

초임계 CO₂유체 추출법을 이용한 탈지미강 중 표면활성물질 추출의 최적화

이형주 · 이의석 · 홍순택*
충남대학교 식품공학과

Extraction of Surface-Active Substances from Defatted Rice Bran by Supercritical Carbon Dioxide

Hyong-Ju Lee, Eui-Suk Lee, and Soon-Taek Hong*

Department of Food Science and Technology, Chungnam National University

Abstract

By using supercritical carbon dioxide fluid, an attempt was made to extract surface-active substances from defatted rice bran. Extraction was carried out according to D-optimal design and results were analyzed by response surface methodology to establish optimum condition. It was found that pressure, temperature and co-solvent (ethanol) influenced in a different extent on the extraction efficiency (i.e., yield and interfacial tension) of surface-active substances. Among them, co-solvent was found to be a major influencing factor, where maximum yield (2.62%) was observed at the highest content (250 g). In addition, it also affected most on the interfacial tension at the oil-water interface but in this case the lowest interfacial tension value (9.51 mN/m) was found when added lowest (50 g). In conclusion, it was estimated that the optimum extraction condition was to be pressure 350bar, temperature 62°C and co-solvent content 50 g in this study, where extraction yield was 0.69% and interfacial tension to be 10.1 mN/m.

Key words: rice bran, supercritical carbon dioxide extraction, surface-active substances, interfacial tension

서 론

벼는 식물 분류학상 화본과(*Gramineae*) 벼속 식물에 속하고 밀, 옥수수과 함께 세계 3대 작물에 포함된다. 벼는 한국을 비롯하여 아시아 여러 지역에서 재배되고 있고, 우리나라도 연간 500만톤 정도를 생산하고 있다(Lee et al., 2010). 벼의 왕겨를 벗겨낸 것을 현미라 하고 현미를 도정하여 발생하는 미강은 국내의 경우 연간 생산량이 35,000톤에 달하지만 식품의 식미를 저하하고, 저장이 어려워 우수한 영양 가치를 지니고 있음에도 불구하고 일부 미강유 제조용으로 사용되고 상당량이 가축의 사료용 혹은 농업폐기물로 처리되고 있는 상황이다(Kim et al., 2004). 미강은 현미의 약 8-10% 정도로 단백질 11-15%, 탄수화물 34-62%, 섬유질 7-11%, 회분 7-10% 그리고 지질 15-20% 범위로 구성되어 있다.

초임계 CO₂유체를 이용한 기술은 기존의 용매 추출 기술과 비교하여 여러 장점이 있는데, 짧은 추출 시간, 용매의 높은 추출 선택성, 주 용매로 사용되는 CO₂의 높은 안전성 등 환경 친화적인 청정기술로 알려져 있다(Lee & Byun, 2008; Montanari et al., 1999). 또한, 기존의 추출공정을 통하여 생산이 어려운 제품, 혹은 소재를 생산할 수 있는 기술로 천연물, 기능성 고분자, 의약품, 식품 등에서 많은 연구가 이루어지고 있다(Kang et al., 2006). 한편, 초임계 상태의 CO₂는 극성물질을 가용시키는 데는 효과적이지 않으므로 극성의 보조용매와 병용하는데, 극성물질의 추출을 위하여 미국의 GRAS(Generally Recognized As Safe) 규격에 부합되는 에탄올을 보조용매로 사용한다(Dunford & Temelli, 1995; Montanari et al., 1996; Lee et al., 2010).

미강 단백질의 유효특성에 대한 연구는 최근까지 활발히 진행되고 있다(Wang et al., 1999; Tang et al., 2003; Adebisi et al., 2007; Toliwal & Patel, 2007; Wiboonsirikul et al., 2007; Yeom et al., 2010). 그러나 미강 중 표면활성물질 분리 및 이에 대한 특성 연구는 상대적으로 매우 미흡하며(Yun & Hong, 2006), 특히 초임계 CO₂유체 추출법에 의한 미강 중 표면활성물질의 분리 및 이의 특성 조사에 관한 연구는 수행되지 않았다.

