

초임계 이산화탄소가 들기름의 추출에 미치는 영향

이민정[†] · 김기홍 · 배재오

오뚜기중앙연구소

The Effects of Supercritical Carbon Dioxide on the Extraction of Perilla Oil

Min-Jung Lee[†], Ki-Hong Kim and Jae-Oh Bae

Ottogi Research Center, Gyeonggi 431-760, Korea

Abstract

This study was performed on the effects of extraction temperature, pressure, time on apparent solubility and extraction yield of perilla oil and tocopherol, and color and fatty acid composition of the residue in supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction. Apparent solubility of perilla oil and tocopherol increased with the increase of CO₂ density and was found to strongly depend on extraction pressure rather than extraction temperature. The extract yield of tocopherol in SC-CO₂ extraction increased with an increase of temperature and decreased with an increase of pressure and extraction time. The perilla oil apparent solubility of dried perilla powder for 60~180 min at 40°C/276 bar increased with an extraction time, on the other hands, tocopherol apparent solubility decreased. As the increase of CO₂ density, less redness and yellowness increased. Fatty acid composition of perilla oil showed that perilla oil extracted by SC-CO₂ had better unsaturated fatty acid and decreased in saturated fatty acid. SC-CO₂ extraction offers a safe natural method for gaining perilla oil from dried perilla seeds powder.

Key words: supercritical carbon dioxide extraction, perilla oil, tocopherol

서 론

들깨(*Perilla frutescens* Britton var. *japonica* Hara)는 일년생 초본으로 한국, 중국, 일본, 북인도 등에서 주로 재배되고 있다(1). 들깨는 평균 약 40% 내외의 유지를 함유하고 있으며 특히 유지 제품 중 들기름은 다른 식용유와는 달리 우리나라에서는 옛날부터 들기름의 온화하고 독특한 향미 때문에 식용으로 널리 애용되고 있는 제품이다.

들기름의 특징은 그의 지방산 조성이 약 10% 내외의 포화지방산과 약 90% 내외의 불포화지방산을 함유하고 있고 그 중 60% 정도가 리놀렌산(특히 알파 리놀렌산)으로 구성되어 있다. 들기름 등에 다량 함유되어 있는 리놀렌산의 생리적 기능에 대해서는 여러 연구 결과가 발표되고 있다. 즉, 리놀렌산을 다량 함유하고 있는 들기름은 실험동물에서 인위적으로 유발시킨 유방암과 대장암의 종식을 현저하게 억제하며(2,3) 학습능력을 향상시키고(4) 또한 리놀렌산의 규칙적인 섭취는 혈소판의 응집능력을 저하시켜 심장질환과 혈전증의 예방에 효과적이라는 연구(5,6)가 보고되었다.

들깨로부터 들기름의 추출법에는 압착법이 대부분이고, 일부 용매에 의한 추출이 이루어지고 있으나 용매에 대한 위험성과 소비자들의 거부감으로 인해 그 이용이 미미한 실

정이다. 초임계유체를 이용한 추출법은 천연물, 식품, 환경 시료 등으로부터 목적성분을 신속하고도 선택적으로 추출할 수 있는 특징을 지니고 있으므로 국내에서도 산업적인 이용의 필요성이 증대되고 있다. 현재까지 사용되고 있는 물질 분리법에는 여러 가지가 있으나 그 중 증류법과 용매추출법이 대표적인 물질 분리방법이다. 물질의 끓는점을 이용하여 원하는 물질을 분리하는 증류법은 열을 가하여야 하므로 천연물 중에 있는 유효성분의 분해 및 파괴와 변질 등의 문제가 발생할 수 있다. 그리고 용매추출법은 구성 물질의 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 물질의 기상과 액상의 상경계 지점인 critical point 이상의 압력과 온도를 설정해줌으로써 액상의 용해력과 기상의 확산계수와 점도의 특성을 지니게 함으로써 신속한 추출과 선택적 추출을 가능하게 하는 방법이다. 또한 초임계유체는 주로 이산화탄소 혹은 이산화탄소와 미량의 보조용매로 형성하기 때문에 용매추출법에 비해 유해성 용매의 잔존위험이 없을 뿐만 아니라 상온부근에서 추출조작이 이루어질 수 있기 때문에 천연물 또는 식품과 같이 열에 민감한 물질의 추출에 유용한 방법이다.

