

국내산 레드비트(*Beta vulgaris* L.) 추출 천연색소의 항산화 특성 및 안정성

민진영 · 박호영 · 김윤숙 · 홍정선 · 최희돈

한국식품연구원

Antioxidant Activity and Stability of Natural Pigment Extracted from Red Beetroot (*Beta vulgaris* L.)

Jin-Young Min, Ho-Young Park, Yoonsook Kim, Jung Sun Hong, and Hee-Don Choi

Korea Food Research Institute

ABSTRACT This study was conducted to evaluate the antioxidant activities and stability of natural pigment extracted from red beetroot (*Beta vulgaris* L.). Red beetroot was extracted using 75% ethanol with 1% citric acid, after which the extracts were analyzed for betalain contents. The antioxidant activities of red beetroot extracts were investigated by measuring total phenolics content as well as 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical scavenging assays. Red beetroot extracts showed a total phenolic content of 10.3 ± 0.1 mg GAE/g and ABTS radical scavenging capacity ($IC_{50} = 513.1 \pm 4.8$ μ g/mL). Additionally, the effects of pH, organic acids, free sugars, temperature, and time of treatment, light, and storage temperature on the stability of red beetroot extracts were studied. Red beetroot extracts were stable at pH 3.0~7.0 and exhibited maximum absorbance at 537 nm. The stability of the pigment in red beetroot extracts decreased during the storage period in response to the addition of free sugars. Among the free sugars tested, galactose was the most effective at stabilizing the pigment, followed by maltose, glucose, and fructose. These results indicate that red beetroot extracts have considerable potential for application in the food industry as a natural food colorant with health-promoting antioxidant features.

Key words: red beetroot, *Beta vulgaris* L., antioxidant activity, natural pigment

서 론

인류에게 식품의 색은 주요한 관능적 품질 인자로 이용되고 있으며, 근래에는 기호적 측면 외에도 인공색소의 안전에 대한 염려에 의해 천연색소 개발에 대한 관심 또한 점점 높아지고 있다(1,2). 천연색소는 색소의 기능 외에도 다양한 생리활성기능(3)을 지니고 있기 때문에 기능성 식품(4), 의약품(5-7), 화장품(8) 등의 용도로 여러 산업에서 이용되고 있다. 하지만 화학 구조적 특성에 의해 천연색소는 합성색소에 비하여 장기 저장 시 외부의 영향에 따라 안정성이 떨어져 이러한 천연색소를 위한 안정성 향상에 대한 연구가 끊임없이 지속되고 있다(9). 식품의 산업적으로 유용한 천연색소에 대한 다양한 연구가 활발히 이루어지고 있으나, 천연색소는 기능성 물질로서는 우수하지만 빛, pH, 온도 등의 변화에 안정하지 못하여 색소의 분리 및 정제가 쉽지 않을 뿐만 아니라 저장 시 안정성에도 문제가 있는 것으로 지적되고 있어 천연색소로서의 이용이 제한적인 실정이다(10-13).

레드비트(*Beta vulgaris* L.)는 명아주과의 천연 식물로서 레드비트 분말 또는 추출된 색소가 토마토 페이스트, 소스, 수프, 디저트, 잼, 아이스크림 등에 빨간색을 부여하기 위해 산업적으로 활용되고 있다. 레드비트의 주요 색소는 적색의 betacyanin과 황색의 betaxanthin으로 이루어져 있고 이들은 우수한 전자공여 능력을 갖는 phenolic group과 cyclic amine group으로 구성되어 있어 천연 항산화제로서의 활용 가능성이 많이 연구되어 있다. 이외에 flavonoids, polyphenols, vitamins, folic acid 등의 항산화 성분을 다량 함유하고 있기 때문에 기능성 식품으로도 이용되고 있다(14-16). 레드비트 내 주요 발색 성분인 betalain(17)계 주요 물질인 betanin은 열에 불안정하고(18) 산소와 빛에 불안정하다고 알려져 있다(19). 또한, 유기산을 이용하여 betanin 색소를 안정화시키거나 금속이온의 첨가 시 색소의 안정성이 감소한다고 연구된 바 있다(20).

레드비트 색소의 경우 외부 환경 변화에 대한 안정성이 부족하여 천연색소로서의 활용에 제약이 있지만 수용성이면서 기타 안토시아닌 계열의 천연색소에 비해 안정성이 비교적 우수하고 또한 우수한 항산화성을 나타내기 때문에 산업적으로 활용 가능성이 높은 것으로 알려져 있으며, 이로 인해 레드비트 색소를 항산화성이 우수한 천연색소로 개발하기 위한 연구가 꾸준히 이루어지고 있다(21-23). 따라서

Received 28 December 2017; Accepted 21 June 2018

Corresponding author: Hee-Don Choi, Korea Food Research Institute, Wanju, Jeonbuk 55365, Korea

E-mail: chdon@kfri.ac.kr, Phone: +82-63-219-9068

본 연구에서는 제주도에 유래된 레드비트로부터 색소를 추출하여 천연색소로서 이용 가능성을 확인하기 위해서 항산화 특성 및 레드비트 천연색소의 안정성에 대해 연구하고자 한다.

