

치자 Genipin과 아미노산의 청색소변환반응에 관한 물리화학적 연구

이재연 · 한태룡¹ · 백영숙*

경희대학교 자연과학대학 화학과, ¹유전공학과 및 자연과학종합연구소

초 록: 우리 나라에서 오랫동안 식용 및 황색 색소원으로 이용되어 온 치자(*Gardenia jasminoides*) 열매로부터 iridoid glycoside인 geniposide를 분리, 정제한 후 β -glucosidase로 가수분해하여 얻은 genipin을 glycine, alanine, histidine, lysine, phenylalanine, glutamate 등 여섯 종류의 아미노산과 반응시켜 수용성 치자청색소로 전환되는 과정을 규명하였다. Genipin이 아미노산과 반응하여 청색소가 되는 과정에서 pH의 영향을 알아보기 위하여 여러 pH에서 반응을 시켜본 결과 청색소 생성의 최적조건은 pH 7.0 이었고, pH 3.0 조건에서는 청색소가 전혀 생성되지 않았으며, pH 12.0 조건에서는 미량의 청색소만 생성되었다. 아미노산의 종류에 따라서도 청색소 생성량 및 색감에 차이가 있었는데 lysine($\lambda_{\text{max}}=573$ nm), glycine($\lambda_{\text{max}}=595$ nm), phenylalanine($\lambda_{\text{max}}=602$ nm), alanine($\lambda_{\text{max}}=595$ nm)에 비해 histidine($\lambda_{\text{max}}=601$ nm)과 glutamate($\lambda_{\text{max}}=601$ nm)의 경우에는 비교적 적은 양의 청색소가 생성되었다. 청색소 생성 속도상수를 여러 온도(60, 70, 80, 90°C, pH 7.0 phosphate 완충용액)에서 구하였는데, 염기성 아미노산이 중성 및 산성 아미노산에 비해 생성속도가 빨랐다. 이들 값으로부터 Arrhenius 활성화에너지를 계산한 결과 glycine($E_a=9.8$ kcal/mol)이 다른 아미노산($E_a=13.3\sim 15.4$ kcal/mol)에 비해 특히 작은 값의 활성화에너지를 나타내었다.(1998년 8월 12일 접수, 1998년 8월 29일 수리)

서 론

식품의 질을 결정하는 세 가지 요인인 맛(flavor), 질감(texture), 빛깔(color) 중의 한 요소로서 식품에 첨가하는 색소는 인체에 대한 안전성이 특히 중요하다. 기존에 사용하고 있는 합성식용 색소¹⁾는 가격이 저렴하고 흡광계수가 높은 장점을 가지나, 특히 tar계 화합물의 발암 유발 가능성 등 독성 내지 안전성문제 때문에 천연식용 색소²⁾가 식품첨가물로 대체되고 있는 것이 지금의 추세이다. 그러나 비록 그 사용량이 점차 증가하고 있다고는 하나, 천연식용 색소는 기존의 합성식용 색소에 비하여 가격, 착색 효율, 보존성 등이 떨어지므로 이에 대한 연구, 보완이 필요하다.

우리 나라에서 전통적으로 사용해온 식용 색소로는 홍화(적색, 황색), 지치(자색), 꼭두서니(적색), 치자(황색) 등이 있다.³⁾ 경쟁력 있는 천연식용 색소를 개발하려면 적색, 황색 및 청색의 삼원색이 필요하며 이들을 적절하게 혼합하면 기본적으로 모든 색상이 가능하다. 천연 적색소는 코치닐, 홍화, 홍국균 등에서, 천연 황색소는 홍화, 홍국균, 울금, 치자 등에서 얻을 수 있다.³⁾ 현재 상업적으로 이용되고 있는 천연물 유래의 청색소는 치자 및 해조류로부터 얻는데, 해조류로부터 얻는 phycocyanin은 알코올을 함유한 산성 음료에서 상당히 불안정해서 이용할 수 없는 것으로 알려져 있는 반면,⁴⁾ 치자열매의 추출액에 함유되어 있는 배당체 성분은 그 자체로는 색을 띠지 않으나 가수분해하여 glucose를 떼어내고 일차 아민과 반응시키면 안정한 수용성 청색

