

오징어 (*Omnastrephes bartrami*) 肝脂質에 存在하는 Ethyl Acylates의 構造와 그 構成 脂肪酸 組成에 관한 研究

趙 連 柱 · 趙 鏞 桂

東亞大學校 食品營養學科

The Presence of Ethyl Acylates in the Liver Lipids of A Squid, *Omnastrephes bartrami* and Their Fatty Acid Composition

Cho, Yeon-Joo · Joh, Yong-Goe

Dept. of Food Science and Nutrition, Dong-A University

(Received Sept. 20, 1990)

ABSTRACT

Lipid levels in the tissues of liver and intestines of *O. bartrami* amounted to 40.0% and 1.5%. The new compounds was found to be ethyl acylates, from a deduction of their detailed ¹H-nuclear magnetic resonance(NMR) and ¹³C-NMR as well as infra red spectra (IR). The fatty acid composition of total lipids were mainly composed of C16:0(19.0%), C18:1(16.2%) and C 22:6 ω 3(15.7%), followed by C20:1(9.4%), C22:1(6.4%) and C18:0(5.4%). New compound A and B were seemed to derived from the cleavage of glycerol moieties of triglycerides by microbial activities during storage in a frozen state.

Compound A contained C16:0(38.2%), C18:1(13.4%), C20:1(13.3%) and C22:1(11.7%) as major components, while compound B predominantly comprised polyunsaturated fatty acid such as C20:5 ω 3 (41.2%) and C22:6 ω 3(36.1%). In both compounds small amounts of odd-numbered fatty acids were also detected (3.8~2.2%).

I. 序 論

水産動物 組織의 脂質組成은 매우 多樣하여 triglyceride 외에 wax ester, diacyl glyceryl ether (DAGE)와 squalene과 같은 non-glycerides 脂質을 主成分으로 하는 경우도 있다.

Wax ester를 含有하고 있는 水産動物을 예로들면

castor oil fishes(*Lepidocybium flavobrunneum*,¹⁾ *Ruvettus pretiosus*)^{1,2)}, lantern fishes (*Stenobrachius leucopsarus*, *Triphoturus mexicanus*, *Lampanyctus ritteri*)³⁾와 향유고래(*Physeter catodon*)⁴⁾는 筋肉에 wax ester를 貯藏하고 深海産 硬骨魚類(*Hoplostethus atlanticus*,⁵⁾ *H. gilchristi*,⁶⁾ *Laemonema longipes*,⁷⁾ *Lotella phycis*)⁴⁾는 肝 또는 기타 組織에, 그리고 승어(*Mugil cephalus*)^{8,11)} 등줄승어 (*Liza ca-*

rinata),^{12,13)} gourmi (*Trichogaster cosby*),¹⁴⁾ croaker (*Cynoscion nebulosus*),¹⁰⁾ stock fish (*Merluccius capensis*)⁸⁾ 등은 卵脂質에 多量의 wax ester를 含有하고 있다. 또한 이 외에도 말미잘¹⁵⁾과 산호¹⁶⁾ 및 動物性 plankton인 copepod^{17~19)}에도 wax ester가 상당량 存在한다.

Wax ester는 饑餓狀態에 대비하기 위한 貯藏에 너지源으로 利用될 뿐 아니라, 深海產 魚類나 垂直移動을 하는 水産生物의 浮沈을 容易하게 해 준다고 한다.^{19~21)} 또한 고래類의 머리에 貯藏된, wax ester가 豊富한 脂質은 生體水中音波探知의 役割과 關聯이 있으며^{22,23)} 고래脂質의 wax ester는 5°C 以下の 水溫에서 溫血哺乳動物이 그 環境에 適應하기 위해 熱을 保存하는 絕緣體로 利用된다고 한다.^{24~26)}

또한 水産動物중 DAGE는 rat fish (*Hydrolagus babouri*, *Rhinochimaera pacifica*, *Hydrolagus novae-zealandiae*)^{27,28)}와 深海產 상어 (*Dalatias licha*)²⁹⁾의 肝油에 多量 含有되어 있고 그 외에도 stromateidei fishes (*Stromateus maculatus*, *Centrolphus sp.*, *Cubiceps gracilis*)³⁰⁾와 深海產 硬骨魚類의 筋肉脂質에도 상당량 含有되어 있다.^{6,31)} 특히 rat fish에서 分離된 DAGE는 血小板 活性化因子(platelet activation factor)인 1-alkyl-2-acetyl phosphatidyl choline의 前驅體로서 作用한다는 報告가 있다.³²⁾ DAGE는 垂直移動을 하는 diving fish의 浮力調節에도 影響을 미친다고 한다.³¹⁾ 최근 Hayashi^{33~35)} 등의 報告에 의하면 北西部 太平洋에서 漁獲된 gonatid squid의 肝脂質에도 DAGE가 많이 含有되어 있다고 한다.

한편 squalidae속의 深海產 상어^{36~38)} 및 빙어의 일종인 candlefish (*Thaleichthys pacificus*)³⁹⁾의 肝油에 squalene이 多量 存在하는 것이 알려져 있다. 상어의 경우에 棲息場所가 깊을수록 squalene이 增加하는 傾向이 있는데⁴⁰⁾ 그 原因은 squalene-2,3-oxidase가 深海產 상어에는 存在하지 않아 squalene에서 sterol로의 代謝가 거의 일어나지 않기 때문이라고 한다.⁴¹⁾

이와 같이 水産動物에는 非글리세리드型의 脂質이 多量으로 存在하는 경우가 많다.

最近 遠洋漁業의 發達로 우리나라의 遠洋漁獲高는 날로 增加하여, 1988年度에는 77만 4천톤에 이르

렀으며,⁴²⁾ 이를 種類別로 보면 오징어, 눈다랑어, 명태의 순이었다. 冷棟搬入된 오징어는 생으로, 乾製品, 젓갈, 통조림 및 養魚飼料 등⁴³⁾으로 利用되고 있으며 또 그 肝에서 얻어지는 肝油는 維生素D₃와 eicosapentaenoic acid(EPA)의 給源으로 그 利用度가 날로 增加하고 있다.⁴³⁾

本實驗은 遠洋漁船에서 漁獲된 冷凍오징어를 구입하여 각 部位別 脂質組成을 調査하던 중 肝油중에 R_f치가 DAGE나 triglyceride, wax ester의 그것과 매우 相異한 아직 그 구조가 確認된 바 없는 脂質이 多量 存在하였으므로, 이것을 silica gel column으로 純粹하게 分離하여 infrared spectroscopy(IR)과 nuclear magnetic resonance(NMR)로 未同定 脂質의 構造를 決定하였다. 아울러 gas-liquid chromatography(GLC)로 이 脂質成分의 構成脂肪酸組成도 調査하였다.

