

카놀라유와 대두극도경화유로부터 효소적으로 합성된 저트랜스 스프레드 고체지의 특성

김영주 · 류현경 · 신정아 · 이기택[†]
충남대학교 식품공학과

Development and Physical Properties of Low-*Trans* Spread Fat from Canola and Fully Hydrogenated Soybean Oil by Lipase-Catalyzed Synthesis

Young-Joo Kim, Hyun-Kyeong Lyu, Jung-Ah Shin, and Ki-Teak Lee[†]

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

Abstract

Low-*trans* spread fat (LTSF) was produced by lipase-catalyzed synthesis of canola (CO) and fully hydrogenated soybean oil (FHSBO) at 65:35 (w/w). Blend of CO and FHSBO with 65:35 ratio was interesterified using Lipozyme TLIM (immobilized *Thermomyces lanuginosus*, 20% of total substrate) in a 1 L-batch type reactor at 70°C with 500 rpm for 24 hr. Then, physicochemical melting properties of LTSF were compared with commercial spread fat. At 20°C, solid fat contents (SFC) of commercial spread fat as a control and LTSF were similar, showing 19.1 and 18.1%, respectively. Major compositional fatty acids of LTSF were C18:0, C18:1 and C18:2 (29.2, 41.8 and 13.3 wt%, respectively). *Trans* fatty acid content of the LTSF (0.2 wt%) was lower than that of commercial spread fat (5.5 wt%). In the RP-HPLC analysis from LTSF, major triacylglycerol (TAG) molecules were SOL (stearoyl-oleoyl-linoleyl), SOO, POS/PSP, and SOS. Also, polymorphic form and x-ray diffraction of LTSF showed coexistence of β' and β form crystals.

Key words: enzymatic interesterification, canola oil, low-*trans* spread fat, polymorphic form, x-ray diffraction

서 론

마가린은 유중수적형(W/O) 에멀전으로써 최근 형태와 용도가 다양하게 제조되고 있다(1,2). 일반적으로 마가린은 약 80%의 지방을 함유하고 있지만 최근에는 80% 미만의 지방 함량을 가지는 저지방 팻 스프레드류가 특히 미국시장에서 많이 상용화되고 있다(3). 일반적으로 식물성 반고체지는 부분 경화 가공을 하여 식물성 액상유에 비해 산화에 대한 안정성을 증가시키고 유통기한을 연장시킬 수 있다는 장점이 있다(4). 그러나 수소경화 과정 중에 생성되는 트랜스 지방산의 위해성 논란으로 유지가공업계에서는 트랜스 지방산의 발생을 저감화하기 위한 목적으로 부분 수소경화 과정을 대체할 수 있는 방법을 모색하고 있다(5). 최근 연구에 따르면, 트랜스 지방산의 섭취가 많아질수록 혈중 LDL-콜레스테롤 수치를 증가하면서 HDL-콜레스테롤 수치는 감소시키는 등의 혈장 지단백질 구성에 부정적 영향을 끼치면서, 관상동맥 질환의 발생과 밀접한 관계가 있음이 보고되고 있다(6). 이에 따라 WHO(세계보건기구)에서는 가공식품 중 트랜스지방의 섭취량을 하루에 2000 kcal를 섭취한다고 했

을 때, 트랜스지방 2.2 g 이하를 초과하지 않을 것을 권장하고 있고, 국내외에서도 트랜스지방 함량 표시를 의무화하고 있는 추세이다(7).

반고체지 제조과정 중에서 트랜스 지방산의 발생을 유도하는 부분 수소경화 공정을 대체할 수 있는 방법 중의 하나로 에스테르 교환반응(interesterification)이 대두되고 있다. 화학적 또는 효소적 촉매를 이용한 에스테르 교환반응을 수행하면, 유지를 구성하고 있는 triacylglycerol(TAG) 분자 안에서 글리세롤에 결합되어 있는 지방산들의 조성 및 결합 위치를 무작위 또는 선택적으로 변화시키거나 또는 새로운 지방산들의 결합을 수행하여 새로운 물성을 지니는 유지를 합성할 수 있다(8-11). 특히, 효소적 촉매를 이용한 에스테르 교환반응은 환경친화적이며, 온화한 반응조건에서 수행되어 부반응이 일어나지 않으며, 회수가 용이하여 재사용이 가능한 이점들이 있다(8). 따라서 본 실험에서는 저트랜스 반고체지(low-*trans* spread fat, LTSF)의 합성을 위하여 대두극도경화유(fully hydrogenated soybean oil, FHSBO)와 카놀라유(canola oil, CO)를 기질로 사용하여 효소적 에스테르 교환반응을 수행하였다. 대두극도경화유는 85% 내외의

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

stearic acid(C18:0)를 함유하고 있는 대표적인 고체지로서, C18:0은 비록 포화지방산이기는 하지만 palmitic acid(C16:0) 혹은 myristic acid(C14:0)에 비하여 총 콜레스테롤 수치를 낮추는 영양학적 효과가 있다고 보고되고 있다(12). 카놀라유는 1970년대 캐나다에서 개발된 low erucic acid rapeseed로부터 채유된 액상유로서, 비교적 높은 함량의 erucic acid를 함유한 재래종이 건강에 부정적 영향을 끼치기 때문에 품종개량을 통하여 높은 oleic acid(C18:1) 함량으로 바뀌게 되었다(13). 품종 개량된 카놀라유는 불포화지방산들 중에서 산화안정성이 가장 높은 C18:1를 다량 함유하여 스프레드 고체지의 합성에 적합한 특성을 가지고 있다.

