

초임계 CO₂를 이용하여 추출한 탈지미강 중 표면활성물질의 유화 성질 평가

이형주 · 배재석 · 이의석 · 강호철¹ · 이기택 · 홍순택*
충남대학교 식품공학과, ¹한국화학연구원

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

Hyong-Ju Lee, Jae-Suk Bae, Eui-Suk Lee, Ho-Cheol Kang¹, Ki-Teak Lee, and Soon-Taek Hong*

Department of Food Science and Technology, Chungnam National University
¹Korea Research Institute of Chemical Technology

Abstract

In this experiment, the surface-active substances were extracted from defatted rice bran and their emulsifying properties were investigated. The sample emulsions stabilized with the surface-active substances (3 fractions: 1-HS, 6-HS and 18-HS) were prepared and then their physico-chemical properties such as fat globule size, creaming stability, oil-off and dispersion stability were determined. It was found that the sample emulsion with different fraction of surface-active substances showed different physico-chemical properties from each other. Specially, 1-HS emulsion with the smallest particle size was evaluated to be superior to others in terms of higher creaming stability, low incidence of oil-off and higher dispersion stability. From the study of co-surfactant addition (Tween 20, SSL and GMS), GMS was found to be the most effective in reducing fat globule size in 1-HS emulsion. This indicated that there might be a co-operative adsorption of the two surface-active substances at the oil-water interface. Thus, the potentiality of the rice bran extracts, obtained with specific conditions, as natural surface-active substances was confirmed.

Key words: rice bran, natural surface-active substances, emulsions, fat globule size

서 론

미강은 현미를 도정할 때 얻어지는 도정 부산물로 현미를 기준으로 약 8-10% 정도를 차지하며 국내의 경우 연간 35,000 톤이 발생되고 있다(Lee et al., 2010). 미강의 조성은 단백질 11-15%, 탄수화물 34-62%, 섬유질 7-11%, 지질 15-20% 그리고 회분 7-10% 등으로 구성되어 영양적으로 우수한 것으로 평가되고 있다. 그러나, 미강을 식품에 첨가할 경우 식미를 저하하고, 저장에 어려움 우수한 영양 가치를 지니고 있음에도 불구하고 일부가 미강유 제조용으로 사용되고 나머지 상당량은 가축 사료용 혹은 농업폐기물로 처리되고 있는 실정으로(Kim et al., 2004), 미강의 고부가

가치화를 위한 다양한 연구가 지속적으로 필요한 것으로 판단된다.

유화액(emulsion)은 액체의 연속상에 서로 섞이지 않는 액체(분산상)가 균일하게 분산된 시스템을 말하는데, 통상적으로 물/기름 간의 계면장력이 크기 때문에(예, 물/대두유의 계면장력: 24.6 mN/m)(Krog et al., 1989) 적당한 유화제를 첨가하지 않은 경우 유화액은 불안정하여 시간 경과와 더불어 크리밍, 지방구 응집, 합일 등의 유화 불안정화 현상이 발생한다(Shields et al., 2001). 이런 현상을 극복 혹은 최소화하기 위하여 유화액을 제조할 때 적당한 유화제를 선택하여 첨가하며 최근에는 식품 소재의 천연자원화 경향에 따라 천연유화제의 사용이 선호된다. 그러나 천연자원에서 추출하여 식품에 사용하는 천연유화제의 종류는 매우 제한되어있으며, 실제로 유제품 회사 등의 유화식품 산업에서는 레시틴 등이 천연유화제로 사용되고 있다.

미강을 원료로 하여 수행된 유화성질에 관한 연구는 대부분 미강단백질의 분리 및 이의 유화성질에 관한 것으로(Wang et al., 1999; Tang et al., 2003; Adebisi et al., 2007; Toliwal & Patel, 2007; Wiboonsirikul et al., 2007; Yeom et

*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, Korea

Tel: +82-42-821-6727; Fax: +82-42-821-8900

E-mail: hongst@cnu.ac.kr

Received March 5, 2012; revised May 21, 2012; accepted May 22, 2012

al., 2010), 단백질 이외에 미강 중 표면활성물질 분리하여 이에 대한 특성 연구는 상대적으로 매우 미흡하며(Yun & Hong, 2006), 특히 초임계 CO₂유체 추출법을 통해 얻은 미강 중 표면활성물질의 유화성질 조사에 관한 연구는 수행되지 않았다. 한편, Lee et al.(2011)은 초임계 CO₂유체를 이용하여 미강 중 표면활성물질을 추출하고 추출조건(압력, 온도, 보조용매량)을 최적화 하였으며 각 추출 분획의 계면장력을 측정하였다. 그 결과 각 추출분획의 계면장력은 보조용매량(에탄올)과 부의 상관관계를 나타내었으며, 압력 및 온도와는 정의 상관관계를 보였다.

