한국생물공학회지 제20권 제3호
Korean J. Biotechnol. Bioeng.
Vol. 20, No. 3, 210-214(2005)

초임계 이산화탄소를 이용한 토코페롤 고함유 참기름 추출

주 영 운 · [1]손 민 호 · [1]이 주 석 · † 변 상 요
아주대학교 생명분자공학부 생명공학전공, [1](주)유맥스
(접수 : 2005. 5. 2., 게재승인 : 2005. 6. 24.)

Supercritical CO_2 Extraction of Sesame Oil with High Content of Tocopherol

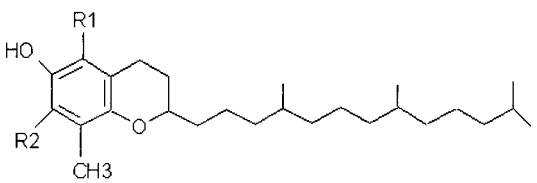
Young-Woon Ju, Min-Ho Son[1], Ju-Suk Lee[1], and Sang Yo Byun†
Department of Biotechnology, College of Engineering, Ajou University, Suwon, Kyunggi 443-749, Korea
[1]R&D team, U-max Co., Ltd.
(Received : 2005. 5. 2., Accepted : 2005. 6. 24.)

The characteristics of sesame oil containing one of natural antioxidant, 'γ-tocopherol', were studied with the supercritical CO_2 extraction. Although γ-tocopherol has a lower vitamin E value in biological systems than α-tocopherol, it is a more potent antioxidant with in oils. For the research of various factors influence to the γ-tocopherol contents increment, we have checked roasting time and temperature, as well as pressure, temperature and flow rate of supercritical fluid. As a result, we found that the γ-tocopherol content was maintained constant under the condition of roasting temperature over 200℃. With the longer roasting time, γ-tocopherol content was increased. Except 250 bar, the γ-tocopherol content was maintained constant under the condition of the various pressure of supercritical fluid. But γ-tocopherol content was increased with lower flow rate of supercritical fluid from 1 mℓ/L to 3 mℓ/L. When the extraction performance with the suprcritical fluid was compared to the conventional compressed extraction, γ-tocopherol content was increased up to 1.6 times.

Key Words : *Sesamun indicum* L., supercritical fluid, γ-tocopherol

서 론

토코페롤 (Tocopherol, Fig. 1)은 쥐의 항불임 인자로서 그리스어로 '자식을 낳음'이라는 뜻을 지니고 있다. 토코페롤은 콩기름, 채종유, 참기름, 들기름, 면실유, 야자유 등 식물성기름에 많이 함유되어 있으며 물에는 용해되지 않고 독성이 없는 비타민이다. 토코페롤은 천연에 존재하는 대표적인 항산화제이다(Fig. 1). 이것은 8종의 동족체가 천연에 존재하지만 보통의 식물성 유지에는 α, β, γ, δ동족체가 다량이 존재하나 동물성 유지에는 그 함유량이 매우 적다. 특히 참깨의 경우 100 그램당 23 mg의 토코페롤을 함유하고 있어 비타민 E가 풍부하게 함유되어 있다고 하였으나, 일본표준식품성분표의 별책에 비타민 E 성분표가 발표되면서 식품의 비타민E량은 E효력으로서 비교하도록 되었다. 성분표의 E 효력은 각기 콜레스테롤 동족체의 함유량에 α는 1, β는 0.25, γ는 0.05, δ는 0.001를 곱하여 합산된 수치이다. 따라서 참깨의 E효력은 2.5로 E효력이 상당히 낮아지게 된다.



Tocopherol

Tocopherol Structure	R1	R2
α-Tocopherol(α-T) (5,7,8-Trimethyl tocol)	CH_3	CH_3
β-Tocopherol(β-T) (5,8-Dimethyl tocol)	CH_3	H
γ-Tocopherol(γ-T) (7,8-Dimethyl tocol)	H	CH_3
δ-Tocopherol(δ-T) (8-Monomethyl tocol)	H	H

Figure 1. Struture of various tocopherols.

