

## 오메가-3 지방산을 함유한 Sucrose Ester의 합성

신정아<sup>1</sup>·장지선<sup>1</sup>·홍장환<sup>2</sup>·이기택<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 식품공학과  
<sup>2</sup>네오메가

## The Base-Catalyzed Synthesis of Sucrose Ester Containing Omega-3 Fatty Acids

Jung-Ah Shin<sup>1</sup>, Ji-Sun Jang<sup>1</sup>, Jang-Hwan Hong<sup>2</sup> and Ki-Teak Lee<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

<sup>2</sup>Neomega Corp., Daejeon 305-764, Korea

### Abstract

Sucrose esters were synthesized by transesterification of sucrose with docosaheptaenoic acid ethylester mixture (DHAEE). Potassium carbonate as a base-catalyst was used in the presence of dimethylsulfoxide (DMSO) for the reactions. The reactions were performed with the different reaction times and molar ratios of substrates in the presence of surfactant in vacuum. Among the reaction conditions in this study, SE#4 ~ 7 showed the relatively high conversion rate (>96%) of DHAEE, leading to the high yield of sucrose esters. In addition, the product composition was changed from sucrose mono ester to di/tri/polyesters after the prolonged reaction time while the increased molar ratio of DHAEE also resulted in the composition changes of sucrose mono ester to the sucrose di/tri/polyesters. From the reaction (SE#7), conversion ratio was 98.5% in which 87.3% mono ester and 13.7% di/tri/polyester were found, resulting in the highest content of mono ester. Therefore, the sucrose ester containing various rates of mono and di/tri/polyesters, which effects on hydrophilic-lipophilic balance (HLB) values, can be manipulatively synthesized using the reaction conditions reported in this study.

**Key words:** sucrose ester, docosaheptaenoic acid ethylester mixture, dimethyl sulfoxide, transesterification

### 서 론

비이온계 계면활성제 및 유화제로 사용되고 있는 sucrose ester류는 hydrophilic 그룹인 sucrose의 8개의 hydroxyl기에 지방산(fatty acid)이 각각 ester 결합을 이루는 구조를 가지고 있다. 이때 구성된 구조의 지방산 ester 결합수에 따라 hydrophilic-lipophilic balance(HLB, 0-20 scale)가 결정되고, 이에 따라 다양한 계면성능을 가지게 되며, Table 1에 다양한 HLB조성을 이루는 sucrose ester 제품들의 조성을 예시하였다(1). Sugar ester류에서 6~8개의 hydroxyl기에 지방산이 ester 결합된 형태, 즉 sucrose polyester는 Olestra (Olean)라는 상표로 1996년 Procter&Gamble사에서 Food and Drug Administration(FDA)으로부터 제품승인을 받아 포테이토칩, 크래커 등의 스낵식품에 지방대체물질로도 사용되고 있다. 고분자 형태인 Olestra는 인체 내의 소화효소에 의해 분해되지 않기 때문에 흡수가 되지 않아 저칼로리를 내는 반면에, 과량 복용할 때 위장장애, 설사, 지용성 비타민의 체내흡수를 방해하는 원인이 된다는 보고가 대두되면서

Table 1. Examples of commercial sucrose ester (SE) products<sup>1)</sup>

SE product <sup>2)</sup>	Hydrophilic-lipophilic balance	Ester composition (%)		Appearance
		Mono ester	Di-/tri-polyester	
F-160	15	70	30	Powder
F-140	13	60	40	Powder
F-110	11	50	50	Powder
F-90	9.5	45	55	Powder
F-70	8	40	60	Powder
F-50	6	30	70	Powder
F-20W	2	10	90	Powder
F-10	1	0	100	Powder

<sup>1)</sup>From Reference 1.

<sup>2)</sup>DK ESTERS, produced by Dai-Ichi Kogyo Seiyaku Co. Ltd., Kyoto, Japan.

FDA에서는 그 사용량을 제한하고 시판 포장지에는 경고 문구를 부착하도록 의무화하였다(2-4). 한편, sugar ester류에서 1~3개의 hydroxyl기에 지방산이 ester 결합된 형태, 즉 sucrose fatty acid ester는 유화제(water/oil 혹은 oil/wa-

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

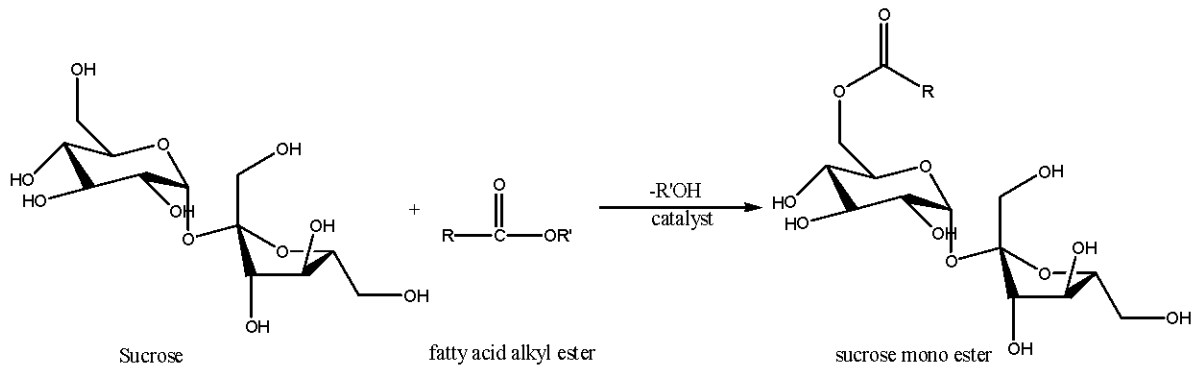


Fig. 1. Structure of sucrose mono ester having one ester linkage.

ter emulsion)로 이용될 뿐만 아니라 인체 내의 소장에서 분해와 흡수과정을 일부 거치므로 sucrose fatty acid ester에서 분해되는 지방산들은 인체에서 이용이 될 수 있다(5). Fig. 1에서는 sucrose fatty acid ester 중 한 개의 ester결합을 가지는 sugar mono ester를 제시하였다.

