

辛味種고추의 追熟에 關한 生理化學的 研究

—第2報 辛味成分의 變化—

李 盛 雨

(嶺南大學校 食品營養學科)

(1971. 2. 20. 수리)

Physio-chemical studies on the after-ripening of hot pepper fruits (Part 2)

Changes in hot-taste component.

Sung Woo Lee

Dept. of Food & Nutrition, Yeung Nam University.

(Received Feb. 20, 1971)

Summary

Changes in hot-taste component during the after-ripening period of hot pepper fruit were surveyed and summarized as follows;

- (1) Capsaicinoid contents were steadily increased as the after-ripening proceeded when physiological activity of the sample was suppressed during each stage of the ripening with the vacuum dry freezing.
- (2) It was assumed by determining phenylalanine contents and activities of phenylalanine ammoniolyase to see synthetical process of capsaicin in the metabolic part of vanillylamine that there is a gradual synthesis and accumulation of capsaicin during the after-ripening period.
- (3) Lignin-like substances, as in the case of capsaicinoid, showed a steady increase during the after-ripening period.
- (4) The contents of polyphenolic compounds and polyphenol oxidase activity were higher with low temperature treatment.

緒 言

辛味種 고추의 追熟에 따른 生理化學的 研究로서 筆者는 前報⁽¹⁾에서 呼吸型을 規定하였는바 今般은 辛味成分의 重要性에 비추어 追熟에 따른 辛味成分 含量의 變動과 辛味成分에 이르는 代謝過程의 一部를 實驗考察하여 辛味成分이 代謝最終產物이라고 推定하였기 이에 對하여 報告하는 바이다. 그리고 本 研究를 도와주신 緒方邦安教授에 謝意를 表하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

日本 大阪市 鶴橋國際市場에서 收穫當日의 韓國 在來種 綠熟 고추를 購入하여 前報와 같이 pre-cl. stage, cli. onset stage, cli. stage, post-cl. stage 의 4 stage 로 나누어 各各 種子를 除去한 果肉部를 供試하였다. 一部는 大邱市 東村에서 栽培한 韓國在來種 고추를 使用하였다.

2. 材料의 眞空凍結乾燥法

試料를 -20°C 의 stocker 속에서 15時間 凍結한 後 美國 Pennsalt Chemicals Corp.의 Equipment Division 製의 Freeze dryer 에 넣고 棚溫 35°C 에서 24時間 乾燥하였다.

3. 辛味成分

小菅⁽²⁾ 등의 方法에 따라서 眞空凍結乾燥한 果肉

部粉末에서 抽出한 供試液을 phosphomolybdic acidphosphotungstic acid solution 과 酸性磷酸-Na 溶液에 의하여 呈色시켜 750 μ 으로 O.D.를 測定하여 vanillin 으로 作成한 檢量曲線을 利用해서 辛味成分의 量을 算出하였다.

4. Phenylalanine · Valine

試料의 alcohol 抽出液을 Amberlite IR 120에 의하여 吸着·溶出시킨 amino acid 를 濃縮하여 TLC 로 二次元 展開시켜서 同定된 phenylalanine 部를 Awapara⁽³⁾의 PPC 에 對한 呈色班抽出法에 準하여 處理해서 570 μ 으로 O.D.를 測定하고 檢量線에 의해서 含量을 算出하였다. valine 은 위와 같은 要領에 의하여 二次元 PPC 法으로 測定하였다.

5. Phenylalanine ammonialyase (PAL)

試料 果肉部에 冷却 acetone 을 넣어 homogenize 하고 이것을 遠沈하여 그 殘渣를 다시 2回 冷却 acetone 으로 處理한 後 減壓下에서 乾燥하여 acetone powder 를 얻었다. 그리고 PAL 活性度의 測定은 Koukol等⁽⁴⁾의 方法에 따라 Tunberg tube 의 側室에 0.5ml의 N-H₂SO₄를, 主室에는 acetone powder 0.1g, phenylalanine 0.1%를 품는 sodium borate buffer (pH8.0) 5ml을 넣고 40°C에서 1hr 지닌後 Tunberg tube 를 기울려 N-H₂SO₄를 加해서 反應을 停止시켰다. 다음에 ether 5ml를 加하여 잘 흔들어서 生成된 trans-cinnamic acid를 ether 層에 옮긴 後, ether 를 蒸發시켜서 그 殘渣를 0.05M-NaOH 5ml에 녹여 이것을 290 μ 의 O.D.를 測定하여 trans-cinnamic acid의 生成量을 檢量線에 의하여 算出해서 이것을 PAL의 活性度로 삼았다.

