

추출조건과 첨가물에 따른 검정콩의 안토시아닌 함량과 색소 안정성

이혜정 · 최은영* · 심영자** · 김옥선** · 유호정*** · 도완녀**** · †김용호*****

가천의과학대학교 식품영양학과, *덕성여자대학교 식품영양학과
숙명여자대학교 식품영양학과, * (주)엔자임텍, ****강릉대학교 식품영양학과
*****순천향대학교 의료생명공학과

Anthocyanin-Contents and Pigment Stability of Black Soybean by Different Extract Condition and Stabilizer

Hye-Jeong Lee, Eun-Young Choi*, Young-Ja Sim**, Ok-Sun Kim**, Ho-Jung Yoo***
Wan-Nyeo Do**** and †Yong-Ho Kim*****

Dept. of Food and Nutrition, Gachon University of Medicine and Science, Incheon 406-799, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

**Dept. of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

***Enzymtech Co., Ltd., Yongin 446-903, Korea

****Dept. of Food and Nutrition, Kangneung University, Kangneung 210-702, Korea

*****Dept. of Medicinal Biotechnology, Soonchunhyang University, Chungnam 336-745, Korea

Abstract

The purpose of this study was to analyze the anthocyanin contents of black soybean crude extracts derived using a countercurrent system and to compare the effects of stabilizers (β -cyclodextrin, maltodextrin) and sugars (sucrose, maltose) on the color deterioration of the anthocyanin. When the extraction process was kept at 100°C for 120~180 min, only C3G (cyanidin-3-glucoside) was detected in the water extract. The C3G contents in the water extracts acquired at 8°C, 60°C, and 80°C were 2.38 ppm, 1.73 ppm, and 1.73 ppm, respectively. Sucrose and maltose retarded color deterioration of the crude pigment extract by the countercurrent method with methanol. Finally, the additions of maltodextrin or β -cyclodextrin did not retard thermal color deterioration of the black soybean crude pigment extract.

Key words: black soybean, anthocyanin, stabilizer, thermal color deterioration.

서론

현재 안토시아닌 색소는 천연 식품 첨가제로서의 가능성과 함께 기능성 물질로서의 역할에 관한 연구가 이루어지고 있으며, 안토시아닌 생합성계의 유전자와 구조, 색 발현과 안정화의 기전이 밝혀짐에 따라 원예 분야에서는 유전공학적 방법에 의한 꽃 색의 변환에 대한 연구가 진행되고 있다¹⁾. 안토시아닌은 중성 영역에서의 색의 분해, 퇴색으로 인해 flavonoids

보다는 늦게 연구가 시작되었으나, 최근에는 대표적인 안토시아닌 색소인 cyanidin-3-glucoside(C3G)가 산화적 스트레스에 강하며 항산화성이 있는 것으로 보고됨에 따라 기능성 연구가 활발하다. Niki 등은 자외선 상해 효과 연구에서 안토시아닌의 C3G, D3G, P3G가 UV에 의한 지질 과산화 억제 능력이 있고, 멜라닌 생성에 관여하는 tyrosinase 활성 저해가 있다고 보고한 바 있다¹⁾. 특히 안토시아닌의 aglycone이 *in vitro* 실험에서는 β -tocopherol을 상회하는 항산화 효과를 나타내

† Corresponding author: Yong-Ho Kim, Dept. of Medicinal Biotechnology, Soonchunhyang University, Chungnam 336-745, Korea.
Tel: +82-41-530-1281, E-mail: yohokim@sch.ac.kr

있고, hydroxy radical, superoxide 음이온 제거능이 있다고 보고하였다. 한편, 국내에서도 Kim 등²⁾은 검정콩 종피의 안토시아닌 색소의 항산화 효과를 분석한 결과 β -tocopherol에 뒤떨어지지 않는 항산화력이 있다고 하였다. 안토시아닌은 배당체로서 가수분해하면 aglycone인 anthocyanidin과 당으로 분해되며 2-phenyl-3,5,7-trihydroxyflavylium의 기본 구조를 가지고 있고, anthocyanidin은 phenyl 기의 OH의 위치에 따라 pelargonidin, cyanidin, delphinidin으로 구별되며, 그 외에는 peonidin, petunidin, malvidin 등이 있다³⁾.

Anthocyanin 추출에 관한 연구로는 여러 용매를 사용하여 검정콩과 포도의 안토시아닌을 추출한 보고가 있으며⁴⁻⁶⁾, Cho 등⁷⁾과 Chung⁴⁾ 등은 안토시아닌은 cyanidin계의 chrysanthemine으로 물에 녹아 식품에 응용하기 용이하다고 하였으며, Chung 등⁶⁾은 용출의 영향을 주는 인자로서 물의 침지 온도와 시간의 연구에서 온도와 색의 변화는 상관도가 높다고 하였다. 검정콩 안토시아닌 색소의 안정화는 flavylium ring의 수화를 억제하여야 하는데, 이에 영향을 주는 인자로는 유기산, 플라보노이드, 폴리페놀 등의 조색소, 당류, 온도, pH, 금속 이온 등⁸⁾이 보고되어 있으며, 그 중에서도 단당류는 변색을 촉진시키고 이당류는 억제 효과가 큰 것으로 보고한 바 있다^{5,9)}. 유기산에 의한 색소 안정성은 malic acid가 가장 효과가 크고 다음으로 tartaric acid, citric acid, succinic acid, malonic acid 그리고 ascorbic acid 등의 효과도 있음이 보고되었다^{7,11)}. Oh 등¹²⁾은 포도 과피에서 추출한 안토시아닌에 중성 아미노산인 glycine, isoleucine, methionine과 산성 아미노산인 aspartic acid, glutamic acid와 염기성 아미노산인 arginine, lysine을 pH 3.5에서 첨가하여 색소의 강도를 측정된 결과 aspartic acid 첨가구가 중성 아미노산 첨가구보다 높음을 보고하였다.

