

초임계 이산화탄소를 이용한 *Chlorella vulgaris*의 오일 추출

유종훈*, 박미란, 임교빈

Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Oil from *Chlorella vulgaris*

Jong-Hoon Ryu*, Mi-Ran Park, and Giobin Lim

접수: 2011년 8월 30일 / 게재승인: 2011년 10월 25일
© 2011 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: In this study, two different extraction techniques, organic solvent extraction and supercritical carbon dioxide (SCCO₂) extraction, were employed to evaluate the extraction efficiency of oil from *Chlorella vulgaris*. In the organic solvent extraction, the effects of various organic solvent on the extraction yield were investigated. The SCCO₂ extraction was carried out while varying such operating parameters as temperature, pressure, SCCO₂ flow rate, and cosolvent. About 4.9 wt% of oil was extracted from ground *Chlorella vulgaris* for 18 h when dichloromethane/methanol (2 : 1, v/v) was used as an extraction solvent. The oil yield of the SCCO₂ extraction was found to be very low (0.53 wt%) and to increase up to about 0.86 wt% with the addition of cosolvent.

Keywords: microalgae, *Chlorella vulgaris*, supercritical carbon dioxide, extraction, oil

1. 서론

석유, 석탄, 천연가스 등의 화석연료는 오랫동안 인류를 위한 에너지원으로 사용되어져 오고 있다. 최근 화석연료 고갈에 따른 가격 상승과 환경오염에 대한 인식 증가로 새로운 대체 에너지 개발에 대한 관심이 증가하고 있다. 현재 대체에너지로 태양열·태양광, 풍력, 조력, 수력 에너지와 바이오에탄올, 바이오디젤과 같은 바이오연료 등의 대체 에너지 개발에

많은 투자가 이루어지고 있다. 그 중 바이오연료는 재생이 가능한 바이오매스를 통하여 생산이 가능하고 이산화탄소의 배출이 거의 없어 환경 친화적 에너지로서 석유의 대체 에너지로 각광받고 있다 [1,2].

바이오 연료 중 바이오디젤은 식물성 기름 또는 동물성 지방을 메탄올과 전이에스테르화 (transesterification) 반응을 통해 쉽게 얻을 수 있다 [3]. 이러한 바이오연료에 대한 관심이 증가함에 따라 바이오연료 생산을 위해 사용되는 원료의 수요 또한 지속적으로 증가하고 있으며, 그로인해 원료 가격이 지속적으로 상승하고 있는 추세이다. 바이오디젤 생산을 위한 바이오매스로 1세대는 유채유, 해바라기씨유, 대두유 등과 같은 식용작물을, 2세대는 볏짚이나 폐목재와 같은 비식용작물을 이용하였다 [4]. 그러나 작물의 경우 거대한 경작지를 필요로 하며, 성장속도가 느린 문제점이 있다. 그래서 최근에는 제 3세대로 미세조류를 바이오매스로 이용하려는 연구가 활발히 진행되고 있다 [5].

습지대나 연못, 담수호, 바다와 같은 수상환경에서 서식하는 식물성 플랑크톤으로 단세포성 조류 (algae)인 미세조류 (microalgae)는 이산화탄소 (CO₂), 물, 태양에너지를 이용한 광합성을 통해 다양한 유기물을 합성하며, 식물에 비해 증식속도가 빠르고 기능향상을 위한 유전자조작이 용이하기 때문에 다양한 종류의 유용물질을 생산할 수 있는 특징을 가지고 있다. 즉, 미세조류는 콩이나 다른 토양 작물에 비해 성장속도가 매우 빠르고 단위 면적당 수심에서 수백배 많은 오일을 생산할 수 있어 소규모의 경작지만으로도 배양이 가능하며, 염분이나 강한 알칼리성 환경에서도 성장할 수 있는 장점이 있다. 그래서 최근 국내외적으로 미세조류를 이용한 의약품 원료물질, 천연색소, 화장품원료, 생물비료, 오일 등의 생산에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다 [6]. 특히 미세조류로부터 생산되는 오일은 바이오디젤로의 전환이 가능하기 때문에 미래의 에너지자원으로 높은 관심을 받고 있다 [7,8].

수원대학교 화학공학과
Department of Chemical Engineering, The University of Suwon,
Hwaseong, Gyeonggi 445-743, Korea
Tel: +82-31-220-2599, Fax: +82-31-220-2528
e-mail: jhryu@suwon.ac.kr

바이오매스로부터 오일을 추출하는 방법으로는 압착법, 유기용매, 효소, 마이크로웨이브, 초음파 등의 추출 방법이 사용되고 있으나, 이러한 방법들은 대부분 에너지 소비형 공정으로 바이오매스내 오일의 잔존, 높은 추출온도, 긴 조업시간, 과량의 유기용매 사용 및 유기용매 잔존, 다량의 폐수 발생 등의 문제점을 가지고 있다. 바이오매스로 오일 추출공정의 단점을 보완/개선하기 위해 환경친화적인 초임계 이산화탄소 (supercritical carbon dioxide)를 이용한 초임계유체 추출 (supercritical fluid extraction, SFE) 기술에 대한 연구가 활발히 연구되어지고 있다 [9-13].

