

## 충전컬럼 및 모세관컬럼 가스크로마토그래프에 의한 마요네즈 중의 스테롤 분석연구

김현위 · 정소영 · 정창기 · 윤형식 · 박기문 · 안평욱 · 최춘언  
오뚜기 중앙연구소

### Studies on Analysis of Sterols in Mayonnaise by GLC with Packed and Capillary Column

Hyeon-Wee Kim, So-Young Jeong, Chang-Ki Jeong, Hyeong-Sik Yoon,  
Ki-Moon Park, Peong-Ug Ahn and Chun-Un Choi  
*Ottogi Research Center*

#### Abstract

Sterols in mayonnaise were determined by the gas liquid chromatographic(GLC) analysis using two different columns, packed column(silicone SE30) and fused silica capillary column(CBP1). Four kinds of sterol(cholesterol, campesterol, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol) were detected in mayonnaise. The method using capillary column proved to be superior in rapidity, reproducibility and separability for the determination of sterols. The ranges of concentration of egg yolk in mayonnaise predicted from cholesterol content using packed and capillary columns were 2.69~7.11% and 2.42~6.08%, respectively. Analyzing the composition of campesterol, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol in mayonnaise, it could be known that soybean oil and cottonseed oil are commonly used for the manufacture of mayonnaise.

Key words: mayonnaise, sterol, packed column, capillary column

## 서 론

최근 실험법의 진보에 따라 스테롤 연구는 급속하게 발전하여 왔으며, 식품 중 콜레스테롤은 여러가지 방법으로 분석할 수 있다. 이전에는 스테롤에 특유의 발색을 이용한 비색법이 압도적으로 많았으며, 이 방법은 콜레스테롤만이 존재하고 있는 혈청이나 조직 콜레스테롤의 정량에는 적합하지만 식품의 경우에는 콜레스테롤이외의 스테롤도 함유되어 있고 특히 식물성식품에서는 콜레스테롤이외의 것이 대부분이므로 스테롤을 정확히 정량하는 데에는 가스크로마토그래프법에 의해 분별 정량하는 것이 가장 적당하다고 보고되고 있다<sup>(1-6)</sup>. 특히, 마요네즈는 원료로서 65% 이상의 식물성기름과 유화제로서 난황을 사용하므로 이들로부터 유래된 스테롤 즉, 동맥경화 등의 성인병의 원인이 되는 유도지질인 콜레스테롤 함량을 파악할 필요가 있다<sup>(7-9)</sup>. 따라서, 본 연구에서는 가스크로마토그래프법으로 스테롤을 정량하는데 있어서 충전컬럼과 모세관컬럼을 사용하여 비교 연구함으로써 가스크로마토그래프의 최적 분리조건을 설정하였고, 이를 토대로 마요네즈를 수집, 스테롤 함량을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 마요네즈는 시중에서 유통 판매되는 것을 구입하여 시료로 삼았다.

### 표준 스테롤 및 검량선 작성

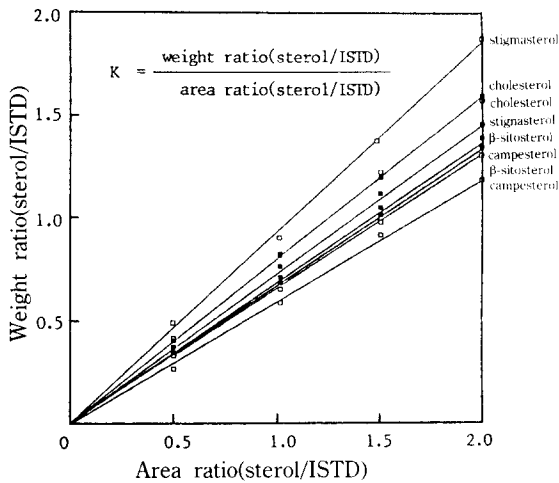
사용한 표준 스테롤(Sigma Chemical Co.)의 순도는 cholesterol 99%, campesterol 65%,  $\beta$ -sitosterol 60%, stigmasterol 96%이었다. 각각 10 mg씩 정확히 무게를 달아 chloroform에 녹이고, 이 용액을 적당한 농도가 되게 희석한 다음 내부표준물질로서 5 $\alpha$ -cholestane을 사용하여 검량선을 작성하였다. 또한 정량실험을 하기 위하여 5 $\alpha$ -cholestane에 대한 각각의 스테롤 무게비를 면적비로 나누어 K값을 구하였다.

