

거봉(Black Olympia) 포도과피로부터 분리된 Anthocyanin색소의 저장안정성

홍주헌 · 정현식* · 우 흥** · 윤광섭***

경북대학교 식품공학과, *경북대학교 식품생물산업연구소, **경산대학교 자연과학부,

***대구가톨릭대학교 식품공학과

Storage Stability of Anthocyanin Pigment Isolated from a Wasted Grape Peels

Joo-Heon Hong, Hun-Sik Chung*, Hong U** and Kwang-Sup Youn***

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

*Food and Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

**Faculty of Natural Science, Kyungsan University, Kyungsan 712-715, Korea

***Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Kyungsan 712-702, Korea

Abstract

To develop the use of natural pigment for food, anthocyanins were isolated from grape peels which were wasted much in Korea, and their characteristics were as follows. pH has a marked influences on the color of the grape peels anthocyanin solution(GPAS). At low pH the color of GPAS was more stable than high pH. With increasing pH the color gradually fades as colorless pseudobases are formed. It showed characteristic bathochromic shift as the solution increased. Among the sugars tested, glucose showed the most protective effect on the color of GPAS to raise the color stability, while fructose showed an adverse effect. Organic acid such as citric acid prevented the degradation of anthocyanin, but ascorbic acid lowered stability of color considerably. The effect of light on GPAS was found to be very deleterious. The pigment degradation can be minimized by shielding the light from the pigment solution.

Key words : anthocyanin, stability, pigment, grape peels

서론

Anthocyanin은 식물계에 매우 광범위하게 분포되어 있는 수용성 적색색소의 일종이다. 많은 과실류나 채소류, 꽃 등이 붉은색, 푸른색, 자주색, 분홍색 등을 띠는데 이는 세포액중에 존재하는 바로 이 수용성 화합물 때문이다. 현재 인공 식품착색제가 인체에 미치는 유해성 때문에 식품의 사용이 점차 규제가 되고 있는 실정이라서 anthocyanin과 같은 천연 식품착색물질의 중요성이 새삼 강조되고 있다(1-3). 각종 식품에 함유되어 있는 anthocyanin색소함량을 살펴보면 가지, 토란 등에는 15 mg% 전후로 매우 적지만 cranberry, blackberry 등은 60~330 mg%, beauty seedless를 제외한 포도 품종에는 건물로 약 3.1-11 g%로 상당히 많이 함유되어 있다(4). Anthocyanin은 그 특성상 산성의 수용성 식품에 용도가 제한되는 단점은 있으나 천연색소 중에서 현재 가장 많

이 사용되고 있다. 그러나 anthocyanin은 구조적으로 매우 불안정한 oxonium화합물이라 anthocyanin을 함유하는 식품의 가공과정이나 저장 시 여러 인자에 의해서 변색이나 퇴색 또는 색소가 파괴되어 식품의 품질저하의 원인이 되고 있다. 따라서 anthocyanin의 안정성에 영향을 미치는 인자와 이들에 대한 anthocyanin색소의 변색기작의 규명은 이 색소를 함유하는 식품들의 품질향상과 anthocyanin색소의 이용면에 있어 매우 중요한 연구과제이다(5,6).

Anthocyanin색소의 안정성에 영향을 미치는 인자들 중에는 pH, 온도, 당 및 당 분해물, 유기산, 광, 금속이온, ascorbic acid, 효소 등이 있는데, 새로운 anthocyanin 소재를 사용하여 천연식품색소로 이용하기 위해서는 anthocyanin 색소에 미치는 이들 인자들의 영향을 규명하는 것이 필수적이다(7-11).

본 연구에서는 농산물의 폐자원의 이용 가능성을 검토하고자 다른 과실에 비하여 월등하게 많은 anthocyanin을 함유하고 있는 포도품종 중 탄닌함량이 적어 최근 포도주 가공으로의 이용이 증가되고 있는 거봉(巨峰, 교호)포도 과피에서 anthocyanin 색소를 분리 및 정제하고, 분리된 천연색소의 저장안정성을 조사하였다.

