

효소적 에스테르 교환 반응 시 카놀라유와 대두극도경화유의 비율에 따른 저트랜스 고체지방의 특성

김영주 · 류현경 · 이선모 · 이기택[†]
충남대학교 식품공학과

Characterization of Low-*Trans* Solid Fat from Canola and Fully Hydrogenated Soybean Oil by Lipase-Catalyzed Interesterification Reaction

Young-Joo Kim, Hyun-Kyeong Lyu, Seon-Mo Lee, and Ki-Teak Lee[†]

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

Abstract

Lipase-catalyzed interesterification of canola (CO) and fully hydrogenated soybean oil (FHSBO) at different weight ratios (70:30, 75:25, and 80:20) was performed in a batch type reactor to produce low-*trans* solid fats. Each reaction was conducted in the shaking water bath for various reaction times (1, 3, 6, 18 and 24 hr) at 70°C and 220 rpm using Lipozyme TLIM (20 wt% of total substrate) from *Thermomyces lanuginosus*. After 24 hr reaction, solid fat content (SFC) by differential scanning calorimetry (DSC), fatty acid and triacylglycerol (TAG) composition of low-*trans* solid fats were determined. SFC of the products was reduced when the content of canola oil in the reaction mixture was increased. Major fatty acids were stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1) and linoleic acid (C18:2). *Trans* fatty acid content in the low-*trans* solid fats showed less than 0.3 wt%. In the HPLC analysis, major TAG species showed LOO (linoleyl-oleoyl-oleoyl), OOO, POO/SOL, SOO, and SOS.

Key words: enzymatic interesterification, canola oil, fully hydrogenated soybean oil, Lipozyme TLIM

서 론

카놀라는 캐나다에서 재배가 시작된 채종의 개량품종으로써, 재래종에 다량 함유되어 있던 erucic acid가 인체에 유해하다고 알려진 후, 육종 개량을 통하여 oleic acid가 약 60%를 함유하게끔 되었다. 카놀라유(canola oil, CO)는 마가린, 쇼트닝 등의 가공유지 원료로 많이 사용되며, 저렴한 가격과 저온에서의 고체지방의 분리가 적기 때문에 마요네즈와 샐러드유의 원료유로도 이용된다(1). 카놀라유의 지방산 조성은 포화지방산이 약 7% 정도로 적고, 단일불포화지방산인 oleic acid가 전체 지방산 중 대부분을 차지하고 있으며, 특히 약 10%의 알파 리놀렌산을 함유하고 있다는 것이다(2). 특히 oleic acid는 혈중의 LDL-콜레스테롤을 감소시키는 데 있어서 다가불포화지방산이 풍부한 해바라기씨유보다 효과가 뛰어나며, 심장질환의 위험을 증가시키는 LDL-콜레스테롤의 산화억제 효과가 있다고 알려져 있다. 또한, 카놀라유에는 토코페롤과 식물성스테롤이 비교적 많이 함유되어 있으며, 혈액응고를 지연시키는 효과가 있다(3). 한편, 대두극도경화유(fully hydrogenated soybean oil, FHSBO) 구성 지방산의 대부분을 차지하는 stearic acid는 동맥경화

및 심혈관계 질환에 대하여 다른 포화지방산보다 부정적이지 않으며, stearic acid의 섭취는 대부분 다른 포화지방산(lauric, myristic, palmitic acid)들과 달리 총 혈청 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤 수치상승에 큰 영향을 미치지 않는다고 알려져 있다(4).

고온에서 니켈 등의 촉매를 사용하여 식물성 유지에 수소를 첨가하여 불포화지방산을 포화지방산으로 전환하는 수소첨가반응은 식용유지나 마가린 제조 산업에서 물성을 조절하기 위한 주된 공정으로써 최종 제품의 산화 안정성을 향상시킨다(5). 그러나 경화 과정을 통해 시스 형태인 이중결합의 구조가 트랜스형태로 재배열되며(6), 이와 같은 과정을 거쳐 생성된 트랜스지방산은 마가린, 쇼트닝, 튀김, 제빵, 그 외 다른 가공식품에 널리 존재하는 것으로 알려져 왔다. 그러나 트랜스지방산 섭취는 혈중 LDL 콜레스테롤을 늘리고 HDL 콜레스테롤은 억제함으로써 관상동맥질환의 위험을 증가시키고 필수지방산의 생합성을 방해하며 체내 염증을 발생시킨다고 알려지면서(7), 2006년 1월에 미국 식약청은 모든 가공식품에 트랜스지방산 함량을 의무적으로 표시하도록 권고했다(8).

효소를 이용한 유지의 에스테르교환 반응은 적절한 용점

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

과 결정화 그리고 바람직한 질감과 식감을 획득하기 위해 사용되기도 한다(9). 합성에 이용되는 lipase는 생체촉매로서 triacylglycerol(TAG)의 에스테르 결합을 가수분해 한 후 글리세롤과 지방산으로 분해하는 위치특이성을 가진 효소이며 인체에 무해하고 환경오염을 줄일 수 있으며 고정화를 통해 재사용이 가능하다(10-12). 한편, 에스테르교환반응을 이용하여 합성된 재구성지질(structured lipids, SL)은 유지의 물리화학적, 영양학적 특성을 향상시키기 위해 글리세롤에 결합되어 있는 지방산의 조성 및 지방산의 위치를 바꾸어 생성된 유지를 말한다(13). 또한 기능성식품 소재로서 응용이 가능하며, medical food로서 질병의 치료와 예방에 이용될 수 있다(14,15).

