

천연 색소인 안토시아니딘 기반의 인쇄형 시간-온도이력 지시계 개발

장한동 · 양정화 · 김도현 · 안명현 · 한서현 · 이승주*

동국대학교 식품생명공학과, 지능형포장센터

A Novel Printable Time-temperature Integrator with Anthocyanidin, a Natural Coloring Matter

Han Dong Jang, Yang Jung Hwa, Do Hyeon Kim, Seo Hyeon Han,
Myung Hyun Ahn, and Seung Ju Lee*

Center for Intelligent Agro-Food Packaging (CIFP), Department of Food Science and
²Biotechnology, Dongguk University-Seoul, Goyang 10326, Korea

Abstract A novel printable time-temperature integrator (TTI) composed of a natural coloring matter, anthocyanidin, was developed. The anthocyanin was biochemically modified to change in color over week scale, compared to the original anthocyanin over month scale change. The anthocyanin extracted from strawberry was converted to its aglycone, anthocyanidin, by the treatment with β -glucosidase. The print paste was composed of the freeze-dried powder of anthocyanidin, pullulan, glycerol and distilled water, which was screen-printed. The TTI performance were examined in terms of kinetics and temperature dependency. The activation energy of anthocyanidin TTI was 86.92 kJ/mol. Compared with the activation energy of foods, the applicable food groups were found. Applicable food groups were chilled meat products and fish. The major benefits of the TTI were the printability to be practical in use and the eco-friendliness with the natural pigment.

Keywords Printable time-temperature integrator, anthocyanidin, β ,D-glucosidase

서 론

TTI (Time-temperature integrator)는 색이 변하는 지시계로써 식품포장에 함께 사용되어 색의 변화로부터 식품의 품질 변화를 알 수 있다¹⁾. TTI는 포장 외부에 부착되어 현장 적용시 포장에 일반적으로 일어나는 파손 문제가 발생할 수 있다. 따라서, TTI의 구성 물질은 가능한 인체에 무해한 것이 바람직하다. 만약 천연 색소가 사용된다면 이와 같은 문제점을 해소될 수 있다. 고분자형 및 광학형 TTI의 경우 얇은 박막의 형태를 갖는 인쇄형 TTI이다. 인쇄형 TTI는 고유의 부피감을 갖는 효소형, 미생물형, 확산형 TTI에 비하여 얇고 TTI 제조과정과 포장에 부착이 용이하다. 또한, 사용

중 파손 가능성이 낮은 장점을 갖는다²⁾. 따라서 TTI 파손에 대한 인체 안전성 향상을 위해서는 구성 물질을 천연화하고 인쇄형으로 TTI를 개발하는 것이 효과적이다.

인쇄형 TTI의 경우에는 다른 액상형 TTI에 비해 낮은 용매계를 갖기 때문에 용매가 거의 없는 상태에서도 그 색이 변할 수 있어야 한다. 식품 연구 분야에서는 여러 달 또는 수년간 식품 내 색소의 변화를 막기 위한 색소 안정화에 대한 연구가 많이 이루어진 바 있다³⁾. 하지만, TTI 산업에서는 색소가 안정화된다면 색이 잘 변하지 않아 TTI에 적용이 어렵다. 만약 색소가 불안정하여 몇 주 내에 색이 변화한다면, 신선식품의 포장에 사용될 수 있는 TTI를 위한 상기에서 언급한 식품안전 및 친환경적 소재로 사용될 수 있을 것이다.

안토시아닌은 대표적인 천연 식품 색소물질로 그 저장 중 안정성을 높이기 위해 많은 연구가 이루어졌다. Kirca는 당근 주스의 안토시아닌 안정성이 온도, 고형분 함량, pH에 영향을 받는다고 보고하였다⁴⁾. Adams는 배당체 형태의 안토

*Corresponding Author : Seung Ju Lee
Department of Food Science and Biotechnology, Dongguk University-Seoul, Goyang 10326, Korea
Tel : +82-031-961-5139, Fax : +82-31-961-5655
E-mail : Lseungju@dongguk.edu

시아닌의 당이 떨어지는 단계가 안토시아닌의 파괴의 첫 단계라고 보고하였다⁵⁾. 안토시아닌은 글리코시드 결합(glycosidic bond)의 가수분해와 칼콘구조(chalcone structure)의 변화에 의하여 벤조산과 알데히드 유도체로 바뀐다⁶⁾. 이와 같은 메커니즘으로부터 안토시아닌 불안정화에 기여하는 메커니즘은 당의 부재라는 가설을 생각할 수 있다. 안토시아닌의 구조에 존재하는 당이 가수분해를 통해 제거되면, 안정성이 낮아져서 색의 변화가 빨라진 변형된 안토시아닌 즉, 안토시아니딘이 얻어질 것으로 예상된다. 이 가설에 근거하여, 안토시아닌을 탈당화(deglycosylation)시키면 불안정화된 안토시아니딘의 제조가 가능하게 된다. 안토시아닌의 탈당화를 위해서는 화학적 가수분해, 효소 가수분해를 적용해야 하는데, 친환경적 관점에서는 효소 가수분해가 더 바람직하다⁷⁾. 안토시아닌 배당체에 효소를 작용시켜 안토시아닌의 당을 제거한 뒤 연구에 이용한 사례가 있다. Anna 등은 식물에서 얻은 안토시아닌에 β -글루코시다아제(β ,D-glucosidase), α -람노시다아제(α ,L-rhamnosidase)를 이용하여 탈당화한 바 있다⁸⁾.

