

## 초임계 유체 CO<sub>2</sub>를 이용한 강황에서의 Curcumin 추출의 최적화

정승현 · 장규섭\* · 김영종\*  
(주)오뚜기, \*충남대학교 식품공학과

### Optimization of Curcumin Extraction from Turmeric(*Curcuma longa* L.) Using Supercritical Fluid CO<sub>2</sub>

Seung-Hyun Jeong, Kyu-Seob Chang\* and Young Jong Kim\*

Ottogi Co. Ltd.

\*Department of Food Science and Technology, Chungnam National University

#### Abstract

Curcumin, the major yellow-colored pigment in turmeric(*Curcuma longa* L.), was extracted by using supercritical carbon dioxide. Optimum extraction conditions were determined. Overall experiments were planned by central composite design and results were analyzed by response surface methodology to find effects of three independent variables, temperature( $X_1$ ), co-solvent flow rate( $X_2$ ) and pressure( $X_3$ ) on the yield of curcumin extract( $Y$ ). Regression model optimized by response surface analysis was as follows  $Y = -8.581270 + 0.220770X_1 + 1.176731X_2 + 0.036873X_3 + -0.0026816X_1^2 - 0.013010X_2X_1 - 0.103353X_2^2 + 0.000198X_3X_1 - 0.0000825X_3X_2 - 0.000096554X_3^2$ . Optimum temperature, pressure and co-solvent flow rate for extracting curcumin from turmeric were 40.31°C, 3.07 ml/min and 231.59bar, respectively, and statistical maximum yield of curcumin was 1.922%.

**Key words:** curcumin, supercritical fluid extraction, optimum condition

## 서 론

강황은 생강과(Zingiberaceae)의 강황속(*Curcuma*)으로 분류되는 다년생 식물로서 인도를 중심으로 한 열대, 아열대 지역에서 주로 재배되고 있으며 근경(根莖)을 식용, 약용, 천연 염료(조승식 등, 1997)로 사용하고 있다. 특히 식용으로서 카레의 노란색을 나타내는 빼놓을 수 없는 착색성 향신료이다. 노란색을 나타내는 색소성분은 curcuminoid이며 이는 curcumin, bisdemethoxy curcumin, demethoxy curcumin 3종의 화합물을 총칭 한다(高口ア士, 1998). 색소성분인 curcuminoid 중 대부분을 차지하는 curcumin[(E,E)-1,7-bis(4-hydroxyl-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-

3,5-one]은 강황에 0.5~6% 정도 함유되어 있으며 그 화학적 구조는 diarylheptanoid로 1910년 Milobedzka 등에 의해 처음으로 밝혀졌다(Purseglove *et al.*, 1981)

초임계유체를 이용한 추출법은 천연물, 식품, 환경시료 등으로부터 목적성분을 신속하고도 선택적으로 추출할 수 있는 것이 특징이라고 할 수 있다. 현재까지 사용되고 있는 물질 분리법은 여러 가지가 있으나, 그 중 증류법과 용매추출법이 대표적인 물질분리 방법이다. 물질의 끓는점을 이용하여 원하는 물질을 분리하는 증류법은 열을 가하여야 하므로 천연물 중에 있는 유효성분의 분해 및 파괴와 변질 등의 문제가 발생 할 수 있다. 또한, 용매 추출법은 구성물질의 용해도 차이를 이용하여 추출하는 방법으로서, 적절한 용매의 선택이나 유기용매의 잔존, 용매의 제거 및 낮은 분리효과 등의 문제가 대두될 수 있다.

