

쌀보리 결합지질의 추출과 그 조성에 관한 연구

김혜경 · 김복남* · 최홍식

부산대학교 식품영양학과 · *단국대학교 식품영양학과

Extraction and Composition of Bound Lipids in Naked Barley

Hae-Gyoung Kim, Bok-Nam Kim* and Hong-Sik Cheigh

Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

*Dept. of Food Science and Nutrition, Dankook University, Seoul 140-714, Korea

Abstract

Bound lipids(BL) of naked barley(*Hordeum vulgare L.*) were extracted by different methods and the composition of BL was determined by the procedures of column chromatography, thin layer chromatography and gas chromatography. For the extraction, after free lipids were removed from barley flour by petroleum ether(PE) extraction and then BL were extracted from PE treated flour by the solvent systems of water-saturated butanol(WSB) at 25°C (WSB-LT) and at 95°C (WSB-HT). BL were extracted by WSB-HT with higher extraction yield as 1.5% as dry basis of flour. The contents of neutral lipids(NL), glycolipids(GL) and phospholipid(PL) in BL were 20.7~35.5%, 28.7~32.4%, 32.1~50.6%, respectively with particularly higher content of PL in WSB-HT as 50.6%. Digalactosyl-diglycerides (40.2~44.8%), monogalactosyl-diglycerides (20.3~31.1%), sterly glycerides(11.2~15.2%) and cerebrosides(11.6~12.9%) were observed in GL. Of the PL in BL, lysophosphatidyl choline, phosphatidyl choline and phosphatidyl serine, and phosphatidyl ethanolamine were the major components. The predominant fatty acids of NL, GL and PL were linoleic and palmitic acids, however, no significant difference was observed in the composition of fatty acids between two extraction methods.

서론

보리(大麥: Barley; *Hordeum vulgare L.*)는 다른 곡류와 마찬가지로 탄수화물 특히, 전분을 주성분으로 한 전분질식품으로서 취반용, 맥주 원료용, 사료용 기타 여러가지 용도로 소비되고 있다. 이러한 보리의 이용 및 가공에 있어서 주목되고 있는 몇 가지 문제중의 하나는 보리내에 소량 존재하는 지질 성분으로서 이들은 보리 및 맥아 저장중 변질의 원인이 되고 특히 맥아중의 지질 성분은 맥주의 맛, 거품 안정등 기능적 특성에 크게 관여한다고 보고되고 있다.^{1,2)}

지금까지 보리의 지질에 관한 연구는 보리에 서 추출한 지질의 일반 조성, 비극성 및 극성지

질의 조성, 보리와 맥아의 지질 성분에 관한 비교 연구 그리고 일부 유리지질과 결합지질에 관한 연구등이 부분적으로 발표된 바 있다.^{3~6)} 그러나 보리중에서도 쌀보리(裸麥)의 결합지질을 체계적으로 연구한 결과는 거의 없으며, 추출방법에 따른 결합지질의 조성이나 이들이 기능적 특성에 미치는 영향에 대한 연구는 거의 없는 듯하다. 본 연구에서는 먼저 추출방법을 달리하여 쌀보리로부터 결합지질을 추출하였고, 다시 이들을 획분하여 각 지질 조성 및 지방산 조성을 분석하였으므로 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 쌀보리(품종: 세도하다가)

는 경남 진영 농가에서 구입, 68%로 도정한 뒤 60메쉬 입도로 분쇄하여 polyethylene film bag에 넣어 밀봉한 후 냉창고에 보관하면서 분석시료로 사용하였다. A.O.A.C.법¹⁰⁾에 의하여 분석한 이 시료의 일반성분 조성은 수분 9.4%, 조단백질(N×5.83)9.0%, 조지질 1.4%, 조회분 0.9% 그리고 조섬유 1.3%이었다.

