

참죽나무잎의 조리시 quercitrin의 함량 변화

박종철 · 전순실* · 김성환**

순천대학교 한약자원학과, *식품영양학과, **경북보건환경연구원

Changes on the Quercitrin Content in the Preparation for the Leaves of *Cedrela sinensis*

Jong Cheol Park, Soon Sil Chun* and Sung Hwan Kim**

Department of Oriental Medicine Resources, Sunchon National University

*Department of Food and Nutrition, Sunchon National University

**Kyeongbuk Institute of Health and Environment

Abstract

When we prepared the cooked namul, bugak and kimchi by the leaves of *Cedrela sinensis*, the changes of quercitrin which was isolated from the leaves of this plant in each preparations were analysed by HPLC. Separation by reversed phase chromatography on u-Bondapak C₁₈ column was achieved by isocratic elution with THF-dioxane-MeOH-HOAc-5% H₃PO₄-H₂O (145:125:50:20:2:658). When Kimchi was stored at 5°C for 20 days, the content of quercitrin in the methanol extract of Kimchi was 7.21% and Kimchi at 20°C was reduced by 5.78% (w/w). Contents of quercitrin in the leaves of *Cedrela sinensis* kimchi obsered to be gradually decreased during storage at 5°C and 20°C. Contents of quercitrin of stored kimchi at 5°C was higher than that stored at 20°C. The contents of quercitrin in Namul and Bugak were 13.06 and 5.03% (w/w), respectively, which were lower than control.

I. 서 론

참죽나무(*Cedrela sinensis* A.Juss.)는 멸구슬나무과에 속하는 식물로서 이의 순을 "참죽"이라 하는데 대나무처럼 순을 먹는다고하여 붙여진 이름이며, 일명 가죽나무로 불리우기도 한다. 이른 봄에 참죽나무 순이 돌아날 때는 붉은 색을 나타내므로 매우 아름다우며 맛, 향, 색이 조화를 이루는 산채이며 데쳐서 무친 참죽나물은 봄의 맛있는 미각으로 손꼽는다. 한편 이 식물 잎은 장염, 이질, 개섰 등의 치료, 열매는 관절통, 뿌리껍질은 변혈, 대하 등에 약용하기도 한다^{1,2)}.

Flavonoid 화합물은 항virus, 항혈액응고 및 급성간염억제, 고혈압 및 당뇨병성 백내장 등의 예방, angiotensin-converting enzyme activity 억제, 이뇨, 사하, 모세혈관투과성 억제, 항산화, 항염, 진경, 혈압강하, 살충작용 등³⁻¹¹⁾의 활성이 알려져 있는 생물활성물질이다. 그러나 산채류를 가공 및 가열 조리한 식품에서 생물활성물질 변화에 대한 연구는 부족한 실정이다. 현재의 연구로서는 참죽나무의 종자성분연구¹⁰⁾, 무기성분¹¹⁾, 참죽나무잎에서 flavonoid성분의 분리¹²⁾, 가죽

김치 저장중의 화학성분의 변화¹³⁾에 대한 보고가 있을 뿐이다. 참죽나무 잎에는 독특한 풍미와 맛이 있어 봄의 산나물로 이용되고 있으나, 나물, 부각, 김치 등으로 조리하였을때 2차대사산물인 flavonoid 등의 생물활성물질의 변화에 관한 연구는 찾아볼 수 없다.

따라서 본 연구에서는 야생산채류를 이용한 한국전통요리의 식품학적인 평가와 저장성을 부여하기 위한 목적으로 참죽김치, 나물, 부각으로 조리했을 때의 flavonoid화합물인 quercitrin의 변화를 분석하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

참죽나무 잎은 1993년 5월 10일 전남 승주군 서면에서 신선한 재료를 채집하여 조리에 이용하였으며, flavonoid 분석을 위해서는 음건, 세절하여 사용하였다. 실험에 사용한 참죽나무 잎은 순천대 한약자원학과 표본실에 보관중이다.