이에 비하여 초임계유체를 이용한 추출법은 물질

Corresponding author: Kyu-Seob Chang, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Life sciences, Chungnam National University, 220 Gung-Dong, Yuseong-Gu, Daejeon-City 305-764, Republic of Korea.  
Phone: +82-42-821-7876, Fax: +82-42-822-2153  
E-mail: changks@cnu.ac.kr

의 기상과 액상의 critical point이상의 압력과 온도를 설정해 줌으로써 액상의 용해력과 기상의 확산계수와 점도에 가까운 성질을 지니게 하여 신속한 추출과 선택적 추출이 가능하게 하는 방법이다. 또한 초임계 유체는 주로 이산화탄소 혹은 이산화탄소와 미량의 보조용매로 형성되기 때문에 용매추출법에 비해 유해성 용매의 잔존위험이 없을 뿐만 아니라 상온 부근에서 추출조작이 이루어질 수 있기 때문에 천연물 또는 식품과 같이 열에 민감한 물질의 추출에 유용한 방법이다. 본 연구에서 추출을 하고자 하는 강황의 curcumin은 Marsin *et al.*(1993)이 이산화탄소에 메탄올을 보조용매로 사용하여 curcumin을 분획 추출한 바 있으며, Began *et al.*(2000)에 의하여 이산화탄소의 유속, 압력, 온도, 강황입자를 달리하여 초임계 추출한 결과 유속범위  $3.5 \times 10^{-5} \sim 8.6 \times 10^{-5}$  kg/sec와 입도범위 0.208~1.158 mm 에서는 유속이 빠르고, 강황의 입도가 작을 때 추출율이 증가 하였으며, 온도 범위 313~333 K 와 압력범위 20~40 MPa 에서는 온도가 낮고, 압력이 높을 때 추출율이 우수하였음을 보고하였다. 그러나, 아직 까지 강황의 생리활성 물질인 curcumin에 대한 산업적 응용을 위한 초임계 추출의 최적조건이 확립되지 않은 실정이다. 따라서, 본 연구는 초임계 유체를 이용한 추출에 큰 영향을 미치는 압력과 온도 그리고, 추출수율을 높이기 위한 보조용매의 양을 나타내는 보조용매 유속을 변수로 하여 강황에 들어 있는 curcumin의 최적 초임계 추출 조건을 확립해 산업적으로 활용할 수 있는 기초 자료를 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에서 사용한 강황(*Curcuma longa* L.)은 2001년 인도에서 재배된 Madras산 finger형을 분쇄하여 355  $\mu$ m(No.45) 체로 체질한 후 알미늄파우치에 밀봉한 상태로 4°C 냉장 보관 하면서 실험재료로 사용하였다.

### 초임계 이산화 탄소에 의한 추출

본 실험에 사용한 초임계 유체 추출 장치의 모식도를 Fig. 1에 나타냈으며, 추출장치는 추출조, 분리조, 가압펌프로 구성되어있다. 추출조(Erie, P.A., HIP INC., USA), 가압펌프(Burbank, Haskel Co.,

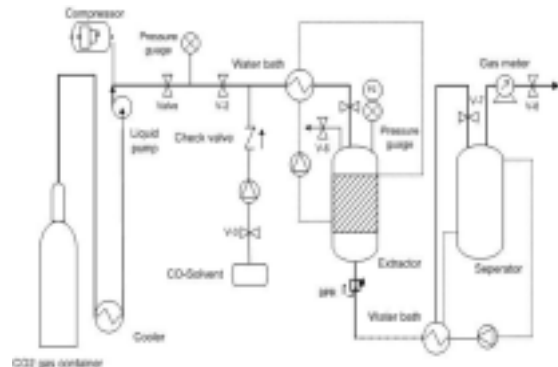


Fig. 1. Supercritical fluid extraction(SFE) equipment.

USA), 압력조절기(Erie, P.A., HIP INC., USA), 압력측정기(MacDiniel controls co.,USA), 고압용관 등을 수입하여 조립한 것을 사용하였다. 추출조에 강황을 각각 10 g씩 채운 다음, 온도 조절기와 가압펌프에 의해 제어되는 추출온도(오차  $\pm 0.5^\circ\text{C}$ )와 압력(오차  $\pm 6.9$  bar)을 설계한 실험조건에 따라 조정하였다. 추출조를 통해 curcumin을 용해한 초임계 이산화탄소는 micrometering valve를 통해 분리조에서 기체 이산화탄소와 용질로 분리되었다.

