



식품 중 트랜스지방 함량 분석

Trans Fat Analysis in Foods

김지영 · 이준형 · 박소현 · 유광수 · 권광일 · 이지선 · 김서영 ·
 성현이 · 남혜선 · 김종욱 · 이해영 · 박혜경* · 김명철
 Jee Young Kim, Jun Hyung Lee, So Hyun Park, Kwang Soo Yoo, Kwang Il Kwon,
 Jee Sun Lee, Seo Young Kim, Hyuni Sung, Hye Seon Nam, Jong Wook Kim,
 Hye Young Lee, Hye Kyung Park*, and Myung Chul Kim

식품의약품안전청 영양평가팀
 Nutritional Evaluation Team, Korea Food and Drug Administration

1. 서론

트랜스지방의 급원은 반추동물의 위에서 생성되는 경우와 산업적으로 수소첨가시 생성되는 경우로 나눌 수 있다. 이중 산업적으로 생성되는 트랜스지방은 수소첨가 공정을 거쳐 생산되는 부분경화유로 마가린이나 쇼트닝의 원료로서 사용된다.

미국 FDA의 자료에 따르면 미국 성인이 섭취하는 트랜스지방은 주로 마가린과 쇼트닝과 같은 가공유지와 케익, 쿠키, 비스킷, 빵, 감자튀김과 같은 가공식품 등으로 이들 식품을 통해 약 80% 정도를 섭취한다고 보고하고 있다(1). 이들 식품에 함유된 트랜스지방은 부분경화유에서 기인되는 것으로 이들의 섭취량이 증가되면 심혈관질환 역시 증가한다는 많은 연구보고가 발표되었다(2,3). 또한 2003년 덴마크 영양위원회의 트랜스지방에 관한 4차보고서에서 산업적으로 생성되는 트랜스지방의 섭취량이 감소할수록 심혈관질환으로 인한 사망률이 감소된다고 보고하였다(4,5).

2004년 CODEX 회의에서 가공식품의 트랜스지방에 대한 논의의 첫 단계로 트랜스지방을 다음과 같이 정의하였다(6) : 식품에서 말하는 트랜스지방은 트랜스 구조를 1개 이상 가지고 있는 모든 불포화지방을

말하며, 여기서 “불포화지방”은 이중결합이 있는 지방을 말하며, 이중결합이 2개 이상일 때에는 메틸렌기에 의해 분리되거나 또는 비공액형의 이중결합을 가지고 있는 지방으로 한정한다. 이러한 견지에서 보면 건강기능식품인 CLA(conjugated linoleic acid)은 구조내 트랜스의 형태를 가지고 있으나 일반적으로 트랜스지방을 논할 때에는 포함되지 않는다.

식품 중의 지방 중 트랜스지방을 분석하기 위해 과거에는 Infrared(IR) spectroscopy, FTIR(Fourier transform infrared), ATR(Attenuate total reflectance) 등의 방법으로 총 트랜스지방산의 함량을 측정하였으나, 비공액형의 트랜스지방산과 공액형의 트랜스지방산을 구별하지 못하는 문제점이 있다(7). 이후에 gas chromatography(GC)를 사용하여 신속한 지방산 분석의 방법에 대한 연구가 진행되었으며 특히 SP-2560과 CP-Sil 88 칼럼을 이용한 분석법이 개발되어 시스형과 트랜스형의 유도체를 어느 정도 명확하게 분리하게 되었다. 그러나 다른 이중결합 위치를 가진 몇몇 시스이성체와 트랜스이성체가 겹쳐져 부분경화 식물성유지나 유지방의 지방산 구성을 결정하는데 문제가 발생하였다(7-9). 60 m 길이의 SP-2340 칼럼은 부분경화 식물성유의 지방산을 분석하는데 주로 사용되는 칼럼

*Corresponding author: Hye Kyung Park, Korea Food and Drug Administration, 194 Tongilro, Eunpyeong-gu, Seoul 122-704, Korea
 Tel: 82-2-380-1678
 Fax: 82-2-380-1358
 E-mail: kfdac19@kfda.go.kr

