Food Engineering Progress.
Vol. 1, No. 2, pp. 98~102 (1997)

천연 식용 색소 생산 공정의 최적화: I. 잇꽃(Carthamus tinctorius L.)으로 부터 carthamin의 추출

홍성현 · 박승환 · 마상동 · 백영숙* · 한태룡 · 정인식
경희대학교 유전공학과 및 유전공학연구소, *경희대학교 화학과

Process Optimization for the Production of Natural Food Colors: I. Extraction of carthamin from safflower (*Carthamus tinctorius L.*)

Sung-Hyun Hong, Seung-Hwan Park, Sang-Dong Ma, Young-Sook Baik*,
Tae-Ryong Hahn and In-Sik Chung
Department and Institute Genetic Engineering, Kyung Hee University
**Department of Chemistry, Kyung Hee University*

Abstract

To increase carthamin yield by removing effectively safflor yellow, raw safflower was pretreated using freezing & thawing, and sonication. The optimum conditions of the pretreatment for isolation of carthamin were freezing and thawing at -196°C and 4°C, respectively, or sonication at 0°C for 5 min. Hydrogen peroxide as chromogenic inducer was found to be the best at 1 M for stable isolation of carthamin during sonication. The conditions of carthamin extraction were also examined using several alkalic and acidic solutions. Sodium carbonate and acetic acid were the most effective at the concentrations of 0.5 M and 40%, respectively, for isolation of carthamin from safflower. Seventy percent methanol was the best for removing salts from pellets of crude carthamin. Carthamin yield at optimized process conditions was improved about 30%, compared to that of conventional process.

Key words: carthamin, safflower, freezing & thawing, sonication, solvent extraction

서 론

잇꽃(紅花, *Carthamus tinctorius Linne*)은 국화과의 일년초로 6~7월에 황색의 꽃을 피워 점차 적색이 가미된 황적색의 꽃색으로 변화된다. 이집트가 원산지로 세계 각지에 분포되어 재배하고 있으며 응달에서 말린꽃은 약용과 염료로 쓰인다(Ko와 Bae, 1984). 우리 나라에서도 고대부터 조선조까지의 식물염료에 의한 적색계 색소 염료중 가장 대표가 되었고, 조선조에서는 잇꽃을 利市라 하였는데 이는 그 값이 중하다는 뜻이다. 또한 약용으로 어혈제거, 월경불순, 진통, 통경 등의 부인과 질병의 특효약으로 오래 전부터 널리 사용되어 왔다(Kim과 Kim, 1992). 주로 잇꽃의 꽃잎에 존재하는 색소 성분으로는 수용성인 safflor yellow A, B (황색소)와 불용성 carthamin(홍색소)의 두 종류가 함유되어 있다. 그러나 carthamin과 safflor yellow A와 B가 많이 혼합되어 있고 열에 의해 carthamin이 파괴되므로 40°C 이하에서 작업해야 하고 수용상태에서는 매우 불안정하다는 단점이 있다(Sito *et al.*, 1994; Charjan과 Tarar, 1992).

우리나라에서 잇꽃으로부터 홍색소, 즉 연지를 얻기 위하여 전통적인 추출방법을 사용하여 왔다. 잇꽃을 응달에서 잘 말린 후 약 일주일간 물에 불려 놓고 다량의 물로 수용성인 황색소를 제거한 후, 콩깍지나 잇대의 잿물을 부어 붉은 색소를 녹여낸 다음 오미자즙을 넣어 저어서 연지가 가라앉게 한 것이다(이와 김, 1985). 이것은 잇꽃 홍색소 carthamin이 알카리 수용액에서 잘 녹고 산성 수용액에서는 침전되는 점을 이용한 것이다. 그러나 홍색소의 천연 식용색소의 개발과 이용의 관점에서 carthamin의 추출 및 분리에 대한 체계적인 연구는 매우 부족한 실정이다.

