

## 초임계유체의 작동변수가 지방산 에스터의 분배계수에 미치는 영향

†허 병 기 · 노 덕 우 · 우 동 진

인하대학교 공과대학교 화공·고분자·생물공학부

(접수 : 1999. 10. 1., 게재승인 : 1999. 10. 12.)

## The Effects of Operation Variables of Supercritical Fluid on the Distribution Coefficients of Fatty Acid Esters

Byung-Ki Hur†, Duck-Woo Noh, and Dong-Jin Woo

School of Chemical, Polymer, and Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

(Received : 1999. 10. 1., Accepted : 1999. 10. 12.)

Supercritical fluid of carbon dioxide was used to investigate the effects of its temperature and density on the distribution coefficients of fatty-acid esters composing fish oil. The distribution coefficient of fatty acid ester was greatly different from each other according to the temperature and density of the supercritical fluid. The possibility of separation of a certain fatty acid from the mixture of fatty acids was tested. The density of the supercritical fluid showing the great differences of the distribution coefficients among the fatty acid esters ranged from 0.3 g/mL to 0.4 g/mL. The retrograde condensation took place at high densities of the supercritical fluid.

**Key Words** : supercritical fluid extraction, carbon dioxide, distribution coefficient fatty acid ester, retrograde condensation, fish oil.

### 서 론

여러 성분으로 구성된 혼합물에서 특정 성분만을 분리해내는 조작으로 증류법, 분류법, 용매추출법등이 가장 널리 사용되어져 왔다. 에너지 과소비가 심각한 문제로 대두되고 환경오염문제가 해결하여야할 최대과제중의 하나로 부각되면서 증류법, 분류법 및 용매추출법에 의한 분리공정을 재검토하려는 시도가 급격히 이루어지고 있다(1-3). 증류법은 에너지 소비가 과다할 뿐만 아니라 비등점이 높은 혼합물인 경우에는 분리하려고 하는 물질이 열변성되는 단점도 내포하고 있다(3). 에너지소비측면에서 볼 때 용매추출법은 경제적이거나 사용된 용매의 회수가 용이하지 않다는 단점을 내포하고 있을 뿐만 아니라 분리해내려는 물질에 적합한 용매의 선택 또한 쉽지 않다(1, 2). 이와 같은 단점을 보완하기 위하여 최근에는 초임계 유체를 용매로 이용하는 초임계유체 추출공정의 개발이 활발하게 진행되고 있다. 초임계유체추출공정은 증류에 비하여 분리에 소요되는 에너지 양이 적으며 분리온도가 낮아서 열에 민감한 물질의 열변성 또는 열분해 없이 원하는 물질을 분리해 낼 수 있다는 장점도 지니고 있다(4).

초임계 유체로 무독성, 비활성인 이산화탄소가 많이 사용되기

때문에 용매추출법에 비하여 용매의 회수가 용이하며 독성물질이 까다로운 식품 및 의약품 등의 추출에 유리하다(5, 6). 초임계 상태의 이산화탄소의 밀도는 기체밀도의 1,000배까지 증가하며 그 용해도는 기체 이산화탄소에 비하여 10,000배 이상 증가한다. 반면 점도는 기체점도보다 10배 이상 높으나 액체점도의 20분의 1에 불과하여 추출대상물에 대한 침투성이 우수하게 된다. 또한 물질분리속도에 영향을 미치는 확산계수는 액체이산화탄소에 비하여 100배 이상의 높은 값을 나타낸다. 그러나 초임계 유체 추출공정을 도입하기 위해서는 분리하려는 물질의 온도에 대한 민감성, 응축 및 핵형성의 용이성등에 대한 검토와 평가가 있어야 함은 물론 분리하려고 하는 물질 및 공정에 적합한 초임계 유체의 선정이 선행되어야 한다.

이산화탄소의 임계 온도 31.1°C에서 압력을 73 bar에서 350 bar로 변화시키면 밀도는 0.4에서 0.9 g/mL까지 변하므로 압력과 온도에 의하여 용해력을 제어할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 임계온도가 비교적 낮고 무독성이며 화학적으로 비활성인 이산화탄소를 초임계유체로 선정하였다.

