

## 초임계 이산화탄소와 보조용매를 이용한 미역으로부터 색소 추출

홍석기 · 진병수\* · 박선영  
부경대학교 식품생명공학부, 수산식품연구소

### Extraction of Pigment from Sea Mustard (*Undaria pinnatifida*) using Supercritical Carbon Dioxide and Entrainer

Seok-Ki HONG, Byung-Soo CHUN<sup>1)</sup> and Sun-Young PARK  
Faculty of Food Science & Biotechnology, Pukyong National University/Institute of Seafood Science, Pusan 608-737, Korea

In order to develop a new separation technology, supercritical fluid extraction process was used to produce high purity pigments and fatty acids from seaweed (*Undaria pinnatifida*). Supercritical carbon dioxide was used as a solvent and ethanol as an entrainer. The sample was treated by a frozen drier and experiments were conducted with a semi-batch flow system at various operating conditions (pressure range, 10.3~17.2 MPa; temperature range, 30~45°C; particle size, 500~1,000 μm; extraction time, 60 min). Characteristics of the recovered pigment (chlorophyll a) and fatty acids were determined by UV-spectrophotometry and gas chromatography, respectively. The highest extraction efficiency for fatty acids and pigments was achieved at 12.4 MPa, 35°C, 500 μm of seaweed size.

Key words: Supercritical carbon dioxide, Seaweed, Pigment (chlorophyll a), Fatty acid

#### 서 론

식용 해조류인 미역은 갈조류에 속하는 해조류로서 한국, 일본, 중국과 같은 극동아시아 지역에 분포되어 있으며, 극동아시아 국가 중 주로 한국 및 일본에서 오래 전부터 식용으로 이용되어 왔기 때문에 양국에서 미역의 성분과 영양특성과 염장미역의 제조 및 품질 향상 등에 관한 연구가 주로 수행되었다. 또한 미역의 활용도 증진 방안으로 미역 페이스트, 미역 분말쥬스 및 미역김 등의 제조에 관련한 다수의 연구가 시도된 바 있으나 (Jung et al., 1995) 아직까지는 미역의 소비형태가 단순하여 대량 생산되는 미역을 효율적으로 활용하기 위해서는 관련기술에 대한 연구가 절실히 필요하다 (Kim et al., 1994).

현재까지 알려진 미역의 효능에는 혈중 콜레스테롤의 상승 억제 효과, 혈당 상승 억제와 인슐린 절약 효과, 식용색소, 계면활성제 등의 독성 방지 효과, 대장암의 발생 억제 효과, 배변 촉진 효과 등이 있다 (Choi et al., 1999). 미역의 생산량이 급증하기 시작하면서부터 가공한 후 폐기되는 미역 부산물의 양도 증가하고 있다. 폐기되는 미역에는 유용 성분이 많이 있음에도 불구하고 현재 대부분 퇴비로 이용되거나 산업폐기물로 방치되고 있는 실정이다.

초임계 유체 추출법은 기존 분리기술 방법들 (증류, 흡수, 흡착, 침출, 막분리 등)에 비해 에너지 비용이 경제적이고 또한 분리효율이 우수하며 (List and Friedrich, 1995), 초임계 유체의 물리적 특성에 의한 혼합성분 중 특정성분의 분리 효율 및 고순도 정제 제품을 생산할 수 있는 공정 (Palmer and Ting, 1995; Temelli et

al., 1995)으로 식품 및 의약품 산업, 기능성 물질, 생리활성물질 등에 많이 응용되고 있는 새로운 분리기술의 하나이다 (Lee et al., 1982; Kromhout et al., 1985; Liang and Yeh, 1991; Cocero and Calvo, 1996).

따라서 본 실험은 폐기물인 미역가공부산물을 초임계 추출법을 효율적으로 이용하기 위하여 색소의 최대 추출 조건을 구명하고자 하였고, 아울러 최적조건에서 제조한 해취 제거 제품의 품질 특성 및 이용 가능성에 대하여 살펴보고자 하였다.

#### 재료 및 방법

##### 실험재료

본 실험에 사용된 미역가공부산물은 기장 소재 칠성농수산물로부터 제공받아 동결 건조하여 분쇄한 후 암냉소에 보관하여 두고 사용하였다.

