

# 지방원으로 전지대두와 아마종실의 첨가가 반추위내 건물과 C18계-불포화지방산의 조성과 소실율에 미치는 영향

이성훈\*·최낙진\*\*·맹원재\*

건국대학교 축산대학 영양자원학과\*, 서울대학교 농생명공학부\*\*

## Effects of Full-Fat Soybeans and Linseed as Dietary Fat Sources on *In Vitro* Ruminal Disappearances of Dry Matter and C18-Unsaturated Fatty Acids and Fatty Acids Profile

S. H. Lee\*, N. J. Choi\*\* and W. J. Maeng\*

Dept. of Nutritional Resources Science, College of Animal Husbandry, Konkuk University\*,  
School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University\*\*

### ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effects of dietary full-fat soybeans and linseed as fat sources on *in vitro* ruminal disappearances of dry matter and unsaturated fatty acids and fatty acids profile. The full-fat soybeans and linseed were high in linoleic acid (C18:2*n*-6) and α-linolenic acid (C18:3*n*-3), respectively. The incubation times were 0, 3, 6, 12, 24, 48 and 72 h. After each time of incubation, medium digesta was lyophilized for analyzing its DM and fatty acids contents. DM disappearance was significantly higher in linseed treatment compared to full-fat soybeans treatment on 6 h ( $p<0.01$ ), 12 h ( $p<0.05$ ) and 24 h ( $p<0.01$ ), but cumulative gas production was not significantly different between both treatments. Stearic acid (C18:0) content in medium digesta was increased in both soybeans and linseed as a result of complete biohydrogenation with increased incubation time and C18:0 and C18:1 contents of full-fat soybeans were significantly higher than those of linseed ( $p<0.05$ ). The content of C18:2 and C18:3 in digesta of each treatment were decreased by biohydrogenation as incubation time was increased. The content of C18:2 in full-fat soybeans was significantly higher than that of linseed ( $p<0.05$ ) while the content of C18:3 in linseed was significantly higher than that of full-fat soybeans ( $p<0.001$ ). Net C18:0 production was significantly higher in full-fat soybeans (332.24%) than linseed (133.16%) on 72 h. Disappearance of C18:1 was significantly lower in full-fat soybeans than linseed ( $p<0.05$ ), especially full-fat soybeans showed negative (-) values on 3, 6, 12 and 24 h. The disappearance of C18:3 was significantly higher in linseed than full-fat soybeans ( $p<0.05$ ). The disappearance of C18-unsaturated fatty acid was significantly higher in linseed than full-fat soybeans. In conclusion, polyunsaturated fatty acid (PUFA) in both full-fat soybeans and linseed were extensively biohydrogenated. In addition, biohydrogenation of PUFA was more completed to C18:0 in full-fat soybeans than linseed, reflecting dietary PUFA composition.

(Key words : Full-fat soybeans, Linseed, Gas production, PUFA, Biohydrogenation, Medium digesta)

---

Corresponding author : W. J. Maeng, Department of Nutritional Resources Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. TEL : (02) 450-3697, E-mail : maengwj@konkuk.ac.kr

## I. 서 론

최근 들어, 건강에 대한 관심의 증가로 인하여 인체에 이로운 식품소재 원이 함유된 기능성 축산 식품 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 임상보고 (Barlow 등, 1990; Sargent와 Henderson, 1995)에 따르면, 불포화 지방산, 특히 *n-3* 불포화 지방산이 심혈관계 질병 (cardiovascular disease) 및 동맥경화 (atherosclerosis)를 예방 치료한다고 하였다. 이러한 연구로, 우유와 쇠고기의 축산 식품 내에 불포화 지방산 함량을 증가시키기 위한 노력을 하고 있으나, 반추동물 소화 생리적으로 반추위 내에서 불포화 지방산은 수소첨가현상 (biohydrogenation)을 통해 CLA 또는 C18:1 *trans* 지방산으로 전환되고, 최종적으로 포화지방산인 C18:0으로 변화한다 (Harfoot과 Hazlewood, 1988). 이와 같은 현상은 반추위내 서식하는 미생물들에게 불포화 지방산이 유해한 작용을 하기 때문에 반추위 조건의 정상화를 위한 일련의 해독 작용이라고 할 수 있다 (Jenkins, 1993). 따라서, 반추위 환경의 저해, 특히 미생물 활동 저해 및 섬유소 분해율 감소 (Palmquist와 Jenkins, 1980)를 피하고 섭취된 불포화 지방산을 biohydrogenation 작용으로부터 보호하기 위하여 여러 가지 방법이 진행되어오고 있다.

예를 들면, calcium soap형성 (Elmeddah 등, 1991), formaldehyde 처리 단백질에 의한 지방 피복 (Hogan 등, 1972; Choi 등, 2000), oilseeds 이용 (Scollan, 2001a; Scollan, 2001b), 고농후사료사양 (Kucuk 등, 2001) 등의 방법이 수소첨가 현상감소에 효과적인 것으로 보고되고 있다. Dhiman 등 (1999)은 젖소가 C18:3이 풍부한 목초를 증가하는 수준으로 섭취시 우유내 C18:3이 증가한다고 보고하였고, Choi 등 (2000)은 fish oil과 formaldehyde처리 linseed를 육우에게 급여했을 때, 근내에 불포화 지방산 함량이 대조구 공시축들과 비교하여 증가된 것을 조사하였고, Scollan 등 (2001b)은 아마종실을 육우사료에 급여하였을 때 근육내 C18:3이 유의하게 증가하였고, 또한 EPA (eicosapentaenoic acid, 20:5*n-3*)의 합성이 증가하였다고 보고하였다.

