

갓김치의 발효과정 중 Chlorophylls 및 Carotenoids의 변화와 동획분의 항산화성

송은승 · 전영수 · 최홍식[†]

부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

Changes in Chlorophylls and Carotenoids of Mustard Leaf Kimchi during Fermentation and Their Antioxidative Activities on the Lipid Oxidation

Eun-Seung Song, Yeong-Soo Jeon and Hong-Sik Cheigh[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, and Kimchi Research Institute, Pusan National University,
Pusan 609-735, Korea

Abstract

Changes of chlorophylls and carotenoids and antioxidative characteristics of crude chlorophylls and carotenoids(CCC) of mustard leaf kimchi(MLK) were investigated during the fermentation at 15°C for 25 days. At the beginning of fermentation chlorophylls were decreased rapidly, however, all chlorophylls and chlorophyllides were converted to pheophytins and pheophorbides at the final stage of fermentation. Total chlorophyll content remained constantly during the fermentation but 43.7% destruction of carotenoids was observed at 25 days of fermentation. Antioxidative activities of CCC from MLK against autoxidation of linoleic acid were significant($p < 0.05$) and much higher than those of α -tocopherol. Fermentation period did not affect antioxidative activities of CCC of MLK. When the CCC of MLK was added to the autoxidation system of linoleic acid, degradation of total chlorophylls were observed to be slower than that of total carotenoids.

Key words: chlorophylls, carotenoids, mustard leaf, kimchi, antioxidative activity

서 론

갓(mustard leaf, *Brassica juncea*)은 십자화과에 속하는 경엽 채소류 중의 하나로 겨자의 잎을 말하는데 염장 발효시켜 김치로 식용하며 그 씨(겨자, mustard seed)는 신미성 향신료로서 사용되고 있다(1). 김치의 특성은 숙성조건이나 재료의 종류, 담금, 제조방법 등에 의해서도 좌우되지만(2,3) 어떤 채소를 재료로 사용하는가에 따라 달라진다고 볼 때, 갓은 특히 다음과 같은 특성을 가지고 있다(4,5). 즉, 독특한 매운맛이 있는 sinigrin이라는 allyl isothiocyanate의 glucosinolate를 함유하고 있으며 숙성 중에 갓자체의 myrosinase가 작용하여 여러가지 함유성분과 그 관련물질이 생성된다. 이들 성분 중 일부가 갓김치의 젖산균 등의 미생물군에 항균작용을 갖게 되어 김치 발효를 지연시키며, 김치의 조기산패를 방지하여 저장성을 향상시켜 준다.

그리고 갓김치는 특유의 조직감을 지니고 있으며 장시간 저장 중에도 쉽게 연화되지 않는 성질을 가지고 있다. 또한 칼슘, 칼륨 등의 함량이 높아 무기질 공급원으로도 중요하며, 특히 항산화성이 있는 것으로 알려진 ascorbic acid, chlorophylls, β -carotene 등을 다량 함유하고 있다(6,7).

식물의 잎이나 줄기의 초록색은 주로 chlorophylls에 의하며 이 chlorophylls는 세포내의 엽록체에 존재한다. 광선 존재하에서는 chlorophylls가 감광체로서 산화반응을 촉진시키나 광선이 차단된 상태에서는 free radical scavenger로 작용하여 지방질의 자동산화 등을 방지할 뿐 아니라 여러가지 생물학적 활성 특히, 항돌연변이성 및 항암성이 있다고 보고되고 있다(8-12). Carotenoids는 생물체 특히 식물조직에 널리 퍼져있는 지용성 황색색소물질로 vitamin A 활성 이외에도 항산화제 기능, 색소로서의 기능을 가지며, 항암, 노화방

[†]To whom all correspondence should be addressed

지 등에 중요한 생리적 활성을 가지고 있다(13-15).

