

저장 중 시금치의 클로로필 색소 성분에 영향을 주는 요인

이상화* · 최은옥¹ · 이현규² · 박관화³

서원대학교 식품영양학과, ¹인하대학교 식품영양학과,
²한양대학교 식품영양학과, ³서울대학교 식품공학과

(2001년 1월 17일 접수, 2001년 2월 20일 수리)

저장 중 온도(20, 60°C), pH(4.5, 7.0), 기체조성(N₂, O₂), 광도(0 lux, 5,000 lux), 항산화제 및 포장조건이 시금치 및 동결 건조 시금치의 클로로필 색소 성분에 주는 영향을 조사하였다. 시금치에 함유된 클로로필 a 및 클로로필 b 함량은 각각 710.54(mg/100 g dry weight) 및 280.15(mg/100 g dry weight)이었다. 저장온도를 20°C에서 60°C로 올리면 다른 조건에 관계없이 시금치의 클로로필 a 및 클로로필 b 함량은 유의적으로(P<0.05) 감소하였으며, pH를 7.0에서 4.5로 낮추면 시금치의 클로로필 a, b 함량도 모두 유의성(P<0.05) 있게 감소하였다. 시금치의 클로로필 분해는 높은 온도와 낮은 pH에서 잘 일어났다. 질소로 치환된 저장 조건에서 저장된 시금치의 클로로필 a 및 클로로필 b 색소 성분의 분해는 질소 처리를 하지 않은 조건에서 저장된 시금치와 비교해서 유의성(P<0.05) 있게 억제되었으며, 빛(5,000 lux)을 조사한 조건에서 저장한 시금치의 클로로필 a 및 클로로필 b 성분은 빛이 차단된 상태에서 저장된 시금치와 비교해서 유의적으로(P<0.05) 감소하였다. 저장 중 시금치의 클로로필 파괴는 산소와 빛이 있는 조건에서 잘 일어난다. 암 저장(25°C, 15 min) 조건에서 항산화제는 시금치의 자동 산화에 의한 지용성 클로로필 a 성분의 분해를 억제하였는데, 억제 효과는 알파-토코페롤>ascorbic acid>β-carotene>catechin>quercetin>rutin>kaempferol>caffeic acid>chlorogenic acid>p-coumaric acid>ferulic acid 순이었다. 항산화제는 빛 저장(5,000 lux, 6 min) 조건에서도 singlet oxygen oxidation에 의한 클로로필 a의 분해를 억제하였는데, 억제 효과는 β-carotene>알파-토코페롤>ascorbic acid>catechin>quercetin>rutin>kaempferol>caffeic acid>chlorogenic acid>p-coumaric acid>ferulic acid의 순으로 감소하였다. Polyethylene bag으로 포장하지 않은 동결건조 시금치에 잔존하는 클로로필 a 및 클로로필 b 함량은 polyethylene bag으로 포장한 조건에서 동결건조 시금치에 잔존하는 클로로필 a 및 클로로필 b 함량에 비해 유의적으로(P<0.05) 낮게 나타났다. 시금치는 항산화제를 첨가한 다음 polyethylene bag에 포장한 상태로 저장하는 것이 클로로필 성분의 파괴를 최소화하는 방법이 될 수 있다.

Key words: 시금치, 클로로필, 저장조건, 항산화제, 포장조건

서 론

국민의 소득증대, 생활의 간편화 추구 등으로 점점 그 수요가 증대하고 있는 가공식품 분야 중 편의성, 저장성, 다양성 등에서 다른 가공식품에 비해서 우수하여 앞으로의 발전 가능성이 높은 분야가 즉석편의 식품 분야이며 이러한 제품의 제조에 있어서 식감 및 외관 등의 관능적 요소에 중대한 영향을 미치는 재료가 시금치와 같은 각종 채소원료이다.¹⁾

시금치는 사계절을 통하여 가공 및 유통되며 클로로필 등의 색소가 풍부하여 향신료로도 쓰이나, 수확 후에도 증산작용과 호흡작용을 왕성하게 하므로 쉽게 품질이 저하되며 자체 내에 있는 효소의 작용으로 색소 성분의 파괴를 가져와 소비자의 구매력을 떨어뜨린다. 특히 시금치의 가공 및 저장 중에 발생하는 지질의 산화는 지용성 색소인 클로로필 성분의 분해를 일으킨다.²⁾ Hirayama와 Oido 등³⁾은 시금치 잎의 저장 중 지질 및 클로로필 성분의 파괴가 일어나며, 지질 성분의 분해가 클로로필 성분의 분해보다 더 빠르게 일어난다고 보고하였다. 녹색 조직

에 있는 클로로필 성분의 특성은 lipoprotein 및 chloroplast와 관련이 있으며, 클로로필의 분해는 membrane array가 와해되어야 일어나는데 분해되면 갈색을 갖는 pheophytin 성분으로 변하여 제품의 품질을 떨어뜨린다.⁴⁾ 시금치와 같은 채소류의 클로로필 성분 분해는 산, 온도, 효소에 의하여 영향을 받으며 분해의 과정은 이들 제품의 노화에도 영향을 준다.^{5,6)} Yamauchi와 Watada는⁶⁾ 시금치에 있는 클로로필의 분해는 peroxidase-hydrogen peroxide 경로를 조절함으로써 최소화될 수 있다고 보고하였으며, 한 등⁷⁾은 ascorbic acid, isoascorbic acid 및 metaphosphoric acid가 홍당무 주스의 적색 색소 성분이 분해되는 것을 억제하는 것으로 보고하였다. 시금치의 클로로필 성분 분석과 이에 영향을 주는 요인에 관한 단편적인 연구는 많이 이루어졌으나 클로로필의 변화에 영향을 주는 온도, pH, 기체조성 및 광도의 연계적인 연구와 이들 성분의 분해를 최소화하는 저장 조건 및 천연 항산화제에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

그러므로 시금치의 저장 중에 일어나는 클로로필 색소 성분의 연구는 이 제품의 관능적 품질 특성을 증진시키는데 필요하다. 따라서 본 연구에서는 시금치의 저장 중에 일어나는 클로로필 성분의 변화에 대하여 알아보고 이들 성분에 영향을 주는 요인을 연구하였다.

