

감귤 추출물로부터 D-리모넨 분리를 위한 유사 이동층 크로마토그래피(SMB) 전산모사

김태호 · 고관영 · 김인호[†]

충남대학교 공과대학 화학공학과
 34134 대전광역시 유성구 대학로 99
 (2015년 4월 4일 접수, 2015년 6월 10일 수정본 접수, 2015년 6월 24일 채택)

Simulation of D-limonene Separation from Mandarinine Extract in Simulated Moving Bed (SMB)

Tae Ho Kim, Kwan Young Ko and In Ho Kim[†]

Department of Chemical Engineering, Chungnam National University, 99, Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon, 34134, Korea
 (Received 4 April 2015; Received in revised form 10 June 2015; accepted 24 June 2015)

요 약

리모넨은 오렌지 향이 있는 천연의 키랄 화합물로 주로 감귤껍질과 레몬껍질에 함유되어 있다. 4 °C로 냉장 보관한 감귤 껍질을 에탄올을 용매로 속슬렛 추출기에서 2시간동안 120 °C에서 추출하였다. 역상 HPLC 분석을 통해 d-리모넨과 불순물의 헨리 상수를 계산하여 $H_{Lim}=8.55$, $H_{imp}=0.223$ 를 얻었다. Aspen chromatography 프로그램을 사용해서 0.46×25 cm 칼럼으로 이루어진 4-bed SMB의 리모넨 전산모사를 수행하였고 삼각도내의 m_2 , m_3 값을 변경하면서 순도가 가장 높은 분리 조건을 찾았다. 그 결과 가장 높은 순도는 98.59%이고, $m_2=2.57$, $m_3=9.55$ 였다. 이 때의 feed 유량은 1 mL/min, desorbent 유량은 1.19 mL/min, extract 유량은 0.857 mL/min, raffinate 유량은 1.34 mL/min이었다. Scale-up 전산모사를 위해 칼럼의 직경을 1.6 cm로 늘린 4-bed SMB에서 직경이 0.46 cm인 4-bed SMB와 같은 결과를 갖는 조건을 찾기 위해 유량을 칼럼 부피 비에 정비례하여 증가시켰다. 이 때 feed, desorbent, extract, raffinate의 유량은 각각 12 mL/min, 14 mL/min, 10 mL/min, 16 mL/min이었다. 리모넨과 불순물의 등온흡착곡선을 선형으로 가정하였기에 칼럼 부피에 정비례하여 유량을 증가시키는 scale-up이 가능하였다.

Abstract – Limonene is orange flavored natural material that is mainly contained in mandarine and lemon peels. D-limonene was extracted from cold-stored mandarine peel by using Soxhlet extractor at 120 °C for 2 hours with ethanol as solvent. Henry constants of d-limonene and impurity were calculated as $H_{Lim}=8.55$ and $H_{imp}=0.223$ from the result of HPLC analysis. 4-bed SMB of limonene simulation with 0.46×25 cm columns was conducted by using Aspen chromatography program. Then effective condition for purity was found by changing m_2 and m_3 values in triangle diagram. The highest purity was 98.59% at $m_2=2.57$, $m_3=9.55$. For this case, feed, desorbent, extract, and raffinate flow rates were 1 mL/min, 1.19 mL/min, 0.857 mL/min and 1.34 mL/min, respectively. Scale-up simulation was also conducted by increasing column diameter from 0.46 cm to 1.6 cm for getting the same efficiency. The increased flow rates were 12 mL/min, 14 mL/min, 10 mL/min, and 16 mL/min for feed, desorbent, extract, and raffinate. It was possible to scale-up with maintaining same limonene purity because linear isotherms of limonene and impurity were assumed.

Key words: Simulated Moving Bed (SMB), d-limonene, Aspen Chromatography

1. 서 론

2014년 국내산 감귤의 연간 생산량은 688,000 톤이며, 외국의 경우 2014년 브라질과 미국을 포함한 주요 10개국의 감귤류 생산량은 47,257,000 톤이다. 이들 중 1,841,000 톤가량이 주스로 가공되는데,

가공 중에 엄청난 양의 과피 등의 부산물로 나오고 있다[1]. 감귤 과피에는 천연 정유성분과 카로티노이드, 플라보노이드 및 각종 비타민 등이 다량 함유되어 있기 때문에, 이들의 생리 기능에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[2]. 리모넨(limonene)은 오렌지향이 있으며 분자량이 136.24 g/mol인 비극성 분자이다(Fig. 1)[3]. 이성질체가 존재하며 주로 껍질과 레몬껍질에 함유되어 있다. 모노테르펜으로부터 자연적으로 생성되며 식물을 구성하는 필수적인 성분이다. 감귤 정유 성분의 70~90%를 차지하는 d-리모넨은 향균제, 방취제, 식품, 제약, 화장품 산업에 걸쳐 광범위하게 사용되며 최근에는 대체 세정제로써의 용도로도 사용하고 있다[4]. 최근 연구에서는 d-리모

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: ihkim@cnu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

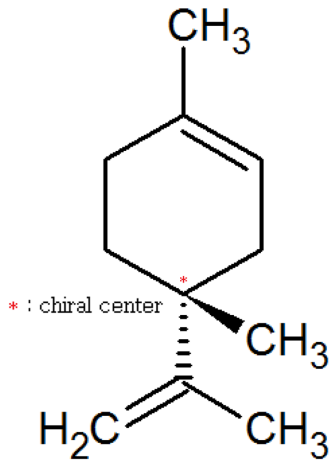


Fig. 1. Structure of d-limonene.

넨의 향암제의 효능이 밝혀져 의학계에서도 연구가 활발히 이루어지고 있다[5,6]. 이러한 d-리모넨을 경제적으로 얻기 위해서는 곁겉질과 같은 천연 부산물로부터 분리하고, 농축시키는 연구가 필요하다.

액체 크로마토그래피(liquid chromatography)는 혼합물로부터 목표물질을 분리하기 용이한 대표적인 장치이다. 크로마토그래피 분리공정은 회분식 크로마토그래피(batch chromatography)가 주로 사용되고 있으나 주입되는 시료가 칼럼 내에서 축 방향으로 분산, 확산되며 회석이 일어나므로 분리된 시료의 추가적인 농축 단계가 필요하며 일회성 공정이므로 지속적인 생산에 어려움이 있다. 연속 크로마토그래피를 구현하기 위해 향류식이동층 크로마토그래피(True Moving Bed; TMB)가 연구되었으나, 실제 공정의 구현이 어렵고 고정상의 이동으로 인한 마모 때문에 고정상의 수명이 짧다는 단점이 있었다. 이를 보완하기 위해 유사이동층 크로마토그래피(Simulated Moving Bed; SMB)가 고안되었다. 이는 고정상이 정지되어 있는 상태에서 밸브를 사용하여 각 node를 switching 함으로써 고정상이 이동하는 효과를 얻는다. 또한 공정의 제작이 TMB보다 간단하며, 용리액의 소모량을 감소시키는 장점이 있다[7].

