

## 선택된 식물자원에서 추출조건에 따른 Phytosterol과 Tocopherol의 함량분석 및 추출유로부터 재구성지질의 합성

조은진 · 이기택\*

충남대학교 식품공학과

### Analysis of Phytosterols and Tocopherols, and Production of Structured Lipids from the Extracted Plant Oils

Eun-jin Cho and Ki-Teak Lee\*

Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Deajon, 305-764, Korea

#### Abstract

To obtain the oil sesame, walnut, whole wheat, and rice bran were extracted for 1, 3, or 6 hr by a shanking water bath(35°C and 100 rpm), and by soxhlet extractor(80°C) for 1, 3 or 6 hr, respectively. The highest yield of extracted oil was obtained from the walnut(63.07% weight) and the whole wheat showed the lowest extraction yield of oil(1.13% weight). Major fatty acids from the extracted oils were linoleic, oleic, and palmitic acid. The maximum contents of total phytosterol in sesame, walnut, whole wheat, and rice bran were 0.44, 1.57, 2.25, and 2.03(% weight), respectively. Besides, total tocopherol contents in sesame, walnut, whole wheat, and rice bran were maxima 3.42, 0.16, 2.92, and 0.07(% weight), respectively. From the extracted oils, structured lipids(SL) were synthesized by the interesterification reaction with conjugated linoleic acid(CLA) in a shanking water bath at 55°C. When the reactions(1:3 substrate molar ratio, extracted oil:CLA) were conducted for 24 hr, maxima 23.75 mol% of CLA incorporation was obtained from walnut oil and, in other cases, 16.28 - 19.15 mol% of CLA was found in the produced SL triacylglycerol molecules.

Key words : sesame, walnut, whole wheat, rice bran, phytosterol, tocopherol, interesterification, structured lipids

## 서론

식물성 유지는 우리 몸에 유익한 필수지방산 및 식물성 스테롤을 다량 함유하고 있으며, 동물성유지에 비해 높은 tocopherol 함량을 가지고 있다. 식물성 유지에 함유되어 있는 지방산류 중 linoleic acid,  $\alpha$ -linoleic acid 등은 비타민 F 또는 필수지방산(essential fatty acid)으로 알려져 있고 식품으로부터의 공급을 꼭 필요로 하기 때문에 적정량의 섭취가 권장되어 왔으며, 최근에는 건강에 대한 영향과 질병 예방 효과에 대해서도 많은 연구가 진행되어 왔다(1,2). Linoleic acid의 이성질체인 conjugated linoleic acid(CLA)는 linoleic acid를 함유하고 있는 지질을 hydrogenation 할 때에 생성될 수 있으며, 반추위 내 서식하는 혐기성 세균인 *Butyrivibrio fibrisolvens*에 의한 linoleic acid로부터도 소량 생성된다(3). 현재 CLA의 항암효과를 비롯한 항돌연변이효과, 항산화효

과, 항동맥경화효과 등이 밝혀짐으로써 기능성 물질로써 CLA에 대한 관심이 증가되고 있다(4). 한편, 건강증진에 유익하다고 알려진 성분들, 즉 스테롤류나 토코페롤류도 유지의 추출 시에 같이 얻어질 수 있다. 식물성 스테롤은 인체 내에서 생합성되지 않으며, 그 종류로는  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol 등이 알려져 있고, 동물성 스테롤에 비해 그 흡수율이 1/5-1/10정도 낮다고 보고되어져 있다(5,6). 이들은 이중결합 고리를 가지고 있으며, 장내에서 콜레스테롤의 흡수를 선별적으로 저해하는 효능을 가지고 있다(7). Tocopherol은 생체 내에서 노화현상과 관련이 많은 과산화 지질의 생성을 억제하는 항산화 효과를 나타내어 영양학적으로 볼 때 중요한 역할을 한다고 알려져 있고, 식물성 유지에서 발견되는 tocopherol 동족체인  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,와  $\delta$ -tocopherol의 식품저장 및 가공과정 중 산화안정성에 기여하는 것이 널리 알려져 있다(8).

