

경립종 옥수수의 성장과정에 따른 지질변화 II. 극성 지질에 대한 연구

김덕진¹ · 전영민

대구대학교 식품공학과

Changes of Lipids in Flint Corn by a Growth Process I. A Study on the Polar Lipid

Duk-Jin Kim¹ and Young-Min Jeon

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

Abstract

After the glycolipid (GL) and phospholipid (PL) of flint corn during a growth process were fractionated by silicic acid column chromatography (SACC), the GL and PL of polar lipids were separated by thin layer chromatography (TLC) and quantitated by TLC scanner and the fatty acid composition in polar lipids were determined by gas chromatography (GC). Of the GL in polar lipids were separated by TLC, monoglycosyl diacylglycerol (8.3~29.2%) was the major component, and monoglycosyl ceramide, monoglycosyl sterol were also found as minor components. Of the PL, phosphatidyl choline (27.2~29.5%) and phosphatidyl inositol (42.9~79.1%) were the major components, and phosphatidyl ethanolamine and cardiolipin were also present in the PL. The major fatty acids in the GL were oleic (27.1~37.1%), linoleic (13.2~35.7%) and palmitic (22.5~25.6%) acids. The major fatty acids in the PL were palmitic (46.5~52.3%), heptadecanoic (23.0~25.1%) and oleic (7.2~14.6%) and GL contained a higher percentage of unsaturated fatty acids, but PL presented that of the saturated fatty acids.

Key words : growth process, glycolipid, phospholipid, fatty acid composition

서 론

옥수수는 전세계적으로 생산량이 많으며 식용으로 상당한 양이 이용되고 있으며 또한 이용성을 높이기 위해 옥수수를 원료로 한 다양한 가공기술의 지속적인 개발로 가공식품의 종류가 점차 다양해지고 그 생산량이 꾸준히 증가하고 있으며 우리나라에서는 일반 식용으로도 상당한 양이 소비되고 있는 실정이다. 생체조직과 membrane의 필수인자¹⁾로서 지질의 영양학

적인 면에서 상당한 의의를 갖고 있는 극성지질의 함량과 구성지방산에 대한 연구로는 Price 등²⁾의 7종곡류의 비극성과 극성 지질의 함량에 대한 보고와 Ohnishi 등³⁾의 maize seed의 당지질내의 1,2-diacylglycerol의 지방산 조성과 특성에 대한 보고, plasma membrane내의 인지질에 대한 비율을 연구한 Gibrat 등⁴⁾의 보고, 그리고 corn flour를 이용한 지질분획과 지방산을 조사한 Smidovnik 등⁵⁾의 보고를 찾아 볼 수 있었다. 경립종 옥수수 (flint corn)의 4단계 성장 과정에 따라 인지질, 당지질의 종류 및 함량의 변화와 구

¹To whom all correspondence should be addressed

성지방산의 종류 및 함량 변화에 대해 조사·연구한 결과는 다음과 같다.

재료 및 방법

실험재료

1990년도 경상북도 경산군 진량면 옥수수 재배지에 서 파종한 경립종 옥수수 (flint corn)를 분석 시료로 사용하였다.

시약기기

표준 지방산 methyl ester kit와 silicic acid는 Sigma chemical Co., USA를 구입하였으며, Silica gel G TLC glass sheet, 10% boron trifluoride in methanol 그리고 기타 일반시약은 Merck chemical Co., Germany를 사용하였다.

실험방법

시료지질의 추출 및 정제: 시료의 총지질은 10배량의 chloroform-methanol (2:1, v/v)⁶⁾을 사용하여 각각 추출하고, 추출된 총지질은 Folch법⁷⁾에 따라 정제하였다.

극성 지질의 분리 및 정량: 정제된 총지질은 Rouser 등의 방법⁸⁾ 및 Marnett의 방법⁹⁾에 따라 silicic acid column chromatography (SACC법)에 의하여 분획하였다.

