

紫根으로부터 분리한 Naphthoquinone류 색소의 온도 및 금속에 대한 안정성

정미숙 · 이미순

덕성여자대학교 식품영양학과

Stability of Naphthoquinone Pigments Isolated from the Roots of
Lithospermum erythrorhizon by Various Temperatures and Metal Ions

Mi-Sook Chung and Mie-Soon Lee

Department of Foods & Nutrition, Duksung Women's University, Seoul

Abstract

The pigments of acetylshikonin and isobutylshikonin isolated from the roots of *Lithospermum erythrorhizon* were determined over a period of storage for their stabilities influenced by temperatures and metal ions. In dark condition, both pigment solution were unstable at 488 and 560 nm; alcoholic solutions of acetylshikonin pigment were stable at 25°C and 50°C for 1 hour, but isobutylshikonin showed severe discoloration within 1 hour at 95°C. Buffered solutions of acetylshikonin tended to be discolored with the addition of Fe⁺⁺, while those of isobutylshikonin with Fe⁺⁺ and Cu⁺⁺. These studies indicated that acetylshikonin and isobutylshikonin can be used in foods as the natural colorant under selected conditions in case of considering storage temperature and metal ions.

Key words: naphthoquinone, acetylshikonin, isobutylshikonin, stability, temperature, metal ions

서 론

우리나라에서 예로부터 식품의 착색에 이용해온 식물성 재료 가운데 자색을 내기 위하여 사용된 紫根(*Lithospermum erythrorhizon*)은 지치과(Boraginaceae)에 속하는宿根草로 우리나라, 일본 및 중국에 주로 자생하며 착색 및 약용의 목적으로 뿌리를 이용하고 있다⁽¹⁾.

자근에 함유된 naphthoquinon계 색소는 shikonin 및 그의 유도체로 구성되어 있으며 재배지역에 따라 shikonin 유도체의 종류 및 함량의 차이가 현저하다^(2,3). 또한 shikonin은 alkannin의 광학이성체로서 alkannin은 S이며 shikonin은 R로 밝혀져 있다^(3,4). 자근에서 분리된 acetylshikonin과 isobutylshikonin은 각각 518 및 520 nm에서 최대흡수를 보였으며 pH 3 및 5에서 자홍색으로 발현되었고 안정성이 가장 높았다⁽⁵⁾. Acetylshikonin의 경우 당첨가로 안정성이 일반적으로 증가하는 경향을 보였고 citric, fumaric, oxalic, tartaric 및 phosphoric acid 첨가시에도 안정성이 증가되었다⁽⁶⁾.

예로부터 우리나라에서 자근을 식품의 천연착색료로 사용하기 위하여 색소를 추출할 때 에탄올이나 기름을

추출용매로 이용하였으며^(7,8) 자근의 에탄올 추출물에 대한 몇 가지 연구가 현재 이루어져 있다. 자근을 45% 주정용액으로 추출하였을 때 그 추출물은 40°C 이상의 온도에서 변색이 현저하게 나타났다⁽⁹⁾고 하였으나 윤 등⁽¹⁰⁾은 67% 에탄올에 용출된 자근 추출물이 50°C 이상에서 색의 변화를 일으키기 시작하여 60°C 이상에서는 온도와 상관관계를 이루면서 변색되었으며, pH 4.0~6.5에서 가장 선명한 붉은색을 나타냈다고 보고 하였다.

무기이온이 자근추출물의 변색에 미치는 영향을 조사한 결과 Cu⁺⁺ 100 ppm을 첨가하였을 때 변색이 나타났으며 cysteine 100 ppm이 첨가되었을 때 변색방지 효과가 인정되었다⁽⁹⁾고 한다.

본 연구에서는 자근에서 분리된 acetylshikonin과 isobutylshikonin을 식품의 천연착색료로 사용하기 위하여 이들의 온도 및 여러가지 금속이온에 대한 안정성 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 자근(*Lithospermum erythrorhizon*)은 경동시장 한약건재상에서 1991년 3월에 구입하였으며 column chromatography에 의하여 acetylshikonin과 isobutylshikonin을 분리한 후 이를 색소를 시료로 하였다⁽⁵⁾.

