

초임계 이산화탄소를 이용한 유자과피로부터 휘발성 정유성분의 추출

이 승 진 · *전 병 수

부경대학교 식품공학과

(접수 : 2002. 2. 5., 게재승인 : 2002. 2. 27.)

Extraction of Volatile Essential Oil from *Citrus junos* Peel by Supercritical Carbon Dioxide

Seung Jin Lee and Byung Soo Chun*

Department of Food Science & Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

(Received : 2002. 2. 5., Accepted : 2002. 2. 27.)

The extraction of volatile essential oil using supercritical carbon dioxide with 2%(v/v) ethanol and non-ethanol was performed in a semi-continuous flow extractor at the range of pressures and temperatures 6.9 to 17.2 MPa and 30 to 45°C, respectively. When ethanol was added to the co-solvent, the solubility of volatile essential oils was increased up to 90% over the neat CO₂ value. The most efficiency of extraction of the volatile essential oils was achieved at 13.8 MPa and 40°C by supercritical carbon dioxide with entrainer from *Citrus junos* peel.

Key Words : *citrus junos*, volatile essential oil, supercritical carbon dioxide, limonene

서 론

유자는 분류학상으로 운향과(芸香科), 감귤속(柑橘屬), 후생 감귤아속(後生柑橘亞屬)에 속하며, 후생감귤아속 중에서 가장 오래된 과수로서 일반적으로 황색을 띠는 성숙과의 경우 과피부분에 함유된 방향성의 정유성분 때문에 특징적인 향을 많이 지니고 있다. 하지만 유자는 과실의 특성상 재배시기의 한정성과 저장시 산화가 급속도로 진행되므로 가공이용면에 있어 매우 미약할 뿐만 아니라 이에 대한 구체적인 연구가 제대로 이루어지지 못하고 있는 형편이다. 유자에 관한 연구로는 정(1973)(1) 등이 일반성분 및 특수성분인 아미노산, 유리당, 유기산 등의 시기적 변화를 검토한 바 있으며, 정(2)(3) 등이 유자의 향기성분 및 착즙 방법에 따른 향기성분의 특이성을 조사하였다. 하지만 산업적 이용을 위한 연구는 빈약하다고 할 수 있다.

따라서 유자의 이용가공을 위해서는 미량성분인 휘발성 정유성분의 추출에 대한 연구가 절실히 요구되고 있다. 따라서 본 연구에서는 현재 동양의 고유의 과실인 유자의 가공기술을 개발하기 위하여 유자과피의 휘발성 정유성분을 추출하여 최적 조건을 구함으로서 안정적이며 효율적인 추출조건을 찾고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 유자(*Citrus junos*) 과피는 2000년 11월 경상남도 남해 유자영농조합으로부터 제공받아 과피와 과육을 분리한 후 과피만을 동결건조(-50°C, 5 μHg)하여 -70°C 이하의 암냉소에서 보관하며 사용하였다.

시약 및 기기

유자과피의 휘발성 정유성분은 각 정유성분의 표준물질(limonene, myrcene, linalool, α-pinene, β-pinene, α-terpinene, γ-terpinene)은 sigma사 제품을 구입하여 사용하였으며 그 외 추출에 사용된 용매 및 GC분석에 사용된 시약들은 모두 특급시약을 사용하였으며 추출물의 분석은 GC(HP-5890 plus)을 사용하여 분석하였다.

휘발성 정유성분의 분석

휘발성 정유성분을 정량하기 위하여 유자과피의 휘발성 정유성분 중 가장 많은 함량을 차지하고 있는 limonene, γ-terpinene 및 myrcene, linalool, α-pinene, β-pinene, α-terpinene을 농도별로 만든 후 GC로 분석하여 표준검량곡선을 작성하였으며 검량곡선은 Figure 1과 같다.

