



Natural variation of functional components between Korean maize types

Jung-Won Jung¹ · Myeong-Ji Kim¹ · Imran Muhammad¹ · Eun-Ha Kim¹ · Soo-Yun Park² · Tae-Young Oh³ · Young-Sam Go⁴ · Moon-Jong Kim⁵ · Sang-Gu Lee¹ · Seonwoo Oh¹ · Hyoun-Min Park¹

국내 옥수수 품종에 따른 기능성 성분의 자연 변이 분석

정정원¹ · 김명지¹ · Imran Muhammad¹ · 김은하¹ · 박수윤² · 오태영³ · 고영삼⁴ · 김문종⁵ · 이상구¹ · 오선우¹ · 박현민¹

Received: 15 November 2023 / Accepted: 6 December 2023 / Published Online: 18 December 2023
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2023

Abstract Maize is one of the major crops consumed in worldwide, which nutrients accounts for a large amount of starch, but also functional components, and phenolic acid is known to have a high content. Maize is divided into waxy maize, sweet maize, and normal maize with its shape and use, therefore there is also a difference in nutritional composition. This study was conducted to analyze the content of functional components according to the type of maize and to produce natural variation data in consideration of environmental factors. 3 shapes of maize (waxy maize, sweet maize, and normal maize) samples cultivated in 3 regions (Suwon, Daegu, and Hongcheon) were analyzed

using HPLC and GC-TOF-MS. Comparing with type through ANOVA, multivariate statistical analysis, Pearson correlation analysis, 28 components, including carotenoids and tocopherols, showed significant differences among a total of 32 components ($p < 0.05$), 15 of them showed very significant differences ($p < 0.001$). When comparing with regions, 15 components showed significant differences and only vanillate, syringate, C23-ol of them showed most significant differences ($p < 0.001$). As a result of principal component analysis, cluster classification was distinguished by shape than by region, with α -carotene, cholesterol for waxy maize, vanillate and stigmaterol for sweet maize, lutein and β -carotene for normal maize had a great effect on cluster formation. It suggests that the content of functional components is more affected by genetic factors than environmental factors.

Hyoun-Min Park (✉)
E-mail: hyoun3239@korea.kr

¹National Institute of Agricultural Sciences, Jeonju-si, Jeollabuk-do 54874, Republic of Korea

²Technology Cooperation Bureau, Rural Development Administration, Jeonju 54875, Republic of Korea

³Crop Cultivation Department, Gyeongsangbuk-do Agricultural Research and Extension Services, 41404, Republic of Korea

⁴Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16429, Republic of Korea

⁵Maize Research Institute, Gangwondo Agricultural Research and Extension Services, 24150, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Keywords Functional components · Maize · Natural variation

서론

옥수수(maize, *Zea mays* L.)는 벼과(Graminae)에 속하며 쌀, 밀과 함께 세계 3대 식량작물이다[1]. 주로 아시아, 아프리카, 미국을 중심으로 전세계에서 재배되어 사료용, 간식용, 식품원료 등 다양한 용도로 소비된다[1,2]. 옥수수는 알곡 모양과 용도에 따라 형태적으로 분류한 waxy maize (나중, 찰옥수수), sweet maize (감미종, 단옥수수), normal maize (마치종, 종실옥수수) 등으로 구분된다[2,3]. Waxy maize는 알곡의 씨눈 외의 부분이 아밀로펙틴으로 구성된 찰성 전분으로 구성되어 찰기가 있고 껍질이 얇은 특성을 갖으며, 주로 식용으로 이용된다

[3,4]. Sweet maize는 알곡의 대부분이 당질전분으로 구성되어 있으며, 당분 함량이 높아 단맛이 강하고 껍질이 얇으며, 주로 식용으로 이용된다[2,5]. Normal maize는 sweet maize와 waxy maize에 비해 단백질과 지방 함량이 상대적으로 적게 함유되어 있으며, 식용보다는 사료용으로 이용된다[3,5].

옥수수는 전분 65-84%, 단백질 9-10%, 지방 3-5%, 회분 3%, 섬유질 2-3%로 구성되어 있으며, phenolic acids (페놀산), tocopherols and tocotrienols (토코페롤과 그 유도체), phytosterols (식물성스테롤), carotenoids (카로티노이드)와 같은 기능성 성분도 포함되어 있다[5-7]. 특히, phenolic acids은 다른 곡물에 비해 옥수수에서 높은 함량을 보이는 것으로 알려져 있으며, 이는 인체 건강 개선, 노화관련 질병 예방에 관련되어 있다[8]. 4가지 형태(α , β , γ , δ)의 tocopherols과 같은 4가지 형태의 tocotrienols을 총칭하여 비타민E로 알려져 있으며, 세포막에 존재하며 지질의 과산화 작용을 지연시켜 지질의 손상을 막는 항산화제로 작용한다고 보고되어 있다[9,10]. Phytosterols은 β -sitosterol, campesterol, stigmasterol 등이 있으며, 콜레스테롤의 화학적 구조와 유사한 구조를 갖고있어 LDL-콜레스테롤 수치와 혈중 콜레스테롤 수치를 감소시킨다고 알려져 있다[11]. Carotenoids는 lutein, zeaxanthin, α -carotene, β -carotene와 같은 형태로 존재하며 비타민A의 전구체로 알려져 있으며, 자유라디칼 소거와 항산화, 항암 효과를 갖는다고 보고되었다[12].

