

## 동물성 수산식품 중의 Sterol 조성과 Cholesterol $\Delta^7$ -dehydrogenase의 존재에 관한 연구

김 성 진 · 조 용 계

동아대학교 식품영양학과

### Studies on the Composition of Sterol and the Presence of Cholesterol $\Delta^7$ -dehydrogenase in Marine Animal Products

Kim, Seong-Jin · Joh, Yong-Goe

Dept. Food Science & Nutrition, Dong-A University, Pusan, Korea

(Received Sep. 24, 1993)

#### ABSTRACT

Levels of sterols including  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol isolated from the tissues of marine animal products (20 species) were determined on 1.5% OV-17 column of gas-liquid chromatography. The composition showed that the mussels and clams contained various sterols in their tissues ; cholesterol, brassicasterol, 24-methylenecholesterol with some minor components such as 22-*trans*-norcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol, 22-*cis*-dehydrocholesterol, 22-*trans*-dehydrocholesterol, desmosterol, 7-dehydrocholesterol, campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, isofucosterol, and 7-dehydrocholesterol which could be converted into vitamin D<sub>3</sub> in the skin tissue of animal was present in the muscle of oyster, *Crassostrea gigas*. On the other hand, the others including gastropoda were predominantly composed of cholesterol. The minor sterols such as 24-methylenecholesterol, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol in the fish intestines are supposed to be derived from dietary plankton. Cholesterol  $\Delta^7$ -dehydrogenase which could convert cholesterol into  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol was present in the pickles of *Tricurus haumela* intestine.

#### I. 서 론

Vitamin D<sub>3</sub>는 식물체와 미생물에서는 거의 발견되지 않고 동물체에서만 발견되는데,<sup>1)</sup> 이는 provitamin D<sub>3</sub>인 7-dehydrocholesterol이 동물체에서만 존재하기 때문인 것으로 생각된다. 일반적인 동물조직의  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 lanosterol에서 출발하여 24, 25-dihydrolanosterol을 거쳐 4 $\alpha$ -methyl- $\Delta^8$ -cholesterol로 대사되고 다시  $\Delta^7$

-cholesterol을 거쳐 생성된다.<sup>2, 3)</sup> Moore<sup>4)</sup>는 동물조직중 7-dehydrocholesterol 함량이 높은 곳이 피부라 하였으며, 쥐 피부에는 250 $\mu$ g/g 정도 존재하여 간에 비해 200배 정도 높으며 피부조직에는 cholesterol을 7-dehydrocholesterol로 전환하는  $\Delta^7$ -dehydrogenase의 활성이 다른 조직에 비해 높다고 하였다. Khan등<sup>5)</sup>은 굴(*Crassostrea virginica*)을 위시한 2매패(二枚貝)근육중에 7-dehydrocholesterol이 상당량 함유되어 있는데, 이것은 cholesterol에서 전환될 가능성이 높다고 하였으며, Teshima<sup>6)</sup>는 담치

