

대두발효식품의 cerebroside 조성 및 생리활성

송성광, 김희숙

경성대학교 식품공학과

전화 (051) 620-4713, FAX (051)622-4986

Abstract

Cerebrosides were isolated from soybean, *deunjang* and *chungkukjang* and their constituents were investigated. The principal fatty acid of soybean cerebroside was 2-hydroxy-palmitic acid but *chungkukjang* cerebroside consisted palmitic acid, elaidic acid(trans 18:1), oleic acid and stearic acid. The only sugar in cerebrosides was glucose. TLC analysis of cerebroside hydrolysate elucidated soybean and *chungkukjang* had same sphingoid bases, mainly dihydroxy bases, trans-4, trans-sphingadienine. But, alkali-stable glycolipid fractions of *chungkukjang* and *deunjang* had 2 ~3 different primary amines.

서론

Sphingolipid는 탄소 16 ~18개의 긴사슬염기인 sphingosine 또는 sphinganine과 긴사슬 지방산이 amide결합으로 연결되어 있으며 때로는 phosphocholine 또는 당부분이 결합되어 세포막, 지질단백(특히 LDL) 및 피부와 같이 지질이 풍부한 세포구조물에 존재하는 중요한 지질성분이며 세포질에서는 세포의 죽음과 관련된 세포신호전달 물질로도 중요한 성분으로 연구되고 있다. 최근에는 우유 또는 버터에서 정제한 sphingomyelin이 1,2-dimethylhydrazine(DMH)으로 대장암을 유발시킨 흰쥐의 암발생 및 종양의 악성화를 저해하였다는 보고와 sphingomyelin이 소장에서 ceramide로 분해되어 대장세포에 의하여 흡수되며 흡수된 ceramide가 대장암세포의 증식을 저해할 것이라는 가설과 함께 sphingolipid가 세포내에서 강한 생리활성을 가진다는 기대와 함께 많은 연구들이 행해지고 있다¹⁾. 본 연구에서는 한국의 전통발효식품이며 한국인의 기호식품이고 최근에는 항암효과 등 생리활성물질이 풍부하다고 밝혀진 된장, 청국장 등 대두발효식품을 원료로 하여 당-sphingolipid인 cerebroside를 분리, 분석하여 원료인 대두와 비교하였다.

재료 및 방법

국산대두콩, 생비지, 삶은 대두를 40℃에서 3일간 발효시켜 제조한 청국장 및 가정에서 1년 숙성시킨 된장 등을 동결건조하여 분말화한 것을 -20℃에 저장하였으며 지질을 추출하기전 steam으로 15분간 가열하여 lipase 또는 protease

등의 효소를 불활성화 시킨 다음 실험에 사용하였다. 총지질은 chloroform : methanol 혼합용매와 물포화 butanol로 추출하였으며 Bligh and Dyer 법으로 비지질성분을 제거하였다. 지질을 중성지질, 당지질, 인지질 등으로 분리하기 위하여 acetone 침전법, silicic acid column chromatography 법, thin layer chromatography 법등을 사용하였으며 구성당, 구성지방산 및 구성 sphingoid base은 capillary column을 장치한 GC/MS 및 C18 column을 장치한 HPLC 등을 이용하여 분석하였다^{2,3)}.

결과 및 고찰

아세톤에 의하여 침전된 분획 및 비침전분획을 농축하여 1 mg/ml 농도로 희석한 다음 배지로 단계희석하여 여러농도에서 세포독성을 실험한 결과 대두에서는 세포독성을 관찰할 수 없었으나 청국장 및 된장의 경우 두 희분 모두 강한 세포독성을 나타내었으며 비지의 지질희분도 상당한 독성이 관찰되었다. Silicic acid column 및 silica seppak cartridge를 이용하여 당지질을 분획한 다음 약알칼리로 비누화하여 알칼리에 안정한 지질희분으로부터 cerebroside를 얻었다. 대두 및 청국장의 cerebroside를 무수 methanol성 HCl 또는 함수 methanol성 HCl로 가수분해하여 구성지방산 methylester를 TLC 및 GC/MS로 분석한 결과 대두 cerebroside에서는 α -hydroxy-palmitic acid만이 검출되었으나 청국장의 cerebroside에서는 α -hydroxy-palmitic acid와 함께 normal fatty acid인 palmitic acid, elaidic acid, oleic acid 및 stearic acid 등이 검출되었다. 구성당은 glucose로 monoglucosyl ceramide이었다. 대두 및 청국장의 cerebroside 희분을 가수분해하여 TLC로 분리하고 ninhydrin 및 황산용액을 분무하여 표준품과 비교한 결과 같은 종류의 sphingoid base로 구성되어 있음을 관찰하였으며 N-acetylation 및 TMS 유도체를 만들어 GC/MS로 분석한 결과 확인하였다. 또한 당지질희분을 TLC에 분리하였을 때 대두에서 보이지 않았던 2 ~3개의 반점이 된장 및 청국장에서 관찰되었으며 ninhydrin에 양성되었고 TLC분석결과 sphingosine 또는 sphinganine의 Rf치에 비하여 낮은 위치에 있었고 OPA 유도체를 만들어 HPLC로 분석한 결과 retention time과는 다른 primary amine으로 생각되며 분석중에 있다.

참고문헌

1. Vesper, H., Schmelz, C., Nikolova-karakashian, M.N., Dillehay, D.L., Lynch, D.V. and Merrill, A.H. *J. Nutr.* **129**, 1239-1250(1999)
2. Ohnishi M. and Fujino, Y. S. *Lipids*, **17**, 803-810(1982)
3. Sullards, M.C., Lynch, D.V., Merrill, A.H., Adans, J. *J. Mass Spectrom*, **35**, 347-353(2000)