

오디 색소의 안정성

강창수 · 마상조* · 조원대** · 김진만***†

해전대학 호텔제과제빵과, *광주보건대학 식품생명과학과

농협대학, *고려대학교 병설 보건대학 식품영양과

Stability of Anthocyanin Pigment Extracted from Mulberry Fruit

Chang-Soo Kang, Sang-Jo Ma*, Won-Dai Cho** and Jin-Man Kim***†

Dept. of Hotel Baking Technology, Hyejeon College, Hongseung 350-800, Korea

*Dept. of Food and Life, Kwangju Health College, Kwangju 411-707, Korea

**Agricultural Cooperative College, Koyang 411-707, Korea

***Dept. of Food and Nutrition, College of Health Sciences, Korea University, Seoul 136-703, Korea

Abstract

Effects of pH, sugars, organic acids, and metal ions on the stability of anthocyanin pigments extracted from mulberry (*Morus alba* L) fruit were studied. The pH had marked influences on the color of the anthocyanin pigment: i.e. the lower pH of the anthocyanin solution was, the more stable and intense of the pigment was. Among the sugars, sucrose was the most deleterious followed by fructose, glucose and maltose. Among the organic acids, maleic acid was found to be the most effective in stabilizing the pigment followed by acetic acid, citric acid and tartaric acid. Most metal ions except Cu^{+2} and Fe^{+3} were found to be effective in stabilizing the pigment.

Key words: anthocyanin, color stability, mulberry fruit

서 론

뽕나무 열매인 오디는 색소를 다량 함유한 과실로 포도나 사과와는 달리 과피뿐만 아니라 과육에도 색소를 함유하고 있다. 뽕나무 잎은 그동안 누에의 사료로 이용되어 왔지만, 최근에 잠엽의 침체로 뽕나무 잎의 소비가 줄어들어 따라 뽕나무 재배를 포기하는 농가가 증가하는 추세이다. 따라서 뽕나무의 경제성을 제고하기 위한 다양한 방법이 마련되고 있는 가운데 오디의 식용 및 새로운 용도로의 이용방안이 적극적으로 강구되고 있다.

소과류에 대한 안토시아닌 성분분석은 그동안 많이 연구되어 왔지만 오디의 안토시아닌 성질에 대해 보고된 것은 제한적이다. 일반적으로 소과류는 안토시아닌이 주된 색소이며 작물의 종류 및 품종에 따라 색소의 조성이나 함량이 다른 것으로 알려져 있다(1).

오디는 주로 안토시아닌 계통의 색소를 가지고 있으며, 그 성분은 cyanidin-3-glucoside와 cyanidin-3-rutinoside가 대부분인 것으로 알려져 있다(2). 안토시아닌은 플라보노이드류의 일종으로 소염제, 항알러지제, 면역증강제, 항바이러스제 등의 생리활성이 있는 것으로 밝혀졌다(3-6). 안토시아닌

은 거의 모든 고등식물에 분포되어 있으며, 특히 꽃과 과실에 많이 함유되어 있어 적색, 자색 또는 청남색을 띠게 해준다. 우리나라에서 재배되는 뽕나무의 열매인 오디는 약용 및 식용으로 사용되고 있으나, 사실상 식품재료로 사용되는 경우는 매우 제한적이다. 따라서 잠재적인 식품소재로서 연구할 가치가 있다고 생각된다.

본 연구에서는 날로 감소 추세에 있는 뽕나무의 이용성을 향상시키기 위해 오디의 식품 소재화를 개발하고자, 오디 가공시 발생할 수 있는 색소의 변화정도 및 안전성을 측정하여 오디의 식품 소재화에 대한 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

색소 추출 및 정제

본 실험에서 사용한 오디는 농업과학기술원 잠사곤충부에서 기증받아 -20°C 보관하면서 사용하였다. 오디로부터 안토시아닌 색소는 100 g의 오디를 60% ethanol 1000 mL를 가하여 마쇄한 후 2시간 5°C 암소에서 방치하여 색소를 추출하였다. 추출이 끝난 후 색소를 분리하기 위해 Whatman No. 1 여과지를 사용한 Büchner funnel을 사용하여 흡인 여과하

†Corresponding author. E-mail: jmkim5418@korhealth.ac.kr
Phone: 82-2-940-2853, Fax: 82-2-941-7825

