

## 배추의 가열과 산 발효에 따른 Chlorophylls의 변화

김 예 숙 · 이 혜 수

서울대학교 식품영양학과

### The Changes of Chlorophylls in Blanched and Fermented Chinese Cabbage

Yei Sook Kim and Hei Soo Rhee

Department of Food and Nutrition, Seoul National University

#### Abstract

The changes of chlorophylls and pH of cooked water were investigated in blanched and fermented cabbage. In blanched cabbage, pheophytins were increased markedly with heating time. This was related to the changes of pH and the effects of heat. One minute blanching accelerated the formation of chlorophyllides by the activation of chlorophyllase. In fermented cabbage, pH and chlorophylls were decreased rapidly at the beginning of fermentation. At the final of fermentation, all chlorophylls and chlorophyllides were converted to pheophytins and pheophorbides, and the content of pheophytins was higher than the content of pheophorbides. The content of pheophorbides in fermented cabbage was higher than that in blanched cabbage.

#### 서 론

푸른채소의 조리과정 중에 일어나는 chlorophylls의 변화는 시각적으로 감지되는 채소의 색에 직접적으로 영향을 주며 변화된 색을 통해 조리된 채소의 상태를 판단할 수 있게 한다.

푸른채소의 청록색이 황록색으로 변하는 것은 pheophytins와 pheophorbides의 생성 때문이라고 알려져 있다<sup>1)</sup>.

Chlorophylls의 변화에 관한 연구는 주로 pheophytins의 생성에 대해 이루어져 왔는데 pheophytins의 생성정도와 생성속도는 가열온도와 시간, 가열방법, 저장방법과 저장기간, 저장온도, pH 등의 조건에 의해 영향 받는다고 보고되고 있다<sup>2~4)</sup>.

Chlorophyllides와 pheophorbides의 생성은 pheophytins의 생성만큼 널리 연구되지는 않았으나 Jones 등<sup>5)</sup>은 여러가지 채소의 가열과정에서 chlorophyllides와 pheophorbides의 생성을 확인했고, 푸른채소의 chloroplastin에 존재하는 chlorophyllase의 작용에 대한 연구<sup>6)</sup> 등으로 보아 chlorophylls의 변화는 효소의 작용을 고려해야 한다고 생각된다. 또한 같은 처리과정하에서도 채소의 종류에 따라 chlorophyll 색소의 변화에 차이가 있다고 보고되고 있다<sup>5)</sup>.

따라서, 본 실험은 이때까지 chlorophylls 변화연구에 재료로써 거의 사용되지는 않았으나 우리나라 식생활에서는 상당한 비중을 차지하는 배추를 사용하여 산 발효처리와 가열처리에 따른 chlorophylls의 변화정도를 알아보는데 목적이 있으며, 이것으로써 배추를 재료로 하는 여러가지 조리에서의 chlorophylls 색소의 변

화를 비교하는데 도움이 되고자 한다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에 사용한 배추는 통배추인 '삼진' 품종으로 경기도 수원시 원예시험장에서 분양받아 사용하였다. 고추, 마늘, 파와 생강은 서울시내 시장에서 구입하였고, 소금은 제재염을 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 가열처리

배추를 흐르는 물에 깨끗이 씻어서 줄기부분을 제외하고 푸른잎 부분만을 썰어서 골고루 섞은 후 20g씩 무게를 측정하였다. 무게를 측정한 잎부분을 끓는 물 300 ml에서 뚜껑을 연채 각각 1분, 5분, 10분, 15분 동안 가열한 후, 배추를 건져서 흐르는 물에서 즉시 식혔다.

가열처리한 배추는 dry ice로 급냉시켜 질소를 채운 병에 담아 밀봉한 뒤 색소를 분석할 때까지  $-18^{\circ}\text{C}$ 에서 저장하였다.

#### 2) 산발효 처리

배추를 흐르는 물에 깨끗이 씻어서 줄기부분과 줄기를 제외한 푸른 잎부분을 따로 썰어서 줄기부분은 80g씩 잎부분은 20g씩 무게를 측정하여, 이 두 부분을 골고루 섞어서 100g을 만든 후 김치를 제조하였다. 김치제조는 이<sup>7)</sup>의 방법을 이용했으며, 김치제조에 사용한 배추와 양념의 비율은 Table 1과 같다.

