

## 대두유와 Glycerol Monooleate의 효소적 반응을 이용한 Diacylglycerol 함유 유지의 생산

전미선 · 이초롱 · 이기택<sup>†</sup>  
충남대학교 식품공학과

### Production of Diacylglycerol-Oil from Lipase-Catalyzed Reaction Using Soybean Oil and Glycerol Monooleate

Mi-Sun Jeon, Cho-Rong Lee, and Ki-Teak Lee<sup>†</sup>

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

#### Abstract

Scaled-up production of oil containing diacylglycerol (DAG), so called diacylglycerol-oil, was produced by lipase-catalyzed reaction. Mixture of soybean oil and glycerol monooleate with 1:2 molar ratio was esterified with Lipozyme RMIM in a batch-type reactor at 55°C and 300 rpm during 6 hr. After short-path distillation for removal of monoacylglycerol and free fatty acid as reaction by-products, diacylglycerol-oil mainly consisted of DAG (29 area%) and TAG (71 area%). The major compositional fatty acids in diacylglycerol-oil were oleic (44.36 wt%), and linoleic acids (37.36 wt%). Acid value and iodine value of diacylglycerol-oil were 0.13 and 112.6, respectively. Solid fat content (SFC) of diacylglycerol-oil was observed after differential scanning calorimetry (DSC) analysis in which three melting peaks at -25.0, 0.1, and 11.2°C were shown.

**Key words:** diacylglycerol, soybean oil, glycerol monooleate, Lipozyme RMIM

#### 서 론

Diacylglycerol(DAG)함유 식용유는 체중개선 및 체내 지방 축적 억제 효과의 기능성을 가진 유지로써 주목 받고 있으며, 특히 미국과 일본에서는 이미 수년전부터 시판되고 있다(1-3). DAG는 glycerol 한 분자에 2개의 지방산이 에스테르 결합되어 있는 형태로서 1,2-DAG와 1,3-DAG 두 개의 다른 isomeric 형태를 가질 수 있으며, 중성유지와 달리 체내 대사 과정에서 차이를 보인다고 알려져 있다(2). Triacylglycerol (TAG)의 경우 체내의 소화 효소에 의해 소장에서 sn-1,3 위치의 지방산이 가수분해 되어 free fatty acid(FFA)와 2-monoacylglycerol(2-MAG)이 생성된다고 보고되고 있고(4-8), 분해된 물질은 소장 세포로 흡수되어 다시 TAG의 형태로 재합성되며 chylomicrons을 형성한 후 림프관과 혈관을 통해 신체 세포로 이동한다고 알려져 있다(9). 그러나 TAG로 재합성되는 과정에서 작용하는 효소 monoacylglycerol acyltransferase(MGAT)와 diacylglycerol acyltransferase(DGAT)는 대부분 2-MAG를 이용하여 TAG를 합성하며, 1,3-DAG는 소장에서 가수분해 되어 1(3)-MAG 또는 FFA와 glycerol로 분해되기 때문에 MGAT와

DGAT의 작용을 받지 못해 다시 TAG로 재합성 될 가능성이 낮다고 알려져 있다(10). 대신, 1,3-DAG에서 가수분해 되어진 1(3)-MAG와 FFA는 대부분 간으로 이동하여  $\beta$ -oxidation을 통해 바로 에너지원으로 사용되어(11) 체내에 저장되지 않는 경향을 나타내며, 혈중 지방치를 높이지 않으므로써 체지방 감소 등의 유지로써의 효과를 기대할 수 있다고 보고되고 있다(3,12-15).

본 연구는 TAG의 sn-1과 3 위치에 위치특이성을 갖는 고정화 효소(immobilized lipase; Lipozyme RMIM)를 이용하여 TAG와 MAG의 유지 분자 간 esterification(에스테르 교환반응)을 통해 기질이 가지고 있는 지방산을 재배열시킴으로써 DAG 함유 유지를 합성하였다. 고정화 효소는 재사용이 가능하고 반응이 친환경적이며 유용물질의 생산에 있어서 효율적이라는 장점을 가지고 있다(16-18). 사용된 기질은 대두유(soybean oil, SBO)와 glycerol monooleate (GMO)이었으며, impeller가 장착된 batch type reactor를 사용하였다. 합성을 한 후 short path distillation(분자증류)을 통해 MAG와 FFA를 제거한 DAG 함유 유지의 TAG와 DAG 조성, 지방산 조성, 화학적 특성 그리고 solid fat content(SFC)를 알아보았다.

