

## 천연색소로서 한국산 유색미 안토시아닌의 안정성 연구

윤주미 · 조만호 · 한태룡 · 백영숙\* · 윤혜현\*\*

경희대학교 유전공학과, \*경희대학교 화학과,

\*\*충남대학교 식품영양학과

### Physicochemical Stability of Anthocyanins from a Korean Pigmented Rice Variety as Natural Food Colorants

Joo-Mi Yoon, Man-Ho Cho, Tae-Ryong Hahn,

Young-Sook Paik\* and Hye-Hyun Yoon\*\*

Department of Genetic Engineering, Kyung Hee University,

\*Department of Chemistry, Kyung Hee University,

\*\*Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

#### Abstract

The physical and chemical stability of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety was investigated at various conditions of pH, temperature, metal ion, sugar, organic acid and light. The anthocyanin pigments were relatively stable with half-lives of 36 days (pH 2.0) and 17 days (pH 3.0), while they were decomposed in a day at neutral and basic pH of 7.0 and 9.0 at 25°C. The anthocyanins also showed high thermal stability at pH 3.0; the half-lives were 7.4 hr, 23.6 hr and 96.3 hr at 95°C, 75°C and 50°C, respectively. Addition of di- and tri-valent metal ions at pH 3.0 resulted in the increase of color intensity and stability throughout 21 days of storage periods at 25°C. Most sugars added accelerated the degradation of anthocyanin pigments, so that fructose showed the greatest degradation effect on the pigments. Addition of citric acid at pH 3.0 increased stability of anthocyanins, while tartaric acid decreased stability. The anthocyanins were very sensitive on light irradiation with a degradation half-life of 14 hr under 20,000 lux-light dosage at pH 3.0.

Key words: anthocyanin, pigmented rice, stability, natural food colorant

#### 서 론

식품의 색은 그 식품의 품질과 선호도를 결정하는 중요한 척도로서, 식품 제조공정이나 저장 중에 소실된 식품 고유의 색을 되살리기 위해 19세기 중기 이후부터 근래에 이르기까지 값싸고 안정한 수많은 합성색소가 식품에 첨가되어 왔다. 그러나 인공합성색소들의 안전성에 대한 끊임없는 논란과 최근 소비자들의 건강식품·위생적 식품에 대한 선호경향이 합성식품용색소를 대체할 천연색소의 수요를 급격히 증가시키게 되었다<sup>(1-4)</sup>.

안토시아닌은 식물체에서 적색, 자색 및 청색을 내는 수용성 색소로 자연에 다양한 종류와 많은 양이 존

재하여 적·자색의 천연색소로서 최고의 이용가치가 있다고 알려져 있다. 그러나 안토시아닌 색소는 조리, 가공 및 저장 조건에서의 불안정성 때문에 천연색소로의 이용에 많은 문제를 안고 있다<sup>(5)</sup>. 안토시아닌의 색과 불안정성은 둘다 flavyllium 양이온 구조에 기인하며, pH, 온도, 유기산, 아스코르브 산, 당류, 금속이온과 copigment 등에 의해 영향을 받는다<sup>(1-4,6)</sup>.

본 연구에서는 유용한 적색 천연색소원으로서 색소의 함량이 많고 부가가치가 높은 유색미로부터 색소를 추출하여 식품에서의 안정성을 조사하고자 하였다. 전 연구에서 이미 유색미의 주요 적색색소를 안토시아닌의 일종인 cyanidin 3-glucoside 로 규명하였고<sup>(7,8)</sup>, 이를 분리정제하여 열안정성을 조사한 바 있다<sup>(9)</sup>. 본 실험에서는 이 색소의 식용착색료로서의 실용화를 목적으로 유색미 호분층에 있는 총 안토시아닌 색소를 추출하여 여러 가지 조건의 pH, 온도, 금속이온, 당, 유기

Corresponding author: Hye-Hyun Yoon, Department of Food and Nutrition, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

산 및 빛에 대한 안정성 및 저장성을 이용하여 흡광도의 변화를 측정하여 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

본 연구에 사용한 유색미는 농촌진흥청 작물 시험장에서 육종한 수원 415호(*Oryza sativa* var. Suwon 415)이며 현미 상태로 상온에서 보관하면서 시료로 사용하였다. 안토시아닌을 분리하기 위한 chromatography column에 사용한 Amberlite XAD-7과 완충용액 제조에 사용한 시약으로서 phosphoric acid, sodium phosphate, CHES (2-[N-cyclohexylamino]-ethanesulfonic acid), citric acid, sodium citrate와 glycine은 Sigma Chemical 에서 구입하였고 색소용액의 제조에 사용한 methanol은 Hayman 사에서 구입하였다. 그 외에 금속이온, 유기산, 당 용액 제조에 사용한 시약은 모두 분석용 등급이었다.