Sucrose ester류의 제조방법은 기질에 따라 fatty acid anhydride와 sucrose를 반응시키는 direct esterification 방법과 fatty acid alkyl ester와 반응시키는 transesterification 방법 등이 있다. 또한 반응조건에 따라 반응용매를 사용하지 않고 sucrose를 지방산과 같이 용융 혼합물로 만든 후 알칼리 촉매 존재 하에 fatty acid alkylester를 반응시키는 무용매법(6)과 dimethylformamide(DMF), dimethyl sulfoxide(DMSO) 등의 반응용매 상에서 알칼리 촉매 하에 sucrose와 지방산 alkyl ester를 반응시키는 용매법(7) 및 최근에 시도되고 있는 enzyme를 사용한 공법(8,9) 등이 보고되었다. Sucrose의 반응용매에 대한 용해도는 sucrose fatty acid ester의 합성조건에서 그 합성율을 결정하는 중요한 요인이 된다. Enzyme 공법으로는 enzyme activity를 낮추기 때문에 DMSO를 사용할 수 없다. 따라서 이 공법에서는 sucrose에 대한 용해도가 높으면서 enzyme activity에 영향을 끼치지 않는 반응용매를 찾는 것이 관건이다. 이런 이유로 enzyme 공법으로는 합성율이 낮은 것이 실정이다(10). 위의 제조방법들 중에서 일반적으로 상용화된 sucrose fatty acid ester의 제조방법은 sucrose와 고급포화지방산(C10~C28의 지방산) methyl ester를 DMF 또는 DMSO와 같은 극성용매와 알칼리성 촉매 존재 하에서 제조하는 용매법을 채택하고 있다. 바다의 해조류, 푸른 생선 등에 분포되어 있는 오메가-3 지방산들은 영양학적으로 혈장 내 지질의 농도와 LDL-cholesterol의 수치를 낮추고 HDL-cholesterol 수치는 높여주어 심혈관 질환을 개선한다고 보고되고 있다(11). 이와 같이 섭취 시 인체 내에서 이용 가능한 오메가-3 지방산들을 함유하고 있으며, hydrophilic한 유화제인 sucrose fatty acid mono ester류는 식품, 의약품 등에 다용도 유화제 및 소재로서 사용될 수 있다.

본 실험에서는 60% docosahexaenoic acid(DHA) ethyl-

ester와 eicosapentaenoic acid(EPA)를 포함한 다른 지방산 ethylester 40%의 혼합물(DHAE)과 sucrose를 trans-esterification반응을 하여 sucrose ester를 기질 및 촉매의 비율, 반응시간, 용매사용 및 기압 등을 달리하여 합성하고, 합성율 및 합성물의 성분(mono- 및 di-, tri-, poly ester)을 살펴보았다. 특히, 오메가-3 지방산들을 함유하며, hydrophilic한 sucrose fatty acid mono ester의 합성율을 높이는 합성조건도 함께 연구하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

본 연구에서 sucrose ester를 합성하기 위한 원료로는 대전에 위치한 네오메가(주)의 60% DHA ethylester와 eicosapentaenoic acid를 포함한 다른 지방산 ethylester 40%의 혼합물(DHAE)과 제일제당(주) sucrose(M.W. 342)를 분말화하여 사용하였다. Sucrose ester인 F160(sucrose mono ester 70% 함유), F110(sucrose mono ester 50% 함유), F20W(sucrose polyester 90% 함유)은 일본의 Dai-Ichi (Kogyo Seiyaku Co., Kyoto)로부터 구입하여 분석 시 표준품으로 사용하였다. 계면활성제로 사용된 glycerol mono-oleate와 potassium carbonate는 일신웰스(주)(충북청원, 한국)로부터 구입하였다.

#### 무용매계에서의 sucrose ester 합성

DHAE 18 g(2.08 mole)과 분말화한 sucrose 8.5 g(1.00 mole), potassium carbonate(K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 2.5 g, surfactant로써 2 g의 glyceryl monooleate를 200 mL의 round flask에 취한 후 용매 없이 반응을 수행하였다. 반응혼합물을 함유하고 있는 round flask는 20 torr의 감압상태에서 120°C를 유지할 수 있도록 sea sand(15~20 mesh)로 round flask를 덮어 7시간과 20시간동안 반응하였다.

Dimethyl sulfoxide(DMSO)를 이용한 sucrose ester의 합성

기질 및 촉매비율, 반응온도 및 시간, 감압처리 등에 따른

Table 2. Reaction conditions for synthesis of sucrose ester in this study

Experiment No.	Sucrose (g)	DHAEE <sup>1)</sup> (g)	Molar ratio	DMSO (g)	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (g) (% of total substrates)	Reaction time (hr)	Reaction temperature (°C)	Pre-treatment
SE#1 <sup>2)</sup>	37.5	58.0	1:1.54	165	0.75 (0.78%)	12	95	None
SE#2	37.5	52	1:1.39	200	1.00 (1.11%)	6	95	Vacuum distillation
SE#3	37.5	52	1:1.39	200	1.00 (1.11%)	12	110	Vacuum distillation
SE#4	40.0	40.0	1:0.98	125	0.50 (0.63%)	3	95	Vacuum distillation
SE#5	100	60.0	1:0.60	250	1.00 (0.63%)	3	95	Vacuum distillation
SE#6	100	40.0	1:0.40	250	1.00 (0.71%)	2.5	95	Vacuum distillation
SE#7	100	20.0	1:0.20	250	1.00 (0.83%)	2.5	95	Vacuum distillation

<sup>1)</sup>Mixture of 60% docosahexaenoic acid (DHA) ethylester.