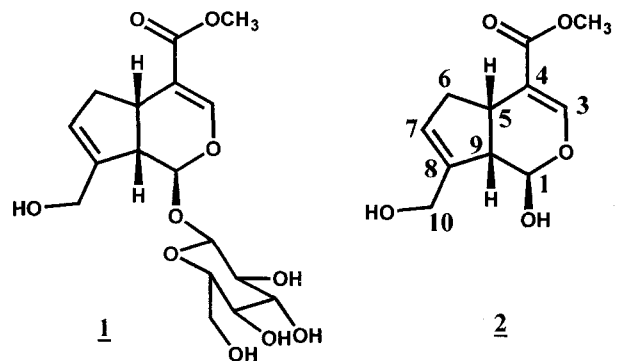
소를 얻을 수 있다고 알려져 있다.^{4,5)}

본 연구에서는 우리 나라에서 쉽게 재배할 수 있어서 생산과 공급 면에서 유리하다고 알려진 치자(*Gardenia jasminoides*)를 선정하여, 치자열매에 들어 있는 iridoid glycoside인 geniposide(Scheme 1)를 분리, 정제한 후 β -glucosidase로 가수분해하여 얻은 genipin을 각종 아미노산과 반응시켜 수용성 치자청색소로 변환되는 과정을 물리화학적으로 규명하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

치자(*Gardenia Fruit*)는 경상남도 밀양에서 1997년도 가을



Scheme 1. Structure of Geniposide 1 and Genipin 2

찾는말 : 치자, *Gardenia jasminoides*, Geniposide, Genipin, 아미노산, 치자청색소

*연락처자

에 수확하여 반쯤 말린 상태에서 냉동 보관하여 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel(230~400 mesh, Merck)을, TLC는 Kiesel gel 60 F₂₅₄ (Merck)를, 흡착용 charcoal은 삼전사 제품을 사용하였으며, 그외 특급 및 일급시약을 Duksan Pharm. Co.와 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 사용하였다.

기기

¹H-(400 MHz) 및 ¹³C-NMR (100 MHz) spectra는 OXFORD FT-NMR로, UV/Vis spectra는 Milton Roy사의 Spectronics 3000 기기로 측정하였다. 녹는점은 Mel-Temp 기기(Laboratory Devices)로 측정하였으며 보정은 하지 않았다.

Geniposide의 추출 및 정제

Geniposide의 추출 및 정제는 Endo 등의 방법⁹⁾을 이용하였다. 즉 치자열매 50 g을 믹서에 갈아서 chloroform으로 지방성분을 제거한 다음, 메탄올로 세 번 추출하여 여액을 합하여 감압 농축하였다. 농축물을 charcoal에 흡착시킨 다음 물로 씻고 다시 10% 에탄올 수용액으로 씻은 후 최종적으로 메탄올을 사용하여 glycoside 분획을 얻었다. 감압 농축한 glycoside 분획을 silica gel column chromatography (CH₃OH:CHCl₃=1:3→3:7)로 정제하여 0.904 g(수득률: 1.8%)의 geniposide를 얻었다. mp. 163~165°C⁹⁾ 163~164°C), R_f 0.56(CH₃OH:CHCl₃=3:7), UV(CH₃OH) λ_{max}=237 nm, ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.45(1H, s, H-3), 5.67(1H, br. s, H-7), 5.11(1H, d, J=6.8 Hz, H-1), 5.02(1H, d, J=5.4 Hz, G2-OH), 4.96(1H, d, J=5.1 Hz, G3-OH), 4.92(1H, d, J=5.1 Hz, G4-OH), 4.72(1H, t, J=5.4 Hz, 10-OH), 4.52(1H, d, J=7.8 Hz, H-G1), 4.45(1H, t, J=5.8 Hz, G6-OH), 4.12(1H, br. d, J=15.0 Hz, H-10), 3.96(1H, br. d, J=15.0 Hz, H-10'), 3.64(1H, m, H-G6), 3.63(3H, s, -OCH₃), 3.41(1H, m, H-G6'), 3.16(1H, m, H-G3), 3.11(1H, m, H-G5), 3.05(1H, m, H-G4), 3.05(1H, m, H-5), 2.97(1H, m, H-G2), 2.67(1H, m, H-6), 2.63(1H, m, H-9). 2.03(1H, m, H-6'), ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ 166.9 (-CO₂), 151.6 (C-3), 144.1 (C-8), 125.5 (C-7), 110.9 (C-4), 98.6 (C-G1), 95.7 (C-1), 77.2 (C-G5), 76.6 (C-G3), 73.3 (C-G2), 70.0 (C-G4), 61.0 (C-G6), 59.3 (C-10), 51.0 (-OCH₃), 45.9 (C-9), 38.0 (C-6), 34.4 (C-5).

