

브로콜리 추출물을 이용한 레드 비트 색소의 저장 안정성 향상 연구

김중훈¹ · 강지연² · 고은별² · 김종예^{2,*}

¹성신여자대학교 바이오식품생명공학과, ²강원대학교 식품생명공학전공

Enhancement of storage stability of red beet pigment using broccoli extracts

Jong Hun Kim¹, Ji Yeon Kang², EunByul Ko², and Jong-Yea Kim^{2,*}

¹Department of Food Science and Biotechnology, Sungshin Women's University

²Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University

Abstract The effect of broccoli extracts on the storage stability of red beet extracts under various conditions (temperature, light condition, and pH) was analyzed. Regardless of the pH and light conditions, the absorbance of the red beet pigment at 537 nm was relatively stable (less than 10% reduction) at 4°C for up to 5 days. The absorbance of the control extracts was rapidly reduced during storage at an ambient temperature in the dark, but the degree of reduction was relatively low at pH 3.8. As a positive control, the addition of vitamin C to the control extracts slightly inhibited the reduction (40% reduction), but the degree of the inhibition was much higher (15% reduction) with the addition of broccoli extracts (in 70% ethanol). Among all the samples, the addition of the broccoli floret extracts using 70% ethanol was the most effective method for the enhancement of the storage stability of red beet pigment at an ambient temperature in the dark.

Keywords: red beet pigment; broccoli extract; storage stability

서 론

식품의 색은 식품의 기호성에 큰 영향을 주며, 식품의 품질 결정에 크게 기여하는 요소 중의 하나이다. 하지만 식품 소재의 고유 색은 가공 및 저장 과정 중에 산소, 광선, 열, pH 조건에 의해 쉽게 변색되는 경우가 많기 때문에 색소를 첨가하여 식품 품질을 향상시키는 경우가 많다(Cortez 등, 2017). 현재까지도 합성 색소는 식품 산업에서 사용되어 오고 있지만, 합성 색소의 인체에 대한 잠재적인 독성으로 인하여 합성 색소의 안전성에 대한 문제가 식품 산업에 제기 되고 있는 실정이다(Jackman 등, 1987). 이에 합성 색소에 대한 대안으로 천연에서 유래된 색소의 발굴 및 활용에 대한 다양한 연구가 수행되고 있는 실정이다. 천연 색소는 대부분 식물에서 추출한 것으로 대부분의 천연 색소는 인체에 무해할 뿐만 아니라 건강에 도움이 되는 장점도 있다(Cortez 등, 2017). 적색, 파란색, 노란색이 기본적인 색소로 이들의 혼합으로 다양한 색조의 색상을 만들어 낼 수 있다. 특히 적색 색소의 경우 색의 포화도에 크게 기여하기 때문에 식품 산업에서 적색 색소에 대한 관심이 증가하고 있는 추세이다(Cortez 등, 2017). Carotenoid, anthocyanin 및 betalain은 식물에서 추출할 수 있는 대표적인 적색 색소이다. Carotenoid는 발색력과 색 안정성이 뛰어난 뿐만 아니라 다양한 생리활성이 있지만 대부분이 지용성이기 때문에 식품산업에서 가공 적성이 떨어지는 단점이 있다. 반면에

anthocyanin과 betalain은 수용성 색소로써 손쉽게 식품에 사용 가능한 색소이다. Anthocyanin의 경우 색이 pH에 민감하게 변하기 때문에 산성 조건에서 활용하기에 제한이 있는 반면 betalain의 경우 pH 3에서 7 사이에서 착색력이 강해서 음료와 같은 약산성 제품에 활용할 수 있기 때문에 식품산업에서는 betalain 기반 적색 색소에 대한 관심이 증가하고 있다(Herbach 등, 2004). 레드 비트(*Beta vulgaris*)는 betalain을 풍부하게 함유하는 채소로 레드 비트 추출물은 FDA에서 승인한 천연 색소로써 유제품, 과자류, 아이스크림, 소시지 등에 이용되어 왔다.

