

개불의 脂質에 관한 研究

—脂質, 脂肪酸 및 Sterol 組成에 관하여—

趙 鏞 桂 · 金 敬 三

東亞大學校 食品營養學科 釜山女子專門大學 食品營養科

Studies on Lipids of *Urechis unicintus*

—on the Composition of Lipids, Fatty acid and Sterol—

Yong-Goe JOH

Department of Food and Nutrition Science, Dong-A University,
Seogu, Pusan, 600-02 Korea

and

Kyung-Sam KIM

Department of Food and Nutrition Science, Pusan Women's Junior College
Jingu, Pusan, 601 Korea

This work was done in order to clarify the chemical characteristics, composition, fatty acid components and sterol components of the lipids from *Urechis unicintus*.

The results obtained are summarized as follows;

1. The lipid content, iodine value and unsaponifiable matter of the total lipids are 1.89, 111, and 14.3%, respectively.
2. The main components of the total lipids are phospholipids 39.8%, free sterol 27.7% and triglyceride 21.4%, and two unidentified fractions are detected.
3. The main fatty acids of total lipids are $C_{20:4}$ (19.4%), $C_{16:0}$ (13.7%), $C_{20:1}$ (11.3%) and $C_{18:1}$ (10.4%)
4. Sterols found are Cholesterol(57.6%), Brassicasterol(?)(20.3%), 24-methylenecholesterol(17.7%), 22-dehydrocholesterol(3.0%) and 22-trans-24-norcholesta-5,22-dien-3 β -ol(?)(1.4%).

序 論

개불은 개불과에 속하는 동물로 일본의 태평양 연안 및 우리나라 남해안 一帶에 분포하며 海底 갯벌에 棲息하는 것으로 風味가 좋아 우리나라에서는 옛 부터 날것 또는 乾製品으로 만들어 食用으로 하고 있다.

개불에 관한 연구를 보면 李(1958)의 乾燥개불의 Extract에 관한 연구와 宋(1935)의 개불의 식품학적 연구가 있을 뿐이고 脂質에 관한 연구는 거의 찾아

볼 수가 없다.

本 研究에서는 개불 脂質의 특성을 究明할 목적으로 우선 脂質, 脂肪酸 및 Sterol 등의 組成을 분석하여 얻은 결과를 보고하고자 한다.

材料 및 方法

1. 材 料

試料로 사용한 개불(*Urechis unicintus*)은 1982年

5월 26일에 부산어시장에서 구입하여 내장과 뱃을 제거한 후에 세척하여 실험에 사용하였다.

2. 實驗 方法

(1) 粗脂質의 抽出

粗脂質의 抽出은 Bligh and Dyer(1959)등의 방법에 따라 다음과 같이 하였다.

시료를 칼로 3~4부위로 자른 후에 Waring blender로 blending한 다음 여기에 chloroform : Me-OH (2 : 1, V/V)의 혼합액을 가하여 다시 blending한 후 여지(東洋여지, No.1)로 여과하여 殘渣는 다시 waring blender에 옮겨서 殘渣의 2倍量의 chloroform을 가하여 blending한 후 여지를 사용하여 여과하였다. 이 조작을 2~3회 되풀이하여 전여액을 분액여두에 모으고 여기에 1% NaCl 용액을 가하여 20분간 振盪하여 방치 후 下層만을 모아 chloroform을 제거하고 粗脂質을 얻었다.

(2) 脂質의 分別 및 定量

Thin layer chromatography(TLC)에 의하여 脂質을 分別 및 확인하였다.

즉 glass plate(20×20cm)에 Kieselgel 60G(Merck社製)로 0.2mm의 두께로 입혀 110°C에서 5시간 활성화시킨 후 試料脂質을 spotting하여 n-hexane : diethylether : acetic acid (80 : 20 : 1, V/V/V) 전개 용매 (Mangold, 1969)로 상승전개법으로 전개시켜 I₂ Vapor로 發色시켜 각 spot를 표준물질의 R_f치와 비교하여 同定하였다.

TLC板에 50% H₂SO₄-K₂Cr₂O₇를 분무하며 120°C에서 炭化시켜 流動 paraffin으로 TLC板을 투명하게 한 다음 densitometer로 各 spot의 含量比를 계산하였다.