본 연구는 전술한 천연유화제 탐색의 일환으로 수행되었으며, 이전 연구(Lee et al., 2011)에서 얻은 표면활성물질 분획물의 여러 가지 유화성질을 심층 분석하고자 진행하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 미강(신동진)은 군산지역 도정공장에서 생산된 것으로 표준체(pore size: 0.84 mm)를 통과시킨 것을 미생물 번식과 효소에 의한 변화를 최소화 하기 위해 -70°C의 deep freezer에 보관하면서 실험에 사용하였다. 카놀라유는 (주)오뚜기(Pyeong Taek, Korea)제품을 사용하였다. 시약은 Tween 20 (polyoxyethylene monolaurate, purity > 99%) 및 친유성 유화제 GMS(glyceryl monostearate)는 Sigma 사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, SSL(sodium stearyl lactylate)은 (주)일신웰스(Cheongwon, Korea) 제품을 사용하였다.

초임계 CO₂유체를 이용한 미강 중 표면활성물질의 추출

미강 중 표면활성 물질 추출은 이전 연구(Lee et al., 2011)와 동일하게 진행하였다. 즉, 추출압력(150-350 bar), 온도(33-65°C), 보조용매량(50-250 g)을 독립변수로 선정하여 D-optimal design에 따라 설계된 각 실험조건을 바탕으로 추출실험을 진행하였으며 추출시간은 2시간으로 하였다. CO₂의 flow rate(L/min)는 6으로 조정하였으며, 보조용매(에탄올)는 정량펌프를 이용해 2시간의 추출시간 동안 일정하게 extraction vessel에 주입하였다. 1 회 추출에 사용된 탈지미강은 50 g이었으며, 추출 종료 후 separator에 분획된

추출물은 evaporator를 이용하여 에탄올을 제거한 후 동결 건조를 통해 수분을 제거하였다. 동결건조가 완료된 추출물을 *n*-hexane에 용해 및 여과 과정을 거쳐 핵산용해 분획물을 얻었으며 이를 계면장력 측정용 시료로 하였다.

유화성질 평가를 위한 표면활성물질 분획물 선정

D-optimal design의 추출조건에 따른 표면활성물질 19 개 분획물을 얻었으며, 이중 3 개의 특징적 분획물을 본 실험의 표면활성물질 시험용으로 선정하였다. 즉, 계면장력이 가장 낮은 분획[No. 6(이하 6-HS)], 수율이 가장 낮은 분획[No. 1(이하 1-HS)] 및 수율이 가장 높은 분획[No. 18(이하 18-HS)] 등을 사용하였다.

유화액 제조 및 지방구 크기 측정

유화액은 Tornberg(1978)의 방법을 변형하여 제조하였다. 유상(oil phase)으로 시판 카놀라유(농도 : 5, 10, 15 wt%)에 선정된 3 가지조건(Table 1)에서 얻은 초임계 추출물(시험용 표면활성물질)을 0.1 wt%(유화액 대비 중량비율) 용해하고, 수상(aqueous phase)으로 20 mM bis-tris를 초순수(pH 7)에 용해하여 전술한 유상과 혼합하였다. 이 혼합액을 silverson mixer(L4RT, Silverson Machines Ltd., Chesham, UK)를 이용하여 5,000 rpm에서 2분간 pre-mixing을 한 후, 고압균질기(M-110Y, Microfluidics, MA, USA)를 이용하여 3,000 psi에서 최종 유화액을 제조하였다. 유화액 중의 지방구 크기는 입도분석기(Mastersizer S, Malvern Instrument, Worcestershire, UK)를 통해 측정하였으며, 결과는 volume-surface mean diameter(d_{32}) 및 weighted average mean diameter(d_{43})로 다음과 같이 표시하였다.

$$d_{32} = \frac{\sum d_i^3 n_i}{\sum d_i^2 n_i} \quad (n_i : \text{직경 } d_i : \text{입자의 갯수})$$

$$d_{42} = \frac{\sum d_i^4 n_i}{\sum d_i^3 n_i} \quad (n_i : \text{직경 } d_i : \text{입자의 갯수})$$

크리밍 안정성 변화 측정

유화액의 크리밍에 대한 안정성을 평가하기 위하여 유화액에 NaN₃ 0.01%를 넣은 후 이를 크리밍 안정성 test tube (Inside Diameter: 8 mm, Length: 205 mm)에 채워서 밀봉

Table 1. Extraction yield and interfacial tension data of *n*-hexane-soluble fractions of the SFE extracts for response surface analysis.

No.	Extraction conditions			Variables	
	Pressure (bar)	Temperature (°C)	Co-solvent (g)	Yield (%)	(mN/m)
1	150	33	50	0.59±0.04 ^{1)a}	12.28±1.9 ^{2)a}
6	350	65	50	0.78±0.23 ^{ab}	9.65±1.19 ^b
18	350	65	250	2.61±0.01 ^c	17.76±0.6 ^c

1) Values are Mean±S.D (n=3).

2) Values with different superscript letter in column are significantly different ($p < 0.05$).

