

경립종 옥수수의 성장과정에 따른 지질변화

I. 비극성 지질에 대한 연구

김덕진[†] · 전영민

대구대학교 식품공학과

Changes of Lipids in Flint Corn by a Growth Process

I. A Study on the Non-Polar Lipid

Duk-Jin Kim[†] and Young-Min Jeon

Dept. of Food engineering, Daegu University, Kyungsan 713-714, Korea

Abstract

In order to investigate the changes of lipid ingredient and fatty acid content in flint corn by a growth process, total lipids from flint corn (*Zea may L.*) were extracted, purified and fractionated into three lipid classes (neutral lipid ; NL, glycolipid ; GL, phospholipid ; PL) by silicic acid column chromatography (SACC). Non-polar lipid ingredients and fatty acid contents were determined by thin layer chromatography (TLC) and gas chromatography (GC). And non-polar lipid ingredients were quantitated by TLC scanner. The crude oil among proximate composition increased 2.74% to 4.43% and NL and PL were fractionated by SACC increased 48.5% to 86.02%, 1.01% to 2.73%, respectively. But GL decreased 50.4% to 11.25%. Neutral lipid ingredients identified monoglyceride, 1, 3-diglyceride, free fatty acid, triglyceride and cholesteryl ester and its composition levels were 1.1~3.7%, 11.9~16.1%, 2.3~4.2%, 16.7~21.5% and 58.5~63.6%, respectively. The major fatty acids of NL were linoleic (48.9~61.0%), oleic (22.3~34.2%), palmitic (10.3~11.7%) acids and stearic, linolenic acids were also detected as minor components. The ratio of total unsaturated fatty acid to total saturated fatty acid presented a higher percentage of 5.87~6.34%. The physico-chemical characteristics of flint corn lipids were presented as specific gravity presented 0.920, refractive index 1.468, saponification value 191.2, unsaponifiable matter 0.97%, acid value 0.58 and iodine value 124.6, respectively.

Key words : growth process, neutral lipid, total unsaturated fatty acid, major fatty acid

서 론

옥수수 (*Zea may L.*)는 멕시코 및 혼듀라스가 원산지로 세계 3대 곡물중의 하나로, 생산량이 많으며 가격이 저렴하여 식용 및 동물의 사료로 널리 이용

되어지고 있다. 옥수수는 필수아미노산중 lysine 및 tryptophan의 함량이 낮아 단백질 급원으로는 영양학적으로 약간의 문제¹⁻⁴가 있으나 지질의 함량은 타 곡류에 비해 높으며^{5,6} 또한 포화 지방산보다 불포화 지방산의 함량이 높은 것⁷으로 나타나고있다. 옥수수의 지질성분 연구로는 Osagie⁸, Meyer⁹, Widstrom과 Jellum¹⁰, Price¹¹ 그리고 Jahn Deesbach 등¹²의 지방

[†]To whom all correspondence should be addressed

산 조성과 Weber 와 Alexander¹³⁻¹⁵⁾의 옥수수 품종개발이 지질성분에 미치는 영향, Smidovnik 등¹⁶⁾의 corn flour의 지질 비교, Ohnishi 등¹⁷⁾의 maize seed의 당지질내의 1,2-diacylglycerol의 지방산 조성 과 특징에 대한 보고 그리고 Miric¹⁸⁾, Mihajlovic¹⁹⁾의 옥수수 hybrids의 지방산 함량과 분류에 대한 보고와 최 등²⁰⁾의 옥수수유의 triglyceride 조성 과 조 등²¹⁾의 옥수수 가열가공처리에 의한 지질성분의 변화 등을 찾아 볼 수 있었다.

본 연구에서는 외측이 단단한 초자질 성분으로 둘러싸여 충해를 받지 않고 저장에 용이한 경립종 옥수수 (flint corn)를 파종하여 성장과정에 따른 지질함량의 변화 및 지질의 구성 지방산의 종류와 포화 및 불포화 지방산 함량 변화를 조사 연구하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 옥수수는 1990년도 경상북도 진랑군 진랑면 옥수수 재배지에서 경립종 옥수수 (flint corn)를 파종하여, pollen의 접합 후 줄기와 잎사이로 어린순이 돌출한 후부터 A(15), B(20), C(25) 그리고 D(30)일의 4단계로 구분·수확·채취한 후 선별·분쇄하여 100mesh의 체를 통과 시킨 것을 PP/Al film에 넣어 질소가스를 충전하여 밀봉한 후, -20℃의 냉동고에 보관하면서 분석 시료로 사용하였다. AOAC법²²⁾에 의하여 분석한 시료의 일반성분은 Table 1과 같다.