따라서, 본 연구에서는 반추동물사료에 흔히 사용되는 불포화지방산원으로 전지대두 (C18:2*n-6*)와 아마종실 (C18:3*n-3*)을 사용하여 *in vitro* 배양장치에서 배양하였을 때 반추위혼합 미생물에 의한 건물 및 불포화지방산 소실율과 조성에 미치는 영향을 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험설계

본 실험은 전지대두와 아마종실의 미생물에 의한 건물과 C18계 불포화지방산 소실율과 지방산조성을 평가하기 위해 처리구는 전지대두와 아마종실구 두 처리구로 하고, 배양시간은 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72시간에 걸쳐 Davies 등 (1993)의 방법으로 3반복, 총 42개의 serum bottle을 이용하여 완전임의 배치법으로 실시하였다.

### 2. 실험사료와 배양액의 준비

실험사료의 배합과 지방산 조성은 table 1에 나타내었고, 전지대두와 아마종실은 전체배합비의 18%(건물기준) 함유토록 하였다. 배합된 사료는 배양을 위해  $-60^{\circ}\text{C}$ , 48시간동안 동결건조 후 1 mm screen이 장착된 wiley mill로 분쇄하여 미세입자는 제거하여 배양기질로 사용하였다. 그리고 아마종실은 배합하기 전 종실의 단백질피막을 crushing하여 미생물의 접근을 용이하도록 처리하였다. 배양기질은 100ml serum bottle에 배양액의 2%에 해당하는 양을 배양에 사용하였다. 배양액은 rumen cannulae가 장착된 Holstein cow로부터 rumen 내용물을  $39^{\circ}\text{C}$ 의 보온병에 담아 실험실로 운반하여 2겹 gauze를 통해 여과하고, 여과된 rumen fluid는 다시 1,200rpm에서 25분간 원심분리 후 상층액만 취하여 centrifuged rumen fluid를 준비하였다. 이를 medium C (Davies 등, 1993) 배양액에 혼합하였다.

### 3. 배양방법

39°C로 유지된 배양실에서 배양액을 serum bottle에 automatic pump를 이용해 60ml씩 주입하고, 혐기조건을 위해 CO<sub>2</sub>를 주입하였으며, rubber stopper와 aluminium crimp로 봉하였다. 배양조건은 39°C, 100rpm으로 교반하면서, 시간대별로 회수하여 Theodorou 등 (1994)의 방법으로 가스생성량을 측정하였고, 건물과 지방산 함량과 조성분석을 위해 digesta 전량을 filter crucible에 여과하여 분석시까지 -20°C에서 보관하였다.

#### 4. 분석항목 및 분석방법

냉동 보관된 digesta는 건물과 지방산분석을 위해 동결건조기(Labconco, Model 74070; Kansas City, MO)에서 7일간 동결건조 하였다. 동결건조 후 digesta와 실험사료의 순수 건물 함량을 측정하기 위해 다시 일부 시료를 채취하여 AOAC의 방법 (1990)에 따라 105°C dry oven에 24시간 건조 후 무게차이에 의해 정량하였다. 각 배양시간마다 배양병의 가스 측정은 Theodorou 등 (1994)의 방법에 따라 pressure transducer apparatus (IGER, UK)를 이용하여 압력 (psi)과 부피 (ml)를 측정하였고, 0시간의 가스생성량은 혐기상태를 유지시키기 위해 주입하는 CO<sub>2</sub>에 의해 과대 평가되므로 배양개시 후 syringe를 이용하여 배양병내의 모든 가스를 제거하여 압력이 0 (zero)으로 되게 하였다. 실험사료와 digesta의 장쇄지방산 (long chain fatty acids) 분석은 Sukhija와 Palmquist (1988)의 방법에 따라 동결건조시료 200mg을 취하여 toluene으로 지방산을 추출한 후, 추출된 지방산을 다시 FAME (fatty acid methyl ester)으로 유도하기 위해 5% methanolic HCl을 첨가하여 70°C heating block에서 2시간동안 가열하여 methylation을 실시하였다. FAME의 toluene solvent에 함유되어 있는 수분 및 색소를 포함한 불순물을 제거하기 위해 activated charcoal과 anhydrous sodium sulphate를 첨가하여 1,500 rpm에서 원심분리 후 상층액을 취하여 gas chromatography (UNICAM 610 series model, UK)를 이용하여 분석하였다. 지방산분석에 사

용된 column은 fused silica capillary column (30m×0.32mm, 0.5µm film thickness, HP Innowax)이었고, detector는 FID (flame ionization detector)이었다. Inlet과 detector 온도는 각각 200°C와 250°C이었으며, column oven 온도는 초기 3분 동안 60°C에서 시작하여 230°C까지 올라가는데 분당 20°C 상승하도록 프로그램 하였다. Carrier gas로서 N<sub>2</sub>를 사용하여 flow rate는 분당 20ml가 되도록 하고, split ratio는 100:1이었다. 각 지방산 peak는 이미 알고 있는 external standard (Mixture ME61, Greyhound chromatography chemicals, UK)와 area 값을 비교하여 정량하였고, 본 실험에 이용된 GC column은 C18:1지방산의 위치적, 입체적 이성체를 각각 분리해내지 못하기 때문에 C18:1은 이성체의 합으로 나타내었다.

건물소실율은 배양전 기질의 건물량과 배양 후 기질의 건물량간의 차이에 의해 구하였으며, net C18:0 생산량과 C18계 불포화지방산소실율은 Van Nevel과 Demeyer (1996)의 방법에 따라 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Net C18:0 production (\%)} = \frac{(\text{배양후 digesta내 C18:0 함량} - \text{배양전 사료내 C18:0})}{\text{배양전 사료내 C18:0 함량}} \times 100$$

$$\text{C18계 불포화지방산 소실율 (\%)} = \frac{(\text{배양전 사료내 C18계 불포화지방산 함량} - \text{배양후 digesta내 C18계 불포화지방산 함량})}{\text{배양전 사료내 C18계 불포화지방산 함량}} \times 100$$

#### 5. 통계 분석

본 실험에서 얻어진 모든 결과는 SAS package program (2000, release. 8.1 ver.)을 이용하여 분석하였고, 건물소실율 및 gas 생성량 그리고 지방산소실율은 t-test를 이용하여 5% 수준에서 두 처리구간의 평균을 비교검정하였고, 가스생성량과 압력간의 상관계수 및 유의성은 SAS program의 Pearson 상관계수절차를 이용하여 도출하였다.

