

Compositions of fatty acids and structural identification in human breast milk

Ji-Woo Yoo¹, Young-Soo Keum¹, and Nam Mi Kang² ★

¹Department of Crop Science, Konkuk University, 120 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 05029, Korea

²Department of Nursing, College of Biomedical and Health Science, Konkuk University,
268 Chungwon-daero Chungju-si, Chungcheongbuk-do 27478, Korea

(Received April 19, 2022; Revised November 14, 2022; Accepted November 21, 2022)

모유 중 지방산 조성 및 구조 분석

유지우¹ · 김영수¹ · 강남미² ★

¹건국대학교 식량자원과학과, ²건국대학교 간호학과
(2022. 4. 19. 접수, 2022. 11. 14. 수정, 2022. 11. 21. 승인)

Abstract: Lipidomic analyses of transient breast milk are far more limited than those of other dairy products. As a preliminary analysis of breast milk lipidomes, analytical methods for polar and nonpolar lipids from transient breast milk were developed, and detailed fatty acid profiles were determined in this study. The newly developed methods include solvent fractionation of phospholipids and acyl glycerol, one-pot derivatization to FAMES and pyridylcarbinol esters, and instrumental analysis, including GC-FID and GC-MS. The results indicate that breast milk contains 16 major common fatty acids with 8-22 carbons. Additionally, 29 minor fatty acids were identified, including odd-numbered fatty acids and branched analogues with 11-23 carbons. Their detailed concentrations in different fractions were measured using the internal standard method. In addition to ordinary fatty acids, breast milk contains several branched fatty acids, including iso/anteiso acids with 15-18 carbons. Structural studies have been performed on selected minor fatty acids via chemical synthesis.

요약: 모유의 지질대사체에 대한 연구는 축산유래 유제품의 경우와 비교하여 매우 제한적으로 이루어져 있다. 본 연구는 지용성 대사체 연구의 선행연구로서, 모유중 극성 및 비극성 지질 중의 주요 지방산 조성에 대한 세부적 정량법 및 구조동정을 목적으로 수행되었다. 인지질을 포함한 극성 지질과 비극성 지질의 분리를 위하여 silica gel을 활용한 정제법을 개발하였으며, 효과적인 methyl ester 및 pyridylcarbinol ester 유도체화 방법을 적용하여 개별 분획의 세부적 지방산조성을 분석한 결과, 16종의 필수지방산을 확인하였으며, 이와 함께 29종의 미량 지방산이 확인되어, 구조 분석을 실시하였다. 측쇄 지방산의 경우, 15-18 개의 탄소를 보유한 iso 및 anteiso 지방산이 주요한 것으로 확인되었다.

Key words: human breast milk, lipid, fatty acid, branched fatty acid

★ Corresponding author

Phone : +82-(043)-840-3958 Fax : +82-(043)840-3958

E-mail : nmkang03@kku.ac.kr

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서 론

축산산물로서 우유 등의 유제품에 함유된 대사물 중, 지방산 유도체를 포함한 지질 성분은 영양학적 측면에서 주요한 에너지원이며, 신생아를 비롯한 유아기 식이의 주요한 급원이다. 일반적으로 해당 식품 중 지방산 및 지질의 화학적 조성에 대한 세부적 분석은 매우 다양한 측면에서 이루어져 있다. 한편 모유 관련 연구는 축산물 분석의 경우와 대비하여 매우 제한적으로 수행되어 있으며, 지질의 경우, 주요한 필수 지방산에 한하여 정량적 분석이 실시되고 있다.¹⁻³ 일반적으로 모유의 지질 함량은 2-5% 내외로 보고되고 있으며, 대부분 중성지질로 구성되어 있다. 당지질 및 인지질 등의 극성 지질은 대략 0.1-0.5% 내외를 차지하고 있다.^{2,3} 이와 같은 중성 대비 극성 지질의 함량비는 축산물의 경우와 유사하나, 지방산의 세부 조성에는 큰 차이를 나타내는 것이 알려져 있다.^{1,3} 일반적으로 모유는 축산물 유래 유제품과 비교하여, octanoic acid 등의 단쇄지방산의 함량이 비교적 낮으며, 한편 linoleic acid 및 oleic acid 등의 장쇄불포화 지방산의 함량이 높은 편이다. 또한 eicosapentaenoic acid 및 docosahexaenoic acid 등의 함량 역시 모유 중에 다량 함유되었다고 보고되었다.^{1,4} 그러나 이와 같은 연구는 축산물 유래 유제품 및 식물성 중성지질 등에 일반적으로 존재하는 주요 지방산을 위주로 수행되었으며, 축쇄 지방산 등의 미량 지방산에 대한 구조적 분석은 미비한 상황이다. 본 연구에서는 모유 중 함유 지방산의 세부적 구조 분석을 위하여, 조추출물의 중성 및 극성 지질로 분획하고, fatty acid methyl ester (FAME) 및 fatty acid pyridylcarbinol ester (FAPC) 등의 유도체화를 실시하여, 미량 지방산의 구조 동정을 시도하였다.

