

## 옥수수 종실 및 속대의 Phytosterol 동정과 함량 변이

김선림<sup>1,†</sup> · 김미정<sup>2</sup> · 정건호<sup>1</sup> · 이유영<sup>1</sup> · 손범영<sup>1</sup> · 김정태<sup>1</sup> · 이진석<sup>1</sup> · 배환희<sup>1</sup> · 고영삼<sup>1</sup> · 김상곤<sup>1</sup> · 백성범<sup>1</sup>

### Identification and Quantification of Phytosterols in Maize Kernel and Cob

Sun-Lim Kim<sup>1,†</sup>, Mi-Jung Kim<sup>2</sup>, Gun-Ho Jung<sup>1</sup>, Yu-Young Lee<sup>1</sup>, Beom-Young Son<sup>1</sup>, Jung-Tae Kim<sup>1</sup>, Jin-Seok Lee<sup>1</sup>, Hwan-Hee Bae<sup>1</sup>, Young-Sam Go<sup>1</sup>, Sang-Gon Kim<sup>1</sup>, and Seong-Bum Baek<sup>1</sup>

**ABSTRACT** Unsaponifiables in the kernel and the cob of 7 maize varieties were analyzed by using thin-layer chromatography (TLC) and gas chromatography (GC) for the identification of phytosterols and their concentrations. The unsaponifiables of the kernel were clearly separated into band I (campesterol, stigmasterol, and  $\beta$ -sitosterol), band II ( $\Delta^5$ -avenasterol), band III ( $\Delta^7$ -stigmastenol), and band IV ( $\Delta^7$ -avenasterol). In the cob, on the other hand, three or more bands were separated in addition to bands. The GC analysis of unsaponifiables showed good separation of campesterol, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol, but the mixture of  $\Delta^7$ -avenasterol (retention time[RT] 22.846),  $\Delta^7$ -stigmastenol (RT 22.852), and  $\Delta^5$ -avenasterol (RT 22.862) showed poor separation. Phytosterol content of the maize kernel was 635.9 mg/100 g, and that of the cob was 273.0 mg/100 g, respectively. The phytosterol content of the kernel was 2.4-fold higher than that of the cob. The phytosterol content of the kernel was higher in the order  $\beta$ -sitosterol 80.05% > campesterol 10.5% > stigmasterol 9.46%, but that of the cob was higher in the order  $\beta$ -sitosterol 59.43% > stigmasterol 31.72% > campesterol 10.98%. Based on these results, it appears that the phytosterols of the maize kernel are synthesized in the maize cob and are transferred to the kernel, because the precursors ( $\Delta^7$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -stigmastenol, and  $\Delta^5$ -avenasterol) of major phytosterols were detected in maize cobs.

**Keywords** : cob, identification, kernel, maize, phytosterol, quantification

**옥수수**(*Zea mays* L.)는 벼, 밀과 더불어 세계 3대 식량작물의 하나로 수량성이 매우 높아 곡물의 여제(queen of cereals)로 불리며 중요한 가축의 사료가 될 뿐만 아니라 의약품을 비롯한 각종 화학제품 생산에 사용되고 있다.

그러나 이삭에서 종실(kernel)을 탈립 후 부산물로 남겨지는 속대(cob)는 그 용도가 다양하지 않아 사료 및 펄프 등으로 쓰였는데, 태우고 남은 재에는 알칼리성분이 풍부하여 칼리비료의 제조에 사용되기도 하였다.

옥수수 속대에는 cellulose가 약 39.1%, hemicellulose 42.1%, lignin 9.1%로 풍부하게 함유되어(Barl *et al.* 1991) 있어 속대를 가수분해 또는 효소처리를 하여 arabinose, xylose, xylitol, xylobiose와 같은 당을 얻거나 lactic acid, citric acid, 에탄올 생산에 이용하고 있다(Beall & Ingram 1992, Liaw *et al.* 2008,

Olsson & Hahn-Hägerdal 1996). 우리나라에서는 민간요법으로 잇몸염증 완화에 옥수수 속대 끓인 물을 사용하여 왔으며, 최근 호주 등지에서는 속대 추출물이 첨가된 치약을 개발하였는데, 이는 속대에 함유된 phytosterol이 잇몸질환 예방과 치료에 효과가 있기 때문이라고 한다. Phytosterol은 각종 식물에 널리 함유되어 있는 steroid alcohol류의 물질로서 옥수수, 콩 등에 함량이 높은 것으로 알려져 있다(Rouf *et al.*, 2016, Verleyen *et al.*, 2002). 지금까지 약 250종의 phytosterol 류가 보고되어 있으며 화학구조상 C-4 위치에 있는 methyl group의 수에 의해 4-desmethylsterol (without methyl group), 4-monomethylsterol (one methyl group) 및 4, 4-dimethylsterol (two methyl group) 3종으로 구분하고 있다(Azadmard-Damirchi 2010). Phytosterol은 유리상태, 배당체 및 지방산 등과 에스테르 형태로 존재를

<sup>1</sup>국립식량과학원 중부작물부(Department of Central Area Crop Science, NICS, RDA, Suwon 16613, Korea)

<sup>2</sup>농촌진흥청 연구정책국(Research Policy Bureau of Rural Development Administration, Jeonju 54875, Korea)

<sup>†</sup>Corresponding author: Sun-Lim Kim; (Phone) +82-31-695-4041; (E-mail) [kimsl@korea.kr](mailto:kimsl@korea.kr)

<Received 26 May, 2018; Revised 7 June, 2018; Accepted 14 June, 2018>

하며(Nes 1987, Verleyen *et al.* 2002), 생체막의 구성성분이 될 뿐만 아니라 막의 견고성 유지 및 물질의 투과성 조절 등의 생체기능에 관여 하며(Piironen *et al.*, 2000), 위와 장에서 cholesterol의 흡수조절, lipoprotein (HDL, LDL)의 profile 개선 기능뿐만 아니라 전립선 건강, 항암, 면역증강, 혈당조절 및 동맥경화증 예방효과 등이 보고되어 있다(Jiang & Wang, 2005, Ostlund *et al.* 2002; 2003, St-Onge *et al.* 2003). 일반적으로 phytosterol의 섭취량은 식문화와 개인적 식습관 등에 따라 다르지만 하루 섭취량이 약 160~360 mg 이라고 하며(de vries *et al.*, 1997), 서양인은 하루에 200~300 mg을 섭취하지만 아시아인들은 서양인들보다 섭취량이 더 많다고 한다(Zhou *et al.* 2003).

