이산화탄소 저감화 공법으로서 고정화 리파제를 이용한 유지 및 유화제 생산

Production of Bio-effective Lipids and Emulsifiers Using Immobilized Lipase for CO_2 Savings

강희권[1], 이다은[1,2], 원종원[1,2], 박경민[1,2], 최승준[3], 장판식[1,2,3*]

Hee-Kwon Kang[1], Da Eun Lee[1,2], Jong Won Won[1,2], Kyung Min Park[1,2], Seung Jun Choi[3], Pahn-Shick Chang[1,2,3*]

[1]서울대학교 농업생물신소재 연구소, [2]서울대학교 농업생명과학대학 농생명공학부, [3]서울대학교 식품 안전성 및 독성 연구센터

[1]Center for Agricultural Biomaterials, Seoul National University, [2]Department of Agricultural Biotechnology, College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, [3]Center for Food Safety and Toxicology, Seoul National University

효소의 산업적 활용

생체 촉매로서 주로 단백질로 구성되어 있으며 당이나 지질과 결합하며 복합체를 형성하기도 하는 효소(enzyme)는 기질과 결합하여 효소-기질 복합체를 형성함으로써 반응의 활성화 에너지를 낮춰서 반응속도를 높이거나 반응이 쉽게 일어날 수 있게 한다. 효소의 특성은 기질특이성, 광학활성(enantioselectivity), 반응위치특이성(regiospecificity), pH 및 온도 특이성 등 다양하다. 효소는 촉매로써의 기능에 따라 산화환원효소(oxidoreductase), 전이효소(transferase), 가수분해효소(hydrolase), 절단효소(lyase), 이성화효소(isomerase) 및 연결효소(ligase, synthetase, synthase) 등으로 구분한다(Palmer 1995). 효소는 그 기능에 따라 산업적으로 여러 가지 유기화합물 합성에 쓰일 수 있는데, 효소의 촉매로서의 효율은 비슷한 반응조건 하에서의 비효소적 화학반응에 비해 100배 이상 빠른 것으로 알려져 있다.

1870년대 덴마크 화학자 Christian Hansen이 송아지 위에서 분리한 rennet를 치즈의 생산에 사용한 것을 시초로 하여 현재까지 많은 효소들이 산업적으로 이용되고 있다(Whitehurst and Oort 2010). 현재 세계 산업용 효소 시장은 크게 4 가지로 나뉘는데 공업용, 세제용, 식품용 및 사료용 시장이 있다. 그 전체 규모는 2010년에 약 33억US$로 평가되며, 그 중 식품용 효소 시장은 9.75억US$를 차지하고 있다.

유전자조작기술과 X-ray 결정화 기술 등의 발전으로 효소의 구조와 기능에 대한 이해가 높아지고, 생물공학기술 및 단백질 공학기술 등의 발전으로 기존 효소의 내열성이나 pH 안정성 등이 개선된 효소가 생산되고 있으며, 우수한 성능을 가진 신규 효소의 발견 및 분리 등으로 효소의 산업적 응용 및 활용은 점점 늘어나고 있다. 효소의 산업적 활용은 대부분 식품으로부터 유래된 효소의 사용에서 시작되었기 때문에 Table 1에서 제시된 것처럼 현재는 동식물 유래 효소뿐만 아니라 미생물 유래 효소도 식품에 많이 이용되고 있다. 피

*Corresponding author: Pahn-Shick Chang
Department of Agricultural Biotechnology, College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, 1 Gwanak-ro, Gwanak-gu, Seoul 151-921, Republic of Korea
Tel: +82-2-880-4852 Fax: +82-2-873-5095 E-mail: pschang@snu.ac.kr

기획특집

<Table 1> Enzyme usage in food applications.

