

## 적환 20일 무우 색소의 안정성에 관한 연구(I)

박철진\* · 나미경 · 오성기  
경희대학교 식품가공학과

### Study on the Stability of Anthocyanin Pigment in 'Comet' radish (I)

Chul-Jin Park\*, Mi-Kyung Na and Sung-Ki Oh

Department of Food Science and Technology, Kyung Hee University

#### Abstract

Stability of the anthocyanin pigment isolated from 'Comet' radish was decreased with increase of pH from 1.0 to 8.0. The destruction rate of anthocyanin at early stage was faster at pH 1.0 than pH 2.0 and 3.0, increased with increase of storage temperature from 0°C to 40°C. Thus the pigment preservability at 0°C and 40°C after 10 days was 92.5% and 48.1%, and the half life at 0°C and 40°C was 94.9 and 12.1 days, respectively. Pigment was decreased with increase of ascorbic acid content from 0.015g to 0.05g.

Key words: anthocyanin, stability, radish

#### 서 론

Anthocyanin은 과일과 야채류에 존재하는 선명한 빨강색, 자색 또는 청색의 색깔을 갖는 수용성 색소이다. 자연계에는 수백종에 달하는 anthocyanin계 색소들이 존재하는 것으로 예상되고 있으나 현재까지 알려진 것으로는 119종류라고 한다. 이중 자연계에 존재하는 주요 anthocyanins는 pelargonidin, cyanidin, peonidin, delphinidin, petunidin, malvidin 등으로써 일반적으로 배당체로 존재하며 *p*-coumaric, caffeic, ferulic, cinamic acid와 acyl화 되어 있는 것으로 알려져 있다<sup>(1)</sup>. Anthocyanin 색소 안정성에 영향을 미치는 요인으로는 pH, 온도, ascorbic acid 등이 알려져 있으며<sup>(2-4)</sup> 이밖에 Daravingas 등<sup>(4)</sup>은 anthocyanin 색소에 당류 및 그 분해산물인 formic acid, levulinic acid, furfural를 첨가하여 색소안정성에 미치는 영향을 고찰하였고, Shrinkhande 등은<sup>(5)</sup> ascorbic acid에 구리이온이 첨가되었을 때의 색소의 변화를 고찰하였고, Lees와 Maurice 등<sup>(6,7)</sup>은 ascorbic acid 산화에 대한 항산화제로써 thiourea와 sodiumpyrophosphate, quercetin 등의 작용을 보고하였다. 색소들은 주로 여러 과일에서 특유한 선명한 색깔을 나타내지만 가공중에 산화되거나 또는 가공처리과정 중에 오염된 여러 환경적 요인에 의하여 구조적 변화를 일으키게 된다. 이와 같은 구조적 변화에 의하여 청색 또는 적색이 변화하거나 퇴색될 수 있는 색소들이므로 과일 등에 존재하는 주요

anthocyanin 성질의 규명은 이들을 함유하고 있는 과일들의 취급과 색소 이용면에서 매우 중요한 연구과제라고 생각한다. 본 연구는 적환 20일 무우에서 색소를 추출하여 색소의 안정성을 검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

본 실험에서 사용한 적환 20일 무우(Comet radish, *Raphanus sativus* var. *radicular* cv. Comet)은 가락동 농수산물 시장에서 다량 구입하여  $-20 \pm 1^\circ\text{C}$ 에 냉동 보관하여 사용하였다.

##### Anthocyanin의 추출

정선한 원료무우 표피만을 약 1.0 kg 채취하여 Dekazos<sup>(8)</sup>와 Timberake<sup>(9)</sup>의 방법에 따라 Anthocyanin을 추출하였다. 즉, 0.1% HCl/MeOH 약 5l를 가하여 homogenizer로 약 3분간 마쇄하였다. 여기에 0.1% HCl/MeOH를 2l 더 가하여 마쇄액이 충분히 잠기도록 한 후, 0°C 암소에서 1일간 정치시켰다. 냉암소에 정치한 이 색소액을 원심분리(3,000 rpm, 10 min)하고 잔사에 남아 있는 색소는 추출액의 색이 없어질 때까지 동일 용매로 반복 추출 여과한 후 상기 여과액과 합하여 anthocyanin의 분리용 시료로 하였다.

