

초임계 이산화탄소 추출을 이용한 감귤껍질로부터 정유 추출 및 성분 분석

조완택*, 마르셀 조나단 히다жат, 박종범, 지성화, 노종호, 김현효

Extraction and Characterization of Essential Oil of Korean Orange Peel Obtained from Supercritical CO₂ Extraction

Wantaek Jo*, Marcel Jonathan Hidajat, Jongbeom Park, Sunghwa Ji, Jongho Noh, and Hyeonhyo Kim

Received: 26 July 2018 / Revised: 2 October 2018 / Accepted: 2 November 2018

© 2018 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: This research focuses on the extraction yield and composition of essential oil obtained from Korean orange peel waste by using supercritical CO₂ extraction method. Various parameters were observed, such as temperature, pressure, particle size, and co-solvent participation. The result showed that the extraction yield increased at high pressure, low temperature, and small particle size. The high pressure increased CO₂ density which leads to high solvating power while low temperature increased the solubility of terpenes and small particle size enables the CO₂ molecules to spread widely and penetrate deeply on the orange peel, reducing its mass transfer resistance. Gas chromatography (GC) was conducted to observe the compounds inside the essential oil and the result showed that terpenes (monoterpenes and sesquiterpenes) and other compounds (alcohol, esters, ketones) were present. Limonene, as the main compound in the essential oil, was mostly extracted at 40°C and 100–200 bar, with the yield ranges from 0.7–1.0% (w/w). Ethanol was used as co-solvent and proven to increase the yield of essential oil by 1.4 times.

Keywords: essential oil, korean orange peel, supercritical CO₂ extraction, solvating power, mass transfer resistance

1. INTRODUCTION

감귤은 운향과에 속하는 식물로 우리나라 과수 생산량의 20%를 차지하며 우리나라에서 생산되고 소비되는 과일로 2017년 44만 톤이 생산되었다 [1]. 과거에는 생과로 대부분 소비되었지만 식품산업 및 가공산업이 발전하며 현재는 음료 및 주스 등의 가공제품으로 소비가 증가하며 감귤 가공에 의한 부산물로 감귤 껍질의 발생이 많아지고 있다 [2]. 감귤 껍질의 효능으로는 항 알레르기 효과, 면역력증대, 항암효과, 진정효과 등이 있으며 [3,4] 한방에서는 오래된 감귤 껍질인 진피를 약재로 사용한다 [5]. 감귤껍질을 이용한 방법에는 껍질을 직접 사용하는 방법과 껍질 내 정유 (essential oil)를 추출하여 사용하는 방법이 있다. 감귤 정유는 음료, 아이스크림, 케이크, 방향제, 화장품 등에 향 (aroma) 및 맛 (flavor)을 위해 사용되고 있다 [6,7]. 또 다른 사용 분야는 감귤 정유가 가지고 있는 살균 특성을 이용하는 것이다. 감귤 정유에 있는 리모넨 (d-limonene)은 소량을 사용하여도 살균 효과가 뛰어나 비누, 샴푸, 식기세척제 등의 세정제, 향균제, 방취제, 천연 살충제로 사용된다 [8]. 최근 연구에서는 d-리모넨이 항암 효과가 있다고 밝혀져 관련 분야에서 연구가 활발히 이루어지고 있다 [9,10]. 이러한 d-리모넨을 경제적으로 얻기 위해서는 껍질과 같은 천연 부산물로부터 분리하고, 농축시키는 연구가 필요하다.

일반적으로 식물에서 정유를 분리하는 방법에는 수증기 증류법, 직접 증류법, 압착법, 냉침법, 유기용제법 등이 있다 [11-13]. 기존의 증류 추출법과 용매 추출법은 열을 가하는 방법으로 정유에 포함되어 있는 휘발성이 큰 물질에 영향을 주며

(주) 일신오토클레이브 기술연구소
R&D Department, Ilshin Autoclave Co. Ltd., Daejeon 305510, Korea
Tel: +82-42-602-8052, Fax: +82-42-931-6103
e-mail: jowt@sflux.com

추출 후 정유와 용매를 분리하는 과정에서 유효성분이 휘발되어 추출량과 유효성분이 줄어드는 단점이 있다. 또한 분리하는 과정에서 발생하는 폐기물과 유기용매가 잔류하는 문제점이 있고 오일 향과 유효성분이 파괴되는 단점이 있다. 이러한 기존 방법의 문제점들을 극복을 위한 환경 친화적인 대체기술로서 초임계 유체 추출 (supercritical carbon dioxide, SCCO_2) 기술에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다 [14-16].

초임계 유체 (supercritical fluid)는 임계점 이상의 온도와 압력에서의 물질 상태를 말하며 액화와 기체를 구분할 수 없는 시점의 유체를 가리킨다. 초임계 유체의 밀도는 액체에 가깝지만, 점성도는 낮아 기체에 가까운 성질을 가진다. 초임계 유체의 높은 밀도와 낮은 점성과 액체보다 큰 확산능력이 있기 때문에 초임계 유체 추출법은 일반적인 용매추출법과 비교했을 때 응용방법이 다양하고 효율적으로 추출이 가능하다고 할 수 있다. 일반적인 초임계 유체 추출에 사용되는 유체인 이산화탄소의 경우 불활성, 무미, 무취, 무해하며 실온 부근에서 조작하기 때문에 식품이나 의약품에는 안전하게 사용할 수 있다. 추출 시 중요하게 작용하는 용해력은 그 밀도에 강하게 의존하기 때문에 초임계 유체 추출 시 이산화탄소의 온도나 압력을 변화시키는 것으로서 목적에 적합한 추출조건을 얻을 수 있다.

이에 본 연구에서는 감귤 가공에서 발생하는 부산물인 껍질을 초임계 이산화탄소의 추출 조건을 변화시켜 정유를 추출하고, 추출방법에 따른 추출된 정유의 성분을 GC 분석을 통해 알아보았다.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. 재료

본 실험에 사용한 귤 껍질은 2017년 12월에 (주)장명식품에서 건조 상태의 귤 껍질을 구입하여 사용하였다. 귤 껍질은 분쇄한 후 메쉬를 이용하여 1~4 mm, 0.1~1 mm로 분극하였다. 시료는 실험 전 50°C에서 12 시간 건조 후 실험에 사용하였다. 초임계 이산화탄소 실험에는 순도 99.99%인 이산화탄소를 사용하였다. 보조용매로 사용한 에탄올은 대정화금(주)에서 순도 99.9%를 구매하여 사용하였다.

