

〈研究論文(學術)〉

## 쪽풀에서 추출한 천연 인디고 색소의 구조 분석

정인모 · 김인회\* · 남성우\*

농촌진흥청 잠사곤충연구소  
\*성균관대학교 공과대학 섬유공학과  
(1998년 3월 31일 접수)

### Structural Analysis of Natural Indigo Colorants Extracted from *polygonum tinctorium*

In Mo Chung, In Hoi Kim\* and Sung Woo Nam\*

National Sericulture and Entomology Research Institute R.D.A., Suwon Korea

\*Dept. of Textile Eng., Sungkyunkwan Univ., Suwon Korea

(Received March 31, 1998)

**Abstract**—Natural indigo colorants were prepared by extraction of *polygonum tinctorium* which was harvested just in the blooming season(in the late of July). The components were analyzed by TLC and HPLC, and its structures were analyzed by FT-IR, EI-mass and NMR. The dyeing mechanism and fermentation conditions were investigated. Its colour fastness was studied as well. The results obtained are summarized as follows ;

The natural indigo powder was dissolved in DMSO and developed in eluent,  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{CN}(8.5 : 1.5 \text{ v/v})$  by means of TLC for its quality analysis. It was segregated into indirubin as a red colour and indigo as a blue colour. In case of HPLC analysis, the retention times of indirubin and indigo were 7.442 and 6.543, respectively. FT-IR spectrum of indirubin showed a peak for NH residue between 3200 and 3300 $\text{cm}^{-1}$ . <sup>1</sup>H-NMR spectrum for indigo displayed AA'BB' spin system caused by indole structure between 6.5 and 7.7ppm of H4, 5, 6 and 7, and -NH proton for indirubin showed a singlet between 10.88 and 11.0ppm.

EI-mass spectrum of indigo and indirubin both disclosed their molecular size as 262 and it implies that these two substances are isomer.

### 1. 서 론

천연염료는 그 채취 대상에 따라 식물성 염료, 동물성 염료, 광물성 염료로 분류되며 대부분이 식

물성 염료로서 그 종류가 다양하여 수천 종에 달하는 것으로 알려져 왔다. 그러나 천연염료는 동일 품질의 염료 재료를 얻기가 어렵기 때문에 똑같은 색상을 얻기가 어렵고 일부 색상은 세탁 및 일광에 의하여

색이 쉽게 바래며, 또한 염재(染材)의 채취와 염색 작업에 많은 노력이 소요되기 때문에 대부분 합성 염료로 대체되었다.

그러나 천연염료가 화학염료에 비하여 색상이 자연스럽고, 소비자들이 옛것을 좋아하는 사고와 염색폐수가 공해에 큰 문제가 없다는 장점이 있기 때문에 최근에 다시 천연염료에 대한 관심을 가지게 되었다. 또한 쪽 등으로 염색한 견직물은 견뢰도가 대단히 우수하고 색상이 미려하며, 향긋하고 좁이나 해충 등의 피해를 받지 않기 때문에 오랫동안 보존해야 할 수공예품의 염색이나 전통의상의 염색에 점차 사용이 증가될 전망이어서 천연염료 중에서도 특히 쪽풀 염색에 대한 관심이 고조되고 있다.

쪽풀은 인도가 원산지이며 중국, 필리핀, 중앙아메리카, 서인도제도, 브라질, 중부아프리카 등에서 광범위하게 재배되고 있다<sup>1)</sup>. 현재 재배되고 있는 쪽풀의 학명은 *Indigofera Tinctoria*, *Isatis Tinctoria*, *Polygonum Tinctoria*, *Mercurialis Leiocarpa* 등으로 크게 분류되며<sup>2)</sup>, 이들 중에서 이 연구에 사용한 쪽풀은 여뀌과에 속하는 *Polygonum Tinctoria*로서 1년생 草木으로 草長은 60~100cm 내외이며, 그 잎에는 indican이 함유되어 있다. 염색 이외에도 쪽풀즙액은 치통의 진정제, 열매는 독충의 해독제로 이용되며, 또한 발효시킬 때에 생기는 기포는 습진에 효과가 있다고 하여 옛부터 일본에서는 의복이나 침구 등에 많이 염색하였으며, 쪽풀의 의학적 효능은 일본 사람들의 생활 속에서 깊은 연관성을 찾아 볼 수 있다.

또한, 쪽풀은 들판이나 산림 속에서 일하는 노동자들에게는 뱀의 독으로부터 신체를 보호할 수 있고, 곤충과 뱀은 쪽풀 냄새를 싫어하므로 여행자나 농민들의 장갑 등에 사용하였으며<sup>3)</sup>, 쪽풀 분말은 전통 중국의약으로 사용되었고, 최근에는 쪽풀 중에 함유되어 있는 indirubin이 고질적인 골수염, 백혈병 등에 대한 치료효과가 있다는 보고도 있다<sup>4)</sup>.

