

## 폐기 감 과피를 이용한 Carotenoids 색소의 추출

오상룡 · 차원섭 · 박준희 · 조영제 · 홍주현\* · 이원영  
상주대학교 식품생물공학과, \*경북대학교 식품공학과

### Carotenoids pigment extraction from a wasted persimmon peel

Sang-Lyong Oh, Woen-Suep Cha, Joon-Hee Park,  
Young-Je Cho, Joo-Hoen Hong\* and Won-Young Lee

Department of Food and Bio-resources Engineering, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea  
\*Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

#### Abstract

To develop the use of natural pigment for food, carotenoids from wasted persimmon peel were extracted with seven organic solvents. Among the solvents, acetone was a high yielding solvent of carotenoids. Extraction trends depending on process variables(temperature, time, solvent ratio to persimmon peel) were explained through response surface which was made by central composite experimental design. Carotenoid contents were increased with the extraction time and solvent ratio but it decreased in the higher extraction temperature. The optimum conditions of extraction process variables were predicted as 29°C, 93min. at fixed solvent ratio(1:27).

**Key words** : carotenoids, persimmon peel, response surface

#### 서 론

감(*Persimmon, Diospyros Kaki, L.*)과실은 아열대 및 온대지방의 과실로 한국과 일본, 중국이 주산지로서 지중해 지역의 나라에서도 유망한 작물로 각광받고 있다. 감은 포도당, 과당 등의 당류와 비타민 A 및 C가 풍부한 알칼리성 식품이며, 설사와 피를 멈추게 하는 약리작용을 가지는 과실로 알려져 있다. 현재, 국내 감 생산량은 연간 약 239,000M/T이며 그 생산량이 매년 증가하고 있는 추세이며 전시를 비롯해 여러 가지 형태로 소비되고 있

다. 꺾갠가공시 감과피가 많이 발생하는데, 지용성 색소인 carotenoids가 다량 함유되어 있다(1-3).

Carotenoids계 색소는 오렌지색, 노란색 또는 빨간색을 갖는 지용성 색소로서 현재 600여 종의 carotenoids 화합물이 알려져 있으며, 매년 약 1억톤 이상의 carotenoids가 자연계에서 생산되는 것으로 알려져 있다. 이들 carotenoids계 화합물들은 식품의 착색제로서의 기능과 vitamin A의 전구물질, 광에너지의 흡수제, 산소전달 및 singlet oxygen의 강력한 제거제로서의 기능 등을 갖고 있으므로 그 용도는 매우 다양하다(4).

carotenoids화합물 중에서 vitamin A로서의 역가가 가장 높은  $\beta$ -carotene은 식품, 의약품 및 화장품 등의 착색제 및 첨가제로서 오래 전부터 사용되고 있으며 현재는 강력한 항암 효과, 대사과정에서 retinol의 주 공급원

Corresponding author : Sang-Lyong Oh, Department of Food and Bio-resources Engineering, Sangju National University, 386 Gajang-dong, Sangju 742-711, Korea  
E-mail : sloh@sangju.ac.kr

으로 보고되어 건강식품으로서 그 중요성이 크게 인식되고 있다(5,6).

현재 carotenoids는 천연품과 화학 합성품으로 생산되고 있으며 천연품의 경우, 소비자들의 선호도가 높지만 원재료비의 비중이 높아 경제성에 문제가 있다. 반면에 합성품의 경우에는 천연물보다는 경제적이지만 생물기능이나 화학구조가 천연물과 차이가 있고 유해가능성이 있으며 소비자들의 거부감이 높다는 점이 문제가 되고 있다(7,8).

천연 carotenoids의 생산을 위해서 최근에는 *Dunaliella solina*, *Haematococcus pluvalis* 등의 효모를 이용한 생물공학적 생산기술이 개발 중에 있으나 아직도 해결해야 될 과제가 많이 남아있다(9-11).

이런 관계로, 껍감제조시 부산물인 감 과피에 함유되어 있는 천연색소인 carotenoids는 다양한 건강기능성 소재 및 가공식품의 원료로 사용될 수 있는 가능성이 기대되지만 일부가 가축의 사료로 이용되는 것 외에 상당량이 버려지고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 폐자원인 감 과피에서 천연색용색소를 개발하고자 carotenoids의 추출조건 최적화에 대해 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재 료

본 실험에 사용한 감 껍질은 경상북도 상주 지방에서 껍감을 만들기 위해 제거된 것을 음건하여 사용하였다. 50℃ 열풍건조기에서 48시간 건조된 감 껍질을 분쇄기로 분쇄하여 100~120 mesh의 입자크기를 이용하여 추출실험에 사용하였다.

