

고추장中의 辛味成分 Capsaicin에 對한 定量法 및 調理에 依한 變化에 關하여

淑明女子大學校 文理科大學

廉 楚 愛

A Method of Assaying Capsaicin in Hot Pepper Paste and Degradation of Capsaicin by Heat Treatment.

Cho Ae, Yum

College of Liberal Arts and Sciences Sookmyung Women's University, Seoul, Korea

= Abstract =

A method of assaying Capsaicin in hot pepper Paste, which is the most Characteristic Korean food, was composed by making use of Azodye method.

Capsaicin, a hot ingredient of hot pepper. was isolated from the acetone-ether(1:3) extract of hot pepper paste with Thin layer Chromatography and analyzed quantitatively with Spectrophotometry

目 次

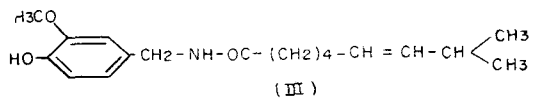
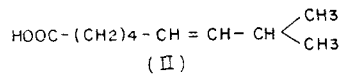
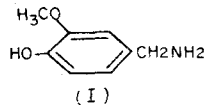
- I. 緒 論
- II. 實 驗
- III. 結論 및 考察
- IV. 參考 文獻

I. 緒 論

고추장은 우리나라 固有의 調味 食品으로서 우리 食生活에 매우 큰 比重을 차지하고 있으며, 흔히 家庭에서는 고추장에 여러가지 調味料를 添加하여 볶음으로서 調理 食品으로도 더 한층 價値가 있는 것이다.

고추장의 辛味成分은 고추中에 含有되어 있는 Capsaicin에 起因하는 것으로서 고추中의 辛味成分에 關한 研究는 1876年 Thresh¹⁾가 고추로부터 辛味成分을 分離하고 Capsaicin이라 命名하였으며 Micko는 1898年 抽出法을 改良하여 M.P. 63.5 °C인 Capsaicin 結晶을 얻었고 分子式은 C₁₈ H₂₇ NO₃ 라고 發表하였으며, 分子中에

Vanillyl基가 存在하는 것을 알아냈다. 그後 Nelson⁽²⁾ 은 Capsaicin이 加水分解하여 Vanillyl Amine (4-Hydroxy-3-methoxy benzyl amine) (I)과 Isodecenoic acid (II)를 生成하는 實驗으로부터 Isodecenoic acid vanillyl amide 即, N-(4-hydroxy-3-methoxy benzyl)-8 methylnon-6-enamide (III) 이라는것을 알아냈다.



Capsaicin 定量法에 對하여는 지금까지 많은 報文이 發表되어 있으나 大別하면 다음과 같다

A) Organoleptic method; Wasicky Klein⁽³⁾에 依한

方法으로 人間味覺에 依한 方法이므로 不正確하다.

B) Vanadyl method; Capsaicin과 Vanadium oxytrichloride와 反應하여 靑色으로 發色하는 呈色反應을 利用한 方法으로 Forder⁽⁶⁾의 報告가 있으나 Hyden, Jordan⁽⁷⁾ 등이 無辛味性 物質과도 同一한 呈色反應이 일어난 것을 發表하였으며 Schenk⁽⁸⁾는 Charcoal Column Chromatography에 依한 方法으로 Capsaicin을 分離하고 Ammonium vanadate와 Hydrochloric acid로 처리하여 얻어지는 blue green color를 定量法에 利用하였다.

C) Molybdenum blue method; Folin, Denis⁽⁹⁾에 依한 Phosphotungstic phosphomolybdic acid 溶液이 phenol과 反應하여 靑色으로 呈色反應하는 것을 利用하는 方法 등이 있다.

D) Azodye method; 本 方法은 Capsaicin과 Diazobenzene sulphonic acid와의 呈色反應을 應用한 것으로서 Schulte와 Krüger⁽¹⁰⁾ Berka⁽¹¹⁾ Spanyar⁽¹²⁾ 등의 報告가 있다.

