

## 뽕나무 오디를 이용한 cyanidin-3-glucoside 함유 천연식용색소 개발

김현복\*<sup>†</sup> · 김선림\* · 고성혁\*\* · 석영식\*\*\* · 김용순\* · 성규병\* · 강필돈\*

\*농촌진흥청, 경기도 수원시 권선구 서둔동 250

\*\*전북농업기술원 원종사업소, 전북 완주군 용진면 운곡리 905-2

\*\*\*강원도 농산물원종장, 강원도 동산면 조양2리 511번지

## The Development of Natural Pigment with Mulberry Fruit as a Food Additive

Hyun-bok Kim\*<sup>†</sup>, Sun-Lim Kim\*, Seong-Hyouk Koh\*\*, Young-Seek Seok\*\*\*, Yong-Soon Kim\*, Gyoo-Byung Sung\*, and Pil-Don Kang\*

\*Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

\*\*Registered Seed Center, Jeollabuk-Do Agricultural Research & Extension Services, Wanju, 565-811, Korea

\*\*\*Gangwon Province Agricultural Product Registered Seed Station, Chuncheon 200-150, Korea

**ABSTRACT** Study on extraction and color characteristics of mulberry fruit pigment(C3G; cyanidin-3-glucoside) was performed to increase utilization as new source of natural food colorant. C3G was extracted with 0.1% citric acid-70% EtOH. Then it was evaporated with large scale evaporation system. After adding dextrin to C3G concentration materials, we made pigment powder with freezing dryer.

**Keywords :** natural pigment, cyanidin-3-glucoside, mulberry fruit

**식품**의 색은 관능적 품질을 결정하는 일차적인 품질요소로서 소비자의 기호성에 직접적인 영향을 미친다. 최근 식품에 사용되고 있는 인공색소의 안전성 문제가 제기되면서 식품 내 천연색소의 사용이 증가되고 있으며 항산화 기능을 비롯한 다양한 생리적 기능성이 알려짐에 따라 천연색소의 중요성이 더욱 강조되고 있다.

특히 음료, 병과류, 젤리, 술 등의 가공식품의 경우 소비자가 선호하는 선명한 적자색을 나타내기 위하여 사용되어 왔던 적색계통의 인공합성색소에 대한 사용금지 및 사용규제 강화방침에 따라 이를 대신할 수 있는 천연색소로서 anthocyanins계 색소가 가장 이용 가능성이 높은 것으로 알려져 있다.

Anthocyanins은 포도, 딸기, 블루베리, 적양배추, 자색고구마 등 각종 과일이나 채소의 열매, 잎, 줄기 또는 뿌리 등

에 존재하는 수용성 색소로서 식물체에 광범위하게 존재한다. 식물학적으로 각종 곤충, 조류 등을 유인하여 화분의 수분 및 종자의 확산에 기여할 뿐 만 아니라(Francies 1982, Harborne 1989) 노화억제, 당뇨병성 망막장애의 치료(Scharrer & Ober, 1981) 및 시력개선(Poltzer, 1977; Timberlake & Henry, 1988) 효과, 항산화 작용(Tamura & Yamagami, 1994; Yoshiki *et al.*, 1995; Rice-Evans *et al.*, 1995, 1996; Sichel *et al.*, 1991; van Acker *et al.*, 1995) 등 다양한 생리활성을 갖는 것으로 보고됨(Hong *et al.*, 1997)에 따라 인체에 무해한 천연색소 및 기능성 소재로서 각광받고 있다.

이러한 점에서 뽕나무 오디는 새로운 천연색소원 및 기능성 소재로서 유망시 되고 있다. 오디가 함유한 천연색소는 anthocyanin 색소이며, 특히 anthocyanin 색소 중 가장 안정한 형태인 C3G(cyanidin-3-glucoside)로 존재하기 때문에 분리, 정제하기 쉽다. 또한 껍질뿐 만 아니라 과육에도 색소를 함유하기 때문에 색소 수율도 높다(Kim & Kim, 2003). 특히 오디에 다량으로 함유된 C3G는 여러 색소 중에서도 항산화력이 뛰어난 것으로 알려져(Takanori *et al.*, 1994; Hong *et al.*, 1997; Park *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 1998) 있다.

