碩士學位論文

손바닥선인장 열매로부터 추출한 색소의 안정성

指導敎授　河　璡　桓

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

濟州大學校 産業大學院

生命産業工學科

韓　桂　淑

２００３

손바닥선인장 열매로부터 추출한 색소의 안정성

指導敎授　　河　璡　桓

이 論文을 工學 碩士學位 論文으로 提出함

2003年　8月　　日

濟州大學校 産業大學院

生命産業工學科

食品工學專攻

韓　桂　淑

韓桂淑의 工學 碩士學位 論文을 認准함

2003年　8月　　日

委員長　　金　洙　賢　　(印)

委　員　　姜　永　周　　(印)

委　員　　河　璡　桓　　(印)

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Stability of the Pigment Extracted from Prickly Pears, *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*

Kue-Sook Han

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Department of Industrial Life Science and Technology
Graduate School of Industry
Cheju National University

Supervised by Professor Jin-Hwan Ha

目　　次

Summary ····· iii

Ⅰ. 序　　論 ····· 1

Ⅱ. 材料 및 方法 ····· 5

1. 재 료 ····· 5

2. 선인장 열매 색소의 안정성 ····· 5

2.1 선인장 열매 색소 추출 ····· 5

2.2 색소용액 제조 ····· 5

2.3 가열시간에 따른 색소 안정성 ····· 6

2.4 가열온도에 따른 색소 안정성 ····· 6

2.5 색소에 대한 pH의 영향 ····· 6

2.6 색소에 대한 금속이온의 영향 ····· 6

2.7 색소에 대한 당류의 영향 ····· 7

2.8 산에 대한 색소의 안정성 ····· 7

3. 선인장 열매 고분자물질 분해 ····· 7

3.1 선인장 열매 고분자 물질 분리 ····· 7

3.2 선인장열매 고분자 물질 분해미생물 분리 및 분해효소 생산 배

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

지 ····· 8
3.3 선인장 용액으로부터 분해미생물의 분리 ····· 11
3.4 미생물 배양을 통한 조효소액 조제 ····· 11
3.5 효소반응 ····· 11
3.6 선인장 고분자 물질 효소분해 HPLC 분석 ····· 11

Ⅲ. 結果 및 考察 ····· 13
1. 선인장 열매 색소의 안정성 ····· 13
1.1 가열시간에 따른 색소안정성 ····· 13
1.2 가열 온도에 따른 색소안정성 ····· 14
1.3 색소에 대한 pH의 영향 ····· 16
1.4 금속이온에 대한 색소안정성 ····· 16
1.5 당류에 대한 색소안정성 ····· 18
1.6 산에 대한 색소의 안정성 ····· 21

2. 선인장 고분자 물질 분해 ····· 24
2.1 선인장 용액으로부터 분해 미생물 분리 ····· 24
2.2 미생물을 이용한 선인장 고분자 물질 분해 분석 ····· 25

要 約 ····· 27

參 考 文 獻 ····· 29

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Stability of the Pigment Extracted from Prickly Pears, *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*

Kue-Sook Han

Department of Industrial Life Science and Technology
Graduate School of Industry
Cheju National University

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Supervised by Professor Jin-Hwan Ha

Summary

A pigment was isolated from prickly pear, *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*, inhabiting in Jeju Island by ethanol extraction and the stabilities of the pigment during storage were investigated.

The pigment of prickly pear ethanol extract(PPEE) showed maximum absorbent wavelength at 537nm, and the original red color was degraded with increasing heating time at 90℃ and its

maximum absorbent wavelength shifted to left side of visible regions.

When PPEE was heat treated at 5, 30, 50, 70 and 90℃ for 20min., it was observed that the pigment was stable up to 50℃ but unstable at over 70℃.

And when PPEE was adjusted to pH 3~7 and stored for 4 weeks at 5℃, the pigment was stable at a range of pH 4 to 7 but unstable at pH 3.

In case of 100 ppm of Fe, Ca and Sn ions into PPEE which were adjusted to pH 5 and stored at 5℃ for 4 weeks, not significant changes of the pigment color was observed by addition of Ca and Sn ions but the stability of pigment was dropped by Fe ion.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

In additions of 0.15M of glucose, fructose and saccharose the stability of the pigment were slightly deterioated but in case of 0.30M a remarkable deterioration was observed.

Citric acid and ascorbic acid affected little of the pigment stability regardless of the concentrations, but an obvious falloff in the pigment quality was observed since 3 weeks after addition of 100ppm of phosphoric acid.

OFI-5 mold was isolated from YNBA medium and from this an enzyme was extracted. The enzyme indicated a little degradation of some biopolymer materials which have 5 min. of retention time in the HPLC chromatograms.

Ⅰ. 序　　論

선인장은 건조한 기후에 적응력이 뛰어난 식물로 오랫동안 탄수화물과 비타민의 공급원으로 이용되어 왔으며, 식수난과 식량난을 겪고 있는 사막 여러 국가에서는 식품으로서의 가치를 인정받고 있어 재배가 권장되고 있다. *Opuntia*속의 선인장에는 다양한 종이 있고, 대부분이 야생에서 자라지만, 멕시코, 칠레, 아르헨티나, 미국에서는 상업적인 재배를 하고 있다(Sawaya 등, 1983).

제주도에서 경작 또는 일부 자생되는 선인장 중에 *Opuntia*속에 속하는 손바닥 선인장(*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*)은 열대지역 유래의 다년초로서 열매를 식용 할 수 있으며 다량의 점질물을 함유하고 있다(김 등, 1995; 정과 김, 1996).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

선인장 열매(prickly pear)는 14.5%의 고형분 함량을 가지고 있으며 , 0.21%의 단백질, 0.12%의 지방, 0.02%의 조섬유, 0.44%의 회분, 0.19%의 pectin이외에 미량의 비타민 A와 C 그리고 여러 종류의 무기질들을 포함하고 있다(Sawaya 등, 1983). 주요 당류로서 sucrose, fructose와 glucose가 각각 68.7%, 18.0%와 12.8%를 차지하고 있으며, 점질 다당류의 구성분인 mannose는 0.5%를 차지하고 있다(이 등, 1997).

한국식품개발연구원의 제주도 손바닥선인장(제주도 지정 기념물 제 35호)의 성분 분석 및 가공식품의 품질 개선 시험에 관한 연구보고서에 의하면 선인장의 총페놀 함량은 씨의 경우 1.47%, 줄기 1.86-1.85%, 열매 3.4-4.9% 함유되어 있고, 선인장 씨의 주요 유리당은 sucrose로 전체 유리당의 83.2%를 차지하였으며, 줄기는

fructose, sucrose, glucose로 전체의 40.8%, 25.7%이고 점질 다당류의 구성분인 mannose는 180mg%로 전체 유리당의 1.7%를 차지하였고 열매의 경우 주요 유리당은 sucrose, fructose, glucose로 각각 68.7, 18.0, 12.8%를 차지하였으며, 점질다당류의 구성분인 mannose는 약 208mg%로 전체 유리당의 0.5%를 차지하였다.

이 등(1997)은 완충용액(pH 5) 중에서 선인장의 주성분은 가용성 무질소물이며, 총무기질 함량은 선인장 줄기, 열매와 씨가 각각 9,400.8, 6,151.2와 1,096.8 mg%이고 주요 무기질은 Cu, P, Mg이며, 주요 유리아미노산을 분석하여 열매에는 tyrosine, proline, arginine이, 줄기에는 glycine과 arginine이 그리고 씨에는 glutamic acid와 arginine 들어 있다고 보고하였다.

