

잣지질 성분의 분획정량 및 각 희분의 지방산 조성

金 明·李 淑 黑·崔 弘 植

釜山大學校 食品營養學科
(1984년 8월 6일 접수)

Lipid Contents and Fatty Acid Composition of Three Lipid Classes in Korean Pinenut

Myung Kim, Sook-Hee Rhee and Hong-Sik Cheigh

Dept. of Food Sci. & Nutrition, Pusan National Univ., Pusan, Korea
(Received August 6, 1984)

Abstract

Total lipids (TL) from Korean pinenut (*Pinus koraiensis* S & Z) were extracted, purified and fractionated into three lipid classes (neutral lipid; NL, glycolipid; GL, phospholipid; PL). Lipid contents (constituent components) and fatty acid composition of three lipid classes were determined by thin layer chromatography and gas chromatography.

TL ranged from 69.0% to 69.8% in fresh pinenut and consisted of 95.9% to 96.7% NL, 3.2% to 2.5% GL and 0.9% to 0.8% PL. In the NL, triglycerides were predominant (80.8%) with the smaller amounts of sterol, diglycerides, free fatty acids, sterol esters and hydrocarbons. Monogalactosyl diglycerides and esterified steryl glycosides (23.5%) were the major components of GL, but cerebrosides, steryl glycosides and digalactosyl diglycerides were also found as minor components. Of the PL, phosphatidyl choline (40.2%) and phosphatidyl ethanolamine (19.4%) were the major components, comprising over 60% of this class. Phosphatidyl inositol, lysophosphatidyl choline were also present in the PL. The major fatty acids in the NL were linoleic acid (48.6%), oleic acid (28.8%) and arachidic acid (14.4%). The fatty acid composition in the GL was similar to the pattern in the NL, but PL contained a higher percentage of palmitic acid (17.7%) and stearic acid (6.0%) than other lipid classes.

서 론

잣나무(*Pinus koraiensis* S & Z)는 우리나라 중부 이북과 경남지역 등에서 널리 생장하고 있으며, 그 열매인 잣은 식품영양학적 가치가 높기 때문에 최근 여러 지역에서 조림되고 있다.

잣의 성분에 대해서는 일반구성성분¹⁾, 비타민과

무기질의 함량¹⁾, 아미노산의 조성^{2,6)} 등이 분석된 바 있고, 지질성분에 대해서는 총지질의 지방산조성^{3~6)}, triglyceride 희분별 지방산 조성⁷⁾과 일부 구성성분에 대한 연구⁸⁾가 있으나 잣지질의 희분별 구성 성분의 정량에 관한 연구는 아직 이루어지지 않았다.

따라서 본 연구에서는 잣의 지질성분을 chloroform-methanol 용액으로 장시간 추출하고 이를 정제한 다음 column chromatography(CC) 방법에 의해 중성자

질, 당지질, 인지질로 분획정량하고 다시 이들을 thin layer chromatography(TLC) 방법으로써 재분리 시켜 구성성분을 분별하고, TLC scanner로써 정량하였으며, 각 회분에 대해 gas chromatography(GC) 법에 의하여 지방산을 분석하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 시료는 가평, 홍천 2개 지역의 것으로, 가평산(1982년도 수확)은 가평읍 도유림 사업소에서, 그리고 홍천산(1982년도 수확)은 홍천군 화촌면 풍천리 산지에서 직접 구입(1983년 1월)하였다. 이들 시료를 겉껍질과 속껍질을 제거하고 마쇄하여 시료병에 넣고 밀봉상태로 -20°C를 유지하는 냉동고에서 보관하면서 분석시료로 사용하였다. A.O.A.C. 법⁹⁾에 의하여 분석한 시료의 일반성분은 수분 3.3~4.2%, 조단백질 16.3~17.3%, 조섬유 0.9% 그리고 조회분 2.4~2.8%였다.

2. 실험방법

시료지질의 추출 및 분획: 시료의 추출, 정제 및 각 성분의 분획정량은 Fig. 1과 같이 행하였다.