### III. 결과 및 고찰

본 연구는 반추동물의 지방사료원으로 흔히 사용되는 아마종실과 전지대두의 반추위내 건물소실율과 C18계 지방산소실율을 조사하기 위해 실시한 실험으로, 실험사료의 화학적조성은 table 1에 나타내었다. 전지대두와 아마종실의 총 지방산 함량은 건물 kg당 각각 50.73과 47.46g으로 전지대두가 지방산 함량이 다소 높았다. 그리고 전지대두는 C18:2 함량이 24.05g으로 많았고, 이에 반해 아마종실은 C18:3이 20.51g으로 다른 지방산 함량보다 높아 두 처리구간에 조성에 있어 대조를 이루었다.

#### 1. 건물소실율과 가스생성량

전지대두와 아마종실이 반추위내 건물소실율과 가스생성량에 미치는 영향은 table 2에 나타내었다. 전지대두와 아마종실은 배양 3시간까지는 건물소실율에 영향을 미치지 않았으나, 배양 6시간 이후부터는 아마종실이 전지대두보다 유의한 증가를 나타내었다 ( $p < 0.01$ ). 하지만, 배양 48시간 이후부터는 두 처리구간에 유의차가 나타나지 않았다 ( $p > 0.05$ ). 한편 가스생성량은 건물소실율과 비슷한 양상을 나타내어 아마종실이 전지대두보다 가스를 보다 많이 생성하나 두 처리구간에 유의한 차이는 나타나지 않았다 ( $p > 0.05$ ). 그리고 Fig. 1은 가스발생장치 (IGER, UK)의 압력 (psi)과 가스생성량 (ml)간의 상관관계 및 회귀식을 나타낸 것으로서 그림에서 보는 바와 같이 두 변수간에 유의한 상관도를 나타내었고 ( $p < 0.0001$ ), 본 장치를 통한 기질의 가스생성량 및 발효정도를 평가하는데 안정적이었다.

대두와 종실류는 일반적으로 반추동물사료에 불포화지방산원으로서 흔히 사용되나 (NRC, 2001), 과도한 양을 반추동물사료에 첨가시 반추위내 미생물의 환경을 저하시켜 섭취하는 사료의 분해를 감소시킨다 (Doreau와 Ferlay, 1994). 본 연구의 결과는 table 1에 총지방산 함량이 나타나있듯이, 전지대두가 아마종실보다 지방산 함량이 높아 반추위내 미생물성장환

Table 1. Feed ingredients and fatty acids composition of experimental diets

Item	Dietary fat sources	
	Full-fat soybeans	Linseed
<b>Ingredients, % of DM</b>		
Wheat	49.00	49.00
Sugarbeet pulp	8.00	8.00
Molasses, sugarcane	5.00	5.00
Full-fat soybeans	18.00	-
Crushed linseed	-	9.60
Linseed meal	-	8.40
Grass silage	10.00	10.00
Wheat straw	10.00	10.00
<b>Fatty acids<sup>1)</sup>, g/kg DM</b>		
14:0 myristic	0.13	0.26
14:1 myristoleic	0.04	ND <sup>3)</sup>
16:0 palmitic	8.61	5.57
16:1 palmitoleic	0.10	0.17
18:0 stearic	2.16	2.13
18:1 <sup>2)</sup>	11.49	9.34
18:2n-6 linoleic	24.05	9.19
18:3n-3 $\alpha$ -linolenic	3.27	20.51
Total fatty acids	50.73	47.46

<sup>1)</sup> expressed as number of carbons:number of double bonds;

<sup>2)</sup> sum of oleic acid (C18:1, *cis*-9) and positional or geometric isomers;

<sup>3)</sup> not detectable

경에 다소 영향을 미친 것으로 판단되며, 이에 아마종실이 전지대두보다 소실율이 증가한 것으로 사료된다. Broderick 등 (1988)은 어분, 대두박, 아마종실박, 해바라기박, 채종박, 땅콩박, 옥골분을 *in vitro* 발효소화실험을 실시하였을 때 이들 각각의 분해율은 55, 79, 84, 59, 75, 54, 58%를 나타내어, 아마종실의 단백질부분이 대두 단백질보다 잘 분해되어 단백질부분의 분해 용이함을 나타내었다. 그리고, Scollan 등 (2001a)의 연구에서는 지방원인 아마종실, 어유, 아마종실/어유혼합구가 보호지방형태인 Megalac<sup>®</sup>

Table 2. Effect of dietary fat sources on DM disappearance (%) and gas production (ml) *in vitro*

Incubation time (h)	Dietary fat sources		s.e.d. <sup>1)</sup>	p< <sup>2)</sup>
	Full-fat soybeans	Linseed		
<b>DM disappearance (%)</b>				
0	24.33±3.53	28.03±1.02	2.9409	0.4776
3	26.94±1.82	28.85±1.03	1.9278	0.4031
6	37.16±1.40	46.71±2.12	2.4587	0.0067
12	48.63±2.24	57.39±0.52	2.1008	0.0157
24	57.46±0.51	60.69±0.72	0.8587	0.0071
48	65.01±1.95	67.24±2.90	3.3867	0.5438
72	70.93±1.76	74.61±1.62	2.8857	0.1561
<b>Cumulative gas production (ml)<sup>3)</sup></b>				
3	22.00±2.65	20.33±5.17	5.8119	0.7885
6	51.33±6.23	63.33±6.77	9.1999	0.2621
12	65.67±7.99	83.67±5.90	9.9317	0.1441
24	131.00±8.52	148.33±6.23	10.553	0.1758
48	179.50±8.37	192.33±6.77	10.764	0.2991
72	199.83±8.08	210.33±6.82	10.578	0.3771

<sup>1)</sup> standard error of difference; <sup>2)</sup> Values significantly differ (p<0.05);

<sup>3)</sup> After incubation initiation, gas produced at the time of 0 h was removed to avoid its overestimation due to injected CO<sub>2</sub> to keep anaerobic condition prior to incubation.

