Korean Journal of Environmental Agriculture

Korean J Environ Agric. 2017;36(2):106-112. Korean
Published online 2017 June 30. https://doi.org/10.5338/KJEA.2017.36.2.19

Online ISSN: 2233-4173
Print ISSN: 1225-3537

Research Article

Open Access

저온처리가 케일(*Brassica oleracea*)잎 내 Carotenoid에 미치는 영향

황소정, 천진혁, 김선주*

충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과

Effect of Cold Stress on Carotenoids in Kale Leaves (*Brassica oleracea*)

So-Jung Hwang, Jin-Hyuk Chun and Sun-Ju Kim* (Department of Bio-Environmental Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea)

Received: 17 June 2017 / Revised: 21 June 2017 / Accepted: 23 June 2017

ORCID
Sun-Ju Kim
http://orcid.org/0000-0003-4872-9637

Abstract

BACKGROUND: Kale (*Brassica oleracea*) biosynthesizes various phytochemicals including glucosinolates, flavonoids, and carotenoids. Phytochemicals of plants are influenced by light, temperature, carbon dioxide, and growing conditions. Specifically, carotenoids are affected by temperature, light, and oxygen. The aim of this study was to investigate the effect of cold stress (day/night: 25℃/20℃, 20℃/15℃, 15℃/10℃) on carotenoids in kale leaves.
METHODS AND RESULTS: Kale was grown in pots for up to 50 days after sowing (DAS) in a greenhouse. For cold acclimation experiments, kale grown in growth chambers for 3 days and was subjected to low temperature for 4 days. The conditions maintained in the growth chambers were as follows: photoperiod, 12/12 h (day/night); light, fluorescent; and relative humidity, 60%. Carotenoid (lutein, α-carotene, zeaxanthin, β-carotene) contents were analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC). The total carotenoid content gradually increased during cold acclimation for 3 days. When kale was subjected to cold stress, the total carotenoid content was high at 25℃/20℃ treatment, but low at 15℃/10℃ treatment. The total carotenoid content of kale leaves continuously grown in greenhouse decreased from 50 to 57 DAS (1,418 and 1,160 mgkg-1 dry wt., respectively). The lutein, α-carotene, and β-carotene contents were very low and the zeaxanthin contents were very high at 15℃/10℃ treatment. When kale was subjected to cold stress, the ratio of individual to the total carotenoid contents of kale leaves was 4553% for -carotene and 210% for zeaxanthin.
CONCLUSION: The β-carotene and zeaxanthin contents in kale leaves indicate their sensitiveness toward cold stress.

Key words: Carotenoid, Cold stress, HPLC, Kale

*Corresponding author: Sun-Ju Kim
Phone: +82-42-821-6738; Fax: +82-42-821-7142;
E-mail: kimsunju@cnu.ac.kr

서 론

식물은 저온, 건조, 염스트레스와 같은 비생물적 스트레스 환경(abioic stress environment)과 병해충 및 섭식동물에 의한 피해인 생물적 스트레스 환경에 적응하여 왔다(Alonso-Blanco *et al.*, 2009). 그 중 저온 스트레스를 받은 식물의 체내에 삼투조절물질의 축적, 활성산소종의 생성, 세포막의 변성과 같은 생리적으로 불리한 변화가 일어나 식물의 발아율 저하, 잎의 시듦, 팽압 감소, 식물조직의 괴사 및 백화현상 유발 등이 일어난다(Sanghera *et al.*, 2011). 그렇지만 식물은 이러한 스트레스 환경조건(온도, 광, 수분스트레스 등)에 노출되었을 때 자신을 보호하기 위한 방어기작을 작동시켜서 다양한 식물화학물질(phytochemical)을 축적시킨다(Davies, 1995). 이 식물 화학물질은 식물체내 산화적인 손상을 막고, 인체내

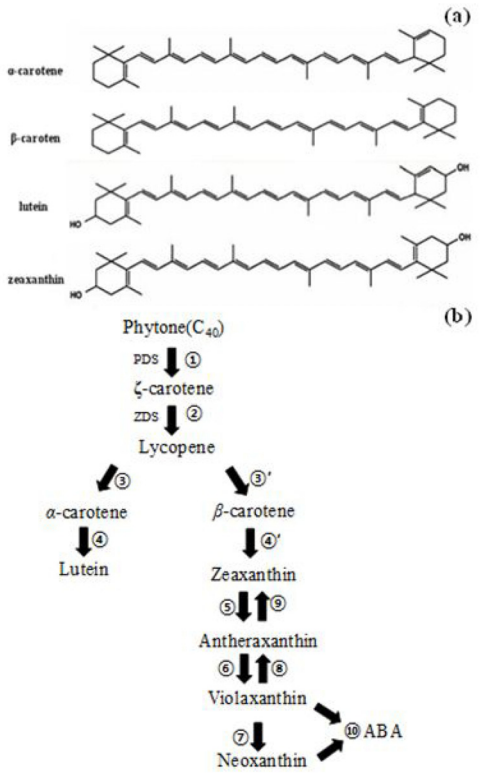

Fig. 1. Various carotenoid structure (a) and their biosynthesis pathway (b) (modified from Ha et al., 2012; Demming-Adams and Adams, 2002). PDS, phytone desaturase; ZDS, ζ-Carotene desaturase.