었다. 이때 얻어진 색소액을 최종 부피가 100 mL이 될 때까지 감압농축한 후, 농축액을 분액여두를 사용하여 hexane으로 지용성물질을 제거하였다. Anthocyanine이외의 다른 불순물을 제거하기 위하여 Amberlite XAD-7(2-50 mesh, Organano Co. LTD, Tokyo, Japan) column chromatography를 사용하여 Rhim과 Kim(7)의 방법에 따라 정제를 행하였다.

pH 변화에 따른 분광학적 특성

오디 색소의 pH 변화에 따른 분광학적 특성을 조사하기 위해 색소액을 pH가 3.0~7.0으로 조절된 완충용액으로 20배 희석하여 각 pH에 의한 흡수과장을 측정하여 이에 대한 흡광도를 분광광도계(Hewlett Packard, 8452A, USA)를 사용하여 측정하였다.

pH의 영향

오디 색소의 안정성에 대한 pH의 영향을 측정하기 위하여 pH 3.0~pH 7.0는 MacIvaine 완충용액(0.1 M citric acid + 0.2 M Na₂HPO₄)을 사용하였다. 앞서 제조한 색소액을 각 pH 용액으로 20배 희석하여 pH별로 cap test tube에 각각 10 mL씩 넣고 밀봉한 후 반응이 빨리 진행되도록 60°C의 incubator에 보관하면서 24시간 간격으로 시료를 취하여 분광광도계를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 이때 흡광도는 각 pH로 조절된 색소용액의 최대 흡광도를 나타내는 파장에서 측정하였다.

당류의 영향

오디 색소의 안정성에 대한 당의 영향을 측정하기 위해 pH 2.0 완충용액으로 20배 희석한 표준 색소액에 우선 glucose, galactose, fructose, maltose, sucrose를 각각 0.1, 0.5, 1.0 M이 되도록 용해시킨 후 흡광도를 526 nm에서 측정하여 당의 종류 및 농도에 따른 흡광도의 변화를 측정하였다. 다음에 이들중에서 흡광도의 값이 낮은 1.0 M 농도의 색소용액을 선택하여 저장 안정성을 각종 당류별로 60°C의 incubator에 보관하면서 24시간 간격으로 526 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

유기산의 영향

오디 색소의 안정성에 대한 유기산의 영향을 측정하기 위해 citric acid, maleic acid, tartaric acid, acetic acid, succinic acid 등 5종의 유기산을 pH 2.0의 완충용액을 사용하여 20배 희석한 표준 색소액에 0.1, 0.5, 1.0 M이 되도록 용해시킨 후 526 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 다음에 이들중에서 흡광도의 값이 높은 0.5 M 농도의 색소용액을 선택하여 저장 안정성을 각종 유기산별로 60°C의 incubator에 보관하면서 24시간 간격으로 526 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

금속이온의 영향

오디 색소의 안정성에 대한 금속이온의 Ca²⁺(CaCl₂), Al³⁺(Al₂(SO₄)₃), Mn²⁺(MnSO₄), Fe³⁺(Fe₂(SO₄)₃), Cu²⁺(CuSO₄),

Hg²⁺(HgCl₂), Mg²⁺(MgSO₄) 등 7종의 금속염을 pH 2.0인 완충용액을 사용하여 20배 희석한 표준 색소액에 금속이온의 농도가 10 ppm 및 100 ppm이 되도록 첨가한 후 526 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 다음에 10 ppm의 각종 금속이온이 첨가된 색소의 경시적 변화를 관찰하고자 60°C의 incubator에 보관하면서 24시간 간격으로 526 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

결과 및 고찰

색소의 추출

오디 색소를 추출하기 위해 에탄올의 함량을 달리하여 추출한 결과(Fig. 1), 에탄올 함량이 60%일 때 가장 높은 흡광도인 8.2를 보였으며, 70%와 50%에서의 농도에서는 6.56과 4.98의 흡광도 값을 보임에 따라 60% 농도의 에탄올에서 가장 높은 색소 추출 효과를 보임을 알 수 있었다. 또한 플라보노이드인 안토시아닌의 추출량은 Fig. 1에서 알 수 있듯이 60% 에탄올에서 90.1 µg/mL의 플라보노이드양을 보였으며, 70%와 50% 농도에서는 79.3 µg/mL과 74.3 µg/mL의 함량을 보였다.

