

추출된 옥수수유와 땅콩유로부터 Conjugated Linoleic Acid를 함유한 재구성지질의 효소적 합성 및 분석

김남숙 · 이기택[†]
충남대학교 식품공학과

Enzymatic Synthesis of Structured Lipids Containing Conjugated Linoleic Acid from Extracted Corn and Peanut Oil

Nam-Sook Kim and Ki-Teak Lee[†]

Dept. of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

Structured lipids (SLs) were synthesized by acidolysis of crude oils (corn and peanut oil) and conjugated linoleic acid (CLA) with a molar ratio of 1:3 (extracted oil:CLA) in a shaking water bath. The reaction was performed for various reaction time (1, 2, 3, 6 and 24 hr) at 55°C with 175 rpm catalyzed by *sn*-1,3 specific IM 60 lipase from *Rhizomucor miehei*. The content of the incorporated CLA increased with the prolonged reaction time, showing 7.5~9.3 mol% in the synthesized SL triacylglycerol molecules from the extracted corn and peanut oil. However, total tocopherol content in SLs decreased up to about 20% compared to the content in extracted oils. Among the CLA isomers, 6.3~7.5 mol% of *cis* 9, *trans* 11- and *trans* 10, *cis* 12-CLA known as physiologically active compounds are contained in corn and peanut SLs.

Key words: structured lipids, conjugated linoleic acid, *Rhizomucor miehei*, tocopherol, acidolysis

서 론

옥수수유와 땅콩유는 불포화 지방산(oleic acid, linoleic acid 등)이 다량 함유되어 있는 식물성 유지로써, 생체 내에서 과산화지질의 생성을 억제하는 tocopherol류와 장내 콜레스테롤 흡수의 선별적 저해로 그 수치를 낮추는 효능을 가지는 식물성스테롤(phytosterol) 등의 좋은 공급원이다(1-4). 옥수수유의 배아에는 30~40%의 유지가 함유되어 있고 산화·가열 안정성이 뛰어난 뿐 아니라, 발연점이 낮아 장기간 사용이 가능하며 필수 지방산의 함량이 높아, 근래 옥수수유가 대두유에 이어 수요가 증가하고 있다. 또한 땅콩유에 다량 함유되어 있는 불포화 지방산 중 monounsaturated fatty acid(MUFA)는 LDL-cholesterol 수치를 낮춤으로써 심혈관계질환에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(3-7).

최근 기능성 지질 소재로써 관심의 대상이 되고 있는 conjugated linoleic acid(CLA)는 linoleic acid의 이성체로써 수소첨가 반응 시 소량 생성되거나, 반추동물로부터 유래한 육류나 유제품 등에 미량 함유되어 있다(8,9). 이러한 CLA는 항산화 효과, 항암효과, 면역증강효과, 지방축적 억제효과, 지방분해 촉진효과 등과 같이 다양한 생리활성 효과를 가지고 있어 최근 주목받고 있으며(10-12), 그 효과는 *cis* 9, *trans*

11-CLA와 *trans* 10, *cis* 12-CLA가 CLA 이성질체 중 가장 높다고 보고되고 있다(13,14). 이와 같은 기능성 지방산을 식용유 및 기능성 식품소재로 이용하기 위하여 triacylglycerol (TAG) 형태로의 변환이 요구되는데 이의 한 방법으로 재구성 지질(structured lipid)을 들 수 있다(15).

재구성 지질이란, 글리세롤(glycerol) 분자 내에서 화학적 또는 효소적 반응을 통해 TAG의 지방산 조성 또는 위치를 변화시켜 유지의 물리·화학적 특성을 바꾸거나 영양학적 특성을 개선시키기 위해 합성된 지질을 말한다(15). 재구성 지질의 효소적 합성은 반응 위치 특이성을 갖는 lipase를 이용하여 TAG의 에스테르 결합을 지방산과 글리세롤로 가수분해 한 후 기능성 지방산을 역으로 에스테르 결합하며, 화학적 반응에 비해 환경 친화적인 장점이 있다(16).

본 연구에서는 옥수수와 땅콩으로부터 추출조건을 달리 하였을 때 추출된 유지의 지방산 조성 및 phytosterol, tocopherol 함량 변화를 살펴보고, 추출된 유지와 CLA를 원료로 하고 *Rhizomucor miehei*(EC 3.1.1.3)의 지방효소로써 macroporous anion exchange resin에 고정화되어 있으며 TAG의 *sn*-1,3 위치에 특이적으로 반응하는 IM 60(고정화 효소)을 이용하여 합성된 재구성 지질의 특성을 알아보았다(17,18).