에서도 산화적인 손상에 의한 만성적인 질병이나 심혈관계 질병을 예방하는 역할을 한다(Stephen, 1999; Voutilainen *et al.*, 2006). 이와 같은 식물의 방어기작을 이용하여 재배하는 동안 적당한 환경스트레스를 주어 엽채류의 식물화학물질을 증대시키는 연구가 증가하고 있는 추세이다(Lee *et al.*, 2015).

일반적으로 식물체내 식물화학물질은 페놀화합물(phenolic compounds), 테르펜(terpenes), 베타레인(betalains), 유기성황(organosulfides)/황화합물질(sufur compounds), 글루코시놀레이트(glucosinolates), 기타유기산(other organic acids) 등으로 다양하다. 그 중에서 도테르펜류에 속하는 카로티노이드는 붉은색, 오렌지색, 노란색의 지용성 색소로 남세균, 사상균, 해조류, 원생동물에서 고등 동식물까지 널리 분포되어 있다. 식물체에서 카로티노이드는 잎, 꽃, 뿌리, 열매의 색소체에 존재하고, 엽록체의 보조색소로 광산화방지 역할을 한다(Chang *et al.*, 2016).

카로티노이드는 C_{40}인 소수성이 소프레노이드기본골격을 가지고 600여 종류가 알려져 있다(Fig. 1a). 카로티노이드의 생합성경로(Fig. 1b)는 식물에서 탄소 40개의 phytone은 phytone desaturase (PDS)에 의한 두단계의 불포화반응 후에 ζ-카로틴(ζ-carotene)이 생성된다(①). ζ-carotene desaturase (ZDS)에 의해 두 단계의 불포화반응이 진행된 후 라이코펜(lycopene)이 생성된다(②). 라이코펜은 비환형 카로티노이드로서 최종 물질이며, α-카로틴과 β-카로틴으로 전환된다(③). 크산토필(xanthophylls)은 이 두 종류의 카로틴물질로부터 합성되는데, α-카로틴은 두 개의 수산기가 추가되면서 루테인(lutein)으로 전환되고(④) β-카로틴은 두 단계의 수산화 반응을 거쳐 제아크산틴(zeaxanthin)으로 전환된다(④). 제아크산틴은 안테라크산틴(antheraxanthin)을 거쳐(⑤) 비올라크산틴(violaxanthin)으로 전환된 후(⑥) 네오크산틴(neoxanthin)이 생성된다(⑦). 비올라크산틴은 안테라크산틴을 거쳐(⑧) 다시 제아크산틴으로 전환될 수 있으며(⑨) 비올라크산틴과 네오크산틴은 앱시스산(abscisic acid, ABA)으로 전환된다(⑩)(Ha *et al.*, 2003; Howitt and Pogson, 2006). 카로티노이드 각 성분은 산소유무에 따라 크게 두 가지 그룹으로 분류되는데 첫 번째 그룹은 크산토필이다. 크산토필은 산소를 포함한 분자로써 루테인과제아크산틴이 있고, 두 번째 그룹은 카로틴으로 카로틴은 산화되지 않는 분자로써 α-카로틴과 라이코펜이 있다(Fig. 1a). 카로티노이드 성분을 함유한 채소를 섭취하면 면역체계의 기능을 활성화시켜 항암 및 항산화 작용을 향상시킨다(Mc Graw *et al.*, 2006). β-카로틴은 동물체 내에서 retinol (비타민 A)로 전환되므로 프로비타민 A로도 불리고, retinoid와 retinal (시각색소), retinoic acid로 생합성된다(Fraser and Bramley, 2004). α-카로틴은 비타민 A의 전구체로서 활성이 β-카로틴의 절반 수준이었기 때문에 주목을 받지 못하였으나, 최근 항암작용이 β-카로틴보다 뛰어난 것으로 알려짐으로써 각 광을 받고 있다(Krinsky and Johnson, 2005).