초임계유체 추출 기술은 빠른 열 및 물질전달 속도, 낮은 점도, 높은 확산계수로 인한 시료 내부로의 빠른 침투성과 상압에서의 자발적 분리성 등과 같은 초임계 유체의 특성을 이용한 기술로서 추출이외에도 화학반응 및 분해, 증류, 결정화, 세정, 건조 등의 다양한 공정에서 이용되고 있다.

초임계유체 중 이산화탄소는 임계온도와 압력은 각각 31°C와 7.3 MPa으로 온화한 조건에서 작업할 수 있어 천연물 유효성분의 추출에 적합하다. 그리고 무독성, 불연성, 저렴한 가격과 구입의 용이성 등의 장점을 가지고 있으며, 온도와 압력조건의 변화와 공용매 (cosolvent)의 사용을 통해 초임계 이산화탄소에 다양한 용해력과 유효성분에 대한 선택성을 부여할 수 있다는 장점을 가진다.

본 연구에서는 녹색 미세조류인 *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*)로부터 유기용매 추출과 초임계 이산화탄소 추출 방법을 이용하여 오일 추출에 대한 연구를 수행하였다. 유기용매 추출은 유기 용매 종류와 시간에 따른 영향에 대해 조사하였으며, 초임계 이산화탄소 추출에 있어서는 온도, 압력, 이산화탄소 유속 및 공용매 (cosolvent) 첨가 등의 공정변수에 따른 영향을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

Chlorella vulgaris (*C. vulgaris*)는 (주)대상에서 공급받아 사용하였으며, 초임계 유체로는 99.5%의 순도를 가지는 이산화탄소 ((주) 동민특수가스, 대한민국)를 구입하여 사용하였다. 유기용매 추출과 초임계 이산화탄소 추출에 공용매로 사용된 용매들은 HPLC급으로 Fisher사로부터 구입하여 더 이상 정제과정 없이 사용하였다. 추출물에 포함된 오일 함량 분석은 지질 표준물질 (fatty acid methyl ester (FAME) mixtures; C4 : 0-C24 : 1, 99.9%, Supelco, USA)을 heptane에 용해시켜 사용하였으며, 추출된 오일의 함량은 2 N 농도의 KOH-methanol (MeOH) 용액을 이용하여 FAME으로 전환 후 측정하였다.

2.2. 유기용매 추출

*C. vulgaris*는 막자 사발을 이용하여 10 분간 갈은 후 유기용매 추출에 사용하였다. 추출 실험은 시료 약 1 g을 100 mL의 둥근 바닥 플라스크 (round bottom flask)에 넣고 100 mL의 추출용매를 넣은 후 상온에서 1-72시간 동안 수행하였다.

일정시간 추출실험 후 추출액은 감압 여과하여 *C. vulgaris*로부터 추출액을 분리하였으며, 필터 위 *C. vulgaris*에 잔류하는 추출액은 각 추출 용매로 세척하여 회수하였다. 회수된 추출액은 회전식 증발기를 이용하여 농축한 후 농축된 추출액을 60°C에서 진공 건조하여 추출물을 회수하였다.

2.3. 초임계 이산화탄소 추출

초임계 이산화탄소 추출 실험은 analytical-scale의 초임계 유체 추출기 (SFX 3560, ISCO, Lincoln, USA)를 사용하였으며, 40~80°C, 1.5~50 MPa의 온도, 압력 및 공용매에 대한 영향에 대해 고찰하였다. 본 실험에서 사용된 analytical-scale 초임계 유체 추출장치의 개략도를 Fig. 1에 나타내었다. SFX 3560 실험 장치는 초임계 유체와 보조용매의 공급에 필요한 2대의 주사형 고압 정량펌프 (syringe pump, 260D, 100DX, ISCO, USA)와 펌프를 제어하는 조절기 (controller), 유속 조절을 위한 restrictor, 고압 chamber 및 추출물의 수집을 위한 수집부로 이루어진 본체로 구성되어 있으며, 초임계 이산화탄소를 이용한 *C. vulgaris*에 추출 실험은 다음과 같은 방법으로 수행되었다.

