

초임계 이산화탄소를 이용한 미강유 생리활성물질 농축

김인환^{1,2,a} · 윤성원^{1,2} · 이준수³ · 이점식⁴ · 김인환^{1,2,a,*}

¹고려대학교 식품영양학과, ²고려대학교 대학원 보건과학과, ³충북대학교 식품공학과, ⁴농촌진흥청 국립식량과학원

Concentration of Rice Bran Lipid Soluble Bioactive Substances Using Supercritical Carbon Dioxide

Inhwan Kim^{1,a}, Sung Won Yoon², Junsoo Lee³, Jeom-Sig Lee⁴, and In-Hwan Kim^{1,2,a,*}

¹Department of Food and Nutrition, Korea University

²Department of Public Health Sciences, Graduate School, Korea University

³Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University

⁴National Institute of Crop Science, Rural Development Administration

^aThese authors are not same person

Abstract

The aim of the present study was to examine the effects of different pressure and temperature combinations on the concentrations of tocopherols, policosanols, phytosterols, and γ -oryzanol in crude rice bran oil (RBO) using supercritical carbon dioxide (SC-CO₂). To effectively separate oily substances from bioactive substances, fatty acid ethyl esterification was performed by sulfuric acid or the lipase catalytic method. In sulfuric acid esterification, γ -tocotrienol content was decreased by ca. 50%, whereas in lipase esterification, γ -tocotrienol content was not decreased. Therefore, lipase catalytic esterification was performed for the fatty acid alkyl esterification of RBO. The fractional extraction of RBO ethyl esters was performed using SC-CO₂ in the condition of 9.62 MPa, 10.34 MPa, or 11.03 MPa and 45°C, 50°C, or 55°C. During the fractionation of RBO using SC-CO₂, a little tocopherols content was extracted with fatty acid ethyl esters, but policosanols and phytosterols were not extracted. Especially, there is a high correlation ($R^2=0.9306$) between the density of CO₂ and tocopherols contents extracted to the fractions. The concentration rates of tocopherols and phytosterols were the highest in the condition of 55°C and 9.62 MPa. Therefore, the lower CO₂ density applied, the more efficient the concentrations of tocopherols and phytosterols were in this study.

Key words: rice bran oil, supercritical CO₂ extraction, tocopherols, γ -oryzanol, lipase esterification

서 론

우리나라에서 주식으로 사용하는 쌀은 주로 백미의 형태로 섭취되고 있으나, 쌀이 가지고 있는 여러가지 생리활성물질은 미강층에 주로 포함되어있으며(Juliano, 1985b), 특히 미강층의 조지방에는 γ -oryzanol, phytosterols, tocopherol 등 지용성 생리활성물질이 많이 함유되어 있다(Juliano, 1985a). 그러나 아직까지도 미강은 도정후 생산되는 부산물로 취급되며, 생산량중 현미유 제조에 사용되는 양은 약 30%정도이고, 나머지는 사료, 비료 및 농산 폐기물등 저가치 물질

로 처리되고 있다(Kim et al., 2011). 따라서 미강으로부터 생리활성물질을 추출하여 활용할 수 있는 방법이 개발된다면, 폐기되는 미강의 부가가치를 높일 수 있을 것으로 사료된다.

흔히 토코페롤로 대표되는 Vit. E의 이성질체는 tocopherols라고도 불리며, tocopherol류와 tocotrienol류가 있다. 이들은 알킬그룹에 붙은 -CH₃, -OH, -H의 치환여부에 따라 α -, β -, γ -, δ - 형태로 분류되며, 주로 식물성 유지에서 검출된다. 이들은 식품뿐 아니라 체내에서도 항산화력을 갖는 것으로 알려져 있으며, 특히 tocotrienol류는 최근 혈액내 콜레스테롤 함량 저하 및 항노화 효과가 있는 것으로 보고되었다(Prasad, 2011). Tocopherols는 식품의 종류마다 풍부하게 함유되어 있는 이성질체의 종류가 다르며, 같은 식품에서도 품종에 따라 이성질체의 종류가 다르게 함유되어 있는 것으로 보고되어 있다(Tiwari et al., 2009). 그 외에도 γ -oryzanol 및 phytosterols, policosanols 또한 미강층에 많이 함유되어

*Corresponding author: In-Hwan Kim, Department of Food & Nutrition, Korea University, Seoul 136-703, Korea
Tel: +82-2-940-2855; Fax: +82-2-941-7825
E-mail: k610in@korea.ac.kr
Received October 10, 2013; revised November 11, 2013; accepted November 15, 2013

있으며, 항산화제나 보존제의 역할뿐 아니라 혈중 콜레스테롤의 농도를 낮추는 것으로 알려져 있다(Patel et al., 2004).

