

## 초임계 이산화탄소 추출 및 흡착에 의한 유지방중의 콜레스테롤 제거

임상빈 · 좌미경 · 광해수\*

제주대학교 식품공학과, \*세종대학교 식품공학과

### Cholesterol Removal from Milk Fat by Supercritical Carbon Dioxide Extraction in coupled with Adsorption

Sangbin Lim, Mi-Kyung Jwa and Hae-Soo Kwak\*

Department of Food Science and Technology, Cheju National University

\*Department of Food Science and Technology, Sejong University

#### Abstract

The technical feasibility of removing cholesterol from milk fat by supercritical carbon dioxide (SC-CO<sub>2</sub>) extraction followed by adsorption on different adsorbents and of fractionating milk fat into different fatty acid composition at 40°C/276 bar was investigated. Cholesterol could be selectively removed from milk fat by adsorption on a typical commercial florisol with SC-CO<sub>2</sub> extraction. Lower weight ratio of milk fat feed to florisol showed higher reduction of cholesterol, but gave lower yield in the milk fat fractions. The effective capacity of florisol for removing cholesterol from milk fat was 2.0 g/g, which is the ratio of the fat feed to the adsorbent for 89% cholesterol reduction with a fat yield of 57.5%. Fatty acid composition showed higher short-chain and lower unsaturated long-chain fatty acids in the extracted fractions. Milk fat fractionation method by supercritical fluid extraction in coupled with adsorption would appear suitable for removing undesirable ingredients such as cholesterol and for enriching short-chain fatty acids in the fractions.

Key words: supercritical carbon dioxide extraction, milk fat, cholesterol, adsorbent

## 서 론

유지방 중의 스테롤은 비검화물로서 그 중 95%는 콜레스테롤이다. 유지방 중의 콜레스테롤은 유리상태, 지방구의 lipoprotein과 결합상태 그리고 콜레스테롤 에스터 등 3가지 형태로 존재한다<sup>(1)</sup>. 유지방은 성인병의 원인이 되는 콜레스테롤을 0.25~0.4% 함유하고 있으므로 저콜레스테롤 유제품을 만들기 위해서는 유지방 중의 콜레스테롤을 90% 이상 제거하여야 한다<sup>(2)</sup>. 최근에 많은 연구자들이 제품의 물리·화학적 성질을 변화시키지 않고 식품으로부터 콜레스테롤을 제거하는 공정을 개발하여 왔다. 콜레스테롤 분자는 유리수산기(free hydroxy)를 가지고 있으므로 비교적 극성을 띠며, 지방보다 분자량이 2배 이상 크기 때문에, 이러한 성질을 이용한 콜레스테롤 제거방법으로는 분자증류<sup>(3)</sup>, 용매추출<sup>(4)</sup>, 흡착<sup>(5,6)</sup>, cyclodextrin complex<sup>(10)</sup>, 초임

계유체 추출법<sup>(5,6,8,9,11,12)</sup> 등이 있다.

초임계유체 추출법은 다른 방법에 비하여 한 공정에 서 유지방 중의 콜레스테롤을 제거함과 동시에 지방을 유리지방산 분자량과 포화도에 따라 분획하므로써 퍼짐성(spreadability)이 좋은 분획을 얻을 수 있는 이점을 가지고 있다. 초임계 이산화탄소가 유지방으로부터 콜레스테롤에 대한 선택도(selectivity)는 추출온도가 높을 때 또는 추출압력이 낮을 때 즉 이산화탄소의 밀도가 낮을 때 높지만, 이 조건에서는 유지방의 용해도가 낮으므로 이 공정은 실용성이 적다<sup>(5)</sup>. 따라서 흡착제를 사용하지 않고 초임계유체 추출만을 행하여 유지방으로부터 콜레스테롤을 제거하는 공정은 비경제적이다.

초임계유체 추출법에 있어서 콜레스테롤과 선택적으로 반응하는 흡착제를 이용할 때 고려할 사항으로는 콜레스테롤 제거율과 수율, 최종제품의 품질(즉 향기관련 성분과 결합 방지), 생산원가, 식품첨가물로서의 허가여부, 오염물질의 잔류여부 등이다. 흡착제로 사용되는 물질은 생리적으로 무해하며, 비교적 가격이 저렴하고, 콜레스테롤만을 선택적으로 흡착하고,

Corresponding author: Sangbin Lim, Department of Food Science and Technology, Cheju National University, Cheju, Cheju-do 690-756, Korea

나머지 지방, 지방산, 기타 천연의 향기, 색소 등을 가능한 적게 흡착하여야 한다. 또한 흡착조의 설계는 칼럼내에서 channeling을 방지하기 위하여 중요하며, 흡착제의 입자크기와 강도는 작은 입자로 부서져 칼럼이 막혀버리거나 유체의 흐름 경로를 막는 현상을 방지하기 위하여 중요하다. 따라서 흡착제는 펠렛, 과일상, glass beads 또는 rings 형태이어야 한다<sup>(13)</sup>.

