KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 41, No. 3, pp. 231~237 (2009)

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

팜유와 아보카도유로부터 효소적 interesterification을 통한 *trans* free margarine stock 제조 및 이화학적 특성 연구

이윤정 · 이기택*
충남대학교 식품공학과

Development and Characterization of *Trans* Free Margarine Stock from Lipase-Catalyzed Interesterification of Avocado and Palm Oils

Yun-Jeung Lee and Ki-Teak Lee*
Department of Food Science and Technology, Chungnam National University

Abstract *Trans* free margarine stock (TFMS) was produced by lipase-catalyzed synthesis of fully hydrogenated soybean oil (FHSBO), avocado oil (AO) and palm oil (PO). A blend of FHSBO, AO, and PO with a 1:5:4 (30:150:120 g, respectively) ratio was interesterified with lipozyme RM IM(from *Rhizomucor miehei)* in a 1 L-batch type reactor at 65 for 12 hr, and the physicochemical and melting properties of TFMS were compared with commercial margarine. The solid fat content (%) of the TFMS was analyzed at 25, 30, and 35°C, respectively, while its melting point was 37.8°C. The *trans* fatty acid content of the TFMS was below 0.1%. It also had acid, saponification, and iodine values of 0.4, 173.9, and 58.6, respectively. In HPLC chromatograms of the TFMS, newly synthesized peaks of triacylglycerol molecules were observed by using reverse-phase HPLC with evaporative light-scattering detection. Normal-phase HPLC with UV detection was used to quantify tocopherols in the TFMS, indicating that its α-, γ- and δ-tocopherol contents were 5.7, 2.1, and 1.7 mg/100 g, respectively.

Key words: structured lipids, interesterification, avocado oil, margarine stock

서 론

마가린은 버터의 대용지로서 지방 함량과 제조 목적에 따라 다양한 물성으로 제조되어 상용되고 있다. 버터는 포화 지방산의 함량이 높은 동물성 유지를 사용하는 반면 마가린은 주로 식물성 유지를 이용하여 제조되기 때문에 불포화 지방산의 함량이 높아 상온에서 고체지의 물성을 나타내기 어렵다. 이러한 문제점을 보완하기 위해 식물성 유지에 hydrogenation과 interesterification, fractionation 등(1)의 방법으로 고체 또는 반고체 상태로 경화시킬 수 있다. 이는 산화 및 열에 대한 안정성을 부여할 수 있으나 hydrogenation을 통해 제조할 경우 *trans* 지방산이 생성되는 문제점을 가지고 있다.

Trans 지방산은 심혈관계 질환, 비만 등의 원인인 동시에 low density lipoprotein(LDL)은 증가시키는 반면 high density lipoprotein(HDL)은 감소시킨다. 뿐만 아니라 임산부가 이를 다량 섭취했을 경우 태아의 필수 지방산 대사에 영향을 미쳐 성장을 저해하기도 한다. 여성인 경우 *trans* 지방산의 체내 축적량이 많을수록 유방암과 심근경색의 유발 가능성이 높다는 연구 결과가 보고되었다(2,3). 이와 같은 문제점이 부각됨에 따라 2003년 Food And Agriculture Organization(FAO)과 World Health Organization (WHO)에서는 식품 중 함유되어 있는 총 섭취열량 중 *trans* 지방산의 함량을 1% 이하로 낮추기를 권장하였다. 이에 따라 US Food And Drug Administration(USFDA)은 2006년 1월 1일을 기준으로 식품 제조업체에게 식품의 총 지방 함량 중 *trans* 지방산의 함량을 분리하여 표기할 것을 공포하였다.

Interesterification 방법은 화학적, 효소적 반응을 통하여 기질 본연의 지방산을 이용하여 무작위 또는 선택적 위치에 의해 재배열되는 것으로 지방산의 이성체 변화 없이 유지의 물리적, 화학적 특성을 변화시킬 수 있어 *trans* 지방산의 발생을 보다 감소시킬 수 있다(4). 특히 효소적 합성은 위치 특이성을 가진 lipase를 이용하여 얻고자 하는 지방산 조성의 함량이 높은 재구성 지질을 얻을 수 있다. 또한 고정화 효소(immobilized lipase)는 재사용이 가능하고 환경 친화적이며 고부가 가치의 다양한 유용물질을 선택적, 효율적으로 생산할 수 있는 장점이 있다(5). 이와 관련하여 Farmani 등(6)의 채종유와 해바라기유로부터 esterfication 방법을 이용한 쇼트닝, 마가린 제조에 관한 연구를 비롯하여 다양한 연구 결과가 보고되었다(7,8).

마가린 제조 시 주로 사용되는 식물성 유지는 대두유(soybean oil), 팜유(palm oil), 옥수수유(corn oil), 채종유(canola oil) 등으로 알려져 있다(9-11). 팜유는 다른 식물유에 비해 포화 지방산의 함량이 많아 높은 융점과 우수한 산화 안정성으로 튀김 또는 고체유지 제조 시 사용된다. 뿐만 아니라 다량의 vitamin E(tocopherol, tocotrienol), sterol, phospholipid 등을 함유하고 있어 식품 산업에 다양한 분야로 사용되고 있다(12).