### 시료의 분리와 색소용액의 제조

유색미 100 g을 0.1% HCl-methanol 100 mL에 넣어 상온에서 1시간 동안 교반하여 안토시아닌 색소를 추출하였다. 추출액을 30°C에서 감압 건조시켜 4 mL의 methanol에 녹인후 Amberlite XAD-7 column에 넣어 물로 충분히 씻어낸 다음, 물과 methanol을 1:1로 섞은 용액으로 용출하여 불순물을 제거한 안토시아닌을 분리하였다. 분리된 안토시아닌을 다시 30°C에서 감압 농축 건조시켜 -70°C에 보관하면서 실험 할 때마다 methanol에 녹인 표준 색소용액(9.3 mg/mL)을 제조하는데 사용하였다.

### pH의 영향

유색미 색소의 pH에 따른 변화를 조사하기 위하여 pH를 2.0, 3.0, 5.0, 7.0과 9.0 으로 조정하였다. 사용한 완충용액은 0.1 M phosphate (pH 2.0, pH 7.0), 0.1 M citrate (pH 3.0), 0.1 M acetate (pH 5.0) 및 0.1 M CHES 완충용액(pH 9.0)이었다. 각 pH의 완충용액에 색소용액을 최종 흡광도가 1.0 정도 되도록 첨가하여 시료를 준비하였다. 준비된 시료는 UV/Vis spectrophotometer (Varian DMS-300)로 200~700 nm의 범위에서 각 pH에 따른 최대 흡수파장을 측정한 후, 25°C 수조에서 micro tube에 넣은 시료를 21일간 빛을 차단하지 않고 저장하면서 흡광도의 변화를 측정하여 안정성을 조사하였다. 이와 같은 저장 조건은 빛의 영향에 대한 실험을 제외한 모든 실험에서 동일하였다.

### 온도의 영향

유색미 색소의 열안정성을 알아보기 위하여 pH 3.0 (0.1 M citrate)과 pH 9.0 (0.1 M CHES)의 완충용액에 색소용액을 최종 흡광도가 1.0 정도 되도록 첨가하여 시료를 마련하였다. 제조된 시료는 밀봉하여 95°C, 75°C, 50°C로 조정된 spectrophotometer에 고정된 후 각 pH 조건에서 30분마다 12시간 동안 흡광도의 변화를 측정하였고 측정결과를 semilogarithmic plot하여 안토시아닌 색소의 분해속도와 반감기를 계산하였다<sup>(1)</sup>.

### 금속이온의 영향

금속이온이 유색미 색소의 색과 저장 안정성에 미치는 영향을 12가지 금속화합물을 선택하여 조사하였다. pH 3.0 (0.1 M citrate)과 pH 9.0 (0.1 M CHES)의 완충용액에 색소용액을 가하고 NaCl, KCl, LiCl, MgCl<sub>2</sub>, CuSO<sub>4</sub>, MnSO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, BaCl<sub>2</sub>, CsCl<sub>2</sub>, AgNO<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub> 용액을 각각 10 mM과 100 mM이 되도록 첨가하여 시료를 준비하였다. 준비된 시료를 UV/Vis spectrophotometer로 최대흡수파장의 변화 및 흡광도를 조사하고 25°C 수조에서 21일간 저장하면서 흡광도의 변화를 조사하였다. 또한 양이온 1가, 2가, 3가의 대표적 금속인 K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>을 10 mM이 되도록 첨가하여 90°C, 80°C, 70°C에서 색소의 분해속도와 반감기를 구하였다.

### 당의 영향

식품에 많이 함유된 당의 영향은, pH 3.0 (0.1 M citrate) 완충용액에 색소용액을 가하고 단당류는 glucose, galactose, fructose의 농도를 0.1 M, 0.3 M, 0.5 M, 0.7 M이 되도록 첨가하고, 이당류는 maltose와 sucrose의 농도를 0.05 M, 0.15 M, 0.25 M, 0.35 M이 되도록 첨가하여 시료를 제조하였다. 제조된 시료를 UV/Vis spectrophotometer로 어느 농도에서 가장 흡광도가 높아지는가를 조사하였다. 이 실험에서 높은 흡광도를 보인 0.1 M의 단당류와 0.05 M의 이당류를 첨가하여 25°C 수조에서 21일간 저장하면서 UV/Vis spectrophotometer로 흡광도의 변화를 조사하였다.