Corresponding author: Soon-Taek Hong, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, 220 Gung-dong, Yuseong-gu, Daejeon, 305-764, Republic Korea

Tel: +82-42-821-6727; Fax: +82-42-821-7876

E-mail: hongst@cnu.ac.kr

Received April 25, 2011; revised May 18, 2011; accepted May 18, 2011

따라서 본 연구는 초임계 CO₂유체를 이용하여 미강 중 표면활성물질을 추출함에 있어서 추출 시 큰 영향을 미칠 것으로 예상되는 추출온도, 압력, 보조용매(에탄올)의 양을 독립변수로 하여 반응표면분석법(Response surface methodology)을 통한 미강 중 표면활성물질의 추출 조건을 검토하고, 각 실험구에서 얻은 추출물의 표면활성 정도를 조사하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 미강(신동진)은 군산지역 도정공장에서 생산된 것으로 표준체(pore size : 0.84 mm)를 통과시킨 것을 -70°C의 deep freezer에 보관하면서 시료로 사용하였다. 시약은 *n*-hexane(purity > 99.9%), acetone(HPLC grade), *n*-tetradecane(purity > 95%), ethanol(purity > 99.9%)을 Sigma Chemicals로부터 구입하여 사용하였다.

초임계추출 장치는 추출조(HIP Inc. Erie, P.A., USA), 가압펌프(Haskel co., Burbank, California, USA), 싱글플랜저정량펌프(日本精密科學株式會社 Co., JPN) BPR (Ilshinautoclave Co., Daejeon, Korea), 압력측정기(MacDiniel control co., USA), 고압용 관 등을 실험실에서 구입설치하여 사용하였다. 본 실험에 사용한 초임계 CO₂ 유체 추출 장치는 Fig. 1에 나타내었다.

탈지미강 제조

미강 시료와 *n*-hexane을 1:5(w/w) 비율로 혼합한 뒤 Omni mixer (USA)를 이용해 setting 값 3에서 한 시간 교반한 후, 감압 여과 과정을 통해 헥산 층을 제거하였다. 헥산 층이 제거된 미강과 *n*-hexane을 1:3(w/w) 비율로 재혼합한 뒤 다시 감압 여과 과정을 통해 헥산 층을 제거하고 이 과정을 3회 반복하였다. 탈지 과정을 진행한 미강 시료는 24 시간동안 후드(hood)에서 방치하여 탈지미강에

잔존하는 헥산을 제거하였다.

실험계획 및 반응표면분석

초임계 추출의 최적 조건을 도출하기 위해 반응표면분석에 적합한 D-optimal design에 따라 실험을 설계하였다. 독립변수(X_n)로는 추출압력(X₁), 추출온도(X₂), 추출에 사용한 보조용매(ethanol)량(X₃)을 설정하였으며(Table 1), 반응변수(Y_n)는 추출수율(%)과 추출물의 계면장력 값(γ; mN/m)으로 하였다. 추출수율(Yield)은 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{Yield of extraction(\%)} = \frac{\text{추출물의 무게(g)}}{\text{추출에 사용된 탈지미강의 무게(g)}} \times 100$$

그리고, 실험설계는 19 개의 설정된 실험조건에서 진행하였고 모든 실험값들은 Modde version 5.0 software(Umetrics, Umea, Sweden)를 사용하여 분석하였다.

초임계 CO₂유체를 이용한 미강 중 표면활성물질의 추출 추출압력(150-350 bar), 온도(33-65°C), 보조용매 량(50-250 g)을 독립변수로 선정하여 D-optimal design에 따라 설계된 19개의 각 실험조건(Table 1)을 바탕으로 실험을 진행하였으며 추출시간은 2 시간으로 하였다. CO₂의 flow rate(L/min)는 6으로 조정하였으며, 보조용매(에탄올)는 정량 펌프를 이용해 2 시간의 추출시간 동안 일정하게 extraction vessel에 주입하였다. 1 회 추출에 사용된 탈지미강은 50 g 이었으며, 추출 종료 후 separator에 분획된 추출물은 evaporator를 이용하여 에탄올을 제거한 후 동결건조를 통해 수분을 제거하였다. 동결건조가 완료된 추출물을 *n*-hexane에 용해 및 여과 과정을 거쳐 헥산용해 분획물을 얻었으며 이를 계면장력 측정용 시료로 하였다.

