

산·학·연 논문

새로운 기능성분 데이터베이스, 파이토스테롤 DB

황지현¹ · 최은지¹ · 이준수² · 김인환³ · 김병희^{1*}¹숙명여자대학교 식품영양학과²충북대학교 식품생명공학과³고려대학교 의생명융합과학과

Phytosterol Database, A New Functional Food Component Database

Jihyun Hwang¹, Eunji Choi¹, Junsoo Lee², In-Hwan Kim³, and Byung Hee Kim^{1*}¹Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Korea²Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National University, Korea³Department of Integrated Biomedical and Life Sciences, Graduate School, Korea University, Korea

서 론

파이토스테롤(phytosterols)은 식물체에서 자연적으로 생성되는 트리테르펜(triterpene)계 물질로 스테로이드(steroid) 고리구조에 수산기(hydroxyl group)와 탄화수소 사슬이 결합한 구조를 가지고 있다. 파이토스테롤은 식물 세포막의 투과성과 유동성 조절에 관여하며, 콜레스테롤(cholesterol) 감소, 면역조절, 항염증, 항산화, 항암, 항당뇨 작용 등의 생리활성 기능을 가지고 있는 식품 성분 중 하나이다. 이들은 과일류, 채소류, 견과류, 종실류 등 다양한 식물성 식품에 함유되어 있으며, 특히 견과류, 종실류와 이들로부터 채취한 식용 유지에 다량 함유되어 있다(1). 식물에 함유된 파이토스테롤 함량은 식물의 생육환경에 의해 영향을 받기 때문에 같은 이름의 식물 또는 식품이라도 생산지 등에 따라 그 함량에 차이가 나타날 수 있다(2). 따라서 실제 우리나라 국민이 일상적으로 섭취하는 식품에 함유된 파이토스테롤의 종류와 함량에 대한 상세하고 포괄적인 정보 수집과 제공은 국민건강 증진과 우수 농식품 관련 산업 지원 측면에서 매우 중요하다. 현재 우리나라를 포함한 미국, 유럽연합(EU) 등의 주요 국가에서는 식품의 기능성분 정보 수집과 제공의 중요성을 인식하여 폴리페놀(polyphenols) 등 식품의 주요 기능성분에 대한 다양하고 상세한 정보제공이 가능한 데이터베이스를 정부기관 주도로 활발하게 구축 중인 반면 파이토

스테롤 정보 제공을 위한 데이터베이스의 구축은 아직 미흡한 실정이다. 향후 이들 기능성분 데이터베이스의 활용성 제고를 위해서는 파이토스테롤을 포함한 다양한 기능성분 데이터베이스의 확대 구축이 필요하다. 본 논문에서는 주요 국가의 기능성분 데이터베이스 현황 소개와 함께 신뢰성 있는 파이토스테롤 데이터베이스의 효율적인 구축을 위해 정보 수집과 제공이 필요한 파이토스테롤 종류와 기능성 및 분석법 개발 현황을 알아보고 향후 구축될 파이토스테롤 데이터베이스의 활용에 대해 전망하고자 한다.

국내외 기능성분 데이터베이스 현황

최근 소득증대와 함께 고령 인구, 맞벌이 가구, 1인가구의 증가 등 경제·사회적인 환경 변화가 가속화되고 있다. 이로 인해 우리나라 국민의 식생활 습관도 변하여 육류와 동물성 지방을 많이 섭취하는 서구식 식생활 패턴이 증가하고, 편의식품 등 가공식품에 대한 의존도가 크게 증가하고 있다. 이에 따라 영양과잉 또는 영양불균형으로 인한 고혈압, 심혈관계 질환, 당뇨 등 만성질환의 위험도 증가하고 있다. 또한 최근 우리나라 국민들은 삶의 질을 중시하는 경향이 뚜렷하며, 웰빙에 대한 관심과 욕구 역시 꾸준히 증가하고 있다. 개인의 건강한 삶을 위해서 질병 예방과 건강 상태 유지를 위한 식품의 역할은 더욱 중요하다. 특히 만성질환 위험 감소에 도움을 줄 수 있다고 알려진 기능성분의 중

*Corresponding author. E-mail: bhkim@sookmyung.ac.kr

류와 함량에 대한 정보 요구도가 크게 증가하는 추세이다. 따라서 우리나라 국민의 건강 및 영양 수준을 향상시키는 정책과 프로그램을 개발하고 실효성 있게 추진하기 위해서는 우리나라 국민이 실제 섭취하는 식품에 함유된 기능성분에 대한 신뢰성 있는 데이터베이스의 구축이 필요하다.

미국, 유럽 등 해외 주요 국가에서도 식품의 기능성분 정보 수집과 제공의 중요성을 인식하여 각국의 상용 식품을 대상으로 주요 기능성분의 데이터베이스를 정부 주도하에 구축 중이다. 미국 농무부(United States Department of Agriculture, USDA)는 2003년부터 플라보노이드(flavonoids) 함량 데이터베이스(USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods)를 지속적으로 구축하고 있다. 동 데이터베이스는 2023년 5월 기준 506품목의 식품에 대해 26종의 플라보노이드 함량 정보를 제공하고 있다. 또한 USDA는 1999년부터 상기 데이터베이스와 별도로 이소플라본(isoflavones)류 함량 데이터베이스(USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods)를 운영 중이다. 동 데이터베이스는 2023년 5월 기준 557품목의 식품에 대해 4종의 이소플라본 함량 정보를 제공 중이다. 유럽연합(European Union, EU)에서는 2009년부터 프랑스 국립농업연구원(French National Institute for Agricultural Research, INRA)의 주도하에 Phenol-Explorer라는 이름의 기능성분 데이터베이스를 구축하고 있다. 가장 최근인 2015년에 공개된 데이터베이스에서는 459품목의 식품에 대해 279종의 플라보노이드를 포함하여 총 501종의 폴리페놀 함량 정보를 제공하고 있다. 특히 동 데이터베이스는 조리·가공 전후 성분 변화 정보를 제공하고 있으며, 2015년 공개 데이터베이스에서는 식품 155품목의 조리·가공방법별 132종의 폴리페놀의 함량(플라보노이드 99종 포함) 변화 정보를 제공하고 있다.

