Jour. Agri. Sci.
Chungnam Nat'l Univ., Korea
Vol.36(2): 219~224 (2009)

효소적 공법을 이용한 기능성 modified-butterfat의 향기성분 특성 분석

신정아[1] · 이기택[1*]

Flavor Characteristic of Functional Modified-butterfat Synthesized by Lipase-catalyzed Interesterification

Jung-Ah Shin[1] · Ki-Teak Lee[1*]

ABSTRACT

Two functional modified-butterfats (MF668 and MF866) were synthesized with two blends (6:6:8 and 8:6:6, w/w%) of anhydrous butterfat (ABF), palm stearin (PS) and flaxseed oil (FSO, omega-3) via lipase-catalyzed interesterification reaction. Their flavor characteristic was investigated using electronic nose and SPME-GC/MS analysis. Each flavor pattern of ABF, FSO, MF668 and MF866 was significantly discriminated with first principal component score of 95.16% in PCA plot. In functional modified-butterfats analyzed with SPME-GC/MS, various volatile compounds such as aldehydes, ketones, acids, and alkanes were detected.

Key words : Functional modified-butterfat, Lipase-catalyzed interesterification, Flavor characteristic, Electronic nose, SPME-GC/MS

2009년 10월 22일. 접수: 2009년 11월 13일. 수정: 2009년 12월 08일 채택

[1] 충남대학교 농업생명과학대학 식품공학부(Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Republic of Korea)
[*] 교신저자: 이기택(E-mail: ktlee@cnu.ac.kr, Tel: +82-42-821-6729)

Ⅰ. 서 론

효소(lipase, EC 3.1.1.3) 촉매를 이용한 기능성 유지의 합성은 친환경적이며, 고온 고압에서 이루어지는 화학적 촉매에서보다 온화한 반응 조건에서 수행되어 인체에 유해한 부반응물의 생성이 적다. 또한 회수가 용이하여 재사용이 가능하며 반응 특이성(positional and stereo-specificity)을 갖는 lipase들에 의하여 기능성 유지소재들을 합성할 수 있다(1). 따라서 최근에는 전 세계적으로 산업적인 기능성 유지소재의 합성을 위하여 효소촉매를 널리 이용하는 추세이다. 유지방(butterfat)은 우유로부터 분리되는 크림으로부터 만들어지며, 버터 특유의 풍미를 가지고 있어 제과 제빵에 주로 이용되고 있다. 이들 유지방은 동물성 유지로부터 얻어지기 때문에 다량의 콜레스테롤을 함유하고 있으며, 물성이 냉장온도에서 너무 단단하여 spreadable fat으로는 사용하기 어려운 단점이 있다(2). 이를 개선하기 위하여 심혈관질환 개선효과를 지니는 오메가-3 지방(α-linolenic acid, 53%내외)을 주로 함유하고 있는 flaxseed oil(FSO)과 물성 보완을 위한 palm stearin(PS)을 사용하여 환경 친화적인 효소적 공법을 이용하여 기능성 modified-butterfat(MF)을 합성하였다. 합성 후 기능성 modified-butterfat의 향기성분 분석을 수행하여 유지방과 비교 분석하였다. 향기성분 분석은 일반적으로 gas chromatography/mass spectrometry(GC/MS)를 통하여 이루어진다. 근래에는 쉽고 신속한 향기성분 포집을 위한 방법으로 headspace 전처리법를 이용한 solid-phase microextraction(SPME) 법이 널리 이용되고 있다(3,4). SPME 추출은 시료로부터 얻어지는 headspace상과 용융실리카 섬유에 얇은 막 형태로 고착된 fiber의 고체상 사이의 흡착 평형에 의해 이루어진다. 반면에, 향기성분을 하나하나 분리 동정하는 GC/MS 방법과는 달리 식품 전체의 향을 감지하고 구분하는 전자코는 신속하고 편리하며 비파괴적인 분석 방법으로 널리 이용되고 있다(5). 따라서 본 연구에서는 SPME-GC/MS와 전자코 분석을 통하여 합성한 기능성 modified-butterfat들의 향기성분 특성을 연구하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 기질로는 butter(Murray Goulbum Co-operative Co. Ltd. Australia)와 flaxseed oil(Vitamin World Inc., NY, USA), palm stearin(CJ Inc., Seoul)이 사용되었다. 상업화된 고정화 효소는 *Rhizomucor miehei*에서 유래한 Lipozyme RM IM(Novozymes North America Inc. Franklinton, NC, USA)이었다. 본 실험에 사용된 anhydrous butterfat(ABF)은 butter를 60℃에서 완전히 녹인 후 유지만 취하여 수분을 제거한 것이었다.

