

싸리종자(*Lespedeza bicolor*)의 脂質成分에 관한 研究

金 香 蘭 · 高 武 錫 · 梁 熙 天*

전남대학교 사범대학, * 전주우석대학
(1987年 7月 10日 접수)

Studies on the Lipid Composition of Bush Clover (*Lespedeza bicolor*) Seed

Hyang-Ran Kim, Moo-Seok Koh and Hee-Cheon Yang*

Chonnam National University, * College of Jeonju Woo suk

(Received July, 10, 1987)

Abstract

Lipids in Bush Clover (*Lespedeza bicolor*) seed were extracted with the mixture of chloroform-methanol (2:1, v/v) and then fractionated into neutral lipids, glycolipids and phospholipids by silicic acid column chromatography. Components and fatty acid composition of each fraction were determined by thin layer and gas chromatographies.

The results were summarized as follows. In Bush Clover seed, the contents of neutral lipids, glycolipids and phospholipids were 71.75%, 23.26% and 4.99% respectively. Triglycerides(61.90%) and free fatty acids(22.04%) were the major components among the neutral lipids. Esterified sterols, free sterols, diglycerides and monoglycerides were the minor components. The major components of glycolipids were monogalactosyl diglycerides(38.19%) the others were esterified steryl glycosides, cerebrosides and digalactosyl diglycerides. The major components of the phospholipids were phosphatidyl cholines(36.46%), phosphatidyl inositol(21.52%) and phosphatidyl ethanolamines(17.29%).

The major fatty acid of total lipid, neutral lipids and glycolipids were linoleic acid, linolenic acid, oleic acid and palmitic acid. On the other hand, predominate fatty acid of phospholipids were linoleic acid, palmitic acid, linolenic acid and stearic acid.

서 론

유자는 식생활 및 식품공업의 발달과 함께 그 중요성이 인식되면서 유자의 섭취량이 낮은 우리나라에서도 유자에 대한 관심이 높아지고 있으며 그에 따른 소비도 급증하고 있다. 한편 유자원료의 생산은 담보상태로 대부분의 유자 및 그 원료는 주로 수입에 의존하고 있다. 즉 1985년도 우

리나라 동식물성 유지 및 약스의 수출액은 3.7백만불인데 반하여 수입량은 146.3백만불¹⁾로 수입량이 수출량의 약 40배에 이르고 있다. 이와같은 현상은 유지공업의 발달로 인하여 더욱 가중될 것이 예상되므로 국내 유지자원을 개발하는 것이 중요한 일이라고 생각된다.

싸리(*Lespedeza bicolor*)는 콩과에 속하는 낙엽 관목으로 산야에 널리 분포되어 있으며 번식

력이 강하여, 사료 및 섭유자원으로 이용되고 있다. 한편 종자는 결실량이 많아 식용유의 자원으로 이용가치가 있을 것으로 기대된다.

지금까지 싸리종자에 관한 연구로는 쪽제비씨리(*Amorpha fruticosa L.*)의 지질성분 분석²⁾을 비롯하여 지방산조성³⁾과 종자의 결실과정 중 정유(essential oil) 성분의 변화⁴⁾ 그리고 저장중 정유성분의 변화⁵⁾ 등에 관한 보고가 있을 뿐이다.

본 실험은 싸리종자 종에 함유되어 있는 유지를 식용 및 공업용으로 이용하기 위한 기초 자료를 얻기 위하여 chloroform-methanol 혼합용매로 추출한 유지에 대해 일반성분 및 전지질, 중성지질, 당지질, 인지질의 지질성분 및 지방산조성을 분석하여 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

1. 재료

재료는 1985년 10월, 무등산 원효사 및 중심사 일원에 산재되어 있는 나무에서 채취하여 전조, 박피 후 ball mill로 마쇄하여 시료로 하였다.

2. 방법

(1) 일반성분 분석

AOAC 공정법⁶⁾에 준하여 수분, 조단백, 조지방, 당, 회분을 각각 정량하였다.

(2) 전지질의 추출 및 정제

전지질은 시료 5배량의 chloroform: methanol (2:1, v/v) 혼합용매를 가하여 약 24시간 추출한 후 잔사도 같은 방법으로 2회 반복하여 여액을 합한 다음 감압 농축하였다. 추출액 중에 존재하는 비지방성 물질은 Folch⁷⁾에 의해 정제하였다. 즉 지질추출액에 0.8% CaCl_2 수용액 0.2 배를 가한 후 chloroform총을 회수하여 농축하였고, 지질의 양은 중량법으로 계산하였으며, 시료는 질소가스로 충진한 시험관에 넣어 냉동실에 보관하면서 분석 시료로 하였다.