뽕나무 오디에는 색소 이외에 불포화지방산(Kim *et al.*, 2003), 루틴(Kim & Kim, 2004), 아미노산(Kim *et al.*, 2004), 레스베라트롤(Kim *et al.*, 2005) 등 여러 가지 다른 생리활성물질을 함유하는 것으로 보고되었으며, 동의보감 탕액편(湯液篇)에 ‘까만 오디는 뽕나무의 정령(精靈)이 모여 있는 것이며, 당뇨병에 좋고 오장에 이로우며 오래먹으면 배고픔을 잊게 해준다(黑椹桑之精英 盡在於此 主消渴利五臟 久服不飢)’고 하고 ‘귀와 눈을 밝게 한다(明耳目)’라고 했으며,

<sup>†</sup>Corresponding author: (Phone) +82-31-290-8525 (E-mail) hyunbok@korea.kr <Received September 6, 2010>

‘오디를 오래 먹으면 백발이 검게 변하고 노화를 방지한다 (久服 變白不老)’고 기록되어 있어 기능성에 있어서도 기대가 되는 작물이다.

따라서 본 연구에서는 뽕나무 오디의 이용성 및 부가 가치를 향상시키기 위한 방법의 하나로 C3G(cyanidin-3-glucoside)를 주성분으로 하는 오디 천연 식용 색소를 제조하고자 하였다. 뽕나무 오디로부터 천연 식용 색소를 개발하기 위한 안정 생산 조건을 구명하였으며, 이에 따라 오디 천연 식용 색소 분말을 제조하였다.

## 재료 및 방법

### 오디 색소의 추출용매 및 최적 농도 선정

오디함유 천연색소 C3G의 식용색소화에 적합한 추출용매를 선정하기 위해 냉동건조된 청일뽕 오디 분말 10 g에 0.5% HCl-MeOH, MeOH, EtOH(주정) 및 H<sub>2</sub>O를 각각 100 ml 씩 가하여 오디 색소를 추출하였다.

오디색소가 식용색소인 점을 고려하여 안전성에 문제가 없는 용매로 EtOH 및 H<sub>2</sub>O를 사용할 수 있으나 이 중 EtOH로 추출하는 경우 C3G 함량이 높았으므로 EtOH의 최적 농도 및 citric acid 첨가가 C3G 함량 변화에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 즉 EtOH 농도를 10, 20, 30, 50, 70, 95%로 달리하여 오디 색소를 추출하였으며, 또한 각각의 EtOH 농도에 0.1% citric acid를 첨가한 용매를 사용하여 C3G 함량을 비교하였다.

### C3G(cyanidin-3-glucoside) 함량 분석

각 시료의 C3G 함량 분석은 HPLC chromatogram을 이용하였으며, C3G 표준물질의 농도를 기준으로 면적비로 계산하였다. Anthocyanin 표준물질인 C3G는 Genay France社로부터 구입하여 사용하였다.

각 시료별 오디 C3G 추출물은 Shimadzu LC system에 주입하여 538 nm에서 분석하였다. Column은 Nova-Pack C<sub>18</sub>(300×3.9 mm)을 사용하였으며, column의 온도는 35℃를 유지하였다. 이동상으로는 H<sub>2</sub>O : CH<sub>3</sub>CN : HoAC : H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 81.7 : 8.4 : 8.4 : 1.5 (V/V)를 사용하였으며, Flow rate는 1.0 ml/min이 되도록 하였다.

