

이매파의 Carotenoid 색소성분 1. 홍합과 진주담치 근육의 Carotenoid 색소성분의 비교

강동수 · 하봉석[†]

경상대학교 식품영양학과

Carotenoid Pigments of Bivalves

1. Comparison of Carotenoid Pigments from Muscle of Mussel and Blue mussel

Dong-Soo Kang and Bong-Seuk Ha[†]

Dept. of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Abstract

Carotenoid pigments from muscle of mussel, *Mytilus coruscus*, and blue mussel, *Mytilus edulis*, were separated by thin layer and column chromatography. The isolated carotenoids were identified by comparative test with reference carotenoids, reduction with sodium borohydride, isomerization with iodine and absorption spectrophotometry. The carotenoid contents in the muscle of mussel were 0.4mg% in male and 2.7mg% in female, and the carotenoids were composed of 23.4%, 33.4% mytiloxanthin, 26.3%, 22.5% 3,4,3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene, 24.8%, 22.8% pectenoxanthin, 14.0%, 9.9% pectenolone and 5.1%, 6.1% diatoxanthin in male and female, respectively. While, the carotenoid contents in the muscle of blue mussel were 1.1mg% in male and 3.2mg% in female, and the carotenoids were composed of 33.8%, 35.6% mytiloxanthin, 28.4%, 44.7% pectenoxanthin, 18.1%, 5.0% diatoxanthin, 9.7%, 8.7% pectenolone and 5.5%, 3.1% 3,4,3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene in male and female, respectively.

Key words : carotenoid, mytiloxanthin, pectenoxanthin

서 론

해류의 carotenoid에 대한 연구를 보면, Shimizu 등¹⁻³⁾은 반지각, *Venerupis japonica*의 근육과 내장에는 β -carotene, zeaxanthin 및 flavoxanthin이 주성분으로 함유하며, 백합, *Meretrix lusoria*에는 lutein, β -carotene 및 zeaxanthin 유사물을, 가막조개, *Corbicula*

*japonica*에는 lutein, lutein ester 및 β -carotene을, 괴조개, *Anadara broughtonii*에는 lutein, β -carotene 그리고 6종류의 미동정 carotenoid가 존재한다 하였고, 국자가리비, *Lecten albicans*에는 lutein, β -carotene, 그외에 9종의 미동정 carotenoid가 각각 함유한다고 보고하여 이매파에는 β -carotene이 주성분으로 어느 것에도 함유하였다. 한편, Campbell⁴⁾은 진주담치, *Mytilus edulis*와 담치의 일종인 *Mytilus californianus*의 carotenoid는 주성분이 alloxanthin과 mytiloxanthin이

[†]To whom all correspondence should be addressed

며, 그외 β -carotene, alloxanthin ester, lutein like xanthophyll, zeaxanthin, diatoxanthin, mutatoxanthin 및 tetrahydroxy xanthophyll을 함유한다고 보고하였다. 또한 이 외 김⁷은 진주담치, *Mytilus edulis*에는 β -carotene, lutein, zeaxanthin 및 astacene⁸이 함유한다고 보고하였다. 그러나 Matsuno와 Maoka^{9,10}는 홍합, *Mytilus coruscus*의 근육에서 pectenolone, diatoxanthin, pectenoxanthin, mytiloxanthin 및 3,4,3'-trihydroxy-7',8'-didehydro- β -carotene을 분리하였으며, 피조개, *Scapharca broughtonii*, 새꼬막, *S. subcrenata*, 꼬막류의 일종인 *S. satowi* 및 큰이랑피조개, *S. globosaurus*의 근육으로부터 pectenolone, pectenoxanthin, diatoxanthin, pectenolone monoester, pectenoxanthin monoester, diatoxanthin monoester, 3,4,3'-trihydroxy-7',8'-didehydro- β -carotene, pectenoxanthin diester 및 β -carotene을 분리 확인하였다.

