

반응표면분석에 의한 옥수수유 유래 monoacylglycerol과 diacylglycerol 합성 조건의 최적화

박래균 · 최상원¹ · 이기택*

충남대학교 식품공학과, ¹대구가톨릭대학교 식품영양학과

Optimization for the Production of Mono- and Di-acylglycerols from Corn Oil by Enzymic Glycerolysis Using Response Surface Methodology

Rae-Kyun Park, Sang-Won Choi¹, and Ki-Teak Lee*

Department of Food Science and Technology, Chungnam National University,

¹Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu

Response surface methodology was used to optimize production conditions of monoacylglycerol (MAG) and diacylglycerols (DAG) from corn oil by enzymic glycerolysis. Contents of 1,3-DAG (Y_1), 1,2-DAG (Y_2), total DAG (Y_3), MAG (Y_4), and total DAG + MAG (Y_5) were obtained. Conditions were optimized using central composite design with incubation temperature (35-75°C, X_1), incubation time (1-11 hr, X_2), and amount of hexane added (0-2 mL, X_3) as three variables. Content of 1,3-DAG was maximized by 20.43 area% at incubation temperature of 44.92°C, incubation time of 10.24 hr, and hexane content of 1.16 mL, whereas that of 1,2-DAG (26.78 area%) was maximized at 56.32°C, 6.95 hr, and 1.04 mL, respectively. Predicted maximum total DAG content was 45.09 area% at 53.82°C, 8.03 hr, and 1.08 mL, while production conditions of MAG (9.57 area%) were 64.14°C, 7.00 hr, and 0.13 mL. At variables of 54.07°C, 7.98 hr, and 1.02 mL, maximum content of total DAG + MAG predicted by RSM was 53.54 area%.

Key words: RSM, diacylglycerol, monoacylglycerol, glycerolysis

서 론

과거 식품산업에서 diacylglycerol(DAG) 및 monoacylglycerol(MAG)은 계면활성제로 이용되어 왔으나(1) 최근 DAG 함유 식품 및 유지 섭취 시 체중 및 체지방을 감소 시킨다는 보고에 의하여 DAG를 함유하는 저 칼로리 유지에 대한 관심이 증대되고 있다(2). DAG 함유 유지(주로 1,3-DAG 형태)는 중성 유지와 비교하여 체내에서 혈중 지방 치를 높이지 않고, 대부분 저장되기 보다는 에너지원으로 사용되어 체지방 및 체중을 감소시킨다고 알려져 있다(2,3). 현재 생산 시판되는 저 칼로리 유지는 대부분 화학적 합성 방법으로 생산되고 있으며, 일반적으로 DAG와 MAG는 220°C 이상의 높은 반응온도와 촉매 또는 무촉매 조건에서 글리세롤과 식용유지의 화학적 에스테르 교환반응에 의해 생산된다(1,4,5). 그러나, 이러한 화학적 합성 방법에 의해 생산된 최종 산물은 고온의 반응과정과 수율을 높이기 위한 여러 번의 분자증류과정 중에 불포화 지방산의 중

합체 생성, 변색 및 이취를 내는 단점을 지니게 되며 생성 과정 중 많은 에너지가 소비되는 문제점을 지닌다(6,7). 반면 최근 대두되고 있는 효소적 반응에 의한 DAG, MAG 합성 방법은 위치, 기질 및 구조 특이성 효소들을 이용하여 합성하고자 하는 유용 물질을 효율적으로 생산할 수 있으며, 또한 화학적 방법보다 낮은 온도에서 비교적 높은 수율의 생산물을 얻을 수 있어 정제 비용 및 에너지 소비를 줄일 수 있는 이점을 가진다(7,8). 한편 이전의 효소적 glycerolysis 반응을 이용한 DAG 함유 유지를 합성하는 방법들에는 고상계에서의 반응과 합성 과정 중 가수 반응시키는 방법들이 소개되었으며(1,5-7), Park(9) 등은 *Pseudomonas lipase*를 사용한 효소적 glycerolysis 반응을 통하여 72시간 후 47% DAG를 생산하였다.

