

Algae유로부터 디글리세롤 함유 기능성 유지의 효소적 합성 중 구성성분 변화에 관한 연구

조은진¹ · 조경현² · 이기택^{1*}

¹충남대학교 식품공학과

²영남대학교 생명공학부

Compositional Changes of Functional Oil from Algae Oil during the Lipase-Catalyzed Production

Eun-Jin Cho¹, Kyung-Hyun Cho² and Ki-Teak Lee^{1*}

¹Dept. of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

²School of Biotechnology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

Abstract

In the absence of organic solvent, di- and mono-acylglycerol enriched functional oil was produced by lipase-catalyzed glycerolysis in a stirred tank batch reactor. After glycerolysis for 48 hr, functional oil consisted of 47.1% TAG, 33.6% DAG, and 18.7% MAG. In MAG and DAG, docosahexaenoic acid was found as 10.7% and 8.1%, respectively. During the reaction, total tocopherol content decreased, and 0.065% tocopherols were existed in the functional oil produced after 48 hr reaction.

Key words: monoacylglycerol, diacylglycerol, lipase, glycerolysis, algae oil, corn oil

서 론

일반적으로 n-3계 불포화지방산은 혈청 콜레스테롤과 중성지질 농도를 낮추어 심장 질환의 발생률을 낮추며(1), 혈관계 질환의 감소 효과(2)가 있는 것으로 알려져 있고, n-3 불포화지방산의 급원으로 최근 조류(microalgae)에 관심이 모아지고 있다(3,4). 조류에서 얻어진 docosahexaenoic acid (DHA) 함유 지질은 어유에서 추출된 지질에 비해 함량이 비교적 높으며(3), 어유에 비해 이취가 적은 장점을 가지고 있고, 동물 실험을 통해 DHA의 안정성이 입증된 바 있다(4,5). 한편, 옥수수유는 주요 지방산인 linoleic(40~60%), oleic acid(20~40%)의 함량을 가지고 있으며(6), 앞으로 옥수수유 등의 기존 식용유지에 고기능성 및 생리활성능력을 부여하면, 기능성 식용유지 시장에서 요구될 고부가가치 기능성 유지제품들으로써의 개발이 가능하다.

Mono와 di-acylglycerol(MAG와 DAG)는 식품에서 유효제로 사용되고 있으며, 특히 1,3-DAG는 소장에서 sn-1,3 lipase에 의해 분해된 후 triacylglycerol(TAG) 형태로 재합성될 가능성을 적게 나타내어 체중개선을 목적으로 하는 저칼로리 유지로의 이용이 가능하다고 알려져 있다(7). MAG와 DAG의 화학 공업적 생산은 일반적으로 고온에서 유지의

glycerolysis 반응에 의해 생성될 수 있으나, 낮은 수율, 짙은 색상, 이취 등의 단점을 가진다(8). 따라서 기질 및 위치 특이성을 가진 lipase를 이용, 용매의 사용 등에서의 glycerolysis 반응을 통한 MAG와 DAG 합성 연구들이 활발히 수행되고 있다(9-11). Li와 Ward(11)는 효소와 유기 용매의 종류, 수분과 glycerol의 함량 및 반응 온도에 따른 glycerol과 DHA, eicosapentaenoic acid(EPA)의 반응 특성 연구를 수행하여 고농도의 DHA와 EPA가 함유된 75%의 1(3)-MAG 및 1,3-DAG를 얻을 수 있었다. 효소적 glycerolysis 반응은 효소의 반응 위치 특이성에 따라 원하는 위치의 기능성 지방산 결합이 가능하고, 화학 공업적 생산보다 비교적 낮은 온도에서 수행되므로, DHA 등 불포화도가 큰 지방산의 함유량이 많은 지질의 산화를 줄일 수 있다. 특히, 본 연구에서 시도된 비 용매 시스템에서의 효소반응은 유기 용매 반응시스템이 가지고 있는 용매의 제거 문제를 해결할 수 있는 장점을 가지고 있다(12).