*연락처

Phone: 82-43-261-8742; Fax: 82-43-261-8740

E-mail: shlee@seowon.ac.kr

재료 및 방법

시료의 구입 및 처리. 본 실험에서 사용한 시금치는 (주)흥농종묘에서 재배한 것을 구입하여, 물로 세척한 후 시금치 1.5 ton을 8시간 동안 동결시킨 후(초기온도: -10°C , 말기온도: -28°C) 16시간 동안 동결 건조하여 시료로 사용하였다.

시금치의 클로로필 색소 성분의 추출 및 분석. 동결 건조한 시금치 분말 5 g을 cold acetone 20 ml와 2분간 혼합한 후 celite를 첨가한 후 Buchner funnel에서 Whatman No. 1과 No. 42 여과지를 통하여 여과한 후 여과액을 volumetric flask 50 ml에 넣은 후 membrane filter($0.45\ \mu\text{m}$ pore size)로 여과시킨 뒤에 아세톤/물(80:20 v/v) 혼합액으로 희석하였다. 클로로필을 분석하기 위하여 $10\ \mu\text{l}$ 의 시료를 HPLC에 주입하였다. 모든 시료는 3회 반복으로 분석되었으며 클로로필 색소 성분을 분석하기 위한 HPLC의 분석 조건은 Table 1과 같다.^{8,9)}

저장 조건(온도, pH, 기체조성, 광도)이 시금치의 클로로필 색소 성분의 변화에 주는 영향을 연구하기 위한 시료처리. 동결 건조 시금치 5 g을 100 ml 시료병(serum bottle)에 넣은 후 pH 4.5 및 7.0의 완충용액(citric acid+ Na_2HPO_4)을 pH 조건별로 각각 50 ml씩 첨가하였다. 기체조성이 시금치의 클로로필 함량에 주는 영향을 연구하기 위하여 완충용액을 첨가한 시료 병에 질소를 purging한 시료와 질소처리를 하지 않은 대조시료를 준비한 다음 시료 병을 teflon septa와 aluminum cap으로 밀봉(air-tight sealing)하였다. 저장온도가 시금치의 클로로필 함량에 주는 영향을 알아보기 위하여 위의 방법으로 만들어진 시료를 20°C 및 60°C 의 조건에서 8일 동안 저장하였다. 광도가 시금치 클로로필 성분 함량에 주는 영향을 연구하기 위하여 사용되는 빛 저장상자(Fig. 1)는 나무상자($80\ \text{cm} \times 60\ \text{cm} \times 60\ \text{cm}$)를 이용하였다.¹⁰⁾ 나무상자의 내부는 가능한 한 균일한 광도를 시료에 조사하기 위해 흰 종이로 포장하였다. 시료는 나무상자의 하단에 위치한 광원(fluorescence light)으로부터 10 cm 상단에

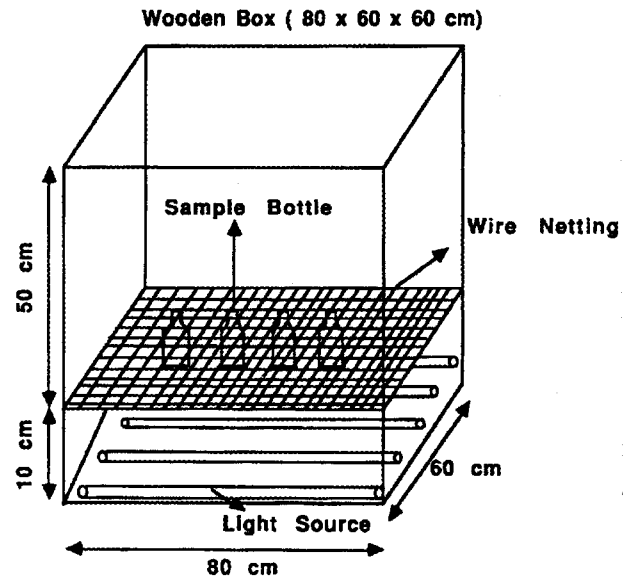


Fig. 1. Light storage box.

위치한 철선으로 만들어진 그물망(wire netting) 위에 놓았다. 각각의 시료는 될 수 있는 한 균일한 광도(5,000 lux)를 받도록 매시간마다 놓인 위치를 재배열하였다. 모든 시료는 8일간 저장하였으며 2일 간격으로 채취하여 시료로 하였고, 각각의 가공 및 저장 조건별로 만들어진 시료는 동결 건조하여 사용하였다.

항산화제(antioxidants)가 클로로필 색소 성분에 주는 영향을 연구하기 위한 시료의 제조 및 반응조건. 빛이 없는 조건에서 저장(dark storage)시 항산화제가 클로로필 색소 성분에 주는 영향을 연구하기 위하여 불포화지방산(linoleic acid, 0.40 mM)과 산화 효소(lipoxygenase 31,000 units; peroxidase 1.05 units)와 천연 항산화제(α -tocopherol, ascorbic acid, catechin, β -carotene, quercetin, rutin, kaempferol, caffeic acid, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid 및 ferulic acid) 및 합성 항산화제인 BHT를 15 mM 첨가한 모델 시스템(0.2 M citrate 완충용액, pH 6.8)에 클로로필을 첨가하여 농도가 $32\ \mu\text{M}$ 이 되게 시료를 준비하였다.¹¹⁾ Linoleic acid, α -tocopherol 및 β -carotene은 Tween 80 ($800\ \mu\text{g}/\text{ml}$)과 혼합한 후 완충용액에 첨가하였다. 모든 분석 시료는 30 ml serum bottle에 담아 septa로 밀봉한 후 25°C 에서 5, 10, 15분 동안 반응시켜 제조되었다. 시료($100\ \mu\text{l}$)는 아세톤($400\ \mu\text{l}$)과 혼합한 후 HPLC로 분석하였다.