2. 연구방법

2.1. 시약 및 기구

지방산 정성 분석에 이용한 지방산 표준품(Supelco 37 Component FAME Mix)은 Sigma-Adrich (St. Louis, MO, USA), 내부 표준 물질로 nonadecanoic acid는 Thermo Fisher Scientific (Osterode am Harz, Germany), 지방산의 추출 및 유도체화에 사용한 클로로포름 및 메탄올 등의 용매와 NaCl 및 염산 등의 시약은 Samchun pure chemical (Pyeongtaek, Korea)의 제품을 사용하였다. 3-Pyridylmethanol (Pyridylcarbinol), BF₃-ether 및 메탄올 등(Sigma-Aldrich Korea), 클로로포름은 Burdik-

Jakson사의 HPLC grade를 사용하였다. 지방산 분리에 사용한 silica gel과 thin layer chromatography (TLC) plate는 Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Germany)에서 구매하였고, PTFE 필터는 whatman (Whatman, Dassel, Germany)사에서 구입하여 사용하였다.

시료는 Multi-Vortex (Taeshin Bio Science, Namyangju, Korea)로 진탕하여 추출하였으며 원심 분리시에는 Hanil (Hanil Science Industrial, Incheon, Korea)사의 냉장원심분리기 (Centrifuge MICRO 17TR, HB-48)를 사용하였다.

검체는 기증받은 모유를 -80°C에 보관하고 시험에 사용하였다. 분유는 시중에서 판매하는 저체중아 및 재태기간 37주 미만의 조산아용 가루 분유와 액체 분유를 각각 구매하여 모유와 동일한 방법으로 저장하여 시험에 사용하였다.

2.2. 실험 방법

2.2.1. 조지방추출법

모유 중 지질 추출은 two-step Bligh & Dyer의 방법을 사용하였다. 가루 분유는 14% 조유 농도로 조제하여 추출을 진행하였다. 검체 0.2 mL에 클로로포름/메탄올(1/2, v/v) 0.75 mL를 첨가한 후 vortex를 이용해 10분간 진탕하였다. 클로로포름과 1 M NaCl 용액을 각각 0.25 mL 첨가하여 진탕 후 2,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리 하여 단백질 디스크 아래 유기 용매층을 전량 취하였다. 0.25 mL의 클로로포름을 첨가해 1분간 vortex하여 지질을 한 번 더 추출한 후 2,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 얻은 유기 용매층 전량을 위의 용액과 합하였다. 합한 용액은 SpeedVac Vacuum Concentrator를 이용하여 용매를 제거하였다.

2.2.2. 극성 및 비극성 지질의 분획화

모유에서 추출한 지질은 silica gel 칼럼을 이용하여 극성 지질과 비극성 지질을 분리하였다. 0.2 g의 silica gel을 포함한 실린더에 1 mL의 MTBE (tert-Butyl methyl ether)를 넣어 pre-activation 시켜 칼럼을 준비하였다. 모유 0.2 mL에서 추출한 지질을 0.2 mL의 MTBE (tert-Butyl methyl ether)에 녹인 후 칼럼에 넣고 1 mL의 MTBE/acetic acid (100:0.2, v/v)를 넣어 초당 1~2 방울이 용출되도록 받아 Fraction 1 (무극성 지질)로 명명하였다. 고정상의 상단이 노출되기 전 1 mL의 MTBE/메탄올/ammonium acetate (10:4:1, v/v)를 넣어 초당 1~2 방울의 속도로 용출되도록 받아 Fraction 2 (극성 지

질)로 명명하였다.

각 fraction은 TLC를 이용해 극성에 따른 분리를 확인하였다. 모세관 튜브를 이용하여 각 fraction을 silica plate (10 cm × 10 cm)에 로딩하였다. 이동상으로는 hexane:ether:acetic acid (80:20:1, v/v/v)를 이용하여 chamber에서 30분간 전개하였다. 진한 황산을 TLC판에 뿌린 후 120 °C에서 1시간 반응시켜 샘플의 위치를 확인하였다.