뽕나무 열매인 오디는 다른 과실에 비해 과실 생체중 색소 함유량이 상대적으로 높은 것으로 알려져 있다. 즉, 오디는 색소를 다량 함유한 과실로 포도나 사과와는 달리 과피뿐만 아니라 과육에도 색소를 함유하고 있다(4). 따라서 오디의 색소는 경제성을 지니고 있어 식품소재로서의 활용이 가능할 것이다.

pH 변화에 따른 색소의 분광학적 특성

오디 색소 용액인 anthocyanin은 Francis 보고에 의하면 pH 변화에 따라 특징적인 변화를 보이는데, pH가 1.0~3.0일 때 적색, pH가 7.0~8.0일 때는 청색을 나타냈다. 일반적으로 안토시아닌 색소는 산성용액에서는 안토시아닌을 구성하는 수산기의 수에 따라 색깔이 orange-red에서 mauve까지 변

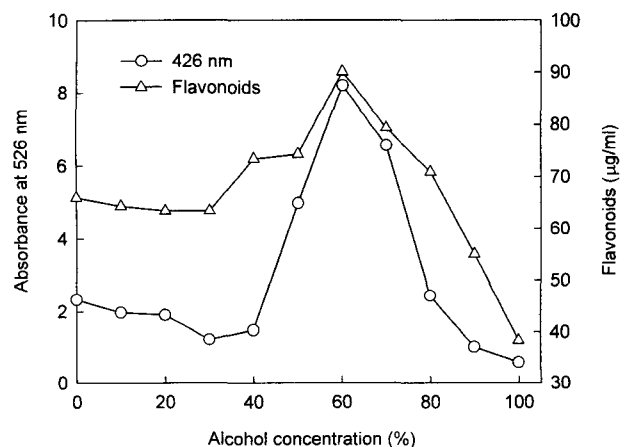


Fig. 1. Absorbance at 525 nm and flavonoids content of mulberry extract according to various concentration of alcohol.

하며 중성에서는 pseudobase가 형성되어 무색을 그리고 pH 9.0 이상에서는 anhydrobase의 형태로 되어 푸른색을 나타내어 pH 변화에 대한 지시약과 같은 작용을 한다고(8) 알려져 있는데, 오디의 색소용액도 pH의 변화에 따라 특징적인 색깔변화를 나타냈다. 오디 색소의 분광학적인 스펙트럼의 변화도에 나타낸 바와 같이 pH가 3.0에서 4.0까지 산성영역에서는 527 nm에서 최대흡수파장을 보이며, 또한 pH가 증가함에 따라 흡광도 값이 감소되어 적색의 강도가 떨어짐을 알 수 있었다. pH 5, 6, 7에서는 554 nm, 562 nm, 568 nm에서 최대흡수파장을 보이며, 중성부근에서는 적색이 사라지고 점차 색소가 청색으로 변색되는 것을 관찰할 수 있다. 이와같이 pH가 증가할수록 장파장쪽으로 이동하는 bathochromic shift 현상을 나타냈는데, 이러한 bathochromic shift 현상은 안토시아닌 색소에서 흔히 관찰되며, 결과적으로 안토시아닌 색소는 자주색에서 청색으로 변화하는 것으로 알려져 있다(9,10).

색소용액의 pH에 대한 영향은 Fig. 2에 나타난 바와 같다. 오디 색소는 산성영역에서는 적색을 띠었는데 pH가 증가할수록 적색의 강도가 감소하고 중성영역에서는 적색이 사라지고 청색으로 변색되었다. Fig. 2에서 알 수 있듯이 pH 3.0에서의 색소 강도의 변화 폭이 가장 강하였으며, pH 3.0에서 색소는 다른 pH 범위에 비해 비교적 높은 색소 강도를 유지함을 알 수 있었다.

당류의 영향

당의 종류와 첨가 농도에 따른 색소의 변화를 측정된 결과, Fig. 3에 나타난 바와같이 maltose, sucrose, fructose, glucose에 따라 색소의 강도가 감소하는 정도가 차이를 보였으나, maltose 0.1 M 첨가시 가장 높은 색소 강도를 보였다. 이는 포도 과피 안토시아닌에 대한 당류의 영향을 조사한 Shim 등(11)의 결과와도 일치한다. 또한 사용한 당의 농도가

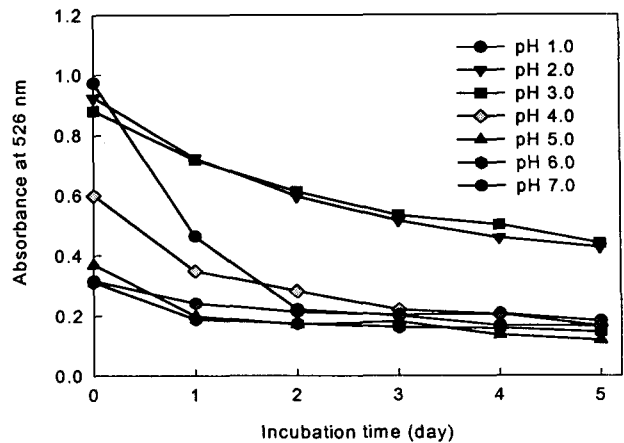


Fig. 2. Effect of pHs on the color intensity of mulberry anthocyanin solution at 60°C.