보조용매 유속을 감안하여 25~125 ml의 ethanol을 분리기에 채우고 배출구를 증류수에 잠기게 설치한 후, 압력 조절기와 온도 조절기를 이용하여 이산화탄소 액체를 임계점 이하로 낮춰 초임계 이산화탄소를 기체화시키고, 분리기에 이미 채워놓은 ethanol에 지용성인 curcumin을 용해시켜 포집하였다. 이때 포집한 curcumin을 parafilm으로 밀봉하여, 4°C에서 냉장 보관하면서 분석을 행하였다.

### 통계적 실험 설계

최적 추출 조건을 도출하기 위한 반응 표면 분석에 적합한 실험계획을 중심 합성법(central composite design)에 따라 설계 하였다. 추출 영향 인자인 추출조 내의 추출온도, 추출압력, 보조용매 에탄올 유속을 주요 독립 변수로 설정하여, Cochran *et al.*(1957)이 연구한 실험설계법에 따라 조합하였다. 조합된 실험수는 총16구이며, 독립변수인  $X_1$ (추출온도),  $X_2$ (보조용매 유속),  $X_3$ (압력)가 종속변수인  $Y$ (curcumin)의 추출 함량에 영향을 주는 요인으로 가정하여 실험 모델을 Table 1과 같이 설정하였다.

### Curcumin 추출물의 분석

**Table 1. Experimental combinations according to codes of experimental design at various extraction conditions**

Treatments	T(°C)	F(ml/min)	P(bar)	Actual parameters		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	T(°C)	F(ml/min)	P(bar)
1	-1	-1	-1	35	2	200
2	-1	-1	1	35	2	300
3	-1	1	-1	35	4	200
4	-1	1	1	35	4	300
5	1	-1	-1	45	2	200
6	1	-1	1	45	2	300
7	1	1	-1	45	4	200
8	1	1	1	45	4	300
9	0	0	0	40	3	250
10	2	0	0	50	3	250
11	-2	0	0	30	3	250
12	0	2	0	40	5	250
13	0	-2	0	40	1	250
14	0	0	2	40	3	350
15	0	0	-2	40	3	150
16	0	0	0	40	3	250

초임계 유체를 이용하여 강황으로부터 추출한 curcumin은 HPLC(Agilent, 1100 Series, USA)를 이용하여 정성 및 정량분석을 하였다. HPLC 표준품으로 Sigma사의 curcumin을 사용하여 standard curcumin으로 사용하였으며 Column은 Zorbax Eclipse C18(4.6 mm × 150 mm × 5 μm, USA)을, Detector는 DAD(UV 424nm, Agilent, USA)를 사용하였다. 10 μl의 추출물과 이동상(Methanol 100%)을 0.8 ml/min의 유속으로 Column에 흐르게 하여 분석을 하였다.

#### 초임계 유체 추출 조건의 최적화

추출 시료를 가지고 초임계 유체 추출을 하는 공정 중에 주요한 인자인 추출 온도, 보조용매 유속, 압력의 변화에 따른 curcumin 함량을 분석하였다.

각 조건에서 추출된 curcumin 함량을 가지고 반응표면 분석을 실시하여 curcumin의 초임계 유체 추출시 최적의 추출 조건을 살펴보았다.

#### 추출 온도에 따른 분석

추출 온도를 30~50°C까지 5°C 간격으로 고정하고 각 조건에서 보조용매 유속과 추출 압력을 변화시키면서 curcumin의 추출량을 비교 분석하였다.

#### 추출 보조용매 유속에 따른 분석

보조용매 유속을 1~5 ml/min까지 1 ml/min 간격으로 고정하고 추출 온도와 압력을 변화시키면서 curcumin의 추출량을 비교 분석 하였다.

#### 추출 압력에 따른 분석

추출 압력을 150~350 bar까지 50 bar간격으로 고정하고 보조용매 유속과 추출 온도를 변화시키면서 curcumin의 추출량을 비교 분석하였다.

### 결과 및 고찰

#### HPLC에 의한 curcumin 함량 분석

초임계추출, 에탄올추출, 열수추출한 강황추출물의 curcumin 함량을 HPLC로 분석한 결과, 초임계 추출물은 1.89%, 에탄올 추출물은 2.55%, 열수추출물은 0.004% 이었다. 이때 초임계 추출물의 추출조건은 압력 250 bar, 온도 40°C, 보조용매 유속은 3 ml/min 이었다. 열수추출물의 curcumin 함량이 매우 낮게 나타났는데, 이는 curcumin이 소수성의 물에 녹지 않는 물질이므로 일반적인 열수추출 조건에서는 추출되지 않는 것으로 생각된다.

