

최 종  
연구보고서

# 신공정에 의한 체지방감소 지질소재의 생산

A Study on the Production of Body-Fat Reducing  
Lipid Materials by Novel Process

연 구 기 관  
한 국 식 품 개 발 연 구 원

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “신공정에 의한 체지방감소 지질소재의 생산” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2002년 11월 일

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원

총괄연구책임자 : 윤 석 후

연구원 : 권 대 영

협동연구기관명 : 우석대학교

협동연구책임자 : 정 문 응

연구원 : 정 미 옥

협동연구기관명 : (주)웰가

협동연구책임자 : 박 준 권

연구원 : 최 섭 규

# 요 약 문

## I. 제 목

신공정에 의한 체지방감소 지질소재의 생산

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

공액 리놀레산 (Conjugated linoleic acid, CLA)은 체지방 감소, 항암성, 성장 촉진, 항동맥경화, 콜레스테롤 감소, 항당뇨 등의 활성을 가지고 있는 것으로 판명되면서 전 세계적으로 활발히 연구가 진행되고 있으며, 일부 제품의 상업적인 생산도 이루어지고 있다.

이렇듯 다양한 생리적 기능성을 갖는 CLA를 생산하는 기술은 현재 두 가지로 알려져 있다. 첫 번째 방법은 리놀레산 (linoleic acid)을 다량 함유하는 잇꽃씨 기름 등에 NaOH를 가한 후 200℃ 정도의 높은 온도에서 반응시키는 알칼리 이성화법 (alkali isomerization) 이다. 이 방법은 수율이 비교적 높으나 고온 반응 도중 유지의 트리글리세리드가 가수분해되므로 유리지방산 형태의 CLA가 생산되게 된다. 다른 방법은 혐기성 미생물을 이용하여 미생물이 증식할 때 생산하는 리놀레산 이성화효소 (linoleic acid isomerase)가 기질인 리놀레산을 이성화 시켜서 CLA를 생산하는 방법이다. 발효에 의한 방법은 주로 소의 장내 세균들로부터 분리된 미생물을 사용하며, 이들 미생물은 유리지방산 형태의 리놀레산만을 선택적으로 이성화 시키는 선택성을 갖고 있기 때문에, 트리글리세리드 상태인 유지는 반응기질로 이용되지 못하고 따라서 생성물도 유리지방산 형태로 밖에는 얻을 수가 없다.

따라서 현재 사용되는 두 가지 기술로 생성된 유리지방산 형태의 CLA를 식품 및 식품 첨가물로 사용할 경우 트리글리세리드 형태로 다시 합성해야만 하는데, 이 합성공정은 고비용이며 기술적으로도 어려워 많은 생산자들은 합성 공정이 필요없는 새로운 공정의 개발을 고대하여 왔다.

전술한 바와 같이 CLA 합성 공정은 기술적으로 어려우며 따라서 고비용을 수반하게 된다. 따라서 고비용 공정인 합성공정을 생략할 수 있는 새로운 공정이 개발되면 생산원가를 대폭 낮출 수 있고, 새로운 공정으로 생산된 제품은 강력한 가격 경쟁력을 가질 수 있으므로 세계 시장에서 독점적 생산자의 위치에 서게 되어 유리한 위치를 차지할 수 있다.

또한 여러 가지 질병에 대하여 예방 효과가 있으며 인체에 건강을 부여하는 CLA를 효율적으로 생산하여 경제적인 가격에 공급함으로써 인류의 건강을 증진시켜 건강한 삶을 살 수 있도록 하는데 사회적, 문화적으로도 큰 의미를 갖는다 하겠다.

현재 CLA 생산에 사용되는 두 가지 기술은 유리지방산 형태의 CLA 밖에는 생산할 수 없다. CLA를 식품 및 식품 첨가물로 사용할 경우 다시 트리글리세리드 형태로 합성해야만 하는데, 이 합성공정은 고비용이며 기술적으로도 어려워 많은 생산자들은 합성 공정이 없는 새로운 공정의 개발을 고대하여 왔다.

최근 본 연구팀은 식물성 기름의 경화 공정 (수소첨가공정) 중에 다량의 CLA가 생성되는 것을 세계 최초로 발견하여 해외 학술지 (J. Agricul. Food Chem., 1999)에 발표하였다. 이 새로운 공정은 CLA를 유리지방산의 형태가 아닌 트리글리세리드의 형태로 생산함으로써 고비용의 재합성 공정이 필요 없는 공정이다. 공정의 조건에 따라서 생산되는 CLA의 종류와 양은 변화하였으며, 반응 초기에는 반응시간이 진행되면서 CLA의 양은 증가하다가, 일정시간이 지나면서 다시 CLA의 양이 감소하는 양상을 보였는데, 경화대두유 중에 함유된 총 CLA의 양은 최고 98mg/g oil로써, 자연계 식품 중

에 CLA를 가장 많이 함유하고 있는 버터 (4mg/g oil)보다 약 25배에 가까운 매우 높은 함량을 보였다.

반추동물의 위에 존재하는 미생물군 (rumen bacteria)에 의해서 이루어지는 생화학적 수소첨가반응에서도 중간생산물로 CLA가 생성되나 반응효율은 지극히 낮으므로 산업화하는 데에는 많은 연구가 수반되어야 한다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. 연구개발의 목표

본 연구는 기존의 CLA 생산 방법인 alkaline isomerization 이나 linoleic acid isomerase 법보다 생산 효율이 약 25배 가량 높고 공정 비용도 매우 낮으며, 고비용의 재합성 공정이 필요 없는 새로운 CLA 함유 유지 생산기술을 개발하고 CLA 함유 유지의 농축기술과 이를 이용한 제품을 개발하는 것이 목표이다. 세부적인 연구 내용은 아래와 같다.

#### 2. 연구개발 내용

##### 가. CLA 다량 함유 유지 생산을 위한 수소첨가공정의 최적화

본 연구팀이 최초로 규명한 개발한 CLA 다량 함유 유지의 생산을 위한 상업적 수소첨가공정을 이용하여 트랜스지방산의 생성을 최소화하면서 CLA대두유, CLA면실유, CLA잇꽃씨기름, CLA미강유 등을 대량 생산하는 조건을 최적화한다.

#### 나. CLA 함유 유지 농축기술 개발

새로운 공정으로 생산된 CLA 다량 함유 유지를 다른 식품의 첨가물로 이용하기 위해서는 CLA 함유 유지를 농축할 필요가 있다. 이를 위하여 기존의 유기용매에 의한 추출, 초임계 유체 추출 등을 이용하여 CLA 함유 유지를 농축한다. 농축기술은 CLA 함유 유지의 대량 생산을 위해서는 필수적으로 확립되어야 한다.

#### 다. CLA함유 기능성 유지식품 개발

CLA가 다량 함유된 유지를 생산되면 이 유지를 이용하여 각종 CLA 함유 유지제품을 개발하고 안정화 기술을 개발한다. 제품의 종류에는 CLA 함유 조리유, 살라드유, 라면, 마가린, 쇼트닝, 제과, 제빵, 아이스크림 등이 포함되는데, 기존의 방법으로 생산되는 CLA 함유 제품보다 비용이 절약되고 생산성이 높으며 제조공정도 단순화될 것으로 사료된다.

### 3. 연구개발 범위

가. 수소첨가공정을 이용한 CLA 다량 함유 유지 (리놀레산을 다량 함유한 국내산 및 수입 식용유지)의 생산

- 1) 촉매의 선택 - 선택경화용 Ni 촉매 및 비선택경화용 Ni촉매 이용
- 2) 경화온도 - 100 ~ 250℃의 온도에서 CLA 생성정도 측정
- 3) 수소압력 - 0.1 ~ 4.0 kg/cm<sup>2</sup>의 범위 내에서 행한다.
- 4) 교반속도 - 500 ~ 3000 rpm에서 변환
- 5) 반응시간 - 반응시간 30분 단위로 시료 채취하여 CLA 생성 정도 확인

- 6) 반응조건을 달리 했을 때 생성되는 총CLA함량 및 individual CLA의 정성 및 정량 측정 - Gas Chromatography를 이용하여 생성되는 총 CLA 함량 및 각각의 CLA 이성체 함량을 측정
- 7) 경화조건에 따른 트랜스지방산 함량 및 경화 정도 측정 - Gas Chromatography, RI, FTIR을 이용하여 경화유의 트랜스지방산 함량, 굴절률, 요오드가 측정, 트랜스 지방산 함량 조절방법
- 8) 반응시간 및 반응조건을 달리한 고기능 CLA유지의 산화안정성 측정 - 반응시간과 반응 조건을 달리하여 생산된 CLA유지들의 산화안정성을 측정하기 위하여 60℃의 oven에서 저장하면서 유지의 과산화물가 측정, Gas Chromatography를 이용하여 Headspace Oxygen 소모율 측정

#### 나. CLA 함유 유지 농축기술 개발

- 1) 추출 용매, 온도, 추출시간, 교반정도 등 추출조건의 변화 후 농축 정도 측정
- 2) 초임계 유체 추출시 추출온도에 따른 CLA 농축의 최적 추출조건 - 추출온도에 따른 초임계 유체 추출에서의 CLA 농축 및 농축된 CLA의 분석
- 3) 추출압력에 따른 CLA 농축의 최적 추출조건 - 추출압력에 따른 초임계 유체 추출에 의한 CLA의 농축 및 농축된 CLA의 분석
- 4) 최대 CLA 수율을 얻기 위한 최적 추출조건의 확립 - 추출온도와 추출 압력의 변화에 따른 최대 CLA 농축 및 CLA 최대 수율의 최적 추출조건의 확립

#### 다. CLA 함유 기능성 유지식품 개발

CLA는 항암활성, 성장촉진효과, 항동맥경화활성, 콜레스테롤 감소효과, 항당뇨활성 가지고 있으므로 이를 이용하여 여러 가지 유지식품의 개발에 활용한다. 농축된 CLA를 함유한 유지는 고농도로 사용하지 않고 인체에 적당한 농도나 자연계에 존재하는 수준으로 희석하여 사용한다.

- 1) CLA 함유 유지의 산화 안정성 측정 - 산가, 과산화물가, 휘발성 물질 등으로 산화 안정성 측정
- 2) CLA 함유 유지를 이용한 고기능성 식품제조 - CLA 쇼트닝, CLA 마아가린, CLA 쇼트닝을 재료로 이용한 빵과 비스킷 제조
- 3) CLA함유 기능성 유지식품의 산화안정성 증진 방안 연구 - 생산된 각종 제품의 산화안정성 향상기술 개발

#### IV. 연구개발 결과

수소경화공정 중 선택적 촉매가 비선택적 촉매보다 경화유중의 CLA생성에 월등히 효과적이었다. 수소첨가공정에서 CLA생산을 극대화하기 위한 최적공정을 찾아내었다. 이러한 공정조건에서 촉매양의 증가, 수소압력의 감소, 교반속도의 감소, 반응온도의 증가시키게되면 CLA생산량의 증가를 이룰 수 있게된다. 즉 Gas-Liquid Mass Transfer Limitation 조건하에서 경화유중의 CLA생성이 극대화된다는 사실을 밝혀내었다. 이들 최적조건하에서 최대 25%함량의 CLA를 함유한 대두유, 면실유 및 옥배유를 얻을 수 있었으며, 이는 기존에 알려진 선택적경화유 중의 CLA함량 10%에 비하여 2.5배의



CLA함량증가를 얻었음을 의미한다.

알콜에 의한 촉매전이수소첨가 기술에 의하여 다량의 CLA를 생산할 수 있다는 사실을 최초로 밝혀내었다. 그리고 이 기술에 의하여 생산된 유지중의 CLA함량은 약 21%에 달하였다. 이는 폭발위험성이 큰 수소가 아닌 알콜에 의하여 안전하게 CLA함유유지를 생산할 수 있는 기술의 개발을 의미한다.

CLA를 다량 함유한 경화유지들은 자동산화안정성이 일반유지에 비하여 현저히 떨어지는 것으로 나타났으나, 광산화안정성은 오히려 일반유지에 비하여 높게 나타났다.

경화유지중의 CLA함량과 Refractive Index를 비교한 실험에서 두 값 사이의 상관계수  $r^2$ 값이 0.91-0.98정도 임을 밝혀내었다. 이는 1-2분 이내에 측정할 수 있는 RI값을 이용하여 현장에서 실시간 CLA함량을 분석할 수 있는 기술을 최초로 개발한 것이다.

CLA함유유지의 solid fat content, melting points, DSC 특성등을 조사한 결과 상온에서 유동성을 갖고, 고체지를 약 5%정도 함유한 물리적 특성을 갖는 것으로 나타났다. 이들 CLA함유유지를 winterization기술을 이용하여 액체상의 CLA함유유지와, 고체상의 CLA함유유지로 분리하여 얻은 결과, 이들 유지는 각각 완전한 액상 및 반고상의 특성을 갖는 것으로 나타났으며, 이들 액상 및 고상유지 모두 CLA함량에는 모두 동일한 정도의 CLA (23%)를 갖는 것으로 나타났다. 따라서 이들 유지는 각각 CLA를 다량 함유한 salad유지 및 margarine base로 사용이 가능하다.

부분경화 대두유를 10%의 농도로 acetone에 용해시켜 5°C, -20°C, -70°C의 온도에서 multi-step 분획법으로 얻은 획분의 경우에도 CLA의 최고 함량은 30.7%로 나타났다.

실험된 결과들을 고려할 때 CLA 추출은 추출온도에 의한 영향이 미미하며, 추출압력에 대한 영향은 낮은 압력에서는 크지만 3,000 psi 이상의 추출압력에서는 큰 차이를 보이지 않음을 알 수 있었다. 그러나 이러한 추출조건에서 충분한 CLA 농축의 효과를

보이고 있지 않음으로 현 단계의 추출을 보완할 수 있는 보조적인 방법으로 보조용매로써 에탄올을 3%(w/w) 첨가하여 추출하는 방식을 실행하였다. 이는 보완적인 보조 방법으로 가장 쉽게 접근할 수 있는 방법은 보조용매의 사용이기 때문이었다. 보조용매의 사용은 용질 전체의 용해도를 크게 증가시킨다는 점에서 보조용매의 사용이 없었던 추출에 비하여 추출량을 획기적으로 증가시킬 수 있을 것으로 생각하였다. 그러나 보조용매로 에탄올을 사용하였음에도 불구하고 CLA의 농축율은 획기적으로 증진되지는 않았다. 이는 사용될 수 있는 보조 용매의 종류는 무수히 많지만 식품의 경우에는 추출 후 제품의 안전성을 고려할 때, 물이나 에탄올과 같은 몇몇 종류의 보조용매로 한정된다는 점에서 한계를 가지고 있다. 이론적인 보조용매의 선택 방법은 용매인 초임계 이산화탄소의 용해도와 용질의 용해도 사이의 가장 중간적인 용해도를 갖는 보조용매를 선택함으로써 용해도를 증가시키는 것으로 되어 있으나 보조용매의 선택의 제한으로 말미암아 추출량 증진이, 특히 CLA의 농축에는 큰 영향을 미치지 않은 것으로 보인다. 이를 해결하기 위한 방법으로는 현재 CLA의 추출이 주로 후반부에 이루어진다는 점을 감안하면 흡착제(adsorbent)의 이용도 검토 가능한 방법이 될 것이다.

원래 흡착제의 이용은 서로 다른 성질을 갖는 화합물에서 흡착제에 친화적인 물질과 비친화적인 물질의 분리에 주로 사용이 되고 있다. 그러나 유지에 흡착제를 사용할 경우 지방산의 흡착제에 대한 친화력은 거의 비슷하므로 추출 초기에 빨리 추출이 이루어지는 저분자량의 지방산이 흡착제에 주로 흡착이 될 것으로 보인다. 따라서 흡착제가 포화된 이후에 추출이 이루어지는 CLA와 같은 고분자량의 지방산은 흡착제에 대한 영향이 별로 없이 추출이 이루어 질 것으로 생각하여, 흡착제의 사용도 하나의 방법이 될 것이다. 하지만 흡착제를 사용하기 위해서는 사용 가능한 흡착제의 종류 및 양(농도) 등을 결정해야 하는 부가적인 실험이 병행되어야 하는 어려움이 따른다.

또 다른 방법으로는 보조용매 사용 시 온도에 의한 영향에서 일부 언급했듯이, 보조

용매 사용으로 전체적인 추출량에서는 급격하게 증가하는 것을 보이지만 CLA 추출량에 있어서는 급격한 증가가 이루어지지 않았으며, 오히려 잔류물의 CLA 함량이 증가하는 것을 이용하여 2단 추출을 행해야 할 것으로 생각된다. 이는 CLA가 초임계 이산화탄소에 대하여 낮은 용해도를 보이는 것을 이용하여, 1차로 보조용매를 이용한 추출을 통하여 저분자 지방산의 많은 양을 뽑아내고 남은 잔류물을 모아서 2차로 재추출을 하여 남아있는 저분자 지방산을 없애므로써 잔류물 쪽에 CLA가 더욱 농축될 것으로 보이므로 이를 이용하는 방법을 모색해 보는 것이 좋을 것으로 생각된다.

부분경화 대두유, 홍화유, 면실유의 저장 기간중 산가의 변화는 유종에 따라 거의 변화가 없었으나, 대두유가 다른 유종에 비해 우수하게 나타났다. 대두유, 홍화유, 면실유의 저장 기간 중 과산화물가는 저장 3개월 후부터는 변화가 완화되었다. Rancimat 방법으로 측정된 유지의 산화안정성은 대두유가 가장 우수하였다.

대두유를 수소경화하여 요오드가 113인 부분경화유를 사용하여 콤비네이터로 마아가린을 제조하였다. 마아가린 제품의 일반적인 성상과 분석치는 다른 액체유를 사용하여 제조하였을 때와 유의적인 차이는 없었다.

대두유를 수소경화하여 얻은 부분경화유(IV, 113)를 사용하여 콤비네이터를 사용하여 쇼트닝을 제조하였다. 쇼트닝 제품의 일반적인 성상과 분석치는 성상과 분석치는 다른 액체유를 사용하여 제조하였을 때와 유의적인 차이는 없었다.

CLA 유지를 함유한 마아가린을 이용하여 페스트리를 제조하여 분석한 결과, 1차 롤링성과 2차 롤링성, 발효상태, Oven 특성 및 관능 특성에서 모두 양호하게 나타나 CLA 유지는 페스트리 제조에 사용할 수 있다는 결과를 얻었다.

