

초임계 CO₂ 유체 추출법을 이용한 탈지 유채박 중 표면활성물질 추출의 최적화

김정원 · 정용선 · 길나영 · 이의석 · 이영화* · 장영석* · 이기택 · *홍순택
충남대학교 식품공학과, *농촌진흥청 국립식량과학원 바이오에너지작물센터

Extractions of Surface-Active Substances from Defatted Rapeseed Meal (*Brassica napus* L.) by Supercritical Carbon Dioxide

Jeong-Won Kim, Yong-Seon Jeong, Na-Young Gil, Eui-Seok Lee, Yong-Hwa Lee*,
Young-Seok Jang*, Ki-Teak Lee and *Soon-Taek Hong

Dept. of Food Science & Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea
*Bioenergy Crop Research Center, National Institute of Crop Science, RDA, Muan 534-833, Korea

Abstract

In this study, an attempt is being made to extract surface-active substances from defatted rapeseed cakes by supercritical carbon dioxide fluid. Independent variables for the extraction process, being formulated by D-optimal design, are pressure (150~350 bar), temperature (33~65 °C) and co-solvent (ethanol, 50~250 g). The dependent variables of the extraction yield, the content of neutral lipids, phospholipids and glycolipids in the extracts were analyzed upon the results through the response surface methodology. As for the extraction yield, it was found to increase with increasing independent variables, among which the co-solvent proved to be a major influencing parameter. Similar trends were found for the content of surface-active substances (i.e., phospholipids and glycolipids) in the extracts, except for the content of neutral lipids. Regression equations were suggested to coincide well with the results from the experiments. Extraction conditions are being optimized to maximize the extraction yields, the content of phospholipids, and glycolipids were 350 bar (pressure), 65 °C (temperature) and 228.55 g (co-solvent), respectively.

Key words: supercritical carbon dioxide, rapeseed cake, phospholipids, glycolipids, response surface methodology

서 론

유채(*Brassica napus* L.)는 십자화과에 속하는 1년생 초본 식물로서, 국내에서는 남부지방 및 제주도에서 재배되고 있으며, 대두, 해바라기, 면실 등과 함께 주요 유지작물로 재배되고 있다(Kim 등 1988; Lee 등 1991). 국내 유채유 생산량은 2,000년 6,461톤, 2007년 32,842톤, 2009년 48,821톤으로 지속적으로 증가하고 있는 추세이다(통계청, 2010). 한편, 유채 종자로부터 기름을 추출하고 남은 유채박에는 300~350 g/kg의

단백질과 100~200 g/kg의 기름을 함유하고 있으며, 기름은 대부분 중성지질(triacylglyceride, C₁₆-C₂₂)이 차지하고 있다(Schöne 등 1996; Chauhan 등 2002). 유채유 중에는 다른 유지작물에서 추출한 기름에 비해 인지질(1.5~3.6%) 및 당지질(0.9%)의 함량이 높고(Kramer 등 1983), 이외에 식물성스테롤(phytosterol), 토코페롤(tocopherol), 폴리페놀(polyphenol)류, 플라보노이드(flavonoid)류 등의 다양한 생리활성 물질들을 풍부히 함유하고 있다(Naczk 등 1986; Naczk 등 1998; Shahidi F 1989).

초임계 유체(supercritical fluid)는 한 물질의 온도와 압력 등

* Corresponding author: Soon-Taek Hong, Dept. of Food Science & Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea. Tel: +82-42-821-6727, Fax: +82-42-821-8900, E-mail: Hongst@cnu.ac.kr

을 임계점(critical point) 이상으로 높일 때 생성되는 유체로서, 이 조건에서 초임계 유체는 액체와 기체에 상응하는 용해력과 확산성을 갖게 되어 복합시스템의 시료로부터 목적 성분을 신속하고도 선택적인 추출이 가능하고, 독성 가능성이 있는 기존의 유기용매에 대하여 새로운 추출 용매로서 그 사용 빈도가 증가하고 있다. 또한, 추출용매로 주로 식품산업에서 이용되는 CO₂는 무독성이며 임계점(임계압력 73.8 bar, 임계온도 31.1°C)이 비교적 낮아 천연물 또는 열에 민감한 물질을 추출하는데 용이하고, 순환 공정을 통한 재활용이 가능하기 때문에 친환경성 공정개발이 가능한 장점이 있다(Montanari 등 1999; Nalawade 등 2006). 한편, 초임계 CO₂의 경우 극성 분자들에 낮은 친화도를 갖고 있어 미국의 GRAS (Generally Recognized As Safe)의 규격에 준하는 에탄올을 추출 보조용매로 사용할 경우, 시료 중에 포함된 극성물질을 효율적으로 추출할 수 있다(Montanari 등 1996; Lee 등 2010).

유체/유체박으로부터 초임계 CO₂ 유체 추출에 대한 연구는 최근까지 활발하게 진행되고 있다. Bulley 등(1984)은 초임계 유체를 이용한 유체유 추출 공정에서 추출압력과 시간을 변수로 조절하고, 이에 따른 추출수율을 비교하였으며, Fattori 등(1987)은 초임계 추출 공정에서 온도와 CO₂ 유속을 고정하고, 압력을 변수로 하여 유체로부터 유지를 추출한 후, 추출물의 지방산 및 인 함유량의 변화를 검토하였다. Jenab 등(2006)은 헥산을 이용한 용매추출법과 초임계 추출 공정을 통해 얻은 각 유체유의 이화학적 특성을 비교, 분석하였으며, Boutin & Badens(2009)는 유체유의 초임계 추출 공정에서 추출압력,