이지만 44~11 위치의 C18:1의 트랜스 이성질체는 시스 이성질체와 분리가 잘되지만 412~16의 경우는 겹쳐져 나타난다. 그리고 413t-18:1, 414t-18:1, 415t-18:1 이성질체가 cis-18:1 이성질체인 46c-18:1, 410c-18:1에 묻히게 되고, 412t-18:1 이성질체만 49c-18:1 이성질체 앞에 걸쳐서 나타나며, 416t-18:1 이성질체는 414c-18:1 이성질체와 겹쳐진다(10). 이러한 문제를 해결하기 위해 분리능을 향상시킨 분석법이 길이 100 m의 SP-2560과 CP-Sil88 칼럼을 사용한 방법이다. 제96차 AOCS Annual Meeting(2005)에서 트랜스지방산 분석에 관한 공정법을 승인, 발표하였으며(11), 여기서 제시하는 트랜스지방 분석법은 2007년 2월 27일 식품의약품안전청고시 제 2007-10호로 제정 고시한 내용이다(12).

II. 본 론

트랜스지방은 크게 조지방을 추출하는 단계와 구성 지방산을 분석하는 2단계로 구분할 수 있다. 조지방 추출은 시료에 따라 식품공전상의 방법에 따라 시행하며(13), 추출된 지방의 구성 지방산은 GC-FID를 이용하여 분석한다. 식품내 함유된 트랜스지방의 함량은 조지방 함량에 구성지방산 중 트랜스지방산의 총량을 곱하여 산출한다.

트랜스지방산 분석에 사용되는 시약으로는 14% 트리플루오로보란메탄올, 0.5 N 메탄올성 수산화나트륨 용액, 그리고 지방산 추출용매로 이소옥탄을 사용하였다. 지방산 표준물질로는 Supelco(미국)에서 구입한 37종 지방산메틸에스터를 사용하였으며, 이외에 C18:2와 C18:3의 시스, 트랜스형의 혼합물은 Sigma(미국)의 제품을 사용하였다. 지방산 혼합 표준

물 약 0.1 g을 이소옥탄에 녹여 100 mg/ml가 되도록 제조한다.

지방을 추출하는 방법에 따라 트리글리세리드형의 에스터결합을 하고 있는 경우 가수분해하는 과정이 우선 필요하다. 지방의 가수분해는 다음과 같이 행한다. 지방 및 유지 검체 약 25 mg를 유리 튜브에 취한 후 0.5 N 메탄올성 수산화나트륨용액 1.5 mL를 가하고 질소를 불어넣은 후 즉시 뚜껑을 덮고 혼합한다. 이후 100°C에서 약 5분간 가온한 다음 30-40°C로 냉각한다.

지방산을 메틸 에스터로 유도체화 시키는 방법은 지방을 가수분해시킨 후 혹은 산분해법으로 추출한 시료의 경우에 적용한다. 14% 트리플루오로보란 메탄올용액 2 mL를 가하고 다시 질소를 불어 넣은 후 즉시 뚜껑을 덮고 혼합하여 100°C에서 2분간 가온한다. 30-40°C로 냉각하여 이소옥탄용액 1mL를 가하여 질소를 불어넣은 후 뚜껑을 덮고 30초간 격렬히 교반한다. 메틸화된 지방산의 분리를 용이하게 하기 위해 포화 염화나트륨용액 5 mL를 가하고 질소를 불어넣은 다음 뚜껑을 덮고 격렬히 교반한 다음 상온에서 방치하여 상을 분리시킨다. 상층인 이소옥탄층을 무수황산 나트륨이 있는 새 유리 튜브에 넣고 질소를 불어넣은 후 즉시 뚜껑을 덮고 수분을 제거한 다음 GC에 주입하여 기기분석을 시행한다.