[†]Corresponding author. E-mail: ktleee@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6729, Fax: 82-42-822-6729

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 옥수수, 땅콩은 2002년 8월에 인근 시장(대전 유성)에서 구입하여 유지추출에 이용되었으며, 추출된 유지는 질소 충전 후 밀봉된 상태로 -20°C 의 냉동고에 저장하며 본 실험에서 사용하였다. Conjugated linoleic acid mixture(CLA 70TM)는 (주)라이브 맥스(경기도 성남)로부터 제공받았으며, acidolysis를 통한 재구성 지질 합성에 쓰여진 고정화 효소 IM 60은 Novo Nordisk Biochemical(Danbury, USA)에서 구입하였다.

유지의 추출 및 정제

유지의 추출은 35°C , 80°C 의 조건 하에서 1, 3, 6시간 단위로 개별적으로 실시되었다. 35°C 에서의 추출은 100 rpm의 항온교반수조(Hanil Science Industrial, BS-21, Korea)에서 이루어졌으며, 80°C 온도에서의 추출에는 Soxhlet extractor(Daihan Labtech Co., Ltd., Korea)를 사용하였다. 추출의 전 처리로써 각각의 시료를 분말 형태로 분쇄한 후 drying하였으며, 그 후 삼각 플라스크와 수기병에 40 g씩 취한 다음 시료량의 0.01% butylated hydroxytoluene(BHT, 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol; Junsei Chemical Co., Ltd., Japan)와 hexane 50 mL를 첨가하였다. 각 단위 시간대별로 추출된 시료들은 sodium sulfate anhydrous(Junsei Chemical Co., Ltd., Japan) column과 감압농축기(EYELA, N-1000, Japan)에 의한 정제 및 농축 과정을 거친 다음 최종적으로 질소를 주입하여 hexane을 제거하였다(19).

Phytosterol의 정량 분석

시험관(25 mL)에 각각의 시료 0.1 g씩 취한 후 에탄올(95%)로 희석시킨 2 N KOH 2 mL를 가하고, 80°C 로 설정된 항온수조에서 15분간 비누화 하였다. 비누화 반응 완료 후 시험관에 2 mL 증류수와 2 mL hexane을 넣고 층분리가 일어나도록 충분히 진탕시켜 상층액인 hexane층을 취하였다. 이후 재차 2 mL 증류수와 2 mL hexane을 첨가하여 hexane층을 재분리하였다. 분리한 총 4 mL hexane층에 내부 표준물질로써 5α -cholestane(1 mg/mL in hexane) 100 μL 를 가하여 녹인 후, sodium sulfate anhydrous column에 통과시켜서 수분 및 불순물을 제거하였다. 추출이 완료된 비비누화 복합물질을 GC vial에 취하고 GC기기를 이용하여 분석하였다. GC는 Hewlett-Packard 6890 series(Avondale, PA, USA)를 이용하였으며, fused-silica capillary column(Ultra 2, 30 m \times 0.33 mm ID, Avondale, PA, USA)이 장착된 flame-ionization detector(FID)를 사용하였다. 등온분석을 위한 column 온도는 285°C , injector와 detector 온도는 각각 300°C 로 설정하였다. 이송기체(N_2)의 total inlet gas flow는 23.0 mL/min이었으며 split(20:1) mode를 사용하였다(20). 분석은 3회 실시하였으며 분석치를 통계처리하였다.

지방산 조성 분석

시료에서 추출한 조지방과 재구성 합성된 지질의 지방산 조성은 GC(Hewlett-Packard 6890 series, Avondale, PA, USA)를 이용하여 분석하였다. 지방산 분석 전 시료의 전처리로 methylation을 실시하였으며, 그 방법은 다음과 같다. 시험관(25 mL)에 시료(100 mg)를 취하여 6% H_2SO_4 (in methyl alcohol) 3 mL와 내부표준물질인 heptadecanoic acid(1 mg/mL in hexane) 10 μL 를 가하고 충분히 진탕하여 70°C oven에서 1시간동안 가열하였다. 그 후 시료를 즉시 얼음 위에서 냉각하고 hexane 2 mL를 가하여 hexane층만을 취해 anhydrous sodium sulfate column에 통과시켜서 수분과 이물질을 제거하였다(21). GC의 분석조건은 Table 1에 나타내었다. 분석은 2회 하였으며, 평균값을 제시하였다.