천연 색소는 인체에 대한 안전성이 높고, 색의 종류가 다양하고, 섭취 가능한 성분이 많기에 색소로써 응용 가능성이 높지만, 천연에서 유래된 색소는 가공 혹은 저장에 따른 발색 안정성이 떨어지는 문제가 있다(Wissgott와 Bortlik, 1996). Betalain의 저장 안정성에 관여하는 외부적 요인으로는 산소, 빛, 온도 및 pH 등을 들 수 있으며, 산소, 높은 온도 및 빛의 조사는 betalain의 저장 안정성을 감소시키는 요소들이다(Herbach 등, 2006). Ascorbic acid와 isoascorbic acid는 산소를 제거함으로써 betalain의 저장 안정성을 향상시킬 수 있다(Attoe와 Von Elbe, 1982). 또한, 킬레이팅 소재, 구연산, EDTA 역시 betalain의 저장 안정성을 향상시킬 수 있다는 보고가 있었다(Herbach 등, 2006). 하지만 아직까지 천연물을 활용하여 betalain의 저장 안정성을 향상시키는 방법에 대한 연구가 많지 않은 상황이다.

브로콜리는 대표적인 십자화과 속 채소로써 고유의 향과 식미가 좋을 뿐만 아니라 항암 및 항산화 활성이 높아 전 세계적으로 오랜 기간 동안 소비되어 왔다. 브로콜리의 뛰어난 항암 및 항산화력으로 인하여 브로콜리 추출물은 만성 질환 예방 및 치료를 위한 의약품 및 기능성 식품에 활용되어 왔다(Ares 등, 2013). 다수의 연구결과에 따르면 지방산, 페놀화합물, 단백질, 비타민, 글루코시놀레이트 등이 브로콜리의 높은 함량 및 항산화에 기여

*Corresponding author: Jong-Yea Kim, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea
Tel: 82-33-250-6455
Fax: 82-33-259-5565
E-mail: jongkim@kangwon.ac.kr
Received August 7, 2019; revised September 25, 2019;
accepted October 14, 2019

하는 물질로 알려져 있다(Ares 등, 2013). 브로콜리는 항산화력이 뛰어나기 때문에 betalain의 저장 안정성을 향상시킬 수 있다고 기대되지만 이에 관한 구체적인 연구가 되어 있지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 브로콜리 추출물의 첨가가 레드 비트 색소의 저장 안정성에 미치는 영향에 대하여 연구하였으며, 브로콜리 추출 부위 및 조건에 따른 차이를 비교 분석하였다.

재료 및 방법

재료

강원도 홍천에서 재배하고 수확한 레드 비트를 홍천 미로농원에서 구입하여 사용하였으며, 브로콜리는 춘천 소재 마트에서 구입하여 사용하였다. Acetic acid, sodium acetate, sodium azide 및 비타민 C는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

레드 비트 색소 제조

레드 비트를 증류수로 세척하고 박피한 후 1% acetic acid와 1:2 (w/v)의 비율로 혼합한 후 믹서기로(RH-H9206, Russell Hobb, Failsforth, UK) 2분 동안 분쇄 및 추출한 후 감압 여과하여 색소를 제조하였다. 제조된 색소는 동결하여 -20°C 에서 보관하였으며 실험 전에 4°C 에서 해동하여 사용하였다.

브로콜리 추출물 제조

브로콜리를 증류수로 세척한 후 Seleshe 등(2017)이 사용했던 방법을 일부 수정하여 추출하였다. 브로콜리 시료를 추출 용매와 1:10 (w/v)의 비율로 혼합한 후 믹서기로(RH-H9206) 1분 동안 분쇄한 후 얼음 반응조에서 5분 동안 초음파 처리 후 실온에서 24시간 동안 추출하였다. 추출 후 원심분리하여 추출물을 회수한 후 -20°C 에서 보관하였다. 브로콜리 시료는 꽃 부분과 줄기 부분을 분리하거나 분리하지 않은 상태로 사용하였으며, 추출 용매는 증류수(추출 중 균의 증식을 억제하기 위하여 0.02% sodium azide 첨가), 30% 에탄올 수용액, 혹은 70% 에탄올 수용액을 사용하였다. 70% 에탄올에서 추출한 시료의 경우 일부는 동결 건조한 후 -20°C 에서 보관하여 사용하였다.

