

Glucitol Fatty Acid Polyesters의 조성 및 구조확인

정하열 · 윤희남 · 공운영 · 김정한*

제일제당(주) 건강식품연구소, *연세대학교 식품공학과

Composition and Structure Confirmation of Glucitol Fatty Acid Polyesters

Ha-Yull Chung, Hee-Nam Yoon, Un-Young Kong and Jung-Han Kim*

Foods R&D Center, Cheil Foods and Chemicals Inc.

**Department of Food Engineering, Yon Sei University*

Abstract

Composition and structure of synthetic glucitol fatty acid polyesters (GPE)-a potential fat substitute-were investigated. Also degree of substitution (D.S) of GPE was determined according to the relative ester distribution within it to evaluate the feasibility of GPE using as a fat substitute. The GPE was separated into single ester group by a normal-phase HPLC and D.S of it was identified to be 6. Absorption band at 1747 cm^{-1} in the IR spectrum of GPE indicated that there were ester bonds within GPE molecules, which link fatty acid moiety to glucitol. Disappearance of the hydroxyl proton signals of glucitol in the H-NMR spectrum of GPE implied that most of hydroxyl groups in glucitol participated in the formation of ester bonds with fatty acids. In addition the D.S estimated from the quantitative proton integration of GPE coincided well with the D.S of GPE determined by hydroxyl value measurement. In conclusion, the GPE synthesized in this study was found to be a glucitol fatty acid hexaester so that it is expected to be used as a fat substitute in the near future.

Key words: glucitol fatty acid polyesters, fat substitute, normal phase HPLC, hydroxyl value, infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance spectroscopy

서 론

식용유지는 식품의 조리에 사용되어 음식의 맛과 식감을 좋게 할 뿐 아니라 효과적인 열량원 및 필수지방산의 공급원으로서 현대 식생활에 있어서 중요한 위치를 차지하고 있으나 최근에 들어 식습관의 서구화에 따라 비만이 증가하고 각종 성인병의 발생률이 높아짐에 따라⁽¹⁾ 식품 중에서도 조리과정에서 유지의 역할을 수행하면서도 체내에서 흡수가 되지 않는 특성을 지닌 유지 대체물질의 개발이 중요시 되고 있는 실정이다. 이 중에서도 polyol polyesters는 기존의 식용유지와 화학구조적으로 유사하기 때문에 이전부터 활발히 검토가 되어 왔는데 Mattson 등⁽²⁾은 sucrose나 sorbitol과 같이 6개 이상의 수산기를 지닌 polyol에 지방산이 모두 에스테르화 되어 있는 sucrose octaoleate나 sorbitol hexaoleate는 rat의 pancreatic lipase에 의해 가수분해 되지 않음을 발표하여 이들이 체내에서 흡수되지 않는 유지

대체물질로서 사용될 수 있는 가능성을 제시하였다. 이에 따라 Procter & Gamble사의 olestra와 같은 sucrose polyesters(SPE)는 많은 연구가 진행되어와서 상화합의 단계에 이르고 있으나⁽³⁾, sorbitol fatty acid polyesters의 경우에는 Akoh 등⁽⁴⁾이 sorbitol hexaacetate를 사용하여 합성한 후 C-13 NMR을 이용하여 구조를 확인한 것 이외에 별 다른 보고가 없는 실정이며 이와 같은 polyol polyesters들은 치환도에 따라 효과적으로 분리 및 분석할 수 있는 방법이 소개되지 않아서 그에 따른 구조 확인에 관한 연구는 거의 보고되고 있지 않은 상태이다. 특히 sorbitol(이하 glucitol)을 사용하여 합성한 sorbitol fatty acid polyesters(이하 glucitol fatty acid polyesters, GPE)의 정밀분석에 의한 구조 및 조성 확인은 보고되어 있지 않아서 본 연구에서는 GPE를 유지 대체물질로 사용하기 위해서는 목적하는 바에 따라 정확히 합성되었는지의 여부를 파악하는 것이 중요하다고 할 수 있기 때문에 glucitol과 지방산 메틸에스테르를 트랜스에스테르화하여 Fig. 1과 같은 구조의 GPE를 합성한 후, 기기적 분석 및 화학적 분석에 의하여 합성된 GPE의 구조를 확인함과 동시에 조성 및 치환도를 파악하여 향후 유지 대체물질로서의 사용 가능성을 타진하고자 하였다.

