

홍국쌀 에탄올 추출물과 Diacylglycerol 오일을 이용하여 제조한 기능성 유지의 이화학적 특성 연구

김남숙 · 이기택[†]
충남대학교 식품공학과

Physiochemical Properties of Functional Oils Produced Using Red Yeast-Rice Ethanol Extracts and Diacylglycerol Oil

Nam-Sook Kim and Ki-Teak Lee[†]

Dept. of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

Functional oils (FOs) were produced from commercial diacylglycerol oil and red yeast-rice extracts from 80% ethanol for 1 hr in a shaking water bath at 35°C and 175 rpm. FOs contained (A) 600, (B) 1200, (C) 1800, and (D) 2280 ppm of red yeast-rice extracts, respectively. The Hunter a value and b value were risen whereas L value was reduced along with the increase of extract concentration. Content of monacolin K and total phenolic compounds in FOs significantly increased according to the increase of extract concentration. The oxidation stability of FOs was observed by Rancimat at 98°C. Induction time decreased according to the increase of extract concentration. The major volatile compounds of FOs were compared using the electronic nose (EN) system and solid phase microextraction (SPME) method combined with gas chromatograph/mass spectrometry (GC/MS). EN was composed of 12 different metal oxide sensors. Sensitivities (R_{gas}/R_{air}) of sensors from EN were analyzed by principal component analysis (PCA), whose proportion was 99.66%. For qualitative or quantitative analysis of volatile compounds by SPME-GC/MS, the divinylbenzene/carboxene/polydimethylsiloxane fiber and sampling temperature of 50°C were applied.

Key words: red yeast-rice, monacolin K, hunter color, electronic nose, SPME-GC/MS

서 론

홍국쌀(red yeast-rice, red Koji 또는 hongqu)에는 콜레스테롤 생합성 저하시키는 monacolin K 등과 같은 홍국균(*Monascus* spp.)의 2차 대사산물이 포함되어 있으며, 인체 내 low-density lipoprotein(LDL) 콜레스테롤은 낮추고 high-density lipoprotein(HDL) 콜레스테롤은 높이는 작용 및 혈중 지질 수치를 저하시키는 기능 등과 같은 홍국의 다양한 생리기능적 효능이 보고되고 있다. 이러한 홍국쌀은 주로 동아시아에서 식품 및 의약품에 다양하게 사용되어 왔으며, 건강에 대한 관심 증가에 따라 국내에서도 이를 이용한 건강식품개발에 대한 관심이 높아지고 있다(1-3).

한편, diacylglycerol(DAG)은 하나의 글리세롤에 2개의 지방산이 결합되어 있는 형태로 triacylglycerol(TAG)에 비하여 소화흡수 후 체내에서 neutral fat으로의 전환이 어렵고, 비만으로부터 야기되는 것으로 여겨지는 life style과 관련된 질병 예방 등의 영양적 기능성을 가져 식품산업에서 주목 받고 있다. 뿐만 아니라, DAG는 자동산화(autoxidation)

와 관련된 안정성이 TAG와 유사하면서, o/w 혹은 w/o/w emulsions 등에 이용될 수 있는 유화성(emulsifying properties)을 가지고 있어 식품의 유화제 및 계면활성제 등으로 사용되고 있으며, 이와 같은 DAG 특성의 보다 폭넓은 응용을 위한 다양한 연구가 이루어지고 있다(4,5)

휘발성분은 식품산업 전반에 걸쳐 중요한 품질지표로 여겨지고 있으며, 향의 분석에는 일반적으로 패널들에 의한 관능평가가 이용되거나, gas chromatograph(GC) 및 GC/mass spectrometer(MS), 전자코(electronic nose) 등과 같은 분석기기가 이용되고 있다(6). 최근 주목 받고 있는 전자코는 사람의 후각 인지 체계를 기초로 다양한 센서를 이용하여 특정한 냄새 성분에 따른 각 센서의 감응도를 전기적인 신호로 계수화 함으로써 신속하고 편리하게 휘발성분을 분석할 수 있는 것으로 보고되고 있다(6,7). 본 연구에서 사용된 metal oxide 센서를 이용한 전자코는 냄새 성분이 각 센서에서 전기화학적 반응을 일으켜 전기적 신호로 변환되는 원리에 의하여 단순 혹은 복합적인 냄새의 감별을 가능하게 함으로써 농산물의 산지 판별, 우유나 주스 등의 신선도 예

[†]Corresponding author. E-mail: ktleee@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6729, Fax: 82-42-822-6729

측 및 유지의 산화분석 등 식품산업에서 다양하게 응용되고 있다(7-9).

위와 같은 향기분석에는 시료의 전처리가 없으며 휘발성 분 포집 및 미량의 휘발성분 정량 시 감도가 좋으며 신속하고 용매를 사용하지 않는 방법인 SPME(solid phase micro-extraction) 방법이 널리 활용되고 있다(10-12). SPME는 휘발성분이 다공체인 fiber로 흡착된 후, 고온의 GC 주입구에서 곧바로 이탈되는 원리를 이용한 것으로써 지질 유래의 미량 휘발성분의 검출에 효과적인 방법으로 보고된 바 있다(13).

본 연구에서는 홍국쌀로부터 에탄올(80%)을 이용하여 에탄올 추출물을 얻었다. 에탄올 추출물은 monacolin K 등의 극성물질들을 함유하고 있으며, 극성물질들은 triacylglycerol로 구성되어 있는 일반 식용유에 녹지 않아 이들을 함유한 식용유지 존재 자체가 불가능하다. 따라서 에탄올 추출물을 약 85%의 diacylglycerol로 구성된 oil(DAG oil)에 다양한 농도로 첨가시킴으로써 수용성의 기능성물질들을 함유한 기능성 식용유로 제조한 후, 획득한 홍국쌀-추출물 함유한 기능성 유지의 이화학적 특성을 분석하였으며, 특히 전자코 및 SPME-GC/MS를 이용한 향기 패턴 및 유지품질에 크게 영향을 미치는 hexanal의 함량을 비교하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서는 시중에 유통되고 있는 홍국쌀(CNU/DBIO, Daejeon, Korea)과 약 85% diacylglycerol oil(DAG oil, CJ Corp., Seoul, Korea)을 사용하였다. Lovastatin과 gallic acid 및 Folin-Ciocalteu's phenol reagent는 Sigma사(Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA)로부터 구입하였다. 표준품으로서 사용된 hexanal을 비롯한 분석용 시약은 Sigma사(Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA)로부터 구입하였으며, 분석에 사용된 용매는 HPLC grade(J.T.Baker, Phillipsburg, NJ, USA)이었다.