[†]Corresponding author. E-mail: mjlee@ottogi.co.kr

Phone: 82-31-421-2138, Fax: 82-31-421-2133

따라서 본 연구는 들기름을 초임계 이산화탄소로 40~60°C, 207~345 bar, 60~180 min 추출하여 들기름, 토코페를 추출수율 및 추출 들기름의 색도, 지방산 조성을 측정하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 들깨(중국산, 2005년산)는 (주)덕성농산을 통해 구입하여 수세한 다음 상온의 그늘에서 건조하여 공시재료로 사용하였다.

볶음 들깨분말의 제조

들깨 약 10 kg을 배전기에 넣고 교반하면서 들깨온도가 170°C에 도달했을 때 즉시 꺼내어 상온에서 냉각하였다. 냉각이 완료된 들깨를 분쇄기를 사용하여 1 mm(No. 18) sieve로 분쇄한 후 aluminum bag에 밀봉한 상태로 -20°C 냉동보관하면서 시료로 사용하였다.

초임계 이산화탄소에 의한 들기름 추출

본 실험에 사용한 초임계유체 추출장치(ISA-SCCOEX-0100-0700-080-RE, ILSHIN AUTOCLAVE Co., Ltd, Korea)의 모식도를 Fig. 1에 나타냈으며, 추출장치는 추출조, 분리조, 가압펌프, 이산화탄소 저장탱크로 구성되어 있다. 추출조, 분리조, 가압펌프, 이산화탄소 저장탱크는 (주)일신오토클레이브에서 제작하여 조립한 것을 사용하였다.

먼저 추출조(extractor)의 뚜껑을 열고 볶음 들깨분말 200

g을 주입하였다. 이산화탄소는 실린더(CO₂ gas container)로부터 check valve를 거쳐 고압 피스톤펌프(HP pump)에 의해 가압되었다. 이때 이산화탄소 주입부의 공동화 현상을 방지하기 위하여 냉각조(cooler)를 설치하여 이산화탄소의 기화를 방지하였다. 가압된 이산화탄소는 역압 조절기(BPR)에 의하여 압력이 조절되었고 압력계(pressure guage)에 의해 압력이 측정되었으며 추출조로 이송되었다. 추출조의 내용적은 1 L이고, 온도는 비례형 온도조절기에 의하여 조절되었으며 열전쌍온도계(TC)에 의하여 측정되었다. 추출조를 통해 perilla oil을 용해한 초임계 이산화탄소는 micro-metering valve를 통해 분리조(separator)에서 기체 이산화탄소와 추출물로 분리되었다.

추출한 perilla oil은 -20°C에서 냉동 보관하면서 분석을 행하였다.

토코페롤의 분석

시료 0.5 g을 10 mL 메스플라스크에 정확히 달아 hexane으로 용해한 후 0.45 μm microfilter로 여과하여 분석시료로 하였다. 각 이성체의 규명은 Merck사의 토코페롤 표준품(D, L-α-tocopherol 99.5%, D-β-tocopherol 99.5%, D-γ-tocopherol 99.5%, D-δ-tocopherol 99.9%)을 분석하여 비교학인하였으며, 이들을 일정 농도로 조제한 후 외부 표준법으로 정량하였다. 칼럼은 Agilent Hypersil SI(5 μm, 4.6 mm × 200 mm, 40°C)로 이동상은 hexane:acetic acid:isopropyl alcohol 혼합용매(100:0.5:0.5, v/v/v, 유량 1.0 mL/min)를 사용하여 diode array detector(DAD; 295 nm)로 분석하였다.