*Corresponding author: Ki-Teak Lee, Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea
Tel: 82-42-821-6729
Fax: 82-42-822-6729
E-mail: ktlee@cnu.ac.kr
Received March 18, 2008; revised March 19, 2009;
accepted April 10, 2009

멕시코와 남아메리카가 원산지인 아보카도(*Persea americana*)는 비교적 높은 지방함량을 가졌으며 주요적으로 oleic acid(C18:1)와 같은 일가불포화지방산으로 구성되어 있다. 아보카도유는 신체에 유익한 HDL은 증가하는 반면 해로운 LDL은 감소시켜준다(13). 또한 항산화 작용에 효과적인 vitamin E, C와 vitamin A의 전구체인 β-carotene 등과 그 외 피부 치유에 효과가 있는 chlorophyll이 상대적으로 많이 함유하고 있어 영양학적, 의학적으로 널리 사용되고 있다(14,15). Salazar 등(16)은 아보카도유를 식이한 쥐를 통해 혈압 상승 호르몬인 angiotensin의 증가함과 심장, 신장 조직의 지방산 조절에 관한 연구 결과를 발표하였다.

본 연구에서 lipozyme RM IM을 사용하여 interesterification 반응으로 다목적용 마가린 stock으로 적합한 재구성 지질을 합성 후 이화학적 특성을 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서는 시중에 유통되고 있는 Q사(Incheon, Korea)의 팜유, M사(Seoul, Korea)의 아보카도유 제품 및 O사(Kyunggi, Korea)의 마가린 제품을 구입하여 사용하였다. 또한 tributyrin(C4:0), tricaprylin(C8:0), trilaurin(C12:0), trimyristin(C14:0), tripalmitin (C16:0), triolein(C18:1), trilinolein(C18:2) 표준 시약은 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입 사용하였다. Lipozyme RM IM(*Rhizomucor miehei*)은 Novo Nordisk Biochem. North America Inc.(Franklinton, NC, USA)에서 구입 사용하였으며 기기 분석 시 HPLC grade 용매를 사용하였다.

재구성 지질의 효소적 합성

대두극도경화유(Fully hydrogenated soybean oil: FHSBO)와 아보카도유(avocado oil: AO), 팜유(palm oil: PO)를 이용하여 다양한 기질 비율(FHSBO:AO:PO=1:5:4, 1:4:5, 1:2:7)을 통해 예비실험을 시행하였다. 이에 근거하여 마가린 stock으로 가장 적합한 것으로 사료된 1:5:4(30:150:120 g) 비율을 이용하여 1 L-stirred batch type reactor에서 12시간 반응하였다. 이때 lipozyme RM IM (Aw≤0.155)을 전체 기질의 총 10%인 10 g을 취하여 반응에 사용하였다. Double jacket으로 제작된 항온 수조의 온도는 65°C로 일정하게 유지하였다. 길이 9 cm, 폭 3 cm인 impeller를 장착하여 stirrer motor(MS-3060D, Mtops, Yangju, Gyeonggi, Korea)에 의해 230 rpm으로 유지함으로써 충분히 기질과 효소를 교반하였으며 합성된 재구성 지질은 filter paper를 이용하여 진공 상태에서 효소를 걸렀다(17). 또한 탈산 과정을 통하여 합성 과정 중 발생 가능한 유리 지방산을 제거 후 실험에 사용될 재구성 지질을 획득하였다. 재구성 지질 1 g에 1 N phenolphtalein 용액을 지시약으로 2-3 drop을 첨가한 후 0.5 N KOH의 ethanol 용액을 이용하여 적정하였다. 이에 1 mL hexane과 2 mL ethanol을 첨가하여 시료가 완전히 분리될 수 있도록 충분히 정치시킨 후 상층액인 hexane층만 분리하여 sodium sulfate를 이용하여 수분과 불순물을 제거하였다. 이를 N_2(g)를 사용하여 hexane을 완전히 제거 후 이화학적 분석을 통해 재구성 지질의 특성을 살펴보았다.

지방산 조성 분석

재구성 지질 약 100 mg을 취하여 3 mL의 hexane과 1 mL의 2 N KOH의 methanol 용액을 첨가하였다. 또한 내부표준물질인 1 mL의 heptadecanoic acid methylester를 넣은 후 충분히 진탕하여 15분 동안 방치하였다. 분리된 hexane층을 얻어 sodium sulfate anhydrous를 통과하여 수분을 제거한 후 gas chromatograph(GC) 분석에 사용되었다. 분석 시 GC(Hewlett-Packard 6890 series, Avondale, PA, USA)에 flame ionized detector(FID)가 장착된 기기를 사용하였다. Carrier gar는 N_2로써 52.5 mL/min, 260°C를 유지하였다. Column은 Supelcowax TM-10(100 m×0.25 mm, 0.2 μm film thickness, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA)를 통하여 분석하였으며 column oven 온도는 100°C에서 5분 동안 유지 후 4°C/min씩 증가시켜 220°C에 도달하여 20분간 유지하였다. Inject port 온도는 250°C, split ratio는 50:1로써 시료 10 μL 주입하여 지방산 분석을 실행하였다.

재구성 지질의 *sn*-2 및 *sn*-1,3 위치의 지방산 조성 분석을 위하여 pancreatic lipase(from hog pancreas, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에 의한 가수분해 분석을 실행하였다. 약 7 mg의 시료에 1 M Tris-HCl buffer(pH 7.6) 7 mL, 0.05% 담즙산염 용액 1.75 mL, 2.2% $CaCl_2$ 용액 0.7 mL를 첨가한 후 시료와 동일한 양의 pancreatic lipase를 첨가하였다. 그 후 37°C 항온수조에서 3분간 반응 후 1분 동안 충분히 교반하였고 이와 같은 과정을 3-4회 반복하였다. 반응이 끝난 시료에 diethyl ether 2 mL를 첨가한 후 진탕하여 위층만 분리하여 sodium sulfate anhydrous column을 통해 수분 및 불순물을 제거하였다. 이를 n-hexane, diethyl ether, acetic acid의 50:50:1(v/v/v) 전개용매를 사용하여 TLC(20×20 cm, Merck, Darmstadt, Germany)를 통해 분석하였으며 R_f 값이 0.03인 2-monoacylglycerol(MAG)을 분리하였다.

