

미강유, 팜스테아린 및 고올레인산 해바라기씨유를 이용한 저트랜스 유지의 효소적 합성

김지영 · 이기택[†]
충남대학교 식품공학과

Enzymatic Synthesis of Low Trans Fats Using Rice Bran Oil, Palm Stearin and High Oleic Sunflower Seed Oil

Ji-Young Kim and Ki-Teak Lee[†]

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

Abstract

Low trans fats were synthesized by interesterification of rice bran oil (RBO), palm stearin (PS) and high oleic sunflower seed oil (HO) using TLIM from *Thermomyces lanuginosa*. After 24-h reaction, physicochemical characteristics such as fatty acid and triacylglycerol composition, solid fat content, melting point, tocopherol, oryzanol and phytosterol contents were evaluated. Trans fatty acid contents of the produced low-trans fats showed less than 0.5 wt%. Mostly, triacylglycerol species in the products were palmitoyl-linoleoyl-oleoyl-glycerol (PLO), palmitoyl-oleoyl-oleoyl-glycerol (POO) and palmitoyl-oleoyl-palmitoyl-glycerol (POP). Total tocopherol contents ranged from 6.94 to 11.83 mg/100 g while 0.18~0.49 mg/100 g of γ -oryzanol and 182.47~269.08 mg/100 g of phytosterols were observed depending on the substrates ratios. When the content of PS in the reaction substrate was increased, solid fat content and slip melting points were increased.

Key words: interesterification, rice bran oil, palm stearin, high oleic sunflower seed oil

서 론

벼의 도정 과정 중에 제거되는 미강 층에는 단백질, 지질, 식이섬유 및 비타민 등 다양한 영양소가 존재한다. 그러나 연간 60만 톤이 생산되는 것으로 추정되는 미강은 우수한 식품영양성에도 불구하고 극히 일부가 미강유 제조에 사용될 뿐 대부분 사료용 혹은 농업폐기물로 처리되고 있는 실정이다. 미강에 함유된 tocotrienol 및 tocopherol과 같은 비타민 E는 고지혈증 및 동맥경화 개선, 항암작용, 항산화작용 등 생리활성 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다(1). 또한 미강유에는 oryzanol이 다량 함유되어 있는데, 이는 불포화 triterpenoid alcohol계와 ferulic acid가 에스테르 결합한 물질로써 항산화 효과뿐만 아니라 혈중 LDL cholesterol 수치를 저하시키는 역할을 한다고 알려져 있다(2-5). 그러나 미강유의 이러한 생리학적, 영양학적 우수성에도 불구하고 국내 생산 및 소비는 감소추세를 보이고 있는데, 이는 현미 도정중의 lipase 활성화에 따른 가공의 어려움과 이에 따른 생산 기피 및 관련 연구가 미비한 것에 기인한 것이다(4,6). 그러므로 미강은 쌀을 주식으로 하는 우리나라에서 풍부하게 얻을 수 있는 유지자원의 하나로서, 유지원료의 대부분이

수입되고 있는 우리나라의 현실에 비추어 볼 때 미강유산업의 육성은 매우 중요한 과제이다. 한편, 미강유를 정제하는 과정에서 얻어지는 정제부산물에는 오리지놀, 토코페롤, 레시틴, 스테롤 등의 여러 가지 지용성 생리활성 물질이 다량 함유되어 있고, 이 중 오리지놀은 미강에만 존재하는 물질로서 유지 및 유지식품의 산화방지제로서 뿐만 아니라 화장품 및 의약품의 원료로서 널리 사용되고 있다. 이와 같이 다른 식물성유에 비하여 산화안정성이 높고 품질이 우수한 식용 유지가 될 수 있다는 사실을 감안할 때, 미강유에 대한 폭넓은 연구와 개발은 중요한 사안이라 할 수 있다(7,8).

한편, 시중 유통되는 가공식품 중 지방원으로 사용되는 가공유지, 특히 쇼트닝은 상당량의 포화지방산과 트랜스지방산을 포함하고 있다. 주로 액상유의 부분적 수소 첨가를 통한 반고체지 제조과정 중 생성되는 트랜스지방산은 과잉 섭취 시 관상동맥 질환이나 동맥경화, 심장병 발병 위험률을 높인다는 사실이 밝혀졌다(9-11). 이에 트랜스지방산 함량이 적은 유지의 연구와 개발이 요구되는데, 주로 사용되는 방법이 화학적 또는 효소적 반응을 이용한 재구성 지질의 합성이다. 재구성지질(structured lipids, SL)은 화학적 또는 효소적 방법에 의해 triacylglycerol(TAG) 분자 안에서 지방

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

산의 조성 및 위치를 무작위 또는 선택적으로 변화시키거나 새로운 기능성 지방산의 결합에 의해 생성될 수 있다(12). 화학적 합성반응의 경우 에너지 소비가 크고, 부반응이 생기는 반면 효소적 합성반응은 효소의 기질 및 반응 특이성을 이용하여 반응을 선택적이고 효율적으로 할 수 있다는 장점이 있다. 또한 효소적 합성은 효소를 사용하여 기질 자체의 지방산을 무작위 또는 선택적으로 재배열시키는 것으로 이성체의 큰 변화 없이 유지의 물리적 또는 화학적 특성을 변화시킬 수 있다(13). 한편 위치 특이성을 가진 lipase를 통한 효소적 합성은 원하는 지방산 조성의 재구성 지질을 생성할 수도 있다. 또한 고정화 효소(immobilized lipase)는 재사용이 가능하여 환경 친화적이고 고부가 가치의 다양한 유용물질을 선택적, 효율적으로 생산해 낼 수 있다는 장점이 있다. 이와 관련하여 Farmani 등(14)은 채종유와 해바라기유를 이용하여 esterfication 방법을 통한 쇼트닝, 마가린 제조에 관한 연구 결과를 보고하였다(14-16). 본 연구에서는 효소적 합성 반응을 통하여 저트랜스 유지를 제조하기 위해 미강유, 팜스테아린 및 고올레인산 해바라기씨유를 기질로 사용하였다. 사용된 lipase는 *Thermomyces lanuginosa*로부터 획득된 lipase가 silica gel에 고정화된 *Thermomyces lanuginosus* immobilized lipase(TLIM)를 사용하였다. 이는 triacylglycerol(TAG)의 sn-1, 3의 위치에 주로 특이적으로 작용하며 triacylglycerol의 ester 결합을 가수분해 하여 glycerol과 지방산으로 분해 후 다시 esterfication하는 작용을 가지는 효소이다(17). 기질의 합성비율을 달리하여 24시간 효소적 반응을 통하여 합성된 고체지의 지방산 조성, RP-HPLC를 통한 triacylglycerol 조성 변화, 토코페롤, 오리자놀, phytosterol 함량, slip melting point와 differential scanning calorimetry(DSC)를 통한 solid fat content(SFC) 분석을 실시하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 미강유(rice bran oil, RBO)는 주식회사 세림(Serim Co., Daejeon, Korea)에서, 팜스테아린(palm stearin, PS)과 고올레인산 해바라기씨유(high oleic sunflower seed oil, HO)는 C사(Incheon, Korea)에서 제공받은 것을 사용하였다. Interesterfication을 통한 재구성 지질의 합성에 사용된 lipase TLIM은 Novo Nordisk Biochem North American Inc.(Flanklinton, NC, USA)로부터 구입하였다. TLIM은 *Thermomyces lanuginose*로부터 획득된 lipase가 silica gel에 고정화되어 granulated화된 효소이다(18). α -tocopherol 및 β , γ -tocopherol 표준시약은 각각 Fluka Chemika-Biochemika(Buchs, Switzerland)와 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 오리자놀 및 phytosterol 분석을 위한 표준시약은 각각

Wako Pure Chemical Ind, Ltd(Osaka, Japan)와 Fluka Chemika-Biochemika(Buchs, Switzerland)에서 구입하여 사용하였다. 유지의 sn-2 position의 지방산 조성을 분석하기 위한 pancreatic lipase(Type II, crude)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)로부터 구입하였다. 기기분석 시 사용된 용매는 HPLC grade를 사용하였다. 합성된 유지는 질소 충전 후 밀봉된 상태로 냉장 보관하며 실험에 사용하였다.