시약

표준 지방산 methyl ester kit인 lauric acid(C_{12:0}),

myristic acid(C_{14:0}), palmitic acid(C_{16:0}), stearic acid(C_{18:0}), oleic acid(C_{18:1}), linoleic acid(C_{18:2}), linolenic acid(C_{18:3}), arachidonic acid(C_{18:4}) 및 silicic acid는 Sigma chemical Co., USA를 구입하였으며 silica gel G TLC glass sheet, 10% boron trifluoride in methanol 그리고 기타 일반 시약은 Merck chemical Co., Germany을 사용하였다.

실험방법

시료지질의 추출 및 정제: 시료의 총지질은 10배량의 chloroform-methanol(2:1, v/v)²³⁾을 사용하여 각각 추출하고, 추출된 총지질은 Folch법²⁴⁾에 따라 정제하였다.

비극성 지질과 극성 지질의 분리 및 정량: 정제된 총지질은 Rouser 등의 방법²⁵⁾ 및 Marnetti의 방법²⁶⁾에 따라 silicic acid column chromatography(SACC 법)에 의하여 분획하였다.

즉, silicic acid(lipid chromatography grade, 100mesh, Sigma Co., USA)를 증류수로 씻어서 콜로이드성 머릿자를 제거하고 chloroform으로 다시 씻은 후 120℃에서 하룻밤 활성화하였다. 활성화된 silicic acid 약 15g을 chloroform으로 slurry를 만든 후 glass wool이 1~2cm채워진 column(i. d. 2.5×30cm)에 충전하고 전지질 200mg을 주입한 후 질소 gas를 통과시켜 용매의 유출속도를 1분당 약 3ml되게 조절하면서 약 175ml(관 부피의 10배)의 chloroform으로 중성 지질을 분획한 다음, 약 700ml(관 부피의 40배)의 acetone과 약 175ml(관 부피의 10배)의 methanol로 각각 용리하여 극성지질인 당지질 및 인지질을 분획하였고, 용매를 제거한 후 중량법에 의하여 이들의 함량을 계산하였다.

비극성 지질의 분별 및 정량: SACC법에 의하여 분

Table 1. Proximate composition of the flint corn development

Days	Component (%)				
	Moisture ^{a)}	Crude ash	Crude Oil ^{b)}	Crude protein ^{b)}	Total lipid ^{c)}
A (15)	63.2	0.63	2.74	14.05	7.62
B (20)	58.8	0.71	3.57	11.78	6.48
C (25)	56.4	0.78	4.26	11.86	5.50
D (30)	42.5	0.87	4.43	11.70	5.27

^{a)}Moisture percentage at harvest

^{b)}Oil and protein percentages are on a dry-weight basis

^{c)}Extracted by chloroform-methanol solvent (by Bligh & Dyer method)

Table 2. Instrument and operating conditions for gas chromatography

Instrument	Hewlett packard 5890A
Integrator number	Hewlett Packard 3396A
Dectector	Flame ionization detector
Column	Stainless steel 2m × 3mm ID. DEGS (20%) on chromosorb W (60-70 mesh)
Column Temp.	200℃ isothermal
Injection Temp.	175℃
Detector Temp.	250℃
Carrier gas and flow-rate	He (25ml/min)
Chart speed	10mm/min

확한 비극성 지질의 확분을 Stahl의 방법²⁷⁾에 따라 thin layer chromatography (TLC)에 의하여 그의 조성을 분별·확인하였다. 이때 사용된 TLC plate는 미리 만들어진 silica gel G TLC glass sheet (Merck Co., Germany, thickness: 250 μ m)였으며, 전개용매는 pet. ether-diethyl ether-acetic acid (110:90:4, v/v/v)²⁸⁾로 분리하였으며, 이때 지질 표준품 (Sigma co., USA)도 함께 전개시켜 표준 화합물과 일치하는 분리된 반점을 확인하였다. 분리시킨 후 sulfuric acid-dichromate²⁹⁾를 발색제로 분무하고 160℃에서 탄화시켰다.