안토시아닌은 식품 자원에 풍부하여⁹⁾ 건강식품소재로 사용되고 있으며¹⁰⁾ 그 추출법도 많이 개발되어 그 자원의 확보가 용이하다¹¹⁾. 따라서 지시계의 실용적인 요건인 저가형¹²⁾을 만족시킬 수 있는 소재로서의 장점 또한 기대할 수 있다.

본 연구에서는 원료의 확보가 용이하면서 저용매계에서 색이 변할 수 있는 식품 천연색소인 안토시아닌을 기반으로 한 인쇄형 TTI를 개발하였다. 일반 안토시아닌은 색이 느리게 변화하기 때문에 탈당화시킨 안토시아닌(안토시아니딘)을 사용하여 색을 보다 빠르게 변할 수 있게 하였다. 탈당화에 대한 가설로서 안토시아닌은 배당체로써 당이 가수분해 효소에 의하여 제거되거나 pH 변화에 의하여 불안정화되면 색의 변화가 가속될 수 있는 성질을 적용하였다. 먼저 가수분해 또는 pH가 조정된 안토시아닌이 안토시아니딘으로 전환되는지를 TLC 분석으로 확인하였고, 최적의 전환효율을 얻을 수 있는 조건을 규명하였다. 그리고 변형된 안토시아닌으로 제조한 인쇄형 TTI의 활성화에너지를 밝히고, 적용 가능한 식품군을 모색하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

안토시아닌 추출을 위해 냉동 딸기(E-mart, Republic of Korea)를 사용하였다. 안토시아니딘 분말제조를 위해 β -글루코시다아제(Sigma-Aldrich, USA), 글리세롤(Sigma-Aldrich, USA), 수산화나트륨(Samchun Pure Chemicals, Republic of Korea), 염산(Samchun Pure Chemicals, Republic of Korea), 아세트산(Samchun Pure Chemicals, Republic of Korea), 뷰탄올(Samchun Pure Chemicals, Republic of Korea), 플루란(ES Food, Republic of Korea)을 사용하였다.

2. 안토시아닌 추출

딸기 200 g에 용매(증류수) 200 g을 가하고 진탕 항온수조(HST-205SW; Hanbaek ST Co., Bucheon, Korea)를 이용하여 20°C, 100 rpm 조건으로 2시간 추출하였다. 추출 후 여과지(Whatman No. 2)를 이용하여 추출액을 여과시키고 3860×g, 4°C 조건에서 15분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 이 시료는 분석 전 4°C의 갈색병에 보관하였다.

3. 안토시아니딘 분말 제조

딸기 추출액의 총 안토시아닌 함량을 AOAC의 pH differential method 따라 측정하였고¹³⁾, 이후 사용하는 모든 용액은 총 안토시아닌 함량이 40 mg/L이 되도록 희석하였다. β -글루코시다아제를 처리하기 전에 추출물의 0.2 N 수산화나트륨과 0.2 N 염산을 이용하여 pH 5로 맞추었다. 이 추출액에 0.01 U/mL의 β -글루코시다아제를 가한 후 진탕 항온수조를 이용하여 35°C, 80 rpm 조건으로 1시간 반응시켜 변형된 안토시아닌(안토시아니딘)을 제조하였다. β -글루코시다아제 반응이 정상적으로 이루어졌는지 확인하기 위하여 효소 처리한 안토시아닌 용액의 일부를 TLC로 분석하였다. 전 개용매는 초산, 뷰탄올, 물을 각각 10:95:5 (v/v/v) 혼합비로 혼합하였다. 효소를 첨가하지 않은 안토시아닌 또한 전개시킨 후, 각각 UV 램프를 이용하여 확인하였다. 안토시아니딘 분말을 얻기 위해 β -글루코시다아제를 처리한 안토시아닌 용액에 플루란 1% (w/v)를 녹인 뒤 예비동결조(PFR-1000, EYELA, Japan)를 이용하여 10분간 예비동결하였다. 그 후, 동결건조기(FDU-2200, EYELA, Japan)를 이용하여 -86°C, 4.6 Pa 조건으로 40시간 동안 동결건조하여 안토시아니딘 분말을 얻었다. 얻은 안토시아니딘 분말은 질소를 충전하여 밀봉하였으며, 실리카겔을 동봉하였다. 포장된 안토시아니딘 분말은 -36°C에서 냉동 보관하였다.

