

옥수수 배의 극성 지질의 추출을 위한 5종 용매의 비교 연구

전영민 · 김덕진[†]

대구대학교 식품공학과

Comparative Studies of Five Solvents for the Extraction of Polar Lipid in Corn Embryo

Young-Min Jeon and Duk-Jin Kim[†]

Dept. of Food Engineering, Daegu University, Kyungbuk 713 - 714, Korea

Abstract

In order to investigate polar lipid ingredients and fatty acid compositions in corn embryo, lipids were extracted with n-hexane (HX), pet. ether (PE), chloroform-methanol (2:1, v/v) (CM), dichloromethane-methanol (2:1, v/v DM) and hexane-diethyl ether (5:1, v/v HD). Of the glycolipid in polar lipids were separated by thin layer chromatography (TLC), monoglycosyl diacylglycerol was most efficient with CM, HD, and monoglycosyl sterol and monoglycosyl ceramide were similar to five solvents, but HX, PE and DM, HD were somewhat superior, respectively. Of the phospholipid, phosphatidyl inositol was most efficient with CM, DM, and phosphatidyl choline was similar to five solvents as well. Phosphatidyl serine was superior PE, HD, CM to HX, and phosphatidyl ethanolamine was inferior CM to HX. The major fatty acid in the glycolipid was linoleic acid, and it was most efficient with CM the same as palmitic acid, but oleic acid was superior in using HX, PE. The major fatty acids in the phospholipid were palmitic, heptadecanoic acids, and they were superior in using HX and PE, respectively. Also oleic acid was most efficient with HX and CM, but HD was somewhat inferior.

Key words : polar lipid ingredients and contents, fatty acid compositions of poplar lipid, corn embryo

서 론

식품의 지질성분은 극성지질과 비극성지질로 나눌 수 있으며 이들 성분들은 지질 추출에 사용되는 용매의 종류에 따라 용출량이 차이^{1~3}가 나므로, 추출 지질의 이용 목적에 따라 사용 용매의 선택은 상당히 중요하다. 특히 극성지질인 인지질은 식용유의 산패에 영향을 주는것으로 알려져 있으며^{4,5} 이들 성분은

식용유 정제 공정중에서 제거하는 한편, 극성 지질인 인지질, 당지질 등을 영양학적으로 상당한 의의^{6~8}를 가지므로 이 성분들의 식품중 조성을 정확히 정량하기 위하여 용출 용매의 선택이 중요할 것으로 생각된다. 지금까지 지질 추출용매로 널리 사용되어 오고 있는 ether는 지질성분을 많이 함유한 식품의 지질추출에는 효과적이나 세포조직 성분과 결합한 지질과 극성지질의 용출이 낮은 단점^{1~3}이 있으나 chloroform methanol(2:1, v/v) 혼합용액은 조직지질 및 극성지질 등과 친화성이 강하고 전지질의 추출에 효과

[†]To whom all correspondence should be addressed

적인 것으로 알려져⁹ 널리 이용되고 있다.

그러나 최근에 대두유를 중심으로 식물성 유지의 새로운 용매에 대한 몇가지 연구로써 알려진, 극성지질의 용출이 높은 것으로 나타난 dichloromethane-methanol (2:1, v/v), hexane diethylether (5:1, v/v), chlroform-methanol (2:1, v/v)의 혼합용액¹⁰⁻¹²과 기존 용매인 pet. ether, hexane을 사용하여 옥수수배의 극성지질인 인지질, 당지질의 용출양과 지방산 조성에 대해 비교·검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 옥수수배는 1991년 5월 14일 방일산업에서 일고한 미국산 배아원료를 구입한 후 선별·분쇄하여 100 mesh의 체를 통과 시킨 것을 PP-/Al laminate film에 넣어 질소가스를 충전하여 밀봉한 후, -20°C의 냉동고에 보관하면서 분석 시료로 사용하였다.

시약

표준 지방산 methyl ester kit와 silicic acid는 Sigma Chemical Co. (USA)의 것을 구입하였으며 10% boron trifluoride in methanol 그리고 기타 일반 시약은 Merck Chemical Co. (Germany)의 것을 사용하였다.

실험방법

시료지질의 추출 및 절제

시료의 총지질은 10배량의 5종 추출용매를 사용하여 각각 추출하고, 추출된 총지질은 Folch법¹³에 따라 정제하였다.

