

초임계 이산화탄소를 이용한 마늘 alliin추출의 최적화

이은현 · 장규섭 · 권영안* · 이은미
충남대학교 식품공학과, *우석대학교 식품공학과

Optimization of the Alliins Extraction in the Garlic by Supercritical Carbon dioxide

Eun-Hyun Lee, Kyu-Seob Chang, Young-An Kwon and Eun-mi Lee
Department of Food Science and Technology, Chungnam National University
*Department of Food Science and Technology, Woo-Suk University

Abstract

Supercritical carbon dioxide extraction of alliins in garlic (*Allium Sativum* L.) was optimized to maximize alliins extraction yield. A central composite design involving extraction temperature X_1 (35~65°C) and pressure X_2 (104~310 bar) was used, and optimum extraction conditions were calculated by RSM (response surface methodology). According to the analysis of RSM, optimum conditions in dried garlic plate were shown as 104 bar and 50°C, in freeze dried garlic plate were 207 bar, 65°C, respectively.

Key word: Alliins extraction, Garlic, Supercritical carbon dioxide

서 론

마늘은 한국의 전통 식생활에 있어서 조미료, 향신료 및 의약품으로 이용되어온 채소의 일종으로서, 고추 다음으로 큰 재배면적을 나타내고 있다. 마늘은 특히 단순한 식품으로서의 역할도 중요하지만, 의약품의 원료 및 기능성 식품으로서 전세계적으로 관심 깊게 연구되어져 왔다. 마늘의 유효성분으로는 alliin (S-allyl-L-Cystein sulfoxide), allyl sulfide, pyruvic acid, 휘발성 정유성분 등이 존재한다고 보고되어져 있다 (Caragay, 1992; Malpathak 와 David, 1986). Alliin은 alliinase와 H_2O 에 의해서 분해되며, 분해 산물로써 pyruvic acid, ammonia, diallylthiosulphinate(allicin)를 생성한다(Boelens *et al.*, 1975; Freeman, 1975). 이 중에서 중요한 것은 앞에서 설명한 바와 같이 유효 유기 유향 성분인 allyl sulfide와 alliin 분해시 생성되는 allicin인데, 이런 성분들의 작용으로서 마늘이 기능성 식품으로서의 효과를 발현한다고 보고되어져 있다 (Nock 와 Mazelis, 1987; Freeman 과 Mossadeghi, 1971). 이러한 유효 성분을 식물로부터 추출하는 방법은 acetone, hexane, methanol 및 petroleum ether 등의

용매를 이용하여 추출한 후, silica gel, magnesia 등의 흡착제를 충전한 column을 이용하여 분리, 정제하는 방법 등(King *et al.*, 1988)이 소개되어져 있다. 그러나 이러한 추출 방법들은 추출, 분리 및 정제 과정에서 온도, 금속이온, 광선 등에 의해서 이성체가 형성되거나 손실이 일어나며, 잔류 유기 용제의 문제가 있어 새로운 추출 방법들이 많이 연구되어지고 있다.

초임계 유체 추출은 다양한 식품 소재의 추출에 이용되어져 왔으며, 혼합물의 분리 정제를 목적으로 하는 기초 연구와 실제 분리 공정에 응용하기 위한 많은 연구 사례들이 보고되었다(Hubert 와 Vitzthum, 1987; Caragay, 1981). 담배로부터 nicotine의 제거, 커피에서 caffeine의 제거, 식물성 유지 종자로부터 유지의 추출, 유지의 분획, 동물성 유지의 추출, 향미 성분의 추출 등을 그 예로 들 수 있다.

따라서 본 연구는 마늘로부터 이산화탄소에 의한 초임계 유체 추출기법을 이용하여 식품산업 및 의학 분야에서 요구되는 allyl sulfide, allicin 의 전구물질인 alliin류 등의 유효한 유기 유향 성분을 추출하여 기능성 식품, 음료 제조에 의한 부가가치 부여로 그 이용성을 증대시키고자 하였다. 또한 추출 공정의 최적 조건을 규명하기 위하여 초임계 유체 추출법을 통해 마늘로부터 alliin류를 추출하고 반응 표면 분석에 의한

Corresponding author: Kyu-Seob Chang, Dept. of Food Science & Technology, Chungnam National University