4. 스크린 인쇄용 페이스트, 인쇄형 TTI 제조

인쇄형 TTI 제조를 위한 스크린 인쇄용 페이스트는 안토시아니딘 분말 3 g, 글리세롤 0.5 mL, 증류수 4.5 mL 비율로 녹여 제조하였고 실험을 통하여 페이스트의 특성을 확인하였다. 제조된 페이스트는 실크스크린 인쇄기를 이용하여 TTI의 바닥면 필름지에 인쇄되었다. 실크 스크린의 메시 크기(mesh size)는 250 mesh로 하였으며, 실크 스크린의 권장강도는 20 N/mm 조건으로 하였다. 스퀴즈의 압력, 각도 및 속도를 최적화하여 인쇄물의 인쇄층이 30 μ m가 되도록 하였다. 이후 TTI의 수분활성도를 일정하게 하기 위하여 10°C, 60 %RH의 데시케이터에서 30분간 보관하였다. 데시케이터 내부의 상대습도는 질산마그네슘($Mg(NO_3)_2$) 포화용액을 이용하여 설정하였다. TTI의 수분활성도를 일정하게 만든 후 커버 필름을 덮고, 이때를 0시간으로 설정하여 실험하였다. TTI의 색도는 색차계(CR-300, MINOLTA, Japan)를

이용하여 CIE $L^*a^*b^*$ 값을 측정하였으며 이를 통해 ΔE 값을 계산하였다. ΔE 값은 식 (1)을 이용하여 계산하였다.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (1)$$

5. 잉크 특성 확인

점도계(DV-III Rheometer, Brookfield, USA)를 이용하여 스크린 인쇄용 페이스트의 점도를 측정하였다. 페이스트의 점도는 RV-2 spindle을 이용하여 non-geometry, geometry 방법을 이용하여 측정하였다. Non-geometry 방법의 조건에서는 25°C, 10 rpm 조건에서 10초 간격으로 5분 동안 점도를 측정하였다. Geometry 방법의 조건에서는 25°C에서 회전수를 10초에 1 rpm씩 증가시킨 후 20 rpm에 도달하면 다시 10초 간격으로 1 rpm씩 감소시켜 1 rpm에 도달할 때까지 점도를 측정하였다. 측정된 값은 시간-전단응력, 전단속도-전단응력, 전단속도-점성으로 표현하여 잉크의 리올로지도를 평가하였다. 잉크의 표면 특성은 표면장력측정기(Fisher Surface Tensiomat Model 21, Fisher Scientific, USA)를 이용하여 측정하였다. 표면장력 실험은 25°C에서 실시되었으며, dyne/cm로 표현하였다.

6. 식품과 TTI의 온도의존성 비교

등온조건 하에서 안토시아닌의 색 변화 경향을 분석하기 위하여 5, 10, 15, 20°C 조건 하에서 TTI의 CIE $L^*a^*b^*$, ΔE 값을 측정하였다. 측정된 TTI 색 변화를 온도별로 나타내고 아레니우스 방정식을 이용하여 TTI의 활성화 에너지를 결정하였다. 결정된 TTI의 활성화 에너지를 식품의 활성화 에너지와 비교하여 적용 가능한 식품을 선정하였다.

7. 통계분석

모든 실험은 3번씩 수행하였다. 통계 분석은 SAS Statistical Analysis for Windows v9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 다중선형회귀분석(multiple linear regression analysis)을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 안토시아닌 분말의 제조

딸기에 들어있는 주요 안토시아닌은 cyanidin-3-O-glucoside으로 알려져 있다¹⁴⁾. 이는 안정성이 높아 반응속도가 느

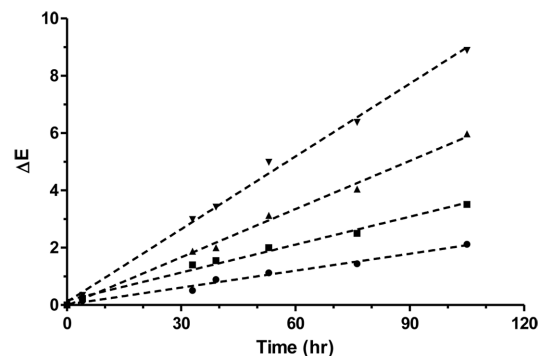


Fig. 1. The color change of anthocyanin TTI with different temperature. ●: 5°C, ■: 10°C, ▲: 15°C, ▼: 20°C.

려(Fig. 1) TTI에 사용 시, 종말점이 늦게 나타나 식품에 적용이 어렵다¹⁵⁾. Colin등의 연구에서 안토시아닌의 배당체로부터 당을 제거하기 위하여 β -글루코시다아제를 이용하였다는 보고에 따라 효소 처리를 하여 안토시아닌의 안정성을 감소시켰다¹⁶⁾. 이를 확인하기 위하여 TLC 분석을 실시하였다. TLC 분석을 통해 처리하는 효소의 농도가 증가할수록 최종 지점의 색이 점점 희미해지는 것을 확인할 수 있다(결과 미첨부). 이는 효소가 안토시아닌과 반응하여 변화가 일어났다는 것을 의미한다.

