

달걀·메추리알·오리알의 Retinol Equivalent 측정과 Carotenoids 분석

김 미 정·이 혜 수
서울대학교 가정대학 식품영양학과
(1985년 9월 10일 접수)

Determination of Retinol Equivalent and Identification of Carotenoids in Hen, Quail and Duck Eggs

Mee-Jeong Kim and Hei-Soo Rhee

Department of Food and Nutrition, Seoul National University

(Received September 10, 1985)

Abstract

The Retinol Equivalent value and the composition of carotenoids in hen, quail and duck eggs were investigated by thin-layer chromatography. Total carotenoid contents per gram yolk were great in order of hen>duck>quail and retinol contents, quail>duck>hen. In Retinol Equivalent value, quail showed the highest level and hen showed the lowest level. In hen and quail, the contents of lutein and zeaxanthin of egg yolk were about 75% of their total carotenoid contents and they were about 60% in duck. In all cases, the sum of the concentration of lutein and zeaxanthin accounted for more than 60% of the total carotenoid.

서 론

우리의 식생활에서 동물성 단백질의 급원으로서 뿐만 아니라 vitamin A의 주된 급원인 가금류의 난황은 retinol의 형태와 provitamin A인 carotenoids의 형태로 vitamin A 활성을 나타낸다.¹⁾ 이 중에 provitamin A carotenoids의 활성도는 1967년 FAO/WHO Expert Committee의 제안에 따라 Equivalent Weight of Retinol (R.E.)로 나타내는 경향이지만 우리나라 식품분석표의 경우는 아직 I. U.로만 표시되어 있다.

Carotenoids와 retinol의 분리정량^{2,3)}은 1960년대 이후 새로 도입된 미량분석 방법인 thin layer chromatography법^{4,5)}이 널리 이용되고 있다. 이 방법은 노출된 넓은 표면에서 분리된 carotenoids가 파괴될 뿐 아니라 이성질화된다는 결점이 있으나 신속하고

도 우수한 분리능을 가진 장점이 있다.

또 retinol의 정색반응을 위해서는 trifluoroacetic acid (TFA)를 많이 사용하고 있다.^{6,7)}

Carotenoids 구성분에 관한 연구는 식물성 식품에 비해 동물성 식품에서는 비교적 그 수가 많지 않으나 최근, 안⁸⁾은 전북 내장에서 수종의 carotenoid를 분리 확인하였으며, 김⁹⁾은 굴에서, 주¹⁰⁾는 새우내장에서, 이¹¹⁾는 진주담치에서 carotenoids성분에 관해 연구한 바 있다.

따라서 본 논문에서는 달걀, 메추리알, 오리알의 노른자를 사용, TLC 방법으로 carotenoids와 retinol을 분리정량하여 Retinol Equivalent를 측정하였고 각각의 carotenoids 조성을 분석하여 이를 총 carotenoids에 대한 비율에 따라 상대비를 살펴보았다.

실험재료 및 방법

실험재료

시료로 사용한 달걀, 메추리알, 오리알을 시장에서 구입하여 6~8°C에 냉장보관하면서 실험을 위하여는 2개의 난황을 합쳐 5g씩 칭량한 뒤 즉시 사용하였다.

실험방법

(1) 시료의 추출과 검화

시료의 추출은 Rodriguez 등의 방법¹²⁾에 따라 Fig. 1과 같이 행하였다.

난황, 항산화제, acetone을 1:1:6 (w/v/v)비로 섞어 교반한 뒤 여과하고 acetone층의 성분을 hexane층으로 전이시켰다. 여기에 99% methanol, 50% KOH을 가해 60°C water bath에서 20분간 검화시킨 후, 증류수로 methanol과 KOH를 완전히 제거하였다. 미량의 수분을 제거한 뒤 hexane으로 정용하였다.

(2) 총 carotenoid 정량 및 carotenoid 분리

총 carotenoid 함량은, A. O. A. C. 방법³⁾에 따라 측정하여 계산하였다.

Carotenoid의 분리는 Rodriguez¹²⁾ 및 ⁸⁾이 사용한 용매계를 써서 thin layer chromatography로 행하였다.

(3) Carotenoid 분석

① 상대강도 측정

분리된 carotenoids를 일정량의 hexane에 녹여 445 nm에서 흡광도를 측정하였다.

② Partition test 및 epoxide test

각각의 carotenoid에 대하여 hexane-95% methanol 사이의 분배비를 Zechmeister방법¹³⁾에 따라 측정하였고 epoxy group의 존재여부를 Kawer방법⁹⁾에 따라 조사하였다.