이러한 쪽풀에 대해서 옛문헌인 鄉藥救急方에서는 “藍汁은 우리말로 靑黛라고 하니 이는 잎을 쓰는 藍이다. 주로 여러 毒을 풀어 주며 맛이 쓰고 寒하나 毒이 없다”고 하였으며, 訓蒙字會에서도 “藍을 쪽람이라 訓하고 靑黛는 큰 것”이라고 하였으며, 新

編集成馬醫方에는 “靑黛는 大靑, 靑花라 부른다”고 기록되어 있다<sup>5)</sup>.

Indigo 염료의 성분 및 구조해석에 대한 연구로는 Klingsberg<sup>6)</sup>의 paper chromatography에 의한 vat 염료들의 定量·定成分析에 관한 보고가 있다.

Wouters 등<sup>7)</sup>은 쪽풀 색소 중에 있는 blue와 purple색을 HPLC를 이용하여 성분 분석한 결과 indigo, indirubin,  $\beta$ -monobromo-indigotin과 6,6'-dibromoindigotin이 포함되어 있다고 하였다.

Usida 등<sup>8,9)</sup>은 (Sukumo)의 HPLC 분석결과 indigo색소와 indirubin색소 이외에 2종의 미확인 불순물이 분리되었으며, 이러한 불순물은 쪽풀 색소 염색직물과 합성 indigo 염색직물의 식별에 이용할 수 있다고 하였다.

Yamada 등<sup>10)</sup>은 indigo와 thioindigo 염료들에 대한 mass spectra를 측정 한 결과, 대다수의 분열은 metastable 이온과 isotopic 이온으로 확인하였으며, 최초의 분열은 CO radical이 없어진 것으로 관찰되었으나 다른 radical이 없어진 것에 대한 증명은 할 수 없다고 보고하였다.

최근의 연구로는 Kim 등<sup>11)</sup>이, *P. tinctorium* Ait의 組織培養에 의하여 재배된 indigo 식물의 뿌리와 싹에서 적색색소가 추출되었고, 이것은 indirubin인 것을 증명하였다.

이 연구에서는, 전통염색 방법의 단점을 개선하기 위하여 굴껍질이나 조개껍질 등을 태워 만든 가루 대신에 소석회를 사용하는 염색 방법을 확립하고, 쪽풀 색소에 포함되어 있는 성분의 구조를 조사하고자 한다.

## 2. 시료 및 실험 방법

### 2.1 시료 및 시약

#### 2.1.1 쪽풀

이 연구에 사용한 쪽풀은 *Polygonum tinctorium*으로 여뀌과에 속하는 1년생 草木으로 草長은 60~100cm 내외이며, 3월 초순에 파종하여 5월 초순에 밭에 옮겨 심고, 7월 중순부터 8월 하순까지 잎을 수확하여 사용하였다.

### 2.1.2 시약

- 합성 Indigo(Aldrich Chem. Co. 제)
- Calcium hydroxide(Yakuri Pure Chem. Co., LTD 1급)
- Sodium carbonate(Junsei Chem. Co., LTD 1급)
- Dimethylsulfoxide(Junsei Chem. Co., LTD 특급)
- Acetonitrile(TEDIA, HPLC 용)
- Chloroform(Junsei Chem. Co., LTD 1급)

## 2.2 쪽폴 색소의 제조 및 성분 분석

### 2.2.1 색소의 제조

1ℓ의 물에 100g의 생잎을 넣고 30℃에서 30시간 우려낸 다음, 쪽풀을 건져내고, 그 물에 3g/ℓ의 소석회(Ca(OH)<sub>2</sub>)를 넣고, 공기를 불어 넣어서 파란 침전물이 형성되면, 2시간 정도 방치한 후 윗물은 따라 버리고, 침전물을 deep freezer를 이용하여 영하 70℃에서 24시간 동결시킨 다음, 얼린 침전물을 凍結乾燥機((주)일신엔지니어링)에 넣고 -50℃에서 동결건조하였다.

### 2.2.2 색소의 성분 분석

#### (1) 각종 용제에 따른 분광특성

100mg의 합성 indigo와 1g의 쪽폴 색소를 chloroform, DMSO, acetonitrile에 용해하여, UV/Vis. spectrophotometer (Perkin Elmer, Lamda 10)를 사용하여 각각 분광곡선을 조사하였다.

#### (2) TLC에 의한 성분분석

쪽폴 색소 및 합성 indigo를 DMSO에 용해시켜 silica gel 60 F254가 도포된 plate에 spot하여 건조시킨 후, CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>CN(8.5 : 1.5) 용액으로 전개시켰다.

#### (3) HPLC 를 이용한 성분분석

40mg의 쪽폴 색소 분말을 DMSO/acetonitrile 혼합용액(2 : 1)에 2일 동안 담구어 실온에 방치하여 색소를 용해시킨 후 HPLC(TSP-P 2000)를 이용하여 column은 Bondacelone C<sub>18</sub>(10μm, 300mm), 유속은 1.0 ml/min., 검출기는 UV 3000 Focus/SM 5000, 이동상은 acetonitrile/water(50 : 50)로 하여 580nm에서 분석하였다.

#### (4) 색소 성분의 mol 흡광계수(ε값) 측정

쪽폴 염료 중에 함유되어 있는 색소 성분을 분리 추출하여 각 색소용액의 최대흡수파장을 구한 후 다음과 같은 방법으로 측정하였다.