케일(Brassica oleacea var.acephala)은 녹황색 채소중 β-카로틴의 함량이 가장 높으며 야생양배추(B. oleracea)에 가장 가까운 채소로써 항산화활성이 매우 높은 작물로 알려져 있다(Halvorsen *et al.*, 2002). 배추과에 속하는 케일은 꽃케일, 쌈케일, 및 생즙용 케일 등 종류가 다양하며 주로 엽병이 굵고 엽장이 15 cm 이상이면 녹즙용으로 이용하는 경우가 대 부분이다. 케일은 비타민류(A, B, C), 철분, 섬유질이나 무기질(칼슘. 인, 칼륨) 그리고 β-카로틴 등 다양한 영양성분을 함유하고 있으며, 특히 카로티노이드, 글루코시놀레이트, 플라보노이드와 같은 물질을 다량 함유하고 있어 항산화, 항암 및 항염증 작용이 우수하다. 질병예방 차원으로 식물화학물질의 섭취가 중요시 되고 있는 현 시점에서 케일내 다량 함유된 이차대사산물에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 2차 대사산물인 글루코시놀레이트가 온도와 광원 및 광주기에 의해 함량의 변화가 존재하며, 케일을 포함한 배추과에서 32℃ 이상 고온에서 증가하였다(Matinez-Ballesta, 2013). 또한 15℃/9℃와 광주기가 12 h일 때, 글루코시놀레이트의 일종인 gluconasturtiin의 함량이 가장 높았으며 21℃/15℃와 광주기가 24 h일 때 glucoiberin이 약 51% 증가하고 sinigrin이 약 65% 증가하였다(Steindal *et al.*, 2014). 유전자 변형을 한 9품종의 케일중 5품종의 케일은 플라보노이드 성분 중 quercetin과 isorhamnetin은 증가하였고 kaempferol은 감소하였으며, 케일 9품 종중 'Arsis' 품종은 온도가 9.

7℃에서 0.3℃로 낮고 광량이 713 $molm^{-2}s^{-1}$에서 172 $molm^{-2}s^{-1}$로 낮을수록 총 플라보노이드 함량은 증가하였다 (Schmidt, 2010). 상기와 같이 온도와 광주기가 케일내 글루코시놀레이트와 플라보노이드 함량에 미치는 영향에 관한 다양한 실험결과들이 보고되었다. 시금치(Spinacia oleracea) 내루테인의 함량이 약 1.5배 증가했다는 결과가 있고(Lefsrud *et al.*, 2005), 고온(35℃)에서 토마토내 라이코펜의 축적이 β-카로틴으로의 전환 때문에 감소한다는 연구가 보고되었지만 (Hamazu *et al.*, 1998), 저온처리에 의한 카로티노이드 연구는 거의 찾아볼 수 없다. 따라서 본 실험에서는 저온처리가 케일내 카로티노이드에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

시약

HPLC-grade ethanol (C_2H_6OH), methanol (CH_3OH), ethyl acetate ($CH_3COOC_2H_5$)은 Fisher Scientific Korea Ltd. (Seoul, Korea)을사용하였다. Potassium hydroxide (KOH)는 DAEJUNG CHEMICALS & METALS Co., Ltd. (Shiheung, Korea)를사용하였다. Hexane (C_6H_{14})은 J.T Baker Inc. (Phillipsburg, NJ, USA)것을사용하였으며, dichloromethane (CH_2Cl_2)은 Merck-Millipore (Darmstadt, Germany)것을사용하였다.

시료 채취 및 재배 환경

아시아종묘(Asia seed Co., Ltd, Seoul, Korea)에서 구입한 '케일 TBC'를 2015년 3월 2일에 유리온실(충남대 농업생명과학대학)에 파종하였다. 파종은 플러그트레이(plug tray, 72 홀)에 원예용 상토(High, Punong, Gyeongju, Korea)를 채운 후 물을 적시고, 케일종자를 심은 다음 다시 상토로 덮어 주었다. 햇빛 차단과 수분 증발을 막기 위해 젖은 신문지로 감싸 그늘로 옮겼다. 파종 후 7일에 발아율은 95%이며, 파종 후 21일(DAS, day after sowing)에 상태가 좋은 묘를 골라 내어 흙을 채운 소형포트(15×15×19 cm)에이식하여 유리온실에 두었다. 42 DAS에 복합비료(N-P-K, 12-10-9%; 남해화학(주), 여수)를 각 2 g씩 고르게 분말하여 추비하였으며, 물은 2일 간격으로 각 포트에 300 ml씩 주었다. 50 DAS에는 온실실험구(대조구)와 식물생장기 실험구로 나누어 재배하였다. 식물생장기(SJ-503PL, SEJONG SCIENTIFIC Co., Bucheon, Korea) 내 재배환경은 광원으로 형광등(광량, 165 $molm^{-2}s^{-1}$), 광주기는 주/야 12 h/12 h, 상대습도는 60%로 동일하게 하였고, 균일한 광량조사를 위하여 식물생장기 안의 포트를 매일 시계방향으로 이동시켜 주었다. 특히 식물생장기 내 재배는 처음 3일간은 저온순화(20℃/15℃)를 시켜서 1차로 케일잎만을 수확(53 DAS) 하였고, 저온처리를 포함한 온도처리 3가지 실험구(25℃/20℃, 20℃/15℃, 15℃/10℃)를 설정해서 4일간 더 재배한 후 수확(57 DAS)하였다. 수확한 시료는 -70℃ 급속 초저온 냉동고(SFDSF 12, Samwon Freezing Engineering Co., Busan, Korea)에 보관하여 순차적으로 동결건조한 후에 막자와 막자사발을 이용하여 분말한 후 플라스틱병에 담아 보관하였다.