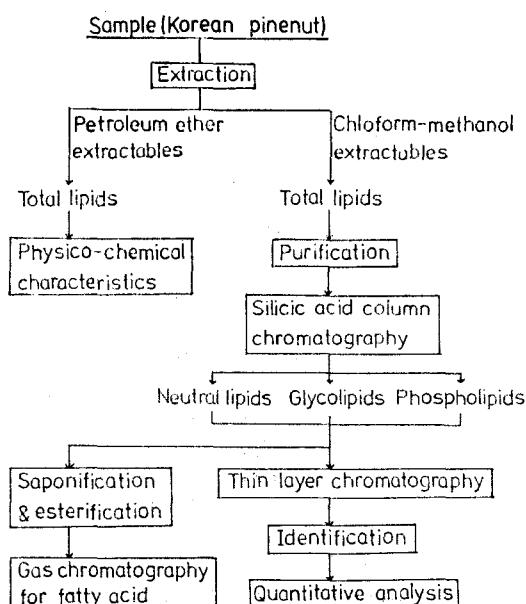


Fig. 1. Extraction, fractionation and quantitative analysis of lipids from pinenut.

마쇄한 시료 중의 총지질은 10배량의 chloroform-methanol(2 : 1, v/v)로 각각 10~12시간 magnetic stirrer로 저어 주면서 추출하였고, 그 추출액은 rotary vaccum evaporator로 농축하였다^{10,11)}. 그리고 추출한 총지질은 Folch방법¹²⁾에 따라 정제하였으며, 정제된 총지질은 Rouser 등의 방법¹³⁾ 및 Marnetti의 방법¹⁴⁾에 따라 silicic acid(lipid chromatography grade, 100 mesh, Sigma Co., USA)로 충진한 CC에 의해, 중성지질은 10배량의 chloroform으로 당지질은 20배의 acetone으로 그리고 인지질은 10배량의 methanol로 각각 분획하고 충량비로 이를 양을 계산하였다.

중성지질, 당지질 및 인지질의 분별 및 정량: 위에서 분리된 각 지질 회분을 Stahl의 방법¹⁵⁾에 따라 TLC에 의해 각 성분을 분별하였다. 이 때 사용된 TLC plate는 미리 만들어진 silicagel G TLC plastic sheet(Merck Co., Darmstadt, Germany, thickness: 250μm)였으며, 전개용매는 중성지질의 경우 petroleum ether: diethyl ether: acetic acid(100 : 15 : 1, v/v)¹⁶⁾, 당지질은 chloroform: methanol: 증류수: 28% 수용성암모니아(130 : 70 : 8 : 0.5, v/v)^{18,19)}로 각각 분리하였다. 이 때 지질표준품도 함께 전개시켜 표준화합물과 일치하는 분리된 반점을 확인하였다. 그리고 sulfuric acid-dichromate reagent²⁰⁾를 발색제로 분무하고 120°C에서 탄화시켰다. 또한 anthrone reagent¹⁸⁾를 분무하여 당지질 성분을, molybdenum reagent²¹⁾를 분무하여 인지질 성분을 별도로 확인하였다. 위에서 얻은 TLC plastic sheet에 나타난 각 분별된 성분의 반점 및 지질표준품의 그것을 scanner(Fiber Optic Scanner, Model 800, Kontes Sci. Inst., USA)에 의해 정량하였으며, 이 때의 기기분석 조건은 scanning mode: transmission, scanning rate: 5 cm/min, wavelength: 440 nm이었다.

Table 1. Operating condition for gas chromatography

Instrument	Varian Aerography Model 204-IC
Detector	Flame ionization detector
Column	6'×1/4" EGSS-X Chromosorb W. 60/80 mesh
Carrier gas	N ₂ : 30 ml/min, air: 400 ml/min H ₂ : 30 ml/min
Column température	150°C
Injection temperature	200°C
Detector temperature	210°C
Chart speed	20 inch/hr

지방산의 분석: 각 지질 희분의 지방산의 분석은 비극성 지질에서는 2 N-potassium hydroxide-methanol 용액으로 비누화시킨 후 지방산을 분리하고, 극성지질에서는 Frank 등의 방법²²⁾에 의해 지방산을 분리하였으며, 각각 이들을 Metcalf 등의 방법²³⁾으로 methylation 시켜 지방산 ester를 만들어 이를 GC로 분석하였다. 이때의 분석조건은 Table 1과 같다. 그리고 상대머무름 부피 및 머무름 시간을 기지농도의 표준지방산(F & OR Mixture No. 6, Applied Sci. Laboratories, Inc., USA)의 peak와 시료의 peak를 서로 비교하여 지방산을 확인하고 A.O.C.S. Tentative method Ce 1-62²⁴⁾ 및 반치 폭법²⁵⁾으로 그 양을 계산하였다.

