

## 금속이온이 청각 색소의 안정화에 미치는 영향

이인선<sup>1</sup> · 이홍렬<sup>2</sup> · 김학렬<sup>1</sup> · 고강희<sup>1</sup> · 장해춘<sup>3</sup> · 김인철<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>목포대학교 공과대학 식품공학과, <sup>2</sup>동아인재대학 관광학부 호텔조리제빵전공  
<sup>3</sup>조선대학교 식품영양학과

## Effect of Metal Ions on Stabilization of *Codium fragile's* Pigments

In-Seon Lee<sup>1</sup>, Hong-yeol Lee<sup>2</sup>, Hag-Lyeol Kim<sup>1</sup>, Kang-Hee Ko<sup>1</sup>,  
Hae-Choon Chang<sup>3</sup> and In-Cheol Kim<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Engineering, Mokpo National University, Muan 534-729, Korea

<sup>2</sup>Department of Hotel Culinary and Bakery, Dong-A College, Yeongam 526-705, Korea

<sup>3</sup>Department of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

### Abstract

The extraction yield and storage stability of *Codium fragile* pigments extracted in acetone, ethanol or methanol were studied. Methanol was the most effective solvent for pigment extraction, providing an extraction yield of 25.0±2.10 mg/g (dry base). As shown by TLC and HPLC analysis, chlorophyll *a*(0.40 mg/g) and chlorophyll *b*(1.94 mg/g) were the major pigment components in dried *Codium fragile*. The total chlorophyll content of *Codium fragile* stored at 40C in light or dark conditions for 30 weeks remained at 23.2% and 58.4%, respectively. The effect of metal ions (Cu<sup>++</sup>, Zn<sup>++</sup>, Fe<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup>) on pigment stability was analyzed. Among the four metal ions Cu<sup>++</sup> was the most effective stabilizer of *Codium fragile* pigments during storage, and Zn<sup>++</sup> ion was the second most effective. In the presence of 1 mM Cu<sup>++</sup>, the total chlorophyll retained in *Codium fragile* stored at 40C in light or dark conditions was increased to 47.0% and 88.8% after 30 weeks storage, respectively. The optimum concentrations of Zn<sup>++</sup> and Cu<sup>++</sup> for pigment stabilization under dark conditions were 0.5 mM and 0.1 mM, respectively.

**Key words** : *Codium fragile*, storage stability, chlorophyll, pheophytin, metal ions

### 서 론

색소는 식품, 의약품, 화장품 및 의류 등에 다양한 용도로 활용되며, 특히 식품에 있어서 제품의 가치를 높이고 소비자의 구매충동과 식욕을 돋우어 주는 중요한 역할을 한다(1,2). 합성색소는 값이 저렴하고 색의 종류가 다양하며 착색률이 높아 광범위하게 사용되고 있으나 인체에 대한 독성과 발암성 등이 보고됨에 따라 합성색소의 사용이 점차 제한되고 있으며(3), 천연색소에 대한 선호도와 수요가 날로 증가하고 있다.

일반적으로 해조류라고 하면 바다에 생육하는 은화식물(cryptogamae)로서 육안으로 쉽게 볼 수 있는 크기이며, 정착성의 것을 뜻하는 경우가 많다. 해조는 조체모양도 중요하지만 체색도 중요한데 체색이 각기 다른 것은 함유하는 광합성 색소의 조성이 다르기 때문이며, 이로 인해 광합성 산물이나 체성분 조성이 달라질 뿐만 아니라 생식법에도 영향을 미치게 되는 것이다. 따라서 체색을 중심으로 한 생태 및 생식법으로부터 녹조류, 갈조류 및 홍조류 등으로 분류하고 있으며, 우리나라 연안에 분포하고 있는 해조류 600 여종 중, 식용되는 것은 60 여종으로 총 487천 톤이 생산되는 것으로 추정되고 있다(4). 특히 녹조류는 세계적으로 약 1만 종이 알려져 있으며, 약 90%가 담수이고 10%는

†Corresponding author. E-mail : ickim@mokpo.ac.kr,  
Phone : 82-61-450-2426, Fax : 82-61-450-6325

해수산이며 색소체가 다량의 엽록소를 함유하고 있어 녹색을 띄며 고등식물과 거의 같은 비율로 chlorophyll a와 b를 함유하고 있을 뿐만 아니라  $\beta$ -carotene, xanthophyll 등의 색소도 함유하고 있다. 해양 녹조류 중에서 가장 흔히 관찰되는 청각(*Codium fragile*)은 3대 영양소 중에서 탄수화물과 단백질이 다량으로 포함되어 있을 뿐만 아니라 비타민A, 비타민B1, 리보플라빈, 나이아신도 매우 풍부하여 체구성 물질로서 뿐만 아니라 열량 면에서도 대단히 우수한 식품으로 보고되고 있으며(5), 다량의 chlorophyll을 함유하고 있다. Chlorophyll은 식물이 광합성작용에 의해 스스로 영양분을 생산하는 천연의 유기 반도체로서 식물에 있어서 생명을 만드는 중요한 성분이며, 구조는 porphyrin계 색소로 phophyrin 중앙에 Mg을 가지며, isocyclic ring이라 불리는 다섯 번째 ring 구조로 phophyrin의 propionic acid 측쇄와 고급 불포화 alcohol인 phytol이 ester 결합을 하고 있다(6,7). Chlorophyll은 항암작용, 항 궤양작용, 항 콜레스테롤작용, 조혈작용, 혈압강하작용 등의 효능이 알려져 있다(8). 하지만 천연색소는 일반적으로 각 색소의 종류에 따라 빛, 열, 산, 알칼리, pH, 산소, 금속이온, 식품성분의 영향으로 안정하지 못하기 때문에 식품에 적용하기 위해서는 무엇보다도 제품의 가열과 살균공정에서 퇴색 및 변색이 일어나지 않아야 하며, 빛에 대한 내광성 등이 있어야 한다(9,10). 특히 chlorophyll은 빛, 온도, 금속이온, 산, 알칼리, 효소에 의해 변색되기 쉬운데 시금치에서와(11,12), 완두콩에서의 pH와 온도에 대한 chlorophyll 변화(13-15), 녹색 채소에서의 금속이온( $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ )에 대한 chlorophyll 변화가 보고된 바 있으며(16-21), 또한 chlorophyll로부터 side chain의 pythyl 대신 methyl기가 붙어 있으며 중심금속인 Mg을 소거한 pheophorbide를 리간드로 하여 여기에 중심금속으로 Cu와 Zn을 치환시킨 metallochlorophyll의 안정성에 관한 보고도 있다(21). 일반적으로 chlorophyll 색소는 지용성 색소로 여러 가지 유기용매를 이용하여 추출, 분리하는데 시금치로부터는 acetone을 이용하여 추출하였으며(11,12), 콩잎으로부터 석유 ether와 ethanol 그리고 포름알데하이드를 이용하여 추출하였고(13-15), 녹조류로부터 엽록소를 추출한 방법으로는 침지하는 방법, 시료를 분쇄하는 방법, 초음파 처리 방법 그리고 본 실험에서 사용된 유기용매를 이용하여 추출하는 방법을 이용하고 있다(9). 그러나 그동안 대부분의 연구가 육상 식물에서의 chlorophyll 색소에 관하여 이루어지고 있는 반면 해조류에서 추출되어진 chlorophyll 색소의 안정성에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구는 전국 총생산량의 93%를 차지하는 전남 서해안 지역의 해조류 중 녹조류에 속하는 청각 색소의 산업적 활용 방안을 모색하기 위하여, 유기용매를 사용하여 색소를 추출한 후, 추출성분을 분석하고, 분리된 색소 중 chlorophyll의 안정성을 증가시키기 위하여, 금속이온이 청각 색소의 안정화에 미치는 영향을 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 재 료

본 연구에 사용한 청각은 전남 무안군 청계면의 시장에서 11월에 구입한 것을 사용하였다. 청각은 충분한 양의 증류수로 세척한 다음, 60°C에서 24시간 건조한 후 분쇄하여, 50 mesh 이하의 분말을 색소 추출에 사용하였다. 청각 분말은 분쇄 후, -20°C에 보관하며 사용하였다. Chlorophyll의 추출용매는 methanol을 사용하였으며, 표준 물질은  $\beta$ -carotene(Sigma Co.), xanthophyll, chlorophyll a, chlorophyll b(Fruka Co.)를 구입하여 사용하였고 첨가금속은  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$ (Yakuri Co.),  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$  (Shinyo Co.)를 구입하여 사용하였다.