Reversed-phase HPLC를 이용한 재구성 지질 분석

재구성 지질 내 생성된 TAG와 반응기질과의 비교를 위하여 reversed-phase high performance liquid chromatography(RP-HPLC) 분석을 시행하였다. Young-Lin SP930D dual pump(Anyang, Korea)와 Sedex 75 evaporative light scattering detector(ELSD, Sedere, Alfortvill, France)는 40°C, 2.2 bar로 설정하였고 20 μL injection loop가 부착된 auto sampler(Marathon, Spark Holland, Emmen, Netherlands)를 이용하였다. Nova-Pak(R)C18 60Å 4 μm (3.9×150 mm I.d., Waters, Milford, Ireland) column을 통해 분석을 시행하였다. 이동상은 기울기 용리로써 acetonitrile(ACN):dichloromethane(DCM)을 70:30(v/v) 비율로 25분 동안 라인을 흘려준 후 49:51 비율로 26분, 30:70 비율로 48분까지 유지하였다. 70:30 비율로 50분까지 0.72 mL/min 유속으로 흘려주었으며 분석 시 column oven을 이용해 25°C로 설정하였다. 시료 10 μL는 ACN과 DCM (HPLC grade)=7:3 비율의 용매에 희석하여 준비한 용액은 PTFE syringe filter를 이용하여 여과 후 20 μL injection 하여 결과를 얻을 수 있었다. Tributyrin(C4:0), tricaprylin(C8:0), trilaurin(C12:0), trimyristin(C14:0), tripalmitin(C16:0), triolein(C18:1), trilinolein (C18:2)은 외부 표준물질로써 이를 이용하여 TAG의 retention time (RT)과 partition number(PN) 간의 계산식[PN=total carbon number (CN)-2×total number of double bonds(ND)]을 통해 결과를 얻었다.

Differential scanning calorimetry(DSC) 분석

DSC(TA Instruments, Model DSC 2010, New Castle, DE, USA)를 이용하여 유지의 결정화 온도(crystallization point)와 융점을 측정하였다. 분석 시 calibration을 위한 baseline은 빈 cell을 통한 분석결과를 이용하였고, 각 분석시료는 약 5-10 mg을 취하여 분석하였다. Thermogram을 얻기 위해 80°C에서 10분 동안 유지한 다음 10°C/min의 비율로 –60°C까지 냉각하여 10분 동안 유지한 후 다시 80°C까지 5°C/min의 비율로 승온하였다.

재구성 지질의 Tocopherol 함량 분석

재구성 지질의 α-, γ-, δ-tocopherol을 HPLC를 통하여 정량 분석하였다. 시료의 전처리를 위해 test tube에 sample 1 g을 취한 후 산화 방지를 위해 6% pyrogallol을 첨가한 ethanol 5 mL와 60% KOH의 에탄올 용액 1.25 mL를 가하여 균질화하였다. Sample의 산화 방지를 위해 충분한 질소 충전 후 완전히 밀봉하여 shaking water bath에서 70°C, 30분간 반응 후 ice bath를 이용하여 신속히 냉각하였다. 이에 2% NaCl 용액 5 mL를 첨가하여 완전히 분획을 시킨 후 hexane:ethyl acetate=85:15(0.05% BHT함유)를 2.5 mL 넣고 3회 반복 추출하여 질소 충전하였다. 이를 hexane 5 mL에 희석하였으며 syringe filter(13 mm, 0.2 μm, Whatman, Florham Park, NJ, USA)를 이용하여 여과 후 20 μL를 inject한다. 이를 SP930D dual pump와 UV730 검출기(Young-Lin Instrument Co.)가 장착되어 있는 HPLC로 295 nm에서 분석하였다. Column은 LiChrosorb Diol 5 μm(3×100 mm, Chrompack, Raritan, NJ, USA)를 사용하였고 100:0.1(v/v)의 hexane:acetic acid를 등용리로 0.5 mL/min의 유속으로 30분 동안 유지하였다. α-, γ-, δ-tocopherol 표준물질 분석을 통해 시료의 tocopherol의 정량 분석이 이루어졌다.

산가, 요오드가, 비누화가 및 melting point 측정

효소적 반응을 통해 얻은 재구성 지질과 반응 기질의 화학적 특성을 알아보기 위하여 산가, 요오드가 및 비누화가를 AOCS의 방법에 준하여 2회 분석을 통해 결과를 얻었다(18). 한편 유지의 melting point를 측정하기 위하여 AOCS 방법에 준하여 분석을 시행하였다(19). 완전히 용해된 시료는 capillary tube(75 mm×1.2 mm i.d., Chase Scientific Glass Inc., Rockwood, TN, USA)의 약 1 cm 정도 양을 채취하여 4°C에서 16시간 동안 보관하여 충분히 응고되도록 하였다. 증류수를 사용한 water bath에서 0.5°C/min으로 승온하여 전체적으로 균일한 열전도가 이루어지도록 하였다. 시료가 담긴 tube는 온도계 하단에 부착하였고 cupric sulfate($CuSO_4$) 용액이 든 column에 이를 넣어 증류수에서 중탕하여 분석을 실행하였다. 온도 상승에 따른 시료의 melting 진행에 따라 시각적인 관찰 후 시료가 완전히 용해되는 지점을 melting point로 지정하였다.