그러나 우리나라에서 대량생산되고 있는 폐류의 색소에 관한 보고는 거의 찾아 볼 수 없을 뿐만 아니라, 폐류의 가공품 및 폐류저장중의 품질보장과 변색방지에 미치는 폐류의 carotenoid에 대한 기초자료를 얻기 위하여 이매폐인 홍합과 진주담치의 carotenoid 색소를 생화학적으로 비교검토하였기에 그결과를 보고한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 홍합(*mussel*, *Mytilus coruscus*)은 경남 충무시 서호시장에서, 진주담치(blue mussel, *Mytilus edulis*)는 경남 삼천포시 서동시장에서 각각 구입하여 실험실에 운반한후, 수컷과 암컷으로 나누어 내장을 제거한 근육만을 취하여 분석용 시료로 하였다.

Carotenoid의 추출

홍합의 수컷의 근육(103g)과 암컷의 근육(78g) 그리고 진주담치 수컷의 근육(152g)과 암컷의 근육(153g)을 각각 실온에서 acetone으로 3회 추출하여 혼합 추출액에 petroleum ether(p. c.)-ether(e.) (1:1, v/v) 혼합액과 다량의 물로서 분리조작하여 caro-

noid를 p. e.-e. 층으로 전용시킨후, p. e.-e. 층을 무수 Na_2SO_4 로서 탈수시키고, 40°C이하의 N₂기류하에서 갑암증류하여 총carotenoid를 얻었다.

Carotenoid의 분리 및 정제

Preparative-TLC(p-TLC)는 silica gel 60G(Merck사제)와 중류수 1:2의 비율로 혼합한 것을 20×20cm의 glass plate에 0.3mm의 두께로 도포하여 만든 plate를 110°C의 drying oven에서 2시간 활성화시킨 후, 총carotenoid를 line-spotting하여 acetone:p.e. (3:7)의 전개용매로서 분리하여 각 시료에서 다같이 Fig. 1에 표시한 바와 같이 6개의 band를 얻었다.

Rf1.0

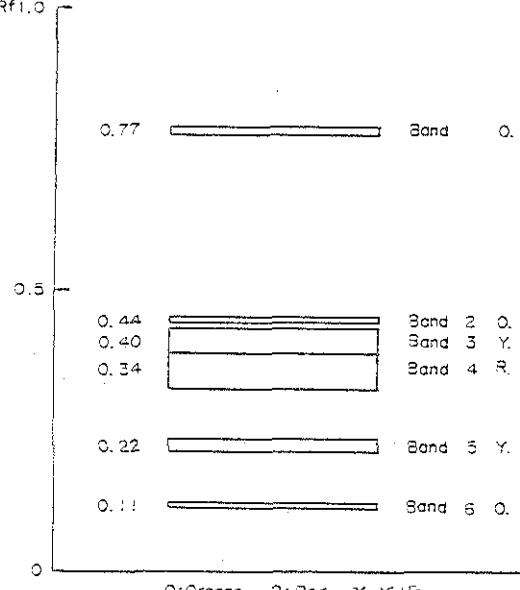


Fig. 1. Preparative thin-layer chromatogram of carotenoids in the muscle of mussel and blue mussel.
Absorbent : Silica gel 60G
Developing solvent : acetone : petroleum ether (3 : 7)

그리고 분리된 각 carotenoid획분을 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 에 복여서 chromatography¹¹ [전개용매—n-hexane : acetone : isobutyl alcohol(85:15:2)] 와 silica gel 60F(Merck 사제)를 이용한 TLC [전개용매—acetone : p. c. (3:7)]에 의하여 순수한 단일성분인가를 확인하였다. 혼합 carotenoids성분으로 확인된 band 3은 Fig. 2에서 처럼, MgO : celite 545(1:1)를 흡착제로 하여, 전개용매로는 p. e.—acetone→MeOH로서 점차

Table 1. Absorption maxima of the isolated carotenoids from the muscle of mussel and blue mussel

Band	Absorption maxima (nm)					Identification			
	Petroleum ether	Chloroform	Benzene	Ethanol					
1	449.5	—	—	—	—	unidentified carotenoid			
2	459	472	471	462	—	pectenolone			
3-1	450	478	459	487	449	diatoxanthin			
3-2	450	478	461	490	463	pectenoxanthin			
4	470	—	482.5	481	470.5	mytiloxanthin			
5	450	478	460	489.5	462	492	451	479	3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene
6	448.5	—	—	—	—	unidentified carotenoid			

