



과제구분	기관고유	수행시기	전반기	
어젠다코드	2-6-3	기술분야 및 품목표준코드	H03 FR03FR35	
과제명		수행기간	과제책임자	
사과 유래 기능성 소재별 탐색 및 이용기술 개발		'19~'23	사과이용연구소	홍정진
1) 사과 부산물 활용 화장품 소재 탐색		'19	사과이용연구소	홍정진
2) 천연색소 소재 탐색 및 이용기술 개발		'20~'21	사과이용연구소	홍정진
3) 천연감미료 소재 탐색 및 이용기술 개발		'22~'23	사과이용연구소	홍정진
색인용어	사과, 안토시아닌, 천연색소, 추출방법, 안정성			

천연색소 소재 탐색 및 이용기술 개발

Development of Utilization and Screening of Natural Color Materials from Apple Crude Pigment Extract

Jeong-Jin Hong¹, Hyun-Su Kim¹, Jin-Hyang Son¹, Yoon-Suk Kim¹, Ju-Youl Oh¹
and Eun-Ho Jeong¹

¹The Institute of Apple Utilization Research, Gyeongsangnam-Do Agricultural Research and Extension Services, Geochang 50124, Korea

ABSTRACT : This study was conducted to investigate the potential use of crude pigment extracts from apple peel or crab apple as natural color materials and to evaluate the stability of pigment extracted from apples. Apple cultivars including 'Fuji', 'Alpsotome', 'Red love', 'Arkansasblack', 'skk14', and 'Arnold' were investigated and peels of those were extracted with alcohol ethanol at 50°C for 12hr after adding 1% viscozyme(cellulase) or extracted with alcohol ethanol adjusted to pH 4.0 with 0.1% citric acid at 4°C for 24hr. Crude pigment extracts of apple were evaluated contents of biological components, antioxidant activity, cytotoxicity test by measuring MTT-assay, and stability. As a result of comparing the contents of biological components and antioxidant activity of pigment extracts by cultivars, 'Red Love' and 'Arkansas Black' were high in cultivated cultivars, and 'Arnold' and 'skk14' in pollinizer cultivars were high. In particular, 'Arnold', a crab apple, showed the highest content and activity in total phenol, total anthocyanin and cyanidin-3-galactoside content, and DPPH radical scavenging ability. As a result of comparing the alcohol extract pH4.0 adjusted with citric acid and the alcohol extract treated with viscozyme enzyme, The total phenol content was higher in the pH-adjusted extract, while the total flavonoid content was higher in the enzymatic pre-treatment extract. Ursolic acid content, total anthocyanin content, and cyanidin-3-galactoside content were also higher in the enzyme-treated extract. Also, the enzyme-treated extract showed significantly higher activity in

scavenging DPPH radicals. Cells viabilities of apple crude pigment extracts in all concentrations on RAW 264.7 cell and B16F10 cell showed more than 80%. Therefore, there was no toxicity found in all apple peel extracts. And there was no safety problem as the detection limit was not exceeded even in the pesticide residue analysis. 'Alkansasblack' or 'skk14' pigment extracts were investigated for the effects of pH, heating, storage temperature, sugar, and organic acid. Apple pigments showed the most stable and high absorption spectrum at pH 3.0 for both 'Alkansasblack' and 'skk14' extracts. In addition, the pH and heating time increased, and the intensity of the pigment decreased. In all tested sugars and organic acids, the stability of the pigments was shown to decrease during storage. In all stability evaluations, the 'Arkansasblack' pigment extract showed twice the strength of the pigment than the 'skk14' extract but it decreased sharply with the lapse of time. On the other hand, the 'skk14' extract was showed a relatively stable trend. These results suggested that apple crude pigment extract by enzymatic pre-treatment like cellulase can be used as natural color materials and was suitable for the use of products with acidity and processed at low temperatures.

Key words : Anthocyanin, Apple, Extraction method, Natural color material, Stability

1. 연구목표

최근 자연계의 생물체를 직간접적으로 이용하여 생산된 유용물질 또는 화학적 변형을 통해 다양한 기능성 화학제품 생산이 급증하고 있으며, 한편 식품에 첨가하는 색소의 경우 안전성 문제와 건강지향 생활패턴으로 화학적 합성색소 대신에 기능성이 뛰어난 천연색소의 사용이 늘고 있는 추세이다. 또한 사과 유래 생리활성 물질이 다양하게 알려져 있으나 이를 활용한 다양한 기능성 소재 개발은 미비한 실정이므로 사과 과피의 유용성을 활용한 천연색소 소재를 개발하고자 본 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 방법

본 시험에 사용된 시료는 2019~2020년에 사과이용연구소(거창군)에서 수확된 재배품종 '후지', '홍옥', '알프스오토메', '레드러브', '알칸사스블랙'의 과피와 수분수 품종 'skk14', 'Arnold' 등으로 -18°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다. 추출방법은 pH4.0(citric acid)으로 조정된 주정에 시료의 10배로 추출하거나 세포벽분해효소 viscozyme 1%(w/v)를 처리하여 시료의 10배로 추출하였고, 각각의 추출물에 대해 주요 유효성분 함량을 비교 조사하였다.