극성 지질의 분별 및 정량

SACC법에 의하여 분획한 극성지질의 회분을 Sfahl의 방법¹⁴에 따라 thin layer chromatography (TLC)에 의하여 그의 조성을 분별·확인하였다. 이 때 사용된 TLC plate는 미리 만들어진 silica gel G glass sheet (Merck Co., Darmstadt, Germany, thickness : 250μm) 였으며, 전개용매는 당지질의 경우는 chloroform-methanol-28% ammonia water (65:40:7, v/v/v)¹⁵였으며, 인지질은 chloroform-

methanol-acetic acid-H₂O (50:37.5:3.5:2, v/v/v/v)¹⁶로 각각 분리하였으며, 이때 지질 표준품 (Sigma Co., USA)도 함께 전개시켜 표준 화합물과 일치하는 분리된 반점을 확인하였다. 분리시킨 후 sulfuric acid-dichromate¹⁷를 발색제로 분무하고 160°C에서 탄화시켰으며, 또한 anthrone reagent¹⁸ 및 Liebermann-Burchard 반응¹⁹을 이용하여 당지질 성분을 molybdenum reagent¹⁹로 분무하여 인지질 성분을, 특히 choline기는 dragendorff시약¹⁶을 써서 별도로 확인하였으며 확인된 반점은 TLC scanner (Fiber Optic Scanner, Model 800, Knotes Sci. Inst., USA)에 의해 정량하였으며 이때의 기기 분석 조건은 scanning mode : transmission, scanning rate : 5cm/min, wavelength : 440 nm이었다.

지방산의 분석

SACC법에 의하여 5종 추출용매에 의해 분획된 비극성 지질의 지방산 분석은 2N-potassium hydroxide-methanol 용액으로 비누화시킨 후 지방산을 분리하였으며, 이것을 10% BF₃-methanol 용액을 사용한 Metcalfe 등의 방법²⁰에 의해 methylation 시켜 지방산 ester를 만들어 이를 gas chromatography (GC)로 분석하였으며 이때의 분석조건은 기기는 Hewlett Packard 5890A, detector는 FID, column은 2m × 3mm stainless steel 20% diethyleneglycol succinate on chromosord W를 사용하였다.

그리고 상대 머무름 부피 및 머무름 시간을 기질농도의 표준지방산의 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 조성과 분별정량

당지질의 분별정량

SACC법에 의해 분획된 당지질을 다시 TLC plate상에서 재분리시켜 본 결과 5개의 spot가 나타났으며, 이들을 TLC scanner에서 정량한 결과는 Table 1과 같다.

당지질 성분은 monoglycosyl ceramide (MGC),

Table 1. Composition of glycolipids^a in corn embryo

Glycolipids	Composition (wt %)				
	HX	PE	CM	DM	HD*
Unidentified (I)	16.9 (0.69) ^b	17.0 (1.81)	12.7 (0.67)	13.0 (1.84)	14.7 (0.48)
Monoglycosyl ceramide (MGC)	12.1 (0.49)	13.1 (1.40)	13.3 (0.70)	14.9 (2.11)	14.3 (0.46)
Monoglycosyl sterol (MGS)	27.0 (1.10)	28.2 (3.01)	23.7 (1.25)	24.6 (3.49)	23.9 (0.78)
Monoglycosyl diacylglycerol (MGDG)	40.7 (1.66)	39.1 (4.18)	48.4 (2.56)	44.7 (6.34)	46.8 (1.53)
Unidentified (II)	3.3 (0.13)	2.6 (0.27)	1.9 (0.10)	2.8 (0.39)	0.3 (0.009)

^a Total lipids extracted by 8 solvents were fractionated on a column of silicic acid, and the glycolipid fraction was separated by preparative TLC using chloroform-methanol-28% ammonia water (65:40:7, v/v/v)

^b All values in parenthesis are the percent of glycolipid

*HX=hexane

PE=pet. ether

CM=chloroform-methanol (2:1, v/v)

DM=dichloromethane-methanol (2:1, v/v)

HD=hexane-diethyl ether (5:1, v/v)

Table 2. Composition of phospholipids^a in corn embryo

Phospholipid	Composition (wt %)				
	HX	PE	CM	DM	HD*
phosphatidyl choline (PC)	29.5 (0.047) ^b	27.7 (0.027)	27.2 (0.489)	27.5 (0.357)	25.7 (0.043)
phosphatidyl serine (PS)	2.8 (0.004)	7.6 (0.007)	6.2 (0.111)	4.9 (0.063)	7.1 (0.012)
phosphatidyl inositol (PI)	44.3 (0.070)	42.9 (0.042)	48.5 (0.873)	47.5 (0.617)	45.8 (0.077)
phosphatidyl ethanolamine (PE)	23.4 (0.037)	21.8 (0.021)	18.1 (0.325)	20.1 (0.261)	21.4 (0.036)