본 연구에서는 이와 같이 C18:1의 함량이 높은 카놀라유와 대두극도경화유를 기질로 사용하여 TAG분자의 sn-1,3의 위치에 특이적으로 작용한다고 알려진 Lipozyme TLIM (immobilized lipase from *Thermomyces lanuginosus*)을 이용한 interesterification 반응을 통하여 저트랜스 스프레드 제조 시에 사용할 수 있는 스프레드 고체지(LTSF)를 합성하였고, 제조된 LTSF의 온도별 고체지(solid fat content, SFC) 함량, 반응 후 TAG 조성의 변화 및 결정형(polymorphism)을 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 카놀라유는 대전 유성소재 대형마트에서 구입하였으며, 대두극도경화유는 C.J. Co.(Seoul, Korea)에서 제공하였다. 효소적 interesterification에 사용된 Lipozyme TLIM은 *Thermomyces lanuginosus*로부터 획득한 lipase를 granulated-silica gel에 고정화한 효소로서, Novozymes사(Bagsvaerd, Denmark)에서 구입하여 사용하였다. 시중에서 유통되는 스프레드부터 획득된 고체지(fat from commercial spread)는 fresh buttery taste spread(L사)를 녹인 후 general purpose centrifuge(420 g, 10분)를 사용하여 두 층으로 나눈 후, 상층액을 취하여 sodium sulfate column을 통과하여 수분을 제거하여 획득하였으며, LTSF와의 물성 비교 분석을 위하여 사용하였다. 지방산 분석에 사용된 10% BF₃-methanol은 Supelco(Bellefonte, PA, USA)에서 구입하였고, sn-2 position의 지방산 분석에 사용된 pancreatic lipase(Type II, crude)는 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 모든 기기분석에는 HPLC grade 용매를 사용하였다.

회분식 반응기를 이용한 저트랜스 스프레드 고체지(LTSF)의 효소적 합성

카놀라유와 대두극도경화유를 65:35(w/w) 비율로 1-L stirred batch type reactor에서 double jacket의 항온수조를 70°C로 유지하여 24시간 반응하였다. 효소는 Lipozyme TLIM으로 전체 반응기질의 중량대비로 20 wt%를 사용하

였으며 stirrer motor(MS-3060D, Mtops, Seoul, Korea)에 impeller(길이 9 cm, 폭 3 cm)를 장착하여 500 rpm으로 유지함으로써 충분히 기질 및 효소를 교반하였다. 반응 후 filter paper를 이용하여 진공 상태에서 효소를 분리한 후 제거하였다. 유지의 탈산은 반응물에 0.5 N 페놀프탈레인 지시약을 3~4방울 첨가한 후 2 N KOH 에탄올 용액으로 종말점인 분홍색이 될 때까지 적정하였다. 적정이 끝난 후에 온수(70~80°C)를 첨가하여 물층이 맑아질 때까지 수세를 몇 차례 반복하여 soap을 완전히 제거하였다. 여기에 *n*-hexane과 ethanol을 첨가하여 hexane층과 물층이 완전히 분리되도록 충분히 정지시킨 후 hexane층(상층)을 sodium sulfate column에 통과하여 수분 및 불순물을 제거하였다. 이를 질소가스로 용매를 완전히 제거하고 다음 분석을 위하여 냉동 보관(-30°C)하였다.

Differential scanning calorimetry(DSC) 분석

유지의 온도별 고체지 함량(SFC)의 변화를 알아보기 위하여 DSC(model DSC 2010, TA Instruments, New Castle, DE, USA)로 분석하였다. 시료가 열을 방출하거나 흡수함으로써 얻어지는 열량변화를 분석하였고, 이때 시료(5~10 mg)는 aluminum pan에 취하여 분석하였으며, calibration을 위한 baseline과 reference로서 빈 pan을 이용하였다. 흡열(melting) 및 발열(crystallization) thermogram을 얻기 위하여 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.