2. TTI의 색 지표 결정

추출한 안토시아닌 분말로 제작한 인쇄형 TTI를 다양한 pH 조건과 시간에 따라 색지표인 CIE $L^*a^*b^*$ 와 ΔE 를 관찰한 후, 상관성이 가장 높은 색 지표를 선택하기 위하여 통계분석을 진행하였다. 상관성을 결정하기 위하여 독립변수는 시간과 pH, 종속변수는 색지표로 하여 다중 선형 회귀 분석하였다. 회귀 분석 결과는 Table 1과 같다. 각 독립변수 항에 대한 유의성을 나타내는 p-value(error probability)를 산출하여 시간에 대한 가장 낮은 p-value를 갖는 색지표를 최종 TTI 색 반응 지표로 결정하였다. Table 1에 나타난 것과 같이 L^* 과 a^* 는 상대적으로 높은 p-value를 가졌고, b^* 와 ΔE 가 낮은 p-value를 가지는 것을 확인하였다. 이는 상대적으로 p-value가 높은 L^* 과 a^* 는 시간에 영향을 거의 받지 않고, 상대적으로 p-value가 낮은 b^* 와 ΔE 가 시간에 영향을 받으며 상관관계가 높다는 것을 의미한다. 하지만 b^* 는 ΔE 보다 pH와의 상관성이 낮아서 ΔE 를 안토시아닌 인쇄형

Table 1. p-value (error probability) of multiple linear regression analysis with dependent variables (CIE $L^*a^*b^*$ values, and ΔE , respectively) with independent variables (time and pH)

	CIE L^* value	CIE a^* value	CIE b^* value	ΔE
Time	1.36×10^{-5}	0.412	1.82×10^{-13}	3.16×10^{-13}
pH	0.585	2.26×10^{-16}	8.58×10^{-2}	3.94×10^{-2}

TTI의 색지표로 설정하여 실험을 진행하였다.

3. 스크린 인쇄용 페이스트의 인쇄적성 확인

잉크의 인쇄적성을 확인할 때 고려해야하는 주요 요인은 점도, 표면장력, 부착성이다¹⁷⁾. 이 중에서도 본 연구에서는 스크린 인쇄를 사용하였기 때문에 인쇄하는 과정에서 판이 막히지 않도록 점도 조절에 초점을 맞췄다. 비뉴턴성(non-newtonian) 성질의 잉크는 대부분 전단 유동화(shear thinning) 현상을 나타내며, 의사소성(pseudo-plasticity)의 특징인 틱소트로피(thixotropy) 형태로 설명된다¹⁸⁾. 틱소트로피는 전단속도가 증가함에 따라 점도가 감소하고, 일정한 전단속도 조건에서도 시간에 따라 그 점도가 감소하는 성질을 뜻한다¹⁹⁾. 또한 틱소트로피는 히스테리시스(hysteresis)가 관찰된다²⁰⁾. 틱소트로피의 특징에 따라 인쇄 잉크는 외부 힘에 의해 액체상태로 유동하고, 그대로 방치해두면 겔 상태로 유동하지 않게 되기 때문에 이는 잉크에서 가장 중요한 성질이다²⁰⁾. Fig. 2(A)는 전단속도에 따른 잉크의 점성을 나타내는데, 안토시아닌인 잉크가 의사소성의 특징을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. Fig. 2(B)는 10 rpm의 일정한 속도를 준 뒤 시간에 따른 전단응력을 관찰한 결과이다. 잉크는 시간에 따라 전단응력이 감소하는 경향을 보였다. 이는 전단 유동화의 대표적인 경향이다. 또한 Fig. 2(C)를 보면 잉크가 가지는 틱소트로피의 히스테리시스 성질을 나타내는 것으로 판단되었고, 따라서 인쇄적성이 적합하다는 것을 의미한다.

낮은 표면장력을 가지는 것은 넓은 경계면을 형성하여 인쇄 후 번질 수 있고, 높은 표면장력을 가지는 것은 인쇄하고자 하는 모양이 정확하지 않을 수 있다²¹⁾. 스크린 인쇄에 사용되는 잉크는 40 dynes/cm 이하의 표면장력을 가지는 것으로 알려져 있다²²⁾. 표면장력 측정기로 제조한 잉크가 35 dynes/cm의 표면장력을 가진다는 것을 알 수 있었고, 따라서 인쇄적성이 적합하다는 것을 알 수 있었다.

4. 안토시아닌 TTI의 최적 pH 조건

안토시아닌은 pH에 따라 그 색과 안정성이 변한다고 알려져 있다²³⁾. 본 실험에서 이용한 딸기 추출물의 초기 pH는 3.7이었다. pH를 4, 5, 6, 7로 조절한 안토시아닌 페이스트를 이용하여 인쇄형 TTI를 제작하였다. 초기 pH에 따라 안토시아닌 TTI의 색은 다르게 관찰되었다. Fig. 3은 안토시아닌 TTI의 색 변화를 ΔE 로 나타낸 것이다. 이를 보면 pH 4에서 pH 6까지는 pH가 증가함에 따라 색 변화 속도의 증가가 관찰되었고, pH 7 조건에서는 반응속도가 느린 것을 확인할 수 있었다. 색 변화의 범위가 커서 육안으로 충분히 관찰되어야 바람직한 TTI라고 할 수 있다²⁴⁾. 따라서 색 변화 폭이 가장 큰 pH 6을 최종 TTI 조건으로 선택하여 이후 실험에 이용하였다.