그동안 안토시아닌 색소의 추출은 대부분 메탄올을 사용한 경우가 많았으나, 본 논문에서는 옥수수 전분 추출 방법인 counter current system¹³⁾을 응용하여 검정콩의 안토시아닌을 추출하는 한편, 가열조건과 몇 가지의 안정제 첨가에 따른 안토시아닌의 안정성을 분석하였기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험의 재료는 국내 장려 콩 품종 중 검정콩 1호를 유기농 매장(농협 하나로 마트, 서울, 한국)에서 구입하여 -20°C 에서 보관하며 사용하였다.

2. 색소 추출 방법

Counter current 방법¹³⁾은 옥수수의 전분 제조 시 옥수수를

침지 탱크에 넣고 침지수를 채운 다음 52°C 로 가열하고 22~50시간 침지시키는 것으로 침지 시에는 여러 개의 탱크를 사용한다. 먼저 한 탱크에서 일정 시간 추출된 가용 성분이 담긴 물을 다음 탱크에 부은 후 다시 새로운 시료를 넣어 추출하고, 여기에서 추출된 가용성분을 세 번째 탱크에 넣고 새로운 시료를 넣어 용출하여 모은다. 다시 첫 번째 탱크에 새로운 물을 부어 가용성 성분을 추출하여 처음과 같이 한 후, 한 탱크당 3번의 가용성 물질을 추출하는 방법이다. 옥수수에서는 단백질과 전분의 matrix를 파괴하여 전분의 수율과 품질을 높이는 방법으로 3번씩 용출하는데 이것은 옥수수가 물을 흡수하여 팽윤하는데 수분이 40%에 이르면 포화상태가 되므로 추출의 극대화를 고려하여 채택하고 있다. 본 연구에서는 콩 껍질에 존재하는 색소 분리를 위해서 8°C , 60°C , 80°C 에서 1시간씩 counter current system으로 열수 추출하고, 3회의 용출된 안토시아닌을 모아 1/3 정도로 농축하여 안토시아닌 함량을 측정하였다.

1) 메탄올 추출

콩 껍질 1g을 추출용매 30 ml(메탄올 60%)에 넣고 상온상태에서 24시간 추출하였다. 추출한 용액을 syringe와 syringe filter(Nylon 66 syringe filter 13 mm, $0.45\ \mu\text{m}$)를 이용하여 여과한 다음 보관하면서 시료로 사용하였다. Standard는 polyphenols 사(Sandnes, Norway)에서 구입한 cyanidin-3-glucoside(C3G), delphinidin-3-glucoside(D3G), petunidin-3-glucoside(Pt3G)을 사용하였다.

2) Counter Current 추출

콩은 껍질을 벗겨 콩 껍질만 Laboratory Blender(Waring Laboratory, Chicago, USA)에 분쇄하여 10g 시료에 155 ml의 물을 넣고 1시간마다 새로운 껍질을 넣고 추출하여 세 번 모으는 counter current system¹³⁾으로 추출하였다. 온도 조건은 8°C , 60°C , 80°C 에서 추출하였으며, 추출물은 Whatman No. 4로 여과한 후 3.5 brix로 감압 농축하여 암소에 보관하며 시료로 사용하였다.

3. 안토시아닌 색소 함량

안토시아닌 함량은 용매와 각각의 추출 방법에 의한 농도를 HPLC(Agilent LC 1200, Santa Clara, USA)로 측정하였으며, 분석 조건은 Table 1과 같다.

4. 색차

색차 측정은 색소 추출물을 빛이 투과되지 않도록 제작된 백색 계량용기(dia. 32 mm i.n. \times H150 mm)에 10 ml을 넣어 8°C 의 표준 색판(백색판-L값은 0.44, a값 1.38, b값 -0.62), 80°C 의

Table 1. HPLC conditions for anthocyanin pigments analysis

| | |
|--------------|--|
| Column | Tosoh Bioscience TSKgel™ ODS-120T (5 μ m 150×4.6 mm) |
| Wavelength | UV-visible 530 nm Range scanning: 200~900 |
| Mobile phase | H ₂ O : methanol : formic acid (78 : 17 : 5 v/v/v) |
| Flow rate | 1.0 ml/min |
| Sample size | 2.0 μ l |

표준 색판(L값은 0.63, a값 2.37, b값 0.47) 및 60°C의 표준 색판(L값은 2.82, a값 4.06, b값 0.63)으로 기본 값을 설정한 spectrophotometer(d-3500d, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter's value 인 L(Lightness), a(Redness), b(Yellowness)값을 측정하였다.

5. 색소 안정성 분석

1) 가열에 의한 색도 변화

콩의 안토시아닌 색소 추출액의 열 안정성을 측정하기 위해 열수 추출한 각 시료의 조추출물을 round flask에 50 ml 씩 분주하고 환류냉각관을 연결한 다음 oil bath(471, Buchi, Switzerland)에서 가열하였다. 메탄올 추출액은 syringe와 syringe filter(Nylon 66 syringe filter 13 mm, 0.45 μ m)로 여과한 후 20배 희석하여 cap test tube에 각각 10 ml 씩 넣고 밀봉한 후 100°C에서 0~180분간 가열하였고, 반응물은 가열 후 즉시 ice bath에 치상하여 변색 반응을 종료시켰다. 가열 처리된 조추출물의 변색 지표로는 퇴색도(Degradation index, DI)와 spectrophotometer에 의한 색도 값을 사용하였다. DI는 Fuleki T와 Francis FJ(1968)의 방법에 따라 조추출물을 pH 1.0의 완충용액(0.2 N KCl-0.2 N HCl(25 : 67)과 pH 4.5 완충용액[1N sodium acetate-1 N HCl-water(100 : 60 : 90)]을 이용하여 적절한 농도로 희석하고, 525 nm에서 흡광도(Biochrom S22, Biochrom Limited, Cambridge, England)를 측정 후 다음의 식에 의하여 계산하였다.

$$DI = A_{pH 1.0} / (A_{pH 1.0} - A_{pH 4.5})$$

$A_{pH 1.0}$ = Absorbance at 525 nm at pH 1.0

$A_{pH 4.5}$ = Absorbance at 525 nm at pH 4.5

색도 값은 색차계(Spectrophotometer, Minolta-3500d, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter's L, a, b값으로 나타내었다.