증가할수록 색소의 강도가 감소하는 경향을 보였다.

가장 색소의 강도가 높은 농도인 0.1 M에서 각 당류를 첨가한 후 경시적 변화를 측정된 결과(Fig. 4-B), sucrose 첨가시 초기에 급격히 색소의 강도가 변화하는 경향을 보였으며, 가장 색소의 강도가 감소되는 경향 또한 보였다. 반면 glucose와 maltose는 다른 당류에 비해 비교적 적은 색소 강도의 변화를 보였으므로, 이들 당을 가공시 첨가하는 것이 다른 당을 첨가하는 것보다 색소의 변화를 최소화할 수 있을 것으로 사료된다.

유기산의 영향

오디를 비롯한 과실류에는 다양한 형태의 산이 존재하여 이들 산의 종류와 산의 양에 따라 색소의 강도 및 색깔이 변화할 수 있으며, 또한 가공식품 제조시 저장성 연장을 위하여 다양한 종류의 산이 이용되므로 유기산에 대한 영향 평가가 이루어져야 한다.

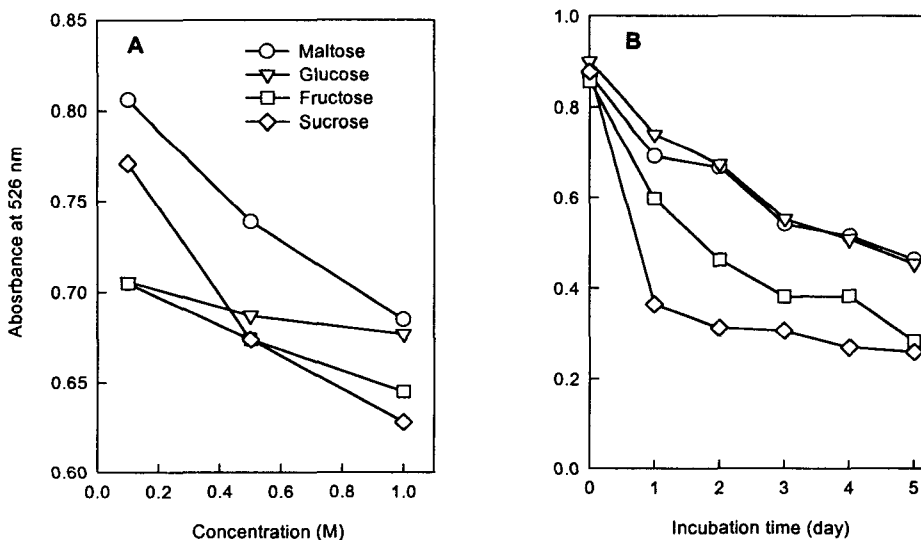


Fig. 3. Effect of sugars and their concentrations on the color intensity (A) and the stability (B) of mulberry anthocyanin solution at 60°C.