### 추출용매에 따른 추출수율 및 용매의 선정

감 껍질에서 색소를 추출하기 위하여 7종류의 용매(acetone, ethanol, ether, ethyl acetate, ethylene chloride, hexan, methanol)를 이용하여 추출온도 30℃, 추출시간 60분, 추출용매비 1:20의 동일한 조건에서 추출을 행하고 원심분리(5000rpm, 5분) 후 시료무게에 대한 carotenoids 함량을 mg%단위로 비교하였으며 이때 수율이 가장 높은 용매를 적정용매로 선정하였다.

### Carotenoids계 색소 추출

Curl의 방법(12)을 응용하여 각 용매에 의해 추출된 가용성 고형물을 40℃ 이하에서 진공건조 후 일정량의 acetone으로 녹였다. 이를 diethyl ether와 포화 NaCl 용액(1:1, v/v)에 현탁시켜 진탕하고, 분리된 상층액에 10% KOH/ethanol 용액을 첨가하여 질소가스로 충전하고 24 시간동안 방치한 다음, 분리된 상층액을 취하여 무수황산나트륨으로 탈수한 후 회전증발농축기로 감압 농축하여 0.01% BHT가 함유된 chloroform에 용해하여 실험에 사용하였다.

### 총 carotenoids의 정량

시료의 총 carotenoids 함량은 Umeda 등(13)의 분광광도법을 사용하여 표준품  $\beta$ -carotene을 chloroform에 용해한 후 450nm에서 검량곡선을 작성하였다.

### 색소추출에 대한 추출조건의 영향

색소추출에 미치는 온도의 영향을 조사하기 위해 20 ~ 60℃까지 10℃ 단위로 단계별로 조정하여 추출수율을 측정하였고, 반응시간의 영향을 조사하기 위하여 20 ~ 100분으로 단계별 추출수율을 비교 측정하였다. 색소 추출에 미치는 용매 농도의 영향을 조사하기 위하여 시료에 대한 용매를 무게비로 1:10, 1: 15, 1: 20, 1: 25, 1:30까지 단계적으로 조정하여 추출수율을 비교 측정하였다.

### Carotenoids색소 추출 최적화 실험계획

7가지 용매(acetone, ethanol, ether, ethyl acetate, ethylene chloride, hexane, methanol)를 이용하여 carotenoids함량을 분석하였으며, 최대 carotenoids함량을 얻는 추출용매를 선정하였으며 감과피로부터 carotenoids색소를 추출하기 위한 최적 조건을 얻고자 실험계획은 fractional factorial design을 사용하였으며, 반응표면분석을 위해서 SAS (statistical analysis system) program을 사용하였다(14).

Acetone 추출조건은 시료에 대한 추출온도( $X_1$ ), 추출시간( $X_2$ ), 추출용매비( $X_3$ )이었으며, 이들 요인변수들은 -2,-1,0,+1,+2의 5단계로 부호화하였고 Table 1에 나타내었다. 또 추출물의 품질특성에 관련된 반응변수( $Y_n$ )로는 carotenoids함량( $Y$ )으로 하였다.

Table 1. Levels of extraction conditions in experimental design.

X <sub>i</sub>	Extraction conditions	Levels				
		-2	-1	0	+1	+2
X <sub>1</sub>	Temperature(°C)	20	30	40	50	60
X <sub>2</sub>	Time(min.)	20	40	60	80	100
X <sub>3</sub>	Solvent ratio to persimmon peel (g/g)	10	15	20	25	30

### 결과 및 고찰

#### 추출용매별 carotenoids 함량

추출용매에 따른 carotenoids 함량을 측정한 결과를 Table 2에 나타내었다. 극성도가 높은 methanol을 용매로 추출한 경우보다는 비극성도가 높은 hexane을 사용한 경우가 높았으며 양극성 용매인 acetone으로 추출한 실험구가 가장 높게 나타났다. Gross의 보고에 의하면 식물체 중에 존재하는 총 carotenoids 함량은 생체 100g 중에 banana 0.8mg, mandarin pulp 1.4mg, apricots 3.5mg, tomato 5.4mg, red pepper 15mg 그리고 persimmon peel 49mg을 함유하고 있는 것으로 보고하였다(15). 본 연구에서 사용한 감과피의 carotenoids 함량이 다른 식물 자원에 비해 비교적 높은 값을 나타내어 새로운 천연식용색소의 소재로서 이용가능성이 기대된다.