반응표면분석(Response surface methodology, RSM)은 여러 개의 독립변수가 하나의 종속변수 또는 어떤 반응에 영향을 줄 때 최적 수준 탐색을 목적으로 하는 통계 기법으로 변수들이 상호의존성을 지니는 경우에도 적용 가능하며 실험구 수를 감소시키는 이점을 지닌다(10,11). 이러한 반응표면분석을 이용하여 식품개발 제조조건 최적화 및 추출조건 최적화 등 여러 분야에 응용이 가능하다(12,13). 또한 반응기질로 사용된 옥수수유는 대두유와 비교하여 유사한 지방산 조성 및 산화안정성이 높은 특징을 지니고 있으나(14,15), 유지 산업 중 가정용 시장에서 70% 이상의 구성비를 차지하는 대두유에 비해 옥수수유

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

의 구성비는 23%를 나타낸다(16). 이에 시장점유율이 낮은 옥수수유를 사용하여 고부가가치를 가지는 유지생산방법에 관한 연구가 필요하다고 사료된다.

따라서 본 연구에서는 *Rhizomucor miehei*로부터 유래한 lipase를 macroporous anion exchange resin에 고정화시킨 *sn-1*과 3의 위치 특이성을 가진 상업용 lipase(Lipozyme RM IM)를 반응촉매로 사용하고 글리세롤과 옥수수유를 반응기질로 하여 단시간의 합성 조건에서 glycerolysis 반응을 통하여 DAG 함유 지질을 합성하고 중심합성계획(17)에 의한 실험설계 및 반응표면분석을 사용하여 DAG, MAG 합성조건 최적화 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 표준물질 oleic acid, triolein, 1,3-diolein, 1,2-diolein, 1-monoolein 및 2-monoolein을 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 HPLC 분석에 사용하였다. 또한 Lipozyme RM IM(IM60)은 Novo Nordisk Biochem North American Inc.(Franklinton, NC, USA)로부터 구입하여 사용하였으며 지질 합성에 사용된 옥수수유는 J사(Seoul, Korea) 식용유를 구입, 사용하였다.

DAG 및 MAG 함유 유지 합성 최적화를 위한 실험계획

효소적 glycerolysis를 통한 옥수수유의 DAG 및 MAG 생산 최적화를 위하여 중심합성실험계획(central composite design)에 따라 DAG 및 MAG 함유 유지를 합성하였으며, 반응표면분석을 위하여 SAS(statistical analysis system) 프로그램(18)을 이용하였으며 4차원 반응표면을 그리기 위해 Mathematica 4.0 프로그램을 각각 사용하였다. 독립(요인)변수는 반응온도(35-75°C, X_1), 반응시간(1-11시간, X_2) 및 반응용매인 hexane의 혼합 양(0-2 mL, X_3)이었으며 각각의 독립변수들은 Table 1과 같이 -2, -1, 0, 1, 2로 5단계로 부호화하여 실험설계하고 각각의 16개의 설정된 조건에서 실험을 수행하였다. 그리고 종속(반응)변수(Y_n)로서는 옥수수유의 glycerolysis에 의한 1,3-DAG(Y_1), 1,2-DAG(Y_2), 총 DAG(Y_3), MAG(Y_4), 및 총 DAG + MAG의 합성 양(Y_5)으로 하였다.

반응표면 분석을 위한 합성

마개가 있는 25 mL vial에 반응 기질로써 옥수수유 2 g과 글리세롤 0.1 g(2대1 몰비율)을 혼합 후 hexane(X_3)을 실험계획에 따라 혼합 후 DAG과 MAG 합성을 위한 glycerolysis 촉매로써 RM 효소 0.1 g(반응기질 옥수수유 무게의 5%)를 사용하여 지질을 합성하였다. 또한 magnetic bar와 stirrer를 사용하여 교반속도를 400 rpm로 유지하고 항온수조를 사용하여 조건에 따른 반응온도를 일정하게 유지 시켰다. 중심합성계획에 따른 독립변수 반응온도(X_1), 반응시간(X_2) 및 hexane의 혼합 양(X_3)

에 따른 각각의 16가지 설정 조건에서 2회 반복 지질을 합성하였다.