<sup>2)</sup>Reaction conditions with dimethyl sulfoxide (DMSO). Reaction conditions without DMSO is described in Materials and Methods.

DHAEE로의 전환율을 비교하기 위하여 Table 2와 같이 모두 7개의 parameter에 따라 반응을 실행하였다. SE#1(합성 실험번호 1)은 sucrose와 DMSO(98%, Samchun Chemical)를 3구 round flask에 취한 후에 DHAEE와 알칼리 촉매제인 potassium carbonate를 첨가하여 감압증류(vacuum distillation)를 하지 않고, Table 2에서와 같이 반응온도와 시간을 유지하면서 반응을 수행하였다. 이때 극성도가 다른 반응혼합물들은 반응하는 동안 stirring bar에 의하여 mixing되었다. DMSO는 끓는점이 189°C이며, 녹는점이 18.45°C이다. 따라서 반응기는 위의 성질을 감안하여 제작하였다. SE#2부터는 먼저 sucrose와 DMSO를 3구 round flask에 취한 후에 120°C, 20 torr에서 서로 양을 달리한 sucrose가 완전히 녹아 있는 DMSO의 1/4 가량을 감압 증류하여 제거한 후, DHAEE와 potassium carbonate의 양을 달리해가면서 20 torr의 감압상태에서 Table 2에서와 같은 반응시간과 온도를 유지하면서 반응을 수행하였다. 특히, SE#6의 반응조건을 이용하여 시간에 따른 sucrose ester의 조성변화를 살펴 보았다. 반응 중 각각의 반응기에는 냉각콘덴서를 장착하여 반응용매인 DMSO는 환류하였고, 반응부산물인 에탄올 등을 제거하기 위하여 냉각콘덴서의 온도를 순환항온수조를 이용하여 13°C로 유지하였다.

#### Sucrose ester의 정제

반응물의 조성분석을 위하여 다음과 같은 정제과정을 수행하였다. 다음의 정제과정은 자당 지방산에스테르 정제방법을 특허출원한 내용(12)과 Cruces 등이 보고한 내용(7)을 참고 보완하여 적용하였다. 반응혼합물은 반응종료 후 반응액에 존재하는 촉매제의 활성을 없애기 위하여 3 g의 succinic acid로 중화한 후, 반응혼합물을 분별깔대기에서 200 mL n-hexane으로 두 번 수세하여 잔존하는 DHAEE를 제거하였고, 감압증류장치를 이용하여 DMSO의 대부분을 증류하였다. 이후 탈당을 위하여 반응혼합물에 iso-butanol:toluene(1:1, v/v)을 400 mL 첨가하여, 상온에서 sucrose를 재결정시킨 후 감압 여과를 통하여 제거하였다. 물에 대한 용해성이 높지 않은 DMSO와 여분의 sucrose는 10% NaCl solution으로 두 번 수세하여 제거하였다. 마지막으로 반응혼합물에 존재하는 혼합용매(iso-butanol과 toluene)

ene)는 증류장치를 이용하여 제거하였다. 최종적으로 얻은 반 고형의 건조된 반응혼합물은 냉동보관(-20°C)하여 다음 분석에 이용하였다.

#### Thin layer chromatography(TLC)

시료 50 mg을 2 mL의 chloroform에 녹여 vortex한 후 TLC plate(silica gel 60 F254, 20×20 cm, Merck KGaA, Germany)에 7번씩 spotting하였다. 이후 전개용매는 chloroform:methanol:distillate water:acetic acid(70/28/2/2, v/v/v/v)(13) 또는 chloroform:methanol:distillate water:formic acid(85/15/2/1, v/v/v/v)를 사용하였다(14). 전개 후 에탄올에 녹인 5% sulfuric acid 용액을 만들어서 분무하였고 50°C에서 20분간 서서히 열을 가하면서 sucrose fatty acid ester의 mono-, di-, polyester의 위치를 표준품으로서 구입한 F160(sucrose mono ester 70% 함유)와 F20W(sucrose di-/tri-, polyester 90% 함유)와 R<sub>f</sub>를 비교하였다.

#### Sucrose ester 전환율

반응혼합물 1 g과 internal standard(IS)로서 tricosanoic acid(C<sub>23:0</sub>, 1 mg/mL in isooctane) 1 g을 vial에 취하여 vortex한 후에, 상층(isooctane layer)만 취한 후 1 mL의 saturated NaCl용액을 첨가하여 다시 vortex 후, 상층에서 1 µL를 취하여 GC의 injector port에 주입하였다. Varian 3600 GC(Varian, Inc., NC, USA)는 검출기로 flame-ionization detector(FID)를 장착하였다. 분석에 사용된 칼럼은 omega-wax capillary 칼럼(30 m×0.32 mm×0.25 µm)이었고 분석온도는 200°C에서 230°C까지 1°C/min의 비율로 승온하여 220°C에서 10분간 유지하였다. 이송기체는 N<sub>2</sub>이었고 constant flow mode로 1 mL/min 유지하였으며 split ratio는 50:1로 설정하였다. DHAEE의 sucrose ester로의 전환율은 일정량 첨가한 IS peak의 면적대비 DHAEE의 peak 면적의 비율로 계산되었다.

#### Sucrose ester의 조성분석

분리 정제된 반응물의 조성은 high-performance liquid chromatograph(HPLC) 분석을 통하여 측정하였다. 분석기기는 dual pump가 장착된 HPLC(M930, Young Lin instrument Co., Anyang, Korea)이었으며 gel-permeation chro-

matography 칼럼(Shodex KF-802, 8.0 mm×300 mm×6 μm)으로 tetrahydrofuran(THF)을 이동상으로 사용하였다. 검출기로는 refraction index detector(RI-71, Shodex, Tokyo, Japan)를 사용하였다. 반응물 0.25 g을 2 mL의 THF에 녹인 후 준비된 시료(50 mg/mL)는 PTFE syringe filter(25 nm, 0.2 μm, Whatman, USA)로 여과하여 주입기에 20 μL 주입하였으며, 이동상의 유속은 1 mL/min을 유지하였다.