2.2. 초임계 이산화탄소 추출

초임계 이산화탄소 추출은 추출조 용량이 1 L인 실험실 규모의 초임계 추출장치 (SCD-EXT-1, (주)일신오토클레이브, 대전, 대한민국)를 사용하였고, 추출 온도 (35~50°C)와 추출압력 (100~300 bar)이 귤껍질 정유의 추출 수율과 리모넨 함량에 미치는 영향을 알아보았다. 본 실험에 사용한 초임계 추출 장치의 공정도를 Fig. 1에 나타내었다. 초임계 이산화탄소 추출 실험은 추출조와 분리조를 전기보일러의 물로 예열한 후 추출조와 분리조가 실험 온도가 되면 추출조에 분극된 귤껍질 200 gr을 장입시킨다. 칠러를 통과한 액체 이산화탄소는 고압 펌프를 이용하여 추출조로 유입시켰고, BPR (back pressure regulator)를 이용하여 추출조와 분리조의 목표압력으로 제어하였다. 추출조에서 초임계 이산화탄소에 추출된 정유는 분리조에서 이산화탄소 가스와 분리되어 남고 이산화탄소 가스는 후단의 저장탱크로 모인다. 저장탱크에 모인 이산

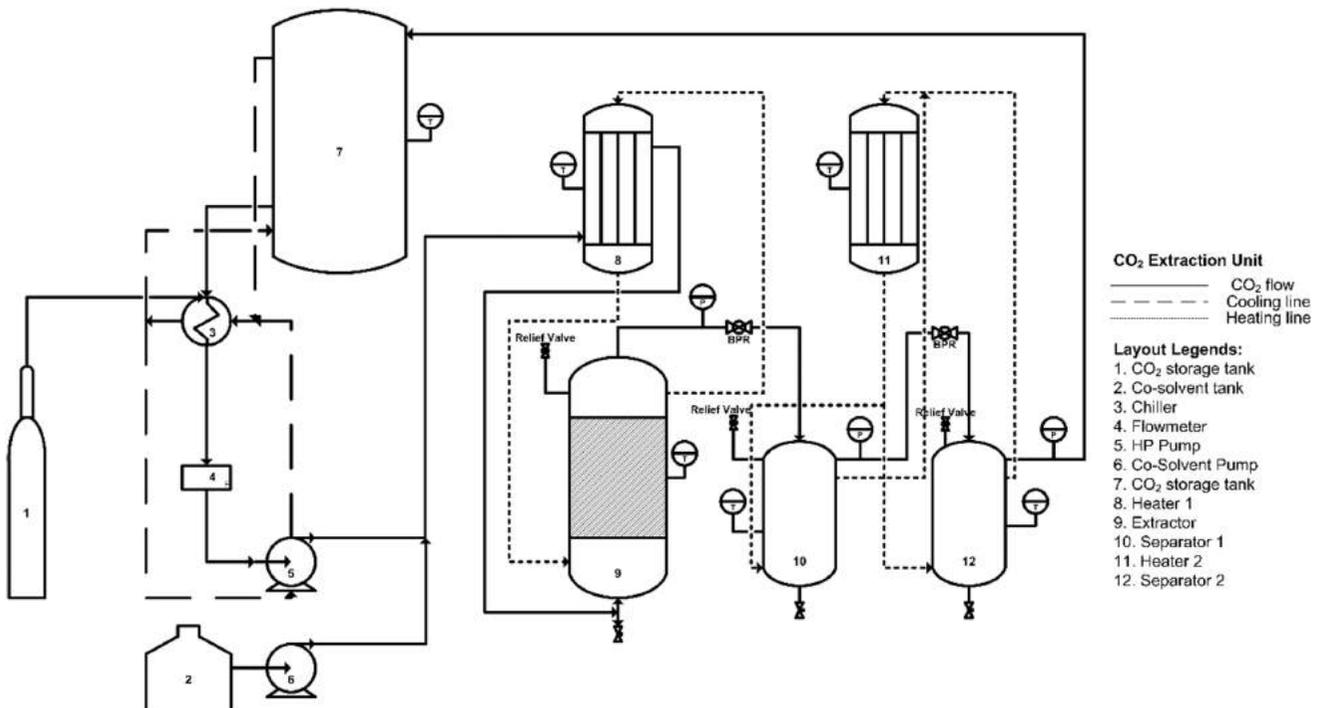


Fig. 1. Scheme of supercritical CO₂ apparatus.

화탄소의 압력이 50 bar가 되면 저장탱크에 있는 이산화탄소를 재사용하였다. 보조 용매 사용에 따른 추출 특성을 알아보기 위해 시린지 펌프를 사용하였고, 보조 용매를 1 mL/min의 속도로 공급하였다.

추출 수율을 알아보기 위해 계산방법은 다음과 같다:

$$\text{extraction yield (\% (w/w))} = \frac{\text{mass of extracted essential oil}}{\text{mass of dry orange peel}} \times 100\% \quad (1)$$

2.3. GC-TOF MS 분석

정유 분석은 Agilent 7890N GC와 Pegasus High Throughput (HT) time of flight (TOF)-mass spectrometry (MS)을 이용하였다 (Leco, MI, USA). GC 분석에는 Rxi-5Sil-MS (Restek) 칼럼 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)을 사용하였다. 오븐의 온도는 40 °C에서 2분 동안 유지시킨 후 300°C까지 10°C/min의 속도로 승온시켰고 5분 동안 유지하였다. 이동상 기체는 헬륨 기체를 사용하였고 1 mL/min 속도로 흘려 보냈다. Injection chamber와 transfer line의 온도는 각각 280°C와 260°C로 유지하였다. 측정할 수 있는 질량 범위는 35~650 m/z로 설정하였다. 시료는 1μL의 Methylene chloride (DCM)에 용해된 정유를 (농도 = 10,000 ppm) 10:1 비율로 희석하여 GC에 주입하였다.

3. RESULTS AND DISCUSSION

본 연구에서는 귤 가공 후 발생하는 부산물인 껍질에서 유용 성분인 정유를 추출하기 위해 초임계 이산화탄소 추출 공정을 이용하였다. 초임계 이산화탄소 추출 공정의 최적 조건을 알아보기 위해 추출 압력, 온도 그리고 시료입자크기에 따른 정유의 추출 변화를 알아 보았고 추출된 정유에 포함된 성분을 알아보기 위해 GC 분석을 하였다.

