

돌산갓의 Carotenoids 및 Chlorophyll 함량

조영숙 · 허봉석* · 박석규 · 전순실

순천대학교 식품영양학과

*경상대학교 식품영양학과

(1993년 5월 3일 접수)

Contents of Carotenoids and Chlorophylls in Dolsan Leaf Mustard (*Brassica juncea*)

Young Sook Cho, Bong Seuk Ha*, Seok Kyu Park and Soon Sil Chun

Department of Food and Nutrition, Suncheon National University

*Department of Food and Nutrition, Gyeongsang National University

(Received May 3, 1993)

Abstract

To furnish basic data for the utilization of leaf mustard as a raw material of salted and fermented vegetable food, the contents of carotenoids and chlorophylls of Dolsan Leaf Mustard(DLM) were investigated. Total carotenoid content of DLM was 4.75 mg%, and the compositions were β -carotene(80.91%), lutein(13.07%), lutein epoxide(3.93%). The contents of chlorophyll a and b were 4.1 and 1.5 mg%, and leaf was 7.4- and 8.1-fold, respectively, higher than leaf stalk. The ratios of chlorophyll a/b in leaf (2.7:1) and leaf stalk(3.0:1) were similar to those of other vegetables.

I. 서 론

갓(mustard leaf, mustard green)은 중국이 원산이지만, 국내에서는 전라남도 돌산군 여천지방에서 갓을 오래 전부터 많이 재배하여 왔다. 지역적인 독특한 기후, 토양조건 등이 갓 자체의 맛을 지배하며, 갓김치 제조용으로 사용되고 있다³⁾. 갓 김치는 장기간 저장 시에도 쉽게 물러지지 않는 질감과 다른 경엽채소류에 비해 재료자체의 선택도 양호하게 유지되는 편이다. 특히 비타민 A의 전구체인 β -carotene의 함량이 타 경엽채소류에 비하여 많이 함유되어 있다⁴⁾. 갓의 색소에 관한 연구로서는 자색색소인 안토시안에 대하여 보고한 바 있으며^{5,6)}, 그외 mustard cabbage의 carotene에 관한 연구등이 있을 뿐이다⁷⁾.

따라서 본 연구에서는 돌산갓의 주요 색소인 carotenoid와 chlorophyll a,b 함량을 잎, 잎줄기 및 전체의 각 부분으로 나누어서 측정하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 재료는 1990. 10. 10-12. 30 사이에 전라남도 여천군 돌산면에서 실험 재배한 돌산 갓(mustard leaf, *Brassica juncea*)을 잎(leaf), 잎줄기(leaf stalk), 전체(whole)의 3가지로 구분하여 사용하였다.

2. 카로티노이드류

1) 추출

시료 1 Kg을 세절하여 시료의 5배 부피의 acetone을 가한 후 마쇄기로 마쇄(8000 rpm, 5분)한 다음, 마쇄 시료가 acetone에 충분히 잠기도록 하여 냉장고에서 하룻밤 방치한다. Buchner 여과기로 흡인여과 추출하며 잔사에 카로티노이드류가 남지 않도록 acetone으로 3회 이상 충분히 세척한다. 추출액 및 세척액을 모두 합하여 클로로필을 제거하기 위하여 냉장고에서 60% KOH로 하룻밤 검화시켰다. 분액여두에 petroleum ether(PE)를 넣고 검화액과 혼합하여 카로티노이드를 PE층으로 이행시킨다. 이때 H₂O를 가하여 클로로필을 물층으로 침강시키고 동시에 KOH를 세척 제거시키는

조작을 여러 번 행한다. PE층을 모두 합하여 회전진공농축기로 40℃ 이하에서 농축하여 총 카로티노이드를 얻었다⁸⁾.