하여 상온 저장한 후, 저장 10 일 후에 분리된 크림 층 (cream layer)의 높이를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$C(\%) = A / B \times 100$$

A: total height - cream layer(mm)

B: total height(mm)

C: creaming stability(%)

유화액 oil-off 평가

제조한 시료 유화액을 실온에 방치한 후 시간의 경과에 따라 유화액 표면에서 관찰되는 지방구를 염색하여 oil-off 발생 정도를 평가하였다. 지방구 염색에 사용한 sudan III 용액은 Fukumoto & Fujimoto(2002)의 방법을 변형하여 제조하였으며, sudan III 용액 30 μ L(0.5 wt% 에탄올 용액)를 10 mL의 유화액에 혼합시켜 유화액 표면에서 관찰되는 지방구의 염색 정도를 비교·평가하였다.

분산안정성 측정

유화액의 분산안정성 평가는 Detloff et al.(2006)의 방법을 변형하여 이용하였다. 즉, 시료 유화액을 test tube에 넣고 3,000 rpm의 속도로 100분간 회전시키면서 유화액에 근적외선(Near Infrared Light)을 10 초 간격으로 투과 시키고, 이때 투과된 빛의 세기(transmission profile)를 측정하여 투과된 빛의 세기 변화(곡선의 기울기로 표시됨)를 시료의 분산안정성으로 하였다. 본 실험에서는 유화액의 기름 농도(5, 10, 15 wt%) 변화에 따른 유화액의 분산안정도를 LUMiSizer(LUM, GmbH, Berlin, Germany)를 이용하여 평가하였다.

Co-surfactant 선정

본 연구를 통하여 우수한 유화성질을 나타낸 표면활성물질 분획물을 대상으로 co-surfactant 조합 실험을 수행하였다. 검토한 co-surfactant는 친수성 유화제인 Tween 20 및 SSL(sodium stearyl lactylate), 친유성 유화제 GMS(glyceryl monostearate)였다. 표면활성물질 분획물 0.1 wt%를 카놀라유(유상)에 용해하고, 검토하는 co-surfactant 0.07 wt%(유화액 대비 중량비율)를 수상(Tween 20, SSL의 경우) 혹은 유상(GMS의 경우)에 용해하여 각각의 수상, 유상을 혼합한 후 전술한 유화액 제조법에 준하여 유화액(0.1 wt% 표면활성물질 분획물, 0.07 wt% co-surfactant, 10 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH 7)을 제조하였으며, 광학현미경(CX21FS1, Olympus Corporation, Tokyo, Japan)을 이용하여 co-surfactant 첨가에 따른 시료 유화액 중의 지방구 크기 및 상태 변화를 관찰한 후 이를 기준으로 가장 우수한 co-surfactant를 선정하였다.

통계처리

통계처리는 SAS Package(Statistic Analysis System, version

9.2(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)후 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 유의적 차이를 검정하였다.

결과 및 고찰

지방구 크기의 변화

이전 연구를 통하여 얻은 3 가지 종류의 초임계유체 추출물 즉 표면활성물질(1-HS, 6-HS 및 18-HS)을 사용하여 유화시킨 유화액(0.1 wt% 표면활성물질, 5-15 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH 7)을 실온에 저장하고 저장기간에 따른 지방구 크기의 변화를 측정하였다(Fig. 1, 2, 3). 1-HS 유화액(Fig. 1)의 경우 기름 농도(5, 10, 15 wt%) 변화에 따른 초기 지방구 크기는 각각 0.30, 0.28, 0.30 μ m였고, 10 일 경과 후에는 0.34, 0.34, 0.37 μ m로 다소 증가하였다. 6-HS 유화액(Fig. 2)의 경우 초기 지방구 크기는 0.30, 0.30, 0.32 μ m였고, 10 일 경과 후엔 0.38 0.34, 0.37 μ m로 증가하였다. 18-HS 유화액(Fig. 3)은 초기에 0.29, 0.30, 0.37 μ m였고, 10 일 경과 후엔 0.35, 0.37, 0.44 μ m로 증가하였다. 전반적으로 각 추출조건에 관계없이 저장 기간이 증가함에 따라 지방구 크기가 증가하였으며, 기름 함량이 가장 높은 15 wt% 유화액의 지방구 크기가 큰 폭으로 증가하는 경향이였다. 저장 기간에 따른 지방구 크기의 증가는 저장 기간 중 지방구의 응집(flocculation) 혹은 합일(coalescence)을 시사하는 것으로 지방 함량이 가장 높은 유화액(i.e., 15 wt%)이 저장 안정성이 낮은 것으로 나타났다. 유화액 중의 지방구는 끊임없이 brownian movement를 하는데 이때 지방구 입자의 충돌이 야기되어 지방구를 둘러싸고 있는 계면막의 부분적 파괴가 동반될 수 있다(Dickinson, 1992). 이 경우 지방구는 응집 혹은 합일이 되

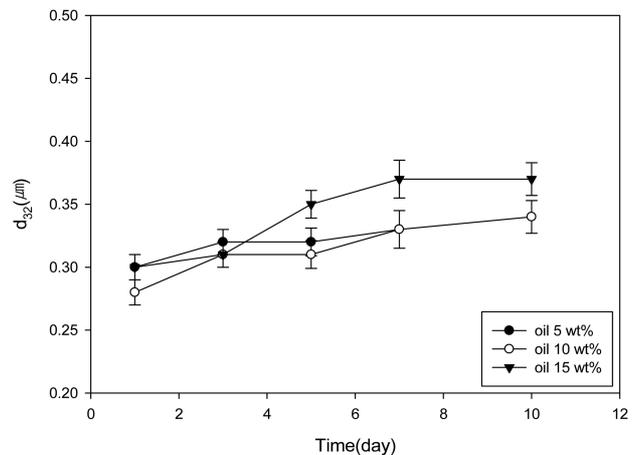


Fig. 1. Changes in average droplet size (d_{32}) in 1-HS emulsions (0.1 wt% 1-HS, 5-15 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH 7) containing various concentrations of oil during 10 days of storage. 1-HS represents the hexane soluble fraction obtained with extraction condition No. 1.