Carotenoid 추출

동결건조한 분말시료 500 mg을 50.0 mL-Falcon tube에 칭량하여 ethanol (5.0 mL)를 넣은 후, 항온수조(75℃)에서 5분간 추출하였다. 80% KOH (1.5 mL)를 넣고 다시 항온수조에서 10분간 추출하였다. 추출 후 미리 준비한 얼음통에 5분간 넣고 반응을 정지시킨 뒤, 초순수(2.5 mL)와 hexane (2.5 mL)을 넣어 vortex를 이용하여 진동혼합하였다. 원심분리(3,000 rpm, 3 min)하고 상층액(Hexane층)을 수거하여 농축플라스크에담았다. 물을포함한나머지잔여물은동일한과정으로 2회 더 반복추출하여 상층액을 앞의 것과 혼합한다. 수거한 각 상층액(Hexane층)은 감압농축기(40℃)로 건조할 때까지 농축하였다. 건조한 후 dichloromethane: methanol= 50:50 (v/v) 1.0 mL를 넣고 sonicator (POWERSONIC 410, Hwashin Technology Co., Incheon, Korea)에서 손으로 흔들면서 완전히 녹였다. 녹인 용액은 0.45 m hydrophilic PTFE syringe filter (직경 13mm)로 필터한 후, HPLC용 vial병에 넣어 보관하였다.

HPLC 분석

카로티노이드분석은 YMC carotenoid C30 column (250×4.6 mm I.D., particle size 3.0 μm)을 장착한 1200 series HPLC system (Agilent Technologies, CA, USA)를 사용하였다. 분석조건은 컬럼온도(column temperature) 40℃, 검출파장(detection wavelength) 454nm, 유량(flow

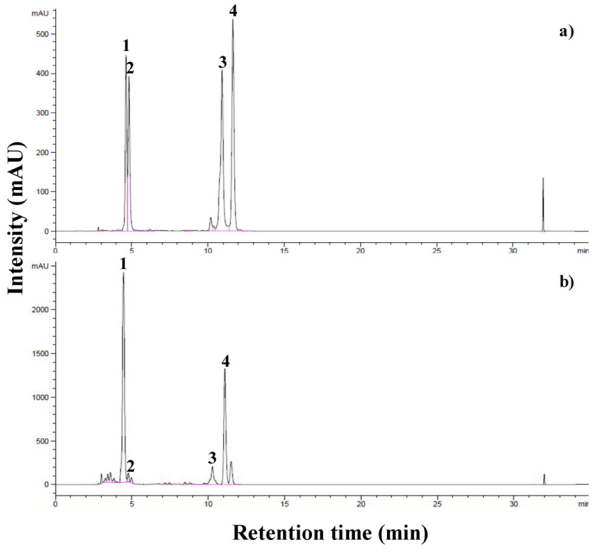

Fig. 2. HPLC chromatogram of four carotenoids at 57 DAS in kale leaves. (a), carotenoid 4 STDs; (b), under cold stress (15 C/10 C); Peak 1, lutein; 2, zeaxanthin; 3, α-carotene;4, β-carotene.

Table 1. Plant growth (n=3) of kale leaves under cold stress

	Green house		Cold acclimation (53 DAS)	Cold stress (57 DAS, day/night)		
	50 DAS	57 DAS		25℃/20℃	20℃/15℃	15℃/10℃
Leaf number	11±0.0d[a)]	15±0.6a	12±1.0cd	14±0.6abA[b)]	13±0.6bcA	13±0.6bcA
leaf length (cm)	16.2±1.3b	19.0±0.9a	17.5±0.5ab	18.3±0.6aA	17.7±0.8abA	17.7±0.3abA
leaf width (cm)	12.8±1.3b	15.3±0.8a	13.9±1.4ab	14.3±0.3abA	14.8±0.6abA	13.8±0.3abA
Fresh weight (g)	27.9±3.1d	60.0±0.8a	36.5±3.4c	44.9±5.2bA	41.3±1.7bcA	44.4±0.8bcA
Dry weight (g)	3.1±0.4d	8.6±0.7a	4.3±0.5c	5.0±0.3cB	4.9±0.4cB	6.3±0.3bA
Water content (%)	91.8±5.1a	85.7±1.2b	88.1±1.0ab	88.8±0.6abA	88.1±0.6abA	85.8±0.4abB

[a),b)]Within each column, values followed by the same small/capital letters are not significantly different at $P \leq 0.05$, using Tukey's multiple range test (n=3). Mean±standard deviation.