국내의 경우 농촌진흥청에서 정보요구도가 높은 기능성분을 선정하여 데이터베이스를 구축 중이다. 농촌진흥청에서 최초로 구축한 기능성분 데이터베이스는 2016년에 공개한 플라보노이드 데이터베이스(구 기능성성분표)이며, 동 기관은 2018년에 페놀산(phenolic acids) 데이터베이스를, 2023년에 사포닌(saponins) 데이터베이스를 차례로 공개하였다. 이들 데이터베이스는 2023년 5월 기준으로 각각 식품 270품목의 플라보노이드 유도체 476종, 식품 308품목의 페놀산(phenolic acids) 유도체 425종, 식품 169품목의 사포닌(saponins) 유도체 539종의 함량 정보를 제공하고 있다. 한편 농촌

진흥청은 기능성분 데이터베이스 확대 구축하기 위해 2022년부터 파이토스테롤, 안토시아닌(anthocyanins), 리그난(lignans), 알칼로이드(alkaloids), 인지질(phospholipids), 카로티노이드(carotenoids), 식이황화합물(dietary sulfur-containing compounds) 데이터베이스 구축을 시작하였다.

식물성 기능성분, 파이토스테롤

파이토스테롤의 생리활성

파이토스테롤은 콜레스테롤과 구조적으로 유사하지만, 콜레스테롤과 달리 체내에서 합성되지 않으며, 흡수도 거의 되지 않는다. 하지만 이들은 섭취 시, 콜레스테롤 감소, 면역조절, 항염증, 항산화, 항암, 항당뇨 작용 등 다양한 생리활성을 나타낸다고 알려져 있다(3). 특히 파이토스테롤의 대표적인 생리활성은 콜레스테롤 감소 작용이다. 파이토스테롤은 체내에서 콜레스테롤과 함께 소화관에서 소량 흡수된 후 간으로 이동하여 콜레스테롤 합성을 억제하고, 소장에서 콜레스테롤의 미셀(micelle) 형성을 방해함으로써 장내 콜레스테롤의 흡수를 저해한다(4). 특히 파이토스테롤의 섭취는 혈중 저밀도지질단백질(low density lipoprotein, LDL) 콜레스테롤의 수준을 낮추고, 위에서 LDL 콜레스테롤 흡수를 저해하는 역할을 한다(5,6). 또한 파이토스테롤이 장 상피세포와 간세포에서 LDL 콜레스테롤 대사에 관여하는 단백질에 영향을 줄 수 있음이 밝혀졌다(7). 이러한 콜레스테롤 감소 작용 외에도 파이토스테롤은 T-helper 매개 면역 반응 조절에 의한 면역조절 작용(8), 직접적인 자유 라디칼(free radicals) 제거 또는 여러 생리학적 작용과 관련된 산화환원 신호전달 경로 중 특정 단백질 간섭에 의한 항산화 작용(9), 산화 스트레스 감소와 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 과생산 감소에 기인한 항염증 작용(8), 세포주기 진행 지연, 세포사멸 유도 등을 통한 항암 작용(10), AMP-activated protein kinase(AMPK) 활성화 또는 peroxisome proliferator-activated receptors(PPARs) 활성화에 의한 항당뇨 작용을 나타낸다(11). 다만 현재 미국 식품의약국(Food and Drug Administration, FDA), 유럽식품안전청(European Food Safety Authority, EFSA), 세계보건기구(World Health Organization, WHO) 등의 국제기구에서 인정하고 있는 파이토스테롤의 기능성은 혈중 콜레스테롤 감소 효과가 유일하며, 면역조절 작용 등의 기타 기능성에 대해서는 아직 인정된 바 없다(표 1). 국내의 경우 2005년에 식

표 1. 국제기구에서의 파이토스테롤 인정·허가 상황 및 사용 기준

국제기구	인정·허가 상황	사용 기준	참고문헌
미국 식품의약국(FDA)	관상동맥질환 위험 감소 효과를 나타냄 혈중 총콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤 수준의 감소에 기여	하루 1.3 g 이상	12
유럽식품안전청(EFSA)	정상적인 혈중 콜레스테롤 수준의 유지에 기여	하루 1.5~2.4 g	13
세계보건기구(WHO)	혈중 콜레스테롤 감소 효과를 나타냄	없음	14

품의약품안전처에서 파이토스테롤을 고시형 건강기능식품 원료로 지정하였다. ‘건강기능식품의 기준 및 규격’에 따르면 식용유를 생산하는 공정 중 탈취공정 중에 생긴 종류물인 β -sitosterol, brassicasterol, stigmasterol, campesterol의 혼합물을 추출 및 정제하여 제조한 것을 “식물스테롤”이라 정의하며, “혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음”의 기능성 내용으로 사용 가능하다. 파이토스테롤의 일일섭취량으로는 0.8~3 g을 권장하고 있다.

