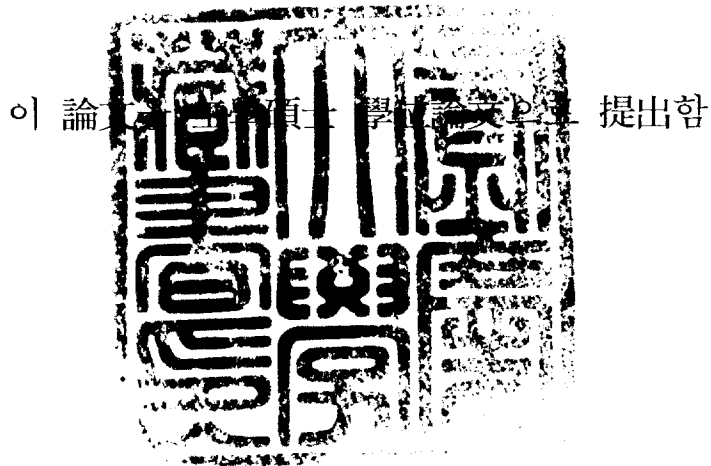


공학석사 학위논문

초임계 이산화탄소를 이용한 마늘로부터 함황화합물의 추출

지도교수 전 병 수



2005년 2월

부경대학교 산업대학원

식품산업공학과

김 재 호

이 논문을 김재호의 공학석사
학위논문으로 인준함

2004년 12월 18일

주 심 공 학 박 사 이 근 태



위 원 농 학 박 사 안 동 현



위 원 공 학 박 사 전 병 수



목 차

Abstract	1
----------------	---

서 론	3
-----------	---

재료 및 방법

1. 재료 및 시약	16
2. 실험방법	16
2-1. 마늘의 일반성분 분석	16
2-2. 유기용매를 이용한 추출법	17
2-2-1. 유기용매 추출 후 추출물의 분석	17
2-3. 초임계 이산화탄소 추출장치	17
2-3-1. 초임계 이산화탄소 추출장치를 이용한 추출법	20
2-3-2. 초임계 이산화탄소 추출 후 추출물 분석	21

결과 및 고찰

1. 마늘의 일반성분 함량	23
2. 유기용매를 이용한 함황화합물의 추출	25
3. 초임계 이산화탄소를 이용한 함황화합물의 추출	28

결론 및 요약	35
---------------	----

참 고 문 헌	37
---------------	----

Abstract

Supercritical carbon dioxide extraction was carried out to extract sulfur compounds from garlic (*Allium Sativum L.*) at different conditions with entrainer, ethanol and methanol. The extraction system used in this study was a semi-batch flow type extraction unit which was equipped with 300 mL of vessel volume made of stainless steel materials designed up to 350 bar. The ranges of temperature and pressure applied were 40°C and 100 – 200 bar respectively. Garlic powders were prepared after freeze-dried and 30g of the garlic powders were contacted with supercritical CO₂ and entrainer for 60 minutes.

To identify sulfur compounds in the extracts recovered at different extraction conditions GC-MS was performed. In the extracts by methanol the content of sulfur compound, 24.4% of 2-vinyl-4H-1,3-dithiin, was slightly lower than supercritical CO₂ extracts. In case of supercritical CO₂ extraction with methanol, 18.4% of allyl trisulfide were contained in the extracts at 40°C, 200 bar.

12.3% of allicin were extracted by supercritical carbon dioxide with ethanol at 40°C, 200 bar. The kind of the sulfur compounds extracted by supercritical CO₂ with entrainer were allyl disulfide, allicin, 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene, 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-5-ene, 2-vinyl-1,3-dithiane, trisulfide and allyl trisulfide. We found that these results were similar to those of methanol extraction.

The sulfur content extracted using methanol was more than that by supercritical carbon dioxide. But, extraction of organic solvent has the problems such as heat-denaturation, extant solvent and many unit operations to purify and remove the remaining solvent. Therefore, to improve the add-in value of drug and functional food, supercritical fluid extraction method is suitable.

서 론

마늘(*Allium sativum* L.)은 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.

이시진의 본초강목에 의하면 마늘은 강장, 강정, 식욕부진, 정장, 변비, 항균, 살충, 이뇨, 혈압강하, 각기, 신경통 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 또한 마늘은 항생물질로도 널리 이용되고 있는데, 미국의 국립 암 연구소에서는 마늘의 유황 화합물이 강력한 천연 암 예방물질로서 작용한다고 보고하였다.

마늘의 유효성분으로는 Alliin (S-allyl-L-Cystein sulfoxide), Allyl sulfide, Pyruvic acid, 휘발성 정유성분 등이 존재한다고 보고되어져 있다. Allin은 alliinase와 H₂O에 의해서 분해되며, 분해 산물로써 Pyruvic acid, Ammonia, Diallyl thiosulphinate(allicin)를 생성한다.

이 중에서 중요한 것은 앞에서 설명한 바와 같이 유효 유황 성분인 allyl sulfide와 alliin 분해 시 생성되는 allicin인데, 이런 성분들의 작용으로서 마늘이 기능성 식품으로서의 효과를 발현한다

고 보고 되어져 있다.

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 등이 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 기술(SCF, Supercritical Fluid Technology)은 최근 20여 년간 미국, 일본 및 독일 등 선진 외국의 화학 산업분야에서 새로운 관심을 모으고 있는 최신 분리기술의 하나라 할 수 있다. 초임계 상태란 유체의 고유 임계점 이상의 압력과 온도에서 기체상과 유사한 확산계수, 점도 등의 전달 물성을 갖고 액체상과 비슷한 밀도를 갖도록 조절시켜 놓은 양면성 상태 하의 유체를 말한다.