##### Anthocyanin의 정제

Shrinkhande 등<sup>(5)</sup>의 방법에 따라 상기 여과액 8l를 rotary vacuum evaporator로  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 농축하여 그 양을 500 ml로 줄인 다음 separatory funnel을 사용하여

Corresponding author: Chul-Jin Park, Department of Food Science and Technology University of Kyung Hee, Suwon, Korea

petroleum ether로 chlorophyll, carotenoid, waxy material 등을 4회 반복하여 제거하였다. 여기서 얻은 상등액을 Fuleki와 Francis<sup>(10)</sup>의 방법에 따라 Amberite CG-50(H<sup>+</sup> form, 100~120 mesh, Rhom and Hass Co.)를 증류수에 넣어 미세입자를 제거한 다음 glass column(2×30 cm)에 충전하고 5% HCl 500 ml를 2 ml/min으로 흘려서 activation하고, 흡착된 색소는 0.1% HCl/MeOH로 용출시켰다.

#### pH의 영향

pH에 대한 anthocyanin의 안정성을 조사하기 위하여 pH 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0의 완충용액 95 ml와 anthocyanin 용액 5 ml를 합하여 100 ml로 정용하였다. 이 용액을 erlenmeyer flask에 넣고 Whatman sealing film으로 밀봉한 후 20°C의 암소에 넣고 24시간 마다 적당량을 취하여 510 nm 최대파장에서 흡광도의 변화를 측정하였다. pH 완충용액 조제는 pH 1.0에서 pH 2.0까지는 Clark-Lubs 완충용액<sup>(11)</sup> (0.2 N KCl+0.2 HCl)을, pH 3.0에서 8.0까지는 MacIvaine 완충용액(0.1 M Citric acid+0.2 M Na-H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)을 사용하여 본 실험의 모든 반응계의 pH 조건을 설정하였다. 이때 적색 잔존율은 저장개시일을 100%로 하여 그 이후의 변화를 백분율로 표시했다.

#### 온도의 영향

0, 10, 20, 30, 40°C의 온도별로 anthocyanin 용액 5 ml와 pH 3.0의 완충액 95 ml를 혼합하여 100 ml로 정용한 후, 암소에 방치하고 24시간 마다 색소 잔존율을 측정하였다. 가열에 따른 영향은 "pH의 영향" 난에서와 동일하게 처리한 시료를 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0의 pH별로 80°C의 waterbath wddptj 10, 20, 30, 60, 90, 240분씩 가열한 후, 냉각시켜 흡광도 변화를 측정하여 색소 잔존율을 구하였다.

#### Ascorbic acid의 영향

Anthocyanin 용액 5 ml에 pH 3.0의 완충용액 95 ml를 가하여 100 ml로 정용한 용액에 ascorbic acid 0.015, 0.03, 0.05g씩을 각각 가하고 N<sub>2</sub> gas를 충전하여 밀봉한 다음 20°C의 암소에 방치하면서 24시간 마다 흡광도를 측정하였다. 한편 anthocyanin에 대한 ascorbic acid와 산소의 영향을 살펴보기 위해 똑같은 시료 제조 조건하에서 밀봉을 하지 않은 채 20°C의 암소에 보관하면서 흡광도를 측정하였다.

### 결과 및 고찰

#### pH의 영향

20°C에서 10일간 각 pH별로 원료무우 anthocyanin 색소의 안정성을 조사한 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 pH가 1.0에서 8.0으로 높아짐에 따라 색소잔존율이