③ Absorption spectra 및 이성질체 형성여부 검사
흡수곡선의 peak와 모양을 보기 위해 300~500nm를 scanning하였고 이성질체 형성여부는 Zechmeister 방법¹⁴⁾을 따랐다.

(4) Provitamin A carotenoid와 retinol의 확인 및 정량

Retinol은 u. v. lamp의 long wave range를 선택하여 형광띠로 확인한 뒤 ⁸⁾이 사용한 방법에 따라 hexane용액을 만들었다. Retinol의 정량은 Neeld 등

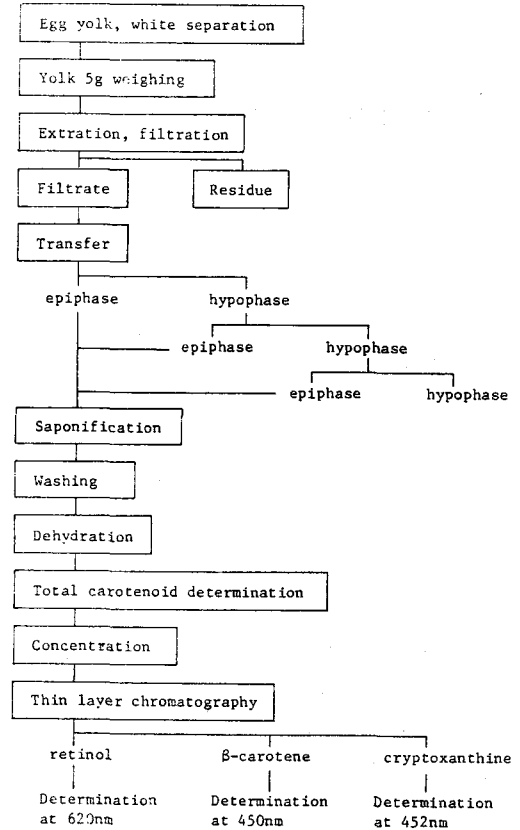


Fig. 1. Extraction and separation of carotenoids from egg yolk

의 방법^{2,6,7)}에 따라 행하였다.

Provitamin A carotenoid는 retinol과 마찬가지로 방법으로 감압분취, 용출하여 hexane용액을 만든 뒤 β-carotene은 450 nm에서, cryptoxanthine은 452 nm에서 흡광도를 측정하고 A. O. A. C³⁾법에 따라 계산하였다.

실험 결과 및 고찰

1. 난황 및 전란의 총 carotenoid 함량

달걀, 메추리알, 오리알의 전란에 대한 난황의 비율과 이들의 총 carotenoid 함량은 Table 1와 같다.

Table. The ratio of yolk to whole egg and total carotenoid contents of egg from hen, quail and duck

Egg	% yolk of whole	yolk (μg/g)	whole(μg/g)
Hen	33.11	19.209±1.902**	6.360
Quail	40.94	17.770±2.033**	7.275
Duck	42.98	14.923±1.902**	6.414

** means significance at α: 0.01.

2. Carotenoids의 분리 및 분석

(1) TLC에 의한 분리 및 흡수곡선
 각 carotenoids의 TLC 전개 결과는 Table 2와 같다.
 Fig. 2는 분리된 carotenoids의 흡수곡선이다.

(2) Partition test와 epoxide test
 각 carotenoids의 분배비와 epoxy group 존재여부는 Table 3과 같다.

(3) Carotenoids의 확인 및 이성질체 형성여부

TLC에 의한 전개결과 H₄, D₄, Q₄의 띠(Table 2)는 Schrenk등¹⁵⁾의 많은 실험보고와 이것의 특징적인 흡수곡선으로 lutein임을 알 수 있었다. H₃, D₃, Q₃의 띠는 Rodriguez¹²⁾, Zechmeister¹³⁾, 안⁸⁾등의 보고와 비교하여 zeaxanthin임을 확인하였다. H₅, Q₅, D₅의 띠는 3% methanol-benzene에서 R_f치가 각기 다르게 나타났으나 흡수곡선과 분배비로서 cryptoxanthine으로 추정되었다. H₇, Q₇, D₇은 흡수곡선과, β-carotene 표준액과의 cochromatography, 분배비에 의해 β-