한편 Aspen chromatography 프로그램을 이용한 SMB 전산모사를 통해 기존의 반복적인 실험에 비해 많은 시간, 인력과 자원의 소모

없이 최적화된 조건을 구할 수 있다. 또한 scale-up시에도 조업 조건을 쉽게 찾을 수 있고 그에 대한 결과를 빠르게 예측할 수 있다. 본 연구에서는 회분식 크로마토그래피인 역상 HPLC를 이용하여 감귤 껍질로부터 추출해 낸 d-리모넨과 불순물을 분리하고, Aspen chromatography에서 사용할 두 성분의 흡착등온식의 매개변수인 헨리 상수를 계산했다. SMB의 삼각형 이론에서 그려진 삼각도 내에서 위치에 따른 리모넨의 순도와 회수율을 비교하고, 가장 효과적인 분리를 할 수 있는 조건을 조사하였다.

2. SMB의 이론적 배경

크로마토그래피는 이동상(fluid)내의 시료가 고정상(solid)과의 흡착하는 정도의 차이에 따라 원하는 물질을 분리하는 기술이다. 고정상과의 흡착력이 작으면 체류시간이 짧고, 반대의 경우에는 상대적으로 긴 체류시간을 갖는다.

Moving bed는 크로마토그래피를 기반으로 한 연속공정이다. Fig. 2는 연속크로마토그래피인 TMB와 SMB의 모식도이다. TMB는 feed가 section 2와 section 3의 사이에 주입되어 칼럼 내에서 분리가 이루어진다. 고정상은 분리되는 두 물질의 평균속도로 이동상의 반대방향으로 이동한다. 이 때 고정상과의 흡착력이 강한 extract는 흡착제의 진행방향인 section 1과 section 2 사이에서 얻을 수 있고 고정상과의 흡착력이 약한 raffinate는 이동상의 진행방향인 section 3과 section 4 사이에서 얻을 수 있다. section 2와 section 3에서는 두 물질의 분리가 이루어지고, section 1에서는 고정상의 세척이 이루어지며 section 4에서는 깨끗한 흡착제가 모든 물질을 흡착하여 이동한다 (Fig. 2a).

이러한 TMB 공정은 실질적인 흡착제의 이동이 칼럼 내 분리대상 물질의 역혼합을 일으키고 마찰, 마모에 의한 손상으로 인해 흡착제 입자의 수명이 짧아 공정을 실현하는데 물리적인 어려움이 있다. 이 문제를 보완하기 위해 개발된 공정인 SMB를 Fig. 2b에 나타내었다. TMB와 마찬가지로 네 개의 구역으로 구성되어 있으며 feed는 feed node를 통해 지속적으로 주입된다. Raffinate 물질은 이동상을 따라 이동하며 section 3에서 분리가 되어 이동상의 이동방향인 raffinate node에서 얻어진다. Section 3에서는 지속적인 feed의 유입으로 인해 밀린 extract와 raffinate가 혼합되어 있는 영역과 순수한 raffinate

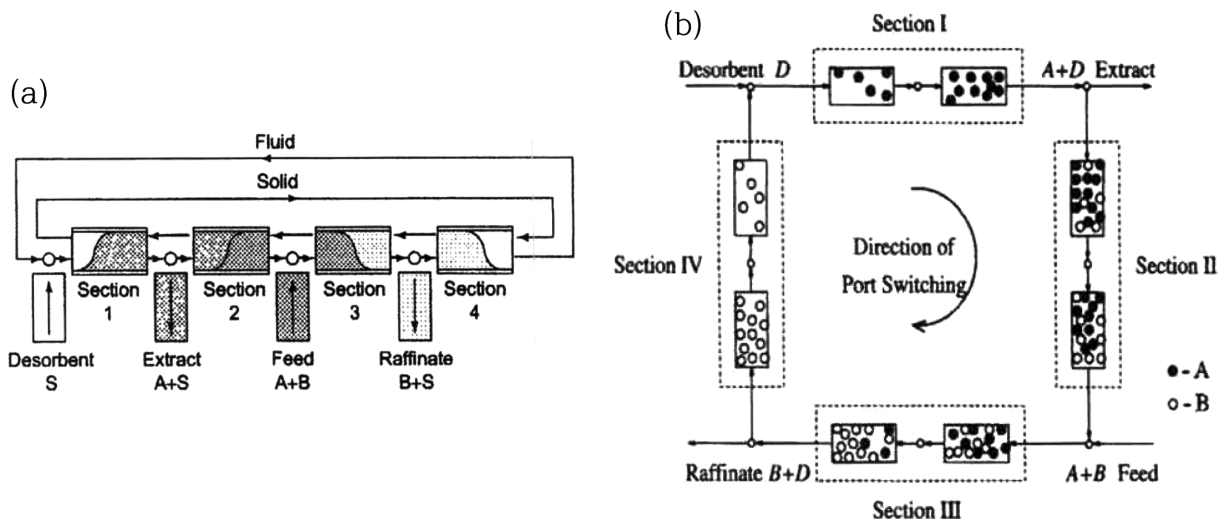


Fig. 2. Diagrams of : (a) 4-section TMB process, (b) 4-section SMB process.

가 존재하는 영역이 공존하게 된다. 순수한 raffinate 영역이 전부 지나고 혼합물 영역이 raffinate node에 도달하면 각 node를 이동상 방향으로 이동시키는데 이를 switching이라고 한다. 이렇게 node를 switching함으로써 실질적인 흡착제의 이동 없이 TMB에서의 흡착제의 이동과 같은 효과를 갖는다. 두 번의 switching 사이의 시간간격을 switching time이라고 한다.

SMB의 각 section의 유량은 각 칼럼의 입구와 출구에서의 물질수지 식으로 계산되며 다음과 같다[8].

$$\text{Desorbent node : } Q_4 + Q_D = Q_1 \quad (1)$$

$$\text{Extract node : } Q_1 - Q_E = Q_2 \quad (2)$$

$$\text{Feed node : } Q_2 + Q_F = Q_3 \quad (3)$$

$$\text{Raffinate node : } Q_3 - Q_R = Q_4 \quad (4)$$

$$Q_{i,4}^{\text{output}} Q_4 = Q_{i,1}^{\text{input}} Q_1 (i = A, B) \quad (5)$$

$$Q_{i,2}^{\text{output}} Q_2 = Q_{i,F} Q_F = Q_{i,3}^{\text{input}} Q_3 (i = A, B) \quad (6)$$

Q_i : flow rate in column i

$Q_{i,j}$: concentration of component i at node j

물질 수지 식들로부터 얻어진 매개변수들로 SMB를 정상상태로 조작하기 위해 기존에 연구되어진 삼각형 이론을 이용할 수 있다 [9]. 이것은 물질의 분리가 일어나는 section 2와 section 3의 평형 상수 값에 따른 고정상과 이동상의 속도에 기반하고 있다. 이 때 switching time과 section의 유량을 결정하는 파라미터인 m 은 이동상과 고정상의 비를 나타낸다.