결과 및 고찰

지방산 조성 분석

기질로 사용된 팜유의 지방산 조성 중 C16:0가 44.5%, C18:1은 38.8%로 가장 높은 함량을 나타내었고 아보카도유는 C18:1(58.8%)이 주요 지방산으로 확인되었다(Table 1). 한편 Xu 등(20)이 제시한 *sn*-1,3(%)=(3TAG-*sn*-2)/2를 통해 *sn*-1,3의 지방산 조성을 살펴보았다. *Sn*-2 위치의 C18:1 함량은 팜유와 아보카도유 각각 66.8, 68.4%로 가장 높은 함량을 나타내었다. 팜유 분석 결과 *trans* 지방산은 0.1%로 미량 검출되었으며 이때 포화지방산의 함량은 Müller 등(9)의 연구 보고에서 알려진 바와 같이 약 50%임을 확인하였다(Fig. 1). 한편, *trans* free margarine stock(TFMS)은 약 29%의 C16:0, 약 45%의 C18:1의 주요 지방산 함량을 나타내었다. 이때 ΣSFA는 40.7%로 확인되어 PO에 반해 약 20% 감소된 수치를 확인할 수 있었다. 또한 C14:0(0.5%), C16:1(4.4%), C18:0(10.9%), C18:2(9.4%), C18:3(0.3%)로 구성되어 있으며 이중 *trans* 지방산은 검출되지 않았다. *Sn*-2 위치에는 주요적으로 C16:0(21.6%), C18:1(50.2%)의 지방산 함량을 보였으며 *sn*-1,3 위치 역시 C16:0(33%), C18:1(42.7%)로 ΣSFA는 44.1%이다.

Reversed-phase HPLC를 이용한 재구성 지질 분석

기질로 사용된 팜유와 아보카도유 및 TFMS를 구성하는 지방산들의 길이, 불포화도에 의해 분리되는 partition number(PN)를 분석하였다. 팜유와 아보카도유의 PN은 44-50의 범위에 속했으나 다소 차별적인 지방산 조성을 나타내었다. 팜유의 TAG 조성 중 대부분이 PN=48이 차지하였으며 나머지 peak는 PN=46, PN=50으로 확인되었다(Fig. 2A). 또한 아보카도유는 PN=48과 PN=46으로 분리되었다(Fig. 2B). TFMS의 interesterification 반응 전 TAG 조성을 살펴본 결과 TFMS에 반해 PN=52-54 범위에서 peak를 확인할 수 있었다(Fig. 2C). 한편, TFMS는 PN=50 peak의 차지 비율이 반응 전보다 증가하였고, PN=52-54에 속하는 peak는 나타나지 않았다(Fig. 2D). 특히 대부분의 peak는 PN=48에 속했으며 PN=46, PN=50, PN=44으로 분리되었다. 이는 TAG 분자 내 acyl group의 선택적 교환이 효과적으로 이루어짐으로써 새로운 재구성 지질이 생성되었다고 사료된다.

Table 1. Positional fatty acid (FA) composition of palm oil (PO), avocado oil (AO) and *trans* free margarine stock (TFMS)

(Unit: area %)

FA	FHSBO[1]	PO		AO		TFMS	
	Total FA	Total FA	*sn*-2	Total FA	*sn*-2	Total FA	*sn*-2
C12:0	-[2]	0.2±0.0[3]	0.2±0.0	0.0±0.0	-	0.1±0.0	0.1±0.0
C14:0	-	1.0±0.0	0.5±0.0	0.1±0.1	-	0.5±0.0	0.4±0.1
C16:0	15.3±0.0	44.5±0.1	15.8±0.6	19.7±0.1	4.7±0.1	29.2±0.0	21.6±0.2
C16:1	-	0.2±0.1	0.1±0.1	9.0±0.1	4.9±0.0	4.4±0.0	3.1±0.0
C18:0	84.7±0.0	4.6±0.0	1.5±0.1	0.6±0.0	0.5±0.1	10.9±0.0	12.0±0.1
C18:1	-	38.8±0.1	66.8±0.4	58.3±0.3	68.4±0.6	45.2±0.0	50.2±0.2
C18:2	-	10.1±0.0	15.1±0.1	11.6±0.0	20.7±0.4	9.4±0.0	12.3±0.1
C18:3	-	0.3±0.0	0.1±0.1	0.8±0.0	0.9±0.0	0.3±0.0	0.5±0.1
C20:0	-	0.4±0.1	-	0.1±0.1	-	-	-
tFAs[4]	-	0.1±0.0	-	-	-	-	-
ΣSFA[5]	100±0.0	50.6±0.0	18.0±0.4	20.4±0.2	5.2±0.2	40.7±0.0	34.0±0.3

[1]Fully hydrogenated soybean oil
[2]Not detected
[3]Mean±standard deviation
[4]*Trans* fatty acids
[5]Saturated fatty acids