불포화지방산중 물고기 기름에 다량 함유되어 있는  $\omega_3$  다중 불포화지방산인 EPA(C 20:5)와 DHA(C 22:6)를 분리해 내려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 DHA와 EPA를 순수하게 분리하는데는 소요되는 비용이 클 뿐만 아니라 열과 공기의 접촉에 의하여 쉽게 변성되는 단점도 있다. 이들 단점을 보완하기 위하여 초임계추출에 의한 분리연구가 여러 연구자들에 의하여 수행되고 있다. 그러나 이들 연구는 추출컬럼의 온도분포를 열역학적 평형자료에 근거를 두지 않고 임의로 설정한 연구로 실

† Corresponding Author : Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea  
Tel : 032-860-7512, Fax : 032-875-0827  
E-mail : biosys@inha.ac.kr

제 공정설계의 기초자료로 이용하는데는 여러 문제점이 있다. 따라서 본 연구에서는 물고기 기름의 가수분해 및 에스테르화 반응에 의하여 생성되는 지방산 에스테르의 혼합물로부터 각 성분이 이산화탄소 초임계유체에 대하여 나타내는 분배계수의 특성치 변화를 작동온도와 밀도의 함수로 규명하였다.

## 재료 및 방법

### 초임계 유체 추출 장치

Hewlett-Packard(USA)사의 HP 7680T모델의 초임계 유체 추출 장치를 사용하였다. 이 시스템은 펌프, 추출 용기, 가변조절기, 추출물 수집기 및 시스템 제어 장치로 구성되어 있다(Figure 1). 추출시료가 들어 있는 추출용기는 추출 chamber로 이송, 장착된다. 추출용기로 흐르는 유량은 추출 chamber내의 bypass valve에 의하여 제어되어 설정한 밀도가 정확히 유지된다. 또한 고압의 밀봉이 가능하여 추출의 재현성이 높다. 추출 용기는 고압(400 bar)에 견디며 화학적으로 안정한 스테인레스강으로 제작되었으며 용량은 7.0 mL이다. 펌프는 피스톤의 왕복운동을 통하여 초임계 유체를 저장조로부터 시료 주입기로 밀어주며 실린더와 연결된 관의 앞뒤에는 check valve가 있어 용매의 역 방향 흐름을 방지한다. 또한 두 개의 피스톤을 서로 반대방향에서 운동시킴으로서 각 피스톤에 의하여 발생한 펄스를 상쇄시키도록 되어 있다. 가변 조절기는 plunger로 orifice의 크기를 조절하여 시스템의 압력과 유속을 조절하여 CO<sub>2</sub>가 노즐을 통과할 때 발생하는 Joule-Thomson cooling효과를 상쇄시킨다. 추출물 취합기는 추출물에 적합한 충전제를 선택하여 사용할 수 있다. 추출물 취합기에 취합된 추출물은 적절한 세척 용매로 용리시켜 추출물을 회수한 후 분석한다. 추출물 수집기의 온도 제어 범위는 -30°C에서 120°C로써 CO<sub>2</sub>를 이용한 초 냉각이 가능하다. 본 연구에서는 직경이 0.5 mm이고 스테인레스강으로 제작된 구를 충전제로, hexane을 세척 용매로 사용하였다.

### 물고기기름

정어리(*Sardinops melanoostictus*)와 밴댕이(*Herklotsichthys zunasi*)류의 해양 어류를 잘게 썰어 삶은 후 압착하여 원료유를 얻은 후 탈산, 진공건조, 냉각, 여과, 탈취 등의 공정을 거쳐 제조한 LiPRO AS(Norway)사의 물고기 기름을 구입하여 사용하였으며 이 물고기 기름은 EPA 18%, DHA 15%를 함유하고 있다.

### 물고기 기름의 에스테르화 반응

Rizvi 등(7)은 극성을 띠고 있는 지방산의 카르복실기가 메탄올과 에스테르 결합을 형성하게 되면 비극성 용매인 초임계 CO<sub>2</sub>에 대한 용해도가 증가한다고 보고하고 있다. 본 연구에서는 Guy Lepage(8)의 방법을 변형하여 물고기 기름을 에스테르화시켜 실험에 사용하였다.