(3) 脂肪酸組成分析

Total lipids를 5N-NaOH-EtOH 용액으로 80°C의 water bath에서 가수분해시켜 방치 후 분액여두에 옮겨 4倍量의 diethylether와 2倍量의 증류수를 가하여 혼합 후 방치하며 diethylether층과 水層으로 분리 시켰다. 水層에 있는 지방산나트륨염을 回收하여 여기에 1N-HCl을 가하여 酸性으로 한 다음 diethylether로 지방산을 回收하며 rotary evaporator로 농축하였다.

이렇게 얻어진 지방산 小量에 diazomethane을 가하여 지방산을 methyl ester화 시킨 후 gas-Liquid chromatography (GLC)로 지방산 조성을 분석하였

다. GLC의 분석 조건은 Table.1과 같다.

Table 1. Operation conditions of GLC analysis of fatty acid methyl ester

Instrument	: Shimadzu model GC-6A
Column	: 15% DEGS on Chromosorb W, 3m×3mm(i.d) stainless column
Column temperature	: 190°C
Injector temperature	: 250°C
Detector	: FID at 250°C
Carrier gas	: Nitrogen 48ml/min
Hydrogen pressure	: 0.6 Kg/cm ²
Air pressure	: 1.0 Kg/cm ²

Chromatogram上的 各 지방산의 同定은 표준지방산(C_{18:2}, C_{18:3}, C_{20:1}, C_{20:5}, C_{22:5}, C_{22:6})의 retention time과의 비교 및 지방산의 相對保持時間과 alkyl chain의 탄소수와의 相關 graph에 의하여 행하고 各 peak의 면적은 半值幅法으로 계산하였다.

(4) Sterol 組成分析

Total lipid를 가수분해하여 얻은 不鹼化物을 Me-OH 再結晶法으로 비교적 순수한 sterol을 얻어 無水식초산-피리딘(1 : 1, V/V) 용액을 시료의 5배량을 가하여 24시간 냉장고에서 acetylation하였다.

이렇게 만들어진 sterol acetate를 n-hexane으로 回收하여 rotary evaporator로 농축하여 table 2와 같은 조건하에서 GLC로 분석하였다.

Table 2. Operation conditions of GLC analysis of sterol acetate

Instrument	: Shimadzu model GC-6A
Column	: 1.5%OV-17 on chromosorb W, 2m×3mm(i.d)stainless column
Column temperature	: 260°C
Injector temperature	: 320°C
Detector	: FID at 320°C
Nitrogen flow rate	: 50ml/min

各 peak의 면적은 半值幅法으로 계산하였고 各 peak의 同定은 표준물질 (cholesterol, 24-methylene cholesterol) 및 Idler 등 (1971) 및 Teshima 등 (1971)의 相對保持時間値와 비교하여 행하였다(Fig. 1. 참조).

Table 3. The Characteristics of the Total Lipids from *Urechis unicinctus*

Sampling Site	Date	Sample Wt.	Oil Wt.	Content %	Unsaponifiable* Matter(%)	I. V**
"Jagal-Chi" Fish Market, Pusan, Korea	May 26, 1982	1,037g	19.6g	1.89	14.3	111

* to oil weight
** by Wijs's method

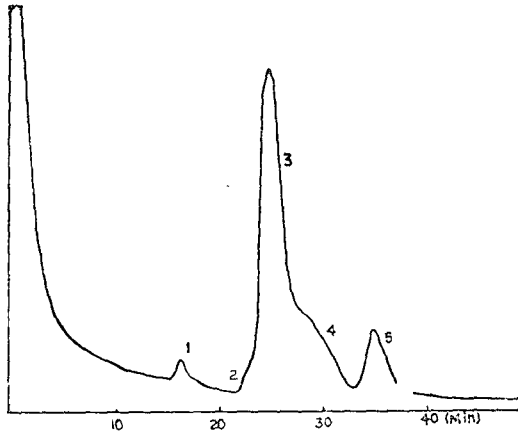


Fig. 1. Gas Liquid Chromatograph of Sterol Acetates in Total Lipids from *Urechis unicinctus*.

結果 및 考察

試料게불에서 추출한 지질의 일반적인 性狀은 Table 3과 같다.