이상과 같이 TLC에 의하여 분리·확인된 비극성 지질의 반점은 TLC scanner (Fiber Optic Scanner, Model 800, Knott Sci. Inst., USA)에 의해 정량하였으며 이때의 기기분석 조건은 Scanning mode: transmission, scanning rate: 5cm/min, wavelength: 440nm 이었다.

지방산의 분석: SACC법에 의하여 분획한 비극성 지질의 지방산 분석은 2N-potassium hydroxide-methanol 용액으로 비누화시킨 후 지방산을 분리하였으며, 이것을 10% BF₃-methanol 용액을 사용한 Metcalfe 등의 방법³⁰⁾에 의해 methylation 시켜 지방산 ester를 만들어 이를 gas chromatography (GC, Hewlett Packard 5890A)로 분석하였으며 이때의 분석 조건은 Table 2와 같다. 그리고 상대 머무름 부피 및 머무름 시간을 기지농도의 표준지방산 (F&OR Mixture No. 6, Applied Sci. Laboratories, Inc., USA)의 peak와 시료의 peak를 서로 비교하여 지방산을 확인하고 각 peak 면적의 비율(%)은 HP 3396A integrator (Hewlett Packard Industry Co., Ltd)로 그 양을 계산하였다.

Table 3. Physico-chemical characteristics of flint corn lipids

D (30) lipid of flint corn	
Specific gravity (at 25)	0.920
Refractive index (ND25)	1.468
Saponification value	191.2
unsaponifiable matter (%)	0.97
Acid value	0.58
Iodine value	124.6
Reichert-Meisssl number	1.82

Table 4. Contents of lipid classes in total lipid extracted from flint corn seeds

Days	Lipid classes (%) [*]		
	ML ^{a)}	PL ^{b)}	GL ^{c)}
A (15)	48.5 (3.69)**	1.01 (0.07)	50.4 (3.84)
B (20)	81.6 (5.28)	1.86 (0.12)	16.53 (1.07)
C (25)	84.22 (4.63)	2.12 (0.11)	13.6 (0.74)
D (30)	86.02 (4.53)	2.73 (0.14)	11.25 (0.59)

^{*}As percentage of total lipid

Each lipid fraction was separated by silicic acid column chromatography and quantitated by gas chromatography

^{**}All values in parenthesis are the percent of total lipid

^{a)}NL: neutral lipid ^{b)}PL: phospholipid ^{c)}GL: glycolipid

추출지질의 물리·화학적 특성분석: 비중은 비중병에 의한 측정법으로 25℃에서 측정하였으며, 굴절률은 refractometer (Abbe, Fisher Scientific Co, Model No 5541., Japan)로 측정하였다. 비누화값 및 비비누화물질은 AOAC법²¹⁾에 의하였으며 각 지질의 산값은 AOAC Ca 5a-40³¹⁾, 요오드값은 wjis 법²²⁾, 과산화물질은 AOCS cd 8-53³²⁾에 의하여 각각 측정하였다.

결과 및 고찰

추출 지질의 물리·화학적 특성

추출한 경립종 옥수수의 물리·화학적 특성은 Table 3과 같다. 비중은 0.920로 일반식물유와 유사³⁾했으며, 굴절률은 1.468범위였다. 요오드값은 124.6로 목화씨기름과 참깨기름보다는 높으나 콩기름과 해바라기씨보다는 다소 낮음³⁾을 알수 있었고, 비비누화값은 191.2, 비비누화물질은 0.97%였다

비극성 지질 및 극성 지질의 함량

총지질을 SACC법으로써 중성지질, 당지질, 인지질로 분획하여 정량한 결과는 Table 4와 같다. 즉,

Table 5. Composition of non-polar lipid in flint corn seeds during development

Lipid class	Composition (%)				peak area (%)
	A (15)	B (20)	C (25)	D (30)	
Neutral lipid					
Monoglyceride (MG)	3.7 (1.79)*	1.6 (1.30)	1.3 (1.09)	1.1 (0.94)	
1, 3-diglyceride (DG)	14.2 (6.88)	16.1 (13.13)	13.5 (11.36)	11.9 (10.23)	
Free fatty acid (FFA)	2.8 (1.35)	4.2 (3.42)	3.5 (2.94)	2.3 (1.97)	
Triglyceride (TG)	20.8 (10.08)	6.7 (13.62)	21.5 (18.10)	21.1 (18.15)	
Cholesteryl ester (CE)	58.5 (28.37)	61.4 (50.10)	60.2 (50.70)	63.6 (54.70)	