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

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에서 기질로 사용된 SBO는 시중에 유통되고 있는 C사(Incheon, Korea)의 제품을 구입하였으며, GMO는 (주)일신웰스(Seoul, Korea)에서 제공받아 사용하였다. DAG 함유 유지의 합성을 위해 사용된 고정화 효소는 Lipozyme RMIM(*Rhizomucor miehei*)으로 Novodisk Biochem. North American Inc.(Franklinton, NC, USA)의 제품을 사용하였다. 표준시약으로 사용된 1,3-dioleoyl-rac-glycerol과 1,2-dioleoyl-rac-glycerol은 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

### DAG 함유 유지의 대량합성 및 분자증류

기질은 SBO(1100 g)와 GMO(900 g)를 각각 1:2 몰비율이 되게 하였으며, 효소는 Lipozyme RMIM을 총 기질 질량의 10%에 해당하는 양을 사용하여 6 hr 동안 반응하였다. 이중 자켓으로 제작된 항온 수조는 55°C로 유지하였고 stirrer motor(MS-3060D, Mtops, Yangju, Gyeonggi, Korea)에 impeller(길이 9 cm, 폭 3 cm)를 장착하여 300 rpm으로 반응하였다. 반응이 완료된 후 filter paper(100 circles, 200 mm, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 효소를 걸러내었고, 분자증류를 통해 FFA와 MAG를 분리하여 DAG와 TAG로 구성된 유지를 얻었다. 분자증류는 15 m torr로 140°C에서 증류를 시작하여 200°C까지 온도를 상승시켜 1 hr 동안 진행하였다.

### Normal-phase HPLC 분석 및 정량

합성한 유지의 DAG 및 TAG 함량을 알아보기 위하여 normal phase high performance liquid chromatography (NP-HPLC) 분석을 실행하였다. Dual pump(SP930D, Younglin, Anyang, Korea)가 장착된 HPLC(Younglin Acme, Anyang, Korea)를 사용하였으며, 검출기는 evaporative light scattering detector(ELSD, model 75, SEDEX, Alfortville, France)를, column은 Hypersil BDS CPS 5  $\mu$  (250 $\times$ 4.6 mm, Thermo Hypersil Ltd., Cheshire, UK)를 사용하였다. 시료는 각각 일정한 농도로 hexane에 희석하여, PTFE syringe filter(0.5  $\mu$ m, Advantec, Tokyo, Japan)로 여과하였으며, sodium sulfate를 이용하여 glycerol을 제거한 후 20  $\mu$ L를 기기에 주입하여 분석하였다. 이동상으로는 A(hexane:acetic acid=100:0.4, v/v)용매와 B(methyl-t-butyl ether:acetic acid=100:0.4, v/v)용매를 유속 1 mL/min으로 하여 A용매로 5분간 유지하고, 10분간 용매 A와 B의 부피비 20대 80으로 변화시킨 후 2분간 유지하고 다시 5분간 A용매로 변화시킨 후 8분간 유지하여 분석하였다. 각 피크는 SBO, GMO, 1,3-dioleoyl-rac-glycerol 및 1,2-dioleoyl-rac-glycerol를 표준물질로 하여 retention time을 비교하여 분석하였다. 또한 SBO, 1,3-dioleoyl-rac-

glycerol과 1,2-dioleoyl-rac-glycerol을 표준물질로 하여, 농도에 따른 면적값을 통해 정량곡선을 얻었으며, TAG와 DAG를 정량하였다.