\* 이 연구는 1991년도 한국과학재단 연구비지원(과제번호: KOSEF 911-1508-071-2)에 의한 결과의 일부임

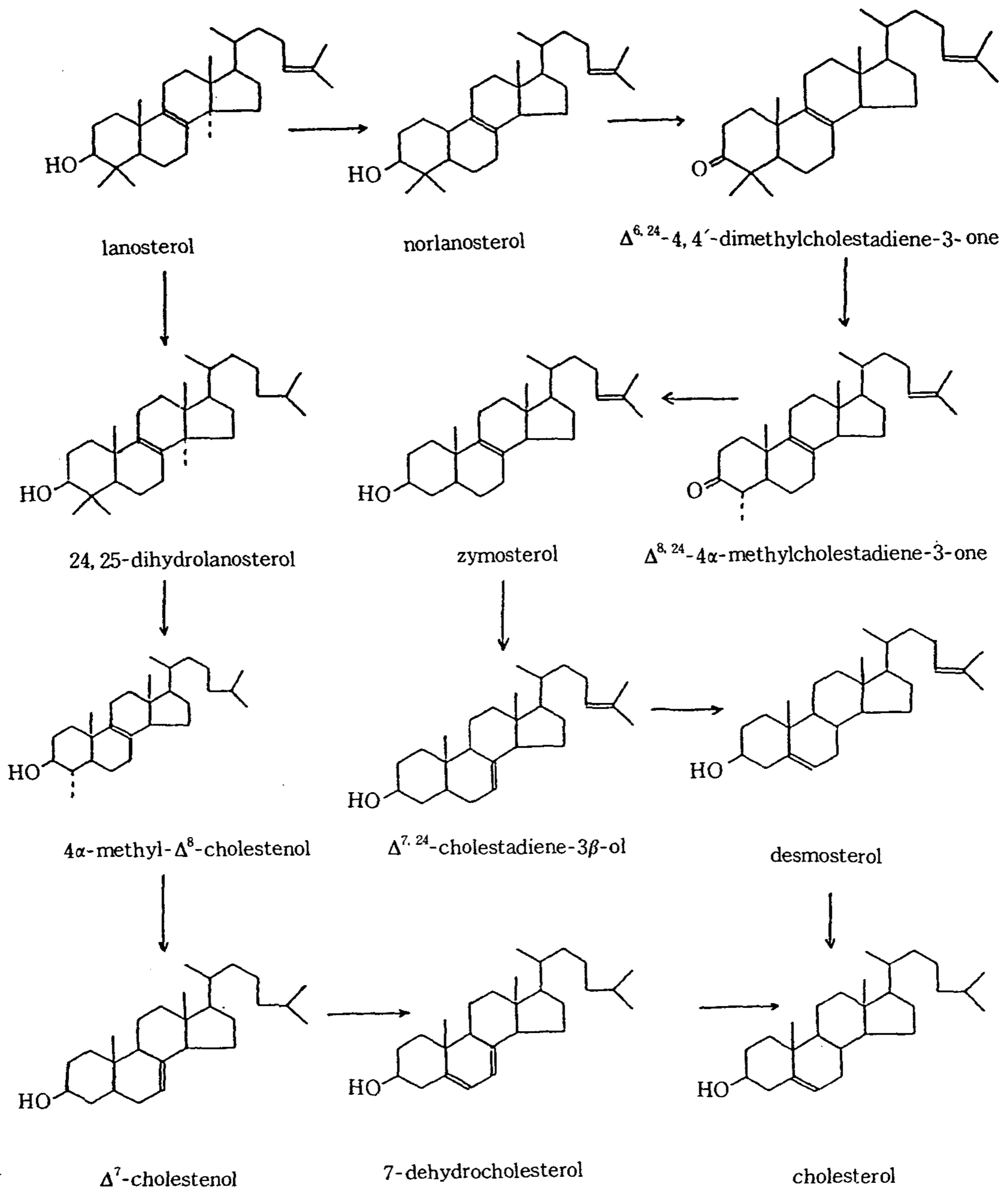


Fig. 1. Biosynthesis pathway of cholesterol from lanosterol

(*Mytilus edulis*)와 소라(*Omphalius pfeifferi*)에  $^{14}\text{C}$ -sitosterol을 주사하였더니,  $\Delta^7$ -sitosterol(vitamin D<sub>5</sub>의 전구체)로 전환되었다고 하였다. Joh 등<sup>7)</sup>도 미역에서 추출한  $^{14}\text{C}$ 로 표지된 fucosterol과 24-methylenecholesterol이 전복체내에서 cholesterol로 전환되고, 이것이 다시 미동정 sterol(7-dehydro-

cholesterol의 R<sub>f</sub>치와 거의 일치)로 대사된다고 하였다.

본 연구에서는 우리 식탁에 자주 오르는 20종의 동물성 수산식품의  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol을 위시한 sterol의 조성을 조사하였으며, 또, 이들 몇 식품에서 cholesterol  $\Delta^7$ -dehydrogenase 존재를 확인하였다.

## II. 시료 및 실험방법

### 1. 시 료

모든 실험재료는 1991년 9월~1992년 12월 사이에 부산 자갈치 어시장에서 구입하였다. 갯장어(*Muraenesox cinereus*), 고등어(*Scomber japonicus*), 가물치(*Ophicephalus argus*)는 근육, 내장과 어피(魚皮)로, 오징어(*Omastrephes bartrami*)는 근육과 간으로, 열기(*Salverinus fariopsis*)는 근육과 내장으로 각각 나누어 조사하였고, 멸치(*Engraulis japonicus*)와 미꾸라지(*Misgurnus mizolepis*)는 어체 그대로, 명태(*Theragra chalcogramma*)는 내장만 시료로 사용하였다. 패류로는 소라(*Turbo cornutus*), 고동(*Cipangopaludina japonica*), 전복(*Haliotis discus*), 피조개(*Andara broughtonii*), 진주담치(*Mytilus edulis*)와 굴(*Crassostrea gigas*)를 시료로 하였으며, 젓갈류로는 창란젓, 명란젓, 갈치(*Trichirus haumela*) 내장젓, 새우(*Penaeus orientalis*)젓과 멸치젓을 이용하였다. 또 미더덕(*Styela clava*)도 시료로 사용하였다.

### 2. 기 기

실험에 사용한 GLC는 Shimadzu GC-6 APTE이고, liquid scintillation counter는 Beckman LS 6800형이다. 흡광도는 Hewlett Packard 8452A Diode-Array Spectrophotometer로 측정했다.

### 3. 실험방법

#### 1) 시 약

HPLC용 용매는 Merck제 HPLC-grade였으며, 기타 용매는 동양화학사(서울) 제품으로 1차 증류하여 사용하였다. 7-dehydrocholesterol은 Aldrich사에서, cholesterol, fucosterol, desmosterol과 [ $1\alpha$ ,  $2\alpha$ - $^3\text{H}$ ]-cholesterol(1mCi)은 Sigma사에서 구입하였다.

#### 2) Sterol분리 정제 및 Acetylation

20g의 silica gel 60(70~230mesh, Merck社)을 150°C에서 20시간 가량 활성화시켜 dessicator에서 방냉하여, hexane 으로 slurry를 만들어, 유리관(30×1.2cm)에 충전시켰다. 총지질에서 얻은 불감화물을 hexane에 녹여 상기 column상에 흡착시키고 ether:hexane(35:65, V/V) 혼합용매로 탄화수소, 유리지방산과 알콜 등을 제거하고, 100% ether로

sterol을 용리하였다. 얻어진 sterol 분획에서 용매를 제거한 후 냉 methanol로 재결정하여, 순수한 sterol을 얻었다. 이 sterol을 pyridine:acetic anhydride(1:1) 혼합액을 냉장고에 하룻밤 두어 아세틸화하고 hexane과 물을 가하여 sterol acetate를 hexane층으로 회수한 다음, 질소 기류하에서 용매제거 후 가스크로마토그래피(GLC)로 분석하였다.

#### 3) GLC분석조건 및 Sterol동정

Sterol acetate의 GLC분석조건은 Table 1에 나타낸 바와 같다. 즉, 사용한 column은 1.5% OV-17을 coating한 Shimalite를 충전한 2m×3mm(i.d)의 stainless steel column이었고, 분석시 column온도는 250°C였으며 주입구 및 검출기의 온도는 280°C였다. 검출기는 FID였고, carrier gas는 N<sub>2</sub>로 유속은 50ml/min였다. Sterol의 동정은 표준품으로 구입은 cholesterol, desmosterol, fucosterol과 7-dehydrocholesterol의 acetate와 co-running하거나, 이미 조성이 밝혀진 개량조개<sup>11)</sup>에서 얻어진 sterol acetates를 co-chromatograph하여 GLC상에 분리된 sterol을 동정 하였다.