극성 지질의 분별 및 정량: SACC법에 의하여 분획한 극성 지질의 획분을 Stahl의 방법¹⁰⁾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; 250um)였으며, 전개용매는 당지질의 경우는 chloroform-methanol-28% ammonia water (65:40:7, v/v/v)¹¹⁾였으며, 인지질의 경우에는 chloroform-methanol-acetic acid-H₂O (50:37.5:3.5:2, v/v/v/v)¹²⁾로 각각 분리하였으며, 이때 지질 표준품 (Sigma Co., USA)도 함께 전개시켜 표준 화합물과 일치하는 분리된 반점을 확인하였다. 분리시킨 후 sulfuric acid-dichromate¹³⁾를 발색제로 분무하고 160°C에서 탄화시켰으며, 또한 anthrone reagent¹²⁾ 및

Liebermann-Burchard 반응¹⁴⁾을 이용하여 당지질 성분을 molybdenum reagent¹⁵⁾를 분무하여 인지질 성분을, 특히 choline기는 dragendorff 시약¹⁶⁾을 써서 별도로 확인하였다.

이상과 같이 TLC에 의하여 분리·확인된 극성 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 극성 지질의 지방산 분석은 Frank 등의 방법¹⁰⁾에 의해 지방산을 분리하였으며, 각각 이들을 10% BF₃-methanol 용액을 사용한 Metcalfe 등의 방법¹⁷⁾에 의해 methylation시켜 지방산 ester를 만들어 이를 gas chromatography (GC)로 분석하였으며 이때의 분석조건은 중성 지질의 분석 방법과 동일하며 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.

결과 및 고찰

극성 지질의 조성

당지질의 분별정량: SACC법에 의해 분획된 당지질을 다시 TLC plate상에서 재분리시켜 본 결과는 Fig. 1과 같이 5개의 spot가 나타났으며, 이를 scanner에서 정량한 결과는 Table 1과 같다. 즉, 당지질 성분은 monoglycosyl ceramide (MGC), monoglycosyl sterol (MGS) 및 monoglycosyl diacylglycerol (MGDG)와 unknown (1), (2) 등이었으며, 이중 MGC는 성장중에 따라 16.4%에서 11.3%로 감소를 나타낸 반면, MGS와 MGDG는 각각 8.0%에서 12.1%, 8.3%에서 29.2%로 큰 증가를 보였다. 이와 같은 당지질의 분별정량은 안 등¹⁸⁾의 보고와 비교하면 성분은 유사하나 함량에는 다소 차이를 보였다. 그러나 당지질의 40% 이상을 차지하는 unknown (1), (2)는 앞으로 연구할 과제이다.

인지질의 분별정량: 정제한 총지질로부터 분획한

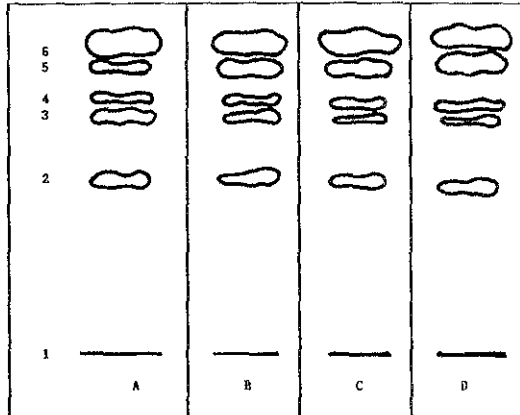


Fig. 1. Thin layer chromatographic separation of glycolipids in flint corn seeds.

Plate : Silica gel G (0.25mm)
 Solvent system : Chloroform-methanol-28% ammonia water (65 : 40 : 7, 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
- 3 : Monoglycosyl ceramide
- 4 : Monoglycosyl sterol
- 5 : Monoglycosyl diacylglycerol
- 2, 6 : Unknown lipids

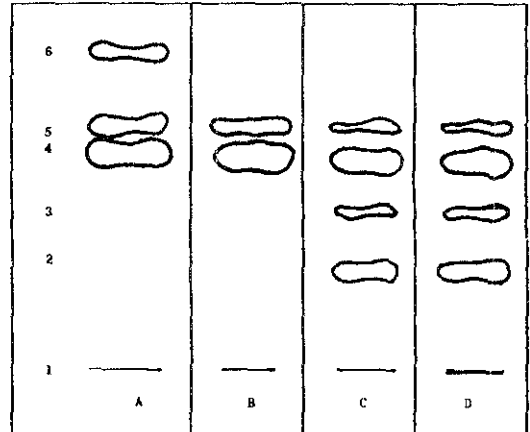


Fig. 2. Thin layer chromatographic separation of phospholipids in flint corn seeds.