† Corresponding Author : Department of Biotechnology, College of Engineering, Ajou University, Suwon, Kyunggi 443-749, Korea
Tel : +82-31-219-2451, Fax : +82-31-219-2394
E-mail : sybyun@ajou.ac.kr

그러나 Takagi 교수 등(1)의 연구에 의해 참깨 리그난의 비타민 E 증강효과가 밝혀짐으로써 참깨의 노화 억제효과와 과산화 억제효과가 밝혀지게 되었다. 즉, 그는 참깨 종자 중에 존재하는 참깨 리그난 물질이 γ-토코페롤과 길항적으로 작용하여 생체내 γ-토코페롤 양을 크게 상승시키고 그 γ-토코페롤이 α-토코페롤처럼 과산화지질의 생성을 억제한다는 사실을 흰쥐를 이용한 참깨투여에 의한 노화촉진모델을 통해 입증하였다. 또한 신 등(2)은 저장 16주 후의 시료내 토코페롤의 잔존율은 α-토코페롤 38%, β-토코페롤 73%, γ-토코페롤 25%로 γ-토코페롤이 더 안정하다고 보고한바 있다. 이와 같은 토코페롤의 항산화성은 페놀성 -OH에 유래하는데, 생체내 활성산소를 소거시켜 유리기와 과산화지질의 생성을 억제하는 항산화 작용을 한다. 음식으로 섭취된 토코페롤은 지용성이기 때문에 십이지장에서 쓸개즙에 의해서 유화된 다음 주로 소장에서 흡수된다. 특히 노년기에 들어서면 세포의 재생력이 쇠퇴하여 지는데, 토코페롤은 간세포와 신경세포를 건강하게 해주고 신진대사를 활발하게 해주고, 면역기능의 증진능력을 가지고 있으며 백혈구의 생산을 증가시키는 기능을 가지고 있어 생체내 불포화지방산이 과산화중합을 일으켜 혈액이나 근육단백질과 반응하여 나타나는 노년기의 검버섯이나 기미를 방지시키는 생체노화현상을 방지하게 된다(3).

참깨 (*Sesamun indicum* L.)는 호마과 (Pedaliaceae) 호마속 (Sesamum)에 속하는 열대 , 아열대 1년생 초본식물의 종자로 유지함량이 52%이고, 그 기름은 토코페롤과 리그난 성분이 많아 산화되기 어렵고, 단백질이 약20%, 당질 약20%를 함유하고 있어 영양가가 높고, 볶음에 의해 이들 성분간의 스트레커 분해반응 (strecker degradation)이나 축합반응 등의 마이얄 (Mailard)반응을 거쳐 생성된 독특한 향기를 갖는다고 하였다(4, 5). 지방산 조성으로는 올렌산, 리놀산이 각각 40~45%이고, 리놀렌산은 적고, 요오드가는 110 전후인 양질의 식용유이다. 필수 아미노산 조성은 아르기닌, 류신, 메티오닌이 특히 많은 반면 라이신이 적다. 당질은 포도당과 과당 등 단당류 외에 푸란테오스 (furanteose) 등 4당류의 존재도 보고되고 있다(6). 미량성분으로 Ca, Fe 등의 무기질이 많고, 비타민류에는 B1 0.95 mg%, B2 0.25 mg%, γ-토코페롤 15~20 mg%, 스테롤류로는 campesterol, stigmasterol, sitosterol을 함유한다(7). 또한 항산화성분으로 세사민과 세사몰린 그리고 야생종 (*Sesamum angolense*)에서만 검출되는 세산골린이 있으며 영양학적, 기능적으로 우수한 식품이다(8).