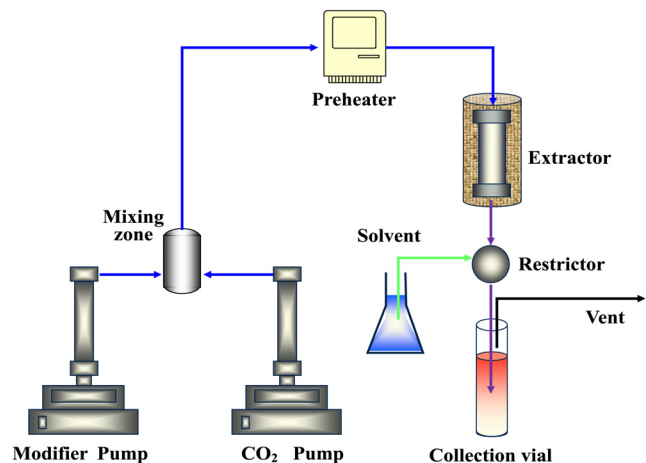


Fig. 1. Schematic diagram of the ISCO SFX 3560 supercritical fluid extractor used in this study.

막자 사발을 이용하여 같은 *C. vulgaris* 시료 1 g을 10 mL 용량의 cartridge에 넣고, 일정한 추출 온도로 유지되는 고압 챔버 (chamber)에 장착한 후 주사형 고압정량펌프에 의해 가압되어 일정한 압력과 온도로 조절된 초임계 이산화탄소를 고압 챔버 내의 cartridge 내부로 흐르게 하여 추출 실험을 수행하였다. 추출물을 포함하는 초임계 이산화탄소는 유량 조절기 (restrictor)를 지나 대기압 상태로 배출되고, 이후 가스 상태의 이산화탄소는 대기 중으로 방출되고 추출물은 수집 용기 내 유기용매에 용해되어 포집되었다. 포집된 추출액을 건조하여 추출물의 양을 측정하였으며 각 공정 조건마다 4시간 동안 추출 실험을 수행하였다.

2.4. 분석방법

2.4.1. 지질함량 분석

각 추출 방법에 의한 미세조류의 지질 함량은 무게법을 이용

하여 측정하였다. 추출 공정을 통해 얻어진 추출물은 회전식 증발기를 이용하여 농축한 후 60°C에서 진공 건조하여 추출물의 무게 변화가 없을 때까지 반복적으로 무게를 측정하여 지질함량을 확인하였다.

2.4.2. 지방산 조성

C. vulgaris 추출물 중의 지방산 조성을 확인하기 위해 내부 표준물질로 methyl nonadecanoate를 1 mg/mL 농도로 heptane에 용해시켜 stock solution을 제조한 후 추출물 50 mg에 stock solution 5 mL를 넣어 용해시킨 후 2 N 농도의 KOH-MeOH 용액 0.05 mL를 첨가하여 추출물내 오일을 FAME으로 전환한 후 GC/FID (Gas Chromatography/Flamed Ionized Detector, 5890 Series II, Hewlett Packard, USA)를 이용하여 지방산 함량을 측정하였다. 분석 칼럼으로는 DB-1 (60 m×0.25 mm×0.25 μm, Agilent J&W Scientific, USA)를 사용하였다. 이 때 오븐의 온도는 150°C에서 2분간 유지시킨 후 200°C까지 5°C/min의 속도로 승온 시키고, 250°C까지는 2°C/min의 속도로 승온 시킨 후 20분간 온도를 유지하여 분석하였다. 이동상으로는 수소 기체를 사용하였고 시료는 1 μL를 주입하였으며, split ratio는 50 : 1로 하였다. 또한 주입부와 검출부의 온도는 각각 250°C, 300°C로 유지하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 유기용매 추출

*C. vulgaris*로부터 유기용 추출 실험은 MeOH, ethanol (EtOH), dichloromethane (DCM), chloroform, acetone, hexane 등의 용매를 단일 및 혼합하여 상온에서 5시간 동안 수행하였으며, 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다. Acetone과 hexane의 경우 지질과 오일 추출 수율이 낮았으며, DCM/MeOH (2 : 1, v/v)의 경우 4.10%로 가장 높은 오일 추출 수율을 가졌다. Acetone과 hexane이 낮은 지질 추출 수율을 가지는 것은 앞선 Kim [14]이 수행한 유기 용매를 이용한 *Scenedesmus sp.*로부터 지질 추출 실험에서도 찾아볼 수 있다.

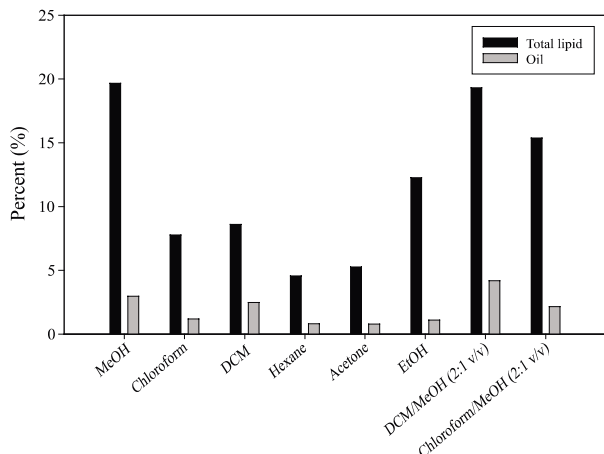


Fig. 2. Effect of various organic solvents on the extraction yield in the organic solvent extracton.