$$m_i = \frac{Q_i \Delta t - V \varepsilon}{V(1 - \varepsilon)} \quad (7)$$

Q_i : flow rate of column i

Δt : switching time

V : column volume

ε : void fraction of a column

i : column number

삼각형 이론에서 두 물질의 분리가 가능한 조건으로 각 m_i 값의 범위는 흡착등온 계수인 헨리 상수 H_i ($i=A, B$)로부터 다음과 같은 조건을 갖는다[10].

$$H_A < m_1 < \infty \quad (8)$$

$$H_B < m_2 < H_A \quad (9)$$

$$H_B < m_3 < H_A \quad (10)$$

$$\frac{-\varepsilon}{1 - \varepsilon} < m_4 < H_B \quad (11)$$

또한 section 3의 유량은 section 2의 유량에 feed의 유량을 더한 것과 같기 때문에 식 (9)와 (10)으로부터 식 (12)를 얻을 수 있다.

$$H_B < m_2 < m_3 < H_A \quad (12)$$

고정상과 이동상에서의 용질의 흡착도 비인 헨리 상수 H 는 식 (13)을 통해 계산할 수 있다[11-13].

$$H_i = \frac{t_{R,i} - t_0}{t_0} \cdot \left(\frac{\varepsilon}{1 - \varepsilon} \right) \quad (13)$$

H_i : Henry constant of component i

$t_{R,i}$: retention time of component i

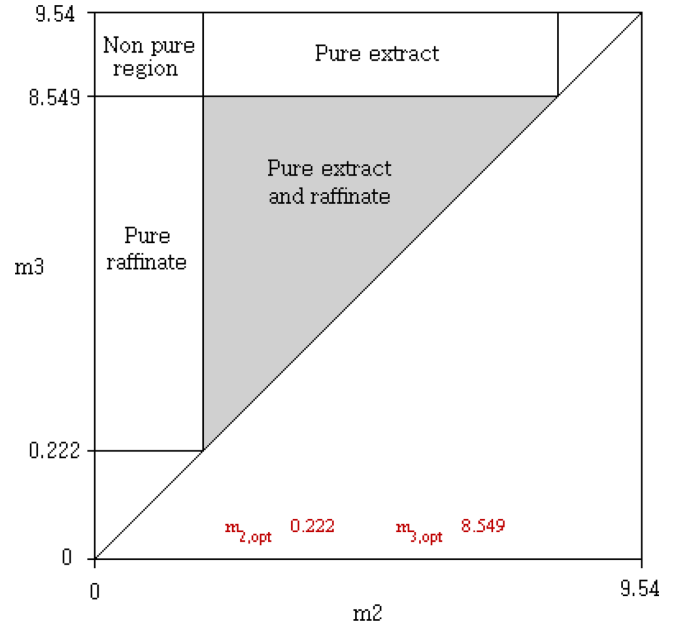


Fig. 3. Triangle diagram with four different zones.

t_0 : dead time

ε : void fraction

삼각형 이론에서 A, B성분의 헨리 상수 값으로 Fig. 3과 같은 삼각형의 범위를 정해 임의의 6개의 점에 대해 각각 전산모사 하고 각 section의 유량 Q 를 식 (1)~(7)에 의해 계산하였다.

3. 실험 및 전산모사

3-1. 귤껍질 추출 및 HPLC 분리 실험

SMB 전산모사에서 중요한 인자인 헨리상수를 계산하기 위해 귤껍질 추출실험 후, HPLC 실험을 통해 리모넨과 불순물을 분리하고 각각의 헨리상수를 식 (13)을 이용하여 계산하였다. 제주도 산지의 특 등급의 ‘남원 감귤’의 껍질을 4 °C에서 냉장 보관을 하고 40 g을 측정 한 후 잘게 찢어 준비했다. 추출을 위해 환류냉각장치, 가열 맨틀(Taisite, China)로 구성된 속슬렛 추출기(Soxhlet extractor, Duran group, Germany)를 이용하였다. 준비한 껍질을 추출관 내부에 담고 에탄올(Duksan Chemistry, Korea)을 용매로 120 °C에서 2시간동안 추출하였다. 추출용액을 1회 여과지(Whatman, UK)를 사용해 여과 하였다.

추출해서 얻은 d-리모넨의 농도를 계산하기 위해 97%(R)-(+)-limonene (Sigma, USA) 표준물질을 사용해 검량선을 얻었다. d-리모넨은 비극성물질이므로 n-헥산으로 희석해 표준 시약을 각각 0.006, 0.032, 0.064, 0.096 mL만큼 측정 한 후 n-헥산 40 mL로 희석하여 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM의 표준용액을 만들었다.

추출된 용액을 분석하기 위해 고성능 액체 크로마토그래피(High-Performance Liquid Chromatography; HPLC) 장치를 사용하였다. HPLC 이동상은 메틸알코올(Samchun Chemical, Korea)과 증류수를 8:2의 부피비로 혼합했다. 펌프는 110B Solvent Delivery Module (Beckman, Germany)로 1.0 mL/min의 유량으로 이동상을 칼럼에 흘려보냈다. 칼럼에 시료를 주입한 injector는 Automated

Switching Valve (Millipore, USA)를 사용했고, 시료의 양은 20 μ L였다. 시료를 분석하기 위한 역상 칼럼으로 URTRAMEX-C18 (Phenomenex, USA)을 사용하였고 규격은 0.46 \times 25 cm, 고정상의 입자 크기는 5 μ m였다. BAS LC-22C Temperature Controller (Bioanalytical Systems, USA)를 사용하여 칼럼의 온도를 25 $^{\circ}$ C로 일정하게 유지하였다. UV 검출기는 783A Programmable Absorbance Detector (Applied Biosystems, USA)를 사용했고, 파장은 200 nm로 설정하였다. 크로마토그래피 신호는 Autochro Data Module (Younglin Instrument, Korea)과 Autochro 2000 (Younglin Instrument, Korea) 프로그램을 사용하여 PC내에서 Excel 파일로 저장하였다.

3-2. Aspen chromatography를 이용한 SMB 전산모사

Aspen chromatography는 GUI (Graphic User Interface)방식을 사용하고 있어 별도의 프로그래밍 언어를 사용하지 않고도 간편하게 공정도를 도식할 수 있다. 실제로 실험을 하지 않고도 여러 조건에서의 결과를 빠르게 도출할 수 있어 시간과 자원을 절약하여 회분식 크로마토그래피, 이온교환 크로마토그래피, SMB 크로마토그래피 등의 다양한 전산모사에 이용한다.

SMB를 조작하는데 필요한 매개변수들은 회분식 크로마토그래피 실험을 통해 얻으며, 이 방법들을 통해 얻은 값들을 이용해 SMB를 전산모사하고 정상상태로 조작되도록 최적의 조건을 맞추는 것이 중요하다[14]. 감귤피로부터 에탄올을 용매로 하여 d-리모넨을 추출한 후 실행한 회분식 크로마토그래피 실험을 통해 얻은 값들을 Table 1에 정리하였다. 칼럼의 t_0 는 2.29분, d-limonene과 불순물의 t_R 은 각각 18.3분, 2.70분이었다.

