

초임계유체 정류법에 의한 어유지방산으로부터 EPA와 DHA의 분리

김재덕 · 임종성 · 이윤우

한국과학기술연구원 CFC대체기술센터

Separation of EPA and DHA from Fatty Acid of Fish Oil by Supercritical Fluid Rectification

Kim, Jae-Duck · Lim, Jong-Sung · Lee, Youn-Woo

CFC Alternatives Technology Center, Korea Institute of Science and Technology

(Received Jun., 20, 1997)

ABSTRACT

It was tested the possibility that EPA and DHA could be separated from fish oil fatty acid ethyl ester(FAEE) in the supercritical carbon dioxide rectification method. Experiments were carried out in the 1800mm tall and temperature gradient packed rectification column at the pressure of 100bar and carbon dioxide flow rate of 52.43NL/min. Experimental results showed that this method was useful to separate the FAEE by the relative volatility of the components. The maximum attainable concentration of EPA, DHA and both of them in product were 41%, 43% and 57% respectively in this rectification column using raw fish oil feed.

I. 서 론

어유에는 ω -3계 EPA(eicosapentaenoic acid, C_{20:5})와 DHA(docosahexaenoic acid, C_{22:6}) 등 순환기계통 질병의 예방제^{1,2)}로 사용되는 고도불포화지방산이 과량 함유되어 있어 이를 농축하여 부가가치를 높이려는 연구가 활발히 이루어지고 있다.

지금까지 알려진 EPA와 DHA 등의 고도불포화지방산의 농축법으로는 triglyceride(TG)형태의 경우 wintering법이 있고 지방산에스테르(fatty acid ester) 형태로 농축할 경우 용매에의 용해도 차이를 이용하는 염형성법, 저온 분별결정법, 용매추출법, 상

대휘발도 차이를 이용한 분별증류법³⁾, 흡착도 차이를 이용한 크로마토그래피법⁴⁾, 사각형 격자구조의 요소가 직쇄상의 포화지방산과 만나면 육각형 격자구조로 전이되면서 포집을 형성하는 성질을 이용한 요소부가법⁵⁾ 등이 있다. 그러나 TG형태로 농축할 경우 고농도로 농축할 수 없는 단점이 있으며 FAEE 형태로 농축할 경우에도 염형성법, 분별증류법, 저온분별결정법은 농축농도가 낮고 용매회수 또는 가열시 불포화지방산이 변질될 우려가 있으며, 크로마토그래피법은 고농도로 EPA와 DHA를 얻을 수 있지만 농축비용이 높은 단점이 있다.

최근 초임계유체를 이용하여 어유 중 EPA와 DHA를 농축하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.

초임계 유체는 임계점 이상의 온도와 압력하에 있는 유체로 밀도가 액체와 유사하여 용해력이 큰 반면에, 점도는 기체의 점도와 유사하고 확산속도는 기체와 액체의 중간의 값을 갖고 있어 침투력이 크고 추출속도가 빠른 장점을 갖고 있다. 또한 초임계 유체의 용해력과 선택성을 간단히 온도와 압력을 변경하여 쉽게 조절할 수 있으므로 목적물을 선택적으로 추출하거나 분리할 수 있으며, 추출 후 용매의 회수도 쉬우므로 잔존용매 걱정없이 제품을 얻을 수 있다. 특히 이산화탄소와 같이 임계온도가 낮고 인체에 무해한 초임계 유체를 사용하면 열에 민감한 성분을 안정하게 추출할 수 있는 장점이 있다⁶⁾. 이와 같은 장점을 이용하여 Eisenbach⁷⁾는 초임계 유체에 녹는 용질의 용해력이 온도와 압력의 다변화 조건에서 환류가 있는 정류탑을 운전하여 유지성분을 정류할 수 있음을 보고하였다. 또한 Suzuki⁸⁾ 등은 이 정류탑에 온도구배를 주면 환류가 탑 전체에서 일어나 분리효율을 더욱 증가시킬 수 있다고 발표하였다.

본 연구에서는 초임계 이산화탄소 정류법에 의해 어유 FAEE의 분리실험 장치를 설치하고 실험을 통해 EPA와 DHA 등의 고도불포화 지방산의 농축가능성을 비교 검토하였다.

II. 실험재료

실험에 사용된 어유는 (주)코리아상사 제품의 정어리유로 TG구조로 결합되어 있는 지질을 FAEE 형태로 변환시켜 지방산 농축을 위한 시료로 사용하였으며, 그 방법은 김⁹⁾에서 사용한 방법과 같다.

이 FAEE 원료 및 농축실험 과정에서 각 fraction의 조성은 Gas Chromatography(GC)로 분석하였으며, 분석 결과 얻은 각 성분의 chromatogram의 면적비를 각 성분의 무게비로 가정하였다. GC의 분석조건도 김⁹⁾과 동일하며, Table 1에 실험에 사용한 어유 FAEE의 조성을 나타내었다. Table 1의 Sample-I은 신선한 어유에서 얻은 FAEE이며, Sample-II는 신선한 어유를 초임계 요소부가법⁹⁾에 의해 1차로 농축된 FAEE이다.