#### ① Indigo 색소의 ε값 측정

3g의 쪽폴 색소를 300ml의 acetonitrile(100%)에 넣고 1일간 상온에 방치하여 적색색소를 추출하기를 7회 반복한 후, 남은 indigo 색소 분말 20, 50, 80, 100, 120mg을 각각 100ml의 DMSO로 용해한 후 각각의 용액에서 1ml를 채취하여 10배로 희석한 후 4ml를 채취하여, 각각 최대흡수파장에서의 흡광도를 구하여 검량선을 작성한 후 ε값을 산출하였다.

#### ② Indirubin 색소의 ε값 측정

0.35, 0.5, 0.75, 1.0g의 쪽폴 색소 분말을 100ml의 acetonitrile에 넣고 1일간 실온에서 방치하여 적색색소를 추출하기를 1회 반복한 후 glass filter(3G<sub>2</sub>)로 여과한 다음 그 여액을 2ml 채취하여 5배 희석한 후 각각 최대흡수파장에서의 흡광도를 구하여 검량선을 작성한 후 ε값을 산출하였다.

#### (5) 색소의 구조해석

쪽폴 색소 중의 indigo 색소와 indirubin 색소의 시료 정제는 다음과 같이 하였다. 즉, 2g의 쪽폴 색소를 200ml의 acetonitrile로 1일 1회씩 추출하여 6일 동안 반복 추출한 후, 나머지 용해되지 않는 청색색소를 indigo 색소 분석용으로 사용하였고, indirubin은 5g의 쪽폴 색소를 acetonitrile 용액으로 3회 반복 추출하여 얻은 용액을 glass filter(3G<sub>2</sub>)로 여과하고, 여과액을 원심분리기(Vision, Super speed vacuum)로 12,000rpm, 10분간 원심분리한 후 상등액을 evaporator로 증발시킨 후 그 액을 분자량 측정에 사용하였고, 용제를 완전히 증발시킨 후 굵어 모아서 구조분석용으로 사용하였다.

FT-IR spectrum(M series, Midac Corporation, USA)은 KBr-pellet법으로 측정하였고, 각 색소를 DMSO-d<sub>6</sub>로 용해시켜 <sup>1</sup>H-NMR(Bruker Drx-300 MHz) spectrum, EI-Mass(Jeol AX505WA spectrometer)로 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 각종 용제에 따른 분광특성

Chloroform을 용제로 사용하면 Fig. 1에서와 같이,

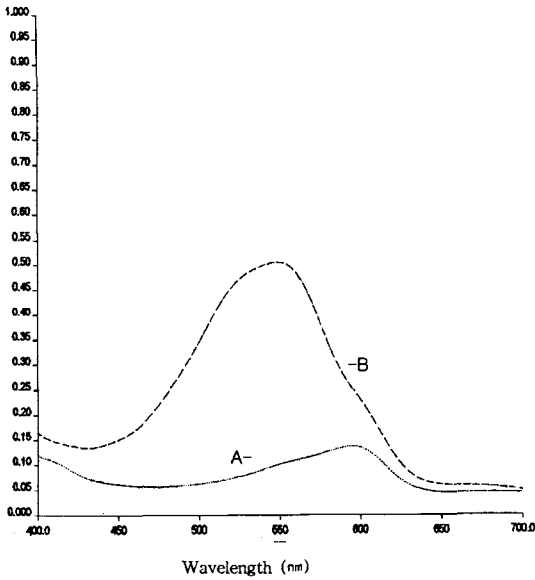


Fig. 1 UV/Visible Spectra of indigo dyes dissolved in chloroform.  
A : Synthetic indigo  
B : Natural indigo

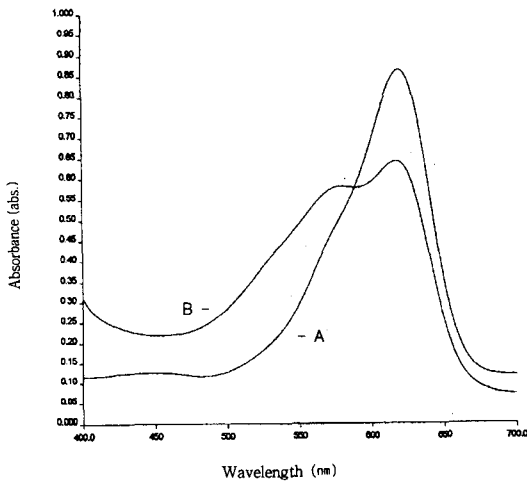


Fig. 2 UV/Visible Spectra of indigo dyes dissolved in DMSO.  
A : Synthetic indigo  
B : Natural indigo

쪽풀 색소의 최대흡수파장은 550nm에 나타나고, 합성 indigo의 최대흡수파장은 602nm에 나타남을 확인할 수 있다.