Tocopherol 정량 분석

옥수수과 땅콩에서 추출한 유지와 재구성 지질에 함유되어 있는 α , γ 그리고 δ -tocopherol의 정량은 표준품을 hexane에 50~125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 희석한 후 HPLC에 의한 외부표준물질 분석을 통해 얻어진 그래프를 이용하여 함량을 구하였다. 정량 분석을 위한 준비로 vial(25 mL)에 시료 0.06 g을 취하여 hexane(10 mL)으로 희석시킨 후 PTFE syringe filter(25 mm, 0.2 μm , Whatman, USA)를 이용하여 여과시켰다. 분석은 isocratic high-performance liquid chromatography로, Yonglin SP930D dual pump와 Yonglin UV830 detector(Anyang, Korea)로 구성된 system을 이용하여 295 nm에서 측정하였다. Column은 Chromsep Catridge Li-Chrosorb DIOL(5 μm , 3 \times 100 mm, Chrompack, Raritan, NJ, USA)을 사용하였으며, 이동상으로 0.1% acetic acid를 혼합한 hexane을 분당 0.5 mL로 흘려주었다. 얻어진 크로마토그램의 integration은 Autochro-2000 software(Yonglin, Anyang, Korea)를 이용하여 실시하였다(20). 분석은 3회 실시하였으며 분석치를 통계처리하였다.

재구성 지질의 합성 및 triacylglycerol 분리·분석

본 실험에서 재구성 지질은 지방산과 일정 몰 비율로 첨가한 CLA를 지방산의 triacylglycerol(TAG)의 sn-1,3 위치에 작용하는 효소를 이용한 acidolysis로 합성하였다. 추출한 유지와 CLA를 시험관(25 mL)에 1:3 몰(0.2 g : 0.19 g) 비율

Table 1. GC conditions for fatty acid composition analysis

Items	Condition
Column	Fused-silica capillary column (Supelcowax TM -10, 60 m \times 0.25 mm ID, 0.25 μm film thickness, Bellefonte, PA, USA)
Temperature	Injector temp., 250°C ; Detector temp., 260°C ; Column temp., 100°C 5 min \rightarrow $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 220°C 20 min
Gas	Nitrogen (52.5 mL/min)
Detector	FID (Flame ionized detector)
Sample load	1 μL

로 혼합하고 전체 기질 무게의 15%에 해당하는 고정화 효소 IM 60(0.06 g)을 첨가하여 반응시켰다. 반응은 55°C, 175 rpm의 항온교반수조에서 단위 시간별(1, 2, 3, 6, 24 hr)로 실시하였으며, 반응이 완료된 시료는 즉시 PTFE syringe filter로 여과(25 mm, 0.2 µm, Whatman, USA)하여 효소를 제거함으로써 더 이상의 반응을 억제시켰다. CLA와 합성된 재구성 지질을 anhydrous sodium sulfate column으로 수분과 이물질을 제거한 후, 감압농축기를 이용하여 시료중의 hexane을 제거하였다.

합성된 재구성지질 TAG 분자의 지방산 조성을 분석하기 위해 TLC silica plate(10×20 cm Merck, Germany)를 이용하여 합성 반응물로부터 TAG를 분리하였다. 시료를 hexane (SL product : hexane=100 µL : 1 mL)으로 희석시킨 후, hexane : diethyl ether : acetic acid=50 : 50 : 1(volume ratio)을 전개용매로 하여 TLC상에서 전개시켰다. 전개가 완료된 TLC로부터 R_f값이 0.58(TAG)인 부위만을 취하여 위의 지방산 분석 방법과 같은 조건으로 methylation한 후, GC를 이용하여 분석하였다(17).

통계처리

실험결과의 유의성은 SAS(statistical analysis system, version 8.01) program의 Duncan's multiple range test를 실시하여 p<0.05 수준에서 검정하였다(22).