저트랜스 유지의 효소적 합성

Screw-cap flask(250 mL)에 미강유(RBO), 팜스테아린(PS) 및 고올레인산 해바라기씨유(HO)를 각각 1:2:0.3, 1:2:0.6, 1:2:0.9, 1:3:0.4, 1:3:0.8, 1:3:1.2, 1:4:0.5, 1:4:1, 1:4:1.5 (w/w/w) 비율로 섞고 충분히 교반 후, 전체 기질의 20%에 해당하는 고정화 효소 TLIM을 넣고 유기용매를 사용하지 않은 상태에서 65°C와 180 rpm의 조건으로 항온교반수조에서 24시간 반응하였다. 반응 후 기질은 PTFE syringe로 효소를 필터링하여 보관하였다. 탈산(19)은 재구성 지질에 1 N 페놀프탈레인 용액을 지시약으로 몇 방울 첨가한 후 0.5 N과 2 N KOH 에탄올 용액을 사용하여 적정하였다. 적정이 끝난 후 물(70~80°C)을 이용하여 비누화된 물질을 제거해주는 일을 수차례 반복하였다. 이에 헥산과 에탄올을 첨가하여 시료가 수분 층과 완전히 분리될 수 있도록 충분히 정치시킨 후 상징 액인 헥산층만 분리하여 sodium sulfate를 이용하여 수분과 불순물을 제거하였다. 이를 질소가스를 사용하여 헥산을 완전히 제거한 후 이화학적 분석을 통해 합성된 유지의 특성을 살펴보았다.

Differential scanning calorimetry(DSC) 분석

DSC(TA Instruments, model DSC 2010, New Castle, USA)를 이용하여 유지의 solid fat content(SFC)를 측정하였다. 분석 시 calibration을 위한 base line은 빈 cell을 통한 분석결과를 이용하였고, 각각의 시료는 약 7 mg을 취하여 분석하였다. Thermogram을 얻기 위해 80°C에서 10분 동안 유지한 후 10°C/min의 비율로 -60°C까지 냉각하여 그 상태에서 10분 동안 유지시켜주고 다시 80°C까지 5°C/min의 비율로 승온하였다(20).

Slip melting point 측정

합성에 사용된 기질과 합성된 저트랜스 유지의 slip melting point를 측정하기 위하여 완전히 용해된 시료를 capillary tube(Chase Scientific Glass Inc., 75 mm×1.2 mm i.d., USA)의 약 1 cm정도 양만큼 채취하여 -8°C에서 10 min 동안 보관하여 충분히 응고시킨 후 사용하였다. 시료가 담긴 capillary tube는 온도계 하단에 부착하여 cupric sulfate(CuSO₄) 용액이 든 칼럼에 넣은 후, 이를 증류수에서 중탕하여 균일한 열전도가 이루어지도록 하여 분석을 실행하였다. 온도 상승에 따른 시료가 capillary tube를 타고 상승하기 시작할 때의 온도를 slip melting point로 지정하였다.

지방산 조성 분석

기질 및 저트랜스 유지의 지방산 분석을 위하여 methylation을 한 후 gas chromatography(GC) 분석을 실시하였다. 탈산과정을 거치지 않은 시료를 thin layer chromatography(TLC) 분석을 통해 triacylglycerol(TAG) 부분만 획득한 후 methylation을 실시하였다. Methylation은 시료(약 25 mg)를 취하여 1.5 mL의 0.5 N NaOH 메탄올 용액을 가한 후 100°C에서 5분간 반응시키고 30~40°C에서 냉각해주었다. 2 mL의 BF₃-methanol 용액을 넣고 다시 100°C에서 2분간 반응시키고 30~40°C에서 냉각해준 후, 2 mL의 iso-octane과 1 mL의 포화 NaCl 용액을 가하여 약 1분 동안 진탕 해주었다. 몇 분간 방치 후, 분리된 두 층의 위층을 획득하여 sodium sulfate column을 통과시켜준 다음 지방산 조성 분석에 사용하였다. 분석 시 gas chromatography(Hewlett-Packard 6890 series, PA, USA)와 flame ionized detector(FID)를 사용하였다. Carrier gas는 질소로써 52.5 mL/min, 260°C를 유지하였다. Column은 SPTM-2560(100 m×0.25 mm id, 0.2 µm film thickness, Bellefonte, PA, USA)을 통하여 분석하였으며 column oven 온도는 150°C에서 5분 동안 유지 후 4°C/min씩 증가시켜 220°C에 도달하여 30분 간 유지하였다. Inject port와 detector 온도는 각각 250°C와 260°C로 설정하였다. Split ratio는 50:1로써 시료 1 µL를 주입하여 지방산 분석을 실행하였다. GC-FID상에서의 분석은 각 지방산의 메틸에스테르이므로 해당 지방산으로 전환해야 하는데, 각 지방산 별 전환계수는 식약청에서 제시한 표(21)를 이용하였고, 트랜스형의 지방산인 경우 시스형의 경우와 동일한 전환계수를 사용하였다.

지방산의 위치별 조성 분석

합성된 저트랜스 유지의 sn-2와 sn-1,3 위치의 지방산 조성 분석을 위해 sn-1,3 위치에 특이적으로 작용하는 pancreatic lipase를 이용하여 가수분해를 실시하였다. Test tube에 7 mg의 시료, 7 mL의 1 M Tris-HCl buffer(pH 7.6), 1.75 mL의 0.05% bile salt, 0.7 mL의 2.2% CaCl₂ 그리고 7 mg의 pancreatic lipase를 넣어 준 후 vortex 해주었다. 항온수조의 온도는 37°C로 설정하고, 3분간 반응 및 진탕 1분을 3~4회 반복한 후 4 mL의 diethyl ether를 첨가하여 충분히 진탕하고 상층 액을 취하여 sodium sulfate column을 이용하여 수분 및 불순물을 제거해 주었다. 이를 hexane : diethyl ether : acetic acid=50:50:1(volume ratio)의 전개 용매를 사용한 TLC(20×20 cm, Merck, Darmstadt, Germany) 분석을 통해 2-monoacylglycerol(MAG)를 분리하여 GC 분석을 수행하였다. 한편 sn-1,3 조성 계산은 Fomuso와 Akoh의 계산식(22)을 사용하였다.