온도, 추출시간 및 CO₂ 유속을 변수로 하여 반응표면분석을 통해 최적의 추출 조건을 제시하였다. 이처럼 이전의 연구 대부분은 유체종자를 추출시료로 하여 얻은 유체유의 성질 등에 관한 분석·평가 연구로서, 국내산 유체유 생산량 증가와 더불어 부산물로 얻어지는 국내산 유체박 중 표면활성물질의 추출에 관한 연구는 거의 수행되지 않은 것으로 조사되었다. 예비실험을 통하여 유체박에는 일정량의 유용한 극성 지질 등이 포함되어 있는 것으로 판명되었으며, 따라서 본 연구는 초임계 CO₂ 유체 추출법으로 국내산 유체박을 이용하여 유체박 중 표면활성물질을 추출하고자 하였다. 이를 위하여, 추출 시 큰 영향을 미칠 것으로 예상되는 추출압력, 추출온도, 보조용매(에탄올)의 양을 독립변수로 하여 반응표면분석법(Response surface methodology)을 통한 유체 중 표면활성물질의 최적 추출조건을 수립하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 유체박은 압착기를 이용하여 유체종자로부터 유체유를 추출하고 남은 2011년산 잡종 착유박으로 농촌진흥청 국립식량과학원 바이오에너지작물센터에서 공급받아 -20°C 냉동고에 보관하면서 시료로 사용하였다. 실험에 사용된 모든 시약은 일급 이상의 등급을 사용하였다. 초임계추출 장치는 Fig. 1에 나타내었다. 초임계추출 장치의 구성은 추출조(HIP inc. Erie, PA, USA), 가압펌프(Haskel Co.,

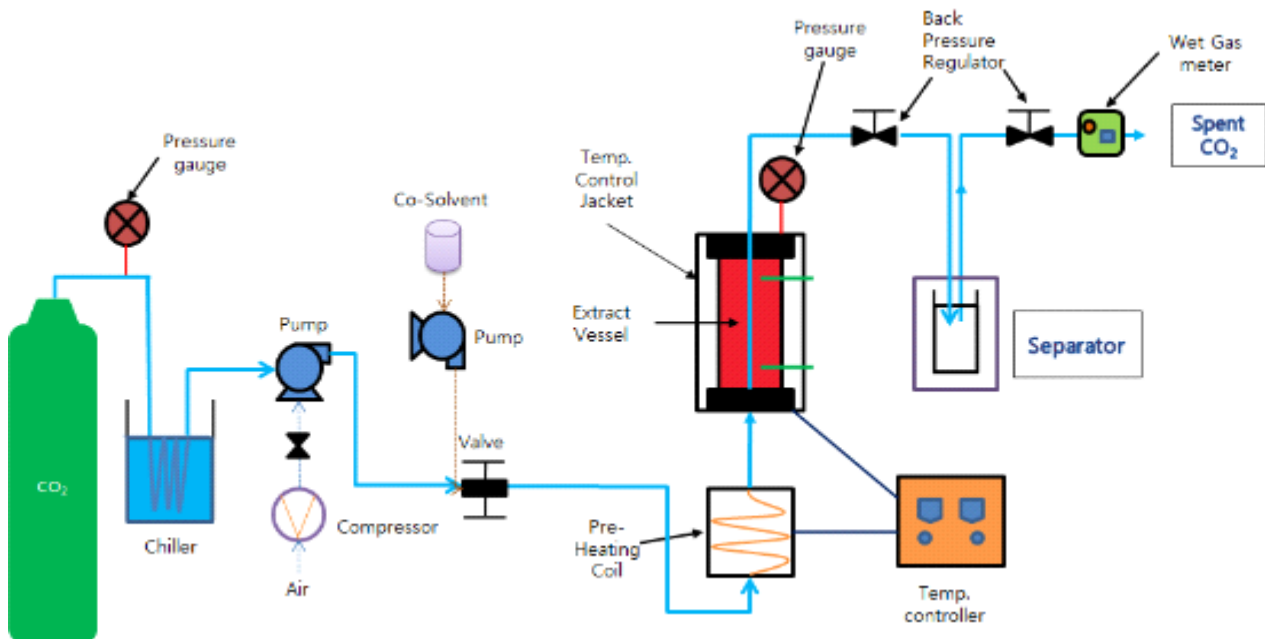


Fig. 1. Schematic of the supercritical carbon dioxide apparatus.

Burbank, CA, USA), BPR(Back pressure regulator, Ilshin autoclave Co., Daejeon, Korea), 압력측정기(MacDiniel control Co., USA), 고압용 관 등으로 이루어졌으며, 구입 후 설치하여 사용하였다.

2. 탈지 유채박 제조

유채박 시료는 약 20% 내외의 기름을 함유하므로 유채박 시료를 헥산과 1:5(w/w) 비율로 혼합한 뒤, Omni mixer(Omni international Inc., Kennesaw, GA, USA)를 이용하여 setting 값 2.5에서 한 시간 동안 교반한 후, 감압 여과 과정을 통해 헥산 층을 제거하였다. 헥산 층이 제거된 유채박 시료와 헥산을 1:3(w/w) 비율로 재혼합한 뒤 다시 감압 여과 과정을 통해 헥산 층을 제거하고, 이 과정을 4회 반복하였다. 탈지 과정을 진행한 유채박 시료는 24시간 동안 후드(hood)에 방치하여 잔존하는 헥산을 제거하였다. 건조된 탈지박은 표준체(10 mesh)를 통과시켰으며, -20°C 에서 냉동 보관하여 추출 시료로 사용하였다.

3. 실험계획 및 반응표면분석

탈지 유채박으로 추출수율 및 유효성분의 함량을 최적화하기 위한 실험설계는 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)에 적합한 D-optimal design으로 실험설계를 실시

하였다. 추출에 영향을 미치는 요인인 추출압력(X_1), 추출온도(X_2) 및 보조용매(ethanol)량(X_3)을 주요 독립변수(X_n)로 설정하였으며, 종속변수(Y_n)는 추출수율(Y_1)과 추출물 중 존재하는 인지질(Y_2), 당지질(Y_3)로 하였다. 추출수율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{추출수율 (\%)} = \frac{\text{추출물의 무게 (g, dry basis)}}{\text{추출에 사용된 탈지 유채박의 무게 (g, dry basis)}} \times 100$$

추출 최적 조건의 도출을 위해 설계된 19개의 실험구간에 대한 종속변수의 경향 및 독립변수와 상호작용은 Modde version 5.0 software(Umetrics, Umea, Sweden)를 사용하여 검토하였다.

