

Coconut Oil 분별유와 Palm 분별유로부터 효소적 Interesterification에 의한 코코아 버터 대체유지 합성

배상균 · 이경수 · 이기택[†]
충남대학교 식품공학과

Synthesis of Cocoa Butter Alternative from Coconut Oil Fraction and Palm Oil Fractions by Lipase-Catalyzed Interesterification

Sang-Kyun Bae, Kyung-Su Lee, and Ki-Teak Lee[†]

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

Abstract

Structured lipid (SL) for cocoa butter alternative was synthesized by interesterification of coconut oil fraction and palm stearin (6:4 and 8:2, by weight) in a shaking water bath at 60°C and 180 rpm. It was performed for various reaction times (1, 2, 3, and 6 hr). The reaction was catalyzed by *sn*-1,3 specific Lipozyme TLIM (immobilized lipase from *Thermomyces lanuginosus*). SL-solid part was obtained from acetone fractionation at 0°C. SL-solid part was blended with other palm oils and fractions for desirable property of cocoa butter alternative (SL-solid part : palm middle fraction : palm stearin solid : palm oil, 70.4:18.4:2.9:8.3, by weight). In reversed-phase HPLC analysis, triacylglycerol species of cocoa butter alternative had partition number of 40 (10.77%), 42 (13.06%), 44~46 (17.38%) and 48 (51.88%). Major fatty acids of cocoa butter alternative were lauric acid (16.5%), myristic acid (12.28%), palmitic acid (46.03%), and linoleic acid (14.75%). Solid fat content (SFC) and polymorphic form (β' form) of cocoa butter alternative prepared were similar to those of commercial cocoa butter replacer (CBR).

Key words: cocoa butter alternative, coconut oil, palm stearin, interesterification

서 론

코코아 버터는 일반 식물성 유지의 triacylglycerol(TAG) 조성과는 달리 특징적인 TAG 조성에 기인한 물리적 특성을 보이기 때문에 confectionery 식품에서는 아주 중요한 천연 자원이다. 특히 코코아 버터가 사용되는 초콜릿은 기호식품으로 초콜릿의 원료인 cocoa nib, cocoa mass, cocoa powder 등과 함께 초콜릿 제조에 사용되며, 코코아 버터에 의해 초콜릿의 품질에 영향을 준다. 그러나 코코아 버터는 고가의 유지이고 작황에 따른 가격 변동이 심함으로 경제적인 이유와 천연자원의 한계성 때문에 코코아 버터를 대체할 수 있는 대체유지의 개발이 필요하게 되었다.

종(species)과 지역에 따라 다소 차이는 있으나 일반적으로 코코아 버터의 주요 TAG 조성은 POS(palmitoyl-oleoyl-stearyl), POP(palmitoyl-oleoyl-palmitoyl), SOS(stearyl-oleoyl-stearyl)이며, 이들 대칭형 TAG류가 코코아 버터를 이루는 총 TAG 조성의 주를 이룬다. 이들 TAG는 특이적으로 SUS(saturated-unsaturated-saturated)이면서 대칭형 구조를 가지고 있으며, 이와 같은 TAG로 주로 구성되어 있

다는 점은 코코아 버터의 가장 큰 특징인 용융 특성과 관련이 깊다(1,2). 반면, 코코아 버터 대체유지 중의 한 종류인 cocoa butter replacer(CBR)의 구성 성분은 주로 트랜스 지방산인 elaidic acid로 구성되어 있었으나, 최근 트랜스 지방산의 위해성 논란으로 저급 cocoa butter substitutes(CBS)보다는 품질이 우수하고 비교적 저급지방산의 함량이 낮은 lauric 계열의 코코아 버터 대체유지가 CBR 시장을 잠식하고 있다. 이들은 다양한 TAG 조성으로 구성이 되어 있지만, 코코아 버터와 흡사한 용융 및 온도에 따른 고체지 함량(solid fat content, SFC) 곡선을 가지기 때문에 대체유지로 활용이 가능하다(3). Liu와 Chang(4) 및 Abigor(5)와 Marner는 코코아 버터 대체유지를 만들기 위해서 lard와 tristearin을 기질로 반응하거나, 경화한 대두유와 palm oil을 기질로 한 에스테르화 반응 등을 수행하였으며, 이 외의 다양한 유지를 기질로 한 연구가 진행되고 있다.

본 실험은 coconut oil 분별유(coconut oil solid part, COS)와 palm stearin(PS)을 주된 기질로 사용하여 코코아 버터 대체유지(lauric계의 CBR)를 만들고자 하였다. 기질간의 interesterification은 Lipozyme TLIM(immobilized li-

