

食品에서 Anthocyanin 色素의 安定性

尹 泰 憲 · 李 盛 雨*

高麗人蔘研究所 生理研究室 · 漢陽大學校 食品營養學科*

(1979년 1월 4일 수리)

Stability of Anthocyanins in Foods

Tai-Heon Yoon and Sung-Woo Lee*

Plant Physiology Laboratory, Korea Ginseng Research Institute and
Department of Food and Nutrition, Hanyang University*, Seoul

(Received January 4, 1979)

緒 言

構造 및 種類

Anthocyanin은 식물체에 매우 광범위하게 분포되어 있는 水溶性 赤色色素의 한 무리이다. 이 anthocyanin이라는 名稱은 그리스어語로 꽃을 의미하는 anthos와 푸른색을 의미하는 kyanos로부터 유래되었으며 1835년 Marquart가 꽃의 푸른 色素를 命名하기 위해 최초로 이 말을 사용하였다.⁽¹⁾ 많은 과일류나 채소류, 꽃 등의 붉은색, 푸른색, 자주색, 분홍색은 세포액중에 존재하는 바로 이 수용성 화합물 때문이다.

현재 人工食品着色劑가 인체에 미치는 유해성 때문에 식품에의 사용이 점차 규제가 되고 있는 실정에서 anthocyanin과 같은 天然食品着色物質의 중요성이 새삼 강조되고 있다. 그러나 anthocyanin은 電子가 하나 부족한 매우 不安定한 화합물에서 anthocyanin을 함유하고 있는 포도즙스, 포도주, 딸기잼, 딸기쥬스, 딸기튀레, cranberry쥬스카테일, 배롱조림 등의 여러제품가공과정 뿐만아니라 貯藏期間동안 pH, 糖分解物, 溫度, 光, ascorbic acid, 酸素, 그리고 물이나 過酸化水素, 이산화황과 같은 親核反應物에 의해서 變色이나 退色 심한 경우 破壞되어 식품의 품질저하의 중요한 인자로 작용하기 때문에 anthocyanin의 變色機構 규명 및 방지대책은 매우 중요한 과제로 등장되고 있다.

그래서 著者들은 식품에서 anthocyanin의 安定性에 미치는 諸要因들의 영향을 중심으로 간단히 살펴 보고자 한다.

1. 構 造

Anthocyanin (이하 AN)은 anthocyanidin의 配糖體인데 가수분해시키면 aglycone인 anthocyanidin과 糖으로 분해된다. 이 anthocyanidin의 構造는 Fig. 1에 표시되어 있는 바와 같이 2-phenyl-3,5,7-trihydroxyflavylium의 基本構造를 갖고 있다.

그런데 anthoxanthin과 다른 점은 1위치에 있는 산소의 非共有電子雙 중에서 電子 한 개가 2위치의 탄소와 共有結合을 하고 있기 때문에 陽으로 荷電되어 있다는 점이다. 이와같은 화합물을 oxonium화합물이라고 하는데 AN의 不安定性은 바로 이 oxonium構造에 기인하고 있다.

2. 種 類

Anthocyanidin은 2위치에 있는 phenyl基의 R₁이 OH, R₁=R₂=OH, R₁=R₂=R₃=OH인 경우에 따라 pelargonidin, cyanidin, delphinidin의 세 그룹으로 대별되며 다시 methoxyl基에 의해서 peonidin, petunidin, malvidin, hirsutidin, capensinidin 등으로 나누어 진다. 이외에 pulchellidin, europinidin, rosinidin, aurantinidin, apigeninidin, luteolinidin, tricetinidin, columbinidin, fisetinidin, robinetinidin, 3,7,4'-trihydroxyflavylium 등 지금까지 약 20여개의 anthocyanidin이 알려져 있다.⁽¹⁾ 이 중에서 식품에서 중요한 것은 pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin, malvidin 등 6종류이다.⁽²⁾ AN은 anthocyanidin보다 훨씬 많은 종류를 갖

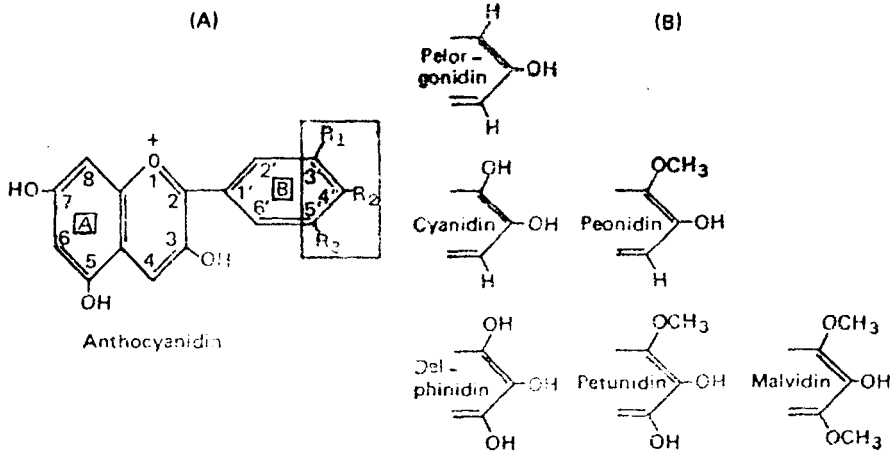


Fig. 1. The most important anthocyanidins. (A) the basic structure; (B) the B ring with respect to which the individual anthocyanidins differ from each other.

고 있는데 이는 anthocyanidin의 3위치나 5위치 아니면 7위치에 glucose, galactose, rhamnose, arabinose 등의 糖이 한 개가 결합되었던가 (monoside) 두 개가 결합되었던가 (bioside) 세 개가 결합되었던가 (trioside) 하여 생긴 配糖體의 種類가 21種이나 되기 때문이다. 1913년 Willstätter와 Everest⁽¹⁾가 팔랑개비국화의 꽃잎에서 AN을 분리한 이후 지금까지 120여종의 AN이 알려져 있으며 한 과실에서 17種이나 되는 많은 수가 보고되기도 하였다.

이와같은 많은 AN種類들의 식물에서의 분포상황을 살펴 보면 Table 1에 표시되어 있는 바와 같이 과실류 중에서 사과, 배, 大黃, black raspberry, 채소인 마늘에는 전적으로 cyanidin계 AN만이 존재해 있으며 딸기, 토란, 두우에서는 pelargonidin계, 나무딸기, 양파, 석류에서는 cyanidin계, 포도와 가지에서는 malvidin계의 AN이 主色素를 이루고 있다. 전체적으로 볼 때 cyanidin계의 AN이 식품전반에 걸쳐 분포되어 있으며 한 식물에 존재하는 AN의 數는 포도에서 가장 많다.

Anthocyanin色素의 安定성에 미치는 諸要因

1. pH

pH는 AN의 安定성에 영향을 미치는 중요한 因子로 작용한다. AN은 낮은 pH에서 陽이온 형태가 우세하며 페놀성 酸素를 갖고 있는 오히려 不安定한 oxonium 형태도 존재할 수 있다. 보다 높은 pH에서는 互變異性 構造 중의 하나를 취하여 陰이온 형태로 존재하는 兩性物質이며⁽²¹⁾ 그 빛같은 pH에 따라 크게 달라진다.

일반적으로 산성용액에서는 遊離의 水酸基 數에 따

라 orange-red (pelargonidin)에서 mauve (delphinidin)까지 변하며 중성에서는 pseudobase가 형성되어 무색을, pH 9.0이상에서는 anhydrobase 때문에 푸른색을 나타내는 하나의 pH지시약과 같은 작용을 한다. 이보다도 높은 pH에서는 페놀기의 이온화에 의해 非可逆의 變化가 개시된다(Fig. 2).

