

# 大豆 成熟中 4-Desmethyl Sterol의 組成變化

양민석\* · 이영근 · 손병효 · 김용권

\*경상대학교 농화학과  
밀양농림전문대학 식품제조학과

## Changes in the 4-Desmethyl Sterol Composition of Soybean Seed and Pod during Maturation

Yang, Min-Suk\* · Lee, Youn-Guen ·  
Son, Byung-Hyo · Kim, Yong-Gyun

\*Dept. of Agric. Chem., Geongsang National Univ.  
Dept. of Food Manufacturing, Miryang National  
Agric. Seric. Junior College

(Received Aug. 15, 1986)

### ABSTRACT

Compositional and quantitative changes of 4-desmethylsterols in soybean (*Glycine max.* cv. Gangrim) seed and pod at six stages of development from flowering were investigated.

The content of 4-desmethyl-, 4-monomethyl- and 4,4-dimethylsterols in developing soybean seed and pod was found to vary between 0.16-0.35, 0.04-0.12 and 0.04-0.06 %, respectively.

The predominating 4-desmethylsterols were sitosterol, campesterol and stigmasterol.

The proportion of sitosterol in seed decreased to 57.0 % with maturation, while in pod increased up to 88.7 %.

△ 7.22.25 Stigmastatrienol estimated 7.5 % was detected in the fully mature seed.

### I. 서 론

식물 sterol에 대하여 일찌기 Bergmann<sup>1)</sup>(1953)은 식물 sterol이 식물체내에서 각종 대사작용의 부산물로 생성된다고 하였지만 식물 sterol도 동물 sterol과 같이 세포막의 구성성분 및 sterol 생합성의 전구체 등으로 작용한다는 Heftman<sup>2)</sup>(1963)의 보고가 있는 이후로 식물의 sterol에 관하여 많은 관심이 집중되어 식물種子油의 sterol의 분리 및 同定이 이루어져 왔다. 大豆의 開花成熟中 種子油의 sterol 변화에 관하여는 Katayama<sup>3)</sup> 등(1973)이 sterol의 결합형태인 free form, fatty acid este-

rs, acylated glucoside 등의 含量변화를 보고한바 있으나 大豆種子油의 成熟中 sterol류의 組成變化에 관하여는 아직 밝혀지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 大豆의 開花 후 成熟時期別에 따라서 種子와 꼬투리의 脂質中 불검화물을 추출하여 Thin layer chromatography 로서 4-desmethyl sterol fraction 만을 분리하여 GLC 및 GC-MS로써 分析한 結果를 보고한다.

本 報文中에서 使用하는 各 sterol의 慣用명은 다음과 같다.

Cholesterol =  $\bar{c}$ holest-5-en-3 $\beta$ -01

Campesterol = 24 R<sup>1</sup>-methyl cholest-5-en-3 $\beta$ -01

Stigmasterol = 24 S-ethyl cholesta-5, 22-dien-3 $\beta$ -01

Sitosterol = (24 R)-24-ethyl cholest-5-en-3 $\beta$ -01

$\Delta^7$ -Avenasterol = 5 $\alpha$ -stigma-7, Z 24(28)-dien-3 $\beta$ -01

$\Delta^{7,22,25}$ -Stigmastatrienol = 24-ethyl cholesta-7, 22, 25-trien-3 $\beta$ -01

## II. 실험방법

### 1. 실험재료

大豆種子(Glycine max)는 경남밀양원종장에서 前年度에 수확한 강립으로서 中粒의 形狀 및 重量(230 $\pm$ 20mg)이 비슷한 것으로 선별하여 83년 5월 20일에 파종하여 개화일인 7월 19일을 기준하여 개화 후 15, 25, 35, 45, 60 일 및 완숙일인 75일에 각각 生育도가 균일한 시료를 채취 후 즉시 ice bath에서 종자와 꼬투리로 분리하여 분석시료로 하였다.

### 2. 분석방법

지질추출: 채취한 각 시료는 마쇄기로 마쇄한 후 Soxhlet 장치를 이용하여 diethyl ether로 24시간 환류시킨 후 40 $^{\circ}$ C에서 rotary vacuum evaporator로 diethyl ether를 완전히 제거하였다.

