

## 에타놀-NaOH계를 리용하여 뽕누에똥으로부터 동클로로필린나트륨을 제조하기 위한 연구

김 명 호

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《색소문제도 해결하여야 합니다. 색소는 철저히 사람들의 건강에 해를 주지 않는 의학적으로 담보되는 색소를 만들어써야 합니다.》(《김정일선집》 증보판 제25권 199~200페이지)

엽록소와 그 유도체들은 식용색소로뿐만아니라 사람들의 건강증진과 관련한 기능성물질로서 널리 리용되고있다. 특히 동클로로필린나트륨은 현재 세계적으로 널리 판매, 리용되는 천연풀색소이며 기능성제품이다.[1, 2]

지난 시기에는 동클로로필린나트륨을 엽록소원천으로부터 엽록소를 추출하고 추출한 엽록소로부터 동치환과 수용화를 진행하는 방법[1-4]으로 얻었다.

우리는 에타놀-NaOH계를 리용하여 뽕누에똥으로부터 엽록소의 추출과 수용화를 동시에 진행하여 동클로로필린나트륨을 얻기 위한 연구를 하였다.

### 재료와 방법

엽록소의 분리원천으로는 2019년 6월에 채취한 뽕누에똥을 리용하였다. 채취한 뽕누에똥을 깨끗한 물로 씻은 후 곰팡이가 끼지 않게 어두운 곳에서 잘 말리우고 건조한 곳에 보관하였다. 실험하기 전에 뽕누에똥을 마쇄하여 120메쉬의 체로 친것을 실험에 리용하였다.

사용한 수산화나트륨, 에타놀, 아세톤, 염산, 석유에테르, 류산동은 순도가 각각 99.0, 99.7, 99.5, 37.2, 99.9, 99.5%이며 모든 실험에서 증류수를 리용하였다.

엽록소의 마그네시움대신 동이 치환된 동엽록소는 뽕누에똥을 pH가 3인 일정한 농도의  $\text{CuSO}_4$  용액에 넣고 주어진 온도에서 일정한 시간동안 반응시켜 얻었다. 동엽록소의 제조에 미치는 뽕누에똥의 질량과 류산동용액의 체적의 비, 류산동용액의 농도, 반응온도, 반응시간의 영향은 자외가시선분광광도계로 650nm에서 흡광도를 측정하여 결정하였다.

에타놀-NaOH계에서 동클로로필린나트륨은 다음의 방법으로 얻었다.

일정한 량의 수산화나트륨을 50mL의 증류수에 풀고 일정한 체적의 NaOH용액과 에타놀을 섞어 에타놀-NaOH계를 만들었다. 동엽으로 처리한 뽕누에똥을 여기에 넣고 15min 동안 흔들어준 다음 주어진 시간동안 일정한 온도에서 반응시켰다. 상층액을 취하여 50mL 되게 물로 희석한 다음 자외가시선분광광도계로 630nm에서 흡광도를 측정하여 NaOH의 농도, 반응온도, 반응시간을 비롯하여 반응에 미치는 인자들의 영향을 보았다.

합리적인 제조조건을 찾기 위하여 에타놀-NaOH계의 옷상에서 동클로로필린나트륨 량에 미치는 NaOH농도(0.36-0.7g/mL)의 영향을 뽕누에똥량은 0.1g, 체적비를 2.33으로 고정하고 연구하였는데 반응은 60°C에서 2h동안 진행하였다. 비누화온도(25-70°C)의 영향은 체적비를 2.33으로, NaOH농도는 0.4g/mL, 비누화시간은 2h로 고정하여 연구하였다. 반응시간(1-5h)의 영향은 체적비를 2.33으로, NaOH농도는 0.4g/mL, 비누화온도는 60°C로

고정하여 연구하였다. 모든 실험은 3반복으로 진행하였다.