이 밖에도 초임계 용매로 사용한 이산화탄소는 순도 99.9mol% 이상인 신양상사(주)제품을 사용하였다.

Table 1. Composition of fish oil fatty acid ethyl ester

Components	Sample I (wt%)	Sample II (wt%)
14:0	7.586	0.752
14:1	—	0.141
15:0	—	0.471
15:1	—	0.186
16:0	18.148	0.128
16:1	7.347	6.344
17:0	—	1.593
18:0	4.244	1.491
18:19	14.131	2.751
16:43	1.251	3.898
18:26	—	2.276
18:36	—	0.254
18:33	—	1.796
20:19	5.439	—
18:43	2.544	8.290
20:36	—	0.042
20:46	—	2.797
20:43	—	1.491
20:53(EPA)	12.223	31.896
22:46	1.230	1.230
22:56	—	0.466
22:53	2.415	2.415
22:63(DHA)	10.715	28.406
Unknown	—	—

III. 실험장치 및 실험방법

1. 실험장치

초임계 이산화탄소를 이용하여 어유를 농축하기 위한 정류 실험장치를 Fig. 1에 나타내었다. 이 장치는 최대 700bar까지 사용 가능하며 모든 연결라인의 재질은 고압용 1/4" SUS를 사용하였다. 추출용매로 사용되는 이산화탄소는 실린더로부터 공급되며, 이산화탄소가 액체상태로 나올 수 있도록 실린더 하단 부까지 dip tube(SUS 1/4" tube)가 설치되어 있다. 이산화탄소 실린더내에 있는 고형불순물이 실험장치로 유입되는 것을 방지하기 위하여 실린더와 고압 metering pump 사이에 line filter(HIP model

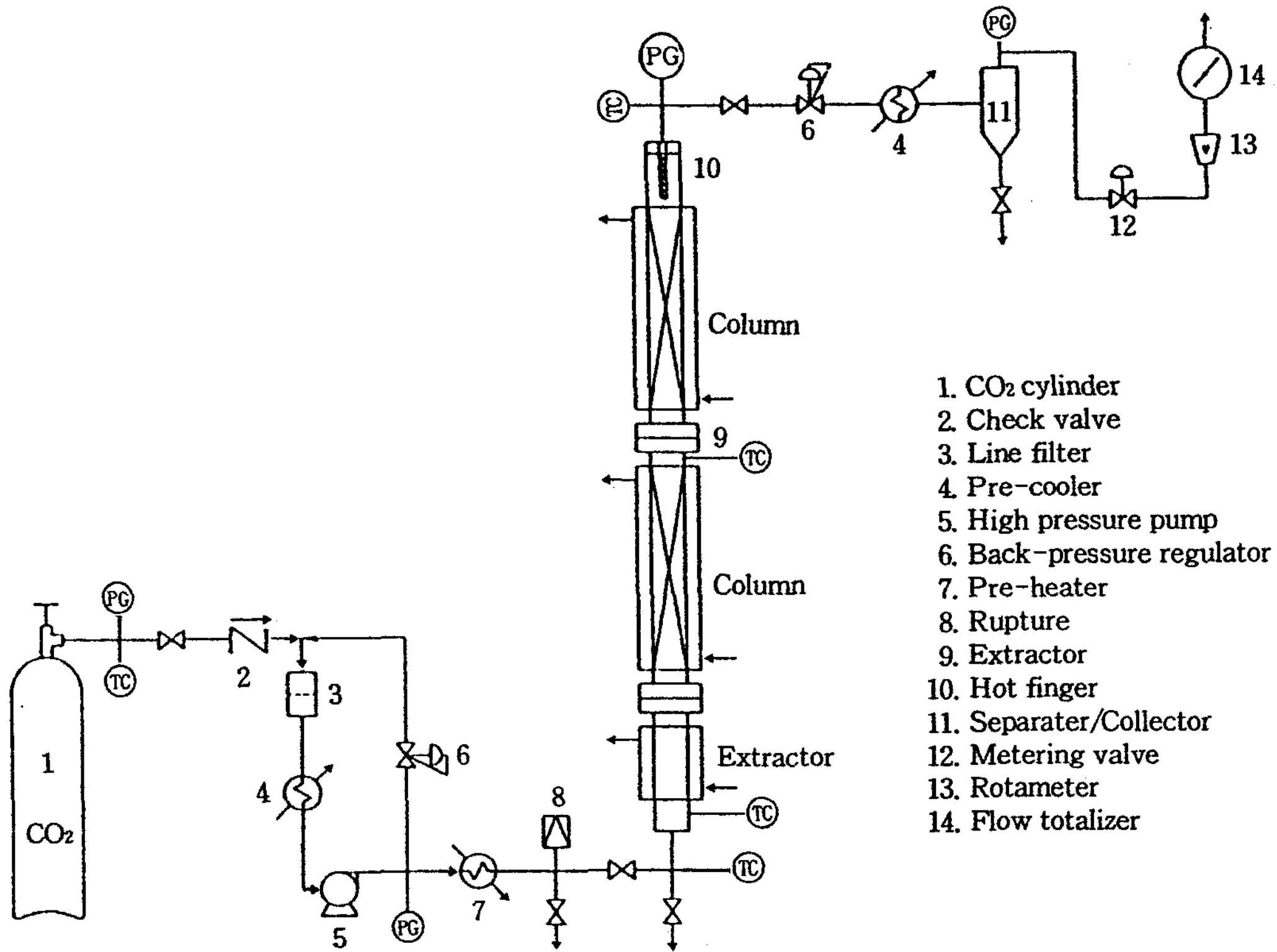


Fig. 1. Experimental apparatus for the separation of fish oil FAEE by supercritical carbon dioxide rectification.