레드 비트 색소의 저장 안정성 평가

Betalain의 경우 pH 3에서 7 사이에서 착색력이 강한 반면 pH 3.0 이하 조건에서는 안정성이 떨어지기 때문에(Herbach 등, 2004), pH 2.8, 3.8 및 7.0 조건에서 레드 비트 색소의 저장 안정성을 평가하였다. pH가 2.8, 3.8 및 7.0인 아세트이트 버퍼(0.5 M)를 제조하였으며 저장 중 미생물의 성장을 억제하기 위하여 sodium azide (0.02% w/v)를 상기 버퍼에 첨가하였다. 용량이 3 mL인 큐벳에 상기 버퍼 2.7 mL과 레드 비트 0.15 mL을 옮겨 담고 70% 에탄올로 추출한 브로콜리 추출물 0.15 mL을 첨가하고 질소로 큐벳 내부를 충전하여 밀봉한 후 저장 안정성 평가를 진행하였다. 대조구 1의 경우 브로콜리 추출물 대신 70% 에탄올을 첨가한 반면 대조구 2의 경우 70% 에탄올과 비타민 C (3 mg)을 첨가하여 평가를 진행하였다. 상기 혼합물을 상온 암소, 4°C 암소 및 4°C 주광 조건에서 저장하면서 24시간 마다 537 nm에서 흡광도를 측정하였다.

아세트이트 버퍼(0.5 M, pH 3.8)를 이용하여 상기 언급된 방법과 동일하게 버퍼와 색소 혼합물을 제조한 후 증류수, 30% 에탄올 및 70% 에탄올로 추출한 브로콜리 꽃 및 줄기 부분 추출물 0.15 mL을 첨가하고 질소로 큐벳 내부를 충전하여 밀봉한 후 저

장 안정성 평가를 진행하였다. 대조구 1의 경우 브로콜리 추출물 대신 증류수, 30% 에탄올 및 70% 에탄올을 첨가한 반면 대조구 2의 경우 상기 대조구 1에 비타민 C (3 mg)을 추가로 첨가하여 평가를 진행하였다. 상기 혼합물을 상온 암소 조건에서 저장하면서 일정한 간격으로 537 nm에서 흡광도를 측정하였다.

아세트이트 버퍼(0.5 M, pH 3.8)를 이용하여 상기 언급된 방법과 동일하게 버퍼와 색소 혼합물을 제조한 후 70% 에탄올 0.15 mL에 동결건조 된 브로콜리 추출물 일정량(전체 혼합물 대비 0.05, 0.10, 및 0.30% w/v)을 녹인 후 첨가하고 질소로 큐벳 내부를 충전하여 밀봉한 후 저장 안정성 평가를 진행하였다. 대조구 1의 경우 동일 조건에서 브로콜리 추출물을 첨가하지 않은 반면 대조구 2는 브로콜리 추출물 비타민 C (3 mg)을 첨가하여 평가를 진행하였다. 상기 혼합물을 상온 주광 조건에서 저장하면서 일정한 간격으로 537 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

모든 추출 및 저장 안정성 평가는 최소 3회 이상 반복하였으며, 저장 중 흡광도 값은 $\text{mean} \pm \text{standard deviation}$ 으로 나타냈으며, 각 평균값에 대한 유의성 검증은($\alpha=0.05$) SAS software version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하였다.