결과 및 고찰

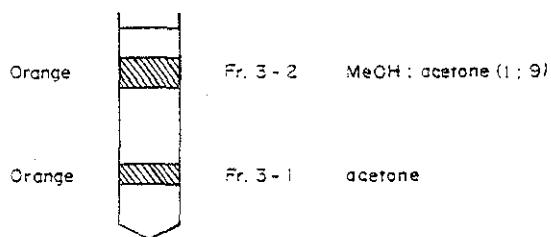


Fig. 2. Column chromatography of carotenoids for band 3 on MgO : celite 545 (1 : 1).

적으로 국성을 증가시키면서 column chromatography를 행하여, acetone으로 용출되는 orange색의 Fr. 3-1 그리고 MeOH : acetone(1 : 9)로서 용출되는 orange색의 Fr. 3-2로 분리되었다. 이상과 같은 방법으로 7개의 carotenoids획분이 얻어졌고, 이들의 가시부 흡수 spectrum의 흡수극대치는 Table 1에 표시하였다.

Carotenoid의 정량

각 carotenoid의 정량은 p. e. 중에서의 가시부 흡수 spectrum의 λ_{max} 의 optical density에 의하여 McBeth의 방법¹⁰에 따라 흡광계수 $E_{\lambda_{\text{max}}}^{1\%} = 2500$ 으로 다음식에 의하여 계산 하였다.

$$\text{mg\%} = \frac{\text{O. D.} (\lambda_{\text{max}}) \times \text{vol.} \times 10^3}{E_{\lambda_{\text{max}}}^{1\%} (2500) \times \text{weight of tissue (g)}}$$

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

Carotenoid의 동정

Carotenoid의 동정은 각 획분에서 얻어진 carotenoid의 가시부 흡수 spectrum의 측정, 표품과의 co-TLC 및 co-column chromatography, acetyl화 반응¹¹, allylic-OH 활성 test¹², I₂에 의한 이성화반응¹³ 그리고 keto carotenoid인 경우에는 NaBH₄에 의한 환원반응¹⁴을 시키고, 각 반응은 가시부 흡수 spectrum의 변화로서 확인하였다.

Band 1, unidentified carotenoid : orange색의 band 1은 가시부 흡수 spectrum의 측정결과, 흡수극대치가 449.5nm(in p. e.)로서 keto carotenoid 특유의 single band로 나타났으나 양의 제약때문에 더 이상의 동정이 불가능 하였다.

Band 2, pectenolone : orange색의 band 2는 가시부 흡수 spectrum의 측정결과, 흡수극대치가 459nm(in p. e.), 472nm(in chloroform), 471nm(in benzene) 및 462nm(in ethanol)로서 keto carotenoid 특유의 single band로 나타났으며, Fig. 3에서처럼 NaBH₄에 의한 환원 반응생성물의 가시부 흡수 spectrum은 β -carotene type 였으며, 흡수극대치가 451, 479nm(in p. e.)로서 8nm blue shift 하였고, 환원반응생성물의 I₂에 의한 이성화반응에서 흡수극대치는 443, 471nm(in, p. e.)로서 8nm blue shift하여 표품 pectenolone과 일치하였다. 그리고 표품과의 co-TLC, co-column chromatography에 의하여 단일점이 얻어져 pectenolone으로 동정하였다.

Band 3-1, diatoxanthin : orange색의 band 3-1은 가시부 흡수 spectrum의 측정결과, 흡수극대치가 450, 478nm(in p. e.), 459, 487nm(in chloroform), 459,