균질의 유체들은 보통 액체와 기체 두 가지로 구분된다. 그렇지만 임계점(Critical point)에서는 두상의 구분이 어렵기 때문에 이러한 구분이 항상 명확하지만은 않다. 이에 초임계 유체 추출(Supercritical fluid Extraction)을 임계점 근처의 온도와 압력에서

존재하는 초임계 유체 중에 비휘발성의 고체가 증기압으로부터 계산된 예측보다 훨씬 높이 비이상적으로 용해되는 현상을 이용하는 최근의 새로운 물질분리 기술이라 칭한다.

초임계 유체는 임계점 이상의 영역에 있는 유체로서 추출에 사용되는 유체의 압력이 기체 때보다 높은 밀도에서 추출공정이 수행되므로 농축 기체추출이라고도 한다. 초임계 추출에서 용매의 용매력은 용매의 밀도에 의존하므로 추출공정에서 물리적 성질변화에 따른 초임계 유체의 상 거동에 대한 이해가 필요하다. Fig.1은 순수한 이산화탄소에 대한 온도를 매개 변수로한 압력과 밀도 변화에 따른 상 거동을 나타낸 것이다. 이산화탄소의 임계점은 임계온도 31.1°C , 임계압력 73.8 bar , 임계밀도 0.468 g/cm^3 의 값을 나타낸다. 이 임계점 부근에서는 물성이 크게 변화하는데 특히 밀도는 주어진 등온선에서 압력변화에 의존하므로 혼합물질로부터 용질을 용해하는 능력과 깊은 관계가 있다. 그림에 나타낸 SCF는 초임계 유체 추출에 주로 적용되는 영역으로 환산온도 (T_r) 환산압력(P_r)는 각각 $T_r=(1.0\sim 1.4, 31\sim 92^{\circ}\text{C})$, $P_r=(0.8\sim 4, 28\sim 200\text{ bar})$, $\rho_r=(0.5\sim 2, 0.24\sim 0.94\text{ g/cm}^3)$ 이다. 이 영역에서는 압력과 온도변화에 의하여 밀도가 변해 혼합물질로부터 추출되는 용질의 추출효율 및 성분이 다르게 나타나므로 따라서 주어진 계의 조건에 따라 특정성분을 선택적으로 분리 할 수도 있다.

특히 초임계 유체에 대한 비휘발성 성분의 용해도는 유체에 밀도에 영향을 받을 수 있다. 그리고 NCL(near-critical liquid)은 초임계 유체영역 아래에 존재하는 임계점 부근에서의 추출공정으로 임계온도보다 낮은 온도에서 압력변화에 따른 유체의 밀도는 액체에 근접하는 값을 나타내며, 추출속도가 낮아 이 영역에서의 추출은 천연물질로부터 비휘발성 성분을 추출하는데 응용된다.

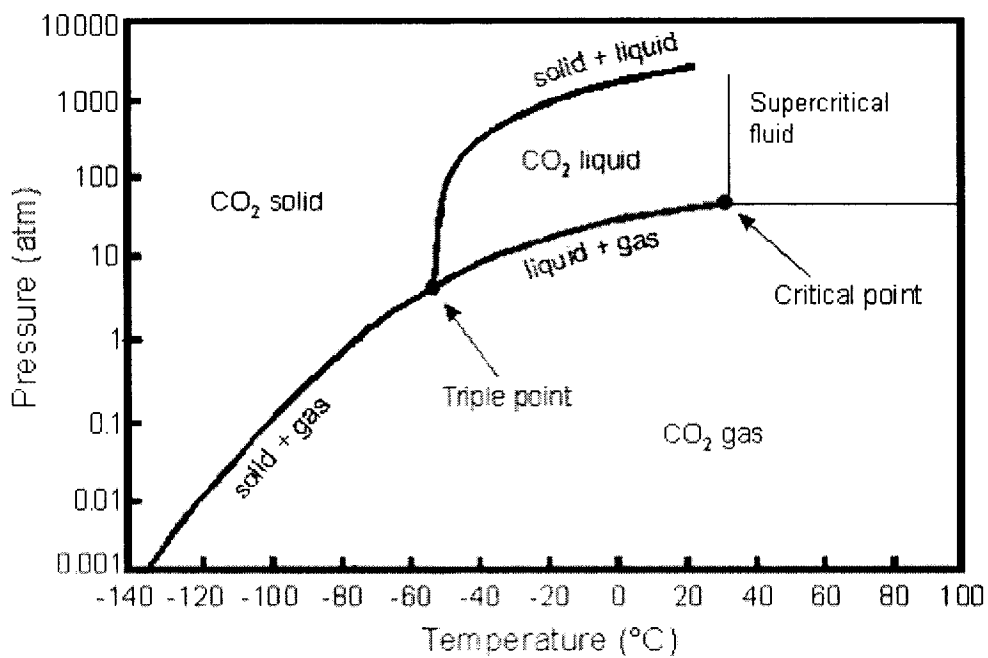


Fig. 1. Pressure- Temperature phase diagram for CO₂.

초임계 유체를 이용하는 추출법은 시료로부터 특정성분을 선택적으로 추출하면서 추출속도를 높이고 유효성분을 손상 없이 분리할 수 있는 특성을 지니고 있다. 초임계 유체는 액체 유기용매와 마찬가지로 비휘발성 물질을 비교적 낮은 온도에서 용해시키는 특수한 전달 물성치인, 밀도, 점도 및 확산계수를 갖고 있어 시료로부터 특정성분을 선택적으로 추출할 수 있으며, 유체의 이동속도가 빨라 추출물을 함유한 유체가 이동될 때 압력강하가 작다. Table 1은 초임계 유체, 기체 그리고 액체의 물성치를 비교한 값이다.