2) 당의 영향

색소 추출액의 열 안정성 변화는 sucrose(Junsei Chemical Co, Osaka, Japan)와 maltose(Junsei Chemical Co, Osaka, Japan)를 선정하여 검정콩 추출물에 최종 농도가 각각 1%, 10% 되도록 첨가하여 반응액을 제조하였다. 반응액의 pH 를 3.0으로 조절하고 100°C에서 0~180분간 동안 가열한 후 DI를 측정하였다.

3) 색소 안정화제의 영향

색소 안정화에 이용되는 β -cyclodextrin(Junsei Chemical Co, Osaka, Japan), maltodextrin(Junsei Chemical Co, Osaka, Japan)을 1%와 5%의 농도로 각각 첨가하여 100°C에서 180분간 가열한 후 DI 변화를 측정하여 검정콩 안토시아닌의 가열 안정성을 조사하였다.

6. 통계처리

실험결과는 SAS program(Version 6.0)을 이용하여 one way 분산분석(ANOVA)을 실시하여 Duncan의 다중 범위검정으로 시료간의 유의차를 검증하였으며, 추출조건과 첨가물간의 상관관계는 Pearson의 적률 상관 계수를 이용하여 상관도를 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 안토시아닌 함량

1) 메탄올 추출에 의한 안토시아닌 함량

정량 분석에 사용된 안토시아닌 표준물질의 검량 회귀식은 RP-HPLC에서 delphinidin-3-glucoside(D3G), cyanidin-3-glucoside(C3G) 및 petunidin-3-glucoside(Pt3G) 순으로 chromatogram이 나타났으며, anthocyanin standard의 peak area와 각각의 표준 물질을 농도구배로 희석하여 회귀식을 구하였다. 계산된 D3G, C3G 및 Pt3G의 회귀식과 결정 계수는 D3G가 $Y = -1948.x + 6583(r^2 = 0.974)$, C3G가 $Y = -5741.x + 19525(r^2 = 0.983)$, Pt3G가 $Y = -3488.x + 11783(r^2 = 0.990)$ 이었으며, 이를 시료의 검량식으로 사용하였다. 메탄올 추출에 의한 검정콩 안토시아닌을 분석한 결과, C3G와 D3G가 검출되었으며(Fig. 1), 함량은 D3G가 0.57 ppm, C3G가 2.23 ppm이었다(Table 2). 이 값은 Kim 등²⁾이 분석한 수치에 비해 상당히 낮은 함량이었는 데, 이것은 용매 사용시 HCl 등의 산이 첨가되지 않은 까닭으로 사료 된다.

2) Counter Current System에서 추출한 검정콩의 안토시아닌 함량 및 파장 분석

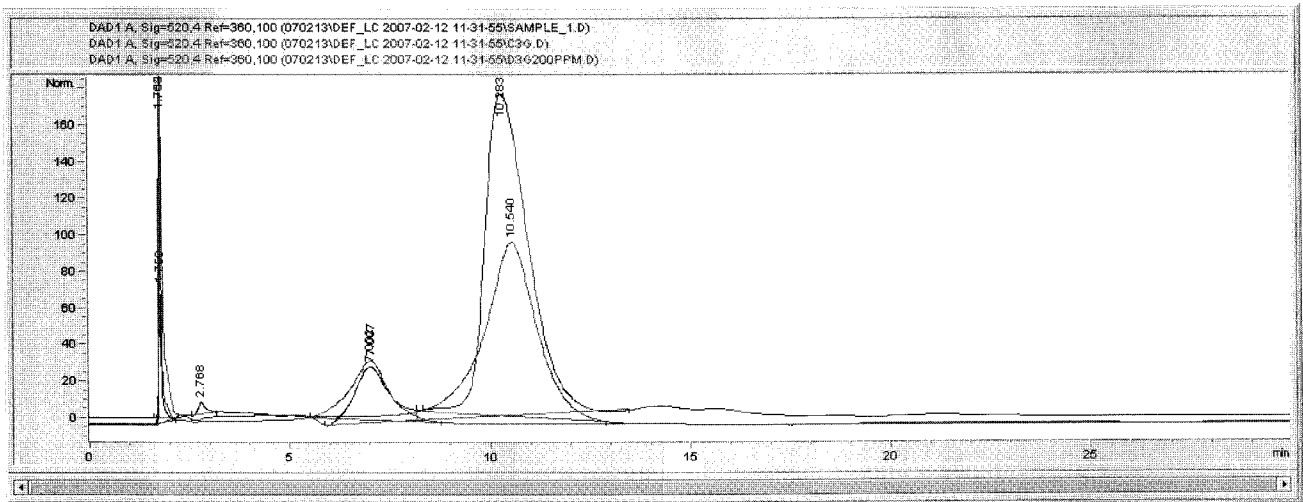


Fig. 1. Comparison of HPLC chromatogram between standard(red) and anthocyanin of black soybean(blue) extracted by metanol.

Table 2. Anthocyanin content by methanol extraction in black soybean

| Anthocyanin | RT | Content |
|--------------------|--------------------|--------------------|
| D3G ¹⁾ | 7.002 | 0.57 ppm |
| C3G ²⁾ | 10.233 | 2.23 ppm |
| Pt3G ³⁾ | n.d. ⁴⁾ | n.d. ⁴⁾ |

¹⁾ D3G; delphinidin-3-glucoside, ²⁾ C3G; cyanidin-3-glucoside, ³⁾ Pt3G; petunidin-3-glucoside, ⁴⁾ n.d.; not detected.