Feed의 물질의 농도는 회분식 크로마토그래피에 쓰인 감귤 추출물의 농도인 2.00 g/L로 설정하였다. Table 1의 값을 바탕으로 식 (13)으로부터 H_{Lim} 과 H_{imp} 를 계산한 결과 각각 8.55와 0.223의 값을 얻었다. 위에서 얻은 리모넨과 불순물의 헨리 상수를 기준으로 삼각도를 그리고 Fig. 4에 나타내었다. D-리모넨은 감귤추출물에서 extract에 해당하므로 삼각도에서 pure extract 부분에 가까운 점들을 설정하였다. 먼저 pure extract and raffinate 내의 중앙인 점 ①을 선택하고, ①과 m_2 값이 같은 pure extract 내의 점 ②를 설정하였다. 삼각형의 오른쪽 꼭짓점에 가까운 점 ③을 설정하였고 빗변의 중앙에 위치한 점을 점 ④로 정하였다. 점 ④와 m_2 값이 같고 점 ③과 m_3 값이 같은 점을 점 ⑤로 하였고 마지막으로 pure extract and raffinate 내에서 non pure region에 가까우며 점 ③, ⑤와 m_3 가 같은 점을 ⑥번으로 설정하였다. 해당 점들의 m_2 와 m_3 값은 Table 2에 정리하였다. 회분식 크로마토그래피에서 사용한 칼럼의 크기인 0.46 \times 25 cm 4-bed SMB에서 여섯 점에 대해 전산모사를 수행한 후, 가장 높은 순도를 갖는 점과 삼각형 내의 중앙에 위치한 ①에서 칼럼 사이즈를 1.6 cm로 scale-up했을 때의 4-bed SMB를 전산모사 하였다. 각각의 유량은 각 칼럼의 부피의 비인 1 : 12.1에 맞추어 1 mL/min과 12 mL/min으로

Table 1. Parameters obtained in batch system

Parameter	Value
t_R of impurities	2.70 min
t_R of limonene	18.3 min
Dead time (t_0)	2.29 min
Column size	0.46 \times 25 cm
Column volume	4.15 cm ³
Porosity	0.55

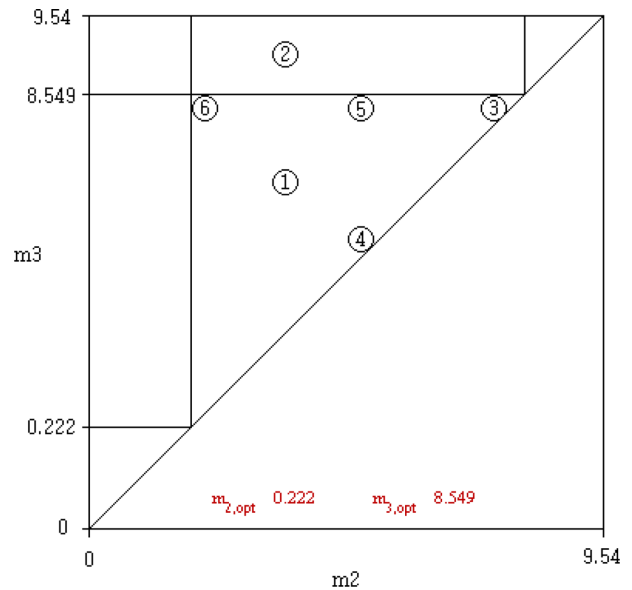


Fig. 4. Six simulated points among various values of m_2 and m_3 in triangle diagram.

Table 2. Values of m_2 and m_3 in triangle diagram

Point No.	m_2	m_3
①	2.57	5.64
②	2.57	9.55
③	8.01	8.31
④	4.31	4.75
⑤	4.31	8.31
⑥	0.533	8.31

Table 3. Parameters for SMB simulation

Parameter	Value	
Column diameter	0.46 cm	1.6 cm
Isotherm	Linear	
H_{Lim}	8.55	
H_{imp}	0.223	
Column length	25 cm	
Porosity	0.55	
Feed flow rate	1.0 mL/min	12.0 mL/min
Feed concentration	2.00 g/L	
Mass transfer coefficient	100,000/min	

설정했다. 선형 등온흡착식(linear isotherm)을 사용했으며 그 외에 필요한 매개변수들을 Table 3에 정리하였다. Mass transfer coefficient는 10~100000/min 범위 내에서 10000/min 단위로 반복 전산모사를 수행하여 크로마토그램 결과에 영향을 주지 않음을 확인하였고, 따라서 프로그램 내의 기본 값인 100000/min으로 설정했다.

전산모사 후에 각 점의 효율성을 비교하기 위해 SMB성능지수에 대해서 순도와 회수율 두 가지를 계산하였다. 계산식은 다음과 같다 [15].

$$\text{Purity [\%]} : \frac{\bar{C}_{Lim,Ext}}{\bar{C}_{Lim,Ext} + \bar{C}_{imp,Ext}} \times 100 \quad (14)$$

$$\text{Recovery [\%]} : \frac{\bar{C}_{Lim,Ext} Q_{Ext}}{\bar{C}_{Lim,feed} Q_{feed}} \times 100 \quad (15)$$

SMB에서는 농도가 시간에 따라 계속 변하므로 농도의 평균값을 사용하여 성능지수를 계산하였다.

4. 결과 및 고찰

4-1. HPLC를 이용한 귤껍질 추출물 분리 결과

97% d-리모넨 표준용액을 분석한 결과 체류시간 4.83분에 불순물의 작은 피크가 검출되었고, 체류시간 19.1분에서 피크가 검출되었다. 따라서 추출용액의 피크 중 19분대에 발생한 피크는 d-리모넨임을 확인 할 수 있다.

추출 용액을 1차 분석한 결과 UV검출기의 출력 범위를 넘어서 2 배 희석한 후 다시 분석한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 작은 피크 여러 개와 커다란 피크가 두 개 형성되어 있는데, 커다란 피크가 형성된 시간은 각각 2.70분, 18.3분이다. 2.70분에 발생한 피크는 d-리모넨 표준용액의 분석에서 검출되지 않은 피크이므로 불순물이고, 18.3분에 검출된 피크는 d-리모넨으로 추정된다. 헨리상수는 위 (3.2)에서 언급했듯이 리모넨의 헨리상수(H_{Lim})는 8.55, 불순물의 헨리상수는 (H_{imp})는 0.223이었다.