2010년 세계 phytosterol 시장의 규모는 391.5백만 달러였으나, 2018년에는 시장규모가 887.8백만 달러로 예상되며 연평균 성장율이 9.5%에 달하기 때문에 관련업계에서는 phytosterol을 강화시킨 신제품개발에 많은 관심을 가지고 있다(Transparency Market Research 2012). 국내에서는 옥수수 불검화추출물(ZML)을 수입하여 치주질환 예방 및 치료를 목적으로 하는 건강기능식품 및 의약품을 제조하고 있으나, 아직도 해당 분야의 연구 기반은 비교적 낮은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 육성, 재배중인 주요 옥수수 품종의 종실과 속대에 함유된 phytosterol의 조성과 함량변이를 검토하여 고품질 신제품 육성 및 부가가치 제고를 위한 신소재 개발에 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시험재료

본시험에 사용된 옥수수는 국내에서 육성된 일대 교잡종(F<sub>1</sub> hybrid)인 광안옥, 다평옥, 신광옥, 안다옥, 청안옥, 평강옥, 평안옥 등 7품종으로 옥수수 이삭에서 종실(kernel)과 속대(cob)를 분리 후 시험용 분쇄기(Brabender, Duisburg Germany)로 분쇄하여 시험재료로 사용하였다.

### 지방함량 및 지방산 조성 분석

옥수수 종실 및 속대의 지방함량은 Soxtherm Automatic System (Gerhardt Soxtherm 2000, Hoffmannstre, Germany)으로 분석을 하였는데, 곱게 분쇄된 종실 및 속대 분말에 n-hexane을 가하여 180℃에서 30분간 가열하여 시료의 조지방을 용출시키고, 추출용매를 제거시킨 후 조지방의 함량을 구하였다. 지방산 조성의 분석은 분쇄한 옥수수 종실 및 속대의 분말 0.5 g에 methanol : heptane : benzene : 2,2-dimethoxypropane : H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (37 : 36 : 20 : 5 : 2, v/v)을 가하고 80℃로 1시간 가열 후 FAMES (fatty acid methyl ester)을 취해 gas chromatography (6890 N series, Agilent Technologies Inc., Wilmington, DE, USA)에

HP-Innowax capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, Agilent J&W, Wilmington, DE, USA)을 장착하여 지방산 조성을 3반복으로 분석 하였다.

### 옥수수 불검화물의 제조 및 TLC 분석

옥수수종실 및 속대에서 추출된 기름을 이용한 검화(saponification)는 옥수수기름에 10% KOH를 용해시킨 MeOH 용액을 가하고 60℃에서 90분간 처리 후 탈지면으로 여과시킨 여액에 동일 비율의 증류수 및 hexane을 가하여 강하게 교반시켜 불검화물(unsaponifiables)을 hexane 용액으로 이동시켜 상등액을 취하고 감압농축 후 TLC 및 GC 분석을 위한 시료로 준비 하였다.

### 옥수수 불검화물의 TLC 및 GC분석

옥수수의 종실 및 속대 불검화물에 함유된 phytosterol의 동정을 위한 TLC 분석은 Kieselgel 60F-254 TLC plate (0.25 mm, Merck, Darmstadt, Germany)를 사용하여 하였는데, 이때 시료의 전개에 사용된 용매는 n-hexane : diethyl ether : acetic acid (70 : 30 : 1, v/v/v) 이었고, 불검화물의 TLC 전개가 완료된 후 발색은 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액을 분무시킨 후 110℃에서 20분간 가열하여 phytosterol의 조성을 확인하였다. 또한 불검화물에 함유된 phytosterol의 조성 및 함량은 GC로 분석을 하였는데, Fig. 1에 나타낸 바와 같이 옥수수 종실 및 속대의 불검화물에 BSA[N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide], pyridine, hexane을 순차적으로 가하여 TMS 유도체화(trimethylsilyl derivatization)

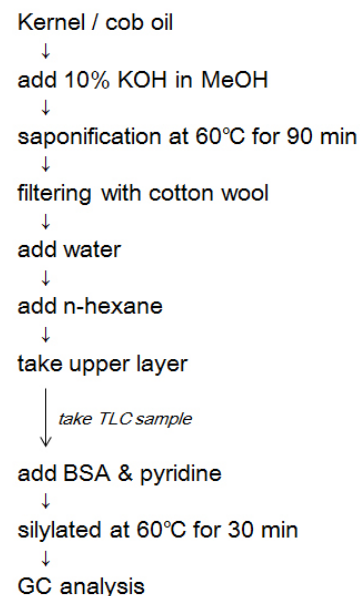


Fig. 1. Schematic representation of the BSA[N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide] silylation process using unsaponifiables in maize kernels and cobs.

하였고, HP-5ms capillary column (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm, Agilent J&W, Wilmington, DE, USA)을 사용하여 injector의 온도 260℃, FID detector 310℃로 각각 설정하고, chamber의 온도를 150℃에서 320℃까지 분당 10℃씩 상승시키면서 불검화물에 함유된 phytosterol의 조성과 함량을 3반복으로 분석하였다. TLC 및 GC로 분리된 phytosterol의 성분확인을 위해 사용된 표준시약 중 campesterol, stigmasterol, β-sitosterol은 Wako (Tokyo, Japan), Δ<sup>5</sup>-avenasterol, Δ<sup>7</sup>-stigmastenol 및 Δ<sup>7</sup>-avenasterol은 ChemFaces (Wuhan ChemFaces Biochemical Co., Ltd., Wuhan, China) 제품을 구입하여 사용하였다.

### 결과 및 고찰

#### 백립중, 지방함량 및 지방산 조성

본 시험에 사용된 옥수수 7 품종의 백립중 및 종실과 속대의 지방함량은 Table 1에 나타낸 바와 같다.