### 유기산의 영향

유기산이 유색미 안토시아닌에 미치는 영향을 조사하기 위하여, pH 3.0의 0.1 M glycine 완충용액에 색소용액을 가하고 citric acid, malic acid, tartaric acid, oxalic acid의 농도를 0.1 M, 0.3 M, 0.5 M, 0.7 M이 되도록 첨가하여 시료를 마련하였다. 제조된 시료를 UV/Vis spectrophotometer로 어느 농도에서 흡광도가 가장

높아 지는지 조사하였다. 유기산으로 인한 pH의 감소를 방지하기 위하여 1 M glycine 완충용액(pH 3.0)에 색소용액을 가하고 완충용액의 완충능을 유지할 수 있도록 0.1M의 유기산을 넣은 후 pH를 3.0으로 재조정하였다. 제조된 시료를 25°C에서 21일간 저장하면서 UV/Vis spectrophotometer로 흡광도의 변화를 관찰하였다.

빛의 영향

pH 3.0의 0.1 M citrate 완충용액에 색소용액을 흡광도가 1.0 정도 되도록 첨가하여 시료를 제조하였다. 제조된 시료를 식물배양기(growth chamber)에 옮기고 25°C에서 20,000 lux로 조정된 빛에 노출 시켜, 빛에 대한 색소분해 정도를 2시간마다 UV/Vis spectrophotometer로 흡광도의 변화를 측정하였고, 대조구로서 은박지로 빛을 차단한 시료를 동일조건에서 측정하여 암조건에서의 색소분해 정도를 측정하였다. 측정된 결과를 semilogarithmic plot하여 빛에 의한 유색미 안토시아닌 색소의 분해속도와 반감기를 구하였다.

결과 및 고찰

pH의 영향

유색미에서 분리한 안토시아닌 색소를 5가지 pH 조건에서의 최대 흡수파장을 조사한 결과, pH 2.0일 때

513 nm, pH 3.0일 때 514 nm, pH 5.0일 때 545 nm, pH 7.0일 때 570 nm, pH 9.0일 때 583 nm로 나타났다. 산성조건(pH 2.0, 3.0)에서는 붉은색을 나타내었고, 염기성 조건(pH 9.0)에서는 청색을 띠었다. 이러한 색의 변화는 pH가 증가하면서 서로 다른 안토시아닌 구조 사이에 평형을 이루기 때문인데, 일반적으로 pH 0.5 이하에서는 적색의 flavyllium cation만 존재하다가 flavyllium cation이 pH 2.6 근처에서 무색의 carbinol pseudobase와 평형을 이루고 pH 4.5 근처에서 청색의 quinoidal anhydrobase 와의 평형으로 보라색을 나타내며, pH 5.0 이상의 조건에서는 quinoidal base가 우세한 구조 형태로 청색이 나타나는 것으로 알려져 있다<sup>(15)</sup>. 유색미 색소용액을 상온에서 여러 pH로 저장하면서 조사한 흡광도의 변화는 Fig. 1과 같다. pH 2.0과 3.0의 산성조건에서는 저장기간에 따라 흡광도가 느리게 감소하는데 비해 pH 5.0 이상의 염기성 조건에서는 흡광도가 급격히 감소함을 보였다. 각 pH 조건에서의 반감기를 계산한 결과, pH 2.0과 pH 3.0에서는 각각 약 36일과 17일로 나타나, 산성조건에서는 상당히 안정한 것으로 나타났으며, 중성과 염기성 조건에서는 모두 24시간 이내의 반감기를 보였다. 안토시아닌 흡광도의 증가와 감소는 pH의 변화에 따라 매우 민감하게 나타나며 산성 조건일수록 더욱 흡광도가 증가 되는 것으로 보고 되어있는데<sup>(16)</sup> 본 실험의 경우 저장 초기에 pH 2.0 (A=1.404)에서의 흡광도가 이 pH 3.0 (A=0.892)에서의 흡광도보다 약 1.57배 높았다.

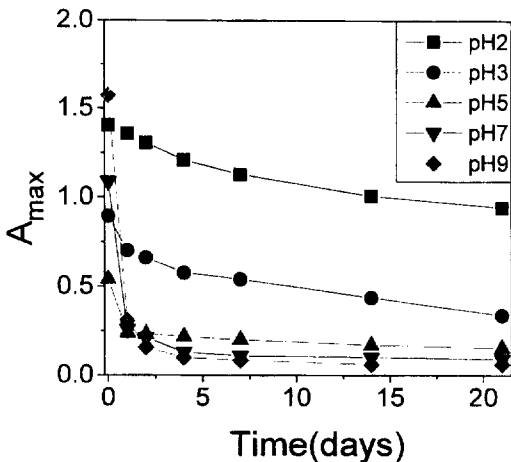


Fig. 1. Stability of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety at various pHs. Anthocyanin preparations were dissolved in 0.1 M phosphate (pH 2.0 and pH 7.0), 0.1 M citrate (pH 3.0), 0.1 M acetate (pH 5.0), and 0.1 M CHES (pH 9.0) buffers at 25°C and measured for absorbance changes at absorption maxima of each pHs during storage periods for 21 days.