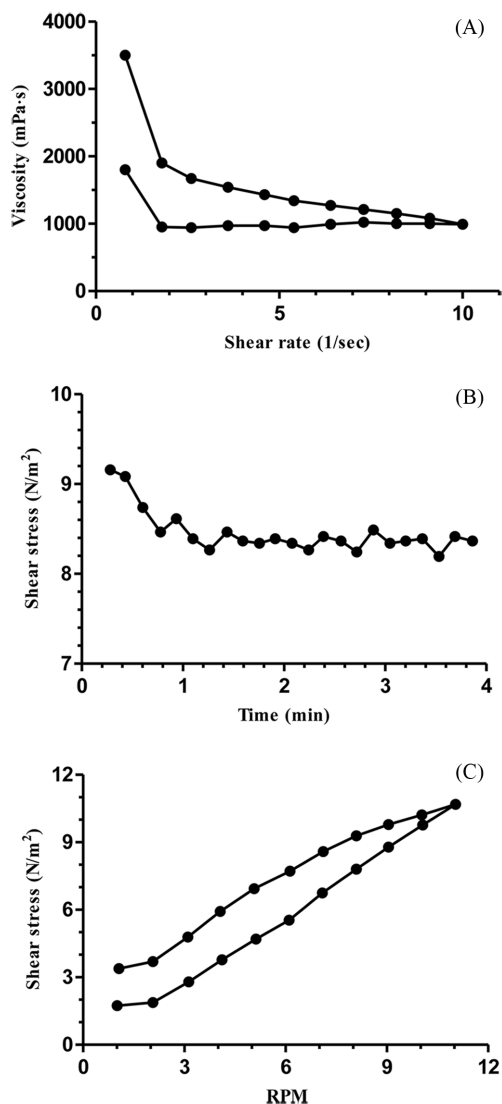


Fig. 2. The properties of anthocyanidin ink. (A) viscosity - shear rate, (B) shear stress - time, (C) shear stress - RPM.

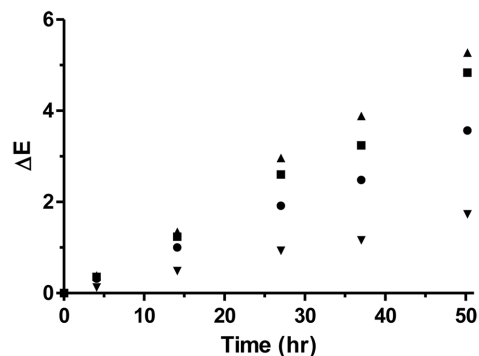


Fig. 3. The color change of anthocyanidin TTI with different pH. ●: pH 4, ■: pH 5, ▲: pH 6, ▼: pH 7.

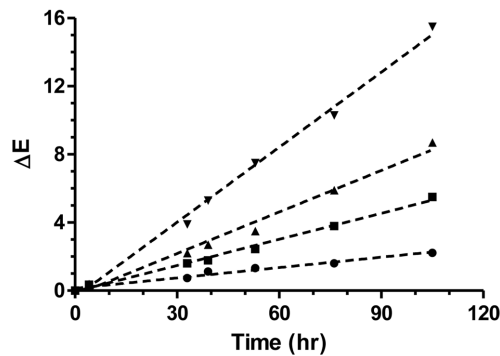


Fig. 4. The color change of anthocyanidin TTI with different temperature. ●: 5°C, ■: 10°C, ▲: 15°C, ▼: 20°C.

5. 안토시아닌 TTI의 색 변화 kinetics

pH 6 조건으로 제작한 안토시아닌 TTI는 분홍색에서 연한 갈색으로 변한다. pH 6에서 안토시아닌의 구조는 붉은색을 나타내는 플라빌리움(flavylium) 양이온 구조와 무색을 나타내는 유사염기(pseudobase) 구조가 평형을 이루고 있다. 따라서, 붉은색과 무색의 중간인 분홍색을 나타낸다²⁵⁾. 안토시아닌의 파괴 메커니즘에 따라 기본구조에서 점차 갈색 화합물을 형성하게 되어 시간에 따라 점차 갈색을 나타낸다²⁶⁾.

안토시아닌 TTI의 색 변화를 5, 10, 15, 20°C에서 시간에 따른 ΔE 의 변화를 측정하였다(Fig. 4). 효소를 처리하지 않은 안토시아닌 TTI의 색 변화(Fig. 1)와 비교하였을 때, 효소를 처리한 안토시아닌 TTI는 온도가 증가할수록 색 변화가 빨라진다. 이를 아레니우스 방정식을 이용하여 활성화 에너지를 규명하였다(Fig. 5). 안토시아닌 TTI의 E_a 는 65.21 kJ/mol이며, 안토시아닌 TTI의 E_a 는 86.92 kJ/mol였다. 효소처리가 안토시아닌을 불안정화시켜 반응이 빨라지고 활성화 에너지도 증가시키는 것을 확인할 수 있다.