2. 참죽나무 잎의 조리 방법

(1) 김치

참죽나무의 잎을 채취하여 가식부를 잘 다듬은 다음 흐르는 물로 3회 수세하여 5% 소금물에 3시간 침지시킨 후 다시 2회 수세하였다. 30분간 물빼기를 한 후에 참죽나무 잎 300 g에 대하여 젓갈 5%, 고추가루 3%, 마늘 2%, 생강 1%를 넣어 혼합한 다음 5°C 및 20°C에서 발효시키면서 1, 6, 10, 20일 간격으로 참죽나무 잎의 flavonoid 성분인 quercitrin의 함량변화를 분석하였다.

(2) 나물

참죽나무 잎을 3회 수세하여 시료의 4배정도 증류수를 넣고 물이 끓기 시작한 10초 후에 시료 300 g을 넣고 3분 데쳐서 2회 수세한 후 30분간 물빼기를 하였다. 데친 시료에 된장 30 g, 고추가루 10 g, 다진파 5 g, 마늘 5 g을 넣고 무친 후 사용하였다.

(3) 부각

참죽나무 잎 1 kg을 잘 다듬어 3회 수세하고 끓는 물에 1분간 데친 후, 2회 수세한 다음 건져서 물기를 없앤다. 참쌀풀은 4컵, 고추장 70 g, 들깨가루 35 g을 넣고 고루 섞어서, 참죽나무 잎을 놓은 후 붓으로 고루 발라 햇볕에 바삭 말려서 180°C의 기름에 튀겨 시료로 사용하였다.

3. Quercitrin 함량분석

(1) 시약 및 기기

HPLC 분석기기는 Waters Associate의 분석용 Liquid chromatograph로서 Model 440 detector 및 M730 data module이 부착된 것을, column은 Waters의 u-Bondapak C₁₈(3.9 mm × 300 mm)을 사용하였다. 내부 표준물질로 사용한 leuteolin¹⁴⁾은 고들빼기에서 분리한 것을 사용하였다.

화학구조 분석용 기기는 Gallen Kamp Melting Point Apparatus, Bomen MB 100-C15 FT-IR spectrophotometer, CE 599 Universal automatic scanning spectrophotometer, Brucker AM-200 spectrometer를 이용하였으며 column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(Merck Art. 7729), thin layer chromatography용 precoated plates는 Kiesel gel 60 F₂₅₄(Merck Art. 5735)을 사용하였다.

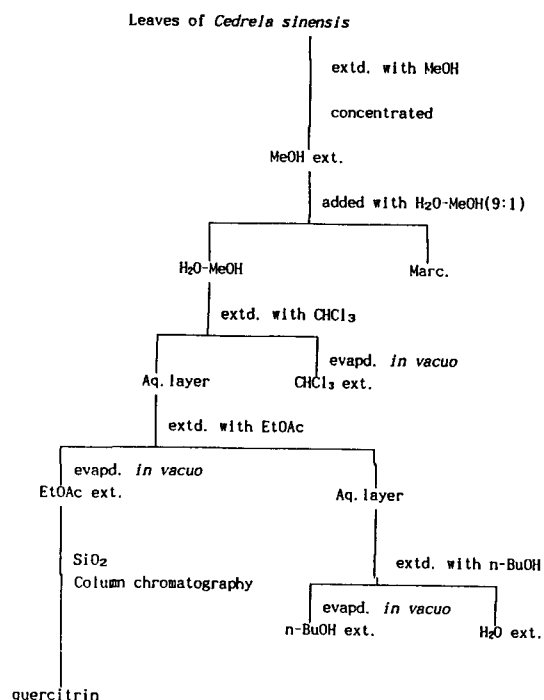
(2) 추출, 분획 및 flavonoid 화합물의 분리

신선한 참죽나무 잎(2.5 kg)을 채집한 후 조리법을 위한 시료로 사용하였으며 그 중 일부(470 g)를 음건 후 세절하여 수욕상에서 환류냉각하면서 MeOH로 3회 추출하였다. 이 추출액을 감압하에서 용매를 유기하여서 얻은 MeOH엑스를 10% MeOH에 현탁시킨 후

Scheme 1과 같이 계통 분획을 실시하여 CHCl₃, EtOAc, n-BuOH 및 수층으로 분획하였다. 이 중 EtOAc 분획을 silica gel column chromatography를 행하여 CHCl₃-MeOH-H₂O(65:35:10, 하층)의 용매로 용출하여 quercitrin(Fig. 1)을 분리하였으며, 이 flavonoid 성분을 HPLC의 표준물질로 사용하였다.