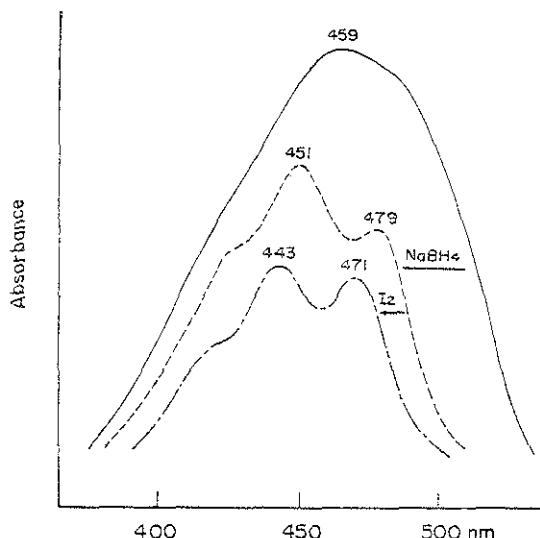


Fig. 3. The visible absorption spectra of pectenolone (—), its reduction product (---) and I₂ isomerization product of reduction product (—·—), in P.E.

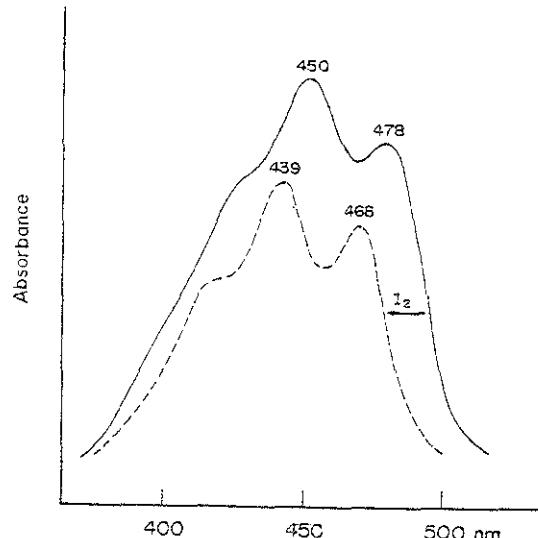


Fig. 5. The visible absorption spectra of pectenoxanthin (—) and its I₂ isomerization product (---) in P.E.

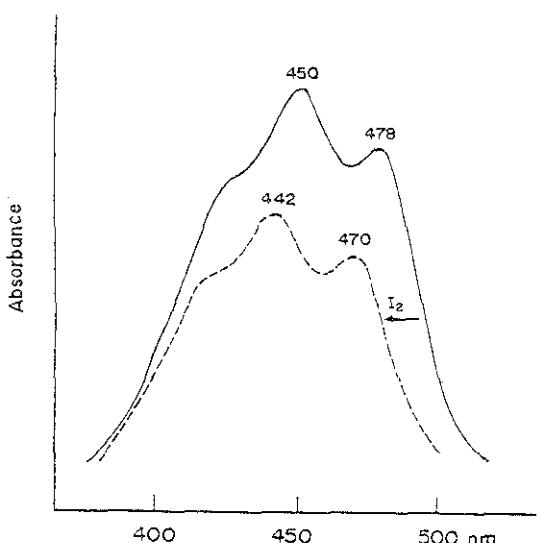


Fig. 4. The visible absorption spectra of diatoxanthin (—) and its I₂ isomerization product (---) in P.E.

487nm (in benzene) 및 449, 475nm (in ethanol)로서 β -carotene type의 흡수 spectrum을 나타내어 표품 diatoxanthin과 일치하였으며, Fig. 4에서 처럼 I₂에 의한 이성화반응결과 흡수극대치가 442, 470nm (in p.e.)로서 8nm blue shift하였다. 그리고 표품과의 co-TLC, co-column chromatography에 의하여 단일점으로 나타나 diatoxanthin으로 동정하였다.

으로 나타나 diatoxanthin으로 동정하였다.

Band 3-2, pectenoxanthin : orange색의 band 3-2는 가시부 흡수 spectrum의 측정결과, 흡수극대치가 450, 478nm (in p.e.), 461, 490nm (in chloroform), 436, 492.5nm (in benzene) 및 452, 480.5nm (in ethanol)로서 β -carotene type의 흡수 spectrum을 나타내어 표품 pectenoxanthin과 일치하였으며, Fig. 5에서 처럼 I₂에 의한 이성화반응결과 흡수극대치가 439, 468nm (in p.e.)로서 11nm blue shift하였다. 그리고 표품과의 co-TLC, co-column chromatography에 의하여 단일점으로 나타나 pectenoxanthin으로 동정하였다.