식물성 유지로부터 토코페롤을 상업적으로 농축하는 공정에서는 유지중의 지방산을 지방산 에스터로 전환하여 분리하는 방법을 주로 사용하고 있는데, 이는 지방산보다 지방산 에스터의 휘발성이 더 좋으므로 tocopherols와 분리하기가 용이하기 때문이다. 이 때 지방산 에스터를 분리하는 방법으로는 주로 분자증류법이 사용되는데, 일반적인 분자증류 온도인 160-230°C의 고온에서는 토코페롤중 일부가 파괴되는 것으로 알려져 있다(Xu et al., 2002). 따라서 원료의 토코페롤 등 지용성 생리활성물질의 회수율을 높이기 위한 공정에 대한 연구가 필요하며, 이에 대한 개선법으로 초임계 유체를 이용하여 유지 및 지용성 생리활성 물질을 추출 또는 농축하는 방법을 사용할 수 있다. 특히 초임계 이산화탄소 유체를 이용하는 공정은 추출 또는 농축 후 용매를 제거하는 공정이 필요 없는 친환경적 방법이며, 또한 비교적 저온, 고압에서 이루어지므로 목적 물질의 파괴 및 변화가 거의 없다는 장점이 있다.

본 연구에서는 조미강유내의 생리활성물질을 고농도로 농축하기 위하여, 지방산 에스터 제조시 생리활성 물질 파괴를 최소화할 수 있는 방법을 제안하고, 지방산 에스터와 생리활성물질을 효과적으로 분리, 농축할 수 있는 초임계 이산화탄소 농축 조건을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 미강은 2011 년도에 수확된 다산 1 호 품종이며, 농촌진흥청 국립식량원(수원)으로부터 제공받아, 진공포장하여 -80°C에 보관하면서 실험에 이용하였다.

미강 무게의 5 배 부피의 헥산으로 6시간 동안 교반하여 조미강유를 추출하고, 헥산 추출물을 여과지(Watmann No. 5)로 여과한 후, 진공증발 시켜 조미강유를 제조하였다. 본 시료는 질소충진 후 -80°C에서 저장하면서 이후의 실험에 사용하였다. Tocopherol 및 tocotrienol 표준물질은 Merck(Darmstadt, Germany)로부터 구입하였으며, policosanol (C20~C30), 5 α -cholestane, campesterol, β -sitosterol 및 stigmasterol 표준품은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA), γ -oryzanol 표준품은 Oryza Oil & Fat Chemical Co. Ltd(Ichinomiya, Japan)로부터 구입하였다. *Candida antarctica* lipase Novozyme 435는 Novo Nordick(Bagsvaerd, Denmark)에서 구매하였다. Hexane, isopropanol, chloroform, methanol, acetonitrile 및 acetic acid는 HPLC grade 로 Fisher Scientific Korea(Seoul, Korea)에서 구매하였으며, 그 외 실험에 사용된 시약은 Sigma Chemical Co.(St Louis, MO, USA)로부터 구매하였다.

산촉매를 이용한 지방산 에틸에스터 제조

100 mL 둥근 플라스크에 미강유 20 g 첨가 한 후 클로로포름 40 mL 첨가하여 교반하고, 2% 황산(H₂SO₄)-에탄올 용액 80 mL 첨가 후 가열 및 환류하면서 반응하였다. 남아있는 황산을 제거하기 위해 포화 염화나트륨(NaCl)-용액 20 mL를 첨가하였다. 위층을 제거하고 2 회 더 세척을 진행하였다. 황산이 제거된 클로로포름층의 잔여 수분을 제거하기 위해서 무수 황산나트륨(Na₂SO₄)이 충전된 관을 통과시켰다. 회수된 클로로포름을 진공증발기에서 제거한 후 분석 시료로 사용하였다.

효소를 이용한 지방산 에틸에스터 제조

추출한 조미강유 400 g과 에탄올을 1:40몰의 비율로 혼합하여 이중 자켓이 설치된 반응기에 넣고, 반응물의 온도가 50°C에 도달한 후 반응기를 400 rpm으로 교반하면서 시료의 10%(w/w)에 해당하는 *C. antarctica* lipase Novozyme 435를 첨가하여 분산시킨 후 반응기 뚜껑을 덮고 반응을 실시하였다. 반응이 완료된 후에 반응되지 않은 에탄올을 제거하기 위해 에틸 에스터 반응물을 1 L의 헥산에 녹여 100 mL의 증류수로 3 회 세척하고 무수 황산나트륨(Na₂SO₄)를 통과시켜 수분을 제거하였다. 남은 헥산은 회전 진공증발기로 제거하고 증발시켜 질소 충전 후 -80°C에 저장하면서 시료로 사용하였다.