이와 같이 초임계 유체는 기체와 액체의 중간 성질인 독특한 물성이다. 초임계 유체의 점도는 액체에 비해 작고 확산계수는 액체의 값보다 크기 때문에 초임계 유체를 추출용매로 사용할 때 빠른 물질전달이 일어나 평형상태에 신속하게 도달한다. 이와 같이 초임계 유체는 상온 상압에서의 기체나 액체보다 용질의 용해력이 높고 빠른 물질전달 특성을 지니고 있다. 따라서 앞의 독특한 물성치들은 초임계 유체를 이용한 추출공정에서 추출효율을 증가시키는데 중요한 인자로서의 역할을 하고 있다.

초임계 유체로 사용되는 추출용매의 임계점은 추출 대상 물질의 선택과 추출공정의 설계에 대한 중요한 요인이 된다. 분자의 크기 및 극성이 다른 초임계 추출용매들에 대한 임계점을 Table

2에 나타내었다. 그 중 이산화탄소는 초임계 추출용매로서의 여러 가지 장점을 지니고 있어 가장 많이 사용되고 있다. 이산화탄소는 비극성물질이기 때문에 소수성 물질인 ester, alcohol, aldehyde, ketone류 추출에 적용될 수 있다. 극성물질은 추출할 경우 공비첨가제를 사용하여 이산화탄소의 용해력을 증진시키고 선택성을 변화시킬 수 있어 초임계 이산화탄소에 물을 공비첨가제로 사용하여 caffeine, nicotine, pyridine 같은 화합물을 추출할 수 있다.

Table 1. Typical physical properties of supercritical fluid

Property	Phase		
	Gas	SCF	Liquid
Density (g/cm ³)	$(0.6\sim2.0)\times10^{-3}$	0.2~0.9	0.6~1.6
Diffusivity (cm ² /s)	0.1~0.4	$(0.2\sim0.7)\times10^{-3}$	$(0.2\sim2.0)\times10^{-5}$
Viscosity (cps)	$(1\sim3)\times10^{-3}$	$(1\sim9)\times10^{-2}$	0.2~3.0

Table 2. Supercritical solvents and their basic constants

Solvents	B.P.(°C)	Critical data		
		T _c (°C)	P _c (MPa)	ρ _c (g/cm ³)
CO ₂	-78.5	31.3	7.38	0.448
NH ₃	-33.4	132.3	11.27	0.240
H ₂ O	100.0	374.4	22.97	0.344
Methanol	64.7	240.5	7.99	0.272
Ethanol	78.4	243.4	6.38	0.276
Isopropanol	82.5	235.3	4.76	0.273
Ethylene	-103.8	9.3	4.98	0.217
Propylene	-47.8	91.9	4.62	0.232
Ethane	-88.0	32.4	4.89	0.203
n-Propane	-44.5	96.8	4.25	0.220
n-Butane	-0.5	152.0	3.80	0.228
n-Pentane	36.3	196.6	3.37	0.232
n-Hexane	69.0	234.2	2.30	0.234
2,3-Dimethylbutane	58.0	226.8	3.14	0.241
Benzene	80.1	288.9	4.89	0.302
Toluene	110.7	318.6	4.11	0.292

초임계 유체추출의 용매 중 이산화탄소는 무독성이고 무균성이며, 불연성이어서 폭발의 위험이 없고 경제적이다. 특히 초임계 이산화탄소는 용질과 용매의 분리가 용이하여 초임계 유체추출의 용매로 가장 많이 사용되고 있다.

초임계 유체 공정은 목적성분을 추출하는 과정과 목적성분을 회수하는 분리과정으로 이루어진다. 추출단계에서는 시료와 초임계 유체용매가 서로 밀접하게 접촉하여 시료중의 가용성분이 초임계 유체로 용해된다. 추출단계에서 나온 용질을 함유하고 있는 초임계 유체는 분리단계에서 용질과 분리된다. 분리된 초임계 유체는 압력과 온도가 다시 조정되어 추출단계로 재순환되거나 배출된다. 추출단계에서는 실험조건(온도, 압력)을 조정함으로써 초임계 유체의 용해력을 변화시켜 시료중의 특정성분을 선택적으로 추출할 수 있다. 마찬가지로 분리단계에서도 실험조건을 변경하여 추출물의 성분을 분류할 수도 있다. 온도변화를 이용한 분리공정이 압력변화를 이용하는 분리공정보다 에너지 절약면에서 기대성이 있으나, 대체로 열변화에 약한 천연품이나 의약품에 응용시 온도변화에 의한 분리방법은 주요한 성분들의 손실을 초래할 수 있으므로 압력변화에 의한 분리조작이 더욱 널리 이용되고 있다.

비휘발성 용질이 초임계 유체로 이동하는 현상을 용질분자가

고밀도 응축상으로부터 저밀도 팽창성인 초임계 유체로 이행하는 증발현상이라고 볼 수 있고, 또 한편으로는 용질과 용매간의 상호작용에 의한 용해현상이라고 볼 수 있다. 이와 같이 초임계 유체추출 기술은 증류와 용매추출의 원리가 같이 적용되는 복합기술의 성격을 갖고 있는 까닭에 여러 가지 독특한 장단점을 갖는다.