유기 용매 추출에서 지질의 추출 수율은 각각의 용매가 가지는 친수성 및 소수성 특성에 의해 다르게 나타나게 된다. 소수성 용매인 DCM의 경우 오일에 대한 용해도는 높으나 친수성 물질에 대한 용해도는 낮다. 반면, 친수성 용매인 MeOH은 오일에 대한 용해도는 낮으나 친수성 물질에 대한 용해도는 높다. 그로인해 미량의 수분이 포함된 미세조류를 추출할 경우 세포벽 표면에 존재하는 수분이 소수성 용매가 세포벽 내부로 침투하는 것을 방해하기 때문에 높은 오일 친화성에도 불구하고 낮은 오일 추출 수율을 가지게 된다. 반면 친수성 용매의 경우는 오일의 낮은 용해도 때문에 낮은 오일 추출 수율을 가지게 된다. 그래서 친수성과 소수성 특성을 가지는 두 용매를 적당한 비율로 혼합한 경우 높은 추출물과 오일 수율을 얻을 수 있다 [14].

추출물내 오일의 순도를 비교한 결과 MeOH의 경우 높은 추출물 수율을 보이나 오일 순도는 23% 이었다. 반면 DCM의 경우 추출물 수율은 8%로 낮았으나 오일 순도는 약 88%로 가장 높은 값을 나타내었다. 또한, EtOH의 경우 추출물 중 오일 순도는 27.16%로 가장 작은 값을 가지고 있었다.

유기용매 추출 실험 결과 가장 높은 오일 수율을 가지는 DCM/MeOH (2 : 1, v/v)를 용매로 사용하여 *C. vulgaris*에 포함된 총 오일의 함량을 알아보기 위하여 72시간 동안 추출 실험을 수행하였으며, 추출 시간에 따른 오일 수율 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 18시간 이후 추출된 오일 양은 큰 차이가 나타나지 않았으며, *C. vulgaris*에는 약 4.64%의 오일이 함유되어 있음을 확인하였다. Gouveia and Oliveira [15]의 연구 결과에서 *C. vulgaris*에는 약 5.1%의 오일이 함유되어 있음을 확인할 수 있으며, 본 실험 결과 유사한 값을 가지는 것을 확인할 수 있었다. 일반적으로 미세조류의 지질 함량은 온도, 빛 강도, 이산화 탄소, pH, 염농도 등의 여러 가지 요인들에 의해 조절된다. 앞선 문헌에서 *C. vulgaris*의 지질 함량은 배양조건에 따라 5-60%까지로 바뀌는 것으로 알 수 있다 [16].

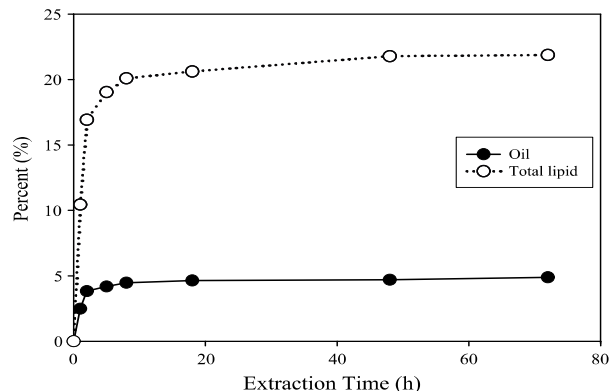


Fig. 3. Variation in the extraction yield with time when DCM/MeOH (2 : 1, v/v) was used as extraction solvent.

3.2. 초임계 유체 추출

3.2.1. 온도와 압력의 영향

초임계 이산화탄소를 이용한 추출 공정에서 오일에 대한 초임계 이산화탄소의 용해도는 추출 공정에 있어 중요한 변

수이다. 오일의 용해도는 초임계 이산화탄소의 밀도에 큰 영향을 받으며, 초임계 이산화탄소의 밀도는 온도와 압력 변화를 통해 다양하게 조절된다. 공정 온도와 압력 변화가 추출에 미치는 영향을 알아보기 위해 40, 60 및 80°C의 온도와 15, 30 및 50 MPa의 압력 조건에 1 mL/min의 초임계 이산화탄소 유속과 4시간의 추출시간을 고정하고 실험을 수행하였다.

일반적으로 초임계 이산화탄소에 대한 물질의 용해도는 초임계 이산화탄소의 밀도와 오일의 증기압에 영향을 받는다. 초임계 이산화탄소의 밀도가 높고 오일의 증기압이 높은 조건에서 오일의 용해도는 증가하게 된다. 온도와 압력 변화에 의한 오일의 추출 수율 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 오일 수율은 동일 온도조건에서 압력 증가에 따라 증가하였다. 이는 압력 증가에 따라 초임계 이산화탄소의 밀도가 증가하여 오일의 용해도가 증가하기 때문이다.