본 연구에서는 카놀라유(CO)와 대두극도경화유(FHSBO)를 기질로 TAG의 Sn-1,3 위치에 특이적으로 작용하는 lipozyme TLIM을 이용한 에스테르화 반응을 통해 저 트랜스 고체지방에 적합한 재구성 지질을 합성 후 이화학적 특성을 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 카놀라유는 C사(Daejeon, Korea)에서 구입하였으며, 대두극도경화유는 C.J. Co(Seoul, Korea)에서 제공받아 저 트랜스 고체지방 합성에 사용하였다. 기질 합성에 사용한 고정화 효소인 Lipozyme TLIM(*Thermomyces lanuginosus*)은 Novozymes Co.(Bagsvaerd, Denmark)에서 구입하였다. 또한, 지방산 분석에 사용된 10% BF₃-methanol은 Supelco(Bellefonte, PA, USA)에서 구입하였으며, 유지의 Sn-2 position의 지방산 조성을 분석하기 위해 사용된 pancreatic lipase(Type II, crude)는 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. 기기분석 할 때 사용된 모든 용매는 HPLC grade이었다.

저트랜스 고체지방의 효소적 합성

합성기질로서의 카놀라유(CO)와 대두극도경화유(FHSBO)를 각각 질량비를 달리하여(CO:FHSBO=70:30, 75:25, 80:20) 저트랜스 고체지방의 합성에 사용하였다. 기질을 충분히 교반한 후 총 기질 무게의 20%의 Lipozyme TLIM을 넣어 반응하였다. 반응은 shaking water bath에서 이루어졌으며 70°C, 220 rpm의 조건에서 수행하였다. 반응 시작 후 1시간과 3, 6, 18, 24시간마다 시료를 채취하여 PTFE syringe filter(0.5 µm, Advantec Co., Tokyo, Japan)에 넣고 여과하여 보관하였다. 유지의 탈산은 저트랜스 고체지방에 0.5 N 페놀프탈레인 지시약을 3~4방울 떨어뜨린 후 2 N KOH 에탄올 용액으로 종말점인 분홍색이 될 때까지 적정하였다. 적정이 끝난 후에 70~80°C의 뜨거운 물로 비누화된 물질을 제거하기 위하여 물층이 맑아질 때까지 수세하였다. *n*-hexane과 ethanol을 첨가하여 유지층과 물층이 완전히 분리

되도록 충분히 정치시키고 sodium sulfate에 상층액인 hexane층을 통과시켜 수분 및 불순물을 제거하였다. 이를 질소가스로 용매를 완전히 제거하고 남은 저트랜스 고체지방의 이화학적 특성을 살펴보았다.

저트랜스 고체지방의 DSC(Differential Scanning Calorimetry) 분석

시료가 열을 방출하거나 흡수함으로써 얻어지는 열량변화로부터 유지의 결정화 곡선(crystallization point)과 용융 곡선(melting point) 및 고체지방 함량(solid fat content, SFC) 등의 물리화학적 변화를 알아보기 위하여 DSC(model DSC 2010, TA Instruments, New Castle, DE, USA)로 분석하였다. 각 분석시료는 약 5~10 mg을 취하여 분석하였고 cell은 aluminum pan을 사용하였으며, 검량선 작성을 위한 표준품으로는 공시료를 통한 분석결과를 이용하였다. Thermogram을 얻기 위해 80°C에서 10분 동안 유지한 후 분당 10°C의 비율로 -60°C까지 냉각하여 10분 동안 유지한 다음 다시 80°C까지 분당 5°C의 비율로 온도를 높였다.

지방산 조성 분석

저트랜스 고체지방의 지방산 조성 분석을 위하여 methylation을 한 후 gas chromatograph(GC) 분석을 실시하였다. Thin-layer chromatography(TLC, 20×20 cm, Merck, Darmstadt, Germany)에 의하여 탈산과정을 거치기 전 시료의 TAG 부분만 획득하여 methylation을 실시하였다. Methylation은 시험관에 시료 약 25 mg을 취하여 1.5 mL의 0.5 N NaOH 메탄올 용액을 첨가하여 혼합한 후 100°C 항온 수조에서 5분간 가온한 다음 1/2분 동안 냉각하였다. 이에 다시 2 mL의 BF₃용액을 첨가하여 혼합 후 100°C 항온 수조에서 2분간 가온한 후 1~2분간 냉각하였다. 그 다음, 2 mL의 iso-octane과 1 mL의 포화 NaCl 용액을 첨가하여 충분히 혼합 후 두 층으로 분리되도록 정치하였다. 분리된 상층만 취하여 sodium sulfate column에 통과시켜 수분을 제거한 후 지방산 조성 분석을 하였다. 분석 시 GC(Hewlett-Packard 6890 series, Avondale, PA, USA)를 사용하였고, column은 SPTM-2560(100 m×0.25 mm i.d., 0.2 µm film thickness, Supelco)을 이용하였다. Detector는 flame ionization detector(FID)를 사용하였으며, column oven 온도는 150°C에서 5분간 유지시키고 분당 4°C씩 220°C까지 증가시킨 후 30분간 유지시켰으며, 총 분석시간은 52.5분이었다. Carrier gas는 52.5 mL/min 유속의 N₂를 사용하였고, injector 온도와 detector 온도는 각각 250°C와 260°C로 설정하였으며, 시료를 GC에 1 µL를 주입하여 split ratio 50:1로써 지방산 분석을 실행하였다. 한편, GC-FID 상에서의 분석은 각 지방산의 메틸에스테르이므로 해당 지방산으로 전환하기 위하여 각 지방산 별 전환계수는 식약청에서 제시한 표(16)와 계산식을 이용하였고 분석은 두 반복씩 실시하여 평균값을 구하였다.