갓의 구성성분과 갓김치의 성분변화 및 미생물에 대한 연구는 위와 같으나 갓김치의 발효 과정 중 chlorophylls와 carotenoids의 변화에 따른 항산화성에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 갓김치 발효기간 중 항산화작용을 나타내는 chlorophylls 및 carotenoids의 변화양상을 분석하고 이러한 항산화성 색소를 함유하는 crude chlorophylls와 carotenoids 분획을 추출하여 이들이 지방산의 자동산화에 미치는 항산화작용을 살펴 보았다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 갓은 1995년 4월 10일에서 5월 30일 사이에 전라남도 여천군 돌산면에서 재배한 돌산 갓(mustard leaf, *Brassica juncea*)인 만생편경대엽(晩生片梗大葉) 품종으로 길이 25~30cm, 무게 2kg 내외의 것을 사용하였다. 파는 김해에서 재배된 구주품종을, 고추가루는 경북영양에서 재배된 금탑품종을, 생강과 마늘은 남해에서 재배된 것을, 소금은 정제염, 설탕은 정제당을 각각 사용하였다.

김치담금 및 발효

갓을 잎과 줄기로 구분하여 잎 30, 줄기 70의 비율로 500g을 취하여 흐르는 물에 깨끗이 씻은 후 2×3cm로 세절하여 재료의 손실을 없애기 위하여 망사에 담아서 15% 소금물용액에 같은 양의 갓을 2시간 절인 다음 물로 2회 씻어서 30분간 물기를 뺀 후 부재료와 잘 혼합시켰다. 김치제조에 사용한 갓과 양념의 비율은 Table 1과 같으며 1L 용량의 polyethylene용기에 김치를 눌러 담은 후 15°C에서 발효시키면서 실험에 이용하였다.

Chlorophylls 및 carotenoids 분석

Chlorophylls의 분석은 White 등의 방법(16)에 따라 85% acetone으로 추출하여 흡인여과한 뒤 ether로 재

추출하여 농도 계산식에 의해서 chlorophylls와 chlorophyll derivatives의 농도를 표시하였다. Carotenoids는 acetone으로 추출하여 흡인여과한 다음 60% KOH로 24시간 검화시킨 후 petroleum ether(PE)로 재추출하였다. 총 carotenoids의 정량은 PE 중에서의 가시부 흡수 스펙트럼의 λ_{max} 의 흡광도에 의하여 McBeth법에 따라 흡광계수 $E_{1\%}^{1cm} = 2500$ 으로 하여 계산하였다(4).

$$\text{mg\%} = \frac{\text{O.D.}(\lambda_{\text{max}}) \times \text{volume} \times 100}{E_{1\%}^{1cm}(2500) \times \text{weight of tissue(g)}}$$

Crude chlorophylls와 carotenoids 분획의 조제

갓 및 0, 7, 25일간 발효시킨 갓김치는 동결 건조시킨 다음 분쇄기로 마쇄하여 분말로 만든 후 질소 가스를 충전시킨 뒤 -18°C 이하에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 갓 및 갓김치, 고추가루를 AOAC법(17)에 따라 acetone-diethyl ether로 추출하여 crude chlorophylls와 carotenoids(CCC)획분을 얻었다.

지방산의 자동산화 조건 및 항산화성 분석

Linoleic acid(60%, Sigma Chemical Co., U.S.A.)에 대해서 CCC, α -tocopherol(Sigma Chemical Co., U.S.A.), t-butyl hydroxy anisole(BHA, Sigma Chemical Co., U.S.A.)이 각각 0.02% 농도가 되도록 시료를 조제하였다. 각 시료를 광선을 차단하기 위해서 알루미늄박으로 싸여진 20ml screw cap vial에 10ml씩 넣어 30°C로 유지된 항온기에 저장하면서 4일마다 과산화물가, 공액이중산 함량을 측정하였다. 과산화물가는 AOCS공정법 Cd 8-53(18)으로, 공액이중산 함량은 AOCS공정법 Ti la-64(19)로 측정하였다.