Fryer에서 CLA 함유 부분경화 식물유를 튀김유로 사용하여 감자를 튀긴 후 산가 및 과산화물가, 발연점 변화를 측정된 결과, 대두경화유가 팜유, 팜오레인보다 산패정도가 느려 오래도록 신선한 튀김물을 얻을 수 있을 뿐만 아니라 발연점이 높아 쾌적한

작업환경을 유지할 수 있었다. 또한 관능테스트 결과 대두경화유를 사용함으로써 튀김 물이 바삭바삭한 양호한 식감과 부드럽고 후레쉬한 풍미를 가지는 반면에 팜유, 팜오레 인은 식감이 뒤떨어지고 약간은 매운 맛이 남는 것으로 나타났다.

결론적으로 식물성유지의 경화공정 (수소첨가공정) 중에 생성되는 CLA를 이용하여 기능성을 강조한 튀김유, 마아가린, 쇼트닝의 제조에 적용하였다. 마아가린, 쇼트닝, 튀김유 제조에 있어서 CLA함유 유지를 이용 시 큰 어려움은 없었으며, 산화안정성에 있어서는 기존의 일반 유지보다 더 우수함을 알 수 있었다.

#### V. 연구개발 결과의 활용에 대한 건의

CLA의 기능성 연구는 이를 이용한 건강보조식품들이 이미 상업화되어 있는 미국, 일본 등 기술 선진국에서 더욱 빠르게 진행될 것이다.

최근 국내에서도 CLA 강화 우유가 상업화되었고, 연구계에서는 CLA강화 돼지고기 및 계란의 실험실적인 개발이 이루어지고 있다. 이러한 CLA의 기능성은 추후 이를 이용한 신제품의 개발로 이어질 것으로 사료된다. 특히 기능성을 강조한 조리유, 살라드유, 라면, 마가린, 쇼트닝, 제과, 제빵, 아이스크림 등에의 적용이 예상된다.

## SUMMARY

Conjugated linoleic acids (CLA) are a group of naturally occurring isomers of linoleic acid containing a conjugated double bond system. CLA have been recognized for their ability to prevent or cure cancer, atherosclerosis, and Type II diabetes (NIDDM). It also has been reported that CLA are involved in the regulation of cytokines production, resulting in muscle and bone strengthening activity. Fat partitioning activity of CLA also has been reported, resulting in fat reduction in pigs and humans.

CLA are abundant in dairy products and meats from ruminant animals. It were originally reported high levels of CLA in cheeses and milk, and reported that dairy products (milk, butter, cheese, and yogurt), and meats from ruminant animals contained large quantities of CLA (ca. 3 - 8mg total CLA/g fat). It was also reported that vegetable oils contained very low levels of CLA, ranging from 0.1mg CLA/g oil (coconut oil) to 0.7mg CLA/g oil (safflower oil).

It was found that cis-trans and trans-cis isomers of linoleic acid were present in hydrogenated soybean oil and margarine by means of capillary gas chromatography - matrix isolation - Fourier transfer infrared spectroscopy. It was carried out that series of HPLC/UV/MS analyses to characterize the fatty acids with conjugated dienes in a partially hydrogenated oil (mixture of partially hydrogenated soybean oil and palm oil). It was concluded that the partially hydrogenated oil contained conjugated linoleic acid isomers. It was also reported

that a partial hydrogenated vegetable oil contained 4.24mg total CLA/g oil, and it was studied conjugated linoleic acids formation during selective and nonselective hydrogenation processes, and was found that the large quantity of linoleic acids in soybean oil was formed during selective hydrogenation processes. It was also reported that the maximum CLA content produced in soybean oil was 98.277g, which was among the highest ever reported in foods. The hydrogenation is performed under various conditions to produce the hydrogenated oil with different physical and chemical properties. It has been generally known that the reaction conditions, especially hydrogenation temperature and agitation rate, greatly affect the types of fatty acid isomers formed in vegetable oils.

The objectives of this research were to determine the effects of different hydrogenation temperature and agitation rate, catalyst types, catalyst amount, hydrogen pressure, and oil species on the quantity of total CLA and CLA isomers in soybean oil during hydrogenation process.

The effects of hydrogen temperature and agitation rate on the formation of total CLA and CLA isomers were studied during hydrogenation with a selective Ni catalyst. The CLA isomers were identified by using a 100m cyano-capillary column gas chromatograph and a silver ion-impregnated HPLC. Reaction temperature and agitation rate greatly affected the quantities of total CLA and individual CLA isomers, and the time to reach the maximum quantity of CLA in the partially hydrogenated soybean oil. As the hydrogenation temperature increased, the maximum quantity of CLA in soybean oil increased, but the time to reach the maximum CLA content decreased. By increasing the hydrogenation

temperature from 170 to 210°C, the quantity of CLA obtained was about 2.6 times higher. As the agitation rate decreased, the CLA formation in soybean oil increased, and the time to reach the maximum CLA content also increased. The maximum CLA contents in soybean oil obtained during hydrogenation at 210°C with agitation rates of 300, 500, and 700rpm were 162.82, 108.62, and 76.15mg total CLA/g oil, respectively. The results showed that it is possible to produce high-CLA-content soybean oil without major modification of fatty acid composition by short-time (10min) selective hydrogenation under high temperature and low agitation rate conditions.

The effects of types and amount of catalysts, hydrogen pressure, and kinds of vegetable oils on the formation of CLA isomers were studied during hydrogenation. A selective catalyst (SP-7) produced a considerably higher content of CLA in soybean oil than nonselective catalysts. The maximal quantity of CLA produced in soybean oil during hydrogenation increased greatly with increasing amount of catalyst. By increasing the amount of selective catalyst from 0.05 to 0.3%, the quantity of total CLA obtained was about 1.9 times higher. Changes in hydrogen pressure also greatly influenced total CLA formed. By decreasing hydrogen pressure from 0.24 to 0.024 MPa, the quantity of CLA obtained was about 1.3 times higher. With different oil species (soybean, cottonseed, and corn oils), the time to reach the maximal quantity of CLA was different under the same hydrogenation conditions. However, the maximal quantity of CLA and proportion of CLA isomers formed were almost identical, regardless of oil species tested, under the same hydrogenation conditions.

Partially hydrogenated soybean oils solubilized in acetone at 10% level was settled down at 5, -20, and -70°C using multi-step fractional crystallization process to obtain oil containing high concentration CLA, and the maximum concentration observed was 30.7% whereas the original concentration was 24.6%.

The extraction and concentration of CLA in soybean oil using supercritical carbon dioxide was carried out. The effects of extraction temperature was not significant at higher extraction pressure at higher than 3,000psi. The additional concentration was resulted by addition of ethanol at 3% level into extraction solvent.

Partially hydrogenated soybean oils containing high CLA content showed the highest oxidation and storage stability in terms of acid value, peroxide value and induction period among safflower and cottonseed oils.

Partially hydrogenated soybean oils were successfully applied for the manufacture of shortening and margarine, and the margarine was used for pastry making without any differences compared with original margarine.

The potato chips fried in partially hydrogenated soybean oils containing high CLA content showed the satisfactory organoleptic evaluation results, and with respect to changes of acid value, peroxide value, and smoking point.



# 목 차

제 출 문 .....	1
요 약 문 .....	3
Summary .....	13
Contents .....	17
목 차 .....	19
제 1 장 서 론 .....	21
제 1 절 공액리놀레산의 체내에서의 역할 .....	21
제 2 절 CLTG 제조공정의 현황과 문제점 .....	24
제 3 절 연구의 목적과 범위 .....	26
제 2 장 실험재료 및 방법 .....	28
제 1 절 실험재료 .....	28
제 2 절 CLA와 CLTG의 생산 .....	28
제 3 절 CLTG의 농축 .....	31
제 4 절 CLA 함유 유지제품의 생산 .....	33
제 5 절 분석방법 .....	40
제 3 장 연구 결과 및 고찰 .....	47
제 1 절 CLA와 CLTG 생산공정 최적화 .....	47
제 2 절 CLA와 CLTG 유지의 농축 공정 .....	106
제 3 절 CLA 유지를 이용한 제품의 개발 .....	156
제 4 장 참고문헌 .....	173

여 백

# CONTENTS

Summary .....	13
Contents .....	17
I. Introduction .....	21
1. Role of CLA in human body .....	21
2. Current status of CLTG production process .....	24
3. Objectives .....	26
II. Materials and Methods .....	28
1. Materials .....	28
2. Production of CLA and CLTG .....	28
3. Concentration of CLTG .....	31
4. Production of food lipid products containing CLA .....	33
5. Analytical methods .....	40
III. Results and Discussion .....	47
1. Optimization of CLA and CLTG production process .....	47
2. Concentration of oils containing CLA and CLTG .....	106
3. Development of lipid foods containing CLA .....	156
IV. References .....	173

여 백

# 제 1 장 서 론

## 제 1 절 공액리놀레산(CLA, Conjugated linoleic acid)의 체내에서의 역할

### 1. CLA의 발견

최근들어 식품 중에 존재하는 천연 미량원소 및 비영양원소들 중 일반적으로 건강을 증진시키거나 암, 동맥경화증 및 노화관련질환을 억제시키는 물질에 대한 관심이 점차 고조되고 있다. 미국 위스콘신 대학의 Ha등(1987)은 fried ground beef로부터 항암성물질을 분리하여 동정하여, 공액리놀레산(conjugated linoleic acid, CLA)라는 새로운 항암물질을 밝혀낸 바 있다. CLA는 필수지방산인 linoleic acid의 입체 및 위치 이성체들로서, 9c,11t-, 9t,11c-, 10c,12t-, 10t, 12c-, 9t, 11t- 및 10t, 12t-linoleic acids등의 여러 이성체들을 의미한다. 그 외에, CLA는 성장촉진효과, 항동맥경화활성, 콜레스테롤 감소효과, 항당뇨활성 등이 있음이 발표되었다. 이러한 일련의 기능성을 요약해보면 다음과 같다.

### 2. CLA의 항암활성

미국 위스콘신 대학에서, 조리식품중의 돌연변이물질 생성에 관한 연구도중 fried ground beef로부터 추출한 추출물이 미생물의 돌연변이 억제효과를 가진다는 사실을 발견하게 되었다 (Pariza et al., 1989). 그후 7,12-dimethylbenz[a] anthracene (DMBA)으로 tumor를 유발한 2-stage mouse epidermal cacinogenesis model을 사용

하여 이들 추출물의 항암활성을 연구하였다 (Pariza and Hargraves, 1985). 이들 추출물의 항암성은 linoleic acid의 위치 및 입체이성체 들로서 공액이중결합을 두개 갖는 conjugated linoleic acids (CLA)임이 밝혀졌다 (Ha et al., 1987). CLA는 또한 BP로 유발시키는 전위 암의 발생을 현저히 억제하는 효과를 가진 것으로도 밝혀졌다 (Ha et al., 1990).

고농도(10mg)의 DMBA로 rat의 유방종양(mammary tumor)을 유발한 후 CLA에 의한 암의 anti-promotion 효과에 대한 연구 결과에 의하면 CLA가 유방암을 현격히 억제하는 효과가 있고, CLA 투여량을 증가할수록 유방암발생을 억제하는 효과가 크게 나타났다 (Ip et al, 1991). 발암기작이 다른 DMBA와 methylnitrosourea모두에 대하여 유도되는 유방암을 CLA가 억제하였다. 이것은 화학적 발암제의 종류에 관련성이 없는 메커니즘을 통하여 암발생을 억제한다는 것을 의미한다 (Ip et al, 1996).

Sultz등 (1992)은 CLA와  $\beta$ -carotene이 인간 (M21-HPB, malignant melanoma; HT-29, colorectal; MCF-7, breast) 암세포에 미치는 영향을 연구하였다. 이들 연구결과에 따르면, CLA를 이들 암세포들과 함께 배양할 경우 대조구에 비하여 암세포 증식을 현격히 감소 (18-100%)시켰다.

### 3. 항동맥경화효과

CLA는 동맥경화억제효과도 가지고 있는 것으로 알려져 있다 (Lee et al., 1994). 최근에 발표된 내용에 의하면 (Doyle, 1998), 동맥경화유발성 사료와 CLA를 함께 토끼에 투여한 경우가 CLA를 함유하지 않은 사료를 제공한 경우에 비하여 혈중 콜레스테롤 양은 줄어들지 않았으나, 대동맥 (aorta)의 동맥경화성 손상정도는 적었다고 발표하였다.

#### 4. 사료효율 및 체지방 감소효과

CLA가 가지는 또 다른 생화학적활성으로는 성장촉진 및 사료효율성증진효과이다. CLA는 mouse, rat 및 chicken에서 immune stimulation에 의해 유발된 catabolic response를 감소시킨다는 연구결과들이 보고된 바 있다 (Cook et al., 1993; Miller et al., 1994; Chin et al, 1994). 최근 인체를 대상으로 한 실험에서도, 20명의 건강한 자원자들에게 매일 3.6g의 CLA를 제공한 결과 3개월 후 체지방이 17% - 21.3% 정도 감소하였다 (Doyle, 1998).

#### 5. 글루코스-내성 증가효과

최근, Hoseknecht등 (1998)의 연구결과에 의하면, CLA는 인슐린-증감제 (insulin sensitizer)인 thiazolidinediones와 유사하게 간에서 PPAR $\gamma$ 를 활성화시키는 것으로 나타났다. 또한 CLA는 당뇨병에 걸린 ZDF rat의 손상된 글루코스내성 (impaired glucose tolerance)을 정상화시키는 역할과 hyperinsulinemia를 개선하는 효과가 있다고 발표하였다. 이 결과는 CLA가 NIDDM (인슐린 비의존성 당뇨병) 예방 및 치료에 이용될 수 있다는 중요한 사실을 밝혀낸 것이다.

#### 6. CLA의 함유 식품

CLA를 많이 함유하고 있는 식품들은 우유, 치즈, 버터 등의 낙농식품, 쇠고기 등의 반추동물의 살코기 등에 비교적 다량 함유되어있다(4-7mg/ g oil). 그밖에 가금류나 난류 등에도 적은 양 존재한다. 낙농식품 및 쇠고기에 함유된 CLA는 소의 반추동물에 서식하는 미생물들(*Butyrivibrio fibrisolens*, *Eubacterium Intum*)에 의하여 linoleic acid의 biohydrogenation 반응의 중간 산물로 생성된 후 소화기관에 흡수되어 우유 또는 식육 중에 함유되는 것으로 추정된다. 반추동물 중에는 어린 양고기 중에 다량 함유되

어 있고 (5.6mg/g fat), 송아지고기 (2.7mg/ g fat) 및 쇠고기 (2.9-4.3mg/g fat)중에도 상당량 함유되어 있다. 쇠고기 및 송아지고기에 함유된 CLA중 c-9, t-11이성체가 약 79-85%를 차지한다.

천연 cheese들 중에는 CLA가 약 2.9-7.1mg/g fat함유되어 있고, 가공치즈 중에도 4.5-5.2 mg/g fat함유되어 있다. 우유 중에는 5.4-7.0mg/g fat함유되어 있다 (Shantha et al., 1993; Shantha et al., 1995)

이렇듯 공액리놀레산은 체지방 감소, 항암성, 성장 촉진, 항동맥경화, 콜레스테롤 감소, 항당뇨 등의 활성을 가지고 있는 것으로 판명되면서 전 세계적으로 활발히 연구가 진행되고 있으며, 일부 제품의 상업적인 생산도 이루어지고 있다.

## 제 2 절 CLTG(Conjugated linoleic acid triglycerides) 제조

### 공정의 현황과 문제점

다양한 생리적 기능성을 갖는 CLA를 생산하는 기술은 현재 두 가지로 알려져 있다. 첫 번째 방법은 리놀레산 (linoleic acid)을 다량 함유하는 잇꽃씨 기름 등에 NaOH를 가한 후 200℃ 정도의 높은 온도에서 반응시키는 알칼리 이성화법 (alkali isomerization)이다. 이 방법은 수율이 비교적 높으나 고온 반응 도중 유지의 트리글리세리드가 가수분해되므로 유리지방산 형태의 CLA가 생산되게 된다.

다른 방법은 혐기성 미생물을 이용하여 미생물이 증식할 때 생산하는 리놀레산 이성화효소 (linoleic acid isomerase)가 기질인 리놀레산을 이성화 시켜서 CLA를 생산하는 방법이다. 발효에 의한 방법은 주로 소의 장내 세균들로부터 분리된 미생물을 사용하며, 이들 미생물은 유리지방산 형태의 리놀레산만을 선택적으로 이성화 시키는 선택



성을 갖고 있기 때문에, 트리글리세리드 상태인 유지는 반응기질로 이용되지 못하고 따라서 생성물도 유리지방산 형태로 밖에는 얻을 수가 없다.

따라서 현재 사용되는 두 가지 기술로 생성된 유리지방산 형태의 CLA를 식품 및 식품 첨가물로 사용할 경우 트리글리세리드 형태로 다시 합성해야만 하는데, 이 합성공정은 고비용이며 기술적으로도 어려워 많은 생산자들은 합성 공정이 필요없는 새로운 공정의 개발을 고대하여 왔다.

최근 본 연구팀은 식물성 기름의 경화 공정 (수소첨가공정) 중에 다량의 CLA가 생성되는 것을 세계 최초로 발견하여 해외 학술지 (J. Agricul. Food Chem., 1999)에 발표하였다. 이 새로운 공정은 CLA를 유리지방산의 형태가 아닌 트리글리세리드의 형태로 생산함으로써 고비용의 재합성 공정이 필요 없는 공정이다. 공정의 조건에 따라서 생산되는 CLA의 종류와 양은 변화하였으며, 반응 초기에는 반응시간이 진행되면서 CLA의 양은 증가하다가, 일정시간이 지나면서 다시 CLA의 양이 감소하는 양상을 보였는데, 경화대두유 중에 함유된 총 CLA의 양은 최고 98mg/g oil로써, 자연계 식품 중에 CLA를 가장 많이 함유하고 있는 버터 (4mg/g oil)보다 약 25배에 가까운 매우 높은 함량을 보였다. 추가 연구를 통하여 다양한 촉매와 반응조건 등을 최적화할 경우 더 많은 양의 CLA를 함유한 유지를 생산할 수 있을 것으로 확신한다. 반추동물의 위에 존재하는 미생물군 (rumen bacteria)에 의해서 이루어지는 생화학적 수소첨가반응에서도 중간생산물로 CLA가 생성되나 반응효율은 지극히 낮으므로 산업화하는 데에는 많은 연구가 수반되어야 한다.

### 제 3 절 연구의 목적과 범위

본 연구는 기존의 CLA 생산 방법인 alkaline isomerization 이나 linoleic acid isomerase 법보다 생산 효율이 약 25배 가량 높고 공정 비용도 매우 낮으며, 고비용의 재합성 공정이 필요 없는 새로운 CLA 함유 유지 생산기술을 개발하고 CLA 함유 유지의 농축기술과 이를 이용한 제품을 개발하는 것이 목표이다. 세부적인 연구 내용은 아래와 같다.

