

## 한국산 두류 종실중 토코페롤 함량 및 지방산 조성

이인복·최강주\*·유광근\*·장기운

충남대학교 농화학과, \*한국인삼연초연구소

**초록 :** 한국에서 다양한 용도의 식품원료로 사용되고 있는 13개 두류의 종실에 대한 토코페롤과 지방산조성을 HPLC와 GC로 각각 분석하였다. 총 토코페롤 함량은 4.74~44.05 mg/100 g으로 두류에 따라 함량차이가 현저하였으며, 동족체별 토코페롤 함량은  $\gamma$ -> $\delta$ -> $\alpha$ -토코페롤 순이었으나, 적소두 및 갈소두에서는  $\delta$ -> $\gamma$ -> $\alpha$ -토코페롤 순이었다. 지방질 함량도 0.53~20.96 %로 함량차가 현저하였으며, 특히 지방질 함량이 15.78~20.96%인 두류는 불포화지방산의 조성비가 86.5~88.2%로 높았고 그 중 linoleic acid가 56.0~56.8%로 현저하게 높았으며, 총 토코페롤 함량도 23.2~44.05 mg/100g으로 높은 경향이였다. 또한 불포화지방산과  $\gamma$ -토코페롤간에는 정의 상관관계가 인정되었다(1991년 11월 11일 접수, 1991년 12월 9일 수리).

대두의 영양적 특성은 주로 단백질의 양과 질에 의해서 평가되어 왔으나, 대두유의 원료로도 중요한 자원이 되고 있는 것은 주지의 사실이다. 대두에는 유지의 함량이 높고 특히 불포화지방산의 조성비율이 높을 뿐만 아니라 필수지방산인 linoleic acid의 주요 공급원으로 이용되어져 왔으며, Landers<sup>1)</sup>와 Erickson<sup>2)</sup>이 강조한 바와 같이 영양학적으로도 의의가 매우 크다고 볼 수 있다. 실제로 지난 10년간 전세계의 대두 총생산량은 두배 이상 증가하였다.<sup>3)</sup>

대두유를 포함한 많은 식물유는 불포화지방산의 함량이 매우 높아서 산화되기 쉬운 조성을 가지고 있으나 비타민 E로 알려진 토코페롤과 같은 천연 항산화제가 풍부하여 저장 및 가공과정중 산화안정성에 크게 기여하는 것으로 밝혀졌다.<sup>4)</sup> 한편, 토코페롤은 생체내에서 노화현상과 관련이 많은 과산화 지질의 생성을 억제하는 항산화효과를 나타내어 영양학적으로 볼때도 중요한 의미를 갖는다고 볼 수 있다.<sup>5-8)</sup>

식물유의 토코페롤 함량을 측정하기 위해서 Green<sup>9)</sup>은 2차원 전개에 의한 여지 크로마토그래피를 이용하였고, Gaunt와 Stowe<sup>10)</sup>는 분광광도계를 이용하였다. 그러나 최근에는 식물유중의 각 토코페롤을 직접 정량하기 위하여 HPLC가 주로 이용하고 있어<sup>11-13)</sup> 편리하고 신속하게 분석할 수 있다.

현재 국내에서 다양한 용도의 식품원료로서 널리 이용되고 있는 국내산 두류중 토코페롤 및 지방질의 상호관계에 대한 연구는 미비한 실정이며, 또한 토코페롤

동족체인  $\alpha$ ,  $\gamma$ - 및  $\delta$ -토코페롤들은 항산화효과와 생물학적 활성도가 상이한 것으로 보고되고 있다. 그러므로 국내산 두류중 비타민 E의 활성도를 평가하고 아울러 두류 종실중 토코페롤 및 불포화지방산과의 관계를 알아보고자 충남지역 일원에서 구입 채취한 13종의 두류 종실을 대상으로 본 연구를 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 공시재료

본 실험에 사용된 재료는 1990년 충남지역 일원에서 채취 및 구입된 대두(Soybean)로서 메주콩의 6종 및 완두(Pea), 강남콩(Kidney bean), 동부(Asparagus bean), 녹두(Mung bean) 그리고 팥(Azuki bean)류인 적소두와 갈소두 등 13개 두류 종실전체를 30 mesh로 균일하게 분쇄후 데시케이터에 동일조건으로 일정기간 보관하면서 분석시료로 사용하였다.