4-2. 삼각도 내의 위치별 전산모사 결과

Fig. 6은 삼각도 내에서 pure extract and raffinate 영역의 중앙에 있는 ①, 그리고 pure extract 영역에서 ①과 같은 m_2 값을 가지는 ②의 전산모사의 결과이다. Fig. 6a를 보면 삼각도 내의 점 ①에서의 extract로 분리되어 나오는 리모넨과 불순물의 피크를 볼 수 있다. Feed, extract, raffinate, desorbent 각각의 유량은 1 mL/min, 1.95 mL/min, 1.76 mL/min, 2.71 mL/min이었고, switching time은 5.74분이었다. 정상상태에 도달한 리모넨의 피크는 최소 0.498 g/L에서 최대 1.09 g/L이며, 평균 순도는 97.14%였다. 그에 반해 불순물의 피크는 최대 0.0605 g/L로 리모넨의 농도에 비해 매우 낮았다. 이는 삼각도 내에서 ①의 조건은 pure extract and raffinate 영역의 중앙으로, 이론상 extract와 raffinate를 이상적으로 분리할 수 있는 영역에 속하기 때문이다. 이는 분리되는 물질의 헨리상수의 차이에 관계없이 두 물질 모두 높은 순도로 분리가 가능하다[16,17]. 점 ①에서의 회수율은 87.99%로 삼각도 내의 여섯 점 중 가장 높은 회수율을 보였다. Fig. 6b는 pure extract 내부에서 m_2 의 값이 ①과 같은 점인 ②의 extract의 농도

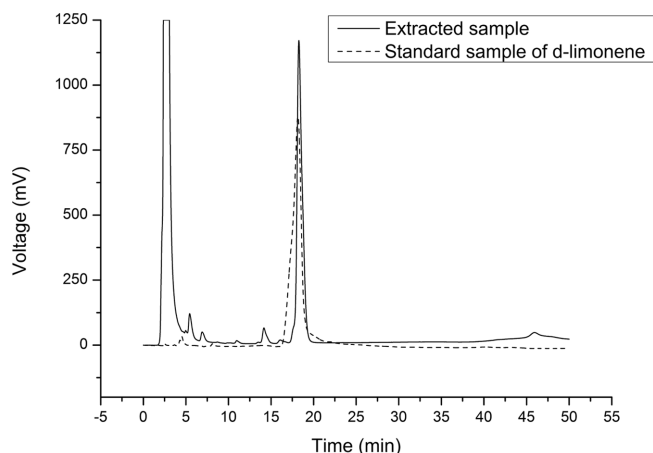


Fig. 5. Comparison of chromatograms between standard of d-limonene and extracted samples.

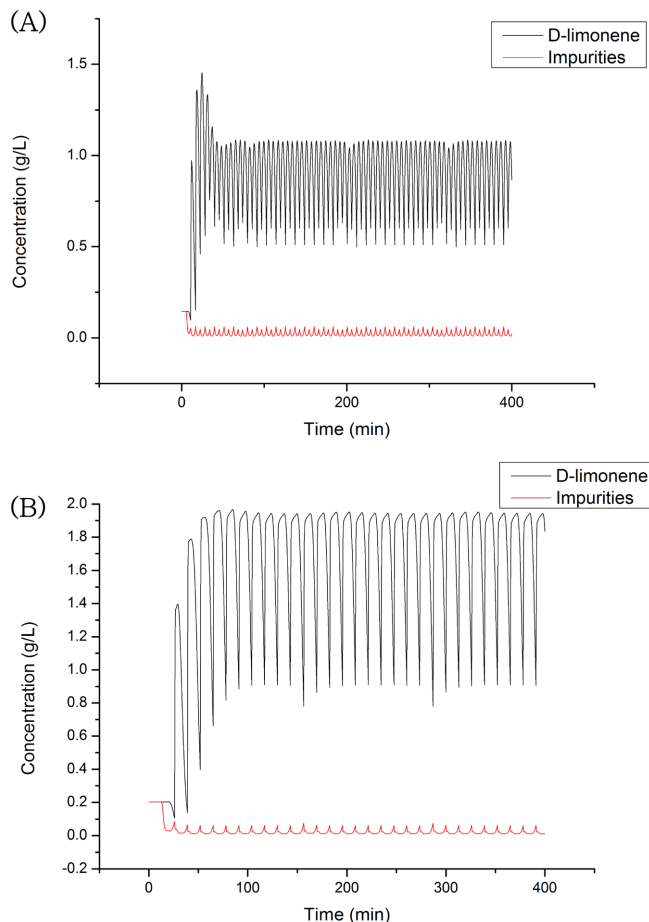


Fig. 6. Concentration histories at extract node; (a) (m_2 , m_3) : (2.57, 5.64) at point ① (b) (m_2 , m_3) : (2.57, 9.55) at point ②.

피크를 나타낸 그래프이다. 그래프의 개형은 ①의 모습과 비슷하나 feed, extract, raffinate, desorbent 각각의 유량은 1 mL/min, 0.857 mL/min, 1.34 mL/min, 1.19 mL/min로 ①에서의 유량보다 작은 모습을 보였고, 특히 extract와 desorbent의 유량은 ①에 비해 1/2도 되지 않았다. Switching time은 13.05분으로 2배 이상 긴 시간을 가졌으며 리모넨의 농도는 최대 1.95 g/L로 매우 높았다. 정상상태의 extract의 평균 순도는 98.59%로 정상상태의 ①의 평균 순도인 97.14%보다 높은 모습을 보였다. 또한 불순물의 농도는 0.0761 g/L로 ①과 마찬가지로 리모넨의 농도에 비해 매우 낮았으며, 회수율은 74.4%였는데, ①과 비교했을 때 평균 농도와 순도 모두 ②가 더 높음에도 불구하고 ①의 extract 유량이 ②의 extract 유량보다 2배 이상 크기 때문에 ①의 회수율이 더 높았다.

Fig. 7은 삼각도 내의 빗변에 가까운 ③과 ④의 전산모사 결과이다. Fig. 7a에서는 pure extract 영역에 가까운 곳에 있으면서 삼각형의 빗변과 가까운 오른쪽 위의 점 ③에서의 extract 농도를 나타냈다. 4 개의 node의 유량은 각각 1 mL/min, 1.82 mL/min, 27 mL/min, 28 mL/min로 Q_{Raf} 와 Q_{Des} 가 매우 컸다. Switching time은 0.55분으로 1 분도 되지 않았다. 리모넨의 농도가 최대 0.0561 g/L이었고 평균 순도는 89.88%로 여섯 개의 조건 중 가장 낮은 순도를 보였다 또한 불순물의 최대 농도는 0.00711 g/L로 리모넨 최대 농도의 10%를 넘어 ③과 ④를 제외한 점들과 비교했을 때 높은 수치를 보였다. 또한 회수율은 4.42%로 여섯 점 중 가장 낮은 회수율을 보였다. 이는 ③에