본 연구에서는 우리 나라의 전통 토착 색소작물 자

Corresponding author: In-Sik Chung, Department of Genetic Engineering, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea

원에서 부터 천연 식용 색소 생산 공정을 개발하기 위하여 모델 대상인 잇꽃으로 부터 홍색소인 carthamin의 효율적인 추출방법을 검토하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에서 사용된 잇꽃은 경동시장에서 구입한 것으로 4°C에서 냉장보관하여 사용하였으며, sodium carbonate와 potasium carbonate는 Yakuri사 제품을 사용하였고, acetic acid는 Showa 제품을 citric acid는 Sigma사 제품을 사용하였다. Hydrogen peroxide는 Junsei제품을 사용하였으며, hydrochloric acid, sulfuric acid 및 기타 실험에 사용된 시약들은 덕산, 삼전사등 몇몇 회사의 특급 제품을 사용하여 실험하였다.

잇꽃의 전처리

4°C에서 냉장 보관된 잇꽃을 mixer로 10분간 갈아 조직을 충분히 파쇄한 후 시료를 100 g씩 측정하여 사용하였으며, 다량의 물로 세척하여 시료에 존재하는 꽃가루와 황색소를 제거하였다. 충분히 황색소를 제거하고 증류수에 담가 상온에서 overnight하여 조직을 충분히 불린 후 시료를 -196°C 액체 질소, -70°C 냉동고 그리고 -20°C 냉동고에서 각각 24 시간 냉동시켰다. 냉동된 시료를 4°C, 25°C, 50°C로 해동하여 시료에서 용출되는 carthamin의 양을 측정하였다. 또한 냉동과 해동을 반복하여, 반복횟수에 따른 carthamin의 추출정도를 측정하였다.

잇꽃의 조직으로부터 carthamin의 추출을 증가시키기 위해 sonicator (JMU-100SD, Korea)를 이용하여 30 ±5 kHz의 초음파로 20분동안 처리하면서 각각의 온도조건에 따른 carthamin의 추출량을 확인하였다. 또한 chromogenic inducer인 H_2O_2를 농도별로 처리하여 용출된 carthamin의 안정적인 추출조건을 조사하였다.

Carthamin의 추출, 분리 및 농축

수용액상에서 sodium carbonate와 potasium carbonate를 이용하여 각각의 농도별로 carthamin을 추출하고, acetic acid, citric acid, hydrochloric acid, 또는 sulfuric acid 등을 처리하여 acidification한 후, 원심분리기(KUBOTA KR-20000T, Japan)를 이용하여 분리시켜 형성된 pellet을 통해 추출 및 분리 조건의 영향에 대하여 검토하였다. 아울러 잇꽃으로부터 알칼리 추출과 acidification을 통해 얻어진 carthamin pellet을 methanol, acetone, water, ethanol 등을 이용하여 선택적으로 용해되는 정도를 조사하였다. 필요한 경우에는 evaporator (Yamato M-RE-450A, Japan)를 이용하여 30°C에서 carthamin을 농축하였다.

Carthamin의 농도분석

Carthamin의 농도는 UV-visible spectrophotometer (Shimadzu UV-160A, Japan)를 이용하여 521 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 결정하였다(Sito *et al.*, 1992).

결과 및 고찰

잇꽃의 전처리

Freezing & Thawing: 시료속에 존재하는 꽃가루와 수용성 황색소를 꽃잎 조직에서 제거하고 효과적으로 carthamin을 추출하기 위해서 동량의 파쇄된 잇꽃을 -196°C 액체 질소, -70°C 냉동고 그리고 -20°C 냉동고에서 각각 24 시간 냉동시켰다. 그리고 나서 동결된 시료를 4°C, 25°C, 50°C로 해동하여 다량의 물로 세척하여 0.5 M의 sodium carbonate로 녹여 40%의 acetic acid로 acidification하여 521 nm에서 흡광도를 측정하여 본 결과, -196°C에서 냉동하고 4°C에서 해동한 시료로 부터 가장 높은 4.4 mg/mL의 carthamin이 추출되어 이것이 carthamin의 추출에 최적의 조건임을 알 수 있었다(Fig. 1). 또한 -196°C에서의 냉동과 해동 반복 횟수에 따른 carthamin의 추출정도를 조사하였는데 Fig. 2에서 볼 수 있듯이 2회 반복하였을 때, cartha-

