한국농화학회지 : Vol. 24, No. 2, June, 1981
J. Korean Agricultural Society

김치 熟成中의 비타민 C 含量의 消長 및 Galacturonic Acid의 添加 効果

李 泰 寧·李 貞 遠*
서울대학교 사범대학 화학교육과, 충남대학교 이과대학 가정교육과*
(1981년 6월 15일 수리)

The Change of Vitamin C Content and the Effect of Galacturonic Acid Addition during *Kimchi* Fermentation

Tae-Young Lee and Joung-Won* Lee
Department of Chemistry Education, College of Education,
Seoul National University, Seoul
*Department of Home Economics Education, College of Natural Sciences,
Choong-nam National University, Dae Jon, Korea

Abstract

Modified radish *Kimchi* and radish-root juice were fermented under N_2 atmosphere at 22~23°C and 37°C, respectively and their changes of vitamin C content were determined by dinitrophenylhydrazine and indophenol methods.

In the earlier period of the fermentation, vitamin C content decreased temperarily and then began to increase. When the flavor of *Kimchi* was most acceptable, vitamin C showed the maximum value which was equivalent to or more than the initial, after which vitamin C content decreased gradually. The increase of vitamin C content seemed to come from the biosynthesis of the vitamin owing to the enzymatic action occurred in radish-root. The addition of galacturonic acid to *Kimchi* and to radish-root juice elevated the vitamin C content, which suggested galacturonic acid was a good substrate for the synthesis of vitamin C. The optimum pH of the *Kimchi* fermentation for the better vitamin C content ranged 4.0 to 4.5.

緖 論

김치 중의 비타민 C에 대하여는 많은 報告들이 있는데, 그 중 김치 熟成 중에 일어나는 비타민 C 함량의 변화에 관한 李[1,2], 宋[3], 金[4] 등의 연구들은 숙성 初期에 감소하던 비타민 C의 함량이 숙성 適期엔 일시적으로, 그러나 현저히 증가한다고 하여 숙성과정에서 비타민 C가 生合成되고 있음을 示唆하고 있다.

著者들은 前報[2]에서 김치 醱酵 중 好氣的 條件이 비타민 C의 生合成 및 파괴에 큰 영향이 있고, glucose와 galacturonic acid가 비타민 C 合成基質로서 利用되며, 특히 後者가 効果的인 것 같다고 보고한 바 있다.

그러나 김치 숙성 중의 이와 같은 비타민 C의

生合成이 김치 발효 관여 미생물에 의한 것인지, 아니면 김치 재료內 효소작용 때문인지는 규명되지 않았다.

식물체내에서 비타민 C가 生合成됨은 너무나 잘 알려진 사실이며, 식물조직에서 분리한 효소를 사용하여서 glucose 또는 galactose 로부터 L-ascorbic acid를 in vitro로 合成한 보고들은 매우 많다.[5~7] 그 合成經路는 아직 자세하게는 확립되지 않고 있으나 D-galacturonic acid가 중요한 중간체임은 여러 사람에 의해 주장되고 있다. Mapson[5]은 configurational inversion 반응과 galacturonic acid를 주된 중간체로 하는 合成經路가 식물에서 지배적이라고 하였으며, Salem[7] 들도 pea enzymes을 이용한 실험에서 D-galactose가 D-galacturonic acid와 L-galactono-γ-lactone을 거쳐 L-ascorbic acid로 합성됨을 보였다. 또한 *Euglena gracilis*에 의한 L-ascorbic acid 합성경로를 연구한 Shigeru들[8]도 D-glucose가 D-galactose 보다 더 좋은 基質이 될 수 있으나, D-glucose의 주된 부분은 D-glucuronic acid 보다는 D-galacturonic acid를 거쳐서 L-ascorbic acid가 된다고 하였다.

本 실험에서는 前報[2]의 결과를 再確認하는 동시에 비타민 C가 김치재료에 들어 있는 酵素에 의하여 合成되는지의 여부를 밝히며, 그 때 基質로써 첨가된 galacturonic acid가 어느 정도 이용이 되는지를 알아보고자 하였다.

材料 및 方法

1. 材料 및 試藥

김치의 主재료인 무우는 제조 當日에 市場에서 신선한 것을 구입하여 사용하였다. α-D-galacturonic aid는 Biochemical Research(C grade)의 것을 그대로 혹은 재결정으로 정제하여 사용하였고, 표준 L-ascorbic acid는 Merck 製를 사용하였다. 이외의 모든 시약은 分析用을 使用하였다.