Genipin의 생성

Acetate 완충용액(100 mM, pH 5.0)에 치자로부터 추출한 geniposide(20 mg)와 β-glucosidase(1%)를 가하고 37°C에서 3시간 동안 가수분해한 후⁹⁾ ether를 이용하여 층분리하고 이를 감압 농축하여 genipin 9 mg(수득률: 77%)을 얻었다.^{6,9)} mp. 119~122°C(ref.⁹⁾ 120~121°C), R_f 0.34(hexane:ethyl acetate=1:2), UV(CH₃OH) λ_{max} 240 nm, ¹H-NMR(CDCl₃) 7.53(1H, s, H-3), 5.88(1H, s, H-7), 4.82(1H, d, J=8.5 Hz, H-1), 4.35(1H, d, J=13.2 Hz, H-10), 4.29(1H, d, J=13.2 Hz, H-10'), 3.74(3H, s, -OCH₃), 3.22(1H, ddd, J=9.5, 8.5, 8.5 Hz, H-5), 2.89(1H, ddt, J=16.8, 8.5, 1.4 Hz, H-6), 2.54(1H, ddd,

J=8.5, 8.5, 1.5 Hz, H-9), 2.07(1H, ddt, J=16.8, 9.5, 1.8 Hz H-6'), ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) 167.9(-CO₂), 152.4(C-3) 142.1(C-8), 130.9(C-7), 110.8(C-4), 96.3(C-1), 61.3(C-10) 51.3(-OCH₃), 48.2(C-9), 39.0(C-6), 36.7(C-5).

pH 변화에 따른 치자 청색소의 생성

Genipin 표준에탄올용액(10 mM)과 glycine, alanine, histidine, lysine, phenylalanine 및 glutamate 표준수용액(100 mM)을 각각 제조하였다. 완충용액은 100 mM의 citrate (pH 3.0) acetate (pH 5.0), phosphate (pH 7.0, 12.0) 및 CHES (pH 9.0) buffer를 제조하여 사용하였다.

Genipin이 아미노산과 반응하여 청색소가 생성되는 과정에서 수용액의 pH에 따른 효과를 알아보기 위하여, UV cuvet에 70°C로 조정된 완충용액(pH 3.0, 5.0, 7.0, 9.0, 11.0) 980 μl를 가하고 genipin 표준용액과 glycine 표준용액을 각각 10 μl씩 가한 다음 생성되는 청색소를 UV/Vis spectrometer를 이용하여 200~900 nm의 파장범위에서 30분 간격으로 10번 연속 scanning하였다(Fig. 1).

아미노산 변화에 따른 치자 청색소의 생성

Genipin과 아미노산이 반응하여 청색소가 생성될 때 아미노산의 종류에 따른 효과를 알아보기 위하여, UV cuvet에 70°C로 조정된 완충용액(pH 7.0) 980 μl를 가하고 10 μl의 genipin 표준용액과 각 10 μl의 glycine, alanine, histidine, lysine, phenylalanine 및 glutamate 표준용액을 가한 다음 200~900 nm의 파장범위에서 5분 간격으로 20번 연속 scanning하였다(Fig. 2). 또한 glycine, alanine, histidine, lysine, phenylalanine 및 glutamate 등의 아미노산이 genipin과 반응하여 생성되는 청색소의 생성속도와 활성화에너지를 구하기 위하여 흡수파장을 600 nm로 고정시킨 다음 60, 70, 80, 90°C에서 흡광도의 증가를 측정하여 생성속도 및 활성화에너지를 각각 계산하였다(Fig. 3, Table 1).

결과 및 고찰

pH에 따른 치자 청색소 생성

Fig. 1의 UV/Vis spectra로부터 볼 수 있는 바와 같이 70°C에서 genipin이 glycine과 반응하여 청색소가 되는 과정은 pH에 의하여 영향을 크게 받았다. pH 3에서는 청색소가 전혀 생성되지 않았다. pH 5.0에서는 청색소 생성반응이 느리게 진행되었는데, genipin으로 인한 240 nm의 흡광도가 느리게 감소하면서 290 nm 부근의 shoulder와 함께 520 nm에서 620 nm 부근까지 넓은 범위에서 흡수를 하는 자주색에 가까운 청색소가 생성되었다. pH 7.0에서는 genipin으로 인한 240 nm의 흡광도가 빠르게 소멸되면서, 290 nm 부근 및 570~600 nm 사이에서 흡수하는 청색에 가까운 자주색 색소가 생성되었는데, 시간이 진행되면서 290 nm 부근의 흡광도는 약간 감소하였다. 본 실험에서 행한 여러 pH 범위 중 pH 7.0에서 가장 많은 청색소가 생성되었는데 70°C에서 5시간 정도이면 반응이 종결됨을 확인할 수 있었