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

pase from *Thermomyces lanuginosus*)를 촉매로 사용하여 수행하였고, 용매를 이용한 분획을 실시한 후, commercial CBR 제품과 보다 유사한 물리, 화학적 특성을 부여하기 위하여 palm oil 분획유와 blending을 하였다. 본 실험에서 제조된 코코아 버터 대체유지의 각 분석 결과는 현재 우수한 품질로 알려져 국내외에서 널리 사용되고 있는 국외 commercial CBR 제품과 비교하였으며, RP-HPLC를 이용한 TAG 조성분석, 지방산조성 분석, TAG의 *sn*-2 position의 지방산 조성분석과 differential scanning calorimetry(DSC)를 이용한 SFC, X-ray diffraction(XRD)을 이용한 결정형 분석이 수행되었다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 코코아 버터 대체유지를 만들기 위하여 interesterification에 사용된 기질은 COS와 PS이었다. COS는 시중 마켓에서 구입한 코코넛 오일을 acetone과 1:10(w/v)의 비율로 혼합하여 0°C에서 분별하여 얻은 고체지 부분을 사용하였다. 팜유(palm oil, PO)와 팜스테아린(palm stearin, PS)은 S사(Incheon, Korea)로부터 제공받은 것을 사용하였다. 제공된 팜유를 이용하여 팜중부유(palm middle fraction; PMF)를 획득하였다. PMF를 얻기 위하여 PO를 acetone과 1:4의 부피비로 4°C에서 분획한 후 액상유 부분을 취하였고 이를 다시 0°C에서 분획하여 고체지 부분을 획득한 것을 사용하였다. 한편, 제공된 PS는 acetone과 1:9의 부피비로 28°C에서 분획하여 고체지 부분을 획득하였고 이를 PS 분획고체지(palm stearin solid, PSS)로 칭하였다. 획득된 PMF와 PSS는 이후 COS : PS(6:4, w/w)의 3시간 interesterification 반응 후 분획물과의 blending에 사용되었다. Interesterification 반응 촉매로는 *Thermomyces lanuginosus*로부터 유래된 lipase를 고정화시킨 Lipozyme TLIM를 이용하였고, 이는 Novozymes A/S(Bagsvaerd, Denmark)의 제품을 사용하였다. 코코아 버터의 지방산 조성을 분석하기 위하여 사용된 pancreatic lipase(Type II, crude)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 본 실험에서 제조된 코코아 대체유지와 특성 비교를 위하여 국외 A사로부터 획득된 cocoa butter replacer(CBR) 제품을 이용하였다.

코코아 버터 대체유지(CBR) 제조

기질 무게의 10%에 해당하는 효소를 사용하여 반응을 하였으며, 반응 온도는 60°C로 유지되는 shaking water bath에서 180 rpm의 속도로 24시간 동안 반응하였다. 코코아 버터 대체유지 제조 시에 총 기질(COS와 PS)의 무게 10 g을 기준으로 하여 6:4(COS : PS)와 8:2의 무게비율로 이때 사용된 기질비율은 본 실험에 앞서 수행된 전 실험에서 얻어진 결과를 바탕으로 선정하였다(6). 6:4(COS : PS)의 비율로 기질 무

게의 10%에 해당하는 Lipozyme TLIM를 넣고, 60°C로 맞추어진 shaking water bath에서 batch식으로 180 rpm의 속도로 반응하면서 반응시간별(1, 2, 3, 6시간)로 반응물을 취하여 reversed-phase high performance liquid chromatography(RP-HPLC)를 이용한 TAG 조성분석을 수행하였다. Commercial product와의 TAG 조성을 유사하게 맞추기 위하여 COS : PS(6:4)의 3시간 반응물을 다시 0°C에서 분별하여 고체지 부분을 취하였다. 이때 사용된 용매는 acetone으로 기질과의 비는 1:10(w/v)이었다. 이후 획득된 고체지 분획물 70.4%에 자체 획득된 PMF를 18.4%, PSS를 2.9%, 그리고 PO를 8.3%의 무게비로 blending하여 최종적으로 본 실험에서 제조된 코코아 버터 대체유지(CBR)로 사용하였고, 이후 commercial 제품과 특성을 비교, 분석하였다.

탈산

반응 중 생성될 수 있는 유리지방산을 제거하기 위하여 탈산과정을 수행하였다. 탈산과정은 0.5 N KOH in 20% ethanol(100 mL ethanol/ 400 mL H₂O) 용액을 사용하였으며, 지시약으로는 0.1% phenolphthalein(1 g/100 mL 95% ethanol) 용액을 사용하였다. 먼저 n-hexane 용매를 사용하여 합성된 코코아 버터 대체유지를 녹이고 이에 적정을 하여 유리지방산을 비누화하였다. 40°C 내외의 온수를 사용하여 비누화된 유리지방산을 수세하였으며, 층 분리를 위하여 n-hexane(300 mL)을 다시 사용하고 emulsion을 제거하기 위해 95% ethanol(150 mL)을 이용하였다. 충분히 수세 후, n-hexane에 녹아 있는 유지를 anhydrous sodium sulfate (Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) column에 걸러 수분 및 불순물을 정제하였으며, 질소가스를 사용하여 용매를 제거한 후 순수한 유지만을 획득하였다.

RP-HPLC 분석

합성한 코코아 버터 대체유지의 TAG 조성을 알아보기 위하여 RP-HPLC 분석을 수행하였다. 분석에 사용된 기기는 Youglin SP930D dual pump(Young-Lin Instrument Co., Ltd., Anyang, Korea)에 ZAM 3000 evaporative light scattering detector(ELSD, Young-Lin Instrument Co., Ltd.)를 장착하여 이루어졌다. ELSD의 온도는 55°C, gas flow는 1.7 mL/min으로 설정하였으며 N₂ 가스로 분무가 이루어졌으며, column은 ODS 4 μm(Nova-Pak C18, 150×3.9 mm i.d., Waters, Milford, MA)를 사용하였다. 이동상은 기올기 용매로 acetonitrile과 iso-propanol : hexane(2:1, v/v)을 사용하였으며, 초기 용매 비율은 80:20(v/v)으로 45분간 용리 비가 54:46(v/v)이 되도록 linear하게 흘려주었다. 54:46(v/v)의 용리 비를 15분간 유지한 후, 다시 용매의 용리 비가 80:20(v/v)이 되도록 5분간 linear하게 흘려 준 후, 이를 5분간 유지하여 baseline을 안정화하였다. 시료 분석은 100 μL loop가 장착된 injector에 5~15 mg의 sample을 5 mL의 chloroform에 녹여 10 μL를 주입하였고, 각각의 반응물은

retention time(RT)와 partition number(PN) 사이의 관계식을 이용하여 새로운 TAG 조성을 분석하였다(7,8).

$$\text{Partition number (PN)} = \text{total number of carbons (CN)} - 2 \times \text{total number of double (ND)}$$

DSC 분석

Differential scanning calorimetry(DSC, TA Instruments, model DSC 2010, New Castle, DE, USA)를 사용하여 solid fat content(SFC)를 측정하였다. 분석 시 calibration을 위한 baseline은 빈 cell에서 분석하였고, 각 분석 시료의 양은 5 ± 0.1 mg으로 하였다. Thermogram을 얻기 위한 분석온도 프로그램은 80°C 에서 10분간 유지한 다음 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 의 비율로 -65°C 까지 냉각하여 그 온도에서 10분간 유지한 후 다시 80°C 까지 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 의 비율로 승온 하였다.