본 연구에서는 DHA가 고농도로 함유된 algae oil과 옥수수유를 기질로 구해진 재구성지질(SL)의 최적 합성 조건을 이용하여(13) scale-up한 후, 이로부터 비 용매 반응시스템에서의 효소적 glycerolysis 반응을 통해 DAG와 MAG를 함유한 체중개선 기능성유지를 합성하였다.

*Corresponding author. E-mail: ktleee@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6729, Fax: 82-42-822-6729

재료 및 방법

재료

Algae oil은 Martek Inc.(Columbia, MD, USA)로부터 구입하였고, 미세조류인 *Schizochytrium* sp.로부터 추출된 것으로서 myristic(12.8 mol%), palmitic(31.4 mol%), palmitoleic(0.5 mol%), stearic(0.6 mol%), oleic(0.6 mol%), linoleic(0.3 mol%), linolenic(0.4 mol%), arachidonic(0.6 mol%), eicosapentaenoic(3.1 mol%), docosapentaenoic(14.2 mol%) 및 35.5 mol%의 docosahexaenoic acid(DHA)가 함유되어 있다. Palmitic(12.5 mol%), palmitoleic(0.2 mol%), stearic(1.6 mol%), oleic(32.5 mol%), linoleic(52.1 mol%) 및 linolenic acid(1.1 mol%) 등의 지방산 조성으로 이루어진 옥수수유는 시중에 유통되고 있는 C사의 제품의 사용하였다. 효소인 Lipozyme IM은 Novo Nordisk Biochem. North American Inc.(Franklinton, NC, USA)에서 구입하여 합성에 이용되었다.

DAG와 MAG의 합성

Cho 등(13)은 algae oil과 옥수수유를 기질로 사용하고, 반응 온도, 반응 시간 및 효소(Lipozyme IM) 농도를 요인변수화한 반응표면분석법을 이용하여, 최적 반응 조건을 보고하였고 이를 바탕으로 TAG 형태의 SL을 합성하였다. 생성된 TAG형태의 SL로부터 DAG와 MAG의 합성을 위하여 Park과 Lee(14) 및 Kang과 Yamane(15)의 연구결과를 바탕으로 효소적 glycerolysis 반응기질의 조건을 glycerol : TAG, 1 : 2(molar ratio)에 맞추어 Lipozyme IM 효소를 이용, 비용매 반응시스템에서 합성 연구를 수행하였다. Stirred tank batch reactor는 tank의 길이와 내경이 각각 10.5와 15 cm인 반응수기로 이루어져 있으며, 여기에 합성된 200 g 재구성지질과 10 g의 glycerol을 2 : 1(molar ratio)의 비율로 혼합한 후 10 g의 Lipozyme IM을 넣어 반응시켰다. Impeller는 반응기 바닥에서 1 cm 정도 떨어져서 stirrer motor(modell# Mtops)에 의해 300 rpm의 속도로 회전하면서 효소반응에 사용되었으며, 65°C의 온도를 가진 항온수조가 연결되어 일정한 반응 온도를 유지시켰고, 반응기에 질소를 주입하여 산화를 방지하였다. 반응시간에 따른 기능성유지의 중성지질의 구성을 살펴보기 위하여, 1 g의 반응물을 2, 4, 6, 12, 24, 32, 48시간 별로 취하여 비교, 분석하였다. 최종 48시간 반응 후 감압기를 이용하여 효소를 여과시키고, n-hexane으로 반응물을 희석, 원심분리기(3,400 rpm, 15 min)를 이용하여 glycerol을 분리하였다. 상층액인 hexane 층만 분리하여 sodium sulfate anhydrous column를 이용, 수분 및 불순물을 제거한 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, N-1000, Japan)와 질소를 사용하여 n-hexane을 제거하여 DAG와 MAG를 함유한 기능성 유지를 획득하였다.