DMSO를 용제로 사용한 경우에는 Fig. 2에서와 같이 쪽풀 색소는 620nm와 580nm에서 2개의 흡광 band가 나타나고, 합성 indigo는 620nm에서 1개의 흡광 band와 580nm에서 shoulder가 나타나 있다.

acetonitrile을 용제로 사용하였을 때에는 Fig. 3에서와 같이 쪽풀 색소는 560nm에서 강한 흡광 band와 580nm에서 shoulder와 610nm에서 shoulder가 나타나 있음을 알 수 있고, 합성 indigo는 610nm에서 1개의 흡광 band와 580nm에서 shoulder가 나타나 있음을 알 수 있다.

이와 같은 결과로부터 쪽풀 색소분말에는 구조가 상이한 색소들이 혼합되어 있음을 추정할 수 있고, 합성 indigo 염료는 단일품에 가까운 색소임을 알 수 있다.

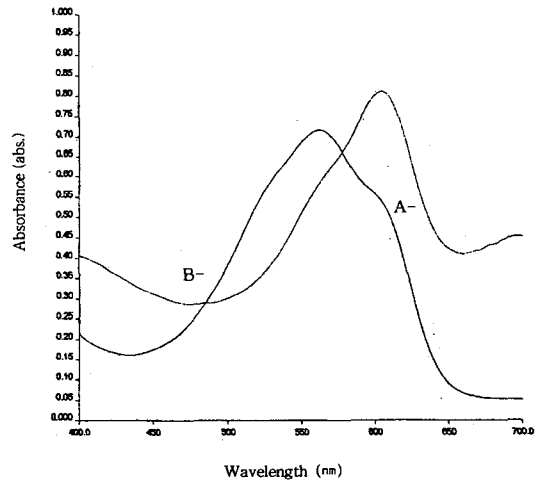


Fig. 3 UV/Visible Spectra of indigo dyes dissolved in acetonitrile.  
A : Synthetic indigo  
B : Natural indigo

### 3.2 쪽풀 색소와 합성 indigo 색소의 정성분석

UV/Vis. 분광광도측정에 의한 흡광 band의 파장으로부터 쪽풀 색소에는 주로 청색색소와 적색색소가 함유되어 있으며, 합성 indigo에는 주로 청색색소가 있다는 것을 알았는데, 각각에 함유되어 있는 성분을 확인하기 위하여, 박층크로마토그래피(TLC)와 고속액체크로마토그래피(HPLC)를 이용하여 정

성분석한 결과는 Fig. 4~6과 같다.

Fig. 4는 쪽풀 색소와 합성 indigo의 색소성분을 조사하기 위하여 각각의 염료를 DMSO로 용해하여, 전개제로  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{CN}$ (8.5 : 1.5) 혼합용액을 사용하여 전개시켜 얻은 TLC band이다. 시료 모두 청색색소와 적색색소로 분리되어 있고, 각각의  $R_f$  값은 청색색소가 0.64, 적색색소가 0.50임을 알 수 있다.

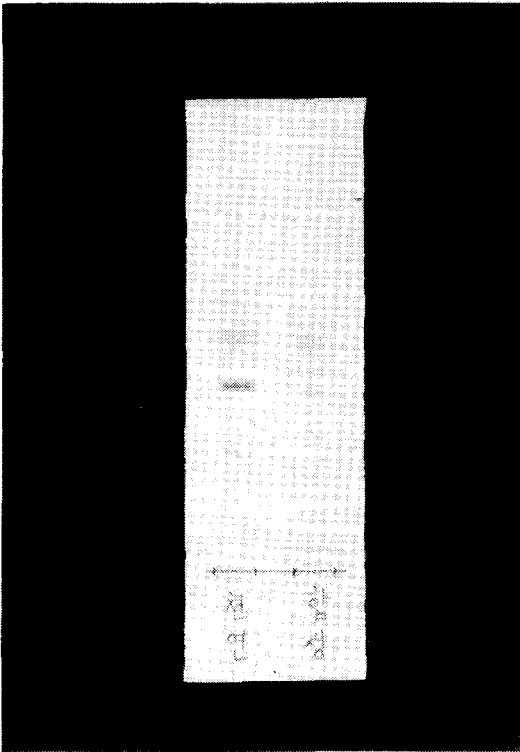


Fig. 4 TLC bands of natural and synthetic indigo dyes measured by  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{CN}$  (8.5 : 1.5 v/v) eluent.

Fig. 5는 쪽풀 색소와 합성 indigo를 각각 DMSO에 용해시켜 얻은 HPLC profiles이며, 이때의 column은 Bondacclone  $\text{C}_{18}$ 이고, 검출기는 UV/3000 Focus/SM 5000이며, 이동상은 acetonitrile/water(50 : 50)을 사용하고, 유속은 1.0ml/min, 측정파장은 580nm이었다.