선인장 줄기 또는 열매를 갈아 마시면 변비치료, 이뇨효과, 장운동의 활성화 및 식욕증진의 효능이 있고, 선인장 줄기는 피부질환, 류마치스 및 화상치료에 효과가 있다는 것이 구전되어 오고 있다. 中葯大辭典(1985)에 의하면 신경성 통증을 치료하고 건위, 자양강장제, 해열진정제, 소염해독, 급성유선염, 이질을 치료하는데 이용하며, 피를 맑게하고 하혈을 치료하는 목적으로 이용되는 것으로 알려져 있다.

이 등(1997)은 쥐의 위 조직에 대한 병리조직학적 검사결과 선인장을 섭취한 쥐에 비하여 섭취하지 않은 쥐가 궤양발생이 매우 심하였으며, 이외에 위궤양의 지표로 사용한 pH, 위점액량, 전혈점도, 조직병리학적 소견을 종합한 결과 선인장은 항궤양 효과가 있는 것으로 보고 한 바 있다.

정(2000)은 손바닥 선인장 열매의 용매 추출물 중 에탄올, 메탄올 추출물이 항산화력과 항균력이 우수하며, 항균활성은 그람양성균에

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

효과적이며 용매 분획물 중에는 ethyl acetate 분획이 효과가 가장 크다고 보고하였다. 또한 신 등(1998)은 손바닥 선인장 추출물이 macrophage에서 종양괴사인자를 유도하여 항암 및 항염증 작용을 갖는다고 보고하였다.

이 등(2000)은 손바닥선인장의 줄기 메탄올 추출물에서 유리라디칼 소거활성, tyrosinase 저해활성, 항알레르기 활성이 우수함을 조사하였고, 강과 강(2001)은 손바닥선인장은 콜레스테롤이 첨가된 식이에서 혈액내의 콜레스테롤과 중성지방이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다고 보고하였다.

선인장 열매의 적색 색소는 betalains로 알려져 있으며, betalains는 주로 적색 beet와 선인장의 꽃, 열매, 잎에 있는 세포의 액포에 존재하며, 천연 적색 색소인 betalains는 적색의 betacyanins와 황색의 betaxanthins로 구성되고 betacyanine은 75~95%가 betanine이다(Jackman과 Smith, 1996). Betanine은 Fig. 1과 같은 구조를 가지고 있다(Kobayashi 등, 2000).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Betanine은 수분활성도를 1.0에서 0.37로 낮추었을 때 75℃에서 안정성이 증가하여 반감기가 4배로 증가하였고(Pasch와 von Elbe, 1975), 또한 산소와 질소가 함유된 대기중, pH7 , 15℃ 조건하에서 6일간 저장하였을 때 산소에 의해 색소분해가 증가하였고 pH 4.0-5.0 부근에서 안정성이 가장 높았다고 보고하였다(von Elbe 등, 1974).

선인장 색소의 안정성은 수분활성도가 감소됨에 따라 75℃에서 안정성은 증가한다고 하였고(Pasch와 von Elbe, 1975), betanine 안정성은 pH 4.0~ 5.0에서 큰 영향을 받는다고 하였다(Huang과 von Elbe, 1987). Attoe와 von Elbe(1985)는 phenol이 없거나 sulfur기를 함유한 항산화제는 betanine 색소 안정성에 효과적이며 ascorbic

acid와 isoascorbic acid는 citrate buffer에서 안정성 증진시켰고, citric acid와 ascorbic acid를 혼합 사용하였을 때 안정성이 더 증진됨을 보고하였다. Saguy 등(1984)은 수분활성도(aw)가 0.5이하에서는 betanine의 안정성이 증가된다고 하였다.

Fig. 1. Structure of betanine.

따라서 본 실험은 제주도에 자생하는 손바닥선인장 열매색소를 에탄올 추출하여 유기용매 분획 후 분리하여 저장성 및 안정성을 확인하고 색소 분리 이용 시 문제가 되는 점질성 고분자 물질을 선인장 수용액에서 분리한 미생물에 의해 분해되는가를 HPLC를 이용하여 분석하였다.

Ⅱ. 材料 및 方法

1. 시료

선인장 열매는 북제주군 농업기술센터에서 동결된 것을 제공받아 열매에 붙어있는 잔가시를 제거하고 세척하여 물기를 없앤 후 분쇄기로 갈아 시료로 사용하였다.

2. 선인장 열매색소의 안정성

2.1. 선인장 열매 색소추출

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

시료 3.76kg에 메탄올 3L를 첨가하여 교반 한 후 5℃에서 24시간 색소를 추출하였다. 시료를 원심분리(7,000rpm, 30min)하여 상층액을 분리한 후 40℃에서 감압농축(Eyela Rotary Vacuum Evaporator N-N series)하였다. 메탄올 색소 추출액에 에테르를 첨가하여 분획 한 후 메탄올 색소층을 감압농축하고, 에틸아세테이트를 첨가하여 분획한 후 메탄올 색소층을 감압농축 하였다. 여기에 부탄올을 첨가하여 분획한 후 이들 용매층을 제거하여 메탄올 색소층을 감압 농축하였다. 농축액은 소량의 증류수에 녹여 회수한 후 동결건조 하여 색소를 분리하였다.

2.2 색소용액 제조

선인장 열매에서 메탄올로 추출하여 동결건조 시킨 색소에 증류수를 첨가하여 색소 0.625g/L의 농도로 색소 용액을 제조하여 사용

하였다.

2.3. 가열처리에 따른 색소의 안정성

가열에 의한 색소의 안정성을 조사하기 위하여 색소용액을 90℃에서 0분, 5분, 10분, 15분, 20분, 25분, 30분간 열처리하여 시간에 따른 최대흡수파장의 변화를 측정하였다.

2.4 가열온도에 따른 색소의 안정성

온도에 따른 색소의 안정성을 알아보기 위하여 색소용액을 5℃, 30℃, 50℃, 70℃, 90℃에서 각각 20분 처리 한 후 최대흡수파장을 보였던 537nm에서 흡광도(Shimadzu UV-1201 Spectrophotometer)를 측정하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2.5 pH의 영향

선인장 열매 색소에 대한 pH의 영향을 알아보기 위하여 색소용액의 pH를 McIlvaine's 0.1M citric-0.2M phosphate 완충용액으로 3, 4, 5, 6, 7로 맞추어 시험관에 담고 산소를 제거시키기 위하여 질소가스를 충진시켜 밀봉한 후 5℃에 저장하면서 일주일 간격으로 4주동안 537nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.6 금속이온의 영향

선인장 적색 색소의 금속이온에 대한 안정성을 조사하기 위하여 pH 5 완충용액에 녹인 $FeCl_2$, $CaCl_2$, $SnCl_2$를 금속이온의 최종농도가 100ppm이 되도록 첨가하여 시험관에 담고 산소를 제거시키기 위하여 질소가스를 충진시켜 밀봉한 후 5℃에 저장하면서 pH 5로 조

정한 색소용액을 대조군으로 하여 일주일 간격으로 4주동안 537nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

2.7 당류의 영향

선인장 열매 적색 색소의 당류에 대한 안정성을 알아보기 위하여 당류로는 pH 5 완충용액에 녹인 포도당, 과당, 자당을 각각 0.15M, 0.3M의 두 가지 농도로 첨가하여 시험관에 담고 산소를 제거시키기 위하여 질소가스를 충진시켜 밀봉한 후 5℃에 저장하면서 pH 5로 조정한 색소용액을 대조군으로 하여 일주일 간격으로 4주동안 537nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

