

율무 지질의 Triglyceride 조성에 관한 연구

이희자 · 조광연 · 배정설 · 장순욱*

중경공업 전문대학 식품영양과 · *(주)한국신약

Studies on the Triglyceride Composition of Job's Tears

Hee-Ja Lee, Kwang-Yun Cho, Jung-Surl Bae and Soon-Wook Jang

Department of Food & Nutrition, Jungkyong Technical Junior College, Daejeon

*Hankookshinyack Co, LTD.

Abstract

Lipids of Job's tears (Yullmoo) were extracted by the mixture of chloroform: methanol (2:1, v/v) and from these lipids, triglycerides were separated by column chromatography (Sephadex G-25 column) and then confirmed by thin layer chromatography (TLC) and reconfirmed by gas chromatography (GC). The triglycerides were fractionated into 6 groups on the basis of their partition numbers (PN) by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC) on a column Shimpack CLC-ODS using tetrahydrofuran-acetonitril (25:75) mixture as a solvent. Each of these collected fractions gave one to two peaks in the GC chromatograms according to the acyl carbon number (CN) of the triglyceride and fatty acid composition of the triglycerides were also analyzed by GC. From the results, the major triglycerides of Job's tears lipids were estimated to be C18:1 C18:2 C18:2 (OLL, 38.2%), C16:0 C18:2 C18:3 (PLLn, 15.7%), C18:1 C18:1 C18:2 (OOL, 12.6%).

I. 서 론

식품중에 함유되어 있는 triglyceride는 유지성분 중 일반적으로 그 함량이 가장 높은 성분으로 그 조성은 유지의 물리적, 화학적 성질과 밀접한 관련이 있으며 유지 및 유지식품의 저장수명, 생체내에서의 대사와의 관련이 중요하기 때문에 유지의 triglyceride (TG) 조성 규명에 관한 많은 연구가 보고되어 있다.

현재까지 유지의 triglyceride (TG) 조성을 분석한 연구로는 목화씨기름¹⁾, 옥수수기름²⁾, 올리브기름³⁾, 쌀겨

*본 연구는 1989년도 문교부 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

기름⁴⁾, 들깨기름⁵⁾, 호도기름⁶⁾, 수박씨기름⁷⁾, 개암종실유⁸⁾, 강남콩기름⁹⁾ 등에 관하여 high performance liquid chromatography (HPLC)와 gas chromatography (GC)를 병용하여 분석한 결과가 보고되었다. 윤등¹⁰⁻¹²⁾은 capillary column과 GC-MS (mass spectrometer)를 이용하여 각종 식물성 기름의 분자중, 산화안정성, 산화촉진제 공존하에서의 TG 분자중의 산화특성을 보고하였다.

한편 Wada 등은¹³⁻¹⁵⁾ 콩기름, 쇠고기 기름, 정어리 기름의 주요 TG를 TLC, HPLC, GC를 사용하여 분석하였고, El-Hamdy 등은¹⁶⁻¹⁷⁾ 천연 TG 혼합물을 high

performance reversed phase chromatography 를 이용하여 분석하였다. Plattner¹⁸⁾는 HPLC로 TG를 분석할 때 적절한 reversed phase column의 선택의 관하여 보고하였고, Petersson 등¹⁹⁾도 천연 기름의 TG를 HPLC로 탄소수와 이중결합수에 따라 분획하였다. Singleton 등²⁰⁾ 210 nm에서 UV detector를 사용하여 reverse phase HPLC로 TG를 분석할 때의 최적 조건에 관하여 보고하였으며, Kuksis 등²¹⁾ glycerolipids를 GC/MS와 LC/MS로 분석하는 방법을 보고하였다.

본 연구에서는 식품내 지질의 TG 조성을 밝히는 것을 목적으로 근래에 이르러 건강식품등으로 섭취빈도가 증가되고 있는 울무를 시료로하여 지질을 분리하고 HPLC로 PN별로 분획하였다. 이를 다시 GC로 acyl carbon number 별로 분리하였으며, GC로 지방산 조성을 분석한 후 이 세 가지를 조합하여 울무지질 TG의 조성을 계산하였다.