추출지질의 물리화학적 특성분석: 비중은 비중병에 의한 측정법으로 25°C에서 측정하였으며, 굴절률은 refractometer (Edma Optical works, Model No. 16285, Japan)로 측정하였다. 비누화값 및 비비누화물질은 A.O.A.C. 법⁹⁾에 의하였으며 각 지질의 산값은 A.O.C.S. Ca 5a-40²⁴⁾으로 오드값은 wijs법⁹⁾으로 각각 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 추출지질의 물리화학적 특성

추출한 잣지질의 물리화학적 특성은 Table 2와 같다. 비중은 0.910~0.912로 채종유(0.906~0.917)와 비슷하며²⁶⁾, 굴절률은 1.472~1.473의 범위였다. 오드값은 127.6~130.9로 불포화 지방산의 함량이 비교적 높음을 알 수 있었고, 비누화값은 182.6~189.1, 비비누화물질은 0.78~0.80%이었다. 그리고 가경, 홍천 두 지역간의 차이는 거의 없었다.

2. 축지질 성분의 분획정량

축지질의 함량: 시료를 chloroform-methanol 용액으로 추출하고 Folch¹²⁾법으로 정제한 축지질의 함량은 Table 2에서와 같이 가평산은 69.0%, 홍천산은 69.8%로 지역간 큰 차이는 없으나 그 함량은 모⁵⁾, 金 등⁶⁾, 千 등⁷⁾과는 유사하고 김⁸⁾(51.7%)과는 현저한 차이가 있었다.

중성·당·인지질의 함량: 축지질을 CC로써 중성지질, 당지질, 인지질로 분획하여 정량한 결과는 Table 2와 같다. 즉, 중성지질이 축지질의 95.9~96.7%, 당지질이 2.5~3.2%, 인지질이 0.8~0.9%로 수확된 두 지역간의 차이는 거의 없다고 보아진

Table 2. Physico-chemical characteristics and fraction composition of pinenut lipids

	Pinenut harvesting area	
	Gapyung	Hongchun
Characteristics		
Specific gravity	0.910	0.912
Refractive index(N_D^{25})	1.472	1.473
Saponification value	182.6	189.1
Unsaponifiable matter(%)	0.80	0.78
Acid value	0.69	0.57
Iodine value	130.9	127.6
Fraction compositions	100.0(69.0)*	100.0(69.8)*
Neutral lipid(%)	95.9(66.2)	96.7(67.5)
Glycolipid(%)	3.2 (2.2)	2.5 (1.7)
Phospholipid(%)	0.9 (0.6)	0.8 (0.6)

*All the values in parenthesis are the percentage of each lipid fraction in pinenut.

다. 그리고 김⁸⁾의 중성지질 91.3% 보다 그 함량이 다소 적었으며. 당지질과 인지질은 3.51%, 1.93%로 본 연구보다 비교적 그 함량이 많았다. 한편 개암종실²⁶⁾이나 온행²⁷⁾의 경우 중성지질이 97%, 86%로 발표된 바 있다. 또한 면실²⁸⁾의 인지질 함량 0.7~0.9%와는 본 결과와 비슷하였다.

중성지질의 분별정량: 분획된 중성지질을 다시 TLC plate 상에서 재분리시켜 본 결과는 Fig. 2와 같고, 이를 scanner에서 정량한 결과는 Table 3과

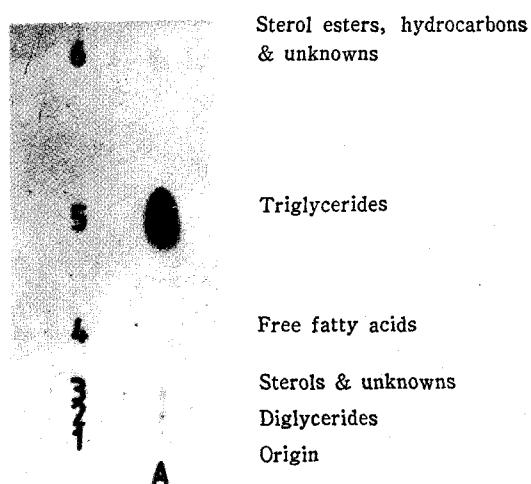


Fig. 2. Thin layer chromatographic separation of neutral lipid fraction from pinenut.
Plate: silicagel G(250μm)
Solvent system: petroleum ether-diethyl ether-acetic acid(100 : 15 : 1, v/v)