Corresponding author : Kwang-Sup Youn, Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, 330 Kumrak 1-ri, Hayang-up, Kyungsan 712-702, Korea
E-mail:ksyoun@cataegu.ac.kr

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 재료는 경기도 안성시에서 수확된 거봉포도에서 껍질을 회수하여 열풍건조후 분쇄하여 -18°C 에서 보관하면서 사용하였다.

Anthocyanin 색소의 추출 및 정제

거봉포도과피에 있는 anthocyanin 색소를 추출하기 위하여 100g의 시료를 Fluki와 Francis(12)가 제안한 방법에 따라 1% HCl을 함유하는 methanol 용액을 시료가 완전히 잠기도록 가하여 4°C 의 암소에서 24시간 방치하면서 색소를 추출한 후 whatman No. 1 여과지를 사용한 buchner funnel을 통하여 흡인 여과하였으며 잔사는 거봉포도과피 색소가 완전히 제거될 때까지 동일 용매를 사용하여 반복 추출하였다. 이렇게 얻어진 색소 추출액을 모두 모아서 anthocyanin 색소의 정제용 시료로 사용하였다. 이 정제용 시료를 rotary vacuum evaporator를 사용하여 40°C 에서 농축한 후 농축액을 분액여두를 사용하여 petroleum ether로 지질성분을 제거하는 과정을 3회 반복하여 실시하였다. 이렇게 얻어진 색소추출액 중에 남아 있는 anthocyanin 이외에 다른 불순물을 제거하기 위하여 염기성 초산납으로 처리한 후 이를 0.5N NaOH를 사용하여 pH 7.0으로 조절하고 원심분리하였다. 침전물을 증류수와 methanol로 수세한 다음 1% HCl을 함유하는 methanol을 가한 후 rotary vacuum evaporator를 사용하여 색소가 완전히 건조될 때까지 감압농축하였다. 이를 다시 300 mL의 0.1% HCl을 함유하는 methanol로 용해시켜 표준색소액을 제조하여 냉장고에 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

pH 조절

거봉포도과피 색소의 안정성에 대한 pH의 영향을 조사하기 위하여 완충용액을 사용하여 pH를 1.0~7.0로 조절하였다. pH 1.0과 2.0은 Clark-Lubs 완충용액 (0.2M KCl + 0.2M HCl)을, pH 3.0~7.0까지는 MacIrvine 완충용액(0.1M citric acid + 0.2M Na_2HPO_4)을 사용하였다. 표준색소액을 각각의 pH 용액으로 20배 희석하여 cap test tube에 20 mL씩 넣고 밀봉한 후 상온에 15일간 보관하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 spectrophotometer를 사용하여 흡광도 변화를 측정하였다. 이때 흡광도는 각 pH로 조절된 색소용액의 최대흡광도를 나타내는 파장에서 측정하였다.

당류의 조절

거봉포도과피 색소의 저장안정성에 대한 당의 종류 및 농도에 따른 영향을 조사하기 위하여 pH 3.0의 완충용액으로 20배 희석한 표준색소액에 glucose, galactose, fructose, maltose,

sucrose를 0.1, 0.3, 0.5 M이 되도록 용해시킨 후 15일간 저장하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 521 nm에서 흡광도를 측정하였다.

유기산의 조절

유기산이 거봉포도과피 색소의 저장 안정성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 음료가공시 많이 사용되는 citric acid, ascorbic acid를 사용하여 pH 3.0의 완충용액으로 20배 희석한 표준색소액에 유기산 농도가 0.1, 0.5, 1.0 M이 되도록 각각의 유기산을 첨가한 후 15일간 저장하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 521 nm에서 흡광도를 측정하였다.