Reversed-phase HPLC 분석

합성된 저트랜스 유지의 triacylglycerol(TAG) 조성을 알아보기 위하여 reversed-phase high performance liquid

chromatography(RP-HPLC)분석을 시행하였다. Detector는 ZAM 3000 evaporative light scattering detector(ELSD, Young-Lin Instrument Co., Ltd., Anyang, Korea)를 사용하였고 55°C, 1.7 bar로 설정하였다. Nova-Pak[®] C18 60Å 4 µm(3.9×150 mm I.d., Waters, Milford, Ireland) column을 통해 분석을 시행하였다. 이동상은 기율기 용리로써 acetonitrile/hexane : isopropanol(2:1)을 80:20(v/v) 비율로 45분 동안 흘려준 후 54:46 비율로 60분까지, 다시 80:20 비율로 65분까지 흘려주었으며 그 비율로 70분까지 유지하였다. 유속은 1 mL/min으로 흘려주었다. 15 mg의 시료를 20 mL의 클로로포름에 녹인 후 PTFE syringe filter를 이용하여 여과 후 20 µL injection하여 결과를 얻을 수 있었다.

Tocopherol 및 γ -oryzanol 정량 분석

유지의 α -, γ - 및 δ -tocopherol과 γ -oryzanol을 HPLC를 통하여 정량 분석하였다(23). 시료의 전처리를 위해 vial(50 mL)에 시료 1 g을 취한 후 산화 방지를 위해 5 mL의 6% pyrogallol 에탄올 용액과 1.25 mL의 60% KOH 용액을 가하여 균질화 하였다. 시료의 산화 방지를 위해 충분한 질소 충전 후 완전히 밀봉하여 70°C로 유지된 항온교반수조에서 30분 간 반응 후 ice bath를 이용하여 냉각하였다. 이에 5 mL의 2% NaCl 용액을 첨가하고 2.5 mL의 hexane : ethyl acetate=85:15(0.05% BHT함유)를 가하여 3회 반복추출 후 질소를 이용하여 용매를 완전히 제거하였다. 이에 5 mL의 헥산으로 희석하여 syringe filter(13 mm, 0.2 µm, Whatman[®], NJ, USA)를 이용하여 여과 후 tocopherol 분석 시에는 20 µL, oryzanol 분석 시에는 10 µL를 주입하였다. SP930D dual pump와 UV730 detector(Young-Lin Instrument Co., Ltd.)가 장착되어 있는 HPLC를 이용하여 tocopherol과 oryzanol을 각각 295 nm와 325 nm에서 분석하였다. Column은 LiChrosorb Diol 5 µm(3×100 mm, Chrompack, Raritan, NJ, USA)을 사용하였다. Tocopherol 분석 시 유속은 0.5 mL/min, 이동상은 100:0.1(v/v)의 hexane : acetic acid를 등용리로 30분 동안 유지하여 분석을 실시하였다. 한편 γ -oryzanol 분석의 이동상은 기율기 용리로써 10분까지는 hexane : acetic acid(100:0.1)를 100% 흘려주다가 이후 22분까지는 hexane : isopropanol(99:1) 100%로 흘려준 후, 다시 초기상태로 라인을 흘려주었다. α -, γ - 및 δ -tocopherol과 γ -oryzanol 각각의 표준물질 분석을 통해 시료 중의 tocopherol과 γ -oryzanol의 정량 분석이 이루어졌다.

Phytosterol의 정량 분석

효소적 합성을 통해 얻어진 각각의 시료(25 mg)에 2 mL의 2 N KOH 에탄올용액과 내부 표준물질로서 50 µL의 5 α -cholestane(1 mg/mL)을 가한 후, 90°C로 설정된 항온수조에서 15분 간 비누화 반응을 하였다. 비누화 반응 완료 후 1 mL의 헥산과 1 mL의 증류수를 가하여 층 분리가 일어나도록 충분히 진탕한 뒤, 상층 액을 취하였다. 위 과정을 총 3번

반복추출 하고, 50 μ L의 BSTFA+1% TMCS[N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide]를 가하여 60°C에서 30분 간 반응시켜 주었다. 반응이 끝난 시료중의 용매는 질소를 이용하여 완전히 제거해 주고 0.2 mL의 헥산을 가하여 준 후, 2 μ L를 injection하였다. 분석 시 gas chromatography와 flame ionized detector(FID)를 사용하였고, column은 Ultra-2 (25 m \times 0.25 mm \times 0.33 μ m)를 사용하였다. Injector와 detector 온도는 각각 270°C와 290°C로 설정해 주었고, oven program은 220°C에서 0.5분 간, 270°C까지 27분 간 그리고 285°C까지 3.5분 간 유지시켜 주었으며, 온도 상승 비율은 분당 10°C로 설정하여 분석하였다(24).

결과 및 고찰

Solid fat content 및 slip melting point 분석

합성에 사용된 기질들의 solid fat content(SFC) 분석결과, 상온에서 액체 상태인 미강유와 고올레인산 해바라기씨유의 경우 각각 15°C와 5°C에서 99% 이상 액체 상태인 것을 확인할 수 있었다. 반면, 상온에서 고체 상태인 팜스테아린은 60°C 이상이 되어야 99% 이상 액체 상태가 되는 것을 알 수 있었다(Table 1). 또한 반응 기질의 여러 비율에 따라 합성된 저트랜스 유지의 SFC를 Table 2에 나타내었다. 분석 결과, 반응 비율에 따라 다양한 SFC 함량을 나타내었는데, 전체적으로 액체유인 고올레인산 해바라기씨유의 비율이 높아질수록 각 온도에 해당하는 SFC는 감소하는 경향을 보인 반면, 상온에서 고체지인 팜스테아린의 비율이 높아질수록 SFC는 증가하는 경향을 보였다. 또한 1:3:0.4, 1:4:0.5, 1:4:1의 합성 비율을 제외한 나머지 시료들은 45°C에서 완전히 용해되는 것으로 나타났다. 고체지는 입안에서의 녹는 감각적인 특성이 중요하므로, 신체온도와 유사한 35°C에서의 SFC를 살펴본 결과, 기질 비율에 따라 차별적인 SFC 분포를 확인할 수 있었다. 기질 비율이 1:2:0.9일 때 10.47%로 SFC가 가장 낮고, 1:4:0.5에서 26.24%로 가장 높게 측정

Table 1. Solid fat contents (%) of RBO¹⁾, PS²⁾, HO³⁾ obtained from differential scanning calorimetry

Temp. (°C)	RBO	HO	Temp. (°C)	PS
-10	41.61	91.55	10	64.86
-5	24.24	47.78	15	60.58
0	9.84	4.97	20	60.27
5	4.26	0.38	25	58.64
10	2.19	—	30	50.63
15	0.99	—	35	41.81
20	0.22	—	40	32.76
25	—	—	45	22.06
30	—	—	50	9.12
35	—	—	55	1.90
40	—	—	60	0.32
45	—	—	65	—
Slip M.P (°C)				54.0

¹⁾RBO: Rice bran oil.

²⁾PS: Palm stearin.

³⁾HO: High oleic sunflower seed oil.

되었는데, 이는 고체지인 팜스테아린에서 기인한 것으로 생각된다.

