

구연산 및 효소 불활성화 처리가 오디술의 C3G 안정성과 항산화능에 미치는 영향

김현복^{1*} · 김정봉¹ · 구희연² · 석영식³ · 서상덕⁴ · 김선림¹ · 성규병¹
¹농촌진흥청, ²전라남도 농업기술원 곤충잡업연구소, ³강원도 농산물원종장, ⁴충청남도 농업기술원 잠사곤충사업장

The effect of citric acid and enzyme inactivation treatment on C3G stability and antioxidant capacity of mulberry fruit alcoholic drink

Hyun-bok Kim^{1*}, Jung-Bong Kim¹, Hui-Yeon Koo², Young-Seek Seok³, Sang-Deok Seo⁴,
Sun-Lim Kim¹ and Gyoo-Byung Sung¹

¹Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

²Jeollanam-do Agricultural Research & Extension Services, Naju 520-715, Korea

³Gangwon-do Agricultural Product Registered Seed Station, Chuncheon 200-150, Korea

⁴Chungcheongnam-do Sericultural and Entomology Experiment Station, Gongju, 314-681, Korea

ABSTRACT

To promote the consumption of mulberry fruit, we manufactured mulberry fruit wine with 'simheung' by different processing methods and analyzed cyanidin-3-glucoside(C3G) stability and antioxidant capacity. In the processing of mulberry fruit alcoholic drink, 3 minutes blanching using microwave inhibited the C3G destruction by maintaining the antioxidant capacity and inactivation of enzymes related to pigment's stability. And freeze-dried mulberry fruit was the highest C3G pigment content and antioxidant capacity. Nevertheless, this is not recommended because the economic burden of the cost of freeze-drying. In conclusion, when processing mulberry fruit wine, the addition of citric acid and the enzyme's inactivation treatment were considered more effective than storage containers (transparent glass, brown glass bottles, aluminum foil, green glass, translucent glass bottles).

Key words : C3G, Stability, Antioxidant capacity, Mulberry fruit, Alcoholic drink

서 론

오디에 C3G(Cyanidin-3-glucoside, Kim and Kim 2003), rutin(Kim and Kim 2004), GABA(γ -Aminobutyric acid, Kim et al. 2004), linoleic acid(Kim et al. 2003), resveratrol(Kim et al. 2005) 등 여러 가지 기능성 성분이 들어 있는 것으로 보고(Kim et al. 2011)됨에 따라 오디에 대한 소비자의 인식 향상과 더불어 오디 가공제품에 대한 수요도 증가하고 있는 실정이다.

주로 잼, 술, 즙 등으로 가공되어 판매되고 있으며, 그 중 오디술은 일반인들이 가장 쉽게 접할 수 있는 제품으로서 선호도가 높다. 동의보감 탕액편과 본초식감에는 오디술에 대한 기록이 있는데, '오디는 오장을 보하며, 귀와 눈을 밝게 한다. 즙을 내어 술을 만든다', '검게 익은 오

디 한 되에 좋은 술 3되를 넣고 설탕을 2~3근 넣어 저온 후 35일 지나면 마신다'가 그 내용이다. 민간에서는 칩출주로 소량씩 만들어 먹거나 말려 환으로 지어 먹었다고 기록되어 있다.

일반적으로 술을 가공하는 경우, 지나치게 높은 주정도는 술에 대한 거부반응을 일으켜 기호도를 떨어뜨리는 반면, 낮은 주정도는 술의 산패 및 변질을 유발시켜 색, 향, 맛 등에 영향을 미침으로써 술의 품질을 저하시키는 원인으로 작용한다고 알려져 있다. 또한 술의 품질을 저하시키는 요인으로는 사용원료의 상태, 잡균의 번식, 살균 온도와 시간, 저장온도와 기간, 빛이나 산소에 대한 노출 등이 있으며 이러한 요인에 의해 술의 품질을 저하시키는 성분이 생성된다(Kim et al. 2001).

오디술의 경우에도 오디의 기능성 성분 중 안토시아닌

*Corresponding author. E-mail: hyunbok@korea.kr

색소(Anthocyanin pigment) C3G는 노화억제, 망막장애의 치료(Scharrer and Ober 1981) 및 시력개선 효과(Politzer 1977, Timberlake and Henry 1988), 항산화 작용(Tamura and Yamagami 1994, Yoshiki et al. 1995, Rice-Evans et al. 1995, 1996, Sichel et al. 1991, van Acker et al. 1995) 등 다양한 생리활성을 갖음에도 불구하고 가공공정이나 보관 저장 중에 그 색감이나 색의 정도가 변하여 가공식품의 상품성과 관능성에 큰 영향을 미치게 되므로 주의할 필요가 있다.