검토한 인자들에 기초하여 반응계를 100배로 확대하여 조동클로로필린나트리움을 얻고 증류수, 석유에테르, 50% 에타놀을 각각 리용하여 정제하고 건조시켜 최종적으로 녹색을 띤 동클로로필린나트리움을 얻었다.

동클로로필린나트리움의 자외가시선흡수스펙트르는 분광계(《UV-2201》)로, 적외선 흡수스펙트르는 적외선분광측정장치(《FTIR-8101》)로 기록하였다.

동클로로필린나트리움을 다음의 방법으로 정량하였다.

시료 0.05g을 100mL들이 눈금플라스크에 넣고 pH 7.5인 린산완충용액 70mL를 넣어 쉰 다음 린산완충용액을 눈금까지 채웠다. 이 용액을 거르는데 첫 거른액 10mL는 버리고 다음의 거른액을 pH 7.5인 린산완충용액을 대조로 하여 파장 405nm에서 흡광도를 측정하고 다음의 식으로 동클로로필린나트리움의 함량(%)을 계산하였다.

$$x = \frac{A_{405} \times V}{565 \times G}$$

여기서  $x$ 는 동클로로필린나트리움의 함량(%),  $G$ 는 시료량(g),  $V$ 는 희석배수,  $A_{405}$ 는 시료 용액의 흡광도, 565는 동클로로필린나트리움의 비흡광계수이다.

## 결과 및 논의

### 1) 뽕누에똥으로부터 동엽록소를 제조하는데 미치는 몇가지 인자들의 영향

뽕누에똥의 질량과 5% 류산동용액의 체적의 비를 각이하게 변화시키면서 80℃에서 1h 동안 반응시켰을 때 동엽록소의 제조에 미치는 뽕누에똥/류산동용액비의 영향은 그림 1과 같다.

그림 1에서 보는바와 같이 뽕누에똥의 질량과 5% 류산동용액의 체적비가 1/4일 때 동엽록소의 제조률이 가장 높았다. 비가 높을 때에는 물함량이 적은것으로 하여 동이온의 뽕누에똥으로의 침투 속도가 떨어므로 동엽록소의 거둠률이 낮아지며 반대로 비가 낮을 때에는 동이온의 농도가 낮아 지면서 반응속도가 떨어져 동엽록소의 거둠률이 낮아진다고 볼수 있다.

동엽록소제조에 미치는 류산동용액의 농도의 영향을 보기 위하여 뽕누에똥의 질량과 류산동용액의 체적비를 1/4로 고정하고 류산동용액의 농도를 변화시키면서 80℃에서 1h동안 반응시켰다.(그림 2)

그림 2에서 보는바와 같이 류산동용액의 농도가 높아짐에 따라 650nm에서의 흡광도가 높아지다가 5%일 때 최대에 이르며 그 이상에서는 큰 차이가 나타나지 않았다. 이로부터 류산동용액의 농도를 5%로 정하는것이 합리적이라고 보았다.

동엽록소제조에 미치는 반응온도의 영향을 보기 위하여 뽕누에똥의 질량과 5% 류산동용액의 체적비를 1/4로 고정하고 온도를 변화시키면서 1h동안 반응시켰다.(그림 3)

그림 3에서 보는바와 같이 온도가 높아짐에 따라 650nm에서의 흡광도가 높아지다가 80℃이상에서는 거의 변화가 나타나지 않았다. 이로부터 합리적인 반응온도를 80℃로 정하였다.