총phenol 함량은 Folin-ciocalteu법을 응용하여 측정하였다. 추출물 시료액 1mL를 증류수 4mL로 희석시키고 Folin-Ciocalteu 시약 0.5mL를 넣고 3분간 방치한 다음 sodium carbonate 포화용액 1mL와 증류수 3.5mL를 가하고 혼합하여 실온에서 1시간 동안 반응시켜 725nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 gallic acid를 사용하여 동일한 방법으로 작성된 검량선으로부터 총 phenol 함량으로 환산하였다. 총flavonoid 함량은 시료 0.5mL를 취하여 10% aluminum nitrate 0.1mL, 1M potassium acetate 0.1mL를 혼합한 후, 80% 에탄올 4.3mL 가하여 혼합한 것을 상온에서 1시간 반응시킨 후 415nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 quercetin을 사용하여 동일한 방법으로 작성된 검량선으로부터 총



flavonoid 함량으로 환산하였다. 총anthocyanin 함량은 시료 100 μ l에 900 μ l의 KCl buffer(pH 1.0, 50mM) 또는 sodium acetate buffer(pH 4.5, 50mM)를 혼합한 후 520nm와 700nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. Cyanidin-3-galactoside 함량은 HPLC(Shimadzu)를 이용하였다. column은 C18(300 \times 3.9mm)를 사용하였고, 온도는 35 $^{\circ}$ C를 유지하며 이동상은 H₂O:CH₃CN:HoAC:H₂PO₄ = 81.7:8.4:8.4:1.5(v/v)를 사용하였다, Flow rate는 1.0ml/min이 되도록 하여 538nm에서 분석하였다. 표준물질은 Cyanidin-3-galactoside(Sigma)로 검량선을 작성하였다. Ursolic acid는 추출물을 0.45 μ m 필터로 여과하여 사용하였다. column은 C18(5 μ m, 250 \times 4.6mm), 칼럼온도 40 $^{\circ}$ C에서 이동상용매(MetOH : 0.02M Sodium phosphate = 12 : 88 pH 2.4)를 유속 1.0mL/15min으로 흘리면서 HPLC(Shimadzu)로 분석하였다. 검출기는 UV-Visible detector를 사용하여 210nm에서 모니터링하여 10.5분에서 11.0분 사이에 측정하였고, 표준물질은 ursolic acid(Sigma)로 검량선을 작성하였다. DPPH radical 소거능은 시료 0.25ml와 0.15mM 1,1-Diphenyl-2picrrylhydrazyl 용액 1ml를 혼합하여 30분간 상온에서 방치한 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료대신 80% etOH을 취하여 동일한 과정으로 실험한 뒤 계산하였다. 항염증활성은 Raw 264.7세포에 LPS로 자극한 후 24시간 동안 배양한 뒤, 세포 상층액을 취해 96-well plate에 loading하여 사과 색소 추출물을 여러 농도로 처리한 후 100 μ l의 그리스 시약을 첨가하고, 540nm에서 흡광도를 측정하였다. NO의 농도는 아질산염의 표준 커브로부터 계산하였다. 세포독성 확인은 Raw 264.7 세포를 10% FBS, 100U/ml 페니실린, 100 μ g/mL 스트렙토마이신을 첨가한 DMEM 배지를 사용하여 배양한 뒤 수행하였다. 먼저 세포수를 각각 1 \times 10⁵ cells/mL이 되도록 96-well plate에 180 μ l씩 분주하고 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 안정화시킨 후 시료를 농도별로 조제하여 20 μ l씩 첨가하여 48시간 배양하였다. 배양 후 5mg/mL 농도로 제조한 MTT 용액 20 μ l를 첨가하여 4시간 반응시킨 뒤 배양액을 제거하였다. 각 well당 DMSO 150 μ l와 MTT시약이 염색된 마우스 흑색종 세포를 실온에서 10분간 반응시키고 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포독성 측정은 추출물 첨가군과 무첨가군의 평균 흡광도 값에 대한 백분율로 표시하였다.

사과색소 추출물의 안정성은 pH, 가열, 저장온도 및 저장기간, 빛, 당, 산에 대해 평가하였다. pH에 따른 안정성 평가는 Macllvaine 완충용액을 사용하여 pH 3.0~7.0으로 조절하고, 각 pH별로 사과색소 추출물을 첨가하여 10% 수용액을 제조한 뒤 25 $^{\circ}$ C에서 4시간 정치한 후 300~750nm까지 흡수 스펙트럼을 측정하였다. 가열과 저장온도 및 저장기간에 대한 안정성 평가는 pH 3.0의 Macllvaine 완충용액을 사용하여 제조한 10%의 사과색소 추출물 수용액을 100 $^{\circ}$ C에서 1, 10, 30, 60min 간격으로 가열시킨 후 빙냉수로 급냉시켜 520, 510nm에서 각각 잔존 흡광도를 측정하였다. 또한 -20, 4, 25 $^{\circ}$ C의 온도에서 각각 4주동안 보관하면서 1주 간격으로 520nm, 510nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 빛에 대한 안정성은 pH 3.0의 Macllvaine 완충용액을 사용하여 제조한 10%의 사과 색소 추출물 수용액을 밀봉하여 일부는 빛에 노출시켜 상온 보관하고, 일부는 알루미늄 호일에 싸서 암소에 4주 동안 보관하면서 1주 간격으로 520nm, 510nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 당에 대한 안정성은 pH 3.0의 Macllvaine 완충용액을 사용하여 제조한 10%의 사과 색소 추출물 수용액에 glucose, galctose, fructose, maltose, sucrose를 0.5M이 되도록 용해시킨 후 4 $^{\circ}$ C에서 보관하면서 1주 간격으로 520nm, 510nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 유기산에 대한 안정성은 pH 3.0의 1M glycine 완충용액을 사용하여 제조한 10%의 사과 색소 추출물 수용액에 acetic acid, lactic acid, sucrose, lactose를 0.5M이 되도록 용해시킨 후 4 $^{\circ}$ C에서 보



관하면서 1주 간격으로 510nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

본 실험 결과에 대한 자료의 처리와 분석은 SPSS를 사용하여 각 처리간 비교는 one-way ANOVA를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 다중범위검정(Duncan's multiple range test)에 의해 유의적인 차이를 검증하여 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

(시험 1) 사과 유래 천연색소 적합 품종 선정 및 최적 추출조건 확립

사과 유래 천연색소 적합 품종을 선정하기 위해 먼저 재배용 및 수분수용 품종별 추출 수율과 추출물의 Hunter's 값을 조사한 결과는 표 1과 같다. 재배용 품종별 과피 색소 추출물의 수율은 '알칸사스블랙' 53%, '레드러브' 46%, '아놀드' 26% 순이었으며, 수분수용 품종별 추출 수율은 '아놀드'가 26%, 'skk14'는 18%로 모든 품종 중에서 '알칸사스블랙'이 가장 높게 나타났다. Hunter's value 값은 '알칸사스블랙' 추출물이 L 64.9, a 52.8, b -1.8로 붉은 정도가 가장 높았고 '아놀드' 추출물은 L 50.4, a 52.9, b 62.0로 황색과 붉은 정도가 동시에 높은 것으로 조사되었다.

