

초임계 이산화탄소에 의한 다시마 추출물의 성분분석

이석희 · 천재기 · 주창식
부경대학교 공과대학 화학공학부

Components Analysis of Sea Tangle Extracts with Supercritical Carbon Dioxide

Seok-Hee Lee, Jae-Kee Cheon and Chang-Sik Ju

School of Chemical Engineering, Pukyong National University

Abstract

Supercritical carbon dioxide(SC-CO₂) has been used to extract the sea tangle with or without the presence of cosolvent. The extract was analyzed by GC and GC/MS technique. The extract was composed of five major components in the order of 24-methylene-25,26,27-trimethylcholesterol, oleic acid, palmitic acid, myristic acid and 2-benzoylguaiiazulene. In the use of SC fluid, the higher molecular weight (MW) components were extracted, while in the use of hot water, the lower MW components were extracted dominantly. The amount of 24-methylene-25,26,27-trimethylcholesterol and oleic acid extracted with only SC-CO₂ were more than 0.3 wt% of the powdered sea tangle. With the presence of cosolvent ethanol, 24-methylene-25,26,27-trimethylcholesterol, 2-benzoylguaiiazulene, oleic acid and palmitic acid were extracted more than 0.3 wt% of the powdered sea tangle. The lower MW compounds as well as acids were extracted completely in 30 min with cosolvent ethanol. It is speculated that the polarity of ethanol and solvent effect increase the solubility of the components in SC-CO₂ and ethanol.

Key words: supercritical carbon dioxide, sea tangle, extract component, cosolvent ethanol

서 론

식용해조류인 다시마는 자연식품의 고유한 맛을 갖는 천연조미료의 원료로 가치가 높은 식품이다. 천연조미료의 원료는 여러 가지 있으나, 그 중 해조류는 자원이 풍부하고 향미가 독특할 뿐 아니라 다양한 성분을 함유하고 있어, 최근 조미료 분야 또는 청량음료에 관심이 높아지면서 해조류의 영양소를 추출하여 기능성 성분을 첨가한 제품의 개발이 절실히 요구되고 있다(이정근 등, 1996). 다시마는 음식물의 감미료로 이용되는 알코올류인 mannitol과 유기산 그리고 아미노산의 일종으로 향미의 상승제인 glutamic acid가 다량 함유되어 있고, 그 외에 2-nonen-1-ol, cubenal, 2,6-nonadienal 및 myristic acid 등의 향미 성분이 있다고 보고하였다(Tadahiko *et al.*, 1988). 다시마는 점도가 높

은 복합 다당류인 알긴산이 함유되어 있어 추출액의 여과, 농축 및 건조에 많은 제약이 되어 왔다. 그러나 알긴산은 점성, 수용성 및 금속이온과의 반응성 등과 같은 많은 특성을 지니고 있어 식품, 의약품 및 직물 공업에 사용되고 있다(박영호 등, 1997; 정재용 등, 1999).

식품에서 유효성분을 분리하기 위해서 압착법, 수증기 증류법 및 용매추출법이 주로 사용되어 왔다. 이 공정에서는 용매와 용질의 손실과 변질을 피하기 어렵고, 또한 용매와 용질을 분리하기 위해서 새로운 분리공정을 거쳐야 한다(Dziewak, 1986). 이런 단점을 보완하기 위해서 초임계유체 추출공정이 신분리 기술로 이용되고 있다. 초임계유체 추출법은 다른 분리법에 비해서 용매의 회수가 용이하고 또한 사용하는 용매가 무독성·비활성이기 때문에 순도와 독성문제에 까다로운 식품 및 의약품의 추출에 유리하다(Brunner, 1982, 1994). 이산화탄소를 이용한 초임계유체 추출은 다른 유체에 비해 쉽게 초임계 상태를 만들 수 있고, 무

Corresponding author: Seok-Hee Lee, School of Chemical Engineering, Pukyong National University, Pusan 608-739, Korea