계면장력 측정

헥산용해 분획물의 계면장력은 Du Nouy ring 방법으로

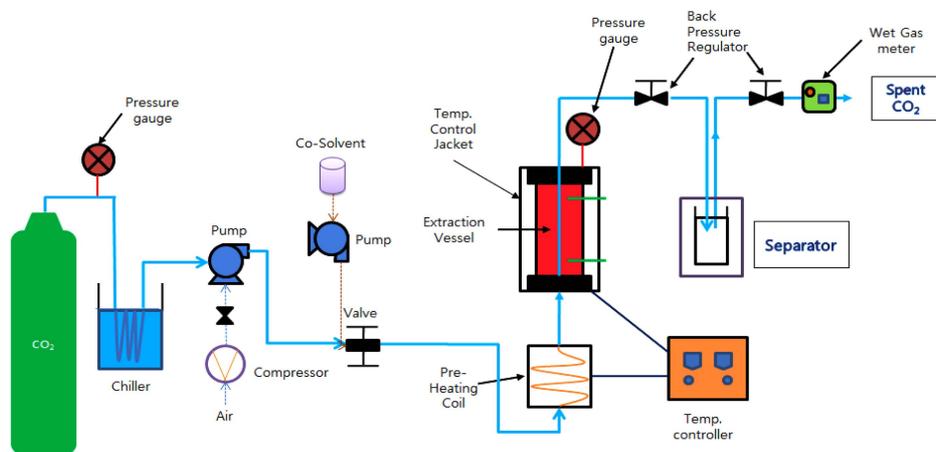


Fig. 1. Flow diagram of supercritical fluid extraction(SFE) system.

Table 1. Experimental combinations according to codes of experimental design at various extraction conditions of pressure, temperature and co-solvent content

Treatment	P (bar) T (°C) C (g)			Actual parameters		
	X ₁	X ₂	X ₃	Pressure (bar)	Temperature (°C)	Co-solvent (g)
1	-1	-1	-1	150	33	50
2	1	-1	-1	350	33	50
3	-0.5	-0.5	-1	200	41	50
4	0.5	0.5	-1	300	57	50
5	-1	1	-1	150	65	50
6	1	1	-1	350	65	50
7	0.5	-1	-0.5	300	33	100
8	-0.5	1	-0.5	200	65	100
9	-1	0	0	150	49	150
10	1	0	0	350	49	150
11	-0.5	-1	0.5	200	33	200
12	0.5	1	0.5	300	65	200
13	-1	-1	1	150	33	250
14	1	-1	1	350	33	250
15	0.5	-0.5	1	300	41	250
16	-0.5	0.5	1	200	57	250
17	-1	1	1	150	65	250
18	1	1	1	350	65	250
19	1	1	1	350	65	250

표면장력계(K100C KRÜSS GmbH, GER)를 이용하여 oil-water 계면에서 측정하였다(Yun & Hong, 2007). 이를 위하여 핵산용해 분획물을 *n*-tetradecane에 용해하여 유상으로 하였으며, 수상은 deionized distilled water(Rios5 Millipore, France)를 사용하였다.

통계처리

통계처리는 SAS Package(Statistic Analysis System, ver. 9.2, SAS Institute Inc.)를 이용하여 분산분석(ANOVA)후 Duncan's multiple range test로 유의적 차이를 검정하였다.

결과 및 고찰

추출 조건에 따른 수율의 변화

추출 조건에 따른 수율 및 각 추출물의 계면장력을 Table 2에 나타내었다. Table 2에 의하면 추출압력 350 bar, 추출온도 65°C, 보조용매량 250 g 조건(No. 18 실험구)에서 수율은 2.61±0.01%로 가장 높았으며, 추출압력 350 bar, 추출온도 33°C, 보조용매량 50 g 조건(No. 2 실험구)에서 수율은 0.53±0.1%로 가장 낮았다. 각 독립변수 값의 변화에 따른 반응변수의 값을 등고선 분석을 통해 Fig. 2에 나타내었다. 전반적으로 각 독립변수인 추출압력, 추출온도, 보조용매량이 증가할수록 그와 비례하게 추출수율 또한 증가하였다.