Table 2. Carotenoid contents (mg · kg^{-1} DW) in kale leaves

No.[a)]	RT[b)]	Trivial names	Green house		Cold acclimation (53 DAS)	Cold stress (57 DAS, day/night)		
			50 DAS	57 DAS		25℃/20℃	20℃/15℃	15℃/10℃
1	4.50	Lutein	478.0±21.6a[c)]	404.0±31.3b	462.3±13.1a	467.7±5.68aAd)	468.2±20.6aA	390.4±11.0bB
2	4.83	Zeaxanthin	27.84±0.47b	61.45±35.2b	28.45±5.87b	35.28±0.35bB	20.47±1.52bB	132.1±29.1aA
3	10.53	α-Carotene	187.0±13.4bc	152.8±18.1c	212.3±14.2ab	237.8±14.0aA	223.2±17.5abAB	189.6±15.9bcB
4	11.39	β-Carotene	725.1±23.8a	542.4±54.9b	771.6±72.0a	829.0±42.4aA	779.8±20.9aA	591.8±33.9bB
Total			**1,418.0±42.6ab**	**1,160.6±69.7c**	**1,474.6±94.6ab**	**1,569.7±54.3aA**	**1,491.7±56.7aA**	**1,303.8±69.7bcB**
Ratio		α-Carotene/Lutein	0.39±0.62bc	0.38±0.58c	0.46±1.08abc	0.51±2.47aA	0.48±0.85abA	0.49±1.44aA
		β-Carotene/Zeaxanthin	26.04±50.12abc	8.83±1.56cd	27.12±12.27ab	23.50±119.63bcB	38.10±13.77aA	4.48±1.16dC

[a)]NO., the HPLC elution order of carotenoid.
[b)]RT, retention time (min).
[c),d)]Within each column, values followed by the same small/capital letters are not significantly different at $P \leq 0.05$, using Tukey's multiple range test (n=3). Mean±standard deviation.

rate) 1.0 mL/min, 주입량(injection volume) 10 L로 설정하였다. 이동상용매는 A[water: metanol=25:75(v/v)]과 B[ethyl acetate]를 사용하였다. 용매 B는 처음은 0%로 시작하여 20분에 70%까지 증가시키고 25분에 100%로 증가시킨 후 25.1분에 0%로 급격히 감소시켜 35분까지 약 10분간 컬럼을 세척하였다(총 분석시간 35분). 각 카로티노이드 4성분(루테인, 제아크산틴, α-카로틴, β-카로틴)(Fig. 2)은 대응하는 외부 표준물질(Wako Pure Chemical Industries, Ltd. Osaka, Japan)의 HPLC 피크 면적(area)과 각 성분의 면적을 비교하여 정량화(mgkg^{-1} DW)하였다.

통계분석

'케일TBC' 시료는 3반복으로 분석하였으며, HPLC 분석결과는 Microsoft Office Excel 2010을 이용하여 함량의 평균값(average)과 표준편차(SD, standard deviation)를 구하였다. 통계프로그램은 IBM SPSS Statistics (21 version)을 사용하였고, 사후분석은 유의수준(P)을 0.05 이하로 설정하여 Tukey 방법을 사용하였다.

결과 및 고찰

케일의 생장

유리온실에서 재배한 케일의 엽수는 50 DAS에서 11장, 엽장 16.2 cm, 엽폭 12.8 cm, 생체중 27.92 g이고, 57 DAS에서 엽수는 15장, 엽장 19 cm, 엽폭 15.3 cm, 생체중 60.0 g이었다(Table 1). 유기농장에서 키운 케일의 어린 잎은 엽장 8 cm, 엽폭 4 cm이고 성숙한 잎은 엽장 16cm, 엽폭 14 cm로 본 실험에서 사용한 케일은 성체라고 할 수 있다(Cristian *et al.*, 2005). 온실에서 재배한 케일의 수분함량은 50 DAS가 91.7 %로 57 DAS (85.7 %)잎보다 높았다. 인공광원(형광등)에서 저온처리한 케일의 엽수는 평균 14장이며 처리한 온도가 높을수록 엽수가 더 많았다. 엽장은 평균 17.9 cm로 25℃/20℃ 실험구(18.3)가 가장 길었으며 나머지 두 실험구의 엽장은 큰 차이가 없었다. 엽폭은 평균 16.0 cm로 세실험구 모두 큰 차이를 보이지 않았다. 생체중은 평균 43.6 g으로 25℃/20℃ 실험구(44.9)가 높았으며 20℃/15℃와 15℃/10℃ 실험구는 큰 차이를 보이지 않았다. 수분함량은 평균 87.5 %로 유의적 차이가 없었다. 평균적으로 온실에서