트랜스지방산 분석 시 기기조건은 Table 1에 제시되어 있다. 지방산 분석 시 GC의 칼럼온도는 180°C의 등온조건에서 C18:1과 C18:2, C18:3의 시스, 트랜스지방의 이성체를 분리시키며, 이후에는 승온 조건을 사용한다. 특히, 칼럼온도를 결정하는 주 결정요인은 C20:1과 ccc-18:3의 분리도로 이들 피크가 제대로 분리되지 않으면 칼럼온도를 다시 조정하는 것이 필요하다. SP-2560의 경우 칼럼온도가 적정온도 보다

Table 1. The specification and operation conditions of the gas chromatography used for the analysis of the trans fatty acid

| | |
|-----------------------|--|
| Column | SP-2560(100 m × 0.25 mm × 0.2 μm, Supelco, USA) |
| Injection temperature | 250°C |
| Detector temperature | 280°C, FID |
| Column temperature | 180°C for 40 min → 3°C/min to 230°C → 230°C for 10 min |
| Carrier gas flow rate | 1.0 ml/min, N ₂ or He |
| Split ratio | 50 : 1 |

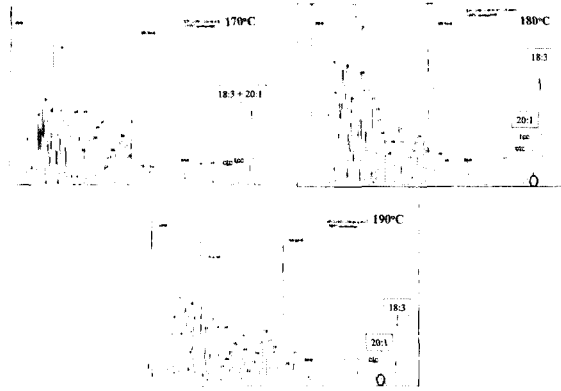


Fig. 1. Temperature sensitive resolution of C20:1 and C18:3 isomers(14).

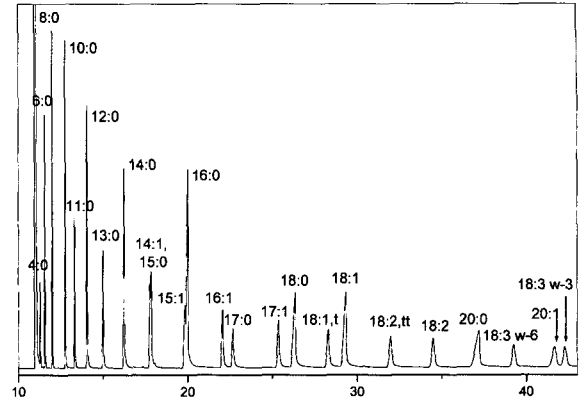


Fig. 2. Chromatogram of fatty acid standard for analysis of trans fatty acid.

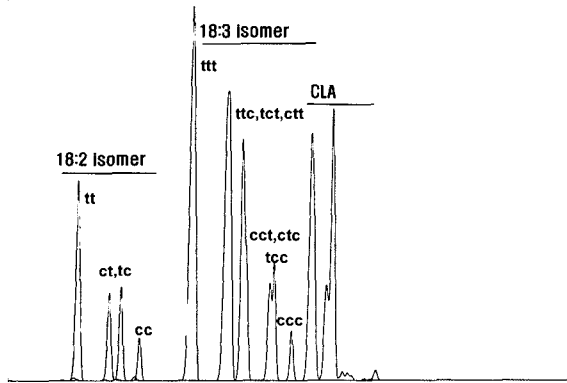


Fig. 3. Chromatogram of fatty acid standard in C18:2, C18:3, and conjugated fatty acid.

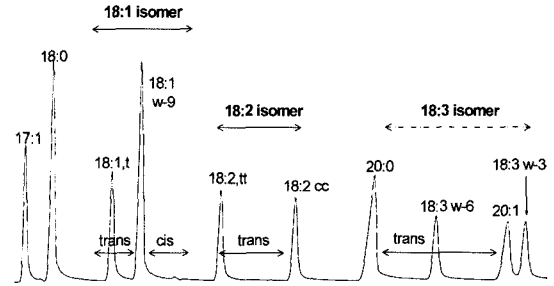


Fig. 4. Identification of cis and trans isomers of C18:1, C18:2, and C18:3.