전 세계적으로 건강에 대한 관심도의 증가로 기능성 성분이 다량 함유되어 있는 식품에 대한 선호도가 증가됨에 따라 옥수수에 대한 기능성 성분 연구가 필수적이다. 현재 국내 품종 옥수수에 대한 영양 성분 연구로 옥수수 다품종의 일반 영양 성분, 하이드록시신남산 유도체, 안토시아닌 함량 비교[5], 단일 품종의 일반 영양 성분 특성[2,7,13,14], 단일 품종의 기능성 물질, 생리활성평가 비교[3,8,15] 등에 대한 연구가 진행된 바 있다. 그러나 옥수수의 형태적 분류와 재배 지역을 고려한 기능성 성분의 조성 및 함량의 자연 변이에 대한 연구는 부족한 상황이다. 따라서 본 연구는 형태에 따라 나눈 3그룹(waxy maize, sweet maize, normal maize) 옥수수의 기능성 성분 함량 데이터를 확보하기 위해서 3 지역(수원, 대구, 홍천)에서 재배된 옥수수의 carotenoids, phenolic acids, tocopherols, tocotrienols, phytosterols, policosanols 함량을 GC-TOF-MS와 HPLC를 이용하여 비교 분석하였다. 이 기능성 성분의 환경적, 형태적 요인에 의한 자연 변이를 확인함으로써 향후 작물 육종, 식품, 화장품 산업 등에서 기능성 소재로서의 활용 가능성을 제시하고, Kim 등[16]에서 언급한 생명공학작물의 영양성분 비교평가를 위해 성분 함량을 데이터베이스에 제공함으로써 실질적 동등성 기반 안전성 평가의 기초자료로 활용하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

시료

본 연구에 사용한 시료는 형태별 waxy maize (미백2호, 일미찰, 흑진주찰), sweet maize (고당옥, 단옥3호), normal maize (강일옥, 강평옥, 장다옥)로 총 8품종의 옥수수를 형태에 따라 3그룹으로 나누어, 이를 수원의 국립식량과학원 중부작물부, 대구의 경상북도농업기술원, 홍천의 강원도농업기술원 포장에서 2022년

에 재배하여 시료를 생산하였다. 품종별로 자연 건조 후 알곡을 분리하였고, 무작위로 선별하여 분쇄하였다. 분쇄된 시료는 추출 시까지 -20°C 에서 보관하였다.

Carotenoids 분석

Carotenoids의 함량 분석은 Kim 등[17]의 방법을 참고하여 수행하였다. 옥수수 시료(150 mg)에 0.1% 아스코르브산이 포함된 에탄올 3 mL과 내부표준물질로 β -apo-8'-carotenol (100 ppm, in ethanol) 0.0625 mL를 첨가 후 혼합하였다. 85°C 의 항온수조에서 5분간 추출한 후, 80% 수산화칼륨(w/v) 0.12 mL를 넣고 혼합하였다. 위와 같은 조건의 항온수조에서 10분간 반응시키고 ice에 5분간 넣어 반응을 정지시켰다. 추출물에 물 1.5 mL와 헥산 1.5 mL를 넣고 혼합하였다. 4°C , 1,200 rpm, 5분의 조건으로 원심분리하여 새 튜브에 상층액을 취하고, 다시 헥산 1.5 mL를 넣고 위와 같은 조건으로 원심분리하여 상층액을 취하였다. 상층액(약 3 mL)을 질소 가스로 완전히 농축한 후 메탄올:다이클로로메테인 = 50:50 (v/v) 용매 0.125 mL에 재용해하여 HPLC (1260 Infinity II HPLC, Agilent, Massy, France)와 PDA-검출기를 이용하여 분석하였다. 검출 파장은 450 nm, 분석 컬럼은 C30 YMC (250×4.6 mm, 3 μm ; YMC Co., Kyoto, Japan)를 사용하였고, 컬럼 온도는 40°C 를 유지하였다. 10 mM 아세트산암모늄이 포함된 메탄올:물 = 92:8 (v/v) 용매를 용매 A, 메틸테르부틸에테르를 용매 B로 사용하였다. 이동상의 gradient 조건은 0분, 90% A, 10% B; 20분, 83% A, 17% B; 29분, 75% A, 25% B; 35분, 30% A, 70% B; 40분, 30% A, 70% B; 42분, 25% A, 75% B; 45분, 90% A, 10% B; 55분, 90% A, 10% B이고, 유속은 1.0 mL/min, 주입량은 10 μL 였다. 각각의 carotenoids 표준물질의 머무름 시간을 비교하여 동정하였으며, 각 표준물질의 농도별 피크 면적과 내부표준물질의 피크 면적의 비율에 대해 검량식을 구하여 직선성(r^2)을 확인하고 정량하였다(Supplementary Table 1).

Tocopherols, tocotrienols, phytosterols, policosanols 분석

Tocopherols, tocotrienols, phytosterols, policosanols 함량 분석은 Kim 등[18]의 방법을 참고하여 수행하였다. 옥수수 시료(100 mg)에 0.1% 아스코르브산이 포함된 에탄올 3 mL과 내부표준물질로 5 α -cholestane (10 ppm, in hexane) 0.05 mL를 첨가 후 혼합하였다. 85°C 의 항온수조에서 5분간 추출한 후, 80% 수산화칼륨(w/v) 0.12 mL를 넣고 혼합하였다. 위와 같은 조건의 항온수조에서 10분간 반응시키고 ice에 5분간 넣어 반응을 정지시켰다. 추출물에 물 1.5 mL와 헥산 1.5 mL를 넣고 혼합하였다. 4°C , 1,200 rpm, 5분의 조건으로 원심분리하여 새 튜브에 상층액을 취하고, 다시 헥산 1.5 mL를 넣고 위와 같은 원심분리 조건으로 반복 추출하여 상층액을 취하였다. 상층액을 질소 가스와 진공 원심 농축기로 완전히 농축한 후, 환수소기를 함유한 유기 화합물의 극성 감소, 물질의 휘발성 향상 및 열과 촉매 안전성 유도로 분석 감도를 최적화 시켜주는 것으로 알려져 있는 유도체화 물질 중 NH기와 반응하는 N-methyl-N-trimethylsilyl-trifluoroacetamide 와 피리딘을 각각 0.03 mL를 넣고 60°C , 1,200 rpm, 30분간 유도체화(Thermomixer, Eppendorf AG)하여 GC-TOF-MS (Pegasus BT, LECO)로 분석하였다[19]. 주입구 온도는 290°C , 주입량은 1 μL , 분할율은 1:15, 분석 컬럼은

CP-SIL 8 CB (30 m×0.25 mm, 0.25 μm; Varian Inc., Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다. 오븐 온도는 200 °C로 2분간 유지하다 분당 10 °C의 속도로 310 °C까지 올린 후 10분간 유지하였다. 이동상 가스는 헬륨을 사용했으며 가스 이동속도는 1.0 mL/min로 하였다. 트랜스퍼 라인의 온도는 280 °C 이온 소스 온도는 230 °C, 메스 범위는 50-800 *m/z*로 설정하였다. 각각의 표준물질의 머무름 시간과 메스 스펙트럼을 비교하여 동정하였으며, 각 표준물질의 농도별 피크 면적과 내부표준물질의 피크 면적의 비율에 대해 검량식을 구하여 직선성(r^2)을 확인하고 정량하였다(Supplementary Table 1).