Count current system을 이용하여 8°C에서 추출한 검정콩 안토시아닌은 1개의 chromatogram이 검출되었다(Fig. 2). 검출된 peak를 standard와 비교하여 과장 분석을 한 결과(Fig. 3) 나타

난 chromatogram은 C3G임을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 60°C와 80°C에서도 같은 경향이였다. 다만 안토시아닌 함량이 추출 온도에 따라 다르게 나타났는데, 8°C에서의 안토시아닌 함량이 2.38 ppm이었던 반면, 60°C와 80°C에서는 1.73 ppm을 나타내어 추출 온도가 높아짐에 따라 안토시아닌의 안정성이 떨어짐을 알 수 있었다(Table 3).

이와 같은 결과를 종합할 때 메탄올 추출에서는 C3G와 D3G가 검출된 반면 counter current system에서는 C3G만 분석되었는데, 이것은 안토시아닌 용출 과정에서의 색소 안정성과 관련이 있을 것으로 사료되나 추후 정밀한 검토가 필요하겠다. 본 연구의 결과로는 C3G가 D3G가 안정성이 높으리라 판단되었는데, 원래 검정콩 안토시아닌 색소 중 D3G의 함량

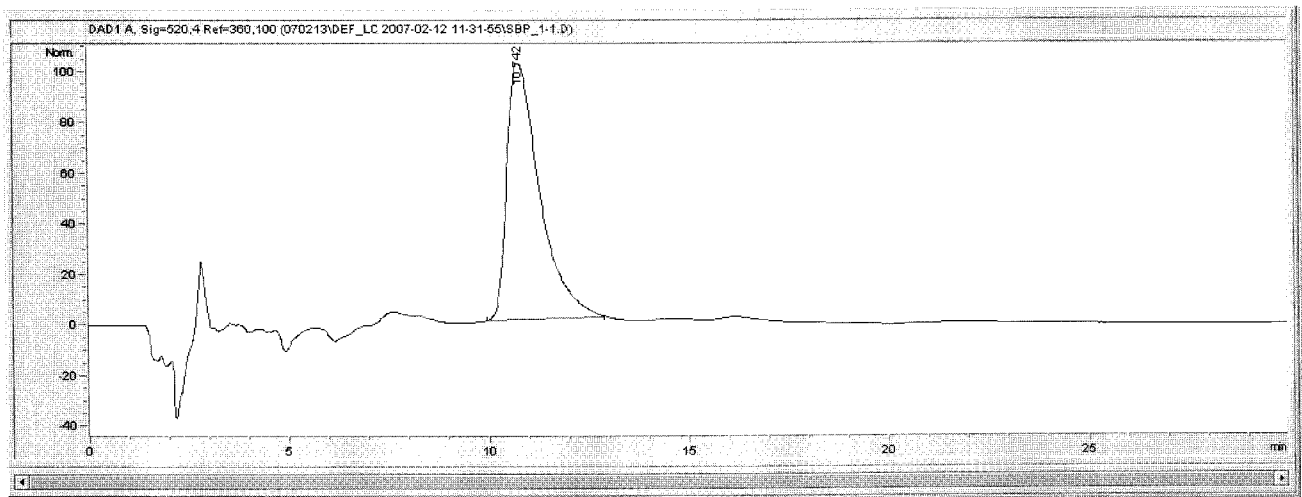


Fig. 2. HPLC chromatogram of anthocyanin extracts by counter current system at 8°C from black soybean.

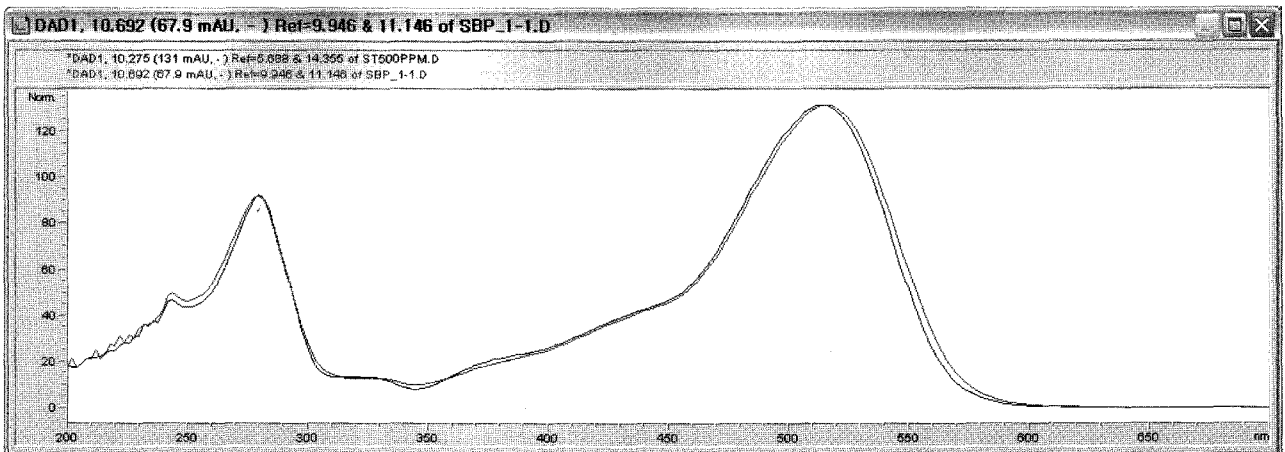


Fig. 3. Comparison of Wave length between standard(red) and anthocyanin extracts(blue) by counter current system at 8°C from black soybean.