6. lignin 樣物質

青木等⁽⁵⁾이 복숭아에 對하여 測定한 方法에 따라 果肉切片의 alcohol 不溶物에 72% H₂SO₄를 넣어 4°C에서 24hr 放置한 後 물을 넣어서 H₂SO₄ 濃도가 3%로 되게해서 1hr boiling 하여 殘渣를 glass filter 로 濾別하고, 熱水로 씻어서 105°C에 1hr 乾燥한 後 秤量하여 含量을 算出하였다.

7. Total polyphenol

試料의 60% ethanol 抽出液을 減壓濃縮하여 물로써 定容으로 해서 Swain 等의 方法⁽⁶⁾에 準하여 原液 1ml에 Folin-Ciocalteu 試藥 5ml, 20% Na₂CO₃ 溶液 10ml을 넣고 100ml로 定容하여 30分放置後 濾過해서 이 靑色液에 對하여 790 μ 의 O.D.를 測定해서 total polyphenol 含量으로 삼았다.

8. Polyphenol oxidase 活性度

細切한 果肉 25g에 1/20M phosphate buffer (pH6.0) 50ml을 넣어 低溫下에서 homogenizer로 2分間 磨碎하여 二重가제로 여과하고 그 濾液을 低溫遠心分離機로 遠沈한 上澄液을 粗酵素液으로 삼았고 基質은 10⁻³M chlorogenic acid 를 使用하였다. polyphenol oxidase 의 活性度는 回轉白金電極을 利用하여 polarography 的으로 溶存酸素量의 變化를 測定하는 自記呼吸酸素測定裝置를 써서 cell 속의 反應에 따라 recorder 에 記錄되는 μ A 曲線에 의하여 45秒 後의 μ A 值로 表示하였다. 이를테면 Fig 1 에서 5 \times 10⁻³M chlorogenic acid 0.2ml 을 反應시켰을 때 polyphenol oxidase 의 活性度는 0.113 μ A: 45 sec 로 表示하고, 0.1ml 일 때는 0.06 μ A: 45 sec 로 表示하였다.

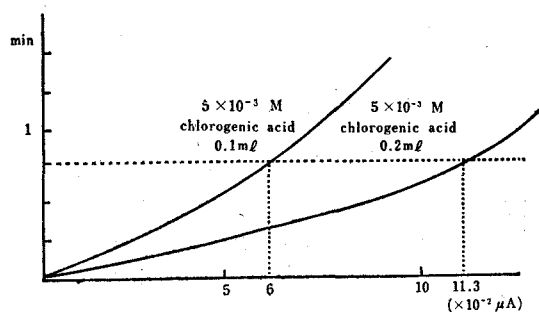


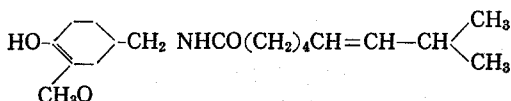
Fig 1. Method of determining polyphenol oxidase activity by oxygen-consumption recorder.

phosphate buffer (pH6.0) 1.8ml
enzyme soln. 0.2ml

實驗結果 및 考察

1. 辛味成分 含量의 變化

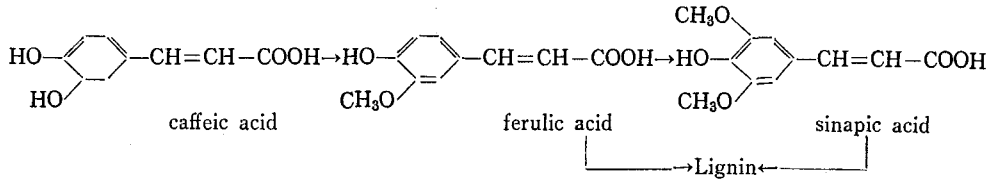
고추의 辛味成分은 1876年 Thresh⁽⁷⁾에 의하여 비로소 分離되어 capsaicin 이라 命名되었고 1898 년에는 Micko⁽⁸⁾가 分子式을 提出하였으며 分子中에 vanillyl 基가 存在함을 認定하였다. 그 後 Nelson⁽⁹⁾ (10)은 capsaicin 이 vanillyl amine 部와 ten-carbon acid 部의 結合으로 이루어 진다는 것을 알고 이것의 構造式을 다음과 같이 決定하였다.