*All values in parenthesis are the percent of total lipid

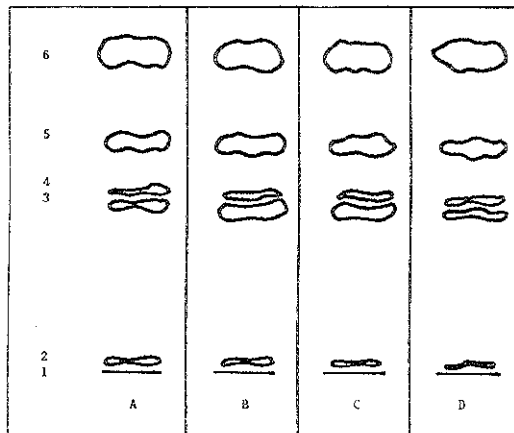


Fig. 1. Thin layer chromatographic separation of neutral lipids in flint corn seeds.

Plate : Silica gel G (0.25mm)

Solvent system : Pet. ether-diethyl ether-acetic acid (110 : 90 : 4, v/v/v)

Indicator : 10% sulfuric acid-potassium bichromate soln.

A : A (15) flint corn seeds B : B (20) flint corn seeds

C : C (25) flint corn seeds D : D (30) flint corn seeds

1 : Origin 2 : Monoglyceride

3 : 1, 3-diglyceride 4 : Free fatty acid

5 : Triglyceride 6 : Cholesteryl ester

중성지질은 성장과정에 따라 총지질의 48.5%에서 86.02%로, 인지질은 1.01%에서 2.73%로 증가를 나타낸 반면, 당지질은 성장과정에 따라 50.4%에서 11.25%로 큰 감소를 보였다. 이와 같은 함량은 Price와 Parsons의 연구¹¹⁾中 옥수수는 높은 중성지질과 낮은 당지질 함량을 가진다는 보고와 비슷한 결과를 보였으나 Privett 등이 보고¹²⁾한 대두의 인지질 함량보다 매우 낮게 나타났다.

비극성 지질의 조성분별정량

SACC법에 의해 분획된 비극성 지질을 다시 TLC

plate상에서 재분리시켜 본 결과는 Fig. 1과 같고, 이를 TLC scanner에서 정량한 결과는 Table 5와 같다.

즉, 경립종 옥수수의 성장과정에 따른 비극성 지질 중에는 cholesteryl ester 및 triglyceride, free fatty acid, 1, 3-diglyceride, monoglyceride 등이 분별·정량되었으며 이중 cholesteryl ester (58.5~63.6%)가 대부분이었고, triglyceride (16.7~21.5%), 1, 3-diglyceride (11.9~16.1%)의 순으로 함유되어 있었다. 특히, 성장과정에 따라 monoglyceride는 3.7%에서 1.1%로, 1, 3-diglyceride는 14.2%에서 11.9%로 다소 감소를 보인 반면 triglyceride와 cholesteryl ester는 16.7%에서 21.1%로, 58.5%에서 63.6%로 각각 증가를 보였다.

비극성 지질의 지방산 조성

SACC법에 의해 분획된 경립종 옥수수의 성장과정에 따른 비극성 지질을 GC로 지방산 조성을 정량한 결과는 Table 6과 같다. 즉, D(30)을 기준으로 주요 지방산을 그 함량순으로 보면 linoleic acid가 61.0%로 가장 많았고, 그 다음이 oleic acid (22.3%), palmitic acid (11.1%), stearic acid (1.9%), linolenic acid (0.9%) 및 myristic acid (0.7%)의 순이었으며 그 외 myristoleic, palmitoleic, heptadecanoic acids 등이 미량 함유되어 있었다.

