

## 단체급식에서 시금치의 조리방법에 따른 Carotenoids 및 *Cis/Trans* $\beta$ -Carotene 함량의 변화

임 양 이

성신여자대학교 식품영양학과

### Changes in the Contents of Carotenoids and *Cis/Trans* $\beta$ -Carotenes of Fresh and Cooked Spinach in Foodservice Operations

Yaung-Iee Lim

Dept. of Food and Nutrition, Sung-shin Women's University, Seoul 136-742, Korea

#### Abstract

HPLC quantifications of fresh and cooked (steamed/microwaved) spinach, one of the most frequently consumed vegetables in foodservice operations, were carried out to determine carotenoids compositions. An S-3  $\mu$ m C30 stationary phase for reversed-phase columns with diode-array detection was used to separate and quantify geometric isomers of provitamin A carotenoids in the fresh and cooked spinach. The carotenoids in fresh spinach were identified and quantified: Lutein (63.0%),  $\beta$ -carotene isomers (all-*trans* 29.6%, 9-*cis* 3.2%, 13-*cis* 1.8%,  $\alpha$ -carotene 0.4%, zeaxanthin 2.1%) and cryptoxanthin. Cryptoxanthin, detected in a trace amount in HPLC, was not quantified in this study. Lutein was little affected by cooking methods and frozen conditions. 9-*cis* and 13-*cis*- $\beta$ -carotene isomers were major types formed during cooking. Cooking (steam/microwave) did not alter carotenoid profiles of the samples, but the amounts of carotenoids quantified were greater than those in the fresh samples. Heat treatment such as steaming increased total carotenoids contents, especially *trans*- $\beta$ -carotene ( $p < 0.05$ ). The carotenoid contents of the frozen spinach increased even after the microwaved treatment ( $p < 0.05$ ). These increases were likely to result from the increased extraction efficiency and inactivation of enzymes capable of carotenoids degrading during the heat treatments.

**Key words:** spinach, carotenoids, *cis/trans*  $\beta$ -carotene, steam, microwave

#### 서 론

카로티노이드(carotenoids)는 천연에 널리 존재하는 화합물로 carrot root의 주요한 색소에서 그 기원을 찾아볼 수 있다. 이들은 두 가지 형태로 분류되는데 즉, 비극성의 탄화수소( $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene) 화합물의 carotene과 그들의 산화 유도체물인 xanthophylls(lutein, zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin)이다. 또한 이들은 구조적으로 공액이중결합을 가지고 있어 UV에 있는 자외선을 흡수하여 가시영역의 색소로 발현하게 된다(1-3).

일반적으로 채소류는 색소에 따라, 녹색채소류, 적황색채소류 그리고 담색채소류로 분류된다. 채소류에 따라 카로티노이드 함량이 약간씩 다르게 분포되어 있다. 녹색채소류에는 lutein, zeaxanthin,  $\beta$ -carotene이 대부분 함유되고 있으며, 적황색 채소류는 lutein 함량보다 오히려 다른 카로티노이드의 성분이 많은 것으로 알려져 있다(4). 시금치는 녹색채소류로서 lutein이  $\beta$ -carotene보다 훨씬 높은 함량을 차

지하고 zeaxanthin도 함유하고 있다. 이처럼 시금치에 많은 함량을 포함하고 있는 lutein은 체내에서 provitamin A의 생화학적 활성은 다소 떨어지지만, zeaxanthin과 함께 노화에 따른 황반변점의 색소침착의 예방을 할 수 있어 오늘날 식물화합물로서의 중요성이 매우 커지고 있다(5,6). 이에 따라 우리들은 카로티노이드를 식이로서 섭취하는 것은 매우 중요한 일이다.

그러나 체내에서 카로티노이드의 이용률은 여러 식이인자에 의해 결정되는데 이는 식이지방, 단백질과 섬유소 그리고 식품의 형태에 의한다. 식품가공 중 특히 가열과정은 식품에 있는 카로티노이드의 profile에 영향을 주고 특히  $\beta$ -carotene에 영향을 많이 주고 있다.

이와 같은 이론을 배경으로 채소류에서 카로티노이드에 관한 대부분의 연구는 여러 조리방법과 식품 가공과정을 사용하여 카로티노이드의 총 함량을 분석하거나(7-10), *cis/trans* 이성질체의 형성과 산화에 미치는 영향에 관한 연구(11-14)들이 수행되었다. 특히 카로티노이드의 가열분해 및

이성질화에 의한 provitamin A의 활성에 관한 연구로서 식품의 가공공정에 따라 즉 끓였을 때와 통조림(15), 고온에서의 통조림제조(16), 통조림, microwaving과 baking(17), 끓이기와 튀김 및 자연건조 등(18)에서 카로티노이드의 함량을 비교 분석한 연구가 중점적으로 수행되었다.

이와 같이 서구에서는 이미 녹황색 채소류에 대한 카로티노이드의 다양한 연구가 수행되었으나, 우리나라의 경우 카로티노이드 분석에 관한 연구는 극히 제한된 실정이다. 또한 HPLC로 분석한 *trans*- $\beta$ -carotene의 이성체 분리에 관한 연구는 선행연구(19)에서 저장방법에 따른 시금치와 당근의 카로티노이드의 함량에 관해서 보고된 연구가 전부이다.