Table 3. Anthocyanin content by counter current system from black soybean at different temperature

| Extraction temp. | Anthocyanin content | | |
|------------------|---------------------|-------------------|--------------------|
| | D3G ¹⁾ | C3G ²⁾ | Pt3G ³⁾ |
| 8°C | n.d. ⁴⁾ | 2.38 ppm | n.d. ⁴⁾ |
| 60°C | n.d. ⁴⁾ | 1.73 ppm | n.d. ⁴⁾ |
| 80°C | n.d. ⁴⁾ | 1.73 ppm | n.d. ⁴⁾ |

¹⁾ D3G; delphinidin-3-glucoside, ²⁾ C3G; cyanidin-3-glucoside, ³⁾ Pt3G; petunidin-3-glucoside, ⁴⁾ n.d.; not detected.

이 C3G보다 낮은 것도 counter current system에서 D3G가 검출되지 않은 한 요인으로 생각된다.

한편, 메탄올 추출은 준비과정이 매우 간편한 반면 counter current system 추출은 농축 등의 시간이 더 많이 걸린다는 단점이 있으나, 메탄올 추출로는 식품에 직접 이용할 수 없으므로 식품 첨가제로서의 안토시아닌 활용도를 고려하면 counter current system 추출이 메탄올 추출보다 유용하다고 하겠다. 특히 8°C의 counter current system 추출은 메탄올 추출과 비교했을 때 안토시아닌 함량이 비슷하므로 안토시아닌 색소 추출의 효과적인 방법으로 제시해 볼 수 있겠다. 그러나 Kim²⁾등은 메탄올 추출시 HCl 등의 산이 첨가되면 안토시아닌의 추출 효율을 훨씬 높일 수 있다고 한 바 있다.

2. 안토시아닌 색소의 안정성

1) 가열에 의한 변색

추출된 색소의 안정성은 Chung⁴⁾과 Kim⁹⁾의 연구에서 색소와 색차 형질을 Hunter value로 측정된 결과, 흡광도와 Hunter value의 data가 높은 상관도를 보였다는 보고¹⁴⁾ 등을 참조하

여 가열 처리 시 첨가물에 따른 색소 안정성을 분석하였다²⁾.

가열 온도와 시간에 따른 조추출물의 변색 지표로 사용한 DI는 pH에 따라 안토시아닌의 색이 변하는 특성을 이용한 것이다. 즉, 산성에서 강한 적색을 나타내며, pH가 증가함에 따라 무색을 거쳐 청색으로 변화하는 특성을 이용한 것으로 안토시아닌 색소가 파괴되어 갈색 화합물이 증가하게 되면 pH 4.5에서의 흡광도 값이 증가하게 된다. 따라서 DI는 가열 시간이 길어지면 증가하여 100°C에서 180분간 가열하였을 때의 DI 값이 증가한다. 종합적인 색의 변화를 나타내는 delta E값은 가열 시간과 가열 온도에 비례하여 가열 시간이 증가함에 따라 L값은 약간 감소하고, b값은 거의 변화가 없고, a값은 급격하게 감소한다고 전 등은 보고하였다¹⁴⁾.

그러나 본 실험의 결과에서는 메탄올에서 추출한 시료들의 L값은 증가하고 a와 b값은 감소하였으며, delta E값은 가열 시간이 증가함에 따라 감소하여 Kim 등⁹⁾의 보고와는 상반되는 경향을 나타내었다. 즉, 메탄올 추출에서의 delta E값과 가열 시간과의 상관관계는 -0.993로 역의 높은 상관관계를 보였다(Table 4). 물 추출 안토시아닌 중 60°C와 80°C에서 추출한 안토시아닌의 Hunter value도 L값은 증가하고 a값은 약간 감소하고, b값은 증가하거나 변화가 없었으며, Delta E

Table 4. Comparison of Hunter's value of anthocyanin by methanol extraction in black soybean

| Heating time (Hour) | Hunter's value | | | |
|---------------------|----------------|-------|-------|--------|
| | L* | a* | b* | dE*a |
| 0 | 65.04 | 61.86 | 37.04 | -0.993 |
| 1 | 69.13 | 54.61 | 29.28 | |
| 2 | 72.31 | 47.42 | 27.24 | |
| 3 | 74.71 | 40.02 | 27.35 | |

Table 5. Hunter's value of anthocyanin from black soybean by counter current system extraction at 8°C, 60°C and 80°C

| Heating time (hour) | 8°C | | | | 60°C | | | | 80°C | | | |
|------------------------|------|------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|------|-------|
| | L | a | b | dE*a | L | a | b | dE*a | L | a | b | dE*a |
| 0 | 0.44 | 1.38 | -0.62 | | 2.82 | 4.06 | -0.63 | | 0.63 | 2.37 | 0.47 | |
| 1 | 0.33 | 1.66 | 0.56 | 0.89 | 5.53 | 4.07 | 0.38 | 0.72 | 0.36 | 1.90 | 0.61 | -0.82 |
| 2 | 0.57 | 2.47 | 0.98 | | 4.88 | 5.96 | 3.71 | | 0.27 | 1.67 | 0.47 | |
| 3 | 1.05 | 2.29 | 1.77 | | 4.67 | 4.45 | 3.44 | | 0.31 | 1.79 | 0.54 | |

값이 80°C에서는 -0.82, 60°C에서는 0.72로 나타났다. 8°C에서 추출한 시료의 Delta E 값은 0.89로 추출 온도가 낮을수록 가열 시간과의 높은 상관관계를 보였다(Table 5).

2) 추출용매에 의한 색도 변이

(1) 메탄올 추출 안토시아닌의 색차 변이

메탄올 추출 안토시아닌 색소의 색차 변이는 Table 6에서와 같이 대조군은 가열 시간에 따라 26% 증가하였고, 퇴색지표들은 $p < 0.05$ 로 유의성을 보였다. 가열에 의한 색차 변이도는 β -cyclodextrin 및 maltodextrin을 1%와 5% 농도로 조추출물에 첨가하고 100°C에서 180분간 가열하였을 때의 DI 값은 가열 시간에 따라 유의성을 보였으나 대조군과는 유의적인 차이가 없었다. 1%와 5% 첨가 간에도 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러나 1% 첨가는 2시간까지 가열의 다른 군과 비교할 때 퇴색 정도가 약했다. Maltodextrin은 대조군과 1%, 5% 첨가군 간의 농도에 따른 차이는 없었으나 가열 시간에

따른 차이는 있었으며, 색차 변이도는 약했으나 지연 효과는 유의성을 보이지 않았다.