### 청각 색소 추출 및 수율 분석

청각으로부터 색소추출용매를 결정하기 위하여 건조된 청각을 50 mesh로 분쇄하여 시료 2 g에 200 mL의 90% methanol, ethanol, acetone을 넣고 20°C에서 교반하면서 48시간 추출하였다(22). 추출되어진 용액을 glass filter를 이용하여 여과한 후 spectrophotometer (UV-VIS, TU-1800PC)로 흡광도를 측정하여 Tan 등이 제시한 분광광도방법(11)에 의하여 색소량을 구하였다. 추출된 색소를 분광광도계를 사용하여 667.5 nm, 660 nm, 655 nm, 642.5 nm, 447 nm에서의 흡광도를 측정한 다음, 아래 식에 의하여 색소 함량을 분석하였다.

- Total chlorophyll (mg/L) =  $7.55(A_{660}) + 17.8(A_{642})$
- Chlorophyll a (mg/L) =  $10.5(A_{660}) - 0.824(A_{642.5})$
- Chlorophyll b (mg/L) =  $18.6(A_{642.5}) - 2.98(A_{660})$
- Pheophytin a (mg/L) =  $17.6(A_{667.5})$
- Pheophytin b (mg/L) =  $31.4(A_{655})$
- Carotene (mg/L) =  $4.08(A_{447})$

각 추출 용매에 대한 추출 수율은 추출액 200 mL을 모두 40°C에서 감압 농축하여 최소한의 부피로 농축시킨 후, 발효주정 10 mL를 첨가하여 회수하고, 105°C에서 항량이 될 때까지 건조시킨 후 초기 청각 무게 2 g에 대한 비율로 수율을 결정하였다.

### 추출한 색소의 TLC 와 HPLC 분석

청각 분말 1 g을 90% methanol 100 mL로 20°C에서 교반하면서 48시간 추출하고 0.45  $\mu\text{m}$  syringe filter를 이용하여 여과한 후 추출되어진 물질을 TLC plate(General-purpose, silica gel on glass, 20 cm x 20 cm, Sigma-Aldrich Co., USA) 위에 spotting 한여 TLC를 수행하였다. 전개용매는 petroleum ether : acetone = 7 : 3(v/v)인 용매를 사용하였고, 1시간 30분간 전개하였다(22). 추출된 색소의 HPLC 분석을 위해 Isocratic elution HPLC system( SP930D, Young-In., Korea)은

absorbance detector (UV 730D), column oven (CTS30)을 사용하였다. Column은  $\mu$ Bondapak C18(10  $\mu$ m, 3.9  $\times$  300 mm I.D., Waters)을 사용하였고, mobile phase는 methanol을 사용하였으며, flow-rate은 1.0 mL/min, column oven 온도는 30°C로 하였고, detection wavelength는 450 nm에서 측정하였다.

### 빛에 의한 chlorophyll의 안정성

빛이 chlorophyll의 안정성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 청각 분말 0.2 g을 90% methanol 20 mL에 넣고 20°C에서 교반하면서 48시간 동안 색소를 추출하고 0.45  $\mu$ m syringe filter로 여과한 후 여과액을 10 mL 시험관에 각각 담아 한쪽의 처리구는 포장하여 빛을 완전히 차단하고 다른 한쪽의 처리구는 빛이 들어갈 수 있도록 하여 실온에서 9주와 30주간 저장 한 후 분광광도법(11)에 따라 색소의 변화를 분석하였다.

### 금속이온의 chlorophyll 안정화 효과 분석

금속이온의 chlorophyll 안정화 효과를 분석하기 위하여, 상기 조건과 동일한 조건으로 색소를 추출하는 과정에, 금속이온( $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ )을 1 mM의 농도로 첨가한 다음, 색소를 추출하고 빛이 있는 상태와 빛이 차단된 상태에서 9주와 30주간 저장 후의 색소 함량을 분석하였다. 이후 첨가되는 금속의 최적 농도를 결정하기 위하여  $\text{Cu}^{++}$ 와  $\text{Zn}^{++}$ 는 1 mM, 0.5 mM, 0.1 mM, 0.05 mM, 0.01 mM의 농도로 추출 시 첨가한 다음, 동일한 저장 실험을 수행하였다.

### 색도 분석

청각 색소의 추출 조건 및 저장 기간에 따른 색도의 변화를 알아보기 위하여 각각 추출되어진 색소 10 mL를 원통형의 투명한 cell에 담아 색차계(Color Quest, Hunter Lab., USA)를 사용하여 L, a, b값을 분석하였다. 색도 측정 시 standard value는 L=91.37, a=-0.69, b=0.85에서 색도를 측정하였다.

### 통계분석

본 연구에 대한 실험결과는 SPSS statistical package (v. 12.01)를 이용하였으며, 각 시료에 대해 3회씩 분석하여 얻어진 결과를 평균과 표준편차 (Mean $\pm$ SD.)로 나타내었다. 평균값에 대한 통계적 유의성은  $p < 0.05$  수준에서 검증하였으며, One-way ANOVA 및 Paired sample t-test를 적용하여 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 추출 용매에 따른 청각 색소의 종류 및 수율 분석

청각에 함유된 chlorophyll의 추출 용매를 acetone, methanol 그리고 ethanol을 사용하여 추출하였으며, 각 용매

에 따른 색소의 흡수 스펙트럼으로 부터 청각의 색소량 (mg/L)을 산출한 결과는 Table 1에 나타낸 바와 같다. 유기 용매에 따른 각각의 색소량을 비교하여보면 methanol을 사용하여 추출한 total chlorophyll 양이 청각에서는 41.29 mg/L로 acetone, ethanol을 용매로 사용하여 추출한 경우보다 각각 136%, 112% 높게 추출되었다( $p < 0.001$ ). 색소 추출액을 건조시켜 얻은 고형분 양을 Table 2에서 나타내었다. 시료 건조 중량 1 g에 대한 추출 고형분 함량에 있어서도 methanol을 이용하여 추출한 경우 0.025 g으로 가장 높은 수율을 나타내었다( $p < 0.001$ ). 녹조류의 경우에 chlorophyll a에 대한 chlorophyll b의 함유비(이하 a/b 비율로 표기함)를 비교대상으로 분석하기도 한다. 식물에 있어 chlorophyll a는 광합성시스템 이루는 중심복합체로써 대부분의 식물체에 유전적으로 잘 보존되어 있으나, chlorophyll b의 경우는 chlorophyll a와 함께 peripheral antenna 복합체의 형태로 존재하며, 주변 환경에 적응하기 위하여 크기가 조절되는 것으로 알려져 있다. 빛이 많은 곳에서 생육하는 식물의 경우에는 chlorophyll a/b 비율이 높으며, 반대로 빛이 적은 곳에서 생육하는 식물의 chlorophyll a/b는 상대적으로 낮는데, 이는 빛이 적은 곳에서는 peripheral antenna 복합체의 크기가 커져야 하기 때문에 상대적으로 chlorophyll a/b의 비율이 낮아지는 것이다(23). 본 연구에서 추출된 청각 색소는 a/b 비율이 0.20~0.26으로 상대적으로 매우 낮은 값을 나타내었는데, 국내산 녹조류 중 매생이는 a/b 비율이 1.06~1.70, 파래는 1.66~1.71 그리고 청각은 0.94~0.99로 보고한 결과가 있으며(24), 또한 일반적인 녹조류의 경우 a/b 비율이 0.68 정도라고 보고한 결과도 있다(25). 이처럼 a/b 비율의 값 차이가 나는 것은 실험에 사용된 시료의 생산 장소 및 채집 시기, 보관 상태, 엽록소의 함량을 측정하는 기준 흡광도 파장 및 측정식 그리고 추출 방법의 차이(온도, 시간, 추출 용매 등) 등에 기인한다고 판단된다.