결과 및 고찰

저장 조건에 따른 레드 비트 색소의 저장 안정성 변화

밀봉되어 유통되는 가공식품의 특성을 고려할 때 레드 비트의 대표적인 색소 성분인 betalain의 저장 안정성에 관여하는 주요 외부적 요인을 빛, 온도 및 pH로 설정하여 연구를 진행하였다. 또한 레드 비트를 식용 색소로 활용할 경우 분리 정제되지 않은 추출물 형태로 주로 이용하기 때문에 본 연구에서는 betalain의 주된 흡광도 파장인 537 nm에서 추출물의 흡광도를 측정함으로써 레드 비트 색소의 저장 안정성을 평가하였다. 다양한 pH, 온도 및 광원 조건에서 브로콜리 추출물 첨가에 따른 레드 비트 색소의 저장 안정성 변화를 Fig. 1에 도식화 하였다. 실제 식품이 유통될 수 있는 온도와 광원 조건을 고려하여 4°C 와 실온의 온도 조건과 암소와 주광의 광원 조건에서 시료를 저장하였다. 4°C 에서 레드 비트 색소를 저장할 경우 전반적으로 색소의 저장 안정성이 높았으며, 특히 빛을 차단할 경우, 모든 pH 조건에서 비타민 C 및 브로콜리 추출물의 첨가와 상관없이 레드 비트 색소의 흡광도는 5일 동안 안정적으로 유지되었다. 반면에 주광에 노출할 경우, 레드 비트 색소의 저장 안정성이 상대적으로 감소하는 경향을 보였다. 특히 pH 2.8 조건에서 감소 폭이 가장 컸지만, 비타민 C와 브로콜리 첨가에 따라 감소 폭이 감소하는 경향을 보였다. 자외선 및 가시광선의 조사는 betalain의 발색단의 전자가 들뜬 상태가 됨에 따라 betalain의 반응성을 증가시켜 레드 비트의 저장 안정성을 감소시킬 수 있다(Herbach 등, 2006). 실온에서 레드 비트 색소를 저장할 경우 색소의 흡광도가 급격히 감소하는 경향을 보였으며 실온 주광 저장 조건에서는 시료 간 차이 없이 급격하게 흡광도가 감소하여 본 연구에서는 제외하였다. 온도는 betalain의 안정성에 크게 영향을 미치는 요소로써 온도가 증가할수록 색소의 분해 속도가 증가하기 때문에 실온 저장 시 색소의 저장 안정성이 감소한 것이라고 사료된다(Saguy 등, 1978). 반면 실온 저장 시 빛을 차단할 경우, 산성 조건에서는 비타민 C 및 브로콜리 추출물 첨가에 의하여 색소의 저장 안정성이 향상되었다. Attoe와 von Elbe(1982)의 보고에 따르면 비타민 C는 항산화제로써 활성산소를 제거함에 따라 betalain

