

가열처리 및 저장조건에 따른 당근과 시금치퓨레의 Carotenoids 함량변화와 이성질화 형성에 관한 연구

김혜영* · 임양이 · Robert M, Russell[†]
성신여자대학교 식품영양학과*

Changes in Carotenoids Contents in Pureed and Cooked Carrot and Spinach during Storage

Heh-Young Kim*, Yaung-ice Lim, Robert M, Russell[†]

*Department of Food & Nutrition, Sungshin Women's University

[†]Jean Mayer USDA Human Nutrition Research Center on Aging at Tufts University, Boston, USA

Abstract

Investigations were conducted on the changes in carotenoids content, and quantification of *cis-trans-β*-carotene isomers in pureed and cooked carrot and spinach during storage. The isomerization and degradation of carotenoids were monitored by high-performance liquid chromatography on a C₃₀ reversed-phase column with diode-array detection. The results showed that lutein, *all-trans-β*-carotene, α -carotene, 9-*cis-β*-carotene and 13-*cis-β*-carotene were present in carrot and spinach. Zeaxanthin and cryptoxanthin were present in raw spinach. The contents of lutein, zeaxanthin, cryptoxanthin, α -carotene and *all-trans-β*-carotene in pureed and cooked carrot and spinach decreased with increasing storage period. The 9-*cis* and 13-*cis* carotenoid isomers were the major types formed in cooked carrot during storage. Cooking was not found to alter the carotenoid profile of the sample, but increased the total amount of carotenoids compared with pureed ones. This increase could be explained that cooking itself increased the extraction efficiency and inactivated the enzymes degrading carotenoids.

Key words : carotenoids, carrot, spinach, *cis/trans* carotene isomers, cooking, storage

1. 서 론

Carotenoids는 천연에 널리 존재하는 화합물로 현재 500개 이상의 carotenoids가 발견되고 있으며¹⁾, 식품에서 carotenoids의 중요성은 provitamin A의 활성화 항산화 및 면역체계 향상으로 알려져 있다²⁾. carotenoids 함량이 높은 녹황색 채소류의 섭취는 암발생과 심장 질환 및 백내장의 이환율을 저하시킨다고 하였다¹⁾.

그러나 자연계에서는 매우 불안정한 구조로 존재하기 때문에 실험처리조건, 식품가공처리, 산소, 증금속, 저장온도 특히 열처리와 자외선노출에 대하여 식품을 이성질화 혹은 산화시킬 수 있다^{3,4)}. 일반적으로

으로 산화는 carotenoids 파괴⁵⁾의 주요 요인이 되고, 가열과정은 이성질화를 유도한다고 알려져 있다⁶⁾.

이에 따라 가열처리로서 carotenoids를 포함하고 있는 녹황색 채소류를 물 속에서 끓이거나 microwave oven에서 가열하면 약간 파괴되는데^{7,9)}, 특히 oxygenated carotenoids의 파괴가 더욱 심하다고 하였다¹⁰⁾. 가열과정을 통하여 carotenoids의 *cis*-isomers가 형성되고, carotenoids의 함량은 감소되는데 *cis*-isomers는 가열시간이 증가함에 따라 증가한다고 한다¹¹⁾. 재래식 가열방법에 비하여 microwave의 가열 방법은 carotenoids의 함량과 *cis*-isomers의 형성을 적게 한 반면, *trans-β*-carotene의 함량을 증가시키고, lutein의 함량을 감소시킨다고 하였다⁷⁾. 가열에 비하여 blanching은 carotenoids 함량에 대한 손실이 적고, *cis*-isomers의 형성도 적다¹²⁾. 또한 blanching과 조리 과정에서 *trans-β*-carotene은 α -carotene에 비하여 열처리에 더 민감하다고 하였다¹³⁾. Canning은 일부 연구

Corresponding author: Heh-Young Kim, Sungshin Women's University, 249-1, 3-ga, Dongsun-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-742, Korea
Tel: 02-920-7202
Fax: 02-921-5927
E-mail: hykim@cc.sungshin.ac.kr

¹⁴⁻¹⁵⁾에서 채소류의 carotenoids의 함량을 감소시키고 cis-isomers의 증가 특히, 9-cis와 13-cis isomers를 증가시킨다고 하였다¹⁶⁾. 다른 연구¹⁷⁻¹⁸⁾에서는 canning에서 carotenoids의 함량이 신선한 시료에 비하여 상당량 높았는데 이는 실제적인 증가보다 채소류에 있는 지용성 고형분이 가공과정동안 can속에 용출된 것을 감안하면¹⁹⁾ 통조림된 당근에서의 carotenoids 함량은 약간 감소된 것으로 보았다^{13,19)}. 또한 통조림된 완두콩에서도 신선한 완두콩보다 carotenoids가 현저하게 증가된 것은 실질적 증가보다는 추출과정동안 신선한 완두콩에서 carotenoids의 손실로 기인된다고 하였다¹⁸⁾. 또한 일부 연구²⁰⁻²²⁾들은 가열에 의한 식물조직의 분해와 carotene에 대한 화학적 추출용매의 용이성에 기인한 것이라고 보고하였다. 이러한 결과는 특히 carotene-산화활성을 갖는 채소류에서 내인성 효소계(lipoxygenase)에 가장 많이 기인된다고 한다. 따라서 추출과정동안 항산화제 첨가는 신선한 채소류의 carotenoids의 함량을 높일 수 있다고 하였다²³⁻²⁴⁾.

Dietz 등¹⁴⁾은 토마토즙을 22°C에 저장했을 때 trans-β-carotene 함량이 감소했으며, 빛을 차단시켜 당근즙을 28°C에서 저장할 때 광분해에 의한 이성화반응으로 특히 13-cis isomer가 형성되었고, Pesek 등²⁵⁾은 빛을 조사한 당근즙은 9-cis isomer가 축적되었다는 연구를, Marin 등²⁶⁾은 망고를 -18°C에서 120일 동안 저장했을 때 trans-β-carotene의 감소가 일어났다고 하였다.

따라서 본 연구에서 사용한 실험재료의 당근과 시금치는 녹황색 채소류 중 특히 provitamin A가 비교적 높으면서 그 섭취방법이 다양하고 섭취방법에 따라서도 체내의 흡수에 차이가 있다고 사료되어 선택하였다. 당근과 시금치를 microwave oven으로 가열 후 저장했을 때 가열처리여부 및 저장조건이 시료의 carotenoids(lutein, zeaxanthin, cryptoxanth, α-carotene, all-trans-β-carotene, 9-cis-β-carotene, 13-cis-β-carotene)의 함량변화에 미치는 영향을 보고, 또한 carotene의 이성질체인 cis/trans-β-carotene isomers의 형성에 관하여 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

시료구입은 산지(California, U.S.A)에서 수확 후 곧바로 Boston에 소재한 야채 도매상에서 당근과 시금치를 각각 1kg씩 구입하여 신선한 상태에서 준비하였다. 모든 실험 처리구는 동일한 batch로 준비되었다. 시료준비 및 분석에 이르기까지 모든 준비는

자외선에 의한 carotenoids의 파괴와 손실을 최소화하기 위해서 적색광의 실험실에서 실행되었다.

2. 시료의 제조

당근류의 제조는 신선한 시료를 구입하여 전처리 후 미세하게 균질화시켰다. 시금치류의 제조는 전처리 후 시금치 전체의 잎을 균질화시켰다. 당근은 microwave oven에서 1분간, 시금치는 50초간 밀폐된 플라스틱 용기를 사용하여 가열하였다. 저장기간 및 가열처리여부에 의한 당근과 시금치의 lutein, zeaxanthin, cryptoxanthin, α-carotene, trans-β-carotene, 9-cis-β-carotene 13-cis-β-carotene의 함량변화를 조사하고자 시료를 raw/pureed /cooked 별로 제조하는 과정을 Fig. 1에 나타내었다.

3. 실험방법

조제한 시료를 1, 2, 3주간 냉장(4°C) 혹은 냉동(-70°C) 저장하면서 가열 및 비가열처리에 의한 carotenoids 함량을 HPLC(Perkin-Elmer, Norwalk, CT)로 분석하였다. HPLC분석을 위한 당근과 시금치의 저장방법은 자외선에 의한 carotenoids의 손실을 최소화하기 위해서 갈색 비닐백에 넣고 알루미늄호일로 재 포장하였다.