Table 1. Gas-Liquid Chromatographic(GLC) Condition for Analyzing Sterol Acetates

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| Instrument                       | Shimadzu GC-6 APTE  |
| Column                           | 2m×3mm(i.d.), stainless steel, 1.5% OV-17 on Shimalite W(AM-DMCS) |
| Column temperature               | 250°C   |
| Injection & Detector Temperature | 280°C   |
| Detector                         | FID   |
| Carrier gas                      | N <sub>2</sub> , Flow rate 50ml/min.                              |
| Air flow rate                    | 1.0kg/cm <sup>2</sup>   |
| H <sub>2</sub> flow rate         | 0.5kg/cm <sup>2</sup>   |
| Chart speed                      | 5mm/min.  |

#### 4) Cholesterol $\Delta^7$ -dehydrogenase 부분정제<sup>9)</sup>

갈치내장젓(약 200g)을 3각 flask에 옮겨, sonicator로 시료의 세포벽을 파쇄한 후, homogenize하고 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.3) 100 ml를 가하여 10,000×g로 30분간 원심분리하여 미파쇄된 세포, 핵, mitochondria를 제거한 상등액을

cholesterol  $\Delta^7$ -dehydrogenase 정제용 조(粗)효소액으로 사용하였다. 이 상등액 30mL를 0.1M potassium-phosphate(pH 6.2)로 평형화된 Sephadex G-100 column(2×60cm)에 loading하고, 0.1M potassium-phosphate buffer를 0.03mL/min.의 유속으로 전개하면서, fraction collector로 2mL/tube로 분획하였다. Cholesterol  $\Delta^7$ -dehydrogenase활성이 존재하는 분획(25mL)을 0.1M potassium-phosphate buffer(pH 6.2)으로 활성화된 CM-Sepharose CL-6B column에 흡착시켜, pH 6.2, 6.6, 7.0과 7.4의 0.1M potassium-phosphate buffer 각 50mL씩을 0.02mL/min.의 속도로 전개하면서, tube당 2mL씩 모았다. 이때 각 시험관에 분획된 양은 280nm에서의 흡광도로 표시하였다.

#### 5) Cholesterol $\Delta^7$ -dehydrogenase활성도 조사<sup>13)</sup>

[1 $\alpha$ , 2 $\alpha$ -<sup>3</sup>H]-cholesterol을 propylene glycol에 20 $\mu$ g/0.1mL(0.39 $\mu$ Ci/ $\mu$ mol)녹인 용액 0.1mL에 각 시험관의 분획 0.3mL, 5mM bile salt용액과 1mM NADP용액을 각각 0.1mL씩 가하고 또, pH 7.4의 0.1M potassium-phosphate를 가하여 전체 부피를 2.0mL로 하였다. Anaerobic한 조건에서 약간 흔들면서 40분간 반응시킨 다음 2.0mL의 95% ethanol을 가하여 반응을 정지시켰다.

#### 6) Ag<sup>+</sup>-Silica Gel Column Chromatography에 의한 2중 결합수에 따른 Sterol 상호 분리<sup>8)</sup>

반응액에서 ether-hexane(1:1) 용매로 sterol을 추출하고, 질소 기류하에서 용매를 제거하고, 여기에 표준품인 cholesterol(1mg/50mL)과 7-dehydrocholesterol(0.5mg/50mL)을 adduct로 각각 2mL씩 첨가하고 acetyl화 하였다. 여기에 hexane을 가하여 sterol acetate를 hexane층으로 회수하고 용매를 제거한 후 benzene 2~3mL를 가하여 현탁시킨다. 한편 질산은 3.0g을 CH<sub>3</sub>CN에 녹이고, silica gel 60(70~240mesh, Merck사, 150°C에서 3시간 가열한 다음 방냉) 20g을 가하여 slurry를 만들어 aluminum foil로 차광한 column(1.6×30cm)에 충전하여 acetone, benzene, hexane의 순으로 column을 충분히 활성화시켰다. 이 column에 상기 sterol 현탁액을 흡착시켜 hexane-benzene 혼합액으로 70:30, 60:40, 50:50(V/V)의 비율로, 또 100% benzene을 각 100mL씩 순차적으로 전개하면서, 용리액을 fraction collector tube당 5mL씩 분획하였다.

#### 7) 각 분획의 radioactivity 조사<sup>7)</sup>

각 분획의 tube에서 1mL씩 취하여 scintillation counter용 vial에 옮기고, 여기에 scintillator [4g의 2,5-diphenyloxazole(PPO)와 1g의 1,4-bis-2-(methyl-5-phenyloxazolyl)-benzene(POPO)를 toluene에 녹여 1L로 정용] 5mL씩 넣어 하룻밤 방치하고 나서 liquid scintillation counter로 CPM을 측정하였다.

#### 8) 각 분획의 sterol 존재 확인

각 분획의 sterol 정성은 Liebermann-Burchard방법<sup>12)</sup>으로 행하였다. 즉, Ag<sup>+</sup>-silica gel column에서 얻은 각 분획에서 1mL씩 취하여 소형 시험관에 옮겨 질소기류하에서 잔류용매를 제거하고, 빙초산 2mL와 Liebermann-Burchard시약(무수초산:진한 황산=2:1, V/V) 4mL를 가하고 610nm에서 1분 30초와 30분 후에 흡광도를 2회 측정하여 그 최고치를 흡광도로 하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. Sterol 조성

Table 2에서 보는 바와 같이 2枚貝(매패)인 담치, 참굴과 피조개를 제외하고는 cholesterol이 99~100% 차지하고 있으며, 갯장어, 고등어, 가물치, 열기와 같은 어류의 근육에는 대부분의 sterol이 cholesterol로 구성되어 있으나(>97.3%), brassicasterol, desmosterol과 7-dehydrocholesterol도 혼재해 있었다. 또 미량이지만 내장에는 phytosterol(24-methylenecholesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol이, 껍질에는  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol)이 검출되었다. 내장에 존재하는 phytosterol인 24-methylene cholesterol, stigmasterol과  $\beta$ -sitosterol은 먹이에서 유래되어<sup>15, 16)</sup> 아직 cholesterol로 전환되지 않았던 것으로 생각되며<sup>7)</sup> *Paramecium octaurelia*<sup>27)</sup>, *P. tetraurelia*<sup>28)</sup>와 같은 원생동물(protozoa)은 cholesterol에서  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol를 생산할 수 있다고 보고하고 있다. 어피에도 육상동물 피부와 마찬가지로 7-dehydrocholesterol이 존재하는 것은 매우 흥미로우나, 본 실험의 경우 약간의 피하지방층이 박리되지 않고 남아 있었으므로 어류의 진피에서 7-dehydrocholesterol이 생합성되는지는 계속적인 연구가 필요하다.