빛이 있는 조건에서 저장(light storage)시 항산화제가 클로로필 색소 성분에 주는 영향을 연구하기 위하여 불포화지방산(linoleic acid, 0.40 mM)과 효소(superoxide dismutase 40 units + catalase 250 units)와 항산화제(β -carotene, catechin, α -tocopherol, ascorbic acid, quercetin, rutin, kaempferol, caffeic acid, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid 및 BHT)가 15 mM 함유된 모델 시스템(0.2 M citrate 완충용액, pH 6.8)에 클로로필을 첨가하여 농도가 $32\ \mu\text{M}$ 이 되게 하였다.¹¹⁾ Linoleic acid, β -carotene 및 α -tocopherol은 Tween 80($800\ \mu\text{g}/\text{ml}$)과 혼합한 후 완충용액에 첨가하였다. 분석 시료는 30 ml serum bottle에 담아 septa로 밀봉한 다음 빛 저장 상자에 넣어

Table 1. Apparatus and conditions for the analysis of chlorophyll pigments by HPLC

Column	Nova-Pak C_{18} reversed-phase column ($150 \times 3.9\text{mm}$) (Waters associates, Miford, MA, USA)
Pumps A and B	Waters model 510 pumps
Solvent A	MeOH (20) : Water (5) : Ethyl acetate (1)
Solvent B	MeOH (37.5) : Water (12.5) : Ethyl acetate (50)
Initial Conditions	100% Solvent A
Final Conditions	100% Solvent B
Gradient	Curve 7 for a duration of 7 min (Solvent programmer, model 660, Waters associates)
Flow Rate	1.5 ml/min
Detector	Waters 490 E programmable multiwave-length detector
Injector	Rheodyne injector
Injection Volume	10 μl
Detection Wavelength	658 nm

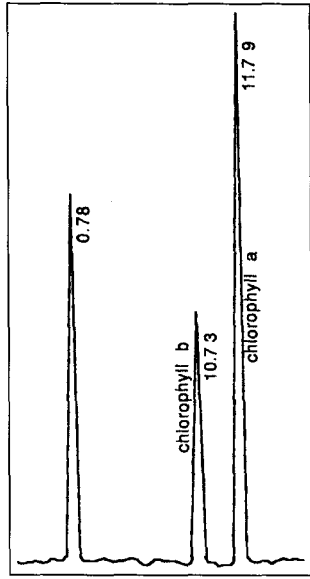


Fig. 2. HPLC chromatogram of chlorophyll components in freeze dried spinach.

결과 및 고찰

시금치의 클로로필 색소 성분 조성. 시금치에 함유된 클로로필 a와 b의 HPLC 분석에 의한 chromatogram은 Fig. 2와 같다.

시금치에 있는 클로로필 a, 클로로필 b의 함량은 각각 710.54 (mg/100 g dry weight), 280.15(mg/100 g dry weight)이었다. Hirayama와 Oido³⁾는 신선한 시금치의 클로로필 a, 클로로필 b의 함량이 각각 52(mg/100 g leaves), 18(mg/100 g leaves)이었다고 보고했고, Khachik 등¹⁴⁾은 생 시금치의 클로로필 a, 클로로필 b의 함량은 각각 94.16(mg/100 g dry weight), 20.20 (mg/100 g dry weight)이었다고 발표했다. 본 연구에서는 동결 시금치를 시료로 사용하였기 때문에, 신선한 시금치의 수분함량이 약 90%가 되는 것을 감안한다면, 클로로필 a의 함량은 위의 두 결과의 중간 정도 되었고 클로로필 b의 함량은 두 결과와 비교해서 높은 것으로 나타났다.

5,000 lux의 조건에서 5°C로 2, 4, 6분 동안 반응시켜 제조되었다. 시료(100 μ)는 아세톤(400 μ)과 혼합한 후 HPLC로 분석하였다.

포장 조건이 동결건조 시금치의 클로로필 색소 성분에 주는 영향을 연구하기 위한 시료 제조. 동결건조 시금치의 클로로필 변색을 최소화하는 포장조건을 연구하기 위하여 동결건조 시금치 10g을 포장하지 않은 상태에서 30°C의 온도 조건으로 2일 및 6일 동안 저장하거나 polyethylene bag으로 포장한 조건에서 30°C로 2, 6일 동안 저장한 다음 클로로필 a 및 클로로필 b의 함량을 HPLC로 측정하였다.¹²⁾

통계처리. 실험한 결과는 SAS 통계프로그램¹³⁾을 이용하여 Duncan's multiple range test에 의하여 유의성을 검정하였다.

저장 조건(온도, pH, 기체조성, 광도)이 시금치의 클로로필 색소 성분에 주는 영향. 저장 기간이 시금치의 클로로필 색소 성분에 주는 영향을 보면 시금치(pH 4.5)를 기체 환경을 질소로 치환한 조건에서 8일 동안 빛이 없는 조건으로 저장했을 때, 저장 기간이 0일에서 2일, 4일, 6일, 8일로 증가함에 따라 시금치의 클로로필 a 함량은 710.54(mg/100 g dry weight)에서 555.28(mg/100 g dry weight), 521.45(mg/100 g dry weight), 495.04(mg/100 g dry weight), 452.96(mg/100 g dry weight)으로 감소하였다(Table 2). 시금치를 16종류의 서로 다른 조건에서 저장하여도 클로로필의 a 및 클로로필 b의 함량은 저장 기간이 증가함에 따라 모두 감소하였다(Table 2, 3).