한편, slip melting point는 34.9~40.0°C 사이에서 다양한 분포를 보였다. 그 중 기질 비율이 1:4:0.5일 때 40.0°C로 가장 높게 나타났는데 이는 고체지인 팜스테아린 비율의 영향을 받은 것이고, 34.9°C로 가장 낮게 측정된 1:2:0.9 비율은 액체유인 고올레인산 해바라기씨유 비율의 영향을 받은 것으로 사료된다. 이에 따라 본 연구에서 합성된 저트랜스 유지들 중 가장 적합한 물성을 가지는 비율을 선택 후, 대량합성 반응을 통하여 시중 유통 쇼트닝과의 비교연구에 사용할 수 있을 것으로 기대할 수 있다.

Differential scanning calorimetry(DSC) 분석

합성에 사용된 기질인 미강유, 팜스테아린 및 고올레인산 해바라기씨유와 합성된 저트랜스 유지의 DSC에 의한 발열 곡선과 흡열곡선 분석을 실시하였다. 상온에서 액체 상태인 미강유와 고올레인산 해바라기씨유의 흡열곡선 결과를 살펴보면, 각각 -15.2, -4.9 그리고 -4.7°C에서 뚜렷한 피크를

Table 2. Solid fat contents (%) of low trans fat in different substrate ratios obtained from differential scanning calorimetry

Temp. (°C)	RBO ¹⁾ : PS ²⁾ : HO ³⁾ (w/w/w)								
	1:2:0.3	1:2:0.6	1:2:0.9	1:3:0.4	1:3:0.8	1:3:1.2	1:4:0.5	1:4:1	1:4:1.5
-10	89.88	92.23	91.37	91.83	93.03	93.57	94.58	94.22	94.30
-5	83.57	85.69	84.48	87.62	86.95	87.08	90.03	89.20	88.04
0	76.72	78.40	78.00	84.85	81.00	80.42	83.27	82.35	80.97
5	70.59	68.38	66.04	82.77	75.06	71.89	77.21	76.49	73.16
10	56.79	54.18	49.92	73.27	62.49	57.13	69.70	65.73	59.26
15	49.05	46.42	44.32	67.54	55.69	50.15	60.49	55.45	50.95
20	47.91	44.20	39.24	62.10	54.44	47.88	59.39	54.19	49.72
25	39.94	33.44	28.42	50.13	44.33	36.28	51.80	47.46	39.31
30	30.01	23.44	19.69	38.49	33.01	25.77	38.01	34.74	27.65
35	19.26	13.72	10.47	25.48	21.29	15.60	26.24	22.98	16.72
40	5.53	2.70	0.95	8.67	6.60	3.24	12.87	9.15	4.10
45	—	—	—	0.11	—	—	0.98	0.21	—
Slip M.P ⁴⁾ (°C)	37.4	36.4	34.9	39.3	37.9	37.1	40.0	38.1	37.5

¹⁾RBO: Rice bran oil. ²⁾PS: Palm stearin. ³⁾HO: High oleic sunflower seed oil. ⁴⁾Slip melting point.

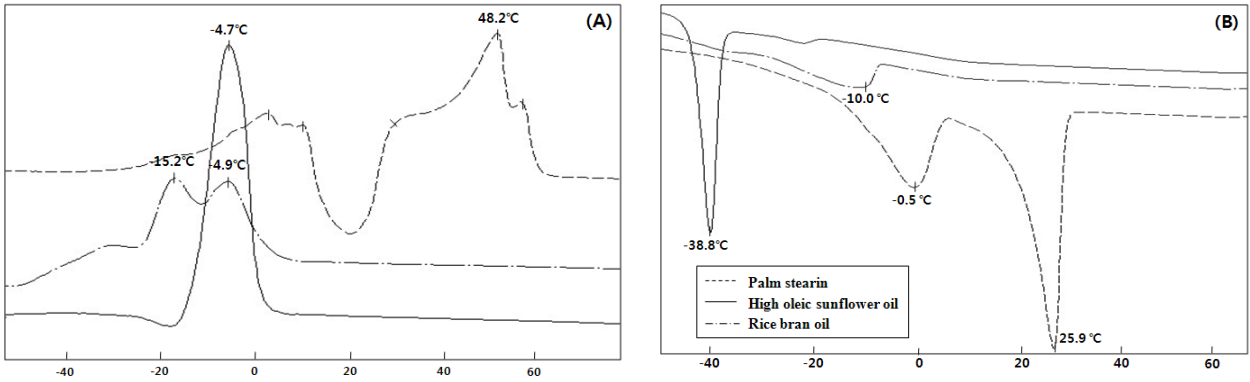


Fig. 1. DSC endothermic heat flow (A) and exothermic heat flow (B) of rice bran oil (RBO), palm stearin (PS) and high oleic sunflower seed oil (HO).

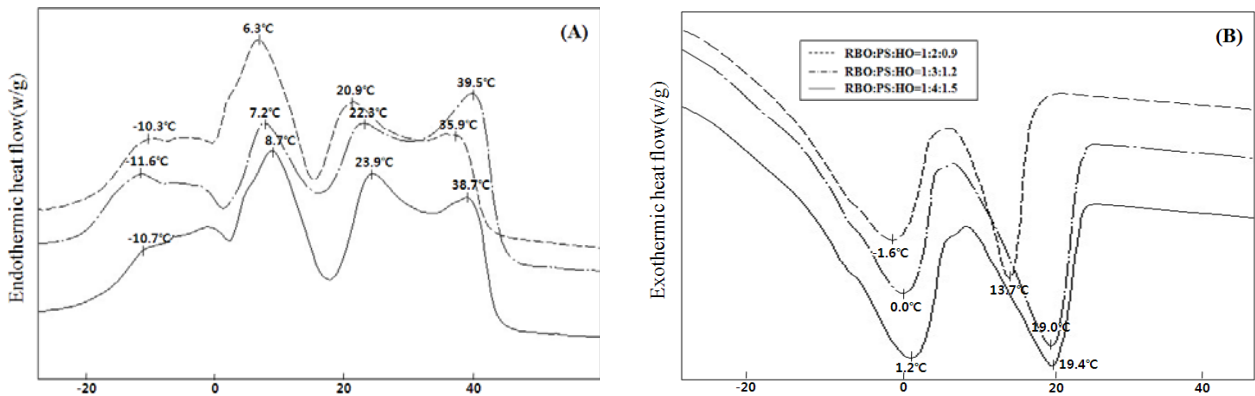


Fig. 2. DSC endothermic heat flow (A) and exothermic heat flow (B) of low trans fat from different substrate ratios.

나타내었고, 발열곡선은 각각 -10.0와 -38.8°C에서 뚜렷한 피크를 나타내었다. 팜스테아린은 48.2°C에서 뚜렷한 흡열 피크를 나타냈고, -0.5, 25.9°C에서 뚜렷한 발열 피크를 보였다(Fig. 1).

한편, 합성된 저트랜스 유지의 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 합성 비율 1:2:0.9에서 흡열 피크는 각각 세 개의 뚜렷한 피크(6.3, 20.9, 39.9°C)를 보였고, 1:3:1.2에서는 7.2, 22.3, 35.9°C로 나타났으며, 1:4:1.5에서는 8.7, 23.9, 38.7°C로 나타났다. 이에 따라 팜스테아린의 함량이 높아질수록 흡열곡선의 피크가 높은 온도 쪽으로 이동하는 것, 즉 녹는점이 점차 높아짐을 확인할 수 있었다. 발열 곡선 결과를 살펴보면, 합성 비율 별로 뚜렷한 두 개의 발열 피크를 나타내었다. 1:2:0.9의 경우 -1.6과 13.7°C에서 발열 피크를 보였고, 1:3:1.2는 0.0과 19.0°C에서, 1:4:1.5는 1.2와 19.4°C에서 발열 피크를 나타냄에 따라 팜스테아린의 함량이 높아질수록 발열 곡선의 피크가 높은 온도 쪽으로 이동하는 경향, 즉 어는 점이 점차 높아짐을 알 수 있었다.