재료 및 방법

시료 및 시약

본 연구에서 사용된 레드비트는 2017년 3월에 제주도에 서 재배되어 수확한 것을 제주도 친환경 농산물 유통업체인 소남친환경영농조합법인에서 구입하였다. 구입한 레드비트를 세척 후 동결건조기(PVTFD 100R, IIShinbiobase Co., Dongducheon, Korea)를 이용하여 건조시킨 다음 분쇄(100 mesh)하고 -55°C에서 보관하면서 사용하였다. 완충용액 제조 및 분석용 시약은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였고, 그 밖의 모든 시약은 분석에 적합한 특급시약을 사용하였다.

레드비트 추출

동결건조된 레드비트 분말을 5,000 mL 삼각 플라스크에 100 g 담고 색소 안정화를 위해 1% citric acid를 함유한 75% 발효 주정을 2 L 가한 후 shaking incubator(BS-30, Jeio Tech Co., Daejeon, Korea)를 이용해 25±3°C에서 120 rpm, 12시간 2회 반복하여 추출물을 제조하였다. 각 추출물은 45°C 이하에서 감압농축기(R-205, Buchi, Flawil, Switzerland)를 이용하여 건조한 후 분말화하여 실험에 사용하였다.

레드비트의 betalain 함량

레드비트 추출물의 betalain 함량은 Nilsson(24)의 방법을 이용하여 측정하였다. 추출물 1 g에 증류수 50 mL를 넣어 50배로 희석한 후 476 nm, 538 nm, 600 nm에서 UV-spectrophotometer(UV-2600, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 측정된 값은 아래의 식 (1)에 대입하여 불순물이 제거된 betacyanins, betaxanthins의 함량을 구하고 식 (2)에 대입하여 총 베타레인 함량을 구하였다.

$$\begin{aligned} x &= 1.095 \cdot (a - c) \\ y &= b - z - \frac{x}{3.1} \\ z &= a - x \end{aligned} \quad \text{식 (1)}$$

a=light absorption of the sample at 476 nm

b=light absorption of the sample at 538 nm

c=light absorption of the sample at 600 nm

x=light absorption of betacyanins minus the colored impurities

y=light absorption of betaxanthins corrected for the contribution of betacyanins and colored impurities

z=light absorption of the impurities

$$\text{Total betalain contents (mg/kg)} = \frac{A \times DF \times MW \times 1000}{\epsilon \times L} \quad \text{식 (2)}$$

A=absorbance

DF=dilution factor

MW=molecular weight (550 g/mol for betanin, 308 g/mol for vulgaxanthin- I)

ϵ =extinction coefficient (60,000 L/cm·mol for betanin, 48,000 L/cm·mol for vulgaxanthin- I)

L=cuvette length (1 cm)

레드비트 추출물의 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Folin-Denis 방법으로 측정하였다(25). 추출된 레드비트 분말 시료 0.5 g에 70% 에탄올 100 mL를 가하여 40°C에서 40분간 초음파 추출한 후 Whatman No. 2 여과지(Whatman, Maidstone, UK)로 감압 여과하여 100 mL로 정용한 다음 총 페놀 함량 측정용 시료로 사용하였다. 총 페놀 함량 측정용 시료 100 μ L에 2% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가한 후 5분간 상온에 방치하여 50% Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 μ L를 가하였다. 30분 후 반응액의 흡광도 값을 725 nm에서 측정하였고 표준물질로 gallic acid를 사용하였다. 검량선을 작성한 후 총 페놀 함량은 시료 g 중의 mg gallic acid equivalents(GAE)/g으로 표현하였다.

레드비트 추출물의 ABTS⁺ 라디칼 소거능

레드비트 색소 추출물의 ABTS[2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] 라디칼 소거 활성 측정을 위해 van den Berg 등(25)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시험 용액의 제조는 증류수에 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 첨가하여 상온에서 16시간 배양하고 ABTS 양이온(ABTS⁺)을 생성시켰다. 2.45 mM potassium persulfate buffer와 같은 양을 혼합하였을 때 734 nm에서 흡광도의 값이 0.70(±0.01)이 되도록 희석하여 제조하였다. 그다음 시료의 여러 농도에 희석한 ABTS⁺ 용액을 동량 가하여 6분 후에 흡광도 값을 측정하였다. 대조군(2.45 mM potassium persulfate buffer)의 흡광도와 비교하여 흡광도를 감소시키는 정도를 %로 나타냈고 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다. %로 환산된 라디칼 소거능에 따라 검량선에서 라디칼 소거능이 50%가 되는 농도인 IC₅₀을 구하였다.

레드비트 추출물의 DPPH 라디칼 소거능

레드비트 색소 추출물의 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)에 대한 전자공여능은 Bondet 등(26)의 방법을 변형하여 측정하였다. 레드비트 색소 추출물은 농도별(0~1.0%)로 증류수로 희석하였고, 각각의 희석된 시료 4 mL와 DPPH(0.2 mM in methanol) 용액 1 mL를 혼합한

후 30분 동안 암실($25\pm 3^\circ\text{C}$)에서 보관한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 ascorbic acid를 시료와 같은 조건으로 측정하였고 DPPH에 대한 전자공여능은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{Y-X}{Y} \times 100$$

X: 시료 첨가 시의 흡광도

Y: 시료 무첨가 시의 흡광도

pH 변화가 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

pH 변화에 따른 레드비트 색소의 안정성을 측정하기 위하여 시료 추출물을 20 mg/mL 농도로 제조한 후 pH 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0의 완충용액을 가하였다. pH 1.0, 2.0은 Clark-Lubs 완충용액(0.2 M KCl+0.2 M HCl), pH 3~7은 MacIlvain 완충용액(0.1 M citric acid+0.2 M Na_2HPO_4)으로 조정하였다. pH가 조정된 각 시료액은 350~750 nm의 파장 범위에서 spectrophotometer(V-530, Jasco, Tokyo, Japan)로 측정하여 최대흡수파장을 조사하였다.