안토시아닌 색소는 oxonium 구조에 의해 자체적으로 불안정한 특성을 지니고 있으며, 또한 식품 가공시 주로 pH, 산소, 수분, 열과 빛, 금속이온을 비롯하여 식품자체의 성분에 의한 상호반응에 의해 색깔의 퇴색과 변색이 일어나기 때문이다. 이와 관련하여 색소를 안정화시키기 위한 많은 연구들이 보고되어 있으며(Bassa and Francis 1987, Yun and Lee 1979, Siegel et al. 1971), 오디 안토시아닌 색소의 안정성에 대한 pH, 당, 유기산, 금속이온의 영향을 조사한 결과(Kang et al. 2003)와 가공이나 저장 전에 열처리(blanching)를 하여 자색고구마 안토시아닌 색소의 파괴에 관여하는 효소 작용을 억제하고 색소를 안정화시키는 방법 등(RDA report 1996, 1997)이 연구되었다.

따라서 오디 고유의 향과 맛을 즐길 수 있는 오디 침출주를 제조하고, 저장법을 개선시켜 오디술의 품질향상을 도모한다면 뽕나무 과실인 오디의 수요 확대에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

이를 위해 우선적으로 오디술의 안토시아닌 색소의 안정성을 향상시킬 수 있는 기술 개발이 필요하다. 여러 가지 색소 영향 인자를 고려하여 오디술을 제조하고 열처리를 실시하였으며, 오디술의 색소 안정성과 기능성에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 오디술 제조 및 효소 불활성화 처리

오디술을 제조하기 위해 -60°C 에서 보관 중인 '심홍' 오디를 해동하여 효소 불활성화 처리 및 무처리로 분리하여 사용하였다. 효소 불활성화 처리는 가정용 전자렌지를 이용하여 3분간 열처리하였다. 각각의 오디술은 다음과 같이 제조하였다. 오디 500g에 과실주용 알콜(30도) 또는 색소추출용매(0.1% citric acid-30% EtOH) 1.5 l 및 sucrose 2.5%를 첨가 또는 무첨가하여 침출시킨 후 여과하였다. 한편 동결건조된 '심홍' 오디 100g을 사용하여 위와 같은 방법으로 제조하여 비교하였다. 각각의 오디술은 여과하여 보관용기(투명유리병, 반투명유리병, 녹색유리병, 갈색유리병, 알루미늄 호일)에 담아 5°C 냉장보관하면서 분석에 사용하였다.

2. 가공처리 및 저장기간별 오디술의 C3G 함량 분석

가공방법에 따라 제조한 각각의 오디술 5 ml에 5% formic acid 5 ml을 가하여 1시간 초음파 추출 및 여과한 후, 여과액 1.5 ml을 LC용 vial에 취하여 HPLC(Shimadzu, Kyoto, Japan)로 분석하였다.

3. 가공처리 및 저장기간별 오디술의 항산화능 분석

가공처리 및 저장기간별 오디술 시료 각 1 ml에 80% MeOH 10 ml을 가하여 30초간 vortex mixing 시킨 후 filter paper (Advantec No. 6)로 여과하였다. 여과액 1 ml을 취해 항산화능 분석에 사용하였다.

항산화능 분석은 항산화능 측정장치(munilum L-100, ABCD GmbH) 및 ARAW-KIT (anti-radical ability of water-soluble substance)를 사용하였다. Ascorbic acid를 표준물질로 사용하여 0, 10, 20, 40, 50 μl 에 대한 검량곡선(calibration curve)을 작성하였으며, TIC (thermo-initiated chemiluminescence) 방법에 따라 ARAW-KIT ampule에 시료 희석액 10 μl 와 buffer 1.5 ml를 가한 즉시 37°C 의 항산화 측정 장치에 주입하여 반응시켰다. PC에 연결된 Oxida-Q program으로 시료의 항산화능을 분석하였으며, 시료 희석액 주입 후 항산화능 분석에 소요되는 시간은 5분이었다. 시료의 항산화능은 ascorbic acid의 농도(nmol)로 환산하여 표시하였다.