以上에서와 같이 고추에 對하여서는 辛味成分인 Capsaicin의 定量法에 對한 報文이 많이 報告되어 있으나 우리의 固有 食品인 고추장에 含有된 Capsaicin의 定量에 對하여는 研究되어 있지 않으며, 고추장에는 Capsaicin 以外에 Carotinoid 色素, 油脂分, 糖分, wax分, 水分, 摻分等, 複雜한 組成을 이루고 있으므로 Capsaicin定量 實驗上 많은 難點이 있다. 따라서 著者는 이를 解決하기 爲하여 本 實驗에서는 溶媒의 浸透를 防害하는 糖分等を 水洗하여 前 처리하므로써 쉽게 溶媒抽出을 할 수 있었으며, 고추장의 溶媒 抽出物中에서 Capsaicin을 分離하는 데는 從來 많이 使用되어 왔던 Paper Chromatography 方法보다 Thin Layer Chromatography가 더욱 優秀함을 인정 하였으며 이에 依하여 Capsaicin을 極히 純粹하게 分離할 수 있는 方法을 確立하였다.

Capsaicin을 分離한 後 Diazobenzene sulphonic acid에 依한 Colorimetric method에 依하여 고추장中의 Capsaicin 含量을 定量하였으며, 고추장의 調理時 加熱變化에 따른 Capsaicin의 含量變化에 對하여 實驗한 結果를 報告한다.

II. 實 驗

A) 材 料

① 粉末고추; 風乾한 市販 고추에서 씨를 除去하여 粉末로 한것.

② 고추장; 찹쌀가루 2,500 g, 설탕380 g, 물2,040 g, 메주가루 430 g, 고추가루 750 g, 소금 350 g.

조 리 법

찹쌀가루를 시루에 찌서 뜨거울 때 설탕과 물을 끓인것을 넣고, 개여 물게 만들어 잠깐 식힌 후 메주가루와

고추가루, 소금을 넣고 잘 저어 간을 마춘다. 이렇게 만들어 7개월간 숙성된 고추장을 시료로 사용하였음.

③ 볶음고추장; 上記 고추장 約 25 g을 100 ml beaker에 正確히 取하고 開放된 狀態에서 內容物이 80 °C를 유지하도록 잘 저으면서 5分, 10分, 15分동안 볶은것

B) 試藥의 調製

① Capsaicin의 分離結晶.

粉末 고추를 4 l-flask에 넣고 acetone으로 充分히 浸漬시켜 고추의 붉은 색이 없어 질 때까지 抽出하고, 抽出液을 濾過하여 Flash Evaporator에서 40 °C를 維持하며 acetone을 溜去하면 黑赤色油狀粘稠物이 얻어 지는데, 여기에 同容의 Paraffine oil을 加하여 分液濾斗에 옮기고, 80 % ethanol 溶液으로 500 ml씩 3回 抽出하여 200 g의 basic alumina와 0.2 g의 active carbon을 充填한 2.8×20, cm column에 通過시켜 얻어진 無色の alcohol 溶液을 蒸溜하여, 約 400 ml가 되게 한 後 100 ml ether로 5回 抽出하고, 無水黃酸소오다로 脫水하여 ether을 溜去하면 赤色油狀粘稠物이 남는데 여기에 10 ml의 ether; Petroleum ether (9:1) 混合溶媒를 加하여 冷藏庫에 保管하면 Capsaicin이 針狀結晶으로 折出된다. 이 結晶을 3回 再結晶하여 眞空乾燥器에서 乾燥하여 Capsaicin 標準物價로 하였다.

② Capsaicin 標準溶液

Capsaicin 結晶 200 μg을 85 % CH₃OH 1 ml에 溶解시켜 稀釋하여 使用하였다.

③ 發色試藥

a) Diazonium salt의 調製

2.5 g의 Sulffanillic acid를 12.5 ml의 10 % KOH 溶液에 加하고 冷却시킨 後 10 ml의 10 % NaNO₂ 용액을 ice-bath內에서 加한 다음 4 ml의 conc HCl과 蒸溜水 2 ml를 加하면 白色의 Diazonium salt가 沈澱한다. 이 沈澱을 濾別하고 水冷한 물, ethanol, ether 順으로 各各 25 ml씩 洗滌하여 室溫에서 乾燥한다.

b) 發色試藥

8 % Na₂CO₃에 Diazonium salt를 0.1 % 溶解한 것. (但 每回新調)

c) Capsaicin 標準溶液의 standard curve의 設定

① 吸光度 測定

5 ml의 Volumetric flask에 前記한 標準溶液 1 ml(70 μg/ml)를 加하고 發色試藥 0.5 ml를 加한 後 70 %-CH₃OH 溶液으로 正確히 5 ml가 되게 한 다음 1 cm Cell에 取하여 Beckman DK-2 Spectrophotometer에서 absorbance를 測定한 결과 Fig. 1과 같이 480 mμ에서 maximum absorbance를 얻었다.