홍국쌀의 에탄올 추출

홍국쌀의 에탄올 추출은 35°C에서 0.5, 1, 2, 4, 8, 24시간 단위로 개별적으로 실시되었다. 추출의 전처리로서 홍국쌀을 분말 형태로 분쇄 및 건조 후, 250 mL 삼각플라스크에 5 g씩 취한 다음 80% ethanol 10 mL를 첨가하였다(1). 추출은 175 rpm의 항온교반수조(Hanil Science Industrial, BS-21, Korea)에서 이루어졌으며, 각 단위 시간대 별로 추출된 시료들은 sodium sulfate anhydrous(Junsei Chemical Co., Ltd. Japan) column과 감압농축기(EYELA, N-1000, Japan)를 이용하여 수분, 불순물 및 추출에 사용한 ethanol을 정제하였다. 35°C 가온을 수반한 질소 주입을 통하여 추출물 내 잔류 ethanol을 완전히 제거한 후 추출율을 측정하였으며, 각각 2회 반복 수행한 결과의 평균값을 결과에 제시하였다. 획득한 에탄올 추출물을 각각 10 mL의 ethanol

(HPLC grade)에 녹인 후 PTFE syringe filter(13 mm, 0.5 μ m, Whatman, Mainstone, Kent, UK)로 여과하여 분석에 사용하였다.

홍국쌀 에탄올 추출물 함유 기능성 유지 제조

홍국쌀 에탄올 추출물 함유 기능성 유지의 제조를 위해 홍국쌀을 분말 형태로 분쇄 및 건조하여 취한 150 g과 80% 에탄올 300 mL를 혼합하여 1시간 동안 35°C, 175 rpm의 항온교반수조에서 추출하였다(1). 추출된 시료는 sodium sulfate anhydrous 칼럼과 감압농축기 및 질소 주입을 통하여 추출 시 사용된 에탄올과 수분을 제거하였다(2). 획득한 추출물의 전체를 60.1 mg/10 mL(100% 에탄올)의 비율로 녹인 후 PTFE syringe filter를 이용하여 여과시켰다. 여과된 시료를 1 g의 DAG oil에 0(control), 100(A), 200(B), 300(C), 380(D) μ L 농도로 각각 첨가하였다. 이후 감압농축기와 질소 주입을 통하여 추출물 첨가를 위해 사용된 에탄올을 다시 제거하였다.

홍국쌀 에탄올 추출물 함유 농도에 따른 색도 분석

홍국쌀 에탄올 추출물을 함유한 기능성 유지의 농도에 따른 색도 차이를 측정하였다(7,14). JC801 colorimeter(Color Techno System Corp., Tokyo, Japan)를 사용하여 각 유지의 Hunter L*(+/-, lightness/darkness) 값과 a*(+/-, redness/greenness) 및 b*(+/-, yellowness/blueness) 값을 각각 3회 반복하여 측정하였다.

홍국쌀 에탄올 추출물 함유 농도에 따른 monacolin K 함량 분석

기능성 유지에 함유된 monacolin K 함량은 reverse-phase HPLC를 이용하여 1시간 추출물 내의 monacolin K 함량을 구한 후, 첨가된 추출물(in 1 g of DAG oil)의 양에 의한 비례식으로부터 산출하였다(1,15). 분석은 dual pump가 장착된 HPLC(M930, Young Lin Instrument Co. Ltd., Anyang, Korea)와 ODS 4 μ m(Nova-pack® C18 60Å, 150×3.9 mm i.d., Waters, Milford, DW, USA) column을 사용하여 237 nm(UV-M720 detector, Young In Scientific Co., Ltd., Seoul, Korea)에서 측정하였다(2). Acetonitrile: 0.1% TFA(trifluoro acetic acid, F₃COOH, Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA) water solution=62:38(v/v)로 한 용매를 이동상으로 하고 0.8 mL/min의 유속으로 PTFE syringe filter로 여과된 시료를 각각 10 μ L씩 주입하여 등용리 분석을 수행하였다. 추출한 시료의 monacolin K 함량은 외부표준물질(lovastatin, Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA)을 0, 10, 20, 40, 80, 160, 320 μ g/mL 농도로 같은 조건에서 작성한 검량곡선으로부터 산출하였다.

홍국쌀 에탄올 추출물 함유 농도에 따른 총 페놀 함량 분석

기능성 유지에 함유된 총 페놀 함량은 각 농도 별로 첨가된 홍국쌀 에탄올 추출물(in 1 g of DAG oil)의 양과 1시간

추출물의 총 페놀의 함량을 이용하여 얻은 비례식으로부터 산출하였다. 홍국쌀로부터 1시간 추출한 에탄올 추출물에 함유되어있는 총 페놀 함량을 Folin-Dennis method에 의해 정량하였다(16). 추출 후 PTFE syringe filter로 여과하여 얻은 추출물 시료 각각을 100 μ L씩 취하고 50 μ L의 Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA)를 첨가하였다. 3분 후에 100 μ L의 Na₂CO₃ saturated solution(in distilled water)와 증류수 2.5 mL를 첨가하고 1분간 진탕한 후 90분간 암소에 보관하여 발색시켰다. UV-visible spectrophotometer(UV-1700, SHIMADZU, Kyoto, Japan)를 이용하여 765 nm에서 발색된 색의 흡광도를 측정하였다. 홍국쌀 에탄올 추출물에 함유되어있는 총 페놀 함량은 gallic acid(Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA)를 0, 0.5, 1, 2, 4, 8 mg/10 mL(of 10% methanol)의 농도로 시료와 같은 조건에서 작성한 외부표준검량곡선을 이용하여 환산하였다.