2) 분리 및 정제

Preparative-TLC(p-TLC)는 silica gel G(Merck사제)와 증류수를 1:2의 비율로 혼합한 것을 20×20 cm의 유리판에 0.3 mm의 두께로 도포하여 만든 판을 110℃의 건조기에서 2시간 활성화시킨 후, 총 카로티노이드를 line spotting하여 acetone: petroleum ether(3:7)의 전개용매로서 분리하였다. 또한 분리된 각 획분(band)의 카로티노이드의 결정화를 위하여 총 카로티노이드를 Wako gel B-O: celite 545(1:1)을 흡착제로 하여 petroleum ether에서 acetone순으로 점차 극성을 증가시키면서 분리한 후, 분리된 각 획분을 Sephadex LH-20을 흡착제로 하고, chlorogorm을 전개용매로 한 칼럼 크로마토그래피를 행하여 정제하였으며, 또한 당분말(kanaria분당)을 흡착제로 하고, petroleum ether를 전개용매로 한 칼럼 크로마토그래피를 행하여 더욱 정제하여 결정을 얻었다.

3) 동정

분리된 각 획분의 카로티노이드의 동정은 epoxy test, 표준과 co-TLC, 표준카로티노이드와의 가시부 흡수스펙트럼의 비교, FT-IR스펙트럼(Bio-Rad Digilab Division FTS-80 spectrophotometer), NMR 스펙트럼(Burker AM-300 NMR spectrometer) 및 질량 스펙트럼(JEOL JMS-DX 303 Mass spectrometer)을 측정하여 동정하였다.

4) 정량

총 카로티노이드의 정량은 petroleum ether중에서의 가시부 흡수스펙트럼의 λ_{max}의 흡광도에 의하여 Mc-Beth법⁹⁾에 따라 흡광계수 E_{1%^{1cm}}=2500으로 하여 계산하였다. 총 카로티노이드의 함량과 각 획분의 조성비는 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$mg\% = \frac{O.D.(\lambda_{max}) \times volume \times 1000}{E_{1\%^{1cm}}^{cm}(2500) \times weight\ of\ tissue(g)}$$

$$\% = \frac{100 \times volume \times O.D.(\lambda_{max})(for\ each\ band)}{\Sigma [volume \times O.D.(\lambda_{max}) (each\ band)]}$$

3. 클로로필류

시료 2 g을 취하여 Mackinney법¹⁰⁾에 따라 85% acetone 10 ml를 가하여 마쇄기로 마쇄하고 20분간 교반한 후 여과하여 잔사에서 색소의 추출이 없어질 때까지 85% acetone으로 세척하였다. 여액에 85% acetone을 가하여 50 ml로 정용하고 잘 혼합한 후 냉암소에 방치한다. 방치한 추출액을 상온으로 되돌린 후에 안토시안 등의 수용성 물질을 제거하기 위하여 Smith와

Benitez법¹¹⁾으로 정제하였다. 즉 추출한 원액중에서 5 ml를 취하여 30 ml의 diethyl ether와 10 ml의 물을 가하고 진탕하여 안토시안 등을 함유한 물층을 버린다. 다시 60 ml의 물을 넣은 분액여두에 diethyl ether용액을 조금씩 방울로 떨어뜨려 세척 후 물층을 버리고 정제한다. 정제한 추출액을 무수 Na₂SO₄로 탈수하고 유리여과기로 여과 후 diethyl ether로 정용하여 660, 642.5 nm에서 흡광도(25℃)를 측정하고 클로로필의 농도를 다음의 Comar 및 Zscheile의 정량식¹²⁾으로 계산하였다.

$$\text{총 클로로필}(\mu\text{g/ml}) = 7.12\text{OD}(660\text{ nm}) + 16.8\text{OD}(642.5\text{ nm})$$

$$\text{클로로필 a}(\mu\text{g/ml}) = 9.93\text{OD}(660\text{ nm}) - 0.777\text{OD}(642.5\text{ nm})$$

$$\text{클로로필 b}(\mu\text{g/ml}) = 17.6\text{OD}(642.5\text{ nm}) - 2.81\text{OD}(660\text{ nm})$$

III. 결과 및 고찰

1. 카로티노이드의 동정 및 조성

총 카로티노이드를 p-TLC한 결과, Fig. 1에서 처럼 5개의 band로 분리되었으며, 분리정제된 각 band의 카로티노이드와 가시부 흡수스펙트럼의 흡수극대치는 Table 1과 같다.