따라서 본 연구에서는 먼저 C<sub>30</sub> Reverse-phase인 S-3  $\mu$ m의 column과 internal standard를 사용하여 시금치의 카로티노이드 함량을 HPLC로 분석하고,  $\beta$ -carotene의 *cis/trans*형 이성체 분리 및 정량방법을 상세히 기술하여 국내에서도 녹황색 채소류에 대한 카로티노이드의 분석기술을 이용하는데 있다. 또한 시금치의 조리방법(steaming/microwaving) 및 냉동 후 microwave로 가열했을 때의 원재료 시금치와 카로티노이드의 함량을 비교한 후 이들이 체내에서의 provitamin A 카로티노이드의 활성을 각 처리구에서 검토하고자 하였다. 이를 토대로 피급식자에게 시금치를 제공할 때 provitamin A의 카로티노이드 활성이 높은 시금치 조리법을 선택하고, 식품의 기능성 성분이 높은 lutein의 함량을 조사하고, 냉동 후 조리한 시료의 카로티노이드 함량을 분석하여 급식소에서 시금치의 효율적인 구매 및 생산관리를 도모하는데 그 목적이 있다.

여기서 사용된 시금치는 단체급식 혹은 가정에서 날것인 샐러드 형태나 녹즙으로 준비되거나 다양한 형태로 조리되어 피급자에게 제공되기 때문에 본 실험의 시료로 선택하였다. 조리방법에 있어서는 특히 서구의 경우 microwave를 이용한 조리법이 발달되어 본 연구에서 사용되었다.

## 재료 및 방법

### 시료의 준비

본 실험에 사용한 시료 시금치는 미국 California 산지에서 생산한 것을 실험당일 아침 야채 도매상으로부터 1 kg을 구입하였다. 시료의 뿌리와 줄기를 제거한 후 증류수에 3회 씻은 다음 건조한 후 실험 분석에 사용하였다.

전처리된 시료 200 g씩을 각기 취하여 구입 즉시 사용하였으며, 냉동시료는 갈색의 플라스틱용기에 담고 알루미늄 호일로 덮어 냉동 후 시료분석에 사용되었으며, 가열시료는 microwave oven에서 25 mL의 물을 첨가하여 50초간, steam 시료는 뚜껑을 덮고 스팀으로 1분간 가열한 즉시 냉수로 15초간 헹구어 수분흡수가 잘 되는 종이퍼로 닦아 건조된 상태에서 실험분석에 사용하였다.

본 실험에서는 카로티노이드의 정확한 분석을 위해서 시

료의 준비과정 및 추출과정 중 직사광선과 자외선에서의 노출을 최대한 제한시키기 위해 엄격하게 통제된 적색광의 실험실에서 실시되었다.

본 실험의 모든 준비과정은 Jean Mayer United States Department of Agriculture Human Nutrition Research Center on Aging at Tufts University, Boston, MA 02111, USA에서 실시되었다.

### 시약

시료의 카로티노이드 분석을 위해 사용된 모든 용액은 적색광의 실험실에서 사용직전 준비되었고, 모든 HPLC 용매는 J. T. Baker Chemical Co.(Philipsburg, NJ)에서 구입하였으며, 사용 전 0.45  $\mu$ m membrane filter에서 여과시킨 후 사용하였다.

또한 카로티노이드 및 그 이성체 화합물의 물질 동정을 위해서 all-*trans*- $\beta$ -carotene과  $\alpha$ -carotene의 표준품은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)에서 구입하였고, lutein은 Kemin AllIndustries, Inc.(Des Moines, IA)에서, 9-*cis*- $\beta$ -carotene, 13-*cis*- $\beta$ -carotene, zeaxanthin, cryptoxanthin은 Hoffmann-La Roche Inc.(Nutley, NJ)에서 기증받아 모두 7종을 사용하였다.

### Internal standard(IS) 제조

Internal standard인 echinenone과 retinyl acetate(Sigma Chemical Co.)를 사용하였다. IS는 13×100 mm의 disposal culture 시험관에 적정량의 ethanol을 넣고 echinenone과 retinyl acetate를 시험관에 넣은 후 ethanol로 다시 시험관 내부에 묻은 echinenon과 retinyl acetate를 잘 헹구어 가면서 첨가하고 vortex로 잘 혼합한 후 초음파 처리하였다. 이것을 갈색병에 담아 -20°C의 냉동고에 보관하면서 Stock solution으로 사용하였다.

Echinenon은 Spectrophotometer(Perkin-Elmer, Lambda, UV/vis)를 이용하여 450 nm에서, retinyl acetate는 320 nm에서 측정되었다.

제조된 IS는 HPLC 분석하기 위해 주입된 시료의 중간지점에 위치하게 되며, echinenon은 카로티노이드의 회수율을, retinyl acetate는 retinoid의 회수율을 높이기 위해서 사용되었다. 이러한 IS의 area는 다음과 같이 계산하였다.