결과 및 고찰

1. 가공처리 및 저장기간별 오디술의 C3G 함량

가공처리 방법을 달리하여 오디술을 제조한 후 저장기간별 C3G 함량을 측정하였다(그림 1). 과실주용 알콜을 사용하여 제조한 오디술의 경우, 제조 당시(7월)의 C3G 함량은 냉동건조 오디를 사용한 경우 290.8 ppm로서 가장 높았으며, sucrose 2.5% 첨가 및 무첨가, 효소 불활성

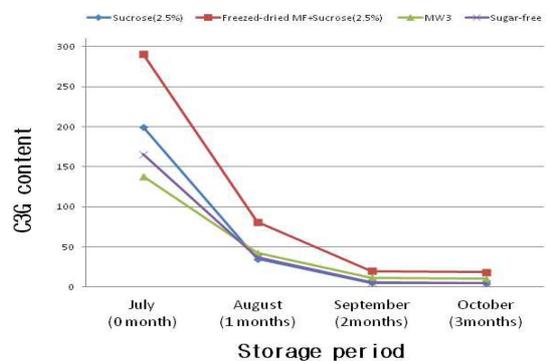


Fig. 1. Cyanidin-3-glucoside(C3G) content of mulberry fruit alcoholic drink according to processing method. (MF; Mulberry fruit, MW3; Microwave treatment, 3 min., blanching)

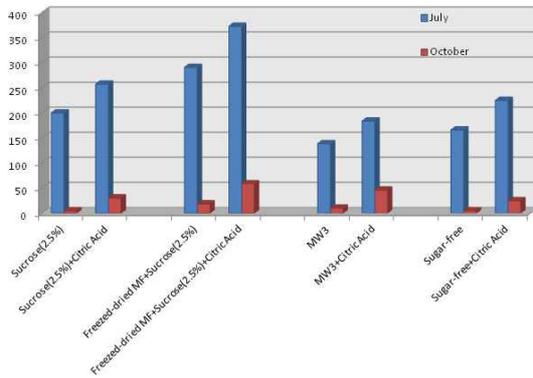


Fig. 2. The effect of citric acid on mulberry fruit alcoholic drink's C3G content.(MF; Mulberry fruit, MW3; Microwave treatment, 3 min., blanching)

화 전처리 순으로 각각 199.8 ppm, 165.8 ppm, 138.4 ppm 이었다. 오디술의 C3G 함량은 저장기간이 경과함에 따라 급격히 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 오디술은 제조

후 가급적 빨리 먹는 것이 바람직한 것으로 판단하였다.

전자렌지를 이용하여 3분간 blanching한 후 오디술을 제조하는 경우 제조 당시에는 무처리에 비해 C3G 함량이 상대적으로 낮았으나 저장기간이 경과함에 따라 색소의 안정성에 관여하는 효소를 불활성화 시킴으로써 C3G 색소의 파괴를 억제시킴을 알 수 있었다. 한편 보관용기에 따른 C3G 함량에는 큰 차이가 없었다.

냉동건조 오디는 C3G 함량 뿐 아니라 다른 영양성분의 손실이 가장 적고 맛, 향, 형태 등이 그대로 유지되는 특성이 있으나 동결건조 비용이 부담되므로 금후 이를 대체할 방법이 검토되어야 할 것이다.

2. 구연산 첨가가 오디술의 C3G 함량에 미치는 영향

색소추출용매(0.1% citric acid-30% EtOH)를 사용하는 경우 과실주용 알콜을 사용하는 것에 비해 모든 처리구에서 C3G 함량이 높았다. 즉 제조 당시 냉동건조 오디를 사용한 경우 372.8 ppm, sucrose 2.5% 첨가 257.3 ppm,

Table 1. Antioxidant ability analysis of mulberry fruit products according to processing method and storage period. (Ascorbic acid equivalents, nmol)

Method of processing	Storage period				
	0 month	1 month	2 months	3 months	Storage container
Sucrose 2.5%	54.8	26.1	30.0	28.4	Transparence glass bottle
				37.0	Brown glass bottle
				35.3	Aluminum foil
				30.4	Green glass bottle
				38.9	Semitransparence glass bottle
Citric acid + Sucrose 2.5%	54.0	28.1	47.5	47.6	Transparence glass bottle
				37.2	Transparence glass bottle + Aluminum foil
Freezed-dried MF + Sucrose 2.5%	100.7	57.0	51.9	61.1	Transparence glass bottle
				61.6	Brown glass bottle
				58.0	Aluminum foil
				58.3	Green glass bottle
				64.6	Semitransparence glass bottle
Freezed-dried MF + Citric acid + Sucrose 2.5%	86.7	67.7	70.1	81.5	Transparence glass bottle
				77.4	Transparence glass bottle + Aluminum foil
MW3 + Sucrose 2.5%	36.7	20.2	36.2	44.4	Transparence glass bottle
				33.2	Transparence glass bottle + Aluminum foil
MW3 + Citric acid + Sucrose 2.5%	39.2	24.6	53.0	41.8	Transparence glass bottle
				45.3	Transparence glass bottle + Aluminum foil
Sugar-free	35.5	21.4	30.0	42.1	Transparence glass bottle
				34.7	Transparence glass bottle + Aluminum foil
Citric acid + Sugar-free	27.4	30.0	46.9	36.6	Transparence glass bottle
				38.5	Transparence glass bottle + Aluminum foil