### 시료전처리<sup>(10)</sup>

마요네즈 약 10g을 300 ml 삼각플라스크에 정확히 달아 1 N KOH용액 100 ml와 내부표준물질(5 $\alpha$ -cholestane) 10 mg/chloroform 10 ml를 가한 후 공기냉각관을 부착하여 80°C 수욕상에서 1시간 비누화하였다. 실온에서 냉각 후 포화식염수용액 100 ml를 가하고 ether 100 ml씩으로 3회 불검화물을 추출해 낸 다음, 얻어진 ether층을 알카리성을 띠지 않을 때까지 증류수로 여러번

**Table 1. Conditions of gas chromatography for analysis of sterol**

Description	Conditions	
	Glass packed column	Fused silica capillary column
Column	10% Silicone SE30 chromosorb W AW DMCS 80/100 mesh (가스크로工業)	CBP1 (Shimadzu Co.)
Column dimension	2m×3 mm	10m×0.3 mm×0.25 μm
Carrier gas	N <sub>2</sub> (50 ml/min)	He (75 ml/min) Make up gas (50 ml/min)
Oven temp.	280°C isothermal	200°C→250°C (5°C/min)
Det. temp.	FID (300°C)	FID (270°C)
Inj. temp.	300°C	270°C
Inj. volumn	1.5 μl	0.4 μl
Split ratio	—	1/100

**Fig. 1. Calibration curves of sterols**

□—□; capillary, ■—■; packed ISTD; 5α-cholestane

세정하고 무수황산나트륨을 가하여 탈수시킨 후 농축하였다. 농축물에 chloroform을 가하여 10 ml로 채운 다음 GC 분석시료로 하였다.

#### GC 분석

실험에 사용한 장치는 Shimadzu GC-14A이며, 분리능 비교에 사용한 컬럼 및 분석조건은 Table 1과 같다.

#### 정성 및 정량

표준스테롤의 머무름 시간과 비교하여 동정하였으며, 상기 시료전처리에 따라 추출한 시료의 각 스테롤 함량은 다음 식에 따라 정량 계산하였다.

Amount of sterol in food (mg/100g)

$$= \frac{\text{SAMPLE area} \times K}{\text{ISTD area}} \times \frac{\text{ISTD wt}}{\text{SAMPLE wt}} \times 100$$

**Table 2. Conversion factor(K) of sterol on packed and capillary column**

Sterol	Pakced	Capillary
Cholesterol	1.22	1.23
Campesterol	1.46	1.67
Stigmasterol	1.44	1.50
β-Sitosterol	1.38	1.03

**Table 3. Repeatability of retention time for sterols on packed and capillary column**

Sterol	Packed		Capillary	
	RT(min)	CV(%)	RT(min)	CV(%)
5α-cholestane	7.80	0.03	4.28	0.02
Cholesterol	12.79	0.05	6.42	0.04
Campesterol	15.98	0.07	7.38	0.07
Stigmasterol	17.10	0.07	7.71	0.06
β-sitosterol	19.33	0.08	8.43	0.06

RT; Mean values of retention time for ten analysis  
CV: Coefficient of variation

## 결과 및 고찰

#### 표준스테롤 및 검량선 작성

5α-cholestane에 대한 각 스테롤의 면적비와 중량비를 축으로 하여 검량선(Fig. 1)을 작성하였고 이들로부터 아래 식에 따라 구한 K값은 Table 2와 같다.

$$K = \frac{\text{sterol wt(mg)}}{5\alpha\text{-cholestane wt(mg)}} \div \frac{\text{sterol area}}{5\alpha\text{-cholestane area}}$$

#### 분리관에 따른 스테롤의 분리능 및 재현성 비교

4종 스테롤의 최적 분리조건 및 충전컬럼과 모세관 컬럼에 의한 분리 영향을 검토한 결과, 얻어진 이들의 크로마토그램은 Fig. 2와 같다. 4종 스테롤들은 완전히 분리되어 동정 및 정량이 용이하였다. 충전컬럼에서 머무름 시간의 범위는 7분에서 20분 이내인 반면, 모세관