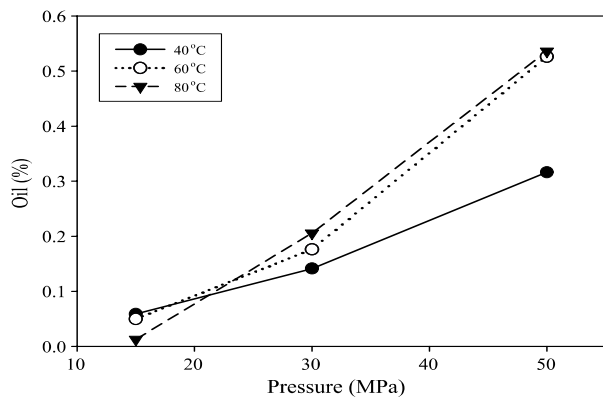


Fig. 4. Effect of temperature and pressure on the extraction yield of oil when the SCCO₂ extraction was carried out at CO₂ flow rate of 1 mL/min.

온도 증가에 따른 오일 수율은 22 MPa의 압력 근처에서 서로 상반된 결과를 보여주고 있다. 약 22 MPa 부근의 압력을 기준으로 낮은 압력 범위에서는 온도가 감소할수록 오일의 수율은 증가하였으며, 높은 압력 범위에서는 온도가 증가할수록 오일 수율이 증가하였다. 이는 오일의 용해도가 밀도와 증기압에 영향을 받기 때문에 특정 압력을 기준으로 더 낮은 압력 조건에서는 오일 용해도가 밀도에 의존하고 더 높은 압력 조건에서는 오일의 용해도가 오일의 증기압 증가에 의존하기 때문이다 [17,18].

초임계 이산화탄소 추출의 경우 유기 용매 추출에 비해 상대적으로 매우 낮은 추출 수율을 가지는 것을 확인할 수 있다. 이는 초임계 이산화탄소의 경우 비극성 성질을 가지고 있어 친수성 세포벽의 침투가 용이하지 않기 때문에 세포벽 내부의 오일을 효율적으로 추출하지 못하여 낮은 추출 수율을 가지게 된다. 초임계 이산화탄소의 오일 추출 수율은 hexane을 이용한 유기용매 추출 수율과 비슷한 결과를 보이고 있으며, 이러한 결과는 초임계 이산화탄소가 hexane과 유사한 용해도 파라미터 (solubility parameter) 값을 가지기 때문에 서로 비슷한 추출 수율을 가지는 것으로 생각되어진다.

Fig. 5는 50 MPa의 압력 조건에서 온도에 따른 지질의 수율 변화를 나타내고 있다. 그림에서 보는바와 같이 동일 압력 조건에서 온도 증가에 따라 지질 추출 수율은 증가하는 경향을 보이고 있다. 이는 앞서 설명한 바와 같이 50 MPa의 높은 압력조건에 온도가 증가함에 따라 추출되는 지질의 증기압이 증가가 초임계 이산화탄소의 밀도 감소보다 더 우세하게 작용하기 때문에 추출 수율이 증가하게 된다.

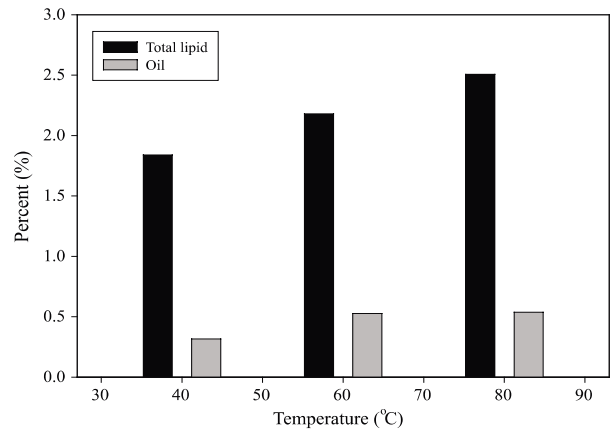


Fig. 5. Effect of temperature on the extraction yield of total lipid and oil when the SCCO₂ extraction was performed at 50 MPa with CO₂ flow rate of 1 mL/min.