제조한 김치는 밀봉한 유리병에 담아서  $18\sim 22^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서 저장 숙성시켰다.

시간의 경과에 따른 변화를 보기 위하여 모든 sampling은 김치 제조일로부터 1일, 2일, 4일, 6일, 9일, 12일, 16일, 20일이 되었을 때 실시하였고, 100g 층에 잎부분 20g만을 취해 색소 분석을 하였다.

#### 3) pH 측정

가열처리의 경우는 가열액 50 ml를 취하고, 김치의 경우는 김치국물 25 ml를 취하여, TOA digital pH meter로 pH를 측정하였다.

#### 4) 색소분석

색소분석은 White 등<sup>8)</sup>의 방법을 약간 수정하여 사용하였다.

① 추출: 시료 20g을 osterizer blender에 넣고, calcium carbonate 0.1g과 acetone(99.5%) 200 ml

Table 1. Ingredients Ratio of Kimchi

Cabbage	100
Green onion	4
Garlic	2
Ginger	1
Red pepper	2
Sugar	1

를 가하여 최고속으로 4분간 마쇄한 후, glass filter를 통해 흡인 여과하였다. 색소를 완전히 추출하기 위하여 85% acetone으로 여러번 씻어 주었다. 여과액을 500 ml 용량 flask로 옮겨, 85% acetone으로 표준선까지 채웠다.

② Ether solution 1의 제조: Acetone 추출액 25 ml를 분액깔대기로 옮겨, 약 30 ml의 diethy ether를 첨가해서 흔들여 준 뒤, 5% sodium sulfate 용액 100 ml를 천천히 가하여 색소를 ether층으로 옮겼다. 아래층 용액을 다른 분액깔대기로 옮겨, 색이 없어질 때까지 ether로 재추출하였다. ether추출액을 모두 모아 5% sodium sulfate 용액으로 다섯번 씻어주어 acetone을 완전히 제거한 후, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 를 첨가하여 건조시켰다. 이 용액에는 chlorophylls, chlorophyllides, pheophytins, pheophorbides가 포함되어 있다.

이렇게 준비한 용액을 100 ml로 희석하여, chlorophyll a와 chlorophyll b의 최대흡수 파장인 660 nm와 642.5 nm에서 흡광도를 측정하였다(shimadzu double-beam spectrophotometer).

③ Ether solution 2의 제조: Ether solution 1 25 ml에 conc. HCl을 한방울 첨가하고 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시켰다. 이 용액을 실온의 어두운 상태에서 2시간 동안 방치하여, chlorophylls와 chlorophyllides를 모두 pheophytins와 pheophorbides로 전환시킨 후, pheophytin a와 pheophytin b의 최대흡수파장인 667 nm와 655 nm에서 흡광도를 측정하였다.

④ Ether solution 3의 제조: Ether solution 1 50 ml를 분액깔대기로 옮겨 0.01N KOH로 두 번 또는 세 번 추출하여, KOH층을 버림으로써 chlorophyllides와 pheophorbides를 모두 제거하였다. chlorophylls와 pheophytins만 존재하는 ether액을 5% sodium sulfate 용액으로 다섯번 씻어 준 후, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시켰다. 이 용액을 100 ml로 희석하여 660 nm와 642.5 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Table 2. Millimolar Absorption Coefficients of the Chlorophylls and Pheophytins

Wavelength(nm)	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Pheophytin a	Pheophytin b
660	91.1	4.08	36.6	17.7
642.5	14.6	52.2	5.05	11.7
667	—	—	56.6	8.2
655	—	—	17.5	37.0

