

고온가압 처리에 의한 식용색소의 화학안정성 및 산화방지활성 변화

오보은^{1†} · 김건희^{1†} · 홍정일^{1,*}

¹서울여자대학교 자연과학대학 식품응용시스템학부

Changes in color stability and antioxidant properties of dietary pigments after thermal processing at high pressures

Boeun Oh^{1#}, Kunhee Kim^{1#}, and Jungil Hong^{1,*}

¹Division of Applied Food System, College of Natural Science, Seoul Women's University

Abstract Various dietary pigments are added to processed foods to improve their sensory and commercial properties. In this study, autoclave sterilization (121°C for 15 min at 15 psi) was performed on 34 food pigments, and changes in their color stability and antioxidant activity were analyzed. The autoclaving process drastically reduced the peak color intensities of water-soluble paprika and beet red (BR) by ~90%. Turmeric oleoresin (TO), water-soluble β-carotene, and grape skin color were also unstable and showed a remaining color intensity of 45-60%. The colors of all the synthetic pigments tested were stable under this process. The scavenging activities of BR and paprika against ABTS, DPPH, and AAPH radicals decreased significantly, whereas those of TO were enhanced after the autoclaving treatment. The results suggest that the chemical and bioactive properties of certain dietary pigments are affected by the autoclaving process, and this phenomenon should be considered during food processing.

Keywords: dietary pigment, antioxidant, thermal process, autoclave, heat stability

서 론

색소는 색을 나타내는 가시광선의 파장영역인 350-750 nm 범위의 빛을 흡수하고 반사하는 유기 또는 무기화합물로서 관능성과 상품성 향상을 목적으로 식품, 화장품, 의약품 등에 널리 사용되고 있다(Burrow, 2009). 색소성분은 크게 천연색소와 합성색소로 분류되는데, 자연에서부터 유래한 천연색소는 식물, 동물 및 미생물로부터 추출과정을 통해 얻어지며, 구조에 따라 flavonoid 계열, isoprenoid 계열, pyrrole 유도체, N-heterocyclic 유도체 등으로 분류된다(Sigurdson 등, 2017). 천연색소는 합성색소보다 비교적 안전성이 보장되며 자연스러운 색상을 낼 뿐만 아니라, 항산화, 항균 및 항암 활성 등의 다양한 생리활성기능도 가지고 있다(de Mejia 등 2020). 하지만 합성 착색료에 비해 가격이 비싸고, 화학적으로 불안정한 것들이 많아 다양한 식품 가공공정에 광범위하게 적용하기에는 한계가 있다(de Mejia 등, 2020; Sigurdson 등, 2017).

합성색소는 타르 색소와 비타르 색소로 분류되는데, 타르 계열 색소는 방향족 탄화수소를 주 원료로 하는 착색성분을 총칭한다.

합성색소는 생산이 용이하고 가격이 저렴하며, 화학안정성이 뛰어나지만 아니라 우수한 착색 능력을 가지는 등의 장점으로 인해 식품 첨가물에 널리 이용된다(Park 등, 2009). 하지만 안전성 등의 문제가 대두되고 있으며, 타르색소의 경우 두드러기, 천식 및 주의력결핍 과잉행동장애(ADHD)를 유발하거나 호르몬 이상 증상, 유전독성 및 발암 등의 부작용 문제들이 지속적으로 보고되고 있다. 따라서 이러한 안전성 문제 및 소비자의 선호도로 인하여 다양한 천연 유래 식용색소의 필요성과 사용량이 증가하고 있다(Randhawa와 Bahna, 2009). 최근, 천연색소의 산화방지 활성, 항염증 및 항암 활성 등 다양한 생리활성 기능이 활발하게 연구되고 있으며, 색소로써의 고유 역할 뿐만 아니라 생리 기능성에 대한 활용이 식품 등 다양한 제품에서 증가하고 있다(Saini 등, 2018). 그러나 천연 색소는 빛, pH, 온도 등의 변화에 따라 불안정한 경우가 많아, 이들의 화학안정성에 미치는 영향요인 및 가공과 저장 시 안정성 유지를 위한 방안 등의 체계적 연구와 더 많은 관련 정보가 필요한 실정이다(Cabrita 등, 2000).

열처리는 가장 일반적인 식품가공 공정 중 하나로 미생물에 의한 변패를 막고 식품의 다양한 기능적 특성을 향상시킬 수 있다(Boekel 등, 2010). 열처리로 인해 영양소의 파괴 등의 문제점이 발생하기도 하지만, 이 과정을 통해 과일채소류 중에서 폴리페놀과 같은 생리활성물질이 증가하고, Sweet corn (Dewanto 등, 2002), 토마토 가공품(Gahler 등, 2003) 등의 산화방지 활성이 증가한다는 결과도 있다. 이 외에도 표고버섯(Choi 등, 2006), 인삼(Yang 등, 2006)에서도 고온, 가압 처리시 항산화 효과가 증가하였음이 보고되었다. 열처리 과정이 천연색소에 미치는 영향에 대한 다양한 결과도 보고되었는데, 카로티노이드 계열의 비트레드 색소는 열처리 온도가 높을수록 색의 강도가 유의적으로 감소하였으며(Min 등, 2018), 플라보노이드 계열의 안토시아닌 색소는

[†]These authors contributed equally to this work

*Corresponding author: Jungil Hong, Division of Applied Food System, College of Natural Science, Seoul Women's University, Seoul 01797, Korea
Tel: +82-2-970-5639
Fax: +82-2-970-5977
E-mail: hjil@swu.ac.kr
Received April 3, 2022; revised May 16, 2022;
accepted May 16, 2022

고온에서 열처리 후 저장 시 저온에서 가열한 경우보다 저장온도에 크게 영향을 받는다는 결과가 보고되었다(Sui 등, 2016).