옥수수 7 품종의 백립중은 34.27 g ~ 25.61 g의 분포를 보였는데, 평균 백립중은 28.62 g 이었고, 신평옥이 34.27 g 으로 가장 높았으며 평안옥이 26.17 g으로 낮았다. 옥수수의 조지방 함량은 종실의 경우 4.51% ~ 3.60%의 분포를 보였으며 평균 조지방 함량은 4.02%였고, 속대는 0.34% ~ 0.28%의 분포를 보였는데, 이들의 평균 조지방 함량은 0.31%로서 종실과 속대에서 뚜렷한 조지방 함량의 차이를 나타내었다.

Fig. 2는 옥수수 7품종의 평균 지방산 조성을 그림으로 나타낸 것으로 옥수수의 종실과 속대는 지방산조성에서 뚜렷한 차이가 있는 것으로 나타났다.

옥수수의 종실은 linoleic 51.66% > oleic 29.52% > palmitic 14.33% > linolenic 2.30% > stearic acid 2.18% 순의 지방산 조성을 보였고, 속대는 palmitic 37.43% > linoleic 25.02% >

oleic 18.0% > stearic 17.09% > linolenic 2.46% 순의 조성을 보였다. 식물성 유지에서 지방산의 조성 및 포화지방산과 불포화 지방산의 비율은 유지의 고유특성과 용도를 좌우하는 주요 요인이 되는데, 종실은 불포화 지방산의 비율이 83.48%였으나, 속대는 포화지방산의 비율이 54.52%로 높아 종실과 속대는 지방산 조성에 뚜렷한 차이가 있음을 알 수 있었다.

Rebecca *et al.* (2013)은 옥수수 25 품종을 대상으로 유리 sterols/stanols, 지방산의 steryl/stanyl esters 및 phenolic acid esters의 조성을 확인 하였는데, 지방산 조성은 linoleic acid 51~62%, oleic acid 23~36% 및 palmitic acid 9~13%이었고, 지방산과 ester 결합을 이루고 있는 sterols/stanols중 linoleic acid 비율이 가장 높고, oleic/stearic acid, palmitic/palmitoleic acid 순으로 ester 결합을 이루고 있다고 하였다. Ayerdi *et al.* (2015)은 해바라기를 대상으로 지방산조성과 phytosterol 함

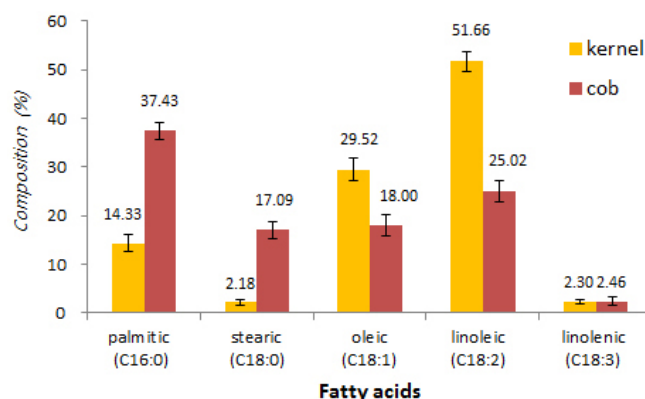


Fig. 2. A comparison of fatty acid composition between maize kernels and cobs. Presented data are the mean values for each fatty acid in 7 maize varieties.

Table 1. The 100-kernel weight and crude oil content of maize kernels and cobs.

Varieties	100-kernel weight (g)	Crude oil (%)	
		kernel	cob
Kwangpyeongok	27.06 ±0.23 <sup>ef</sup>	4.51 ±0.04 <sup>a</sup>	0.34 ±0.01 <sup>a</sup>
Dapyeongok	28.31 ±0.24 <sup>c</sup>	3.60 ±0.03 <sup>c</sup>	0.29 ±0.01 <sup>c</sup>
Singwangok	34.27 ±0.36 <sup>a</sup>	3.89 ±0.04 <sup>c</sup>	0.28 ±0.00 <sup>c</sup>
Andaok	31.31 ±0.22 <sup>b</sup>	3.63 ±0.03 <sup>c</sup>	0.29 ±0.00 <sup>c</sup>
Cheonganok	27.66 ±0.34 <sup>d</sup>	3.61 ±0.03 <sup>c</sup>	0.29 ±0.01 <sup>c</sup>
Pyeongangok	26.17 ±0.37 <sup>f</sup>	4.45 ±0.04 <sup>ab</sup>	0.32 ±0.01 <sup>b</sup>
Pyeongangok	25.61 ±0.20 <sup>g</sup>	4.41 ±0.04 <sup>b</sup>	0.32 ±0.00 <sup>b</sup>
mean ± S.D.	28.62 ±0.07	4.02 ±0.04	0.31 ±0.01

<sup>f</sup> Means in a column with different superscript letters are significantly different according to Duncan's multiple-range test at p < 0.05.

량과의 관계를 검토하였는데, tocopherol 함량과 oleic acid는 phytosterol 함량과 정(+)상관 관계가 있다고 하였다. 본 연구의 결과 시험품종 7종의 지방산 조성은 Rebecca *et al.* (2013)이 보고한 옥수수 25품종의 지방산 조성과의 일치성을 하였다. 또한, 옥수수 종실과 속대의 포화지방산인 pamic acid와 stearic acid는 phytosterol 함량과 부(-)상관을 보였고, 불포화지방산 중 oleic acid와 linoleic acid는 정상관의 경향이었는데, linolenic acid의 경우에는 종실과는 정상관( $r = 0.652^*$ ), 속대는 부상관( $r = -0.505^*$ ) 관계가 있는 것으로 나타났다(Table 2).

**옥수수 종실과 속대의 phytosterol 동정**

Fig. 3은 옥수수의 종실과 속대 추출된 불검화물의 phytosterol

조성과 함량을 TLC 및 GC로 분석한 과정을 나타낸 것이다.

옥수수의 불검화물을 Kieselgel 60 F-254 TLC plate에서 전개한 결과 종실에서는 4종의 밴드(I, II, III, IV)가 뚜렷하게 분리가 되었으며, 속대에서는 band I~IV 이외에도 약 3종의 band가 추가적으로 분리가 되어 종실과 속대의 phytosterol의 분리 패턴이 다소 상이함을 알 수 있었다. 또한 TLC로 분리된 각 밴드의 phytosterol 조성을 확인하기 위하여 TLC plate에서 분리된 밴드별을 scraping하여 분리물질을 hexane에 용출시킨 후 농축하여 GC에 주입한 결과 band I 은 campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol로 이루어진 혼합물임을 알 수 있었다. 따라서 TLC에서는 campesterol, stigmasterol 및  $\beta$ -sitosterol의 분리능이 매우 저조하여 하나의 spot으로 나타나지만, GC에서는 이들 성분의 분리능이 좋음을 알 수 있었다. 또한 TLC로 분리된 band II는  $\Delta^5$ -avenasterol, band III는  $\Delta^7$ -stigmastenol, band IV는  $\Delta^7$ -avenasterol임을 각각 확인할 수 있었다.