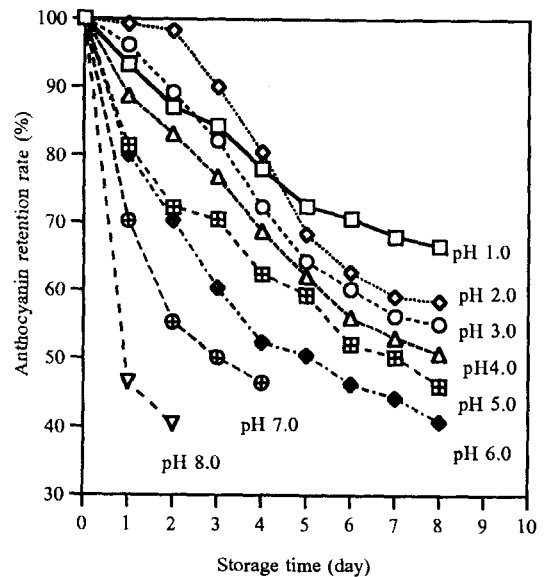


Fig. 1. Effect of pH on Radish anthocyanin in the dark at 20°C

현저히 낮아짐을 볼 수 있었다. 그러나 3일 경과시까지 색소의 파괴정도는 pH 2.0, 3.0에서 보다 pH 1.0에서 훨씬 더 빠른 속도로 색소가 파괴되었다.

이같은 결과는 실온에서 anthocyanin 색소는 산성조건에서 안정하고, 알칼리 조건에서는 pyrylium ring의 분해가 급히 일어나기 때문이다<sup>(12)</sup>. 또한 pH 1.8을 기준으로 하여 pH가 증가하거나 감소함에 따라 색소의 안정성이 떨어진다는 Mechter<sup>(12)</sup>의 보고와 같은 경향을 나타내었으며 black raspberry model system에서 pH가 4.25에서 0.95로 낮아질수록 색소의 잔존율이 높으나 초기의 분해반응은 pH 2.15에서 보다 0.95에서 더 빨리 진행하였다는 Daravingas<sup>(13)</sup>의 실험결과와도 일치하였다.

#### 온도의 영향

0, 10, 20, 30, 40°C의 온도별로 pH 3.0에서 경시적으로 anthocyanin 색소의 함량변화를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 본 실험에서는 3일 후 색소 잔존율이 40°C에서 약 48%, 20°C에서 85%, 10°C에서 97%를 나타내었다. 즉, 일반적으로 온도가 상승함에 따라 색소 잔존율이 감소됨을 볼 수 있었으며 10일 후 최종적인 색소 잔존율은 40°C에서 약 40%, 30°C에서 66%, 20°C에서 72%, 10°C에서 86%, 0°C에서 92%의 색소 잔존율을 나타냈다. 그리고 같은 기간동안 0°C와 10°C의 암소에서의 잔존율은 40°C에 비하여 약 2배 정도나 높게 나타났다. Table 1은 색소 잔존율로부터 구한 각 온도별 반응속도정수(K)와 반감기(T<sub>1/2</sub>)를 나타낸 것으로 0°C에서 반감기가 약 95일, 10°C에서 45일, 20°C에서 25일, 30°C에서 19일, 40°C에서 12일로 0°C의 반감기가 40°C의 반감기에 비해 약 8배나

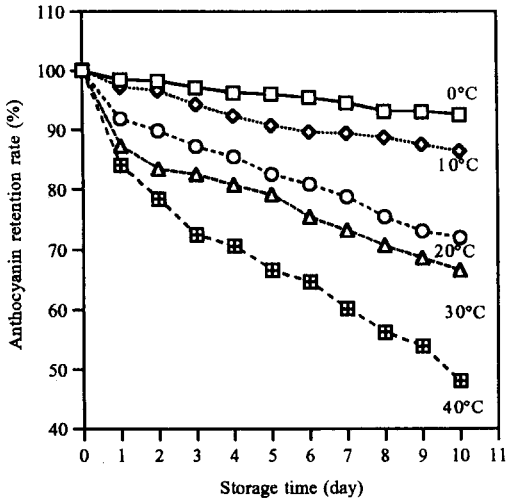


Fig. 2. Effect of storage temperature on Radish anthocyanin in the dark at pH 3.0

Table 1. Reaction rate constants (K) and half lives (T<sub>1/2</sub>) of anthocyanin in Radish at various temperatures

Storage condition	K (day <sup>-1</sup> )	T <sub>1/2</sub> (day)
0°C	0.0073	94.9
10°C	0.0152	45.2
20°C	0.0281	24.6
30°C	0.0368	18.8
40°C	0.0571	12.1

높게 나타났다.