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

### Tetrahydrofuran(THF)에 의한 carotenoids 추출

시료 0.5 g을 50 mL screw-top 시험관에 취하여 10 mL의 methanol을 넣고 vortex mixer에서 30초 동안 잘 혼합한 후 실온에서 120 rpm(Thermolyne)으로 90분 동안 원심분리하였다. 이 침전물은 0°C의 polytron을 사용하여 30 sec 동안 균질화(Kinematica GmbH, Switzerland)하는데 ice bath에서 실시되었다. 이는 균질화 과정에서 열 발생에 의한 카로티노

이드의 분해와 이성화를 막기 위해서이며, polytron으로 균질화하기 전 반드시 5 mL의 methanol로 각 needle를 세척한 후 사용했다. 균질화된 시료를 3,000 rpm에서 5분 동안 다시 원심분리시켜 methanol의 상층액만을 취해 100 mL의 정용관에 옮긴 후 추출용매 tetrahydrofuran으로 4회 반복 추출하였다. 추출과정에서 처음 1회는 10 mL의 THF로, 나머지 3회는 5 mL의 THF를 넣고 추출시킨 후 vortex로 잘 혼합하고, 3000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 이러한 추출물은 흡입관에 여과시켜 무색이 될 때까지 THF로 반복하여 계속 추출하였다. 여기서 THF층을 취해 methanol이 들어있는 정용관에 옮겨 THF로 100 mL를 정용한 후 잘 혼합시켰다. 마지막으로 이 추출액 1 mL를 취해 1 mL의 ethanol로 녹여 N<sub>2</sub> 가스로 완전히 휘발시킨 후, 이 중 50  $\mu$ L를 취하여 HPLC에 주입하였다. 모든 시약 및 시료는 0.45  $\mu$ m membrane filter로 여과 후 column에 주입하였다.

#### HPLC 조건

시금치의 lutein, zeaxanthin, *trans*- $\beta$ -carotene, 9-*cis*- $\beta$ -carotene, 13-*cis*- $\beta$ -carotene을 분석을 위해 사용된 High Performance Liquid Chromatography System I (Water 994 Series)을 이용한 기기의 조건은 Table 1과 같다.

#### Carotenoids 화합물 분리 및 정량

시금치의 THF 용매 분획물이 구성하고 있는 카로티노이드 화합물 및 그 이성질체의 분리는 Yeum 등(20)의 방법을 이용하여 표준품(7종)으로부터 구하였다.

이러한 화합물의 분리 및 정량은 HPLC-MS를 통하여 표준품과 비교 확인하는 방법으로 실시하였다. 색소물질인 카로티노이드의 표준품에 대하여 농도와 peak 면적과의 상관관계를 알아보고 검량선을 각기 구하여 시금치의 용매 분획물에서 각각 확인된 물질함량 측정은 해당물질의 검량선에 대입하여 일정한 농도를 구한 다음 용매 분획물 분석 시 소요된 총량으로 나누어 계산하였다.

시료의 카로티노이드를 분리하기 위해 사용된 HPLC의 이동상은 다음과 같다. MeOH/MTBE/H<sub>2</sub>O(83:15:2, v/v/v, 1.5% H<sub>2</sub>O in acetonitrile)(용매A)와 MeOH/MTBE/H<sub>2</sub>O

(8:90:2, v/v/v, 1% H<sub>2</sub>O in acetonitrile)(용매B)을 혼합하여 사용하였다. C<sub>30</sub> Pump method는 Linear gradient procedure에 의한 비율로 다음과 같이 실시되었다. 즉 7단계(0분 90:10, 7~10분 70:30, 10~19분 45:35, 19~21분 45:55분, 21~31분 5:95, 31~35분 5:95, 35~37분 90:10분%(v/v))로서 총 running time 45분, data collection은 37분이 소요되었으며, 이와 같은 조건으로 시금치의 THF 용매 분획물이 구성하고 있는 카로티노이드 화합물 및 그 이성질체를 분리하였으며, 물질확인에는 표준품인 retention time(RT)과 비교하였다.

Extinction coefficient( $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ )는 lutein이 2400, zeaxanthin은 2440, cryptoxanthin은 2550,  $\alpha$ -carotene은 2550, *trans*- $\beta$ -carotene은 2590, 13-*cis*- $\beta$ -carotene은 1750이었으며, 모든 카로티노이드 분석을 위한  $\lambda$  max는 450 nm이었다.

#### 통계처리

실험결과와 통계처리는 SPSS 14.0 program 이용하여 평균과 표준편차를 구하였다. 조리방법에 따른 각 구간 평균치의 통계적 유의성은 one-way ANOVA로 검증한 다음  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다.