결합지질의 추출, 정제 및 분획

보리가루 시료를 petroleum ether(PE)로 Soxhelt법에 의해서 9시간 동안 추출하여 유리지질을 제거한 다음, 유리지질을 추출하고 난 보리가루를 Morrison방법¹¹⁾에 의해 시료 100g에 water saturated butanol(35 : 65, v/v, WSB) 용액 500ml 첨가시킨 후 저온(25°C)과 고온(95°C)에서 다음과 같이 각각 결합지질을 추출하였다. 저온 추출 방법은 시료의 5배량의 WSB를 가하여 25°C에서 90분간 교반하면서 1차 추출한 후 60분간 실온에서 방치하여 감압여과시켰고 이 과정을 3번 반복하여 동일 시료에서 추출한 후 추출액 모두의 용매를 휘발시킨 다음 결합지질(저온, WSB-LT)을 얻었다. 다음, 고온 추출 방법은 시료의 5배량의 WSB를 가하여 1차 95°C의 증탕에서 120분간 교반하면서 1차 추출한 다음, 실온에서 방치하여 감압여과시킨 잔사에 대해 이 과정을 3번 반복하여 추출한 후, 이 추출액의 용매를 휘발시켜 결합지질(고온, WSB-HT)을 얻었다. 추출한 지질들은 Diffmer 방법¹²⁾에 의해 Sephadex G-25 columns(20~80 μ m, Pharmacia Fine Chemicals, Sweden)을 사용하여 정제하였으며 정제한 지질 성분은 Rouser등의 방법¹³⁾에 따라 silicic acid(Lipid chromatography grade, 325mesh, Sigma Co. USA)로 충전한 column chromatography에 의해 중성지질, 당지질 및 인지질로 각각 분획하였다.

중성지질, 당지질 및 인지질의 분별과 정량

위에서 분리한 각 지질 획분을 stahl의 방법¹⁴⁾에 따라서 thin layer chromatography (TLC)에 의해 각 성분을 분별하였다. 이내 TLC plate는 미리 만들어진 silicagel G TLC plastic sheet (Merck Co., Darmstadt, Germany, thickness :

0.25 mm)를 사용하였으며 전개용매로는 중성지질의 경우 petroleum ether - diethyl ether - acetic acid(90 : 10 : 1 v/v/v), 당지질은 chloroform - methanol - water(75 : 25 : 4, v/v/v), 인지질은 chloroform - methanol - water - 28% aqueous ammonia(65 : 35 : 4 : 0.2, v/v/v/v)였으며 이때 지질표준품도 함께 전개시켜 표준화합물과 일치하는 분리된 반점을 확인하였다.^{5), 6)} 그리고 발색제로는 sulfuric acid - dichromate reagent를 분무하여, 120°C에서 탄화시켰으며, 또한 anthrone 시약을 분무하여 당지질성분을,¹⁵⁾ molybdenum 시약을 분무하여 인지질 성분을¹⁶⁾ 별도로 확인하였다. 이상과 같이 TLC에 의하여 분리 확인된 각 지질의 반점을 scanner(Shimadzu dual-wave length TLC scanner, CS-930, Japan)에 의해 정량하였으며 이때의 기기분석조건은 wave length : 370 nm, scanning mode : reflection-absorption single-wavelength zig-zag method 였다.

지방산의 분석

각 분획된 지질의 지방산 분석을 藤野등¹⁷⁾의 방법에 의해 행하였다. 즉, 지질을 methanol 성 5%염산으로 methanolysis하여 정제한 지방산 methyl ester를 gas liquid chromatography(Pye Unicam series 304, England)로 분석하였다. 다음 chromatogram에 나타난 각 봉우리는 표준지방산의 methyl ester(Sigma Chemical Co., USA)의 머무름 시간과 비교하여 확인하였으며 이때 기기분석에 사용한 column은 3.0m×3.0mm i.d., stainless steel column(10% DEGS on 60-80 mesh Chromosorb W)이었으며 검출기는 FID(at 250°C)였다.

결과 및 고찰

결합지질의 추출 및 중성, 당, 인지질의 함량 추출방법에 따른 보리가루의 결합지질 함량을 살펴보면 1.1%(WSB-LT) 및 1.5%(WSB-HT) 수준으로 고온(95°C)추출에서 높게 나타났다. 전분식품들과서와 같이 전분에 결합된 지질이 많은 전분지질의 경우, 추출방법이 WSB용매로

Table 1. Content of each neutral lipids, glycolipids and phospholipids in bound lipids

	Bound lipids (%)	
	WSB-LT ¹⁾	WSB-HT ²⁾
Neutral lipids	35.5	20.7
Glycolipids	32.4	28.7
Phospholipids	32.1	50.6
Total extraction yield ³⁾	1.1	1.5

- 1) Bound lipids by water-saturated butanol extraction at low temperature(25℃) after petroleum ether extraction of flour.
- 2) Bound lipids by water-saturated butanol extraction at high temperature(95℃) after petroleum ether extraction of flour.
- 3) Purified lipids as dry basis of naked barley flour.