지방산 조성

효소를 이용한 합성을 통해 생성된 저트랜스 유지와 미강유(RBO), 팜스테아린(PS) 및 고올레인산 해바라기씨유

(HO)의 지방산 조성을 gas chromatography 법을 이용하여 분석하였다. 합성에 사용된 기질들의 지방산 조성을 살펴보면, 미강유는 oleic acid(C18:1)와 linoleic acid(C18:2)가 각각 41.7과 33.3 wt%를 차지하였고, 팜스테아린은 C16:0(palmitic acid)이 54.4 wt% 차지하였으며, 고올레인산 해바라기씨유는 전체 지방산 조성의 82.4 wt%가 oleic acid(C18:1)인 것으로 확인되었다(Table 3). 미강유, 팜스테아린 및 고올레인산 해바라기씨유 모두 sn-2 position에 C18:1 함량이 각각 48.0, 48.8 및 89.2 wt%로 가장 높은 함량을 보였고, 기질 모두 sn-2 position에 주로 불포화지방산이 위치하는 것을 확인할 수 있었다.

한편, 여러 비율별로 합성된 유지의 지방산 조성을 살펴본 결과(Table 4), palmitic acid(C16:0), oleic acid(C18:1) 및 linoleic acid(C18:2)가 주요 지방산들으로써 전체 지방산 조성의 80% 이상을 차지하고 있었다. 그 중 합성 비율 1:2:0.9일 때에는 34.4 wt%의 C16:0와 44.9 wt%의 C18:1로 나타났고, 1:4:0.5일 때에는 44.4 wt%의 C16:0와 35.9 wt%의 C18:1로 나타났다. 비율 별로 팜스테아린의 함량이 많아질수록 C16:0의 수치가 높아졌고, 고올레인산 해바라기씨유의 함량이 많아질수록 C18:1의 수치가 높아짐을 확인할 수 있었다.

Table 3. Fatty acid composition of rice bran oil, palm stearin and high oleic sunflower seed oil

FA (wt%)	Rice bran oil			Palm stearin			High oleic sunflower seed oil		
	TAG	sn-2	sn-1,3	TAG	sn-2	sn-1,3	TAG	sn-2	sn-1,3
14:0	0.4±0.0	—	0.6±0.0	1.2±0.0	1.0±0.0	1.4±0.0	0.1±0.0	—	0.1±0.0
16:0	19.7±0.0	3.5±0.2	27.7±0.1	54.4±0.0	32.9±0.1	65.1±0.1	4.0±0.0	0.4±0.0	5.8±0.0
16:1	0.2±0.0	—	0.3±0.0	0.2±0.0	—	0.3±0.0	0.1±0.0	—	0.2±0.0
18:0	2.1±0.0	0.5±0.0	2.9±0.0	7.3±0.0	4.2±0.1	8.8±0.0	2.8±0.0	—	4.2±0.0
18:1	41.7±0.0	48.0±0.1	38.6±0.0	28.9±0.0	48.8±0.0	19.0±0.0	82.4±0.0	89.2±0.1	79.1±0.1
18:2	33.3±0.0	46.9±0.1	26.4±0.1	6.9±0.0	13.2±0.2	3.8±0.1	10.2±0.0	10.4±0.0	10.0±0.0
18:3	1.1±0.0	1.0±0.0	1.3±0.4	0.1±0.0	—	0.2±0.0	—	—	—
20:0	0.9±0.0	—	1.3±0.0	0.4±0.0	—	0.6±0.0	0.3±0.0	—	0.4±0.0
18:1trans	0.1±0.0	—	0.1±0.0	0.3±0.0	—	0.5±0.0	—	—	—
18:2trans	0.7±0.0	—	1.0±0.0	0.3±0.0	—	0.4±0.0	0.2±0.0	—	0.2±0.0
Σtrans FA	0.8±0.0	—	1.1±0.0	0.6±0.0	—	0.9±0.0	0.2±0.0	—	0.2±0.0
ΣSFA ¹⁾	23.0±0.0	4.1±0.1	32.5±0.1	63.3±0.0	38.1±0.1	75.9±0.1	7.1±0.0	0.4±0.0	10.5±0.1
ΣUSFA ²⁾	76.2±0.0	92.9±0.1	66.6±0.3	36.2±0.0	61.9±0.1	23.3±0.1	92.7±0.0	99.6±0.0	89.3±0.1

¹⁾Total saturated fatty acid. ²⁾Total unsaturated fatty acid.

Table 4. Fatty acid composition of low trans fat produced using different substrate ratios

FA(wt%)	RBO ¹⁾ : PS ²⁾ : HO ³⁾ (w/w/w)								
	1:2:0.3	1:2:0.6	1:2:0.9	1:3:0.4	1:3:0.8	1:3:1.2	1:4:0.5	1:4:1	1:4:1.5
14:0	0.9±0.0	0.8±0.0	0.8±0.0	0.9±0.0	0.9±0.0	0.8±0.0	1.0±0.0	0.9±0.0	0.9±0.0
16:0	39.5±0.0	36.6±0.0	34.4±0.3	42.5±0.4	39.2±0.1	36.4±0.0	44.4±0.0	41.4±0.0	38.6±0.1
16:1	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
18:0	5.3±0.0	5.1±0.0	5.0±0.1	5.8±0.1	5.5±0.0	5.3±0.0	6.0±0.0	5.8±0.0	5.6±0.0
18:1	37.7±0.1	41.5±0.0	44.9±0.3	37.0±0.1	40.8±0.0	44.1±0.0	35.9±0.0	39.6±0.0	42.9±0.0
18:2	15.0±0.0	14.5±0.0	13.6±0.1	12.4±0.4	12.2±0.1	12.0±0.0	11.3±0.0	10.9±0.1	10.8±0.0
18:3	0.4±0.0	0.4±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
20:0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.4±0.0	0.4±0.0	0.4±0.0	0.4±0.0	0.4±0.0
18:1trans	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
18:2trans	0.3±0.1	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0
Σtrans FA	0.5±0.1	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0
ΣSFA ⁴⁾	46.2±0.0	43.0±0.0	40.6±0.2	49.6±0.2	46.0±0.0	43.0±0.0	51.9±0.0	48.6±0.0	45.4±0.0
ΣUSFA ⁵⁾	53.2±0.0	56.5±0.0	58.9±0.1	49.9±0.2	53.5±0.0	56.6±0.0	47.6±0.0	50.9±0.0	54.1±0.0

¹⁾RBO: Rice bran oil. ²⁾PS: Palm stearin. ³⁾HO: High oleic sunflower seed oil. ⁴⁾Total saturated fatty acid. ⁵⁾Total unsaturated fatty acid.