검화 및 TLC: 추출된 지질은 常法<sup>1)</sup>에 따라 검화하여 불검화물을 수거한 후 TLC를 행하였다. 즉, Silicagel G-60(E. Merk社)을 20 $\times$ 20cm glass plate에 0.25mm 두께로 도포하고 室温에서 건조한 후 105 $^{\circ}$ C의 건조기에서 1시간 동안 활성화시키고 불검화물을 chloroform으로 10% 용액이 되게 용해시켜서 plate 당 0.3ml씩 line spotting 하였으며 n-hexane:diethyl ether=70:30의 비로 혼합한 용매를 사용하여 1시간 동안 상승일차원법으로 전개 시켰다. 발색제는 0.01% rhodamine 6G 용액을 사용하여 UV-light(3,600 $\text{\AA}$ ) 조사하에서 관찰하여 5개의 fraction으로 나누었으며 표준물질의 R<sub>f</sub>치와 비교하여 4,4-dimethyl-, 4-monomethyl-, 4-desmethyl sterol fraction을 각각 분리 추출하였다. GLC 및 GC-MS에 의한 분석: sterol의 組成을 分析하기 위하여 GLC(shimadzu GC-6A)를 사용하여, 3% OV-17을 도포한 chromosorb WHP(80-100 mesh)를 유리관(2m $\times$ 3mmID)에 충전하고 column 온도 263 $^{\circ}$ C,

검출기온도 280 $^{\circ}$ C에서 FID 검출기로서 定量하였으며 운반기체로는 유속 60ml/min.의 질소를 사용하였다. 표준 sterol은 Supelco社 제품을 사용하여 표준 sterol의 머무른 시간과 시료의 머무른 시간을 비교하여 확인하고 Peak의 면적을 chromatographic data processor(Shimadzu chromatopac C-EIB)로써 산출하여 백분율로 나타내었다. GLC로 예비동정한 각 sterol을 GLC에 연결된 GC-MS(Shimadzu LKB-9,000)로써 同定한 분석조건은, 이온화전압 70eV, Trap 전류 60 $\mu$ A, molecular separator 온도 290 $^{\circ}$ C, accelerated voltage 3,500V, ion source 310 $^{\circ}$ C에서 He gas를 유속 30ml/min.으로 운반기체로서 사용하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 건물량과 지질량의 변화

開花후 성숙에 따른 大豆의 種子和 꼬투리의 건물량변화와 지질량의 변화를 各各 數量 100개當의 重量으로써 Fig. 1과 2에 나타내었다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 종자의 건물량은 개화후 25일부터 60일까지 증가하는 경향이 현저하였으며 60일 이후로는 증가가 둔화되었다. 이는