또 小菅等⁽¹¹⁾은 *Capsicum annum* L.에서 抽出한

辛味成分은 capsaicin 과 dihydrocapsaicin 의 混合 物임을 밝히고 이것을 capsaicinoid 라 하였으며, Bennett⁽¹²⁾ 등은 Mass spectrometry 를 使用하여 實驗한 結果 辛味成分은 上記 두成分을 主로 하는 적어도 다섯개의 vanillyl amide 에 關係되는 物質 이라고 報告하였다.

그런데 이들 辛味成分의 含量은 高추의 品種에 따라 매우 다를 뿐 아니라⁽¹³⁾ ⁽¹⁴⁾ 同一品種일지라도 小菅等⁽¹⁵⁾ 은 熟度에 따라 다른것으로 報告하고 있다. 곧 開花期에 따라 다르기는 하지만 成熟에 따라 커다란 變動이 없거나 增減을 되풀이 하면서 若干 增加하는 傾向을 나타내는 것으로 報告하고 있다. 한편 追熟에 따른 辛味成分 含量의 變動을 測定한 報告는 보이지 않는다. 이에 筆者는 追熟 中の 各區마다 眞空凍結乾燥하므로서 生理作用을 停止시켜 辛味成分 含量을 測定하였든바 그 結果는 Table 1에서 보는바와 같이 cli. onset stage 에서 조금 增加하고 cli. stage 에서 post-cli. stage 에 걸쳐 더욱 增加하고 있음을 보았다.



한 實驗에서 phenylalanine, tyrosine 이 ferulic acid 를 거쳐 lignin 의 形成에 關與하는 것 같다고 報告하고 있다.

以上 몇몇 報告로 미루어 보아 phenylalanine 은 일단 deamination 하여 cinnamic acid, *p*-coumaric acid, caffeic acid 등 phenylpropanoid 가 되고 이것은 methyl 基를 받아 ferulic acid 가 되고 다시 NH₂ 基를 받아 capsaicin 의 vanillylamine 部の 生合成에 關與하는 것으로 생각할 수 있기에 이들의 關係를 說明하기 위하여 Fig 2와 같은 假想圖를 만들어 보았다.

筆者는 Fig 2에 의하여 追熟에 따른 capsaicin 生合成의 一部를 考察코져 capsaicin 의 precursor 인 phenylalanine 含量變化와 key enzyme 로서 重要한 구실을 하는 PAL 의 活性度變化를 測定하여 보았든 바 그 結果는 Table 2, Table 3과 같다.

phenylalanine 含量은 cli. onset stage 에서 cli. stage 에 걸쳐 急增하고 post-cli. stage 에서 減少하고 있으며 PAL 의 活性度는 cli. stage 에 이르기 까지 계속 增大하고 있다. 이로서 phenylalanine

Table 1. Changes in capsaicinoid contents during the after-ripening period (%-drywt)

| stage of ripeness | pre-cli. | cli. onset | cli. post-cli. |
|-------------------|----------|------------|----------------|
| 20°C | 0.21 | 0.24 | 0.31 |
| 1°C | | | 0.23 |

2. Capsaicin 의 生合成 檢討

(1) Vanillyl amine 部の 生合成

Leete 등⁽¹⁶⁾ 은 capsaicin 의 生合成을 究明할 目的으로 Battersby 등⁽¹⁷⁾, Suhadolnik⁽¹⁸⁾ 등의 報告에 依據하여 phenylalanine 이 capsaicin 의 precursor 일 것이라고 推測하고 DL-phenyl-3-¹⁴C-alanine 을 投與한 實驗을 하였든바 分離된 capsaicin 에 매우 높은 活性이 나타났다고 報告하고 있다. 한편 Bennett⁽¹²⁾ 등은 label 한 DL-phenylalanine, L-tyrosine, *p*-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid 등을 投與한 實驗을 하여 이들 各各이 capsaicin 의 precursor 가 될수 있음을 報告하고 있다.