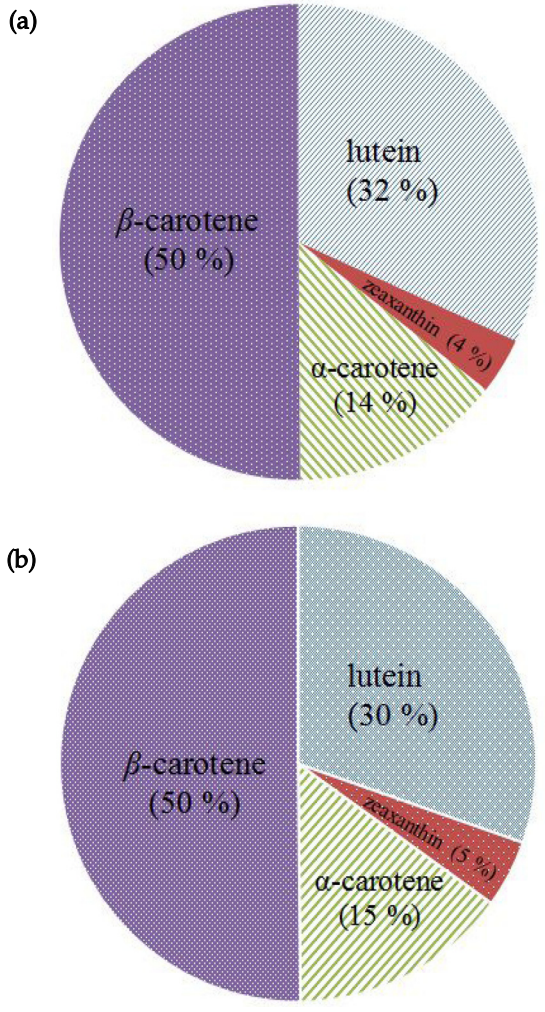

Fig. 3. The ratio (%) of individual carotenoids contents in kale leaves. (a), sum of all data; (b), only sum of the data under cold stress at 57 DAS. These data are recalculated from Table 2 or Table 3.

재배한 케일은 생육기간이 길수록 입장, 엽장, 엽폭, 생체중이 높은 경향을 보였으며, 식물생장기에서 저온처리하여 생장한 케일은 온실에서 재배한 케일보다 생육이 더 낮은 경향을 보였다. 다른 실험에서 로켓샐러드와 시금치를 저온처리했을 때 생육이 대조구보다 약 40% 낮았다(Raquel *et al.*, 2014).

저온처리에 따른 카로티노이드 함량

케일의 잎 내 총 4종류의 카로티노이드(루테인, 제아크산틴, *α*-카로틴, *β*-카로틴)가 검출되었다. 각 성분별 함량의 최솟값과 최대값의 범위는 루테인 360~478, *α*-카로틴 152~237, 제아크산틴 20~132, *β*-카로틴 542~828 $mgkg^{-1}$DW로 다른 성분과 비교했을 때 제아크산틴의 함량변화 폭이 컸다(Table 2). 총카로티노이드 함량대비 각 성분의 비율은 *β*-카로틴(50.1)>루테인(31.9)>*α*-카로틴(14.2)>제아크산틴(3.83%) 순으로 *β*-카로틴 함량의 비율이 가장 높았다(Fig. 3). 성숙도에 의한 케일의 카로티노이드 함량변화의 결과를 보면, 성숙한 케일일수록 루테인과 *β*-카로틴의 함량이 총 카로티노이드 함량에 지배적인 영향을 미친다고 보고하였다(Christian *et al.*, 2005; Rachel *et al.*, 2015). 온실에서 재배한 케일의 생장단계에 따라, 총카로티노이드 함량은 50 DAS (1,418)보다 57 DAS (1,160 $mgkg^{-1}$DW) 잎에서 약 18% 감소하였으며 유의적 차이가 있었다. 루테인과 -카로틴의 함량은 약 15%, 18% 감소하였지만, 제아크산틴은 약 2.2배 증가해 통계적 유의차는 없었다. 반면 *α*-카로틴은 약 25% 감소하여 유의적 차이를 보였다. 인공광원인 형광등 조사에 의해 재배한 케일의 잎에서, 총 카로티노이드 함량은 저온순화한 53 DAS 잎이 온실실험구인 50 DAS 잎보다 증가하였다. 그 후 다른 온도로 처리하였을 때(57 DAS) 총카로티노이드 함량은 25℃/20℃ 실험구(1,570)에서 가장 높았고 온도가 낮아질수록 감소하였다. 다른 연구에서 케일내 위의 네 가지 성분과 neoxanthin, violaxanthin, lycopene 성분도 조사한 경우도 있다(Park *et al.*, 2014). 루테인의 함량은 20℃/15℃ 실험구가 25℃/20℃ 실험구와 서로 유사했지만 15℃/10℃ 실험구보다약 1.2배 높아 집단 간의 차이는 있었으나 통계학적 유의차는 없었다. 본 실험과 유사한 연구인 인위적으로 통제된 환경에서 재배한 시금치(Spinacia oleracea)의 카로티노이드 함량은 온도가 증가할수록 루테인의 함량은 약 1.5배 증가하였다(Lefsrud *et al.*, 2005). *β*-카로틴의 함량비율은 25℃/20℃ 실험구(15.1%)에서가장높았고온도가낮아질수록감소하였으나유의적 차이는 없었다(Table 3). 제아크산틴의 함량은 15℃/10℃ 실험구가 20℃/15℃ 실험구보다 약 6.5배,