데, 이는 C16:0과 C18:1 지방산이 각각 기질의 주요 지방산이기 때문인 것으로 사료된다. 총 포화지방산(ΣSFA)과 총 불포화지방산(ΣUSFA)의 함량을 살펴보면, 1:2:0.9일 때, ΣSFA가 40.6 wt%로 가장 낮게 측정되었고, ΣUSFA는 58.9 wt%로 가장 높게 측정되었다. 반면, 1:4:0.5의 비율에서 ΣSFA가 51.9 wt%로 가장 높게 측정되었고, ΣUSFA는 47.6 wt%로 가장 낮게 측정되었다. 총 트랜스지방산은 비율별로 0.5 area%의 수치를 보이며, 1% 미만의 낮은 함량으로 측정되었다.

Reverse-phase HPLC에 의한 triacylglycerol 분석

여러 비율별로 합성된 유지의 triacylglycerol(TAG) 조성을 reverse-phase HPLC를 이용하여 분석하였다. 분석 결과(Fig. 3), 주요 TAG 조성은 OOL, PLO, PLP, OOO, POO, POP, POS(O=oleic acid, L=linoleic acid, P=palmitic acid) 등으로 측정되었고, 그 중 PLO와 POO 및 POP가 전체 시료의 TAG 조성 중 50% 이상을 차지하였다. 또한 반응 전 기질과 반응 후 생성물의 결과를 살펴본 결과, 여러 피크들이

증가 및 감소됨을 확인할 수 있었다. 일반적으로 고올레인산 해바라기씨유(HO)의 비율이 높아질수록 OOO, POO의 area%는 증가하는 추세를 보였는데, 1:2:0.3 비율에서 3.27 area%였던 OOO가 1:2:0.9에서 7.58 area%로 증가하였고, POO는 26.06 area%(1:2:0.3)에서 31.57 area%(1:2:0.9)로 증가한 것을 알 수 있었다(Table 5). 한편, 팜스테아린의 비율이 높아질수록 POP와 PPP의 area%는 증가하는 추세를 보였는데, 1:2:0.3 비율에서 31.85 area%였던 POP의 경우, 팜스테아린의 비율이 높은 1:2:0.9 비율에서는 23.02 area%로 나타났음을 확인할 수 있었다.

Tocopherol 및 γ-oryzanol 분석

합성에 사용된 기질과 합성비율에 따른 저트랜스 유지의 α, γ 및 δ-tocopherol과 γ-oryzanol 함량을 분석하였다. 분석 결과 미강유(RBO)의 total tocopherol 함량은 10.65 mg/100 g, 팜스테아린(PS)은 2.02 mg/100 g, 고올레인산 해바라기씨유(HO)는 32.09 mg/100 g로 나타났다(Table 6).

저트랜스 유지의 경우, α-tocopherol의 함량이 전체적으

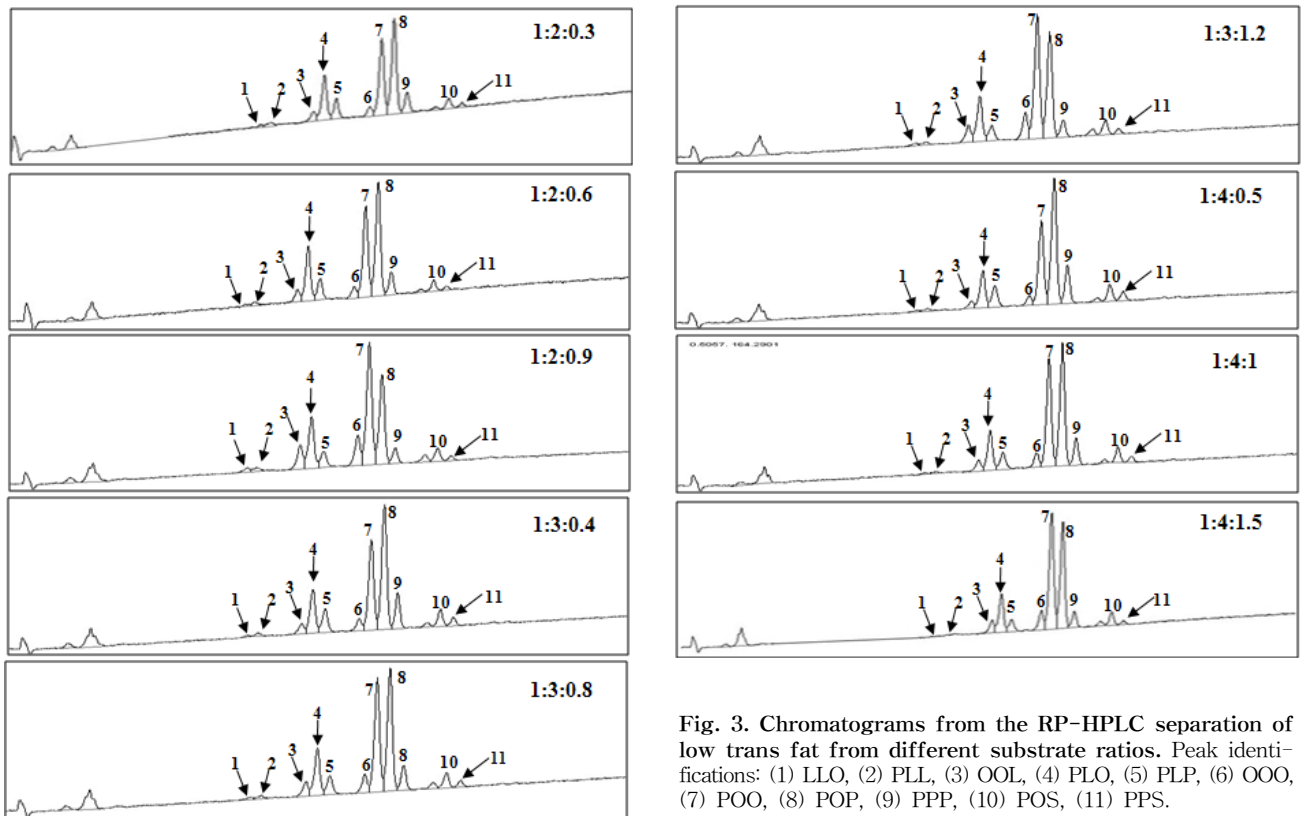


Fig. 3. Chromatograms from the RP-HPLC separation of low trans fat from different substrate ratios. Peak identifications: (1) LLO, (2) PLL, (3) OOL, (4) PLO, (5) PLP, (6) OOO, (7) POO, (8) POP, (9) PPP, (10) POS, (11) PPS.