지방산 조성 분석

합성된 LTSF와 시중에서 유통되는 스프레드부터 획득된 고체지의 지방산조성 분석을 위하여 gas chromatograph (GC) 분석을 실시하였다. 시료를 thin-layer chromatography (TLC, 20×20 cm, Merck, Darmstadt, Germany)를 통하여 전개된 TAG band를 획득하여 methylation을 실시하였으며, 그 방법은 다음과 같다. 시험관에 시료를 취하여 0.5 N NaOH 메탄올 용액을 1.5 mL 넣고 충분히 vortex 한 후, 100°C water bath에서 5분 동안 끓인 다음 1~2분 동안 냉각하였다. 여기에 다시 BF₃ 용액 2 mL을 첨가하여 vortex 한 후 100°C water bath에서 2분 동안 끓인 후 1~2분 동안 냉각하였다. 냉각한 시험관에 isoctane 2 mL과 포화 NaCl 용액 1 mL을 첨가하여 충분히 vortex 한 후, 두 층으로 분리한 다음 상층만 취하였고, 이를 sodium sulfate column에 걸러 수분을 제거한 후 GC 분석을 하였다. GC(Hewlett-Packard 6890 series, Avondale, PA, USA) 분석을 위한 칼럼은 SPTM-2560(100 m×0.25 mm I.d., 0.2 µm film thickness, Supelco)을 이용하였으며, 검출기는 flame ionized detector(FID, HP Agilent 6890 series)를 사용하였다. Oven의 온도는 초기 150°C에서 5분 동안 유지한 다음, 4°C/min로 220°C까지 도달 후 30분 동안 유지하여 총 분석시간은 52.5분이었다. Carrier gas로서 1 mL/min 유속의 N₂를 사용하였

고, injector와 detector 온도는 각각 250°C와 260°C로 설정하였으며, split ratio가 50:1로 설정된 GC에 준비된 지방산 메틸에스테르(fatty acid methyl ester, FAME) 1 µL를 주입하여 지방산 분석을 실시하였다. 한편, GC-FID 상에서의 분석은 각 지방산의 메틸에스테르이므로 해당지방산으로 전환을 위한 각 지방산 전환계수 및 반응계수(response factor, R_f)는 식품의약품안전청에서 제시한 표와 계산식(14)을 이용하였다.

Pancreatic lipase analysis에 의한 위치별 지방산 조성 분석

합성된 LTSF와 시중 유통 스프레드로부터 획득한 고체지의 위치별(sn-1,3과 sn-2) 지방산조성 분석을 위하여 pancreatic lipase에 의한 가수분해 분석을 실행하였다. 시험관에 약 7 mg의 시료와 1 M Tris-HCl buffer(pH 7.6) 7 mL, 0.05% 담즙산염 1.75 mL, 2.2% CaCl₂ 0.7 mL을 첨가한 후 시료의 양과 동일한 양의 pancreatic lipase를 첨가하여 vortex 하였다. 항온수조(37°C)에서 3분간 반응 후 1분 동안 충분히 vortex 한 후 이와 같은 과정을 3~4회 반복하였다. 반응이 끝난 후 여기에 diethyl ether 4 mL을 첨가한 후 교반하였고, 상층만 취하여 sodium sulfate column을 통과하여 수분 및 불순물을 제거하였다. 전개용매는 *n*-hexane: diethyl ether: acetic acid의 50:50:1(v/v/v)을 사용하여 TLC(20×20 cm, Merck) 분석을 수행하였으며, 2-monoacylglycerol(MAG) band만 취한 후 앞서 기술한 methylation 전처리를 통하여 GC 분석을 실시하였다. 한편, sn-1,3의 지방산 조성은 Fomuso와 Akoh(15)의 계산식을 사용하였으며, 계산식은 다음과 같다.

$$\text{sn-1,3 (\%)} = [3\text{TAG (\%)} - (\text{sn-2}(\%))] / 2$$

Reversed-phase HPLC 분석

LTSF와 반응기질(CO, FHSBO)의 TAG 조성 분석을 위하여 reversed-phase high performance liquid chromatograph(RP-HPLC) 분석을 실시하였다. 기기는 Younglin SP930D dual pump(Anyang, Korea)와 Nova-Pak[®]C18 60 Å 4 µm(3.9×150 mm I.d., Waters, Milford, Ireland) column을 사용하였다. 검출기로 Sedex 75 evaporative light scattering detector(ELSD, Decere, Alfortville, France)를 50°C, 1.7 bar로 설정하였고, 이동상은 기울기 용리료써 용매 A(acetonitrile)와 용매 B(isopropanol: hexane=2:1, v/v)를 유속 1 mL/min으로 흘려주었다. 시료는 10 mg을 chloroform 5 mL에 충분히 녹인 후 PTFE syringe filter(0.5 µm, Advantec, Tokyo, Japan)를 이용하여 여과 후 20 µL injection 하였다. 용리 조건은 용매 A와 B를 부피비 80:20 비율로 흘리기 시작하여 45분까지 54:46으로 변화시킨 뒤 15분간 유지하였다. 그 후 용매 A와 용매 B의 부피비를 54:46에서 65분까지 80:20으로 변화시킨 뒤 70분까지 유지하였다. TAG의 partition number(PN)의 계산식은 다음과 같이 나

타내었다.

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

Crystal microstructure 분석

합성된 LTSF 및 시중 유통 스프레드로부터 획득된 고체지의 crystal microstructure를 비교, 관찰하기 위하여 polarized light microscopy(Leica DMLB upright microscope, Wetzlar, Germany)를 이용하여 분석하였다. 시료는 70°C에서 완전히 녹인 후 약 10 µL 취하여 slide glass에 떨어뜨린 후 cover glass로 시료를 덮어 실온(약 20°C)에서 결정형이 형성될 때까지 3시간 동안 냉각한 후 관찰하였다.