온도의 영향

유색미 색소의 열안정성을 알아보기로 안토시아닌 색소용액을 pH 3.0과 pH 9.0으로 조정하여 제조된 시료를 95°C, 75°C, 50°C와 25°C에서 보관하면서 유색미 안토시아닌 색소의 열에 의한 분해를 조사하였으며 분해속도상수와 반감기를 계산한 결과는 Table 1과 같다. pH 3.0에서는 색소분해의 반감기가 95°C에서 7.4 시간, 75°C에서는 23.5시간, 50°C에서는 96.2시간으로

Table 1. Rate constants and half-life values of the thermal degradation reactions for anthocyanins from a Korean pigmented rice variety in acidic (pH 3.0) and alkaline (pH 9.0) solutions at different temperatures

Temperature (°C)	Rate constant (min <sup>-1</sup> × 10 <sup>2</sup> )		Half-life (hr)	
	pH 3.0	pH 9.0	pH 3.0	pH 9.0
95	0.156	6.87	7.4	0.168
75	0.049	2.04	23.5	0.566
50	0.012	0.864	96.2	1.68
25	0.004		288	

유색미 안토시아닌 색소는 산성 조건에서 열에 대하여 비교적 안정함을 알 수 있었고, pH 9.0의 조건에서는 불안정하여 95°C에서 0.168시간, 75°C에서, 0.566시간, 50°C에서 1.68시간의 반감기를 보였다. 이러한 결과는 본 실험실에서 행한 유색미로부터 분리한 cyanidin-3-glucoside의 열안정성 실험 결과와 거의 일치하였다<sup>(11)</sup>. 또한 pH가 낮을수록 안토시아닌이 더 안정하다는 보고<sup>(13)</sup>와 박 등<sup>(14)</sup>의 딸기 안토시아닌의 열안정성 연구 결과와 일치하였다. Markakis<sup>(5)</sup>에 의하면 안토시아닌은 열에 의한 ring의 개방으로 colorless chalcone이 형성된 후 당이 떨어져 나오면서 분해가 진행된다고 하며, Adams<sup>(15)</sup>는 안토시아닌이 chalcone으로 변화되면서 당이 떨어져 나온후  $\alpha$ -diketone을 형성하여 분해가 진행된다고 한다. 안토시아닌이 분해될 때 형성되는 ketone이 결과적으로 갈색의 침전을 일으키게 된다<sup>(14)</sup>. 안토시아닌의 열분해는 1차반응을 따르며, 유색미의 주요 안토시아닌인 cyanidin 3-glucoside의 분해반응도 1차 반응에 의해 이루어 진다고 알려져 있다<sup>(11,16)</sup>.

금속이온의 영향

금속이온의 영향을 조사하기 위하여 pH 3.0과 pH 9.0인 0.1 M 완충용액에 1가 이온 (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>, Ag<sup>+</sup>), 2가 이온 (Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Cs<sup>2+</sup>), 및 3가 이온 (Al<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup>)용액을 10 mM과 100 mM이 되도록 첨가하여 시료를 제조하였다. pH 3.0에서는 모든 금속이온이 침전을 형성하지 않았으나 Ag<sup>+</sup> 이온은 침전을 형성하여 실험에서 제외하였다. pH 9.0 조건에서 Ba<sup>2+</sup>와 Ca<sup>2+</sup>를 제외한 금속이온은 흡광도를 높여주었