Plate : Silica gel G (0.25mm)
 Solvent system : Chloroform-methanol-acetic acid-H₂O (50 : 37.5 : 3.5 : 2, v/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 : Phosphatidyl choline
- 3 : Phosphatidyl serine
- 4 : Phosphatidyl inositol
- 5 : Phosphatidyl ethanolamine
- 6 : Cardiolipin

Table 1. Composition of polar lipids in flint corn seeds during development

Lipid classes	Composition (%)				peak area (%)
	A (15)	B (20)	C (25)	D (30)	
Glycolipid	16.9(8.51)*	16.1(2.66)	17.0(2.31)	17.4(1.95)	
Unknown (1)	16.4(8.26)	8.0(1.32)	7.9(1.07)	111.3(1.27)	
Monoglycosyl ceramide (MGC)	8.0(4.03)	7.6(1.25)	10.3(1.40)	12.1(1.36)	
Monoglycosyl sterol (MGS)	8.3(4.18)	27.0(4.46)	25.7(3.49)	28.2(3.17)	
Monoglycosyl diacylglycerol (MGDG)	50.4(25.40)	41.3(6.82)	39.1(5.31)	30.9(3.47)	
Unknown (2)					
Phospholipid					
Phosphatidyl choline (PC)	--	--	27.2(0.57)	29.5(0.80)	
Phosphatidyl serine (PS)	--	--	18.8(0.39)	16.2(0.44)	
Phosphatidyl inositol (PI)	48.5(0.48)	79.1(1.47)	42.9(0.90)	43.4(1.18)	
Phosphatidyl ethanolamine (PE)	29.7(0.29)	20.9(0.38)	11.1(0.23)	10.9(0.29)	
Cardiolipin	21.8(0.22)	--	--	--	

*All values in parenthesis are the percent of total lipid

인지질을 TLC plate상에서 재분리시켜 본 결과 Fig. 2와 같으며, 이를 scanner로써 정량한 결과는 Table 1과 같다.

즉, 인지질중 phosphatidyl choline(PC), phosphati-

dyl serine(PS), phosphatidyl inositol(PI), phosphatidyl ethanolamine(PE) 및 cardiolipin(CL) 등이 분별 정량되었으며, 이중 주요 성분은 phosphatidyl inositol과 phosphatidyl choline 이었다.

Table 2. Fatty acid compositions of glycolipid in flint corn seeds during development peak area (%)

Fatty acids	Composition (%)			
	A (15)	B (20)	C (25)	D (30)
14 : 0	1.1	2.0	2.0	2.9
14 : 1	—	0.3	0.7	1.0
16 : 0	24.8	22.5	22.8	25.6
16 : 1	3.1	3.9	4.0	4.7
17 : 0	3.6	1.3	2.8	9.1
18 : 0	5.1	3.7	3.1	3.5
18 : 1	27.1	29.8	29.0	37.1
18 : 2	34.2	35.7	34.8	13.2
18 : 3	—	—	—	0.7
TSFA ^{a)}	34.6	29.5	30.7	41.1
TUFA ^{b)}	64.4	69.7	68.5	56.7
TUFA/TSFA ^{c)}	1.86	2.36	2.23	1.38

^{a)}TSFA : Total Saturated Fatty Acid^{b)}TUFA : Total Unsaturated Fatty Acid^{c)}TUFA/TSFA : Total Unsaturated Fatty Acid/Total Saturated Fatty Acid**Table 3. Fatty acid compositions of phospholipid in flint corn seeds during development** peak area (%)