2. 김치의 製造

김치는 다음과 같이 무우김치와 固形分을 포함치 않는 무우즙김치 2種을 제조사용하였다.

(1) 무우김치

무우김치는 무우를 主材料로 하여 Table 1과 같은 組成比로 제조 하였다. 이때 무우의 크기는

Table 1. Compositions of *Kimchi* ingredients.

Radish roots, white	5.0g
Green onion	0.3g
Garlic	0.1g
10%-NaCl	3.0ml
Dist. water with or without galacturonic acid	2.0ml

0.1×0.1×4cm로 細切하여 사용하였으며 시료채취시 固形分과 김치汁의 比를 항상 一定하게 하기 위하여 시료채취 횟수에 해당하는 數만큼의 個別 시험관(2.5×10cm)에 담금하여 밀봉하였다. 이 시험관은 可能한 同一한 條件下에서 혐기적으로 22~23°C에서 숙성되었다. 혐기적 숙성방법으로는 밀봉에 앞서 발효용 시험관에 질소가스를 충진시켰다. 한편 好氣性細菌의 번식을 방지하기 위하여 小量의 toluene을 첨가하였다.

(2) 무우즙김치

무우 自體의 酵素에 의한 비타민 C 合成機作 硏究用으로 무우즙을 다음과 같이 제조사용하였다. 즉, 무우 50g을 소금 2.5g 및 小量의 sea-sand를 미리 0.1% EDTA 용액으로 닦아 금속이 제거된 mortar에 담고 이에 dry-ice를 上部에 놓아 低溫 및 공기와의 접촉을 차단하여 마쇄하였다. 마쇄된 무우를 원심분리하여 무우즙을 얻었다. 무우즙은 phosphate-citrate buffer로 여러 개의 pH 조건을 주어 최적 비타민 C 합성 pH를 선정하고 이 pH 조건 하에서 galacturonic acid (0.03%)를 첨가하였다. 이 무우즙김치는 무우김치와 同一한 혐기적 조건을 주고 37°C로 숙성시켰다.

3. 비타민 C의 定量

(1) 試料의 調製

숙성이 完了된 시료는 全量을 채취하여 5% HPO_3-10% acetic acid 용액 5ml, sea-sand, dry-ice와 함께 마쇄한 후 상기용액 20ml를 사용하여 비이커에 옮겼다. 비이커에 약 0.8g의 活性炭을 넣고 잘 흔들어 산화시킨 다음 濾過하였다. 이것을 5% HPO_3-10% acetic acid 용액으로 3회 세척한 후, 最終 溶積을 50ml로 하였다. 무우즙인 경우엔 숙성시킨 液 그대로를 活性炭으로 또는 bromine으로 酸化시켰다.

환원형 비타민 C의 測定을 위하여서는 5% HPO_3-10% acetic acid 용액 대신 2% HPO_3 용액으로 抽出하였고 活性炭으로 酸化시키는 과정은 생략하였으며 最終容積을 25ml로 하였다.

(2) 總 비타민 C의 定量

총 비타민 C는 Roe들[9]의 2.4-dinitrophenylhydrazine (DNPH)法과 崔[10]의 改正法을 이용하되, 시료와 DNPH-thiourea 용액과의 반응 온도 및 시간을 각각 38°C, 3시간으로 하여 측정하였다.

(3) 환원형 비타민 C의 정량

환원형 비타민 C는 藤田秋治[11]의 方法으로 측정하였다.

結果 및 考察

1. 무우 김치 熟成 중의 비타민 C의 消長

(1) 김치의 嫌氣的 熟成에 따른 總 비타민 C의 함량변화

무우김치 숙성중, 비타민 C의 함량은 Fig. 1에서와 같이 初期엔 일단 감소하였다가 점점 증가하기 시작하여 처음 量 내지 그 이상으로 증가하였으며, 어느 지점에 이르러서는 다시 완만하게 감소하기 시작하였다. 비타민 C 함량이 가장 높을 때는 숙성한 지 31~35시간이 되었을 때인데 이 기간은 김치가 가장 잘 숙성되었을 때와 一致된다.[2,4] 이 결과는 김치의 종류와 발효조건이 金[4] 및 金[12] 들의 방법과 차이는 있으나 대체로 그 경향은 일치하였다.