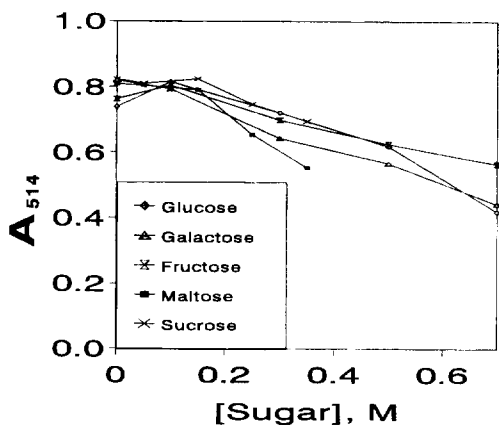
으나, 하루 이내에 대부분의 금속이온이 안토시아닌과 침전물을 형성하여 안정성 실험에서 제외하였다. pH 3.0에서는 첨가한 금속이온의 대부분이 대조군보다 흡광도를 높여주었고, 양이온 1가, 2가, 3가로 갈수록 흡광도의 증가도가 커졌으며 이온의 농도는 10 mM 첨가시 보다 100 mM 첨가시 더 높은 흡광도를 보여주었다(Table 2). Mn<sup>2+</sup>을 제외한 2가 이상의 금속이온들은 100 mM 첨가시 25°C에서 21일간 저장후에도 높은 흡광도를 나타내어 유색미 안토시아닌의 안정화 효과가 뛰어난 것으로 생각된다. 이러한 유색미 색소의 금속 양이온에 의한 농색화 및 안정화 현상은 금속이온과 안토시아닌이 혼합물(metalo-anthocyanin)을 이루기 때문으로 알려져있는데<sup>(17)</sup>, 특히 3가 이온의 효과가 커서 pH 3.0 이하의 조건에서는 안토시아닌의 구조가 매우 안정화 되어 적색을 띠며, pH 4.0 이상의 경우는 bathochromic shift가 일어나 청색을 나타낸다고 보고되어 있다<sup>(17,18)</sup>. 다른 금속 이온들과 다르게 Mn<sup>2+</sup>은 안토시아닌을 불안정하게 하여 저장기간 중에 흡광도의 감소가 현저히 빠른 것으로 나타났으며, 이온의 농도가 높아지면 Fe<sup>3+</sup>의 경우 침전이 생기기도 하였다. 각 이온들 중 K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>를 선택하여 pH 3.0에서 90°C, 80°C와 70°C에서 보관하면서 안토시아닌 색소 분해의 속도상수와 반감기를 조사하였으며 그 결과는 Table 3과 같다. 대조군과 금속이온 첨가군의 색소분해 속도와 반감기를 비교해 보면 금속이온 첨가로 안토시아닌 색소의 열에 의한 분해가 촉진되는 것으로 나타났다. 그러나 금속이온 첨가군의 농색화 현상에 의해 초기 흡광도값이 커지므로 안토시아닌 색소의 빠른 분해에

**Table 2. Effect of metal ions on the retention of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety during storage at 25°C (pH 3.0)**

		Amax													
Concentration		10 mM							100 mM						
Metal ion	Storage Time (days)	0	0.5	1	3	7	16	21	0	0.5	1	3	7	16	21
		Control	0.836	0.587	0.576	0.478	0.391	0.252	0.173	0.863	0.587	0.576	0.478	0.391	0.252
Na <sup>+</sup>	0.920	0.686	0.661	0.517	0.473	0.199	0.161	1.130	0.750	0.741	0.623	0.545	0.357	0.311	
K <sup>+</sup>	1.068	0.689	0.67	0.570	0.521	0.310	0.260	1.017	0.726	0.723	0.623	0.556	0.338	0.281	
Li <sup>+</sup>	0.999	0.700	0.685	0.587	0.539	0.355	0.285	1.062	0.712	0.704	0.59	0.522	0.396	0.333	
Cu <sup>2+</sup>	1.021	0.787	0.770	0.674	0.622	0.439	0.361	0.836	0.787	1.220	1.052	0.886	0.543	0.400	
Mn <sup>2+</sup>	1.045	0.708	0.670	0.517	0.382	0.228	0.170	1.348	0.708	0.648	0.200	0.098	0.024	0.018	
Ca <sup>2+</sup>	1.089	0.748	0.737	0.649	0.564	0.427	0.382	1.341	0.748	0.940	0.830	0.753	0.637	0.564	
Zn <sup>2+</sup>	1.091	0.791	0.764	0.666	0.589	0.421	0.353	1.561	0.791	1.093	0.958	0.853	0.567	0.584	
Ni <sup>2+</sup>	1.022	0.806	0.786	0.692	0.635	0.352	0.389	1.923	0.806	1.263	1.116	1.041	0.908	0.825	
Mg <sup>2+</sup>	1.182	0.742	0.706	0.615	0.537	0.461	0.297	1.292	0.742	0.912	0.798	0.706	0.547	0.481	
Ba <sup>2+</sup>	0.982	0.66	0.648	0.546	0.490	0.312	0.261	1.336	0.660	0.920	0.800	0.729	0.588	0.532	
Al <sup>3+</sup>	1.333	0.976	0.958	0.834	0.726	0.547	0.460	2.508	1.635	1.501	1.478	1.438	1.349	1.255	

**Table 3. Rate constants and half-life values of the thermal degradation reactions of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety in acidic (pH 3.0, 25°C) solution with various metal ions (10 mM)**

Temperature (°C)	Rate constant (min <sup>-1</sup> × 10 <sup>3</sup> )				Half-life (hr)			
	Control	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	Control	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>
90	164	159	180	205	7.04	7.26	6.41	5.63
80	83	79	48	101	13.91	14.62	24.06	11.43
70	28	40	36	56	41.25	28.88	32.09	20.62
25	0.04	0.04	0.03	0.03	288.8	288.8	385.0	385.0