Band 1; Rf치 0.97의 오렌지색의 band 1은 가시부

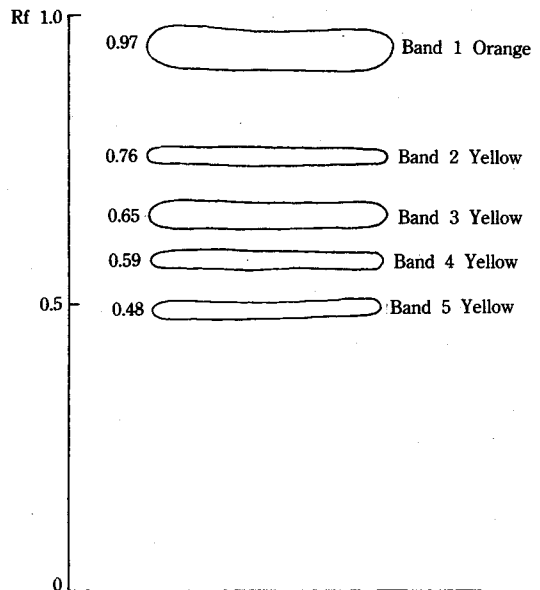


Fig. 1. Thin layer chromatogram of carotenoid in mustard leaf. Absorbent, silica gel 60G; Developer, acetone-petroleum ether=3:7.

흡수스펙트럼의 측정결과, 흡수극대치가 478.0, 476.0 nm로 나타나 β -carotene과 일치하였으며, 표준의 β -carotene(Merck사제)과 co-TLC한 결과 단일대가 얻어져 β -carotene으로 동정하였다.

Band 2; Rf치 0.76의 황색의 band 2는 가시부 흡수스펙트럼의 측정결과, 흡수극대치가 422.5, 443.5, 471.0 nm로서 β -carotene 형태의 흡수스펙트럼을 나타내었으나 양의 부족 때문에 더 이상의 동정이 불가능하였다.

Band 3; Rf치 0.65의 황색의 band 3(silica gel B-O: celite 545(1:1)의 칼럼에서 분리된 분획)을 Sephadex 칼럼과 당 칼럼의 방법으로 분리정제하여 결정체 5 mg을 얻었다. 가시부 흡수스펙트럼의 측정결과, 흡수극대치가 418.5, 441.0, 470.0 nm로 나타나 α -carotene 형태이며, acetyl화 및 allylic-OH활성 시험이 양성으로

나타나 lutein으로 추정되었다. IR 스펙트럼의 측정은 Fig. 2에서와 같이, ν_{max} 3,426 cm^{-1} (OH⁻), 968 cm^{-1} (all trans>C=C<)의 결과로부터 OH기를 2개 갖는 β -carotene형태의 diol임을 추정할 수 있다. H¹-NMR(80 MHz, in CDCl₃) 스펙트럼의 측정결과에 의하여, Fig. 3에서와 같이 80.85 ppm, 1.00, 1.07, 1.37, 1.48, 1.62, 1.74, 1.77, 1.81, 1.91, 1.97, 2.02, 2.39, 2.40, 4.00, 4.23, 5.43 및 6.10-6.70(olefinic protons)의 signal이 나타났으며, 이것은 3R, 3'R, 6'R-lutein(lutein A)H¹-NMR 스펙트럼의 문헌치와 일치하였다¹³⁾. 질량 스펙트럼의 측정결과(Fig. 4), 568(M⁺, C₄₀H₅₆O₂), 550(M-18, C₄₀H₅₄O), 532(M-18-18, C₄₀H₅₂), 476(M-92), 462(M-106), 458(M-92-18), 444(M-106-18)의 peak가 확인되었는데, 이는 lutein의 질량 스펙트럼의 문헌치와 일치하고 있었다¹⁴⁾. 시금치로부터 얻은 표준 lutein과 co-TLC한 결과 단일대가 얻어졌으며 lutein으로 동정하였다.

Band 4; Rf치 0.59의 황색의 band 4는 가시부 흡수스펙트럼의 측정 결과, 흡수극대치가 420.0, 441.5, 470.5 nm로 나타나 lutein과 일치하였으며, epoxy시험 결과 청색을 나타내어 lutein epoxide로 동정하였다.

Band 5; Rf치 0.48의 황색의 band 5는 가시부 흡수스펙트럼의 측정결과, 흡수극대치가 399.0, 421.0, 444.0, 467.0 nm로 나타났으나 양의 부족으로 더 이상의 동정이 불가능하였다.