Flavylium鹽은 산성용액에서만 安定하나 pH가 지나치게 낮아지면 AN자체가 산에 의해서 가수분해되어 安定성이 오히려 감소하게 된다. 높은 pH에서 AN은

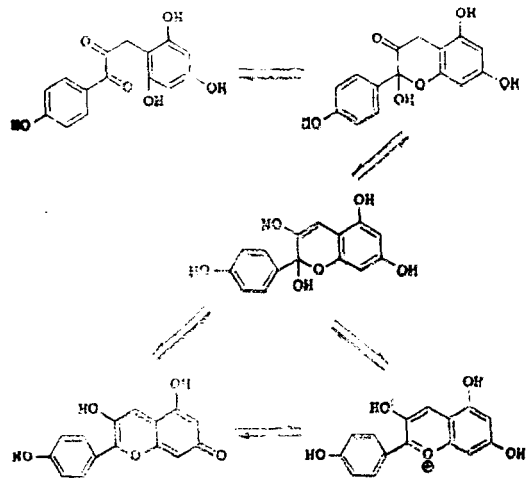


Fig. 2. Effect of pH on the structure of pelargonidin. At pH 1, the pigment exists primarily in the form shown in the upper left. At pH 3, the pigment is primarily in the quinoidal form(upper right). At pH 4, the carbinol base (middle) predominates. The structures at the bottom exist primarily at pH values above 4.

Table 1. Anthocyanins occurring in various fruits and vegetables

Plant material	Pigment*	Reference
Apple Jonathan	Cn-3-galactoside, Cn-3-galactoside (acylation), Cn-3-glucoside(acylation), Cn-3-glucoside	3,
Red delicious	Cn-3-galactoside, Cn-3-arabioside, Cn-7-arabioside, Cn-3-glucoside, Cn-3-xyloside	3, 4
Bing cherries	Cn-3-glucoside, Cn-3-rhamnoside, Pn-3-glucoside, Pn-3-rhamnoside	5
Blackberry	Cn-3-glucoside, Cn-3-rutinoside, Pg-3-glucoside	6
Black raspberry	Cn-3-sambubioside, Cn-3-xylosylrutinoside, Cn-3-glucoside, Cn-3-rutinoside	6
Cranberry	Cn-3-arabioside, Cn-3-galactoside, Pn-3-galactoside, Pn-3-arabioside	7
Fig fruits	Cn-3,5-diglucoside, Cn-3-rhamnoglucoside, Pg-3-rhamnoglucoside, Cn-3-monoglucoside	8
Grape Campbell Early	Dp-3,5-diglucoside, Pt-3,5-diglucoside, Dp-3-monoglucoside, Mv-3,5-diglucoside, Pt-3-monoglucoside, Pn-3,5-diglucoside, Mv-3-monoglucoside, Pn-3-monoglucoside, Mv-3,5-diglucoside acylated with p-coumaric acid, Pn-3,5-diglucoside acylated with p-coumaric acid, Mv-3-(p-coumaroyl)-glucoside, Pn-3-(p-coumaroyl)-glucoside	9
Muscat Bailey A	Dp-3-monoglucoside, Pt-3-monoglucoside, Pn-3-monoglucoside, Pn-3,5-diglucoside, Mv-3,5-diglucoside, Mv-3,5-diglucoside acylated with p-coumaric acid, Pn-3,5-diglucoside acylated with p-coumaric acid, Mv-3-(p-coumaroyl)-glucoside, Pn-3-(p-coumaroyl)-glucoside, Mv-3-monoglucoside	9
Pear	Cn-3-galactoside, Cn-3-arabioside	3
Pomegranate	Pg-3-glucoside, Pg-3,5-diglucoside, Cn-3-glucoside, Cn-3,5-diglucoside, Dp-3-glucoside, Dp-3,5-diglucoside	10
Rhubarb	Cn-3-glucoside, Cn-3-rutinoside	11
Sour cherries	Cn-3-(2G-glucosylrutinoside), Cn-3-(2G-xylosylrutinoside), Cn-3-rutinoside, Cn-3-monoglucoside, Pn-3-rutinoside	12, 13
Strawberry	Pg-3-monoglucoside, Pg-monoside, Pg-bioside, Pg-trioside, Cn-3-glucoside	11, 14
Tree tomato	Pg-3-glucoside, Pg-3-rutinoside, Cn-3-glucoside, Cn-3-rutinoside, Dp-3-glucoside, Dp-3-rutinoside	15
Eggplant	Dp-3-glucoside, Dp-3,5-diglucoside, Dp-3,5-diglucoside acylated with p-coumaric acid	16, 17
Red garlic	Cn-3-glucoside, Cn-3-glucoside (acylation)	
Redonion	Cn-3-glucoside, Cn-3-diglucoside, Cn-glycoside, Cn-3-pentosylglycoside, Cn-3-laminariobioside Pn-3-glucoside, Pn-3-arabioside	11, 16, 18, 19
Red radish	Pg-glycoside, Pg-5-glucoside, 3-sophoroside (Coum+Fer+Caf), Pg-5-glucoside, 3-sophoroside (Coum+Fer), Pg-5-glucoside, 3-sophoroside (Coum), Pg-5-glucoside, 3-sophoroside (Fer), Pg-5-glucoside, 3-sophoroside (Caf)	11
Taro	Cn-3-rhamnoglucoside, Cn-3-monoglucoside, Pg-3-monoglucoside	20

* Pg = pelargonidin, Cn = cyanidin, Dp = delphinidin, Mv = malvidin, Pt = petunidin, Pn = peonidin, Coum = p-coumaric acid, Fer = ferulic acid, Caf = caffeic acid. The acyl group is in brackets.

陽子를 하나 잃어 매우 불안정한 着色物質인 퀴논형태의 anhydrobase로 변하는데 이것은 급히 水化되어 無色の chromenol을 만든다. 이 chromenol은 오래 방치하면 非可逆的 分解가 서서히 일어나지만 실온에서는 安定하며 酸性化시키면 chromenol은 급히 원래의 AN 陽이온으로 재생된다.⁽²²⁾ 이 chromenol이 chalcone을 형성하기 위해 環分裂을 일으키는데 여기에 대한 스펙

트럼증거를 아직 얻지 못하고 있다. AN으로 부터 생긴 chromenol의 상대적 安定度에 反하여 anthocyanidin이나 3-hydroxyflavylium鹽으로 부터 유도된 chromenol은 쉽게 α -diketone으로 環分裂을 겪는다 Harper⁽²²⁾의 分光 및 폴라로그래피 연구에 의하면 pH 2~5 領域에서 pelargonidin은 平衡變形되어 α -diketone으로 된다고 한다. Cyanidin을 pH 2~5의 水溶液에 방치하면 B-環

의 유리로 3,4-dihydroxybenzoic acid로 分解된다.

낮은 pH에서 AN이 安定한 것은 着色의 flavylium과 無色の pseudobase사이의 平衡이 pseudobase보다 훨씬 더 安定한 flavylium쪽으로 이동되기 때문인 것으로 여겨진다. 사실 Meschter⁽²⁴⁾는 원충용액에서 AN色調의 安定성이 pH가 5.0에서 1.0으로 내려감에 따라 높아졌으며 딸기 시럽 AN의 最大安定성은 pH 1.8부근임을 밝혔다. Cyanidin-3-diglucoside는 온도 50°C 酸素 존재의 모델시스템하에서 pH가 4.25에서 0.95로 낮아짐에 따라 色素殘存率을 높였는데 反하여 分解反應은 pH 2.15에서 보다 pH 0.95에서 훨씬 더 빨리 진행했으며 black raspberry AN도 비슷한 결과를 가져왔다고 한다.⁽²⁵⁾ 이 사실은 pH 1.8부근에서 色素殘存率이 제일 높았다고 한 상기 Meschter 결과와 일치한다.