#### 표준품 및 시약

토코페롤 표준품은 E. Merck Co. 제품의 토코페롤 동족체들을 사용하였고, fatty acid methyl esters 표준품과 14% boron trifluoride-methanol은 Sigma Chemical Co. 제품을 사용하였다. HPLC분석용 용매류와 silica gel 60 precoated aluminum sheet(layer thickness 0.2 mm) TLC plate는 E. Merck Co. 제품을 사용하였다. 발색시약, 추출용매 및 TLC 전개 용매류는 특급시약을

사용하였다.

**토코페롤 성분의 확인 및 정량**

시료분말 약 2.5g을 250 ml 둥근 바닥 플라스크에 넣고 75% 에탄올 90 ml을 가한 후 질소를 충전시켜 산소를 제거시킨 다음 75 °C 수욕조에서 2시간동안 환류냉각시키면서 지용성 물질들을 가온 추출하였다. 추출액을 여과한 다음, 여액을 250 ml 분획여두에 넣고 30 ml 헥산으로 3회 반복 추출하여 토코페롤층을 분획하였다. 토코페롤이 포함된 헥산추출액을 질소충전시킨 후 45 °C 수욕조에서 감압농축한 다음 메탄올 2ml에 용해하여 0.45 µm Millipore 여과막으로 여과 정제한 후 TLC 및 HPLC 분석용 검액으로 사용하였다.

토코페롤 동족체의 분리 확인을 위해 silica gel TLC plate에 검액 5 µl씩 점적후 petroleum ether/diethyl ether/acetic acid(80 : 20 : 1, v/v/v) 혼합용매로 3회 반복하여 전개시켰다. 발색시약은 Analytical Method Committee<sup>14)</sup>에 의한 0.5%(w/v) 2,2'-bipyridine-ethanol용액과 0.2%(w/v) FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O-ethanol용액으로 혼합된 Emmerie-Engel 시약을 분무후 실온에서 발색시켜 토코페롤의 특유한 적색반점과 Rf값을 비교함으로써 확인하였다.

토코페롤 동족체의 정량을 위해서 α-, γ- 및 δ-토코페롤 표준품을 각각 10 µl당 9.88, 9.46, 10.13 µg 농도로 하여 분석한 HPLC 크로마토그램의 피크 면적비를 기준으로 두류 종실중 토코페롤 동족체의 함량을 구하였다.

HPLC에 의한 토코페롤 동족체의 분리정량은 Waters Associate Model 244 HPLC를 사용하였고, 분석컬럼은 µ-Bondapak C<sub>18</sub>(3.9 mm I.D. ×300 mm)를, 검출기는 UV 검출기(280 mm)를, 이동상은 methanol/water(95 : 5, v/v)를 사용하였다.

**지방질 함량조사 및 지방산 분석**

지방질 함량은 원통여지(Toyo filter No. 84, 28×100 mm)에 시료를 넣고 diethyl ether를 가하여 45 °C 수욕조에서 Soxhlet추출장치로 약 16시간 연속추출하여 추출액을 증발농축시킨 다음, 중량법으로 조사하였다.