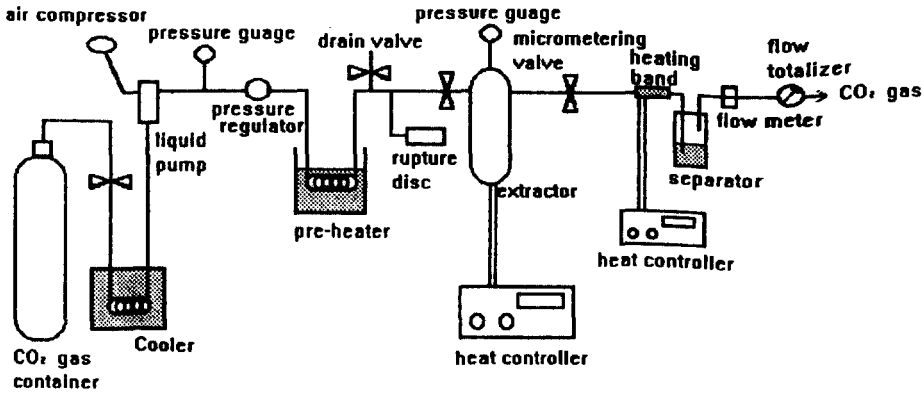


Fig. 1. Supercritical fluid extraction equipment.

통계적 분석에 따라 추출공정의 최적조건을 도출함으로써 이를 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

마늘(*Allium sativum* L.)은 서산 지방에서 재배된 것을 구입하여, 초임계 유체 추출에 적합하게 하기 위해서 수분을 제거하고, 두께를 약 0.2 cm로 세절하였다.

초임계 이산화탄소에 의한 마늘에서의 alliin류의 추출 이 실험에 사용한 초임계 유체 추출 장치의 모식도를 Fig. 1에 나타내었으며, 추출장치는 추출조, 분리조, 가압펌프로 구성되어 있다. 추출조(HIP inc. Erie, P.A.), 가압펌프(Haskel co., Burbank, California), 압력 조절기(HIP inc. Erie, P.A.), 압력측정기(MacDiniel controls co), 고압용관 등을 수입하여 본 실험실에서 조립하여 사용하였다.

통계적 실험 설계

최적 추출 조건을 도출하기 위한 반응 표면 분석에 적합한 실험 계획을 중심 합성 설계법(central composite rotational design)에 따라 설계하였다. Table 1에서 기호화된 추출조건을 보여주고 있다.

Alliin류 추출물의 분석

모세관 전기 영동 장치에 의한 분석: 모세관 전기 영동 장치의 실험 조건은 Table 2에 나타내었다.

고압 액체 크로마토그래피에 의한 분석: 이 실험에서 사용한 실험조건은 Table 3에 나타내었다.

추출 압력에 따른 분석: 추출 온도를 40°C, 50°C,

Table 1. Experiment combinations according to codes of experimental design at various extraction conditions of pressure and temperature

Treatment	T (°C)		Actual parameters	
	X ₁	X ₂	T (°C)	P (bar)
1	-1	-1	40	138
2	1	-1	60	138
3	-1	1	60	276
4	1	1	40	276
5	-1.414	0	35	207
6	1.414	0	65	207
7	0	-1.414	50	104
8	0	1.414	50	310
9	0	0	50	207
10	0	0	50	207
11	0	0	50	207
12	0	0	50	207
13	0	0	50	207

60°C로 고정하고, 각 온도에서 추출 압력을 변화시키면서 alliin류 추출량을 비교 분석하였다.

추출 온도에 따른 분석: 추출 압력을 138 bar, 207 bar, 276 bar로 고정하고, 각 압력에서 추출 온도를 변화시키면서 alliin류 추출량을 비교 분석하였다.

추출 조건에서 alliin류 추출물의 분획에 따른 분

Table 2. Operating conditions for alliin analysis of garlic by capillary electrophoresis

Operating condition	
Instrument	Beckman P/ACE System 5500
Capillary	Total length 47 cm id 75 µm
Buffer	0.05 M sodium tetraborate (pH 8.3), 25 mM SDS (sodium dodecyl sulfate)
Load conditions	21 kV
Detection	210 nm, 337 nm (by diode array detector)

Table 3. Operating conditions for alliin analysis of garlic by HPLC

Operating condition	
Instrument	Waters HPLC
Column	C ₁₈ column
Absorbance	210 nm
Flow rate	0.7 mL/min
Mobile phase	Acetonitril : water=45 : 55
Injection	5 µL

석: 초임계 유체 추출에 있어서 두 영향 인자인 추출 압력과 추출 온도에 따른 추출량의 세부적인 분석으로 분획 순서에 따른 추출량을 비교 분석하였다.