Table 3. Composition of each lipid fractions in pinenut^{a)}

Lipids	Percentage In each lipid fraction	Percentage In total lipid
Neutral lipid	100.0	96.7
Sterol esters, hydrocarbons and unknowns	3.1	3.0
Triglycerides	80.8	78.1
Free fatty acids	5.2	5.0
Diglycerides	6.3	6.1
Sterols and unknowns	4.6	4.5
Glycolipid	100.0	2.5
Digalactosyl diglycerides	2.3	0.1
Cerebrosides and steryl glycosides	7.8	0.2
Monogalactosyl diglycerides and esterified steryl glycosides	23.5	0.6
Others(unknown) ^{b)}	66.4	1.6
Phospholipid	100.0	0.8
Phosphatidyl ethanolamine	19.4	0.2
Phosphatidyl inositol	7.3	0.1
Phosphatidyl serine	2.6	trace
Phosphatidyl choline	40.2	0.3
Lysophosphatidyl choline	5.8	trace
Others(unknown) ^{c)}	24.7	0.2

- a) Used pinenut were harvested from Hongchun area
 b) Five spots(No. 3, 5, 6, 8 and 9) were separated as shown in Fig. 3.
 c) Two spots(No. 7 and 8) were separated as shown in Fig. 4.

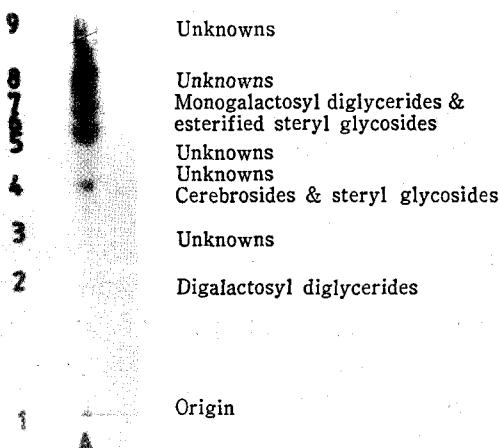


Fig. 3. Thin layer chromatographic separation of glycolipid fraction from pinenut.
 Plate: silicagel G(250 μm)
 Solvent system: chloroform-methanol (110 : 40, v/v)

같다. Sterol ester 및 hydrocarbon, triglyceride, free fatty acid, diglyceride, sterol 등이 분별 정량되었으며 이 중 triglyceride(80.8%)가 대부분이었고, diglyceride(6.3%), free fatty acid(5.2%)의 순으로 합유되어 있었다. 김³⁾은 triglyceride, free fatty acid, diglyceride, sterol 등을 분리하였으나 정량적인 분석은 행하지 않았다. 또한 개암²⁶⁾이나 은행²⁷⁾의 경우 종성지질 중 triglyceride 함량이 각각 98%, 86%로 보고된 바 있으며, Vorbeck 등²⁹⁾은 종실유증의 70% 이상이 triglyceride라 발표한 바 있다.

잣지질의 분별정량: Fig. 3과 Table 3에서 보는 바와 같이 확인된 지질성분은 digalactosyl diglyceride, monogalactosyl diglyceride 및 esterified steryl glycoside 등이었으며, 이 중 monogalactosyl diglyceride 및 esterified steryl glycoside가 23.5%, cerebroside 및 sterylglycoside가 7.8%였으며 미확인 지질성분도 66.4%로 나타났다. 이 다섯가지 미확인 성분에 대해서는 앞으로 연구 검토해 볼 과제라고 생각된다. 지금까지 한국산 잣에 대해서는 그 함량이 정량적으로 밝혀진 바 없는 듯하며, 정성적으로는 monogalactosyl diglyceride, cerebroside, diglyceride가 존재한다는 보고가 있다⁸⁾.