Table 5. Triacylglycerol (TAG) distribution in low trans fat produced using different substrate ratios

TAG (area%)	RBO ¹⁾ : PS ²⁾ : HO ³⁾ (w/w/w)									
	1:2:0.3	1:2:0.6	1:2:0.9	1:3:0.4	1:3:0.8	1:3:1.2	1:4:0.5	1:4:1	1:4:1.5	
(1) ⁴⁾ LLO	0.86±0.03	0.99±0.09	1.21±0.03	0.48±0.12	0.78±0.07	0.67±0.27	0.59±0.09	0.52±0.00	0.00±0.00	
(2) PLL	1.36±0.47	1.28±0.30	1.15±0.04	0.91±0.22	0.90±0.15	0.81±0.38	1.08±0.15	0.83±0.27	0.00±0.00	
(3) OOL	2.99±0.37	3.83±0.62	6.56±0.26	2.76±0.16	3.68±0.17	4.87±0.55	2.14±0.27	3.11±0.12	3.58±0.08	
(4) PLO	15.26±0.04	14.89±0.68	14.18±0.62	12.06±0.11	12.69±0.40	12.55±0.69	10.70±0.11	11.02±0.28	11.34±0.25	
(5) PLP	6.28±0.51	5.89±0.31	4.46±0.07	6.78±0.02	5.37±0.04	4.19±0.07	6.40±0.55	5.17±0.49	3.92±0.27	
(6) OOO	3.27±0.03	4.13±1.26	7.58±0.26	3.16±0.22	4.72±0.11	6.77±0.12	2.80±0.45	3.81±0.17	5.79±0.21	
(7) POO	26.06±0.96	28.46±2.96	31.57±0.11	24.48±0.40	28.58±0.06	32.53±0.02	23.75±0.14	28.98±0.33	34.60±0.24	
(8) POP	31.85±0.94	30.35±2.26	23.02±0.06	32.97±0.15	30.44±0.52	26.80±0.38	35.07±0.07	33.04±0.76	30.47±0.66	
(9) PPP	6.40±0.33	5.08±1.26	3.65±0.25	8.57±0.12	5.99±0.06	4.11±0.26	9.70±0.08	6.71±0.32	4.66±0.47	
(10) SOO	1.05±0.11	1.17±0.40	1.90±0.12	1.25±0.09	1.60±0.07	1.76±0.01	1.20±0.14	1.31±0.46	1.26±0.34	
(11) POS	3.25±0.06	2.93±0.08	3.49±0.10	4.30±0.15	3.72±0.17	3.68±0.05	4.27±0.04	3.84±0.03	3.46±0.47	
(12) PPS	1.38±0.08	1.00±0.25	1.23±0.05	2.28±0.05	1.54±0.23	1.25±0.15	2.30±0.05	1.68±0.14	0.92±0.16	

¹⁾RBO: Rice bran oil. ²⁾PS: Palm stearin. ³⁾HO: High oleic sunflower seed oil. ⁴⁾Number of triacylglycerol peak in Fig. 3.

로 높게 측정되었는데, 이는 기질로 사용된 미강유의 토코페롤 함량 중 α -tocopherol 함량이 높기 때문인 것으로 생각된다. Total tocopherol 함량은 비율 별로 6.94~11.83 mg/100 g의 함량을 보였고, HO의 비율이 높아질수록 α -tocopherol 함량 및 total tocopherol의 함량이 높아짐을 확인할 수 있었다. 합성된 지질의 tocopherol 감소량을 살펴보면 반응 기질인 RBO, PS 및 HO과 비교하여 총 tocopherol 함량이 현저히 감소하였음을 알 수 있는데, 이는 합성 반응 중에 가해지는 고온의 영향인 것으로 사료된다.

한편, γ -oryzanol 함량을 살펴보면, 반응 기질 중 미강유

에서만 1.79 mg/100 g 검출되었으며, 합성된 저트랜스 유지의 경우 기질 비율 별로 다양한 수치를 나타내었다. 기질 비율이 1:2:0.3과 1:2:0.6 및 1:2:0.9일 때, 0.42~0.49 mg/100 g 범위에서 나타났고, 1:4:0.5와 1:4:1 및 1:4:1.5일 때 0.18~0.27 mg/100 g 범위에서 나타났다. 이에 사용된 미강유의 함량이 적을수록 γ -oryzanol 함량이 적게 나타남을 확인할 수 있었다.

저트랜스 유지의 phytosterol 정량

합성 반응에 사용된 각 기질들의 total phytosterol과 각각의 campesterol, stigmasterol 및 β -sitosterol 함량을 살펴보

Table 6. Tocopherol and γ -oryzanol contents of RBO¹⁾, PS²⁾, HO³⁾ and low trans fat from different substrate ratios

RBO : PS : HO (w/w/w)	Tocopherol (mg/100 g)				γ -Oryzanol (mg/100 g)
	α -Tocopherol	γ -Tocopherol	δ -Tocopherol	Total	
RBO	7.78 \pm 0.43	2.87 \pm 0.07	nd ⁴⁾	10.65 \pm 0.25	1.79 \pm 0.64
PS	2.02 \pm 0.06	nd	nd	2.02 \pm 0.06	nd
HO	32.09 \pm 0.11	nd	nd	32.09 \pm 0.11	nd
1:2:0.3	7.27 \pm 0.06	1.21 \pm 0.01	nd	8.48 \pm 0.03	0.44 \pm 0.04
1:2:0.6	9.35 \pm 0.11	1.13 \pm 0.02	nd	10.48 \pm 0.07	0.49 \pm 0.06
1:2:0.9	10.73 \pm 0.15	1.09 \pm 0.05	nd	11.82 \pm 0.07	0.42 \pm 0.02
1:3:0.4	6.84 \pm 0.10	0.10 \pm 0.00	nd	6.94 \pm 0.07	0.30 \pm 0.03
1:3:0.8	9.06 \pm 0.03	1.03 \pm 0.01	nd	10.09 \pm 0.02	0.23 \pm 0.03
1:3:1.2	10.20 \pm 0.34	0.93 \pm 0.01	nd	11.13 \pm 0.23	0.25 \pm 0.03
1:4:0.5	6.96 \pm 0.00	1.01 \pm 0.02	nd	7.97 \pm 0.01	0.25 \pm 0.03
1:4:1	9.14 \pm 0.02	0.92 \pm 0.04	nd	10.06 \pm 0.01	0.27 \pm 0.06
1:4:1.5	10.96 \pm 0.24	0.87 \pm 0.00	nd	11.83 \pm 0.17	0.18 \pm 0.01

¹⁾RBO: Rice bran oil. ²⁾PS: Palm stearin. ³⁾HO: High oleic sunflower seed oil. ⁴⁾nd: not detect.

면(Table 7), 총 phytosterol 함량은 미강유(RBO)가 683.21 mg/100 g으로 가장 높은 수치를 보였고, 팜스테아린(PS)과 고올레인산 해바라기씨유(HO)가 각각 23.02 mg/100 g, 199.67 mg/100 g의 수치를 나타내었다. RBO와 HO는 campesterol, stigmasterol 및 β -sitosterol 함량이 비교적 고르게 함유되어 있는 반면, PS의 경우 β -sitosterol만 함유(23.02 mg/100 g)되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 비율 별로 합성된 저 트랜스 유지의 결과를 살펴보면(Table 7), β -sitosterol이 campesterol과 stigmasterol에 비해 높게 측정되었음을 확인할 수 있었고, 팜스테아린의 함량이 낮은 비율일수록 β -sitosterol을 비롯해 campesterol과 stigmasterol 함량이 높게 측정되었다.

한편, 비율 별로 합성된 고체지들의 총 phytosterol 함량은 전체적으로 182.48~269.07 mg/100 g 사이의 다양한 수치를 보였다. 그 중 팜스테아린의 함량이 낮은 1:2:0.3과 1:2:0.6 및 1:2:0.9에서 265.64~269.07 mg/100 g로 나타났고, 팜스테

아린의 함량이 높은 1:4:0.5와 1:4:1 및 1:4:1.5에서 182.48~189.08 mg/100 g로 나타났다.