DAG 및 MAG 함량 측정

합성된 지질 중 DAG 및 MAG 함량을 분석하기 위해 앞서 얻어진 반응산물에 hexane 2 mL을 혼합하여 희석한 후 PTFE syringe filter(25 mm, 0.2 μ m, Whatman, USA)에 통과시킨 다음 2,500 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 얻어진 상등액을 취하였다. 다시 전 처리된 지질 50 μ L을 hexane 10 mL에 희석 PTFE syringe filter(25 mm, 0.2 μ m, Whatman, USA)를 이용하여 여과시킨 후 HPLC(Younglin Acme, Anyang, Korea)에 10 μ L 주입하여 분석하였다. 이때 HPLC 조건으로 column은 Hypersil BDS CPS 5 μ (250 \times 4.6 mm, Thermo Hypersil Ltd., Cheshire, UK)을 사용하였고 검출기는 evaporative light scattering detector(ELSD, SEDEX Model 75, France)를 사용하였으며 검출기의 분석 조건(19)은 질소의 유속이 2.2 bar, 온도는 40°C 이었다. 분석에 사용된 용매는 각각 0.4% acetic acid를 포함한 hexane(용매 A)과 methyl t-butyl ether(용매 B)이었으며 유속은 1 mL/min 이었다. 시료 주입 후 5분 동안은 용매 A와 B를 100 대 0 부피 비로 유지시켰으며 15분까지 20대80으로 변화시키고 2분간 유지시켰다. 다시 0.1분 동안 100대0으로 변화시킨 후 27분까지 100대0 부피 비로 유지 시켰으며 총 진행시간은 30분인 기울기용리 프로그램(19)을 사용하였다.

결과 및 고찰

1,3-DAG 생성 최적화

옥수수유를 원료로 한 1,3-DAG 생성 최적화를 위하여 중심합성실험계획에 따른 생산 조건에서 생산된 1,3-DAG 함량 분석 결과는 Table 2과 같았으며 설계된 실험조건에서의 반응표면은 Fig. 1에 나타내었다. 또한 세 가지 요인변수인 반응온도(35-75°C, X_1), 반응시간(1-11시간, X_2) 및 반응용매인 hexane의 혼합 양(0-2 mL, X_3)에 따른 반응표면회귀식(20)은 Table 3에 나타내었다. 1,3-DAG 생성에 있어 R^2 는 0.8615이었고 유의성은 0.0487으로 5% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 반응표면분석한 결과 최대값과 최소값을 알 수 없는 안장점(saddle point)을 나타내어 능선분석을 실행하였다. 그 결과 실험계획 범위 내에서 반응온도(44.92°C), 반응시간(10.24시간) 및 반응용매인 hexane의 혼합 양(1.16 mL)에서 20.43 area%로 최대값을 나타내었으며 반응온도(44.62°C), 반응시간(1.78시간) 및 반응용매인 hexane의 혼합 양(0.87 mL)에서 2.42 area%의 최소값을 나타내었다(Table 4). 1,3-DAG 생성에 미치는 요인변수들의 영향을 살펴본 결과 Table 5와 같이 반응시간에 대한 F-ratio가 8.63으로서 5% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되어 반응시간의 영향을 크게 받았으며 반응온도와 hexane의 첨가량의 F-ratio가 각각 1.91, 0.34로 나타내어 설정된 범위 내에서 1,3-DAG 생산에 미치는 영향은 적었다.

Table 1. Levels of independent variables for central composite design

Independent variables	X_i	Levels				
		-2	-1	0	1	2
Incubation temp. (°C)	X_1	35	45	55	65	75
Incubation time (hr)	X_2	1	3.5	6	8.5	11
Hexane (mL)	X_3	0	0.5	1	1.5	2

Table 2. Experimental data under different conditions based on the central composite design for response surface analysis (Unit: area%)

Independent variables ¹⁾			Response variables				
Temp. (°C)	Time (hr)	Hexane (mL)	1,3-DAG	1,2-DAG	Total DAG ²⁾	MAG	Total DAG+MAG ³⁾
45 (-1) ⁴⁾	3.5 (-1)	0.5 (-1)	7.56	12.60	20.16	2.21	22.37
65 (1)	3.5 (-1)	0.5 (-1)	10.45	20.59	31.04	6.78	37.82
45 (-1)	8.5 (1)	0.5 (-1)	18.18	19.26	37.44	6.87	44.31
65 (1)	8.5 (1)	0.5 (-1)	17.25	18.08	35.33	8.91	44.24
45 (-1)	3.5 (-1)	1.5 (1)	8.65	15.51	24.16	3.63	27.79
65 (1)	3.5 (-1)	1.5 (1)	11.59	19.50	31.09	6.07	37.16
45 (-1)	8.5 (1)	1.5 (1)	21.65	22.54	44.19	8.32	52.51
65 (1)	8.5 (1)	1.5 (1)	14.65	19.46	34.11	6.31	40.42
55 (0)	6 (0)	1 (0)	17.10	27.16	44.26	8.62	52.88
55 (0)	6 (0)	1 (0)	17.14	27.60	44.74	8.05	52.79
35 (-2)	6 (0)	1 (0)	9.80	12.23	22.03	5.51	27.54
75 (2)	6 (0)	1 (0)	18.04	20.77	38.81	6.15	44.96
55 (0)	1 (-2)	1 (0)	7.14	11.20	18.34	2.83	21.17
55 (0)	11 (2)	1 (0)	17.69	23.12	40.81	6.92	47.73
55 (0)	6 (0)	0 (-2)	15.47	22.60	38.07	8.92	46.99
55 (0)	6 (0)	2 (2)	14.57	20.86	35.43	6.85	42.28

¹⁾Values in parentheses are the coded symbols of levels of independent variables.