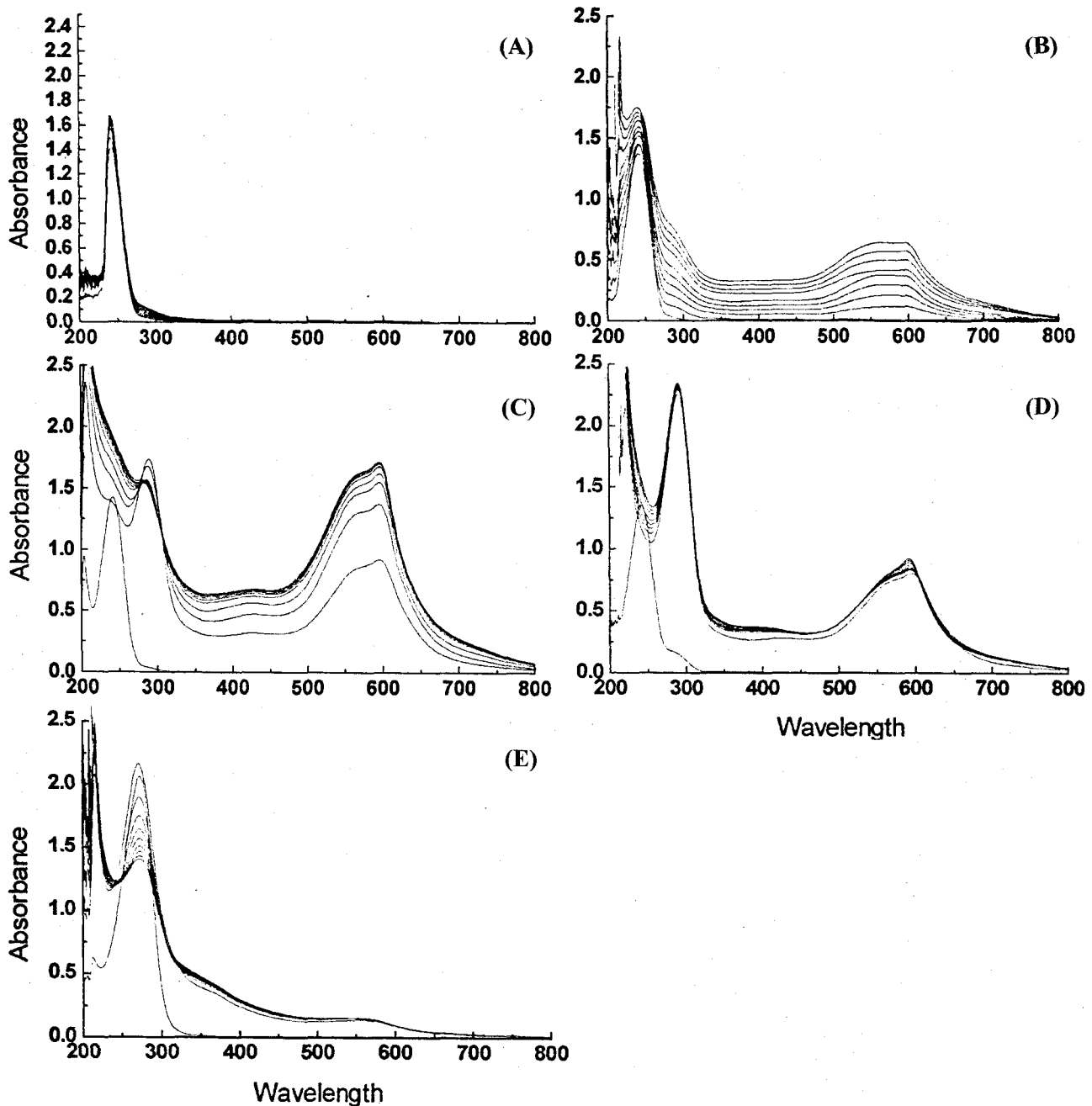


Fig. 1. UV/Vis spectra for the formation of blue pigment from genipin (0.1 mM) with glycine (1.0 mM) in various buffer solutions with different pH at 70°C. (Scanning interval: 30 min); (A) pH 3.0 (100 mM citrate), (B) pH 5.0 (100 mM acetate), (C) pH 7.0 (100 mM phosphate), (D) pH 9.0 (100 mM CHES), (E) pH 12.0 (100 mM phosphate).