합성 indigo는 두 색소가 분리되지 않고, retention time이 6.50에서 단일 peak가 나타나고, 쪽풀 색소

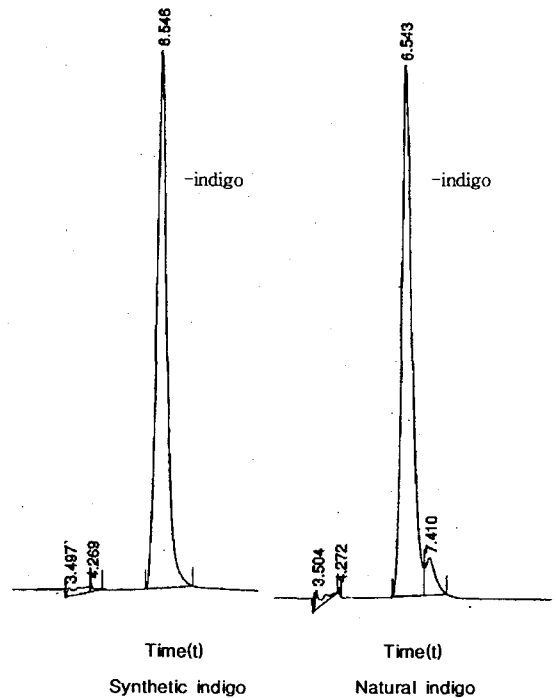


Fig. 5 HPLC profiles of indigo dyes measured by  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$  eluent.

에서는 완전히 분리되지는 않으나 retention time이 6.50과 7.40의 2개의 peak로 분리되어 있다. Fig. 3에서와 같이 합성 indigo를 DMSO에 용해할 경우 indigo성분만이 존재하므로 합성 indigo의 단일 peak인 retention time 6.50와 retention time이 동일한 쪽풀 색소의 peak는 그 성분이 indigo인 것을 알 수 있다.

Fig. 6는 DMSO를 용제로 사용한 경우, Fig. 2에서와 같이 UV 측정에 의해 합성 indigo에도 소량 함유되어 있는 적색색소가 분리되지 않으므로, 합성 indigo와 쪽풀 색소에 함유되어 있는 청색색소와 적색색소를 명확히 분리를 시키기 위하여 DMSO/acetonitrile (2 : 1) 혼합용제로 각각 용해시켜 얻은 HPLC의 profiles이다. 이 때의 전개 조건은 DMSO 단일 용제를 사용한 조건과 동일하다.

Fig. 6에서 알 수 있는 바와 같이, 쪽풀 색소와 합성 indigo 모두 두색소가 양호하게 분리되고, 용제가 바뀜으로서 retention time이 약간 변화되었으나 거의 같았고, 쪽풀 색소는 6.50과 7.40, 합성 indigo는 6.50

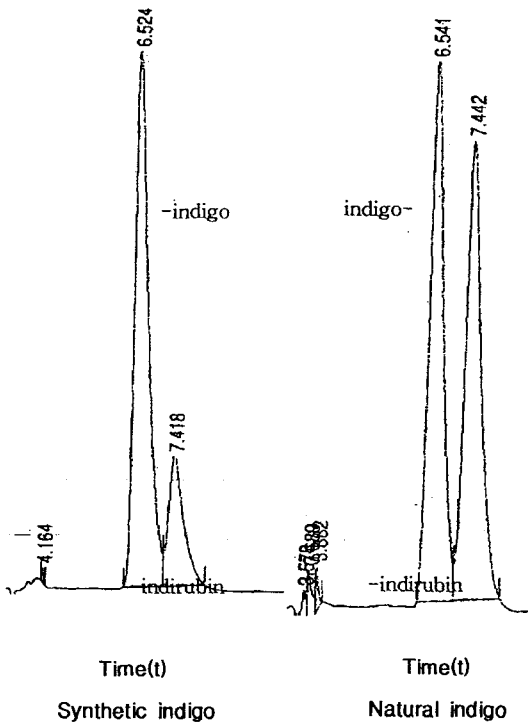


Fig. 6 HPLC profiles of the indigo dyes measured by  $\text{CH}_3\text{CN}/(\text{CH}_3)_2\text{SO}(1:2\text{v/v})$  eluent.

과 7.40의 각각 2개의 peak로 분리되어 있음을 알 수 있다. 합성 indigo에서 retention time이 7.40의 peak와 쪽풀색소에서 7.40의 peak는 같은 성분을 나타내는 peak인 것을 알 수 있으며, 또한 TLC의 Rf값이 0.50인 적색색소와 HPLC의 retention time이 큰 7.40인 peak 가 동일 성분임을 확인할 수 있다. 한편, 쪽풀의 청색색소의 면적과 적색색소의 면적 비는 55 : 45 임을 확인할 수 있다.

### 3.3 색소의 mol 흡광계수 ( $\epsilon$ )값 측정

앞에서 쪽풀 생잎으로부터 제조한 쪽풀 색소 중에는 주된 색소가 청색색소와 적색색소로 되어 있다는 것을 알았다. 이들 색소의  $\epsilon$  값을 알아보기 위하여 실험한 결과, Fig. 7에서와 같이 indigo색소의 최대흡수파장은 620nm, indirubin 색소의 최대흡수 파장은 540nm이므로, 이들 최대흡수파장에서 각각 흡광도를 측정하여 검량선을 작성하였다.