### 오디함유 천연 식용색소 분말 제조

‘수원노상’과 ‘장소상’ 오디를 이용하여 0.1% citric acid-70% EtOH(주정)로 오디 색소를 추출하였다. 추출물은 대용량 농축기(10~20 ℓ)로 농축하였으며, 농축물에 부형제를 첨가하여 진공동결건조기(-85℃, 5 mTorr)로 색소분말을 제조하였다.

## 결과 및 고찰

### 오디함유 C3G의 식용화 및 안정 생산 조건 구명

오디함유 천연색소 C3G의 식용색소화 및 안정생산을 위한 최적 전처리 조건 중 먼저 오디 색소 추출용매를 선정하였다. C3G 함량 분석에 사용하는 0.5% HCl-MeOH을 대조로 하여 MeOH, EtOH(주정) 및 H<sub>2</sub>O를 이용하여 오디 색소를 추출하여 각 용매의 C3G 함량을 분석한 결과, 0.5% HCl-MeOH(0.533%) > MeOH(0.496%) > EtOH(0.066%) > H<sub>2</sub>O(0.006%) 순으로 높았으나, 이 중 식용색소로 추출가능하며 안전성에 문제가 없는 용매는 EtOH과 H<sub>2</sub>O이었다. 이 중 오디 색소 추출물의 C3G 함량이 EtOH 추출시 H<sub>2</sub>O 추출에 비해 10배 높았으므로 EtOH을 최적 용매로 선정하였다(그림 1).

다음으로 오디 C3G 추출용매로 선정된 EtOH의 최적 농도를 구하기 위해 EtOH의 농도를 달리하여 오디 C3G 함량을 분석하였다. 그 결과 10%, 20%, 30%, 50%, 70%로 EtOH의 농도가 증가할수록 오디 C3G 함량도 증가하는 정의 상관관계를 보였으나 EtOH의 농도를 95%로 추출한 경우에는 오히려 0.152%로서 낮았다. 반면 각각의 EtOH 농도에 0.1% citric acid를 첨가한 경우 그림 2와 같이 오디색소 추출물의 C3G 함량이 증가하였다. 자색고구마의 천연 식용색소의 최적 전처리 조건인 0.1% citric acid-20% EtOH(농촌진흥청, 1996; 농촌진흥청, 1997)으로 추출한 경우 오디 색소 추출물의 C3G 함량은 0.183% 이었고, 1% citric acid-80% EtOH로 추출한 경우 오디색소 추출물의 C3G 함량은 0.368%로서 70% EtOH(0.455%) 및 0.1% citric acid-70% EtOH(0.471%)로 추출했을 때보다 낮았다.

따라서 이와 같은 결과로부터 오디 C3G 추출을 위한 최적 전처리 조건으로 0.1% citric acid-70% EtOH을 선정하였다.

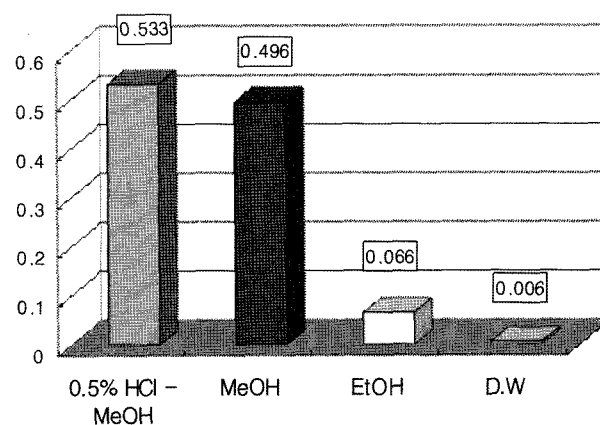


Fig. 1. C3G content according to extraction solution.