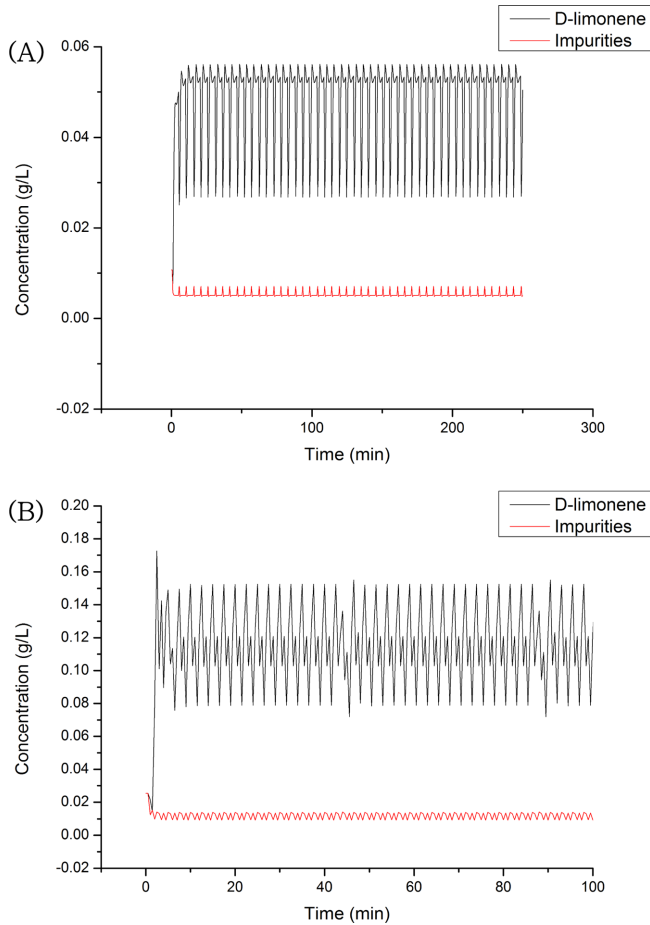


Fig. 7. Concentration histories at extract node; (a) (m_2 , m_3) : (8.01, 8.31) at point ③ (b) (m_2 , m_3) : (4.31, 4.75) at point ④.

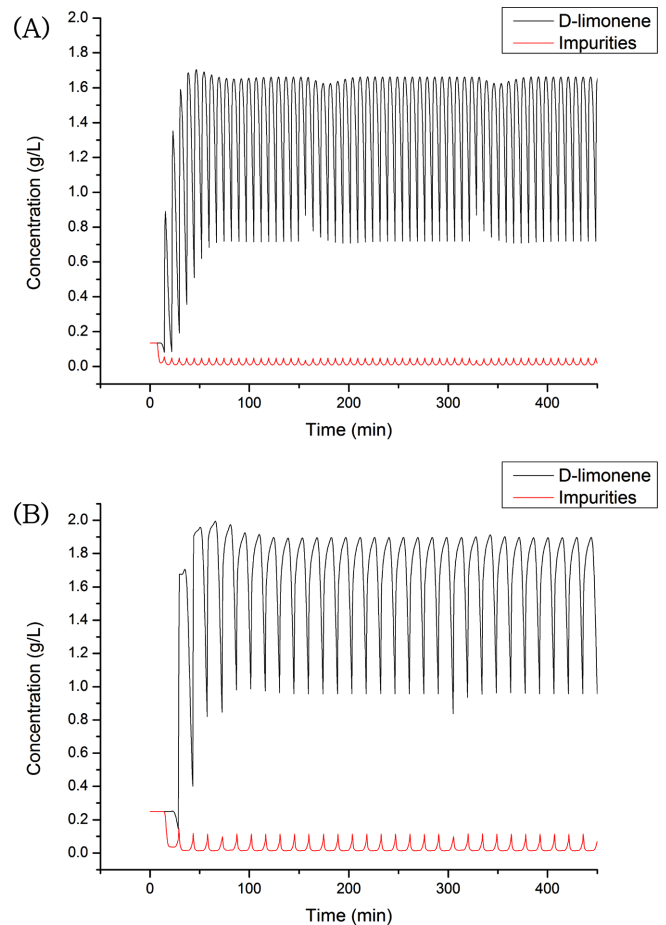


Fig. 8. Concentration histories at extract node; (a) (m_2 , m_3) : (4.31, 8.31) at point ⑤ (b) (m_2 , m_3) : (0.533, 8.31) at point ⑥.

서의 desorbent의 유량에 비해 extract의 유량이 작고, raffinate의 유량이 커 주입된 feed의 대부분이 desorbent에 희석된 후 raffinate로 빠져나간 것으로 보인다. ④의 결과를 나타낸 Fig. 7b에서는 4개의 node 유량은 각각 1 mL/min, 9.56 mL/min, 10 mL/min, 18 mL/min이었다. Extract node의 유량이 다른 다섯 점은 2 mL/min을 넘지 않는 데 비해 9.56 mL/min으로 높은 유량을 보였고 switching time은 ③과 마찬가지로 1분이 채 되지 않는 0.83분이었다. 순도는 90.35%로 리모넨의 농도는 최대 0.155 g/L이었다. 두 점 모두 feed의 농도에 비해 리모넨의 농도가 매우 낮았으며 불순물의 농도는 0.0140 g/L로 리모넨 최대 농도의 9%에 달했다. 회수율은 55.4%로 ③의 회수율보다 훨씬 높는데, extract의 유량이 feed 유량에 비해 매우 크기 때문에 리모넨의 낮은 농도에도 불구하고 주입한 리모넨의 반절 이상을 회수할 수 있었다.

Fig. 8은 삼각도 내에서 pure extract 영역에 가까운 ⑤, ⑥을 각각 전산모사 한 그래프이다. Fig. 8a를 보면 삼각도의 pure extract and raffinate 영역에 속해있는 점 ⑤에서 각 node의 유량은 1 mL/min, 1.06 mL/min, 2.02 mL/min, 2.08 mL/min였고, switching time은 7.48분이었었다. 리모넨의 최대 농도는 1.66 g/L였고, 98.35%에 달하는 높은 순도로 리모넨을 분리할 수 있었다. 불순물의 농도는 0.0488 g/L로 리모넨의 농도와 비교했을 때 매우 낮은 농도임을 볼 수 있다. 회수율은 73.9%였다. 점 ⑤의 특징은 삼각형 내에서 pure extract 영역과 가깝고, 삼각형의 양 꼭짓점에서 먼 점이기 때문에, 삼각형 내의 점

들 중에서는 가장 높은 순도를 보였다. 다만 삼각형 외부의 pure extract에 위치한 점 ②와 비교했을 때, 순도와 회수율 모두 낮은 것을 볼 수 있었다. Fig. 8b에서 볼 수 있는 점 ⑥은 4개의 node의 유량을 보았을 때 1 mL/min, 1.03 mL/min, 1.04 mL/min, 1.07 mL/min으로 전부 1에 가까운 유량을 보였으며 여섯 점 중 가장 긴 14.53분의 switching time을 가졌다. 리모넨의 농도 및 순도 모두 각각 최대 1.91 g/L, 98.14%로 높았다. 다만 불순물의 농도가 최대 0.115 g/L로 다른 고 순도의 점인 ①, ②, ⑤에 비해 높았다. 이는 삼각도에서 non pure region과 가깝기 때문에 불순물의 농도가 높아진 것으로 보인다. 순도가 ⑤보다 낮음에도 불구하고 회수율은 86.4%로 더 높는데, 그 이유는 extract에서 리모넨의 평균농도가 ⑤보다 높기 때문이다.