II. 시료 및 방법

1. 시 료

1989년에 수확한 울무를 시중에서 구입하여 40 mesh로 분쇄한 후 지질추출용 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

(1) Triglyceride의 추출

시료를 분쇄하여 chloroform/methanol(2:1, v/v)의 용매로 Bligh와 Dyer(22)의 방법에 따라 총 지질을 추출하였다.

추출한 총지질은 Sephadex G-25(bead form, 20~30 μ , Sigma Chemical St. Louis, MO, U. S. A.)를 충전한 유리관을 통과시켜 정제한 후에 총 지질중 triglyceride는 column chromatography를 이용하여 분리하였다. 내경 20 mm, 길이 50 mm의 glass column에 silicagel G(60~80 mesh)를 40 mm 까지 채운 후 용매를 넣고 밀폐된 상태에서 N₂ gas를 이용하여 column material에 공기층이 생기지 않도록 충전하였다.

용매는 n-hexane: CH₂Cl₂: ether: HAc = 20:1:0.1:0.005 비율로 혼합하여 사용하였다. 추출한 지질을 silicagel G 2g에 혼합한 후 column 상부에 넣고 glass wool을 덮고 fraction collector를 설치하여 fraction별

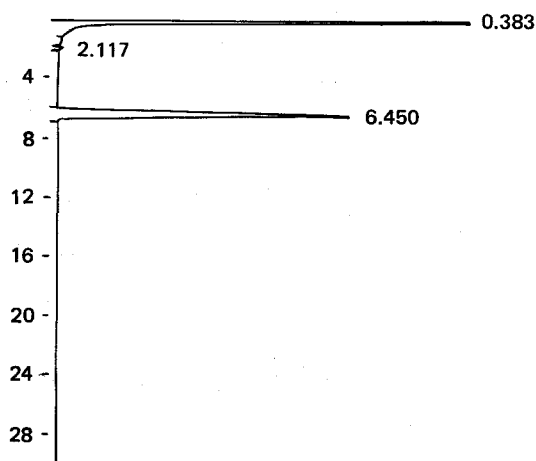


Fig. 1. GC chromatogram of Job's tear's (Yullmoo) triglyceride. (column ov-1, 2%, 1.5m, column Temp. 250 °C, Inject temp. 270 °C, carrier gas He 50ml/min).

로 용리하였다. 용리된 지질 성분 중 triglyceride 동정은 표준 triolein을 사용하여 TLC로 확인하였고, 확인된 TG fraction을 표준 triglyceride(triolein)를 사용하여 GC로 재확인 하였다(그림 1). 이때 사용된 column은 2% OV-1 on chromosob W(glass column, 1.5 mm×3 mm)를 사용하였고, column 온도는 250°C, 주입온도는 270°C, carrier gas는 He으로 50 ml/min 속도였다. 분리된 triglyceride를 진공건조하여 -20°C에 보관하면서 시료로 사용하였다.

(2) HPLC에 의한 partition number (PN)별 triglyceride의 분획

분리된 시료 triglyceride는 다시 HPLC에 의하여 partition number (PN) 별로 분획하였다. 이때 분석기기는 reverse phase HPLC(Shimadzu LC-9A)이었으며, 검출기는 UV detector(210 nm, 0.08 AUFS), column은 Shimpack CLC-ODS(4.6 mm i.d.×15 mm, 5 μ m SUS), mobile phase는 tetrahydrofuran: acetonitrile(25:75), flow rate는 1.0 ml/min, column 온도는 55°C, injection volume는 10 μ l였다. HPLC 크로마토그램상의 각 peak는 표준 triglyceride인 trilinolein(PN=42), 1, 2-dimyristoyl-3-oleoyl-glycerol(PN=44), triolein(PN=48), 1, 3-distearoyl-2-oleoyl-glycerol(PN=52)등 표준 triglyceride의 retention time과 비교하여 동정하였다.

Table 1. Conditions for GC analysis of triglyceride

Gas chromatograph	Shimadzu GC-15A	
Column	CBP-1 25m x 0.2mm I.D. 0.25 umdf	
Injector	splitless	280°C
Column temperature	5 min 80°C	7 °C/min
Injector/detector temp	280°C	
Carrier gas	He	
Chart speed	4ml/min	
Integrator	Shimadzu chromatopac	

PN별 분획을 감압 농축한 후 -20°C로 보관하면서 분석시료로 사용하였다.