② Standard Curve의 作成

各 濃度別로 稀釋한 Capsaicin 標準溶液을 吸光度 測定時와 같은 方法으로 各各 5 ml의 volumetric flask에

냉고 발색試藥 0.5 ml를 加하여 發色시킨 後 absorbance를 測定하여 plot하고 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 60 $\mu\text{g/ml}$ 와의 absorbance를 連結하여 Fig. 2와 같은 standard curve를 얻었다.

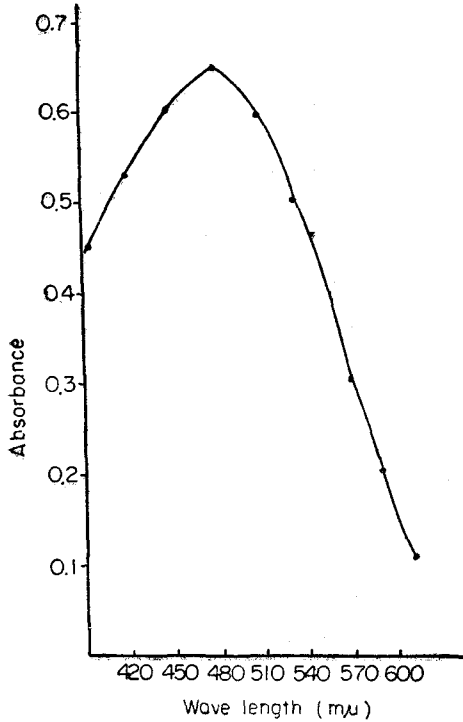


Fig. 1. Absorption curve of ethanol solution of Capsaicin-diazonium salt.

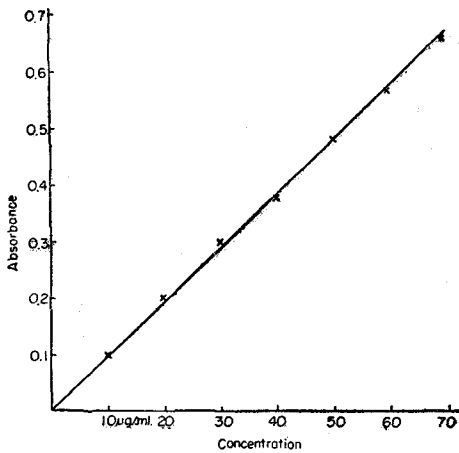


Fig. 2. Calibration curve for determination of Capsaicin

D) Thin Layer Chromatography에 依한 高추장 溶媒抽出物로부터 Capsaicin의 分離.

① T. L. C. Plate의 製作 :

蒸溜水 50 ml를 80°C로 加熱하여 Starch 0.5 g을 溶解시키고 常溫으로 冷却하여 Kiesel gel G 25 g을 均一하게 分散시킨 다음 薄層製作器에서 20 cm×5 cm Plate에 0.4 mm두께로 coating하여 室溫에서 乾燥하고 105 °C에서 30分間 活性化하여 使用하였다.

② 展開溶媒別 分離能

高추장의 溶媒抽出液을 front line에 0.2 ml spot하여 密閉된 cylinder 內에서 一次元上昇法으로 展開距離가 15 cm되게 展開시킨 後 發色劑를 spray하여 R_f 值를 計算하면 Table 1과 같다.

Table 1. R_f values of capsaicin developed by a few kinds of developer.

No.	Composition	R_f	Remarks
1	58%—Ethanol	0.95	
2	Ether:Petroleum ether:H ₂ O (10:1:1)	0.98	
3	Petroleum ether: Ether (99:1)	0.06	
4	CH ₃ OH: Acetone:H ₂ O (50:10:40)	0.93	
5	CH ₃ OH: Acetone:H ₂ O (50:5:45)	0.89	**

高추장의 溶媒 抽出物中에는 carotinoid 色素, 油脂分 sterol, amino酸, 樹脂分等과 같은 多様な 成分을 이루고 있으므로, 純粹하게 Capsaicin을 分離시키기 爲하여서는 他成分과 크게 R_f 值 差가 나타나는 展開溶媒를 選擇하여야 한다.