Enzyme	Source	Action in food	Application in food technology
α-Amylase	Aspergillus spp. Bacillus spp. Microbacterium imperiale	Wheat starch hydrolysis	Amylase dough softening, increased bread volume, aid in the production of sugars for yeast fermentation
α-Acetolactate	Bacillus subtilis	Converts acetolactate to acetoin	Reduction of wine maturation time by circumventing need of decarboxylase for secondary fermentation of diacetyl to acetoin
Amyloglucosidase	Aspergillus niger Rhizopus spp.	Hydrolyzes starch dextrins to glucose (saccharification)	One stage of high fructose corn syrup production; production of 'lite' beers
Aminopeptidase	Lactococcus lactis Aspergillus spp. Rhizopus oryzae	Releases free amino acids from N-terminus of proteins and peptides	Debittering protein hydrolyzates accelerating cheese maturation
Catalase	Aspergillus niger Micrococcus luteus	Breaks down hydrogen peroxide to water and oxygen	Oxygen removal technology, combined with glucose oxidase
Cellulase	Aspergillus niger Trichoderma spp.	Hydrolyzes cellulose	Fruit liquefaction in juice production
Chymosin	Aspergillus awamori Kluyveromyces lactis	Hydrolyzes κ-casein	Coagulation of milk for cheese making
Cyclodextrin glucanotransferase	Bacillus spp.	Synthesize cyclodextrins from liquefied starch	Cyclodextrins are food grade microencapsulants for colours, flavours and vitamins
β-Galactosidase (lactase)	Aspergillus spp. Kluyveromyces spp.	Hydrolyzes milk lactose to glucose and galactose	Sweetening milk and whey; products for lactose-intolerant individuals; reduction of crystallization in ice cream containing whey; improving functionality of whey protein concentrates; manufacture of lactulose
β-Glucanase	Aspergillus spp. Bacillus subtilis	Hydrolyzes β-glucans in beer mashes	Filtration aids, haze prevention in beer production
Glucose isomerase	Actinoplanes missouriensis Bacillus coagulans Streptomyces lividans Streptomyces rubiginosus	Converts glucose to fructose	Production of high fructose corn syrup (beverage sweetener)
Glucose oxidase	Aspergillus niger Penicillium chrysogenum	Oxidizes glucose to gluconic acid	Oxygen removal from food packaging; removal of glucose from egg white to prevent browning
Hemicellulase and xylanase	Aspergillus spp. Bacillus subtilis Trichoderma reesei	Hydrolyzes hemicelluloses (insoluble non-starch polysaccharides in flour)	Bread improvement through improved crumb structure
Lipase and esterase	Aspergillus spp. Candida spp. Rhizomucor miehei Penicillium roqueforti Rhizopus spp. Bacillus subtilis	Hydrolyzes triglycerides to fatty acids and glycerol; hydrolyzes alkyl esters to fatty acids and alcohol	Flavour enhancement in cheese products; fat function modification by interesterification; synthesis of flavour esters
Pectinase (polygalacturonase)	Aspergillus spp. Penicillium funiculosum	Hydrolyzes pectin	Clarification of fruit juices by depectinization
Pectinesterase	Aspergillus spp.	Removes methyl groups from galactose units in pectin	With pectinase in depectinization technology
Pentosanase	Humicola insolens Trichoderma reesei	Hydrolyzes pentosans (soluble non-starch polysaccharides in wheat flours)	Part of bread dough improvement technology

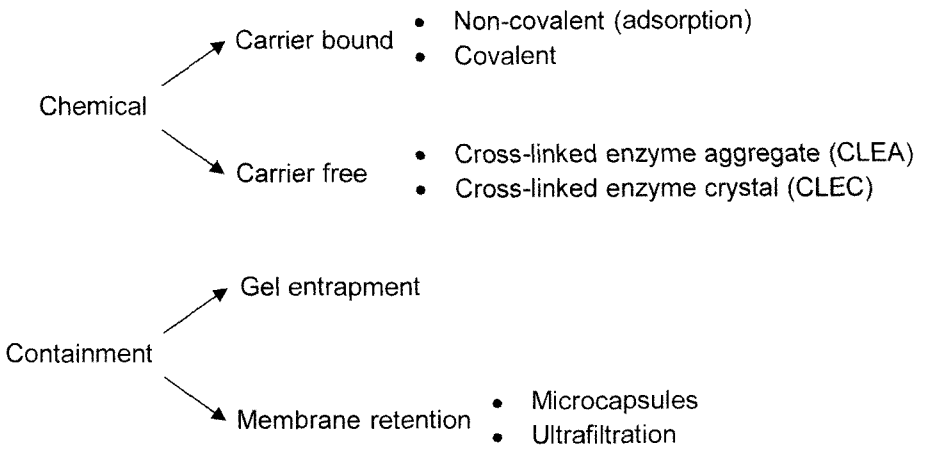
Pullulanase	Bacillus spp. Klebsiella spp.	Hydrolyzes 1–6 bonds that form branches in starch structure	Starch saccharification (improves efficiency)
Protease (proteinase) Whitehurstand Oort(2010)	Aspergillus spp. Rhizomucor miehei Cryphonectria parasitica Penicillium citrinum Rhizopus niveus Bacillus spp.	Hydrolysis of κ-casein; hydrolysis of animal and vegetable food proteins; hydrolysis of wheat glutens	Milk coagulation for cheese making; hydrolyzate production for soups and savoury foods; bread dough improvement