Table 2. Experimental data on carotenoids contents of extracts for each solvent in the peel of persimmon

Solvents	Total carotenoids(mg%)
Acetone	187.74
Methanol	81.8
Ethanol	93.46
Ethyl acetate	122.52
Ethylene chloride	120.38
Ether	142.32
Hexane	151.37

\*Each value is the mean for three replicates.

#### Carotenoids 추출공정의 최적화

carotenoids 추출공정의 최적화를 수행하기 위하여 Table

3의 결과를 이용하였고, 최적의 공정조건을 얻기 위하여 추출온도, 추출시간, 용매비를 변수로 하여 반응표면 분석을 행한 결과 2차 회귀모델에 적합하여 얻은 회귀계수 값은 Table 4와 같다. 이들 회귀계수를 이용하여 각 반응변수의 예측과 반응표면을 형성할 수 있었다.

Table 3. Experimental data on carotenoids contents for acetone extracts in the peel of persimmon fruit

Treatment No.	Extraction Temperature (°C)	Extraction time(min.)	Solvent ratio to persimmon peel (g/g)	carotenoids contents (mg/100g)
1	30(-1)	40(-1)	15(-1)	131.1
2	30(-1)	40(-1)	25(1)	152.7
3	30(-1)	80(1)	15(-1)	166.1
4	30(-1)	80(1)	25(1)	190.3
5	50(1)	40(-1)	15(-1)	98.5
6	50(1)	40(-1)	25(1)	101.6
7	50(1)	80(1)	15(-1)	107.2
8	50(1)	80(1)	25(1)	118.1
9	40(0)	60(0)	20(0)	135.7
10	40(0)	60(0)	20(0)	137.6
11	60(2)	60(0)	20(0)	84.7
12	20(-2)	60(0)	20(0)	110.1
13	40(0)	100(2)	20(0)	142.9
14	40(0)	20(-2)	20(0)	103.8
15	40(0)	60(0)	30(2)	149.7
16	40(0)	60(0)	10(-2)	128.2

Table 4. Taylor second order equation calculated by RSM program in the peel of persimmon

Response	Taylor second order equation	R <sup>2</sup>	Significance
carotenoids contents	$Y = -147.91875 + 9.5575X_1 + 2.4725X_2 + 2.765X_3 - 0.098125X_1^2 - 0.029625X_1X_2 - 0.008313X_2^2 - 0.0795X_1X_3 + 0.013X_2X_3 + 0.023X_3^2$	0.8235	0.0403

반응변수에 미치는 독립변수의 영향은 Table 5에 나타내었으며, carotenoids 함량은 추출온도가 가장 중요한 요소로 작용함을 알 수 있었다. 추출온도와 추출시간 모두(P<0.05) 유의성이 인정되었으나 용매비에 대해서는 유의성이 나타나지 않았다. 수립된 회귀식에 대하여 적합 검정을 한 결과 carotenoids content의 값은 0.0503으로 가정된 모형에 적합함을 알 수 있었다.

Table 5. Variance analysis of processing variables on carotenoids contents

Process variables	DF	Sum of squares	
		carotenoids contents	Pr > F
Extraction Temperature(°C)	4	7609*	0.0196
Extraction time(min.)	4	2147*	0.0369
Solvent ratio to persimmon peel (g/g)	4	677	0.0656

\*Significance at 5%

다중회귀분석 결과 일차항은 유의성이 인정되었으나 이차항과 변수상호간에는 유의성이 없는 것으로 나타났다. 그러나 이차회귀식에 의하여 형성된 반응표면의 결과 R<sup>2</sup>는 대체로 높은 편이었다. 이러한 결과에 의한 각 반응변수의 정상점과 정상점에서의 독립변수의 조건은 Table 6과 같았다. carotenoids 함량은 안장점을 나타내고 있어 최적점이라 할수없다. 따라서 능선분석에 의해 coded radius가 중심점인 0에서 1의 범위내에서 최대로 하는 값의 예측치는 179.47이며 추출온도와 추출시간, 용매비는 각각 30.31°C, 82.38min, 1:26.73으로 나타나 추출온도를 낮추고 추출시간과 용매비를 높이면 최대값을 얻는 것으로 나타났다.