### 분리된 DAG 함유 유지의 지방산 조성 분석

분자증류를 통해 분리되어진 DAG 함유 유지의 지방산 분석을 위하여 saponification 반응과 methylation을 실시하였다. 시료를 약 20 mg씩 test tube에 넣고 1.5 mL의 0.5 N methanolic NaOH를 가한 후 충분히 교반하였다. 그 후, 5분간 100°C 항온수조에서 중탕시킨 후 냉각하고, 2 mL의 BF<sub>3</sub>-methanol을 가한 후 다시 2분간 중탕시켜 냉각하였다. 여기에 2 mL의 iso-octane과 1 mL의 포화 NaCl을 넣고 충분히 교반 후, 2분간 방치하여 상층액을 취하였다. 이 상층액을 anhydrous sodium sulfate column을 통과시켜 수분 및 불순물을 제거한 후 gas chromatography(GC)로 분석하였다. GC(Hewlett-Packard 6890 series, Avondale, PA, USA) 분석을 위한 column은 SP<sup>TM</sup>-2560(100 m $\times$ 0.25 mm, 0.2  $\mu$ m film thickness, Bellefonte, PA, USA)을 사용하였다. 검출기는 flame ionized detector(FID)를 사용하였으며, 온도는 260°C로 설정하였다. Injector의 온도는 250°C를 유지하였고, carrier gas는 질소가스를 flow rate 52.5 mL/min로 설정하여 사용하였다. Oven 온도는 150°C에서 5분간 유지 후 4°C/min으로 승온시켜 220°C까지 도달하여 30분간 유지하였고, split ratio는 1/50이었다. 시료는 1  $\mu$ L를 주입하여 분석을 실시하였고, 얻어진 지방산 메틸에스테르들의 peak는 해당 지방산으로 전환하기 위하여 식약청에서 고시한 지방산별 전환계수를 사용하였다(19).

### 산가 및 요오드가 측정

기질 및 대량 반응을 통해 얻은 유지의 이화학적 성질을 알아보기 위하여 산가(acid value)와 요오드가(iodine value)를 AOCS의 방법(20)에 따라 두 번 반복하여 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 대량 합성된 DAG 함유 유지의 특성 분석

DAG 함유 유지의 대량합성을 위하여 기질은 SBO와 GMO의 몰비율 1:2로 하였으며, impeller를 장착한 회전식반응기를 이용하였다. 사용된 효소는 TAG의 sn-1,3 position에 위치특이성을 가지고 있는 Lipozyme RMIM으로 총 기질 질량의 10%를 사용하였다. 반응은 6 hr 동안 이루어졌으며, 반응 1, 2, 3, 6 hr 마다 시료를 채취하여 NP-HPLC 분석을 통해 TAG와 total DAG 그리고 1,3-DAG와 1,2-DAG의 함량 변화를 알아보았다(Table 1). 그 결과, 반응시작 후 1 hr부터 6 hr까지 total DAG의 함량은 25.4~27.7 g/100 g oil로 나타났으며, 6 hr 반응하였을 때의 TAG의 함량은 32.2 g/100 g oil로 감소하였다. 이것은 반응 기질로 사용된 SBO의 TAG 구성 지방산들의 일부가 가수분해 되어 GMO

**Table 1. HPLC analysis of diacylglycerol (DAG) and triacylglycerol (TAG) content during 6 hr reaction period (g/100 g oil)**

Time (hr)	1,3-DAG	1,2-DAG	Total DAG <sup>1)</sup>	TAG <sup>2)</sup>
1	16.7	8.7	25.4	50.2
2	17.4	9.8	27.2	39.0
3	17.1	10.1	27.1	36.0
6	17.5	10.2	27.7	32.2

<sup>1)</sup>Sum of 1,3-diacylglycerol and 1,2-diacylglycerol.

<sup>2)</sup>Triacylglycerol.

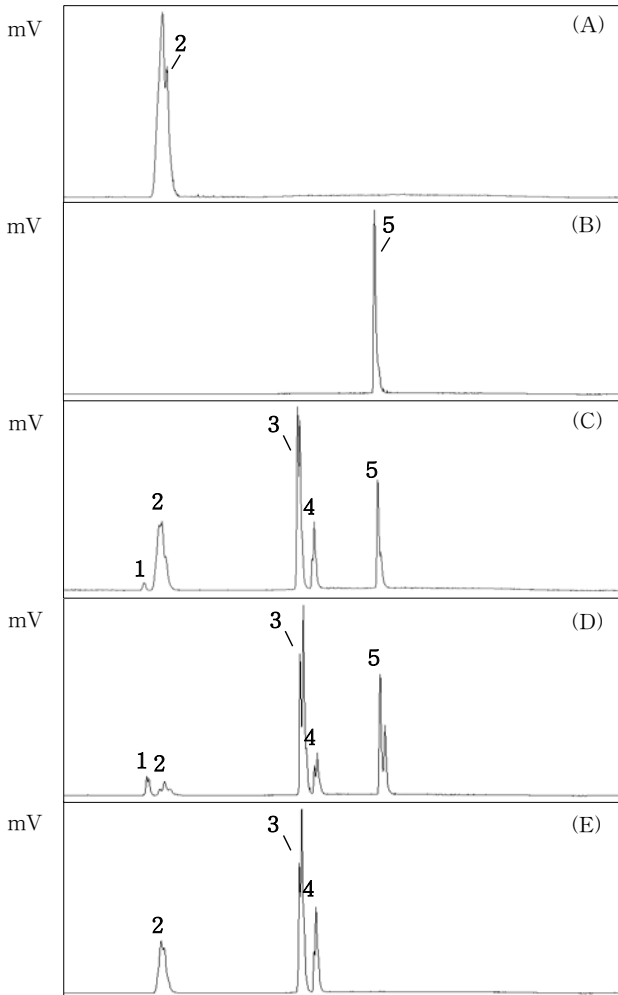
에 결합되면서 결국 DAG로 합성되어지고 있음을 보여준다. 또한 6 hr의 반응물은 1 hr의 반응물보다 TAG의 함량이 감소하는 대신 FFA와 TAG가 가수분해 되어 생성된 MAG의 함량이 증가하는 모습을 보였다(Fig. 1, C and D).

