

〈研究論文(學術)〉

수용성 치자 색소의 추출에 관한 연구

김광수 · 김연중

건국대학교 섬유공학과
(1997년 3월 15일 접수)

A Study on the Extraction of Soluble Colorants of the *Gardenia jasminoides* Ellis

Kwang Soo Kim, Yeon Joong Kim

Dept. of Textile Eng. Konkuk Univ., Seoul, Korea
(Received March 15, 1997)

Abstract— The study was performed to obtain the optimum extraction conditions for crocin from *gardenia fructus*.

Generally crocin is unstable on heat, light, acid and base solution. The extraction efficiency of crocin from *gardenia* depended upon the extraction time, extraction temperature, pH in the extraction bath and the optimum conditions of crocin extraction were determined as 60 minutes of extraction time, 40°C of extraction temperature, pH 7 of extraction bath.

The molar extinction coefficient of crocin was 12,515 and the color yield of purified crocin was about six times higher than that of non-purified crocin. The heat-stability at extraction temperature and light-stability in irradiation with xenon lamp for one hour of the purified crocin were higher than those of non-purified crocin. Intensity of λ_{max} of crocin was decreased by irradiation for one hour but UV-Vis. spectra of crocin was not changed.

The colors of purified and non-purified crocin dissolved with methanol was evaluated by means of CIE $L^* a^* b^*$ system.

1. 서 론

황색을 나타내는 carotinoid계 색소로 꼭두서니과 (*Rubiaceae*)에 속하는 치자나무 (*Gardenia jasminoides* Ellis)의 열매인 치자에 포함되어 있는 cro-

cin은 예로부터 독성이 전혀 없는 천연화합물로서 식품의 착색 및 섬유 염색에 사용되어졌다.

Crocin은 crocetin의 카르복시기에 여러가지 당이 결합된 digentiobiose ester화합물로서 β -carotene의 성분이 지용성인 반면 crocin은 수용성으로¹⁾ orange-

yellow의 색을 띄며, Kozo Miki 등²⁾에 의해 구조식이 발견되었을 뿐만 아니라 Kuhn 등³⁾에 의한 crocin의 순수분리를 위한 연구들이 행해진바 있지만 그밖에 특성에 대한 보고는 별로 없다.

예로부터 치자는 비교적 오래 보관되는 황색색소로서 그리고 여러 가지 약리작용의 효과로 인해 한 방에서 사용하여 왔으며, 오늘날에는 시판 유지식품의 저장성을 높이기 위해 첨가되는 독성이 없는 항산화제로서도 사용이 증가되고 있다⁴⁾.

Carotinoid계 색소는 빛, 열, 공기, 산, 알칼리 등에 불안정하고 변성 및 분해하기 쉬운 물질로⁵⁾ 추출 및 분리, 정제시 불안정성이 증가하고 특히 색소의 변색이 일어나는 경우가 빈번하며, 수용성 색소 특히 치자의 crocin의 경우도 정제시 색소외의 불순물을 제거 분리하기 위해서는 추출용매로 화학약품을 사용하여야 할 뿐만 아니라, 낮은 수율로 인하여 다량의 염재가 소모된다.

본 연구에서는 천연염료의 추출과정에서 crocin 색소의 성질이 변해가는 특성을 고찰하였으며, 정제된 crocin과 많은 불순물을 함유한 비정제 crocin의 열과 빛에 의한 색소 분해 정도를 조사하여 최적추출조건 선정에 의한 추출효과 증진을 목적으로 본 실험을 하였다.

2. 실험

2.1 시료 및 시약

시중 약제상에서 구입한 치자를 표면에 묻은 먼지를 제거한 후 분쇄하여 입자의 크기를 106 μ m 정도의 분말상으로 만들어 사용하였다. Carotinoid류인 치자 색소의 주성분은 crocin으로 구조식은 다음과 같다⁶⁾.

모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

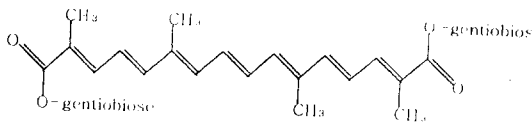


Fig. 1 Crocin($C_{44}H_{64}O_{24}$, Mw ; 976.98, m.p. ; 186 $^{\circ}$ C).