1) 시약

All-trans-β-carotene, α-carotene의 표준물질은 Sigma

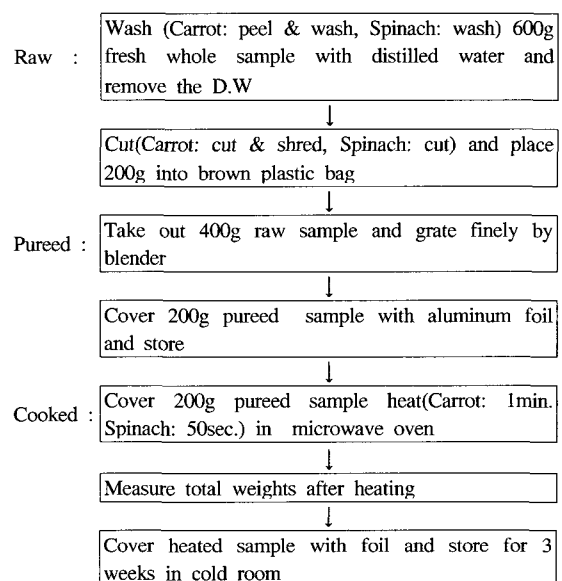


Fig. 1. Procedure for preparation of pureed and cooked carrots and spinach

Chemical Co.(St. Louis, MO)에서 구입하였고, lutein 은 Kemin Industries, Inc.(Des Mones, IA)에서, 9-cis-β-carotene, 13-cis-β-carotene, zeaxanthin, cryptoxanthin 은 Hoffmann-La Roche Inc.(Nutley, NJ)에서 기증받았다. 모든 carotenoids 용액은 사용직전 적색광의 실험실에서 준비되었고, 모든 HPLC 용매는 J. T. Baker Chemical Co.(Philipsburg, NJ)에서 구입하여 사용 전 0.45μm membrane filter에서 여과시켰다.

2) Carotenoids 추출

HPLC분석을 위한 당근과 시금치의 lutein, zeaxanthin, cryptoxanthin, α-carotene, trans-β-carotene, 9-cis-β-carotene, 13-cis-β-carotene의 추출은 Fig. 2와 같다.

즉 시료 0.5g을 취해 50ml screw-top glass에 옮긴 후 10ml methanol을 가하여 vortex mixer로 30초간 섞어 주었다. 120rpm에서 90분간 교반한 후 polytron을 사용하여 ice bath에서 10분간 균질화(Kinematica GmbH, made in Switzerland)시켰다. 다시 3,000rpm에서 5분간 원심분리 한 후 methanol층만을 취해 추출 용매 THF(Tetra Hydro Furan)로 4회 반복 추출하였다. 이 추출액 1ml을 취해 N₂ gas로 완전히 휘발시킨 후 1ml ethanol로 용해하고, 이 중 50μl를 취하여 HPLC에 주사하여 분석하였다

3) Carotenoids 분석

Lutein, zeaxanthin, cryptoxanthin, α-carotene, trans-β-carotene, 9-cis-β-carotene 13-cis-β-carotene의 정량 및 이성질체 분리는 염 등²⁷⁾의 방법을 이용하였으

며, High Performance Liquid Chromatography System I (Water 994 Series)을 이용하여 분석하였다.

이때 적용한 extinction coefficient(E 1% 1cm)는 lutein이 2,400, zeaxanthin은 2,440, cryptoxanthin은 2,550, α-carotene은 2,550, trans-β-carotene은 2,590, 13-cis-β-carotene은 1,750이었으며, 모든 Carotenoids 분석을 위한 λ_{max}는 450nm이었다.

HPLC의 이동상은 MeOH/MTBE/H₂O(83:15:2, v/v/v, 1.5% H₂O in acetonitrile(용매 A)와 MeOH/MTBE/H₂O(8:90:2, v/v/v, 1% H₂O in acetonitrile(용매 B)의 두 용매를 다음과 같은 비율로 혼합하여 사용하였으며, 용매의 flow rate는 1ml/min.로서 linear gradient procedure에 의해서 이루어졌다. Lutein, zeaxanthin, cryptoxanthin, α-carotene, all-trans-β-carotene, 9-cis-β-carotene, 13-cis-β-carotene의 정량 및 이성질체 분리를 위해서 Waters 994 programmable photodiode array detector는 450nm를 사용하였다. Carotenoids의 정량은 표준물질의 HPLC chromatogram의 peak area로 확인하였으며, Intergration은 carotenoids의 각각의 회귀선에 나타난 양으로 기술되었다.

〈Internal standard area 계산〉

Internal standard는 echinenone(Sigma co.)과 retinyl acetate(Sigma co.)를 사용하였다. Carotenoids 분석과정 동안 실험오차에 의한 회수율을 효율적으로 얻기 위해서였다. Internal standard는 stock solution으로 준비하여 450nm에서 spectrophotometer(Perkin-Elmer, Lambda, UV/vis)로 측정하였다.

$$\text{Recovery of carotenoids} = \frac{\text{channel 1 internal standard in sample}}{\text{direct internal standard}}$$

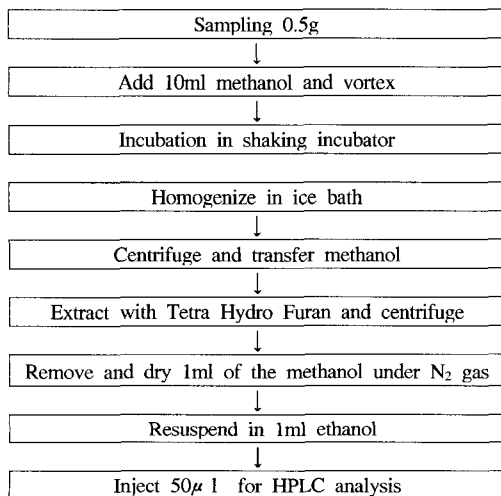


Fig. 2. Carotenoids extraction from carrot and spinach

Table 1. HPLC system I conditions for carotenoids analysis in carrot and spinach

Requester	Conditions
Instrument	Series 510 pump(Perkin-Elmer, Norwalk, CT) Waters 717 plus autosampler(Milipore, Milford, MA) Waters 994 programmable photodiode array detector Waters 840 digital 350 data station HPLC column temperature controller(model 7950; column heater/chiller, Jones Chromatography, Lakewood, CO)
C ₃₀ Carotenoid column(Reverse phase)	Particle : S-3μm Size : 150×4.6mm(YMC, Wilmington, NC)
Detector,	450nm for carotenoids
Gradient flow rate	1.0ml/min
HPLC column temp.	16°C
Injection volume	50μl

III. 결과 및 고찰

1. 원재료 당근과 시금치의 carotenoids의 분포도

가열처리되지 않은 원재료의 당근과 시금치에서 추출한 carotenoids 색소액을 HPLC로 분리하여 시료에 분포되어 있는 각각의 carotenoids 구성비를 Fig. 3에 나타내었고, Fig. 4는 HPLC에서 분석된 원재료 당근과 시금치의 chromatogram을 보여주고 있다.

Fig. 3에서 원재료 당근 및 시금치에서 분리된 각각의 carotenoids의 분포도를 보면 당근의 경우 all-trans-β-carotene(61%)>α-carotene(33%)>lutein(3%), 13-cis-β-carotene(2%)>9-cis-β-carotene(1%)의 순으로, 시금치의 경우 lutein(61%)>all-trans-β-carotene(30%)>9-cis-β-carotene(5%)>13-cis-β-carotene(2%)>α-carotene(1%)>zeaxanthin(0.96%)>cryptoxanthin(0.04%)의 순으로 높은 함량을 보였다. All-trans-β-carotene, α-carotene, 9-cis-β-carotene, 13-cis-β-carotene, cryptoxanthin은 provitamin A의 활성을 갖는 carotenoids인데 이러한 carotenoids 중에서 all-trans-β-carotene이 provitamin A의 활성이 가장 높은 성분으로 당근에 가장 많았다. Zeaxanthin과

cryptoxanthin은 당근에서 검출되지 않았으며, 13-cis-β-carotene은 all-trans-β-carotene의 이성질체로서 시금치에 비하여 당근에 더 높고, 9-cis-β-carotene은 시금치에 더 높게 나타났다. 이러한 결과는 녹색엽채류의 경우 식물조직 속에 있는 chlorophyll이 β-carotene에 대한 이성질체화의 수용체로 작용하여 all-trans-β-carotene을 9-cis형의 β-carotene 이성질체를 합성시키기 때문에 녹색엽채류에서 대부분 9-cis-β-carotene의 형태로 존재한다고 보고하였다¹⁶⁾.