(3) HPLC 분석조건

이동상으로는 THF-dioxane-MeOH-HOAc-5% H₃PO₄-H₂O(145:125:50:20:2:658)를 사용해서 isocratic elution 시켰다. 분석은 실온에서 실시하였으며 용매의 유속은 1.2 ml/min, UV detector는 365 nm를 사용하였고 감



Scheme 1. Isolation of quercitrin from *Cedrela sinensis*.

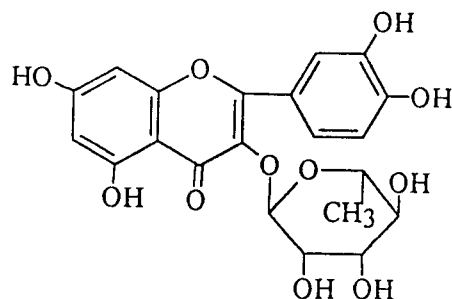


Fig. 1. Structure of quercitrin isolated from *Cedrela sinensis*.

도는 0.1 AUs, chart speed는 0.25 cm/min으로 하였다.

(4) 표준검량선의 작성

표준검량선은 내부표준물질로서 luteolin 14 mg을 정평하여 MeOH 10 ml에 용해시켜 1400 ug/ml의 표준액을 조제하였다. quercitrin은 20 mg으로 정평하여 MeOH 10 ml에 용해 시킨용액을 stock solution으로 해서 이를 일정량씩 취한 후 각각에 MeOH를 가해 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mg/ml가 되게 조제하였다. Quercitrin 및 내부표준물질을 각각 1:1로 혼합하여 얻은액 5 μ l를 취하여 HPLC를 실시 chromatogram을 얻고 이로부터 평균 area ratio를 구하였다. Quercitrin 검량선의 회귀직선 방정식은 $Y=0.2561X + 0.0073$ 이며 상관계수가 0.9998로서 1.0에 접근하므로 표준 물질과 내부표준물질의 중량비와 peak area ratio간에 직선성이 인정되었다.

(5) 조리시 MeOH엑스중 quercitrin의 정량

조리한 김치, 나물, 부각을 충분히 건조한 후 MeOH로 추출하였다. 즉 건조한 각 재료들의 MeOH 엑스 100 mg을 정평한 후 MeOH에 녹여 total volume을 10 ml로 한 액을 검액으로 사용하였다. 검액, 내부

표준액을 1:1로 혼합한 후 혼합액 5 μ g를 취하여 HPLC로부터 area ratio값을 구하였다.

(6) Quercitrin의 분광학적 특성

Fig. 2, 3, 4는 IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 의 spectrum를 나타낸 것이다.

mp: 244-246°C

KBr

IR ν_{\max} cm^{-1} ; 3360(br, OH), 1638(α , β -unsaturated C=O), 1611, 1538, 1495(aromatic C=C), 1075(glycosidic C-O).

UV λ_{\max} , nm; (MeOH): 272, 335; (NaOMe): 276, 396; (AlCl_3): 276, 433; (AlCl_3+HCl): 275, 355, 395; (NaOAc): 277, 330, 366, 380 ;($\text{NaOAc}+\text{H}_3\text{BO}_3$): 277, 271, 366, 378.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ 12.5(1 H, s, C5-OH), 7.28(1 H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 7.25(1 H, dd, $J=8.2$ & 2.0 Hz, H-6'), 6.85(1 H, d, $J=8.2$ Hz, H-5'), 6.39(1 H, d, $J=1.9$ Hz, H-8), 6.19(1 H, d, $J=1.9$ Hz, H-6), 5.25(1 H, d, $J=1.4$ Hz, H-1''), 0.82(3 H, d, $J=5.5$ Hz, Rha- CH_3).