#### 1. CLA 다량 함유 유지 생산을 위한 수소첨가공정의 최적화

본 연구팀이 최초로 규명한 개발한 CLA 다량 함유 유지의 생산을 위한 상업적 수소첨가공정을 이용하여 트랜스지방산의 생성을 최소화하면서 CLA대두유, CLA면실유, CLA잇꽃씨기름, CLA미강유 등을 대량 생산하는 조건을 최적화한다.

#### 2. CLA 함유 유지 농축기술 개발

새로운 공정으로 생산된 CLA 다량 함유 유지를 다른 식품의 첨가물로 이용하기 위해서는 CLA 함유 유지를 농축할 필요가 있다. 이를 위하여 기존의 유기용매에 의한 추출, 초임계 유체 추출 등을 이용하여 CLA 함유 유지를 농축한다. 농축기술은 CLA 함유 유지의 대량 생산을 위해서는 필수적으로 확립되어야 한다.

#### 3. CLA함유 기능성 유지식품 개발

CLA가 다량 함유된 유지를 생산되면 이 유지를 이용하여 각종 CLA 함유 유지제품을 개발하고 안정화 기술을 개발한다. 제품의 종류에는 CLA 함유 조리유, 살라드

유, 라면, 마가린, 쇼트닝, 제과, 제빵, 아이스크림 등이 포함되는데, 기존의 방법으로 생산되는 CLA 함유 제품보다 비용이 절약되고 생산성이 높으며 제조공정도 단순화될 것으로 사료된다.

## 제 2 장 실험재료 및 방법

### 제 1 절 실험재료

모든 실험에 사용된 기름은 식용유지였으며 국내외 시장에서 구입하였다. 사용된 시약은 따로 명기하지 않은 한 모두 시약급이었다.

### 제 2 절 CLA와 CLTG의 생산

#### 1. 금속 촉매를 이용한 생산 공정

##### (1) 촉매별 활성 측정실험

5종의 니켈 촉매 (Nysosel-222, N-325, N-545, N-655, SP-7)을 이용하였다. 고압 반응조 (1L capacity)에 유지를 700g 넣고, 촉매와 수소를 첨가하는 조건하에서 고온에서 반응시키면서 일정한 간격마다 시료를 채취하였다. 촉매의 종류 (선택적 촉매 및 비선택적 촉매), 촉매의 양 (0.05 - 0.3%), 반응시간 (0 - 400 mim), 반응온도 (170-230°C), 수소압력 (0.25 - 2 kg/cm<sup>2</sup>), 및 교반속도 (300 - 700 rpm)을 달리하여 반응시키는 도중에 생성되는 CLA양을 측정하였다.

##### (2) 반응 온도별 CLA생성능력 연구실험

교반속도 및 수소압력을 고정한 상태에서 (agitation rate 500 rpm, H<sub>2</sub> pressure

0.5kg/cm<sub>2</sub>), 반응온도를 170, 190, 210°C등으로 달리하여 시간대별 CLA생성을 측정하는 실험을 행하였다.

(3) 교반 속도별 CLA생산능력 연구실험

반응온도 및 수소압력을 고정한 상태에서 (210°C, H<sub>2</sub> pressure 0.5kg/cm<sub>2</sub>), 교반속도를 300, 500, 700 rpm등 으로 달리하여 시간대별 CLA생성을 측정하는 실험을 행하였다.

(4) 수소압력별 CLA생산능력 연구실험

반응온도와 교반속도를 고정한 상태에서 (210°C, 500 rpm), 수소압력을 0.25, 0.5, 1.0 kg/cm<sup>2</sup> 으로 달리하여 수소경화시키면서 반응시간대별 CLA생성을 측정하였다.

(5) 촉매량의 변화에 따른 CLA생산능력 연구실험

반응온도, 교반속도, 수소압력을 고정한 상태에서, 촉매량을 0.1, 0.2, 0.3, 0.5%로 달리하였을 때 수소경화중에 총CLA 및 CLA 이성체들의 생성에 미치는 정도를 연구하였다.

(6) 여러 가지 식용유지를 이용한 CLA생성 연구

가장 반응성이 좋은 촉매 (SP-7)을 이용하여, 230°C, 300rpm, 0.25kg/cm<sup>2</sup> 압력 조건 하에서 면실유, 대두유, 옥배유를 수소경화하면서, 시간대별 CLA생성량을 측정하였다.

## 2. 알콜 전이촉매를 이용한 생산 공정

### (1) 알콜에 의한 촉매전이법에 의한 CLA생성

알콜을 이용하여 고온에서 촉매에 의하여 자체적으로 수소를 생산하여 경화시키는 “촉매전이수소경화반응”을 이용하여 CLA생산가능성 및 생산최적조건을 연구하였다. 고압반응조 (1L capacity)에 촉매의 종류별 (6종), 촉매량 (0.05 - 0.5%), 반응시간 (0-480 min), 알콜 종류 (methanol, ethanol, propanol, primary butanol, secondary butanol, tertiary butanol), 알콜양 (2.5 - 15%), 교반속도 (300 - 700 rpm), 반응온도 (190 - 230°C)를 달리하여 생산된 경화유 중에 함유된 CLA함량을 측정하여 CLA생산 최적조건을 찾는 실험을 행하였다. 또한 동일한 탄소수를 갖는 알콜 중 primary-, secondary- 및 tertiary 구조를 갖는 butanol을 처리하여 시간대별 CLA생성능력도 함께 비교하였다.

### (2) 알콜 농도별 CLA생산능력 연구실험

N-545를 촉매로 이용하고, 촉매량, 교반속도, 및 반응온도를 고정한 상태에서 (0.1%, 500rpm, 210°C) 교반속도를 ethanol양을 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 및 0.5%로 달리하여 시간대별 CLA생성을 측정하는 실험을 행하였다.

### (3) 교반속도별 CLA생산능력 연구실험

촉매로는 N-545를 이용하고, 알콜로는 ethanol을 이용하여, 반응온도, 알콜양, 촉매제 양을 고정한 상태에서 (210°C, 알콜량 2.5%, 촉매량 0.1%) 교반속도를 300, 500, 700rpm등으로 달리하여 경화시키면서 반응시간대별 CLA생성을 측정하는 실험을 행하였다.

#### (4) 반응 온도별 CLA 생성능력 연구 실험

촉매로는 N-545를 이용하고, 알콜로는 ethanol을 이용하여, 촉매량, 알콜량, 교반속도를 고정한 상태에서 (0.1%, 300rpm, 2.5% ethanol), 반응 온도를 190, 210, 230°C로 달리하여 시간대 별 CLA 생성을 측정하는 시험을 행하였다.

#### (5) 촉매량의 변화에 따른 CLA 생산능력 연구 실험

반응 온도, 교반속도, 알콜양 등을 고정한 상태에서(230°C, 500rpm, 2.5% ethanol), 아래의 그림은 촉매량(N-545)을 0.05%에서 0.5% 까지 증가하였을 때 총 CLA 생성의 변화 시간대 별로 측정하였다.

### 제 3 절 CLTG의 농축

#### 1. CLA TG의 분별결정법

Acetone을 용매로 하여 분별결정(fractional solvent crystallization)을 single-step, double-step, multi-step으로 나누어 실행하였다. 이 방법은 주로 트리글리세리드의 포화지방산 함량에 근거하여 분리가 수행되는데 single-step fractional crystallization (-70°C, -20°C, -10°C, 5°C), double-step fractional crystallization (-20°C liquid → -70°C), multi-step fractional crystallization (-70°C solid → -20°C solid → 5°C), (5°C liquid → -20°C liquid → -70°C)의 방법이 사용되었다.

Ag<sup>+</sup> 함유 유기용매 (AgNO<sub>3</sub>-saturated methanol/acetone = 70/30)를 사용하여 유지가 함유한 *cis* double bond의 수에 의해 분리되는 원리로서 double bond의  $\pi$ -electrone과 Ag<sup>+</sup> ion이 complex를 형성하게 되는 double-step fractional

crystallization (-20°C liquid → -70°C) 방법을 사용하였다.

## 2. 초임계 이산화탄소 추출을 이용한 CLA 유지의 농축

초임계 이산화탄소 추출을 이용하여 CLA 혼합물로부터 CLA를 농축하기 위한 초임계 유체 추출(supercritical fluid extraction)의 최적조건을 조사하였다. 초임계 유체 추출은 이산화탄소를 용매로 하여 실시하였으며, CLA를 용질로 하여 용해도를 측정하였다. 이와 함께 초임계 이산화탄소 추출 시 CLA의 용해도를 높이기 위하여 보조용매(entrainer)를 사용하였다. 보조용매로는 HPLC 용매용 에탄올(순도 99.9%, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하였다.

초임계 이산화탄소 추출에 이용된 장치는 추출조, 분리조 및 펌프로 구성되어 있으며 추출은 dynamic flow로 batch system으로 행하여졌다. 추출에 이용된 이산화탄소는 순도 99.9%의 공업용 이산화탄소(한국특수가스, 익산)를 사용하였으며, 펌프로 공급되기 전에 microfilter를 이용하여 불순물을 제거하였다. 이산화탄소의 가압에 이용된 펌프는 액체 펌프(M29723, Haskel Pump Co., USA)로서 이산화탄소를 적정압력까지 가압한 후에 항온수조를 통과하여 원하는 온도로 상승시켜 초임계 이산화탄소를 생산하였다. 실험에 이용된 추출조는 1 L 용량(Ilsin Engineering, 대전)이었으며, 분리조는 500 mL로 상온, 상압에서 분리가 이루어졌다.

CLA 혼합물 약 50g을 추출조에 넣고 정해진 추출조건에서 추출을 시행하였다. 추출조건은 추출온도와 추출압력을 변수로 하는 5 x 4 fractional design으로 실험설계하였다. 사용된 추출온도는 35, 40, 50, 60, 65°C이었으며, 사용된 추출압력은 1,500, 3,000, 4,500 및 6,000 psi이었다. 각 추출조건에서 분획에 따른 CLA 정제효과를 알아보기 위하여 사용된 이산화탄소 1000 L당 하나의 분획으로 하여 CLA의 함량을 분석하였다. 각 분획과 잔류물의 CLA 함량은 GC 분석을 통하여 구하였다.



### 3. 초임계유체 추출

초임계 이산화탄소 추출을 이용하여 CLA 혼합물로부터 CLA를 농축하기 위한 초임계유체 추출(supercritical fluid extraction)의 최적조건을 조사하였다. 초임계 유체 추출은 이산화탄소를 용매로 하여 실시하였으며, CLA를 용질로 하여 용해도를 측정하였다.

## 제 4 절 CLA 함유 유지제품의 생산

### 1. 마아가린 제조공정 및 조건

CLA유는 대두유를 수소경화하여 요오드가 113인 경화유를 사용하였다. 이는 액체유(대두유, 옥배유, 채종유, 면실유 등)의 물성과 유사하므로 액체유 대용으로 사용 가능하며, 콤비네이터로 마아가린을 제조하였다. 마아가린 제조 공정은 원료 선별, 계량, 유화, 급냉, 혼련, 충전, 포장, 숙성의 공정을 거쳐 제조하였다. 각 단계별 세부 내용은 다음과 같다.

- 원료 : 완전히 정제된 유지 및 부원료를 사용한다.
- 계량 : 배합비율에 따라 정확히 계량하여 유화조로 이송한다
- 유화 : 유화조에서 정제유지 및 부원료를 60 정도로 완전 용해시킨후 혼합하여 30 - 60분 정도 유화시킨다.
- 급냉 : 완전혼합된 원료를 콤비네이터 또는 퍼팩트로 16-18 정도로 급냉시킨다.
- 혼련 : 급냉된 상태의 원료를 미세하게 갈아주어 균질 연화시킨다.
- 충전 : 균질 연화된 원료를 포장단위에 따라 충전시킨다.

- 포장 : 충전된 제품을 포장한다.
- 숙성 : 완전포장된 제품을 일정기간 숙성시킨다.

마아가린 제조 시 원료의 배합비와 콤비네이터의 작업 조건은 Table 1과 2와 같다.

## 2. 쇼트닝 제조공정 및 조건

쇼트닝은 콤비네이터를 사용하여 제조하였는데 공정 조건은 유화조 온도 47℃, 펌프 압력 85kg/cm<sup>2</sup>, B unit 1,000rpm, 핀머신 1,000rpm, 출구온도 25℃. 폼온 23℃, 생산속도 2,000kg/hr, 보관온도 20℃이었다.

CLA유는 대두유를 수소경화하여 IV:113인 경화유를 사용하였다. 이는 액체유(대두유, 옥배유, 채종유, 면실유 등)의 물성과 유사하므로 액체유 대용으로 사용이 가능하였다. 각 단계별 세부 내용은 아래와 같다. 쇼트닝 제조 시 원료의 배합비와 콤비네이터의 작업 조건은 Table 3과 4와 같다.

- 원료 : 완전히 정제된 유지 및 부원료를 사용한다.
- 계량 : 배합비율에 따라 정확히 계량하여 유화조로 이송한다
- 급냉 : 완전혼합된 원료를 콤비네이터 또는 퍼펙트로 18-22 정도로 급냉시킨다.
- 혼련 : 급냉된 상태의 원료를 미세하게 갈아주어 균질 연화시킨다.
- 충전 : 균질 연화된 원료를 포장단위에 따라 충전시킨다.
- 포장 : 충전된 제품을 포장한다.
- 숙성 : 완전포장된 제품을 일정기간 숙성시킨다

## 3. 마아가린, 쇼트닝을 이용한 제과, 제빵 및 튀김 실험

### (1) CLA 유지의 제빵 실험

CLA 유지를 함유한 마아가린을 이용하여 Table 5와 같은 공정으로 페스트리 제빵

Table 1. 마아가린 제조 시 성분 배합비

성 분	성분비율(%)	비 고
정제가공유지	45.0	
식물성유지	20.0	
CLA유	20.0	IV:113
글리세린지방산에스텔	0.2	
레시틴	0.1	
베타카로틴	0.05	
버터향	0.1	
밀크향	0.1	
정제염	0.9	
배합수	13.55	

Table 2. 마아가린 제조 시 콤비네이터의 작업 조건

항 목	SPEC	최적 조건
유화조 온도(℃)	45-55	50
유화시간(min)	30-60	50
펌프압력(kg/cm <sup>2</sup> )	70min	90
B unit (R.P.M)	1,100-1,800	1,200
핀머신(R.P.M)	1,100-1,800	1,200
출구온도(℃)	16-26	21
폼온(℃)	16-26	20
생산속도(kg/hr)	1,800-2,200	2,000
보관온도(℃)	20℃ 참고	20℃ 참고

Table 3. 쇼트닝 제조 시 성분 배합비

성 분	성분비율(%)	비 고
정제가공유지	85.0	
CLA유	15.0	IV:113

Table 4. 쇼트닝 제조 시 콤비네이터의 작업 조건

항 목	SPEC	최적 조건
유화조 온도(℃)	45-55	47
펌프압력(kg/cm <sup>2</sup> )	70min	85
B unit (R.P.M)	1,000-1,100	1,000
편머신(R.P.M)	1,000-1,100	1,000
출구온도(℃)	20-30	25
품온(℃)	20-30	23
생산속도(kg/hr)	2,300-3,000	2,000
보관온도(℃)	20℃ 참고	20℃ 참고

Table 5. 마아가린을 이용한 페스트리의 제빵성 실험

---

구 분
유 지 품 온(℃)
1차 롤링 시 생지 품온(℃)
1차 롤링성
2차롤링성
발효 상태
OVEN
관능 특성 (panel : 8명)

---

실험을 행하였다.

## (2) CLA 유지의 튀김실험

Fryer에 4kg의 oil을 넣고 140℃에서 매일 감자 1.0kg씩 튀긴 후 분석 후 산가 및 과산화물가, 발연점 변화를 측정하였다. 또한 튀김 감자의 관능검사를 실시하였다 (Table 6).

## 제 5 절 분석방법

### 1. Silver Ion-High Performance Liquid Chromatography 및 Gas Chromatography를 이용한 CLA 동정

CLA의 정성 및 정량 분석을 위해 우선 sodium methoxide를 이용하여 methylation을 시킨후, Silver Ion-High Performance Liquid Chromatography를 실시하여 각각의 CLA peak를 분리하고 다시 이들 각 peak들을 fraction으로 분취하여 gas chromatography를 이용하여 각각의 지방산을 확인하는 방법으로 CLA를 동정하였다. Silver ion-HPLC에 사용한 column은 직렬로 연결한 3개의 분석용 silver-impregnated columns (ChromSpher 5 Lipids analytical silver impregnated column, 250 x 4.6 mm, i.d., 5um, Chrompack, Bridgewater, NJ, USA)이었다. 이동상은 0.1% acetonitrile in hexane을 사용하였고 UV detector를 이용하여 233 nm에서 CLA를 검출하였다. GC용 column은 극성이 매우높은 cyanosiloxane phase column (SP2380, 100 m x 0.25 mm id, 0.25 um thickness, Supelco)를 사용하였다. 검출은 FID검출기를 이용하였고, carrier gas로는 helium을 사용하였다.



Table 6. 관능검사 시 패널의 수

인원 \ 유종	대두경화유	팜유	팜오레인유
총 21명	11	6	4

## 2. Gas-Chromatography를 이용한 총 CLA 및 각 이성체들의 함량 분석

유지를 0.25N sodium methoxide와 함께 75°C에서 30분간 반응시켜 지방산메틸에스터를 합성한 후, 이 시료를 isooctane으로 추출하여 가스크로마토그래피 방법으로 정량 분석하였다. 이때 사용되는 column은 극성이 매우 높은 cyano capillary column을 이었으며, 이동상으로 헬륨을 사용하였다. 총 CLA 및 각각의 이성체들에 대한 정량계산은 각 peak의 면적을 구한 후 Shanta등의 방법에 의하였다.

즉 시료 내에 함유된 지방산과 Conjugated linoleic acid(CLA)의 함량은 AOCS Ce2-66 방법에 따라 추출된 지방을 14% BF<sub>3</sub>/MeOH로 메틸에스테르화 시킨 후 Gas Chromatograph(HP 5890 Series. II, Hewlett Packard Ltd., USA)로 분석하였다. 칼럼은 Supelcowax 10 fused silica capillary column(60m×0.25mm×0.25μm)을 사용하였으며 분석조건으로는 oven온도 220°C, injector온도 250°C, detector온도 250°C로 하였다. 운반기체는 He을 1ml/min 으로 하였고 split ratio을 100:1로 하였다. Gas Chromatography의 분석 후 각 지방산과 CLA의 peak들은 표준 지방산의 methyl ester의 머무름 시간과 비교하여 확인하였다. 각 지방산과 CLA의 함량은 동정된 각 peak의 면적을 구한 뒤 각각의 면적 비를 백분율로 나타내었다.