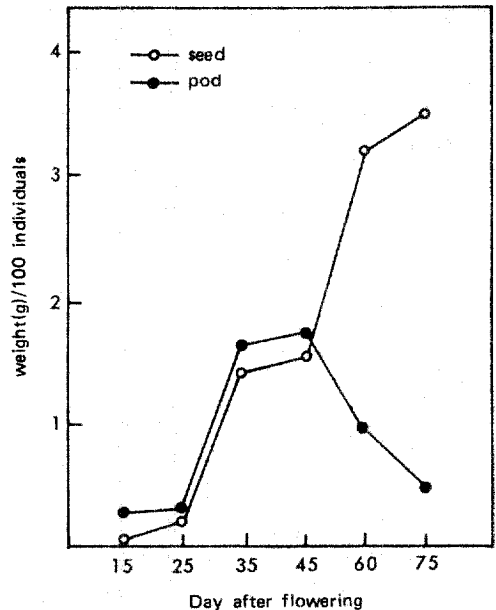


Fig. 1 Changes in dry weights of soybean seeds and pods during maturation

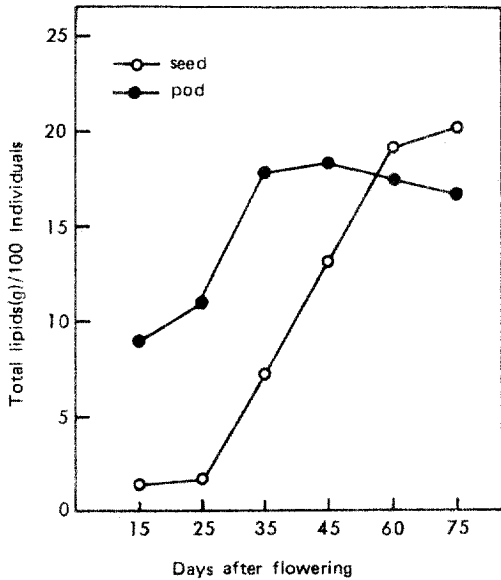


Fig. 2 Accumulations of total lipid in soybeans and pods during maturation

Katayama 등<sup>2)</sup>의 보고와 유사한 결과이다. 한편 꼬투리의 건물량은 35 일까지 급격히 증가하였다가 45 일 이후로는 현저한 감소를 보였다. 이는 개화후 45 일 까지는 꼬투리를 형성하는 물질의 합성이 이루어졌으나 그 이후에는 종자를 구성하는 물질의 합성만 계속 이루어 지는 것으로 생각된다. 한편 지질량에 있어서, 종자에서는 개화후 25일부터 35일 까지의 기간동안 급격히 증가하였으며, 35일과 45일사이의 기간에는 약간 둔화되었다. 이러한 증가

경향은 꼬투리의 경우와 거의 동일한 형상으로 나타났으나, 45 일 이후에는 종자의 지질량은 다시 급격한 증가를 보여 완숙일인 75 일에는 3.6g의 지질량을 형성한 반면 꼬투리의 지질량은 45 일 이후로 급격한 감소를 보였으며 그 감소량이 건물량의 감소량(Fig. 1)과 거의 일치하므로서 꼬투리의 건물량감소는 주로 지질량의 감소에 기인한 것으로 추정하게 한다. 이는 종자의 지질량이 45 일 이후 급격히 증가한 사실과 함께 고려해 볼때, 지질의 합성이 개화후 45 일까지는 활발히 진행되었으나 그 이후로는 지질합성이 꼬투리에서 진행되지 않으며 잔존하던 지질도 거의 대부분 종자로 이동한 것으로 생각된다.

2. 4-des-, 4-mono-, 4,4-dimethyl sterol fraction의 함량변화

종자와 꼬투리의 각 시료지질의 불검화물을 TLC로써 분리한 4-des-, 4-mono-, 4,4-dimethyl sterol의 함량변화를 지질 100g 당 mg으로 Table 1에 나타내었다.

Table 1에서 보면 대부분의 식물유지의 경우<sup>5,6)</sup>에서와 같이 종자와 꼬투리의 불검화물의 대부분은 4-desmethyl sterol이며 종자에서는 성숙에 따라서 그 함량이 증가하였으나 꼬투리에서는 감소되었다. 이는 식물체의 생육기간중 total sterol의量は 증가하면서 식물체내의 중요한 생리작용을 한다는 보고<sup>7)</sup>를 감안하여 보면 종자의 성숙이 완료되어감에 따라서 꼬투리의 생리적 역할은 점차 소멸되므로써 Sterol 量의 감소가 일어나는 것으로 추측된다. 한편 4-desmethyl sterol의 전구체로 알

Table 1. Changes in the content of 4-desmethyl-, 4-monomethyl- and 4, 4-dimethyl sterols in soybean seed and pod during maturation

| DAF <sup>a</sup> | seed                          |                                |                                | Pod                           |                                |                                |
|------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                  | 4-Desmethyl sterols (mg/100g) | 4-Monomethyl sterols (mg/100g) | 4,4-Dimethyl sterols (mg/100g) | 4-Desmethyl sterols (mg/100g) | 4-Monomethyl sterols (mg/100g) | 4,4-Dimethyl sterols (mg/100g) |
| 15               | 235                           | 43                             | 50                             | 243                           | 63                             | 51                             |
| 25               | 229                           | 48                             | 47                             | 203                           | 85                             | 52                             |
| 35               | 242                           | 49                             | 42                             | 191                           | 122                            | 47                             |
| 45               | 254                           | 71                             | 56                             | 161                           | 111                            | 47                             |
| 60               | 301                           | 57                             | 61                             | 174                           | 78                             | 49                             |
| 75               | 351                           | 42                             | 58                             | 172                           | 63                             | 43                             |