돌산갓의 총 카로티노이드함량과 분리확인된 각 카로티노이드획분의 조성비는 Table 2와 같다. 총 카로

Table 1. Absorption maxima of the carotenoid isolated from Dolsan leaf mustard

Band	Absorption maxima(nm)			Identification
	Petroleum ether			
1	448.0	476.0		β -carotene
2	422.5	443.5	471.0	unidentified
3	418.5	441.0	470.0	lutein
4	420.0	441.5	470.5	lutein epoxide
5	399.0	421.0	444.0	unidentified

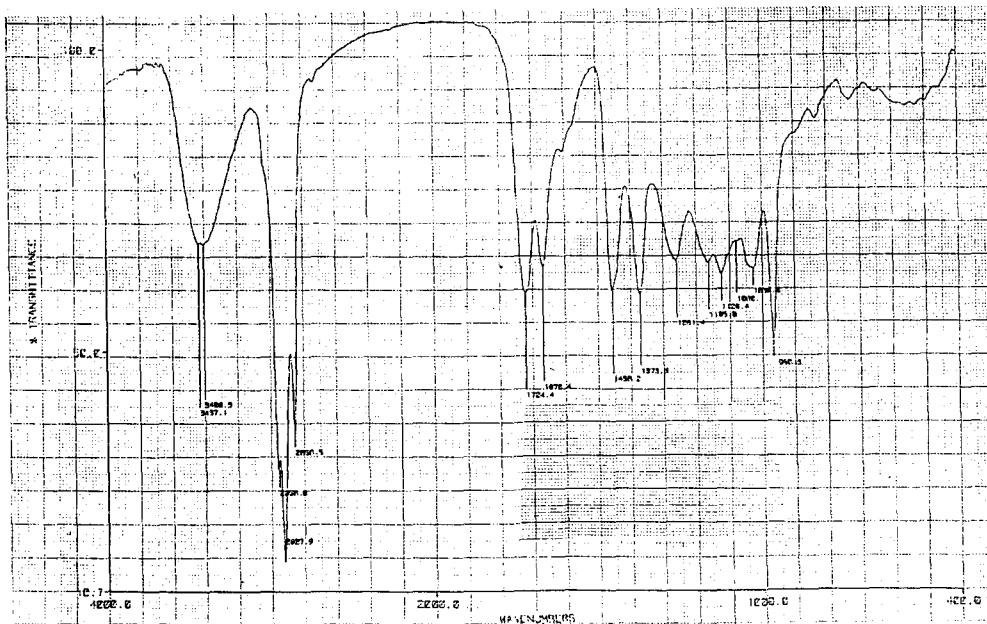


Fig. 2. FT-IR spectrum of lutein in Dolsan leaf mustard.