Table 2. Extraction yield and interfacial tension data of *n*-hexane-soluble fractions of the SFE extract for response surface analysis

No.	Extraction conditions			Variables	
	Pressure (bar)	Temperature (°C)	Co-solvent (g)	Yield (%)	γ (mN/m)
1	150	33	50	0.59±0.04 ^{1j}	12.28±1.9 ^{h2)}
2	350	33	50	0.53±0.1 ⁱ	12.80±1.34 ^{gh}
3	200	41	50	0.64±0.03 ⁱ	13.87±0.83 ^{fgh}
4	300	57	50	0.75±0.1 ^{hi}	12.28±2.17 ^h
5	150	65	50	0.79±0.01 ^{hi}	14.79±0.8 ^{ef}
6	350	65	50	0.78±0.23 ^{hi}	9.65±1.19 ⁱ
7	300	33	100	0.96±0.17 ^h	14.61±0.2 ^{fg}
8	200	65	100	1.23±0.07 ^g	13.41±1.34 ^{gh}
9	150	49	150	1.30±0.03 ^{fg}	15.55±1.44 ^{ef}
10	350	49	150	1.41±0.07 ^{fg}	15.91±0.72 ^{def}
11	200	33	200	1.40±0.14 ^{fg}	18.57±0.2 ^{abc}
12	300	65	200	1.82±0.14 ^{de}	14.76±0.2 ^{ef}
13	150	33	250	1.5±0.08 ^{ef}	20.03±0.81 ^a
14	350	33	250	1.68±0.03 ^e	19.67±0.53 ^{ab}
15	300	41	250	1.78±0.06 ^d	19.43±2.15 ^{abc}
16	200	57	250	2.21±0.35 ^{bc}	18.87±1.07 ^{abc}
17	150	65	250	1.96±0.08 ^{cd}	17.95±1.4 ^{abcd}
18	350	65	250	2.61±0.01 ^a	17.76±0.6 ^{bcd}
19	350	65	250	2.33±0.16 ^b	17.35±1.28 ^{cde}

^{1j} Values are Mean±S.D., n=3

^{2) a-i} Means followed by the same letter in column are not significantly different (p < 0.05)

가장 높은 수율을 유도한 조건(No. 18 실험구)을 기준으로 각 독립변수 값의 변화에 따른 추출수율의 변화를 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3에 의하면 추출수율은 최소 추출압력 150 bar에서 2.06%, 350 bar에서 2.40%로 추출압력이 높아질수록 소폭 증가하는 것으로 관찰되었으며 이는 일정 온도에서 압력을 증가시키면 초임계유체의 밀도가 높아지고 이에 따른 용해능의 증가에 의한 것으로 사료되었다(Ju, 2005; Lee et al., 2007). 추출온도에 의한 수율의 변화는 추출압력과 마찬가지로 가장 낮은 조건인 33°C 조건에서 1.70%로 가장 낮은 추출수율을 보였고, 가장 높은 65°C 조건에서 2.41%로 가장 높은 추출수율을 나타내었다. 이는 추출온도가 증가할수록 추출수율이 증가한다는 Floch et al. (1998)의 보고와 유사한 결과로, 전술한 추출압력 변화의 경우와 비교했을 때 추출수율의 변화폭은 더 큰 것으로 나타났다. 보조용매량 변화에 따른 추출수율은 50 g일 때 0.78%, 250 g일 때 2.41%로 보조용매량이 증가할수록 높은 추출수율을 나타내었으며, 수율의 변화 정도를 압력과 온도 변화의 경우와 비교하였을 때 약 2-3 배 정도 높은 것으로 사료되었다. 따라서 표면활성물질의 추출 공정 조건 중 보조용매량이 압력과 온도 조건보다 추출수율에 가장 큰 영향을 미치는 인자인 것으로 판단되었다.