반응 표면 분석: 초임계 유체 추출을 최적화 하기 위해 2개의 독립변수(X₁, X₂)로 추출온도와 추출압력을 선정하고, 종속 변수(Y)로 alliin류 함량을 선택하였을 때, 반응 변수에 대한 기본 model을 Cochran and Cox (1950)가 제안한 Second order Designs에 의해 다음과 같이 가정하였다.

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{1i} + \beta_2 X_{2i} + \beta_{11} X_{1i}^2 + \beta_{22} X_{2i}^2 + \beta_{12} X_{1i} X_{2i} + e_{iu}$$

결과 및 고찰

초임계 이산화탄소에 의한 alliin류의 추출

초임계 이산화탄소에 의한 마늘에서의 alliin류 추출은 용매에 의한 추출보다는 비교적 낮은 값을 나타내었다. 이는 용매 추출시 마늘의 조직 안으로 용매의 확산이 더 빠르게 일어났다는 것을 의미한다.

추출된 alliin류 추출물의 분석

모세관 전기 영동 장치에 의한 분석: 모세관 전기 영동 장치를 이용하여 얻어진 서로 다른 농도에서 분

Table 4. Extracted concentration of alliin at various extraction conditions analyzed by electropherogram (Sample garlic weight : 30 g)

Treatment	T (°C)		P (bar)		DGP	FGP
	X1	X2	Con. (mM)		Con. (mM)	Con. (mM)
1	-1	-1	-	-	-	5.54
2	1	-1	-	-	-	12.45
3	-1	1	-	-	-	6.82
4	1	1	-	-	-	10.69
5	-1.414	0	-	-	-	14.92
6	1.414	0	-	-	-	7.61
7	0	-1.414	0.64	-	-	-
8	0	1.414	0.12	-	-	11.17
9	0	0	-	-	-	7.04
10	0	0	1.03	-	-	7.13
11	0	0	0.25	-	-	8.17
12	0	0	-	-	-	6.50
13	0	0	0.04	-	-	7.03

석된 electropherogram을 통해 표준품의 검량선을 분석한 결과 Y=1.8481X+0.0922 (R²=0.9996)로 높은 신뢰도를 가지는 것을 알 수 있었다. 이 일차 회귀식을 이용하여 초임계 유체 추출법으로 추출한 alliin류의 농도를 측정하여 Table 4에 나타내었다.

고압 액체 크로마토그래피에 의한 분석: 고압 액체 크로마토그래피에 의한 분석에 대한 결과는 Table 5에 나타내었다. 표준품에 대한 검량선 분석은 Y=330201X-274470 (R²=0.9834)의 신뢰성을 보여준다.

추출 압력에 따른 분석

1) DGP(dried garlic plate): DGP에 대한 초임계 유체 추출은 추출 조건 50°C, 207 bar에서 가장 많은 양이 추출되었으며, 추출온도 40°C, 60°C에서는 추출압력의 변화에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

2) FGP(Freeze dried garlic plate): FGP에 대한 초임계 유체 추출은 추출온도 40°C에서는 압력이 증가함

Table 5. Extracted concentration of alliin at various experimental conditions analyzed by HPLC

Treatment	Fraction number	T (°C)		P (bar)		Peak area (cm ²)	Alliin con. (mM)	Peak area (cm ²)	TSC con. (mM)
		X ₁	X ₂	X ₁	X ₂				
1	1	-1	-1	55679	1.00	171098	1.35		
2	1	1	-1	80684	1.07	520456	2.40		
2	4	1	-1	121612	1.20	121612	1.20		
3	1	-1	1	60048	1.01	241536	1.56		
4	1	1	1	216852	1.48	1525460	5.45		
5	1	-1.414	0	216508	1.48	1139796	4.28		
6	1	1.414	0	342964	1.87	2120400	7.25		
7	4	0	-1.414	0	0.00	130476	1.22		
8	2	0	1.414	183228	1.38	605404	2.66		

TSC: total sulfide compound.

에 따라 추출량이 증가하는 경향을 나타내었다. 50°C에서도 40°C에서와 같은 경향으로 압력이 증가함에 따라 추출량이 증가하였지만, 40°C에서 나타난 결과와 비교할 때, 압력이 증가함에 따라 추출량의 상승비(곡선의 순간 기울기)가 작아져서 정확히 일치하지는 않았다. 60°C에서는 압력이 증가함에 따라 추출량은 감소하는 경향을 나타내었다.