따라서 TLC 및 GC 분석결과를 비교 검토하여 볼 때 TLC plate에서는 옥수수의 phytosterol 중 주요 구성 성분인 campesterol, stigmasterol 및  $\beta$ -sitosterol의 분리능은 매우 저조하지만(Kornfeldt & Croon 1981),  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -stigmastenol 및  $\Delta^7$ -avenasterol 뿐만 아니라 추가적인 성분의 분리가 가능하였다. 반면 GC분석에서는 TLC에서는 분리능이 저조하였던 campesterol, stigmasterol 및  $\beta$ -sitosterol의 분리는 원활하

**Table 2.** A correlation coefficients between fatty acid composition and total phytosterol content of maize kernels and cobs.

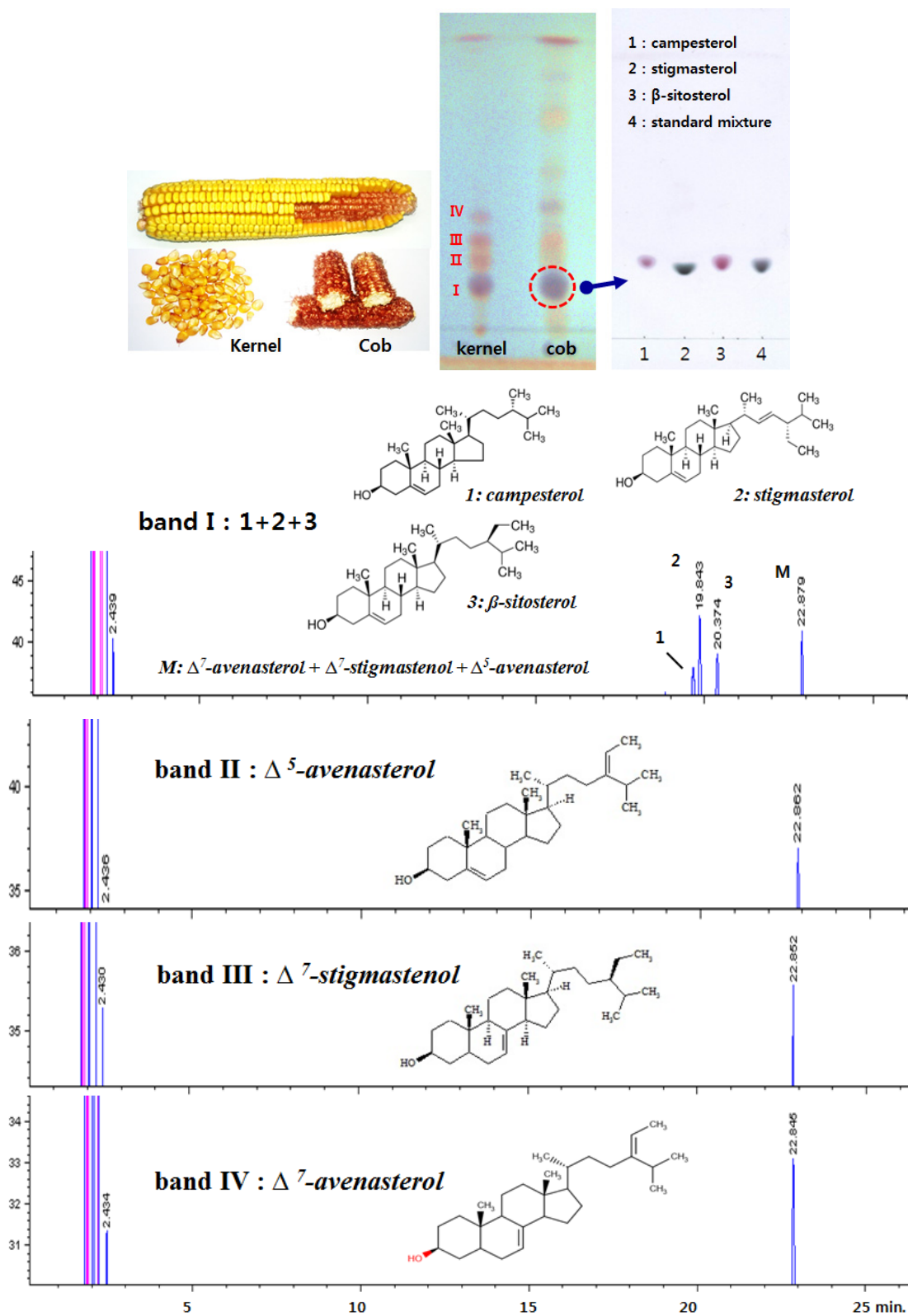
Fatty acids	Phytosterol contents	
	kernel	cob
Palmitic acid (C16:0)	-0.509*	-0.215
Stearic acid (C18:0)	-0.216	-0.335
Oleic acid (C18:1)	0.203	0.423
Linoleic acid (C18:2)	0.203	0.028
Linolenic acid (C18:3)	0.652*	-0.505*

\*statistically significant at  $p < 0.05$ .