유기산 첨가가 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

유기산 종류에 따른 레드비트 색소 추출물의 안정성을 평가하기 위하여 추출물을 pH 2.0의 Clark-Lubs 완충용액을 이용하여 20 mg/mL 농도로 제조한 후 ascorbic acid, citric acid, formic acid, malic acid 및 tartaric acid를 종류별 0.1 M의 농도가 되도록 첨가하여 4°C 에 보관하면서 7일 간격으로 시료를 취하여 537 nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다.

당 첨가가 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

당류의 종류에 따른 레드비트 색소 추출물의 안정성을 평가하기 위하여 pH 2.0의 Clark-Lubs 완충용액을 사용하여 20 mg/mL의 농도로 제조한 추출물에 glucose, galactose, fructose, maltose, sucrose를 0.1 M이 되도록 첨가하여 용해시킨 후 4°C 에 보관하면서 7일 간격으로 시료를 취하여 537 nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다.

열처리가 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

레드비트 색소 추출물의 열에 대한 색소 안정성을 조사하기 위하여 pH 2.0의 Clark-Lubs 완충용액으로 20 mg/mL의 농도로 제조한 후 각각 30, 60 및 100°C 의 항온수조에 5시간 동안 보관하면서 30분 간격으로 찬물에 냉각시킨 다음 537 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

빛의 유무가 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

빛의 유무에 따른 레드비트 색소의 변화를 알아보기 위해 pH 2.0의 Clark-Lubs 완충용액으로 20 mg/mL 농도로 제

조하여 투명한 병에 시료를 넣고 일광에 노출시키면서 상온에 보관하였고, 일부는 갈색병에 담고 암실에 보관하면서 35일 동안 7일 간격으로 537 nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다.

저장온도 및 저장기간이 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

냉장 및 냉동온도에서 장기저장에 따른 레드비트 색소의 안정성을 알아보기 위하여 pH 2.0의 Clark-Lubs 완충용액으로 20 mg/mL 농도로 제조하여 각각의 시료를 냉동, 냉장 온도로 나누어 -75°C , -25°C 및 4°C 에서 보관하면서 35일 동안 7일 간격으로 537 nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다.

통계처리

실험 데이터는 평균±표준편차로 표기하였으며, SAS (Statistical Analysis System 8.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 통계 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석 후 Duncan's multiple range test로 $P<0.05$ 의 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

레드비트 추출물의 betalain 함량

레드비트 추출물 중에 함유된 betalain계 색소인 betacyanin과 betaxanthin의 함량을 Nilsson(24)의 방법을 이용하여 정량하였다. 레드비트 추출물의 betalain 중 적색 색소를 나타내는 betacyanin의 값은 67.48 ± 1.37 mg/g을 나타내었으며, 황색 색소를 나타내는 betaxanthin의 함량은 47.24 ± 0.96 mg/g을 나타내었다(data not shown). Krishnaiah 등(27)의 레드비트의 처리 방법에 따른 betalain과 항산화 활성에 미치는 영향에 대한 연구의 보고에 따르면 betacyanin 값이 7~8.5 mg/kg으로 나타났으며, betaxanthin 5.2~5.8 mg/kg으로 나타났다고 보고하였다. 이는 본 연구의 건조된 추출물의 비율에 대해 비교하였을 때 비슷한 수준이었다.

레드비트 추출물의 총 페놀 함량

1% citric acid가 함유된 75% 발효 주정으로 추출된 레드비트 추출물의 총 페놀 함량은 10.3 ± 0.1 mg GAE/g을 나타내었다(data not shown). 일반적으로 페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포하는 2차 대사산물로 한 분자 안에 2개 이상의 phenolic hydroxyl(-OH)기를 지니고 있어 다른 화합물과도 쉽게 결합하는 특징을 지니고 있으며, 항산화, 항염증, 항균성 등 다양한 생리활성 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(11,28). 레드비트에 함유되어 있는 페놀화합물은 Vulic 등(29)의 연구에 따르면 ferulic, vanillic, p-hydroxybenzoic, caffeic, protocatechuic acids가 주성분인 것으

Table 1. ABTS radical scavenging capacities of red beetroot extract

Samples	ABTS radical scavenging activity	
	at 250 µg/mL (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
Red beetroot extract	42.1±0.7 ²⁾	513.1±4.8
Ascorbic acid ¹⁾	100.0±0.0	7.5±0.1

¹⁾Positive control: ascorbic acid.²⁾Mean±SD (n=3).