(3) 지질의 분획 및 정량

정제한 전지질 성분을 Rouser 등⁸⁾의 방법에 준하여 Silicic acid column chromatography에 의하여 중성지질, 당지질, 인지질로 분리 정량하였

다. 즉 silicic acid(325 mesh 이하)를 증류수로 셋어서 콜로이드성 미립자를 제거하고 methanol로 다시 셋은 후 110°C에서 하루밤 활성화하였다. 활성화된 silicic acid 약 15g을 chloroform slurry로 만든 후 glass wool이 1~2cm 채워진 column($2\text{cm} \phi \times 40\text{cm}$)에 충전하고 전지질 200mg을 주입한 후 질소 gas를 통과시켜 1분 동안에 2~3 mL 정도 용매가 훌륭내리도록 압력을 조절하면서 200mL의 chloroform으로 중성지질을, 700mL의 acetone으로 당지질을, 200mL의 methanol로 인지질을 각각 분획하여 감압 농축하였고 중량법에 의해 각 지질의 함량을 구하였다.

(4) 중성지질, 당지질, 인지질의 분별 및 정량
분리된 각 지질은 Stahl⁹⁾의 방법에 따라 Thin Layer Chromatography(TLC)에 의해 분별하였다. 즉 TLC plate는 silicagel G로 0.25mm의 박층을 도포하여 110°C에서 2시간 활성화시킨 것을 사용하였고 전개용매로 중성지질은 n-hexane: diethylether: acetic acid=80:20:1(v/v), 당지질은 chloroform: methanol: water=65:25:4(v/v), 인지질은 chloroform: acetone: methanol: acetic acid: water=65:20:10:10:3(v/v)으로 하여 상승일차원법에 의해 분리시킨 후 발색제로 요드증기를 사용하였고 표준지질의 R_f 값과 비교 동정하여 Amenta법¹⁰⁾으로 정량하였다.

(5) 지방산의 분석

지방산의 분석은 각 지질을 methylation¹¹⁾한 후 Gas Chromatography(GC)에 의해 분리 정량하였다. 즉 시료 200mg에 H_2SO_4 : benzene: methanol=2:30:30(v/v) 용액 60mL를 가하여 환류냉각시키면서 2.5시간 비동가열시킨 후, petroleum ether 50mL로 2~3회 추출한 다음 중화탈수하여 vacuum oven에서 용체를 제거하고 petroleum ether 일정량으로 회색하여 GC 분석용으로 하였다. 분석조건은 Table 1과 같으며 분리된 각 지방산 peak의 동정은 지방산표준품(sigma chemical Co; U.S.A)의 retention time과 비교하였고 지방산 양은 YANACO intergrater system 1100을 이용하여 각 peak 면적과 총 peak 면적의 상대적인 백분율로 표시하였다.

Table 1. Instrument and operating conditions of gas chromatography.

Instrument:	Yanaco G 180 gas chromatography
Detector:	Flame Ionization Detector(FID)
Column:	3mm(Φ)×3m stainless steel 15% diethyleneglycol succinate(DEGS) on shimalite (60-80 mesh)
Carrier gas:	N ₂ (35ml/min)
Column temp.:	200°C
Detector temp.:	240°C
Chart speed:	2.5mm/min
H ₂ flow rate:	45ml/min

III. 결과 및 고찰

1. 쌈리종자의 일반성분

쌈리의 일반성분을 분석한 결과는 Table 2와 같다.

쌈리종자 중의 수분은 11.60%, 조단백은 20.10%, 조지방은 15.25%, 당은 48.92%, 조회분은 4.13%의 함량을 나타냈다. 조단백질의 함량은 같은 콩과 식물인 대두 34.3%, 녹두 24.8%보다는 적으나 조지방의 함량은 대두 17.5%와 비슷하며²²⁾ 쪽제비쌈리 12.73%²³⁾ 비교했을 때 더 높게 나타났다.

Table 2. Proximate components of Bush clover seed.

Components	moisture	crude protein	crude fat
Content(%)	11.60	20.10	15.25
Components	carbohydrate	crude ash	
Content(%)	48.92	4.13	

2. 지질의 함량

천지질, 중성지질, 당지질 및 인지질의 함량은 Table 3과 같다.