근래 재구성 지질에 대한 관심이 높아지고 있다. 재구성 지질(structured lipids)은 지방산의 조성, 또는 지방산의 위치(regiospecific position)를 글라이세롤(glycerol) 분자 안에서 화학적 또는 효소반응으로 바꾸어 합성할 수 있는데 유지의

Corresponding author : Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Yuseung-Gu, Daejeon, 305-764, Korea  
E-mail : ktleee@cnu.ac.kr

물리적 또는 화학적 특성을 바꾸거나 공업적, 영양학적 특성을 개선시키기 위하여 이용될 수 있다(9). 유지의 주성분은 triacylglycerol이며 이는 글라이세롤(glycerol)과 지방산이 에스테르 결합을 하고 있는데, 이중 글라이세롤(glycerol)의 하이드록실기(-OH)와 새로운 지방산의 카르복실기(-COOH) 사이에서 에스테르 결합을 이루어 기존의 triacylglycerol 지방산의 조성을 바꾸어 재구성 지질을 합성할 수 있다(9,10). 이때 효소합성으로써 생물학적 촉매인 lipase가 이용될 수 있고 몇몇 lipase는 triacylglycerol의 ester 결합을 가수분해하여 glycerol과 fatty acid으로 분해한 후 역으로 esterification 합성하는 작용을 한다(11). 따라서 본 연구에서는 식물자원 중에서 4종을 선택, 최적 추출조건을 얻고자 추출시간, 온도에 따른 수율을 고찰한 후, 추출된 유지의 지방산 조성을 분석과, 추출조건에 따른 sterol 및 tocopherol의 함량 변화를 비교·분석하였다. 또한 추출된 유지와 기능성 지방산이라고 알려진 CLA를 esterification하여 기능성유지로 이용이 가능한 재구성지질을 효소적 반응으로 생산하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험의 원료인 참깨, 호두, 미강, 통밀은 외피에 상처나 흠집이 없는 것으로, 2002년 8월에 대전 유성 인근 시장에서 직접 구입한 후 유지 추출에 사용되었다. 추출된 유지는 밀봉 후 -20℃의 냉동고에 저장하면서 본 실험에 사용되었다. 고정화 효소인 IM 60은 Novo Nordisk Biochemical에서 구입하였다(Danbury, USA). IM 60은 *Rhizomucor miehei*로부터 획득된 lipase를 macroporous anion exchange resin에 고정화시킨 효소이며 이 lipase는 sn-1,3 specific으로써 triacylglycerol molecule의 sn-1과 3의 위치에 특이적으로 작용한다(12).

### 유지의 추출 및 정제

유지추출용 재료를 35℃, 80℃의 조건하에서 추출방법을 달리하여 1, 3, 6시간 단위로 추출하였다. 먼저, 35℃의 조건에서 추출한 방법은 다음과 같다.

각각의 시료를 grinder를 사용하여 분쇄하였다. 분쇄된 시료를 삼각플라스크에 40 g씩 취한 후 시료량의 0.01% BHT(Junsei Chemical Co., Ltd. Japan)과 n-hexane 50 mL을 첨가하였다. 이들 시료를 35℃, 100rpm의 항온교반수조(Hanil Science Industrial, BS-21. Korea)에서 1, 3, 6시간 단위로 추출하였다. 이와 같은 추출방법은 비교적 높은 온도인 80℃에서는 적용하기 어렵기 때문에 soxhlet extractor(Daihan Labtech Co., Ltd. Korea)를 이용하여 1, 3, 6시간 단위로 추출하였다. Soxhlet extractor수기에 각각의 시료를 40 g씩 취한 후 시료량의 0.01% BHT를 넣고, n-hexane 50 mL을 첨가

한 후 즉시 냉각관, 추출관 및 수기를 연결하여 80℃의 항온수조에서 가열하였다.

추출 뒤 rotary vacuum evaporator(EYELA, N-1000, Japan)을 사용하여 35℃, 80℃의 반응물에 함유된 n-hexane을 제거시킨 후 sodium sulfate anhydrous(Junsei Chemical Co., Ltd. Japan) column에 추출물을 통과시켜서 추출물 속에 함유된 수분 및 불순물을 제거하였다. 이후 80℃에서 추출된 유지로부터 N<sub>2</sub>를 주입하며 여분의 n-hexane을 제거하였다. 시료 40 g에 대한 추출된 유지의 양으로 추출율을 계산하였다.