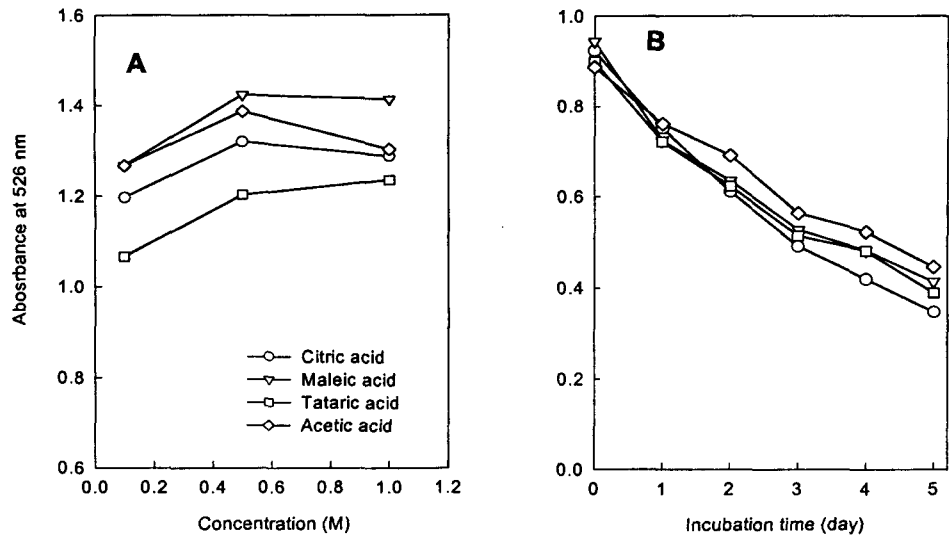


Fig. 4. Effect of organic acids and their concentrations on the color intensity (A) and the stability (B) of mulberry anthocyanin solution at 60°C.

유기산의 종류 및 첨가한 농도에 따른 오디 색소의 변화를 측정된 결과(Fig. 4-A), 각 유기산들 공히 0.5 M 첨가시 가장 높은 색소 강도를 보였으며, 일반적으로 식품 저장성 연장에 주로 많이 사용하는 citric acid 첨가시 다른 유기산 첨가에 비해 색의 강도가 비교적 높았다. 그러나 색소의 안정성을 측정된 결과(Fig. 4-B), 4개의 유기산중에 citric acid의 색의 강도 감소율이 비교적 높았으나, 유기산 간의 차이는 미미하였다.

금속이온의 영향

식품 가공시 각종 금속이온이 혼입되거나 사용하는 용기에 따라 색소의 강도와 색의 변화를 초래할 수 있으므로 금속이온, $Ca^{+2}(CaCl_2)$, $Al^{+3}(Al_2(SO_4)_3)$, $Mn^{+2}(MnSO_4)$, $Fe^{+3}(Fe_2(SO_4)_3)$, $Cu^{+2}(CuSO_4)$, $Hg^{+2}(HgCl_2)$, $Mg^{+2}(MgSO_4)$ 등 7종의 금속염을 10 ppm과 100 ppm 첨가한 결과(Fig. 5), 첨가한 7종의 금속이온에 의한 색의 강도의 변화는 각 금속이온

에 따라 약간의 차이를 보였으나, 그 차이는 미미한 것으로 보아 첨가한 금속이온은 오디의 안토시아닌에 커다란 영향을 미치지 않는 것으로 생각되며, 100 ppm보다는 10 ppm 첨가시 색의 강도가 증가하였다.

각각의 금속이온을 10 ppm의 농도로 첨가 후 경시적인 변화를 측정된 결과(Fig. 6), Cu 이온 첨가시 오디 색소의 안정성이 다른 금속이온에 비해 급격히 감소함을 알 수 있었고 Fe 이온 역시 다른 금속이온에 비해 색소의 감소율이 비교적 높았다. 식품중에 많이 함유되어 있거나, 가장 많이 첨가되는 금속이온이 칼슘의 경우 다른 금속이온에 비해 비교적 높은 색소 안정도를 보였다. 일반적으로 안토시아닌 색소는 각종 금속이온과 반응하여 착화합물을 형성(12)하는데 Sistrunl와 Cash(13)은 주석염과 알루미늄 염이 딸기색을 안정화시켰다고 하였으며, Wrolstad와 Erlandson(14)도 상기 금속염으로 처리한 딸기 퓨레가 적색으로 보존되었다고 하였다.

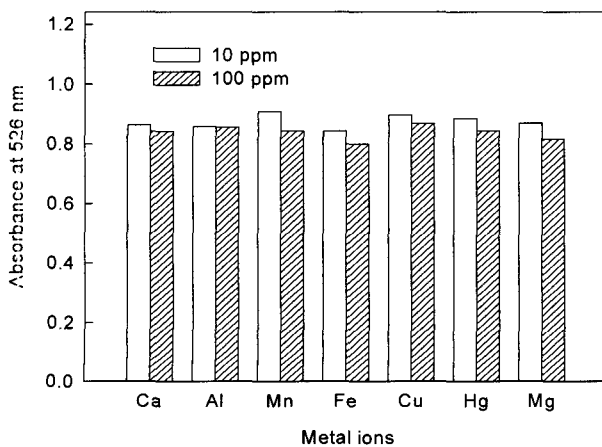


Fig. 5. Effect of metal ions on the color intensity of mulberry anthocyanin solution.