Corresponding author: Ha-Yull Chung, Foods R&D Center, Cheil Food and Chemicals Inc., 636 Guro-Dong, Guro-Ku, Seoul, Korea

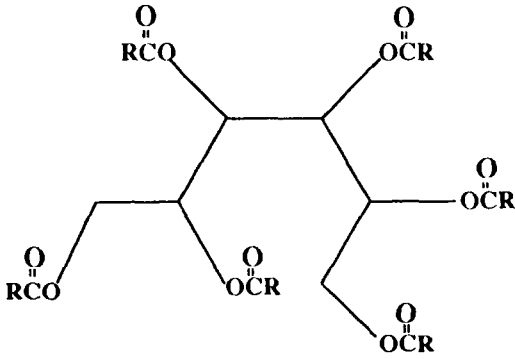


Fig. 1. Structure of glucitol fatty acid polyesters (R=long chain of fatty acids)

재료 및 방법

재료

본 연구에서는 glucitol fatty acid polyesters(GPE)를 합성하기 위하여, 삼립유지(주)의 정제 팜유를 정 등⁽⁵⁾의 방법에 따라 base-catalyzed transesterification 시켜서 팜유 지방산 메틸 에스테르(fatty acids methyl esters, FAME)를 제조하여 사용하였으며, 팜유 지방산 소듐염(fatty acids sodium salts, FASS)은 팜유 FAME을 정 등⁽⁶⁾의 방법에 따라 잔류 유리알칼리가 없도록 비누화 반응시켜 제조후 사용하였다. 그 외에 glucitol 및 potassium carbonate 등은 모두 시약급(Sigma Chemical Co.)을 사용하였다.

GPE의 합성

항온 유조에 장치된 4구 플라스크에 glucitol(2.73g, 0.015 mole), 팜유 지방산 소듐염(3.32g, 0.0113 mole)과 potassium carbonate(0.1g)을 20 ml의 methanol과 함께 혼합 후 교반하여 반응물들이 잘 섞이도록 하였다. 진공 펌프로 반응기내의 진공도를 10~50 mmHg로 조절하면서 반응기의 온도를 70℃ 까지 올려서 methanol을 제거 시키고 바로 팜유 FAME(42.78g, 0.15 mole)을 반응기에 넣어준 후 0~5 mmHg의 진공조건 및 155℃ 에서 약 6 시간 반응시켜 GPE를 합성하였다. 반응중 2시간 간격으로 0.1g의 potassium carbonate를 2회 첨가하였으며 합성된 GPE를 반응생성물로부터 분리하기 위하여 1회 세척시 반응생성물 량의 5배(w/w)의 95% methanol을 사용하여 22℃ 에서 10분간, 7회 세척(GPE중 잔류하는 총 지방산의 함량이 0.1% 이하가 되도록 함)하여 잔류하는 미반응물질을 분리하고 활성탄으로 탈색한 후 건조한 질소가스를 분리물(GPE) 중에 불어 주면서 95℃ 진공조건하에서 탈취하였다.

HPLC에 의한 GPE의 분석

합성 후 정제한 GPE의 조성은 HPLC를 이용하여 분

Table 1. Gradient profile of mobile phases in HPLC analysis

Time (min.)	Hexane	Methyl t-butyl ether	Isopropanol
0	99.9	0	0.1
0.1	99.9	0	0.1
0.2	95.9	4	0.1
0.3	95.9	4	0.1
3	83.9	16	0.1
3.1	83.9	16	0.1
5.1	74.9	25	0.1
5.2	74.9	25	0.1
7	49.9	50	0.1
7.1	49.9	50	0.1
9	0	99.9	0.1
9.1	0	99.9	0.1
11	0	90	10
11.1	0	90	10
13	50	49.9	0.1
13.1	50	49.9	0.1
15	99.9	0	0.1
20	99.9	0	0.1