(MF; Mulberry fruit, MW3 ; Microwave treatment, 3min., blanching)

sucrose 무첨가 224.8 ppm, 효소 불활성화 전처리 183.5 ppm 이었다. 저장기간이 경과하는 경우에도 같은 결과를 나타냈다(그림 2). 이는 색소추출용매에 첨가한 구연산에 의해 C3G 색소의 안정성 효과에 기인한 것으로 판단되며, 자색고구마(RDA report 1996, 1997), 나무딸기(Park and Joo 1982) 등 안토시아닌 색소에 대한 유기산의 영향을 조사한 결과와 일치하였다.

구연산(citric acid)은 청량음료, 과일주스, 과일젤리, 채소통조림, 유제품, 비탄산음료, 마요네즈, salad dressing, french dressing 등에 널리 사용하고 있어 안전성에 문제가 없는 것으로 알려져 있다. 따라서 오디술 제조시 구연산을 첨가하는 것이 오디잼과 마찬가지로(Kim et al. 2012) 오디술의 안토시아닌 색소 안정성 뿐만 아니라 맛에 대한 기호도를 증진시키므로 이를 사용하도록 한다.

3. 가공방법에 따른 오디술의 항산화능 분석

가공방법 및 저장용기를 달리한 오디술의 항산화능을 분석하였다(표 1). 냉동건조 오디를 사용하여 제조한 오디술의 항산화능이 가장 높았으며 특히 냉동건조 오디 및 구연산을 첨가하여 제조한 오디술의 경우 저장기간의 경과에 따른 항산화능 값이 크게 변하지 않았다.

전자렌지를 이용한 3분 blanching 처리는 오디술의 항산화능을 안정화시키는 것으로 나타났으며, 구연산 첨가에 의한 동일처리내 저장기간별 항산화능 값을 비교한 결과, 오디술의 항산화능을 향상시키는 것으로 나타났다.

이상에서 구연산 첨가 및 가공방법을 달리하여 오디술을 제조한 후 장기보관에 따른 안토시아닌 색소 C3G의 안정성 및 항산화능에 미치는 영향을 살펴본 결과, 전자렌지를 이용하여 3분간 blanching하는 것이 항산화능을 안정화시키고 색소의 안정성에 관여하는 효소를 불활성화 시킴으로써 저장기간에 따른 C3G 색소의 파괴를 억제시킬 수 있었다.

그러나 오디의 기능성 성분인 C3G의 생리적 효능을 얻기 위해서는 가공제품보다는 동결건조 또는 오디 자체로 이용하는 것이 좋으며, 가공제품을 섭취하는 경우 제조 후 가급적 빠른 시간 안에 이용하는 것이 바람직하다.

적 요

안토시아닌 색소는 일반적으로 pH에 따라서 색이 변하는 매우 불안정한 색소이며, 유기용매인 ether, ethyl acetate, acetone에는 녹지 않고 물과 알콜에 잘 녹는 수용성 색소로 알려져 있다. 또한 금속이온과 chelate compound를 형성하여 특유의 색을 띠며, sucrose, glucose, fructose, xylose, fomite, luvulinate, 5-hydroxymethylfurfural 및 furfural 등

에 의해 분해가 촉진되고, 산소가 없을 때는 안정하나 산소가 존재하면 갈변하는 성질을 갖고 있다.

오디를 첨가하여 술을 제조하는 경우에도 여러 가지 인자에 의해 C3G 색소의 함량 변화 및 갈변 현상이 발생한다. 이를 해결하고 오디의 이용을 촉진하기 위해 C3G 색소를 안정화시킬 수 있는 가공 방법을 개발하고자 하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 냉동된 오디는 전자렌지를 이용하여 3분간 blanching 하는 것이 항산화능을 안정화시키고 색소의 안정성에 관여하는 효소를 불활성화 시킴으로써 저장기간에 따른 C3G 색소의 파괴를 억제시켰다. Sucrose 2.5% 및 citric acid 0.1%를 첨가하는 것이 C3G 함량이 높았다.