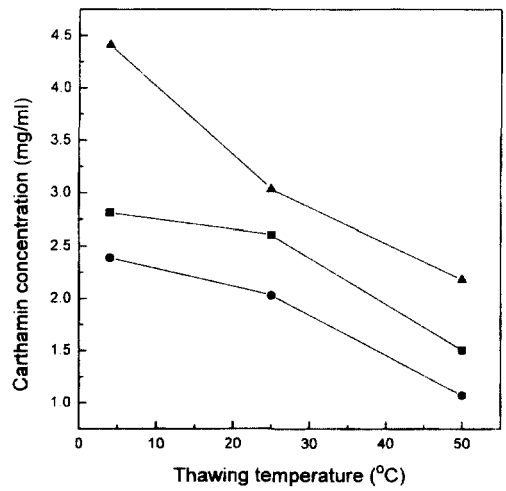

Fig. 1. The effect of freezing and thawing on carthamin extraction. ▲—▲: -196°C, ●—●: -70°C, ■—■: -20°C.

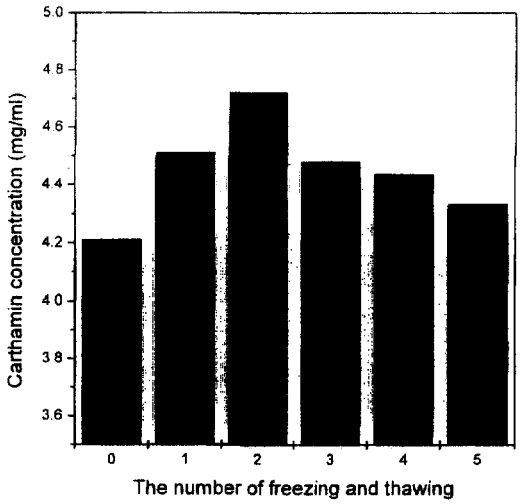

Fig. 2. The effect of repeated freezing and thawing on carthamin extraction.

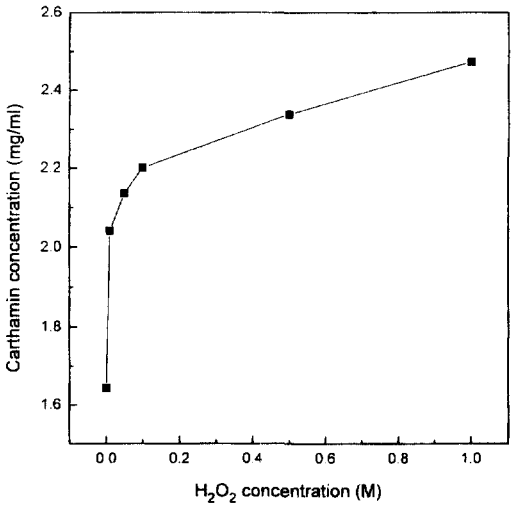

Fig. 4. Effect of H_2O_2 on carthamin extraction during 5 min. sonication at 0°C.

min의 추출량이 가장 많았고 반복횟수가 증가할수록 carthamin의 추출량이 줄어드는 것을 알 수 있었다. 이것은 carthamin이 반복된 냉동과 해동에 불안정하여 조직 밖으로 용출된 carthamin이 파괴되어 추출량이 감소하는 것으로 생각되었다.

Sonication: Sonicator를 이용하여 30±5 kHz의 초음파로 잇꽃조직을 전처리할 때, 각각의 온도와 시간에 따른 carthamin 추출을 조사하였다. 각각의 시료를 0°C, 20°C 그리고 50°C의 온도조건에서 20 분간 sonication하면서 carthamin의 추출량을 흡광도로 측정한