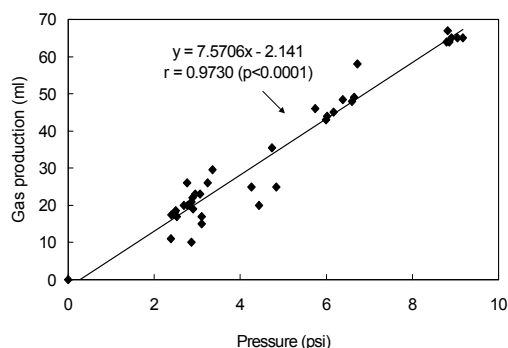


Fig. 1. The linear regression and correlation between pressure (psi) and gas production (ml) in pressure transducer apparatus (The number of observed values was 37).

첨가구보다 총 휘발성 지방산 함량이 유의하게 증가하여 반추위내 발효에 원활한 효과를 시사

한 바 있고, 하지만 일반적으로 지방원의 첨가는 반추위내 유기물의 소화를 감소시킨다고 알려져 있다 (Palmquist와 Jenkins, 1980 ; Ikwuegbu와 Sutton, 1982 ; Jenkins, 1993).

## 2. Digesta내 C18계 지방산 조성

전지대두와 아마종실이 반추위 digesta의 C18계 지방산 조성에 미치는 영향은 table 3에 나타내었다. C18계 지방산은 digesta DM kg당 g으로 나타내었고, stearic acid (C18:0)는 배양시간이 증가함에 따라 전지대두와 아마종실 공히 증가하였다. 그리고, C18:0에 대하여 전지대두는 전체배양시간 평균 16.59 g/kg DM으로 아마종실의 12.68 g/kg DM보다 유의하게 높았다 (p<0.05). Digesta내 C18:0의 배양시간에 따른 증가는 사료 C18계 불포화지방산에 대한 반추

Table 3. Effects of dietary fat sources on C18-fatty acids profile of digesta depending upon the time after incubation *in vitro*

Fatty acids	Incubation time (h)						
	0		3		6		12
	S <sup>1)</sup>	L <sup>2)</sup>	S	L	S	L	S
<b>C18-fatty acids profile in digesta (g/kg DM)</b>							
C18:0	4.27 <sup>4)</sup>	3.90*	6.42	6.25	9.12	8.11	17.19
	± 0.07	± 0.06	± 0.08	± 0.29	± 0.02	± 0.66	± 0.93
C18:1 <sup>3)</sup>	13.06	10.24***	15.61	12.05***	20.70	15.75***	28.68
	± 0.11	± 0.13	± 0.12	± 0.26	± 0.30	± 0.51	± 0.56
C18:2	25.14	9.52***	22.18	9.07***	18.07	7.96***	13.58
	± 0.30	± 0.09	± 0.24	± 0.14	± 0.42	± 0.01	± 0.89
C18:3	3.25	18.86***	2.71	17.00***	2.13	13.23***	1.58
	± 0.03	± 0.31	± 0.04	± 0.27	± 0.02	± 0.08	± 0.10
Fatty acids	Incubation time (h)						
	12		24		48		72
	L	S	L	S	L	S	L
<b>C18-fatty acids profile in digesta (g/kg DM)</b>							
C18:0	10.32**	22.32	17.31***	25.92	23.45	30.91	19.44*
	± 0.24	± 0.82	± 0.37	± 0.54	± 3.44	± 3.71	± 1.45
C18:1 <sup>3)</sup>	19.67***	28.97	21.02***	25.46	18.91**	23.79	15.84*
	± 0.25	± 0.35	± 0.19	± 0.69	± 1.40	± 2.21	± 0.63
C18:2	6.59**	10.94	4.73***	6.66	3.38***	4.82	2.56*
	± 0.11	± 0.30	± 0.06	± 0.33	± 0.31	± 0.68	± 0.18
C18:3	9.42***	1.30	4.93***	0.92	3.36***	0.71	2.61***
	± 0.03	± 0.01	± 0.16	± 0.05	± 0.14	± 0.08	± 0.16

<sup>1)</sup> full-fat soybeans; <sup>2)</sup> linseed; <sup>3)</sup> sum of oleic acid (C18:1, *cis*-9) and positional or geometric isomers;

<sup>4)</sup> all values were expressed as mean±standard error.

\*, \*\* and \*\*\* are significantly different at the levels of 5, 1 and 0.1%, respectively, between full-fat soybeans and linseed in the same incubation time.

