존한다. 그럼에도 미로 실험의 이유기에 우수한 결과는 뇌의 성장이 출산 후 3주까지 완성된다(15)는 의미에서 좋은 결과를 보여 주었다고 생각한다.

뇌와 간의 체중에 대한 DNA 함량비

어미와 새끼의 DNA함량을 비교하였다. 뇌에 영향을 주는

Table 5. Body and organ weight and serum lipids contents in dams

	Unit	Control	HO ¹⁾	LO ²⁾	HF ³⁾	LF ⁴⁾	F-value
Body weight	g	275.4±5.0 ^{ab}	269.0±5.4 ^a	270.6±7.4 ^a	264.2±4.6 ^{ab}	248.4±10.9 ^b	2.27*
Liver weight	g	6.4±0.3	7.0±0.3	6.4±0.2	6.8±0.3	6.6±0.2	1.22
Brain weight	g	2.1±0.0 ^a	2.0±0.0 ^{ab}	2.0±0.1 ^{ab}	2.0±0.0 ^{ab}	1.9±0.0 ^b	1.66
s-triglyceride	mg/100 mL	47.3±5.6 ^b	41.0±4.8 ^b	65.5±9.3 ^a	43.4±8.2 ^b	49.1±3.0 ^b	2.75*
s-T-cholesterol	mg/100 mL	76.3±5.5 ^{ab}	72.7±4.9 ^{ab}	52.8±10.3 ^b	60.6±6.9 ^b	95.9±17.2 ^a	2.32
s-albumin	mg/100 mL	4.3±0.1	4.4±0.1	4.3±0.2	4.4±0.2	5.0±1.0	0.38

¹⁾Added *Mortierella alpina* extract oil 8%.

²⁾Added *Mortierella alpina* extract oil 4%.

³⁾Added *Mortierella alpina* 20%.

⁴⁾Added *Mortierella alpina* 10%.

⁵⁾Values within a row with different superscript alphabet are significantly different at alpha=0.1 by Duncan's multiple range test. The significance within groups by F-value *p<0.05.

Table 6. The T-Morris water maze results

(mean ± SE)

		Unit	Control	HO ¹⁾	LO ²⁾	HF ³⁾	LF ⁴⁾	F-value
Dams	wean	selecting error	frq. 11.1 ± 2.8	9.2 ± 2.7	9.8 ± 2.9	9.7 ± 2.2	10.1 ± 0.5	0.10
		zone error	frq. 2.7 ± 0.7	2.5 ± 0.9	2.7 ± 0.8	2.7 ± 0.8	2.4 ± 0.2	0.03
		backing error	frq. 1.1 ± 0.7	0.3 ± 0.2	1.5 ± 1.0	2.4 ± 0.7	1.7 ± 0.3	1.17
		time	sec 87.8 ± 5.3	96.6 ± 36.5	99.4 ± 29.1	128.5 ± 33.2	138.0 ± 15.9	0.82
	final	selecting error	frq. 12.3 ± 3.3	11.0 ± 4.3	14.7 ± 4.1	9.2 ± 2.5	9.0 ± 4.0	0.32
		zone error	frq. 3.0 ± 0.6	3.5 ± 1.2	3.7 ± 0.9	2.8 ± 0.9	3.0 ± 0.0	0.19
		backing error	frq. 1.0 ± 0.6	1.5 ± 0.6	2.5 ± 0.5	2.5 ± 1.5	1.5 ± 0.5	0.61
		time	sec 144.7 ± 46.1	184.4 ± 94.2	211.7 ± 68.7	63.0 ± 11.6	173.5 ± 149.5	0.35
Pups	3 weeks	selecting error	frq. 10.58 ± 0.55	8.00 ± 0.86	12.15 ± 1.52	13.89 ± 2.57	9.05 ± 0.85	1.67
		zone error	frq. 2.50 ± 0.22	1.80 ± 0.20	2.50 ± 0.29	3.33 ± 0.67	2.29 ± 0.36	0.97
		backing error	frq. 1.47 ± 0.21 ^{ab5)}	0.93 ± 0.00 ^b	1.90 ± 0.58 ^a	1.79 ± 0.60 ^{ab}	1.33 ± 0.36 ^{ab}	1.15
		time	sec 134.2 ± 15.1 ^{ab}	103.2 ± 22.9 ^b	161.8 ± 27.7 ^{ab}	145.2 ± 20.7 ^a	131.1 ± 16.5 ^{ab}	1.76
		failure rate	rate 0.09 ± 0.04 ^b	0.08 ± 0.09 ^b	0.23 ± 0.13 ^{ab}	0.43 ± 0.15 ^a	0.23 ± 0.07 ^{ab}	3.11*
	7 weeks	selecting error	frq. 12.50 ± 2.75	10.65 ± 1.57	10.54 ± 1.34	14.28 ± 3.66	8.06 ± 1.12	0.78
		zone error	frq. 2.97 ± 0.88	2.27 ± 0.37	2.58 ± 0.35	3.25 ± 0.90	1.82 ± 0.22	0.70
		backing error	frq. 1.53 ± 0.91	0.87 ± 0.23	0.98 ± 0.24	2.13 ± 0.81	0.70 ± 0.34	0.99
	time	sec 131.3 ± 17.9	130.3 ± 15.5	105.3 ± 20.8	104.1 ± 26.0	106.1 ± 14.0	0.27	
	failure rate	rate 0.17 ± 0.17	0.17 ± 0.08	0.00 ± 0.00	0.18 ± 0.13	0.45 ± 0.23	1.06	