3.2.2. CO₂ 유속의 영향

Fig. 6은 이산화탄소의 유속 변화에 따른 추출 수율을 나타내고 있다. 추출 실험은 80°C, 50 MPa의 온도 압력 조건에서 4시간 동안 수행되어졌다. 이산화탄소의 유속이 증가함에 따라 추출 수율은 증가하였으나, 1 mL/min 이상의 이산화탄소 유속에서 추출 수율은 큰 차이를 보이지 않았다. 이산화탄소의 유속 증가에 따라 더 많은 양의 이산화탄소가 사용되기 때문에 동일 추출시간 동안 더 많은 양의 오일을 추출될 수 있다. 그러나 1 mL/min 이상의 유속에서 추출 수율에 큰 차이가 없는 것으로 보아 4시간의 추출 시간 동안에 추출될 수 있는 최대양의 추출물이 추출되었기 때문에 추출물의 수율 증가가 없는 것으로 생각되어진다.

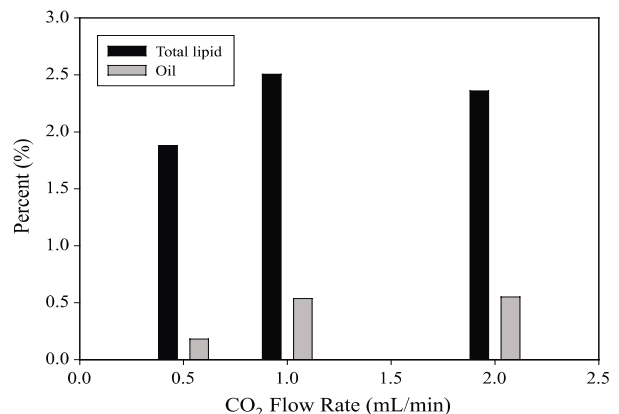


Fig. 6. Effect of CO₂ flow rate on the extraction yield of total lipid and oil when the SCCO₂ extraction was carried out at 50 MPa and 80°C.

Table 1. Fatty acid composition of oil extracted by three different extraction method

Fatty Acid	Name	Composition (%)		
		Organic solvent extraction ^a	SCCO ₂ extraction ^b	Modified-SCCO ₂ extraction ^c
C10 : 0	Capric Acid	0	0.012	0
C14 : 1n5	Myristoleic acid	0	0.104	0
C16 : 1n7	Palmitoleic acid	0.167	0.008	0.137
C16 : 0	Palmitic acid	0.091	0.047	0.031
C18 : 3n6	γ -Linolenic acid	0.032	0.008	0.078
C18 : 3n3	α -Linolenic acid	81.895	85.392	83.100
C18 : 2n6t	Linolelaidic acid	8.215	10.117	8.211
C18 : 1n9c	Oleic acid	6.150	3.015	5.921
C18 : 1n9t	Elaidic acid	1.582	1.106	1.652
C18 : 0	Stearic acid	1.061	0.005	0.150
C20 : 2n6	cis-11,14-Eicosadienoic acid	0.311	0.105	0.302
C20 : 1n9	cis-11-Eicosenoic acid	0.307	0.019	0.342
C20 : 0	Arachidic acid	0.051	0.053	0.076
C22 : 0	Behenic acid	0.135	0.000	0.000
C24 : 0	Lignoceric acid	0.004	0.000	0.000
Total		100.00	100.00	100.00

a: DCM/MeOH (1:2, v/v) extraction at room temperature for 18 h.

b: SCCO₂ extraction at 80°C and 50 MPa for 4 h with CO₂ flow rate of 2 mL/min.

c: SCCO₂ extraction modified with 10% DCM/MeOH(1:2, v/v) at 80°C and 50 MPa for 4 h with CO₂ flow rate of 2 mL/min.

3.2.3. 공용매의 영향

앞서 여러 연구자들이 초임계 이산화탄소의 추출 효율을 개선하기 위한 방법으로 초임계 유체에 공용매를 첨가한 실험을 수행하였다 [19,20]. 이에 본 실험에서는 초임계 이산화탄소 추출에 있어 공용매의 첨가가 오일 추출에 미치는 영향에 대한 실험을 수행하였다. 공용매가 첨가된 초임계 이산화탄소 추출은 80°C, 50 MPa의 온도와 압력 그리고 2 mL/min의 이산화탄소 유속에서 수행하였다. 이때 공용매는 앞서 유기 용매 추출에 사용된 용매를 10% (v/v)로 첨가하였다.

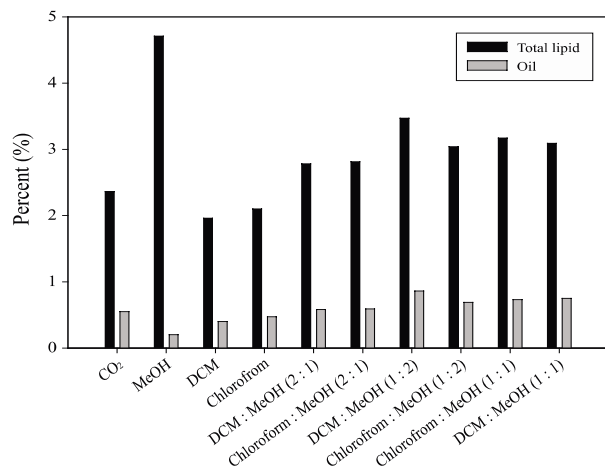


Fig. 7. Effect of various cosolvents (10%, v/v) on the extraction yield when the SCCO₂ extraction was carried out at 50 MPa and 80°C with CO₂ flow rate of 2 mL/min.