위미생물에 의한 biohydrogenation의 최종결과 산물이며 (Palmquist와 Jenkins, 1980), 불포화지방산 급여로 인한 우유나 고기내 포화지방산의 증가를 반영하는 결과이다. Clinquart 등 (1991)

의 연구결과에 의하면, 대두유와 아마종실을 급여한 비육우에서 신장내 C18:0 지방산은 아마종실보다 대두유가 유의하게 증가하였다고 보고하여 본 실험결과와 일치하였으며, 지방사

료원은 반추위 미생물대사에 유의한 영향을 나타낸다. 한편 Scollan (2001b) 등은 사료 중 *n*-3 지방산 즉, C18:3*n*-3이 풍부한 아마종실이나 C20:5 (*n*-3, EPA)와 C22:6 (*n*-3, DHA)이 풍부한 어유의 급여는 근육내 C18:0이 감소한다고 하였다. 그리고, Kelly 등 (1998b)은 C18:2가 풍부한 해바라기유는 우유내 stearic acid와 CLA 함량을 아마종실보다 유의하게 증가시켰다고 보고하였다. 본 연구에서 C18:1의 함량은 이전에 언급했듯이 이성질체의 분리가 되지 않는 지방산분석 column으로 C18:1*n*-9 뿐만 아니라 위치적 기하학적 이성질체를 포함한 수치이고, 분리되지 않은 *trans* 지방산까지 포함한다. C18:1 함량은 배양시간이 증가할수록 C18:0과 마찬가지로 증가하였고, 특히 전지대두가 아마종실구보다 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). C18:2*n*-6이 풍부한 전지대두구가 아마종실보다 C18:1이 증가한 것은 이성질체의 영향이 큰 것으로 판단되며, 이전의 연구에서 사료 중 C18:2의 급여는 반추위내 불완전한 수소첨가현상으로 인한 *trans* C18:1 뿐만 아니라, 우유 중 CLA 함량을 증가시킨다고 보고하였다. McGuire 등 (1996)과 Griinari 등 (1996)은 C18:2가 풍부한 옥수수유의 첨가는 사료 중 C18:2 함량과 비례하여 우유 중 CLA 및 *trans* 지방산이 증가한다고 보고하였으며 본 실험에서도 아마종실보다는 C18:2가 풍부한 전지대두가 *trans* 및 CLA 지방산을 더 생산하여 이와 같은 결과를 나타낸 것으로 사료된다. Digesta내 C18:2와 C18:3의 함량은 배양시간이 증가함에 따라 감소하였다. 이는 사료 중 불포화 지방산 특히 C18:2와 C18:3이 반추위내 미생물에 의해 C18:0 혹은 *trans* 형태의 지방산으로 변형 (transformation)되어 그 함량이 감소한 것으로 판단된다. 불포화 지방산은 인체건강에 유익한 효과가 있고, 일반적으로 반추동물사료내 불포화지방산원으로 oilseed를 급여하여 우유나 고기내 이들 지방산 함량을 증가시킨다 (Petit, 2002). 본 실험에서도 물론 반추위내 불포화지방산의 체류시간이 증가함에 따라 이들 지방산의 함량은 감소하나, 상대적인 비교를 하였을 때 C18:2가 풍부한 사료인 전지대두가 아마종실에 비하여 digesta내

에서 C18:2가 유의하게 증가하였고 ( $p < 0.05$ ), 이와 반대로 C18:3이 풍부한 아마종실은 전지대두에 비하여 digesta내 C18:3이 유의하게 증가하여 축산물내 이들 지방산 증가의 잠재성을 나타내주는 결과이다 ( $p < 0.001$ ). Petit (2002)에 의하면, 아마종실의 급여는 전지대두 및 Megalac®에 비하여 혈중 C18:3의 비율을 약 3 배정도 유의하게 증가시켰고, 전지대두는 혈중 C18:2 비율이 유의하게 증가하였다고 보고하였다. Dhiman 등 (1999)과 Kelly 등 (1998a)은 목초의 주요지방산인 C18:3의 섭취량이 증가함에 따라 우유내 C18:3이 증가한다고 보고하였다. 이에 따라 우유나 고기의 지방산은 사료지방산에 따라 유의한 영향을 받으며, 각 지방산 섭취량이 증가함에 따라 하부장관으로 이행하는 양이 증가하게 되고, 결과적으로 체내에서 대사되는 *n*-3 또는 *n*-6지방산이 증가하여 우유나 고기 중에 그 함량이 존재한다고 설명할 수 있다.

### 3. C18:0 생산량과 C18계 불포화지방산 소실율

전지대두와 아마종실이 C18계 불포화지방산의 반추위내 미생물에 의한 최종대사산물인 순수 C18:0 생산량(%)과 C18계 불포화지방산 소실율에 미치는 영향은 table 4에 나타내었다. 순수 C18:0 생산량(%)은 C18:2*n*-6 함량이 풍부한 전지대두가 배양종료 후 332.24%로 아마종실의 133.16%보다 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). C18:0의 생산량은 불포화지방산의 complete biohydrogenation의 결과이고, C18:2가 풍부한 전지대두가 아마종실보다 C18:0을 유의하게 증가시켰다. C18:0 생산량은 배양 3시간이 후부터 급격히 증가하여 배양 24시간에 최고수준에 이르렀다. 반추위내 C18계 불포화지방산의 pathway는 Harfoot과 Hazlewood (1988)에 의해 review된 바 있고, 불포화지방산의 biohydrogenation pathway는 미생물의 lipase에 의한 지방산과 glycerol의 ester 결합을 가수분해하는 지방분해과정(lipolysis)과 가수분해된 nonesterified fatty acid (NEFA)의 이중결합위치에 반추위미

Table 4. Effect of dietary fat sources on net C18:0 production and C18-unsaturated fatty acids disappearance (%) *in vitro* (Calculation based on Van Nevel and Demeyer, 1996)