고온가압 처리는 가열과 증기압을 동시에 이용하는 방법으로, 식품 가공 중 보편적인 멸균처리 공정이다(Boekel 등, 2010). 그동안 식품의 열처리 관련 연구들이 광범위하게 진행되어 왔지만(Koszucka와 Nowak, 2019; Rifna, 2019), 고온가압 처리에 의해 발생하는 식용색소의 화학안정성과 색도 변화에 대한 연구는 부족한 상황이며, 이에 따른 산화방지 활성 등 생리활성 변화에 대한 연구는 거의 진행된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 34종의 대표적인 천연 및 합성 식용색소에 대해 고온가압 멸균처리를 실시하고, 이 과정에 의해 유도된 각 색소들의 색도와 화학안정성 및 산화방지활성 변화를 비교 분석하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 34종의 식용색소들은 ES 기술연구소(Gunpo, Korea)에서 구입하였다. 지용성 색소는 DMSO에, 수용성 색소는 증류수에 용해하여 100 mg/mL의 stock을 제조하고, 이를 소분하여 -80°C 또는 -20°C 에 저장하여 사용하였다. 각 색소시료의 성분, 조성 및 색도는 Table 1S (supplementary Table 1)에 나타났다. 이 외에 실험에 사용한 모든 시약은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

고온가압 처리

각 색소시료의 흡수 스펙트럼을 조사하여 최대 흡수영역의 흡광도 값이 0.8 ± 0.2 가 되는 농도로 증류수에 희석하였다. 고온가압 처리를 위해 각 색소시료 용액을 주사기 바늘로 천공한 1.5 mL e-tube에 1 mL씩 분주한 후, 일반적 가압멸균 조건인 121°C , 15 psi에서 15분간 처리하였다(Autoclave VS-1221-60, Vision Scientific Co., Daejeon, Korea). 각 시료 별 3개의 e-tube를 사용하여 반복실험 하였고, 가열 중에 손실되는 수분을 고려하여 가열 전과 가열 후 무게 차이를 구한 후 이에 해당하는 증류수를 가해 농도를 일정하게 유지하였다.

발색도 변화 분석

고온가압 처리에 의한 색소시료의 발색특성 변화를 파악하기 위해, 처리 전후 시료를 96 well plate에 well당 200 μL 씩 분주하여 각 색소별 최대 흡광도 및 400-700 nm에서의 흡수 스펙트럼을 마이크로플레이트 판독기(Spectra Max M2, Molecular Device, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 또한 고온가압 처리에 의한 색소들의 색도 변화를 색도계(CR-400, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였다. 시료 1.5 mL을 Petri dish (35x10 mm)에 분주한 후 3회 반복하여 CIE L^* (lightness), a^* (redness), b^* (yellowness) 좌표를 이용하여 측정하였다.

라디칼 소거활성 측정

고온가압 처리 전후 색소들의 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 라디칼 소거활성은 기존 방법에 의해 분석하였다(Jung과 Hong, 2021; Lee 등, 2021). 즉, 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate 혼합물을 하루 동안 암소에서 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후, 734 nm에서 흡광도 값이 0.8 ± 0.1 범위가 되도록 증류수로 희석하였다. 희석 ABTS용액 150 μL 에 각 색소시료 50 μL 를 가하여 상온의 암소에서 30분간 정치한 후 734 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. 또한, 2,2-

diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성의 측정을 위해 고온가압 색소시료 50 μL 와 0.8 ± 0.1 흡광도를 나타내도록 희석한 DPPH 용액 50 μL 를 혼합하여 상온의 암소에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Jung과 Hong, 2021; Lee 등, 2021). 처리 전후 라디칼 소거활성은 각 색소시료에 대한 농도별 활성 측정을 통해 활성의 포화가 일어나지 않는 적정 농도범위에서 비교하였다.

Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) 분석

고온가압 처리에 의한 식용색소들의 산화방지활성 변화를 ORAC assay를 통해 분석하였다(Song 등 2018). 처리 전후 색소들을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2)에 희석한 시료용액 60 μL 와 0.5 μM fluorescein 100 μL 을 혼합한 후, 20 mM [2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride] (AAPH) 40 μL 를 가하여 반응을 개시하였다. 각 색소 시료 존재 시 AAPH라디칼에 의한 fluorescein형광 변화를 암소조건의 37°C 배양기에서 반응시키며 3시간 동안 15분마다 excitation/emission 485/535 nm (cut-off 530 nm)에서 분석하였다(Spectra Max M2). 각 결과는 형광감소의 반감기(half-life) 시간 및 색소 mg당 표준물질로 사용된 trolox에 대한 $\mu\text{mol equivalent}$ 를 계산하여 제시하였다.

통계처리

모든 측정값은 3회 이상 분석하여 평균 \pm 표준편차로 나타냈고, 고온가압 처리 전후 시료간 유의차 분석은 Student's *t*-test를 실시하여 95% 또는 99%의 유의수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

고온가압 처리에 의한 식용색소의 화학적 안정성과 색도의 변화

색소는 다양한 가공식품에 첨가되는 것은 물론 천연 식품에도 존재하여 가공과정 중 변화를 초래할 수 있다. 본 연구에서는 식품의 가공이나 조리 중에 일반적으로 첨가되는 배합과 식품공전상 적합한 색도 상태의 34종 천연 및 합성 색소시료에 대해(Table 1S), 미생물의 멸균을 위해 보편적으로 이용되는 autoclave 조건(15 psi, 121°C , 15 min)를 적용하여 변화를 분석하였다. 각 색소의 최대 광흡수 영역(peak absorbance)을 10 nm 간격의 광흡수 spectrum 분석을 통해 조사하고, 최대 흡광 파장과 천연 및 합성색소를 기준으로 group 1 (400 nm, yellow/brown), 2 (440-450 nm, yellow/green), 3 (460-490 nm, red), 4 (520-540 nm, red/blue), 5 (590-600 nm, blue), 6 (synthetic) 등 6개 group으로 분류하였다(Table 1).