파이토스테롤의 생합성과 주요 파이토스테롤

현재까지 식물체에 존재한다고 밝혀진 파이토스테롤은 250여 종 이상이다(1). 이 중 식물성 식품에 가장 많이 존재하는 파이토스테롤은 β -sitosterol, stigmasterol, campesterol이며, 이들이 생합성되는데 사용되는 전구물질 또는 이들로부터 유도되는 brassicasterol, avenasterol 등 여러 가지 종류의 파이토스테롤이 식물체 내에 함께 존재 가능하다. 파이토스테롤의 생합성은 동물성 스테롤인 콜레스테롤과 동일하게 6탄소 단위체인 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA)가 5탄소 단위체인 mevalonate로 환원되면서 시작된다. 6분자의 mevalonate로부터 생성된 2분자의 farnesyl diphosphate(15탄소 단위체)가 결합하여 30개의 탄소로 구성된 파이토스테롤의 전구체인 squalene이 생성된다. 이후 squalene이 재배열(rearrangement) 등 여러 효소에 의해 축매되는 다양한 생화학 반응을 통해 개별 파이토스테롤로 전환된다(15). 그림 1은 β -sitosterol, stigmasterol, campesterol을 포함한 주요 파이토스테롤 15종이 squalene으로부터 생합성되는 경로를 보여주고 있다. 먼저 squalene에 squalene epoxidase가 작용하여 2,3-oxidosqualene이 생성된다. 2,3-epoxysqualene은 포유류 등 동물에서는 lanosterol synthase에 의해 lanosterol로 전환되지만, 고등식물에서는 cycloartenol synthase에 의해 cycloartenol(1번)로 전환되어 이로부터 고등식물에서 존재하는 대부분의 파이토스테롤이 생성된다. 특히 cycloartenol로부터 생성되는 24-methylene-cycloartanol(2번)은 식물체에 흔히 존재하는 β -si-

tosterol, stigmasterol, campesterol의 출발물질이다. 24-Methylenecycloartanol로부터 생성된 gramisterol(3번)의 24번 탄소에 Δ 24-methyltransferase에 의한 메틸기가 추가되어 citrostadienol(4번)을 생성한 후 Δ 7-avenasterol(5번)이 생성된다. 한편 24-methylenecycloartanol로부터 Δ 7-campesterol(6번)과 clerosterol(7번)이 각각 생성된다. Δ 7-Avenasterol은 Δ 24-reductase에 의해 Δ 24 이중결합에 수소가 첨가된 Δ 7-sitosterol(8번)로 전환된다. Δ 7-Sitosterol, Δ 7-avenasterol, Δ 7-campesterol은 순차적으로 Δ 5-desaturase에 의한 Δ 5 이중결합 도입과 Δ 7-reductase에 의한 Δ 7 이중결합에 대한 수소첨가 반응을 거쳐 각각 β -sitosterol(9번), Δ 5-avenasterol(10번), campesterol(11번)로 전환된다. β -Sitosterol과 campesterol은 Δ 22-desaturase에 의해 22번 탄소에 이중결합이 도입되어 각각 stigmasterol(12번)과 brassicasterol(13번)이 생성된다. Stigmasta-5,24(25)-dienol(14번)은 β -sitosterol에 Δ 24(25)-desaturase가 작용하여 생성된다. 한편 sitostanol(15번)은 β -sitosterol에 Δ 5-desaturase가 작용하거나 stigmasterol이 Δ 5-reductase, Δ 22-reductase에 의해 환원되어 생성된다. 따라서 파이토스테롤 데이터베이스를 효율적으로 구축하기 위해서는 이러한 파이토스테롤의 생합성 경로를 고려하여 상기 15종의 파이토스테롤에 대한 분석정보 수집이 우선적으로 필요한 것으로 판단된다. 동 주요 파이토스테롤의 기타 명칭, 화학구조 등 일반 정보는 표 2에 나타내었다.

파이토스테롤 분석법 현황

파이토스테롤 데이터베이스 구축을 위해서는 정확한 파이토스테롤 함량 측정이 가능한 분석법 적용이 필요하다. 특히 식품은 매트릭스가 복잡하고 다양하기에 그에 맞는 분석법을 설정해야 신뢰성 있는 분석데이터를 제공할 수 있다. 일반적으로 식품 내 파이토스테롤 정량분석법에서는 간섭물질을 제거하고 파이토스테롤을 농축하기 위한 시료 전처리 과정이 필요하다. 전처리 과정은 보통 지질 추출, 검화, 비검화물 추출의 순으로