그리고 이와 別途로 Higuchi 등⁽²⁰⁾ 은 竹筍에 對

Table 2. Changes in phenylalanine contents during the after-ripening period (mg% dry-wt)

| stage of ripeness | pre-cli. | cli. onset | cli. post-cli. |
|-------------------|----------|------------|----------------|
| room temp | 39 | 54 | 48 |
| low temp(5°C) | | | 118 |

Table 3. Changes in phenylalanine ammoni-alyase activity during the after-ripening period. (trans-cinnamic acid μ M/0.1g acetone powder/hr)

| stage of ripeness | pre-cli. | cli. onset | cli. post-cli. |
|-------------------|----------|------------|----------------|
| room temp | 20 | 31 | 36 |
| low temp(5°C) | | | 52 |

에서 phenyl propanoid 에 이르는 系路는 cli. stage 까지 활발히 움직이다가 post-cli. stage 에서는 움직 임이 弱化되는 것으로 解析되겠다. 그러나 capsaicinoid 의 含量은 table 1에서 보는것처럼 急增 增加하고 post-cli. stage 에서 가장 많다. 이것은 cap-

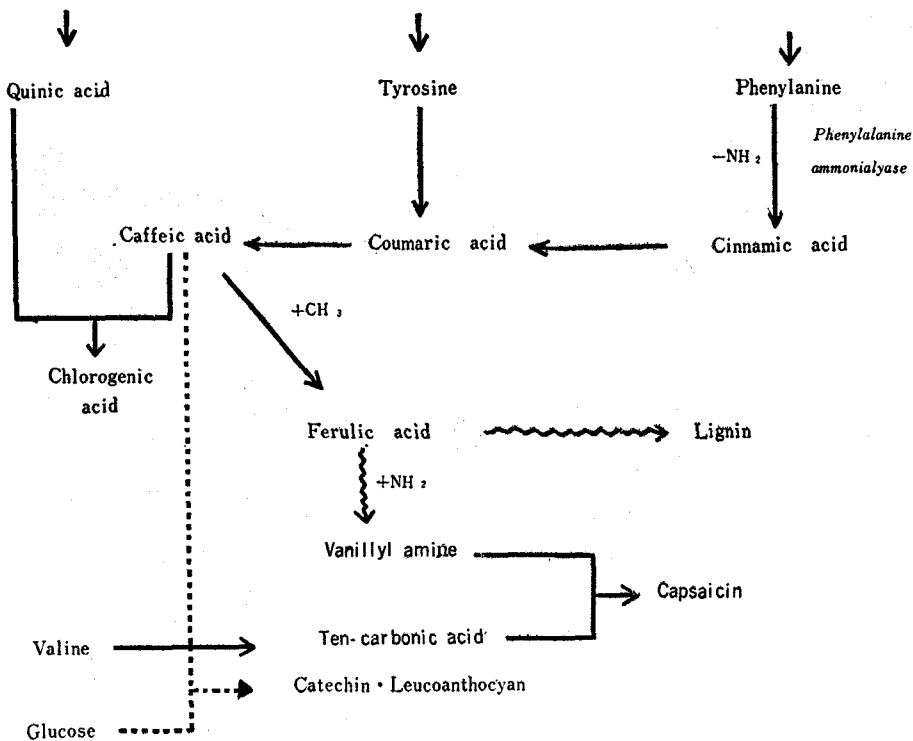


Fig 2. Tentative metabolic pathways of Capsaicin biosynthesis

saicinoid가 最終代謝産物이기 때문에 蓄積되어 나가는 탓이라고 解釋될 수 있을것 같고, Leete⁽¹⁶⁾ 등도 radio-isotope를 사용한 實驗에서 capsaicin이 最終代謝生成物 일 것이라고 推定하고 있는 것과 附合되는 것으로 보인다.