표 1. 품종별 추출 수율 및 추출물 Hunter's value

구분	품종	과피 수율 (%)	추출 수율 (%)	Hunter's value		
				L	a	b
재배용	후지	15	17	89.9	10.5	2.2
	홍옥	20	17	87.9	14.1	1.3
	알프스 오토메	24	24	84.6	18.1	4.5
	레드러브	18	46	76.9	32.3	-1.0
	알칸사스 블랙	15	53	64.9	52.8	-1.8
수분수용	돌고	-	17	80.6	22.3	11.7
	skk14	-	18	74.6	18.3	34.3
	아놀드	-	26	50.4	52.9	62.0

품종별 조색소 추출물의 주요 유효성분인 총phenol 및 flavonoid 함량, 총anthocyanin 함량, cyanidin-3-galactoside 함량을 조사한 결과는 각각 그림 1, 2와 같으며, 품종별 항산화 활성을 비교한 결과는 그림 3과 같다, 총phenol 및 총anthocyanin 등 유효성분은 재배품종 중 '레드러브'와 '알칸사스블랙'이 가장 높았으며, 수분수 중에서는 '아놀드'와 'skk14'가 높았다. 사과의 주된 안토시아닌이라고 밝혀진 cyanidin-3-galactoside 함량은 '알칸사스블랙'과 수분수 품종들에서 높게 나타났으며, 특히 꽃사과인 '아놀드'는 총phenol과 총anthocyanin 및 cyanidin-3-galactoside 함량 뿐만 아니라 DPPH 라디칼 소거능에서도 가장 높은 활성을 보였다. 따라서 사과 유래 적색계 천연색소 추출에 적합한 품종은 흑색계 사과인 '알칸사스블랙'과 속붉은 사과인 '레드러브', 수분수 품종 중에서는 과피 및 과육이 적색계통인 'skk14'와 '아놀드' 인 것으로 판단되었다.

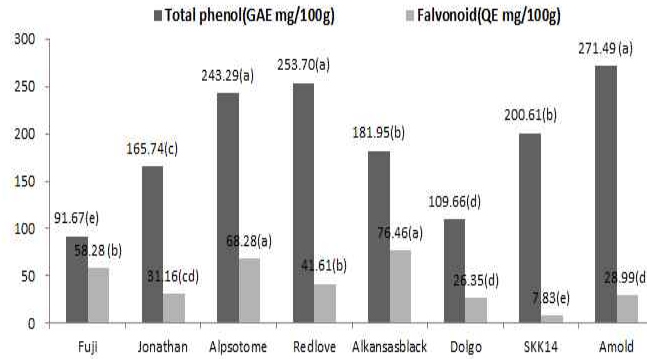


그림 1. 품종별 총phenol 및 flavonoid 함량

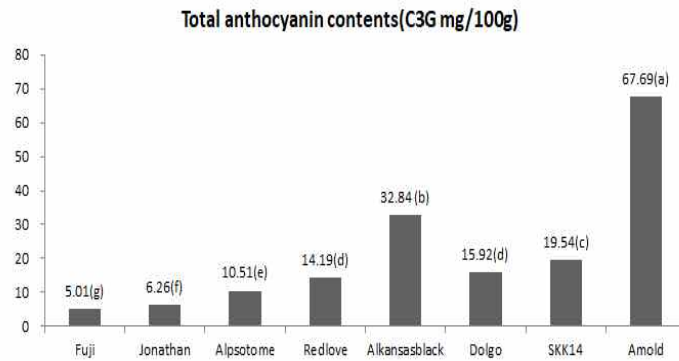


그림 2. 품종별 총anthocyanin 함량

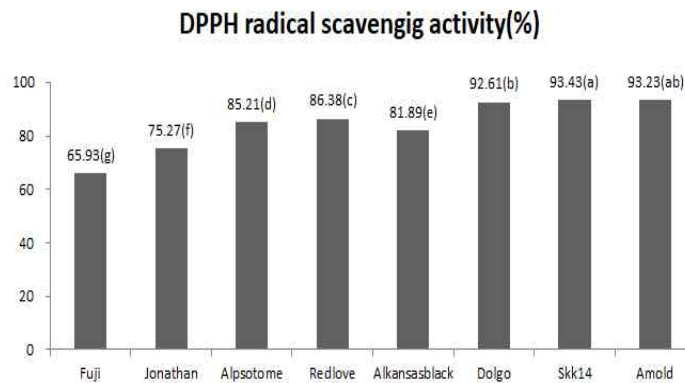


그림 3. 품종별 DPPH 라디칼 소거능(%)

Citric acid로 pH4.0을 조정한 주정 추출과 viscozyme 효소를 처리한 주정 추출로 방법을 달리하여 Hunter's value와 총phenol 및 flavonoid, 총anthocyanin 및 cyanidin-3-galactoside 등 유효성분 함량을 조사한 결과는 각각 표 2, 그림 4와 같다.