먼저 초임계 유체추출의 장점을 살펴보면 첫째 압력과 온도의 조작에 의한 고밀도 상태에서 저밀도 상태의 어떤 조건설정도 가능하기 때문에 분별증류, 분리 등의 선택성이 뛰어나서 고순도의 제품을 얻을 수 있다. 둘째, 초임계 추출공정이 비교적 낮은 온도에서 수행되기 때문에 열변성 물질 추출 시 매우 유용하고, 에너지나 장치비의 소모가 큰 증류나 추출과 같은 분리조작이 필요치 않다. 셋째, 식품 및 의약품에 응용 시 추출용매로서 탄산가스와 같은 무독성 물질을 이용하므로 최종제품에 인체에 해로운 불순물이 없고, 사용되는 추출용매들은 일반적으로 저장에 용이하고 값싸게 구입할 수 있다. 넷째, 잔존용매가 없는 정제물을 얻을 수 있고, 환경을 오염시키지 않는 무공해 공정이 가능하다. 다섯째, 초임계 유체의 점도가 작으므로 시료에의 침투성이 좋아서 추출효율이 높으며, 또한 확산계수가 크므로 추출속도가 빠르며 과피추출물질과 친화력이 강한 물질을 첨가함으로써 추출대상물의 용

해도를 증대시켜 추출효율을 높일 수 있다. 여섯째, 초임계 유체의 용해력을 조절하여 추출물을 분류 증류 할 수 있어 화학적 성질과 휘발도가 유사한 성분도 용이하게 분리할 수 있다.

초임계 유체 추출은 이러한 여러 가지 장점들과 특성들을 이용하여 다양한 식품 소재의 추출에 이용되어져 왔으며, 혼합물의 분리 정제를 목적으로 하는 기초 연구와 실제 분리 공정에 응용하기 위한 많은 연구 사례들이 보고되었다. 초임계 유체추출기술은 고도의 물질 분리기술로서 의약, 식품, 향료 등과 같은 정밀화학공업, 석유화학, 에너지 산업 등 응용범위가 넓을 뿐 아니라 화학반응의 매체로서 고분자 물질의 정제, 초임계 유체 크로마토그래프 등으로 응용분야가 확대되고 있다.

따라서 본 연구는 마늘로부터 이산화탄소에 의한 초임계 이산화탄소 추출법을 이용하여 식품 산업 및 의학 분야에서 요구되는 마늘의 기능성 물질인 함황화합물을 추출 및 동정하여 기능성 식품, 제조에 의한 부가가치 부여로 그 이용성을 증대시키고자 하였다.

Table 3. Application areas for supercritical fluid extraction

Chemical and food industries	Fractionation, Por
	ous, Swell polymers
	Chemical fiber
	Chemicals from coals,
	metals isotopes, alcohol
	Spice extracts , Aroma and essence
	Lecithin , Fat free proteins
	Vegetable fats and oils
	Animal fats, Fat refining
	Natural coloring substances
Pharmacy	Catalyst treatment
	Reduction of alcohol in beverages
Recycling of residue	Alkaloids , Sterines, Antibiotics
	Used oils, Polymer wastes

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

마늘(*Allium sativum* L.)은 구매하여 엽경을 제거하고 인경 부위만을 동결건조 후 분쇄하여 size 350 μ m로 체질한 뒤 -65℃ 이하의 암냉소에서 보관하며 사용하였다. 실험에 사용된 이산화탄소는 순도 99.9%의 식품용이고 분석에 사용된 시약은 1급 시약이었다.

2. 실험방법

마늘에 함유되어 있는 함황화합물의 추출율을 알아보기 위하여 유기용매를 이용한 추출법과 초임계 이산화탄소 추출법으로 추출한 추출물을 비교하였다.

2-1. 일반성분 분석

수분함량은 105℃ 건조법, 회분은 550℃ 전기로에서 시료를 처리하여 계산하였으며, 조지방은 ethanol을 이용한 Soxhlet 추출법, 조단백질은 Kjeldahl법에 따라 실험하였다.

2-2. 유기용매를 이용한 추출법

시료 10 g과 MeOH 100 mL 섞어 60℃에서 3시간 동안 교반하며 추출하였다.

2-2-1. 유기용매 추출 후 추출물의 분석

추출물은 원심분리기(Hanil, MF 550, 5500rpm)를 이용하여 3000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액만을 분리하여 여과한 뒤 GC/MS로 분석하였다. GC/MS의 분석조건은 Table 4에 나타내었다. 각 성분은 GC/MS에 의해서 얻은 total ion chromatogram에서 각 peak의 mass spectrum과 Willey NBS(National Bureau of Standard, Washington, D.C.)를 사용한 Library Search System을 이용하여 확인하였다.

2-3. 초임계 이산화탄소 추출장치

초임계 이산화탄소를 이용한 마늘로부터 함황화합물 추출에 대한 장치는 Fig. 2에 나타내었다. 추출조는 300 mL인 고압용 stainless steel을 사용하였고 초임계 유체 line은 1/4"와 1/8"의 stainless steel pipe (316ss)를 사용하였다. 액체 이산화탄소로부터 용매를 초임계 압력으로 변환시키는 고압펌프는 36.2 MPa의 용량을 가진 pump로 추출조로 유입되는 이산화탄소의 유량을 정

량적으로 pumping하였고, 보조용매인 ethanol (99%)을 정량적으로 주입 시킬 수 있는 보조용매 pump로는 Solvent Delivery Pump (Young-lin scientific Co., No. : 930)를 사용하였다. 고압 상태로 추출조에 들어가고 나오는 초임계 이산화탄소의 온도를 측정하는 digital temperature measuring (Waveteck, No. : 112020) 장치를 이용하여 초임계 유체의 온도를 측정하였으며 추출조의 압력은 초임계 유체가 추출조로 들어가는 하단은 digital pressure measuring (Valcom, No. : VPRQ-A3-350K-4C) 장치로 초임계 유체가 추출조를 통과하여 나오는 추출조 상단은 Cole parmer gauge로 측정하였다. System 내의 압력은 1개의 BPR (Back Pressure Regulator) valve로 조절하였고, 추출탑 내의 apt한 압력은 metering valve와 needle valve로 조절하였다. 또한 초임계 이산화탄소를 이용한 추출공정에서 휘발성 함유화합물을 분리 및 농축하기 위하여 분리조에 cold trap을 장착하여 분리조 내부의 온도가 15℃ 이하가 되도록 하였으며, 분리된 유체는 flow meter (Sinagawa, No : DC-2A)를 거쳐 대기 중으로 방출되도록 구성되었다.