¹⁾Added *Mortierella alpina* extract oil 8%.²⁾Added *Mortierella alpina* extract oil 4%.³⁾Added *Mortierella alpina* 20%.⁴⁾Added *Mortierella alpina* 10%.⁵⁾Values within a row with different superscript alphabet are significantly different at alpha=0.1 by Duncan's multiple range test. The significance within groups by F-value *p<0.05.

긴 사슬 고도 불포화지방산에 대한 연구결과들을 참조할 때 뇌의 성장에 특히 영향을 미친다고 하는 바, 본 실험에서 뇌의 DNA 함량을 보았다. *Mortierella alpina* 균의 체중 증가가 적음에서 보듯이 뇌의 크기에서도 적음(뇌무게 감소)과 함께 DNA 함량에서도 적게 나타났다.

간과 뇌의 DNA 함량 측정결과를 보면 Table 7과 같다. 암컷 어미의 식이군 간 차이에서 간과 뇌의 DNA 함량에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 새끼에서는 3주령의 이유시기에 뇌의

DNA 함량이 적은 함량 *Mortierella alpina* 추출유(LO)나 *M. alpina* 자체 섭취(LF)군에서 낮음을 보였으나 간의 DNA에서는 통계적인 유의차가 없었다. 그러나 7주령이 되었을 때 이유 후 직접 조제식을 먹음으로서 체중당 뇌와 간의 DNA는 식이별 차이를 보였다. 즉 *Mortierella alpina* 자체의 섭취군에서 차이가 있어 뇌DNA는 다른군보다 적었고 간의 DNA는 다른 군보다 많았다. 이는 뇌의 경우 아직 성장이 덜 되었거나 성장 지연을 보인다고 말할 수 있었고 간에서는 간세포의

Table 7. The brain and liver DNA contents and their contents relative to body weight in pups and dams

(mean ± SE)

		Control	HO ¹⁾	LO ²⁾	HF ³⁾	LF ⁴⁾	F-value	
Dams	final	BD (mg/g)	36.40 ± 3.08	36.28 ± 6.92	27.37 ± 3.77	35.45 ± 1.28	28.22 ± 1.49	1.36
		LD (mg/g)	18.75 ± 1.33	15.33 ± 2.23	18.37 ± 1.25	15.98 ± 0.44	16.25 ± 1.30	1.09
		BD/bw	0.149 ± 0.020	0.136 ± 0.027	0.117 ± 0.025	0.134 ± 0.005	0.119 ± 0.011	0.50
		LD/bw	0.077 ± 0.011	0.058 ± 0.009	0.075 ± 0.004	0.061 ± 0.003	0.068 ± 0.006	1.24
Pups	3 weeks	BD (mg/g)	28.74 ± 1.19 ^{a5)}	23.45 ± 1.30 ^b	19.68 ± 0.91 ^c	21.76 ± 1.66 ^{bc}	19.81 ± 1.48 ^c	8.79***
		LD (mg/g)	14.44 ± 0.85	12.73 ± 1.38	13.09 ± 1.37	13.71 ± 0.78	10.33 ± 0.75	2.43
		BD/bw	0.556 ± 0.030 ^a	0.488 ± 0.027 ^{ab}	0.407 ± 0.022 ^b	0.490 ± 0.042 ^{ab}	0.440 ± 0.042 ^b	3.01**
		LD/bw	0.276 ± 0.018	0.262 ± 0.026	0.272 ± 0.030	0.302 ± 0.019	0.222 ± 0.014	1.77
7 weeks	BD (mg/g)	19.77 ± 1.34 ^a	18.16 ± 2.50 ^a	14.61 ± 1.62 ^b	11.90 ± 0.75 ^{bc}	9.47 ± 0.74 ^c	13.95***	
	LD (mg/g)	19.92 ± 1.82 ^b	20.09 ± 1.95 ^b	21.63 ± 3.01 ^{ab}	20.08 ± 1.82 ^b	26.29 ± 1.63 ^c	2.21	
	BD/bw	0.120 ± 0.007 ^{ab}	0.138 ± 0.024 ^a	0.109 ± 0.013 ^b	0.098 ± 0.010 ^b	0.091 ± 0.008 ^b	2.52*	
	LD/bw	0.123 ± 0.013 ^b	0.166 ± 0.033 ^b	0.161 ± 0.022 ^b	0.165 ± 0.020 ^b	0.273 ± 0.020 ^a	9.64***	