2.8 산에 대한 색소 안정성

선인장 적색 색소의 산에 대한 안정성을 조사하기 위하여 ascorbic acid, citric acid, phosphoric acid를 최종 농도 100ppm, 500ppm이 되도록 한 후 질소를 충진시켜 밀봉하여 산소를 제거하고 5℃에 저장하면서 pH 5로 조정한 색소용액을 대조군으로 하여 일주일 간격으로 4주동안 537nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3. 선인장 열매 고분자 물질

3.1 선인장 열매 고분자 물질 분리

선인장 열매 착즙액을 90℃에서 15분간 열처리 한 후 95% 에탄올로 추출하여 색소를 용출시키고 원심분리(7,000rpm, 20min) 하여 상층액은 버리고 침전물만 취하여 소량의 증류수에 용해시켰다. 색소

가 제거된 시료는 50℃에서 열풍건조(Drying oven)하여 점질성 고분자 물질을 분리하였다. 고분자 물질 분리 방법은 Fig. 2와 같다.

3.2 선인장 열매 고분자 물질 분해 미생물 분리 및 분해효소 생산 배지

선인장 열매 고분자 물질 분해 미생물 분리 배지는 yeast nitrogen base(with amino acid)에 1.5%의 agar를 첨가하여 autoclave에서 121℃, 15분간 가압멸균 하였다. 10배로 농축한 선인장 고분자 물질 수용액을 제조하여 syringe filter(cellulose acetate, 0.2㎛)로 여과하고 멸균시킨 agar를 첨가한 yeast nitrogen base에 0.5% 농도가 되게 첨가하여 yeast nitrogen base agar(YNBA) 배지를 만들어 미생물 분리용 배지로 하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

선인장 열매 고분자 물질 분해 효소 생산용 배지는 yeast nitrogen base(with amino acid)를 121℃, 15분간 autoclave에서 가압멸균 하였다. 10배로 농축한 선인장 고분자 물질 용액을 제조하여 syringe filter(cellulose acetate, 0.2㎛)로 여과하고 멸균시킨 yeast nitrogen base에 농도가 0.5%되게 첨가하여 yeast nitroge base(YNB) 배지를 만들어 선인장 열매 고분자 물질 분해효소 생산용 배지로 하였다. yeast nitrogen base의 조성은 Table 1과 같다.

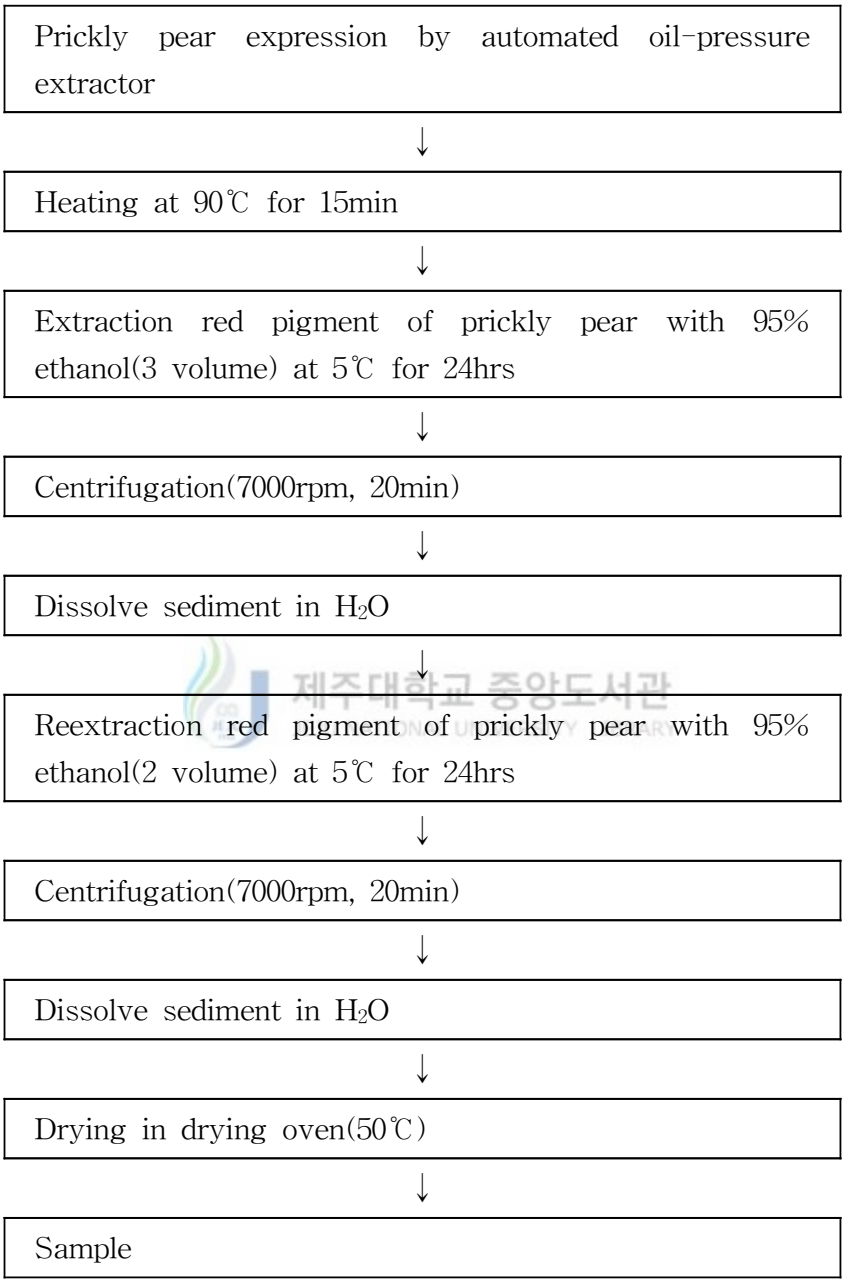


Fig. 2. Isolation of polymer in prickly pear by 95% ethanol.

제주대학교 중앙도서관

Table 1. Composition of yeast nitrogen base agar with amino acids(YNBA)

Composition	Contents
KH_2PO_4	1g
$(NH_4)_2SO_4$	5g
$MgSO_4$	0.5g
NaCl	0.1g
$CaCl_2$	0.1g
Histidine HCl	10mg
Methionine	20mg
Tryptophan	20mg
Inositol	2mg
Vitamin/ Mineral	trace
Agar	1.5g
Distilled water	100mL
Polymer of prickly pear	0.5%

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3.3 선인장 용액으로부터 분해미생물의 분리

선인장 열매 착즙액을 동결건조하여(Ilshin freeze dryer TFD 5505) 용액을 제조하고 실온에서 장기간 방치하여 미생물 분리원으로 하였다. YNBA 배지에 선인장 용액을 접종하여 25℃ incubator에서 3일간 배양하여 미생물을 분리하였고 계대배양을 통하여 미생물을 순수분리 하였다.