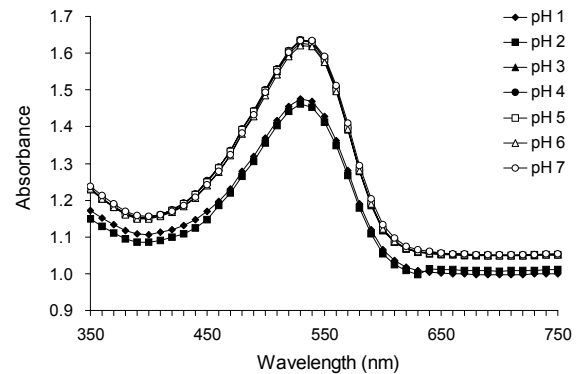
로 보고한 바 있다. Yi 등(14)은 레드비트 뿌리 70% 에탄올 추출물을 용매에 따라 분획하여 총 페놀 함량을 각각 측정하고 에틸아세테이트 분획물과 부탄올 분획물이 핵산 분획물이나 물 분획물에 비해 높은 페놀 함량을 나타낸다고 보고하였다. 또한, Kim(15)은 동치미에 첨가하기 위하여 1% citric acid와 증류수를 이용하여 추출한 비트 추출물의 폴리페놀 함량이 증류수 추출물 0.91±0.01 mg/mL, 1% citric acid 추출물 0.87±0.01 mg/mL로 보고하였다.

레드비트 추출물의 ABTS 라디칼 소거능

레드비트 추출물의 ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과 (Table 1), 250 µg/mL 농도에서 42.1%를 나타내었으며, 양성대조군으로 사용된 ascorbic acid보다는 낮은 경향을 나타내었다. 또한, 라디칼을 50% 소거하는 IC₅₀은 513.1±4.8 µg/mL로 ascorbic acid의 7.5±0.1 µg/mL보다 낮은 항산화 활성을 나타내는 것으로 확인되었다. Yi 등(14)은 레드비트 뿌리 70% 에탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거능을 분석한 결과 본 연구 결과와 유사한 값으로 나타났다.

레드비트 색소의 DPPH 라디칼 소거능

레드비트 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 (Table 2), 0.25, 0.5 그리고 1.0% 농도에서 유의적인 차이를 나타내었고($P<0.05$), 대조군인 ascorbic acid는 모든 농도에서 95% 이상의 라디칼 소거능을 나타내었다. Jang 등(16)은 저온 진공 조건에서 건조된 비트의 메탄올 추출물과 물 분획물을 제외한 핵산 분획물과 부탄올 분획물에서 높은 항산화 효과가 나타난다고 보고하였으며, 생리활성 물질은 수용성 계열 색소로 여겨진다고 보고하였다. Cai 등(30)의 연구에 따르면 레드비트 분말에서 추출된 betanin, betacyanin이 천일홍 꽃잎에서 추출한 betacyanin보다 DPPH 라디칼 소거능이 우수한 것으로 보고하였다. 또한, Ahn 등(31)은 식물체에 존재하는 페놀성 화합물이 연쇄반응에 따

**Fig. 1.** Absorption spectra of red beetroot extracts in buffer solutions of various pH.

라 alkyl radical 또는 alkylperoxy radical에 페놀화합물의 수소원자를 공급하여 안정하게 만들고 공명 혼성체를 형성하게 함으로써 항산화 활성에 크게 기여한다고 보고한 바 있다.

pH 변화가 레드비트 색소 안정성에 미치는 영향

레드비트 추출물을 완충용액을 사용하여 pH를 1~7로 조절한 후 레드비트 색소 안정성에 미치는 영향을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. pH 3~7 구간에 비해 산성영역인 pH 2 이하의 안정성이 낮아지는 것으로 확인되었다. 적색 색소인 betanin은 pH 3.0과 pH 7.0 사이에서 유지되고, 최대흡수 파장은 534~552 nm에서 나타난다는 보고(32)와 같이 본 실험의 레드비트 추출물은 pH 3~7 구간에서 최대흡수파장은 537 nm인 것으로 확인되었다. 이와 같은 결과는 레드비트에서 추출된 betanin이 pH 4와 5에서 안정성을 가진다는 보고(33,34)와 일치하였다. 대부분의 가공식품의 pH가 4~7 이내이므로 레드비트 추출물을 식품의 천연 착색료로 이용하는 것이 가능할 것으로 판단된다.

유기산 첨가가 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

레드비트 색소의 안정성에 대한 유기산의 영향을 조사한 결과(Fig. 2), ascorbic acid를 첨가하였을 때 저장기간 동안 대조군보다 높은 색소의 강도를 나타내었으며, citric acid, formic acid, malic acid, tartaric acid는 14일차 이후부터 색소의 강도가 급격히 감소하며 대조군보다 낮아지는 경향을 나타내었다. Chung과 Kim(33)의 연구에 의하면 tartaric acid, citric acid, phosphoric acid를 100, 500

Table 2. DPPH radical scavenging activity of red beetroot extract

Samples	Concentrations (%)		
	0.25	0.5	1
Red beetroot extract	35.7±1.04 ^{b2)3)}	38.1±2.17 ^b	49.6±3.75 ^a
Ascorbic acid ¹⁾	95.1±0.02 ^b	96.3±0.15 ^a	95.9±0.16 ^{ab}

¹⁾Positive control: ascorbic acid.²⁾Mean±SD (n=3).³⁾Values with different letters (a,b) in the row are significantly different at $P<0.05$ according to Duncan's multiple range test.