#### 결과 및 고찰

##### Carotenoids와 *cis/trans* $\beta$ -carotene 분리

시금치 원재료와 조리방법별에 따른 시료의 카로티노이드의 분석을 위해 methanol 추출물로부터 THF 용매 분획물을 조제하고 이들 각각의 용매 분획물이 구성하고 있는 물질을 HPLC로 분석하였다. Fig. 1은 microwave로 가열처리된 시금치의 HPLC chromatogram으로 총 7개의 카로티노이드 peak와 IS peak가 확인되었다. 확인된 4개의 peak를 제외한 3개의 peak는 *trans*- $\beta$ -carotene의 이성질체로 확인할 수 있었다. 카로티노이드 및 그 이성체의 표준품인 RT는 lutein이 9.15분, zeaxanthin이 10.8분, cryptoxanthin이 16.7분, 13-*cis*- $\beta$ -carotene이 19.05분,  $\alpha$ -carotene이 19.95분, *trans*- $\beta$ -carotene이 19.68분, 9-*cis*- $\beta$ -carotene이 22.13분인 것으로 확인하였다.

Table 1. HPLC system I conditions for carotenoids analysis in 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)
C30 Carotenoid column (Reverse phase)	Particle: S-3 $\mu$ m Size : 150 $\times$ 4.6 mm (YMC, Wilmington, NC)
Detector	450 nm for carotenoids
Gradient flow rate	1.0 mL/min
HPLC column temp.	16 $^{\circ}$ C
Injection volume	50 $\mu$ L

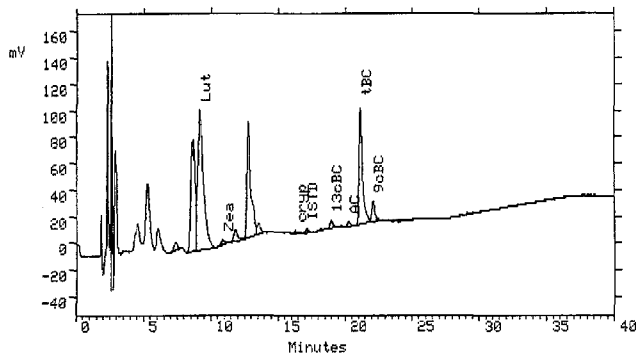


Fig. 1. HPLC chromatogram of spinach.

Lut: lutein, Zea: zeaxanthin, Cryp: cryptoxanthin, ISTD: internal standard, 13cBC: 13-*cis*- $\beta$ -carotene, AC:  $\alpha$ -carotene, tBC: *trans*- $\beta$ -carotene, 9cBC: 9-*cis*- $\beta$ -carotene.

IS는 시료 추출과정 중 카로티노이드 성분을 정확히 분석하기 위해 본 실험에서 사용하였으며, 이때의 RT는 cryptoxanthin과 13-*cis*- $\beta$ -carotene의 중간시점인 17.12분에서 확인하였다.

#### 조리방법에 따른 carotenoids 함량 변화

조리방법에 따른 시금치의 THF 분획물의 구성물질로 밝혀진 lutein, zeaxanthin, zeaxanthin과  $\beta$ -carotene의 이성질체 화합물의 카로티노이드함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다.

전처리과정을 거치지 않은 원재료 시금치에서 lutein은 153.1  $\mu$ g(63.0%)로 가장 많은 부분을 차지하였고, 그 다음이 *trans*- $\beta$ -carotene이 71.9  $\mu$ g(29.6%)으로 높은 함량을 보였다. 여기서 lutein은 steam과 microwave 경우 약 2~7% 정도 약간 감소하는 경향을 보여 이는 microwave에 의한 조리 가 끓이는 것에 비하여 lutein의 감소가 적었다고 하는 연구

(8)와 유사한 경향을 보였으나, 가열 전후와 조리방법 간에는 유의적 차이를 나타내지 않았다. 한편 Khachik 등(4)은 시금치를 microwave로 가열한 후 lutein이 약 8% 감소되었으며, steam의 경우 약 15% 가량이 증가되었다고 하였다. 또한 Granado 등(7)은 시금치를 10분간 끓였을 때 lutein이 약 50% 이상 증가되었으며, microwave는 steam과 끓임에 비하여 조리방법 및 가열시간에 따라 분해되어 lutein의 함량에는 차이가 있다고 보고하였다.

Zeaxanthin의 경우 steam과 microwave에서 각각 1.7  $\mu$ g(0.6%), 3.9  $\mu$ g(1.5%)로서 가열전의 5.1  $\mu$ g(2.1%)에 비하여 약 0.6~1.5% 정도 감소하는 경향을 보였는데 steam의 경우가 감소폭이 크게 나타났다.

이러한 결과는 카로티노이드를 포함하고 있는 녹황색 채소류를 끓이거나 microwave에서 가열하면 산화된 카로티노이드 중 특히 epoxy를 포함하고 있는 카로티노이드의 함량이 크게 감소된다고 하였는데(21), 이는 본 실험에서도 산화된 카로티노이드의 일종인 lutein과 zeaxanthin에서 약간 감소한 경향과 일치한다.