6 hr의 반응이 완료되고 Lipozyme RMIM을 분리한 후의 합성된 반응물은 TAG와 DAG 이외에도 MAG와 FFA가

반응 부산물로서 존재함으로 이를 제거하기 위하여 분자증류를 시행하였다. 약 2 kg의 SBO와 GMO(물비율 1:2)의 반응물을 분자증류 하여 1.2 kg의 해당하는 DAG와 TAG로 구성된 DAG 함유 유지를 얻었다. NP-HPLC를 통해 분자증류 전과 후의 TAG와 DAG함량의 변화를 살펴보았으며 HPLC chromatogram을 Fig. 1에 나타내었다. 분자 증류 전의 TAG와 DAG의 함량은 각각 7, 59 area%였으며(Fig. 1, D), 분자 증류 후에는 각각 29, 71 area%(Fig. 1, E)로 나타나 TAG와 DAG의 함량이 분자증류를 하기 전보다 증가함을 알 수 있었다. 또한 분자증류 전의 chromatogram에서는 FFA와 MAG의 peak가 존재하였으나, 분자증류 후에는 FFA와 MAG의 peak가 존재하지 않음을 확인하였다. 대부분의 DAG를 합성하는 선행 연구에서는 주로 TAG를 hydrolysis시키는 방법(21), glycerol과 FFA를 이용하는 방법(22), 그리고 glycerol과 TAG를 이용하는 방법(23) 등 크게 세 가지로 나눌 수 있다. 반면 본 연구에서는 기질로써 SBO와 글리세린 1분자에 지방산이 1개 결합한 형태인 GMO를 사용하여 DAG를 합성함으로써 선행연구와의 차별성을 두었다는데 그 의의가 있다고 사료된다.

**대량 합성된 DAG 함유 유지의 분석**

대량합성 후 분자증류를 거친 DAG 함유 유지의 지방산 조성을 분석하였다(Table 2). SBO의 주요한 지방산은 oleic acid(C18:1)와 linoleic acid(C18:2)로 각각 24.69와 54.06 wt%를 나타내었고, 분자증류를 거친 DAG 함유 유지의 주요한 지방산인 C18:1과 C18:2 함량은 각각 44.36 wt%와 37.36 wt%로 나타나, SBO보다 C18:1이 증가하고, C18:2가 감소함을 보였다. 이러한 결과는 높은 C18:1 함량을 가진 GMO가 DAG로 합성되면서 DAG 함유 유지의 C18:1의 함량이 증가한 것으로 생각된다. 그리고 기질인 GMO의 trans 지방산 함량은 3.26 wt%로 나타났으며, 대량 합성된 DAG



**Fig. 1. Chromatogram from the normal-phase high performance liquid chromatography of (A) soybean oil (SBO), (B) glyceryl monooleate (GMO), (C) 1-hr reactant (D) 6-hr reactant (E) 6-hr reactant after short path distillation. 1: free fatty acid, 2: triacylglycerol, 3: 1,3-diacylglycerol, 4: 1,2-diacylglycerol, 5: monoacylglycerol.**

**Table 2. Fatty acid composition of soybean oil (SBO) and glyceryl monooleate (GMO) and diacylglycerol-oil (DAG oil) (Unit: wt%)**