### 지방산 조성분석

각각의 시료를 saponification 과 methylation 시킨 후 GC(Gas Chromatography)에 의해 지방산 조성을 분석하였다. Test tube(25 mL)에 각각의 시료 0.1 g과 2N KOH in ethanol 2 mL 을 가하고 water bath(100℃)에서 15분간 중탕시킨 후 냉각하였다. 실온의 test tube에 6% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in methyl alcohol 3 mL 을 넣은 후 internal standard로 heptadecanoic acid(1 mg/1 mL in hexane) 10 μL을 가하였다. Vortex 한 후 100℃ water bath에서 약 10분간 중탕시켰다. 냉각한 후 hexane 2 mL을 넣어서 충분히 vortex 한 후 hexane층을 분리하여 sodium sulfate anhydrous column를 이용, 수분 및 불순물을 제거한 후 GC vial 에 취하였다. GC에 의한 지방산 조성분석 조건은 Table 1에 나타내었다.

**Table 1. GC operating conditions for fatty acid and phytosterol analysis**

Items	Fatty acid analysis conditions	Phytosterol analysis conditions
Instrument	GC(HP 6890 series, USA)	GC(HP 6890 series, USA)
Column	Supelcowax™-10	Ultra 2(HP, USA)
Detector	FID(Flame Ionization Detector)	FID(Flame Ionization Detector)
Carrier gas	N <sub>2</sub> (52.5 mL/min)	N <sub>2</sub> (25.0 mL/min)
Column temp.	100℃(5min)→4℃/min→220℃(20min)	285℃(10min)
Injector Temp.	Inlet 250℃	Inlet 300℃
Detector temp.	FID 260℃	FID 300℃
Sample load	1 μL	1 μL

### Phytosterol류의 분석

Test tube(25 mL)에 각각의 시료 0.1 g과 2 N KOH in ethanol 2 mL 을 가하고 80℃ water bath 에서 15분간 비누화 반응을 실시하였다. 냉각 후 2 mL water와 2 mL hexane을 test tube에 넣고 vortex 한 후 상징액인 hexane층을 취하였다. 다시 분리된 water층에 2 mL water와 2 mL hexane을 넣고 상징액인 hexane층을 취하였다. 최종 분리된 4 mL hexane층에 internal standard로써 5-cholestane(1 mg/1 mL in hexane) 100 μg을 가하여 녹이고, sodium sulfate anhydrous column에 통과시켜서 수분 및 불순물을 제거한 후 GC vial

에 취하였다. GC에 의한 phytosterol 함량 분석 조건은 Table 1에 나타내었다.

### $\alpha$ , $\gamma$ , 및 $\delta$ -Tocopherol의 분석

먼저 상기 방법에 의해 추출한 유지를 vial(20 mL)에 각각 0.06 g씩 취한 후 hexane 10 mL을 첨가하여 희석한 다음 PTFE syringe filter(25 mm, 0.2  $\mu$ m, Watman, USA)를 이용하여 여과시켰다.

Tocopherol 동족체의 정량을 위해서  $\alpha$ -,  $\gamma$ - 및  $\delta$ -tocopherol 표준품을 각각 hexane 1 mL당 각각 100, 125, 50  $\mu$ g 농도로 희석한 후 HPLC(High Performance Liquid Chromatography)에 의해 external standard curve를 구하여 표준품의 chromatogram의 peak 면적비를 기준으로 시료 중의  $\alpha$ -,  $\gamma$ , 및  $\delta$ -tocopherol 등의 함량을 구하였다. HPLC의 분석 조건은 Table 2에 나타내었다.