pH 9.0에서는 pH 7.0에서 보다 반응이 빠르게 진행되어 0°C에서 30분만에 청색소가 거의 다 형성된 양상을 보여 주었으나, 570~600 nm 사이의 흡광도는 pH 7.0에서 보다 반 정도로 작게 나타났다. 또한 중간생성물로 추정되는 290 nm 부근의 흡수파장이 pH 7.0의 경우보다 크게 나타났다 시간이 지나도 감소하지 않음을 관찰할 수 있었다. pH 12.0에서는 273 nm에서 강한 흡수파장이 관찰된 반면 600 nm 부근의 흡광도는 아주 낮았다. 이상을 종합하여 보면, genipin이 glycine과 반응하여 청색소가 되는 과정은 pH 7.0에서 가장 좋은 결과를 보여 주었는데 70°C에서 5시

간 반응시키면 완결되는 것을 알 수 있었다. 이 결과는 청색소 생성을 위하여 pH 7.0, 80°C에서 4시간 반응시킨 Fujikawa 등⁴⁾의 보고와 유사하였다.

아미노산에 따른 치자 청색소 생성

Fig. 2는 70°C에서 phosphate buffer(pH 7.0) 존재 하에 genipin을 각종 아미노산과 반응시켰을 때의 흡수 spectra로 5분 간격으로 scanning 하였다. 청색소를 나타내는 부위에서의 최대 흡수파장은 glycine의 경우 595 nm(570 nm 부근에서 shoulder), alanine은 595 nm(570 nm 부근에서 shoulder),

