

천연 식용 색소 생산 공정의 개발: III. 온도가 잇꽃 색소의 추출에 미치는 영향

이종민 · 마상동 · 한태룡 · 김공환* · 정인식
경희대학교 유전공학과 및 유전공학연구소, *아주대학교 생물공학과

Process development for the production of natural food colors: III. Effect of temperature on the extraction of pigments from safflower (*Carthamus tinctorius* L.)

Jong-Min Lee, Sang-Dong Ma, Tae-Ryong Hahn,
Gong-Hwan Kim* and In-Sik Chung

Department and Institute of Genetic Engineering, Kyung Hee University
*Department of Biotechnology, Ajou University

Abstract

We investigated the effects of temperature on the extraction of yellow and red pigments from *Carthamus tinctorius* L. The reaction temperature and time of 70°C and 30 min were the optimum conditions for the extraction of yellow pigments. The extraction yield of yellow pigments was improved up to 61%, compared to that at 40°C. On the other hand, the reaction temperature and time of 40°C and 4 hr were optimum conditions for the extraction of red pigments. The extraction yield of red pigments was improved 150%, compared to that at 50°C. The extraction experiments were also made using large-scale reactors of 5 L and 35 L. The extraction levels for yellow and red pigments were similar to those levels in small-scale reactors.

Key words: temperature, safflor yellow, carthamin, *Carthamus tinctorius* L

서 론

잇꽃(紅花, *Carthamus tinctorius* Linne)은 국화과의 일년초로 6~7월에 황색의 꽃을 피워 점차 적색이 가미된 황적색의 꽃색으로 변화된다. 이집트가 원산지로서 세계 각지에 분포되어 재배하고 있으며 웅달에서 말린 꽃은 약용과 염료로 쓰인다(Ko와 Bae, 1984). 우리나라에서도 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 황색소(safflor yellow pigments)와 불용성 홍색소(carthamin)의 두 종류가

있다. 그런데 홍색소는 열에 의해 파괴되므로 수용상태에서는 불안정할 수 있다(Sito et al., 1994; Charjan과 Tarar, 1992).

우리나라에서 잇꽃으로부터 색소를 얻기 위하여 전통적인 추출방법을 사용하여 왔다. 잇꽃을 웅달에서 잘 말린 후 약 일주일간 물에 불려 놓고 다량의 물로 수용성인 황색소를 얻은 후, 콩깍지나 잇대의 찌꺼기를 부어 붉은 색소를 녹여낸 다음 오미자즙을 넣어 저어서 연지가 가라앉게 한 것이다(이와 김, 1985).

잇꽃으로부터 색소의 추출 및 분리에 대한 연구는 일부 수행되었다(김 등 1996; 홍 등 1997). 그러나 아직까지 온도와 반응시간의 변화에 따른 잇꽃 색소의 추출수율에 미치는 영향은 아직까지 체계적으로 연구된 바 없다. 따라서 잇꽃을 대상으로 황색소 및 홍색소의 효율적인 추출방법을 확립하기 위해서 온도와 반응시간의 변화에 따른 추출수율을 검토하였다. 아울러 scale-up된 반응기에서의 추출실험도 수행하였다.

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

재료 및 방법

재료 및 시약

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

잇꽃 황색소의 추출

4°C에서 냉장 보관된 잇꽃을 분쇄기로 10분간 같이 조직을 충분히 파쇄한 후 시료를 3 g씩 4개의 50 mL 튜브에 넣고 각각 20 mL의 증류수를 넣어 시료와 증류수가 완전히 섞이도록 20초간 vortexing을 해 주었다. 그런 후 40°C에서 30분, 1, 2, 4시간 동안 반응을 시킨 후 4°C에서 냉각시켰다. 그리고 같은 방법으로 50, 60, 70, 80°C에서도 실험을 수행하였다. 냉각된 시료는 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 침전물과 상층액을 분리하고 침전물은 홍색소(carthamin) 추출에 사용하고 상층액은 1/200으로 희석하여 황색소의 농도를 측정하였다.

잇꽃 홍색소의 추출

상기 실험과 같은 과정을 거친 후 얻은 원심분리의 침전물에 0.5 M의 sodium carbonate (15 mL)를 넣고 10분간 vortexing하고 3500 rpm에서 10 분간 원심분리시켜 상층액만을 얻는다. 이 상층액에 40% acetic acid (3 mL)를 넣어 acidification시키고 4°C에서 overnight한 후 침전된 홍색소 pellet을 분리해내고 methanol (10 mL)로 용해하였다. 이것을 1/5로 희석을 시킨 후 홍색소의 농도를 측정하고 온도와 시간 변화에 따른 홍색소 추출량의 변화를 조사하였다.