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

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

⁴⁾Coded values of incubation temperature (°C), incubation time (hr), and content of hexane (mL).

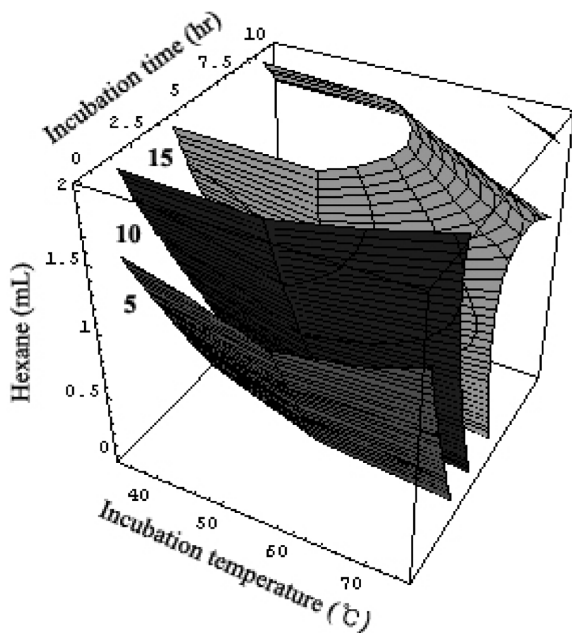


Fig. 1. Response surface for 1,3-diacylglycerol content at constant values (5, 10, and 15 area%) as a function of incubation temperature, incubation time, and hexane content.

1,2-DAG 생성물의 변화

DAG, MAG를 함유 유지 제조에 있어 반응온도, 반응시간, hexane 첨가량이 변화됨에 따라 생성된 1,2-DAG 생산량은 Table 2, 반응표면은 Fig. 2에 나타내었으며 반응표면회귀식은 Table 3와 같았다. R^2 는 0.8775를 나타내었고 유의성은 0.0353를 보였으며 5% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 정상점은 최대점 형태를 나타내었으며 반응온도, 반응시간 및 hexane 첨가량이

각각 56.32°C, 6.95시간 및 1.04 mL 조건에서 1,2-DAG 함량이 26.78 area%로 나타났으며 최소치는 요인변수가 각각 40.92°C, 2.46시간, 0.94 mL 조건에서 6.32 area%를 나타내었다(Table 4). 1,2-DAG 합성에 있어 합성온도, 시간의 F-ratio가 각각 6.83, 7.56으로서 5% 이내의 유의수준에 유의성이 인정되어 합성온도, 합성시간에 영향을 주로 받았고 hexane 첨가량은 크게 영향을 미치지 않았다. 즉, 반응온도 및 반응용매 첨가량이 고정된 상태에서는 합성량이 반응시간에 영향을 받았으며 반응온도를 제외한 요인변수들을 고정화 시킨 상태에서는 합성량이 반응시간에 크게 영향을 받았다(Table 5).

총 DAG 생성 최적화 연구

각각의 조건에 따른 1,2 및 1,3-DAG 합성량과 반응표면회귀식은 Table 2 및 Table 3에 나타내었으며 회귀식의 R^2 는 0.9074를 나타내었고 유의성은 0.0166를 보였으며 5%이내의 유의수준에서 인정되었다. 또한 반응표면을 Fig. 3에 나타내었다. 최소치는 반응온도(42.65°C), 반응시간(2.09시간) 및 hexane 첨가량(0.91 mL) 조건에서 9.06 area%를 나타내었으며 최대치는 반응온도(53.82°C), 반응시간(8.03시간) 및 hexane 첨가량(1.08 mL) 조건에서 45.09 area%를 보였고 정상점은 최대점 나타내었다(Table 4). 또한 총 DAG의 합성에 대한 독립변수의 영향은 반응시간, 반응온도, 반응용매 첨가량의 F-ratio가 각각 12.10, 6.14, 1.15로서 총 DAG 합성에 있어 영향도는 반응시간, 반응온도, 반응용매의 첨가량 순으로 분석되었다(Table 5). 이러한 경향은 총 DAG 합성량의 증가에 있어 반응시간이 중요 변수라는 Ferreira-Dias 등(21)의 연구결과와 유사하였다.