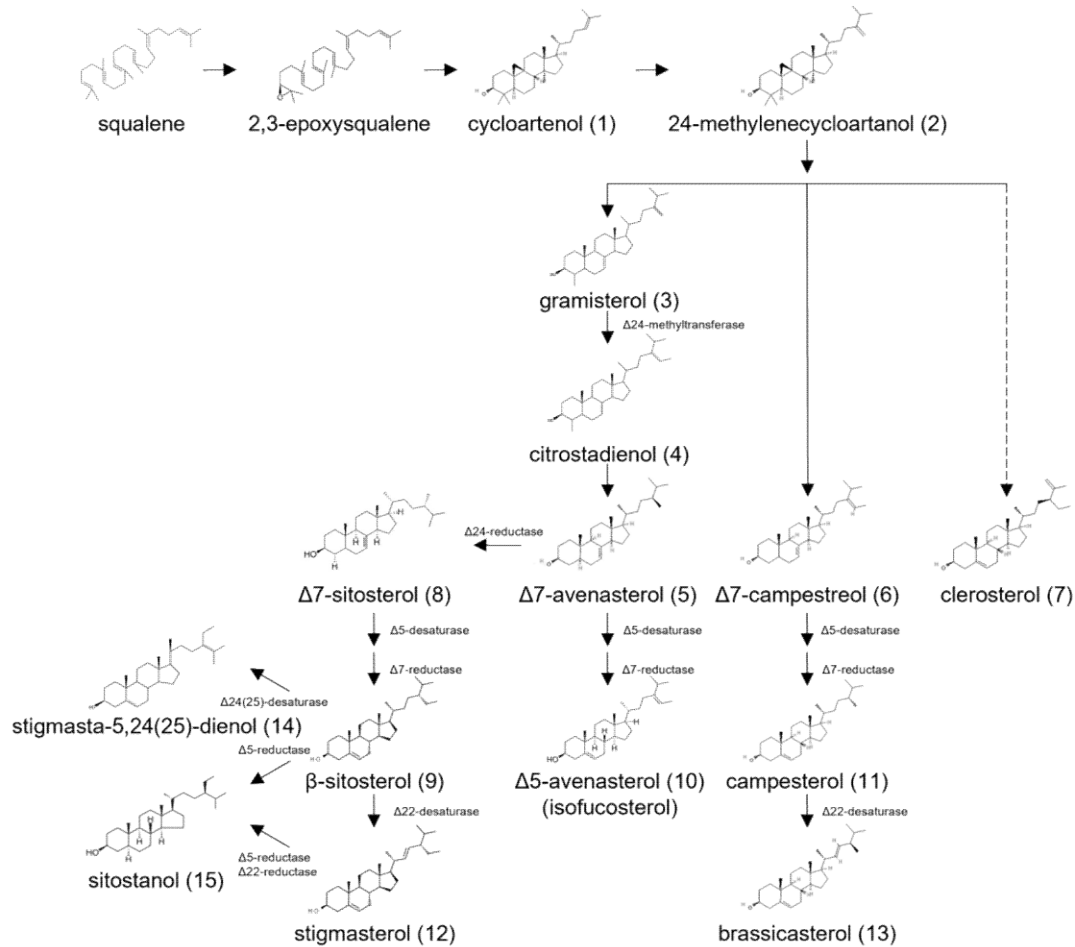


그림 1. 주요 파이토스테롤 15종의 생합성 경로.

진행된다(16). 먼저 *n*-헥산(*n*-hexane) 또는 석유에테르(petroleum ether) 등의 유기 용매나 클로로포름-메탄올(chloroform-methanol) 등의 극성이 서로 다른 용매의 혼합물을 이용한 추출, 초임계 유체 추출(supercritical fluid extraction), 마이크로파 추출(microwave extraction), 고체상 추출(solid phase extraction, SPE) 등을 이용하여 식품 매트릭스로부터 지질을 추출한다. 이후 에탄올성 수산화칼륨 용액을 이용하여 실온 또는 고온에서 검화 과정을 거친다. 검화 전에 산 가수분해를 실시하기도 하는데, 이는 추출물 내에 배당체 형태로 존재하는 파이토스테롤도 모두 유리된 형태의 파이토스테롤로 전환시키기 위한 것이다. 검화 후 에멀전(emulsion) 형성 방지와 분석 시간 단축을 목적으로 디에틸에테르(diethyl ether), 석유에테르 또는 헵탄(*n*-heptane) 등의 유기 용매를 사용한 분획이나 고체상 추출을 통해 파이토스테롤이 포함된 비검화물을 추출한다. 추출된 비검화물에 함유된 간섭물질을 제거하기 위해 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography, TLC), 고체상 추출 등을 이용한 정

제·농축 과정을 추가로 실시하기도 한다.

전처리 과정을 거친 시료의 파이토스테롤 함량은 기기분석법을 이용하여 측정하며, 주로 기체크로마토그래피(gas chromatography, GC)와 액체크로마토그래피(liquid chromatography, LC)가 활용되고 있다. 그 중 GC 분석법은 식품 중 파이토스테롤 정량에 가장 널리 사용되고 있다. GC 분석은 개별 파이토스테롤 분리가 용이하고, 다른 화합물들과의 간섭을 최소화하여 정확한 파이토스테롤 함량 측정이 가능한 장점이 있다. 특히 파이토스테롤은 열에 안정하여 GC 분석에 적합한 물질이다. 또한 검출기로 사용되는 불꽃이온화검출기(flame ionization detector, FID)는 민감하여 매우 낮은 농도의 파이토스테롤의 검출이 가능하다. 하지만 파이토스테롤은 GC 분석에 필요한 휘발성이 비교적 낮은 편이다. 따라서 파이토스테롤의 휘발성과 감도를 향상시키기 위한 실릴화된(silylated) 유도체 제조가 필요하다. 파이토스테롤의 실릴화에는 *N*-methyl-*N*-trimethylsilylfluoroacetamide(MSTFA) 함유 pyridine, 또는 1% trimethylchlorosilane(TMCS)