낮으며 C20:1은 C18:3과 겹쳐지며, 온도가 적정온도보다 높은 경우에는 C18:3의 트랜스이성체와 겹쳐지는 것으로 알려져 있다(Fig. 1)(14). 이동가스로 헬륨이나 질소를 사용할 수 있으며 수소를 사용할 경우 이동가스의 확산도가 작아져 피크의 분리능을 더욱 증진시킬 수 있다(15).

지방산 37종의 표준물질 및 18:2와 18:3의 시스, 트랜스 이성체의 표준물질의 크로마토그램은 Fig. 2-3과 같다. 통상적으로 트랜스형의 이성체는 시스형보다 먼저 분리된다. 일부 C18:3의 트랜스형의 이성체는 γ -linoleic acid의 피크와 겹치므로 먼저 지방산 분석조건 하에서 이를 우선 확인하거나 GC-mass 혹은 기타

방법을 이용하여 피크를 재확인하는 것이 필요하다.

부분경화유의 트랜스지방 이성체들은 100 m의 칼럼을 이용하더라도 완벽하게 분리되지 않는다는 올레인산을 기준으로 앞부분을 트랜스 이성체로 뒤는 시스형의 이성체로 구별하는 것이 일반적이다. Precht와 Molkentin(16)의 연구에 의하면 일부 시스형은 올레인산의 앞부분에, 일부 트랜스형은 올레인산의 뒷부분에서 검출되나 서로의 함량을 감안할 경우 큰 오차는 나지 않는다고 보고하였다 (Fig. 5).

분석한 지방산의 함량 계산을 위해서는 먼저 표준질의 피크면적 및 함량을 이용하여 FID 전환계수(FID conversion factor, Ri)을 다음과 같이 계산한다.

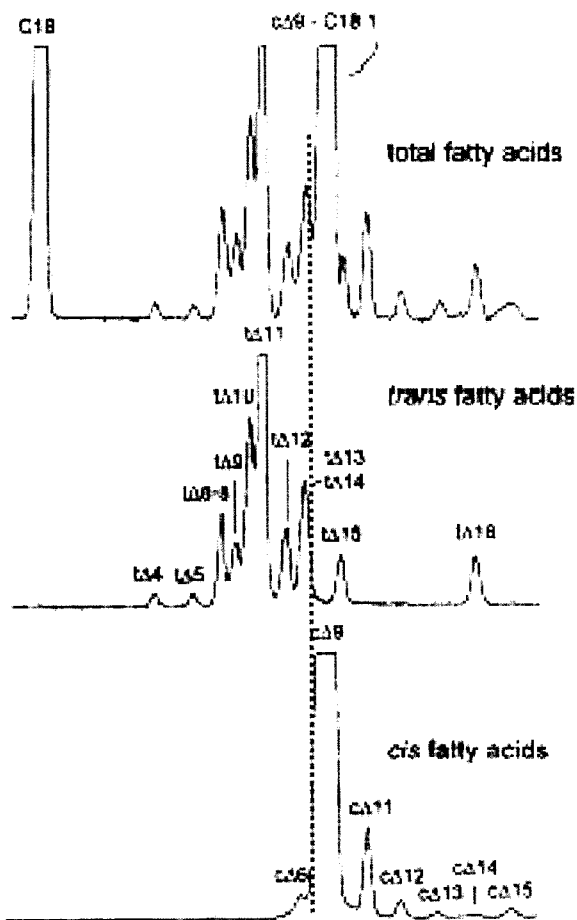


Fig. 5. Chromatogram of total fatty acids and their cis and trans fatty acid fraction separated by TLC(16).

$$R_i = \frac{P_{si}}{P_{C11:0}} \times \frac{W_{C11:0}}{W_{si}}$$

R_i : 각 지방산 별 FID 전환계수

P_{si} : 각 지방산 표준물의 피크면적

$P_{C11:0}$: C11:0의 면적

$W_{C11:0}$: C11:0의 함량

W_{si} : 각 지방산 표준물질의 함량

i : 지방산의 종류

C18:1, C18:2, C18:3의 트랜스 이성체들은 각각 올레인산, 리놀레산, 리놀렌산의 FID 전환계수를 사용한다.