### 분석

Hewlett-Packard사의 5890 series II 모델의 가스 크로마토그래프 추출물을 분석하였다. Detector는 FID를 사용하였으며 Column은 Hewlett-Packard사의 HP-1 column을 사용하였다. Oven의 온도는 100°C(2 min)+2/min(45 min)+190°C(2 min)으로 프로그램하였으며 Detector의 온도는 250°C이었다. 정량 분석을 위한 표준

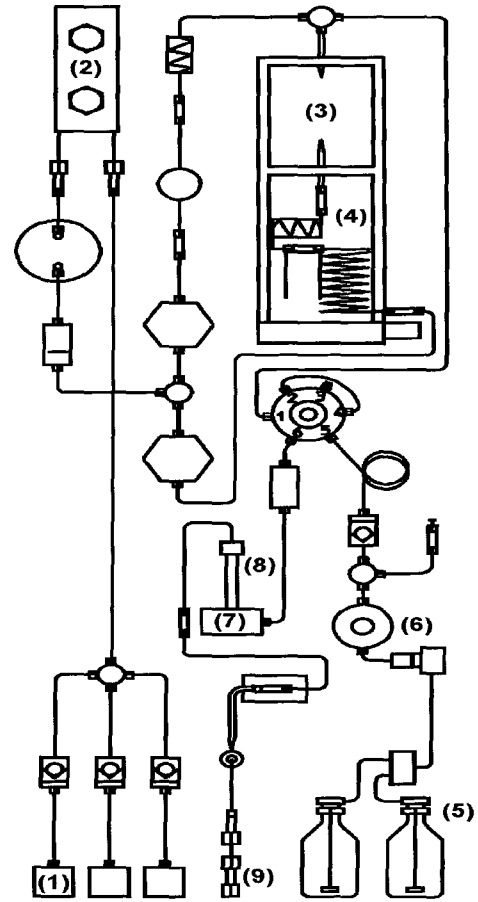


Figure 1. System of supercritical fluid extractor. (1) Extraction fluid inlet valve, (2) Extraction fluid pump, (3) Extraction chamber, (4) Preheat assembly, (5) Rinse solvent reservoir, (6) Rinse pump, (7) Nozzle, (8) Analyte trap, (9) Extract collection vial.

시약은 Sigma사에서 구입하였다.

### 추출조건

이산화탄소의 추출유속은 1.0 mL/min, 추출시간은 7 min, 평형시간을 15.0 min으로 고정시키고, 추출온도와 추출압력을 Figure 2의 범위에서 변화시켜가면서 초임계 유체의 동적추출실험을 수행하였다.

## 결과 및 고찰

물고기 기름을 구성하고 있는 성분 중 그 함량이 높은 C14:0, C16:0, C16:1, C18:1, C20:5 및 C22:6의 여섯 종류에 대하여 추출온도와 추출밀도가 각 성분의 분배계수에 미치는 영향을 규명하였다. 분배계수는 다음 식(1)로 표현되며 K값이 클수록 raffinate보다는 extract내로 추출물이 농축됨을 의미한다.

$$K_i = \frac{y_i/(1-y_i)}{x_i/(1-x_i)} \quad (1)$$

위 식에서 K<sub>i</sub>는 i-성분의 분배계수, y<sub>i</sub>는 extract내의 i-성분의 농도, x<sub>i</sub>는 주입혼합물내의 i-성분의 농도를 의미한다.

Temp (°C)	Density (g/mL)								Pressure (Bar)
	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	
25									90 ~ 357
30									114 ~ 375
35									139 ~ 367
40									117 ~ 383
45									81 ~ 376
50									85 ~ 370
55									79 ~ 365
60									82 ~ 380

Figure 2. Experimental ranges. (□ : experimental range, ■ : selected experimental conditions)

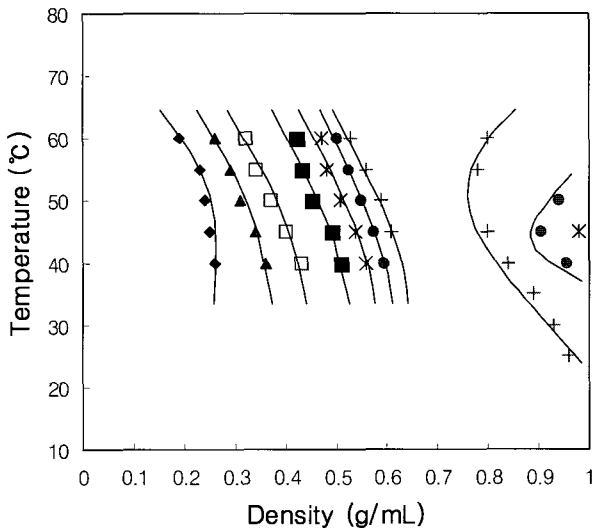


Figure 3. The functional relationship between the distribution coefficient (K) of DHA and the temperature and the density of the supercritical fluid CO<sub>2</sub>. + (K=1), ● (K=0.8), \* (K=0.6), ■ (K=0.4), □ (K=0.2), ▲ (K=0.1), ◆ (K=0).