DAG 및 MAG의 함량 분석

Normal-phase HPLC를 이용하여 glycerolysis 반응에 의

해 생성된 기능성 유지 중 DAG 및 MAG의 함량을 분석하였다. 25-mL vial에 30 μ L의 시료와 10 mL hexane을 넣고 syringe filter(25 mm, 0.2 μ m, Whatman, Maidstone, Kent, UK)를 이용하여 여과시킨 후 10 μ L를 주입하였다. Evaporative light scattering detector(ELSD, SEDEX MODEL 75, Sedere, Alfortville, France)가 장착된 HPLC(Younglin Acme, Anyang, Korea)를 이용하였으며, 검출기의 질소 유속은 220 kPa, 온도는 40°C로 설정하였다. Column은 Hypersil BDS CPS 5 μ (250 \times 4.6 mm, Bellefonte, PA, USA)을 이용하였고, 용매는 hexane(A)과 methyl-t-butyl ether(B)에 각각 0.4% acetic acid를 첨가하여 사용하였으며, 유속은 0.5 mL/min이었다. 용매의 기울기 용리(A : B, v : v) 진행과정은 초기 5분 동안 100 : 0으로 유지시키고 15분까지 20 : 80으로 변화 후 2분 동안 유지시켰으며, 다시 0.1분 동안 100 : 0으로 변화 후 19.9분 동안 유지시켰다. 총 진행시간은 27분이었다(16).

지방산 조성 분석

Glycerolysis 반응 시간(0, 2, 4, 6, 12, 24, 32, 48시간)에 따른 지방산 조성 변화를 알아보기 위하여 각각의 반응 시간에 소량의 유지를 취한 후 TLC 분석하였다. 표준물질인 2-monoolein(Sigma, St. Louis, MO, USA) 및 1,2-diolein(Sigma)를 전개하여 얻어진 R_f 값을 기준으로 각각의 R_f 값이 0.03, 0.25인 MAG와 DAG를 분리하였다. GC 분석을 위해 각각의 시료(50 mg), TLC에서 획득된 MAG 및 DAG를 methylation(17)시켰다. GC(Hewlett-Packard 6890 series, Avondale, PA, USA) 분석을 위한 column은 SupelcowaxTM-10(60 m \times 0.25 mm, 0.25 m film thickness, Bellefonte, PA, USA)을 이용하였고, 검출기는 flame ionized detector(FID, 260°C)를 사용하였다. Injector 온도는 250°C로 설정하였고, 승온 분석을 위한 oven 온도는 초기 140°C에서 1분간 유지시키고 10°C/min씩 220°C까지 증가시킨 후 55분간 유지시켰으며, 총 분석시간은 64분이었다. 시료 1 μ L를 자동 주입하였고, split(50 : 1) mode로 설정하였으며, 이동상은 N₂(52.5 mL/min)이었다. 분석 후 얻어진 크로마토그램 중의 내부표준물질 함량을 기준으로 지방산 함량을 계산하여 mol%로 나타내었다.

α , γ , 및 δ -tocopherol 함량 분석

25-mL Vial에 60 mg의 시료와 10 mL의 hexane을 가지고 syringe filter를 이용하여 여과시킨 후 HPLC를 이용, α -, γ - 및 δ -tocopherol 함량을 분석하였다. 흡광검출기(Absorbance detector, UV730D, Younglin Acme, Anyang, Korea)의 파장은 295 nm로 설정하였으며, column은 LiChrosorb DIOL 5 μ (100 \times 3.0 mm, Varian, CA, USA)을 사용하였다. 시료를 10 μ L 주입하였으며, hexane : acetic acid, 1000 : 1 혼합용액을 등용리로 하여 25분간 분석하였고, 유속은 1 mL/min이었다. Tocopherol 동족체의 정량을 위해서 α -, γ - 및 δ -tocopherol 표준품(Sigma, St. Louis, MO, USA)을

각각 50, 100, 125 µg/mL의 농도로 hexane에 희석하여 HPLC 분석한 후 획득된 크로마토그램 peak 면적비를 기준으로 시료 중의 α -, γ - 및 δ -tocopherol 등의 함량을 구하였다.