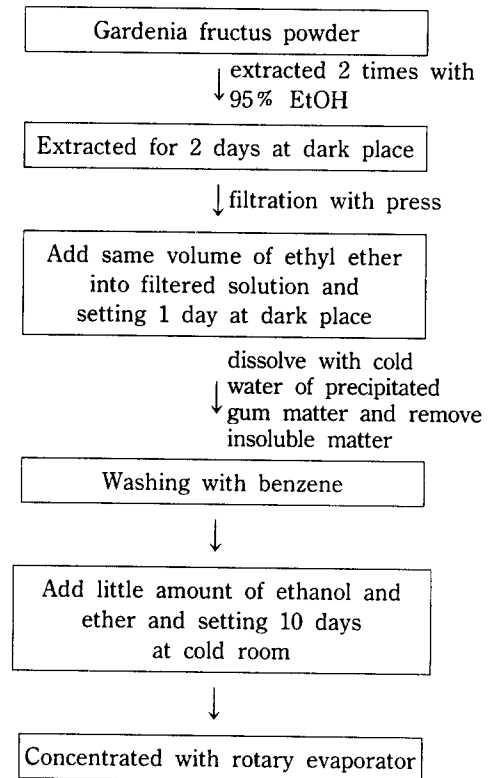
2.2 Crocin의 정제 및 분말화

2.2.1 Crocin의 정제⁷⁾

치자 분말의 2배 가량의 95% ethanol을 가하여 어두운 곳에서 2일간 추출, 여과한 후 그 추출액에 같은량의 ethyl ether를 첨가하여 하룻밤 방치하면 침전물이 생긴다. 이 침전물을 냉수로 녹인 다음 불용성 물질을 제거하고 benzene으로 수세하였다. 여기에 다시 소량의 ethyl ether를 가하여 냉장상태로 10일간 방치한 후 rotary evaporator를 이용하여 농축하고 동결 건조하였다.

2.2.2 Crocin의 분말화

농축치자 색소 용액을 deep freezer(-70 $^{\circ}$ C)로 냉동시킨후 동결건조기로 건조하여 치자색소를 분말화하였다.



Schem 1. The purification of crocin from gardenia fructus.

2.3 Crocin의 추출시험

2.3.1 수용성 색소 추출

치자분말 0.2g에 200cc의 증류수를 가하여 추출 시간, 온도 및 pH 변화에 따른 색소추출량의 변화를 조사하였다.

2.3.2 유기용제에 의한 색소 추출

치자 분말 0.1g을 methanol, ethanol, acetone, benzene, petroleum ether 등의 용제 각 50cc로 60분 동안 상온에서 처리하여 치자 색소를 추출하고 추출 상태를 알아 보기 위하여 6분 간격으로 추출액의 흡광도를 측정하여 색소추출량을 알아 보았다.

2.3.3 Crocin의 광안정성⁸⁾

Crocin 색소용액을 마개 달린 석영시험관에 넣어 Xenon lamp fade-o-meter(Atlas Electric Device)에서 기내온도 40℃로 유지하면서 시간별 색소용액의 흡광도 변화에 따른 색소잔존율을 구하여 색소의 광안정성을 측정하였다.

$$\text{색소의 잔존율} = \frac{A_{(430)} \text{ at time } t}{A_{(430)} \text{ at time } 0} \times 100$$

$A_{(430)}$: Absorbance at 430nm

2.4 FT-IR, UV-vis. spectrum 분석 및 색차 측정

각 정제법에 의하여 정제한 crocin 및 정제하지 않은 crocin을 FT-IR spectrophotometer를 이용하여 각각의 구조를 확인하였으며, UV-vis spectrum으로부터 crocin의 λ_{\max} 을 구하였다.

색차는 color eye(Macbeth사제 Optiviw 3100)를 사용하여 CIE L*a*b*표색계에 의한 methanol 용해시 purified crocin(이하 Crocin I), non-purified crocin(이하 Crocin II)의 사용 농도에 따른 색상의 변화를 측정하였다.