II. 實驗材料 및 方法

本材料實驗에 使用한 試料는 北太平洋에서 漁獲되어 3개월 정도 冷凍된 오징어(*Omnastrephes bartami*)를 釜山새벽시장에서 購入하였다. 試料로 使用한 오징어는 3마리로 그 平均 體長은 45.3~51.0 cm였다.

1. 實驗方法

1) 粗脂質 抽出

凍結된 試料를 解凍하여 肝藏과 筋肉으로 나누어 각각에서 粗脂質을 Bligh and Dyer法⁴⁴⁾에 따라 抽出하였다. 즉 各組織의 試料를 磨碎하여 CHCl₃: MeOH(2:1, v/v) 混合溶液으로 抽出하고 다음에 CHCl₃으로 3回 反復 抽出·濾過한 후 여기에 1% NaCl溶液을 가하여 水溶性 物質을 除去하고 CHCl₃층만을 모아 질소가스를 주입하면서 溶媒를 除去하고 粗脂質을 얻었다.

2) 脂質成分의 相互分離⁴⁵⁾

試料脂質을 TLC plate(20×20 cm, thickness 0.2 cm, E. Merck, Darmstadt, Germany)에 標準脂質과 함께 點滴하여 n-hexane: diethyl ether: acetic acid(80:20:1, v/v/v)의 展開溶媒로 展開시킨 후 發色劑로서 50% H₂SO₄를 분무한 다음 炭化시

커, 炭化水素, 스테롤에스터, 未確認脂質, triglyceride, 유리지방산, sterol, 磷脂質 등을 確認하였다.

試料脂質을 silica gel column chromatography로 각 成分을 비교적 純粹하게 分劃하였다. 즉 粗脂質 약 434mg을 活性化시킨 40g의 silica gel 60(70~230 mesh, Merck)으로 充填된 컬럼에 吸着시킨 후 hexane, 1, 3, 5, 10, 12% diethyl ether-hexane, diethyl ether, methanol의 順으로 流出시켜 각 脂質分劃을 얻었다.¹³⁾

3) 未確認 脂質成分의 精製 및 同定

3% diethyl ether-hexane 分劃에서 얻은 脂質成分을 純粹分離하기 위해 rechromatography를 行했다. 즉 3% diethyl ether-hexane 分劃의 脂質을 silica gel 60이 充填된 silica gel column에 吸着시킨 후, hexane:benzene (6:1, 5:1, 4:1, 2:1, 1:1, 1:2, v/v)으로 溶出시켰다. Hexane:benzene의 1:1 流出液에서 未確認 脂質 A, hexane:benzene의 1:2 流出液에서 未確認 脂質 B를 各各 純粹分離하여 TLC로 그 純度を 調査하였고, overlap된 部分은 다시 모아 rechromatography를 行했다. 이렇게 얻은 두 脂質 A와 B의 構造를 IR과 NMR로 밝혔다. IR 測定시 使用한 器機는 Perkin-Elmer IR Spectrophotometer 683이었으며, 測定할 試料를 CHCl₃에 녹인 다음 KBr disc에 얇은 膜을 만들어 測定하였다. NMR 測定은 300 MHz의 Brüker AU-300 NMR spectrophotometer로 行하였으며, 試料를 CDCl₃에 溶解시키고, 여기에 内部標準物質로 TMS를 가하였다.

4) 粗脂質 및 未同定 脂質成分의 脂肪酸分析

試料의 一部를 10% KOH-ethanol로 常法에 따라 加水分解하여 얻은 脂肪酸에 14% BF₃-MeOH를 가하여 65℃에서 30分間 加熱하면서 methyl ester化한 후, TLC로 純度を 確認하고 GLC로 分析하였고,⁴⁶⁾ 分析條件은 Table 1과 같다. 脂肪酸의 同

定은 標準脂肪酸(C14:0, C15:0, C16:0, C16:1ω6, C16:2ω4, C17:0, C17:1ω8, C18:0, C18:1ω9, C18:2ω6, C18:3ω6, C18:3ω3, C19:0, C19:1ω9, C19:2ω6, C20:1ω9, C20:2ω6, C20:3ω6, C20:4ω6, C20:5ω3, C22:4ω3, C22:6ω3, Nu Check Pre., Elysian, Minnesota, U.S.A)의 retention time과 炭素數를 plot한 semilog 紙에서 chromatogram상의 各 peak의 equivalent chain length⁴⁷⁾를 比較하므로써 이루어졌다. 脂肪酸 組成比는 各 peak의 面積백분율이며, 面積計算은 Shimadzu Chromatopac C-E 1B Computer로 行했다.

III. 結果 및 考察

1. 試料의 무게 및 粗脂質 含量

생試料의 體重과 肝臟, 內臟의 무게 및 粗脂質 含量을 Table 2에 나타내었다. 肝臟의 무게는 體重의

Table 1. Operating condition of GLC for analysis of fatty acid methyl esters

| | |
|--------------------------|-------------------------------------|
| Instrument | Shimadzu, GC-7 APTE |
| Column | 3m×3mm(i.d.), stainless steel |
| Support material | Chromosorb W, 60~80 mesh |
| Coating material | 15% DEGS on support material |
| Column temperature | 190℃ |
| Injection & | 250℃ |
| Detector temperature | |
| Detector | FID |
| Carrier gas | H ₂ ; flow rate 40ml/min |
| Air flow rate | 1.0kg/cm ² |
| H ₂ flow rate | 0.5kg/min |
| Chart speed | 5mm/min. |

Table 2. Weight and lipid level of liver and intestine

| | Body weight (g) | Liver | | Intestine | |
|--------------------|-----------------|------------|------------------|------------|------------------|
| | | Weight (g) | Lipid content(%) | Weight (g) | Lipid content(%) |
| <i>O. bartrami</i> | 520 | 45.3 | 40.0 | 47.5 | 1.5 |

10% 內外로서, 肝臟을 除外한 모든 內臟무게의 절반이상을 차지하고 있었다. 肝臟의 粗脂質 含量은 40%로 他內臟의 1.5%보다 훨씬 많았다. Hayashi^{33,34)}는 오징어의 一種인 *Todarodes pacificus* 와 *Berytthis magister*의 肝脂質 含量이 各各 37.8%, 35.2 ± 15.6%라고 報告한 바 있다.

2. 肝脂質의 組成

TLC에 의한 肝脂質 成分을 보면 Fig. 1과 같다. 炭化水素, 스테롤에스터, 트리글리세리드, 유리지방산, 스테롤, 磷脂質 外에 트리글리세리드 보다 R_f 치가 약간 큰 未確認 脂質成分이 存在하였으며, 內臟(肝臟除外) 脂質에도 이 成分이 많이 存在하였다.

Hayashi²⁸⁾에 의하면 rat fish 肝油에서도 R_f 치가 트리글리세리드의 그것보다 큰 2개의 spot가 發見되었는데, 이 중 R_f 치가 낮은 것은 DAGE, 높은 것은 未確認 物質로 報告한 바 있다.