Corresponding author: Mie-Soon Lee, Department of Foods & Nutrition, Duksung Women's University, Ssang-mun-dong, Dobong-ku, Seoul 132-714, Korea

온도의 영향

Acetylshikonin 및 isobutylshikonin에 대한 온도의 영향을 조사하기 위하여, 두 가지 색소 시료를 95% 에탄올에 각각 용해시켜 acetylshikonin의 최대흡수파장인 518 nm와 isobutylshikonin의 최대흡수파장인 520 nm에서 각 흡광도가 0.58이 되도록 조절하였다. 색소용액 5 mL를 공전시험관에 각각 취하여 은박지로 싸서 광(光)을 완전히 차단시킨 후 25°C, 50°C, 80°C 및 95°C의 수온상에서 1시간 동안 반응시킨 다음 열음물에 담그어 반응을 중지시켰다. UV spectrophotometer(Hewlett Packard 8452A Diode Array Spectrophotometer)를 사용하여 두 가지 색소의 최대흡수파장인 518 또는 520 nm 및 부흡수극대가 나타나는 488 및 560 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

금속이온의 영향

금속이온이 acetylshikonin과 isobutylshikonin에 미치는 영향을 조사하기 위하여 다음과 같이 실험하였다. 구연산 완충액으로 색소용액을 pH 5로 조절한 후 공전시험관에 넣고, pH 5 완충용액에 녹인 FeCl_2 , CuCl_2 , MnCl_2 , MgCl_2 , SnCl_2 , CaCl_2 , KCl 및 NaCl 용액을 첨가하여 금속이온의 최종함량이 각각 10 및 100 ppm이 되도록 조절하였다. 금속이온이 첨가된 색소용액을 실온의 자연광선 조건에서 32일간 저장하면서 0, 1, 2, 4, 8, 16 및 32일에 acetylshikonin은 518nm에서 isobutylshikonin은 520 nm에서 UV spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정하여 색소잔존량으로 환산하였다.

$$\text{색소의 잔존량} = \frac{A_{518(520)} \text{ at time } t}{A_{518(520)} \text{ at time } 0} \times 100 \text{으로 계산하였다.}$$

통계분석

실험결과는 PC-STAT(The Univ. of Georgia, 1985) 통계 package를 이용하여 분산분석(Analysis of Variance, ANOVA)과 최소유의차(LSD) 검정을 하였다.

결과 및 고찰

온도의 영향

Acetylshikonin과 isobutylshikonin을 95% 에탄올에 용해시켜 최대흡수파장에서의 흡광도를 0.58로 조절한 후 25°C, 50°C, 80°C 및 95°C에서 빛을 차단하여 1시간 동안 반응시킨 결과는 Table 1과 같다. 에탄올 95% 용액에 색소를 용해시켰을 때의 pH가 7.6이었고 두 가지 색소의 최대흡수가 518 nm와 520 nm에서 각각 나타났으며 488 및 560 nm에서 동일한 부흡수극대가 나타났다. Acetylshikonin 색소는 518 nm에서 95°C까지 유의적인 변화가 없었으나 488 nm에서는 95°C에서 유의적인 감소가 있었고 560 nm에서는 온도가 증가할수록 흡광도가 증가하여 80°C 및 95°C에서는 유의적인 증가가 나타났다. Isobutylshikonin 색소도 acetylshikonin과 비슷하게 80°C까지는 488 nm, 520 nm 및 560 nm에서 흡광도의 유의차가 없었으나 95°C 경우는 488 nm에서 유의적인 흡광도의 감소 및 560 nm에서의 유의적 증가가 보였다.

이러한 결과는 윤 등⁽¹⁰⁾이 발표한 50°C 이상에서 자ぐ 추출물의 Hunter 값이 변화하기 시작하여 60°C 이상에서는 온도와 상관관계를 이루면서 변화된다는 결과와 40°C 이상의 온도에서 변색이 현저하게 일어난다는 김 등⁽⁹⁾의 보고와 유사하게 자ぐ에서 분리된 acetylshikonin은 50°C에서의 1시간 열처리까지는 안정하였고 isobutylshikonin은 이 보다 비교적 높은 온도에서도 안정함을 확인하였다.

금속이온의 영향

금속이온에 의한 영향을 조사하기 위하여 acetylshikonin 및 isobutylshikonin의 에탄올 용액에 10 및 100 ppm의 FeCl_2 , CuCl_2 , MnCl_2 , MgCl_2 , SnCl_2 , CaCl_2 , KCl 및 NaCl 용액이 되도록 각각 첨가하여 실온의 자연광선 조건에서 32일간 저장하였다.