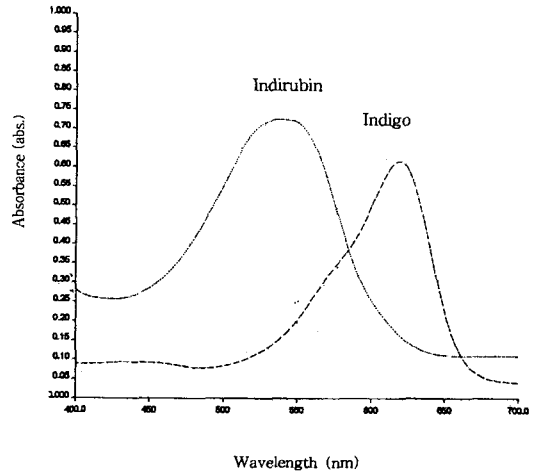


Fig. 7 UV/Visible spectra of the indigo and indirubin.

Fig. 8은 DMSO에 대한 indigo 색소의  $\epsilon$ 값을 구한 것을 나타낸 것으로서 검량선은  $Y=3.194270e-03 * X$ 이며, mol 흡광계수는 836.90 임을 알 수 있다.

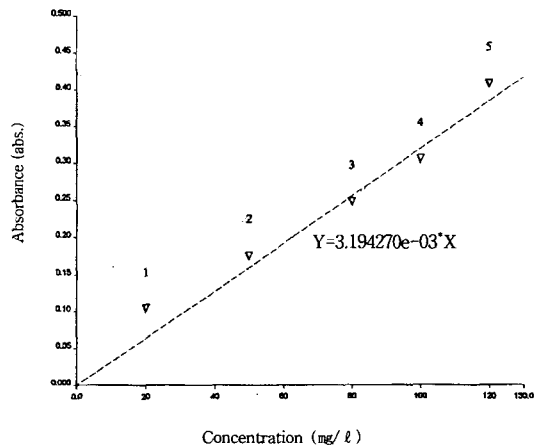


Fig. 8 Calibration curve of the natural indigo pigment dissolved in DMSO.

Fig. 9는 acetonitrile에 대한 indirubin 색소의  $\epsilon$ 값을 구한 것을 나타낸 결과로서 검량선은  $Y=4.923625e-01 * X$ 이며, mol 흡광계수는 129.998 임을 알 수 있다. 이러한 결과로부터 indigo 색소의  $\epsilon$ 값이 indirubin 색소의 그것보다 크기 때문에 염색시 indigo

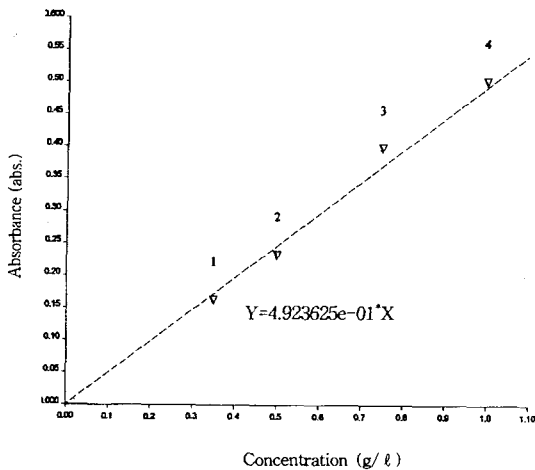


Fig. 9 Calibration curve of the natural indirubin pigment dissolved in acetonitrile.

색소의 친화력이 크다는 것을 예상할 수 있다.

3.4 색소의 구조해석

Fig. 10에서와 같이 1627cm<sup>-1</sup>에서 aromatic ring과 C=O stretching에 의한 흡수대가 나타난 것과 3200~3300cm<sup>-1</sup>에서 -NH- stretching에 의한 흡수대가 관찰되며, 청색색소와 적색색소의 IR spectrum의 차이는 나타나지 않았다.

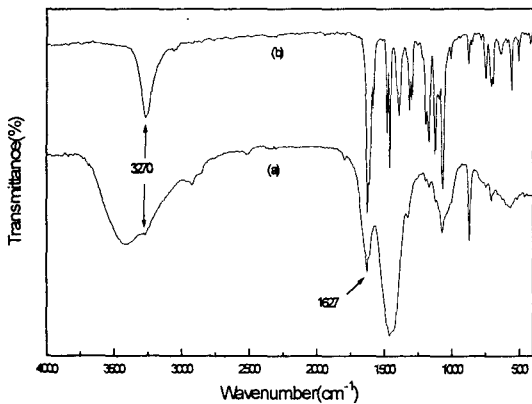


Fig. 10 FT-IR Spectra of indigo(a) and indirubin(b) isolated from acetonitrile extracts of natural indigo powder.

이것은 Song<sup>12)</sup>의 쪽풀 생잎에서 추출한 indirubin 색소의 IR spectrum, 또한 Kume<sup>2)</sup>의 합성 및 쪽풀 색소의 CO stretching에 의한 흡수대가 1630cm<sup>-1</sup>에 나타난 것과 3278cm<sup>-1</sup>에서의 -NH- stretching에 의한 흡수대를 나타내는 IR spectrum 결과와 일치한다.