^a The phospholipid fraction was separated by preparative TLC using chloroform-methanol-acetic acid-H₂O (50:37.5:3.5:2, v/v/v/v)

^b All values in parenthesis are the percent of phospholipid

*HX=hexane

PE=pet. ether

CM=chloroform-methanol (2:1, v/v)

DM=dichloromethane-methanol (2:1, v/v)

HD=hexane-diethyl ether (5:1, v/v)

monoglycosyl sterol (MGS) 및 monoglycosyl diacylglycerol (MGDG)과 unidentified (I) (II)였으며, 함량 pattern은 5종 모두 유사하게 나타났다. 이중 MGDG는 chloroform-methanol (2:1, v/v) (CM)에서 48.4%, hexane-diethyl ether (5:1, v/v) (HD)에서도 46.8%로 높았으며 dichloromethane-methanol (2:1, v/v) (DM)에서는 44.7%로 그 다음이며 hexane (HX)와 pet. ether (PE)의 순으로 나타났으며 MGS, MGC는 5종 용매가 유사하나 각각 HX 27.0%와 PE 28.2% 및 DM

14.9%과 HD 14.3%에서 약간 높게 나타났다.

이와 같은 당지질의 분별정량은 옥수수 당지질의 조성을 검토한 안 등²³의 보고와 김 등²⁴의 보고와 비교하면 성분은 유사하나 함량에는 다소 차이를 보였다.

인지질의 분별정량

5종의 추출용매로 추출된 총지질로부터 분획한 인지질을 TLC plate상에서 재분리시켜 본 결과 phosphatidyl choline (PC), phosphatidyl serine (PS), phos-

phatidyl inositol (PI) 및 phosphatidyl ethanolamine (PE)이 분리되었으며 이 반점들을 TLC scanner에 의해 정량한 것은 Table 2와 같으며 이 중 주요성분은 PI와 PC이었다. PI의 함량비는 CM에서 가장 많은 48.5%인데 반해 PE에서 약간 낮게(42.9%) 나타났으며, PC는 HD(25.7%)에서 가장 낮으며 HX(29.5%), PE(27.7%), DM(27.5%) 및 CM(27.2%) 순으로 함유되어 있었다. PE는 HX에서 23.4%로 가장 높고 CM에서 가장 낮은 18.1%로 보였으며 PS는 HX(2.8%)에서는 적은 편이며 PE(7.6%), HD(7.1%), CM(6.2%)에서는 약간 높게 나타났다.

이와 같은 결과는 Weber와 Alexander의 보고²³중 옥수수유의 인지질의 지질성분으로는 PI, PC 그리고 PE의 함량순으로 분포되어 있다는 보고와 일치하였다.

극성 지질의 지방산 조성

당지질의 지방산 조성

분획된 당지질을 GC로 지방산 조성을 정량한 결과

Table 3. Fatty acid composition of glycolipid in corn embryo extracted by five solvents

Fatty acids	Fatty acid composition(area %)				
	HX	PE	CM	DM	HD*
C ₁₄ :0	2.0	1.1	1.9	1.3	2.9
C ₁₄ :1	0.7	tr	tr	0.5	1.0
C ₁₆ :0	22.8	25.1	30.4	27.8	25.6
C ₁₆ :1	4.0	3.1	0.17	4.2	4.7
C ₁₇ :0	2.8	3.9	0.01	1.4	9.1
C ₁₈ :0	3.1	4.5	1.3	3.0	3.5
C ₁₈ :1	29.0	26.7	18.4	18.1	13.1
C ₁₈ :2	34.8	34.6	46.1	42.3	39.2
C ₁₈ :3	0.3	0.5	1.7	1.0	0.7
C ₂₀ :1	tr	tr	tr	tr	tr
TSFA ^a	30.7	34.6	33.61	33.50	41.1
TUFA ^b	68.8	64.9	66.37	66.10	58.7
TUFA/ TSFA ^c	2.24	1.88	1.97	1.97	1.43

tr : indicates the amount less than 0.01%

^a TSFA : Total Saturated Fatty Acid

^b TUFA : Total Unsaturated Fatty Acid

^c TUFA/TSFA : Total Unsaturated Fatty Acid/Total Saturated Fatty Acid

*HX=hexane

PE=pet. ether

CM=chloriform-methanol (2:1, v/v)

DM=dichloromethane-methanol (2:1, v/v)

HD=hexane-diethyl ether (5:1, v/v)

는 Table 3과 같다.