온도에 따른 클로로필 색소의 성분의 변화를 보면, 시금치(pH 4.5)를 질소로 충전한 기체 조성으로 8일간 빛이 없는 조건에서 저장했을 때 온도를 20°C에서 60°C로 올리면 시금치의 클로로필 a의 함량은 547.05(mg/100 g dry weight)에서 209.45

Table 2. Effects of storage conditions on the chlorophyll a content of spinach

Storage conditions				Chlorophyll a content (mg/100 g dry weight)					
Temp (°C)	pH	Gas phase	Light (lux)	0 day	2 day	4day	6day	8day	Mean
20	4.5	N ₂	0	710.54	555.28	521.45	495.04	452.96	547.05 ^b
20	4.5	N ₂	5,000	710.54	365.77	343.88	326.20	298.47	408.97 ^d
20	4.5	O ₂	0	710.54	441.89	414.07	390.96	357.73	463.04 ^c
20	4.5	O ₂	5,000	710.54	68.94	63.41	59.62	54.55	191.41 ^{fg}
20	7.0	N ₂	0	710.54	653.26	617.10	581.71	532.27	618.98 ^a
20	7.0	N ₂	5,000	710.54	445.52	418.86	396.84	363.11	466.97 ^c
20	7.0	O ₂	0	710.54	542.21	507.45	478.53	437.85	535.32 ^b
20	7.0	O ₂	5,000	710.54	83.07	76.59	72.08	65.96	201.65 ^{fg}
60	4.5	N ₂	0	710.54	92.13	87.50	82.02	75.04	209.45 ^f
60	4.5	N ₂	5,000	710.54	58.24	55.01	51.47	47.09	184.47 ^g
60	4.5	O ₂	0	710.54	75.11	70.83	66.32	60.68	196.70 ^{fg}
60	4.5	O ₂	5,000	710.54	9.55	8.01	7.34	6.72	148.43 ^h
60	7.0	N ₂	0	710.54	110.63	104.17	97.63	89.33	222.46 ^e
60	7.0	N ₂	5,000	710.54	71.04	67.09	62.81	57.47	193.79 ^{fg}
60	7.0	O ₂	0	710.54	92.16	86.98	81.47	74.55	209.14 ^f
60	7.0	O ₂	5,000	710.54	11.85	10.02	9.28	8.49	150.04 ^h

Means within the same column with different superscripts are significantly different (P<0.05).

Table 3. Effects of storage conditions on the chlorophyll b content of spinach

Temp (°C)	Storage conditions			Chlorophyll b content (mg/100 g dry weight)					
	pH	Gas phase	Light (lux)	0 day	2 day	4day	6day	8day	Mean
20	4.5	N ₂	0	280.15	236.27	221.88	210.65	192.74	228.34 ^b
20	4.5	N ₂	5,000	280.15	155.71	146.39	138.86	127.07	169.64 ^d
20	4.5	O ₂	0	280.15	187.89	176.06	166.24	152.19	192.51 ^c
20	4.5	O ₂	5,000	280.15	29.45	27.08	25.47	23.30	77.09 ^f
20	7.0	N ₂	0	280.15	273.16	262.76	247.69	226.62	258.08 ^a
20	7.0	N ₂	5,000	280.15	189.70	178.35	168.97	154.61	194.36 ^c
20	7.0	O ₂	0	280.15	230.87	216.07	203.76	186.38	223.45 ^b
20	7.0	O ₂	5,000	280.15	35.43	32.67	30.74	28.13	81.42 ^f
60	4.5	N ₂	0	280.15	39.36	37.38	35.04	32.06	84.80 ^e
60	4.5	N ₂	5,000	280.15	24.78	23.41	21.90	20.04	74.06 ^f
60	4.5	O ₂	0	280.15	32.09	30.26	28.34	25.93	79.35 ^f
60	4.5	O ₂	5,000	280.15	4.09	3.44	3.15	2.88	58.74 ^g
60	7.0	N ₂	0	280.15	47.28	44.26	41.48	37.96	90.23 ^e
60	7.0	N ₂	5,000	280.15	30.40	28.74	26.84	24.56	78.14 ^f
60	7.0	O ₂	0	280.15	39.42	37.21	34.85	31.89	84.70 ^f
60	7.0	O ₂	5,000	280.15	5.09	4.30	3.98	3.64	59.43 ^g

Means within the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

(mg/100 g dry weight)으로 유의성($P < 0.05$) 있게 감소하였다 (Table 2). 시금치(pH 7.0)를 질소로 충전하지 않은 기체 조성으로 8일간 빛이 있는 조건(5,000 lux)에서 저장했을 때 온도를 20°C에서 60°C로 올리면 시금치의 클로로필 b의 함량은 81.42(mg/100 g dry weight)에서 59.43(mg/100 g dry weight)으로 유의적으로($P < 0.05$) 감소하였다(Table 3). Table 2, 3에서 보듯이 pH, 기체조성, 광도 등의 조건에 관계없이 저장 온도를 올리면 시금치의 클로로필 a, b의 함량은 유의성($P < 0.05$) 있게 감소함을 알 수 있다. 이는 시금치의 저장 온도를 높이면 클로로필 성분의 분해가 빨라지는 것을 의미한다. 녹색 채소의 열처리 과정 중에 일어나는 클로로필의 분해는 품질 저하를 일으키며 이로 인하여 소비자의 구매력을 현저히 떨어뜨리게 된다.

시금치의 클로로필 색소에 주는 pH의 영향을 보면 시금치를 20°C에서 질소처리를 하지 않은 조건에서 8일간 빛이 없는 조건에서 저장했을 때 pH를 4.5에서 7.0으로 변화시키면 클로로필 a의 함량은 463.04(mg/100 g dry weight)에서 535.32(mg/100 g dry weight)으로 유의적으로($P < 0.05$) 증가하였다(Table 2). 시금치를 20°C에서 질소로 치환한 기체 조성으로 8일간 빛이 있는 조건에서 저장(5,000 lux)했을 때 pH를 4.5에서 7.0으로 증가시키면 클로로필 b의 함량은 169.64(mg/100 g dry weight)에서 194.36(mg/100 g dry weight)으로 유의적으로($P < 0.05$) 변화하였다(Table 3). 즉, 20°C의 저장 조건에서는 다른 조건에 관계없이 pH에 의한 클로로필의 변화는 유의성이 있었다. 그러나 60°C의 저장 조건에서는 기체 조성 및 광도에 관계없이 시금치의 클로로필 b 함량은 pH 증가에 따라 증가하였으나 유의적인($P > 0.05$) 변화를 나타내지는 않았다(Table 3). 결과적으로, 시금치의 클로로필 a, b는 중성 조건보다는 산성인 조건에서 더 많이 분해됨을 알 수 있다. 채소류의 저장 중 클로로필이 분해되어 클로로필의 유도체인 pheophytin이나 pheophorbide로 변화하는 것은 세포 내에 있는 산의 유출에 의해 일어나거나 또는 새로운 산의 형성에 의하여 일어난다고 보고되었다.⁶⁾