결과 및 고찰

무용매계에서의 sugar ester 합성

Sucrose ester 합성에 일반적으로 사용하는 dimethyl formamide(DMF) 및 dimethyl sulfoxide(DMSO)는 잔류에 따른 독성문제로 인하여 사용에 제약을 받고 있다. 또한, 무용매계에서의 반응은 반응물로 고체상체인 sucrose와 액체상체인 DHAEЕ의 접촉면에서 반응이 일어나는 불균일계(heterogeneous)반응 시스템이다. 따라서 계면활성제를 이용하여 계면에서의 반응을 유도해야 반응율을 높일 수 있다. 본 실험에서 계면활성제로 monoacylglycerol인 glyceryl monooleate를 사용하였으며, 반응 2시간 후부터는 foaming 현상이 관찰되었다. Fig. 2의 TLC 전개 plate에서는 무용매 상태에서 7시간과 20시간 반응한 후의 반응정도를 보여주고 있고, DHAEЕ의 sucrose ester로의 반응은 20시간이 지나면서 b(mono ester), c(di-/triester)와 d(polyester)의 spot이 진해지기는 하였으나, 기질로 사용된 DHAEЕ(e)가 여전히 상당량 존재하였다. 반응 중에 6~7시간 이후부터는 반응물이 검은색을 띄게 되었고, 이러한 결과는 반응시간이 지남에 따라 분말화한 sucrose가 완전히 반응에 참여하지 못하고 caramelization반응이 일어나 점도가 높아졌기 때문에 낮은 sucrose ester 합성율을 보인 것으로 사료된다.

Dimethyl sulfoxide를 이용한 sucrose ester의 합성

무용매 상태에서의 반응은 sucrose ester의 합성율이 낮았기 때문에 물과 설탕에 대한 용해성을 고려하여 극성도와 열에 대한 안정성이 높은 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 반응용매로 사용하여 실험하였다(15). 그러나 여전히 DMSO의 잔류 독성문제는 남아 있다. 실제로 미국식품의약국(FDA)에서는 sucrose fatty acid ester 제품규격에 그 허용치를 2 ppm 이하로 규정하고 있다. 따라서 본 연구에서는 정제에 있어서 과량의 DMSO를 우선 감압증류로 제거한 후 잔재량을 10%의 NaCl용액으로 두 번 수세하여 DMSO를 제거하였다.

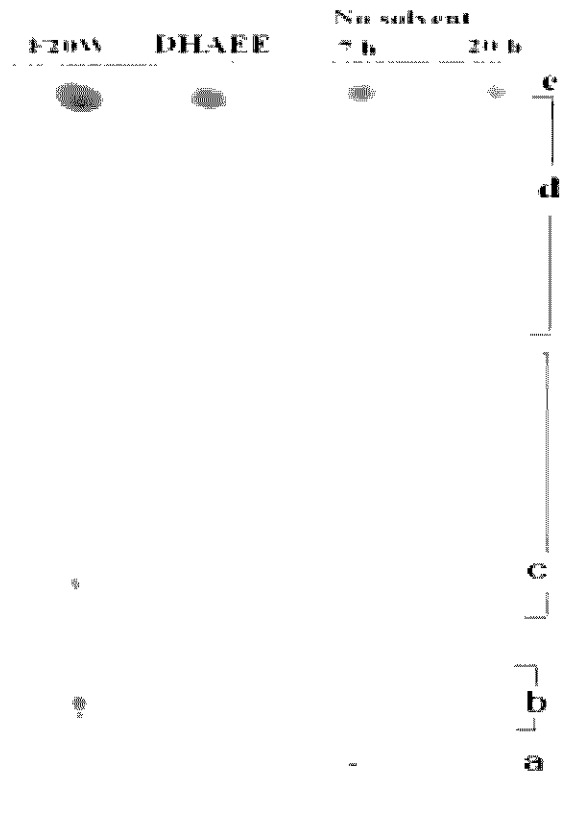


Fig. 2. TLC separation of synthesized sucrose esters in solvent-free system.

The spots are corresponding to sucrose (a), sucrose mono ester (b), sucrose di-/triester (c), sucrose polyester (d), and unreacted DHAEЕ (mixture of 60% docosahexaenoic acid ethylester) (e). F20W is a commercial sucrose ester product which is composed of 10% mono ester and 90% polyester.

Table 2에서 sucrose ester를 합성하기 위하여 변화된 기질의 몰비율, 사용용매량 및 반응조건을 나타내었고, 각 반응조건에 따른 DHAEЕ의 전환율(%)은 Table 3에 나타내었다. 또한, 합성된 반응물의 sucrose poly-, di- 및 mono ester의 조성을 알아보기 위하여 thin layer chromatography(TLC) 분석을 하여 모니터링한 후 HPLC 분석을 실행하였다. SE#1에서는 반응기질들(1:1.54 mole, sucrose:DHAEЕ)과 촉매제인 potassium carbonate를 한꺼번에 취한 후, 감압증류(vacuum distillation)로 DMSO를 제거하지 않고 반응을 수행하였다. 각각 6과 12시간동안 반응하였을 때 Fig. 3의 TLC plate에서 보는바와 같이 반응하지 않은 DHAEЕ가 과량 잔존할 뿐만 아니라 6시간 반응한 결과와 12시간 반응한 결과가 크게 차이가 없는 것으로 나타났으며, sucrose ester

Table 3. Conversion ratio (%) of DHAEЕ<sup>1)</sup> into sucrose ester in various reaction conditions

Experiment No.	SE#1 <sup>2)</sup>	SE#2	SE#3	SE#4	SE#5	SE#6	SE#7
DHAEЕ conversion (%)	35.5	65.5	85.0	97.4	99.0	96.5	98.5

<sup>1)</sup>Mixture of 60% docosahexaenoic acid (DHA) ethylester.