Table 3. Individual carotenoid propotions (%) of the total carotenoid content in kale leaves

No.[a)]	Trivial names	Green house		Cold acclimation	Cold stress (57 DAS, day/night)		
		50 DAS	57 DAS	(53 DAS)	25 C/20 C	20 C/15 C	15 C/10 C
1	Lutein	33.7±1.3a[b)]	34.8±0.6a	31.4±1.5ab	29.8±1.2bA[c)]	31.4±0.7abA	30.0±2.1bA
2	Zeaxanthin	1.9±0.1b	5.4±3.3b	1.9±0.3b	2.3±0.1bB	1.4±0.1bB	10.1±1.7aA
3	*α*-Carotene	13.2±0.6b	13.1±0.8b	14.4±0.8ab	15.1±0.4aA	15.0±0.6aA	14.5±0.5abA
4	*β*-Carotene	51.1±1.1a	46.7±1.9b	52.3±1.9a	52.8±0.9aA	52.3±0.7aA	45.4±1.1bB

[a)]NO., the HPLC elution order of carotenoid.
[b),c)]Within each column, values followed by the same small/capital letters are not significantly different at $P \leq 0.05$, using Tukey's multiple range test (n=3). Mean±standard deviation.

25℃/20℃ 실험구보다 약 3.7배 크게 증가하였다. β-카로틴의함량은 25℃/20℃ 실험구(829.0 mg/ kg dry wt.)에서 가장 높았고 온도가 낮아질수록 감소하였다. 다른 연구에서 시금치내 -카로틴의 함량은 20℃ 실험구가 10℃ 실험구보다 약 1.6배 증가하였다고 보고하였으며(Lefsrud *et al.*, 2005), 토마토(Lycopersicon esculentum) 내 β-카로틴의 함량은 20℃에서가장 높았으며 온도가 낮아질수록 감소하였다고 보고하였다(Krumbein *et al.*, 2006). 제아크산틴과 β-카로틴의 함량변화를 보면, β-카로틴의 함량이 감소할수록 제아크산틴의 함량은 증가하는 경향이 나타났다. 본 실험과 유사한 환경스트레스 중의 하나인 수분스트레스에 의한 완두(Pisum sativum L. cv Lincoln)의 카로티노이드를 분석한 결과, β-카로틴 함량은 대조구보다 약 1.5배 감소하였고, 제아크산틴의 함량은 약 4.8배 증가하였다(Iturbe-Ormaetxe *et al.*, 1998). 또한 토마토를 고온처리하였을 때,라이코펜이 β-카로틴으로 전환된다는 연구결과(Hamazu *et al.*, 1998)에 의해 본 연구의 제아크산틴과 β-카로틴의 함량변화는 식물체의 카로티노이드 생합성경로와 밀접한 관련이 있어 보인다. 특히 제아크산틴은 저온스트레스 환경에서 증가한 성분으로 사료된다.

Acknowledgment

This research was supported by Golden Seed Project (311022-05-5-SB020), Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Ministry of Oceans and Fisheries, Rural Development Administration and Korea Forest Service.

References

Alonso-Blanco, C., Aarts, M. G., Bentsink, L., Keurentjes, J. B., Reymond, M., Vreugdenhil, D., & Koornneef, M. (2009). What has natural variation taught us about plant development, physiology, and adaptation?. Plant Cell, 21, 1877-1896.

Amorim-carrilho, K. T., Cepeda, A., Fente, C., & Regal, P. (2014). Review of method for analysis of carotenoid. Trends in Analytical Chemistry, 56, 4973.

Chang, S. K., Alasalvar, C., & Shahidi, F.(2016). Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits. Journal of Functional Foods, 21, 113-132.

Cristian, H. A., & Rodriguez, D. B.(2005). Carotenoid composition of kale as influenced by maturity, season and minimal processing. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85, 591-597.

Davies, K. J. A. (1995). Oxidative stress: The paradox of aerobic life. Biochemical Society Symposia, 61, 1-32.

Demming-Adams, B., & Adams, W. W. (2002). Antioxidants in photosynthesis and human nutrition. Science, 298 (5601), 2149-2153.

Esteban, R., Tleta-Soriano, E., Buezo, J., Miguez, F., Becerril, J. M., & Garcia-Plazaola, J. I. (2014). Enhancement of zeaxanthin in two-steps by environmental stress induction in rocket and spinach. Food Research International, 65, 207-214.

Fraser, P. D., & Bramley, P. M. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids.Progress in Lipid Research, 43, 228-265.

Hamazu, Y., Chacin, K., & Ueda, Y. (1998) Effect of postharvest temperatureon the conversion of 14C-mevalonic acid to carotenes in tomato fruit. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 67, 549-555.

Ha, S. H., Kim, J. B., Park, J. S., Ryu, T. H., Kim, K. H., Hahn, B. S., Kim, J. B., &Kim, Y. H. (2003). Carotenoids biosynthesis and their metabolic engineering in Plants. Journal of Plant Biotechnology, 30(1), 81-85.