빛의 조절

거봉포도과피 색소의 저장 안정성에 대한 빛의 영향을 조사하기 위하여 pH 3.0의 완충용액으로 20배 희석한 표준색소액을 cap test tube에 넣고 밀봉한 후 일부는 일광에 노출시켜 상온에 보관하였고, 나머지는 빛을 차단하기 위하여 aluminum foil에 싸 후 암소에 보관하면서 색소액의 변화를 15일간 저장하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 521nm에서 흡광도를 측정하여 비교하였다.

결과 및 고찰

pH에 따른 저장안정성

표준색소용액을 각각의 pH를 갖는 완충용액으로 희석하여 pH를 조절한 결과는 Table 1에 나타내었다. 색소용액의 pH는 사용한 완충용액의 pH보다 다소 높은 값을 나타내어 색소용액에 의한 희석효과를 보였으며, 이들 색소용액에 대한 absorption spectrum을 분광광도계를 사용하여 조사한 결과, 이들 색소용액의 최대흡수파장이 장파장쪽으로 이동하는 bathochromic shift 현상이 관찰되었다. 이러한 bathochromic shift는 anthocyanin 색소에서 흔히 발견되는 특징적인 현상인 것으로 알려져 있다. 또한 각 pH로 조절된 색소용액의 색의 강도는 pH가 증가할수록 낮아지는 경향을 나타냈는데 이러한 현상은 pH가 낮은 용액에서는 anthocyanin이 적색을 띠는 flavylium 양이온이 양자를 잃게 되어 옅은 자색 또는 청색을 띠는 quinoidal anhydrobase를 형성하고, pH가 중성부근에 접근하면서 무색의 carbinol pseudobase를 형성하기 때문인 것으로 보고되고 있다(6). Anthocyanin 색소에 대한 pH의 이러한 영향 때문에 anthocyanin을 함유하는 대부분의 색소는 pH가 4이하인 식품에서 주로 사용되고 있다. 각 pH로 조절된 거봉포도과피 색소용액을 상온에 15일간 보관하면서 색소의 안정성에 대한 pH의 영향을 조사한 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. pH가 2이하의 강산성인 경우가 2이상의 경우보다 색소의 안정성이 우수한 것으로 나타났으며, 각 pH별 저

장기간에 따른 변화는 크지 않았는데 이러한 결과는 양(13) 등의 오미자 anthocyanin의 경우와 유사하였다.

Table 1. Effect of pH on the change of maximum wavelength of grape anthocyanin solution

pH of buffer	Actual pH	Max. wavelength (nm)
1.0	1.43	519
2.0	2.12	520
3.0	3.22	521
4.0	4.13	524
5.0	5.14	526
6.0	6.11	557
7.0	7.11	557

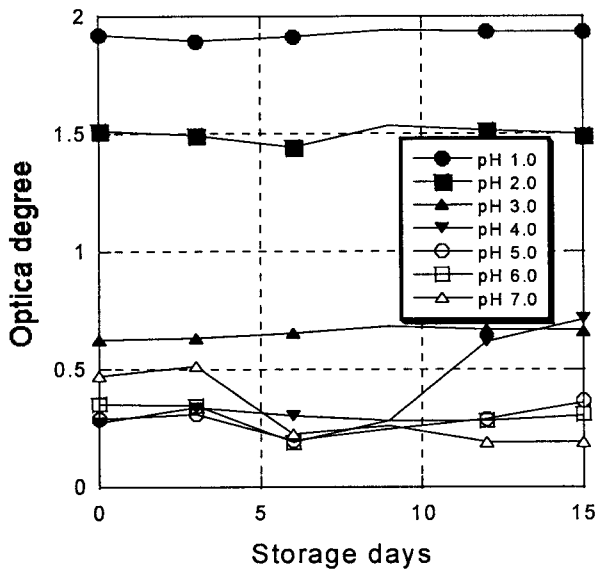


Fig. 1. Effect of pH on the stability of anthocyanin extracted from grape peels.