2. 가열처리 및 저장조건에 따른 당근과 시금치의 cis/trans-β-carotene isomers의 함량변화

가열처리와 가열처리하지 않은 당근과 시금치를 3주간 냉장(-4°C) 혹은 냉동(-70°C)저장하면서 저장기간별 및 가열처리별에 따라 carotenoids 및 β-carotene의 cis/trans isomers를 분석한 결과는 Fig. 5와 Fig. 6과 같다.

열처리의 영향에 관계없이 두 처리구 모두 구성 carotenoids의 유형은 유사하였으며, 각각의 carotene은 HPLC로 모두 분리·확인되었다.

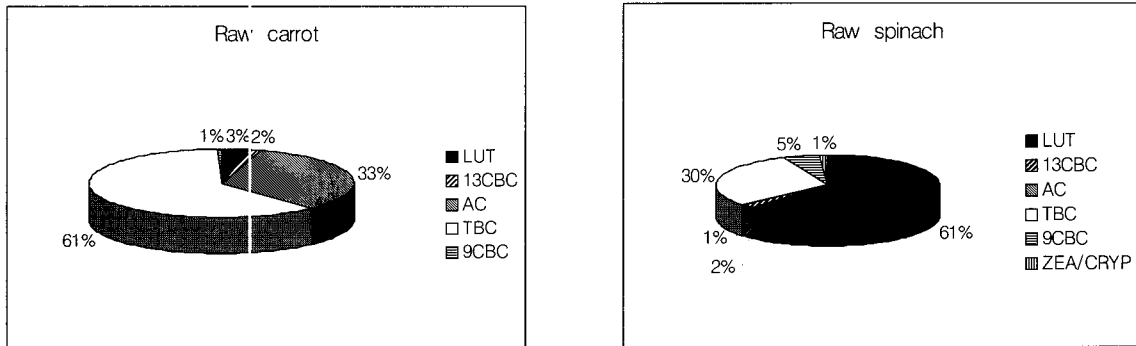


Fig. 3. Distribution of Carotenoids in Raw Carrot and Raw Spinach analyzed by HPLC

LUT : lutein, 13CBC : 13-cis-β-carotene, AC : α-carotene, TBC : all-trans-β-carotene
9CBC : 9-cis-β-carotene, ZEA : zeaxanthin, CRYP : cryptoxanthin

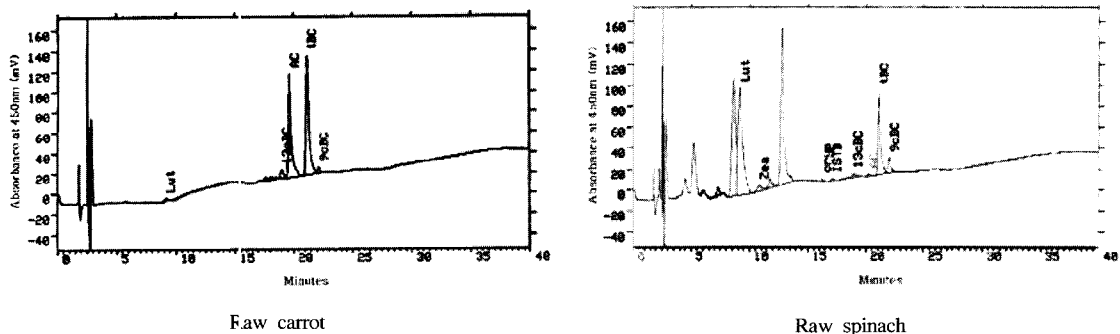


Fig. 4. HPLC chromatogram of carotenoids in raw carrot and spinach

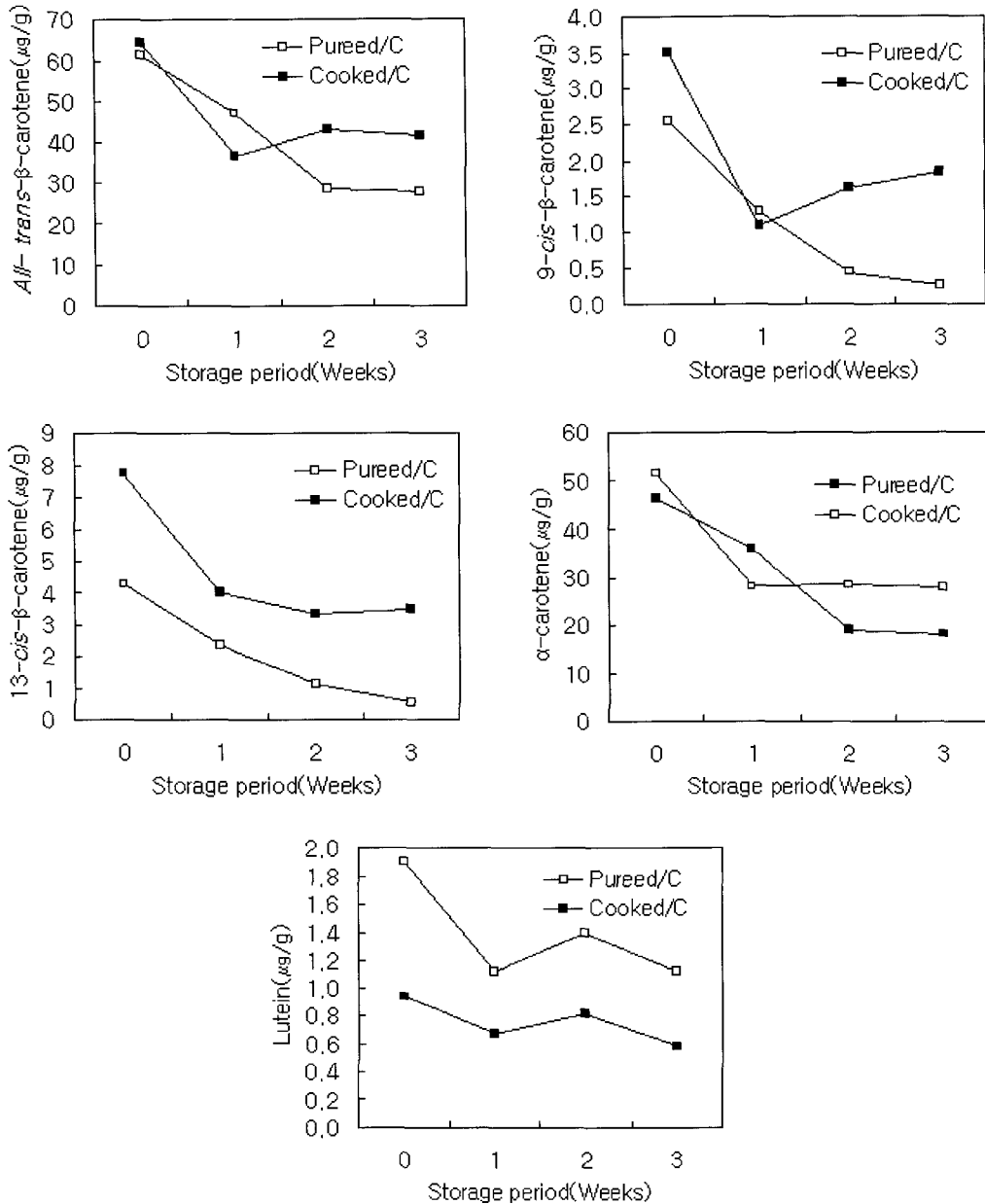


Fig. 5. Concentration changes of carotenoids in pureed and cooked carrot during storage at 4°C
 Pureed/C: Pureed carrot / Chilled storage
 Cooked/C: Cooked carrot / Chilled storage

1) All-trans-β-carotene의 함량

① 당근

All-trans-β-carotene은 당근의 주요 carotene으로서 provitamin A의 활성이 가장 높다고 하였다.