3.1. 초임계 유체의 압력 변화에 따른 정유 추출에 미치는 영향

초임계 이산화탄소 추출 압력에 따른 정유 추출 수율을 알아보기 위해 1~4 mm로 분극한 귤 껍질 분말 200 gr을 추출조에 넣고 추출 온도 50°C에서 100, 200, 300 bar로 추출 압력을 변화시켜 실험을 수행하였다. 추출 압력에 따른 추출 수율의 변화를 Fig. 2(a)에 나타내었다. 추출 압력이 높을수록 추출 수율은 증가하여 최종 정유의 추출 수율은 100 bar에서 0.15% (w/w), 200 bar에서 0.47% (w/w) 그리고 300 bar에서 0.49% (w/w)로 증가하였다. 이는 이산화탄소의 압력이 높아질수록 밀도가 증가되며 추출이 잘되었기 때문이다. 정유 추출량은 공정 초기에 가장 많았고 시간이 지날수록 감소하였으며 추출 압력 100 bar와 200 bar는 3배 이상의 차이가 났고, 200 bar와 300 bar에서는 큰 차이가 없었다. Fig. 2(b)는 초임계 이산화탄소의 추출 온도 50°C에서 압력에 따라 추출된 물질의 성분을 GC로 분석하여 나타내었다. 모든 압력 조건에서 비슷한 성분이 확인되었고, 탄화 수소, 알코올 및 케톤은 각각 20 area%로 제일 많이 검출되었다. Table S1의 주요 성분을 보면 탄화수소 성분 중에는 Hentriacontane (C₃₁)과 dotriacontane (C₃₂)이 알코올 성분에는 Campesterol, Stigmasterol 및 Sitosterol이 그리고 케톤 성분은 pentamethoxyflavone, hexamethoxyflavone, 및 heptamethoxyflavone이 가장 많이 포함되어 있는 것으로 확인 되었다. 탄화수소, 알코올 및 케톤은 귤 표피 왁스 (epicuticular wax)에 많이 포함되어 있으며 [17-20], 알코올 성분은 혈액의 콜레스테롤 감소 효능이 있고 케톤 성분은 산화방지 및 항염증 효과를 있는 것으로 알려져 있다 [21-24]. 이 성분들은 극성 물질들로 초임계 이산화탄소 압력이 높아질수록 CO₂ 밀도가 0.39 g/mL에서 0.87 g/mL로 증가되며 CO₂ 용해력이 증가하여 추출이 잘되었기 때문이다 [25, 26]. 귤껍질 정유의 주요한 성분인 terpene은 이소프렌 유닛 개수에 따라 2개인 monoterpene과 3개인 sesquiterpene으로 나뉘며 [27], 식품이나 향료 분야에 많이 사용되며 식물과 과일

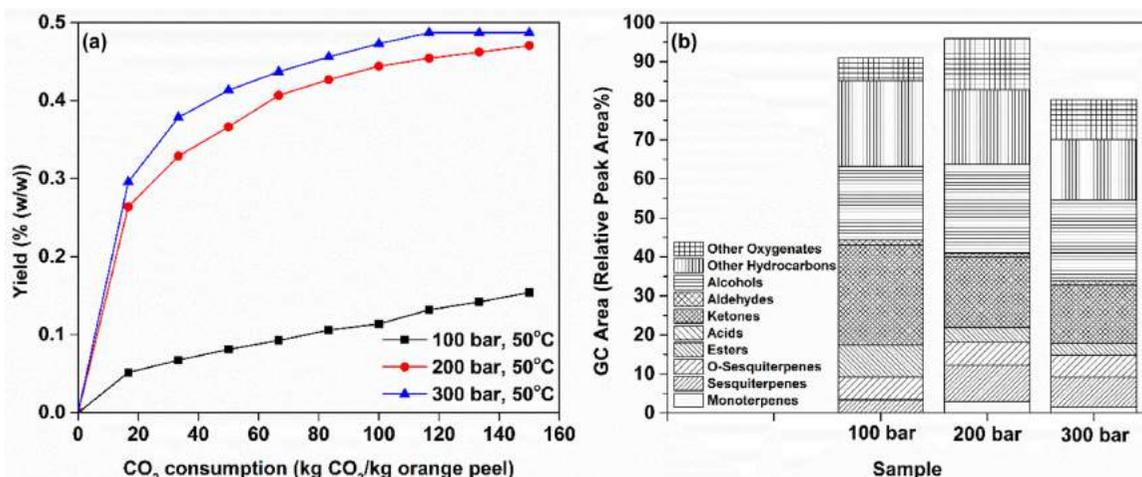


Fig. 2. Effect of supercritical CO₂ pressure on the extraction of orange peel essential oil: (a) effect on yield and (b) effect on composition.

Table 1. Composition of major compounds in the essential oil obtained at different pressure at 50°C and 1-4 mm size

Compounds	Retention time (min:sec)	Area%		
		Pressure effect (50°C, 1-4mm size)		
		100 bar	200 bar	300 bar
<i>Long-chain Hydrocarbons</i>				
Eicosane, 2-methyl-	22:50.3	0.527	-	-
Heneicosane	23:09.3	1.63	0.48	-
Dotriacontane	24:46.8	2.361	3.571	3.424
Pentatriacontane (CAS)	26:16.8	-	-	-
Hentriacontane	26:17.3	4.494	7.993	7.141
Squalene	27:06.6	2.904	2.482	2.039
Heptacosane	27:41.7	6.922	1.796	1.524
Hexatriacontane	29:05.4	-	-	-
17-Pentatriacontene	29:10.6	-	0.65	-
<i>Alcohols</i>				
Campesterol	30:29.5	1.701	2.63	2.18
Stigmasterol	30:45.1	2.155	3.215	2.77
α-Sitosterol	31:26.9	12.762	16.943	14.77
<i>Ketones</i>				
Bicyclo[4.3.0]nonan-2-one, 8-isopropylidene-	27:34.6	4.923	4.225	3.508
Androstan-7-one, 3-(acetyloxy)-, (3α,5β)-	29:07.1	4.471	0.363	0.283
4',5,6,7,8-Pentamethoxyflavone	29:53.3	3.081	2.758	2.14
3,5,6,7,8,3',4'-Heptamethoxyflavone	31:27.5	6.171	5.183	4.802
3',4',5,6,7,8-Hexamethoxyflavone	31:43.8	3.767	3.075	2.761

을 추출할 때 많이 추출되는 것으로 알려져 있지만, 분석 결과에서처럼 이 조건에서는 최대 3 area%로 낮게 확인되었다.