#### 초임계 이산화탄소 추출 조건의 최적화

초임계 이산화탄소를 이용하여 강황으로부터 curcumin을 추출할 때 curcumin의 추출에 온도, 보

조용매유속, 압력의 영향을 알아보기 위해 각 영향 인자의 조건을 변경하며 실험을 실시하였다.

#### 추출수율에 미치는 온도의 영향

온도에 의한 영향을 살펴보기 위하여 250 bar에서 보조용매 유속을 3 ml/min로 고정하고, 온도를 30°C에서 50°C까지 5°C간격으로 변화시켜 추출된 curcumin 함량을 측정하였다. 온도증가에 따라 curcumin 함량이 증가하다 40°C에서 최대함량을 보이고 온도가 더 증가하면 curcumin 추출량이 감소함을 보였다. 이는 온도에 따른 초임계 유체의 밀도변화에 의한 용해도의 변화에 기인한 것으로 생각된다.

#### 추출수율에 미치는 보조용매 유속의 영향

보조용매의 유속에 의한 영향을 살펴보기 위하여 250 bar, 30°C, 40°C, 50°C에서 에탄올 유속을 0, 1, 3, 5 ml/min로 변화시켰을 때의 curcumin 함량을 측정하였다. 보조용매를 전혀 사용하지 않았을 때에는 추출수율이 현저히 낮음을 관찰할 수 있었다. 이는 비극성 이산화탄소 용매만을 사용하는 것보다 극성인 보조용매를 병행 사용하는 것이 극성 용질인 curcumin의 추출에 효과적임을 알 수 있었다.

또한 보조용매 유속이 3 ml/min일 때 보조용매유속 5 ml/min 사용시 보다 curcumin 추출수율이 더

욱 높아 과다한 양의 보조용매 사용은 추출수율이 낮아지는 것으로 관찰되었다. Suh *et al.*(1996)은 주목수피에서 taxol을 추출할 때 methanol의 농도를 13%(w/w)까지 증가시킬 때까지 taxol 추출량이 증가하다 그 이상의 methanol 농도에서는 taxol의 수율은 감소되었다고 보고하였다. 이는 본 실험에서 curcumin 함량이 보조용매 유속이 3 ml/min까지 증가하다 보조용매유속이 5 ml/min일 때 감소하는 결과와 일치하는 경향이였다.

#### 추출수율에 미치는 압력의 영향

압력에 의한 영향을 살펴보기 위하여 35°C에서 보조용매 유속을 3 ml/min로 고정하고, 압력을 150 bar에서 350 bar까지 50 bar 간격으로 변화시켜 추출된 curcumin 함량을 측정하였다. curcumin의 추출수율은 압력증가에 따라 서서히 증가하다가 250 bar에서 정점을 이룬 후 감소하는 경향을 나타내었다.

Gopalan *et al.*(2000a, 2000b)의 보고에 의하면 온도 313 K에서 압력이 증가함에 따라 추출수율이 서서히 증가한 후 22.5 MPa에서 turmeric oil의 최대수율을 보이다 22.5 MPa압력 이상의 압력에서는 감소한다고 보고하여 일정온도에서 압력의 증가로 인한 추출수율은 지속적으로 증가되지 않고 일정압력 이상에서는 추출수율이 감소함을 보여 본 실험과 일치함을 알 수 있었다.