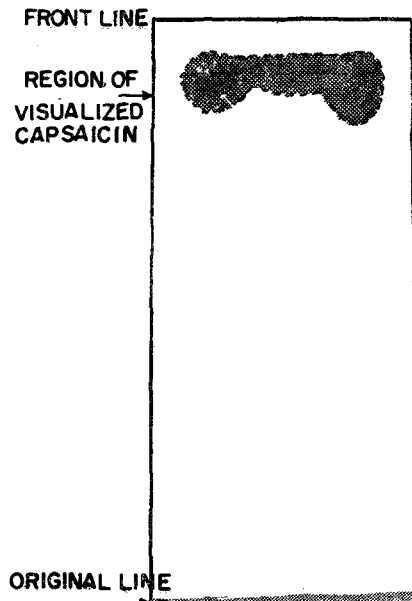


Fig. 3. Capsaicin separation from extract from hot pepper paste by T. L. C.

따라서 本實驗에서는 40餘種의 展開溶媒에 對하여 Capsaicin의 分離能을 調査한 結果 Table 1에서 表示한 展開溶媒가 比較의 分離能이 良好함이 認定되어 다시 이 中에서 가장 優秀한 分離能에 있는 溶媒를 選定코자 實驗한 結果 ⑤의 溶媒 組成인 $\text{CH}_3\text{OH}:\text{Acetone}:\text{H}_2\text{O}$ (50:5:45)가 고추장의 溶媒 抽出液으로부터 Capsaicin을 分離하는데 가장 좋은 效果를 얻었으며 圖示하면 Fig. 3과 같다.

E) Recovery test:

고추장의 溶媒抽出物 0.2 ml를 micro pipette에 取하여 T. L. C. plate의 下端으로부터 2cm 距離인 original line에 線狀으로 spot하고 Capsaicin 標準溶液을 加하여 展開시키고 展開距離가 15 cm 되었을 때 常溫에서 乾燥시켜 front line으로부터 5 cm 部分을 얇은 spatula로 긁어서 elution column에 넣어 70% CH_3OH 溶液으로 溶出한 液을 5 ml에 volumetric flask에 넣고, 發色試藥 0.5 ml를 加한 後 standard curve 作成時와 같은 方法으로 absorbance를 測定하여 Table 2와 같은 結果를 얻었다.

Table 2. Recovery test of Capsaicin

Amount of extract from hot pepper paste(ml)	Added Capsaicin ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Measurement ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Recovery yield (%)	Average (%)
0.20	0	17.5		97.52
0.20	10	27.2	98.16	
0.20	20	36.4	97.05	
0.20	30	46.2	97.36	

(F) 고추장中的 Capsaicin 定量

고추장 約 25 g을 正確히 beaker에 秤量하고 蒸溜水 25 ml를 加하여 濃狀이 되도록 分散시킨後 吸引濾過하여 濾紙上의 殘渣를 蒸溜水 25 ml로 洗滌하고 圓筒濾紙에 넣어 Soxhlet 抽出器에서 acetone:ether (1:3)의 混合溶媒로 赤色이 없어질 때까지 抽出하였다.

이 抽出液을 減壓下에서 溶媒를 溜去하고 50 ml separatory funnel에 옮겨 CCl_4 5 ml로 2回 抽出한後 吸引濾過時의 濾液을 50 ml Separatory funnel에서 CCl_4 5 ml로 2回 抽出하고 이 두 液을 合쳐 25 ml Volumetric flask에 넣어 CCl_4 로 標線까지 채운다.

이와 같은 方法으로 各 時間別로 묶은 고추장에 對하여 檢液을 調製한 後 T. L. C. 로 分離하고 recovery test에서와 같은 方法으로 absorbance를 測定하여 standard curve 濃度を 換算하고 回收率을 加算하여 Table 3와 같은 結果를 얻었다.