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

P_i, P_j : 지방산 피크면적

R_i, R_j : 각 지방산 표준물질에서 구한 FID 전환계수

f_i, f_j : 각 지방산 메틸에스테르로부터 지방산으로의 전환 계수

i, j : 각 지방산의 종류

FA_i : 총 100 g 지방산에 대한 해당 지방산의 g

Pancreatic lipase analysis에 의한 위치별 지방산 조성 분석

저트랜스 고체지방의 Sn-1,3과 Sn-2의 위치별 지방산 조성 분석을 위하여 pancreatic lipase에 의한 가수분해를 실행하였다. 약 7 mg의 시료에 7 mL의 1 M Tris-HCl buffer(pH 7.6), 1.75 mL의 0.05% bile salt, 0.7 mL의 2.2% CaCl₂를 첨가한 후 시료의 양과 동일한 양의 pancreatic lipase을 넣어 충분히 교반하였다. 37°C 항온수조에서 3분 반응 후 1분 동안 충분히 교반하였고, 이와 같은 과정을 3~4회 반복하였다. 반응이 끝난 후 여기에 4 mL의 diethyl ether를 첨가한 후 진탕하여 상층만 분리하였다. 이를 sodium sulfate column에 걸러 불필요한 수분 및 불순물을 제거하였다. 전개용매는 *n*-hexane : diethyl ether : acetic acid = 50:50:1 (v/v/v)을 사용하여 TLC(20×20 cm, Merck) 분석을 실시하였으며, 2-monoacylglycerol(MAG) band를 분리한 후 GC 분석을 수행하였다. 한편, Sn-1,3 조성 계산은 아래와 같이 Fomuso와 Akoh(17)의 계산식을 이용하여 구하였다.

$$Sn-1,3(\%) = [3TAG(\%) - (Sn-2)(\%)]/2$$

Reversed-phase HPLC를 이용한 저트랜스 고체지방의 분석

효소적 합성에 의한 저트랜스 고체지방 내 TAG 조성 분석을 위하여 RP-HPLC 분석을 실시하였다. 검출기는 Sedex 75 evaporative light scattering detector(ELSD, Dedere, Alfortvill, France)를 사용하였고 50°C, 1.7 bar로 설정하였다. Column은 Nova-Pak[®]C18 60Å 4 μm(3.9×150 mm i.d., Waters, Milford, Ireland)을 사용하였고 Younglin SP930D dual pump(Seoul, Korea)를 이용하여 분석을 실행하였다. 시료는 10 mg을 chloroform 5 mL에 희석한 후 혼합하여 PTFE syringe filter(0.5 μm, Advantec Co.)로 여과 후 20 μL 주입하였다. 분석에 사용된 용매는 acetonitrile(A)과 isopropanol(B) : hexane = 2:1(v/v)의 기울기용리였으며, 유속은 1 mL/min로 흘러주었다. TAG의 partition number (PN)는 아래의 계산식에 의해 구하였다.

$$PN = \frac{\text{total carbon number (CN)} - 2 \times \text{total number of double bonds (ND)}}{2}$$

결과 및 고찰

DSC를 통한 고체지방 함량(SFC) 측정

유지의 고체지방 함량(SFC)은 특히 쇼트닝이나 마가린

Table 1. Solid fat contents (%) of canola oil (CO), fully hydrogenated soybean oil (FHSBO) and low-*trans* solid fats from different substrate ratios

Temp (°C)	CO	FHSBO	CO : FHSBO (w/w)		
			70:30	75:25	80:20
-15	39.7	100	84.5	78.9	72.7
-10	9.8	100	76.9	70.9	65.1
-5	0.3	100	69.3	62.5	54.5
0	0.0	100	61.8	53.4	42.0
5	—	100	51.1	41.1	27.2
10	—	100	37.5	23.5	12.3
15	—	100	18.3	12.0	7.3
20	—	100	11.2	9.5	5.0
25	—	100	10.5	6.9	3.3
30	—	100	7.4	4.3	1.5
35	—	100	4.0	1.6	0.1
40	—	100	0.7	0.1	0.0
45	—	99.6	0.0	0.0	0.0
50	—	94.8	0.0	0.0	0.0
55	—	84.5	0.0	0.0	0.0
60	—	76.2	—	—	—
65	—	33.3	—	—	—
70	—	1.8	—	—	—
75	—	0.0	—	—	—

가공 적합성을 평가할 때 입안에서 고체지방이 녹는 감각적인 특성이 매우 중요하다(18,19). 회분식 반응기에 의하여 합성된 다양한 혼합비율의 저트랜스 고체지방의 반응에 사용된 기질의 SFC를 Table 1에 나타내었다. 기질의 SFC를 분석한 결과, 상온에서 액체 상태인 카놀라유는 0°C에서, 고체 상태인 대두극도경화유는 75°C에서 완전히 용해되는 것을 확인할 수 있었다. 반응 비율에 따른 SFC를 측정한 결과, 다양한 SFC 함량을 나타내었으며 액체유지인 카놀라유의 비율이 높아질수록 각 온도에 해당하는 SFC는 감소하였다. 또한, 80:20의 합성 비율을 제외한 나머지 시료들은 45°C에서 완전히 용해되는 것으로 나타났다. 마가린의 물리적 특성은 SFC와 깊은 관련이 있는 것으로 알려져 있는데, SFC가 10°C에서 30% 이상인 경우 바름 성(spreadability)이 좋지 않고, 28% 이하이면 바름 성이 좋다고 하며, 10°C에서 마가린의 바람직한 SFC는 15~28%인 것으로 보고되어 있다(20). 또한, 구용성이 좋기 위해서는 33.3°C에서 2.5~4.0%이어야 하며, 22.1°C에서 SFC가 15% 이하인 경우 냉장이 필요하고, 33.3°C에서 3.5~5.5%이면 냉장할 필요가 없는 것으로 보고되어 있다(21). 본 연구결과에 의하면 카놀라유와 대두극도경화유를 70:30의 혼합비율로 효소적 에스테르교환 반응을 한 것을 제외한 나머지 저트랜스 고체지방은 10°C에서 바름성이 좋을 것으로 사료된다. 또한, 70:30, 75:25, 80:20의 혼합비율로 에스테르 교환한 것 모두 냉장이 필요하며 입에서 부드럽게 녹는 구용성도 좋을 것으로 판단되었다.