이와 같이 영양학적, 기능적으로 유용한 참깨를 환경 친화적 추출 기술로서 2004년 5월 식품안전청 개정 고시 제 2004-41호에 의해 사용이 명문화된 초임계 유체 (supercritical fluid) 공정을 이용한 참기름 생산에 대한 기초연구로서 초임계 유체를 이용하여 토코페롤을 고함유한 참기름 추출에 대하여 연구하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 연구에서 사용된 참깨는 수원시에 소재한 농협에서 국산 통참깨 (원산지: 전남 신안군, 2002년산)를 구입하여 이물질을 제거 후 사용하였고 대조구로 사용한 압착유는 C사, H사의 엑스펠러 (expeller)방식으로 착유한 제품과 S사와 재래시장에서 압착기를 이용해 제조한 총 4개 제품을 사용하였다. 초임계 유체 추출에 사용한 추출 용매로는 99.9%의 순도를 갖는 이산화탄소를 사용하였으며, 보조용매와 분석용매 등은 99.8% 이상의 순도를 갖는 HPLC Grade 용매 (TEDIA, USA)를 사용하였다. 또한 항산화 물질 분석에 이용한 γ-Tocopherol은 Sigma 社의 assay 99%인 제품을 사용하였다.

초임계 유체 추출

초임계 추출장치는 'JASCO 초임계 유체 시스템'에서 한번 추출에 이용한 이산화탄소가 재순환 될 수 있도록 개조하였다(Fig. 2). 이때 이용한 고체 시료용 추출기는 95 cc (22 mm ID × 250 mm, Alltech, USA)의 용량을 가진 column을 이용하였고, BPR (Max 10000 psi., TESCOM, USA)이 막히거나 감압시 온도 저하로 인한 내부 seal의 파손 현상을 방지하기 위해 30℃ 이상을 유지하여 주었다. 보조용매는 HPLC펌프 (PU-980, JASCO Co., Japan)를 이용하여 공급되며 이산화탄소와 보조용매는 밸브에 의해 공급이 조절된다. 참기름 추출시 시료는 95 ㎖의 추출기에 충진 밀도는 0.4로 고정하였고, 추출물은 50 ㎖ vial에 넣어 4℃ 냉장보관하였다.

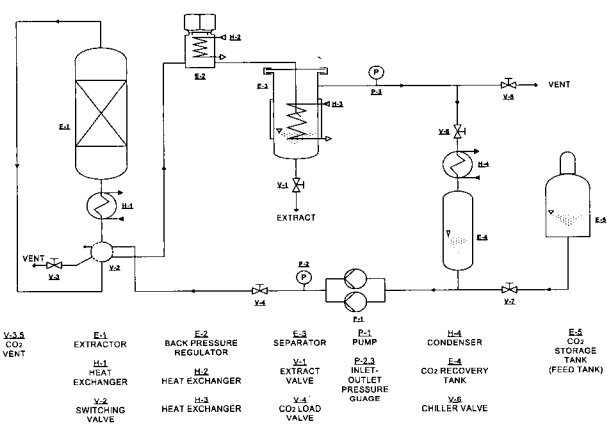


Figure 2. Process Flow Diagram for the Supercritical Extraction.

기존방식의 착유

초임계 유체 추출 참기름의 대조군으로 사용하기 위해 시장에서 구입한 제품외에 착유기 (깨돌이, OED-3000, 신한일공업주식회사, 한국)를 사용하여 가열압출방법으로 참기름을 얻었다.

γ-Tocopherol 분석

Yen(9)의 방법에 따라 참기름 0.5 그램을 메탄올 2.5 mL에 추출한 후, 원심분리하여 상등액을 13 ㎜ Nylon Filter (0.2 ㎛, Alltech)를 사용하여 여과 후에 HPLC 분석하였다. 본 실험에 사용된 HPLC (TSP, USA) 조건은 Column은 C18 (250 × 4.6 mm, VYDAC, USA)을 사용하였고, 온도는 45℃로 일정하게 유지해 주었고, 검출기는 형광검출기 (FL2000, Spectra System, USA)를 사용하여 excitation 298

㎚ emission 330 ㎚의 조건으로 분석하였다. 이동상은 메탄올 100%을 유속은 Spectra System P4000을 사용하여 1.5 ㎖/min의 속도로 하여 분석하였다.