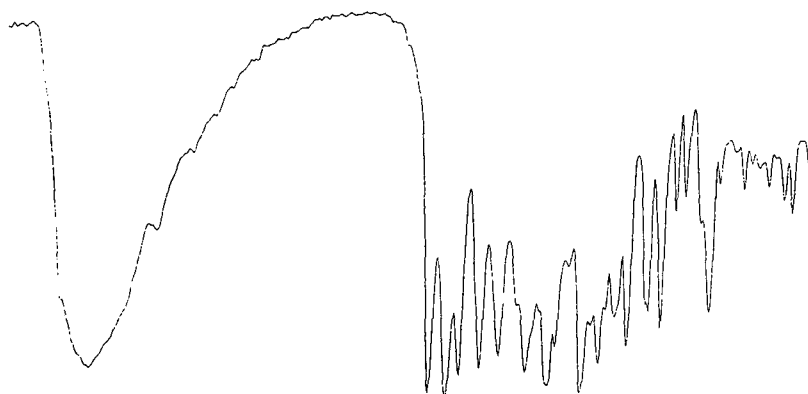


Fig. 2. IR spectrum of quercitrin.

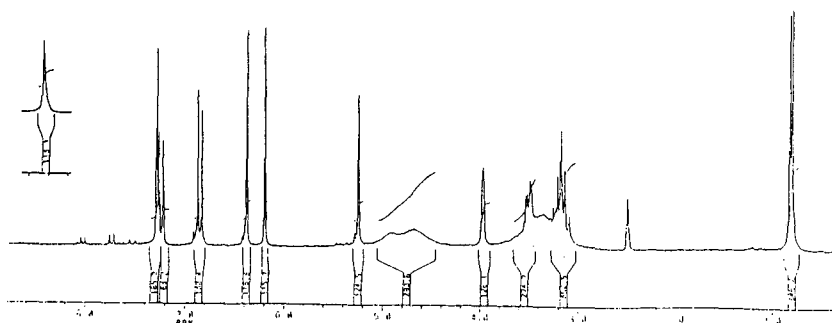


Fig. 3. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of quercitrin.

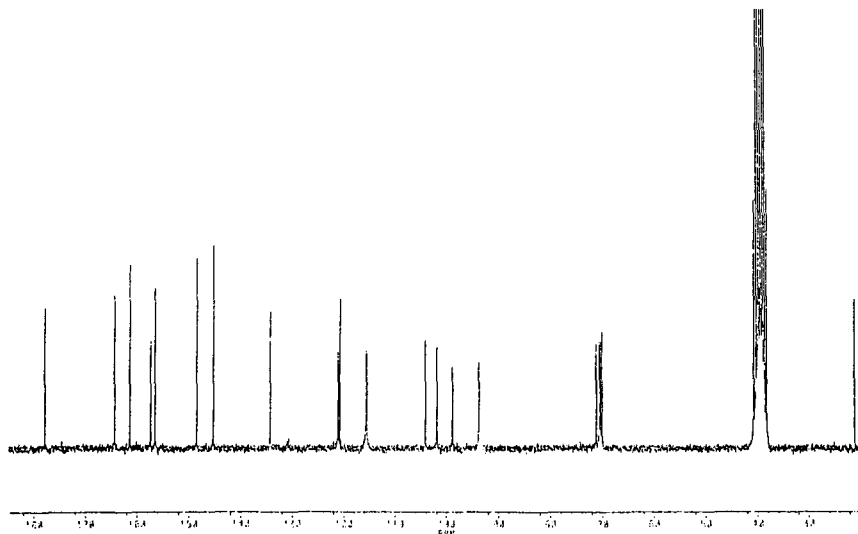


Fig. 4. ^{13}C -NMR spectrum of quercitrin.