기체조성에 의한 클로로필 색소의 변화를 보면 60°C에서 pH 7.0의 시금치를 8일간 빛이 있는 조건에서 저장했을 때 질소 처리를 한 시료의 클로로필 a 함량과 질소 처리를 하지 않은 시료의 클로로필 a의 함량은 각각 222.46(mg/100 g dry weight) 및 209.14(mg/100 g dry weight)이었다(Table 2). 질소 처리를 한 시금치의 클로로필 a 함량이 질소 처리를 하지 않은 시금치의 클로로필 a 함량보다 유의적으로($P < 0.05$) 많았다. 시금치를 8일간 빛이 없는 조건에서 20°C로 pH 7.5의 조건에서 저장했을 때 질소 처리를 한 시료와 질소 처리를 하지 않은 시료의 클로로필 b의 함량은 각각 228.34(mg/100 g dry weight) 및 192.51(mg/100 g dry weight)이었으며 질소 처리를 한 시료의 클로로필 b 함량이 질소 처리를 하지 않은 시료의 클로로필 b 함량 보다 유의적으로($P < 0.05$) 많았다(Table 3). 즉, 질소 처리를 하여 산소를 제거하면 저장온도, pH 및 광도의 조건에 관계없이 시금치의 클로로필 a, b의 함량 파괴는 억제되었다. 이는 시금치에 있는 지용성 색소 성분인 클로로필이 산소에 의한 자동 산화 및 광산화로 인하여 분해되기 때문이라 사료된다. 결과적으로 시금치의 지용성 색소 성분인 클로로필은 산소의 존재 유무에 따라 그 안전성이 변화되는 것을 알 수 있다.

시금치의 클로로필 색소 성분에 주는 빛의 영향을 보면 시금치(pH 7.0)를 20°C에서 질소 처리를 하지 않은 상태에서 8일간 빛이 없는 조건 및 빛이 있는 조건(5,000 lux)으로 저장했을 때 클로로필 a의 함량은 각각 535.32(mg/100 g dry weight) 및 201.65(mg/100 g dry weight)이었다(Table 2). 빛이 있는 조건에서 저장된 시금치의 클로로필 a 함량이 빛 처리를 하지 않은 시금치의 클로로필 a 함량보다 유의적으로($P < 0.05$) 적었다. 시금치(pH 7.0)를 20°C에서 질소처리를 하지 않고 8일간 빛이 없는 조건 및 빛이 있는 조건(5,000 lux)에서 저장했을 때 클로로필 b 함량은 각각 258.08(mg/100 g dry weight) 및 194.36(mg/100 g dry weight)이었다(Table 3). 빛 처리를 하

Table 4. Effects of antioxidants on the chlorophyll a content in model system during dark storage at 25°C for 15 min

Chlorophyll a Remaining (%)	Components in Model System		
	5 min	10 min	15 min
Chl a	96	89	83
Chl a + Ln	39	27	14
Chl a + Ln + LOX	9	6	0
Chl a + Ln + POX	7	3	0
Chl a + Ln + LOX + POX	5	2	0
Chl a + Ln + BHT	72	56	42
Chl a + Ln + -Tocopherol	68	52	40
Chl a + Ln + Ascorbic acid	66	48	38
Chl a + Ln + -Carotene	63	45	36
Chl a + Ln + Catechin	62	44	34
Chl a + Ln + Quercetin	60	43	33
Chl a + Ln + Rutin	59	40	31
Chl a + Ln + Kaempferol	59	38	30
Chl a + Ln + Caffeic acid	57	41	29
Chl a + Ln + Chlorogenic acid	56	39	28
Chl a + Ln + <i>p</i> -Coumaric acid	52	40	26
Chl a + Ln + Ferulic acid	51	38	26

Chl a: Chlorophyll a, Ln: Linoleic acid, LOX: Lipoxygenase, POX: Peroxidase

지 않은 시금치의 클로로필 b 함량이 조사 처리를 한 시금치의 클로로필 b 함량보다 유의적으로($P < 0.05$) 많았다.

저장온도, pH 및 기체조성에 관계없이 시금치를 빛 처리를 하여 저장하면 빛 처리를 하지 않은 시료와 비교해서 클로로필 a, b는 현저히 파괴되었다. 결과적으로, 시금치의 클로로필 성분은 빛에 의하여 분해가 일어남을 알 수 있고, 이는 빛에 의해 시금치의 지용성 색소인 클로로필이 photosensitized oxidation과 photolysis의 작용을 받아 분해되기 때문이라 사료된다.

온도, pH, 기체 조성 및 빛의 유무에 관계없이 클로로필 a의 분해 속도가 클로로필 b의 분해 속도 보다 빠르게 나타났다. Hyrayama와 Oido³⁾는 개방된 저장 조건에서는 클로로필 a의 분해속도가 클로로필 b의 분해 속도 보다 빠르다고 보고하였다.

이상의 결과를 종합하면 시금치에 있는 클로로필의 분해는 높은 저장 온도, 낮은 pH 및 산소와 빛의 존재에 의해서 잘 일어나는 것을 알 수 있다.