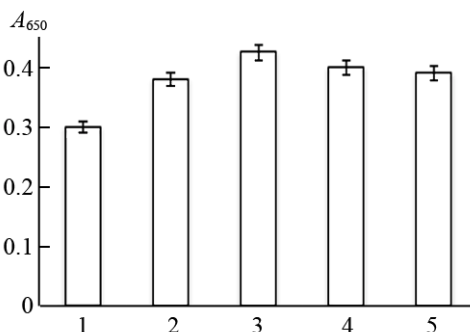


그림 1. 동엽록소제조에 미치는 뽕누에똥/류산동용액비의 영향  
1-5는 뽕누에똥/류산동용액비가 각각 1/2, 1/3, 1/4, 1/5, 1/6인 경우

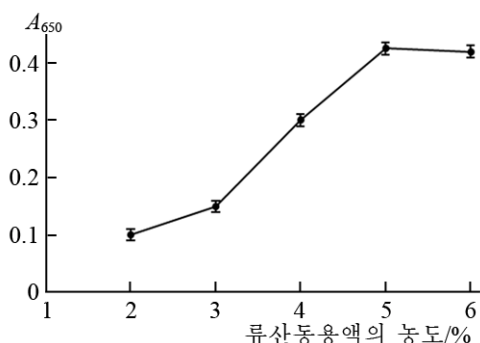


그림 2. 동엽록소제조에 미치는 류산동용액의 농도의 영향

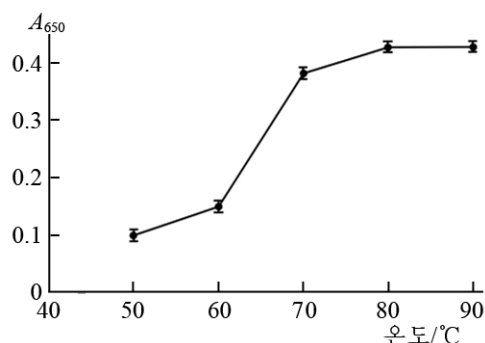


그림 3. 동엽록소제조에 미치는 반응온도의 영향

동엽록소제조에 미치는 반응시간의 영향을 보기 위하여 뽕누에똥의 질량과 5% 류산동용액의 체적비를 1/4로, 반응온도를 80°C로 고정하고 반응시간을 변화시키면서 반응시켰다.(그림 4)

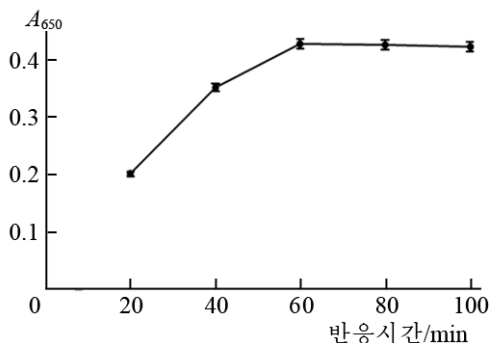


그림 4. 동엽록소제조에 미치는 반응시간의 영향

그림 4에서 보는바와 같이 시간이 길어짐에 따라 650nm에서의 흡광도가 높아지다가 60min 이상에서는 거의 변화가 나타나지 않았으며 100min 부터는 오히려 떨어지는 경향성이 있었다. 이로부터 합리적인 반응시간을 60min으로 정하였다.

위의 실험결과들로부터 뽕누에똥의 엽록소에 있는 마그네슘을 동으로 치환시켜 동엽록소를 만드는 최적조건은 뽕누에똥질량과 5% 류산동용액의 체적비가 1/4, 반응온도가 80°C, 반응시간이 60min이라는것을 알수 있다.

2) 에타놀-NaOH계에서 동쿨로로필린나트륨의 제조에 미치는 몇가지 인자들의 영향  
반응온도를 60°C, 우와 같이 처리한 뽕누에똥량을 0.1g, 반응시간을 2h, NaOH농도를 0.4g/mL로 고정하고 에타놀-NaOH계에서 NaOH용액과 에타놀의 체적비를 변화시키면서 동쿨로로필린나트륨을 제조하였다. 동쿨로로필린나트륨제조에 미치는 NaOH/에타놀비의 영향은 그림 5와 같다.

그림 5에서 보는바와 같이 NaOH/에타놀비가 커짐에 따라 동쿨로로필린나트륨제조 거둢률이 높아지며 그 체적비가 2.33인 때부터는 큰 차이가 나타나지 않았다.