기능성 유지의 Rancimat method를 이용한 산화 안정성 연구

홍국쌀 에탄올 추출물(35°C, 175 rpm, 1 hr)을 DAG oil(CJ, Inchun, Korea)에 첨가함으로써 얻어진 기능성 유지의 산화 안정성을 Rancimat method로 알려진 oil stability index(OSI) method를 이용하여 측정하였다(17). 유지의 유도기간(induction time; IT) 측정은 Rancimat 743(Metrohm, Herisau, Switzerland)을 사용하여 각각의 시료를 3 g씩 reaction vessel에 취하고 98°C에서 AOCs법(18)에 준하여 측정하였다. Gas(air) flow는 20 L/hr, reaction vessel과 heating block의 온도 편차인 delta T는 1.6°C, start delay(0 min)로 설정하였으며 stop point(end point)는 급격한 전도도 차이가 나는 시점이 지나면 자동으로 stop하도록 하였다.

전자코를 이용한 향 패턴 연구

Alpha M.O.S FOX 3000 Electronic Nose System(Alpha M.O.S., SA, Toulouse, France)을 이용하여 홍국쌀 에탄올 추출물이 함유된 기능성 유지의 농도(control, A, B, C, D)에 따른 향 패턴을 분석하였다(7,14). 본 연구에 사용된 전자코는 12개의 metal oxide 센서가 장착되어 시료로부터 non polar volatiles(P10/1, P10/2, SY/AA, SY/gcT), organic solvent(PA2, T30/1, SY/gCT1), ammonia & sulfur(SY/G), fluoride & chloride(SY/LG, P40/1), food aroma & volatile(T70/2) 및 aromatic(SY/gH) volatiles를 감지한다(8,19). 시료를 1 g씩 20 mL의 vial(Chromacol Inc, Wilmington, NC, USA)에 취하여 알루미늄 cap(with a hole)과 TFE/silicon septum(Alltech, Lexington, Kentucky, USA)으로 밀봉하였다. 시료를 60°C에서 진탕시키면서 30분 동안 향을 발생시켜, headspace로부터 2,500 μ L가 자동주입기에 의해 전자코에 주입되었다. 데이터 획득은 120초간 이루어졌으며 시료 간에 분석시간은 30 min을 주었고, 시료 당 8회 반복 실험을

하였다. 이송기체는 공기(20% O₂, 80% N₂)가 150 mL/min의 기체흐름속도로 사용되었으며, 상대습도가 36°C에서 20%를 유지하도록 하는 공기조절시스템을 활용하여 분석하였다. 분석 후 FOX 3000의 소프트웨어에 의해 얻어진 센서의 감응도($\Delta R/R_0$, 시료 volatiles의 저항값/공기 저항값)를 이용하여 주성분분석(principal component analysis; PCA)을 수행하였다(13).

SPME-GC/MS 분석

홍국쌀 에탄올 추출물이 함유된 기능성 유지의 제조과정 중 발생하는 휘발성분의 변화를 확인하기 위해 각각 4 g씩 25 mL vial에 취하여 TFE/silicon septum과 open-top cap을 이용하여 밀봉한 후 분석에 이용하였다. 휘발성분 포집은 Lee 등(10,14)의 선행 연구를 따라 다음과 같은 SPME(solid phase microextraction) method를 활용하였으며, 사용된 fiber는 divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane(DVB/CAR/PDMS, 50/30 μ m thickness, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA)로 코팅된 것으로 250°C에서 2시간 conditioning 후 분석에 이용하였다(11). 시료를 50°C에서 20분 동안 휘발성분 축진과정을 실시한 후 fiber를 삽입하여 휘발성분을 10분 동안 포집하였으며, 휘발성분이 포집된 fiber를 GC에 주입시키고, 주입구에서 3분간 유지시켰다. 분석은 DB-5MS (60 m length 0.32 mm i.d. 0.25 μ m film thickness, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) 칼럼과 Varian Saturn 2000 MS가 장착된 Varian Star 3400CX GC(Varian Inc., Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 실시하였다. 헬륨이 사용된 이송기체의 흐름속도는 1 mL/min으로, 주입구는 250°C로 설정하였으며, 칼럼의 온도는 35°C(for 5 min) \rightarrow (4°C/min) \rightarrow 60°C \rightarrow (2°C/min) \rightarrow 140°C \rightarrow (4°C/min) \rightarrow 220°C \rightarrow (15°C/min) \rightarrow 260°C까지 증가시키는 승온 프로그램을 활용하여 총 75분 동안 분석하였다(7). Mass spectrometry(MS)의 ionization source(electron ionization mode, 70 eV)는 180°C, manifold는 50°C, transfer line은 180°C, scan rate은 20000 counts/s(target TIC; total ion counts)로 설정하였다. 분석 결과 얻어진 mass spectrum을 GC/MS의 S/W에 내장된 mass spectrum database(NIST 98 library; mass spectral search program, and WILEY MS library; registry of mass spectral data, 6th edition, USA)로 비교하였고, 시료 당 2회 반복하여 실험하였다. Hexanal(Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA) 표준품으로 외부검량곡선을 준비한 후, 유지에 함유되어 있는 hexanal을 정량하였다.

통계처리

분석 결과의 통계적 검증을 위해 SAS program(statistical analysis system, version 8.01, SAS Inst., Cary, NC, USA)을 이용하여 95% 신뢰구간에서의 통계처리를 수행하였다(20,21). Duncan's multiple range test를 이용하여 색도 분석 결과의 유의성(p<0.05) 검정을 실시하였다. 전자코 분석 결

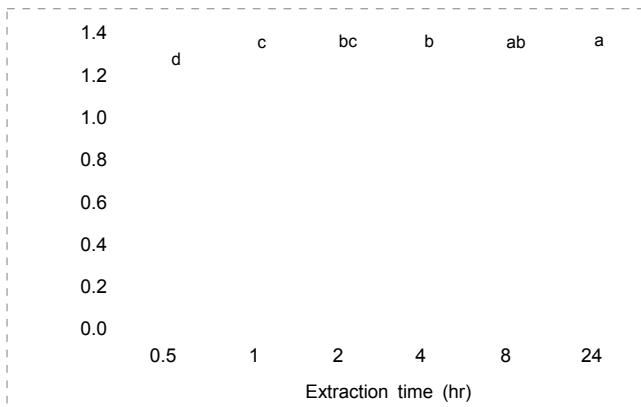


Fig. 1. Extraction yields of ethanol extracts from red yeast-rice for prolonged times (0.5, 1, 2, 4, 8, and 24 hr) by 80% ethanol at 35°C and 175 rpm in a shaking water bath.