2.5 Crocin의 색가 측정⁹⁾

Crocin의 양에 따른 색가를 측정하기 위하여 추출 용매를 reference로 하여 1,000배로 희석한 추출액의 최대흡수파장에서의 흡광도를(UV-Vis. spectro-

meter Shimadzu 160-A, 일본) 측정하여 다음의 식에 의하여 색가를 산출하였다.

$$\text{색가} = \frac{A \times 1000}{\text{시료 채취량(g)}}$$

A : Absorbance

3. 결과 및 고찰

3.1 Crocin 색소의 확인

정제 crocin과 비정제 crocin은 모두 3400cm^{-1} 근처에서 hydroxy기가 1630cm^{-1} 부근에서 conjugated ester band가 나타나고 있으며, $1300\sim 1100\text{cm}^{-1}$ 에서 side branch의 methyl기가 보여진다.

정제 crocin과 비정제 crocin을 모두 methanol에 용해하여 UV-Vis. spectrophotometer에 의하여 분석하면 432nm에서 최대흡수파장을 나타내는 황색 색소임을 확인할 수 있다.

정제된 crocin을 $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{H}_2\text{O}(15 : 10 : 2.5)$ 의 전개액에서 TLC로 분석하면 Rf값은 0.6인 단일 spot를 나타내고 있다.

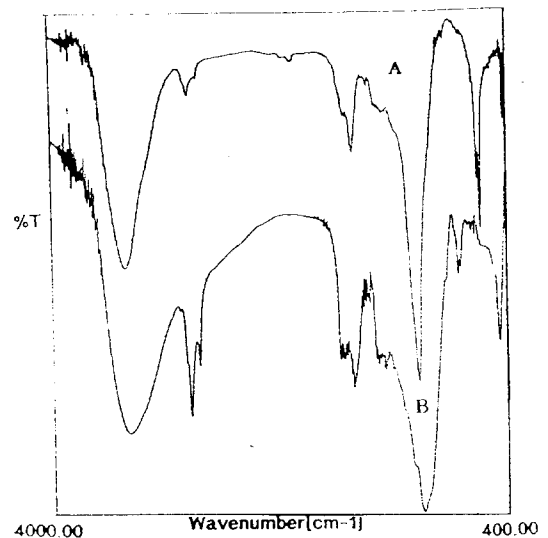


Fig. 2 FT-IR spectra of crocin ;
A ; Crocin I , B ; Crocin II.

3.2 Crocin의 최대흡수파장과 몰흡광계수

치자의 수용성 색소인 crocin의 methanol 용해시의 최대흡수파장(λ_{max})과 몰흡광계수(molar extinction coefficient)는 Table 1과 같다. Crocin의 최대흡수파장은 물추출시 440nm~442nm, methanol 추출시는 430nm~432nm에서 나타난다.

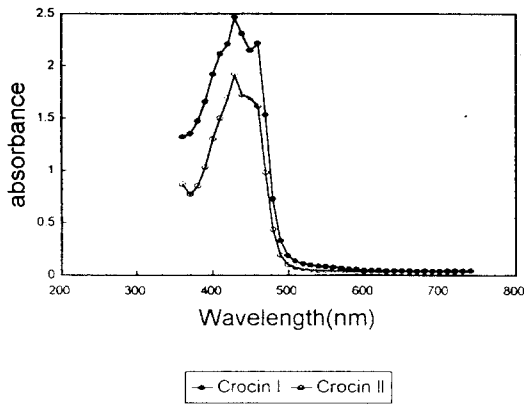


Fig. 3 Uv-vis. spectra of crocin dissolved with methanol

정제 crocin과 비정제 crocin은 최대흡수파장(λ_{max})이 변하지 않는 동일한 황색으로 발색되며, 몰흡광계수는 정제 crocin의 경우 12,515로 비교적 높은 값을 나타내고 있다.

Fig. 4는 Crocin I의 검량선이다.