지방산 분석은 시료 약 0.5g을 250 ml 둥근 바닥 플라스크에 넣고 내부표준물질로 tridecanoic acid 10 mg을 첨가한 후 diethyl ether 40 ml를 가하고 질소충전하여 산소를 제거시킨 다음, 30 °C 수욕조에서 5시간동안 진탕추출후 여과하였다. 여과액은 질소 가스로 충전시켜 35 °C 수욕상에서 감압농축시킨 후 Metcalfe법<sup>15)</sup>으로 지방산을 methyl ester화시킨 다음 GLC로 분리하여 tridecanoic

acid에 대한 내부표준법으로 각각의 지방산을 정량하였다. 이때 사용한 GLC 조건은, GC는 Varian Aerograph Model 3700을, Integrator는 Simadzu C-RIA Chromatograpac을, 검출기는 FID를, 분석컬럼은 SP-2340 fused silica capillary column(30 m×0.32 mm I.D., 0.2 µm film thickness)을 사용하였고, injector와 detector온도는 240 °C, 컬럼온도는 180 °C에서 등온으로 분석하였으며, 질소가스의 이동상속도는 1 ml/min이었고, split비율은 1 : 100이었다.

**결과 및 고찰**

**토코페롤 동족체의 확인 및 정량**

두류중 토코페롤 동족체의 분석은 먼저 TLC 방법에 의하여 Rf값 0.62, 0.53, 및 0.42에서 검출되는 α-, γ- 및 δ-토코페롤 특유의 적색반점과 Rf값을 대조하여 확인하였다.

토코페롤 동족체의 HPLC법에 의한 정량은 두류의 75% 에탄올 추출물중 헥산 분획물을 HPLC에 직접 주입하여 분석하였는데 이는 본 실험에 앞서 수행한 예비실험 결과 두류중 토코페롤정량시 0.5% NaOH로 가수분해시키는 saponification과정에서 대부분의 지방질 성분을 제거할 수 있었으나 상당량의 토코페롤이 감소되었기 때문이다. 따라서 본 실험에서는 이와 같은 saponification 전처리과정을 거치지 않고 두류의 75% 에탄올 추출물의 헥산 분획물을 HPLC로 분석하였으며 HPLC크로마토그램은 Fig. 1과 같고, 두류중 토코페롤 함량은 건물중 100 g당 4.74~44.05 mg범위로서 두류종류에 따라 많은 차이가 있었으며(Table 1), 이들중 대두들의 분석결과는 Guzman과 Murphy<sup>16)</sup>가 보고한 대두중 α-토코페롤(1.09~2.84 mg/100g), γ-토코페롤(15.0~19.1 mg/100g), 그리고 δ-토코페롤(2.46~7.26 mg/100g)과 유사한 경향이 다.

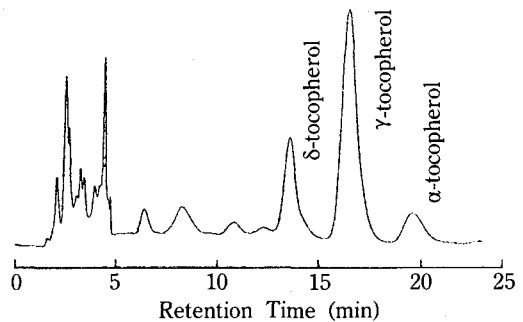


Fig. 1. HPLC chromatogram of hexane fraction extracted from Namool-bean.

**지방질 함량 및 지방산 조성**

본 실험에서 시료로 사용된 13개 두류 종실중 지방질 함량은 0.53~20.96%로 두류에 따라 함량차이가 현저하였으며, 지방산의 종류는 7종으로 같았으나 지방산 조성은 상이하였다. 즉 지방질 함량이 15.78~20.96%인 두류에 있어서는 총 불포화 지방산의 조성비율이 86.5~88.6%로 높고 지방산 조성이 비교적 유사한 반면에, 지방질 함량이 0.53~3.70%로 낮은 두류에 있어서는 총 불포화 지방산의 조성비율이 강낭콩의 88.3%를 제외하고는 61.6~73.5%로 낮고 지방산 조성이 상이하였다. 또한 지방질 함량을 15%이상 함유하는 두류들의 주요 지방산 조성은 linoleic(56.0~56.8%)>oleic(18.7~21.7%)>palmitic(9.1~9.9), linolenic(8.8~11.3%)>stearic(1.3~3.2%)순으로 비교적 유사한 조성을 나타내었으나, 지방질 함량이 5% 이하로서 비교적 낮은 두류들은 지방질 함량이 높은 두류들에 비하여 linoleic(26.5~44.5%) 및 oleic(5.5~7.6%)의 함량조성이 낮은 반면에 linolenic(20.9~54.9%) palmitic(9.0~23.8%)의 조성비가 높은 점이 특이하였다. 한편 완두는 지방질 함량이 3.70%로 낮은 편이었고 지방산 조성은 다른 두류종실들과 상이하였으며, oleic(34.4%) 및 palmitic(30.2%)의 조성비율이 높고 linoleic(10.6%)은 낮은 점 등이 특이하였다.