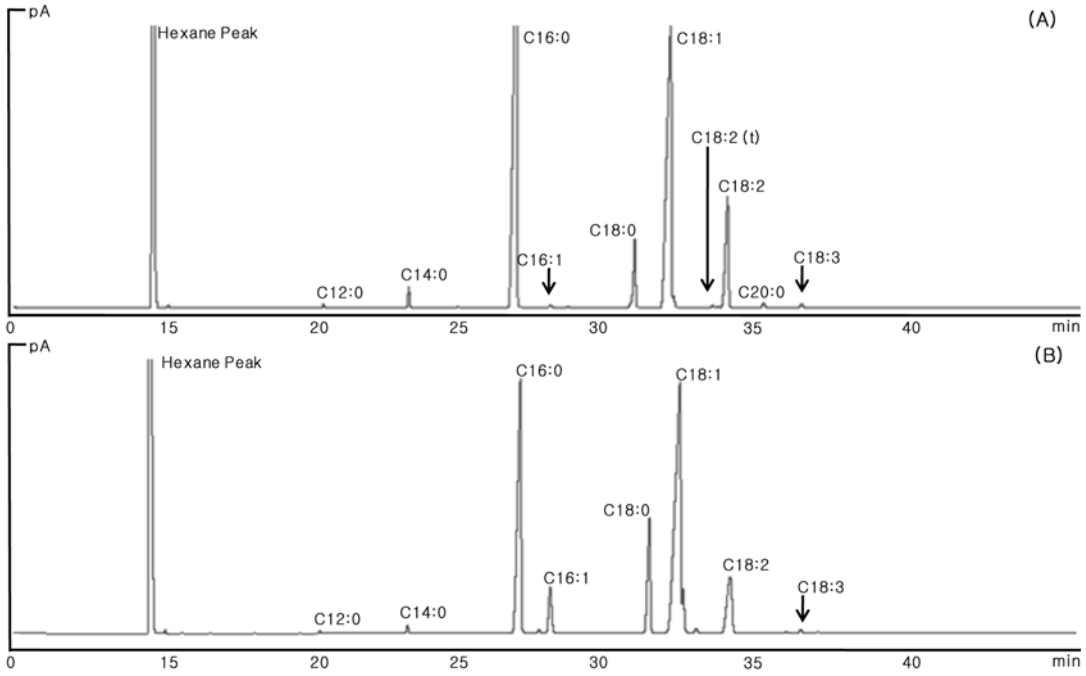

Fig. 1. Fatty acid chromatograms of palm oil (A) and *trans* free margarine stock (B).

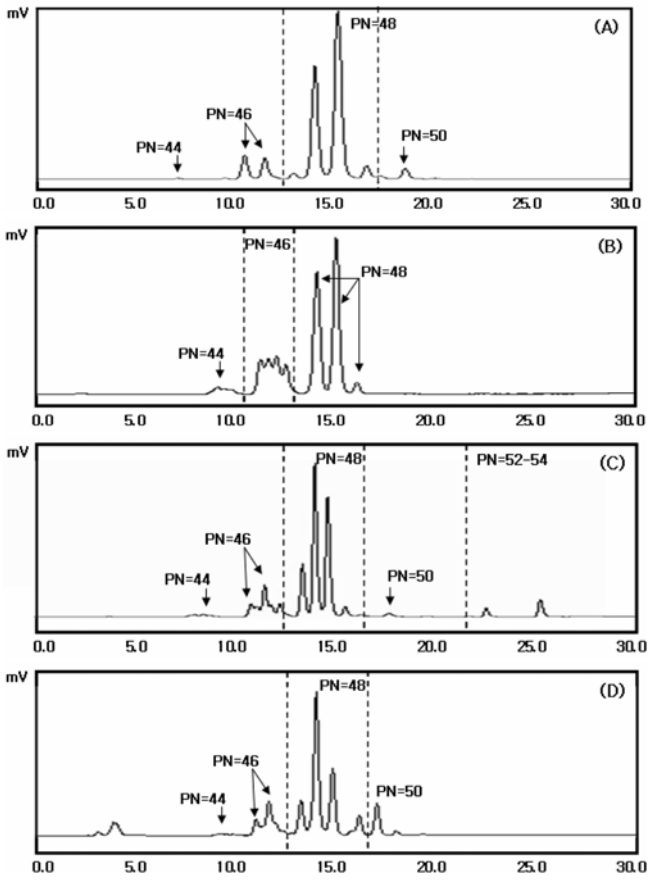

Fig. 2. Chromatograms from the reversed-phase HPLC separation of palm oil (A), avocado oil (B) and blend of fully hydrogenated soybean oil: avocado oil: palm oil (1:5:4) (C), *trans* free margarine stock (D). Partition number (PN)=total number of carbons (CN)-(2×total number of double bonds (ND))

Differential scanning calorimetry(DSC) 분석

다양한 반응 조건에서 합성된 재구성 지질의 각각의 온도(−10-50°C)에 해당하는 solid fat content(SFC)를 측정하였다. Karabulut 등(7)과 Petrauskaite 등(21)의 연구 보고에 따라 마가린의 종류에 따른 차별적인 SFC 분포를 확인할 수 있었다. 한편, Table 3은 국내에 유통되고 있는 마가린의 SFC를 나타낸 것으로 5°C에서의 SFC는 16.3-38.2%, 35°C는 1.3-9.6%이며 45°C에서 완전히 녹는 것을 확인하였다. 본 연구에서는 Table 2에 따라 기질의 비율 FHSBO:AO:PO=1:5:4로 합성된 재구성 지질이 마가린 stock으로서 가장 적합할 것이라 사료되었다. 사용된 기질과 최종 생산물인 TFMS의 SFC를 측정 결과 35°C에서 TFMS는 8.5%, PO는 11.7%로 나타내었다(Table 3). 위의 결과와 같이 전반적으로 PO와 TFMS의 SFC 함량이 유사하게 나온 것을 확인할 수 있었다. 이는 TFMS 제조 시 기질 비율 중 10%에 해당하는 대두 극도경화유를 첨가함에 따라 보다 고체지로서의 물성에 기여한 것으로 판단된다. 이에 따라 본 연구에서 제조한 재구성 지질의 SFC 함량을 분석한 결과 시중에 유통되고 있는 마가린에 반해 높은 함량을 나타내었다. 이는 마가린의 제조 과정 중 유화제, 수분상을 갖기 위한 우유 등의 첨가로 인한 물성 변화에 따라 목적에 적합한 마가린의 제조를 기대할 수 있다.