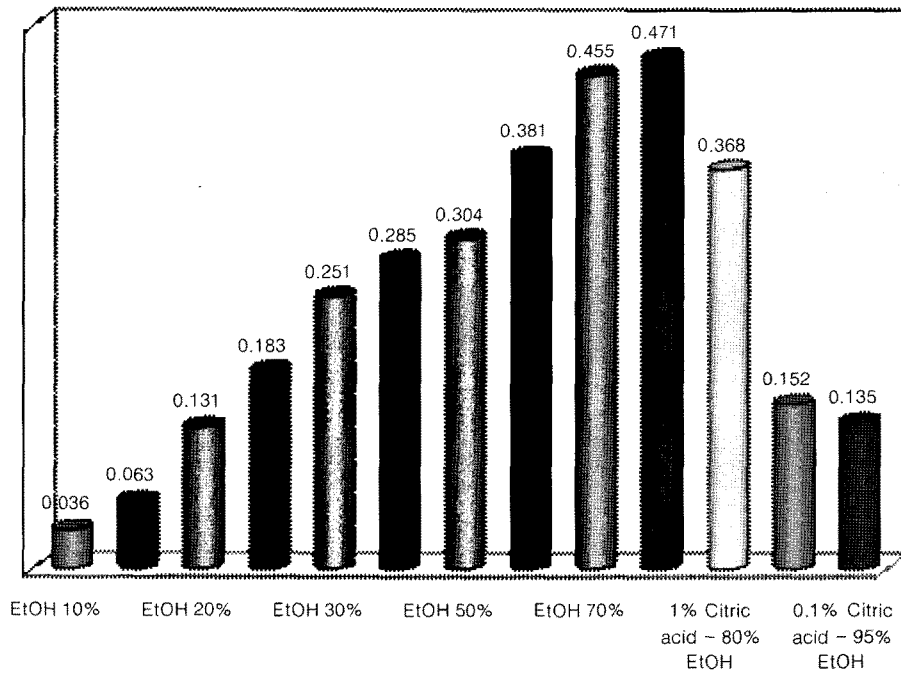


Fig. 2. EtOH and citric acid concentration for pigment extraction from mulberry fruit.

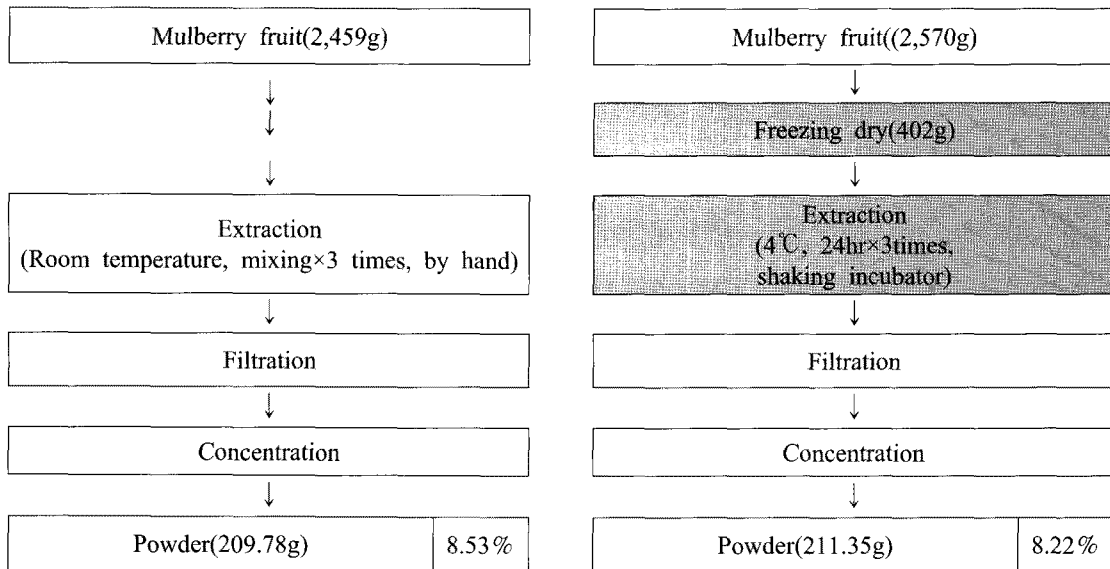


Fig. 3. Development of convenient and easy method for pigment extraction from mulberry fruit.