당류의 첨가에 따른 저장안정성

당의 종류와 첨가농도에 따른 거봉포도 과피의 색깔강도에 대한 영향은 Fig. 2에 나타내었다. 전반적으로 색깔의 강도는 당의 농도가 증가함에 따라 감소하였으나 그 정도는 사용한 당의 종류에 따라 차이가 있었다. 당의 첨가에 의한 농색화 현상은 glucose, galactose, mannose의 경우는 0.3 M 농도에서 가장 높은 값을 보였으며, 전반적으로 0.3 M 농도에서는 대조구보다 색깔강도가 강해짐을 알 수 있었다. 반면, fructose의 경우는 당의 농도가 증가함에 따라 농색화 현상도 강해졌다. 색깔강도가 가장 높았던 0.3 M 농도의 색소용액을 사용하여 거봉포도과피 색소의 저장 안정성을 조사한 결과는 Fig. 3과 같았다. Anthocyanin색소의 저장안정성에 기여하는 정도는 glucose, mannose 순이었으며, 저장 12일 이후에는 glucose, sucrose를 제외한 당에서 색깔강도가 급격히 감소함을 나타내었다. 완충용액이 아닌 증류수를 이용하여 20배 희

석한 색소용액에 대한 당첨가 효과는 Fig. 4에 나타내었다. glucose, galactose를 0.1 M 첨가한 처리구가 무첨가 대조구 보다 색소 안정성이 유지되었으며, galactose보다 glucose가 보다 효과적이었다. 주(10)는 나무딸기의 anthocyanin색소에 대한 당류 첨가 효과를 maltose, sucrose 순으로 보고한 바 있으며, 양 등(13)은 오미자 anthocyanin색소의 당용액 저장시 fructose, sucrose, glucose 순으로 anthocyanin을 파괴한다는 보고하였다. 이와 같이 anthocyanin색소에 대한 당의 첨가가 연구자에 따라 차이를 보이는 것은 사용한 원료가 상이함에 따른 anthocyanin색소의 조성상의 차이에 의한 것으로 생각된다.

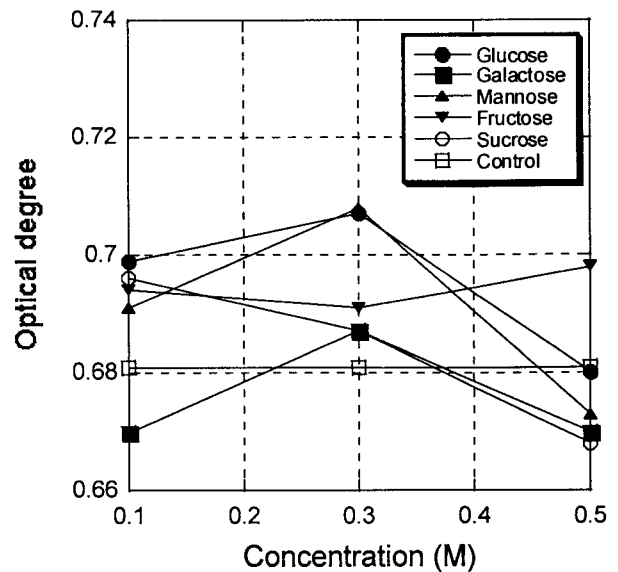


Fig. 2. Effect of sugars concentration on the color intensity of grape anthocyanin solution.