Table 1. Spectrometric analysis of *Codium fragile*'s pigment extracted with different solvents

Pigments	Solvents (mg/L)		
	Acetone	Methanol	Ethanol
Total chlorophyll	30.34 $\pm$ 2.12 <sup>1,a)</sup>	41.29 $\pm$ 3.22 <sup>b)</sup>	36.75 $\pm$ 4.18 <sup>a)</sup>
Chlorophyll a	5.04 $\pm$ 0.24 <sup>a)</sup>	8.07 $\pm$ 1.15 <sup>b)</sup>	7.63 $\pm$ 2.10 <sup>a)</sup>
Chlorophyll b	25.55 $\pm$ 3.11 <sup>a)</sup>	33.15 $\pm$ 2.10 <sup>b)</sup>	29.06 $\pm$ 3.10 <sup>a)</sup>
Pheophytin a	5.21 $\pm$ 1.11 <sup>a)</sup>	7.25 $\pm$ 0.22 <sup>a)</sup>	7.27 $\pm$ 1.20 <sup>a)</sup>
Pheophytin b	30.61 $\pm$ 3.24 <sup>a)</sup>	45.43 $\pm$ 3.21 <sup>b)</sup>	41.53 $\pm$ 4.12 <sup>b)</sup>
Carotene	9.54 $\pm$ 2.12 <sup>a)</sup>	12.02 $\pm$ 2.10 <sup>a)</sup>	11.8 $\pm$ 1.00 <sup>a)</sup>
a/b ratio	0.20	0.21	0.26

<sup>1)</sup>Values are mean $\pm$ SD of triplicate.

<sup>a-b)</sup>Values with different letters within a row differ significantly at  $p < 0.05$  by One way-ANOVA.

**Table 2. Yield of solvent fractions from pigments of *Codium fragile*'s**

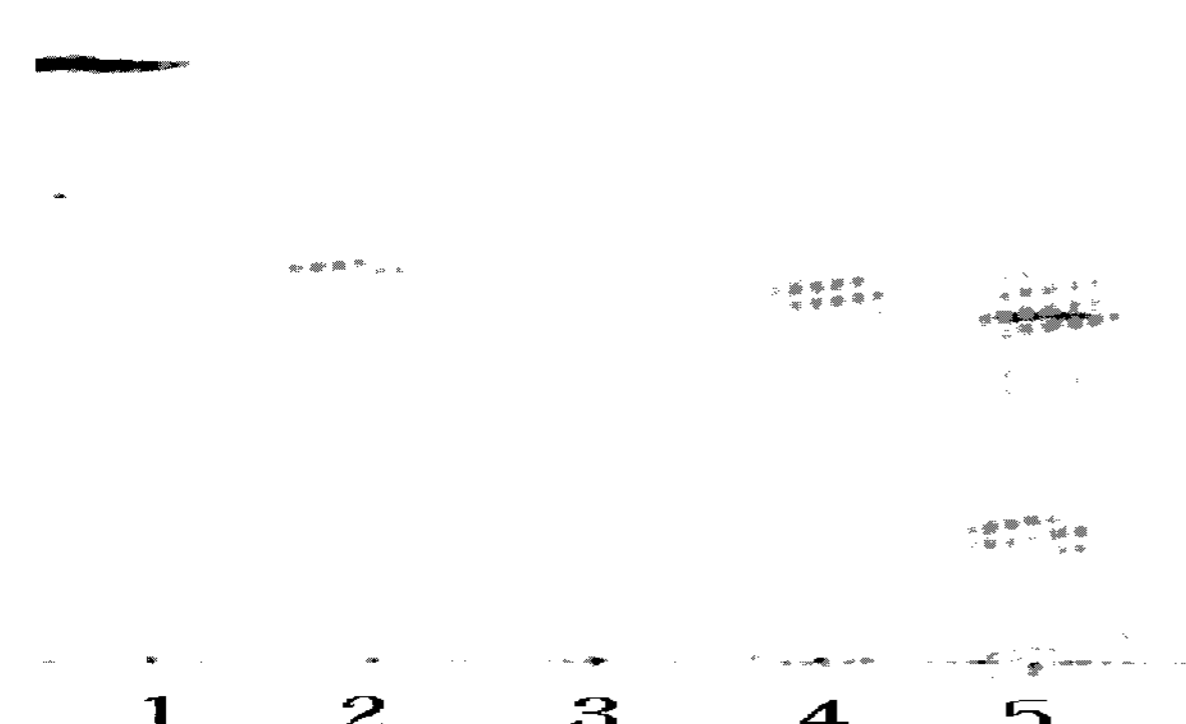
	Solvents		
	Acetone	Methanol	Ethanol
<i>Codium fragile</i>	14.0±1.18 <sup>1,a)</sup>	25.0±2.10 <sup>b)</sup>	23.0±2.12 <sup>b)</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean±SD of triplicate.

<sup>a,b)</sup>Values with different letters within a row differ significantly at p<0.05 by One way-ANOVA.

**TLC 및 HPLC에 의한 색소 분석**

건조된 청각을 유기용매(methanol)를 사용하여 추출한 후 색소에 함유되어 있는 성분을 TLC로 분석한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. Chlorophyll b와 미량의 chlorophyll a가 존재하는 것을 알 수 있었으며, β-carotene 그리고 xanthophyll 은 TLC 상에서는 분석되지 않았다. 청각으로부터 추출되어진 색소의 성분을 HPLC를 이용하여 분석한 결과도 청각 색소에는 카로틴노이드계 색소인 β-카로틴과 Xanthophyll은 없었고, chlorophyll a와 b만 각각 0.0198, 0.0969 mg/mL 의 농도로 함유되어 있었으며(data not shown), TLC에 의한 색소분석결과와 동일하게 분석되었다. 녹조류인 청각의 구성색소가 chlorophyll a, b로만 구성되어 있다는 본 연구결과는 Alain과 Francisco(2000) 등이 녹조류의 경우 분리된 엽록소 중 chlorophyll a와 chlorophyll b 가 주 성분이고, chlorophyll c는 갈조류에 주로 있는 성분이라는 보고(26)와 유사한 결과를 나타내었다.