석하였다. HPLC 시스템은 ACS 350/04 HPLC gradient system(Applied Chromatography System Ltd. U.K)에 검출기로서 evaporative light scattering detector(Applied Chromatography System Ltd. U.K)를 연결하여 사용하였으며 컬럼은 Zorbax Reliance 3 silica cartridge 컬럼(40 mm×6 mm i.d)을 2개 연결하고 이동상 용매로서 hexane, methyl t-butyl ether, isopropanol을 Table 1의 gradient 조건으로 프로그래밍한 후 3 ml/min.의 유속으로 흘려주었다. Evaporative light scattering detector는 evaporator 온도를 55℃, attenuation 8, photomultiplier 2, time constant 5, air inlet pressure 2 psi의 조건에서 사용하였다.

수산기가 측정에 의한 GPE의 치환도 산출

GPE의 치환도(degree of substitution, D.S)는 AOCs⁽⁷⁾ 방법에 따라 정제된 GPE의 수산기(H.V)를 측정후 Fig. 2의 D.S와 H.V의 상관 그래프로부터 산출하였다. 그래프로부터 산출된 D.S 수치는 glucitol 한 분자에 에스테르 결합하고 있는 지방산의 수를 의미하였다.

Fig. 2의 상관관계는 GPE의 치환도가 변함에 따라 KOH로 적정시 얻어지는 이론적인 수산기량을 다음 식에 의해 산출하여 구하였다.

$$\begin{aligned} & \text{Theoretical hydroxyl value of GPE} \\ &= \frac{\text{No. of unesterified hydroxyl group}}{\text{molecular weight of GPE}} \\ & \quad \times 56.1(\text{g/mol of KOH}) \times 1000 \end{aligned}$$

TLC 및 발색시험에 의한 정성적 확인

정제한 GPE를, Akoh 등⁽⁸⁾이 sucrose octaacetate를

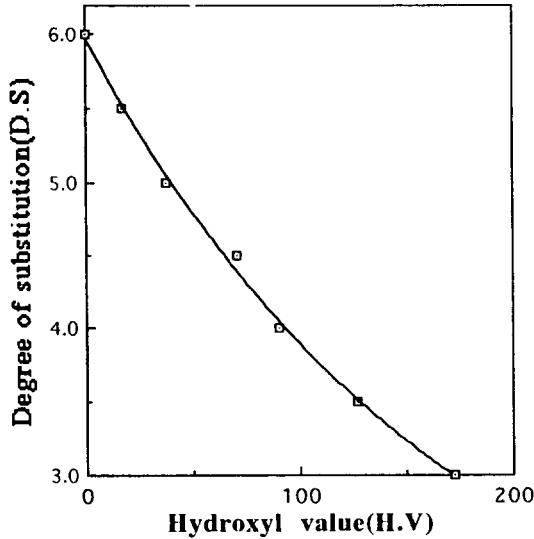


Fig. 2. Degree of substitution of glucitol fatty acid polyesters corresponding to theoretical hydroxyl values

사용하여 합성한 SPE 및 Ryoto sugar ester 0~170(Mitsubishi-Kasei Food Co., Japan)과 구조가 확인된 sucrose octaester와 함께 silica gel 60 F254가 0.25 mm로 도포된 TLC판(5×10 cm)에 spotting한 후 pet. ether-ethyl ether-acetic acid(75 : 25 : 1)의 전개용매를 사용하여 전개하고 요오드 증기에 의해 전개된 spot을 정성적으로 확인하였다.

Infrared(IR) spectroscopy에 의한 구조 확인

GPE의 구조를 확인하기 위하여 5 mg의 시료를 NaCl 판 사이에 위치시킨 후 Bruker IFS 66 fourier-transform (FT) IR spectrometer(Bruker Inc., U.S.A)를 사용하여 분석하였으며, glucitol은 KBr 펠렛으로 만들어 동일조건에서 분석하였다.

