

대추의 果肉脂質에 存在하는 脂肪酸의 同定과 熟成에 따른 그 組成의 變化

禹孝京 · 金成眞 · 朴星惠 · 趙鏞桂

東亞大學校 食品營養學科

(2001년 2월 22일 접수 ; 2001년 3월 16일 채택)

Identification of Fatty Acids in the Pulp Oils of Jujube and Their Compositional Changes in the Ripening Period

Hyo-Kyeng Woo · Seong-Jin Kim · Sung-Hea Park · Yong-Goe Joh

Department of Food Science & Nutrition, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

(Received February 22, 2001 ; Accepted March 16, 2001)

Abstract : In search for several fatty acid with unusual structure in vegetable oils, we have found that unknown peaks were shown on GLC in the analysis of fatty acids of the lipids from the pulp of ripened jujube (*Zizypus jujuba* var. *inermis*) fruits. These fatty acids were identified as a series of *cis*-monoenoic acids with ω -5 double bond system such as $C_{14:1\omega5}$, $C_{16:1\omega5}$ and $C_{18:1\omega5}$, including ω -7 fatty acid as $C_{16:1\omega7}$ and $C_{18:1\omega7}$, by GLC, solid-phase extraction silver ion-column chromatographic, GLC-mass spectrometric and IR techniques. First of all, total fatty acid methyl esters were resolved into saturated and branched fatty acid, monoenoic acid, dienoic acid, and trienoic acid fraction, respectively, with 100% dichloromethane (DCM), DCM/acetone (9:1, v/v), 100% acetone, and acetone/ acetonitrile (97:3, v/v) solvent system. Unknown fatty acids were included in the monoenoic fraction and were confirmed to have *cis*-configuration by IR. Picolinyl esters of monoenoic fatty acids gave distinct molecular ion peak and dominant diagnostic peaks, for example, m/z 317, 220 and 260 fragment for *cis*- $C_{14:1\omega5}$, m/z 345, m/z 248 and 288 fragment for *cis*- $C_{16:1\omega5}$, and m/z 373, m/z 276 and 316 fragment for *cis*- $C_{18:1\omega5}$. In this way the occurrence of *cis*- $C_{16:1\omega7}$ and *cis*- $C_{18:1\omega7}$ could be deduced from the appearance of prominent fragments as m/z 345, 220 and 260, and m/z 373, 248 and 280. Level of total ω -5 fatty acids amounted to about 30% in the fatty acid composition with the predominance of $C_{16:1\omega5}$ (18.7~25.0 %), in the semi-ripened and/or ripened samples collected in September 14 ($C_{16:1\omega5}$; 18.7 %, $C_{14:1\omega5}$; 3.6 % and $C_{18:1\omega5}$; 3.0 %), September 22 ($C_{16:1\omega5}$; 25.0 %, $C_{14:1\omega5}$; 1.4 % and $C_{18:1\omega5}$; 2.6 %), and October 7 ($C_{16:1\omega5}$; 24.7 %, $C_{14:1\omega5}$; 7.7 % and $C_{18:1\omega5}$; 2.5 %). However, the lipids extracted from unripened jujube in July and August contain these unusual fatty acids as low as negligible. It could be observed that the level of ω -5 fatty acids in the pulps increased sharply with an elapse of ripening time of jujube fruits. Other monoenoic fatty acids with ω -7 series, $C_{16:1\omega7}$ (palmitoleic acid) and $C_{18:1\omega7}$ (*cis*-vaccenic acid) could be detected. And in the lipids of the kernel and leaf of jujube, none of ω -5 fatty acids could be detected.

Keywords : *Zizypus jujuba* var. *inermis*, ω -5 fatty acids, *cis*-11- $C_{16:1}$ ($C_{16:1\omega5}$), *cis*-13- $C_{18:1}$ ($C_{18:1\omega5}$), silver ion-chromatography, fatty acid picolinyl ester.

1. 序論

一般的으로 高等植物의 脂質을 構成하는 脂肪酸중 monoenoic acid는 oleic acid와 같은 ω -9系의 脂肪酸으로 대개 認識되어 왔으나, 最近에 gas-liquid chromatography (GLC)를 爲始한 分析機器의 發達로 ω -9系 脂肪酸外에 ω -7系, ω -12系 脂肪酸과 같이 多少 生疎한 不飽和 構造를 가진 脂肪酸이 점차 發見됨에 따라 이런 認識을 修正하게 되었다. 例로서 macadamia油에는 ω -7 脂肪酸인 palmitoleic acid (*cis*-9-hexadecenoic acid)가 總脂肪酸의 20%나 차지한다고 하며[1~4], 또 ω -7系인 *cis*-vaccenic acid (*cis*-11-octadecenoic acid)가 mango[5], 감[6], sweet orange[6]와 같은 果實의 果肉脂質, 예덕 種子油[7]에 相當量 存在한다고 報告되어 있다. Hierro等[8]에 따르면 은행種子油의 總脂肪酸에서 *cis*-vaccenic acid가 oleic acid 含量의 2배程度 높다고 하였다. 한편 ω -12系의 脂肪酸인 petroselinic acid (*cis*-6-octadecenoic acid)가 고수, 당근, 양방울, 파슬리와 같은 繖形科(Umbellifereae)植物[9]과 Garryaceae科 植物의 種子油[9]에, 그리고 송악[10], 황칠나무[10], 인삼[11], 독활[11], 오갈피[11]와 같은 두릅나무科(Araliaceae)植物의 種子油에 相當量 檢出된다고 한다.

대추나무는 갈매나무科에 속하는 落葉灌木으로, 南部 유-럽, 西南 아시아 또는 中國이 原產地라고 알려져 있으나, 우리나라의 全域에 걸쳐 널리 栽培되고 있다[12]. 그 열매인 대추는 球形 또는 橢圓形을 한 核果로서 9월에 붉게 익으며, 利尿劑, 緩和劑, 健胃劑와 祛痰劑 등으로 韓方에서 甘草와 더불어 널리 利用되고 있고[11,13] 또 마른 대추는 오래 전부터 韓藥을 爲始한 우리 傳統食品에 使用되고 있다[14].

대추에 관한 理化學的 研究로는 그 化學的 成分[15], 生理活性[16,17], 貯藏性[18,19]에 관한 것은 있으나, 그 脂質에 관한 研究로는 Yamamoto等[20]에 의한 대추의 果肉脂質의 脂肪酸組成에 관한 것 外에는 거의 없는 것 같다.