Band 4, mytiloxanthin : 적색의 band 4는 가시부 흡수 spectrum의 측정결과, 흡수극대치가 470nm (in p.e.), 482.5nm (in chloroform), 481nm (in benzene) 및 470.5nm (in ethanol)로서 keto carotenoid 특유의 single band로 나타났으며, Fig. 6에서 처럼 NaBH₄에 의한 환원반응생성물의 가시부 흡수 spectrum은 β -carotene type였으며, 흡수극대치가 427, 454nm (in p.e.)로서 43nm blue shift하여 표품 mytiloxanthin과 일치하였다. 그리고 표품과의 co-TLC, co-column chromatography에 의하여 단일점으로 나타나 mytiloxanthin으로 동정하였다.

Band 5, 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene : 황색의 band 5는 가시부 흡수 spectrum의

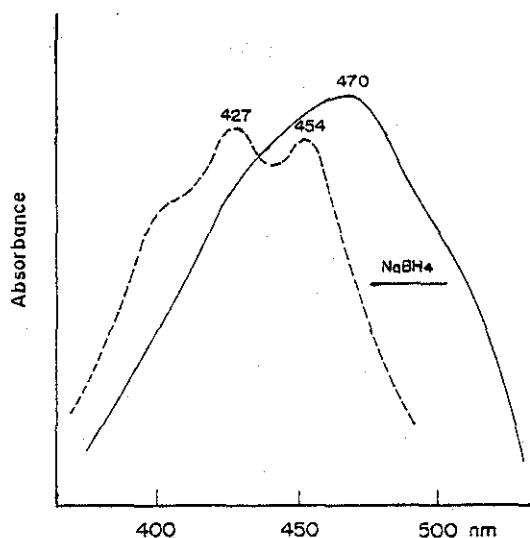


Fig. 6. The visible absorption spectra of mytiloxanthin (—) and its reduction product (---) in P. E.

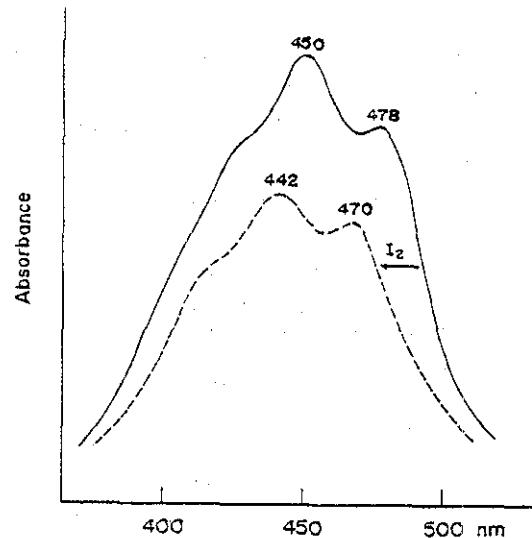


Fig. 7. The visible absorption spectra of 3, 4, 3'-trihydroxy-7, 8'-didehydro- β -carotene (—) and its I₂ isomerization product (---) in P. E.

측정결과, 흡수극대치가 450, 478nm (in p. e.), 460, 489.5nm (in chloroform), 462, 492nm (in benzene) 및 451, 479nm (in ethanol)로서 β -carotene type의 흡수 spectrum을 나타내어 표품 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene과 일치하였으며, Fig. 7에서 처럼 I₂에 의한 이성화반응결과 흡수극대치가 442, 470nm (in p. e.)으로 88nm blue shigt 하였다. 그리고 표품과의 co-TLC, co-column chromatography에 의하여 단일점으로 나타나 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene으로 동정하였다.

Band 6, unidentified carotenoid : orange색의 band 6은 가시부 흡수 spectrum의 측정결과, 흡수극대치가 448.5nm (in p. e.)으로서 keto carotenoid 특유의

single band로 나타났으나 양의 제약때문에 더이상의 동정이 불가능하였다.

Carotenoid의 조성

홍합과 진주담치 근육의 총 carotenoid 함량과 분리, 확인된 carotenoid의 조성비는 Table 2와 같다.