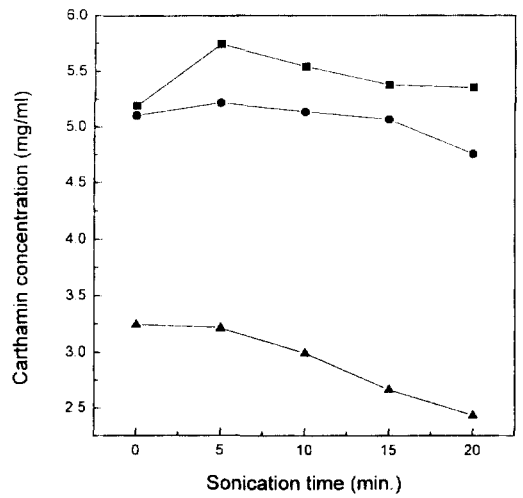

Fig. 3. Effect of sonication on carthamin extraction. ■—■: 0°C, ●—●: 20°C, ▲—▲: 50°C.

결과, 0°C에서 5분간 sonication 하였을 때 가장 좋은 추출 조건으로 나타났다(Fig. 3). 또한 20°C의 경우를 제외하고는 5 분이상 sonication을 하였을 때, carthamin의 추출량이 감소하는 것으로 관찰되었는데 이것은 초음파에 의한 진동에 의해 carthamin 구조의 변형과 온도의 상승으로 용출되어 나온 carthamin이 파괴되기 때문인 것 같다. 따라서 이러한 불안정한 carthamin의 특성에 유의하여 sonication시 chromogenic inducer인 hydrogen peroxide를 첨가하여 잇꽃조직에서 부터 용출되는 carthamin의 안정성을 높일 수 있는 조건을 알아보았다. Hydrogen peroxide의 농도를 0~1.0 M로 변화시키면서 0°C에서 5 분간 sonication 하였다. 그 결과, 1 M의 hydrogen peroxide 농도에서는 hydrogen peroxide를 첨가하지 않은 시료에 비하여 약 50% 이상 carthamin이 안정적으로 추출되었다(Fig. 4). 이것은 다른 초음파 조건(45 KHz 및 25°C)에서 수행한 Saito와 Miyakawa (1994)의 실험결과와 유사한 값을 보여준다.

알칼리 추출

잇꽃의 조직에 존재하는 carthamin은 수용액상에서는 잘 용해되지 않지만 알칼리성용액에 용해되는 특징을 가지고 있다(Saito, 1993). 여러 가지 알칼리성용액 중에서도 carthamin의 추출에 많이 이용되는 Na_2CO_3와 K_2CO_3를 이용하여(Saito와 Mori, 1994) 잇꽃에서부터 carthamin의 추출정도를 조사하였다. 각각의 용액 0.5 M에 동량의 시료를 첨가하여 상온에서 1 시

간 동안 충분히 혼합하여 시료로부터 추출된 carthamin 양을 흡광도로 521 nm에서 측정한 결과 0.5 M의 알카리성 Na_2CO_3 용액을 이용한 시료에서는 carthamin의 추출이 K_2CO_3 용액을 이용한 시료에서 보다 약 2.5배 이상 높게 나타났다. 또한, Na_2CO_3의 농도에 따른 carthamin 추출에 미치는 영향을 알아보기 위해 Na_2CO_3의 농도를 0.01 M~1 M의 범위에서 조사한 결과, Fig. 5에서와 같이 0.5 M의 Na_2CO_3 농도에서 가장 많은 carthamin이 추출되었으며 0.01 M의 Na_2CO_3의 경우에 비해 250% 향상된 값을 나타냈다.

Acidification

잇꽃의 조직으로부터 알칼리용액에 용해된 carthamin은 낮은 pH에서는 안정하지만 높은 pH에서는 불안정한 특징을 갖고 있다(Saito, 1993). 그러므로 산성용액을 처리하여 carthamin을 낮은 pH의 조건으로 전환시켜주는 단계가 매우 중요하다. Carthamin은 이러한 acidification 과정을 통하여 안정적인 홍색을 갖게된다. Acetic acid, citric acid, hydrochloric acid 그리고 sulfuric acid를 동일한 농도로 처리하여 carthamin을 acidification한 결과, acetic acid를 처리한 시료에서 가장 많은 양의 carthamin이 형성되었다. 또한 acetic acid를 40%~100%로 처리하여 acetic acid의 농도에 따른 carthamin 형성을 조사해 본 결과, 40%의 acetic acid를 첨가한 경우에 월등히 많은 carthamin의 형성을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