X-ray diffraction(XRD) spectroscopy를 이용한 결정형 분석

LTSF 및 시중 유통 스프레드로부터 획득된 고체지의 polymorphic form을 비교 관찰하기 위하여 상온에서 multipurpose x-ray diffraction spectroscopy(D/Max-2200 Ultima/PC, Rigaku International Corporation, Tokyo, Japan)를 이용하였다. Target은 Cu-Kα로 voltage 40 kV, current 40 mA로 작동하였으며, 회절 각도는(2θ) 12~32°로 하여 측정하였다. 시료는 미리 상온에서 24시간 이상 보관한 후 실험에 사용하였다.

결과 및 고찰

Solid fat content(SFC)

본 연구에서 합성된 LTSF와 시중에 유통되고 있는 스프레드로부터 획득된 고체지와 온도별 SFC 변화를 Fig. 1에 나타내었다. SFC_{10°C}, SFC_{20°C} 및 SFC_{35°C}는 반고체지방의 유통학적 특성과 밀접하게 관련됨으로써 중요하다. 특히, SFC_{35°C}는 입안에서의 녹는 정도와 관련이 있기 때문에 풍미에 중요하다(16). 반고체지는 입안에서의 녹는 감각적 특성

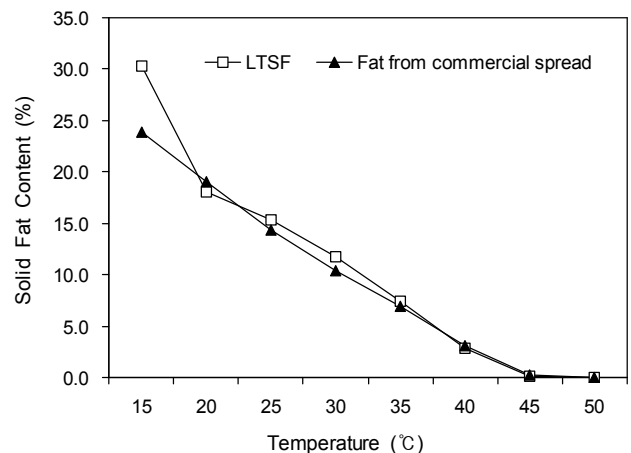


Fig. 1. Solid fat contents (SFC) of fat from commercial spread (▲) and low-*trans* spread fat (□).

Table 1. Fatty acid composition of fat from commercial spread and low-*trans* spread fat (LTSF)

FA (wt%)	Fat from commercial spread			LTSF		
	TAG	sn-2	sn-1,3	TAG	sn-2	sn-1,3
C12:0	ND ¹⁾	ND	ND	0.3±0.0 ²⁾	ND	0.5±0.0
C14:0	ND	ND	ND	0.24±0.0	ND	0.4±0.0
C16:0	11.7±0.0	2.6±0.1	16.2±0.0	8.1±0.1	9.4±0.6	7.5±0.2
C16:1	ND	ND	ND	0.2±0.0	ND	0.3±0.0
C18:0	10.6±0.0	7.3±0.1	12.3±0.1	29.2±0.3	31.5±0.1	28.1±0.5
C18:1	20.3±0.0	21.3±0.6	19.9±0.3	41.8±0.2	41.4±0.0	42.1±0.3
C18:2	45.5±0.0	57.9±0.3	39.4±0.2	13.3±0.4	12.1±0.1	13.9±0.5
C18:3	5.8±0.0	5.1±0.3	6.2±0.1	5.1±0.3	3.81±0.3	5.7±0.2
C20:0	0.3±0.0	ND	0.5±0.0	0.6±0.0	0.7±0.1	0.6±0.1
C20:1	0.2±0.0	ND	0.3±0.0	0.8±0.0	1.1±0.0	0.7±0.0
C18:1t	5.1±0.0	5.4±0.0	4.9±0.0	ND	ND	ND
C18:2t	0.4±0.0	0.5±0.1	0.3±0.1	0.2±0.0	ND	0.3±0.0
ΣTFA ³⁾	5.5±0.0	5.9±0.1	5.2±0.0	0.2±0.0	ND	0.3±0.0
ΣSFA ⁴⁾	22.6±0.0	9.9±0.2	29.0±0.1	38.6±0.4	41.7±0.4	37.0±0.4
ΣUSFA ⁵⁾	71.9±0.0	84.2±0.1	65.7±0.0	61.2±0.4	58.3±0.4	62.7±0.4

¹⁾Not detected. ²⁾Values are mean±SD (n=2). ³⁾Total *trans* fatty acids. ⁴⁾Total saturated fatty acids. ⁵⁾Total unsaturated fatty acids.