안토시아닌의 가열에 의한 색차 변이 정도를 sucrose와 maltose로 DI를 측정하여 본 결과 Table 7과 같이 sucrose 첨가군은 농도가 높을수록 색차 변이도가 높아져 1% sucrose 첨가군이 대조군에 비해 29% 증가하였으며, 10% 첨가 시에는 37.5% 증가하여 sucrose 1% 첨가군이 색소 안정 효과가 있는 것으로 나타났다. Maltose 첨가는 가열 시간에 따른 퇴색의 정도가 대조군과 유사한 수준이었고, 농도에 따른 퇴색의 차가 거의 없었다.

2) Counter Current System 추출 안토시아닌의 변색

Table 8과 같이 대조군은 각각 3시간 가열시 8°C에서 25% 증가하였고, 60°C에서의 추출물은 26%, 80°C에서의 추출물들은 27%의 DI 값의 증가를 보여 가열 시간과 추출 온도의 교호작용효과가 있었다. 즉, 8°C 추출물은 2시간 가열 시 색차 변이가 가장 적었고, 3시간 가열 시에는 색차 변이가 컸으며,

Table 6. Effect of heating time and stabilizers on degradation index of anthocyanin with methanol extract

| Heating time | | 0 | 1 hr | 2 hr | 3 hr |
|-----------------------|----|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Control | | 1.23±0.00 ^d | 1.34±0.00 ^c | 1.48±0.01 ^b | 1.68±0.04 ^a |
| β -Cyclodextrin | 1% | 1.21±0.00 ^d | 1.32±0.00 ^c | 1.52±0.03 ^b | 1.69±0.01 ^a |
| | 5% | 1.27±0.01 ^c | 1.36±0.00 ^b | 1.54±0.02 ^a | 1.58±0.02 ^a |
| Maltodextrin | 1% | 1.23±0.00 ^d | 1.35±0.01 ^c | 1.62±0.01 ^b | 1.69±0.02 ^a |
| | 5% | 1.23±0.00 ^d | 1.34±0.00 ^c | 1.55±0.00 ^b | 1.65±0.01 ^a |

Superscript with the same letter in vertical of each sample is not significantly different($p < 0.05$).

Table 7. Effect of heating time and sugars on degradation index of anthocyanin with methanol extract

| Heating time | | 0 | 1 hr | 2 hr | 3 hr |
|--------------|-----|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Control | | 1.23±0.00 ^d | 1.34±0.00 ^c | 1.48±0.01 ^b | 1.68±0.04 ^a |
| Sucrose | 1% | 1.23±0.00 ^d | 1.36±0.01 ^c | 1.60±0.03 ^b | 1.74±0.04 ^a |
| | 10% | 1.25±0.00 ^d | 1.43±0.01 ^c | 1.74±0.03 ^b | 2.00±0.05 ^a |
| Maltose | 1% | 1.23±0.00 ^d | 1.36±0.00 ^c | 1.56±0.02 ^b | 1.72±0.02 ^a |
| | 10% | 1.24±0.00 ^d | 1.36±0.01 ^c | 1.56±0.01 ^b | 1.74±0.03 ^a |

Superscript with the same letter in vertical of each sample is not significantly different($p < 0.05$).

60°C 추출물은 가열 전보다 1시간 경에는 색차 변이가 적었으나, 3시간 이후에는 색차 변이가 컸다. 80°C 추출물은 60°C 추출물과 같은 경향을 나타내었다. 이런 결과는 Kim⁹⁾이 오미자를 100°C에서 180분 가열하였을 때 60% 증가한 것과 비교하면 색 변화의 정도가 낮아 안정적인 것으로 유추할 수 있겠다.

안정제 처리에 따른 색소의 안정성을 검토한 결과는 다음과 같다. β -cyclodextrin 첨가군은 대조군과 비교하여 가열 시간에 따라 DI 값이 거의 증가하지 않아 퇴색 지연 효과가 있는 것으로 판단되었다. 1% 첨가군과 5% 첨가군은 가열 시간에 따라 다르게 나타났으며, 1% 첨가군에서는 가열 시간과 추출 온도가 교호작용이 있어 변색에 영향을 주는 것으로 추정되었으며, 5% 첨가군에서는 가열 시간의 영향만 있으며 추출 온도의 영향은 없어 가열 시간과 추출 온도간의 교호작용

효과가 있었다. Maltodextrin은 1%와 5% 첨가가 변색에 미치는 영향은 추출 온도와 가열 시간과의 교호작용이 있어 1% 첨가군은 $p < 0.01$ 유의 수준에서, 5%는 $p < 0.05$ 에서 영향을 미쳤고, 1% 첨가군은 가열 시간에는 영향이 없었으나 80°C 추출에서는 색차 변이 정도가 약했다. 5% 첨가군은 $p < 0.05$ 유의수준에서 8°C 추출은 2시간 가열시, 80°C 추출에서의 1시간 가열은 색차 변이 정도가 낮았다. 즉, 5% 첨가군은 추출 온도에 상관없이 색차 변이가 지연되었고, 이런 결과는 Kim⁹⁾ 등의 연구와 유사한 경향이였다.