기질로 사용된 팜유 및 아보카도유와 TFMS의 융점과 결정화 곡선을 분석하였다(Fig. 3). 팜유의 융점 피크는 4.0, 7.8, 25.9, 38.7°C에서 나타났으며 결정화 피크는 −3.6, 14.4°C에서 확인되었다. 상온에서 액체 상태인 아보카도유의 융점피크는 −7.8, 9.0°C에서 나타났으며 결정화 피크는 −20.3°C에서 나타났다. 최종 생성물인 TFMS은 7.3, 23.6, 35.3°C에서 융점 피크를 나타내었고, −1.3, 15.8°C에서 결정화 피크를 나타내었다. TFMS는 약 40% 포화 지방산을 함유하고 있음에도 불구하고 팜유와 비교 시 다소 낮은 온도에서의 융점 피크를 확인할 수 있었고, 이에 반하여 결정화 피크는 TFMS의 PN=50(Fig. 2)의 함량이 다소 높음에 따라 위와 같은 결과를 나타낸 것으로 사료된다.

Table 2. Solid fat index of structured lipids at the different reactor time (Unit: %)

FHSO[1]:AO[2]:PO[3] (weight ratio)	Temp. (°C)	Reaction times (hr)						
		1	2	3	6	12	24	48
1:5:4	-10	88.3	90.4	90.0	90.2	90.2	91.0	93.4
	0	63.4	65.6	65.8	68.1	71.1	75.7	77.6
	5	49.1	51.8	52.0	54.8	57.9	64.3	67.6
	10	33.4	34.5	34.9	38.7	43.0	47.8	50.5
	15	27.6	26.5	27.6	30.6	34.4	38.9	37.9
	20	26.5	25.0	26.3	29.3	32.5	35.9	35.9
	25	21.6	21.3	21.0	23.1	24.2	26.7	27.0
	30	14.7	14.4	14.1	15.3	17.0	19.0	18.7
	35	8.6	7.9	7.6	8.0	9.2	10.0	10.1
	40	2.4	1.6	1.1	1.1	1.2	1.0	1.6
	45	-	-	-	-	-	-	-
	50	-[4]	-	-	-	-	-	-
1:4:5	-10	90.1	91.6	91.1	90.4	93.3	91.9	92.0
	0	66.5	68.5	68.1	69.0	75.7	77.4	78.1
	5	53.0	54.8	55.2	56.9	65.9	69.5	69.0
	10	37.1	38.3	39.0	42.2	51.2	54.7	54.4
	15	32.2	31.1	31.7	35.2	40.5	44.6	46.4
	20	31.8	30.2	30.4	34.1	38.8	43.2	44.0
	25	27.6	27.6	27.5	27.7	32.5	32.9	33.4
	30	19.4	19.7	19.1	19.7	22.8	22.7	24.3
	35	12.0	12.0	11.8	11.7	13.6	12.7	13.8
	40	3.9	3.6	3.1	2.8	3.8	2.6	1.9
	45	-	-	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-	-
1:2:7	-10	91.1	94.4	92.3	93.7	94.7	96.4	95.9
	0	72.1	76.4	74.3	77.4	80.4	84.4	83.6
	5	58.3	62.7	61.5	65.9	70.8	76.4	76.3
	10	45.1	49.8	49.5	55.4	61.7	68.3	68.4
	15	37.5	41.3	40.9	46.1	51.6	65.8	57.6
	20	37.0	40.5	39.8	44.6	49.4	55.0	55.8
	25	35.0	38.1	37.6	41.5	45.4	50.2	48.7
	30	25.7	28.1	28.1	31.2	33.3	37.0	35.7
	35	17.0	18.1	18.6	20.5	22.0	24.7	23.7
	40	7.7	8.1	10.3	9.7	10.5	12.1	11.1
	45	0.5	0.4	0.6	0.7	0.6	0.1	0.6
	50	-	-	-	-	-	-	-

[1]Fully hydrogenated soybean oil
[2]Avocado oil
[3]Palm oil
[4]Not detected

재구성 지질의 tocopherol 함량 분석

HPLC를 이용하여 TFMS 및 반응에 사용된 기질의 α-, γ-, δ-tocopherol 함량을 분석하였다(Table 5). 팜유는 α-tocopherol만 검출 되었으며 이의 함량은 7.3 mg/100 g으로 나타내었다. 또한 아보카도유는 4.8, 3.1 mg/100 g의 α-, δ-tocopherol이 확인되었다. 반응 생성물인 TFMS의 전체 tocopherol 함량은 9.5 mg/100 g으로 α-, γ- 및 δ-tocopherol이 각각 5.7, 2.1, 1.7 mg/100 g을 보였다. γ-tocopherol이 검출되지 않은 팜유, 아보카도유에 비해 TFMS에서 γ-tocopherol이 2.1 mg/100 g 확인된 것을 보아 Lee 등(22)이 보고한 바와 같이 FHSBO에 존재하는 298.2 mg/100 g의 γ-tocopherol이 반응물에 기여했음을 확인할 수 있었다.