Fatty acid	SBO	GMO	DAG oil <sup>1)</sup>
C12:0	— <sup>2)</sup>	2.38	0.90
C14:0	—	0.94	0.62
C16:0	11.54	3.28	7.20
C18:0	4.02	2.39	3.39
C18:1	24.69	78.12	44.36
C18:2	54.06	9.44	37.36
C18:3	5.69	—	3.82
C20:0	—	0.18	0.32
C20:1	—	—	0.32
C18:1trans	—	1.06	0.68
C18:2trans	—	2.20	1.04
Σtrans FAs <sup>3)</sup>	—	3.26	1.72
ΣUSFA <sup>4)</sup>	84.44	87.56	85.86

<sup>1)</sup>Residue part after short path distillation.

<sup>2)</sup>Not detected.

<sup>3)</sup>Total trans fatty acid.

<sup>4)</sup>Total unsaturated fatty acid.

**Table 3. Chemical characteristics of diacylglycerol-oil (DAG oil) after short path distillation**

	Substrate		Before short path distillation	After short path distillation <sup>3)</sup>
	SBO <sup>1)</sup>	GMO <sup>2)</sup>		
Acid value	<0.5	1.9	11.39	0.13
Iodine value	140	82.5	—	112.6

<sup>1)</sup>Soybean oil.

<sup>2)</sup>Glyceryl monooleate.

<sup>3)</sup>DAG oil, residue part after short path distillation.

함유 유지는 1.72 wt%로 나타났다. 한편, DAG 함유 유지의 화학적 성질을 알아보기 위하여 산가와 요오드가를 측정하였으며, 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 분자증류 하기 전과 후의 DAG 함유 유지의 산가는 각각 11.39와 0.13으로 나타나, 분자증류 후에 산가가 뚜렷이 감소함을 보였다. 이는 분자증류를 통해 FFA가 제거되었기 때문일 것으로 여겨진다. 유지의 불포화도를 나타내는 요오드가의 경우 SBO가 140, 분자 증류 후의 DAG 함유 유지가 112.6으로 나타났다. 이를 통해 DAG 함유 유지의 불포화도는 기질인 SBO보다 낮아졌음을 알 수 있었다.

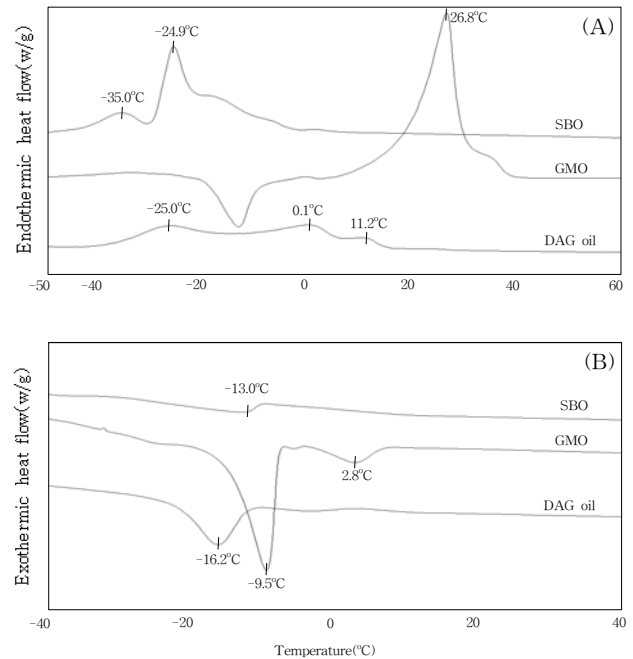
#### Solid fat content(SFC)와 융점 및 결정화 피크

반응 기질인 SBO와 GMO, 그리고 대량 합성한 후 분자증류를 거친 DAG 함유 유지의 solid fat content(SFC)를 알아보았다(Table 4). SBO는 -45°C에서 융해되기 시작하여 0°C에서 대부분 융해된 반면 DAG 함유 유지는 20°C에서 대부분 융해되었다. 이는 SBO와 GMO가 효소적 반응에 의하여 DAG로 합성되면서 그 반응 결과물인 DAG 함유 유지의 융해 온도가 높아진 것으로 생각된다. 한편, 반응기질인 GMO와 SBO 그리고 DAG 함유 유지의 융점과 결정화 곡선을 Fig. 2에 나타내었다. 반응 기질인 SBO의 융점 피크는