결과 및 고찰

옥수수과 땅콩으로부터의 유지 추출

시간과 온도에 따른 유지의 추출율은 Fig. 1에 나타낸 바와 같이, 옥수수와 땅콩 모두 35°C, 6시간 추출조건에서 각각 3.59, 47.98%로 여러 추출조건 중 가장 높은 수율을 나타내었다. 지정된 온도(35, 80°C)에서 시간(1, 3, 6 hr)이 진행됨에 따른 추출율을 분석한 결과 옥수수는 35°C 조건의 추출율이 각각 3.02, 3.03, 3.59%로 다소 높아진 경향을 보인 반면, 80°C

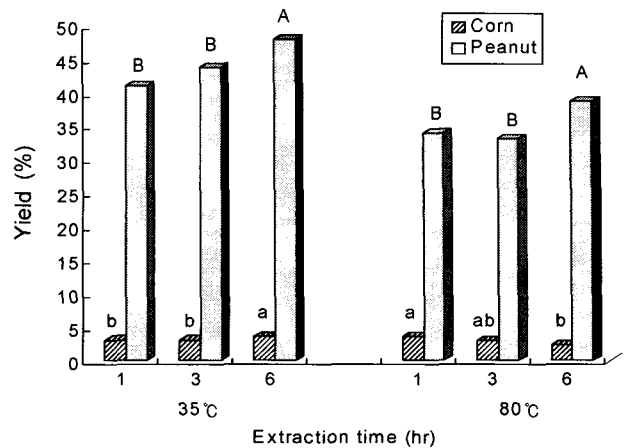


Fig. 1. Extraction yields of corn and peanut oil. Values with different letter (a, b in corn oil; A, B in peanut oil) are significantly different (p<0.05).

조건에서는 각각 3.46, 2.90, 2.32%로 다소 감소하는 경향을 보였다. 반면 땅콩의 경우는 추출율이 각각 41.08, 43.69, 47.98%(35°C)와 33.85, 33.11, 38.75%(80°C)로 추출시간이 길수록 유지 추출율이 증가하는 경향을 나타내었고 6 hr 추출 시 두 온도 모두에서 유의적으로 가장 높았다(p<0.05). 전반적인 추출율을 볼 때, 35°C의 항온교반수조를 통한 추출이 80°C 조건하의 Soxhlet extractor보다 효율적 측면에서 높은 것으로 사료된다.

Phytosterol류의 함량

지정된 온도(35, 80°C)에서 시간(1, 3, 6 hr)을 달리하여 추출한 옥수수유와 땅콩유에 함유되어 있는 campesterol, stigmasterol, β-sitosterol 그리고 총 phytosterol 함량을 비교·분석하였다(Table 2). 그 결과 추출된 옥수수유의 경우 35°C에서 6 hr의 함량(campesterol, 0.172; stigmasterol, 0.096; β-sitosterol, 0.655; total phytosterol, 0.923%)이 유의적으로 가장 높았고(p<0.05), 80°C에서는 3 hr에서 total phytosterol 함량(0.932%)이 가장 높았으며, 전체적으로 땅콩유의 함량

Table 2. Phytosterol contents in extracted corn and peanut oil (Unit: % weight)

	Reaction		Campesterol	Stigmasterol	β-Sitosterol	Total phytosterol
	Temp. (°C)	Time (hr)				
Corn oil	35	1	0.140 ^{b1)}	0.063 ^b	0.552 ^b	0.755 ^b
		3	0.147 ^b	0.071 ^b	0.516 ^b	0.734 ^b
		6	0.172 ^a	0.096 ^a	0.655 ^a	0.923 ^a
	80	1	0.183 ^b	0.075 ^a	0.634 ^c	0.892 ^c
		3	0.192 ^a	0.050 ^b	0.690 ^a	0.932 ^a
		6	0.182 ^b	0.071 ^a	0.666 ^b	0.919 ^b
Peanut oil	35	1	0.010 ^a	0.007 ^a	0.042 ^b	0.059 ^b
		3	0.011 ^a	0.007 ^a	0.050 ^a	0.068 ^a
		6	0.009 ^a	0.007 ^a	0.040 ^b	0.056 ^b
	80	1	0.008 ^a	0.006 ^a	0.041 ^b	0.055 ^c
		3	0.012 ^a	0.009 ^a	0.057 ^a	0.078 ^a
		6	0.010 ^a	0.008 ^a	0.047 ^b	0.065 ^b

¹⁾Values with different superscript within the same column are significantly different (p<0.05).

보다 평균 약 13배 가량 높은 수치를 나타내었다. 추출된 땅콩유의 total phytosterol 함량은 35°C와 80°C 모두 3시간에서 유의적으로 가장 높은 함량을 보였으나($p < 0.05$), 총 phytosterol 함량이 모두 0.1% 이하로 조사되었다. 또한 추출된 두 유지의 phytosterol 이성질체(campesterol, stigmasterol, β -sitosterol)의 함량을 비교해 보았을 때, 모두 β -sitosterol의 함량이 가장 높았다.