6. 적용 가능한 식품 탐색

식품이 한 온도에서만 저장 및 유통되는 것은 현실적으로

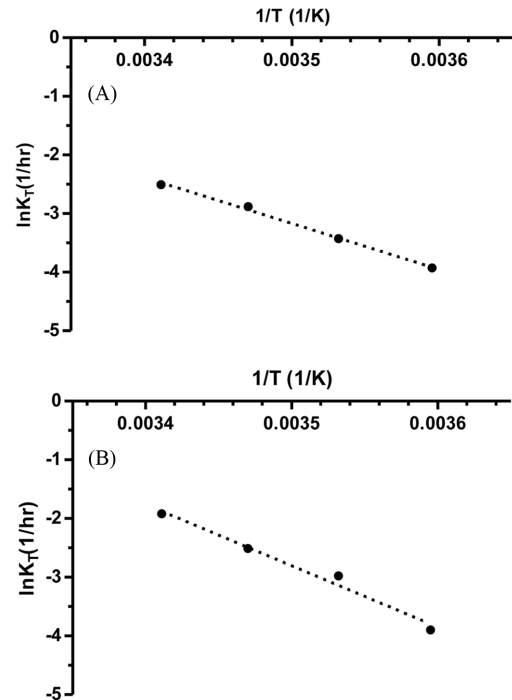


Fig. 5. The Arrhenius plot between the reaction constants of TTI and temperature. (A) anthocyanin TTI, (B) anthocyanidin TTI.

매우 어렵다. 저장 및 유통과정에서 식품은 다양한 온도를 경험하게 된다. 미리 설정된 유통기한은 경험하는 온도에 따라 변할 수 있다. 그러므로 TTI를 식품에 적용가능한 지시계로 사용하기 위해서는 다양한 온도를 경험하더라도 식품의 유통기한과 TTI의 색 변화 종말점이 같아야 한다²⁷⁾. 여러 온도를 경험한 후에도 TTI 색 변화 종말점이 같기 위해서는 식품의 온도 의존성과 TTI의 온도 의존성이 같아야 한다. 즉 동일한 활성화 에너지를 가져야 한다. 하지만 동일한 활성화 에너지를 갖는 것은 현실적으로 어렵기 때문에 식품의 활성화 에너지와 TTI의 활성화 에너지의 차이가 25% 이하의 범위를 갖도록 하여야 한다¹²⁾. 본 연구에서 확인한 안

Table 2. Color change and Arrhenius plot parameters of anthocyanin and anthocyanidin

	Anthocyanin				Anthocyanidin			
	Color change parameters							
Slope (k)	$k_{5^\circ\text{C}}$	$k_{10^\circ\text{C}}$	$k_{15^\circ\text{C}}$	$k_{20^\circ\text{C}}$	$k_{5^\circ\text{C}}$	$k_{10^\circ\text{C}}$	$k_{15^\circ\text{C}}$	$k_{20^\circ\text{C}}$
	0.020	0.033	0.056	0.082	0.020	0.051	0.081	0.147
r^2	0.99	0.99	0.99	0.99	0.98	0.99	0.99	0.99
Arrhenius plot parameters								
Slope	-7843				-10455			
r^2	0.99				0.98			
Arrhenius activation energy (kJ/mol)	65.21				86.92			

토시아닌 TTI와 안토시아닌 TTI의 적용가능 식품을 확인하기 위해 TTI가 적용된 다양한 식품의 활성화 에너지를 참고문헌을 통해 조사하였다. Table 3을 참고하면, 안토시아닌 TTI가 적용 가능한 활성화 에너지 범위에는 간 쇠고기와 해동 쇠고기가 포함된다. 안토시아닌 TTI의 경우, 적용 가능한 활성화 에너지 범위에는 간 쇠고기, 해동 쇠고기뿐만 아니라 냉장 볶스(*boops boops*), 연어, 가자미에도 적용 가능하다. 냉동 채소류와 김치의 경우, 안토시아닌 및 안토시아닌 TTI 모두 적용이 어려운 것을 확인할 수 있다. 따라서 활성화에너지만 고려했을 때, 안토시아닌 TTI는 냉장 육제품에 한정적으로만 적용이 가능하며, 안토시아닌 TTI는 냉장 육제품 및 냉장 어류에 적용이 가능하다. 하지만, 안토시아닌 TTI는 색 변화 종말점에 도달하는 시간이 매우 길 것으로 보여 상대적으로 짧은 유통기한을 갖는 냉장 육제품에 적용되기 어려울 것으로 사료된다. 반면에, 안토시아닌 TTI는 안토시아닌 TTI보다 색 변화가 빠르게 일어나 색 변화 종말점에 도달하는 시간이 상대적으로 짧기 때문에 냉장 육제품과 냉장 어류에 적용가능성이 높을 것으로 사료된다.

본 연구에서 제작한 안토시아닌 TTI의 활성화 에너지로 보아, 몇몇 식품에 적용이 가능할 수 있을 것으로 사료된다. 또한, 효소처리를 통해 안토시아닌을 탈당화시켜 제작한 안토시아닌 TTI가 안토시아닌 TTI에 비해 활성화 에너지가 증가함으로써, TTI 적용가능 식품의 종류를 확대할 수 있다는 것을 확인하였다. 추후 안토시아닌 TTI의 종말점과 식품의 유통기한 비교에 대한 연구가 이루어진다면, 실제 식품에 적용할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

인쇄형 TTI의 잉크로 천연물질인 안토시아닌의 적용 가능성을 확인하기 위해 실제 인쇄형 TTI를 제작하여 색 변화를 확인하였다. 안토시아닌은 반응속도가 느려 TTI에 적용이 어