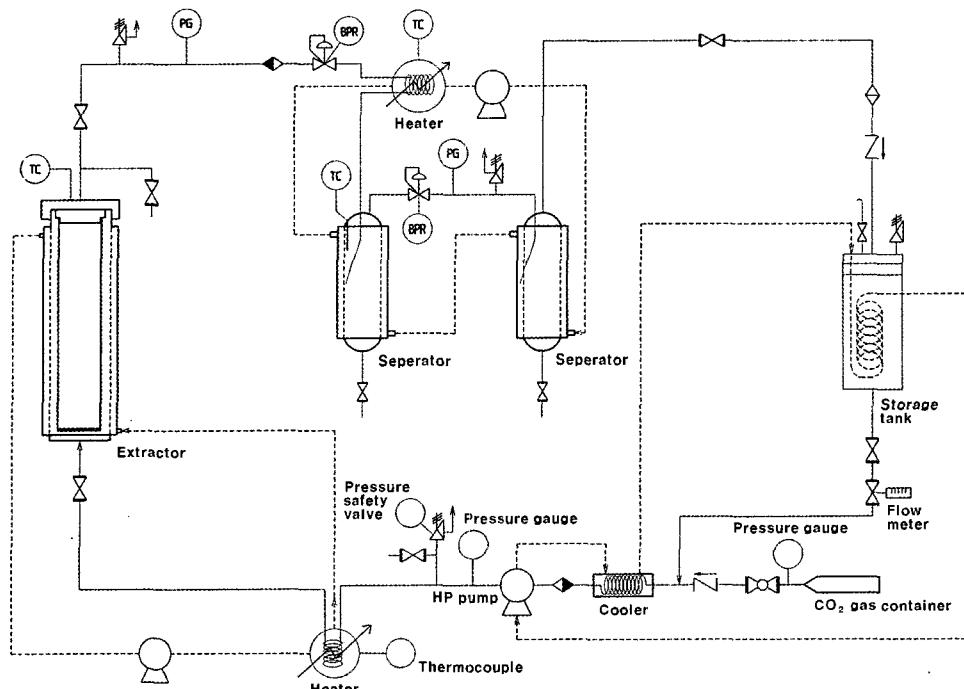


Fig. 1. Supercritical carbon dioxide extraction equipment.

지방산의 분석

시료를 잘 혼합하여 screw cap tube에 약 0.3 g을 취한 후, 0.1 N sodium methylate 용액을 5 mL 가하고 검화한다. 방냉 후 diethyl ether 5 mL을 가하고 알칼리성을 제거하기 위해 중류수로 세척한다. 층이 분리되면 상층에서 약 0.7 μ L를 GC에 주입한다. 각 지방산의 규명은 분석조건에서 standard ester(Supelco 18916-1AMP, Supelco. Co., USA) 들에 대하여 분석하여 얻은 retention time과 비교하여 결정하였으며, 각 fraction의 면적은 Hewlett Packard Chemstation software를 사용하여 총 지방산에 대한 면적 배분율(area % of total fatty acid)로 계산하였다. 칼럼은 SUPELCO 24056 SPTM-2560(Supelco. Co., USA) fused silica capillary column, 100 m \times 0.25 mm \times 0.2 μ m를 사용하였으며, 칼럼온도는 160°C(5 min) \rightarrow 5°C/min \rightarrow 220°C(23 min), split mode: split ratio(50:1), split flow: 0.7 mL/min로 분석하였다.

색도 측정

Cell size가 10 mm인 Tintometer(Lovibond PFX 995)로 측정하여 Lovibond color(Red/Yellow)로 나타내었다.

통계분석

모든 실험은 3회 반복되었으며 통계분석은 SPSS(statistical package for the social science, version 12.0)을 이용하여 Duncan의 다중검정법으로 통계적 유의성을 검정하였다($p<0.05$)。

결과 및 고찰

초임계유체에 의한 천연물의 추출시 먼저 추출조건을 최적화할 필요가 있다. 따라서 본 연구에서는 볶음 들깨분말을 초임계 이산화탄소로 각기 다른 온도, 압력에 따라 추출하여 초임계 이산화탄소에 대한 토코페롤의 추출수율을 측정하였는데 이는 특정성분에 대한 추출특이성의 정보를 제공한다.