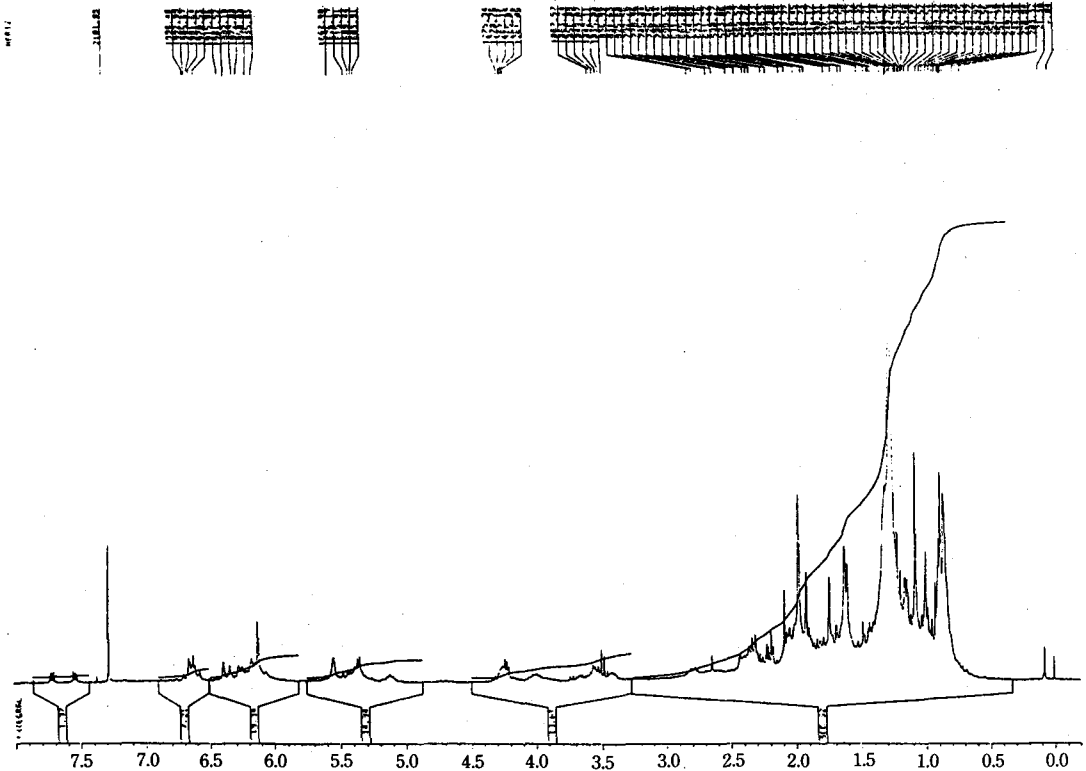


Fig. 3. H-NMR spectrum of lutein in Dolsan leaf mustard.

Table 2. Composition of carotenoid in Dolsan leaf mustard(% in total carotenoid)

Carotenoid	Total carotenoid(4.75 mg%)
β-Carotene	80.91
Lutein	13.07
Lutein epoxide	3.93
Unidentified	2.09

Table 3. Content of chlorophyll pigments in Dolsan leaf mustard(μg/g)*

Chlorophyll	Portion			Mean
	Leaf	Leaf stalk	Whole	
a	673.8	91.2	407.9	382.5
b	249.6	30.9	145.3	140.2
Total	923.4	122.1	553.2	522.7

*Wet basis.

티노이드함량은 4.75 mg%였고, 주 카로티노이드는 β-carotene으로 80.91%였으며, 그외 lutein 13.07%, lutein epoxide 3.93% 순으로 함유되었다. Wills 등⁷⁾은 신선물 mustard cabbage에서 α-, β-carotene, cryptoxanthin 함량이 140, 1550, 40 μg/100 g sample로 보고하였는데, 돌산갓에 비하여 β-carotene(3842.2 mg%)은 2.5배 많았다. 이는 수확시기 및 재배조건이 다르기 때문인 것으로 사료된다.

2. 클로로필류

돌산갓의 클로로필 a, b의 함량은 신선한 갓 g당 각각 0.41, 0.15 mg이었으며, 잎은 잎줄기에 비하여 각각 7.4 배, 8.1배의 높은 함량을 보였다. 엽경채소류의 일반적

인 클로로필 a:b의 비율과 비슷하게 잎과 잎줄기에서 모두 각각 2.7:1, 3.0:1의 비율이었다(Table 3).

Yamauchi 등¹⁵⁾은 상치의 경우, 클로로필 a 및 b는 각각 139 mg%, 40 mg% 함유한다 하였는데 돌산갓은 이보다 2.9배, 3.6배로 높았다. 이¹⁶⁾는 성숙된 방아풀의 경우, 총 클로로필(270-357 mg%), a(201-262 mg%) 및 b(64-95 mg%) 함량으로서 돌산갓보다 약간 적은 함량이었으며 a:b비율은 2.64-3.64로 돌산갓 2.8:1과 비슷하였다. 신¹⁷⁾은 고들빼기에 총 클로로필(315 mg%), a(248 mg%) 및 b(67 mg%)가 함유되었다고 보고하였는데, 돌산갓에는 각각 1.8배, 1.6배, 2.2배로 높은 함량을 나타내었으며, 클로로필 a와 b의 함유 비율은 3.7:1로서