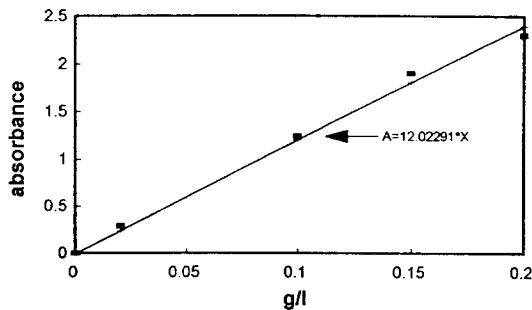


Fig. 4 Calibration curve of the Crocin in methanol

Table 1. λ_{max} and molar extinction coefficient of crocin in methanol

| Crocin | λ_{max} (nm) | Molar extinction coefficient |
|----------|----------------------|------------------------------|
| Crocin I | 432 | 12,515 |

3.3 온도, 시간 및 pH에 의한 추출량 변화

3.3.1 온도 및 추출 시간의 영향

Fig. 5에서와 같이 치자의 수용성 색소인 crocin은 1시간 추출시 40°C에서 가장 높은 광학밀도를 나타내며, crocin의 λ_{max} 은 440nm이다. 추출온도 60°C에서 30분 추출시의 광학밀도값은 40°C에서 1시간 추출한 추출액의 광학밀도 값과 같게 나타나므로 60°C에서의 crocin 추출은 추출시간을 단축할 수 있다.

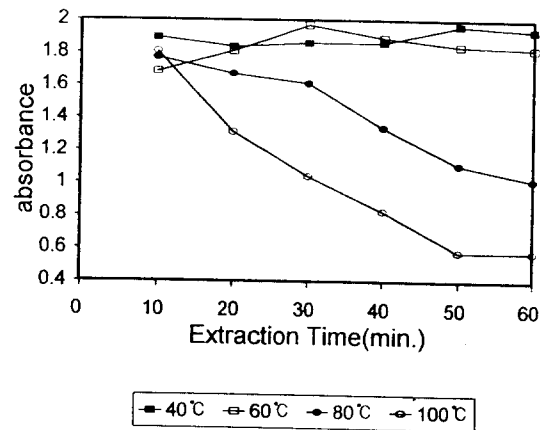


Fig. 5 Optical density of extracted crocin according to extraction temperature and extraction time.

80°C와 100°C에서의 추출은 10분안에 최대 광학 밀도값을 나타내며 시간이 경과할수록 추출량은 급격히 저하하고 있다. 즉, crocin 색소는 40°C와 60°C에서 비교적 안정하지만, 80°C와 100°C에서의 추출은 시간이 경과함에 따라 급격한 색소의 분해를 일으키고 있음을 확인할 수 있었다.

이것은 치자색소의 주성분인 crocin 및 다른 여러 유기물질의 구조에서 이중결합이 구조적 변화를 일으켜 색소가 다른 물질로 변하기 때문에 나타나

는 현상으로 추측할 수 있으며, 이때 추출액의 λ_{max} 가 Fig. 6에서와 같이 추출시간이 경과함에 따라 단파장측으로 이동하는 것으로 보아 이를 확인할 수 있다.

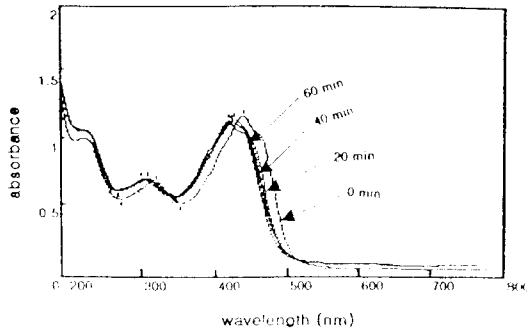


Fig. 6 Uv-Vis. spectra of Crocin II extracted by water at 100°C

Crocin I 과 Crocin II 의 열에 의한 안정성을 온도별로 시간에 따른 색소잔존율을 측정함으로써 색소의 분해율을 조사하였다. Table 2에서 보는 바와같이 Crocin I 과 Crocin II 는 상온과 40°C에서 거의 안정하며 분해율도 큰 차이가 없으나, 추출온도가 60°C로 상승하면 Crocin II 의 분해율이 급격히 증가한다. 이는 온도가 높아지면서 비정제 crocin에 포함된 불순물들이 색소분해를 더욱 가속화시키는 것으로 생각된다.

$$\text{색소분해율} = \frac{A_{(430)} \text{ at time } 0 - A_{(430)} \text{ at time } t}{A_{(430)} \text{ at time } 0} \times 100$$

으로 계산하였다.