표 2. 주요 파이토스테롤의 화학구조와 일반 정보

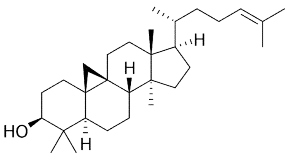
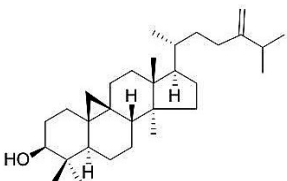
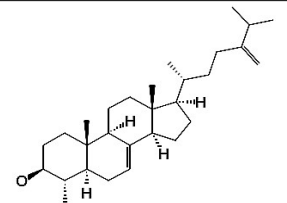
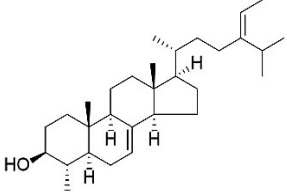
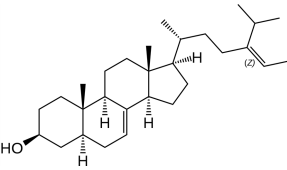
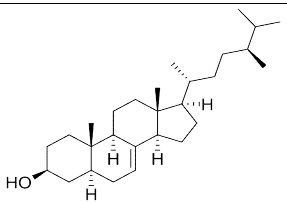
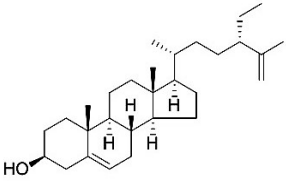
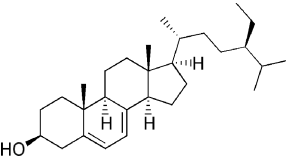
연번	종류	화학구조	일반 정보
1	Cycloartenol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: 9β,19-cyclo-24-lanosten-3β-ol, (3β,9β)-9,19-cyclolanost-24-en-3-ol, cycloart-24(25)-enol, 9,19-cyclo-9β-lanost-24-en-3β-ol, cycloart-24-en-3β-ol, (3β)-9,19-cyclolanost-24-en-3-ol, handianol - CAS 번호: 469-38-5 - 화학식: C₃₀H₅₀O - 분자량: 426.72
2	24-Methylene-cycloartanol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: 24-methylenecycloartan-3β-ol, (3β,9β)-24-methylene-9,19-cyclolanostan-3-ol, 24(28)-methylenecycloartanol, 24-methylenecycloartan-3-ol, 24-methylene-9β,19-cyclo-lanostan-3β-ol - CAS 번호: 1449-09-8 - 화학식: C₃₁H₅₂O - 분자량: 440.74
3	Gramisterol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: 24-methylenelophenol, 4α-methylepisterol, (3β,4α,5α)-4-methyl-ergosta-7,24(28)-dien-3-ol, 4α-methyl-24-methylene-5α-cholest-7-en-3β-ol, gramisterin, 24-methylidenelophenol - CAS 번호: 1176-52-9 - 화학식: C₂₉H₄₈O - 분자량: 412.69
4	Citrostadienol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: 24-ethylidenelophenol, 5α-sitosterol, (3β,4β,5α)-4-methylergosta-7,24(28)-dien-3-ol, (3β,4α,5α,24Z)-4-methylstigmasta-7,24(28)-dien-3-ol, citrostadienol - CAS 번호: 474-40-8 - 화학식: C₃₀H₅₀O - 분자량: 426.73
5	Δ^7 -Avenasterol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: (24Z)-24-ethyl-5α-cholesta-7,24(28)-dien-3β-ol, (24Z)-5α-stigmasta-7,24(28)-dien-3β-ol, 24Z-ethylidenelathosterol, 7-dehydroavenasterol, (3β,5α,24Z)-stigmasta-7,24(28)-dien-3-ol - CAS 번호: 23290-26-8 - 화학식: C₂₉H₄₈O - 분자량: 412.70
6	Δ^7 -Campesterol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: fungisterol, 7-ergosterol, 5α-ergost-7-en-3β-ol, (3β,5α)-ergost-7-en-3-ol, (24S)-ergost-7-en-3β-ol, (24S)-24-methyl-5α-cholest-7-en-3β-ol - CAS 번호: 516-78-9 - 화학식: C₂₈H₄₈O - 분자량: 400.68
7	Clerosterol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: (24S)-24-ethylcholesta-5,25-dien-3β-ol, 5,25-Stigmastadienol, poriferasta-5,25-dien-3-ol - CAS 번호: 2364-23-0 - 화학식: C₂₉H₄₈O - 분자량: 412.70
8	Δ^7 -Sitosterol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: 7-dehydrositosterol, (3β)-stigmasta-5,7-dien-3-ol, (3β)-stigmasta-5,7-dien-3-ol - CAS 번호: 521-04-0 - 화학식: C₂₉H₄₈O - 분자량: 412.70

표 2. 계속

연번	종류	화학구조	일반 정보
9	β -Sitosterol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: 24-ethylcholesterol, 3β-stigmast-5-en-3-ol, clionasterol, 24-ethylcholest-5-en-3β-ol - CAS 번호: 83-46-5 - 화학식: C₂₉H₅₀O - 분자량: 414.71
10	Δ^5 -Avenasterol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: (3β)-stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, 24-ethylidenecholesterolstigmasta-5,24(28)-dien-3β-ol, 24(28)-ethylidenecholest-5-en-3β-ol, 24-ethylcholesta-5,24(28)-dien-3β-ol, 24-ethylidenecholest-5-en-3β-ol - CAS 번호: 18472-36-1 - 화학식: C₂₉H₄₈O - 분자량: 412.69
11	Campesterol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: campesterin, campest-5-en-3β-ol, (24R)-5-ergosten-3β-ol, 24-methylcholesterol, (3β,24R)-ergost-5-en-3-ol - CAS 번호: 474-62-4 - 화학식: C₂₈H₄₈O - 분자량: 400.69
12	Stigmasterol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: (24S)-5,22-stigmastadien-3β-ol, (24S)-24-ethylcholesta-5,22-dien-3β-ol, β-stigmasterol, Δ^5-stigmasterol, stigmasterin - CAS 번호: 83-48-7 - 화학식: C₂₉H₄₈O - 분자량: 412.69
13	Brassicasterol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: (24R)-ergosta-5,22-dien-3β-ol, Δ^5,22-ergostadienol, 24-methylcholesta-5,22-dien-3β-ol, brassicasterin - CAS 번호: 474-67-9 - 화학식: C₂₈H₄₆O - 분자량: 398.68
14	Stigmasta-5,24(25)-dienol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: 5,24-stigmastadienol, 24-ethyl-desmosterol, stigmasta-5,24-dien-3β-ol, 24-ethylcholesta-5,24-dien-3β-ol - CAS 번호: 28949-66-8 - 화학식: C₂₉H₄₈O - 분자량: 412.69
15	Sitostanol		<ul style="list-style-type: none"> - 기타 명칭: stigmastanol, fucostanol, spinastanol, dihydro-β-sitosterol, 24α-ethylcholestanol, stigmastan-3-ol - CAS 번호: 83-45-4 - 화학식: C₂₉H₅₂O - 분자량: 416.72