패류중 전복과 같은 卷貝(권패)의 경우는 대부분이 cholesterol로 구성되어 있으나 2枚貝의 sterol조

Table 2. Composition of sterols isolated from marine products

(as area % of sterol acetate)

| Products                        | Tissue* | Sterol**   |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | Others |  |     |
|---------------------------------|---------|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--------|--|-----|
|                                 |         | peak 1     | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   | 13   |        |  |     |
|                                 |         | Rrt***0.62 | 0.74 | 0.90 | 1.00 | 1.12 | 1.18 | 1.25 | 1.30 | 1.34 | 1.39 | 1.59 | 1.74 | 1.82 |        |  |     |
| <i>Muraenesox cinereus</i>      | M       |            |      |      | 98.1 | 0.3  | 1.5  | tr.  |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
|                                 | S       |            |      |      | 99.5 |      |      | 0.5  |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
|                                 | I       |            |      |      | 95.4 |      |      | tr.  |      | 3.1  | 0.5  | 0.6  |      |      |        |  |     |
| <i>Scomber japonicus</i>        | M       |            |      |      | 97.3 | 0.6  | 1.0  | 0.1  |      |      |      |      |      |      |        |  | 1.0 |
|                                 | S       |            |      |      | 98.2 |      |      | 1.8  |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
|                                 | I       |            |      |      | 96.9 |      |      | 0.1  |      | 2.2  | 0.3  | 0.7  |      |      |        |  |     |
| <i>Ophicephalus argus</i>       | M       |            |      |      | 99.3 | 0.5  | 0.3  | tr.  |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
|                                 | S       |            |      |      | 99.5 |      | 0.5  | tr.  |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
|                                 | I       |            |      |      | 97.9 |      |      |      |      | 1.3  | 0.4  |      |      |      |        |  | 0.4 |
| <i>Salverinus fariopsis</i>     | M       |            |      |      | 100  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
|                                 | I       |            |      |      | 98.5 |      |      |      |      | 0.6  | 0.2  | 0.7  |      |      |        |  |     |
| <i>Theragra chalcogramma</i>    | I       |            |      |      | 97.6 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
| <i>Ornastrophes bartrami</i>    | M       |            |      |      | 99.4 | 0.2  | 0.1  | 0.3  |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
|                                 | I       |            |      |      | 99.6 |      | 0.4  | tr.  |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
| <i>Engraulis japonicus</i>      | W       |            |      |      | 100  |      |      |      |      | tr.  |      |      |      |      |        |  |     |
| <i>Misgurnus mizolepsis</i>     | W       |            |      |      | 100  |      |      |      |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
| <i>Cipangopaludina japonica</i> | M       |            |      |      | 99.5 | 0.5  |      |      |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
| <i>Turbo cornatus</i>           | M       |            |      | 0.2  | 96.4 |      |      |      |      | 2.3  | 0.2  | 0.5  | 0.3  | 0.1  |        |  |     |
| <i>Haliotis discus</i>          | M       |            |      |      | 97.9 |      |      | tr.  |      | 1.4  |      |      | 0.7  |      |        |  |     |
| <i>Styela clava</i>             | M       | 1.3        |      | 5.1  | 33.1 | 26.2 |      |      |      | 13.1 | 7.1  | 10.9 | 3.1  |      |        |  |     |
| <i>Mytilus edulis</i>           | M       | 4.1        | 0.9  | 5.0  | 25.7 | 13.5 | 8.9  |      | 9.2  | 17.3 | 4.2  | 8.3  | 2.9  | tr.  |        |  |     |
| <i>Crassostrea gigass</i>       | M       | 4.9        | 1.0  | 6.4  | 32.0 | 29.4 |      | 3.5  | 1.6  | 8.0  | 0.8  | 3.8  | 0.1  | 8.5  |        |  |     |
| <i>Andara broughtonii</i>       | M       | 3.0        | tr.  | 6.7  | 39.6 | 14.1 |      |      | tr.  | 19.4 | 2.4  | 10.5 | 4.3  |      |        |  |     |
| Pickled marine productsa        |         |            |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |        |  |     |
| <i>Penaeus orientalis</i>       | (W)     |            |      | 0.4  | 95.8 | 1.2  | 1.0  | tr.  |      |      |      |      |      |      |        |  | 1.6 |
| <i>T. haumela</i>               | (I)     |            |      |      | 95.0 | 0.8  | tr.  |      |      |      |      |      |      |      |        |  | 4.2 |
| <i>T. chalcogramma</i>          | (I)     |            |      |      | 96.7 | 0.2  | tr.  | tr.  |      |      |      |      |      |      |        |  | 3.1 |
| <i>T. chalcogramma</i>          | (E)     |            |      |      | 94.7 |      | 0.4  |      |      |      |      |      |      |      |        |  | 4.9 |
| <i>E. japonicus</i>             | (W)     |            |      |      | 93.8 |      | 0.9  |      |      |      |      |      |      |      |        |  | 5.3 |

\* M : muscle, S : skin, I : intestine, W : whole body, E : egg

\*\* 1 : 22-trans-24-norcholesta-5, 22-dien-3 $\beta$ -ol, 2 : 22-cis-dehydrocholesterol(?), 3 : 22-trans-dehydrocholesterol, 4 : cholesterol, 5 : brassicasterol, 6 : desmosterol, 7 : 7-dehydrocholesterol, 8 : campesterol, 9 : 24-methylenecholesterol, 10 : stigmasterol, 11 :  $\beta$ -sitosterol, 12 : fucosterol, 13 : isofucosterol(?)