중성지질과 당지질과 인지질은 각각 71.75%, 23.26%와 4.99%로 중성지질의 함량이 가장 높

았다.

호박씨,¹²⁾ 참깨,¹³⁾ 평지씨¹⁴⁾ 등의 식물성 유지에 비하여 당지질, 인지질 등의 복합지질의 함량이 높은 경향이었다. 인지질의 함량은 Mark 등¹⁵⁾의 과체류 종자에 대한 분석치와 거의 비슷한 값을 나타냈다.

Table 3. Lipid content of Bush clover seed.

Lipids	Composition(%)
Total lipid	(100.00)
Neutral lipid	(71.75)
Glycolipid	(23.26)
Phospholipid	(4.99)

3. 중성지질, 당지질 및 인지질의 조성 및 함량

중성지질, 당지질 및 인지질을 TLC로 분리한 Chromatogram은 Fig.1, 2 및 3과 같다.

TLC로 분리, 정량한 결과는 Table 4와 같다. 중성지질 중에는 monoglyceride, diglyceride, free sterol, free fatty acid, triglyceride 및 esterified sterol 등 6개의 spot가 확인되었으며, 이 중 triglyceride가 61.9%로 가장 함량이 많았으나 다른 식물성 유지의^{12~14)} 중성지질 triglyceride 함량에 비하여 낮은 편이며, 유리지방산이 22.04%로 많은 양이 함유된 것이 특이하였다.

당지질은 TLC상에서 esterified steryl glycoside, monogalactosyl diglyceride, steryl glycoside, cerebroside, digalactosyl diglyceride 등 5 가지 종류의 spot가 확인되었다.

당지질 중 monogalactosyl diglyceride의 함량이 38.19%로 가장 높고, Steryl glycoside 등 다른 당지질의 함량은 거의 비슷하게 나타났다. 식물체에서 비교적 높은 함량을 나타내는 monogalactosyl diglyceride는 호박씨의 경우 13.60%,¹²⁾ 잣의 경우 23.5%¹⁰⁾ 보다 훨씬 높은 함량을 나타냈다.

인지질은 TLC상에서 7개의 spot가 분별되었으나 1가지는 동정할 수 없었다. phosphatidyl choline 36.46%, phosphatidyl inositol 21.52%,

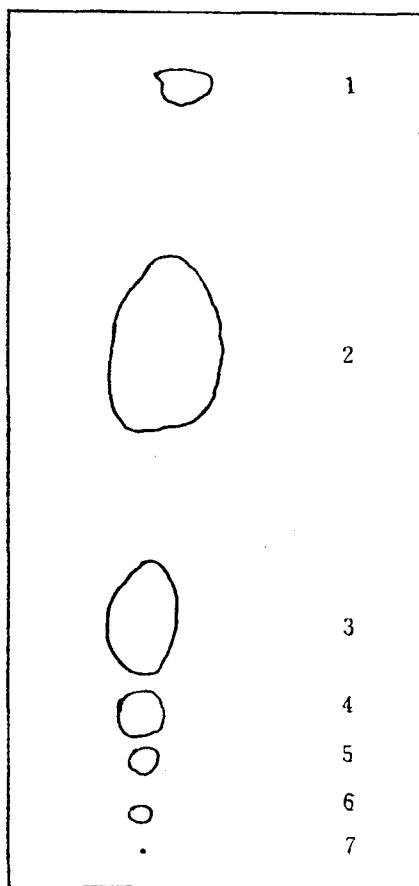


Fig. 1. Thin layer chromatogram of neutral lipids in Bush clover seed.

Plate; silicagel G(0.25mm)

Solvent system; n-hexane: diethyl ether: acetic acid(80: 20: 1, v/v)

- | | |
|-----------------------|------------------|
| 1. Esterified sterol, | 2. Triglyceride |
| 3. Free fatty acid, | 4. Free sterol |
| 5. Diglyceride, | 6. Monoglyceride |
| 7. Origin | |

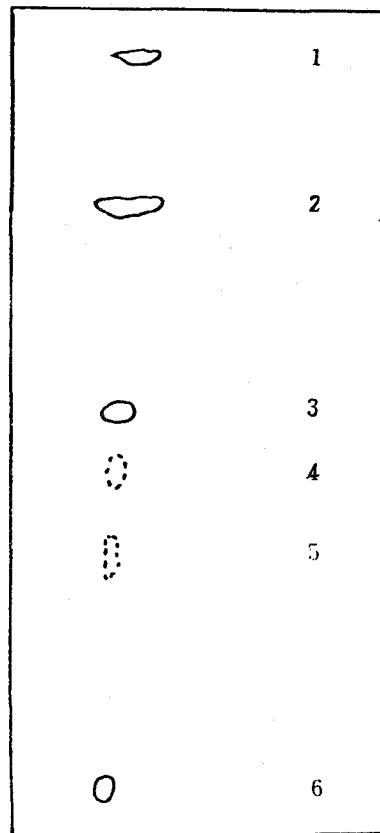


Fig. 2. Thin layer chromatogram of glycolipids in Bush clover seed.