Table 3. Equations for the Calculation of the Concentration of Each Pigment

1*	$Pyat + Poat = 18.97A_{667} - 4.20A_{655}$	(ether soln. 2)
2**	$Pybt + Pobt = 29.02A_{655} - 8.97A_{666}$	(ether soln. 2)
3	$Pyat = 18.97A_{667} - 4.20A_{655}$	(ether soln. 4)
4	$Pybt = 29.02A_{655} - 8.97A_{667}$	(ether soln. 4)
5	$Poat = \text{Value Eq. 1} - \text{Value Eb. 3}$	
6	$Pobt = \text{Value Eq. 2} - \text{Value Eq. 4}$	
7	$Cda + Ca = 17.33A_{660} + 5.83A_{642.5} - 0.664(Pyat + Poat) - 0.375(Pybt + Pobt)$	(ether soln. 1)
8	$Cdb + Cb = 23.32A_{642.5} - 4.086A_{660} + 0.0318(Pyat + Poat) - 0.2005(Pybt + Pobt)$	(ether soln. 1)
9	$Ca = 17.33A_{660} + 5.83A_{642.5} - 0.664Pyat - 0.375Pybt$	(ether soln. 3)
10	$Cb = 23.32A_{642.5} - 4.086A_{660} + 0.0318Pyat - 0.2005 Pybt$	(ether soln. 3)
11	$Cda = \text{Value Eq. 7} - \text{Value Eq. 9}$	
12	$Cdb = \text{Value Eq. 8} - \text{Value Eq. 10}$	
13	$Pya = \text{Value Eq. 3} - \text{Value Eq. 9}$	
14	$Pyb = \text{Value Eq. 4} - \text{Value Eq. 10}$	
15	$Poa = \text{Value Eq. 5} - \text{Value Eq. 11}$	
16	$Pob = \text{Value Eq. 6} - \text{Value Eq. 12}$	

\*  $Pyat = Ca + Pya$ ,  $Poat = Cda + Poa$ \*\*  $Pybt = Cb + Pyb$ ,  $Pobt = Cdb + Pob$ 

⑤ Ether solution 4의 제조 : Ether solution 3 50 ml에 conc. HCl 한방울을 첨가하여 무수  $Na_2SO_4$ 로 건조시켰다. 이 용액을 실온의 어두운 상태에서 2시간 동안 방치하여 chlorophylls를 모두 pheophytins로 전환시킨 후, 667 nm와 55 nm에서 흡광도를 측정하였다.

⑥ 농도 계산식의 유도 : 색소추출액의 흡광도측정에 사용된 최대흡수파장과 농도계산식의 유도에 사용된 흡광계수는 <sup>9-10)</sup> Table 2와 같으며, chlorophyllides와 pheophorbides의 흡광계수는 각각 chlorophylls와 pheophytins의 흡광계수와 동일하다. 농도계산식은 Table 3에 제시하며, 각 식에서 chlorophyll a와 b, chlorophyllide a와 b, pheophytins a와 b, pheophorbides a와 b를 간단히 Ca, Cb, Cda, Cdb, Pya, Pyb, Poa, Pob로 표현했고, 이 식에서 계산되어지는 농도의 단위는 사용한 ether 용액 1/당 micro-

moles이다.

## 실험결과 및 고찰

### 1. 가열처리에 따른 chlorophylls의 변화

가열시간에 따른 chlorophylls의 변화와 pH 변화는 Table 4와 같다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이, chlorophylls a와 b는 감소하는 경향이 거의 비슷하며 처음 1분간의 가열동안 그 함량이 급격히 감소하고 그 이후는 가열시간에 비례하여 감소한다는 것을 알 수 있었고, 반면 pH의 변화는 초기 1분보다 1분에서 5분 사이에 더욱 감소했으며, 5분 이후는 chlorophylls a와 b의 변화와 유사하게 시간에 비례하여 감소했다.

pheophytins a와 b는 chlorophylls의 변화와는 반대되는 현상을 보였으며, 15분동안 가열했을 때는 전

Table 4. The Changes of Chlorophylls and pH during the Blanching  
(means of triplicated samples)

Time of blanching (min)	Chlorophylls and Chlorophyll derivatives*								pH of solution	
	Ca	Cb	Cda	Cdb	Py <sub>a</sub>	Py <sub>b</sub>	Poa	Pob		
0	72.08	22.03	0.20	0.07	3.69	1.89	0.00	0.00	10.03	7.38
1	62.50	18.43	2.59	1.40	9.16	4.74	0.75	0.43	9.28	7.23
5	56.83	16.92	1.08	0.65	13.88	7.92	1.84	0.87	9.22	6.59
10	51.81	15.88	0.99	0.55	19.50	8.87	1.53	0.88	9.13	6.46
15	46.97	14.41	0.66	0.33	23.43	11.44	1.76	0.99	9.09	6.26

\* pigment values expressed as % of total pigments.

\*\* total pigments expressed as micromoles per 10 grams of sample.