이 중요하며 대부분 상온에서 보관하여 사용하기 때문에 20~35°C의 범위를 비교하였다. 이 온도범위에서 시중에서 유통되고 있는 스프레드로부터 획득된 고체지와 LTSF의 SFC는 각각 19.1(20°C), 14.4(25°C), 10.4(30°C), 6.9(35°C)%와 18.1(20°C), 15.4(25°C), 11.8(30°C), 7.4(35°C)%로 분석되었다. 20~35°C의 범위에서는 두 시료 간에 유사한 SFC 함량 변화를 나타내었다. 따라서 합성된 LTSF는 스프레드 제조에 사용 가능한 적합한 물성을 가졌다고 사료된다.

지방산 조성

합성된 LTSF와 시중에 유통되고 있는 스프레드로부터 획득된 고체지의 지방산 조성은 Table 1에 나타내었다. 시중에 유통되고 있는 스프레드로부터 획득된 고체지의 지방산 조성은 11.7 wt%의 palmitic acid(C16:0), 10.6 wt%의 stearic acid(C18:0), 20.3 wt%의 oleic acid(C18:1) 및 45.5 wt%의 linoleic acid(C18:2)로 나타났고, 총 포화지방산(ΣSFA) 및 총 불포화지방산(ΣUSFA)의 함량은 각각 22.6과 71.9 wt%로서 측정되었다. 그러나 건강에 유해하다고 알려진 트랜스 지방산의 총 함량(ΣTFA)은 5.5 wt%로서 다소 높은 수치로 확인되었다. 위치별 지방산 조성 분석결과, sn-2 position에는 주로 C18:2(57.9 wt%) 및 18:1(21.3 wt%) 등의 지방산으로 구성되어 있었고, sn-1,3 position에는 주로 C16:0(16.2 wt%), C18:0(12.3 wt%), C18:1(19.9 wt%) 및 18:2(39.4 wt%)의 지방산으로 구성되어 있었다.

반면, LTSF의 지방산 조성에서는 총 트랜스 지방산의 함량이 0.2 wt%로써 아주 낮은 수치를 보였다. 그러나 총 포화 지방산의 함량은 시중에 유통되고 있는 스프레드로부터 획득된 고체지보다 높은 38.6 wt%이었고, 반면 총 불포화지방산은 61.2 wt%이었다. 그러나 총 포화지방산 함량 중에서 C18:0이 29.2 wt%로서 대부분을 차지하였다. 이는 다른 포화지방산과 비교하였을 경우, C18:0이 동맥경화 및 심혈관

계 질환에 대하여 부정적이지 않으며, C18:0의 섭취는 대부분 다른 포화지방산(lauric, myristic, palmitic acid)들과 달리 총 혈청 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤 수치상승에 큰 영향을 미치지 않는다고 알려져 있다(12,17). LTSF의 sn-2 position에서의 지방산 분석 결과, C18:0(31.5 wt%)과 C18:1(41.4 wt%), C18:2(12.1 wt%)가 주로 존재하였고, sn-1,3 position에도 C18:0(28.1 wt%)과 C18:1(42.1 wt%), C18:2(13.9 wt%)의 주된 지방산으로 구성되어 있었다.

Reversed-phase HPLC에 의한 TAG조성 분석

반응기질인 카놀라유와 대두극도경화유 및 합성된 LTSF의 반응 전후의 TAG 조성을 분석하였다(Fig. 2, Table 2).

Table 2. Triacylglycerol (TAG) distribution of canola oil (CO), fully hydrogenated soybean oil (FHSBO), before reaction (blend) and after reaction (low-*trans* spread fat, LTSF) (Unit: area%)

PN ¹⁾	TAG species ²⁾	CO	FHSBO	Before reaction (Blend)	After reaction (LTSF)
44	LLO	9.1	—	5.2	1.6
	LnOO	8.5	—	3.9	1.0
46	LOO	29.9	—	15.7	4.4
	LOP	2.8	—	1.2	5.4
	PLP	—	—	—	1.0
48	OOO	45.6	—	25.2	6.5
	SOL	3.2	—	2.3	19.4
	SSLn	—	—	—	3.0
50	SOO	1.0	—	0.5	26.4
	POS/PSP	—	0.5	—	12.6
52	SOS	—	—	—	16.5
	PSS	—	21.9	9.3	1.5
54	SSS	—	77.7	36.8	0.9

¹⁾PN=total carbon number (CN)-2×total number of double bonds (DB).

²⁾TAG species: L=linoleic acid, O=oleic acid, Ln=linolenic acid, P=palmitic acid, S=stearic acid.