¹⁾Added *Mortierella alpina* extract oil 8%.²⁾Added *Mortierella alpina* extract oil 4%.³⁾Added *Mortierella alpina* 20%.⁴⁾Added *Mortierella alpina* 10%.⁵⁾Values within a row with different superscript alphabet are significantly different at alpha=0.1 by Duncan's multiple range test. BD: brain DNA contents, LD: liver DNA contents. BD/bw: brain DNA contents per body weight, LD/bw: liver DNA per body weight. The significance within groups by F-value *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

수가 더 많아 간 기능이 더 필요한 요인이 있다고 볼 수 있었다.

쇠기름과 어유 및 옥수수기름의 비교에서 출생시에는 쇠기름군에 뇌의 DNA함량이 높았으나 3주령에서는 옥수수기름 섭취군에서 DNA함량이 더 높다(30)고 하여 우지에서의 뇌에 DNA함량 감소를 볼 수 없었다고 하여 본 실험에서 체중 당으로 비교할 때 느린 성장 속도와 함께 느리게 뇌의 성숙에 기여하는 것으로 보여진다.

요 약

아라키돈산의 필요성에 대한 인식이 점차 증가하면서 생산 가능한 균주로서 독성을 보이지 않는 *Mortierella alpina*를 이용할 때 오는 효과를 알아보기 위하여 곰팡이의 추출유와 곰팡이 자체의 섭취로서 arachidonic acid를 섭취토록 하여 생육과 뇌발달 및 학습에 미치는 효과를 비교하고자 하였다. 대조군으로서 우지를 섭취시킨 쥐와 비교할 때 식이군별 암컷의 체중 변화에서는 비교적 체중이 증가되지 않은 군은 *Mortierella alpina* 섭취군으로 나타났으며 새끼를 젖 떼 후 심하였지만 개체 차이가 심하여 통계적인 유의성은 없었다. 분만 직후의 체중 증가는 수유동안 감소가 일어나 이유시기에는 체중 감소가 각 군 모두에서 일어났다. 새끼에서는 이유전까지는 체중증가에 어미의 식이군에 따른 차이가 전혀 보이지 않았으나 이유 후 식이섭취 동안 군별 차이가 있어 특히 적은 양을 섭취한 *Mortierella alpina* 섭취군(LF)에서 체중이 가장 적었다. 섭취량 자체도 적었고 증체량도 적었기에 이에 대한 식이 효율에서는 유의적인 차이는 보이지 않았다. 어미와 새끼의 미로실험에서 어미의 경우는 식이별 통계적 유의성을 볼 수 없었으며 또한 2차에 걸친 시기에서도 학습효과를 볼 수 없었다. 그러나, 이유기 새끼의 미로 측정 결과를 보면, 통제군에 비하여 고추출유 섭취군(HO)에서 실수의 빈도가 감소하였고 backing error 빈도는 다른 군보다 낮았다고 볼 수 있어 긴사슬 지방산의 효과를 일부 추정할 수 있었다. 그러나 성숙기인 7주령에 시행한 미로 실험에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 뇌의 성장에 이유기까지의 중요성을 확인할 수 있는 좋은 결과로 보며, 지방급원으로서 곰팡이 자체의 섭취군에서는 통계적 유의차를 나타내지 않아 불포화지방산의 효과를 추정하기 어려우며 곰팡이의 체내 소화작용이나 식이섭취에 다른 요인이 있을 것으로 생각할 수 있었다. 어미와 새끼의 DNA함량을 비교하면 *Mortierella alpina* 섭취군의 체중 증가의 지연에서 보듯이 뇌의 성장에서도 지연됨(무게감소)과 함께 DNA함량에서도 적게 나타났으나 어미의 경우, 간과 뇌의 DNA함량에 식이군 간의 유의차가 없었다. 그러나 이유기 새끼의 뇌의 DNA함량은 *Mortierella alpina* 섭취군이 가장 적었고 간의 DNA 함량은 차이가 없었다. 새끼의 성숙기에는 식이군 간 차이가 있어 뇌의 DNA함량은 여전히 적었으나 간의 DNA함량에서는 체중 g당 환산할 때 *Mortierella alpina*를 적게 섭취한 군(LF)이 더 많아서 신체에서 간이 더 커진 모습을 보였다. 아라키돈산