<sup>2)</sup>See Table 2 for the reaction conditions.

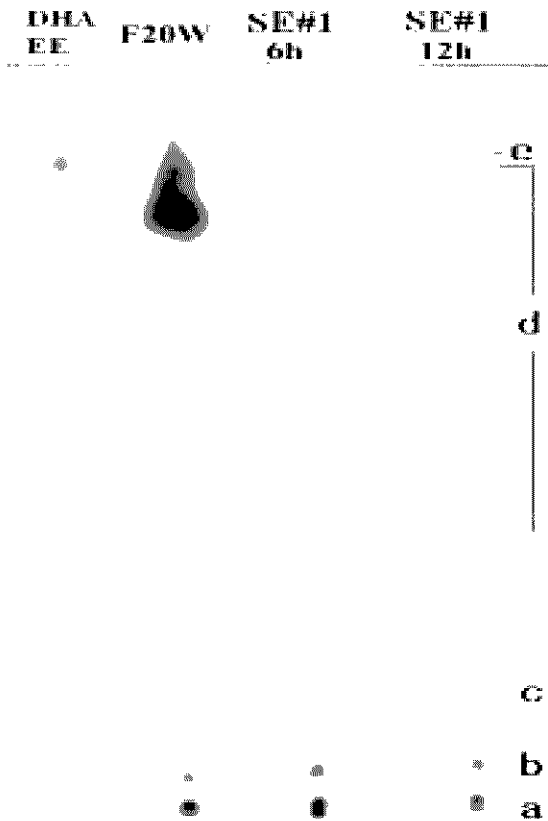


Fig. 3. TLC separation of synthesized sucrose ester from SE#1 condition.

Developing solvent was chloroform:methanol:water:acetic acid (70:28:2:2, v/v/v/v). The spots are corresponding to sucrose (a), sucrose mono ester (b), sucrose di-/triester (c), sucrose polyester (d), and unreacted DHAEE (mixture of 60% docosahexaenoic acid ethylester) (e). F20W is a commercial sucrose ester product which is composed of 10% mono ester and 90% polyester.

류의 합성이 적었음을 확인하였다. 이후 GC분석을 이용한 DHAEE의 전환율은 SE#1의 조건에서 12시간 후 40%에도 미치지 못하였다(Table 3).

SE#2부터는 DHAEE의 전환율을 높이기 위하여 sucrose와 DHAEE의 몰비율을 달리해가면서 합성하였고, 반응물 중 수분의 함량이 sucrose polyester의 합성과정에 영향을 미친다는 보고(16)를 고려하여, 반응하기 전에 조해성을 띠는 sucrose가 완전히 녹은 DMSO용액을 20 torr에서 총 용매량의 약 20%를 증류한 후 반응을 하였다. SE#2에서는 sucrose와 DHAEE의 몰비율을 1:1.39로 하여 95°C에서 6시간 동안 반응하였고(Table 2), 그 결과 전환율은 65.5%을 보였다(Table 3). 한편, SE#3에서는 SE#2의 반응조건에서 반응 온도를 110°C로 높이고 반응시간을 6시간 더 증가하여 12시간을 반응한 결과 그 전환율은 85%까지 증가하였다(Table 3). 특히, 이때의 반응물을 TLC 분석한 결과, SE#3에서는 sucrose mono ester뿐만 아니라 sucrose di-/triester 및 polyester가 고르게 생성되었음을 확인하였다(Fig. 4).

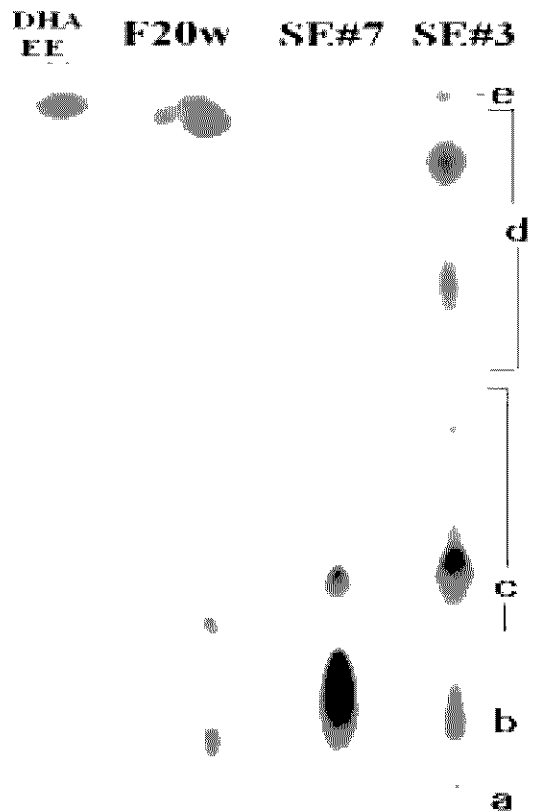
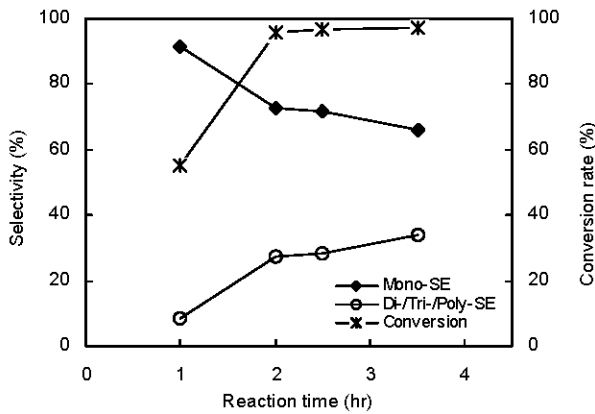


Fig. 4. TLC separation of synthesized sucrose esters from SE#3 and SE#7.