3.3.2 pH에 의한 영향

치자의 수용성 색소는 일반적으로 pH 4~5 정도의 약산성을 띠며, Fig. 7에 나타난 바와 같이 중성육인 pH 7에서 가장 높은 색소추출값을 나타내고 있음을 알 수 있다. 치자 색소인 crocin은 강산성하에서는 색소추출량의 저하와 색소의 변성이 일어나기 쉬우며, 색소가 완전히 분해를 일으켜 최대흡수 peak가 사라지므로 강산의 사용은 피하여야 한다.

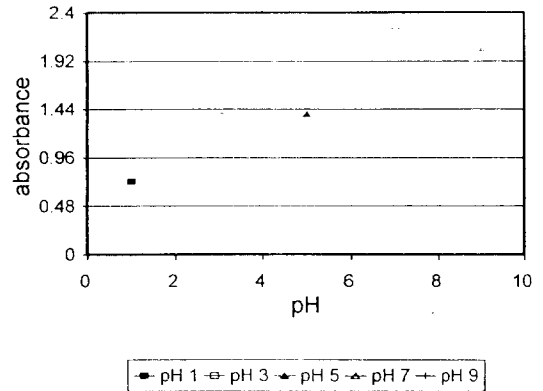


Fig. 7 Effect of pH for extraction of crocin from gardenia fructus.

Table 2. Degradation ratio according to extraction temperature of Crocin I and Crocin II

| Temp. | RT | | 40°C | | 60°C | | 80°C | | 100°C | |
|-------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|
| | Crocin I | Crocin II | Crocin I | Crocin II | Crocin I | Crocin II | Crocin I | Crocin II | Crocin I | Crocin II |
| 10min | 0.26 | 0 | 0 | 0 | 1.30 | 0.84 | 3.06 | 3.30 | 4.11 | 7.21 |
| 20min | 0.44 | 0 | 0.62 | 0.22 | 1.64 | 1.90 | 3.13 | 5.76 | 6.08 | 27.39 |
| 30min | 0.53 | 0 | 1.23 | 0.56 | 2.90 | 4.64 | 4.55 | 8.97 | 6.76 | 42.45 |
| 40min | 0.53 | 0 | 1.32 | 0.56 | 2.07 | 8.23 | 4.70 | 24.32 | 6.85 | 54.23 |
| 50min | 0.53 | 0 | 1.23 | 0.72 | 2.33 | 10.00 | 4.86 | 37.25 | 6.59 | 67.96 |
| 60min | 0.88 | 0.83 | 1.58 | 1.67 | 2.50 | 14.00 | 5.49 | 42.38 | 5.57 | 68.07 |

3.4 유기용제에 의한 색소추출

유기용제에 의한 *Gardnia jasminoides*의 crocin 추출용액의 최대흡수파장은 methanol과 ethanol에서는 432nm 근처에서 나타나며, acetone, benzene, petroleum ether와 같은 용제에서는 거의 색소가 추출되지 않아, crocin 추출은 polarity가 강한 용제 즉, 물이나 methanol을 사용하는 것이 가장 바람직하다. Fig. 8에서와 같이 증류수에 의한 추출시 440 nm에서 최대흡광 peak를 갖는 crocin은 매우 짧은 시간안에 추출이 이루어지나, methanol에 의한 추출은 시간이 경과함에 따라 추출량이 계속 증가하여 가장 우수한 추출 효과를 나타내고 있다.

Crocin II의 증류수에 의한 추출은 다른 유기용제 사용시 보다 많은 부유물이 존재하며 이는 치자의 색소성분과 함께 섬유질을 포함한 여러 물질이 동시에 용해되기 때문이라고 생각된다.