(3) Triglyceride의 지방산 조성 분석

HPLC에 위하여 PN 별로 분취한 트리글리세리드 각 획분을 이등(23)의 공정법으로 지방산 조성을 분석하였다.

(4) Capillary GC에 의한 울무지질 triglyceride의 분석

시료유 triglyceride를 표1에 나타낸 조건으로 capillary GC에 의해 acyl 탄소수 및 불포화도에 따라 분리하였다. 분리된 각 peak의 동정은 triglyceride 표준품인 Sigma Chem.사의 tripalmitin (TTT), tristearin (SSS), 2-oleoyl-1, 3-di-stearin (SOS), 1, 2-dioleoyl-3-palmitoyl-glycerol (OOP), 1, 3-dioleoyl-2-stearoyl-glycerol (OSO), 1, 3-dipalmitoyl-2-oleoyl-glycerol (POP), trilinolein (LLL), triolein (OOO), trilinolenin (LnLnLn) 등을 이용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Triglyceride의 PN별 분획

울무의 지질 성분을 추출하여 triglyceride를 분리하고 이를 다시 HPLC로 분획한 결과 HPLC chromatogram 상에서 6개의 peak를 확인하였다. 이들 peak는 PN 42, 44, 46, 48, 50, 52로 동정되었으며 각 peak 면적으로부터 계산한 triglyceride의 조성은 <표 2>와 같다. PN별 주요 획분은 PN 44, 46으로 각각 38.2%, 26.8%였다.

Table 2. Percentage of each triglyceride fraction in Job's tears lipid separated by HPLC on the basis of partition number

Fraction No.	Partition No.	Composition (%)
1	42	15.7
2	44	38.2
3	46	26.8
4	48	13.9
5	50	4.6
6	52	0.9

Table 3. Percentage of each triglyceride fraction in the GC chromatograms according to the acylcarbon number (CN) of the triglyceride in Job's tears lipid (mol %)

PN \ CN	42	44	46	48	50	52
50	—	—	—	—	10.8	—
52	100	—	—	7.5	—	9.1
54	—	100	100	96.1	93.2	94.3

Table 4. Fractional distribution of triglycerides estimated as percentage of each fraction to the total triglyceride in Job's tears lipid

PN \ CN	42	44	46	48	50	52
50	—	—	—	—	0.5	—
52	15.7	—	—	1.0	—	0.1
54	—	38.2	26.8	13.4	4.3	0.8

2. Acyl 탄소수 별 triglyceride 분획

시료 triglyceride마다 HPLC를 되풀이 하여 PN별 획분을 분취하고 분취된 각 획분을 모아 감압농축한 후 그 일부를 GC에 의해 acyl 탄소수(CN)별로 분획하였으며 이의 결과는 <표 3>과 같다.

CN은 50, 52, 54로 구분되었으며 mol %로 환산하여 PN 42는 CN 52가 100%, PN 44, 46은 CN 54가 100%였고, PN 48은 CN 52가 7.5%, 54가 96.1%였다.

PN 50은 CN 50이 10.8%, 54가 93.2%였고, PN 52

는 CN 52가 9.1%, 54가 94.3%였다. 따라서 울무 TG의 acyl 탄소수(CN)는 52, 54가 주를 이루었다. 위의 결과를 총 TG로 환산하여 표시한 것은 <표 4>와 같다.

3. PN별획분의 지방산 조성

HPLC에 의하여 triglyceride를 PN 별로 분획한 후 methyl ester 화하여 GC로 지방산 조성을 분석한 결과는 <표 5>와 같다.

PN 42는 6가지 지방산으로 구성되어 있었으며 이중 C18:1이 35.5%로 가장 많았고, 다음이 C16:0으로 24.2%, C18:2가 19.6%였다.

PN 44는 C16:0이 43.6%로 가장 많았고 다음이 C18:1로 24.2%였다. PN 46, 48역시 C16:0과 C18:1이 가장 많았으며, PN 50은 C16:0, C18:0두가지 지방산만으로 구성되어 있었다. PN 52의 경우는 C16:0

이 71.2%, C18:1이 8.6%였다.