Developing solvent was chloroform:methanol:distillate water:formic acid (85:15:2:1, v/v/v/v). The spots are corresponding to sucrose (a), sucrose mono ester (b), sucrose di-/triester (c), sucrose polyester (d), and unreacted unreacted DHAEE (mixture of 60% docosahexaenoic acid ethylester) (e).

SE#4에서는 sucrose와 DHAEE의 1:0.98의 몰비율로 수분제거를 위한 감압증류 과정을 실시한 후 95°C에서 3시간 동안 합성하였다. 반응결과, DHAEE의 전환율은 97.4%이었다(Table 3). 따라서 이후의 실험은 DHAEE의 전환율이 높은 SE#4의 방법을 사용하였고, 기질의 몰비율과 반응시간을 달리하여 합성하였다. SE#5에서는 sucrose와 DAHEE의 몰비율을 1:0.60의 비율로 감압증류 과정을 실시한 후 3시간 동안 반응한 결과 DAHEE의 전환율이 99%이었고, SE#6에서 DHAEE의 몰비율을 1:0.40 비율로 2.5시간 동안 반응하였을 때의 DHAEE의 전환율은 96.5%이었다(Table 3). 또한 SE#6의 합성조건에서 시간에 따른 전환율을 살펴본 결과, 반응 1시간일 때 55.3%이었으나, 2시간일 때 95.6%이었고 그 이후 3.5시간까지는 큰 변화가 없었다(Fig. 5). 결국 SE#4, SE#5, SE#6, SE#7의 조건에서와 같이 기질 몰비율을 달리해가면서 반응하였을 때 DHAEE의 sucrose ester로의 전환은 반응초기에 대부분의 합성이 이루어졌고, DHAEE의 전환율(%)은 반응시간이 3시간 이내에서 모두 96% 이상을 나타내었다(Table 3). 이들 합성조건 중 SE#7에서 1시간 및 2.5시



**Fig. 5. Conversion rate and the composition of sucrose ester from SE#6.**

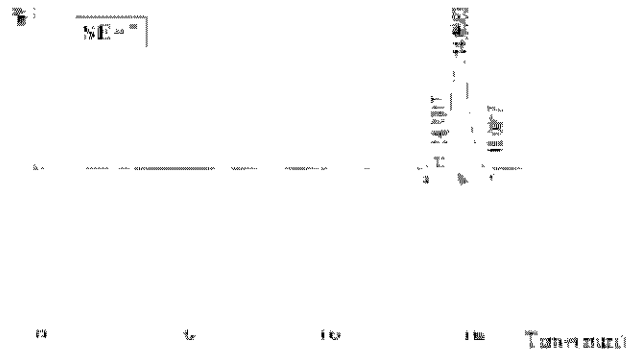
Mono-SE: Sucrose mono ester, Poly-SE: Sucrose poly-, tri- and diesters.

간 반응 후에 sucrose와 transesterification을 하지 않고 남아있는 지방산 ester들을 보여주는 gas chromatograph(GC) chromatogram을 Fig. 6에 제시하였다. 반응시간이 경과함에 따라 internal standard(IS)인 tricosanoic acid의 peak를 기준으로 DHAEE를 구성하고 있는 지방산 ester들의 peak 면적이 줄었음을 볼 수 있었고, 이는 반응기질로 사용된 DHAEE의 DHA를 비롯한 여러 지방산 ester들이 sucrose와 반응하여 sucrose ester를 형성하였음을 의미한다.

이 연구의 또 하나 목적은 인체 내에서 이용 가능한 오메가-3 지방산들을 함유하고 있으며, hydrophilic한 유화제인 sucrose fatty acid mono ester의 최적 합성조건을 알아보는 것이다. SE#1 ~ SE#7까지의 합성조건들 중에서 높은 DHAEE 전환율(즉, 높은 sucrose ester 합성율)을 보인 SE#4 ~ SE#7 합성물을 재료 및 방법에서 제시한 방법대로 정제한 후 TLC 분석한 결과, 시행된 합성 조건들 중에서 특히 SE#7의 반응 조건으로 합성된 결과물에서 상당량의 sucrose mono ester(spot b)가 합성되었음을 확인하였다(Fig. 4). TLC 분석