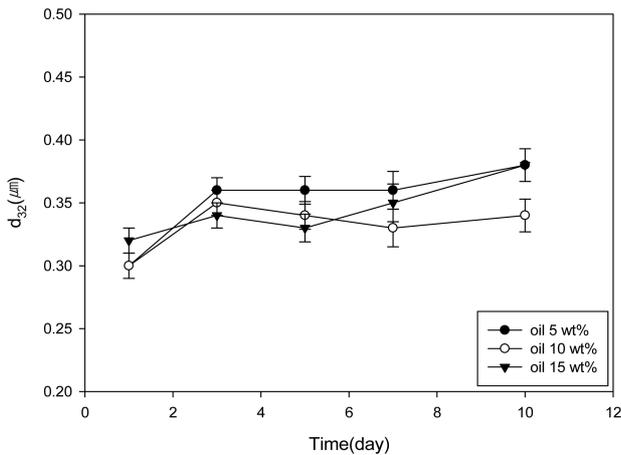


Fig. 2. Changes in average droplet size (d_{32}) in 6-HS emulsions (0.1 wt% 6-HS, 5-15 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH 7) containing various concentrations of oil during 10 days of storage. 6-HS represents the hexane soluble fraction obtained with extraction condition No. 6.

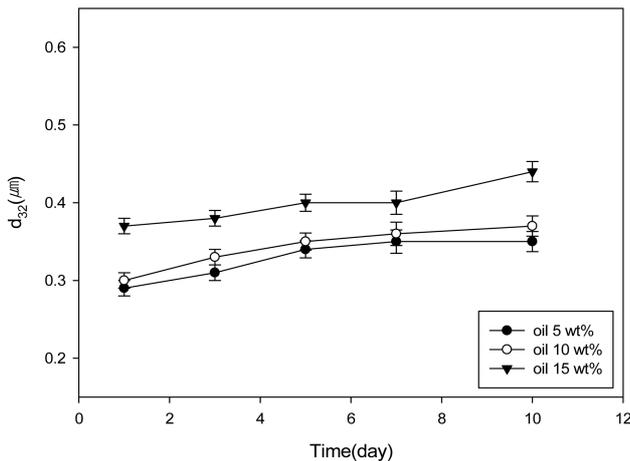


Fig. 3. Changes in average droplet size (d_{32}) in 18-HS emulsions (0.1 wt% 18-HS, 5-15 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH 7) containing various concentrations of oil during 10 days of storage. 18-HS represents the hexane soluble fraction obtained with extraction condition No. 18.

어 보다 큰 입경을 나타나게 되고 이로 인하여 유화액 물성에 중요한 변화를 초래하는 원인을 제공한다. 특히, 18-HS 유화액(15 wt% 기름 농도)의 안정도가 가장 낮게 나타난 것은 18-HS 분획이 다른 분획에 비교하여 상대적으로 낮은 유화능을 보유하고 있음을 시사하고 있다.

크리밍 안정성 변화

크리밍은 유화액 중의 지방구가 중력의 작용으로 분리되어 유화액 표면에 집적하는 현상으로 지방구는 여전히 계면막(interfacial membrane)으로 둘러 싸여 있으며, 지방구 크기 분포에는 변화가 없는 것이 특징이다. 크리밍이 발생

한 유화액은 온화한 조건의 교반을 통하여 원래의 상태로 되돌릴 수 있으며, 따라서 이는 가역적 변화에 해당된다.

지방구의 크기가 작을수록 크리밍 안정도가 큰 것은 Stokes' law를 이용하여 설명할 수 있다.

$$V_s = 2a^2(\rho_0 - \rho)g/9\eta_0$$

(V_s : creaming 속도, a : 입자 직경, ρ 와 ρ_0 = 분산질과 분산매의 밀도, η_0 = 연속상 점도)

3 가지 종류의 표면활성물질(1-HS, 6-HS 및 18-HS)을 사용하여 제조한 유화액(0.1 wt% 표면활성물질, 515 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH 7)의 크리밍 안정성 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 1-HS 유화액의 경우 기름 농도별(5, 10, 15 wt%) 크리밍 안정성은 98.9, 98.8, 98.6%로 가장 높았고, 6-HS 유화액은 97.9, 97.7, 97.6%를 나타냈으며, 18-HS 유화액은 97.7, 96.7, 91.7%로 다른 두 분획을 이용하여 제조한 유화액과 비교하여 낮은 안정성을 나타내었다. 특히, 기름 15 wt%를 함유하는 18-HS 유화액(기름 15 wt%)의 크리밍 안정도가 가장 낮은 것으로 관찰되었으며, 이는 Stokes' law에 근거하여 전술한 바와 같이 저장 10일 후 지방구 크기가 가장 크게 증가한 결과(i.e., 0.44 μm)에 기인된 것으로 사료된다(Yun & Hong, 2007).