초임계 이산화탄소를 이용한 미강유 생리활성 물질 농축

초임계 반응기에 미강유 에틸에스터 12 g을 이중 자켓이 달린 고압 반응기(HIP, Erie, PA, USA)에 넣은 후 반응기 온도를 45°C, 50°C, 55°C, 냉각기 온도를 -40°C로 유지하면서 2.0-3.0 mL/min의 속도로 이산화탄소의 유량을 유지하였다. 초임계 이산화탄소 유체의 압축 및 압력 조절은 liquid pump(Lab alliance, Malaysia)로 실시하였으며, 추출물은 0.1 Mpa, 25°C에서 분획하였다. CO₂ 소비량은 유량계(Fisher and Porter, Warminster, PA, USA)와 Flow totalizer(Singer American Meter Division, Philadelphia, PA, USA)를 이용하여 측정하였다. 초임계 이산화탄소 농축시스템은 Fig. 1에 나타내었다.

Tocopherols 분석

Tocopherols 분석을 위한 전처리는 AOCS Official Method Ce 8-89(AOCS 1994)의 방법에 따라 시행하였다. Tocopherols 분석을 위한 HPLC조건으로 이동상은 *n*-hexane/*iso*-propanol (99:1, v/v), Lichrospher Si 60 column(250×4.6 mm i.d, Merck co. Germany), 형광 검출기(JASCO FP-1520, Jasco Co. Japan)의 298 nm/325 nm(exc/em) 파장을 사용하였고, 유속은 1 mL/min이었다. 표준물질로 α -tocopherol, β -tocopherol, γ -tocopherol, δ -tocopherol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol을 사용하여 표준용액을 제조하였으

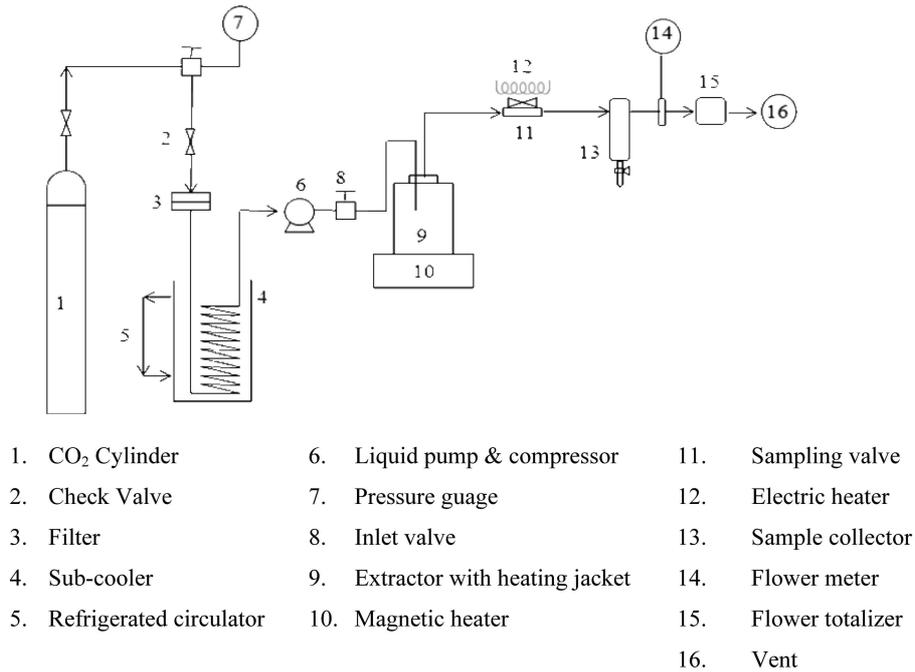


Fig. 1. Diagram of supercritical carbon dioxide extractor.

며, 검량선을 작성하여 시료중의 tocols 이성질체의 함량을 계산하였다.

Policosanol 및 phytosterol 분석

시료 1g에 5% pyrogallol 에탄올 용액 4 mL, 에탄올 30 mL, 내부표준물질(5α cholestan in CHCl_3)를 넣고 환류 냉각장치를 설치하여 가열하였다. 끓기 시작하면, 50% KOH 에탄올용액 1 mL을 넣어 5분간 검화하였다. 검화 후 충분히 냉각되면 본 시료와 증류수 50 mL, diethyl ether 50 mL를 분액깔대기에 넣어 불검화물층을 분리하고, 이를 감압농축하여 불검화물을 얻었다. 일정량의 시료를 취하여 Trimethylsilyl-pyridin으로 유도체화 시킨 후 가스크로마토그래피(Varian 3800, Varian Inc. Walnut Creek, CA, USA)로 policosanol과 phytosterol류를 분석하였다. 분석 컬럼은 SACTM-5 capillary column(30 m×0.25 mm i.d.×0.25 μm), carrier gas는 He을 1 mL/min로 흘려주었고, 주입부의 온도는 310°C, 온도 프로그램은 280°C(1 min) → 2°C/min 300°C(20 min)으로 하였으며, 불꽃이온화검출기의 온도는 320°C였다.