통계처리

대조군과 각 시료에서 얻은 실험자료로부터 ANOVA(one way analysis of variance)를 구한 후 Duncan's multiple range test로 유의성을 검정하였다(20).

결과 및 고찰

갓김치 발효 중 chlorophylls, chlorophyll derivatives 및 carotenoids의 함량변화

갓김치 발효기간에 따른 총 chlorophylls 및 carotenoids의 함량 변화는 Table 2와 같다. 총 chlorophylls 함량은 발효 전기간 거의 변화없이 같은 수준인 77~76 mg%를 보이고 있다. 그러나 총 carotenoids는 발효 초

Table 1. Ingredients ratio of kimchi preparation

Ingredients(Scientific name)	Ratio(g)
Mustard leaf(<i>Brassica juncea</i>)	100
Green onion(<i>Allium fistulosum</i>)	4
Garlic(<i>Allium sativum</i>)	2
Red pepper(<i>Capsicum annum</i>) powder	2
Ginger(<i>Zingiber officinale</i>)	1
Sugar	1

Table 2. Changes of total chlorophylls and total carotenoids during the fermentation of mustard leaf kimchi

Time (days)	Total chlorophylls(mg%)	Total carotenoids(mg%)
0	77.0(100.0) ¹⁾	55.1 (100.0)
2	76.7(99.6)	49.59(89.8)
4	76.0(98.7)	43.6 (79.1)
7	75.9(98.6)	37.0 (67.2)
10	76.8(99.7)	31.7 (57.5)
15	76.0(98.7)	29.9 (54.3)
20	76.4(99.2)	26.8 (48.6)
25	76.0(98.7)	24.1 (43.7)

¹⁾Pigment values expressed as % of total pigments

일 55.1mg%의 함량이 발효 10일까지는 지속적으로 감소하다가 발효 중기 및 후기에서는 감소율이 다소 완만한 강향을 보였다. 결과적으로 발효 말기인 25일째는 초기 함량의 43.7%로 감소되었다. 이는 김치에서 발효가 진행됨에 따라 pH의 변화에 의해 감소되는 것으로 추정된다.

한편 chlorophylls 및 chlorophyll derivatives의 발효기간 중 함량 변화는 Table 3과 같다. Chlorophylls가 pheophytins로 전환되는 과정은 김치제조 후 즉시 시작되어 처음 7일 동안 급격히 진행됨에 따라 갯김치의 색은 초록색에서 갈색으로 변화되었다. Chlorophylls와 함께 chlorophyllides는 높은 농도는 아니지만 15일까지는 존재하고 있으나 그 이후 모두 pheophytins와 pheophorbides로 변했다. 발효 초기에는 chlorophyll a가 b 보다 함량이 높으나 발효 7일째부터는 chlorophyll a가 b 보다 더 낮은 수준으로 감소했고 15일 이후에는 거의 남아있지 않았다.

Table 3. Changes of chlorophylls and chlorophyll derivatives during the fermentation(at 15°C) of mustard leaf kimchi

Time (days)	Chlorophylls and chlorophyll derivatives ¹⁾							
	C _a	C _b	Cd _a	Cd _b	Py _a	Py _b	Po _a	Po _b
0	70.99	22.57	0.47	0.11	4.33	1.75	0.12	0.01
2	47.48	18.99	1.99	0.23	20.5	5.86	3.75	1.64
4	15.64	17.06	2.49	0.36	38.15	7.70	14.1	4.50
7	3.80	4.63	3.44	0.36	48.75	15.66	16.85	6.52
10	1.88	1.99	2.11	0.12	45.96	16.41	24.27	7.39
15	0.24	0.47	0.47	0.02	46.45	17.42	25.47	9.12
20	0	0	0	0	45.94	17.67	26.27	10.25
25	0	0	0	0	45.14	17.77	25.71	11.49