함유 bis-trimethylsilyltrifluoroacetamide(BSTFA)를 사용한 trimethylsilyl(TMS) 에테르 유도체화 방법이 일반적으로 사용된다(17). GC 정량분석법의 경우 정확성과 정밀성을 보장하기 위해 내부 표준물질이 사용된다. 주로 사용되는 내부 표준물질은 betulin, 5 α -

cholestane, 5 β -cholestane-3 α -ol(epicoprostanol)로 파이토스테롤과 화학구조가 유사하지만, 파이토스테롤과는 잘 분리되며 파이토스테롤과 함께 자주 검출되는 물질(토코페롤 등)과도 잘 분리되는 특성이 있다(16). 식용유지류의 파이토스테롤 정량에 사용되는 국제

공인 시험법인 International Organization for Standardization(ISO) 12228 방법(18)과 European Council(EC) method(19)는 에탄올성 수산화칼륨 용액을 사용하여 검화하고, 에틸에테르(ethyl ether)를 이용하여 비검화물을 추출하며, TLC를 이용하여 지방족 알코올(aliphatic alcohols), 트리테르펜 알코올(triterpene alcohols) 등의 간섭물질을 제거한 후 TMS 유도체를 제조하여 GC를 이용하여 분석하는 방법이다. 한편 미국유지화학자협회(American Oil Chemists Society, AOCS)에서 확립한 방법도 이와 유사하다.

GC 분석법은 비검화물 추출 후에도 실험화된 유도체 제조과정이 필요하기 때문에 시간과 비용이 많이 소요되는 단점이 있는 반면 고성능 액체크로마토그래피(high performance LC, HPLC) 또는 초고성능 액체크로마토그래피(ultra performance LC, UPLC)를 이용한 LC 분석법은 유도체화 과정 없이 분석이 가능한 장점이 있다. LC 분석에 사용되는 검출기로는 광다이오드배열 검출기(photodiode array detector, PDA), 증기화광산란 검출기(evaporative light scattering detector, ELSD) 등이 있다.

파이토스테롤은 그 종류가 다양하나 화학구조가 서로 유사한 경우가 많아 정성 과정이 필수적이다. 파이토스테롤의 정성분석에는 기체 크로마토그래피 질량분석법(GC mass spectrometry, GC-MS), 기체 크로마토그래피 탠덤 질량분석법(GC tandem mass spectrometry, GC-MS/MS), 액체 크로마토그래피 질량분석법(LC-MS), 핵자기공명 분광분석(nuclear magnetic resonance, NMR) 등이 활용되고 있으며, 가장 많이 활용되는 정성분석법은 GC-MS를 이용한 방법이다(표 3).

파이토스테롤 데이터베이스의 활용 전망

파이토스테롤 등 기능성분의 데이터베이스 구축은 이들 성분의 정보를 수집하고 정리하여 효율적으로 활용할 수 있는 기반을 마련하는 것으로, 향후 구축될 파이토스테롤 데이터베이스는 여러 분야에서 다양한 목적으로 활용될 수 있다. 우리나라 국민이 실제 자주 섭취하는 식품의 파이토스테롤 함량 정보를 제공함으로써 국민의 파이토스테롤 섭취량 평가와 섭취기준 설정을 위한 근거 자료로 활용 가능하다. 또한 식품의 파이토스테롤 표시기준 마련 등 정책지원에도 활용될 수 있다. 농·식품 산업 분야에서는 파이토스테롤 함량이 높은 우수농산물 선별, 개인 맞춤형 식품 개발, 건강기능식품 개발을 위한 기초 자료로 활용될 수 있다. 동 데

이터베이스는 공공의 목적으로 공개되지만, 데이터베이스 제공 정보는 상업적인 목적의 영양관리 프로그램 개발과 운영 등에도 활용 가능하기 때문에 헬스케어 산업 분야의 신규 사업과 서비스 창출에도 도움을 줄 것으로 전망된다. 또한 동 데이터베이스의 파이토스테롤 정성 및 정량분석 자료와 분석 관련 정보는 식물 체내 대사 경로 구명 등의 연구에 기초자료로 활용될 수 있다.

결론

파이토스테롤은 콜레스테롤 감소 작용을 포함하여 다양한 기능성을 가진 식물성 식품의 대표적인 기능성분이다. 우리나라를 비롯한 미국, 유럽 등 해외 주요 국가에서 식품의 기능성분 정보 수집과 제공의 중요성을 인식하여 주요 기능성분을 대상으로 국가 차원의 데이터베이스를 구축 중이지만, 파이토스테롤 데이터베이스의 구축은 미진한 실정이다. 특히 국내에서는 기능성분 중 플라보노이드, 페놀산과 사포닌에 대한 데이터베이스만이 운영되고 있고, 파이토스테롤에 대한 정보는 부족하다. 따라서 파이토스테롤의 기능성분 연구와 응용에 필요한 기초 자료로 활용될 수 있는 데이터베이스 구축의 필요성이 제기된다. 식품의 파이토스테롤 데이터베이스 구축을 위해서는 파이토스테롤에 대한 정확한 분석법의 개발과 식품의 생산·가공 이력을 고려한 파이토스테롤 함량 분석 및 정보 제공이 필수적이다. 파이토스테롤 정량과 정성분석에는 주로 GC-FID 또는 GC-MS가 각각 사용되며, 이들 분석법을 활용하여 신속하고 정확한 파이토스테롤 함량 측정이 가능하다. 특히 GC-MS 등을 이용한 정성분석법을 활용하면 화학구조가 유사한 개별 파이토스테롤을 분리하고 동정할 수 있기 때문에 신뢰성 있는 파이토스테롤 데이터베이스 구축이 가능할 것으로 예상된다. 파이토스테롤을 포함한 기능성분 데이터베이스의 확대 구축은 우리나라 국민이 일상적으로 섭취하는 식품의 기능성분에 대한 포괄적이고 정확한 정보를 제공하여 국민의 건강한 식생활을 유도하고 이를 통해 국민의 건강과 영양 수준을 향상시키는 데 큰 도움이 될 것이다. 또한 농업, 식품, 헬스케어 등의 산업 분야에서 동 데이터베이스 제공 정보를 활용한 연구개발 및 시장 확대와 이를 통한 관련 산업의 지속적인 성장에 도움이 될 것으로 기대된다.