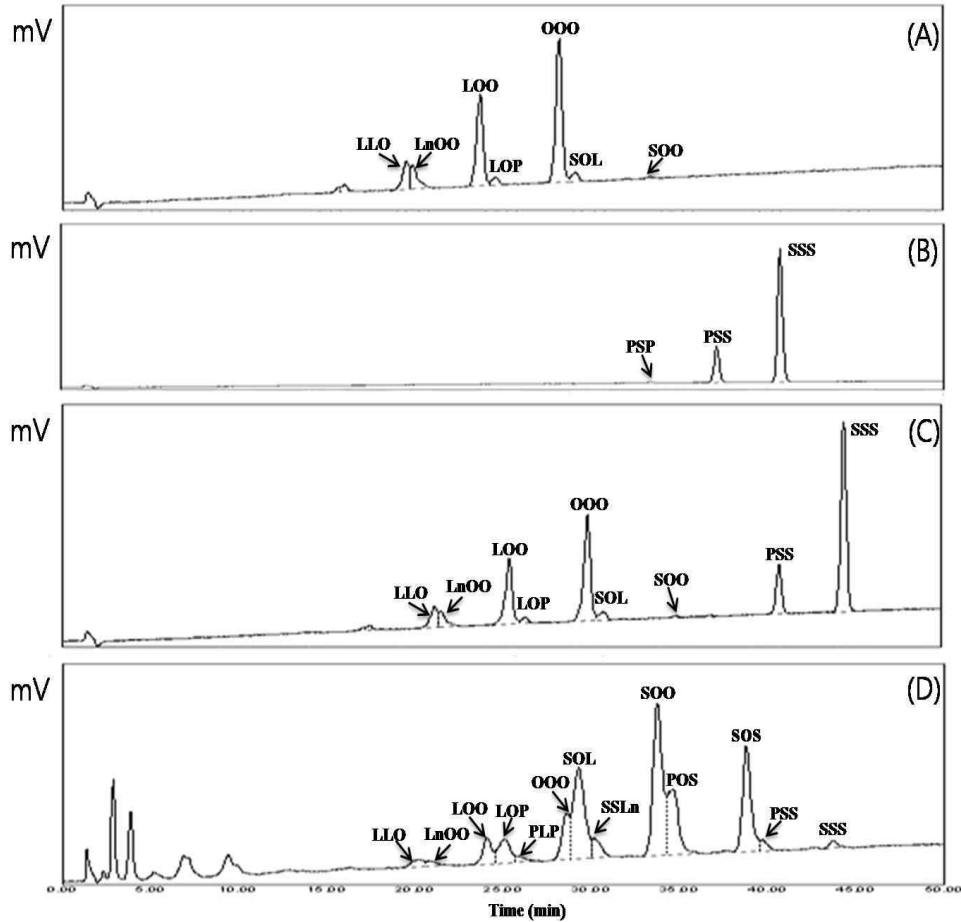


Fig. 2. RP-HPLC chromatograms of canola oil (A), fully hydrogenated soybean oil (B), before reaction (blend, C) and after reaction (LTSF, D). O=oleic acid, L=linoleic acid, P=palmitic acid, S=stearic acid, Ln=linolenic acid.

반응물의 TAG를 구성하는 지방산들의 길이 및 불포화도에 따라 partition number(PN)로 분리하여 분석한 결과, PN 44~54 범위에 다양한 TAG 조성들이 분포되어 있음을 알 수 있었다. 카놀라유의 주요 TAG 조성은 PN=44~50 범위에 나타났으며 LOO(29.9 area%)와 OOO(45.6 area%)가 대부분 차지하였다. 대두극도경화유의 주요 TAG 조성은 PN=50~54 범위에 분포되어 있었고, PSS(21.9 area%), SSS(77.7 area%)가 전체 TAG 조성의 90% 이상 이루어져 있음을 알 수 있었다. 이에 따라 합성된 LTSF의 반응 전 주요 TAG 조성은 LOO, OOO, SSS로서, LOO는 15.7 area%(blend)에서 4.4 area%(LTSF)로, OOO는 25.2 area%(blend)에서 6.5 area%(LTSF)로, 그리고 SSS는 36.8 area%(blend)에서 0.9 area%(LTSF)로 그 수치가 줄어든 것을 확인할 수 있었다. 반면에, 반응 후 SOL이 2.3 area%에서 19.4 area%로, SOO가 0.5 area%에서 26.4 area%로 두드러지게 증가하였다. 또한, 새로운 TAG 조성인 POS/PSP와 SOS가 각각 12.6 area%와 16.5 area%이었다.

Crystal morphology 및 유지 결정형 분석

유지의 crystal morphology를 분석하기 위하여 polarized

light microscopy를 이용하였다. Fig. 3은 시중에 유통되고 있는 스프레드로부터 획득된 고체지와 LTSF의 결정형태를 나타낸 것으로 각각 200과 400배율로 관찰하였다. 두 시료 모두 작고 조밀한 crystal들이 모여 새로운 군집을 형성함으로써 스프레드를 제조 시 식감이나 spreadability 등에서 우수할 것이라 예측되었다. 일부 보고에 의하면, 미세한 결정의 형성은 반고체지의 가소성 범위를 넓혀주며 부드러운 조직감을 제공하여 준다고 하였다(8,18). LTSF와 시중에 유통되고 있는 스프레드로부터 획득된 고체지의 polymorphic form을 x-ray diffraction spectroscopy를 이용하여 측정된 결과를 Table 3에 나타내었다. 일반적으로 유지의 결정구조는 주로 α (hexagonal), β' (orthorhombic), β (triclinic) 등 세 가지 대표적인 결정형을 가진다(8,19,20). Lee 등(19)의 연구에 따르면, 결정구조가 가장 불안정하고 융점이 낮은 α 형은 4.15 Å에서 short spacing을 보이고 β' 형은 3.8과 4.2 Å에서 강한 short spacing을 보이며 β 형은 4.27, 3.97, 3.71 Å에서 약한 short spacing을 보인다고 보고하였다. 또한 융점이 가장 높고 가장 안정된 결정구조인 β 형은 4.60 Å에서 강한 short spacing을 나타낸다고 보고하였다. 일반적으로 마가린은 β'