추출된 유지와 재구성 지질의 tocopherol 정량

온도(35, 80°C)와 시간(1, 3, 6 hr) 조건을 달리하여 옥수수유와 땅콩유로부터 추출한 유지와 단위 시간별(1, 2, 3, 6, 24 hr)로 반응하여 합성한 재구성 지질에 함유되어 있는 α , γ , δ -tocopherol을 살펴보았다(Table 3, 4). 옥수수유에 함유되어 있는 tocopherol은 Table 3에서 보는 바와 같이 δ -tocopherol의 함량이 전체 tocopherol의 약 90%를 차지하였다. 각 추출 조건에 따른 옥수수유의 총 tocopherol 함량은 35°C, 1시간 추출 조건에서 2.115%로 가장 높게 나타났으며, 땅콩유의 경우에는 α , γ -tocopherol이 고루 함유되었으나 δ -tocopherol은 검출되지 않았고, 총 tocopherol 함량은 35, 80°C 온도 조건 모두 1시간 반응에서 각각 0.110, 0.095%로 가장 높은 함유량을 보였으며, 여러 추출 조건에서 총 tocopherol 함량은 모두 0.1% 이하였다.

한편, 재구성 지질의 tocopherol 분석 결과(Table 4) 추출된 옥수수유(35°C, 6시간)로 합성한 재구성 지질에 함유된 tocopherol은 1, 2, 3시간 반응조건에서는 α , γ , δ -tocopherol 등이 모두 검출되었으나 6시간 이후부터 α -tocopherol은 검출되지 않았고, 총 tocopherol은 0.475%(1 hr)에서 0.411%(24 hr)로 감소되었다. 땅콩유로 합성한 재구성 지질의 경우는 모든 반응시간 조건에서 α -tocopherol만 검출되었으며, 여러 추출 조건에서 총 tocopherol 함량은 모두 0.01% 이하로 옥

Table 3. α , γ , δ -tocopherol contents in extracted corn and peanut oil (Unit: % weight)

	Reaction		Tocopherol			
	Temp. (°C)	Time (hr)	α	γ	δ	Total
Corn oil	35	1	0.028 ^{a1)}	0.204 ^a	1.883 ^a	2.115 ^a
		3	0.010 ^b	0.128 ^b	1.414 ^b	1.552 ^b
		6	0.016 ^b	0.181 ^a	1.464 ^b	1.661 ^b
	80	1	0.018 ^a	0.159 ^a	1.587 ^a	1.764 ^a
		3	0.008 ^b	0.139 ^b	1.494 ^b	1.641 ^b
		6	0.009 ^b	0.115 ^c	1.480 ^b	1.604 ^b
Peanut oil	35	1	0.058 ^a	0.052 ^a	nd ²⁾	0.110 ^a
		3	0.035 ^b	0.037 ^b	nd	0.072 ^b
		6	0.032 ^b	0.048 ^a	nd	0.080 ^b
	80	1	0.050 ^a	0.045 ^a	nd	0.095 ^a
		3	0.041 ^b	0.045 ^a	nd	0.086 ^b
		6	0.036 ^b	0.045 ^a	nd	0.081 ^b

¹⁾Values with different superscript within the same column are significantly different ($p < 0.05$).

²⁾nd: not detected.

Table 4. α , γ , δ -tocopherol contents in structured lipids (SLs) (Unit: % weight)

	Reaction time (hr)	Tocopherol			
		α	γ	δ	Total
CSLs ¹⁾	1	0.005 ^{a3)}	0.023 ^b	0.447 ^b	0.475 ^b
	2	0.006 ^a	0.027 ^a	0.490 ^a	0.523 ^a
	3	0.003 ^a	0.021 ^b	0.447 ^b	0.471 ^b
	6	nd ⁴⁾	0.023 ^b	0.460 ^b	0.483 ^b
	24	nd	0.022 ^b	0.389 ^c	0.411 ^c
PSLs ²⁾	1	0.008 ^a	nd	nd	0.008 ^a
	2	0.007 ^a	nd	nd	0.007 ^a
	3	0.006 ^a	nd	nd	0.006 ^a
	6	0.006 ^a	nd	nd	0.006 ^a
	24	0.005 ^a	nd	nd	0.005 ^a

¹⁾Molar ratio of substrate was 1 : 3 (crude corn oil : CLA) and reaction was conducted at 55°C, 175 rpm in a shaking water bath.