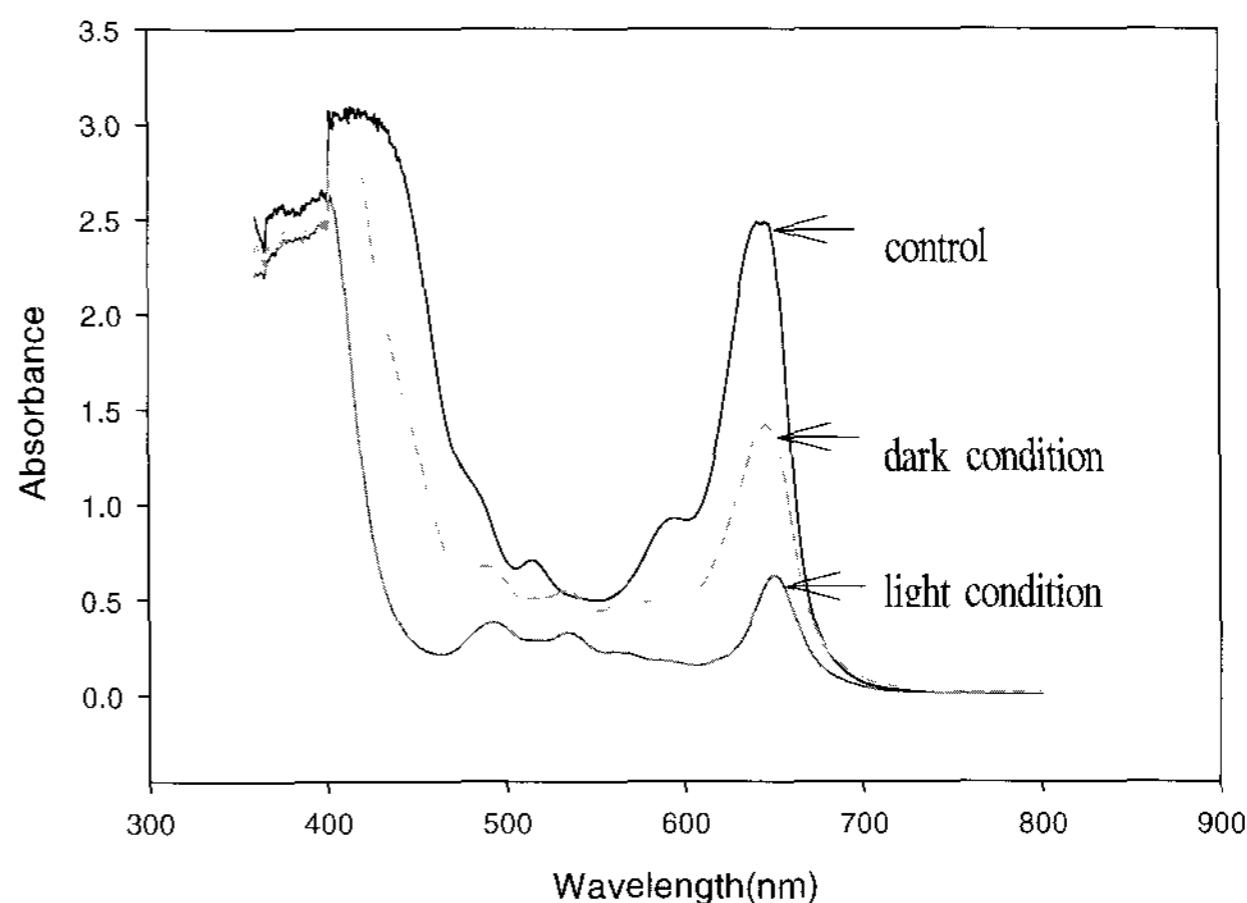
**Fig. 1. TLC analysis of *Codium fragile*'s pigments extracted with methanol.**

1 : β-Carotene, 2 : Xanthophyll, 3 : Chlorophyll a, 4 : Chlorophyll b, 5 : *Codium fragile*'s pigment

**빛이 색소 안정성에 미치는 영향**

Fig. 2는 분광광도계로 측정된 흡수 스펙트럼으로 추출 초기와 30주 후의 색소변화를 나타낸 것으로 빛에 노출된 처리구와 빛을 차단한 처리구 모두 추출 초기(대조구)에 비해 매우 낮은 spectrum 값을 나타내었으며, 빛을 차단한 경우보다 빛에 노출된 경우에 색소가 더 불안정함을 보여주

고 있다. 30주간의 장기 저장 후에 청각색소에 함유된 색소 성분의 변화를 Table 3에 정리하였다. 청각에서 추출되어진 초기 총 chlorophyll의 양은 53.75 mg/L이며 9주 후의 색소량은 빛 차단 처리구가 48.33 mg/L, 빛 노출구가 38.47 mg/L, 30주 후의 색소량은 빛 차단구가 31.40 mg/L, 빛 노출구가 12.47 mg/L로 두 처리구 모두 저장시간이 늘어남에 따라 색소량의 감소를 보이지만 빛에 노출되어진 처리구의 색소량의 감소가 매우 높다는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 청각의 지용성 색소인 chlorophyll 색소가 photosensitized oxidation과 photolysis의 작용을 받아 분해되기 때문인 것으로 사료되며(11-15), 빛을 차단한 조건에서의 색소 저장이 청각에 함유된 chlorophyll 색소의 안정성을 증가시킬 수 있다고 판단된다. 저장기간에 따른 a/b 비율의 변화는 저장 9주까지는 큰 변화가 없으나, 저장 30주 후에, 빛을 차단한 경우는 a/b 비율이 0.36인데, 빛에 노출된 경우는 0.56으로, 이는 빛에 대해 상대적으로 chlorophyll b가 chlorophyll a보다 불안정함을 나타낸다고 할 수 있다.



**Fig. 2. Spectra of *Codium fragile*'s pigments after 30 weeks storage at 40 °C in the presence/absence of light.**

**Table 3. Change of pigments content from *Codium fragile* after 30 weeks storage**

Pigment content (mg/L)	No treated of <i>Codium fragile</i>				
	Control	dark condition		light condition	
		9 wks.	30 wks	9 wks	30 wks
Total chlorophyll	53.75±3.11 <sup>1,a)</sup>	48.33±5.11 <sup>a)</sup>	31.40±3.10 <sup>b)</sup>	38.47±2.12 <sup>b)</sup>	12.47±2.10 <sup>c)</sup>
Chlorophyll a	11.28±2.28 <sup>a)</sup>	9.71±1.18 <sup>a)</sup>	8.23±1.18 <sup>a)</sup>	7.62±1.18 <sup>b)</sup>	4.46±2.12 <sup>c)</sup>
Chlorophyll b	42.38±3.50 <sup>a)</sup>	38.53±4.12 <sup>a)</sup>	23.11±3.22 <sup>b)</sup>	30.78±5.15 <sup>b)</sup>	7.99±1.17 <sup>c)</sup>
Pheophytin a	11.32±3.11 <sup>a)</sup>	10.93±2.88 <sup>a)</sup>	9.37±2.21 <sup>a)</sup>	8.72±1.01 <sup>b)</sup>	4.95±2.12 <sup>c)</sup>
Pheophytin b	59.83±5.15 <sup>a)</sup>	49.56±3.86 <sup>b)</sup>	36.81±3.54 <sup>c)</sup>	38.77±2.25 <sup>b)</sup>	18.32±3.21 <sup>c)</sup>
Carotene	10.57±2.11 <sup>a)</sup>	9.47±2.12 <sup>a)</sup>	5.82±1.13 <sup>b)</sup>	7.30±1.18 <sup>b)</sup>	1.17±0.28 <sup>c)</sup>
a/b ratio	0.27	0.25	0.36	0.25	0.56

<sup>1)</sup>Values are mean±SD of triplicate

<sup>a-c)</sup>Values with different letters differ significantly between control, 9 and 30 wks at p<0.05 by One way-ANOVA



### 금속이온이 색소 안정성에 미치는 영향

청각색소의 안정화에 대한 금속이온 ( $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ )에 영향을 분석하기 위해, 추출용매인 methanol에 1 mM 농도로 금속이온을 첨가하여 추출한 후, 40°C에서 9주, 30주간 후의 변화를 측정하여 Table 4에 표시하였다. 빛에 대한 chlorophyll 색소의 안정성은 금속이온을 첨가하여도 빛에 노출된 처리구에 비해 빛을 차단한 처리구의 색소가 더 안정함을 나타내었다. 금속이온을 첨가하여 추출한 초기의 총 chlorophyll 색소량은 구리 처리구는 51.51 mg/L, 아연 처리구는 52.63 mg/L, 마그네슘 처리구는 54.33 mg/L, 철 처리구는 43.54 mg/L로  $\text{Mg}^{++}$ 이온 처리구가 가장 높았으며 30주 후의 색소량을 비교해보면 빛에 노출시킨

구리 처리구는 24.21 mg/L, 아연 처리구는 2.27 mg/L, 철 처리구는 3.45 mg/L, 마그네슘 처리구는 12.27 mg/L로 구리 처리구가 가장 높았으나, 빛을 차단한 처리구에서는 구리 처리구는 45.12 mg/L, 아연 처리구는 39.12 mg/L, 마그네슘 처리구는 28.18 mg/L, 철 처리구는 17.53 mg/L, 로 구리 및 아연 처리구의 색소가 안정하게 분석되었다. 전반적으로 빛을 차단한 조건에서의 색소 안정성이 높은 결과를 나타내었으며, 이것은 청각에서 추출되어진 색소와  $\text{Cu}^{++}$  또는  $\text{Zn}^{++}$ 이온이 pheophytin a 또는 pheophytin b와 copper 또는 zinc complex를 형성하여 색소를 안정화시킨다는 보고(13,15)와 일치하였다. 또한 각 처리구의 chlorophyll a/b ratio를 분석해보면, 빛의 유무에 관계없이 copper 또는