색소를 고온가압 처리 후 처리 전 시료와 비교하여 최대 광흡수 파장에서 색도가 90% 이상 남아있는 경우 안정(stable), 60-89% 사이는 불안정(unstable), 59% 이하로 색도가 감소한 경우 매우 불안정(very unstable)로 판정하였다(Table 1). 그 결과 고온가압 처리에 안정한 색소류로서 19가지의 색소가 포함되었는데, 특히 group 6 합성색소의 경우 모두 최대 흡광도가 98% 이상으로 유지되어 천연색소보다 화학적으로 안정하다는 선행 연구들과 일치하는 결과를 보였다(Lakshmi, 2014).

색 안정성이 비교적 떨어진(unstable)고 판단한 60-89% 사이의 잔류색도를 나타낸 색소들은 총 10종으로 치자청(Gardenia yellow AC-5102), 안나토(Annatto 30), 올레오레진 파프리카(Oleo-resin paprika), 홍국적(Monascus 100), 적무(Red RR), 체리레드(Cherry red), 적양배추(Red cabbage 100), 액상 적양배추(Liquid red cabbage), 자색포도(Purple grape), 치자청(Gardenia blue 27)

Table 1. Color stability of dietary pigments after the autoclave sterilization process

Group	Colorants	Peak Abs. (nm)	Preparation conc. (mg/mL)	Initial Abs.	Remaining color level (%)	Peak shift	Stability
1	Brown color 2020	400	2	0.73	99.23±2.20	-	S ¹⁾
	AF cacao 280	400	0.25	0.64	99.24±1.96	-	S
	Safflower yellow AC5102	400	2	0.72	96.08±2.69	-	S
	Orange AC5104	400	2	0.82	90.49±0.83	-	S
	Cuttlefish ink powder	400	0.4	0.65	95.60±1.44	-	S
	Caramel P212	400	1	0.84	96.47±1.40	-	S
	Caramel powder	400	1.6	0.98	99.67±0.38	-	S
2	Turmeric oleoresin	440	0.05	0.68	45.52±0.84	430	V ³⁾
	Yellow AF4	440	1.25	0.90	90.29±0.89	-	S
	Green GG8610	440	1.6	0.96	93.84±1.19	-	S
	Gardenia yellow 600	440	0.25	0.67	97.57±5.86	-	S
	Gardenia yellow AC5108	440	2.5	0.79	84.71±3.88	-	U ²⁾
	Annatto 30	450	0.04	0.73	79.40±1.46	-	U
3	Soluble β-carotene	460	0.8	0.83	59.70±1.38	-	V
	Soluble paprika	460	0.25	0.79	11.08±0.70	D ⁴⁾	V
	Oleoresin paprika	460	0.4	0.56	82.40±1.80	-	U
	Red PB (cochineal)	490	2	0.77	97.62±1.12	-	S
	Monascus No.30	490	0.5	0.55	90.17±1.26	-	S
	Monascus red 100	490	0.2	1.00	78.13±3.35	-	U
4	Red RR (red radish)	520	1.25	0.56	64.02±0.52	-	U
	Beet red 30	530	4	0.68	8.38±0.42	D	V
	Red color CG2	530	2.5	0.68	96.22±0.71	-	S
	Cherry red	530	2.5	0.68	88.11±3.29	-	U
	Red cabbage 100	530	2.5	0.80	76.45±1.28	-	U
	Liquid red cabbage	530	2.5	0.77	78.36±1.14	-	U
	Grape skin	530	1.6	0.90	55.83±1.67	520	V
	Purple grape	540	2	0.79	66.29±0.31	-	U
5	Natural black 2020-1	590	10	0.82	98.05±0.79	-	S
	Gardenia blue 27	600	0.5	0.64	89.35±1.60	-	U
	Blue color ES	600	10	0.67	101.9±2.62	-	S
6	Synthetic Yellow	430	0.4	0.94	99.35±0.24	-	S
	Synthetic Red	500	0.4	0.70	98.42±0.06	-	S
	Synthetic Scarlet	530	1	0.75	98.32±0.58	-	S
	Synthetic Green	630	0.5	0.83	98.96±0.32	-	S

¹⁾S, stable; residual peak color intensity >90%

²⁾U, unstable; residual color intensity 60-90%

³⁾V, very unstable; residual color intensity <60%

⁴⁾D, no clear peak observed due to pigment degradation

색소가 여기에 속했다. 안나토, β-카로텐 및 올레오레진 파프리카는 카로티노이드 계열 색소로 산화가 쉽게 일어나는 성질을 갖고 있는데, 이로 인해 고온가압 처리 시 색도의 손실이 비교적 크게 나타난 것으로 생각된다(Mesnier 등, 2014).

잔류 색도 60% 이하의 매우 낮은 안정성(very unstable)을 나타낸 색소는 올레오레진 심황(turmeric oleoresin), 포도과립(grape skin), 수용성 β-카로텐(water soluble β-carotene), 수용성 파프리카

(water soluble paprika), 및 비트레드(AF Beet Red 30) 색소 등 총 5종으로 나타났다. 올레오레진 심황, 포도과립 및 β-카로텐 색소의 peak 흡광도는 각각 45.5, 55.8 및 59.7%로 감소하였으며, 특히 수용성 파프리카와 비트레드 색소는 가열처리에 의해 ~90% 까지 색도가 감소하는 것으로 나타났다. 올레오레진 심황의 황색은 curcuminoid 성분으로부터 기인하며, 가열처리에 의해 쉽게 파괴되어 탈색이 되는 현상을 나타낸다고 보고되었다(Song과 Hong,