의 섭취가 특히 어린시기의 뇌발달에 필요함을 인식할 때, 아라키돈산의 급원으로서 식이에 일정비율 공급할 필요에 맞추어 다량 생산할 수 있는 기반이 *Mortierella alpina* 곰팡이를 이용함으로써 가능한 것으로 볼 수 있었다. 곰팡이의 배양과 기름의 추출과정을 통하여 생산된 기름의 섭취에서 생육에 문제를 보이지 않았으며 다량의 함유 아라키돈산의 효과를 미로를 이용한 실험에서 확인되었다. 고도의 불포화지방산을 함유하기에 산화과정을 우려하여 곰팡이 자체를 섭취시켜 본 결과 성장이 느리게 진행되는 것으로 나타났기에 이는 진균류의 세포막을 분리하여 내부에 포함된 지방을 이용하기에는 어려움이 있는 것으로 추정할 수 있었다. 아라키돈산의 가격이 워낙 비싸기에 쉽게 이용할 수 있는 *Mortierella alpina*를 이용한 추출유로 충분한 식품첨가 가능성을 보여 주었다고 보지만 기타 미량 성분에 대한 추적이 요구되며 모든 공정에서 문제를 발견하지 못할 때 식품산업에 응용할 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 신기능 생물소재 기술개발사업 연구비 지원의 한국생명공학 연구조합 (주)두산 바이오텍에서 위탁받아 실시한 연구 중 일부입니다. 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Streekstra H. 1997 On the safety of *Mortierella alpina* for production of food ingredients, such as arachidonic acid. *J Biotech* 56: 153-165.
2. Hempenius RA, Van Delft JMH, Prinsen M, Lina AR. 1997. Preliminary safety assessment of an arachidonic acid-enriched oil derived from *Mortierella alpina*: Summary of toxicological data. *Food Chem Toxicol* 35: 573-581.
3. Hempenius RA, Lina BA, Haggitt RC. 2000. Evaluation of subchronic (13 week) oral toxicity study, preceded by an in utero exposure phase, with arachidonic acid oil derived from *Mortierella alpina* rats. *Food Chem Toxicol* 38: 127-139.
4. Yamada H, Shimizu S, Shinmen Y. 1987. Production of arachidonic acid by *Mortierella elongata* IS 5. *Agric Biol Chem* 51: 785-790.
5. Shimizu S, Kawashima H, Shinmen Y, Akimoto K, Yamada H. 1988. Production of eicosapentaenoic acid by *Mortierella* fungi. *J Am Oil Chem Soc* 65: 1455-1459.
6. Buranova L, Rezank T, Jandera A. 1990. Screening for strains of the genus *Mortierella*, showing elevated production of highly unsaturated fatty acid. *Folia Microbiol* 35: 578-582.
7. Li ZY, Lu Y, Yadwad VB, Ward OP. 1995. Process for production of arachidonic acid concentrate by a strain of *Mortierella alpina*. *Can J Chem Eng* 73: 135-139.
8. Lindberg AM, Molin G. 1993. Effect of temperature and glucose supply on the production of polyunsaturated fatty acids by the fungus *Mortierella alpina* CBS 343.66 in fermentor cultures. *Appl Microbiol Biotechnol* 39: 450-455.
9. Arterburn LM, Boswell KD, Henwood SM, Kyle DJ. 2000. A developmental safety study in rats using DHA- and ARA-rich single cell oils. *Food Chem Toxicol* 38: 763-771.
10. Eritsland J. 2000. Safety considerations of polyunsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr* 71(suppl): 197S-201S.