Ascorbic acid의 영향

과일주스 등에 영양강화제로써 이용되는 ascorbic acid (AA)가 anthocyanin의 안정성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 산소존재하에서와 산소공급이 차단된 상태에서 ascorbic acid의 농도별 첨가에 따른 anthocyanin의 색소 잔존율을 측정하였다. Fig. 3에서와 같이 AA의 농도에 따른 anthocyanin의 변화는 7일 경과시 control의 색소 잔존율이 80%인데 비하여 AA 0.015g 첨가구는 34%, 0.03g 첨가구는 23% 정도로 AA의 첨가량이 증가함에 따라 anthocyanin의 색소 잔존율이 현저하게 감소하였다. 산소와 구리존재하에서 Ascorbic acid가 anthocyanin 색소 파괴에 중요한 인자로서 작용한다는 것은 Beattie와 Pederson<sup>(14)</sup> 등에 의해 제시된 바 있으며, 특히 Starr<sup>(15)</sup>와 Bobbi<sup>(16)</sup> 등은 model system에서 ascorbic acid와 산소가 단독으로 존재할 때보다 공존하에서 호기적 산화에 의한 색소파괴가 컸다고 보고하였다. Fig. 4에 보는 바와 같이 산소존재하에서 anthocyanin을 10일간 저장하는 동안 색소 잔존율은 AA 0.015g은 36%, AA 0.03g은 28%, AA 0.05g은 16%로 나타났으며 N<sub>2</sub> gas를 충전하고 밀봉하여

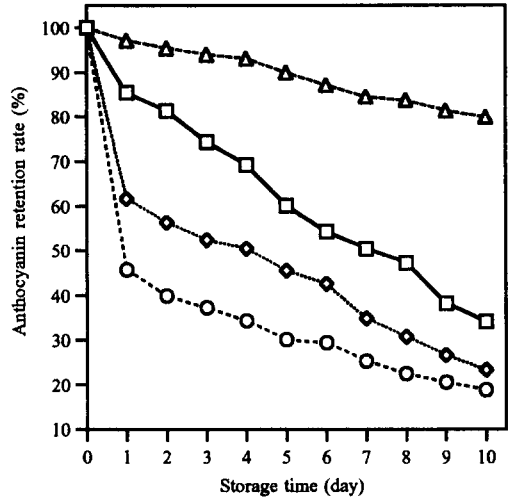


Fig. 3. Effect of ascorbic acid (AA) and cut off oxygen on Radish anthocyanin (AN) in the dark at pH 3.0 and 20°C

□—□; AA-0.015g, ◇—◇; AA-0.03g, ○—○; AA-0.05g, △—△; An. alone

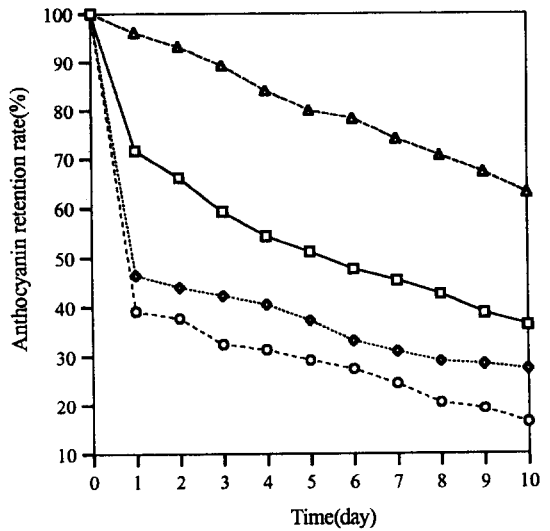


Fig. 4. Effect of ascorbic acid (AA) and oxygen on Radish anthocyanin (AN) in the dark at pH 3.0 and 20°C

□—□; AA 0.015g+O<sub>2</sub>, ◇—◇; AA 0.03g+O<sub>2</sub>, ○—○; AA 0.05g+O<sub>2</sub>, △—△; An. alone+O<sub>2</sub>

공기를 차단한 것에 비하여 훨씬 많은 파괴율을 나타내었다. 이러한 결과는 산소와 구리 존재하에서 AA 산화로 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 anthocyanin의 탈색제로 알려져 있으며, AA로 인한 anthocyanin의 파괴는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해서 조정되어 진다고 생각된다<sup>(17)</sup>.