DSC분석을 통한 용융 및 결정화 곡선분석

반응에 사용된 기질인 카놀라유와 대두극도경화유 및 세 혼합 비율(CO : FHSBO = 70:30, 75:25, 80:20)로 합성된 저트랜스 고체지방의 용융곡선 및 결정화 곡선을 분석하였다

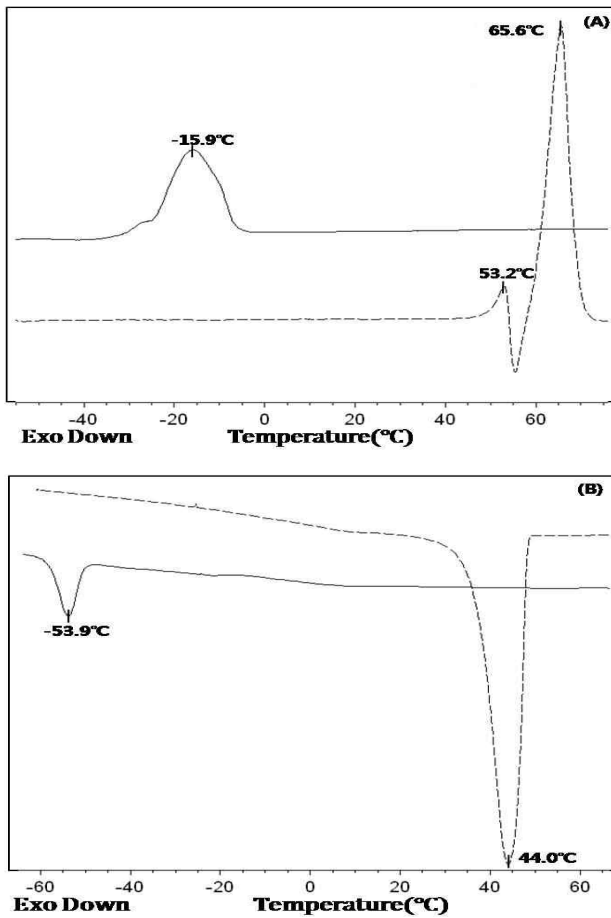


Fig. 1. Melting (A) and crystallization curves (B) of canola oil (—) and fully hydrogenated soybean oil (---) by differential scanning calorimetry (DSC).

(Fig. 1). 상온에서 액체인 카놀라유와 고체인 대두극도경화유의 용융곡선은 각각 -15.9°C 와 53.2°C 및 65.6°C 에서 피크를 나타내었고, 결정화 곡선에서는 각각 -53.9°C 와 44.0°C 에서 피크를 나타내었다. 서로 다른 비율의 기질로부터 반응된 저트랜스 고체지방들은 Fig. 2A와 같이 용융 곡선에서 각각 뚜렷한 세 개의 피크를 나타내었다. 70:30의 비율로 반응된 저트랜스 고체지방의 흡열피크는 -15.1°C , 11.1°C 및 35.6°C , 75:25는 -23.4°C , 10.2°C 및 31.0°C 에서 피크를 보였고, 80:20은 -19.5°C , 6.8°C 및 31.3°C 에서 세 개의 피크가 나타났다 (Fig. 2A). 전체적으로 카놀라유의 함량이 높아질수록 흡열곡선의 피크가 용점이 낮은 쪽으로 이동하는 것을 볼 수 있었다. 반면, 결정화 곡선에서도 세 개의 저트랜스 고체지방 모두 세 개의 피크(peak)를 나타내었으며 70:30의 비율로 반응된 저트랜스 고체지방의 경우 -39.2°C , 4.7°C 및 19.5°C 에서, 75:25는 -44.9°C , 0.2°C 및 13.9°C 에서, 그리고 80:20의 경우 -41.5°C , -1.7°C 및 10.2°C 에서 피크들이 보였으며, 용융 곡선과 마찬가지로 카놀라유의 함량이 높아지면서 피크의 온도가 낮은 쪽으로 이동하는 경향, 즉 결정화 온도가 점차 낮아지는 경향을 보였다(Fig. 2B).

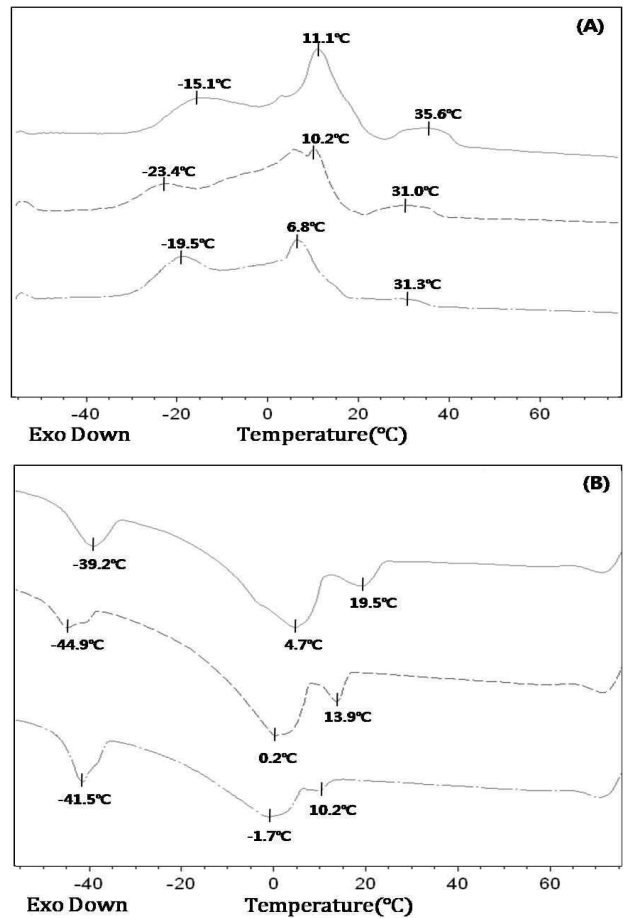


Fig. 2. Melting (A) and crystallization curves (B) of low-trans solid fats (CO : FHSBO=70:30, 75:25, and 80:20, w/w) analyzed by differential scanning calorimetry (DSC). — CO : FHSBO=70:30, ---- CO : FHSBO=75:25, -.-.- CO : FHSBO=80:20.