Table 2. Predicted curcumin content by regression equation at various extraction conditions of turmeric

Treatment	T(°C)	F(ml/min)	P(bar)	Curcumin(%)	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Measured	Predicted
1	-1	-1	-1	1.7054	1.5908
2	-1	-1	1	1.2145	1.1269
3	-1	1	-1	1.8521	1.7603
4	-1	1	1	1.4152	1.2799
5	1	-1	-1	1.6584	1.6815
6	1	-1	1	1.4361	1.4156
7	1	1	-1	1.6154	1.5908
8	1	1	1	1.3061	1.3084
9	0	0	0	1.8940	1.8844
10	2	0	0	1.3870	1.6624
11	-2	0	0	1.7132	1.5432
12	0	2	0	1.3995	1.5022
13	0	-2	0	1.4370	1.4399
14	0	0	2	1.2260	0.5458
15	0	0	-2	1.2625	1.2921
16	0	0	0	1.8940	1.8844

## HPLC의 data에 의한 반응표면분석

Table 2는 반응표면 분석을 위한 중심합성계획법에 의해 조합된 실험구의 독립변수인 온도, 압력, 보조용매유속에 종속변수의 값을 curcumin 함량으로 나타낸 것이다. HPLC로 분석한 실측치를 SAS 통계프로그램에 적용하여, 반응표면 분석을 실시하여 최적조건 도출을 하였다. 이때 독립변수를 추출온도( $X_1$ ), 보조용매유속( $X_2$ ), 추출압력( $X_3$ )로 설정하고 curcumin 함량을 종속변수( $Y$ )로 하여  $Y = -8.581270 + 0.220770X_1 + 1.176731X_2 + 0.036873X_3 - 0.0026816X_1^2 - 0.013010X_2X_1 - 0.103353X_2^2 + 0.000198X_3X_1 - 0.0000825X_3X_2 - 0.000096554X_3^2$  와 같은 회귀식을 도출하였다. Table 2에서 볼 수 있듯이 회귀식을 이용하여 계산된 curcumin 함량 예측치와 중심합성계획 실험구에서 HPLC 분석한 실측치를 비교한 결과 각 실험구에서 유사한 경향을 보였으나, 온도 40 °C, 보조용매유속 3 ml/min, 압력 350 bar에서는 예측치와 실측치가 큰 차이를 보였다. 반응표면분석 결과 total regress가 0.0481로 높은 유의 수준을 보였으며, R-square는 0.8622를 나타내었다. 반응표면분석에 의한 온도, 보조용매유속, 압력에 관련된 3차원 그래프는 Fig. 2, 3, 4와 같다. 반응표면분석 결과 curcumin의 추출량이 최고점을 나타내는 조건은 온도 40.31°C, 압력 231.59bar, 보조용매유속 3.07 ml/min 조건으로 추출시 curcumin 함량이 1.9228%로 나타났다.

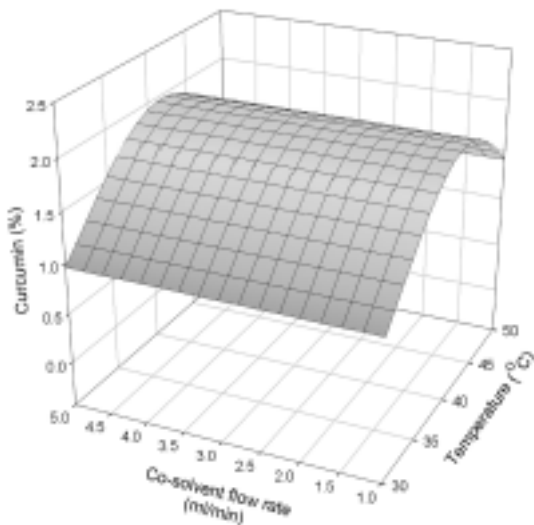


Fig. 2. Response surface contour of curcumin yield as a function of temperature and co-solvent flow rate.

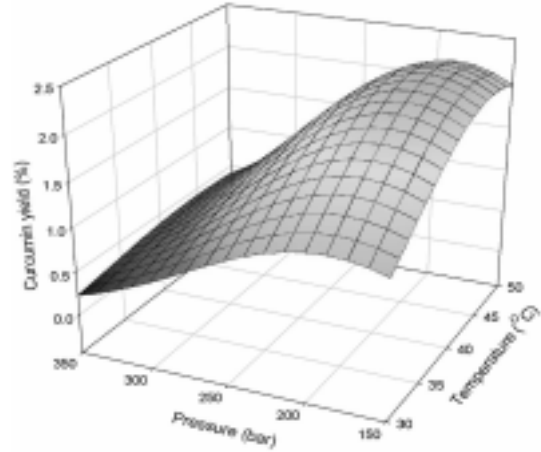


Fig. 3. Response surface contour of curcumin yield as a function of temperature and pressure.

