

품종에 따른 포도과피의 안토시아닌 색소 조성 및 색발현의 차이

최성진^{1†}

¹대구가톨릭대학교 생명공학과

The Difference of Anthocyanin Pigment Composition and Color Expression in Fruit Skin of Several Grape Cultivars

Seong-Jin Choi^{1†}

¹Department of Biotechnology, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

Abstract

The anthocyanin pigment composition and color of several grape cultivars including Campbell Early, Muscat Bailey A, Kyoho (black berries), and North Red (red berries), were investigated. Twelve types of anthocyanins were identified in these cultivars by LC-MS. Black-colored cultivars, especially Muscat Bailey A, contained the widest range of anthocyanins, whereas the anthocyanin composition of North Red, the red-colored cultivar, was relatively simple. Anthocyanins extracted from the skin of berries were red in color at low pH, regardless of the origin of the extract. At higher pH, however, various colors, including blue, violet, brown, and black, were evident, depending on the cultivar. Differences in color expression among cultivars may be related to variations in the types and amounts of anthocyanidins synthesized, from which anthocyanin pigments are derived. The colors expressed by anthocyanin pigments were strong and diverse even at low concentrations. Therefore, anthocyanins extracted from grapes may be useful as natural food colorants.

Key words : grape, anthocyanin, anthocyanidin, color expression

서 론

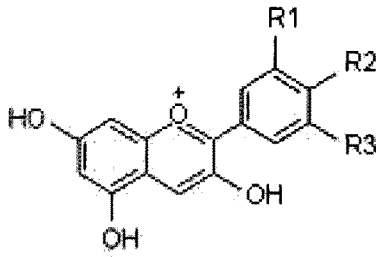
안토시아닌은 각종 식물의 잎, 꽃, 과실 등에서 적색에서 청색에 이르는 다양한 색을 발현하는 색소이다. 식물에서 600종 이상이 발견되고 있는 안토시아닌은 모두 안토시아닌 배당체로서 안토시아닌은 flavilium (2-phenylbenzopyrylim)의 기본 구조에 수산기 또는 메톡시기가 치환되어있는 구조를 가진다(1)(Fig. 1).

안토시아닌은 2차 대사산물로서 식물에서 중요한 기능을 수행할 뿐만 아니라 인체에도 영향을 미치는데, 심질환 등의 만성질환이나 암과 같은 악성 질환에 대해 예방 효과를 나타내는 것으로 보고되어 있기도 하다(2,3). 또한, 안토시아닌은 식품, 화장품, 의약 등의 산업 분야에서도 관심을 가지는 화합물의 하나로서, 최근에는 특히 합성 착색제를

대체할 수 있는 천연 색소로서 큰 주목을 받고 있다. 비교적 물에 잘 섞이는 안토시아닌은 식품에 첨가하여 다양한 색을 발현하는데 활용될 수 있을 뿐만 아니라 강한 항산화 활성을 가지고 있어서 식품의 건강 기능성을 향상시키는 효과를 보인다. 포도는 특히 안토시아닌을 다량 함유하는 대표적인 과실이다(4). 따라서 근래에 들어서는 안토시아닌을 산업적으로 활용하기 위한 목적으로 포도 또는 포도 가공 부산물로부터 안토시아닌을 추출하거나 안토시아닌의 안정성 또는 색 발현 등과 관련된 연구 등이 활발하게 이루어지고 있다(5-8).

포도는 품종에 따라 다양한 종류의 안토시아닌을 함유하며 이에 따라 흑색, 적색, 황색 등 품종 고유의 과피색이 나타난다. 본 연구에서는 포도의 안토시아닌을 식품 첨가용 천연 색소로 활용하기 위한 기초 자료를 확보할 목적으로 흑색과 적색의 포도 품종을 대상으로 안토시아닌의 종류와 함량을 분석하고 추출된 안토시아닌의 pH에 따른 품종별 색 발현의 차이를 조사하였다.

[†]Corresponding author. E-mail : sjchoi@cu.ac.kr,
Phone : 82-53-850-3548, Fax : 82-53-850-3548



Anthocyanidin	R1	R2	R3	MW
Pelargonidin (Pg)	H	OH	H	271
Cyanidin (Cy)	OH	OH	H	287
Delphinidin (Dp)	OH	OH	OH	303
Peonidin (Pn)	OCH3	OH	H	301
Petunidin (Pt)	OCH3	OH	OH	307
Malvidin (Mv)	OCH3	OH	OCH3	331

Fig. 1. Chemical structure of common anthocyanidins.