Acetylshikonin 용액에 금속이온 10 및 100 ppm을 첨가하였을 때(Fig. 1-3) 저장 초기에 금속이온을 첨가하지 않은 실험군과 첨가한 실험군 모두 현저한 색소잔존량의 감소를 보였으나 저장 8일 이후에는 완만한 감소추세를 보였다. 금속이온 가운데 Cu^{++} , Mn^{++} , Mg^{++} , Sn^{++} , Ca^{++} , K^+ 및 Na^+ 에 대한 영향은 나타나지 않았다. 저장 0일의 색소함량을 잔존량 100%로 하였을 때

Table 1. Effects of temperatures on absorbance of alcoholic acetylshikonin and isobutylshikonin solutions stored for 1 hr¹⁾

	Acetylshikonin			Isobutylshikonin		
	488 nm	Absorbance ¹⁾ 518 nm	560 nm	488 nm	Absorbance 520 nm	560 nm
25°C	0.52±0.01 ^a	0.57±0.01 ^a	0.35±0.01 ^c	0.53±0.01 ^a	0.59±0.01 ^a	0.37±0.01 ^b
50°C	0.52±0.00 ^a	0.57±0.01 ^a	0.36±0.01 ^c	0.54±0.01 ^a	0.59±0.01 ^a	0.36±0.01 ^b
80°C	0.52±0.01 ^a	0.58±0.01 ^a	0.40±0.01 ^b	0.54±0.01 ^a	0.60±0.01 ^a	0.40±0.01 ^b
95°C	0.50±0.01 ^b	0.58±0.01 ^a	0.49±0.03 ^a	0.51±0.01 ^b	0.59±0.01 ^a	0.47±0.04 ^a

¹⁾Values are means±S.D.; n=3

²⁾Different superscripts within a column indicate significant differences at p<0.05 by LSD.

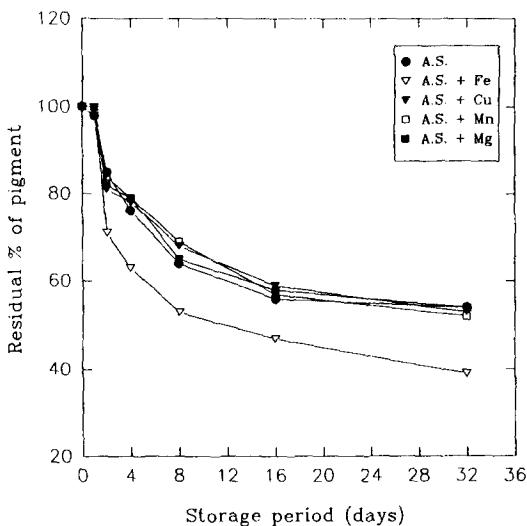


Fig. 1. Changes in residual percentage of acetylshikonin pigment as influenced by 10 ppm metal ions during storage period at room temperature. A.S.=acetylshikonin

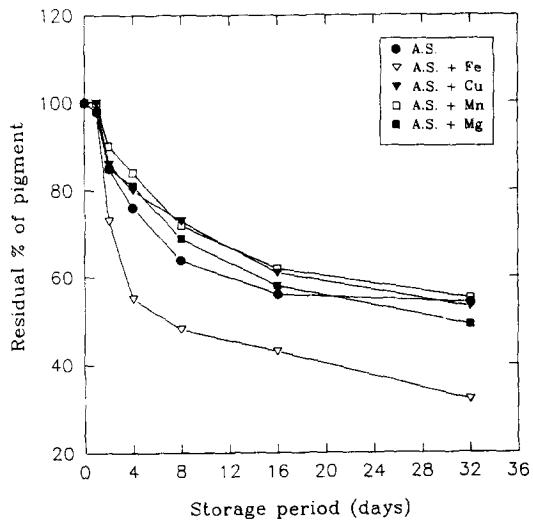


Fig. 3. Changes in residual percentage of acetylshikonin pigment as influenced by 100 ppm metal ions during storage period at room temperature. A.S.=acetylshikonin

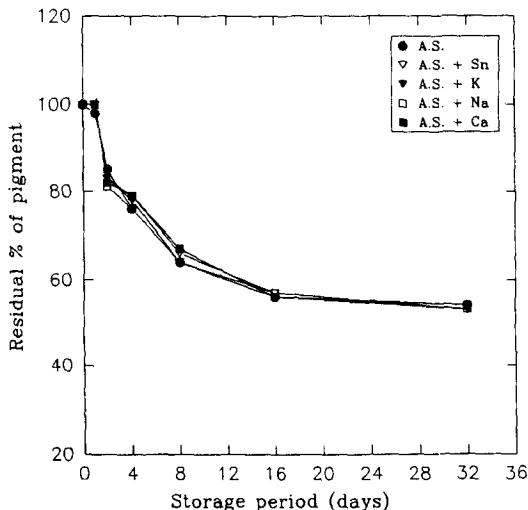


Fig. 2. Changes in residual percentage of acetylshikonin pigment as influenced by 10 ppm metal ions during storage period at room temperature. A.S.=acetylshikonin