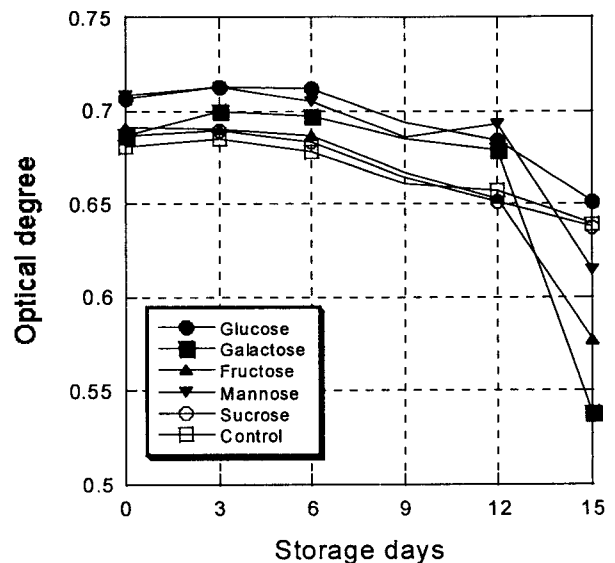


Fig. 3. Effect of sugars on the stability of anthocyanin extracted from grape peels.

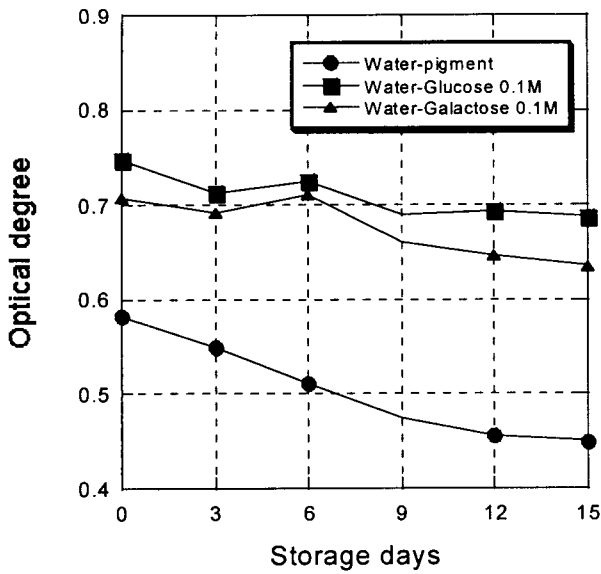


Fig. 4. Effect of water on the stability of anthocyanin extracted from grape peels.

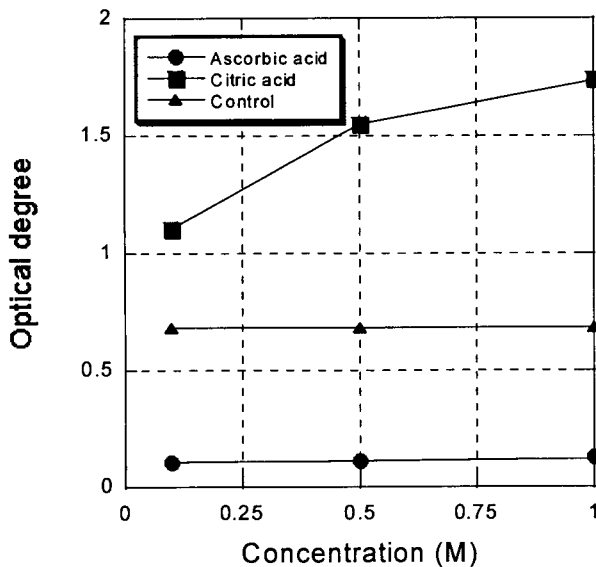


Fig. 5. Effect of organic acids concentration on the color intensity of grape anthocyanin solution.

유기산의 사용에 따른 저장안정성

음료가공시 많이 사용되는 ascorbic acid, citric acid의 첨가 농도에 따른 거봉포도과피의 anthocyanin색소에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 5에 나타내었다. citric acid의 경우 첨가 농도가 증가함에 따라 색깔의 강도는 강해졌으며, ascorbic acid를 사용한 경우는 오히려 무첨가구보다 색깔의 강도가 낮아짐을 알 수 있었다. 유기산에 대하여 색깔의 강도가 높았던 1.0 M에 대한 색소용액의 저장안정성을 조사한 결과는 Fig. 6과 같았다. 이 결과에 의하면, citric acid가 ascorbic acid를 첨