γ -Oryzanol 함량 측정

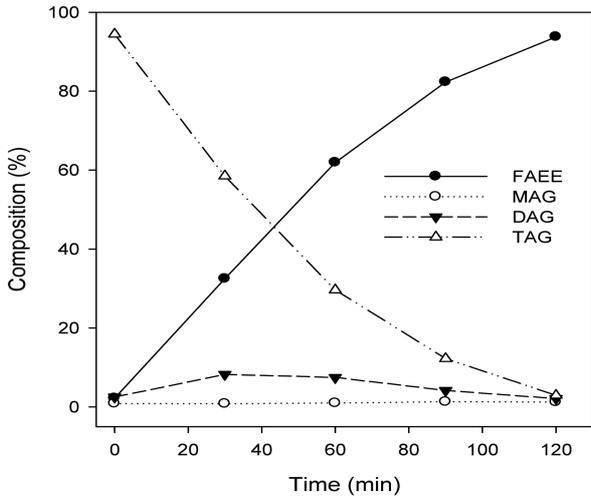
시료를 클로로포름(CHCl_3)에 녹인 후 spectrophotometer (Jasco V-630, Jasco Co. Japan)의 315 nm에서 흡광도를 측정하고, 흡광계수($E_{1\text{cm}}^{1\%}$) 358로부터 γ -oryzanol 함량을 계산하였다.

결과 및 고찰

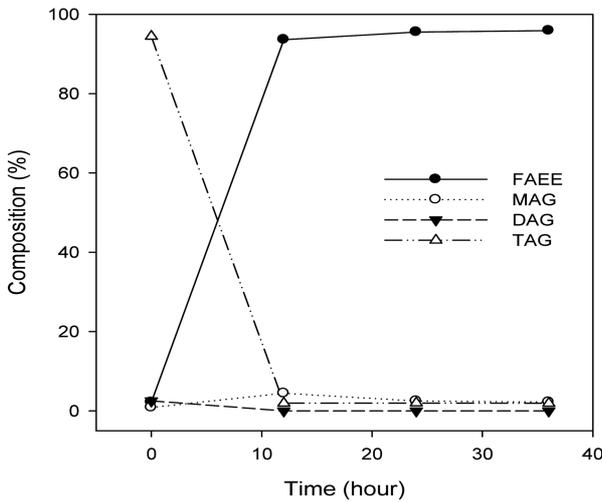
미강유 에틸에스터 제조

산촉매 에틸에스터 반응을 실시한 결과, 반응 2시간 후 지방산 에틸 에스테르로의 전환율이 93.75%에 도달하여 짧은 시간에 지방산 에틸에스터 반응을 완료할 수 있었으며 (Fig. 2(A)), Novozyme 435를 이용하여 미강유 지방산 에틸 에스터 전환반응을 실시한 결과, 12시간 후 전환율이 93.6%에 도달하였다(Fig. 2(B)). 두 반응의 반응속도를 비교해보면, 산 촉매 에틸에스터 반응이 효소 촉매 에틸 에스터 반응에 비해 매우 빠르게 진행되었다. 그러나, 산 촉매 반응후 total tocols함량은 원료 미강유내 total tocols 함량의 33%가 감소하였으나, 효소 촉매 반응후에는 total tocols 함량의 변화가 거의 없었다(Fig. 3). 흥미로운 것은 tocopherol류는 산촉매와 효소촉매반응 모두에서 함량 변화가 크지 않았으나, tocotrienol류는 산촉매반응의 경우 함량이 크게 감소하는 경향을 보였다. 특히 γ -tocotrienol은 산 촉매 반응후 원료 미강유내 γ -tocotrienol 함량의 52%정도 감소하는 경향을 보였다. Ju(Ju et al. 2013)의 보고에 의하면, 미강유의 메틸에스터 제조시 1% 황산을 촉매로 한 경우, γ -tocotrienol의 회수율은 50%, 5% 황산을 촉매로 한 경우 회수율은 37%로 보고하고 있다. 따라서 tocotrienol류는 산촉매 에스터 반응시 특히 취약한 이성질체인 것으로 사료된다.

특히, tocotrienol류는 항산화활성, 콜레스테롤 저하, 항노화 등에 효과가 있는 것으로 알려지면서 식품 및 화장품의



(A) Acid catalyzed ethanolsis



(B) Enzyme catalyzed ethanolsis

Fig. 2. Preparation of fatty acid ethyl ester from rice bran oil by acid-catalyzed (A) and enzyme-catalyzed ethanolsis (B) (FAEE : Fatty acid ethyl ester, MAG : Monoacylglyceride, DAG : Diacylglyceride, TAG : Triacylglyceride).