## 3. Triglycerides 분석조건 확립

시료 내에 함유된 triglyceride 형태의 Conjugated linoleic acid (CLA-TG)의 확인은 20μl injection loop가 장착된 HPLC Chromatograph(Jasco PU-980, Jasco International Co., Ltd., Japan)로 분석하였다. 칼럼은 ChromSpher 5 Lipids analytical (4.6mm i.d. ×25cm stainless steel ; 5μm particle size) silver-impregnated column(Chrompack, Bridgewater, NJ)을 사용하였으며 column의 온도는 30°C이었다. 이동상은 0.5%

acetonitrile in Hexane이었고 매일 사용 직전에 제조하여 사용하였고 유속은 1.0ml/min으로 하였다. Injection volume은 10 $\mu$ l이었으며 검출은 ultraviolet(233nm)과 refractive index detector를 동시에 사용하였다. HPLC Chromatography의 분석조건은 Table 3과 같으며 시료 중 CLA-TG의 함량은 백분율로 나타내었다 .

4. 유지의 경화도 측정    유지의 경화정도는 AOCS의 Official Method를 이용하여 요오드가를 측정하였고, 요오드가의 변화를 비교하여 경화속도를 측정하였다.

#### 5. 트랜스 지방산 함량측정

수소경화 중 트랜스 지방함량은 AOCS의 Official Method를 이용하여 분석하였다.

#### 6. 유지의 반응조건별 산화안정성 측정

교반속도, 반응속도를 일정하게 하고 (Agitation rate 500rpm, Reaction Temp 210°C), 수소압력을 0.25kg/cm<sup>2</sup>, 1.0kg/cm<sup>2</sup>, 1.5kg/cm<sup>2</sup> 으로 반응조건을 변화시켜 각 시료별 산화안정성을 측정하였다 (대두유, 홍화유, 면실유). 유지의 산화안정성은 산가 및 과산화물가로 측정하였다.

#### 7. 유지의 경화도 측정

유지의 경화정도는 AOCS의 Official Method(Cd 1c-85)를 이용하여 요오드가를 측정하였고, 요오드가의 변화를 비교하여 경화속도를 측정하였다.

#### 8. Scanning UV-Spectrophotometry

유지시료를 2,2,4-trimethyloctane에 용해한 후 200 - 300 nm UV 영역에서 스캔을

행하였다.

#### 9. $^1\text{H}$ NMR spectrophotometry

유지시료를  $\text{CDCl}_3$  용액 (TMS 0.33% 함유)에 용해시켜 시료로 사용하였다.  $^1\text{H}$  NMR은 JEOL 400 NMR spectrometer (JEOL, Tokyo, Japan)을 이용하여 400 MHz base frequency 하에서  $25^\circ\text{C}$ 에서 실행하였다. Proton resonance assignments는  $\text{CDCl}_3$ 에 함유된 TMS 값을 기준으로 chemical shift (ppm)에 근거하여 해석하였다.

#### 10. Melting Point Analysis

시료의 융점은 AOCS capillary tube법 (AOCS 1-25, AOCS, 1999)을 참조하여 행하였다.

#### 11. Refractive Index 측정

시료를 0.45  $\mu\text{m}$  filter를 이용하여 여과한 후,  $60^\circ\text{C}$ 로 조정된 refractometer에서 refractive index 값을 측정하였다.

#### 12. Differential Scanning Calorimetry

Differential scanning calorimetry는 AOCS recommended practice Cj 1-94 (AOCS, 1999) 방법에 의하여 행하였다. 초기  $80^\circ\text{C}$ 에서  $-40^\circ\text{C}$  까지 분당  $10^\circ\text{C}$ 의 속도로 등속감온한 후 다시  $-40^\circ\text{C}$ 에서  $80^\circ\text{C}$  까지 분당  $5^\circ\text{C}$ 의 속도로 등속승온하면서 결정화 개시 온도 및 결정용융개시 온도, 완전결정용융 온도 등을 조사하였다.

### 13. 자동산화안정성 측정을 위한 Accelerated Oven Test

유지시료를 serum bottles (Supelco)에 첨가한후 Teflon coated rubber septa 및 aluminum cap을 이용하여 기밀 밀봉한후, 60°C에서 6일간 저장하면서 상부공극의 산소소모량 및 과산화물가를 측정하여 유지시료의 자동산화안정성을 측정하였다.

### 14. 자동산화안정성 측정을 위한 Active Oxygen Method

유지시료의 자동산화안정성을 측정하기 위한 Active Oxygen Method는 AOCS Official Method Cd12-57 (AOCS, 1999) 를 참조하였으며, 산화속도가 급격히 상승하는데 까지 걸리는 시간(hr) 을 induction period (IP)로 하여 산화안정성정도를 측정하였다.

### 15. 광산화안정성 측정

광산화안정성을 측정하기 위하여 특별히 제작된 광저장고에서 25°C온도하에서 fluorescence light의 광도 5500 lux를 유지하면서 6일동안 광선을 조사하면서, 과산화물가 (AOCS official method Cd 8b-90, AOCS, 1999) 및 *p*-anisidine value (AOCS Official Method Cd18-90, AOCS, 1999)를 측정하였다.

### 16. Gas chromatography for headspace oxygen determination

시료 serum bottles의 상부공극의 air를 주사기로 10 $\mu$ l 취하여 thermal conductivity detector가 내장된 gas chromatograph에 주입하였다. 이때 사용한 column은 Molecular Sieve 13X를 고정상으로 하는 stainless steel column이었고, 운반기체로는 helium을 사용하였다.

#### 17. CLA 유지의 산화안정성 측정

부분수소경화한 3종의 유지를 상온에 보관하면서 산가 및 과산화물가를 측정하였다. 즉 대두유, 홍화유, 면실유를 반응온도 210℃, 교반속도 500rpm, 반응시간 90분, 수소압력 0.5kg/cm<sup>2</sup>의 조건으로 경화하여 탈색, 탈취공정을 거쳐 정제하여 200g용기에 100g의 유지를 담은 후 상온에서 보관하며 관찰하였다

또한 CLA유지의 산화안정성을 Racimat method로 측정하였다. 시료를 98℃에서 가열하면서 20 l/hr의 공기를 주입하면서 산화시키며 얻은 유도시간을 조사하였다.

## 제 3 장 연구 결과 및 고찰

### 제 1 절 CLA와 CLTG 생산공정 최적화

#### 1. 수소경화에 의한 CLA생산

##### (1) 경화유종의 CLA생성 확인, 분리 및 동정

대두경화유를 2,2,4-trimethylpentane에 용해시킨후 200 - 400 nm의 UV영역에서 스캔하여 선택적조건하에서 경화한 대두유의 경우에 초기경화시간의 증가에 따라 233 nm에서 흡광도가 증가하는 것을 확인하였다 (Fig. 1). 그러나 비선택적조건하에서 경화한 대두유에서는 233 nm에서 흡광도 증가가 현저하지 못하였다 (data not shown). <sup>1</sup>H NMR분석에서도 선택적 경화대두유에서 unconjugated diene의 특징적인 peaks (2.78 ppm 및 5.7 ppm)들이 크게 줄어들고, 5.56 - 6.28 ppm에서 여러개의 피크들이 생성되는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2). 이 결과는 선택적경화조건에서 경화유종에 conjugated diene 들이 생성하는 것을 나타내어, 선택적경화 중에 이중결합의 conjugation반응이 일어남을 확인하였다. 또 대두경화유를 methylation시킨 후, Silver Ion-HPLC로 CLA이성체들을 분리하였다 (Fig 3). 이들 CLA peak들을 authentic CLA methyl esters 및 cream cheese에서 분리한 CLA methylesters와 비교하여 각피크의 CLA를 동정하였다. 또 silver ion-HPLC에서 얻어진 이피크들을 반복적으로 분획하여 충분한 양의 CLA이성체들을 수집한 후 gas chromatography를 이용하여 GC상에서 각각의 이성체들을 동정하는데 성공하였다. Figure 3는 대두경화유의 지방산 메틸에스터의 gas chromatogram 이다. 위의 분리 동정 실험결과, 대두경화유 중의 CLA는 (7t,9c/

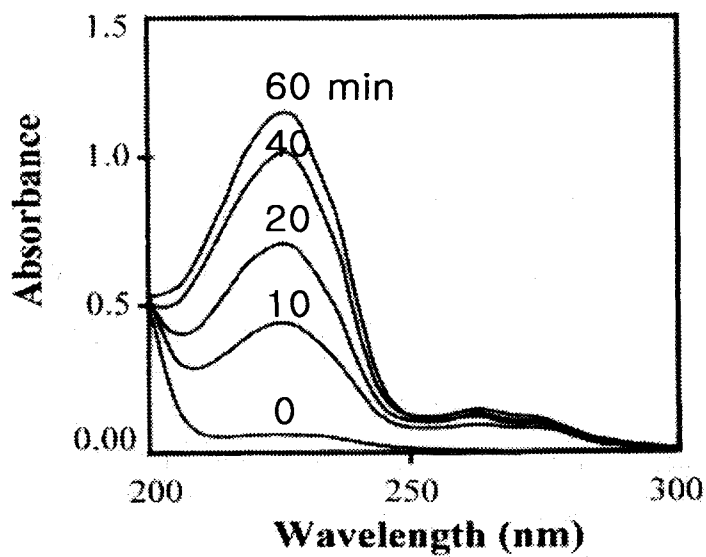


Figure 1. Partial UV spectrum of soybean oil and hydrogenated soybean oil obtained during 10, 20, 40, and 60 minute selective hydrogenation



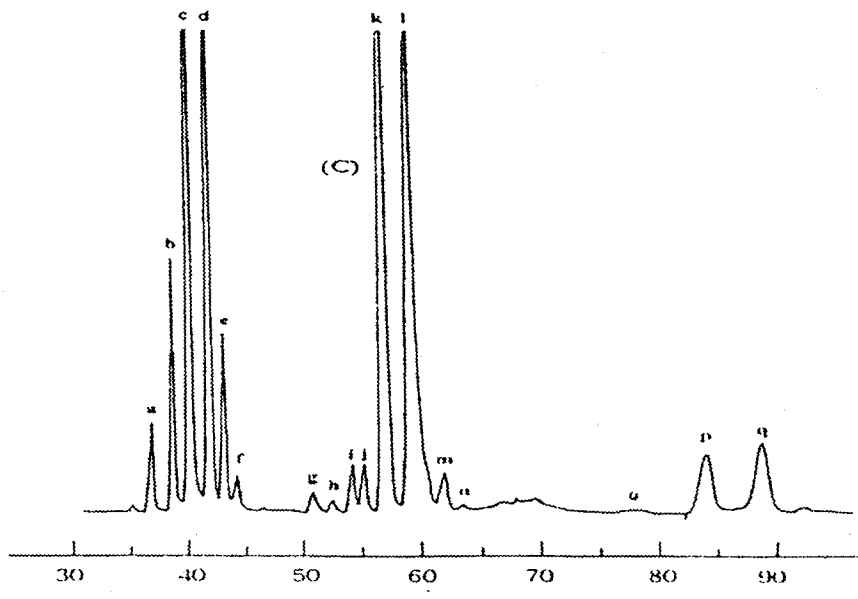


Figure 2. Partial Ag<sup>+</sup>-HPLC chromatogram for partially hydrogenated soybean oil fatty acid methylesters

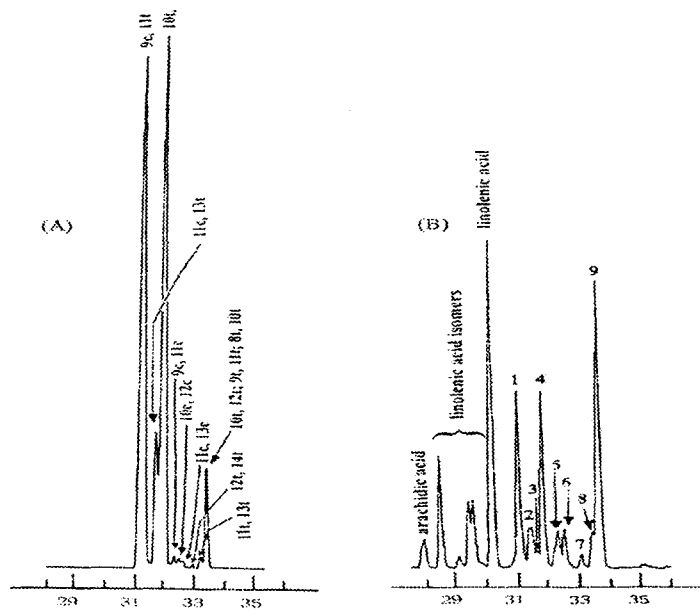


Figure 3. Gas chromatograms of (A) authentic CLA methylesters and (B) partially hydrogenated soybean oil fatty acid methylesters

9c,11t/ 8t,10c/ 10c,12t/ 9t,11c/ 11c,13t/ 12c,14t/ 10t,12c/ 11t,13c/ 9c,11c/ 12t,14c/ 10c,12c/ 11c,13c/ 12t,14t/ 11t,13t/ 10t,12t/ 9t,11t/ 8t,10t/ 7t,9t-CLA)등 총 19개의 CLA 이성체들이 존재한다는 것을 밝혀내었다 (Table 7, 8). 이로서 gas chromatography를 이용하여 경화유 중에 함유된 각각의 CLA 이성체들의 정량분석을 수행할 수 있게 되었다.

### (2) 촉매별 활성 측정실험

5종의 니켈 촉매 (Nysosel-222, N-325, N-545, N-655, SP-7)을 이용하여 210°C, 수소압력 0.5kg/cm<sup>2</sup>, 교반속도 500 rpm에서 수소경화를 실시하여 촉매별 CLA생성을 측정하여 비교하였다 (Fig. 4). 이 실험 결과 5종의 촉매 중 선택적 촉매제인 SP-7이 가장 많은 CLA를 생산하는 것으로 나타났다. CLA생성량은 경화공정 시간에 따라서 크게 변화되는데, 초기에는 증가하다가 최고 정점에 이른 후에는 점차 감소하는 경향을 보였다. 실험 조건하에서 SP-7을 이용할 경우 최대 CLA함량을 갖는 시간은 80분 경과 시점이었고 이때의 총 CLA함량은 114.8mg/g oil 이었다. 이때의 대두경화유의 요오드가는 113.4 이었다.

### (3) 촉매량의 변화에 따른 CLA생산능력 연구실험

Fig. 5는 반응온도, 교반속도, 수소압력을 고정된 상태에서, 촉매량 (SP-7 촉매)을 0.05%에서 0.3%까지 증가하였을 때, 총 CLA생성의 변화를 나타낸 것이다. 촉매량 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3%에서 최대 CLA생성량은 각각 84.9, 108.7, 114.3, 137.7, 159.2 mg/g oil이었다. 이 결과는 촉매량의 증가에 의하여 CLA생성량이 증가하는 것을 의미한다. 촉매량을 0.05%에서 0.3%증가 시켰을 때 약 2배 가량의 CLA생성이 증가하였다. 촉매량의 증가에 따라서, 각각의 이성체들의 함량도 비례적으로 증가하였으며, 특

Table 7. CLA peak identification in Ag<sup>+</sup>-HPLC chromatogram (shown in Fig. 2)

Peak	CLA isomer	Peak	CLA isomer
peak a	12t, 14t	peak j	11c, 13t
peak b	11t, 13t	peak k	10t, 12c/10c, 12t
peak c	10t, 12t	peak l	9c, 11t/9t, 11t
peak d	9t, 11t	peak m	8c, 10t
peak e	8t, 10t	peak n	7t, 9c
peak f	7t, 9t	peak o	11c, 13c
peak g	12t, 14t	peak p	10c, 12c
peak h	12t, 14t	peak q	9c, 11c
peak I	11t, 13t		

Table 8. CLA peak identification in gas chromatogram (shown in Figure 3)

Peak	CLA isomer
peak 1	7t, 9c/9c, 11t/8t, 10c
peak 2	10c, 12t
peak 3	9t, 11c/11c, 13t
peak 4	12c, 14t/10t, 12c
peak 5	11t, 13c/9c, 11c
peak 6	12t, 14c/10c, 12c/11c, 13c
peak 7	12t, 14t
peak 8	11t, 13t
peak 9	10t, 12t/9t, 11t/8t, 10t/7t, 9t

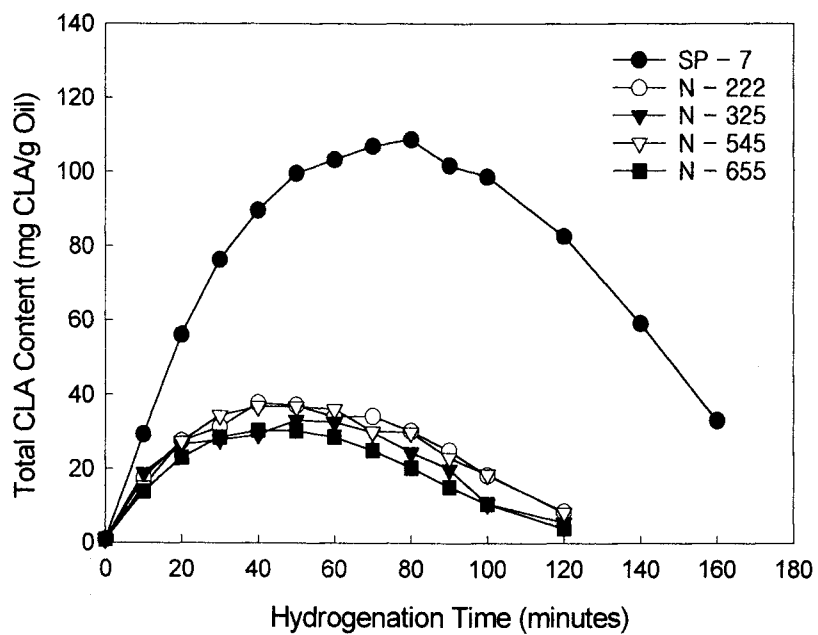


Figure 4. Effects of different nickel catalysts on the quantity of total CLA formed in soybean oil during hydrogenation process

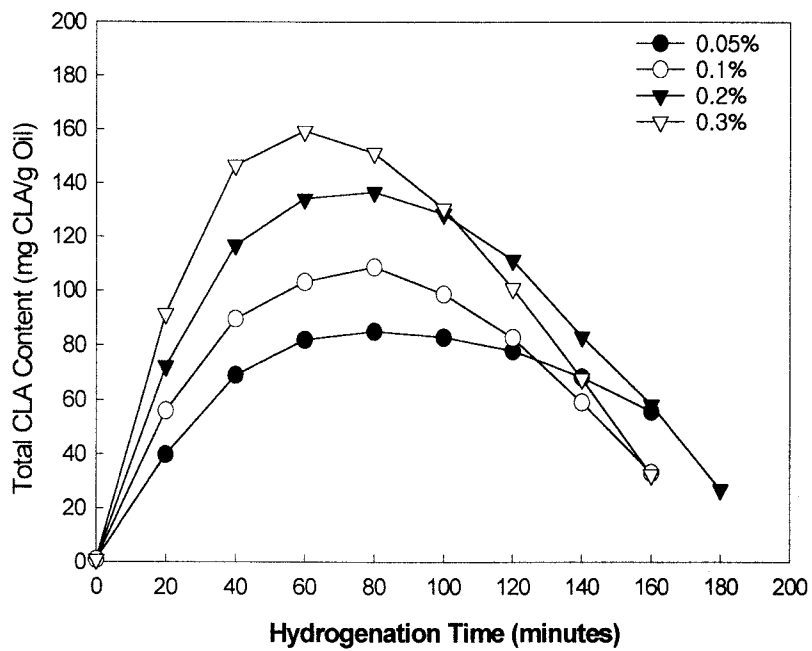


Figure 5. Effects of catalyst amount on the quantity of total CLA formed in soybean oil during hydrogenation process

히 항암성 및 체지방 감소효과가 있다고 알려진 cis, trans/trans, cis-이성체들의 초기 생성량이 현저하였다.