Phenolic acids 분석

Phenolic acids의 함량 분석은 Kim 등[17]의 방법을 참고하여 수행하였다. 옥수수 시료(100 mg)에 BHA 2 g/L가 포함된 메탄올:10% 아세트산 =85:15 (v/v) 용액(메탄올 용액) 1 mL을 넣고 혼합하였다. 상온에서 5분간 초음파 처리하고 바로 30 °C의 항온수조에서 10분간 추출한 후 4 °C, 13,000 rpm, 5분간 원심분리한다. 새로운 튜브에 상등액을 취하고 다시 메탄올 용액 1 mL을 넣고 30 °C의 항온수조에서 10분간 반복 추출하고 위와 같은 조건의 원심분리하여 새로운 튜브에 상등액을 취하였다. 상등액은 free form과 esterified form의 phenolic acids을 추출하기 위해 사용하였고, 메탄올 용액 추출 잔여물은 bound form의 phenolic acids 추출을 위해 사용하였다. Free form과 esterified form의 phenolic acids 추출을 위해 상등액에 내부표준물질로 3,4,5-trimethoxycinnamic acid 0.05 mL을 첨가하여 질소 가스로 약 1 mL이 될 때까지 날린 후 농축된 상등액에 5 N 수산화나트륨 용액 1 mL을 첨가하여 혼합한 뒤 질소 가스로 튜브 내의 산소를 제거하였다. Bound form의 phenolic acids 추출을 위해 메탄올 용액 추출 잔여물에 메탄올 용액 1 mL과 내부표준물질로 3,4,5-trimethoxycinnamic acid 0.05 mL을 넣고 혼합하였다. 5 N 수산화나트륨 용액 0.85 mL을 넣고 혼합한 뒤 질소 가스로 튜브 내의 산소를 제거하였다. Free form과 esterified form과 bound form의 phenolic acids 추출 모두 30 °C 항온수조에서 3시간 반응 시키며 1시간마다 혼합하였다. 차가운 6 N 염화수소 용액 1 mL을 첨가하여 혼합한 후 다이메틸 에테르:에틸아세테이트 =1:1 (v/v) 용액 3 mL을 넣어 혼합한 뒤 4 °C, 1,200 rpm, 3분간 원심분리하여 새 튜브에 상등액을 취한다. 다시 다이메틸 에테르:에틸아세테이트 =1:1 (v/v) 용액 3 mL을 넣고 위와 같은 조건으로 원심분리하고 상등액을 취하였다. Free form과 esterified form의 상등액(약 6 mL)과 bound form의 상등액(약 6 mL)중 0.6 mL의 추출물을 각각 질소 가스와 진공 원심 농축기로 완전히 농축한 후 16시간 이상 동결건조한다. -OH기와 -SH기를 가지고 있는 화합물에 안정적으로 유도체화 반응을 일으키는 것으로 알려진 *N-tert-Butyldimethylsilyl-N-methyltrifluoroacetamide* (MTBSTFA)와 유도체화 반응성을 높여주는 *Tertbutyldimethylchloros* (TBDMCS)을 사용하여 유도체화 하였다[19]. 농축물에 MTBSTFA +1% TBDMCS와 피리딘을 각각 40 μL을 넣고 60 °C, 1,200 rpm, 30분간 유도체화하여 GC-TOF-MS로 분석하였다. 분석 컬럼은 CP-SIL 8 CB (30 m×0.25 mm, 0.25 μm; Varian Inc.)를 사용하였고, 주입구 온도는 230 °C, 주입량은 1 μL, 분할율은 1:10로 설정하였다. 오븐 온도는 150 °C를 2분간 유지하다 분당 15 °C 속도로 320

°C까지 올리고 10분간 유지하였다. 이동상 가스는 헬륨을 사용했으며 가스 이동속도는 1.05 mL/min로 하였다. 트랜스퍼 라인의 온도는 250 °C 이온 소스 온도는 200 °C, 메스 범위는 85-700 *m/z*로 설정하였다. 각각의 phenolic acids 표준물질의 머무름 시간과 메스 스펙트럼을 비교하여 동정하였으며, 각 표준물질의 농도별 피크 면적과 내부표준물질의 피크 면적의 비율에 대해 검량식을 구하여 직선성(r^2)을 확인하고 정량하였다(Supplementary Table 1).

통계 분석

옥수수 8품종, 3지역의 시료 24점을 3반복하여 총 72점에 대한 기능성 성분 32종의 함량에 대해 형태별 그룹은 sweet maize (3지역, 2품종, 3반복, 총 18점), waxy maize (3지역, 3품종, 3반복, 총 27점), normal maize (3지역, 3품종, 3반복, 총 27점)의 평균과 표준편차를 구하였고, 지역별 그룹은 수원(8품종, 3반복, 총 24점), 대구(8품종, 3반복, 총 24점), 홍천(8품종, 3반복, 총 24점)의 평균과 표준편차를 구하였다. 통계분석은 SAS 9.4 software (SAS Institute, NC, USA)를 이용하여 각 요인의 평균값에 대해서 일원산 분석 후 Bonferonni *t*-사후검정을 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다. 다변량 통계분석은 유형간 차이를 시각적으로 표현하기 위하여 SIMCA-P (version 12.0, Umeå, Sweden)을 이용하여 UV scaling method로 데이터를 정규화하여, 주성분분석(principal component analysis, PCA), 직교부분최소자승-관별분석(partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA), VIP (variable importance in the prediction) 분석을 수행하였다. 분석 항목간 상관 정도를 비교하기 위해 SAS 9.4 software를 이용하여 상관계수를 구하였고, 이를 R 프로그램(version 4.3.2)을 이용하여 상관계수를 heat-map으로 시각화 하였다.