60-51HF4)를 설치하였으며, 이산화탄소의 역류를 막기 위하여 check valve (HIP 60-41HF4)를 설치하였다. 그리고 두 개의 실린더를 three-way ball valve 양단에 동시에 연결하여 사용 중인 실린더의 이산화탄소가 실험 도중에 떨어지면 three-way 밸브를 반대편 실린더와 연결하여 실험의 중단없이 실린더를 교체할 수 있도록 하였다.

이산화탄소는 고압 metering pump(Milroyal B, model MR1-74-140SM, capacity=6.5GPH, P=6450psi)를 사용하여 가압하였다. 실린더에서 나오는 액체 이산화탄소가 기화되지 않도록 펌프와 실린더 사이의 모든 배관을 단열재로 감쌌으며, 펌프의 suction 부분에 cooling jacket을 설치하여 펌프 head에서의 동공화를 방지하였다. 이 cooling jacket은 SUS 316 1/4인치 튜브로, 길이 5m의 나선형으로 냉동순환항온조(HAAKE model F3-K)에서 공급되는 냉매에 의해 -10℃로 유지하였다.

펌프와 추출탑 사이에는 back pressure regulator (Tescom model 26-1021-44)를 설치하여 시스템의 압력이 일정압력 이상으로 올라가면 실험시의 안전을 위하여 압축된 이산화탄소 가스를 외부로 배출시킬 수 있도록 하였으며, back pressure regulator의 작동실패로 인한 안전사고를 방지하기 위해 파열판(HIP 60-61HF4, 파열압력=7000psi)을 설치하였다.

정류탑은 내경 20mm, 외경 50mm, 길이 900mm인 고압용 SUS 316L Tubing 두 개를 연결하여 사용하였으며, 그 내부에 wire spirals(SUS, V4A, 3×3mm)를 충전하였다. 정류탑의 head cap과 head의 연결상세도는 Fig. 2에 나타내었고, Fig. 3과 Fig. 4는 정류탑 사이의 연결상세도와 추출기의 상세도를 나타낸 것이다. 정류탑의 하부에 있는 추출기에 채워진 어유는 하부에서 주입되는 초임계 이산화탄소에 용해되고, 이것은 다시 정류탑의 탑정에

설치한 hot finger에 의해 일부가 환류된다.

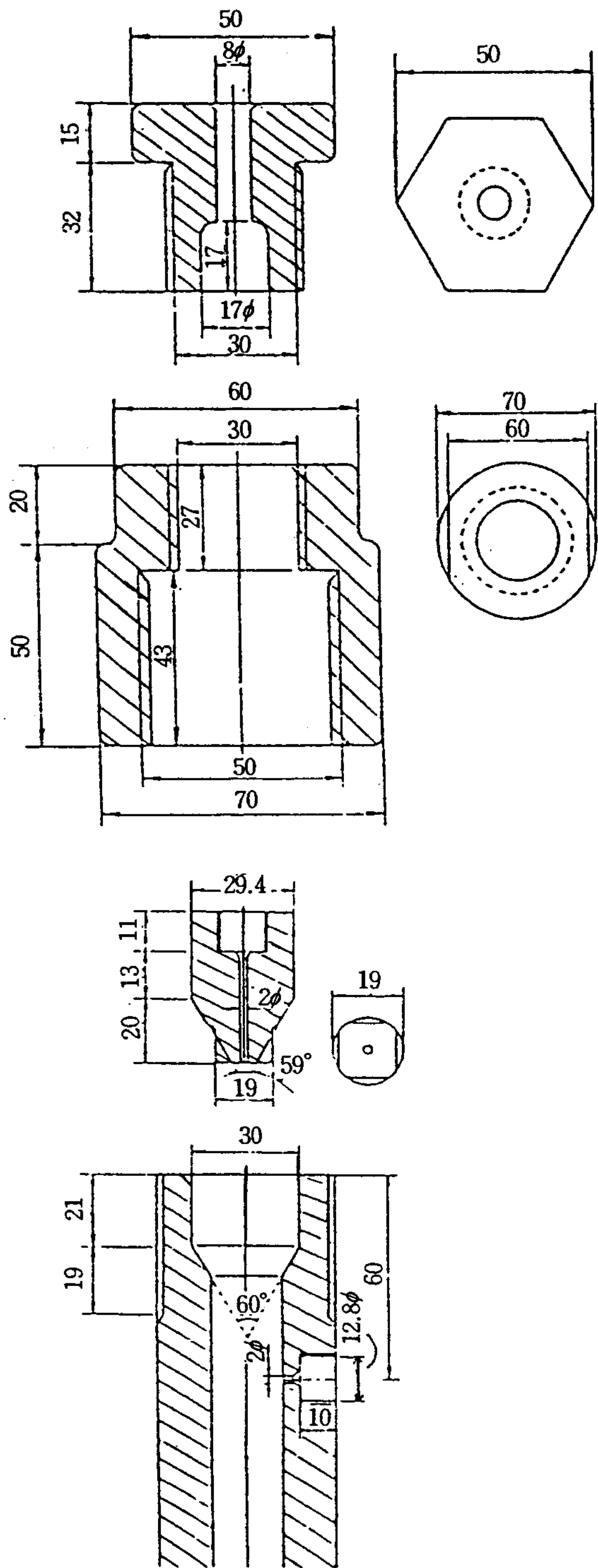


Fig. 2. Detail drawing of column head cap.