Lukton⁽²⁶⁾ 등은 딸기 AN의 破壞는 비록 酸素 존재하에서는 강력하게 pH에 의존하지만 모델시스템이나 주스내의 酸素를 窒素로 置換시키면 pH는 딸기 AN 破壞速度에 거의 영향을 미치지 않는 사실을 인식하였으며

(Fig. 3) Adams^(27,28)도 pH 2.0~4.0의 cyanidin-3-glucoside와 cyanidin-3-rutinoside溶液을 窒素下에서 가열할 때 pH는 AN의 分解速度에 아무런 영향도 가지고 있지 않음을 實證하였다. Tinsley와 Bockian⁽²⁹⁾도 pH를 낮추면 공기하의 모델시스템에서 가열할 때 pelargonidin-3-glucoside에 대한 강한 安定化 효과를 가지고 있음을 보고 하였다.

2. 加工 및 貯藏溫度

AN의 分解速度는 대부분의 化學反應에서와 마찬가지로 온도상승에 따라 증대한다. pelargonidin-3-glucoside를 水溶液에서 가열할 때 (50°C~110°C)色調의 損失은 一次反應速度를 따른다. Meschter⁽²⁴⁾는 AN의 殘存量과 加工 및 貯藏溫度와의 대수적 관계를 수립하여 이로 부터 딸기 preserve AN의 양이 1/2로 줄어들 때까지 걸리는 시간 즉 半感期가 100°C에서 1시간, 38°C에서 10일, 20°C에서 54일, 0°C에서는 11개월정도나 연장시킬 수 있음을 밝혀냈다. 탄산음료수에 500 ppm SO₂ 溶液으로 抽出하여 첨가된 AN의 貯藏時

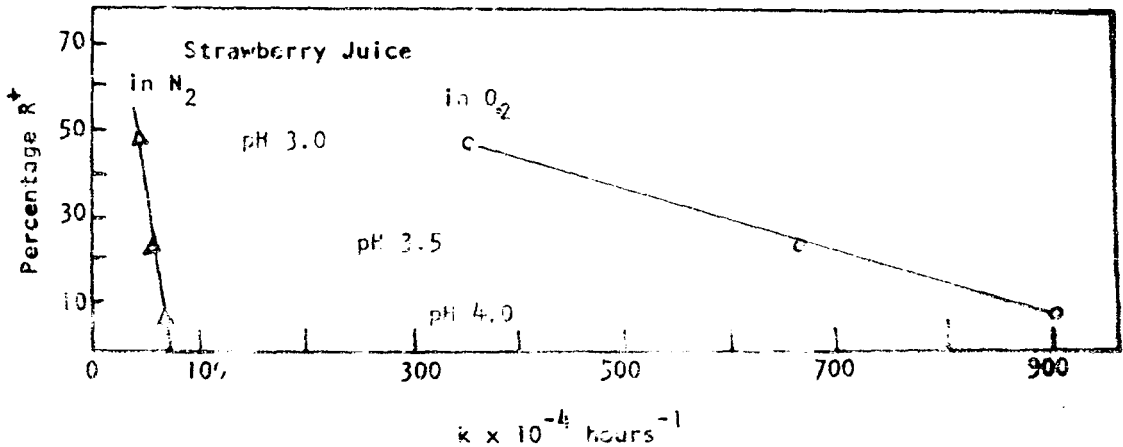


Fig. 3. Effect of pH on the rate of anthocyanin destruction in strawberry juice heated at 45°C in oxygen and nitrogen

Table 2. Reaction rate constants (K)(days⁻¹) and half-life (T1/2) of grape anthocyanin in a carbonated beverage

Storage conditions	Anthocyanin extracted with			
	Boiling water		500 ppm aqueous SO ₂	
	K	T1/2	K	T1/2
3.5°C, dark	0.000736	941	0.000451	1,536
10°C, dark	0.001320	525	0.000901	769
20°C, dark	0.002684	258	0.001665	416
20°C, daylight	0.005068	136	0.003518	197
22°C, continuous light	0.008715	79	0.006836	101
38°C, dark	0.011123	62	0.008684	80

의 半感期 (Table 2)는 38°C에서 80일, 20°C서는 5.2 배나 증가된 416일, 3.5°C에서는 38°C와 20°C에 비해 각각 20배, 4배나 긴 1,536일이나 되며, 熱水로 抽出한 경우는 이보다도 짧았다 한다.⁽³⁰⁾ 생강으로 맛들인 發泡性 청량음료인 ginger ale의 AN은 38°C에 보관하였을 때는 침전과 더불어 빠른 速度로 소실되었으나 5°C에서는 6개월후까지 현저한 감소가 없었으며 1년후 음료수내의 殘存色素量이 50%정도였다 한다.⁽³¹⁾

일반적으로 과실통조림제품 AN의 安定性이 低溫(0~5°C)에 보관함으로써 높아 지는 이유는 아마 aglycone-糖結合의 加水分速度가 감소되기 때문일 것이다. 과실 加工時 보다 많은 色素의 維持를 위해 瞬間高溫熱處理 (STHT)가 좋은 데 이 사실은 통조림 및 병조림 적색과실의 高溫殺菌동안 色素損失은 完만한 냉각과 다음의 大氣溫度에서 貯藏時의 色素損失에 비해 거의 무시할 정도였다고 밝힌 Adams와 Ongley⁽³²⁾에 의해 입증되었다.

3. 光

加工食品의 AN에 대한 光의 영향이 완전히 밝혀져 있지는 않으나 Van Buren⁽³³⁾ 등은 acyl화 및 methylation anthocyanidin diglucoside는 포도주내에서 光에 대해 가장 큰 安定性을 보여준 반면에 acyl화 되지 않은 diglucoside와 monoglucoside는 安定性이 없었다고 한다. 포도 AN을 熱水로 抽出하여 탄산음료수에 첨가했을 경우 20°C의 光이 닿지 않는 곳에서 135일 경과후 AN이 30%정도, 일광하에 두었을 때는 50%정도 그리고 22°C에서 24시간 계속 형광등에 쬐었을 때는 70% 정도나 損失되었다 한다.⁽³⁰⁾

4. Ascorbic acid

Ascorbic acid (以下 AA)가 色素損失에 중요한 因子로 관여하리라는 것이 오래전부터 알려져 왔다. Beattie⁽³⁴⁾ 등과 Pederson⁽³⁵⁾ 등은 과실주스내의 AN과 AA가 다같이 減少됨을 관찰하였는데 이들은 이 두 화합물사이에 相互作用이 일어나는 것으로 여겼다. 그의 몇몇 연구자^(24,36,37)들에 의해 이와 유사한 결과들이 밝혀졌다. 특히 Sondheimer⁽³⁸⁾는 AA의 好氣酸化가 잘 일어날 수 있는 조건하에서 AN의 破壞速度가 상당히 빨랐다고 하였으며 Markakis⁽³⁹⁾ 등도 모델시스템에서 AA와 酸素가 각각 단독으로 존재할 때보다 공존할 때 가 딸기 AN의 破壞가 훨씬 더 컸다고 하였다. Starr와 Francis⁽³⁹⁾도 Fig. 4에서 볼 수 있는 바와 같이 cranberry주스카테일의 酸素농도를 일정하게 두고 AA 농도를 증가시킬 경우 色素의 損失이 컸으며 AA의 농도가 최대일 때 그 損失이 가장 컸었다고 하였다. 이상의 결과로 AN과 相互反應하는 것은 AA分子 그 자