90~100℃에서 추출하는 것이 가장 바람직하고, 이때의 추출율은 산분해에 의하여 얻어진 추출량의 97%에 달한다고 하였고, 지질구성 성분의 변화도 WSB고온 추출에서는 없었다고 한다.¹¹⁾ 그리고 추출되는 결합지질의 양은 용매, 추출시간 및 방법, 시료의 종류 및 상태등에 따라 달라질 수 있다고 사료된다.

Silicic acid column chromatography를 이용하여 결합지질을 분획한 결과는 Table 1과 같다. WSB-LT추출 결합지질에서는 중성, 당, 인지질의 함량이 35.5%, 32.4%, 32.1%로 거의 비슷하였으며 WSB-HT추출 결합지질에서는 인지질의 함량이 50.6%로 가장 많았다. 이상의 실험결과에서 보는 바와 같이 쌀보리의 결합지질은 주로 극성지질로 구성되어 있음을 알 수 있었고 이는 손등⁴⁾의 연구 결과와도 거의 일치하였다.

중성지질 성분의 분별정량

결합지질중의 중성지질을 TLC에 의하여 분별한 후 이것을 TLC-scanner로서 정량한 결과는 Table 2와 같다. 중성지질 성분중 대부분을 차지하는 것은 triglyceride(TG)로서 저온추출 결합지질과 고온추출 결합지질에서 각각 82.6%와 66%를 함유한 반면 free fatty acid(FFA)의 경우는 각각 13.4%와 27.6%로 고온추출 결합지

Table 2. Composition of neutral lipids in bound lipids

	Bound lipids (%)	
	WSB-LT	WSB-HT
1,2-diglycerides (1,2-DG)	0.4	0.3
1,3-diglycerides (1,3-DG)	0.3	0.3
Free sterols(FS)	2.1	3.9
Unknown(UK) ₁	0.3	0.5
Unknown(UK) ₂	0.4	0.6
Free fatty acids (FFA)	13.4	27.6
Triglycerides(TG)	82.9	66.0
Esterified sterols (ES)	0.2	0.8

질에서 그 함량이 상대적으로 많은 경향을 나타내었으며 그외에 소량의 free sterol(FS), esterified sterol(ES), diglyceride(DG)등을 함유하고 있었다. 이와같은 결과를 보리에서 중성지질을 분리 정량한 Price등¹⁰⁾의 보고와 비교해 볼 때 함량면에서는 다소 차이를 보이지만 비슷한 경향을 나타내고 있었다.

당지질 성분의 분별정량

Acetone으로 분획한 당지질 성분을 TLC plate 상에서 분별한 후 이를 정량한 결과는 Table 3과 같다. WSB-HT추출 결합지질에서는 digalactosyl diglycerides(DG DG) 45%, monogalactosyl diglycerides(MGDG) 20%, cerebrosides(CB) 13%, steryl glycosides(SG) 11%순이었으며, WSB-LT추출 결합지질도 이와 비슷한 양상을 보여 주었다.

손등⁸⁾의 연구 결과에 의하면 보리 총지질중의 당지질에는 DGDG가 35.5%로 가장 그 함량이 많았고, 다음으로 MGDG가 28.6%, SG가 20.7%, CB가 15.2% 순으로 보고되어 있다. 이것을 본 연구 결과와 비교해 보면 경향은 비슷하지만 그 함량비에 있어서는 다소 차이가 나는데 특히 보리시료가 결보리였고, 지질의 추출방법등 실험방법의 차이가 있기 때문으로 생각된다.