本 研究에서는 대추열매의 果肉脂質에 存在

하는 脂肪酸을 窒酸銀-칼럼으로 2重結合數에 따라 相互分離한 後, 各 分割에 包含된 脂肪酸을 picolinyI 誘導體로 만들어 GLC-mass spectrometry로 各 脂肪酸의 正確한 構造를 同定하였으며, 또 대추열매의 成長段階에 따라 그 果肉脂質의 脂肪酸 組成의 變化를 GLC로 分析하여 그 結果를 報告하는 바이다.

2. 實驗

2.1. 材料 및 粗脂質의 抽出[21] 및 脂肪酸 methyl ester (FAME)化[22]

Table 1에 言及한 바와 같이 2000年 7月에서 10月까지 4個月에 걸쳐 適當한 日程을 두고 釜山廣域市 南區 大淵洞에서 庭園樹로 栽培되고 있는 높이 2.5 m 정도의 同一한 나무에서 대추를 無作爲로 採取하여 크기의 偏差가 적은 것을 實驗에 使用하였고, 또 慶南 金海

Table 1. Proximate Composition of Jujube Nuts Collected in the Area of Pusan, from July 14 Until October 7, 2000

Collecting date	Length (cm, average)	Weight (g, average)	Moisture content (%) ¹⁾	Lipid content (%) ¹⁾
July 14	1.53 (21) ²⁾	0.81 (21)	83.8	0.52
Aug. 18	2.11 (10)	2.84 (10)	83.0	0.52
Aug. 29	2.40 (10)	3.52 (10)	81.9	0.53
Sept. 7	2.43 (11)	3.85 (11)	80.0	0.50
Sept. 14	2.49 (10)	4.02 (10)	80.1	0.58
Sept. 22	2.59 (7)	4.18 (7)	79.2	0.55
Oct. 7	2.63 (7)	4.43 (7)	80.5	0.55

¹⁾ to pulp weight of jujube nuts, ²⁾ numbers of jujube nuts provided in each experiment.

地域에서 1999年 7月에서 10月에 걸쳐 同一한 나무에서 앞에서 言及한 바와 같은 方法으로 採取하여 冷凍保管한 대추도 比較實驗으로 使用하였다. 採集한 대추의 果肉을 分離하여 果肉을 잘 磨碎하여 Bligh & Dyer法[21]에 따라 粗脂質을 抽出하였다. 이 粗脂質의 一部를 취해 10 mL容 마개달린 試驗管에 옮겨 sodium methoxide法[22]으로 構成 脂肪酸을 methyl ester로 誘導體化한 後에 窒素氣流下에서 殘存 溶媒를 除去하였다. 生成된 脂肪酸 methyl

ester (FAME)를 hexane으로 回收하여 1회용 Florisil column에 吸着시켜 hexane으로 不純物을 完全히 除去하고 hexane: acetone (99:1, v/v)으로 FAME를 純粹히 分離·濃縮하여 GLC 分析用 試料로 使用하였다.

2.2. GC에 의한 分析條件[23]

脂肪酸 分析은 Hewlett Packard 5890 capillary gas-liquid chromatograph으로 實施하였으며, 칼럼은 BPX 70을 coating한 fused silica column (50 m × 0.22 mm, i.d., film thickness, 0.25 μm, SGE, Austin, Texas, USA)을 使用하였다. 칼럼 溫度는 160°C에서 3分間 維持한 後, 185°C까지 分當 1.0°C씩 昇溫시켜 여기에서 1分間 維持하였으며, 다시 分當 3°C씩 昇溫시켜 220°C에 到達하게 하였으며 그 後 5分間 維持토록 하였다. 利用한 integrator는 Waters 745 Data Module였으며, chart speed는 1 cm/min이었다. Carrier gas는 H₂를 使用하여 칼럼에 0.8 mL/min의 流速으로 흐르게 하였으며 split ratio는 1:50로 하였다. 그리고 make-up gas는 Helium을 使用하였으며 그 流速은 30 mL/min로 하였다 (Table 2).

Table 2. Gas-liquid Chromatographic Condition for Analysis of Fatty Acid Methyl Esters Derived from Pulp Oils of Jujube Nuts

Instrument	Hewlett-Packard, Model 5890 Series II
Column	Fused silica column coated with BPX 70 (50 m × 0.22 mm, film thickness; 0.25 μm)
Temperature column	160°C for 3 min, then programmed to 185°C at a rate of 1.0°C/min and held for 1 min. The temperature again increased to 220°C at a rate of 3°C/min, and hold for more 5 min.
injection port & detector	250°C
Integrator	Waters 745
Chart speed	1 cm/min
Carrier gas and split ratio	Hydrogen, 1/50
Make-up gas	He, 30 mL/min

2.3. 窒酸銀-칼럼에 의한 2重結合數에 따른 FAME의 相互分離[24]

1회용인 Analytichem Bond Elut[®] SCX solid-phase extraction column (Varian, USA)의 吸着劑가 들어 있는 실린더 部分을 銀箔紙로 잘 감싸고, 이 칼럼에 窒酸銀 20mg을 녹인 acetonitrile-H₂O (10:1, v/v)혼합액 0.25 mL를 徐徐히 浸透시킨 다음 acetonitrile, acetone 및 dichloromethane (DCM)를 各各 5 mL씩 順次的으로 흘려 칼럼을 活性化시켰다. 少量의 DCM에 녹인 試料 FAME (0.2 mg)를 칼럼에 吸着시킨 後 100% DCM, acetone/DCM (9:1, v/v)과 100% acetone를 順次的으로 5 mL씩 흘리고 마지막으로 acetone/acetonitrile (97:3, v/v) 10 mL를 흘려, 飽和脂肪酸, monoene酸, diene酸, triene酸의 分割으로 FAME를 2重結合數에 따라 相互分離하였다. 窒素氣流下에서 各各의 分割에서 殘存溶媒를 除去하여 다음 實驗의 試料로 使用하였다.

2.4. IR spectrum測定[25]

窒酸銀칼럼에서 얻은 未知의 脂肪酸이 包含된 acetone/DCM (9:1, v/v) 分割을 乾燥한 後, 다시 少量의 chloroform에 녹여 KBr disc에 塗抹하여 IR을 測定하였다. 이때 使用한 器機는 Testscan Shimadzu FTIR 8000 이었다.