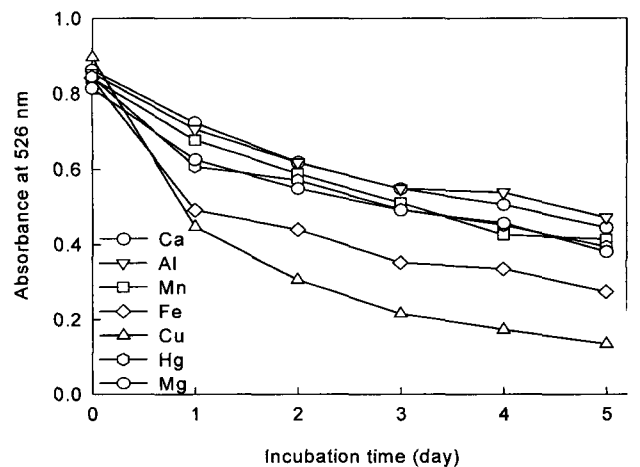


Fig. 6. Effect of metal ions on the stability of mulberry anthocyanin solution at 60°C.

요 약

오디 색소인 안토시아닌 색소의 안정성에 대한 pH, 당, 유기산, 금속이온의 영향을 조사하였다. 오디 색소는 pH가 낮을수록 색소의 강도와 안정성이 증가하였다. Glucose, fructose, sucrose 및 maltose 첨가시 sucrose 첨가에 의해 색소 강도가 가장 많이 감소하였으며, glucose와 maltose는 다른 당류에 비해 비교적 적은 색소 강도의 변화를 보였다. Citric acid, maleic acid, tartaric acid 및 acetic acid 첨가시 첨가농도가 증가할수록 색소 강도가 증가하였으며, 색소의 안정성에 대한 유기산의 첨가 효과는 maleic acid, acetic acid, citric acid, tartaric acid 순으로 나타났으며, 구리와 철 이온 첨가는 다른 금속이온에 비해 색의 강도가 감소하였다.

문 헌

1. Timberlake CF. 1981. Anthocyanins in fruits and vegetables. In *Recent Advances in The Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Friend J, Rhodes MJC, eds. Academic Press, London. p 221-247.
2. Ishikura N. 1975. A survey of anthocyanins in fruits of some Angiosperms. *Int Bot Mag* 88: 41-45.
3. Havesteen B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol* 32: 1141-1145.
4. Park SW, Jung YS, Ko KC. 1997. Quantitative analysis of anthocyanins among mulberry cultivars and their pharmacological screening. *J Kor Soc Hort Sci* 38: 722-724.
5. Rapisarda P, Tomaino A, Cascio RL, Bonina F, Pasquale AD, Saija A. 1999. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *J Agric Food Chem* 47: 4718-4723.
6. Kim SY, Park KJ, Lee WC. 1998. Antiinflammatory and antioxidative effects of *Morus* spp. fruit extract. *Korean J Medicinal Crop Sci* 6: 204-209.
7. Rhim JW, Kim SJ. 1999. Characteristics and stability of anthocyanin pigment extracted from purple-fleshed potato. *Korean J Food Sci Technol* 31: 348-355.
8. Francis FJ. 1989. Food colorants: Anthocyanins. *Crit Rev Food Sci* 28: 273-314.
9. Jackman RL, Yada RY, Tung MA, Speers RA. 1987. Anthocyanins as food colorants- a Review. *J Food Biochem* 11: 201-247.
10. Yamazaki T, Owari K, Kawasaki Y, Yamada T, Yoshihira K. 1986. Study on red color development of sweet potato epidermis by treatment with phosphate preparations. *Eisei Shikensho Hokoku* 104: 154-158.
11. Shim KH, Kang KS, Choi JS, Seo KI, Moon JS. 1994. Isolation and stability of anthocyanin pigments in grape peels. *J Kor Soc Food Nutr* 23: 279-286.
12. Kim HS, Ahn SY. 1978. Studies on the formation of anthocyanin metal complex. *J Kor Agric Chem Soc* 21: 22-30.
13. Sistrunk WA, Cash JN. 1970. The effect of certain chemicals on the color and polysaccharides of strawberry puree. *Food Technol* 24: 169-173.
14. Wrolstad RE, Erlandson JA. 1973. Effect of metal ions on the color of strawberry puree. *J Food Sci* 38: 460-463.

(2003년 4월 21일 접수; 2003년 10월 2일 채택)