3.4 미생물 배양을 통한 조효소액 조제

미생물 배양을 통한 선인장 고분자 물질 분해 미생물 조효소액을 얻기 위하여 분리된 미생물을 YNB broth에 접종하여 25℃ incubator에서 200rpm의 속도로 shaking 하면서 3일간 배양하였다. 배양액을 원심분리(7,000rpm, 20min)하여 침전물은 제거하고 상층액만 취하여 3배 부피의 95% 에탄올을 서서히 가하여 5℃에서 3시간 방치하였다. 배양액-에탄올 혼합액을 원심분리(7,000rpm, 20min)하여 상층액은 버리고 침전물을 증류수에 현탁시켜 동결건조 하였다. 건조된 조효소 분말을 증류수에 0.01g/ml 농도로 조제하여 조효소액으로 하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3.5 효소반응

0.5% 선인장 열매 고분자 수용액을 기질로 하여 0.01g/ml 조효소액을 20%농도로 첨가한 후 30℃에서 2시간 효소반응을 시켰다.

3.6 선인장 고분자 물질 효소분해 HPLC 분석

0.5% 선인장 열매 고분자 수용액, 0.01g/ml 조효소액, 효소반응액을 syringe filter(cellulose acetate, 0.2㎛)로 여과하여 HPLC(Hew-

lett Packard 1090, USA)로 분석하였다. HPLC 분석 조건은 Table 2와 같고 효소반응 후 머무름 시간을 서로 비교하여 고분자 물질의 분해를 확인하였다.

Table 2. Analysis condition by high performance liquid chromatography

Column	BIOSEP-SEC-S4000
Eluent	H_2O
Flow rate	1.0mL/min
Detection	UV(210nm)

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅲ. 結果 및 考察

1. 선인장 색소 안정성

1.1 가열시간에 따른 색소의 흡광도 변화

선인장으로부터 분리한 색소 용액을 90℃에서 열처리하여 시간별 흡광도를 살펴본 결과는 Fig. 3과 같으며 열처리하지 않은 색소의 최대흡수파장은 537nm였다. 이것은 Huang과 von Elbe(1986)가 betanine의 최대흡수파장은 538nm라는 보고와 일치하며 또한 김 등(1996)의 색소 용액의 최대흡수파장은 536~538nm였다는 보고와도 일치하였다. 90℃에서 열처리 한 시간이 길어질수록 적색색소가 퇴색하면서 최대흡수파장은 파장이 짧은 쪽으로 이동하였다. 이는 김 등(1996)이 열처리 시간 경과에 따라 최대흡수파장은 자외선 영역쪽으로 이동한다는 보고와 잘 일치하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

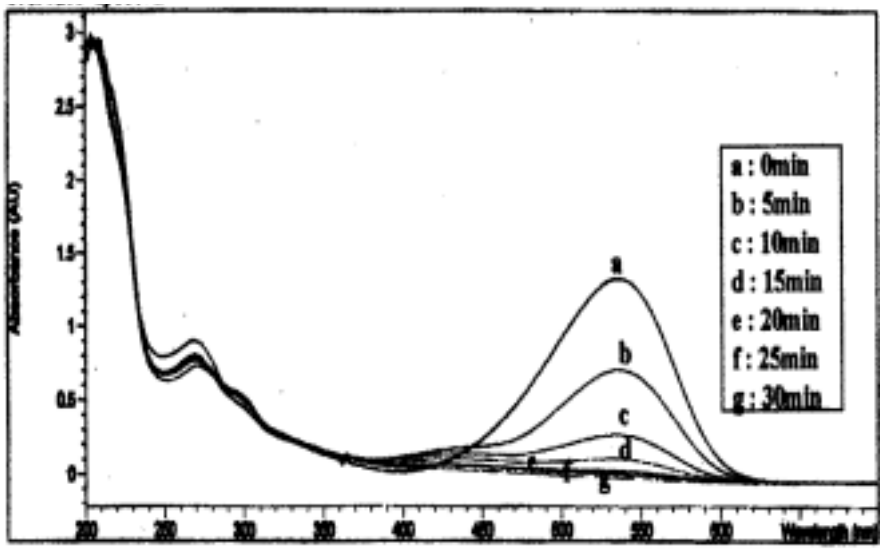


Fig. 3. Changes of absorption spectra in the visible region for the pigment of thermodegraded prickly pear as a function of time at 90℃.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

1.2 가열온도에 따른 색소의 안정성

선인장 열매로부터 추출한 색소 용액을 5℃, 30℃, 50℃, 70℃, 90℃에서 20분간 열처리하여 537nm에서 흡광도를 측정한 결과는 Fig. 4과 같다. 색소는 5, 30, 50℃에서는 비교적 안정하였으나 70℃부터는 흡광도가 급격히 떨어져서 90℃에서는 색소의 열안정성이 현저히 저하되어 색소가 거의 분해됨을 알 수 있었다. 이 등(1998)은 점질물 추출액의 색소 안정성에서 60℃이하에서는 안정성을 나타내었으나 70℃ 이상에서는 급격히 안정성이 저하된다고 보고하였고, 김 등(1995)은 색소용액을 50℃, 70℃, 90℃에서 열처리하여 반

감기를 계산한 결과 50℃에 비하여 70℃, 90℃에서는 반감기가 큰 폭으로 감소하였다고 보고한 바 있다.

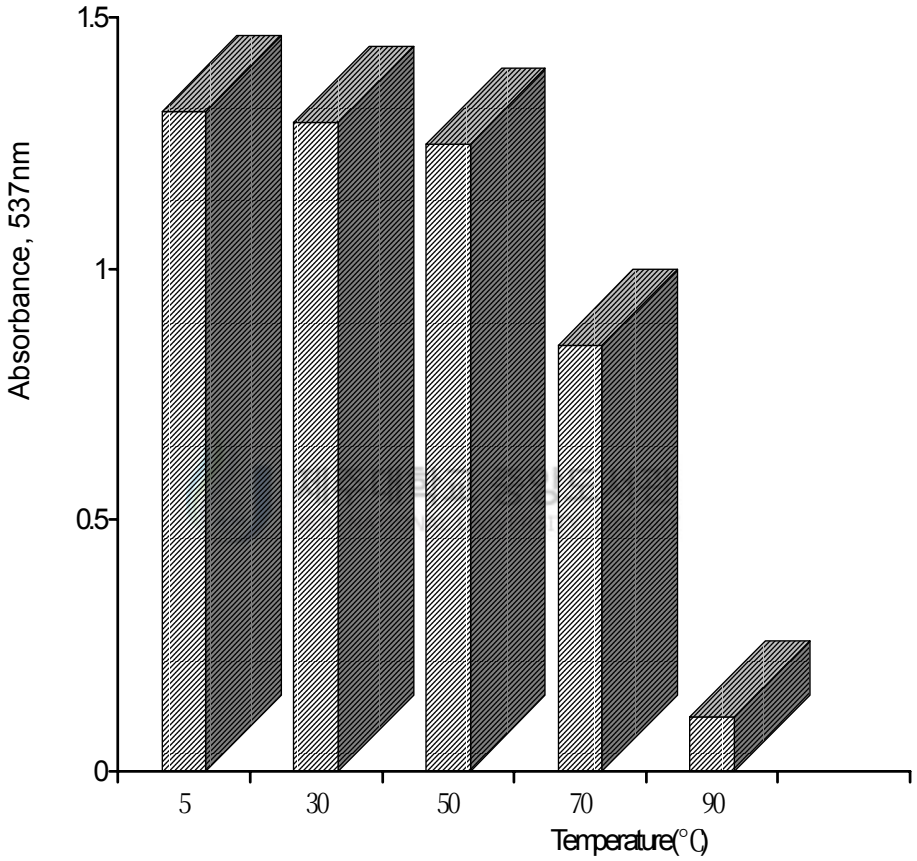
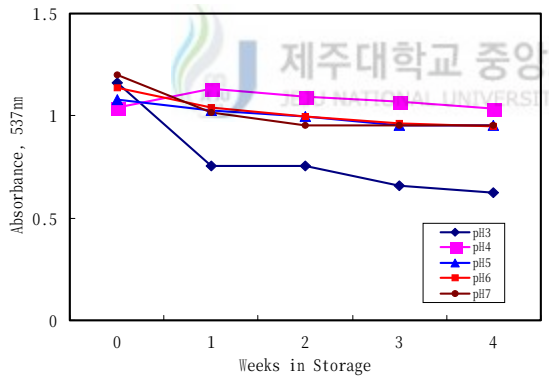


Fig. 4. Effect of temperature on thermostability of prickly pear pigment.