##### 시약 및 기기

액체 이산화탄소는 순도가 99.9%인 식품용을 사용하였으며, 시약은 특급시약을 사용하였다. 초임계 이산화탄소를 이용한 미역 추출물의 분석은 lipid standard (fatty acid methyl ester mixture: Sigma Co., 189-19, USA)를 사용하여 비교 분석하였다.

##### 초임계 추출장치

건조 미역으로부터 색소를 추출하기 위한 초임계 추출 장치를 Fig. 1에 나타내었다. 추출탑은 내경 2.9 cm, 150 mL 용량인 고압용 ss-316을 사용하였고, 추출관은 6.35 mm와 3.18 mm의 ss-316 튜브를 사용하였다. 용매인 액체 이산화탄소를 초임계 압력으로 변환

\* Corresponding author: bschun@mail.pknu.ac.kr

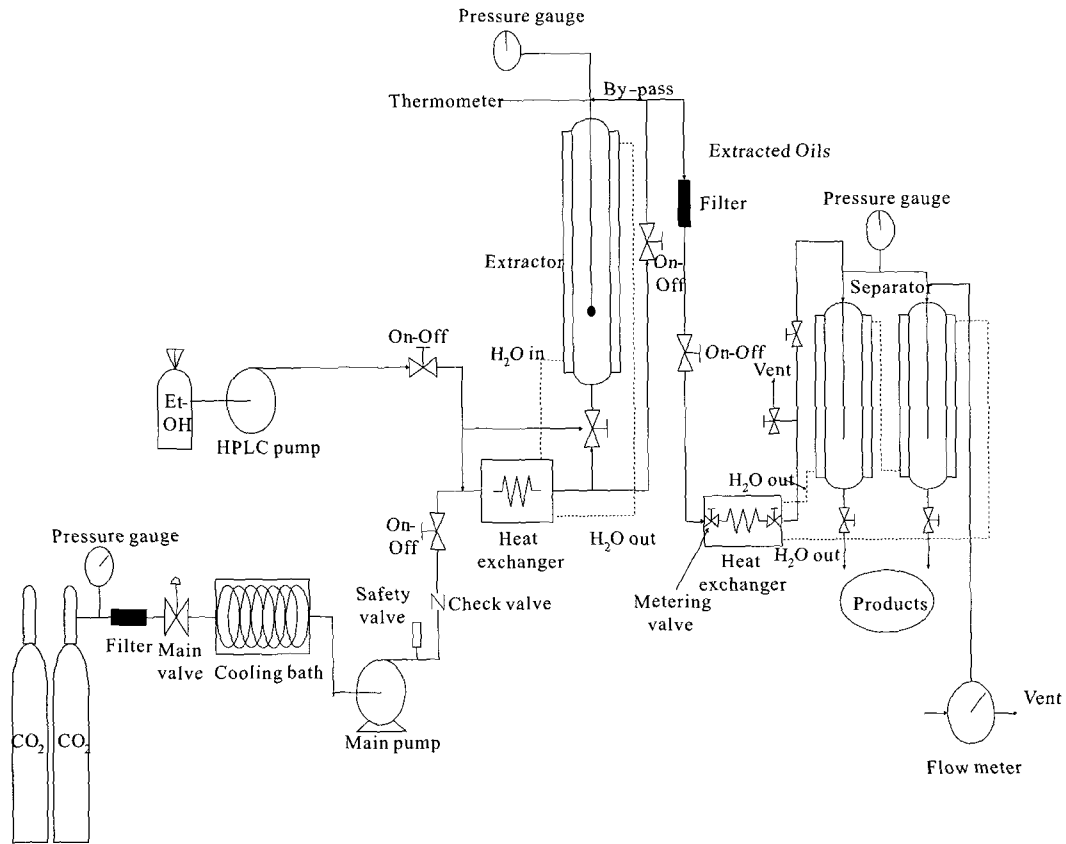


Fig. 1. Schematic diagram of supercritical fluid process.