#### (4) 반응 온도별 CLA 생성능력 연구실험

앞서의 실험결과에서 CLA 생성 활성이 뛰어난 SP-7축매를 이용하여, 교반속도 및 수소압력을 고정한 상태에서 (agitation rate 500 rpm, H<sub>2</sub> pressure 0.5kg/cm<sup>2</sup>), 반응온도를 170, 190, 210°C등으로 달리하여 시간대별 CLA 생성을 측정하는 실험을 행하였다 (Fig. 6). 이 실험 결과에서 경화온도가 높아질수록 경화반응속도가 증가하고, 동시에 CLA 생산능력도 증가하였다. 또한 경화온도가 높을수록 최대 CLA를 생성하는 시간도 단축되었다. 반응 온도 170, 190, 210°C에서 최대 생성되는 총 CLA 함량은 각각 41.9, 69.6 및 108.7mg/g oil으로서 170에서 반응 시킬 때에 비하여 210°C에서 반응시킬 때 생성되는 총 CLA 양은 약 2.7배에 달하였다. 또한 반응온도 170, 190, 210°C에서 최대 CLA 생성 시간도 각각 120, 100 및 80 분이였다. 반응 초기에는 cis, trans CLA 이성체들이 먼저 생성되다가 추후에 trans, trans 이성체들이 생성되는 양상을 보였다.

#### (5) 교반 속도별 CLA 생산능력 연구실험

SP-7을 축매로 사용하고, 반응온도 및 수소압력을 고정한 상태에서 (210°C, H<sub>2</sub> pressure 0.5kg/cm<sup>2</sup>), 교반속도를 300, 500, 700 rpm 등으로 달리하여 시간대별 CLA 생성을 측정하는 실험을 행하였다 (Fig. 7). 이 실험결과 교반속도에 의한 CLA 생성량의 변화가 상당히 컸으며, 교반속도를 감소시킬수록 요오드가의 감소 속도는 현저히 줄어들었으나, 총 CLA 생산은 현저하게 증가하였다. 교반속도 300, 500 및 700 rpm에서의 최대 CLA 생성량은 각각 162.8, 108.7 및 66.2 mg CLA/g oil이었다. 흥미 있는 사실은, 210°C, 300 rpm 조건하에서 10분간 수소경화 시켰을 경우 생산된 총 CLA 함량은 20.6



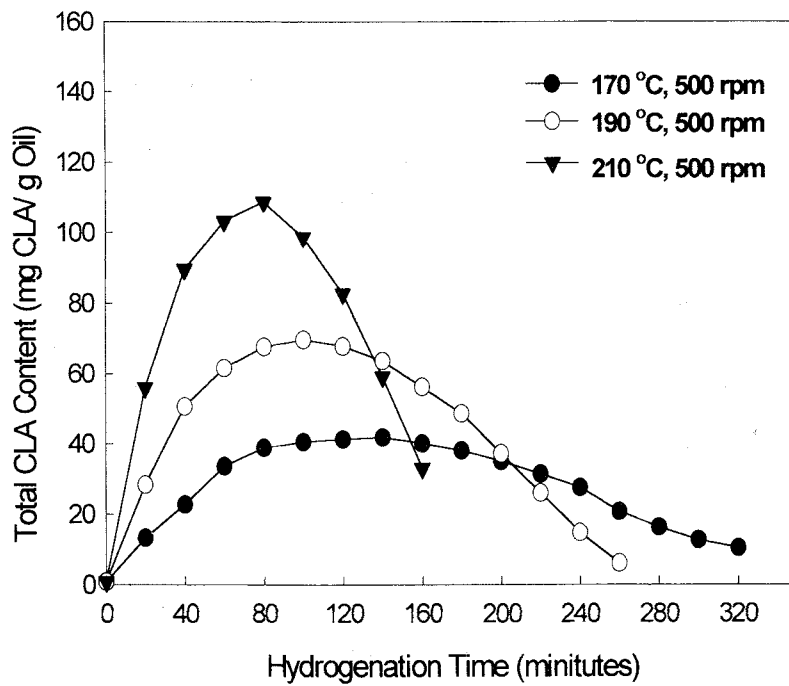


Figure 6. Effects of reaction temperature on the total CLA contents in soybean oil during the hydrogenation process

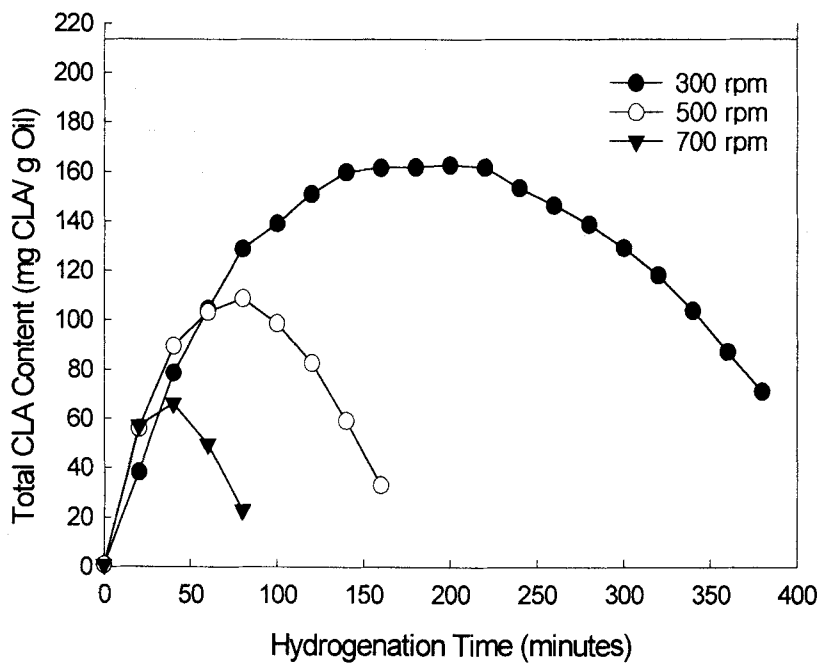


Figure 7. Effects of reaction agitation rate on the total CLA contents in soybean oil during the hydrogenation process

mg/g oil이었으며, 이때 각각의 이성체들의 함량은 7t,9c/9c,11t/8t,10c (5.72 mg/g oil), 10t,12c/9t,11c/11c,13t (1.00mg/g oil), 12t,14c/10c,12t (5.82 mg/g oil), 11t,13c/9c,11c (1.36 mg/g oil), 12t,14c/10c,12c/11c,13c (1.00 mg/g oil), 12t,14t ( 0.27 mg/g oil), 11t,13t (0.36 mg/g oil), 10t,12t/9t,11t/8t,10t/7t,9t (5.09 mg/g oil)이었다. 이때 오오드가는 132.1에서 127.4 정도로 낮추어 졌으며, 기타 여러 가지 지방산의 함량은 크게 변화되지 않은 상태이다. 이 결과는 고온, 저속 교반속도 상태에서 아주 짧은 시간 경화시킬 경우 지방산의 조성을 크게 변화시키지 않은 상태에서 상당한 농도의 CLA를 함유한 식용유지의 개발이 가능하다는 것을 의미한다.

#### (6) 수소압력별 CLA생산능력 연구실험

반응온도와 교반속도를 고정한 상태에서 (210°C, 500 rpm), 수소압력을 0.25, 0.5, 1.0 kg/cm<sup>2</sup> 으로 달리하여 수소경화를 시키면서 반응시간대별 CLA생성을 측정하였다 (Fig. 8). 이 실험 결과에 따르면 수소압력을 감소시키면, 수소경화속도도 감소하고, CLA생산량도 감소하였다. 그러나 수소압력의 차이에 따르는 CLA의 생성량의 변화는 교반속도 및 온도의 변화에 의한 것보다 그 정도가 상당히 적은 편이다. 따라서 수소경화조건에서 반응온도가 증가할수록, 수소압력을 적을수록, 교반속도가 적을수록, 촉매량이 증가할수록 CLA생성량은 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 조건은 Heterogeneous 반응계에서 촉매주변의 수소분자의 농도와 밀접한 상관관계가 있음을 의미한다. 즉 수소의 반응용액중의 diffusion을 제한하는 반응조건, 즉 gas-liquid mass transfer limitation조건하에서 최상의 CLA생성을 얻을 수 있는 것임을 의미한다.

#### (7) 유지 종류별 수소경화 공정중의 CLA생성

식용유지중 가장 많이 소비되고 있는 3 종류의 식용유지인 대두유, 면실유 및 옥배

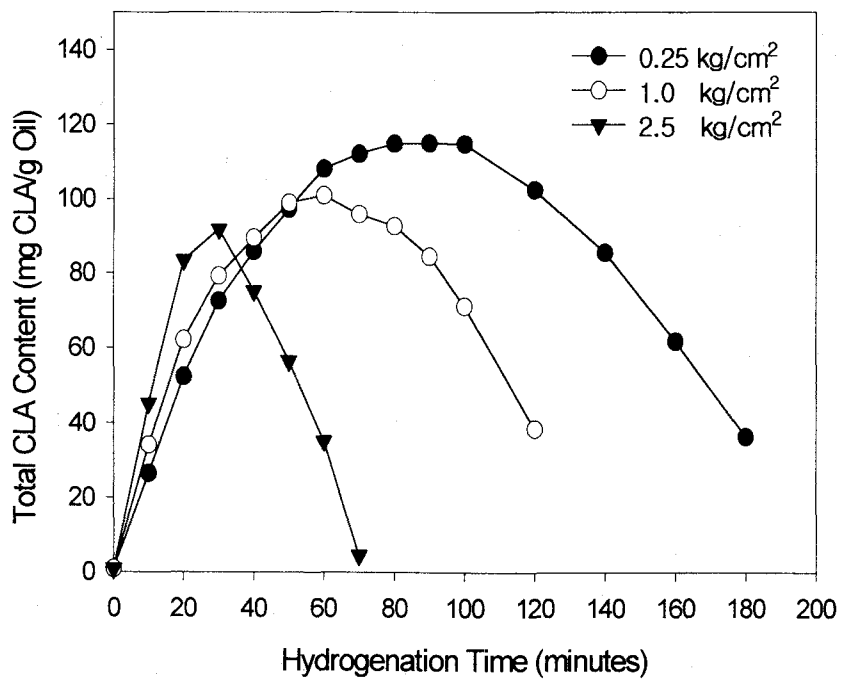


Figure 8. Effects of hydrogenation pressure on the quantity of total CLA formed in soybean oil during hydrogenation process

유를 이용하여 가장 최적의 반응조건인 230°C, 300rpm, 0.25kg/cm<sup>2</sup> 수소압력하에서 촉매 SP-7으로 경화시킬 때 생성되는 총 CLA의 함량을 시간대별로 나타낸 것이 Fig. 9이다. 대두유, 면실유, 및 옥배유 중에 생성되는 최대 CLA의 함량은 거의 동일하였으나, 대두유가 면실유보다는 CLA생성속도가 약간 빠르고, 옥배유에 비하여는 월등히 CLA생성속도가 빨랐다. 대두유를 이용하여 CLA를 생성시킬 경우, 최대 생성량 이후 급격히 CLA양이 감소하는 형태를 보였다. 경화대두유, 경화면실유, 및 경화옥배유의 최대 CLA생성량은 각각 233.3, 237.2 및 232.3 mg/g oil이었다. 그러나 이들 유지들이 최대 CLA함량에 도달하는 시간은 각각 80, 100, 및 140분으로서 차이를 보였다. 이 결과는 이들 3 종류의 식용유지를 이용하여 최대 CLA생산량에 큰 차이가 없으나, 경화시간에 차이가 나타난다는 것을 의미한다. 그리고 이들 3 종류의 식용유지 간에 생성되는 CLA 이성체들간의 비율은 거의 유사하였다 (Table 9 - 11).

## 2. 알콜촉매전이법에 의한 CLA생성

### (1) 알콜촉매전이법에 의하여 생성된 CLA분리 및 동정

알콜 전이 방법으로 생산된 대두경화유를 methylation시킨 후, Silver Ion-HPLC로 CLA이성체들을 분리하였다. 각각의 피크들을 반복적으로 분획하여 충분한 양의 CLA이성체들을 수집하여 gas chromatography를 이용하여 각각의 이성체들을 동정하는데 성공하였다. 실험결과, 대두경화유 중의 CLA는 (7t,9c/ 9c,11t/ 8t,10c/ 10c,12t/ 9t,11c/ 11c,13t/ 12c,14t/ 10t,12c/ 11t,13c/ 9c,11c/ 12t,14c/ 10c,12c/ 11c,13c/ 12t,14t/ 11t,13t/ 10t,12t/ 9t,11t/ 8t,10t/ 7t,9t-CLA)등 총 19개의 CLA이성체들이 존재한다는 것을 밝혀내었다. 이 연구 결과는 수소를 이용한 경화공정에 의하여 대두유중에 생성된 CLA이성체들의 구성과 알콜을 이용하여 촉매전이 반응으로 생산된 CLA이성체들의 구성이

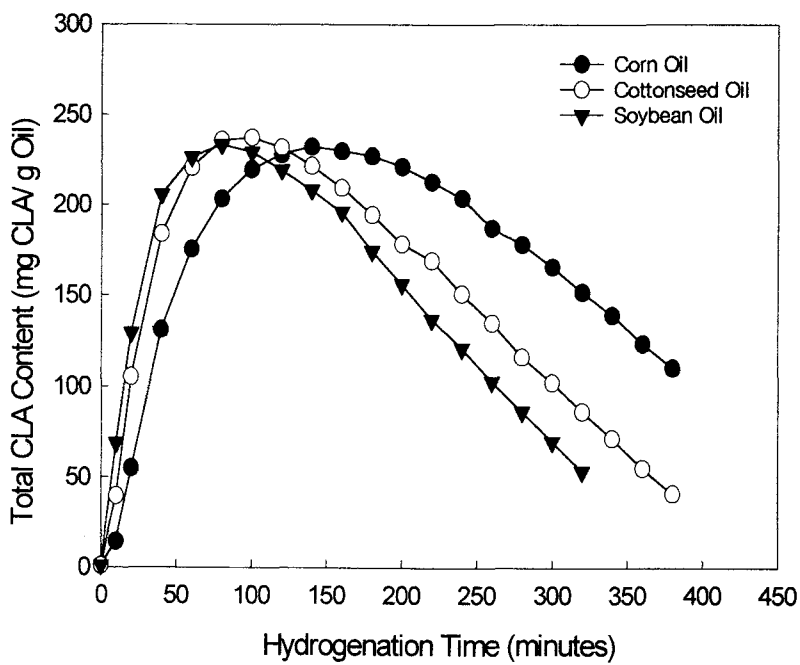


Figure 9. Effects of different oils (soybean oil, cottonseed oil, and corn oil) on the quantity of total CLA formed in the oil during hydrogenation process

Table 9. Contents of individual CLA Isomers in Partially Hydrogenated Soybean Oil  
 Obtained During Hydrogenation Under the Condition (230°C, 300rpm,  
 0.25kg/cm<sup>2</sup>)

H.T. <sup>a</sup> (min)	CLA isomer <sup>b</sup> content in soybean oil (mg/g oil)								
	1	2+3	4	5	6	7	8	9	Total
0	t <sup>c</sup>	ND <sup>d</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	0.86	0.86
10	18.90	4.00	18.44	3.54	2.73	0.91	2.45	17.81	68.78
20	28.35	12.81	23.08	7.27	5.36	2.36	6.63	43.52	129.38
30	34.25	19.17	24.35	10.85	7.27	4.09	11.36	64.60	175.94
40	36.34	24.26	23.26	12.08	8.54	5.91	12.27	83.14	205.80
60	36.80	27.89	19.90	13.36	10.09	8.45	13.17	96.86	226.52
80	35.98	28.80	17.08	13.90	10.99	10.45	15.26	100.85	233.31
100	34.53	28.71	14.81	13.90	11.36	11.81	20.35	95.68	231.15
120	32.35	18.54	8.09	12.72	13.27	11.36	12.45	110.58	219.36
140	30.53	24.90	11.08	12.36	11.54	12.90	22.81	82.05	208.17
160	28.80	23.08	9.54	11.81	11.45	12.99	20.53	77.78	195.98
180	25.08	19.90	8.00	10.36	10.63	12.27	19.53	68.69	174.46
200	22.62	17.81	6.81	9.45	9.99	11.72	17.54	60.15	156.09
220	20.35	10.27	11.08	8.36	9.27	10.54	15.45	52.06	137.38
240	18.81	7.63	8.72	6.45	7.72	8.54	9.90	39.52	107.29
260	15.72	6.36	8.72	6.45	7.72	7.36	5.63	35.62	93.58
280	13.36	5.18	7.27	5.36	6.72	7.36	5.63	35.62	86.50
300	10.45	1.09	5.82	4.45	5.72	6.09	3.18	30.07	66.87
320	7.90	3.27	4.27	3.63	4.54	4.63	1.27	24.08	53.59

<sup>a</sup>H.T.: hydrogenation time in minute (hydrogenated soybean oil obtained after certain hydrogenation time)

<sup>b</sup>Identity of each isomer was shown in Table 2.