성분으로 주목받고 있는 물질이다(Prasad, 2011). 따라서 본 연구에서 사용된 효소 촉매를 이용한 지방산 에스터 반응은 원료내의 tocotrienols이 파괴되지 않으므로 매우 활용성이 크다고 사료된다. 본 연구결과 미강유 생리활성 물질 농축을 위한 지방산 에틸에스터 제조를 위해서는 효소를 촉매로 한 에스터 반응이 적합하므로 이후의 지방산 에틸에스터 제조는 Novozyme 435를 이용한 반응으로 진행하였다.

미강유 에틸에스터의 추출

Novozyme 435 촉매반응으로 제조한 미강유 에틸에스터 혼합물을 고압 반응기에 넣고, 초임계 이산화탄소 유체를 흘려 미강유내 생리활성 물질을 농축하였다. 본 실험은 추

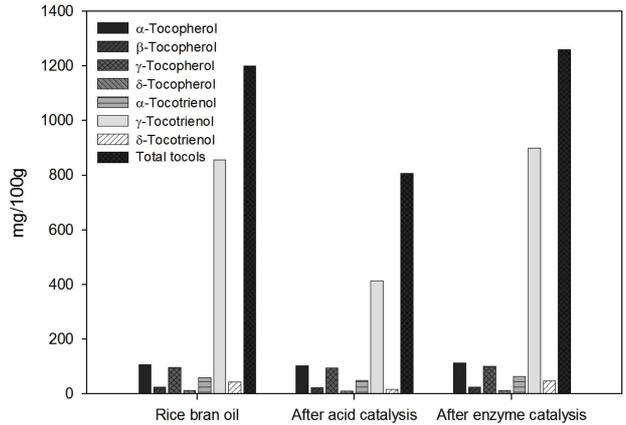


Fig. 3. Tocopherol contents of rice bran oil and rice bran oil fatty acid ethyl ester after ethanolsis.

출물 분획으로 생리활성물질이 추출되는 것을 줄이기 위해 비교적 저압인 9.65 MPa, 10.34 MPa, 11.03 MPa의 압력조건에서 실시하였으며, 각 압력조건 별로 반응기의 온도를 다르게 하였다. 각 조건에서 추출물은 약 2.1g씩 5 개로 분획하였고, 반응기에 약 1.5g의 농축물이 남을 때까지 추출을 계속하였다.

본 연구에서 미강유 에틸에스터를 포함하고 있는 oily substances의 추출 속도는 9.65 MPa, 55°C일 때 가장 낮았고(0.1 g oily substances/100 g CO₂), 11.03 MPa, 45 일 때 가장 높았다(2.5 g oily substances/100 g CO₂, Table 1). 동일 온도에서는 압력이 높아질수록 oily substances추출 속도가 유의적으로 컸으며, 동일 압력에서는 온도가 낮을수록 추출속도가 컸다. 본 실험에서 사용된 초임계 이산화탄소 유체의 밀도와 oily substances 추출 속도 사이에는 높은 상관관계를 보였다(Correlation coefficient (R²)=0.9502,

Table 1. Extraction rates of oily substances from rice bran oil fatty acid ethyl esters by supercritical CO₂ under different pressures and temperatures.

Temp. (°C)	Pressure (MPa)	CO ₂ density (Kg/L)	Extraction rate (oily substances g/100 g CO ₂)
45	9.62	0.44	0.86±0.09
	10.34	0.55	1.77±0.19
	11.03	0.60	2.47±0.04
50	9.62	0.35	0.21±0.00
	10.34	0.42	0.61±0.07
	11.03	0.49	1.13±0.08
55	9.62	0.30	0.11±0.00
	10.34	0.36	0.36±0.02
	11.03	0.42	0.72±0.01
R ^{2*}			0.9502

*Correlation coefficients (R²) between carbon dioxide density (Kg/L) and extraction rate (oily substance g/ 100 g CO₂).