Modified-butterfat의 효소적 합성

Modified-butterfat(MF)은 anhydrous butterfat(ABF)과 palm stearin(PS), flaxseed oil(FSO)을 8:6:6(MF866)과 6:6:8(MF668)의 기질비율(w/w%)로 Lipozyme RM IM 효소(총 기질 비율의 10%, w/w)를 이용하여 무용매 상태에서 합성하였다. 반응은 60℃에서 impeller(blade length: 9 cm, blade width: 3.3 cm)를 이용하여 24시간 동안 이루어졌다. 반응 후 short path distillation을 통하여 탈산 과정이 이루어졌으며, 향기성분 분석을 위하여 질소 충진 후 -30℃에서 보관하였다.

전자코에 의한 향기패턴분석

분석에 이용된 전자코는(α-FOX 3000 Electronic Nose system, Alpha M.O.S., Toulouse, France) 12개의 metal oxide sensor(MOS)들로 구성되어 있었다. P10/1, P10/2, SY/AA, SY/gCT 센서들은 주로 non polar volatiles를 감지하며, PA2, T30/1, SY/gCT1 센서들은 주로 organic solvent 들을 감지한다. SY/G 센서는 주로 ammonia와 sulfur 화합물을 감지하며, SY/Gh 센서는 aromatic 화합물을 감지한다. T70/2 센서는 식품향기와 휘발 성분들을 감지하며 P40/1, SY/LG 센서들은 주로 fluoride와 chloride 화합물들을 감지하는 특성을 가지고 있다(6). 향기성분 패턴분석은 시료 2 g(n=6)을 20 ml vial에 취하여 60℃에서 15분 동안 500 rpm으로 진탕하여 획득한 headspace를 MOS가 장착되어 있는 본체의 injector port에 주입함으로써 이루어졌다. 이때 센서들의 안정화를 위한 분석 간격은 10분 이였으며, 주입한 syringe volume은 2500 ㎕이였다. 분석결과, 각 센서의 감응도(delta R_{gas}/R_{air}) 즉, 공기 저항값(R_{air})에 대한 시료 휘발성 성분의 저항값(R_{gas})의 변화율로 주성분분석(principal component analysis; PCA)를 실행하였다.

SPME-GC/MS 분석

HP-5 capillary column(cross linked 5% PHME siloxane, 30 m length×0.32 mm inside diameter× 0.25㎛ film thickness, Hewlett-Packard, USA)이 장착되어 있는 Saturn 2000 GC/MS(Varian, USA)를 사용하여 향기성분들을 동정하였다. 오븐 온도는 35℃에서 5분간 유지 후, 60℃까지 4℃/min으로, 140℃까지 2℃/min으로, 230℃까지 6℃/min으로, 마지막으로 280℃까지 15℃/min으로 승온하였다. Injector 온도는 250℃, MS의 trap, manifold, transfer line 온도는 각각 200, 50, 180℃로 유지하였다. MS의 ionization source는 electron ionization(EI mode)으로 전압은 70 eV 이였다. 향기성분 포집에 사용된 fiber는 polydimethylsiloxane (PDMS) /carboxen (CAR)이 75㎛의 두께로 코팅된 것이었다. 시료로부터의 향기성분 분석은 시료 4 g을 25 mL hole-cap vial에 취한 다음 40℃에서 10분동안 평형을 유지한 후 50분동안 fiber에 흡착시켜 injector port에서 5분동안 탈착하여 이루어졌다. 분석 후 시료로부터 획득한 mass spectrum을 통한 향기성분은 GC/MS에 내장되어 있는 NIST 08(NIST mass spectral search program version 2.0f)과 WILLY 7 library를 함께 이용하여 동정하였다.