콜레스테롤 제거를 위한 초임계유체 추출공정의 설계 및 경제성 산출을 위해서는 반드시 유지방 분획 공정도 동시에 고려되어야 한다. 왜냐하면 콜레스테롤을 제거하기 위해서는 초임계유체에 유지방을 용해시켜 흡착제가 충전되어 있는 고압의 흡착조를 통과시킨 후 콜레스테롤이 제거된 유지방은 흡착조에서 단순히 압력을 낮춤으로써 쉽게 분획시킬 수 있기 때문이다. 물리·화학적 성질이 다른 분획들은 제빵, 제과 또는 낙농제품에 용도에 따라 첨가물로 유용하게 이용될 수 있다.

지금까지 초임계유체 추출 및 흡착법을 이용하여 유지방으로부터 콜레스테롤 제거에 관한 연구로, Shishikura 등<sup>(4)</sup>은 흡착제로 실리카겔을 사용하여 40°C/300 bar에서 유지방을 초임계 이산화탄소로 추출·흡착시켰을 때 지방 수율이 80%이면서 콜레스테롤이 75% 이상 제거된 분획을 얻었으며, 활성탄을 흡착제로 사용하였을 때는 콜레스테롤 함량을 80% 이상 제거하였지만 색소와 향기성분도 완전히 동시에 제거되었다고 보고하였다. McLachlan 등<sup>(13)</sup>도 추출온도 30~60°C, 추출압력 150~300 bar에서 MgCO<sub>3</sub>, MgO, CaCl<sub>2</sub>, CaO 등을 흡착제로 사용하여 유지방으로부터 콜레스테롤을 100% 제거하였으나(수율 80%) 유지방과 흡착제의 비율이 0.001~0.11로 흡착제의 비율이 너무 높아 비실용적이었다.

따라서 본 연구에서는 대기압 상태에서 콜레스테롤 흡착능이 있는 것으로 알려진 몇가지 흡착제를 선택하여, 고압에서 콜레스테롤 흡착능이 높은 것으로 알려진 florisil과 비교하기 위하여, 추출온도 40°C, 추출압력 276, 345 bar에서 3 또는 4시간 동안 추출하면서 흡착제의 종류별, 입자크기별, 비율별로 추출시간에 따른 유지방의 수율, 콜레스테롤 함량, 지방산 조성을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 무수유지방은 시중에서 구입한 버터를 60°C에서 녹인 후 상등액을 Whatman No. 1으

로 여과하여 시료로 사용하였다.

### 초임계 이산화탄소에 의한 유지방의 추출

본 실험에 사용한 초임계유체 추출장치(Autoclave Engineers, Inc. #08U-06-60-FS)는 최대 압력이 413 bar까지 사용 가능한 연속 유통형이다. 먼저 추출조(EV)에 무수유지방 20 g를 주입하였다. 탄산가스는 실린더(TK)로부터 check valve (CV)를 거쳐 고압 피스톤펌프(HPP)에 의해 가압되었다. 이 때 탄산가스 주입부의 공동화 현상을 방지하기 위하여 -20°C 냉각조(HE)를 설치하여 이산화탄소의 기화를 방지하였다. 가압된 이산화탄소는 역압 조절기(BPR)에 의하여 압력이 조절되었고 압력계(P)에 의해 압력이 측정되었고 추출조로 이송되었다. 추출조의 내용적은 300 mL이고, 온도는 비례형 온도조절기에 의하여 조절되었으며 열전쌍온도계(T)에 의하여 측정되었다. 이와 같이 하여 일정 압력과 온도에서 정상상태로 유지된 후 추출조 출구로 나가는 고압의 혼합물은 흡착제가 충전되어 있는 흡착조(AV)를 통과한 후 가온된 metering valve (MV)를 통하여 분리조(S)에서 대기압으로 감압, 팽창되면서 탄산가스와 추출물로 분리되었다. 이때 통과되는 탄산가스의 유량은 rotameter (R)에 의하여 측정되었고 적산된 부피는 totalizer (FT)에 의하여 측정되어진 후 대기중으로 방출되었다. 이때 탄산가스의 유량은 7.16 g/min 였다.

추출온도 40°C, 추출압력 276, 345 bar에서 3 또는 4시간 동안 추출하면서 매 30분마다 시료를 취하여 유지방의 수율, 콜레스테롤 함량, 지방산 조성을 측정하였다. 흡착제로는  $\beta$ -cyclodextrin (셀렉스 B-100, 일본 식품화학(주), 일본), talc (hydrous magnesium silicate, Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee, USA), celite(545, 신양화학공업(주), 일본), florisil (U.S. Silica Company, Berkeley Springs, W. VA, USA)를 사용하였다. 흡착조에는 유체의 흐름을 균일하게 하기 위하여 흡착조의 위와 아래에 직경 2 mm인 glass bead (WITEG, W. Germany)를 1.25 cm 높이로 충전하였다.