홍합 근육의 총 carotenoid 함량은 수컷이 0.4mg%로서 암컷의 2.7mg%에 비해 훨씬 낮은 함량치를 보였다.

홍합 근육의 주 carotenoid 성분은 수컷이 3, 4, 3'-trihydroxy-7, 8'-didehydro- β -carotene 26.3%, pectenoxanthin 24.8% 및 mytiloxanthin 23.4%였고,

Table 2. Amount and percentage composition of individual carotenoids in the muscle of mussel and blue mussel
(% in total carotenoid)

	Mussel		Blue mussel	
	Male	Female	Male	Female
Total carotenoids (in 100g of muscle)	0.4mg	2.7mg	1.1mg	3.2mg
Pectenolone	14.0	9.9	9.7	8.7
Diatoxanthin	5.1	6.1	18.1	5.0
Pectenoxanthin	24.8	22.8	28.4	44.7
Mytiloxanthin	23.4	33.4	33.8	35.6
3, 4, 3'-trihydroxy-7, 8'-didehydro- β -carotene	26.3	22.5	5.5	3.1
Unidentified carotenoid	6.4	5.3	4.4	2.9

그의 pectenolone 14.0% 및 diatoxanthin 5.1% 순으로 함유되어 있으며, 암컷은 mytiloxanthin 33.4%, pectenoxanthin 22.8% 및 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene 22.5%였고, 그의 pectenolone 9.9% 및 diatoxanthin 6.1%의 순으로 함유되어 있어서 서로 유사하였다.

진주담치 근육의 총 carotenoid 함량은 홍합에서 처럼 수컷이 1.1mg%로서 암컷의 3.2mg%에 비해 훨씬 낮은 함량치를 보였으며, 홍합근육의 총 carotenoid 함량에 비하여 진주담치는 수컷과 암컷이 모두 다소 높은 함량치를 보였다.

진주담치 근육의 주 carotenoid 성분은 수컷이 mytiloxanthin 33.8%, pectenoxanthin 28.4%였고, 그의 diatoxanthin 18.1%, pectenolone 9.7% 및 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene 5.5% 순으로 함유되어 있으며, 암컷은 pectenoxanthin 44.7%, mytiloxanthin 35.6%였고, 그의 pectenolone 8.7%, diatoxanthin 5.0% 및 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene 3.1%의 순으로 함유되어 서로 유사하였으며, 홍합근육의 carotenoid 조성과도 유사하였다. 그러나 진주담치와 홍합근육 carotenoid는 diatoxanthin과 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene의 함량에서 상당한 차이를 보여 특이하였다.

이러한 결과를 Matsuno와 Maoka⁸⁾가 홍합 근육의 주 carotenoid 성분은 pectenoxanthin 31.0%, mytiloxanthin 27.5% 및 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene 22.4%였고, 그의 diatoxanthin 13.8% 및 pectenolone 1.2%의 순으로 함유되어 있다고 한 보고와 비교하면 다소의 함량차이는 있으나 조성은 일치하였다.

한편, Campbell⁶⁾이 진주담치와 담치의 일종인 *Mytilus californianus*에는 alloxanthin과 mytiloxanthin⁹⁾ 주성분을 이루고, 그의 β -carotene, pectenoxanthin ester, lutein like xanthophyll, zeaxanthin, diatoxanthin, mutatoxanthin 및 tetrahydroxy xanthophyll이 함유되어 있다고 한 보고와 비교하면 상당한 차이가 있었고, 이 외 김⁷⁾이 진주담치에는 β -carotene, lutein, zeaxanthin 및 astacene 등이 함유되어 있다고 한 보고와도 차이가 있었다.

또한, Shimizu 등^{1~3)}이 반지락의 근육과 내장에는 β -carotene, zeaxanthin 및 flavoxanthin을 함유하고, 백합, 가막조개, 피조개 및 국자가리비에는 lutein과

β -carotene이 주성분으로 함유되어 있다고 한 보고와 비교하면 상당한 차이가 있었다.