**Table 4. Effect of metal ions on *Codium fragile*'s pigment stability after 9 and 30 weeks storage at 40 °C**

Pigment content (mg/L)	Total chlorophyll	Dark condition		Light condition		
		9 wks	30 wks	9 wks	30 wks	
$\text{Cu}^{++}$	Total*	51.51±4.12 <sup>1,a)</sup>	48.12±3.33 <sup>a)</sup>	45.12±5.12 <sup>a)</sup>	46.78±10.10 <sup>a)</sup>	24.21±5.18 <sup>b)</sup>
	Chlorophyll a	6.29±1.18 <sup>a)</sup>	5.55±0.18 <sup>a)</sup>	5.61±1.16 <sup>a)</sup>	5.45±1.15 <sup>a)</sup>	3.24±1.11 <sup>b)</sup>
	Chlorophyll b	45.08±5.15 <sup>a)</sup>	42.49±4.13 <sup>a)</sup>	39.44±3.96 <sup>a)</sup>	41.26±8.85 <sup>a)</sup>	20.84±3.25 <sup>b)</sup>
	Pheophytin a	7.61±1.11 <sup>a)</sup>	7.73±1.16 <sup>a)</sup>	7.62±2.23 <sup>a)</sup>	7.58±1.12 <sup>a)</sup>	4.73±1.17 <sup>b)</sup>
	Pheophytin b	39.71±3.28 <sup>a)</sup>	33.90±5.06 <sup>a)</sup>	32.89±6.55 <sup>a)</sup>	33.03±8.88 <sup>a)</sup>	17.45±5.15 <sup>b)</sup>
	Carotene	9.05±2.12 <sup>a)</sup>	7.05±2.11 <sup>a)</sup>	8.22±2.12 <sup>a)</sup>	6.34±2.34 <sup>b)</sup>	2.92±0.28 <sup>c)</sup>
	a/b ratio	0.14	0.13	0.14	0.13	0.16
	$\text{Zn}^{++}$	Total	52.63±3.38 <sup>1,a)</sup>	50.78±3.22 <sup>a)</sup>	39.12±3.50 <sup>b)</sup>	50.01±5.55 <sup>a)</sup>
Chlorophyll a		6.13±2.12 <sup>a)</sup>	5.35±1.08 <sup>a)</sup>	4.57±1.90 <sup>b)</sup>	4.80±2.02 <sup>b)</sup>	0.45±0.10 <sup>c)</sup>
Chlorophyll b		46.42±5.24 <sup>a)</sup>	45.35±5.15 <sup>a)</sup>	34.48±5.12 <sup>b)</sup>	45.13±3.25 <sup>a)</sup>	1.83±0.12 <sup>b)</sup>
Pheophytin a		6.77±1.18 <sup>a)</sup>	6.69±2.12 <sup>a)</sup>	5.78±1.16 <sup>a)</sup>	6.02±1.15 <sup>a)</sup>	0.73±0.05 <sup>b)</sup>
Pheophytin b		41.90±3.88 <sup>a)</sup>	36.55±5.50 <sup>a)</sup>	28.96±7.12 <sup>b)</sup>	34.48±5.14 <sup>b)</sup>	1.88±0.12 <sup>c)</sup>
Carotene		10.80±2.26 <sup>a)</sup>	10.33±2.12 <sup>a)</sup>	8.75±2.22 <sup>a)</sup>	9.60±1.18 <sup>a)</sup>	0.80±0.02 <sup>b)</sup>
a/b ratio		0.13	0.12	0.13	0.11	0.25
$\text{Mg}^{++}$		Total	54.33±4.24 <sup>1,a)</sup>	43.15±5.15 <sup>b)</sup>	28.18±3.12 <sup>c)</sup>	41.16±7.01 <sup>b)</sup>
	Chlorophyll a	11.66±2.88 <sup>a)</sup>	8.40±1.10 <sup>b)</sup>	7.95±3.08 <sup>b)</sup>	8.12±1.28 <sup>b)</sup>	4.29±1.12 <sup>c)</sup>
	Chlorophyll b	42.25±3.22 <sup>a)</sup>	34.64±4.12 <sup>b)</sup>	20.17±2.18 <sup>c)</sup>	32.96±5.23 <sup>b)</sup>	7.95±1.12 <sup>c)</sup>
	Pheophytin a	11.81±3.12 <sup>a)</sup>	9.50±1.12 <sup>a)</sup>	9.02±1.15 <sup>a)</sup>	9.23±1.92 <sup>a)</sup>	4.79±0.05 <sup>b)</sup>
	Pheophytin b	61.17±6.05 <sup>a)</sup>	43.27±3.22 <sup>b)</sup>	34.74±3.55 <sup>c)</sup>	41.52±5.55 <sup>b)</sup>	17.70±3.25 <sup>c)</sup>
	Carotene	11.68±3.33 <sup>a)</sup>	9.98±2.12 <sup>a)</sup>	7.44±2.12 <sup>b)</sup>	9.00±2.25 <sup>a)</sup>	1.11±0.11 <sup>b)</sup>
	a/b ratio	0.28	0.24	0.39	0.25	0.54
	$\text{Fe}^{++}$	Total	43.54±3.65 <sup>1,a)</sup>	36.04±2.25 <sup>b)</sup>	17.53±3.35 <sup>c)</sup>	30.93±3.18 <sup>b)</sup>
Chlorophyll a		6.86±1.25 <sup>a)</sup>	6.24±2.12 <sup>a)</sup>	5.33±1.23 <sup>a)</sup>	5.54±3.33 <sup>a)</sup>	1.17±0.06 <sup>b)</sup>
Chlorophyll b		36.60±5.04 <sup>a)</sup>	29.73±3.78 <sup>a)</sup>	12.17±2.18 <sup>b)</sup>	25.33±8.15 <sup>b)</sup>	2.27±1.10 <sup>c)</sup>
Pheophytin a		6.56±2.12 <sup>a)</sup>	6.71±1.16 <sup>a)</sup>	5.92±2.22 <sup>a)</sup>	6.08±1.95 <sup>a)</sup>	1.41±0.08 <sup>b)</sup>
Pheophytin b		41.57±8.75 <sup>a)</sup>	34.98±3.12 <sup>a)</sup>	23.26±5.12 <sup>c)</sup>	30.38±3.35 <sup>b)</sup>	4.74±1.12 <sup>c)</sup>
Carotene		9.05±1.12 <sup>a)</sup>	7.37±1.16 <sup>a)</sup>	3.96±2.00 <sup>b)</sup>	5.63±2.12 <sup>b)</sup>	0.51±0.03 <sup>c)</sup>
a/b ratio		0.19	0.21	0.44	0.22	0.52

<sup>1)</sup>Values are means±SD of triplicate.

<sup>a-c)</sup>Values with different letters differ significantly between control, 9 and 30 wks at p<0.05 by One way-ANOVA. Total\* means total chlorophyll.

zinc complex가 magnesium 또는 ferrous complex보다 상대적으로 chlorophyll b를 안정화시키며, 이러한 효과는 빛이 차단된 된 상태에서 보다 효율적으로 작용하는 것으로 나타났다.