### 콜레스테롤 분석

추출분획물 약 1 g에 2 M methanolic KOH 10 mL를 가하여 환류 냉각기에서 30분간 비누화 시킨 후, 250 mL 분액 깔때기에서 냉각시킨 다음 ethyl ether와 petroleum ether를 1:1로 혼합한 용매 20 mL를 가하여 2회 추출하였다. 이를 35°C에서 회전진공증발농축기로 농축시켜 isopropanol로 10 mL 정용한 후 cholesterol oxidase 방법<sup>(14)</sup>에 따라 콜레스테롤 함량을 측정하였다.

## 지방산 분석

지방산 조성은 추출분획물을 메틸에스터화시킨<sup>(4)</sup> 후 GC(Hewlett-Packard 5890 series II)에 의하여 분석하였으며, column은 DBTM-WAX capillary (30 m × 0.25 mm i.d., Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA)를 사용하였고, 온도는 50°C에서 4분간 유지한 다음 10°C/min으로 250°C까지 온도를 올려 2분간 유지하였다. 검출기는 FID를 사용하였고, 주입구와 검출기의 온도는 각각 250°C와 300°C였다. 운반기체로서 질소가스를 사용하였으며, split ratio는 100:1이었다.

## 결과 및 고찰

흡착제 종류에 따른 유지방의 수율 및 콜레스테롤 함량

$\beta$ -cyclodextrin은 수용액상에서 콜레스테롤과 킬레이트 반응을 일으켜 착화합물을 형성하므로, 이 원리를 이용하여 대기압 하에서 우유와 버터로부터 콜레스테롤을 제거할 수 있는데, 이 방법은 제거할 콜레스테롤에 대하여 첨가하는  $\beta$ -cyclodextrin의 비율이 너무 높은 단점을 가지고 있다<sup>(16,17)</sup>. 또한 talc는 콜레스테롤 포화용액으로 처리하여 감귤주스 중의 쓴맛 성분인 리모닌을 흡착 제거하는데 이용되었고<sup>(18)</sup> celite는 수용액상에서 콜레스테롤-사포닌 착화합물을 흡착하는 것으로 알려져 있다<sup>(7)</sup>.

이와 같이 대기압 상태에서 콜레스테롤 흡착능이 있는 것으로 알려진 이들 흡착제를 선택하여, 고압에서 콜레스테롤 흡착능이 높은 것으로 알려진 florisil과 비교하기 위하여, 추출온도 40°C, 추출압력 345 bar에서 유지방 20 g를 추출조에 주입하고, 흡착제로서  $\beta$ -cyclodextrin은 40 g, talc, celite, florisil (100/200 mesh)은 각각 20 g를 흡착조에 충전한 후 추출·흡착시킴으로써 3시간 동안 매 30분마다 시료를 취하여 유지방의 수율과 콜레스테롤 함량을 측정하였다(Table 1). 유지방의 수율은 흡착제로  $\beta$ -cyclodextrin, talc, celite를 통과시킨 시험구 모두 유사하여 추출 3시간 후 약

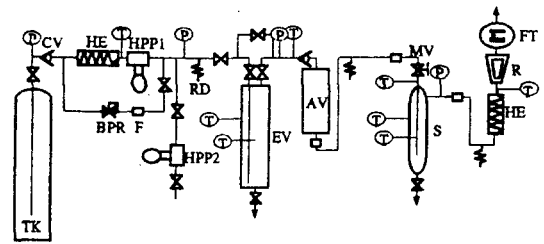


Fig. 1. Flow diagram of supercritical fluid extraction system. (AV: adsorption vessel, BPR: back pressure regulator, CV: check valve, EV: extraction vessel, F: filter, FT: flow totalizer, HE: heat exchanger, HPP: high pressure pump, MV: metering valve, P: pressure gauge, R: rotameter, RD: rupture disk, S: separator, T: temperature indicator, TK: carbon dioxide tank).

