

호염세균으로부터 추출한 카로테노이드 색소의 안정성

- 연구노트 -

최병대 · 정영기*†

경상대학교 해양생물이용학부 및 해양생물연구소

*동의대학교 미생물학과

The Stability of Carotenoids Extracted from Halophilic Bacteria

Byeong-Dae Choi and Yong-Kee Jeong*†

Division of Marine Bioscience, The Institute of Marine Industry,

Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea

*Dept. of Microbiology, Dong-Eui University, Pusan 614-714, Korea

Abstract

A carotenoid pigment, which was a determinant for food quality, was extracted from a marine halophilic bacteria. The stability of the pigment extract was investigated for a food additive. The optimum temperature for stability was 20°C. The pigment degradation was significantly affected by solvent polarity, however, stable in solvent methanol and ethanol. The pigment degradation was highly sensitive to light and UV exposure.

Key words: carotenoids, pigmentation, marine fishes, halophilic bacteria

서 론

카로테노이드는 지용성물질이므로 acetone, alcohol, diethyl ether 및 chloroform과 같은 유기용매에 쉽게 용해된다. 이 중에서 carotenes계통은 약간의 극성을 띠는 petroleum ether나 hexane에 잘 녹는 반면, 산소를 함유한 유도체인 xanthophyll류는 alcohol과 같은 극성용매에 잘 녹는다(1). 카로테노이드는 미생물, 균체, 조류, 고등식물, 동물 및 인간의 세포구성물질로서 필수불가결한 물질로 알려져 있으며(2,3), 그 중 해양생물에 존재하는 성분의 일부가 가장 중요한 것으로 밝혀졌다(4). 이들 카로테노이드는 식품의 발색제로서도 널리 이용되어지고 있으며, 식품의 가공 및 저장 중 이들 색소의 변화에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다(5). 동물은 카로테노이드를 생합성할 수 없으나, 식물이나 미생물은 *de novo* 생합성에 의하여 lycopene으로부터 수소첨가(hydrogenation), 탈수소화(dehydrogenation), 고리화(cyclization) 및 산화(oxidation) 반응을 거쳐 카로테노이드를 생성한다(6).

카로테노이드는 많은 종류의 어패류 색상을 결정하는 매우 중요한 물질이다. 이들 어패류의 가격도 색깔의 선명도에 따라 차이가 나기도 한다. 새우, 바다가재, 게, 가재, 송어, 연어, 붉은 돔, 참치 등의 껍질 또는 육색이 오렌지 또는 붉은색을 띠는 것은 다량의 카로테노이드가 함유

되어 있기 때문이다(7). 소비자들의 평가에 의하면 연어와 송어의 가치를 결정하는 가장 중요한 인자는 색깔이라고 하였으며, 동결된 연어도 육색이 열거나 좋지 않으면 송어와 구별하여 판매할 수 없다고 평가하였다(8). 이처럼 어류의 육색 및 체색은 상품의 가치를 결정짓는 가장 중요한 인자라는 것을 잘 보여주고 있다.

따라서 본 연구에서는 식품품질을 결정하는 주요 인자인 카로테노이드 색소를 생산하는 해양 호염성 세균을 배양하고 이로부터 카로테노이드 색소를 추출한 후, 이 색소추출물의 온도, 용매, 빛의 투과에 따른 안정성을 검토하여 식품첨가물로서의 응용가능성을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

Halo균의 배양조건 및 카로테노이드 색소의 추출

5일간 배양한 세균(*Haloarcula* sp. EH-1)(9)으로부터 색소를 추출하기 위하여 일정량의 시료에 3배의 acetone을 가하고 하룻밤 실온에 방치한 다음 색소 성분을 추출, 여과하였다. 이 조작을 3회 반복하여 시료로부터 색소를 충분히 용출시켰다. 여과된 acetone추출물을 회전진공증발농축기로 40°C 이하에서 농축한 후 분액여두로 옮기고, 여기에 ether : petroleum ether(1 : 1, v/v) 혼합용

*†To whom all correspondence should be addressed

매를 가하여 색소성분을 전용시킨 후, 다시 회전진공증발 농축기를 이용하여 용매를 완전히 제거하여 색소 추출물로 하였다. 총 카로테노이드 함량은 ether 중에서 가시부 흡수 spectrum의 흡수극대치를 Davies(10)의 방법에 따라 설정하고 흡광계수는 $E_{1cm}=2,200$ 으로 하여 계산하였다.