이와 같은 결과는 Jahn과 Marquard¹³⁾ 및 Miric과 Lalic 등¹⁴⁾의 옥수수의 중성 지질의 주된 지방산이 linoleic, oleic, palmitic acids라는 보고와 일치하였으며, 그 함량은 D(30)의 수치와 거의 일치하였다. 그러나, 경립종 옥수수의 비극성 지질 중 가장 많은 함량을 가지는 linoleic acid는 성장 과정에 따라 48.9%에서 61.0%로 큰 증가를 나타낸 반면 oleic acid는 34.2%에서 22.3%로 감소를 보이고 palmitic acid는 성장 과정중에 거의 일정한 함량인 11%를 보였다.

Table 6. Fatty acid composition of non-polar lipid in flint corn seeds during development

peak area (%)

Fatty acids	Composition (%)			
	A (15)	B (20)	C (25)	D (30)
14 : 0	0.2	0.4	0.4	0.7
14 : 1	—	—	0.21	0.27
16 : 0	11.7	10.3	11.2	11.1
16 : 1	0.12	0.11	0.25	0.24
17 : 0	0.09	0.06	0.07	0.1
18 : 0	2.4	2.6	2.2	1.9
18 : 1	34.2	32.3	27.8	22.3
18 : 2	48.9	51.5	57.0	61.0
18 : 3	1.2	0.8	0.5	0.9
TSFA ^{a)}	14.39	13.36	13.87	13.80
TUFA ^{b)}	84.42	84.71	85.76	84.71
TUFA/TSFA ^{c)}	5.87	6.34	6.18	6.14

^{a)}TUFA : Total Saturated Fatty Acid^{b)}TUFA : Total Unsaturated Fatty Acid^{c)}TUFA/TSFA : Total Unsaturated Fatty Acid/Total Saturated Fatty Acid

요 약

본 논문은 외측이 단단한 초자질 성분으로 둘러 싸여 충해를 받지 않고 저장성이 용이하며, 대부분 식용하고 있는 경립종 옥수수 (flint corn)를 파종하여 성장 과정에 따른 지질의 변화를 조사하였다. Pollen의 접합후 줄기와 잎 사이로 어린 순이 돌출한 후 부터 A (15), B(20), C(25), D(30)일의 4단계로 구분, 채취하여 각각의 일반 성분을 조사했으며, chloroform : methanol (2 : 1, v/v)로 지질 성분을 추출한 후 silicic acid column chromatography로 비극성 지질과 극성 지질을 분획한 다음, TLC, GC로 비극성 지질의 조성함량 및 지방산 조성을 분석, 정량하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

일반성분 중 조지방은 2.74%에서 4.43%로 증가를 보였으며 분획된 지질 중 중성지질은 48.5%에서 86.02%로, 인지질은 1.01%에서 2.73%로 증가를 나타냈으나, 당지질은 50.4%에서 11.25%로 큰 감소를 나타냈다. 지질 성분은 중성 지질에서는 monoglyceride, 1, 3-diglyceride, free fatty acid, triglyceride, cholesteryl ester가 분리·동정되었으며, 그 함량순은 cholesteryl ester (58.5~63.6%), triglyceride (16.7~21.5%), 1, 3-diglyceride (11.9~16.1%), monoglyceride (1.1~3.7%) 그리고 free fatty acid (2.3~4.2%)로 나타났으며 각 지방질 분획 중 중성 지질의 주요 지방산 조성은 linoleic (48.9~61.0%), oleic (22.3~34.2%), palmitic (10.3~11.7%) acids였으며, 그

외 stearic, linolenic acids 등이 미량 검출되었고, 불포화 지방산과 포화 지방산의 비는 5.87~6.34%로 매우 높게 나타났다. 그리고 경립종 옥수수의 물리·화학적 특성 중 비중은 0.920, 굴절률은 1.468, 비누화값은 191.2, 비비누화물은 0.97%, 산값은 0.58, 요오드값은 124.6을 나타냈다.

감사의 글

본 연구는 1990년도 대구대학교 학술연구 조성 지원비에 의해 수행되었으며 연구지원에 감사를 표하는 바입니다.

