

# 生物體로부터 天然化合物 抽出에 관한 研究

## 第 1 報 치자(梔子)로부터 치자색(Orange-Yellow) 색소의 抽出에 관한 研究

柳洲鉉 · 洪允命\* · 劉承坤\* · 金有三

延世大學校 理工大學 食品工學科 · 化學工學科\*

(1973년 8월 18일 수리)

## Studies on the Extraction of Natural Compounds from Plants and Microorganisms

### Part 1. Extraction of Orange-Yellow Pigment from Gardenia

by

Juhyun Yu, Yun Myung Hong,\* Seung Kon Yoo,\* Yu Sam Kim

*Department of Food Engineering, Department of Chemical Engineering,\*  
Yonsei University, Seoul*

(Received August 18, 1973)

### Abstract

The extraction mode of orange-yellow pigment from Gardenia is depended upon the extraction time, extraction temperature and volume of solvent.

The amounts of the extracted-pigment (C) is proportional to the  $\log \theta^{1.15}$  of extraction time ( $\theta: 0 \sim 60$  min.), the  $\log T^{3.73}$  of extraction temperature ( $T: 5 \sim 60^\circ\text{C}$ ) and the  $\log S^{3.7}$  of volume of solvent ( $S: 5 \sim 50\text{ml}$ ) at  $18^\circ\text{C}$  for 10 minutes.

Finally, the general emperical equation was derived as follows:  $C = 1.15 \log \theta + 3.73 \log T + 3.7 \log S - 7.0$

### 緒 言

오늘날, 음식물의 着色劑, 添加劑 등의 역할로서 合成色素가 많이 개발되고 있다. 그러나 그중에는 毒性을 含有하고 있는 것도 있어 社會의 物의를 일으키는 일이 왕왕 발생하여 各國은 食品衛生法을 제정하고 定全性 검토에 주력하고 있는 실정이다.

安達高治<sup>(1)</sup>氏에 의하면 一般的으로 合成色素와의 비교에서 天然物로부터의 色素 抽出은 含有量이 小量이

지만 맛과 냄새가 있고 毒性이 적으며 특히 添加나 着色의 경우 法的으로 使用量의 제한 외에는 다른 規制를 받지 않고 있음을 밝혔다.

1920年代 P. Karrer,<sup>(2)~(6)</sup> Harry Salomon 등은 Safran 色素에 관한 연구를 하던 중, Crocin은 Crocetin의 digentiobiose ester 化合物로 Safran 및 Gardenia (치자)에 存在하고 orange-yellow 色을 띄우고 있음을 밝혔다. Kozo Miki<sup>(8)</sup> 등과 함께 그 構造式을 규명한 바 있다. 그후 Kuhn, Winterstein<sup>(7)</sup> 및 Reichstein<sup>(8)</sup>등이

Crocin 의 순수分離를 위하여 노력하였으나 그외의 자세한 特性은 別로 연구되지 않았으며, 치자에서의 色素抽出法에 관한 理論的 研究는 아직까지 行해지지 않고 있다.

本 實驗은 1) 치자 열매로부터 orange-yellow 色素 抽出機構 (mechanism)의 基本的 理論을 규명, 2) Plant design 의 基礎的 data 를 제시하기 위한 最適條件의 決定 등을 目的으로 研究되었다.

實驗 材料 및 方法

1. 材 料

實驗에 공급된 치자는 慶南 南海島産으로 水分: 5.54 1wt%(110°C 常壓乾燥減量法), 脂肪: 14.9wt%를 含有하고 있었다. 試料는 잘 乾燥하고 그후 mortar 로 微碎한후 24mesh (Tailor style)의 체로 체질한 가루를 使用했으며, 이때 열매의 表皮에서도 상당량의 色素 抽出이 있으므로 함께 分碎한 것을 材料로 하였다.

2. 方法

色素 抽出은 치자분말 0.1g 을 精密天秤(Unimatic CL X4)으로 正確히 秤량, 잘 洗滌 乾燥한 시험관에 넣고 20ml 의 물을 加하여 恒溫槽內에 정치한 후, 常溫(18°C)에서 10分동안 色素 抽出을 行함을 基本으로 하였고, 抽出時間(θ), 抽出溫度(T), 抽出溶媒量(S)을 變化시키면서 最適條件을 조사했다. 色素 抽出量은, 물로 추출한 치자色素溶液을 Beckman grating spectrophotometer DB-G를 使用하여 UV-absorption spectrum 을 分別定量하여 本 結果 Fig. 1에 表示된 바와 같이 448mμ에서 λmax를 나타냈으므로, UV-Spectrophotometer (Hitachi model 101)을 利用하여 抽出溶液의 O.D448mμ을 測定하여 換算하였다.