지방산 조성 분석

합성한 코코아 버터 대체유지와 코코아 버터의 지방산 조성분석은 flame-ionization detector(FID)와 자동 주입기가 장착된 gas chromatograph(GC, Hewlett packard 6890 series, Avondale, PA, USA)에 시료 1 μL 를 주입하여 분석이 이루어졌으며, 분석에 사용된 칼럼과 온도프로그램은 Table 1에 나타내었다. 시험관에 시료 25~30 mg을 취하여 1.5 mL의 0.5 N methanolic NaOH 용액을 넣고 100°C water bath에서 5분간 반응 후 냉각한 다음 2 mL의 BF_3 -methanol 용액을 넣어 vortex 하고 100°C water bath에서 2분간 반응하였다. 이에 2 mL의 isooctane과 1 mL의 포화 NaCl 용액을 가하여 충분히 vortex 후 정지한 다음 상층부만을 취하였고, 이를 anhydrous sodium sulfate column에 걸러 GC 분석을 하였다. 또한 GC-FID 상에서의 분석은 각 지방산의 메틸에스테르이므로 해당 지방산으로 전환해야 하는데, 각 지방산별 전환계수는 식약청에서 제시한 결과를 이용하였다(9). TAG의 sn-2 position 지방산의 조성분석은 다음과 같이 실행하였다. 시험관에 시료 약 7 mg, 1 M Tris-HCl buffer(pH 7.6) 7 mL, 0.05% bile salt 용액 1.75 mL, 그리고 2.2% CaCl_2 용액 0.7 mL를 순서대로 넣고, 시료와 같은 중량의 pancreatic lipase 7 mg을 넣었다. 1분간 충분히 vortex 후 37°C 로 water bath에 넣고 8분간 반응하였다. 층 분리를 위하여

4 mL의 diethyl ether 용액을 첨가하여 충분히 vortex 후 정지하였다. 상층부만을 취하여 anhydrous sodium sulfate column을 거쳐 수분을 제거하였으며 thin layer chromatography(TLC) 분석을 하기 위해 TLC plate(silica gel 60 F₂₅₄, 20×20 cm, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)에 전개하였다. 이때 사용된 전개 용액은 hexane : diethyl ether : acetic acid(50:50:1, v/v/v)이었으며, 전개 후 얻고자 하는 2-monoacylglyceride(MAG) band 부분만을 긁어내어 위와 같은 지방산 분석 방법으로 GC 분석을 하였다.

XRD를 이용한 polymorphic form 및 용융점 측정

코코아 버터 대체유지의 polymorphic form은 상온에서 x-ray diffraction spectroscopy(XRD, D/Max-2200 Ultima/PC, Rigaku International Corporation, Tokyo, Japan)에 의해 측정되었다. Target은 Cu-K α 로 Voltage 40 kV, Current 40 mA로 작동하였으며, 회절각도(2θ) $12 \sim 13^\circ$ 로 측정하였다(10). 시료는 미리 상온에서 24시간 이상 보관 후 실험에 사용하였다. 용융점의 측정은 AOCS Official Method Cc 3~25에 제시된 방법에 따라 실험하였다. 각각의 반응물은 위아래가 개봉된 capillary tube에 1 cm 가량 넣은 후 4°C 에서 약 16시간 냉장 보관하였다. Water bath안의 온도를 $0.5^\circ\text{C}/\text{min}$ 으로 조정하고 tube 안의 고체지가 완전히 녹는점을 용융점으로 측정하였다(11).

결과 및 고찰

기질의 비율에 따른 반응 및 분별

각각 COS : PS=8:2와 COS : PS=6:4의 질량비로 기질을 만들고 비율에 따른 24시간 반응 후의 TAG 조성을 RP-HPLC 분석을 통해 Fig. 1에 나타내었다. 본 실험조건에서 24시간의 반응은 reaction equilibrium을 이룰 것이라고 판단하였다. Fig. 1에서 반응하기 전의 각 기질인 PS와COS의 chromatogram(Fig. 1A와 B)과 24시간 반응 후의 chromatogram을 비교하였다. COS는 주로 8~15분에서 TAG peak가 위치하였고, PS는 30분 전후로 TAG peak가 존재하고 있었다. COS : PS=8:2 반응에서는 PS peak는 거의 반응에 참여하여 TAG peak가 없어진 반면 COS peak는 상당량이 남아 있는 것으로 보아 반응 시 분자량이 작은 TAG가 상대적으로 많은 COS의 TAG mol 수가 많기 때문으로 생각된다. 한편, 6:4의 반응에서는 8:2 반응과 비교하여 COS와 PS peak가 비슷하게 없어지면서 새롭게 합성된 TAG들이 생성되었다. 따라서 이후 실험은 COS와 PS의 비율을 6:4로 고정하여 수행하였다.