시키는 고압펌프는 51.4 MPa의 용량을 가진 Milton Roy Pump로 추출탑으로 유입되는 이산화탄소의 유량을 정량적으로 유입시켰고, 고압상태로 추출탑에 출입되는 초임계 이산화탄소의 온도는 digital temperature measuring (Wavetek Co., model No: 461-11 2020)에 의해, 추출탑의 압력은 Heise Gauge ( $\pm 0.14$  MPa)로 측정되었다 (Yoon, 1993).

**실험방법**

실험에 사용된 초임계 추출 장치는 semi-continuous flow extractor로 추출탑 속에 미역시료를 충전시킨 후 포화 압력 상태인 이산화탄소가 실린더로부터 냉각기 (-20°C)를 통과하면서 이산화탄소 내에 잔존하는 기포가 제거된 후 고압 계량펌프에 의해 시스템 내의 설정 압력까지 일정한 유량으로 유입된다. 고압 펌프로부터 추출탑에 유입되기 전에 추출용매로 작용하는 이산화탄소를 설정된 추출온도에 따라 항온조에 의해 예열 되어진 후 추출탑 내의 온도는 열전대 (thermocouple)에 의해 감지되어 추출 온도를 결정하였다. 초임계 이산화탄소는 추출탑 내의 시료로부터 색소를 추출하여 낮은 압력 상태로 분리기내에 유입되어 용제와 용매가 쉽게 분리되었으며, 이때 이산화탄소는 추출공정 동안 사용된 건식 가스계량기에 의해 이산화탄소의 양을 측정된 후 대기로 방출시켰다 (Barlte et al., 1990).

본 실험의 추출조건은 유입되는 이산화탄소의 유량을 15 mL/min, 추출시간 60분, 추출온도 30~45°C, 추출압력 10.3~17.2 MPa, 시료 입자 크기 500~1,000  $\mu$ m의 범위에서 실험을 수행하였다.

**지방산 분석**

추출된 시료 0.1 g을 methyl ester화 한 후에 2  $\mu$ L를 가스크로마토그래피 (Hewlett Packard 5890II, USA)에 주입하여 분석하였으며, 칼럼은 HP-Innowax (Fused crosslinked polyethylene glycol column, 30 m  $\times$  0.32 mm i.d., 0.15  $\mu$ m film thickness, Hewlett Packard, USA)를 사용하였다 (Yeh et al., 1991).

**색소 함량 측정**

추출되어진 색소의 측정은 UV-con 933 series (Kontron, Italy) 사용하여 665 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 측정결과를 표준곡선과 비교하여 정량하였다.

**결과 및 고찰**

**색소 추출**

미역 가공 부산물로부터 초임계 이산화탄소를 사용한 색소 추출 효율은 Fig. 2와 같다. Fig. 2의 결과를 보면 색소 추출효율이 35°C,

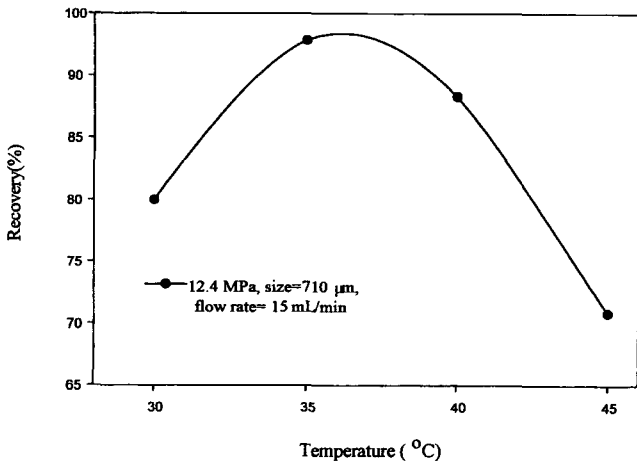


Fig. 2. Effect of temperature change on pigment extraction (sample weight=30 g, ethanol=3 mL/min, extraction time=60 min).

12.4 MPa에서 95% 이상의 효율을 나타내었고, 온도 45°C에서 추출 회수율이 약 71%로 가장 낮은 추출 회수율을 나타내었다. 이는 압력이 일정할 때 온도가 증가함에 따라 초임계 이산화탄소의 밀도가 작아져 용질인 색소에 대한 용해력이 감소하였기 때문이었다.