²⁾Molar ratio of substrate was 1 : 3 (crude peanut oil : CLA) and reaction was conducted at 55°C, 175 rpm in a shaking water bath.

³⁾Values with different superscript within the same column are significantly different ($p < 0.05$).

⁴⁾nd: not detected.

수수유로 합성한 재구성 지질에 비해 낮은 값을 나타내었다.

본 실험결과 추출된 유지와 합성한 유지의 총 tocopherol 함량이 지정된 온도의 추출시간과 반응(합성)시간에 따라 감소되는 경향을 보이는데, 이는 열에 의한 유지의 산패에서 tocopherol이 항산화 작용에 사용되었기 때문인 것으로 사료된다(23).

지방산 조성 및 재구성 지질의 CLA 함량

옥수수와 땅콩유로부터 추출한 조지방(35°C, 6 hr)의 지방산 조성 및 함량은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 식물성 유지류의 전형적인 지방산 조성의 특징을 나타내었다. 옥수수유는 불포화 지방산인 linoleic acid가 44.68 mol%, oleic acid가 31.38 mol%로 구성되어있으며, 포화 지방산인 palmitic acid (20.13 mol%)의 비율이 땅콩유보다 높았다. 한편 땅콩유는 oleic acid(55.63 mol%)가 가장 높은 조성 비율을 차지하였

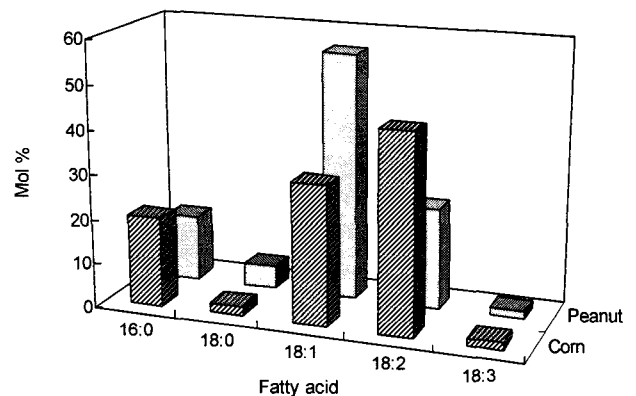


Fig. 2. Fatty acid composition of extracted corn and peanut oil.

Table 5. Fatty acid composition of structured lipids (SLs) and conjugated linoleic acid (CLA) mixture¹⁾

	Reaction time(hr)	Fatty acid composition (mol%)									Total CLA
		16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	CLA1 ²⁾	CLA2 ³⁾	CLA3 ⁴⁾	CLA4 ⁵⁾	
CSLs ⁷⁾	0	20.13	2.20	31.38	44.68	1.61	nd ⁶⁾	nd	nd	nd	nd
	1	14.04	1.17	29.55	53.03	0.88	0.55	0.55	0.04	0.19	1.33
	2	15.75	1.59	30.45	50.17	0.92	0.38	0.45	0.11	0.21	1.15
	3	15.82	1.69	29.95	49.72	0.92	0.78	0.76	0.12	0.24	1.90
	6	15.69	1.72	29.66	47.53	0.88	1.87	1.86	0.29	0.50	4.52
	24	15.25	1.70	28.48	44.51	0.81	3.74	3.76	0.65	1.10	9.25
CLA		5.42	1.52	19.52	1.90	nd	34.86	35.61	0.53	0.64	71.64
PSLs ⁸⁾	0	14.82	5.16	55.63	22.73	1.66	nd	nd	nd	nd	nd
	1	10.66	3.27	50.76	34.60	nd	0.33	0.28	0.04	0.05	0.70
	2	11.12	3.18	49.31	34.88	nd	0.67	0.66	0.06	0.12	1.51
	3	11.41	3.14	49.82	33.94	0.03	0.83	0.71	nd	0.12	1.66
	6	11.47	2.94	46.89	33.81	0.06	2.25	2.23	0.18	0.17	4.83
	24	11.28	3.36	46.38	31.45	0.05	3.14	3.16	0.49	0.69	7.48
CLA		5.42	1.52	19.52	1.90	nd	34.86	35.61	0.53	0.64	71.64

¹⁾CLA fatty acid mixture (70 CLATM) used as a substrate.