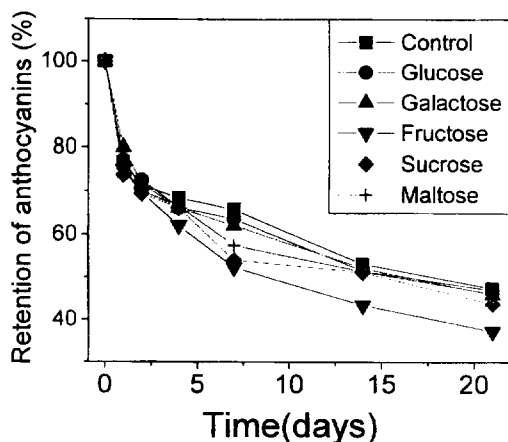


**Fig. 2. Effect of sugar concentrations on the color intensities of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety at pH 3.0.** Anthocyanin preparations in 0.1 M citrate buffer, pH 3.0 containing various concentrations of sugars were measured for absorbances at 514 nm.

도 불구하고 열처리 후의 최종 흡광도 값은 금속이온 첨가군이 대조군 보다 여전히 높아 고온저장에서도 안정화 효과가 있는 것으로 사료된다(Table 2).

**당의 영향**

Fig. 2는 3종류의 단당류와 2종류의 이당류를 첨가하였을 때 농도에 따른 유색미 안토시아닌색소의 흡광도 변화를 나타내었다. 단당류에 상관없이 단당류는 0.1 M일 경우가 흡광도를 비교적 높여 주었고, 이당류의 경우 0.15 M일 경우가 비교적 흡광도를 높여 주었다. 저장에 따른 안정화 효과를 알아보기 위하여 단당류는 0.1 M, 이당류는 0.05 M의 농도로 하여 pH 3.0으로 조정된 시료를 25°C에서 21일간 저장하면서 흡광도의 변화를 조사하였다(Fig. 3). 단당류에 따른 저장 안정성은 fructose, sucrose, galactose, maltose, glucose 순으로 안토시아닌 분해를 촉진하는 것으로 나타났다. 21일 저장시 모든 당첨가군은 대조군과 비교하였을 때 낮은 색소 잔존량을 나타냈고 특히 fructose가 매우 낮은 색소 잔존량을 보였다. 이와 같은 결과는 당이 일반적으로 안토시아닌 색소의 분해를 촉진한다는



**Fig. 3. Stability of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety in various sugar solutions (pH 3.0, 25°C).** Anthocyanin preparations in 0.1 M citrate buffer, pH 3.0, containing 0.1 M monosaccharides (glucose, galactose, and fructose) or 0.05 M disaccharide (sucrose and maltose) measured for absorbance changes at 514 nm for 21 days of storage periods at 25°C.

보고<sup>(1)</sup>와 일치하였고, 또한 fructose가 glucose, maltose, galactose, sucrose보다 안토시아닌의 분해 촉진 효과가 크다는 보고<sup>(1)</sup>와도 일치하였다. 박 등<sup>(2)</sup>은 딸기즙의 안토시아닌 색소가 당에 의해 크게 안정화 되지 않으며, glucose가 fructose보다 다소 안정화 효과가 있다고 보고하였고, 자색고구마 안토시아닌의 경우는 glucose에 의해 1.25배 정도 흡광도가 높아 졌다고 보고 하였다<sup>(3)</sup>. 양 등<sup>(4)</sup>은 오미자 안토시아닌에서 fructose, sucrose 및 glucose순으로 안토시아닌을 파괴한다고 보고하였으며 심 등<sup>(5)</sup>은 포도과피 안토시아닌에서 fructose, glucose 및 sucrose순으로 안토시아닌을 파괴한다고 보고 하였다. 따라서 안토시아닌 색소는 fructose에 의해 그 파괴가 상당히 촉진된다고 보여지며, 식품에 첨가시 이를 고려해야 한다고 사료된다.

**유기산의 영향**

유색미 안토시아닌 색소에 미네랄 유기산의 농도에 대한 영향을 조사한 결과, 유기산의 농도가 높아질수

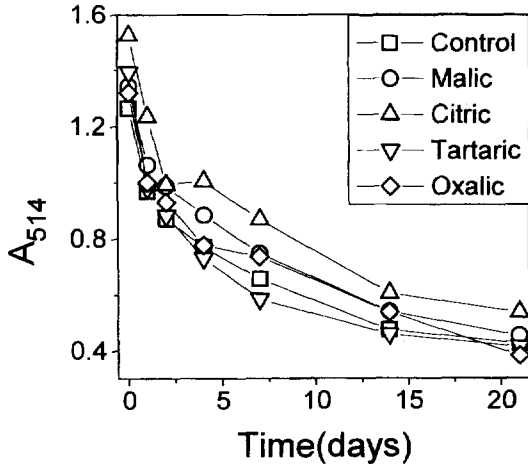


Fig. 4. Stability of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety in various organic acid solutions (0.1 M, pH 3.0, 25°C). Anthocyanin preparations in 1M glycine buffer, pH 3.0, containing various 0.1 M organic acids were measured for absorbance changes at 514 nm for 21 days of storage periods at 25°C.