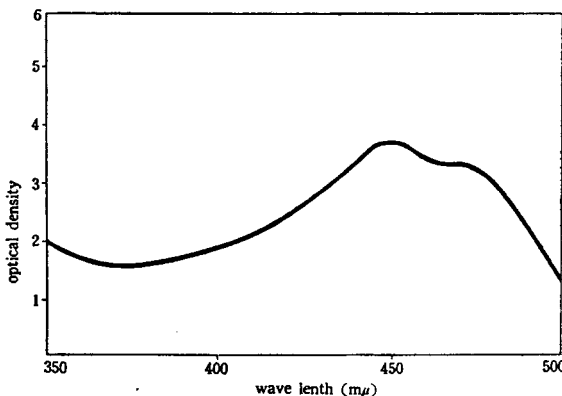


Fig. 1. UV absorption spectrum of the extracted orange-yellow pigment from natural Gardenia. Solvent: water

結果 및 考察

1. 溶媒選定

치자色素를 抽出하기 위한 溶媒를 選定함에 있어서 常溫(18°C)에서 여러 溶媒를 使用하여 한 時間 동안의 色素抽出을 行한 다음 定量하여 本 結果는 Table 1과 같으며, acetone, benzene, ether 의 溶媒로서 抽出된 色素의 O.D 448mμ은 0.178 以下 이었으나 -OH基를 갖고 있는 물, methanal, ethanol 을 使用時는 上記 溶

Table 1. The amounts of extracted orange-yellow pigment from natural Gardenia by using of various solvents

Solvent	Water	Methanol	Ethanol	Acetone	Benzene	Ether
Absorbancy (O.D448mμ)	4.71	6.10	1.02	0.178	0.027	0.032

Sample 0.1g, Solvent 20ml, for 60min, at 18°C

媒의 5倍 以上인 1.02를 훨씬 능가하고 있다. methanol 인 경우는 6.10으로서 가장 우수한 抽出效果를 보였다. 그러나 이 實驗에서는 물을 溶媒로 選定했다. 또한 精製하지 않고 抽出한 原液狀態를 測定하였으므로 Crocin 만이 아닌, 여러 물질이 混合된 orange-yellow(치자色)色素가 抽出되며 그 抽出量은 抽出溶液의 吸光度를 測定하

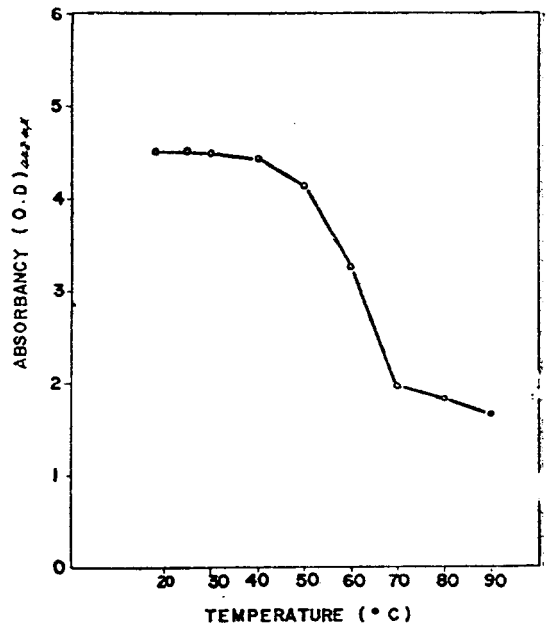


Fig. 2. Heat-stability curve of the extracted orange-yellow pigment from natural Gardenia. Exposure of sample solution for 10 min., at each temperature

여 換算하기로 하였는 바 最高 吸光度를 보이는  $\lambda 448m\mu$  을 分析波長(analytical wave length)으로 決定하였다. 이하의 實驗은  $\lambda 448m\mu$  을 基準으로 測定한 것이다.