4. 초임계 CO_2 유체를 이용한 탈지 유채박 중 표면활성 물질의 추출

D-Optimal design을 이용하여 설계된 19개의 각 실험조건 (Table 1)을 바탕으로 실험을 진행하였다. 1회 추출에 사용된 탈지 유채박은 50 g이었으며, 보조용매(50~250 g)는 추출조에 시료와 동시에 주입한 다음 가압하여 추출압력(150~350

Table 1. Experimental combination according to codes of experimental design at various extracting pressure, temperature and co-solvent content

Treatment	P (bar)	T ($^{\circ}\text{C}$)	C (g)	Actual parameters		
	X_1	X_2	X_3	Pressure (bar)	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Co-solvent (g)
1	-1	-1	-1	150	33	50
2	1	-1	-1	350	33	50
3	-0.5	-0.5	-1	200	41	50
4	0.5	0.5	-1	300	57	50
5	-1	1	-1	150	65	50
6	1	1	-1	350	65	50
7	0.5	-1	-0.5	300	33	100
8	-0.5	1	-0.5	200	65	100
9	-1	0	0	150	49	150
10	1	0	0	350	49	150
11	-0.5	-1	0.5	200	33	200
12	0.5	1	0.5	300	65	200
13	-1	-1	1	150	33	250
14	1	-1	1	350	33	250
15	0.5	-0.5	1	300	41	250
16	-0.5	0.5	1	200	57	250
17	-1	1	1	150	65	250
18	1	1	1	350	65	250
19	1	1	1	350	65	250

bar)에 도달시킨 후 압력 및 온도(33~65 °C)를 균일하게 유지시키면서 1시간 동안 침지(soaking)하였다. 침지 후 BPR 밸브를 열어 추출조 내부의 용매를 분리조로 이동시켰으며, 가압 펌프를 이용하여 초임계 CO₂를 흘려주어 2시간 동안 추출을 진행하였다. 이때 CO₂ 유속은 6 l/min으로 조정하였다. 추출 종료 후 분리조에 분획된 추출물은 evaporator를 이용하여 에탄올을 제거하였으며, 농축된 추출물로부터 당지질 및 인지질 획분을 얻어 분석용 시료로 사용하였다.

5. 추출물 중 중성지질, 당지질, 인지질의 분획 및 정량

초임계 CO₂ 추출을 통하여 획득한 추출물 중 중성지질 및 인지질, 당지질은 SPE(solid phase microextraction)에 의하여 분획하였다(Rouser 등 1966). 농축된 시료 150~300 mg을 1 ml의 chloroform에 현탁시켜 silica gel column에 주입한 후, 20 ml의 chloroform, 15 ml의 methanol 및 10 ml의 acetone으로 용리하여 중성지질과 인지질 및 당지질을 각각 분획하였다. 획득한 획분 중 용매는 질소(N₂)를 이용하여 제거하고, 중량법에 의하여 이들의 함량을 각각 계산하였다. 또한 SPE에 의해 분획한 중성지질, 인지질 및 당지질은 thin-layer chromatography (TLC)에 의하여 확인하였다(Mangold HK 1961). 일정량의 획분을 취하여 TLC silica plate(5×10 cm, Merck, Columbia, MD, USA)에 흡착시킨 후 전개용매(chloroform : methanol : acetic acid : water, 170:25:25:6, v/v/v)로 전개하고, 10% 황산으로 도포하여 발색시킨 후 110 °C에서 5분간 활성화시켰다. 인지질 및 당지질의 확인은 표준물질인 phosphatidylcholine(PC), phosphatidylethanolamine(PE), digalactosyldiacylglyceride(DGDG)의 Rf와 비교하여 확인하였다.

6. 통계 처리

각 실험조건에 따른 추출은 2회 수행하였으며, 실험값은 평균값±표준편차(n=2)로 나타내었다. 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

1. 추출조건에 따른 수율의 변화

각 추출조건에 따른 수율은 Table 2에 나타내었다. 추출압력과 추출온도, 보조용매량을 달리한 19개 구간에서 탈지 유채박의 추출 수율은 0.50~6.86%의 범위로 추출압력 350 bar, 추출온도 65 °C, 보조용매량 250 g 조건(No. 18 실험구)에서 가장 높았으며, 추출압력 150 bar, 추출온도 33 °C, 보조용매량 50 g 조건(No. 1 실험구)에서 가장 낮은 추출수율을 나타냈

Table 2. Extraction yield of the SFE extracts for response surface analysis

No.	Extraction conditions			Variables
	Pressure (bar)	Temperature (°C)	Co-solvent (g)	Yield (%)
1	150	33	50	0.50±0.014 ^{1(m2)}
2	350	33	50	1.12±0.021 ^j
3	200	41	50	0.82±0.021 ^l
4	300	57	50	0.68±0.021 ^m
5	150	65	50	0.76±0.042 ^l
6	350	65	50	0.96±0.035 ^k
7	300	33	100	1.08±0.021 ^j
8	200	65	100	1.04±0.014 ^{jk}
9	150	49	150	2.06±0.014 ⁱ
10	350	49	150	4.40±0.064 ^c
11	200	33	200	2.22±0.028 ^h
12	300	65	200	2.92±0.064 ^e
13	150	33	250	3.28±0.021 ^e
14	350	33	250	2.02±0.035 ⁱ
15	300	41	250	5.12±0.099 ^b
16	200	57	250	3.16±0.014 ^f
17	150	65	250	3.72±0.071 ^d
18	350	65	250	6.86±0.057 ^a
19	350	65	250	6.72±0.028 ^a

¹⁾ Values are Mean±S.D., n=2

²⁾ ^{a-n} Means followed by the same letter in column are not significantly different ($p < 0.05$).

다. 각 독립변수 값의 변화에 따른 반응변수의 값을 등고선으로 표현한 후 추출수율의 변화를 분석한 결과(Fig. 2), 전반적으로 각 독립변수인 추출압력, 추출온도, 보조용매량이 증가할수록 추출수율은 비례하여 증가하는 것으로 나타났다. 최대 수율을 유도한 조건(No. 18 실험구)을 기본으로 하여 각 독립변수 값의 변화에 따른 추출수율에 대한 prediction plot을 Fig. 3에 나타내었는데, 추출압력에 따른 추출수율의 변화는 150 bar에서 3.24%, 350 bar에서 6.31%로 압력이 상승함에 따라 수율은 약 1.95배 상승할 것으로 예측되었으며, 이는 일정한 온도에서 추출압력이 증가하면 초임계 CO₂의 밀도가 증가하고, 그로 인해 용해력(solubility)이 증가하였기 때문인 것으로 사료되었다(Stahl 등 1980; Dunford & Temelli 1997; Li 등 2010). 또한, 추출온도의 변화에 따른 추출수율의 변화는 최소 추출온도인 33 °C에서 2.98%, 최대추출온도인 65 °C에서 6.31%로 온도가 상승함에 따라 추출수율 또한 증가하는 경향을 보였으며, 이러한 경향은 Li 등(2010)의 연구결