Table 2. HPLC operating conditions for tocopherol analysis

Items	Conditions
Instrument	Younglin Acme HPLC
Column	LiChrosorb DIOL 5 $\mu$ m(3 $\times$ 100mm)
Detector	Younglin Absorbance Detector(UV730D)
Flow rate	0.5 mL/min
Solvent	Hexane/Acetic acid = 1000/1
Absorbance	UV <sub>295nm</sub>
Sample load	10 $\mu$ L

### CLA를 함유한 재구성지질(SL)의 합성 및 분석

Test tube(25 mL)에 각각의 추출된 유지(0.2 g)와 CLA(0.19 g)를 1:3 mol의 비율로 혼합한 후 전체 기질 무게의 15%에 해당하는 고정화 효소인 IM 60(0.06 g)을 혼합한 후 hexane 2 mL을 가하였다. 이들을 55 $^{\circ}$ C, 100rpm의 항온교반수조에서 10분, 20분, 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 6시간, 24시간 단위로 반응시료 0.2 mL를 취하여 지방산 분석을 실시하였다. 한편, 반응된 시료를 50  $\mu$ L씩 취하여 thin-layer chromatography(TLC)에 전개시켰으며, 전개용매로는 hexane:diethylether:acetic acid = 50:50:1(volume ratio)을 사용하였다. 전개 후 R<sub>f</sub>값 0.58인 TG(triglyceride)만을 분리하였다. Methylation을 위하여 test tube(25 mL)에 TLC로부터 분리된 각각의 TG층과 6% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in methanol 3 mL을 넣고 heptadecanoic acid(1 mg/1 mL in hexane) 50  $\mu$ L을 취하였다. 충분히 vortex 한 후 100 $^{\circ}$ C water bath에서 약 20분간 중탕시켰다. 반응액이 두 층으로 나뉘고 상층액이 투명하게 될 때 반응을 종결시키고 냉각하였다. 실온에서 상층액을 취한 후 hexane 2 mL을 넣어서 충분히 vortex 한 후 hexane층을 분리하였다. sodium sulfate anhydrous column에 통과시켜서 수분 및 불순물을 제거한 후 GC vial에 취하였다. GC에 의한 지방산 조성분석 조건은 Table 1에 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### 유지 추출

최적 추출조건을 알아보기 위하여 온도와 시간을 달리한 추출율을 비교하여 Table 3에 나타내었다. 여러 추출조건하에서 호두가 평균 58.77%로 가장 높은 추출율을 나타냈으며, 그 뒤로 참깨, 미강 등이 각각 평균 36.40, 13.61% 등의 추출율을 나타내었다. 가장 낮은 수율을 나타낸 것은 통밀로서 평균 1.28%를 보였다. 각 추출온도에서의 시간에 따른 추출율의 변화는 유의적 차이가 있는 것으로 조사되었으며(p<0.05), 추출온도에 따라 추출방법을 달리한 결과에도 다소 차이가 있었다. 참깨는 35 $^{\circ}$ C, 1시간동안 추출한 경우 39.28%로 가장 높은 추출율을 보였으며, 호두는 80 $^{\circ}$ C, 1시간동안 추출한 경우 60.07%로 가장 높은 추출율을 보였다. 통밀은 35 $^{\circ}$ C와 80 $^{\circ}$ C 어느 경우에서도 추출조건에 따른 추출율에 대한 유의차는 없었다. 미강은 35 $^{\circ}$ C, 1시간동안 추출한 경우 15.62%로 가장 높은 추출율을 보였다.

Table 3. Extraction yield of oil from plant materials at various conditions (unit : % weight)

Plant seeds	Temp.( $^{\circ}$ C)	Extraction time		
		1 hr	3 hr	6 hr
Sesame	35	39.28 <sup>a</sup>	37.61 <sup>b</sup>	37.18 <sup>b</sup>
	80	37.76 <sup>a</sup>	35.94 <sup>b</sup>	35.65 <sup>b</sup>
Walnut	35	57.15 <sup>b</sup>	57.68 <sup>b</sup>	56.03 <sup>b</sup>
	80	60.07 <sup>a</sup>	56.56 <sup>b</sup>	56.11 <sup>b</sup>
Whole wheat	35	1.13	1.24	1.25
	80	1.14	1.36	1.56
Rice bran	35	15.62 <sup>a</sup>	14.55 <sup>ab</sup>	14.09 <sup>b</sup>
	80	14.86	14.71	14.83

<sup>1)</sup> Means with the same letter in each row are not significantly different(p<0.05).