III. 결과 및 고찰

전자코를 통한 향기패턴 분석

본 실험에서 합성한 기능성 modified-butterfat (MF)들은 이전에 보고한 MF들의 물리화학적 특성 이외의 향기성분 특성을 연구한 것이다(7). 기능성 modified-butterfat(MF) 들 (MF866과 MF668)의 향기패턴 분석을 수행한 결과, Figure 1에서와 같이 향기패턴이 구분되었다. 향기패턴을 구분하는 제1주성분 값의 기여율(proportion)은 95.16% 이였으며, 제2주성분 값의 기여율은 2.41%로 각 그룹 간에 향기패턴이 다름을 확인하였다. 그룹들 간의 euclidean distance(group distance)를 구하여 그룹간의 거리척도를 비교한 결과, anhydrous butterfat(ABF)과 MF866은 0.01886 이였고, ABF와 MF668 사이의 group distance는 0.008045이였다. 반면에 flaxseed oil (FSO)와 MF866은 0.00202이였으며, FSO와 MF668

은 0.000161이였다. 이로서 합성한 두 modified-butterfat들은 기질로 사용된 ABF와 FSO와는 다른 향기 패턴을 보였으며, ABF보다 낮은 group distance를 보이면서 FSO와 좀더 향기패턴이 유사함을 확인하였다. MF668은 FSO를 좀더 함유하였기 때문에 ABF보다 FSO와 group distance가 낮은 결과를 나타내었다(Figure 1). 센서들 중 SY/LG, SY/G, SY/AA, SY/Gh, SY/gCT1, SY/gCT 센서를 제외한 6개의 센서(T30/1, P10/1, P10/2, P40/1, T70/2, PA2)에서 ABF와 MF866, MF668 간에 유의적으로 향기패턴이 다름을 확인하였다(Table 1).

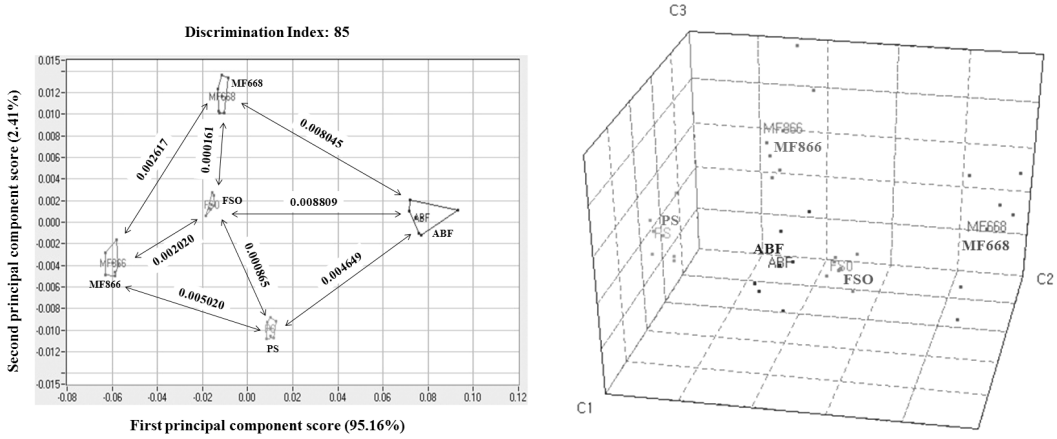

Figure 1. Two and three dimensional plots of principal component analysis of substrates (ABF, PS and FSO) and functional modified-butterfats (MFs).

Functional MFs (MF866 and MF668) were synthesized with two blends (8:6:6 and 6:6:8, w/w%) of anhydrous butterfat (ABF), palm stearin (PS) and flaxseed oil (FSO).

Table 1. Responses ($\Delta R/R_0$) of sensors by electronic nose on substrates (ABF, FSO and PS) and functional modified-butterfats (MFs)