*Trans*- $\beta$ -carotene에 있어서 Granado 등(7)은 시금치를 10분간 끓였을 때 약 48%가 증가되었다고 하였는데, 본 실험에서는 steam과 microwave에서 각각 101.9  $\mu$ g(35.9%), 80.0  $\mu$ g(29.3%)으로 steam의 경우 microwave에 비하여 높고, 원재료 시금치(29.6%)보다 *trans*- $\beta$ -carotene이 약 6% 증가하는 경향을 보인 반면, microwave에서는 거의 변화가 없었다. Lessin 등(11)은 통조림된 시금치에서 가열 전후와 큰 차이가 없다고 하였으며, 1986년 보고된 연구에서는 녹황색 채소류(시금치, 브로콜리, 양배추, 케일)를 microwave에서 가열한 경우  $\beta$ -carotene의 분해가 일어나 약 15%가 감소되었고, Brussel sprout와 케일에서는 각각 19%, 35%가 감

Table 2. Carotenoids and RE contents of spinach by cooking method

Carotenoids	Fresh	Cooking	
		Fresh/Steam	Fresh/Microwave
<b>Non-Provitamin A</b>			
Lutein	153.1 $\pm$ 1.3 <sup>1)a2)</sup> (63.0) <sup>3)</sup>	162.1 $\pm$ 7.5 <sup>a</sup> (56.6)	161.8 $\pm$ 9.0 <sup>a</sup> (61.6)
Zeaxanthin	5.1 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup> (2.1)	1.7 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup> (0.6)	3.9 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup> (1.5)
Total	158.2 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup> (65.1)	163.8 $\pm$ 7.6 <sup>a</sup> (57.2)	165.7 $\pm$ 9.2 <sup>a</sup> (63.0)
<b>Provitamin A</b>			
<i>trans</i> - $\beta$ -carotene	71.9 $\pm$ 1.7 <sup>b</sup> (29.6)	101.9 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup> (35.6)	77.0 $\pm$ 4.1 <sup>b</sup> (29.3)
9- <i>cis</i> - $\beta$ -carotene	7.7 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup> (3.1)	13.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup> (4.7)	14.0 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup> (5.3)
13- <i>cis</i> - $\beta$ -carotene	4.4 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup> (1.8)	5.9 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup> (2.1)	6.1 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup> (2.3)
$\alpha$ -carotene	0.9 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup> (0.4)	3.2 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup> (1.1)	0.76 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup> (0.3)
Total	84.8 $\pm$ 2.4 <sup>c</sup> (34.9)	124.6 $\pm$ 2.2 <sup>a</sup> (43.5)	97.7 $\pm$ 5.3 <sup>b</sup> (37.2)
Total carotenoids ( $\mu$ g/g)	243.0 $\pm$ 3.8 <sup>c</sup> (100%)	288.3 $\pm$ 9.8 <sup>a</sup> (100%)	263.4 $\pm$ 14.5 <sup>b</sup> (100%)
Total RE <sup>4)</sup> ( $\mu$ g/g)	14.1 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	20.5 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	17.6 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Mean  $\pm$  SD.

<sup>2)</sup>Means with different superscripts in a row are significantly different from each other at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup>Carotenoids contents (%).

<sup>4)</sup>The values of total retinol equivalents for provitamin A carotenoids: ( $\mu$ g of  $\beta$ -carotene / 6) + ( $\mu$ g of other provitamin A carotenoids / 12).

소했다고 하였다. 일부 연구자들은 *trans*- $\beta$ -carotene의 경우 데치거나 끓이는 경우 열처리에 매우 민감하여  $\alpha$ -carotene 보다 두 배 이상의 손실을 받았다고 하였다. 이처럼  $\beta$ -carotene은 특히 다른 카로티노이드와 달리 연구자와 조리 방법에 따라 가장 일치되지 못한 연구결과를 보여준다고 지적하였다(22).

또한 원재료 시금치의 9-*cis*- $\beta$ -carotene과 13-*cis*- $\beta$ -carotene의 경우, 각각 7.7  $\mu$ g(3.1%), 4.4  $\mu$ g(1.8%)으로 13-*cis*- $\beta$ -carotene에 비하여 9-*cis*- $\beta$ -carotene 함량이 높는데, 이는 녹색 엽채류의 식물조직 속에 있는 chlorophyll이  $\beta$ -carotene에 대한 이성화의 수용체로 작용하여 *trans*- $\beta$ -carotene을 9-*cis*형의  $\beta$ -carotene의 이성질체를 합성시키기 때문이다(12,20). 이러한 반응은 *trans*- $\beta$ -carotene의 이성질체 중에서도 주로 9-*cis*형을 형성한다고 하였다(23).