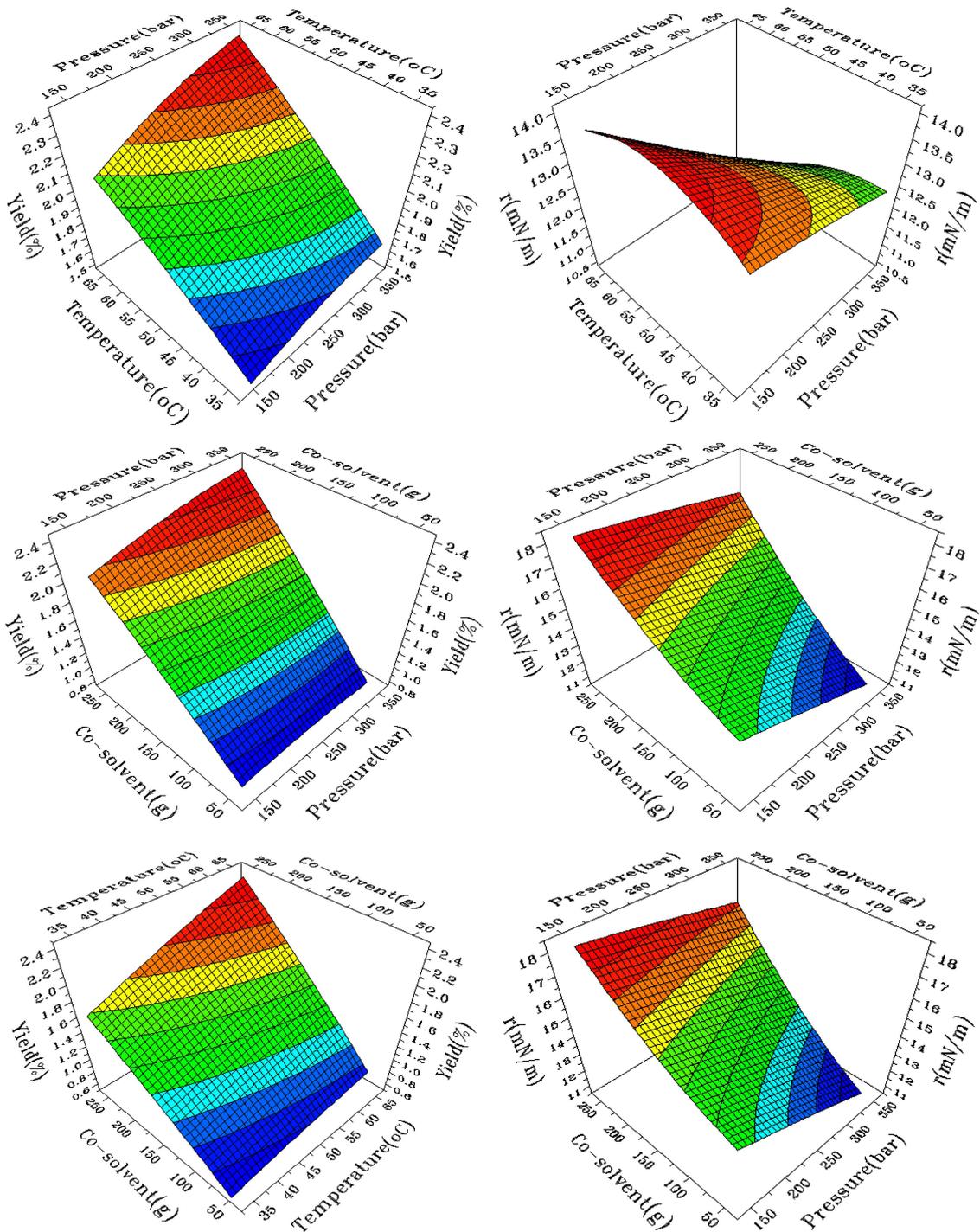


Fig. 2. Contour plots for extraction yield and interfacial tension data of the SFE extract with respect to the extraction condition.