²⁾*cis* 9,*trans* 11-CLA. ³⁾*trans* 10,*cis* 12-CLA. ⁴⁾*cis* 9,*cis* 11-, *trans* 11,*trans* 13-CLA.

⁵⁾*trans* 8,*trans* 10-, *trans* 9,*trans* 11-, *trans* 10,*trans* 12-CLA.

⁶⁾nd: not detected.

⁷⁾Molar ratio of substrate was 1:3 (crude corn oil:CLA) and reaction was conducted at 55°C, 175 rpm in a shaking water bath.

⁸⁾Molar ratio of substrate was 1:3 (crude peanut oil:CLA) and reaction was conducted at 55°C, 175 rpm in a shaking water bath.

고, linoleic acid(22.73 mol%), palmitic acid(14.82 mol%), stearic acid(5.16 mol%) 그리고 linolenic acid(1.66 mol%) 등의 함량 비율 순으로 그 조성을 나타내었다. 본 연구에 사용된 conjugated linoleic acid(CLA)의 지방산 조성과 추출유-CLA를 반응시간을 변수로 합성한 재구성 지질의 CLA 함량을 분석한 결과를 Table 5에 나타내었다. 재구성 지질의 지방산 조성 분석 결과, 재구성 지질 내 추출된 유지와 결합된 CLA는 CLA1(*cis* 9,*trans* 11-CLA), CLA2(*trans* 10,*cis* 12-CLA), CLA3(*cis* 9,*cis* 11-, *trans* 11,*trans* 13-CLA), CLA4(*trans* 8,*trans* 10-, *trans* 9,*trans* 11-, *trans* 10,*trans* 12-CLA) 등으로 조사되었고 각각의 함량은 반응시간에 따라 증가하는 경향을 보였다. 여러 반응시간 중 최종 24시간 반응에서 옥수수유와 땅콩유에 결합된 CLA 총 함량이 각각 9.25, 7.48 mol%로 가장 높게 나타났으며, 두 재구성 지질 내 총 CLA 증가율의 약 80%가 6시간과 24시간 반응에서 이루어진 것으로 조사되었다. 또한 CLA의 주요 이성질체 중에서 생리활성이 높다고 알려진 CLA1과 CLA2(12)의 재구성 지질 내 결합은 반응시간에 따라 각각 유사한 함량으로 증가하는 경향을 나타내며, 최종 24시간 반응에서 각각 3.74, 3.76 mol%(옥수수유)와 각각 3.14, 3.16 mol%(땅콩유)로 가장 높은 함량으로써 이 함량이 두 재구성 지질의 총 CLA 함량의 약 80%를 차지하는 것으로 조사되었다.

요 약

식물성 유지자원 중 옥수수유와 땅콩유를 원료로 하여 35°C,

100 rpm의 향온교반수조와 80°C의 soxhlet extractor에서 1, 3, 6시간에 따라 유지를 추출한 후, sn-1,3 위치 특이성을 가지는 IM 60(*Rhizomucor miehei*, EC 3.1.1.3)를 사용하여 acidolysis 방법을 통해 CLA를 함유하는 재구성지질을 합성하였다. 추출된 옥수수유와 땅콩유 모두 35°C, 6시간에서 각각 3.59, 47.98%로 여러 추출 조건 중 가장 높은 수율을 보였고, 추출된 유지 모두 phytosterol 이성질체(campesterol, stigmasterol, β -sitosterol) 중 β -sitosterol의 함량이 가장 높은 수치를 나타내었으며, oleic acid와 linoleic acid가 추출된 유지의 주요 지방산으로 조사되었다. 추출된 유지와 재구성 지질(추출유-CLA)의 tocopherol 함량 분석 결과 추출된 유지와 합성한 유지의 총 tocopherol 함량이 지정된 온도의 추출 시간과 반응(합성)시간에 따라 감소되는 경향을 보였다. 한편, 재구성 지질의 지방산 조성 분석 결과 CLA 총 함량이 반응시간에 따라 증가하는 경향을 보였고 24시간 반응에서 옥수수유와 땅콩유에 결합된 CLA 총 함량이 각각 9.25, 7.48 mol%로 여러 반응시간 중 가장 높게 나타났다. 또한 CLA의 주요 이성질체 중 생리활성이 높다고 알려진 *cis* 9,*trans* 11-CLA와 *trans* 10,*cis* 12-CLA의 재구성 지질 내 함량은 옥수수유와 땅콩유 각각 7.50, 6.30 mol%이었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 국제공동연구지원(MG60105010001-02A0101-00410)에 의하여 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