Fatty acids	Composition (%)			
	A (15)	B (20)	C (25)	D (30)
14 : 0	2.7	3.6	2.5	3.1
14 : 1	—	0.7	0.2	—
16 : 0	48.5	52.3	50.4	46.5
16 : 1	3.6	3.4	4.9	6.3
17 : 0	23.0	23.8	23.9	25.1
18 : 0	2.9	4.5	4.91	3.9
18 : 1	14.2	8.0	7.5	7.2
18 : 2	3.2	2.4	0.3	3.2
18 : 3	0.2	—	—	—
TSFA ^{a)}	77.1	84.2	81.7	78.6
TUFA ^{b)}	21.6	14.5	15.6	16.7
TUFA/TSFA ^{c)}	0.28	0.17	0.19	0.21

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

즉, 성장과정에 따라 PC와 PS는 A(15), B(20)에는 검출되지 않았으나, C(25)와 D(30)에서는 각각 27.2%, 29.5%와 18.8%, 16.2%의 함량 분포를 보였으며, Weber와 Alexander의 보고¹⁹⁻²¹⁾중 옥수수유의 인지질의 지질성분으로는 PI, PC 그리고 PE의 함량순으로 분포되어 있다는 보고처럼 경립종 옥수수 역시 PI가 가장 많은 함량인 평균 42.9% 이상을 함유하며 특히, B(20)에서는 79.1%를 차지하고 있었으며 PE는 성장과정에 따라 29.7%에서 10.9%로 큰 감소를 보였다. 또한 mitochondria내막에서 발견되는 인지질인 cardiolipin이²²⁾ A(15)에서는 21.8%의 분포

를 나타냈으나, B(20)에서부터는 검출되지 않았다.

지방산 조성

성장중의 경립종 옥수수유의 당지질, 인지질의 지방산 조성을 gas chromatography(GC)로 정량한 결과는 다음과 같다.

당지질의 지방산 조성 : 분획된 당지질을 GC로 지방산 조성을 정량한 결과는 Table 2와 같다. 당지질 내의 주요 지방산은 중성 지질이 함유한 주요 지방산과 같은 linoleic acid, oleic acid 및 palmitic acid이지만

그 각각의 분포함량은 큰 차이를 보였다. 즉, A(15), B(20), C(25)의 기간 중에는 linoleic acid가 34.2~35.7%, oleic acid가 27.1~29.8% 그리고 palmitic acid가 22.5~24.8%의 함량으로 중성 지질과 같은 순으로 나타났지만, D(30)에서는 linoleic acid가 13.2%로 큰 감소를 나타낸 반면 oleic acid와 palmitic acid는 37.1%와 25.6%로 증가를 나타냈다. 일반 식물조직, 완두와 콩 및 강낭콩의 당지질을 구성하는 지방산²³⁾중 linoleic acid가 65~68%로 그 함량이 가장 많다는 보고와 비교할때, 경립종 옥수수의 당지질을 구성하는 지방산은 이것들과 매우 다름을 알 수 있었다. 그러나 Weber의 보고¹⁹⁾와 Sahasratudhe의 곡류중 당지질에 대한 보고와 비교²⁴⁾하면 거의 비슷하였다. 또한 성장과정에 따라 D(30)에서는 불포화 지방산과 포화 지방산의 비가 낮아지는 경향이며 이는 중성 지질에 비해 낮은 수치를 보였다.

인지질의 지방산 조성 : 인지질 핵분은 Table 3과 같이 당지질의 주요 지방산과는 달리 palmitic acid(46.5~52.3%), heptadecanoic acid(23.0~25.1%) 그리고 oleic acid(7.2~14.6%)가 주된 성분을 나타내었고, 이외에는 palmitoleic, stearic, linoleic acids가 다소 함유되어 있었다. 성장 과정에 따라 oleic acid는 감소한 반면 palmitoleic acid는 증가를 나타냈으며 그 외는 거의 일정하였다.

한편, 불포화 지방산과 포화 지방산의 함량을 비교하면 당지질과는 달리 인지질은 0.17~0.28%로 매우 낮은 수치를 나타내는 특징을 보였다.