당지질내의 주요 지방산은 linoleic, palmitic 및 oleic acids였으며, linoleic acid에서는 CM, DM에서 46.1%와 42.3%로 가장 높았으며 HX와 PE에서는 낮게 나타났으며 palmitic acid는 HX에서 가장 낮은 22.8%를 보인 반면 CM에서 가장 높은 30.4%를 나타내고 DM이 다음이며, oleic acid에서는 기존의 단일 용매인 HX와 PE에서 29.0%와 26.7%로 3종의 혼합 용매보다 매우 높고 CM을 비롯한 3종 혼합용매들은 낮았으며 palmitic, linoleic acids 모두 CM에서 가장 높게 나타났다. 한편, 불포화 지방산과 포화지방산의 함량은 HX에서 가장 높은 불포화도 2.24%를 나타냈으며, HD에서 가장 낮은 불포화도 1.43%를 나타냈다.

이와 같은 결과는 완두와 콩, 강낭콩 및 사탕수수의 당지질을 구성하는 지방산 중 linoleic acid의 함량이 가장 많다는 보고²⁴와 비교할 때 함량비의 차이가 있으나 Weber²³의 보고와 Sahasraturdhe의 곡류 중 당지질에 대한 보고²⁵와 비교하면 거의 비슷한 함량이 나타났다.

Table 4. Fatty acid composition of phospholipid in corn embryo extracted by five solvents

Fatty acids	Fatty acid composition(area %)				
	HX	PE	CM	DM	HD*
C ₁₄ :0	2.9	3.6	2.9	2.7	3.1
C ₁₄ :1	1.8	2.2	2.0	4.1	5.7
C ₁₆ :0	47.2	38.4	43.2	45.5	45.6
C ₁₆ :1	5.2	4.9	8.6	3.6	5.7
C ₁₇ :0	9.2	31.8	9.2	23.0	25.4
C ₁₈ :0	3.4	4.3	4.0	2.9	3.9
C ₁₈ :1	24.3	12.7	23.2	14.6	7.2
C ₁₈ :2	4.9	1.9	6.4	3.2	2.7
C ₁₈ :3	0.3	0.1	0.3	0.2	0.3
C ₂₀ :1	0.04	0.05	0.03	0.03	0.01
TSFA ^a	62.7	78.1	59.3	74.1	78.0
TUFA ^b	36.54	21.85	40.53	25.73	21.61
TUFA/ TSFA ^c	0.58	0.28	0.68	0.35	0.28

^a TSFA : Total Saturated Fatty Acid

^b TUFA : Total Unsaturated Fatty Acid

^c TUFA/TSFA : Total Unsaturated Fatty Acid/Total Saturated Fatty Acid

*HX=hexane

PE=pet. ether

CM=chloriform-methanol (2:1, v/v)

DM=dichloromethane-methanol (2:1, v/v)

HD=hexane-diethyl ether (5:1, v/v)

인지질의 지방산 조성

인지질의 획분은 당지질의 주요 지방산과 달리 palmitic, heptadecanoic, oleic acids가 주요성분으로 나타났으며 (Table 4) palmitic acid의 함량은 HX에서 47.2%로 가장 높고 PE(38.4%)에서 가장 낮은 반면 나머지 혼합용매는 거의 유사하며 이는 대두유의 인지질 지방산 조성과 유사하며, heptadecanoic acid는 palmitic acid와 달리 PE에서 31.8%로 가장 높고 CM과 HX에서 9.2%로 가장 낮았으며 oleic acid는 HD(7.2%)에서 가장 낮으며 HX(24.3%)에서 가장 높게 나타났다. 그러나 이와 같은 인지질의 주요 지방산 중 heptadecanoic acid의 평균적인 함량비는 타곡류^{10, 11, 12, 25}에 비해서 옥수수배아의 인지질에서 높게 나타나는 것이 특징이다. 불포화도를 비교하면 인지질은 CM에서 가장 높은 0.68%를 나타낸 반면 PE와 HD은 가장 낮은 0.28%의 범위를 보였다.

요 약

옥수수 배의 극성지질의 분리와 분별정량 및 지방산 조성을 조사하기 위하여 n-hexane(HX), pet. ether(PE), chloroform-methanol(2:1, v/v) (CM), dichloromethane-methanol(2:1, v/v) (DM), hexane-diethyl ether(5:1, v/v) (HD)를 용매로 사용하여 추출정량한 결과, 당지질의 분별정량은 monoglycosyl diacylglycerol이 CM과 HD에서 높았으며 monoglycosyl sterol, monoglycosyl ceramide는 5종 용매가 유사하나 각각 HX와 PE 및 DM과 HD에서 약간 높게 나타났다.