1.3 색소에 대한 pH의 영향

선인장 열매 색소액을 McIlvaine's 0.1M citric-0.2M phosphate buffer로 pH 3, 4, 5, 6, 7로 조절하여 5℃에서 4주간 저장하면서 색의 변화를 537nm에서 흡광도를 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. pH 3인 경우는 저장 1주일 후에 흡광도가 크게 낮아져 저하되었으나 이후 큰 변화는 없었다 한편 pH 4, 5, 6, 7로 조절한 경우는 흡광도가 비슷하거나 약간 감소하여 색소가 비교적 안정함을 볼 수 있었다. 이는 pH 4, 5로 조절하여 저장한 경우 붉은색에 관여하는 a 값에 변화가 없었다. 정과 김(1996)의 보고 그리고 betanine은 pH 4와 5에서 안정하다는 Huang과 von Elbe(1987)의 연구결과와도 일치하는 결과였다.



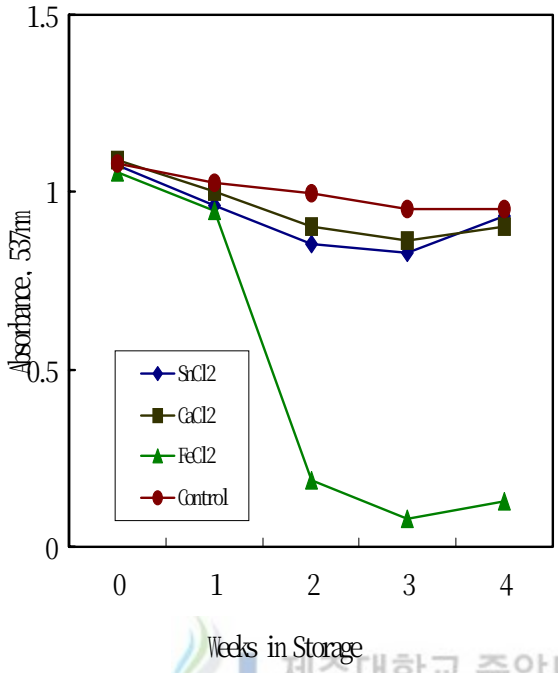
제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 5. The pH stability of prickly pear red pigment during storage at 5℃.

1.4. 금속이온에 대한 색소의 안정성

일반식품 구성분이나 식품가공공정 및 포장에서 혼입 될 수 있는 Fe, Ca, Sn이온을 각각 100ppm 첨가하여 pH 5로 조정하고 4주간 저장한 실험의 결과는 Fig. 6과 같다. 대조군과 비교하여 $SnCl_2$와 $CaCl_2$를 첨가한 군은 흡광도가 약간 떨어지는 정도여서 색소 안정성에 큰 영향을 미치지 않은 것으로 판단되었다. 그러나 $FeCl_2$를 첨가한 것은 대조군에 비하여 색소의 안정성이 크게 저하되었다. 이러한 영향은 금속이온이 전자공여체 및 수용체로 작용하여 친전자성 중심부를 불안정하게 하므로 발색단의 파괴와 관련된 화학결합의 재배열이 일어나 색소의 안정성이 감소되었다고 볼 수 있다. 이는 betanine에 Fe와 과 Cu이온이 선인장 색소 안정성을 저하시키고 Sn 첨가시에는 큰 변화가 없다는 정과 김(1996)의 보고와 일치하였고 betanine에 Fe와 Cu 이온을 첨가하였을 때 색소 반감기가 감소되었다는 Pasch와 von Elbe(1979)의 결과와도 일치하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 6. Effect of metal ions(100ppm) on prickly pear pigment during storage at 5℃.

1.5. 당류에 대한 색소의 안정성

선인장 색소 용액에 glucose, fructose, saccharose 0.3M과 0.15M을 첨가하여 저장기간에 따른 색소변화를 살펴본 결과는 각각 Fig. 7 및 Fig. 8과 같다. 0.3M의 당 첨가시 glucose, fructose, saccharose 모두 대조군에 비해 색소 안정성이 급격히 저하되나 저장기간에 따른 변화는 거의 없었다. 0.15M의 당 첨가시 glucose, fructose, saccharose 모두 대조군에 비하여 색소의 안정성에 약간의 변화가 있었으나 저장기간에 따른 변화는 거의 없었다. 0.3M, 0.15M

당농도를 비교해 보면 0.3M의 당 첨가시 0.15M에 비하여 색소 안정성이 더 저하됨을 알 수 있었다. 정과 김(1996)은 포도당과 과당을 각각 0.15M과 0.3M 첨가하였을 때 포도당은 두 농도 모두 붉은 색 색소를 나타내는 a 값이 감소하여 퇴색된다고 하였는데 본 실험의 결과는 포도당을 첨가하였을 경우는 일치하나 과당을 첨가하였을 경우는 초기에 대조군 보다 낮았으나 저장기간에 따라 증가하였다는 보고와는 상이하였다.

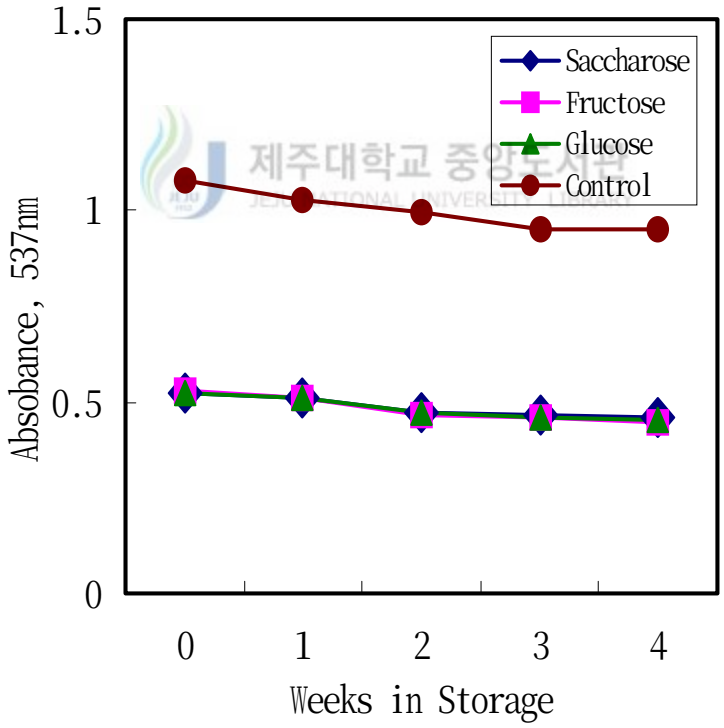
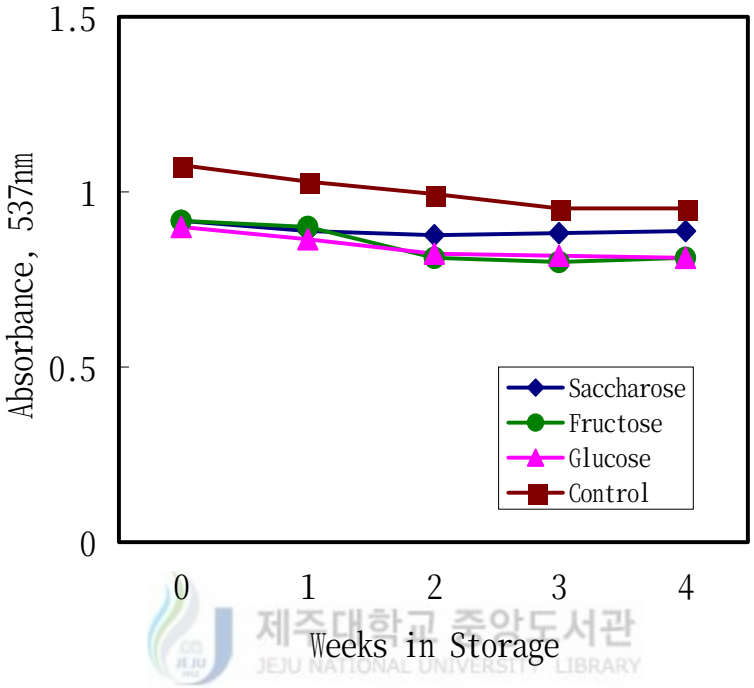