합성 기질 및 반응조건에 따른 저트랜스 고체지방의 지방산 조성

합성에 사용된 기질인 카놀라유와 대두극도경화유의 지방산 조성을 분석하였다(Table 2). 카놀라유는 oleic acid(C18:1, 60.4 wt%), linoleic acid(C18:2, 22.7 wt%), linolenic acid(C18:3, 7.4 wt %)가 주요 지방산으로 확인되었고, 대두극도경화유는 palmitic acid(C16:0, 14.1 wt%), stearic acid(C18:0, 79.9 wt%)가 주로 차지하였다. 위치별 지방산 조성의 경우 sn-2 position에서 카놀라유는 C18:1과 C18:2의 함량이 각각 58.5와 30.7 wt%이었고, 대두극도경화유는 C18:0이 87.4 wt%로 포화지방산이 주로 위치한 것을 확인할 수 있었다.

한편, 다양한 비율로 혼합된 저트랜스 고체지방들의 반응 시간에 따른 지방산 조성을 분석한 결과(Table 3~5), 전반적으로 stearic acid(C18:0), oleic acid(C18:1), linoleic acid(C18:2)가 주요 지방산들로서 전체 지방산의 80% 이상을 차지하고 있음을 알 수 있었다. 본 실험에서의 여러 반응조건(기질비율별 및 반응시간별)들에 따른 저트랜스 고체지방들의 지방산의 함량은 C18:0이 17.6~27.0 wt%, C18:1이

Table 2. Fatty acid composition of canola oil (CO) and fully hydrogenated soybean oil (FHSBO)

FA (wt%)	CO			FHSBO		
	TAG	Sn-2	Sn-1,3	TAG	Sn-2	Sn-1,3
C12:0	ND ¹⁾	ND	ND	1.0±0.0 ²⁾	0.8±0.1	1.1±0.1
C14:0	0.1±0.0	ND	0.1±0.0	0.50±0.0	0.4±0.1	0.6±0.0
C16:0	4.9±0.0	0.7±0.1	7.1±0.0	14.1±0.0	3.3±0.2	19.6±0.2
C16:1	0.2±0.0	ND	0.3±0.0	ND	ND	ND
C18:0	1.9±0.0	0.3±0.0	2.7±0.0	79.9±0.1	87.4±0.4	76.1±0.4
C18:1 (n9)	60.4±0.0	58.5±0.0	61.4±0.0	3.1±0.0	5.7±0.0	1.8±0.0
C18:2t	0.6±0.0	0.9±0.1	0.4±0.0	ND	ND	ND
C18:2 (n6)	22.7±0.0	30.7±0.2	18.7±0.1	0.9±0.0	2.4±0.2	0.1±0.1
C20:0	0.6±0.0	ND	0.9±0.0	0.5±0.1	ND	1.0±0.0
C20:1	1.2±0.0	1.1±0.0	1.2±0.0	ND	ND	ND
C18:3 (n3)	7.4±0.0	7.8±0.1	7.2±0.1	ND	ND	ND
ΣTFA ³⁾	0.6±0.0	0.9±0.1	0.4±0.0	ND	ND	ND
ΣSFA ⁴⁾	7.5±0.0	1.0±0.1	10.7±0.0	96.0±0.0	91.9±0.2	98.3±0.2
ΣUSFA ⁵⁾	92.0±0.0	98.1±0.0	88.9±0.0	4.0±0.0	8.1±0.2	1.9±0.1

¹⁾Not detected. ²⁾Values are the means of two determinations with standard deviations.

³⁾Total *trans* fatty acids. ⁴⁾Total saturated fatty acids. ⁵⁾Total unsaturated fatty acids.

Table 3. Fatty acid (FA) composition of low-*trans* solid fats (CO:FHSBO=70:30¹⁾) according to reaction time

FA (wt%)	Reaction time (hr)				
	1	3	6	18	24
C12:0	0.3±0.0 ²⁾	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0
C14:0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
C16:0	7.1±0.0	7.4±0.0	7.6±0.1	7.6±0.1	8.0±0.1
C16:1	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
C18:0	24.7±0.4	25.3±0.2	25.5±0.3	25.1±0.2	27.0±0.3
C18:1 (n9)	44.6±0.2	44.6±0.1	44.9±0.2	44.7±0.0	45.9±0.3
C18:2t	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0
C18:2 (n6)	15.1±0.1	14.6±0.1	14.1±0.3	14.5±0.2	12.4±0.5
C20:0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.7±0.0
C20:1	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
C18:3 (n3)	5.9±0.0	5.6±0.0	5.3±0.3	5.6±0.1	4.0±0.2
ΣTFA ³⁾	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0
ΣSFA ⁴⁾	33.0±0.3	33.7±0.2	34.3±0.4	33.8±0.3	36.3±0.4
ΣUSFA ⁵⁾	66.8±0.3	66.0±0.2	65.5±0.4	66.0±0.3	63.5±0.4

¹⁾Weight ratio of canola oil (CO) and fully hydrogenated soybean oil (FHSBO).

²⁾Values are the means of two determinations with standard deviations.

³⁾Total *trans* fatty acids. ⁴⁾Total saturated fatty acids. ⁵⁾Total unsaturated fatty acids.