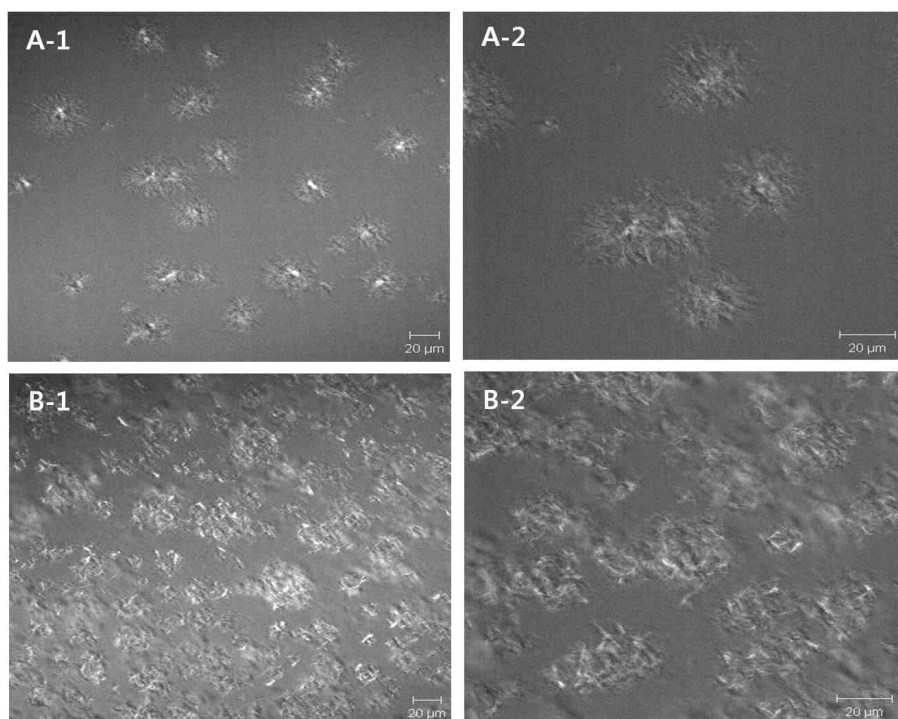


Fig. 3. Polarized light micrographs of fat from commercial spread and low-trans spread fat (LTSF). A-1: fat from commercial spread ($\times 200$), A-2: fat from commercial spread ($\times 400$), B-1: LTSF ($\times 200$), B-2: LTSF ($\times 400$).

Table 3. Polymorphic form and short spacings (\AA) of fat from commercial spread and low-trans spread fat (LTSF) by x-ray diffraction

Short spacings (\AA)	Fat from commercial spread	Polymorphic form	LTSF	Polymorphic form
4.6	4.57	β	4.54	β
4.2	4.25	β'	4.34	β'
3.8	3.85	β'	3.84	β'

형 결정일 때 바람직하다고 여겨지는데, LTSF의 x-ray diffraction 결과를 살펴보면, β' 형이 우세하게 나타나고 있지만 β 형도 함께 공존하고 있는 것을 확인할 수 있었다. 유지의 성질이 다른 많은 수의 TAG 혼합물이기에 동질다형현상 (polymorphism)을 나타내어 두 개 이상의 결정형을 갖기 때문이다. 특히, LTSF의 경우 SOO 등의 비대칭형 TAG들이 β' 형의 결정형을 유도하였다. 일반적으로 β 형의 결정은 결정화 과정에서 거칠고 큰 결정을 형성하는 경향이 있기 때문에 waxy 또는 grainy한 요인이 존재하는 반면, β' 형은 유지의 결정이 커지는 것을 억제하면서 결정이 축적되어 커지지 않기 때문에 상대적으로 부드러운 조직감을 제공하게 된다(20).

요 약

카놀라유와 대두극도경화유를 기질로 이용하여 저트랜스 스프레드 제조 시에 사용할 수 있는 LTSF을 효소적 inter-esterification 반응을 이용하여 합성하였고, 제조된 LTSF의