결과 및 고찰

DAG 및 MAG의 함량 분석

Normal-phase HPLC-ELSD system을 이용하여 glycerolysis 후 합성된 기능성유지의 TAG, DAG 및 MAG의 함량을 분석하였다. 생성된 DAG와 MAG 함유 기능성유지는 DAG 함량이 33.6%, MAG가 18.7%이었으며, TAG는 47.1%이었다(Fig. 1). 위와 같은 결과는 Torres 등(18)이 58%의 EPA를 함유한 어유를 비 용매반응 시스템에서 Chirazyme L-2(from *Candida antarctica*) 촉매 하에 효소적 glycerolysis 반응한 결과 32% 1,3-DAG, 10% 1,2-DAG 및 18% MAG 등 총 DAG와 MAG 함량이 약 60%이었던 결과와 유사하였다.

효소적 glycerolysis에 의한 DAG 및 MAG 합성에 있어서 2에서 48시간에 따라 생성되는 DAG와 MAG의 함량 변화를 분석한 결과, 반응 시간 증가에 따라 그 생성량도 증가하는 경향을 보였다(Table 1). 처음 2시간 반응 시에는 DAG와 MAG의 함량이 각각 23.9와 5.9%를 나타내었으나, 12시간 반응 후에는 그 함량이 각각 1.2와 1.7배 증가한 28.1과 10.1

%의 비율을 보였다. 32시간 반응 후에는 DAG와 MAG의 함량이 2시간 반응 시에 비해서 각각 1.3과 2.3배 증가한 32.6과 13.7%의 함량을 나타내었으며, 최종 48시간 반응 후에는 그 함량이 각각 1.4와 3.2배 증가되었다.

지방산 조성 분석

Glycerolysis 반응 시간(0, 2, 4, 6, 12, 24, 32, 48시간)에 따라 생성된 DAG와 MAG를 TLC를 통해 분리한 후 지방산 조성을 분석하였다(Table 2, 3). 합성된 DAG의 지방산 조성 분석 결과, 반응 초기에는 palmitic acid의 함량은 다소 감소하였으며, DHA는 증가하는 경향을 나타내었으나, 반응 4시간 이후 변화는 거의 일어나지 않았다(Table 2). 최종 48시간 반응 후의 DAG의 DHA 함량은 10.7 mol%, myristic, palmitic, oleic 및 linoleic acid는 각각 5.6, 24.1, 19.2와 32.0 mol%를 가지는 것으로 나타났다. 반응 시간에 따른 MAG의 지방산 함량의 변화도 DAG의 지방산 조성변화와 비슷한 경향을 보였으며, 2시간 반응 시의 DHA(6.2 mol%) 함량은 12시간 반응 후 약 27% 증가하여 7.9 mol%를 나타내었다. 최종 48시간 반응 후 MAG의 지방산 조성은 12시간의 그것과 유사하였으며, DHA는 8.1 mol%, myristic, palmitic, oleic 및 linoleic acid는 각각 5.7, 25.2, 20.2와 33.3 mol%의 함량을 나타내었다(Table 3).

α -, γ - 및 δ -tocopherol 함량 측정

반응 시간에 따른 합성된 DAG와 MAG 함유 기능성 유지

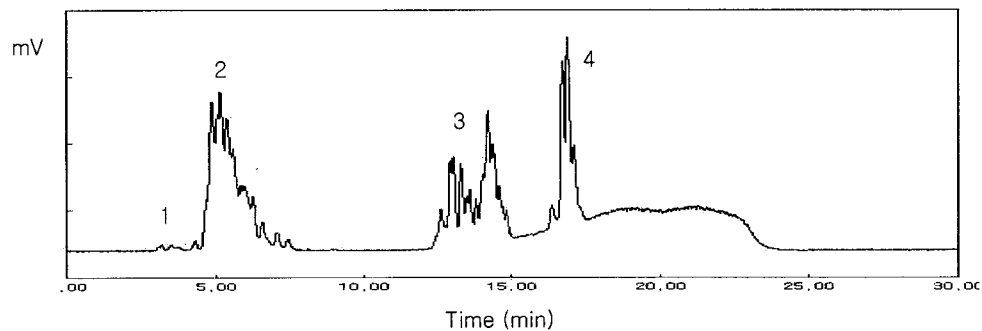


Fig. 1. Chromatogram from the normal-phase high performance liquid chromatographic separation of the diacylglycerol (DAG) and monoacylglycerol (MAG) enriched functional oil.