Plate; silicagel G(0.25mm)

Solvent system; chloroform: methanol: water (65: 25: 4, v/v)

- | |
|--------------------------------|
| 1. Esterified sterol glycoside |
| 2. Monogalactosyl diglyceride |
| 3. Steryl glycoside |
| 4. Ceredroside |
| 5. Digalactosyl diglyceride |
| 6. Origin |

phosphatidyl ethanolamine 17.29% 등의 함량이 높게 나타났고 phosphatidyl glycerol 1.72%, phosphatidyl serine 5.48%의 함량은 낮았다. Willemot와 Boll¹⁷⁾의 식물종자의 인지질에 대한 보고에서 phosphatidyl choline, phosphatidyl inositol, phosphatidyl ethanolamine이 주성분을 이루며 phosphatidyl serine는 거의 나타나지 않는다는 결과와 유사한 경향이었다.

4. 지방산의 조성

싸리종자의 구성 지방산을 분리 정량하기 위한 표준지방산 GC의 chromatogram은 Fig.4와 같으며 전지질, 중성지질, 당지질, 인지질 chromatogram은 Fig.5~8과 같다.

전지질, 중성지질, 당지질 및 인지질의 지방산 조성을 chromatogram에 의해 분리 정량한 결과는 Table 5와 같다.

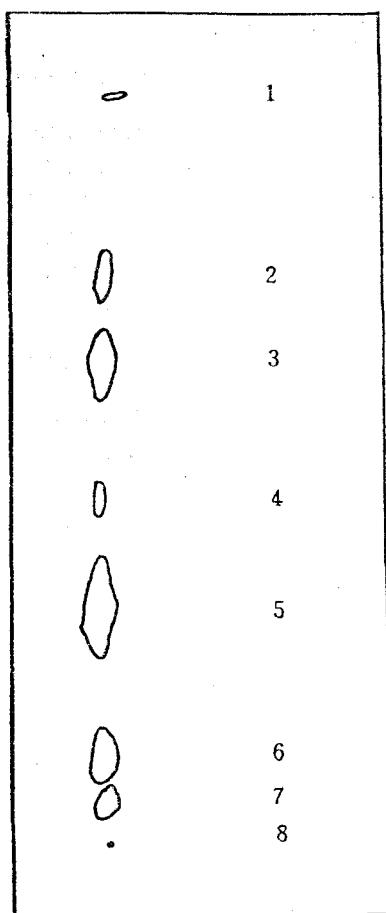


Fig. 3. Thin layer chromatogram of phospholipids in Bush clover seed.

Plate; silicagel G(0.25mm)

Solvent system; chloroform: acetone: methanol: acetic acid: water(65: 20: 10: 3, v/v)

1. Phosphatidyl glycerol
2. Phosphatidyl ethanolamine
3. Phosphatidyl inositol
4. Phosphatidyl serine
5. Phosphatidyl choline
6. Lysophosphatidyl choline
7. Unknown
8. Orgine

전지질의 지방산 조성은 linoleic acid가 56.83%로 가장 높고, linolenic acid는 19.65%, oleic acid는 9.61% 순으로 함량이 높았으며, 불포화지방산이 87.73%를 차지하였다. 쪽제비씨리²³에 비하면 stearic acid(5.07)%와 linoleic acid(76.21