색, 무독성 및 비반응성의 장점이 있어 식품의 추출용매로 널리 사용되고 있다. 또한 이산화탄소의 용해도와 선택도를 높이기 위해서, 용질과 친화력이 좋은 보조용매를 소량첨가하여 용질의 추출량을 증가시키는 연구도 진행되고 있다(구본식 등, 1993; Snyder *et al.*, 1984). 따라서 이 논문에서는 초임계 이산화탄소 용매를 이용한 회분식 추출 실험을 통하여, 다시마 분말로부터 추출압력, 온도 및 유량의 최적조건에서 추출한 지방질과 최적조건에서 몇가지 보조용매를 첨가하여 추출한 지방질을 GC와 GC/MS로 분석하였고, 또한 추출시간 별로 추출한 지방질의 성분변화도 고찰하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

본 실험에 사용한 다시마는 생산지가 가장인 건조된 다시마를 시장에서 구입하여, 초임계유체 추출에 적합하게 진공건조기(JEIO TECH, VO-10X)로 60°C에서 2일동안 수분을 제거하였다. 건조 다시마를 분쇄기(Hanil, 680T)로 300 μm 입자크기로 분쇄하여 다시마 분말을 잘 혼합한 후, 밀봉한 상태로 냉장고에 보관하면서 추출용 시료로 사용하였다. 추출용매는 순도 99.8% 이상인 이산화탄소를 사용하였고, 보조용매로 사용된 에탄올, 메탄올 및 헥산은 특급시약을 그대로 사용하였다.

추출공정

초임계유체 추출장치는 이 등(2000)에 의해 사용한 실험장치와 실험방법과 같다. 실험범위의 최적조건인 다시마 입자크기 300 μm , 초임계 이산화탄소의 온도 313 K, 압력 150 bar 및 유량 20 L/min에서 추출한 지방질과 최적조건(이 등, 2000)에서 각종 보조용매를 유량 2 mL/min로 첨가하여 추출할 때 추출된 지방질을 50 mL 에탄올에 용해시켜 시료를 제조하였다. 또한 최적조건에서 이산화탄소만을 사용한 경우와 보조용매 에탄올을 사용한 경우에 대해서는 10분, 30분, 50분, 80분, 120분까지 추출된 지방질의 질량을 각각 측정하고, 추출물을 에탄올 각각 10mL에 용해시켜 성분 분석 시료로 사용하였다.

성분의 분석

초임계유체 추출장치로 추출된 지방질의 분석에는 GC와 GC/MS를 사용하였다. GC(Hewlett Packard Series II, 5890)의 column은 HP-1(25 m \times 0.2 mm \times 0.33 μm), 유속은 3 mL/min, detector는 FID이었고,

oven temperature는 150°C에서 시작하여 2°C/min, 5°C/min 및 2°C/min의 속도로 250°C, 270°C 및 300°C까지 각각 3단계 승온시키고 마지막 시간을 15분간 유지시켰다. GC/MS(Shimadzu, GCMA/QP 5050A)의 column은 HP-5MS(30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μm), detector는 TIC를 사용하였고, oven temperature는 130°C에서 시작하여 10°C/min, 3°C/min, 5°C/min 및 3°C/min의 속도로 150°C, 250°C, 270°C, 300°C까지 각각 4단계 승온시키고 마지막 시간을 15분간 유지하였다. 이 때 mass range는 50~550이고 mass spectro-meter에서 얻은 chromatogram의 분자구조를 Wiley database로 확인하였다.

결과 및 고찰

보조용매의 첨가에 의한 향기 성분

전보(이 등, 2000)에서 선정된 최적조건에서 초임계 이산화탄소만으로 추출한 추출물과 2 mL/min로 보조용매인 메탄올, 헥산 및 에탄올을 첨가하여 추출한 추출물들의 휘발성 향기성분의 gas chromatogram은 Fig. 1과 같다. 그리고 각 peak 성분을 GC/MS로 분자구조를 확인한 뒤 peak면적을 비교한 결과는 Table 1과 같다. Tabel 1에서 CO₂만 사용한 경우와 에탄올을 보조용매로 사용한 경우 retention time 30분전에 시료에 포함된 화합물 62.21%와 68.10%가 각각 검출되어 즉 이 시간내에 2/3가 검출되었다.