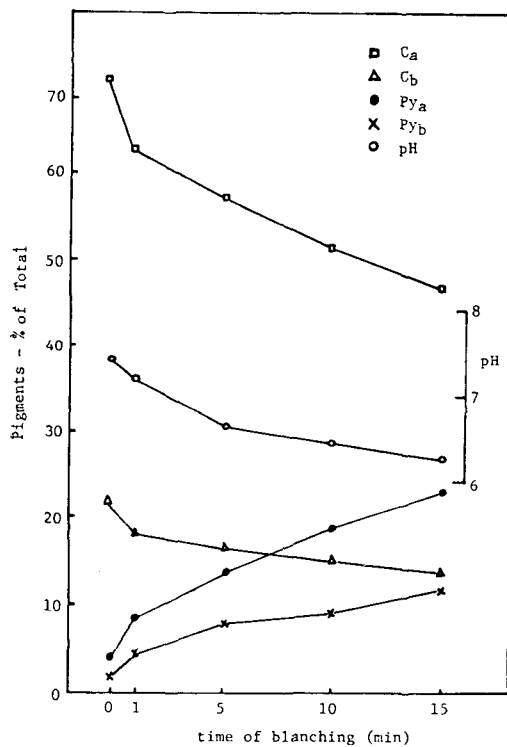


Fig. 1. Mole Percentages of Chlorophylls a and b, Pheophytins a and b in Blanched Cabbage.

채색소의 34.87%를 차지할 정도로 증가했다. pH의 감소경향과 pheophytins의 증가경향은 서로 연관성이 있지만, 가열액의 pH와 pheophytins의 생성량이 직접 비례하는 관계는 아닌 것으로 생각된다.

전체량에 비해 chlorophyllides와 pheophorbides의 생성량은 미소한 량이지만 Table 4에서 변화를 살펴보면 1분동안 가열했을 때 chlorophyllides가 크게

증가하였는데, 이것은 최적온도가 75°C~80°C인 chlorophyllase가 약간의 가열로 오히려 활성화되었기<sup>5)</sup> 때문인 것으로 생각되며, 5분 가열시에 다시 감소한 것은 낮아진 pH로 인해 chlorophyllides가 pheophorbides로 많이 전환되었기 때문인 것으로 나타났다.

오이의 경우 5분정도의 가열로도 chlorophyllase의 불활성화가 완전히 이루어지지 않았다는 보고<sup>5)</sup>와는 달리 배추의 경우는 5분이후에 chlorophyllides와 pheophorbides에 큰 변화가 없는 것으로 보아 5분이상의 가열은 chlorophyllase를 거의 불활성화시키는 것으로 생각되는데, 이러한 효소불활성화의 차이는 채소의 조직의 차이로 인해 효소의 안정성에 차이가 생기기 때문인 것으로 추측된다.

Total pigments는 1분가열시에 생성된 수용성의 chlorophyllides와 pheophorbides가 가열액으로 손실되었기 때문에 감소했다가 5분 가열 이후에는 큰 변화를 보이지 않았다.

이런 결과로 보아, 5분이내의 가열처리에 있어서 배추의 chlorophyll의 pheophytin으로 전환되는 정도는 시금치의 경우<sup>11)</sup>보다는 더 낮지만 오이나 그의 채소의 경우<sup>5)</sup>보다는 더 높고, 배추의 chlorophyll이 chlorophyllide나 pheophorbide로 전환되는 정도는 오이의 경우보다는 낮지만 시금치의 경우보다는 훨씬 높은 것을 알 수 있다. 이것은 각 채소의 chlorophyllase의 활성의 정도와 불활성화되는 가열시간에 차이가 있기 때문인 것으로 생각된다.

장시간 가열했을 때의 색변화는 주로 pheophytin의 생성에 의한 것이지만, pheophytin의 생성정도에도 채소에 따라 차이가 있는데, 배추에 있어 pheophytin의 생성정도는 다른 채소에 비해 비교적 높은 것으로 나타났다. 즉, 가열처리할 때에 다른 채소에 비해 배

Table 5. The Changes of Chlorophylls and pH during the Fermentation  
(means of triplicated samples)