재료 및 방법

실험재료

경북 영천의 시설재배 농가에서 8월 하순 적숙기에 수확한 캠벨어얼리(Campbell Early), 거봉(Kyoho), 머스캣베일리에이(Muscat Bailey A)(이상 흑색계)와 노스레드(North Red)(적색계) 품종을 실험에 이용하였다. 안토시아닌의 분석을 위한 시료는 수확 당일 과피로부터 추출하였다.

총 안토시아닌의 분석

과피 1 g에 10 mL의 추출 용매(메탄올/초산 = 98:2, v/v)를 가하고 Ultra-Turrax homogenizer (IKA, Sweden)를 이용하여 분쇄한 후 20,000 x g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상정액을 총 안토시아닌 분석용 시료로 하였다. 안토시아닌 분석용 시료 100 μ L에 900 μ L의 KCl buffer (pH 1.0, 50 mM) 또는 sodium acetate buffer (pH 4.5, 50 mM)를 혼합한 후 520 nm와 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며 총 안토시아닌의 함량은 다음 공식을 이용하여 구하였다 (9).

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

$$\text{Anthocyanin g/mL} = (A \times \text{MW} \times 1000 / \epsilon) \cdot \text{희석배수}$$

$$(\epsilon = 30,175, \text{MW}_{\text{cyanidin-3,5-diglucoside}} = 611)$$

안토시아닌의 추출 및 농축

포도 과피 500 g에 500 mL의 추출 용매 (식용 주정(에탄올 농도 95%)/초산 = 98:2, v/v)를 가한 후 믹서를 이용하여 분쇄하였다. 분쇄액을 나일론 천으로 압착 여과한 후 20,000 x g로 20분간 원심분리하여 상정액을 취하였으며,

이를 rotary evaporator를 이용하여 농축함으로써 안토시아닌 농축액을 조제하였다.

안토시아닌의 HPLC-PDA-MS 분석

조제한 안토시아닌 농축액의 총 안토시아닌 함량이 0.1 mg/mL가 되도록 70% 메탄올 용액으로 희석한 후, 10 μ L를 autosampler를 이용하여 X-Bridge C-18 column (15 cm x 4.6 mm, 5 μ particle size, Waters, Milford, USA)을 장착한 HPLC (model 2695, Waters, USA)에 주입하여 solvent gradient 방법으로 안토시아닌을 분리하였다. 용리 용매의 혼합 비율은 초기 2분간 물 (A), 10% (v/v) formic acid (B), 메탄올(C)을 70:5:25(A/B/C)로 유지한 후 50분간에 걸쳐 15:5:80 (A/B/C)으로 변화하였다. 용매의 유속은 0.5 mL/min을 유지하였다. 분리된 안토시아닌은 PDA (model 2998, Waters, USA)를 이용하여 520 nm에서 검출하는 동시에 mass spectrometer (model 3100, Waters, USA)를 이용하여 각 안토시아닌 피크에 대하여 mass spectrum을 분석하였다. Mass spectrometer 분석시, 시료는 electrospray positive (ES+) 방식으로 이온화하였으며 (capillary voltage = 3.5 KV, desolvation gas (N₂) = 500 L/h, desolvation temp. = 250 C, cone voltage = 70V), m/z 150-1,000의 범위에서 MS scan mode(scan speed = 5,000 Da/sec)로 mass spectrum을 분석하였다.

안토시아닌 농축액의 조제 및 pH에 따른 색 발현의 조사

안토시아닌 농축액의 총 안토시아닌 함량을 분석한 후 0.5 mg의 안토시아닌을 함유하도록 희석한 품종별 농축액을 5 mL의 pH 2.5-9.0의 sodium phosphate buffer와 혼합한 후 pH에 따른 색 발현의 차이를 조사하였다.