Hunter's 값은 전반적으로 pH를 조정한 추출물의 L값은 낮고 a값이 높게 나타난 반면 효소처리 추출물의 L값은 높고 a값이 낮게 나타났다. 총phenol 함량은 pH를 조정한 추출물이 높았던 반면 총flavonoid 함량은 효소 처리 추출물이 높았다. 총anthocyanin 및



cyanidin-3-galactoside 함량도 효소 처리한 추출물이 높게 나타났다.

표 2. 추출방법별 Hunter's value와 총phenol 및 총flavonoid 함량

품종	추출방법	Hunter's value			총phenol 함량 (mg GAE/100g)	총flavonoid 함량 (mg QE/100g)
		L	a	b		
레드러브	pH조정	73.6	42.7	-3.3	253.70	41.61
	효소처리	91.6	10.4	1.1	219.67	102.64
	pH조정+ 효소처리	74.2	40.6	-2.4	120.83	94.81
알칸사스	pH조정	56.7	67.8	-1.6	181.95	76.46
	효소처리	84.0	20.0	-1.1	131.75	85.66
블랙	pH조정+ 효소처리	57.6	64.7	2.8	95.93	76.90

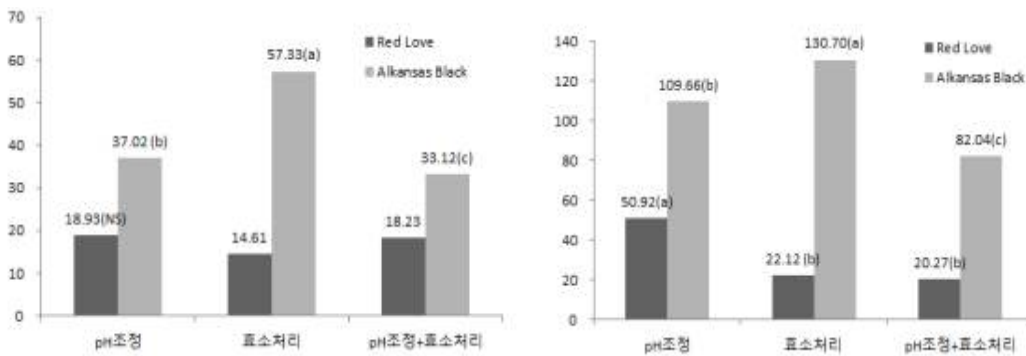


그림 4. 총anthocyanin 및 cyanidin-3-galactoside 함량

그림 5와 6은 추출 방법별 ursolic acid 함량과 DPPH 라디칼 소거능을 조사한 결과로, pH 조정만 한 추출물보다 세포벽 분해 효소를 처리한 추출물에서 ursolic acid 함량이 유의적으로 높았고, DPPH 라디칼 소거능 또한 효소 처리 추출물에서 유의적으로 높은 활성을 보였다. 따라서 사과 유래 적색계 천연색소를 추출하기 위해서는 pH를 조정만 한 주정 추출보다는 세포벽 분해효소를 처리한 주정 추출 방법이 더 적합한 것으로 판단되었다.

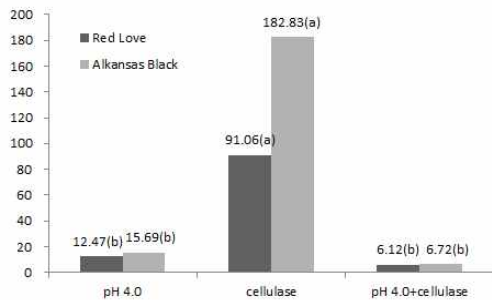


그림 5. Ursolic acid 함량

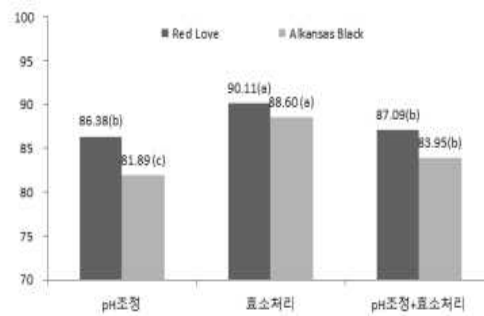


그림 6. DPPH radical 소거능

‘레드러브’, ‘알칸사스블랙’, ‘아놀드’ 조색소 추출물을 각각 농도별로 멜라닌세포 (B16F10), 대식세포(Raw264.7)의 세포독성을 MTT를 통하여 측정된 결과는 그림 7, 8과 같다. 멜라닌 세포주와 대식 세포주의 각 농도에서 모두 80% 이상의 높은 세포 생존율을 보여 낮은 세포독성을 가짐을 확인할 수 있었다.