RP-HPLC 분석

RP-HPLC를 이용하여 COS : PS(6:4)의 기질을 반응시간을 1, 2, 3, 6시간으로 바꾸어 가며 분석한 결과를 Fig. 2와 Table 2에 나타내었다. PN < 40 이하의 TAG peak는 1시간

Table 1. Gas chromatograph condition for fatty acid composition analysis

Items	Conditions
Instrument	GC (HP 6890 series, USA)
Column	Supelco SP TM -2560 (100 m \times 0.25 mm \times 0.2 μm film thickness, Bellefonte, PA, USA)
Detector	Flame Ionization Detector (FID)
Carrier gas	N ₂ (1 mL/min, Constant flow)
Column temp.	$50^\circ\text{C} \rightarrow 10^\circ\text{C}/\text{min} \rightarrow 150^\circ\text{C} \rightarrow 4^\circ\text{C}/\text{min} \rightarrow 220^\circ\text{C}$ (37 min)
Injector temp.	250°C
Detector temp.	260°C
Sample load	1 μL

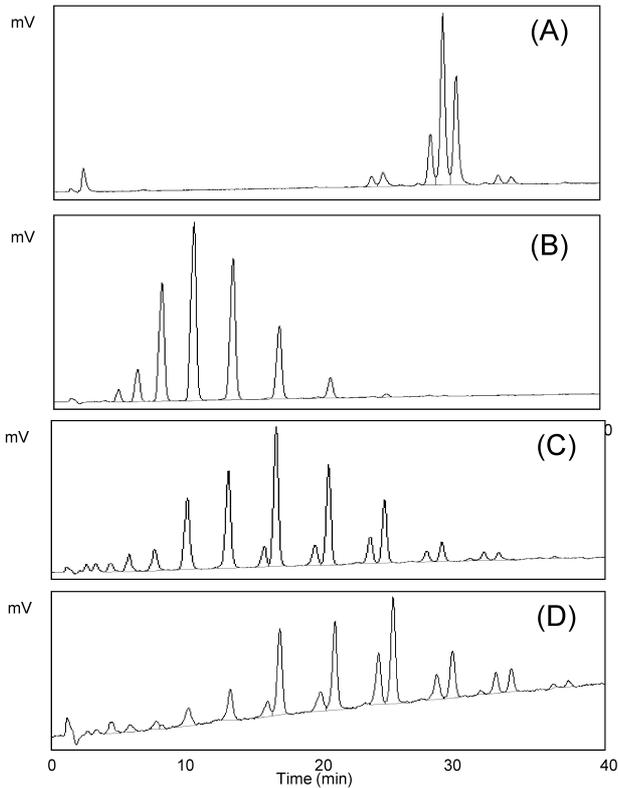


Fig. 1. Triacylglycerol (TAG) profile analyzed by reversed-phase HPLC of substrates and reactants after 24 hr reaction. (A) Palm stearin, (B) Coconut oil solid part, (C) Coconut oil solid part : palm stearin (COS : PS)=8:2 (w/w), (D) Coconut oil solid part : palm stearin=6:4 (w/w).

반응에서 23.08%이었고, 반응시간이 증가할수록 비율이 감소하여 3시간 반응에서 11.26%이었으나, 6시간에서는 그 비율이 다소 증가하여 15.85%이었다. 한편, COS와 PS가 효소적 interesterification 반응에 의해 새로운 TAG peak가 주로 나타나는 PN은 40~46로써 3시간 반응에서 PN=40은 16.52%, PN=42은 19.79%, PN=44~46은 27.02%이었다. 그러나 6시간 반응에서의 PN=40은 17.18%, PN=42는 19.47%, 그리고 PN=44~46은 26.09%로 거의 비슷하였기 때문에 이후 실험에서의 반응 시간은 3시간으로 수행하였다. RP-HPLC를 사용하여 분석한 commercial CBR 제품의 chromatogram을 Fig. 3(A)에 나타내었다. Commercial CBR 제품은 PN<40 이하는 2.93%, PN=40은 9.08%, PN=42는 8.00%, PN= 44~46은 29.31%, PN=48은 47.72%, 그리고 PN>52 이상은 2.96%이었다. 따라서 본 실험에서 합성된 COS : PS=6:4, 3시간 반응물과는 특히 PN<40의 조성과의 큰 차이가 있었다(Fig. 2).

따라서 0°C분별과정을 거쳐 최대한 이 부분의 TAG류를 제거하였으며 이때의 분별 후 chromatogram을 Fig. 4에 나타내었다. 분별 후 COS : PS=6:4, 3시간 반응물의 TAG 조성에서 저급지방산이 포함된 TAG로 판단되는 peak의 비율은 전체 TAG의 7.07%로 줄어들었다. 그러나 commercial CBR