인지질의 분별정량: 정제한 총지질로부터 분획한 인지질을 TLC plate 상에서 재분리시켜 본 결과는

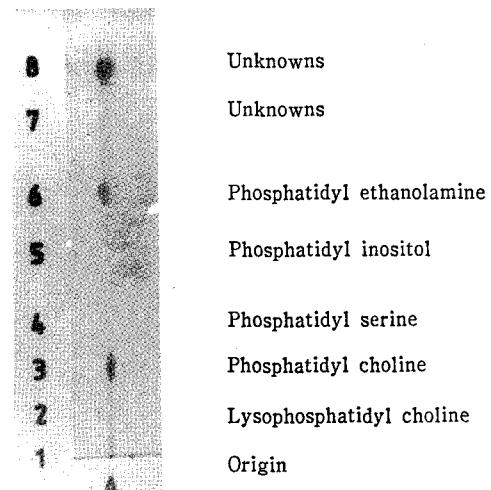


Fig. 4. Thin layer chromatographic separation of phospholipid fraction from pinenut
 Plate: silicagel G(250 μm)
 Solvent system: chloroform-methanol-water-28% aqueous ammonia(130 : 70 : 8 : 0.5, v/v)

Fig. 4 와 같으며, 이를 scanner로써 정량한 결과는 Table 3 과 같다. 즉, 인지질 중 lysophosphatidyl choline, phosphatidyl cerine, phosphatidyl inositol 및 phosphatidyl ethanolamine 등이 분별 정량되었으며, 이 중 주된 성분은 phosphatidyl choline(40.2%), phosphatidyl ethanolamine(19.4%) 등이며, phosphatidyl inositol, lysophosphatidyl choline, phosphatidyl serine 은 각각 7.3%, 5.8%, 2.6%로 나타났다. 또 한 김⁸⁾은 phosphatidyl ethanolamine, phosphatidyl choline, lysophosphatidyl choline 을 분별하였으며, 이 중 phosphatidyl choline의 함량은 42.4%라고 정량하였으나, 그 이외의 것은 정량적으로 보고된 바 없었다.

3. 지방산의 조성

잣의 중성지질, 당지질, 인지질의 지방산 조성을

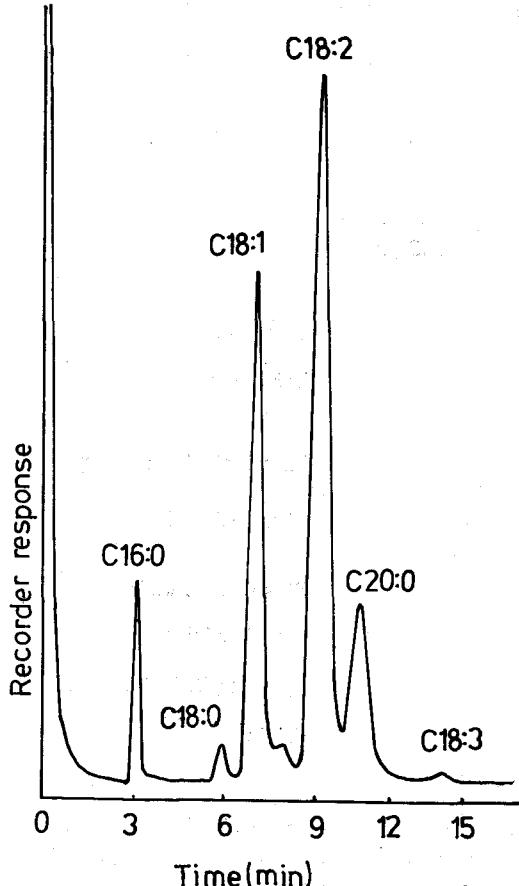


Fig. 5. Gas chromatogram of methyl ester of fatty acid in the neutral lipid fraction from pinenut.

Table 4. Fatty acid composition of each lipid fraction in pinenut

Fatty acids	Neutral lipids(%)	Glycolipids (%)	Phospholipids (%)
Lauric acid	<0.1	<0.1	<0.1
Myristic acid	<0.1	0.17	1.25
Palmitic acid	5.70	6.80	17.72
Stearic acid	1.84	2.51	6.00
Oleic acid	28.80	29.24	32.42
Linoleic acid	48.56	46.10	39.66
Linolenic acid	0.68	0.91	1.04
Arachidic acid	14.44	14.30	1.94

분획한 결과 얻어진 gas chromatogram 중 neutral lipid의 것은 Fig. 5 와 같으며, 지방산의 조성은 Table 4 와 같다.