^{a-d}Values with different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

과의 PCA 수행을 통하여 향 패턴을 확인하였으며, Student-Newman-Keul's(SNK)을 포함하는 MANOVA에 의한 통계처리로 각 센서별 유의성($p < 0.05$)을 검증하였다.

결과 및 고찰

홍국쌀 에탄올 추출물의 추출 시간에 따른 수율

홍국쌀을 35°C, 175 rpm에서 0.5, 1, 2, 4, 8, 24시간 단위로 개별적으로 에탄올 추출하여 얻은 추출물의 수율을 측정하여 추출 시간에 따른 함량 변화를 알아보았다(Fig. 1). 홍국쌀 에탄올 추출물의 추출 시작 후 0.5시간(1.128%)과 1시간(1.203%)까지 유의적으로 증가하였으나 2시간(1.204%)부터는 유의적으로 큰 차이를 보이지 않았다($p < 0.05$). 이와 같이 추출 1시간 이후의 추출 시간 증가는 추출율의 증가에 영향을 미치지 않는 것으로 사료되어 다음의 기능성 유지 제조 시 1시간 추출물을 사용하였다.

홍국쌀 에탄올 추출물의 함유 농도에 따른 색도 변화

홍국쌀의 1시간 에탄올 추출물 여과액을 0(control), 100(A), 200(B), 300(C), 380(D) L/1 g의 DAG oil 농도 단위로 첨가시킴으로써 획득한 기능성 유지에는 각각 600, 1200,

Table 1. Production of functional oils (FOs)¹⁾ from red yeast-rice ethanol extracts²⁾ with diacylglycerol (DAG) oil containing about 80% of DAG

Concentration	Functional oils				
	Control	A	B	C	D
Ethanol-extract soln./oil (μ L/g)	0	100	200	300	380
Extracts in FOs (ppm)	0	600	1200	1800	2280

¹⁾Functional oils contained red yeast-rice ethanol extracts with differential concentration.

²⁾Extraction was performed by 80% ethanol for 1 hr at 35°C and 175 rpm in a shaking water bath.

1800, 2280 ppm의 추출물이 함유되어 있는 것으로 분석되었다(Table 1). 이때, 추출물 함유 기능성 유지를 위해 첨가할 수 있는 최대의 양은 추출물 여과액 첨가 및 ethanol 정제/농축 후 추출물 결정이 관찰되지 않는 시점으로 하였다. 기능성 유지의 Hunter L*(+/-, lightness/darkness), a*(+/-, redness/greenness) 및 b*(+/-, yellowness/blueness) 값을 측정하여 농도에 따른 색도 변화를 관찰하였다(Table 2). Control의 색도는 각각 L*(88.1), a*(-2.3) 및 b*(16.3) 값과 같이 측정되었으며, 기능성 유지 내 추출물의 함유 농도가 높아짐에 따라 L* 값이 유의적으로 감소되었으며, 반면 a* 값 및 b* 값은 유의적으로 증가되는 경향을 나타내었다($p < 0.05$). 유지에 첨가시킬 수 있는 가장 높은 농도인 D(2280 ppm)의 색도는 L*(51.1), a*(68.2) 및 b*(38.1) 값으로 측정되었으며, 추출물 함유 농도의 증가에 따른 L*, 및 b* 값 변화에 비해 redness가 두드러지게 증가되는 것이 관찰되었다. 이는 홍국쌀 제조에 이용된 홍국균(*Monascus* spp.)으로부터 유래된 것으로 여겨지는 홍국 적색소의 영향을 받은 것으로 사료된다.

기능성 유지의 추출물 함유 농도에 따른 monacolin K 및 총 페놀 함량

기능성 유지에 함유되어 있는 홍국쌀 에탄올 추출물의 농도에 따른 monacolin K 및 총 페놀 함량 차이를 살펴보았다(Fig. 2). Monacolin K의 함량은 함유된 추출물의 함량이 증가함에 따라 각각 A(0.9 mg/kg), B(1.8 mg/kg), C(2.7

Table 2. The Hunter color L*, a*, and b* values of functional oils (FOs)¹⁾ containing red yeast-rice ethanol extracts with different concentrations

FOs	L* value (lightness/darkness)	a* value (redness/greenness)	b* value (yellowness/blueness)
Control	88.1 ± 0.8 ^{2)a3)}	-2.3 ± 0.1 ^e	16.3 ± 0.3 ^f
A	77.8 ± 0.1 ^b	7.5 ± 0.0 ^d	8.4 ± 0.0 ^e
B	66.2 ± 0.0 ^c	42.9 ± 0.1 ^c	13.2 ± 0.0 ^d
C	51.6 ± 0.1 ^d	59.0 ± 0.2 ^b	31.2 ± 0.0 ^b
D	51.1 ± 0.4 ^d	68.2 ± 0.3 ^a	38.1 ± 0.4 ^a

¹⁾Functional oils were contained by various contents of red yeast-rice ethanol extracts (control: 0, A: 600, B: 1200, C: 1800, D: 2280 ppm).

²⁾Mean ± SD.