a: Days after flowering

Table 2. Changes in the Composition of 4-Desmethylsterols from Soybean seed and Pod during Maturation

| DAF  | I    | II   | III  | IV   | V    | VI   | VII  | VIII | Others |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--------|
|      | 0.61 | 0.70 | 0.81 | 0.88 | 1.00 | 1.09 | 1.18 | 1.32 |        |
| seed |      |      |      |      |      |      |      |      |        |
| 15   | tr   | tr   | 20.1 | 12.2 | 66.9 | -    | -    | tr   | 0.8    |
| 25   | -    | -    | 19.4 | 13.1 | 66.9 | -    | -    | tr   | 0.6    |
| 35   | -    | -    | 15.9 | 14.3 | 69.1 | -    | -    | tr   | 0.7    |
| 45   | -    | tr   | 16.5 | 20.3 | 60.2 | tr   | -    | tr   | 3.0    |
| 60   | tr   | tr   | 10.9 | 15.1 | 70.8 | tr   | tr   | tr   | 3.2    |
| 75   | tr   | tr   | 11.5 | 16.0 | 57.0 | 7.5  | -    | 3.0  | 5.0    |
| pod  |      |      |      |      |      |      |      |      |        |
| 15   | 0.6  | tr   | 9.1  | 21.0 | 68.9 | -    | -    | tr   | 6.8    |
| 25   | tr   | -    | 7.1  | 17.0 | 74.9 | -    | tr   | tr   | 1.0    |
| 35   | tr   | tr   | 6.2  | 16.0 | 76.2 | -    | tr   | 1.1  | 6.5    |
| 45   | -    | tr   | 6.6  | 21.0 | 72.0 | -    | tr   | tr   | 0.5    |
| 60   | -    | tr   | 4.3  | 16.6 | 78.7 | tr   | tr   | tr   | 0.5    |
| 75   | -    | 1.7  | 2.3  | 5.8  | 88.7 | tr   | 0.5  | -    | 1.0    |

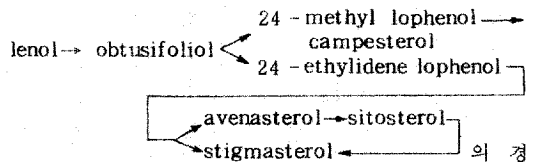
I: cholesterol III: campesterol IV: stigmasterol V: sitosterol VI:  $\Delta^7,^{22,25}$  stigmastatrienol  
 VIII:  $\Delta^7$  - avenasterol II, VII: unidentified sterol

려진 4-monomethyl sterol과 4,4-dimethyl sterol의 함량은 일정한 경향을 찾기 어려웠으나 꼬투리의 4-monomethyl sterol의 함량은 개화후 35일까지 증가한 후 점차 성숙에 따른 감소를 보였다. 이는 꼬투리에서의 4-desmethyl sterol의 감소현상과 함께 고려해 볼 때 종자로의 이동이 4-desmethyl-과 4-monomethyl sterol의 형태로써 이루어지며 이동후 즉시 4-desmethyl 형태로 전환되는 것으로 생각된다.

3. 4-desmethyl sterol의 조성변화

종자와 꼬투리의 4-desmethyl sterol의 조성변화를 Table 2에 나타내었다. Table 2에서 보면 종자와 꼬투리의 4-desmethyl sterol의 주요 sterol은 sitosterol, stigmasterol, campesterol이며 개화성숙기에 있어서의 sitosterol은 전반적으로 높은 조성을 이루며 완숙된 종자에 있어서는 57.0%로 약간 감소된 반면 꼬투리에서는 성숙에 따라서 증가되어 완숙일인 75일에는 88.7%에 달하는 높은 조성을 이루었다. 대부분의 식물종자유의 4-desmethyl sterol中 sitosterol의 함량이 가장 높은 것<sup>5,6)</sup>으로 밝혀져 본 연구의 결과와 일치하고 있다. campesterol은 종자와 꼬투리에서 성숙에 따