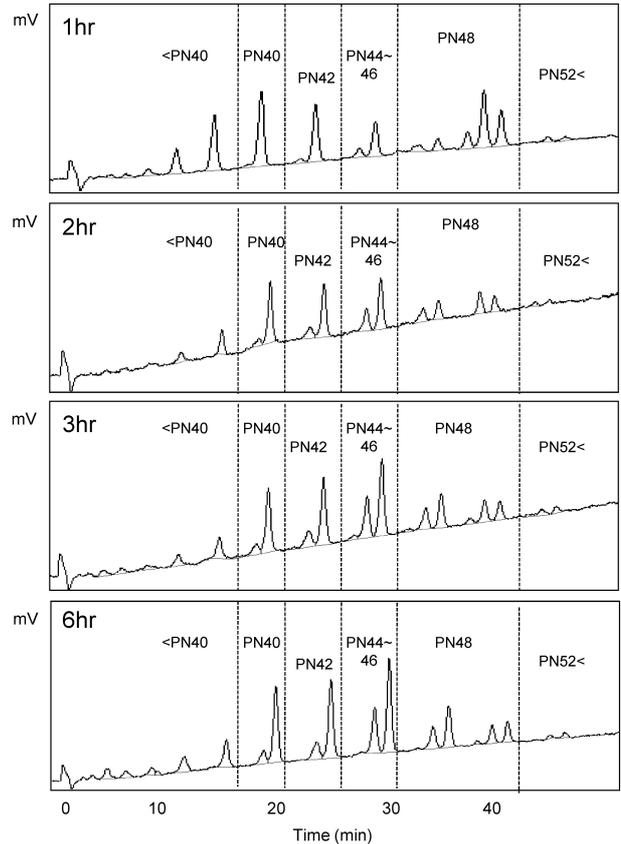


Fig. 2. Triacylglycerol (TAG) profile of COS : PS (6:4)¹⁾ according to the different reaction times (1, 2, 3 and 6 hr). ¹⁾Reaction product was synthesized with coconut oil solid part (COS) and palm stearin (6:4, w/w).

Table 2. Triacylglycerol (TAG) peaks classified by partition number (PN) of COS:PS (6:4)¹⁾ according to the different reaction times (unit: %)

PN	Reaction time (hr)			
	1	2	3	6
<40	23.08	11.04	11.26	15.85
40	18.44	21.80	16.52	17.18
42	14.67	19.44	19.79	19.47
44~46	10.43	21.67	27.02	26.09
48	31.08	22.77	23.18	19.44
50<	2.30	3.28	2.22	1.47

¹⁾Reaction product was synthesized with coconut oil solid part (COS) and palm stearin (6:4, w/w).

제품의 PN=48 부분의 TAG 조성과의 여전한 조성차이가 있었다. 이에 코코아 버터 대체유지로서의 물리적성을 보완하기 위해 COS : PS=6:4 반응물을 분별한 고체지에 자체 획득된 PMF, PSS와 PO를 첨가하였다. 따라서 최종적으로 제조된 코코아 버터 대체유지는 0°C에서 분별한 COS : PS(6:4) 반응물의 고체지 분획물 70.4%에 자체 획득된 PMF를 18.4%, PSS를 2.9%, 그리고 PO를 8.3%의 무게비로 blending하여 코코아버터 대체유지를 제조하였다. TAG조성 분석결과, PN<40 이하는 3.32%, PN=40은 10.77%, PN=42는 13.06%,

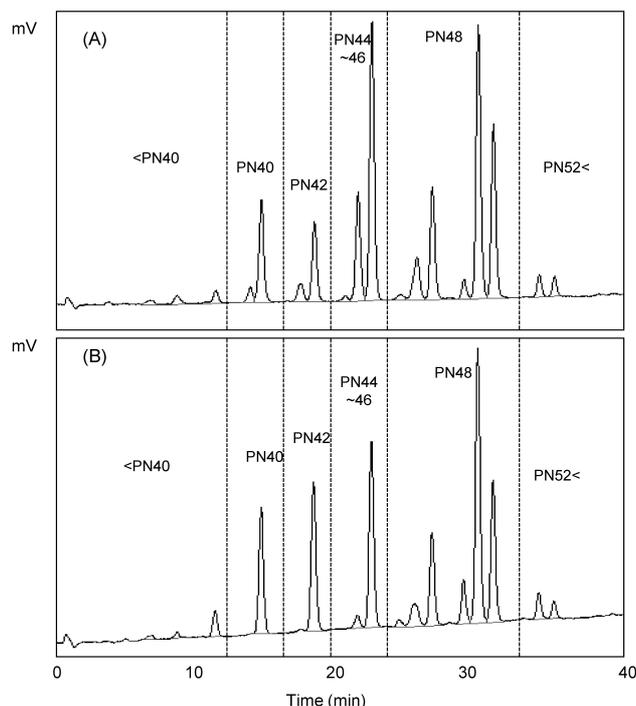


Fig. 3. Triacylglycerol (TAG) profile of commercial cocoa butter replacer (CBR) product (A) and the produced cocoa butter alternative (B).

PN=44~46은 17.38%, PN=48은 51.88%, 그리고 PN>52 이상은 3.60%이었다(Fig. 3B). 제조된 코코아버터 대체유지의 TAG 조성은 commercial CBR 제품의 TAG 조성과 매우 유사하였다.

제조된 코코아 버터 대체유지와 commercial CBR 제품의 지방산 조성 분포

제조된 코코아버터 대체유지와 commercial CBR 제품의 GC를 이용한 지방산 분석 결과를 Table 3에 나타내었다. 두 유지간 전체적인 지방산의 비율은 거의 유사하였으며, 불포화 지방산의 비율은 코코아 버터 대체유지와 commercial CBR가 각각 17.39%와 18.68%이었고, 저급지방산인 C8:0와

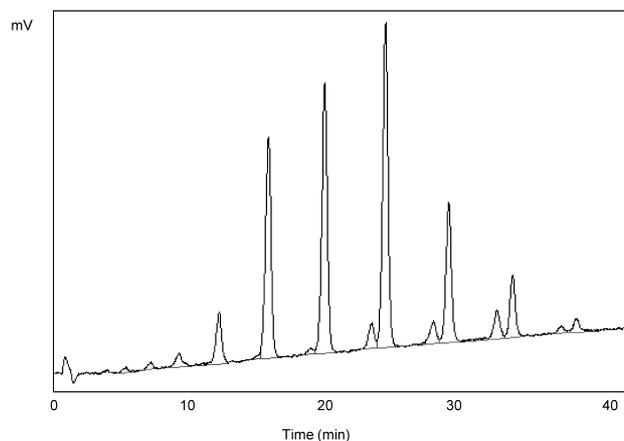


Fig. 4. Triacylglycerol (TAG) profile of the solid part of reaction product (COS:PS=6:4, w/w) fractionated with acetone at 0°C.