감사의 글

본 원고는 농촌진흥청 K-농식품자원 기능성성분 활용

표 3. 파이토스테롤 정성분석 연구논문에서 활용된 분석기기, 시료 및 분석성분의 종류

분석기기	시료	분석성분	참고문헌
GC-MS	seed of <i>Linum usitatissimum</i> L.	Δ^5 -avenasterol, brassicasterol, campesterol, cycloartenol, citrostadienol, 24-methylene cycloartenol, β -sitosterol, stigmasterol	20
GC-MS	<i>Datura stramonium</i>	campesterol, β -sitosterol, stigmasterol	21
GC-MS	mango, mango products	Δ^5 -avenasterol, campesterol, β -sitosterol, stigmastanol	22
GC-MS UPLC-MS	black walnut kernels	Δ^5 -avenasterol, campesterol, cycloeucalenol, cycloartenol, citrostadienol, clerosterol, 24-methylene cycloartenol, 28-methylubtusifoliol, β -sitosterol, stigmasterol, stigmastanol, $\Delta^5,23$ -stigmastadienol, $\Delta^5,24(25)$ -stigmastadienol	23
GC-MS	almond, chestnut, cashew, hickory nut, hazelnut, macadamia nut, pistachio, pumpkin seed, peanut, pine nut, sunflower seed, walnut, watermelon seed	campesterol, campestanol, cycloartenol, cycloartanol, 4,4-dimethylsterols, 24-methylene cycloartenol, sitostanol, β -sitosterol, stigmasterol, α -spinasterol	1
GC-MS HPLC-MS	guava seed oil	campesterol, β -sitosterol, stigmasterol	24
GC-MS	niger seed oil, palm oil, sesame oil	campesterol, cycloartenol, cycloartanol, elasterol, olean-12-en-3-one, β -sitosterol, stigmasterol, simiarenol, 33-norgorgosta-5,24(28)-dien-3-ol	25
GC-MS	corn oil, hemp oil, rapeseed oil, sunflower oil	Δ^5 -avenasterol, Δ^7 -avenasterol, brassicasterol, campesterol, Δ^7 -campesterol, cycloartenol, citrostadienol, clerosterol, gramisterol, 24-methylenecycloartanol, sitostanol, β -sitosterol, Δ^7 -sitosterol, stigmasterol, stigmasta-5,24(25)-dienol	26
GC-GC-MS	peanut oil, rapeseed oil, soybean oil, sunflower seed oil	Δ^5 -avenasterol, brassicasterol, campesterol, campestanol, Δ^7 -campesterol, sitostanol, β -sitosterol, stigmasterol, Δ^7 -stigmastanol, $\Delta^5,23$ -stigmastadienol	27
GC-MS/MS	olive oil, grape seed oil, chicken eggs, milk powder, milk, tea, juice, dietary supplement foods	brassicasterol, campesterol, β -sitosterol, stigmasterol	28
LC-MS	spelt lipids, wheat lipids	Δ^5 -avenasterol, Δ^7 -avenasterol, campesterol, campestanol, β -sitosterol, β -sitostanol, stigmasterol	29
LC-MS	<i>Artemisia apiacea</i>	campesterol, daucosterol, stigmasterol	30
LC-MS	olive oil, sesame oil	brassicasterol, campesterol, β -sitosterol, stigmasterol	31
LC-MS/MS	avocado oil, almond oil, canola oil, corn oil, grape seed oil, hemp oil, hazelnut oil, macadamia nut oil, olive oil, peanut oil, sesame oil, sunflower oil, walnut oil	brassicasterol, campesterol, cycloartenol, β -sitosterol, stigmasterol	32
UPLC-MS/MS	tobacco leaves	β -sitosterol, stigmasterol	33
UPLC-MS/MS	commercial free sterols mixture	brassicasterol, campesterol, campestanol, citrostadienol, sitosterol, sitostanol, stigmasterol	34
HPLC-NMR	sea buckthorn seed oil	Δ^5 -avenasterol, campesterol, cycloeucalenol, β -sitosterol, sitostanol	35