Table 1. Fat yield, cholesterol concentration and percent cholesterol reduction of milk fat fractions by supercritical carbon dioxide with different adsorbents at 40°C/345 bar

Adsorbent	Extraction time (min)	30	60	90	120	150	180	Total
$\beta$ -Cyclodextrin (20:40) <sup>1)</sup>	CO <sub>2</sub> used (g)	218	221	209	214	211	213	1,286
	Fat yield (wt%)	4.9	14.7	16.2	14.9	12.2	6.9	69.8
	Chol. conc (mg/100 g)	178.5	202.8	226.7	248.6	264.2	256.3	232.4
	Chol. reduction (%)	-29.0	-19.3	-9.8	-1.1	+5.0	+1.8	-7.6
Talc (20:20)	CO <sub>2</sub> used (g)	218	216	213	213	218	209	1,287
	Fat yield (wt%)	5.7	13.1	15.3	14.4	12.4	8.2	69.1
	Chol. conc (mg/100 g)	200.8	174.6	177.8	189.7	221.8	235.2	196.2
	Chol. reduction (%)	-20.1	-30.6	-29.3	-24.6	-11.8	-6.5	-22.0
Celite (20:20)	CO <sub>2</sub> used (g)	216	214	211	216	216	216	1,289
	Fat yield (wt%)	3.7	15.7	15.3	14.2	11.7	9.1	69.7
	Chol. conc (mg/100 g)	128.8	217.2	261.7	272.5	271.1	277.0	250.3
	Chol. reduction (%)	-48.8	-13.6	+4.0	+8.3	+7.7	+10.0	-0.5
Florisil (20:20)	CO <sub>2</sub> used (g)	211	214	200	230	202	218	1,275
	Fat yield (wt%)	--	--	3.2	12.4	10.2	10.3	36.1
	Chol. conc (mg/100 g)	--	--	14.7	15.5	12.9	--	14.3
	Chol. reduction (%)	--	--	-94.1	-93.8	-94.8	--	-94.3

<sup>1)</sup>The weight ratio of milk fat to adsorbent.

69%인 것으로 보아 흡착제를 통과시키지 않은 시험구 (68.2%)와 비교하여 볼 때 이들 흡착제에는 유지방이 거의 흡착되지 않는 것으로 판단되었다. 반면 florisil 을 통과시킨 시험구는 추출 3시간 후 유지방의 수율이 매우 낮은 것으로 보아 florisil은 유지방을 많이 흡착 하는 것으로 판단되었다.

시료로 사용한 무수유지방의 콜레스테롤 함량은 251.6 mg/g이었으며, 이를 기준으로 추출분획물들의 콜레스테롤 함량으로부터 콜레스테롤 제거율을 계산 하였다. 유지방 분획들의 콜레스테롤 제거율은  $\beta$ -cyclodextrin, talc, celite의 경우 초기 추출물에서는 다소 높았으나 추출시간의 증가에 따라 흡착제가 지방과 콜레스테롤로 포화되어 콜레스테롤 제거율은 감소하였다.  $\beta$ -cyclodextrin은 추출시간 60분까지는 약 20%의 콜레스테롤 제거율을 유지하였지만, talc는 120분까지 20% 이상의 콜레스테롤 제거율을 보인 반면, celite는 추출 30분까지는 약 48%의 높은 제거율을 보였지만 그 이후 급격히 감소하였다. 따라서  $\beta$ -cyclodextrin의 경우는 Oakenfull와 Sidhu<sup>(17)</sup>이 지적한 바와 같이 높은 콜레스테롤 제거율을 얻기 위해서는 유지방에 대하여 흡착제의 첨가 비율을 높여야 될 것으로 판단되었다. Talc의 경우는 콜레스테롤 제거율이 약 20% 수준에서 일정할 것으로 추정되는 바, 이는 magnesium silicate의 활성부위인 OH 그룹이 물분자에 의하여 차지되어 버려 콜레스테롤을 흡착시킬 수 있는 활성부위가 감소되었기 때문인 것으로 추정된다<sup>(18)</sup>. Celite의 경우는 추출초기에 콜레스테롤 제거율이 48.8%로 높은 것으로 보아 콜레스테롤 제거율은 높이기 위해서는 유지방에 대한 흡착제의 비율을 크게할 필요가 있을 것으

로 추정된다.

반면 florisil의 경우 유지방 분획들의 콜레스테롤 제거율은 93% 이상으로 가장 높았다. 그러나 유지방의 수율은 추출 3시간 후 36.1%로 다른 흡착제의 약 반 정도로 매우 낮으므로, 높은 콜레스테롤 제거율을 유지하면서 유지방의 수율을 극대화할 수 있는 유지방과 흡착제의 비율을 최적화할 필요가 있다. Lim과 Rizvi<sup>(9)</sup>는 연속식 공정에서 40°C/241 bar로 유지방을 추출 흡착시켜 54~86%의 콜레스테롤이 제거된 유지방 분획을 얻었다.