### 지방산 조성 분석

식용유지 중에서 식물성 유지는 주로 oleic acid(18:1), linoleic acid(18:2) 등으로 구성되어 있고, 그 외 palmitic acid(16:0)와 stearic acid(18:0)으로 구성되어 있다(1). 본 실험에서 추출한 식물성 유지 4종의 지방산 조성을 Fig. 1에 나타내었다. 시료 4개의 식물성 유지 중 호두는 linoleic acid가 가장 높은 함량을 보였으며 그 비율은 전체의 57.84 mol%를 차지하는 것으로 조사되었다. 이어서 oleic acid, palmitic acid, linolenic acid(18:3), stearic acid 등이 각 26.18, 6.97, 6.99, 2.02 mol% 등의 비율로 나타났다. 통밀의 경우에는 linoleic acid, oleic acid 등이 각각 53.73, 21.31 mol% 등을 보였고, palmitic acid, linolenic acid, stearic acid 등이 각각 19.34, 3.76, 1.45 mol% 등의 비율을 나타냈다. 참깨, 미강의

경우에는 oleic acid가 linoleic acid보다 높은 함량을 보였다. 참깨의 경우 oleic acid, linoleic acid, palmitic acid, stearic acid, linolenic acid 등이 각각 43.11, 35.20, 11.65, 6.22, 2.02 mol% 등의 비율을 보였고, 미강의 경우에는 각각 40.18, 34.00, 21.92, 2.12, 1.31 mol% 등의 비율을 나타내었다.

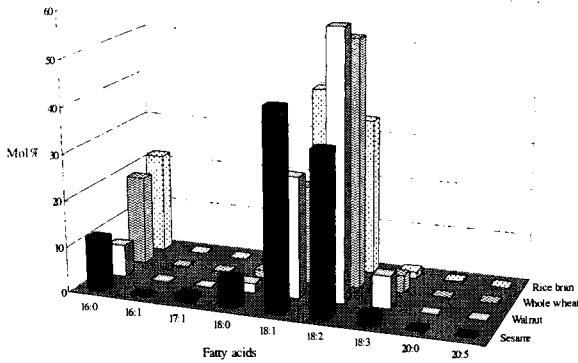


Fig. 1. Fatty acid compositions in extracted plant oils.

Phytosterol의 정량

추출된 식물성 유지 4종에 함유되어 있는 sterol의 조성비와 총 함량을 분석한 결과를 Table 4에 나타내었다. 여러 조건하에서 추출된 식물성 유지 4종 중 전체 sterol의 함량은 통밀이 평균 1.61%로 가장 높았으며, 미강, 호두가 각각 평균 1.40, 1.22% 등으로 높은 것으로 조사되었다. 그러나 참깨는 평균 0.37%로 그 함량이 낮았고 4종의 유지 모두  $\beta$ -sitosterol의 함량이 가장 높았다. 참깨의 경우 평균적으로  $\beta$ -sitosterol이 전체 sterol의 약 81%를 차지하였고, 호두의 경우에는 전체 sterol의 91%의 비율을 보였으며, 통밀, 미강 등의 경우에는 평균적으로 각각 전체 sterol의 81, 60% 등을 나타내었다.

참깨는 35°C, 1시간 동안 추출한 campesterol,  $\beta$ -sitosterol 등의 함량은 각각 0.09, 0.32% 이었고, 80°C, 3시간 동안 추출한 경우에는 각각 0.08, 0.36% 이었으며, stigmasterol은 검출되지 않았다. 호두와 통밀의 경우에도 campesterol,  $\beta$ -sitosterol만 검출되었다. 호두는 35°C, 1시간 동안 추출한 경우 campesterol,  $\beta$ -sitosterol 등의 함량이 각각 0.45, 1.12% 등을 나타내었고, 80°C, 1시간 동안 추출한 경우에는 각각 0.06, 1.25%을 보였으며, 통밀은 35°C, 1시간에서 각각 0.29, 1.20%와 80°C, 6시간에서 각각 0.39, 1.86%의 함량을 나타내었다. 미강은 35°C, 1시간 동안 추출한 경우 campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol 등이 각각 0.41, 0.18, 0.90%이었고, 80°C, 1시간 동안 추출한 경우에는 각각 0.56, 0.23, 1.24%이었다.

Table 4. Phytosterol contents in extracted plant oils at various conditions (unit : % weight)

Plant oils	Temp. (°C)	Time (hr)	Campesterol	Stigmasterol	$\beta$ -sitosterol	Total sterol
Sesame	35	1	0.09	-	0.32	0.41
		3	0.07	-	0.28	0.35
		6	0.05	-	0.26	0.31
	80	1	0.07	-	0.32	0.39
		3	0.08	-	0.36	0.44
		6	0.06	-	0.27	0.33
Walnut	35	1	0.45	-	1.12	1.57
		3	0.04	-	0.97	1.01
		6	0.04	-	1.12	1.16
	80	1	0.06	-	1.25	1.31
		3	0.05	-	1.14	1.19
		6	0.05	-	1.04	1.09
Whole wheat	35	1	0.29	-	1.20	1.49
		3	0.26	-	1.14	1.40
		6	0.25	-	1.00	1.25
	80	1	0.32	-	1.43	1.75
		3	0.27	-	1.16	1.43
		6	0.39	-	1.86	2.25
Rice bran	35	1	0.33	0.16	0.71	1.20
		3	0.41	0.18	0.90	1.49
		6	0.34	0.15	0.76	1.25
	80	1	0.56	0.23	1.24	2.03
		3	0.34	0.15	0.78	1.27
		6	0.31	0.15	0.67	1.13

$\alpha, \gamma, \delta$ -Tocopherol의 정량

본 실험에서 적용한 여러 추출조건에서  $\alpha, \gamma$ ,와  $\delta$ -tocopherol의 함량은 참깨가 평균 2.57%로 가장 높았으며, 그 뒤로 통밀, 호두 등이 평균 2.48, 0.14% 등의 함량을 나타내었다. 반면에 전체 tocopherol 함량이 가장 낮은 추출된 유지는 미강이었으며, 그 함량은 평균 0.06%로 나타났다. Tocopherol 동족체 별로는  $\alpha, \delta$ -tocopherol등의 함량이 가장 높게 나타난 유지는 통밀이었고,  $\gamma$ -tocopherol이 가장 높게 나타난 유지는 참깨로 조사되었다. 참깨의 경우,  $\alpha, \delta$ -tocopherol은 검출되지 않았고,  $\gamma$ -tocopherol은 다른 유지에 비해서 월등히 높게 나타났으며, 특히 80°C, 6시간 동안 추출한 경우가 3.42%로 가장 높은 함량을 보였다. 호두의 경우에는  $\gamma$ -tocopherol이  $\alpha$ -tocopherol에 비해 약 6.5배 높은 함량을 보였고, 80°C, 3시간 동안 추출한 유지의 총 tocopherol이 0.16%로 가장 높은 함량을 나타내었다. 통밀의 경우에는  $\alpha, \gamma, \delta$ -tocopherol등이 모두 나타났으며,  $\delta$ -tocopherol이 전체 tocopherol의 약 90%를 차지하였고, 35°C, 6시간 동안 추출한 유지의 총 tocopherol 함량이 2.92%로 가

장 높게 나타났다. 미강의 경우에는  $\alpha$ -tocopherol만 나타났으며, 80°C, 6시간 동안 추출한 유지의 총 tocopherol 함량이 1.07%로 가장 높았다.

**Table 5.  $\alpha, \gamma, \delta$ -tocopherol contents in extracted plant oils at various conditions** (unit : % weight)

Plant oils	Temp. (°C)	Time (hr)	$\alpha$	$\gamma$	$\delta$	Total
Sesame	35	1	-	2.34	-	2.34
		3	-	2.34	-	2.34
		6	-	2.36	-	2.36
	80	1	-	2.44	-	2.44
		3	-	2.50	-	2.50
		6	-	3.42	-	3.42
Walnut	35	1	0.02	0.10	-	0.12
		3	0.01	0.12	-	0.13
		6	0.02	0.11	-	0.13
	80	1	0.02	0.10	-	0.12
		3	0.02	0.14	-	0.16
		6	0.02	0.14	-	0.16
Whole wheat	35	1	0.10	0.09	2.28	2.47
		3	0.12	0.12	2.25	2.49
		6	0.11	0.11	2.70	2.92
	80	1	0.12	0.11	2.32	2.55
		3	0.07	0.09	1.92	2.08
		6	0.09	0.09	2.24	2.42
Rice bran	35	1	0.05	-	-	0.05
		3	0.05	-	-	0.05
		6	0.05	-	-	0.05
80	1	0.06	-	-	0.06	
	3	0.05	-	-	0.05	
	6	0.07	-	-	0.07	

### 재구성지질(SL)의 합성

재구성지질 중에 함유된 CLA 함량을 반응시간에 따라 나타내었다. 재구성지질에 나타난 CLA의 동족체는 CLA1(9,11 cis/trans), CLA2(10,12 trans/cis), CLA3(9,11 cis/cis + 11,13 trans/trans), CLA4((8,10),(9,11),(10,12) trans/trans) 등으로 조사되었다. 반응시간이 증가할수록 재구성 지질에 함유된 CLA 함량도 증가하였으며, 3시간에서 6시간 반응 시 증가율이 가장 크게 나타났다. 24시간 동안 반응 시 총 CLA 함량이 가장 높은 것은 통밀로써 그 함량은 전체 지방산의 23.75 mol%를 차지했으며, 그 뒤로 미강, 참깨, 호두 등이 각각 19.15, 16.46, 16.28 mol% 등을 나타내었다. 참깨의 경우, 10, 20분 동안 반응 시에는 총 CLA의 함량이 각각 1.18, 0.87 mol% 등으로 그 함량이 비교적 낮았으나, 3시간동안 반응

시에는 10분동안 반응 시에 비해서 약 3배의 CLA 함량이 증가하였고, 24시간동안 반응 시에는 그 함량이 약 14배로 크게 증가하였다. 호두의 경우에도 10분(1.88mol%)에 비해서 3시간동안 반응 시에는 재구성 지질에 함유된 CLA 함량이 약 3배 증가하였으며, 24시간동안 반응 시에는 약 9배로 크게 증가하였다. 미강과 통밀의 경우에도 다른 두 경우와 비슷한 경향을 나타내었다. 재구성지질에 함유된 CLA의 반응 시간에 따른 함량변화는 Table 6에 나타내었다.

**Table 6. Changes of CLA content in produced structured lipids(SL) at various reaction conditions** (unit : Mol %)

Plant oils	Reaction time (hr)							
	0.2	0.3	0.5	1	2	3	6	24
Sesame	1.18	0.87	4.91	4.59	3.53	3.57	15.51	16.46
Walnut	1.88	2.76	5.85	5.49	5.16	6.34	12.92	16.28
Whole wheat	1.20	0.68	3.01	4.19	5.82	12.96	22.41	23.75
Rice bran	1.47	2.77	3.43	3.60	7.06	13.60	17.24	19.15

## 요 약

식물유자원 중 참깨, 호두, 통밀, 미강을 원료로 하여 35°C 조건에서는 100rpm의 항온교반수조에서 1, 3, 6시간 단위로 추출하고, 80°C 조건에서는 soxhlet extractor에서 1, 3, 6시간 단위로 각각 추출하여 추출방법 및 시간에 따른 최적 추출조건을 비교·분석하였다. 그 결과, 각 온도에서의 추출 시간에 따른 추출율과 추출온도에 따른 추출방법의 변화는 추출율에 다소 영향을 미치는 것으로 확인되었다( $p < 0.05$ ). 원료별로는 호두가 최고 63.07%로 가장 높은 유지추출율을 나타냈으며, 그 뒤로 참깨, 미강 등이 각각 최고 39.28, 15.62% 등의 추출율을 나타내었다. GC에 의한 지방산 조성 분석 결과, 추출된 식물유지 모두 linoleic acid, oleic acid 등이 가장 높은 비율을 차지하였다. Phytosterol 분석 결과, 식물성 유지 4종 중 통밀의 전체 sterol 함량이 최고 2.25%로 가장 높게 나타났으며, 미강, 호두, 참깨 등이 각각 최고 2.03, 1.57, 0.44% 등의 함량을 보이는 것으로 조사되었다. HPLC에 의한 tocopherol 함량 분석 결과 전체 tocopherol의 함량은 참깨, 통밀 등이 각각 최고 3.42, 2.92% 등으로 높게 나타났으며, 그 뒤로 호두, 미강 등이 각각 최고 0.16, 0.07% 등의 함량을 나타내었다. 한편, 식물성 유지와 CLA를 각각 1:3 mol의 비율로 혼합한 후 IM 60을 이용, 합성하여 재구성지질을 생성하고 GC에 의해 지방산 조성을 분석한 결과, 반응시간이 길수록 재구성지질 중의 CLA의 함량이 증가하는 것을 알 수 있었다. 최종 24시간 동안 반응시 총 CLA의 함량이 가장 많은 것은 통밀로써, 23.75 mol%를 나타내었고, 그 뒤로 미강, 참깨, 호두 등이 각각 19.15, 16.46, 16.28

mol% 등을 나타내었다.

### 감사의 글

이 논문은 2003년도 한국과학재단의 목적기초연구 (지역 우수과학자 지원사업, R05-2002-000-00033)지원으로 연구된 결과로 이에 감사 드립니다.

### 참고문헌

1. 김봉현 (2001) 식용유지 그 이용과 유지식품. 내하출판사
2. 임정교 (2002) 영양학. 도서출판 신정, 82-86
3. Ha, Y.L. and Pariza, M.W. (1991) Naturally-occurring novel anticarcinogens : Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid(CLA). J. Korean Soc. Food Nutr., 20, 401-407
4. Hur, S.J., Lee, Y.L., Ha, Y.L., Park, G.B. and Joo, S.T. (2002) Biological activities of conjugated linoleic acid(CLA) and animal products. Korean J. Anim. Sci. & Technol., 44, 427-442
5. Kim, E.Y. (2001) Synthesis of stigmastanol as a serum cholesterol-lowering substance using Pd catalyst. Koeran J. Biotechnol. Bioeng., 1, 76-81
6. Gurr, M. (1996) Plant sterols in the diet. Lipid Technol., 8, 114-117
7. Ling, W.H. and Jones, P.J.H. (1995) Minir eview dietary phytosterols : A review of metabolism, benefits and side

effects. Life Sci., 195-206

8. Lee, I.B., Choi, K.J., Yu, K.K. and Chang, K.W. (1992) Tocopherols and fatty acids in plant seeds from Korea. J. Korean Agric. Chem. Soc., 35, 1-5
9. Lee, K.T. and Akoh, C.C. (1998) Structured Lipids : Synthesis and applications. Food Rev. Int., 14, 17-34
10. Lee, J.S., Jang, Y. and Yang, T.H. (1999) Low-calorie structured lipids synthesis by enzymatic low-calorie transesterification. Korean Ministry of Agriculture and Forestry, 15-17
11. Lee, K.T. and Akoh, C.C. (1997) Effect of selected substrate forms on the synthesis of structured lipids by two immobilized lipases. J. Am. Oil Chem. Soc., 74, 579-584
12. Phillips, K.M., Ruggio, D.M., Toivo, J.I., Swank, M.A. and Simpkins, A.H. (2002) Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. Journal of food composition and analysis, 15, 123-142
13. Choi, C., Sung, T.S., Cha, W.S. and Son, C.M. (1986) Studies on the composition of protein and lipid from Korean walnut. J. Korean Agric. Chem. Soc., 29, 318-323
14. Hwang, K.S., Hawer, W.S., Nam, Y.J. and Min, B.Y. (1983) Fatty acid composition and its application to the detection of the adulterated sesame oil. J. Korean Agric. Chem. Soc., 26, 157-162
15. Hwang, S.Z. and Ko, Y.S (1982) Studies on the constituents of Korean edible oils and fats. Korean J. Nutr., 15, 15-21

(접수 2003년 5월 20일, 채택 2003년 7월 8일)