즉 粗脂質함량은 1.9%로 河(1982)가 보고한 문어(*Octopus vulgaris*) 0.5% 낙지(*Octopus variabilis*) 0.8% 꼴뚜기(*Loligo beka*) 0.6% 보다 높고 山田(1975)가 보고한 acetone 및 ether 로 추출한 아귀(*Lophius litulon*) 전갱이(*Trachurus trachurus*) 등의 근육 脂質의 0.4%, 1.2%보다 높았으나, 미더덕의 4.2%(趙, 1978), 山田(1975)의 고등어(*Scomber japonicus*) 청어(*Clupea pallasii*), 홍살치(*Sebastolobus macrochir*)의 근육 지질 함량 14.1%, 8.3%, 11.9% 및 살오징어(*Ommastrephes pacificus*)의 肝脂質含量 28.3%보다, 또 대서양 鱈 대구(*Gadus morhua*)의 肝脂質 함량 28.3%(Sonntag, 1979) 보다 매우 낮았다.

요오드값은 111로 魚類(山田, 1975) 전복(Hayashi 등, 1972) 및 북방 조개(趙 등, 1976)의 114.8~

185.9, 141.3, 155.8보다 훨씬 낮았으며 재침의 요오드값 119(趙, 1982)와 비슷하였다.

시료의 脂質組成은 Table 4.와 같이 대부분이 極性脂質인 磷脂質이 39.8%로 제일 많았으며, 이는 河(1982)가 보고한 꼴뚜기의 極性脂質 38.3%와 재침(趙 1982)의 43.3% 그리고 북방조개의 43.1%(趙 등, 1982)와 비슷하였으나, 전복근육(趙, 1972)의 極性脂質함량 67.4% 보다는 적었다.

Table 4. The Lipids Composition of *Urechis unicinctus*

Fraction	%*
Hydrocarbon	trace
Unknown(I)	4.1
Unknown(II)	6.9
Sterol ester	trace
Triglyceride	21.4
Sterol	27.7
Phospholipids	39.8

TLC plate with 0.2mm of Kieselgel 60G, was activated at 60 C. The developing solvent was a mixture of n-Hexance : Diethylether : Acetic acid (80 : 20 : 1, V/V/V). The plate was immersed in liquid paraffin after sprayed with 50%. H₂SO₄-K₂Cr₂O₇ solution and charred.

* The charred spot areas were measured on the slit width of 1×3mm of Digital Densitorial DMU-33C(Toyo, Japan)

Triglyceride가 energy 源이고 極性脂質이 세포의 生理作用에 관계하고 있다는 것을 생각할 때 試料종류와 棲息環境 및 취급 방법에 따라 極性脂質의 相對量은 변화 할 것으로 생각된다.

다음으로 遊離 sterol 이 27.7%, triglyceride 가 21.4%를 나타내었으며 未同定物質이 각각 4.1%, 6.9%씩 검출되었다.

Kritchewsky(1961)가 보고한 바와 같이 본실험에서도 sterol ester는 微量 밖에 검출되지 않았다.

한편 不飽和物은 14.3%로 山田(1975)가 보고한 22種의 魚類 및 軟體動物의 0.74~10.30% 보다는

많았으나, 河(1982)의 문어 낙지의 10.9%, 18.8%와 비슷하였으며, 꼴뚜기 41.1%보다는 적었다.

Table 5.에 표시된 脂肪酸組成을 보면 $C_{20:4}$ 가 19.4%로 제일 많고, $C_{16:0}$, $C_{20:1}$, $C_{18:1}$ 이 각각 13.7%, 11.3%, 10.4%였으며, $C_{20:5}$ 와 $C_{22:6}$ 이 각각 9.9%, 5.2% 함유되어 있었다.

Table 5. The Fatty Acid Composition of Total Lipids from *Urechis unicinctus*(as methyl ester)

Fatty Acid	%
C14 : 0	3.9
C15 : 0	0.7
C16 : 0	13.7
C17 : 0	2.5
C18 : 0	5.8
Total	26.6
C16 : 1	9.1
C17 : 1	1.1
C18 : 1	10.4
C20 : 1	11.3
Total	31.9
C18 : 3	0.5
C20 : 3	2.2
C20 : 4	19.4
C20 : 5	9.9
C22 : 5	2.5
C22 : 6	5.2
Total	39.7

본실험에서 $C_{20:4}W_3$ 인지 $C_{20:4}W_6$ 인지 同定하지 못하였으나 일반적으로 水産動物에 少量 존재하는 $C_{20:4}$ 가 多量 함유된 것은 매우 特異하며 꼴뚜기(河, 1982)의 糖脂質에 15.9% 北極産 고래腦油에 11.9% 함유되어 있다는 보고가 있다(Sonntag, 1979).