**지방질과 토코페롤 함량의 상관성**

지방질 함량이 15.78~20.96%로 높은 두류들은 불포

화지방산 조성비가 86.5~88.6%로 높았고 총 토코페롤 함량도 23.22~44.05 mg/100g으로 높은 경향이었으며, 토코페롤 동족체간의 함유량은  $\gamma$ -토코페롤(15.77~22.97 mg/100g)> $\delta$ -토코페롤 (5.75~18.88 mg/100g)> $\alpha$ -토코페롤(1.00~3.83 mg/100g)순으로 나타났다. 한편 지방질의 함량이 0.53~3.70%로 낮은 두류에서는 대체로 불포화지방산의 조성비율이 낮았고 총 토코페롤의 함량도 4.74~27.70 mg/100g으로 낮았으며,  $\alpha$ -,  $\gamma$ - 및  $\delta$ -토코페롤 동족체간의 함유비율도 Table 1과 같이 매우 상이하였다. 특히 지방질과 불포화지방산의 함량이 다른 두류들에 비해 다소 낮은 적소두와 갈소두의 토코페롤 동족체간 함유량이  $\delta$ -> $\gamma$ -> $\alpha$ -토코페롤 순이었다는 점이 특이하였다. 이미 보고된 바와 같이 토코페롤 동족체들중에서 가장 생물학적 활성도가 높은 것은  $\alpha$ -토코페롤로 알려졌고,<sup>17)</sup> 그러한 이유로 인해  $\alpha$ -토코페롤에 그 초점이 맞추어져 왔다. 그러나 오늘날 연구에서는  $\alpha$ -토코페롤이 산소에 의해 쉽게 산화되기 때문에  $\gamma$ -토코페롤이  $\alpha$ -토코페롤보다 큰 항산화활성을 가진다는 일부 연구자들<sup>18,19)</sup>의 보고가 있었는데, 이러한 제안은 Green<sup>9)</sup>에 의해 이미 언급된 바 있다. 실제로 Cilliard와 그의 공동 연구자<sup>20)</sup>는 linoleic acid 1 mol당 0.05와 0.25 mol의 토코페롤들이 들어 있는 수용액상에서  $\alpha$ -토코페롤은 prooxidant로서, 그리고  $\gamma$ -토코페롤은 antioxidant로서 작용함을 보고했다.

본 실험에서 13종의 두류에 함유된 토코페롤 동족체중

Table 1. Contents of tocopherol homologues in the seeds of thirteen pulse plants

Pulse plants	Tocopherol(mg/100g, dw)			Total tocopherol (mg/100g, dw)
	$\alpha$	$\gamma$	$\delta$	
Soybeans				
Meaju bean	1.00	23.20	14.70	38.90
Cheongam bean	2.82	19.45	8.60	30.88
Daechubam bean	1.69	15.77	5.75	23.22
Pimajam bean	3.01	21.43	10.63	35.06
Seoribam bean	2.20	22.97	18.88	44.05
Yack bean	3.45	22.83	11.78	38.06
Namool bean	3.83	24.18	12.39	40.40
Pea	ND <sup>a)</sup>	17.80	ND	17.80
Kidney bean	Tr <sup>b)</sup>	4.74	Tr	4.74
Asparagus bean	ND	16.19	11.51	27.70
Mung bean	Tr	14.64	2.84	17.48
Azuki bean				
Jeock sodu	Tr	7.55	20.64	28.19
Gal sodu	Tr	6.06	17.23	23.29

<sup>a)</sup>ND is not detected.