가열처리 후 61.418µg/g에서 64.422µg/g으로 약간

증가하는 현상을 보였는데, Granado 등²¹⁾의 연구에서도 물 속에서 당근을 33분간 가열했을 때 약 23% 이상 증가하였으나 Lessin 등²⁸⁾은 당근을 canning한 경우 오히려 22% 감소되었다고 하였다. 이러한 차이는 시료의 가열방법과 가열시간의 차이에 기인되

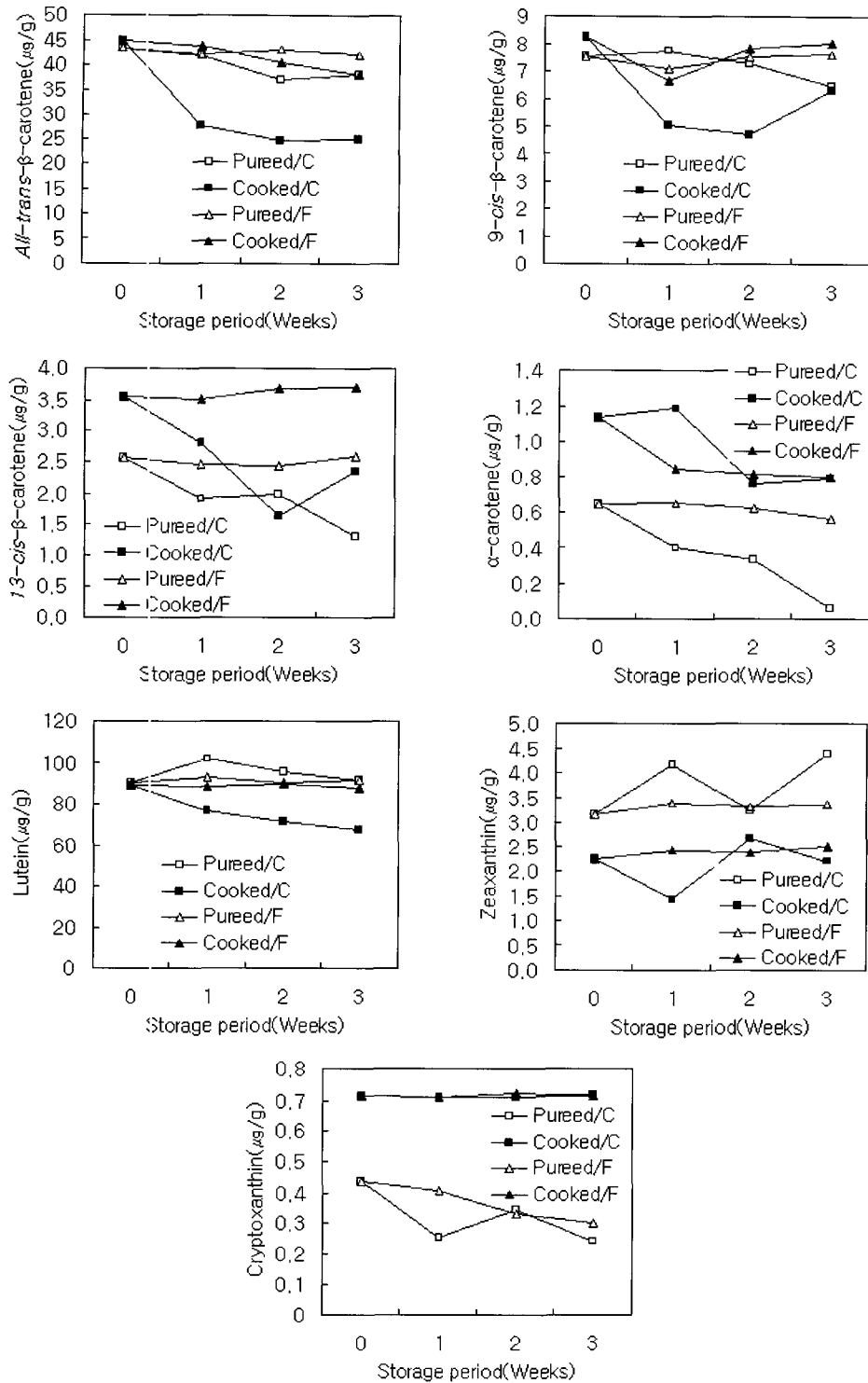


Fig. 6. Concentration changes of carotenoids in pureed and cooked spinach during storage at 4°C and -70°C

Pureed/C: Pureed spinach / Chilled storage

Cooked/C: Cooked spinach / Chilled storage

Pureed/F: Pureed spinach / Frozen storage

Cooked/F: Cooked spinach / Frozen storage

있다고 사료된다.

저장기간이 경과함에 따라 가열 및 비가열처리구의 경우 모두 감소하는 경향을 보여 저장 3주 후에는 가열전 각각 61.418 $\mu\text{g/g}$ 에서 27.754 $\mu\text{g/g}$ 로, 64.422 $\mu\text{g/g}$ 에서 41.339 $\mu\text{g/g}$ 로 각각 54.82%, 35.84%의 감소를 보였는데 이러한 결과는 저장기간이 경과함에 따라 all-trans- β -caroten의 분해율이 증가시킨다는 Cheng 등²⁹⁾의 연구와 일치하였다. 따라서 all-trans- β -carotene에 대한 provitamin A의 활성을 높이기 위해서는 당근을 가열처리하여 단기저장하는 것이 바람직하다고 사료된다. 당근의 경우 예비 실태조사에서 대부분 냉장저장되었기 때문에 본 실험에서는 냉동저장에 따른 당근의 carotenoids의 함량은 분석되지 않았다.

② 시금치

시금치에 있는 all-trans- β -carotene은 lutein 다음으로 많이 존재하는 carotene으로 나타났다.

가열 전 43.256 $\mu\text{g/g}$ 에서 가열 후 45.058 $\mu\text{g/g}$ 로 약간 증가하는 경향을 보였는데 Granado 등²¹⁾의 연구에서 시금치를 물 속에서 10분간 조리한 후 48.30%가 증가된다고 하였다. 한편 Lessin 등²⁸⁾은 시금치를 canning한 경우 가열 전후와 큰 차이가 없다고 보고되어 있다.

냉장저장에서 가열된 시료는 1주 후 27.653 $\mu\text{g/g}$ 으로 약 36%정도 현저한 감소를 보인 후 서서히 감소되기 시작했으며, 비가열처리된 시료는 저장기간이 경과함에 따라 전반적으로 서서히 감소하는 경향을 보였다. 냉동시료의 경우 가열처리와 저장기간은 all-trans- β -caroten의 함량변화에 큰 영향을 주지 못했으며, 냉장에 비하여 냉동저장이 비교적 높은 함량을 유지하고 있었다. 따라서 시금치의 provitamin A의 활성을 높이기 위해서는 가열처리와 상관없이 냉동저장함이 좋다고 사료된다.

2) 9-cis- β -carotene의 함량

① 당근

All-trans- β -carotene의 이성질체로서 9-cis- β -carotene은 가열처리 후 2.541 $\mu\text{g/g}$ 에서 3.503 $\mu\text{g/g}$ 로 37.850 $\mu\text{g/g}$ 가량 증가하였는데, Lessin 등²⁹⁾의 연구에서는 가열 전 9-cis- β -carotene이 검출되지 않았으나 canning 후 32.7mg/g(dry weight)으로 분리되었다. 이러한 결과는 가열처리가 all-trans- β -carotene의 분해를 촉진시켜 이성질체 9-cis- β -carotene을 형성시킨 것이 아니라, 가열처리가 carotene 산화효소에 대한 불활성

화와 carotenoprotein 복합체의 파괴로 인해 추출에 대한 효율성을 증대시켰기 때문이라고 하였다.

비가열처리된 당근을 3주 동안 4°C에서 저장했을 때 2.541 $\mu\text{g/g}$ 에서 1.294 $\mu\text{g/g}$, 0.438 $\mu\text{g/g}$, 0.259 $\mu\text{g/g}$ 로 저장기간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 보였으나, 가열된 시료는 저장 1주에 현저하게 감소된 후 저장기간의 증가와 함께 1.605 $\mu\text{g/g}$, 1.821 $\mu\text{g/g}$ 로 약간 증가되었다. Chen 등²⁹⁾의 연구에서도 가열처리된 당근급의 경우 12주간 냉장 후 all-trans- β -carotene이 분해되어 9-cis- β -carotene의 함량을 약간 증가시켰다고 하였다.

② 시금치

가열 전 시금치에는 9-cis- β -carotene이 비교적 높게 나타났는데 이러한 현상은 식물조직 속에 있는 chlorophyll이 β -carotene에 대한 이성질체합성의 수용체 작용능력에 기인하여 주로 녹색 채소류에 많이 분포되었기 때문이라고 하였다²¹⁾. 이러한 반응은 all-trans- β -carotene을 β -carotene의 이성질체 중에서도 주로 9-cis형을 형성한다고 하였다³⁰⁾.