**추출온도와 밀도가 다중불포화지방산의 분배계수에 미치는 영향**

추출온도와 초임계유체의 밀도가 DHA의 K값에 미치는 영향을 Figure 3에 도시하였다. 이 결과에 의하면 동일한 K값이 두 영역에서 나타남을 알 수 있다. K값이 1인 경우 추출밀도 0.6 g/mL이하인 영역에서 한번, 추출밀도 0.75 이상인 범위에서 또 한번 나타났다. 추출밀도가 0.6 이하인 경우 일정한 밀도에서 추출농도를 증가시키면 K값이 증가하는 경향을 나타내었으며 추출온도를 일정하게 유지시키면서 추출밀도를 증가시키도 K값이 증가하였다. 반면 추출밀도가 0.75 이상에서 추출밀도를 일정하게 고정시키고 추출온도를 상승시키면 K값이 감소하였다가 증가하는 경향을 보이고 있다. 일정한 압력에서 추출온도 상승에 따라 K값이 감소하는 경향은 Hoyer(6)에 의하여 보고된 용매화 효과가 감소하는 역행응축(retrograde condensation)현상으로 해석

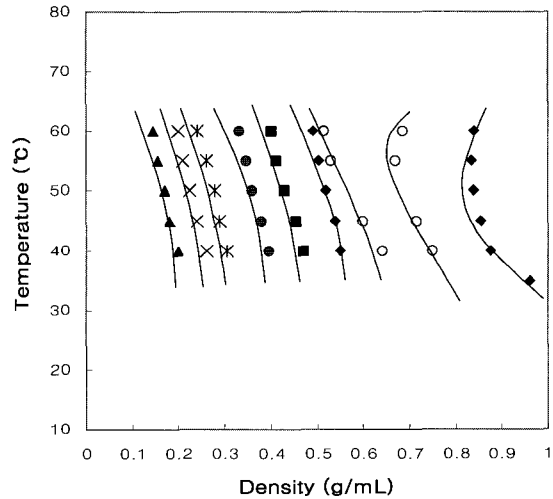


Figure 4. The functional relationship between the distribution coefficient (K) of EPA and the temperature and the density of the supercritical fluid CO<sub>2</sub>. ○ (K=1.2), ◆ (K=1.0), ■ (K=0.6), ● (K=0.4), \* (K=0.2), × (K=0.1), and ▲ (K=0).

할 수 있으며, Nilson(9)등에 의하여 실제 농축공정에 이 효과를 응용하기도 하였다. 초임계 유체의 밀도가 0.65 g/mL이하인 영역에서 온도를 일정하게 유지시켰을 때 밀도가 증가하면 K값이 증가하는 결과는 Westwood(10)에 의하여 보고된 연구결과 즉 압력 증가에 따른 밀도 증가로 인하여 용해도가 상승한다는 결과와 일치하였다. 또한 이 실험결과에 의하면 본 연구의 실험범위 즉 추출온도 30°C 내지 60°C, 추출유체의 밀도 0.2 g/mL내지 1.0 g/mL 사이에서는 DHA가 extract로 추출되는 것 보다 raffinate에 농축되는 경향이 있음을 알 수 있다. 이 결과 역시 Nilson(9)의 연속추출 실험에서 DHA가 다른 성분에 비하여 추출 후반부에 농축되는 실험결과와 일치하였다.