**오디 색소 추출 방법 개발**

뽕나무 오디는 수분함량이 매우 높기 때문에 농가에서 오디를 수확한 후 일반적으로 -40℃ 이하의 냉동고에서 오디를 보관한다. 동결건조하는 경우 냉동건조 비용이 매우 높을 뿐 만 아니라 건조시간이 길기 때문에 경제적 부담이 된다. 따라서 농가에서 실제 색소를 추출할 수 있는 오디 전처리 방법을 개발하였다. 냉동보관된 수성뽕 오디를 사용하여

전처리 방법에 따른 색소 효율을 비교하였다(그림 3). 냉동 오디에 0.1% citric acid-70% EtOH를 가한 후 즉시 손으로 짓이기는 방법으로 추출하는 경우 최종 분말 수율은 8.5%로서 기존의 방법인 4℃, shaking incubator에서 24hr×3회 추출하는 방법과 큰 차이가 없는 것으로 나타났다(분말 수율 : 8.2%). 또한 본 실험에서 개발한 오디 전처리 방법은 오디의 색소 추출시간을 대폭 절감할 수 있을 뿐 만 아니라

**Table 1.** Yield of food pigment powder from mulberry fruit according to varieties.

Accession	Weight of fresh mulberry fruit (g)	Weight of pigment powder added dextrin (g)	Yield (%)	Weight of pure pigment powder (g)	Yield (%)
Jangsosang	1,000	141.8	14.2	80.3	8.0
Suwonnosang	940	143.8	15.3	75.7	8.1

고가의 냉동건조 비용과 건조시간을 없앨 수 있으므로 오디 생산 농가에서 유용하게 사용할 수 있는 방법으로 판단된다.

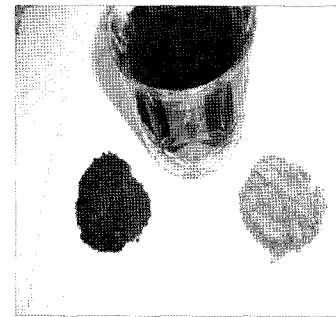
**오디 색소의 대량 제조 방법**

생오디, 냉동 오디 및 동결건조된 오디를 오디 색소 cyanidin-3-glucoside의 최적 추출조건인 0.1% citric acid-70% EtOH로 추출하여 여과하였다. 추출된 여과액은 대용량 회전진공농축기를 이용하여 40℃에서 85 mbar, 50 rpm으로 보다 경제적이면서 대량으로 농축물을 분리하였다. 오디 색소의 농축물을 -85℃에서 5 mTorr로 48시간 동안 동결건조하여 오디 색소 분말을 제조하였다.

그러나 이 분말은 수분에 대한 흡습성이 높아 보관시 안정성에 대한 문제점이 있었다. 따라서 이 문제점을 해결하기 위하여 갈변에 대한 저항성을 보유하여, 저흡습성으로 수분흡수를 억제시키는 부형제인 텍스트린 또는 말토텍스트린을 첨가하였다. 텍스트린의 첨가 여부에 따른 색소의 선명도를 육안으로 관찰한 결과, 텍스트린을 사용한 경우는 텍스트린을 사용하지 않았을 때에 비해 수분 흡수가 감소하였으며, 색소의 선명도가 증가하였다.

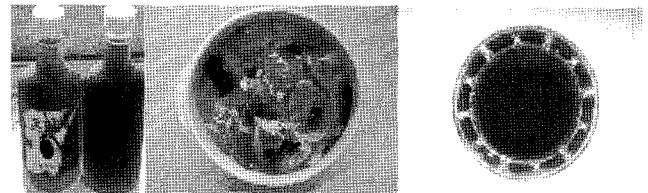
일반적으로 부형제로 사용한 텍스트린(말토텍스트린)은 식품가공분야에 널리 이용되고 있어 그 안정성에 대한 문제는 없으며, 저지방, 저칼로리 식품과 복합 탄수화물 섭취 수준을 향상시키는 기능성 식품소재이다.