항산화제(antidiscolorant)가 시금치의 클로로필 색소 성분에 주는 영향. 빛이 없는 조건에서 25°C로 15분 동안 저장(dark storage)했을 때 항산화제가 클로로필 a의 잔존 함량에 주는 영향은 Table 4와 같다. 빛이 차단된 상태에서의 저장 중 클로로필 a 단독으로 있을 때의 분해속도 보다는 linoleic acid와 함께 존재할 때의 분해속도가 빨랐으며, 특히 lipoxygenase 및 peroxidase와 같은 산화 효소가 첨가되었을 경우에는 분해가 시작된 후 15분이 지나면 클로로필 a가 더 이상 존재하지 않았다. 즉 산화 효소인 lipoxygenase와 peroxidase는 빛이 없는 조건에서도 클로로필 a의 분해를 빠르게 진행시켰다. Lipoxygenase는 *cis,cis*-1,4-pentadiene 구조를 갖는 linoleic acid나 linolenic acid와 같은 불포화지방산의 산화를 촉진시키며, 이로 인하여 9-이나 13-hydroperoxide를 생성한다.¹⁵⁾ 산화 작용

을 갖는 이들 과산화물은 식품의 클로로필이나 카로테노이드와 같은 지용성 색소와 cooxidation을 일으켜 이들 색소의 분해를 일으키는 것으로 알려져 있다.¹⁶⁾ Yamauchi와 Watada⁶⁾는 시금치에 있는 클로로필의 분해는 peroxidase-hydrogen peroxide 경로를 조절함으로써 최소화될 수 있다고 보고하였다.

한편, 시금치에도 존재하는 천연 항산화제로 알려진 알파-토코페롤,¹⁷⁾ ascorbic acid 및 β -carotene의 첨가는 클로로필 a의 잔존량을 크게 증가시켰는데, 이는 알파-토코페롤, ascorbic acid 및 β -carotene이 클로로필의 분해를 촉진시키는 역할을 하는 산소를 소거함으로써, 그리고 lipoxygenase 및 peroxidase 같은 산화 효소의 활성을 산소를 억제시킴으로써 감소시키기 때문이라 생각된다. 알파-토코페롤, ascorbic acid 및 β -carotene는 합성 항산화제인 BHT와 비슷한 효과를 보였다. 이 결과로부터 클로로필 a의 변색 과정에서 산소가 중요한 역할을 한다는 사실을 알 수 있다. 알파-토코페롤, ascorbic acid 및 β -carotene은 암과 심장병 등을 예방해주며, 식품에 있어서 항산화 효과를 갖는 것으로 알려져 있다. 한 등⁷⁾은 ascorbic acid, isoascorbic acid 및 metaphosphoric acid가 홍당무 주스의 적색 색소 성분이 분해되는 것을 억제하는 것으로 보고하였다.

시금치와 같은 채소류에 함유된 flavonoid는 diphenylpropane ($C_6C_3C_6$) 구조를 갖으며 flavanol(catechin), flavanol(querctetin, rutin, kaempferol) 및 phenyl propanoid(caffeic acid, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid)로 나뉘어 진다.

Flavonoid류인 catechin, quercetin 및 rutin과 시금치에도 존재하는 phenolic acid인 *p*-coumaric acid(0.21 mg/dry weight)¹⁸⁾ 및 ferulic acid(1.13 mg/g dry weight),¹⁸⁾ 그리고 시금치에는 함유되어 있지 않으나 중요한 phenolic acid 성분인 kaempferol, caffeic acid, chlorogenic acid 성분은 시금치의 클로로필 분해를 억제하였는데 이들의 항변색력(antidiscoloring activity)은 catechin>quercetin>rutin>kaempferol>caffeic acid>chlorogenic acid>*p*-coumaric acid>ferulic acid 순으로 클로로필 a의 잔존량을 증가시켰다. Chen과 Ho¹⁹⁾는 돼지기름과 옥수수기름의 산화 과정에서 polyphenol의 항산화력을 Rancimit 방법에 의하여 측정하였는데, 항산화력의 크기는 α -tocopherol>caffeic acid>chlorogenic acid>ferulic acid의 순으로 나타났다.

Flavonoid류는 지질 성분의 free radical을 소거하는 작용을 갖는 것으로 알려져 있는데, 이는 flavonoid radical의 reduction potential이 alkyl peroxy radical이나 superoxide radical의 reduction potential 보다 작기 때문이며, 결과적으로 flavonoid는 oxy기를 갖는 성분의 활성을 최소화시킨다.²⁰⁾ 또한 flavonoid의 항산화 작용은 superoxide radical의 소거, peroxyradical의 소거 및 지질 산화의 방지로 설명될 수 있다.²¹⁾

시금치를 빛이 있는 조건에서 저장(light storage)했을 때 항산화제가 시금치의 클로로필 a 안정성에 주는 영향은 Table 5와 같다. 클로로필 a와 linoleic acid가 동시에 존재할 때의 클로로필 a 분해 속도는 시료를 암저장 했을 때의 분해속도 보다 현저히 빨랐는데, 이는 클로로필 a가 빛(5,000 lux)의 존재 하에서 triplet oxygen(3O_2)과 반응하여 singlet oxygen(1O_2)을 생성하는데, singlet oxygen과 linoleic acid의 반응속도가 triplet oxygen과의 반응속도 보다 1,500배 정도 빠르기 때문이다.²²⁾

Table 5. Effects of antioxidants on the chlorophyll a in model system during light storage at 5°C for 6 min

Components in Model System	Chlorophyll a Remaining (%)		
	2 min	4 min	6 min
Chl a	96	89	83
Chl a + Ln	35	20	9
Chl a + Ln + SOD + Catalase	37	22	10
Chl a + Ln + -Carotene	60	41	27
Chl a + Ln + Catechin	58	38	25
Chl a + Ln + -Tocopherol	55	35	24
Chl a + Ln + Ascorbic acid	54	35	23
Chl a + Ln + Quercetin	51	34	21
Chl a + Ln + Rutin	49	32	20
Chl a + Ln + Kaempferol	47	31	20
Chl a + Ln + Caffeic acid	47	30	19
Chl a + Ln + Chlorogenic acid	46	28	18
Chl a + Ln + <i>p</i> -Coumaric acid	45	28	18
Chl a + Ln + Ferulic acid	45	27	17
Chl a + Ln + BHT	36	20	10

Chl a: Chlorophyll a, Ln: Linoleic acid, SOD: Superoxide dismutase

Superoxide anion을 소거하는 산화효소로 알려진 superoxide dismutase와 catalase를 첨가하였으나 변색 방지 효과를 보이지 못했는데, 그 이유는 클로로필에 의한 산화반응은 superoxide anion 보다는 singlet oxygen에 의한 것이기 때문인 것으로 사료된다.