2.2.3. 지질의 유도체화 및 기기 분석 조건

상기의 극성 및 비극성 지질분획의 지방산은 vacuum concentrator (Operon, Gimpo, Korea)를 이용해 용매를 제거한 후 Fatty acid methyl ester(FAME) 유도체화를 진행하였다. 5% HCl을 포함한 메탄올 0.5 mL을 첨가하고 60 °C에서 2시간동안 반응시켰다. 0.5 mL 1% NaCl 용액을 첨가하고 0.2 mL의 hexane:MTBE (1:1, v/v)를 이용해 FAME를 추출한 후 PTFE filter로 여과하여 기기분석을 진행하였다. 가루 분유와 액체 분유는 지방산의 농도가 높아 10 배 희석하여 동일한 방법으로 유도체화를 진행하였다. 한편 pyridylcarbinol

ester는 Kim 등의 방법을 이용하여 유도체를 합성하여 분석하였다.⁵

FAME 및 pyridylcarbinol ester는 shimadzu (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)사의 기체크로마토그래프-질량 분석기 (gas chromatograph-mass spectrometer, Shimadzu GC-MS QP 2010 SE) 및 Agilent (Agilent Technologies, Palo Alto, California, USA)사의 기체크로마토그래프-불꽃 이온화 검출기(gas chromatograph-flame ionization detector, Agilent 7890B)를 이용하여 대상성분을 분석하였다. GC-MS에서 사용한 칼럼은 Rtx-5MS column (30 m, 0.5 µm film thickness, 0.25 mm i.d.)을 선택하고 이동상으로는 헬륨을 1 mL/min의 유속으로 이용하였다. 샘플은 1 µL를 주입하여 split mode (split ratio 1:20)로 분석하였다. GC-FID에서 사용한 칼럼은 Fused silica Rtx-2330 column (30 m, 0.2 µm film thickness, 0.32 mm i.d.)을 선택하고 이동상으로는 질소를 1 mL/min의 유속으로 사용하였다. 샘플 주입량은 10 µL이며 5 split mode로 분석하였다. GC-MS와 GC-FID의 칼럼 오븐 온도 프로그램을 포함한 분석 조건은 Table 1과 같다. GC-MS를 통해 분석한 성분의 구조는 MS

Table 1. Composition of major fatty acids in neutral and polar lipid fractions in human breastmilk^a

Class	Fatty acid	Neutral lipid (% of total)		Polar lipid (% of total fatty acids)	
		Average (SD)	Range	Average (SD)	Range
Saturated fatty acids	C8:0	0.22 (0.11)	0.07-0.51	0.47 (0.24)	0.00-1.05
	C10:0	2.40 (0.87)	1.10-4.62	3.91 (2.13)	1.10-7.88
	C12:0	10.94 (3.51)	5.98-19.81	23.80 (7.91)	5.30-39.12
	C14:0	7.63 (2.54)	3.47-13.69	8.63 (2.31)	5.00-15.72
	C16:0	16.74 (2.07)	13.76-21.72	15.96 (3.99)	9.43-24.47
	C18:0	3.98 (0.74)	2.62-5.79	5.05 (0.87)	3.32-7.11
	Saturated	41.91		57.82	
Unsaturated fatty acids	C16:1	2.32 (0.93)	0.86-4.33	2.77 (1.72)	0.64-6.23
	C18:1n9c	29.20 (3.86)	21.83-36.26	5.05 (0.87)	3.32-7.11
	MUFA ^b	31.52		7.82	
	C18:2n6c	19.05 (3.35)	12.29-26.02	14.33 (5.06)	6.91-28.05
	C18:3n6	0.51 (0.56)	0.05-2.72	6.26 (3.94)	0.12-16.97
	C18:3n3	4.05 (1.25)	1.76-6.63	7.08 (3.74)	1.98-19.37
	C20:2	0.46 (0.16)	0.29-1.10	0.84 (0.53)	0.12-2.19
	C20:3n6	0.44 (0.13)	0.30-0.79	0.84 (0.59)	0.12-2.64
	C20:4n6	0.79 (0.20)	0.46-1.27	2.81 (1.62)	0.70-6.87
	C22:2	0.31 (0.24)	0.11-1.42	0.90 (0.77)	0.12-3.15
	C22:6n3	0.94 (0.59)	0.28-3.66	1.30 (0.73)	0.45-3.82
PUFA ^b	26.57		34.36		
Total UFA ^b	58.09		42.18		

^aTotal number of samples (n = 32)

^bAbbreviations: unsaturated fatty acids (UFA); mono-unsaturated fatty acids (MUFA); poly-unsaturated fatty acids (PUFA)

library (Wiley mass spectral library 8th edition)를 이용하여 추정하였고, GC-FID를 통해 분석한 성분은 FAME 표준품(Supelco 37 Component FAME Mix)와 대상 성분의 머무름 시간을 비교하여 정성하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 조지방 추출물(Method development of fatty acid extraction)