2.5. 脂肪酸의 picolinyl ester化 및 GLC/mass spectrometry 條件

窒酸銀-칼럼에서 얻어진 各 FAME分割을 10% KOH-ethanol 混合液으로 80°C에서 10分間 加水分解하고, diethyl ether로 遊離脂肪酸을 回收한 다음 窒素氣流下에서 殘溜溶媒를 除去하였다. 이 反應生成物을 diethyl ether (5 mL)로 回收하여 이것을 無水黃酸소-다를 채운 Pasteur pipette에 通過시키면서 殘存하는 水分을 完全히 除去하여 窒素氣流下에서 殘溜溶媒를 除去한 다음, Balazy의 方法[26]에 따라 picolinyl ester化하였다. 즉, 遊離脂肪酸 試料 (1 mg)를 10 mL容 마개달린 試驗管에 옮겨 DCM (100 μL)에 녹이고, 여기에 實驗始作 30分前에 1, 1'-carbonyl diimidazole (100 mg)을 DCM (1 mL)에 녹인 溶液 100 μL를 가하여 vortex mixer로 잘 混和한 後 37°C에서 1分間

放置하였다. 이 혼합액에 3-(hydroxymethyl)pyridine (300 μ L)과精製한 4-pyrrolidinopyridine (60 mg)을 DCM (3 mL)에 녹여 冷凍室에 保管한 picolinyl 試藥과 triethylamine를 各 各 100 μ L씩 가하여 잘 攪拌하여 37°C의 水槽에서 10分間 反應시켰다. 이 反應液의 殘存溶媒를 窒素氣流下에 除去하고 여기에 hexane (5 mL)와 蒸溜水 (2 mL)를 가하여 vortex mixer로 잘 섞은 後 遠心管에 옮겨 5分間 遠心分離하였다. Hexane層을 回收·濃縮하여 Pasteur pipette에 Florisil을 채워 만든 1回用 칼럼에 loading하여 hexane:acetone (99:1, v/v, 5 mL)으로 不純物을 除去하고 hexane:acetone (8:2, v/v, 8 mL)으로 picolinyl ester를 精製하였다. 脂肪酸의 picolinyl ester의 同定은 GC/mass spectrometry로 하였으며[27], 使用한 器機는 Hewlett-Packard HP model 5989 spectrometer이고, 이때 使用한 칼럼은 Ultra 2 (30 m \times 0.25 mm, i.d., film thickness; 0.25 μ m, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA)을 使用하였다. 80°C에서 on-column에 注入하여 3分間 머문 後 分當 30°C 比率로 160°C까지 昇溫하였고, 여기서 다시 分當 4°C의 比率로 315°C까지 昇溫하였으며 이 溫度에서 20分間 더 머물도록 하였다. Ion source는 70 eV였고, He를 carrier로 使用하였다.

3. 結果 및 考察

Table 1에서 보는 바와 같이 釜山地方에서 대추는 7월에 그 平均體長이 1.53 cm이었으나 10月の 收穫期에는 2.63 cm에 이르렀으며, 이때 무게는 4.43g이었다. 成長에 따라 粗脂質含量은 약간 增加하여 收穫期에는 0.55%이었다. Fig. 1은 대추脂質의 脂肪酸 組成을 GLC로 分析한 chromatogram인데 7월에 採取한 試料의 境遇는 peak가 比較的 簡單하나 대추가 熟成함에 따라 未知의 脂肪酸에 該當하는 peak의 數가 增加하였다. 8月 29日에 採取한 試料부터는 果肉의 粗脂質에서 20餘個의 脂肪酸 peak가 觀察되었으며 가장 特徵的인 것은 Fig. 1-Aug.29 와 Fig. 1-Oct. 7의 chromatogram에서 보는 바와 같이 palmitoleic acid

(C_{16:1 ω 7})의 peak 바로 다음의 강한 peak (retention time; 15.60 min)와 oleic acid (C_{18:1 ω 9}) peak 다음에 나타나는 2 peak (retention time; 21.62, 22.13 min)의 出現인데, 前者는 C_{16:1}의 異性體로 後者의 2 peak는 C_{18:1}의 異性體로 생각되어진다.

Fig. 2는 熟成한 대추脂質에서 얻은 總 FAME를 銀이온-칼럼으로 脂肪酸의 2重結合數에 따라 分割한 chromatogram인데, 100% DCM 溶出液에서는 飽和脂肪酸과 分枝脂肪酸 (branched fatty acid)[24,27]이 分離되었고 (Fig. 2-A), DCM/acetone (9:1, v/v) 溶出液에서는 monoene酸이 分離되었는데 (Fig. 2-B) 未知의 脂肪酸은 모두 이 分割에 包含되어 있었다. 100% acetone 溶出液에서는 diene酸이 그리고 acetone/acetonitrile (97:3, v/v) 溶出液에서는 triene酸이 서로 汚染됨이 없이 깨끗하게 얻어 졌다 (Fig. 2-C와 2-D). 未知의 脂肪酸은 窒酸銀 칼럼上의 舉動과 GLC上의 retention time으로 보아 이 脂肪酸들은 monoene酸으로 推測된다. 이 monoene酸 分割을 IR를 測定한 結果 720 cm⁻¹에서 吸收 peak가 觀察되고 970 cm⁻¹에서 吸收 peak가 없는 것으로 보아 monoene酸은 cis-型의 것으로 생각된다 (data 省略).

Solid-phase extraction SCX column은 陽이온 交換基 (benzenesulfonic acid)를 가진 吸着劑를 1回用 合成樹脂材質의 tube에 채운 것이며 여기에 銀이온을 結合시켜 만든 것이 solid-phase extraction Ag⁺-column이며, 이는 取扱이 매우 簡便하고 窒酸銀이 손이나 被服에 쉽게 묻지않아 얼룩을 남기지 않으며 또 價格이 低廉하여 脂肪酸을 2重結合數에 따라 preparative하게 分離하는데 아주 適合하다고 알려져 있는데[24], 本實驗에서도 그 分離能이 優秀함을 알 수 있었다.

Fig. 3은 未知의 脂肪酸의 mass spectra인데 Fig. 3-A에서 m/z 317은 C_{14:1} 脂肪酸 picolinyl ester의 分子量 peak [M⁺]에 該當하고, 또 m/z 220과 m/z 260에서 40 amu (40 = 260-220, -CH₂-CH=CH-)의 gap[27]이 觀察되므로 이 脂肪酸은 C9와 C10 사이에 2重結合이 存在하는 cis-9-C_{14:1} (C_{14:1 ω 5})임을 알 수