산가, 요오드가 및 비누화가 측정

재구성 지질 및 팜유, 아보카도유의 화학적 특성 분석을 위하여 산가, 요오드가, 비누화가 및 capillary를 통한 melting point를 측정하였다. Table 6에서와 같이 TFMS의 melting point는 팜유의 37.3°C와 유사하게 37.8°C로 측정되었다. 이는 melting point가 60°C가 넘는 FHSBO의 함량이 10%를 차지함으로써 상온에서 액체 상태인 아보카도유의 함량이 높음에도 불구하고 팜유와 유사한 융점을 나타낸 것으로 사료된다.

팜유의 산가는 0.4이며 비누화가는 204.9, 요오드가는 46.5로 측정되었다. 또한 아보카도유는 산가 0.6, 비누화가 194.1로 나타났고 요오드가는 79.8로 확인되었다. 반면 탈산 과정을 거친 TFMS

Table 3. Solid fat content of commercial margarine in Korea
(Unit: %)

Temperature (°C)	Low-fat margarine	Vegetable margarine	Corn margarine
-10	60.3	63.6	46.5
0	17.3	43.0	38.2
5	16.3	38.2	34.2
10	15.8	37.7	32.7
15	12.8	36.1	32.1
20	9.6	30.1	28.0
25	6.6	23.2	21.5
30	3.9	16.3	14.1
35	1.3	9.6	6.8
40	-[1)]	2.7	0.9
45	-	-	-
50	-	-	-

[1)]Not detected

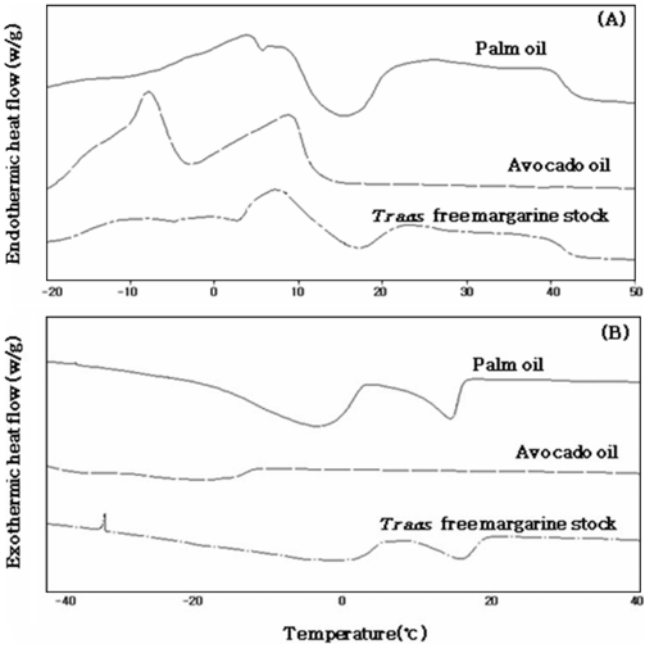

Fig. 3. DSC 2010 differential scanning calorimeter heating curve (A) and cooling curve (B) of substrates and *trans* free margarine stock.

의 산가는 0.4로 나타났으며 지질 중 지방산의 분자량을 설명해 주는 비누화가 173.9로 측정되었다. 이는 기질과 비교 시 분자량이 큰 지방산의 함량이 높아 비교적 낮은 비누화가를 나타낸 것으로 사료된다. 또한 지질의 불포화도 정도를 설명해주는 요오드가는 58.6으로 나타났다.

Table 4. Solid fat content of palm oil (PO), avocado oil (AO) and *trans* free margarine stock (TFMS)
(Unit: %)

Temperature (°C)	PO	AO	TFMS
-10	90.6	76.4	89.3
0	73.4	41.1	70.2
5	58.8	26.3	58.6
10	46.5	5.0	40.5
15	43.2	0.1	32.6
20	40.6	-[1)]	31.2
25	31.0	-	23.4
30	21.0	-	15.6
35	11.7	-	8.5
40	3.7	-	1.7
45	0.4	-	-
50	-	-	-

[1)]Not detected

Table 5. α-, γ- δ-tocopherol contents of palm oil (PO), avocado oil (AO) and *trans* free margarine stock (TFMS)

	PO	AO	TFMS
Total tocopherol (mg/100 g)	7.3±0.1[1)]	7.9±0.1	9.5±0.0
α-tocopherol	7.3±0.1	4.8±0.0	5.7±0.6
γ-tocopherol	-[2)]	-	2.1±0.2
δ-tocopherol	-	3.1±0.2	1.7±0.1

[1)]Mean±standard deviation
[2)]Not detected

요 약

팜유와 아보카도유를 이용하여 효소적 방법을 통해 *trans* free margarine stock(TFMS)을 제조하였다. 회분식 반응기(stirred batch type reactor)를 통한 본 반응은 *sn*-1,3 위치 특이성을 가진 lipozyme RM IM(from *Rhizomucor miehei*)을 사용하였다. 반응기질 대두극도경화유와 아보카도유 및 팜유는 30:150:120(g)의 비율로 230 rpm, 65°C에서 합성하였으며 이를 통해 이화학적 특성을 분석하였다. 재구성 지질의 DSC 분석 결과 TFMS의 solid fat content(SFC)는 5°C에서 58.6%, 35°C에서의 약 8.5%로 확인 되었으며 7.3, 23.6, 35.3°C의 DSC 상의 melting point 특성을 나타내었다. TFMS는 C16:0(약 29%)과 C18:1(약 45%)이 주요 지방산으로 확인되었고 ΣSFA는 40.7%이었으며 *trans* 지방산은 검출되지 않았다. *Sn*-2 위치에는 주요적으로 C16:0(21.6%)과 C18:1(50.2%)의 지방산 조성이 확인되었다. RP-HPLC를 통해 TFMS를 이루고 있는 TAG의 PN을 확인 하였다. 주요적으로 PN=48이 대부분을 차지하였고 PN=46, PN=50으로 분리되었으며 TFMS의 반응 전과 비교 시 차별적인 TAG peak를 확인할 수 있었다. 한편, α-,