<sup>c</sup>t: trace amount (less than 0.1 mg/g oil)

<sup>d</sup>ND: not detected

Table 10. Contents of individual CLA Isomers in Partially Hydrogenated Cottonseed Oil Obtained During Hydrogenation Under the Condition (230°C, 300rpm, 0.25kg/cm<sup>2</sup>)

H.T. <sup>a</sup> (min)	CLA isomer <sup>b</sup> content in cottonseed oil (mg/g oil)								
	1	2+3	4	5	6	7	8	9	Total
0	t <sup>c</sup>	ND <sup>d</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	0.86	0.86
10	11.45	2.36	7.36	3.73	2.36	1.54	1.09	9.72	39.61
20	25.17	9.99	20.17	6.36	4.45	1.18	4.36	33.71	105.39
30	31.35	16.35	22.90	9.18	6.09	2.36	7.36	55.70	151.29
40	34.71	21.08	23.17	11.08	7.36	3.63	9.18	73.69	183.90
60	36.89	27.26	20.63	13.36	9.45	6.72	18.90	87.68	220.89
80	37.43	29.26	18.35	14.27	10.54	8.90	19.26	97.86	235.87
100	36.34	30.07	15.26	14.27	11.36	10.54	20.81	98.58	237.23
120	35.16	27.98	14.27	13.81	11.81	11.81	19.81	97.22	231.87
140	34.71	26.71	11.90	13.36	11.72	12.36	21.90	89.13	221.79
160	31.16	24.80	11.08	12.63	11.63	12.54	20.72	84.95	209.51
180	28.98	22.53	9.81	11.63	11.36	12.54	20.44	77.14	194.43
200	26.71	20.35	8.36	10.63	11.08	11.99	20.26	68.96	178.34
220	24.62	18.90	7.36	9.72	10.54	11.63	18.45	63.78	165.00
240	22.62	14.99	8.36	8.81	10.27	11.08	16.72	57.97	150.82
260	20.72	8.45	11.81	8.36	9.36	10.18	12.54	53.52	134.94
280	17.72	7.09	10.18	7.09	8.45	9.09	13.45	44.44	117.51
300	15.36	10.72	4.72	6.00	7.72	8.18	11.72	37.98	102.40
320	13.54	5.27	7.18	5.00	6.72	7.00	9.99	31.71	86.41
340	10.99	4.36	6.09	4.09	5.82	5.82	8.72	25.8	71.69
360	8.36	3.54	4.45	3.18	4.63	4.45	5.54	20.99	55.14

<sup>a</sup>H.T.: hydrogenation time in minute (hydrogenated soybean oil obtained after certain hydrogenation time)

<sup>b</sup>Identity of each isomer was shown in Table 2.

<sup>c</sup>t: trace amount (less than 0.1 mg/g oil)

<sup>d</sup>ND: not detected



Table 11. Contents of individual CLA Isomers in Partially Hydrogenated Corn Oil  
 Obtained During Hydrogenation Under the Condition (230°C, 300rpm,  
 0.25kg/cm<sup>2</sup>)

H.T. <sup>a</sup> (min)	CLA isomer <sup>b</sup> content in corn oil (mg/g oil)								
	1	2+3	4	5	6	7	8	9	Total
0	t <sup>c</sup>	ND <sup>d</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	0.86	0.86
10	4.63	0.00	5.18	0.00	1.45	0.00	0.00	3.27	14.53
20	15.81	3.00	14.99	3.18	2.09	0.00	2.00	13.90	54.97
30	22.72	8.81	18.72	4.91	3.73	0.82	3.82	30.62	94.15
40	29.17	15.08	20.72	7.00	5.72	1.82	8.63	43.16	131.30
60	34.25	21.62	21.44	9.90	7.36	3.63	10.27	66.96	175.43
80	36.07	27.98	18.35	11.63	8.72	5.54	14.27	80.77	203.33
100	36.53	28.08	18.72	12.45	9.63	7.27	15.54	91.41	219.63
120	36.71	29.53	17.17	13.17	10.36	8.72	19.08	93.22	227.96
140	36.25	29.98	15.63	13.36	10.90	9.99	20.90	95.31	232.32
160	35.44	29.17	14.36	13.08	11.36	10.90	20.53	95.04	229.88
180	34.62	27.80	13.63	13.54	11.63	11.72	20.81	93.49	227.24
200	33.44	26.71	12.81	12.81	11.54	12.08	21.44	90.31	221.14
220	31.80	25.90	11.18	12.45	11.45	12.27	21.81	84.77	211.63
240	30.44	24.35	10.45	11.90	11.36	12.45	21.08	81.59	203.62
260	28.26	21.90	8.90	10.72	11.27	11.99	19.35	74.78	187.17
280	26.62	20.72	8.36	10.27	10.90	12.18	19.35	69.60	178.00
300	24.90	18.54	8.00	9.54	10.45	11.54	17.99	64.69	165.65
340	20.99	15.17	6.18	8.09	9.63	10.18	15.99	52.97	139.20
360	18.72	8.45	10.27	7.00	9.00	9.45	13.54	47.16	123.59
380	16.90	6.63	9.72	6.45	8.09	8.90	10.09	43.70	110.48

<sup>a</sup>H.T.: hydrogenation time in minute (hydrogenated soybean oil obtained after certain hydrogenation time)

<sup>b</sup>Identity of each isomer was shown in Table 2.

<sup>c</sup>t: trace amount (less than 0.1 mg/g oil)

<sup>d</sup>ND: not detected

동일하였다.

### (2) 촉매별 촉매전이 활성 측정실험

5종의 니켈 촉매 (Nysosel-222, N-325, N-545, N-655, SP-7)를 이용하여 210°C, 500rpm 에서 5% ethanol을 첨가하여 대두유의 촉매전이 수소경화를 실시하여 일정시간 간격으로 시료를 수거하여 CLA생성을 측정하여 CLA생성이 가장 적합한 촉매를 선택하였다. 이 실험 결과 대두유의 촉매전이 수소경화 중 CLA생산에 가장 적합한 촉매가 비선택적 니켈 촉매인 N-545임을 찾아내었다 (Fig. 10). 이러한 조건하에서 시간대별 CLA함량을 측정한 결과 120분 경과시점에서 생산된 CLA의 양은 약 130mg total CLA/g oil 이었고, 그 이후 500분까지 시간이 경과하여도 그 양의 변화가 미미하였다. 선택적촉매인 SP-7의 경우, CLA생성속도는 매우느려서 산업적 사용에는 적합성이 떨어지는 것으로 판단된다.

### (3) 알콜별 CLA생성능력 연구실험

앞서의 실험결과에 따라, 대두유의 촉매전이 수소경화 중 CLA생산에 가장 적합한 촉매인 비선택적 니켈 촉매인 N-545를 이용하여 촉매제 양, 교반속도, 알콜양, 반응온도 등을 고정한 상태에서(0.1%, 500rpm, 5%, 210°C) 1차 알콜의 종류별 (methanol, ethanol, propanol, butanol) 로 처리하여 시간대별 CLA생성을 측정하는 실험을 행하였다 (Fig. 11). 또한 동일한 탄소수를 갖는 알콜 중 primary-, secondary- 및 tertiary 구조를 갖는 butanol을 처리하여 시간대별 CLA생성능력도 함께 비교하였다 (Fig. 12). 이 실험 결과에서 propanol, butanol의 경우 CLA생성량이 methanol, ethanol 에 비하여 월등히 많았고, 이들 methanol, ethanol 및 propanol, butanol들 사이에서는 CLA의 생성량에 큰 차이를 보이지 않았다. 이러한 조건하에서 시간대별 CLA함량을 측정한 결과

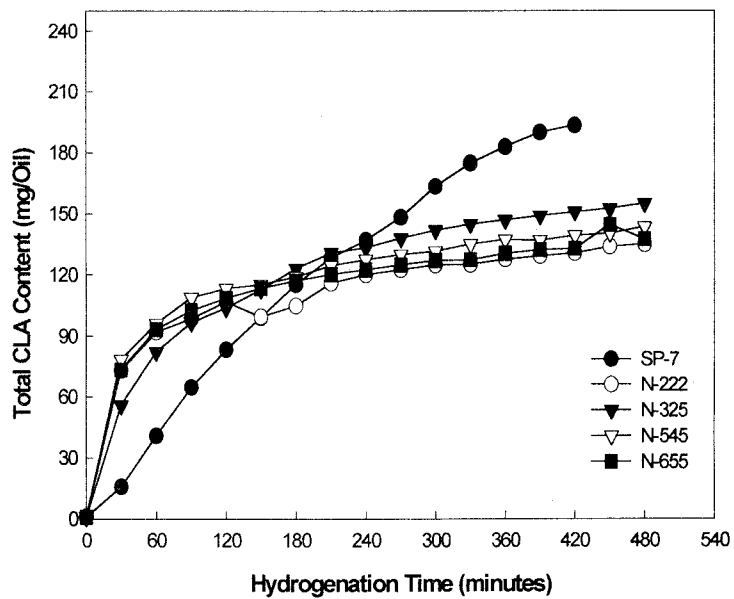


Figure 10. Effects of different catalysts (0.1%) on the formation of CLA during catalytic transfer hydrogenation with 5% ethanol at 210°C and 500 rpm agitation rate

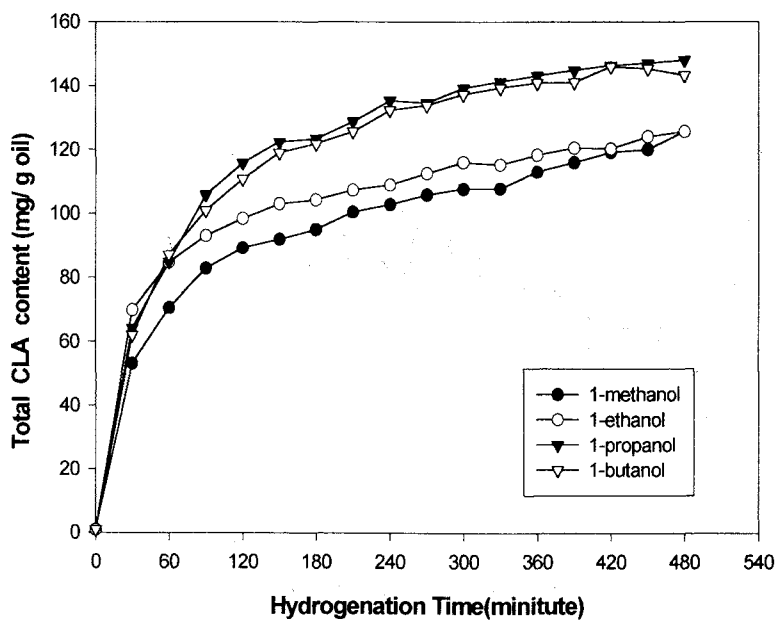


Figure 11. Effects of different alcohols (5%) on the formation of CLA during catalytic transfer hydrogenation with 0.1% nickel catalyst (N-545) at 210°C and 500 rpm agitation rate

methanol, ethanol, propanol, butanol 처리 시 120분이 경과시점에서 생산된 CLA의 양은 약 84.9, 98.4, 115.7, 110.7 mg total CLA/g oil 이었고, 그 이후 500분까지 시간이 경과하여도 그 양의 변화가 미미하였다. Butanol 분자 구조의 차이에 의한 CLA 생성능력 연구실험에서는 primary butanol이 가장 우수하였으며, secondary butanol 및 tertiary butanol에서는 현격히 그 능력이 감소하였다 (Fig. 12).

#### (4) 알콜량에 따른 CLA 생산능력 연구실험

앞서 실험결과에 따라, 독성이 없는 ethanol을 촉매전이용 알콜로 선택하여 실험하였다. 반응온도 및 교반속도를 고정한 상태에서(210°C, 500rpm), 2.5, 5, 10, 15% ethanol의 양을 달리하여 시간대별 CLA생성을 측정하는 실험을 행하였다. 이 실험결과 ethanol 양에 의한 CLA생성량의 변화가 상당히 컸으며, ethanol양을 감소시킬수록 경화반응속도는 크게 차이가 나지 않았으나, ethanol 처리량의 감소에 따라 CLA생산량은 현저하게 증가하였다. 에탄올 처리량을 2.5, 5, 10, 15% 로 하였을 때 생성되는 최고 CLA양은 각각 148.5, 140.2, 103.3, 98.4, 75.5 mg CLA/g oil이었다 (Fig. 13). Ethanol을 전혀 첨가하지 않는 경우에는 480분이후에도 거의 CLA생성이 없었다. 이는 ethanol이 CLA생성이 반듯이 필요로 한 물질임을 확인하는 것이며, ethanol함량이 약 2.5-5%일 때 CLA생성이 최적 조건임을 나타내는 것이다. 이 결과는 폭발성위험이 큰 수소를 사용하지 않고 안전한 ethanol을 이용하여 다량의 CLA를 생산할 수 있다는 것을 최초로 밝혀낸 것이다.

#### (5) 교반 속도별 CLA 생산능력 연구실험

반응온도, 알콜양, 촉매제 양을 고정한 상태에서 (210°C, 2.5%, 0.1%N-545) 교반속도를 300, 500, 700rpm등으로 달리하여 경화시키면서 반응시간대별 CLA생성을 측정하

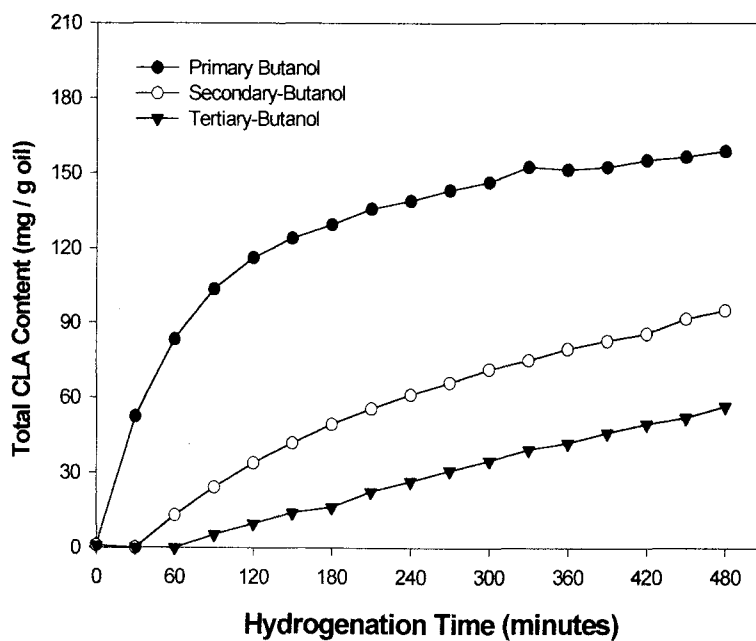


Figure 12. Effects of primary-, secondary-, and tertiary-butanol(5%) on the formation of CLA during catalytic transfer hydrogenation with 0.1% nickel catalyst (N-545) at 210°C and 500 rpm agitation rate

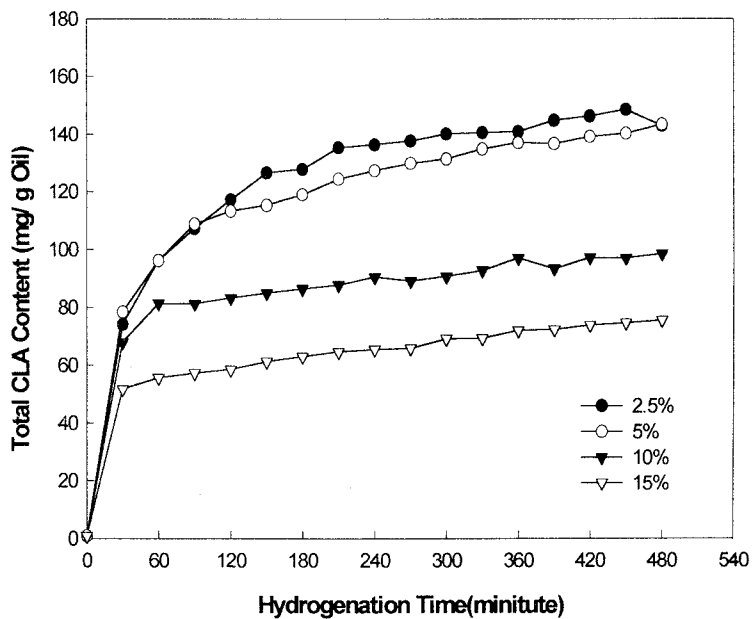


Figure 13. Effects of ethanol contents on the formation of CLA during catalytic transfer hydrogenation with 0.1% nickel catalyst (N-545) at 210°C and 500 rpm agitation rate

는 실험을 행하였다. 교반속도가 낮을수록 CLA 생성속도는 약간 증가하는 경향을 보였으나, 그 정도가 아주 적었다 (Fig. 14). 반응시간이 300분 경과한 시점에서 생성된 CLA 양은 약 145mg/g oil 이었고, 500분까지 시간이 경과하여도 그 양의 변화가 미미하였다. 즉, 교반속도는 CLA의 생산에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

#### (6) 반응 온도별 CLA 생산능력 연구실험

교반속도, 알콜 양을 고정하고(500rpm, 2.5% ethanol), 0.1% N-545 촉매제를 사용하고, 반응 온도를 190, 210, 230°C로 달리하여 시간대 별 CLA 생성을 측정하는 실험을 행하였다. 온도의 차이에 의하여 CLA 생산 속도에는 현격한 차이가 나타났다 (Fig. 15). 온도의 상승에 따라 경화속도가 증가하고, 동시에 CLA 생산능력도 현격히 증가하였다. 그러나 온도가 증가하여도 생산되는 CLA의 최고농도에는 큰 변화가 없었다. 반응시간이 30분일 경우에 온도가 증가함에 (190, 210, 230°C) 따라 생성된 CLA의 양은 각각 37.89, 121.93, 140.83, 143.10mg/g oil 으로서, 반응초기에는 CLA 생성량이 상당히 차이가 있었다. 그러나 300분이 경과된 시점에서는 생성된 CLA의 총량이 반응온도에 상관없이 거의 비슷하였다.