^{13}C -NMR(DMSO- d_6 , 50.4 MHz) δ 177.6(C-4), 164.3(C-7), 161.3(C-5), 157.3(C-2), 156.5(C-9), 148.5(C-4'), 145.3(C-3'), 134.1(C-3), 121.2(C-6'), 120.6(C-1'), 115.8(C-2' & C-5'), 104.2(C-10), 101.8(C-1''), 98.6(C-6), 93.5(C-8), 71.2(C-4''), 70.6(C-5''), 70.4(C-3''), 70.1(C-2''), 17.4(C-6'').

(7) Quercitrin의 산 가수분해

참죽나무 잎에서 분리한 quercitrin(50 mg)을 5% H_2SO_4 로 수욕상에서 환류냉각하면서 4시간동안 가열하여 가수분해 한 후 냉각, EtOAc로 추출하였다. 추출액을 농축, MeOH로 재결정하여 황색 침상결정을 얻어 표준품과의 대조(UV, IR, ^1H -NMR)에 의해 quercetin으로 동정하였다. 수층은 BaCO_3 로 중화한 후 여과농축하여 TLC(precoated cellulose, pyridine-EtOAc-HOAc- H_2O =36:36:7:21)에서 L-rhamnose임을 확인하였다.

III. 실험 결과 및 고찰

참죽나무잎의 EtOAc 분획에서 silica gel column chromatography로 분리한 quercitrin의 화학구조분석은 다음과 같다. 즉 ^1H -NMR spectrum에서 meta coupling을 하고 있는 두 aromatic proton의 signal [δ 6.39(1H, d, $J=1.9$ Hz, H-8), δ 6.19(1H, d, $J=1.9$ Hz, H-6)]과 서로 meta, ortho coupling을 하고 있는 aromatic proton 유래의 signal [δ 7.25(1H, d, $J=8.2$ & 2.0 Hz, H-6'), δ 7.28(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), δ 6.85(1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5')] 외에, 당의 rhamnose의 methyl기에 기인

하는 것으로 추정되는 signal [δ 0.82(3H, d, $J=5.5$ Hz, Rha-CH $_3$)] 그리고 당의 anomeric proton [δ 5.25(1H, d, $J=1.4$)]이 관측되었다. 그리고 ^{13}C -NMR spectrum에서 quercetin 및 L-rhamnopyranose 유래의 signal [δ 101.8(C-1''), 70.1(C-2''), 70.4(C-3''), 71.2(C-4''), 70.6(C-5''), 17.4(C-6'')]이 관측되므로, 이상의 data로부터 flavonoid 화합물은 quercetin rhamnoside로 추정되었다. 한편 이 화합물은 UV spectrum에서 MeOH 용매로 측정하였을 경우¹⁵⁾ band I이 335 nm에서 관측되어 C-3위치에 free hydroxyl group 존재함을 알 수 있고, NaOAc 용매중에서 측정하였을 경우 MeOH 용매와 비교에서 band I이 5 nm 장파장 이동으로 C-7위치에 free hydroxyl group 존재를 알 수 있으며, 또한 ^{13}C -NMR data의 결과와 함께 당의 결합위치를 고려할 때 quercetin의 C-3위치에 L-rhamnopyranose가 결합하고 있는 화합물로 추정하였다. 당 부분은 이 화합물의 산 가수분해시 생성되는 rhamnose를 표준품과의 TLC 비교에 의해 확인하였다. 당의 결합위치는 여러 shift reagent에 의한 UV spectra 검토¹⁵⁾에서 flavonol의 C-3위치에 당이 결합되어 있음을 알 수 있으며, 이들 화합물들의 ^{13}C -NMR data 분석에서도 이러한 사실을 뒷받침하여 주고 있다. 그러므로 이 화합물은 이들의 ^1H -NMR 및 ^{13}C -NMR spectrum을 종합하여 볼 때 quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranoside(quercitrin)으로 결정하였으며, 문헌치¹⁶⁾의 ^{13}C -NMR data와도 잘 일치하였다.