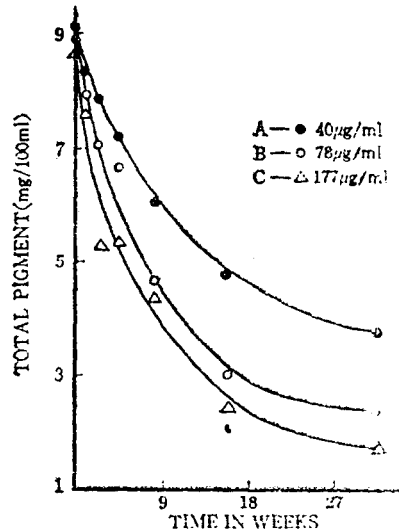


Fig. 4. Total pigment of cranberry cocktail packed with headspace oxygen adjusted to 2.0 ml/172 ml bottle. A, B and C represent increasing levels of ascorbic acid.

체보다도 AA와 酸素와의 positive interaction에 의해서 생성된 AA酸化물에 의해서 일어나는 것이 아닌가 여겨진다. 즉 다시 말하면 過酸化水素는 구리 이온이 觸媒로 作用하는 AA의 好氣的 酸化동안 생성되는데 AA의 酸化로 생성된 이 遊離基가 AN과 反應하여 分解產物을 만들어 내게 되므로 AA의 농도가 증가 하면 할수록 그 만큼 더 많이 생성된 遊離基가 AN과 反應하게 되어 결국 色素의 殘存率이 낮아지게 되는 것이다.

그런데 대부분의 食品製造加工業에 종사하는 사람들은 단지 영양적인 이유 때문에 과실주스 등에 비타민 C를 첨가하는데 특히 비타민 C는 AN을 함유한 製品의 외관을 손상시켜 품질을 저하시킨다는 점을 염두에 두어야만 할 것이다.

5. 糖類 및 그 分解產物

딸기 製品에 糖類의 존재는 pelargonidin-3-glucoside 分解를 촉진한다.^(24,40) 糖類 중에서 果糖, 乳糖, arabinose, sorbose 등이 蔗糖, 麥芽糖, 葡萄糖보다 色素分解에 대한 영향이 더 심한데 특히 窒素보다 酸素가 존재할 때 糖類의 破壞영향이 훨씬 더 커지게 된다.

Daravingas와 Cain⁽²⁵⁾은 酸素下에서 cyanidin-3-diglucoside에 미치는 영향은 葡萄糖, 포름산, 레블리닌산, 5-hydroxymethylfurfural, furfural순으로 컸다고 보고하였다. 포름산과 레블리닌산은 매우 進展된 糖分解產物들로서 5-hydroxymethylfurfural이나 furfural과 같은 알데하이드만큼 AN의 破壞速度가 빠르지 않다는 것이 흥미롭다.

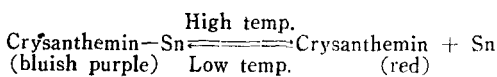
6. 酸素, 窒素 및 空氣

酸素가 AN에 해로운 영향을 미치리라는 것은 대체로 다 동의하고 있는 사실이다. 그러나 Sastry와 Tischer⁽⁴¹⁾에 의하면 空氣와 窒素下에 貯藏한 concord 포도즙사이에서 AN의 破壞에 어떠한 차이도 관찰되지 않았다 한다. 하지만 그들은 비록 headspace의 空氣가 窒素로 置換되었지만 AN을 酸化變質시킬 수 있는 충분한 酸素가 남아 있었다고 하였다. AN에 대한 酸素의 영향을 조사한 研究者 중에서 Nebesky⁽⁴²⁾ 등은 酸素와 溫度가 월굴나무, 버찌, 포도, 나무딸기, 딸기즙스의 AN分解에 촉진제임을 보고하였다. 그래서 Tressler와 Pederson⁽⁴³⁾은 단순히 容器를 窒素로 완전히 채워넣으므로 concord 포도즙스의 색깔이 선명한 자색에서 암갈색으로의 변화를 크게 지연시킬 수 있었다 한다. Daravingas와 Cain⁽⁴⁴⁾도 空氣下에서 통조림한 것보다 窒素나 眞空下에서 통조림한 나무딸기 AN이 더 오랫동안 유지되었다는 사실을 實證하였다. Starr와 Francis⁽³⁹⁾의 연구결과에 의하면 AA가 함유되어 있는 cranberry즙스에서 행한 실험이지만 酸素의 양이 증가함에 따라 AN의 損失도 같이 증가하였다 한다.

이와같이 製品容器의 headspace는 AN함유 果實製品 安定성에 바람직하지 않은 영향을 갖고 있다. 한때 pelargonidin-3-monoglucoside는 pH 3.4에서 空氣와 진탕시키더라도 상당히 安定한데 이때의 色素 損失은 空氣에 의한 色素의 직접 산화 때문은 아니다. 그러나 AA가 가해질 경우 급속한 退色이 일어나므로 딸기즙스색깔 安定성에 headspace의 나쁜 영향⁽³⁷⁾은 주로 AA의 酸化에 기인한다. 또한 空氣와 접촉된 상태에서 AN 破壞는 AA뿐만아니라 糖類나 糖誘導體, 아미노산과 같은 細胞構成物質의 존재로 더욱 촉진된다.

7. 金 屬

AN은 각종 金屬이온과 여러가지 색깔의 錯化合物을 형성한다. Cyanidin계 AN을 함유하고 있는 과실 채소의 통조림에서 흔히 일어나는 靑變현상은 통조림에서 溶出하는 주석 또는 鐵이온에 의한 것이다. 그러나 가열하면 적색으로 냉각시키면 다시 청자색으로 된다.



이 주석이온과의 반응에 의한 AN함유 과실류의 退色은 오래전부터 통조림산업에 잘 알려져 있는 사실이다. 變色된 배통조림의 분홍색의 色素는 통조림통 腐蝕時 溶出되는 주석이온과 배의 leucoanthocyanin 加熱分解時 생성되는 cyanidin과 유사한 화합물사이의 반응으로부터 유도된 자홍색의 不溶性 주석-AN錯化合物

物이다. 이 錯化合物은 熱에 安定하여 過酸化水素로는 漂白할 수 있으나 重亞黃酸나트륨으로는 漂白되지 않는다. 주석과의 반응에 있어서 AN은 陽極이나 陰極消極劑로 작용할 수 있으나 陽極消極劑로 작용할 때 AN은 아마 酸-金屬反應에서 생성된 發生期水素에 의해서 환원된다. 陰極消極劑는 보통 ortho위치에 적어도 두개의 水酸基를 갖고 있는 AN이다.