¹⁾Pigment values expressed as % of total pigments

C_a: Chlorophyll a, C_b: Chlorophyll b
 Cd_a: Chlorophyllide a, Cd_b: Chlorophyllide b
 Py_a: Pheophytin a, Py_b: Pheophytin b
 Po_a: Pheophorbide a, Po_b: Pheophorbide b

김치의 발효기간에 따른 갯의 색변화는 pheophytin 생성 뿐 아니라 pheophorbides 생성도 크게 관계함을 알 수 있다. Pheophytins의 생성 정도와 생성 속도는 가열온도와 시간, 가열방법, 저장방법과 저장기간, 저장온도, pH 등의 조건에 의해 영향받는다고 보고되어 있다(21). 그리고 chlorophyllase의 작용으로 chlorophyllides의 생성이 촉진되었고 산발효과정에서 생성된 산에 의해 pH가 낮아져서 생성된 chlorophyllides의 대부분이 pheophorbides로 변한 것으로 생각된다. 오이의 소금절임에서는 오이의 색변화가 주로 pheophorbides의 생성에 의한 것이라고 보고되어 있으나(21), 갯김치의 발효에 따른 색변화의 주된 원인은 pheophytin의 생성임을 알 수 있었는데 이는 김과 이(22)에 의한 배추김치의 경우와 비슷한 경향을 나타내었다. 조(23)는 갯김치 숙성 중 chlorophyll의 분해가 일어나 total chlorophyll, chlorophyll a 및 b의 감소율이 현저하였다고 보고하였는데 이는 chlorophylls가 chlorophyll derivatives로 전환되는 것을 고려하지 않고 chlorophyll a 및 b의 함량변화만을 측정하여 이에 따라서 total chlorophyll 함량을 나타내었으므로 본 실험과는 상이한 결과를 보인 것으로 사료된다.

갯김치가 지방산의 자동산화에 미치는 항산화작용

갯김치의 chlorophylls와 caratenoids의 조획분(CCC)이 지방산의 자동산화에 미치는 영향을 조사하기 위해

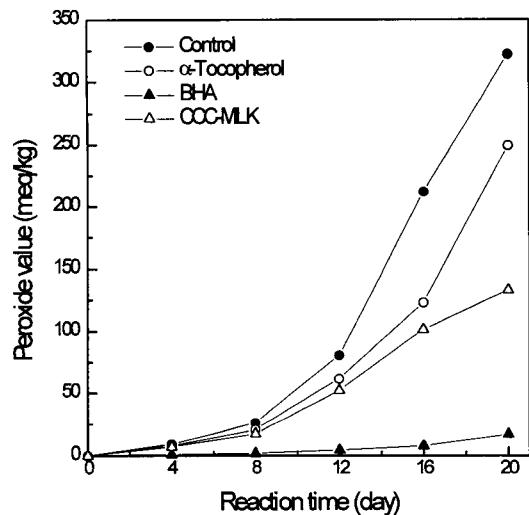


Fig. 1. Changes of peroxide values during the autoxidation of linoleic acid mixture with addition of crude chlorophylls and carotenoids(CCC) extract of mustard leaf kimchi(MLK, 7days fermented) at 30°C for 20 days in the dark. Each antioxidant was added 0.02% respectively.

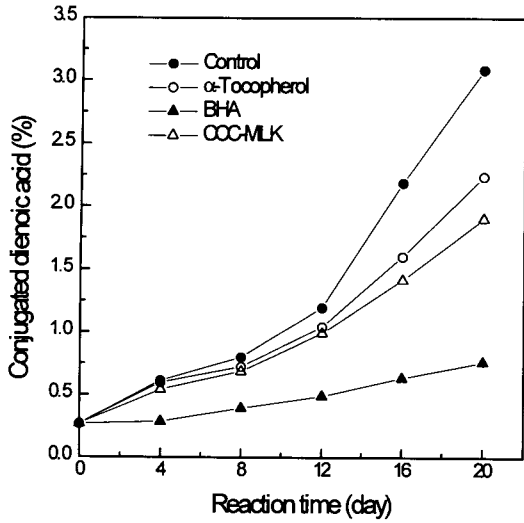


Fig. 2. Changes in the formation of conjugated dienoic acid during the autoxidation of linoleic acid mixture with addition of crude chlorophylls and carotenoids(CCC) extract of mustard leaf kimchi (MLK, 7 days fermented) at 30°C for 20 days in the dark. Each antioxidant was added 0.02% respectively.