유화액 oil-off 평가

3 가지 종류의 표면활성물질(1-HS, 6-HS 및 18-HS)을 사용하여 제조한 유화액(0.1 wt% 표면활성물질, 5-15 wt%

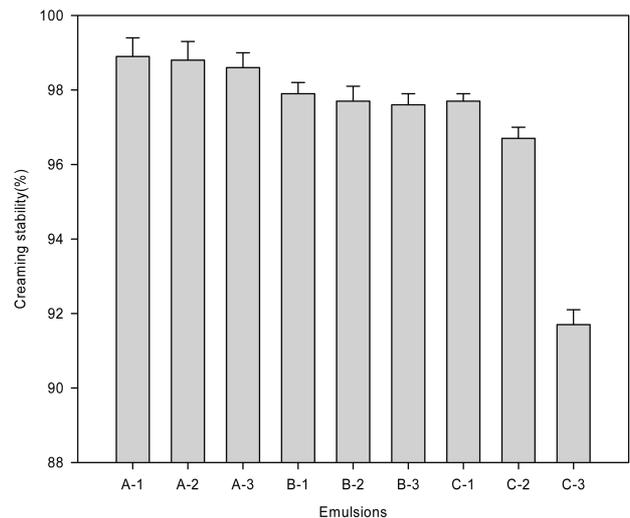


Fig. 4. Changes in creaming stability of emulsions containing various concentrations of oil. The stability was measured after 10 days following emulsification.

A-1: 1-HS (5 wt% oil), A-2: 1-HS (10 wt% oil), A-3: 1-HS (15 wt% oil), B-1: 6-HS (5 wt% oil), B-2: 6-HS (10 wt% oil), B-3: 6-HS (15 wt% oil), C-1: 18-HS (5 wt% oil), C-2: 18-HS (10 wt% oil), C-3: 18-HS (15 wt% oil)



Fig. 5. Degree of oil-off in emulsions (0.1% HS, 10 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH7).
A : 1-HS emulsion, B : 6-HS emulsion, C : 18-HS emulsion.

oil, 20 mM bis-tris, pH 7)의 표면에서 관찰되는 oil-off 현상을 평가하기 위하여 유화액을 sudan III 용액으로 염색한 후 유화액 중 지방구의 염색 정도를 비교하였다(Fig. 5). 유화액에 있어서 oil-off가 관찰되면 지방의 산화가 촉진되고 향미가 나빠지는 것으로 알려져 있다. 유화액 제조 1 일차의 각 시료를 염색한 결과 1-HS 및 6-HS 유화액의 경우 oil-off 현상이 잘 관찰되지 않았지만 18-HS 유화액은 뚜렷한 oil-off를 관찰할 수 있었다. 유화액 제조 5 일이 경과한 경우 1-HS 및 6-HS 유화액에서 미미한 수준의 oil-off 현상이 관찰되었으나, 18-HS 유화액의 경우 제조 1 일차와 비교하여 동등 이상의 oil-off 현상을 확인할 수 있었다. 제조 10 일차의 유화액을 염색한 결과 1-HS 및 6-HS 유화액도 이전에 확인하였던 것과 달리 oil-off 현상이 다소 진행되고 있음을 확인할 수 있었으며, 18-HS 유화액은 oil-off 현상이 상당히 진행되어 큰 입자크기(-0.1 mm)의 지방구가 발견되었다.

유화 안정도 측정

기름 농도 변화에 따른 유화액[0.1 wt% 표면활성물질(1-HS, 6-HS, 18-HS), 5-15 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH 7]의 안정도를 LUMiSizer를 이용하여 평가하였다. 각 유화액을 LUMiSizer에 loading 한 후 일정 시간 간격으로 근적외선을 투과시켰으며, 결과를 Fig. 6, 7 및 8에 나타내었다. Fig. 6은 1-HS 유화액의 안정도를 나타내고 있으며, 곡선의 기울기는 기름 농도(5, 10, 15%)에 따라 각각 64.14, 32.44, 35.6 1%/hour로 분석되었다. Fig. 7은 6-HS 유화액 안정도로 곡선의 기울기는 기름 농도에 따라 각각 46.96, 38.19, 49.35%/hour였으며, Fig. 8은 18-HS 유화액

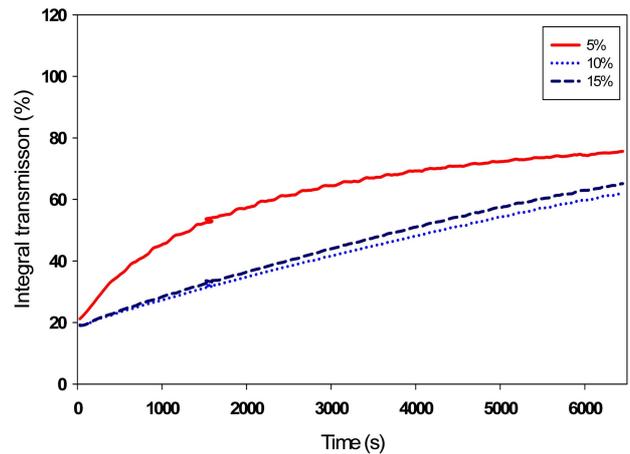


Fig. 6. Changes in the integral transmission of 1-HS emulsions containing various concentrations of oil at different times.