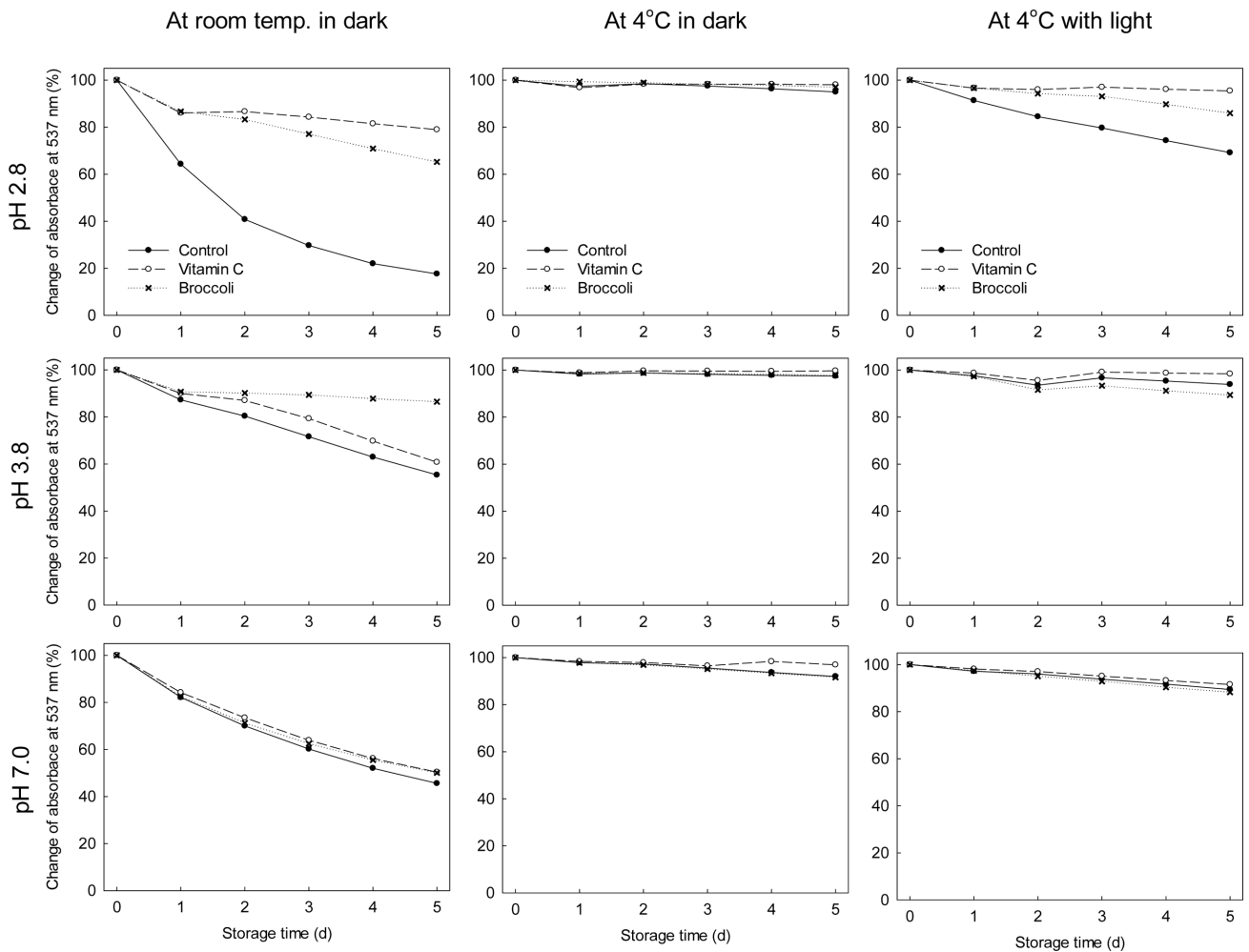


Fig. 1. Absorbance changes of red beet pigment at 537 nm, when adding vitamin C or broccoli extract, during storage under various pH conditions, temperature, and light condition.

의 분해를 억제하고 betalain의 재형성 과정을 촉진함으로써 betalain의 저장 안정성을 향상시킬 수 있다고 사료된다. Betalain의 분해는 가역적인 반응으로, betalain의 재형성은 pH 조건에 영향을 받으며 pH 7 이상 조건에서는 betalain이 재형성 되지 않을 수 있기 때문에 pH 7.0 조건에서 비타민 C와 브로콜리 추출물 첨가를 하여도 레드 비트 색소의 저장 안정성이 향상되지 않은 것이라고 사료된다(Huang과 Elbe, 1987). 한가지 주목할 만한 사실은 상온에서 빛을 차단한 상태에서 저장할 경우 pH 3.8 조건에서 브로콜리 추출물 첨가에 의하여 레드 비트 색소의 저장 안정성이 가장 높게 향상되었다는 것이다. 이는 betalain이 pH 3에서 7 사이에서 안정성이 높은 반면 pH 3.0 이하 조건에서는 상대적으로 안정성이 떨어지기 때문에 나타난 결과라고 사료된다(Herbach 등, 2004). 따라서 이 후 브로콜리 추출물 첨가에 따른 레드 비트의 색소 저장 안정성 향상 기작을 규명하기 위하여 pH 3.8 조건에서 빛을 차단하고 실온에서 저장하며 연구를 수행하였다.

브로콜리 부위 및 추출 조건에 따른 저장 안정성 변화

레드 비트 색소 저장 안정성 향상에 관한 브로콜리 추출물의 영향을 보다 명확히 규명하기 위하여 브로콜리 추출 시 에탄올 함량 및 브로콜리 부위에 따른 차이를 분석하였으며 그 결과를 Fig. 2에 도식화 하였다. 브로콜리 부위에 상관없이 증류수와 30%