Kim *et al.*(2003)은 계통별 오디의 C3G 함량을 분석한 결과, ‘장소상’과 ‘수원노상’의 C3G 함량이 각각 0.550% DW, 0.874 %DW라고 하였다. 자색을 띠는 ‘장소상’과 검은색을 띠는 ‘수원노상’ 오디를 이용하여 각각 오디색소 분말을 제조한 후 수율을 조사하였다(표 1). 부형제 첨가 오디 색소 분말의 수율은 각각 14.2%, 15.3%였으며, 순수 오디 색소 분말의 수율은 8.0%, 8.1%로서 오디색소의 수율에는 차이가 없었다. 그러나 ‘장소상’ 오디색소 분말은 그림 4와 같이 색소로서의 이용가치가 떨어지는 것을 관찰할 수 있었다. 따라서 오디색소 분말을 제조하기 위해서는 품종 선택이 중요하며 특히 C3G 함량이 높은 품종을 선택해야 할 것이다.



Suwonnosang Jangsosang

**Fig. 4.** Pigment powder as food colorant with Suwonnosang and Jangsosang mulberry fruit.



**Fig. 5.** Manufactured foods added pigment powder from mulberry fruit.

**오디 색소 첨가 식품 제조**

오디의 색소 성분은 3번 탄소에 당이 결합한 anthocyanin 으로서 polyphenol 화합물인 flavonoid에 속하는 대표적인 천연색소이다. 일반적으로 anthocyanin 색소는 조리 또는 가공 중에 쉽게 변색되며 또한 식품의 보존제로 이용시 SO<sub>2</sub>와 반응하며 단백질과 결합하여 침전물을 형성하는 문제점 등이 지적되어 왔다(Francies, 1982; Harborne, 1989; Kim *et al.*, 1999). 또한 광과 pH에 민감하고 각종 금속 이온들과 여러 가지 색깔을 나타내는 복합체를 형성하기도 하며 분해 효소, 혼합 성분, 탄닌의 공존 여부 및 색소의 농도에 따라 서로 다른 색을 띤다.

그러나 본 실험을 통하여 얻은 오디에서 분리한 색소분말은 그림 5와 같이 알코올, 물 및 밀가루 등 식품의 재료나 가공 방법에 상관없이 적색 또는 분홍색을 띠며 색소의 특

성이 유지되었다. 따라서 오디 색소 분말은 금후 다양한 제품에 첨가하여 이용할 수 있을 것으로 판단된다.

## 적 요

뽕나무 오디함유 천연색소 C3G의 식용색소화 및 안정생산을 위한 최적 전처리 조건은 0.1% citric acid-70% EtOH로서 오디로부터 제조한 순수 오디색소 분말의 수율은 8%이었다. 실제 농가에서 오디 색소 추출시 추출 시간 및 제조비용을 대폭 절감할 수 있는 추출 방법을 개발하였다. 오디 색소 추출시 품종의 선택이 중요하므로 C3G 함량이 높은 품종을 선택하도록 해야 할 것이다. 오디 색소 분말은 알코올, 물 및 밀가루 등 식품 재료나 가공방법에 상관없이 적색소의 특성이 유지되므로 다양한 식품에 적용하여 고부가가치를 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