Scale-up된 반응기에서 잇꽃 색소의 추출

실험에 사용된 5 L 및 35 L 추출반응기는 stainless steel로 제작되었으며 2개의 baffle과 온도 controller가 장착되어 있다. 반응기의 교반기는 anchor type이며 교반속도는 300 rpm이었다. 그리고 5 L 및 35 L 실험에서도 잇꽃시료에 대한 증류수 첨가량의 비(ratio)는 상기 소규모 튜브형 반응기에서와 동일하게 하였다.

색소 농도의 분석

색소의 농도는 UV-visible spectrophotometer (Shimadzu UV-160A, Japan)를 이용하여 측정하였다(Sito *et al.*, 1992). 흡광도를 측정한 파장은 홍색소의 경우 513 nm, 황색소의 경우는 400 nm이었다.

결과 및 고찰

황색소 추출에 미치는 온도의 영향

본 연구에서는 잇꽃으로부터 색소의 추출 수율을 높이기 위해서 온도와 반응시간을 변화시키면서 실험을 수행하였다. 먼저 황색소의 추출 수율을 조사하기 위해서 조직이 충분히 파쇄된 잇꽃 시료를 증류수에 넣어 완전히 섞이도록 20초간 vortexing을 해 준 후 각각 40, 50, 60, 70, 80°C로 조절한 후 30분, 1시간, 2시간, 4시간 동안 반응을 시켰다. Fig. 1에서 알 수 있듯이 황색소는 온도가 40°C에서 60, 70°C로 상승함에 따라서 증가하다가 80°C에서는 크게 감소하는 것으로 나타났다. 황색소의 추출 수율은 70°C에서 30분간 반응시킨 경우가 가장 높게 나타났다. 이 조건에서 흡광도는 0.83으로 같은 조건의 40°C에서의 값에 비해 61%나 향상된 것을 나타낸다. 그러나 70°C에서 반응시간이 30분 이상으로 증가되면 추출 수율이 크게 감소하였다.

홍색소의 추출에 미치는 온도의 영향

잇꽃의 황색소 분리시 회수한 원심분리의 침전물을 이용하여 온도와 시간 변화에 따른 홍색소 추출량의 변화를 조사하였다. 0.5 M의 sodium carbonate를 첨가

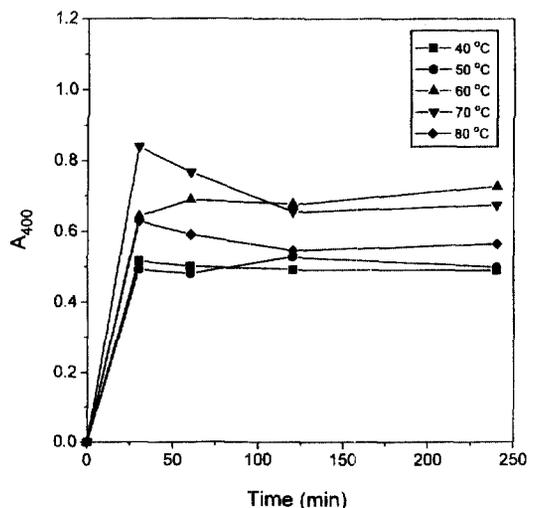


Fig. 1. Effect of temperature on the extraction of yellow pigments from *C. tinctorius L.*

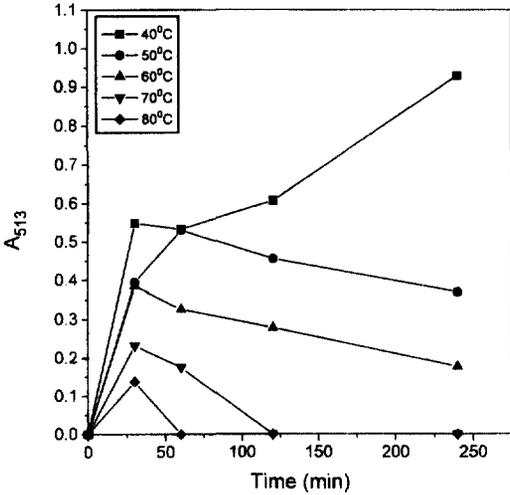


Fig. 2. Effect of temperature on the extraction of red pigments from *C. tinctorius* L.