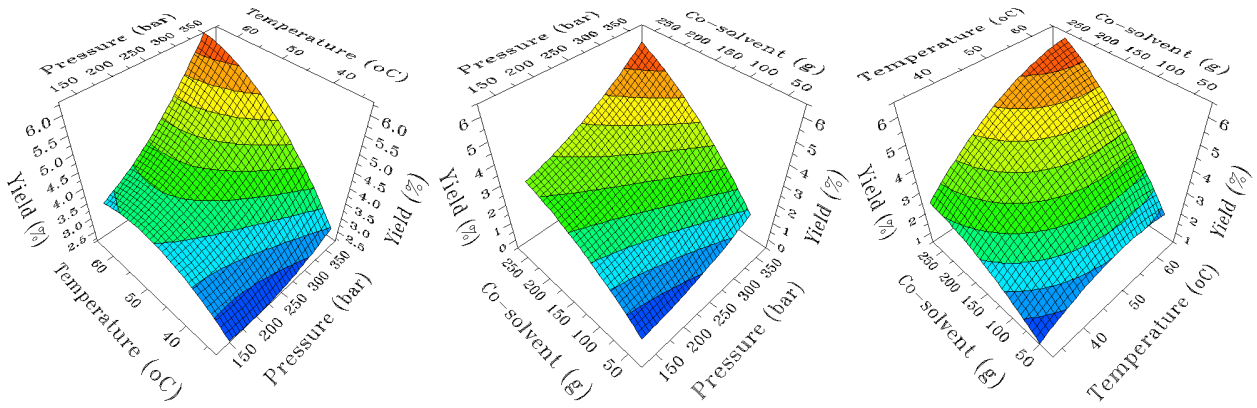


Fig. 2. Contour plots for yield of the SFE extract with respect to the extraction condition.

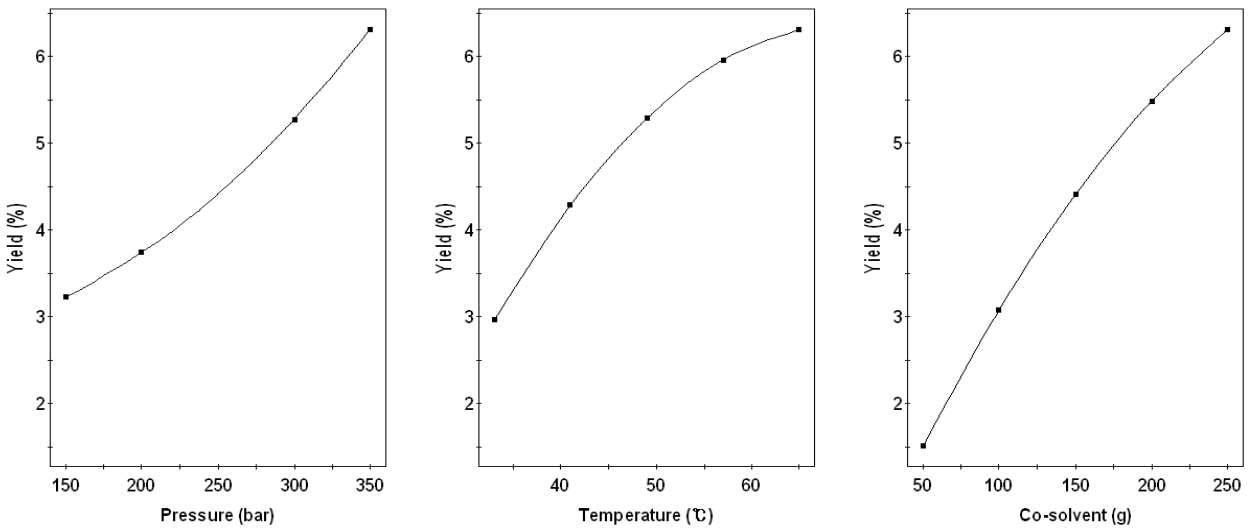


Fig. 3. Response prediction plot for the effect of pressure, temperature and co-solvent content on the extraction yield.

과와 유사한 것으로, 임계점 이상의 압력 상태에서 온도가 상승하게 되면 초임계 CO₂의 밀도는 감소되지만, 이와 더불어 시료의 증기압이 증가하여 초임계 CO₂의 밀도 감소로 인한 용해력의 감소를 상쇄시킨 것에 의해 초래된 결과로 사료되었다(Mangold HK, 1983; Fattori 등 1988). 보조용매량의 변화에 따른 추출수율은 50 g에서 1.49%, 250 g에서 6.34%로 보조용매량이 증가할수록 수율 또한 증가하였으며, 추출압력 및 온도의 변화에 따른 수율의 변화와 비교하였을 때 약 2.01~2.18배 더 높은 것으로 예측되어, 보조용매량이 추출수율에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다(Sun 등 2008; Li 등 2010).

2. 초임계 추출조건에 따른 지질성분의 변화

각 추출조건에 따른 추출 후 추출물 중 지질성분의 분획 및 정량을 위하여 SPE를 이용하여 추출물을 분획 후 TLC에 전개한 결과, 추출조건을 달리한 19개의 전 실험구에서 표면

활성물질인 인지질, 당지질이 확인되었다(Fig. 4). 중성지질 분획(Y₂)과 인지질 분획(Y₃) 및 당지질 분획(Y₄)의 함량은 증량법에 의하여 정량하였고, 이를 Table 3에 나타내었다. D-optimal design에 의하여 설계한 실험 구간을 통해 얻어진 Y₂와 Y₃ 그리고 Y₄는 각각 3.87~29.47%, 42.0~79.2%, 8.89~29.47%의 범위를 나타내었다. 전반적으로 추출압력, 온도 및 보조용매량이 증가할수록 추출물을 구성하고 있는 중성지질은 감소하는 경향을 나타내었으며, 인지질 및 당지질은 증가하는 경향을 나타내었고, 이러한 결과는 각 독립변수 값에 대한 종속변수 값의 변화를 등고선 분석을 통하여 표현한 Fig. 5에 잘 나타나 있다. 최대수율을 유도한 추출조건(350 bar, 65°C, 250 g)을 기준으로 각 독립변수 값의 변화에 따른 각 종속변수(Y₂~Y₄)에 대한 prediction plot을 살펴보았다(Fig. 6). Fig. 6에 의하면 추출물을 구성하고 있는 중성지질과 인지질, 당지질의 구성비는 150 bar에서 각각 5.04%, 72.9%, 14.9%이며, 350