Table 4. Fatty acid (FA) composition at Sn-2 position of low-*trans* solid fats (CO:FHSBO=70:30¹⁾) according to reaction time

FA (wt%)	Reaction time (hr)				
	1	3	6	18	24
C12:0	0.3±0.0 ²⁾	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0
C14:0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
C16:0	6.9±0.0	7.0±0.0	7.4±0.1	7.2±0.0	7.0±0.0
C16:1	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
C18:0	22.4±0.0	22.5±0.1	22.9±0.3	22.0±0.0	21.3±0.2
C18:1 (n9)	46.8±0.1	46.9±0.0	47.5±0.4	46.8±0.1	47.5±0.1
C18:2t	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0
C18:2 (n6)	15.5±0.1	15.3±0.0	14.4±0.5	15.4±0.1	15.5±0.1
C20:0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.7±0.0	0.6±0.0	0.7±0.0
C20:1	1.0±0.0	1.0±0.0	1.1±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
C18:3 (n3)	5.9±0.1	5.8±0.1	5.2±0.4	6.0±0.0	6.2±0.1
ΣTFA ³⁾	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0
ΣSFA ⁴⁾	30.3±0.0	30.6±0.1	31.3±0.5	30.2±0.0	29.3±0.2
ΣUSFA ⁵⁾	69.4±0.0	69.2±0.0	68.4±0.5	69.5±0.0	70.4±0.2

¹⁾Weight ratio of canola oil (CO) and fully hydrogenated soybean oil (FHSBO).

²⁾Values are the means of two determinations with standard deviations.

³⁾Total *trans* fatty acids. ⁴⁾Total saturated fatty acids. ⁵⁾Total unsaturated fatty acids.

Table 5. Fatty acid (FA) composition of low-*trans* solid fats (CO:FHSBO=80:20¹⁾) according to reaction time

FA (wt%)	Reaction time (hr)				
	1	3	6	18	24
C12:0	0.2±0.0 ²⁾	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
C14:0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
C16:0	6.3±0.0	6.7±0.2	6.7±0.0	6.6±0.1	6.5±0.1
C16:1	0.21±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
C18:0	17.6±0.2	17.8±0.5	17.7±0.0	17.6±0.1	17.7±0.3
C18:1 (n9)	50.4±0.1	50.0±0.1	50.9±0.1	50.8±0.2	50.5±0.4
C18:2t	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0
C18:2 (n6)	16.7±0.2	16.5±0.2	16.1±0.1	16.2±0.2	16.3±0.4
C20:0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.7±0.0
C20:1	1.1±0.0	1.1±0.0	1.1±0.0	1.1±0.0	1.1±0.0
C18:3 (n3)	6.4±0.1	6.5±0.2	6.1±0.0	6.2±0.2	6.4±0.3
ΣTFA ³⁾	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.01	0.3±0.02
ΣSFA ⁴⁾	24.9±0.3	25.4±0.3	25.4±0.0	25.2±0.2	25.3±0.3
ΣUSFA ⁵⁾	74.8±0.3	74.3±0.3	74.4±0.0	74.5±0.2	74.5±0.4

¹⁾Weight ratio of canola oil (CO) and fully hydrogenated soybean oil (FHSBO).

²⁾Values are the means of two determinations with standard deviations.

³⁾Total *trans* fatty acids. ⁴⁾Total saturated fatty acids. ⁵⁾Total unsaturated fatty acids.

44.6~50.9 wt%, C18:2는 12.4~16.7 wt%의 함량을 나타내었다. 혼합 비율별로 카놀라유의 함량이 많아질수록 C18:1의 함량이 증가되었고, 대두극도경화유가 많아질수록 C18:0의 함량이 증가되는 것을 확인할 수 있었는데, 각각의 기질이 차지하는 비율에 따른 것이라 사료된다. 대두극도경화유의 함량이 가장 많은 70:30의 총 포화지방산(ΣSFA)은 다른 비율에 비해 36.3 wt%로 가장 높게 측정되었고, 총 불포화지방산(ΣUSFA)은 63.5 wt%로 가장 낮게 측정되었다. 총 트랜스 지방산은 모두 0.3 wt% 이하로서 낮은 함량을 나타내었다. 이에 반해 반응시간에 따른 지방산 조성에 큰 변화가 없는 것으로 보아 Lipozyme TLIM에 의해 가수분해된 대부분의 지방산들이 새로운 TAG형태로 재분배되었음을 추측할 수 있었다.

Table 6은 최종 24 hr 반응한 저트랜스 고체지방들의 Sn-2 position을 나타낸 것이다. 카놀라유와 대두극도경화유의 혼합 비율이 70:30, 75:25, 80:20에 대한 Sn-2 position은 stearic acid(C18:0), oleic acid(C18:1), linoleic acid(C18:2)가 주요 지방산으로 카놀라유의 함량이 높아질수록 C18:1과 C18:2 등의 불포화지방산이 점점 증가하는 것을 볼 수 있었다. 또한, 트랜스 지방산 함량은 0.3 wt% 이하로 낮은 함량을 나타내었다.