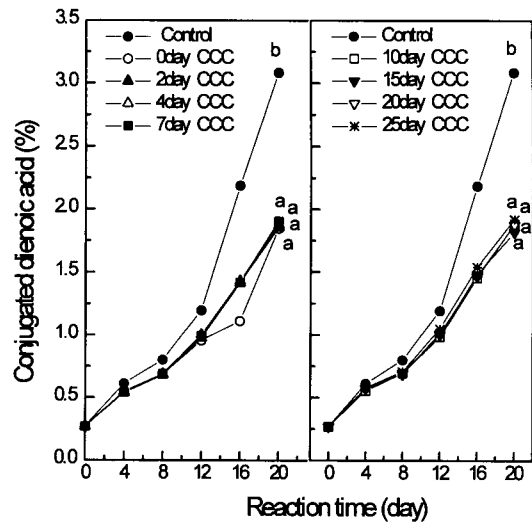


Fig. 4. Changes in the formation of conjugated dienoic acid during the autoxidation of linoleic acid mixture with addition of crude chlorophylls(CCC) and carotenoids extract of mustard leaf kimchi (MLX) at 30°C for 20 days in the dark. Each extract of CCC from different fermentation time (0~25 days) of MLK was added 0.02% respectively. The different letters are significantly different at the 0.01 level of significance as determined by Duncan's multiple range test(n=3).

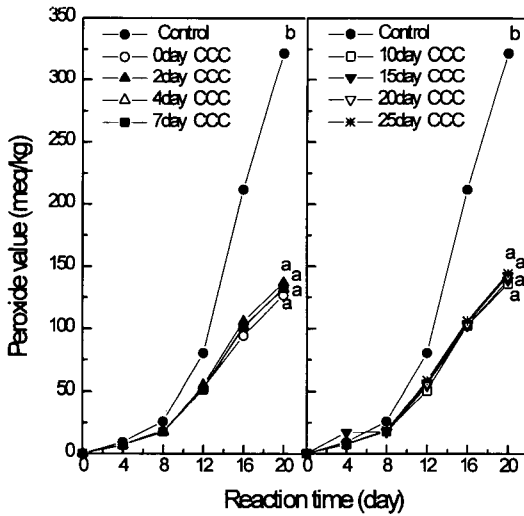


Fig. 3. Changes of peroxide values during the autoxidation of linoleic acid mixture with addition of crude chlorophylls and carotenoids(CCC) extract of mustard leaf kimchi(MLX) at 30°C for 20 days in the dark. Each extract of CCC from different fermentation time (0~25 days) of MLK was added 0.02% respectively. The different letters are significantly different at the 0.05 level of significance as determined by Duncan's multiple range test(n=3).

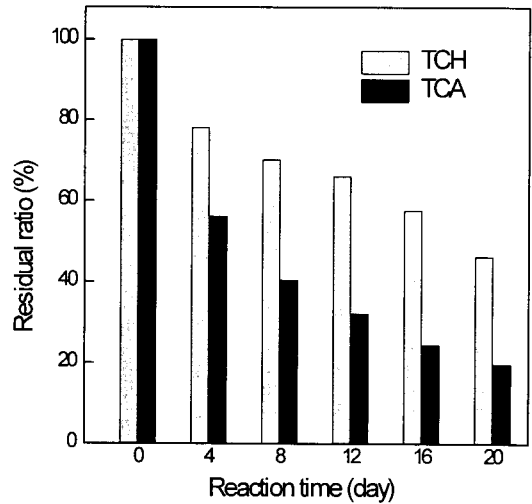


Fig. 5. Degradation of total chlorophylls(TCH) and total carotenoids(TCA) during the autoxidation of linoleic acid mixture with addition of crude chlorophylls and carotenoids extract of 7 day-fermented mustard leaf kimchi(MLX) at 30°C for 20 days in the dark.