4. Triglyceride 조성

울무 triglyceride의 PN 별 조성, PN별 triglyceride획분의 acyl 탄소수별 조성 및 지방산 조성의 결과로부터 triglyceride 조성을 추정 하였으며 이 결과는 <표 6>과 같다. 추정된 triglyceride는 모두 11종이었으며 C18:1 C18:2 C18:2(OLL)가 전체 TG의 38.2%, C16:0 C18:2 C18:3(PLLn)이 15.7%, C18:1 C18:1 C18:2(OOL)가 12.6%로 울무지질의 주요 triglyceride였다.

대두유의 주요 triglyceride가 LLO(16%), LLL(15%), LLS(13%), LOS(12%)이며 땅콩의 주요 triglyceride는 LOS(22%), LLO(20%), LOO(17%), LLS(12%), OOS(10%)로 보고되었고, 강남콩은 LLnLn(26.6%), LLLn(18.5%), LnLnLn(14.9%)로 불포화도가 높았으며, 쌀겨기름은 POL(16.64%), OOL(16.18%), OOO(13.7%), POO(12.77%), OLL(9.16%), PLL(6.42%)로 보고한 것과 비교할 때 쌀겨기름의 TG 조성과의 유사한 점이 있었다.

Table 5. Fatty acid composition of PN fractions of Job's tears lipid separated by HPLC (mol %)

PN fatty acid	PN					
	42	44	46	48	50	52
C 14:0	7.2	5.5	—	4.7	—	—
C 16:0	24.2	43.6	36.3	3.8	56.4	71.2
C 18:0	13.2	13.8	12.0	20.9	43.7	18.2
C 18:1	35.5	24.2	35.6	7.1	—	8.6
C 18:2	19.6	12.4	17.6	46.8	—	—
C 18:3	1.3	—	—	23.3	—	—

IV. 요약

Triglyceride는 구성지방산의 종류에 따라 분자종이 다양하게 존재하여 식품의 가공, 저장중에 있어서 유지의 물성변화 및 산화특성을 효과적으로 규명하기 위해서

Table 6. Triglyceride composition of each fraction of Job's tears lipid separated by HPLC

Fraction No.	Partition No.	Fatty acid composition	Triglyceride in each fraction (mol %)	Composition total (%)
1	42	16:0 18:2 18:3	100	15.7
2	44	18:1 18:2 18:2	100	38.2
3	46	18:0 18:2 18:2	18.1	4.9
		18:1 18:1 18:2	47.1	12.6
4	48	16:0 18:0 18:2	8.1	1.1
		16:0 18:1 18:1	0.9	0.1
		18:0 18:1 18:1	68.0	9.5
		18:1 18:1 18:1	1.6	0.2
5	50	16:0 16:0 18:0	100	4.6
6	52	18:0 18:0 18:1	94.3	0.8
		16:0 18:0 18:0	9.1	0.1

는 구성 triglyceride 분자종의 상세한 해석이 요구된다고 하겠다.

울무 지질의 triglyceride를 reverse phase HPLC UV detector 210 nm에서 분석한 결과 6개의 peak로 분획되었다. 각 획분을 GC로 acycl 탄소수별로 분획하고, 다시 DEGS column을 이용하여 fatty acid 조성을 분석하였다.

이 세가지 결과로부터 triglyceride 조성을 산정한 결과 11개의 TG 조성을 추산하였으며, 그 중 주요 triglyceride로는 C18 : 1 C18 : 2 C18 : 2(OLL)이 38.2%, C16 : 0 C18 : 2 C18 : 3(PLLn)이 15.7%, C18 : 1 C18 : 1 C18 : 2(OOL)이 12.6%였다.

한편 capillary GC와 GC-MS로 같은 시료를 분석하여 분자종을 확인하는 작업을 계속하고 있으며 위의 결과와 비교하여 다음에 보고하고자 한다.

감사의 말

본 연구는 1989년도 문교부 지원 한국학술진흥재단의 전문대학 학술 연구조성비(일반과제)에 의하여 이루어진 연구로 한국학술진흥재단에 깊은 謝意를 드리는 바입니다.