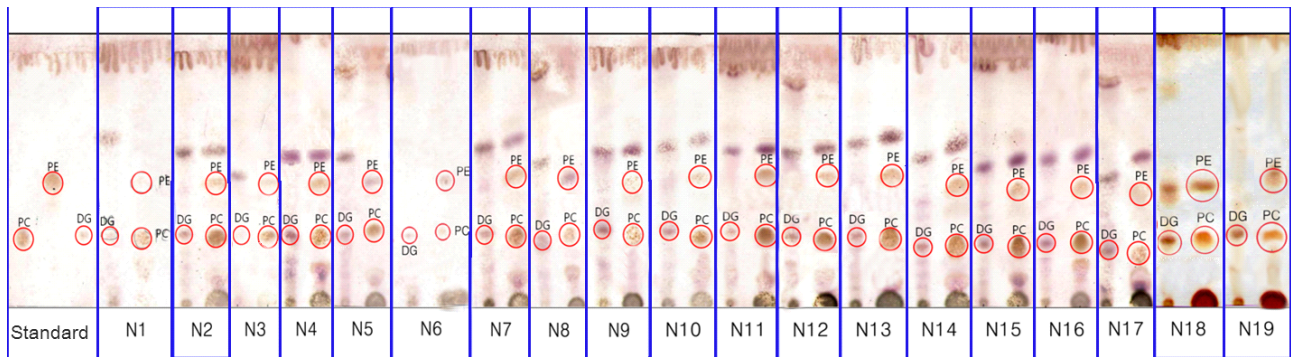


Fig. 4. Thin-layer chromatograms of phospholipids and glycolipids from extracted defatted rapeseed meal by supercritical CO₂ extraction.

Table 3. Composition of (polar) lipids of SFE extracts for response surface methodology

No.	Extraction conditions			Variables		
	Pressure (bar)	Temperature (°C)	Co-solvent (g)	Neutral lipids (% <i>, Y</i> ₂)	Phospholipids (% <i>, Y</i> ₃)	Glycolipids (% <i>, Y</i> ₄)
1	150	33	50	18.80±0.14 ^{1)k2)}	50.67±0.15 ^l	29.47±0.11 ^a
2	350	33	50	10.67±0.04 ⁱ	53.87±0.13 ^j	21.33±0.28 ^d
3	200	41	50	15.47±0.18 ^e	42.00±0.08 ^q	25.73±0.21 ^b
4	300	57	50	20.27±0.06 ^b	44.27±0.04 ^p	23.20±0.19 ^c
5	150	65	50	29.47±0.11 ^a	47.47±0.18 ⁿ	19.33±0.11 ^e
6	350	65	50	16.40±0.13 ^d	49.73±0.21 ^m	21.60±0.09 ^d
7	300	33	100	16.27±0.02 ^d	51.73±0.20 ^k	17.60±0.02 ^{hi}
8	200	65	100	11.33±0.11 ^h	57.07±0.07 ⁱ	18.40±0.05 ^g
9	150	49	150	7.47±0.16 ^k	60.40±0.09 ^g	19.20±0.19 ^e
10	350	49	150	3.87±0.03 ^q	76.40±0.02 ^b	18.67±0.14 ^f
11	200	33	200	13.78±0.07 ^g	66.67±0.42 ^e	8.89±0.10 ⁿ
12	300	65	200	7.87±0.10 ^j	67.47±0.14 ^d	17.88±0.18 ^h
13	150	33	250	5.60±0.17 ^m	72.93±0.07 ^c	18.27±0.14 ^g
14	350	33	250	14.27±0.28 ^f	46.40±0.02 ^o	15.20±0.16 ^k
15	300	41	250	4.13±0.08 ^p	62.93±0.10 ^f	10.80±0.19 ^m
16	200	57	250	6.40±0.11 ^l	59.47±0.42 ^h	10.93±0.18 ^m
17	150	65	250	6.13±0.11 ^m	79.20±0.12 ^a	13.20±0.12 ^l
18	350	65	250	4.13±0.21 ^p	66.67±0.04 ^e	16.40±0.12 ^j
19	350	65	250	4.82±0.14 ^o	68.27±0.77 ^d	17.25±0.08 ⁱ

¹⁾ Values are Mean±S.D., n=2

²⁾ ^{a-q} Means followed by the same letter in column are not significantly different (*p*<0.05).

bar에서는 각각 3.74%, 66.9%, 18.2%로 전반적으로 추출압력이 증가할수록 중성지질과 인지질은 감소하는 경향을 보였으며, 당지질은 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 유채를 구성하고 있는 중성지질의 경우, 비휘발성의 지질복합체로 구성되어 있기 때문에 추출압력이 상승하더라도 이들의 증기압이 증가하지 않았기 때문인 것으로 사료되었으며(Temelli

F 1992), 또한 초임계 압력 및 온도가 300 bar, 40°C에 도달하게 되면 초임계 CO₂의 극성이 아세톤과 유사해져서 인지질의 추출이 낮아진다는 Szuhaj BF(1989)의 연구결과와도 관련 있는 것으로 사료되었다. 추출온도에 의한 각 종속변수의 경우, 가장 낮은 추출온도인 33°C에서 중성지질은 13.1%, 인지질은 52.7%, 당지질은 13.5%이며, 가장 높은 추출온도인 65°C