가열 후의 9-*cis*- $\beta$ -carotene과 13-*cis*- $\beta$ -carotene을 보면, steam과 microwave에서 각각 13.6  $\mu$ g(4.7%), 14.0  $\mu$ g(5.3%)와 5.9  $\mu$ g(2.1%), 6.1  $\mu$ g(2.3%)로서 9-*cis*- $\beta$ -carotene의 경우 가열 후 1.6~2.2%정도 증가하였고, 13-*cis*- $\beta$ -carotene의 경우 약 0.3~0.5%정도 증가하여 가열전의 시금치와 유의적 차이를 보였으며 또한 steam 조리의 경우 microwave보다 약간 높은 함량을 보였으나 유의적이지는 못하였다. 이러한 결과는 가열처리가 *trans*- $\beta$ -carotene의 분해를 촉진시켜 이성질체 9-*cis*- $\beta$ -carotene을 형성시킨 것이 아니라, 가열처리에 의한 카로틴 산화효소의 불활성화와 carotenoprotein 복합체의 파괴로 인하여 추출에 대한 효율성을 증대시켰기 때문이라고 하였다(22). 일부 연구자들은 채소류를 통조림한 경우 *cis*형의 이성체에서도 특히 9-*cis*와 13-*cis*형의 이성체가 증가되었다고 하였다(12). 또한 조리방법에 있어서는 microwave, 끓이기 그리고 데치기의 순으로 *cis* 이성질체의 함량은 높고 이는 조리시간에 따라 증가된다고 보고하였는데(13), 본 실험에서도 microwave에서 가장 높은 이성질체의 함량을 보여주고 있었다. 이와 같이 가열에 의해 증가된 *cis* 이성질체는 곧 provitamin A의 카로티노이드 활성을 감소시키는 결과를 초래하게 되어 *cis* 이성질체의 형성이 적은 적절한 조리법이 연구되어야 한다.

Steam과 microwave의 조리에서 총 카로티노이드 함량은 각각 288  $\mu$ g, 263  $\mu$ g으로 원재료 시금치(243  $\mu$ g)에 비하여 각각 16%, 7% 증가한 것을 볼 수 있는데, 이는 가열에 의해 식물조직이 분해되어 카로틴에 대한 화학적 추출용매가 용이해지고(24), 특히 카로틴-산화활성을 갖는 채소류의 내인성 효소계(lipoxygenase)에 의해서 카로티노이드의 분해가 가장 많기 때문에 추출과정 동안 항산화제의 첨가는 신선한 채소류의 카로티노이드의 함량을 높일 수 있는 방안이라고 제시했다(25,26).

Provitamin A의 RE(retinol equivalents)는 *trans*- $\beta$ -carotene, 9-*cis*- $\beta$ -carotene, 13-*cis*- $\beta$ -carotene 및  $\alpha$ -carotene에서 볼 수 있다. 특히 Steam의 경우 *trans*- $\beta$ -carotene의

RE는 17  $\mu$ g이고, provitamin A의 총 RE는 20.5  $\mu$ g로서 원재료의 총 RE보다 약 6.4% 증가되어 급식에서 시금치를 제공할 때는 steam으로 조리하여 제공하는 것이 피급식자의 provitamin A의 활성을 높여 주는 바람직한 조리법이라고 사료된다.

또한 본 연구가 서구 식생활의 조리법을 중심으로 실시된 가열방법이기 때문에 이를 우리나라 단체급식에 적용할 때는 향후과제로서 녹색채소류를 물에 넣고 끓이거나 데쳤을 때의 카로티노이드의 변화를 가열시간과 함께 비교하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

냉동 후 microwave 가열에 따른 carotenoides 함량변화 시금치의 냉동 후와 원재료를 microwave으로 가열한 경우 카로티노이드의 함량변화를 살펴보았다(Fig. 2, 3). Lutein의 경우 조리 전후 및 냉동 후에 따른 변화를 유의적으로 찾아볼 수 없었으나, zeaxanthin의 경우 원재료에 비하여 냉동해서 microwave한 시료가 가장 낮은 함량을 보였다. Provitamin A의 활성이 없는 lutein과 zeaxanthin의 경우 냉동 후 총 함량이 160.81  $\mu$ g으로 신선한 원재료나 이를 microwave로 가열했을 때의 시료와는 유의적인 차이를 나타내지 못했다(Fig. 2).

*Trans*- $\beta$ -carotene의 경우 냉동 후 microwave로 가열한 시금치가 88.7  $\mu$ g으로 다른 두 시료에 비하여 가장 높은 함량을 보였으며, 9-*cis*- $\beta$ -carotene과 13-*cis*- $\beta$ -carotene은 신선한 시료를 microwave로 가열했을 때 가장 높게 나타났으나 13-*cis*- $\beta$ -carotene의 경우 냉동 전후에 따른 microwave 가열에는 어떠한 차이를 보이지 않았다.  $\alpha$ -Carotene은 시금치에서 미량 존재하기는 하지만 신선한 시료와 냉동 전후에 따른 microwave 가열에도 유의적인 차이를 볼 수 없었다(Fig. 3).

Provitamin A의 총량은 냉동 후 microwave로 가열한 시료가 107.4  $\mu$ g로 다른 두 시료보다 높은 경향을 보였고, 카로

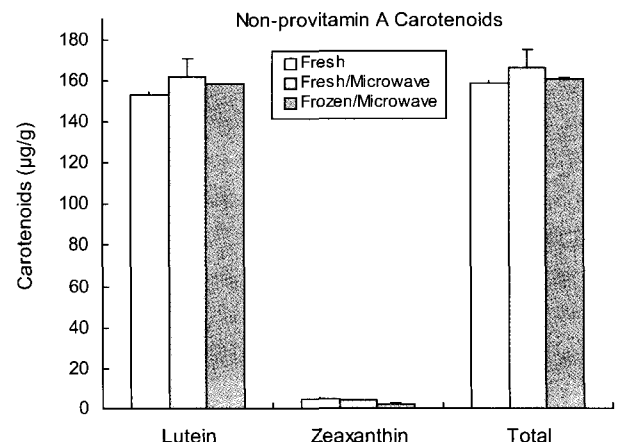


Fig. 2. Carotenoids contents of non-provitamin A carotenoids (lutein and zeaxanthin) in frozen/microwaved spinach.