인지질 조성 중 phosphatidyl inositol은 CM, DM에서 높고 phosphatidyl choline은 대체로 유사하며 phosphatidyl serine은 HX보다 PE, HD, CM에서는 약간 높은편이며 phosphatidyl ethanolamine은 대체로 CM과 DM에서는 낮은 반면 HX에서는 높게 나타났다. 당지질의 지방산 조성은 linoleic acid가 가장 높으며 이중 CM, DM에서 높았으며 palmitic acid도 CM에서는 높게 나타나고 HX에서는 낮으며 oleic acid는 HX, PE에서 높았다. 인지질의 지방산 조성은 palmitic acid 함량이 높고 heptadecanoic acid의 함량이 다음으로 높으며 각각 HX와 PE에서 가장 높게 나타났으며 oleic acid는 CM, HX에서 가장 높게 나타났다.

문 헌

- Hoffman, H. H. : Comparative studies of solvent mixtures for the lipids. *J. Assoc. Offic. Agr. Chem.*, **34**, 558(1951)
- Belitz, H. D. and Grosch, W. : Melting properties ; *Food chemistry*, Springer-verlag Press, Berlin, p. 128(1987)
- Fennema, O. R. : Separation and isolation procedures ; *Principle of food science*, Marcel Dekker Inc, p. 139(1976)
- Pott, N. N. : Production and processing methods, *Food Science*, The Avi Publishing Co., 4th ed., p. 449(1987)
- Brekke, O. L. : Their preparation and uses in handbook of soy oil processing and utilization ; *Soybean oil food products*, Elsevier Press, New York, p. 383(1980)
- Williams, S. R. : General and chemical definitions of fats ; *Nutrition and diet therapy*, The C. V Mosby Company, Saint Louis, 3rd. (ed.), p. 30 (1977)
- Brown, M. L. : Physical properties and nomenclature ; *Present knowledge in nutrition*, ILSI Nutrition Foundation, Washington, D. C. 6th. ed., p. 56 (1990)
- Robinson, D. S. : Extraction and refining ; *Food biochemistry and nutritional value*, Longman Scientific & Technical, New York, p. 249(1987)
- 日本食品工業學會 食品分析法編集 委員會編：食品成分試驗法，光琳出版社，p. 133(1986)
- Khor, H. T. and Chan, S. L. : Comparative studies of three solvent mixtures for the extraction of soybean lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **62**(1), 98(1985)
- Takagi, Y. and Yanagita, T. : Comparative studies of the solvent mixtures for the extraction of soybean lipid. *Sara Daigaku Nogakubu Iho.*, **59**, 23 (1985)
- Osagie, A. U. : Total lipid of sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 601(1987)
- Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G. H. : A simple method for the isolation and purification total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497(1957)
- Stahl, E. : *Thin Layer Chromatography*. Academic Press, New York, p. 105(1969)
- Stahl, E. : *Thin layer chromatography*, 2nd ed., Springer-verlag, Inc., New York (1969)
- Patton, S. and Thomas, A. J. : Composition of lipid foams in bladders of two deep ocean fish species. *J. Lipid Research*, **12**, 331(1971)
- Amenta, J. S. : A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin layer

- chromatography. *J. Lipid Research*, **5**, 270(1964)
18. Cook, E. P. : Solvent systems of polar lipids. *Analyst*, **86**, 373(1961)
 19. 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)
 20. 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**, 514(1966)
 21. 安斗熙, 河泰錫 : 마치종 옥수수의 품종별 지질조성의 비교. 한국영양식량학회지, **16**(4), 350(1987)
 22. 金德鎮, 全榮珉 : 경립종 옥수수의 성장과정에 따른 지질 변화 Ⅱ. 극성 지질에 대한 연구. 한국영양식량학회지, **20**(5), 473(1991)
 23. Weber, E. J. and Alexander, D. E. : Breeding for lipid composition in corn. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**(9), 370(1975)
 24. Hirayama, O. and Matsuda, M. : The fatty acids of the grains. *Nogei Kagaku Kaishi. Nippon*, **47**, 574(1965)
 25. Sahasratudhe, N. R. : Studies of glycolipids in grains. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 80(1979)
 26. Price, P. B. and Parsons, J. G. : Lipids of seven cereal grains. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**(12), 490(1975)

(1991년 11월 20일 접수)