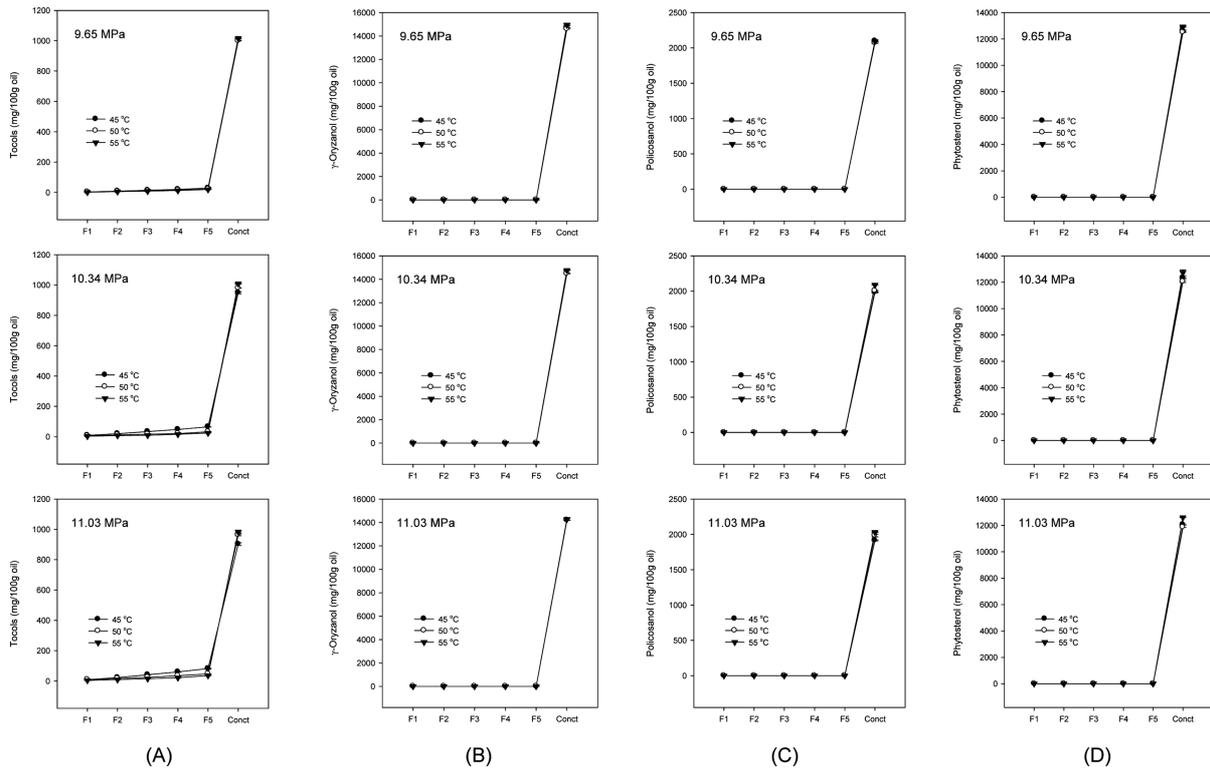


Fig. 4. Contents of tocopherols (A), γ -oryzanol (B), policosanol (C), and phytosterol (D) in the rice bran oil fractional extracts obtained at different supercritical conditions.

Table 1). 일반적으로 온도가 낮고, 압력이 높을수록 초임계 이산화탄소의 밀도가 높아지는데, 밀도가 높아질수록 초임계 이산화탄소에 대한 물질의 용해도가 높아는 것으로 알려져 있다 (Temelli et al., 2011). 따라서 본 실험에서도 초임계 이산화탄소의 밀도가 높아질수록 oily substances의 추출속도가 커지는 것으로 사료된다.

미강유 생리기능성 물질의 농축

미강유 에틸에스터를 5 개로 분획하여 추출하고, 각 분획내의 생리활성 물질 함량을 측정 한 결과는 Fig. 4와 같다. Tocopherols는 모든 조건에서 첫번째 분획부터 4-10 mg/100 g oil 정도가 추출되기 시작하였으며, 추출이 진행됨에 따라 더 많은 양의 tocopherols가 추출되었고, 다섯번째 분획에서는 추출조건에 따라 24-81 mg/100 g oil 범위에서 추출되

Table 2. Sum of the distillate fraction 1 to 5 of each nutraceuticals contents and the correlation coefficients between CO₂ under different pressures and temperatures.

Temp. (°C)	Pressure (MPa)	CO ₂ density (Kg/L)	Sum of fraction 1 to 5			
			Tocopherols (mg/100 g)	γ -Oryzanol (mg/100 g)	Phytosterol (mg/100 g)	Policosanol (mg/100 g)
45	9.62	0.44	73.6±7.1	6.9±0.1	0	0
	10.34	0.55	175.4±1.5	8.7±0.1	0	0
	11.03	0.60	215.0±5.1	9.9±0.2	0	0
50	9.62	0.35	53.8±1.9	5.7±0.3	0	0
	10.34	0.42	86.9±1.8	6.1±0.1	0	0
	11.03	0.49	131.3±2.2	10.2±0.2	0	0
55	9.62	0.30	46.1±0.9	4.6±0.0	0	0
	10.34	0.36	60.0±1.7	5.0±0.1	0	0
	11.03	0.42	86.2±1.3	8.1±1.5	0	0
R ² *			0.9306	0.7934	-	-

* Correlation coefficients (R²) between carbon dioxide density (Kg/L) and sum of tocopherols or γ -oryzanol from fraction 1 to 5.

Table 3. Concentration ratio[§] of nutraceuticals in the residues from rice bran oil fatty acid ethyl ester after supercritical CO₂ extraction.