³⁾Values in the same column with different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

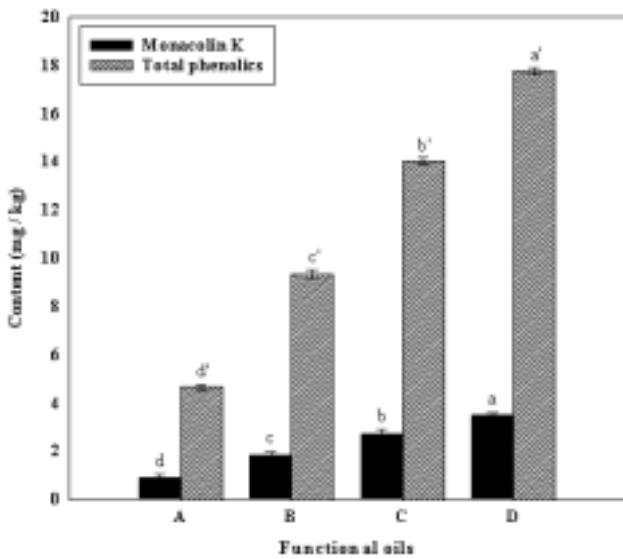


Fig. 2. Content of monacolin K and total phenols in functional oils containing red yeast-rice ethanol extracts; A: 600, B: 1200, C: 1800, D: 2280 ppm.

^{a-d}Values with different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

mg/kg) 및 D(3.5 mg/kg)와 같이 유의적으로 증가된 값을 나타내었다($p < 0.05$). 이와 같이 본 연구의 기능성 유지에 함유되어 있는 monacolin K는 홍국쌀 생산에 이용된 홍국균(*Monascus* spp.)의 발효 시 생성되는 2차 대사산물(secondary metabolites)로부터 유래된 것으로 여겨지며, 체내에서 cholesterol 생합성 억제(HMG-CoA reductase inhibitors) 등과 같은 생리적 효능을 보일 것으로 사료된다(1-3).

총 페놀 함량의 경우도 위와 마찬가지로 기능성 유지 제조를 위해 첨가된 추출물의 함량 증가에 따라 유의적으로 증가되는 경향을 보였으며($p < 0.05$), 각각의 함량은 A(4.7 mg/kg), B(9.3 mg/kg), C(14.0 mg/kg), D(17.8 mg/kg)로 분석되었다.

Rancimat에 의한 기능성 유지의 산화 안정성

홍국쌀 에탄올 추출물을 이용하여 얻은 기능성 유지(A~D)의 산화 안정성을 알아보기 위해 Rancimat을 이용하여 시간(reaction time)에 따른 전도도($\mu\text{s}/\text{cm}$) 변화 및 유도 기간에 해당하는 induction time(IT)의 추출물 함유 농도에 따른 변화를 살펴본 결과는 다음과 같다(Fig. 3). 98°C에서 IT가 각각 control(4.3 hr), A(3.2 hr), B(2.6 hr), C(2.4 hr), D(2.2 hr)와 같이 추출물 첨가 농도의 증가에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 최근 홍국균(*Monascus* spp.)을 곡류에 접종하여 제조한 홍국(*Monascus koji*)를 특정 제품의 원료혼합물에 첨가하였을 때 항산화활성을 나타낸 연구가 보고되고 있다(22). 반면, 본 연구에서는 이러한 홍국균(*Monascus* spp.)을 발효시켜 생산된 홍국쌀로부터 추출된 추출물의 함유 농도에 따라 기능성 유지의 유도 기간이 다소 감소되는 결과를 나타내었다. 이는 첨가된 추출물이 유지 내에서 유도 기간을

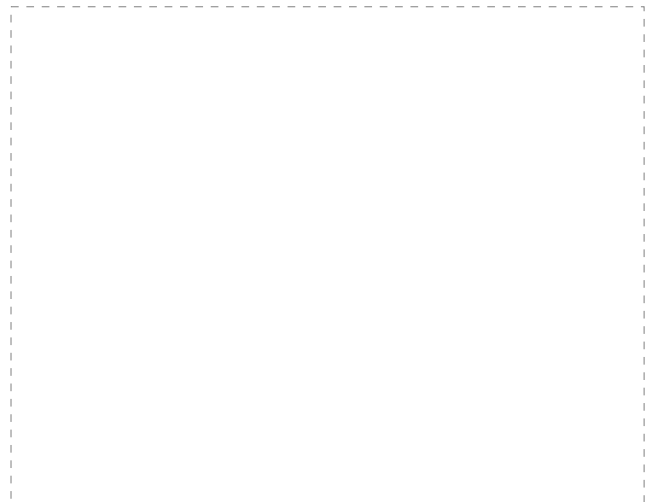


Fig. 3. The oxidative stability of functional oils containing red yeast-rice ethanol extracts with different concentrations (control: 0, A: 600, B: 1200, C: 1800, D: 2280 ppm) by Rancimat at 98°C.

감소시키는 prooxidants로 작용되었기 때문인 것으로 판단된다. 또한, 추출물을 DAG유에 첨가하기 위해 사용된 ethanol(HPLC grade)의 불완전한 정제로 인해 잔존 가능한 미량의 ethanol 또한 기능성 유지의 유도 기간 감소 요인 중의 하나로 작용되었을 것으로 여겨진다. 따라서 본 연구에서 생산한 홍국쌀 에탄올 추출물 함유 기능성 유지에는 항산화제 첨가 등과 같은 산화 안정성의 보강이 필요할 것으로 사료된다.

전자코 분석에 의한 향 패턴 비교

전자코를 이용한 홍국쌀 에탄올 추출물이 함유된 기능성 유지(A, B, C, D) 및 control의 향 패턴을 분석한 결과, 12개 MOS 센서의 감응도($\Delta R/R_0$)를 얻었으며, 이 값을 이용하여 PCA(주성분분석) 및 MANOVA(다변량분석)를 수행하였다. PCA 결과 전체적인 향 패턴에 대한 제1주성분(first principal component)의 기여율은 99.66%로, 제2주성분(second principal component)의 기여율은 0.31%로 분석되었으며, 이러한 결과를 바탕으로 각 시료 별로 그룹화된 향 패턴을 보여주는 PCA plot을 얻었다(Fig. 4). PCA plot을 바탕으로 기능성 유지(A~D)의 제1주성분 값은 -0.3에서 0.1 사이에 분포하는 것으로 나타났으며, 이는 0.4에서 0.5 사이에 분포하는 control(0 ppm)과 향의 구별됨을 보였다. 특히, 제1주성분의 기여율이 99.66%를 보이기 때문에 control과 A,B,C,D를 비교할 경우 전자코는 홍국쌀 추출물의 첨가된 함량의 차이보다는 홍국쌀 에탄올 추출물의 존재유무에 따라 향의 구분을 한다고 사료된다.