결과 및 고찰

옥수수 형태별 및 지역별 기능성 성분 함량 비교 분석

2022년도에 수원, 대구, 홍천에서 재배된 국내 8품종 옥수수의 tocopherols (4종), tocotrienols (2종), phytosterols (6종), policosanols (9종), carotenoids (5종) 및 phenolic acids (6종)을 분석하고, 형태별(sweet maize, waxy maize, normal maize) 및 재배 지역별(수원, 대구, 홍천)로 그룹을 나누어 비교한 결과는 Table 1과 같다. 모든 형태별 그룹에서 phenolic acids의 경우, ferulate가 가장 높은 함량을 보였으며, sinapate, coumarate가 높은 순으로 확인되었고 이러한 결과는 Žilić 등[20]과 유사하게 나타났다. Tocopherols 중에서는 γ -tocopherol이 가장 높은 함량을 보였으며 α -tocopherol, δ -tocopherol, β -tocopherol 순으로 나타났다.

옥수수를 3가지 형태별로 분류하여 기능성 성분 함량을 비교한 결과(Table 1A), sweet maize에서 다른 형태의 옥수수보다 높게 나타나 항목은 total phenolic acids, total tocopherols, total phytosterols와 total policosanols 성분이었으며, waxy maize에서는 total tocotrienols의 함량이 더 높은 값을 나타냈다. Normal maize에서는 total carotenoids의 함량이 다른 형태의 옥수수보다 높게 나타났다. 총 32개의 성분 항목을 각각 형태 간에 통

Table 1 Functional components content in 3 types of maize kernels harvested in 2022, Suwon, Daegu, Hongcheon (µg/g, dry weight)

	(A) Type				(B) Location			
	Sweet maize	Waxy maize	Normal maize	<i>P</i> -value	Suwon	Daegu	Hongcheon	<i>P</i> -value
Carotenoids								
Lutein	2.71±1.30	0.39±0.10	6.90±1.71	***	3.68±3.56	3.31±2.96	3.25±2.91	NS
Zeaxanthin	0.78±0.17	0.89±0.10	0.72±0.16	**	0.83±0.20	3.75±0.14	3.25±2.91	NS
α-Cryptoxanthin	1.48±0.55	0.89±0.14	0.66±0.22	***	0.82±0.31	1.06±0.66	0.98±0.24	NS
α-Carotene	0.07±0.04	0.42±0.10	0.11±0.04	***	0.22±0.17	0.22±0.17	0.21±0.19	NS
β-Carotene	2.28±0.10	2.24±0.10	2.79±0.32	***	2.44±0.25	2.43±0.27	2.49±0.46	NS
Total carotenoids	7.32±1.43	4.83±0.11	11.19±1.68	-	7.99±3.44	7.78±2.82	7.74±2.99	-
Phenolic acids								
Hydrobenzoic acid	22.16±7.02	29.08±19.12	16.55±3.78	**	22.63±13.51	25.29±12.12	20.02±14.63	NS
Vanillate	55.24±19.23	42.97±8.84	33.22±7.41	***	41.14±9.96	52.22±17.23	33.78±8.72	***
Syringate	29.28±6.24	28.01±3.76	21.90±4.20	***	26.71±4.06	29.24±6.06	22.15±4.18	***
Coumarate	95.15±38.33	49.42±8.06	56.03±9.45	***	65.55±21.60	72.88±38.79	51.57±11.22	*
Ferulate	1966.16±394.83	1854.25±424.08	1814.10±424.77	NS	1903.56±441.96	2036.47±398.50	1661.49±322.62	**
Sinapate	140.19±40.08	113.33±29.76	111.23±29.45	**	117.02±36.80	120.09±36.04	120.67±31.10	NS
Total phenolic acids	2308.19±479.46	2117.05±421.84	2053.03±435.99	-	2176.60±454.08	2336.20±444.15	1909.68±342.35	-
Tocopherols								
α-Tocopherol	3.67±1.11	3.34±1.60	4.56±1.38	**	4.36±1.55	3.72±1.62	3.55±1.20	NS
β-Tocopherol	0.07±0.02	0.07±0.05	0.18±0.04	**	0.10±0.05	0.08±0.05	0.09±0.04	NS
γ-Tocopherol	18.98±5.79	7.17±4.24	9.35±2.15	***	12.43±7.21	9.16±3.44	11.24±7.14	NS
δ-Tocopherol	0.13±0.04	0.08±0.07	0.09±0.03	**	0.11±0.06	0.08±0.05	0.10±0.06	NS
Total tocopherols	22.86±6.79	10.66±5.07	14.12±2.94	-	17.00±7.93	13.05±4.08	14.97±7.51	-
	(A) Type				(B) Location			
	Sweet maize	Waxy maize	Normal maize	<i>P</i> -value	Suwon	Daegu	Hongcheon	<i>P</i> -value
Tocotrienols								
α-3-Tocotrienol	2.36±0.58	3.23±1.01	2.43±0.41	***	2.55±0.58	3.24±0.94	23.4±0.64	**
γ-3-Tocotrienol	2.39±1.27	1.85±0.40	1.40±0.19	***	1.60±0.40	2.11±1.12	1.74±0.06	NS
Total tocotrienols	4.75±1.76	5.08±1.10	3.84±0.49	-	4.16±0.73	5.36±1.63	4.08±0.81	-
Phytosterols								
α-Amyrin	1.52±0.54	0.64±0.04	1.17±0.83	***	1.14±0.73	1.04±0.71	1.00±0.58	NS
β-Amyrin	2.03±1.06	0.47±0.27	1.44±1.74	**	1.45±1.42	1.14±1.49	1.09±1.11	NS
Cholesterol	0.47±0.22	0.58±0.12	0.49±0.12	*	0.52±0.13	0.59±0.18	0.45±0.13	*
Campesterol	115.84±12.24	99.50±15.12	80.67±12.46	***	92.91±13.95	104.45±18.55	92.21±19.41	*
Stigmasterol	47.67±8.07	30.55±5.92	23.10±2.21	***	30.58±10.13	36.88±12.93	28.64±8.50	*
β-Sitosterol	403.52±36.25	345.31±46.78	302.08±39.85	***	353.45±67.44	353.18±33.73	324.32±61.69	NS
Total phytosterols	571.04±32.24	477.05±59.48	408.95±47.67	-	480.04±89.12	497.28±52.93	447.71±87.27	-
Policosanols								
C20-ol	0.26±0.04	0.22±0.03	0.27±0.06	**	0.24±0.05	0.27±0.05	0.23±0.04	**
C21-ol	0.27±0.03	0.27±0.03	0.26±0.03	NS	0.25±0.03	0.28±0.03	0.26±0.03	**
C22-ol	1.24±0.26	1.10±0.42	1.37±0.41	*	1.16±0.34	1.45±0.43	1.11±0.33	**
C23-ol	0.65±0.01	0.66±0.01	0.65±0.01	NS	0.66±0.01	0.66±0.01	0.64±0.01	***
C24-ol	3.76±1.91	2.89±0.63	3.37±1.43	NS	3.15±1.31	3.96±1.57	2.75±0.91	**
C26-ol	3.17±1.93	1.94±0.40	1.80±0.56	**	2.17±1.15	2.64±1.51	1.78±0.53	*
C27-ol	0.58±0.04	0.57±0.02	0.56±0.02	**	0.57±0.03	0.59±0.03	0.55±0.02	**
C28-ol	1.67±0.79	1.30±0.20	1.09±0.16	**	1.33±0.50	1.45±0.56	1.17±0.30	NS
C30-ol	2.54±1.32	2.47±0.37	1.76±0.21	**	2.31±0.88	2.40±0.81	1.95±0.59	NS
Total policosanols	14.13±5.83	11.42±1.92	11.14±2.49	-	11.84±3.63	13.71±4.29	10.43±1.99	-