조지방 추출물은 silica gel을 활용한 분획화 과정을 통하여, 인지질 및 중성지질로 분리하였으며, 그 결과, 극성 및 중성지질의 분리를 확인할 수 있었다. 모유 시료의 경우, 극성 지질 및 중성지질의 함량은 각각 0.15(\pm 0.12) 및 11.32(\pm 5.89) g/L로 확인되었다. 이는 기존의 연구결과와 일치하는 결과로서 모유의 경우 일반적으로 활용되고 있는 우유 등 유제품의 경우와 비교하여, 인지질 등의 극성 지질의 함량이 중성지질에 비하여 소량(1-2%) 존재하고 있음을 확인할 수 있었다.^{6,7}

3.2. 주요 지방산 성분(Composition of major fatty acids)

극성 지질의 경우 중성지질과 비교, 그 함량은 적으나, 모유에 의한 다양한 신생아 건강에 영향을 반영하는 인자 중의 하나로서 다양한 생리활성을 지니고 있으며, 지방산 조성에 있어서도 중성지질과 비교, 유의성 있는 차이가 있음이 보고된 바 있다.⁸ 이와 같은 보고를 참고하여, 해당 분획별 세부 지방산 조성을 비교하였다(Table 1).

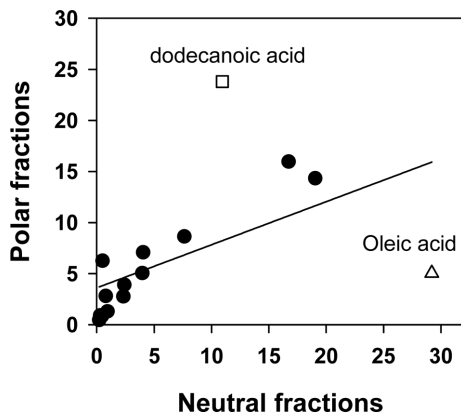


Fig. 1. Correlation between the percent compositions of individual fatty acids in neutral and polar lipid fractions.

GC-FID 및 GC-MS를 활용하여 비교 분석을 실시한 결과, 16 종의 필수지방산을 확인하였으며, oleic acid 및 linoleic acid가 주요한 지방산으로 확인되었다. 한편 중성지질과 극성 지질 분획의 지방산 조성 분석을 비교한 결과, 두 분획에 존재하는 지방산의 함량비간에는 통계적 유의성이 있는 상관관계를 발견할 수 있었다(Fig. 1). 그러나 세부 비교결과, 일부 지방산의 경우 분획간 존재비율에 큰 차이를 보였다. 특히 dodecanoic acid 및 oleic acid의 중성 및 극성분획 중 함량비는 각각 10.94/23.80 및 29.2/5.05%로 나타나 지방산 유도체의 생체내 대사상의 차이점을 반영하고 있었다. 한편 다양한 생리활성 지질의 전구체로 활용되는 linolenic acid의 경우에도 분획간 차이를 보였으며, 중성분획의 경우, α -linolenic acid가 대부분을 차지한 반면, 극성 분획의 경우 α -linolenic acid와 유사한 수준의 γ -linolenic acid가 검출되었다. 기존 연구의 대부분은 모유 중 지방산 조성분석에 있어, 분획화 과정을 거치지 않고, 중성 및 극성지질 전반에 분포하는 지방산 조성에 대한 분석을 실시하였으며, 따라서 해당 연구의 결과를 본 연구와 직접적 비교는 어렵다. 그러나 중성분획이 지질의 대부분을 차지하는 것을 고려할 때, 전반적 지방산 조성에 대한 비교 연구는 가능할 것으로 사료된다. 이와 같은 점을 고려하면 본 연구에서 나타난 주요 지방산의 조성은 기존 연구와 유사한 결과를 나타내고 있었다.^{8,9} 한편 α -linolenic acid 및 γ -linolenic acid의 경우, 유럽 및 아시아권 산모 유래의 분석결과에 따르면 α -linolenic acid의 경우 총 지방산함량에 대하여 0.5-4% 내외를 차지하며, 한편 γ -linolenic acid는 대부분의 경우 0.1% 내외인 것으로 알려져 있다.^{8,9} 이와 같은 경향성은 본 연구의 중성지질 중 함량분석결과와 유사한 것이지만, 극성분획의 경우 다량의 γ -linolenic acid (6% 내외)로 나타나 지질 분획간의 큰 차이점을 확인할 수 있었다.