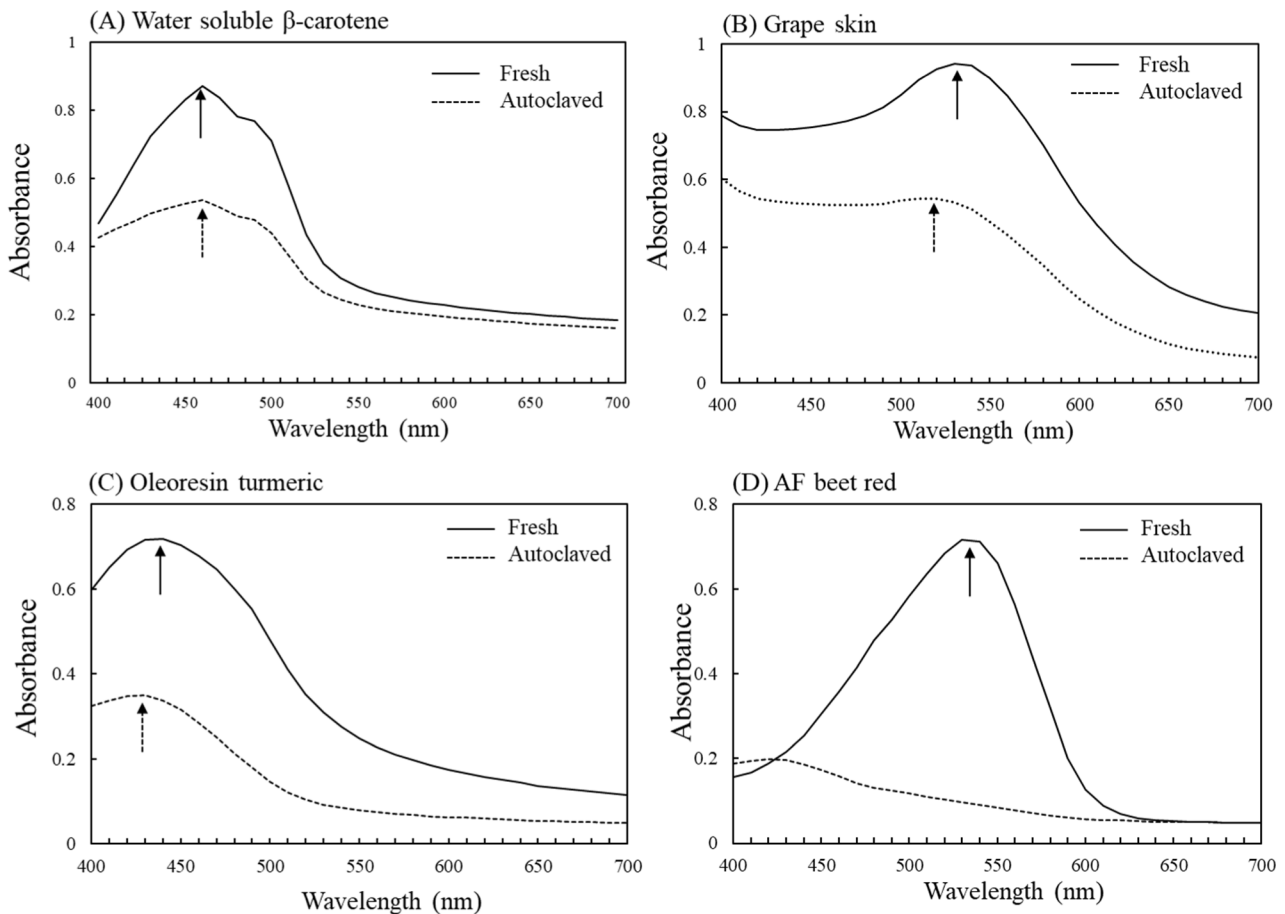


Fig. 1. Changes in absorbance spectrums of dietary pigments after the autoclave sterilization process. Dietary pigments including water soluble β -carotene (0.8 mg/mL, A), grape skin color (1.6 mg/mL, B), oleoresin turmeric (0.05 mg/mL, C) and beet red (4.0 mg/mL, D) were treated the autoclave process and their absorbance spectrums before and after the treatment were compared.

2017). 비트레드는 열에 매우 민감하다고 알려졌는데 이는 가열 시 betacyanin 및 betaxanthin의 분해로 인해 색이 파괴되기 때문으로 보고되었다(Kaym 등, 2019).

한편 색소들의 최대흡광 파장의 변화뿐만 아니라 400-700 nm 가시광선 영역의 전체적인 흡수 스펙트럼의 변화도 분석하였는데, 대부분의 색소에서 탈색이 진행되더라도 peak 흡광파장이 변화하는 현저한 변색현상은 관찰되지 않았다(Fig. 1A). 그러나 포도과립과 올레오레진 심황은 최대 흡광 peak가 각각 530 nm와 430 nm에서 10 nm 단파장 쪽으로 이동하는 peak shift 결과를 나타냈다(Fig. 1B와 1C). 가장 심한 탈색반응을 보인 비트레드와 수용성 파프리카의 경우는 가열처리에 의해 전체적인 탈색이 유도되었으며 고유의 광흡수 peak도 사라지는 현상을 보였다(Fig. 1D).

고온가압 처리에 의해 매우 불안정한(very unstable) 5종의 색소에 대해 색차계를 이용하여 전체적인 색도 변화를 측정하였다(Table 2). 모든 색소들에서 명도 L*값이 유의적으로 증가하였는데($p < 0.01$), 이는 가열처리에 의한 현저한 탈색으로 인한 것으로 판단된다. 올레오레진 심황, 수용성 β -카로텐과 같은 황색 계열 색소들에서는 황색도에 좌우되는 b*값이 큰 폭으로 감소하였으나($p < 0.01$), a*값에는 유의적인 변화가 없었다. 그러나 적색 계열 수용성 파프리카는 a*와 b*값이 모두 유의적으로 감소했으며($p < 0.01$), 자색과 청색 계열의 비트레드와 포도과립 색소에서는 a*값이 대폭 감소하였으나($p < 0.01$), b*값은 다소 증가하는 양상을 나타냈다.