요 약

성장 과정에 따른 경립종 옥수수의 당지질과 인지질을 SACC법에 의해 분석한 다음, 이들의 조성을 TLC에 의하여 분석하였으며, GC에 의하여 지방산 조성을 분석한 결과는 다음과 같다. TLC에 의해 분리된 극성 지질성분은 당지질에서는 monoglycosyl ceramide, monoglycosyl sterol, monoglycosyl diacylglycerol이, 인지질에서는 phosphatidyl choline, phosphatidyl serine, phosphatidyl inositol, phosphatidyl ethanolamine, cardiolipin이 분리·동정되었으며, 그 중 가장 많은 함량은 각각 monoglycosyl diacylglycerol(8.3~29.2%), phosphatidyl inositol(42.9~79.1%)로 나타났다. 극성 지방질 분석의 주요 지방산

조성은 당지질내에는 oleic(27.1~37.1%), linoleic(13.2~35.7%), palmitic(22.5~25.6%) acids로 조사되었으며, 인지질내에는 palmitic(46.5~52.3%), heptadecanoic(23.0~25.1%), oleic(7.2~14.6%) acids이었고, 당지질에서는 불포화 지방산의 함량이 높았으나, 인지질에서는 포화 지방산 함량이 높게 나타났다.

감사의 글

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

문 헌

1. Simopoulos, A. P. : ω -3 fatty acids in growth and development and in health and disease, Part I: The role of ω -3 fatty acids in growth and development. *Nutrition Today*, 23(2), 10(1988)
2. Price, P. B. and Parsons, J. G. : Lipids of seven cereal grains. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52(12), 490(1975)
3. Ohnishi, 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)
4. Gibrat, R. and Rossignol, M. : Lipid composition of membranes from maize and barley roots. *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.*, 285(12), 1171(1977)
5. Smidovnik, A., Perdih, A. : Composition of lipids included in starch and all other lipids in corn flour. *Nova Proizvod.* 33(3-4), 66(1982)
6. Boggess, T. S. : Changes in lipid composition of sweet potatoes as affected by controlled storage. *J. Food Sci.*, 32, 554(1967)
7. 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(1957)
8. 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)
9. Marnetti, G. V. : Lipid chromatography analysis, Marcel Dekker, Inc., New York, p.118(1967)
10. Stahl, E. : Thin layer chromatography, Academic

- Press, New York, p.105(1969)
11. 林陽 : 油化學, 28(2), p.129(1979)
 12. Patton, S. and Thomas, A. J. : Composition of lipid foams in bladders of two deep ocean fish species. *J. Lipid Research*, 12, 331(1971)
 13. Amenta, J. S. : A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin layer chromatography. *J. Lipid Research*, 5(2), 270(1964)
 14. Cook, E. P. : *Analyst*, 86, 373(1961)
 15. Dittmer, J. C. and Lester, R. L. : A simple specific spray for the detection of phospholipids on thin layer chromatograms. *J. Lipid Research*, 5, 129(1964)
 16. Frank, A. L. and Mattick, R. L. : Fatty acids of the lipids of vegetables. *J. Food Sci.*, 26, 273(1961)
 17. 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)
 18. 安斗熙, 河泰錫 : 마치종 옥수수의 품종별 지질 조성의 비교. 한국영양식량학회지, 16(4), 350(1987)
 19. Weber, E. J. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 46(9), 485(1969)
 20. Weber, E. J. : *Lipids*, 8(5), 295(1973)
 21. Weber, E. J. and Alexander, D. E. : Breeding for lipid composition in corn. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52(9), 370(1975)
 22. Eric, E. and Poul, K. : The cell-its biochemical organization. *Outlines of Biochemistry*, 5th ed., p. 304(1987)
 23. Hirayama, O. and Matsuda, M. : *Nippon. Nogei Kagaku. Kaishi*, 47, 574(1965)
 24. Sahasratudhe, N. R. : Studies of glycolipids in grains. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 56, 80(1979)
- (1991년 8월 14일 접수)