Incubation time (h)	Dietary fat sources		s.e.d. <sup>1)</sup>	p< <sup>2)</sup>
	Full-fat soybeans	Linseed		
<b>Net C18:0 production (%)</b>				
0	56.52±10.93	31.57± 1.38	11.0190	0.0862
3	125.00± 8.56	108.73±11.19	14.0880	0.2748
6	164.89± 6.31	103.78±21.85	20.9230	0.0466
12	310.54±35.90	106.20± 5.62	32.9960	0.0043
24	339.15±18.68	219.27±10.66	22.7830	0.0006
48	319.70±26.09	271.30±73.13	72.0360	0.5603
72	332.24±63.81	133.16±28.70	82.9310	0.0258
<b>C18:1<sup>3)</sup> disappearance (%)</b>				
0	9.90± 4.88	21.12±2.15	5.3306	0.1031
3	- 3.05± 3.52	8.14±2.79	4.4880	0.0318
6	-13.13± 2.21	9.95±5.63	5.6327	0.0114
12	-28.47± 7.38	10.27±1.60	6.8966	0.0054
24	- 7.24± 1.04	11.56±1.64	1.8789	<0.0001
48	22.28± 5.20	32.66±9.44	10.2750	0.3706
72	36.11±10.54	56.79±4.01	13.5510	0.1138
<b>C18:2 n-6 disappearance (%)</b>				
0	17.17± 4.28	25.39±1.76	4.6230	0.1500
3	30.23± 1.37	29.69±1.80	2.2638	0.8163
6	52.72± 1.93	53.86±1.81	2.6843	0.6764
12	71.20± 1.43	69.41±0.66	1.4794	0.3013
24	80.68± 0.39	79.75±0.38	0.5534	0.1239
48	90.27± 0.79	87.73±1.88	1.9072	0.2649
72	93.74± 1.31	92.87±0.86	1.7724	0.5926
<b>C18:3 n-3 disappearance (%)</b>				
0	21.46± 3.63	33.78±1.98	4.1371	0.0408
3	37.27± 1.12	40.98±1.55	1.9109	0.0810
6	59.00± 1.14	65.62±1.41	1.7926	0.0063
12	75.33± 1.14	80.42±0.26	1.0647	0.0096
24	83.10± 0.24	90.56±0.27	0.3596	<0.0001
48	90.16± 0.80	94.58±0.63	1.0550	0.0020
72	93.26± 1.26	96.75±0.36	1.5957	0.0383
<b>Unsaturated C18<sup>4)</sup> disappearance (%)</b>				
0	15.38±4.40	28.77±1.96	4.8165	0.0498
3	20.97±1.94	30.46±1.89	2.7052	0.0057
6	33.76±1.76	49.53±2.43	2.9335	0.0009
12	42.04±2.21	61.04±0.64	2.1133	0.0006
24	54.86±0.29	69.11±0.53	0.5737	<0.0001
48	70.13±2.08	78.15±3.03	3.5740	0.0637
72	76.64±4.02	86.27±1.35	5.1355	0.0631

<sup>1)</sup> standard error of difference; <sup>2)</sup> values significantly differ (p<0.05); <sup>3)</sup> sum of oleic acid (C18:1, *cis*-9) and positional or geometric isomers; <sup>4)</sup> sum of C18:1, C18:2 and C18:3.



생물이 수소를 첨가하는 수소첨가현상 (biohydrogenation)의 일련의 과정으로 진행된다. C18:2n-6과 C18:3n-3은 isomerase와 reductase의 효소에 의해 최종적으로 C18:0을 생산한다. C18:2와 C18:3의 C18:0로의 complete biohydrogenation은 이중결합수가 적은 C18:2가 C18:3보다 pathway 단축으로 인하여, 전지대두가 아마종실보다 complete biohydrogenation이 증가한 것으로 사료된다. 한편, Mosley 등 (2002)은 C18:1인 oleic acid (*cis*-9)를 반추위 미생물에 적용하였을 때 C18:0, C18:1n-9 뿐만 아니라 여러 종류의 *trans* C18:1이 발견되었다 하여, 직접적인 C18:0으로의 전환보다는 몇 가지 이성체가 생성되어 C18:2와 C18:3의 유사한 경로를 거치는 것으로 나타났다.

C18:1 소실율은 전지대두가 아마종실보다 유의하게 낮았고 ( $p < 0.05$ ), 특히 배양 3, 6, 12, 24 시간에서 전지대두 처리구가 음 (-)값을 나타내었다. 본 실험에서 사용된 gas chromatography column은 C18:1 지방산을 C18:1n-9 외에 위치적 기하학적 이성질체를 분리하지 못하고 이들 지방산이 모두 C18:1로 합쳐졌으므로 전지대두의 (-)값은 전지대두에 풍부한 C18:2가 반추위 미생물에 의한 불완전한 수소첨가현상으로 인한 *trans* 지방산과 conjugated 지방산이 많이 생성되어 전지대두의 C18:1 소실율이 과소평가된 것으로 사료된다. Kelly 등 (1998b)은 착유우에게 C18:1n-9가 풍부한 땅콩유 (peanut oil), C18:2가 풍부한 해바라기유 (sunflower oil) 그리고 C18:3이 풍부한 아마종실유 (linseed oil)를 사료 건물기준 5.3%를 첨가했을 때 해바라기유가 conjugated fatty acid인 CLA가 우유 중에 다른 처리구보다 유의하게 증가하였다고 보고하였고, 특히 불포화지방산 중 C18:2가 CLA합성에 효과적인 것으로 나타났다. 또한 Madron 등 (2002)은 전지대두의 extruding 가공처리가 근간 (intermuscular), 근내 (intramuscular) 지방내 CLA가 증가함을 보고하여 불포화지방산원과 가공처리에 따라 반추위 미생물에 의한 지방대사가 달라질 수 있음을 보고하여 본 실험결과를 뒷받침 해주었다. C18:2의 소실율은 반추위 지방산 biohydrogenation

rate와 유사한 개념으로서 전지대두와 아마종실 간에 유의한 차이가 나타나지 않았다 ( $p > 0.05$ ). Wu 등 (1991)은 야자지방산의 Ca soap 형태인 Megalac<sup>®</sup>을 각각 3%와 6% 첨가와 동식물성 혼합유지(animal-vegetable blend)를 각각 3%와 6% 첨가하는 실험에서 C18:2의 biohydrogenation rate는 Ca soap 형태가 동식물성 혼합유지보다 유의하게 감소하였으나, 동식물성 혼합유지의 증가 급여에 따른 C18:2의 biohydrogenation rate에는 유의한 차이가 나타나지 않았다고 보고하였다. 본 실험에서도 C18:2가 풍부한 전지대두는 아마종실과 비교하여 C18:2의 소실율에 유의한 영향을 받지 않아 일치된 결과를 나타내었다. 그리고 C18:2의 소실율은 배양 시간이 증가함에 따라 증가하였고, 배양 72시간에서 두 처리구 평균 93.31%로 반추위내 미생물에 의해 광범위한 biohydrogenation이 일어나는 것으로 평가되었으며, Enjalbert 등 (1994)의 연구에서 대두유 첨가구의 C18:2 biohydrogenation rate가 94.3%로 높아 본 연구와 유사한 수치의 결과를 나타내었다.