일본산 다시마의 향미성분은 cubenol, myristic acid, hexadecenoic acid 및 palmitic acid이라고 Tadahiko 등(1988)이 보고하였고, 이 등(1996)은 한국산 다시마 분말의 주요향미 성분을 GC로 분석한 결과 myristic acid, palmitic acid, 2-nonen-1-ol 및 pentadecanoic acid 이었고, 100°C의 열수 추출물은 pentadecane, myristic acid, 1,4-cyclooctadiene, 2,6-nonadienal 및 1,2-heptadiene이라고 보고하였다.

본 실험에서 초임계 이산화탄소만 사용한 경우와 보조용매를 함께 사용한 경우의 상위 10개 화합물(평균%)은 24-methylene-25,26,27-trimethylcholesterol(22.86%), oleic acid(20.69%), palmitic acid(11.98%), myristic acid(8.20%), 2-benzoylguaiazulene(7.21%), 2,4,6-tris-(1-phenylethyl)-phenol(4.47%), tricyclohexadeca-3,15-diene(3.84%), stearic acid(3.28%), fucostenone(2.72%) 및 8,11,14-eicosatrienoic acid(2.30%)으로 나타났고 상위 5개 화합물의 합량이 평균 70.94%이었다. 또한 사용한 보조용매의 종류에 관계없이 성분함량의 변화가 미세하였다. 열수 추출물과 초임계 유체 추출물의 향기성

Table 1. Volatile compounds identified from sea tangle extracts with various cosolvents

Compounds	Retention time	Peak area (%)			
		Only CO ₂	Methanol	Hexane	Ethanol
Azulene, 1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)	8.362	3.39	—	—	—
Myristic acid	9.191	9.13	6.88	8.35	8.45
9-Hexadecenoic acid	13.780	0.97	2.00	1.40	4.12
Palmitic acid	14.416	9.78	6.96	15.14	16.04
5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, methyl ester	16.417	1.21	2.70	1.60	1.32
Tricyclohexadeca-3,15-diene	16.575	4.21	6.03	3.17	1.93
8,11,14-Eicosatrienoic acid	18.757	2.66	3.74	1.81	0.99
Oleic acid	19.431	15.53	18.54	23.04	25.65
Stearic acid	20.025	3.16	2.55	3.74	3.66
Ethyl arachidonate	23.896	2.74	1.59	1.81	0.97
2-Benzoylguaiazulene	26.545	9.43	6.84	6.63	5.94
Stigmasta-5,24-dien-3-ol	36.633	0.50	0.81	—	0.56
2,4,6-Tris-(1-phenylethyl)-phenol	41.338	11.89	3.15	1.36	1.48
24-Methylene-25,26,27-trimethylcholesterol	46.599	17.22	30.90	25.79	17.51
Fucostenone	49.063	2.19	3.11	3.37	2.19
Unknown compounds		5.99	4.20	2.79	9.19

Table 2. Changes in volatile compounds from the sea tangle extracted by only supercritical carbon dioxide with the extraction time

Compounds	Retention time	Extraction time(min)/peak area (%)				
		10	30	50	80	120
Azulene, 1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)	8.362	4.52	2.63	4.58	2.24	1.89
Myristic acid	9.191	8.02	5.18	5.54	5.60	7.80
9-Hexadecenoic acid	13.780	1.21	1.74	1.51	1.88	1.59
Palmitic acid	14.416	9.74	8.30	6.95	8.03	9.10
5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, methyl ester	16.417	3.50	1.70	1.70	3.56	3.19
Tricyclohexadeca-3,15-diene	16.575	7.13	3.31	2.54	3.07	4.90
8,11,14-Eicosatrienoic acid	18.757	2.04	1.02	1.27	1.56	1.42
Oleic acid	19.431	10.50	15.43	11.95	11.34	8.86
Stearic acid	20.025	4.46	6.10	2.26	2.73	—
Ethyl arachidonate	23.896	4.01	1.87	2.04	2.29	2.83
2-Benzoylguaiazulene	26.545	8.41	9.11	8.78	9.68	9.26
Stigmasta-5,24-dien-3-ol	36.633	2.15	1.48	1.21	1.88	—
2,4,6-Tris-(1-phenylethyl)-phenol	41.338	7.51	11.84	15.04	11.29	4.05
24-Methylene-25,26,27-trimethylcholesterol	46.599	19.29	19.00	19.76	21.89	33.08
Fucostenone	49.063	3.56	2.17	1.87	2.48	4.43
Unknown compounds		3.95	9.12	13.00	10.48	7.60