에탄올로 추출하였을 경우 레드 비트 색소의 저장 안정성 향상에 주목할 만한 변화를 주지 못하고 대조구 1과 유사한 흡광도 변화를 보였다. 반면에 70% 에탄올을 이용하여 추출한 브로콜리 시료의 경우 레드 비트 색소의 안정성 향상 면에서 비타민 C보다 효능이 좋았다. 특히 브로콜리 꽃 추출물을 첨가할 때 색소의 저장 안정성이 가장 높았다. 브로콜리에는 다양한 종류의 생리활성 물질이 있으며, 지방산, 카로테노이드, 클로로필 등의 지질, 페놀 화합물, 지용성 비타민, 수용성 비타민 및 글리코시놀산 등으로 분류할 수 있다(Ares 등, 2013). 상기 결과를 종합해 볼 때 브로콜리에 있는 생리활성 물질 중 상대적으로 소수성이 강한 성분이 레드 비트 색소의 저장성 향상에 주로 기여했을 것이라고 사료된다. 본 연구에서는 산업적 활용을 위한 효능 평가에 중점을 두어 정확한 지표 물질을 규명하지 못하였지만 향후 이를 위한 추가적인 연구가 필요하다. 70% 에탄올을 추출 조건에서 꽃 추출물이 줄기 추출물보다 레드 비트 색소의 저장 안정성을 더 크게 향상시켰으며 이는 브로콜리 꽃 부분의 카로테노이드 및 페놀 화합물 함량이 줄기 부분보다 상대적으로 높기 때문이라고 생각된다(Zhang과 Hamazu, 2004).

추출물 첨가량 및 용매에 따른 저장 안정성 변화

70% 에탄올로 추출한 브로콜리 추출물은 녹색이기 때문에 레

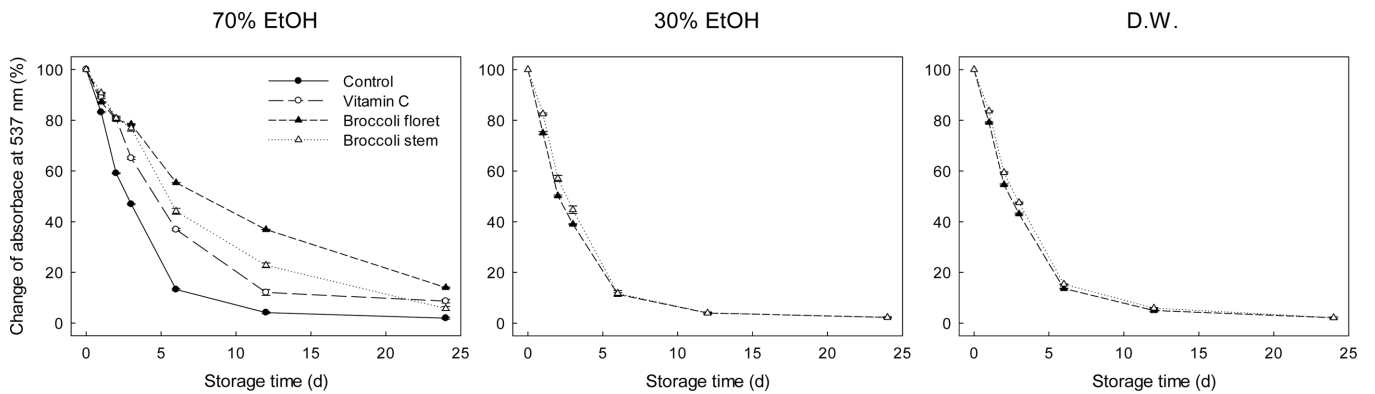


Fig. 2. Absorbance changes of red beet pigment with broccoli extract at 537 nm at pH 3.8 during storage at room temperature and dark condition depending on extraction condition and extracted part of broccoli.