이 결과로부터, FGP의 추출량은 retrograde state를 나타냄을 알 수 있다.

추출 온도에 따른 분석

1) DGP(dried garlic plate): DGP에 대한 초임계 유체 추출은 추출 압력을 207 bar로 고정시켰을 때, 50°C에서 최대값을 나타내었다. 추출 압력이 138 bar, 276 bar에서는 온도가 변화함에 따라 영향을 받지 않은 것으로 나타났다.

2) FGP(Freeze dried garlic plate): 초임계 이산화탄소 추출에서 온도에 대한 FGP의 변화는 추출압력 207 bar에서 온도가 증가함에 따라 추출량이 감소하였고, 50°C이상의 온도에서는 증가하는 경향을 나타내었다. 138 bar에서는 온도가 증가함에 따라 추출량이 증가하였다. 276 bar에서는 온도가 증가함에 따라 추출량은 감소하는 경향을 나타내었다. 이 결과로 예측하여 볼 때, '추출압력에 따른 변화'에서 내린 결론과 같이 retrograde state를 나타내고 있다.

반응 표면 분석

1) DGP(dried garlic plate): 초임계 이산화탄소를 이용한 DGP에서의 alliin류 추출에 영향을 주는 추출온도와 추출압력에 대한 다중회귀식은 다음과 같다.

$$Y_{ii} = 0.264 + (-0.091)X_{20} + (-0.1795)X_{10}^2 + 0.01X_{20}^2 + 1.356$$

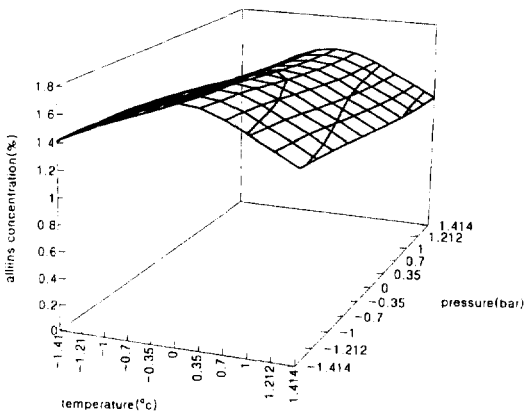


Fig. 2. Response surface contour of alliin yield of dried garlic plate, as a function of SCF extraction at various pressure and temperature.

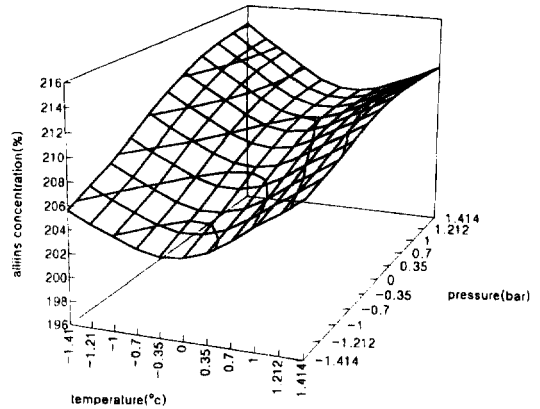


Fig. 3. Response surface contour of alliin yield of freeze dried garlic plate, as a function of SCF extraction at various pressure and temperature.

이식을 이용하여 작도한 3차원 평면 그래프를 Fig. 2에 나타내었다. 이런 결과를 이용하여 반응 표면 분석을 한 결과, 각 영향 인자의 정상점은 X_1 은 0 (50°C) X_2 는 -1.414 (104 bar)이며, 이 때 종속값인 alliin의 Y_n 값은 1.7707이었다. 즉, 각각인자의 최적 반응 조건에 따른 종속변수 Y 의 변량치를 추정할 수 있었다.

2) FGP(Freeze dried garlic plate): 초임계 이산화탄소를 이용한 FGP에서의 alliin류 추출에 영향을 주는 추출온도와 추출압력에 대한 다중회귀식은 다음과 같다.

$$Y_{ii} = 34.864 + 0.051X_{10} + 1.918X_{20} + 2.1608X_{10}^2 - 0.6791X_{20}^2 - 0.7675X_{10}X_{20} + 172.1335$$

이식을 이용하여 작도한 3차원 평면 그래프를 Fig. 3에 나타내었다. 이 결과를 이용하여 반응 표면 분석을 한 결과, 각 영향 인자의 정상점은 X_1 은 1.414 (65°C), X_2 는 0 (207 bar)이며, 이 때 종속값인 alliin의 Y_n 값은 211.3899이었다.