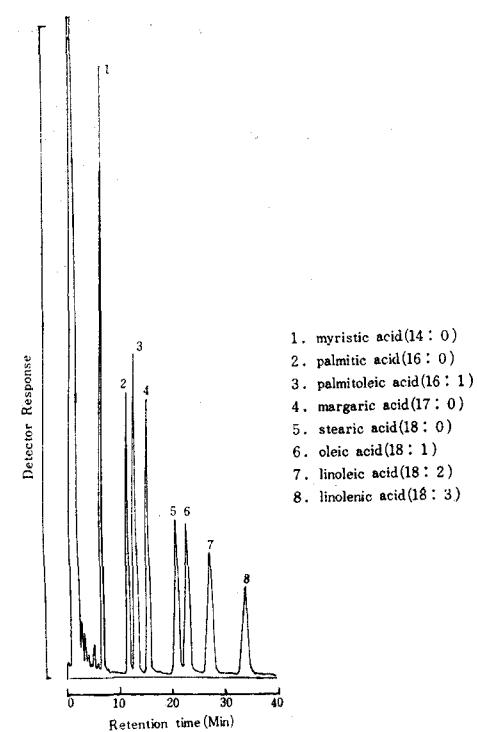


Fig. 4. Gas chromatogram of methyl ester of standard fatty acid.

%)의 함량은 낮으나, oleic acid(4.45%), linolenic acid(2.03%) 함량은 더 높게 나타났다. linoleic acid, oleic acid, palmitic acid 등이 주요 지방산인 대두¹⁸⁾와는 지방산 조성 pattern에 차이가 있었고, 평지씨,¹⁴⁾ 대두,¹⁸⁾ 참깨¹⁹⁾보다 필수지방산의 함량이 높았다.

중성지질의 지방산 조성은 linoleic acid가 55.36%로 반 이상을 차지하였고 linolenic acid 19.40%, oleic acid 12.47%, palmitic acid 9.81% 등이 주요 지방산을 구성하였으며 전지질의 지방산 조성 pattern과 동일하였다. 중성지질 중 필수지방산인 linoleic acid와 linolenic acid의 함량은 74.76%로 호박씨,¹²⁾ 대두,¹⁸⁾ 참깨¹⁹⁾보다 더 높게 나타났다.

당지질의 지방산 조성은 linoleic acid가 53.26%로 가장 많았고, linolenic acid가 18.67%, palmitic acid가 12.20%, oleic acid가 11.39% 함유되어 있었다.

당지질의 지방산 조성은 전지질, 중성지질과

Table 4. Composition of in Bush clover seed.

Lipid Classes		Composition (%)
Neutral lipid [NL]	(Esterified sterol E.S)	6.10*(4.38**)
	Triglyceride (T.G)	61.90(44.41)
	Free fatty acid (F.F.A)	22.04(15.81)
	Free sterol (F.S)	6.45 (4.63)
	Diglyceride (D.G)	2.54 (1.82)
	Monoglyceride (M.G)	trace
		100.00(71.75)
Glycolipid [GL]	Esterified steryl glycoside (E.S.G)	16.72 (3.89)
	Monogalactosyl diglyceride (M.G.D)	38.19 (8.88)
	Steryl glycoside (S.G)	16.91 (3.93)
	Cerebroside (Cer)	12.36 (2.88)
	Digalactosyl diglyceride (D.G.D)	15.82 (3.68)
		100.00(23.26)
Phospholipid [PL]	Phosphatidyl glycerol (P.G)	1.72 (0.09)
	Phosphatidyl ethanolamine (P.E)	17.29 (0.86)
	Phosphatidyl inositol (P.I)	21.52 (1.07)
	Phosphatidyl serine (P.S)	5.48 (0.27)
	Phosphatidyl choline (P.C)	36.46 (1.82)
	Lysophosphatidyl choline (L.P.C)	10.33 (0.52)
	Unknown	7.20 (0.36)
		100.00 (4.99)

* All values are the percent of each lipid class.

** All values in parentheses are the percent of total lipid.

Table 5. Fatty acid composition of neutral lipid, glycolipid, phospholipid and total lipid (%)

Fatty acids	NL	GL	PL	TL
14: 0	0.08	—	0.19	0.09
16: 0	9.81	12.20	27.83	9.61
16: 1	0.04	—	—	—
17: 0	0.12	—	—	0.10
18: 0	2.24	2.46	5.00	2.24
18: 1	12.47	11.39	2.16	11.25
18: 2	55.36	53.26	53.86	56.83
18: 3	19.40	18.67	9.51	19.65
Others	0.48	2.02	1.45	0.23
Sat.	12.25	14.66	33.02	12.04
Unsat.	87.27	83.32	65.53	87.73