本實驗의 未確認 物質 A와 B를 DAGE 標準品(1,2-di-O-hexadecyl-3-palmitoyl-rac-glycerol, 1-O-hexadecyl-2,3-dipalmitoyl-rac-glycerol)과 함께 TLC상에 co-chromatograph하였더니 R_f 치가 모두 相異하였다.

未確認 物質 A와 B의 R_f 値는 n-hexane:diethyl ether:acetic acid(80:20:1, v/v/v) 溶媒로는 매우 비슷하였으며, 50% H_2SO_4 로 분무한 다음 TLC板을 炭化시킬 때 成分 B는 쉽게 炭化되었으나, 成分 A는 아주 느리게 炭化되었다.

Sakagami 등⁴⁸⁾ Wood 등⁴⁹⁾은 sphingomyelin 이 TLC상에서 2개의 spot를 나타낸다고 하였으며 그것은 構成脂肪酸의 相異한 組成때문이라고 하였다. 즉 fast spot는 주로 炭素數 20以上の 脂肪酸으로, slow spot는 炭素數 20以下の 脂肪酸으로 構成되어 있다고 하였다.

3. 肝脂質의 分劃別 脂質含量

*O. bartrami*의 肝油를 컬럼 크로마토그래피에 의해 分劃한 各 脂質 成分의 含量比는 Table 3과 같다. 즉 트리글리세리드가 28.5%, 未確認 脂質 A와 B가 19.3%, 磷脂質이 27.3%로 重要한 成分이었으며, 그 외 스테롤, 유리지방산, 炭化水素 그리고 스테롤에스터가 少量成分으로 存在하고 있었다. 이와같이

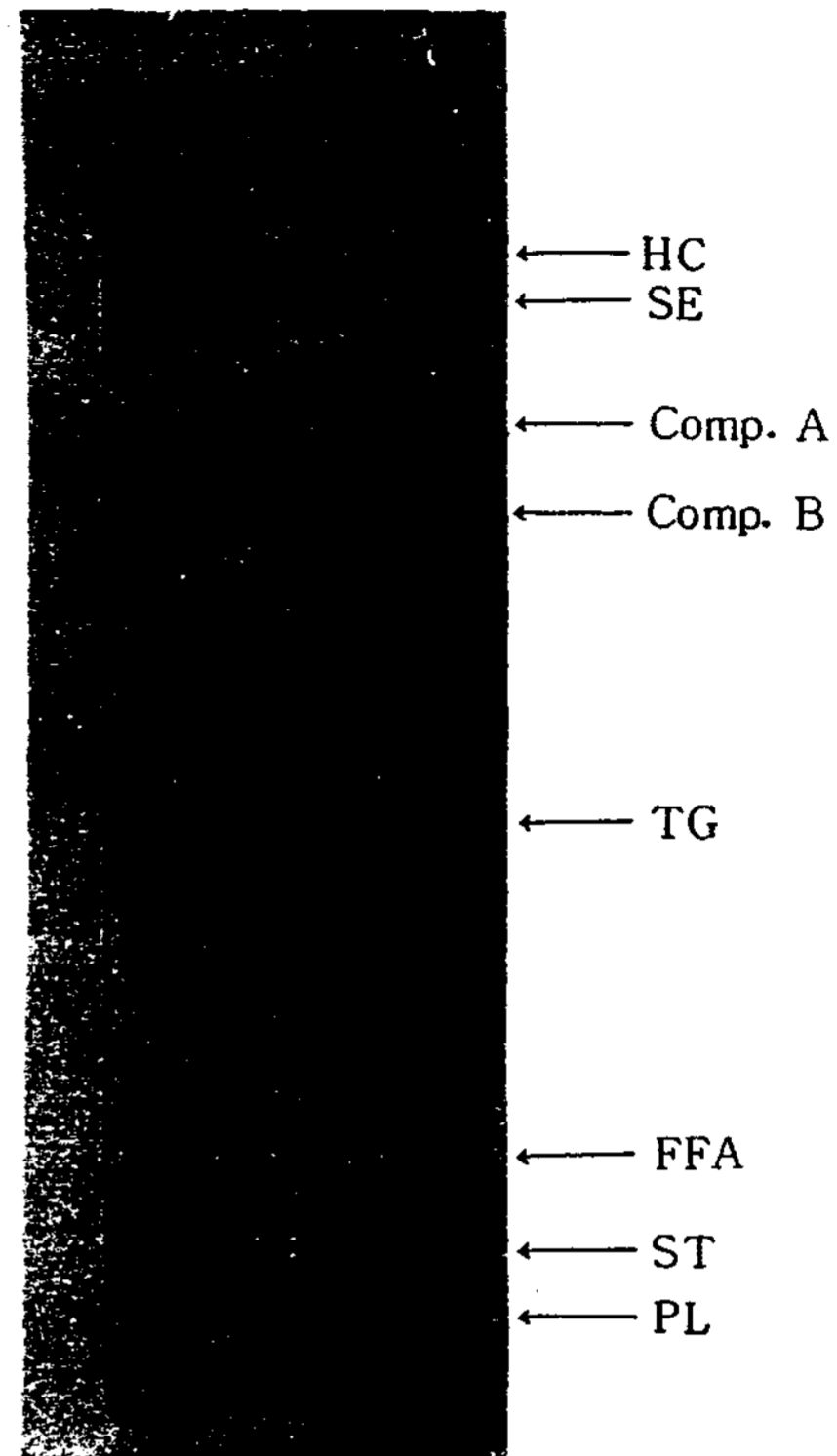


Fig. 1. Thin layer chromatograms of the liver, muscle and intestine oil of *O. bartrami*

Absorbent:silica gel 60, solvent;hexane:diethyl ether:acetic acid(80:20:1 v/v/v)

* HC:Hydrocarbon, SE:Sterol ester, Comp.A: Unknown compound A, Comp.B:Unknown compound B, TG:Triglyceride, FFA:Free fatty acid, ST:Sterol, PL:Phospholipid A: *O. bartrami* liver oil, B:sunflower oil C:*O. bartrami* muscle oil, D:*O. bartrami* intestine oil

未同定 脂質成分이 많은 量이 存在한다는 事實은 매우 特異하다고 하겠다.

Hayashi³³⁾에 의하면 gonatid squid인 *B. magister*와 (*Gonatopsis makko*의 肝脂質에 트리글리세리드가 각각 7.1%, 0.9%인데 비해 DAGE 含量은 49.1%, 69.5%로서 肝油의 절반 또는 그 이상을 DAGE가 차지하는 반면 *T. pacificus*의 경우는 트리글리세리드가 77.7%로 主成分을 이루고 있으나, DAGE는 1%에 不過하다고 하였다.