**금속이온이 색도에 미치는 영향**

금속이온이 첨가되어 추출되어진 chlorophyll의 색의 변화를 알아보기 위하여 색차계를 사용하여 Hunter L, a, b값을 측정하여 색도를 조사한 결과는 Table 5에 나타내었다. 녹색식물로 추출한 색소의 녹색정도를 나타내는 지표로 일반적으로 a 값을 나타내며, chlorophyll이 열처리나 pH 등의 영향으로 파괴되었을 때 a 값의 증가를 가져오게 된다(11,17). 빛을 차단하지 않고 30주간 저장했을 때, a 값의 변화는 구리를 처리한 경우에는 유의수준  $\alpha=0.05$ 에서의 유의차가, 나머지 처리구는  $\alpha=0.01$ 에서의 유의차가 인정되어 결과적으로 모두 변색이 되었음을 나타내었다. 빛을 차단 상태에서의 a 값의 변화는 무처리 및 철, 그리고 마그네슘 이온의 경우에는 유의차가 인정되는 변화를 보이고 있으나, 구리와 아연의 경우에는 초기와 30주 이후의 a 값에 대하여 유의차를 인정할 수 있는 차이가 나타나지 않았다. 기타 L 값과 b 값에 대하여는 모든 처리구에 있어 유의차가 인정되지 않았다. 따라서 색소에 함유된 chlorophyll 및 pheophytin의 함량 뿐 아니라 색도 유지라는 측면에서 구리와 아연이 가장 효과적인 첨가물임을 알 수 있다. 이러한 결과는 육상의 녹색식물 색도 유지에 구리와 아연이 효과적인 첨가물로 사용되고 있음을 고려할 때 육상의 녹색 식물 색소나 해조의 색소가 동일한 가공 조건에서 동일한 처리 효과를 기대할 수 있음을 시사한다.

**금속이온 농도에 따른 색소 안정화**

청각 색소의 안정성에 효과적인 구리 및 아연의 최적 첨가 농도를 결정하기 위하여 구리와 아연을 농도별로 첨가

하여 추출한 후, 추출 시점과 30주 후에 분석한 색소량의 변화를 Table 6에 나타내었다. 구리나 아연 모두 추출되는 색소의 전체 양에는 농도가 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 그러나 1.0 mM과 0.5 mM의 농도에서 chlorophyll a와 chlorophyll b는 다른 농도나 무처리와 유의적인 차이를 보여주고 있다. 구리나 아연 모두 chlorophyll a는 다른 처리에 비해 낮고, chlorophyll b는 높게 추출되었다. Pheophytin의 경우에도 구리 처리구의 pheophytin a를 제외하고는 1.0 mM과 0.5 mM 농도의 구리나 아연 처리시 다른 처리구와 유의적인 차이를 보여주고 있는데, chlorophyll과는 대조적으로 특히 pheophytin의 농도가 다른 처리군에 비하여 유의적으로 낮게 추출되었다. 즉 추출 초기 상태에서 1.0 mM과 0.5 mM의 농도의 구리나 아연 첨가는 추출물속에 상대적으로 chlorophyll b는 높고, pheophytin b는 낮았다. 저장 30주 후의 총 chlorophyll 양은 구리 처리군에 있어서는 0.1 ~ 0.5 mM 처리군에서, 아연 처리군에서는 0.5 ~ 1.0 mM 처리군에서 유의적으로 잔존하는 색소 양이 높게 분석되었다. 금속 이온을 첨가하여 색소를 안정시키는 것은 결국 색소 추출물 중에 존재하는 pheophytin a 또는 b와 첨가 금속이 안정한 복합체를 이루어 색을 유지하는 것이며, 이때 첨가되는 금속이온의 절대량이 복합체의 최적 형성을 결정하게 된다. 구리의 경우 복합체의 시작은 1 ~ 2 ppm에서 시작하여 10-20 ppm의 농도에서 복합체 형성이 완료되며, 아연의 경우에는 25 ppm으로부터 복합체 형성이 시작되어, 100 ppm의 농도에서 복합체 형성이 완료된다고 보고되었다(13). 본 실험에서 구리(분자량 63.55)의 경우에는 6 ~ 30 ppm의 농도가, 아연(분자량 64.5)의 경우에는 30 ~ 60 ppm의 농도가 색소 안정에 효과적이라는 결과는 기존에 보고된 녹색 색소의 안정성에 미치는 금속 이온 농도와 유사한 것이라고 판단된다. 30주 후에 잔존하는 chlorophyll a와 b의 함량을 기준으로 분석해보면, 구리는 0.05 mM 이상에서, 아연은 0.5 mM 이상의 농도에서 효과가 나타남을

**Table 5. Effect of storage time and metal ions on Hunter color values of *Codium fragile's* pigment**

		Dark condition									
		Control		Cu <sup>++</sup>		Zn <sup>++</sup>		Mg <sup>++</sup>		Fe <sup>++</sup>	
Time (week)		0	30	0	30	0	30	0	30	0	30
Hunter color value	L	2.92±0.52	3.08±0.23	2.53±0.85	2.47±0.58	3.41±0.88	4.05±1.01	2.88±0.32	3.09±0.24	3.00±1.12	3.29±1.10
	a	3.08±0.15	2.75 <sup>*</sup> ±0.15	0.59±0.10	0.23±0.02	3.67±0.24	3.59±0.89	3.12±0.50	2.40 <sup>*</sup> ±0.28	2.33±0.54	1.18 <sup>**</sup> ±0.09
	b	1.83±0.12	1.81±0.12	1.54±0.13	1.37±0.10	2.02±0.08	2.51±0.33	1.79±0.05	1.84±0.08	1.82±0.05	1.70±0.02
		Light condition									
		Control		Cu <sup>++</sup>		Zn <sup>++</sup>		Mg <sup>++</sup>		Fe <sup>++</sup>	
Time (week)		0	30	0	30	0	30	0	30	0	30
Hunter color value	L	2.92±0.06	3.27±1.01	2.53±0.28	2.88±0.82	3.41±1.03	4.95 <sup>**</sup> ±1.05	2.88±0.83	3.44±1.06	3.00±0.83	3.84±1.23
	a	3.08±0.31	0.38 <sup>**</sup> ±0.02	0.59±0.12	-0.88 <sup>*</sup> ±0.03	3.67±1.04	0.86 <sup>***</sup> ±0.05	3.12±0.24	0.42 <sup>***</sup> ±0.02	2.33±0.53	-0.21 <sup>**</sup> ±0.03
	b	1.83±0.53	1.05±0.08	1.54±0.34	0.95±0.21	2.02±0.35	1.76±0.32	1.79±0.21	0.91 <sup>*</sup> ±0.02	1.82±0.23	0.73 <sup>**</sup> ±0.21

<sup>1)</sup>Values are means±SD of triplicate.

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001; significant difference between 0 vs. 30 week at paired sample t-test.

Table 6. Effect of metal ions concentration on *Codium fragile's* pigment stability