*Whitehurst and Oort (2010)

혁공업에서 강산 및 강염기 등을 사용하여 염색이나 불순물 제거를 하던 공정은 cellulose 및 protease 등을 사용하는 공정으로 대체되고 있으며, 섬유 · 펄프 산업에서도 xylanase, ligninase, protease 및 lipase 등의 사용이 늘어나고 있다. 또한, peptide 합성, steroid 전환, ester 전환 및 합성 등의 화학공업에서도 효소의 이용은 점점 늘어나고 있으며, 기존의 화학적 공정도 효소를 이용하는 공정으로 전환하려는 시도가 많이 되고 있다. 이러한 노력은 유독 화학물질의 사용이 많은 유해 생산환경을 친환경적으로 바꾸는 것만 아니라 지구온난화 방지를 위한 각 나라별 이산화탄소 배출량 저감 노력에도 부합하는 것이다.

효소고정화

효소의 광학활성이나 반응위치 특이성 등으로 인한 효소 반응은 산이나 염기, 또는 유기 용매를 이용하여 각종 반응 산물들을 생산하는 화학적 생산 방법에 비해 생산물의 고순도, 독성 화학물질의 사용량 저감 등 많은 장점이 있다. 이러한 장점에도 불구하고, 효소를 생산하는데 드는 높은 비용과 짧은 반감기 등은 효소의 산업적 이용의 주된 제약 조건이다. 이러한 문제점을 극복하기 위한 방법 중 하나인 효소고정화는 많은 관심을 받고 있다. 효소고정화는 효소반응에 사용되는 기질이나 반응산물 등과 반응하지 않으면서, pH, 온도 및 압력 등 효소 반응 조건에서 안정한 젤 등의 물질을 이용하여 효소를 고정화하는 것이다. 고정화된 효소는 i) 반응이 끝난 후 효소의 회수와 재사용이 용이하며, ii) 효소를 회수함으로써 반응 정지가 쉽고, iii) 반응산물에 효소가 섞이지 않아 반응산물의 분리에 유리하며, iv) 효소의 안정성이 100~60,000배 이상 향상될 뿐 아니라, v) 여러 효소를 동시 혹은 순차적으로 반응시킬 수 있어 반응의 조절이 용이한



* Illanes et al. (2008)

Fig.1 Methods of enzyme immobilization.

점 등 많은 장점을 가지고 있다. 효소고정화 방법은 Fig. 1과 같은 방법이 있다.

식품 산업에서도 Table 1에서 제시된 효소들 중 일부는 고정화되어 생산 공정에 활용된다. 식품 생산에서 고정화효소의 사용은 생산비 절감뿐 아니라 반응산물에 효소의 유입을 막음으로써 고품질 식품 및 식품원료 생산, 식품 품질 유지 기간의 연장 등에 유리한 점을 제공한다.

고정화효소를 이용한 기능성 식품유지 생산

유지의 산패를 막기 위한 항산화제로서 ascorbyl fatty ester의 효소적 생산은 화학적 방법을 대체한 좋은 예가 된다. 비타민C로 잘 알려진 L-ascorbic acid는 유지 산패 시 이취를 일으키는 peroxides, aldehydes, ketones와 같은 물질의 생성을 억제하는 항산화제로 널리 쓰인다. 그러나 L-ascorbic acid는 유지에 대한 용해도가 낮아 유지식품에 응용하는데 제약을 받는다. 이러한 문제를 극복하는 방법으로서 esterification 반응을 이용하여 ascorbyl fatty ester를 합성하는 방법은 유지에 대한 용해도를 향상시킬 뿐만 아니라 친수성 부분과 친유성 부분을 동시에 가짐으로써 식품유화제로의 활용가능성까지 높아지는 장점이 있다(Kuwabara et al. 2003).