**Table 4. Solid fat contents of soybean oil (SBO), glyceryl monooleate (GMO) and diacylglycerol-oil (DAG oil)**

Temp (°C)	SBO	GMO	DAG oil <sup>1)</sup>
-45	98.9	—	—
-40	96.2	—	99.9
-35	89.0	—	98.1
-30	81.6	—	91.9
-25	62.2	—	80.3
-20	36.4	—	68.5
-15	19.4	—	59.0
-10	8.9	—	50.1
-5	2.6	—	39.9
0	0.7	—	26.6
5	—	99.9	14.2
10	—	98.5	7.3
15	—	93.0	2.0
20	—	80.4	0.8
25	—	50.5	—
30	—	11.9	—
35	—	3.0	—
40	—	—	—

<sup>1)</sup>Residue part after short path distillation.

**Fig. 2. Differential scanning calorimetry heating curves (A) and cooling curves (B) of soybean oil (SBO), glyceryl monooleate (GMO) and diacylglycerol-oil (DAG oil).**

-35.0°C와 -24.9°C로 나타났으며, GMO의 융점 피크는 26.8°C에서 뚜렷한 피크를 나타내었다. 반면, 합성한 DAG 함유 유지는 세 개의 융점 피크를 보였고 그 온도는 각각 -25.0, 0.1, 11.2°C로 반응 기질인 GMO보다 낮은 온도 쪽으로 이동하였으며, 기질인 SBO와 GMO에 비하여 융점 피크가 넓게 분포하고 있음을 알 수 있었다. 결정화 피크는 반응 기질인 SBO가 -13.0°C에서 나타났으며, GMO는 -9.5°C와 2.8°C에서 나타났다. 반면, 합성한 DAG 함유 유지의 결정화 피크는 -16.2°C에서 나타나 반응 기질인 SBO와 GMO의 주요 피크보다 낮은 온도 쪽으로 이동하였다.

## 요 약

SBO와 GMO의 몰비율 1:2의 기질에 Lipozyme RMIM을 총 기질 질량의 10%를 사용하여, impeller를 장착한 회분식 반응기를 통해 DAG 함유 유지의 대량합성을 실시하였다. 반응시작 후 1 hr부터 6 hr까지 total DAG의 함량은 25.4~27.7 g/100 g oil로 나타났으며, 6 hr 반응하였을 때 TAG의 함량은 32.2 g/100 g oil으로 감소하였다. 반응 완료 후 분자증류를 통해 MAG와 FFA를 제거하였으며 NP-HPLC를 통해 분자증류 전과 후의 TAG와 DAG 함량변화를 알아보았다. 분자증류 전의 TAG와 DAG의 함량은 각각 7, 59 area%였으며, 분자증류 후에는 각각 29, 71 area%로 나타나 TAG와 DAG의 함량이 분자증류를 하기 전보다 증가함을 알 수 있었다. 분자증류를 거친 DAG 함유 유지의 주요한 지방산은 C18:1과 C18:2로 그 함량은 각각 44.36%와 37.36%로 나

타났으며, trans 지방산의 함량은 1.72%로 나타났다. 그리고 분자중류를 거친 DAG 함유 유지의 산가와 요오드가는 각각 0.13과 112.6이었다. SFC분석 결과, 분자중류를 거친 DAG 함유 유지는 SBO보다 높은 온도인 25°C에서 대부분 용해되는 것을 알 수 있었으며, 융점 피크는 -25.0, 0.1, 11.2°C에서 나타났고, 결정화 피크는 -16.2°C에서 보였다.

### 감사의 글

본 연구는 2009년도 농림수산식품부 농림기술개발사업의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 문헌