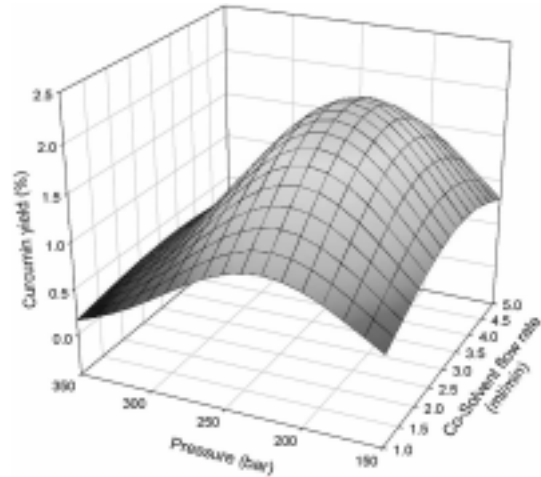


Fig. 4. Response surface contour of curcumin yield as a function of co-solvent flow rate and pressure.

## 요약

강황의 색소성분 curcuminoid의 주성분인 curcumin은 많은 생리활성이 보고되고 있으나, 현재 유기용매를 이용한 추출에 의존하고 있어 안전성이 문제시 된다. 따라서 본 연구는 유기용매에 대한 위험성이 적은 초임계 유체 추출을 통한 강황 중 curcumin 추출의 최적화를 수행하였다. curcumin 추출의 최적 조건을 도출하기 위하여 중심합성법(central composite design)으로 설계된 실험방법으로 반응표면 분석을 실시하였다. 이때 독립변수를 추출온도( $X_1$ ), 보조용매유속( $X_2$ ), 추출압력( $X_3$ )로 설정하고 curcumin 함

량을 종속변수(Y)로 하여  $Y = -8.581270 + 0.220770X_1 + 1.176731X_2 + 0.036873X_3 + -0.0026816X_1^2 - 0.013010X_2^2 - 0.103353X_3^2 + 0.000198X_1X_2 - 0.0000825X_1X_3 - 0.000096554X_2X_3$  와 같은 회귀식을 도출하였다. 반응표면 분석결과 curcumin 추출량의 최고점은 온도 40.31°C, 압력 231.59bar, 보조용매유속 3.07 ml/min 조건이었고, 이때 curcumin 추출량은 1.9228%였다.

### 문 헌

- Cho, S.S., H.S. Song and B.H. Kim. 1997. Transactions: the dyeability properties of some yellow natural dyes (part 2) - extracted from turmeric -. J. of the Korean Society of Clothing and Textiles **21(6)**: 1051-1059
- Cochran, W.G. and G.M. Cox. 1957. Experimental Designs, 2<sup>nd</sup> edition. John Wiley & Sons Co., USA
- Gophlan, B., M. Goto, A. Kodama and T. Hirose. 2000a. Supercritical carbon dioxide extraction of turmeric (*Curcuma longa*). J. Agric. Food Chem. **48**: 2189-2192
- Gopalan, B., M. Goto, A. Kodama and T. Hirose. 2000b. Response surfaces of total oil yield of turmeric (*curcuma longa*) in supercritical carbon dioxide. Food Research International **33**: 341-345
- Marsin, S.M., UK. Ahmad and R.M. Smith. 1993. Application of supercritical fluid extraction and chromatography to the analysis of turmeric. J. of Chromatographic Science **31**: 20-25
- Purseglove, J.W., E.G. Brown, C.L. Green and S.R.J. Robbins. 1981. Spices. Longman Inc., NewYork, USA. pp. 100-286
- Suh, J.H., B.K. Cho, S.Y. Byun and K.H. Kim. 1996. Studies on the supercritical fluid extraction of taxol from yew tree. Korean J. Biotechnol. Bioeng. **11(1)**: 71-76
- 高口ア士. 1998. ウコン抽出物 特性と利用. New Food Industry **40(11)**: 7