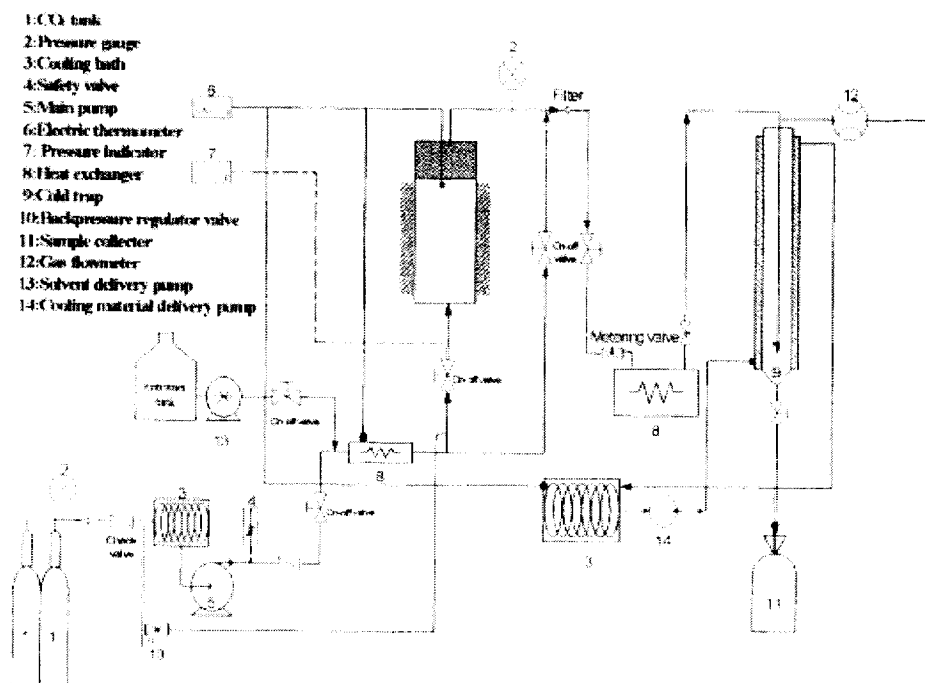


Fig. 2. Flow diagram of supercritical fluid process.

2-3-1. 초임계 이산화탄소 추출장치를 이용한 추출법

실험에 사용된 초임계 추출장치는 추출저의 크기를 변경할 수 있도록 제작되었다. 실험 방법은 포화 압력 상태인 이산화탄소가 cylinder로부터 냉각기 (-20°C)를 통과하여 이산화탄소 내에 존재하는 기포가 제거도니 후 고압 metering pump에 의해 일정한 유량으로 유입되어 system 내의 설정 압력까지 수행되어졌다. 고압 펌프로부터 추출조에 유입되기 전에 추출 용매로 작용하는 이산화탄소와 보조용매 pump로부터 유입되는 ethanol은 설정된 추출 온도에 따라 항온조에 의해 예열되어진다. 추출조 내의 온도는 thermocouple에 의해 감지되어 추출 온도를 조절하게 되며 추출조 외부에 heating jacket을 설치하여 추출조 내부의 온도를 일정하게 유지시켰다. System 내의 전체 압력은 BPR valve를 부착시켜 순간 압력변화로 인한 system 내의 추출 조건 변화를 방지하였다. 고압 pump와 압력 조절기 앞에 7 micron filter를 설치하여 추출이 진행되는 동안 이산화탄소와 고체 시료의 입자에 의한 system의 흐름이 중단되는 것을 방지시켰으며 safety pressure를 제거하였다. 또한 실험 종료 후 system 내의 고압으로 인한 압력의 역류로 고압 pump의 손상을 방지하기 위하여 고압 pump 출구에 check valve를 설치하였다. 초임계 이산화탄소는 추출조 내의 시료로부터 휘발성 황화합물의 소실을 최소화하

기 위하여 cold trap을 설치하였다. 이때 추출과정 동안 사용된 이산화탄소의 양은 이산화탄소가 gas meter를 통과하면서 측정되며, gas meter를 통과한 이산화탄소는 대기로 방출된다.

2-3-2. 초임계 이산화탄소 추출 후 추출물 분석

추출된 시료를 여과하여 GC/MS에 의해 분리·동정하였고 GC oven (HP 6890) 및 MS(HP 5973)의 작동조건은 Table 4에 나타내었다.

Table 4. Operation condition of gas chromatography & mass for analysis on the Gallic

Gas Chromatography	
Instrument	Hewlett Packard 5890 series II
column	HP-1 fused silica capillary column, 0.32 × 30 mm 65℃(1min)-5℃/min-230℃(10min)
Carrier gas	N ₂ ,1 mL/min
Split ratio	1 : 50
Injector	250℃
Detector(FID)	270℃

Gas Chromatography Mass	
Instrument	Hewlett Packard 5988 I
column	HP-1 25 mm × 0.330 mm × 0.2 mm 65℃-5℃/min-300℃
Ionization voltage	70eV
MS range	30~33 m/e

결과 및 고찰

1. 마늘의 일반성분 함량

마늘의 수분, 회분, 조지방, 조단백질을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 마늘의 성분함량은 품종, 재배조건 및 저장조건 등에 따라 다르지만 식품성분 분석표와 Shin이 보고한 마늘의 수분, 조단백질, 조지방, 조회분 등 일반성분 분석 결과와 본 실험 결과를 비교해 볼 때 유사하였다.