P-value by ANOVA (NS, not significant; **p* < 0.05; ***p* < 0.01; ****p* < 0.001). Each value represents the mean ± standard deviation

계적 차이검정을 실시했을 때 28개의 항목에서 유의적 차이가 나타났으며($p < 0.05$), 그 중 14개의 성분은 p 값이 0.001 이하로 나타났으며($p < 0.001$). 4개의 성분(ferulate, C21-ol, C23-ol, C24-ol)은 형태 간 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다($p > 0.05$).

옥수수를 지역별로 분류하여 기능성 성분 함량을 비교한 결과(Table 1B), 세 지역 중 수원에서 재배된 옥수수에서는 total carotenoids, total tocopherols의 함량이 가장 높았고, 대구지역에서 가장 높은 함량을 보인 성분은 total phenolic acids, total tocotrienols, total phytosterols, total policosanols이었으며, 홍천에서 재배된 옥수수에서는 total tocopherols를 제외하고 5개 항목(total carotenoids, total phenolic acids, total tocotrienols, total phytosterols, total policosanols)은 가장 낮은 함량을 보였다. 지역별 그룹의 p -value의 결과(Table 1B), 지역간 유의한 차이를 보인 성분 항목은 총 15개의 항목이며($p < 0.05$), 그 중 vanillate, syringate, C23-ol은 모두 p 값이 0.001 이하로 매우 낮은 값을 나타냈으며($p < 0.001$), 모든 carotenoids와 tocopherols는 유의적 차이를 보이지 않았다.

Phenolic acids의 vanillate와 syringate는 형태별, 지역별 그룹에서 모두 p 값이 0.001 이하로 매우 낮은 값을 나타냈다($p < 0.001$). C23-ol은 형태별 그룹에서는 유의적 차이를 보이지 않았으나 지역별 그룹에서는 유의적 차이를 보였다($p < 0.001$). 따라서, C23-ol은 형태적 요인보다 지역적 요인에 의해 함량 변화가 영향을 많이 받는 것으로 사료된다. 반면에, 모든 carotenoids와 tocopherols는 지역별 그룹에서는 유의적 차이를 보이지 않았으나 형태별 그룹으로 비교하였을 때는 유의적 차이가 나타났다. 따라서, carotenoids와 tocopherols는 지역적 요인보다 형태적 요인에 의해 함량 변화에 영향을 주는 것으로 사료된다. 일원분산분석결과를 종합하면, 지역적, 형태적 요인에서 모두 옥수수의 기능성 성분 함량이 유의적 차이를 보이는 것으로 보아, 대부분의 기능성 성분의 자연 변이는 형태와 재배 지역에 의해 영향을 받음을 확인하였다. 또한, 유의적 차이를 보인 항목의 수가 지역별 그룹보다 형태별 그룹에서 많으므로 지역(환경적 요인)보다 형태(유전적 요인)에 의해 영향을 많이 받는 것으로 사료된다.

옥수수 기능성 성분의 다변량 분석 수행

옥수수의 기능성 성분의 함량이 형태와 재배 지역에 따라 차이를 보였고, 이를 시각적으로 뚜렷하게 확인하기 위해, 높은 유사성을 가진 데이터들을 군집화, 시각화하여 군집간의 특성을 파악하는데 용이한 다변량 통계분석을 수행하여 PCA (Fig. 1), PLS-DA (Fig. 2) 결과를 통해 옥수수의 기능성 성분의 지역별, 형태별 그룹의 군집의 차이를 비교하고자 하였다. PCA score plot의 지역별(Fig. 1A)과 형태별(Fig. 1B) 그룹의 군집을 살펴본 결과, 일원분산분석의 결과와 유사하게 지역보다 형태에 의해 군집 구분이 뚜렷하게 형성되는 것을 확인하였다. Loading plot (Fig. 1C)을 통해, sweet maize 그룹의 군집 형성에 큰 영향을 주는 성분은 vanillate, stigmastrol이었으며, waxy maize 그룹의 군집 형성에 큰 영향을 주는 성분은 α -carotene과 cholesterol, normal maize 그룹의 군집 형성에 큰 영향을 주는 성분은 lutein, β -carotene임을 확인하였다.