다음은 capsaicin과 한가지로 phenyl propanoid를 거쳐 生合成되는것으로 알려져 있는 lignin 含量의 變動을 보기 위하여 追熟에 따른 lignin 樣物質 含量의 變化를 測定한 結果는 Table 4에서 보는 바와같이 capsaicinoid와 마찬가지로 傾向으로 追熟에 따라 漸次 增加하고 있음을 알 수 있다.

Table 4. Changes in lignin-like substance contents during ripening after harvest at room temperature (% dry-wt)

| pre-cli. | cli. onset | cli. | post-cli. |
|----------|------------|------|-----------|
| 1.10 | 1.25 | 1.30 | 1.55 |

한편 고추를 低溫에서 cli. stage에 해당하는 期

間만큼 貯藏하였을 때의 phenylalanine 含量, PAL 活性度, capsaicinoid 含量을 測定한 結果는 각각 Table 2, 3, 1과 같다. 여기서 보는 바와 같이 低溫貯藏時 phenylalanine 含量과 PAL 活性度は 正常追熟의 경우보다 훨씬 높은데 比하여 capsaicinoid 含量은 매우 적다. 따라서 이 때는 phenylpropanoid의 一部가 正常追熟의 경우와는 다른 系路를 밟아 chlorogenic acid 등 polyphenol 物質의 生合成에 보다 많이 關與하는 탓이라고 推定되기에 polyphenol 物質 含量의 變化와 polyphenol oxidase 活性度の 變化를 測定하여 보았다. 그 結果는 Table 5, 6과 같이 正常追熟의 경우는 큰 變動이 보이지 않으나 低溫貯藏의 경우는 total polyphenol 含量과 polyphenol oxidase 活性도가 다 같이 正常追熟의 경우보다 훨씬 높다. 이로서 phenylpropanoid는 相對的인 立場에서 볼 때 常溫에서는 capsaicin 生合成系로, 低溫에서는 polyphenol 物質의 生合成系로 各各보다 활발히 움직이는 것으로 推定된다.

(2) Ten carbon acid 部の 生合成

capsaicin의 一部인 ten-carbon acid (8-methyl

Table 5. Changes in total polyphenol contents during the after-ripening period (O.D.)*

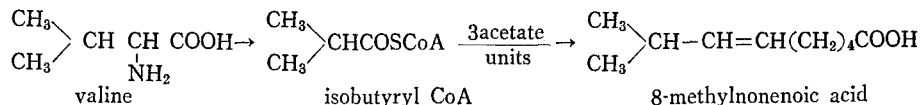
| stage of ripeness | pre-cli. | cli. onset | cli. | post-cli. |
|-------------------|----------|------------|-------|-----------|
| 20°C | 0.306 | 0.322 | 0.385 | 0.395 |
| 1°C | | | 0.718 | |

* Optical density measured at 790 mμ

Table 6. Changes in polyphenol oxidase activity during the after-ripening period (μA: 45 sec)

| stage of ripeness | pre-cli. | cli. onset | cli. | post-cli. |
|-------------------|----------|------------|-------|-----------|
| 20°C | 0.016 | 0.016 | 0.017 | 0.019 |
| 1°C | | | 0.051 | |

nonenoic acid) 部의 生合成에 關한 Leete⁽¹⁶⁾ 等의



追熟에 따른 ten-carbon acid 部의 生合成過程도 위의 假說 等に 立脚하여 우선 追熟에 따른 valine 含量의 變化를 測定하여 보았든 바 그 結果는 Table 7과 같다. valine 含量은 cli. stage 以後에서 크게 減少하고 있으니 이것이 바로 capsaicin 으로 움직인 탓이라고 斷定할 수는 없으나 Table 1의 capsaicin 含量의 變化和 關聯지어 생각할 때 興味 있는 일이며今後 이 問題가 究明될 것이 期待되는 바이다.

Table 7. Changes in valine contents during ripening after harvest at room temperature (mg% drywt)

| pre-cli. | cli. onset | cli. | post-cli. |
|----------|------------|------|-----------|
| 221 | 201 | 149 | 134 |

要 約

辛味種고추의 辛味成分의 追熟에 따른 變動을 測定·考察하였다.