온도와 시료 크기의 변화에 따른 추출 영향은 Fig. 3과 같다. 35°C에서 모두 최대 추출량을 나타내었고, 입자의 크기가 작을수록 추출량이 많았다. 이는 시료의 입자 크기가 작을수록 초임계 이산화탄소와 접촉하는 면적이 커서 침투력이 더 우수하고 용매력이 크기 때문이었다 (Borch-Jensen et al., 1994). 입자의 크기가 500 μm와 710 μm일 때 압력의 변화에 따른 추출량은 Fig. 4와 같다. 입자의 크기가 500 μm일 때 추출량이 많았는데, 이는 입자의 크기가 작을수록 접촉할 수 있는 면적이 커짐으로써 추출량이 증가하였기 때문이라 생각되었다. Entrainer로서 사용된 에탄올 양의 변화에

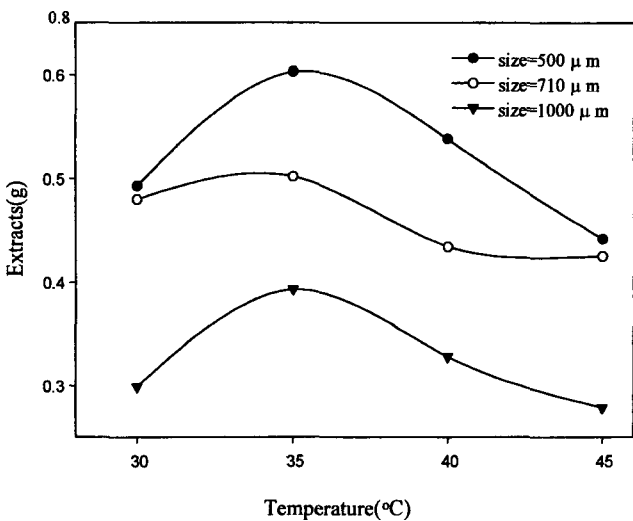


Fig. 3. Effect of temperature and size on pigment extraction using SCF (sample=30 g, flow rate=15 mL/min, pressure=12.4 MPa, extraction time=60 min).

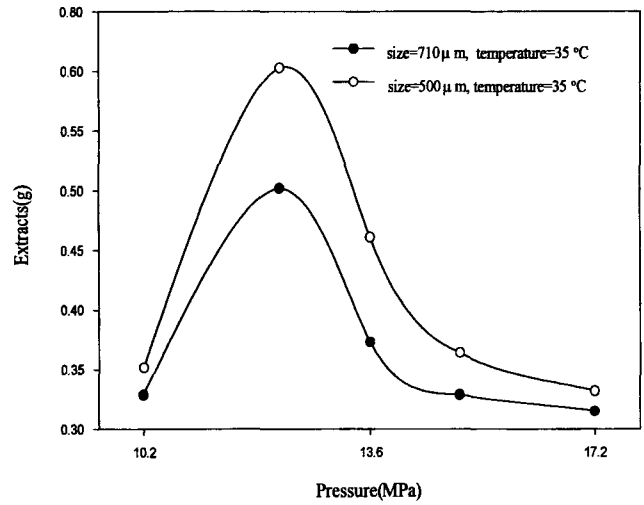


Fig. 4. Effect of pressure and size on pigment extraction using SCF (sample weight=30 g, ethanol=3 mL/min, temperature=35°C, extraction time=60 min).

다른 색소 추출정도는 Fig. 5와 같다. 에탄올 양이 증가할수록 추출량도 상대적으로 증가하였다. 이는 첨가된 에탄올에 의해 추출 용매의 밀도가 커져서 용해력이 증가하여 추출량이 증가한 것으로 생각되었다. 시료 입자 크기에 따른 색소 추출 정도는 Fig. 6과 같다. 시료 입자의 크기가 작을수록 색소의 추출량이 많았는데, 시료에 존재하는 색소가 용매인 초임계 유체로 이동되는 속도가 고체시료가 용매와 접촉한 표면적이 클수록 즉 입자 크기가 작을수록 빨라졌기 때문이었다. Neal et al. (1993)에 의하면 입자의 크기가 작으면 작을수록 추출량과 추출율이 증가한다고 보고하였다.