Table 5. Proximate composition of garlic

(dry basis)	
Composition	Content (%)
Moisture	60.41
Crude ash	1.3
Crude fat	0.5
Crude protein	3.1

2. 유기용매를 이용한 함황화합물의 추출

유기용매를 이용하여 마늘로부터 추출한 함황화합물의 total ion chromatogram은 Fig. 3과 같으며, 분리된 각 성분을 GC/MS에 의해 확인한 결과는 Table 6과 같다. 확인된 성분은 7가지로 이들이 분리된 시간은 7.7, 9.9, 10.0, 10.3, 10.6, 12.3 그리고, 15.6 min으로 비교적 짧은 시간대였으며, 그 중 가장 많이 함유하고 있는 성분은 2-vinyl-4H-1,3-dithiin 24.4%, 그 다음은 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-5-ene 8.13%, 3-vinyl-1,2-dithio-cyclohex-4-ene 7.20%, allicin 5.93%, allyl disulfide 4.79%, trisulfide 2.37% 순이었으며, 가장 적은 성분은 Ally trisulfide 2.02%로 조사되었다.

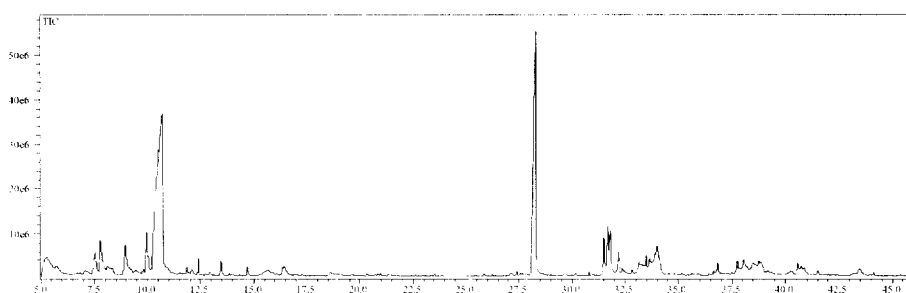


Fig. 3. Gas chromatograph analysis material extraction from garlic using methanol.

Table 6. Sulfur compounds identified from garlic by GC/MS

Peak No.	R.T.	Compounds	Methanol
			Area %
1	7.7	Allyl disulfide	4.79
2	9.9	Allicin	5.93
3	10.0	3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene	7.20
4	10.3	3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-5-ene	8.13
5	10.6	2-vinyl-1,3-dithiane	24.4
6	12.3	Trisulfide	2.37
7	15.6	Allyl trisulfide	2.02

3. 초임계 이산화탄소를 이용한 함황화합물의 추출

초임계 이산화탄소를 이용하여 한 시간 동안 40℃, 200 bar에서 methanol과 ethanol을 보조용매로 사용하여 1 mL/min 흘려주면서 10분마다 separator에서 추출물을 50 mL vial에 모았다. 이 과정에서 추출한 함황화합물의 total ion chromatogram은 Fig. 4, 5와 같으며, 분리된 각 성분을 GC/MS에 의해 확인한 결과는 Table 7, 8과 같다.

Methanol에서 확인된 성분은 allyl trisulfide 18.38%가 가장 많았으며, trisulfide 7.09%, 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene 4.14%, 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-5-ene 3.66%, allicin 3.10%순으로 나타났으며 가장 적은 성분은 allyl disulfide로 1.12% 였다.

Ethanol에서 확인된 성분은 Allicin 12.34%, 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-5-ene 8.26%, 3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene 7.12%, allyl disulfide 6.62%, allyl trisulfide 4%, 2-vinyl-1,3-dithiane 2.49% 순으로 함유하고 있으며, 가장 적은 성분은 trisulfide로 1.04%였다.

따라서, 본 실험을 통하여 40℃, 200 bar methanol을 보조용매로 사용한 초임계 이산화탄소 추출이 구취 유발 sulfur 화합물

을 제거하는데 가장 효율적인 공정임을 알 수 있었다.

이와 같은 결과는 Brodnitz 등 및 武政 등이 마늘 추출물 중에 diallyl disulfide가 60~66%, diallyl sulfide가 14%로서 마늘성분의 대부분을 차지한다고 보고한 결과와는 다소 차이가 있었으나 이것은 마늘의 종류, 추출용매, 추출방법 차이 등에 기인하기 때문이라 생각된다.

초임계 이산화탄소에 의한 마늘에서의 함황화합물의 추출은 용매에 의한 추출보다는 비교적 낮은 값이 나온 것은 용매 추출 시 마늘의 조직 안으로 용매의 확산이 더 빠르게 일어났다는 것을 의미한다. 이런 현상이 발생한 원인은 두 가지로 간단히 설명되어 진다. 첫째, 시료의 전처리 조건의 차이를 들 수 있다. 전처리 조건으로 건조, 또는 동결 건조한 시료는 수분이 제거되어 표면이 딱딱하게 처리하여 조직을 파괴하지 않고 목적 성분을 추출하는 초임계 이산화탄소 추출은 용매에 완전히 침수하여 추출하는 용매 추출법에 비해 확산도가 낮아져서 이런 결과를 초래하였을 것이다. 둘째, 초임계 이산화탄소 추출에서 사용되는 용매인 이산화탄소는 비극성이고, 추출물인 함황화합물은 극성이기 때문에 다른 극성 유기 용매에 의한 추출보다 추출량이 떨어진 것으로 예측할 수 있다. 따라서 극성의 보조용매를 사용할 경우 극성인 함황화합물의 용해도를 극대화시킴으로써 더 많은 양의 추출이

가능하리라 생각된다. 그러나, 초임계 이산화탄소에 의한 추출이 유기용매에 의한 추출보다 적은 양이 추출되었지만 정제 및 용매 제거 등의 단위 공정을 지나면서 용매 추출법으로 추출된 추출물은 열변성, 용매잔존, 휘발성 정유성분의 손실 등 많은 문제점이 발생하기 때문에 고부가가치성의 물질을 추출할 때에는 초임계 유체 추출이 적합하다고 생각된다.