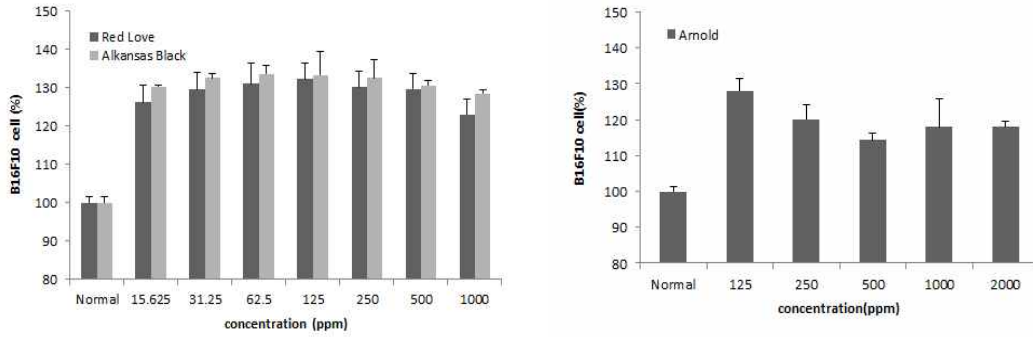


그림 7. 멜라닌세포(B16F10 cell) 생존율

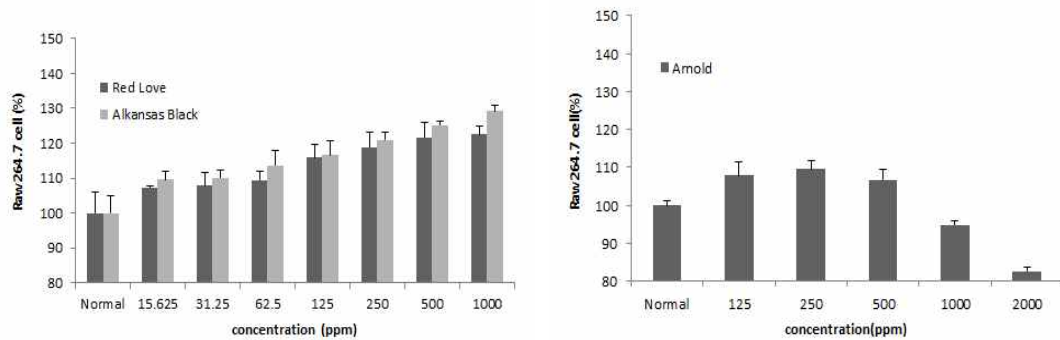


그림 8. 대식세포(Raw264.7 cell) 생존율

‘레드러브’, ‘알칸사스블랙’, ‘아놀드’ 조색소 추출물의 항염증 활성을 조사하기 위해 아질산염(nitric oxide) 소거능을 측정된 결과는 그림 9와 같으며, 특히 아놀드 품종이 1,000ppm 이상의 농도에서 50% 정도의 항염증 효과가 있는 것으로 조사되었다.

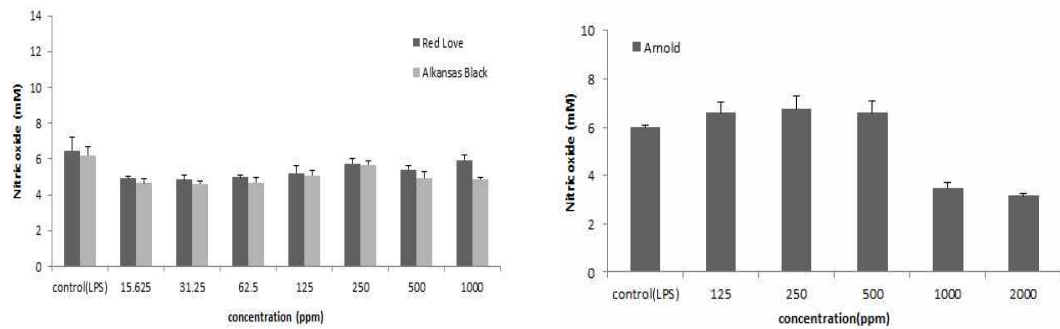


그림 9. Nitric Oxide 소거능



표 3은 ‘레드러브’, ‘알칸사스블랙’, ‘아놀드’ 조색소 추출물에 대해 320항목의 잔류농약 함량을 분석한 결과로, 모두 한계 검출량을 초과하지 않아 안전성의 문제는 없는 것으로 조사되었다.

표 3. 잔류농약 분석(320항목)

농약명(검출성분)	MRL (mg/kg)	검출량(mg/kg)		
		Red Love	Alkansas Black	Arnold
Diflubenzuron	2.0	0.3	0.2	0.02
Etofenprox	1.0	1.0	0.7	—
Novaluron	1.0	0.3	0.2	—
Pyraclostrobin	0.3	0.3	0.2	—
Spirodiclofen	2.0	0.6	0.4	—
Tebuconazole	1.0	0.8	0.4	0.07

(시험 2)사과 유래 적색계 천연색소 안정성 구명 및 활용방안

‘알칸사스블랙’과 ‘skk14’ 품종으로 부터 추출한 사과 유래 적색계 조색소 추출물의 안정성을 구명하기 위해 pH, 가열, 빛, 저장온도, 당, 산에 대해 평가하였다.

먼저 pH에 대한 안정성은 Macllvaine 완충용액을 사용하여 pH 3.0~7.0으로 조절하고, 각 pH별로 사과 조색소 추출물을 첨가하여 10% 수용액을 제조한 뒤 300nm~750nm까지 흡수 스펙트럼을 측정하였다. 그 결과 그림 10과 같이 추출물 모두 pH3.0에서 가장 안정하고 높은 흡수 스펙트럼을 나타냈고, pH 4.0~7.0으로 증가함에 따라 색소의 강도는 감소하는 경향을 보였다.