C18:3 소실율은 C18:2의 소실율과 마찬가지로 배양시간이 증가함에 따라 증가하였으며, 특히 아마종실이 전지대두에 비하여 배양 6시간이후부터 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). C18:3 소실율은 C18:2에 비해 사료에 의한 영향을 받는 것으로 나타났고, 특히 기질 중 C18:3 함량과 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다. Scollan 등 (2001a)의 연구에서도 C18:3이 풍부한 아마종실과 아마종실/어유혼합구에서 biohydrogenation rate가 94.3%로 대조구인 Megalac<sup>®</sup> (88.8%)보다 높게 나타나 본 실험과 유사한 결과를 나타내었으며, C18:3의 소실율이 배양 72시간에서 두 처리구 평균 95.01%로 높은 소실율을 나타내었다. C18계 불포화지방산 소실율은 C18:1, C18:2, C18:3 지방산의 총합소실율 (%)로서 C18:2와 C18:3 소실율에 비해 상대적으로 낮아졌으며, 이는 C18:1 지방산 소실율이 C18:1n-9 외에 여러 가지 이성질체의 생성으로 인한 과소평가로 기인되며, 아마종실이 전지대두보다 유의하게 높은 소실율을 나타내었다 ( $p < 0.05$ ).

#### IV. 요약

본 연구는 불포화지방산원으로서 C18:2n-6이 풍부한 전지대두와 C18:3n-3이 풍부한 아마종실을 반추동물사료에 18% 배합하였을 때 반추위내 건물소실율과 불포화지방산 소실율 및 조성을 조사하기 위해 *in vitro* 배양장치에서 실시하였다. 배양시간은 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72시간에 걸쳐 실시하였고, 배양 종료 후 각각의 *medium digesta*는 동결 건조하여 건물과 각 지방산 함량을 분석하였다. 배양 3시간까지는 전지대두와 아마종실의 건물소실율에 차이가 없었으나, 배양 6시간이후부터는 아마종실이 전지대두보다 유의한 증가를 나타내었다 ( $p < 0.01$ ). 하지만, 배양 48시간이후부터는 두 처리구간에 유의차가 나타나지 않았다 ( $p > 0.05$ ). 한편 가스생성량은 건물소실율과 비슷한 양상을 나타내어 아마종실이 전지대두보다 발효산물인 가스를 보다 많이 생성하나 두 처리구간에 유의한 차이는 나타나지 않았다( $p > 0.05$ ). C18:0 함량은 배양시간이 증가함에 따라 전지대두와 아마종실 공히 증가하였고, 전지대두가 아마종실 보다 유의하게 높았다( $p < 0.05$ ). C18:1 조성은 전지대두가 아마종실구보다 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ). C18:2와 C18:3의 *digesta*내 조성은 반추위내 수소첨가현상으로 배양시간이 증가함에 따라 감소하였다. *Digesta*내 C18:2 함량은 C18:2가 풍부한 전지대두가 아마종실에 비하여 유의하게 증가하였고 ( $p < 0.05$ ), C18:3 함량은 C18:3이 풍부한 아마종실이 전지대두에 비하여 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.001$ ).

순수 C18:0 생산량 (%)은 C18:2n-6 함량이 풍부한 전지대두가 배양종료 후 332.24%로 아마종실의 133.16%보다 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). C18:1 소실율은 전지대두가 아마종실 보다 유의하게 낮았고 ( $p < 0.05$ ), 특히 배양 3, 6, 12, 24시간에서 전지대두 처리구가 음 (-) 값을 나타내었다. C18:2의 소실율은 배양시간이 증가함에 따라 증가하였고, 배양 72시간에 두 처리구 평균 93.31%로 광범위하게 소실되었으나, 처리구간 유의차는 나타나지 않았다 ( $p > 0.05$ ). C18:3 소실율은 C18:2 소실율과 마찬가지로

배양시간이 증가함에 따라 증가하였으며, 특히 아마종실이 전지대두에 비하여 배양 6시간이후부터 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). C18계 불포화지방산 소실율은 아마종실이 전지대두보다 유의하게 높았다 ( $p < 0.05$ ). 이상의 결과로부터 전지대두와 아마종실은 반추동물의 식품 내 유익한 불포화지방산이 침착하는데 충분한 가치가 있는 불포화지방산원이었고, C18계 불포화지방산은 반추위내에서 광범위하게 수소첨가되었다. 아울러 전지대두는 아마종실보다 *complete biohydrogenation*이 증가하였고, *digesta* 내 불포화지방산 함량은 사료 중 불포화지방산 함량과 밀접한 관계가 있었다.