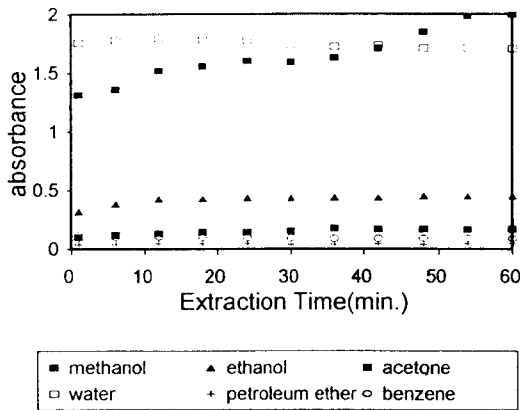


Fig. 8 Absorbance at λ_{max} of crocin from *gardnia fluctus* in each solvent.

3.5 Crocin의 광안정성

1시간 조사후 Crocin I과 Crocin II의 색소잔존율을 살펴보면 Crocin I은 57.18%, Crocin II는 46.97%로 높은 분해율을 나타내고 있으며, Crocin I이 Crocin II에 비하여 광분해 속도가 느린 경향을 나타내고 있다. Crocin I과 Crocin II 모두 조사 30분경부터 흡수강도는 현저히 저하되지만 1시간 동안 광조사에 의한 wavelength의 shift는 보이지

않았다.

3.6 Crocin의 색가

Crocin I과 Crocin II는 색가가 색소량에 비례하지는 않았으며 Crocin I이 Crocin II에 비해 평균색가가 약 4배 이상 높게 나타나고 있다.

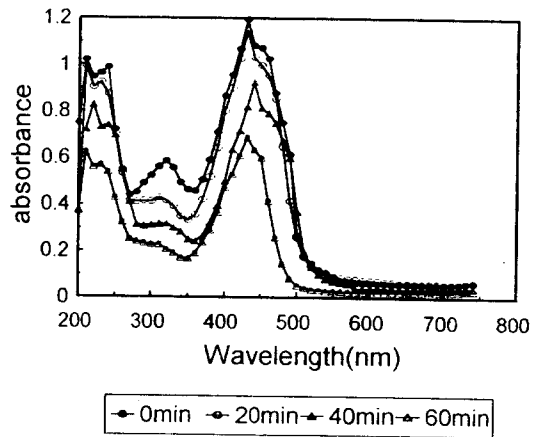


Fig. 9 Variation of UV-Vis. spectra of Crocin I dissolved with methanol by irradiation.

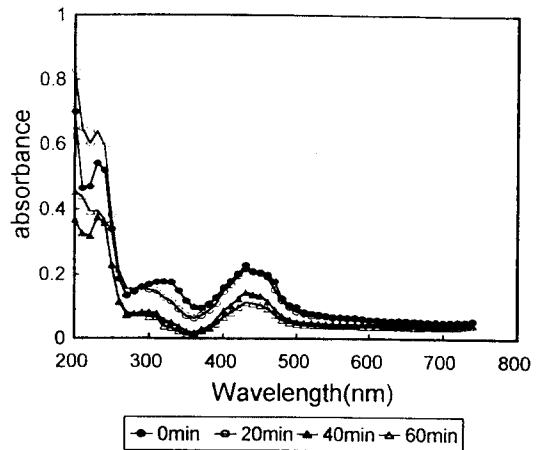


Fig. 10 Variation of UV-Vis. spectra of Crocin II dissolved with methanol by irradiation.

Table 4. Color value of Crocin I and Crocin II

| | 0.01g | 0.05g | 0.075g | 0.1g | \bar{X} |
|-----------|-------|-------|--------|-------|-----------|
| Crocin I | 31.30 | 25.98 | 25.52 | 24.04 | 26.71 |
| Crocin II | 11.00 | 4.98 | 4.90 | 4.52 | 6.35 |

3.7 표면색 측정

Crocin I 과 Crocin II는 색소량 증가에 따라 색농도만이 증가하였으며, Crocin II는 Crocin I의 1/3 정도의 황색 농도를 나타내고 있어 정제처리 전후의 crocin의 표면색은 색상의 변화보다는 색농도를 변화 시키는 것으로 나타나고 있다. 본 실험에서의 methanol 용해시의 Crocin I 과 Crocin II의 표면색은 greenish-yellow이며 색소 사용량을 소량 증가시키는 것으로 색도도상에서의 표면색의 +a (적색방향) 축으로의 이동은 나타나지 않고 있다.