**Table 3.** Comparison of phytosterol contents between maize kernels and cobs.

Varieties	Phytosterol (mg/100g, Oil)			
	campesterol	stigmasterol	$\beta$ -sitosterol	total
<b>&lt; Kernel &gt;</b>				
Kwangpyeongok	109.5 $\pm$ 7.1 <sup>af</sup>	56.9 $\pm$ 3.7 <sup>d</sup>	579.5 $\pm$ 36.6 <sup>b</sup>	745.8 $\pm$ 46.5 <sup>a</sup>
Dapyeongok	31.8 $\pm$ 2.0 <sup>e</sup>	65.8 $\pm$ 4.3 <sup>c</sup>	656.8 $\pm$ 41.7 <sup>a</sup>	754.3 $\pm$ 47.1 <sup>a</sup>
Singwangok	97.6 $\pm$ 6.1 <sup>b</sup>	82.9 $\pm$ 5.1 <sup>a</sup>	518.6 $\pm$ 33.2 <sup>c</sup>	699.0 $\pm$ 45.4 <sup>a</sup>
Andaok	98.4 $\pm$ 6.5 <sup>b</sup>	45.0 $\pm$ 3.1 <sup>e</sup>	444.1 $\pm$ 28.2 <sup>d</sup>	587.5 $\pm$ 38.2 <sup>b</sup>
Cheonganok	15.1 $\pm$ 0.9 <sup>f</sup>	20.7 $\pm$ 1.3 <sup>f</sup>	570.0 $\pm$ 36.3 <sup>bc</sup>	605.8 $\pm$ 37.9 <sup>b</sup>
Pyeongangok	43.1 $\pm$ 2.8 <sup>d</sup>	77.9 $\pm$ 4.9 <sup>ab</sup>	437.2 $\pm$ 27.5 <sup>d</sup>	558.2 $\pm$ 33.9 <sup>bc</sup>
Pyeonganok	71.7 $\pm$ 4.7 <sup>c</sup>	71.9 $\pm$ 4.7 <sup>bc</sup>	356.8 $\pm$ 23.2 <sup>e</sup>	500.4 $\pm$ 32.8 <sup>c</sup>
<b>mean of kernel <math>\pm</math> S.D.</b>	<b>66.7 <math>\pm</math> 4.5</b>	<b>60.2 <math>\pm</math> 3.9</b>	<b>509.0 <math>\pm</math> 32.8</b>	<b>635.9 <math>\pm</math> 41.1</b>
<b>&lt; Cob &gt;</b>				
Kwangpyeongok	34.7 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	88.4 $\pm$ 0.31 <sup>c</sup>	163.4 $\pm$ 10.6 <sup>b</sup>	286.5 $\pm$ 18.1 <sup>ab</sup>
Dapyeongok	30.7 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	81.6 $\pm$ 0.31 <sup>d</sup>	190.9 $\pm$ 12.4 <sup>a</sup>	303.2 $\pm$ 18.7 <sup>a</sup>
Singwangok	27.4 $\pm$ 0.11 <sup>e</sup>	97.8 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>	164.4 $\pm$ 10.4 <sup>b</sup>	289.6 $\pm$ 18.6 <sup>ab</sup>
Andaok	29.8 $\pm$ 0.12 <sup>d</sup>	93.9 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	151.9 $\pm$ 9.9 <sup>bc</sup>	275.6 $\pm$ 17.9 <sup>ab</sup>
Cheonganok	21.3 $\pm$ 0.09 <sup>f</sup>	56.4 $\pm$ 0.31 <sup>e</sup>	136.9 $\pm$ 8.9 <sup>c</sup>	214.6 $\pm$ 13.5 <sup>c</sup>
Pyeongangok	27.4 $\pm$ 0.11 <sup>e</sup>	81.2 $\pm$ 0.34 <sup>d</sup>	154.8 $\pm$ 9.8 <sup>bc</sup>	263.4 $\pm$ 16.5 <sup>b</sup>
Pyeonganok	34.2 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	94.3 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>	149.7 $\pm$ 9.7 <sup>bc</sup>	278.2 $\pm$ 18.1 <sup>ab</sup>
<b>mean of cob <math>\pm</math> S.D.</b>	<b>29.4 <math>\pm</math> 0.12</b>	<b>84.8 <math>\pm</math> 0.29</b>	<b>158.9 <math>\pm</math> 10.3</b>	<b>273.0 <math>\pm</math> 17.4</b>
<b>LSD(0.05) between kernel &amp; cob</b>	<b>15.74</b>	<b>10.89</b>	<b>45.33</b>	<b>45.73</b>

<sup>f</sup> Means in a column by with different superscript letters are significantly different according to Duncan's multiple-range test at  $p < 0.05$ .



**Fig. 3.** Thin-layer and gas chromatography chromatograms of phytosterols in maize kernels and cobs. *Kieselgel 60F-254* TLC plates were eluted with a mixture of *n*-hexane, diethyl ether, acetic acid (70:30:1, v/v/v) and sprayed with 10%  $H_2SO_4$  then heated at 110  $^{\circ}C$  for 20 minutes.



였지만,  $\Delta^5$ -avenasterol의 머무름 시간(retention time: RT)은 22.862,  $\Delta^7$ -stigmastenol은 22.852,  $\Delta^7$ -stigmastenol은 22.846으로 나타나 분리가 매우 어렵기 때문에 이들의 혼합물을 GC로 분석시 하나의 peak로 overlap되는 문제점이 있었다(Azadmard-Damirchi *et al.* 2005).

일반적으로 phytosterol 분석에는 GC가 이용되고 있는데, 시료를 비누화반응(saponification)을 시킨 후 비누화되지 않은 불검화물을 취하여 TMS 유도체화를 시켜야하는 번거롭고 비용이 수반되는 전처리 과정이 필요하다. 따라서 이와 같은 문제점을 개선시키고자 역상 HPLC를 이용하거나 역상 charged aerosol detection (RP-HPLC-CAD)를 이용한 분석법이 시도되고 있으나 고가의 특정 검출기를 구비해야 할뿐만 아니라 특정 성분들은 분리능이 매우 저조한 문제점 등이 지적되고 있다(Abidi 2001, Kim *et al.* 2000, Lagarda *et al.* 2006, Margaret & Yu 2012).

#### 옥수수 종실과 속대의 phytosterol 함량 비교

Table 3과 Fig. 3은 광평옥을 비롯한 옥수수 7품종의 종실과 속대에서 추출된 불검화물을 HP-5ms 컬럼을 이용하여 phytosterol의 조성 및 함량을 분석한 결과를 나타낸 것이다.

본 시험에 사용된 옥수수 7품종의 종실 및 속대에 함유된 phytosterol은 campesterol,  $\beta$ -sitosterol 및 stigmasterol이 주요 성분임을 알 수 있었는데, 종실의 평균 phytosterol 함량은 635.9 mg/100 g이었으나, 속대는 273.0 mg/100 g으로서 종실이 속대에 비해 함량이 약 2.4배 높은 것으로 나타났다.