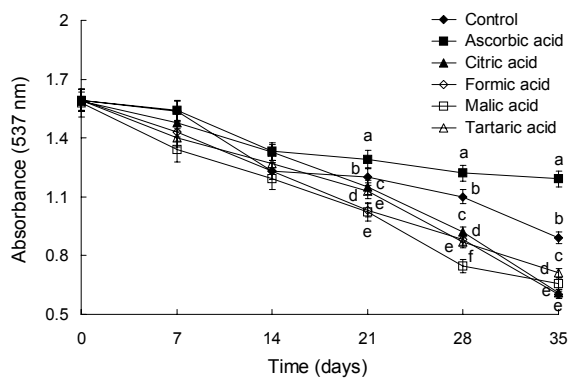


Fig. 2. Pigment stability of red beetroot extracts in various organic acid solutions at pH 2.0 and 4°C. Values represent the mean \pm SD (n=3). Different letters (a-f) in the same day indicate significant differences ($P<0.05$).

ppm 첨가한 경우에 색소 안정성의 변화가 특별하게 나타나지 않았으며, 100, 500 ppm의 ascorbic acid는 항산화 효과를 나타내어 색소의 안정성을 상승시키는 것으로 보고하였는데, 이는 본 연구에서 ascorbic acid를 첨가한 처리구의 색소 강도가 다른 유기산에 비해 높은 경향을 나타내는 결과와 동일한 결과를 보이는 것으로 확인하였다. 또한, Pasch와 von Elbe(35)도 citric acid 100, 1,000, 10,000 ppm 첨가 시 betanin 용액의 색소 안정성에 영향을 미치지 않지만, 1,000 ppm의 ascorbic acid 첨가는 색소 안정성의 반감기를 감소시킨다고 보고하였다. 따라서 citric acid, formic acid, malic acid, tartaric acid 첨가가 레드비트 색소의 안정성에 영향을 미치지 않았으나, ascorbic acid는 색소 안정성에 영향을 주기 때문에 가공식품에 레드비트 추출물을 첨가할 경우 함께 첨가하는 것이 효과적일 것이라고 판단된다.

당 첨가가 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

레드비트 색소의 안정성에 대한 당류의 영향을 조사한 결과(Fig. 3) 저장기간이 길어질수록 대조군을 포함해 모든

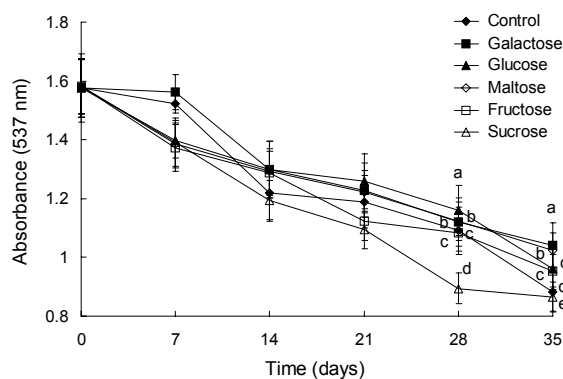


Fig. 3. Pigment stability of red beetroot extracts in various free sugar solutions at pH 2.0 and 4°C. Values represent the mean \pm SD (n=3). Different letters (a-e) in the same day indicate significant differences ($P<0.05$).

실험군에서 색소의 강도가 점차적으로 감소하는 경향이 확인되었다. 특히 sucrose 첨가 시 색소의 안정성이 가장 심하게 감소하는 것으로 나타났다. 반면 galactose, maltose, glucose, fructose 첨가군은 35일차에 대조군보다 색소의 강도가 증가하는 것으로 나타났다. Chung과 Kim(33)의 선인장 붉은 열매에서 추출한 betanin 색소의 당에 대한 안정성을 평가한 보고에 따르면 fructose와 sucrose를 색소액에 첨가하였을 때 glucose를 첨가한 군과는 달리 저장 초기의 색소 강도의 값보다 감소하였다가 다시 증가하는 경향을 나타내었는데, 이는 당에 함유된 케톤기의 환원력이 적색에 일시적인 영향을 끼친 것이라고 하였으나 정확한 과학적 이론은 향후 계속 연구해야 한다고 보고하였다. 또한, Park 등(36)의 통통마디 적자색 색소 용액에 당을 처리한 연구 결과에 따르면 당을 첨가함에 따라 색소의 잔존율은 차차 감소하였으며 당을 첨가한 모든 군에서 색소의 안정성이 대조군에 비해 높은 효과를 보이는 것으로 나타나 당 첨가가 색소 안정성에 효과적인 영향을 미친다고 보고하였다. 따라서 레드비트 색소의 안정성을 위해 당의 농도를 다양하게 하거나 다른 당을 첨가하는 연구가 앞으로 더 필요할 것이라고 생각된다.