고온가압 처리에 의한 식용색소의 산화방지활성 변화

고온가압 처리 조건에 의한 34종 식용색소의 산화방지활성 변화를 ABTS와 DPPH 라디칼 소거활성으로 분석하였다(Table 3). 고온가압 처리를 통해 색도가 크게 낮아져 매우 불안정한 색소로 분류된 올레오레진 심황, 수용성 파프리카, 비트레드, 수용성 β -카로텐 및 포도과립 등 5종의 색소 중, 수용성 파프리카와 β -카로텐이 현저한 ABTS 라디칼 소거능의 감소를 보였으며, 수용성 파프리카는 DPPH 라디칼 소거활성의 감소도 같이 나타났($p < 0.01$). 비트레드의 경우도 ABTS와 DPPH 라디칼 소거활성에서 모두 유의적인 감소가 관찰되었다($p < 0.05$). 반면, 올레오레진 심황의 경우 특징적으로 ABTS와 DPPH 라디칼 소거능이 모두 증가한 것으로 나타났는데 이는 주성분인 curcuminoid 열분해 산물이 더 높은 산화방지 활성을 나타내기 때문으로 판단되며 심황색소의 가열처리에 의해 산화방지 활성이 증가한다는 기존 보고와도 일치한다(Song 등, 2018). 포도과립 색소는 고온가압 처리에 의한 현저한 색도변화에도 불구하고 산화방지활성에 유의적인 변화가 나타나지 않았으며, 역시 안토시아닌 ester류의 분해에 따른 산물들이 여전히 필적할 만한 산화방지활성을 발휘할 수 있기 때문으로 생각된다(Ross 등, 2011).

고온가압 처리에 의해 20% 정도의 색도감소를 보였던 올레오레진 파프리카도 두 종 라디칼에 대한 소거활성이 모두 유의적으로 감소하였다. 반면, 브라운 색소(Brown 2020)와 카카오 색소(AF Cacao 280)는 ABTS와 DPPH 라디칼 소거능에서 모두 유의

Table 2. Changes in colorimetric parameters of dietary pigments by the autoclave sterilization process

Colorants	Fresh			Heated		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Turmeric oleoresin	56.40±0.02	-1.19±0.01	10.28±0.02	58.54±0.04** ¹⁾	-1.18±0.01	2.61±0.02**
Soluble β-carotene	55.53±0.07	-0.14±0.03	13.29±0.05	56.89±0.01**	-0.30±0.02	6.29±0.01**
Soluble paprika	55.09±0.03	2.56±0.02	10.11±0.01	57.89±0.01**	0.79±0.01**	-0.83±0.01**
AF Beet Red 30	51.92±0.01	13.07±0.04	-2.44±0.00	58.15±0.04**	0.77±0.02**	-0.58±0.03**
Grape skin	52.75±0.01	6.48±0.03	-1.08±0.01	54.72±0.00**	4.28±0.02**	0.52±0.01**

¹⁾Significantly different from initial fresh sample according to Student's *t*-test ($p < 0.01$)

Table 3. Changes in ABTS and DPPH radical scavenging activities of dietary pigments by the autoclave sterilization process