4. 未確認 脂質成分의 同定

1) IR spectra⁵⁰⁻⁵²⁾

未確認 脂質 A, B의 IR spectra는 Fig. 2-a, b,

Table 4와 같다. 1750 cm⁻¹와 1180 cm⁻¹에서 강한 吸收 spectra는 成分 A와 B가 飽和 ester임을 暗示하고 있으며 3005 cm⁻¹와 3010 cm⁻¹는 分子內 2種 給合의 存在를 意味하고, 720 cm⁻¹의 存在는 2重結

Table 3. Yield and class composition of total lipid from *O.bartrami* liver by column chromatography

| Eluent | Volume (ml) | Lipid component | Yield | |
|----------|-------------|-----------------|-------|------|
| | | | mg | % |
| n-Hexane | 200 | HC** | 22 | 6.7 |
| 1% E-H* | 300 | SE | 11 | 3.3 |
| 3% E-H | 300 | A+B | 63 | 19.3 |
| 5% E-H | 300 | TG | 33 | 10 |
| 10% E-H | 200 | TG | 61 | 18.5 |
| 12% E-H | 200 | FFA | 23 | 7.0 |
| Ether | 300 | ST | 26 | 7.9 |
| Methanol | 300 | PL | 90 | 27.3 |

* Diethyl ether in hexane(v/v)

** HG:Hydrocarbon, SE:Sterol ester, FFA:Free fatty acid, ST:Free sterol, PL:Phospholipid, TG:Triglyceride

A:Unknown compound A, B:Unknown compound B

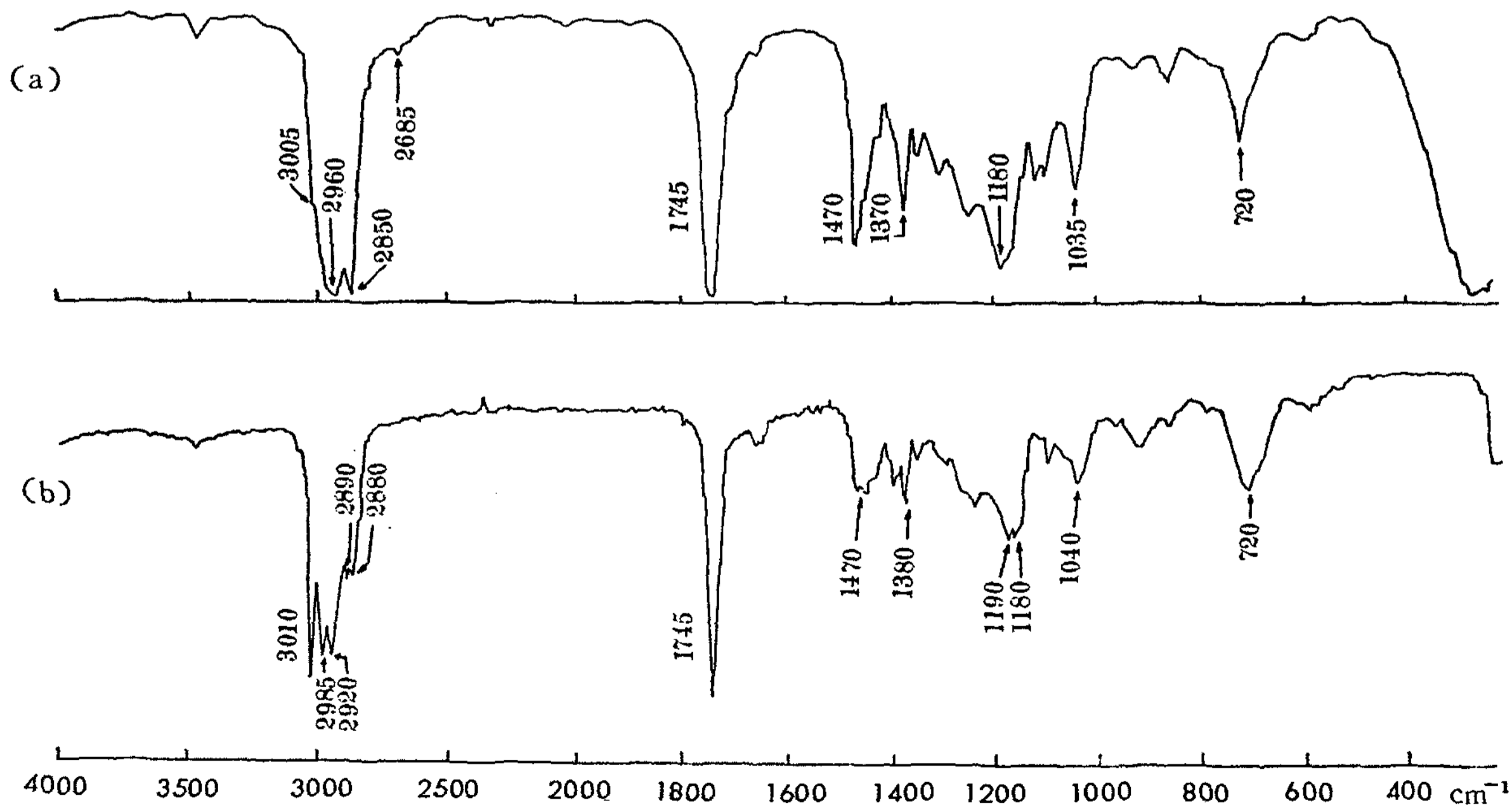


Fig. 2. Ir spectra of unknown compound A and B isolated from the liver oils of *O.bartrami*

a) Compound A

b) Compound B

Table 4. Infrared spectroscopic data for unknown compound A and B

| Type | Absorption (cm ⁻¹) | Assignment |
|--------------------|-----------------------------------|--|
| Unknown compound A | 3000-2850 | C-H stretch in CH ₃ and/or CH ₂ |
| | 1750 | ester $\begin{array}{c} \text{C}-\text{O} \\ \\ \text{O} \end{array}$ |
| | 1460 | C-H stretch in -CH ₂ - |
| | 1370 | C-H stretch in -CH ₃ |
| | 1180 | C-O-C |
| | 1035 | C-O-C |
| | 720 | $\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \diagdown \end{array}$ |
| | 3010-3005 | C-H stretch in $\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \diagdown \end{array}$ |
| | 3000-2850 | C-H stretch in -CH ₃ and/or -CH ₂ |
| | 1750 | ester $\begin{array}{c} \text{C}-\text{O} \\ \\ \text{O} \end{array}$ |
| | 1470 | C-H stretch in -CH ₂ - |
| | 1380 | C-H stretch in -CH ₃ - |
| | 1180 | C-O-C |
| | 1040 | C-O-C |
| | 720 | $\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \diagdown \end{array}$ |

습이 cis-형($\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \diagdown \end{array}$)임을暗示하고 있다. 또 3000 cm⁻¹~2850 cm⁻¹와 1470 cm⁻¹, 1380 cm⁻¹에서의 강한吸收 spectra는 -CH₂-와 -CH₃기의存在에서起因한다.