PCA를 통해 지역보다 형태로 군집이 형성되었으므로, Ruiz-Perez 등[21]에서 제시한 바와 같이 데이터의 군집성을 확인할

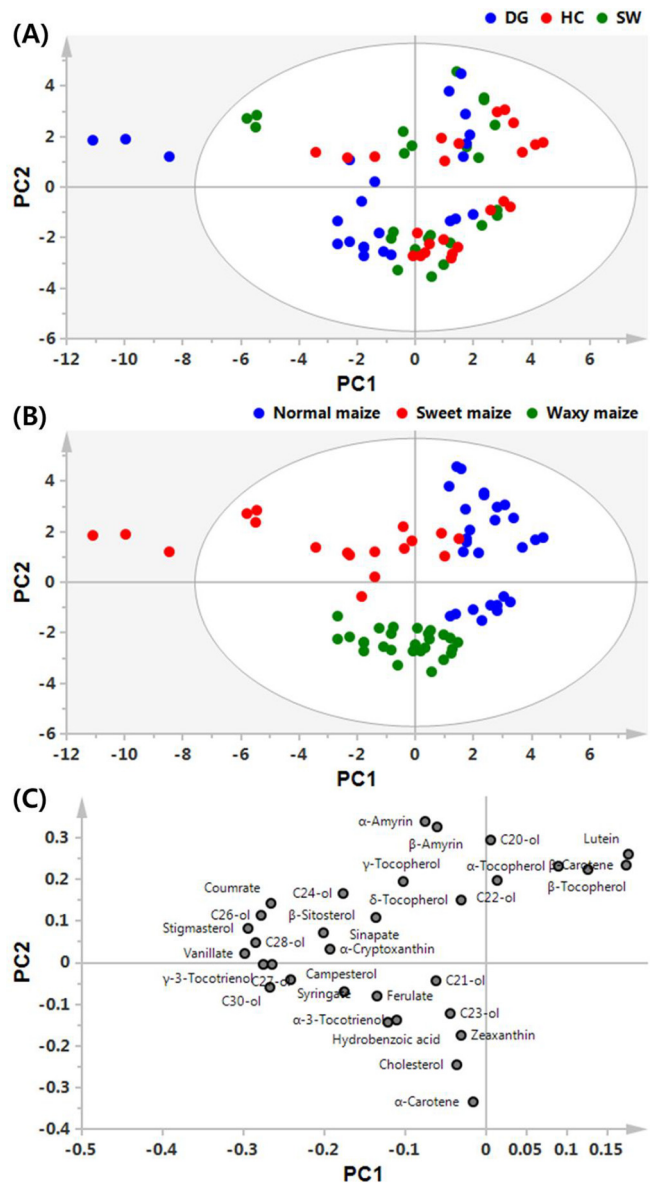


Fig. 1 PCA results for the functional components in maize kernels. (A) Score plots of PCA by cultivated regions (DG; Daegu, SW; Suwon, HC; Hongcheon), (B) score plots of PCA by maize types, (C) loading plots of PCA

수 있는 조건이 있는 경우 군집별 특성을 판별하는데 유리한 PLS-DA로 형태적 그룹을 조건으로 군집이 어떻게 형성되는지, 군집 형성에 기여하는 성분에는 어떤 항목이 있는지에 대해 분석하였다(Fig. 2). 기능성 성분의 함량에 따라 형태별로 군집이 뚜렷하게 형성됨을 확인하였다(Fig. 2A, B). 군집 형성에 기여한 정도를 확인하는 Variable Important in the Projection (VIP) 분석은 보통 값이 1.0 이상일 경우 군집 형성에 주요하게 기여하였다고 보는데, Fig. 2C에서 α -carotene, lutein의 VIP 값이 1.5 이상, stigmastrol, γ -tocopherol, coumarate, campesterol의 VIP 값이 1.0 이상으로, 형태별로 군집을 형성하는데 주요하게 기여하는 것으로 나타났다.

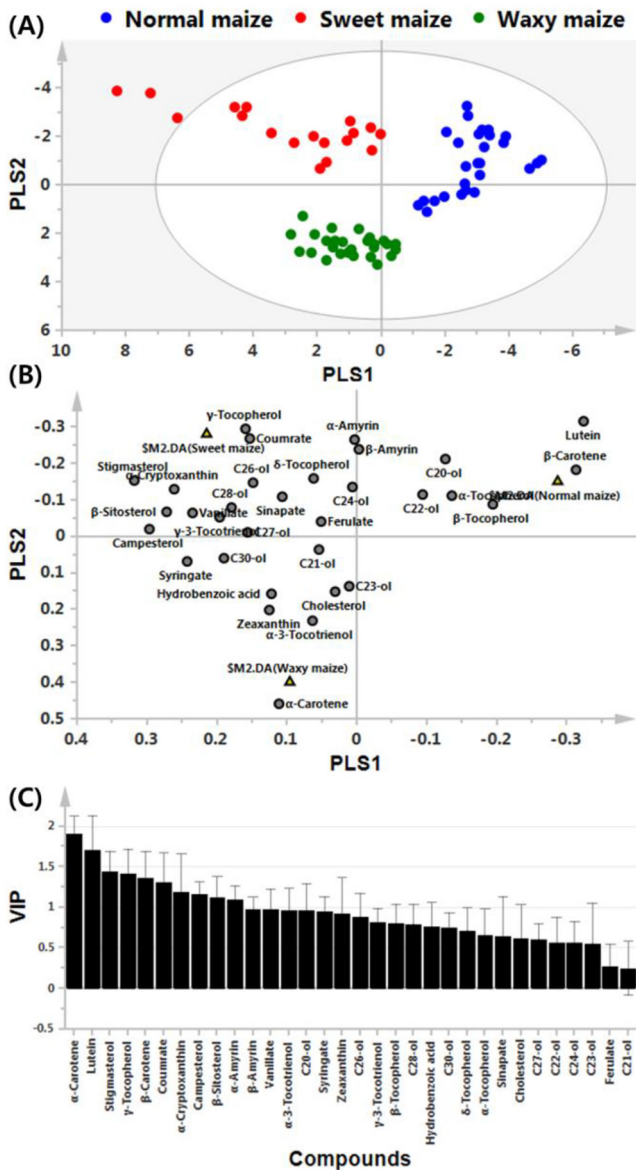


Fig. 2 PLS-DA results for the functional component in maize kernels. (A) Score plots of PLS-DA by maize types, (B) loading plots of PLS-DA by maize type, (C) The variable important in the projection (VIP) values from PLS-DA by types. VIP values describe the contribution of each variable to the projection

옥수수 기능성 성분의 상관관계 분석

총 72점 옥수수의 기능성 성분 32 종을 분석하고 성분 간 상관관계를 확인하기 위해서, Pearson 상관관계 분석을 수행하고, heat-map을 통해 군집성을 시각화하였다(Fig. 3). 상관관계 군집은 크게 2개로 형성되었으며, carotenoids의 성분 항목들간, 그리고 carotenoids의 성분 항목들과 phenolic acids, phytosterols의 성분 항목들 간에 유의한 상관관계가 나타나는 것을 확인하였다. 먼저, carotenoids의 항목 중 lutein과 β-carotene은 zeaxanthin,