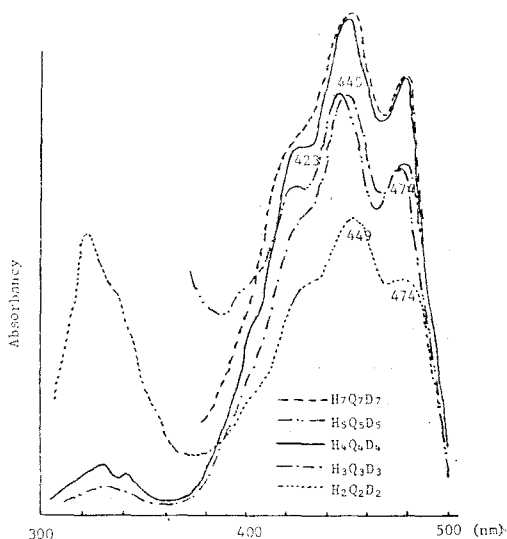


Fig. 2. Absorption spectra of isolated carotenoids

Table 2. Chromatogram, R_f value and spectral data of each egg yolk

Egg yolk	Spot	UV lamp detection	Color on TLC sheet	R _f on silicagel		Absorption maxima (nm)
				17% ethylacetate in dichloromethane	3% MeOH in benzene	
Hen	H ₇	green f.	yellow	1	0.88	447, 474
	H ₆	blue f.	yellow	0.94	0.50	423, 445, 474
	H ₆		orange-yellow	0.74	0.26	
	H ₄	green f.	orange-yellow	0.51	0.21	422, 444, 474
	H ₃		orange	0.28	0.06	447, 474
	H ₂		yellow	0.20		
	H ₁		yellow	0.16		
			yellow	0.11		
Quail	Q ₇	green f.	yellow	1	0.89	447, 474
	Q ₆	blue f.	yellow	0.89	0.46	423, 445, 474
	Q ₅		orange-yellow	0.75~0.89	0.60	
	Q ₄	green f.	orange-yellow	0.75	0.25	422, 444, 474
	Q ₃		orange	0.49	0.15	447, 474
	Q ₂		yellow	0.29	0.05	
				orange	0.23	
			yellow	0.16		
Duck	D ₇	green f.	yellow	1	0.87	447, 474
	D ₆	blue f.	yellow	0.89	0.44	423, 445, 474
	D ₅		orange-yellow	0.70~0.90	0.63	
	D ₄	green f.	orange-yellow	0.67	0.28	422, 444, 474
	D ₃		orange	0.49	20.4	447, 474
	D ₂		yellow	0.28	0.07	
	D ₁		yellow	0.21		
			yellow	0.18		
			yellow	0.15		

Table 3. Partition ratio and epoxide test of each carotenoid

Carotenoids	Partition ratio (hexane: 95% MeOH)	Epoxide test
H ₇ , Q ₇ , D ₇	100:0	negative
H ₆	98:2	"
Q ₆ , D ₆	97:3	"
H ₅ , Q ₅ , D ₅	87:13	"
H ₄ , Q ₄ , D ₄	12:88	"
H ₃ , Q ₃ , D ₃	11:89	"
H ₂ , Q ₂ , D ₂	0:100	"
H ₁ , D ₁	0:100	"
Retinol	32:67	-

carotene임을 알 수 있었고 H₂, Q₂, D₂는 같은 carotenoid인 것으로 추측되나 D₁, H₁과 함께 확인되지 않았다.

Carotenoids 이성질체의 특징적인 흡수 peak는 나타나지 않았고 I₂용액에 의한 peak 이동 현상도 뚜렷하지 않았으므로 본 실험의 reflux, TLC 전개, 농축 과정에 의해 각 carotenoid가 변하지 않았음을 알 수 있었다.

(4) 각 carotenoid의 상대비율

각 carotenoid 중 확인된 것과 그 함량 비율은 Table 4와 같다. 본 실험의 달걀에서 나타난 결과는

Table 4. The ratio of the content and identification of the isolated carotenoids in each egg yolk

Carotenoid	Hen	Quail	Duck
β-Carotene	2.1(%)	4.0(%)	9.0(%)
H ₆ , Q ₆ , D ₆	11.2	3.6	12.4
Cryptoxanthin	3.0	6.9	4.5
Lutein	47.0	47.1	22.3
Zeaxanthin	27.3	28.3	36.1
H ₂ , Q ₂ , D ₂	5.2	9.9	8.4
H ₁ , D ₁	4.1		7.3

Table 5. β-Carotene, cryptoxanthine, retinol contents and Retinol Equivalent of each egg yolk and whole egg (μg/g)