Temperature (°C)	Pressure (MPa)	Tocols [*]	γ -Oryzanol ^{***}	Policosanol ^{***}	Phytosterol ^{**}
45	9.62	8.2 ^c	8.6	7.0	9.0 ^{de}
	10.34	7.7 ^{ab}	8.6	6.6	8.8 ^c
	11.03	7.3 ^a	8.5	6.4	8.7 ^b
50	9.62	8.1 ^{bc}	8.7	6.9	8.9 ^{cd}
	10.34	7.9 ^{bc}	8.6	6.7	8.7 ^b
	11.03	7.8 ^{abc}	8.5	6.6	8.5 ^a
55	9.62	8.3 ^c	8.9	7.0	9.3 ^f
	10.34	8.2 ^c	8.8	7.0	9.1 ^e
	11.03	8.0 ^{bc}	8.5	6.8	9.0 ^{de}

§ Means of three replicates

* Means within a column with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

** Means within a column with different superscript letters are significantly different ($p < 0.01$).

*** Means within a column are not significantly different.

었다. 미강유 에틸에스터와 함께 추출되는 tocols 양이 가장 많은 조건은 45°C, 11.3 MPa였으며, 이때 추출되는 tocols 양은 215.0 mg/100 g oil이었다(Table 2). γ -Oryzanol은 각 조건별로는 분획당 0.9-2.1 mg/100 g oil의 범위로 추출되었고, 각 조건의 에스터 추출물 분획의 γ -oryzanol 총 함량은 Table 2와 같다. Policosanols와 phytosterols은 1-5 번 분획에서는 전혀 검출되지 않아서 지방산 에틸에스터와 완벽하게 분리되어 농축되었다(Fig. 4, Table 2).

초임계 이산화탄소 추출시 물질의 용해도에 크게 영향을 주는 요인중 하나는 이산화탄소의 밀도로서, 본 연구결과 1-5 번 분획으로 추출된 tocols 총 함량과 초임계 이산화탄소의 밀도는 높은 상관관계가 있었다($R^2=0.9306$, Table 2). 초임계 이산화탄소에서 지방산 메틸에스터의 용해도는 α -tocopherol의 용해도의 약 10 배 이상이며, 이들 물질의 용해도는 이산화탄소의 밀도에 비례한다는 보고가 있다(Fang et al., 2004). 따라서 지방산 에스터는 tocopherol보다 상대적으로 초임계 이산화탄소에 훨씬 쉽게 용해되므로 tocopherol의 이성질체들인 tocols 와는 분리되어 추출되기 용이하나, tocopherol은 그 정도가 낮다 하더라도 초임계 이산화탄소에 용해되는 물질이므로 미강유 에틸 에스터 추출물과 함께 소량이 추출되어 나오는 것으로 사료된다. γ -Oryzanol의 경우 초임계 이산화탄소에 대한 연구 보고는 없으나, 본 연구결과로 볼 때, tocols보다 용해도가 훨씬 더 낮기는 하나 소량이나마 용해되는 것으로 사료되며, 이산화탄소의 밀도와 추출되는 γ -oryzanol 총 함량은 양의 상관관계가 있었다($R^2=0.7934$, Table 2). 그러나 phytosterol과 policosanol은 추출 분획쪽에서 검출되지 않아서 이 두 물질은 이산화탄소에 전혀 용해되지 않는 것으로 사료된다.

초임계 이산화탄소 유체를 이용하여 미강유내의 생리활성물질을 농축한 결과는 Table 3과 같다. 55°C, 9.62 MPa에서 Tocols 농축률이 가장 높았고, 45°C, 11.03 MPa에서 농

축률이 가장 낮았다. Phytosterol 농축률은 55°C, 9.62 MPa 조건에서 유의적으로 높았고, γ -oryzanol과 policosanol은 각 조건별로 농축률에 유의적인 차이가 없었다. 전체적으로는 동일 온도조건에서는 압력이 낮을수록 농축률이 증가하는 경향을 보였다. 여러 연구에 의하면, 동일 온도의 초임계 조건에서 압력이 낮을수록 추출률 및 추출속도는 낮으나 각 물질에 대한 선택성이 높고, 압력이 높을수록 추출속도는 높으나 선택성이 낮은 것으로 알려져 있다(Fang et al., 2008; Temelli et al., 2011). 따라서 압력이 낮을수록 지방산 에스터에 대한 선택성이 높아지므로 압력이 낮을수록 농축률이 높은 것으로 사료된다.