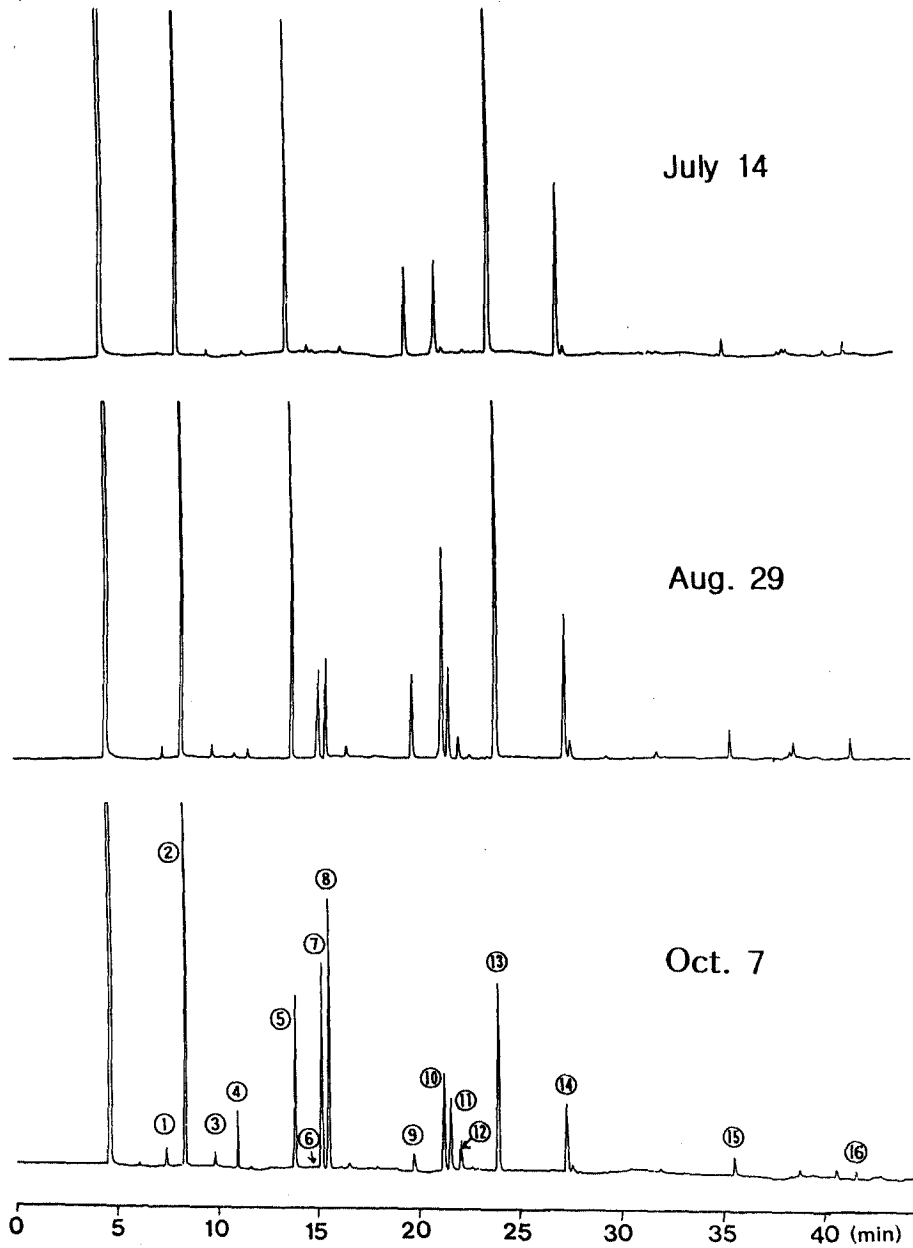


Fig. 1. GLC Chromatogram of FAME Derived from the Jujube Pulp Oils

- | | | | |
|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------|
| ① C ₁₂₀ | ⑤ C ₁₆₀ | ⑨ C ₁₈₀ | ⑬ C _{182ω6} |
| ② BHT | ⑥ branched C ₁₇₀ | ⑩ C _{18:1ω9} | ⑭ C _{18:3ω3} |
| ③ C ₁₄₀ | ⑦ C _{18:1ω7} | ⑪ C _{18:1ω7} | ⑮ C ₂₂₀ |
| ④ C _{14:1ω5} | ⑧ C _{18:1ω5} | ⑫ C _{18:1ω5} | ⑯ C ₂₄₀ |

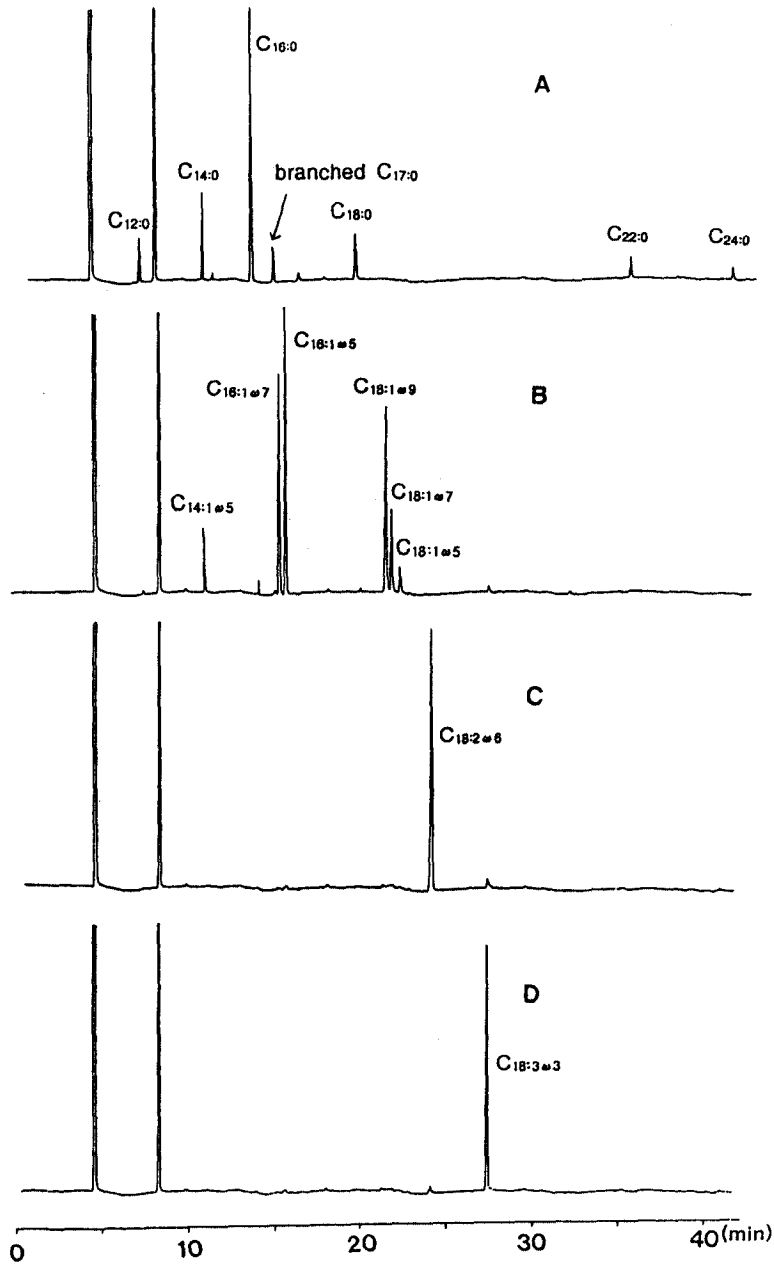


Fig. 2. Separation of FAMES Derived from the Jujube Pulp Oils According to the Number of Double Bond, by Solid-Phase Extraction Ag^+ - Column Chromatography
 A ; 100% dichloromethane (DCM) fraction
 B ; DCM/acetone (9 : 1, V/V) fraction
 C ; 100% acetone fraction
 D ; acetone/acetonitrile (97 : 3, V/V) fraction.