MAG 합성물의 변화

실험조건에서의 반응표면은 Fig. 4에 나타내었다. 또한 요인변수에 따른 MAG 합성을 변화는 Table 2에 나타내었으며 회

Table 3. Taylor second equations calculated by response surface methodology program

Response	Taylor second equation ¹⁾	R ²	Significance
1,3-DAG	$Y_1 = -61.480950 + 1.533175X_1 + 7.542900X_2 + 13.456000X_3 - 0.008000X_1^2 - 0.068800X_1X_2 - 0.188200X_2^2 - 0.150500X_1X_3 - 0.136000X_2X_3 - 2.100000X_3^2$	0.8615	0.0487
1,2-DAG	$Y_2 = -123.743300 + 3.781700X_1 + 9.962100X_2 + 18.083500X_3 - 0.027200X_1^2 - 0.081200X_1X_2 - 0.408800X_2^2 - 0.147500X_1X_3 + 0.284000X_2X_3 - 5.650000X_3^2$	0.8775	0.0353
Total DAG	$Y_3 = -185.224250 + 5.314875X_1 + 17.505000X_2 + 31.539500X_3 - 0.035200X_1^2 - 0.150000X_1X_2 - 0.597000X_2^2 - 0.298000X_1X_3 + 0.148000X_2X_3 - 7.750000X_3^2$	0.9074	0.0166
MAG	$Y_4 = -42.741338 + 1.104775X_1 + 4.263800X_2 + 9.941000X_3 - 0.006263X_1^2 - 0.034900X_1X_2 - 0.138400X_2^2 - 0.154500X_1X_3 - 0.186000X_2X_3 - 0.450000X_3^2$	0.9099	0.0154
Total DAG + MAG	$Y_5 = -227.965588 + 6.419650X_1 + 21.768800X_2 + 41.480500X_3 - 0.041463X_1^2 - 0.184900X_1X_2 - 0.735400X_2^2 - 0.452500X_1X_3 - 0.038000X_2X_3 - 8.200000X_3^2$	0.9315	0.0072

¹⁾X₁: incubation temperature (°C), X₂: incubation time (hr), X₃: adding amount of hexane (mL).

Table 4. Predicted levels of mono- and di-acylglycerol production conditions of the optimum responses by the ridge analysis

Condition	1,3-DAG		1,2-DAG		Total DAG ¹⁾		MAG		Total DAG + MAG ²⁾	
	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.
Temp. (°C)	44.92	44.62	56.32	40.92	53.82	42.65	64.14	43.61	54.07	42.84
Time (hr)	10.24	1.78	6.95	2.46	8.03	2.09	7.00	1.97	7.98	2.07
Hexane (mL)	1.16	0.87	1.04	0.94	1.08	0.91	0.13	0.84	1.02	0.89
Responses	20.43	2.42	26.78	6.32	45.09	9.06	9.57	0.45	53.54	9.56
Morphology	Saddle point		Maximum point		Maximum point		Saddle point		Maximum point	

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

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

Table 5. Regression analysis for regression model of 1,3-DAG, 1,2-DAG, total DAG, MAG, and total DAG + MAG production

Processing conditions	F-ratio				
	1,3-DAG	1,2-DAG	Total DAG	MAG	Total DAG + MAG
Incubation temp. (°C)	1.91	6.83 ¹⁾	6.14 ¹⁾	5.60 ¹⁾	8.37 ¹⁾
Incubation time (hr)	8.63 ¹⁾	7.56 ¹⁾	12.10 ²⁾	11.29 ²⁾	16.76 ²⁾
Hexane (mL)	0.34	1.33	1.15	1.75	1.44

¹⁾Significant at 5% level.

²⁾Significant at 1% level.