한편 이와 같은 주요 지방산과 함께, 모유 중에는 다양한 특성을 지닌 미량 지방산이 함유되어 있음이 확인되었다(Table 2). 이와 같은 미량 지방산의 구조는 크게 1) 홀수개 탄소를 함유한 지방산류 (예: pentadecanoic acid, heptadecanoic acid), 2) 불포화지방산류 (cis- 및 trans 이성질체 등), 및 3) 측쇄지방산 (예: 14-methylhexadecanoic acid) 등으로 구분할 수 있었다. 측쇄지방산의 경우 전체지방산 대비 0.1-0.4%내외로 함유되어 있었으며, 홀수개 탄소를 보유한 지방산은 최대 0.7% 내외를 차지하고 있었다. 불포화지방산의 경우 대부분 주요 지방산과 동일한 탄소수를 지니되, 이중 결합의

Table 2. Percent composition of minor fatty acids in neutral lipid fractions in human breastmilk

Class ^a	Name	Percent ^b	Class	Name	Percent
SFA	Undecanoic acid	0.01±0.01	UFA	Octadecenoic acid	0.19±0.08
	Tridecanoic acid	0.03±0.02		Octadecadienoic acid 1	0.02±0.01
	Pentadecanoic acid	0.30±0.13		Octadecadienoic acid 2	0.16±0.49
	Heptadecanoic acid	0.38±0.12		10-Nonadecenoic acid	0.04±0.01
	Heneicosanoic acid	Trace		Nonadecadienoic acid	0.02±0.01
	Tricosanoic acid	0.01±0.01		15-Tetracosenoic acid	0.07±0.07
UFA	Dodecenoic acid 1	trace	BFA	12-Methyltridecanoic acid	0.01±0.08
	Dodecenoic acid 2	0.01±0.01		13-Methyltridecanoic acid	0.04±0.01
	Dodecenoic acid 3	0.01±0.01		12-Methyltetradecanoic acid	0.05±0.02
	Tetradecenoic acid 1	0.01±0.01		14-Methylpentadecanoic acid	0.06±0.02
	Tetradecenoic acid 2	0.01±0.01		15-Methylhexadecanoic acid	0.09±0.06
	Tetradecenoic acid 3	0.20±0.13		14-Methylhexadecanoic acid	0.15±0.09
	Pentadecenoic acid	0.02±0.01		16-Methylheptadecanoic acid	0.03±0.01
	7,10-Hexadecadienoic acid	0.07±0.05			
	7-Hexadecenoic acid	0.42±0.21			
	9-Heptadecenoic acid	0.26±0.11			

^aAbbreviation of fatty acid class: SFA, saturated straight-chain fatty acids; UFA, unsaturated straight-chain fatty acids; BFA, branched-chain fatty acids.

^bPercent of specific fatty acids in total fatty acids, including major fatty acids

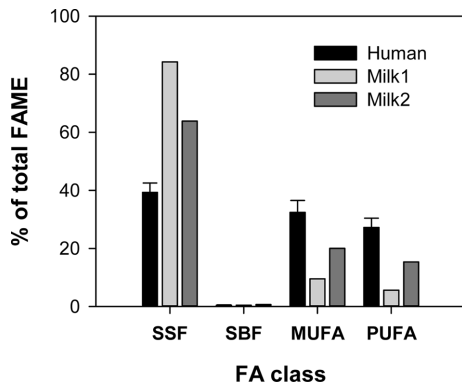


Fig. 2. Comparison of fatty acid compositions of human breastmilk and formulated infant milks. Abbreviations: SSF, saturated straight-chained fatty acids; SBF, saturated branched-chained fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids.

위치가 다르거나, 일반적으로 *cis*-결합을 지닌 주요 지방산의 유도체로서 *trans*-결합을 형성한 화합물이 대부분을 차지하고 있었다.

한편 이와 같은 방법으로 모유 수유에 어려움이 있을 경우, 활용되는 신생아용 조제유에 대한 지방산 조성분석을 실시하였다. 선정된 조제유는 신생아용으로 일반적으로 활용되는 2종을 선정하였으며, 극성 및 비극성 지질 모두를 포함하는 전지방산조성 분석을

수행하였다. 조제유의 화학적 조성 중 특히 불포화 지방산 함량이 모유(59%)와 비교하여 매우 낮은 것으로 나타났다(Fig. 2).