#### V. 인용 문헌

1. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
2. Barlow, S. M., Young, F. V. K. and Duthie, I. F. 1990. Nutritional recommendations for *n-3* polyunsaturated fatty acids and the challenge to food industry. Proceedings of the Nutrition Society. 49:13-21.
3. Broderick, G. A., Wallace, R. J., Ørskov, E. R. and Hansen, L. 1988. Comparison of estimates of ruminal protein degradation by *in vitro* and *in situ* methods. J. Anim. Sci. 66:1739-1745.
4. Choi, N. J., Enser, M., Wood, J. D. and Scollan, N. D. 2000. Effect of breed on the deposition in beef muscle and adipose tissue of dietary *n-3* polyunsaturated fatty acids. Anim. Sci. 71:509-519.
5. Clinquart, A., Istasse, L., Dufrasne, I., Mayombo, A., van Eenaeme, C. and Bienfait, J. M. 1991. Effects on animal performance and fat composition of two fat concentrates in diets for growing-fattening bulls. Anim. Prod. 53:315-320.
6. Davies, D. R., Theodorou, M. K., Lawrence M. I. G. and Trinci, A. P. J. 1993. Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. J. Gen. Microbiol. 139: 1395-1400.
7. Dhiman, T. R., Anand, G. R., Satter, L. D. and Pariza, M. W. 1999. Conjugated linoleic acid

- content of milk from cows fed different diets. *J. Dairy Sci.* 82:2146-2156.
8. Doreau, M. and Ferlay, A. 1994. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. *Anim. Feed Sci. & Technol.* 45:379-396.
  9. Elmeddah, Y., Doreau, M. and Michalet-Doreau, B. 1991. Interaction of lipid supply and carbohydrates in the diet of sheep with digestibility and ruminal digestion. *J. Agric. Sci.*, 116: 437-445.
  10. Enjalbert, F., Nicot, M. C., Vernay, M., Moncoulon, R. and Griess, D. 1994. Effect of different forms of polyunsaturated fatty acids on duodenal and serum fatty acid profiles in sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 74:595-600.
  11. Griinari, J. M., Dwyer, D. A., McGuire, M. A. and Bauman, D. E. 1996. Partially hydrogenated fatty acids and milk fat depression. *J. Dairy Sci.* 79 (suppl. 1):177 (abs.).
  12. Harfoot, C. G. and Hazelwood, G. P. 1988. Lipid metabolism in the rumen. Pages 285-322 in *The Rumen Microbial Ecosystem*. P. N. Hobson, ed. Elsevier Applied Sci. Publishers, London.
  13. Hogan, J. P., Connell, P. J. and Mills, S. C. 1972. The digestion of safflower oil casein particles protected against ruminal hydrogenation in sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 23:87-95.
  14. Ikwuegbu, O. A. and Sutton, J. D. 1982. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.* 48:365-375.
  15. Jenkins, T. C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76:3851-3863.
  16. Kelly, M. L., Kolver, E. S., Bauman, D. E., Van Amburgh, M. E. and Muller, L. D. 1998a. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81:1630-1636.
  17. Kelly, M. L., Berry, J. R., Dwyer, D. A., Griinari, J. M., Chouinard, P. Y., Van Amburgh, M. E. and Bauman, D. E. 1998b. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.* 128:881-885.
  18. Kucuk, O., Hess, B. W., Ludden, P. A. and Rule, D. C. 2001. Effect of forage:concentrate ratio on ruminal digestion and duodenal flow of fatty acids in ewes. *J. Anim. Sci.* 79:2233-2240.
  19. Madron, M. S., Peterson, D. G., Dwyer, D. A., Corl, B. A., Baumgard, L. H., Beermann, D. H. and Bauman, D. E. 2002. Effect of extruded full-fat soybeans on conjugated linoleic acid content of intramuscular, intermuscular, and subcutaneous fat in beef steers. *J. Anim. Sci.* 80: 1135-1143.
  20. McGuire, M. A., McGuire, M. K., Guy, M. A., Sanchez, W. K., Shultz, T. D., Harrison, L. Y., Bauman, D. E. and Griinari, J. M. 1996. Effect of dietary lipid concentration on content of conjugated linoleic acid (CLA) in milk from dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 74 (suppl. 1):266 (abs.).
  21. Mosley, E. E., Powell, G. L., Riley, M. B. and Jenkins, T. C. 2002. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers *in vitro*. *J. Lipid Res.* 43:290-296.
  22. NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th revised edition. National academy press, Washington, DC.
  23. Palmquist, D. L. and Jenkins, T. C. 1980. Fat in lactation rations: review. *J. Dairy Sci.* 63:1-14.
  24. Petit, H. V. 2002. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. *J. Dairy Sci.* 85:1482-1490.
  25. Sargent, J. R. and Henderson, R. J. 1995. Marine (*n*-3) polyunsaturated fatty acids. In *Developments in Oils and Fats* (Ed. R. J. Hamilton), pp. 32-65. London: Blackies Academic and Professional.
  26. SAS User's Guide:Statistics, release. 8.1 version Edition, 2000. SAS Inst., Inc. Cary, NC.
  27. Scollan, N. D., Dhanoa, M. S., Choi, N. J., Maeng, W. J., Enser, M. and Wood, J. D. 2001a. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different sources of lipid. *J. Agric. Sci.* 136:345-355.
  28. Scollan, N. D., Choi, N-J., Kurt, E., Fisher, A. V., Enser, M. and Wood, J. D. 2001b. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *Br. J. Nutr.* 85: 115-124.
  29. Sukhija, P. S. and Palmquist, D. L. 1988. Rapid

- method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *J. Agric. Food Chem.* 36:1202-1206.
30. Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B., France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. feed Sci. & Tech.* 48:185-197.
31. Van Nevel, C. J. and Demeyer, D. I. 1996. Effect of pH on biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids and their Ca-salts by rumen microorganisms *in vitro*. *Arch. Anim. Nutr.*, 49:151-157.
32. Wu, Z., Ohajuruka, O. A. and Palmquist, D. L. 1991. Ruminal synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty acids by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74:3025-3034.
31. Van Nevel, C. J. and Demeyer, D. I. 1996. Effect (접수일자 : 2003. 2. 3 / 채택일자 : 2003. 4. 7)