결과 및 고찰

참깨의 볶음 온도와 시간에 따른 토코페롤 추출에 미치는 영향

참깨의 열처리 과정에서 온도에 따른 γ-토코페롤의 함량 변화를 알아보고자 예비실험 후에 얻어진 결과에서 변곡점인 볶음 온도인 185~230℃ 사이를 5℃ 간격으로 참깨를 30분간 볶고, 분쇄기로 분쇄후 480 bar, 65℃, 액체 이산화탄소의 유속은 3 ㎖/min로 참기름의 추출 효율이 98%에 이를 때까지 수행하였다. 그 결과 190℃ 대비 200℃의 경우 γ-토코페롤 함량이 약 15% 감소 후 거의 일정한 양을 유지하였다(Fig. 3). 이와 같은 결과는 220℃ 이상 고온에서 현저하게 감소하였다고 보고한 Yen(9)과 190℃ 이후 급격히 감소하여 220℃에서는 초기 함량의 약 반이 감소했다고 보고한 김(10)의 결과와는 상이하나 190℃와 200℃에서 약간 분해되는 경향을 보였으나 항산화성을 좌우할만큼 감소하지는 않았라고 보고한 Koizumi 등(11)의 결과와는 일치 경향을 보였다. 이와 관련하여 토코페롤의 열안정성에 대해 Yoshida 등(1)은 γ-토코페롤은 α-토코페롤보다는 비타민 E효능은 약하기는 하나 유지 중에서 더욱 강력한 항산화 효능을 갖는다고 보고한 바 있다.

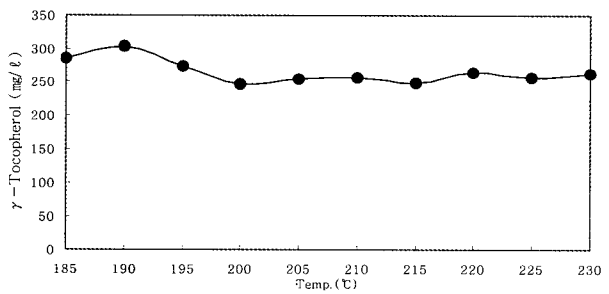


Figure 3. γ-Tocopherol contents in SFE sesame oil with different roasting temperature.

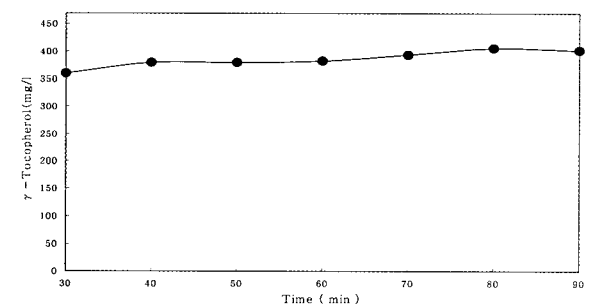


Figure 4. γ-Tocopherol contents in SFE sesame oil with different roasting time.

또한 볶음시간에 따른 토코페롤 함량의 변화를 확인키 위해 200℃로 온도를 고정한 후 배전시간을 30~90분까지 10분 간격으로 증가시켜 상기와 동 조건으로 초임계 추출하였다. 그 결과 시간의 증가에 따라 토코페롤의 함량이 약 1.13배 증가가 되었다(Fig. 4). 이와 같은 결과는 앞서 Yoshida 등(1)이 보고와 상이한 결과인데, 이는 볶음 조건의 차이로 여겨지며, 앞서 온도 증가에 의해 γ-토코페롤의 함량이 거의 변화하지 않았던 것에 비춰볼 때 볶음 시간이 증가함에 의해 참깨의 구조 변화가 추출이 용이한 쪽으로 변성되어 미미하기는 하나 1.13배 정도 증가한 것으로 생각된다.