3.2. 초임계 유체의 시료 입자크기와 추출 온도에 따른 정유 추출에 미치는 영향

초임계 이산화탄소 추출에서 시료입자크기 및 추출 온도가 추출 수율에 미치는 영향을 알아보았다. Fig. 3에 굴 껍질 입자 크기가 1~4 mm와 0.1~1 mm인 시료의 이산화탄소 소비량에 따른 정유의 추출 수율 변화와 성분 분석 결과를 나타내었다. 실험은 추출 온도 50°C, 추출 압력 300 bar로 동일하고, 굴

껍질 입자 크기를 1~4 mm와 0.1~1 mm인 시료를 사용하였다. Fig. 3(a)처럼 이산화탄소 소비량에 따른 정유의 추출 수율을 확인해본 결과, 입자크기가 0.1~1 mm인 시료를 사용한 경우 초기 추출 수율이 0.6% (w/w)로 1~4 mm에서 추출한 정유 수율 0.3% (w/w)보다 높았고, 최종 추출 수율은 0.1~1 mm에서 0.9% (w/w)로 1-4 mm의 0.5% (w/w)보다 약 2배의 차이가 나타났다. 이는 굴 껍질의 시료 입자 크기가 작을수록 정유의 추출량이 증가됨을 확인하였다.

Fig. 3(b)의 정유 성분 분석 결과, 입자크기가 0.1~1 mm인 시료에서 sesquiterpenes 성분이 26.5 area%로 크게 증가되었

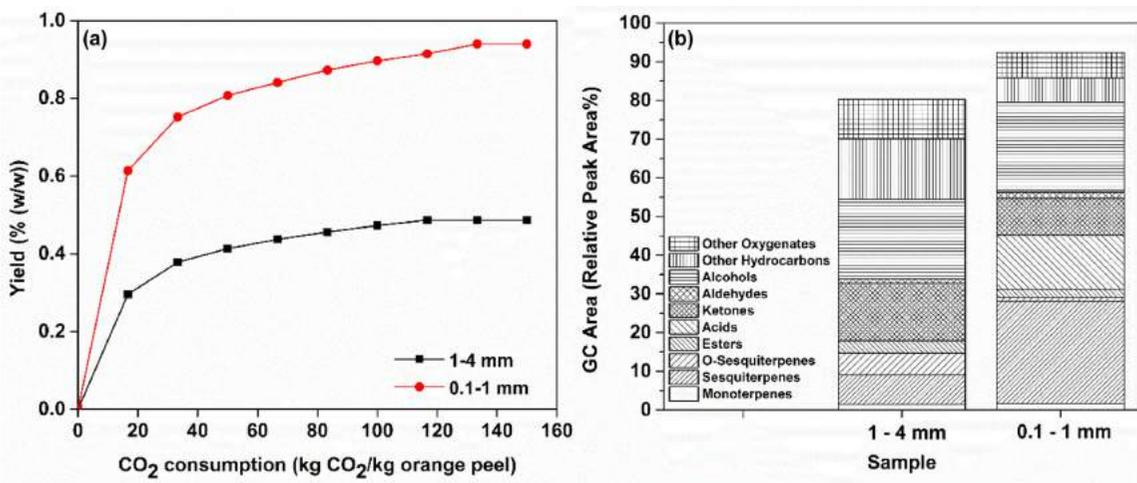


Fig. 3. Effect of orange peel particle size on the extraction of orange peel essential oil: (a) effect on yield and (b) effect on composition.

고, acid 성분이 확인되었다. 이는 시료 입자 크기가 추출 수율뿐 아니라 추출 성분에도 영향을 미침을 확인할 수 있다. 시료의 입자 크기가 작을수록 초임계 유체가 껍질 껍질의 표면뿐 아니라 내부까지 깊숙이 침투될 수 있고, 입자 사이로 초임계 유체가 쉽게 확산이 되기 때문이다. 이는 껍질 껍질의 입자가 작을수록 정유의 추출량을 증가시킬 뿐 아니라 정유 성분 중 terpenes 성분을 보다 많이 추출할 수 있다는 Mira 등 [28]의 연구결과와 껍질 내 정유에 산이 존재하는 것을 관찰한 Kamaliroosta 등 [29]의 연구결과와 일치한다. 추출되어진 정유에서 terpenes 성분 중 monoterpenes의 함량은 시료 입자의 영향 없이 두 경우 비슷하였지만 sesquiterpenes은 시료 입자가 작을 때 크게 증가하였다. 이는 입자가 작을수록 sesquiterpenes의 추출이 용이함을 확인하였고, Reverchon 등 [30]의 연구에서처럼 limonene이 포함되어 있는 monoterpenes은 낮은 초임계 이산화탄소 밀도에서 (낮은 압력 및 온도) 추출량이 높기 때문에 추출 온도와 압력이 높은 조건에서는 추출량이 낮게 나타났다.

초임계 이산화탄소 추출에서 추출 온도의 영향을 알아보기 위해 1~4 mm인 껍질 입자를 사용하여 추출압력 300 bar에서 추출 온도에 따른 추출 수율과 추출 성분의 변화를 비교하였다. 추출 온도에 따른 추출 수율의 변화는 Fig. 4(a)에서처럼 큰 변화가 없다. 하지만 Fig. 4(b)의 성분 분석 결과 추출 성분은 추출 온도 50°C와 40°C에서 확연히 다르게 나타났다. 추출 온도가 40°C인 경우 terpene인 monoterpenes와 sesquiterpenes 성분은 60area%로 추출 온도 50°C의 10 area%보다 크게 증가하였다. Table S2의 추출 온도별 추출 성분을 보면 monoterpenes 성분에서는 Limonene이 25.9area%로 가장 많고, Sesquiterpenes의 주요 성분은 β -Elemene (11.7 area%), Humulene (2.0 area%), Germacrene D (3.6 area%), α -Muurolene (3.8 area%), α -Farnesene (5.4 area%), δ -Cadinene (2.1 area%)이다. 낮은 추출 온도에서 Terpenes인 monoterpenes와 sesquiterpenes의 추출 수율이 높은 이유는 동일한 초임계 이산화탄소 추출

조건에서 추출 온도 40°C에서 terpenes의 용해도가 높아 이 성분들이 초임계 이산화탄소에 잘 용해되기 때문이다. 이는 Berna 등 [31]의 초임계 이산화탄소에서 추출 온도 및 압력에 따른 limonene의 용해도 변화에 대한 연구에서 80 bar 이하의 압력에서는 온도가 높을수록 limonene의 용해도가 증가되고, 80 bar 이상의 압력에서는 온도가 높아질수록 limonene의 용해도가 감소된다고 보고하였으며, 본 실험의 결과와 유사함을 알 수 있다. 이는 monoterpenes 성분인 limonene이 이산화탄소의 임계점 근처에서 추출이 잘됨을 알 수 있다. 본 실험 결과, 입자크기가 작을수록 표면적이 증가하여 초임계 이산화탄소가 입자내부로 확산 및 침투가 용이하여 반응성이 좋아져 추출수율이 증가됨을 확인할 수 있었고, 추출 온도에 따라 성분들의 용해도에 차이가 있으며 특히 이산화탄소의 임계점 (72.9 bar, 31°C) 부근에서 terpenes의 추출 수율이 증가됨을 확인하였다.