계산시 고려해야 할 또 다른 계수는 지방산 전환계

수이다. GC-FID상에서의 분석은 각 지방산의 메틸에스테르이므로 해당 지방산으로 전환해야 한다. 각 지방산 별 전환계수는 Table 2에 제시되어 있다. 트랜스형의 지방산인 경우 시스형의 경우와 동일한 전환계수를 사용하면 된다.

구성지방산의 함량을 총 지방산 중의 백분율로 각각 구했다면 트랜스지방산의 함량은 이들 중에서 (t 18:1) [(tt+ct+tc) 18:2], [(ttt+ttc+tct+ctt+cct+ctc+tcc) 18:3]의 합으로 나타낸다.

Table 2. Factors for conversion of FAMES to their corresponding fatty acids

| fatty acid | f_i |
|------------|--------|
| C4:0 | 0.8431 |
| C6:0 | 0.8923 |
| C8:0 | 0.9114 |
| C10:0 | 0.9247 |
| C11:0 | 0.9300 |
| C12:0 | 0.9346 |
| C13:0 | 0.9386 |
| C14:0 | 0.9421 |
| C14:1 | 0.9417 |
| C15:0 | 0.9453 |
| C15:1 | 0.9449 |
| C16:0 | 0.9481 |
| C16:1 | 0.9477 |
| C17:0 | 0.9507 |
| C17:1 | 0.9503 |
| C18:0 | 0.9530 |
| C18:1 | 0.9527 |
| C18:2 | 0.9524 |
| C20:0 | 0.9570 |
| C18:3 n-6 | 0.9520 |
| C18:3 n-3 | 0.9520 |
| C21:0 | 0.9588 |
| C20:1 n-9 | 0.9568 |
| C20:2 | 0.9565 |
| C20:3, n-6 | 0.9562 |
| C20:3 n-3 | 0.9562 |
| C20:4 n-6 | 0.9560 |
| C20:5 n-3 | 0.9560 |
| C22:0 | 0.9604 |
| C22:1 n-9 | 0.9602 |
| C22:2 | 0.9600 |
| C22:6 n-3 | 0.9591 |
| C23:0 | 0.9620 |
| C24:0 | 0.9630 |
| C24:1 | 0.9632 |

$$FA_i \text{ (g/100 g 지방산)} = \frac{P_i \times f_i}{R_i} \times \frac{100}{\sum(P_j \times f_j / R_j)}$$

P_i, P_j : 지방산 피크면적

R_i, R_j : 각 지방산 표준물질에서 구한 FID 전환계수

f_i, f_j : 각 지방산 메틸에스테르로부터 지방산으로의 전환계수(Table 2)

그러므로 식품 중에 함유된 트랜스지방 함량은 조지방 함량에 구성 지방산 중 트랜스지방산 총량을 곱하여 구하면 된다.

$$\text{트랜스지방 (g/100 g 식품)} = \frac{\text{조지방함량(g/100 g 식품)} \times \text{트랜스지방산 함량(g/100 g 지방산)}}{100}$$

III. 결론

위에서 제시한 트랜스지방 분석법은 식품의약품안전청고시 제2007-10호(20070228)로 제정 고시되어 공인분석법으로 사용되고 있으며, 이 분석방법의 적용 범위는 정제된 식물성 유지나 경화, 혹은 부분경화 시킨 식물성 유지 및 비 반추동물에서 기인하는 유지를 대상으로 하고 있다. 유제품이나 반추동물에서 기인하는 유지, 어유, 장쇄 다중불포화지방산을 다량 함유하는 유지 및 공액이중리놀레산 제품의 트랜스지방 분석에는 부적절하다.