Table 6. Predicted levels of process variables at optimum condition yielding of carotenoids contents

Process variables	Optimum conditions
Extraction Temperature(°C)	0.075
Extraction time(min.)	0.217
Acetone ratio	-2.78
Predicted carotenoids contents at optimum conditions	S.P.a) 124.49

<sup>a)</sup>S.P. = Saddle Point

추출조건에 따른 carotenoids함량의 변화

감과피의 생리기능성 물질인 carotenoids함량은 품질 지표의 중요한 성분이다. 따라서 반응변수로 carotenoids 함량으로 하고 독립변수로 추출수율을 향상시킬수 있는 조건인 추출온도, 추출시간, 용매비로 하였을 때 그 변화 정도를 살펴보았다.

각각의 추출온도와 시간에서 용매비의 증가에 따른 carotenoids함량의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. carotenoids

함량은 추출온도가 25 ~ 30°C에서 가장 높게 나타났는데, carotenoids함량은 온도가 증가함에 따라 감소함을 보였다. 이는 carotenoids성분이 열에 민감하다는 Britton의 보고 (16)와 같이 열에 의한 산화에 기인하는 것으로 생각된다. 또한 추출시간이 증가할수록 추출수율이 높게 나타났으며 이는 추출물의 농도가 추출평형농도에 근접해 가는 과정으로 생각되며, 용매비 또한 비율이 증가할수록 carotenoids함량이 높게 나타나는 것은 용매비의 증가가 감귤질 분말의 경막저항을 낮추어 추출이 좀더 용이해진 것과 용매량의 증가로 평형농도에서의 가용 물질량이 증가한 이유로 생각된다. 실험에서 행한 추출시간과 추출온도와의 기울기 경향으로 보아 추출온도가 추출시간보다 더 큰 영향을 주는 것을 알 수 있었다.

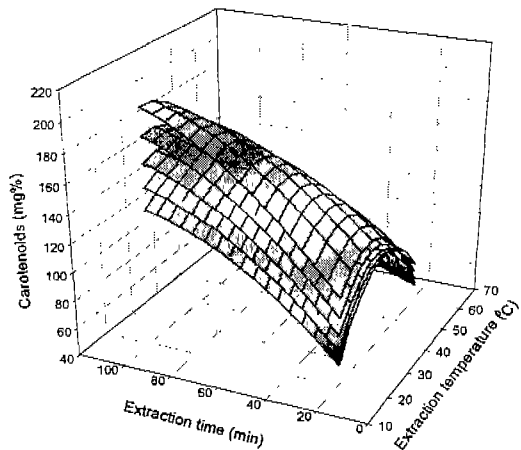


Fig 1. Response surface plot of carotenoids contents related to extraction temperature and extraction time at various solvent ratios.

최적조건의 선정

세가지 실험변수 중 가장 영향이 적은 것으로 나타난 (Table 5) 용매비를 중심점으로 고정하고 추출온도와 시간의 최적조건을 구하고자 하였다. 중심점에서의 용매비를 1:27로 정한 후 추출온도와 추출시간만을 변수로 하여 분석을 행한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 추출온도는 29°C 부근에서 가장 높은 값을 보여주었고, 추출온도가 증가할수록 감소되는 경향이였으며 추출시간이 증가할수록 carotenoids함량이 높게 나타났다. 따라서 carotenoids색소의 추출최적조건은 29°C, 93min, 1:27로 결정하였다.

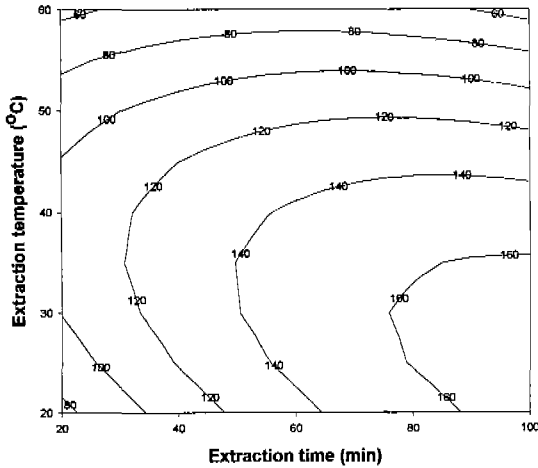


Fig 2. Contour plot of response under the constant solvent ratio(1:27).

— Carotenoids (mg%)

### 감사의 글

본 연구는 2001년도 상주대학교 학술 연구비에 의해 수행된 연구결과로 이에 감사를 드립니다.