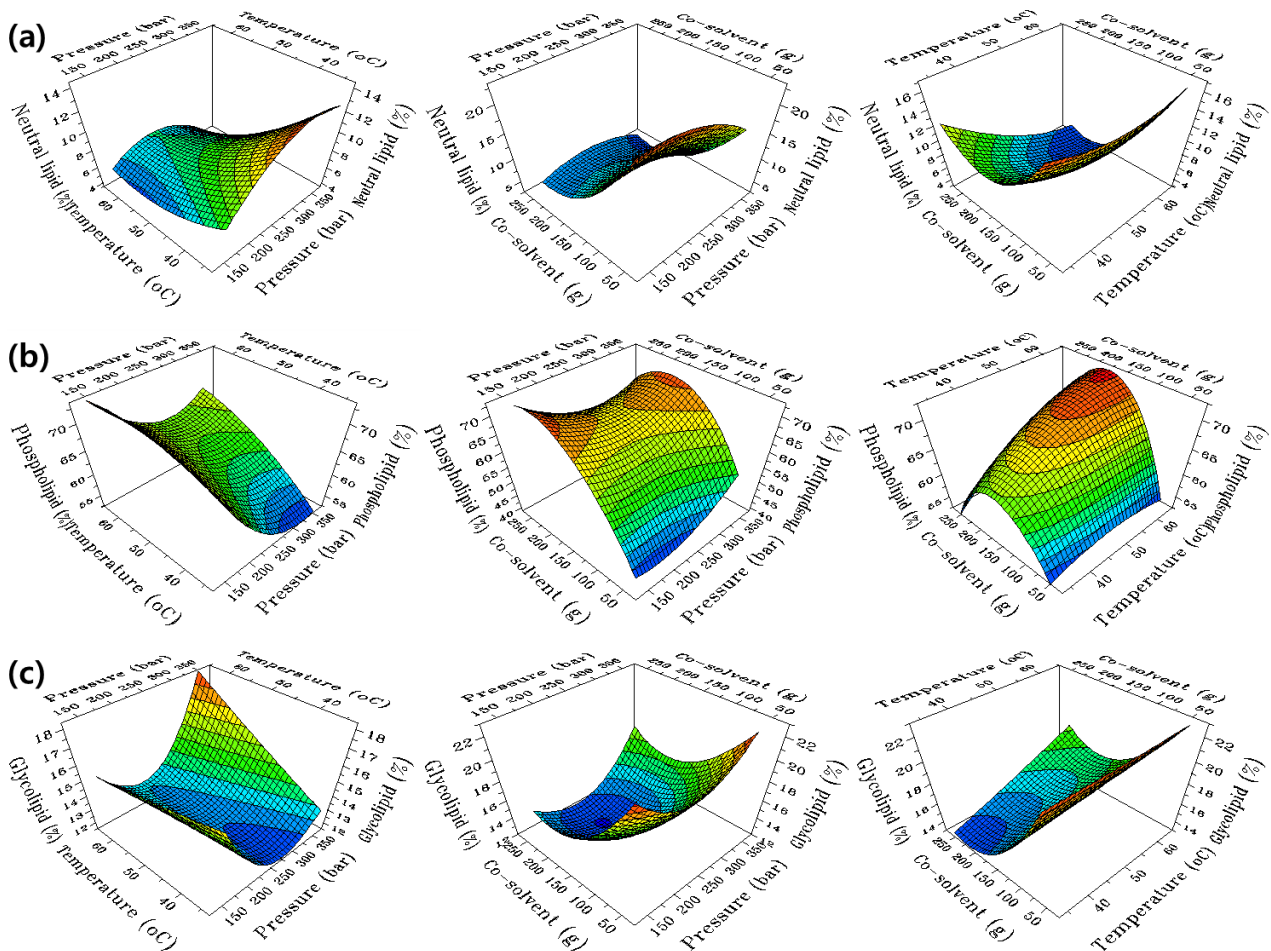


Fig. 5 Contour plots for the lipid composition containing neutral lipids (a), phospholipids (b) and glycolipids (c) data of the SFE extracts with respect to the extraction condition.

에서는 중성지질은 3.71%, 인지질은 66.9%, 당지질은 18.2%로 추출온도가 높아질수록 추출물 중 중성지질은 감소하고, 인지질과 당지질은 증가하는 것으로 예측되었다. 보조용매량에 의한 각 종속변수의 경우, 보조용매량 50 g에서 중성지질 15.8%, 인지질 52.7%, 당지질 22.5%이며, 보조용매량 250 g에서 중성지질 3.74%, 인지질 66.8%, 당지질 18.2%로 보조용매량이 증가할수록 추출물에 함유되어 있는 중성지질 및 당지질은 감소하는데 비하여 인지질은 증가하는 것으로 나타났다. 이는 추출온도 및 보조용매량이 증가할수록 인지질의 함량이 증가한다는 Dunford & Temelli(1997)가 보고한 연구결과와 유사하였으며, 인지질 및 당지질을 추출하는데 있어서 '비극성 CO₂ + 극성 ethanol' 혼합 용매 system 사용이 유채박 중의 표면활성물질의 효율적 추출에 보다 적합함을 시사하고 있다.

3. 초임계 추출공정의 최적화

초임계 CO₂ 추출공정을 통해 탈지 유채박으로부터 표면활성물질을 추출하기 위하여 추출압력(X_1) 및 온도(X_2), 보조용매량(X_3)을 독립변수로 하여 D-optimal design에 의한 반응표면분석을 이용하여 최적화된 조건을 살펴보았다. 각각의 독립변수에 따른 종속변수에 대하여 회귀분석을 실시하였으며 (Table 4), 모형의 적합도 검정을 위하여 lack of fit의 p -value와 R^2 (coefficient of determination)의 값을 비교하였다. Lack of fit의 p -value가 0.05 이상일 때 실험 모델식이 적합한 것으로 판단하며, 실험모델식이 실제 실험값과 차이가 나지 않을수록 R^2 는 1에 가까운 수치를 나타낸다. 추출수율(Y_1)에 lack of fit의 p -value는 0.066으로 모형이 적합하다고 판단되었으며, 추출수율에 대한 회귀식의 R^2 가 0.849로, 실험모델식과 실제 실험값과의 차이는 다소 있는 것으로 나타났다. 한편, 중성지질 분획(Y_2)과 인지질 분획(Y_3) 그리고 당지질 분획(Y_4)의 lack of fit의 p -value는 각각 0.075, 0.112, 0.128로 종속변수 모두 $p > 0.05$ 로 모형이 적합한 것으로 판단되었으며, 각 종속변