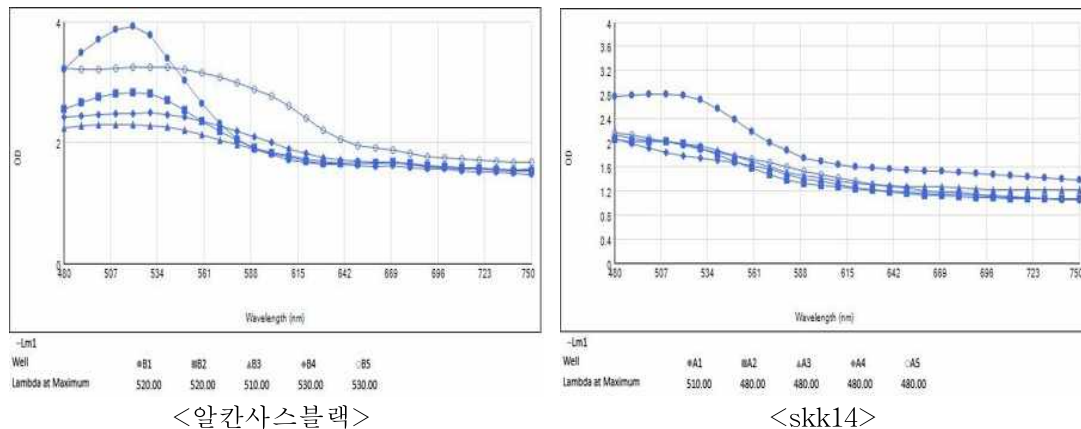
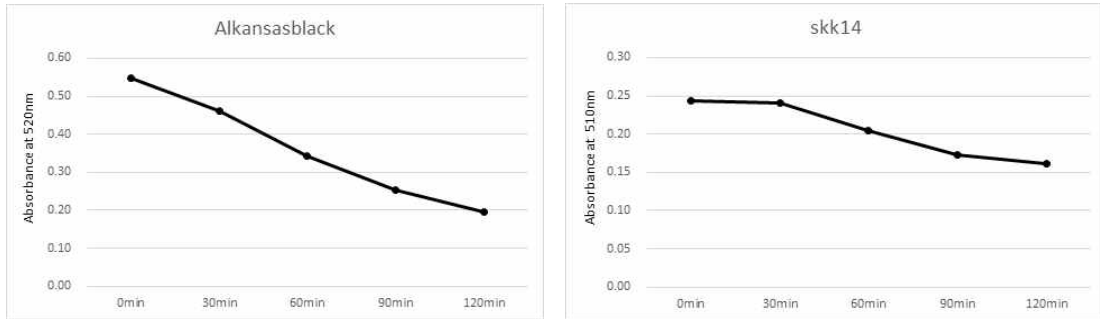


그림 10. pH에 대한 안정성 평가

가열에 대한 안정성 평가 결과는 그림 11과 같으며, ‘알칸사스블랙’과 ‘skk14’ 색소 추출물 모두 가열시간이 길어질수록 색소의 안정성은 감소하였으며, 시간이 경과함에 따라 ‘알칸사스블랙’은 급격하게 감소하는 반면 ‘skk14’는 시간이 경과해도 비교적 안정적인 경향을 보였다.

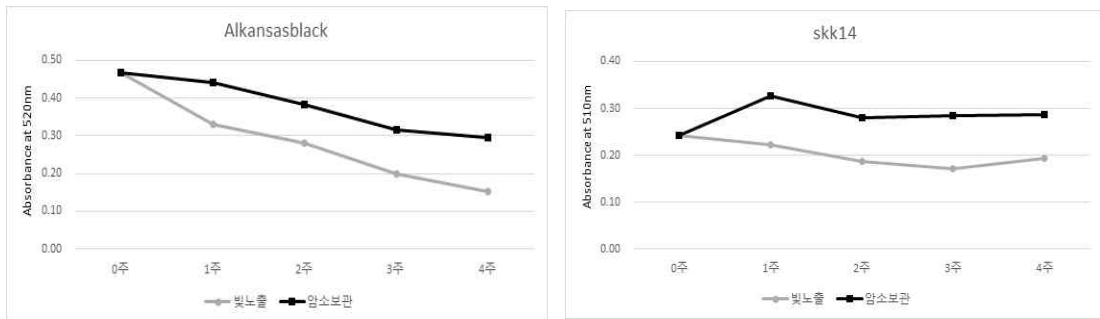


<알칸사스블랙>

<skk14>

그림 11. 가열에 대한 안정성 평가

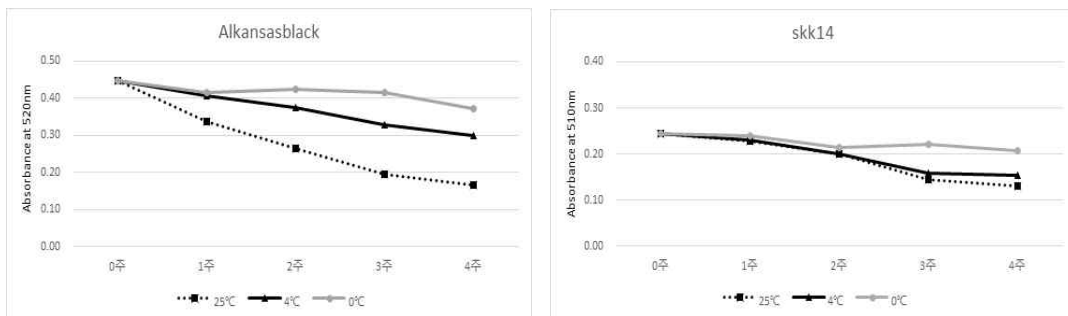
빛과 저장온도에 대한 안정성 평가 결과는 각각 그림 12와 13과 같으며, ‘알칸사스블랙’ 과 ‘skk14’ 추출물 모두 빛에 노출된 것보다 암소에서 비교적 안정하였다. 저장 온도별로는 추출물 모두 냉동, 냉장, 상온 보관 순으로 안정한 것으로 나타났다. 따라서 사과 유래 천연 색소는 암소와 저온에서 유통되는 제품에 적용하는 것이 좋을 것으로 생각되었다.