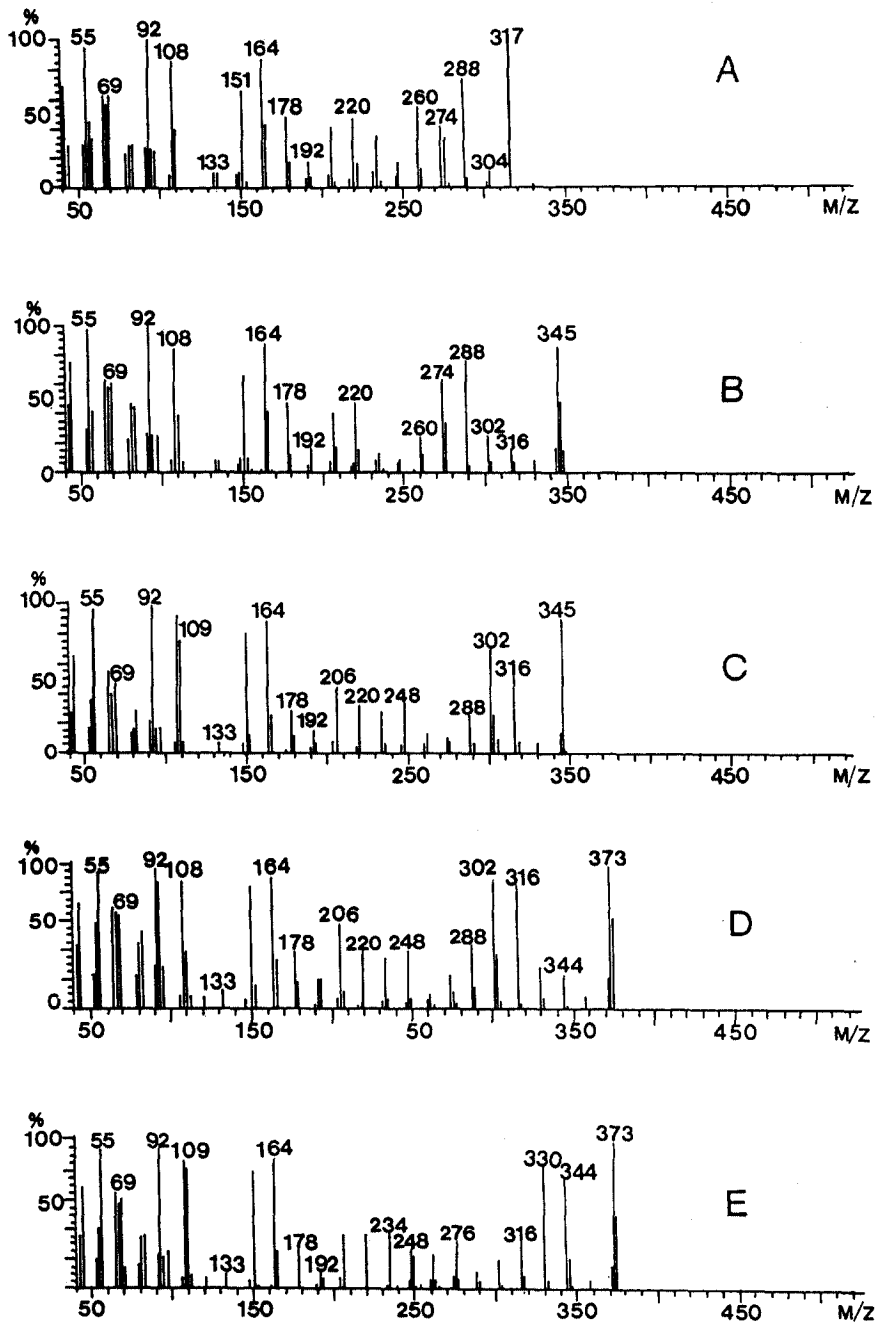


Fig. 3. Mass Spectrum of the Picolinyl Ester of the Monoenoic Acids

Isolated from the Jujube Pulp Oils

A : *cis*-9-tetradecenoic acid ($C_{14:1\omega5}$)

B : *cis*-9-hexadecenoic acid ($C_{16:1\omega7}$)

C : *cis*-11-hexadecenoic acid ($C_{16:1\omega5}$)

D : *cis*-11-octadecenoic acid ($C_{18:1\omega7}$)

E : *cis*-13-octadecenoic acid ($C_{18:1\omega5}$).

있었다. Fig. 3-B와 3-C의 mass spectra에서 분자량에 該當하는 peak [M⁺]인 m/z 345가 觀察되므로 두脂肪酸은 모두 hexadecanoic acid (C_{16:1})임을 알 수 있었는데, 前者에서 特徴的 peak인 m/z 220과 m/z 260이 나타나고 그 gap인 40 amu (40 = 260-220)는 -CH₂-CH=CH-의 存在를 意味하므로 이 脂肪酸은 C9과 C10 사이에 2重結合이 存在하는 *cis*-9-C_{16:1} (C_{16:1ω7})로 同定할 수 있었다. 이와 같이 하여 後者の mass spectrum에서 m/z 248과 m/z 288이 觀察되었으므로 이 脂肪酸은 C11과 C12 에 不飽和基가 있는 *cis*-11-C_{16:1} (C_{16:1ω5})로 同定할 수 있었다. Fig. 3-D와 3-E의 spectrum에서 분자량에 該當하는 m/z 373이 觀察되었으므로 이 2脂肪酸은 모두가 octadecanoic acid (C_{18:1})임을 알 수 있으며, 前者에서 觀察되는 m/z 248과 m/z 288의 特徴的인 peak로 보아 이 脂肪酸은 C11과 C12 사이에 2重結合이 存在하는 *cis*-11-octadecenoic acid (C_{18:1ω7})으로 同定할 수 있었고, 後者에서는 m/z 276와 m/z 316의 2個의 diagnostic peak가 觀察되므로 이 脂肪酸은 C13과 C14 사이에 2重結合이 存在하는 *cis*-13-octadecenoic acid (C_{18:1ω5})으로 同定할 수 있었다.