Fig. 7. Effect of sugars(0.3M) of prickly pear pigment during storage at 5℃.



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 8. Effect of sugars(0.15M) of prickly pear pigment during storage at 5℃.

1.6. 산에 대한 색소의 안정성

선인장 색소 용액에 100 및 500ppm의 phosphoric acid, citric acid, ascorbic acid를 첨가하여 저장기간에 따른 흡광도 변화를 조사하였다(Fig. 9, 10). Phosphoric acid, citric acid, ascorbic acid를 100ppm 첨가하였을 때 초기에는 모두 대조군 보다 흡광도 수치가 높았고 특히 citric acid, ascorbic acid를 첨가한 경우 저장 중에도 대조군 보다 흡광도가 커서 색소의 안정성을 보였다. 그러나 phosphoric acid를 100ppm 첨가한 경우 초기에는 색소안정성을 보였으나 3주가 지나면서 색소안정성이 다소 저하되는 경향을 나타내었다. 500ppm의 산 첨가시 citric acid와 ascorbic acid의 경우 초기에는 대조군과 비교하여 색소가 안정하였으나, 저장기간이 길어지면서 안정성이 다소 저하하는 경향을 나타내었다. 반면 phosphoric acid는 대조군에 비해 흡광도가 현저히 감소하여 색소 안정성이 감소함을 알 수 있었다. 100ppm과 500ppm의 농도로 산을 첨가한 경우를 비교해 보면 100ppm 첨가한 경우가 500ppm 첨가의 경우 보다 색소가 안정됨을 볼 수 있었다 그러나 ascorbic acid 와 citric acid는 농도에 크게 영향이 없음을 알 수 있었다. 이 결과는 정과 김(1996)의 ascorbic acid 100ppm과 500ppm 첨가시 색도 a의 유의적인 변화가 없어 붉은 색을 안정화시킨다는 보고와 일치하였고, phosphoric acid 100ppm에서는 색소를 안정화시킨다는 보고와도 일치하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

또한 Pasch와 von Elbe(1979)의 ascorbic acid 100ppm 첨가시 색소 용액의 반감기에 영향이 없다는 보고와 일치하였고, citric acid 100ppm과 1000ppm 첨가의 경우도 색소 안정성에 영향을 미치지 않았다는 보고와도 일치하였다. 김 등(1995)도 열처리 온도 50℃, 7

0℃, 90℃에서 색소 산화에 대한 항산화 효과 조사에서 ascorbic acid는 모든 온도에서 항산화효과가 있다고 한 바 있다.

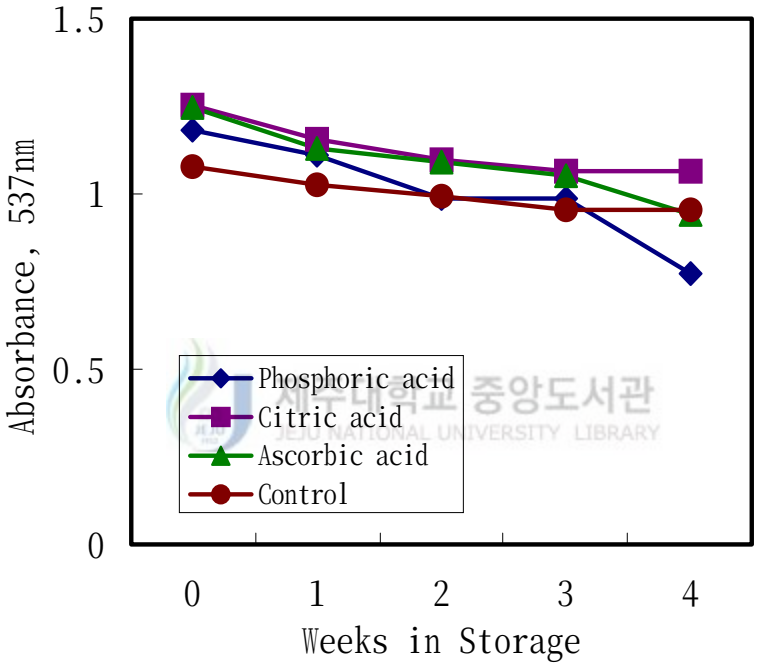
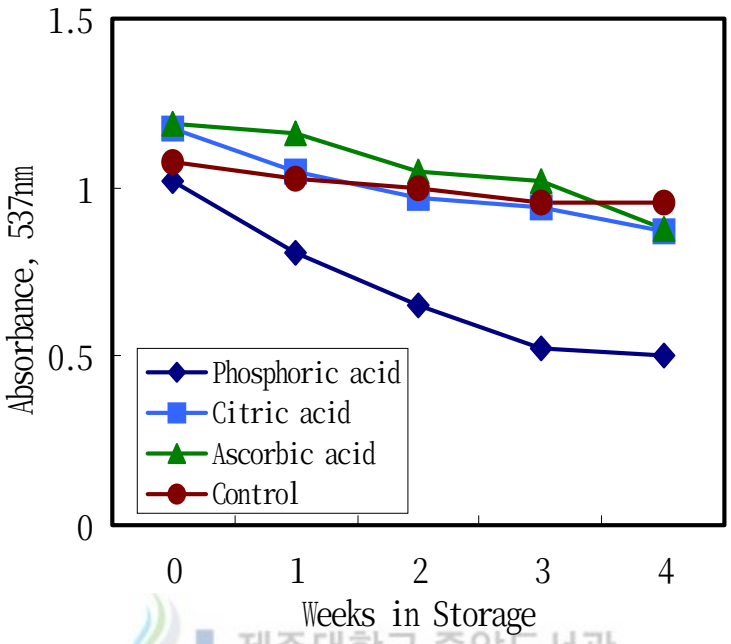


Fig. 9. Effect of acids(100ppm) on prickly pear pigment during storage at 5℃.



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 10. Effect of acids(500ppm) on prickly pear pigment during storage at 5℃.