Nuclear magnetic resonance(NMR) spectroscopy에 의한 구조확인

GPE를 H-NMR spectrometer에 의해 분석하기 위하여 0.001g의 GPE를 0.0025g의 3-(trimethyl silyl)protane sulfonic acid sodium salt와 함께 1 ml의 deuterated chloroform(CDCl₃)에 용해시킨 후 Bruker AMX 500 NMR spectrometer(Bruker Inc., U.S.A)를 사용하여 분석하였다. 또한 glucitol의 경우에는 glucitol 0.001g과 0.0025g의 3-(trimethyl silyl) protane sulfonic acid sodium salt를 1 ml의 deuterated dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해시킨 후 GPE와 동일조건에서 분석하였다.

결과 및 고찰

HPLC에 의한 분석

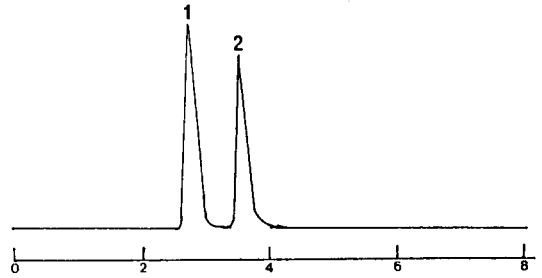


Fig. 3. A typical HPLC chromatogram of glucitol fatty acid polyesters on Reliance 3 silica cartridge column
1. glucitol fatty acid polyesters, 2. sucrose fatty acid polyesters

Glucitol에 지방산을 에스테르 결합하여 합성한 glucitol fatty acid polyesters(GPE)를 에스테르화 정도에 따라 분리하기 위하여, 10 mg/ml의 농도로 헥산에 용해시킨 후 HPLC-evaporative light scattering detector 시스템을 이용하여 silica 컬럼에 의해 분리 분석한 크로마토그램은 Fig. 3(peak 1)과 같았다. 본 연구에서는 GPE를 분리하기 위하여 silica 컬럼을 사용하였으므로 시료 중에서 비극성인 부분이 먼저 컬럼을 통과하게 되고 가장 극성이 강한 부분이 나중에 통과하게 된다. 따라서 GPE의 경우에는 가장 치환도가 높은 glucitol fatty acid hexaester가 우선적으로 컬럼을 통과하여 검출되고 점차 치환도가 낮은 -pentaester, -tetraester 등이 차례로 검출되게 된다. 이러한 사실은 30% sucrose octaester를 함유한 SPE를 동일 조건에서 분석한 P&G사⁽⁹⁾의 연구결과에서도 확인된 것으로 이들은 SPE가 치환도에 따라 -octaester, -heptaester, -hexaester, -pentaester의 순서로 검출되었음을 보고하였는데 본 연구에서는 컬럼의 분리능을 높이기 위하여 컬럼을 두개 연결한 후 사용하여 구조가 확인된 sucrose octaester를 분리하였을 때 한개만을 사용한 P&G사⁽⁹⁾의 경우(2.3 min.)보다 조금 늦게(3.7 min.) 검출되었다.

Fig. 3의 peak 2는 Akoh 등이 sucrose octaacetates와 methyl oleate를 사용하여 합성한 SPE를 GPE의 경우와 동일한 조건에서 분석한 크로마토그램으로 치환도가 7.9 이상인 SPE가 단일 peak로 검출되는 것을 확인할 수 있었다. Fig. 3에 나타나는 GPE의 경우(peak 1)에는 SPE보다 분자량이 적어서 silica 컬럼을 빨리 통과한 것으로 보이며 Akoh 등⁽⁸⁾이 합성한 SPE의 경우(peak 2)와 마찬가지로 단일 peak로 검출됨을 볼 때 GPE도 치환도가 일정한 에스테르로 구성되었음을 알 수 있었고 또한 silica 컬럼을 제일 우선적으로 통과한 것으로 보아 가장 소수성이 강한 -hexaester로 추정되었다. 이상의 HPLC 분석에서 단일 peak로 검출된 GPE의 치환도를 알기 위하여 AOCs⁽⁷⁾ 방법에 따라 GPE의 수산기가를 측정한 후 Fig. 2의 상관그래프를 이용하여 에스테르화 정도를 산출한 결과 본 연구에서 합성한 GPE의 H.V.는