기반 고도화(PJ017079)의 지원에 의해 이루어진 결과 로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Wang M, Zhang L, Wu X, Zhao Y, Wu L, Lu B. Quantitative determination of free and esterified phytosterol profile in nuts and seeds commonly consumed in China by SPE/GC-MS. *LWT*. 2019. 100:355-361.
2. Aboobucker SI, Suza WP. Why do plants convert sitosterol to stigmasterol?. *Front Plan Sci*. 2019. 10:354. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00354>
3. Munawar M, Khan MS, Saeed M, Younas U, Farag MR, Di Cerbo A, et al. Phytosterol: nutritional significance, health benefits, and its uses in poultry and livestock nutrition. *Anim Biotechnol*. 2022. <https://doi.org/10.1080/10495398.2022.2099882>. Epub ahead of print.
4. Ling WH, Jones PJ. Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sci*. 1995. 57:195-206.
5. Ogbe RJ, Ochalefu DO, Mafulul SG, Olaniru OB. A review on dietary phytosterols: Their occurrence, metabolism and health benefits. *Asian J Plant Sci Res*. 2015. 5(4):10-21.
6. Jones PJH, AbuMweis SS. Phytosterols as functional food ingredients: linkages to cardiovascular disease and cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2009. 12:147-151.
7. Calpe-Berdiel L, Escolà-Gil JC, Blanco-Vaca F. New insights into the molecular actions of plant sterols and stanols in cholesterol metabolism. *Atherosclerosis*. 2009. 203:18-31.
8. Salehi B, Quispe C, Sharifi-Rad J, Cruz-Martins N, Nigam M, Mishra AP, et al. Phytosterols: from preclinical evidence to potential clinical applications. *Front Pharmacol*. 2021. 11:599959. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.599959>
9. Singh A. Sitosterol as an antioxidant in frying oils. *Food Chem*. 2013. 137:62-67.
10. Bradford PG, Awad AB. Phytosterols as anticancer compounds. *Mol Nutr Food Res*. 2007. 51:161-170.
11. Zakłós-Szyda M. Phytosterols in type 2 diabetes and obesity - molecular mechanisms of action. *Research Signpost*. 2015.
12. Food and Drug Administration. Title 21 - Food and Drugs. Chapter I: Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Subchapter B: Food for Human Consumption. Part 101.83. Health claims: plant sterol/stanol esters and risk of coronary heart disease. Federal Regulations CFR. 2023 [cited 2023 May 28]. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=101.83>
13. European Food Safety Authority. Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies on a request from the European Commission and a similar request from France in relation to the authorization procedure for health claims on plant stanols and plant sterols and lowering/reducing blood LDL-cholesterol pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. *The EFSA Journal*. 2009. 1175:1-9.
14. World Health Organization. Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. 2002 [cited 2023 May 28]. Available from: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_916.pdf
15. Moreau RA, Whitaker BD, Hicks KB. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Prog Lipid Res*. 2002. 41:457-500.
16. García-Llatas G, Alegría A, Barberá R, Cilla A. Current methodologies for phytosterol analysis in foods. *Microchem J*. 2021. 168:106377. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106377>
17. Lagarda MJ, García-Llatas G, Farré R. Analysis of phytosterols in foods. *J Pharm Biomed Anal*. 2006. 41:1486-1496.
18. International Standard Organization. Determination of individual and total sterols contents - Gas chromatographic method - Part 1: Animal and vegetable fats and oils. ISO 12228-1:2014. 2014.
19. European Commission Regulation 1348/2013 Amending Regulation (EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. *Off J Eur Union*. 2013. L 338/31.
20. Herchi W, Harrabi S, Sebei K, Rochut S, Boukhchina S, Pepe C, et al. Phytosterols accumulation in the seeds of *Linum usitatissimum* L. *Plant Physiol Biochem*. 2009. 47:880-885.
21. Bhardwaj D, Ansari MW, Sahoo RK, Tuteja N. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microb Cell Fact*. 2014. 13:66. <http://www.microbialcellfactories.com/content/13/1/66>
22. López-Cobo A, Martín-García B, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A, Gómez-Caravaca AM. Comparison of two stationary phases for the determination of phytosterols and tocopherols in mango and its by-products by GC-QTOF-MS. *Int J Mol Sci*. 2017. 18:1594. <https://doi.org/10.3390/ijms18071594>
23. Vu DC, Lei Z, Sumner LW, Coggeshall MV, Lin CH. Identification and quantification of phytosterols in black walnut kernels. *J Food Compos Anal*. 2019. 75:61-69.

24. Prommaban A, Utama-ang N, Chaikitwattana A, Uthaipibull C, Porter JB, Srichairatanakool S. Phytosterol, lipid and phenolic composition, and biological activities of guava seed oil. *Molecules*. 2020. 25:2474. <https://doi.org/10.3390/molecules25112474>
25. Deme T, Haki GD, Retta N, Woldegiorgis A, Geleta M, Mateos H, et al. Sterols as a biomarker in tracing niger and sesame seeds oils adulterated with palm oil. *Heliyon*. 2021. 7:e06797. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06797>
26. Schlag S, Huang Y, Vetter W. GC/EI-MS method for the determination of phytosterols in vegetable oils. *Anal Bioanal Chem*. 2021. 414:1061–1071.
27. Xu B, Zhang L, Wang H, Luo D, Li P. Characterization and authentication of four important edible oils using free phytosterol profiles established by GC–GC–TOF/MS. *Anal Methods*. 2014. 6:6860–6870.
28. Chen YZ, Kao SY, Jian HC, Yu YM, Li JY, Wang WH, et al. Determination of cholesterol and four phytosterols in foods without derivatization by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *J Food Drug Anal*. 2015. 23:636–644.
29. Rozenberg R, Ruibal–Mendieta NL, Petitjean G, Cani P, Delacroix DL, Delzenne NM, et al. Phytosterol analysis and characterization in spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L.) and wheat (*T. aestivum* L.) lipids by LC/APCI–MS. *J Cereal Sci*. 2003. 38:189–197.
30. Lee J, Weon JB, Yun BR, Eom MR, Ma CJ. Simultaneous determination three phytosterol compounds, campesterol, stigmasterol and daucosterol in *Artemisia apiacea* by high performance liquid chromatography–diode array ultraviolet/visible detector. *Pharmacogn Mag*. 2015. 11:297–303.
31. Jiang K, Gachumi G, Poudel A, Shurmer B, Bashi Z, El–Aneed A. The establishment of tandem mass spectrometric fingerprints of phytosterols and tocopherols and the development of targeted profiling strategies in vegetable oils. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2019. 30:1700–1712.
32. Mo S, Dong L, Hurst WJ, van Breemen RB. Quantitative analysis of phytosterols in edible oils using APCI liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Lipids*. 2013. 48:949–956.
33. Tan J, Niu X, Yang G, Wang L, Duan Y, Han Y, et al. Quantitative determination of free phytosterols in tobacco leaves by UPLC–MS/MS. *J Liq Chromatogr Relat Technol*. 2013. 36:591–599.
34. Mürger LH, Boulos S, Nyström L. UPLC–MS/MS based identification of dietary sterol glucosides by investigation of corresponding free sterols. *Front Chem*. 2018. 6:342. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00342>
35. Horník Š, Sajfřtová M, Karban J, Šýkora J, Březinová A, Wimmer Z. LC–NMR technique in the analysis of phytosterols in natural extracts. *J Anal Methods Chem*. 2013. Article ID: 526818. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/526818>