	ABF	FSO	PS	MF866	MF668
SY/LG	0.00218±0.00305b	0.00586±0.00099a	0.00426±0.00179ab	0.00318±0.00071b	0.00420±0.00029ab
SY/G	-0.00379±0.00116ab	-0.00506±0.00112b	-0.00465±0.00083b	-0.00170±0.00363a	-0.00382±0.00384ab
SY/AA	0.00090±0.00324a	-0.00348±0.00091b	-0.00394±0.00100b	-0.00085±0.00330ab	0.00171±0.00406a
SY/Gh	-0.00165±0.00230ab	-0.00345±0.00064b	-0.00232±0.00252b	-0.00169±0.00221ab	0.00061±0.00281a
SY/gCT1	-0.00253±0.00347a	-0.00341±0.00029a	-0.00131±0.00463a	-0.00236±0.00333a	-0.00260±0.00306a
SY/gCT	-0.00085±0.00433a	-0.00377±0.00073a	0.00011±0.00406a	-0.00130±0.00323a	-0.00165±0.00348a
T30/1	0.07684±0.00073a	0.04814±0.00102d	0.05193±0.00073c	0.03392±0.00107e	0.05461±0.00089b
P10/1	0.04940±0.00083a	0.02043±0.00048c	0.03362±0.00071b	0.01239±0.00102e	0.01950±0.00069d
P10/2	0.05030±0.00048a	0.02159±0.00085c	0.03028±0.00036b	0.01174±0.00048e	0.01859±0.00079d
P40/1	0.04248±0.00099a	0.01569±0.00038c	0.02786±0.00071b	0.00872±0.00038e	0.01429±0.00038d
T70/2	0.07895±0.00107a	0.05073±0.00056c	0.05094±0.00069b	0.03474±0.00106d	0.05760±0.00077b
PA2	0.16909±0.00161a	0.10438±0.00121d	0.12511±0.00118b	0.06810±0.00207e	0.10708±0.00146c

Functional MFs (MF866 and MF668) were synthesized with two blends (8:6:6 and 6:6:8, w/w%) of anhydrous butterfat (ABF), palm stearin (PS) and flaxseed oil (FSO).

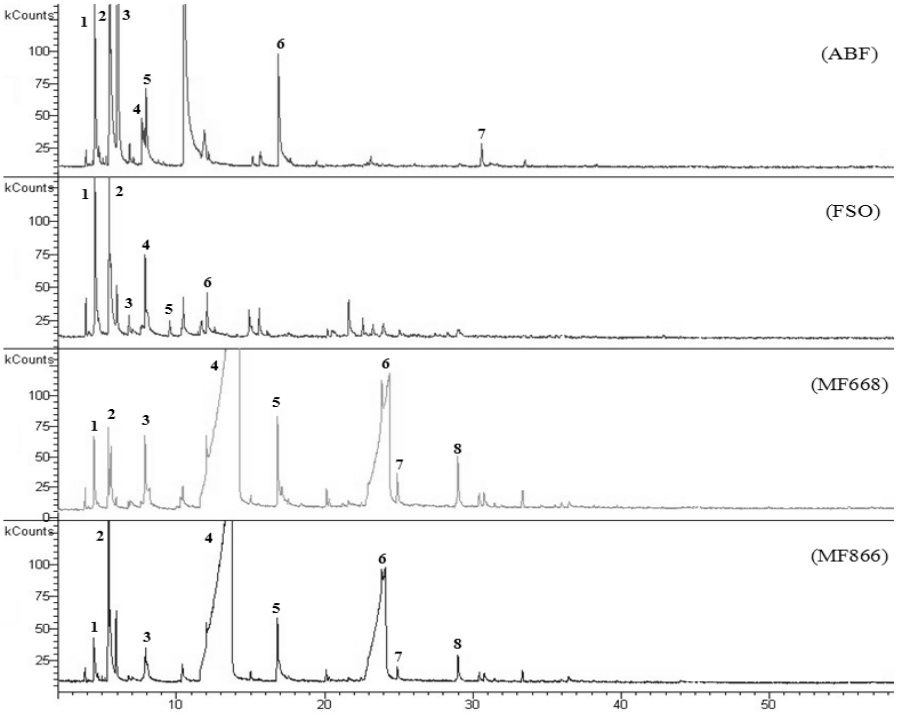

Figure 2. Total ion chromatogram of volatile compounds from substrates (ABF and FSO) and functional modified-butterfats (MF668 and MF866)

Table 2. Volatile compounds of ABF, FSO, MF668 and MF866 identified by SPME-GC/MS analysis

ABF		FSO		MF668 and MF866	
Peak No.	Volatile compounds	Peak No.	Volatile compounds	Peak No.	Volatile compounds
1	Guanidine	1	4-Methyl-3-hexanol	1	Propanal
2	2,2,3-Trimethyl-butane	2	3-Methyl pentane	2	3,4-Dimethyl hexane
3	Trichloromethane	3	Benzene	3	3-Methyl butanal
4	2-Pentanone	4	2-Ethyl furan	4	Butanoic acid pentyl ester
5	3-Methyl butanal	5	Dimethyl disulfide	5	1,3,5,7-Cyclooctatetraene
6	2-Heptanone	6	(Z) 2-Hexen-1-ol	6	Pentanoic acid
				7	(E,E) 2,4-Heptadienal
				8	(E,E) 3,5-Octadien-2-one

Functional modified-butterfats (MF668 and MF866) were synthesized with two blends (6:6:8 and 8:6:6, w/w%) of anhydrous butterfat (ABF), palm stearin (PS) and flaxseed oil (FSO).