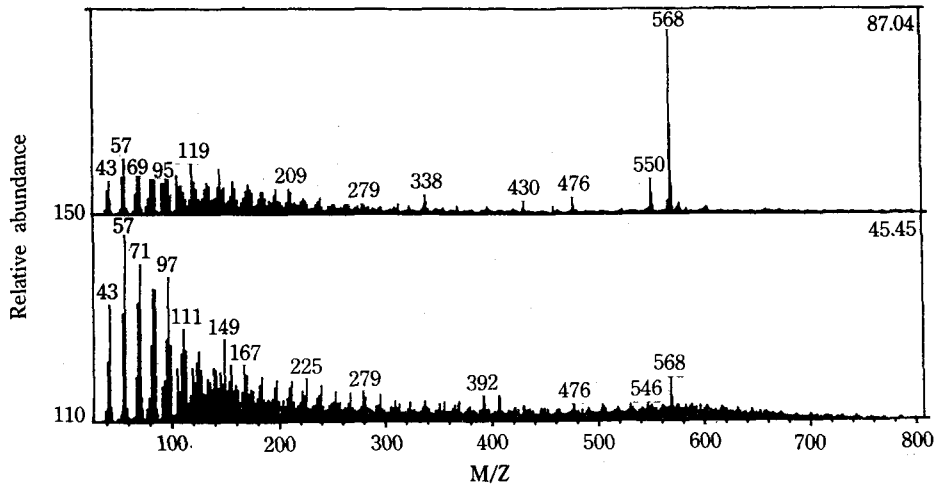


Fig. 4. Mass spectrum of lutein in Dolsan leaf mustard.

돌산갓보다 상당히 높았다.

IV. 결 론

갓 김치를 장기저장할 때 다른 경엽채소류에 비하여 색채가 양호하게 유지되는 이유를 구명하기 위한 기초자료를 얻기 위하여, 우선 돌산갓(*Brassica juncea*) 자체의 주요 색소성분을 조사한 결과, 총 카로티노이드 함량은 4.75 mg%였고, 주요 카로티노이드는 β -carotene 80.91%, lutein 13.07% 그리고 lutein epoxide 3.93%로 구성되고 있었다. 클로로필 a, b의 함량은 신선물갓에 대하여 각각 0.41 mg/g와 0.51 mg/g였으며, 잎에는 잎줄기에 비하여 각각 7.4배 및 8.1배의 함량을 보였다. 클로로필 a:b의 함량 비율은 잎과 잎줄기에서 각각 2.7:1과 3.0:1이었다.

참고문헌

1. 조영숙, 박석규, 전순실, 문주석, 하봉석. 한국영양식량학회지 **22**: 48, 1993.
2. 박석규, 조영숙, 박정로, 전순실, 문주석. 한국영양식량학회지 **22**: 53, 1993.
3. 조영숙, 박정로, 박석규, 전순실, 정승용, 하봉석. 한국영양학회지 **26**: 13, 1993.
4. 식품성분표. 1991. 농촌진흥청 농촌영양개선 연구원. 제4개정판: **48**, 1991.
5. 박근형. 한국농화학회지 **22**: 33, 1979.
6. 박근형. 한국농화학회지, **22**: 39, 1979.
7. Wills, R.B.H., A.W.K. Wongd, F.M. Scriven and H. Greenfield. *J. Agric Food Chem.*, **32**: 413, 1984.
8. 강동수, 하봉석. 한국영양식량학회지 **20**: 369, 1991.
9. McBeth, J.W. *Comp Biochem Physiol* **41B**, 51 1972.
10. Mackinney, G. *J. Biol. Chem* **140**: 315, 141.
11. Smith, J.H.C. and A. Benitez. *Modern methods of plant analysis*(Pacck., Tracey, M.V.), Springer-Verlag, Berlin, **4**: 142, 1955.
12. Comar CL, Zcheile FP. *Plant physiol* **17**: 198, 1942.
13. Buchecker R, Hamm P, Bugster CH. *Chimia* **25**: 192, 1971.
14. Enzell, C.R., G.W. Francis and S. Liaan-Jensen. *Acta Chem. Scand* **23**: 727, 1969.
15. Yamauchi, N., S. Ida, T. Minamide and T. Iwata. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **32**: 814, 1985.
16. 이재근. 전남대학교 대학원 박사학위논문 **32**, 1991.
17. 신수철. 전남대학교 대학원 박사학위논문 **38**, 1989.