전조한 참죽나무 잎을 MeOH로 추출해서 얻은 참죽나무 엑스를 u-Bondapak C_{18} 을 사용하여 여러가지 용

매를 사용해서 HPLC를 실시한 분리능 검토시 THF-dioxane-MeOH-HOAc-5% H_3PO_4 - H_2O 의 혼합용매를 사용하여 isocratic elution할 때 가장 좋은 결과를 얻었다. 내부표준물질은 화합물들을 동일 조건에서의 luteolin이 적합하였으며, 표준점량선은 상관계수가 0.9998로서 1.0에 접근하므로 직선성이 인정되었다.

김치, 나물, 부각을 각각 MeOH로 추출하였으며, 각 MeOH 엑스중의 quercitrin 함량은 HPLC로 분석하였다(Table 1, 2). 즉, 참죽나무 잎으로 김치를 제조하여 5°C에 저장한 참죽김치중의 quercitrin 함량은 생시료는 15.56%, 1일째 13.06%, 6일째는 10.99%, 10일째는 11.49%, 20일째는 7.21%로서 저장 일수가 길어짐에 따라 점점 감소하는 경향을 나타내었다. 참죽 김치를 20°C에 저장하였을때도 저장 1일째 15.33%, 6일째 10.83%, 10일째 9.85%, 20일째 5.78%로서 역시 저장 일수가 길어짐에 따라 점차 감소하였다. 저장 온도에 따라서는 큰 변화를 관측할 수 없으나 대체적으로 저장 1일을 제외하고는 20°C보다는 5°C에서 저장한 김치가 생물활성물질인 quercitrin를 다소 많이 함유하고 있으며, 20°C에서 20일 저장한 김치중의 quercitrin 함량이 가장 적음을 알 수 있었다. Quercitrin의 화학구조는 비당체인 quercetin의 C-3 위치에 L-rhamnose의 당이 결합한 구조를 가지고 있다. 김치 저장기간이 길어짐에 따라 C-3위치에 결합한 당이 개열되어 flavonoid 배당체인 quercitrin이 비당체인 quercetin으로 변화되는 것으로 추정된다. 참죽나무 잎을 재료로하여 나물, 부각으로 조리하였을 경우 quercitrin의 함량은 Table 2와 같다. 나물의 경우 quercitrin의 함량은 13.06%, 부

각은 5.03%이었다. 나물은 quercitrin이 16.06% 감소하였고, 부각은 생시료에 비해 quercitrin 함량이 67.67%가 감소하였다. 이 경우 180°C에서 조리했기 때문에 quercitrin 화합물의 배당체 결합이 개열된 것으로 사료된다. 즉 quercetin의 C-3 위치에 L-rhamnose의 당이 결합하여 배당체를 형성하여 있다가 튀김으로 조리할 경우, 180°C의 고온에서 당의 결합이 개열되어 배당체인 quercitrin이 quercetin으로 변화되는 것으로 추정된다.

IV. 요 약

참죽나무(*Cedrela sinensis* A.Juss) 잎을 재료로 하여, 김치, 나물, 부각 등의 조리하였을 때 이 식물의 flavonoid 화합물인 quercitrin의 함량 변화를 HPLC에 의한 용매계 THF-dioxane-MeOH-HOAc-5% H_3PO_4 - H_2O (145:125:50:20:2:658)에서 분석하였다. 참죽김치를 5°C에서 저장하였을 때의 quercitrin 함량은 1일째 13.06%, 6일째는 10.99%, 10일째는 11.49%, 20일째는 7.21%이며, 김치를 20°C에 저장하였을 시는 저장 1일째 15.33%, 6일째 10.83%, 10일째 9.85%, 20일째 5.78% 함유하고 있다. 나물의 경우 주성분인 quercitrin의 함량은 13.06%, 부각은 5.03%이었다. 따라서 김치의 경우 저장 일수가 길어짐에 따라 quercitrin함량은 감소하는 경향을 나타내며, 나물의 경우에는 quercitrin함량의 큰 변화를 볼 수 없고, 부각으로 조리한 경우 quercitrin의 함량은 급격히 감소하였다.