C10:0의 함은 코코아 버터 대체유지가 0.91%로, 이는 commercial CBR 제품의 1.29% 비해 다소 낮았다. 본 실험에서 제조된 코코아 버터 대체유지는 C12:0(lauric acid)과 C14:0(myristic acid)의 함이 28.78%이었고, commercial CBR 제품 역시 27.42% 비교적 높은 비율을 갖고 있었는데, 이는 CBR 제품도 lauric 계의 유지를 사용하여 제조되었음을 의미한다. 두 시료에서 가장 높은 비율을 갖는 지방산은 C16:0 (palmitic acid)으로 코코아 버터 대체유지는 46.03%, commercial CBR 제품은 47.75%이었고, 두 시료에서 모두 *trans* 지방산은 모두 검출되지 않았다. 한편, TAG의 *sn*-2 위치의 지방산 조성을 분석한 결과를 Table 3에 나타내었다. 전체 지방산의 불포화도는 commercial CBR 제품이 18.68%로 17.39%인 제조된 코코아 버터 대체유지에 비해 1.29% 높았다. 그러나 TAG의 *sn*-2 position에서 제조된 코코아 버터 대체유지의 불포화지방산은 23.22%로 이는 16.06%인 commercial CBR 제품에 비해 7% 정도 더 높았다. *sn*-2 위치에서 두 시료의 포화지방산 조성의 경우 lauric계 지방산인 C12:0와 C14:0의 함이 차지하는 비율은 25.14%와 37.93%으로 commercial CBR 제품이 13.79% 더 높았고, 총 지방산

Table 3. Fatty acid compositions (mol%) at total and *sn*-2 position of triacylglycerol (TAG) molecule of the cocoa butter alternative and commercial cocoa butter replacer (CBR)

Fatty acid	TAG		<i>Sn</i> -2	
	Cocoa butter alternative	Commercial CBR	Cocoa butter alternative	Commercial CBR
C8:0	0.20±0.01 ¹⁾	0.45±0.02	ND	ND
C10:0	0.71±0.02	0.84±0.01	ND	ND
C12:0	16.50±0.01	18.94±0.01	16.67±0.02	24.33±0.02
C14:0	12.28±0.01	8.48±0.01	8.47±0.01	13.60±0.01
C16:0	46.03±0.05	47.75±0.03	47.25±0.03	40.42±0.04
C18:0	6.55±0.02	4.60±0.02	4.39±0.01	5.59±0.01
C18:1 n9	14.75±0.01	15.78±0.02	19.24±0.01	14.83±0.03
C18:2 n6	2.64±0.01	2.90±0.01	3.98±0.01	1.23±0.01
C20:0	0.34±0.01	0.26±0.01	ND	ND
tFAs ²⁾	ND ⁴⁾	ND	ND	ND
ΣUSFA ³⁾	17.39	18.68	23.22	16.06

¹⁾All values are mean±SD (n=2). ²⁾Trans fatty acids. ³⁾Unsaturated fatty acid. ⁴⁾Not detected.

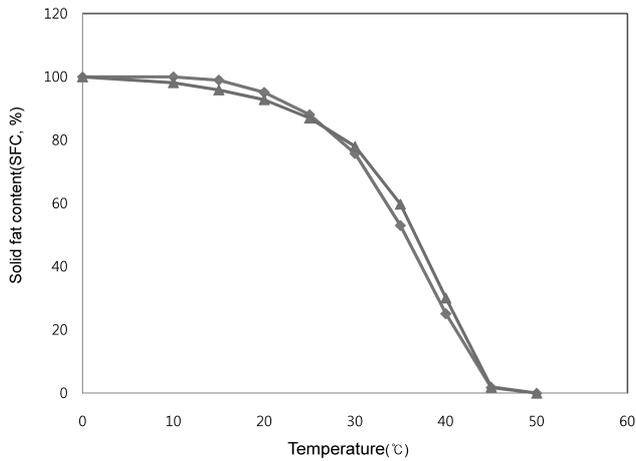


Fig. 5. Solid fat content curve of the commercial cocoa butter replacer (CBR) and cocoa butter alternative. \blacktriangle —: commercial CBR, \blacklozenge —: cocoa butter alternative.

중 두 시료에서 가장 높은 비율을 차지하는 C16:0은 각각 47.25%와 40.42%로서 제조된 코코아버터 대체유지가 약 7% 높았다.

제조된 코코아 버터 대체유지와 commercial CBR 제품의 SFC 분석

Fig. 5는 DSC를 사용하여 제조된 코코아 버터 대체유지와 commercial CBR 제품의 SFC의 측정 결과를 그래프로 나타내었다. 25°C에서 각 시료의 SFC는 86.98%와 88.05%로 제조된 코코아 버터 대체유지와 거의 유사하였다. 25°C에서의 SFC는 상온에서 유지의 hardness 정도를 유추해 볼 수 있는 지표로써 두 시료는 유사한 hardness를 가지고 있음을 추측할 수 있었다. 제조된 코코아 버터 대체유지는 30°C에서 75.76%, 35°C에서 53.03%, 40°C에서 25.13%, 45°C에서 1.78%의 SFC값이 각각 측정되었고, commercial CBR 제품은 78.01%(30°C), 59.75%(35°C), 30.09%(40°C), 1.95%(45°C)로 측정되었다. 따라서 두 시료 모두 30~45°C의 온도구간에