초임계 이산화탄소 추출 시 공용매 첨가에 따른 오일 추출 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 추출 실험 결과 MeOH, DCM, chloroform이 단독으로 사용된 경우 오일 추출 수율은 감소하였다. 그러나 MeOH의 경우 총 지질수율은 증가하였다.

이는 친수성 용매인 MeOH의 첨가로 오일 이외의 추출물에 대한 용해도가 증가하여 지질의 총 추출 수율이 증가하는 것으로 생각되어진다.

친수성 용매인 MeOH과 소수성 용매인 DCM 및 chloroform을 혼합한 용매를 공용매로 사용한 경우 오일 추출 수율은 증가하였다. 그 중에서 DCM/MeOH (1 : 2, v/v)로 혼합한 용매를 공용매로 사용한 경우 가장 높은 추출 수율을 얻을 수 있었으며, 초임계 이산화탄소 추출 대비 약 60% 더 증가한 값을 보였다. 이는 미세조류의 세포벽에 보호된 내부의 오일을 추출하는데 있어 소수성 용매의 첨가는 미세조류 세포벽 침투를 오히려 방해하여 추출 수율이 감소한 반면, 친수성 용매인 MeOH을 비극성 용매와 혼합하여 공용매로 사용한 경우 친수성 용매의 경우 세포벽 내부로 침투를 더 용이하게 할 수 있도록 도와주고 소수성 용매의 경우 오일에 대한 용해도를 증가시키는 상호 보완적 결과를 통해 더 높은 오일 추출 수율을 가지게 된다.

3.2.4. 추출 효율 비교

용매 추출, 순수한 초임계 이산화탄소 추출 및 10% DCM/MeOH (2 : 1, v/v)의 공용매가 첨가된 초임계 이산화탄소 추출법을 통해 얻어진 *C. vulgaris* 오일의 지방산 조성을 비교하여 Table 1에 나타내었다. 세 가지 추출법 모두 α -Linolenic acid가 가장 높은 함량을 가지고 있었으며, 추출 방법에 따라 지방산 조성의 큰 차이가 없음을 확인할 수 있다.

추출방법에 따른 추출 수율과 추출물내 오일 순도를 비교하여 Table 2에 나타내었다. 유기용매 추출법은 DCM/MeOH (2 : 1, v/v)를 이용하여 18시간 동안 추출하였을 경우 약 4.64 wt%, 순수한 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출하였을 경우 약 0.53 wt%, 10% DCM/MeOH (1 : 2, v/v)가 공용매가 첨가된 초임계 이산화탄소 추출에서는 약 0.86 wt%의 오일이 추출되었다. 상대적으로 초임계 유체 추출법은 유기

용매 추출법에 비해 매우 낮은 추출 효율을 가지는 것을 확인할 수 있다. 또한, 초임계 유체 추출에 있어 공용매가 첨가된 경우 약 60% 더 높은 추출 수율을 얻을 수 있었다. 추출물내 오일의 순도는 유기용매 추출에 비해 초임계 유체 추출의 경우 더 높은 것을 확인할 수 있었다.

Table 2. Effect of extraction methods on the extraction yield and purity of oil from *C. vulgaris*

	Organic solvent extraction ^a	SCCO ₂ extraction ^b	Modified-SCCO ₂ extraction ^c
Extract (%)	24.43	2.18	3.5
Oil (%)	4.64	0.53	0.86
Purity (%) ^d	19.0	24.3	24.6

a: DCM/MeOH (1:2, v/v) extraction at room temperature for 18 h.
b: SCCO₂ extraction at 80°C and 50 MPa for 4 h with CO₂ flow rate of 2 mL/min.

c: SCCO₂ extraction modified with 10% DCM/MeOH(1:2, v/v) at 80°C and 50 MPa for 4 h with CO₂ flow rate of 2 mL/min.