Reverse-phase HPLC를 이용한 저트랜스 고체지방 분석
 효소합성에 사용된 기질인 카놀라유와 대두극도경화유를 사용하여 다양한 혼합비율로 생성된 반응물의 TAG조성을 역상 HPLC를 통하여 분석하였다(Fig. 3). 각각의 반응물을 구성하는 지방산들의 길이 및 불포화도에 따라 PN(partition number)으로 분리하여 분석한 결과, PN 44~54 범위에 다양한 TAG 조성들이 분포되어 있음을 알 수 있었다. 반응물의 주요 TAG조성은 LOO, OOO, POO/SOL, SOO, SOS(O=oleic acid, P=palmitic acid, S=stearic acid, L=linoleic acid,

Table 6. Fatty acid composition at Sn-2 position of low-*trans* solid fat after 24 hr reaction

FA (wt%)	CO ¹⁾ :FHSBO ²⁾ (w/w)		
	70:30	75:25	80:20
C12:0	0.4±0.0 ³⁾	0.3±0.0	0.2±0.0
C14:0	0.3±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
C16:0	8.8±0.1	7.9±0.0	7.5±0.1
C16:1	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
C18:0	29.5±0.1	24.6±0.2	20.3±0.3
C18:1 (n9)	43.9±0.2	47.1±0.3	51.2±0.6
C18:2t	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0
C18:2 (n6)	11.3±0.1	13.2±0.3	13.7±0.6
C20:0	0.8±0.0	0.7±0.0	0.7±0.0
C20:1	1.0±0.01	1.1±0.0	1.2±0.1
ΣTFA ⁴⁾	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0
ΣSFA ⁵⁾	39.7±0.1	33.7±0.2	29.1±0.4
ΣUSFA ⁶⁾	60.0±0.1	66.0±0.2	70.6±0.4

¹⁾CO: Canola oil.

²⁾FHSBO: Fully hydrogenated soybean oil.

³⁾Values are the means of two determinations with standard deviations.

⁴⁾Total *trans* fatty acids.

⁵⁾Total saturated fatty acids.

⁶⁾Total unsaturated fatty acids.

Ln=linolenic acid)이며, 각 기질이 가지고 있는 지방산 비율에 따라 차별적인 결과를 보여주었다. 불포화지방산이 많은 카놀라유의 함량이 많아질수록, PN=46의 LOO는 6.8에서 10.1%로 증가하였고, PN=48의 OOO는 8.9에서 19.9%, POO/SOL은 21.8%에서 23.2%로 증가하였으며, PN=50의 SOO는 24.9에서 28.4%로 증가한 것을 확인할 수 있었다. 반면에, 포화지방산이 많은 대두극도경화유의 함량이 줄어들수록, PN=50의 POS/PSP가 9.6%에서 5.1%, PN=52의 SOS는 11.0%에서 5.1%로 줄어들었고, PN=54의 SSS의 함량은 줄어들다가 80:20에서는 발견되지 않은 것을 확인할 수 있었다(Table 7).

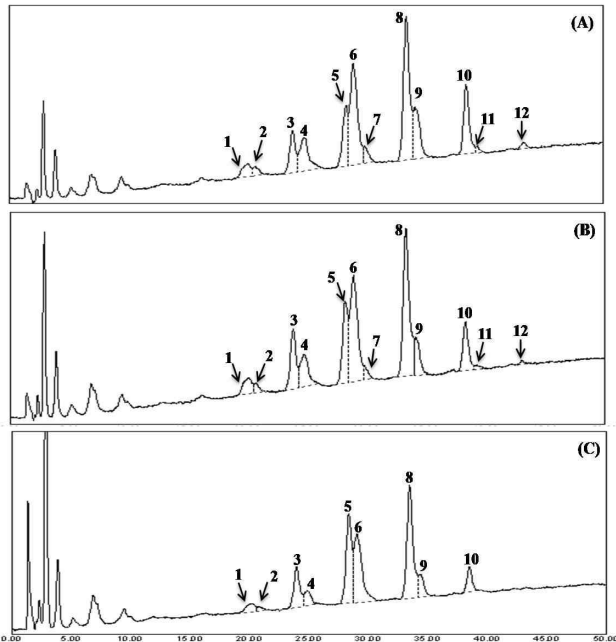


Fig. 3. Triacylglycerol (TAG) profiles analyzed by the reversed-phase HPLC of low-*trans* solid fats from different substrate ratios. (A) Canola oil (CO) : Fully hydrogenated soybean oil (FHSBO)=70:30 (w/w), (B) CO : FHSBO=75:25, (C) CO : FHSBO=80:20. Peak number: (1) LLO, (2) LnOO, (3) LOO, (4) LOP/SOLn, (5) OOO, (6) POO/SOL, (7) SSLn, (8) SOO, (9) POS/PSP, (10) SOS, (11) PSS, (12) SSS. TAG species: L=linoleic acid, O=oleic acid, Ln=linolenic acid, P=palmitic acid, S=stearic acid.

Table 7. Triacylglycerol (TAG) species of low-*trans* solid fats synthesized with different substrate ratios

Peak number ³⁾	PN ⁴⁾	TAG species ⁵⁾	CO ¹⁾ : FHSBO ²⁾ (w/w)		
			70:30	75:25	80:20
1	44	LLO	3.0	4.1	3.2
2		LnOO	1.6	1.3	0.9
3	46	LOO	6.8	9.4	10.1
4		LOP/SOLn	8.6	7.8	4.0
5	48	OOO	8.9	12.3	19.9
6		POO/SOL	21.8	22.9	23.2
7		SSLn	2.1	1.5	ND ⁶⁾
8	50	SOO	24.9	26.2	28.4
9		POS/PSP	9.6	5.8	5.1
10	52	SOS	11.0	7.7	5.1
11		PSS	0.6	0.7	ND
12	54	SSS	1.0	0.4	ND

¹⁾CO: Canola oil.

²⁾FHSBO: Fully hydrogenated soybean oil.

³⁾Peak numbers and elution order from the RP-HPLC chromatogram in Fig. 3.

⁴⁾Partition number (PN)=total carbon number (CN)-2×total number of double bonds (ND).

⁵⁾TAG species: L=linoleic acid, O=oleic acid, Ln=linolenic acid, P=palmitic acid, S=stearic acid.

⁶⁾Not detected.