귀식의 R²는 0.9099이었으며 유의성은 0.0154으로 5% 이내의 유의수준을 보였다(Table 3). 이때 예측된 정상점은 안장점이므로 능선분석을 실시한 결과, 이때 최대값은 9.57 area%로 예측되었다. 이때 생성조건은 반응온도 64.14°C, 반응시간 7.00시간 및 반응용매인 hexane의 혼합 양 0.13 mL이었다. 또한 최소치는 요인변수들이 43.61°C, 1.97시간, 0.84 mL인 조건에서 0.45 area%이었다(Table 4). 각각의 요인변수들의 Taylor 2차 방정식에 대한 영향을 살펴보면 반응시간, 반응온도 순으로 영향을 받았으며 반응용매의 첨가량에 대한 영향은 미약했다(Table 5).

총 DAG + MAG 생성 최적화 연구

SAS 프로그램을 이용한 회귀분석한 결과는 Table 3과 같았으며 예측된 정상점은 최적점을 나타내었다. 최적점을 나타내는 요인변수 조건은 54.07°C, 7.98시간, 1.02 mL이었으며 이때 예측된 값은 53.54 area%이었다. 또한 능선분석을 이용한 최소치를 분석한 결과 42.84°C, 2.07시간, 0.89 mL 조건에서 9.56 area%로 예측되었다(Table 4). 회귀식의 R²는 0.9315이었으며 유의성은 0.0072으로 1% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 회귀식에 대한 독립변수의 영향도를 살펴보면 F-ratio가 요인변수 조건인 반응온도, 반응시간 및 hexane 첨가량 조건에서 8.37

($p < 0.05$), 16.76($p < 0.01$), 1.44을 보였으며 이를 살펴본 결과 회귀식에 대한 독립변수 영향도는 반응시간, 반응온도, hexane 첨가량 순으로 회귀식에 영향을 주는 것으로 분석되었다. 위의 실험 내용을 종합해본 결과 종속변수인 1,3-DAG, 1,2-DAG, 총 DAG, MAG 및 총 DAG + MAG의 합 모두 각각의 회귀식에 대한 요인변수들의 영향도에 정도에 차이는 있지만 반응시간, 반응온도 순으로 회귀식에 영향을 미쳤으나 반응용매의 첨가량의 영향성은 적은 것으로 분석되었다(Table 5). 또한 정준분석과 능선분석을 통한 실험계획 범위 내에서의 요인변수의 변화에 따른 독립변수의 최대, 최소 조건들을 살펴볼 수 있었으며 위 실험에서 결과를 얻고자 하는 RSM 방법을 통한 옥수수유의 총 DAG + MAG 생성 최적화 조건은 회분식 반응기에 옥수수유와 글리세롤을 2:1 몰 비율로 혼합 후 반응용매인 Lipozyme RM IM을 옥수수유 무게의 5% 넣은 고정된 조건과 실험계획 범위 내에서 반응온도, 반응시간 및 반응용매인 hexane 첨가량이 각각 54.07°C, 7.98시간, 1.02 mL 실험 조건에서 최대치는 53.54 area%으로 예측되었다. 이는 Park과 Lee(22)이 반응용매를 첨가하지 않은 조건과 대용량 회분식 반응기를 사용한 glycerolysis 반응에 의하여 48시간 후 총 DAG + MAG 함량이 54.30%인 유지를 생산한 연구와 비교하여 효소량과 교반속도

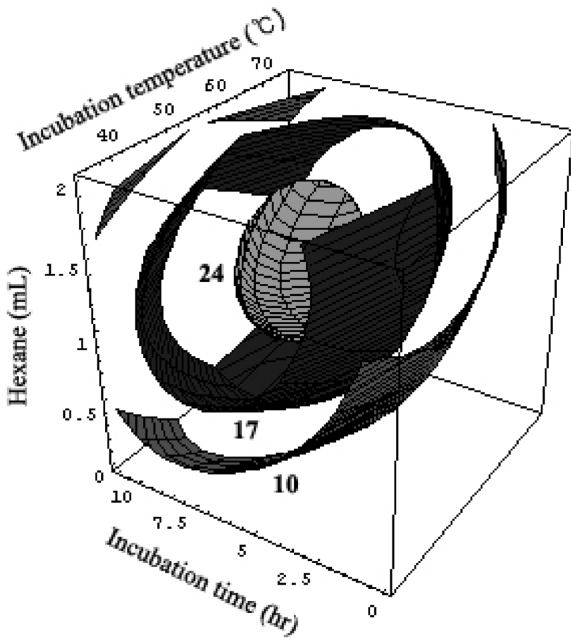


Fig. 2. Response surface for 1,2-diacylglycerol content at constant values (10, 17, and 24 area%) as a function of incubation temperature, incubation time, and hexane content.