저장온도에 따른 색소함량의 변화

색소추출물의 저장온도에 따른 변화를 살펴보기 위하여 세균으로부터 추출한 색소 약 100mg을 cap tube에 넣고 -20°C, 4°C, 20°C 및 37°C에 각각 저장하면서 5일마다 각 시료의 흡광도를 측정하여 카로테노이드 함량의 변화를 측정하였다.

용매의 다른 색소함량의 변화

색소추출물의 용매에 대한 안정성을 검토하기 위하여 petroleum ether, diethyl ether, chloroform, acetone, methanol 및 ethanol에 추출한 색소 약 100mg을 cap tube에 넣고 냉동(-20°C)에 보관하면서 5일마다 각 시료의 흡광도를 측정하여 카로테노이드 함량의 변화를 측정하였다.

빛에 따른 색소함량의 변화

빛에 의한 색소의 안정성을 검토하기 위하여 색소 100mg을 가장 안정한 용매인 ethanol에 녹여 cap tube에 넣고 암소, 햇빛 및 UV에 노출시킨 다음 매 12시간마다 흡광도를 측정하여 카로테노이드 함량의 변화를 측정하였다.

결과 및 고찰

저장온도에 따른 색소함량의 변화

저장온도에 따른 색소함량의 변화를 살펴본 결과(Fig. 1) 저장 5일째 -20°C, 4°C, 20°C의 경우 흡광도는 0.245, 0.245, 0.244로 변화가 없었고, -20°C의 경우는 15일째부

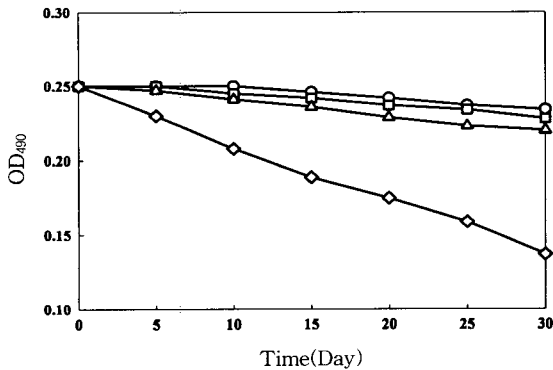


Fig. 1. Carotenoid pigment stability at various temperatures.
 ○: -20°C, □: 4°C, △: 20°C, ◇: 37°C

터, 4°C 및 20°C의 경우는 10일째부터 점차 감소하여 30일째 흡광도는 각각 0.230, 0.224, 0.215로 나타났으므로 냉동, 냉장 및 20°C까지는 분해량이 적어 경제적 비용을 감안할 때 20°C 저장도 가능한 것으로 생각되어진다. 색소추출물을 37°C에 저장한 경우 저장 5일째 흡광도 0.220으로 나타나 시간의 경과에 따라 급격히 감소하여 저장 30일까지 직선적으로 감소하는 경향을 나타내었다.

용매의 다른 색소함량의 변화

호염성 세균으로부터 추출한 색소의 용매에 따른 분해속도를 Fig. 2에 나타내었다. 저장 5일째까지는 용매에 따른 색소의 분해정도가 거의 없었으나, 저장 10일째부터 ethanol, p-ether구가 다른 용매구보다 분해속도가 증가하기 시작하여 저장기간 동안 가장 많은 양이 분해되었다. 카로테노이드 색소의 용매 안정성에 관해서는 거의 연구가 이루어지지 않았으나, Davies(10), DeRitter와 Purcell(11) 등이 카로테노이드 분석 및 추출시 어떤 용매를 선택하여야 하는가에 대한 개략적인 결과를 발표하였을 뿐 카로테노이드의 안정에 대하여는 언급하지 않았다. 그 이후 Craft와 Soares(12)는 18종의 용매(HPLC 급)를 이용하여 β-carotene과 lutein의 안정성에 대하여 조사한 결과, 용매 제조회사에 따라 항산화제의 첨가여부에 따라 차이가 난다고 하였다. 그리고 카로테노이드 추출시 용매의 극성에 따라 안정성과 용해성이 크게 영향을 받으므로 용매선택에 신중해야 한다고 하였다. 그래서 본 실험에서는 2차 증류한 용매를 사용하였으며, 용매의 극성에 따른 변화정도는 각각 다른 것으로 나타나 용매의 극성이 카로테노이드 분해에 큰 영향을 미치는 것으로 여겨진다.