문 헌

1. Kinsella, J. E. : Food lipids and fatty acid : Importance in food quality, nutrition and health. *Food Technol.*, 42(10), 124(1988)
2. Mertz, E. T. : Better protein quality in maize. *Adv. Chem.*, 57, 228(1966)
3. Tsai, C. Y. : Note on the effect of reducing agent on zein preparation. *Cereal Chem.*, 57, 288 (1980)
4. Jones, R. A., Larkins, B. A. and Tsai, C. Y. : Storage protein synthesis in maize. Reduced synthesis of a major zein component by the opaque-2-mutant maize. *Plant Physiol.*, 59, 525 (1977)

5. Hamilton, R. J. and Rossell, J. B. : Analysis of oils and fats, 1(1988)
6. Office of Rural Development and Rural Nutrition Institute : Food composition table. 제 2개정판 (1981)
7. 전제현 : 유지 산업, 식품과학과 산업 (한국 식품 과학회), 21(3), 62(1988)
8. Osagie, A. U. : Total lipid of sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.*, 35, 601(1987)
9. Lillian, H. M. : Food chemistry, Van Nostrand Reinhold Company, 3rd ed., p.18(1978)
10. Widstrom, N. W. and Jellum, M. D. : Inheritance of kernel fatty acid composition among six maize inbreds. *Crop Sci.*, 15(1), 44(1975)
11. Price, P. B. and Parsons, J. G. : Lipids of seven cereal grains. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52(12), 490(1975)
12. Jahn Deesbach, W. and Marquard, R. : Fat quality in German corn-growing regions with special consideration of linoleic acid contents. *Z. Lebensm.-Unters. Forsh.*, 159(5), 271(1975)
13. Weber, E. J. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 46(9), 485(1969)
14. Weber, E. J. : *Lipids*, 8(5), 295(1973)
15. Weber, E. J. and Alexander, D. E. : Breeding for lipid composition in corn. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52(9), 370(1975)
16. Smidovnik, A. and Perdih, A. : Composition of lipids included in starch and all other lipids in corn flour. *Nova Proizvod.* 33(3-4), 66(1982)
17. Ohnishin, M. and Yasui, Y. : Fatty acid distribution and characterization of 1,2-diacylglycerol residues in glycerolipids from maize seeds. *Agric. Biol. Chem.*, 53(2), 565(1989)
18. Miric, M. and Lalic, Z. : Composition of certain lipid fractions in some corn hybrids. *Hrana Isbrana*. 22(5-6), 125(1981)
19. Mihajlovic, M. : Fatty acid composition and oil content of standard corn hybrid grains. *Hrana Isbrana*. 24(5-6), 139(1983)
20. 최수안, 박영호 : 옥수수油의 triglyceride 組成. 한국식품과학회지, 14(3), 226(1982)
21. 조성환, 윤주익 : 옥수수 가열가공처리에 의한 단백질 및 지질 성분의 변화. 한국영양식량학회지, 57(3), 287(1989)
22. A. O. A. C. : *Official Methods of Analysis*, 13th ed., Association of analytical chemists, Washington. D. C., p.223(1980)
23. Boggess, T. S. : Changes in lipid composition of sweet potatoes as affected by controlled storage. *J. Food Sci.*, 32, 554(1967)
24. Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G. H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497(1975)
25. Rouser, G., Kritchevsky, G. and Simon, G. : Quantitative analysis of brain and spinach leaf lipids employing silicic acid column chromatography and acetone for elution of glycolipids. *Lipids*, 2(1), 37(1969)
26. Marnetti, G. V. : Lipid chromatography analysis, Marcel Dekker, Inc., New York, p.118(1967)
27. Stahl, E. : Thin layer chromatography, Academic Press, New York, p.105(1969)
28. 吉野康 : Res. Bull. Obihiro Univ., 9, 335(1975)
29. Amenta, J. S. : A rapid chemical method for quantification lipids separated by thin layer chromatography. *J. Lipid Research*, 5(2), 270(1964)
30. Metcalfe, L. D., Schmitz, A. A. and Palka, J. R. : Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, 38(3), 514(1966)
31. A. O. C. S. : Official and tentative method of AOCS, 3rd., JAOCS, Champaign(1973)
32. Privett, O. S., Dongherty, K. A., Erdohl, W. L. and Stolyhwo, A. : Studies on the lipid composition of developing soybeans. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 50, 516(1973)

(1991년 8월 14일 접수)