라 약간씩 감소하며  $\Delta^7,^{22,25}$  stigmastatrienol이 완숙된 종자에서만 7.5%로 존재하였다. 종자의 stigmasterol은 성숙초기보다 후기에 약간 증가하였으나 꼬투리에서는 감소되었으며  $\Delta^7$ -avenasterol은 종자의 완숙일에 3.0% 검출되었다. 일반고등식물에서 sterol 生合成의 기본경로에 대해서 Grunwald<sup>7)</sup>가 squalene→cycloartenol→cycloeuca-



의 경로를 제시한 바 있다. 이에 관련시켜 보면 완숙기에서는 종자의 sitosterol이 stigmasterol과  $\Delta^7,^{22,25}$  stigmastatrienol로의 전환이 일어난 반면  $\Delta^7$ -avenasterol의 sitosterol에로의 전환은 거의 일어나지 않는 것으로 추측된다. Cholesterol은 꼬투리에서만 미량으로 검출되었으며 RRT 0.70과 1.18의 Peak는 brassicasterol과  $\Delta^7$ -stigmastanol로 추정하였으나 未同定물질로 남았다.

4. GC-MS에 의한 sterol 同定

GLC로써 예비동정한 각 sterol을 GC-MS로써

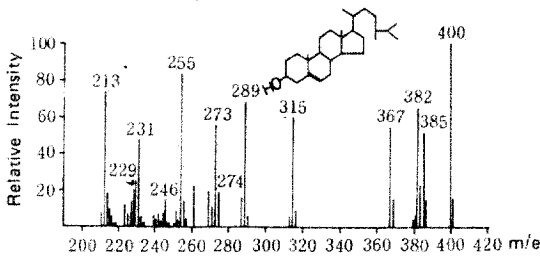


Fig. 3 Mass spectrum of campesterol

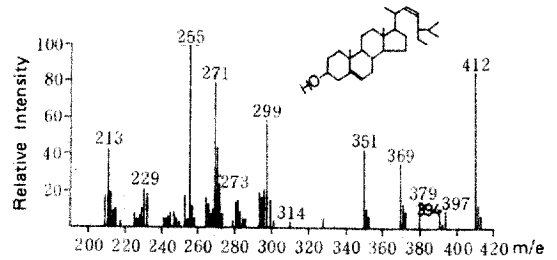


Fig. 4 Mass spectrum of stigmasterol

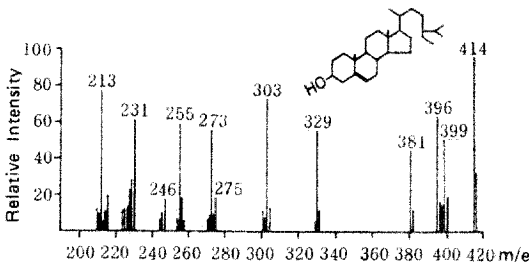


Fig. 5. Mass spectrum of sitosterol

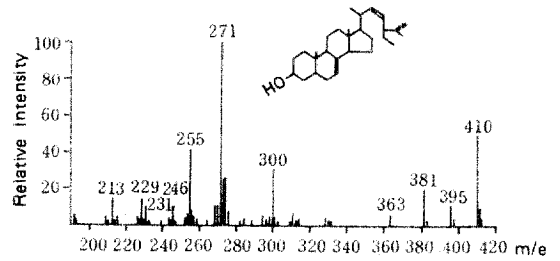


Fig. 6. Mass spectrum of  $\Delta^{7,22,25}$  stigmasteratrienol

분석한 mass spectrum을 Fig. 3, 4, 5, 6에 표시하였다. RRT 0.81인 peak의 mass spectrum을 Fig. 3에서 보면 분자 ion( $M^+$ )이 m/e 400이고 기타 중요한 ion peak로서 m/e 385, 382, 367, 315, 299, 274, 273, 261, 255, 246, 231, 229, 213 등을 수반하였으며 이와같은 開裂 pattern으로 보아서 campesterol로 同定하였는데 이는 표준물질의 ion peak와 일치하였다. RRT 0.88인 peak의 mass spectrum(Fig. 4)은  $M^+$ 이 m/e 412이고 기타 중요한 ion peak로서 m/e 397, 394, 379, 369, 351, 314, 299, 273, 271, 255, 229, 213 등을 수반하였으며 이와같은 ion peak는 stigmasterol의 특징적인 ion peak<sup>9)</sup>로서 표준물질의 것과는 일치함으로써 RRT 0.88인 peak는 stigmasterol로 同定되었다. GLC에서 RRT 1.00인 peak의 mass spectrum은 Fig. 5와 같다. 즉  $M^+$ 이 m/e 414이고 기타 중요한 ion peak로서 m/e 399( $M-CH_3$ ), 396( $M-H_2O$ ), 381( $M-CH_3-H_2O$ ), 329( $M-H_2O-C_8H_7$ ), 303( $M-H_2O-C_7H_5$ ), 275( $M-H_2O-C_9H_9$ ), 273( $M$ -side chain), 255( $M$ -side chain  $-H_2O$ ), 213( $M$ -side chain  $-H_2O-H_2$ )으로 開裂 pattern이 표준 sitosterol의 것과 일치하였다.