정류탑내의 온도는 외부에 jacket를 설치해 circulator(HAAKE Model D8)로 열매체를 공급해 줌으로써 일정하게 유지시켰고 하탑은 40℃, 상탑은 70℃로 탑내에 온도구배를 주어 EPA와 DHA의 농축효율을 높였다. 또 탑정의 hot finger는 100℃로 가열하였으며, PID 온도조절기를 사용하여 온도를 $\times 0.1^\circ\text{C}$ 까지 일정하게 조절하였다.

추출기의 내부압력은 bourdon tube형의 pressure gauge(Astragauge)로 측정하였고 내부온도는 thermocouple(K형)을 삽입하여 digital temperature indicator(Omega DP41-TC)로 측정하였다. 정류탑의 압력은 정류탑 상부의 이산화탄소 배출구와 분리기 사이에 설치된 back-pressure regulator(Tescom model 26-1021-44)에 의하여 일정하게 유지되며, 이산화탄소의 유량은 pump에 설치된 stroke를 조절하여 원하는 유량으로 변화시켰다.

이산화탄소와 추출물을 분리하기 위하여 내경 40mm, 외경 60mm, 부피 200mL의 분리기를 설치하였다. 이산화탄소와 추출물은 분리기의 중간부로 도입된 후 감압에 의해 서로 분리되며, 이산화탄소는