옥수수 종실의 phytosterol 함량을 살펴보면  $\beta$ -sitosterol 509.0 > campesterol 66.7 > stigmasterol 60.2 mg/100 g 순으로 나타났으며, 이들의 조성비는 Fig. 4에 나타낸 바와 같이  $\beta$ -sitosterol 80.05%, campesterol 10.5% 및 stigmasterol 9.46%이었다. 옥수수 품종별로 살펴볼 때 종실의 phytosterol 함량은 754.3 ~ 500.4 mg/100 g의 범위에서 변이를 보였는데, 다평

옥이 754.3 mg/100 g으로 함량이 가장 높았고, 평안옥은 500.4 mg/100 g으로 함량이 낮았다.

옥수수 속대의 경우에는  $\beta$ -sitosterol 158.9 > stigmasterol 84.8 > campesterol 29.4 mg/100 g 순으로 함량이 높았으며, 이들 각각의 조성비는  $\beta$ -sitosterol 59.43%, stigmasterol 31.72%, campesterol 10.98% 임을 알 수 있었다. 또한 옥수수 품종별 속대의 phytosterol 함량은 303.2 ~ 214.6 mg/100 g의 범위에서 변이를 보였는데, 다평옥은 종실에서와 동일하게 303.2 mg/100 g으로서 함량이 가장 높았으나 청안옥은 214.6 mg/100 g으로 함량이 낮게 나타나 종실과는 다소 상이한 결과를 보였다. 따라서 옥수수 종실과 속대는 phytosterol의 조성 및 함량에 뚜렷한 차이가 있을 뿐만 아니라 품종 간에도 뚜렷한 변이가 있음을 알 수 있었다.

Phytosterol은 작물의 종류에 따라 다양한 유전적 변이는 물론 재배환경에 따른 차이를 보이지만 이들의 화학적 조성은 식물의 종에 따라 비교적 일정한 분포를 나타낸다고 한다(Abidi *et al.*, 1999, Phillips *et al.*, 2005, Rivera *et al.*, 2004). Harrabi *et al.* (2008)은 옥수수 종실을 부위별로 나누어 phytosterol 함량을 검토한 결과 과피 > 배유 > 배아 순으로 함량이 높다고 하였으며, 모든 부위에서 4-desmethylsterol인  $\beta$ -sitosterol (62-69%)의 함량이 가장 높았고, campesterol (11-18%) 및 stigmasterol (5-13%) 순으로 함량의 차이를 보였으며,  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -avenasterol 및  $\Delta^7$ -stigmastenol은 소량 함유되어 있다고 하였다. 또한 Harrabi *et al.* (2008)은 옥수수 종실의 배아는 기름 함량이 24.2-30.7%, 배유와 과피는 0.4-1.2%였으나 phytostanol과 4,4-dimethylsterol 함량은 오히려 배유와 과피에서 높았을 뿐만 아니라 과피에는 다량의 4-desmethylsterols 및 4-monomethylsterols이 함유되어 있기 때문에 과피가 phytosterol의 생합성에 매우 중요한 역할을 한다고 보고를 하였다. Robert *et al.* (2009)에 따르면 옥수수 종실에서 추출된 옥수수유(corn kernel oil)는 배아유(corn germ

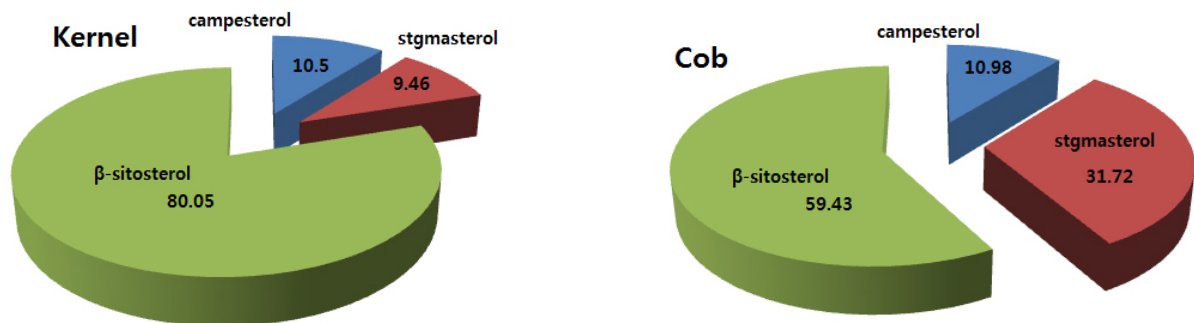


Fig. 4. A comparison of phytosterol compositions between maize kernels and cobs. Presented data are the mean values of each phytosterol in 7 maize varieties.

적 요

oil)보다 2배 이상 phytosterol 함량이 높고, 과피에서 추출된 기름(corn fiber oil)은 배아유보다 10배 이상 phytosterol 함량이 높다고 하였다.

따라서 기존의 연구보고들과 본 연구에서 얻어진 결과로 판단할 때 옥수수 종실에 함유된  $\beta$ -sitosterol, campesterol 및 stigmasterol은 생합성 경로(Force *et al.* 2015)에서 전구물질이 되는  $\Delta^7$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -stigmastenol,  $\Delta^5$ -avenasterol 뿐만 아니라 종실에서는 검출되지 않은 미지의 물질들이 속대에서 검출되는 것으로 보아 phytosterol은 속대에서 합성이 되어 종실로 전이가 이루어지거나, 또는 전구물질이 되는 성분들이 속대에서 합성된 후 종실로 전이되어 phytosteroldl 합성되는 것으로 추정할 수 있었다(Fig. 5).

Hartmann *et al.* (2002)은 phytosterol이 식물체의 원형질막(plasma membrane)에 주로 함유되어 있지만, 이들은 소포체(endoplasmic reticulum)에서 합성되어 전이된다고 보고한바 있기 때문에, 앞으로 phytosterol의 생합성 기작에 있어 옥수수 속대의 기능과 역할에 대하여 보다 구체적인 연구와 검토가 이루어진다면 고품질 신품종 육성에 활용이 가능할 뿐만 아니라 수확후 부산물로 얻어지는 속대를 이용한 기능성 식의 약소재로서 활용과 가치제고에도 매우 유용한 기초자료가 될 수 있을 것으로 판단되었다.