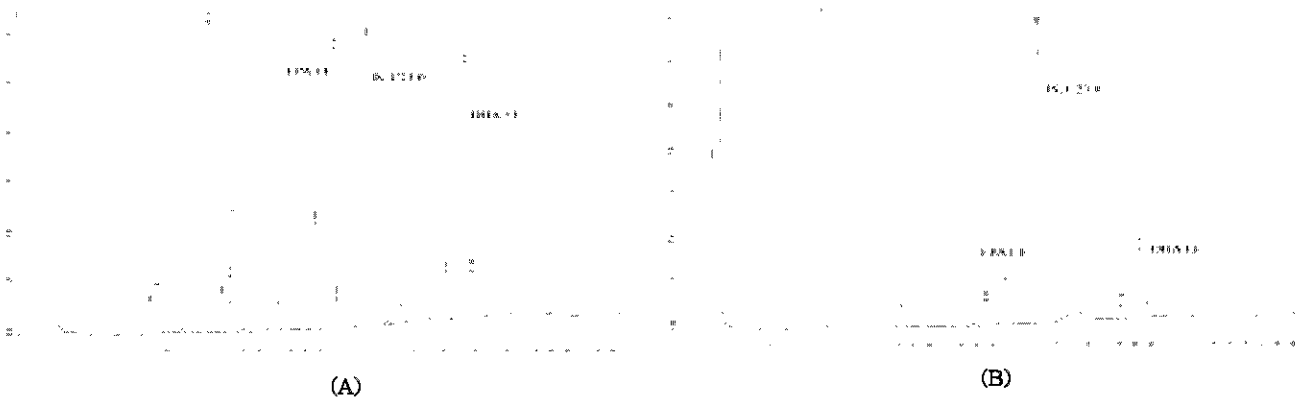
할 때에 전개용매를 chloroform:methanol:distillate water:acetic acid(70/28/2/2, v/v/v/v)로 하여 전개할 경우, sucrose와 sucrose mono ester 간의 분리가 명확하지 않은 반면에, sucrose polyester와 DHAEE 간의 분리가 용이하였다. 그러나 전개용매 chloroform:methanol:distillate water:formic acid(85/15/2/1, v/v/v/v)를 사용할 경우 비록 sucrose polyester와 DHAEE 간의 구분은 명확하지 않았으나, 대신에 sucrose mono ester를 명확히 분리하여 조성을 구분할 수 있었다(14). TLC로 확인하여 높은 전환율을 보인 반응물들의 sucrose ester의 조성을 알아보기 위하여 HPLC 분석을 하였다. 본 실험에 사용된 GPC 칼럼은 sucrose ester를 크게 두 peak, 즉 첫 번째 피크는 sucrose di-와 triester를 포함한 sucrose polyester이고, 두 번째 피크는 sucrose mono ester로 분리하였다(Fig. 7). Table 4에서는 SE#4와 SE#5, SE#6, SE#7의 sucrose ester 조성을 제시하였다.

SE#4(1:0.98 mole, 3 hr)의 sucrose ester의 조성은 sucrose mono ester가 50.6%이었으며, SE#5(1:0.60 mole, 3 hr)의 조성은 sucrose mono ester가 57.7%이었다, SE#6(1:0.40



**Fig. 7. High-performance liquid chromatographic analysis of purified sucrose ester from SE#7.**

The peaks are corresponding to sucrose poly-, tri- and diesters (a), sucrose mono ester (b), and sucrose (c).



**Fig. 6. Chromatograms for unreacted DHAEE conversion rate from SE#7.**

DHAEE is the mixture of 60% docosahexaenoic acid (DHA) ethylester, (A) Chromatogram after 1 hr reaction, (B) Chromatogram after 2.5 hr reaction.

**Table 4.** The composition of the synthesized sucrose esters by HPLC (Unit: Area%)

Experiment No.	SE#4	SE#5	SE#6	SE#7
Sucrose di-, tri- and polyester	49.4	42.3	27.7	13.7
Sucrose mono ester	50.6	57.7	71.8	87.3

mole, 2.5 hr)의 경우 71.8%의 mono ester 조성(96.5%의 전환율, Table 3)을 보였으며, 마지막으로 98.5%의 높은 전환율을 보인 SE#7(1:0.2 mole, 2.5 hr)의 조성은 sucrose mono ester가 87.3%이었다(Table 4). 위와 같은 몰비율이 반응물의 조성에 끼치는 효과는 sucrose와 vinyl fatty acid ester(VFAE)를 anhydrous disodium hydrogen phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 촉매하에, 몰비율을 1:1(sucrose:VFAE)에서 4:1로 sucrose를 4배가량 더 높였을 때 monoester의 생성이 더 높았다고 보고한 Cruces 등(7)과 유사한 결과이다.

한편, SE#6(1:0.4 mole)을 이용하여 각 반응시간에 따른 sucrose ester 조성변화를 알아보았다(Fig. 5). 반응 1시간 후 91.6%의 sucrose mono ester 조성을 나타내었고, 반응 2.5시간 후에는 sucrose mono ester가 71.8%의 조성을 보였으며, 반응 3.5시간 후에는 66%의 조성을 보였다. 위의 실험 결과로 반응시간이 지남에 따라 sucrose ester의 조성이 mono ester에서 di-, tri- 및 polyester로 전환됨을 확인하였고, sucrose ester의 조성에 몰비를 뿐만 아니라 반응시간이 합성된 sucrose ester 조성에 영향을 끼침을 확인하였다. 한편, Fig. 8에서는 sucrose에 대한 DHAE의 비율과 반응물의 sucrose ester의 조성 비율에 따른 상관관계를 나타내었다. DHAE의 비율이 증가할수록 sucrose mono ester의 생성은 감소한 반면에, sucrose di-, tri- 및 polyester의 생성은 증가함을 확인하였다. 반응기질인 sucrose와 DHAE의 몰비율이 1:1일 경우 sucrose mono ester와 di-, tri- 및 polyester의 생성비율이 비슷하였고, 이로써 반응물의 몰비

율을 조절하여 다양한 sucrose ester 조성 비율을 지니는 즉, HLB value를 조절할 수 있음을 알 수 있었으며, 따라서 기질의 몰비율과 반응시간을 조절하여 다양한 HLB를 지니며, 기능성 지방산을 함유한 sucrose ester를 합성할 수 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