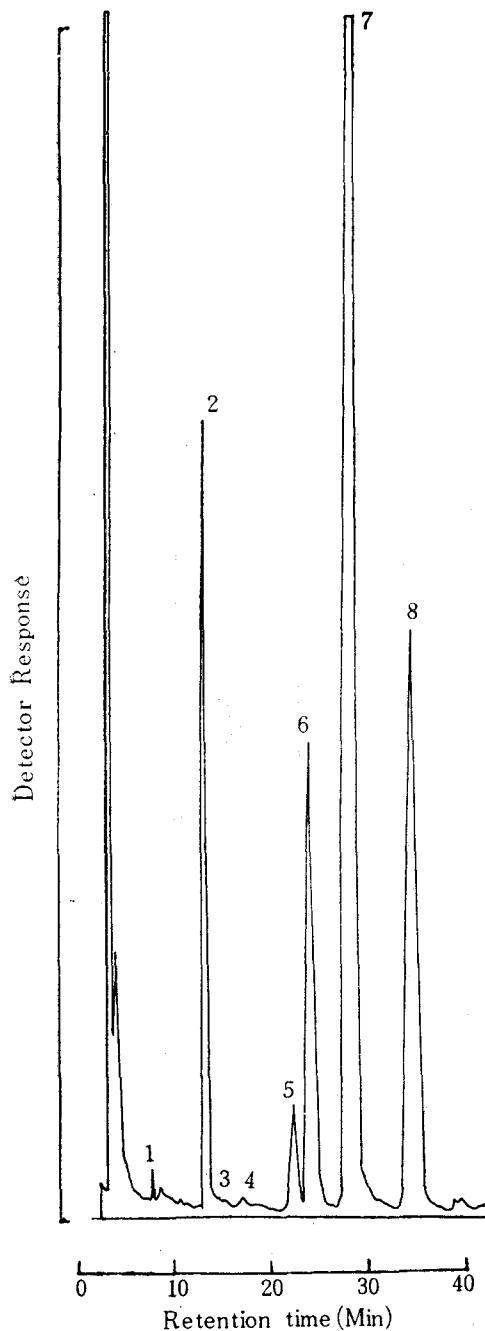


Fig. 5. Gas chromatogram of fatty acid in total lipid of Bush clover seed.

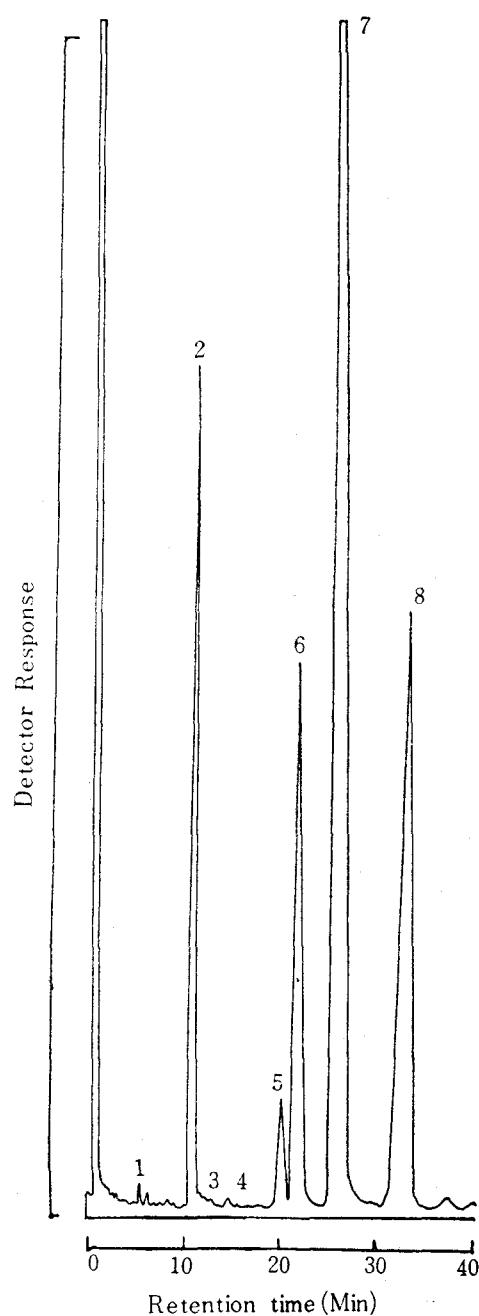


Fig. 6. Gas chromatogram of (methyl ester) fatty acid in neutral lipid of Bush clover seed.