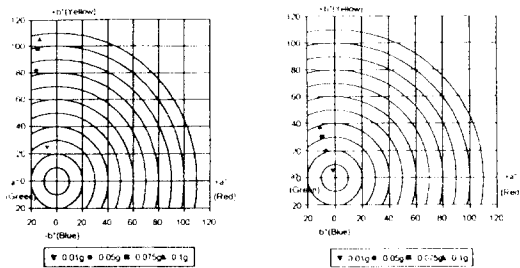


Fig. 11 Color difference diagram of Crocin I and Crocin II.

4. 결 론

치자의 수용성 색소인 crocin의 정제 과정중 특성 변화 및 추출조건이 추출량에 미치는 효과를 중심으로 시험한 결과는 다음과 같다.

1. 정제 crocin의 물흡광계수는 12,515 정도로 비교적 높은 값을 나타내지만, 정제처리 전후의 최대흡수파장은 변화하지 않는 것으로 crocin의 정제처리는 색상 보다는 색의 농도변화에 영향을 미치고 있음을 확인하였다.
2. Crocin의 최적 추출온도는 40°C에서 1시간 이

내로 추출하는 것이 바람직 하며 pH 7정도에 서의 추출효과가 우수한 것으로 나타나고 있다. Crocin의 열에 의한 분해는 정제 crocin과 비정제 crocin 모두 40°C 1시간 동안은 비교적 안정하며, 처리 온도가 높아짐에 따라 비정제 crocin의 분해율이 급격히 증가하는 것으로 나타나고 있다.

3. Crocin은 polarity가 강한 용제 즉, 물이나 methanol에 우수한 추출 특성을 나타내고 있으며, 증류수에 의한 추출은 추출 초기에 이루어지며 추출 효과는 추출시간이 경과함에 따라 methanol이 가장 우수하다.
4. Crocin의 광조사에 의한 색소잔존율은 1시간 조사시 정제 crocin은 57.18%, 비정제 crocin은 46.97%이며, 분해속도는 비정제 crocin이 빠르게 진행됨을 알 수 있으나, 1시간 정도의 조사는 정제 crocin과 비정제 crocin 모두 흡수강도는 저하되지만 λ -maximum peak의 shift는 보이지 않는다.
5. 정제 crocin과 비정제 crocin 모두 색가가 염료량에 비례하지는 않았지만 정제 crocin 26.71, 비정제 crocin 6.35로 정제 crocin이 비정제 crocin 보다 평균 4배 이상 색가가 높게 나타나고 있다.
6. 색소 사용량의 증가에 따라 정제 crocin과 비정제 crocin 모두 표면색의 색농도는 증가하지만 표면색은 greenish-yellow로 나타나고 있다.

참고문헌

1. D. H. Kim, "Food Chemistry", Tamkudang, pp 468~471(1982).
2. P. Karrer, Kozo Miki, "Helv. Chem. Acta.", 12, p 985(1929).
3. Kuhn, R. and Alfred, W., "Ber.", 67B, p344 (1934).
4. Matsushita S., "J. Korean Soc. Food Nutr.", 16, 63(1987).

5. 林孝三, “植物色素”, 養賢堂, pp 205~269(1980).
6. Mieko Kamikura, Keiko Nakazato, “日本 食衛誌”, p 4(1992).
7. 김경완, “조선대학교 대학원 약학 박사 학위 논문”, p 4(1992).
8. 조경래, “J. Korean Soc. of Clothing and Textile” Vol. 13, No. 4, pp 370~379(1989).
9. 谷村顯雄, “天然着色料 ハソドブシク”, 光琳, p 636(1979).