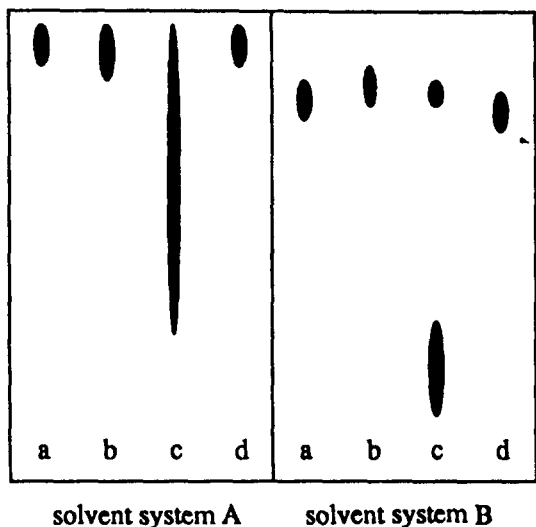


Fig. 4. A TLC chromatogram of glucitol fatty acid polyesters developed with solvent system A-petroleum ether:ethyl ether:acetic acid 75:25:1 (v/v/v) and solvent system B-chloroform:methanol:acetic acid 50:40:10 (v/v/v)

a: sucrose octaoleates, b: sucrose polyesters, c: Ryoto sugar ester O-170, d: glucitol fatty acid polyesters

10 이하로서 치환도가 6임을 간접적으로 측정할 수 있었다. Mattson 등⁽²⁾의 보고에서와 같이 glucitol 1분자에 에스테르결합을 하고 있는 지방산의 수가 6개인(치환도 : 6) GPE는 SPE(치환도 : 8)와 마찬가지로 체내 효소에 의해 가수분해되지, 않으므로 본 연구에서 합성한 GPE도 무칼로리 유지 대체물질로서 사용될 수 있는 가능성이 있는 것으로 예측되었다.

TLC에 의한 정성적 확인

GPE를 다른 sucrose esters와 함께 TLC에 의해 분석한 크로마토그램은 Fig. 4와 같은 여기에서 보면 GPE는 치환도가 서로 다른 에스테르가 혼합되어 있는 Ryoto sugar ester O~170과는 달리 단일 spot으로 나타나서 SPE나 sucrose octaester처럼 치환도가 동일한 에스테르로 구성되어 있음을 재확인할 수 있었다.

IR spectroscopy

Normal phase-HPLC 시스템에 의하여 단일 peak로 분리된 GPE를 FT-IR로 분석하여 Fig. 5의 스펙트럼을 얻었다. Fig. 5에서 보면 지방산 사슬에 존재하는 메틸 그룹(CH₃) 및 메틸렌 그룹(-CH₂-)의 asymmetrical stretching vibration이나 symmetrical stretching vibration이 각각 3005~2854 cm⁻¹ 구간에서 확인되었으며, 또한 1464~1377 cm⁻¹ 구간에서는 두 기능 그룹의 bending vibration이 확인되었다.