\*\*\* Relative retention time to cholesterol

성(Fig. 2)은 매우 복잡하여 cholesterol이 약 26~40%로 절반을 차지하지 못하고 있으며, 탄소수 28인 brassicasterol(13.5~29.4%)와 24-methylenecholesterol(8.0~19.4%), 탄소수 29인  $\beta$ -sitosterol(3.8~10.5%)도 상당량 존재하여, 어류나 卷貝의 그것과 좋은 대조를 이루고 있다. Provitamin D인  $\Delta^{5,7}$ -sterol은 pelecypoda에  $\Delta^5$ -sterol과 혼재해 있으며, 그 함량은 종에 따라 상당한 차이를 보인다고 한다.<sup>14)</sup> Toyama와 Takagi<sup>17)</sup>는 북방조개(*Spisula sachalinensis*)<sup>11)</sup>(5.6%)에, Tanaka와 Toyama<sup>18)</sup>는 *Mya arenaria*(12.6%), *Pinna pectinata*(15.8%)에  $\Delta^{5,7}$ -sterol이 존재한다고 하였으며, Petering<sup>19)</sup>도 *Mo-*

*diolus demissus*에서 분자량 410의 탄소수 C<sub>29</sub>인  $\Delta^{5,7}$ -sterol을 분리하였다. Khan<sup>5)</sup>등은 Scotland산 2枚貝인 *Cerastoderma edula*, *Chlamys opercularis*, *Ensis soliqua*, *Modiolus modiolus*, *Mya arenaria*, *Mytilus edulis*와 *Pecten maximus*에  $\Delta^{5,7}$ -sterol이 많은 양이 검출되며, *M. modiolus*의 경우는 전체 sterol의 21%를 점하고 있다고 하였다. Teshima와 Patterson<sup>21)</sup>은 굴(*Crassostrea virginica*)에서 얻은 총 sterol의 6.6%가 C<sub>26, 27, 28</sub>과 C<sub>29</sub>- $\Delta^{5,7}$ -sterol의 혼합물이라고 하였다. 반면에 Idler와 Wiseman<sup>10, 22)</sup>은 pelecypoda강의 *Solemyida*과는 위시하여 7개과에 속해 있는 2枚貝의 sterol 조성을 조사했으나,  $\Delta^{5,7}$ -sterol은 검출되

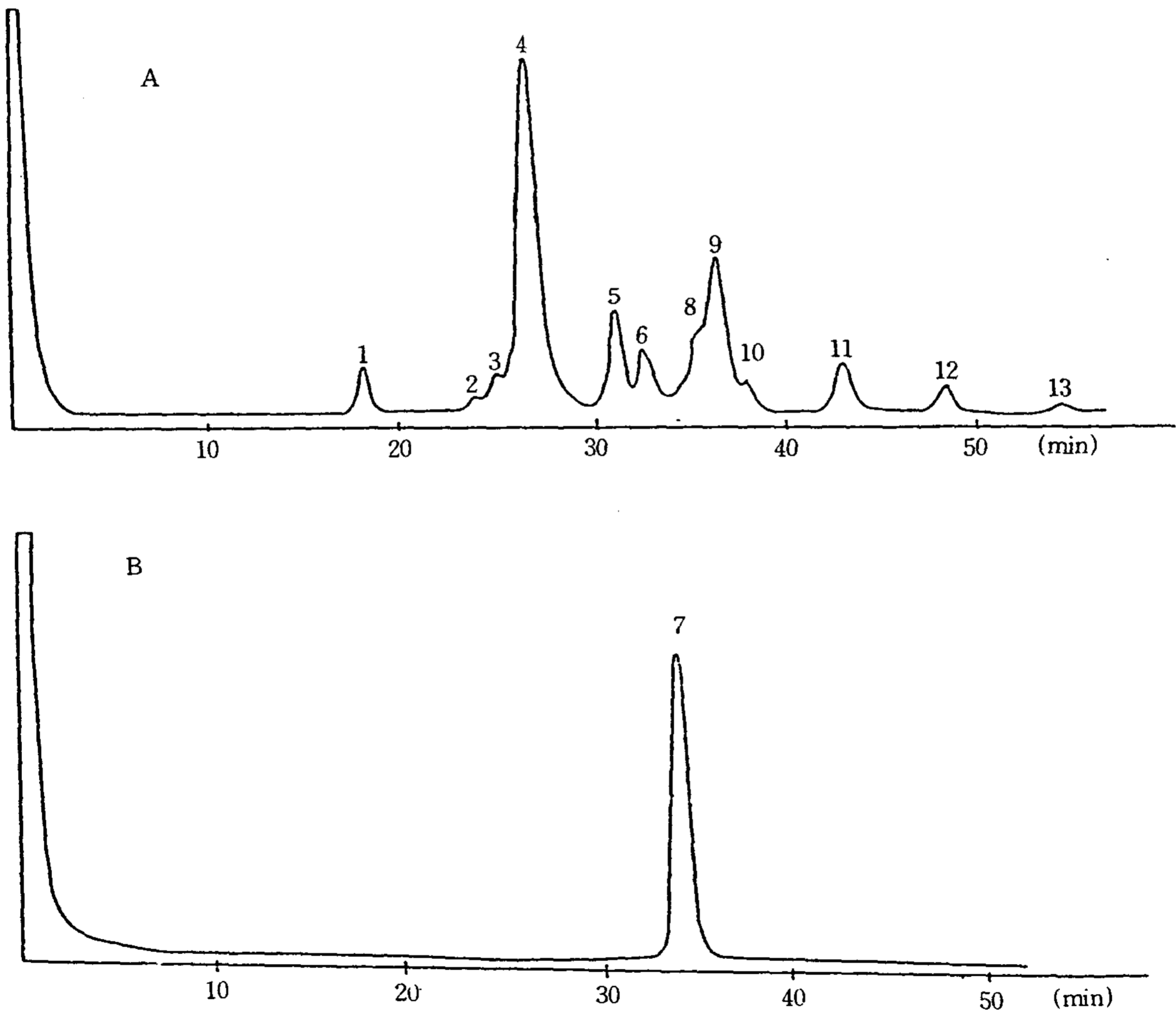


Fig. 2. GLC grams of sterols isolated from *Mytilus edulis* muscle(A) and standard 7-dehydrocholesterol(B)  
 1 : 22-*trans*-24-norcholesta-5, 22-dien-3 $\beta$ -ol, 2 : 22-*cis*-dehydrocholesterol(?), 3 : 22-*trans*-dehydrocholesterol, 4 : cholesterol, 5 : brassicasterol, 6 : desmosterol, 7 : 7-dehydrocholesterol, 8 : campesterol, 9 : 24-methylenecholesterol, 10 : stigmasterol, 11 :  $\beta$ -sitosterol, 12 : fucosterol, 13 : isofucosterol(?)