Colorants	Radical scavenging activity (%)							
	Conc. (mg/mL)	ABTS			Conc. (mg/mL)	DPPH		
		Fresh	Heated	<i>p</i> value		Fresh	Heated	<i>p</i> value
Brown color 2020	0.5	81.38±2.02	74.68±2.25	0.018	1.0	46.43±1.52	42.37±1.07	0.019
AF cacao 280	0.016	53.34±2.27	47.65±0.64	0.014	0.125	60.35±3.08	53.22±1.93	0.027
Safflower yellow AC5102	0.5	56.73±0.57	55.05±1.02	0.067	1.0	27.11±5.55	21.17±2.08	0.158
Orange AC5104	0.5	80.47±0.45	80.11±1.3	0.677	1.0	31.74±4.50	26.41±2.98	0.163
Cuttlefish ink powder	0.1	41.66±0.58	43.28±2.43	0.324	0.2	26.25±0.85	22.62±1.89	0.039
Caramel P212	0.125	50.95±0.57	45.43±1.14	0.002	0.5	36.61±1.42	35.00±4.86	0.611
Caramel powder	0.4	58.70±1.24	58.85±4.00	0.953	0.8	31.20±1.18	31.64±0.74	0.607
Turmeric oleoresin	0.013	15.98±0.82	26.76±0.19	2.49E-05	0.025	16.31±1.24	26.14±2.97	0.006
Yellow AF4	0.313	33.09±1.04	31.51±2.99	0.436	0.625	24.74±1.28	21.38±3.92	0.231
Green GG8610	0.4	41.64±0.40	40.13±1.47	0.163	0.8	25.93±3.21	28.68±7.44	0.587
Gardenia yellow 600	0.063	23.28±0.62	22.86±1.71	0.710	0.125	16.20±2.70	16.80±3.79	0.835
Gardenia yellow AC5108	0.625	38.61±0.14	36.59±1.19	0.043	1.25	20.65±5.25	22.76±4.88	0.636
Annatto 30	0.01	13.00±0.45	5.26±0.29	1.54E-05	0.02	11.93±4.38	3.86±4.35	0.026
Soluble β-carotene	0.2	16.07±0.15	9.01±0.43	1.14E-05	0.4	21.80±6.06	17.61±3.36	0.355
Soluble paprika	0.063	14.03±0.66	7.43±0.56	1.85E-04	0.125	23.86±3.20	7.09±4.99	0.008
Oleoresin paprika	0.1	15.12±0.16	9.27±1.25	0.001	0.2	18.44±2.63	4.99±4.30	0.010
Red PB (cochineal)	0.5	66.29±1.48	65.1±0.85	0.294	1.0	65.33±3.58	63.12±1.94	0.401
Monascus No.30	0.125	27.92±0.28	26.38±0.58	0.014	0.25	11.47±2.67	7.81±2.40	0.152
Monascus red 100	0.05	36.99±1.67	34.07±0.66	0.048	0.1	18.56±3.14	16.38±2.59	0.408
Red RR (red radish)	0.078	42.09±1.23	40.84±1.84	0.382	0.625	55.74±1.22	55.08±8.04	0.895
Beet red 30	1.0	57.77±1.98	53.10±0.51	0.017	2.0	32.89±3.79	22.16±3.01	0.018
Red color CG2	0.625	49.11±1.66	46.46±0.91	0.072	1.25	44.25±6.11	49.51±0.23	0.211
Cherry red	0.156	66.10±3.95	60.56±1.93	0.094	1.25	62.19±3.13	62.75±2.65	0.824
Red cabbage 100	0.156	77.92±1.06	76.96±1.31	0.377	0.625	64.78±3.20	57.44±0.79	0.018
Liquid red cabbage	0.078	44.79±0.69	44.10±0.82	0.329	0.313	36.60±2.34	30.08±3.35	0.017
Grape skin	0.1	65.79±0.67	64.57±0.64	0.085	0.1	46.01±4.21	44.25±5.73	0.690
Purple grape	0.063	35.60±0.32	33.13±1.63	0.061	0.5	49.22±3.12	48.11±1.46	0.605
Natural black 2020-1	2.5	79.21±0.38	79.49±1.38	0.749	5	27.78±2.83	32.05±2.77	0.135
Gardenia blue 27	0.125	46.71±1.76	39.36±1.21	0.004	0.25	24.64±4.49	22.60±4.98	0.625
Blue color ES	2.5	47.50±0.75	47.77±1.16	0.319	5	20.72±5.49	22.42±3.27	0.670
Synthetic Yellow	0.1	1.07±0.21	1.29±0.26	0.315	0.2	27.41±5.21	23.29±3.70	0.326
Synthetic Red	0.1	3.71±1.18	3.98±1.23	0.796	0.2	26.29±9.49	37.21±6.19	0.670
Synthetic Scarlet	0.25	2.43±0.60	1.72±0.17	0.122	0.5	7.08±5.04	9.71±0.97	0.425
Synthetic Green	0.125	0.86±0.35	2.30±0.11	0.002	0.25	11.26±2.92	14.79±2.16	0.167

Table 4. Changes in antioxidant properties analyzed by ORAC assay of dietary pigments by the autoclave sterilization process

Color	Conc. (mg/mL)	ORAC assay					
		half-life (min)			Trolox equivalent ($\mu\text{mol TE}/\text{mg sample}$)		
		fresh	heated	<i>p</i> value	fresh	heated	<i>p</i> value
Brown color 2020	0.03	84.57±2.80	87.00±2.78	0.3466	0.212±0.026	0.245±0.027	0.1958
AF cacao 280	0.0015	89.08±1.16	88.17±2.12	0.5529	3.819±0.376	3.545±0.532	0.5075
Safflower yellow AC5102	0.03	85.34±0.67	86.91±1.31	0.1379	0.241±0.009	0.264±0.016	0.0885
Orange AC5104	0.03	79.46±0.88	80.79±1.62	0.2774	0.140±0.011	0.169±0.017	0.0652
Cuttlefish ink powder	0.024	73.09±1.17	71.77±1.58	0.3115	3.358±0.206	2.968±0.348	0.1700
Caramel P212	0.003	88.93±0.24	88.14±1.06	0.2769	4.606±0.068	4.141±0.256	0.0383
Caramel powder	0.008	70.80±3.26	71.05±3.54	0.8194	6.626±0.970	6.605±1.078	0.9808
Turmeric oleoresin	0.0015	80.73±1.37	93.19±0.43	0.0001	2.908±0.264	6.093±0.074	3.58E-05
Yellow AF4	0.0375	97.74±0.78	78.27±2.52	0.0002	9.754±0.198	2.921±0.618	5.33E-05
Green GG8610	0.024	94.54±0.38	94.60±0.20	0.8083	7.095±0.156	7.120±0.084	0.8169
Gardenia yellow 600	0.015	80.54±3.09	79.40±3.94	0.7141	0.401±0.065	0.381±0.080	0.7522
Gardenia yellow AC5108	0.015	86.84±3.16	87.75±2.48	0.7157	0.270±0.050	0.291±0.040	0.6117
Annatto 30	0.006	69.21±2.75	70.03±2.88	0.7388	0.442±0.068	0.522±0.116	0.3605
Soluble β -carotene	0.048	70.23±1.53	70.18±4.09	0.9858	0.050±0.009	0.050±0.025	0.9873
Soluble paprika	0.015	80.74±1.16	75.75±1.19	0.0065	0.358±0.020	0.242±0.023	0.0027
Oleoresin paprika	0.012	68.01±2.94	65.15±3.29	0.3246	0.248±0.018	0.168±0.011	0.0011
Red PB (cochineal)	0.03	88.40±2.62	88.98±2.55	0.7941	0.273±0.021	0.278±0.019	0.7998
Monascus No.30	0.03	83.77±0.85	84.78±0.09	0.1088	0.135±0.008	0.152±0.001	0.0378
Monascus red 100	0.012	86.87±2.47	86.57±0.52	0.8488	0.432±0.066	0.431±0.021	0.9750
Red RR (red radish)	0.0075	72.49±1.40	77.20±1.52	0.0170	0.563±0.045	0.753±0.051	0.0085
Beet red 30	0.06	91.27±0.64	89.40±0.51	0.0170	0.097±0.003	0.091±0.002	0.0304
Red color CG2	0.0375	86.04±2.69	86.89±3.38	0.7498	0.188±0.019	0.207±0.022	0.3761
Cherry red	0.0036	88.12±1.51	86.08±2.38	0.2779	1.935±0.191	1.769±0.242	0.4029
Red cabbage 100	0.0036	89.33±0.55	86.30±0.93	0.0083	6.429±0.118	5.372±0.162	0.0008
Liquid red cabbage	0.015	98.92±1.01	89.49±0.05	0.0001	10.742±0.240	6.520±0.020	7.05E-06
Grape skin	0.0015	93.18±0.49	93.06±0.78	0.8271	7.284±0.080	7.271±0.097	0.8608
Purple grape	0.015	80.45±1.03	80.21±1.12	0.8013	9.873±0.584	10.193±0.503	0.5126
Natural black 2020-1	0.06	92.39±1.12	91.74±1.1	0.5155	5.859±0.361	5.704±0.357	0.6254
Gardenia blue 27	0.0075	89.94±2.93	91.03±2.78	0.6659	6.063±0.807	6.356±0.749	0.6690
Blue color ES	0.03	86.56±2.32	87.83±2.55	0.5576	2.980±0.900	3.538±0.942	0.4995
Synthetic Yellow	0.024	92.36±1.06	92.63±0.40	0.7017	4.502±0.275	4.315±0.129	0.3463
Synthetic Red	0.006	74.93±1.86	74.23±1.14	0.6091	4.890±0.400	4.689±0.220	0.4886
Synthetic Scarlet	0.3	80.56±2.84	81.96±4.26	0.6592	0.259±0.655	0.140±0.932	0.5771
Synthetic Green	0.03	84.02±0.38	85.31±0.29	0.0097	2.770±0.100	3.383±0.131	0.0030