Table 3. Capsaicin content of red Pepper Paste and roasted red Pepper Paste

Roasting time of red pepper paste(min)	Content		
	Moisture (%)	Capsaicin content of red pepper paste (%)	Capsaicin content of red pepper paste(dry base) (%)
0	41.9	0.120	0.207
5	36.2	0.106	0.166
10	27.1	0.063	0.088
15	21.2	0.054	0.069

III. 結論 및 考察

1) 고추장中에는 鹽分, 糖分, 등이 存在하므로 溶媒의 抽出이 不可能하였으나 水洗하여 吸引濾過하므로써 Capsaicin의 溶媒抽出이 可能하였다.

2) 고추장의 溶媒抽出物에는 水分이 含有되어 있으므로 CCl_4 로 抽出하므로써 水分과 分離할 수 있었다.

3) 고추장의 溶媒抽出液에서 Capsaicin의 分離時 T. L. C. 展開溶媒로서는 Acetone: $\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ (5:50:45)의 三成分系가 Capsaicin을 極히 純粹하게 分離하는 結果를 얻었다.

4) 고추장을 묶을 때 加熱時間 變化에 따라 Capsaicin의 含量이 減少함을 알수 있었으며 특히 水分의 蒸發量과 反比例하여 Capsaicin의 含量이 減少하는 것은 Capsaicin이 昇華性이 있으므로 水分과 함께 蒸發減少되거나, Capsaicin의 融點 似上의 溫度로 加熱하였으므로 Capsaicin이 熱分解되어 다른 變異體를 만들었거나 파괴되어 辛味成分이 減少된 것으로 생각된다.

5) 本實驗 結果로서 家庭에서는 고추장 調理時 長時間 加熱하거나 너무 높은 溫度에서 調理하는 것은 고추장中的 Capsaicin의 減少를 가져오는 것을 알수 있었다.

6) Thin Layer Chromatography에 依한 Capsaicin의 分離 即 Carotinoid 色素와의 分離方法을 確立하였고 溶媒 選擇도 아울러 確立하였다.

IV. 參考文獻

- 1) Thresh; *Pharm. J. Trans.*, (3) 7, 21, 259: 473(1876~77); 8, 187(1877~78)
- 2) Nelson; *J. Ind. Eng. Chem.*, 2, 419 (1910)
- 3) Nelson; *J. Am. Chem. Soc.*, 41, 1115; 1472; 2121(1919); 42, 597 (1920)

- 4) Spath Daring; *Ber.*, 63, 737 (1930)
- 5) Wasicky, R. Klen, F., *Festschr. für A., Tschirch.*, 357 (1926)
- 6) Forder, K. V.; *Z. Untersuch Lebensm.*; 61, 94 (1931)
- 7) Hyden & Jordan; *J. Am. Pharm Assoc.*, 30, 107 (1941)
- 8) Schenk, G.; *Dtsch. Apoth Ztg.*, 94, 970 (1954); *Anal. Abstr.*, 2, 453 (1955)
- 9) Folin & Denis; *J. Biol. Chem.*, 12, 239 (1912)
- 10) Schulte, K. E., & Krüger, H. M., *Z. Anal. Chem.*, 147, 266 (1955)
- 11) Berka, A. & Zyka, J.; *Ceskosl. Farmac.*, 4, 225 (1955); *Anal. Abstr.*, 3, 521 (1956)
- 12) Spanyol, P, Kevei, E., and Kiszal, M.; *Acta Chim, Acad, Sci, Hung.*, 11 137 (1957); *Anal. Abstr.*, 5, 1337 (1958)
- 13) 小管貞良, 稻垣幸男, 日本農藝化學會誌, Vol 36, P251~254 (1962)
- 14) 小管貞良, 稻垣幸男; 西邦美智雄, ; 日本農藝化學會誌, Vol 33, P915 (1959)
- 15) 高東成; 고추 辛味成分에 관한 研究. (서울大 大學院 碩士學位 論文): 1959.
- 16) 朴性五; 고추 中の Capsaicin 定量에 관한 研究(서울大 大學院 碩士學位 論文); 1961
- 17) Paul H. Todd: *Food Technology*, Vol 15-5 1961
- 18) M. S. Karawya; S. I. Balba, A. N. Girgis, and, N. Z. Youssef: *The Analyst Vol 92. P581. (1967)*