안정도로 곡선의 기울기는 기름 농도에 따라 각각 37.67, 48.04, 60.74%/hour로 분석되었다. 대체로 1-HS 유화액은 기울기가 가장 낮았고(기름 농도 5% 제외), 그 다음 6-HS 유화액, 18-HS 유화액의 순으로 기울기가 높게 측정되었다. 투과 기울기가 높을수록 일정 간격으로 투과되는 근적외선의 강도 변화가 큰 것으로 원심분리 중 유화액의 크리밍층 분리로 인한 내부 투과율이 높아졌음을 의미하며 이는 곧 유화 안정성에 있어 열세하다는 것을 의미한다(Detloff et al., 2006). 반면, 투과 기울기가 상대적으로 낮을수록 유화액 내부로 투과되는 근적외선의 강도 변화 정도가 낮은 것을 의미하며 이는 크리밍층의 분리가 쉽게 일어나지 않아 유화 안정성이 높은 것을 말하는데, 1-HS 유화액(기름 농

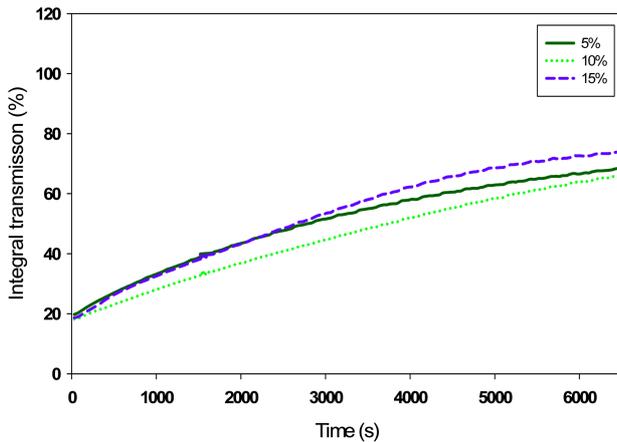


Fig. 7. Changes in the integral transmission of 6-HS emulsions containing various concentrations of oil at different times.

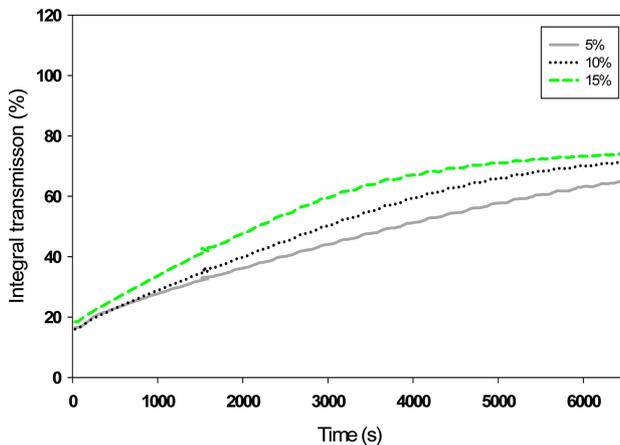


Fig. 8. Changes in the integral transmission of 18-HS emulsions containing various concentrations of oil at different times.

도 10 wt%)의 경우가 이에 해당된다고 할 수 있다. 한편, 1-HS 및 6-HS 유화액의 경우 기름 농도가 낮을 때(5 wt%) 낮은 경향의 유화안정도를 나타내었는데, McClement(2005)에 따르면 분산상의 농도가 낮은 유화액의 경우 원심분리 조작 등의 과도한 힘을 가할 때 유화액 중 지방구 간의 약한 network이 손상을 받고, 이에 따라서 지방구 응집 혹은 분리 현상이 용이하게 발생할 수 있다고 하였다. 또한 18-HS 추출물은 추출수율이 가장 높은 조건에서 얻은 분획물로서(Table 1) 18-HS 유화액의 안정도 기울기는 1-HS 및 6-HS 유화액과는 달리 기름 농도의 증가(5, 10 및 15 wt%)와 더불어 높아지는 것으로 나타났다(유화안정도는 낮아짐). 이전 연구(Lee et al., 2011)에 의하면, 추출 조건 중 보조용매량(에탄올)이 수율에 가장 큰 영향을 미치며(에탄올 농도가 높을 수록 추출량이 증가함), 따라서 18-HS 추출물은 1-HS 및 6-HS에 비교하여 추출물 조성이 현저히 상이하고, 이로 인하여 LUMiSizer에 의한 유화안정도