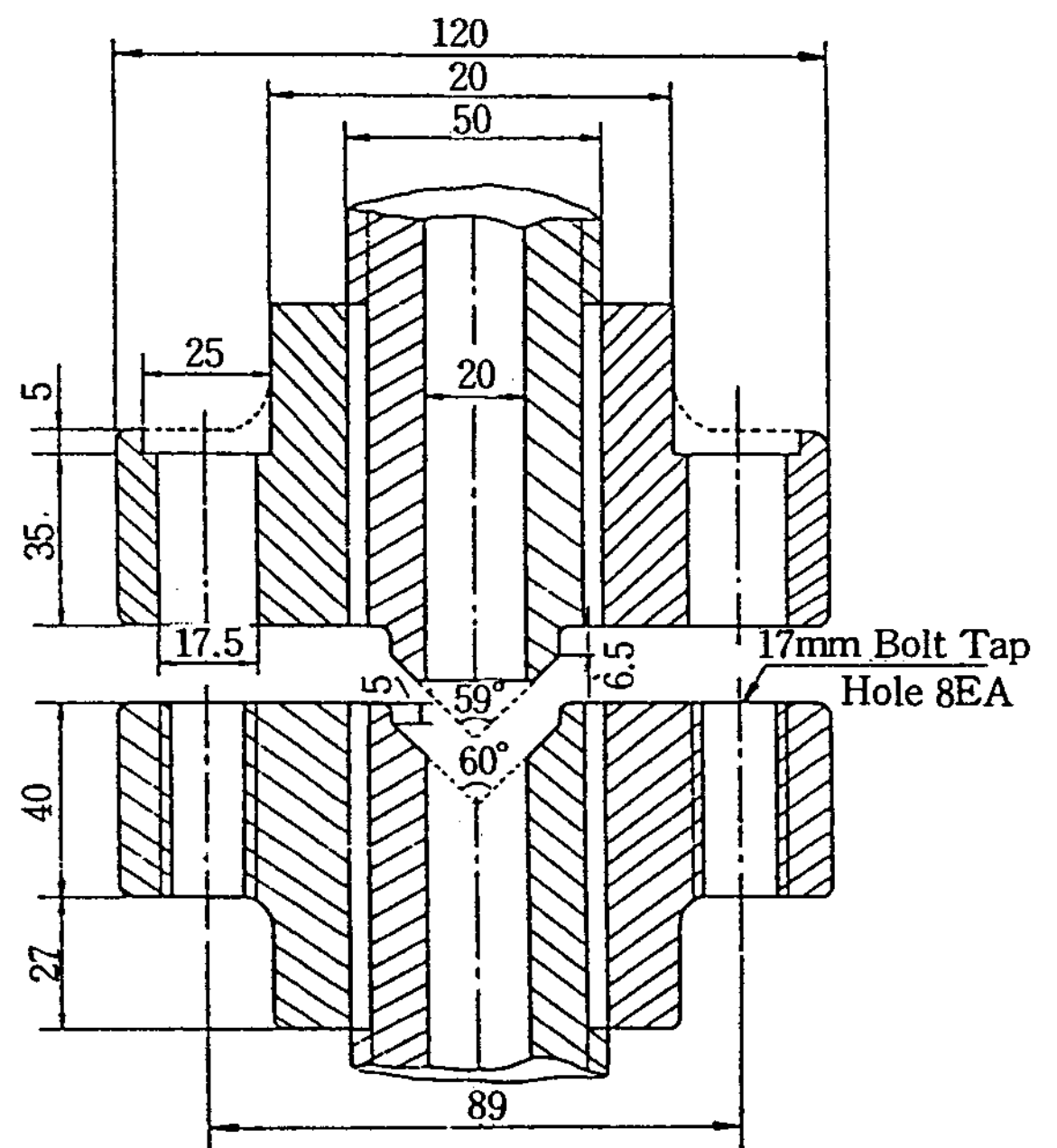


Fig. 3. Detail drawing of column connection.

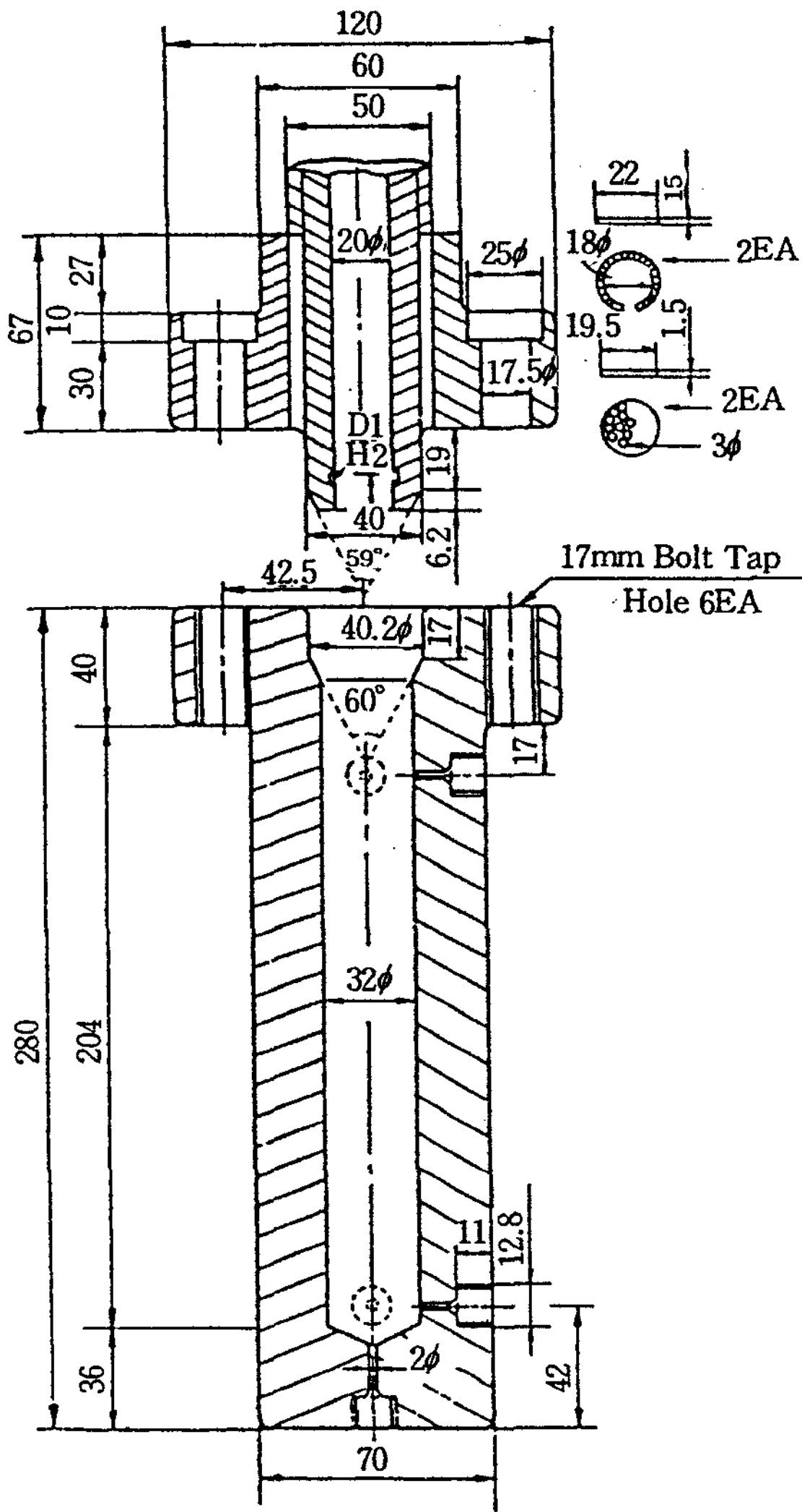


Fig. 4. Detail drawing of extractor.

상부로 배출되고 추출물은 하부에 축적된다. 분리기의 외벽에 jacket을 설치하여 일정온도로 유지시켰다. 분리기의 압력을 조절하기 위하여 출구에 fine-metering valve(HIP 60-11HF4)를 설치하였고, 이산화탄소는 rotameter(Matheson model 604, sus ball)와 적산유량계를 거쳐 대기로 방출되게 하였다.