2. 선인장 고분자 물질 분해

2.1 선인장 용액으로부터 분해미생물 분리

선인장 용액을 실온에서 장기간 방치하여 미생물이 생성되게 하였다. 선인장 고분자 물질을 탄소원으로 한 YNBA배지에 선인장 용액을 접종하여 효모 2종과 곰팡이 1종이 분리되었으나, 효모 2종은 계대배양 중 미생물 생육기간이 길고 생육이 용이하지 않아 분리된 곰팡이를 이용하여 선인장 분해실험을 하였다. 분리된 선인장 분해미생물은 OFI-5로 명명하였다(Fig. 11).

Fig. 11. Degrading microorganism, OFI-5, of polymer of prickly pear.

2.2 미생물을 이용한 선인장 고분자 물질 분해 분석

YNBA 배지에서 분리한 미생물 OFI-5를 YNB 배지에서 배양하여 배양액을 95% 에탄올로 침전시켜 원심분리 후 동결건조하여 조효소를 생산하였고 조효소액을 조제하여 선인장 고분자 물질 수용액과 반응시켜 분해 여부를 HPLC로 분석하였다.

0.5% 선인장 고분자 물질 수용액, 조효소액, 0.5% 고분자 물질 수용액과 조효소액 반응물의 분석 결과는 Fig. 12, 13, 14와 같다. 0.5% 선인장 고분자 물질 수용액 HPLC 분석결과 머무름 시간(Rt) 5min을 갖는 물질이 고분자 물질로 추정되며, 조효소액과 0.5% 선인장 고분자 물질의 효소반응 분석에서는 Rt 5분의 고분자물질이 줄어들었고 Rt 6분과 7분을 갖는 저분자 물질이 생성되어 고분자 물질이 분해되었음을 확인 할 수 있었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

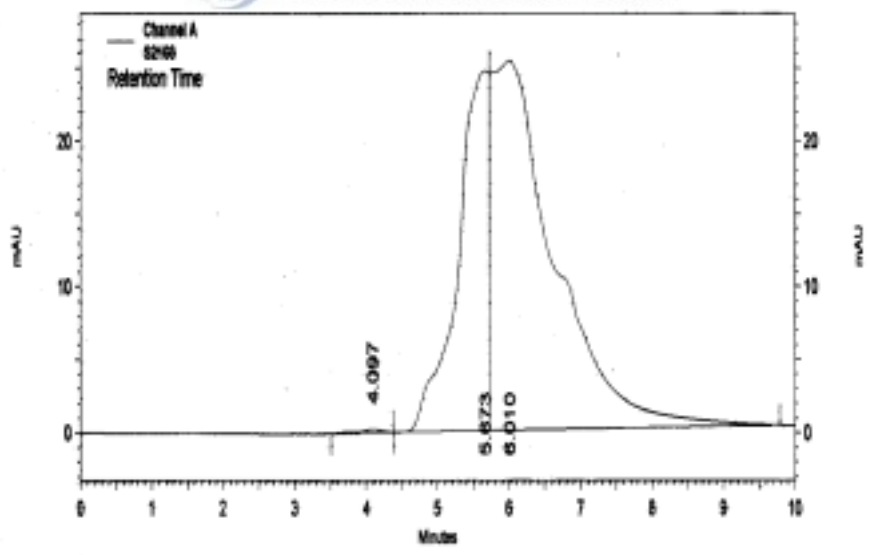


Fig. 12. Analysis of 0.5 % prickly pear polymer by HPLC.

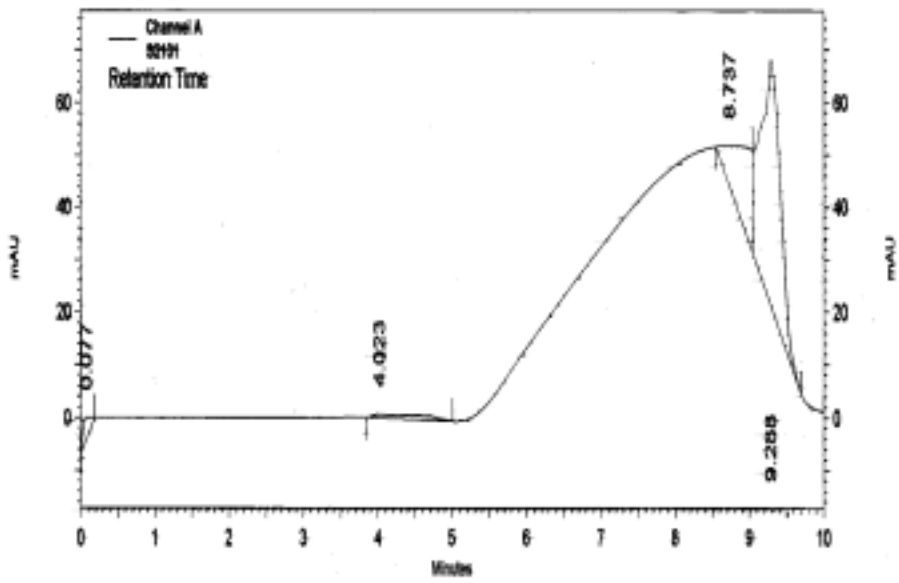


Fig. 13. Analysis of crude enzyme solution from OFI-5 by HPLC.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

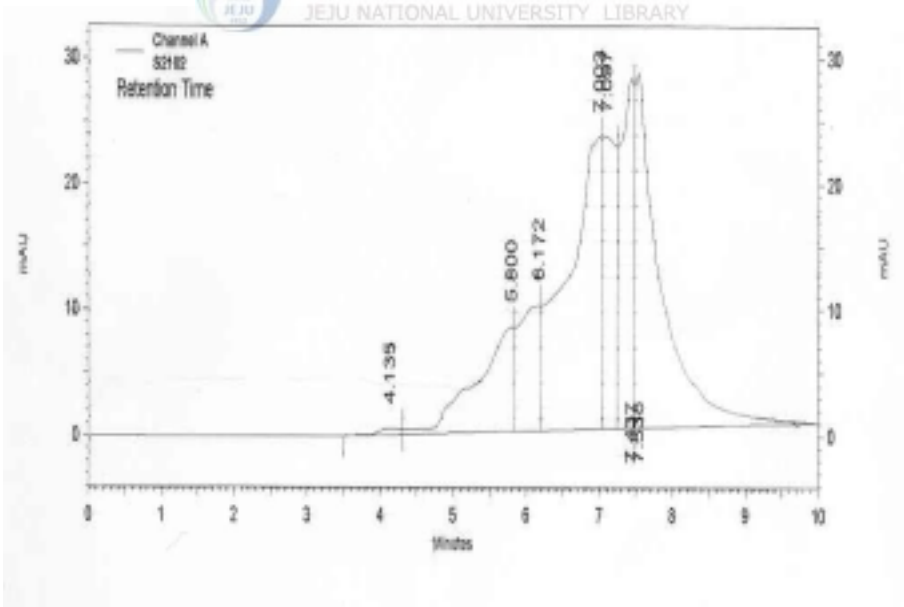


Fig. 14. Analysis of reaction enzyme with 0.5% prikly pear polymer HPLC.

要　約

제주도에 자생하는 손바닥선인장 열매(prickly pears)를 에탄올 추출하여 색소를 분리하고 저장성 및 안정성을 확인하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

분리된 색소의 최대 흡수 파장은 537nm였으며, 90℃에서 가열시 열처리시간이 길어짐에 따라 적색색소가 퇴색되면서 최대흡수파장이 자외선 영역으로 이동하였다.