Solvent의 영향

Carthamin이 용해되어 있는 알칼리용액에 산성용액을 가하여 충분히 섞어준 후, 4°C에서 8~12시간 정도 보관하면 carthamin이 결정으로 침전된다. 이러한 침전물에서 염을 제거하기 위하여 여러 가지 용매를 검토하여 carthamin의 분리 및 추출에 적합한 용매를 선정하였다. Fig. 6에서와 같이 methanol (100%), methanol:acetone (50%:50%), acetone (100%), distilled water (100%) 그리고 metanol:water (70%:30%)를 사용하여 각각의 용매에 carthamin pellet 0.1 g을 충분히 용해시키고 15,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 용매에 용해되지 않은 침전물을 제거하고 상등액을 취하여 521 nm에서 흡광도로 carthamin의 양을 측정하였다. 그 결과, methanol과 water를 70%:30%으로 혼합한 용매가 pellet으로 부터 carthamin의 추출에 적합함을 알 수 있었다. 또한 순수한 methanol의 경우에도 거의 비슷한 양의 carthamin을 녹여 내었다. 그러나 100% water에서는 약 30분이내에 carthamin이 분해되어 황색으로 변색되어 carthamin이 수용액상에서는 불안정함을 알 수 있었다.

최적조건에서의 carthamin 분리

4°C에 보관된 잇꽃을 mixer로 10분간 파쇄하고 과

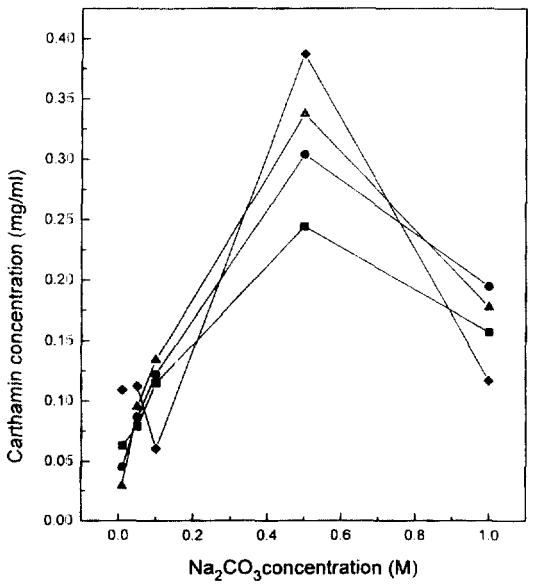

Fig. 5. The effect of Na_2CO_3 on carthamin extraction. ■—■: 100% acetic acid, ●—●: 80% acetic acid, ▲—▲: 60% acetic acid, ◆—◆, 40% acetic acid.

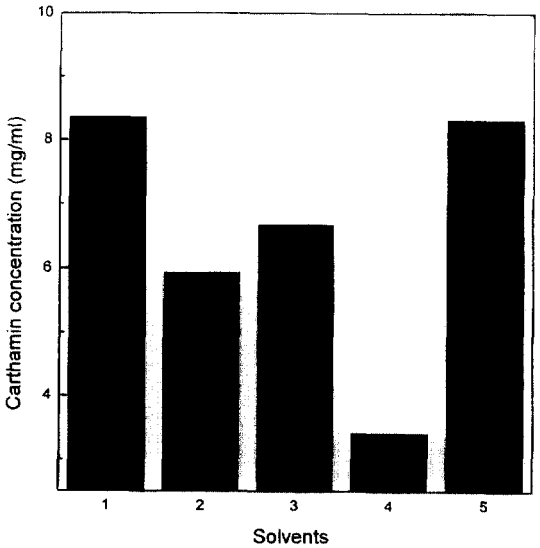

Fig. 6. The effect of solvent type on dissolvation of the carthamin pellet. 1. Methanol (100%) 2. Methanol/Acetone (50%/50%) 3. Acetone (100%) 4. Water (100%) 5. Methanol/Water (70%/30%)