Figure 4는 이산화탄소 초임계유체의 추출온도와 밀도가 EPA의 K값에 미치는 영향을 규명한 실험결과이다. K값과 추출온도 및 밀도사이의 함수관계 경향은 DHA의 경우와 대단히 유사하

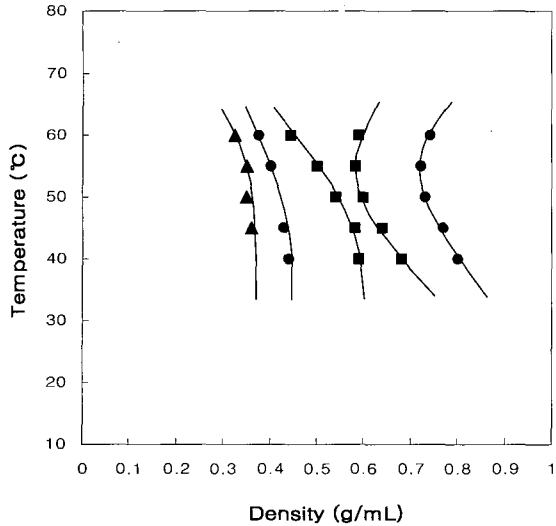


Figure 5. The functional relationship between the distribution coefficient (K) of oleic acid and the temperature and the density of the supercritical fluid CO<sub>2</sub>. ■(K=1.6), ●(K=1.3), ▲(K=1).

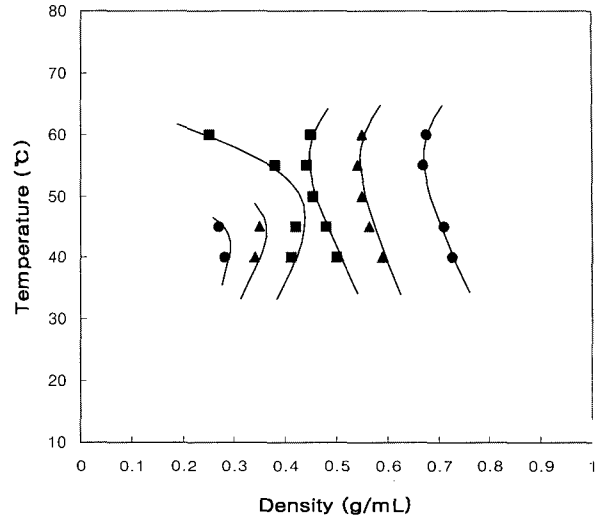


Figure 7. The functional relationship between the distribution coefficient (K) of palmitic acid and the temperature and the density of the supercritical fluid CO<sub>2</sub>. ■(K=2.0), ▲(K=1.6), ●(K=1.2).

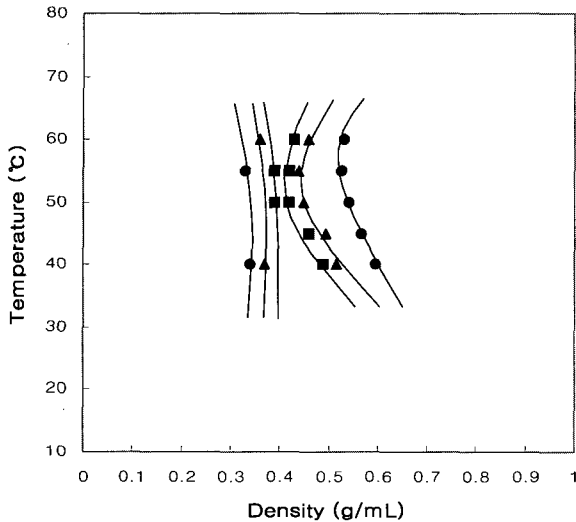


Figure 6. The functional relationship between the distribution coefficient (K) of palmitoleic acid and the temperature and the density of the supercritical fluid CO<sub>2</sub>. ■(K=2.5), ▲(K=2.0), ●(K=1.5).

나 동일한 K값이 나타내는 추출유체 밀도는 DHA에 대한 추출유체의 밀도보다 낮았다. 환원하면 동일한 추출온도와 밀도에 대한 K는 EPA의 경우가 DHA의 경우보다 큰 값을 나타내었다. K와 추출온도와 밀도사이의 함수관계가 EPA와 DHA에 대하여 유사한 것은 이들이 가지고 있는 탄소사슬의 길이와 불포화도가 유사하기 때문으로 해석할 수 있다.