참 고 문 헌

- 1) 최수안, 박영호 : 식물유의 Triglyceride 조성에 관한 연구, 제1보 면실유의 Triglyceride 조성, 한국식품과학회지, **14(3)**:219, 1982
- 2) 최수안, 박영호 : 식물유의 Triglyceride 조성에 관한 연구, 제2보 옥수수유의 triglyceride 조성, 한국식품과학회지, **14(3)**:226, 1982
- 3) 최수안, 박영호 : 식물유의 Triglyceride 조성에 관한 연구, 제3보 올리브유의 triglyceride 조성, 한국식품과학회지, **15(1)**:69, 1983
- 4) 최수안, 박영호 : 식물유의 Triglyceride 조성에 관한 연구, 제4보 쌀겨기름의 triglyceride 조성, 한국식품과학회지, **15(2)**:108, 1983
- 5) 박영호, 김동수, 천석조 : 들깨기름의 Triglyceride 조성에 관한 연구, 한국식품과학회지, **15(2)**:164, 1983
- 6) 천석조, 박영호 : 호도기름의 Triglyceride 분자종에 관한 연구, 한국식품과학회지, **19(2)**:134, 1987
- 7) 천석조, 박영호 : 수박씨 기름의 Triglyceride 분자종에 관한 연구, 한국식품과학회지, **19(4)**:377, 1987
- 8) 김미란, 고영수 정진섭 : HPLC에 의한 개암종실 중의 트리글리세리드 조성에 관한 연구, 한국식품과학회지, **14(2)**:122, 1982
- 9) 권용주, 엄태봉, 김충기, 김상필, 고석범, 이태규, 양희천 : 강낭콩 (*Phaseolus vulgaris* L.)의 Triglyceride 조성, 한국식품과학회지, **19(6)**:533, 1987
- 10) 윤형식, 김선봉, 박영호 : Capillary column GC-MS에 의한 트리글리세리드 분자종의 분석, 한국식품과학회지, **21(3)**:391, 1989
- 11) 윤형식, 김선봉, 박영호 : 트리글리세리드 분자종의 산화 안정성에 관한 연구, 한국영양식량학회지, **18(2)**:205, 1989
- 12) 윤형식, 김선봉, 박영호 : 산화촉진제 공존하에서의 트리글리세리드 분자종의 산화특성, 한국식품과학회지, **22(1)**:7, 1990
- 13) S. Wada, C. Koizumi and J. Nonaka: Analysis of Triglycerides of Soybean Oil by High-Performance Liquid Chromatography in Combination with Gas Liquid chromatography, 油化學, **26(2)**:11, 1977
- 14) S. Wada, C. Koizumi, A. Takiguchi and J. Nonaka: A Study on Triglyceride Composition of Lipid from Commercial Beef by High-Performance Liquid Chromatography, 油化學, **27(9)**:21, 1978
- 15) S. Wada, C. Koizumi, A. Takiguchi and J. Nonaka: Studies on Fatty Acid Combination of Major Triglyceride in Jack Mackerel Flesh Lipids, *Tokyo Suisandai Kempo*, **67(1)**:35, 1980
- 16) A. H. El-Hamdy, E.G. Perkins: High performance reversed phase chromatography of natural triglyceride mixtures: Critical pair separation, *JAOCS*, **58(1)**:49, 1981
- 17) K. Kinoshita, M. Kimura, K. Takahashi and K. Zama: Discernment of Relative Retention Values of Triglyceride α , β Isomers on Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography, *JAOCS*, **63(12)**:1558, 1986
- 18) R.D. Plattner, G.F. Spencer and R. Keliman: Triglyceride Separation by Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography, *JAOCS*, **26 (11)**:511, 1977
- 19) B. Petersson, O. Podlaha, B. Torgard: HPLC separation of natural oil triglycerides into fractions with the same carbon numbers and numbers of double bonds, *JAOCS*, **58(11)**:1005, 1981
- 20) J.A. Singleton, H.W. Patte: Optimization of Parameters for the Analysis of Triglyceride by Reverse phase HPLC using UV Detector at 210 nm, *JAOCS*, **61(4)**:761, 1984
- 21) A. Kuksis, J. J. Myher, L. Marai: Lipid methodology chromatography and beyond. Part 1. GC/

- MS and LC/MS and glycerolipids, *JAACS*, **61(10)**: 1582, 1984
- 22 E.G. Bligh, and W.J.Dyer: A rapid method of total lipid extraction and purification, *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**:911, 1959
- 23) 이희자, 이현주, 변시명, 김형수 : 현미와 백미의 지질함량 및 중성지질의 조성에 관한 연구, *한국식품과학회지*, **20(4)**:585, 1988