결과 및 고찰

포도의 품종별 안토시아닌 조성 및 함량의 차이

캠벨어얼리, 거봉, 머스캣베일리에이, 노스레드 등 4종의 포도 품종에 대하여 안토시아닌을 HPLC를 이용하여 분석한 결과 chromatogram에 총 15개의 피크가 나타났으며(Fig. 2), mass spectrum 분석을 통하여 이 중 12개의 피크 성분에 대하여 동정이 가능하였다(Fig. 3, Table 1). Fig. 3에서, 안토시아니딘(aglycone)의 m/z에 해당하는 단편 이온(daughter ion)과 더불어 안토시아닌의 m/z에 해당하는 모 이온(parent ion, M⁺)이 mass spectrum 상에 주요 peak로 나타났으며 이로써 각 안토시아닌을 동정할 수 있었다. 예를 들어 피크 1의 경우, peonidin-diglucoside의 분자량에 해당하는 m/z 625의 모이온으로부터 glucose moiety (glucose-H₂O=

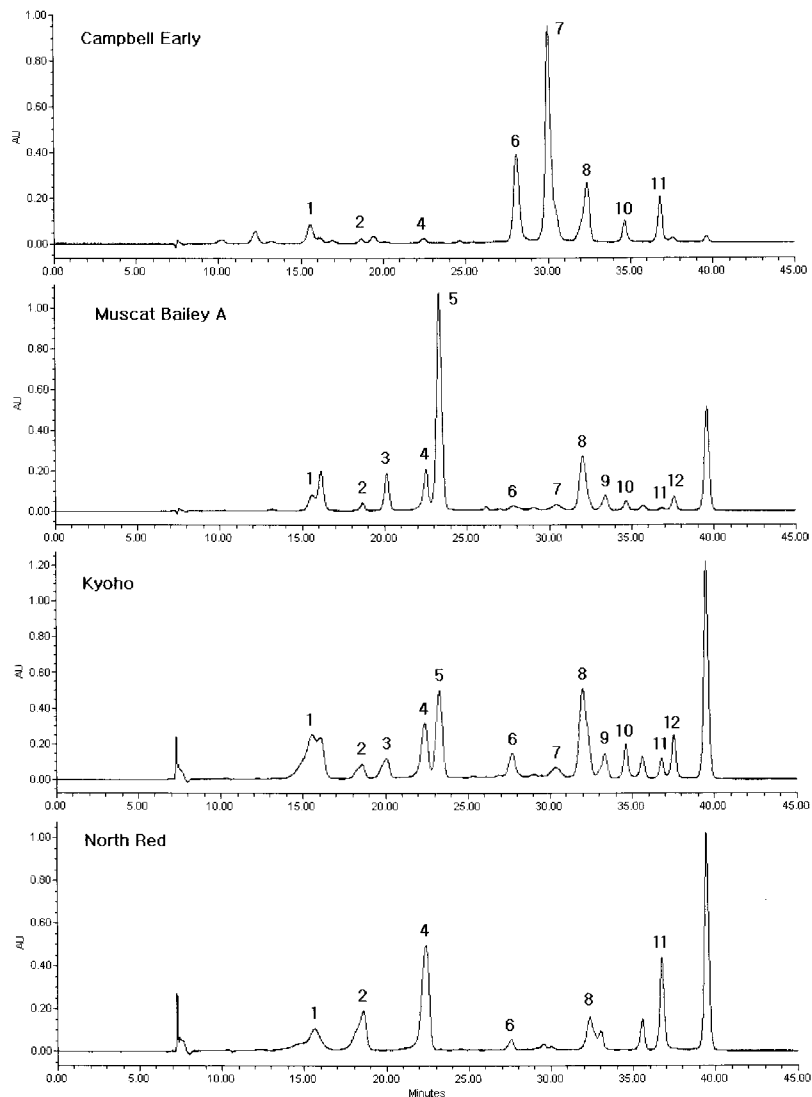


Fig. 2. Chromatograms of anthocyanins extracted from the skin of various grape cultivar berries.

Table 1. Identified anthocyanins in the skin of grape berries.

Peak No. ²	Anthocyanin
1	Peonidin-3,5-diglucoside
2	Cyanidin-3-glucoside
3	Petunidin-3-glucoside
4	Peonidin-3-glucoside
5	Malvidin-3-glucoside
6	Delphinidin-3-(6'-coumaroyl)-5-diglucoside
7	Cyanidin-3-(6'-coumaroyl)-5-diglucoside
8	Malvidin-3-(6' coumaroyl)-5-diglucoside
9	Malvidin-3-(6'acetoyl)glucoside
10	Delphinidin-3-(6' coumaroyl)glucoside
11	Cyanidin-3-(6' coumaroyl)glucoside
12	Perunidin-3-(6' coumaroyl)glucoside

²Peak No. in Fig. 2.