색소 함량 측정

Fig. 7은 추출압력 12.4 MPa, 온도 35°C에서 이산화탄소의 유량

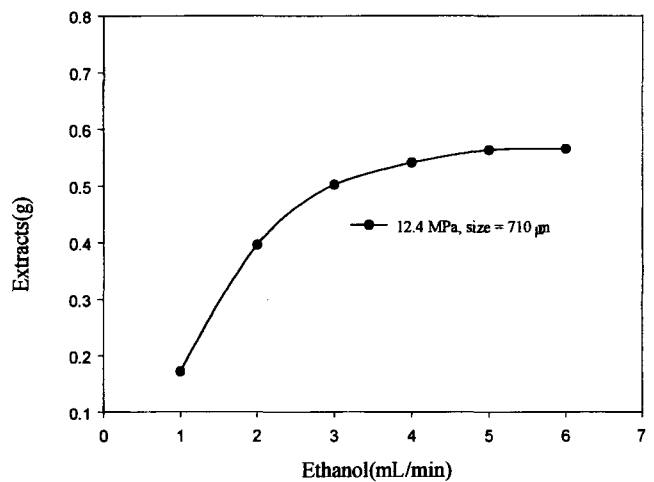


Fig. 5. Effect of entrainer flow rate on pigment extraction using SCF (sample weight=30 g, temperature=35°C, extraction time=60 min).

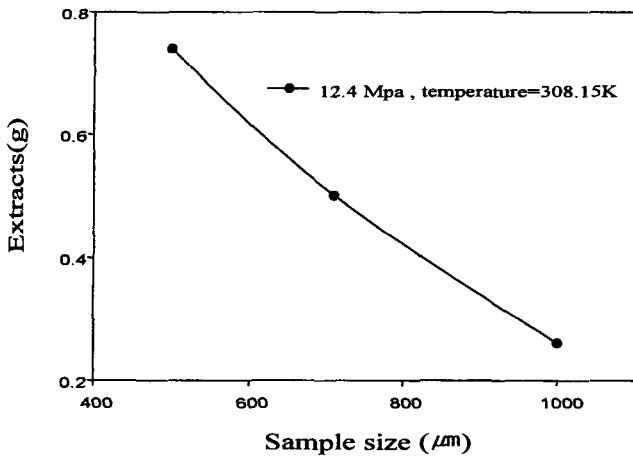


Fig. 6. Effect of particle size on pigment extraction using SCF (sample weigh=30 g, ethanol=3 mL/min, extraction time=60 min).

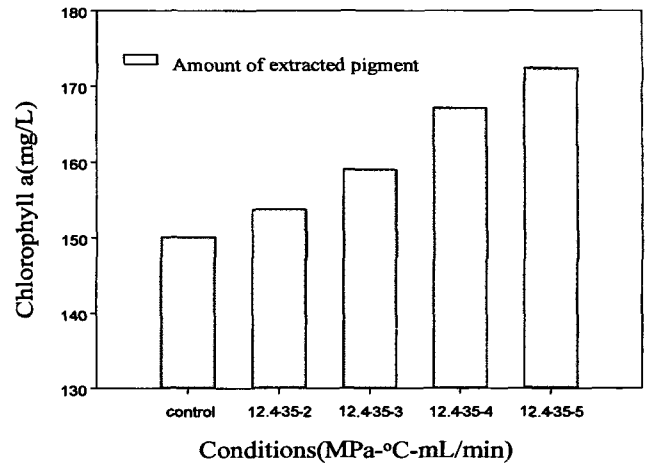


Fig. 8. Comparison of extracted amount of chlorophyll a for SFE and control (solvent extraction) (sample=30 g, size=500 μm, flow rate=15 mL/min, extraction time=60 min).