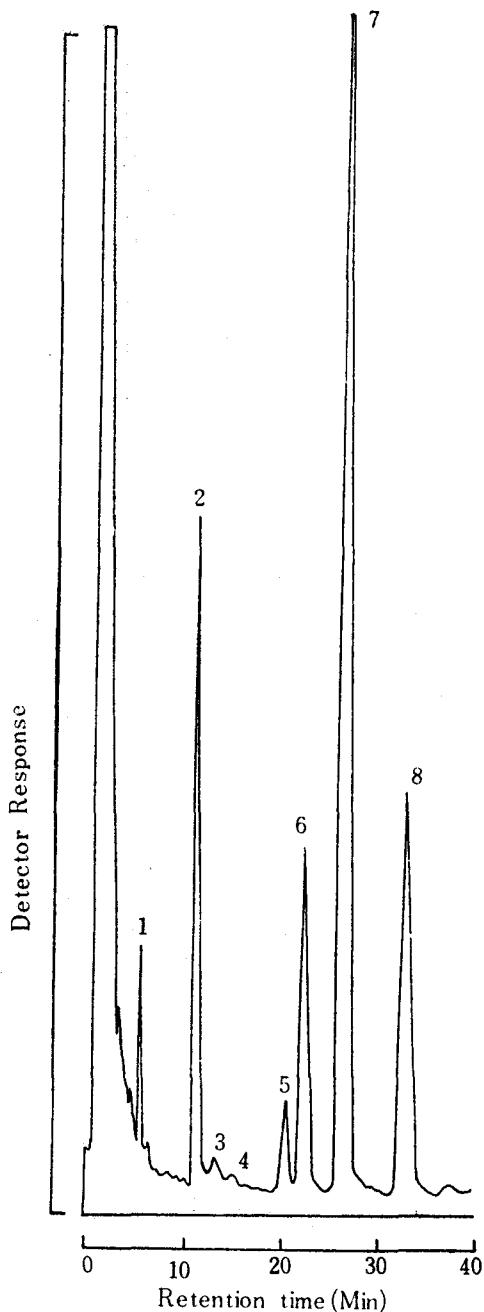


Fig. 7. Gas chromatogram of fatty acid in glycolipid of Bush clover seed.

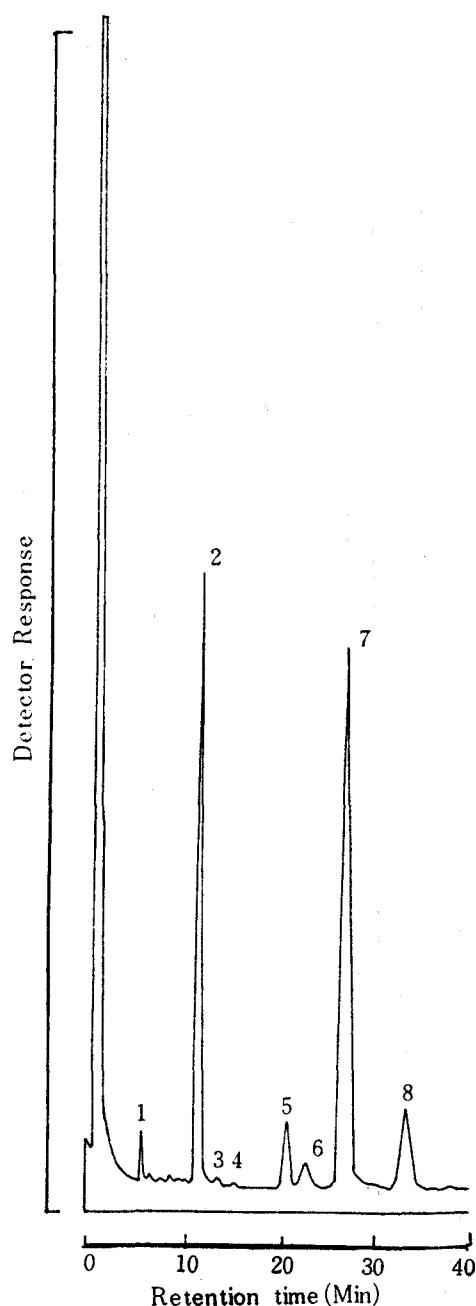


Fig. 8. Gas chromatogram of fatty acid in phospholipid of Bush clover seed.

유사한 경향이었고, 불포화지방산은 87.27%로 함께¹⁹⁾(68.4%), 호박씨²⁰⁾(35.4%)의 당지질보다 높은 함량을 나타냈다.