Table 3은 釜山地方에 자라는 대추의 成長時期에 따른 대추果肉의 總脂肪酸 組成을 나타낸 것이다. 7월 14일에 採取한 試料에는 C_{18:2ω6}가 39.1%로 제일 많았으며, C_{16:0}와 C_{18:3ω3}는 含量이 各各 22.2%와 15.8%로 그 다음이었으며 C_{18:0}와 C_{18:1ω9}가 各各 8.0%와 8.6%로 少量 檢出되었으나, C_{16:1ω7}, C_{16:1ω5}와 C_{18:1ω7}, C_{18:1ω5}는 그 含量이 모두 微量이었다. 8월 18일에 採取한 試料에서도 C_{18:2ω6} (33.2%)가 제일 많았으며, 그 다음으로 많은 것은 C_{16:0} (30.5%), C_{18:1ω9} (15.4%)와 C_{18:3ω3} (9.0%)이었으며, C_{16:1ω7}와 C_{16:1ω5}는 各各 0.4%, 0.2%로 7월의 試料에 比하여 거의 變化가 없었으나, C_{18:1ω7}와 C_{18:1ω5}는 各各 1.5%와 0.2%로 檢出되었다. 그러나 8월 29일에 採取한 試料의 脂肪酸 組成을 보면 지난번 試料에 比하여 매우 相異하여, C_{16:1ω5}와 C_{16:1ω7}는 5.6%과 4.6%으로 增加하였고 同時에 C_{18:1ω7}과 C_{18:1ω5}는 5.5%와 1.4%로 各各 그 含量이 增加하였다. 9월 7일

에 採取한 試料에서는 C_{16:1ω5}와 C_{16:1ω7}는 8월 29일의 試料에 比하여 不過 9日사이에 各各 3倍 또는 9倍나 增加하여 16.3%과 12.2%에 이르렀고, C_{18:1ω7}과 C_{18:1ω5}의 含量은 5.8%와 1.8%로 거의 變化가 없었으나, 反面에 初期에 採取한 대추의 主된 脂肪酸이었던 C_{18:2ω6}, C_{16:0}와 C_{18:3ω3}는 大幅 減少하여 18.9%, 17.0%, 7.1%에 지나지 않았다. 이와 같이 ω-5와 ω-7 脂肪酸의 含量은 대추의 成長과 더불어 增加를 繼續하여 9월 14일과 22일의 試料에서는 C_{16:1ω5}와 C_{16:1ω7}의 含量이 各各 18.7%와 25.0%, 14.3%과 17.0%로 最高에 到達하여 收穫期인 10월 7일까지 큰 變化가 없었다. 한편 C_{18:1ω7}의 含量은 8월 29일부터 收穫期까지 큰 變化는 없었으나, C_{18:1ω5}는 이 期間 중에 약간 增加하여 9월 14일에 그 含量이 3.0%에 이르렀다가 그 以後로 큰 變化는 없었다.

대추의 成長期間에 걸쳐 總 monoenoic acid 含量에 대한 ω-5 脂肪酸의 含量 比($\Sigma\omega-5/\Sigma Mo \times 100$)는 初期(7월 12일과 8월 18일)에는 約 2.0%에 지나지 않았으나 繼續 가파르게 增加하여 9월 7일부터 10월 7일사이에는 46.1~57.8%에 이르러 全體 monoenoic acid의 約 折半을 차지하여 ω-5 脂肪酸의 顯著한 變化를 볼 수 있었으며, 또 ω-7 脂肪酸의 比는 初期(7월 12일과 8월 18일)의 10.0~11.0%에서 緩慢하게 增加하여 9월 14일에 39.7%로 最高值에 이르렀다.

Table 3에서 보는 바와 같이 時期에 따른 脂肪酸 組成의 이런 變化를 1999年 7월부터 10월에 걸쳐 慶南 金海地域에서 採取한 대추에서도 觀察할 수 있었다. 이것으로부터 未熟한 대추 果肉脂質에 存在하지 않았던 ω-5 脂肪酸이 대추의 成長과 더불어 그 含量이 增加한다는 새로운 事實을 發見할 수 있었는데, 이는 初期의 대추 果肉에는 Δ¹¹-desaturase가 不活性化한 形態로 存在하고 있다가 成長과 더불어 活性化는지 아니면 成長에 따라 이 酵素가 de novo로 合成되는지에 관한 疑問을 던져 주고 있어 매우 興味롭다. 또 대추의 씨나 잎의 脂質에서 ω-5 脂肪酸이 檢出되지 않았으므로 (Table 3) 植物의 各 組織은 그 要求에 따라 그 組織에 必要한 脂肪酸만 合成한다는 事實[29]을 確認할 수 있었다.

Table 3. Changes of Fatty Acid Composition of the Total Lipids Extracted from the Pulp of Jujube Nuts (*Zizyphus jujuba* var. *inermis*) During the Experiment Period