초임계 유체의 압력 변화에 따른 토코페롤 추출에 미치는 영향

일정 온도에서 초임계 유체의 압력을 증가시키면 초임계의 밀도와 용매력 (solvent strength, δ)이 증가하게 되는데, 이론적으로 초임계 유체의 밀도와 추출물의 밀도가 같을때 최대 용해도를 갖게 된다(12). 이와 같은 초임계 유체의 압력 변화에 따른 토코페롤 추출에 미치는 영향을 알아보기 위해 200℃로 30분간 볶은 참깨를 분쇄하여 초임계 유체 온도는 65℃, 유속은 3 ㎖/min로 200~480 bar까지 압력을 변화시켰고, 참기름의 추출 효율이 98%에 이를 때까지 수행하였다. 그 결과 토코페롤의 밀도는 0.95 g/ml이므로 압력 증가에 따라 초임계 유체의 밀도 증가로 토코페롤의 농도 증가가 예상되었으나 모든 압력 범위에서 농도에 큰 차이를 발견할 수 없었다(Fig. 5). 다만 특이하게 250 bar에서 상대적으로 γ-토코페롤 농도가 200 bar 대비 15% 감소하였다. 이것은 이 등(13)의 결과와 일치하는 결과이고, Johanssene 등이 40-80℃의 일정 온도에서 200 ~ 350 bar로 압력 변화시켰을 때 지용성 비타민들의 용해도가 증가하였다는 보고와 다른 결과로 보이나, 많은 식품 중 지용성 비타민은 스테롤이나 TG (triacylglycerols) 등이 혼합물 상태로 존재하는 경우에 대해 Storldt 등은 혼합물 상태에서 지용성 성분 각각의 용해도 데이타가 결정되야 한다고 보고한 바 있고, Birtigh 등 역시 팜 (palm)을 이용한 추출시 압력 증가로 인해 TG 추출 증가로 지용성 비타민의 농도가 감소한다고 보고하고 있어(12) 참깨에서 토코페롤 추출 역시 이에 준한 결과로 여겨진다.

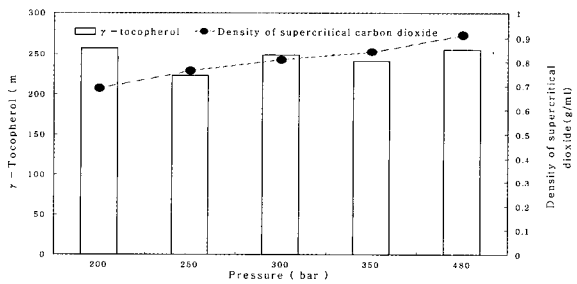


Figure 5. γ-Tocopherol contents in SFE sesame oil with different pressure.

초임계 유체의 온도와 유속 변화에 따른 토코페롤 추출에 미치는 영향

일정 온도에서 참기름 추출 효율이 98%에 이를 때까지 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출하는 경우 900 bar 대

비 250 bar의 경우 소요시간 및 소요 CO_2 양은 약 10배 이상 증가한다(Unpublished data). 이와 같은 차이로 인해 초임계 유체와 볶은 참깨간의 접촉 시간 차이로 인한 영향을 알아보기 위해 상기 추출 공정에서 초임계 이산화탄소의 온도를 35, 40, 50, 60, 70, 80℃로 변화시키면서 초임계 유체의 유속을 1~3 mℓ/L로 변화시켜 보았다. 이때 압력은 350 bar로 유지하여 주었고, 참기름 추출 효율이 98%될 때까지 추출하고 γ-토코페롤 함량을 측정하였다. 그 결과 초임계 유체의 온도 증가에 따라 γ-토코페롤의 함량엔 큰 변화가 없었으나, 동일 온도에서 초임계 유체의 유속을 감소시킴에 의해 1.1배~1.5배의 농도 증가가 나타났다(Fig. 6).