온도별 SFC 함량, 반응 후 TAG 조성의 변화 및 결정형을 살펴보았다. DSC를 이용한 SFC 분석결과, LTSF와 시중에서 유통되는 스프레드로부터 획득한 고체지간에 약 20~35 $^{\circ}\text{C}$ 의 범위에서 유사한 고체지 함량을 보임에 따라 합성된 LTSF는 적합한 물성을 가지는 스프레드 제조 시에 사용할 수 있을 것으로 사료된다. LTSF의 지방산 조성은 C18:0 (29.2 wt%), C18:1(41.8 wt%), C18:2(13.3 wt%)가 전체 지방산 조성의 80% 이상 구성되어 있으며, 총 트랜스 지방산(Σ TFA)의 함량은 시중 유통 스프레드 고체지보다 훨씬 적은 0.2 wt%로 미량 검출되었다. Sn-2 position에 분포된 지방산 조성은 C18:0(31.5 wt%), C18:1(41.4 wt%), C18:2(12.1 wt%)로 구성되었고, sn-1,3 position에 위치한 지방산 조성도 C18:0(28.1 wt%), C18:1(42.1 wt%), C18:2(13.9 wt%)로 구성되었다. Reversed-phase HPLC 분석결과, 카놀라유는 LOO와 OOO로 구성되어 있었으며, 대두극도경화유는 PSS와 SSS의 주된 TAG 조성을 나타내었다. 두 기질을 사용하여 대량 합성된 LTSF의 반응 전후 TAG 조성을 비교해 보면, LOO와 OOO, SSS는 반응 후 그 수치가 줄어든 반면, SOL과 SOO는 각각 2.3에서 19.4 area%로, 0.5에서 26.4 area%로 증가하였으며, 새로운 TAG로서 POS/PSP와 SOS가 각각 12.6 area%와 16.5 area% 정도 생성되었다. LTSF의 결정형태를 알아보기 위하여 polarized light microscopy와 x-ray diffraction 분석을 수행한 결과, 결정크기는 작고 조밀하여 부드러운 조직감을 나타낼 것으로 생각되며 일반적으로 마가린이 β' 형일 때 바람직하다고 보고된 바와 같이, 합성된 LTSF은 β 형도 공존하지만 β' 형이 우세하게 나타내어 스프레드의 물성에 적합할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2010년도 농림수산식품부 농림기술개발사업의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

1. Fomuso LB, Akoh CC. 2001. Enzymatic modification of high-laurate canola to produce margarine fat. *J Agric Food Chem* 49: 4482-4487.
2. Petrauskaitė V, De Greyt W, Kellens M, Huyghebaert A. 1998. Physical and chemical properties of *trans*-free fats produced by chemical interesterification of vegetable oil blends. *J Am Oil Chem Soc* 75: 489-493.
3. Jung MY. 2001. Soybean oil refining and processing for industrial usage (margarine and spread). *Korea Soybean Digest* 18: 47-56.
4. Kim YM, Heo OS, Lee KT. 2007. Analysis of *trans* fatty acid and crude fat contents of bakery foods in Chungcheong province. *J East Asian Soc Dietary Life* 17: 540-546.
5. Lumor SE, Jones KC, Ashby R, Strahan G, Kim BH, Lee GC, Shaw JF, Kays SE, Chang SW, Foglia TA, Akoh CC. 2007. Synthesis and characterization of canola oil-stearic acid-based *trans*-free structured lipids for possible margarine application. *J Agric Food Chem* 55: 10692-10702.
6. Hwang PY, Kim YM, Lee KT. 2007. Comparison of the bakery products made commercial fat or low *trans* fat. *J East Asian Soc Dietary Life* 17: 64-71.
7. 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.
8. Shin JA, Akoh CC, Lee KT. 2009. Production and physicochemical properties of functional-butterfat through enzymatic interesterification in a continuous reactor. *J Agric Food Chem* 57: 888-900.
9. Kim JY, Lee KT. 2009. Enzymatic synthesis of low *trans* fats using rice bran oil, palm stearin and high oleic sunflower seed oil. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 470-478.
10. 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.
11. Kim NS, Lee KT. 2004. Enzymatic synthesis of structured lipids containing conjugated linoleic acid from extracted corn and peanut oil. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1000-1005.
12. Mensink RP. 2005. Effects of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humans. *Lipids* 40: 1201-1205.
13. Jang YS. 2002. Prospect and situation of quality improvement in oilseed rape. *Korean J Crop Sci* 47: 175-185.
14. KFDA. 2006. *Department of food standardization, labeling of trans fats*. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. p 2-10.
15. Fomuso LB, Akoh CC. 2003. Lipase-catalyzed acidolysis of olive oil and caprylic acid in a bench-scale packed bed bioreactor. *Food Res Int* 35: 15-21.
16. Osorio NM, Fonseca MMR, Ferreira-Dias S. 2006. Operational stability of *Thermomyces anuginose* lipase during interesterification of fat in continuous packed-bed reactors. *Eur J Lipid Sci Technol* 108: 545-553.
17. 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.
18. Widlak N, Hartel R, Narine S. 2001. Crystallization and solidification properties of lipids. In *Polymorphism and Texture of Fats*. deMan JM, deMan L, eds. AOCS Press, Champaign, IL, USA. p 225-235.
19. Lee JH, Akoh CC, Lee KT. 2008. Physical properties of *trans*-free bakery shortening produced by lipase-catalyzed interesterification. *J Am Oil Chem Soc* 85: 1-11.
20. D'Souza V, deMan JM, deMan L. 1990. Short spacings and polymorphic forms of natural and commercial solid fats: a review. *J Am Oil Chem Soc* 67: 835-843.

(2010년 5월 14일 접수; 2010년 8월 18일 채택)