가한 색소용액보다 안정성이 뛰어났으며, 저장기간이 증가함에 따라 서서히 감소함을 알 수 있었다. ascorbic acid의 첨가는 anthocyanin색소의 안정성을 떨어뜨렸으며, 산소가 존재하는 상태에서는 anthocyanin색소의 파괴가 가속화되었다. 이러한 결과는 anthocyanin 색소의 안정성에 영향을 미치는 ascorbic acid에 관한 연구결과와 일치하였다. Grommeck(14) 등은 anthocyanin색소의 파괴에 대하여 ascorbic acid와 산소가 상승작용을 하며, ascorbic acid의 호기적 산화가 잘 일어나는 조건하에서 anthocyanin의 파괴가 가속화된다고 하였다.

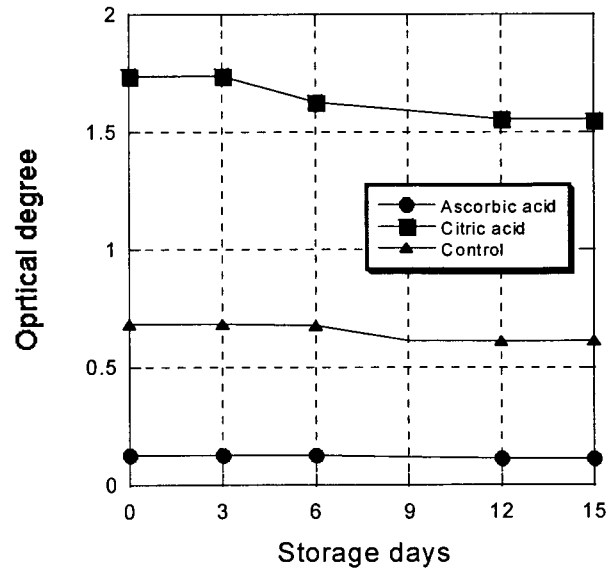


Fig. 6. Effect of organic acids on the stability of anthocyanin extracted from grape peels.

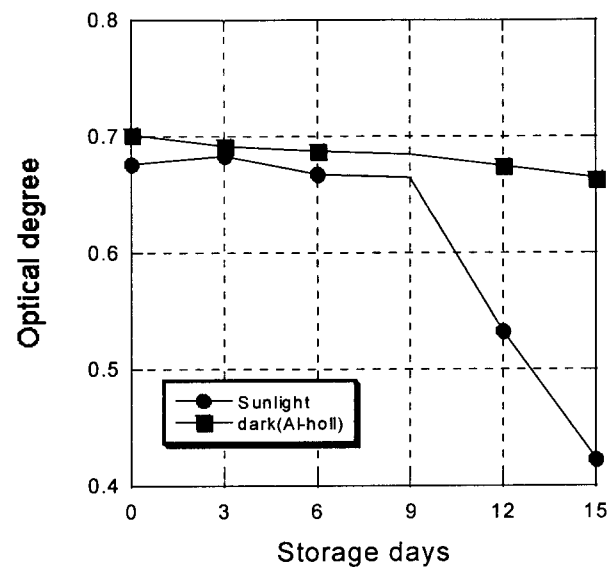


Fig. 7. Effect of lights on the stability of anthocyanin extracted from grape peels.

빛의 처리에 따른 저장안정성

거봉포도과피의 anthocyanin색소에 대한 광의 영향은 Fig. 7에 나타내었다. Aluminum foil을 이용하여 빛을 차단한 경우 anthocyanin색소의 감소율이 미비하였으나, 일광에서 저장한 경우에는 급격히 감소하여 광에 대한 안정성이 매우 낮음을 알 수 있었다. Palamidis 등(15)은 포도의 anthocyanin을 탄산음료수에 첨가하였을 경우 20℃의 광이 닿지 않는 조건에서는 135일 경과 후 30% 정도 감소하였으나, 일광에 24시간 노출시 70% 정도 손실된다고 보고하였다. 따라서 거봉포도과피의 anthocyanin색소의 안정성을 유지하기 위해서는 암조건하에서 보관하는 것이 효과적임을 알 수 있었다.