	Hen		Duck		Quail	
	yolk	whole	yolk	whole	yolk	whole
β-Carotene	0.205±0.044*	0.069	0.153±0.048*	0.063	0.239±0.044*	0.103
Cryptoxanthine	0.588±0.19**	0.185	0.802±0.128**	0.328	0.577±0.119**	0.248
Retinol	1.385±0.119**	0.459	1.995±0.127**	0.817	1.478±0.119**	0.635
Retinol Equivalent	1.466±0.140**	0.485	2.164±0.150**	0.886	1.566±0.140**	0.673

* means significance at α=0.05 level

** means significance at α=0.01 level

Thompson의 보고에 비해 β-carotene, cryptoxanthine이 적게 나타났으나 Schrenk의 보고¹⁵⁾와는 비슷하였다. β-carotene이 오리알에서 가장 큰 비율을 차지하는 carotenoid라고 한 Rodriguez의 보고¹²⁾와는 크게 다르지만 β-carotene은 다른 알에 비해 오리알에서 많은 비율을 차지하고 있음을 보였다.

3. Provitamin A Carotenoid와 Retinol의 함량

위의 실험결과에 따라 vitamin A 활성을 가지는 retinol, β-carotene, cryptoxanthine 등을 분리하여 나타난 이들의 함량은 Table 5와 같다.

β-carotene 함량은 총 carotenoid 함량과는 다른 경향을 보여 오리알에 가장 많은데 이것은 Rodriguez 등의 보고¹²⁾와는 많은 차이를 보였다. Retinol 함량은 총 carotenoid 함량과 달리 메추리알에 가장 많이 함유되어 있었는데, 이것은 retinol로 전환되는 정도차이와 사료의 종류에 따른 차이라는 등의 보고가 있다.¹⁶⁾

4. Retinol Equivalent (R. E.) 산출

다음의 환산식에 의해 산출한 Retinol Equivalent 값은 Table 5와 같다.

$$\text{R. E.} = \mu\text{g retinol} + \frac{\mu\text{g} \cdot \beta\text{-carotene}}{6} + \frac{\mu\text{g} \cdot \text{other provitamin A carotenoid}}{12}$$

요 약

시중에서 판매되는 달걀, 메추리알, 오리알의 총 carotenoid, provitamin A carotenoids, retinol 함량을 측정하여 Retinol Equivalent를 산출하고, 이들 난황의 carotenoid 조성을 비교분석하였다.

각 난황에서 단위 g당 총 carotenoid 함량은 달걀 >

메추리알>오리알의 순서로, retinol은 메추리알>오리알>달걀의 순서로, Retinol Equivalent는 메추리알>오리알>달걀의 순서로 높았다.

각 난황의 carotenoid 분석결과, carotenoid 조성은 거의 비슷했으나, 달걀과 메추리알의 경우 lutein과 zeaxanthin이 총 carotenoid의 75% 정도였고, 오리알의 경우는 60% 정도였다. 거의 대부분을 차지하고 있는 carotenoids임을 보였다.

문 헌

- 1) Bauernfeind, J.C. : *J. Agr. Food. Chem.*, **20**, 456 (1972)
- 2) György, P. : In "Vitamin Methods, Vol. 1, Academic Press, New York, 33(1967)
- 3) A. O. A. C. : *Association of Official Analytical Chemists*, 13th ed., Washington D. C. (1980)
- 4) 이강호 : *Bull. Koream Fish. Soc.*, **1** (2), 73 (1968)
- 5) Gallup, W.D. and Hoefler, J.A. : *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **18**, 288(1946)
- 6) Neeld, J.B. and Pearson, W.N. : *J. Nutr.*, **79**, 454 (1963)
- 7) Dugan R. E., Frigerio, N. A., and Siebert, J.M. : *Anal. Chem.*, **36**(1), 114(1964)
- 8) 안승요 : 한국농화학회지, **17**, 257(1974)
- 9) 김재웅 : 서울대학교 석사학위 논문(1975)
- 10) 주영재 : 서울대학교 석사학위 논문(1975)
- 11) 이강호 : 부산수대 연보, **11** (1), 57(1971)
- 12) Rodriguez, D. B., Arrogo, P.T., Bucoy, A.S., and Chichester, C.O. : *J. Food Sci.*, **41**, 1418 (1976)
- 13) Petvacek, F.J., and Zechmeister, L. : *Anal. Chem.*, **28**(9), 1484(1956)
- 14) Zechmeister, L. and Lemmon, R.M. : *J. Am. Chem. Soc.*, **66.**, 317(1944)
- 15) Schrenk, W. G., Chapin, D.S., and Conrad, R.M. : *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **16**, 632 (1944)
- 16) Bandemer, S.L., Evans, R. J., and Davidson J. A. : *Agr. Food. Chem.*, **6**(7), 549(1958)