Fatty acid	Pusan (July 14~Oct. 7, 2000)							Kimhae (July 12~Oct. 4, 1999)				Kernel oil ¹⁾	Leaf oil ¹⁾
	7/14	8/18	8/29	9/7	9/14	9/22	10/7	7/12	8/16	9/26	10/4		
C _{12:0}	0.2	0.2	0.5	0.3	1.0	2.5	2.6		0.2	1.5	1.0		
C _{14:0}	0.7	0.7	0.6	1.1	0.9	2.1	1.6	0.8	0.9	1.2	1.4		0.7
C _{14:1ω5}			0.2	1.7	3.6	1.4	7.7			5.0	3.6		
C _{15:0}	0.2	0.4	0.4	0.4	0.2	2.0	0.2						
C _{16:0}	22.2	30.5	21.2	17.0	12.8	11.4	11.0	26.6	23.6	10.7	14.7	5.8	21.6
br-C _{17:0}		0.2	0.1		0.5	0.2	0.3	0.3	1.2	0.5	0.6	0.1	
C _{16:1ω7}	0.5	0.4	4.6	12.2	14.3	17.0	13.8	0.5	1.8	15.2	19.3	0.2	2.1
C _{16:1ω5}	0.2	0.2	5.6	16.3	18.7	25.0	24.7	tr.	1.1	22.8	20.2	0.2	
C _{17:0}	0.4	0.5	0.7	0.6	0.4	0.5	0.3						
C _{17:1ω9}				0.1	0.1								
C _{17:1ω7}		0.1	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1						
C _{18:0}	8.0	4.9	4.9	3.0	1.6	1.6	2.2	9.8	5.6	1.7	2.0	2.7	6.9
C _{18:1ω9}	8.6	15.4	13.0	9.9	8.4	5.8	6.6	8.2	16.5	7.3	5.3	39.1	4.1
C _{18:1ω7}	0.5	1.5	5.5	5.8	6.6	5.4	4.9	1.2	3.4	6.2	5.8	1.2	0.3
C _{18:1ω5}		0.2	1.4	1.8	3.0	2.6	2.5		0.5	2.6	2.0		
C _{18:2ω6}	39.1	33.2	26.9	18.9	17.2	12.8	13.4	33.3	30.9	15.3	17.0	47.0	30.0
C _{18:3ω3}	15.8	9.0	9.7	7.1	6.2	6.3	5.3	17.7	13.0	8.9	5.3	0.7	32.5
C _{20:0}	1.0	0.9	1.2	0.9	0.7	0.8	0.9					0.7	0.7
C _{20:1ω11}		0.1	0.1	0.1									
C _{20:1ω9}	0.2	0.2	0.4	0.3		0.1	0.1					1.8	
C _{21:0}	0.1	0.2	0.6	0.3	1.5	0.3	0.2						
C _{22:0}	1.3	0.7	1.7	1.2	1.4	1.3	1.1	0.5	0.3	0.2	0.3		0.7
C _{24:0}	1.0	0.7	1.7	0.7	0.7	0.7	0.6	1.0	1.1	1.0	1.3	0.5	0.5
total	100.0	100.2	100.1	99.9	100.0	100.2	100.1	99.9	100.1	100.1	99.8	100.0	100.1
Σ saturated	35.1	39.9	32.6	25.2	21.7	23.4	21.0	39.0	32.9	16.8	21.3	9.8	31.1
Σ monoene	10.0	18.1	30.9	48.4	54.9	57.7	60.4	9.9	23.3	59.1	56.2	88.1	6.5
$\Sigma \omega 5$	0.2	0.4	7.2	19.8	25.3	29.0	34.9		1.6	30.4	25.8	0.2	
$\Sigma \omega 7$	1.0	2.0	10.2	18.2	21.1	22.8	18.8	1.7	5.2	21.4	25.1	47.0	2.4
$\Sigma \omega 9$	8.8	15.6	13.4	10.3	8.5	5.9	6.7	8.2	16.5	7.3	5.3	40.9	4.1
$\Sigma \omega 11$		0.1	0.1	0.1									
$\Sigma \omega 5 / \Sigma Mo(\%)^{2)}$	2.0	2.2	23.2	40.9	46.1	50.2	57.8		6.9	51.4	45.9	0.2	
$\Sigma \omega 7 / \Sigma Mo(\%)^{3)}$	10.0	11.0	33.0	37.6	38.4	39.5	31.1	17.2	22.3	36.2	44.7		
Σ diene ($\omega 6$)	39.1	33.2	26.9	18.9	17.2	12.8	13.4	33.3	30.9	15.3	17.0	1.4	30.0
Σ triene ($\omega 3$)	15.8	9.0	9.7	7.1	6.2	6.3	5.3	17.7	13.0	8.9	5.3	0.7	32.5

1) collected in the area of Pusan, on October 7, 2000

2) ratio of the sum of ω -5 monoenoic acids to that of total monoenoic acids

3) ratio of the sum of ω -7 monoenoic acids to that of total monoenoic acids

4) tr., trace (<0.1%)

Gunstone等[1]에 의하여 Proteaceae科 植物의 種子油에 ω -5 脂肪酸가 微量으로 存在한다는 報告는 있었으나, 一般 植物脂質에는 거의 存在하지 않는 ω -5 monoene酸의 存在가 대추 果肉에서 確認되었고 또 익어감에 따라 異例적으로 그 含量이 顯著히 增加한다는 事實은 生化學 또는 生理學的 觀點에서 볼 때 매우 興味롭다. 이 實驗에서 얻은 結果를 基礎로 하여 먼저 ω -5 monoene酸이 모든 갈매나무科 果肉에 存在하고 있는 가를 調査하고, ω -5 monoene酸을 合成하는 Δ^{11} -desaturase의 純粹分離와 그 酵素學의 特性糾明 그리고 ω -5 monoene酸 特히 $C_{16:1\omega5}$ 의 生理作用에 관한 研究를 遂行하고자 한다.

4. 結論

成長時期別로 대추를 收集하여 粗脂質을 抽出하고 그 構成脂肪酸 組成을 調査하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 本 實驗에 使用한 대추는 7월에 그 平均 體長과 무게가 各各 1.53 cm 와 0.81g 이었으나, 10월에는 2.63 cm와 4.43 g 이었으며, 粗脂質의 含量은 成長과 더불어 약간 增加하여 收穫期에는 0.55%이었다.

2. 대추의 粗脂質을 methyl ester化하여 얻은 FAME를 銀이온-칼럼으로 脂肪酸의 2重結合數에 따라 分劃하였더니, 100% DCM 溶出液에서는 飽和脂肪酸과 分枝脂肪酸 (branched fatty acid)이 分離되었고, DCM/acetone (9:1, v/v) 溶出液에서는 monoene酸이 分離되었으며 未知의 脂肪酸도 모두 이 分劃에 包含되어 있었다. 100% acetone分劃과 acetone/ acetonitrile (97:3, v/v)分劃에서는 diene酸과 triene酸이 얻어졌다.

3. 이 monoene酸 分劃을 IR를 測定한 結果 720 cm^{-1} 에서 吸收 peak가 觀察되었으나 970 cm^{-1} 에서 吸收 peak가 없었으므로 monoene酸은 cis-型으로 생각된다.

4. 脂肪酸을 picolinyl ester로 誘導體化하여 GLC-mass spectrometry로 分子量과 2重結合의 數와 位置를 確認하여 그 構造를 同定하였다. 즉, GLC chromatogram에서 myristic acid

($C_{14:0}$)의 peak 다음에 나타난 脂肪酸을 cis-9- $C_{14:1}$ ($C_{14:1\omega5}$)로 同定할 수 있었고, palmitic acid ($C_{16:0}$)의 peak 바로 다음에 나타난 脂肪酸은 各各 cis-9- $C_{16:1}$ ($C_{16:1\omega7}$)와 cis-11- $C_{16:1}$ ($C_{16:1\omega5}$)로, 또 oleic acid ($C_{18:1\omega9}$) peak 바로 다음에 나타난 脂肪酸은 cis-11-octadecenoic acid ($C_{18:1\omega7}$)와 cis-13-octadecenoic acid ($C_{18:1\omega5}$)로 同定할 수 있었다.