3.3. 초임계 유체의 최적화 조건에 따른 정유 추출에 미치는 영향

껍질을 이용한 초임계 이산화탄소 추출의 최적화 조건을 알아보기 위해 추출 수율이 높은 시료 입자 크기와 추출 온도 조건에서 추출 압력 변화에 따른 추출 수율과 추출 성분을 알아보았다. Fig. 5(a)는 추출 수율이 높았던 추출 온도 40°C, 시료 입자 크기 0.1~1 mm의 조건에서 추출 압력을 달리하여 추출 수율을 나타내고 있다. 추출 수율은 압력이 100 bar < 300 bar < 200 bar 순서로 높았고, 200 bar에서 1% (w/w)로 가장 높았다. Fig. 2a의 실험 결과와 비교해보면 추출 압력이 200 bar와 300 bar인 경우는 추출 수율이 약 2배 높고, 추출 압력 100 bar에서는 추출 수율이 0.15% (w/w)에서 0.76% (w/w)로 5배 증가하였다. Fig. 3의 시료 입자 크기 1~4 mm, 추출 압력 300 bar, 추출 온도 40°C의 실험 결과와 비교하면 추출 수율은 0.89% (w/w)로 1.7 배 증가함을 확인하였다. 이는 초임계 이산화탄소 추출조건에서 이산화탄소 밀도에 영향이 있는 온

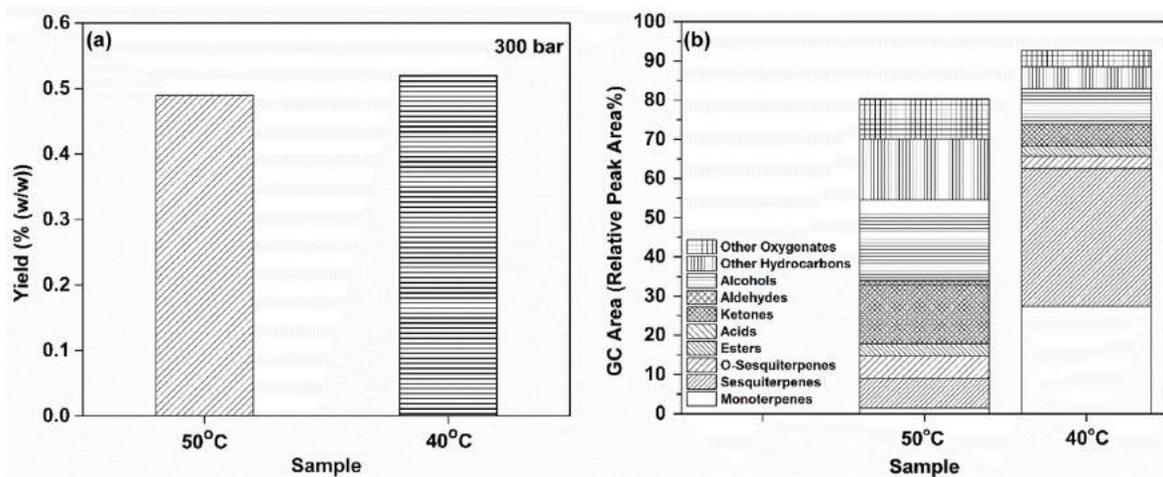


Fig. 4. Effect of extraction temperature on orange peel essential oil: (a) effect on yield and (b) effect on composition.

Table 2. Composition of terpenes in essential oil extracted at different temperature

Compounds	Retention time (min:sec)	Area%	
		Temperature Effect (300 bar, 1-4 mm size)	
		50°C	40°C
<i>Monoterpenes</i>			
o-Cymene	08:13.7	-	0.55
Limonene	08:20.0	1.474	25.905
γ -Terpinene	08:48.5	-	0.947
<i>Sesquiterpenes</i>			
δ -elemene	12:57.5	-	1.137
α -Copaene	13:32.5	-	0.934
Bicyclosiquiphellandrene	13:41.6	-	0.796
β -elemene	13:42.1	3.072	11.656
Caryophyllene	14:08.5	-	1.129
Humulene	14:36.3	0.418	2.043
Germacrene D	14:55.3	0.468	3.642
α -selinene	15:02.1	2.387	-
Valencene	15:03.4	-	0.687
α -Muurolene	15:06.1	-	3.773
α -Farnesene	15:06.7	-	5.427
germacrene A	15:15.4	-	1.096
δ -Cadinene	15:20.6	1.273	2.090
γ -Elemene	15:53.4	-	0.481

도와 압력보다 초임계 이산화 탄소의 접촉과 확산에 영향이 있는 입자 크기가 추출 수율에 더 영향이 있음을 확인할 수 있었다.

Fig. 5(b)의 추출된 정유의 성분 분석 결과, 다른 성분들에 비해 terpenes인 monoterpenes와 sesquiterpenes 성분이 높게 검출되었고 추출 압력에 따라 두 성분의 함량 변화는 서로 상반되게 나타났다. monoterpenes은 이산화탄소 임계점 부근에서 용해도가 높기 때문에 낮은 압력인 100 bar에서 추출 수율이 가장 높았고, sesquiterpenes 성분은 이산화탄소 밀도가 높을수록 용해력이 높아지기 때문에 압력 300 bar에서 추출 수

율이 높게 나타났다 [30,31]. 추출 압력 300 bar에서는 이산화탄소의 밀도가 높아지며 sesquiterpenes 성분뿐만 아니라 다른 성분의 추출 수율도 증가되며 상대적으로 terpenes 성분의 선택성이 낮아진 것을 확인하였다 [32]. Terpenes과 sesquiterpenes 성분들이 Table S3에 확인할 수 있다.

추출 수율이 이산화탄소 밀도가 낮은 200 bar에서 가장 높은 이유를 확인하기 위해 monoterpenes와 sesquiterpenes 성분 함량을 area로 비교하여 Table S4에 나타내었다. 비교 결과, 추출 압력 200 bar에 비해 300 bar의 성분 함량이 모두 적게 확인되었고, Fig. 6의 GC Chromatogram에서도 확인할 수 있다.