Table 3. Composition of glycolipids in bound lipids (%)

	Bound lipids	
	WSB-LT	WSB-HT
Unknown(UK) ₁	0.1	0.4
Sulfatides	1.6	9.9
Unknown(UK) ₂	0.2	0.5
Digalactosyl-diglycerides(DGDG)	40.2	44.8
Cerebrosides(CB)	11.6	12.9
Steryl glycosides(SG)	15.2	11.2
Monogalactosyl-diglycerides(MGDG)	31.1	20.3

인지질 성분의 분별정량

Methanol로 분획한 인지질을 분별정량한 결과는 Table 4와 같다. WSB-LT추출 결합지질에서는 phosphatidyl ethanolamine(PE)이 28.2%, lysophosphatidyl choline(LPC)이 20%, phosphatidyl choline & phosphatidyl serine(PC & PS)이 18.6%순으로 들어 있었고 WSB-HT추출 결합지질에서는 LPC 34.4%, PC & PS 22.5% PE 18.4%를 함유하고 있었다. 이를 Parson 등의 보고와 비교해 볼 때 본 연구에서는 LPC

과 PC의 함량이 적은 반면에 PE의 함량은 많은 경향을 나타냈다. Parson등은 총지질에서의 조성이었고, 또 추출용매도 chloroform-methanol로서 본 실험과는 추출방법이 상이하였다.¹⁹⁾

지방산의 조성

결합지질에서 분획한 중성지질, 당지질, 인지질의 지방산 조성을 정량한 결과는 Table 5와 같다. 획분학 지질에서의 주요 지방산은 palmitic acid와 linoleic acid였다. 중성지질의 경우 지방산 조성은, WSB-LT추출 결합지질에서는 palmitic acid 38.2%, linoleic acid 48.8%그 외 소량의 oleic acid와 linolenic acid를 함유하고 있었으며, WSB-HT추출 결합지질에서도 이와 유사한 경향을 보여주었다. 당지질에서는 WSB-HT추출 결합지질에서 linoleic acid의 함량이 63.3%로 가장 많았으며 WSB-LT추출 결합지질과는 별다른 차이점을 발견할 수 없었다. 인지질에서도 역시 palmitic acid와 linoleic acid가 주요 지방산이었으며 WSB-LT추출 결합지질에서는 WSB-HT추출 결합지질에 비해 linoleic acid의 함량이 많은 반면 palmitic acid의 함량은 적은 경향을 보였으며 이외에 소량의 oleic acid와 linolenic acid를 함유하고 있었다.

수등⁴⁾의 연구 결과와 본 연구 결과를 서로 비

Table 4. Composition of phospholipids in bound lipids (%)

	Bound lipids	
	WSB-LT	WSB-HT
Lysophosphatidyl choline (LPC)	20.3	34.4
Phosphatidyl choline & Phosphatidyl serine (PC & PS)	18.6	22.5
Phosphatidyl inositol (PI)	7.2	5.7
Phosphatidyl ethanolamine (PE)	28.2	18.4
Phosphatidyl glycerols (PG)	8.8	8.5
Diphosphatidyl glycerols (DPG)	16.9	10.5

Table 5. Fatty acid composition in neutral lipids, glycolipids and phospholipids of bound lipids (%)

Fatty acid	Neutral lipids		Glycolipids		Phospholipids	
	WSB-LT	WSB-HT	WSB-LT	WSB-HT	WSB-LT	WSB-HT
14:0	1.6	2.3	0.5	0.6	0.8	0.9
14:1	0.3	0.9	trace	0.1	trace	0.2
16:0	38.2	34.3	27.3	25.1	32.2	43.9
18:0	1.5	6.3	1.8	2.0	0.7	1.1
18:1	5.8	8.9	4.4	4.4	5.3	4.5
18:2	48.8	44.2	62.0	63.3	57.7	46.7
18:3	3.8	3.1	3.9	4.5	3.2	2.7

교해 보면 거의 유사한 경향을 보임을 알 수 있었고, 또 다른 보고에서는 oleic acid의 함량에서 약간의 차이를 보이지만 대체로 비슷한 조성을 나타내고 있었다.⁹⁾

요 약

쌀보리가루에서 결합지질을 방법을 달리하여 추출하고 이들을 중성지질, 당지질, 인지질등으로 분획하였으며 다시 이 분획된 성분들의 구성지질들을 분별 정량한 다음 각 지질들의 지방산 조성을 분석하였다. Water saturated butanol (25°C, WSB-LT) 추출 결합지질에서는 중성, 당, 인지질의 함량이 각각 35.5%, 32.4%, 32.1% 그리고 WSB(95°C, WSB-HT)추출 결합지질에서는 인지질의 함량이 50.6%로 가장 많았다. 중성지질 성분중 대부분을 차지하는 성분중 대부분을 차지하는 것은 triglyceride(66~82.9%)이고 그외 free fatty acid, free sterol, diglyceride, esterified sterol 등이 분별정량되었으며, 당지질 성분중에서는 digalactosyl diglycerides, cerebroside, steryl glycosides, monogalactosyl diglycerides등이 주요 구성성분이었고 이중 digalactosyl diglyceride(40.2~44.8%)의 함량이 가장 많았다. 인지질의 경우에는 lysophosphatidyl choline (20.3~34.4%), phosphatidyl choline & phosphatidyl serine(18.6~22.5%), phosphatidyl ethanolamine(18.4~28.2%), diphosphatidyl glycerols (10.5~16.9%)등으로 그 성분이 구성되어 있었으며, 대체로 구성성분은 추출방법에 따른