에타놀-NaOH계의 옷상에서 동쿨로로필린나트륨량에 미치는 NaOH농도(0.36-0.7g/mL)의 영향을 보기 위하여 뽕누에똥량을 0.1g, NaOH/에타놀비를 2.33으로 고정하고 60°C에서 2h동안 반응을 진행하였다. 동쿨로로필린나트륨제조에 미치는 NaOH농도의 영향은 그림 6과 같다.

그림 6에서 보는바와 같이 NaOH용액의 농도가 0.36g/mL로부터 0.4g/mL까지 증가할 때 옷상의 흡광도는 증가하며 그 이상의 농도에서는 감소하였다. 동엽록소에 특징적인 650nm에서의 흡수극대는 논의된 모든 NaOH농도에서 나타나지 않았는데 이것은 동엽록소가 이 농도들에서 완전히 비누화되었다는것을 보여준다. 이로부터 에타놀상에서 동쿨로로필린나트륨량에 NaOH농도가 영향을 미치는것은 에타놀상에 동쿨로로필린나트륨이 혼합되는 과정에 NaOH가 영향을 주는것과 관련된다고 볼수 있다. 연구자료[5]에 의하면 NaOH

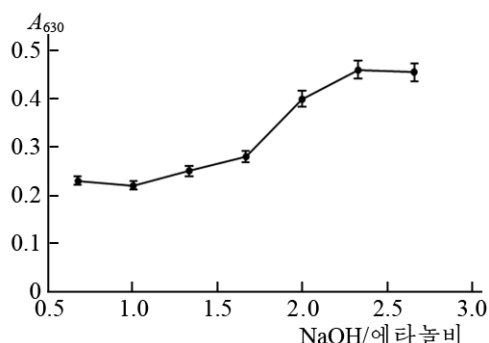


그림 5. 동클로로필린나트륨제조에 미치는 NaOH/에타놀비의 영향

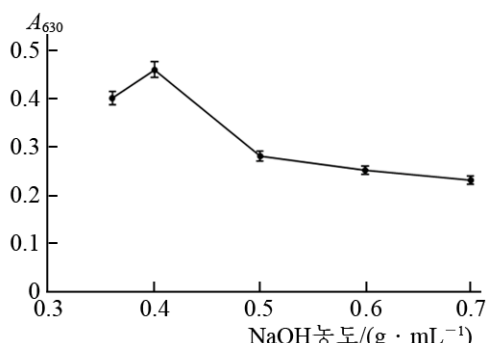


그림 6. 동클로로필린나트륨제조에 미치는 NaOH농도의 영향

량이 증가하면 옷상에서 에타놀의 량이 증가하고 NaOH량이 감소한다. 그러므로 상형성 물질의 량을 조절하면 옷상과 아래상의 극성을 변화시킬수 있으며 목적하는 물질의 두 상에로의 분배를 조절할수 있다. 바로 이것이 에타놀-NaOH계의 우수한 특징으로 된다. NaOH 용액의 농도가 0.4g/mL일 때 최대흡광도가 얻어진것은 동클로로필린나트륨이 NaOH상으로부터 에타놀상으로 이동하는데 더 좋은 비율로 물량이 유지되었기때문일수 있다. 한편 NaOH농도가 증가할 때 에타놀-NaOH계의 점도가 증가하므로 NaOH상으로부터 에타놀상 에로의 동클로로필린나트륨의 이동이 방해되고 결국 에타놀상에서 동클로로필린나트륨 량이 적어지게 된다.

뽕누에똥량을 0.1g, NaOH/에타놀비를 2.33, NaOH농도를 0.4g/mL, 반응시간을 2h로 고정하고 동클로로필린나트륨제조에 미치는 반응온도의 영향을 보았는데 그 결과는 그림 7과 같다.