열처리가 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

레드비트 추출물의 열처리에 대한 색소 안정성을 조사한 결과(Fig. 4) 열처리 온도가 높을수록 색소의 강도가 전체적으로 유의적으로 감소하는 경향을 보였으며, 100°C 열처리군은 2시간 이후부터 급격히 감소하는 경향을 나타내었다. Kim 등(34)의 선인장 열매 적색 색소의 열안정성에 대한 연구에 따르면 선인장 열매 적색 색소 용액을 90°C에서 열처리 시간이 경과할수록 적색 색소가 퇴색되면서 최대흡수 파장이 자외선 영역으로 이동하는 것으로 나타난다고 하였으며, 열처리 온도가 50°C에서 90°C로 상승함에 따라 betacyanin의 분해 속도가 빨라져 색소의 열안정성이 저하된다고 보고한 바 있다. 레드비트 추출물도 다른 천연색소와

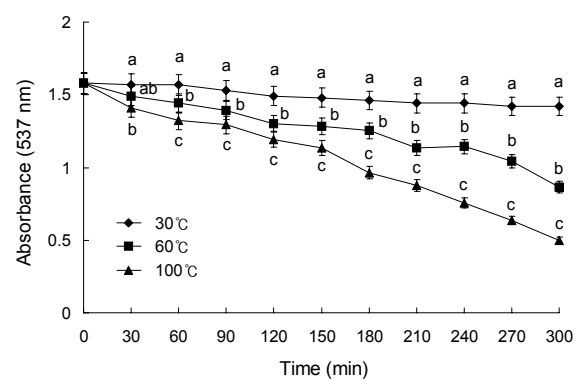


Fig. 4. Pigment stability of red beetroot extracts against various heat temperature and time. Values represent the mean \pm SD (n=3). Different letters (a-c) in the same day indicate significant differences ($P<0.05$).

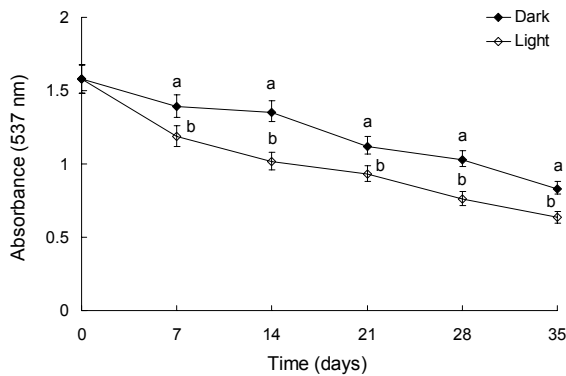


Fig. 5. Pigment stability of red beetroot extracts against light exposure. Values represent the mean \pm SD (n=3). Different letters (a,b) in the same day indicate significant differences ($P<0.05$).

마찬가지로 상품의 품질특성을 높게 유지하려면 열처리 시간을 가급적이면 짧게 하거나 온도를 비교적 낮은 수준에서 가공 처리를 하여 이용해야 할 것으로 판단된다.

빛의 유무가 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

레드비트 추출물의 빛에 대한 색소 안정성을 조사한 결과 (Fig. 5) 일광에 노출시키면서 저장시킨 경우 7일째까지 색도의 강도가 유의적으로 감소하였으며, 이에 비해 갈색병에 담아 암실에 보관한 색소의 경우에는 일정한 수준을 유지하다가 14일째부터 급속히 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 일광 조건이나 암실 조건하에서 모두 안정성이 지속적으로 떨어지는 것을 확인할 수 있었으며, 레드비트 색소의 betalain 색소는 빛에 대한 안정성이 매우 낮음을 알 수 있었다. 유색감자(37), 꽃베고니아(38), 아로니아(12)의 천연색소 추출물들의 빛 안정성 연구 결과와도 일치하는 경향을 보였다. 또한, Yoon 등(39)은 홍화 적색소가 빛에 노출될 경우 색소의 안정성이 매우 불안정한 것으로 보고하였다. 따라서 레드 비트 색소 추출물을 식품에 첨가하거나 식품착색제로 유통시킬 경우, 빛을 차단하는 포장 조건이나 저장 조건이 필요하다고 판단된다.

저장온도 및 저장기간이 레드비트 색소의 안정성에 미치는 영향

냉장 및 냉동온도에서의 장기저장에 따른 레드비트 색소 안정성을 조사한 결과 (Fig. 6) -75, -25°C에서 보관한 경우 매우 안정하여 색소 강도의 변화가 전혀 차이가 없었으며, 4°C에 보관한 경우에는 7일에서 14일 사이에 급격한 감소를 나타내고 그 이후에는 일정한 수준을 유지하며 감소하는 경향을 나타내었다. Hwang과 Ki(12)의 아로니아 유래 색소의 저장온도 및 저장기간에 따른 안정성 평가 연구 결과에 따르면 냉동 온도에서 저장한 경우에는 저장기간이 경과하여도 아로니아 색소가 비교적 안정하였으나 4°C의 냉장 온도에서는 저장기간이 경과함에 따라 아로니아 색소 안정성이 감소하는 것으로 보고하였다. 이는 본 실험과 비슷한 경

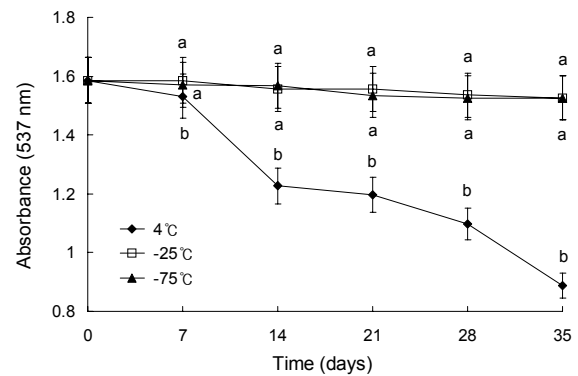


Fig. 6. Pigment stability of red beetroot extracts against various storage temperature. Values represent the mean \pm SD (n=3). Different letters (a,b) in the same day indicate significant differences ($P<0.05$).