2) ¹H-NMR spectra⁵³⁻⁵⁵⁾

未確認成分A와 B의 NMR分析結果는 Fig. 3-a, b, Table 5에 나타나 있다. δ 5.37 ppm에서의吸收 signal는 $\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \diagdown \end{array}$ 에 기인하며, 성분A의 δ 5.37 ppm에서의 proton數가 매우 적고, 성분B의 경우는 δ 5.37 ppm에서의 proton數가 훨씬 많았다. 또 성분B는 δ 2.81 ppm에서 -C=C-CH₂-C=C-의 proton에 의한 multiplet가 관찰되었다. 그 성분 모두 δ 2.28 (t) ppm와 4.13 (q) ppm에서吸收 spectra는 이들이 ester임을 증명하는 것이다. 특히 δ 4.13에서의 spectra가 quartet로 나누어지는 것은

CH₃-CH₂-O-C-R의 methyl기에起因한다. 성분

B의 spectra에서 δ 2.81 (m) ppm는 分子內 methylene interrupted conjugated double bond의 存在를暗示하며, δ 2.38 (m) ppm는 CH₃-CH₂CH=CH-의 methylene radical proton에 의한 것으로, 성분B는 ω-3系 alkenyl chain를 가진 分子로推定된다. 이상의結果로 보아서 성분A는飽和 또는 1개 정도의 2重結合을, 성분B는 methylene interrupted conjugated double bond를 가진 ethyl acylates로 생각된다.

3) ¹³C-NMR⁵⁴⁻⁵⁸⁾

成分A와 B의 spectra에서 δ 14.0~14.1 ppm는 $\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{C}-\text{O}-\text{C}- \\ || \\ \text{O} \end{array}$ 의 methyl기의炭素에 의한 것이며,

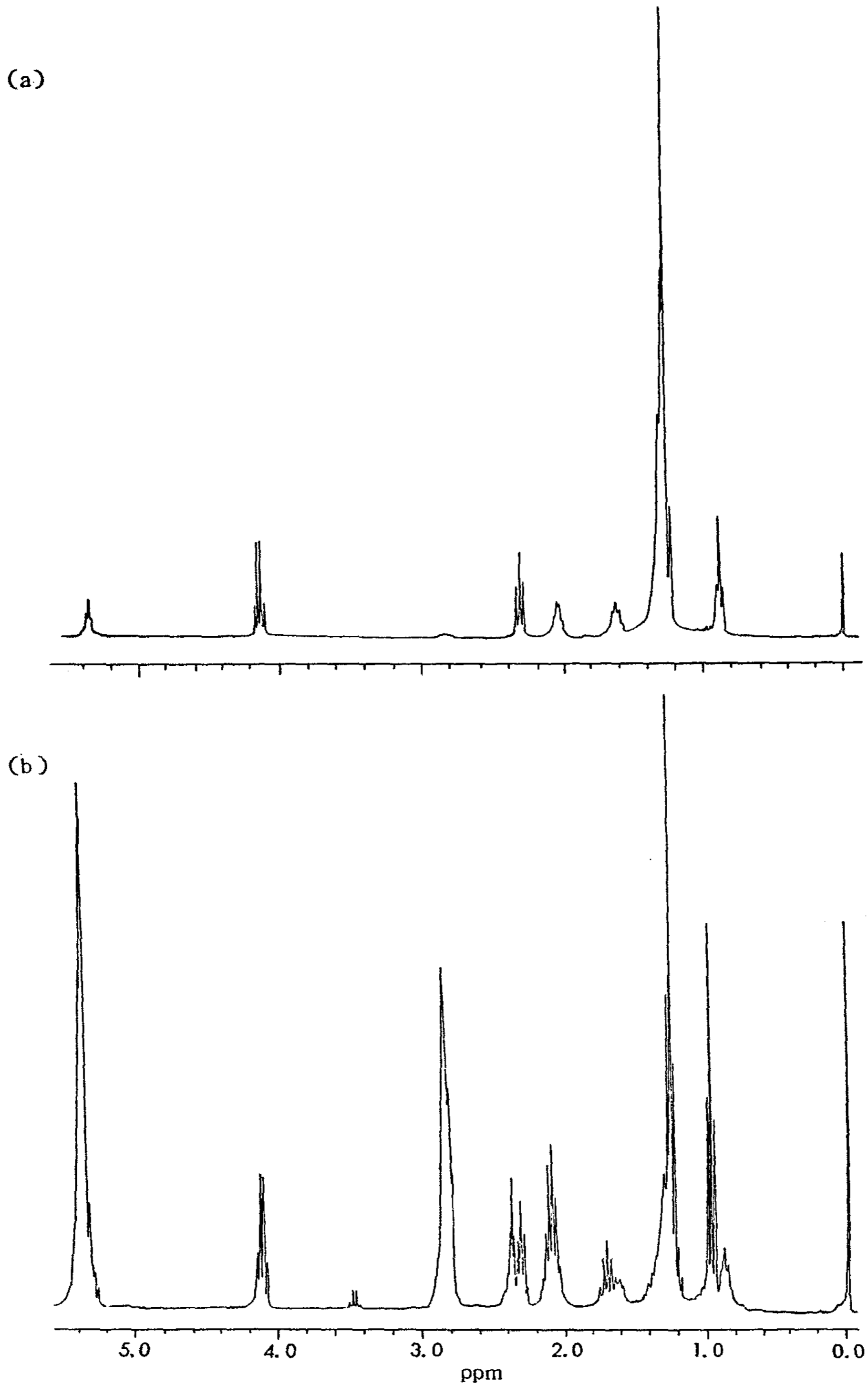


Fig. 3. ¹H-NMR spectra of unknown compound A and B isolated from the liver oils of *O. bartrami*
(a) Compound A (b) Compound B