중성지질의 주요 지방산을 그 함량순으로 보면 linoleic acid 가 48.6%로 가장 많았고, 그 다음이 oleic acid(28.8%), arachidic acid(14.4%), palmitic acid(5.7%), stearic acid(1.84%), linolenic acid(0.7%)의 순이었으며 그외 myristic acid 와 lauric acid가 미량 함유되어 있었다. 그리고 당지질에서도 linolenic acid 가 46.1%로 가장 많았고 oleic acid(29.2%), arachidic acid(14.3%), palmitic acid(6.8%), stearic acid(2.5%), linolenic acid(0.9%), myristic acid(0.2%), lauric acid(0.1% 이하)의 순으로 들어있었다. 한편 인지질에서는 linoleic acid(39.7%), oleic acid(32.4%), palmitic acid(17.7%), stearic acid(6.0%), arachidic acid(1.94%), myristic acid(1.0%), lauric acid(0.1% 이하)의 순으로 함유되어 있었다.

이와 같이 각 지질의 획분에서는 불포화 지방산인 oleic acid 와 linoleic acid 가 70% 이상을 차지함을 볼 수 있었고, 중성지질과 당지질은 서로 비슷한 지방산 조성을 나타내고 있었으나, 인지질의 경우 palmitic acid 와 stearic acid의 함량이 다른 획분의 것과 비교할 때 다소 많았다. 그리고 중성지질 및 당지질에서는 linoleic acid 와 arachidic acid의 함량이 인지질에 비해 비교적 많았다.

한편 모,⁵⁾ 伊豫田 등⁴⁾이 ethyl ether로 추출한 분획하지 않은 총지질의 지방산 조성에서는 linolenic acid의 함량(14.7~16.8%)과 arachidic acid의 함량(1.6% 이하)에 있어서 본 연구 결과 중 중성지질의 지방산 분포와 큰 차이를 보이고 있었다. 그리고 金 등⁶⁾의 결과와는 총지질의 함량은 별차이가 없었으나 총지질의 지방산 분포중 linolenic acid의 함량(7.4%

%)에서 본 연구의 중성지질의 그것과는 조금 차이를 나타내는 특이한 결과를 보였다. 또한 김⁸⁾은 본 연구와 추출방법을 달리 하였고 또 추출한 총지질을 CC에서 ethyl ether로 분획한 중성지질의 지방산 조성을 발표한 바 있는데, 본 실험 결과와는 총지질의 함량에 있어 큰 차이(김⁸⁾은 51.7%, 본 연구는 69.8%)를 보이고 있지만, 그 지방산 조성은 비슷한 분포를 나타내고 있다. 또한 Friston 등³⁰⁾의 미국산 잣으로부터 얻은 총지질의 지방산 분석결과를 본 실험과 비교할 때 그 분포는 거의 일치하나 arachidic acid의 함량에서는 큰 차이를 보이고 있다. 그러나 이와 같은 잣지질 성분의 지방산 조성은 잣의 종류(품종) 이외에도 지질추출방법 및 지질획분에 따라 차이가 있음을 알 수 있었다.

요 약

잣(*Pinus koraiensis* S & Z)에서 얻은 총지질 성분을 silicic acid column chromatography에 의해 중성지질, 당지질, 인지질로 분획 정량하고, 다시 이 분획된 성분을 thin layer chromatography로써 재분리시켜 구성성분들을 분별하고 scanner에서 정량하였으며, 각 화분별 지방산 조성을 gas chromatography로써 분석한 결과는 다음과 같다.

1) 잣지질의 구성은 중성지질이 총지질의 95.9~96.7%, 당지질이 2.5~3.2%, 인지질이 0.8~0.9%였으며, 중성지질에서는 triglyceride(80.8%), diglyceride(6.3%), free fatty acid(5.2%), sterol(4.6%), sterol ester 및 hydrocarbon 등이 분별 정량되었으며, 이 중 triglyceride가 주된 물질이었다. 당지질에서는 monogalactosyl diglyceride 및 esterified steryl glycoside(23.5%), cerebroside 및 steryl glycoside(7.8%), digalactosyl diglyceride(2.3%) 등이 분별 정량되었고, 인지질의 화분에서는 phosphatidyl choline(40.2%), phosphatidyl ethanolamine(19.4%), phosphatidyl inositol(7.3%), lysophosphatidyl choline(5.8%), phosphatidyl serine(2.6%) 등이 분별 정량되었다.