참고문헌

1. 최영전: 산나물 재배와 이용법. 오성출판사, 서울 p. 206 (1992).
2. 강소신의학원, 중약대사전. 소학관, 동경, p.3717 (1985).
3. Veckenstedt, A. and Horn, M., Testing of antiviral compounds against. Mengo virus infection of Mice. A 2-step procedure of in vivo screening. *Z. Allg. Mikrobiol.*, **16**: 7 (1976).
4. Hladovec, J., Antithrombotic effects of some flavonoid alone and combined with acetylsalicylic acid. *Arzneim. Forsch.*, **27**: 989 (1977).
5. Swallow, D.L., Antiviral agent. In "Progress in Drug Research". (ed7. E. Jucker) Birkhauser Verlag Basel und Stuttgart, **22**: 312 (1978).
6. Kameda, K., Takeshi, T., Okuda, H. and Kimura, Y., Inhibitory Effects of various Flavonoids Isolated from Leaves of Persimmon on Angiotensin-converting Enzyme Activity. *J. Natural Products*, **4**: 680 (1987).

Table 1. Changes in the contents (% w/w) of quercitrin of the leaves of *Cedrela sinensis* kimchi during storage

Storage time (day)	Storage Temperature	
	5°C	20°C
control	15.56	15.56
1	13.06	15.33
6	10.99	10.83
10	11.49	9.85
20	7.21	5.78

Table 2. Quercitrin contents (% w/w) for the preparations of the leaves of *Cedrela sinensis*

cooking condition	contents
control	15.56
Namul	13.06
Bugak	5.03

7. Toshimitsu, H., Kazuko, S., Kawasaki, M., Munehisa, A., Shimizu, M. and Morita, N., Inhibition of Cow's Milk Xantine Oxidase by Flavonoids. *J. Natural Products*, **51**: 345 (1988).
8. Kim, C.J., Su, S.k., Joo, J.H. and Cho, S.K., Pharmacological Activities of Flavonoids(II)-Relationships of Anti-inflammatory and Antigranulomatous Actions. *Yakhak Hoeji*, **34**: 407 (1990).
9. 柴田承二, 生理活性天然物化學. 醫齒藥出版社, 東京, p.425 (1970).
10. Mikolajczak, K.L. and Reed, D.K.: Extractives of Seeds of the Meliaceae: Effects on Spodoptera frugiperda, Acalymma vittatum and Artemia salina. *J. Chem Ecol.*, **13**: 99 (1987).
11. Lee, M.H., Cho, J.K., Kim, K.S., Kim, B.Y. and Park, K.S.: Survey on the content of calcium, copper, lead and zinc in edible herbs in Korea, *Nongsa Sihom Yongu pogo*, **25**: 69 (1983).
12. 박종철, 전순실, 양한석, 김성환: 한국산 식용식물의 화학성분 및 생리활성에 관한 연구(II), HPLC에 의한 참죽나무 잎중 flavonoid성분의 확인 및 정량, *한국영양식량학회지*, **22**(5): 581-585 (1993).
13. 임숙자: 전통채소 밀반찬의 Recipe 개발 및 저장성에 대한 연구. *한국음식문화연구원 논문집*, 103 (1992).
14. Young, H.S., Im, K.S. and Choi, J.S., The Pharmacological Study on the Plant of Ixeris spp. 2. Flavonoid and Free Amine Acid Composition of Ixeris sonchifolia. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**: 296 (1992).
15. Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B., The Systematic Identification of Flavonoids, Springer, N.Y. p.36 (1970).
16. Markham, K.R., Ternai, B., Stanley, B., Geiger, H. and Mabry, T.J., Carbon-13 NMR Studies of Flavonoid Glycosides and Their Acylated Derivatives. *Tetrahedron* **34**: 1389 (1978).