향을 나타내었으며 이와 같은 결과로 볼 때 레드비트 추출물을 식품 착색제로 사용할 경우 저온에서 가공 및 유통되는 아이스크림이나 음료수에 적용하는 것이 적합할 것으로 판단되며, 레드비트 추출물을 장기 보관하는 경우에는 가급적이면 낮은 온도에서 냉동 저장하는 것이 레드비트 색소의 안정성을 유지하기 위해 적합할 것으로 생각된다.

요 약

국내산 유기재배 레드비트 추출물의 천연색소 및 항산화 효능 소재로서의 활용 가능성을 조사하기 위하여 유기재배된 레드비트를 1% citric acid를 함유한 75% 발효 주정을 이용하여 추출하였다. 레드비트 추출물의 betalain 중 적색 색소를 나타내는 betacyanin의 함량은 67.48 ± 1.37 mg/g을 나타내었으며, 황색 색소를 나타내는 betaxanthin의 함량은 47.24 ± 0.96 mg/g을 나타내었다. 레드비트 추출물의 총 페놀 함량은 10.3 ± 0.1 mg GAE/g으로 나타났다. 레드비트 추출물의 항산화 효능을 확인하기 위하여 ABTS 라디칼 소거능, DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과 ABTS 라디칼 소거능의 IC_{50} 은 513.1 ± 4.8 μ g/mL로 나타났다. 레드비트 추출물의 색소 안정성을 평가하기 위하여 pH, 유기산, 당, 열처리, 빛의 유무, 저장 온도를 달리하여 평가하였다. 레드비트 추출물은 pH 3~7 구간에서 최대흡수파장이 537 nm인 것으로 확인되었다. 레드비트 추출물에 당을 첨가하여 색소 안정성에 미치는 영향을 확인한 결과 저장기간이 길어질수록 대조군을 포함해 모든 실험군에서 색소의 강도가 점차적으로 감소하는 경향이 확인되었고, galactose, maltose, glucose, fructose 첨가군은 35일차에 대조군보다 색소의 강도가 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 레드비트 색소 추출물을 식품에 첨가하거나 식품착색제로 사용할 경우 빛을 차단하는 포장 조건이나 저장 조건이 필요하다고 생각된다. 또한, 레드비트 추출물을 장기 보관하는 경우에는 가급적이면 낮은 온도에서 냉동 저장하는 것이 레드비트 색