Fig. 11에서 보는 바와 같이 청색색소의 H4, 5, 6, 7 은 6.5~7.7ppm에서 Indole 구조를 기본으로 하는 AA'BB' system 스핀분열 현상을 나타내고 있으며, H4, 7은 7.61 및 7.33ppm에서 각각 2중선을 나타내고 있고, H5, 6은 7.51 및 6.97ppm에서 3중선으로 나타난 것을 알 수 있다. 또한 10.48ppm의 단일선은 NH의 proton으로 추정된다.

이것은 Hart<sup>13)</sup>이 Rhodococcus gene에 함유된 Escherichia Coli에서 생산된 indigo 색소의 분석에서 Indol-type N-H 공명과 4개의 spin AA'BB' spectrum 구조 6.5~7.7ppm 영역이 일치하므로 동일구조임을 알 수 있다. 즉, 청색은 indigo 임이 확인되었다.

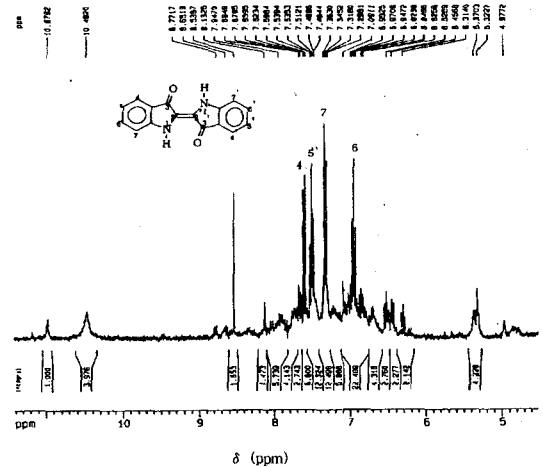


Fig. 11 <sup>1</sup>H-NMR spectrum of indigo isolated from DMSO extracts of natural indigo powder.

Fig. 12에서 보는 바와 같이 NH의 proton 10.88과 11.01 ppm에서 각각 단일선을 나타내고 있으며, Indole 기본구조의 H4, 5, 6, 7과 H4', 5', 6', 7'는 6.9~7.7ppm에서 나타나고 있으며, AA'BB' System 스핀분열현상으로 인해 H4, 4'는 각각 7.65 및 7.41 ppm에서, H7, 7'는 6.90ppm에서 이중선으로 나타

나고 있다. 그리고 7.55, 7.25ppm의 삼중선은 H5, 5'의 proton으로, 7.01ppm의 삼중선은 H6, 6'의 proton으로 해석된다.

이것은 Hart<sup>13)</sup>의 적색색소의 Indole-type N-H 공명이 10.82와 10.98ppm에서 관측되어지고 이것이 indirubin일 것이라고 추정한 것과 같이 이 실험에서도 triplet 3 sets와 4 sets의 doublet이 관측되어져 Hart의 NMR 결과와 일치하므로 동일 구조임을 알 수 있다. 즉, 적색색소는 indirubin임이 확인되었다.

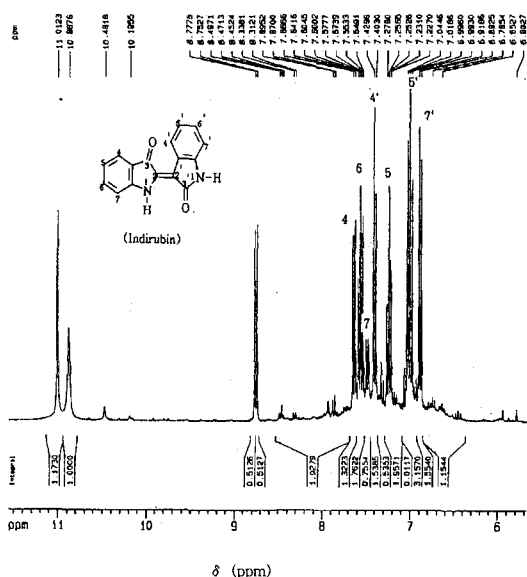


Fig. 12 <sup>1</sup>H-NMR spectrum of indirubin isolated from the acetonitrile extracts of natural indigo powder.

Table 1은 위의 결과를 정리한 것으로서 indigo 색소와 indirubin 색소의 각각의 proton의 화학적 이동(ppm)을 명확히한 결과이다.

Fig. 13~14는 쪽풀 색소 중의 indigo 색소와 indirubin 색소의 EI-mass spectrum을 나타낸 것으로서 분자이온은 262(M)<sup>+</sup>였고, 그의 fragment 이온은 234(M-28)<sup>+</sup>에서 나타낸다.

이 결과는 Jung<sup>14)</sup>이 쪽풀로부터 chloroform으로 indirubin을 추출한 후 EI-mass로 측정하여 얻은 분자이온 peak와 fragment 이온의 m/z가 일치한다.

Table 1. <sup>1</sup>H-NMR spectral data of indigo and indirubin isolated from natural indigo powder.