한편, 홍국쌀 추출물의 첨가된 함량에 따른 기능성 유지들 간의 향 구분을 살펴보면 A,B,C,D 기능성 유지들 사이 중에서 A와 B는 그룹간의 거리(group distances)가 0.0044로 다른 그룹들 간의 거리 중에서 가장 작은 값을 나타내어, A와

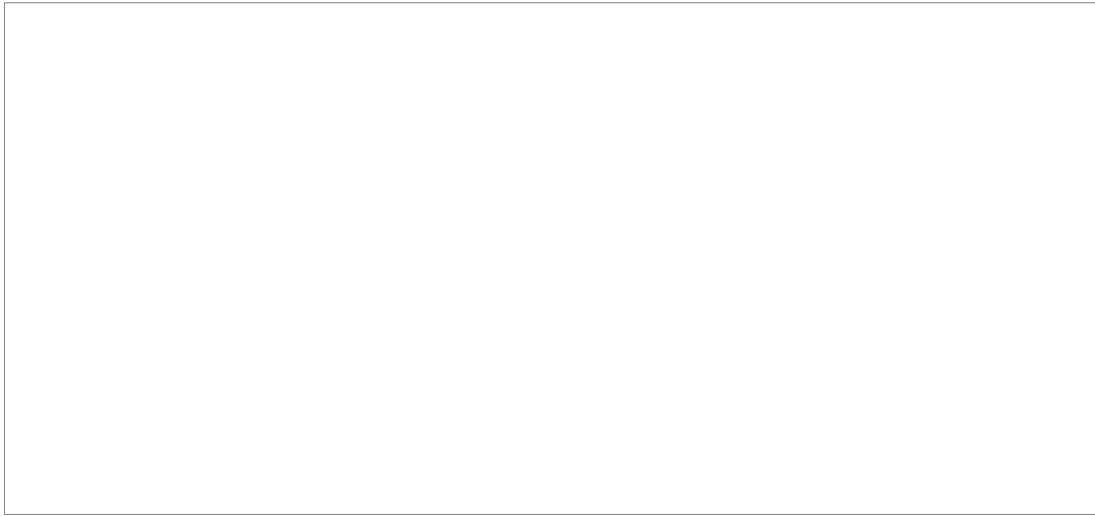


Fig. 4. Principal component analysis (PCA) plot of functional oils containing red yeast-rice ethanol extracts with various concentrations (control: 0, A: 600, B: 1200, C: 1800, D: 2280 ppm) by electronic nose.

B가 가장 유사한 향을 보이고 있음을 알 수 있었다(Fig. 4). 반면, A와 D의 거리는 0.0922로 가장 큰 값을 보이면서 가장 큰 향의 차이가 있었고, 이는 함유된 홍국쌀 에탄올 추출물의 함량 차이가 A와 D사이에서 가장 큰 것에 기인한다고 사료된다. 한편, 분석 결과 얻어진 센서 감응도($\Delta R/R_0$)의 유의적 차이 검증을 위해 실시한 MANOVA에서 Wilks' lambda 값은 0.0001로 0에 근접하였고 F-값은 19.50으로 나타났다($p < 0.0001$) (data not shown), SNK에 의해 $p < 0.05$ 로 각 시료의 센서별 유의성을 검증하였다(Fig. 5). 센서들 중에서 SY/AA를 제외한 11개의 센서에서 추출물을 첨가시킨 기능성 유지는 control과 유의적인 차이를 보였으며, 첨가

농도의 증가에 따른 기능성 유지(A~D) 사이에서는 SY/LG를 제외한 11개의 센서에서 유의적 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 이와 같은 결과에 따라 12 센서들 중에서 organic solvent를 감지하는 PA2 센서와 food aroma & volatile를 감지하는 T70/2 센서가 A~D 및 control의 차별적인 향 패턴에 다른 센서들보다 크게 작용된 것으로 판단된다.

SPME-GC/MS를 이용한 주요 휘발 성분 비교

홍국쌀 에탄올 추출물이 함유된 기능성 유지(A, B, C, D) 및 control의 headspace로부터 휘발성분의 차이를 확인하기 위해 SPME-GC/MS를 이용하여 분석하였다(Table 3, Fig. 6). 활용된 SPME(solid phase microextraction) 방법은 휘발

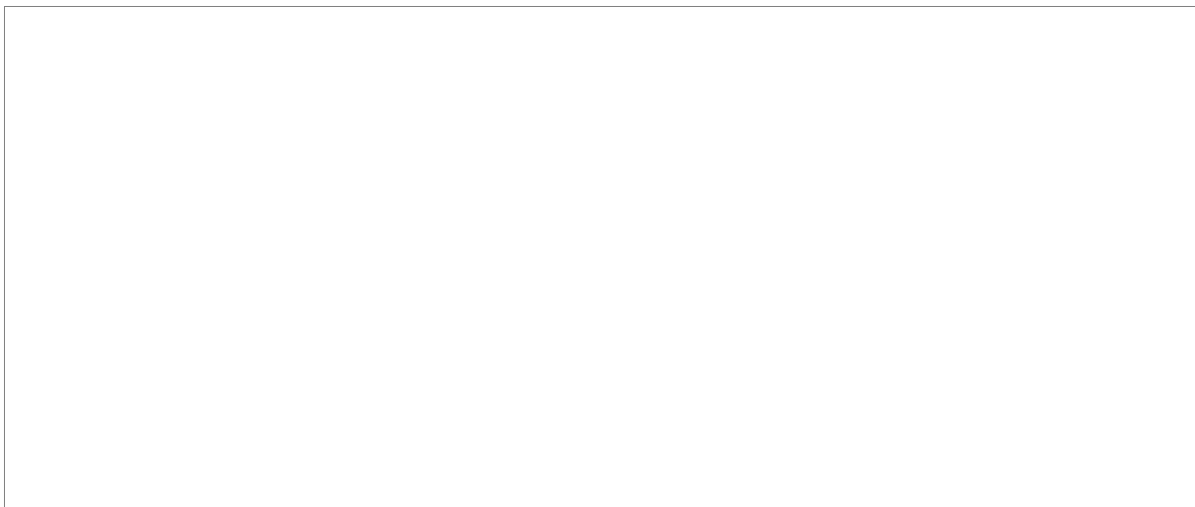


Fig. 5. Aroma intensities ($\Delta R/R_0$)¹⁾ of functional oils²⁾ (control, A, B, C, and D) acquired by the electronic nose.