#### 흡착제의 입자크기에 따른 유지방의 수율 및 콜레스테롤 함량

Table 1에서 콜레스테롤 제거율이 가장 높은 것으로 알려진 florisil에 대한 흡착특성을 밝히기 위하여 추출 온도 40°C, 추출압력 276 bar에서 유지방 20 g를 추출조에 주입하고, 흡착제로서 florisil의 입자크기별(30/60, 60/100, 100/200 mesh)로 각각 5 g를 흡착조에 충전한 후 추출·흡착시키면서 4시간 동안 매 30분마다 시료를 취하여 유지방의 수율과 콜레스테롤 함량을 측정하였다(Table 2). 추출시간에 따른 유지방의 수율은 30/60과 60/100 mesh의 경우는 약 68%로 거의 유사하였다. 그러나 100/200 mesh의 경우는 30/60과 60/100 mesh와 비교하여 볼 때 추출초기에는 유지방의 수율이 비슷하였으나 추출 2시간부터는 다소 감소하여 추출 3시간 후에는 64.8%였다. 유지방과 florisil의 비율이 20:20였을 때는(Table 1) 추출초기에 추출된 유지방이 모두 흡착되었지만 20:5였을 때는(Table 2) 추출초기에도 유지방의 수율이 높은 것으로 보아, 유

**Table 2. Fat yield, cholesterol concentration and percent cholesterol reduction of milk fat fractions by supercritical carbon dioxide with different mesh size of florisil at 40°C/276 bar (the weight ratio of milk fat to adsorbent is 20:5)**

Mesh size	Extraction time (min)	60	90	120	150	180	210	240	Total
30/60	CO <sub>2</sub> used (g)	452	207	220	213	214	214	204	1,724
	Fat yield (wt%)	8.0	11.0	16.4	8.8	9.4	8.2	6.8	68.6
	Chol. conc (mg/100 g)	31.8	22.8	35.2	57.1	79.8	99.3	131.7	58.9
	Chol. reduction (%)	-87.3	-90.9	-86.0	-77.3	-68.2	-60.5	-47.6	-76.5
60/100	CO <sub>2</sub> used (g)	426	213	209	205	205	196	191	1,645
	Fat yield (wt%)	9.8	11.9	11.9	10.3	9.0	8.0	7.5	68.4
	Chol. conc (mg/100 g)	67.6	68.9	115.4	169.4	191.2	226.3	244.3	145.6
	Chol. reduction (%)	-73.1	-72.6	54.1	-32.6	-24.0	-10.0	-2.9	-42.1
100/200	CO <sub>2</sub> used (g)	463	220	198	191	202	191	195	1,660
	Fat yield (wt%)	11.3	11.7	10.8	9.3	7.8	7.2	6.7	64.8
	Chol. conc (mg/100 g)	53.0	55.4	77.6	101.3	128.4	139.6	162.2	94.4
	Chol. reduction (%)	-78.9	-77.9	-69.1	-59.7	-48.9	-44.5	-35.5	-62.4

지방의 수율을 높이기 위해서는 유지방에 대하여 흡착제의 비율을 적게하는 것이 바람직하였다.

추출시간에 따른 추출물 분획에서의 콜레스테롤 제거율은 추출초기에는 높은 반면 추출시간의 증가에 따라 서서히 감소하였는데, 이는 추출시간의 증가에 따라 흡착제가 지방과 콜레스테롤로 포화되고 있음을 보여주고 있다. 콜레스테롤 제거율은 30/60 mesh가 가장 높았으며, 그 다음 100/200, 60/100 mesh 순이었다.

일반적으로 동일 흡착제인 경우 입자크기가 작을수록 표면적이 커서 흡착능 즉 분리효율이 높은 것으로 알려져 있다<sup>(19)</sup>. 그런데 본 실험에 사용한 florasil (standard activation grade, 활성화 온도: 650°C)의 표면적은 30/60, 60/100, 100/200 mesh의 경우 각각 2.54, 2.91, 2.65 m<sup>2</sup>/g로 60/100 mesh가 가장 크고, 그 다음 100/200, 30/60 mesh 순으로 입자크기와 표면적과의 상관관계가 정반대였다. 이는 florasil이 합성품이며 등급과 입자크기에 따라 각각 다른 종류의 화합물과 반응하도록 제조되어, 석유산업에서는 30/60 mesh가, 유기염소계농약에 대해서는 60/100 PR 등급(pesticide residue analysis grade, 활성화 온도: 675°C)이 가장 효과적인 것으로 보아, 입자크기가 표면적을 좌우하는 유일한 변수가 아니며, 활성화 온도와 시간 또한 중요한 역할을 하기 때문이다<sup>(20)</sup>.