여 적숙기인 7일째 갓김치의 CCC분획 0.02%를 첨가한 기질과 첨가하지 않은 기질 그리고 α-tocopherol, BHA

를 0.02% 각각 첨가한 기질을 30°C에서 반응시키면서 4일 간격으로 과산화물가와 공액이중산 함량을 측정하였다(Fig. 1과 2). 갓김치는 BHA에는 못미치나 α-to-

copherol 보다 높은 항산화 활성을 나타내었다. 그리고 발효기간에 따른 갓김치의 CCC분획의 항산화성을 살펴 보았을 때(Fig. 3과 4), 발효기간이 다른 갓김치 사이에서는 유의적으로 차이를 보이지는 않았다($p>0.05$). 갓김치의 CCC분획이 지방질의 산화에 대한 저해작용을 나타내는 동안 chlorophylls와 carotenoids의 감소율을 각각 660nm와 450nm에서 흡광도 변화를 측정하여 비교한 결과를 Fig. 5에 나타내었는데 chlorophylls가 carotenoids 보다 안정성이 높은 것을 볼 수 있었다.

이와 최의 보고(24,25)에 의하면 김치자체와 김치용매 추출물의 항산화성을 조사했을 때 15°C에서 7일간 발효된 김치가 가장 항산화성이 높다고 하였다. 그리고 Endo 등의 보고(9)에 의하면 chlorophylls 및 그 유도체가 지방질의 자동산화에 대해서 항산화 활성을 가지며, 그 중에서 chlorophyll a가 항산화성이 가장 높다고 하였다. 본 실험 결과에서 갓김치의 CCC분획의 항산화 활성은 carotenoids는 물론 안정성이 높은 chlorophylls가 크게 기여하리라고 사료되며 보다 상세한 연구가 진행되어야 한다고 여겨진다.

요 약

갓김치의 발효과정 중 chlorophylls, chlorophyll derivatives 및 carotenoids의 함량 변화와 갓김치에서 얻어진 이의 조획분의 항산화성을 살펴보았다. 갓김치 발효기간에 따른 chlorophylls 및 carotenoids의 함량은 발효 7일 동안 chlorophylls가 pheophytins로 급격히 전환되었으며 chlorophylls와 함께 chlorophyllides는 높은 농도는 아니지만 15일까지는 존재하다가 그 이후 모두 pheophytins와 pheophorbides로 변했다. 갓김치 발효기간 동안 total chlorophylls에는 큰 변화없이 거의 일정하게 유지되었으나 carotenoids는 발효 말기인 25일째에 초기 함량의 43.7%로 감소되었다. 갓김치에서 얻어진 chlorophylls와 carotenoids 조분획이 지방질의 자동산화에 미치는 영향을 조사하였을 때 α -tocopherol 보다 높은 항산화성을 나타내었으며 발효기간에 따른 갓김치의 항산화성을 비교하였을 때 유의적으로 차이는 없었다. 갓김치의 chlorophylls와 carotenoids 분획이 지방질의 산화에 대한 저해작용을 나타내는 동안 chlorophylls와 carotenoids의 감소율을 비교했을 때 총 chlorophylls가 총 carotenoids 보다 안정성이 높았다.

감사의 글

이 연구는 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사

업 연구결과의 일부이며 연구지원 감사드립니다.