초임계 이산화탄소 추출장치의 작동

실험에 사용된 초임계 추출 장치는 추출조의 크기를 변경할 수 있도록 제작되었다. 실험 방법 Figure 2의 장치를 이용

*Corresponding Author : Department of Food Science & Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea
Tel : +82-51-620-6428, Fax : +82-51-622-9248
E-mail : bschun@pknu.ac.kr

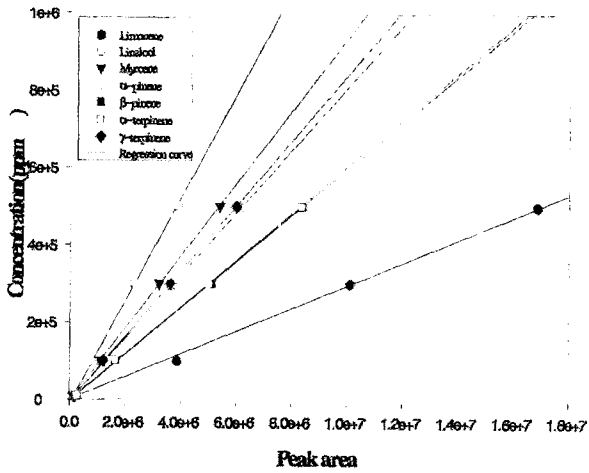


Figure 1. The standard curve was analyzed by gas chromatography. Limonene : $y = 0.0296x$, $R^2 = 0.999$, Linalool : $y = 0.1296x$, $R^2 = 0.9944$, Myrcene : $y = 0.093x$, $R^2 = 0.9994$, α -pinene : $y = 0.0804x$, $R^2 = 0.9994$, β -pinene : $y = 0.0596x$, $R^2 = 0.9997$, α -terpinene : $y = 0.0601x$, $R^2 = 0.9994$, γ -terpinene : $y = 0.0834x$, $R^2 = 0.9991$.

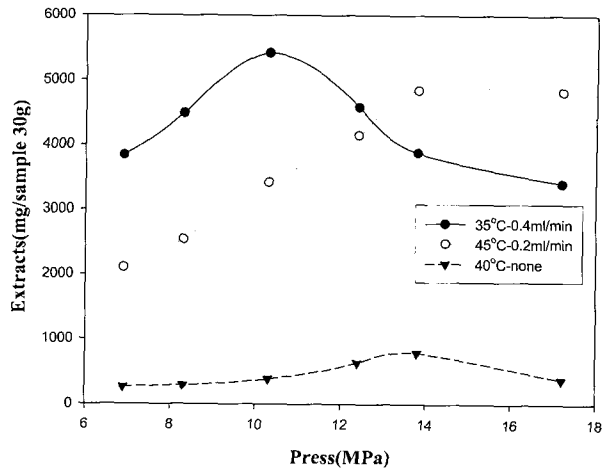


Figure 3. Extraction of volatile essential oil from citron peel by supercritical carbon dioxide at different operating condition.

음 1 μ L를 Gas-Chromatography(Hewlett Packard 5890 II)에 주입하여 분석하였다.

초임계 이산화탄소 추출물의 함량

추출물의 휘발성 향기성분의 함량은 추출물을 50 mL로 정량하고 이를 1 μ L를 GC에 주입하여 얻은 peak area를 작성된 표준검량곡선에 대입하여 농도를 결정한 후 함량을 결정하였다.

초임계 이산화탄소를 이용한 추출물의 분석

Figure 2의 장치를 사용하여 추출된 추출물은 10~50 mL로 정량한 다음 10 μ L syringe를 이용하여 sandwich기법으로 정확히 1 μ L를 GC에 주입하여 도출된 peak area 면적과 표준물질의 peak area 검량곡선을 이용하여 휘발성 정유성분을 정량하였다.

Gas Chromatography(GC)의 작동조건

GC오븐(HP-5890 plus)의 온도조건은 초기온도 60 $^{\circ}$ C를 1 min간 유지한 후 3 $^{\circ}$ C/min의 속도로 100 $^{\circ}$ C로 승온한 후 1 min간 유지하고 다시 3 $^{\circ}$ C/min의 속도로 200 $^{\circ}$ C 승온한 후 10 min분간 유지하였다. 사용한 column은 DB-5(30 m length \times 0.25 mm I.D \times 0.25 μ m film thickness)로 비극성 column을 사용하였다.