현재 식품의약품안전청의 트랜스지방 관리 정책은 권장규격과 영양표시로서 크게 나눌 수 있다. 권장규격에서는 경화유와 빵류, 휴게음식점, 즉석판매제조 또는 가공업소에서 제조 판매하는 제품에 대해 지방 중 트랜스지방 함량으로 규정(지방 중 5%이하)하고 있으며 영양표시에서는 가공식품을 대상으로 식품 중 트랜스지방 함량으로 표시(식품 100 g(mL) 또는 1회분량 당)해야 한다.

참고 문헌

1. http://www.fda.gov/fdac/features/2003/503_fats.html
2. Almendingen, K., Jordal, O. Kierulf, P., Sandstad, B. and Pedersen, J.I., Effects of partially hydrogenated fish oil, partially hydrogenated soybean oil, and butter on serum lipoproteins and Lp[a] in men. *J. Lipid Res.*, **36**, 1384, 1995
3. Aro, A., Jauhiainen, M., Partanen, R., Salminen, I. and Mutaene, M.

- Stearic acid, trans fatty acids, and dairy fat: Effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein(a), and lipid transfer proteins in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **66**, 1419, 1997
4. Stender, S. and Dyerberg, J. The influence of trans fatty acids on health. A report from the Danish Nutrition Council. Publ. no. 4. Copenhagen, 2003
5. Thom, T.J. and Epstein, F.H. Heart disease, cancer and stroke mortality trends and their interrelations. An international perspective. *Circulation* **90**, 574, 1994
6. CCNFSDU, 제 26차 코덱스 영양 및 특수용도식품분과 위원회 귀국보고서. 2004
7. Ali, L.H., Angyal, G., Weaver, C.M., Rader, J.I. and Mossoba, M.M. Determination of total trans fatty acids in foods: Comparison of capillary-column gas chromatography and single-bounce horizontal attenuated total reflection infrared spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**, 1699, 1996
8. Precht, D., Molkentin, J., McGuire, M.A., McGuire, M.K. and Jensen, R.G., Overestimates of oleic and linoleic acid contents in materials containing trans fatty acids and analyzed with short packed gas-chromatographic columns. *Lipids*, **36**, 213, 2001
9. Ratnayake, W.M.N. Analysis of dietary trans fatty acids. *J. Oleo Sci.* **50**, 339, 2001
10. Wolff, R.L., Combe, N.A., Destailats, F., Boue, C., Precht, D., Molkentin, J. and Entressangles, B. Follow-up of the $\Delta 4$ to $\Delta 16$ trans-18:1 isomer profile and in French processed foods containing partially hydrogenated vegetable oils during the period 1995-1999. Analytical and nutritional implications. *Lipids*, **35**, 815, 2000
11. AOCS, Determination of cis-, trans-, saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in vegetable or non-ruminant animal oils and fats by capillary GLC. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*. AOCS Press, Ce 1h-05, 2005
12. 식품의약품안전청, 식품의약품안전청고시 제2007-10호(20070227)
13. 식품의약품안전청, 식품공전, 2006
14. Ratmauale. W.N., Plouffe, L.J., Pasquier, E. and Gagnon, C. Temperature-sensitive resolution of cis- and trans-fatty acid isomers of partially hydrogenated vegetable oils on SP-2560 and CP-Sil 88 capillary columns. *J. AOAC Int.* **85**, 1112, 2002
15. Ratnayake, W.M.N., Hansen, S.L., and Kennedy, M.P., Evaluation of the CP-Sil 88 and SP-2560 GC columns used in the recently approved AOCS official method Ce 1h-05: Determination of cis-, trans-, saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids in vegetable or non-ruminant animal oils and fats by capillary GLC method. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **83**, 475, 2006
16. Precht, D. and Molkentin, J. Rapid analysis of the isomers of trans- octadecenoic acid in milk fat. *Int. Dairy J.*, **6**, 791, 1996