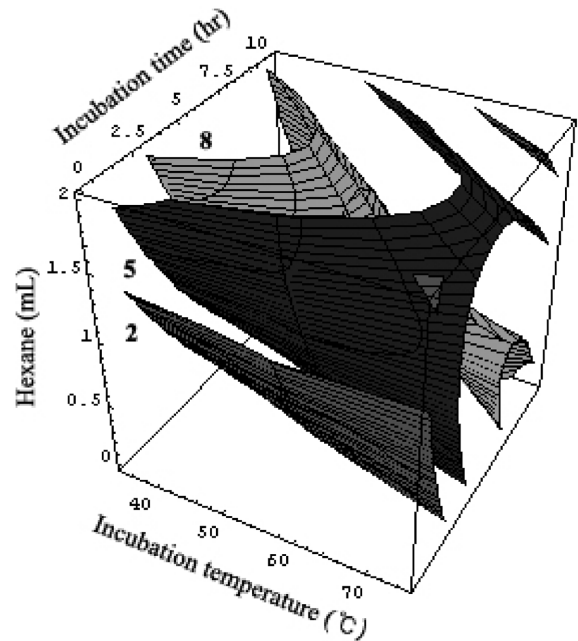


Fig. 4. Response surface for monoacylglycerol content at constant values (2, 5, and 8 area%) as a function of incubation temperature, incubation time, and hexane content.

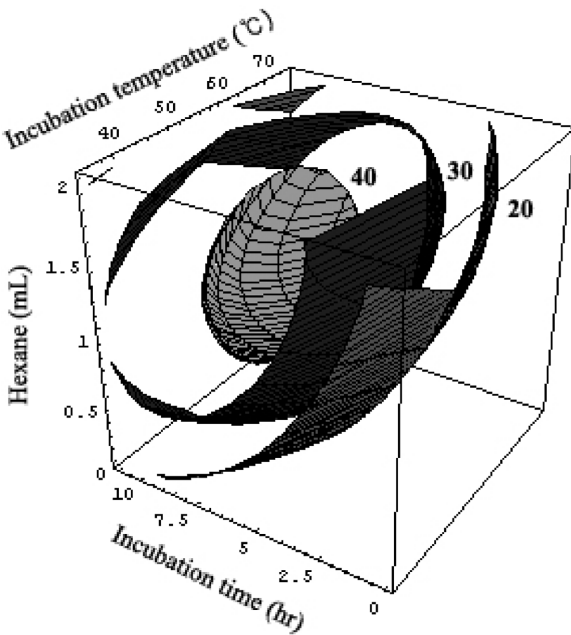


Fig. 3. Response surface for 1,3-diacylglycerol and 1,2-diacylglycerol content at constant values (20, 30, and 40 area%) as a function of incubation temperature, incubation time, and hexane content.

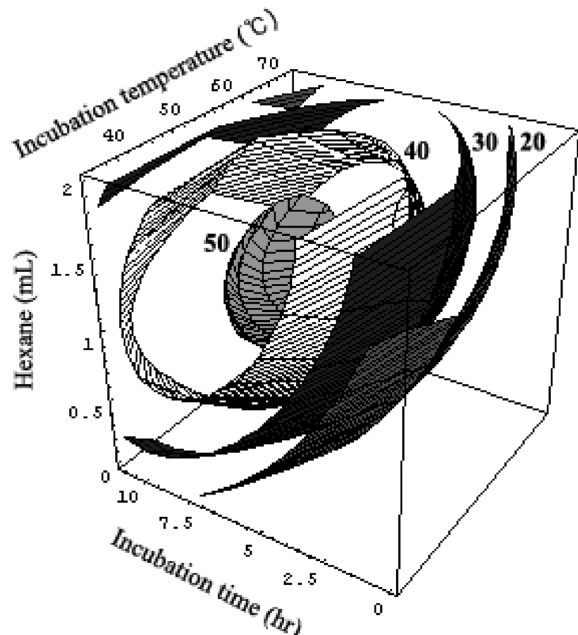


Fig. 5. Response surface for 1,3-diacylglycerol, 1,2-diacylglycerol and monoacylglycerol content at constant values (20, 30, 40, and 50 area%) as a function of incubation temperature, incubation time, and hexane content.

를 증가시킨 조건, 반응용매인 hexane 첨가 및 단시간 조건에서 유사한 결과 값을 예측할 수 있었다.