저장 32일째의 색소잔존량은 Fe^{++} 10 ppm 첨가군에서 39%, 100 ppm 첨가군은 32%를 보였으나 금속이온을 첨가하지 않은 실험군과 나머지 금속이온 처리군은 10 및 100 ppm에서 52~54% 및 49~57%로 각각 나타나 acetylshikonin 색소용액에서는 여러가지 금속이온 중 Fe^{++} 첨가군에서만 고유한 자홍색이 변색되었으며, 518 nm에서의 흡광도 측정 결과 색소잔존량이 유의적으로

낮았다.

금속이온 10 및 100 ppm을 isobutylshikonin 색소용액에 첨가하여 조사하였을 때는 Fig. 4 및 5와 같이 저장 초기에 색소잔존량이 급격하게 감소됨을 알 수 있었다. 또한 Fe^{++} 첨가군은 저장 2일까지 색소잔존량의 감소가 매우 현저하게 나타났으며 저장 32일을 통하여 다른 금속이온 첨가군 및 금속이온을 첨가하지 않은 실험군에 비하여 색소잔존량의 유의적인 차이를 보였다. 또한 Cu^{++} 100 ppm 첨가군에서도 isobutylshikonin 색소잔존량의 유의적인 감소가 나타났으며 Mn^{++} 등의 기타 금속이온에 의한 영향은 나타나지 않았다.

금속이온 가운데 알루미늄, 아연, 주석 및 철 등은 환원제로 작용하므로 일반적인 색소의 퇴색을 일으킬 수 있으며 구리는 색소를 어둡게하는 경향이 있을 수 있으므로 합성 및 천연색소를 첨가하는 가공 공정이나 가공후 저장 및 유통시에 이상과 같은 금속과의 접촉을 금지시키고 있다⁽¹¹⁾. 또한 금속이온은 전자 공여체 및 수용체로 작용할 수 있으므로 親電子性 중심부를 불안정하게 하여 발색단의 파괴 및 관련된 화학결합의 재배열을 유발하여 결국 변색을 일으키게 된다⁽¹²⁾. 김 등⁽⁹⁾의 연구에 따르면 Cu^{++} 100 ppm만이 자ぐ 추출물 변색에 영향을 주었다고 하였는데 본 연구에서는 acetylshikonin의 경우 10, 100 ppm의 Fe^{++} , isobutylshikonin 색소에서는 10, 100 ppm의 Fe^{++} 및 100 ppm의 Cu^{++} 가 변색을 일으켰으며 색소잔존량의 유의적인 감소를 가져왔다. 그러므로 acetylshikonin과 isobutylshikonin 색소를 식품의 천연착색료로 사용할 때에는 Fe^{++} 및 Cu^{++} 와의 접촉을 최소화하여야 할 것으로 사료된다.

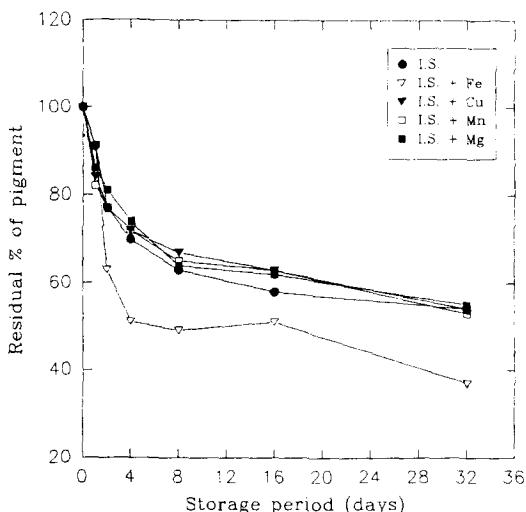


Fig. 4. Changes in residual percentage of isobutylshikonin pigment as influenced by 10 ppm metal ions during storage period at room temperature. I.S.=isobutylshikonin