Table 1은 추출온도와 압력별로 200 g의 볶음 들깨분말로

Table 1. Quanatity of perilla oil, tocopherol extracted from roasting perilla powder at various extraction temperatures and pressures

Extraction condition (°C/bar)	Perilla oil %	Tocopherol (mg/100 g)
roasted perilla seeds powder	80.07 ¹⁾	66.19
40/276	58.26	775.6
40/350	83.69	707.3
40/425	92.50	598.2
50/276	59.84	906.5
50/350	88.77	853.7
50/425	95.66	733.6
60/276	69.87	1,369.4
60/350	89.02	880.0
60/425	95.81	783.3

¹⁾Values are average of 3 determinations. Standard deviations have been omitted for simplicity.

부터 추출된 perilla oil과 tocopherol의 함량을 나타내고 있다.

Fig. 2는 들깨분말을 여러 온도와 압력에서 한 시간 동안 추출하였을 때 이산화탄소의 밀도에 따른 들기름과 토코페롤의 추출수율(추출된 양/초기 함량)을 나타내고 있다. 초임계 이산화탄소에 대한 들기름과 토코페롤의 추출수율은 이산화탄소의 밀도 증가에 따라 증가하였는데, 이는 일반적으로 추출수율은 이산화탄소의 밀도에 비례하여 증가하기 때문이다(7,8). 추출압력 207 bar에서 추출온도를 40°C(밀도: 0.852 g/cm³), 50°C(0.798 g/cm³), 60°C(0.738 g/cm³)로 달리 하였을 때 들기름의 추출수율은 서서히 증가하였으나, 추출온도 40°C에서 추출압력을 276 bar(0.905 g/cm³), 345 bar(0.940 g/cm³)로 달리하였을 때 용해도는 급격히 증가한 반면 토코페롤 추출수율은 이산화탄소의 밀도 0.852 g/cm³를 기점으로 급격히 감소하였다. 이로 보아 들기름과 토코페롤의 추출수율은 추출온도보다는 추출압력에 의하여 크게 좌우되는 것으로 판단된다. Shishikura 등(9)도 유지방의 용해도를 측정한 결과 40°C/150 bar에서 0.41%(wt/wt)였지만 추출압력을 300 bar로 2배 증가시켰을 때 1.88%로 4.6배 증가하였다고 보고하였다.

들기름과 토코페롤의 추출수율 증가현상을 비교하여 보면 이산화탄소의 밀도 0.852 g/cm³를 기점으로 다르게 나타났는데, 저밀도 영역에서는 토코페롤의 추출수율이 들기름의 추출수율보다 높다가 고밀도 영역에서는 들기름의 추출수율은 급격히 증가하는 반면 토코페롤의 추출수율은 감소하는 현상을 보였다. 이는 저밀도의 이산화탄소에 용해되는 저급지방산에 대하여 토코페롤의 친화도가 높아 선택적으로 많이 추출되다가, 고밀도에서는 이산화탄소의 높은 용해능력으로 인하여 들기름과 토코페롤이 동시에 많이 추출되었기 때문으로 여겨진다. 따라서 추출물의 상대적 토코페롤 추출수율은 추출온도의 증가에 따라 증가하였고, 추출압력의 증가에 따라 감소하였다.

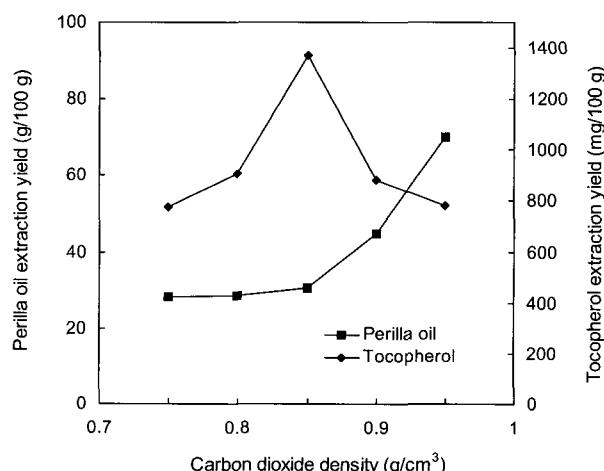


Fig. 2. Extraction yield of perilla oil and tocopherol from dried perilla powder as a function of CO₂ density.