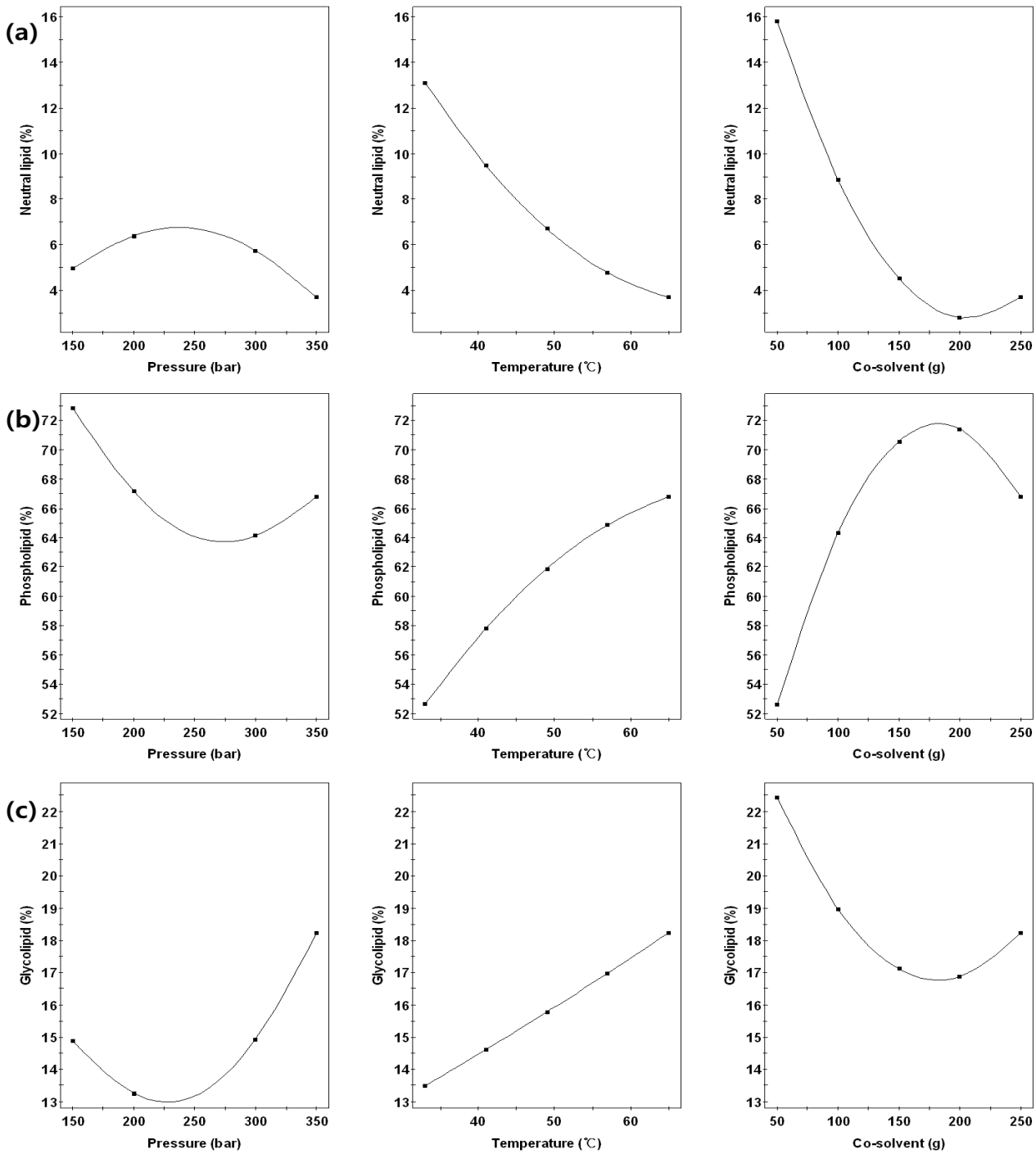


Fig. 6 Response prediction plot for the effect of pressure, temperature and co-solvent content on the lipid composition; neutral lipids (a), phospholipids (b) and glycolipids (c).

수($Y_2 \sim Y_4$)에 대한 회귀식의 R^2 가 각각 0.768, 0.781, 0.775로 R^2 가 다소 낮게 나타났다. 회귀식의 R^2 가 다소 낮은 것은 추출실험이 2회에 걸쳐 시행되어 낮은 반복수에 의해 유도된 결과로 판단되었다.

추출공정의 최적조건을 찾기 위한 회귀분석 결과, 추출압력 350 bar, 추출온도 65°C, 보조용매량 228.55 g의 추출조건에서 추출수율은 5.98%이었으며, 추출물을 구성하고 있는 중성지질, 인지질, 당지질은 각각 3.0%, 69.43%, 17.46%가 될

Table 4. Second order polynomial equation calculated by response surface methodology program on yield, neutral lipid, phospholipid and glycolipid

Responses	Polynomial equation	R ²	Lack of fit
Yield (%, Y ₁)	$Y_1=3.13391+0.615861X_1+0.425704X_2+1.30424X_3+0.244423X_1^2-0.501273X_2^2-0.383275X_3^2+0.436332X_1X_2+0.236403X_1X_3+0.461556X_2X_3$	0.849	0.066
Neutral lipid (%, Y ₂)	$Y_2=8.06166-0.695489X_1-0.974119X_2-4.42969X_3-1.6666X_1^2+1.30806X_2^2+4.02251X_3^2-1.18957X_1X_2+1.1391X_1X_3-1.56144X_2X_3$	0.768	0.075
Phospholipid (%, Y ₃)	$Y_3=64.8629-0.31563X_1+1.01841X_2+6.26567X_3+3.99177X_1^2-1.68163X_2^2+8.4215X_3^2+1.89525X_1X_2-3.5192X_1X_3+2.69062X_2X_3$	0.781	0.112
Glycolipid (%, Y ₄)	$Y_4=13.2308-0.341835X_1-0.322918X_2-3.30899X_3+2.35742X_1^2+0.0668294X_2^2+2.48585X_3^2+1.24896X_1X_2+0.662007X_1X_3+0.947739X_2X_3$	0.775	0.128

것으로 추정되었다. 향후 초임계 CO₂ 유체를 통해 얻어진 추출물 및 표면활성물질은 HPLC 분석을 통한 성분조사가 필요할 것으로 판단되며, 추출물 및 표면활성물질을 이용한 유화액 제조 및 이들의 특성에 관한 연구가 필요한 것으로 사료되었다.