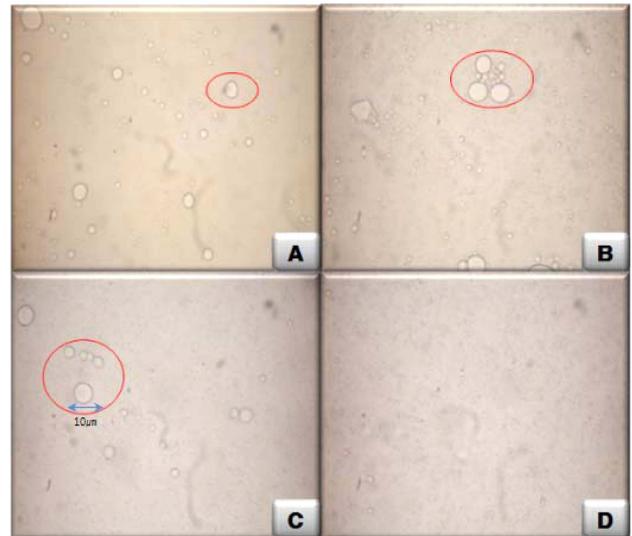


Fig. 9. Microscopic observation ($\times 500$) of oil globules in emulsions (0.1 wt% 1-HS, 0.07 wt% co-surfactant, 10 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH7) stabilized with various co-surfactants: A, 1-HS only; B, 1-HS + Tween 20; C, 1-HS + SSL; D, 1-HS + GMS.

특성이 다르게 나타난 것으로 추정하였다.

최종 추출물 선정 및 이의 유화특성 조사

이상의 실험 결과를 통하여 즉, 저장기간에 따른 지방구 크기변화 및 oil-off 발생, 크리밍 안정도, LUMiSizer를 이용한 유화안정도 측정 등에서 가장 우수한 결과를 나타낸 1-HS 분획물을 미강 중 표면활성물질을 함유하는 유용한 분획으로 최종 선정하였으며, 이를 이용하여 다음의 실험을 진행하였다.

Co-surfactant 선정

1-HS 유화액에서 관찰되는 oil-off 현상의 개선을 위해 적절한 co-surfactant 조합 실험을 수행하였다(Fig. 9). 검토한 co-surfactant는 친수성 유화제인 Tween 20 및 SSL (sodium stearyl lactylate), 친유성 유화제 GMS(glyceryl monostearate)였으며, 첨가 농도는 0.07 wt%였다. Fig. 9에 나타난 바와 같이 첨가된 표면활성물질에 따라 유화액 중의 지방구는 각기 다른 형태를 보였다. 즉, 1-HS 유화액(0.1 wt% 1-HS, 10 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH7)의 경우 지방구(유화액 A) 크기가 균일하지 않으며 다소 큰 지방구들이 관찰되었고, 1-HS 유화액에 친수성의 co-surfactant (Tween 20 혹은 SSL)를 첨가하였을 때(유화액 B 및 C) 1-HS 유화액과는 다르게 ‘응집’된 형태의 지방구를 관찰할 수 있었다. 한편, 친유성인 GMS를 co-surfactant로 첨가하여 제조한 유화액(유화액 D)의 경우 유화액 A, B 및 C와는 대조적으로 작고 균일한 형태의 지방구가 관찰되었다.

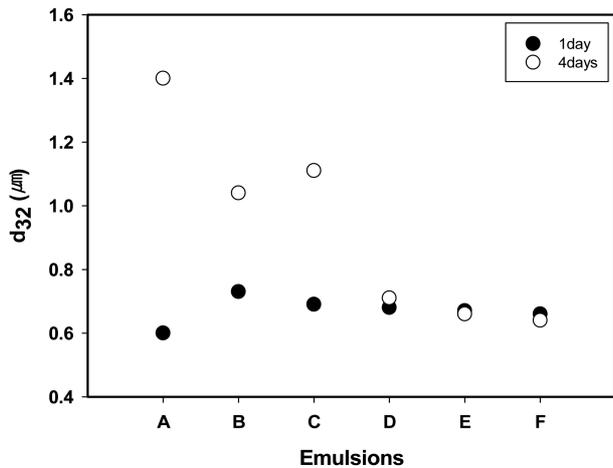


Fig. 10. Effect of co-surfactant addition (GMS) on the average droplet size (d_{32}) of 1-HS+GMS emulsions (0.1 wt% 1-HS, 10 wt% oil, 20 mM bis-tris, pH 7) at 1 or 4 days following emulsification. A: 1-HS (0.1%), B: 1-HS+GMS (0.1+0.01%), C: 1-HS+GMS (0.1+0.03%), D: 1-HS+GMS (0.1+0.05%), E: 1-HS+GMS (0.1+0.07%), F: 1-HS+GMS (0.1+0.1%)

GMS를 co-surfactant로 사용한 Krog et al.(1989)의 연구에서도 본 연구 결과와 유사하게 GMS 첨가에 의해 지방구의 크기가 작아지는 synergistic effect를 확인할 수 있었는데, 이는 시료 표면활성물질(1-HS)이 유화과정 중 친유성의 GMS와 더불어 물-기름 계면에 co-operative adsorption을 하게 되고, 이 결과 계면막의 흡착 밀도를 더 강화시켜서 유도된 결과로 추정되었다.