SPME-GC/MS 분석을 통한 향기성분 동정

각 향기성분 동정을 위한 SPME-GC/MS 분석 결과, ABF에서는 aldehyde류(3-methyl butanal)와 ketone류(pentanone, heptanone) 등이 검출되었다(Figure 2). Brinkman 등의 보고에 의하면 버터의 aqueous phase에서의 polar flavor compound들은 aldehyde, 2-enal, ketone, furan, diacetyl, furaneol 등 다양하게 검출된다(8). FSO에서는 4-methyl-3-hexanol과 2-ethyl furan, trans-2-hexen-1-ol이 특징적으로 검출되었다. 이들은 아마인유(linseed oil)에서 검출되는 특징적인 flavor-active component로 보고되고 있다(9). 기능성 modified-butterfat(MF668과 MF866)에서는 분자량이 작은 것들은 적게 검출된 반면에 aldehyde류, alkane류, acid류, ketone류 등이 다양하게 검출되었다(Table 2).

Ⅳ. 적 요

효소적 공법을 이용하여 합성한 기능성 modified-butterfat들(MF668과 MF866)의 향기성분 분석을 전자코와 SPME-GC/MS를 가지고 수행하였다. 전자코 분석결과, 기질로 사용된 ABF와 FSO, 그리고 생성물인 MF668과 MF866은 제1주성분값의 95.16%기여율로 서로 다른 향기패턴을 갖음을 확인하였다. 신속하며 간편한 SPME-GC/MS분석결과, MF668과 MF866에서는 기질에서보다 더 다양한 aldehyde류, ketone류, acid류 등이 검출되었다. 이는 반응과정 중 생성될 수 있는 산화물로 추후 항산화제 연구가 필요함을 입증하였다.

참 고 문 헌

1. Lee, K.T., Akoh, C.C. 1998. Structured lipids: Synthesis and applications. Food Rev. Int., 14:17-34.
2. Wright, A.J., Scanlon, M.G., Hartel, R.W., Marangoni, A.G. 2001. Rheological properties of milkfat and butter. J. Food Sci., 66:1056-1071.
3. 신정아, 이기택. 2003. 전자코를 이용한 혼합 참기름의 판별 연구. 한국식품과학회지, 35(4):648-652.
4. Lee, J.H., Kim, M.R., Kim, I.H., Kim, H., Shin, J.A., Lee, K.T. 2004. Physicochemical and volatile characterization of structured lipids from olive oil produced in a stirred-tank batch reactor. J. Food Sci., 69(2):89-95.
5. 신정아, 최상원, 이기택. 2005. 전자코를 이용한 배추김치의 숙성도 예측. 한국식품저장유통학회, 12(6):613-616.
6. 신정아, 권중호, 이기택. 2003. 전자코를 이용한 감마선, methyl bromide 및 phosphine 처리된 홍삼분말의 저장 중 향기패턴 변화 연구. 한국식품과학회지, 35(5):825-829.
7. Shin, J.A., Akoh, C.C., Lee, K.T. 2009. Production and physicochemical properties of functional-butterfat through enzymatic interesterification in a continuous reactor. J. Agric. Food Chem., 57:888-900.
8. Adahchour, M., Wiewel, J., Verdel, R., Vreuls, R.J.J., Brinkman, U.A.T. 2005. Improved determination of flavour compounds in butter by solid-phase (micro)extraction and comprehensive two-dimensional gas chromatography. J. Chromatogr. A., 1086:99-106.
9. Krist, S., Stuebiger, G., Bail, S., Unterweger, H. 2006. Analysis of volatile compounds and triacylglycerol composition of fatty seed oil gained from flas and false flax. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 108:48-60.