3.3. 지방산의 구조동정(Structural determination of branched fatty acids)

일반적으로 지방산의 구조 동정은 표준품을 활용하여 GC 또는 GC-MS의 머무름시간 (retention time)을 비교하거나, 이와 함께 mass spectrum의 fragmentation pattern 등을 비교하여 실시된다. 그러나 지방산 분석 시 활용되는 fatty acid methyl ester (FAME)의 경우, GC-MS 이온화방법으로 일반적으로 활용되는 electron impact (EI) mode로 운용할 경우, 분자이온은 물론 fragment ion을 활용하여 분석하는 것이 어려운 편이다. 이와 같은 경향성은 EI mode상 fragmentation이 매우 강하게 진행되어 분자구조를 유추하기에 적합한 개별 이온을 확인하기 어렵기 때문이다. 이와 같은 문제점을 고려하여 지방산의 mass spectrometry (MS) 분석 시 비교적 안정적인 fragment ion을 산출하는 다양한 유도체화 방법이 활용되고 있다. 대표적인 방법으로는 pyrrolide, 4,4'-dimethylloxazolines (DMOX), 및 3-pyridylcarbinol ester법 등이 있다.¹¹⁻¹⁴ 이와 같은 방법은 관련 유도체의 이온화 과정에서 비교적 안정적으로 methylene group의 순차적 제거를 나타내는 지표 이온을 생성한다는 공통점이 있으며, 따라서 분석 대

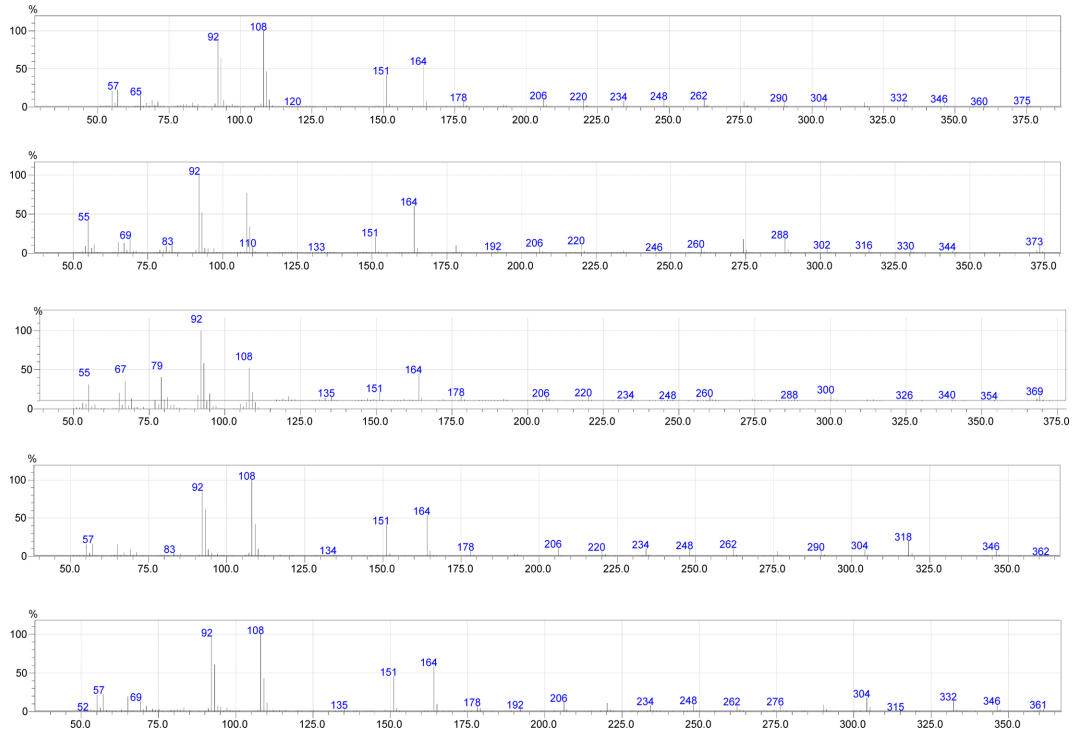


Fig. 3. Mass spectrum of selected fatty acid 3-pyridylcarbinol esters of stearic acid (A), oleic acid (B), linoleic acid (C), 15-methylhexadecanoic acid (D), and 14-methylheptadecanoic acid (E).

상 지방산의 분자이온 및 이중결합 또는 측쇄지방산의 경우, 분지된 위치 등 관련 세부 정보를 제공한다는 점에서 적극 활용되는 방법이다. 다만 DMOX법은 반응의 진행에 있어, glyceride 등 일반적으로 발견되는 지질을 분석하고자 할 경우, 고온 및 장시간의 반응이 필요하여, 불포화지방산 등의 분석에는 활용도가 낮은 편이다.¹²⁻¹⁴ 한편 지방산 3-pyridylcarbinol ester (FAPC)의 경우, 다양한 반응 조건 및 적용 가능한 지질구조 등으로 인하여 다수 분석에서 활용되고 있으며, 본 연구에서는 미량지방산 중 측쇄지방산의 분석에 해당 유도체화법을 적용하였다.