옥수수 종실(kernel)과 속대(cob)의 불검화물(ZML) 중 phytosterol의 조성과 함량의 변이를 구명하여 고품질 옥수수 신품종 육성 및 생리활성물질의 유용 소재화를 위한 기초자료로 활용하고자 본 연구를 실시하여 얻어진 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 옥수수 종실과 속대의 포화지방산은 phytosterol 함량과 부의 상관관계의 경향이었고, 불포화지방산 중 stearic 및 linoleic acid는 정상관 경향을 보였으나, linolenic acid는 종실에서 정상관( $r = 0.652^*$ ), 속대는 부상관( $r = -0.505^*$ ) 관계를 보였다.
2. 옥수수 종실의 불검화물을 TLC로 분리한 결과 band I (campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol), band II ( $\Delta^5$ -avenasterol), band III ( $\Delta^7$ -stigmastenol), 및 band IV ( $\Delta^7$ -avenasterol)로 뚜렷하게 분리되었고, 속대는 band I~IV 이외에도 3종 이상의 band가 추가적으로 분리되었다.
3. 옥수수 종실과 속대에 함유된 phytosterol의 GC 분리 패턴을 확인한 결과 campesterol, stigmasterol 및  $\beta$ -sitosterol의 분리능이 좋았으나,  $\Delta^7$ -avenasterol (RT 22.846),  $\Delta^7$ -stigmastenol (RT 22.852) 및  $\Delta^5$ -avenasterol (RT 22.862)은 혼합물질 상태로는 분리가 되질 않았다.
4. 옥수수 종실의 평균 phytosterol 함량은 635.9 mg/100g, 속

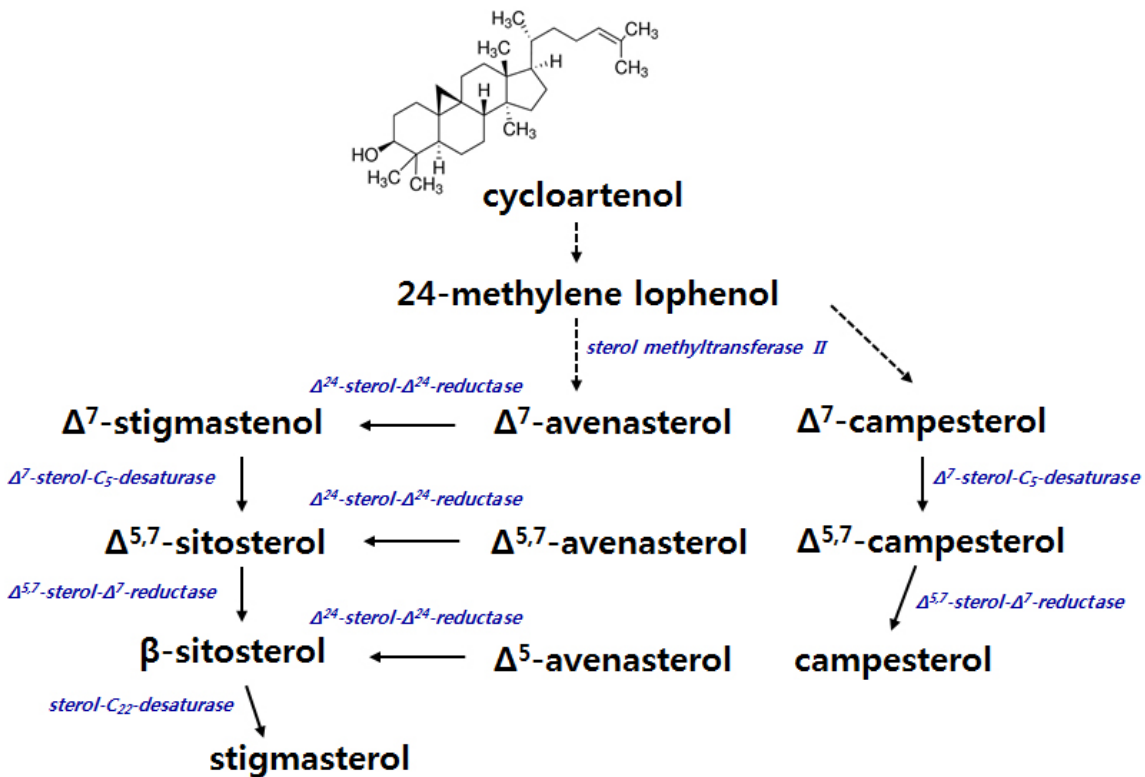


Fig. 5. Schematic representation of the biosynthesis of phytosterols. Dashed arrows indicate several enzymatic steps.

대는 273.0 mg/100 g으로 종실이 속대에 비해 약 2.4배 정도 phytosterol 함량이 높았다. 옥수수 종실의 phytosterol 조성은  $\beta$ -sitosterol 80.05% > campesterol 10.5% > stigmasterol 9.46% 순이었으나, 속대는  $\beta$ -sitosterol 59.43% > stigmasterol 31.72% > campesterol 10.98%으로 종실과 속대의 phytosterol 조성비는 다소 상이하였다.

5. 본 연구 결과를 토대로 판단할 때 옥수수 종실에 함유된  $\beta$ -sitosterol, campesterol 및 stigmasterol의 생합성 경로에서 전구물질이 되는  $\Delta^7$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -stigmastenol 및  $\Delta^5$ -avenasterol이 옥수수 속대에서 검출되는 것으로 보아 옥수수 종실의 phytosterol은 속대에서 합성되어 종실로 전이되는 물질인 것으로 추정되었다.

## 사 사

본 논문은 농촌진흥청 작물시험연구사업(ATIS 과제번호: PJ012497012018)의 지원으로 수행된 결과입니다.