### 요 약

감 과피로부터 천연식용색소를 개발하고자 7가지 (acetone, ethanol, ether, ethyl acetate, ethylene chloride, hexan, methanol)의 유기용매로 carotenoids를 추출하고 추출수율을 비교하였다. 이들 용매중 아세톤의 추출수율이 가장 크게 나타나 아세톤을 이용한 추출조건을 최적화를 위하여 중심합성계획에 의한 반응표면분석을 행하였다. 시료에 대한 추출온도( $X_1$ ), 추출시간( $X_2$ ), 용매비( $X_3$ )를 요인변수로 하고 carotenoids함량( $Y$ )을 종속변수로 하여 5가지 수준으로 추출을 실시하였다. 반응표면분석으로 수립된 회귀식에 대하여 적합결여분석을 행한 결과 유의성이 없어 회귀식이 적절함을 알 수 있었으며 추출온도가 가장 큰 영향을 미치는 변수로 나타났다. carotenoids함량은 추출온도 25°C부근까지 증가하다가 감소하는 것으로 나타났는데 이는 열에 의해 carotenoids의 산화가 촉진된 것으로 생각된다. 또한 carotenoids함량은 추출시간과 용매비의 증가에 따라

carotenoids함량이 높게 나타났다. 기울기로 보아 추출온도가 추출시간보다 더 큰 영향을 주는 것을 알 수 있었다. 요인 변수 중 추출량에 가장 영향이 적은 용매비를 중심점의 조건으로 고정하고 추출온도와 추출시간만을 변수로 하였을 경우 carotenoids 함량을 최대로 하는 영역의 추출온도와 추출시간을 각각 29°C, 93min으로 결정할 수 있었다.

### 참고문헌

1. Lim, Y.S (1985) Studies on the quality of dried persimmons. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 14(13), 249-252
2. Roh, Y.H., Jang, S.H., Byun, H.S. and Sung, J.J. (1999) Analysis of distribution properties on astringent persimmon(*Diospyros kaki* L.). *Kor. J. Postharvest Sci. Technol.*, 6, 184-187
3. Kwak, B.G., Choi, J.S., Park, S.D. and Choi, B.S. (1993) Survey on the storage, processing, utilization, and marketing status of fruits(apple, persimmon) in Gyeongbuk area. *RDA. J. Agri. Sci.*, 35(2), 778-785
4. Hong, S.P., Kim, M.H. and Hwang, J.K. (1998) Biological Functions and Production Technology of carotenoids. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27, 1297-1306
5. Bauerfeind, J.C. (1981) carotenoids as colorants and vitamin A precursors. Academic Press, New york, 1-10
6. Pierre, A. (1997) Food carotenoids and cancer prevention : An overview of current research. *Trends in Food Sci. Tech.*, 8, 406-411
7. Bauerfeind, J.C. (1972) carotenoids vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *J. Agri. Food Chem.*, 20, 456-459
8. Krinsky, N.I. (1979) carotenoids protection against oxidation. *Pure Appl. Chem.*, 51, 649-653
9. Jeong, Y.K., Choi, B.D., Kang, S.J., Jeong, S.H., Lee, Y.K., Kim, H.Y. and Jung, M.J. (2000) Characteristic of carotenoids component from halophilic Bacteria, *Haloarcula* sp. EH-1. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 15, 673-676
10. Kim, T.S., Jung, M.J., Ryu, B.H. and Joo, W.H.

- (1999) Optimal growth conditions for carotenoids pigment production from marine microorganism. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28, 1239-1243
11. Nelis, H.J. and De Leenheer, A.P. (1991) Microbial sources of carotenoids pigments used in foods and feeds. *J. Appl. Bacteriol.* 70, 181-187
12. Curl, A.L. (1960) The carotenoids of tangennes. *J. Agric Food Chem.*, 5, 605-610
13. Umeda M. (1997) Molecular and biochemical characterization of a proteasome subunit from rice and carrot cells. *Molecular & General Genetics* 255, 19-27
14. Gross, J. (1987) Pigments in Fruits. Academic Press Inc.(London) Ltd. 87-89
15. SAS Institute (1991) SAS/STAT user's guide. SAS Institute, Cary, NC, U.S.A.
16. Britton, G. and Goodwin, W. (1982) carotenoids chemistry and biochemistry. Pergmon Press, Oxford, England, 12-17
- 

(접수 2001년 9월 16일)