<알칸사스블랙>

<skk14>

그림 12. 빛에 대한 안정성 평가

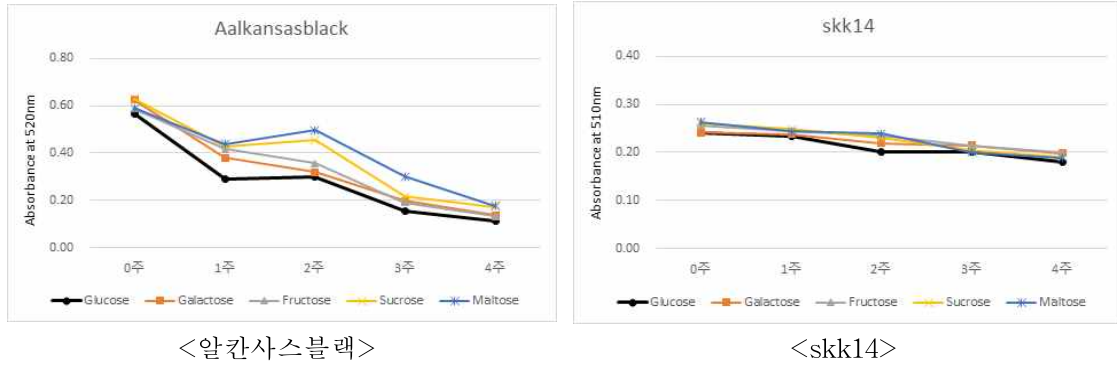


<알칸사스블랙>

<skk14>

그림 13. 저장온도에 대한 안정성 평가

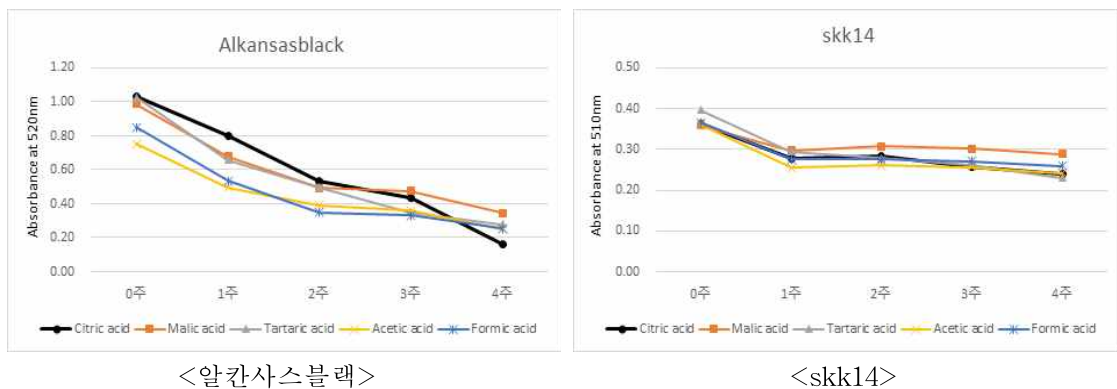
당과 산에 대한 안정성 평가 결과는 각각 그림 14, 15와 같으며, ‘알칸사스블랙’과 ‘skk14’ 추출물 모두 모든 당류와 산류에서 저장기간이 경과함에 따라 색소의 안정성이 점차 감소하는 경향을 보였다. 또한 ‘알칸사스블랙’ 추출물은 0주 차에서 ‘skk14’ 추출물보다 2배 정도 높은 색소의 강도를 보였으나 시간이 경과함에 따라 ‘알칸사스블랙’은 급격하게 감소하는 반면 ‘skk14’는 시간이 경과해도 비교적 안정적인 경향을 나타내었다.



<알칸사스블랙>

<skk14>

그림 14. 당에 대한 안정성 평가



<알칸사스블랙>

<skk14>

그림 15. 산에 대한 안정성 평가

사과 유래 적색계 천연색소 활용방안을 제시하고자 그림 16과 같이 식품첨가용, 건강 기능성 보조식품 및 의약품용 부형제, 천연색조 화장품용 등 다양한 시제품을 제작하였다.

그림 17은 사과 색소 활용 시제품의 유용성분 함량을 분석한 결과로 무처리구와 적색계 인공색소 처리구에 비해 사과 천연색소 처리구의 총phenol 및 총anthocyanin 함량이 높은 것으로 조사되었다.