기존의 ascorbyl fatty ester 생산에는 화학적 방법이 이용되었다. Pauling et al. (1991)에 의해 제안된 방법은 0℃에서 N,N-dimethyl acetamide에 HCl gas를 주입한 후, methylene chloride와 L-ascorbic acid를 교반 하면서 첨가하고, 그 이후에 palmitoyl chloride를 가한 후 4시간 동안 교반 하는 방법을 이용한다. 반응에는 총 19시간이 소요되며, 86.7% 정도의 수율을 보여준다. 하지만, 0℃라는 저온의 유지와 부반응에 의한 여러 종류의 부산물의 생성은 생산비용 증가 및 복잡한 정제 과정으로 인한 높은 CO_2 유발지수라는 단점이 있다. 이러한 문제를 해결하기 위한 대

<Table 2>Comparison between different process in terms acyl donor, solvent, and amount of substrate used.

Lipase[a]	Acyl donor[b]	Solvent	Substrates/typical amount (g)	Temp. (°C)	References
NZ 435	LNA; MLN	t-Amyl alcohol	0.596–0.617	50	Song et al. 2006
CAL-B CAL-A Candida antarctica ATCC 28323-crude lipase	OA; MO	Acetone	0.195–0.203	45	Adamczak et al. 2005
NZ 435	OA; PA	[sBMIM][BF4] [2PentMIM] [BF4]	0.46	60	Park et al. 2003
CAL-B	OA; LNA; α-LNNA; γ- LNNA	Acetone	0.14–0.77	50	Kuwabara et al. 2003a,
Candida sp.	OA	t-Amyl alcohol	0.59–61	55	Song and Wei 2002
CAL-B	LNA; γ-LNNA; AA; LNNA; DHA	Acetone	0.183–0.234	55	Watanabe et al. 2001b
CAL-B	EPA	Acetone	0.039–0.208	55	Watanabe et al. 2000
NZ-435	Bixin	t-Amyl alcohol	12	65	Humeau et al. 2000
NZ-435	ML	t-Amyl alcohol	0.17	55–70	Maugard et al. 2000
NZ 435	CAPA; CA; CAP; LA	t-Amyl alcohol; t-butanol	0.756–1.17	60	Watanabe et al. 1999
CAL-B (CZ L2, C2)	VC; VCAP; VL; VP	Acetone; t-butanol	0.473–1.02	40	Yan et al. 1999
NZ 435	MP	t-Amyl alcohol	296	70	Humeau et al. 1998a, b
CAL-B	PBA	t-Butanol	1.7	60	Otto et al. 1998

a NZ Novozym, CAL Candida antarctica lipase, CZ chiralzyme

b LNA linoleic acid, MLN methyl linoleate, OA oleic acid, MO methyl oleate, PA palmitic acid, LNNA linolenic acid, AA arachidonic acid, DHA docosahexaenoic acid, EPA eicosapentaenoic acid, ML L-methyl lactate, CAPA caproic acid, CA caprylic acid, CAP capric acid, LA lauric acid, VC vinyl caprylate, VCAP vinyl caprylate, VL vinyl laurate, VP vinyl palmitate, MP methyl palmitate, PBA phenyl butyric

* Karmee (2008)

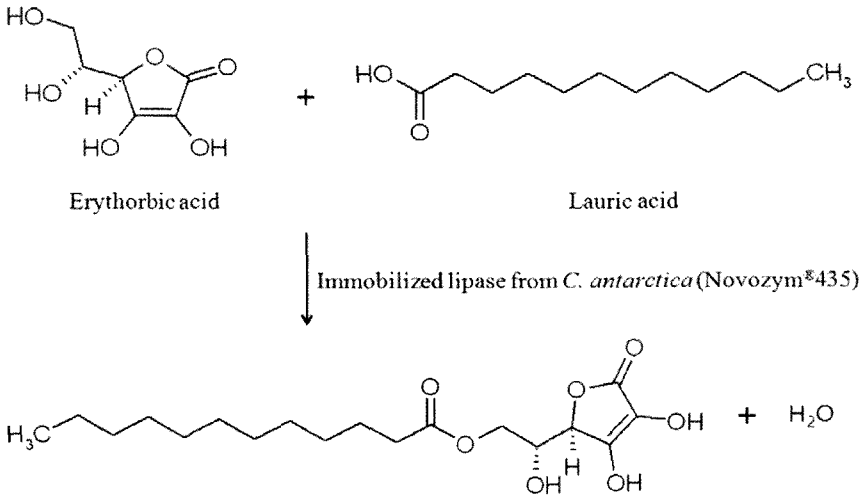


Fig.2 Scheme of lipase-catalyzed synthesis of erythorbyl laurate in acetonitrile.