빛에 따른 색소함량의 변화

빛의 종류에 따른 색소의 변화를 살펴보기 위하여 diethyl ether 및 acetone을 용매로 하여 120시간 동안 노출시

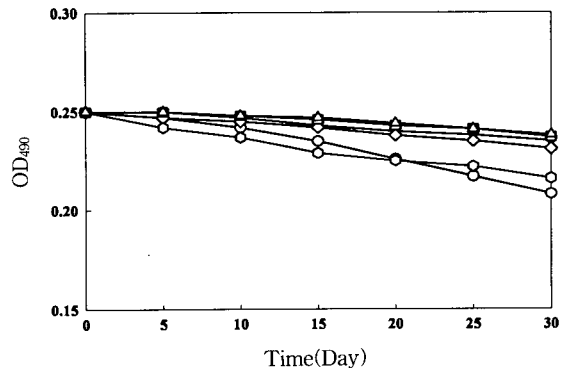


Fig. 2. Carotenoid pigment stability in various organic solvents.
 ○: Petroleum ether, ▽: Diethyl ether, ◇: Chloroform, ◊: Acetone, □: Methanol, △: Ethanol

키면서 색소함량의 변화를 Fig. 3 및 4에 각각 나타내었다.

비극성 용매인 ethyl ether의 경우 카로테노이드 계통의 색소가 가장 잘 용해되는 용매로 빛이 없는 경우 전 노출시간동안 거의 변화가 없었다. 그러나, 햇빛에 노출시킨 경우 12시간 이후 흡광도가 0.18이었으나, 24시간 이후 흡광도 0.15로 감소하였으며 48시간 이후는 88% 이상이 파괴되는 것으로 나타났다. UV에 노출한 경우 색소의 파괴속도가 가장 빨라 12시간 이후 흡광도 0.13으로 약 50%가 파괴되었으며, 24시간 이후 80%, 48시간 이후 100% 파괴되는 것으로 나타나 식품의 착색제로 사용하는 경우 햇빛 및 UV에 노출되지 않도록 하여야 하는 것으로 여겨진다(Fig. 3).

극성 용매인 acetone의 경우 빛이 없는 경우 거의 변화가 없었으나 UV하에서는 빠르게 분해되었으며, 60시간 이후 100% 분해되어 용매로서 카로테노이드 색소의 분해를 억제시킬 수는 없는 것으로 나타났다(Fig. 4). 그러나 햇빛에 의한 분해는 120시간 이후 약 40%가 파괴되어 diethyl ether보다 안정한 것으로 나타나 ethanol을 용매로 사용하는 것이 보다 안정적일 것으로 여겨진다.

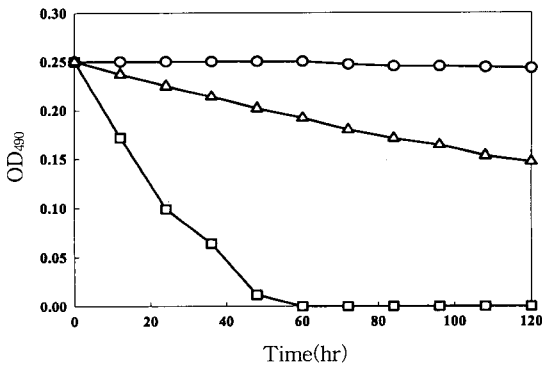


Fig. 3. Carotenoid pigment stability in diethyl ether under the light.