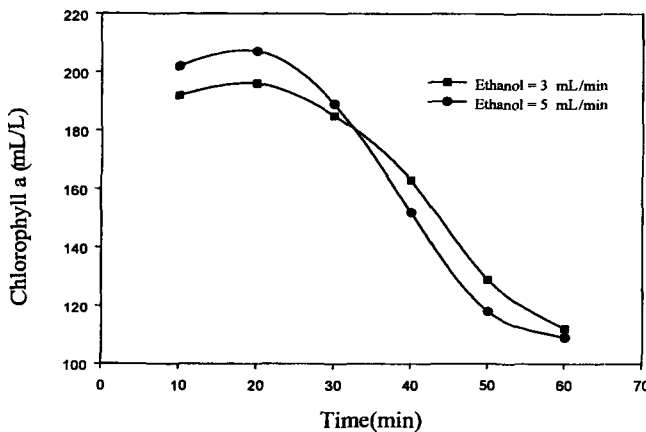


Fig. 7. Extraction curve for the *Undaria pinnatifida* pigment using carbon dioxide solvent with ethanol at 12.4 MPa and 35°C (sample weight=30 g, size=500 μm).

을 15 mL/min, 입자크기를 500 μm로 하여 추출 시간에 따른 색소 추출 양의 변화를 나타낸 그림이다. 초기에 에탄올의 양이 증가하였을 때 다량의 색소가 추출되었으나, 30분이 경과한 후에는 추출 색소의 양이 오히려 감소하였다. Fig. 8은 유기용매와 초임계 유체를 이용하였을 때 추출되는 클로로필 색소의 양을 비교한 그림이다. 유기 용매로 추출한 것에 비하여 초임계로 추출시 더 높은 추출량을 나타내었다. 이는 초임계 추출법은 유기용매 추출에 비하여 침투력과 용매력이 더 우수하기 때문이라 판단되었다.

지방산 분석

각 추출 조건에 따른 지방산 조성은 Table 1과 같다. 초임계 이산화탄소에 의해 추출된 지질 추출물의 지방산은 무처리 미역의 지방산 조성에 비하여 대체로 포화산의 경우 감소하였고, 모노엔산의 경우 차이 없었으며 폴리엔산의 경우 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 21:0의 경우 예외적으로 일정한 경향을 나타내지

Table 1. Fatty acid composition of oil extracted by using SCF at various extraction conditions

P (MPa)	Temp. (°C)	Ethanol (mL/min)	Fatty acid composition (area %)							
			14:0	16:0	18:1	18:2	18:3	18:4	20:0	21:0
10.3	40	3	7.56	30.43	12.17	7.84	9.00	13.27	11.27	8.47
12.4	30	3	6.15	30.39	12.15	7.83	9.10	14.10	11.58	8.70
12.4	35	1	6.84	31.32	12.41	7.70	10.49	14.17	9.83	7.24
12.4	35	2	7.00	30.13	11.93	7.91	9.43	13.75	11.43	8.43
12.4	35	3	6.35	32.45	13.08	7.56	9.21	13.11	10.50	7.74
12.4	35	4	6.21	27.20	13.07	8.11	9.66	14.44	12.18	9.12
12.4	40	3	9.07	31.14	12.46	7.51	8.90	12.88	10.16	7.87
12.4	45	3	7.64	29.31	12.32	7.74	9.23	13.75	11.37	8.63
13.8	40	3	7.24	29.97	13.46	7.75	9.11	13.12	11.01	8.34
13.8	40	0	8.73	32.65	15.25	6.80	7.74	9.92	10.36	8.50
15.16	40	3	7.92	30.17	12.58	7.80	9.15	13.05	11.10	8.22
Control*			9.07	30.94	12.71	7.42	8.02	11.26	12.66	7.92

\* Untreated sample

않았다. 초임계 추출 지질의 주요 지방산은 myristic acid (14:0), palmitic acid (16:0), oleic acid (18:1), linoleic acid (18:2), linolenic acid (18:3), γ-linolenic acid (18:3), octadecatetraenoic acid (18:4), arachidic acid (20:0), heneicosanoic acid (21:0) 등이었다.

요 약

동결 건조된 미역 가공 부산물로부터 색소 및 지방산의 추출 및 조건은 시료 30 g, 압력 10.3~17.2 MPa, 유량 15 mL/min와 온도 30~45°C에서 추출 실험을 실시하였다. 지방산의 경우 초임계 처리하지 않은 것에 비해 불포화 지방산의 함량이 높게 나타났고, 온도 40°C의 조건에서 보조용매 (entrainer)로 에탄올을 첨가하여 압력의 변화에 따른 회수율을 실험한 결과 12.4 MPa에서 최대 92%