5. 7월 14日의 試料에는 $C_{18:2\omega6}$ (39.1%), $C_{16:0}$ (22.2%), $C_{18:3\omega3}$ (15.8%)가 主要成分이었으나, $C_{16:1\omega7}$, $C_{16:1\omega5}$ 와 $C_{18:1\omega7}$, $C_{18:1\omega5}$ 는 그 含量이 모두 微量이었고, 8월 18日 試料의 主要한 脂肪酸은 $C_{18:2\omega6}$ (33.2%), $C_{16:0}$ (30.5%)와 $C_{18:1\omega9}$ (15.4%)이었으나, $C_{18:1\omega7}$ 와 $C_{18:1\omega5}$ 는 各各 1.5%와 0.2%이었으며 $C_{16:1\omega7}$ 와 $C_{16:1\omega5}$ 는 各各 0.4%와 0.2%로 7月의 試料에 比하여 거의 變化가 없었다. 8월 29日에 採取한 試料의 境遇는 지난번 試料와 매우 相異하여, $C_{16:1\omega5}$ 와 $C_{16:1\omega7}$ 는 5.6%과 4.6%로, $C_{18:1\omega7}$ 과 $C_{18:1\omega5}$ 는 5.5%와 1.4%로 各各 그 含量이 增加하였다. 9월 7日의 試料에서는 $C_{16:1\omega5}$ 와 $C_{16:1\omega7}$ 이 8월 29日의 試料에 比하여 各各 3倍 또는 9배나 增加하여 16.3%과 12.2%에 이르렀고, $C_{18:1\omega7}$ 과 $C_{18:1\omega5}$ 의 含量은 5.8%와 1.8%로 거의 變化가 없었다. 9월 14日과 22日의 試料에서는 $C_{16:1\omega5}$ 와 $C_{16:1\omega7}$ 의 含量이 各各 18.7%와 25.0%, 14.3%과 17.0%로 最高에 到達하여 收穫期인 10월 7日까지 큰 變化가 없었다. 한편 $C_{18:1\omega7}$ 의 含量은 8월 29日부터 收穫期까지 큰 變化가 없었으나, $C_{18:1\omega5}$ 는 이 期間 중에 약간씩 增加하여 9월 14日에 그 含量이 3.0%에 이르렀다가 그 以後로 큰 變化는 없었다. 이런 傾向은 釜山과 金海産 대추에 共通되게 나타났다.

6. 대추의 씨와 잎의 脂質의 脂肪酸 組成에는 ω -5 脂肪酸과 ω -7 脂肪酸이 檢出되지 않았거나 微量으로 存在하여 果肉의 그것과 매우 相異한 對照를 이루었다.

感謝의 글

本研究는 1998年度 東亞大學校 學術研究造

成費(自由公募課題)로 이루어졌으며, 著者は 研究費를 마련해 주신 學校當局의 여러분에게 甚深한 謝意를 表하는 바입니다.

參考文獻

- 1) F. D. Gunstone, R. J. Hamilton, F. B. Padley, and M. Ilyas Querishi, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 42, 965 (1965).
- 2) J. R. Vickery, *Phytochemistry*, 10, 123 (1971).
- 3) R. D. Plattner and R. Kleiman, *Phytochemistry*, 16, 255 (1977).
- 4) R. Kleiman, R. B. Wolf, and R. D. Plattner, *Lipids*, 20, 373 (1985).
- 5) A. Shibahara, K. Yamamoto, T. Nakayama, and G. Kajimoto, *Lipids*, 21, 388 (1986).
- 6) A. Shibahara, K. Yamamoto, T. Nakayama, and G. Kajimoto, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 64, 397 (1987).
- 7) A. Shibahara, K. Yamamoto, T. Nakayama, and G. Kajimoto, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 34, 696 (1985).
- 8) Maria Teresa G. Hierro, G. Robertson, W. W. Christie, and Y. G. Joh, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 575 (1996).
- 9) F. D. Gunstone, "Fatty Acid and Lipid Chemistry", p. 7, Blackie Academic & Professional, London (1996).
- 10) R. Kleiman and G. F. Spencer, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 59, 29 (1982).
- 11) Y. G. Joh, H. K. Woo, and S. G. Kim, *Abstracts*, p. S98, the 92nd American Oil Chemists' Society Annual Meeting & Expo, Minneapolis, May 13~16 (2001).
- 12) 李昌福, 大韓植物圖鑑, p. 528, 鄉文社, 서울 (1982).
- 13) 宋柱澤·鄭炫培·金炳友·秦熙成, "最新原色版 大韓植物大寶鑑 上卷", p. 620, 韓國資源植物研究所 第一出版社, 서울 (1989).
- 14) 김정호, "가정과수", pp. 187~190, 오성출판사, 서울 (1995).
- 15) K. S. Choi, *J. Resource Development, Yeungnam University*, 9, 47 (1990).
- 16) H. B. Lee, *Ph. D. Thesis*, Chungnam National University, Daejeon, Korea (1987).
- 17) Y. G. Lee, *Ph. D. Thesis*, Yeungnam University, Daegu, Korea (1994).
- 18) 송진·이가순·강현아·장규섭, 한국식품과학회지, 30, 272 (1998).
- 19) 이동선·안덕순, 한국식품과학회지, 30, 461 (1998).
- 20) K. Yamamoto, A. Shibahara, A. Sakuma, T. Nakayama, and G. Kajimoto, *Lipids*, 25, 602 (1990).
- 21) E. G. Bligh and W. J. Dyer, *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911 (1959).
- 22) W. W. Christie, "Gas Chromatography and Lipids", p. 69, Oily Press, Ayr (1989).
- 23) Y. G. Joh, H. K. Woo, and S. G. Kim, *Abstracts*, p. S103, the 91st American Oil Chemists' Society Annual Meeting & Expo, San Diego, April 25~28 (2000).
- 24) W. W. Christie, *J. Lipid Res.*, 30, 1471 (1989).
- 25) A. A. Ismail, A. Nicodemo, J. Sedman, F. R. van der Voort, and I. E. Holzbaur, "Spectral Properties of Lipids", edited by R. J. Hamilton and J. Cast, pp. 235~265, Sheffield Academic Press, Sheffield, England (1999).
- 26) M. Balazy and A. S. Nies, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.* 18, 328 (1989).
- 27) W. W. Christie, Elizabeth Y. Brechany, and K. Stefanov, *Chem. Phys. Lipids*, 46, 127 (1988).
- 28) D. J. Harvey, "Advances in Lipid Methodology-One", edited by W. W. Christie, pp. 24~34, Oily Press, Ayr (1992).
- 29) C. Y. Hopkins, "Topic in Lipid Chemistry", edited by F. D. Gunstone, pp. 37~87, Paul Elek, London (1972).