Storage time (week)	Component	Ion concentration						
		Control	1 mM	0.5 mM	0.1 mM	0.05 mM	0.01 mM	
0	Total*	53.95±3.28 <sup>1,a)</sup>	53.93±5.18 <sup>a)</sup>	53.88±5.15 <sup>a)</sup>	52.31±6.23 <sup>a)</sup>	52.20±5.52 <sup>a)</sup>	51.79±6.11 <sup>a)</sup>	
	Chlorophyll a	11.99±3.18 <sup>a)</sup>	7.56±2.13 <sup>b)</sup>	7.59±1.85 <sup>b)</sup>	8.38±1.67 <sup>b)</sup>	9.65±1.23 <sup>a)</sup>	11.00±2.85 <sup>a)</sup>	
	Chlorophyll b	41.86±5.23 <sup>a)</sup>	46.28±3.28 <sup>b)</sup>	46.20±4.22 <sup>b)</sup>	43.84±2.12 <sup>a)</sup>	42.53±5.10 <sup>a)</sup>	40.70±2.13 <sup>a)</sup>	
	Pheophytin a	11.78±2.12 <sup>a)</sup>	9.48±1.85 <sup>a)</sup>	9.85±1.12 <sup>a)</sup>	8.99±2.12 <sup>a)</sup>	9.66±2.85 <sup>a)</sup>	10.71±2.60 <sup>a)</sup>	
	Pheophytin b	62.42±6.23 <sup>a)</sup>	43.69±5.05 <sup>b)</sup>	42.91±4.23 <sup>b)</sup>	48.26±3.86 <sup>b)</sup>	53.70±3.12 <sup>b)</sup>	58.44±3.88 <sup>a)</sup>	
	Carotene	12.79±2.16 <sup>a)</sup>	12.59±2.15 <sup>a)</sup>	12.53±1.89 <sup>a)</sup>	12.16±1.86 <sup>a)</sup>	12.12±2.11 <sup>a)</sup>	12.05±2.10 <sup>a)</sup>	
	a/b ratio	0.29	0.16	0.16	0.19	0.23	0.27	
	Cu <sup>++</sup>	Total	29.82±3.18 <sup>1,a)</sup>	35.44±3.85 <sup>a)</sup>	43.51±5.05 <sup>b)</sup>	41.52±5.18 <sup>b)</sup>	36.24±2.28 <sup>a)</sup>	29.14±3.12 <sup>a)</sup>
30	Chlorophyll a	5.84±1.20 <sup>a)</sup>	4.20±2.12 <sup>a)</sup>	4.35±1.85 <sup>a)</sup>	5.32±2.32 <sup>a)</sup>	5.59±2.20 <sup>a)</sup>	5.59±1.18 <sup>a)</sup>	
	Chlorophyll b	23.93±3.54 <sup>a)</sup>	31.19±2.85 <sup>b)</sup>	39.10±2.76 <sup>b)</sup>	36.14±5.12 <sup>b)</sup>	30.59±2.35 <sup>b)</sup>	23.50±4.12 <sup>a)</sup>	
	Pheophytin a	6.73±1.85 <sup>a)</sup>	6.50±2.12 <sup>a)</sup>	6.26±1.18 <sup>a)</sup>	6.58±2.00 <sup>a)</sup>	6.65±1.52 <sup>a)</sup>	6.50±1.30 <sup>a)</sup>	
	Pheophytin b	29.79±4.18 <sup>a)</sup>	23.33±5.00 <sup>b)</sup>	27.78±3.35 <sup>a)</sup>	31.88±2.28 <sup>a)</sup>	31.17±2.25 <sup>a)</sup>	28.69±3.12 <sup>a)</sup>	
	Carotene	6.97±1.16 <sup>a)</sup>	7.63±2.12 <sup>a)</sup>	9.42±0.55 <sup>b)</sup>	8.36±2.12 <sup>b)</sup>	7.87±1.65 <sup>a)</sup>	6.86±1.11 <sup>a)</sup>	
	a/b ratio	0.24	0.13	0.11	0.15	0.18	0.24	
	Zn <sup>++</sup>	Total	53.95±5.10 <sup>1,a)</sup>	54.14±5.50 <sup>a)</sup>	53.40±3.25 <sup>a)</sup>	52.25±8.12 <sup>a)</sup>	53.72±5.32 <sup>a)</sup>	53.12±2.83 <sup>a)</sup>
	0	Chlorophyll a	11.99±2.12 <sup>a)</sup>	7.95±3.50 <sup>b)</sup>	8.42±2.32 <sup>b)</sup>	10.68±3.11 <sup>a)</sup>	11.64±3.24 <sup>a)</sup>	11.51±1.18 <sup>a)</sup>
Chlorophyll b		41.86±3.86 <sup>a)</sup>	46.10±5.18 <sup>b)</sup>	44.89±7.35 <sup>b)</sup>	41.48±6.32 <sup>a)</sup>	41.98±5.00 <sup>a)</sup>	41.52±3.88 <sup>a)</sup>	
Pheophytin a		11.78±3.11 <sup>a)</sup>	7.96±2.23 <sup>b)</sup>	8.18±1.80 <sup>b)</sup>	9.97±2.12 <sup>b)</sup>	11.24±2.10 <sup>a)</sup>	10.64±1.85 <sup>a)</sup>	
Pheophytin b		62.42±8.12 <sup>a)</sup>	50.14±5.10 <sup>b)</sup>	51.69±5.48 <sup>b)</sup>	58.47±3.60 <sup>a)</sup>	61.71±4.88 <sup>a)</sup>	61.73±5.30 <sup>a)</sup>	
Carotene		12.79±2.12 <sup>a)</sup>	12.68±1.78 <sup>a)</sup>	12.15±2.35 <sup>a)</sup>	12.33±3.00 <sup>a)</sup>	12.48±1.17 <sup>a)</sup>	12.64±1.24 <sup>a)</sup>	
a/b ratio		0.29	0.17	0.19	0.26	0.28	0.28	
Zn <sup>++</sup>		Total	29.82±3.82 <sup>1,a)</sup>	41.07±5.12 <sup>b)</sup>	41.47±3.23 <sup>b)</sup>	32.77±3.88 <sup>a)</sup>	31.36±5.45 <sup>a)</sup>	30.86±3.00 <sup>a)</sup>
30		Chlorophyll a	5.84±1.12 <sup>a)</sup>	3.42±0.58 <sup>b)</sup>	4.85±0.23 <sup>b)</sup>	5.79±1.15 <sup>a)</sup>	5.89±1.85 <sup>a)</sup>	5.92±1.82 <sup>a)</sup>
	Chlorophyll b	23.93±3.22 <sup>a)</sup>	37.58±5.18 <sup>b)</sup>	36.55±2.22 <sup>b)</sup>	26.92±2.12 <sup>a)</sup>	25.42±3.18 <sup>a)</sup>	24.88±3.00 <sup>a)</sup>	
	Pheophytin a	6.73±1.18 <sup>a)</sup>	4.99±1.55 <sup>b)</sup>	5.89±1.32 <sup>a)</sup>	6.68±1.88 <sup>a)</sup>	6.79±1.25 <sup>a)</sup>	6.81±0.88 <sup>a)</sup>	
	Pheophytin b	29.79±4.45 <sup>a)</sup>	24.67±3.23 <sup>b)</sup>	31.06±5.15 <sup>a)</sup>	30.89±2.25 <sup>a)</sup>	30.55±1.18 <sup>a)</sup>	30.47±4.50 <sup>a)</sup>	
	Carotene	6.97±0.87 <sup>a)</sup>	10.24±2.14 <sup>b)</sup>	8.92±1.19 <sup>b)</sup>	7.71±3.00 <sup>a)</sup>	7.70±2.12 <sup>a)</sup>	7.56±2.12 <sup>a)</sup>	
	a/b ratio	0.24	0.09	0.13	0.22	0.23	0.24	

<sup>1)</sup>Values are mean±SD of triplicate.

<sup>a-b)</sup>Values with different letters within a row differ significantly at p<0.05 by One way-ANOVA.

Total\* means total chlorophyll.

Table 7. Changes of Hunter color values of *Codium fragile's* pigment according to various ion concentrations

Ion	Weeks	<i>Codium fragile</i>												
		Control		1 mM		0.5 mM		0.1 mM		0.05 mM		0.01 mM		
		0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	
Cu <sup>++</sup>	Hunter color value	L	2.92±0.13	3.17±1.10	2.65±0.85	2.59±0.22	2.57±0.54	2.28±0.18	2.58±0.05	2.48±0.15	2.62±0.13	2.93±0.25	2.74±1.10	2.96±0.32
	a	3.08±0.15	2.75*±0.15	0.45±0.07	0.26±0.03	0.90±0.10	0.93±0.22	1.85±0.12	2.40**±0.06	2.32±0.06	2.52±0.15	3.08±0.18	3.03±0.03	
	b	1.83±0.12	1.82±0.05	1.37±0.03	1.31±0.18	1.41±0.17	1.31±0.02	1.47±0.10	1.54±0.11	1.62±0.09	1.57±0.05	1.69±0.12	1.80±0.11	
Zn <sup>++</sup>	Hunter color value	L	2.92±0.12	3.17±0.15	3.42±1.02	3.75±1.18	3.22±0.83	3.36±0.22	3.16±0.18	3.11±0.12	3.04±0.17	3.07±1.01	3.07±0.08	3.06±0.03
	a	3.08±0.15	2.75*±0.15	3.88±0.18	4.11*±0.77	3.82±0.53	3.58±1.12	3.32±0.33	3.20±1.11	3.31±0.88	3.21±0.43	3.08±0.55	3.25±0.23	
	b	1.83±0.35	1.82±0.03	1.84±0.07	2.08±0.13	1.88±0.73	1.86±0.23	1.76±0.40	1.91±0.07	1.64±0.09	1.90±0.22	1.57±0.16	1.86±0.02	

<sup>1)</sup>Values are means±SD of triplicate.