요약

카놀라유, 대두극도경화유를 기질로 이용하여 저트랜스

고체지방을 회분식 반응기(batch type reactor)에 의해 합성하였다. Sn-1,3 위치 특이성을 가진 TLIM을 이용한 효소적 에스테르 교환 반응을 통하여 생성된 저트랜스 고체지방의 이화학적 특성을 살펴보았다. DSC 분석을 통하여 저트랜스 고체지방의 고체지방 함량(SFC)과 융점 곡선 및 결정화 곡선을 알아보았다. 다양한 혼합비율의 저트랜스 고체지방들은 각 기질이 가진 지방산의 비율에 따라 차별적으로 넓은 범위의 온도를 나타내었다. 즉, 카놀라유의 함량이 높아질수록 각 온도에 해당하는 SFC는 감소하는 경향을 나타낸 반면, 대두극도경화유의 함량이 높아질수록 SFC가 증가하는 경향을 보였다. DSC를 이용한 흡열 및 발열 피크 분석결과, 카놀라유의 함량이 증가할수록 피크가 낮은 온도 쪽으로 이동하는 경향을 보여주었다. 저트랜스 고체지방들의 지방산 조성은 C18:0와 C18:1, C18:2가 전체 지방산 조성의 80% 이상 구성되어 있으며, 총 트랜스 지방산(Σ TFA)의 함량은 0.3 wt% 이하의 낮은 함량을 나타내었다. Sn-2 position의 주요 지방산 또한 C18:0와 C18:1, C18:2가 대부분을 차지하였으며 특히 불포화지방산의 함량이 높게 나타났다. 역상 HPLC를 이용하여 TAG 조성을 분석한 결과, 주요 TAG 조성은 LOO, OOO, POO/SOL, SOO, SOS로 구성되어 있었다. 그중 카놀라유의 함량이 증가할수록 저트랜스 고체지방의 TAG 조성은 LOO, OOO, POO/SOL, SOO의 수치가 증가하였고, 대두극도경화유의 함량이 감소할수록 POS/PSP, SOS, SSS의 수치는 줄어드는 것을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(PJ007675)의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Jang YS. 2002. Prospect and situation of quality improvement in oilseed rape. *Korean J Crop Sci* 47: 175-185.
- Kim BH, Lumor SE, Akoh CC. 2008. Trans-free margarines prepared with canola oil/palm stearin/palm kernel oil-based structured lipids. *J Agric Food Chem* 56: 8195-8205.
- Valsta LM, Jauhiainen M, Aro A, Katan MB, Mutanen M. 1992. Effects of a monounsaturated rapeseed oil and a polyunsaturated sunflower oil diet on lipoprotein levels in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 12: 50-57.
- Ribeiro APB, Grimaldi R, Gioielli LA, Goncalves LAG. 2009. Zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: physico-chemical properties and food applications. *Food Res Int* 42: 401-410.
- Cha IS, Park KM. 1997. Effect of catalyst on the hydrogenation of rapeseed oil. *J Korean Food Sci Technol* 29: 687-692.
- Noh KH, Won MS, Song YS. 2003. Trans fatty acid isomers of processed foods commonly consumed in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 325-337.
- Khosla P, Hayes KC. 1996. Dietary trans-monounsaturated fatty acids negatively impact plasma lipids in humans: crit-

- ical review of the evidence. *J Am Coll Nutr* 15: 325-339.
8. Gil BI, Rho JH. 2007. Hazardous effect of dietary trans fats on human health and regulations. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 23: 1015-1024.
 9. Lee JH, Akoh CC, Lee KT. 2007. Physicochemical and volatiles characterization of trans-free solid fats produced by lipase-catalyzed interesterification. *J Food Sci* 72: 368-374.
 10. Adhikari P, Shin JA, Lee JH, Hu JN, Hwang KT, Lee KT. 2009. Enzymatic production of trans-free hard fat stock from fractionated rice bran oil, fully hydrogenated soybean oil, and conjugated linoleic acid. *J Food Sci* 74: 87-96.
 11. Cho EJ, Lee JH, Lee KT. 2004. Optimization of enzymatic synthesis condition of structured lipids by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 36: 531-536.
 12. Kim JY, Lee KT. 2009. Characterization of scaled-up low-trans shortening from rice bran oil and high oleic sunflower seed oil with batch type reactor. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 338-345.
 13. Jeon MS, Lee YJ, Kang JH, Lee JH, Lee KT. 2009. Modification of palm mid fraction with stearic acid by enzymatic acidolysis reaction. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 479-485.
 14. Akoh CC, Min DB. 2002. Food lipids. In *Structured Lipids*. Akoh CC, ed. Marcel Dekker Inc. New York, USA. p 877-908.
 15. Lee KT, Akoh CC. 1998. Structured lipids: synthesis and applications. *Food Rev Int* 14: 17-34.
 16. KFDA. 2009. *Department of food standardization, labeling of trans fats*. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. p 41327.
 17. Fomuso LB, Akoh CC. 2002. Lipase-catalyzed acidolysis of olive oil and caprylic acid in a bench-scale packed bed bioreactor. *Food Res Int* 35: 15-21.
 18. Osorio NM, da Fonseca MMR, Ferreira-Dias S. 2006. Operational stability of *Thermomyces lanuginosa* lipase during interesterification of fat in continuous packed-bed reactors. *Eur J Lipid Sci Technol* 108: 545-553.
 19. Criado M, Hernandez-Martin E, Lopez-Hernandez A, Otero C. 2007. Enzymatic interesterification of extra virgin olive oil with a fully hydrogenated fat: characterization of the reaction and its products. *J Am Oil Chem Soc* 84: 717-726.
 20. Lida HMDN, Ali ARM. 1998. Physicochemical characteristics of palm-based oil blends for the production of reduced fat spreads. *J Am Oil Chem Soc* 75: 1625-1631.
 21. Freeman IP. 1968. Interesterification. I. Change of glyceride composition during the course of interesterification. *J Am Oil Chem Soc* 45: 456-460.

(2010년 5월 14일 접수; 2010년 8월 4일 채택)