1: fatty acid, 2: TAG, 3: 1,2- and 1,3-DAG, 4: MAG.

Table 1. Contents of triacylglycerol (TAG), diacylglycerol (DAG) and monoacylglycerol (MAG) in the produced functional oil¹⁾ at the different reaction time (Unit: area%)

Reaction time (hr)	Fatty acid	TAG	DAG	MAG	Total DAG and MAG
0	0	100.0	0	0	0
2	0.5	69.7	23.9	5.9	29.8
4	0.6	68.1	23.9	7.4	31.3
6	0.6	65.0	25.3	9.1	34.4
12	0.6	61.2	28.1	10.1	38.2
24	0.6	55.4	31.2	12.8	44.0
32	0.6	53.1	32.6	13.7	46.3
48	0.6	47.1	33.6	18.7	52.3

¹⁾Diacylglycerol (DAG) and monoacylglycerol (MAG) enriched functional oil.

Table 2. Fatty acid composition of diacylglycerol (DAG)¹⁾ during the different reaction time (Unit: mol%)

Fatty acid	Reaction time (hr)						
	2	4	6	12	24	32	48
14:0	5.8±0.1	5.8±0.1	5.9±0.1	5.8±0.1	5.7±0.1	5.4±0.3	5.6±0.0
16:0	26.6±0.1	24.5±0.1	24.1±0.3	23.8±0.1	24.3±0.1	24.7±0.6	24.1±0.2
16:1	0.5±0.3	0.3±0.0	0.3±0.1	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.4±0.1
18:0	1.8±0.0	1.7±0.1	1.6±0.0	1.6±0.0	1.6±0.0	1.7±0.0	1.6±0.1
18:1	19.8±0.1	19.0±0.2	18.6±0.0	18.8±0.1	19.1±0.0	19.5±0.4	19.2±0.1
18:2	31.3±0.4	32.5±0.0	32.8±0.1	32.4±0.0	32.2±0.1	32.0±0.6	32.0±0.1
18:3	0.3±0.0	0.4±0.1	0.4±0.0	0.5±0.0	0.4±0.0	0.4±0.0	0.5±0.0
20:5	1.1±0.0	1.1±0.0	1.2±0.1	1.2±0.0	1.1±0.0	1.1±0.1	1.1±0.0
22:5	4.2±0.1	4.6±0.0	4.7±0.0	4.8±0.1	4.7±0.0	4.6±0.6	4.8±0.1
22:6	8.6±0.1	10.1±0.2	10.4±0.3	10.8±0.0	10.6±0.1	10.3±0.6	10.7±0.3

¹⁾After TLC analysis, DAG was scraped, methylated, and analyzed by GC.

Table 3. Fatty acid composition of monoacylglycerol (MAG)¹⁾ during the different reaction time (Unit: mol%)

Fatty acid	Reaction time (hr)						
	2	4	6	12	24	32	48
14:0	6.2±0.1	6.1±0.1	5.8±0.1	5.7±0.1	5.7±0.0	5.8±0.1	5.7±0.1
16:0	33.1±0.1	28.6±0.6	26.2±0.2	25.5±0.3	25.9±0.1	26.0±0.5	25.2±0.1
16:1	0.2±0.3	nd	0.1±0.2	0.3±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.3±0.0
18:0	2.7±0.1	2.7±0.6	2.2±0.1	2.0±0.1	1.8±0.1	1.9±0.0	1.8±0.0
18:1	18.0±0.5	19.5±0.5	20.5±0.1	20.6±0.3	19.9±0.0	20.5±0.1	20.2±0.1
18:2	28.4±0.3	31.2±0.5	32.3±0.3	32.9±0.3	32.9±0.0	32.6±0.1	33.3±0.1
18:3	nd	0.5±0.2	nd	0.5±0.0	0.5±0.0	0.3±0.1	0.4±0.1
20:5	1.7±0.4	1.3±0.3	1.4±0.1	1.2±0.1	1.4±0.0	1.3±0.1	1.3±0.3
22:5	3.5±0.6	3.3±0.2	3.7±0.1	3.4±0.1	3.8±0.2	3.4±0.2	3.7±0.1
22:6	6.2±0.1	6.8±0.3	7.8±0.0	7.9±0.2	7.9±0.3	8.0±0.3	8.1±0.2