분을 비교하면, 초임계추출물에서 저분자량의 성분이 적은 대신 비교적 큰 분자량의 향미성분이 많이 추출됨을 알 수 있었다.

추출시간에 따른 성분변화

다시마의 추출에서 초임계 이산화탄소만을 사용한

경우와 보조용매로 에탄올을 첨가한 경우, 각 추출시간 별로 분석한 성분과 peak area%를 Table 2, 3에 나타내었다. Table 2에서 retention time 20분 이전에 검출되는 화합물량은 시간이 경과함에 따라 좀 감소하였으나, 각각의 화합물 전체량은 시간에 따른 변화를 보이지 않았다. 그리고 에탄올 보조용매를 첨가한 추

Table 3. Changes in volatile compounds from the sea tangle extracted by SC-CO₂ with ethanol as a cosolvent in terms of the extraction time

Compounds	Retention time	Extraction time(min)/peak area (%)				
		10	30	50	80	120
Azulene, 1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)	8.362					
Myristic acid	9.191	9.68	7.19	-	-	-
9-Hexadecenoic acid	13.780	1.43	1.11	6.91	15.18	30.42
Palmitic acid	14.416	20.53	15.10	-	-	-
5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, methyl ester	16.417	1.13	0.76	4.44	-	-
Tricyclohexadeca-3,15-diene	16.575	1.63	0.73	-	-	-
8,11,14-Eicosatrienoic acid	18.757	1.34	0.81	-	-	-
Oleic acid	19.431	30.05	27.33	-	-	-
Stearic acid	20.025	1.72	5.71	-	-	-
Ethyl arachidonate	23.896	1.54	1.27	-	-	-
2-Benzoylguaiiazulene	26.545	4.39	9.33	31.21	35.05	33.72
Stigmasta-5,24-dien-3-ol	36.633	0.59	1.14	-	-	-
2,4,6-Tris-(1-phenylethyl)-phenol	41.338	0.74	0.87	-	-	-
24-Methylene-25,26,27-trimethylcholesterol	46.599	18.23	19.61	38.01	30.46	20.51
Fucostenone	49.063	2.43	2.43	8.89	10.89	11.33
Unknown compounds		4.57	6.61	10.54	8.42	4.02

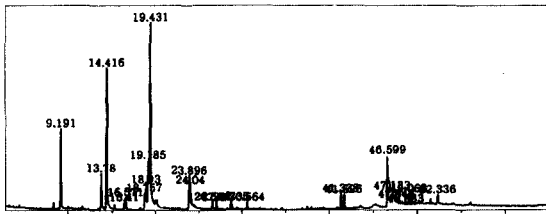


Fig. 1. Gas chromatogram of volatile components of sea tangle extracted by SC-CO₂.

출물의 분석결과인 Table 3과 같이 분자량이 작은 화합물은 추출시간 30분 경과 이후에는 9-hexadecenoic acid를 제외하고는 검출되지 않았으며, 120분까지 검출된 성분은 9-hexadecenoic acid, 2-benzoylguaiiazulene, 24-methylene-25,26,27-trimethylcholesterol 및 fucostenone 뿐이었다. 또한 9-hexadecenoic acid, 2-benzoylguaiiazulene의 함량변화는 시간이 경과함에 따라 크게 증가하였다. 따라서 다시마의 향기성분 추출물은 분자량이 작은 화합물이 비교적 빨리 추출됨을 알 수 있다.