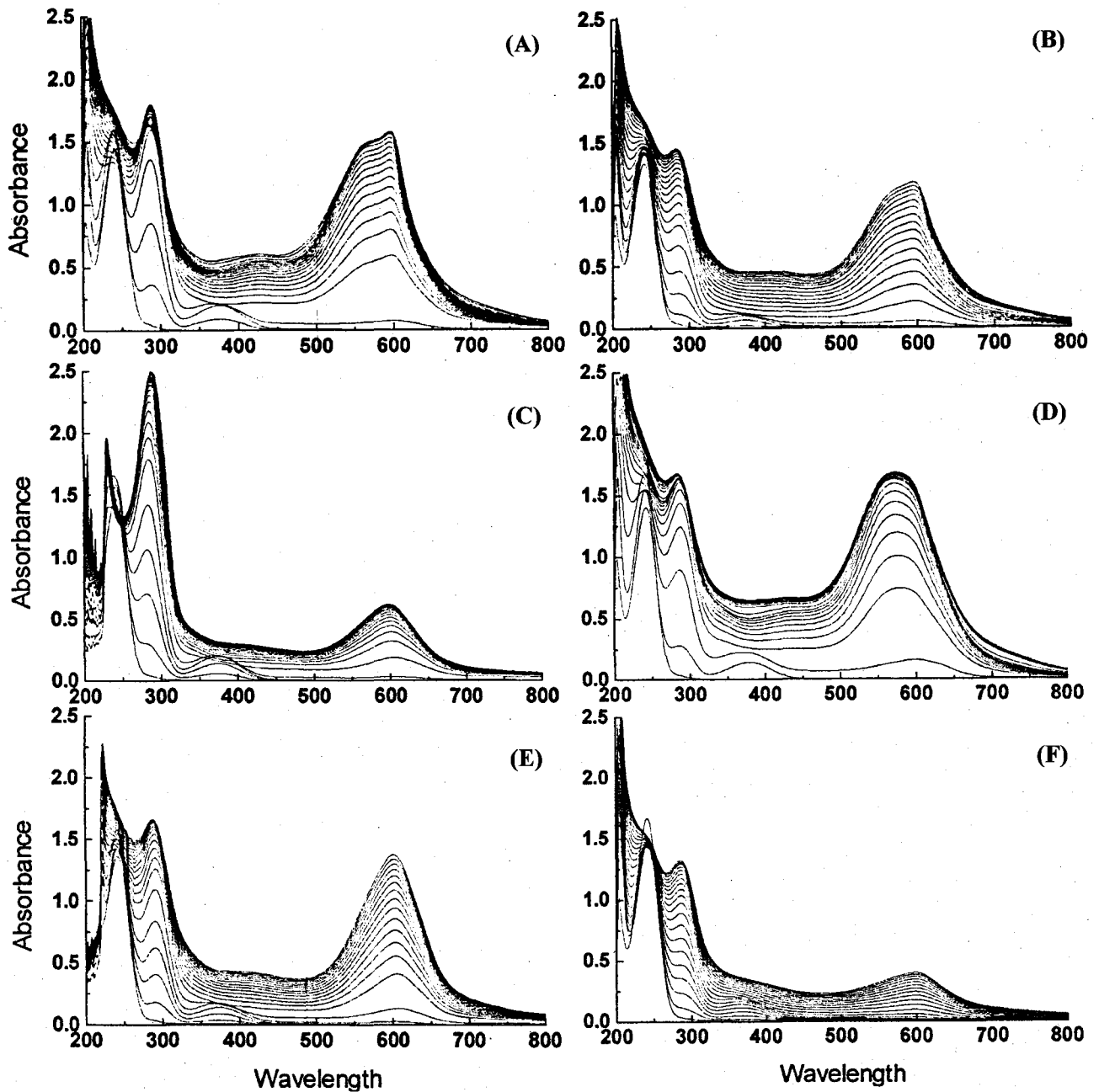


Fig. 2. UV/Vis spectra for the formation of blue pigment from genipin (0.1 mM) with various amino acids (1.0 mM) in 100 mM phosphate buffer, pH 7.0 at 70°C. (Scanning interval: 5 min); (A) Gly, (B) Ala, (C) His, (D) Lys, (E) Phe, (F) Glu.

histidine는 601 nm, lysine은 573 nm, phenylalanine은 602 nm, glutamate는 601 nm이었다. 이상의 결과는, 사용한 아미노산의 종류가 일부 다르기는 하나, Fujikawa 등⁹⁾의 연구 결과와 유사한 경향을 보여주었다. Glycine과 alanine을 비교하였을 때 청색소를 나타내는 부위에서의 흡수양상은 서로 비슷하나, glycine에 의한 청색소가 alanine의 경우 보다 약간 더 크게 흡수하는 것을 알 수 있었다. Lysine, glycine, phenylalanine 및 alanine에 의한 청색소의 흡광도가 컸고, glutamate 및 histidine에 의한 청색소의 흡광도가 작았다. 청색소의 선명도는 phenylalanine과 histidine에 의한 경우가 가장 좋았는데 phenylalanine에 의한 청색소의 흡광도는

lysine 및 glycine에 의한 청색소의 흡광도에 가까울 정도로 컸다. 위의 결과로부터 아미노산의 종류에 따라 청색소 색깔의 차이가 있음을 눈으로 뿐만 아니라 스펙트럼의 양상으로부터도 확인할 수 있었고, 생성량에서도 크게 차이가 있음을 알 수 있었다.

온도에 따른 치자 청색소 생성

Genipin과 아미노산의 청색소 생성속도를 측정하기 위하여 pH 7.0 조건하에 60, 70, 80, 90°C의 다양한 온도 범위에서 여섯 종류의 아미노산 농도를 Genipin 농도의 10배로 하여 600 nm에서 각각 흡광도를 측정하였다. 청색소 변환반

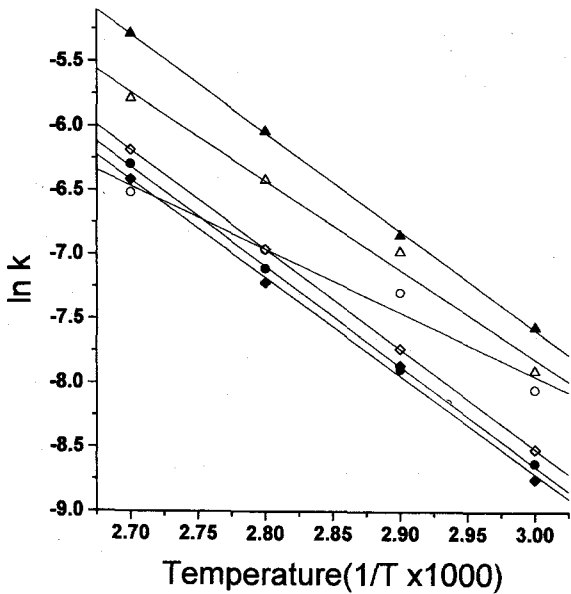


Fig. 3. Arrhenius plots for the formation of blue pigment from genipin (0.1 mM) with amino acids (1.0 mM) in 100 mM phosphate buffer, pH 7.0 at different temperatures. Key: ○—○; Gly, ●—●; Ala, △—△; His, ▲—▲; Lys, ◇—◇; Phe, ◆—◆; Glu.