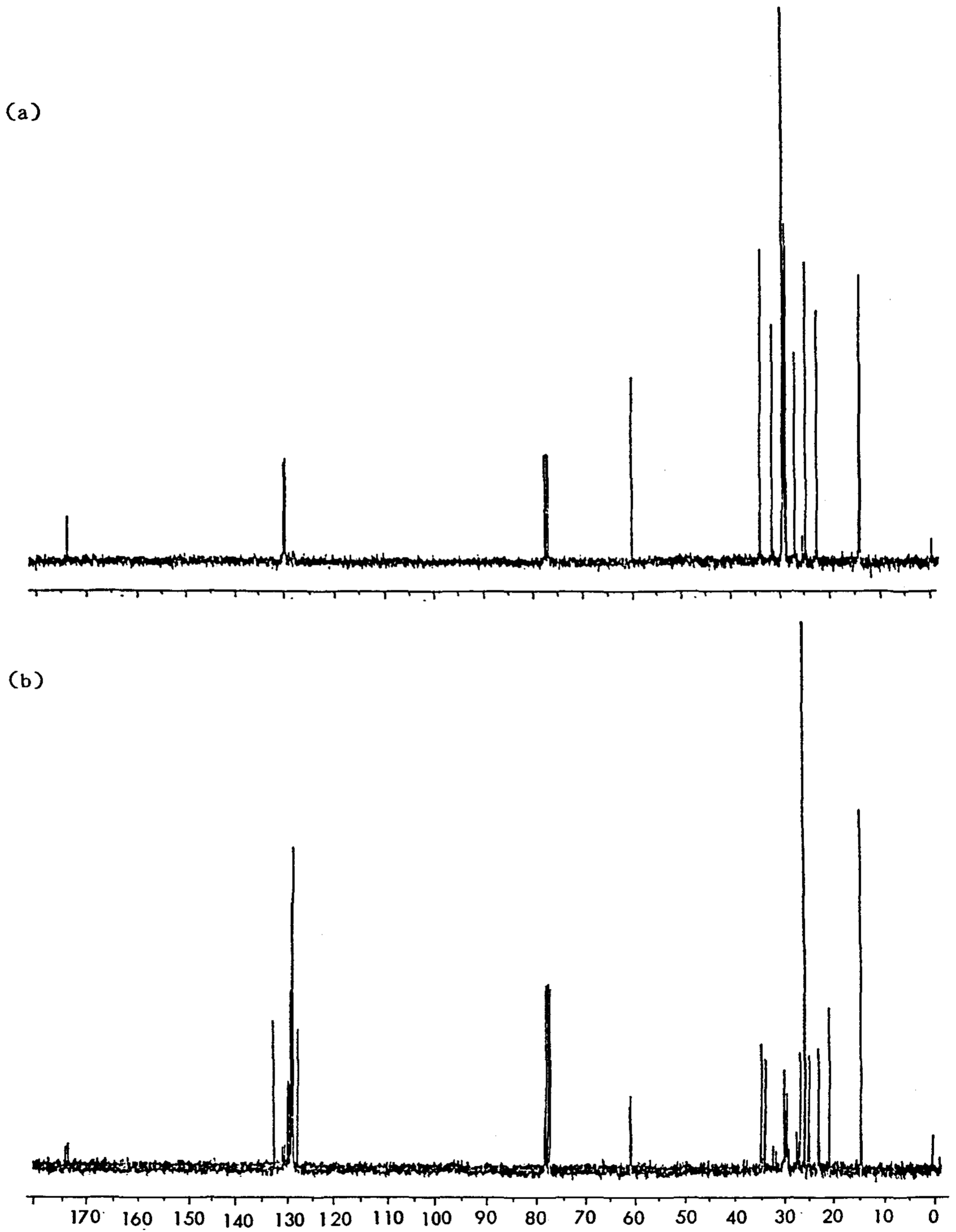


Fig. 4. ^{13}C -NMR spectra of unknown compound A and B isolated from the liver oils of *O. bartami*
a) Compound A
b) Compound B

δ 60.0~60.2ppm는 $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\underset{\text{O}}{\underset{||}{\text{C}}}-\text{R}$ 의 methylene 기의 炭素에 起因하며, 또 δ 173.0~173.8ppm는 $-\text{C}-\text{O}-$ 기 炭素에 由來하므로 成分 A와 B는 et-

hyl acylates임에 확실하다. 成分 B에서 δ 131.9ppm와 126.9ppm는 $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}-$, $\text{CH}_3-\text{C}-\text{CH}=\underline{\text{C}}\text{H}-$ 의 methine 炭素에 의한 것이며, δ 20.5ppm는 $\text{CH}_3-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}=\text{C}-$ 의 methylene 기의 存在를, 또 δ 14.2ppm는 $\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{C}-\text{C}=\text{C}$ 의 methyl 기의

Table 5. Assignments of $^1\text{H-NMR}$ signals of unknown compound A and B

| Compound | Absorption(ppm) | Functional group |
|----------|---|--|
| A | 0.87(t) | $\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{C}-\text{C}-$ |
| | 1.25(t) | $\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{C}-\text{O}-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{R}$ |
| | 1.45(m) | $-\text{C}-(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_m-\text{C}-$ |
| | 1.61(m) | $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{O}-$ |
| | 2.02(m) | $-\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}=\text{C}-$ |
| | 2.28(t) | $-\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{O}-\text{R}$ |
| | 4.13(q) | $-\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{O}-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{R}$ |
| 5.37(m) | $\begin{array}{c} \text{H} \quad \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} = \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \end{array}$ | |
| B | 0.87(m) | $\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{C}-\text{C}-$ |
| | 0.99(t) | $\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{C}-\text{C}=\text{C}-$ |
| | 1.25(t) | $\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{C}-\text{O}-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{R}$ |
| | 1.41(m) | $-\text{C}-(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_m-\text{C}-$ |
| | 1.61(m) | $-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{O}-$ |
| | 1.72(qn) | $-\text{C}=\text{C}-\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{O}-\text{R}$ |
| | 2.07(q) | $-\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}=\text{C}-$ |
| | 2.28(t) | $-\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{O}-\text{R}$ |
| | 2.38(m) | $\text{CH}_3-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}=\text{C}-$ |
| | 2.81(m) | $-\text{C}=\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{C}=\text{C}-$ |
| 4.13(q) | $-\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{O}-\underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{R}$ | |
| 5.37(m) | $\begin{array}{c} \text{H} \quad \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} = \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \end{array}$ | |

Table 6. ^{13}C NMR spectroscopic data of unknown compound A and B

| Compound | Absorption(ppm) | Functional group |
|----------|--------------------------|---|
| A | 14.0 | $\text{CH}_3 - \text{C} - \text{O} - \text{C} -$ O |
| | 14.2 | $\text{CH}_3 - \text{C} - \text{C} -$ |
| | 22.6 | $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{C} -$ |
| | 24.9 | $-\text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{C} - \text{O} -$ O |
| | 25.5 | $-\text{C} = \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} = \text{C} -$ |
| | 27.1 | $-\text{C} = \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{C} -$ |
| | 28.9 | $-(\text{CH}_2)_m - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_n -$ |
| | 29.6 | |
| | 31.7 | |
| | 31.8 | $\text{CH}_3 - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} -$ |
| | 34.3 | $-\text{CH}_2 - \text{C} - \text{O} -$ O |
| | 60.0 | $-\text{CH}_2 - \text{O} - \text{C} -$ O |
| | 129.7 | $-\text{CH} = \text{CH} -$ |
| | 173.8 | $-\text{C} - \text{O} -$ O |
| B | 14.1 | $\text{CH}_3 - \text{C} - \text{O} - \text{C} -$ O |
| | 14.2 | $\text{CH}_3 - \text{C} - \text{C} =$ |
| | 20.5 | $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{C} = \text{C} -$ |
| | 22.6 | $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{C} -$ |
| | 24.6 | $-\text{C} = \text{C} - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{C} - \text{O} -$ O |
| | 25.5 | $-\text{C} = \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} = \text{C} -$ |
| | 26.8 | $-\text{C} = \text{C} = \text{CH}_2 - \text{C} - \text{C} -$ |
| | 29.2 | $-(\text{CH}_2)_m - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_n -$ |
| | 31.5 | $\text{CH}_3 - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} -$ |
| | 33.8 | $-\text{CH}_2 - \text{C} - \text{O} -$ O |
| | 60.2 | $-\text{CH}_2 - \text{O} - \text{C} -$ O |
| | 126.9 | $\text{CH}_3 - \text{C} - \text{CH} = \text{CH} -$ |
| | 127.6 | $-\text{C} = \text{C} - \text{C} - \text{C} = \text{C} -$ |
| | 130.1 | $-\text{C} = \text{C} - \text{C} - \text{C} = \text{C} -$ |
| | 131.9 | $\text{CH}_3 - \text{C} - \text{CH} = \text{CH} -$ |
| 173.0 | $-\text{C} - \text{O} -$ | |
| 173.5 | O | |