삼각도에서 점 ④, ①, ⑥은 빗변의 중심에서부터 반대편 꼭짓점까지의 점들을 빗변에서 가까운 점부터 나열한 순서이다(Fig. 4). 점 ④와 점 ①, ⑥, 세 점의 switching time을 비교해보면 삼각형의 빗변에서 멀어질수록 switching time이 각각 최저 0.55분에서 최고 14.53분까지 길어졌으며, Q_{Des} 는 18 mL/min에서 1.07 mL/min까지 감소했다. (Table 4). 또한 삼각형의 빗변에서 멀어질수록 순도가 90.35%에서 98.14%까지 증가하는데, 이는 switching time이 매우 짧으면 주입된 물질의 분리가 일어나기 전에 새로운 물질이 주입되어 칼럼 내에서 물질의 혼합이 이루어지기 때문이다.

삼각형 내에서 m_2 값이 4.31로 같은 ④, ⑤를 비교했을 때 순도는 90.35%에서 98.35%로 증가하였고, 55.4%에서 73.9%로 증가하였다.

Table 4. Results of simulation about six points

Point No.	Flow rate (mL/min)				Switching time Δt (min)	Purity of limonene at extract node (%)	Recovery of limonene (%)
	Q_{feed}	$Q_{extract}$	$Q_{raffinate}$	$Q_{desorbent}$			
①	1.0	1.95	1.76	2.71	5.74	97.14	87.9
②	1.0	0.857	1.34	1.19	13.05	98.59	74.4
③	1.0	1.82	27.0	28.0	0.55	89.88	4.42
④	1.0	9.56	10.0	18.0	0.83	90.35	55.4
⑤	1.0	1.06	2.02	2.08	7.48	98.35	73.9
⑥	1.0	1.03	1.04	1.07	14.53	98.14	86.5

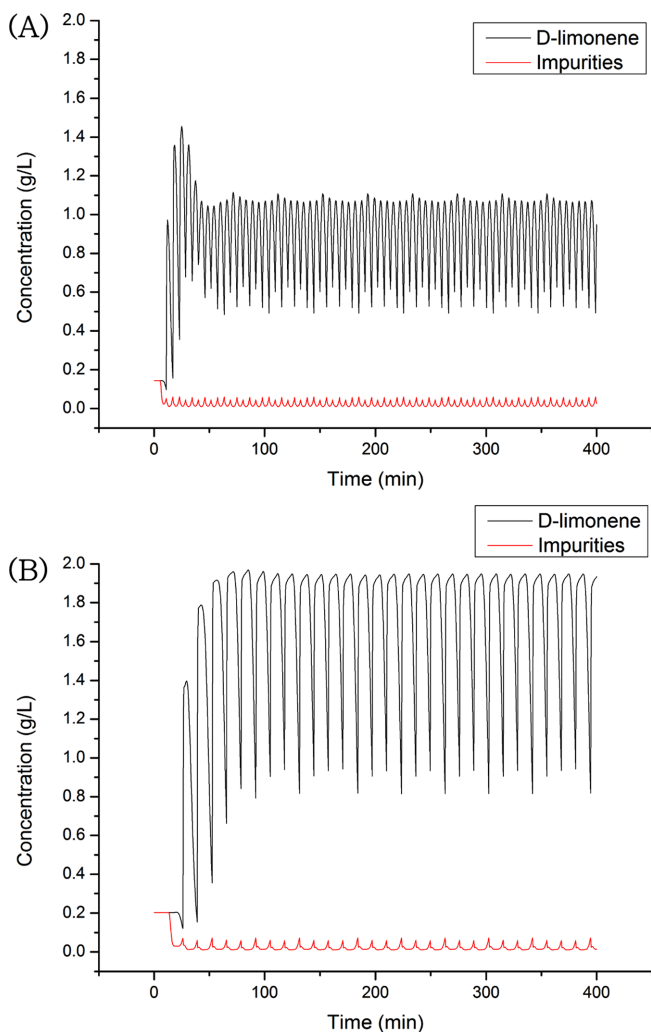


Fig. 9. Concentration histories at extract node; (a) 1.6×25 cm column at point ① of 12 mL/min feed flow (b) 1.6×25 cm at point ② of 12 mL/min feed flow.

따라서 m_2 가 같을 때 m_3 가 증가하면 순도와 회수율이 증가한다는 것을 알 수 있었다. 그리고 m_2 가 8.31인 두 점 ③, ⑤를 비교했을 때 각각의 순도는 89.88%에서 98.35%로 증가하였고, 회수율은 4.42%에서 73.9%로 증가한 것을 볼 수 있다. 따라서 m_3 값이 같을 때 m_2 가 작을수록 순도와 회수율이 증가하는 것을 알 수 있었다. 앞의 여섯 점을 비교해 보았을 때, d-리모넨의 순도와 회수율이 높은 점은 각각 ②와 ⑥이다. 점 ⑥이 ②보다 회수율은 더 높지만 불순물이 1.5배 많이 포함되어 있어 m_2 와 m_3 가 2.55, 9.54인 점 ②가 리모넨 분리에 적합한 조건임을 알 수 있었다. 각각의 점들의 node별 유량, switching time, 순도 및 회수율을 Table 4에 정리했다.

4-3. 칼럼 직경에 따른 유량 변화

칼럼 직경에 따른 유량의 변화를 알아보기 위해 0.46×25 cm, 1.6×25 cm 두 종류의 칼럼을 설정했다. 0.46×25 cm 4-bed SMB 전산모사에서 회수율이 가장 높고 pure extract and raffinate 영역의 중앙에 위치한 점 ①과 가장 높은 순도를 가진 점 ②를 기준으로 1.6×25 cm 4-bed SMB 전산모사를 실행한 후 두 점을 서로 비교하였다. Fig. 9는 1.6×25 cm 칼럼에서 feed 유량을 칼럼의 부피 비에 따라 증가시킨 12 mL/min로 점 ①과 ②를 전산모사하고 extract node에서의 물질의 농도를 시간의 경과에 따라 나타낸 그래프이다. 각각의 그래프는 0.46×25 cm 칼럼에서 feed 유량 1 mL/min으로 전산모사를 수행한 Fig. 6의 그래프와 유사하다. 4 node에서의 유량은 Q_{feed} , $Q_{extract}$, $Q_{raffinate}$, $Q_{desorbent}$ 모두 12배로 증가했고, switching time과 순도, 회수율은 m_2 , m_3 의 위치가 같은 점을 비교했을 때 오차 범위 1% 내 (switching time ± 0.1 분, 순도 및 회수율 $\pm 0.1\%$)의 같은 값을 가졌다. 네 점의 유량, switching time, 순도와 회수율을 Table 5로 각각 정리했다. 이러한 결과가 나온 이유는 칼럼의 부피비와 같은 비율로 유량을 증가시키면 이동상이 칼럼을 통과하는 시간이 같아지기 때문이다. 따라서 SMB chromatography에 있어 칼럼의 직경을 늘려야 할 경우, 기존의 최적의 유량에 대해 기존의 칼럼과 교체하는 칼럼의 부피 비를 맞춰 유량을 증가시키면 기존에 얻던 결과를 그대로 얻을 수 있다.