(1) 追熟中の 各 stage의 sample 을 眞空凍結乾燥하므로써 生理作用을 停止시켜 capsaicinoid의 含量을 測定 하였든 바 追熟에 따라 줄곧 增加하였다.

(2) capsaicin의 vanilly amine 部의 生合成過程을 考察하기 위하여 追熟에 따른 phenylalanine 含

研究에 의하면 이들은 우선 precursor 로서 leucine 에 指目하여 DL-leucine-1-¹⁴C 을 投與한 實驗을 한 結果 active 한 capsaicin 이 生成되지 않았음을 알았다. 또 Olson⁽¹⁵⁾의 branched fatty acid 의 methyl 基가 methionine 의 CH₃ 基에서 誘導된다는 報告에 依據하여 methionine 이 ten-carbon acid 部의 precursor 가 되는 것으로 期待하여 L-methionine-methyl-C¹⁴ 를 投與한 實驗을 하였든 바 methionine 은 capsaicin 의 methoxyl 基를 위한 CH₃ 基 doner 로 利用됨에 지나지 않음을 알았다. 그리하여 이들은 다시 valine 이 isobutyryl Co-enzyme A 의 precursor 라고 推定하여 고추에 valine-U-C¹⁴ 를 投與하였든바 active 한 capsaicin 이 生成되었기에 isobutyryl Co-enzyme A 와 3個의 acetate units 가 capsaicin 의 一部分인 ten-carbon acid 部를 形成한다는 假說을 提出하게 되었다.

量과 PAL 活性度の 變化를 測定하므로써 capsaicin 이 追熟에 따라 徐徐히 生成되어 最終代謝產物로서 蓄積되어 나가는 것으로 推定할 수 있었다.

(3) lignin 樣物質은 追熟에 따라 capsaicinoid와 한가지로 漸次 增加하였다.

(4) polyphenol 物質含量과 polyphenol oxidase 活性度は 常溫區보다 低溫區가 높았다.

引 用 文 獻

1. 李盛雨: 本 研究 第一報, 韓國園藝誌, 9, 13 (1971)
2. 小菅貞良, 稻垣幸男: 日本農化, 33, 470 (1959)
3. Awapara, J.: J. Biol. Chem., 178, 113 (1949)
4. Koukol, J., Conn, E.E: J. Biol. Chem., 236, 2692 (1961)
5. 青木章平, 荒木忠治, 金子勝芳, 薮花雄: 日本食品工誌, 15, 443 (1968)
6. Swain, J., Hillis, W.E.: J. Sci. Food Agri. 10, 63 (1966)
7. Thresh: Pharm. J. Trans., 3, 7.21. 259. 473 (1876~77), 8, 187 (1877-78)
8. Micko: Z. Nahr. Genussmit., 1, 818 (1898)
9. Nelson: J. Ind. Eng. Chem., 2, 419 (1910)
10. Nelson: J. Am. Chem. Soc., 41, 1115. 2121 (1919), 42, 597 (1920)

11. 小菅貞良, 稻垣幸男, 奥村 弘: 日本農化, 35 923 (1961)
12. Bennett, D. J. and Kirby, G.W.; J. Chem. Soc., C, 442. (1968)
13. 大島康義, 白川正治, 松井俊規: 九大學藝, 13 159 (1951)
14. 李春寧, 朴性五: 韓國農化, 4, 23. (1963)
15. 小菅貞良, 稻垣幸男: 農技誌, 8, 281 (1961)
16. Leete, E., Loudon, C.L.: J. Am. Chem. Soc., 90, 6837 (1968)
17. Battersby, A.R., Binks, R., Breuer, S.W., Fales, H.M., Wildman W. and Highet, R.J.: J. Chem. Soc., 1595 (1964)
18. Suhadolnik, R.J. and Fisher, A.: J. Am. Chem. Soc., 84, 4348 (1962)
19. Olson, J.A.; Ann, Rev. Biochem., 35, 559 (1966)
20. Higuchi, T., Shimada, M.: Phytochemistry. 8, 1183 (1969)