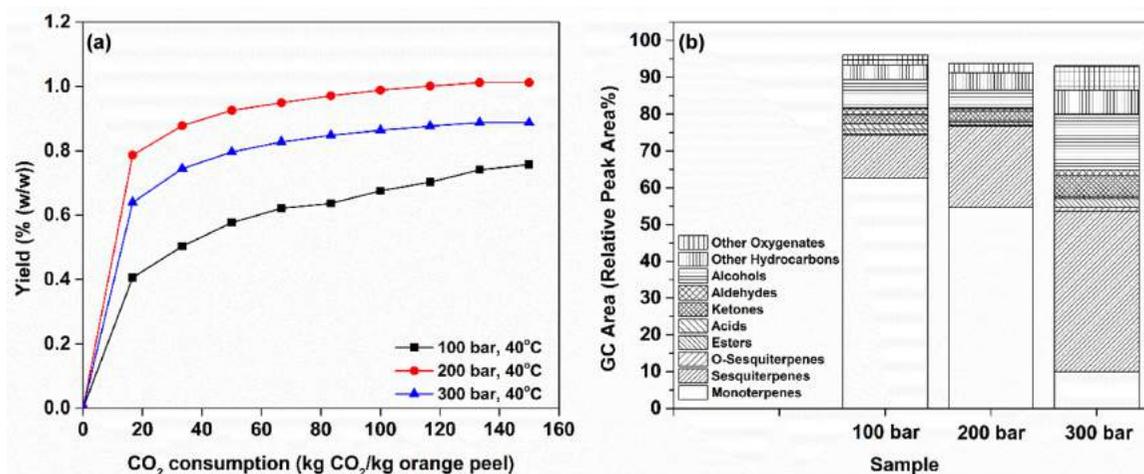


Fig. 5. Effect of supercritical CO₂ extraction pressure at optimized condition on orange peel essential oil: (a) effect on yield and (b) effect on essential oil composition.

Table 3. Composition of terpenes in essential oil obtained at different pressure at optimized condition

Compounds	Retention time (min:sec)	Area%		
		Pressure effect (40°C, 0.1-1mm size)		
		100 bar	200 bar	300 bar
<i>Monoterpenes</i>				
β-pinene	07:25.4	0.109	-	-
α-Myrcene	07:37.0	0.404	0.286	-
α-Pinene	08:18.2	4.628	-	-
α-Thujene	08:19.7	1.978	-	-
Limonene	08:20.0	50.893	51.649	9.559
γ-Terpinene	08:48.5	4.595	2.69	-
α-Phellandrene	08:50.0	-	-	0.488
<i>Sesquiterpenes</i>				
δ-elemene	12:57.5	0.639	0.977	2.41
α-Copaene	13:32.5	0.308	0.491	1.037
Bicyclosesquiphellandrene	13:41.6	0.436	-	-
β-cubebene	13:41.8	-	0.528	-
β-elemene	13:42.1	3.54	6.531	14.358
Caryophyllene	14:08.5	0.386	0.523	1.203
Humulene	14:36.3	0.632	1.098	2.305
Germacrene D	14:55.3	1.289	2.444	4.916
α-selinene	15:02.1	0.254	0.384	0.473
4,5-di-epi-aristolochene	15:06.2	-	2.284	-
α-ylangene	15:06.5	-	-	1.122
α-Farnesene	15:06.7	3.426	5.36	12.636
δ-Cadinene	15:20.6	0.625	1.23	2.189
γ-Elemene	15:53.4	0.218	0.309	-
Germacrene B	15:53.7	-	-	0.633

Table 4. GC-TOF/MS area of selected terpenes in the essential oil

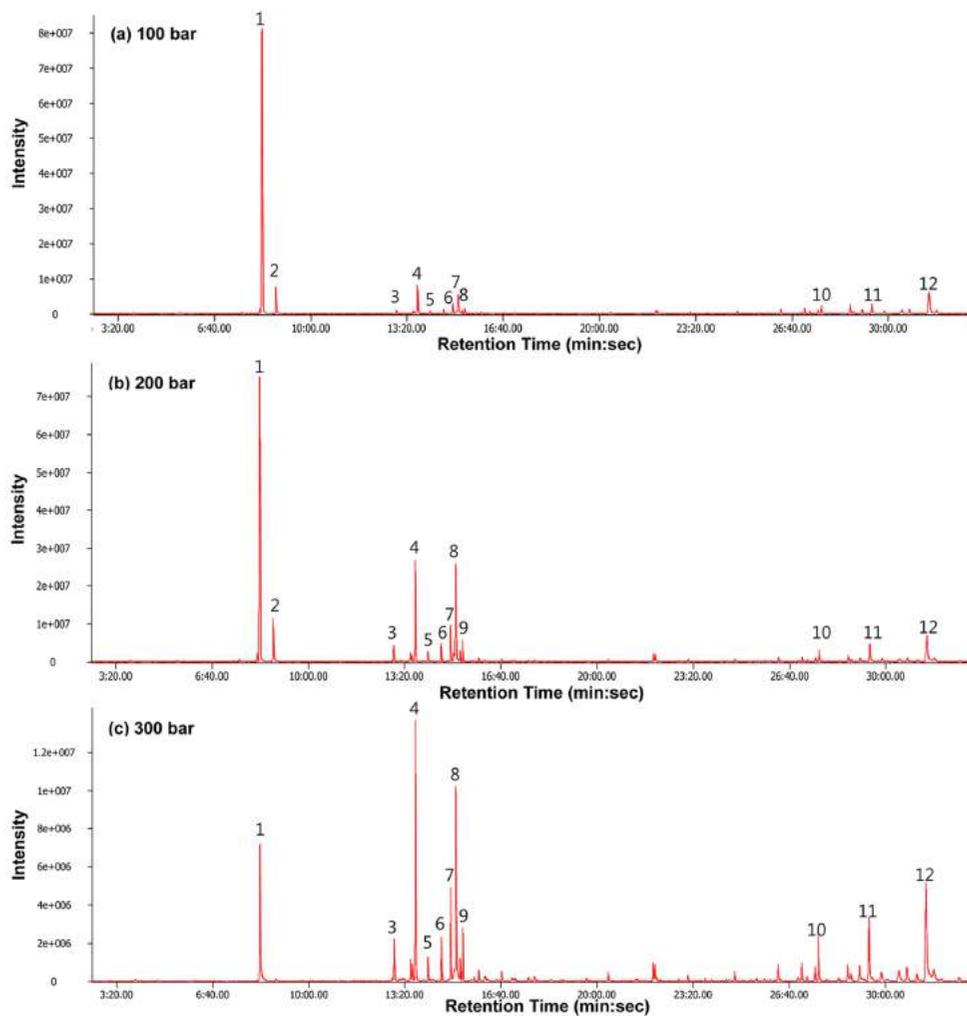
Compounds		Area		
		100 bar	200 bar	300 bar
Monoterpenes	Limonene	1.76E+09	2.01E+09	1.32E+08
	γ-Terpinene	1.59E+08	1.05E+08	-
Sesquiterpenes	δ-Elemene	22123211	38056572	33274250
	β-Elemene	1.23E+08	2.54E+08	1.98E+08
	Caryophyllene	13375487	20387588	16615155
	Humulene	21913275	42780777	31826064
	Germacrene-D	44670236	95216786	67887499
	α-Farnesene	1.19E+08	2.09E+08	1.75E+08
	δ-Amorphene	21644755	47897641	30229374