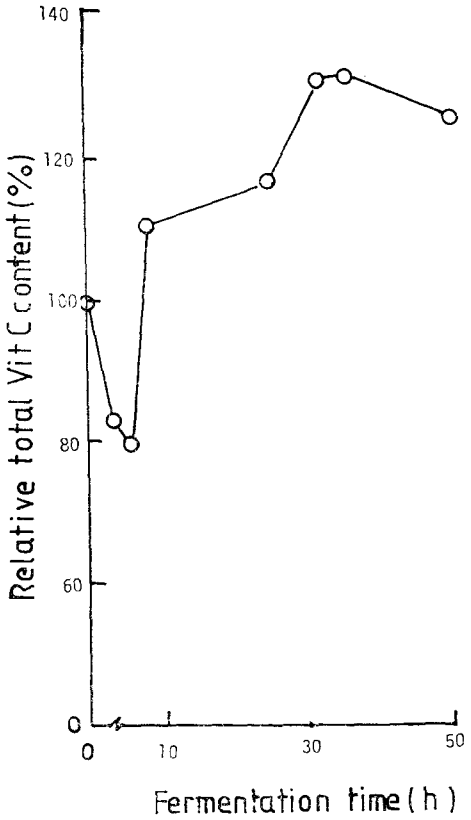

Fig. 1. Change of total vitamin C during radish *Kimchi* fermentation at N_2 atmosphere.

김치발효 과정중 비타민 C 生合成量을 보면 숙성 초기 7시간경에는 김치원료에 포함되어 있던 양의 약 20.4%가 감소되었다. 그러나 숙성이 진행됨에 따라 35시간 경에는 31.7%가 증가하였다. 이는 초기 lag phase에서의 감소量을 감안할때 절대적 生合成量은 31.7%에 20.4%를 合한 52.1%가 된다고 볼 수 있다.

(2) Galacturonic acid (GaA)의 첨가가 무우김치 숙성중의 비타민 C 증가에 미치는 영향

前報[2]에서 저자들은 paper chromatography를 통하여 김치液 중에 GaA가 존재함을 확인하고,

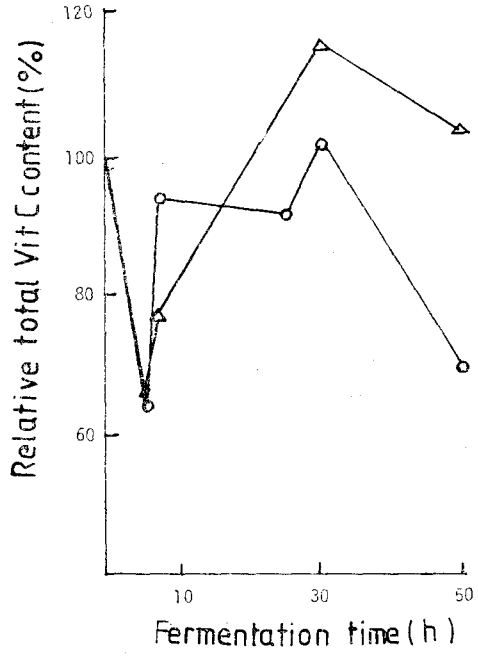

Fig. 2. Effect of galacturonic acid on total vitamin C of *Kimchi* fermented anaerobically at 22~23°C.
○—○, control; △—△, with GaA.

GaA를 넣어 방치한 김치液 중의 비타민 C 함량이 GaA를 넣지 않은 것보다 숙성적기에 월등히 증가하였음을 관찰하였다. 本 실험에서는 무우 김치의 製造時 GaA를 첨가하여 숙성시킨결과 첨가하지 않은 對照區 보다 총 비타민 C의 함량이 전체적으로 증가되었으며 특히 숙성 適期에 더욱 높아졌다(Fig. 2). 이러한 사실은 GaA가 비타민 C의 前驅物質로 合成을 뚜렷하게 촉진하는 효과가 있음을 보여주고 있다. GaA의 첨가효과는 비타민 C 定量過程에서 GaA가 DNPH와 反應하여 吸光度에 영향을 줄 수 있을 가능성이 있으나 실제로 비타민 C에 GaA를 첨가시켜 DNPH와 反應시켜도 吸光度에는 아무런 영향이 없었다.