存在를 입증한다. δ 25.5ppm는 $-C=C-\underline{C}H_2-C=C-$ 의 methylene 炭素의 存在를 意味하며, δ 127.6 ppm와 130.1ppm는 $-\underline{C}=\underline{C}-C-\underline{C}=\underline{C}-$ 의 methine 炭素(Table 6)를 意味하므로, 成分B는 대부분 ω -3系 methylene interrupted conjugated double

bond를 分子內에 가진 脂肪酸으로 이루어진 ethyl acylates 로 생각된다(Fig. 4-a, b, Table 6).

4) 粗脂質, 成分A 및 B의 脂肪酸 組成

粗脂質과 成分A와 B의 脂肪酸 組成은 Table 7과 같다. 粗脂質의 경우는 $C16:0 > C18:1 > C22:6\omega3$

Table 7. Fatty acid composition of total lipid unknown compound A and B

| Fatty acid | Total lipid | Unknown compound A | Unknown compound B |
|-----------------------------------|-------------|--------------------|--------------------|
| C14:0 | 2.9 | 5.1 | 0.1 |
| 1 | 0.3 | 0.1 | 0.1 |
| C15:0 | 0.7 | 0.6 | |
| 1 | 0.2 | 0.1 | |
| C16:0 | 19.0 | 38.2 | 0.3 |
| 1 | 3.6 | 2.7 | 0.2 |
| C17:0 | 2.1 | 1.2 | 0.1 |
| 1 | 1.1 | 1.3 | 0.1 |
| C18:0 | 5.4 | 7.8 | 0.4 |
| 1 | 16.2 | 13.4 | 1.9 |
| 2 | 1.1 | | |
| 3 | 0.7 | | 1.1 |
| 4 | 1.4 | | |
| C19:0 | | 0.2 | 0.1 |
| 1 | 0.6 | 0.2 | 0.1 |
| 3 ? | 0.6 | | |
| C20:1 | 9.4 | 13.3 | 8.5 |
| 2 | 0.4 | 0.2 | |
| C20:3 ω 3+C20:4 ω 6 | 1.3 | 0.1 | 1.1 |
| C20:4 ω 3 | 0.6 | | 2.7 |
| 5 | 5.9 | | 41.2 |
| C21:1 | 0 | | |
| 4 | 0.1 | 0.2 | 1.8 |
| C22:1 | 6.4 | 11.7 | |
| 4 ω 3 | 0.6 | | |
| C22:5 ω 6 | 2.3 | | |
| C22:5 ω 3 | 1.4 | 3.6 | 4.1 |
| 6 ω 3 | 15.7 | | 36.1 |
| Saturated | 30.1 | 53.1 | 1.0 |
| Monounsaturated | 37.8 | 42.8 | 10.9 |
| Polyunsaturated | 32.1 | 4.1 | 88.1 |
| Even-numbered | 94.6 | 96.2 | 97.8 |
| Odd-numbered | 5.4 | 3.8 | 2.2 |

>C20:1의 순으로 이들의 함유비는 19.0%, 16.2%, 15.7%, 9.4%였다. C22:1, C20:5 ω 3, C18:0도 각각 6.4%, 5.9%, 5.4% 함유되어 있었으며,飽和脂肪酸;모노엔酸;포리엔酸의 비가 30.1:37.8:32.1로 명태肝油⁶⁹⁾의 19:45:36의 비와 매우相異하였다.本實驗에使用한試料과 같은重量의 gonatid squid인 *Berryteuthis magister*의肝에서 얻은粗脂質의脂肪酸을 보면 C18:1이 25.8%로 제일 많았으며, C20:1, C22:6 ω 3, C20:5 ω 3가 14.8%, 10.0%, 9.4%였으나 C16:0는 7.7%에 지나지 않았다.³⁵⁾ 이 gonatid squid 肝脂質의脂肪酸組成에서도飽和脂肪酸:모노엔酸:폴리엔酸의 비가 14.8:57.1:28.1로 역시 모노엔酸의 비가 높았다.

이와같이 앞선結果들이本實驗의結果와相異한것은試料의種類나棲息環境의差異라기보다漁獲後試料의貯藏狀態에서由來하였다고思料된다.

未同定成分A와B의脂肪酸組成을 보면 A에서는 C16:0, C18:1, C20:1 및 C22:1가重要的脂肪酸으로 각각 38.2%, 13.4%, 13.3%, 11.7%였으나,高度不飽和酸은 4.1%에不過하였다.成分B의경우는 이와對照的으로 C20:5 ω 3, C22:6 ω 3가 41.2%, 36.1%로全體의 77%를 차지하였으나,모노엔酸은 10.9%,飽和脂肪酸은 1.0%에 지나지 않았다.

이와같이 ethyl acylates가 오징어의 1種인 *O. bartrami*의組織에存在하는것은 매우興味로우며,肝脂質보다消化管을包含한內臟脂質에 많이存在하고筋肉에는全然存在하지 않는것으로보아(Fig. 1) 오징어를長期間冷凍貯藏하던중微生物에 의하여 트리글리세리드가分解하여 ethyl acylates가生成되었다고 생각된다.

IV. 謝 辭

本 研究는 1989 學年度 東亞大學校 附設 基礎科學 研究所의 研究助成費로 이루어졌음을 밝혀드립니다.