렵다. 이를 해결하기 위해 β -글루코시다아제를 이용하여 안토시아닌의 탈당화를 유도하여 보다 불안정한 안토시아닌 잉크를 제작하였다. 그리고 인쇄형 TTI로 제작이 적합한지 확인하기 위해 인쇄적성을 확인하고 적용가능한 식품군을 탐색하였다. 실험결과, 인쇄적성의 경우, 텍소트로피의 히스테리시스 성질을 나타내어 인쇄적성이 적합한 것으로 확인되었다. 색 변화의 경우, 같은 온도와 pH 조건 하에서 안토시아닌 TTI의 색 변화 속도보다 안토시아닌 TTI의 색 변화 속도가 빠른 것을 확인할 수 있었다. 또한, 안토시아닌 인쇄형 TTI의 활성화 에너지는 65.21 kJ/mol, 안토시아닌 인쇄형 TTI의 활성화 에너지는 86.92 kJ/mol로 확인되었다. 이는 β -글루코시다아제를 처리한 안토시아닌의 탈당화가 안토시아닌의 반응속도를 빠르게 할 뿐만 아니라, 활성화 에너지도 증가시킨 것으로 사료된다. TTI의 활성화 에너지와 식품의 활성화 에너지를 비교한 결과, 안토시아닌 TTI는 냉장 육제품에 한정적으로 적용 가능하였다. 반면에 안토시아닌 TTI는 냉장 육제품과 냉장 어류에 적용 가능하였다. 하지만, 안토시아닌 TTI는 색 변화 종말점에 도달하는 시간이 길기 때문에 냉장 육제품에 적용이 어려울 것으로 사료된다. 반면 안토시아닌 TTI의 경우, 색 변화 종말점에 도달하는 시간이 짧기 때문에 냉장 육제품과 냉장 어류에 적용이 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부에서 주관하는 지능형 농식품 포장연구센터 사업의 지원으로 수행하였으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Park, H. J., Shim, S. D., Min, S. G., and Lee, S. J. 2009.

Table 3. Arrhenius activation energy of some food group

Food		Activation energy (kJ/mol)	Reference number
Meats	Frozen pork	35.5 $\pm$ 6.05	28
	Ground beef	58.98	29
	Defrosted beef	66.70	30
Fishes	Chilled <i>Boops boops</i>	82.7 $\pm$ 11.1	31
	Salmon	83.72	32
	Fresh turbot	86.1	33
Vegetables	Frozen green peas	97.9 $\pm$ 9.6	34
	Frozen green beans	101.5	34
	Frozen okra	105.9	34
	Frozen spinach	112 $\pm$ 23.2	34
Others	Mushroom	68.62	35
	Kimchi	103	36