안으로서 Table 2와 같은 효소공학적 방법에 대한 연구가 많이 진행되었다. Yan et al. (1999)은 ascorbyl palmitate를 lipase를 이용하여 91%의 수율로 생산하여 수율 면에서도 화학적 방법보다 높은 수준을 보여 주었다.

유지 산화를 막기 위한 항산화제 연구는 더 나아가 L-ascorbic acid의 입체이성체인 erythorbic acid를 고정화효소를 이용하여 fatty ester 형태로 합성, 생산하는 단계에 이르렀다(Park et al. 2011). Erythorbic acid는 L-ascorbic acid와 마찬가지로 항산화능을 가지고 있을 뿐 아니라 glucose의 발효과정 중에 calcium 2-ketogluconate로부터 전환과정을 통해 값싸게 얻어질 수 있다(Swern et al. 1943). 또한, erythorbic acid는 non-haem iron의 생체이용률을 증가시킨다는 보고도 있다(Fidler et al. 2004). Park et al. (2011)은 *Candida antarctica*로부터 유래한 lipase (Chen and Woo 2003)를 고정화한 효소 Novozym®435를 이용하여 erythorbic acid와 fatty acid인 lauric acid로부터 erythorbyl laurate를 생산하였다(Fig 2).

회분식 생산을 위한 구체적인 방법은 다음과 같다. 반응용기에 채워진 acetonitrile에 일정량의 erythorbic acid와 lauric acid를 1:5의 농도 비로 첨가한 후, 질소 가스를 충진시킨다. 그 후 50℃ shaking water bath에서 erythorbic acid와 lauric acid를 완전히 용해시킨 후, 고정화효소를 첨가하여 8시간 정도 반응시킨다. 전환율 [erythorbyl laurate/(erythorbic acid + erythorbyl laurate) x 100]은 78.5%였는데, erythorbic acid와 lauric acid의 반응 농도비 조절 등의 반응 조건 최적화를 통해 반응 수율을 향상시킬 수 있는 가능성은 남아있다. 수율의 향상가능성을 고려하였을 때, erythorbyl laurate의 고정화효소를 이용한 생산 수율은 ascorbyl fatty ester의 화학적 생산방법에 따른 수율 86.7%와 간접 비교하더라도 전환율이 떨어지지 않으며 부산물 생성 문제나 용매인 acetonitrile의 erythorbyl laurate 정제 과정 중 회수와 재사용의 용이성을 고려하였을 때 공해물질 발생 가능성을 최소화한 식품유지용 항산화제 생산공정이라고 할 수 있다. 또한 50℃의 높지 않은 반응 온도를 고려하면 Fig. 3과 같은 충진탑형 효소반응기(packed bed enzyme reactor, PBER) 모델(Hajar et al. 2009; Kaewthong et al. 2005)을 통해 산업적 생산 규모에서도 CO_2 발생을 최소화한 상태에서 erythorbyl laurate를 생산할 수 있다.

다양한 식품을 위한 적합한 물리적 성질과 기능성을 갖춘 식용유지를 생산하기 위한 방법으로 interesterification은 혈관 내 LDL 콜레스테롤 함량을 높이는 등의 유해한 트랜스 지방의 생성이 없는 유지 가공 방법이다(Torben et al.