Table 5. Results compared with two different column size 4-bed SMB at point ① and ②

Point No.	Flow rate (mL/min)				Switching time Δt (min)	Purity of limonene at extract node (%)	Recovery of limonene (%)
	Q_{feed}	$Q_{extract}$	$Q_{raffinate}$	$Q_{desorbent}$			
0.46	①	1.0	1.95	1.76	2.71	5.74	97.14
	②	1.0	0.857	1.34	1.19	13.1	98.59
1.6	①	12.0	23.4	21.1	32.5	5.78	97.14
	②	12.0	10.3	16.1	14.3	13.2	98.58

5. 결 론

전산모사에 필요한 헨리상수를 계산하기 위해 감귤 추출물을 HPLC에서 분석한 결과 H_{Lim} 은 8.55, H_{imp} 는 0.223을 얻었다. 이 값을 바탕으로 Aspen chromatography에서 선형 흡착식을 이용해 d-리모넨 SMB분리공정을 전산모사 하였다. Feed의 농도는 감귤 추출물을 회분식 크로마토그래피 결과를 통해 얻은 2.00 g/L로 하였다. 다양한 m_2 , m_3 에 대한 전산모사를 통해 순도가 높은 점을 조사한 결과 $m_2=2.57$, $m_3=9.55$ (점②)였다. 삼각도 내 삼각형의 m_2 , m_3 의 위치가 삼각형의 빗변에서 멀어질수록 switching time이 길어지고 Q_{Des} 가 감소했다. d-리모넨은 감귤 추출물에서 extract에 해당하므로 m_2 , m_3 의 위치가 pure extract 부분에 가까운 삼각형의 상부에 위치할수록 d-리모넨의 농도, 순도가 증가했다. 삼각형의 중앙에 위치하고 회수를 이 가장 높은 점 ①과 가장 높은 순도를 보인 점 ②를 택해 직경을 0.46 cm에서 직경 1.6 cm칼럼으로 증가시키고 scale-up된 공정을 전산모사 하였다. 유량을 칼럼의 부피 비와 같은 1 : 12의 비율로 증가시킨 결과 기존의 0.46×25 cm 칼럼에서의 결과와 오차범위 1% 내의 같은 결과를 얻었다.

감 사

본 연구는 충남대학교 재직교원 지원연구비에 의해 지원되었으며 이에 감사드립니다.

Nomenclatures

- C_{ij} : concentration of component i at node j [g/L]
 $\bar{C}_{i,j}$: average concentration of component i at node j [g/L]
 H_i : Henry constant of i
 m_i : parameter of i column to control SMB
 Q_i : flow rate in column i [mL/min]
 t_0 : dead time of column [min]
 $t_{R,i}$: retention time of i [min]
 Δt : switching time [min]
 ε : void fraction of a column

References

1. <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>.
2. Im, H. S., Yoon, C. H. and Oh, E. H., "A Study on Antibiotic Effect Using the D-limonene Oil Extracted to Wasted Mandarin Peels in Cheju," *J. Korean Oil Chemist's Soc.*, **26**(3), 350-356(2009).

3. Morse, M. A. and Toburen, A. L., "Inhibition of Metabolic Activation of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone by Limonene," *Cancer Letters*, **104**(2), 211-217(1996).
4. Lu, H. Y., Shen, Y., Sun, X., Zhu, H. and Liu, X. J., "Washing Effects of Limonene on Pesticide Residues in Green Peppers," *J. of Science of Food and Agriculture*, **93**(12), 2917-2921(2013).
5. Langer, R. S. and Wise, D. L., "Medical Applications of Controlled Release," *CRC Press*, Florida, U.S.A., **2**, 2(2004).
6. Rosen, H. B., Chang, J., Wnek, G. E., Linhardt, R. J. and Langer, R., "Bioerodible Polyanhydrides for Controlled Drug Delivery," *Biomaterials.*, **4**, 131-133(1983).
7. Heuer, C., Hugo, P., Mann, G. and Seidel-Morgenstern, A., "Scale up in Preparative Chromatography," *J. Chromatogr. A.*, **752**, 19-29(1996).
8. Storti, G., Mazzotti, M., Morbidelli, M. and Carra, S., "Robust Design of Binary Countercurrent Adsorption Separation Presses," *AIChE J.*, **39**, 471-492(1993).
9. Juza, M., "Development of an High-performance Liquid Chromatographic Simulated Moving Bed Separation from and Industrial Perspective," *J. Chromatogr. A.*, **865**, 35-49(1999).
10. Won, J. H., Cho, Y. S., Kim, Y. D. and Ahn, D. J., "Enantio-separation of R, S-ibuprofen Using Simulated Moving Bed(SMB) Chromatography," *Korean Chem. Eng. Res.*, **39**(6), 685-691(2001).
11. Migliorini, C., Mazzotti, M. and Morbidelli, M., "Continuous Chromatographic Separation through Simulated Moving Beds under Linear and Nonlinear Conditions," *J. Chromatogr. A.*, **827**, 161-173(1998).
12. Pedferri, M., Zenoni, G., Mazzotti, M. and Morbidelli, M., "Experimental Analysis of a Chiral Separation through Simulated Moving Bed Chromatography," *Chem. Eng. Sci.*, **54**, 3735-3748(1999).
13. Song, S. M. and Kim, I. H., "Simulation of IgY (Immunoglobulin Yolk) Purification by SMB (Simulated Moving Bed)," *Korean Chem. Eng. Res.*, **49**(6), 798-803(2011).
14. Guiochon, G., Golshan-Shirazi, S. and Katti, A., "Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography," *Academic Press*, Massachusetts, U.S.A.(1994).
15. Luis, S. P., Jose, M. L. and Alirio, E. R., "Separation of 1,1'-bi-2-naphthol Enantiomers by Continuous Chromatography in Simulated Moving Bed," *Chem. Eng. Sci.*, **52**(2), 245-257(1997).
16. Lee, S. H., Lee, E. and Kim, I. H., "Simulation of Simulated Moving Bed Chromatography for Separation of L-ribose and L-arabinose by ASPEN Chromatography," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **23**(2), 135-141(2008).
17. Lee, I. S., Lee, I. S. and Kim, I. H., "Simulation of (R)- and (S)-Ketoprofen Separation in Simulated Moving Bed," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **29**(4), 250-262(2014).