2. 抽出 Orange-Yellow 色素의 熱 安定性

色素 抽出 溶液의 溫度 上昇에 따르는 熱 安定性을 검토하기 위하여 0.1g의 試料에 20ml의 溶媒를 加한 후 18°C에서 1시간 抽出한 溶液을 各 溫度에서 10분씩 정지했다가 O.D 448m $\mu$ 의 變化를 測定한 結果는 Fig. 2와 같다. 비교적 40°C 以下에서는 安定하나 50°C 以上에서는 원래 色素의 O.D 448m $\mu$  보다 현저하게 감소했다가 70°C 以上에서는 서서히 감소했는데 이것은 차자의 주 성분인 Crocin 및 다른 여러 유기물질의 構造에서 二重 結合이 酸化에 의해 物質變性을 일으켜 orange-yellow 色素가 他物質로 變했기 때문에 나타나는 現象이라 生 覺되며 이러한 結果는 抽出溫度를 너무 높이지 말것을 示唆하고 있다.

3. 色素抽出에 대한 抽出時間의 영향

試料 0.1g에 20ml의 溶媒를 加하고 溫度를 고정한다 음 抽出時間을 變化시키면서 溶解度를 조사한 結果는 Fig. 3과 같다. 비교적 짧은 시간에서 色素가 抽出됨을 볼 수 있으며 O.D 448m $\mu$ 은 抽出時間의 對數에 비례함 으로 式 (1)과 같은 一次式이 성립되었다.

$$C_{\theta} = 1.15 \log \theta + m \dots \dots \dots (1)$$

$\theta$ : 抽出時間 (0.5~60min)

$C_{\theta}$ : 抽出時間 變化에 따르는 色素抽出量(O.D 448m $\mu$ )

$m$ : 절편값으로서 抽出溫度에 따라 變한다( $\log \theta = 0$ ).

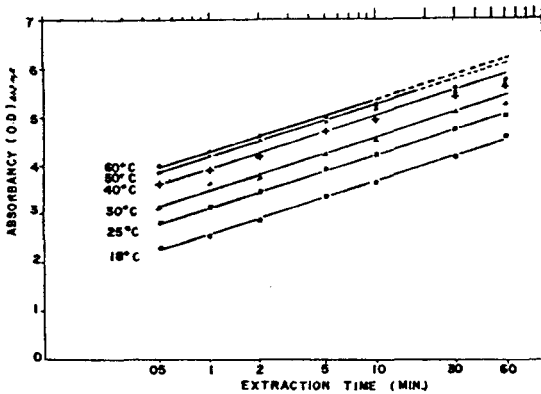


Fig. 3. Effect of time for extraction of orange-yellow pigment from natural Gardenia. Sample 0.1g, Solvent 20ml.

그러나, 40°C 以上에서 抽出時는 抽出時間이 增加함에 따라 色素의 抽出 實驗值가 (1)式에 맞지 않고 약간 減少했는데 이는 色素의 二重結合이 酸化되는 탓이라 생각된다. 이것으로 一定한 時間(약 1시간)이 지나면 色素 抽出은 抽出時間에는 별로 영향받지 않음을 알 수 있

다. 결국 最適抽出時間은 30分間이다.

4. 色素抽出에 대한 抽出溫度의 영향

試料 0.1g에 일정량의 溶媒를 加하고 各 溫度에서 10분 동안 溶解시켜 抽出溫度의 영향을 검토한 結果는 Fig. 4와 같으며 高溫에서 抽出할수록 色素의 많은 抽出量을 얻을 수가 있고 그 量은 기울기 3.73의 抽出溫度의 對數值에 비례하여 一次式 (2)로 表示된다.

$$C_T = m \cdot 3.73 \log T + m' \dots \dots \dots (2)$$

$T$ : 抽出溫度 (5~50°C)

$C_T$ : 抽出溫度에 따른 色素抽出量 (O.D 448m $\mu$ )

$m'$ : 절편값으로서 抽出溶媒量에 따라 變한다 ( $\log T = 0$ ).

그러나, 50°C 以上の 抽出溫度에서 10분 以上 維持시키면 式 (2)에 미달하는 測定值를 보이는데, 이것은 抽出溫度의 限界성과 더불어 앞(Fig. 2)에서 설명했듯 高溫에서 色素 자체의 酸化에 의한 영향으로 看做된다. 實驗에 의한 最適抽出溫度는 40°C가 適當하다.