- Mathematical simulation of the temperature dependence of time temperature integrator (TTI) and meat qualities. *Korean J. Food Sci.* 29: 349-355.
2. Koivukunnas, P., Hurme, E. 2008. Printed TTI indicators. US Patent 7430982.
 3. Mazza, G. and Brouillard, R. 1987. Recent development in the stabilization of anthocyanins of food products. *Food Chem.* 25: 207-225.
 4. Kirca, A., Ozhan, M., and Cemeroglu, B. 2007. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chem.* 101: 212-218.
 5. Adams, J. B. 1973. Thermal degradation of anthocyanins with particular reference to the 3-glycosides of cyanidin. I. In acidified aqueous solution at 100°C. *Sci. Food Agric.* 24: 747-762.
 6. Keppler, K. and Humpf, H. U. 2005. Metabolism of anthocyanins and their phenolic degradation products by the intestinal microflora. *Bioorgan. Med. Chem.* 13: 5195-5205.
 7. Matsui, T., Ebuchi, S., Kobayashi, M., Fukui, K., Sugita, K., Terahara, N., and Matsumoto, K. 2002. Anti-hyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from *Ipomoea batatas* cultivar ayamurasaki can be achieved through the r-Glucosidase inhibitory action. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7244-7248.
 8. Aura, A. M., Martin-Lopez, P., O'Leary, K. A., Williamson, G., Oksman-Caldentey, K. M., Poutanen, K., and Santos-Buelga, C. 2005. In vitro metabolism of anthocyanins by human gut microflora. *Eur. J. Nutr.* 44: 133-142.
 9. Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., and Tiwari, B. K. 2010. Effect of thermal processing in anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends Food Sci. Tech.* 21: 3-11.
 10. Shipp, J. and Abdel-Aal, E-S.M. 2010. Food applications and physiological effects of anthocyanins as functional food ingredients. *Open Food Sci.* 4: 7-22.
 11. Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., and Tauscher, B. 2008. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innov. Food Sci. Emerg.* 9: 85-91.
 12. Kang, J. W., Choi, J. H., Park, S. Y., Kim, M. J., Kim, M. J., Lee, M. H., Jung, S. W., and Lee, S. J. 2014. Mathematical analysis on TTI's estimation accuracy of food shelf life depending on its discrepancy in temperature dependence. *Korean J. Packag. Sci. Tech.* 20: 85-89.
 13. Lee, J., Durst, R. W., and Wrolstad, R. E. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 2005, 88: 1269-1278.
 14. Mullen, W., Edwards, C. A., Serafini, M., and Crozier, A. 2008. Bioavailability of pelargonidin-3-O-glucoside and its metabolites in humans following the ingestion of strawberries with and without cream. *J. Agric. Food Chem.* 56: 713-179.
 15. Es-Safi, N. E., Cheynier, V., and Moutounet, M. 2002. Interactions between cyaniding 3-O-glucoside and furfural derivatives and their impact in food color changes. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5586-5595.
 16. Ducamp-Collin, M. N., Ramarson, H., Lebrum, M., Self, G., and Reynes, M. 2008. Effect of citric acid and chitosan in maintaining red colouration of litchi fruit pericarp. *Postharvest Biol. Technol.* 49: 241-246.
 17. Jang, D. H., Kim, D. J., and Moon, J. H. 2009. Influence of fluid physical properties in ink-jet printability. *Langmuir* 25: 2629-2635.
 18. Barnes, H. A. 1997. Thixotropy-a review. *J. Non-Newtonian Fluid Mech.* 70: 1-33.
 19. Cohu, O. and Magnin, A. 1996. The levelling of thixotropic coatings. *Prog. Org. Coat.* 28: 89-96.
 20. Green, H. and Weltmann, R. N. 1943. Analysis of the thixotropy of pigment-vehicle suspensions. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* 15: 201-206.
 21. Pierre, A., Sadeghi, M., Payne, M. M., Facchetti, A., Anthony, J. E., and Arias, A. C. 2014. All-printed flexible organic transistors enabled by surface tension-guided blade coating. *Adv. Mater.* 26: 5722-5727.
 22. Liang, T.-X., Sun, W.-Z., Wang, L.-D., Wang, Y. H., and Li, H.-D. 1996. Effect of surface energies on screen printing resolution. *IEEE Trans. Compon. Packag. Manuf. Technol.* 19: 423-426.
 23. Lee, J. M., Durst, R. W., and Wrolstad, R. E. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 88: 1269-1278.
 24. Vaikousi, H., Biliaderis, C. G., and Koutsoumanis, K. P. 2009. Applicability of a microbial Time Temperature Indicator (TTI) for monitoring spoilage of modified atmosphere packed minced meat. *Int. J. Food. Microbiol.* 133: 272-278.
 25. Bakowska, A., Kucharska, A. Z., and Oszmianski, J., 2003. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin-polyphenol copigment complex. *Food Chem.* 81: 349-355.
 26. Krifi, B., Chouteau, F., Boudrant, J., and Metche, M. 2000. Degradation of anthocyanins from blood orange juices. *Int. J. Food Sci. Tech.* 35: 275-283.
 27. Ellouze, M. and Augustin, J.-C. 2010. Applicability of biological time temperature integrators as quality and safety indicators for meat products. *Int. J. Food Microbiol.* 138: 119-129.
 28. Yoon, S. H., Lee, C. H., Kim, D. Y., Kim, J. W., and Park, K. H. 1994. Time-temperature indicator using phospholipid-phospholipase system and application to storage of frozen pork. *J. Food Sci.* 59: 490-493.
 29. Kim, Y. A., Jung, S. W., Park, H. R., Chung, K. Y., and Lee, S. J. 2012. Application of a prototype of microbial time temperature indicator (TTI) to the prediction of ground beef qualities during storage. *Korea J. Food Sci. An.* 32: 448-457.
 30. Han, J. Y., Kim, M. J., Shim, S. D., and Lee, S. J. 2012. Application of fuzzy reasoning to prediction of beef sirloin quality

- using time temperature integrators (TTIs). Food Control 24: 148-153.
31. Taoukis, P. S., Koutsoumanis, K., and Nychas, G. J. E. 1999. Use of time-temperature integrators and predictive modelling for shelf life control of chilled fish under dynamic storage conditions. Int. J. Food Microbiol. 53: 21-31.
 32. Simpson, R., Almonacid, S., Nunez, H., Pinto, M., Abakarov, A., and Teixeira, A. 2011. Time-temperature indicator to monitor cold chain distribution of fresh salmon (*Salmo salar*). J. Food Process Eng. 35: 742-750.
 33. Nuin, M., Alfaro, B., Cruz, Z., Argarate, N., George, S., Marc, Y. L., Olley, J., and Pin, C. 2008. Modelling spoilage of fresh turbot and evaluation of a time-temperature integrator (TTI) label under fluctuating temperature. Int. J. Food Microbiol. 127: 193-199.
 34. Giannakourou, M. C. and Taoukis, P. S. 2003. Kinetic modelling of vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. Food Chem. 83: 33-41.
 35. Bobelyn, E., Hertog, M. L. A. T. M., and Nicolli, B. M. 2006. Applicability of an enzymatic time temperature integrator as a quality indicator for mushrooms in the distribution chain. Postharvest Biol. Technol. 42: 104-114.
 36. Kang, Y. J., Kang, J. W., Choi, J. H., Park, S. Y., Rahman, A. T. M. M., Jung, S. W., and Lee, S. J. 2014. A feasibility study of application of laccase-based time-temperature indicator to kimchi quality control on fermentation process. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 57: 819-925.
- 투고: 2018.04.25 / 심사완료: 2018.06.19 / 게재확정: 2018.07.13