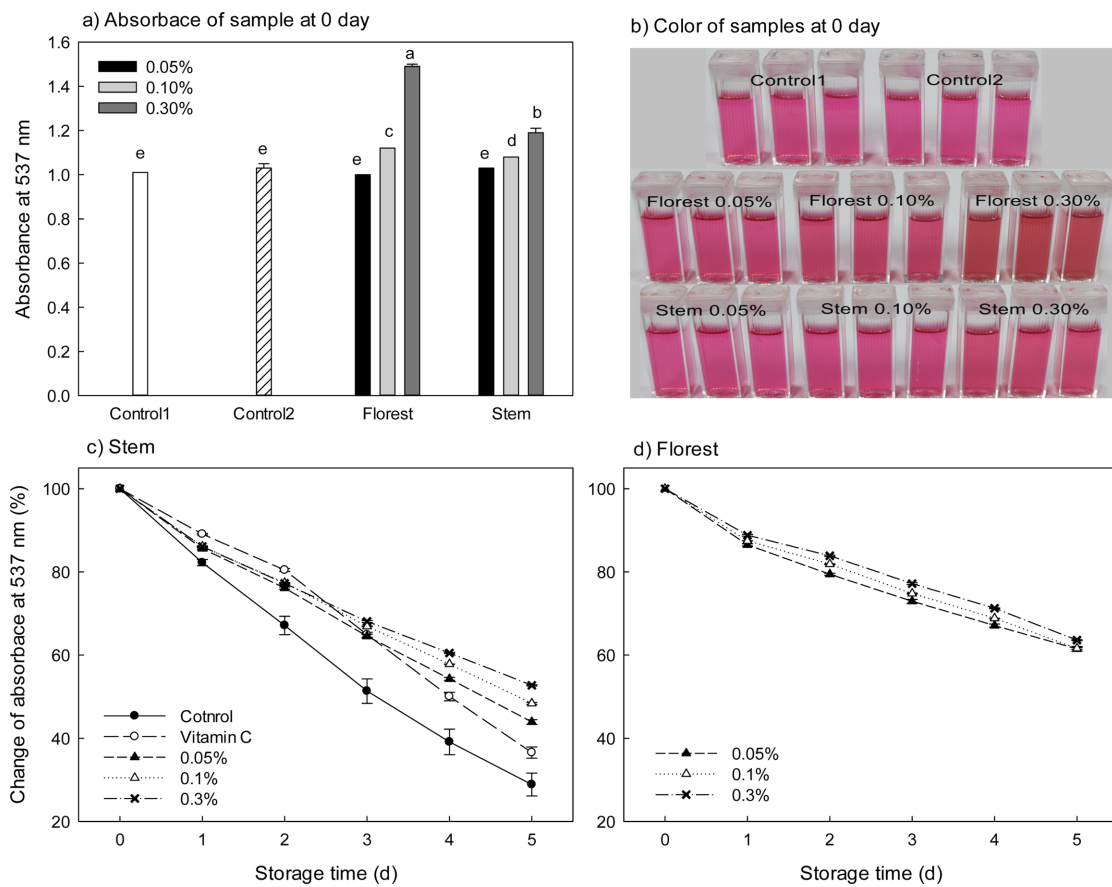


Fig. 3. Initial absorbance at 537 nm (a) and color (b) of red beet pigment with broccoli extract at pH 3.8 and the absorbance changes (c and d) during storage at room temperature and dark condition depending on extracted part of broccoli and addition level of freeze dried broccoli extract.

드 비트 색소 안정제로 사용할 경우 레드 비트 색소 고유의 색에 변화를 줄 가능성이 있다. 브로콜리 추출물의 활용가능성을 보다 명확히 하기 위하여, 추출물을 동결건조 후 추출물 첨가량에 따른 레드 비트 색소의 색 변화와 저장 안정성 변화를 비교하였으며 그 결과를 Fig. 3에 도식화 하였다. 비타민 C (0.1% w/v)의 경우 537 nm에서 측정된 흡광도와(Fig. 3a) 사진(Fig. 3b)상에서 보이는 색에서 대조구 1과 주목할 만한 차이가 없었다. 브로콜리 추출물의 경우 0.05% (w/v) 수준의 첨가량에서는 흡광도와 사진상 색상에서 대조구 1과 주목할 차이가 없었지만 첨가량이