¹⁾ $\Delta R/R_0$ is the sensor response change from reading at starting on acquisition.

²⁾ Functional oils were contained by various contents of red yeast-rice ethanol extracts (control: 0, A: 600, B: 1200, C: 1800, D: 2280 ppm).

Values of each sensor were expressed as the means of 8 replicates.

^{a-c} Values with different superscript letters within the same sensors are significantly different by MANOVA ($p < 0.05$).

Table 3. Changes of hexanal detected by SPME-GC/MS analysis¹⁾ from functional oils (FOs)²⁾ containing red yeast-rice ethanol extracts

	Functional oils				
	Control	A	B	C	D
FOs peaks area [total ion counts×10 ⁴]	52.8±7.4 ^{3)a4)}	14.8±1.0 ^c	19.4±0.3 ^{bc}	27.0±1.4 ^b	20.5±1.6 ^{bc}
Hexanal (ppm) ⁵⁾	5.2±0.7 ^a	1.5±0.1 ^c	1.9±0.1 ^{bc}	2.7±0.1 ^b	2.0±0.2 ^{bc}

¹⁾SPME: solid phase microextraction, GC/MS: gas chromatography/mass spectroscopy.

²⁾Functional oils contained red yeast-rice ethanol extract with differential concentration (control: 0, A: 600, B: 1200, C: 1800, D: 2280 ppm).

³⁾Mean±SD.

⁴⁾Values in the same row with different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

⁵⁾Amounts (ppm) of hexanal in samples were expressed by external standard.

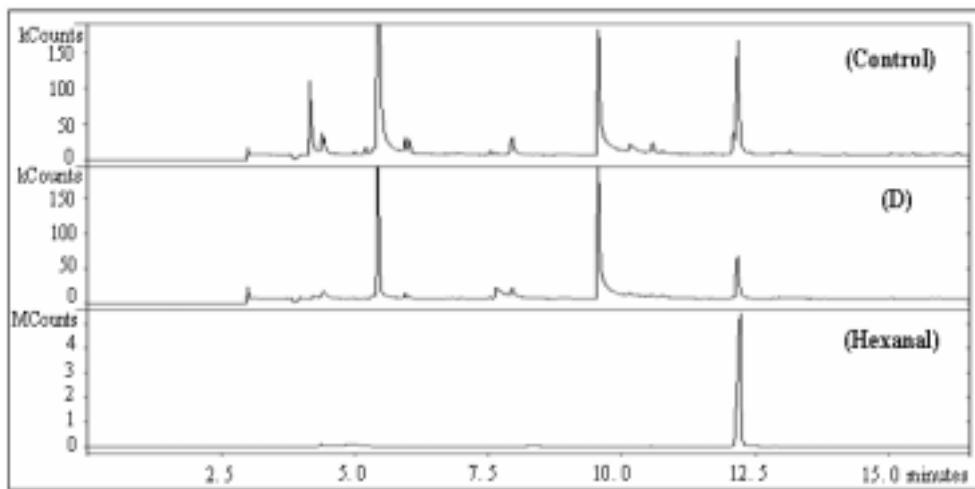


Fig. 6. Chromatograms of standard (hexanal) with functional oils containing red yeast-rice ethanol extracts (control: 0, D: 2280 ppm) analyzed by SPME-GC/MS.

성분을 포집 및 미량의 휘발성분 정량 시 신속하고 감도가 좋으며 용매를 사용하지 않고 분석하는 방법으로 보고되고 있다(10). 본 연구에서 이용된 fiber는 DVB/CAR/PDMS로 코팅된 것으로 식물성 유지의 휘발성분 분석 시 다른 fiber에 비해 높은 검출능을 제공하는 것으로 보고된 바 있다(11). 기능성 유지(A~D) 및 control의 휘발성분 분석 결과 홍국쌀 에탄올 추출물로부터 기인되는 휘발성분은 관찰되지 않았다. 반면, retention time이 12.1 min인 peak의 경우 홍국쌀 에탄올 추출물을 첨가시킨 기능성 유지의 TIC가 control에 비하여 유의적인 감소 경향을 나타내는 것이 확인되었다 (p<0.05). 따라서 mass spectrum의 NIST 98/WILEY library 및 외부표준물질과의 비교를 통한 동정에 의하여 휘발성분이 hexanal임을 검증할 수 있었다. Hexanal은 유지 식품의 고온에 의한 열처리나 암소에서 저장기간의 증가에 따라 유지 산패에 의해 발생하는 휘발성분 중 하나로서 산패 취와 직접적인 관련이 있어 유지류 산화의 지표 중 하나로 보고되고 있다(23). 각 유지에 함유되어 있는 hexanal의 함량(control, 5.2; A, 1.5; B, 1.9; C, 2.7; D, 2.0 ppm)을 외부표준 물질검량선에 의해 정량하였다. 일반적으로 hexanal이 정제 가공유지에서는 관찰되지 않으나, 본 연구의 재료로 사용된

DAG oil에서 검출된 hexanal의 경우 화학적인 제조과정 중 고온에 의해 발생된 좋지 않은 냄새성분의 하나로서 유지 내에 잔류된 것으로 사료된다. 즉, control에 존재하던 hexanal이 기능성 유지 제조 시 추출물을 첨가시키는 과정에서 수행된 ethanol 정제공정을 거치면서 감소된 것으로 판단된다.