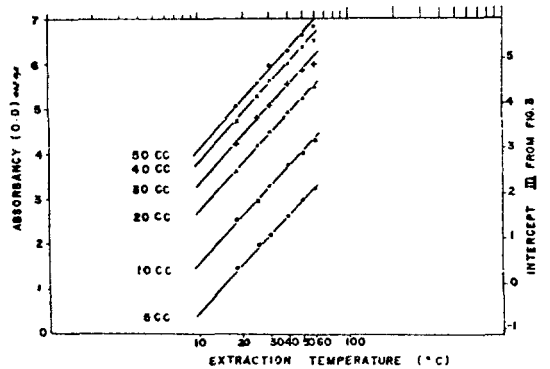


Fig. 4. Effect of temperature for extraction of orange-yellow pigment from natural Gardenia. Sample 0.1g, extraction time 10 min.

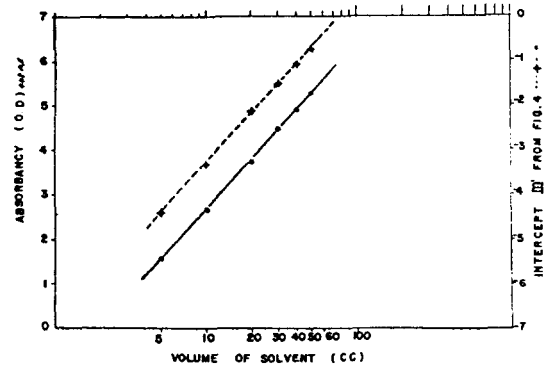


Fig. 5. Effect of volume of solvent for extraction of orange-yellow pigment from natural Gardenia. Sample 0.1g, extraction time 10 min., extraction temperature 18°C.

5. 色素抽出에 대한 抽出溶媒량의 영향

試料 0.1g 에 서로 다른 溶媒量을 加하고 18°C, 10min 동안 抽出하여 orange-yellow 色素 溶解度를 測定 한 다음 溶媒量 變化에 대한 抽出效果를 검토한 結果는 Fig. 5에 나타난 바와 같으며 色素의 抽出量은 溶媒量의 對數值에 비례하였다. 이 結果로서 아래의 같은 式이 誘導되었다.

C<sub>s</sub>=m'≈3.7logS+k.....(3)

S: 抽出溶媒量 (5~50ml)

C<sub>s</sub>: 抽出溶媒量 變化에 따르는 色素抽出量(O.D448mμ)

k: 절편값 (logS=0)

(3)式에서 알 수 있듯이, θ 및 T와 마찬가지로 溶媒量의 增加에 대하여 色素 抽出量은 增加 했으나 試料 0.1g 當 溶媒 50ml 以上이던 거의 增加가 없는 것으로 보아 抽出 溶媒量에도 限界가 있음을 알게 됐다.

以上과 같은 θ, T, S의 變化에 대한 式(1),(2),(3)을 한 式으로 表示하기 위해서는 原點을 一致시켜야 한다. 그러므로 (2)式의 절편값 m'는 실제의 測定值(抽出 時間: 10분)에서 時間을 1분(logθ=0)으로 固定했을 때의 값으로 換算하여, Fig. 3 혹은 (1)式에 의거, O.D 448mμ 1.15 만큼 아래로 平行 移動시켜야 한다(Fig. 4의 右편 y좌표). 또 (3)式의 절편값 k는 抽出時間 1분을 基準하여 -1.15 만큼 移動한 후에 다시 抽出溫度를

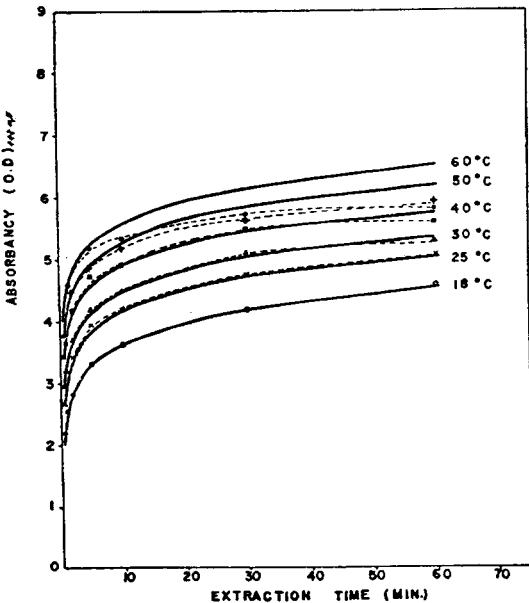


Fig. 6. Comparison of data between the computational curve and experimental curve on time of the extracted orange-yellow pigment from natural Gardenia. —; Computational curve - - -; Experimental curve