d: Purity = (oil/extract) × 100

4. 결론

본 연구에서는 미세조류에 대한 유기용매 추출과 초임계 이산화탄소 추출 실험을 수행하였다. 유기 용매의 추출 결과 *C. vulgaris*에는 약 4.64%의 오일이 함유되어 있었으며, 유기용매 추출에 비해 순수 초임계 이산화탄소 추출의 경우 매우 낮은 오일 추출 수율을 가지는 것을 확인 하였다. 공용매가 첨가된 초임계 유체 추출의 경우 초임계 이산화탄소 추출에 비해 오일 추출 수율이 향상되는 것을 확인할 수 있었으나 유기용매 추출 대비 18.5%로 추출 효율이 낮은 것을 확인할 수 있었다. 또한, 3가지 추출 방법 중 오일 순도는 초임계 유체 추출 방법이 유기용매 추출 방법에 비해 더 높은 값을 가짐을 확인하였다. 그러나 실험 결과 미세조류로부터 오일을 추출하는데 있어 지질내 오일의 순도는 24% 내외로 추가적인 오일의 정제 과정이 필요할 것으로 생각되어진다. 또한, 본 실험에서 사용한 *C. vulgaris*의 경우 오일이 약 5% 함유되어 있었으며, 유기용매 추출의 경우 유기 용매에 의해 결정화된 시료 입자들이 용해되어 큰 표면적을 가지기 때문에 추출 효율이 좋은 반면, 초임계 유체 추출의 경우 유기용매와 같은 현상이 나타나지 않기 때문에 결정화된 시료의 분쇄가 매우 중요하다. 그래서 미세조류 입자의 분쇄에 따라 추출 효율이 바뀔 수 있다. 하지만 미세조류내에 오일함량이 증가하는 경우 오일함량이 적은 것 보다 분쇄가 용이하기 때문에 오일 함량이 큰 미세조류의 배양이 상용화되는 경우 더 높은 추출 효율을 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

감사

본 연구는 차세대 증소기업 산학연협력기술개발사업 (산학연 공동기술개발사업)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에

감사드립니다.

References

1. Chauhan, S. K., S. Gangopadhyay, and N. Singh (2009) Environmental aspects of biofuels in road transportation. *Environ. Chem. Lett.* 7: 289-299.
2. Demirbas, A. (2009) Political, economic and environmental impacts of biofuels: A review. *Appl. Energy* 86: s108-s117.
3. Ma, F. and M. A. Hanna (1999) Biodiesel production: a review. *Bioresour. Technol.* 70: 1-15.
4. Brennan, L. and P. Owende (2009) Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14: 557-577.
5. Jo, B. H. and H. J. Cha (2010) Biodiesel production using microalgal marine biomass. *Kor. Soc. Biotech. Bioeng. J.* 25: 109-115.
6. Spolaore, P., C. Joannis-Cassan, E. Duran, and A. Isambert (2006) Commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioeng.* 101: 87-96.
7. Sharif Hossain, A. B. M. and A. Salleh (2008) Biodiesel fuel production from algae as renewable energy. *Am. J. Biochem. Biotechnol.* 4: 250-254.
8. Patil, V., K.-Q. Tran, and H. R. Giselrød (2008) Towards sustainable production of biofuels from microalgae. *Int. J. Mol. Sci.* 9: 1188-1195.
9. Bozan, B. and F. Temelli (2003) Extraction of poppy deed oil using supercritical CO₂. *J. Food Sci.* 68: 422-426.
10. Salgın, U., O. Döker, and A. Çalmlılı (2006) Extraction of sunflower oil with supercritical CO₂: Experiments and modeling. *J. of Supercritical Fluids* 38: 326-331.
11. Mercer, P. and R. E. Armenta (2011) Developments in oil extraction from microalgae. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113: 539-547.
12. Han X., L. Cheng, R. Zhang, and J. Bi (2009) Extraction of safflower seed oil by supercritical CO₂. *J. Food Eng.* 92: 370-376.
13. Macías-Sánchez, M. D., C. M. Serrano, M. R. Rodríguez, and E. M. de la Ossa (2009) Kinetics of the supercritical fluid extraction of carotenoids from microalgae with CO₂ and ethanol as cosolvent. *Chem. Eng. J.* 150: 104-113.
14. Kim, N. Y. Extraction, purification and optimization of the lipid for biodiesel from *Scenedesmus* sp. Degree of Master, Kangwon National University 2010.
15. Gouveia, L. and A. C. Oliveira (2009) Microalgae as a raw material for biofuels production. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36: 269-274.
16. Liu, Z.-Y., G.-C. Wang, and B.-C. Zhou (2008) Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresour. Technol.* 99: 4717-4722.
17. Hwang, A.-R., I.-I. Jung, G. B. Lim, and J.-H. Ryu (2009) Extraction of oil from canola seeds with supercritical carbon dioxide. *Kor. Soc. Biotech. Bioeng. J.* 24: 367-376.
18. Cocero, M. J. and L. Calvo (1996) Supercritical fluid extraction of sunflower seed oil with CO₂-ethanol mixtures. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73: 1573-1578.
19. Díaz-Reinoso, B., A. Moure, H. Domínguez, and J. C. Parajó (2006) Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 54: 2441-2469.
20. Valderrama, J. O., M. Perrut, and W. Majewski (2003) Extraction of astaxanthin and phycocyanin from microalgae with supercritical carbon dioxide. *J. Chem. Eng. Data* 48: 827-830.