의 회수율을 보였다. 그리고 압력이 증가하면서 초임계 이산화탄소에 대한 용질의 용해도가 감소하는 retrograde 현상이 나타났다. 시료입자의 크기를 500~1000  $\mu\text{m}$ 와 12.4 MPa에서 온도의 변화를 주어 실험한 결과 입자의 크기 500  $\mu\text{m}$ 가 1000  $\mu\text{m}$ 에 비해 색소의 추출량이 1.8배 정도 많았다. 최적 조건 (압력 12.4 MPa, 온도 35°C, 입자크기 500  $\mu\text{m}$ )에서 추출시간에 따른 chlorophyll a 함량을 비교한 결과 에탄올을 각각 3 mL/min, 5 mL/min 첨가하였을 때 모두 20분까지 함량이 증가한 후 감소하였으며, 최적 추출시간은 30분까지로 판단되었다. 유기용매 추출과 초임계 추출을 비교한 결과 유기용매로 48시간 추출시 chlorophyll a 함량이 150 mg/L였지만 초임계로 1시간 추출시 최대 172 mg/L로 약 20% 증가하였다.

### 참 고 문 헌

- Bartle, K.D., A.A. Clifford, S.B. Howthorne, J.J. Langenfeld, D.J. Miller and R.A. Robinson. 1990. Model for dynamic extraction using a supercritical fluid. *J. Supercritical fluids*, 3, 143~149.
- Borch-Jensen, C., A. Staby and J. Mollerup. 1994. Partition coefficients of triglycerides and fatty acid ethyl esters from fish oils in supercritical fluids. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Supercritical Fluids, France*, 2, 299~304.
- Cocero, M.J. and L. Calvo. 1996. Supercritical fluid extraction of sunflower seed oil with CO<sub>2</sub>-ethanol mixtures. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 1573~1578.
- Choi, J.H., D.W. Kim., J.H. Kim., D.I. Kim and C.M. Kim. 1999. Effect of brown algae-noodle on lipid metabolism in serum of SD-rats. *J. Korean Fish. Soc.*, 32, 42~45 (in Korean).
- Jung, Y.H., J.L. Cook, S.H. Chang, J.B. Kim, G.B. Kim, S.N. Choe and Y.J. Kang. 1995. Originals: Preparation of seaweed jelly (muk) with sea mustard (*Undaria pinnatifida*) and sea tangle (*Laminaria japonica*) 3. mks prepared with soy milk or soy protein isolate. *J. Korean Fish Soc.*, 28, 325~330 (in Korean).
- Kim, W.J., J.K. Lee and Y.S. Chang. 1994. Development of combined method for extraction of sea tangle. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 26, 51~56 (in Korean).
- Kromhout, K.M., E.B. Bosschieter and C. Coulander. 1985. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N. Eng. J. Med.*, 312, 1205~1209.
- Lee, C.H., H.R. Kim and H.C. Yang. 1982. Effects of external conditions on the emulsifying property of proteins. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 14, 49~56 (in Korean).
- Liang, J.H. and A. Yeh. 1991. Process conditions for separating fatty acid esters by supercritical CO<sub>2</sub>. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 687~693.
- List, G.R. and J.P. Friedrich. 1995. Processing characteristics and oxidative stability of soybean oil extracted with supercritical carbon dioxide at 50°C and 8000 psi. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 62, 82~84.
- Neal, R.F., H. Singh, S.L. Jimmy Yun, D.L. Tomasko and S.J. Macnaughton. 1993. Polar and nonpolar cosolvent in supercritical fluids. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 32, 2849~2853.
- Palmer, M.V. and S.S.T. Ting. 1995. Applications for supercritical fluid technology in food processing. *Food Chem.*, 52, 345~352.
- Temelli, F., E. Leblanc and L. Fu. 1995. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil from atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) and protein functionality. *J. Food Sci.*, 60, 703~706.
- Yeh, A., J.H. Liang and L.S. Hwang. 1991. Separation of fatty acid esters from cholesterol in esterified natural and synthetic mixtures by supercritical carbon dioxide. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 224~229.
- Yoon, J.R. 1993. Extraction of EPA and DHA from tuna oil using supercritical carbon dioxide. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25, 288~294 (in Korean).

2001년 1월 30일 접수

2001년 4월 13일 수리