소의 안정성을 유지하기 위해 적합할 것으로 생각되며, 저온에서 가공 및 유통되는 아이스크림이나 음료수에 적용하는 것이 적합할 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2018년도 과학기술정보통신부 재원의 한국식품연구원 주요사업(과제번호: E0164800-03)과 농림축산식품부 농생명산업기술개발사업(과제번호: 316032-05)의 지원으로 수행된 연구성과이며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Yoon JM, Cho MH, Hahn TR, Paik YS, Yoon HH. 1997. Physicochemical stability of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety as natural food colorants. *Korean J Food Sci Technol* 29: 211-217.
2. Jung YS, Choi KJ, Kang HW, Bae DG. 2011. Research on the colorants extraction from black cowpea seed coats and their storage stability. *Korean J Plant Res* 24: 499-506.
3. Son JH, Choung MG, Choi HJ, Jang UB, Son GM, Byun MW, Choi C. 2001. Physiological effect of Korean black soybean pigment. *Korean J Food Sci Technol* 33: 764-768.
4. Kang JR, Kang MJ, Sim HJ, Choi MH, Shin JH. 2016. Physiological activities of natural color powders and their mixtures. *Korean J Food Preserv* 23: 80-88.
5. Hwang CR, Tak HM, Kang MJ, Suh HJ, Kwon OO, Shin JH. 2014. Antioxidant and antiobesity activity of natural color resources. *J Life Sci* 24: 633-641.
6. Park YH, Chang SK. 2000. Effects of shikonin pigments from the roots of *Lithospermum erythrorhizon* on rabbit platelets. *J Fd Hyg Safety* 15: 167-172.
7. Moon CK, Ha BJ, Lee SH, Mock MS. 1987. A study on the antilipidperoxydative effects of Brazilin and Hematoxylin (I). *Kor J Food Hygiene* 2: 35-40.
8. Hwang S, Jung E, Joo N. 2013. Processing optimization and quality characteristics of low-fat yogurt prepared with rose-*l*le. *Korean J Food Cult* 28: 392-400.
9. Oh JK, Imm JY. 2005. Effect of amino acids addition on stability and antioxidative property of anthocyanins. *Korean J Food Sci Technol* 37: 562-566.
10. Laleh GH, Frydoonfar H, Heidary R, Jameei R, Zare S. 2006. The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four *Berberis* species. *Pakistan J Nutr* 5: 90-92.
11. Matsufuji H, Kido H, Misawa H, Yaguchi J, Otsuki T, Chino M, Takeda M, Yamagata K. 2007. Stability to light, heat, and hydrogen peroxide at different pH values and DPPH radical scavenging activity of acylated anthocyanins from red radish extract. *J Agric Food Chem* 55: 3692-3701.
12. Hwang ES, Ki KN. 2013. Stability of the anthocyanin pigment extracted from aronia (*Aronia melanocarpa*). *Korean J Food Sci Technol* 45: 416-421.
13. Cheng GW, Breen PJ. 1991. Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *J Amer Soc Hort Sci* 116: 865-869.
14. Yi MR, Kang CH, Bu HJ. 2017. Antioxidant and anti-inflammatory activity of extracts from red beet (*Beta vulgaris*) root. *Korean J Food Preserv* 24: 413-420.
15. Kim MH. 2012. Antioxidant and antibacterial activity of extracts from *Brassica juncea czerniak et coss.*, *Celosia cristata L.*, and *Beta vulgaris L.*. *Korean J Food Cult* 27: 719-729.
16. Jang JR, Kim KK, Lim SY. 2009. Effects of solvent extracts from dried beet (*Beta vulgaris*) on antioxidant in cell systems and growth of human cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 832-838.
17. Elbe JH, Maing IY, Amundson CH. 1974. Color stability of betanin. *J Food Sci* 39: 334-337.
18. Havlíková L, Miková K, Kyzlink V. 1983. Heat stability of betacyanins. *Z Lebensm Unters Forsch* 177: 247-250.
19. Herbach KM, Stintzing FC, Carle R. 2006. Stability and color changes of thermally treated betanin, phyllocactin, and hylocerenin solutions. *J Agric Food Chem* 54: 390-398.
20. Castellar R, Obón JM, Alacid M, Fernández-López JA. 2003. Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *J Agric Food Chem* 51: 2772-2776.
21. Georgiev VG, Weber J, Kneschke EM, Denev PN, Bley T, Pavlov AI. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit dark red. *Plant Foods Hum Nutr* 65: 105-111.
22. Nemzer B, Pietrzowski Z, Spórna A, Stalica P, Thresher W, Michałowski T, Wybraniec S. 2011. Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. *Food Chem* 127: 42-53.
23. Ravichandran K, Saw NMMT, Mohdaly AAA, Gabr AMM, Kastell A, Riedel H, Cai Z, Knorr D, Smetanska I. 2013. Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Res Int* 50: 670-675.
24. Nilsson T. 1970. Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.). *Lantbrukshogskolans Annaler* 36: 179-219.
25. van den Berg R, Haenen GR, van den Berg H, Bast A. 1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem* 66: 511-517.
26. Bondet V, Brand-Williams W, Berset CLWT. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Food Sci Technol* 30: 609-615.
27. Krishnaiah D, Hiaw KB, Sarbatly R, Anisuzzaman SM, Nithyanandam R. 2012. Spray drying of *Morinda citrifolia* L. and *Beta vulgaris* L. fruit extract and its synergistic effect. *Int J Chem Eng Appl* 3: 380-384.
28. Papandreou MA, Dimakopoulou A, Linardaki ZI, Cordopatis P, Klimis-Zacas D, Margaritis M, Lamari FN. 2009. Effect of a polyphenol-rich wild blueberry extract on cognitive performance of mice, brain antioxidant markers and acetylcholinesterase activity. *Behav Brain Res* 198: 352-358.
29. Vulic J, Canadanovic-Brunet J, Cetkovic G, Tumbas V, Djilas S, Cetojevic-Simin D, Canadanovic V. 2012. Antioxidant and cell growth activities of beet root pomace extracts. *J Funct Foods* 4: 670-678.
30. Cai Y, Sun M, Corke H. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *J Agric Food Chem* 51: 2288-2294.
31. Ahn SI, Heuing BJ, Son JY. 2007. Antioxidative activities and nitrite-scavenging abilities of some phenolic compounds. *Korean J Food Cook Sci* 23: 19-24.
32. Huang AS, von Elbe JH. 1987. Effect of pH on the degradation and regeneration of betanin. *J Food Sci* 52: 1689-1693.
33. Chung MS, Kim KH. 1996. Stability of betanin extracted from *Opuntia ficus-indica* var. *Saboten*. *Korean J Food*

- Cook Sci* 12: 506-510.
34. Kim IH, Kim MH, Kim HM, Kim YE. 1995. Effect of antioxidants on the thermostability of red pigment in prickly pear. *Korean J Food Sci Technol* 27: 1013-1016.
35. Pasch JH, von Elbe JH. 1979. Betanine stability in buffered solutions containing organic acids, metal cations, antioxidants, or sequestrants. *J Food Sci* 44: 72-75.
36. Lee YJ, Park IB, Kim HS, Shin GW, Pakr JW, Jo YC. 2009. Characteristics and stability of violet red pigment extracted from *Salicornia herbacea* L.. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 885-891.
37. Park HJ, Jeon TW, Lee SH, Cho YS, Cho SM, Chang KS. 2004. Studies on characteristics and stability of anthocyanin pigment extracted from Korean purple-fleshed potatoes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1544-1551.
38. Park YJ, Kim H, Heo BK. 2006. Stability of anthocyanin pigment extracted from *Begonia semperflorens* 'red' with ethanol. *Flower Res J* 14: 203-210.
39. Yoon JM, Hahn TR, Yoon HH. 2001. Physicochemical stabilities of carthamins from safflower petals as food colorants. *Korean J Food Sci Technol* 33: 664-668.