#### 흡착제의 비율에 따른 유지방의 수율 및 콜레스테롤 함량

유지방과 흡착제의 비율이 유지방의 수율과 콜레스테롤 제거율에 미치는 영향을 검토하기 위하여, 추출 온도 40°C, 추출압력 276 bar에서 유지방 20 g를 추출조에 주입하고, 흡착제로서 florasil 30/60과 100/200 mesh를 각각 10 g를 흡착조에 충전한 후 추출·흡착시키면서 4시간 동안 매 30분마다 시료를 취하여 유지방의 수율과 콜레스테롤 함량을 측정하였다(Table

3). 추출 4시간 후 유지방의 수율은 30/60과 100/200 mesh의 경우 유지방과 흡착제의 비율이 20:5였을 때는(Table 2) 각각 68.6과 64.8%인 반면 20:10였을 때는(Table 3) 각각 57.5와 60.4%로 추출시간에 따른 유지방의 수율은 감소하였는데, 이는 유지방에 대하여 흡착제의 비율이 높을수록 유지방이 흡착제에 많이 흡착되었기 때문이다. 100/200 mesh의 경우 흡착제 비율의 증가에 따른 유지방의 흡착 정도는 30/60 mesh에 비하여 다소 적었다.

콜레스테롤 제거율은 유지방과 흡착제의 비율이 20:5였을 때는(Table 2) 추출시간에 따라 감소 폭이 큰 반면 20:10였을 때는(Table 3) 추출 210분까지는 91% 이상이었다. 이로 보아 유지방의 수율을 높이면서 콜레스테롤 제거율을 높이기 위해서는 유지방과 흡착제의 비율은 20:10이 적당하였다.

Shishikura 등<sup>(5)</sup>은 흡착제로 실리카겔을 사용하여 40°C/300 bar에서 유지방을 추출·흡착시켰을 때 유지방 20 g에 대하여 실리카겔을 60 g 사용하였을 때는 수율이 50%였고, 콜레스테롤 제거율이 94%인 반면 실리카겔을 20 g 사용하였을 때는 수율이 80%였고, 콜레스테롤 제거율이 68%였다고 보고하였다. 또 Kwon과 Chao<sup>(9)</sup>도 쇠기름을 40°C/345 bar에서 추출하여 florasil을 통과시킨 결과 쇠기름에 대하여 흡착제의 비율이 증가할수록 쇠기름의 수율은 감소하였으나 콜레스테롤 제거율은 높았으며, 쇠기름 100 g에 대하여 florasil을 200 g 충전시킨 결과 콜레스테롤을 59% 제거할 수 있었다고 보고하였다. 이로 보아 시료에 대하여 사용되는 흡착제의 비율이 높으면 콜레스테롤 제거율은 높은 반면, 지방의 수율은 감소한다는 것을 알 수 있었다.

#### 지방산 조성

추출온도 40°C, 추출압력 276 bar에서 유지방 20 g

**Table 3. Fat yield, cholesterol concentration and percent cholesterol reduction of milk fat fractions by supercritical carbon dioxide at 40°C/276 bar (the weight ratio of milk fat to adsorbent is 20:10)**

Mesh size	Extraction time (min)	60	90	120	150	180	210	240	Total
30/60	CO <sub>2</sub> used (g)	445	218	207	207	213	204	184	1,678
	Fat yield (wt%)	4.7	9.0	10.2	9.9	9.1	8.0	6.6	57.5
	Chol. conc (mg/100)	71.2	18.0	9.6	12.1	15.6	21.6	27.4	21.0
	Chol. reduction (%)	-71.6	-92.8	-96.1	-95.1	-93.7	-91.3	-89.0	-91.6
100/200	CO <sub>2</sub> used (g)	470	227	218	200	205	196	196	1,712
	Fat yield (wt%)	8.4	11.0	10.6	9.5	7.5	6.9	6.5	60.4
	Chol. conc (mg/100)	6.9	11.6	8.3	12.4	18.1	14.3	45.8	15.2
	Chol. reduction (%)	-97.2	-95.3	-96.7	-95.0	-92.8	-94.3	-81.7	-93.9

**Table 4. Fatty acid composition of SC-CO<sub>2</sub> fractions from anhydrous milk fat passed through 100/200 mesh of florisil at 40°C/276 bar**