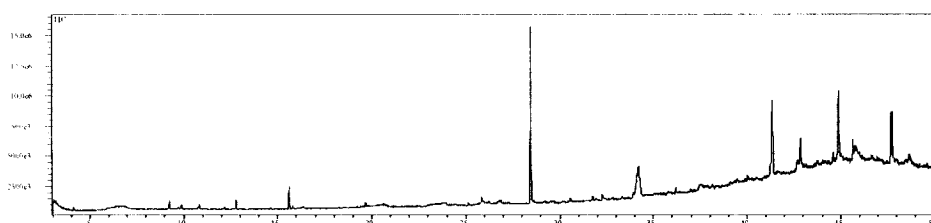


Fig. 4. Gas chromatograph analysis material extraction from garlic using supercritical carbon dioxide(40°C, 200 bar, methanol; 1 mL/min for 1 hr).

Table 7. Sulfur compounds identified from garlic with methanol by GC/MS

Peak No.	R.T.	Compounds	MeOH-CO ₂
			Area %
1	7.7	Allyl disulfide	1.12
2	9.9	Allicin	3.10
3	10.0	3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene	4.14
4	10.3	3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-5-ene	3.66
5	10.6	2-vinyl-1,3-dithiane	3.10
6	12.3	Trisulfide	7.09
7	15.6	Allyl trisulfide	18.38

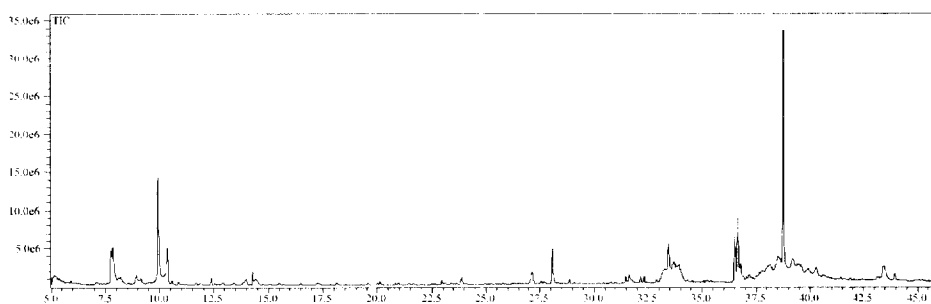


Fig. 5. Gas chromatograph analysis material extraction from garlic using supercritical carbon dioxide(40°C, 200 bar, ethanol; 1 mL/min for 1 hr).

Table 8. Sulfur compounds identified from garlic with ethanol by GC/MS

Peak No.	R.T.	Compounds	EOH-CO ₂
			Area %
1	7.7	Allyl disulfide	6.62
2	9.9	Allicin	12.34
3	10.0	3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-4-ene	7.12
4	10.3	3-vinyl-1,2-dithiocyclohex-5-ene	8.26
5	10.6	2-vinyl-1,3-dithiane	2.49
6	12.3	Trisulfide	1.04
7	15.6	Allyl trisulfide	4.0

결론 및 요약

- Methanol을 이용한 마늘로부터 추출한 함황화합물의 GC 분석을 한 결과 7가지의 성분이 확인되었으며, 그 중 2-vinyl-4H-1,3-dithiin이 24.4%로 가장 많았다.
- 40℃, 200bar에서 methanol을 보조용매로한 초임계 이산화탄소를 이용한 마늘로부터 추출한 함황화합물은 allyl trisulfide 18.35%로 가장 많았다.
- 40℃, 200bar에서 ethanol을 보조용매로한 초임계 이산화탄소를 이용한 마늘로부터 추출한 함황화합물은 Allicin이 12.34%로 가장 많았다.
- 유기용매와 초임계 이산화탄소를 이용한 실험과정에서 추출된 혈소판 응집저해, 지질의 산화방지 및 혈전예방 및 항생 물질인 allcin, allyl methyl disulfide, allyl methyl trisulfide, diallyl disulfide 및 2-vinyl-4H-1,3-dithiin의 추출율은 유기용매가 비교적 높았다.

- 따라서, 본 연구에서는 40°C, 200 bar methanol을 보조용매로 사용한 초임계 이산화탄소 추출이 구취 유발 sulfur 화합물을 제거하는데 가장 효율적인 공정임을 알 수 있었다.

References

Model for dynamic extraction using a supercritical fluid, Bartle, 1990, K. Clifford, S.B. Howthorne, J.J. Langenfeld, D. J. Miller & R. A. Robinson. *Journal of the Supercritical fluids*, 3, 143–149

Interfacial tension in high-pressure carbon dioxide mixtures, 1995a, Chun, B.S. & G.T. Wilkinson, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 34, 4371

Mass Transfer in a Countercurrent Spray Column at Supercritical Conditions, 1995b, Chun, B. S., H. G. Lee, J. K. Cheon, & G.T. Wilkinson., *Korean J. of Chem. Eng.*, 13(3), 234

Supercritical fluid extraction of sunflower seed oil with CO₂-ethanol mixtures, 1996, Cocero, M.J. & L. Calvo., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 1573–1578

Steam distillation and supercritical fluid extraction of some mexican spices, 1990, Dndarza, M. & A. sanchez, *Chromatographia*, 30, 16~20

Solubility of Solid and Liquid in Supercritical Carbon Dioxide,
1982, Chrastil J., *J. Phys. Chem.*, 34, 3016-3021

Supercritical fluid extraction of aromatic compounds, 2001,
Lee, W.Y., *Korean J. Food industry and nutrition*, 13~19