가열처리 후 7.544 $\mu\text{g/g}$ 에서 8.266 $\mu\text{g/g}$ 로 9.5%가 증가되었으나 Lessin 등²⁸⁾의 연구에서 시금치의 canning 과정에서 가열전보다 11~250%의 다양한 범위에 걸쳐 증가하였다.

저장온도에 따른 9-cis- β -carotene의 함량변화를 보면 냉장에서 비가열처리구는 저장기간에 따라 약간 감소되었으나 가열처리구의 경우 저장 1주째 약 40%가 감소한 후 저장말기에 약간 증가하였고, 냉동저장에서는 저장기간에 비교적 안정적이었고 저장 2주째 미미하게 증가되었다. 이는 당근의 경우처럼 저장 중 all-trans- β -carotene이 분해되어 이성질체 9-cis- β -carotene의 합성이 된 것으로 보여진다.

3) 13-cis- β -carotene의 함량

① 당근

13-cis- β -carotene은 가열처리 후 4.299 $\mu\text{g/g}$ 에서 7.781 $\mu\text{g/g}$ 로 81%가 증가되어 Cheng 등⁸⁾과 Pesek 등²⁵⁾의 연구보다 높은 증가율을 나타내었다. 이러한 증가율은 약 38%가량 증가된 9-cis- β -carotene의 증가폭보다 현저하게 높게 나타났다. 또한 Lessin 등²⁸⁾의 연구에서도 당근의 경우 가열 전에 거의 검출되지 않았던 13-cis- β -carotene이 canning과정에서 90.5mg/g(dry weight)을 나타내어 9-cis- β -carotene에서 보다 훨씬 높은 수치를 보였다. 이러한 결과는 13-cis- β

-caroten의 이성질화를 활성화시키는데 요구되는 활성화에너지가 9-cis- β -carotene에 비하여 훨씬 낮기 때문이라고 Pesek 등²⁵⁾은 보고하였다.

가열처리되지 않은 당근은 저장기간이 경과함에 따라 4.299 μ g/g에서 2.336 μ g/g, 1,157 μ g/g, 0.524 μ g/g로 감소되었으며, 가열처리된 시료는 서서히 감소하다 저장 3주째 약간 증가하는 경향을 보였는데 9-cis- β -carotene에서와 같이 all-trans- β -caroten이 분해되어 13-cis- β -carotene의 형성을 촉진시킨 결과라고 하였다²⁸⁾.

② 시금치

가열 전 시금치의 13-cis- β -carotene의 함량은 9-cis- β -carotene보다 낮게 검출되었는데 이는 다른 연구²¹⁾에서도 녹색 식물조직속에는 대부분 all-trans- β -carotene의 이성질체인 9-cis- β -carotene의 형태로 존재한다고 하여 당근과 달리 9-cis- β -carotene에 비하여 13-cis- β -carotene의 함량이 높게 나타났다.

가열처리 후 13-cis- β -carotene은 2.560 μ g/g에서 3.555 μ g/g로 39%가 증가되어 9-cis- β -carotene의 9.5% 증가에 비하여 높은 증가폭을 나타냈는데 이는 당근과 같이 13-cis- β -carotene의 낮은 활성화에너지에 기인되었다고 사료된다. Lessin 등²⁸⁾의 보고에서는 시금치의 canning 후 13-cis- β -carotene이 16.7%가 증가하여 9-cis- β -carotene에서 보다 훨씬 낮은 증가율을 보였다.

저장기간별로 본 13-cis- β -carotene의 함량은 냉장에서 비가열시료의 경우 2.560 μ g/g에서 1.315 μ g/g로 서서히 감소했으나, 가열시료의 경우 저장 2주째 크게 감소하였다가 다시 증가되어 저장말기에 all-trans- β -carotene이 13-cis- β -carotene의 형성을 촉진시켰다고 사료된다.

3. 가열처리 및 저장조건에 따른 당근과 시금치의 α -carotene, lutein, zeaxanthin 및 cryptoxanthin의 함량변화

1) α -carotene의 함량

① 당근

α -carotene은 분석된 carotenoids 중에서 all-trans- β -carotene 다음으로 많은 함량을 차지하였다.

가열 후 51.649 μ g/g에서 46.438 μ g/g로 약 11.22% 증가현상을 보였는데 이는 Granado 등²¹⁾의 연구에서 당근의 경우 46.4분 동안 물 속에서 가열했을 때 29% 증가했다는 결과와 일치하는 경향을 보였으며,

Lessin 등²⁹⁾의 연구에서는 당근을 canning한 경우 오히려 22% 감소를 나타내었다.

냉장저장 후 α -carotene은 저장기간이 경과함에 따라 서서히 감소했는데 Chen 등²⁸⁾의 연구에서도 당근즙을 냉장에서 12주간 저장했을 때 약간씩 감소하는 현상을 보였다. 냉장 1주 후에는 비가열처리가 가열처리구보다 약간 높게 나타났으나, 저장 말기에는 가열처리구와 비가열처리구 각각 29.326, 18.263으로 가열처리구가 비가열처리구보다 α -carotene의 함량이 높게 나타나 provitamin A의 활성은 비가열처리구에 비하여 가열처리구가 높은 것을 알 수 있었다. Erdman 등⁴⁾은 α -carotene과 β -carotene은 당근에 있는 단백질과 복합체의 형태로 존재하여 저장 혹은 가공과정동안 carotenoids를 안정화시킨다고 하였다.

② 시금치

시금치의 경우 당근과는 달리 α -carotene의 성분은 미량 분석되었다.

0.647 μ g/g에서 가열처리 후 1.135 μ g/g로 약 70%이상이 증가하였다. 저장기간이 경과함에 따라 모든 처리구는 감소하는 경향을 보였는데 냉장에서 가열되지 않은 시금치는 0.647 μ g/g에서 3주 후 0.059 μ g/g, 가열시료는 1.135 μ g/g에서 0.795 μ g/g로서 가열시료에 비하여 비가열시료의 감소폭이 약간 높았으며 모든 처리구에서 가장 낮은 함량을 보였다. 가열 후 냉동 저장된 시료는 저장 1주째 약간의 감소를 보였으나 비교적 α -carotene의 함량이 잘 유지되어 있었다.

2) Lutein의 함량

① 당근

Fig. 6의 경우 저장기간이 경과함에 따라 두 처리구 모두 감소경향을 나타내었다. 비가열처리구는 냉장초기 1.904 μ g/g에서 저장 3주 후에는 1.118 μ g/g, 가열처리구는 0.936 μ g/g에서 0.585 μ g/g로 각각 약 41%, 38%의 감소를 보였으며, 비가열처리구가 가열처리구의 lutein함량보다는 보다 저장기간 중 모두 높은 값을 나타내었다.

가열처리에 따른 lutein의 함량을 보면, 가열 후 1.904 μ g/g에서 0.936 μ g/g으로 감소되어 열처리가 lutein의 함량을 크게 파괴시키는 것으로 나타났다. Granado 등²¹⁾의 연구에서는 microwave oven의 사용이 스팀 혹은 끓이기보다 lutein의 함량을 더 분해시켰다고 하였으며, 또한 가열시간에 따라서도 lutein의 함량에는 차이가 있다고 보고하였다.

② 시금치

Fig. 6과 같이 시금치를 가열 및 비가열처리하여 냉장(-4°C) 및 냉동(-70°C) 저장한 후 분리된 lutein은 시금치의 주요 carotene 성분으로서 가장 많은 부분을 차지하고 있었다.

가열처리 후 90.421 $\mu\text{g/g}$ 에서 88.632 $\mu\text{g/g}$ 로 약간의 감소를 보였으나 미미한 차이였으며, 냉장 3주 후 비가열처리구와 가열처리구는 각각 91.134 $\mu\text{g/g}$, 67.487 $\mu\text{g/g}$ 로서 비가열처리구의 경우 저장기간과 함께 거의 감소되지 않았으나, 가열 처리구의 경우 약 24%가 감소되어 비가열처리구에 비하여 감소 폭이 크게 나타났다. Khachik 등³¹⁾은 시금치를 microwave oven으로 가열 후에 약 8% 감소되었고, steaming의 경우 약 15%가량이 증가되었고, Granado 등²¹⁾은 시금치를 물 속에서 10분간 끓였을 때 약 50%이상 증가하여 가열방법에 따라 함유되는 lutein의 함량에는 차이가 있었다.