Ascen⁽⁴⁵⁾ 등에 따르면 cyanidin-3-glucoside와 알루미늄과의 錯化合物은 pH 3.0 이하에서는 적색을, pH가 3.5이상으로 높아지면 청자색을 띄며, pH 5.5에서 최대의 錯化合物이 생성된다고 한다. 이 pH에서 연분홍빛 cyanidin-알루미늄 錯化合物은 散亂光에 오래 방치하더라도 매우 安定하다. 바로 이 金屬錯化合物의 安定性은 과실제품들의 色調維持를 위해 여러가지 金屬을 사용할 수 있는 가능성을 제시하고 있다. 一例로 Sistrunk와 Cash⁽⁴⁶⁾는 주석鹽(SnCl₂, SnCl₄)과 알루미늄鹽으로 딸기색을 安定化시켰다고 하였으며 Wrolstad와 Erlandson⁽⁴⁷⁾도 상기 金屬鹽으로 처리한 딸기튀레가 적색으로 보존된 반면 대조구는 암적갈색으로 되어 버렸다고 한다. Cranberry 즙스카메일에 구리, 鐵, 주석 알루미늄 등의 金屬이온 영향을 조사한 바에 의하면 이들 중에서 cyanidin과는 錯化合物을 형성하나 peonidin과는 형성하지 않는 알루미늄이온이 pH 2.2에서 보다 pH 2.7에서 보호작용을 나타내었다 한다.⁽⁴⁸⁾

2價나 3價의 鐵鹽에 의해서는 靑色の 錯化合物이 형성되며 이 鐵鹽은 pelargonidine계와는 거의 棕色하지 않는다.

8. 이산화황

이산화황에 의한 AN의 漂白이 과실제품산업에서 자주 부딪히는 문제점이다. 이와같은 漂白過程은 可逆의이거나 非可逆의일 수 있다. 이산화황의 농도가 30ppm 정도면 AN의 退色없이 tart cherry AN의 酵素의 分解를 방지할 수 있다. Timberlake와 Bridle⁽⁴⁹⁾은 抽出溶液에 이산화황을 가함으로써 사과껍질 AN의 抽出收率을 상당히 높였으며 특히 500 ppm이산화황 溶液으로 抽出한 포도 AN이 熱水로 抽出한 것보다 탄산음료수에서의 貯藏安定성이 훨씬 높았다 한다.⁽³⁰⁾ Peterson과 Jaffe⁽⁵⁰⁾는 포도찌꺼기나 기타 과실 AN을 200 ppm이산화황 수용액이나 알코올용액으로 抽出함으로써 風味는 물론 色素의 抽出收率을 높이는 방법을 개발하여 특허를 얻기도 하였다.

亞黃酸은 cyanidin-3-rutinoside에 대해 현저한 安定化효과가 있으며 赤色 果實통조림의 AN에 대해서도 이산화황과 더불어 安定化효과가 있다고 하나 이와 같은 처리의 공업적 유용성은 제한되어 있는 것 같다.

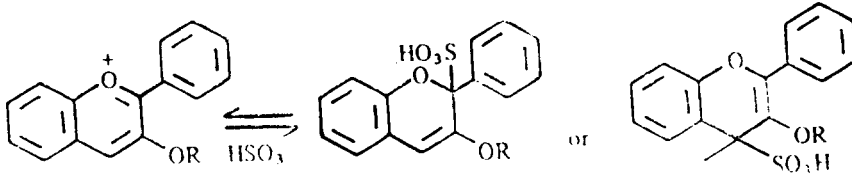


Fig. 5. Bisulfite decolorization of anthocyanins

왜냐하면 亞黃酸은 AN에 대한 退色영향이 있으며 또한 cyanidin계 AN함유 과실통조림의 腐蝕速度를 증대시키는 영향이 있기 때문이다.

이산화황과 AN사이의 可逆的 反應機構는 두 경로가 있는 것으로 추정되고 있기는 하나 着色의 flavylium은 重亞黃酸과 反應하여 無色の chromen-2(or-4)-sulfonic acid (Fig. 5)를 형성한다는 Jurd의 의견이 매우 타당성이 있는 것으로 받아들여지고 있다.⁽²¹⁾ 이 sulfonic acid는 알칼리용액에서 헤테로環의 開環에 의해서 破壞된다.

9. 過酸化物

過酸化물이 AA-AN破壞에 관여하고 있는 지에 대해 아직 명확히 밝혀져 있지는 않으나 flavylium鹽이 過酸化水素에 의해 親核공격을 매우 받기 쉽다는 사실에 대해 의심할 여지가 없다. 최근 연구에 의하면 여러 조건하에서 過酸化물이 無色の enolic benzoate, 나 malvone형태의 benzoyl ester, 3-substituted 2-phenyl-benzofuran, keto diol 등을 산생시킨다 한다.⁽²²⁾ 過酸化水素가 AN에 미치는 영향에 대한 관심은 딸기제품 AN의 AA에 의한 破壞는 AA의 好氣的 산화동안 생성된 過酸化水素 때문이라는 이와같은 假定에서 유래하였다.⁽³⁷⁾ AN에 대한 過酸化水素의 영향은 앞서 AA에서 살펴 본 바와 같다.

10. 無機鹽

포도果汁色素液에 대한 無機鹽의 효과를 검토한 결과에 의하면 供試한 鹽 중에서 過鹽素酸나트륨은 농도 증가에 따라 色素液의 最大吸收波長인 525 nm부근의 吸光度를 급속히 증대시키는 현저한 濃色化效果를 보여주었으며 2.0 몰농도에서는 無添加區에 비해 그 吸光度는 4배에 달하였고 色素液의 적자색을 현저히 증대시켰다고 한다. 그 다음으로 硝酸나트륨, 臭化나트륨, 鹽化나트륨, 黃酸나트륨, 磷酸 2水素나트륨순이었다 한다.⁽⁵¹⁾

無機鹽 (0.5M)添加色素液의 貯藏 중의 吸光度에 미치는 영향은 Fig. 6에서 볼 수 있는 바와 같이 各鹽 共히 貯藏초기에는 無添加區와 마찬가지로 吸光度의 감소가 있었으나 첨가적후의 吸光度를 그대로 유지하였으며 各鹽의 효과는 過鹽素酸나트륨, 硝酸나트륨,

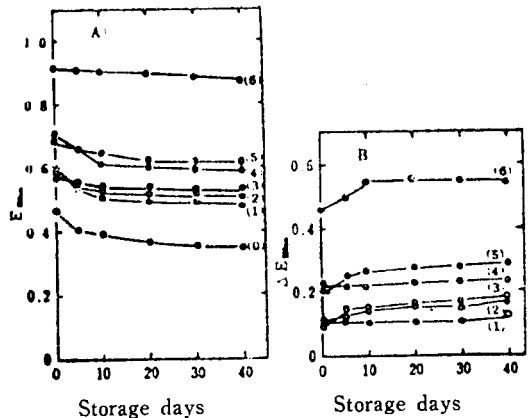


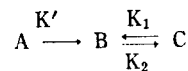
Fig. 6. Stability of the enriched absorbance at 520 nm of crude anthocyanin solution (pH 3.0) during storage. Salt concn: 0.5M, (0) control, (1) chloride, (2) phosphate monobasic, (3) sulfate, (4) bromide, (5) nitrate, (6) perchlorate.

臭化나트륨, 黃酸나트륨, 磷酸 2水素나트륨, 鹽化나트륨순으로 감소하였다.⁽⁵¹⁾ 일정한 pH조건하에서 이와같은 無機鹽添加에 의한 濃色化현상으로 포도 果汁色素의 安定化효과는 식품공업상 주목할 만한 현상이다.

11. 酵素

AN의 退色에 관여하는 酵素는 高等植物⁽⁵²⁾ 곱팡이⁽⁵³⁾, sour cherry, sweet cherry, blackberry, blueberry 등에 존재해 있다. 이 酵素들은 대부분 AN 3위치의 配糖體結合을 가수분해시켜 不安定한 aglycone을 생성시키는 β -glycosidase이거나 退色反應에 0-dihydroxy phenol이나 catechol을 필요로 하는 phenolase들이다.