초임계 기체 추출법, 1983, 화학공업과 기술, 이운용, 이훈, 1권
1-14

초임계 유체를 이용한 분리법, 1985, 화학공업과 기술, 이운용,
홍원희, 3권, 59-70

마늘의 생리활성, 1995, 月刊フードケミカル, 62-68

スパイス百科事典, 1981, 武政三男, 三琇書房, 東京, 日本,
173-177

硫黃成分이 마늘의香氣成分에 미치는影響, 1998, 張基運, 黃俊
榮, 禹仁植, 한국토양비료학회지, 21(2):183~193

마늘 추출물의 향기성분에 관한 연구, 1993, 박철진. 김상덕. 오
성기, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25(6), 593~595

초임계 이산화탄소를 이용한 마늘 추출물의 항균효과에 관한 연
구, 2002, 성기천, *J. Korean Oil Chemists' Soc.*, 21, 51~56

우리나라의 허브 : 마늘과 생강, 2004, 홍주영, 대한산업보건협회
BH 영양연구소, 35-40

Food Composition Table. 6th rev., 2001, National Rural Living
Science Intitute. RDA, Suwon, Korea, 106-120

Effect of extraction dehydration methods on flavor
compounds of garlic powder, 1995, Shin D. B., Ghung-Ang
Univ., Ansung, Korea

Supercritical fluids for extraction of flavors and fragnances
from natural products, 1981, Caragay, B.A., *Perfumer &
Flavorist*, 6(4), 43-46

Organic sulphur compounds as flavour constituents ;
Reaction products of carbonyl compounds, hydrogen
sulphide and ammonia, 1975, Boelens, H., L. M. van der
Linde, P. J de Valois, J. M van Dort & H. J. Tan., *Proc.
int'l. Symp.Aroma Research*, 95-100.

Influence of sulphate nutrition of the flavour components of
garlic(*Allium sativum*) and onion(*Allium vineale*)., 1971,
Freeman, G.G & N. Mossadeghi., *J. Sci Food Agric.*, 22,
330-334

Experimental designs, 2nd edition, 1950, Cochran, W. G. & G. M., John Wiley & Sons Co.

Distribution of flavour components in Onion(*Allium cepa* L.), Leek(*allium porrum*) and Garlic (*Allium sativum*)., 1975, Freeman, G.G., *J. Sci. Food Agric.*, 26, 471–481

Chemical investigation on alliin, the specific principle of garlic, 1951, Stoll, A. & E. Seebeck, *Advan. Enzymol.*, 11, 377–379

Flavor componenets of garlic extract, 1971, Brodnitz, M.H., J.V. Pascale & L.V. Derslice, *J. Agar. Food Chem.*, 19, 273–276.

Influence of sulfate nutrition on the flavor components of garlic (*Allium sativum* L.) and wild onion (*Allium vineable*), 1971, Freeman, G. G. & N. Mossadeghi, *J. Sci. Food agr.*, 22:330–334

Effect of ammonium sulfate fertilization in garlic(*Allium sativum* L.), 1981, G. H. Park, Y. J. Kim, G. Yoo, & J.S. Chae, *Inst. Agr. Sci. Techol.* 6:510–518

Determination of aliphatic mono- and disulfides in *Allium* by GC and their distribution in the common food species, 1964, Saghir, A. R., K.M. Richard, A. Bernhard, & J.V. Jacobsen, *Am. Soc. Hort. Sci.* 84:368–398

Volatile Sulfur Compounds in Food Flavours, 1974, Shankaranayana, M. L., b. Raghavan, K.O. Abraham, & C.P. Natarajan, Central Food Technological Research Institute, Mysore, India, 395–435.

Volatile Flavor Compounds Formed in an Interspecific Hybrid between Onion and Garlic, 1993, Chieko Ohsumi, Takahisa Hayashi, Kikue Kubota, & Akio Kobayashi *J. Agric. Food, Chem.* 41. 1808–1810

Comparative study of extraction techniques for determination of garlic flavor components by gas chromatography–mass spectrometry, 2003, Sun–Neo Lee, Nam–sun Kim & Dong–Sun Lee, *Anal Bioanal Chem.*, 377: 749–756

감사의 글

자상한 가르치심과 따뜻한 사랑으로 지도해 주신 전병수 교수님께 진심으로 감사드리며, 세심한 논문 심사를 하여주신 이근태 교수님, 안동현 교수님과 언제나 열성을 다하여 강의를 해주신 장동석 교수님, 조영제 교수님, 김선봉 교수님, 양지영 교수님, 이양봉 교수님께 감사드립니다.

실험과정 동안 항상 힘이 되어 주신 식품공학실험실의 강길윤 박사님, 한정호 선생님, 홍언련 선생님, 김성진, 정선미, 권민진, 신상규, 이선애, 이민경, 이아름 후배와 군생활 열심히 하고 있을 정민우 후배에게 고마움을 전합니다.

그 외 학교를 열심히 다닐 수 있도록 도와주신 해운대 그랜드호텔조리파트 김외영과장님, 박경태계장님, 최성우주임, 같은주방에 근무하는 최승철 계장, 서원호 주임, 하상만, 장성환 등 많은 사랑과 힘이 되어주신 남동생, 누님과 저의 모든 친지분들, 친구들(이인재, 김동운, 김필성, 박주호, 선만주, 윤대화, 박중현, 김기태, 김인중, 이준희, 류현승, 안정호, 배종인, 윤종삼, 이동화, 이재일, 정선화, 최상진, 송현준, 한주형, 예병욱, 황종덕, 박재형, 김성환, 박정걸, 이창구, 김해광)과 전병철, 김건웅, 김영민, 백진 등 많은 후배들에게도 감사의 말씀을 전합니다.

2005. 01. 김재호 올림