文 獻

1. Mori, M., T.Saito, Y.Nakanishi, K. Miyazawa, and Y. Hashimoto. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*,

- 32(2), 137(1966)
2. Nevenzel, J.C., W. Rodegker, and J.F. Mead, *Biochemistry*, 4(8), 1598 (1965)
3. Nevenzel, J.C., W. Rodegker, T.S. Robinson, and M. Kayama, *Comp. Biochem. Physiol.*, 31, 25 (1969)
4. Nevenzel, J.C., *Lipids*, 5(3), 308 (1970)
5. Hayashi, K. and T. Takagi, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 46(4), 459 (1980)
6. Mori, M., S. Yasuda, and S. Nishimuro, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 44(4), 363 (1978)
7. Hayashi, K. and I. Kashiki, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 54(1), 135 (1988)
8. Mori, M. and T. Saito, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 32(6), 730 (1966)
9. Spener, F. and D. M. Sand, *Comp. Biochem. Physiol.*, 34, 715 (1970)
10. Iyenger, R. and H. Schlenk, *Biochemistry*, 6(2), 396 (1967)
11. Joh, Y.K. and K.B. Koh, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 10(4), 409 (1978)
12. Joh, Y.G., K.H. Lee and Y.J. Cho, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 20(5), 674 (1988)
13. Joh, Y.G., K.H. Lee, and Y.J. Cho, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 21(5), 624 (1989)
14. Sand, D.M. and H. Schlenk, *Lipids*, 4(4), 303 (1969)
15. Pollero, R.J., *Lipids*, 18(1), 12 (1983)
16. Benson, A.A. and L. Muscatine, *Limnol. Oceanogr.*, 19, 810 (1974)
17. Yong, S.D., J.D. O' Conner, and L. Muscatine, *Comp. Biochem. Physiol.*, 40B, 945 (1971)
18. Ciereszko, L.S., M.A. Johnson, R.W. Schmidt, and C.B. Koons, *Comp. Biochem.*, 24, 899 (1968)
19. Kolattukudy, P.E. Biochemistry of plant waxes, in *Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes*, ed. by P.E. Kolattukudy, Elsevier, Amsterdam, 49-91 (1979)
20. Petipa, T.S., *Dokl. Akad. Nauk. USSR*, 156, 1440 (1964)

21. Gatten, R.R. and J.R. Sargent, *Neth. J. Sea Res.*, **7**, 150 (1973)
22. Malins, D.C. and U. Varanasi. The ether bond in marine lipids, in *Ether Lipids*, Chemistry and Biology, ed. by F. Snyder, Academic Press, New York, 297-312 (1972)
23. Litchfield, C., R. Karol, and A.J. Greenberg, *Marine Biol.*, **23**, 165 (1973)
24. Morris, R.J., *Marine Biol.*, **17**, 102 (1972)
25. Shimma, H. and Y. Shimma, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **36**, 1157 (1970)
26. Hansen, I.A. and C.C. Cheah, *Comp. Biochem. Physiol.*, **31**, 757 (1969)
27. Hayashi, K., T. Takaki, and M. Kitagawa, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **49**(5), 777 (1983)
28. Hayashi, K. and T. Takagi, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**(7), 855 (1980)
29. Hayashi, K. and T. Takagi, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **47**(2), 281 (1981)
30. Takada, K., H. Kamiya, and Y. Hashimoto, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **45**(5), 605 (1979)
31. Mori, M., S. Hikichi, H. Kamiya, and Y. Hashimoto, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **38**(1), 56 (1972)
32. Muramatsu, T., N. Totani, and H.K. Mangold, *Chem. Phys. Lipids*, **29**, 121 (1981)
33. Hayashi, K. and K.I. Kawasaki, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **51**(4), 593 (1985)
34. Hayashi, K. and S. Kamamoto, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **53**(1), 137 (1987)
35. Hayashi, K. and S. Yamamoto, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **53**(6), 1057 (1987)
36. Tsujimoto, M., *Kogyo Kagaku Zasshi*, **9**, 953 (1906)
37. Tsujimoto, M., *Kogyo Kagaku Zasshi*, **19**, 277 (1916); Chem. Abstr., 10, 1602 (1916)
38. Tsujimoto, M. and Y. Toyama, *Chem. Umsch. Geb. Fette. Oele., Wachse Harze*, **29**, 27 (1922)
39. Ackman, R.G., R.F. Addison, and C.A. Eaton, *Nature*, **220** (5171), 1033 (1968)
40. Snyder, F. The biochemistry of lipids containing ether bonds, in *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids*, Vol.X, ed. by R.T. Holman, Pergamon Press, London, 287-335 (1969)
41. Takagi, T. Metabolism of squalene and hydrocarbons, in *Non-glyceride-Lipids of Marine Animals* ed. by Japan. Soc. Sci. Fish., Kosheisha Koseigaku, Tokyo, 90 (1982)
42. 농수산물 유통조사 월보, 농수산물 유통공사, **44** (1989.4.25) 수서원
43. 外山健三·高木 徹·渡邊 武: 水産油糧學, 恒星社厚生閣, 東京, 171-186 (1988)
44. Bligh, E.G. and W.J. Dyer, *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911 (1959)
45. Mangold, H.K. Aliphatic lipids, in *Thin-Layer Chromatography*. ed. by E. Stahl, Springer-Verlag, New York, 363-421 (1969)
46. Metcalfe, L.D., A.A. Schmitz, *Anal. Chem.*, **33**(3), 363 (1961)
47. Hofstetter, H.H., N. Sen, and R.T. Holman. *Am. Oil Chem. Soc.*, **42**, 537 (1965)
48. Sakami, T., O. Minari, and T. Orii, *J. Biochem.*, **56**, 294 (1954)
49. Wood, D.S. and S. Holton. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **115**, 990 (1964)
50. Williams, D.H. and I. Fleming., *Spectroscopic Methods in organic Chemistry*, Mcgraw-Hill, (Maidenhead, Berkshire, England), 47-73 (1980)
51. Creswell, C.J. and O. Runquist, *Spectral Analysis of Organic Compounds*, Burgess Pub. Comp., Minneapolis, Minn, U.S.A. 55-91(1970)
52. Eglinton, G. Applications of infrared spectroscopy to organic chemistry, In *An Introduction to Spectroscopic Methods for the Identification of Organic Compounds*, Vol.1., ed. by F. Scheimann, Pergamon Press, Oxford, 123-143 (1973)
53. Silverstein, R.M., G.C. Bassler and T.C. Morrill, *Spectroscopic Identification of Organic compounds* (4th), John Wiley and Sons, New

- York, 181-247 (1981)
54. Lopez, A. and W.H. Gerwick, *Lipids*, **22**(3), 190 (1987)
55. Solem, M.L., Z.D. Jiang, and W.H. Gerwick. *Lipids*, **24**(4), 256 (1989)
56. Batchelor, J.G., R.J. Cushley, and J.H. Prestegard. *J. Org. Chem.*, **39**(12), 1698 (1974)
57. Ng, S. and H.F. Koh. *Lipids*, **23**(2), 140 (1988)
58. Grant, D.M. and E.G. Paul. *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 2984 (1964)
59. Sonntag, N.O.V. Marine oils, in *Baley's Industrial oil and Fat Products*, 1 (4th), ed. by D. Swern, John Wiley and Sons, New York, 452 (1979)