증가할수록 붉은색이 증가하는 결과를 보였으며, 이러한 경향은 꽃 추출물에서 더 증가하였다(Fig. 3a). 레드 비트 색소의 저장 안정성 면에서 볼 때 브로콜리 추출물이 뛰어난 결과를 보였지만 추출물 첨가량이 증가함에 따라 레드 비트 색소 고유의 색이 변하는 문제가 발생하였다. 추출물을 동결건조하지 않고 바로 색소에 첨가하였을 때와 마찬가지로 비타민 C, 브로콜리 줄기 추출물, 브로콜리 꽃 추출물 순으로 레드 비트 색소의 저장 안정성은 증가되었다. 브로콜리 부위에 상관없이 추출물 농도가 증가할수록 색소의 안정성은 증가하였지만 변화는 크지 않았다. 하지만

브로콜리 추출물 0.05% 첨가의 경우 비타민 C보다 첨가량이 더 낮음에도 불구하고 레드 비트 본연의 색 변화 없이 레드 비트의 저장 안정성을 확연히 향상시킬 수 있었다.

요 약

70% 에탄올 브로콜리 추출물은 실온 암소에서 레드 비트 색소의 저장 안정성을 효과적으로 향상시킬 수 있었으며, 대표적인 레드 비트 색소 안정제인 비타민 C보다 브로콜리 추출물의 효능이 좋았다. 브로콜리 물 추출물 및 30% 에탄올 추출물의 경우 레드 비트 저장 안정성에 영향을 미치지 못하는 것으로 볼 때 상대적으로 소수성이 강한 성분들이 레드 비트 색소의 저장 안정성 향상에 관여할 것이라고 생각된다. 브로콜리의 줄기 부위보다는 꽃 부위 추출물의 효능이 상대적으로 높았다. 하지만 꽃 부분은 브로콜리의 주된 가식 부위인 반면 줄기는 비가식 부위로 폐기될 경우가 많기 때문에 산업적으로 활용가치가 더 높을 수도 있다고 사료된다. 브로콜리 추출물은 천연 첨가물로서 실온 암소에서 레드 비트 색소의 저장 안정성을 향상시킬 수 있었기 때문에 실온 유통되는 레드 비트 색소를 함유하는 식품에 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 기대한다. 하지만 브로콜리를 본격적으로 레드 비트 색소로 활용하기 위해서는 색소의 안정성 향상에 관여하는 브로콜리 추출물의 지표 물질 규명을 위한 추가적인 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 중소벤처기업부와 한국산업기술진흥원의 “지역특화 산업육성사업 (R0006436)”으로 수행된 연구결과입니다.

References

- Ares AM, Nozal MJ, Bernal J. Extraction, chemical characterization and biological activity determination of broccoli health promoting compounds. *J. Chromatogr. A.* 1313: 78-95 (2013)
- Attoe EL, von Elbe JH. Degradation kinetics of betanin in solutions as influenced by oxygen. *J. Agric. Food Chem.* 30: 708-712 (1982)
- Cortez R, Luna-Vital DA, Margulis D, Gonzalez de Mejia E. Natural pigments: Stabilization methods of anthocyanins for food applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 16: 180-198 (2017)
- Herbach KM, Stintzing FC, Carle R. Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *J. Food Sci.* 69: C491-C498 (2004)
- Herbach KM, Stintzing FC, Carle R. Betalain stability and degradation-structural and chromatic aspects. *J. Food Sci.* 71: R41-R50 (2006)
- Huang AS, Elbe JHV. Effect of pH on the degradation and regeneration of betanin. *J. Food Sci.* 52: 1689-1693 (1987)
- Jackman RL, Yada RY, Tung MA, Speers RA. Anthocyanins as food colorants-a review. *J. Food Biochem.* 11: 201-247 (1987)
- Saguy I, Kopelman IJ, & Mizrahi S. Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid. *J. Agric. Food Chem.* 26: 360-362 (1978)
- Seleshe S, Lee JS, Lee S, Lee HJ, Kim GR, Yeo J, Kang SN. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Ethanol Extracts of Three Kinds of Strawberries. *Prev. Nutr. Food Sci.* 22: 203-210 (2017)
- Wissgott U, Bortlik K. Prospects for new natural food colorants. *Trends Food Sci. Technol.* 7: 298-302 (1996)
- Zhang D, Hamazu Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chem.* 88: 503-509 (2004)