—○—: No light, —△—: Sun light, —□—: UV

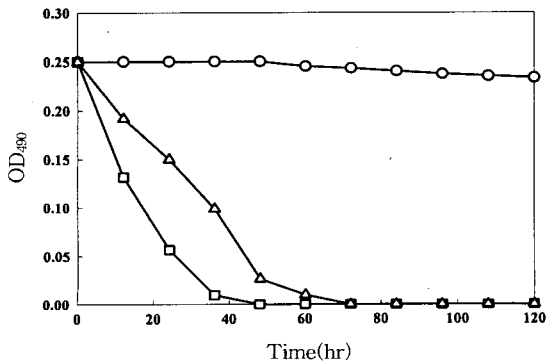


Fig. 4. Carotenoid pigment stability in ethanol under the light.

—○—: No light, —△—: Sun light, —□—: UV

요 약

해양 호염성세균으로부터 식품품질을 결정하는 주요 인자인 카로테노이드 색소를 추출한 후, 이 색소 추출물의 안정성을 검토하여 식품첨가물로서의 응용가능성을 살펴본 결과는 다음과 같다. 20°C에서 저장할 경우 경제적이면서 안정성도 가장 효과가 높았으며, 용매의 극성에 따라 카로테노이드 분해에 큰 영향을 미치지 않지만, methnol 및 ethnol에는 비교적 안정하였다. 또한 빛과 uv에 노출시켰을 경우 색소의 분해는 빠르게 진행되었다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부에서 시행한 1997년도 해양수산 특정과제 개발사업 과제의 첨단기술 개발사업에 의하여 수행된 연구결과이며 연구비를 지원해 주신 해양수산부에 심심한 사의를 표합니다

문 헌

- Gross, J. : Pigments. In "Vegetables: Chlorophylls and carotenoids" Van Nostrand Reinhold, New York(1991)
- Goodwin, T. W. : Distribution of carotenoids. In "Chemistry and biochemistry of plant pigments" Goodwin, T. W.(ed.), Academic Press, London, Vol. 1, p.225(1976)
- Liaaen-Jensen, S. : Marine carotenoids. In "Marine natural products: Chemical and biological perspectives" Scheuer, P. J.(ed.), Academic Press, New York, Vol. 2, p.1(1978)
- Matsuno, T. and Hirao, S. : Marine carotenoids. In "Marine biogenic lipids, fats, and oils" Ackman, R. G.(ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, Vol. 1, p.251(1989)
- Sigurgisladottir, S., Parrish, C. C., Lall, S. P. and Ackman, R. G. : Effects of feeding natural tocopherols and astaxanthin on Atlantic salmon(Salmo salar) fillet quality. *Food Res. Int.*, **27**, 23-32(1994)
- Britton, G. : Biosynthesis of carotenoids. In "Chemistry and biochemistry of plant pigments" Goodwin, T. W. (ed.), Academic Press, New York, Vol. 1, p.262(1976)
- Haard, N. F. : Biochemistry and chemistry of color and color change in seafood. In "Advances in seafood biochemistry: Composition and quality" Flick, G. J. and Martin, R. E.(eds.), Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster and Basal, p.305(1992)
- Ostrander, J., Martinsen, C., Liston, J. and McCullough, J. : Sensory testing of pen-reared salmon and trout. *J. Food Sci.*, **41**, 386-390(1976)
- Park, H. S. and Jung, M. J. : Isolation and identification of an extremely halophilic bacterium from salar. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 671-677(1996)
- Davies, B. H. : Carotenoids. In "Chemistry and biochemistry of plant pigments" Goodwin, T. W.(ed.), Academic Press, London, Vol. 2, p.38(1976)
- De Ritter, E. and Purcell, A. E. : Carotenoid analytical methods. In "Carotenoids as colorants and vitamin A precursors" Bauernfeind, J. C.(ed.), Academic Press, London, p.815(1981)
- Craft, N. E. and Soares, J. H. Jr. : Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and β -carotene in organic solvents. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 431-434(1992)