선인장 열매색소 용액을 5℃, 30℃, 50℃, 70℃, 90℃에서 20분간 열처리하여 537nm에서 흡광도를 측정한 결과 50℃까지는 색소 안정성이 유지되었으나 70℃이상에서는 색소 안정성이 저하되었다.

선인장 열매 색소용액을 5℃에서 4주간 저장하면서 색의 변화를 측정한 결과 pH 4~7에서는 색소 안정성이 유지되었고 pH 3에서는 색소안정성이 저하되었다.

Fe, Ca, Sn이온을 각각 100ppm 첨가하여 pH 5로 조정하고 4주간 저장성을 실험한 결과 Ca, Sn 이온은 색소 안정성에 영향이 없었으나 Fe 이온은 색소 안정성을 저하시켰다.

선인장 색소 용액에 glucose, fructose, saccharose 0.3M과 0.15M을 첨가하였을 때 0.15M은 약간의 색소 안정성 저하가 있었지만 0.3M 농도인 경우는 색소 안정성을 크게 저하시켰다.

선인장 색소 용액에 100ppm 및 500ppm의 phosphoric acid, citric acid, ascorbic acid를 첨가하였을 때 citric acid와 ascorbic acid의 경우 농도에 관계없이 색소 변화가 없었고, phosphoric acid는 100ppm에서 3주 이후 색소 색소안정성이 저하되었다.

제주대학교 중앙도서관

YNBA배지에 선인장 수용액을 첨가하여 OFI-5 균주를 분리하였고 이 균주로부터 분해 효소를 추출하여 효소반응시켜 분해 여부를 HPLC를 이용하여 분석한 결과 머무름 시간 5분을 갖는 고분자 물질을 일부 분해함을 알 수 있었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

參 考 文 獻

Attoe, E. L. and von Elbe, J. H., 1985, Oxygen Involvement in Betanine Degradation: Effect of Antioxidants, J. of Food Science, 50, 106.

정미숙, 김경희, 1996, 선인장 붉은 열매에서 추출한 betanine 색소의 안정성, 한국조리과학회지, 12, 506.

정해정, 2000, 손바닥 선인장의 항산화 및 항균특성, 한국조리과학회지, 16(2), 160.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Huang, A. S. and von Elbe, J. H., 1986, Stability Comparision of Two Betacyanine Pigments-Amaranthine and Betanine, J. of Food Science, 51(3), 670.

Huang, A. S. and von Elbe, J. H., 1987, Effect of pH on the Degradtion and Regeneration of Betanine, J. of Food Science, 52(6), 1689.

Jackman, R. L. and Smith, I. L., 1996, Anthocyanins and betalains. in "Natural food colorants" Hendry, G. A. I. and Houghton, J. D.(eds.), 2nd ed., Blackie Academic and Professional, London, 280.

강민숙, 강정숙, 2001, 감귤박, 다시마, 손바닥선인장 분말을 함유한 식이의 급여가 고콜레스테롤혈증 흰쥐의 체내 지질 수준과 장내 콜레스테롤 흡수, 혈소판 응집성 및 간 조직에 미치는 영향, 한국영양학회지, 34(2), 141.

김인환, 김명희, 김홍만, 김영언, 1995, 선인장 열매 적색색소의 열안정성에 대한 항산화제의 효과, 한국식품과학회지, 27, 1013.

Kobayashi, N., Schmidt, J., Nimtz, M., Wray, V., Schliemann, W., 2000, Betalains from Christmas cactus, Phytochemistry, 54, 422.

이후장, 1997, 랫드의 스트레스성 위궤양에 대한 선인장의 항궤양작용에 관한 연구, 서울대학교 보건대학원 석사학위논문

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

이남호, 윤진석, 이봉호, 최병욱, 박관하, 2000, 손바닥선인장(Opuntia ficus-indica)의 라디칼 소거활성, Tyrosinase 억제활성, 항알레르기 활성 검색, 생약학회지, 31(4), 412-415.

이삼빈, 황기, 하영득, 1998, 선인장 열배로부터 추출된 점질물 및 색소의 기능성, 한국식품영양과학회지, 27(5), 821.

이영철, 황금희, 한동휴, 김성대, 1997, 손바닥 선인장 성분 특성, 한국식품과학회지, 12, 506.

Pasch, J. H. and von Elbe, J. H., 1975, Betanine Degradation as Influenced by Water Activity, J. of Food Science, 40, 1145.

Pasch, J. H. and von Elbe, J. H., 1979, Betanine stability in buffered solutions containing organic acids, metal cations, antioxidants, or sequestrants, J. of Food Science, 44(1), 72.

Saguy, I., Goldman, M., Bord, A. and Cohen, E., 1984, Effect of Oxygen Retained on Beet Powder on the Stability of Betanine and Vulgaxanthine Ⅰ, J. of Food Science, 49, 99.

上海科學技術出版社 小學官, 1985, 中葯大辭典, 東京, 2731.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Sawaya, W. N., Khatchadourian, H. A., Safi, W. M. and Al-Muhammad, H. M., 1983, Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus-indica*, and the manufacturing of prickly pear jam, J. Food Technol., 18, 183.

신태균, 이선주, 김세재, 1998, 손바닥선인장 추출물이 면역계세포의 활성화에 미치는 영향, 한국수의병리학회, 2, 31.

Von Elbe, J. H., Maing, I. Y., and Amundso, C. H., 1974, Color stability of betanine, J. Food Science, 39, 334.

감사의 글

공부에 대한 갈증으로 세월을 붙잡아 두고 싶을 뿐입니다. 한 걸음 한 걸음 내디딜 때의 고통을 함께 해주신 분들이 계셨기에 이만큼의 자리에까지 올 수 있었습니다.

오늘의 제가 있기까지 항상 자상한 배려와 관심으로 지도해주신 하진환 교수님, 고영환 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 학위 과정 동안 많은 가르침을 주시고 세세한 배려로 논문을 다듬어 주신 김수현 교수님, 강영주 교수님께 감사 드립니다.

항상 칭찬과 용기를 주신 송대진 교수님, 김재하 교수님, 임상빈 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

처음부터 끝까지 논문완성에 심혈을 기울여 도와주신 허윤희 선생님의 친절함과 자상한 배려 잊지 않을 것입니다.

이 논문이 완성되기까지 지켜 봐 주시고 격려해주신 정완석 선생님, 문봉춘 선생님, 고정은 선생님, 박승림 선생님, 오현정 선생님, 좌미경 선생님, 산업대학원 원우들과 조교 선생님들께도 깊은 감사를 드립니다.

항상 자부심과 긍지를 가지고 클 수 있도록 도와주신 제주산업정보대학 호텔조리계열 김봉오 교수님, 오창경 교수님, 오명철 교수님, 양태석 교수님, 김지순 교수님, 왕복안 교수님, 이승배 교수님과 조교 선생님께도 깊은 감사를 드립니다.

이 세상에서 제일 든든한 후원자 시어머님, 시아주버님, 형님들, 시누이들께 감사를 드립니다. 저 멀리 미국에 계신 친정어머님과 오빠, 올케언니들과 친정 언니와 형부들, 남동생 부부에게도 감사를

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

드립니다. 그리고 동서 서명원님과 친구 이애인님, 신천지 식품 사장님 내외분께 깊은 감사의 마음을 전하고 싶습니다. 마지막으로 항상 곁에서 사랑과 인내로 격려해준 남편 변의종씨와 사랑하는 아들 정주에게 이 논문을 바칩니다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY