

옥수수유로부터의 효소적 glycerolysis에 의한 monoacylglycerol과 diacylglycerol 함유 기능성 유지 합성 및 특성연구

박래균 · 이기택*
충남대학교 식품공학과

Synthesis and Characterization of Mono- and Diacylglycerol Enriched Functional Oil by Enzymatic Glycerolysis of Corn Oil

Rae-Kyun Park and Ki-Teak Lee*

Department of Food Science and Technology, Chungnam National University

Mono- and diacylglycerol-enriched oil was produced from corn oil through enzymatic glycerolysis using 1,3-specific immobilized lipase in solvent-free system and stirred-tank batch reactor. HPLC analysis revealed enriched oil was respectively composed of: 45.05, 16.27, 23.05, and 14.98% triacylglycerol, 1,3-diacylglycerol, 1,2-diacylglycerol, and monoacylglycerol; 13.21, 0.15, 2.02, 34.36, 49.12, and 1.14 mol% palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic, and linolenic acids; and 0.014, 0.029, 0.010 and 0.053% α , γ , δ -, and total tocopherols. Physicochemical and melting properties of enriched oil were evaluated. Oxidative stability study revealed enriched oil showed higher peroxide and p-anisidine values than corn oil. Rosemary extracts (100 to 300 ppm) reduce oxidation.

Key words: diacylglycerol, monoacylglycerol, glycerolysis, lipase reaction, oxidative stability

서 론

최근 건강에 대한 관심의 증대로 기능성 유지에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 체중개선 기능성 유지로 이용될 수 있는 diacylglycerol(DAG) 함유 유지가 화학적 합성을 통해 생산되어 시판되고 있다(1,2). 실례로 일본 Kao사의 Econa cooking oil 및 미국 ADM사의 Enova cooking oil 등의 DAG 함유 유지가 생산, 시판되었다. Diacylglycerol과 monoacylglycerol(MAG)은 식품산업에 주로 유허제로서 이용되고 있으며, 유지의 물성을 변화 시켜 유지의 기능을 변화시킨다(3). 일반적으로 DAG와 MAG는 220°C 이상의 높은 온도와 급속 촉매 또는 알칼리 촉매조건에서 식용유지를 과량의 글리세롤과 반응시켜 화학적 esterification에 의해 생산된다(4). 하지만 화학적 방법에 의한 생성물은 고온의 반응과정과 높은 수율의 DAG, MAG 혼합물을 얻기 위한 여러 번의 분자증류과정에 의해서 생성 과정 중 많은 에너지가 소비되며 불포화 지방산들에 의한 중합체 생성 및 색상이 변색되고 이취를 내는 단점을 지니

게 된다(3,5). 위와 같은 화학적 합성의 단점을 보완하기 위하여 효소반응을 통한 DAG, MAG 합성 방법이 최근 대두 되고 있다. 효소적 반응에 의한 DAG, MAG 합성 방법들은 화학적 방법보다 낮은 온도 상태에서 비교적 높은 수율의 생산물을 얻을 수 있어 정제 비용 및 에너지 소비를 줄일 수 있으며, 더욱이 위치, 기질, 구조 선택성인 효소들을 이용하여 합성하고자 하는 유용 물질을 선택적, 효율적으로 생산 가능하다(4,6).

DAG 함유 유지는 중성유지와 비교하여 체내 대사 과정이 다르며 β -oxidation를 통하여 대사 됨으로써 체내에 저장되지 않고 에너지원으로 사용되는 경향을 보인다. 이에 중성지방으로 거의 재합성 되지 않으며 혈중 지방치를 높이지 않음으로써 체지방 및 체중을 감소시키는 생리효과가 있다는 것이 밝혀져 있으며(7,8) 이전의 glycerolysis 반응을 이용한 DAG 함유 유지를 합성하는 방법들에는 고체 유지 원료를 사용하거나 용매계 반응 또는 합성시 가수하여 반응시키는 방법들이 소개되었다(3-6).

본 연구에서는 액상 유지, 글리세롤 및 효소를 원료로 하고 회분식 반응기(stirred-batch reactor)를 사용하여 체중개선 기능성 유지로 사용이 가능한 DAG, MAG 함유 기능성유지를 대량생산, 비용매계 반응 조건 및 인위적 가수를 배제한 조건에서 효소적 반응으로 합성하였다. 이에 사용된 lipase는 *Rhizomucor miehei*로부터 유래한 lipase를 macroporous anion exchange resin에 고정화시킨 상업용 lipase(Lipozyme RM IM)를 사용하였고 Lipozyme RM IM은 TAG 분자의 sn-1과 3의

*Corresponding author : Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Gung-dong 220, Yuseung-gu, Daejeon 305-764, Korea
Tel: 82-42-821-6729
Fax: 82-42-822-6729
E-mail: ktleee@cnu.ac.kr

위치에 특이적으로 작용하여 TAG의 ester 결합을 글리세롤과 지방산으로 가수분해한 후 다시 역으로 esterification하는 작용을 가진다(9). 또한 합성된 유지의 물리적, 화학적 특징을 살펴 보았으며, 산화안정성도 서로 비교하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 옥수수유(J사)는 대전시 유성구 대형 할인점(W사)에서 구입, 사용하였으며, 체중개선 기능성 유지 합성에 사용된 Lipozyme RM IM(IM60)은 Novo Nordisk Biochem. North American Inc.(Franklinton, NC, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 또한 DAG, MAG 함량 분석을 위하여 oleic acid, triolein, 1,3-diolein, 1,2-diolein, 1-monoolein 및 2-monoolein 표준물질을 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입 사용하였고 산화안정성 실험에 사용된 rosemary 추출물(ROS.con)는 PINUS TKI RACE d.d.(Race, Slovenia)에서 구입하여 사용하였으며 rosemary 추출물의 주성분은 carnosic acid(24.6% wt/wt)과 carnosol(3.9% wt/wt)이었다.

체중개선 기능성 유지의 합성

Stirred-tank batch reactor(Mtops MS-3060D, Korea)는 stirrer motor와 1 L 용량의 내경 10.5 cm, 높이 15 cm인 원통형의 반응기로 구성되어 있으며 효소와 기질의 반응성을 증대시키기 위하여 길이 9 cm, 폭 3 cm인 반달 모양의 임펠러를 사용하였다. 임펠러는 반응기의 바닥으로부터 1 cm 떨어져 위치해 있으며 일정한 반응온도를 유지시키기 위해 항온수조를 사용하였다. 반응기에 500 g의 옥수수유, 2:1 몰 비율(옥수수유 : 글리세롤, 옥수수유의 지방산 조성을 사용하여 옥수수유의 평균 분자량 873.24 구한 후 몰수 계산)인 25 g의 글리세롤을 혼합 후 반응 촉매인 Lipozyme RM IM 12.5 g(옥수수유 무게의 2.5%)을 다시 혼합하여 stirrer motor를 사용하여 235 rpm의 반응속도를 유지시키고 60°C 항온수조를 사용하여 반응온도를 유지시켰다. 그 후 48시간 동안 반응시켜 체중개선 기능성 유지를 합성하였다. 한편, 합성된 체중개선 기능성 유지에 250 mL의 *n*-hexane을 첨가 진공상태에서 거름종이를 이용 효소를 거른 후 3400 rpm, 15분 동안 원심분리하여 상층액만을 진공 감압 농축기(EYELA, N-1000, Japan)과 N₂를 이용하여 *n*-hexane을 제거 후 실험에 사용될 체중개선 기능성 유지를 획득하였다.

Diacylglycerol 및 monoacylglycerol 함량 측정

체중개선 기능성 유지 중 DAG 및 MAG 함량 분석을 위하여 HPLC(Younglin, Acme, Korea)을 사용하였으며 column은 Hypersil BDS CPS 5 μ(250×4.6 mm, Thermo Hypersil Ltd., Cheshire, UK)을 사용하였다. 검출기는 evaporative light scattering detector(ELSD, SEDEX Model 75, France)를 사용하였으며 검출기의 분석 조건(10)은 질소의 유속이 2.2 bar이었으며 온도는 40°C이었다. 기온기 용리 프로그램(10)에 사용된 용매는 각각 0.4% acetic acid를 포함한 *n*-hexane(용매 A)과 methyl *t*-butyl ether(용매 B)이었으며 유속은 1 mL/min 이었다. 시료 주입 후 5분 동안은 용매A와 B를 100대0 부피 비로 유지시켰으며 15분까지 20대80으로 변화시키고 2분간 유지시켰다. 다시 0.1분 동안 100대0으로 변화시킨 후 27분까지 100대0 부피 비로 유지 시켰으며 총 진행시간은 30분이었다. 체중개선 기능성 유지 25 μL을 *n*-hexane 10 mL에 희석하고 PTFE syringe filter

(25 mm, 0.2 μm, Whatman, USA)를 이용하여 여과시킨 후 HPLC에 10 μL 주입하여 분석하였다.

Pancreatic lipase analysis

체중개선 기능성 유지의 *sn*-2 및 *sn*-1,3 위치의 지방산 조성 분석을 위하여 pancreatic lipase(from hog pancreas, Sigma Chemical Co., St. Lois, USA)에 의한 가수분해를 실시하였다. 시료 5 mg에 1 M Tris-HCl buffer(pH 7.6) 5 mL, 0.05% 담즙산염 1.25 mL, 2.2% CaCl₂ 0.5 mL 및 pancreatic lipase 5 mg을 첨가 후 37°C 항온수조에서 3분 가운 진탕 1분을 3-4회 반복하였다. 그 후 diethyl ether 2 mL 첨가 진탕하고 위층만 분리하여 sodium sulfate anhydrous column을 이용하여 수분 및 불순물을 제거한 후 *n*-hexane, diethyl ether, acetic acid의 50:50:1 부피 비 전개용매를 사용 TLC(10×10 cm, Merck, Germany) 분석하여 R_f 값이 0.03인 2-MAG을 분리하였다(9).

지방산 조성 분석

체중개선 기능성 유지 0.1 g과 TLC를 통해 분리된 2-MAG에 6% H₂SO₄을 함유한 methyl alcohol 3 mL를 넣고, 내부표준물질로써 heptadecanoic acid(1 mg/mL in *n*-hexane) 50 μL을 넣은 후 진탕 시켜 70°C dry oven에서 1시간 동안 methylation하였다. 그 후 *n*-hexane 2 mL를 넣어서 다시 진탕한 후 *n*-hexane층을 취해 sodium sulfate anhydrous column를 통과시킨 후 GC로 분석하였다. GC(Hewlett-Packard 6890 series, PA, USA) 분석을 위한 column은 SupelcowaxTM-10(60 m×0.25 mm i.d.×0.25 μm film thickness, Supelco, PA, USA)을 사용하였으며 주입 온도는 250°C, 검출기는 260°C로 설정된 flame ionized detector(FID)를 사용하였으며, carrier gas는 52.5 mL/min 유속의 N₂를 사용하였다. 또한 승온프로그램을 위한 column oven 온도는 100°C에서 5분간 유지시킨 후 220°C까지 분당 4°C씩 증가시켜 220°C에서 20분간 유지시켰다. 시료를 GC에 1 μL 주입하여 지방산 분석을 실시하였으며 constant flow mode를 이용하였고, 이때 split ratio는 50:1이었다. 한편 *sn*-1,3 조성 계산은 Fomuso와 Akoh(11)의 계산식을 따랐으며 *sn*-1,3 위치 지방산 조성 계산식은 아래와 같다.

$$Sn-1,3(\%) = (3TAG - sn-2)/2$$

Diacylglycerol, monoacylglycerol 구성 지방산 조성 분석

체중개선 기능성 유지 합성 시 생성된 MAG와 DAG의 지방산 조성을 분석하기 위하여 *n*-hexane, diethyl ether, acetic acid의 50:50:1 부피 비 전개용매를 사용 TLC 분석하였다. 그 후 R_f 값이 0.03인 MAG와 R_f 값이 0.12인 DAG를 분리한 후 위와 같은 방법들을 통하여 methylation한 후 GC분석하였다(9).

Tocopherol 함량 분석

HPLC(Younglin, Acme, Korea)를 사용하여 α, γ 및 δ-tocopherol 함량을 분석하였으며 column은 LiChrosorb DIOL(5 μm ×3×100 mm, Varian, USA)를 사용하였다. Detector는 Younglin Absorbance Detector(UV730D)를 사용하였고 측정 파장은 295 nm이었다. 0.5 mL/min 유속 조건에서 *n*-hexane과 acetic acid의 1000대1 비율의 이동상을 사용하여 체중개선 기능성 유지 0.06 g를 *n*-hexane 10 mL에 희석 PTFE syringe filter(25 mm, 0.2 μm, Whatman, USA)를 사용하여 여과시킨 후 10 μL 주입하여 분석하였다(12).

산가, 비누화가, 요오드가 측정

체중개선 기능성 유지의 이화학적 특성을 알아보기 위해 산가, 비누화가 및 요오드가를 측정하였으며 각각의 실험 방법은 AOCS 법(13-15)에 의하여 분석하였다.

DSC(Differential scanning calorimetry) 분석

DSC 2010 differential scanning calorimeter(TA Instruments, New Castle, USA)을 사용하여 체중개선 기능성 유지의 용점과 고형화점을 살펴보았다. 각각의 시료를 8 mg 취하여 분석하였으며 분석을 위한 온도 프로그램은 다음과 같다. 개시 온도 80°C로 10분간 유지시킨 후 -60°C까지 분당 10°C으로 감온시킨 다음 -60°C에서 10분간 유지시켰다. 그 후 다시 80°C로 분당 5°C 비율로 승온시켰다(16). 또한 cell은 aluminum pan을 사용하였고 reference는 공시료를 사용하였다.

항산화연구

합성된 체중개선 기능성 유지의 산화 안정성을 측정하기 위하여 옥수수유와 체중개선 기능성 유지를 시료병에 각각 시료를 70 g씩 담고 0, 100, 200 및 300 ppm의 항산화제 rosemary 추출물(ROS.con, PINUS TKI RACE d.d., Race, Slovenia)을 각각 첨가한 후 60°C 항온기에서 저장하였다. 측정기간 35일 동안 5일 간격으로 시료를 채취하여 과산화물가, p-anisidine 가, TBA가를 AOCS법(17-19)에 의하여 각각 측정하였으며 각 실험은 2회 이상 반복 실험하여 평균값을 구하였다.

결과 및 고찰

회분식 반응기를 사용한 합성 및 DAG, MAG 함량 분석

회분식 반응기(stirred-tank batch reactor)를 사용한 DAG, MAG의 합성을 위하여 비용매계(solvent-free system) 조건에서 체중개선 기능성 유지를 합성하였다. 표준물질을 사용한 HPLC 결과 및 Foglia 등(10)의 결과를 이용하여 FFA, TAG, 1,3-DAG, 1,2-DAG 및 MAG의 유지시간을 구하여 정성 분석하였으며 HPLC를 사용한 DAG, MAG 함량 분석 크로마토그래프는 Fig. 1에 나타내었다. 회분식 반응기에서 각각 24시간, 48시간 합성한 후 HPLC를 이용하여 DAG, MAG 함량을 분석한 결과 24시간 반응시킨 체중개선 기능성 유지에서는 TAG, 1,3-DAG, 1,2-DAG 및 MAG가 각각 50.53, 13.91, 21.52 및 13.71 area%로 분석되었으며 48시간 반응시킨 체중개선 기능성 유지에서는 45.05, 16.27, 23.05 및 14.98 area%로 분석되었다. 24시간 반응시킨 체중개선 기능성 유지 TAG 함량은 48시간 반응시킨 조건에서 TAG 함량이 10.85% 감소되었으며 24시간 반응조건인 체중개선 기능성 유지의 1,3-DAG 함량은 24시간 후에 16.97% 증가 되었고 1,2-DAG는 7.11%, MAG는 9.26% 각각 함량이 증가하였다. 또한 24시간 반응물의 총 DAG 함량이 35.43 area%

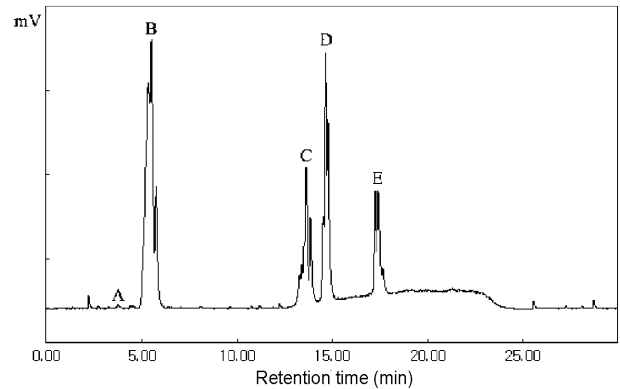


Fig. 1. HPLC chromatogram of the produced functional oil from stirred-tank batch type reactor.

A: free fatty acid, B: triacylglycerol, C: 1,3-diacylglycerol, D: 1,2-diacylglycerol, E: monoacylglycerol.

에서 48시간 반응 후 39.32 area%로 10.98% 증가 되었으며 총 DAG, MAG 함량은 49.14 area%에서 54.30 area% 증가되어 증가율은 10.50%이었다(Table 1).

지방산 조성 연구

원료로 사용된 옥수수유의 TAG 조성은 palmitic(16:0), palmitoleic(16:1), stearic(18:0), oleic(18:1), linoleic(18:2) 및 linolenic acid(18:3)가 각각 11.44, 0.16, 1.27, 32.55, 53.54 및 1.04 mol%로 분석되었으며 총 불포화 지방산의 함량은 87.29%을 나타내었다. Pancreatic lipase 분석을 이용한 옥수수유의 sn-2 및 sn-1,3 위치의 지방산 조성 결과 옥수수유의 sn-2 위치 지방산 조성은 palmitic, stearic, oleic, linoleic 및 linolenic acid가 1.03, 0.17, 32.64, 65.73 및 0.43 mol%로 분석되었으며 sn-1,3 위치의 지방산 조성은 16.64(16:0), 0.24(16:1), 1.82(18:0), 32.51(18:1), 47.45(18:2) 및 1.34 mol%(18:3)이었다. 한편, 체중개선 기능성 유지의 총 지방산 조성 분석결과 palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic 및 linolenic acid가 13.21, 0.15, 2.02, 34.36, 49.12 및 1.14 mol%로 분석 되었으며 pancreatic lipase 가수분해에 의한 sn-2 위치의 지방산 조성 분석결과는 7.69(16:0), 1.32(18:0), 36.32(18:1), 53.53(18:2) 및 1.14 mol%(18:3)로 분석되었고, sn-1,3 위치의 지방산의 분포는 palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic 및 linolenic acid가 15.97, 0.22, 2.37, 33.38, 46.92 및 1.14 mol%으로 나타났다. 한편 TLC를 사용하여 DAG와 MAG를 각각 분리하고 지방산의 조성을 분석한 결과 분리된 DAG의 지방산조성은 palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic 및 linolenic acid의 조성들이 14.28, 0.13, 2.39, 35.39, 46.78 및 1.03 mol%으로 분석되었으며 MAG의 지방산조성은 11.99(16:0), 0.16(16:1), 1.94(18:0),

Table 1. Diacylglycerol and monoacylglycerol content in the produced functional oil

(unit: area%)

| | FFA | TAG | 1,3-DAG | 1,2-DAG | MAG | Total DAG ³⁾ | Total DAG, MAG ⁴⁾ |
|---|------|-------|---------|---------|-------|-------------------------|------------------------------|
| Produced functional oil (24 hr) ¹⁾ | 0.33 | 50.53 | 13.91 | 21.52 | 13.71 | 35.43 | 49.14 |
| Produced functional oil (48 hr) ²⁾ | 0.65 | 45.05 | 16.27 | 23.05 | 14.98 | 39.32 | 54.30 |

¹⁾Mono- and diacylglycerol enriched oil obtained from stirred-tank batch type reactor after 24 hr.

²⁾Mono- and diacylglycerol enriched oil obtained from stirred-tank batch type reactor after 48 hr.

³⁾1,3-diacylglycerol and 1,2-diacylglycerol.

⁴⁾1,3-diacylglycerol, 1,2-diacylglycerol and monoacylglycerol.

Table 2. Fatty acid composition before and after enzymatic glycerolysis

(unit: mol%)

| | Corn oil | | | Produced functional oil ¹⁾ | | | DAG ³⁾ | MAG ⁴⁾ |
|------|------------------|----------------|---------------------|---------------------------------------|----------------|-------|-------------------|-------------------|
| | <i>sn</i> -2 | <i>sn</i> -1,3 | Total ²⁾ | <i>sn</i> -2 | <i>sn</i> -1,3 | Total | | |
| 16:0 | 1.03 | 16.64 | 11.44 | 7.69 | 15.97 | 13.21 | 14.28 | 11.99 |
| 16:1 | ND ⁵⁾ | 0.24 | 0.16 | ND | 0.22 | 0.15 | 0.13 | 0.16 |
| 18:0 | 0.17 | 1.82 | 1.27 | 1.32 | 2.37 | 2.02 | 2.39 | 1.94 |
| 18:1 | 32.64 | 32.51 | 32.55 | 36.32 | 33.38 | 34.36 | 35.39 | 36.55 |
| 18:2 | 65.73 | 47.45 | 53.54 | 53.53 | 46.92 | 49.12 | 46.78 | 48.27 |
| 18:3 | 0.43 | 1.34 | 1.04 | 1.14 | 1.14 | 1.14 | 1.03 | 1.09 |

¹⁾Mono- and diacylglycerol enriched oil.²⁾Total fatty acid.³⁾After TLC analysis, diacylglycerol was scraped, methylated, and analyzed by GC.⁴⁾After TLC analysis, monoacylglycerol was scraped, methylated, and analyzed by GC.⁵⁾Not detected.**Table 3. α , γ , and δ -tocopherol content in the produced functional oil**

(unit: % weight)

| | α -tocopherol | γ -tocopherol | δ -tocopherol |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|
| Corn oil | 0.026 | 0.034 | 0.020 |
| Produced functional oil (48 hr) ¹⁾ | 0.014 | 0.029 | 0.010 |

¹⁾Mono- and diacylglycerol enriched oil obtained from stirred-tank batch type reactor after 48 hr.**Table 4. Acid, saponification and iodine value of the produced functional oil from stirred-tank batch type reactor**

| | Acid value | Saponification value | Iodine value |
|---|------------|----------------------|--------------|
| Corn oil | <0.56 | 186.56 | 116.01 |
| Produced functional oil (48 hr) ¹⁾ | <0.56 | 173.94 | 83.13 |

¹⁾Mono- and diacylglycerol enriched oil obtained from stirred-tank batch type reactor after 48 hr.

36.55(18:1), 48.27(18:2) 및 1.09 mol%(18:3)로 분석되었다 (Table 2). DAG과 MAG의 지방산 분포는 표에서 보는 것과 같이 유사한 경향을 보였으며 체중개선 기능성 유지 중 총 불포화지방산의 함량은 84.77%을 보였다.

체중개선 기능성 유지의 tocopherol 함량 분석

합성기질로 사용된 옥수수유의 α , γ 및 δ -tocopherol 함량을 분석한 결과 각각 0.026, 0.034 및 0.020%로 분석되었으며 총 tocopherol 함량은 0.080%로 나타났으며 48시간 동안 합성된 체중개선 기능성 유지의 α , γ 및 δ -tocopherol 함량을 분석한 결과는 각각 0.014, 0.029 및 0.010%로 분석되어 총 tocopherol 함량은 0.053%로 나타났다(Table 3). 체중개선 기능성 유지 합성 과정 중 tocopherol의 감소량을 살펴 보면 체중개선 기능성 유지 합성과정 중 α , γ 및 δ -tocopherol이 46.15, 14.70 및 50% 감소하여 총 tocopherol 함량이 33.75% 감소하였다. 이에 효소적 반응을 이용한 체중개선 기능성 유지의 합성 과정 중 tocopherol 함량이 감소 되었음을 볼 수 있었다.

산가, 비누화가 및 요오드가 분석

기질로 사용된 옥수수유와 합성된 체중개선 기능성 유지의 이화학적 특징을 살펴보기 위하여 산가, 비누화가 및 요오드가 를 측정하였으며 그 분석결과를 Table 4에 나타내었다. 옥수수유의 산가는 0.56 이하를 나타내었고 비누화는 186.56로 분석되었으며 요오드는 116.01이었다. 반면, 합성된 체중개선 기능성 유지의 산가도 0.56 이하를 나타내었으나, 비누화 값은 173.94를 나타내었고, 이는 TAG 형태의 지질이 DAG, MAG로 변환됨에 따라 일정 무계당 유지의 물 수는 증가 되었지만 유

지 중 KOH에 분해되는 에스테르결합의 감소에 기인된다고 사료된다. 한편 지질의 불포화도의 척도인 요오드 값은 체중개선 기능성 유지의 경우 83.13를 나타내었는데 이는 옥수수유가 DAG, MAG 형태로 변환됨에 따라 옥수수유와 비교하여 일정 무계당 글리세롤 분자에 결합된 지방산의 수가 감소 되어 낮은 요오드 값을 보이는 것으로 사료된다.

결정화점, 융점의 변화

DSC를 사용하여 옥수수유 및 합성된 체중개선 기능성 유지의 결정화 온도(crystallization temperature: T_c)와 녹는 온도(melting temperature: T_m)를 살펴 보았다. 옥수수유의 결정화점을 살펴본 결과 -14.87°C 에서 결정화점을 보였으며 이때 흡열량은 2.83 J/g이었다. 합성된 유지의 결정화점은 세 개의 피크를 보였고 각각의 결정화점은 -13.69 , -6.49 및 5.36°C 으로 나타났으며, 이때 각각의 피크들의 흡열량은 0.31, 0.17 및 0.28 J/g이었다. 한편, 옥수수유의 융점은 -25.18°C 를 보였고 발열량은 15.14 J/g이었으며 합성된 체중개선 기능성 유지의 융점은 세 개의 피크를 보였고 각각 -27.63 , -6.39 및 8.85°C 로 분석되었으며 각각의 피크의 발열량은 7.17, 2.51 및 1.54 J/g을 나타내었다(Fig. 2).

체중개선 기능성 유지의 산화 안정성

옥수수유와 체중개선 기능성 유지의 산화 안정성을 살펴보기 위하여 각각의 시료에 0, 100, 200 및 300 ppm의 항산화제 rosemary 추출물을 각각 첨가한 시료를 준비한 후 60°C 항온기에서 저장하며 측정기간 35일 동안 과산화물가, p-anisidine가, TBA가를 측정 비교해보았다. 예상한 바와 같이 옥수수유 및

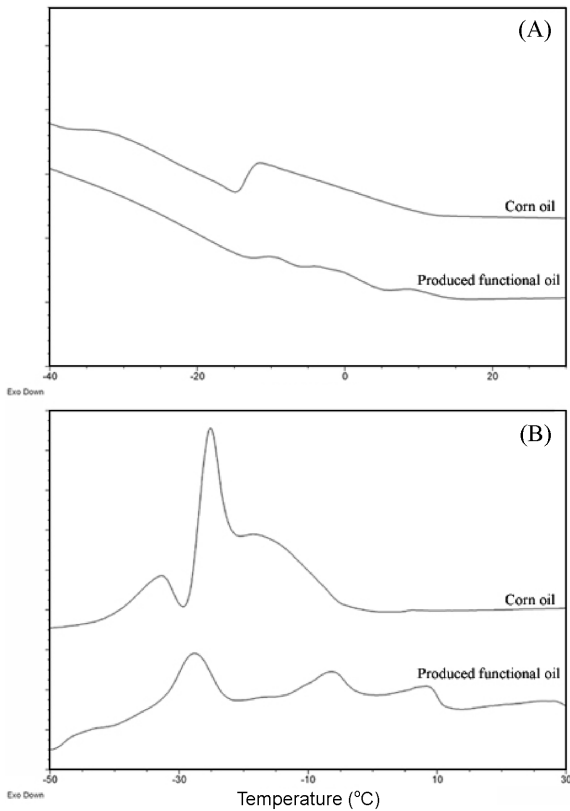


Fig. 2. DSC cooling curves (A) and melting profile (B) for corn oil and mono- and diacylglycerol enriched oil.

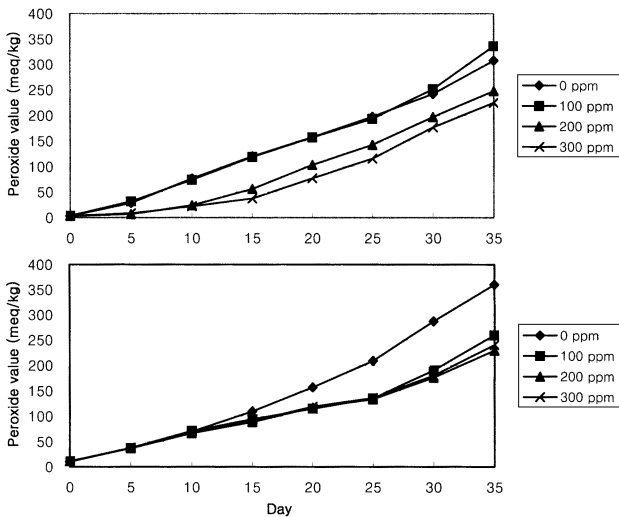


Fig. 3. Changes of the peroxide value of corn oil (A) and mono- and diacylglycerol enriched oil (B) containing rosemary extract at different levels during storage at 60°C.

체중개선 기능성 유지의 과산화물가는 저장기간이 경과함에 따라 증가하는 추세를 보였다. 옥수수유의 산화 안정성을 살펴본 결과 항산화제 rosemary 추출물을 첨가하지 않은 옥수수유는 저장기간의 변화에 따라 증가하였으며 옥수수유에 100 ppm의 rosemary 추출물을 첨가한 처리 군도 rosemary 추출물을 첨가하지 않은 옥수수유 같은 과산화물가의 증가 형태를 보였다. 그러나, rosemary 추출물을 200 ppm를 첨가한 군에서는 산화

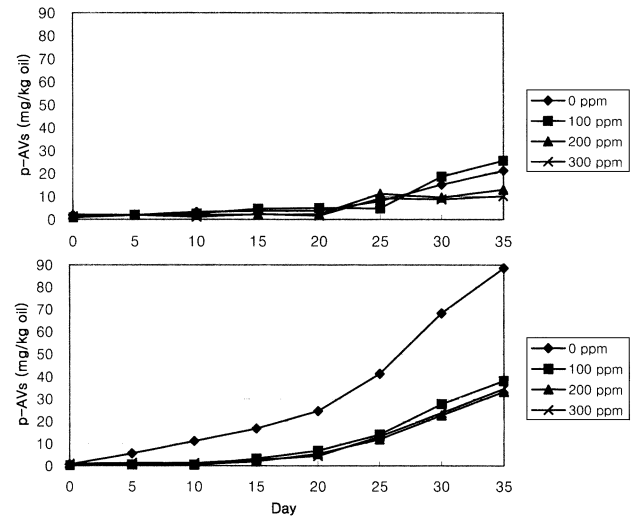


Fig. 4. Changes of the p-anisidine value of corn oil (A) and mono- and diacylglycerol enriched oil (B) containing rosemary extract at different levels during storage at 60°C.

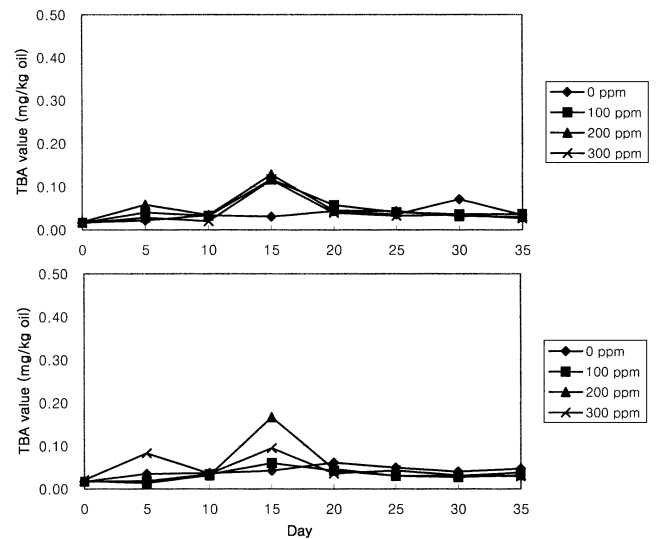


Fig. 5. Changes of the TBA value of corn oil (A) and mono- and diacylglycerol enriched oil (B) containing rosemary extract at different levels during storage at 60°C.

안정성을 보였으며 300 ppm rosemary 추출물을 첨가한 옥수수유의 산화 안정성은 최종 옥수수유의 과산화물가와 비교하여 36.66% 낮은 값을 나타내었다. 또한 합성된 DAG, MAG 함유 유지의 산화 안정성 실험결과, 옥수수유와 rosemary 추출물을 첨가하지 않은 체중개선 기능성 유지의 최종 35일 후의 과산화물가를 비교해보면 체중개선 기능성 유지의 과산화물가가 17.07% 높았다. 한편, 체중개선 기능성 유지에 각각 100, 200 및 300 ppm의 rosemary 추출물을 첨가한 처리 군의 산화 안정성을 보면 과산화물가의 증가가 유사한 패턴을 보였다(Fig. 3).

p-Anisidine 값 역시 각각 네 개의 처리 군에서 저장기간 25일까지는 유사한 증가율을 보이다가 30일 이후로 옥수수유 군과 100 ppm rosemary 추출물을 첨가한 처리 군에서 p-anisidine 값이 나머지 두 가지 처리 군에 비교해 증가하였다. 체중개선 기능성 유지의 저장기간 중 p-anisidine 값의 변화는 rosemary 추출물 미처리 군에서는 p-anisidine 값이 급격히 증가하였으며,

rosemary 추출물을 100, 200, 300 ppm 첨가한 처리 군들에서는 유사한 증가율을 보였다(Fig. 4). 또한 옥수수유와 체중개선 기능성 유지에 각각 네 가지의 처리 군들을 가지고 TBA를 측정 실험을 실행하였다(Fig. 5). 그 결과 TBA는 저장 시간이 경과함에 따라 각각의 처리 군들에서 0.20 mg/kg oil 미만의 TBA를 보였다.