Table 1. Rate constants (k) for the formation of blue pigments from genipin (0.1 mM) with various amino acids (1.0 mM) in 100 mM phosphate buffer (pH 7.0) at different temperatures

Temperature (°C)	Rate constants (s ⁻¹) × 10 ⁴					
	Gly	Ala	His	Lys	Phe	Glu
60	3.21	1.80	3.70	5.18	2.02	1.59
70	6.79	3.73	9.32	10.60	4.40	3.86
80	9.48	8.18	16.31	23.80	9.50	7.33
90	14.78	18.46	30.61	50.49	20.61	16.36

응은 pseudo first order 반응을 나타내었으며, 여섯 종류의 아미노산에 대한 온도에 따른 반응속도 상수 k를 표 1에 정리하였다. 염기성 측쇄를 가지고 있는 lysine이 가장 빠르게 반응하였고, 산성 측쇄를 가지고 있는 glutamate가 가장 느리게 반응하였는데 lysine이 glutamate보다 청색소 전환속도가 약 세배 정도 빨랐다. 활성화에너지를 계산한 결과 glycine은 9.8 kcal/mol, alanine은 15.4 kcal/mol, histidine은 13.3 kcal/mol, lysine은 15.1 kcal/mol, phenylalanine은 15.4 kcal/mol, glutamate는 15.1 kcal/mol이었다. Fig. 3에서도 확인할 수 있는 바와 같이 glycine의 활성화에너지가 특히 작은 값을 보여주었는데 이는 glycine의 입체장애가 작아서 polymerization이 쉽게 일어나기 때문으로 추정된다.

치자는 황색소인 crocin을 다량 함유하고 있으므로, 치자로부터 얻을 수 있는 식용색소는 황색소, 청색소 및 두 색을 섞은 녹색이 가능하다. 본 연구에서는 치자로부터 황색소인 crocin을 추출하여 위의 방법으로부터 얻은 청색소와 섞어 다양한 질감의 녹색 내지 청녹색을 얻을 수 있었다. 에탄올로 추출한 치자 황색소를 첨가한 배지에 일부 미생물 특히

*Staphylococcus epidermidis*를 16시간 배양하면 청녹계 색으로 변환시킨다는 보고⁹⁾가 있는데 이는 추출한 치자 황색소에 부분적으로 들어 있는 geniposide가 미생물에 의해 genipin으로 분해되어 아미노산과 반응하므로 청색소로 전환되고, 생성된 청색소가 황색소와 섞여 청녹색을 나타내는 것으로 추정된다. Geniposide를 가수분해하기 위하여 미생물 또는 immobilized enzyme을 사용하는 대신에 immobilized growing cells를 이용하여 청색소를 연속적으로 생산하는 보고가 있는데¹⁰⁾ 이 경우 geniposide가 청색소의 생성원으로 뿐만 아니라 세포의 성장에도 유익한 방법이라 할 수 있다.

치자는 안정성뿐만 아니라 다양한 범위의 색이 가능하여 식용색소로의 응용가능성이 커서 캔디, 얼음과자, 국수류, 게맛살, 생선 알, 삶은 콩, 주류 등에 식용색소로 이용될 수 있다.³⁾ 아미노산 대신에 aminosulfonic acid인 taurine을 사용한 경우에도 안정한 청색소를 얻을 수 있어서 여섯 개의 주요성분을 HPLC로 확인하였다는 보고⁹⁾가 있으므로, 아미노산 이외의 다른 아미노화합물을 사용하여 색감의 질과 안정성을 높이는 연구가 필요하다.