본 연구에서 확인된 측쇄지방산은 총 탄소수 14-18 내외의 화합물이었으며, 측쇄는 메틸기인 것으로 밝혀졌다. 일반적으로 측쇄지방산은 지방산 말단 부위의 메틸기 위치에 따라 iso 및 anteiso 등으로 구분되며, leucine, isoleucine 및 valine과 같은 측쇄아미노산 유래의 전구체를 가지는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁻¹⁶ 모유 시료에서 확보된 FAME를 FAPC로 전환하여 분석을 실시하여 해당 화합물의 GC-MS 분석을 통하여 각 화합물의 mass spectrum을 획득하였으며, fragmentation

pattern을 바탕으로 구조를 동정하였다(Figs. 3-4). 해당 화합물의 mass spectrum을 검토한 결과, 일반적으로 다량 존재하는 직쇄 지방산의 경우, 분자이온으로부터 순차적으로 methylene기 (m/z 14)가 제거된 daughter ion을 확인할 수 있었다. 반면 iso 및 anteiso 지방산은 메틸기의 분지가 있는 탄소의 경우 해당 위치 전후에 분지된 메틸기와 연결된 탄소가 동시에 이탈하는 현상 (m/z 28)이 관찰되었으며, 이와 같은 현상은 직쇄 화합물에서는 발견되지 않았다. 이와 같은 분석 결과, 총 7종의 측쇄지방산 (iso 지방산 5종, anteiso 지방산 2종)이 확인되었으며 화합물에 따라 총지방산 함량대비 0.01-0.15% 내외로 존재함이 확인되었다.

4. 결론

본 연구에서는 모유 중 지질 대사물에 대한 대사화학적 연구의 선행 연구의 일환으로서 주요 지방산에 대한 정량분석 및 미량지방산에 대한 구조동정을 실시하고자 하였다. Silica gel을 활용한 지질 조추출물의 극성 및 중성지질로의 간편한 분획화 과정을 확립