\*p<0.05, \*\*p<0.01, significant difference between 0 vs. 30 week at paired sample t-test.

알 수 있다. 이러한 경향은 chlorophyll a/b ratio에서도 유사하게 나타나고 있어, 향후 chlorophyll a/b ratio가 색소의 저장 안정성을 나타내는 지표로 활용될 수도 있을 것으로 판단된다. Table 7은 30주간 저장 후의 색도에 미치는 금속이온의 농도를 나타내었는데, 녹색도에 영향을 미치는 a 값을 비교해 보면, 구리의 경우에는 0.5 mM 이상에서 0.93으로, 아연에서는 1.0 mM에서 4.11로 다른 처리구와 차이를 보이고 있다. 이는 Schanderl 등이 보고(13)한 바와 같이 pheophytin a 나 b가 완전하게 금속이온과 복합체를 이루기에 충분한 금속 이온의 농도에서 충분한 색 전환(color reversion)이 발생한다는 것과 일치한다.

## 요 약

해양 녹조류인 청각에 함유되어 있는 chlorophyll을 유기 용매를 사용하여 추출한 후 chlorophyll의 안정성을 증가시키기 위한 조건을 확립하였다. 추출 용매로 사용된 acetone, ethanol 그리고 methanol 중 methanol이 가장 효과적이었으며, 추출 수율은 건조 중량으로  $25.0 \pm 2.10$  mg/g 이었다. TLC 및 HPLC 분석을 통하여 청각 색소에는 chlorophyll a 와 chlorophyll b가 주성분이며, 이들은 각각 0.40 mg/g and 1.94 mg/g의 함량으로 존재하였다. 청각 색소에 함유된 총 엽록소 함량은 빛이 있는 곳과 없는 곳에서 30주간 40°C로 저장하였을 경우, 초기 양의 23.2 %와 58.4 %로 각각 잔존하였다. 황산구리, 황산아연, 황화철, 황산마그네슘으로부터 해리 된, 구리, 아연, 철, 마그네슘과 같은 금속이온이 색소의 저장 안정성에 미치는 영향을 분석한 결과, 구리가 가장 효과적이었으며, 아연이 그 다음으로 효과적이었다. 구리와 아연이 1 mM의 농도가 존재할 경우, 청각 색소는 30주 후에, 빛이 있는 상태에서는 초기 양의 47.0 %, 빛이 없는 상태에서는 88.8 %로 잔존하였다. 청각 색소를 안정화시키는 구리와 아연의 최적 농도는 빛이 없는 조건에서 구리는 0.1 mM, 아연은 0.5 mM이었다.

## 감사의 글

본 논문은 2001학년도 목포대학교 학술 연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Francis, F.J. (1986) Handbook of Food Colorant Patents. Food and Nutrition Press, Westport. Ct, p. 181
- Natural Food Colorants : Basic Symposium on Natural Colorants (2000), Institute of Food Technologists Continuing Education Committee, Marcel Dekker Inc., USA
- Kroes R., Kozianowski G. (2002) Threshold of toxicological concern in food safety assessment. Toxicol. Lett., 127, 43-46
- 박영호, 장동석, 김선태. (1997) 수산가공학요론. 형설출판사, 169-197
- 오창근 (1996). 식품성분표(제5개정판). 농촌진흥청 농촌생활연구소, 상록사, 수원, 300-309
- 양한철 외 26 (1996) 식품신소재학. 한림원, 319~342
- 박양균 외 5 (2001) 식품화학. 영지문화사, 273~277
- Nagayama, K., Iwamura, Y., Shibata, T., Hirayama, I., Nagayama, T. (2002) Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga Ecklonia kurome. J. Antimicrob. Chemother. 50, 889-893
- 송재철, 조원대 (1997) 가공식품과 식용색소. Bull. Food Technol., 10, 62~67
- Timberlake, C.F. and Henry, B.S. (1986) Plant pigments as natural food colours. Endeavour, New Series, 10, 31-35
- Tan, C.T. and Francis, F.J. (1962) Effect of Processing Temperature on pigments and color of Spinach. J. Food Sci., 27, 232-241
- Clydesdale, F.M. and Francies, F.J. (1963) Chlorophyll changes in thermally processed spinach as influenced by enzyme conversion and pH adjustment. Food Technol., 22, 135-138
- Schanderl, S.H., Marsh, G.L. and Chichester, C.O. (1965) Color reversion in processed vegetables 1. Studies on Regreened Pea Purees. J. Food Sci., 30, 312-316
- Bugkle, K.A. and Edwards, R.A. (1970) Chlorophyll, colour and changes in H.T.S.T. processed green pea puree. J. Food Technol., 5, 173-186
- Luke, F.L., and Joachim, H.E. (1990) Zinc complex formation in heated vegetable purees. J. Agric. Food Chem., 38, 484-487
- Linda H. T., and Joachim H.E. (1992) Kinetic of the formation of zinc complexes of chlorophyll derivatives, J. Agric. Food Chem., 40, 2341-2344
- Luke, F. L., and Joachim, H.E. (1994) Chlorophyll degradation and zinc complex formation with chlorophyll derivatives in heated green vegetables, J. Agric. Food Chem, 42, 1100-1103
- Isable Minzuez-Mosquera, Lourdes Gallardo-Guerrero, Damaso Hornero-Mendez, and Juan Garrido-Ferandez : Involvement of copper and zinc ions in green staining



- of table olives of variety gordal. *J. Food Protect.*, 58, 564~569
19. Isabel, M.M., Beatriz, G.R., and Juan G.F. (1996) Preparation of Cu(II) complexes of oxidized chlorophylls and their determination by thin-layer and high-performance liquid chromatography. *J. Chromatog.*, 731, 261-271
  20. Ivan, D. J., Raymond, C. W., Eleanor, G., Lillian, S.B., and Larry, A. N. (1997) Experimental formation of zinc and copper complexes of chlorophyll Derivatives in vegetable tissue by thermal Processing, *J. Agric. Food Chem.*, 25, 149-153
  21. Canjura, F.L., Watkins, R. H., and Schwartz, S.J. (1999) Color improvement and metallo-chlorophyll complexes in continuous flow aseptically processed peas, *J. Food Sci.*, 64, 987-999
  22. Wright, S. W., Jeffrey, S. W. and Mantoura, R. F. C. (1997) Evaluation of methods and solvents for pigment extraction. In *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods.* (Ed. by Jeffrey, S. W. et al.), UNESCO, Paris, pp. 261-282
  23. Ayumi T., Hisashi I., Ryouichi T., Nobuaki K.T., Kazuichi Y. and Kiyotaka O. (1998) Chlorophyll a oxygenase (CAO) is involved in chlorophyll a formation from chlorophyll a. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 12719-12723
  24. Kyoo-Jin J., Chun Hee J., Jae-Hyeung P., Yeung Joon C. (2005) Changes of food components in mesangi, gashiparea and cheonggak depending on harvest times, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 34, 687-693
  25. Hsiu-Ping L. Gwo-Ching G., Tung-Ming H. (2002) Phytoplankton pigment analysis by HPLC and its application in algal community investigations, *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 43, 283-290
  26. Alain A., Francisco R. (2000) Standard procedure for the determination of chlorophyll a by spectrometric methods. *International Council for the Exploration of the Sea.* Denmark, p. 1-2

---

(접수 2008년 1월 22일, 채택 2008년 5월 2일)