요 약

식품부산물인 포도과피에 함유된 수용성 색소인 anthocyanin을 새로운 천연식용색소로 개발하고자 pH, 당, 유기산 및 빛 등의 영향에 대한 색소안정성을 조사하였다. 포도과피의 anthocyanin 색소는 pH가 낮을수록 색깔의 강도가 높고 안정하였으며 pH가 증가함에 따라 최대흡수파장이 장파장 쪽으로 이동하는 bathochromic shift현상을 나타내었으며 저장기간에 따른 영향은 pH가 낮을수록 안정하였고 pH가 증가할수록 색소파괴가 많아지는 경향이였다. 당류처리에 따라서는 glucose, mannose 처리구가 무처리 및 다른 당류처리구보다 색소안정화에 기여하였으며, 첨가농도별 영향은 0.3M에서 가장 우수하였다. 유기산 첨가에 따른 영향은 citric acid가 ascorbic acid보다 저장안정성이 월등히 우수하여 anthocyanin색소 첨가제로 유용함을 알 수 있었다. 빛에 대한 anthocyanin색소의 안정성은 암소에서 저장하는 것이 일광에 노출된 경우 보다 안정하여 anthocyanin첨가 식품의 포장시 빛을 차단함으로써 색소안정성을 증진시킬 수 있을 것으로 판단되었다.

참고문헌

1. Francis, F.J. (1975) Anthocyanins as food colors. *J. Food Technol.*, 29, 52-54
2. Markakis, P.(1974) Anthocyanins and their stability in foods. *Crit. Rev. Food Technol.*, 28, 437-456

3. Francis, F.J. (1989) Food colorants Anthocyanins. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 28, 273-314
4. Jeana G. (1987) *Pigments in Fruits*. Academic Press Inc. 59-85
5. Kim, K.S., Lee, A.J. and Yoon, T.H (1979) Studies on the utilization of plant pigments. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 42-49
6. Yoon, J.M., Hahn T.R. and Yoon, H.H (1998) Effect of copigmentation on the stability of anthocyanins from a korean pigmented rice variety. 30, 733-738
7. Shi, Z., Lin, M. and Francis, F.J. (1992) Stability of anthocyanins from *Tradescantia pallida*. *J. Food Sci.*, 57, 758-759
8. Yoon, T.H. and Lee, S.W. (1979) Atability of anthocyanins in foods. *Korean J. Food Sci., Technol.*, 11, 63-73
9. Lee, S.Y., Cho, S.J., Lee, K.A. Byun, P.H. and Byun, S.M. (1989) Red pigment of the korean cockcomb flower : Color stability of the red pigment. *Korean J. Food Sci., Technol.*, 21, 446-452
10. Joo, K.J. (1982) Effect of saccharides on anthocyanin pigments from raspberries. *Korean J. Nutrition & Food.*, 11, 21-25
11. Lee, L.S., Rhim, J.W., Kim, S.J. and Chung B.C. (1996) Study on the stability of anthocyanin pigment extracted from purple sweet potato. *Korean J. Food Sci., Technol.*, 28, 352-359
12. Fuleki, T. and Francis, F.J. (1968) Quantitative methods for anthocyanins : Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *J. Food Sci.*, 33, 266-267
13. Yang, H.C. Lee, J.M. and Song, K.B. (1982) Anthocyanins in cultured Omi ja(*Schizandrae chinensis* Baillon) and its stability. *J. Korean Agricultural Chem., Society*, 25, 35-43
14. Grommeck, R. and Markakis, P. (1964) The effect of peroxidase on anthocyanin pigments. *J. Food Sci.*, 29, 53-56
15. Palamidis, N. and Markakis, P. (1975) Stability of grape anthocyanin in a carbonated beverage. *J. Food Sci.*, 40, 1047-1050