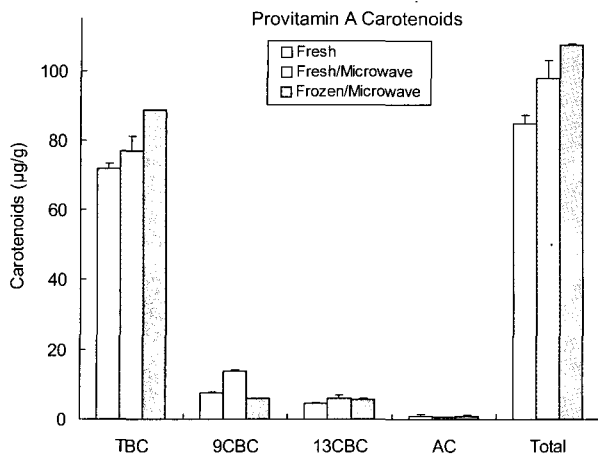


Fig. 3. Carotenoids contents of provitamin A carotenoids in frozen/microwaved spinach.

TBC: *trans*- $\beta$ -carotene, 9CBC: 9-*cis*- $\beta$ -carotene, 13CBC: 9-*cis*- $\beta$ -carotene, AC:  $\alpha$ -carotene.

티노이드의 총 함량(268.2  $\mu$ g)도 냉동 후 microwave로 가열한 시금치가 신선한 시금치(243.0  $\mu$ g)보다 높게 나타났으며 신선한 시료를 microwave로 가열한 시료와도 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). 선행연구(19)에서 시금치의 카로티노이드는 냉장에 비하여 냉동의 경우 총 카로티노이드의 손실은 매우 적다고 하였으며, 저장기간과 저장온도가 높아짐에 따라 감소가 일어났다고 하였다. 또한 lutein,  $\alpha$ -carotene과  $\beta$ -carotene은 저장온도가 높아짐에 따라 감소되었는데 이는 자외선에 의한 영향이 커서 특히 9-*cis* 이성체에서 일어났다고 보고하였다(27).

이에 따라 영양학적인 provitamin A의 활성 측면을 고려해볼 때 시금치를 생것으로 사용하지 않고 가열한 후 제공함이 좋다고 사료된다. 또한 신선한 시료를 구입 후 바로 사용하지 않고 냉동저장한 후 microwave로 가열하여 사용했을 때 편리성 뿐 아니라 급식의 효율적인 재료관리 측면에서도 바람직하다고 보겠다.

## 요 약

본 연구에서는 단체급식에서 많이 이용되는 시금치의 조리방법에 따른 카로티노이드 분리 및 정량을 위해서 HPLC를 이용하여 분석하였다. 시금치의 methanol 추출물로 THF 용매 분획물에 대하여 카로티노이드 및 그 이성체 화합물을 표준품으로 해서 분리된 카로티노이드의 RT와 함량은 lutein(63%), zeaxanthin(2.1%), crytoxanthin, 13-*cis*- $\beta$ -carotene(1.8%),  $\alpha$ -carotene, *trans*- $\beta$ -carotene(29.6%), 9-*cis*- $\beta$ -carotene(3.1%)의 순으로 분리되었으며, 여기서 분리된 crytoxanthin은 미량 검출되어 본 실험에서는 정량하지 않았다. Lutein은 다른 카로티노이드에 비하여 조리방법 및 가열에 의한 영향을 비교적 덜 받는 것으로 나타났고, zeax-

anthin은 조리 후 감소하는 경향을 보였다. 한편, *trans*- $\beta$ -carotene의 이성체인 9-*cis*- $\beta$ -carotene과 13-*cis*- $\beta$ -carotene은 조리방법과 상관없이 가열 후 증가하는 경향을 보였는데 이는 가열과정이 *trans*- $\beta$ -carotene의 이성화를 형성시키는 것으로 설명된다. Steam 조리 및 냉동 후 microwave 조리에서 *trans*- $\beta$ -carotene은 증가하는 경향을 보였다( $p < 0.05$ ). 시금치의 총 non-provitamin A의 경우, 각 처리구간에 별 차이가 없었으나, 총 provitamin A에서는 원재료와 냉동 후 조리에서 유의적 차이를 볼 수 있었다( $p < 0.05$ ). 또한 provitamin A로서의 기능이 가장 큰 *trans*- $\beta$ -carotene은 steam으로 가열한 경우 가장 높았으며 또한 카로티노이드의 총 함량도 다른 시료보다 높은 함량을 보여주었다. 그 다음은 냉동 후 microwave로 가열한 시료로 두 시료와 유의적인 차이를 보였다( $p < 0.05$ ). 이상의 결과로부터 steam 가열시료, 냉동 후 가열시료, 원재료를 microwave로 가열한 시료 그리고 원재료 시금치의 순으로 카로티노이드의 총 함량이 높게 나타났다.