적인 감소를 보였는데, 이들 색소의 주성분이 각각 카라멜화 및 배소(roasting)과정의 열처리를 통해 생성되므로 추가적인 고온가압 처리에 의한 색도 변화가 거의 나타나지 않은 반면, 산화방지 활성 등의 변화를 초래하는 화학적 변화는 상당히 발생하는 것으로 보인다. 화학적으로 대단히 안정하다고 알려진 합성황색, 적색, 홍색, 녹색 색소는 각 측정농도에서 낮은 ABTS 라디칼 소거 활성을 나타냈고, DPPH 라디칼 소거에서는 상대적으로 강한 활성을 보였으나, 합성녹색을 제외하고 유의적인 활성변화는 관찰되지 않았다.

고온가압 처리 전후 색소들에 대한 산화방지활성을 AAPH라디칼을 이용한 ORAC assay를 통해 측정하고, 색소시료 mg당 표준물질로 사용된 trolox에 대한 $\mu\text{mol equivalent}$ 와 형광감소의 반감기(half-life) 시간을 계산하여 나타냈다(Table 4). 고온가압 처리 전 각 색소의 trolox equivalent에 근거한 산화방지활성은 액상 적양배추(liquid red cabbage), 자색포도(purple grape), 혼합 치자황(yellow AF4), 포도과립 색소 등의 순으로 높게 나타났으며 고온가압 처리 후 액상 적양배추, 혼합 치자황 색소의 산화방지 활성 감소가 유의적으로 나타났다($p<0.01$). 두 색소는 가열처리에 의해

각각 10 및 22% 색도 감소를 나타냈으며 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성도 다소 감소하는 결과를 나타냈는데 ORAC assay에서 보다 분명한 산화방지활성의 감소를 보였다.

총 34종의 색소 중 11종에서 고온가압 처리 유의적인 Trolox equivalent의 변화가 관찰되었는데, 이 중 올레오레진 파프리카와 홍국적색소(Monascus 30), 카라멜 색소를 제외한 8종은 형광의 반감기 측정에서도 역시 유의적인 변화를 보였다($p<0.05$). 올레오레진 심황과 적무색소의 경우 특징적으로 trolox equivalent의 증가현상을 나타냈고 심황색소는 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성도 고온가압 처리에 의해 증가하는 일관된 결과를 보였다. 고온가압 처리에 의해 매우 불안정한 5종의 색소 중 수용성 파프리카와 비트레드, 불안정한 색소로 분류된 올레오레진 파프리카 색소 역시 본 연구에 사용된 3가지 산화방지활성 분석에서 모두 현저한 활성 감소가 관찰되어 색소의 파괴와 활성의 감소 간의 일관된 경향을 나타내었다. 합성색소류에서는 고온가압 처리에 의한 색도의 변화가 거의 없었으나 합성녹색은 ABTS 라디칼 소거활성과 ORAC assay에서 유의적인 산화방지활성 증가가 관찰되었다. 실험에 사용된 합성녹색 색소는 Food Yellow No. 4와 Blue No. 1의 혼합물로서(Table 1S), 합성황색(Food Yellow No. 4)의 활성에서는 열처리에 의한 변화가 일어나지 않은 결과에 근거할 때 triphenylmethane 계열인 Food Blue No. 1에 의해 유도된 결과로 예상된다. 하지만 두 합성색소 성분 간의 상호작용에 대한 가능성 등 추후 관련 연구가 필요하다고 판단된다.