또한 위 결과는 식물조직에서 D-GaA가 L-galactono-γ-lactone을 거쳐 쉽게 L-ascorbic acid로 전환되며, 비타민 C 합성 經路의 主된 中間體가 된다고 보고한 여러 연구들[5,7,8]에 의해서 뒷받침 된다. 김치 중의 GaA는 숙성과정에서 무우나 배추에 함유된 glucose와[8] pectin에서 자연적으로 生成될 수 있을 것으로 생각된다. Pectin은 polygalacturonase에 의해 GaA로 분해되는데, 河[31]는 김치에 polygalacturonase의 活性이 있으며 이는 好氣性 産膜효모나 곰팡이의 번식에서 온다고 이미 報告한 바 있다.

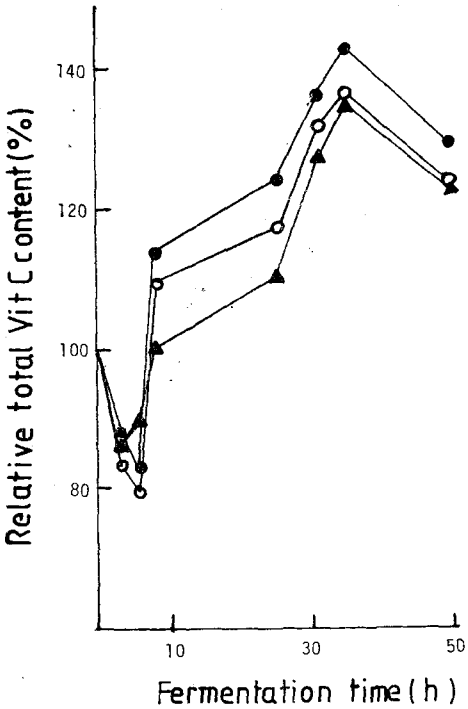

Fig. 3. Comparison of total vitamin C of *Kimchi* fermented in aerobic and in anaerobic conditions.
○—○, without GaA, anaerobic;
●—●, with GaA, anaerobic;
▲—▲, with GaA, aerobic.

그리고, GaA를 첨가하여 김치를 담고 숙성시킬 때 호기적으로 한 경우와 혐기적으로 한 경우의 비타민 C 함량을 비교해 보았더니, Fig. 3과 같이 前者가 後者보다 전반적으로 훨씬 낮았다. 또한 前者, 즉 호기적 숙성時의 비타민 C 함량은 GaA를 넣지 않고 혐기적으로 숙성시킨 경우보다도 다소 낮았는데, 이는 공기 접촉을 통한 비타민 C의 파괴량이 GaA 첨가에 따른 비타민 C의 증가된 합성량보다 컸다고 해석될 수 있다. 이들은 김치 숙성의 호기적 조건이 비타민 C의 파괴 및 생합성에 영향이 크다고 한 前報 李[2]의 報告와 相應한다. 김치 제조時 GaA를 첨가하지 않은 前報에서는 호기적 숙성의 경우 비타민 C 함량이 혐기적 숙성때 보다 높았었다. 이것은 호기적인 숙성조건이 비타민 C의 파괴를 촉진하는 반면, 호기성 産膜미생물의 번식을 촉진하고 따라서 분비되는 polygalacturonase의 活性을 상당히 증대시켰기 때문이라고 하였다. 즉 증가된 polygalacturonase의 作用으로 인해 김치 중의 pectin에서 비타민 C 합성의 좋은 基質인 GaA가 多量 生成됨으로써 비타민 C의 합성량이 파괴량 이상으로 증가되었다고 하겠다. 그러나 본 실험에서는 GaA가 이미 다량 첨가되었으므로 호기적 조건이 비타민 C의 합성엔 별 영향을 주지 못하고 파괴만 촉진시켰기 때문에, 李[2]의 결과와는 반대로 호기적 숙성이 혐기적 숙성보다 비타민 C 함량의 增加에 不利하게 작용하였다고 볼 수 있다.

2. 무우즙 김치의 熟成中 비타민 C의 消長

무우즙을 crude enzyme 용액으로하여 37°C에서 4시간 숙성시키고 그 間의 비타민 C 함량의 변화를 알아보았다.

(1) 熟成 pH의 영향과 숙성 시간

무우즙 2m*l*를 pH를 달리하는 완충용액 3m*l*에 혼합시켜 숙성시켰을 때, Fig. 4와 같이 숙성 환경의 pH에 따라 다르게 나타났다. pH 5.0과 7.5에서는 증가없이 계속 감소만 하였으나, pH 4.0과 pH 4.5에서는 일단 감소하였다가 다시 증가

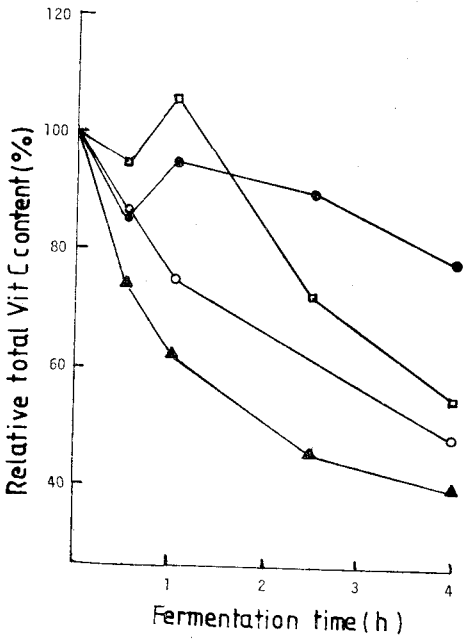

Fig. 4. Effect of pH on reduced vitamin C during anaerobic fermentation of radish-root juice at 37°C.
●—●, pH 4.0; □—□, pH 4.5;
○—○, pH 5.0; ▲—▲ pH 7.5.

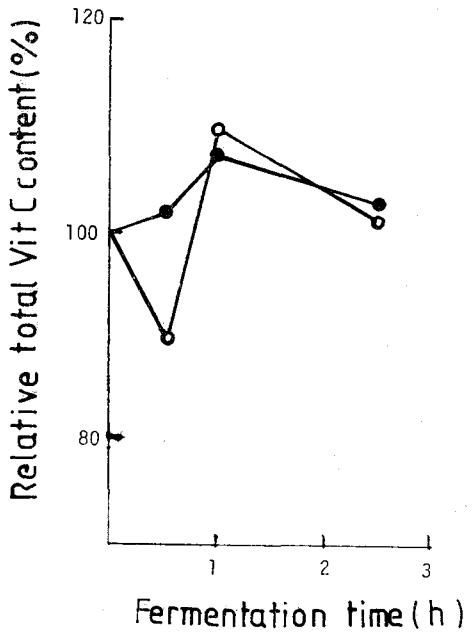

Fig. 5. Effect of galacturonic acid on total vitamin C of radish-root juice fermented anaerobically at 37°C and pH 4.5.
●—●, Control; ○—○, with GaA.

하여 최고 수치에 도달하고 그후에 서서히 감소하여 前述한 무우김치에서와 같은 경향을 나타내었다. 여기에서 비타민 C의 증가, 즉 生合成은 무우內 酵素의 作用에 기인할 가능성이 크다고 본다. 왜냐 하면, 숙성 온도 37°C는 젖산균들의 最適 溫度이기는 하지만 숙성 4시간 동안은 미생물이 주어진 환경에 적응하려는 誘導期에 불과하므로 미생물의 作用은 기대하기 어렵기 때문이다.

숙성 1시간 째에 pH 4.0~4.5에서는 환원형 비타민 C 함량이 최고 수치를 보였으며, 맛도 완전한 김치 맛은 아니었으나 숙성 適期로써 먹을 만 하였다. 김치에서의 31~35시간의 適正 숙성 기간이 1시간으로 단축된 셈이다. 숙성적기의 비타민 C 함량은 숙성환경의 pH가 4.5일 때 가장 컸으며 그 이후에는 pH 4.0인 때의 곡선이 극히 완만하여 殘存量이 가장 많았다. 이 결과들은 무우즙內의 효소에 의한 비타민 C의 합성에서 최적 pH가 4.0~4.5 부근임을 제시해 주며, GaA가 酸性 쪽에서 보다 쉽게 lactone으로 전환될 수 있고 비타민 C는 알칼리에서는 쉽게 파괴되나 산성(pH 4 부근)에서는 安定하기 때문인 것으로 해석된다.

김치의 숙성 適期의 pH는 4.3 부근으로써[1] 이 pH에서 비타민 C의 파괴가 지연되고 합성의 好條件이 형성되므로 김치가 익은 후에도 보다 많은 비타민 C가 존재할 수 있다는 것은 김치가 주된 副食인 우리에겐 주목할 만한 점이다.

(2) GaA의 첨가가 무우즙 김치 숙성中 비타민 C 生合成에 미치는 효과

무우즙에 GaA를 첨가하여 pH 4.5에서 숙성시켰을 때 GaA를 첨가하지 않았을 때보다 총 비타민 C의 최고 함량(숙성 1시간 째)이 별로 높지 않았다(Fig. 5). 그러나 숙성 30분 후의 最少量에 대한 증가 비율은 GaA를 첨가한 것에서 훨씬 컸다. 그 증가율이 對照區에서는 5.3%이었으나, GaA를 첨가한 경우엔 20.5%로써 GaA에 의해 비타민 C의 생합성이 매우 촉진되었음을 알 수 있다.

희석도가 상이한 무우즙 김치에 一定量의 GaA를 첨가하고 1시간 숙성후 총 비타민 C 함량을 측정하였다. 그 결과, 무우즙의 농도가 증가할

수록 무우즙의 농도에 비례해서 생길 수 있는 계산 수치보다 더욱 높은 비율로 비타민 C 함량이 증가하였다. 이는 基質(GaA)을 충분히 주었을 때 무우즙 즉 crude enzyme의 농도에 비례해서 비타민 C의 합성반응이 증가되었음을 말해 준다.

抄　錄

김치 熟成 중, 비타민 C 함량은 初期에는 일시적으로 감소하다가 다시 증가하기 시작하여 숙성 適期엔 처음 量 내지 그 이상으로 最高量이 되었다가 완만하게 감소하였으며 galacturonic acid의 첨가는 숙성과정 중의 비타민 C의 증가, 즉 생합성을 촉진시키며, 이러한 합성은 김치 재료 中의 효소 작용에 기인하는 것으로 생각되었다. 김치 중의 비타민 C의 生合成 및 보존에 유리한 숙성 pH는 4.0~4.5로 나타났고 galacturonic acid를 첨가한 김치의 嫌氣的 熟成은, 비타민 C의 합성을 촉진하기 보다는 그의 산화적 파괴를 억제시킴으로써 好氣的 熟成보다 비타민 C의 증가에 있어 有利함을 보여주었다.

參 考 文 獻

1. 李泰寧, 金點植, 鄭東孝, 金浩植 : 과연휘보, **5** : 43 (1960).
2. 李泰寧, 禹敬子 : 김치의 熟成 環境이 비타민 C의 生合成 및 破壞에 미치는 영향 : 서울대학교 대학원 석사학위 논문(1969).
3. 宋錫勳, 曺哉銃, 金燦 : 기술연구소 보고, **5** : 5 (1967).
4. 김정자 : 夏期 열무 김치의 비타민 C에 관하여, 이화여자대학교 석사학위 논문(1960).
5. Mapson, L.W.: Ascorbic acid, *in* The Vitamins, ed. by Serbrell, W.H., Jr. and Harris, R.S., Academic Press, New York, 2nd ed., Vol I, pp.369-383 (1967).
6. 春川靖雄 : アスコルビン酸の 生合成, 新ビタシン學, 日本ビタシン學會, pp.408-411 (1970).
7. Salem, H.M., and Saleh, M.A.: Pak. J. Biochem. **7**(2) : 69 (1974).
8. Shigeru, S., Nakano, Y., and Kitaoka, S.: J. Nutr. Sci. Vitaminol. **25**(4) : 299 (1979).
9. Roe, J.H.: Methods of Biochemical Analysis, Vol 1, pp.127-132 (1959).
10. 崔春彦 : 과연휘보, **1** : 9 (1956).
11. 藤田秋治 : ビタシン C, ビタシン 定量法, 東京, 南江堂, pp.542-550 (1955).
12. 金基成, 申東禾, 徐奇奉 : 기업적 생산을 위한 김치 제조시험, 식품연구소 사업보고 (농어촌개발공사), 123 (1974).
13. 河淳燮 : Pectin 分解酵素 및 産膜微生物이 沈菜類의 軟腐에 미치는 영향에 관하여, 서울대학교 대학원 석사학위 논문(1960).