3.4. 보조용매 첨가에 따른 정유 추출에 미치는 영향

초임계이산화탄소 추출 공정에서 보조용매의 사용은 추출 수율을 높이고 극성인 성분을 추출하기 위해 자주 사용된다. 이는 초임계 이산화탄소에 일부 성분들이 제한적인 용해도를 가지기 때문에 보조용매를 추가로 사용한다. 초임계 이산화탄소에 보조용매를 첨가 할 경우 추출 효율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 에탄올을 보조용매로 첨가하여 추출실험을 하였다. 실험은 0.1~1 mm인 귤 껍질을 추출조에 넣고 초임계 이산화탄소 추출 온도 40°C, 추출 압력 300 bar에서 보조용매인 에탄올을 1 mL/min의 속도로 장입시켜 실험하였다. 초임계 이산화탄소 추출에서 보조용매의 첨가에 따른 정유의 추출수율 변화를 Fig. 7(a)에 나타내었다. 초임계 이산화

탄소만을 사용할 때보다 보조 용매인 에탄올을 첨가한 경우 초기 추출 수율이 높았으며 최종 추출 수율도 1.27% (w/w)로 1.4배 증가하였다. 이는 비극성인 초임계 이산화탄소에 극성인 에탄올을 보조 용매로 사용하여 추출물에 대한 용해도가 증가하여 추출 수율이 증가한 것으로 사료된다.

Fig. 7(b)는 보조용매로 에탄올을 첨가한 경우 추출되는 성분을 나타내었는데 추출된 성분에는 거의 변화가 없었다. 이는 보조용매로 에탄올을 첨가하면 극성 성분을 추출할 뿐만 아니라 비극성 화합물인 다른 성분도 (예: monoterpenes, sesquiterpenes) 추출되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 monoterpenes와 sesquiterpenes 성분은 원래 비극성 화합물이지만 에탄올에서 잘 용해하기 때문이다.



No	Compounds	Structure	No	Compounds	Structure
1	Limonene	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>	7	Germacrene-D	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>
2	γ -Terpinene	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>	8	α -Farnesene	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>
3	δ -Elemene	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>	9	δ -Amorphene	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>
4	β -Elemene	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>	10	Hentriacontane	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>
5	Caryophyllene	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>	11	α -Tocopherol	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>
6	Humulene	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>	12	α -sitosterol	<chem>CC1=CC(C=C(C1)C)C</chem>

Fig. 6. GC-TOF/MS chromatogram of essential oil obtained at various pressure at optimized condition (40°C, 0.1~1 mm particle size).

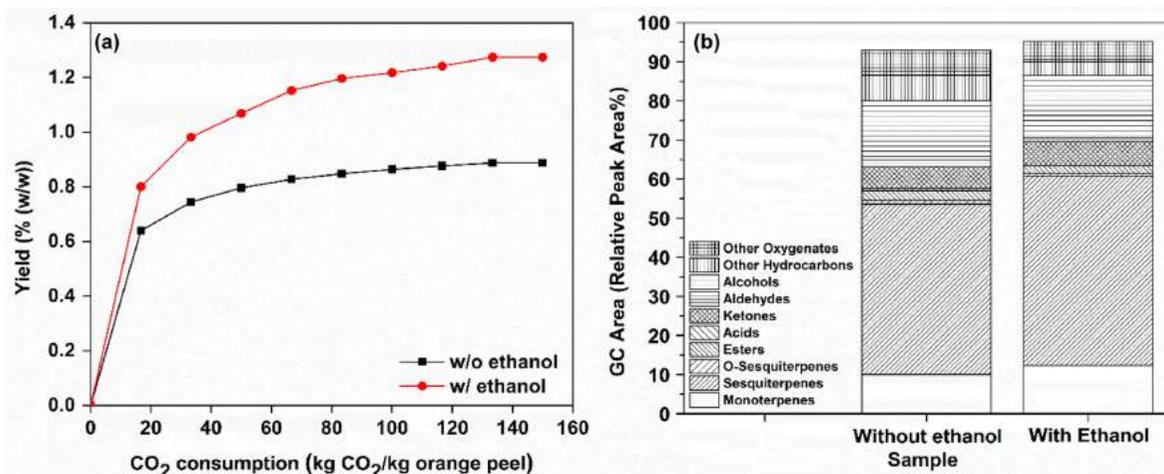


Fig. 7. Effect of ethanol addition on essential oil extraction from orange peel: (a) effect on yield, (b) effect on essential oil composition.

4. CONCLUSION

초임계 이산화탄소를 이용하여 귤 가공 후 발생하는 부산물인 껍질에서 청정한 정유를 생산하기 위한 기초 연구를 수행하였다. 초임계 이산화탄소의 압력과 온도 그리고 시료 입자 크기를 변화시켜 정유의 추출 수율과 정유에 함유된 성분을 알아보았다. 시료 입자 크기가 작을수록 비표면적이 증가하고 이산화탄소의 내부 침투 및 반응성이 용이하여 추출 수율이 증가하였고, 이산화탄소의 밀도가 높은 추출 온도 및 압력에서 추출 수율이 증가하였다. 추출된 정유의 성분 분석 결과, 높은 추출 압력 및 온도 조건에서 추출 수율은 높았지만 monoterpenes와 sesquiterpenes 성분들은 추출되지 않았고, 이산화탄소의 임계점 부근에서 terpenes의 추출 비중이 증가됨을 확인하였다. 보조용매로 에탄올을 추가할 경우 용해도가 증가하여 추출 수율은 증가하였지만 추출 성분에는 큰 변화가 없음을 확인하였다.