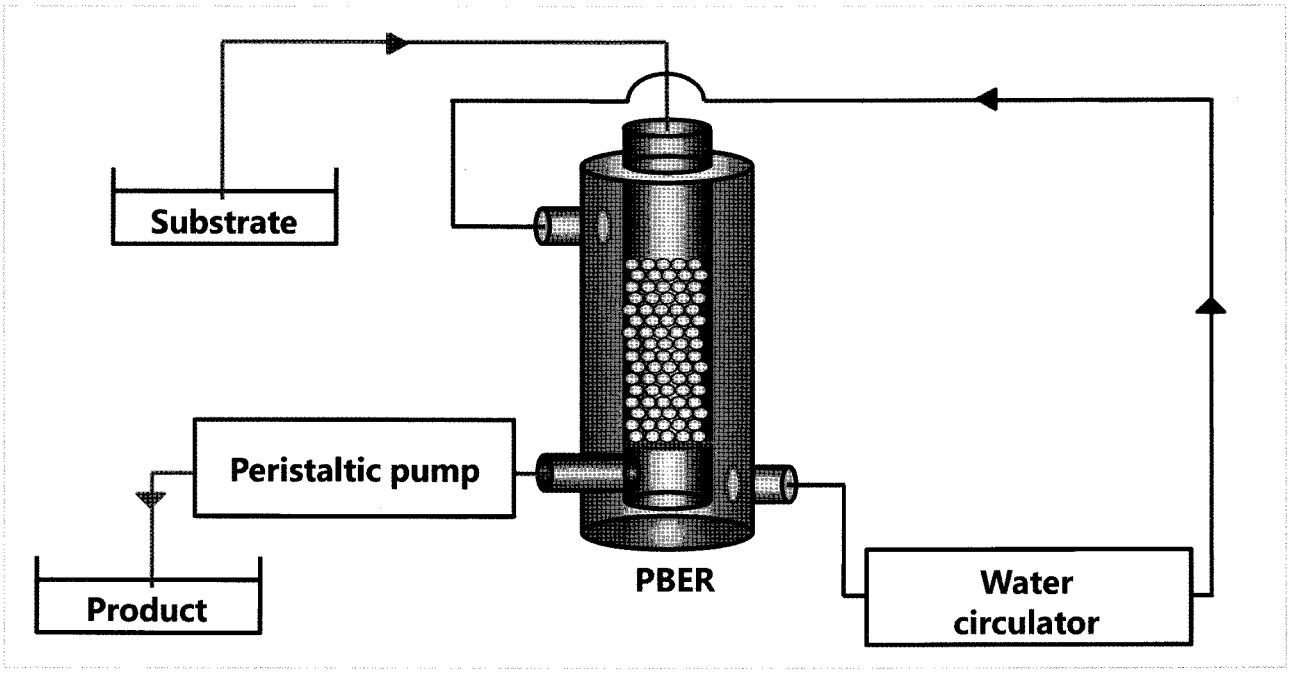


Fig.3 Schematic representation for erythorbyl laurate production by packed bed enzyme reactor (PBER).

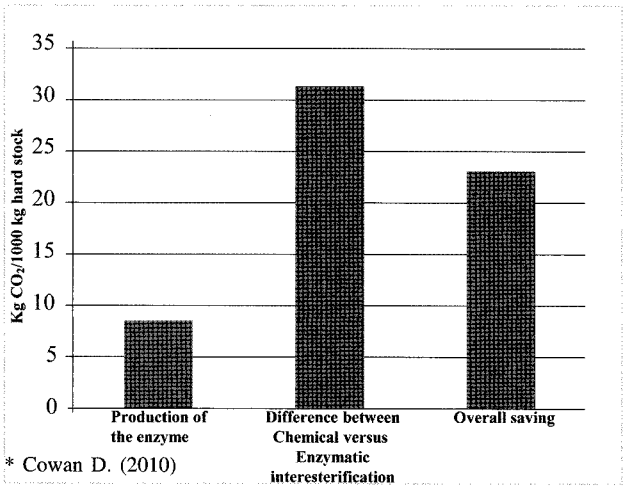


Fig.4 CO_2 savings when switching from chemical to enzymatic interesterification.

2005).

화학적 방법에 의한 interesterification의 경우는 유해한 촉매(sodium methoxide)의 사용과 100~110℃에 이르는 고온이나 경우에 따라서 고압 환경을 필요로 하는 등 많은 에너지를 필요로 한다. 한편, Cowan D.(2010)는 margarine이나 spread 같은 식용유지에서 형태를 유지하는 역할을 하는 고형분(hard stock)의 생산에 있어서 화학적 방법을 효소를 이용한 방법으로 대체했을 때 hard stock 1 톤당 23 kg의 CO_2 저감 효과가 있다고 보고하였다 (Fig. 4).

효소를 이용한 interesterification의 장점은 연속식 생산이 용이하다는 것이다. 또한 esterification 반응 단계별로 반응 온도를 조절함으로써 에너지 소비를 낮출 수 있다. Kim et al. (2009)은 fully hydrogenated canola oil과 soybean oil을 고정화 리파제를 이용하여 cream margarin과 물리적 성질이 유사한 유지를 연속식으로 생산할 수 있음을 보여주었다. 연속식 생산은 반응온도도 60℃와 55℃로 회분식의 65℃보다 낮은 온도를 적용할 수 있음을 보여주었다.