Table 6. Chemical characteristics of fully hydrogenated soybean oil (FHSBO), palm oil (PO), avocado oil (AO) and *trans* free margarine stock (TFMS)

	FHSBO	PO	AO	TFMS
Acid value	<1.09±0.0[1)]	<0.4±0.0	<0.6±0.0	<0.4±0.0
Saponification value	168.3±0.0	204.9±1.0	194.1±0.5	173.9±0.0
Iodine value	0.17±0.0	46.5±5.1	79.8±2.6	58.6±6.0
Melting point (°C)	68.0±0.1	37.3±0.4	-[2)]	37.8±0.4

[1)]Mean±standard deviation
[2)]Not detected

γ- 및 δ-tocopherol이 각각 5.7, 2.1, 1.7 mg/100 g을 나타냈으며 산가, 요오드가, 비누화가를 통해 TFMS의 이화학적 특성을 확인할 수 있었다. TFMS를 통해 마가린 제조 시 물성 변화를 고려하여 마가린의 적합한 물성을 지닐 수 있을 것이라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 현장협력기술개발사업(20070401080019)의 지원에 의하여 수행된 연구 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Tekin A, Cizmeci M, Karabacak H, Kayahan M. *Trans* FA and solid fat contents of margarines marketed in Turkey. J. Am. Oil Chem. Soc. 79: 443-445 (2002)
2. Katan MB. Health effects of *trans* fatty acids. Eur. J. Clin. Invest. 28: 257-258 (1998)
3. Clalson SE, Clandinin MT, Cook HW, Emken EA, Filer Jr LJ. *Trans* fatty acids: Infant and fetal development. Am. J. Clin. Nutr. 66: 717S-736S (1997)
4. Lee KT, Foglia TA, Lee JH. Low-calorie fat substitutes: synthesis and analysis. Vol. 16, pp. 1-19. In: Handbook of Industrial Biocatalysis. Ching TH (ed). CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA (2005)
5. Lee KT, Akoh CC. Structured lipids: Synthesis and applications. Food Rev. Int. 14: 17-34 (1998)
6. Farmani J, Hamedi M, Safari M, Madadlou A. *Trans*-free Iranian vanaspati through enzymatic and chemical transesterification of triple blends of fully hydrogenated soybean, rapeseed and sunflower oils. Food Chem. 102: 827-833 (2007)
7. Karabulut I, Turan S, Ergin G. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. Eur. Food Res. Tech. 218: 224–229 (2004)
8. Zhang H, Pedersen LS, Kristensen D, Adler-Nissen J, Holm HC. Modification of margarine fats by enzymatic interesterification: Evaluation of a solid-fat-content-based exponential model with two groups of oil blends. J. Am. Oil Chem. Soc. 81: 653-658 (2004)
9. Müller H, Jordal O, Kierulf P, Kirkhus B, Pedersen JI. Replacement of partially hydrogenated soybean oil by palm oil in margarine without unfavorable effects on serum lipoproteins. Lipids 33: 879-887 (1998)
10. Shin HS, Chung KH, Chun JH. Effect of random interesterification on the physicochemical properties in blends of corn germ oil and fully hydrogenated soybean oil. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 360-365 (1991)
11. D'Souza V, deMan JM, deMan L. Chemical and physical properties of the solid fats in commercial soft margarines. J. Am. Oil Chem. Soc. 69: 1198-1205 (1992)
12. Posada LR, Shi J, Kakuda Y, Xue SJ. Extraction of tocotrienols from palm fatty acid distillates using molecular distillation. Sep. Purif. Technol. 57: 218-227 (2007)
13. Alvizouri-Munoz M, Carranza-Madrigal J, Herrera-Abarca JE, Chavez-Carbajal F, Amezcua-Gastelum JL. Effects of avocado as a source of monounsaturated fatty acids on plasma lipid levels. Arch. Med. Res. 23: 163-167 (1992)
14. Bergh B. Nutritious value of avocado. Calif. Avocado Soc. 76: 123-135 (1992)
15. Swisher HE. Features: Avocado oil. J. Am. Oil Chem. Soc. 65: 1704-1706 (1988)
16. Salazar MJ, Hafidi ME, Pastelin G, Ramírez-Ortega MC, Sánchez-Mendoza MA. Effect of an avocado oil-rich diet over an angiotensin II-induced blood pressure response. J. Ethnopharmacol. 98: 335-338 (2005)
17. Shin JA, Lee KT. Production of structured lipid containing capric and conjugated linoleic acids and studies of physicochemical characteristics. Korea J. Food Sci. Technol. 36: 537-541 (2004)
18. AOCS. 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 (1990)
19. AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. 4th ed. Cc1-25. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA (1990)
20. Xu X, Fomuso LB, Akoh CC. Synthesis of structured triacylglycerols by lipase-catalyzed acidolysis in a packed bed bioreactor. J. Agr. Food Chem. 48: 3-10 (2000)
21. Petrauskaite V, De Greyt W, Kellens M, Huyghebaert A. Physical and chemical properties of *trans*-free fats produced by chemical interesterification of vegetable oil blends. J. Am. Oil Chem. Soc. 75: 489-493 (1998)
22. Lee JH, Akoh CC, Lee KT. Physical properties of *trans*-free bakery shortening produced by lipase-catalyzed interesterification. J. Am. Oil Chem. Soc. 85: 1-11 (2008)