냉동저장된 시금치도 비가열처리구의 경우 가열처리구에 비하여 lutein 함량이 약간 높았으나, 비교적 저장 3주까지 저장초기와 유사한 함량을 나타내고 있었다. 가열 후 냉장된 시금치를 제외하고 다른 처리구의 경우 저장기간에 따른 lutein의 함량변화에는 큰 영향을 주지 못했으며, 가열 후 냉장된 시금치가 모든 처리구 중에서 가장 낮은 함량을 나타내었다.

3) Zeaxanthin 함량

Fig. 5에서와 같이 zeaxanthin은 시금치에서만 분리되었다.

Zeaxanthin함량은 가열전후 3.145 $\mu\text{g/g}$ 에서 2.258 $\mu\text{g/g}$ 로 약 29% 감소하였으나, Granado 등²⁸⁾의 연구에서는 시금치와 홍고추를 물 속에서 각각 10분과 33분간 끓였을 때 β -zeaxanthin의 함량이 각각 52%, 34% 증가되는 현상을 볼 수 있었는데, 이는 본 연구가 microwave oven의 가열방법을 사용한 결과라고 사료된다.

저장방법에 따른 zeaxanthin함량을 보면 냉장시료의 경우 가열 및 비가열처리 모두 저장 중 저장초기와 비슷한 함량을 보였고, 비가열처리된 냉장시료의 경우 가열처리된 시료보다 높은 함량을 보였다. 냉동저장에서는 저장기간에 따른 감소현상은 거의 나타내지 않았다.

4) Cryptoxanthin함량

Cryptoxanthin은 당근에서는 분리되지 않고 시금치

에서만 검출되었는데 미량 검출되었다.

시금치는 가열처리 후 0.438 $\mu\text{g/g}$ 에서 0.715 $\mu\text{g/g}$ 로 약 63%가 증가되었는데 Granado 등²¹⁾의 연구에서는 홍고추를 물 속에서 가열 후 β -cryptoxanthin이 가열 전보다 약 48% 정도 증가되었다. 반면 Lessin 등²⁸⁾의 연구에서는 오렌지주스와 배를 canning 혹은 고온멸균처리한 경우 β -cryptoxanthin은 가열전의 함량보다 감소하였는데 이는 열처리와 시료의 종류에 따라 β -cryptoxanthin의 함량에 차이가 있다고 사료된다.

냉장에서 가열처리된 시금치의 경우 비가열처리된 시료보다 높은 함량을 나타내고 있었고 저장 중에는 거의 감소가 일어나지 않았으며, 비가열처리된 시료는 저장 중 약간 감소되는 경향을 보였다. 냉동시료의 경우도 가열처리구가 비가열처리구에 비하여 높은 함량을 보였고, 비교적 저장기간 중에도 저장 초기와 유사한 함량을 보여주었다. 따라서 cryptoxanthin은 시금치에 매우 소량존재하고 있는 carotenoids이지만 provitamin A carotenoids의 활성을 나타내고 있는 면에서 중요하다고 본다.

4. 가열처리 및 저장조건에 따른 당근 및 시금치의 Total Carotenoids와 Provitamin A Carotenoids 함량변화

Fig. 7, 8, 9에 저장 중 당근과 시금치의 total carotenoids와 provitamin A carotenoids 함량에 대한 가열처리의 영향을 조사하였다.

1) 당근

냉장 중 Fig. 7에 나타난 당근의 total carotenoids 함량은 all-trans- β -carotene, 9-cis- β -carotene, 13-cis- β -carotene, α -carotene 및 lutein에 대한 총 함량을 저장기간별로 제시하였다. 냉장 중 일반적으로 가열처리구가 비가열처리구보다 높은 경향을 보였으며, total carotenoids의 함량은 가열처리와 비가열처리 경우 각각 128.29 $\mu\text{g/g}$, 116.60 $\mu\text{g/g}$ 에서 저장 1주 및 2주 이후 급속한 감소를 보였다. 이는 당근에서 장기냉장의 경우 가열처리가 효과적임을 알 수 있다. 당근에서 제시한 provitamin A carotenoids는 lutein을 제외한 모든 carotene의 총 함량으로 나타냈는데, 그 함량은 total carotenoids 함량의 97% 이상을 차지하고 있었다. 가열 후 당근의 Non-provitamin A carotenoids는 127.35 $\mu\text{g/g}$ 로 가열 전보다 약간 높았고, 저장말기에 가열전후 provitamin A의 함량간에는

현저한 차이를 보였다. Provitamin A의 활성은 carotene의 종류에 따라 차이가 있는데 당근에는 활성이 가장 높은 all-trans-β-carotene이 provitamin A carotenoids을 구성하고 있었다.

2) 시금치

Fig. 8과 9는 냉장과 냉동별로 가열 및 비가열된 시금치를 저장기간별로 total carotenoids와 provitamin A carotenoids를 나타낸 것이다.

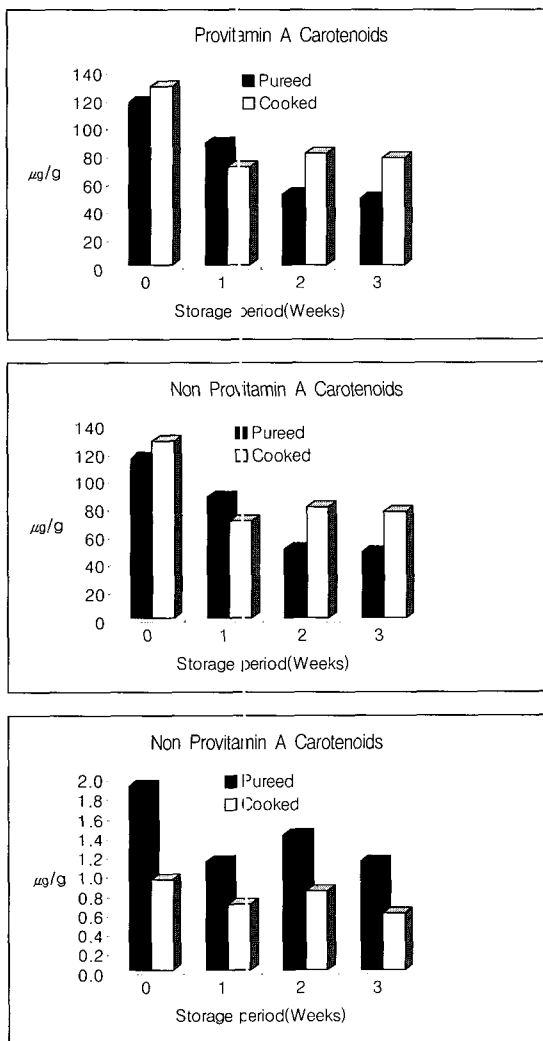


Fig. 7. Concentration changes of total carotenoids, provitamin A carotenoids and Non provitamin A carotenoids in pureed and cooked carrot during storage at 4°C

Provitamin A Carotenoids: all-trans-β-carotene, 9-cis-β-carotene, 13-cis-β-carotene, α-carotene
 Non Provitamin A Carotenoids: lutein

시금치의 total carotenoids는 all-trans-β-carotene, 9-cis-β-carotene, 13-cis-β-carotene, α-carotene, lutein, zeaxanthin 및 cryptoxanthin에 대한 총 함량으로 제시하였고, provitamin A carotenoids는 lutein과 zeaxanthin을 제외한 total carotenoids으로 나타내었다.

① 냉장

Fig. 8에서와 같이 냉장에서 비가열된 시금치의 total carotenoids는 저장동안 뚜렷한 감소가 일어나지 않았으나, 가열처리된 시금치는 149.62μg/g에서 1주 후 112.44μg/g로 현저한 감소를 보였고, 저장기간 중 비가열시료가 가열시료보다 높은 함량을 보였다. 시금치의 provitamin A carotenoids함량은 당근과 달리 total carotenoids에 대하여 약 35% 가량을 차지하였는데 이는 시금치의 carotenoids 성분이 Non provitamin A인 lutein으로 구성되어있기 때문이다. 따라서 당근에 비하여 시금치의 provitamin A의 활성은 현저하게 낮았다. 비가열처리구에서 provitamin A carotenoids의 함량은 냉장 중 뚜렷한 변화를 보이지 않았으나, 가열 후에는 저장 1주째 현저하게 감소되었다. 냉장 중 비가열처리구가 가열처리구에 비하여 높은 함량을 보여 시금치의 provitamin A의 활성을 높이기 위해서는 가열하지 않고 시료를 저장함이 좋다고 사료된다.