요 약

Lipozyme RM IM 효소적 촉매를 사용한 glycerolysis에 의한 옥수수유로부터 1,3-DAG(Y_1), 1,2-DAG(Y_2), 총 DAG(Y_3), MAG

(Y_4), 및 총 DAG+MAG의 합성 양(Y_5)의 생성 최적화를 반응표면분석을 이용하여 모니터링 하였으며 반응온도(35-75°C, X_1), 반응시간(1-11시간, X_2) 및 hexane의 혼합 양(0-2 mL, X_3)을 변수로 한 중심합성계획으로 최적화 실험하였다. 1,3-DAG는 반응온도(44.92°C), 반응시간(10.24시간) 및 hexane 첨가량(1.16 mL) 조건에서 20.43 area%로 최대값을 나타내었으며 1,2-DAG는 56.32°C, 6.95시간 및 1.04 mL 조건에서 26.78 area%로 최대

값을 예측할 수 있었다. 총 DAG는 53.82°C, 8.03시간 및 1.08 mL 실험 조건에서 45.09 area% 최대값을 보였다. 또한 MAG 생산 최적조건은 64.14°C, 7.00시간 및 0.13 mL에서 최대값 9.57 area%로 예측되었으며 총 DAG+MAG 생산 최적조건은 54.07°C, 7.98시간, 1.02 mL이었으며 이때 예측된 값은 53.54 area%이었다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것입니다(02-PJ1-PG11-VN02-SV04-0009).

문 헌

- 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)
- 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)
- AOCS. DAG and Food Formulation. p. 550. American Oil Chemical Society, Champaign, IL, USA (2002)
- Lee JS, Jang Y, Yang TH. Low-calorie Structured Lipids Synthesis by Enzymatic Transesterification. Korea Ministry of Agriculture and Forestry, Kyonggi, Korea. pp. 9-17 (1999)
- 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)
- 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)
- 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)
- Boruscheuer UT. Lipase-catalyzed syntheses of monoacylglycerols. *Enzyme Microb. Technol.* 17: 578-586 (1995)
- Park KJ, Ahn EY, Kwon GS, Kim KS, Kang ST. Diacylglycerol production by enzymatic glycerolysis of soybean oil. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 32: 84-90 (2004)
- Lee GD, Lee JE, Kwon JH. Application of response surface methodology in food industry. *Food Sci. Ind.* 33: 33-45 (2000)
- Sung NK. SAS/STAT Regression Analysis. Freedom Academy, Seoul, Korea. pp. 237-286 (2000)
- Jeong YJ, Lee GD, Kim KS. Optimization for the fermentation condition of persimmon vinegar using response surface methodology. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1203-1208 (1998)
- Bae DK, Choi HJ, Son JH, Park MH, Bae JH, An BJ, Bae MJ, Choi C. Optimization for the process of ethanol extracts of persimmon leaf using response surface methodology. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 43: 218-224 (2000)
- Lee DS, Noh BS, Bae SY, Kim K. Characterization of fatty acids composition in vegetable oils by gas chromatography and chemometrics. *Anal. Chim. Acta.* 358: 163-175 (1998)
- Naz S, Sheikh H, Siddiqi R, Sayeed SA. Oxidative stability of olive, corn and soybean oil under different conditions. *Food Chem.* 88: 253-259 (2004)
- A Food Distribution Yearbook. Food Journal, Seoul, Korea. pp. 292-299 (2002)
- Lee GD, Kim JS, Kwon JH. Monitoring of dynamic changes in maillard reaction substrates by response surface methodology. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 212-219 (1996)
- SAS Institute, Inc. SAS User's Guide. 4th ed., Vol. 2. Statistical Analysis System Institute, Cary, NC, USA (1998)
- Foglia TA, Jones KC. Quantitation of neutral lipid mixtures using HPLC with light scattering detection. *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.* 20: 1829-1838 (1997)
- Bae DK, Choi HJ, Son JH, Park MH, Bae JH, An BJ, Bae MJ, Choi C. Optimization for the process of extracts of persimmon leaf using response surface methodology. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 43: 218-224 (2000)
- Ferreira-Dias S, Correia AC, Baptista FO, Fonseca MMR. Contribution of response surface design to the development of glycerolysis systems catalyzed by commercial immobilized lipases. *J. Mol. Catal. Enz.* 11: 699-711 (2001)
- Park RK, Lee KT. Synthesis and characterization of mono- and diacylglycerol enriched functional oil by enzymatic glycerolysis of corn oil. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 211-216 (2004)

(2004년 7월 1일 접수; 2004년 9월 16일 채택)