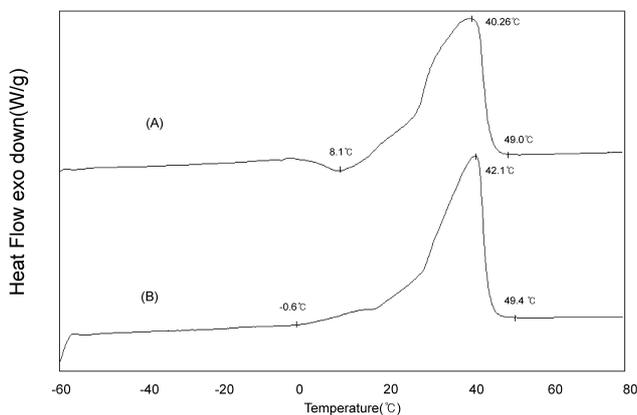


Fig. 6. Endothermic melting curve of the cocoa butter alternative (A) and commercial cocoa butter replacer (CBR) (B) analyzed by differential scanning calorimetry.

서 유지는 급격하게 액화되는 것을 확인할 수 있었고 이는 코코아 버터 대체유지로서의 우수한 특성을 나타냄을 보여주었다.

DSC를 사용하여 온도에 따른 용점 변화(endothermic melting curve)를 확인하여 Fig. 6에 thermogram으로 나타내었다. 보이는 DSC thermogram 상의 두 시료는 전체적으로 유사한 용점 패턴을 가지고 있었다. 코코아 버터 대체유지의 용융구간은 8.1~49°C이었으며, T_{on} (°C, onset temperature)은 40.26°C, T_p (°C, transition peak temperature)은 24.34°C이었다. 반면, commercial CBR 제품의 용융 구간은 -0.6~49.4°C이었으며, T_{on} 및 T_p 는 각각 25.12°C와 42.1°C이었다. 초기 용융이 시작되는 온도에서 약간의 차이가 있었으나 20°C 이상에서는 두 시료 사이의 SFC에서 큰 차이가 없었으며, 전체 용융 구간에서의 총 ΔH (J/g, enthalpy)의 결과 제조된 코코아 버터 대체유지가 114.47 J/g, commercial CBR 제품은 114.5 J/g의 매우 유사한 흡열 열량을 가지고 있는 것으로 나타났다. 또한 30~45°C 온도 구간에서 제조된 코코아 버터 대체유지의 SFC는 $75.76 \pm 0.04\%$ 에서 $1.78 \pm 0.03\%$ 로 급격하게 감소하였으며, 이때의 commercial CBR 제품도 $8.01 \pm 0.24\%$ 에서 $1.95 \pm 0.07\%$ 로 감소하여 두 시료간 유사한 결과를 보였다. Fig. 7은 냉각에 따른 결정화 온도변화(exothermic crystallization curve)를 나타내었는데 commercial CBR 제품은 23.2°C와 7.2°C의 두 온도에서 주요한 peaks를 나타내었으며, 제조된 코코아 버터 대체유지는 22°C에서 하나의 주요한 peak가 생겼지만, 두 유지의 냉각과정에서 결정화의 초기 온도는 22~23°C로 유사한 결과를 볼 수 있었다. 녹는점(melting point)을 측정한 결과, commercial CBR 제품은 $41.5 \pm 0.3^\circ\text{C}$, 코코아 버터 대체유지는 $42.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 으로 유사한 온도를 보였다.

Polymorphic form 분석

액상상태의 유지가 고체화 될 때, cooling 조건에 따라 생성되는 유지의 polymorphic form은 다양하게 나타난다. 코

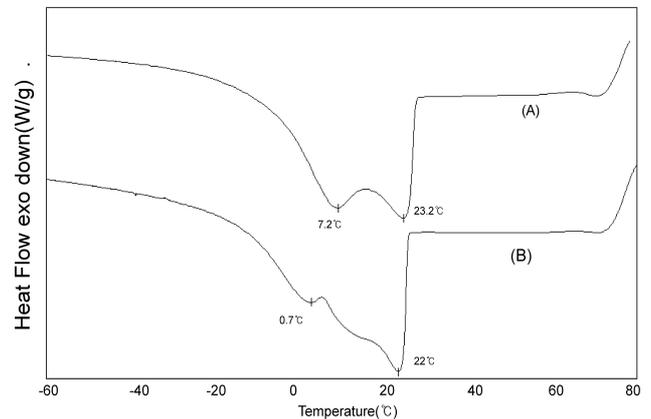


Fig. 7. Exothermic crystallization curve of the cocoa butter alternative (A) and commercial cocoa butter replacer (CBR) (B) analyzed by differential scanning calorimetry.

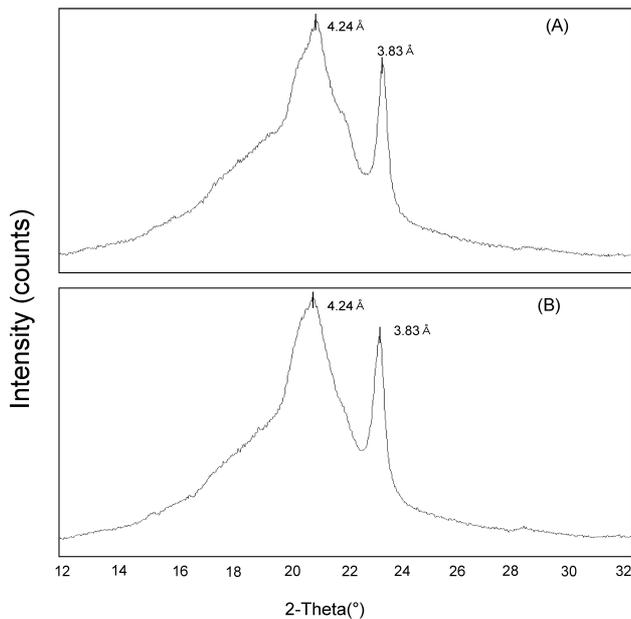


Fig. 8. X-ray diffraction (XRD) spectroscopy of the commercial cocoa butter replacer (CBR) (A) and cocoa butter alternative (B).