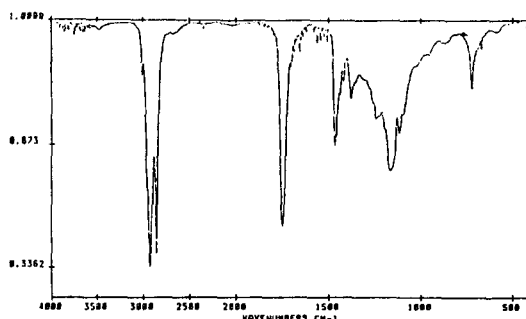


Fig. 5. Infrared spectrum of glucitol fatty acids polyesters

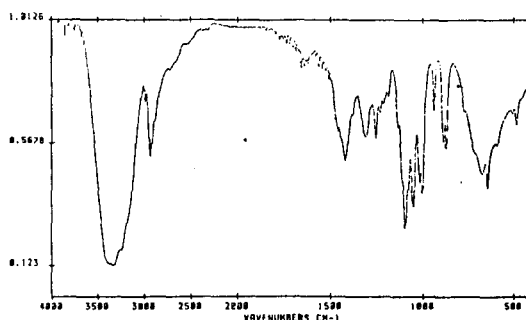


Fig. 6. Infrared spectrum of glucitol

이러한 사실에서 GPE 분자내에는 지방산 사슬이 존재하는 것으로 판단되며 1745 cm⁻¹의 에스테르 카보닐 흡수대에 의해서 지방산 사슬이 glucitol 분자에 에스테르 결합에 의해 연결되어 있음을 알 수 있었다. 특히 GPE나 SPE의 경우에 있어서 ester 결합에 따른 특징적인 흡수대의 존재는 이들 polyol polyesters의 정성적 확인을 위한 훌륭한 지표로 사용될 수 있었다. 에스테르 결합의 존재를 뒷받침 해주는 다른 흡수대를 살펴보면 3490 cm⁻¹ 부근에서의 ester carbonyl에 의한 overtone stretching vibration 흡수대와 1169 cm⁻¹ 부근에서의 stretching vibration 흡수대의 존재를 통해 재차 확인할 수 있었다.

Fig. 6의 glucitol IR 스펙트럼을 보면 GPE의 스펙트럼과는 전혀 다른 양상을 나타내고 있음을 알 수 있는데 특히 에스테르 카보닐 흡수대가 존재하지 않아 GPE와는 쉽게 구별이 가능하였다. 또한 Fig. 6의 스펙트럼에서 3335 cm⁻¹에 나타나는 수산기(-OH)의 흡수대가 Fig. 5에는 존재하지 않음을 통해 GPE의 분자내에는 수산기가 존재하지 않음을 알 수 있었다. Akoh 등⁽⁴⁾은 sorbitol hexaacetate와 methyl oleate를 사용하여 sorbitol hexaoleate를 합성하였는데 그들은 3460 cm⁻¹ 구간에서 overtone stretching vibration이 나타났으며, 3000~2840 cm⁻¹ 구간에서 지방산 사슬에 존재하는 메틸(CH₃) 그룹 및 메틸렌(-CH₂-) 그룹의 C-H stretching vibration이 나타