록 흡광도도 같이 높아졌다. 이 같은 결과는 유기산의 첨가로 인해 pH의 감소가 일어나 점차 흡광도의 증가가 일어나는 것으로 추정된다. 실제로 유기산을 첨가한 후 완충용액의 pH를 측정된 결과 1.0에서 2.0사이의 pH 값을 보였다. 따라서 본 실험에서는 pH 3.0 완충용액의 농도를 1 M로 하고 유기산의 농도를 0.1 M로 하여 유기산에 의한 pH의 감소를 최소화 한 뒤, 이 용액을 pH 3.0으로 재조정하여 25°C에서 21일간 저장하면서 각 유기산의 영향을 조사하였으며 결과는 Fig. 4와 같다. 대조군에 비해 유기산 첨가에 의해 대체로 흡광도가 증가하였고 이 경향은 저장기간 동안 비교적 안정하게 유지되었다. Citric acid는 대조군에 비해 가장 높은 흡광도를 유지하여 안정성을 증진시키는 효과가 큰 것으로 나타났으며 tartaric acid는 대조군보다 흡광도를 감소시키는 결과를 보여주었다. 이 결과는 이 등<sup>(6)</sup>이 보고한 자색고구마의 안정성 연구 결과와 일치하였다.

#### 빛의 영향

pH 3.0으로 조정된 색소 용액에 20,000 lux의 백색광을 조사하면서 25°C에서 4일간 흡광도의 감소를 측정하였다. 대조군으로서 은박지로 빛을 차단한 시료를 같은 조건에서 흡광도의 변화를 조사하였으며 그 결과는 Fig. 5와 같다. 유색미 안토시아닌 색소는 빛에 의해 1차 반응으로 분해되었고 20,000 lux의 빛에서 색소 분해의 반감기는 0.584일( $k=28.5 \text{ hr}^{-1}$ ), 즉 14시간

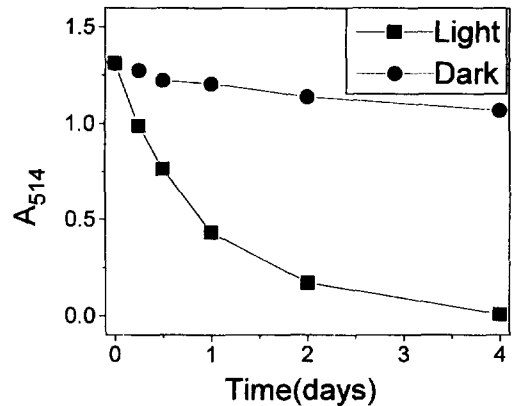


Fig. 5. Effect of light on anthocyanins from a Korean pigmented rice variety at pH 3.0. Anthocyanin preparation in 0.1 M citrate buffer, pH 3.0 were irradiated with fluorescent lamp (20,000 lux) at 25°C and measured absorbance changes at 514 nm with 2 hr intervals.

으로, 반감기가 약 17일( $k=0.982 \text{ hr}^{-1}$ )이 되는 대조군의 시료보다 29배 빨리 분해되었다. 이러한 결과는 자색고구마 안토시아닌<sup>(6)</sup> 및 포도 안토시아닌<sup>(21)</sup> 실험결과와 거의 일치하였다.

#### 요 약

유용한 천연색소원으로서, 한국산 유색미에서 안토시아닌을 분리하여 pH, 온도, 금속이온, 당 및 유기산에 대한 안정성을 조사하였다. 몇가지 pH 조건에서 21일간 저장하였을 때, pH 2.0와 pH 3.0에서는 안토시아닌의 반감기가 약 36일과 17일로 나타났으며 중성과 염기성 pH에서는 하루 이내에 거의 분해되는 것으로 나타나 산성조건의 식품에서는 안정하게 이용될 수 있음을 시사하였다. 온도의 영향에 대한 실험 결과, 반감기가 95°C에서 7.4시간(pH 3.0)과 0.17시간(pH 9.0), 75°C에서 23.6시간(pH 3.0), 0.57시간(pH 9.0), 50°C에서는 96.3시간(pH 3.0), 1.7시간(pH 9.0)으로 산성조건에서는 열에 대해서도 비교적 안정하였다. 금속이온 첨가에 따른 농색화 효과는 1가, 2가, 3가로 갈수록 높아졌으며 농도가 10 mM보다 100 mM 첨가시 더 높은 흡광도를 보였고, 2가이상의 금속이온들은 대부분 높은 안정화 효과를 보였다. 당 농도의 경우 단당류는 0.1 M, 이당류는 0.15 M 일때가 가장 높은 농색화 효과를 보여주었으나, 저장하는 동안 fructose가 안토시아닌 분해를 가장 촉진하는 것으로 나타났고, 당 첨가군은 모두 대조군보다 낮은 색소 잔존량을 보여주었다. 유기산 용액의 pH를 3.0으로 고정하여 몇가지 유

기산의 영향을 조사한 결과, citric acid가 가장 농색화 및 안정화 효과가 있었으며, tartaric acid 첨가군은 대조군보다 불안정하였다. 20,000 lux의 빛에 노출시켜 빛이 미치는 영향을 조사한 결과, 유색미 안토시아닌의 반감기가 약 14시간으로 나타나 빛에 매우 민감함을 알 수 있었다.