요 약

미강유, 팜스테아린 및 고올레인산 해바라기씨유의 효소적 interesterification을 통하여 저트랜스 유지를 합성하였고, 합성 시 *Thermomyces lanuginose*로부터 획득된 TLIM 효소를 이용하였다. 반응 기질의 비율에 따라 합성된 저트랜스 유지의 solid fat content(SFC)를 살펴본 결과, 전체적으로 고올레인산 해바라기씨유의 비율이 높아질수록 각 온도에 해당하는 SFC는 감소하는 경향을 보인 반면, 팜스테아린의 비율이 높아질수록 SFC는 증가하는 경향을 보였다. DSC를 통한 흡열 및 발열 곡선 분석결과, 팜스테아린의 함량이 높아질수록 피크가 높은 온도 쪽으로 이동하는 것을 확인할 수 있었다. 저트랜스 유지의 지방산 조성을 살펴본 결과, palmitic acid(C16:0), oleic acid(C18:1), linoleic acid(C18:2)가 주요 지방산들로써 전체 지방산 조성의 90% 이상을 차지하고 있었고, 총 트랜스지방산은 비율별로 0.5 area%의 수치를 보이며, 1% 미만의 낮은 함량을 보였다. Triacylglycerol (TAG) 조성을 reverse-phase HPLC를 이용하여 분석한 결과, 주요 TAG 조성은 OOL, PLO, PLP, OOO, POO, POP, POS 등으로 측정되었으며, 그 중 PLO와 POO 및 POP가 전체 조성의 50% 이상을 차지하였다. 한편, 여러 비율별로 합성된 저트랜스 유지의 총 tocopherol은 6.94~11.83 mg/100 g의 함량을 보였고, oryzanol은 0.18~0.49 mg/100 g의 함량을 보였으며, phytosterol 함량은 전체적으로 182.48~269.07 mg/100 g 사이의 다양한 수치를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 2008년도 식품의약품안전청 용역연구개발사업

Table 7. Phytosterol contents of RBO¹⁾, PS²⁾, HO³⁾ and low trans fat from different substrate ratios

RBO:PS:HO (w/w/w)	Phytosterol (mg/100 g)			
	Campesterol	Stigmasterol	β -Sitosterol	Total
RBO	143.79	100.52	438.88	683.21
PS	nd	nd ⁴⁾	23.02	23.02
HO	19.84	19.37	160.46	199.67
1:2:0.3	51.21	37.06	177.37	265.64
1:2:0.6	52.10	34.28	179.31	265.69
1:2:0.9	52.02	38.06	178.99	269.07
1:3:0.4	47.99	32.44	155.69	236.12
1:3:0.8	42.86	31.72	150.82	225.40
1:3:1.2	36.94	22.26	147.37	206.57
1:4:0.5	37.12	24.29	127.67	189.08
1:4:1	34.76	22.51	125.21	182.48
1:4:1.5	32.88	23.42	126.93	183.23

¹⁾RBO: Rice bran oil.

²⁾PS: Palm stearin.

³⁾HO: High oleic sunflower seed oil.

⁴⁾nd: not detect.

의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

1. Woo KM, Lee YS, Kim YH. 2007. Effect of dietary tocotrienol extracted from rice bran on hematological and histological changes of the mouse. *Korean J Plant Res* 20: 104-112.
2. De Deckere EA, Korver O. 1996. Minor constituents of rice bran oil as functional foods. *Nutr Rev* 54: s120-s126.
3. Sharma RD. 1980. Effect of hydroxy acids on hypercholesterolemia in rats. *Atherosclerosis* 37: 463-468.
4. Seetharamaiah GS, Chandrasekhara N. 1993. Comparative hypocholesterolemic activities of oryzanol, curcumin and ferulic acid in rats. *J Food Sci Technol* 30: 249-252.
5. Cheruvanky R, Thummala RC. 1991. Nutritional and biochemical aspects of the hypolipidemic action of rice bran oil: a review. *J Am Coll Nutr* 10: 593-601.
6. Lee JH. 1987. Characteristics and utilization of rice bran oil. *The Kor Oil Chem Soc* 4: 1-6.
7. Okada T, Yamaguchi N. 1983. Antioxidant effect and pharmacology of oryzanol. *Yukagaku* 32: 305-310.
8. Ishitani A. 1980. Oryzanol antioxidant for food. *Japan Kokai Tokkyo Koh JP* 80 50 094 (C.A-93:112560).
9. Shapiro S. 1997. Do *trans* fatty acids increase the risk of coronary artery disease? A critique of the epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr* 66: 1011-1017.
10. Kim CH, Won MS, Song YS. 2002. Effect of *trans* fatty acid containing fats on cholesterol metabolism and hepatic membrane fluidity in rats. *Korean J Life Sci* 12: 769-779.
11. Lichtenstein AH. 1998. *Trans* fatty acid and blood lipid levels, Lp(a), parameters of cholesterol metabolism and hemostatic factors. *J Nutr Biochem* 9: 244-248.
12. Lee KT, Akoh CC. 1998. Structure lipids: synthesis and applications. *Food Rev Int* 14: 17-34.
13. Lee KT, Foglia TA, Lee JH. 2005. Low-calorie fat substitutes: synthesis and analysis. In *Handbook of industrial biocatalysis*. Hou CT, ed. CRC Press, FL, USA. Vol 16, p 1-19.
14. Farmani J, Hamed M, Safari M, Madadlou A. 2007. *Trans*-free iranian vanaspati through enzymatic and chemical transesterification of triple blends of fully hydrogenated soybean, rapeseed and sunflower oils. *Food Chem* 102: 827-833.
15. Karabulut I, Turan S, Ergin G. 2004. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. *Eur Food Res Tech* 218: 224-229.
16. Zhang H, Pedersen LS, Kristensen D, Adler-Nissen J, Holm HC. 2004. Modification of margarine fats by enzymatic interesterification: evaluation of a solid-fat-content-based exponential model with two groups of oil blends. *J Am Oil Chem Soc* 81: 653-658.
17. Lee KT, Akoh CC. 1997. Effects of selected substrate forms on the synthesis of structured lipids by two immobilized lipases. *J Am Oil Chem Soc* 74: 579-584.
18. Kim IH, Kim H, Lee KT, Chung SH, Ko SN. 2002. Lipase-catalyzed acidolysis of perilla oil with caprylic acid to produce structured lipids. *J Am Oil Chem Soc* 79: 363-367.
19. Lee KT, Akoh CC. 1998. Characterization of enzymatically synthesized structured lipids containing eicosapentaenoic, docosahexaenoic acid, and caprylic acids. *J Am Oil Chem Soc* 75: 495-499.
20. Lee KT, Foglia TA. 2000. Synthesis, purification and characterization of structured lipids produced from chicken fat. *J Am Oil Chem Soc* 77: 1027-1034.
21. 식품의약품안전청. 2007. 식품 등 기준규격미설정 물질의 시험방법. 식품의약품안전청고시 제2007-10호.
22. 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.
23. Nam HY, Lee KT. 2008. Enzymatic synthesis of low-*trans* fats containing conjugated linoleic acids and their physicochemical characteristics. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 752-760.
24. Park RK, Lee KT. 2003. Optimization for the phytosterol extraction and production of structured lipids from safflower seed. *Kor J Food Preserv* 10: 219-223.

(2009년 1월 8일 접수; 2009년 3월 23일 채택)