## 인용문헌

- Francis, F. J. 1982. Analysis of the anthocyanins. anthocyanins as a food colors. Academic Press, Inc. Chapter 7: 181-207.
- Harborne, J. B. 1989. Methods in plant biochemistry. Plant phenolics. Academic press.
- Hong, W., C. Guohua, and L. P. Ronald. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem* 45: 304-309.
- Kim, H. B. and S. L. Kim. 2003. Identification of C3G (cyanidin-3-glucoside) from Mulberry Fruits and Quantification with Different Varieties. *Korean J. Seric. Sci.* 45(2): 90-95.
- Kim, H. B., J. B. Kim, and S.L. Kim. 2005. Varietal Analysis and Quantification of Resveratrol in Mulberry Fruits. *Korean J. Seric. Sci.* 47(2): 51-55.
- Kim, H. B. and S. L. Kim. 2004. Quantification and Varietal Variation of Rutin in Mulberry Fruits. *Korean J. Seric. Sci.* 46(1): 1-5.
- Kim, H. B., S. L. Kim, G. B. Sung, H. W. Nam, S. J. Chang, and J. Y. Moon. 2003. Quantification and Varietal Variation of Fatty Acids in Mulberry Fruits. *Korean J. Seric. Sci.* 45(2): 75-79.
- Kim, H. B., S. L. Kim, and S. W. Kang. 2004. Varietal Analysis and Quantification of Amino Acid in Mulberry Fruits. *Korean J. Seric. Sci.* 46(2): 47-53.
- Kim, S. L., E. H. Kim, Y. K. Son, J. C. Song, J. J. Hwang, and H. S. Hur. 1999. Identification of anthocyanin pigments in black waxy corn kernels. *Korean J. Breed.* 31(4): 408-415.
- Kim, S. Y., K. J. Park, and W. C. Lee. 1998. Antiinflammatory and antioxidative effects of *Morus* spp. fruit extract. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 6(3): 204-209.
- Park, S. Z., J. H. Lee, S. J. Han, H. Y. Kim, and S. N. Ryu. 1998. Quantitative analysis and varietal difference of cyanidin 3-glucoside in pigmented rice. *Korean J. Crop Sci.* 43(3): 179-183.
- Politzer, M. 1977. Experience in the medical treatment of progressive myopia. *Klin. Monatsbl. Augenheikd.* 171 (4): 616-619.
- Rice-Evans, C., N. J. Miller, and G. Paganda. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med.* 20(7): 933-956.
- Rice-Evans, C., N. J. Miller, P. G. Bolwell, P. M. Bramley, and J. B. Pridham. 1995. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Res.* 22: 375-383.
- Scharrer, A. and M. Ober. 1981. Anthocyanosides in the treatment of retinopathies. *Klin. Monatsbl. Augenheikd.* 178 (5): 386-389.
- Sichel, G., C. Corsaro, M. Scalla, A. J. Di Bilio, and R. P. Bonomo. 1991. In vitro scavenger activity of some flavonoids and melanin against O<sub>2</sub><sup>-</sup>. *Free Radical Biol. Med.* 11: 1-8.
- Takanori, T., W. Mie, O. Katsumi, N. Seiji, S. W. Choi, K. Shunro, and O. Toshihiko. 1994. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin-3-O-β-D-Glucoside and cyanidin. *J. Agric. Food Chem* 42: 2407-2410.
- Tamura, H. and A. Yamagami. 1994. Antioxidative activity of monoacylated anthocyanins isolated from muscat bailey a grape. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1612-1615.
- Timberlake, C. F. and B. S. Henry. 1988. Anthocyanins as natural food colorants. *Prog. Clin. Biol. Res.* 280: 107-121.
- Van Acker, S. A. B. E., M. N. J. L. Tromp, G. R. M. M. Haenen, W. J. F. van der Vijgh, and A. Bast. 1995. Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 214(3): 755-759.
- Yoshiki, Y., K. Okubo, and K. Igarashi. 1995. Chemiluminescence of anthocyanins in the presence of acetaldehyde and tert-butyl hydroperoxide. *J. Biolumin. Chemilumin.* 10: 335-338.
- 농촌진흥청. 1996. 자색고구마로부터 천연식용색소의 추출 및 색소의 이용성에 관한 연구. 제 1 차년도 중간 보고서.
- 농촌진흥청. 1997. 자색고구마로부터 천연식용색소의 추출 및 색소의 이용성에 관한 연구. 제 2 차년도 완결 보고서.