Table 2, 3에서 상위 7개 화합물의 성분별적 %에다 각 시간 별로 추출된 다시마의 추출물량을 곱하여 성분량을 구하여, 추출시간 변화에 따른 성분량의 변화를 Fig. 2, 3에 나타내었다. 여기서 본 실험에서 행한 어떤 방법으로 추출하든지 다시마의 추출물 중에서 가장 많이 함유하고 있는 성분은 24-methylene-25, 26, 27-trimethylcholesterol임을 보여주며 그 화합물량은 6

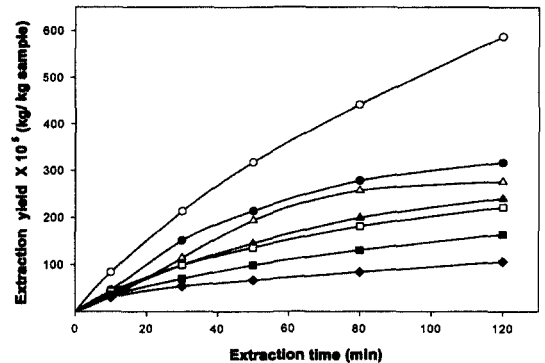


Fig. 2. Changes in extraction yield of sea tangle during ex-traction time with only SC-CO₂. (○ : 24-Methylene-25,26, 27-trimethylcholesterol, ● : Oleic acid, △ t: 2,4,6-Tris-(1-phen-ylethyl)-phenol, ▲ : 2-Benzoylguaiiazulene, □ : Palmitic acid, ■ : Myristic acid, ◆ : Tricyclohexadeca-3,15-diene).

$\times 10^{-3}$ kg/kg sample 이상이었다. 또한 3×10^{-3} kg/kg sample 이상 추출되는 성분은 CO₂만 사용할 경우 24-methylene-25, 26, 27-trimethylcholesterol과 oleic acid 이었고, 보조용매 에탄올을 첨가한 경우 24-methylene-25, 26, 27-trimethylcholesterol, 2-benzoylguaiiazulene, oleic acid 및 palmitic acid로 나타났다. 그리고 Fig. 2에서 초임계 이산화탄소만 사용한 경우에도 추출물은 추출초기에 많이 추출되고 시간이 경과함에 따라 추출량이 감소함으로써 성분량은 추출초기에 급격히 증

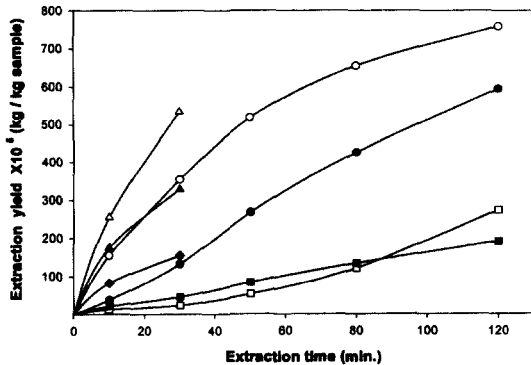


Fig. 3. Changes in extraction yield of sea tangle during extraction time by SC-CO₂ and ethanol. (○ : 24-Methylene-25,26,27-trimethylcholesterol, ● : 2-Benzoyl-guaiazulene, △ : Oleic acid, ▲ : Palmitic acid, □ : 9-Hexadecenoic acid, ■ : Fucostenone, ◆ : Myristic acid).

가하다가 추출시간 50분 이후에는 완만하게 증가하였다. Fig. 3에서와 같이 보조용매 에탄올을 첨가하여 추출한 화합물량이 1×10^{-3} kg/kg sample 이상은 상위 7개 중에서 acid 류가 4개이었고, 이들 중 9-hexadecenoic acid를 제외하고는 추출시간 30분 이전에 추출이 완료되었다. 이것은 보조용매 에탄올이 극성이기 때문에(Dobbs et al., 1987) 서로 극성관계인 acid 류의 용해도를 증대시키는 효과가 있는 것으로 생각된다.