요 약

마늘로부터 이산화탄소에 의한 초임계 유체 추출기법을 이용하여 추출된 alliin류를 모세관 전기 영동 장치로 분석한 결과, 검량선의 회귀식은 $Y = 1.8481X + 0.0922$ ($R^2 = 0.9996$)로 아주 높은 신뢰성을 보여주었으며, 고압 액체 크로마토그래피로 분석한 결과, 검량선의 회귀식은 $Y = 330201X - 274470$ ($R^2 = 0.9834$)로 나타내었다. 추출압력에 따른 분석으로 DGP는 50°C로 추출 온도가 고정되었을 때 207 bar에서 최대값을 나타냈다. FGP는 40°C, 50°C로 추출 온도가 고정되었을

때 추출 압력에 비례하여 추출량이 증가하였고, 60°C에서는 추출 압력에 반비례함을 알 수 있었다. 추출 온도에 따른 분석으로 DGP는 207 bar로 추출 압력이 고정되었을 때 50°C에서 최대값을 나타내었고, 반면에 FGP는 207 bar로 추출 압력이 고정되었을 때 최소값을 나타내었다. 추출시간은 추출 온도와 추출 압력에 의해 결정되어지는데, 특히 추출시간에 영향을 주는 인자는 추출 온도이고, 추출 압력은 추출량에 영향을 줄 수 있었다. 반응 표면 분석에 의한 결과에 따르면, 마늘 alliin류의 초임계 유체 추출에서의 최적 조건은 DGP 경우, 추출 압력 : 104 bar, 추출 온도 : 50°C이었고, FGP 경우, 추출 압력 : 207 bar, 추출 온도 : 65°C로 분석되었다. 비록 초임계 이산화탄소에 의한 추출이 유기 용매에 의한 추출보다 적은 양이 추출되었지만, 정제 및 용매 제거 등의 단위 공정을 지나면서 용매 추출법으로 추출된 추출물은 열변성, 용매 잔존, 휘발성 정유 성분의 손실 등 많은 문제점이 발생하기 때문에 고부가가치성의 물질을 추출할 때에는 초임계 유체 추출이 적합하다는 결론을 내릴 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 학술진흥재단의 지방대육성과제사업의 연구비 지원으로 수행된 결과로 이에 감사를 표합니다.

참고문헌

Boelens, H., L. M. van der Linde, P. J de Valois, J. M van

- Dort and H. J. Takken. 1975. Organic sulphur compounds as flavour constituents : Reaction products of carbonyl compounds, hydrogen sulphide and ammonia., Proc. int'l. Symp. Aroma Research, 95-100.
- Caragay, B. A. 1981. Supercritical fluids for extraction of flavors and fragrances from natural products., Perfumer & Flavorist, 6(4). 43-46.
- Caragay, B. A. 1992. Cancer-preventive foods and ingredients., Food Technol., 4. 65-68.
- Cochran, W. G. and G. M. 1950. Experimental designs, 2nd edition, John Wiley & Sons Co.
- Freeman, G. G. 1975. Distribution of flavour components in Onion(*Allium cepa* L.), Leek(*Allium porrum*) and Garlic (*Allium sativum*), J. Sci. Food Agric. 26. 471-481.
- Freeman, G. G. and N. Mossadeghi. 1971. Influence of sulphate nutrition of the flavour components of garlic(*Allium sativum*) and onion(*Allium vineale*), J. Sci. Food Agric. 22. 330-334.
- Hubert, P. and O. G. Vitzthum. 1987. Fluid extraction of hops, spices, and tobacco with supercritical gases., Angew. Chem. Int'l. Ed. Engl. 17(10). 710-715.
- King, J. W, R. L. Eissler and J. P. Friedrich. 1988. supercritical fluid-adsorbate-adsorbant system. ; Characterization and Utilization in Vegetable oil Extraction Studies, Supercritical Processing Chapter 4.
- Malpathak, N. P. and S. B. David. 1986. Flavor formation in tissue cultures of garlic(*Allium sativum* L.), Plant Cell Reports. 5. 446-447.
- Nock, L. P. and M. Mazelis. 1987. The C-S lyases of higher plants : Direct comparison of the physical properties of homogeneous alliin lyase of garlic(*Allium sativum*) and onion(*Allium cepa*). Plant Physiol. 85. 1079-1083.