2) 각 분획된 지질의 지방산 조성은 중성지질의 경우 linoleic acid(48.7%), oleic acid(28.8%), arachidic acid(14.4%), palmitic acid(5.7%), stearic acid(1.84%), linolenic acid(0.7%), myristic acid(0.1% 이하), lauric acid(0.1% 이하) 등이 분리 정량되었으며, 당지질과 인지질에서도 linoleic acid, oleic acid 등이 주성분으로 이루어져 있었다. 그러나

인지질의 경우 palmitic acid(17.7%)와 stearic acid(6.0%)의 함량이 다른 지질획분에 비해 다소 많았다.

문 헌

- 1) 白光煜: 농화학회지, 9, 65(1968).
- 2) 李春寧, 樂泰完: 한국농학회기념논문집, 124 (1961)
- 3) 土屋知太郎, 大久保修: 東京工業試驗所報告, 56, 9(1973)
- 4) 伊豫田潤子, 野口駿: 日本家政學會誌, 24 (3), 169(1973)
- 5) 牟壽美: 한국영양학회지, 8 (2), 19 (1975)
- 6) 金智文, 尹漢教: 충남대 농업기술연구보고, 2 (2), 469(1975)
- 7) 千石祚, 朴榮浩: 한국식품과학회지, 16(2), 179 (1984)
- 8) 金松肅: 연세대학교 석사학위논문, 1981
- 9) A.O.A.C.: *Association of Official Analytical Chemists*, 12th ed., Washington D.C.(1976)
- 10) Privett, O.S., Dougherty, K.A., Erdahl, W.L. and Stoyhwo, A.: *J. Am. Oil Chemist's Society*, 50, 516(1973)
- 11) Singin, H. and Privett, O.S.: *Lipids*, 5(8), 692(1970)
- 12) Folch, J., Lees, M. and Sloanstanley, G.H.: *J. Biol. Chem.*, 226, 497(1957)
- 13) Rouser, G., Kritchevsky, G. and Simon, G.: *Lipids*, 2(1), 37(1967)
- 14) Marnetti, G.V.: *Lipid Chromatography Analysis* 1, Marcel Dekker, Inc., New York, 118(1967)
- 15) Stahl, E.: *Thin Layer Chromatography*, Academic Press, New York, 105(1969)
- 16) 伊藤精亮, 吉野康, 藤野安彦: *Res. Bull. Obihiro Univ.*, 9, 335(1975)
- 17) Price, P.B. and Parsons, J.G.: *Lipids*, 9(8), 560(1974)
- 18) Patton, S. and Thomas, A.J.: *J. of Lipid Research*, 12, 331(1971)
- 19) Parsons, J.G. and Patton, S.: *J. of Food Sci.*, 34, 497(1969)
- 20) Amenta, J.S.: *J. of Lipid Research*, 5, 270 (1964)
- 21) Dittmer, J.C. and Lester, R.L.: *J. of Lipid*

- Research, 5, 126(1964)
- 22) Frank, A.L. and Mattick, R.L.: *J. of Food Sci.*, 26, 273(1961)
- 23) Metcalf, L.D., Schmitz, A.A. and Palka, J.R.: *Anal. Chem.*, 38(3), 514(1966)
- 24) A.O.C.S.: *Am. Oil Chemist's Soc.*, Illinois (1973)
- 25) 日本化學會編: 實驗化學講座, 繢 9 (丸善株式會社, 東京), 13(1963)
- 26) 홍형기, 신호선: 한국식품과학회지, 10(3), 363 (1978)
- 27) 정안석, 신호선: 한국식품과학회지, 10(2), 119 (1978)
- 28) John, Wiley and Sons: *Bailey's Industrial Oil and Fat Product* 1, Wiley interscience, New York, 49(1979)
- 29) Vorbeck, M.L., Mattick, L.R., Frank, A.L. and Pederson, C.S.: *Analytical Chemistry*, 38, 1512(1961)
- 30) Arnis Kuksis: *Handbook of Lipid Research*, Vol. 1, Plenum Press, New York, 365(1978)