2. 냉동건조 오디를 사용할 경우 오디색소 함량과 항산화능이 처리구 중 가장 높았으나 동결건조 비용이 부담되므로 경제적으로 바람직하지 않다.

3. 보관용기(투명유리병, 갈색유리병, 알루미늄 호일, 녹색유리병, 반투명유리병)보다 효소 불활성화 처리 및 구연산의 첨가가 항산화색소 C3G의 안정성에 영향을 미치는 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 어젠다사업(주관과제번호: PJ009308)의 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Bassa IA, Francis FJ (1987) Stability of anthocyanin from sweet potatoes in a model beverage. *J Food Sci* **52**(6), 1753-1754.
- Kang CS, Ma SJ, Cho WD, Kim JM (2003) Stability of anthocyanin pigment extracted from mulberry fruit. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **32**(7), 960-964.
- Kim HB, Kim JB, Kim SL (2005) Varietal analysis and quantification of resveratrol in mulberry fruits. *Korean J Seric Sci* **47**(2), 51-55.
- Kim HB, Kim JB, Seok YS, Seo SD, Kim SL, Sung GB (2012) The effect of citric acid and enzyme inactivation treatment on C3G stability and antioxidant capacity of mulberry fruit jam. *J Seric Entomol Sci* **50**(2), 82-86.
- Kim HB, Kim SL (2003) Identification of C3G(cyanidin-3-glucoside) from mulberry fruits and quantification with different varieties. *Korean J Seric Sci* **45**(2), 90-95.
- Kim HB, Kim SL (2004) Quantification and varietal variation of rutin in mulberry fruits. *Korean J Seric Sci* **46**(1), 1-5.
- Kim HB, Kim SL, Kang SW (2004) Varietal analysis and quantification of amino acid in mulberry fruits. *Korean J. Seric Sci* **46**(2), 47-53.
- Kim HB, Kim SL, Sung GB, Nam HW, Chang SJ, Moon JY (2003) Quantification and varietal variation of fatty acids in

- mulberry fruits. *Korean J Seric Sci* **45**(2), 75~79.
- Kim HB, Kim SL, Koh SH, Seok YS, Kim YS, Sung GB, Kang PD (2011) The development of natural pigment with mulberry fruit as a food additive. *Korean J Crop Sci* **56**(1), 1822.
- Kim HB, Lee YW, Lee WC, Moon JU (2001) Physiological effects and sensory characteristics of mulberry fruit wine with chongilppong. *Korean J Seric Sci* **56**(1), 1822.
- Park JM, Joo KJ (1982) Stability of anthocyanin pigment from juice of raspberries. *Korean J Nutrition & Food* **11**(3), 6774.
- Politzer M (1977) Experience in the medical treatment of progressive myopia. *Klin Monatsbl Augenheikd* **171**(4), 616~619.
- Rice-Evans C, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB (1995) The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Res* **22**, 375~383.
- Rice-Evans C, Miller NJ, Paganda G (1996) Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol Med* **20**(7), 933~956.
- RDA report (1996) Study on the extraction and utilization of natural edible pigment from purple sweet potato. Interim Report of 1st year.
- RDA report (1997) Study on the extraction and utilization of natural edible pigment from purple sweet potato. Completion report of 2nd year.
- Scharrer A, Ober M (1981) Anthocyanosides in the treatment of retinopathies. *Klin Monatsbl Augenheikd* **178**(5), 386~389.
- Sichel G, Corsaro C, Scalla M, Di Bilio AJ, Bonomo RP (1991) In vitro scavenger activity of some flavonoids and melanin against O_2^- . *Free Radical Biol Med* **11**, 18.
- Siegel A, Markakis P, Bedford CL (1971) Stability of anthocyanin in frozen tart cherries blanching. *J Food Sci* **36**(6), 962~963.
- Tamura H, Yamagami A (1994) Antioxidative activity of monoacylated anthocyanins isolated from muscat bailey a grape. *J Agric Food Chem* **42**, 1612~1615.
- Timberlake CF, Henry BS (1988) Anthocyanins as natural food colorants. *Prog Clin Biol Res* **280**, 107~121.
- van Acker SABE, Tromp MNJL, Haenen GRMM, van der Vijgh WJF, Bast A (1995) Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochem Biophys Res Commun* **214**(3), 755~759.
- Yoshiki Y, Okubo K, Igarashi K (1995) Chemiluminescence of anthocyanins in the presence of acetaldehyde and tert-butyl hydroperoxide. *J Biolumin Chemilumin* **10**, 335~338.
- Yun TH, Lee SW (1979) Stability of anthocyanin in food. *Korean J Food Sci Technol* **11**(1), 63~73.