요 약

본 연구에서는 총 34종의 천연 및 합성 식용색소류에 대하여 식품 가공에서 일반적인 멸균처리 방법인 고온가압 처리(121°C, 15 psi, 15 min)를 실시하고, 이들의 색 안정성 및 산화방지활성의 변화를 조사하였다. 고온가압 처리 후 19종의 색소가 10% 이하의 peak 흡광도 감소를 나타내어 비교적 안정하였으나, 올레오레진 심황, 포도과립, 수용성 β-카로텐, 수용성 파프리카, 및 비트레드 등 5종의 색소는 잔류 색도 60% 이하로 불안정 하였고, 특히 수용성 파프리카와 비트레드는 10% 정도의 잔류 색도를 나타내어 매우 불안정했다. 각 색소들의 탈색 및 색도 변화와 이들의 산화방지활성의 변화는 일관된 결과를 나타내지 않았으나 비트레드와 파프리카 색소류 들은 색도의 감소와 함께 현저한 산화방지 활성의 감소가 함께 나타났으며, 올레오레진 심황은 50% 이상의 탈색에도 불구하고 산화방지활성이 유의적으로 증가하는 결과를 보였다. 본 연구결과는 식품의 가공이나 조리 중에 첨가되는 식용 색소류의 색 안정성과 산화방지 활성이 고온가압 처리에 의해 크게 영향을 받으나, 색소 탈색 정도와 산화방지활성의 변화에 밀접한 상관 관계가 나타나지 않음을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 과학기술정보통신부 재원의 한국연구재단 중견 및 일반연구자 지원사업(NRF-2019R1A2C1089617와 NRF-2021R1F1A1051466)과 서울여자대학교 특별연구비(2022-0121) 지원에 의해 수행되었음.

References

Boekel MV, Fogliano V, Pellegrini N, Stanton C, Scholz G, Lalljie S, Somoza V, Knorr D, Jasti PR, Eisenbrand G. A review on the beneficial aspects of food processing. *Mol. Nutr. Food Res.* 54:

1215-1247 (2010)
 Burrows A. Palette of our palates: a brief history of food coloring and its regulation. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 8: 394-408 (2009)
 Cabrita L, Fossen T, Andersen ØM. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chem.* 68: 101-107 (2000)
 Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem.* 99: 381-387 (2006)
 Dewanto V, Wu X, Liu RH. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J. Agr. Food Chem.* 50: 4959-4964 (2002)
 Gahler S, Otto K, Bohm V. Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products. *J. Agr. Food Chem.* 27: 7962-7968 (2003)
 Jung YN, Hong J. Changes in chemical properties and bioactivities of turmeric pigments by photo-degradation. *AIMS Agriculture and Food* 6: 754-767 (2021)
 Kayın N, Atalay D, Akçay TT, Erge HS. Color stability and change in bioactive compounds of red beet juice concentrate stored at different temperatures. *J. Food Sci. Tech. Mys.* 56: 5097-5106 (2019)
 Koszucka A, Nowak A. Thermal processing food-related toxicants: a review. *Crit. Rev. Food Sci.* 59: 3579-3596 (2019)
 Lakshmi CG. Food coloring: the natural way. *Res. J. Chem. Sci.* 4(2): 87-96 (2014)
 Lee NH, Jung DS, Hong J. Antioxidant properties and protective effects of aerial parts from *Cnidium officinale* makino on oxidative stress-induced neuronal cell death. *Prev. Nutr. Food Sci.* 26: 200-208 (2012)
 de Mejia EG, Zhang Q, Penta K, Eroglu A, Lila MA. The colors of health: chemistry, bioactivity, and market demand for colorful foods and natural food sources of colorants. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 11: 145-182 (2020)
 Mesnier X, Gregory C, Faça-Berthon P, Boukobza F, Bily A. Heat and light colour stability of beverages coloured with a natural carotene emulsion: Effect of synthetic versus natural water soluble antioxidants. *Food Res. Int.* 65: 149-155 (2014)
 Min JY, Park HY, Kim YS, Hong JS, Choi HD. Antioxidant activity and stability of natural pigment extracted from red beetroot (*Beta vulgaris* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 47: 725-732 (2018)
 Park M, Park HR, Kim SJ, Kim MS, Kong KH, Kim HS, Gong EJ, Kim ME, Kim HS, Lee BM, Lee JW. Risk assessment for the combinational effects of food color additives: Neural progenitor cells and hippocampal neurogenesis. *J. Toxicol. Env. Heal. A* 72.21-22: 1412-1423 (2009)
 Randhawa S, Bahna SL. Hypersensitivity reactions to food additives. *Curr. Opin. Allergy Cl.* 9: 278-283 (2009)
 Rifna EJ, Singh SK, Chakraborty S, Dwivedi M. Effect of thermal and non-thermal techniques for microbial safety in food powder: Recent advances. *Food Res. Int.* 126: 108654 (2019)
 Ross CF, Hoyer C Jr, Fernandez-Plotka VC. Influence of heating on the polyphenolic content and antioxidant activity of grape seed flour. *J. Food Sci.* 76: C884-C890 (2011)
 Saini DK, Pabbi S, Shukla P. Cyanobacterial pigments: Perspectives and biotechnological approaches. *Food Chem. Toxicol.* 120: 616-624 (2018)
 Sigurdson GT, Tang P, Giusti MM. Natural colorants: Food colorants from natural sources. *Annu. Rev. Food Sci. T.* 8: 261-280 (2017)
 Song E, Hong J. Changes in chemical properties and cytotoxicity of turmeric pigments by microwave treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* 49: 693-698 (2017)
 Song E, Kang S, Hong J. Changes in chemical properties, antioxidant activities, and cytotoxicity of turmeric pigments by thermal process. *Korean J. Food Sci. Technol.* 50: 21-27 (2018)
 Sui X, Bary S, Zhou W. Changes in the color, chemical stability and antioxidant capacity of thermally treated anthocyanin aqueous solution over storage. *Food Chem.* 192: 516-524 (2016)
 Yang SJ, Woo KS, Yoo JS, Kang TS, Noh YH, Lee J, Jeong HS. Change of components of Korean ginseng with high temperature and pressure treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 521-525 (2006)