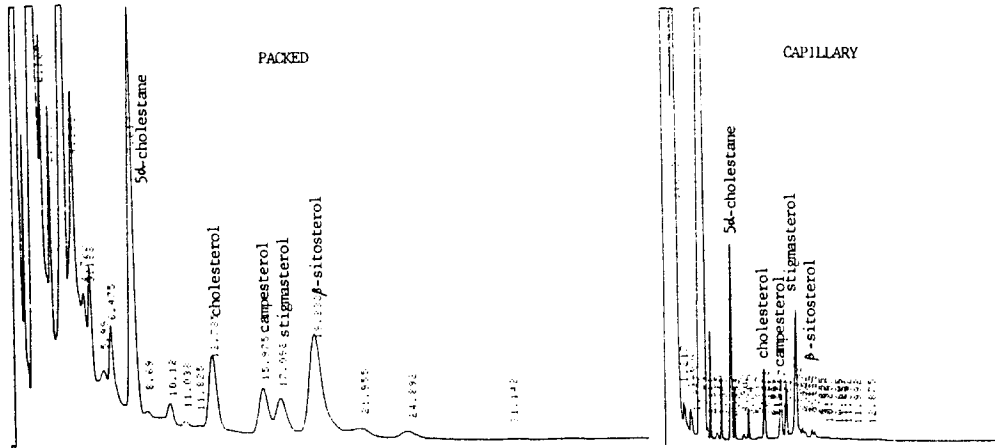


Fig. 2. Gas chromatogram of sterols on packed and capillary columns

Table 4. Analytical results of sterols in mayonnaises (mg/100g)

Sample	Cholesterol		Campesterol		Stigmasterol		β-sitosterol	
	SE30	CBP1	SE30	CBP1	SE30	CBP1	SE30	CBP1
1	66.40	74.45	25.72	41.12	21.48	23.03	98.06	124.61
2	45.86	65.75	44.28	85.17	29.10	34.53	104.47	172.97
3	39.68	43.78	35.79	55.16	31.42	28.50	103.30	153.03
4	46.05	65.88	32.55	55.35	27.66	26.74	103.88	143.30
5	38.22	57.75	42.69	79.04	33.28	36.92	107.53	163.45
6	96.19	109.83	24.76	45.90	—	7.45	258.94	325.18
7	43.37	65.69	44.92	85.61	31.62	37.77	112.46	202.12
8	36.48	58.38	33.32	65.00	29.41	34.00	107.42	161.29
9	54.51	64.85	40.20	62.52	35.54	32.91	121.78	181.54

SE30; glass packed column(2m×3 mm)  
 CBP1; fused silica capillary column (10m×0.3 mm×0.25 μm)

Table 5. Fatty acid compositions of mayonnaises (wt%)<sup>2)</sup>

Sample	14 : 0 <sup>1)</sup>	16 : 0	16 : 1	18 : 0	18 : 1	18 : 2	18 : 3	20 : 1
1	—	10.6	0.2	3.9	23.0	54.0	8.1	0.1
2	—	10.7	0.2	3.8	22.7	54.9	7.4	0.2
3	0.3	12.0	0.3	3.5	22.4	55.0	6.5	—
4	—	10.6	0.2	3.8	22.2	54.9	8.2	0.2
5	—	10.6	0.2	3.8	23.0	54.0	8.0	0.2
6	0.8	19.5	0.7	2.7	20.3	55.3	0.5	—
7	—	10.5	0.2	3.9	22.5	55.0	7.8	—
8	—	10.0	—	4.2	30.6	49.0	6.0	—
9	—	10.5	0.2	3.8	23.1	54.7	7.8	—

<sup>1)</sup>Fatty acid (Carbon number: Number of double bond)

<sup>2)</sup>GC condition<Column; 17% DEGS, 3m×3 mm, Col. temp.; 190°C isothermal, INJ temp.; 250°C, DET temp.; 250°C>

컬럼에서 머무름 시간의 범위는 4분에서 9분 이내로 모세관컬럼을 사용한 경우 분석소요시간이 1/2정도 단축되었다. 또한 4종 스테롤에 대한 머무름 시간(10회 분석한 평균치)과 상대표준편차(Table 3)는 두 컬럼

모두 이상적인 머무름 시간의 상대표준편차라 할 수 있는 0.1% 이하로서 양호하였고, 모세관 컬럼을 사용했을 경우 재현성이 더 좋은 것으로 나타났다. 따라서, 신속성이나 분리능 및 재현성 면에서 모세관 컬럼의 사용이 바람

직하리라 사료된다.