요 약

본 실험에서는 탈지 유채박 중 표면활성물질의 추출을 위해 초임계 CO₂ 유체 추출법을 이용하였다. 추출 독립변수는 추출압력(150~350 bar), 온도(33~65°C), 보조용매량(ethanol, 150~250 g)으로 하였으며, D-optimal design에 의한 반응표면 분석을 통해 추출수율, 중성지질 분획, 인지질 분획, 당지질 분획 함량 등의 종속변수에 대한 최적 추출조건을 검토하였다. 그 결과, 압력, 온도, 그리고 보조용매량이 증가함에 따라 종속변수 즉, 추출수율, 인지질, 당지질 함량 등은 증가하였으나, 중성지질 함량은 감소하는 것으로 나타났으며, 그중 보조용매량이 각 종속변수에 가장 큰 영향을 주는 것으로 나타났다. 본 연구를 통해서 유도된 회귀식 모형은 실험을 통해 얻은 결과와 잘 일치하였으며, 초임계 CO₂ 유체 추출에 있어서 종속변수인 추출수율, 인지질, 당지질 함량 등을 최대로 하면서 중성지질 함량을 최소로 하는 최적화된 추출조건은 추출압력 350 bar, 추출온도 65°C, 보조용매량 228.55 g으로 분석되었으며, 이 조건에서 추출수율은 5.98%, 추출물은 중성지질 3.0%, 인지질 69.43%, 당지질 17.46% 등의 조성을 나타낼 것으로 예측되었다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 PJ009164)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

- Boutin O, Badens E. 2009. Extraction from oleaginous seeds using supercritical CO₂: Experimental design and products quality. *J Food Eng* 92:396-402
- Bulley NR, Fattori M, Meisen A. 1984. Supercritical fluid extraction of vegetable oil seeds. *J Am Oil Chem Soc* 61:1362-1365
- Chauhan JS, Tyagi MK, Kumar PR, Tyagi P, Singh M, Kumar S. 2002. Breeding for oil and seed meal quality in rapeseed-mustard in india-A review. *Agric Rev* 23:71-92
- Dunford NT, Temelli F. 1997. Extraction conditions and moisture content of canola flakes as related to lipid composition of supercritical CO₂ extracts. *J Food Sci* 62:155-159
- Fattori M, Bulley NR, Meisen A. 1987. Fatty acid and phosphorous contents of canola seed extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *J Agr Food Chem* 35:739-743
- Fattori M, Bulley NR, Meisen A. 1988. Carbon dioxide extraction of canola seed: oil solubility and effect of seed treatment. *J Am Oil Chem Soc* 65:968-974
- Jenab E, Rezaei K, Emam-Djomeh Z. 2006. Canola oil extracted by supercritical carbon dioxide and a commercial organic solvent. *Eur J Lipid Sci Tech* 108:488-492
- Kim IS, Kwon TB, Oh SK. 1988. Study on the chemical change of general composition, fatty acids and minerals of rapeseed during germination. *Korean J Food Sci Technol* 20:188-193
- Korean Statistical Information Service. 2013. Available from <http://kosis.kr/wnsearch/totalsearch.jsp> [cited 2013. July 31]
- Kramer JKG, Sauer FD, Pigden WJ. 1983. High and Low Erucic Acid Rapeseed Oils. pp.198-228. Academic Press Inc.
- Lee HJ, Bae JS, Lee ES, Kang HC, Lee KT, Hong ST. 2012. Emulsifying properties of surface-active from defatted rice

- bran by supercritical carbon dioxide. *Food Eng Prog* 16: 172-179
- Lee JS, Kim HS, Kim CH, Jung YH, Kang YJ. 1991. Physicochemical and functional properties of rapeseed protein upon purification conditions. *J Korea Soc Food Nutr* 20: 551-558
- Lee MJ, Jeon YS, Jeong NH, Jeong BS. 2010. Selective extraction of phospholipids from soybean with mixture of supercritical carbon dioxide and ethanol. *J Am Oil Chem Soc* 27:233-239
- Li H, Wu J, Rempel CB, Thiyam U. 2010. Effect of operating parameters on oil and phenolic extraction using supercritical CO₂. *J Am Oil Chem Soc* 87:1081-1089
- Mangold HK. 1961. Thin-layer chromatography of lipids. *J Am Oil Chem Soc* 38:708-727
- Mangold HK. 1983. Liquefied gases and supercritical fluids in oilseed extraction. *J Am Oil Chem Soc* 60:226-228
- Monatanari L, King JW, List GR, Rennick KA. 1996. Selective extraction of phospholipid mixtures by supercritical carbon dioxide and co-solvents. *J Food Sci* 61:1230-1233
- Montanari L, Fantozzi P, Snyder JM, King JW. 1999. Selective extraction of phospholipids from soybeans with supercritical carbon dioxide and ethanol. *J Supercrit Fluid* 14:87-93
- Nacz M, Amarowicz R, Sullivan A, Shahidi F. 1998. Current research developments on polyphenolics of rapeseed/canola: a review. *Food Chem* 62:489-502
- Nacz M, Diosady L, Rubin L. 1986. The phytate and complex phenol content of meals produced by alkanol-ammonia-hexane extraction of canola. *Lebensm-Wiss Technol* 19:13-16
- Nalawade SP, Picchioni F, Janssen LPBM. 2006. Supercritical carbon dioxide as a green solvent for processing polymer melts: Processing aspects and applications. *Prog Polym Sci* 31:19-43
- Rouser G, Kritchevsky G, Simon G, Nelson GJ. 1966. Quantitative analysis of brain and spinach leaf lipids employing silicic acid column chromatography and acetone for elution of glycolipids. *Lipids* 2:37-40
- Schöne F, Kirchheim U, Schumann W, Lüdke H. 1996. Apparent digestibility of high-fat rapeseed press cake in growing pigs and effects on feed intake, growth and weight of thyroid and liver. *Anim Feed Sci Tech* 62:97-110
- Shahidi F. 1989. Phenolic acids and tannins in rapeseed and canola. pp.193-210. American Oil Chemists' Society
- Stahl E, Schutz E, Mangold K. 1980. Extraction of seed oils with liquid and supercritical carbon dioxide. *J Agr Food Chem* 28:1153-1157
- Sun M, Xu L, Saldana MDA, Temelli F. 2008. Comparison of canola meals obtained with conventional methods and supercritical CO₂ with and without ethanol. *J Am Oil Chem Soc* 85:667-675
- Szuhaj BF. 1989. Lecithins: Sources, manufacture & uses. pp.109-130. American Oil Chemists' Society
- Temelli F. 1992. Extraction of triglycerides and phospholipids from canola with supercritical carbon dioxide and ethanol. *J Food Sci* 57:440-442

접 수 : 2013년 10월 28일
 최종수정 : 2013년 11월 29일
 채 택 : 2013년 12월 3일