α-carotene, α-cryptoxanthin과 음의 상관관계를 보였다($r < -0.5$). Lu 등[22]에 의하면 α-carotene과 β-carotene은 전구체인 lycopene에서 합성 pathway가 나뉘어 지고 α-carotene으로부터 lutein이, β-carotene으로부터 zeaxanthin, α-cryptoxanthin이 합성된다 보고되어 있어, lutein이 많이 합성될수록 전구물질인 α-carotene 함량이 감소하고, zeaxanthin으로 전환이 많이 되지 않아 전구물질인 β-carotene 함량이 감소하지 않은 것으로 보인다. 또한, Fig. 3에서 lutein과 β-carotene은 phenolic acids, phytosterols와 음의 상관관계가 나타났으며, phenolic acids와 phytosterols는 서로 양의 상관관계가 나타났다.

본 연구를 통해 다지역에서 재배된 국내 품종 옥수수의 기능성 물질 32종에 대한 분석을 수행하고 자연 변이를 분석한 결과, sweet maize와 waxy maize, normal maize는 분석된 기능성 성분의 함량이 큰 차이를 보였으며, 다변량 통계분석 결과, 형태별로 구분되는 결과를 나타내어 국내 품종 옥수수의 기능성 물질은 재배 환경보다 형태적 특성에 의한 함량 변이가 더 크게 영향 받는 결과를 얻었다. 이 결과는 옥수수 품종에 따른 영양학적 측면의 연구 수행시 기초자료로 활용될 수 있으며, 생명공학기술을 적용한 옥수수의 안전성 평가를 진행할 때, non-LMO와 LMO와의 자연변이 및 성분학적 실질적 동등성을 비교할 때 중요한 자료로 활용될 수 있다.

초 록

옥수수는 전세계적으로 다양한 형태로 소비되는 3대 식량작물로, 영양성분은 대부분은 전분으로 구성되어 있지만, 다량의 기능성 성분도 포함되어 있다. 옥수수는 형태적으로 찰옥수수, 단옥수수, 종실옥수수로 나뉘는데, 각 품종마다 쓰임이 다르기 때문에, 영양성분에서도 차이가 나타난다. 본 연구는 옥수수의 기능성 성분 함량을 분석하고 환경적 요인을 고려하여 자연변이 데이터를 생산하기 위해 수행하였다. 국내 3개지역(수원, 대구, 홍천)에서 재배한 옥수수 3가지 형태의(찰옥수수, 단옥수수, 종실옥수수) 시료를 수집하고, HPLC 및 GC-TOF-MS를 이용하여 성분을 분석하였다. ANOVA 및 다변량 통계분석, Pearson 상관분석을 통해, 형태별 그룹으로 비교하였을 때, 총 32개의 성분 항목 중 28개의 성분 항목이 유의적 차이를 보였으며 ($p < 0.05$, 지역별 그룹으로 비교한 결과, 15개의 성분이 유의적 차이를 보였다. 다변량 분석결과, 지역별보다 형태별로 군집 구분이 뚜렷하게 형성되었는데, 형태별 군집 형성 주요하게 기여한 성분은 α-carotene, lutein과 δ-tocopherol이었다. 본 연구에 따르면, 옥수수 기능성 성분은 환경적 요인보다 유전적 요인에 의해 영향을 더 많이 받는 것으로 사료된다. 자연변이 데이터는 옥수수 기능성 소재 연구분야 및 생명공학작물의 식품학적 안전성 평가시 기초자료로 활용될 수 있다.

Keywords 기능성성분 · 옥수수 · 자연변이

감사의 글 본 연구는 농촌진흥청 연구개발사업(과제번호: PJ016727)의 지원으로 수행되었습니다.

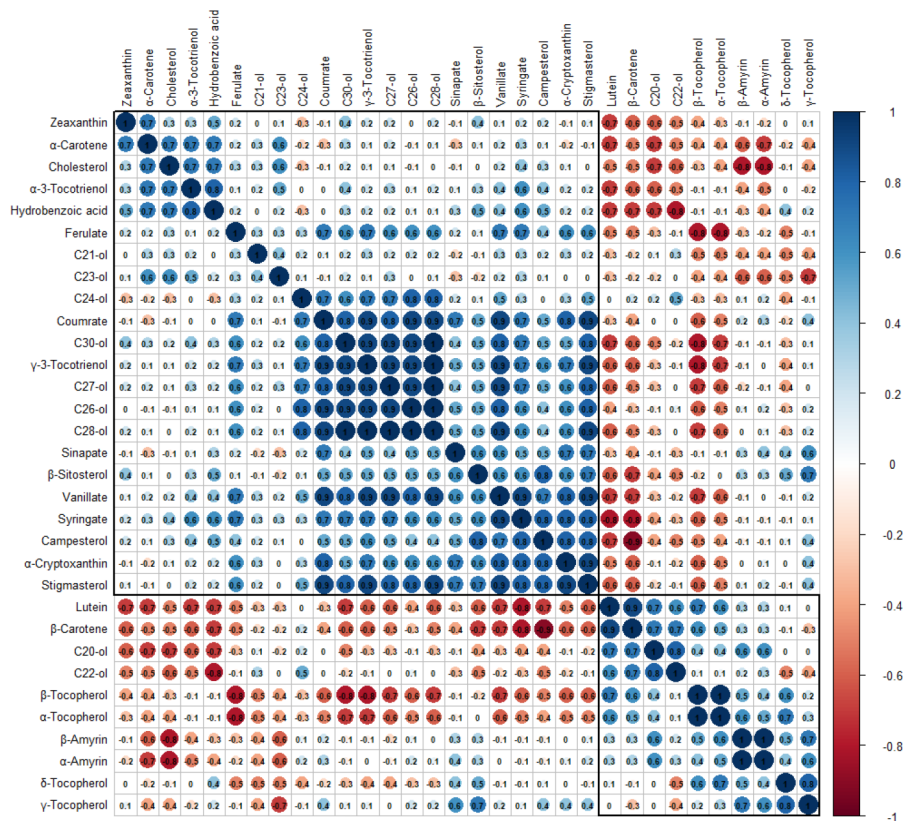


Fig. 3 Correlation matrix and cluster analysis of 32 functional components analyzed from 3 maize types across 3 cultivated regions