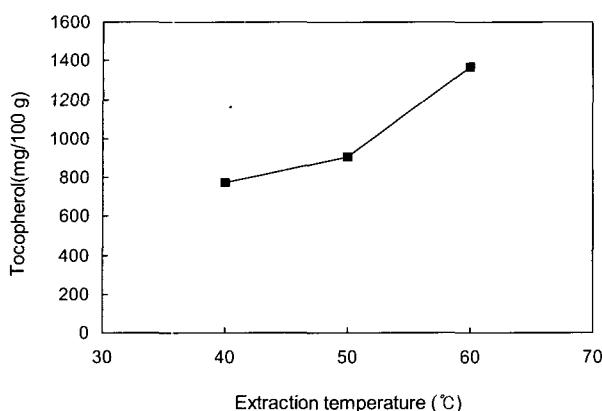


Fig. 3. Yield of tocopherol in perilla powder at 60 min/276 bar as a function of extraction temperature.

초임계 이산화탄소 추출시 온도가 토코페롤 추출수율에 미치는 영향을 알아보기 위해 추출시간과 압력을 고정하고 온도 변화에 따른 추출수율의 변화를 비교하였다. 60 min, 276 bar에서 압력과 추출시간을 고정하고 온도를 40~60°C 까지 10°C간격으로 변화시키면서 토코페롤의 추출수율을 비교하여 Fig. 3에 나타내었다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 온도가 증가함에 따라 추출수율이 증가하였다. 이는 초임계 이산화탄소의 밀도와 관련이 있는 것으로, 일반적으로 초임계 유체의 밀도가 커질수록 추출수율은 커진다. 초임계 유체의 밀도는 온도와 압력에 가장 큰 영향을 받는데 압력이 커질수록 그리고, 온도가 낮아질수록 밀도가 커지는 것으로 알려져 있다.

또한 초임계 이산화탄소 추출시 추출시간이 들기름과 토코페롤의 추출수율에 미치는 영향을 알아보기 위해 온도와 압력을 고정하고 추출시간에 따른 추출수율의 변화를 비교하였다. 40°C/276 bar에서 온도와 압력을 고정하고 추출시간을 60~180 min까지 60 min 간격으로 변화시키면서 들기름과 토코페롤의 추출수율을 비교하여 Fig. 4에 나타내었다.

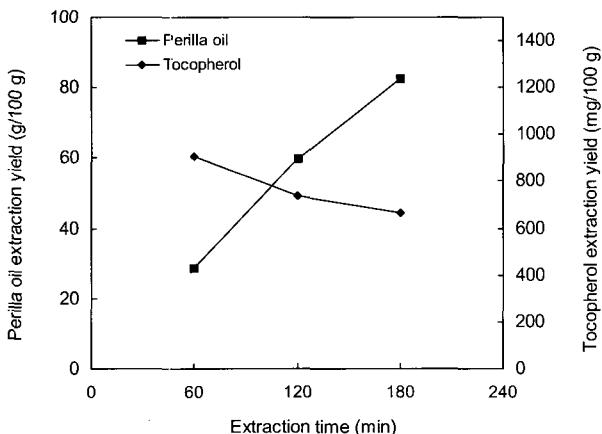


Fig. 4. Extraction yield of perilla oil and tocopherol in perilla powder at 40°C/276 bar as a function of extraction time.

Table 2. Effect of CO₂ density on color values of the residue in supercritical CO₂ extraction of perilla powder

CO ₂ density (g/cm ³)	Color value	
	Red	Yellow
Control ¹⁾	1.1 ²⁾	38.0
0.738	0.9	5.7
0.798	0.9	8.7
0.852	2.0	19.0
0.905	1.8	18.0
0.940	1.3	12.0

¹⁾Expressed perilla oil from roasted perilla seeds powder.

²⁾Values are average of 3 determinations. Standard deviations have been omitted for simplicity.

들기름의 추출수율은 추출시간에 증가함에 따라 급격히 증가한 반면 토코페롤의 추출수율은 초임계 유체에서의 농도가 감소하였다. 이는 추출 대상물질의 조성이 추출시간에 따라 변화하기 때문에 일어나며, 추출시간이 길어질수록 추출물의 추출수율은 낮은 고급 포화지방산으로 구성된 지방이 농축되어 추출수율이 낮아지는 것이다.