맺음말

식품 산업에서 다양한 물성을 가지는 유지에 대한 요구는 계속 높아지고 있다. 동물이나 식물 유래의 천연유지만으로는 부족한 다양한 식품에서 요구하는 물성과 기능성을 충족

시키는 방법으로서 interesterification은 좋은 대안이다. 더불어 interesterification은 녹는 점이 극도로 낮거나 높은 식품에 사용하기 어려운 유지들까지도 식품에 적합한 물성을 갖도록 변화시킬 수 있는 좋은 수단이다.

기존의 화학적 방법은 산업적 요구에 맞는 유지를 대량으로 생산할 수 있는 좋은 방법이다. 그러나 생산 과정에서 배출되는 공해 물질로 인해 유발되는 환경문제는 오염 물질 배출 저감 노력에도 불구하고 지구 온난화와 같은 지구환경 변화를 야기하는 원인이 된다. 이러한 화학적 방법을 대체할 수 있는 좋은 방안이 효소를 이용한 유화제나 유지의 생산이다. 특히, 화학적 방법의 단점인 유독성 촉매의 오염이 없는 유지의 생산이 용이하다는 점은 식품유지산업에서 효소적 방법의 큰 장점이다. 아울러 CO_2 발생량도 줄일 수 있는 친환경적인 방법으로써 효소공학을 응용한 유지 생산은 효소의 고정화와 같은 기법들과 맞물려 화학적 방법을 통한 유지 생산을 점차 대체해 갈 것으로 예상된다.

[감사의 글]

본 연구는 2011년도 식품의약품안전청 용역연구개발과제의 연구개발비 지원(10162기후식995)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

(1) Andres I. Enzyme Biocatalysis. Springer Science + Business Media B.V., Dordrecht. 155-203 (2008)
(2) Adamczak M., Bornscheuer U.T., Bednarski W. Synthesis of ascorbyl oleate by immobilized Candida antarctica lipases. Process Biochem. 40: 3177-3180 (2005)
(3) Chen J.W., Wu W.T. Regeneration of immobilized Candida Antarctica lipase for transesterification. J. Biosci. Bioeng. 95: 466-469 (2003)
(4) Cowan D. Novozymes: creating new technology the natural way. Palm Matters 2.0, March 2010, 17-19. IOI-Loders Croklaan, Wormerveer (2010)
(5) Fidler M.C., Davidsson L., Zeder C., Hurrell R.F. Erythorbic acid is a potent enhancer of nonheme-iron absorption. Am. J. Clin. Nutr. 79: 99-102 (2004)
(6) Gonzalez P.A., Robles A., Camacho F., Camacho B., Esteban L., Molina E. Production of structured triacylglycerols in an immobilized packed-bed reactor: batch mode operation. J. Chem. Technol. Biotechnol. 80:35-43 (2005)
(7) Hajar M., Shokrollahzadeh S., Vahabzadeha F., Monazzamia A. Solvent-free methanolysis of canola oil in a packed-bed reactor with use of Novozym 435 plus loofa. Enzyme Microb. Technol. 45:188-194 (2009)
(8) Humeau C., Girardin M., Rovel B., Miclo A. Effect of thermodynamic water activity and the reaction medium hydrophobicity on the enzymatic synthesis of ascorbyl palmitate. J. Biotechnol. 63:1-8 (1998a)
(9) Humeau C., Girardin M., Rovel B., Miclo A. Enzymatic synthesis of fatty acid ascorbyl esters. J. Mol. Catal. B: Enzymatic. 5:19-23 (1998b)
(10) Humeau C., Rovel B., Girardin M. Enzymatic esterification of bixin by L-ascorbic acid. Biotechnol. Lett. 22:165-168 (2000)
(11) Ito N., Fukushima S., Tsuda H. Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants. Crit. Rev. Toxicol. 15: 109-150 (1985)
(12) Kaewthong W., Sirisansaneeyakul S., Prasertsan P., H-Kittikun A. Continuous production of monoacylglycerols by glycerolysis of palm olein with immobilized lipase. Process Biochem. 40:1525-1530 (2005)
(13) Karmee S. K. Biocatalytic synthesis of ascorbyl esters and their biotechnological applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 81: 1013-1022 (2009)
(14) Kim S.W., Park K.M., Ha J.U., Lee J., Chang P.S. Optimization of interesterification reaction for the continuous production of trans-free fat in a packed bed enzyme bioreactor with immobilized lipase. Korean J. Food Sci. Technol. 41 (2): 173-178 (2009)
(15) Kuwabara K, Watanabe Y, Adachi S, Nakanishi K, Matsuno R. Emulsifier properties of saturated acyl L-ascorbates for preparation of O/W emulsions. Food Chem. 82: 191-194 (2003)
(16) Kuwabara K, Watanabe Y, Adachi S, Nakanishi K, Matsuno R. Synthesis of 6-O-unsaturated acyl L-ascorbates by immobilized lipase in acetone in the presence of molecular sieve. Biochem. Eng. J. 16(1):17-22 (2003a)
(17) Kuwabara K, Watanabe Y, Adachi S, Nakanishi K, Matsuno R. Continuous production of acyl L-ascorbates using a packed-bed reactor with immobilized lipase. J. Am. Oil Chem. Soc. 80(9): 895-899 (2003b)
(18) Maugard T., Tudella J., Legoy M.D. Study of vitamin ester synthesis by lipase-catalyzed transesterification in organic media. Biotechnol. Prog. 16:358-362 (2000)
(19) Otto R.T., Bornscheuer U.T., Scheib H., Pleiss J., Syldatk C., Schmid R.D. Lipase-catalyzed esterification of unusual substrates: synthesis of glucuronic acid and ascorbic acid (vitamin C) esters. Biotechnol. Lett. 20(11):1091-1094 (1998)
(20) Park S., Viklund F., Hult K., Kazlauskas R.J. Vacuum driven