Time (days)	Chlorophylls and Chlorophyll derivatives*								pH of solution	
	Ca	Cb	Cda	Cdb	Py <sub>a</sub>	Py <sub>b</sub>	Poa	Pob		
0	73.11	22.08	0.33	0.08	3.17	1.09	0.11	0.00	9.15	7.65
1	66.18	20.56	0.45	0.11	7.75	2.92	1.35	0.67	8.9	5.75
2	46.33	19.84	2.41	0.23	21.56	6.08	2.06	1.49	8.72	4.71
4	14.99	17.53	2.42	0.58	39.45	7.61	13.84	3.58	8.67	4.32
6	3.22	5.06	3.45	0.23	50.29	16.92	14.27	6.56	8.69	4.20
9	2.03	2.36	2.03	0.11	41.44	19.48	24.55	8.00	8.88	4.06
12	0.57	0.80	0.68	0.00	47.10	20.02	21.39	9.44	8.79	3.91
16	0.00	0.00	0.00	0.00	47.86	20.28	22.48	9.39	8.63	3.67
20	0.00	0.00	0.00	0.00	43.40	18.83	26.87	11.02	8.71	3.61

\* pigment values expressed as % of total pigments.

\*\* total pigments expressed as micromoles per 10 grams of sample.

추의 색변화가 쉽게 일어난다는 것을 알 수 있었다.

## 2. 산발효에 따른 chlorophylls의 변화

김치의 숙성기간에 따른 chlorophylls의 변화는 Table 5와 같다.

Chlorophylls가 chlorophyllides와 pheophytins로 전환되는 과정과 chlorophyllides가 pheophorbides로 전환되는 과정은 김치제조후 즉시 시작되어 처음 6일 동안 급격히 진행되었다.

Chlorophyllides는 높은 농도는 아니지만 chlorophylls가 존재하는 12일까지는 존재하고 있으며, 16일째에는 chlorophylls와 chlorophyllides가 모두 pheophytins와 pheophorbides로 변했다.

Table 5와 Fig. 2를 보면 chlorophyll a는 숙성 6일까지 급격히 감소한 반면 pheophytin a와 pheophorbide a는 6일까지 급격히 증가한 것으로 보아, 6일 이전의 chlorophyll a의 변화와 pheophytin a, pheophorbide a의 변화는 깊은 연관성이 있는 것으로 생각된다.

Chlorophyll b는 숙성초기에 서서히 감소하다 chlorophyll a가 chlorophyll b보다 더 낮은 수준인 4일째부터 6일째까지 급격히 pheophytin b로 전환되어 그 함량이 감소했고, 6일 이후에는 다시 서서히 감소했으며 12일 이후부터는 chlorophyll a와 b가 거의 남아 있지 않았다.

Chlorophyllides는 전체 숙성기간동안 4%미만의 낮은 수준으로 계속 유지되었는데 그것은 숙성 2일째부터 pH가 5이하로 낮아져서 생성된 chlorophyllides

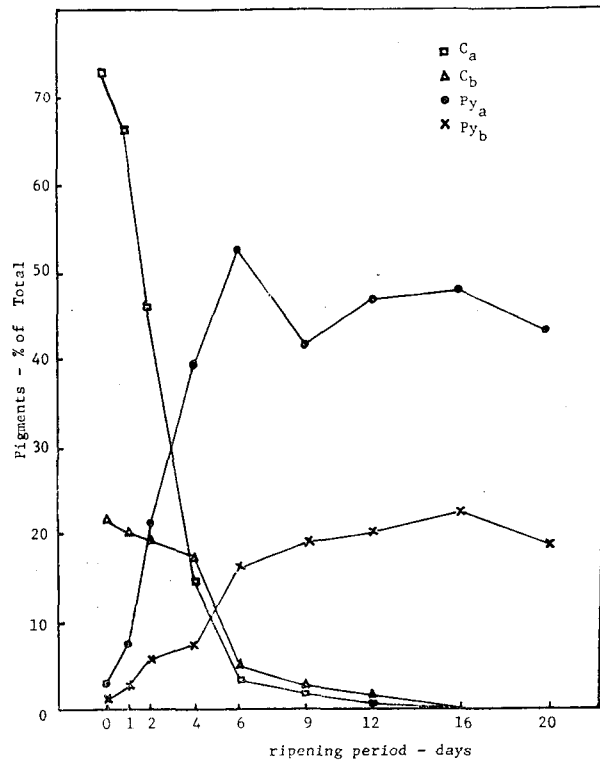


Fig. 2. Variations of Chlorophylls a and b, Pheophytins a and b during the Ripening of Kimchi.