천연 항산화제인 β -carotene, 알파-토코페롤 및 ascorbic acid는 빛에 의한 클로로필의 변색을 효과적으로 방지하였으나 BHT는 효과를 보이지 못했다. 이는 빛에 의한 지용성 클로로필의 산화는 free radical autooxidation에 의한 산화가 아니라 singlet oxygen oxidation에 의한 것이라는 것을 보여주는 결과이다. Flavonoid류의 일종인 catechin, quercetin, rutin, kaempferol, caffeic acid, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid도 β -carotene, 알파-토코페롤, ascorbic acid와 같이 변색 방지 효과를 나타내는 것으로 보아 이들도 singlet oxygen을 소거하는 기능을 갖는 것으로 생각된다. 빛 저장 중에 클로로필 a의 잔존량을 증진시키는 작용은 β -carotene>알파-토코페롤>ascorbic acid>catechin>quercetin>rutin>kaempferol>caffeic acid>chlorogenic acid>*p*-coumaric acid>ferulic acid의 순으로 감소하였다. Tournaire 등²³⁾은 광산화 과정에서 flavonoid가 갖는 singlet oxygen의 total singlet oxygen quenching rate constant를 구하였는데, catechin, quercetin, rutin, kaempferol의 rate constant는 각각 5.8×10^6 , 2.4×10^6 , 1.6×10^6 , 7.1×10^5 (l/mol/sec)이었다. 즉 광산화 중 singlet oxygen의 소거 작용력은 catechin>quercetin>rutin>kaempferol의 순이었다. Paganga 등²⁴⁾은 catechin의 singlet oxygen 소거작용이 quercetin의 소거작용 보다 4배 정도 크다고 발표했으며, 이는 quercetin 구조에 비해 catechin 구조의 C ring에 carbonyl기가 없기 때문이라고 하였다. Polyphenol은 다양한 기능을 갖는데 환원제, 수소공여 항산화제 및 singlet oxygen quencher로서의 역할을 한다. Polyphenol은 hydrogen donating radical scavenger로서의 phenolic hydrogen을 갖고 있기 때문에 항산화 기능을 갖는다. Polyphenol이 항산화제로서의

Table 6. Effects of packaging conditions on the chlorophyll a and chlorophyll b content of freeze dried spinach during storage at 30°C for 6 days

Storage conditions	Chl a (mg/100 g dry weight)	Chl b (mg/100 g dry weight)
Freeze dried spinach	710.54	280.15
Stored without packaging		
2 days	528.65	225.09
6 days	466.57	198.67
	(Mean) 517.61 ^b	(Mean) 211.88 ^B
Stored in polyethylene bag		
2 days	640.19	267.70
6 days	570.08	242.73
	(Mean) 590.14 ^a	(Mean) 255.22 ^A

Chl a: Chlorophyll a, Chl b: Chlorophyll b

*Means within the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

역할을 하려면 두 가지 조건을 갖추어야 하는데 첫째로는 산화 대상인 기질의 농도 보다 낮은 농도로 사용되어야 하며, 둘째로 소거 후에 생성되는 radical이 intramolecular hydrogen bonding을 통해서 안정되어야만 한다.²⁵⁾

포장 조건이 동결건조 시금치의 클로로필 색소 성분에 주는 영향. 포장조건이 30°C로 2일 및 6일 동안 저장했을 때 동결건조 시금치의 클로로필 a 및 클로로필 b의 함량에 주는 영향은 Table 6과 같다. Polyethylene bag으로 포장을 하지 않은 조건에서 2일 및 6일 동안 저장한 시금치의 클로로필 a 및 클로로필 b의 평균값은 각각 517.61(mg/100 g dry weight), 211.88(mg/100 g dry weight)이었다. Polyethylene bag으로 포장을 한 조건에서 2일 및 6일 동안 저장한 시금치의 클로로필 a 및 클로로필 b의 평균값은 각각 590.14(mg/100 g dry weight), 255.22(mg/100 g dry weight)이었다. Polyethylene bag으로 포장하지 않은 시금치에 잔존하는 클로로필 a 및 클로로필 b 함량은 polyethylene bag으로 포장한 조건에서 시금치에 잔존하는 클로로필 a 및 클로로필 b 함량에 비해 유의적으로 ($P < 0.05$) 낮게 나타났다. 결과적으로 시금치는 polyethylene bag에 포장하여 저장하는 것이 클로로필의 파괴를 최소화하는 방법이 될 수 있다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구비 지원에 의해 수행된 과제의 일부로서 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

- Haisman, D. R. and Clarke, W. C. (1975) The interfacial factor in the heat-induced conversion of chlorophyll to pheophytin in green leaves. *J. Sci. Food Agric.* **26**, 1111-1126.
- Lopez-Ayerra, B., Murcia, A. and Garcia-Carmona, F. (1988) Lipid peroxidation and chlorophyll leaves in spinach during refrigerated storage and after industrial processing. *Food Chem.* **61**, 113-118.