Ha, S. H., Jeong, Y. S., Lim, S. H., Kim, J. K., Lee, D. H., Lee, J. Y., & Kim, Y. M.(2012). Carotenoid metabolic engineering in flowering plants. Korean Journal of Horticultural Science and Technology, 30(2), 107-122.

Halvorsen, B. L., Holte, K., Myhrstad, M. C. W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S. F., Wold, A. B., Haffner, K., Baugerd, H., Andersen, L. F., Moskaug, ., Jr. Jacobs, D. R., & Blomhoff, R. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. The Journal of Nutrition, 132, 461-471.

Hong, S. P., & Hwang, J. K. (1998). Biological functions and production technology of carotenoids. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 27(6), 1297-1306.

Howitt. C. A., & Pogson B. J.(2006). Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues. Plant, Cell and Environment, 29, 435-445.

Iturbe-Ormaetxe, I., Escuredo, P. R., Arrese-Igor, C., & Becana, M.(1998). Oxidative damage in pea plants exposed to water deficit or paraquat. Plant Physiol, 116, 173-181.

Krinsky, N. I., & Elizabeth J. J. (2005). Carotenoid actions and their relation to health and disease. Molecular Aspects of Medicine, 26(6), 459-516.

Krumbein, A., Schwarz, D., & Klaring, H. P. (2006). Effects of environmental factors on carotenoid content in tomato (Lycopersicon esculentum (L.) Mill.) grown in a greenhouse. Journal of Applied Botany and Food Quality, 80, 160-164.

Lefsrud, M. G., Kopsell, D. A., Kopsell, D. E., & Curren-Celentano, J.(2005). Air temperature affects biomass and carotenoid pigment accumulation in kale and

spinach grown in a controlled environment. HortScience, 40(7), 2026-2030.

Lee, J. H., & Oh, M. M. (2015). Short-term low temperature increase phenolic antioxidant levels if kale. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 56(5), 588-596.

Martnez-Ballesta, M. C., Moreno, D. A., & Carvajal, M. (2013). The physiological importance of glucosinolates on plant response to abiotic stress in Brassica. International Journal of Molecular Sciences, 14(6), 11607-11625.

Neugart, S., Hans-Peter, K., Zietz, M., Schreiner, M., Rohn, S., Kroh, L. W., & Krumbein, A. (2012). The effect of temperature and radiation on flavonol aglycones and flavonol glycosides of kale (Brassica oleracea var. sabellica). Food Chemistry, 133, 1456-1465.

Nazia, N., Li, L., Shan, L., Khin, N. C., & Pogson, B. J. (2015). Carotenoid metabolism in plants. Molecular Plant, 8(1), 68-82.

Park, S. Y., Choi, S. R., Lim, S. H., Yeo, Y. S., Kweon, S. J., Bae, Y. S., Kim, K. W., Im, K. H., Ahn, S. K., Ha, S. H., Park, S. U., & Kim, J. K. (2014). Identification and quantification of carotenoids in paprika fruits and cabbage, kale and lettuce leaves. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 57(3), 355-358.

Sanghera, G. S., Wani, S. H., Hussain, W., & Singh, N. B.(2011). Engineering cold stress tolerance in crop plants. Current Genomics, 12, 30-43.

Schmitt, S., Zietz, M., Schreiner, M., Rohn, S., Kroh, L. W., &Krumbein, A. (2010). Genotypic and climatic influences on the concentration and composition of flavonoids in kale (Brassica oleracea var. sabellica). Food Chemistry, 119, 1293-1299.

Song, E. S., Kim, H. G., Song, Y. O., Jeon, Y. S., & Cheieh, H. S. (1993). Effect of water activity and light on the oxidation of carrot carotenoids. Korean Journal of Food Science and Technology, 25(6), 775-779.

Steindal, A. L. H., Rdven, R., Hanson, E., & Mlmann, J. (2015). Effects of photoperiod, growth temperature and cold acclimatisation on glucosinolates, sugars and fatty acids in kale. Food Chemistry, 174(1), 44-51.

Stephen, B. K. (1999). β-carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. The Jounal of Nutrition. 129, 5-8.

Velasco, P., Francisco, M., Moreno, D. A., Ferreres, F., Garca-Viguera, C., & Cartea, M. E. (2011). Phytochemical fingerprinting of vegetable Brassica oleracea and Brassica napus by simultaneous identification of glucosinolates and phenolics. Phytochemical Analusis, 22(2), 144-152.

Voutilainen, S., Nurmi, T., Mursu, J., & Rissanen, T. H.(2006). Carotenoids and cardiovascular health. The American Journal of Clinical Nutrition, 83, 1265-1271.

Walsh, R. P., Bartlett, H., & Eperjesi, F. (2015). Variation in carotenoid content of kale and other vegetables: A review of pre- and post-harvest effects. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63, 9677-9682.