의 대부분이 생성되는 즉시 pheophorbides로 변했기 때문이다. 4일째부터는 chlorophylls와 chlorophyllides가 pheophytins와 pheophorbides보다 낮은 수

준으로 유지되었는데, 이것은 pH가 4일까지 급격히 감소하는 경향과 일치된다.

가열의 경우와는 달리 김치에서는 숙성기간동안 total 에 큰 변화가 없었다.

김치에서는 가열처리한 경우보다 pheophorbides의 생성이 뚜렷이 나타났으며, 20일째에는 전체량의 37.89%로 상당히 높은 수준이었는데, 이것은 chlorophyllase의 불활성화가 일어나지 않았고 가열에 의해 chloroplastin이 파괴된 것처럼 소금에 의해서 chloroplastin이 파괴되어 chlorophyllase가 작용하기에 적합하여 chlorophyllides의 생성이 촉진되었고 산발효과과정에서 생성된 산에 의해 pH가 낮아져서 생성된 chlorophyllides의 대부분이 pheophorbides로 변했기 때문이라고 생각된다. 따라서, 산발효의 경우는 배추의 색변화에 pheophytins 뿐 아니라 eophorbides도 크게 관계함을 알 수 있었다.

오이의 소금절임에서는 오이의 색변화가 pheophytins의 생성보다는 주로 pheophorbides의 생성에 의한 것이었는데<sup>8)</sup> 김치의 경우는 같은 산발효에 의한 변화로서 pheophorbides의 영향도 크지만 주된 원인은 pheophytins의 생성이었음을 알 수 있었다.

## 요 약

배추를 가열처리했을 때와 김치를 제조하여 산발효시켰을 때에 시간의 경과에 따른 chlorophylls의 변화와 pH의 변화를 조사하였다.

가열했을 때에는 pheophytins의 생성이 뚜렷했고, 이것은 pH의 감소경향과 관계있으며, 1분간 가열했을 경우에는 chlorophyllase의 활성화에 의해 chlorophyllides의 생성이 촉진되었다.

김치의 경우는 숙성초기에 pH변화에 따라 chlorophylls의 함량이 급격히 감소했으며, 숙성말기에는 pheophytins와 pheophorbides만 존재했고, 가열한 경우에 비해 pheophorbides의 생성이 뚜렷했지만 pheophytins 보다는 낮은 수준이었다.

## 참 고 문 헌

1. Aronoffs, S., The Chemistry of chlorophyll.

*Advances in food research*, 4:133-184, 1953.

2. Tan, C.T. and Francis, F.J., Effect of processing temperature on pigments and color of spinach. *J. Food Sci.*, 27: 232-241, 1962.
3. Gupte, S.M. and Francis, F.J., Effect of pH adjustment and high-temperature short-time processing on color and pigment retention in spinach puree. *Food Technol.*, 18:141-144, 1964.
4. Wang, S.S., Haard, N.F. and DiMarco, G.R., Chlorophyll degradation during controlled-atmosphere storage of asparagus. *J. Food Sci.*, 36:657-661, 1971.
5. Jones, I.D., White, R.C. and Eleanor Gibbs, Influence of blanching or brining treatment on the formation of chlorophyllides, pheophytins and pheophorbides in green plant tissue. *J Food Sci.*, 28:437-439, 1963.
6. Ardao, C. and Vennesland, B., Chlorophyllase activity of spinach chloroplastin. *Plant Physiol.* 35:368-371, 1960.
7. 이혜수, 한주소금 사용시 김치의 신선도에 미치는 연구, 서울대학교, 1979.
8. White, R.C., Jones, I.D. and Eleanor Gibbs, Determination of chlorophylls, chlorophyllides pheophytins and pheophytins and pheophorbides in plant material. *J. Food Sci.*, 28:431-436, 1963.
9. Zcheile, F.P. and Comar, C.L., Influence of preparative procedure on the purity of chlorophyll components as shown by absorption spectra. *Bot. Gaz.*, 102:463-481, 1941.
10. Davidson, J., Procedures for the extraction, separation and estimation of the major fat-soluble pigments of hay. *J. Sci. Foo Agr.*, 5: 1-7, 1954.
11. Clydesdale, F.M. and Francis, F.J., Chlorophyll changes in thermally processed spinach as influenced by enzyme conversion and pH adjustment. *Food Technol.*, 22:793-796, 1968.