¹⁾After TLC analysis, MAG was scraped, methylated, and analyzed by GC.

의 α -, γ - 및 δ -tocopherol 함량을 분석하였다(Table 4). 효소 반응 동안 반응 시간의 증가에 따라 DAG와 MAG 함유 기능성 유지종의 총 tocopherol 함량은 감소될 것으로 예상되었다(19,20). 초기 2시간 반응 시에는 총 tocopherol 함량이 0.08%이었으나, 반응 시간이 증가함에 따라 다소 감소하여 24시간 반응 후에는 2시간 반응 시에 비해 약 13% 감소한 0.07%의 총 tocopherol량을 나타내었다. 32시간 동안 반응 후의 총 tocopherol 함량은 처음 2시간 반응 후에 비해서 약 20% 감소한 0.065%를 나타내었으며, 최종 48시간 반응 후에는 32시간과 유사한 함량을 보였으며, 이때 총 tocopherol

함량 중에 γ -tocopherol이 약 61%를 차지하였다. 위와 같은 결과는 효소반응중에 일어나는 산화에 의하여 tocopherol이 손실된 것으로 사료된다(20).

요 약

조류(microalgae, from *Schizochytrium* sp.)로부터 DHA가 풍부하고 이취가 적은 지질을 획득하고 이를 옥수수유와 기질로 이용, Lipozyme IM(from *Rhizomucor miehei*) 촉매하에 TAG형태로 합성된 재구성지질(SL)을 이용하여, 효소적 glycerolysis 반응에 의해 DAG와 MAG 함유 기능성 유지를 생성하였다. Normal-phase HPLC 분석 결과, 48시간 동안 합성된 DAG와 MAG의 함량은 각각 33.6과 18.7%이었으며, 지방산 분석 결과에서 DHA는 각각 10.7과 8.1 mol%의 함량을 보였다. 합성에 있어서 2에서 48시간에 따라 생성되는 DAG와 MAG의 함량 변화를 분석한 결과, 반응 시간 증가에 따라 그 생성량도 증가하는 경향을 보였고, α , γ 및 δ -tocopherol의 총 함량은 반응시간이 길어질수록 감소하는 경향을 보였다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 중점공동

Table 4. Contents of α , γ and δ -tocopherol in the diacylglycerol (DAG) and monoacylglycerol (MAG) enriched functional oil produced during the different reaction time (Unit: % weight)

Reaction time (hr)	Tocopherol (%)			Total tocopherol (%)
	α	γ	δ	
0	0.015	0.045	0.02	0.08
2	0.015	0.045	0.02	0.08
4	0.015	0.045	0.02	0.08
6	0.016	0.047	0.017	0.08
12	0.016	0.048	0.018	0.08
24	0.012	0.042	0.016	0.07
32	0.011	0.04	0.014	0.065
48	0.01	0.04	0.015	0.065