Pigment	Proton	Chemical shift (ppm, δ)*
Indigo	H4	7.61(d)**
	H5	7.51(t)
	H6	6.97(t)
	H7	7.33(d)
	NH	10.48(br s)
Indirubin	H4, 4'	7.65(d), 7.41(d)
	H5, 5'	7.55(t), 7.25(t)
	H6, 6'	7.01(t)
	H7, 7'	6.90(d)
	NH	10.88(br s), 11.01(br s)

\* TMS as internal reference in DMSO-d6

\*\* br s : broad singlet, d : doublet, t : triplet

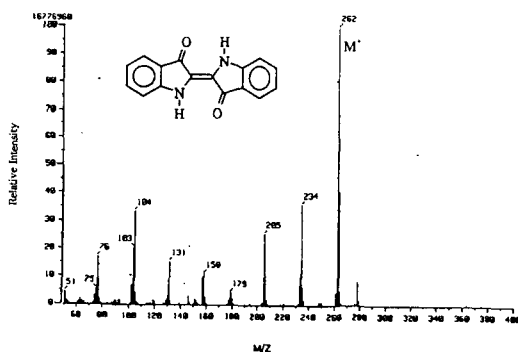


Fig. 13 EI-mass spectrum of indigo isolated from DMSO extracts of natural indigo powder.

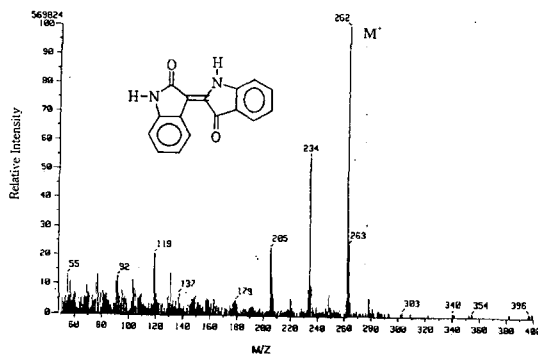


Fig. 14 EI-mass spectrum of indirubin isolated from acetonitrile extracts of natural indigo powder.



이러한 쪽풀 색소의 주색소인 indigo 색소와 indirubin 색소는 FT-IR, EI-mass spectrum이 일치하고 <sup>1</sup>H-NMR 결과로부터 이 두 색소는 이성질체임을 알 수 있다.

#### 4. 결 론

쪽풀 생잎에서 우려낸 색소액에 소석회를 첨가한 후 쪽풀 색소의 침전물을 만들어서 냉동 건조시켜 쪽풀 색소를 제조하여, 그 성분을 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. UV 분광광도법으로부터 쪽풀 분말 용액의 흡광 band가 2개 나타났으며, 흡수파장으로부터 적색 색소와 청색 색소가 존재함을 알 수 있었다.
2. TLC 정성 분석으로부터 쪽풀 색소는 청색과 적색의 2개의 spot이 나타났으며, R<sub>f</sub>값이 각각 0.64, 0.50이었다.
3. HPLC 측정 결과 적색 색소의 retention time은 7.442, 적색 색소의 retention time은 0.50이었다.
4. FT-IR 분석으로부터 1627cm<sup>-1</sup>에서 CO, 3200~3300cm<sup>-1</sup>에서 NH의 흡수대가 나타나고, 적색 및 청색 색소의 IR spectrum이 일치하였다.
5. EI-mass 분석 결과, 청색과 적색 색소의 fragment 이온의 m/z가 일치하고, <sup>1</sup>H-NMR 분석 결과로부터 두 색소는 이성질체임을 알 수 있었다.
6. 정성 및 정량 분석 결과, 쪽풀 색소는 적색 색소와 청색 색소로 이루어져 있고, 청색색소는 indigo, 적색색소는 indirubin 이었다.

#### 참고문헌

1. M. Minagawa, Y. Yoshida, and K. Matsumoto, 絹の染色に関する研究(第10報), 大阪市立大學生活科學部 記要, 28, 87(1980).

2. J. Kume, *Sen-i Kako*, 19, 27(1967).
3. T. Sakagawa, H. Koshida, and T. Nakayama, *Dyeing Industry*, 39, 24(1986).
4. Xia, Z. Q. and Zenk, M. H., "Photochemistry", 21, 2695(1992).
5. 李春寧, 金友政, "天然香辛科와 食用色素", 郷文社 pp. 81-85(1988).
6. E. Klingsberg, *J. Soc. Dyers. Colour.*, 70, 563 (1954).
7. J. Wouters and A. Verhecken, *J. Soc. Dyers. Colour.*, 107, 266(1991).
8. S. Usida and M. Ohta, *J. Home Econ. Jpn.*, 46, 1167(1995).
9. S. Usida, Y. Tanugami, and M. Ohta, *J. Home Econ. Jpn.*, 47, 1031(1995).
10. K. Yamada, T. Konakahara, and H. Iida, *Kogyo Kagaku Zasshi*, 73, 984(1970).
11. S. U. Kim, K. S. Song, D. S. Jung, and Y. A. Chae, *Panta Medica*, 62, 54(1996).
12. K. S. Song, "Biosynthetic Studies of indigoid in *polygonum tintorium* leaves and suspension cells", MS thesis, Seoul National University (1994).
13. S. Hart, R. K. Klaus, and R. W. David, *J. General Microbiology*, 138, 211(1992).
14. D. S. Jung, "Biosynthetic of indigoid in root and shoot cultures of *polygonum tintorium*", MS thesis, Seoul National University(1995).