추출시간에 따른 추출잔류물의 수율은 추출시간 60, 120, 180 min에서 각각 71.3, 40.2, 17.5%였는데, 이는 추출시간의 증가에 따라 이산화탄소의 소비량이 증가하므로 추출량이 증가하기 때문이다.

Table 2는 각각 이산화탄소의 밀도에 따른 들기름의 색상 변화를 나타내고 있다. 이산화탄소의 밀도가 증가할수록 Red/Yellow값은 증가하였으나 이산화탄소의 밀도 0.852 g/cm³를 기점으로 감소하는 경향을 보였다. 이는 이산화탄소의 밀도가 높을수록 초임계 이산화탄소에 의하여 색소성 분이 보다 많이 추출되었기 때문이다. Favati 등(10)은 초임계 이산화탄소에 의하여 leaf protein concentrates로부터 carotenoids와 lutein이 추출되었고, Lim과 Jwa(11)도 초임계 이산화탄소에 의하여 당근으로부터 carotenoids가 추출되었다고 보고하였다.

한편, 둘째분말을 초임계 이산화탄소로 추출하면 지방의 구성 지방산 종류에 따라 초임계 이산화탄소에 대한 용해도가 다르기 때문에 지방산 조성이 다른 지방 분획을 얻을 수 있을 것으로 기대된다. 탄소수가 적고, 극성이 낮은 지방산으로 구성된 지방일수록 초임계 이산화탄소에 대하여 용해도가 높기 때문에 추출시간에 따라 들기름의 지방산조성에 변화를 주게 된다.

Table 3은 40°C/276 bar에서 추출시간을 달리하여 들기름의 지방산 조성변화를 나타내고 있다. 초임계유체를 이용한 추출시 palmitic acid(C_{16:0})의 비율이 줄어들었다. 그리고 stearic acid(C_{18:0}), oleic acid(C_{18:1}), linoleic acid(C_{18:2})는 비율이 늘어났고 linolenic acid(C_{18:3})는 오히려 비율이 감소하였다. Kwon(12)은 초임계유체 CO₂를 이용해 지방산 추출시 지방산의 불포화도가 증가할수록 용해도가 증가한다고 보고하였으며 본 실험의 결과와 유사함을 알 수 있다. 이는

Table 3. Profiles of fatty acid content in the residues as a function of extraction time (%)

Fatty acid composition	Control	Extraction time (min)		
		60 min	120 min	180 min
Palmitic acid ($C_{16:0}$)	5.96±0.09	6.19±0.18	6.00±0.24	5.96±0.22
Stearic acid ($C_{18:0}$)	2.36±0.07 ^{a1)}	1.80±0.03 ^b	1.89±0.08 ^{bc}	1.94±0.08 ^c
Oleic acid ($C_{18:1}$)	19.64±0.26 ^a	16.22±0.16 ^b	16.66±0.39 ^{bc}	16.90±0.26 ^c
Linoleic acid ($C_{18:2}$)	14.66±0.26 ^a	12.42±0.11 ^b	12.45±0.11 ^b	12.48±0.07 ^b
Linolenic acid ($C_{18:3}$)	57.47±0.17 ^a	63.35±0.44 ^b	62.88±0.30 ^{bc}	62.71±0.14 ^c
Saturated fat	8.32±0.16 ^a	8.00±0.22 ^a	7.90±0.17 ^b	7.90±0.17 ^b
Polyunsaturated fat	91.78±0.16	92.00±0.22	92.09±0.17	92.10±0.17
P/S Ratio	11.02±0.23 ^a	11.50±0.34 ^a	11.65±0.27 ^b	11.66±0.27 ^b

¹⁾Values with different alphabet within the row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test in one way ANOVA.