ACKNOWLEDGEMENTS

귤껍질 정유의 성분 분석을 위해 측정 장비인 GC-TOF-MS를 사용할 수 있게 도움을 주신 성균관대학교의 김재훈 교수님께 감사드립니다.

REFERENCES

1. Korea Rural Economic Institute, Issue of November, 2017, Agriculture look of Citrus. <https://aglook.krei.re.kr/jsp/pc/front/observe/monthlyReport.jsp>. (2017).
2. Hegazy, A. and M. Ibrahim (2012) Antioxidant activities of orange peel extracts. *World Appl. Sci. J.* 18: 684-688.
3. Kim, D. K., K. T. Lee, J. S. Eun, O. P. Zee, J. P. Lim, et al. (1999) Anti-allergic components from the peels of *Citrus unshiu*. *Arch. Pharmacol. Res.* 22: 642-645.
4. Lee, H.-T., E.-K. Seo, S.-J. Chung, and C.-K. Shim (2005) Prokinetic activity of an aqueous extract from dried immature fruit of *Poncirus trifoliata* (L.) raf. *J. Ethnopharmacol.* 102: 131-136.
5. Yang, G., J. Lee, E.-D. Jung, I. Ham, and H.-Y. Choi (2008) Lipid lowering activity of Citri unshii pericarpium in hyperlipemic rats. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 30: 783-791.
6. Ferhat, M. A., B. Y. Meklati, J. Smadja, and F. Chemat (2006) An improved microwave cleverger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *J. Chromatogr.* 1112: 121-126.
7. Hosni, K., N. Zahed, R. Chrif, I. Abid, W. Medfei, et al. (2010) Composition of peel essential oils from four selected Tunisian *Citrus* species: Evidence for the genotypic influence. *Food Chem.* 123: 1098-1104.
8. Lu, H.-Y., Y. Shen, X. Sun, H. Zhu, and X.-J. Liu (2013) Washing effects of limonene on pesticide residues in green peppers. *J. Sci. Food Agric.* 93: 2917-2921.
9. Huang, Y.-S. and S.-C. Ho (2010) Polymethoxy flavones are responsible for the anti-inflammatory activity of citrus fruit peel. *Food Chem.* 119: 868-873.
10. Erukainure, O. L., J. A. A. F. F. Davis, and K. O. M. Aliyu (2012) Effect of orange (*Citrus sinensis*) peel oil on lipid peroxidation, catalase activity and hepatic biomarker levels in blood plasma of normo rats. *J. Biomed. Pharm. Res.* 1.
11. Bozan, B. and F. Temelli (2003) Extraction of poppy seed oil using supercritical CO₂. *J. Food Sci.* 68: 422-426.
12. Salgın, U., O. Döker, and A. Çalimli (2006) Extraction of sunflower oil with supercritical CO₂: Experiments and modeling. *Journal of Supercritical Fluids* 38: 326-331.
13. Mercer, P. and R. E. Armenta (2011) Developments in oil extraction from microalgae. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113: 539-547.
14. Han, X., L. Cheng, R. Zhang, and J. Bi (2009) Extraction of safflower seed oil by supercritical CO₂. *J. Food Eng.* 92: 370-376.

15. Macías-Sánchez, M. D., C. M. Serrano, M. R. Rodríguez, and E. Martínez de la Ossa (2009) Kinetics of the supercritical fluid extraction of carotenoids from microalgae with CO₂ and ethanol as co-solvent. *Chem. Eng. J.* 150: 104-113.
16. Ryu, J.-H., M.-R. Park, and G.-B. Lim (2011) Supercritical carbon dioxide extraction of oil from *Chlorella vulgaris*. *KSBB J.* 26: 453-458.
17. Nordby, H. E. and S. Nagy (1977) Hydrocarbons from epicuticular waxes of citrus peels. *Phytochemistry* 16: 1393-1397.
18. Manthey, J. A. (2006) Fourier transform infrared spectroscopic analysis of the polymethoxylated flavone content of orange oil residues. *J. Agric. Food Chem.* 54: 3215-3218.
19. Reverchon, E., P. Russo, and A. Stassi (1993) Solubilities of solid octacosane and triacontane in supercritical carbon dioxide. *J. Chem. Eng. Data.* 38: 458-460.
20. Sala, J. M. (2000) Content, chemical composition and morphology of epicuticular wax of fortune mandarin fruits in relation to peel pitting. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1887-1894.
21. Anagnostopoulou, M. A., P. Kefalas, E. Kokkalou, A. N. Assimopoulou, and V. P. Papageorgiou (2005) Analysis of antioxidant compounds in sweet orange peel by HPLC-diode array detection-electrospray ionization mass spectrometry. *Biomed. Chromatogr.* 19: 138-148.
22. Chen, X.-M., A. R. Tait, and D. D. Kitts (2017) Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Chem.* 218: 15-21.
23. Tatum, J. H. and R. E. Berry (1972) Six new flavonoids from citrus. *Phytochemistry* 11: 2283-2288.
24. Kritchevsky, D. and S. C. Chen (2005) Phytosterols - Health benefits and potential concerns: A review. *Nutr. Res.* 25: 413-428.
25. Kennedy, G. C. (1954) Pressure-volume-temperature relations in CO₂ at elevated temperatures and pressures. *Am. J. Sci.* 252: 225-241.
26. Wong J. M. and K. P. Johnston (1986) Solubilization of biomolecules in carbon dioxide based supercritical fluids. *Biotechnol. Prog.* 2: 29-39.
27. Chizzola, R. (2013) Regular monoterpenes and sesquiterpenes (essential oils). pp. 2973-3008. In: K. G. Ramawat, and J.-M. Mérillon (eds.). *Natural products: Phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes*. Springer, Berlin.
28. Mira, B., M. Blasco, A. Berna, and S. Subirats (1999) Supercritical CO₂ extraction of essential oil from orange peel. Effect of operation conditions on the extract composition presented at 4th Italian conference on supercritical fluids and their applications. *J. Supercrit. Fluids* 14: 95-104.
29. Kamaliroosta, L., M. Zolfaghari, S. Shafiee, K. Larijani, and M. Zojaji (2016) Chemical identifications of citrus peels essential oils. *J. Food Biosci. Technol.* 6: 69-76.
30. Reverchon, E. (1997) Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. *J. Supercrit. Fluids* 10: 1-37.
31. Berna, A., A. Cháfer and J. B. Montón (2000) Solubilities of essential oil components of orange in supercritical carbon dioxide. *J. Chem. Eng. Data.* 45: 724-727.
32. Pourmortazavi, S. M., and S. S. Hajimirsadeghi (2007) Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *J. Chromatogr.* 1163: 2-24.