GMS 첨가농도에 따른 지방구 크기 변화

Co-surfactant(GMS)의 적절한 첨가농도를 결정하기 위해 co-surfactant 농도 변화(0.01-0.1%)에 따른 1-HS+GMS 유화액 중의 지방구 크기 변화를 측정하였다(Fig. 10). 본 실험 결과는 큰 입경의 지방구 존재에 민감한 weighted average mean diameter(d_{32})를 이용하여 평가였다. Fig. 10에 나타난 대로 유화액 제조 직후 d_{32} 의 크기는 1-HS (0.1%) 유화액 0.60 μm , co-surfactant GMS 0.01% 첨가한 경우 0.73 μm , 0.1% 첨가한 경우 0.66 μm 으로 GMS 첨가농도의 증가와 더불어 1-HS 유화액의 지방구 크기에 접근하는 것으로 나타났다. 한편, 제조 4일 후 지방구의 크기를 측정한 결과 1-HS 유화액의 d_{32} 값은 1.40 μm 으로 상당히 증가하였으나, 저농도(0.01-0.03%)의 GMS 첨가 유화액의 d_{32} 크기는 다소 증가한 것으로 관찰되었고, 고농도(0.05-0.1%)로 GMS를 첨가한 경우 유화액의 d_{32} 값은 거의 변함없이 일정하게 유지되고 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 GMS를 co-surfactant로 사용할 경우 적절한 첨가 농도는 0.05% 이상인 것으로 사료되었다.

요 약

본 실험에서는 초임계 추출법을 이용하여 탈지미강으로 부터 얻은 주요한 표면활성 물질 분획(3 fractions: 1-HS, 6-HS 및 18-HS)의 유화성질을 평가하였다. 유화성질의 평가는 표면활성분획을 이용하여 유화액을 제조한 후 이들의 여러 가지 물리화학적 성질(지방구 크기 및 변화, 크리밍 안정도, oil-off, 분산안정성 등)을 조사하였다. 그 결과 각 추출 분획을 이용하여 제조한 유화액은 서로 다른 물리화학적 특성을 나타내었는데, 그중 가장 작은 지방구 크기 특성을 나타낸 1-HS 유화액이 크리밍안정도, oil-off 및 분산안정성 측면에서 우수한 것으로 평가되었다. 또한 1-HS 추출물의 유화 기능성을 보강하기 위한 co-surfactant 검토 결과, GMS(glyceryl monostearate)를 추가적으로 첨가할 경우 1-HS 유화액의 지방구 크기가 현저하게 작아지는 것을 확인할 수 있었고, 적절한 첨가 농도는 0.05% 이상으로 확인되었다. 결론적으로 본 연구를 통하여 미강 추출물의 우수한 표면활성능을 확인할 수 있었으며, 이 천연의 표면활성물질은 초임계추출법을 이용하면 성공적으로 분리할 수 있는데, 향후 식품유화산업에서 이용될 수 있을 것으로 기대된다. 본 연구와 관련하여 다음의 실험 목표는 이 물질의 구성 성분분석 및 상업화 연구이다.

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.
- Detloff T, Sobisch T, Lerche D. 2006. Particle size distribution by space or time dependent extinction profiles obtained by analytical centrifugation. *Part. Part. Syst. Char.* 23: 184-187.
- Dickinson E. 1992. *An Introduction to Food Colloids.* Oxford University Press, Oxford, London, UK, p. 1.
- Fukumoto S, Fujimoto T. 2002. Deformation of lipid droplets in fixed samples. *Histochem. Cell Biol.* 118: 423-428.
- 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.
- Krog N, Barford NM, Sanchez RM. 1989. Interfacial phenomena in food emulsions. *J. Disp. Sci. Tech.* 10: 483-504.
- Lee ES, Kim KJ, Kim JH, Hong ST. 2010. A study on the development of high functional food protein ingredient from rice bran. *J. Agric. Sci.* 37: 61-68.
- Lee HJ, Lee ES, Hong ST. 2011. Extraction of surface-active substances from defatted rice bran by supercritical carbon dioxide. *Food Eng. Prog.* 15: 175-181.

- McClement, D. J. 2005. Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques (2nd ed.). CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA, p. 269.
- Shields M, Ellis R, Saunders BR. 2001. A creaming study of weakly flocculated and depletion flocculated oil-in-water emulsions. *Colloid Surface* 178: 265-276.
- Tang S, Hettiarachchy NS, Horax R, Eswaranandam S. 2003. Physicochemical properties and functionality of rice bran protein hydrolyzate prepared from heat-stabilized deffated 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.
- Tornberg E. 1978. Functional characterization of protein stabilized emulsions: creaming stability. *J. Food Sci.* 43: 1559-1562.
- 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-Food Sci. Technol.* 40: 1732-1740.
- Yeom HJ, Lee EH, Ha MS, HA SD, Bae DH. 2010. Production and physicochemical of rice bran protein isolates prepared with autoclaving and enzymatic hydrolysis. *J. Korean Soc. Appl. Bio.* 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.