곱팡이 酵素 (anthocyanase)에 의한 退色機構는 動力學的으로 1次反應에 속하는데 이 anthocyanase에 의한 cysanthemin退色反應과정은 표시하면 다음과 같다



여기서 K' , K_1 , K_2 는 1次反應 速度定數이며 A는 cysanthemin陽이온과 pseudobase carbinol의 平衡混合物, B는 상기 cyanidin형태의 陽이온과 carbinol의 平衡混合物, C는 B의 平衡混合物로 부터 생긴 無色の

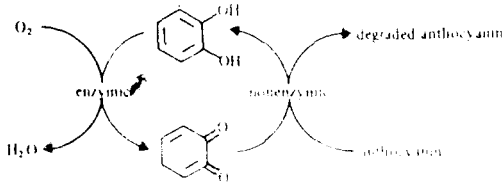


Fig. 7. Mechanism of anthocyanin degradation by phenol oxidase

化合物이다.

Cherry의 酵素의 退色機構에는 0-dihydroxyphenol이 quinone으로의 酵素의 산화반응이 포함되어 있으며 바로 이 quinone이 AN과 반응하여 無色の 化合物을 만들어 낸다. Peng과 Markakis⁽⁵⁴⁾에 의하면 AN 그 자체만으로는 비색 phenol oxidase의 기질이 될 수 없지만 catechol과 같은 좋은 기질의 존재로 AN이 급히 退色되어 버린다고 한다. 그리하여 이들은 catechol의 酵素의 酸化에 의해 생긴 0-quinone이 AN과 반응하여 無色の 分解産物을 만들어 내는 Fig. 7과 같은 圖式을 제안하였다.

이와같이 일부 酵素들이 AN을 退色시키고 있으나 반면에 anthocyanase 등에 의한 AN의 부분적인 제거가 바람직하거나 필요한 경우는 AN이 필요이상으로 존재해 있는 나무딸기잼이나 젤리와 같은 濃縮製品, AN 과잉 때문에 貯藏동안 침전이 일어나는 나무딸기酒, 色素침전이 자주 부딪치는 포도주스와 같은 제품, 기타 AN 때문에 너무 거무스름하게 보이는 제품 등이다. 특히 anthocyanase는 특이적이고 AN에만 작용하는 동시에 反應速度도 또한 빨라서 딸기, 포도, 나무딸기, cranberry, black raspberry AN의 退色에 효과적이다. 나무딸기 AN경우 19시간동안 반응시키면 吸光度가 82%, black raspberry色素 경우는 22%나 減小되었다고 한다.⁽⁵⁵⁾

12. 有機酸

포도 果汁色素液 (pH 3.0)에 대한 有機酸의 영향은 無機鹽과 마찬가지로 濃色化效果(吸光度증대)가 있으며 장시간 安定하였다 한다.⁽⁵⁶⁾ 1鹽基性飽和脂肪酸에서는 포름酸, 아세트酸, 프로피온酸, n-부티르酸, n-바레르酸순으로 分子量이 큰 쪽이 보다 濃色化效果가 있었으며 貯藏中 濃色化效果가 클 뿐더러 그 효과가 지속성이 있는 것으로는 말레인酸, n-바레르酸, 濃色化效果는 크지 않지만 그 효과가 지속성이 있는 것은 타타르酸, 시트르酸, 첨가에 의한 濃色化效果는 크지만 貯藏中에 退色을 촉진하는 것으로는 말론酸, 옥살酸이었다고 보고하고 있다.⁽⁵⁶⁾ Miracle fruit AN은 pH 3.0, 38°C의 모델시스템 조건하에서 50일후 이 AN消失이 타

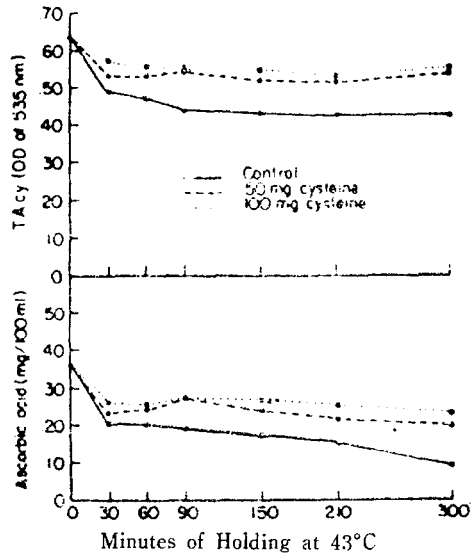


Fig. 8. Interaction of amino acids and holding times at 43°C on extracted TAc and ascorbic acid of Concord grape juice

다르酸에서 가장 느렸고, 말레인酸에서 제일 빨랐다 한다.⁽⁵⁷⁾

13. 아미노酸

아미노酸중 cysteine은 75°C에서 AN에 대해 영향이 없으나 43°C에서는 AN의 破壞를 抑制하였다. 반면에 glycine은 43°C에서 AN과 AA에 대해 별 영향을 끼치지 않으나 75°C에서는 AN의 상당한 감소가 있었다고 한다. 그러나 cysteine은 兩 온도에서 AA를 酸化로부터 보호하였으며 cysteine의 濃度를 100 mg/100 ml까지 증가시켰더니 AN 뿐만아니라 AA의 보호작용이 증대하였다 하는데 (Fig. 8) 이것은 아마 cysteine으로 부터 발생된 水素이온이 酵素作用을 抑制시키고 동시에 환경의 기체조성을 환원시켰기 때문인 것으로 사료된다.

14. 기 타

1) Flavonol

Flavonol은 遊離基 受容體로서 작용할 수 있는 능력과 金屬錯化合物을 형성할 수 있는 성질 때문에 강한 抗酸化劑성질을 갖고 있다.

Quercetin의 濃도가 100 ml당 3 mg과 6 mg이고 quercitrin의 濃도가 9 mg일 때 거의 비슷한 보호작용이 있었다는데⁽⁵⁸⁾ quercetin이 quercitrin의 비해 더 우수한 抗酸化力은 quercetin의 3위치에 있는 遊離의 水酸基에 기인한다고 한다. Markakis도 quercetin과 rutin의 존재시 AN에 대한 약간의 보호작용을 인정하였다.⁽⁵⁸⁾

2) 相對濕度

AN을 건조조건형태나 濾過紙에 보관하였더니 安

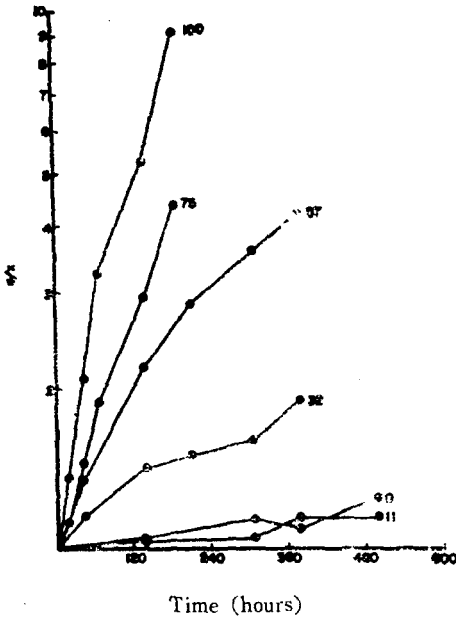


Fig. 9. Reaction rate curves for the degradation of anthocyanin pigments in freeze-dried strawberry puree at various RH's and 37°C (a=100%; x=% pigment retained)