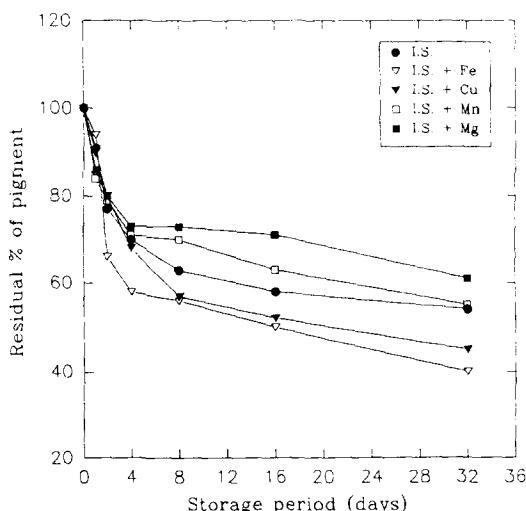


Fig. 5. Changes in residual percentage of isobutylshikonin pigment as influenced by 100 ppm metal ions during storage period at room temperature. I.S.=isobutylshikonin

요 약

우리나라에 자생하는 야생 식용 식물자원 개발의 일환으로 예로부터 사용되어온 천연 착색료인 자근(*Lithospermum erythrorhizon*)으로부터 분리한 acetylshikonin과 isobutylshikonin을 천연 착색료로 사용하기 위하여 온도 및 여러가지 금속이온에 대한 안정성 연구를 실시하였다. 온도에 의한 영향을 조사한 결과, 두 가지 색소 모두 최

대 흡수파장인 518 또는 520 nm에서는 안정하였으나 488 및 560 nm에서 흡광도의 변화가 나타났다. 즉, acetylshikonin은 50°C 까지 안정하였으나 isobutylshikonin은 80°C에서 1시간 열처리하여도 변색되지 않아 isobutylshikonin이 acetylshikonin 보다 비교적 안정함을 알 수 있었다. Acetylshikonin 색소용액에 Fe^{+2} 10 및 100 ppm이 첨가되었을 때 isobutylshikonin 색소용액에 10 및 100 ppm의 Fe^{+2} , Cu^{+2} 100 ppm을 첨가하였을 때 색소잔존량이 유의적으로 감소되었으며 Mn^{+2} 및 Mg^{+2} 등의 금속이온에 의한 영향은 나타나지 않았다.

감사의 말

본 연구는 1991년도 한국과학재단 박사과정 학위논문 연구비 지원에 의하여 이루어졌으며 원고를 세밀하게 수정해 주신 동덕여대 윤석권 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

문 헌

1. 진종인: 한방의약대사전 1권. 동도문화사, p.302 (1984)
2. Hisamichi, S. and Yoshizaki, F.: Studies on the shikon. I Structures of new minor pigments and isolation of two isomers of shikonin derivatives from *Lithospermum erythrorhizon* SIEB. et ZUCC. *Shoyakugaku Zasshi*, **36**, 154 (1982)
3. Tsukada, M., Fukui, H., Habara, C. and Tabata, M.: Comparative studies on naphthoquinone derivatives in various crude drugs of Zicao (Shikon). *Shoyakugaku Zasshi*, **37**, 299 (1983)
4. Schmid, H.V. and Zenk, M.H.: p-Hydroxybenzoic acid and mevalonic acid as precursors of the plant naphthoquinone alkannin. *Tetrahedron Letters*, **44**, 4151 (1971)
5. 정미숙, 이미순: 자근으로부터 분리한 Naphthoquinone 류 색소의 pH 안정성 및 관능 검사. *한국식품과학회지*, **26**, 152 (1994)
6. 정미숙, 이미순: 자근으로부터 분리한 Naphthoquinone 류 색소의 당 및 산에 대한 안정성. *한국식품과학회지*, **26**, 157 (1994)
7. 이춘영, 김우정: 천연 항산균과 식용 색소. *향문사*, p.79 (1987)
8. 정준택: 진도홍주의 제조법과 사적고찰. *복보대학 논문집*, **10**, 245 (1989)
9. 김선재, 박근형: 진도홍주색소의 서장안정성에 관한 연구. *한국식품과학회지*, **24**, 183 (1992)
10. 윤희남, 김호, 신용달, 유무영: 紫草 주출물의 외관상 변화. *한국식품과학회지*, **17**, 426 (1985)
11. Furia, T.E.: CRC Handbook of food additives. CRC press, Inc. p.339 (1980)
12. Pasch, J.H. and von Elbe, J.H.: Betanine stability in buffered solution containing organic acids, metal cations, antioxidants or sequestrants. *J. Food Sci.*, **44**, 72 (1979)