### 감사의 글

본 연구는 1995-1998년도 농림수산부 첨단농업기술 지원사업비에 의하여 이루어 졌으며, 연구비 지원에 감사를 드립니다.

### 문헌

1. Jackman, R.L., Yada, R.Y., Tung, M.A. and Speers, R. A.: Anthocyanins as food colorants a review. *J. Food Biochem.*, **11**, 201 (1987)
2. Francis, F.J.: Future trends. In *Developments in Food Colors-2*. Walford, J. (Ed.), Applied Science Publishers, New York, p.233
3. 한국식품연감-식품첨가물, 272, 농수축산신문 (1995)
4. Francis, F.J.: Food Colorants: Anthocyanins. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **28**, 273 (1989)
5. Markakis, P.: Anthocyanins and their stability in foods. *Crit. Rev. Food Technol.*, **4**, 437 (1974)
6. Francis, F.J.: Anthocyanins as food colors. *J. Food Technol.*, **29**, 52 (1975)
7. Eskin, N.A.M.: *Plant Pigments, Flavors and Textures: The Chemistry and Biochemistry of Selected Compounds*, Academic Press, New York, p.228 (1979)
8. 이란숙, 임종환, 김선재, 정병춘 : 자색고구마 색소의 안정성에 관한 연구. *한국식품과학회지*, **28**, 352 (1996)
9. Yoon, H.-H., Paik, Y.-S., Kim, J.-B. and Hahn, T.-R.: Identification of anthocyanins from Korean pigmented rice. *Agric. Chem. Biotech.*, **38**, 581 (1995)

10. Cho, M.-H., Paik, Y.-S., Yoon, H.-H., and Hahn, T.-R.: Chemical structure of the major color component from a Korean pigmented rice variety. *Agric. Chem. Biotech.*, **39**, 304 (1996)
11. Cho, M.-H., Yoon, H.-H. and Hahn, T.-R.: Thermal stability of the major color component, cyanidin 3-glucoside, from a Korean pigmented rice variety in aqueous solution. *Agric. Chem. Biotech.*, **39**, 245 (1996)
12. Mazza, G. and Brouillard, R.J.: Color stability and structural transformations of cyanidin 3,5-diglucoside and four 3-deoxyanthocyanins in aqueous solutions. *Agric. Food Chem.*, **35**, 422 (1987)
13. Francis, F.J.: A new group of food colorants. *Trends in Food Sci. Tech.*, **3**, 27 (1992)
14. 박성준, 이재하, 임재호, 권경섭, 장희규, 유무영 : 딸기 잼의 안토시아닌과 Spreadmeter치의 가열 및 저장중 변화. *한국식품과학회지*, **26**, 365 (1994)
15. Adams, J.B.: Thermal degradation of anthocyanins with particular reference to the 3-glycosides of cyanidin I. In acidified aqueous solution at 100°C. *J. Sci. Food Agric.*, **24**, 747 (1973)
16. Wrolstad, R. E., Putman, T. P. and Varseveld, G.W.: Color quality of frozen strawberries: Effect of anthocyanin, pH, total acidity and ascorbic acid variability. *J. Food Sci.*, **35**, 448 (1970)
17. Harborne, J.B.: *The Flavonoids Advances in Research: Molecular Complexes*. Chapman & Hall, p.582 (1994)
18. Asen, S., Norris, K.H. and Stewart, R.N.: Absorption spectra and color of aluminum-cyanin 3-glucoside complexes as influenced by pH. *Phytochemistry*, **8**, 653 (1969)
19. 양희천, 이종분, 송기걸 : 재배오미자의 anthocyanin과 그의 안정성에 관하여. *한국농화학회지*, **25**, 35 (1982)
20. 심기환, 강갑석, 최진상, 서권일, 문주석 : 포도과피 anthocyanin 색소의 분리 및 안정성. *한국영양식량학회지*, **23**, 279 (1994)
21. Palamidis, N. and Markakis, P.: Stability of grape anthocyanin in a carbonated beverage. *J. Food Sci.*, **40**, 1047 (1975)

(1996년 12월 19일 접수)