하고 3500 rpm에서 10 분간 원심분리시켜 상층액만을 얻은 후에 이 상층액에 40% acetic acid를 넣어 acidification시키고 4°C에서 overnight한 후 침전된 홍색소를 분리해내고 methanol로 용해하였다. Fig. 2는 온도와 시간 변화에 따른 홍색소 추출량의 변화를 나타낸 것이다. 홍색소는 온도가 40°C에서 80°C로 상승함에 따라 크게 감소하는 것으로 나타났다. 홍색소의 경우 40°C에서 4시간 반응시킨 경우가 가장 높은 수율을 나타냈다. 이 조건에서 흡광도는 0.92로 같은 조건의 50°C에서의 값에 비해 150%나 향상된 것을 나타낸다. 이 결과는 홍색소가 황색소와는 달리 40°C 이상의 온도에 매우 불안정하다는 것을 보여준다.

Scale-up된 반응기에서의 추출

소규모의 튜브형 반응기에서 상기와 같이 최적화된 조건을 scale-up된 반응기에 적용하였을 때 추출수율을 같은 수준으로 재현할 수 있는지를 확인하기 위해 5 L와 35 L 반응기를 사용하여 추출실험을 수행하였다. Fig. 3은 소규모 튜브형 반응기(대조구)와 5 L 및 35 L의 반응기에서 온도 및 반응시간은 70°C, 30분으로 추출실험을 수행하여 황색소와 홍색소의 생산량을 비교한 것이다. 이 결과에서 알 수 있듯이 scale-up된 반응기에서 추출실험을 수행하더라도 소규모 반응기에서 최적화된 조건에서 얻은 값보다 약간 더 많거나 같은 수준으로 추출되는 것을 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 우리나라의 전통토착 색소작물 자원인 잇꽃을 대상으로하여 온도와 반응시간이 황색소 및 홍색소의 추출에 미치는 영향을 조사하였다. 그리고 잇꽃의

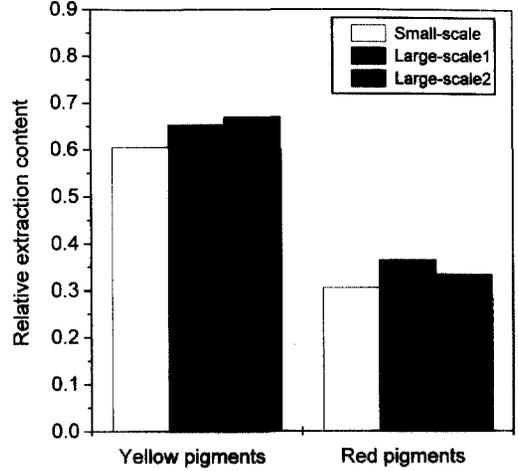


Fig. 3. Extraction of yellow and red pigments in large-scale reactors. (Small-scale, 50 mL tube; Large-scale 1, 5 L; Large-scale 2, 35 L)

로부터의 색소추출은 온도와 반응시간 조건의 최적화에 의해 크게 향상될 수 있음을 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 온도가 잇꽃의 황색소 및 적색소의 추출에 미치는 영향을 조사하였다. 황색소는 70°C에서 30분간 반응시켰을 때 추출량이 가장 높았으며 같은 조건의 40°C에 비해 61% 향상된 값을 나타냈다. 홍색소는 40°C에서 4시간 반응시킨 경우 추출량이 가장 높게 나타났으며 같은 조건의 50°C에서의 값에 비해 150%나 향상된 값을 나타냈다. 아울러 상기의 실험에서 최적화된 추출조건에서 scale-up된 반응기 5 L와 35 L를 사용하여 잇꽃 색소의 추출 실험을 수행하였다. 이러한 반응기에서도 잇꽃의 황색소와 홍색소는 소규모 반응기에서와 거의 비슷한 수준으로 추출되는 것을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산부 첨단농업기술개발사업비(3차년도)와 농업생물신소재 연구센터 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.
- Hong, S.H., S.H. Park, S.D. Ma, Y.S. Baik, T.R. Hahn and I.S. Chung. 1997. Process optimization for the production of natural food colors: I. Extraction of carthamin from safflower. *Food Eng. Prog.* **1**(2): 98-102.
- Kim, J.B., M.H. Cho, T.R. Hahn and Y.S. Baik. 1996. Efficient purification and chemical structure identification of carthamin from *Carthamus tinctorius*. *Agricultural Chem. Biotechnol.* **39**(6): 501-505.
- 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 carthamin: an instrumentation manual. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **195**: 550-554.
- Sito, K., T. Mori, and K.I. Miyamoto. 1994. Stability of carthamin in calcium alginate beads. *Food Chemistry* **50**: 311-312.