定하였으며 따라서 물이 退色反應에 關여하리라는 것이 Markakis⁽⁵⁸⁾ 등에 의해 암시되었다. 그후 Erlandson과 Wrolstad⁽⁵⁹⁾의 AN의 破壞速度에 미치는 相對濕度(RH)의 影響에 關한 研究結果에 의하면 AN에 대한 물의 濃도가 150이하(RH 0~11%)에서는 分解速度가 느렸으며 150에서 700(RH 11~57%)사이에서는 중간 정도, 700이상(RH 57~100%)에서는 그 速度가 빨랐

다고 한다(Fig. 9). 이 결과로 미루어 보면 相對濕度에 의한 色素의 破壞는 세 단계로 進行되는데 이 세 단계가 바로 等溫吸收曲線의 單分子膜領域, 多分子膜領域, 毛細管凝縮領域에 해당된다. 그러므로 AN함유 식품의 等溫吸水曲線은 낮은 수분 시스템에서 AN의 貯藏安定性を 평가하는데 사용할 수 있을 것이다.

이 외에도 red tart cherry를 100°C에서 45초나 60초동안 熱處理하였더니 약 10개월 동안 凍結乾燥보관 중 AN의 損失을 막을 수 있었다 한다.⁽⁶⁰⁾

Anthocyanin 色素의 分解過程

현재 생산되고 있는 果實製品들의 pH가 대개 3에서 4.5범위에 속하는데 이 pH領域에서 AN에 關여하는 反應이나 AN의 分解產物들은 아직 명확하지가 않다.

AN은 여러 외적요인들이 배제된 모델시스템에서 적어도 두 과정으로 分解되는 것으로 받아 들여지고 있다. 그중 하나는 flavylium鹽과 평형상태에 있는 無色の pseudobase의 環이 配糖體結合이 가수분해되기 전에 開環되어 無色の chalcone을 형성하는 과정이다. 이 반응은 가열시키면 촉진된다. Hrazdina⁽⁶¹⁾ 등의 연구結果에 의하면 malvidin, cyanidin, peonidin-3,5-diglucoside의 anhydrobase는 pH 7에서 가열로 각각 상응하는 chalcone으로 전환되며 또한 B-環이 分解되어 無色化合物인 coumarin glucoside로 分解되나 3-monoglycoside는 coumarin glycoside를 만들어 내지 않는다고 한다. 더욱이 그는 coumarin diglycoside생성을 상기 AN配糖體를 함유한 모델시스템에서 뿐만 아니라 熱處理한 포도주스나 포도주에서도 관찰하였다. 이런 化合物로 부터의 coumarin 형성은 아마 산화적 과정이 關여하고 있을 것이다. 그후 Hrazdina와 Franzese

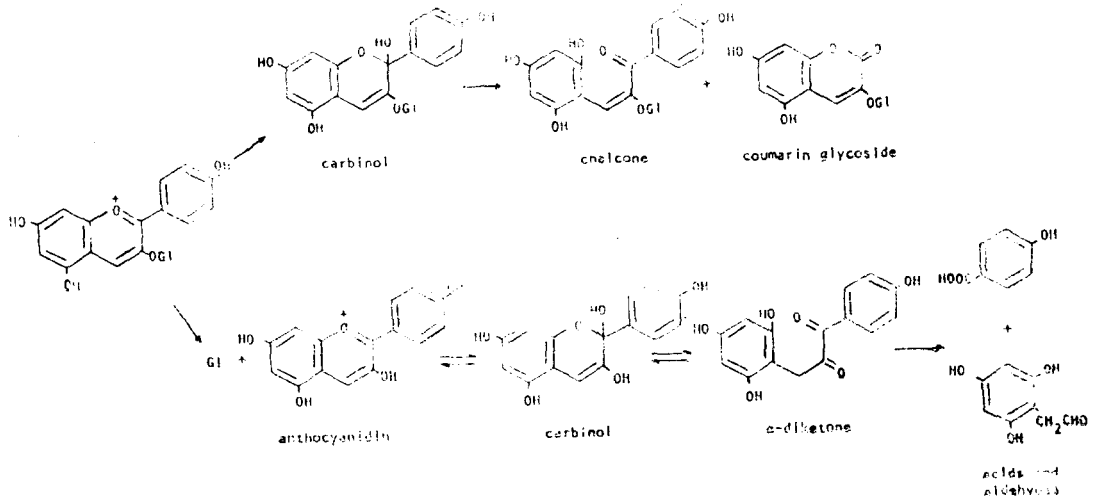


Fig. 10. Two pathways of anthocyanin degradation

(62)는 coumarin誘導體 생성은 加熱分解에 의한 것이 아니고 AN分子的 2위치에서 anhydrobase들이 관여하는 산화형태에 의해서 생성될 것이라고 하였다.

한편 Adams⁽²⁸⁾는 pH 2~4 범위의 100°C 수용액에서 AN의 配糖體結合이 기타 配糖體結合에 비해 매우 不安定하며 cyanidin-3-glycoside는 제일 첫 단계로 配糖體가 가수분해된 후 cyanidin의 chalcone이나 α -diketone같은 無色化合物을 만들어 낼 것이라고 보고하였다. 또한 嫌氣의 조건하의 赤色損失에서 速度制限反應은 pyrylium環 開環보다는 오히려 配糖體 가수분해일지도 모른다고 하였다. 반면에 chalcone配糖體는 好氣의 조건하에서가 더 不安定한데 이 chalcone配糖體의 破壞는 보다 더 많은 AN pseudobase가 chalcone형태로의 異性化를 야기시키게 되므로 嫌氣의 조건하에서 보다 色素의 分解速度가 빨라지게 된다.

Harper⁽²³⁾는 pH 2~5 범위에서 pelargonidin의 헤테로 環이 開環되어 α -diketone을 생성시킨다고 하였으며 Jurd⁽²²⁾도 동일 pH領域에서 cyanidin이 자연적으로 3,4-dihydroxybenzoic acid로 分解됨을 밝혔다. 이 α -diketone은 酸類로 쉽게 가수분해된다. pH 3.4에서 pelargonidin-3-glucoside의 高溫分解產物은 phloroglucinol과 *p*-hydroxybenzoic acid이다.

이상 살펴본 결과들로 미루어 보면 AN의 分解過程은 다음 Fig. 10에 표시된 바와 같이 요약할 수 있다.

Anthocyanin色素의 安定化 方法

이상 식품류에서 AN의 安定性에 미치는 諸要因에 대해 살펴 보았다. 하지만 현재까지 AN의 退色防止에 특별한 方案이 없지만 이 AN의 退色을 다소나마 감소시키거나 安定化시킬 수 있는 方法을 들자면 다음과 같다.

1. 果實製品의 pH를 허용된 범위내에서 가능한 한 낮춘다.

2. 熱處理를 필요로 하는 製品은 瞬間高溫熱處理를 행하며 凍結乾燥한 후 아니면 그대로 直射光線이 닿지 않는 곳에서 貯藏한다.

3. AA가 酸素나 空氣에 의해 직접 酸化되지 않게 하며 製品內의 headspace를 窒素로 置換하거나 眞空下에서 통조림 한다. 특히 통조림통은 특수한 fruit enamel이나 fruit lacquer로 안을 입힌 통을 사용한다.