Sucrose 첨가군은 Table 9와 같이 10% 첨가군에서 변색이 약했고, 1% 첨가군은 가열 시간에 따라 변색은 하였으나 추출 온도에 대한 영향은 없는 것으로 나타났다. 1% 첨가군에서 8°C 추출은 가열 시간에 따라 색차 변이의 정도가 감소하

Table 8. Effect of heating time and stabilizers on degradation index of anthocyanin by counter current system extraction in black soybean at different temperatures

| | 8°C | | | | 60°C | | | | 80°C | | | | F value | | a*b |
|------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
| | 0 | 1 hr | 2 hr | 3 hr | 0 | 1 hr | 2 hr | 3 hr | 0 | 1 hr | 2 hr | 3 hr | Heating time(a) | Extraction temp.(b) | |
| Control | 1.32 ±0.01 ^c | 1.41 ±0.00 ^b | 1.61 ±0.03 ^a | 1.46 ±0.04 ^b | 1.24 ±0.03 ^a | 1.24 ±0.02 ^a | 1.26 ±0.01 ^a | 1.27 ±0.02 ^a | 1.79 ±0.17 ^b | 1.76 ±0.05 ^b | 1.91 ±0.13 ^{ba} | 2.21 ±0.28 ^a | 73.72 <.0001** | 17.49 <.0001** | 7.47 0.0002** |
| β -cyclo dextrin | 1.57 ±0.05 ^b | 1.95 ±0.16 ^a | 1.96 ±0.09 ^a | 1.83 ±0.06 ^a | 1.62 ±0.06 ^b | 1.68 ±0.02 ^b | 2.07 ±0.08 ^a | 1.71 ±0.01 ^b | 1.63 ±0.04 ^a | 1.58 ±0.04 ^a | 1.41 ±0.02 ^b | 1.45 ±0.03 ^b | 49.13 <.0001** | 8.53 0.0019** | 18.16 <.0001** |
| | 1.44 ±0.02 ^c | 1.95 ±0.10 ^a | 1.87 ±0.11 ^a | 1.65 ±0.05 ^b | 1.57 ±0.03 ^c | 1.76 ±0.04 ^b | 2.08 ±0.06 ^a | 1.72 ±0.06 ^b | 1.44 ±0.02 ^b | 1.47 ±0.02 ^b | 1.57 ±0.05 ^a | 1.50 ±0.06 ^{ba} | 33.41 <.0001** | 1.57 0.2309 | 34.05 <.0001** |
| Malto dextrin | 2.27 ±2.46 ^a | 1.48 ±1.54 ^b | 1.48 ±1.54 ^b | 1.69 ±1.79 ^b | 1.47 ±0.02 ^c | 1.50 ±0.03 ^{cb} | 1.78 ±0.04 ^a | 1.53 ±0.01 ^b | 1.60 ±0.02 ^a | 1.84 ±0.33 ^a | 1.86 ±0.04 ^a | 1.54 ±0.06 ^a | 3.06 0.0505 | 24.18 <.0001** | 8.33 0.0001** |
| | 1.71 ±0.28 ^a | 1.35 ±0.06 ^b | 1.51 ±0.05 ^{ba} | 1.78 ±0.05 ^a | 1.45 ±0.01 ^b | 1.47 ±0.01 ^b | 1.53 ±0.02 ^a | 1.55 ±0.05 ^a | 1.56 ±0.02 ^b | 1.47 ±0.01 ^b | 1.66 ±0.06 ^a | 1.69 ±0.06 ^a | 4.73 0.0113* | 3.61 0.0450* | 8.89 <.0001** |

*,** Significant at the $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, Superscript with the same letter in vertical of each sample is not significantly different($p < 0.05$).

Table 9. Effect of heating time and sugars on degradation index of anthocyanin by counter current system extraction in black soybean at different temperatures

| | 8°C | | | | 60°C | | | | 80°C | | | | F value | | a*b |
|---------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | 0 | 1 hr | 2 hr | 3 hr | 0 | 1 hr | 2 hr | 3 hr | 0 | 1 hr | 2 hr | 3 hr | Heating time(a) | Extraction temp.(b) | |
| Sucrose | 1.97 ±0.15 ^a | 1.55 ±0.06 ^b | 1.55 ±0.03 ^b | 1.65 ±0.01 ^b | 1.57 ±0.06 ^a | 1.52 ±0.02 ^a | 1.53 ±0.01 ^a | 1.59 ±0.04 ^c | 1.67 ±0.03 ^c | 1.96 ±0.07 ^a | 1.83 ±0.04 ^b | 1.83 ±0.04 | 27.8 <.0001** | 1.81 0.1876 | 13.94 <.0001** |
| | 1.40 ±0.05 ^a | 0.82 ±1.14 ^a | 1.53 ±0.00 ^a | 1.47 ±0.05 ^a | 1.46 ±0.04 ^b | 1.48 ±0.04 ^b | 1.44 ±0.08 ^b | 1.50 ±0.02 ^b | 1.53 ±0.02 ^b | 1.71 ±0.07 ^a | 1.70 ±0.14 ^a | 1.70 ±0.14 | 1.92 0.1577 | 0.56 0.5783 | 1.07 0.4132 |
| Maltose | 2.25 ±0.52 ^a | 1.59 ±0.05 ^b | 1.59 ±0.05 ^b | 1.73 ±0.04 ^b | 1.38 ±0.05 ^a | 1.39 ±0.01 ^a | 1.47 ±0.07 ^a | 1.49 ±0.02 ^d | 1.55 ±0.04 ^c | 1.77 ±0.02 ^b | 1.87 ±0.03 ^a | 1.87 ±0.03 | 104.13 <.0001** | 55.81 <.0001** | 108.88 <.0001** |
| | 1.35 ±0.04 ^b | 1.43 ±0.01 ^a | 1.49 ±0.01 ^a | 1.47 ±0.04 ^a | 1.85 ±0.04 ^{ba} | 1.97 ±0.17 ^a | 1.96 ±0.04 ^a | 1.49 ±0.01 ^b | 1.53 ±0.02 ^b | 1.60 ±0.06 ^b | 1.74 ±0.11 ^a | 1.74 ±0.11 | 29.95 <.0001** | 3.82 0.0385* | 19.64 <.0001** |

*,** significant at the $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, Superscript with the same letter in vertical of each sample is not significantly different($p < 0.05$).