지 않았다고 하였으며, Fagerlund<sup>20)</sup>는 가리비(scallop), 재첩류(cockle)와 쌍각류 조개(mussel)에서 매우 적은 양의  $\Delta^5,7$ -sterol이 검출된다고 하였으며, 가리비의 경우는 월별에 따라 그 함량차이가 심하다고 하였다(0.41~3.0%). Kritchevsky등<sup>26)</sup>은 서구인들이 많이 먹는 어류인 연어, haddock, pollock와 갑각류인 shrimp, lobster와 왕게, 그리고 pelecypoda에 속하는 굴, clam과 scallop의 sterol의 조성을 조사하였더니, 연어, haddock, pollock, shrimp와 lobster에는 cholesterol이 93.1~99.2%로 대부분을 차지한다고 하였으며, 왕게의 경우는 cholesterol(57.4%)와 brassicasterol(36.7%)가 주된 sterol이고, 22-dehydrocholesterol(3.9%)와 24-methylenecholesterol(2.0%)도 검출된다고 하였다. 또 그들은 굴, clam과 scallop의 주요 sterol은 cholesterol(41.4, 36.7, 25.7%), 24-methylenecholesterol(25.9, 20.2, 19.5%)와 brassicasterol(16.0, 14.1, 14.1%)이라고 하였으나,  $\Delta^5,7$ -sterol은 검출하지 못하였다고 하였다.

본 실험에서도 3종의 pelecypoda중 2종에는  $\Delta^5,7$ -sterol이 검출되지 않으나, 참굴에는  $\Delta^5,7$ -sterol인 7-dehydrocholesterol이 3.5% 함유되어 있으며, Gordon<sup>23)</sup>이 발표한 참굴인 *Crassostrea gigas*의 13.0

%보다 훨씬 적었다. 이와 같은 차이점은 Wright,<sup>24)</sup> Nes<sup>25)</sup>가 지적한 바와 같이 서식 환경변화에서 오는 먹이의 sterol조성차에 기인하는 것으로 사료된다.

젓갈류의 sterol도 대부분이 cholesterol이며, Rrt 2.24 이상에 검출되는 peak는 수개월간 공기에 노출되므로 해서 생긴 sterol의 산화물내지는 sterol metabolite로 여겨진다.

2) 갈치내장젓 중의 Cholesterol  $\Delta^7$ -dehydrogenase 존재

Sephadex G-100 column에서 얻은 cholesterol  $\Delta^7$ -dehydrogenase 활성분획을 pool하여, CM-Sephadex CL-6B column으로 정제를 시도하였다. 각 분획에 효소존재 여부를 각 분획에서 취한 일정량과  $[1\alpha, 2\alpha-^3\text{H}]$ -cholesterol과의 배양시  $[^3\text{H}]$ -dehydrocholesterol 생성여부에 따라 결정하였다. 반응생성물에서 얻어진 sterol을 acetate로 만들어 15%  $\text{AgNO}_3$ - $\text{SiO}_2$  column chromatography로 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. Hexane-benzene(6:4, V/V) 혼합용매에서 용리되는 sterol(tube no. 28~42)과 hexane-benzene(5:5, V/V) 용매로 분획되는 sterol(tube no. 49~50)을 GLC로 분석하였더니 cholesterol과  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol로 확인되어  $\Delta^5$ -sterol과  $\Delta^5,7$ -sterol이  $\text{Ag}^+$ - $\text{SiO}_2$  column상에서 깨