요 약

홍합과 진주담치 근육의 carotenoid를 TLC, column chromatography로 분리하고, NaBH₄에 의한 환원반응, I₂에 의한 이성화반응 및 UV-visible spectrophotometer로 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다. 홍합 근육의 총 carotenoid 함량은 수컷이 0.4mg%, 암컷은 2.7mg%이며, 주 carotenoid는 수컷이 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene 26.3%, pectenoxanthin 24.8% 및 mytiloxanthin 23.4%였고, 그의 pectenolone 14.0%, diatoxanthin 5.1%의 순으로 함유하며, 암컷은 mytiloxanthin 33.4%, pectenoxanthin 22.8% 및 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene 22.5%였고, 그의 pectenolone 9.9%, diatoxanthin 6.1%의 순으로 함유하여 서로 유사하였다. 진주담치 근육의 총 carotenoid 함량은 수컷이 1.1mg%, 암컷은 3.2mg%이며, 주 carotenoid는 수컷이 mytiloxanthin 33.8%, pectenoxanthin 28.4%였고, 그의 diatoxanthin 18.1%, pectenolone 9.7%, 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene 5.5%의 순으로 함유하며, 암컷은 pectenoxanthin 44.7% 및 mytiloxanthin 35.6%였고, 그의 pectenolone 8.7%, diatoxanthin 5.0% 및 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene 3.1%의 순으로 함유하여 서로 유사하였다. 그러나 홍합과 진주담치의 근육 carotenoid는 암컷이 수컷보다 총 carotenoid 함량이 높은 함량치를 보였고, diatoxanthin과 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene의 함량에서 차이를 보였다.

문 헌

- Shimizu, T. and Uchida, K. : Carotenoids in bivalves I. Carotenoids in short-neck clam. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 34, 154 (1968)
- Shimizu, T. and Reiko : Carotenoids in bivalves II. Carotenoids in hard clam. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 34, 159 (1968)
- Shimizu, T. and Ohta, Y. : Carotenoids in bivalves III. Carotenoids in corb shell. *Bull. Japan Soc. Sci.*

- Fish.*, 34, 210(1968)
4. Shimizu, T. and Narahara, T. : Carotenoids in bivalves IV. Carotenoids in ark-shell. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 34, 503(1968)
 5. Shimizu, T. and Oda, A. : Carotenoids in bivalves V. Carotenoids in pecten. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 34, 627(1968)
 6. Campbell, S. A. : The carotenoid pigments of *Mytilus edulis* and *Mytilus californianus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 32, 97(1970)
 7. 이강호, 김종배 : 어패류의 색소에 관한 연구 1. 전주담치의 carotenoid. *부산수대연보*, 11, 57(1971)
 8. Matsuno, T. and Maoka, T. : Isolation of a new carotenoid, 3, 4, 3'-trihydroxy-didehydro- β -carotene from sea mussels. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 47, 377(1987)
 9. Matsuno, T. and Maoka, T. : Isolation of diatoxanthin, pectenoxanthin, pectenolone, and a new carotenoid, 3, 4, 3'-trihydroxy-7', 8'-didehydro- β -carotene from arkshell and related three species of bivalves. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 47, 495(1981)
 10. 안승효 : 전복내장의 carotenoid에 관한 연구. *한국농화학회지*, 257(1974)
 11. McBeth, J. W. : Carotenoid from nudibranchs. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41, 55(1972)
 12. Kuhn, R. and Roth, H. : Mikrobestimmung von acetyl-, benzoyl and C-methylgruppen. *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 66, 1274(1933)
 13. Liaaen-Jenson, J. and Hertzberg, S. : Selective preparation of the lutein mono-methyl ethers. *Acta Chem. Scand.*, 20, 1703(1966)
 14. Zechmeister, L., Lerozon, A. L., Schroeder, W. A., Polgar, A. and Pauling, L. : Spectral characteristics and configuration of some stereoisomeric carotenoids including prolycopene and pro- γ -carotene. *J. Am. Chem. Soc.*, 65, 1940(1943)
 15. 朴孝三 : 植物色素. 養賢堂. 東京. p. 221(1980)

(1991년 1월 29일 접수)