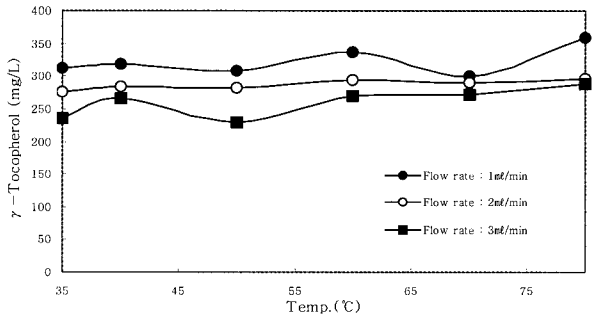


Figure 6. γ-Tocopherol contents in SFE sesame oil with different temperature and flow rate of Supercritical Carbon dioxide.

Hawthorne 등(14)은 추출공정을 시료로부터 비가역적인 확산이나 탈착에 의해 추출물을 분리시키는 단계와 초임계 유체에 용해된 추출물을 가역적으로 용리시키는 두 단계로 나누고, 전체 공정 시간의 대부분이 첫 단계에서 소요되기 때문에 이를 해결키 위해서는 특정 시료에서 초임계 유체의 속도 영향에 대해 테스트해야 한다고 보고한 바 있다. 일반적으로 우유의 지용성 글로블이나 분유의 젖산셀 등은 탈착에 의한 대표적인 추출물로 이들은 유체의 유속에 영향을 받기보다 샘플의 분쇄도나, 추출 온도 증가 그리고 보조용매의 투여 등에 의해 추출이 촉진된다. 따라서 볶음 참깨가루의 경우 추출기안에서의 초임계 유체의 머무름 시간이 증가함므로써 시료와의 접촉 시간이 길어져 볶음 참깨가루로부터 확산에 의한 추출양이 증가하였으며, 이들의 완전한 추출을 위해 동적인 추출 (dynamic extraction)전 정체추출 (static extraction)을 병행하는 것도 고려할 수 있겠다.

재래방법과 초임계 유체 추출방법이 토코페롤 추출에 미치는 영향

식품공전에 의하면 참기름은, '참깨를 압착하여 얻은 압착참기름 또는 이산화탄소 (초임계추출)로 추출한 초임계 추출 참기름과 참깨로부터 추출한 원유를 정제한 추출참깨유를 말한다'라고 정의하고 있다. 재래 방법으로 착유한 참기름은 대형 할인매장에서 구입한 3개 제품 (통참깨 제품: C사, H사 그리고 볶음참깨가루 제품: S사)과 참깨를 190도에서 45분 배전 후 재래시장에서 착유한 1개 제품과 실험용 엑스펠러 기기로 착유한 참기름 총 5개 제품을 60℃, 350 bar, 유속은 1 mℓ/min로 하여 초임계 추출하였다. 그 결과 초임계 유체로 착유한 참기름이 기존 재래 방법으로 착유한 참기름의 γ-토코페롤 양이 약 1.3~1.6배 증가하였다(Fig. 7).

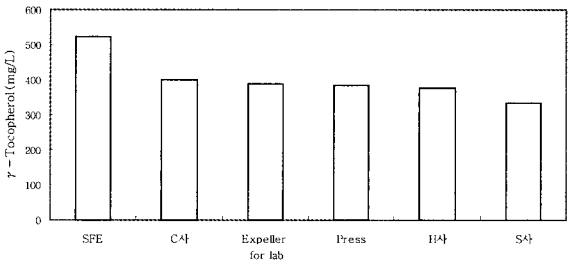


Figure 7. Comparison of the SFE with entrainer with the conventional extraction.