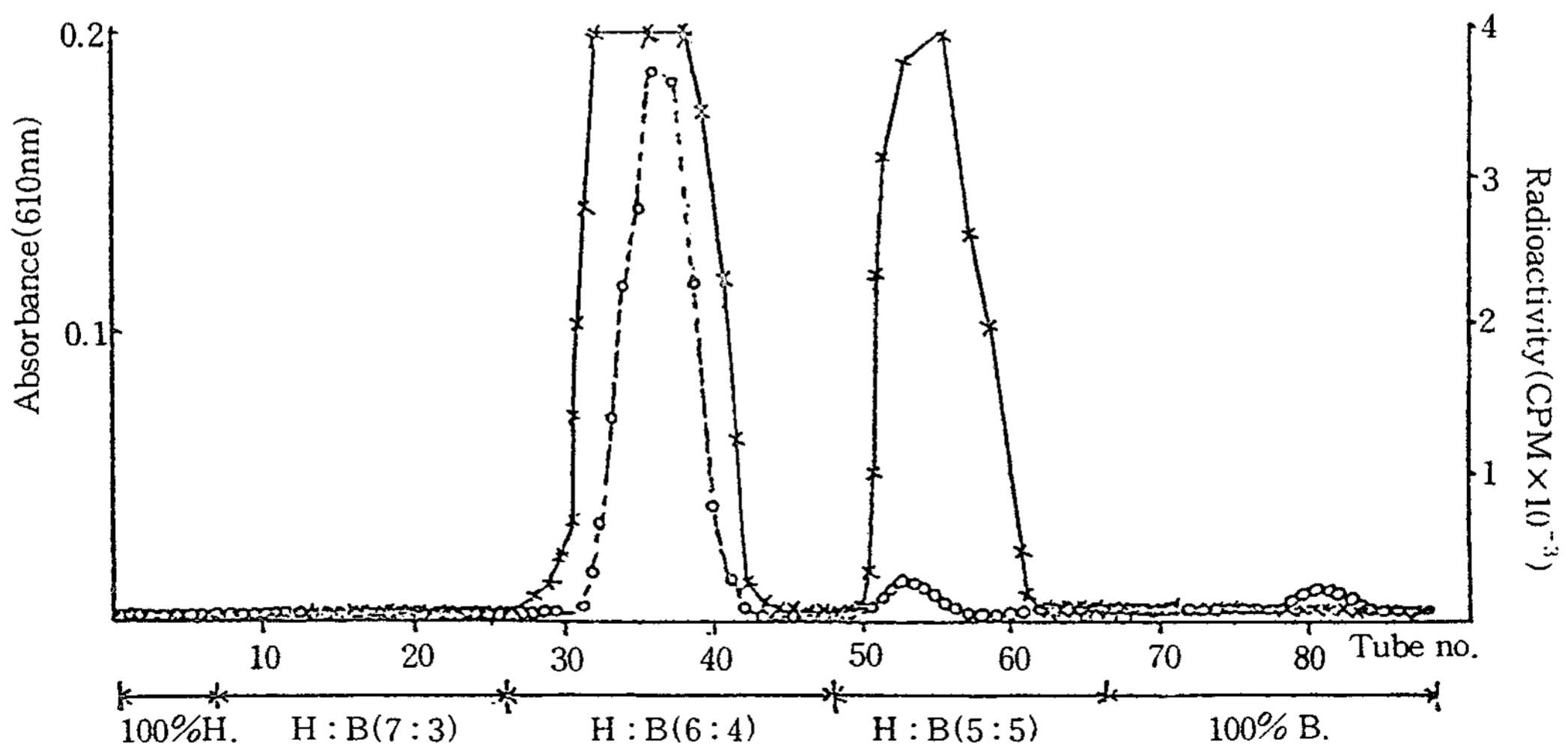


Fig. 3. Separation pattern of sterols after the reaction of  $[1\alpha, 2\alpha, ^3\text{H}]$ -cholesterol and crude cholesterol  $\Delta^7$ -dehydrogenase isolated from fermented *T. haumela* Intestines with salt, on  $\text{Ag}^+$ - $\text{SiO}_2$  column

×-× : Sterol content, Liebermann-Burchard color in 1.5 or 30min after addition of reagent  
 ○-○ : Radioactivity(CPM/ml), H : hexane, B : benzene

곳히 분리됨을 알 수 있었다. 100% benzene으로 용리되는 tube no. 78과 84사이의 분획은 radioactivity를 나타내나, Liberman-Burchard 시약에 반응을 나타내지 않으므로 sterol이 아닌 cholestanol이나 또는 secosteroid계 물질(예, vitamin D)로 여겨지나 동정하지 못하였다.

Nemanic<sup>29)</sup>은 인간의 피부 각질세포(keratinocytes)에 C<sup>14</sup>-acetate를 첨가하여 15시간 배양하였더니 cholesterol과 미량의  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol이 형성되나, 이 배양에 cholesterol 합성 저해제인 AY-9944 [*trans*-1, 4-bis(2-chlorobenzylaminomethyl)cyclohexane dihydrochloride]를 첨가하면,  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol과 zymosterol( $\Delta^8$  24-C<sub>27</sub>)만이 약 1.6/1의 비율로 생성되므로 인간의 피부 각질세포는  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol을 cholesterol로 환원시키는  $\Delta^7$ -reductase의 활성이 높다고 하였다. Scallen<sup>30)</sup>등도 돼지간과 허파에도 lanosterol에서 유래된  $\Delta^{5,7,24}$ -cholestatrien-3 $\beta$ -ol이 7-dehydrocholesterol 또는 cholesterol( $\Delta^{5,22}$ -C<sub>27</sub>)을 거쳐 cholesterol이 합성되는데, 상기조직에 AY-9944 또는 다른 합성저해제인 SC-12937(20, 25-deazacholesterol)를 첨가하였더니  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol 또는 desmosterol이 축적되므로 돼지조직에도  $\Delta^7$ -reductase의 활성이 높다고 하였다.

반면에 Kaneshiro등은 원생동물인 *Paramecium teraurelia*<sup>27)</sup>와 *P. actaurelia*<sup>28)</sup>는  $\Delta^7$ -dehydrogenase의 activity가 높으므로 stigmasterol이나 cholesterol을  $\Delta^7$ -dehydrostigmasterol 또는  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol로 전환할 수 있고, *P. teraurelia*의 균체와 선모(cilia)의 sterol ester의 조성을 보면 cholesterol/ $\Delta^7$ -dehydrocholesterol과 stigmasterol/ $\Delta^7$ -dehydrostigmasterol의 함량비가, 균체에는 0.9/0.2와 5.3/1.7이고, cilia에는 2.0/0.1과 2.0/1.3이므로 *Paramecium*속 균체에  $\Delta^7$ -dehydrogenase의 활성이 높다고 하였다. 갈치내장 젓갈에서도 cholesterol  $\Delta^7$ -dehydrogenase 존재를 확인할 수 있었으나(Fig. 3, 4), 이 효소가 endogenous인지 아니면 exogenous인지는 본 실험으로 알 수는 없으며, 이 점에 관해서는 효소정제 방법 및 효소학적 특성규명과 더불어, 계속적으로 연구가 있어야 하겠다.

#### IV. 결 론

동물성 수산식품 중 어류인 갯장어, 고등어, 가물치(근육, 내장과 표피), 열기(근육과 내장), 멸치와 미꾸라지(어체 전부)와 명태(내장만 사용), 패류인 소라, 고동, 전복, 피조개, 진주담치와 굴 그리고 젓갈류인 창란젓, 명란젓, 갈치내장젓, 새우젓과 멸치젓, 또 체절 동물인 미더덕 등을 사용하여 그 sterol 조성과 각 시료 중의 cholesterol  $\Delta^7$ -dehydrogenase의 활성을 조사하였다.