References

- Ekpa O, Palacios-Rojas N, Kruseman G, Fogliano V, Linnemann AR (2018) Sub-Saharan African maize-based foods: technological perspectives to increase the food and nutrition security impacts of maize breeding programmes. *Glob Food Sec* 17: 48–56. doi: 10.1016/j.gfs.2018.03.007
- Kim MJ, Park HJ, Kim SL, Jung GH, Kim JT, Shin SH, Kwon YU, Chung IM (2014) Changes in the physicochemical characteristics of sweet corn kernels during grain filling stage with different sowing date. *Korean J Crop Sci* 59(4): 445–456. doi: 10.7740/kjcs.2014.59.4.445
- Lee KY, Kim JE, Hong SY, Kim TH, Park AR, Noh, HS, Kim SC, Park JY, Ahn MS, Kim HY (2017) Assessment of nutritional components, carotenoid content and physiological activity of maize hybrid for grain ‘Kangilok’. *J Food Hyg Saf* 32(6): 513–520. doi: 10.13103/JFHS.2017.32.6.513
- Kim MJ, Lee JE, Kim JT, Jung GH, Lee YY, Kim SL, Kwon YU (2014) Changes in ear and kernel characteristics of waxy corn during grain filling stage by double cropping. *Korean J Crop Sci* 59(1): 73–82. doi: 10.7740/kjcs.2014.59.1.73
- Yu MH, Kim EO, Choi SW (2010) Quantitative changes of hydroxycinnamic acid derivatives and anthocyanin in corn (*Zea mays* L.) according to cultivars and heat processes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39(6): 843–852. doi: 10.3746/JKFN.2010.39.6.843
- Samtiya M, Aluko RE, Dhewa T (2020) Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview. *Food Prod Process Nutr* 2: 6. doi: 10.1186/s43014-020-0020-5
- Park AR, Lee KY, Kim TH, Choi JG, Lee HY, Choi SJ, Kwon SB, Kim HY (2019) Study of nutrient analysis by specie of domestically cultivated popcorns. *J Food Hyg Saf* 34(5): 438–446. doi: 10.13103/JFHS.2019.34.5.438
- Zavala-López M, Flint-García S, García-Lara S (2020) Compositional variation in *trans*-ferulic, *p*-coumaric, and diferulic acids levels among kernels of modern and traditional maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Front Nutr* 7: 600747. doi: 10.3389/fnut.2020.600747
- Cho SH (2010) Vitamin E: α -tocopherol and the other forms of vitamin E. *Korean J Nutr* 43(3): 304–314. doi: 10.4163/kjn.2010.43.3.304
- Park YJ, Sung JH, Choi YM, Kim YW, Kim MH, Jeong HS, Lee JS (2016) Analysis of vitamin E in agricultural processed foods in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45(5): 771–777.
- Kwon YJ, Kim KO, Heo HJ, Lee JS, & Sung JH (2023) Vitamin E, phytosterol, and carotenoid contents of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 52(9): 975–981. doi: 10.3746/jkfn.2023.52.9.975
- Maoka T (2020) Carotenoids as natural functional pigments. *J Nat Med* 74(1): 1–16. doi: 10.1007/s11418-019-01364-x
- Keththaisong D, Suriham B, Tangwongchai R, Lertrat K (2013) Changes in physicochemical properties of waxy corn starches at different stages of harvesting. *Carbohydr Polym* 98(1): 241–248. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.06.016
- Jung GH, Kim MJ, Son BY, Kim SL, Yoon MR, Kwak JE, Choi ID, Kwak KS, Lee CK (2016). Characterization of chemical compositions on kernel of Korean maize hybrids. *Korean J Breed Sci* 48(4): 450–459.
- Lee SH, Hwang IG, Kim HY, Lee HK, Lee SH, Woo SH, Lee JS, Jeong HS (2010) Physicochemical property and antioxidant activity of Daehak waxy corns with different harvest times. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39(5): 719–724. doi: 10.3746/jkfn.2010.39.5.719
- Kim EH, Lee SG, Park SY, Lee SG, Oh SW (2018) Development of the conventional crop composition database for new genetically engineered crop safety assessment. *J Plant Biotechnol* 45(4): 289–298. doi: 10.5010/

- JPB.2018.45.4.289
17. Kim EH, Lee KM, Lee SY, Kil M, Kwon OH, Lee SG, Lee SG, Ryu TH, Park SY (2021) Influence of genetic and environmental factors on the contents of carotenoids and phenolic acids in red pepper fruits (*Capsicum annuum* L.). Appl Biol Chem 64: 85. doi: 10.1186/s13765-021-00657-8
 18. Park SY, Park HM, Jung JW, Jin SR, Lee SG, Kim EH, Oh SW (2022) Effects of genotype and environmental factors on content variations of the bioactive constituents in rice seeds. J Appl Biol Chem 65(4): 429–438. doi: 10.3839/jabc.2022.055
 19. Schoene K, Bruckert H, Steinhanses J, König A (1994) Two stage derivatization with *N*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*N*-methyl-trifluoroacetamide (MTBSTFA) and *N*-methyl-bis-(trifluoroacetamide) (MBTFA) for the gas-chromatographic analysis of OH-, SH-and NH-compounds. Fresenius J Anal Chem 348: 364–370. doi: 10.1007/BF00323136
 20. Žilić S, Serpen A, Akilloğlu G, Gökmen V, Vančetović J (2012) Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. J Agric Food Chem 60(5): 1224–1231. doi: 10.1021/jf204367z
 21. Ruiz-Perez D, Guan H, Madhivanan P, Mathee K, Narasimhan G (2020) So you think you can PLS-DA?. BMC Bioinformatics 21: 2. doi: 10.1186/s12859-019-3310-7
 22. Lu S, Li L (2008) Carotenoid metabolism: biosynthesis, regulation, beyond. J Integr Plant Biol 50(7): 778–785. doi: 10.1111/j.1744-7909.2008.00708.x