요 약

홍국쌀을 35°C, 175 rpm에서 80% ethanol을 이용하여 0.5, 1, 2, 4, 8, 24시간 단위로 개별적으로 에탄올 추출한 결과, 1시간(yield, 1.203%) 이후의 추출 시간 증가는 추출율의 증가에 큰 영향을 미치지 않았다. 1시간 추출한 홍국쌀 에탄올 추출물을 각각 600(A), 1200(B), 1800(C), 2280(D) ppm 함유하는 기능성 유지를 제조하였다. 기능성 유지의 색도는 추출물의 함유 농도가 높아짐에 따라 L* 값이 유의적으로 감소되며, a* 값 및 b* 값은 유의적으로 증가되는 경향을 나타내었다(p<0.05). 기능성 유지의 monacolin K 및 총 페놀 함량은 추출물 첨가량의 증가에 따라 유의적으로 증가되는 경향을 보였다(p<0.05). Rancimat(98°C) 분석을 실시한 결과, 기능성 유지의 induction time이 각각 control(4.3 hr), A(3.2 hr),

B(2.6 hr), C(2.4 hr), D(2.2 hr)로 추출물 첨가 농도의 증가에 따라 다소 감소하는 경향을 나타내어 산화 안정성의 보강이 필요할 것으로 판단된다. 전자코에 의해 얻어진 각 시료의 센서의 감응도($\Delta R/R_0$)를 이용한 주성분분석 및 MANOVA 분석 결과, 제1주성분 기여율은 99.66%로 분석되었으며 함유된 추출물의 함량 증가에 따라 각각 차별적인 향 패턴(odour difference)을 보이는 것으로 확인되었다. SPME-GC/MS에 의한 휘발성분 분석 결과, 기능성 유지에서 홍국 쌀 에탄올 추출물로부터 기인되는 특유의 휘발성분은 관찰되지 않았으나, RT=12.1 min인 hexanal의 함량이 control에 비하여 유의적인 감소 경향을 나타내는 것이 확인되었다 ($p < 0.05$).

감사의 글

본 연구는 보건복지부 연구비(02-PJ1-PG1-CH15-0001) 지원에 의해 수행한 결과이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문헌

- Kwak EJ, Lee HM, Lim SI. 2004. Screening and identification of *Monascus* strain producing monacolin K. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 164-169.
- Ma J, Li Y, Ye Q, Li J, Hua Y, Ju D, Zhang D, Cooper R, Chang M. 2000. Constituents of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine. *J Agric Food Chem* 48: 5220-5225.
- Wang JJ, Pan TM. 2003. Effect of red mold rice supplements on serum and egg yolk cholesterol levels of laying hens. *J Agric Food Chem* 51: 4824-4829.
- Shimada A, Ohashi K. 2003. Interfacial and emulsifying properties of diacylglycerol. *Food Sci Technol Res* 9: 142-147.
- Nakajima Y. 2004. Water-retaining ability of diacylglycerol. *J Am Oil Chem Soc* 81: 907-912.
- Lee BY, Yang YM, Lee OH, Shin CS, Shim KH. 2002. Analysis of aroma pattern of *Panax* species by electronic nose. *Food Sci Biotechnol* 11: 131-135.
- Shin JA, Lee KT. 2003. The identification of blended sesame oils by electronic nose. *Korean J Food Sci Technol* 35: 648-652.
- Shin JA, Kwon JH, Lee KT. 2003. Aroma analysis by the electronic nose on red ginseng powder treated with gamma radiation, methyl bromide and phosphine. *Korean J Food Sci Technol* 35: 825-829.
- Han KY, Kim JH, Noh BS. 2001. Identification of the volatile compounds of irradiated meat by using electronic nose. *Food Sci Biotechnol* 10: 668-672.
- Lee JH, Kim MR, Kim IH, Kim H, Shin JA, Lee KT. 2004. Physicochemical and volatile characterization of structured lipids from olive oil produced in a stirred-tank batch reactor. *J Food Sci* 69: 89-95.
- Jeleń HH, Obuchowska M, Zawirska-Wojtasiak R, Wsowicz E. 2000. Headspace solid-phase microextraction use for the characterization of volatile compounds in vegetable oils of different sensory quality. *J Agric Food Chem* 48: 2360-2367.
- Vu PL, Shin JA, Lee KT. 2004. Comparison of volatile compounds corn oil and modified corn oil by electronic nose and solid phase microextraction gas chromatograph-mass spectrometry. *Agric Chem Biotechnol* 47: 153-156.
- Mildner-Szkudlarz S, Jeleń HH, Zawirska-Wojtasiak R, Wsowicz E. 2003. Application of headspace-solid phase microextraction and multivariate analysis for plant oils differentiation. *Food Chem* 83: 515-522.
- Lee JH, Sung TH, Lee KT, Kim MR. 2004. Effect of gamma-irradiation on color, pungency, and volatiles of Korean red pepper powder. *J Food Sci* 69: 585-592.
- Kang DZ, Um JB, Lee SK, Lee JH. 2003. Content of rutin and monacolin K in the red buckwheat fermented with *Monascus ruber*. *Korean J Food Sci Technol* 35: 242-245.
- Zhou Z, Robards K, Helliwell S, Blanchard C. 2004. The distribution of phenolic acids in rice. *Food Chem* 87: 401-406.
- Velasco J, Andersen ML, Skibsted LH. 2004. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. *Food Chem* 85: 623-632.
- AOCS. 1990. *Official methods and recommended practices*. 4th ed. American oil chemists' society, Chicago, IL, USA. Cd 12-57.
- Intelligent Electronic Nose. 1998. *FOX User Manual*. 2nd ed. Alpha M.O.S., Toulouse, France.
- Lee JH, Lee JH, Lee KT. 2003. Chemical and volatile characterization of structured lipid from soybean oil containing conjugated linoleic acid. *J Food Sci Nutr* 8: 219-224.
- SAS Institute, Inc. 2000. *SAS/STAT user's guide*. Release 8.01. Statistical analysis systems institute, Cary, NC, USA.
- Rhyu MR. 2002. Antioxidant effect of *Monascus koji* in sausage mixture. *Nutraceuticals & Food* 7: 320-322.
- García-Llatas G, Lagarda MJ, Romero F, Abellán P, Farré R. 2006. A headspace solid-phase microextraction method of use in monitoring hexanal and pentane during storage: application to liquid infant foods and powdered infant formulas. *Food Chem* 101: 1078-1086.

(2006년 11월 24일 접수; 2007년 1월 17일 채택)