그림 7에서 보는바와 같이 온도가 25°C로부터 60°C까지 증가할 때 옷상에서 동클로로필린나트륨의 량이 증가하고 그 이상에서는 큰 차이가 없었다. 비누화반응은 흡열반응이므로 온도가 높아질 때 반응이 촉진된다. 60°C이상부터는 변화가 없으므로 반응온도를 60°C로 정하는것이 좋다고 보았다.

반응시간(1-5h)의 영향은 NaOH/에타놀비를 2.33으로, NaOH농도를 0.4g/mL로, 반응온도를 60°C로 고정하고 동클로로필린나트륨제조에 미치는 반응시간의 영향을 보았는데 그 결과는 그림 8과 같다.

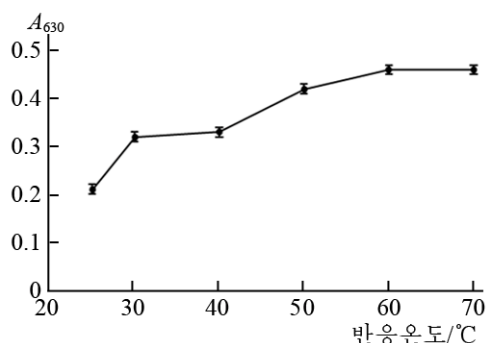


그림 7. 동클로로필린나트륨제조에 미치는 반응온도의 영향

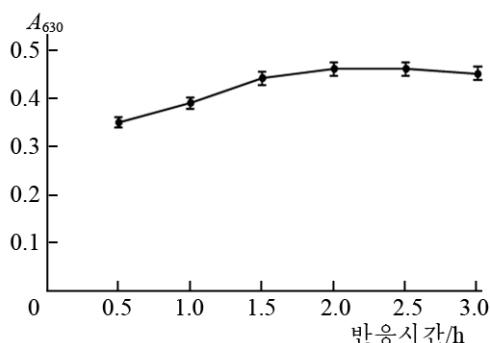


그림 8. 동클로로필린나트륨제조에 미치는 반응시간의 영향

그림 8에서 보는바와 같이 반응시간을 0.5h로부터 2h까지 증가시킬 때 동클로로필린

나트륨의 양이 증가하고 그 이상부터는 변화가 거의 없다가 3h에서는 오히려 떨어진다. 이로부터 반응시간 2h이하에서는 동엽록소가 완전히 NaOH와 반응하지 않는다는것을 알수 있다. 그리고 동엽록소를 2h동안 비누화시키면 동엽록소에 특징적인 650nm에서의 흡수극대는 나타나지 않았으므로 이 시간동안에 뽕누에통안의 동엽록소가 완전히 비누화되었다고 볼수 있다. 또한 반응시간이 3h일 때 630nm에서의 흡광도가 약간 낮아진것은 동엽록소의 일부가 높은 온도에 의하여 파괴되었기때문이라고 볼수 있다.

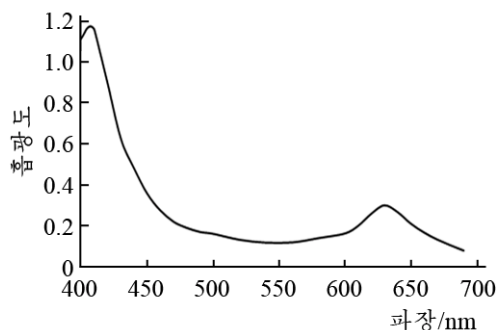


그림 9. 동클로로필린나트륨수용액의 가시선흡수스펙트르

우의 실험결과들로부터 에타놀-NaOH계에서 동클로로필린나트륨을 제조하기 위한 최적반응 조건은 NaOH와 에타놀의 체적비는 2.33, NaOH의 농도는 0.4g/mL, 반응온도는 60℃, 반응시간은 2h 라는것을 알수 있다.