1°C(logT=0)로 換算하여 Fig. 4, 혹은 (2)式으로 부터 O.D 448mμ을 -4.68 만큼 移動함으로써, 全體로는 O.D 448mμ가 -5.83 만큼 移動하게 됐다(Fig 5의 右편 y좌표). 이에 따라서 (3)式의 절편 k는 抽出溶媒量을 1ml (logS=0)로 할 때 Fig.5의 右편 座標에 의거 O.D 448 mμ가 -7.0으로 決定된다. 그리하여, 結果적으로 (4) 式과 같은 實驗式을 誘導하였다.

Ctotal≈1.15logθ+3.73logT+3.7logS -7.0...(4) (≈logθ<sup>1.15</sup> T<sup>3.73</sup> S<sup>3.7</sup> -7.0)

한편, (4)式을 變數의 許容限界內에서 電子 計算機 (I.B.M 1130 computing system)에 넣어 計算한 값의 graph가 Fig. 6, Fig. 7에 도시되었다. 이 data로서 任意의 變數 및 條件에서의 測定値는 얼마가 될 것인가를 짐작할 수 있다.

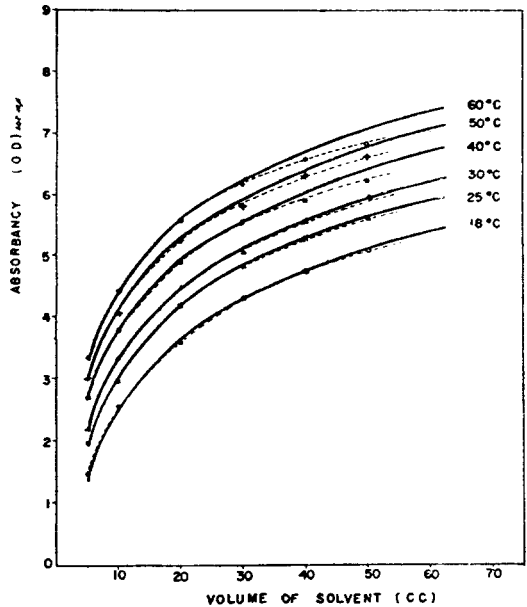


Fig. 7. Comparison of data between the computational curve and the experimental curve on time of the extracted orange-yellow pigment from natural Gardenia —; Computational curve - - -; Experimental curve

結 論

微碎한 梔子粉末에서 orange-yellow 色素를 抽出하면 짧은 時間에서 logθ<sup>1.15</sup>에 比例하였고 最適抽出時間은 30분이 選定되었으며, 溫度가 上昇함에 따라 logT<sup>3.73</sup>에 比例하였고 最適抽出溫度는 40°C가 選定 되었으며, 試料 0.1g 當 溶媒量의 增加에는 logS<sup>3.7</sup>의 色素 抽出量을 나타냈다. 이들을 綜合하여,

C≈1.15logθ+3.73logT+3.7logS-7.0

C : Total amounts of extracted orange-yellow pigment from natural Gardenia.

$\theta$  : Extraction time (0.5~60min)

T : Extraction temperature (5~50°C)

S : Volume of solvent (5~50ml) 와 같은 實驗式을 유도했다.

參考文獻

1) Antatso koji : *New Food Ind. Jap.*, **12**, 77, 24(1970).  
 2) P. Karrer, Harry, Salomon : *Helv. Chim. Acta.*, **10**, 397 (1927).

3) P. Karrer, Harry Salomon : *Helv. Chim. Acta.*, **11**, 513 (1928).  
 4) P. Karrer, Harry Salomon : *Helv. Chim. Acta.*, **11**, 711 (1928).  
 5) P. Karrer, Kozo Miki : *Helv. Chim. Acta.*, **12**, 985 (1929).  
 6) P. Karrer, A. Helfenstein : *Helv. Chim. Acta.*, **31**, 392 (1930).  
 7) Kuhn, Winterstein : *Chemische Berichte*, **67**, 344 (1934).  
 8) Reichstein : *Angew. Chemie*, **74**, 887 (1962).