4. AN의 退色에 영향이 심한 구리, 鐵 등의 金屬鹽 사용을 제한하고 대신에 알루미늄이나 주석鹽을 사용한다.

5. Cysteine, quercetin, rutin, propyl gallate 등과 같

은 抗酸化劑나, 過鹽素酸나트륨과 같은 無機鹽, *n*-바레르酸, 타타르酸 등의 有機酸, 기타 이산화황 등을 사용한다.

6. 4위치에 methyl基나 phenyl基를 갖고 있어서 이산화황, 光, pH, AA에 영향을 받지 않는 合成 flavylium 化合物과 같이 AN의 構造를 변형시켜서 AN성질을 개선시킬 수 있는 方法을 摸索한다.

參 考 文 獻

- 1) Harbone, J. B.: *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. Academic Press (1967).
- 2) Fennema, O. R. (Ed.): *Food Chemistry*. Marcel Dekker, Inc. (1976).
- 3) Timberlake, C. F. and Bridle, P.: *J. Sci. Food Agr.*, **22**, 509 (1971).
- 4) Sun, B. H. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, **32**, 647 (1967).
- 5) Lynn, D. Y. C. and Luh, B. S.: *J. Food Sci.*, **29**, 735 (1964).
- 6) Torre, L. C. and Barritt, B. H.: *J. Food Sci.*, **42**, 488 (1977).
- 7) Fuleki, T. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, **33**, 72 (1968).
- 8) Puech, A. A., Rebeiz, C. A., Catlin, P. B. and Crane, J. C.: *J. Food Sci.*, **40**, 775 (1975).
- 9) 松富直利, 山村益士, 小林邦彦, 太田英明, 芥田三郎: *食品工業(日本)*, **24**, 279 (1977).
- 10) Du, C. T., Wang, P. L. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, **40**, 417 (1975).
- 11) Fuleki, T.: *J. Food Sci.*, **34**, 365 (1969).
- 12) Shrikhande, A. J. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, **38**, 649 (1973).
- 13) Harbone, J. B.: *Phytochemistry*, **2**, 85 (1963).
- 14) Sondheimer, E. and Kertesz, Z. I.: *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 3476 (1948).
- 15) Wrolstad, R. E. and Heatherbell, D. A.: *J. Sci. Food Agr.*, **25**, 1221 (1974).
- 16) 劍持久仁子, 片山脩: *食品工業(日本)*, **22**, 598 (1975).
- 17) Du, C. T. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, **40**, 1101 (1975).
- 18) Du, C. T., Wang, P. L. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, **39**, 1265 (1974).
- 19) Fuleki, T.: *J. Food Sci.*, **36**, 101 (1971).

- 20) Chan Jr. H. T., Kao-Jao, T. H. C. and Nakayama, T. O. M.: *J. Food Sci.*, **42**, 19 (1977).
- 21) Markakis, P.: *CRC Critical Reviews in Food Technology*, **4**, 437 (1974).
- 22) Chichester, C. O. (Ed.); *The Chemistry of Plant Pigments*. Academic Press (1972).
- 23) Harper, K. A.: *Aust. J. Chem.*, **21**, 221 (1968).
- 24) Meschter, E. E.: *J. Agr. Food Chem.*, **1**, 574 (1953).
- 25) Daravingas, G. and Cain, R. F.: *J. Food Sci.*, **33**, 138 (1968).
- 26) Lukton, A., Chichester, C. O., and Mackinney, G.: *Food Technol.*, **10**, 427 (1956).
- 27) Adams, J. B.: *Campden Food Pres. Res. Assoc. Technol. Bull.*, No. 22 (1972).
- 28) Adams, J. B.: *J. Sci. Food Agr.*, **24**, 747 (1973).
- 29) Tinsley, I. J. and Bockian, A. H.: *Food Res.*, **25**, 161 (1960).
- 30) Palamidis, N. and Markakis, P.: *J. Food Sci.*, **40**, 1047 (1975).
- 31) Buckmire, R. E. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, **43**, 908 (1978).
- 32) Adams, J. B. and Ongley, M. H.: *Campden Food Pres. Res. Assoc. Technol. Bull.*, 23 (1972).
- 33) Van Buren, J. P., Bertino, J. J. and Robinson, W. B.: *Am. J. Enol. Vitic.*, **19**, 147 (1968).
- 34) Beattie, H. G., Wheeler, K. A. and Pederson, C. S.: *Food Res.*, **8**, 395 (1943).
- 35) Pederson, C. S., Beattie, H. G. and Stolz, E. H.: *N.Y. Agric. Exp. Sta. Bull.*, 728 (1947).
- 36) Markakis, P., Livingston, G. C. and Fellers, C. R.: *Food Res.*, **22**, 117 (1957).
- 37) Sondheimer, E. and Kertesz, Z. I.: *Food Res.*, **18**, 475 (1953).
- 38) Sondheimer, E. and Kertesz, Z. I.: *Food Res.*, **17**, 288 (1952).
- 39) Starr, M. S. and Francis, F. J.: *Food Technol.*, **22**, 1293 (1968).
- 40) Tinsley, I. J. and Bockian, A. H.: *Food Res.*, **25**, 161 (1960).
- 41) Sastry, L. V. L. and Tischer, R. G.: *Food Technol.*, **6**, 82 (1952).
- 42) Nebesky, E. A., Esselen, W. B., McConnel, J. E. W. and Fellers, C. R.: *Food Res.*, **34**, 261 (1969).
- 43) Tressler, D. K. and Pederson, C. S.: *Food Res.*, **1**, 87 (1936).
- 44) Daravingas, G. and Cain, R. F.: *J. Food Sci.*, **30**, 400 (1965).
- 45) Asen, K., Morris, K. H. and Stewart, R. N.: *Phytochemistry*, **8**, 653 (1959).
- 46) Sistrunk, W. A. and Cash, J. N.: *Food Technol.*, **23**, 169 (1970).
- 47) Wrolstad, R. E. and Erlandson, J. A.: *J. Food Sci.*, **38**, 460 (1973).
- 48) Starr, M. S. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, **38**, 1043 (1973).
- 49) Timberlake, C. F. and Bridle, P.: *J. Sci. Food Agr.*, **22**, 509 (1971).
- 50) Peterson, R. G. and Jaffe, E. B.: *U. S. Patent*, 3, 484, 254, Dec. 16 (1969).
- 51) 太田英明, 箴島 豊: *食品工業 (日本)*, **25**, 73, (1978).
- 52) Wagenknecht, A. C., Scheiner, D. M. and Van Buren, J. P.: *Food Technol.*, **14**, 47 (1960).
- 53) Huang, H. T.: *J. Agr. Food Chem.*, **3**, 141 (1955).
- 54) Peng, C. Y. and Markakis, P.: *Nature*, **199**, 597 (1963).
- 55) Yang, H. Y. and Steel, W. F.: *Food Technol.*, **12**, 517 (1958).
- 56) 太田英明, 箴島 豊: *食品工業 (日本)*, **25**, 78 (1978).
- 57) Buckmire, R. E. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, **43**, 908 (1978).
- 58) Shrikhande, A. J. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, **39**, 904 (1974).
- 59) Erlandson, J. A. and Wrostad, R. E.: *J. Food Sci.*, **37**, 592 (1972).
- 60) Siegel, A., Markakis, P. and Bedford, C. L.: *J. Food Sci.*, **36**, 962 (1971).
- 61) Hrazdina, G., Borzell, A. J. and Robinson, W. B.: *Am. J. Enol. Viticul.*, **21**, 201 (1970).
- 62) Hrazdina, G. and Franzese, A. J.: *Phytochemistry*, **13**, 231 (1974).