#### (7) 촉매량의 변화에 따른 CLA 생산능력 연구 실험

반응 온도, 교반속도, 알콜양 등을 고정한 상태에서(230°C, 500rpm, 2.5% ethanol), 촉매 (N-545)의 양을 변화시키면서 대두유의 촉매전이 반응에 의한 CLA 생산 능력을 연구하였다. 다음 그림은 촉매량(N-545)을 0.05%에서 0.5% 까지 증가하였을 때 총 CLA 생성의 변화를 나타낸 것이다. 촉매량을 증가시킬수록 생성된 CLA의 총량은 증가하는 것으로 나타났다. 촉매량 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5% 로 증가시키면서 시간대 별 CLA 생성을 측정한 결과 각각 120분이 경과한 시점에서 생성된 CLA의 양은 각각



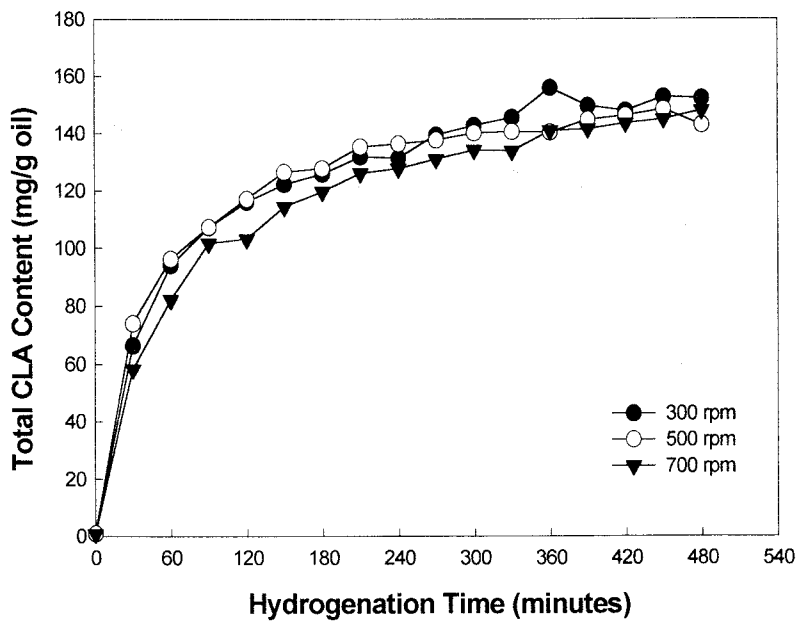


Figure 14. Effects of agitation rate on the formation of CLA during catalytic transfer hydrogenation with 0.1% nickel catalyst (N-545) and 5% ethanol at 210°C

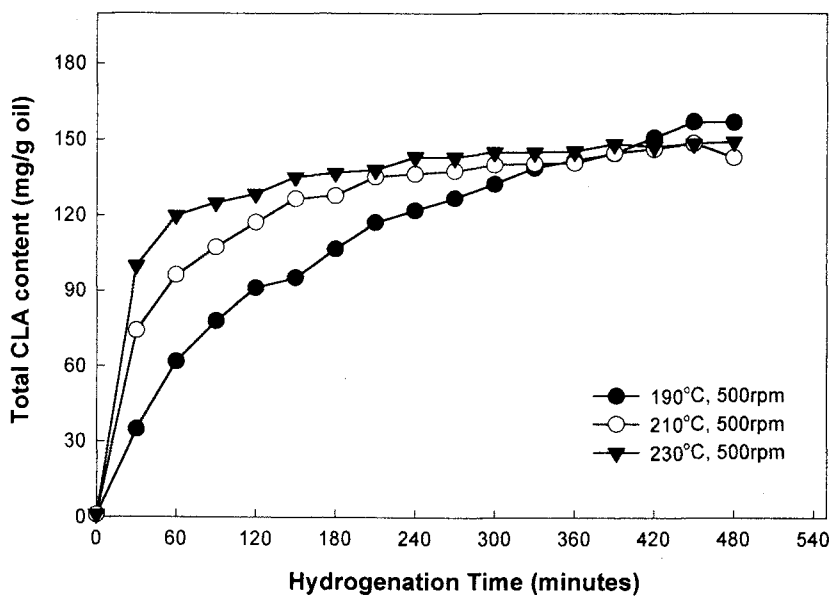


Figure 15. Effects of different reaction temperature on the formation of CLA during catalytic transfer hydrogenation with 0.1% nickel catalyst (N-545) and 5.0% ethanol at 500 rpm agitation rate

119.2, 128.4, 155.1, 168.8, 202.4 mg/g oil 이었다. 그 이후 500분까지 시간이 경과하여도 그 양의 변화가 미미하였다. 사용된 촉매량이 증가할 수록 CLA 생성량도 현격히 증가하였다 (Fig. 16). Table 6은 0.5% nickel 촉매를 이용하여 2.5% ethanol을 첨가 후 반응온도 230°C 교반속도 500rpm 조건에서 반응시간별 생성되는 총 CLA함량 및 CLA isomers들의 함량변화를 나타낸 것이다. 이들 결과에 의하면, 수소를 이용한 첨가반응에 비하여 CLA생성효율은 약간 떨어지는 것으로 나타났다. 그러나 CLA isomers의 비율은 거의 동일하였다 (Table 12).

### 3. CLA함유 경화대두유, 경화면실유 및 경화옥배유의 산화안정성 및 물리적 특성

#### (1) CLA함유 경화대두유, 경화면실유, 및 경화옥배유 생산

니켈 촉매 (SP-7)을 이용하여 230°C, 수소압력 0.25kg/cm<sup>2</sup>, 교반속도 300 rpm에서 여러번 반복하여 수소경화를 실시하여 CLA가 11, 18, 23%함유한 경화대두유, 경화면실유, 경화옥배를 다량 생산해 내었다. 경화반응 직후 이들 경화대두유의 과산화물가를 측정하여 본 결과 신선한 일반 대두유에 비하여 과산화물가가 전혀 증가하지 않았다. 그러나 2-alkenal함량을 측정하는 *p*-anisidine value는 미처리 유지에 비하여, CLA를 함유한 경화유에서 그 값이 오히려 낮아졌다.

#### (2) CLA함량이 다른 경화대두유의 자동산화 안정성에 관한 실험

위의 경화실험에서 얻은 11%, 18%, 23%의 CLA를 함유한 경화대두유 및 CLA를 전혀 함유하지 않은 일반 대두유를 각각 serum bottle에 옮겨 넣고 60°C oven에서 6일 동안 저장하면서 과산화물가의 변화를 측정하였다. CLA를 다량 함유한 경화대두유의 경우가 경화하지 않은 일반 대두유에 비하여 저장중 과산화물 생성이 무척 빨리 일어

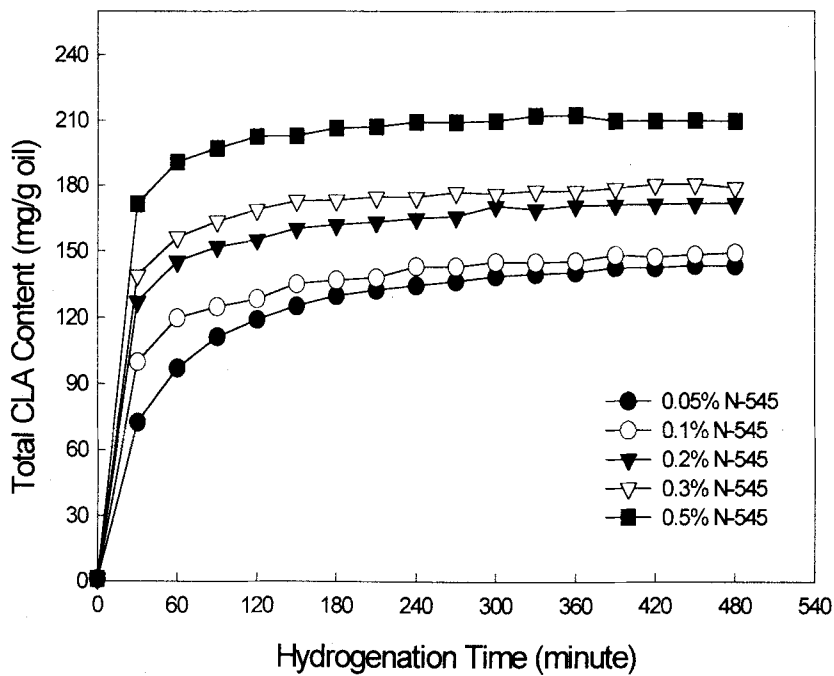


Figure 16. Effects of different contents of catalyst (N-545) on the formation of CLA during catalytic transfer hydrogenation with 2.5% ethanol at 230°C and 500 rpm agitation rate

Table 12. Total CLA contents and individual CLA contents formed in soybean oil during catalytic transfer hydrogenation with 0.5% nickel catalyst (N-545) and 2.5% ethanol at 230°C and 500 rpm

H.T. <sup>a</sup> (min)	CLA isomer <sup>b</sup> content in soybean oil (mg/g oil)								
	1	2+3	4	5	6	7	8	9	Total
0	t <sup>c</sup>	ND <sup>d</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	0.85	0.85
30	33.16	11.99	25.99	10.27	9.63	8.54	13.17	58.79	171.54
60	35.53	21.35	18.63	11.45	10.90	10.27	17.17	65.51	190.81
90	36.43	23.44	16.99	11.63	11.54	11.08	18.63	67.33	197.07
120	37.34	24.44	16.63	11.90	11.99	11.72	18.90	69.51	202.43
150	38.07	24.35	15.99	12.27	11.72	11.81	18.90	69.60	202.71
180	38.34	26.35	14.81	12.27	12.18	12.45	19.35	70.69	206.44
210	38.34	26.35	15.36	11.90	12.72	12.36	19.08	70.87	206.98
240	39.52	27.71	13.45	12.63	12.27	12.81	20.53	70.33	209.25
270	38.98	27.89	13.99	12.08	12.90	12.63	19.26	71.42	209.15
300	39.43	27.35	13.99	12.36	12.72	12.99	19.17	71.78	209.79
330	40.16	29.17	12.18	12.90	12.90	12.90	18.72	73.14	212.07
360	40.71	29.53	11.36	12.72	12.90	13.36	18.63	73.14	212.35
390	38.98	30.07	11.27	12.63	12.72	13.08	18.99	72.05	209.79
420	39.25	29.17	12.08	12.81	12.63	13.17	18.63	71.96	209.70
450	39.61	29.98	10.81	12.54	12.99	13.08	18.54	72.32	209.87
480	39.80	27.98	11.36	12.90	12.99	13.54	20.63	70.23	209.43

<sup>a</sup>H.T.: hydrogenation time in minute (hydrogenated soybean oil obtained after certain hydrogenation time)

<sup>b</sup>Identity of each isomer was shown in Table 2.

<sup>c</sup>t: trace amount (less than 0.1 mg/g oil)

<sup>d</sup>ND: not detected

났다. 그러나 CLA함량별 경화대두유의 경우에는 CLA함유량이 높을수록 과산화물 생성이 적게 일어났다. 6일 저장실험 후 일반대두유, 11%, 18%, 23% CLA함유 경화대두유의 과산화물가는 각각 27.3, 82.7, 72.7, 59.3 meq/kg oil이었다 (Fig 17). 이 결과에 의하면 CLA함유유지 사이에서도 CLA함유량에 따른 과산화물생성속도가 상당한 차이가 있음을 나타낸다. 이 유지샘플들을 각각 serum bottle에 옮겨 넣고 기밀 밀봉 후 60°C oven에서 6일 동안 저장하면서 serum bottle 상부공극의 산소소모량을 가스크로마토그래피로 측정하였다. 이 결과 위의 과산화물가 측정 결과와 유사하게 CLA를 다량 함유한 경화대두유의 경우가 경화하지 않은 일반 대두유에 비하여 저장 중 상부공극의 산소소모가 월등히 빨리 일어났다 (Fig. 18). 그러나 CLA함량별 경화대두유의 경우에는 CLA함유량이 높을수록 산소소모속도가 적어서, 위의 과산화물가의 실험과 거의 유사한 경향을 보였다. 일반대두유의 경우 상부공극의 산소함량이 0일 20.26%에서 6일 저장실험 후 18.21%로 감소되었으나, 11%, 18%, 23% CLA함유 경화대두유의 경우에는 6일 저장 후 상부공극의 산소함량이 각각 7.44, 8.16, 8.68% 이었다 (Fig. 18). Active Oxygen Method (AOM)를 이용한 자동산화안정성 실험에 의하면 일반대두유의 유도기간 (induction period, IP)은 16.9 hr 이었고, 11%-, 18%-, 및 23%-CLA함유경화대두유의 IP는 각각 3.32, 3.87, 3.73 hr이었다 (data not shown). 이는 CLA함유유지가 일반대두유에 비하여 자동산화유도기간이 무척 짧다는 것을 의미하고, CLA함유량에 따른 유지들 사이에는 자동산화안정성에 큰 차이가 없는 것을 의미한다.

### (3) CLA함량이 다른 경화대두유의 광산화 안정성에 관한 실험

이들 대두유시료들을 형광조사 조건에서 저장하면서 과산화물 및 2-alkenal함량의 변화를 과산화물가와 *p*-anisidine value를 측정된 결과에 의하면, 광산화안정성은 자동산화안정성과 다르게, 일반대두유에 비하여 CLA함유-경화대두유의 경우가 광저장 중

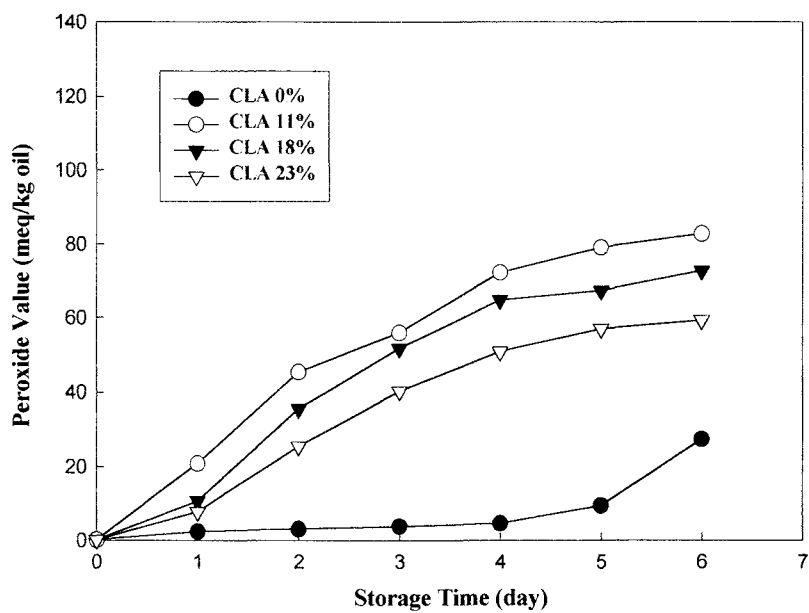


Figure 17. Peroxide formation of soybean oil and hydrogenated soybean oil containing CLA during storage at 60°C under dark

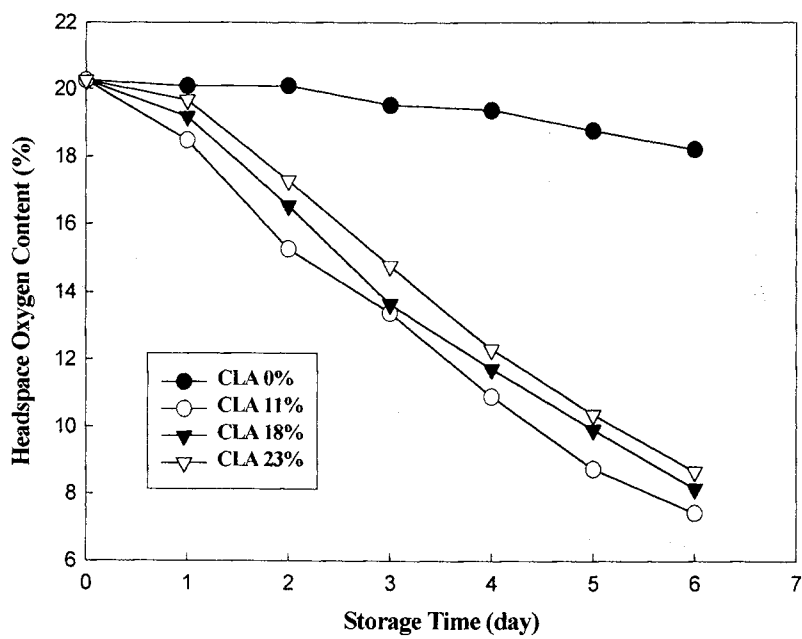


Figure 18. Headspace oxygen consumption in serum bottles containing soybean oil and hydrogenated soybean oil containing CLA during storage at 60°C under dark



과산화물 생성이 매우 더디게 진행되었다. 그리고 CLA 함량이 높을수록 과산화물 생성 속도가 늦추어졌다. 일반대두유 및 11%-, 18%-, 23%-CLA 함유 경화대두유의 초기 과산화물가는 모두 0.1 meq/kg oil이었으나, 6일 간 광산화시킨 후 과산화물가는 각각 155.8, 68.7, 54.7, 및 38.3 meq/kg oil이었다 (Fig. 19).

또한 *p*-anisidine value를 측정한 결과에서는 이들 유지간에 큰 차이를 나타내지 않았다. 일반대두유, 및 11, 18, 23% CLA 함유-경화대두유의 초기 *p*-anisidine value는 각각 4.85, 2.19, 2.05, 1.67이었다. 이는 경화가 진행되면서 2-alkenal 함량이 감소하였음을 나타낸 것이다. 그러나 이들 유지를 6일간 광저장한 후에 *p*-anisidine value는 각각 7.91, 4.33, 4.04, 3.76이었다 (Fig. 20). 일반대두유와 CLA 함유유지가 광저장 중 2-alkenal의 생성속도에 큰 차이가 없음을 의미하는 것이다. 이는 2-alkenal은 이차산화물이기 때문에 광산화조건과 같이 저온(25°C)에서 과산화물의 파괴가 적어서 이들 alkenal의 생성정도가 미미하기 때문인 것으로 판단된다. 따라서 이들 과산화물가의 실험결과로 해석하면, 광산화안정성은 일반대두유에 비하여, CLA 함유 경화대두유가 우수한 것으로 나타났고, 또 CLA 함량이 높을수록 광산화안정성이 증가하는 것으로 나타났다.