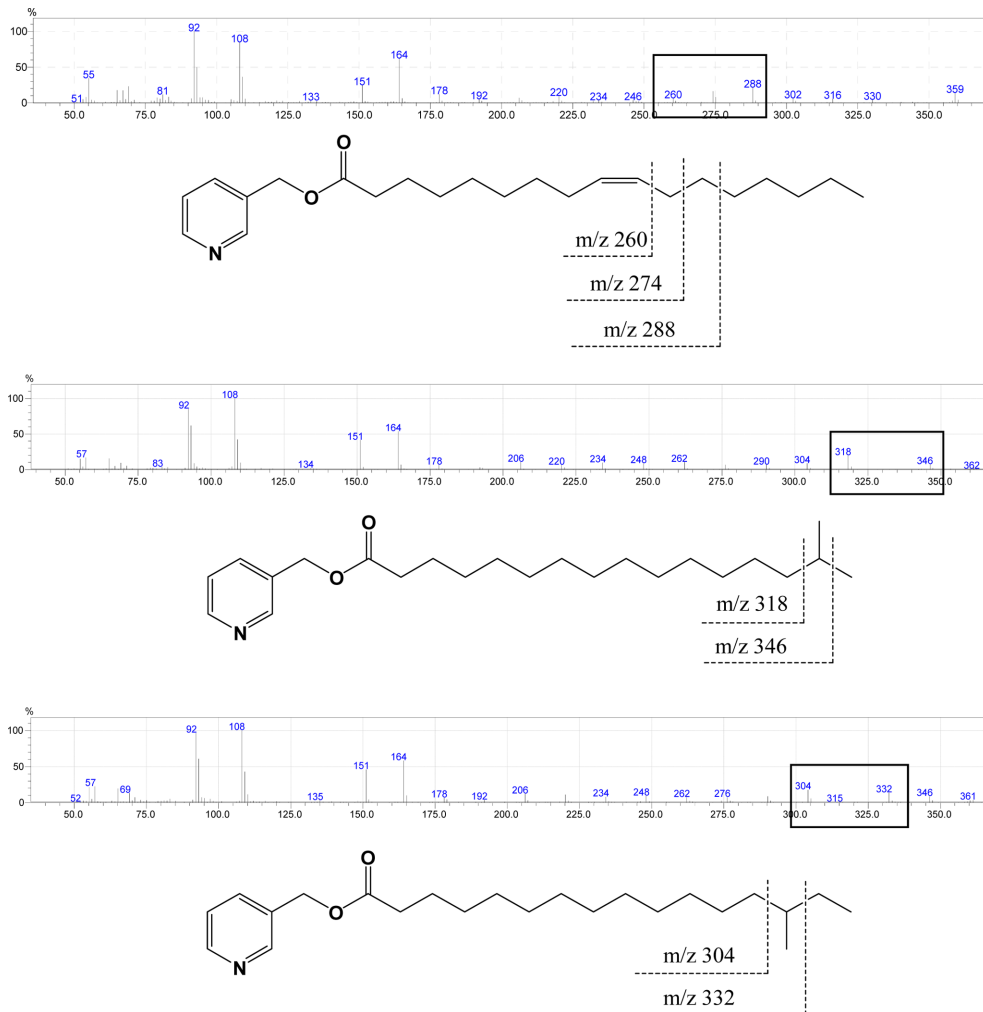


Fig. 4. Identification of selected fatty acid 3-pyridylcarbinol esters. Mass spectra 3-pyridylcarbinol ester of 9-heptadecenoic acid (A), 15-methylhexadecanoic acid (B), and 14-methylhexadecanoic acid (C).

하였으며, 개별 분획의 지방산조성 분석을 실시하였다. 본 연구 결과 필수지방산 16종, 미량지 지방산 29종을 포함한 총 45종의 지방산을 확인하였으며, 지질분획간 일부 지방산의 경우 존재비율이 매우 상이함을 확인할 수 있었다. 한편 신생아용 조제유와 모유의 지방산 조성을 분석한 결과, 일부 기능성 지방산의 함량에는 큰 차이가 없었으나, 검정대상 조제유 모두에서 불포화지방산 함량이 모유와 비교하여 매우 낮은 점을 확인하였다. 본 연구에서는 미량지방산의 3-pyridylcarbinol ester를 활용한 분석을 통하여, 축쇄지방산의 세부구조를 확인할 수 있었다. 이와 같은 분석결과를 종합하여, 향후 모유 중 지질 대사체의 분석을 실시하고자 한다.

또한, 냉동보관된 기증모유의 대사체분석 결과를 통해 기증모유의 품질 안정성에 관한 추후 연구가 요구된다.

감사의 글

이 논문은 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2020R1A2C1005082).

References

1. L. M. Floris, B. Stahl, M. Abrahamse-Berkeveld, and I.

- C. Tellera, *Prostaglandins Leucot. Essent. Fatty Acids.*, **156**, 102023 (2020).
2. R. A. Gibson and G. M. Kneebone, *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 252-257 (1988).
3. H. S. Kim, S. J. Kang, B. M. Jung, H. Y. Yi, J. A. Jung, and N. S. Chang, *Br. J. Nutr.*, **117**, 556-561 (2017).
4. K. H. Jackson, J. Polreis, L. Sanborn, D. Chaima, and W. S. Harris, *Int. Breastfeeding J.*, **11**, 1 (2016).
5. C. H. Kim, D. H. Lim, and Y. S. Keum, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **93**, 339-346 (2016).
6. R. G. Jensen, A. M. Ferris, C. J. Lammi, and R. A. Henderson, *J. Dairy Sci.*, **73**, 223-240 (1990).
7. R. G. Jensen, The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.*, **85**, 295-350 (2002).
8. X. Q. Zou, Z. Guo, J. H. Huang, Q. Z. Jin, L. Z. Cheong, X. G. Wang, and X. B. Xu, *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 7158-7167 (2012).
9. M. T. T. Nguyen, J. Kim, N. Seo, A. H. Lee, Y. K. Kim, J. A. Jung, D. L. Xuan, and J. Kim, *J. Dairy Sci.* **104**, 6496-6507 (2021).
10. M. Jagodic, J. S. Tratnik, D. Potocnik, D. Mazej, N. Ogrinc, and M. Horvat, *Food Chem. Toxicol.*, **141**, 111299 (2020).
11. W. W. Christie, E. Y. Brechany, S. B. Johnson, and R. T. Holman, *Lipids*, **21**, 657-661 (1986).
12. Y. Cao, L. Yang, H. L. Gao, J. N. Chen, Z. Y. Chen, and Q. S. Ren, *Chem. Phys. Lipids*, **145**, 128-133 (2007).
13. W. W. Christie, J. T. G. Hamilton, and D. B. Harper, *Chem. Phys. Lipids*, **97**, 41-47 (1998).
14. F. Destailats and P. Angers, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **79**, 253-256 (2002).
15. T. Kaneda, *J. Biol. Chem.*, **238**, 1229-1235 (1963).
16. H. Oku, N. Fumatori, K. Masuda, Y. Shimabukuro, T. Omine, and H. Iwasaki, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**, 2106-2114 (2003).

Authors' Positions

Ji-Woo Yu : Graduated student
Nam Mi Kang : Professor
Young-Soo Keum : Professor