요 약

쌀 도정시 발생하는 미강의 부가가치를 높이기 위하여, 미강내 생리기능성 물질을 고농도로 농축하기 위한 전처리 방법 및 농축조건을 확립하고자 하였다. 미강으로부터 추출한 조미강유중 지방산을 분리하기 위하여 산 또는 효소 촉매를 이용하여 지방산 에틸 에스터를 제조하였다. 산 촉매 에스터 반응시 tocopherol류의 함량은 크게 영향을 받지 않았으나, tocotrienol류의 함량은 크게 감소하였고, 특히 γ -tocotrienol은 52% 감소하였다. 효소 촉매 에스터반응시 tocopherol류와 tocotrienol류 모두 크게 변화가 없었으므로 효소촉매를 이용한 에틸 에스터 반응이 생리활성물질 농축에는 더 적합하였다. 효소 촉매 반응을 이용하여 생산한 미강유 에틸 에스터를 초임계 이산화탄소를 이용하여 분리하고, 생리활성물질을 농축하였다. 온도 조건은 45°C, 50°C, 55°C, 압력조건은 9.62 MPa, 10.34 MPa, 11.03 MPa 이었다. Tocols는 소량이지만, 1-5 번 추출 분획에서 모두 검출되었으며, 5 번 분획에 가까워질수록 더 많은 양의 tocols이 추출되었다. γ -Oryzanol도 매우 소량이지만 하나 1-

5 번 분획에서 추출되었다. Policosanol과 phytosterol은 1-5 번 분획에서 전혀 추출되지 않았다. 특히 초임계 이산화탄소의 밀도와 지방산 에스터와 함께 추출되는 tocots 및 γ -oryzanol의 양은 높은 상관관계를 가지고 있었다($R^2_{\text{tocols}} = 0.9306$, $R^2_{\text{oryzanol}} = 0.7934$). Tocols와 phytosterol은 55°C, 9.62 MPa에서 농축시 농축률이 가장 높았으며, γ -oryzanol과 policosanol은 각 조건별로 농축률에 변화가 없었다. 또한 초임계 이산화탄소의 밀도가 클수록 농축속도는 매우 빨랐으나 농축물질의 선택성은 낮았다. 따라서 생리활성물질을 농축하는데에는 상대적으로 낮은 밀도의 초임계 이산화탄소를 적용하는 것이 더 효과적이었으며, 이러한 결과는 건강기능식품등에 이용하는 생리활성물질의 농축 및 정제 공정에 효율적으로 적용될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국책기술개발사업(과제번호 PJ907048)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- AOCS. 1994. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 4th ed. the American Oil Chemists' Society. AOCS Press. Champaign, IL. USA.
- Fang T, Goto M, Sasaki M, Yang D. 2008. Extraction and Purification of Natural Tocopherols by Supercritical CO₂. In: Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds. Martinez, JL (ed). CRC press. Boca Raton, FL. USA. pp. 103-140.
- Fang T, Goto M, Yun Z, Ding X, Hirose T. 2004. Phase equilibria for binary systems of methyl oleate-supercritical CO₂ and α -tocopherol-supercritical CO₂. J. Supercrit. Fluids 30:1-16.
- Ju Y-H, Zullaikah S. 2013. Effect of acid-catalyzed methanolysis on the bioactive components of rice bran oil. J. Taiwan Ins. Chem. Eng. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2013.03.006> (in press)
- Juliano BO. 1985a. Polysaccharides, proteins and lipids of rice. In: Rice: chemistry and technology. Juliano, BO (ed). American Association of Cereal Chemists. St. Paul. Minn. USA. pp. 59-169.
- Juliano BO. 1985b. Rice bran. In: Rice: Chemistry and Technology. Juliano, BO (ed). The American Association of Cereal Chemists. St. Paul. Minn. USA. pp. 647-688.
- Kim C-W, Kim H-S, Kim B-Y, Baik M-Y. 2011. Proteolysis of defatted rice bran using commercial proteases and characterization of its hydrolysates. Food Eng. Prog. 15:41-47.
- Patel M, Naik S. 2004. Gamma-oryzanol from rice bran oil: a review. J. Sci. Ind. Res. India 63:569-578.
- Prasad MN. 2011. Health Benefits of Rice Bran-A Review. J. Nutr. Food Sci. 1: 1000108.
- Temelli F, Seifried B. 2011. Bioseparation of Nutraceuticals Using Supercritical Carbon Dioxide. In: Food Engineering Interfaces. Aguilera JM, BarbosaCa'novas GV, Simpson R, Welti-Chanes J, Bermu'dez-Aguirre, D (ed). Springer. New York, NY, USA. pp. 353-392.
- Tiwari U, Cummins E. 2009. Nutritional importance and effect of processing on tocots in cereals. Trends Food Sci. Tech. 20:511-520.
- Xu X, Jacobsen C, Nielsen NS, Heinrich MT, Zhou D. 2002. Purification and deodorization of structured lipids by short path distillation. Eur. J Lipid Sci. Tech. 104:745-755.