<sup>b)</sup>Tr(Trace) did not register counts in the detector.

Table 2. Lipid content and fatty acid composition in thirteen pulse plants

Pulse plants	Lipid content (%)	Percent of fatty acid composition							TSFA <sup>a)</sup> (%)	TUSFA <sup>b)</sup> (%)
		16 : 0	18 : 0	18 : 1	18 : 2	18 : 3	20 : 0	22 : 0		
Soybean										
Meaju bean	20.96	9.1	2.7	20.8	56.9	10.0	0.2	0.3	12.3	87.7
Cheongbam bean	20.16	9.1	3.2	21.5	56.8	8.9	0.2	0.3	12.8	87.2
Daechubam bean	19.86	8.6	2.8	21.1	57.6	9.5	0.2	0.3	11.2	88.2
Pimjabam bean	19.01	9.3	2.8	21.7	56.6	9.2	0.3	0.1	12.5	87.5
Seoribam bean	18.28	9.7	1.3	20.1	57.2	11.3	0.2	0.2	11.4	88.6
Yack bean	16.08	9.9	3.2	21.7	56.0	8.8	0.2	0.2	13.5	86.5
Namool bean	15.78	9.6	3.0	18.7	58.6	9.5	0.3	0.3	13.2	86.8
Pea	3.70	30.2	6.1	34.4	10.6	17.2	1.0	0.4	30.4	61.6
Kidney bean	1.53	9.0	1.6	6.9	26.5	54.9	0.4	0.7	11.7	88.3
Asparagus bean	1.52	18.5	2.9	7.6	35.1	30.8	1.1	4.0	26.5	73.5
Mung bean	1.10	23.8	3.2	5.5	43.3	22.4	0.1	1.7	28.8	71.2
Azuki bean										
Jeock sodu	0.53	20.9	3.3	5.6	37.7	24.2	7.0	1.3	32.2	67.5
Gal sodu	0.72	19.8	3.5	9.4	44.5	20.9	0.6	1.3	25.2	74.8

<sup>a)</sup> TSFA : Total saturated fatty acids

<sup>b)</sup> TUSFA : Total unsaturated fatty acids

Table 3. Simple correlation coefficients between  $\gamma$ -tocopherol and several unsaturated fatty acid contents

	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18:2</sub>	C <sub>18:3</sub>	TUSFA <sup>a)</sup>
$\gamma$ -Tpcopherol	0.777 <sup>b)</sup>	0.756 <sup>b)</sup>	0.735 <sup>b)</sup>	0.764 <sup>b)</sup>

<sup>a)</sup> : Total unsaturated fatty acid

<sup>b)</sup> : Significant at 1% level

$\gamma$ -토코페롤만이 모든 시료 종자에서 공통적으로 발견되었다는 사실과 강남콩을 제외한 두류시료중 지방질 함량의 감소에 따라  $\gamma$ -토코페롤의 함량도 감소되는 경향에 비추어  $\gamma$ -토코페롤과 각 불포화지방산 함량간의 단순 상관관계를 통계처리한 Table 3과 같다.

이 결과  $\gamma$ -토코페롤과 각 불포화지방산 함량간 상관계수에 다소의 차이가 있었으나, 양자간에 고도의 유의한 정도의 상관관계가 있음이 인정되었다. 이는 두류종실중 불포화지방산의 산화억제에 특히  $\gamma$ -토코페롤이 밀접하게 관여하고 있다는 암시일 것이다. 또한 유지함량이 낮은 두류에서는 거의  $\alpha$ -토코페롤이 함유되지 않은 점도 상관성이 많은 것으로 판단된다.