제조한 동클로로필린나트륨용액의 가시선 흡수스펙트르는 그림 9와 같다.

그림 9에서 보는바와 같이 동클로로필린 나트륨은 405nm와 630nm에서 흡수극대를 나타 냈는데  $A_{405}/A_{630}$ 은 3.87로서 선행연구자료[3]의 표준값에 부합되었으며 거들률은 76%였다.

동클로로필린나트륨의 적외선흡수스펙트르(그림 10)는 선행연구자료[4]와 일치한다.

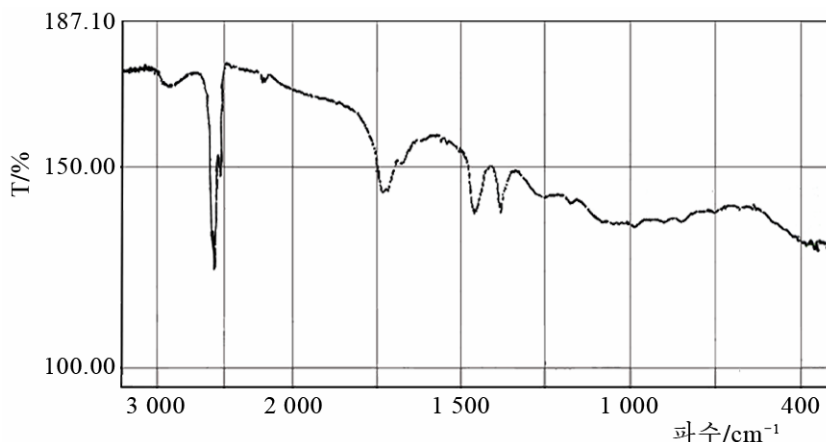


그림 10. 동클로로필린나트륨의 적외선흡수스펙트르

## 맺 는 말

뽕누에통으로부터 에타놀-NaOH계를 리용하여 동클로로필린나트륨을 제조하는데 미치는 여러가지 인자들의 영향을 밝혔다.

뽕누에통에 들어있는 엽록소를 동엽록소로 치환하기 위한 반응의 최적조건은 뽕누에 통의 질량과 5% 류산동용액의 체적비 1/4, 반응온도 80℃, 반응시간 60min이다.

에타놀-NaOH계에서 동클로로필린나트륨제조를 위한 반응의 최적조건은 NaOH와 에타놀의 체적비 2.33, NaOH의 농도 0.4g/mL, 반응온도 60℃, 반응시간 2h이다.

## 참 고 문 헌

- [1] Rani R. Geetha et al.; Research J. Pharm. and Tech., 10, 2, 513, 2017.
- [2] Isabel Viera et al.; Molecules, 24, 154, 2019.
- [3] N. H. Lewis et al.; J. Phys. Chem. Lett., 7, 5, 831, 2016.
- [4] J. Petrovic et al.; J. Serb. Chem. Soc., 71, 5, 501, 2006.
- [5] Y. Wang et al.; J. Chem. Eng. Data, 55, 5621, 2010.

주제 110(2021)년 4월 5일 원고접수

## **Preparation of Sodium Copper Chlorophyllin from Mulberry Silkworm Excrement by Using Ethanol-NaOH System**

*Kim Myong Ho*

The optimal condition for the replacement of  $Mg^{2+}$  by  $Cu^{2+}$  in the chlorophyll of the mulberry silkworm excrement is that the ratio of the amount of mulberry silkworm excrement to 5%  $CuSO_4$  solution is 1/4, reaction temperature and time are 80°C and 60min, respectively.

And the optimal condition for the preparation of sodium copper chlorophyllin from the above preprocessed mulberry silkworm excrement by using ethanol-NaOH system is that the volume ration of NaOH to ethanol is 2.33, NaOH concentration, saponification temperature and time are 0.4g/mL, 60°C and 2h, respectively.

Keywords: sodium copper chlorophyllin, mulberry silkworm excrement