인지질의 지방산 조성은 linoleic acid가 53.86%, palmitic acid가 27.83%, linolenic acid가 9.51%, stearic acid가 5.00%로 주성분을 이루었으며 전지질, 중성지질, 당지질에 비해 불포화지방산인 linoleic acid, linolenic acid 함량이 낮은 반면, 포화지방산인 palmitic acid, stearic acid 함량이 높게 나타나 지방산 조성 pattern에 큰 차이가 있었다.

요 약

싸리종자의 지질을 chlorform: methanol(2:1, v/v)로 추출한 후 중성지질, 당지질, 인지질로 분획한 다음 TLC와 GC로 분리, 정량하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 싸리종자의 일반성분은 수분이 11.60%, 조단백이 20.10%, 조지방이 15.25%, 당질이 48.92%, 화분이 4.13%로 나타났다.

2. 싸리종자의 지질은 중성지질이 71.75%, 당지질이 23.26%, 인지질이 4.99%였다.

3. 중성지질 중에는 triglyceride 61.9%, free fatty acid 22.04%가 주성분을 이루었고 그 외에 free sterol, esterified sterol, diglyceride, monoglyceride 지질 성분이 존재하였다.

4. 당지질 중에는 monogalactosyl diglyceride 38.19%의 함량이 가장 높았고 esterified steryl glycoside, steryl glycoside, digalactosyl diglyceride, cerebroside 등의 지질 성분이 비슷한 함량으로 존재하였다.

5. 인지질 중에는 phosphatidyl choline 36.46%, phosphatidyl inositol 21.52%, phosphatidyl ethanolamine 17.29%가 주성분이었고 lysophosphatidyl choline, phosphatidyl serine과 1가지 미확인 인지질 성분이 존재하였다.

6. 전지질의 주요 지방산은 linoleic acid 36.83%, linolenic acid 19.65%, oleic acid 11.25, palmitic acid 9.61%였고 중성지질의 주요 지방산은 linoleic acid 55.36%, linolenic acid 19.40%, oleic acid 12.47%, palmitic acid 9.81%였다. 당지질의 주요 지방산은 linoleic acid 53.26

%, linolenic acid 18.67%, palmitic acid 12.20%, oleic acid 11.39%였다. 인지질의 주요 지방산은 linoleic acid 53.86%, palmitic acid 27.83%, linolenic acid 9.51%, stearic acid 5.00%로 전지질, 중성지질, 당지질의 지방산 조성 pattern과는 차이가 있었다.

참 고 문 헌

- 한국통계연감 제32호, 경제기획원 조사통계국 (1986).
- 이영·신효선, 한국식품과학회지 9(4), 284 (1971).
- 황명호·이상영, 한국식품과학회지 6(2), 86 (1974).
- Georgiev, E.; Chem. Abstr., 56, 4971g (1963).
- Georgiev, E., Nauchni, Tr. and Vissbiya, Inst.; 64, 11023d (1966).
- AOAC; Official Methods of Analysis (11th), 471 (1970).
- Folch, J., Lees, M. and SloaneStanley, G.H.; J. Biol. Chem., 226, 497 (1957).
- Rouser, G., Krichevsky, G. and Simon, G.; Lipids, 2, 37 (1967).
- Stahl, E.; Thin layer chromatography, Academic Press N.Y. (1969).
- Amenta, J.S.; J. Lipid Res., 5, 270 (1964).
- Price, P.B. and Parsons, J.G.; Lipids, 560, 840 (1974).
- 송근섭, 전북대학교 대학원 석사학위구논문 (1984).
- 최상도·양민석·조무제, 한국영양학회지 13(3), 259 (1984).
- 강숙·이강현·박재주·신효선, 한국식품과학회지 12(2), 115 (1980).
- Mark, L.D. and Charles, W.W.; J. Agr. Food Chem., 28, 364 (1980).
- 김명·이숙희·최홍식, 한국영양식량학회지 13(4), 406 (1984).
- Willemot, C. and Boll, W.G.; Can. J. Bot., 45, 1863 (1967).

18. 윤태현·임경자·김동훈, *한국식품과학회지* **16**(4), 375 (1984).
19. 신효선, *한국식품과학회지* **5**(2), 113 (1973).
20. 최상도·양민식·조무제, *한국농화학회지* **27** (3), 211 (1984).
21. Hideo TSUYUKI, Shingo ITOH and Kazuo YAMAGATA; *日本食品工業學會誌* **32**(1), 7 (1985).
22. 김영순·한영봉·유영진·조재선, *한국식품과학회지* **13**(2), 146 (1981).