3. Hyrayama, O. and Oido, H. (1969) Changes of lipid and pigment compositions in spinach leaves during their storage. *J. Agr. Chem. Soc. Jpn.* **43**, 423-428.
4. Canjura, F. L., Schwarz, S. J. and Nunes, R. V. (1991) Degradation kinetics of chlorophylls and chlorophyllides. *J. Food Sci.* **56**, 1639-1643.
5. Lajollo, F. M. and Lanfer Marquez, U. M. (1982) Chlorophyll degradation in spinach system at low and intermediated water activities. *J. Food Sci.* **47**, 1995-1998.
6. Yamauchi, N. and Watada, A. E. (1991) Regulated chlorophyll degradation in spinach leaves during storage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **116**, 58-62.
7. Han, D. S., Kim, S. J., Kim, S. H. and Kim, D. M. (1998) Repeated regeneration of degraded red beet juice pigments in the presence of antioxidants. *J. Food Sci.* **63**, 69-72.
8. Baardseth, P. and von Elbe, J. H. (1989) Effect of ethylene, free fatty acid and some enzyme systems on chlorophyll degradation. *J. Food Sci.* **54**, 1361-1363.
9. Schwartz, S., Woo, S. L. and von Elbe, J. H. (1981) High-performance liquid chromatography of chlorophylls and their derivatives in fresh and processed spinach. *J. Agric. Food Chem.* **29**, 533-535.
10. Lee, S. H. and Min, D. B. (1990) Effects, quenching mechanisms and kinetics of carotenoids in chlorophyll-sensitized photooxidation of soybean oil. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1630-1634.
11. Osuna-Garcia, J. A., Wall, M. M. and Waddell, C. A. (1997) Natural antioxidants for preventing color loss in stored paprika. *J. Food Sci.* **62**, 1017-1021.
12. Yadav, S. K. and Sehgal, S. (1995) Effects of home processing on ascorbic acid and β -carotene content of spinach and amaranth leaves. *Plant Foods for Human Nutrition* **47**, 125-131.
13. SAS Institute Inc. (1990) SAS User's Guide. SAS Institute Inc., NC, USA.
14. Khachik, F., Beecher, G. R. and Whittaker, N. F. (1986) Separation, identification and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **34**, 603-616.
15. Adams, J. B. and Ongly, M. H. (1989) The behavior of green bean lipoxygenase on chromatography and isoelectric focussing. *Food Chem.* **31**, 57-71.
16. Eskin, N. A., Grossman, S. and Pinsky, A. (1977) Biochemistry of lipoxygenase in relation to food quality. *CRC Crit. Rev. Sci. Nutr.* **9**, 1-41.
17. Murcia, M. A., Verna, A. and Garcia-Carmona, F. (1992) Determination by HPLC of changes in tocopherol levels in spinach after industrial processing. *J. Sci. Food Agric.* **60**, 81-84.
18. Huang, H-M., Johannig, G. L. and O'Dell, B. I. (1986) Phenolic acid content of food plants and possible nutritional implications. *J. Agric. Food Chem.* **34**, 48-51.
19. Chen, J. H. and Ho, C-T. (1997) Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 2374-2378.
20. Jovanovic, S. V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B. and Simic, M. G. (1994) Flavonoids as antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 4846-4851.
21. Wardman, P. (1989) Reduction potentials of one-electron couples involving free radicals in aqueous solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data Ser.* **18**, 1637-1755.
22. Rawls, H. R. and van Santen P. J. (1970) A possible role for singlet oxygen in the initiation of fatty acid autoxidation. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **47**, 121-125.
23. Tournaire, C., Croux, S. and Marie-Therese, M. (1993) Antioxidant activity of flavonoids: Efficiency of singlet oxygen quenching. *J. Photochem. Photobiol. B.* **19**, 205-215.
24. Evans, C. A. (1996) Mechanisms of antioxidant activities of quercetin and catechin. *Redox Report.* **2**, 359-364.
25. Shahidi, F. and Wanasundara, P. K. J. (1990) Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutri.* **9**, 1-32.

Factors Affecting the Components of Chlorophyll Pigment in Spinach during Storage

Sang Hwa Lee*, Eun Ok Choe¹, Hyeon Gyu Lee² and Kwan Hwa Park³ (*Department of Food and Nutrition, Seowon University, Choongbuk 361-742, Korea; ¹Department of Food and Nutrition, Inha University, Incheon 402-751, Korea; ²Department of Food and Nutrition, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea; ³Department of Food Science and Technology, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea*)

Abstract : Factors such as temperature (20, 60°C), pH (4.5, 7.0), gaseous phase (N₂, O₂), and light (0 lux, 5,000 lux), antioxidants and packaging conditions were investigated to study the effects of above factors on the chlorophyll components in spinach during storage. Regardless of other factors, as the storage temperature increased from 20°C to 60°C and pH decreased from 7.0 to 4.5, the contents of chlorophyll a and chlorophyll b in spinach decreased significantly (P<0.05). The amounts of chlorophyll a and chlorophyll b in spinach stored in nitrogen gas were significantly (P<0.05) lower than those in sample in oxygen phase. As the light intensity increased from 0 lux to 5,000 lux during storage, the contents of chlorophyll a and chlorophyll b in spinach significantly (P<0.05) decreased. The antioxidants reduced the degradation of chlorophyll a in a model system during dark storage by minimization of free radical oxidation. The effectiveness of antioxidants decreased as following orders; α -tocopherol>ascorbic acid> β -carotene>catechin>quercetin>rutin>kaempferol>caffeic acid>chlorogenic acid>p-coumaric acid>ferulic acid. The degradation of chlorophyll a in a model system during light storage was minimized by antioxidants due to the reduction of singlet oxygen oxidation. The antidiscoloring potential of antioxidants decreased as following orders; β -carotene> α -tocopherol>ascorbic acid>catechin>quercetin>rutin>kaempferol>caffeic acid>chlorogenic acid>p-coumaric acid>ferulic acid. The amounts of chlorophyll a and chlorophyll b in freeze dried spinach packed with polyethylene bag were significantly (P<0.05) lower than those in non-packed freeze dried spinach. The package of spinach in polyethylene bag with the combination of antioxidants could be used to minimize the degradation of chlorophyll components in spinach during storage.

Key words : spinach, chlorophyll, storage conditions, antioxidants, packaging conditions

*Corresponding author