11. Suzuki O, Yokochi T. 1989. Method for obtaining lipids from fungus bodies. *USPatent* 4,870,011.
12. Burns RA, Wibert GJ, Diersen-Schade DA, Kelly CM. 1999. Evaluation of single cell sources of docosahexaenoic acid and arachidonic acid: 3-month rat oral safety study with an in utero phase. *Food Chem Toxicol* 37: 23-36.
13. Jin SH, Nam KY, Hyun HC, Kyung JS, Park JK. 1994. Effect of red ginseng saponins on learning behavior of rats in the water maze. *Korean J Ginseng Sci* 18: 39-43.
14. Lee YH, Kim SH. 1983. Effects of amino acid composition of diet and environment on RNA, protein content in brain and learning ability in rats. *Korean J Nutr* 16: 81-88.
15. Kim MK, Chee KM, Lee YC. 1993. Effect of maternal dietary ω 3 and ω 6 polyunsaturated fatty acids on the fatty acid composition of the second generation rat brain. *Korean J Nutr* 26: 661-671.
16. Chung KS, Park HS. 1996. Effect of DHA-rich fish oil on brain development and learning ability in rats. *Koran J Nutr* 29: 267-277.
17. Innis SM. 2000. Essential fatty acids in infant nutrition lessons and limitation from animal studies in relation to studies on infant fatty acid requirements *Am J Clin Nutr* 71(s1): 238s-244s.
18. Innis SM, Presa Owens S. 2001. Dietary Fatty acid composition in pregnancy alters neurite membrane fatty acids and dopamine in newborn rat brain. *J Nutr* 131: 118-122.
19. Burgess JR, Stevens LW, Zhang LP. 2000. Long-chain polyunsaturated fatty acids in children with attention-deficit hyperactivity disorder. *Am J Clin Nutr* 71(suppl): 327s-30s.
20. Crawford MA. 2000. Placental delivery of arachidonic and docosahexaenoic acids: implications for the lipid nutrition of preterm infants. *Am J Clin Nutr* 71(suppl): 275S-84S.
21. Kim WK, Lee KA, Kim SH. 1996. Effects of perilla oil and tuna oil on lipid metabolism and eicosanoids production in rats. *Korean J Nutr* 29: 703-712.
22. Amusquivar E, Ruperez FJ, Barbas C, Herrera E. 2000. Low arachidonic acid rather than alpha-tocopherol is responsible for the delayed postnatal development in offspring of rats fed fish oil instead of olive oil during pregnancy and lactation. *J Nutr* 130: 2855-2865.
23. Carlson SE. 2000. Behavioral methods used in the study of long-chain polyunsaturated fatty acid nutrition in primate infants. *Am J Clin Nutr* 71(suppl): 268S-74S.
24. Lim DK, Wee SM, Ma Y, Yi E. 1995. Effects of ethylcholine aziridinium, scopolamine and morphine on learning behaviors in Morris water maze. *Arch Pharm Res* 18: 346-350.
25. Yamaguchi T, Shoyama Y, Watanabe S, Yamamoto T. 2001. Behavioral suppression induced by cannabinoids is due to activation of the arachidonic acid cascade in rats. *Brain Res* 889: 149-154.
26. Ulmann L, Mimouni V, Roux S, Porsolt R, Poisson JP. 2001. Brain and hippocampus fatty acid composition in phospholipid classes of age-related cognitive deficit rats. *Prostaglandins Leukot Fatty Acids* 64: 198-195.
27. Kuresh AY, Martin A, Joseph JA. 2000. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *International J Developmental Neuroscience* 18: 383-399.
28. Choi SY, Park TJ, Choi JH, Kim KT. 1997. Arachidonic acid inhibits norepinephrine release through blocking of voltage-sensitive Ca^{2+} channels in PC12 cells. *Korean J Biological Sci* 1: 81-86.
29. Wainwright PE, Xing HC, Ward GR, Huang YS, Bobik E, Auestad N, Montalto N. 1999. Water maze performance is unaffected in artificially reared rats fed diets supplemented with arachidonic acid and docosahexaenoic acid. *J Nutr* 129: 1079-1089.
30. Lee YH, Yoo YS. 1995. Effects of ω -3 and ω -6 fatty acids from prenatal to growing period on the brain growth and behavioral development of the rats. *Korean J Nutr* 28: 602-611.

(2002년 8월 17일 접수; 2002년 12월 10일 채택)