<자일리톨 캔디>

<의약품용 부형제>

<천연색조 블러셔>

<천연색조 립스틱>

그림 16. 사과 색소 활용 시제품

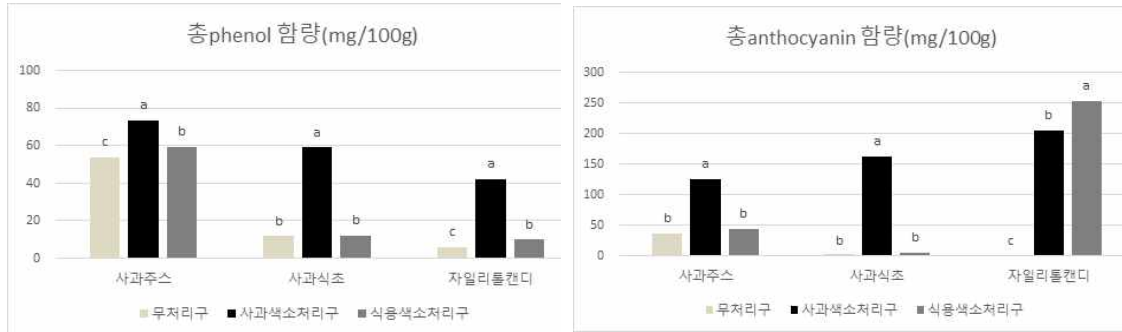


그림 17. 사과 색소 활용 시제품의 유용성분 함량

4. 결과요약

(시험 1) 사과 유래 천연색소 적합 품종 선정 및 최적 추출조건 확립

- 가. 품종별 과피 색소 추출물의 수율은 ‘알칸사스블랙’ 53%, ‘레드러브’ 46%, ‘아놀드’ 26% 순이었으며, Hunter’s value 값은 ‘알칸사스블랙’ 추출물이 L 64.9, a 52.8, b - 1.8로 붉은 정도가 가장 높았고 ‘아놀드’ 추출물은 L 50.4, a 52.9, b 62.0로 황색과 붉은 정도가 동시에 높았음.
- 나. 품종별 색소 추출물의 유효성분 함량 및 항산화 활성을 비교한 결과, 재배품종 중에서는 ‘레드러브’와 ‘알칸사스블랙’이 높았으며 수분수 품종 중에서는 ‘아놀드’와 ‘skk14’가 높았다. 특히 꽃사과인 ‘아놀드’는 총phenol과 총anthocyanin 및 cyanidin-3-galactoside 함량, DPPH 라디칼 소거능에서 가장 높은 함량과 활성을 보였음.
- 다. Citric acid로 pH4.0을 조정한 주정 추출물과 viscozyme 효소 처리한 주정 추출물을 비교한 결과, pH를 조정한 추출물의 L값은 낮고 a값이 높게 나타남. 총phenol 함량은 pH를 조정한 추출물이 높았으며, 총flavonoid 함량은 효소 처리 추출물이 높았음. Ursolic acid 함량, 총anthocyanin 함량 및 cyanidin-3-galactoside 함량도 효소 처리한 추출물이 높았으며, DPPH 라디칼 소거능 또한 효소 처리 추출물이 유의적으로 높은 활성을 보였음.
- 라. ‘레드러브’, ‘알칸사스블랙’, ‘아놀드’ 추출물을 각각 농도별로 멜라닌세포(B16F10), 대식세포(Raw264.7)의 세포독성을 MTT를 통하여 측정한 결과 각 세포주의 농도에서 모두 80% 이상의 높은 세포 생존율을 보여 낮은 세포독성을 가짐을 확인할 수 있었으며, 농약 잔류 분석에서도 한계 검출량을 초과하지 않아 안전성의 문제가 없었음. 항염증활성은 아놀드 품종이 1,000ppm 이상의 농도에서 50% 정도의 효과가 있었음.
- 마. 따라서 이러한 결과를 종합해 볼 때 사과 유래 적색계 천연색소 추출에 적합한 품종은 흑색계 사과인 ‘알칸사스블랙’과 속붉은 사과인 ‘레드러브’, 수분수 품종 중 과피 및 과육이 적색계통인 ‘skk14’와 ‘아놀드’이며, 세포벽을 분해하는 효소를 사과 과피나 꽃사과에 1%(v/v) 처리하여 주정 알콜에서 12시간(50℃) 추출하면 천연색소 소재로써 활용 가능한 것으로 판단됨.



(시험 2) 사과 유래 적색계 천연색소 안정성 구명 및 활용방안

- 가. 사과 유래 색소는 알칸사스블랙과 skk14 추출물 모두 pH3.0에서 가장 안정하고 높은 흡수 스펙트럼을 나타냈고, pH 4.0-7.0으로 증가함에 따라 색소의 강도는 감소하였음.
- 나. 알칸사스블랙과 skk14 색소 추출물 모두 가열시간이 길어질수록 색소의 안정성은 감소하는 경향을 나타냈으며, 빛에 노출된 것보다 암소에서 비교적 안정하였음. 저장 온도별로는 냉동보관, 냉장보관, 상온보관 순으로 안정하는 것으로 조사됨.
- 다. 모든 당류와 산류에서는 저장기간이 경과함에 따라 색소의 안정성이 점차 감소하는 경향을 보였음.
- 라. pH, 가열, 저장온도, 당, 유기산에 대한 안정성 평가에서 알칸사스블랙 색소 추출물은 skk14 추출물보다 2배 정도 높은 색소의 강도를 보였으나 시간이 경과함에 따라 알칸사스블랙은 급격하게 감소하는 반면 skk14는 시간이 경과해도 비교적 안정적인 경향을 나타냄.
- 마. 따라서 흑색계 사과인 알칸사스블랙과 적색계 꽃사과인 skk14의 천연색소 추출물은 저온에서 가공 및 유통되고 산도가 있는 가공제품, 건강기능성보조식품 또는 의약품 용 부형제, 블러셔나 립스틱 같은 화장품에 적용 가능한 것으로 판단됨.

5. 인용문헌

Boo H.O, Hwang S.J, Bae C.S, Park S.H, Song W.S. 2011. Antioxidant Activity According to Each Kind of Natural Plant Pigments. Korean J Plant Res 24(1):105-112

Choi S.J, Cho E.A, Cho E.H, Jeong Y.J, Ku C.S, Ha B.J, Chae H.J. 2011. Screening of Functional Materilas from Solvent Fractions of Apple Flower Leaf Extract. Korean Sco Biotech & Bioengin J 26:165-171

Kang C.S, Ma S.J, Cho W.D, Kim J.M. 2003. Stability of Anthocyanin Pigment Extracted from Mulberry Fruit. J Korean Soc Food Sci Nutr 32(7):960-964

Kim Y.H. 1999. Stabillites of Anthocyanin Pigments obtained from Crab Apple by Ethanol Extraction. Korean J. Food & Nutr 12(1):85-90

Park M.K, Kim C.H, 2009. Extraction of Polyphenols from Apple Peel Using Cellulase and Pectinase and Estimation of Antioxidant Activity. J Korean Soc Food Sci Nutr 38(5):535-540

6. 연구결과 활용

연도 (연차)	활용구분	제 목
2020년도 (1년차)	영농기술정보	○ 사과 과피 및 꽃사과를 활용한 적색계 천연색소 추출방법

7. 연구원 편성

세부과제	구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도	
						'20	'21
2) 천연색소 소재 탐색 및 이용 기술 개발	책임자	사과이용연구소	농업연구사	홍정진	총괄수행	○	○
	공동연구자	사과이용연구소	농업연구관	정은호	업무조정	○	○
	공동연구자	사과이용연구소	농업연구관	정용모	평가조정	○	
	공동연구자	원예연구과	농업연구관	김우일	자료검토	○	
	공동연구자	사과이용연구소	농업연구사	오주열	자료검토		○
	공동연구자	사과이용연구소	농업연구사	손진향	자료검토	○	○
	공동연구자	사과이용연구소	농업연구사	김윤숙	자료검토	○	○
	공동연구자	사과이용연구소	농업연구사	김현수	자료검토	○	○
	공동연구자	사과이용연구소	공무직	이정선	시험조사	○	○
	공동연구자	사과이용연구소	공무직	설희경	시험조사	○	○