초임계 추출 조건에 따른 계면장력의 변화

등고선 분석 결과(Fig. 2) 추출수율은 각 독립변수의 값이 증가할수록 같이 증가한 반면 계면장력 값은 추출수율과 반대로 보조용매량이 감소할수록 더 낮아졌다. Table 2에 의하면 추출물의 계면장력은 No. 6 실험구(추출압력 350 bar, 추출온도 65°C, 보조용매량 50 g)에서 9.65±1.19 mN/

m로 가장 낮았으며, No. 13 실험구(추출압력 150 bar, 추출온도 33°C, 보조용매량 250 g)에서 가장 높은 값(20.03±0.81 mN/m)을 나타내었다. 가장 낮은 계면장력을 나타낸 실험구(No. 6)를 기준으로 각 독립변수의 변화에 따른 추출물의 계면장력 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 추출압력 변화의 경우 계면장력은 150 bar에서 13.7 mN/m가 가장 높았고, 압력이 높

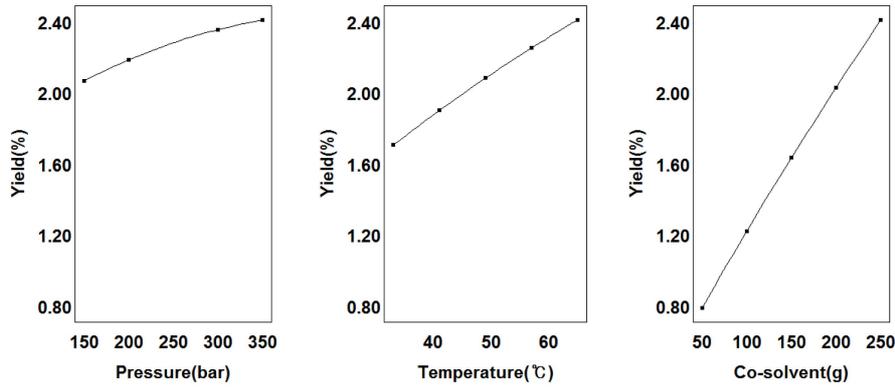


Fig. 3. Response prediction plot for the effect of pressure, temperature and co-solvent content on the extraction yield.

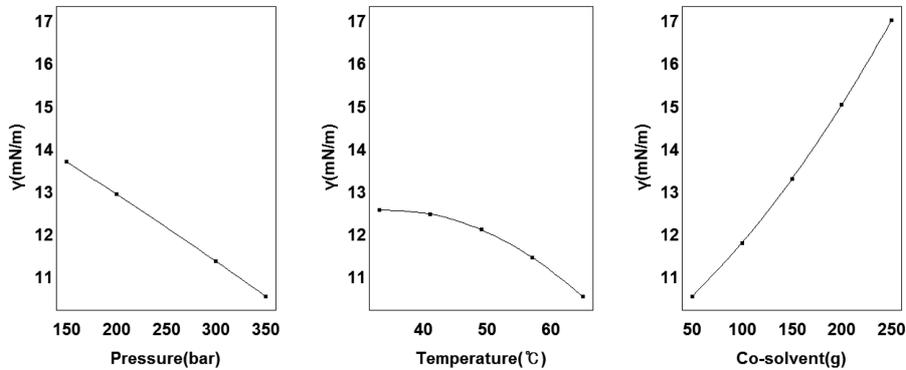


Fig. 4. Response prediction plot for the effect of pressure, temperature and co-solvent content on interfacial tension value of n-hexane fractions.

아질수록 그 값은 점점 낮아지는 경향을 나타내었으며 350 bar에서 10.5 mN/m로 가장 낮았다. 추출온도의 변화에 따른 계면장력도 추출압력의 경우와 유사하게 가장 낮은 추출온도(33°C)에서 가장 높은 계면장력을 나타내었으며, 추출온도가 높아질수록 추출물의 계면장력은 점차 낮아지는 것을 확인할 수 있었으나 온도 변화에 따른 값은 12.5 mN/m에서 10.5 mN/m로 계면장력 변화의 폭은 압력 변화의 경우보다 약간 적은 것으로 나타났다. 보조용매량 변화에 따른 추출물의 계면장력은 추출압력과 추출온도의 경우와는 반대로 최저 보조용매량에서 10.5 mN/m로 최대

보조용매량에서 17.0 mN/m로 보조용매량이 적을수록 값은 낮았고 보조용매량이 증가할수록 계면장력 값도 비례적으로 높아지는 것으로 관찰되었다. 또한, 추출압력과 추출온도의 경우와 비교하였을 때 보조용매량이 계면장력에 가장 큰 영향을 미치는 인자임을 알 수 있었다.