결과 및 고찰

초임계 이산화탄소를 이용한 휘발성 정유성분의 추출

Figure 3은 각각의 추출조건에 대한 추출된 휘발성 정유성분의 추출량을 나타낸 그림이다. entrainer를 사용하지 않을 경우 압력 13.8 MPa, 온도 40 $^{\circ}$ C에서 휘발성 정유성분의 추출량은 786.6 mg/sample 30 g으로 가장 높은 추출량을 나타냈으며, entrainer로서 ethanol을 0.2 mL/min 첨가하였을 때 압력 13.8 MPa, 온도 35 $^{\circ}$ C에서 4842.6 mg(sample 30 g당)으로 가장 많은 양이 추출되었다. Entrainer를 0.4 mL/min으로 CO₂와 함께 흘려 보냈을 때의 추출에서는 entrainer를 첨가하

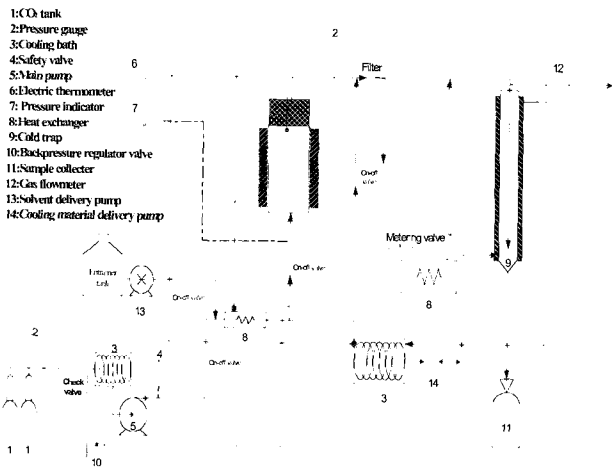


Figure 2. Flow diagram of supercritical fluid process.

하여 포화 압력 상태인 이산화탄소(CO₂)가 cylinder로부터 냉각기(-20 $^{\circ}$ C)를 통과하여 CO₂ 내에 존재하는 기포가 제거된 후 고압 metering pump에 의해 일정한 유량으로 유입되어 system내의 설정 압력까지 수행되어졌다. 고압 펌프로부터 추출조에 유입되기 전에 추출 용매로 작용하는 CO₂와 보조용매 pump로부터 유입되는 에탄올은 설정된 추출 온도에 따라 항온조에 의해 예열되어진다. 추출조 내의 온도는 thermocouple에 의해 감지되어 추출 온도를 조절하게 되며 추출조의 외부에 heating jacket을 설치하여 추출조 내부의 온도를 일정하게 유지시켰다. System내의 전체 압력은 Back pressure regulator valve를 부착시켜 순간 압력변화로 인한 system내의 추출 조건 변화를 방지하였다. 초임계 이산화탄소는 추출조 내의 시료로부터 휘발성 정유성분을 추출하여 낮은 압력 상태로 분리조 내에 유입되어 용제와 용매를 쉽게 분리시키며 이때 휘발성 정유성분의 소실을 최소화하기 위하여 분리조 외부에 cold trap을 설치하였으며 추출물은 50 mL로 정용한 다

지 않았을 때의 추출량보다는 월등히 높은 양을 나타낸다. Entrainer로서의 0.4 mL/min의 에탄올을 첨가했을 때 5416.6 mg/sample 30 g으로 다른 조건들 보다 더 많은 추출량을 나타내는 것으로 나타났다. 이는 용매로 사용되는 CO₂ 비극성 물질만을 선택적으로 이끌어 내는 반면 에탄올은 극성과 비극성을 동시에 띠고 있기 때문에 극성의 휘발성 정유성분의 추출이 증가하며 또한 entrainer의 첨가로 인해 초임계 이산화탄소의 밀도에 영향을 주게 되므로 추출물질에 대한 확산속도 및 유체의 점성변화 등에 의해 비극성의 추출물에 대한 추출효율이 증가하므로 추출시간의 감소와 추출된 정유성분 중 휘발성 정유성분의 함량이 증가한다(4,5).