**단일 이중 결합 지방산과 포화지방산에 대한 K값 변화**

탄소수가 18개이며 불포화도가 1인 올레인산에 대한 K값은 대부분 1보다 큰 값을 나타내었으며 추출유체밀도 0.6 g/mL부근에서 최대값을 나타내었다. 추출유체밀도 0.6 g/mL를 중심으로 밀도가 증가하여도 K값이 감소하며 밀도가 증가하여도 K값이 역시 감소하였다. DHA 및 EPA와 같이 역행응축현상이 추출유체밀도 0.6 g/mL이상에서는 나타났으나 밀도가 0.6 g/mL보다 낮

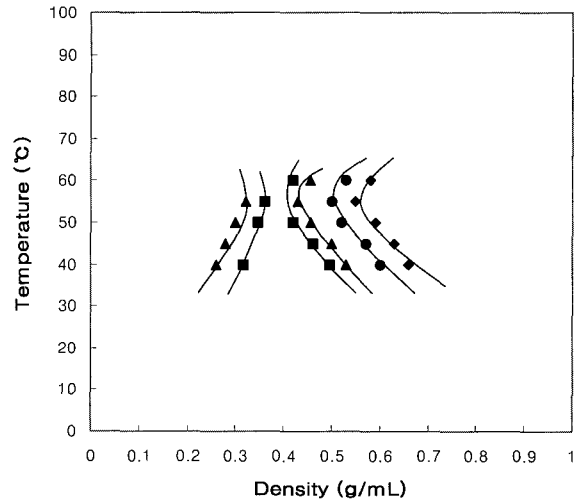


Figure 8. The functional relationship between the distribution coefficient (K) of myristic acid and the temperature and the density of the supercritical fluid CO<sub>2</sub>. ■(K=4.0), ▲(K=3.0), ●(K=2.0), ◆(K=1.5).

은 경우에는 일정한 밀도에서 추출온도가 상승하면 K값이 증가하였다(Figure 5).

팔미톨레익산인 경우 추출유체밀도 0.4 g/mL에서 최대의 K값을 나타내었다. 역행응축현상은 추출유체밀도 0.4 g/mL이상에서 나타났으며, 온도에 따른 역행응축정도가 DHA, EPA 및 올레인산에 비하여 뚜렷함을 알 수 있다. 반면 추출유체밀도 0.4 g/mL 이하에서는 온도가 K값에 영향을 거의 미치고 있지 않음을 알 수 있다(Figure 6).

탄소수가 16개고 포화지방산인 팔미트산의 초임계유체 이산화탄소에 대한 K값과 추출온도와 추출유체 밀도사이의 함수관계가 Figure 7에 도시되어있다. 추출유체밀도 0.4 g/mL 근방에서 최대값을 나타내었다. 역행응축현상은 추출유체밀도 0.4 g/mL 이상의 범위에서 나타났으며 본 연구의 실험범위에 대한 온도와 밀도에서는 K값이 1.2 내지 2.0사이의 범위에 분포하였다. 포화지방

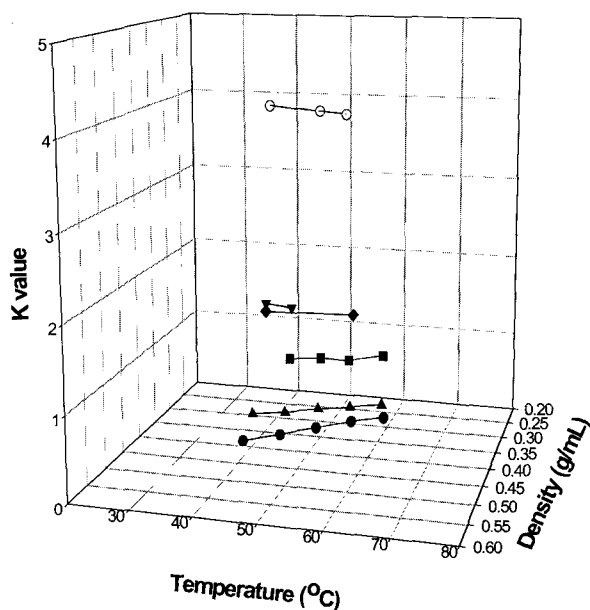


Figure 9. The functional relationship between the distribution coefficient (K) of the fatty acids and the temperature and the density of the supercritical fluid CO<sub>2</sub> at the range of 0.3 g/mL to 0.4 g/mL. —●— (DHA), —▲— (EPA), —■— (oleic acid), —◆— (palmitoleic acid), —▼— (palmitic acid), and —○— (myristic acid).