- Cheong LZ, Tan CP, Long K, Yusoff MSA, Arifin N, Lo SK, Lai OM. 2007. Production of a diacylglycerol-enriched palm olein using lipase-catalyzed partial hydrolysis: Optimization using response surface methodology. *Food Chem* 105: 1614-1622.
- Kristensena JB, Xu X, Mu H. 2005. Diacylglycerol synthesis by enzymatic glycerolysis: Screening of commercially available lipases. *J Am Oil Chem Soc* 82: 329-334.
- Kristensen JB, Nielsen NS, Jacobsen C, Mu H. 2006. Oxidative stability of diacylglycerol oil and butter blends containing diacylglycerols. *Eur J Lipid Sci Technol* 108: 336-350.
- Taguchi H, Watanabe H, Onizawa K, Nagano T, Gotoh N, Yasukawa T, Tsushima R, Shomasaki H, Itakura H. 2000. Double-blind controlled study on the effects of dietary diacylglycerol on postprandial serum and chylomicron triacylglycerol responses in healthy human. *J Am Coll Nutr* 19: 789-796.
- Tada N, Yoshida H. 2003. Diacylglycerol on lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 14: 29-33.
- Tada N. 2004. Physiological actions of diacylglycerol outcome. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 7: 145-149.
- Watanabe H, Onizawa K, Taguchi H, Kobori M, Chiba H, Naito S, Matuo N, Yasukawa T, Hattori M, Shimasaki H. 1997. Nutritional characterization of diacylglycerols in rats. *J Jpn Oil Chem Soc* 46: 301-307.
- Yanagita T, Ikeda I. 2003. *Digestion and absorption of diacylglycerol, in essential fatty acid and eicosanoids*. AOCS Press, Champaign, IL. p 316-320.
- White DA, Bennett AJ, Billett MA, Salter AM. 1998. The assembly of triacylglycerol-rich lipoproteins: an essential role for the microsomal triacylglycerol transfer protein. *Br J Nutr* 80: 219-229.
- Konda H, Hase T, Murase T, Tokimitsu I. 2003. Digestion and assimilation features of dietary DAG in the rat small intestine. *Lipids* 38: 25-30.
- Fujii A, Allen TJ, Nestel PJ. 2007. 1,3-diacylglycerol-rich oil induces less atherosclerosis and lowers plasma cholesterol in diabetic apoE-deficient mice. *Atherosclerosis* 193: 55-61.
- Kasamatsu T, Ogura R, Ikeda N, Morita K, Saigo K, Watabe H, Saito Y, Suzuki H. 2005. Genotoxicity studies on dietary diacylglycerol (DAG) oil. *Food Chem Toxicol* 43: 253-260.
- Yasukawa T, Yasunaga K. 2001. Nutritional functions of dietary diacylglycerols. *J Oleo Sci* 50: 427-432.
- Katsuragi Y, Toi T, Yasukawa T. 1999. Effects of dietary diacylglycerols on obesity and hyperlipidemia. *J Jpn Hum Dry Dock* 14: 258-262.
- Yamamoto K, Asakawa H, Tokunaga K, Watanabe H, Matsuo N, Tokimitsu I, Yagi N. 2001. Long-term ingestion of dietary diacylglycerol lowers serum triacylglycerol in type II diabetic patients with hypertriglyceridemia. *J Nutr* 131: 3204-3207.
- Vu PL, Park RK, Lee YJ, Kim YM, Nam HY, Lee JH, Akoh CC, Lee KT. 2007. Two-step production of oil enriched in conjugated linoleic acid and diacylglycerol. *J Am Oil Chem Soc* 84: 123-128.
- Blasi F, Cossignani L, Simonetti MS, Damiani P. 2007. Biocatalysed synthesis of sn-1,3-diacylglycerol oil from extra virgin olive oil. *Enz Mic Tech* 41: 727-732.
- Rosu R, Uozaki Y, Iwasaki Y, Yamane T. 1997. Repeated use of immobilized lipase for monoacylglycerol production by solid-phase glycerolysis of olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 74: 445-450.
- 식품의약품안전청고시. 2007. 식품등 중 기준규격미설정 물질의 시험방법, 제2007-10호.
- AOCS. 1990. *Official Methods and Recommended Practices of the AOCS*. 4th ed. Cd 3a-63, Cd 1-25, Cd 3-25. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA.
- Plou FJ, Barandiaran M, Calvo MV, Ballesteros A, Pastor E. 1996. High-yield production of mono- and di-oleylglycerol by lipase-catalyzed hydrolysis of triolein. *Enz Mic Tech* 18: 66-71.
- Castillo E, Dossat V, Marty A, Condoret JS, Combes D. 1997. The role of silica gel in lipase-catalyzed esterification reactions of high-polar substrates. *J Am Oil Chem Soc* 74: 77-85.
- Kristensen JB, Xu X, Mu H. 2005. Diacylglycerol synthesis by enzymatic glycerolysis: screening of commercially available lipases. *J Am Oil Chem Soc* 82: 329-334.

(2009년 7월 29일 접수; 2009년 10월 14일 채택)