② 냉동

Fig. 9와 같이 -70°C에서 냉동된 시금치의 total carotenoids 함량은 저장 중 가열 및 비가열 시료간에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 냉동저장에서 저장기간이 경과에 따른 total carotenoids 함량의 변화는 비교적 적게 나타났으나 비가열된 시료가 가열 시료보다 약간 높은 함량을 보였다.

냉동에서 provitamin A carotenoids의 함량은 저장 초기 가열시료가 약간 높았으나 두 처리구에 대한 차이는 크지 않았으며 저장기간 중에는 거의 감소되지 않았다. 냉동저장이 비교적 냉장저장보다 저장 초기의 시료의 provitamin A 함량을 잘 유지하고 있어 provitamin A의 활성을 높일 수 있었다.

IV. 요약 및 결론

당근 및 시금치를 microwave oven으로 각각 1min, 50sec로 가열한 후 저장했을 때 가열처리여부 및 저장조건이 시료의 carotenoids(lutein, zeaxanthin, cryptoxanth, α-carotene, all-trans-β-carotene, 9-cis-β-

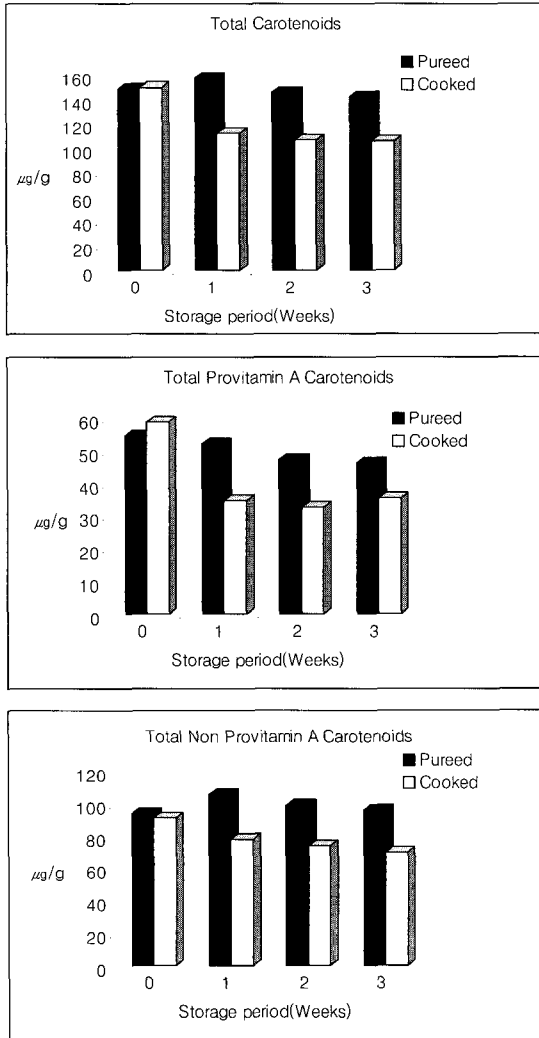


Fig. 8. Concentration changes of total carotenoids, provitamin A carotenoids and Non provitamin A carotenoids in pureed and cooked spinach during storage at 4°C

Provitamin A Carotenoids: all-trans-β-carotene, 9-cis-β-carotene, 13-cis-β-carotene, α-carotene
 Non Provitamin A Carotenoids: lutein, zeaxanthin, cryptoxanthin

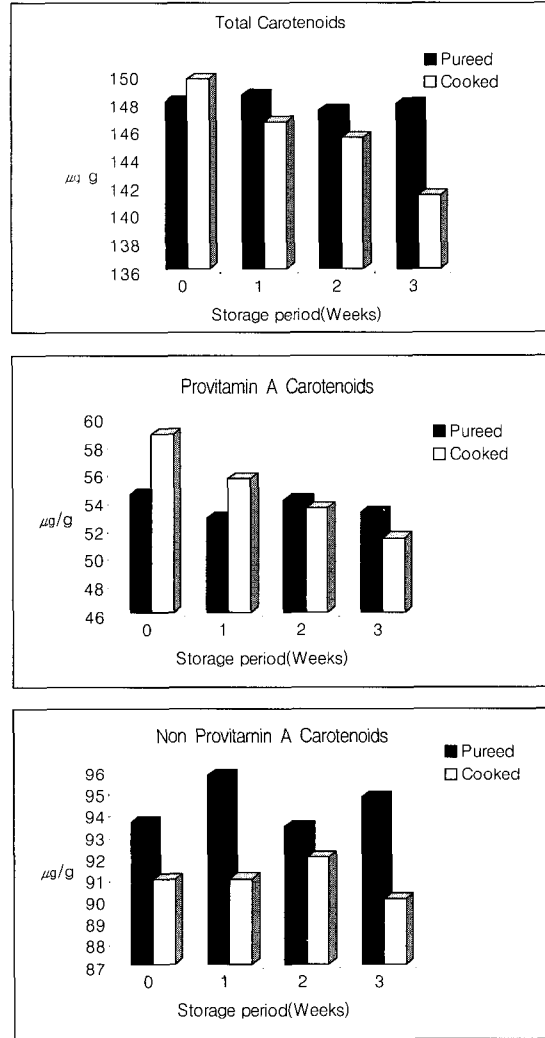


Fig. 9. Concentration changes of total carotenoids, provitamin A carotenoids and Non provitamin A carotenoids in pureed and cooked spinach during storage at -70°C

Provitamin A Carotenoids: all-trans-β-carotene, 9-cis-β-carotene, 13-cis-β-carotene, α-carotene
 Non Provitamin A Carotenoids: lutein, zeaxanthin, cryptoxanthin

-carotene, 13-cis-β-carotene)의 함량변화에 미치는 영향을 보고, 또한 carotene의 이성체인 cis/trans carotene isomers 형성에 관하여 조사하였다.

저장방법은 당근의 경우 냉장(4°C)에서, 시금치는 냉장(4°C) 및 냉동(-70°C)에서 3주간 저장하였으며, 조제된 시료를 가열 및 비가열시켜 저장조건별로 각각의 carotene 성분을 분리·정량하기 위하여 HPLC를 이용하여 분석하였다.

1. 원재료 당근과 시금치에서 분리한 carotenoids 분포를 보면 당근의 경우 all-trans-β-carotene(61%)>α-carotene(33%)>lutein(3%)>13-cis-β-carotene(2%)>9-cis-β-carotene(1%)>의 순으로 높았고, 시금치는 lutein(61%)>all-trans-β-carotene(30%)>9-cis-β-carotene(5%)>13-cis-β-carotene(2%)>α-carotene(1%)>zeaxanthin (0.96%)>cryptoxanthin(0.04%)의 순으로 높은 함량을 보였다. 9-cis-β-carotene과 13-cis-β-carotene

의 함량은 녹색채소류(시금치)와 황색채소류(당근)간에 뚜렷한 차이를 보이는데, 시금치의 경우 9-cis- β -carotene이 13-cis- β -carotene에 비하여 높게, 당근의 경우 9-cis- β -carotene에 비하여 13-cis- β -carotene이 높게 나타났다. 9-cis- β -carotene은 주로 녹색채소류의 chlorophyll에 의해서 합성되기 때문에 시금치에 높게 나타났다.