Fractions	Feed	E2 <sup>1)</sup>	E3	E4	E5	E6	E7	E8	R <sup>2)</sup>
Extraction time (min)	---	60	90	120	150	180	210	240	---
CO <sub>2</sub> used (g)	---	470	227	218	200	205	196	196	---
Fat yield (wt%)	100	8.4	11.0	10.6	9.5	7.5	6.9	6.5	39.6
C4:0	3.7	4.4	6.1	4.9	5.0	4.0	3.4	2.9	1.2
C6:0	1.9	2.9	3.1	2.6	2.5	2.5	2.3	2.1	1.1
C8:0	1.3	2.0	2.0	1.6	1.6	1.5	1.4	1.3	0.8
C10:0	3.0	4.4	4.3	3.8	3.5	3.4	3.3	3.2	2.1
C12:0	3.5	4.8	4.7	4.3	4.0	3.9	3.8	3.6	2.7
C14:0	11.2	13.1	13.2	12.7	12.1	11.9	11.7	11.4	9.6
C16:0	29.3	28.9	29.5	30.1	30.0	30.0	29.8	29.9	28.5
C16:1	1.5	1.6	1.5	1.5	1.5	1.5	1.6	1.5	1.5
C18:0	13.1	10.2	9.7	10.8	11.7	12.0	12.2	12.9	15.7
C18:1	27.4	24.0	22.2	24.0	24.4	25.6	26.5	27.2	32.4
C18:2	3.2	2.9	2.8	2.9	2.9	3.0	3.1	3.2	3.6
C18:3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3
C4-C8	6.9	9.3	11.2	9.1	9.1	8.0	7.1	6.3	3.1
C10-C12	6.5	9.2	9.0	8.1	7.5	7.3	7.1	6.8	4.8
C14-C18	86.6	81.5	79.8	82.8	83.4	84.7	85.8	86.9	92.1
unsat	33.0	29.3	27.4	29.2	29.6	30.8	32.1	32.7	38.3
sat	53.6	52.2	52.4	53.6	53.8	53.9	53.7	54.2	53.8
unsat/sat	0.61	0.56	0.52	0.54	0.55	0.57	0.59	0.60	0.71

<sup>1)</sup>Extract, <sup>2)</sup>Residue.

를 추출조에 주입하고, 흡착제로서 florisil 100/200 mesh 10 g를 흡착조에 충전한 후 추출·흡착시키면서 4시간 동안 매 30분마다 시료를 취하여 추출분획물의 지방산 조성을 측정하였다(Table 4). 저급지방산들은 초기 추출물 분획들에 농축되었고, 고급지방산들은 추출잔류물 분획에 농축되어, 원료 유지방의 지방산 조성과는 다른 양상을 나타내었다. 초기 추출물 분획에서 저급 지방산의 비율은 높고 불포화 고급 지방산의 비율은 낮은 이유는 지방산의 증기압과 용해도에 대한 사슬길이의 영향이 불포화도의 영향 보다 크기 때문이다<sup>(2)</sup>. 이상의 결과로부터 초임계유체 추출 및 흡착법은 유지방으로부터 콜레스테롤을 제거하는 동시에 물리·화학적 성질이 다른 분획 즉 저급지방산이 농축된 분획, 불포화지방산이 농축된 분획 등을 얻을 수 있음을 보여주고 있다.

흡착제에 흡착된 콜레스테롤은 에틸아세테이트, hexan, 에탄올에 의하여 회수할 수 있으며<sup>(6)</sup>, 콜레스테롤은 현재 의약산업에서 호르몬, 스테로이드, 비타민 D

제조 성분으로 이용되고 있는 바, 만일 유지방중으로부터 콜레스테롤이 농축된 분획을 얻을 수 있다면, 유지방 자체의 가격보다 더 높은 가격으로 판매될 수 있으며, 경제성을 분석한 결과 콜레스테롤이 90% 제거된 유지방을 제조하는데에는 \$0.15~0.20/lb이 더 소요될 것으로 예측하고 있다<sup>(1)</sup>. Chidambara 등<sup>(2)</sup>은 연간 240 또는 800 톤의 용량을 가진 시설에서 초임계 이산화탄소로 유지방을 분획하면 kg 당 \$0.77 또는 0.34의 가공비용이 더 소요될 것이라고 보고하였다.

## 요 약

유지방을 초임계 이산화탄소로 추출한 후 흡착제를 통과시켜 콜레스테롤이 제거되고, 지방산 조성이 다른 유지방 분획들을 얻기 위하여, 콜레스테롤 함량이 있는 것으로 알려진 몇가지 흡착제를 선택하여, 추출온도 40°C, 추출압력 276, 345 bar에서 3 또는 4시간 동안 추출하면서 흡착제의 종류별, 입자크기별, 비율

별로 추출시간에 따른 유지방의 수율, 콜레스테롤 함량, 지방산 조성을 측정하였다. 흡착제로서  $\beta$ -cyclodextrin, talc, celite, florisil 중에서 florisil이 유지방으로부터 콜레스테롤 제거율이 가장 높았다. Florisil의 입자크기별로 콜레스테롤 제거율은 30/60 mesh가 가장 높았으며, 그 다음 100/200, 60/100 mesh순이었다. 유지방에 대하여 흡착제의 비율이 높으면 콜레스테롤 제거율은 높은 반면, 지방의 수율은 감소하였는데, 유지방의 수율을 높이면서 콜레스테롤 제거율을 높이기 위해서는 유지방과 흡착제의 비율은 20:10이 적당하였다. 추출분획물의 지방산 조성을 측정한 결과 저급 지방산들은 초기 추출물 분획들에 농축되었고, 고급 지방산들은 추출잔류물 분획에 농축되었다. 이상의 결과로부터 초임계유체 추출 및 흡착법은 유지방으로부터 콜레스테롤을 제거하는 동시에 저급지방산, 불포화지방산, 버터향, 색소가 농축된 분획 등을 얻을 수 있었다.