문 헌

1. 조영숙, 박석규, 전순실, 문주석, 하봉석 : 돌산 갓의 일반성분, 당 및 아미노산 조성. 한국영양식량학회지, **22**, 48(1993)
2. 최홍식 : 김치의 생화학적 특성. 동아시아식생활학회지, **5**, 89(1995)
3. Cheigh, H. S. and Park, K. Y. : Biochemical, microbiological and nutritional aspects of kimchi(Korean fermented vegetable products). *Critical Reviews in Food Sci. Nutr.*, **34**, 109(1994)
4. 조영숙, 하봉석, 박석규, 전순실 : 돌산 갓의 carotenoids 및 chlorophylls 함량. 한국식문화학회지, **8**, 153(1993)
5. 박석규, 조영숙, 박정로, 문주석, 이용수 : 갓김치 숙성 중 당, 유기산, 유리아미노산 및 핵산관련 물질 함량의 변화. 한국영양식량학회지, **24**, 48(1995)
6. 박혜진, 한영실 : 갓의 첨가가 김치의 품질과 관능적 특성에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, **23**, 618(1994)
7. Gupta, K. and Wagle, D. S. : Nutritional and antinutritional factors of green leafy vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 472(1988)
8. Endo, Y., Usuki, R. and Kaneda, T. : Prooxidant activities of chlorophylls and their decomposition products on the photooxidation of methyl linoleate. *JAOCS*, **61**, 781(1984)
9. Endo, Y., Usuki, R. and Kaneda, T. : Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. I. Comparison of the inhibitory effects. *JAOCS*, **62**, 1375(1985)
10. Endo, Y., Usuki, R. and Kaneda, T. : Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidant action of chlorophyll effects. *JAOCS*, **62**, 1387(1985)
11. Tan, Y. A. : Chlorophylls and vegetable oils. *Porim Kulletin.*, **28**, 30(1994)
12. Gentile, J. M. and Gentile, G. J. : The metabolic activation of 4-nitro-O-phenylenediamine by chlorophyll-containing plant extracts: The relationship between mutagenicity and antimutagenicity. *Mutation Res.*, **250**, 79(1991)
13. Gross, J. : *Pigments in vegetables : chlorophylls and carotenoids*. An AVI Book, New York(1991)
14. Burton, G. W. : Antioxidant action of carotenoids. *J. Nutr.*, **119**, 109(1989)
15. Diplock, T. A. : Antioxidant nutrients and disease prevention. *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**, 189(1991)
16. White, R. C., Jones, I. D. and Eleanor, G. : Determination of chlorophylls, chlorophyllides, pheophytins and pheophorbides in plant material. *J. Food Sci.*, **28**, 431(1963)
17. A.O.A.C. : *Official methods of analysis*. 15th ed., Association of official analytical chemists, Washington, D. C., 942.04(1990)
18. A.O.C.S. : *Official and Tentative Method*. 2nd ed., Method Cd 8-53, Am. Oil Chem. Soc., Chicago(1980)
19. A.O.C.S. : *Official and Tentative Method*. 2nd ed., Me-

- thod Ti la-64, Am. Oil Chem. Soc., Chicago(1980)
20. 채서일, 김범중 : SPSS/PC⁺를 이용한 통계분석. 법문사, 서울, p.66(1989)
21. Jones, I. D., White, R. C. and Eleanor, G. : Influence of blanching or brining treatments on the formation of chlorophyllides, pheophytins and pheophorbides in green plant tissue. *J. Food Sci.*, **28**, 437(1963)
22. 김예숙, 이혜수 : 배추의 가열과 산 발효에 따른 chlorophylls의 변화. 한국조리과학회지, **1**, 27(1985)
23. 조영숙 : 돌산 갓김치 숙성 중의 주요 맛성분 및 미생물군의 변화. 한국식문화연구원논문집, p.183(1994)
24. 이영옥, 최홍식 : 우육(牛肉)지방질의 산화에 미치는 김치의 항산화작용에 관한 연구. 한국영양식량학회지, **24**, 1005(1995)
25. 이영옥, 최홍식 : 김치용매 추출물의 항산화성. 생명과학회지, **6**, 66(1996)

(1997년 6월 2일 접수)