162)가 하나씩 떨어져 나감에 따라 m/z 463과 301의 단편이 온이 차례로 형성되었으며 m/z 301은 peonidin의 분자량과 일치함을 알 수 있다. 각 안토시아닌의 이러한 mass spectrum은 문헌(10)에 보고된 바와도 일치하였다.

일반적으로 6종의 안토시아닌(Fig. 1)이 과실류에 폭 넓게 존재하는 것으로 알려져 있으나(1), 본 연구에서 포도에서는 이 중 pelargonidin을 제외한 5종의 안토시아닌을 확인할 수 있었으며 이들 안토시아닌은 모두 포도당과 배당체를 이루고 있었다. 안토시아닌 중 cyanidin과 peonidin은 주황색-적색의 색을 내는 반면, delphinidin, malvidin, petunidin 등은 청색-적색의 색을 나타내는 것으로 알려져 있다(11). 품종별 안토시아닌의 종류를 보면, 적색계 품종인 노스레드에서는 상대적으로 청색 계열 안토시아닌의 종류가 흑색계 품종에 비하여 적은 것으로 나타났다 (Table 2, Fig. 4). 또한 총 안토시아닌 함량을 비교하여 보면, 적색계 품종에 비하여 흑색계 품종의 안토시아닌 함

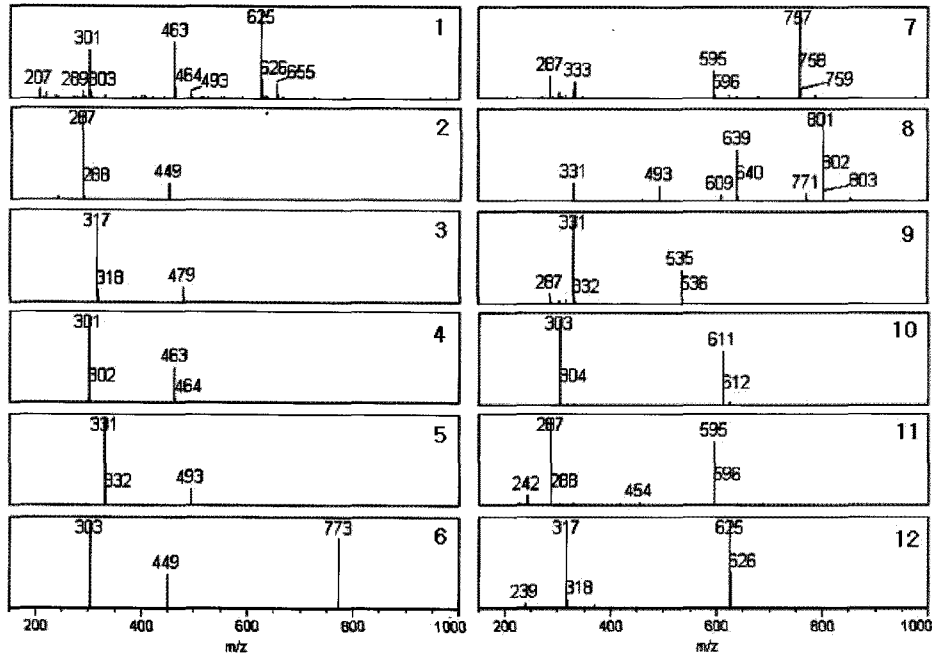


Fig. 3. Mass spectra of anthocyanin peaks of Fig. 2.

량이 크게 높았으며 특히 캠벨어얼리 품종의 안토시아닌 함량이 높은 것으로 나타났다. 한편, 흑색계 포도에서 머스캣베일리에이와 거봉은 총 안토시아닌 함량은 상대적으로 낮으나 chromatogram 상의 안토시아닌의 종류는 오히려 캠벨어얼리보다 다양한 것으로 나타났다(Fig. 4).

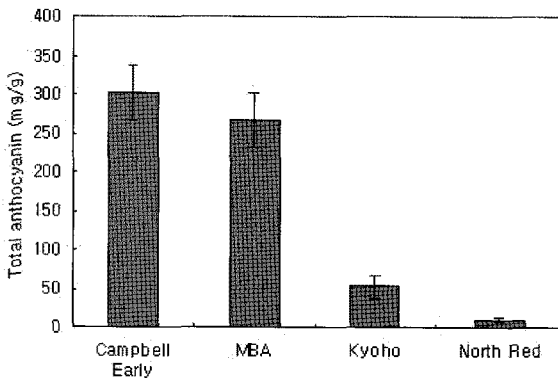


Fig. 4. Total anthocyanin contents in the skin of various grape cultivar berries.