山田(1975)은 22種의 魚類 및 軟體動物의 體油 및 肝油脂肪酸에서 $C_{16:1}$ 과 $C_{18:1}$ 이 대부분인 monoene 酸이 주성분이라고 했으며, 河(1982)는 문어, 낙지 꼴뚜기의 총脂質의 脂肪酸는 monoene 酸보다도 $C_{16:0}$ 의 飽和酸의 함량이 훨씬 많았다고 하였으나, 본 실험에서는 $C_{20:4}$, $C_{20:5}$, $C_{22:6}$ 이 대부분인 polyene 酸이 $C_{20:1}$, $C_{18:1}$ 로 구성된 monoene 酸보다 많았으며, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$ 이 많은 飽和脂肪酸含量이 제일 적은 경향을 나타내어, 趙(1976)가 북방조개의 ether 抽出脂質의 脂肪酸組成이, polyene 酸 > monoene 酸 > 飽和酸 이라고 보고한 결과와 비슷하였다.

Shimma 등(1964)이 卷貝와 二枚貝의 脂肪酸組成이 이들 먹이의 脂肪酸組成과 밀접한 관계가 있다고,

보고한 바와같이, 본 실험의 脂肪酸組成이 魚類 및 軟體動物의 脂肪酸組成과 對照的인 것은 이들의 休息環境要因과 관련이 깊다고 생각된다.

개불의 sterol 組成에 대한 분석 결과는 Table 6. 과 같다.

Table 6. The Composition of the Sterols Isolated from *Urechis unicinctus*(as methyl acetates)

Peak	Rt*	Rrt**	Sterol	%
1	8.3	0.63	22-trans-24-norcolesta-5, 22-dien-3 β -ol(?)	1.4
2	11.9	0.91	22-dehydrocholesterol	3.0
3	13.1	1.00	Cholesterol	57.6
4	14.5	1.11	Brassicasterol(?)	20.3
5	17.7	1.35	24-methylenecholesterol	17.7

* Rt : Retention time on 1.5% OV-17(minutes)

** Rrt : Relative retention time to cholesterol

水産無脊椎動物의 sterol 組成은 매우 복잡하다고 한다. (Bergmann, 1962). Idler 등(1971)은 가리비 筋肉脂質에서 8種의 sterols 을, 진주담치에서 9種 굴 筋肉에서는 13種의 sterols 을 분리하였고, 趙(1975, 1982)는 북방조개에서 8種의 sterols 을 재첩에서 6種의 sterols 을 원생동물의 미더덕에서 8種의 sterols 을 분리 하였다.

개불에서는 5種의 sterols 를 분리하였는데 Cholesterol이 57.6%로 가장 많았고, 다음으로 brassica sterol 로 추정되는 것이 20.3%, 24-methylene-cholesterol 이 17.7%였으며, 22-dehydrocholesterol 과 22-trans-24-norcolesta-5, 22-dien-3 β -ol 로 추정되는 sterol 이 소량 함유되어 있었다.

많은 無脊椎動物은 sterols 합성능력이 없어 生理的으로 요구되는 sterols 은 먹이로 부터 얻고 있으며(Voogt, 1974; Ferezou, 1971, ; Voogt, 1967; Van Arrem, 1964), Wootton 등 (1962)은 많은 海産環形動物은 acetate 나 mevalonate 로 부터 3 β -hydroxy sterol 을 생合成할 수 없으며, 지렁이(Lumbricus terrestris)는 mevalonate 로 부터 sterol 을 생合成할 수는 있으나 acetate 로 부터는 생合成할 수 없다고 하였다. 개불에 함유된 sterol 은 in vivo 로 생合成된 것인지 또는 먹이로 부터 기인된 것인지 食物連鎖의 관점에서 追試해 볼 흥미로운 과제라 생각된다.

要 約

개불脂質의 性狀을 밝힐 목적으로 그 脂肪酸組成 및 sterols 組成에 대하여 분석 검토 하였는데, 그 결과는 다음과 같다.

(1) 粗脂質과 不鹼化物含量은 각각 1.9%, 14.3%였으며, 요오드값은 111이었다.

(2) 粗脂質의 組成은 磷脂質이 39.8%, 유리 sterols 이 27.7%, triglyceride 가 21.4%였다.