불포화도가 증가할수록 지방산의 증가압은 증가하게 되고, 이로 인하여 포화지방산의 용해도에 비하여 불포화지방산의 용해도가 더 크게 나타나는 것이며, 지방산의 형태적 특성으로 볼 때도 포화지방산은 일자 형태를 가지고 있으므로 층층이 쌓여지게 되지만, 불포화지방산은 공간적인 구조를 보임으로써 층층이 쌓여질 수 없고 따라서 용매인 이산화탄소와 접촉할 확률이 더 높아지게 되므로 용해도가 더 크게 나타나는 것으로 생각된다.

요 약

들깨분말을 초임계 이산화탄소로 추출온도, 압력, 시간을 달리하여 추출한 들기름과 토코페롤의 추출수율, 색도 및 지방산 조성을 측정하였다. 초임계 이산화탄소에 대한 지방과 토코페롤의 추출수율은 이산화탄소의 밀도 증가에 따라 증가하였는데, 추출온도보다는 추출압력에 의하여 크게 좌우되었다. 초임계 이산화탄소의 추출온도에 대한 토코페롤의 추출수율은 동일 압력에서 추출온도의 증가에 따라 증가하였다. 들깨분말을 40°C/276 bar에서 60~180 min 추출시간을 달리하였을 때 들기름의 추출수율은 추출시간이 증가함에 따라 급격히 증가한 반면 토코페롤은 감소하였다. 또한 이산화탄소의 밀도가 증가할수록 Red/Yellow값은 증가하였다. 초임계 이산화탄소 추출을 통해 얻은 들기름의 지방산 조성은 추출시간의 증가에 따라 불포화지방산들은 많이 추출되었고, 포화지방산들은 감소되었다. 이는 초임계유체 추출시 지방산의 불포화도가 높아질수록 용해도가 증가하기 때문으로 사료된다. 위 결과는 초임계이산화탄소를 이용하여 천연물로부터 식품이나 의약산업에 중요한 특정 물질을 추출할 수 있는 가능성을 보여주고 있으며, 추출물에 친환경하는 유기용매가 없기 때문에 직접 식품가공에 이용할 수 있다.

문 헌

- Vaughan JG. 1970. *The structure and utilization of oil seeds*. Chapman and Hall Ltd., London. p 120-121.
- Camelon E, Bland J, Marcuson R. 1980. Divergent effects of omega-6 and omega-3 fatty acids on mammary tumor development in C₃H/Heston mice treated with DMBA. *Nutr Res* 9: 383-388.
- Fritsche KL. 1989. Reduced growth and metastasis of A transplantable syngeneic mammary tumor by dietary alpha-linolenic acid. *J Am Oil Chem Soc* 65: 509-516.
- Yamamoto N, Okuyama H. 1987. Effect of dietary alpha-linolenate/linoleate balance on brain lipid composition and learning ability of rats. *J Lipid Res* 28: 144-149.
- Renaud S, Nordoy A. 1983. "Small is beautiful": alpha-linolenic acid and eicosapentaenoic acid in man. *Lancet* 321: 1169.
- Renaud S, Moragain R. 1981. Platelet functions in relation to diet and serum lipids in British farmers. *Br Heart J* 46: 562-570.
- Krukonis VJ, Perrut M. 1988. Supercritical fluid processing. Current research and operation. First International Symp. on Supercritical Fluids. International advanced society of supercritical fluid, Nice, France. p 541-546.
- Lim SB, Rizvi SSH. 1994. Continuous cocurrent extraction of milk fat by supercritical carbon dioxide. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 459-465.
- Shishikura A, Fujimoto K, Kaneda T, Arai K, Saito S. 1986. Modification of butter oil by extraction with supercritical carbon dioxide. *Agri Biol Chem* 50: 1209-1213.
- Favati F, King JW, Friedrich JP, Eskins K. 1988. Supercritical carbon dioxide extraction of carotene and lutein from leaf protein concentrates. *J Food Sci* 53: 1532-1536.
- Lim SB, Jwa MK. 1995. Extraction of β-carotene from carrot by supercritical carbon dioxide. *Korean J Food Sci Technol* 27: 414-419.
- Kwon YA. 1997. Determination of solubility fatty acid methyl esters in supercritical carbon dioxide. *Food Engin Prog* 1: 226-232.

(2006년 10월 10일 접수; 2006년 12월 6일 채택)