차이를 발견할 수 있었으나 인지질외에는 그 차이가 심하지 않았다. 또한 쌀보리에서 추출한 결합지질의 주요 지방산은 linoleic acid와 palmitic acid로서 추출방법에 따른 지방산 조성의 큰 차이점은 없었으며, 특히 중성지질에서는 palmitic acid 함량이 34.3~38.2%, linoleic acid 함량이 44.2~48.8%였다.

(본 연구는 한국과학재단의 연구비 지원으로 수행되었으며 이를 깊이 감사드립니다.)

문 헌

1. 최홍식, 김성곤, 한태룡, 유정희: 보리의 식품영양학적 특성 및 이용에 관한 문헌 조사 연구: 한국 과학 기술 연구소, 119(1978)
2. Morrison, W.: Lipids in brewing and distilling., In "Advances in Cereal Science and Technology", American Association of Cereal Chemists, 2, 311(1978)
3. 신효선, 제이 아이 그레이: 보리의 지방질 성분에 관한 연구, 한국식품과학회지, 15, 195 (1983)
4. 전혜경, 이서래: 한국산 보리가루의 지방질 조성, 한국식품과학회지, 16, 51(1984)
5. Price, P.B. and Parsons, J. G.: Lipids of six cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties, *Lipids*, 9, 560(1974)
6. Parsons, J.G. and Price, P.B.: Search for barley (*Hordeum vulgare* L.) with higher lipid content, *Lipids*, 9, 804(1974)

7. 신효선, 이강현, 이상영 : 보리와 맥아의 지방질 성분에 관한 비교 연구(제 1보 : 중성 지방의 조성), 한국식품과학회지, 13, 30(1-981)
8. 이상영, 김종승, 신효선 : 보리와 맥아의 지방질 성분에 관한 비교 연구(제 2보 : 극성 지방의 조성), 한국식품과학회지, 13, 37(1-981)
9. 김현구, 신효선 : 보리의 유리 및 결합지방의 조성에 관한 연구, 한국식품과학회지, 14, 382(1982)
10. A.O.A.C. : *Official Methods of Analysis*, 14th ed., Association of Official Analytic Chemists, Arlington, 166(1984)
11. Morrison, W.R., Mann, D.L., Soon, W. and Conventry, A.M : Selective extraction and quantitative analysis of non-starch and starch lipids from wheat flour, *J. Sci. Food Agri.*, 26, 507(1965)
12. Christie, W.W. : *Lipid Analysis*, 2nd Edition, Pergamon Press, Oxford, 23(1982)
13. Rouser, G., Kritchevsky, G., Simon, G. and Nelson, G.J. : Quantitative analysis of brain and spinach leaf lipids employing silicic acid column chromatography and acetone for elution of glycolipids, *Lipids*, 2, 37(1967)
14. Stahl, E. : *Thin Layer Chromatography*, Academic Press, New York, 1(1969)
15. Patton, S. and Thomas, A.J. : Composition of lipid foams from swin bladders of two deep ocean fish species, *J. of lipid research*, 12, 331(1971)
16. Dittmer, J.C. and Lester, R.L. : A simple specific spray for the detection of phospholipids on thin layer chromatograms, *J. lipid research*, 5, 126(1964)
17. 藤野安彦 : 生物化學實驗法(9), 脂質分析法入門, 學會出版センター, 東京, 155(1980)
18. Price, P.B. and Parsons, J.G. : Neutral lipids of barley grain, *J. Agric. Food chem.*, 28, 875(1980)
19. Parsons, J.G. and Price, P.B. : Phospholipids of barley grain, *J. Agric. Food Chem.* 27, 913(1979)

(Received January 26, 1989)