(3) 脂肪酸組成은 C_{20:4}가 19.4%로 가장 많았고, 다음으로 C_{15:0}, C_{20:1}, C_{18:1}이 자기 13.7%, 11.3%, 10.4%였으며 또 polyene 酸 monene 酸 및 飽和酸으로 계산하면 각각 39.7%, 31.9% 및 26.6%였다.

(4) 5種의 sterols 이 검출되었는데 cholesterol 이 57.6%로 가장 많았고 다음이 brassicasterol 이 20.3%, 24-methylene cholesterol 이 17.7%, 22-dehydro cholesterol 이 3.0%, 22-trans-24-norcholesta-5,22-dien-3-β-ol 이 1.4%였다.

參 考 文 獻

Bergmann, W. 1962. Sterols, Their structure and distribution. Comparative biochemistry(ed. by Florkin, M. and S. Mason), 3, 103-162, Academic Press, New York.

Bligh, E. G. and W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipids extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol., 37, 911-917.

Ferezou, J. P., M. Devys et M. Barbier. 1972. Sur l'absence de biosynthèse des sterols et du squalène chez un coelentéré(Anthozoaire), L'Anemone de Mer *Calliactis parasitica*. Experientia, 15(4), 407-408.

河奉錫, 1982. 水産動物의 脂質에 관한 研究(第4報) - 頭足類의 筋肉脂質에 對하여 -. 韓國水産學會誌, 15(1), 59-73.

Hayashi, K. and M. Yamada. 1972. Studies on lipids of shell fish. 1. On the visceral lipid composition of abalone, *Haliotis discus hannai*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 38(3), 255-263.

Idler, D. R. and P. Wiseman. 1971. Sterol of mollusc. Int. J. Biochem., 2, 516-528.

趙鏞桂, 佐藤美和・土屋靖彦, 1972. アワビの脂質に関する 研究. I 脂質組成およびその脂肪酸, アルコーリおよびステロール組成について. 日本水産學會東北支部會報, 23, 1-7.

趙鏞桂, 秦滿夫. 1976. 북방조개의 유지에 관한 연구 韓國水産學會誌, 9(3), 195-202.

趙鏞桂. 1978. 미더덕의 sterol 組成, 韓國水産學會誌, 11(2)97-101.

趙鏞桂. 朴秀鎭. 安哲佑. 1982. 재첩의 脂質에 관한 研究. 韓國水産學會誌, 15(1). 94-98.

Kritchevsky, D. and S. A. Tepper. 1961. The Free and Ester Sterol Content of Various Food Stuffs. J. Nutrition. 74, 441-444.

李應昊. 1968. 乾燥「개불」의 extract에 대하여, 釜山水大研報. 8(1), 59-63

Mangold, H. K. 1969. Thin layer chromatography(ed. by E. Stahl). p.382, Springer Verlag, New York.

Shimma, Y. and H. Taguchi. 1964. A comparative study on fatty acid composition of shellfish. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 30, 153-160.

宋大鎭. 1965. 개불의 食品學的 研究. 釜山水産大學 碩士學位請求論文

Sonntag, N. O. V. 1979. Composition and Characteristics of individual fats and oils in Bailey's industrial oil and fat products. Vol. 1, 4 edition(ed. by D. Swern), 447-451, John Wiley & Sons, New York.

Teshima, S., A. Kanazawa and A. Ando. 1971. Occurrence of desmosterol and other Sterol in the clam. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ., 20(1), 131-139

Van AAREM, H. E., H. J. Vonk and D. I. Zandee. 1964. Lipid metabolism in *Rhizostoma*. Arch. Int. Physiol. Biochem., 72(4), 606-614.

Voogt, P. A. 1967. Biosynthesis of 3β-sterols in a snail, *Arion fugus* L., from 1-C¹⁴ acetate. Arch. Int. Physiol. Biochem., 75(3), 492-500.

Voogt, P. A., J. M. Van de Ruit and J. W. A. Van Rheenen. 1974. On the biosynthesis and composition of sterols and sterol esters in some sea Anemones(Anthozoa). Comp. Biochem. Physiol. 48B, 47-57.

Wootton, J. A. M. & L. D. Wright. 1962. A comparative study of sterol biosynthesis in annelida. Comp. Biochem. Physiol. 5, 253-264.

山田賢. 林賢治. 1975. 22種의 魚類および軟體動物 脂質의 脂肪酸組成. 日本水産學會誌, 41(11), 1143-1152.