lipase-catalyzed direct condensation of L-ascorbic acid and fatty acids in ionic liquids: synthesis of a natural surface active antioxidant. Green Chem. 5: 715-719 (2003)
(21) Park K.M., Lee D.E., Sung H., Lee J.H., Chang P.S. Lipase-catalysed synthesis of erythorbyl laurate in acetonitrile. Food Chem. 129(1): 59-63 (2011)
(22) Pauling H., Christof W. Process for producing ascorbic acid 6-esters. United States Patent. Patent NO. 4997958 (1991)
(23) Song Q.X., Wei D.Z. Study of vitamin-C ester synthesis by immobilized lipase from Candida sp. J. Mol. Catal. B: Enzymatic 18: 261-266 (2002)
(24) Song Q.X., Zhao Y., Xu W.Q., Zhou W.Y., Wei D.Z. Enzymatic synthesis of L-ascorbyl linoleate in organic media. Bioprocess Biosyst Eng. 28: 211-215 (2006)
(25) Swern D., Stirton A.J., Turer J., Wells P.A. Fatty acid monoesters of L-ascorbicacid and D-isoascorbic acid. J. Am. Oil Chem. Soc. 20: 224-226 (1943)
(26) Torben H.R., Tiankui Y., Huiling M., Charlotte J., Xuebing X. Enzymatic interesterification of butterfat with rapeseed oil in a continuous packed bed reactor. J. Agric. Food Chem. 53: 5617-5624 (2005)
(27) Watanabe Y, Adachi S, Nakanishi K, Matsuno R. Lipase catalyzed synthesis of unsaturated acyl L-ascorbate and its ability to suppress autoxidation of polyunsaturated fatty acid. J. Am. Oil. Chem. Soc. 78:823-826 (2001)
(28) Watanabe Y, Minemoto Y, Adachi S, Nakanishi K, Shimada Y, Matsuno R. Lipase-catalyzed synthesis of 6-O-eicosapentaenoyl L-ascorbate in acetone and its autoxidation. Biotechnol. Lett. 22:637-640 (2000)
(29) Whitehurst, R. J. and Oort, M. van. Enzyme in food technology 2nd edition. Blackwell Publishing Ltd. 1-17 (2010)
(30) Xuebing X. Production of specific-structured triacylglycerols by lipase-catalyzed reactions: a review. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 102: 287-303 (2000)
(31) Yan Y., Bornscheuer U.T., Schmid R.D. Lipase catalyzed synthesis of vitamin-C fatty acid esters. Biotechnol. Lett. 21: 1051-1054 (1999)