산이며 탄소수가 14개인 미리스트산에 대한 K값이 Figure 8에 도시되어있다. 본 연구의 전 범위에서 K값이 상당히 큰 값을 나타내어 초임계 유체 이산화탄소에 의한 추출에서 미리스트산을 raffinate에 쉽게 응축됨을 알 수 있다. 추출유체의 밀도 0.4 g/mL인 경우 K값이 최대를 나타내었으며, 유체밀도 0.2 g/mL에서부터 0.7 g/mL사이의 값에서는 모두 역행응축특성을 나타내었다.

#### 물고기 기름을 구성하는 각 지방산에 대한 K값의 종합분석

각 성분에 대한 K값의 차이가 크게 발생하는 추출유체의 밀도 범위는 0.3 g/mL와 0.4 g/mL사이이다. 이 밀도범위에서 각 성분의 K값을 온도와 밀도의 함수로 Figure 9에 도시하였다. 이 범위에서는 DHA의 K값이 다른 성분에 비하여 현저히 낮아 많은 양의 DHA가 raffinate에 농축되는 반면 미리스트산은 K값이 4.0 이상의 값을 나타내어 extract에 거의 다 농축된다. 이 결과에 의하면 extract에 농축되는 양은 탄소수가 작고 포화지방산 경우가 크며, 탄소수가 크고 불포화도가 적은 지방산일수록 raffinate에 농축되는 양이 큼을 알 수 있다.

## 요 약

초임계 유체 이산화탄소를 이용하여 그 온도와 밀도가 물고기 기름의 구성성분인 각종 지방산 에스터의 분배계수에 미치는 영향을 규명하였다. 각 지방산 에스터의 분배계수는 초임계 유체의 온도와 밀도에 따라서 상당한 차이를 나타내어 이산화탄소유체에 의한 지방산의 초임계 유체 추출분리 가능성을 확인할 수 있었다. 각 지방산의 분배계수 차이가 크게 나타나는 초임계 유체의 밀도는 0.3 g/mL 내지 0.4 g/mL사이의 범위에 분포되어 있었다. 또한 각 지방산은 모두 초임계 유체의 밀도가 낮은 쪽보다 높은 쪽에서 온도에 따른 역행응축현상을 나타내었다.

## 감 사

본 연구는 1999년도 인하대학교 대학원생 연구장학금 지원에 의하여 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Williams, D. F. (1981), Review Article Number: Extraction with Supercritical Gases, *Chem. Eng. Sci.*, **36**(11), 1769-1788.
- Hara, A., and N. S. Radin (1978), Lipid Extraction of Tissues with a Low Toxicity Solvent, *Anal. Biochem.*, **90**, 420-426.
- Dzivek, J. D. (1986), Innovative Separation Process Finding It's way into the Food Industry, *Food Technol.*, June, 66-69.
- Rizvi, S. S. H., A. L. Benado, J. A. Zollweg, and J. A. Daniels (1986), Supercritical Fluid Extraction: Operating Principles and Food Application, *Food Technol.*, June, 55-65.
- McHugh, M. (1986), Recent Developments in Separation Science, 9th ed., pp. 75-105, CRC Press Boca Raton, FL.
- Hoyer, G. G. (1985), Extraction with Supercritical Fluids: Why, How, and So What, *Chemotechnol.*, July, 440-448.
- Rizvi, S. S. H., R. R. Chao, and Y. J. Liaw (1988), Supercritical Fluid Extraction and Chromatography: Techniques and Applications, pp. 89-108, ACS Symposium Series, Washington.
- Lepage, G., and C. C. Roy (1984), Improved Recovery of Fatty Acid through Direct Transesterification without Prior Extraction or Purification, *J. of Lipid Res.*, **25**, 1391-1396.
- Nilson, W. B., E. J. Gaultitz, J. K. Stout, and J. Spinelli (1988), Fractionation of Menhaden Oil Ethyl Ester Using Supercritical Fluid CO<sub>2</sub>, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **65**(1), 109-116.
- Westwood, S. A. (1993), Supercritical Fluid Extraction Its Use in Chromatographic Sample Preparation, pp. 30-38, CRC Press, FL.