### 시료의 분석

두 컬럼에 의한 9종 마요네즈의 스테롤 분석결과는 Table 4와 같다. 모세관 컬럼의 경우 충전컬럼보다 각 스테롤 함량이 다소 높았으며 스테롤 조성으로 미루어 시료 6에는 면실유, 나머지 시료들에는 대두유를 사용하였음을 알 수 있었다. 이는 시료들로부터 지방을 분리해 내어 지방산 조성을 분석하였을 때도 시료 6에는 면실유, 나머지 시료들에는 대두유(단, 시료 8은 대두경화유 포함) 결과를 얻음으로써(Table 5) 재확인하였다. 한편, 무게 약 50g되는 제란을 25개 무작위 추출하여 상기 스테롤 추출법에 따라 난황 중 콜레스테롤 함량을 분석한 결과, 그 함량이 충전컬럼의 경우  $1351.9 \pm 48.6$  mg/100g, 모세관 컬럼의 경우  $1806.1 \pm 64.9$  mg/100g이었다. 이로부터 Table 4에 나타난 마요네즈시료들의 난황 사용량은 충전컬럼의 경우 2.69~7.11%, 모세관 컬럼의 경우 2.42~6.08% 범위인 것으로 추정하였다. 따라서, 가스크로마토그래피법에 의한 제품중의 스테롤 분석결과는 사용한 식용유의 종류 식별 및 난황 사용량을 추정하는데 기초자료로 이용될 뿐만 아니라 식품성분표 작성에도 도움이 되리라 기대한다.

### 요 약

가스크로마토그래피법으로 마요네즈 중의 스테롤을 정량하는데 있어서 충전컬럼과 모세관 컬럼을 사용하여 비교 연구하였다. 두 컬럼의 경우 4종의 스테롤(cholesterol, campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol)이 모두 뚜렷히 분리되었으나 모세관 컬럼이 신속성, 재현성, 분리능 면에서 우수하였다. 한편, 제품에 적용하여 분석한

결과, 측정된 cholesterol 함량으로부터 추정된 시판 마요네즈의 난황사용량은 충전컬럼의 경우 2.69~7.11%, 모세관 컬럼의 경우 2.42~6.08% 범위이었으며, 스테롤 조성으로부터 마요네즈 제조에 사용된 식용유는 대두유 및 면실유임을 알 수 있었다.

### 문 헌

1. 高木徹：油脂 脂質の機器分析. 辛書房, p.215(1976)
2. 東京化學同人：生化學實驗講座(3) 脂質の化學. 日本生化學會編, p.499(1974)
3. Perkins, E.G. and Visek, W.J.: *Dietary Fats and Health*. American Oil Chemists' Society, Champaign, p.267 (1983)
4. 藤野安彦：生化學實驗法(9) 脂質分析法入門. 學會出版センター, p.226(1978)
5. Trost, V.W.: Characterization of corn oil, soybean oil and sunflowerseed oil nonpolar material. *JAOCS*, **66** (3), 325(1989)
6. Grob, K., Lanfranchi, M. and Mariani, C.: Determination of free and esterified sterols and of wax esters in oils and fats by coupled liquid chromatography gas chromatography. *J. Chromatogr.*, 471,397(1989)
7. 近藤泰男, 増田和子, 黒岩知恵子：キャピラリー-カラムを用いたガスクロマトグラフィによる貝類ステロルの組成と定量. *營養と食糧*, **35**(4), 275(1982)
8. Ibrahim, N., Unklesbay, N., Kapila, S. and Puri, R.K.: Cholesterol content of restructured pork/soy hull mixture. *J. Food Sci.*, **55**(6), 1488(1990)
9. 啓介：食品コレステロールの含量と表示. *食の科學*, 2月号, p.8(1991)
10. 日本食品工業學會編：食品分析法. 光琳, p.571(1982)

(1991년 11월 4일 접수)