온도변화에 따른 휘발성 정유성분의 추출

Entrainer를 0.4 mL/min으로 CO₂와 함께 흘려 보냈을 때의 추출에서는 entrainer를 첨가하지 않았을 때의 추출량보다는 월등히 높은 양을 나타낸다. Entrainer로서의 0.4 mL/min의 에탄올을 첨가했을 때 더 높은 추출량을 나타내는 것은 CO₂는 비극성 물질만을 선택적으로 이끌어 내는 반면 에탄올은 극성과 비극성을 동시에 띠고 있기 때문에 극성의 휘발성 정유성분의 추출이 증가하며 또한 entrainer의 첨가로 인해 초임계 이산화탄소의 밀도에 영향을 주게 되므로 추출물질에 대한 확산속도 및 유체의 점성변화 등에 의해 비극성의 추출물에 대한 추출효율이 증가하므로 추출시간의 감소와 추출된 정유성분 중 휘발성 정유성분의 함량이 증가한다. 압력 13.8 MPa에서 온도 40℃에서 786.61 mg/sample 30 g의 휘발성 정유성분을 추출하였으나 추출조건이 압력 13.8 MPa이며 온도 45℃에서 entrainer를 0.2 mL/min 흘렸을 경우 4842.61 mg/sample 30 g의 휘발성 정유성분을 얻을 수 있었다. 반면에 온도가 35℃의 경우 13.8 MPa보다 높은 압력에서 추출시 45℃에서 추출과 완전히 경향이 다른 것을 볼 수 있다. 이는 정유성분에 대한 용해도의 감소보다는 비휘발성 물질인 oleoresin이나 parrafin 또는 waxes와 같은 고분자 추잡물에 대한 용해도가 증가하면서 휘발성 정유성분 외에도 이러한 비휘발성의 고분자 물질이 추출되어 상대적인 농도의 감소로 인한 현상으로 생각된다. 이는 Sanker(6) 등이 black pepper로부터 essential oil을 80~100 bar, 40~60℃의 조건에으로 초임계 추출을 하였을 때 100 bar, 60℃에서 매우 성분인 piperine이 회수되지 않았으며 100 bar, 40℃의 조건에서 추출된 oil에는 monoglycerides가 있음을 확인하고 그 후의 연구에서 black pepper oleoresin의 추적 추출 조건을 280 bar 55℃로 설정하였다. 추잔물에 대한 원하는 essentoil의 함량비로 보았을 때 최상의 초임계유체의 추출선택성은 임계점 근처에서 나타난다고 결론지었다.

Cieslinski(7)와 Sovova(8) 등은 초임계 이산화탄소를 이용한 Citrus oil의 분획 추출공정 설계 있어서 limonene의 최적 추출조건을 알기 위해 용해도를 측정하였다. 일반적으로 초임계 이산화탄소를 이용한 추출공정에서 온도의 증가는 밀도의 감소를 가져와서 용해도의 감소를 유발하는 것으로 알려져 있다. Limonene의 경우는 용해도 측정 실험결과 압력이 증가할수록 그리고 일정한 압력에서 온도가 증가할수록 용해도가 증가하는 것으로 나타났다. 하지만 압력이 8.4MPa 이상에서는 온도에 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 그리고 이와 같이 Citrus속 과일류들은 과피에 다량의 휘발성 정유성분

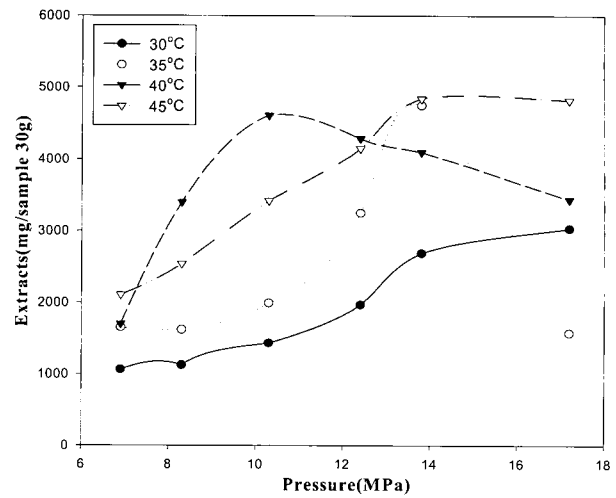


Figure 4. Extracted total amount oil from citron peel by supercritical carbon dioxide at different pressure. (Extraction time : 60 min, Entrainer : 0.2 mL/min).

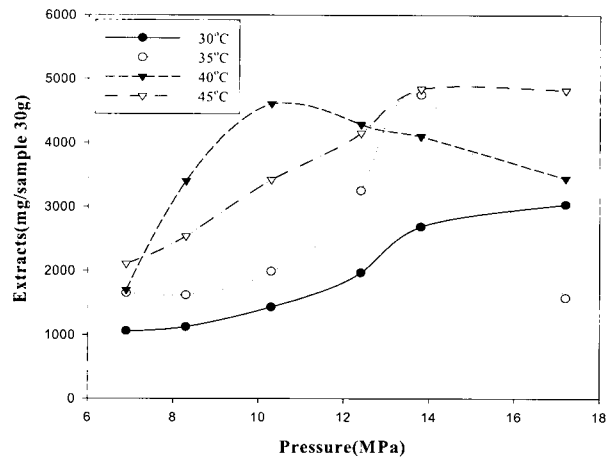


Figure 5. Extracted total amount oil from citron peel by supercritical carbon dioxide at different pressure. (Extraction time : 60 min, Entrainer : 0.4 mL/min).