량의 물로 꽃가루와 수용성 황색소를 제거하고, -196 °C에서 freezing하고 4°C에서 thawing하는 처리를 2회 반복하였다. 1 M의 hydrogen peroxide 용액을 첨가하여 0°C에서 10분간 sonication하고, 0.5 M의 Na_2CO_3와 40%의 acetic acid로 알칼리추출과 acidification하여 carthamin pellet을 얻었다. 그리고 pellet을 70% methanol로 처리하여 염을 제거한 후, 용액을 30°C에서 농축하여 521 nm에서 흡광도를 측정하여 carthamin의 양을 측정하였다. 상기와 같은 최적화조건에서 실험을 한 결과, 100 g의 잇꽃으로부터 약 2.5 g의 부분 정제된 carthamin을 추출하였다. 이것은 기존의 방법에 비하여 약 35% 정도 수율이 증가된 것이다(data not shown). 그러므로 잇꽃으로 부터 홍색소 carthamin의 추출 및 분리는 최적화조건에 의해 향상시킬 수 있음을 알 수 있었다.

요 약

잇꽃 속에 혼합되어 존재하는 수용성인 safflor yellow (황색소)의 효과적인 제거와 carthamin (홍색소) 추출 수율을 높이기 위해 freezing & thawing과 sonication 방법을 검토하였다. 그 결과, -196°C로 freezing하고 4°C에서 thawing한 경우, 잇꽃으로 부터의 carthamin의 추출이 좋았으며, 0°C에서 5분간 sonication한 경우에서도 carthamin의 추출이 증가됨을 알 수 있었다. 그리고 sonication시 chromogenic inducer인 hydrogen peroxide를 1 M로 첨가한 경우에는 carthamin이 안정하게 추출되었다. 아울러 여러 종류의 염기성용액과 산성용액을 이용하여 carthamin의 최적 추출방법을 조사하였다. 여러 가지 carthamin의 추출용액 중에서 0.5 M sodium carbonate와 40% acetic acid를 사용하여 carthamin을 추출하였을 때 가장 높은 추출 정도를 나타내었다. 또한 추출시 형성되는 pellet에서 효과적으로 염을 제거할 수 있는 용매로는 70% methanol이 가장 좋은 것으로 나타났다. 최적화된 방법을 통해 잇꽃으로부터 carthamin의 추출시 기존의 방법에 비해 수율이 약 35% 향상되었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산부 첨단농업기술개발사업비와 농업생물신소재연구센터 연구비의 지원으로 수행되었음을 감사드립니다.

문 헌

이춘녕, 김우정. 1985. 천연향신료와 식용색소. 향문사.

Charjan, S.K.U. and J.L. Tarar. 1992. Effect of container and storage period on storability of safflower (*Carthamus tinctorius*) seed. *Indian J. Agric. Sci.* **62**(8): 560-562.

Kim, K.H. and M.N. Kim. 1992. Constituents of *Carthami flos. J. Yakhak Hoeji.* **36**(6): 556-562

Ko, K.S. and W.S. Bae. 1984. A study on the Korean Traditional Dyeing Procedure of Carthamus Flower. *J. Korean Soc. Cloth and Textiles.* **8**(3): 1-7.

Sito, K., T. Yamamoto and K.I. Miyamoto. 1992. Isolation and partial purification of carthamine: an instrumentation manual. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **195**: 550-554.

Sito, K. 1993. An improved technique for the extraction of precarthamin under mild conditions. *Food Chemistry* **48**: 419-421.

Sito, K. and K.I. Miyakawa. 1994. A New Procedure for the Production of Carthamin Dye from Dryer's Saffron Flowers. *Lebensm. wiss. u-Technol.* **27**: 384-385.

Sito, K. and T. Mori. 1994. Colour stability of carthamin under alkaline conditions. *Food Chemistry* **51**: 105-107.

Sito, K., T. Mori, and K.I. Miyamoto. 1994. Stability of carthamin in calcium alginate beads. *Food Chemistry* **50**: 311-312.