요 약

초임계 유체를 이용하여 참기름을 생산하기 위한 기초연구로 참깨에 존재하는 천연항산화제인 γ-토코페롤을 고함유한 참기름에 대해 연구하였다. γ-토코페롤은 α-토코페롤에 비해 비타민 E 효력은 약하긴 하나, 참깨의 리그난과 길항적으로 작용하면 생체내 잔존율이 높아져 α-토코페롤처럼 과산화지질 생성을 억제한다고 한다. 참깨의 볶음온도와 시간, 초임계 유체의 압력과 온도 그리고 초임계 유체의 유속 변화 시 γ-토코페롤의 함량에 미치는 영향에 대해 연구하였다. 그 볶음 온도 변화 시 200℃ 이후 γ-토코페롤의 농도가 거의 일정하게 유지되었고, 200℃에서 배전 시간을 증가함으로써 약 1.13배 정도 γ-토코페롤의 농도가 증가되었다. 초임계 유체 추출 시 250 bar를 제외한 압력 변화에 의해 γ-토코페롤의 농도는 거의 변화하지 않았다. 그러나 같은 온도에서 초임계 유체의 유속을 1~3 mℓ/L로 변화시킴에 의해 γ-토코페롤의 농도가 1.1배~1.5배 증가되었는데, 이는 γ-토코페롤의 이 추출 메카니즘이 탈착보다는 확산에 의해 이뤄짐을 알 수 있었다. 이상의 결과를 토대로 기존 압출추출방법과 초임계 추출 방법을 비교한 결과 γ-토코페롤의 농도가 1.3~1.6배 증가함을 확인할 수 있었다.

감 사

본 연구는 한국과학재단지정 초정밀생물분리기술연구센터의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. H. Yoshida and S. Takagi (1997), Effects of Seed Roasting Temperature and Time on the Quality Characteristics of Sesame (*Sesamum indicum*) Oil, *J. Sci. Food Agric.* **75**, 19-26.
2. Shin, M. R. and Joo, K. J. (1994), Oxidative Stability of Tocopherols on Korean Sesame oil and chinese Sesame oil, *Journal of The East Asian Society of Dietary Life* **4(2)**, 51-57.

3. Kim, K. S. etc. (2000), Food chemistry, p148, Hakmun-sa.
4. Manley, C. H., Vallon P. P., and R. E. Erickson (1974), Some aroma compounds fo roasted sesame seed (*Sesamum Indicum* L.)", *J. Food Sci.* **39**, 73.
5. Kikugawa, M. Arai and T. Kurechi (1983), Participation of Sesamol in Stability of Sesame oil, *J. Am. Oil Chem.* **60(8)**, 1528.
6. D. B. Wakhede and R. N. Tharanathan (1976), Sesame (*Sesamum Indicum* L.) carbohydrate, *J.Agric.Food chem.* **24**, 655.
7. H. T. Slover et al (1983), Determination of tocopherols and sterols by capillary G.C., *J. Am. Oil Chem.* **60**, 1524.
8. M. Namiki ed., (1989), Science of sesame, Asakura Shoten, Tokyo.
9. Yen, G. C. (1990), Influence of seed roasting process on the changes in composition and quality of sesame (*sesame indicum*) oil, *J. Sci. Food Agric.* **50**, 563.
10. Kim, H. W. (1997), Studies on the physicochemical characteristics of sesame with roasting temperature and volatile flavor compounds of sesame oil, Ph.D. Dissertation, Dept. of food eng., Korea Univ., Seoul.
11. Y. Koizumi et al. (1996), Synergistic Action of the Antioxidative Components in Roasted Sesame Seed Oil, *Nippon shokuhin kagaku kogaku kaishi* **43**(12), 1272-1277.
12. C. Turner, J. W. King, and L. Mathiasson (2001), Supercritical fluid extraction and chromatography for fat-soluble vitamin analysis, *J. Chromatography A*, **936**, 215-237.
13. Lee, H., Chung, B. H., and Park, Y. H. (1991), A Fundamental Study of Supercritical Fluid Extraction Process for Concentrating Tocopherols from Soybean Sludge, *Hwahakkonghak* **29(2)**, 206-210.
14. S. B. Hawthorne and J. W. King (1999), Practical supercritical flluid chromatography and extraction, M. Caude, D. Thiebaut, Eds., p219, Harwood academic publishers, Amsterdam.