1. 어류와 젓갈류의 sterol은 거의 cholesterol로 구성되어 있었으며, 어류의 내장에 cholesterol외에 24-methylenecholesterol, stigmaterol,  $\beta$ -sitosterol과 같은 phytosterol이 상당량(1.5~4.2%) 존재하는데, 이것은 소화관 내용물인 plankton에서 유래한 것으로 여겨지고, 또 젓갈 중에 상당량 존재하는 미동정 sterol은 cholesterol의 산화생성물로 생각된다.

2. 패류중 권패(卷貝)에도 대부분의 sterol이 cholesterol였으나, 2매패(二枚貝)는 매우 복잡하였다. 2매패(二枚貝)중 담치의 sterol조성을 보면 cholesterol(25.7%), 24-methylenecholesterol(17.3%), brassicasterol(13.5%), desmosterol(8.9%)과  $\beta$ -sitosterol(8.3%)이 주요한 sterol이었고, 이외 22-*trans*-24-norcholesta-5, 22-dien-3 $\beta$ -ol, 22-*trans*-dehydrocholesterol, campesterol, stigmasterol과 fucosterol도 소량 검출되었다. 굴의 경우는 cholesterol(32.0%), brassicasterol(29.4%), isofucosterol(8.5%)과 24-methylenecholesterol(8.0%)이 주요한 sterol이였으며, 비타민 D<sub>3</sub>의 전구체인  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol도 3.5%나 존재하고 있었고, 또 22-*trans*-24-norcholesta-5, 22-dien-3 $\beta$ -ol, 22-*cis*-dehydrocholesterol(?), 22-*trans*-dehydrocholesterol, campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol과 fucosterol도 소량 검출되었다. 또 피조개와 미더덕의 sterol조성도 약간의 차이는 있으나 대체로 굴과 비슷한 경향을 보였다.

3. Cholesterol을 비타민 D<sub>3</sub>의 전구체인  $\Delta^7$ -dehydrocholesterol로 전환할 수 있는 cholesterol  $\Delta^7$ -dehydrogenase를 갈치내장에서 검출할 수 있었으나, 이 효소가 내인성인지 또는 외인성인지 확인할 수 없었다.

#### 문 헌

1. Norman, A. W., Leathers, V. and Bishop, J.



- E. : *J. Nutr.*, 113, 2505(1983)
2. Hunabashi, M. : In *Lipids 2*, Koritsu Pub. Co., Ltd., Tokyo, p.125(1972)(in Japanese)
  3. Kandulsch, A. A. : *J. Biol. Chem.*, 235, 2250 (1960)
  4. Moore, P. R. and Baumann, C. A. : *J. Biol. Chem.*, 195, 615(1952)
  5. Khan, A. S. and Goad, L. J. : *Comp. Biochem. Physiol.*, 76 B, 569(1983)
  6. Teshima, S. I. and Kanazawa, A. : *Comp. Biochem. Physiol.*, 52 B, 437(1975)
  7. Joh, Y. G. : Ph. D. thesis submitted to Tohoku University(1975)
  8. Joh, Y. G., Lee, K. H. and Cho, Y. J. : *Korean J. Food Sci. Technol.*, 21, 624(1989)
  9. 조용계 : "어류내장의 이용에 관한 연구", 한국영양식량학회 투고중
  10. Idler, D. R., Wiseman, P. M. and Saffe, L. : *Steroids*, 15, 113(1970)
  11. Joh, Y. G. and Kim, Y. K. : *Bull. Korean Fish. Soc.*, 9, 185(1976)
  12. Cook, R. P. : In *Cholesterol*, Academic Press, New York, pp.487~491(1958)
  13. Koroly, M. J. and Dempsey, M. E. : *Lipids*, 16, 755(1981)
  14. Idler, D. R. and Wiseman, P. : *J. Fish. Res. Bd. Canada.*, 29, 385(1972)
  15. Djerassi, C. : *Pure & Appl. Chem.*, 53, 873 (1981)
  16. Goad, L. J. : In *Marine Natural Products*(edited by Scheuer, P.J.), Vol. 2, Academic Press, New York, pp.75~172(1968)
  17. Toyama, Y. and Takagi, T. : *J. Chem. Soc. Jap. Pure Chem. Sect.*, 75, 1238(1954)
  18. Tanaka, T. and Toyama, Y. : *J. Chem. Soc. Jap. Pure Chem. Sect.*, 81, 320(1960)
  19. Petering, H. G. and Waddell, J. : *J. Biol. Chem.*, 91, 765(1951)
  20. Fagerlund, U. H. M. and Idler, D. R. : *J. Org. Chem.*, 21, 372(1956)
  21. Teshima, S. I. and Patterson, G.W. : *Lipids*, 15, 1004(1980)
  22. Idler, D. R. and Wiseman, P. M. : *Int. J. Biochem.*, 2, 516(1971)
  23. Gordon, D. T. and Collins, N. : *Lipids*, 17, 811 (1982)
  24. Wright, J. T. C. : *Can. J. Chem.*, 57, 2669(1979)
  25. Nes, W. R. and Nes, W. D. : In *Lipids in Evolution*, Plenum Press, New York, pp.104~107 (1980)
  26. Kritchevsky, D., Tepper, S. A., DiTullo, N. W. and Holmes, W. L. : *J. Food Science*, 32, 64 (1967)
  27. Conner, R. L., Landrey, J. R., Kaneshiro, E. S. and Van Wagendonk, W. J. : *Biochim. Biophys. Acta.*, 239, 312(1971)
  28. Kaneshiro, E. S., Meyer, K. B. and Reese, M. L. : *J. Protozool.*, 30, 392(1983)
  29. Nemanic, M. K., Whitney, J. A., Arnaud, S., Merbert, S. and Elias, P. M. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 115, 444(1983)
  30. Schallen, T. J., Dean, W. J., Loughran, E. D. and Vora, B. V. : *J. Lipid Res.*, 10, 121(1969)