였으며, 1% 첨가군 60°C 및 80°C 추출물과 10% 첨가군의 8°C, 60°C 그리고 80°C에서는 색차 변이가 증가하였다. 다른 당류인 maltose 처리에서는 10% 첨가군은 색차 변이가 적었으며, 8°C 추출물은 가열 시간에 따라 색차 변이가 감소하였으나, 60°C, 80°C 추출물은 색차 변이도가 증가하였다. 즉, 색소 안정화에서 maltose는 가열 시간과 추출 온도 사이에 $p < 0.01$ 에서 교호작용 효과가 있었으며, 10% 첨가군이 1% 첨가군보다 색소 안정화에 기여하는 것으로 판단되었다. 이와 같은 경향은 8°C, 60°C, 80°C의 추출물에서 동일했다.

요약 및 결론

안토시아닌 색소를 counter current system으로 추출하고 가공 조건하의 안정성에 대한 효과를 조사하고자 온도 조건을 8°C, 60°C, 80°C에서 1시간 추출하였다. 추출 방법에 따른 안토시아닌 함량 분석 결과, 메탄올 추출은 검정콩의 안토시아닌 색소인 C3G가 2.23 ppm 분석되었으며, counter current system 추출에서는 C3G가 8°C에서 2.38 ppm, 60°C에서 1.73 ppm, 80°C에서 1.73 ppm 분석되어 식품 첨가제로서 안토시아닌의 효용성을 볼 때 물을 이용하는 counter current system의 추출이 유용한 것으로 판단되었다.

가열에 의한 변색의 정도를 delta E값으로 분석한 결과, 메탄올 추출물은 가열 시간이 경과함에 따라 감소하였고, counter current system의 8°C, 60°C, 80°C의 추출은 추출 온도가 낮을수록 가열 시간과 높은 상관관계를 나타내어 8°C 추출이 2시간까지는 안정화 효과를 나타내었다.

안정제와 당류 첨가에 따른 안토시아닌의 안정화 효과에서 메탄올 추출은 β -cyclodextrin 1% 첨가가 2시간까지 변색 지연 효과를 보였으며, 당류는 sucrose 1% 첨가군이 안정 효과를 나타내었다. 한편, counter current system 추출에서는 β -cyclodextrin 1%가 세 종류 온도 추출물에서 모두 퇴색 지연 효과가 있었으며, maltodextrin은 1% 첨가가 가열 시간과 추출 온도 모두에서 1% 유의 수준의 안정 효과를 보였고, 5% 첨가군은 8°C 추출에서 2시간까지는 안정 효과가 있었다. Sucrose 1%와 maltose 1% 및 10% 첨가도 8°C 추출에서 안정화 효과를 나타내었다. 따라서 counter current system에 의한 검정콩 안토시아닌 추출은 함량면에서 8°C 추출이 효과적이며, 추출 색소 안정화 효과는 β -cyclodextrin 1%, maltodextrin 1%와 sucrose 1%, maltose 1%가 실제 활용면에서 유용할 것으로 판단되었다.

참고문헌

1. Niki, E, Yoshikawa, T and Osawa, T. Recent development of food factors for the disease prevention. *CMC.*: 246-252. 1999

2. Kim, YH, Lee, JH, Lee, YS and Yun, HT. Antioxidant activity and extraction efficiency of anthocyanin pigments in black colored soybean. *Korean Soybean Society.* 23:1-9. 2006
3. Yoon, TH and Lee, SW. Stability of anthocyanin in foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 11:63-73. 1979
4. Chung, KW, Joo, YH and Lee, DJ. Content and color difference of anthocyanin by different storage periods in seed coats of black soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Kor. J. Int. Agri.* 16:196-199. 2004
5. Hong, JH, Chung, HS, UH and Youn, KS. Storage stability of anthocyanin pigment isolated from a wasted grape peels. *Korean J. Post-Harvest Sci. Technol. Agri. Products.* 9:327-331. 2002
6. Chung, KW, Joo, YH and Lee, DJ. Content and color difference of anthocyanin by different planting dates and growth stages in seed coats of black soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Kor. J. Int. Agri.* 16: 200-204. 2004
7. Cho, SB, Kim, HJ, Yoon, JI and Chun, HS. Kinetic study on the color deterioration of crude anthocyanin extract from Schizandra fruit. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35:23-27. 2003
8. Yang, HC, Lee, JM and Song, KB. Anthocyanins in cultured Omija(*Schizandrea chinensis* Baillon) and its stability. *Agricultural Chem. and Biotech.* 25:35-43. 1982
9. Kim, HJ, Jo, SB and Jeon, HS. Effects of selected stabilizers on the color deterioration of crude pigment extract from schizandra fruit(*Schizandra fructus*). *Korean J. Dietary Culture.* 18:475-482. 2003
10. Rhim, JW and Kim, SJ. Characteristics and stability of anthocyanin pigment extracted from purple-fleshed potato. *Kor. J. Food Sci.* 31:348-355. 1999
11. Lee, HH, Lee, JW and Rhim, JW. Characteristics of anthocyanins from various fruits and vegetables. *Korean J. Post-Harvest Sci. Technol. Agri. Products.* 7:285-290. 2000
12. Oh, JK and Imm, JY. Effect of amino acids addition on stability and antioxidative property of anthocyanins. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37:562-566. 2005
13. Kim, DH, Yang, HC, Lee, YC and Kim, SG. Agriculture Products Processing. Youngji Publishers. Seoul. pp.149-153. 1994
14. Jung, CS, Park, YJ, Kwon, YC and Suh, HS. Variation of anthocyanin content in color-soybean collections. *Korean J. Crop Sci.* 41:302-307. 1996