- 가열직후 당근의 경우 lutein 함량은 감소하였으나 α -carotene, all-trans- β -carotene, 9-cis- β -carotene 및 13-cis- β -carotene은 가열 전보다 각각 11%, 45%, 22%, 81% 가량 높게 나타났으며, 시금치의 경우 lutein과 zeaxanthin을 제외하고 α -carotene, all-trans- β -carotene, 9-cis- β -carotene, 13-cis- β -carotene 및 cryptoxanthin은 당근과 같이 가열 후 각각 75%, 38%, 9%, 38% 및 63% 가량 높게 나타났다. 따라서 가열처리 후 carotenoids의 증가율은 당근과 시금치간에 큰 차이가 있으나 전반적으로 가열 전에 비하여 높은 함량을 나타내었다. 특히 9-cis- β -carotene과 13-cis- β -carotene은 가열 후에 주로 나타나는 all-trans- β -carotene의 이성질체였다.
- 냉장(4°C) 및 냉동(-70°C)저장에 따른 carotenoids 함량의 변화를 보면, 냉장에서 당근과 시금치는 저장기간이 경과함에 따라 가열 및 비가열처리구 모두 감소경향을 나타냈는데, 그 감소 폭은 비가열처리구에 비하여 가열처리구에서 크게 나타났고, 특히 저장 1주째 현저하게 감소하는 경향을 보였다. 가열 후 당근과 시금치는 저장 3주째는 9-cis- β -carotene과 13-cis- β -carotene 함량이 증가하는 경향을 보였는데 이는 저장기간이 경과하면서 all-trans- β -carotene의 이성질화가 일어나 9-cis- β -carotene과 13-cis- β -carotene의 함량이 증가된 것이며, 그 증가율은 9-cis- β -carotene보다 13-cis- β -carotene이 높았다. 이는 13-cis- β -carotene에 대한 이성질화 활성화에너지가 낮기 때문이었다. 냉장 중 당근의 경우 가열처리구에서 lutein을 제외한 α -carotene, all-trans- β -carotene, 9-cis- β -carotene과 13-cis- β -carotene은 높은 경향을 보였고, 시금치는 비가열처리구에서 α -carotene, 9-cis- β -carotene과 cryptoxanthin을 제외한 lutein, zeaxanthin, all-trans- β -carotene과 9-cis- β -carotene의 함량이 높았다. 냉동에서 저장 중 두 처리구 모두 시금치의 total carotenoids 함량에는 큰 영향을 주지 못했으나 전반적으로 가열처리구가 비가열된 시금치보다 약간 높은 값을 나타냈다.

- 가열직후 당근의 total carotenoids 함량 및 provitamin A carotenoids 함량은 가열 전보다 약간 높게 나타났다. 냉장 중 당근의 total carotenoids 함량은 저장초기에 현저하게 감소되었으며, 전반적으로 가열처리구가 비가열처리구에 비하여 높게 나타났다. 당근의 provitamin A 함량은 total carotenoids 함량의 약 97% 정도로 구성되었는데 거의 all-trans- β -carotene이었다.

냉장에서 비가열된 시금치의 total carotenoids와 provitamin A carotenoids 함량은 냉장동안 뚜렷한 감소가 없었으나, 가열 후에는 냉장초기에 현저하게 감소되었고, provitamin A의 함량은 total carotenoids의 약 35% 정도를 차지하였다. -70°C에서 냉동된 시금치의 total carotenoids의 함량은 가열시료에서, provitamin A carotenoids의 함량은 비가열시료에서 약간 높은 경향을 보였으나, 두 처리구 모두 냉동 중 total carotenoids의 손실은 매우 적었다.

이에 따라 total carotenoids 함량 및 provitamin A carotenoids의 활성을 높이기 위해서 당근은 가열한 후 저장하고, 시금치는 가열하지 않고 저장함이 좋다고 사료된다.

V. 참고문헌

- Pfander, H : Key to Carotenoids, 2nd ed., Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland., 1987
- Olson, JA : Biological actions of carotenoids, J. Nutr., 119(1):94, 1989
- Quackerbush, FW : Reversed-phase HPLC separation of cis and trans-carotenoids and its application to beta carotene in food materials. J. Liquid Chrom., 10:643, 1987
- Erdman, JW, Jr., Poor CL and Dietz, JM : Factors affecting the bioavailability of vitamin A, carotenoids, and vitamin E. Food Technol., Oct., 42(10):214, 1988
- Simpson, KL : Chemical changes in natural food pigments. In: Chemical Changes in Food during Processing, AVI, Richardson T & Finley JW, eds., Westport, CT, p411, 1985
- Sweeney, JP and Marsh, AC : Effect of processing on provitamin A in vegetables. J. Am. Dietet. Assoc., 59:238, 1971
- Chen, BH : Studies on the stability of carotenoids in garland chrysanthemum(Ipomoea spp.) as affected by microwave and conventional heating. J. Food Prot., 55(4):296, 1992
- Chen, BH and Han, LH : Effects of different cooking methods on the yield of carotenoids in water convolvulus(Ipomoea aquatica). J. Food Prot., 53(12):1076, 1990
- Khachik, F, Goli, MB, Beecher, GR, Holden, Lusby, WR, Tenorio, MD and Barrera, MR : Effect of food

- preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 40:390, 1992
10. Steinmetz, KA and Potter, JD : Vegetables, fruit, and cancer. II. Mechanism. *Cancer Causes and Control.*, 2:427, 1991
 11. Chen, BH and Chen, YY : Stability of chlorophylls and carotenoids in sweet potato leaves during microwave cooking. *J. Agric. Food Chem.*, 41:1315, 1993
 12. Chandler, LA and Schwartz, SJ : Isomerization and losses of trans- β -carotene in sweet potatoes as affected by processing treatments. *J. Agric. Food Chem.*, 36:129, 1988
 13. Baloch, AK, Buckle, KA and Edwards, RA : Effect of processing on the quality of dehydrated carrot. *J. Food Technol.*, 12:285, 1977
 14. Dietz, JM and Gould, WA : Effects of process stage and storage on retention of beta-carotene in tomato juice. *J. Food Sci.*, 51(3):847, 1986
 15. Lee, CY, Massry Jr, LM and van Buren, JP : Effects of postharvest handling and processing on vitamin content of peas. *J. Food Sci.*, 47(3):961, 1982
 16. Chandle, LA and Schwartz, SJ : HPLC separation of cis-trans carotene isomers in fresh and processed fruits and vegetables. *J. Food Sci.*, 52(3):669, 1987
 17. Dudek, JA, Elkins, ER, Chin, HB and Hagen, RE : Investigations to determine nutrient content of selected fruits and vegetables-raw, processed and prepared. *Nat. Food Proc. Assoc. USDA Contract No. 43-32U4-8-92*
 18. Edwards, CG and Lee, CY : Measurement of provitamin A carotenoids in fresh and canned carrots and green vegetables. *J. Food Sci.*, 51(2):534, 1986
 19. Ogunlesi, AT and Lee, CY : Effect of thermal processing on the stereoisomerization of major carotenoids and vitamin A value of carrots. *Food Chem.*, 4(4):311, 1979
 20. Gomez, MI : Carotene content of some green leafy vegetables of Kenya and effects of dehydration and storage on carotene retention. *J. Plant Foods*, 3:231, 1981
 21. Granado, F, Olmedilla, B, Blanco, I and Rojas-Hidalgo, E : Carotenoid composition in raw and cooked spanish vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 40:2135, 1992
 22. Panalaks, T and Murray, TK : Effect of processing on the content of carotene isomers in vegetables and peaches. *J. Inst. Can. Technol.*, 3:145, 1970
 23. Booth, VH : Inactivation of the carotene-oxidizing system in Iris leaf. *J. Sci. Food Agric.*, 11:8, 1960
 24. Ueno, T, Maekawa, A and Suzuki, T : Effect of lipoxygenase on the determination of carotene in vegetables. *Vitamins(Jpn.)*, 56:83, 1982
 25. Pesek, CA and Warthesen, JJ : Kinetic model for photoisomerization and concomitant photodegradation of beta-carotenes. *J. Agric. Food Chem.*, 38:1313, 1990
 26. Marin, MA, Cano, P and Fuster, C : Freezing preservation of 4 spanish mango cultivars(*Manifera-indica L*)-chemical and biochemical aspects. *Zeitschriftfur Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 194:566, 1992
 27. Yeum, KJ, Booth, SL, Sadowski, JA, Liu, C, Tang, G, Krinsky, NI and Russell, RM : Human Plasma carotenoid response to the ingestion of controlled diets high in fruits and vegetables. *Am. J. Clin. Nutr.*, 64:594, 1996
 28. Lessin, WJ, Catigani, GL and Schwartz, SJ : Quantification of cis-trans Isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 45:3728, 1997
 29. Chen, HE, Peng, HY and Chen, BH : Stability of carotenoids and vitamin A during storage of carrot juice. *Food Chem.*, 57(4):497, 1996
 30. O'Neil, CA and Schwartz SJ : Photoisomerization of β -carotene by photosensitization with chlorophyll derivatives as sensitizer. *J. Chromatogr.*, 624:235, 1992
 31. Khachik, F, Goli, MB, Beecher, GR, Holden, J, Lusby, WR, Tenorio, MD and Barrera, MR : Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green. *J. Agric. Food Chem.*, 40:390, 1992

(2003년 1월 2일 접수, 2003년 2월 17일 채택)