초임계 추출공정의 최적화

추출압력, 추출온도, 보조용매량 등의 독립변수에 따른 반응값(추출수율 및 추출물의 계면장력)에 대하여 회귀분석을 실시하였다. 즉, 각 독립변수에 따른 반응변수(Y_n)인

Table 3. Second order polynomials for yield and interfacial tension data of the extract by SFE under different conditions of pressure, temperature and co-solvent content

Response variable (Y _n)	Second order polynomial	R ²	Lack of fit (p-value)
Yield (% , Y ₁)	Y ₁ = 1.396 + 0.059X ₁ + 0.209X ₂ + 0.622X ₃ - 0.041X ₁ ² - 0.025X ₁ X ₂ - 0.035X ₂ ² + 0.033X ₁ X ₃ + 0.078X ₂ X ₃ - 0.110X ₃ ²	0.980	0.886
γ (mN/m, Y ₂)	Y ₂ = 15.780 - 0.522X ₁ - 0.796X ₂ + 3.158X ₃ - 0.050X ₁ ² - 0.551X ₁ X ₂ + 0.482X ₂ ² - 0.596X ₁ X ₃ + 0.460X ₂ X ₃ - 0.378X ₃ ²	0.950	0.222

¹⁾ X₁ : Pressure (bar) ; X₂ : Temperature (°C) ; X₃ : Co-solvent content (g)

$$Y_n = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

추출수율(Y_1) 및 추출물의 계면장력(Y_2)을 측정 한 뒤, 이를 회귀분석 하여 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 추출수율에 대한 lack of fit의 p-value는 0.886, 계면장력의 lack of fit는 0.222로 두 반응변수 모두 $p > 0.05$ 로 본 실험 수행을 위해 가정된 모델(Table 1)은 적합한 것으로 판단되었다. 또한, 추출수율과 계면장력의 R^2 값이 각각 0.980, 0.950로 높은 유의성을 나타내었다. 회귀분석 결과 추출수율의 최저점은 추출압력 348 bar, 추출온도 33.3°C, 보조용매량 50 g의 조건으로 이때의 수율은 0.53%이며, 최대점은 추출압력 330 bar, 추출온도 65°C, 보조용매량 250 g으로 수율은 2.39%이었다. 이는 실험설계를 통해 가정된 모델의 최대점 즉, 최적점과 실제 실험결과의 최대점의 추출조건이 잘 일치하고 있음을 나타내고 있으며 전반적으로 각 독립변수의 값이 증가수록 추출수율도 비례적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 회귀식에서 추출물의 계면장력의 최저점(추출압력 350 bar, 추출온도 65°C, 보조용매량 50 g)은 10.51 mN/m로, 실제 실험결과의 최저점 조건(350 bar, 65, 50 g)과 비교하였을 때 각 독립변수의 조건이 일치하는 것을 확인할 수 있었고, 이때의 실제 측정값은 9.65 mN/m로 예측치와는 0.86 mN/m의 차이를 나타내었다.

요 약

초임계 CO_2 유체를 이용하여 미강 중 표면활성물질을 추출하고 추출물의 표면활성능을 최적화하는 추출 조건을 반응표면분석법을 통해 조사하고자 하였다. 추출수율은 독립변수인 압력, 온도, 보조용매량이 많을수록 높았으며, 보조용매량이 추출수율에 가장 큰 영향을 주었다. 회귀분석을 통해서 얻은 최적 추출 조건은 추출압력 330 bar, 추출온도 65°C, 보조용매량 250 g이었다. 표면활성능 지표인 계면장력은 추출압력과 추출온도가 증가할수록 그리고 보조용매량이 높을수록 낮았으며, 추출수율과 마찬가지로 보조용매량이 계면장력에 가장 큰 영향을 주었지만 추출압력과 추출온도 등의 변수에 의한 영향은 비교적 적었다. 회귀분석을 통해서 얻은 최적 추출 조건(낮은 계면장력)은 추출압력 350 bar, 추출온도 65°C, 보조용매량 50 g이었다. 또한 D-optimal design을 통해 얻은 실험 결과를 바탕으로 회귀분석을 하였을 때 예측모델식은 실제 측정값과 비교해 높은 유의성을 나타내는 것으로 판단되었다. 보조용매량이 많을수록 극성 물질이 더 많이 추출되어 낮은 계면장력 값을 예상하였지만 실제 측정 결과 보조용매량이 가장 낮은 조건인 50 g에서 계면장력은 가장 낮게 측정되었다. 이의 규명을 위하여 TLC 및 HPLC 분석을 통한 추출물에 대한 성분 조사, 추출물을 이용한 유화액 제조, 유화액 특성 평가 등 추가 실험이 필요한 것으로 사료되었다.