이상의 결과를 종합하면, 치자의 성분인 geniposide를 가수분해하여 얻은 genipin을 아미노산과 반응시켜 얻을 수 있는 청색소 생성의 최적조건은 pH 7.0이었고, pH 3.0 조건에서는 청색소가 전혀 생성되지 않았으며, pH 12.0 조건에서는 미량의 청색소만 생성되었다. 아미노산의 종류에 따라 서로 청색소 생성량 및 색감에 차이가 있었는데 lysine($\lambda_{max}=573$ nm), glycine($\lambda_{max}=595$ nm), phenylalanine($\lambda_{max}=602$ nm), alanine($\lambda_{max}=595$ nm)과의 반응에서 많은 청색소가 생성되었고 histidine($\lambda_{max}=601$ nm)과 glutamate($\lambda_{max}=601$ nm)의 경우에는 적은 양의 청색소가 생성되었다. 여러 온도범위(60, 70, 80, 90°C, pH 7.0 phosphate 완충용액)에서의 청색소 생성속도상수를 구하였고 이들 값을 Arrhenius식에 대입하여 활성화에너지를 계산한 결과 glycine이 다른 아미노산에 비해 특히 작은 값의 활성화에너지를 나타내었다.

감사의 글

이 논문은 농림수산부의 특정연구과제 연구비(1998)와 경희대학교 교비연구비(1997)에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- Zollinger, H. Color Chemistry, chap. 16, 2nd Ed. VCH, Weinheim, 1991.
- Lee, C. Y. and W. J. Kim, Natural Spices and Food Colorants, chap. 2, Hyangmoonsa, 1985.
- Hendry, G. A. F. and J. D. Houghton, Natural Food Colorants, chap. 9, 2nd Ed., Chapman & Hall, 1996.
- Fujikawa, S., Y. Fukui, K. Koga and J. Kumada, Brilliant skyblue pigment from gardenia fruits. *J. Ferment. Technol.*, **65**, 419-424 (1987).
- Koga, K., S. Fujikawa and Y. Fukui, US Patent No 4 878 921 (1989).

6. Endo, T. and H. Taguchi, The constituents of *Gardenia jasminoides* geniposide and genipin-gentiobioside. Chem. Pharm. Bull., **21**, 2684-2688 (1973).
7. Drewes, S. E. and L. Kayonga, Iridoid molluscicidal compounds from *Apodytes dimidiata*. J. Nat. Prod., **59**, 1169-1170 (1996).
8. Djerassi, C., T. Nakano, A. N. James, L. H. Zalkow, E. J. Eisenbraun and J. N. Shoolery, Terpenoids. XLVII. The structure of genipin. J. Org. Chem., **26**, 1192-1206 (1961).
9. Jeong, H.-S., and K.-H. Park, Characteristics of the conversion pigment from *Gardenia jasminoides* yellow pigment. Korean J. Food. Sci. Technol., **30**, 319-323 (1998).
10. Fujikawa, S., S. Nakamura, K. Koga and J.-I. Kumada, Continuous blue pigment formation by gardenia fruit using immobilized growing cells. J. Ferment. Technol. **65**, 711-715 (1987).

Physicochemical Characteristics for the Transformation of Blue Pigments from Genipin of *Gardenia jasminoides* with Amino Acids

Jaе-Youn Lee, Tae-Ryong Hahn¹ and Young-Sook Paik*(*Department of Chemistry and Genetic Engineering¹, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea*)

Abstract : Genipin was obtained from hydrolysis of geniposide isolated from gardenia fruits with β -glucosidase. Reaction of genipin with glycine, alanine, histidine, lysine, phenylalanine and glutamate in aqueous buffer solution converted colorless starting materials to blue pigments. Effect of pH for the formation of blue pigments was tested using UV/Vis spectrophotometer. The optimum pH for the formation of blue pigments was 7.0. No pigment and trace amounts were formed at acidic (pH 3.0) and alkaline (pH 12.0) conditions, respectively. The amount and tincture of blue color were distinct with different amino acids. In contrast with lysine (λ_{max} =573 nm), glycine (λ_{max} =595 nm), phenylalanine (λ_{max} =602 nm) and alanine (λ_{max} =595 nm), the reaction of genipin with histidine (λ_{max} =601 nm) and glutamate (λ_{max} =601 nm) produced relatively small amounts of blue pigments. Rate constants for the formation of blue pigments from genipin with amino acids at various temperatures (60, 70, 80, 90°C, pH 7.0 phosphate buffer) were obtained. Rate constants of genipin with basic amino acids were larger than neutral or acidic amino acids. Arrhenius activation energies of the formation of blue pigments indicated that activation energy of glycine (E_a =9.8 kcal/mol) was especially lower than those of other amino acids (E_a =13.3~15.4 kcal/mol).

Key words : *Gardenia Fructus*, *Gardenia jasminoides*, *Geniposide*, *Genipin*, Amino acids, *Gardenia blue pigments*

*Corresponding author