### 감사의 글

본 연구는 농림수산부에서 시행한 농림수산물특정연구사업(우유 및 유제품의 콜레스테롤 제거 개발에 관한 연구) 지원으로 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

### 문 헌

- Walstra, P. and Jenness, R.: Dairy Chemistry and Physics. John Wiley and Son Inc., New York, p.58 (1984)
- Kosikowski, F.V.: "Cholesterol-Free" milks and milk products: limitations in production and labeling. *Food Technol.*, **44**(11), 130-140 (1990)
- Arul, J., Boudreau, A., Makhlof, J., Tardif, R. and Grenier, B.: Distribution of cholesterol in milk fat fractions. *J. Dairy Res.*, **55**, 361-371 (1988)
- Borges, S.V., Martucci, E.T. and Muller, C.O.: Optimization of the extraction of cholesterol from dehydrated egg yolk using acetone. *Lebensm.-Wiss.-Technol.*, **29**, 687-690 (1996)
- Shishikura, A., Fujimoto, K., Kaneda, T., Arai, K. and Saito, S.: Modification of butter oil by extraction with supercritical carbon dioxide. *Agri. Biol. Chem.*, **50**, 1209-1215 (1986)
- Lim, S.: Performance characteristics of a continuous supercritical CO<sub>2</sub> separation system coupled with adsorption. *Ph.D. Thesis*, Cornell Univ., Ithaca, New York (1992)
- Sundfeld, E., Yun, S., Krochta, J.M. and Richardson, T.: Separation of cholesterol from butteroil using Quillaja saponins. *J. Food Process Eng.*, **16**, 191-205 (1993)
- Lim, S. and Rizvi, S.S.H.: Adsorption and desorption of cholesterol in continuous fluid processing of AMF. *J. Food Sci.*, **61**(4), 817-820 (1996)
- Kwon, Y.A. and Chao, R.R.: Effect of combined adsorbents on beef tallow extracted by supercritical carbon dioxide. *Foods Biotechnol.*, **5**(1), 21-25 (1996)
- Smith, D.M., Awad, A.C., Bennink, M.R. and Gill, J.L.: Cholesterol reduction in liquid egg yolk using  $\beta$ -cyclodextrin. *J. Food Sci.*, **60**(4), 691, 694, 720 (1995)
- Bradley, Jr., R. L.: Removal of cholesterol from milk fat using supercritical carbon dioxide. *J. Dairy Sci.*, **72**, 2834-2840 (1989)
- Chidambara, R.C.B., Bhaskar, A.R. and Rizvi, S.S.H.: Processing of milk fat with SC-CO<sub>2</sub>: mass transfer and economic aspects. *Food Bioproducts Process Trans. Inst. Chem. Engr.*, Part C, **71**, 3-10 (1993)
- McLachlan, C.N.S., Catchpole, O.J. and Hamilton, B.H.: Separation of sterols from lipids. *US Patent* 5,024,846 (1991)
- Boehringer Mannheim: *Methods of Enzymatic Bioanalysis and Food Analysis*, Mannheim, Germany, p.18 (1995)
- A.O.C.S.: *Official Methods and Recommended Practice of the American Oil Chemists' Society*. 4th ed., American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois, Ce-2-66 (1990)
- Courregelonge, J. and Maffrand, J.P.: Process for the elimination of the cholesterol contained in animal fat and the reduced-cholesterol fat obtained. *Eur. Patent* 0256911 (1988)
- Oakenfull, D.G. and Sidhu, G.S.: Processing technology for cholesterol extraction. Proceedings of the 1991 Conference on Fat and Cholesterol Reduced Foods: Technologies and Ingredients, Atlanta, GA IBC USA Conference Inc., South Natick, MA, p.60 (1991)
- Pifferi, P.G., Manenti, I., Pallechi, C., Romagnoli, S. and Malacarne, A.: Dibittering of citrus juices with adsorbents. In *Engineering and Food*, Spiess, W.E.L. and Schubert, H. (Eds.), Elsevier Applied Science, New York. Vol. 3, p.128 (1990)
- Carrol, K.K.: Separation of lipid class by chromatography on florisil. *J. Lipid Res.*, **2**(2), 135-141 (1961)
- U.S. Silica: Silica, The preferred adsorbent for chromatography. U.S. Silica Company, Berkely Springs, WV. (1997)
- Chrastil, J.: Solubility of solids and liquids in supercritical carbon dioxide. *J. Phys. Chem.*, **86**, 3016-3021 (1982)