2. 실험방법

어유성분 중 EPA와 DHA를 농축하기 위한 실험

은 추출기의 압력을 100bar, 하부와 상부 정류탑의 온도를 각각 40℃, 70℃ 그리고 탑정의 Hot-finger의 온도를 100℃인 조건에서 수행하였고 어유가 채워져 있는 추출기에 주입되는 이산화탄소의 온도는 40℃로 유지하였다.

실험순서는 먼저 원료인 FAEE를 추출기에 넣고 이산화탄소 cylinder의 밸브를 서서히 열어 상온에서 이산화탄소 증기압까지 가압한 후 leak가 없음을 확인한다. 다음에 circulator를 작동시켜 preheater, 정류탑, 추출기, hot-finger를 원하는 온도까지 가열하여 전체 실험장치가 원하는 온도로 일정하게 유지되면 고압펌프로 이산화탄소를 주입하여 실험압력까지 가압한다. 실험장치의 온도와 압력이 실험조건에 도달하면 감압밸브를 열어 초임계유체를 분리기로 보낸다. 분리기의 압력이 약 20bar에 도달하면 출구의 fine-metering valve를 서서히 열어 분리된 이산화탄소를 rotameter와 적산유량계를 거쳐 대기로 방출한다. 실험 도중 일정시간마다 분리기로부터 추출액을 채취하여 무게를 측정하고 GC로 분석한다.

IV. 실험결과 및 고찰

첫번째 정류실험은 EPA가 12.2%, DHA가 10.7%인 Sample-I을 120g 추출기에 넣고 이산화탄소를 52.43L/min(25℃, 1atm)의 유량으로 통과시켜 수행하였으며, 분리기에서 얻은 FAEE 중 C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:4}, EPA 및 DHA 등 주요성분의 조성을 Fig. 5에 나타내었다. 실험 초기의 fraction에는 C_{14:0}, C_{16:0} 등과 같이 상대 휘발도가 높은 성분이 많이 농축되었고 실험 후반의 fraction에는 EPA와 DHA 등 상대 휘발도가 낮은 성분이 농축되어 이 실험장치에서 구성성분의 정류가 확연히 이루어짐을 확인하였다. 즉 정류탑이 정상상태로 운전이 되면 상대 휘발도가 높은 탄소수가 낮은 성분이 탑정에 주로 농축되고 탑 하부는 상대 휘발도가 낮은 탄소수가 많은 성분이 주로 농축되어 존재하게 됨을 알았다.

실험 초기의 fraction에서 C_{14:0}, C_{16:0} 외에 EPA와 DHA 등이 일부 포함되어 있으나 서서히 농도가 감소하였다. 이것은 환류가 충분히 이루어지지 않은