문헌

1. Strecker LR, Bieber MA, Maza A, Grossberger T, Doskoczynsk WJ. 1996. Edible oil and fat products: oils and oil seeds. In *Bailey's industrial oils and fat products*. 5th ed. John Wiley and Sons, Indianapolis, IN. Vol 2, p 125-158.
2. Strecker LR, Maza A, Winnie FG. 1990. Proceedings of the world conference on edible fats and oils processing: basic principles and modern practices. American Oil Chemist's Society, Champaign, IL. p 303-309.
3. Park WJ, Oh KC, Jung MY, Jo NJ, Joo HK. 2002. *Edible fat & oil*. Yurim publishing, Seoul. p 107-109.
4. Lee KT, Akoh CC. 1998. Solvent-free enzymatic synthesis of structured lipids from peanut oil and caprylic acid in a stirred tank bath reactor. *J Am Oil Chem Soc* 75: 1533-1537.
5. Diehl JF. 2002. Nuts shown to offer health benefits. *INFORM* 13: 134-143.
6. Chyau CC, Mau JL. 2001. Effects of various oils on volatile compounds of deep-fried shallot flavouring. *Food Chem* 74: 41-46.
7. Alper CM, Mattes RD. 2003. Peanut consumption improves indices of cardiovascular disease risk in healthy adults. *J Am Coll Nutr* 22: 133-141.
8. Lee JI, Joo ST, Choi BD, Ha YL, Ha JK, Park GB. 1999. The effect of conjugated linoleic acid (CLA) feeding period on CLA content and fatty acid composition of chicken. *Kor J Anim Sci* 41: 375-386.
9. Hur SJ, Lee JI, Ha YL, Park GB, Joo ST. 2002. Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and animal products. *J Anim Sci & Technol* 44: 427-442.
10. Park GB, Lee JI, Park TS, Kim JH, Shin TS, Kang SJ, Ha YL, Joo ST. 1999. Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on cholesterol and CLA content of egg yolks. *Kor J Anim Sci* 41: 65-74.
11. Park HS. 2000. Mechanism of cancer prevention and other physiological function by conjugated linoleic acid. *The Kor Nutr Soc* 33: 556-565.
12. Ha YL, Pariza MW. 1991. Naturally-occurring novel anti-carcinogens : conjugated dienoic derivatives of linoleic acid (CLA). *J Kor Soc Food Nutr* 20: 401-407.
13. Chin SF, Liu E, Storkson JM, Ha YL, Pariza MW. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J Food Comp Anal* 5: 185-197.
14. Ahn MS, Woo N. 1998. A study on the formation, contents of foods, and antioxidative effect of conjugated linoleic acid. *Kor J Soc Food Sci* 14: 84-89.
15. Lee KT, Akoh CC. 1998. Structured lipids: synthesis and application. *Food Rev Int* 14: 17-34.
16. Lee JS, Jang Y, Yang TH. 1999. *Low-calorie structured lipids synthesis by enzymatic low-calorie transesterification*. Ministry of agriculture and forestry. p 15-17.
17. Lee KT, Akoh CC. 1996. Immobilized lipase-catalyzed production of structured lipids with eicosapentaenoic acid at specific positions. *J Am Oil Chem Soc* 73: 611-615.
18. Lee KT, Akoh CC. 1997. Effects of selected substrate forms on the synthesis of structured lipids by two immobilized lipases. *J Am Oil Chem Soc* 74: 579-584.
19. Cho EJ, Lee KT. 2003. Analysis of phytosterols and tocopherols, and production of structured lipids from the extracted plant oils. *Kor J Food Preserv* 10: 370-375.
20. Park RK, Lee KT. 2003. Optimization for the phytosterol extraction and production of structured lipids from safflower seed. *Kor J Food Preserv* 10: 219-223.
21. Cho EJ, Lee KT. 2003. Synthesis of structured lipids from corn oil and conjugated linoleic acid with immobilized lipase-catalyzed reaction. *Kor J Food Sci Technol* 35: 797-802.
22. SAS Institute, Inc. 2000. *SAS user's guide*. Statistical analysis systems institute, Cary, NC, USA.
23. Lee IB, Choi KJ, Yu KK, Chang KW. 1992. Tocopherols and fatty acids in plant seeds from Korea. *J Kor Agric Chem Soc* 35: 1-5.

(2004년 2월 23일 접수; 2004년 6월 11일 채택)