코코아 버터의 polymorphic form에 대해 Vaeck(12)은 γ , α , β' , β 의 4가지 form으로 분류된다. 각각의 polymorphic form에서 용융점은 γ 는 17.3°C, α 는 23.3°C, β' 는 25.5°C와 27.5°C, β 는 33.8°C와 36.3°C로 차이가 있었다. 이러한 코코아 버터의 polymorphic form은 최종제품의 품질에 영향을 주기 때문에 중요하게 인식이 되었는데, 부적합한 polymorphic form은 'fat bloom' 현상을 가져오기 때문이다. XRD 상에서 polymorphic form 중 α 는 4.15Å에서 한 개의 short spacing을 가지며 β' 는 3.8Å, 4.2Å 또는 3.71Å, 3.97Å, 4.27Å에서 2개의 strong short spacing을 갖고, β 는 4.6Å에서 여러 개의 peak와 하나의 strong short spacing을 가진다(10,13-15). Commercial CBR 제품과 제조된 코코아 버터 대체유지는 2 theta 20.9에서 4.24Å의 주요한 peak와 2 theta 23.2에서 3.83Å의 작은 peak를 하나 더 갖은 β' 형태의 polymorphic form을 갖는 것을 확인하였으며, XRD 측정 결과는 Fig. 8에 나타내었다. 이 결정형태는 CBR 형태의 코코아 버터 대체유지의 바람직한 결정형이다.

요 약

본 연구는 coconut oil 분별유를 사용하여 코코아 버터 대체유지를 개발하고자 하였으며, RP-HPLC 및 지방산 분석을 수행하여 그 결과를 commercial CBR와 비교하였다. TAG의 PN 분석결과, 코코아 버터 대체유지에서 전체 TAG의 93.08%가 PN=40~48에 포함되었고, commercial CBR는 94.11%이었다. 지방산조성 분석결과, commercial CBR와 코코아 버터 대체유지의 불포화지방산이 차지하는 비율은 각

각 18.68%와 17.39%로 유사하였다. 두 유지 모두 지방산 중 가장 높은 비율을 차지하는 지방산은 palmitic acid로 코코아 버터 대체유지에서 46.03%, commercial CBR에서 47.75%이었으며, TAG의 sn-2 위치에서 불포화지방산의 비율은 각각 23.22%와 16.06%로 코코아 버터 대체유지가 높았다. 두 유지 모두 30~45°C 온도 구간에서 급격한 용융곡선을 가짐으로써 코코아 버터 대체유지로서의 특성을 가지고 있었다. Polymorphic form 분석결과, 제조된 코코아버터 대체유지와 commercial CBR에서 4.24Å과 3.83Å에서 short spacing을 나타내며, β' 형태의 결정형을 나타내었다.

감사의 글

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

문 헌

1. Segall SD, Artz WE. 2005. Analysis of triacylglycerol isomers in Malaysian cocoa butter using HPLC-mass spectrometry. *Food Res Int* 38: 167-174.
2. Ciftci ON, Fadiloglu S. 2009. Conversion of olive pomace oil to cocoa butter-like fat in a packed-bed enzyme reactor. *Bioresour Technol* 100: 324-329.
3. Afoakwa EO, Paterson A. 2007. Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate—a review. *Trends Food Sci & Technol* 18: 290-298.
4. Liu KJ, Chang KM. 2007. Enzymatic synthesis of cocoa butter analog through interesterification of lard and tris-tearin in supercritical carbon dioxide by lipase. *Food Chem* 100: 1303-1311.
5. Abigor RD, Marmer WN. 2003. Production of cocoa butter-like fats by lipase-catalyzed interesterification of palm oil and hydrogenated soybean oil. *J Am Oil Chem Soc* 80: 1193-1196.
6. Shin JA, Bae SK, Lee KT. 2010. Change of solid fat index during interesterification of hydrogenated coconut oil. *J Agric Sci Chungnam National University* 37: 69-72.
7. Christie WW. 1987. *High-performance liquid chromatography and lipids*. Pergamon Press, NY, USA. USDA. 169-185.
8. Lee KT, Foglia TA. 2001. Fractionation of menhaden oil and partially hydrogenated menhaden oil; characterization of triacylglycerol fractions. *J Am Oil Chem Soc* 78: 297-303.
9. KFDA. 2009. *Department of food standardization, labeling of trans fats*. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea.
10. 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.
11. AOCS. 1990. *Official method and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*. 4th ed. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA. Cc 3-25.
12. Vaeck SV. 1960. Cocoa butter and fat bloom. *Manufacturing Confectioner* 40: 35-46,71-74.
13. Lonchamp P, Hartel RW. 2004. Fat bloom in chocolate and

- compound coatings. *Eur J Lipid Sci Technol* 106: 241-274.
14. Malssen KV, Peschar R. 1996. Real-time X-ray powder diffraction investigations on cocoa butter. I. Temperature-dependent crystallization behavior. *J Am Oil Chem Soc* 73: 1209-1215.
15. Langevelde AV, Malssen KV. 2001. Effect of temperature on recrystallization behavior of cocoa butter. *J Am Oil Chem Soc* 78: 919-925.

(2010년 5월 14일 접수; 2010년 10월 4일 채택)