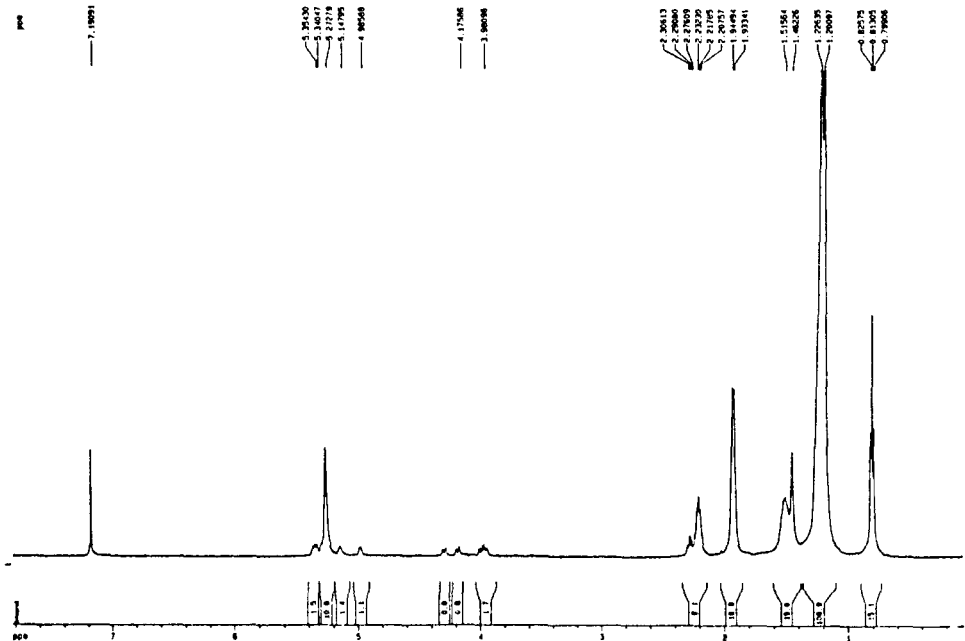


Fig. 7. H-NMR spectrum of glucitol fatty acids polyesters

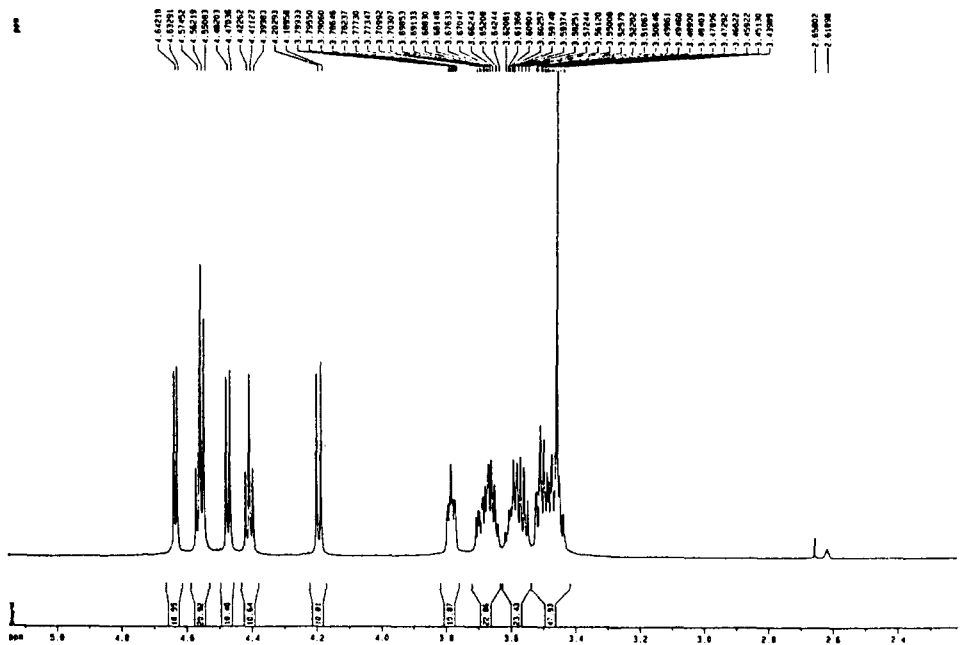


Fig. 8. H-NMR spectrum of glucitol

났다고 하였다. 특히 1740 cm^{-1} 에서는 에스테르 카보닐의 흡수대가 확인되어 본 연구에서와 유사한 IR 스펙트럼을 얻었음을 알 수 있었다.

H-NMR Spectroscopy

FT-IR 분석에서와 마찬가지로 HPLC 시스템에 의해서 단일 peak로 확인된 GPE를 H-NMR에 의하여 분석하여

Fig. 7의 H-NMR spectrum을 얻었다.

Fig. 7에서 보면 glucitol 분자에 연결되어 있는 지방산의 말단 메틸(CH₃) 그룹의 프로톤 시그널이 0.79906~0.82575 ppm에 나타나고 지방산의 사슬을 구성하고 있는 메틸렌(-CH₂) 그룹의 프로톤 시그널이 1.20097~1.22635 ppm에 나타났으며, 지방산 사슬의 이중결합을 형성하고 있는 탄소원자와 결합하고 있는 메틸렌(-CH₂) 그룹의 프로톤 시그널은 1.93341~1.94494 ppm에 나타났다. 2.20757~2.30613 ppm에서는 지방산사슬의 베타위치의 메틸렌(-CH₂) 그룹의 프로톤 시그널이 확인되었으며, 이중결합을 이루고 있는 메틸(-CH=) 그룹의 프로톤 시그널은 5.27279 ppm에서 확인되었다. Glucitol의 6개의 탄소에 결합되어 있는 프로톤의 시그널은 1번 및 6번 탄소의 프로톤이 3.98096 ppm에서 확인되었고 그 외에 2, 3, 4, 5번 탄소에 결합된 프로톤의 시그널은 4.17586 ppm에서 나타났다.