Vertical bars show standard errors.

포도 품종별 안토시아닌 추출 농축액의 pH에 따른 색 발현의 차이

식용 주정을 이용하여 포도 과피에서 안토시아닌을 추출하여 농축액을 조제한 후 여러 pH 조건에서 품종에 따른 안토시아닌 색소의 색 발현의 차이를 조사하였다. 이 때 캠벨어얼리, 거봉, 머스캣베일리에이, 노스레드 등 각 품종별 안토시아닌의 양은 1 mg으로 고정하였으며, 1 mg의 안토시아닌을 함유하는 각 품종별 농축액의 부피는 각각

72, 166, 92, 1354 μ L였다.

포도의 안토시아닌 색소는 pH의 변화에 따라 적색에서 암갈색에 이르는 다양한 색의 변화를 나타내었다(Fig. 5). 대체적으로 pH 6 이하의 조건에서는 적색이 우세하였으며 pH 6.5 이상에서는 청색, 자색 또는 암청색으로 변화하는 경향을 보였다. 그러나 흑색계 품종과 달리 적색계의 노스레드 품종에서는 높은 pH 조건에서 청색의 색 발현 없이 갈색으로 변색되는 경향을 보였으며, 이는 청색계열 안토시아닌의 함량이 낮은 것(Table 2)과 관련이 있을 것으로 생각된다. 한편, 흑색계 품종에서 malvidin의 함량이 높은 거봉과 머스캣베일리에이에서는 높은 pH에서 자색 내지 흑색의 발현이 두드러진 반면 delphinidin의 함량이 높은 캠벨어얼리 품종에서는 청색을 거쳐 흑색으로 변화하는 경향을 보였으며, 이에 따라, malvidin과 delphinidin은 각각 자색과 청색의 색 발현과 관련이 있을 것으로 추측된다.

결론적으로, 본 연구에서는 포도 과피에서 추출한 안토시아닌은 0.01-0.02% (w/v)의 낮은 농도에서도 적색, 청색, 자색, 흑색 등의 다양한 색을 발현하는 것을 확인할 수 있었으며, 식품의 종류에 따른 pH의 차이와 요구되는 색상을 고려하여 적절한 품종을 선택할 경우 포도에서 추출한 안토시아닌은 식품 첨가용 천연 색소로 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다. 이 때, 거봉 또는 머스캣베일리에이는 적색 또는 자색의 색 발현에 적합하였으나 청색을 발현하지 못하였으며 청색의 색 발현에는 캠벨어얼리가 적합하였다. 그러나 적색계 품종(노스레드)은 색의 발현이 다양하지 않을 뿐만 아니라 안토시아닌의 함량이 낮아 색소 추출에는 적합하지 않은 품종으로 생각된다.

Table 2. Relative peak area of anthocyanins in chromatogram of Fig. 2.

Color	Peak no.	Anthocyanidin	Cultivars			
			Campbell Early	Muscat Bailey A	Kyoho	North Red
Orange-red	1	Pn	3.8	1.4	2.8	9.7
	2	Cy	0.5	1.6	1.5	9.6
	4	Pn	1.0	6.8	12.3	45.0
	7	Cy	44.2	2.2	3.3	0.9
	11	Cy	9.3	0.4	2.8	23.3
Blue-red			58.8	12.4	22.7	88.4
	3	Pt	-	8.8	5.6	-
	5	Mv	-	53.7	20.2	-
	6	Dp	26.5	1.3	5.4	3.1
	8	Mv	9.7	19.1	28.4	8.5
	9	Mv	-	0.4	5.5	-
	10	Dp	4.3	1.8	5.2	-
	12	Pt	.07	2.5	7.1	-
			41.2	87.8	77.3	11.6