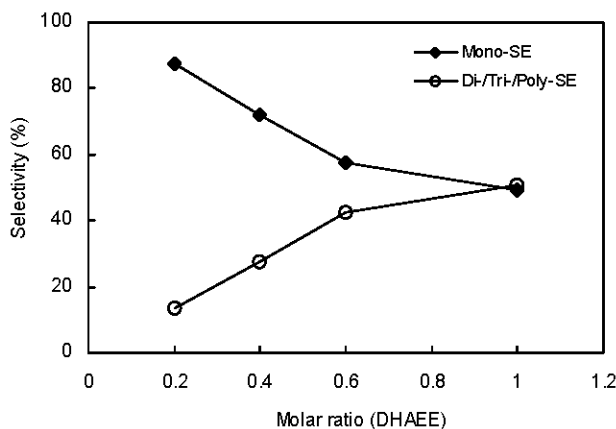
고급불포화지방산인 docosahexaenoic acid ethylester (DHAE)와 sucrose를 transesterification반응을 하여 sucrose ester를 기질 및 촉매의 비율, 반응시간, 용매사용 및 기압 등을 달리하여 합성하고, 합성율을 살펴보고, 특히, 섭취 시 인체 내에서 이용 가능한 DHA를 함유하고 있으며, hydrophilic한 유화제로써 sucrose fatty acid mono ester의 합성율을 높이는 합성조건을 연구하였다. 무용매 상태에서의 sucrose ester의 합성율이 낮았기 때문에 반응용매로써 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 사용하여 몰비율과 반응시간에 따른 합성을 실시하였다. 여러 반응조건 중 DHAE의 전환율(%)은 sucrose:DHAE의 몰비율이 1:0.98, 1:0.60, 1:0.40, 1:0.20인 SE#4, SE#5, SE#6, SE#7에서 모두 96% 이상을 나타내었다. 특히, SE#6(1:0.4 mole)에서 반응시간에 따른 전환율과 sucrose ester의 조성변화를 살펴본 결과, 반응시간 1시간일 때 55.3%의 전환율(mono ester 91.6%)을 보였고, 이후 반응 3.5시간일 때에는 97.1%(mono ester 66%)의 전환율을 보였다. 따라서 반응초기에 대부분의 sucrose ester가 합성되며, 특히 반응시간이 길어짐에 따라 mono ester에서 di-, tri- 및 polyester로 그 조성이 점차 변화됨을 확인하였고, 기질 중 DHAE의 비율이 증가할수록 sucrose mono ester의 생성은 감소한 반면에, sucrose di-, tri- 및 polyester의 생성은 증가함을 확인하였다. 연구된 합성조건 중 sucrose mono ester의 합성은 1:0.2(sucrose:DHAE)의 몰비율로 2.5시간동안 반응(SE#7)하였을 때 98.5%의 높은 전환율을 보이면서 그 조성은 87.3%로 가장 높게 합성되었다.

## 감사의 글

본 연구는 산업 자원부(지역혁신 인력양성사업)에 의하여 수행된 연구결과 일부이며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Nakamura S. 1997. Using sucrose esters as food emulsifiers. *INFORM* 8: 866-874.
2. Eldridge AL, Cooper DA, Peters JC. 2002. A role for olestra in body weight management. *Obesity Rev* 3: 17-25.
3. Schlagheck TG, Riccardi KA, Zorich NL, Torri SA. 1997. Olestra dose response on fat-soluble and water-soluble nutrients in humans. *J Nutr* 127: 1646S-1665S.
4. Preston JW, Ahnen DJ, Czinn SJ, Earnest DL, Parthing MJ,



**Fig. 8.** The relation between molar ratio of substrates and the product selectivity of sucrose ester.

Mono-SE: Sucrose mono ester, Poly-SE: Sucrose poly-, tri- and diesters.

- Gorbach SL, Hunt RH, Sandler RS, Schuster MM. 1997. Review and analysis of the effects of olestra, a dietary fat substitute, on gastrointestinal function and symptoms. *Regul Toxicol Pharmacol* 26: 210-218.
5. Akoh CC. 1995. Lipid-based fat substitutes. *Crit Rev Food Sci Nutr* 35: 405-430.
6. Le Coënt AL, Tayakout-Fayolle M, Couenne F, Briançon S, Lieto J, Fitremann-Gagnaireb J, Queneau Y, Bouchu A. 2003. Kinetic parameter estimation and modelling of sucrose esters synthesis without solvent. *Chem Engineering Sci* 58: 367-376.
7. Cruces MA, Plou FJ, Ferrer M, Bernabé M, Ballesteros A. 2001. Improved synthesis of sucrose fatty acid monoesters. *J Am Oil Chem Soc* 78: 541-546.
8. Cao L, Bornscheuer UT, Schmid RD. 1999. Lipase-catalyzed solid-phase synthesis of sugar esters. Influence of immobilization on productivity and stability of the enzyme. *J Molecular Catalysis B: Enzymatic* 6: 279-285.
9. Yan Y, Bornscheuer UT, Stadler G, Lutz-Wahl S, Reuss M, Schmid RD. 2001. Production of sugar fatty acid esters by enzymatic esterification in a stirred-tank membrane reactor: Optimization of parameters by response surface methodology. *J Am Oil Chem Soc* 78: 147-153.
10. Ferrer M, Cruces MA, Bernabé M, Ballesteros A, Plou FJ. 1999. Lipase-catalyzed regioselective acylation of sucrose in two-solvent mixtures. *Biotechnol Bioeng* 65: 10-16.
11. Ruxton CHS, Reed SC, Simpson MJA, Millington KJ. 2004. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J Hum Nutr Dietet* 17: 449-459.
12. Han BS. 2004. Purification method of sucrose fatty acid ester. *Korean Intellectual Property Office* 10-0443077.
13. Moha MH, Tanga TS, Tanb GH. 2000. Improved separation of sucrose ester isomers using gradient high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *Food Chem* 69: 105-110.
14. Akoh CC, Swanson BG. 1987. One-stage synthesis of raffinose fatty acid polyesters. *J Food Sci* 52: 1570-1576.
15. Kononenko OK, Herstein KM. 1956. Nonaqueous solvents for sucrose. *Chem Eng Data Ser* 1: 87-93.
16. Chung HY, Kim SJ, Yoon SW, Yoon HN, Kong UY. 1992. Effect of free alkali and moisture on sucrose polyester synthesis. *Korean J Food Sci Technol* 24: 247-250.

(2006년 7월 13일 접수; 2006년 9월 12일 채택)