## 문 헌

1. Simpson KL. 1985. Chemical changes in natural food pigments. In *Chemical Changes in Food during Processing*. Richardson T, Finley JW, eds. AVI, Westport, CT. p 411.
2. Krinsky NL. 1988. Evidence for the role of carotenes in preventive health. *Clin Nutr* 7: 112-115.
3. Erdman JW Jr, Poor CL, Dietz JM. 1988. Factors affecting the bioavailability of vitamin A carotenoids and vitamin E. *Food Technol* 10: 214-221.
4. Khachik F, Goli MB, Beecher GR, Holden J, Lusby WR, Tenorio MD, Barrera MR. 1992. Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. *J Agric Food Chem* 40: 390-398.
5. Olson JA. 1989. Biological actions of carotenoids. *J Nutr* 119: 94-95.
6. Witschi JC, Houser HB. 1970. Preformed vitamin A, carotene, and total vitamin A activity in usual adult diets. *J Am Dietet A* 57: 13-16.
7. Granado F, Olmedilla B, Blanco I, Rojas-Hidalgo E. 1992. Carotenoid composition in raw and cooked spanish vegetables. *J Agric Food Chem* 40: 2135-2140.
8. Chen BH. 1992. Studies on the stability of carotenoids in garland chrysanthemum (*Ipomoea* spp.) as affected by microwave and conventional heating. *J Food Prot* 55: 296-300.
9. Chen BH, Han LH. 1990. Effects of different cooking methods on the yield of carotenoids in water convolvulus (*Ipomoea aquatica*). *J Food Prot* 53: 1076-1078.
10. Chen BH, Chen YY. 1993. Stability of chlorophylls and carotenoids in sweet potato leaves during microwave cooking. *J Agric Food Chem* 41: 1315-1320.
11. Lessin WJ, Catigani GL, Schwartz SJ. 1997. Quantification of *cis-trans* Isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. *J Agric Food Chem* 45: 3728-3732.
12. Chandler LA, Schwartz SJ. 1987. HPLC separation of

- cis-trans* carotene isomers in fresh and processed fruits and vegetables. *J Food Sci* 52: 669-672.
13. Chandler LA, Schwartz SJ. 1988. Isomerization and losses of *trans*- $\beta$ -carotene in sweet potatoes as affected by processing treatments. *J Agric Food Chem* 36: 129-133.
  14. Bushway RJ. 1986. Determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene in some raw fruits and vegetables by high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 34: 409-412.
  15. Panalaks T, Murray TK. 1970. The effect of processing on the content of carotene isomers in vegetables and peaches. *J Inst Can Technol* 3: 145-151.
  16. Sweeney JP, Marsh AC. 1971. Effect of processing provitamin A in vegetables. *J Am Diet Assoc* 59: 238-243.
  17. Chander LA, Schwarz SJ. 1988. Isomerization and losses of *trans*- $\beta$ -carotene in sweet potatoes as affected by processing treatments. *J Agric Food Chem* 36: 129-133.
  18. Speek AJ, Speek-Saichua S, Schreurs WHP. 1988. Total carotenoid and  $\beta$ -carotene contents of Thai vegetables and the effect of processing. *Food Chem* 27: 245-257.
  19. Lim YI, Kim HY, Russell RM. 2003. Changes in carotenoids contents in pureed and cooked carrot and spinach during storage. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 19: 83-95.
  20. Yeum KJ, Booth SL, Sadowski JA, Liu C, Tang G, Krinsky NI, Russell RM. 1996. Plasma carotenoid response to the ingestion of controlled diets high in fruits and vegetables. *Am J Clin Nutr* 64: 594-602.
  21. Steinmetz KA, Potter JD. 1991. Vegetables, fruit, and cancer. II. Mechanism. *Cancer Causes and Control* 2: 427-442.
  22. Baloch AK, Buckle KA, Edwards RA. 1977. Effect of processing on the quality of dehydrated carrot. *J Food Technol* 12: 285-290.
  23. O'Neil, CA, Schwartz SJ. 1992. Photoisomerization of  $\beta$ -carotene by photosensitization with chlorophyll derivatives as sensitizer. *J Chromatogr* 624: 235-252.
  24. Gomez MI. 1981. Carotene content of some green leafy vegetables of Kenya and effects of dehydration and storage on carotene retention. *J Plant Foods* 3: 231-244.
  25. Booth VH. 1960. Inactivation of the carotene-oxidizing system in iris leaf. *J Sci Food Agric* 11: 8-13.
  26. Ueno T, Maekawa A, Suzuki T. 1982. Effect of lipoxygenase on the determination of carotene in vegetables. *Vitamins (Jpn)* 56: 83-90.
  27. Chen HE, Peng HY, Chen BH. 1996. Stability of carotenoids and vitamin A during storage of carrot juice. *Food Chem* 57: 497-503.

(2006년 11월 20일 접수; 2007년 1월 3일 채택)