을 함유하고 있고 특히 limonene이 70% 이상을 차지하고 있으므로 limonene의 추출량과 전체 휘발성 정유성분의 추출량은 밀접한 관계를 가지고 있다. 그러나 Figure에서 추출조건이 압력이 10.3 MPa일 때 온도변화에 따른 휘발성 정유성분의 추출은 온도의 증가가 용해도의 증가를 가져와 정유성분의 추출을 향상시키는 것만이 아니라는 것을 보여준다. 이는 온도가 증가함으로써 limonene에 대한 초임계 이산화탄소의 용해도는 증가하지만 온도의 증가로 인해 초임계 이산화탄소 유체의 밀도가 감소하고 또한 점성이 감소하므로 용매인 초임계 이산화탄소가 시료 입자를 침투하지 못하는 retrograde 현상이 일어나 추출량의 변화가 발생한다.

압력변화에 따른 휘발성 정유성분의 추출

Figure 6은 온도 35℃에서 entrainer를 사용하지 않고 100분간 추출하면서 압력의 변화에 따른 추출량의 변화를 나타낸 것이다. 압력이 13.8 MPa에서 휘발성 정유성분의 추출량이

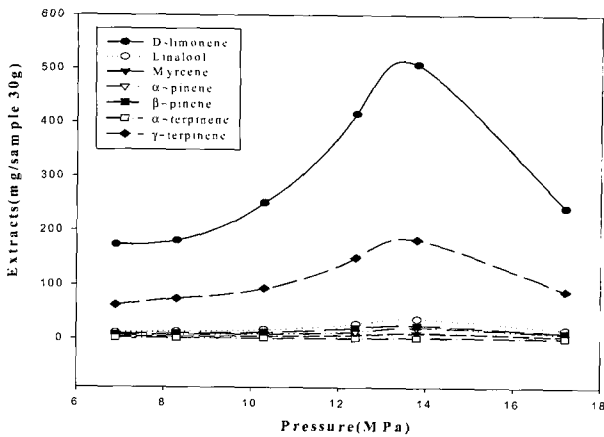


Figure 6. Extraction of volatile essential oil from citron peel by supercritical carbon dioxide at different pressure. (Extraction time : 100 min, Temperature : 40℃)

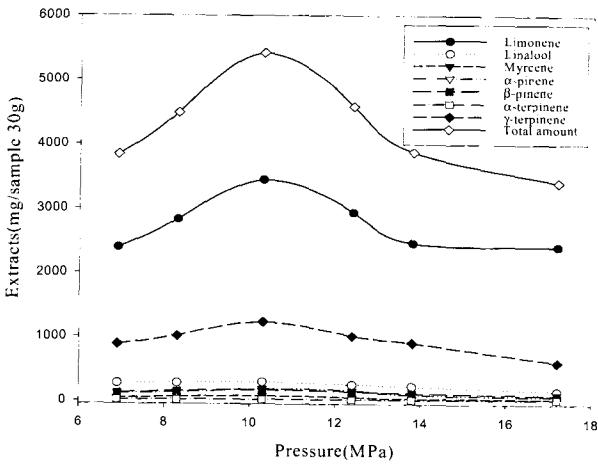


Figure 7. Extraction of volatile essential oil from citron peel by supercritical carbon dioxide at different pressure. (Extraction time : 60 min, temperature : 40℃, Entrainer : 0.4 mL/min)

최대를 나타내고 있다. 이는 압력 13.8 MPa와 온도 40℃에서 초임계 이산화탄소의 밀도가 0.757 g/mL로 초임계 이산화탄소를 이용한 limonene의 추출에 있어서 가장 최적인 밀도를 나타내며 이는 Mira(9) 등의 연구에서 나타난 것처럼 초임계 이산화탄소의 밀도가 약 0.7 g/mL~0.8 g/mL에서 limonene의 용해도가 최적으로 나타나는 것과 유사한 것으로 나타났다. 또한 보조용매를 사용하여 limonene외에 linalool, myrcene 등이 다량 추출되어 전체적인 추출량의 증가도 나타났다. 하지만 동일한 온도에서 압력의 증가가 반드시 용해도의 감소를 나타내는 것은 아니다. Reverchon(10,11), Kerrola와 Kallio (12,13), 등은 추출압력의 증가는 추출물인 휘발성 정유성분에 대한 용해도가 증가함으로 인해 상대적인 농도감소라고 하였다. 즉, 결론적으로 추출온도 40~50℃, 추출압력 100 bar 부근이 고분자의 추출물이 초임계 유체에 대한 용해성이 가장 낮아 고품질의 essential oil을 얻을 수 있다.