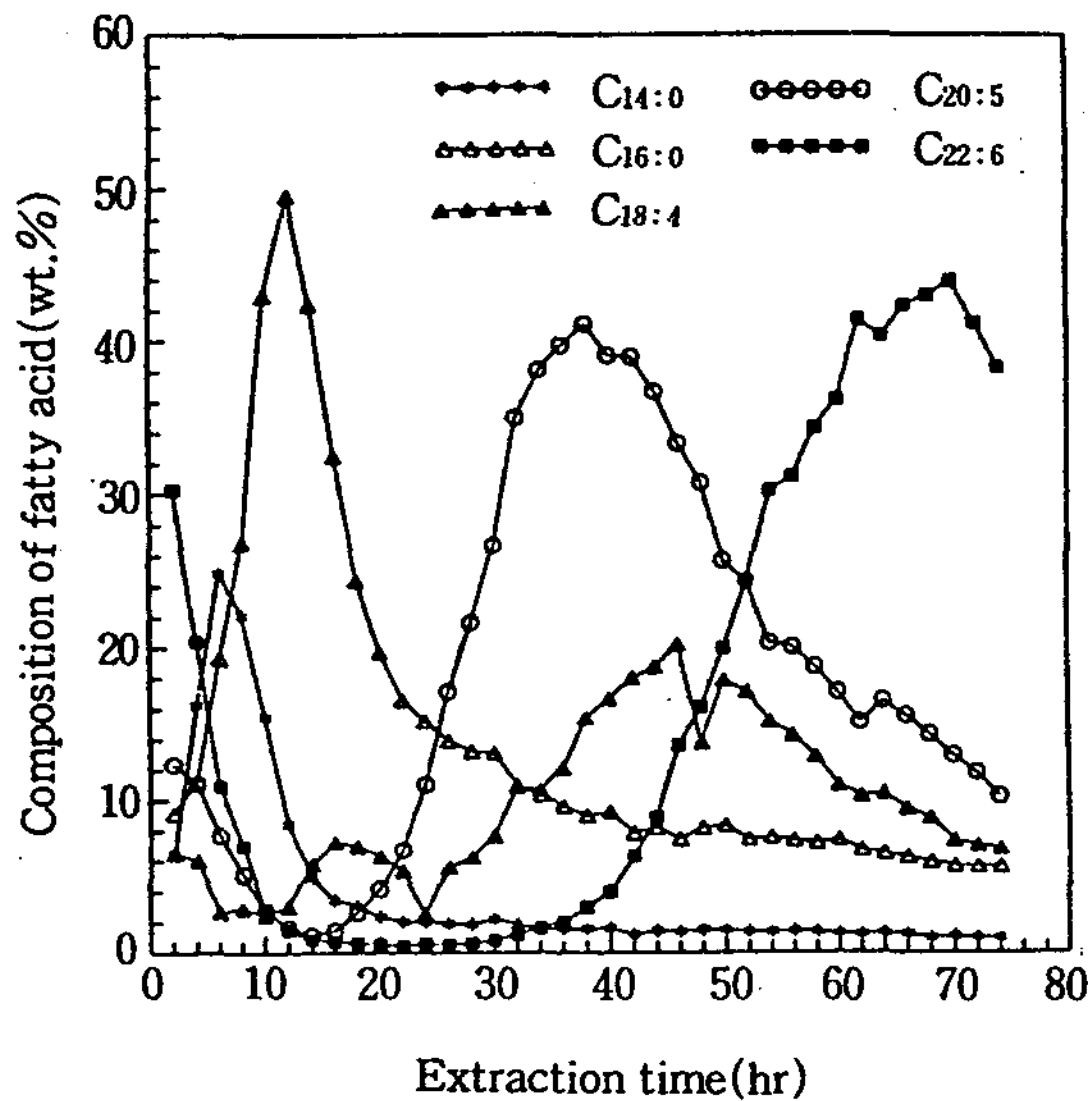


Fig. 5. The composition of fractionated FAEE in supercritical carbon dioxide rectification (feed = raw fish oil).

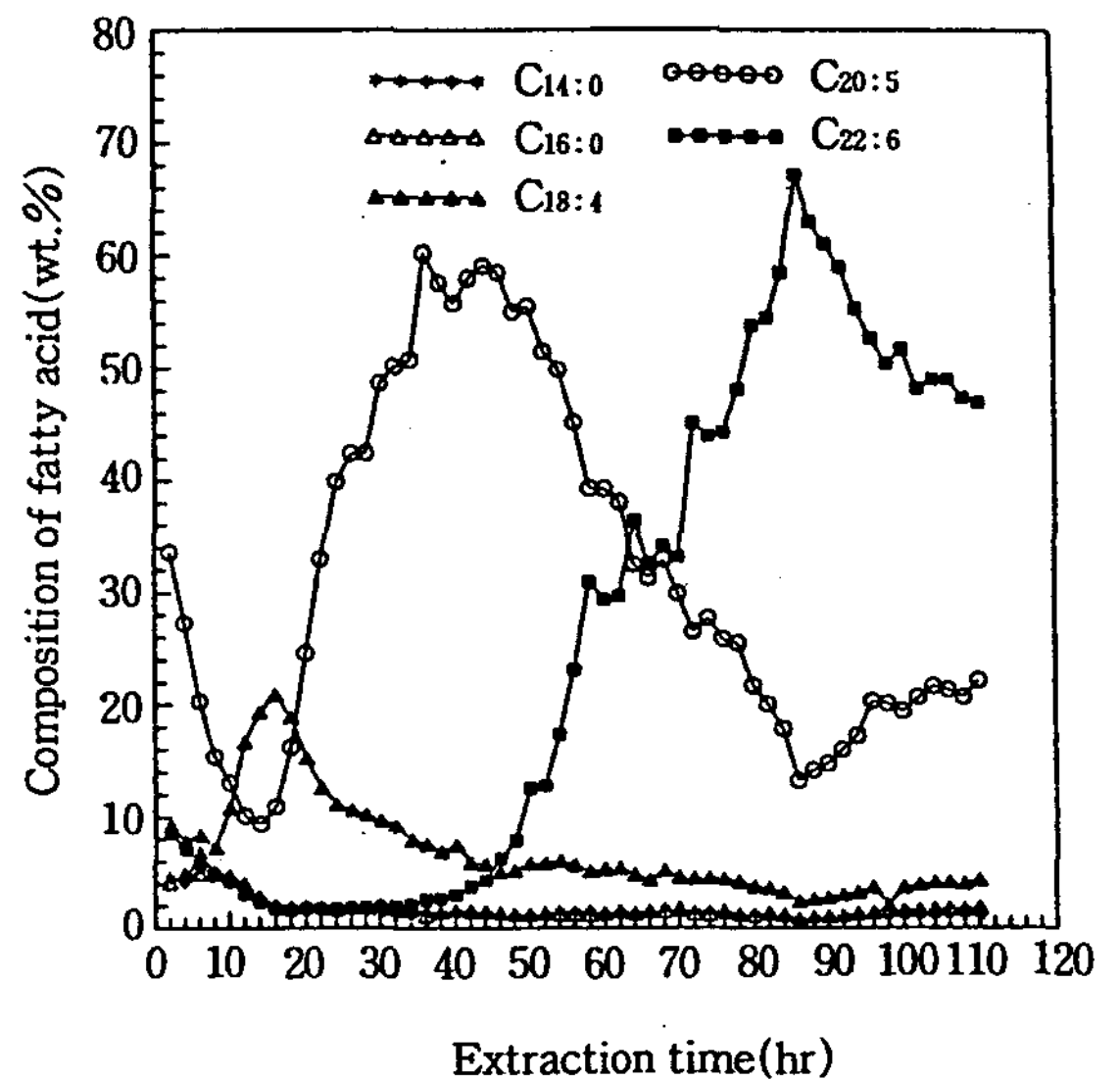


Fig. 6. The composition of fractionated FAEE in supercritical carbon dioxide rectification (feed = fish oil treated by urea).