연구지원(02-PJ1-PG1-CH15-0001)에 의하여 수행된 연구 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Braden LM, Carroll KK. 1986. Dietary polyunsaturated fat in relation to mammary carcinogenesis in rat. *Lipids* 21: 285-288.
2. Akoh CC, Hearnberger JO. 1991. Effect of catfish and salmon diet on platelet phospholipid and blood clotting in healthy men. *J Nutr Biochem* 2: 329-333.
3. Tonon T, Harvey D, Larson TR, Graham IA. 2002. Long chain polyunsaturated fatty acid production and partitioning to triacylglycerol in four microalgae. *Phytochemistry* 61: 15-24.
4. Hammond BG, Mayhew DA, Naylor MW, Ruecker FA, Mast RW, Sander WJ. 2001. Safety assessment of DHA-rich microalgae from *Schizochytrium* sp., I. Subchronic rat feeding study. *Regul Toxicol Pharmacol* 33: 192-204.
5. Abril R, Garrett J, Zeller SG, Sander WJ, Mast RW. 2003. Safety assessment of DHA-rich microalgae from *Schizochytrium* sp., V. Target animal safety/toxicity study in growing swine. *Regul Toxicol Pharmacol* 37: 73-82.
6. Lee DS, Noh BS, Bae SY, Kim K. 2002. Characterization of fatty acids composition in vegetable oils by gas chromatography and chemometrics. *Analytica Chimica Acta* 358: 163-175.
7. Maki KC, Davidson MH, Tsushima R, Matsuo N, Tokimitsu I, Umporowicz DM, Dicklin MR, Foster GS, Ingram KA, Anderson BD, Frost SD, Bell M. 2002. Consumption of diacylglycerol oil as part of a reduced-energy diet enhances loss of body weight and fat in comparison with consumption of a triacylglycerol control oil. *Am J Clin Nutr* 76: 1230-1236.
8. Borusheuer UT. 1995. Lipase-catalyzed synthesis of monoacylglycerols. *Enzyme Microb Technol* 17: 578-586.
9. Kwon SJ, Han JJ, Rhee JS. 1995. Production and *in situ* separation of mono- or diacylglycerol catalyzed by lipase in n-hexane. *Enzyme Microb Technol* 17: 700-704.
10. Rosu R, Uozaki Y, Iwasaki Y, Yamane T. 1997. Repeated use of immobilized lipase for monoacylglycerol production by solid-phase glycerolysis of olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 74: 445-450.
11. Li ZY, Ward OP. 1993. Lipase-catalyzed esterification of glycerol and n-3 polyunsaturated fatty acid concentrate in organic solvent. *J Am Oil Chem Soc* 70: 745-748.
12. 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.
13. Cho EJ, Lee JH, Lee KT. 2004. Optimization of enzymatic condition of structured lipids by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 36: 531-536.
14. Park RK, Lee KT. 2004. Synthesis and characterization of mono and diacylglycerol enriched functional oil by enzymatic glycerolysis of corn oil. *Korean J Food Sci Technol* 36: 211-216.
15. Kang ST, Yamane T. 1994. Effect of temperature on diacylglycerol production by enzymatic solid-phase glycerolysis of hydrogenated beef tallow. *Korean J Food Sci Technol* 26: 567-572.
16. Foglia TA, Jones KC. 1997. Quantitation of neutral lipid mixtures using HPLC with light scattering detection. *J Liq Chrom Rel Technol* 20: 1829-1838.
17. Cho EJ, Lee KT. 2003. Synthesis of structured lipids from corn oil and conjugated linoleic acid with immobilized lipase-catalyzed reaction. *Korean J Food Sci Technol* 35: 797-802.
18. Torres C, Lin B, Hill Jr CG. 2002. Lipase-catalyzed glycerolysis of an oil rich in eicosapentaenoic acid residues. *Biotechnol Letters* 24: 667-673.
19. Lee J-H, Kim MR, Kim HR, Kim IH, Lee KT. 2003. Characterization of lipase-catalyzed structured lipids from selected vegetable oils with conjugated linoleic acid: Their oxidative stability with rosemary extracts. *J Food Sci* 68: 1653-1658.
20. Akoh CC, Moussata CO. 2001. Characterization and oxidative stability of enzymatically produced fish and canola oil-based structured lipids. *J Am Oil Chem Soc* 78: 25-30.

(2005년 5월 12일 접수; 2005년 7월 29일 채택)