이러한 사실을 고찰해 볼 때 지방질 함량이 높고 불포화지방산의 조성비율이 높은 두류종실중에는 토코페롤의 함량이 높고, 특히  $\gamma$ -토코페롤의 함량이 높은 현상은 영양적 가치 이외에도 종실에 함유된 지방질 자체

안정성과 가공처리과정중 산화에 대한 안정성의 측면에서 고찰해 볼 때도 중요한 의미를 시사해 준다고 볼 수 있으며, 이와같은 연구결과는 두류에 있어서 지방질의 생성대사과정과 토코페롤의 상관관계에 대한 기초연구를 수행하기 위한 자료로 이용될 수 있을 것이다.

### 참 고 문 헌

- Landers, R.E. and Rathmann, D.M. : J. Am. Oil Chem., 58 : 255(1981)
- Erickson, D.R. : J. Am. Oil Chem., 66 : 303A(1983)
- Nat'l Agric. Coop. Federation : Agric. Coop. Yearbook '90, Jeong-Kwang print Co., Seoul, p. 109 (1990)
- Slover, H. : Lipids, 6 : 291(1971)
- Bruinsma, J. and Patil, S.S. : Naturwissenschaften, 50 : 505(1963)
- Michniewicz, M. and Kamienska, A. : Naturwissenschaften, 52 : 623(1965)
- Harman, D. : Clin. Res., 17 : 125(1965)
- McCay, P.B., Poyer, J.L., Pfeifer, P.M., May, H.E., Gilliam, J.M. : Lipids, 6 : 297(1971)
- Green, J. : J. Sci. Food Agric., 9 : 801(1958)
- Gaunt, J.K. and Stowe, B.B. : Plant Physiol., 42 : 851(1967)
- de Lumen, B.O. and Fiad, S. : J. Agric. Food Chem.,

- 30 : 50(1982)
12. Tani, T. et al. : Chem. Pharm. Bull., 33 : 3834(1985)
  13. Speek, A.J., Schrijver, J. and Schreurs, W.H.P. : Food Sci., 50 : 121(1985)
  14. Analytical Method Committee : The Analyst, 84 : 356(1959)
  15. Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A. and Pelka, J.R. : Anal. Chem., 38 : 514(1966)
  16. Guzman, G.J. and Murphy, P.A. : J. Agric. Food Chem., 34 : 791(1986)
  17. Furuya, T., Youshigawa, T., Kimura, T., and Kaneko, H. : Phytochemistry, 26 : 2241(1987)
  18. Ikeda, N. and Fukuzumi, K. : J. Am. Oil Chem Soc., 54 : 360(1977)
  19. Lea, C.H., [cited by Green J. : J. Sci. Food Agric. 9 : 801(1958)]
  20. Cilliard, J. and Cilliard, P. : J. Am. Oil Chem. Soc. 51 : 39(1980)

### Tocopherols and fatty acids in plant seeds from Korea

In-Bog Lee, Kang-Ju Choi\*, Kwang-Keun Yu\* and Ki-Woon Chang(Department of Agricultural Chemistry, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea, \*Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea)

**Abstract** : The concentrations of tocopherols and lipids, and compositions of fatty acids in the seeds of thirteen pulse plants, which are used for the raw materials of our traditional food as well as for the typical nutrients in Korea, were analyzed by HPLC and GC. The beans showed great differences of the tocopherol concentrations from 4.74 to 44.05 mg/100g, which were in the order of  $\gamma$ -> $\delta$ -> $\alpha$ -tocopherol with the exception of the order of  $\delta$ -> $\gamma$ -> $\alpha$ -tocopherol in jeock sodu and gal sodu of azuki bean. The contents of lipids were also remarkably different as 0.53 to 20.96%. Especially, the beans having from 15.78 to 20.96% of lipid contents showed high composition ratios of unsaturated fatty acid between 85.6 to 88.2%, of which the contents of linoleic acid were the highest as 56.0 to 58.6% of the total fatty acids, and also showed comparatively high concentrations of tocopherols as 23.2 to 44.05 mg/100g. There were significantly positive correlation between  $\gamma$ -tocopherol and unsaturated fatty acids.