실험 초기 조건부터 정류탑에서 분리기로 FAEE를 이송하였기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 C_{18:4}, EPA, DHA 등과 같이 이중결합수가 비교적 큰 불포화 지방산은 서로 분리가 잘 이루어지지 않았다. 특히 C_{18:4}는 EPA의 농축이 일어나는 시간부터 DHA가 농축되는 시간대에 걸쳐 비교적 높게 나타나 분리가 잘 이루어지지 않았으며, 고농도의 EPA와 DHA를 얻기 위해서는 이 성분의 분리가 가장 중요한 요인임을 알 수 있었다. 또한 EPA 농축이 거의 끝나가는 시점과 DHA의 농축이 시작되는 시점이 일부 중복됨을 알았다.

본 실험장치와 실험조건에서의 초임계유체 정류법에 의해 EPA와 DHA의 최대 농축농도는 41%와 43%이었으며 이 두 성분을 합해서는 57%이다. 이 결과는 Eisenbach⁷⁾의 최대 EPA 농축농도인 48.2% 보다는 낮았으며 이러한 현상은 정류탑의 내경, 높이, 충전물의 종류 등의 차이 때문으로 판단된다. 따라서 초임계 정류법만으로 EPA와 DHA를 농축하는데에는 한계가 있으며, 이 한계를 극복하기 위해서는 C_{18:4}와 C_{20:5}, EPA와 DHA 등의 최적 분리조건의 확립, 정류탑 효율의 증대방안 및 이중결합 차이에 의한 요소부가법과의 복합 등이 필요하다.

따라서 본 연구에서는 EPA와 DHA의 농축 조성을 높이는 방법을 연구하였으며, 그 방법의 일환으로 이산화탄소 용매하의 요소부가법을 거친 후 정류법을 실시하는 실험을 수행하였다. 즉, 이산화탄소 용매하의 요소부가법으로 FAEE를 1차로 분리한 Sample-II를 원료로 하여 두번째 정류실험을 수행하였다. 1차 분리된 원료는 EPA가 31.9%, DHA가 28.4%이었다. 첫번째 실험과 동일한 온도, 압력, 이산화탄소 유량 등의 조건에서 얻은 실험결과를 Fig. 6에 나타내었다. 각 fraction별 FAEE의 조성을 보면 실험 초기부터 C_{14:0}, C_{16:0} 등과 같은 포화지방산은 거의 나타나지 않았으며, 특히 초임계 유체하의 정류법만으로는 분리가 잘 되지 않았던 C_{18:4}도 비교적 잘 분리가 이루어졌다. 그러나 EPA와 DHA간의 겹치는 부분은 여전히 존재하였으며, 이 방법에 의하여 EPA는 최대 60%, DHA는 최대 67%까지 농축되었고, 이 두 성분을 합할 경우 최대 80% 이상 농축할 수 있었다.

V. 결 론

충진높이가 1800mm, 탑하부온도 40℃, 탑상부온

도 70℃, 탑정온도 100℃로 온도구배가 있는 초임계 유체 정류탑에서 100bar의 압력과 52.43L/min (25℃, 1atm)의 유량으로 초임계 이산화탄소를 통과시켜 어유 FAEE를 분리하는 실험을 수행한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 초임계 유체 정류실험 결과 상대 휘발도에 따라 어유 FAEE의 분리가 가능하였다.

2. EPA 12.2%, DHA 10.7%인 어유 FAEE를 원료로 분리할 경우 최대 농축농도는 EPA, DHA 및 이 두 성분을 합한 것이 각각 41%, 43%, 57%로 나타났다.

3. EPA 31.9%, DHA 28.4%인 어유 FAEE를 원료로 분리할 경우 최대 농축농도는 EPA, DHA 및 이 두 성분을 합한 것이 각각 60%, 67%, 80%로 나타나 고농도농축을 보여주었다.

문 헌

1. Kinsella, J. E., *Food Technol.*, 40(2), 89 (1986).
2. 鹿山光, *J. Korean Oil Chemist' Soc.*, 13(3), 15 (1996).
3. Ishikawa, H., Inuzuka, M. and Moriya, T., *Kagaku Kogaku*, 56(10), 744(1992).
4. Inoue, S., *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, 15(3), 446(1989).
5. Haagsma, N., van Gent, C. M., de Jong, R. W. and van Doorn, E., *JAOCs*, 99, 117(1982).
6. 김재덕, "초임계유체 추출기술", KAIST 최신분리공정 및 응용 교재, p.207(1995).
7. Eisenbach, W., *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 88, 882(1984).
8. Suzuki, Y., Konno M., Arai, K. and Saito, S., *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, 15(3), 439 (1989).
9. 김재덕 · 임종성 · 이윤우, "*J. Korean Oil Chemist' Soc*", in press(1997).