Figure 7는 초임계 이산화탄소로 휘발성 정유성분을 추출할 때 압력이 13.8 MPa, 온도 40℃에서 entrainer를 0.4 mL/min을 첨가하였을 경우 5416.64 mg/sample 30 g이 추출되었으며

entrainer를 첨가하지 않은 것 786.61 mg/sample 30 g이 추출되어 약 7배의 추출량의 증가를 볼 수 있었다. 이는 보조용매를 첨가함으로써 초임계 이산화탄소의 유자과피의 휘발성 정유성분에 대한 용해력을 증가시키는데 큰 영향을 미치는 것으로 알 수 있다.

요 약

초임계 이산화탄소를 이용한 유자과피로부터의 휘발성 정유성분의 추출은 entrainer를 사용하지 않을 경우 압력 13.8 MPa, 온도 40℃에서 786.61 mg/sample 30 g이 추출되었으며 entrainer를 0.4 mL/min을 첨가하였을 경우 압력이 13.8 MPa, 온도 40℃에서 5416.64 mg/sample 30 g이 추출되어 약 7배의 추출량의 증가를 볼 수 있었다. 이는 보조용매를 첨가함으로써 초임계 이산화탄소의 유자과피의 휘발성 정유성분에 대한 용해력을 증가시키는데 큰 영향을 미치는 것으로 알 수 있다.

REFERENCES

- Jung, J. H., (1974), Studies on the chemical compositions of citrus junos in Korea. *J. Kor. Agr. Chem. Soc.*, **17**, 63-80.
- Jung, J. W., Y. C. Lee, S. W. Jung, and K. Y. Lee. (1994), Flavour components of citron juice as affected by the extraction method. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **26**, 709-712.
- Lee, Y. C., I. H. Kim, J. W. Jung, H. K. Kim, and M. H. Park. (1994), Chemical characteristics of citron(Citrus Junos) juices. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **26**, 553-556.
- Kalra, H., S. Y. Chung, and G. J. Chen, (1987), Phase Equilibrium Data for Supercritical Extraction of Lemon Flavours and Palm Oils with Carbon Dioxide. *Fluid Phase Equilib.* **36**, 263-278.
- Berna, A., A. Chafer, and J. B. Monto'n (2000), Solubilities of Essential Oil Components of Orange in Supercritical Carbon Dioxide. *J. Chem. Eng. Data*, **45**, 724-727.
- Stahl, E., K. W. Quirin, and D. Gerard. (1987), *Verdichtete Gase Zur Extraktion und Raffination*. Springer, Berlin.
- Cieslinski, B. G., G. T. Wilkinson, R. Kluba, and S. Hornby. (1994), Optimal condition for the separation of essential oil from liquid carbon dioxide extracts of coriander seeds. In *Processings of the third international Symposium on Supercritical Fluids*, **2**, pp. 323.
- Sovova, H., R. P. Stateva, and A. A. Galushko. (2001), Essential oils from seeds: solubility of limonene in supercritical CO₂ and how it is affected by fatty oil. *J. Supercrit. Fluids*, **20**, 113-129.
- Mira, B., M. Blasco, M. Subirats, and A. Berna, (1996), Supercritical CO₂ extraction of essential oils from orange peel. *J. Supercrit. Fluids*. **14**. 238-243.
- Reverchon, E., G. Donsi, and L. S. Osseo. (1993), *Fruit Juice Processing Technology*, *Agric. Science*, Florida, 83-85.
- Reverchon, E. (1992), Fractional separation of SCF extracts from marjoram leaves: mass transfer and optimization, *J. Supercrit. Fluids*. 256-261.
- Kallio, H. and K. Kerrola. (1992), Application of liquid

- carbon dioxide to the extraction of essential oil of coriander. *Lebensm. Unters. Forsch.*, **195**, 545.
13. Kallio, H. and K. Kerola. (1993), Volatile compounds and odor characteristics of carbon dioxide extracts of coriander fruits. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 785.