이상의 결과에서 보면 glucitol 분자에 지방산이 결합하고 있는 것을 확인할 수 있었으며, integration을 하기 위하여 GPE의 합성에 팜유 FAME 대신 methyl oleate를 사용하여 합성한 glucitol polyoleate의 integration 결과도 glucitol에 지방산(oleic acid)이 결합되어 있음을 나타내 주었다. 또한 Fig. 8의 glucitol H-NMR spectrum과 비교해 보면 4.2 ppm 이상의 구간에서 나타나는 수산기(OH-)의 프로톤 시그널이 GPE의 H-NMR spectrum에는 나타나지 않는 것으로 볼때 GPE 분자내에는 치환되지 않은 수산기(OH-)가 존재하지 않음을 알 수 있었다.

요 약

최근 sucrose polyesters(SPE)와 더불어 유지대체 물질로서의 사용이 검토되고 있는 glucitol fatty acid polyesters(GPE)를 합성한 후, 화학적 구조 및 상대적 에스테르 분포에 따른 치환도를 조사하였다. 본 연구에서 합성한 GPE는 순상 HPLC에 의해 단일 에스테르 그룹으로 분리되었으며, 분리된 에스테르 그룹의 치환도는 6으로서 GPE 전체가 glucitol fatty acid hexaester임을 알 수 있었다. GPE의 IR 스펙트럼에서 1747 cm⁻¹에

나타나는 흡수대는 GPE 분자내에 glucitol과 지방산을 연결하고 있는 에스테르 결합이 존재함을 보여주었다. GPE는 H-NMR 스펙트럼에서는 glucitol의 hydroxyl proton의 시그널이 존재하지 않음을 볼때 glucitol의 모든 수산기가 지방산과의 에스테르 결합에 참여하고 있음을 알 수 있었다. 또한 GPE의 H-NMR 스펙트럼을 정량적으로 해석한 결과는 수산기(hydroxyl value) 측정에 의해 결정된 GPE의 치환도와 일치하였다. 이상의 결과를 종합하여 볼때 본 연구에서 합성한 GPE는 glucitol fatty acid hexaester임이 확인되었고 향후 유지대체물질로서 사용되어질 가능성을 지닌 것으로 생각되었다.

문 헌

- 허갑범 : 제 1장 지방질 섭취와 성인병. 식용유지와 영양. 한국식품과학회, p.1(1988)
- Mattson, F.H. and Volpenhein, R.A.: Hydrolysis of fully esterified alcohols containing from one to eight hydroxyl groups by the lipolytic enzymes of rat pancreatic juice. *J. Lipid Res.*, 13, 325(1972)
- Harrigan, K.A. and Breene, W.M.: Sucrose esters and Simplese. *Cereal Foods World*, 34, 261(1989)
- Akoh, C.C. and Swanson, B.G.: Preparation of trehalose and sorbitol fatty acid polyesters by interesterification. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 1581(1989)
- 정하열, 김석주, 윤성우, 윤희남, 공운영 : Sucrose polyesters 합성에 사용하는 대두유 지방산메틸에스테르 제조의 최적화. *한국식품과학회지*, 24, 240(1992)
- 정하열, 김석주, 윤성우, 윤희남, 공운영 : 유리알카리 및 수분이 sucrose polyesters 합성에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, 24, 247(1992)
- AOCS: Official method Cd 13-16, American Oil Chemist's Society, Champaign, IL(1987)
- Akoh, C.C. and Swanson, B.G.: Optimized synthesis of sucrose polyesters: Comparison of physical properties of sucrose polyesters, raffinose polyesters and salad oils. *J. Food Sci.*, 55, 236(1990)
- Procter & Gamble Co.: Olestra as a calorie free substitute for fats and oils. *Food Additive Petition 7A3997* (1987)

(1992년 12월 21일 접수)