감사의 글

이 연구는 2009년도 충남대학교 학술연구비에 의해 지원되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Adebiyi AP, Adebiyi AO, Ogawa T, Muramoto K. 2007. Preparation and characterization of high-quality rice bran proteins. *J. Sci. Food Agric.* 87: 1219-1227.
- Chandi GK, Sogi DS. 2007. Functional properties of rice bran protein concentrates. *J. Food Eng.* 79: 592-597.
- Dunford NT, Temelli. F. 1995. Extraction of phospholipids from canola with supercritical carbon dioxide and ethanol. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72: 1009-1015.
- Floch FL, Tena MT, Ri'os A, Valcárcel M. 1998. Supercritical fluid extraction of phenol compounds from olive leaves. *Talanta.* 46: 1123-1130.
- Ju YW. 2005. Studies on production of a high contents of functional compounds in sesame oil by supercritical carbon dioxide, Ph. D. Dissertation, Ajou University, Suwon.
- Kang JW, Lim JS, Byun HS. 2006. Applications of molecular modeling method for thermophysical properties estimations. *Prospectives Ind. Chem.* 9: 41-52.
- Kim SR, Ahn JY, Lee HY, Ha TY. 2004. Various properties and phenolic acid contents of rices and rice brans with different millig fractions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 903-936.
- Lee ES, Kim KJ, Kim JH, Hong ST. 2010. A study on the development of high functional food protein ingredient from rice bran. *J. Agr Sci.* 37: 61-68.
- Lee MJ, Jeon YS, Jeong NH, Jeong BS. 2010. Selective extraction of phospholipids from soybean with mixture of supercritical carbon dioxide and ethanol. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 27: 233-239.
- Lee JH, Byun SY. 2008. Enrichment of coffee flavors with supercritical carbon dioxide. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 25: 193-198.
- Lee JH, Kim HB, Byun SY. 2007. Coffee deodorization with supercritical carbon dioxide. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 22: 336-340.
- Montanari L, Fantozzi P, Snyder JM, King JW. 1999. Selective extraction of phospholipids from soybeans with supercritical carbon dioxide and ethanol. *J. Supercrit Fluid.* 14: 87-93.
- Monatanari L, King JW, List GR, Rennick KA. 1996. Selective extraction of phospholipid mixtures by supercritical carbon dioxide and co-solvents. *J. Food Sci.* 61: 1230-1233 & 1253.
- Tang S, Hettiarachchy NS, Horax R, Eswaranandam S. 2003. Physicochemical properties and functionality of rice bran protein hydrolyzate prepared from heat-stabilized defatted rice bran with the aid of enzymes. *J. Food Sci.* 68: 152-157.
- Toliwal SD, Patel K. 2007. Preparation and surfactant properties of diethanolamide of rice bran, soybean and rapeseed proteins. *J. Sci. Ind. Res. India.* 66: 385-387.
- Yeom HJ, Lee EH, Ha MS, HA SD, Bae DH. 2010. Production and physicochemical properties of rice bran protein isolates pre-

- pared with autoclaving and enzymatic hydrolysis. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 53: 62-70.
- Yun SE, Hong ST. 2007. Isolation and investigation of emulsifying properties of surface-active substances from rice bran. *Food Hydrocolloid.* 21: 838-843.
- Wang M, Hettiarachchy NS, Qi M, Burks W, Siebenmorgen T. 1999. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. *J. Agric. Food Chem.* 47: 411-416.
- Wiboonsirikul J, Hata S, Tsuno T, Kimura Y, Adachi S. 2007. Production of functional substances from black rice bran by its treatment in subcritical water. *LWT.* 40: 1732-1740.