## 인용문헌(REFERENCES)

- Abidi S. L. 2001. Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. *J. Chromatogr. A*. 935 : 173-201.
- Abidi S. L., G. R. List, and K. A. Rennick. 1999. Effect of genetic modification on the distribution of minor constituents in canola oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76 : 463-467.
- Ayerdi G. A., M. Berger, F. Labalette, S. Centis, J. Dayde, and A. Calmon 2015. Comparative analysis of fatty acids, tocopherols and phytosterols content in sunflower cultivars (*Helianthus annuus*) from a three-year multi-local study. *PHYTON* 84 : 14-25.
- Azadmard-Damirchi S. 2010. Review of the use of phytosterols as a detection tool for adulteration of olive oil with hazelnut oil. *Food Addit Contam.* 27 : 1-10.
- Azadmard-Damirchi S., G. P. Savage, and P. C. Dutta. 2005. Sterol fractions in hazelnut and virgin olive oils and 4,4'-dimethylsterols as possible markers for detection of adulteration of virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 82 : 717-725.
- Barl B., C. Biliaderis, E. Murray, and A. Macgregor. 1991. Combined chemical and enzymatic treatments of corn husks lignocellulosics. *J. Sci. Food Agric.* 56 : 195-214.
- Beall, D. and L. Ingram. 1992. Conversion of hydrolysates of corn cobs and hulls into ethanol by recombinant *Escherichia coli* B containing integrated genes for ethanol production. *Biotechnol. Lett.* 14 : 857-862.
- de Vries J. H. M., A. Jansen, D. Kromhout, P. A. van de Bovenkamp, R.P. van Staveren, M.B. Mensink, and Katan. 1997. The fatty acid and sterol content of food composites of middle-aged men in seven countries. *J. Food Comp. Anal.* 10 : 115-141.
- Force E. M., N. T. Dunford, and J. J. Salas. 2015. Sunflower: chemistry, production, processing, and utilization. *AOACS Press, Urbana, IL.* pp. 312-318.
- Harrabi, S., A. St-Amand, F. Sakouhi, K. Sebei, H. Kallel, P. Mayer, and M. Boukhchina, 2008. Phytosterols and phytosterols distributions in corn kernel. *Food Chemistry. 111* : 115-120.
- Hartmann M. A., A. -M. Perret, J. -P. Carde, C. Cassagne, and P. Moreau. 2002. Inhibition of the sterol pathway in leek seedlings impairs phosphatidylserine and glucosylceramide synthesis but triggers an accumulation of triacylglycerols. *BBA.* 1583 : 285-296.
- Jiang Y. Z. and T. Wang. 2005. Phytosterols in cereal byproducts. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 82 : 439-444.
- Kim S. L., Y. K. Son, J. J. Hwang, J. Song, H. G. Moon. 2000. Varietal difference of unsaponifiables in maize. *Korean J. Breed.* 32(1) : 33-37.
- Kornfeldt A. and L. B. Croon. 1981. 4-Demethyl-, 4-monomethyl-, and 4,4'-dimethylsterols in some vegetable oils. *Lipids.* 16 : 306-314.
- Liaw W., C. Chen, W. Chang, and K. Chen. 2008. Xylitol production from rice straw hemicellulose hydrolyzate by polyacrylic hydrogel thin films with immobilized candida subtropicalis WF79. *J. Biosci. Bioeng.* 105(2) : 97-105.
- Lagarda M. J., G. Garc'ia-Llatas, and R. Farre. 2006. Analysis of phytosterols in foods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41 : 1486-1496.
- Margaret S. and L. Yu. 2012. A single extraction and HPLC procedure for simultaneous analysis of phytosterols, tocopherols and lutein in soybeans. *Food Chemistry.* 135 : 2789-2795.
- Nes W. 1987. Multiple roles for phytosterols. In: P. Stumpf, Editor, *The Metabolism. Structure and Function of Plant Lipids, Plenum Press, New York* : pp. 3-9.
- Olsson L. and B. Hahn-Hägerdal. 1996. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. *Enzyme Microb. Tech.* 18(5) : 312-331.
- Ostlund R. E., S. B. Racette, A. Okeke, and W. F. Stenson. 2002. Phytosterols that are naturally present in commercial corn oil significantly reduce cholesterol absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 75 : 1000-1004.
- Ostlund R. E., S. B. Racette, and W. F. Stenson. 2003. Inhibition of cholesterol absorption by phytosterol-replete wheat germ compared with phytosterol-depleted wheat germ. *Am. J. Clin. Nutr.* 77(6) : 1385-1589.
- Phillips, K. M., Ruggio, D. M., and M. Ashraf-Khorassani. 2005. Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. *J. Agric. Food Chem.* 53 : 9436-9445.
- Piironen V., D. G. Lindsay, T. A. Miettinen, J. Toivo, and A. Lampi. 2000. Plant sterols: Biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 80 : 839-966.
- Rebecca E., B. Scholz, and K. H. Engel. 2013. Analysis of free phytosterols/stanols and their intact fatty acid and phenolic acid esters in various corn cultivars. *J. Cereal Sci.* 58 : 333-340.



- Rivera del Alamo R.M., G. Fregapane, F. Aranda, S. Gomez-Alonso, M.D. Salvador. 2004. Sterol and alcohol composition of Cornicabra virgin olive oil: the campesterol content exceeds the upper limit of 4% established by EU regulations. *Food Chemistry*. 84 : 533-537.
- Robert A. M., A.-M. Lampi, and K. B. Hicks. 2009. Fatty Acid, Phytosterol, and polyamine conjugate profiles of edible oils extracted from corn germ, corn fiber, and corn kernels. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 86 : 1209-1214.
- Rouf S., T. P. Kamlesh, and K. Pradyuman. 2016. Maize—A potential source of human nutrition and health: A review. *Cogent Food & Agriculture*. 2 : 1166995-116703.
- St-Onge M. -P., B. Lamarche, J. -F. Mauger, J. H. Peter, Marie-Pierre. 2003. Consumption of a functional oil rich in phytosterols and medium-chain triglyceride oil improves plasma lipid profiles in Men. *J. of Nutrition*. 133(6) : 1815-1820.
- Transparency Market Research. 2012. Phytosterols market ( $\beta$ -Sitosterol, campesterol, stigmasterol, ergosterol) - global industry analysis, market size, share, growth and forecast, 2010-2018. <https://www.transparencymarketresearch.com>.
- Verleyen T., M. Forcades, R. Verhe, K. Dewettinck, A. Huyghebaert, and W. De Greyt. 2002. Analysis of free and esterified sterols in vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79 : 117-122.
- Zhou B. F., J. Stamler, B. Dennis, A. Moag-Stahlberg, N. Okuda, C. Robertson, L. Zhao, Q. Chan, and P. Elliott; INTERMAP Research Group. 2003. Nutrient intakes of middle-aged men and women in China, Japan, United Kingdom, and United States in the late 1990s: The INTERMAP Study. *J. Hum Hypertens*. 17 : 623-630.