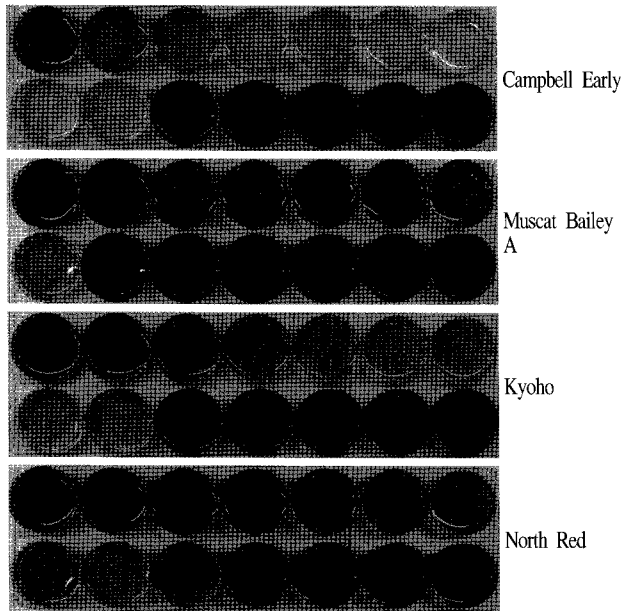


Fig. 5. Color expression of anthocyanin pigment extracted from the skin of various grape cultivar berries at varied pH conditions.

pH value: upper rows; 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5 and 5.5, lower rows; 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5 and 9.

요 약

흑색계(캠벨어일리, 거봉, 머스캣베일리에이)와 적색계(노스레드)의 4종류의 포도 품종에 대하여 안토시아닌의 조성을 분석하고 과피에서 추출한 안토시아닌 색소의 색

발현을 조사하였다. 조사한 4종류의 품종에서 모두 12종류의 안토시아닌을 확인할 수 있었으며 흑색계 품종에서 특히 머스캣베일리에이 품종은 안토시아닌 조성이 가장 다양한 반면 적색계의 노스레드는 안토시아닌 조성이 비교적 단순하였다. 포도 과피에서 안토시아닌 농축액을 조제한 후 품종별 색 발현의 차이를 조사한 결과, 낮은 pH 조건에서는 모든 품종에서 적색이 나타난 반면 중성 이상의 pH 조건에서는 품종에 따라 청색, 자색, 갈색, 흑색 등의 다양한 색이 발현되었다. 품종에 따른 이러한 색 발현의 차이는 안토시아닌 색소를 구성하는 안토시아닌의 품종별 조성 및 함량의 차이와 관련이 있을 것으로 추측된다. 포도에서 추출한 안토시아닌 색소는 낮은 농도에서도 선명하고 다양한 색을 발현하므로 식품 첨가용 천연 색소로 활용이 가능할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Macheix JJ, Fleuriet A, Billot J. (1990) The main phenolics of fruits. In *Fruit Phenolics*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. p.1-104
2. Prior RL. (2004) Absorption and metabolism of anthocyanins; potential health effects. *Phytochemicals: Mechanisms of Action*. Meskin M, Bidlack WR, Davies AJ, Lewis DS, Randolph RK, Eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. p.1-19
3. Hou DX. (2003) Potential mechanism of cancer chemoprevention by anthocyanin. *Curr. Mol. Med.*, 3, 149-159
4. Kim SK, Nam YS, Oh JH, Choi DY, Park JC. (1998) Seasonal changes in concentrations of sugar, organic acid, and anthocyanin in grape (*Vitis* spp.). *J. Korean Soc. Hort. Sci.*, 39, 412-416
5. Luque-Rodriguez JM, Luque de Castro MD, Perez-Juan P. (2007) Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues. *Bioresources Technol.*, 98, 2705-2713
6. Corrales M, Toepfl S, Butz P, Knorr D, Tauscher B. (2008) Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonic high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.*, 9, 85-91
7. Bordignon-Luiz MT, Gauche C, Gris EF, Falcao LD. (2007) Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. *LWT - Food Sci. Technol.*, 40, 594-599

8. Gomez-Plaza E, Minano A, Lopez-Roca JM. (2006) Comparison of chromatic properties, stability and antioxidant capacity of anthocyanin-based aqueous extracts from grape pomace obtained from different vinification methods. *Food Chem.*, 97, 87-94
9. Huang Z, Wang B, Williams P, Pace RD. (2009) Identification of anthocyanins in muscaine grapes with HPLC-ESI-MS. *LWT - Food Sic. Technol.*, 42, 819-824
10. Wu X, Prior RL. (2005) Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI- MS/MS in common foods in the United States: Fruits and berries. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 2580-2599
11. Castaneda-Ovando A, Pacheco-Hernandez ML, Paez-Hernandez ME, Rodriguez JA, Galn-Vidal CA. (2009) Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem.*, 113, 859-871

(접수 2010년 6월 22일, 수정 2010년 11월 23일, 채택 2010년 12월 3일)