결 론

실험범위의 최적조건인 다시마 입자 300 μm, 초임계 이산화탄소의 온도 313 K, 압력 150 bar 및 유량 20 L/min의 추출조건에서 초임계 이산화탄소만 사용한 경우와 보조용매를 2 mL/min 유량으로 첨가한 경우, 다시마 분말로부터 지방질을 추출하여 GC와 GC/MS를 이용하여 추출물의 성분을 분석하였다.

여러 가지 추출물에서 평균 상위 5개 화합물은 24-methylene-25, 26, 27-trimethylcholesterol, oleic acid, palmitic acid, myristic acid 및 2-benzoyl-guaiazulene 순으로 나타났고, 이 화합물의 전체 평균함량은 70% 이상이었다. 또한 초임계 유체에 의한 추출물은 열수 추출액에 비하여 분자량이 작은 화합물은 적고 분자량이 큰 화합물이 많이 추출되었다. 다시마의 분말에서 3×10^{-3} kg/kg sample 이상 포함하고 있는 성분은

초임계 이산화탄소만 사용한 경우 24-methylene-25, 26, 27-trimethylcholesterol과 oleic acid 이었고, 보조용매 에탄올을 첨가한 경우 24-methylene-25, 26, 27-trimethylcholesterol, 2-benzoyl-guaiazulene, oleic acid 및 palmitic acid로 나타났고, 가장 많이 함유하고 있는 24-methylene-25, 26, 27-trimethylcholesterol은 그 함량이 6×10^{-3} kg/kg sample 이상이었다. 보조용매 에탄올을 첨가한 경우는 작은 분자량을 갖는 화합물과 acid 류는 추출시간 30분 이전에 추출이 완료되었다. 이것은 에탄올의 극성과 용매의 효과로 이들의 용해도를 증대시키는 것으로 판단된다.

참고문헌

- 구본식, 서정태, 배효광. 1993. 초임계 유체에 의한 wool grease의 탈착에 미치는 cosolvent의 영향, 한국화학공학회지. **31**(2): 229-234
- 박영효, 장동석, 김선태. 1997. 수산가공학 요론. 형설출판사, 서울, 한국
- 이석희, 천재기, 주창식. 2000. 초임계 이산화탄소에 의한 다시마의 지방질 추출. 산업식품공학. **4**(1): 19-24
- 이정근, 윤석권, 김우정, 최희숙. 1996. 점성물질 제거가 다시마 추출액의 휘발성 향미성분에 미치는 영향. 한국식품과학회지. **28**(2): 384-388
- 정재용, 허상선, 최용희. 1999. 다시마로부터 얻인 갈린산의 효능적인 추출공정에 관한 연구. 산업식품공학. **3**(2): 90-97
- Brunner, G. 1994. Gas Extraction. Steinkopff Darmstadt Springer, New York. pp 179-192
- Brunner, G. and S. Peter. 1982. On the solubility of poly-terpenes and fatty acids in compressed gases in the presence of an entrainer. *Sep. Sci. Technol.* **17**(1): 199-214
- Dobbs, J.M., J.M. Wong, R.J. Lahiere and K.P. Johnson. 1987. Modification of supercritical fluid phase behavior using polar cosolvent. *Ind. Eng. Chem. Res.* **26**: 56-65
- Dzievjak, J.D. 1986. Innovative separation process finding it's way into the food industry. *Food Technology.* **40**(6): 66-69
- Snyder, J.M., J.P. Friedrich and D.D. Christianson. 1984. Effect of moisture and particle size on the extract ability of oils from seeds with supercritical CO₂. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **61**(12): 1851-1856
- Tadahiko, K., H. Akikazu, K. Testsuo, I. Asakazu and T. Tomoyuki. 1988. Study of flavor compounds of essential oil extracts from edible Japanese kelps. *J. of Food Sci.* **53**: 960-965