RRT 1.09인 peak의 mass spectrum(Fig. 6)은 분자 ion( $M^+$ )이 m/e 410( $C_{29}H_{46}O$ )에 나타나 있

으며 기타의 ion peak로서 m/e 395( $M-CH_3$ ), 381( $M-C_2H_5$ ), 363( $M-C_2H_5-H_2O$ ), 300( $M-C_8H_{14}$ ) 등이 관찰되었다.  $C_8H_{14}$ 는 side chain에 있어서 H 1개를 동반하는 C-20과 C-22 사이에서 開裂된 ion이며 이 開裂은  $\Delta^2$ -결합을 갖는 sterol에 있어서 특징적으로 나타난다<sup>9)</sup>고 한다. base peak는 m/e 271( $M$ -side chain  $-2H$ )에 있고 다른 ion peak로서는 m/e 255( $M$ -side chain  $-H_2O$ ), 246, 231, 229, 213 등을 수반하고 있다. 이는 정<sup>10)</sup>등이 호박종자유에서 분리동정한  $\Delta^{7,22,25}$  stigmasteratrienol의 開裂 pattern과 잘 일치하였다.

#### IV. 결 론

大豆의 開花후 성숙중 교투리의 지질은 開花후 45일부턴 종자로의 이동이 급격히 이루어져 그 함량이 감소한 반면 종자의 지질량은 급증하였다. 한편 종자와 교투리의 불검화물중 4-desmethyl sterol의 함량이 가장 많으며 성숙기간 동안 지질의 0.16~0.35%를 차지하였다. 4-desmethyl sterol中 주요 sterol은 sito-, stigma-, campesterol이며 종자의 sitosterol은 완숙기에 57.0%, 교투리에서는 성숙초기보다 증가한 88.7%를 이루었다. 종자에서의 campesterol과 stigmasterol이 10~20%였고, 표

투리에서는 stigmasterol 이 5~21%이고 Campesterol 은 훨씬 낮은 2~9% 이었다. 이 두 종류의 sterol 은 성숙할수록 감소하였다.

## 문 헌

1. Bergmann, W. : Ann. Rev. Plant Physiol., 4, 383-426 (1953).
2. Heftmann, E. : Ann. Rev. Plant Physiol., 14, 225-248 (1963).
3. Katayama, M. and Katoh, M. : Plant & Cell Physiol., 14, 681-688 (1973).
4. 日本油化學協會編, 基準油脂分析試驗法, 朝倉書店, 東京, pp. 16~18.
5. Jeong, T. M., Tamura, T. and Matsumoto, T. : Lipids, 9, 921 (1974).
6. Kornfeldt, A. : Lipids, 16, 5 (1981).
7. Grunwald, C. : Plant Physiol., 48, 653-655 (1971).
8. 정택명 : 경상대논문집, 21, 177~185 (1982).
9. 飯田, 田村, 里見, 平井, 佐佐木, 松本 : 油化學, 23, 552 (1974).
10. 鄭泰明, 梁敏錫, 松本 : 大韓化學會誌, 21, 193 (1977).