요 약

회분식 반응기(stirred-tank batch reactor)를 사용한 DAG, MAG 함유 기능성유지를 비용매계(solvent-free system) 조건에서 효소적 반응을 이용하여 합성하였다. 48시간 동안 합성된 지질을 HPLC를 사용한 TAG, 1,3-DAG, 1,2-DAG 및 MAG 함량 분석결과 각각 45.05, 16.27, 23.05 및 14.98%로 분석되었으며 체중개선 기능성 유지의 지방산 조성 분석결과 palmitic, palmitoleic, stearic, oleic, linoleic 및 linolenic acid가 13.21, 0.15, 2.02, 34.36, 49.12 및 1.14 mol%로 분석되었다. 합성된 지질의 α , γ 및 δ -tocopherol 함량을 분석한 결과는 각각 0.014, 0.029 및 0.010%로 분석되었으며 총 tocopherol 함량은 0.053%로 나타났다. 또한 재구성된 지질을 사용하여 산가, 비누화가, 요오드가를 측정하였으며 용점 및 결정화점을 살펴보고 이를 통하여 옥수수유로 유래된 DAG, MAG를 함유한 체중개선 기능성 유지의 이화학적, 물리적 특징을 규명하였다. 체중개선 기능성 유지의 산화 안정성 실험을 시행한 결과 체중개선 기능성 유지가 원료유인 옥수수유보다 높은 과산화물가와 p-anisidine 가를 보였으며 각기 달리 혼합한 rosemary 추출물(100, 200 및 300 ppm)이 체중개선 기능성 유지와 옥수수유의 산화를 감소시켰다.

감사의 글

이 논문은 2002년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2002-003-F00041).

문 헌

1. Lee JS, Jang Y, Yang TH. Low-calorie Structured Lipids Synthesis by Enzymatic Transesterification. Ministry of Agriculture and Forestry, Seoul, Korea (1999)
2. Akoh CC. Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biochemistry. M. Dekker Inc., New York, NY, USA (2002)
3. Kwon SJ, Han JJ, Rhee JS. Production and *in situ* separation of mono- or diacylglycerol catalyzed by lipase in *n*-hexane. *Enzyme Microb. Technol.* 17: 700-704 (1995)
4. Kang ST, Yamane T. Effect of temperature on diacylglycerol production by enzymatic solid-phase glycerolysis of hydrogenated beef tallow. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 567-572 (1994)
5. Yang B, Harper WJ, Parkin KL, Chen J. Screening of commercial lipases for production of mono- and diacylglycerols from butter oil by enzymic glycerolysis. *Int. Dairy J.* 4: 1-13 (1994)
6. Rosu R, Uozaki Y, Iwasaki Y, Yamane T. Repeated use of immobilized lipase for monoacylglycerol production by solid-phase glycerolysis of olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74: 445-450 (1997)
7. Maki KC, Davidson MH, Tsushima R, Matsuo N, Tokimitsu I, Umporowicz DM, Dicklin M R, Foster GS, Ingram KA, Anderson BD, Forst SD, Bell M. Consumption of diacylglycerol oil as part of a reduced-energy diet enhances loss of body weight and fat in comparison with consumption of triacylglycerol control oil. *Am. J. Clin. Nutr.* 76: 1230-1236 (2002)
8. AOCS. DAG and Food Formulation. Inform 13. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA. p. 550 (2002)
9. Lee KT, Akoh CC. Immobilized lipase-catalyzed production of structured lipids with eicosapentaenoic acid at specific positions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73: 611-615 (1996)
10. Foglia TA, Jones KC. Quantitation of neutral lipid mixtures using HPLC with light scattering detection. *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.* 20: 1829-1838 (1997)
11. Fomuso LB, Akoh CC. Lipase-catalyzed acidolysis of olive oil and caprylic acid in a bench-scale packed bed bioreactor. *Food Res. Int.* 35: 15-21 (2002)
12. Moreau RA, Powell MJ, Hicks KB. Extraction and quantitative analysis of oil from commercial corn fiber. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2149-2154 (1996)
13. AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed. Cd 3a-63. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA (1990)
14. AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed. Cd 3-25. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA (1990)
15. AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed. Cd 1-25. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA (1990)
16. Lee KT, Foglia TA. Synthesis, purification and characterization of structured lipids produced from chicken fat. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77: 1027-1034 (2000)
17. AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed. Cd 8-53. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA (1990)
18. AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed. Cd 18-90. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA (1990)
19. AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed. Cd 19-90. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA (1990)

(2004년 1월 12일 접수; 2004년 2월 23일 수리)