## 요 약

적환 20일 무우('Comet' radish)를 0.1% HCl/MeOH 용매로 추출하여 얻은 anthocyanin 색소 농축액을 Amberlite CG-50 양이온 교환수지로 정제한 다음 분리정제된 이 색소의 안정성에 관하여 pH, 온도, ascorbic acid 등의 영향을 검토한 결과, pH가 1.0에서 8.0으로 증가할수록 색소 보존율이 감소하였으며 초기에는 pH 2.0, 3.0에서 보다 pH 1.0에서 anthocyanin 파괴가 더 빨랐다. 저장온도가 0°C 에서 40°C 로 상승할수록 색소 파괴가 증가되었으며 10일 후 0°C 에서의 색소 잔존율은 92%, 40°C 에서 48%였으며 반감기는 0°C 에서 94일, 40°C 에서 12일이었다. Ascorbic acid의 농도가 0.015g, 0.03g, 0.05g으로 증가함에 따라 색소 잔존율은 감소되었으며 산소 존재하에서 잔존율이 더 낮았다.

## 문 헌

- Goto, T.: Structure, stability and color variation of natural anthocyanins. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.*, **52**, 113(1987)
- Tsukui, A.: Stability of anthocyanin pigments of philippine powdered purple yam. *Kasei Gakkaishi*, **40**(2), 115(1989)
- Meschter, E.E.: Effect of carbohydrates and other factors on strawberry products. *Agric. Food Chem.*, **1**(8), 574(1953)
- Daravingas, G. and Cain, R.F.: Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigment in model system. *J. Food Sci.*, **38**, 1043(1973)
- Shrikhande, A.J. and Francis, F.J.: Effect of flavonol on ascorbic acid and anthocyanin stability in model system. *J. Food Sci.*, **39**, 904(1974)
- Lees, D.H. and Francis, F.J.: Quantitative methods for anthocyanin. 6. Flavonols and anthocyanins in cranberries. *J. Food Sci.*, **36**, 1056(1971)
- Maurice, W.H.: Preservation of the natural color in processed sweet potato products. *Food Technol.*, **135** (1973)
- Dekazos, E.D.: Anthocyanin pigment in red tart cherries. *J. Food Sci.*, **35**, 237(1970)
- Timberlake, C.F. and Bridle, P.: The anthocyanins of apples and pears: The occurrence of acyl derivatives. *J. Sci. Food Agric.*, **22**, 509(1971)
- Fuleki, T. and Francis, F.J.: Quantitative methods for anthocyanins I. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *J. Food Sci.*, **33**, 266(1968)
- 윤태현, 이성우: 식품에서 Anthocyanin 색소의 안정성. *한국식품과학회지*, **11**(1), (1979)
- Mechter, E.E.: Effect of carbohydrates and other factors on strawberry products. *Agric. Food Chem.*, **1**(8), 574(1953)
- Daravingas, G. and Cain, R.F.: Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigment in model system. *J. Food Sci.*, **33**, 138(1968)
- Markakis, P.: Anthocyanins as Food Colors. p.171, Academic Press, New York(1982)
- Starr, M.S. and Francis, F.J.: Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry. *Food Technol.*, **22**, 91(1968)
- Bobbi, F.O. and Souza, S.C.: Comparative stability of anthocyanins from *Panicum melinis* and *Solanum americanum*. *Bull. Liaison-Group Polyphenols.*, **14**, 138(1988)
- Markakis, P.: Anthocyanins as Food Colors. pp.962-963, Academic Press New York(1982)

(1992년 11월 25일 접수)