#### (4) CLA 함량에 따른 경화면실유의 자동산화안정성

CLA 함유-경화면실유의 경우도 CLA를 함유하지 않은 일반 면실유에 비하여 저장 중 과산화물 생성이 무척 빨리 일어났다. 그리고 경화면실유 중의 CLA 함유량이 높을수록 과산화물 생성이 적게 일어났다. 6일 저장실험 후 일반면실유, 11%-, 18%-, 23%-CLA 함유 경화면실유의 과산화물가는 각각 85.8, 111.6, 107.3, 103.7 meq/kg oil이었다 (Fig. 21). 이 실험결과에서 CLA 함유 경화면실유 및 일반면실유가 동일한 조건에서 실험한 CLA 함유경화대두유 및 대두유에 비하여 과산화물 생성속도가 현저히 빠

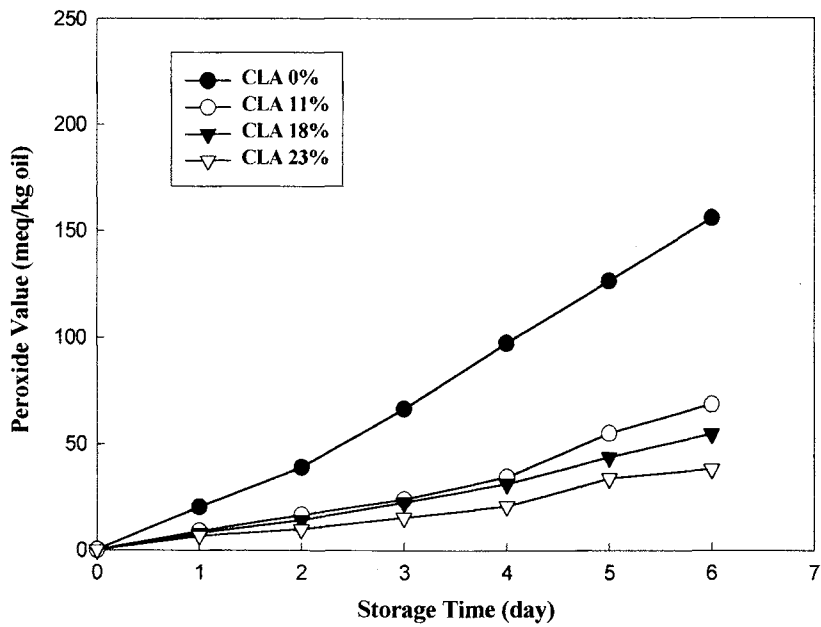


Figure 19. Peroxide formation of soybean oil and hydrogenated soybean oil during storage under fluorescent light illumination (5,500 lux) at 25°C

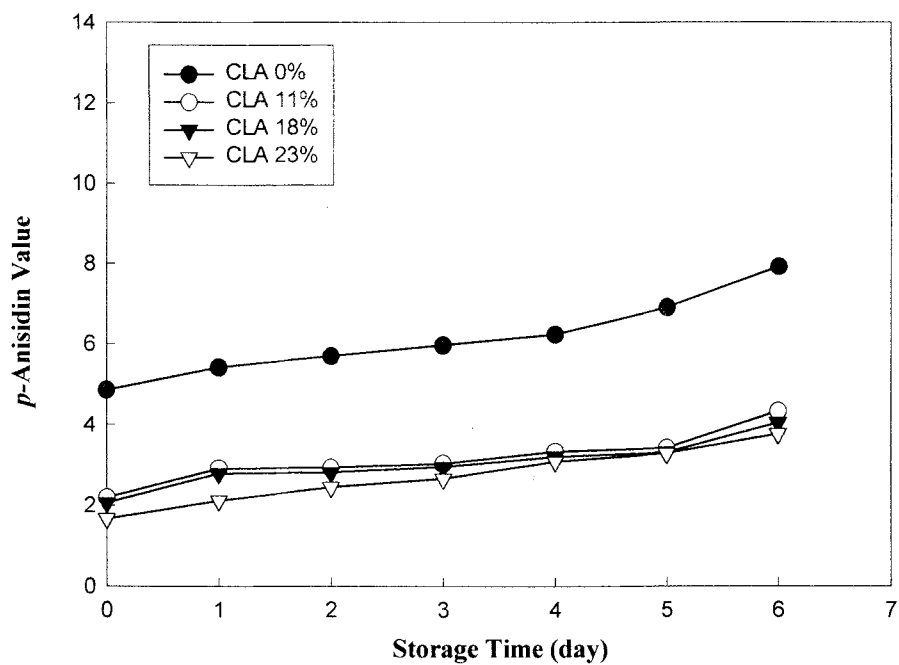


Figure 20. Changes in *p*-anisidine values of soybean oil and hydrogenated soybean oil during storage under fluorescent light illumination (5,500 lux) at 25 °C

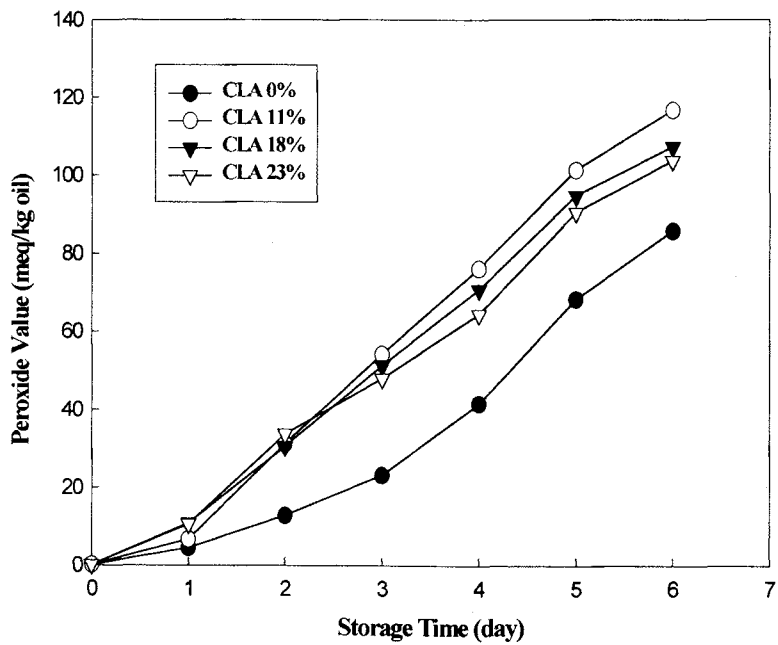


Figure 21. Peroxide formation of cottonseed oil and hydrogenated cottonseed oil containing CLA during storage at 60°C under dark

르게 나타났다. 면실유 및 경화면실유 샘플을 serum bottle에 옮겨 넣고 기밀 밀봉 후 60°C oven에서 6일 동안 저장하면서 serum bottle 상부공극의 산소소모량을 가스크로마토 그래피로 측정한 결과에서도, CLA를 함유한 경화면실유의 경우가 일반 면실유에 비하여 저장 중 상부공극의 산소소모가 월등히 빨리 일어났다. 그리고 CLA함량별 경화면실유들 중에서는 CLA함유량이 높을수록 산소소모속도가 적어서, 위의 과산화물가의 실험과 거의 유사한 경향을 보였다. 일반면실유의 경우 상부공극의 산소함량이 0일 20.26%에서 6일 저장실험 후 12.7%로 감소되었으나, 11%, 18%, 23% CLA함유 경화면실유의 경우에는 6일 저장후 상부공극의 산소함량이 각각 8.8, 7.8, 7.2% 이었다 (Fig. 22). 그러나 일반면실유와 경화면실유의 저장중 상부공극 산소소모량의 차이가 일반대두유와 경화대두유사이의 그 차이보다는 훨씬 적었다. Active Oxygen Method (AOM)를 이용한 자동산화안정성 실험에 의하면 일반면실유의 유도기간 (induction period, IP)은 12.1 hr 이었고, 11%-, 18%-, 및 23%-CLA함유경화대두유의 IP는 각각 4.47, 4.38, 3.42 hr이었다 (data not shown). 이는 CLA함유면실유가 일반면실유유에 비하여 자동산화유도기간이 무척 짧다는 것을 의미하고, CLA함유유지들간에는 IP값의 차이가 크지 않음을 나타낸 것이다.

#### (5) CLA함량에 따른 경화면실유의 과산화안정성

면실유 및 경화면실유의 과산화안정성 실험 결과에서도, 일반면실유에 비하여 CLA함유-경화면실유의 경우가 광저장 중 과산화물 생성이 매우 더디게 진행되었다. 그리고 CLA함량이 높을수록 과산화물생성 속도가 늦추어졌다. 일반면실유 및 11%-, 18%-, 23%-CLA함유 경화면실유의 초기 과산화물가는 모두 0.2 meq/kg oil이었으나, 6일 간 광산화시킨후 과산화물가는 각각 215.5, 95.8, 84.4, 및 67.8 meq/kg oil이었다 (Fig. 23).

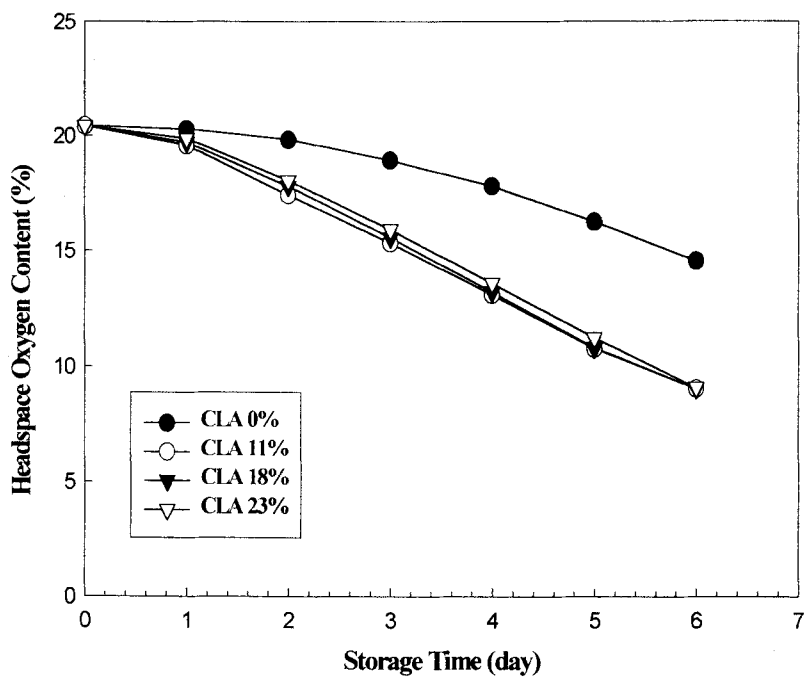


Figure 22. Headspace oxygen consumption in serum bottles containing cottonseed oil and hydrogenated cottonseed oil containing CLA during storage at 60°C under dark

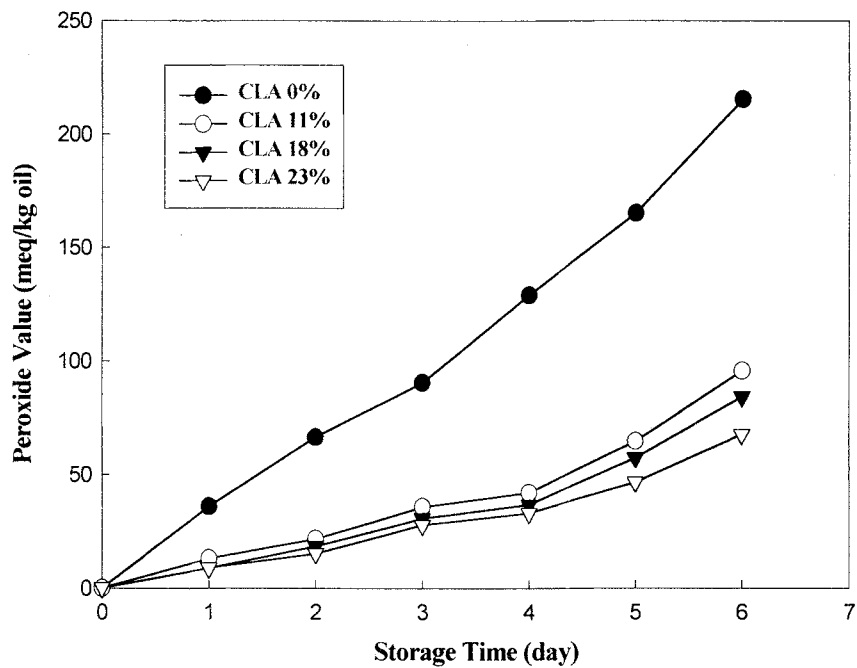


Figure 23. Peroxide formation of cottonseed oil and hydrogenated cottonseed oil during storage under fluorescent light illumination (5,500 lux) at 25 °C

또한 *p*-anisidine value를 측정된 결과에서는 이들 유지간에 큰 차이를 나타내지 않았다 (Fig. 24). 일반면실유, 및 11, 18, 23% CLA 함유-경화면실유의 초기 *p*-anisidine value는 각각 10.24, 6.33, 4.91, 4.48 이었다. 이는 경화가 진행되면서 2-alkenal함량이 감소하였음을 나타낸 것이다. 그러나 이들 유지를 6일간 광저장한 후에 *p*-anisidine value는 각각 12.74, 8.81, 7.97, 7.24 이었다. 일반경화유와 CLA함유유지가 광저장중 2-alkenal의 생성속도에 큰차이가 없음을 의미하는 것이다. 이는 2-alkenal은 과산화물이 분해되어 생산되는 이차산화물이기 때문에 광산화조건과 같이 저온(25°C)에서 과산화물의 파괴가 적어서 이들 alkenal의 생성정도가 미미하기 때문인 것으로 판단된다. 따라서 이들 과산화물가의 실험결과로 해석하면, 광산화안정성은 일반면실유에 비하여, CLA함유 경화면실유가 우수한 것으로 나타났고, 또 CLA함량이 높을수록 광산화안정성이 증가하는 것으로 나타났다.

#### (6) CLA함량에 따른 경화옥배유의 자동산화안정성

CLA함유-경화옥배유의 경우도 CLA를 함유하지 않은 일반 옥배유에 비하여 저장중 과산화물 생성이 무척 빨리 일어났다. 그리고 경화옥배유 중의 CLA함유량이 높을수록 과산화물 생성이 적게 일어났다. 6일 저장실험 후 일반옥배유, 11%, 18%, 23% CLA함유 경화옥배유의 과산화물가는 각각 7.2, 94.6, 90.6, 73.2 meq/kg oil이었다 (Fig. 25). 이 유지샘플들을 각각 serum bottle에 옮겨 넣고 기밀 밀봉 후 60°C oven에서 6일 동안 저장하면서 serum bottle 상부공극의 산소소모량을 가스크로마토 그래피로 측정하였다. 이 결과 위의 과산화물가 측정 결과와 유사하게 CLA를 다량 함유한 경화면실유의 경우가 경화하지 않은 일반 옥배유에 비하여 저장중 상부공극의 산소소모가 월등히 빨리 일어났다. 그러나 CLA함량별 경화옥배유의 경우에는 CLA함유량의 차이에 따른 산소소모속도의 차이가 적었다. 일반옥배유의 경우 상부공극의 산소함량이 0일



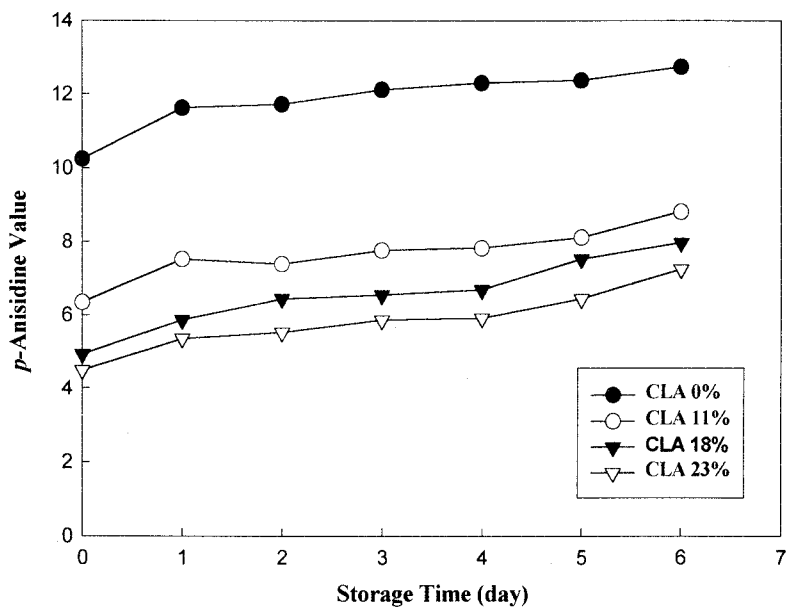


Figure 24. Changes in *p*-anisidine values of cottonseed oil and hydrogenated cottonseed oil during storage under fluorescent light illumination (5,500 lux) at 25 °C

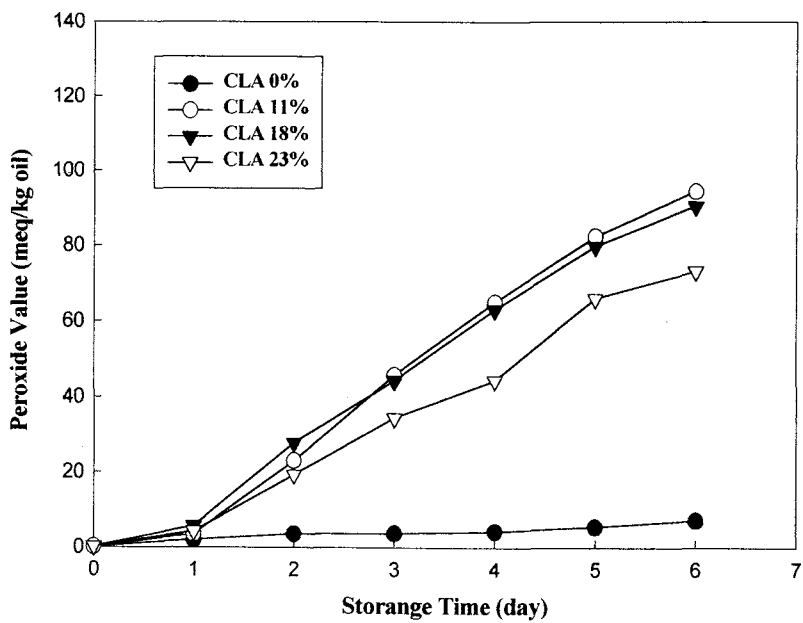


Figure 25. Peroxide formation of corn oil and hydrogenated corn oil containing CLA during storage at 60°C under dark

20.26%에서 6일 저장실험 후 19.98%로 감소되었으나, 11%, 18%, 23% CLA 함유 경화 옥배유의 경우에는 6일 저장후 상부공극의 산소함량이 각각 11.81, 10.60, 11.65% 이었다 (Fig. 26). Active Oxygen Method (AOM)를 이용한 자동산화안정성 실험에 의하면 일반옥배유의 유도기간 (induction period, IP)은 23.0 hr 이었고, 11%-, 18%-, 및 23%-CLA 함유경화옥배유의 IP는 각각 8.90, 5.88, 5.87 hr이었다 (data not shown). 이는 CLA 함유옥배유가 일반옥배유에 비하여 자동산화유도기간이 무척 짧다는 것을 의미하고, CLA 함유옥배유들 사이에는 IP값의 차이가 크지 않음을 나타낸 것이다.

#### (7) CLA 함량에 따른 경화옥배유의 광산화안정성

옥배유시료들의 광산화안정성실험에서도, 일반옥배유에 비하여 CLA 함유-경화옥배유가 광저장 중 과산화물 생성이 매우 더디게 진행되었다. 그리고 CLA 함량이 높을수록 과산화물생성 속도가 늦추어졌다. 일반옥배유 및 11%-, 18%-, 23%-CLA 함유 경화면실유의 초기 과산화물가는 모두 0.2 meq/kg oil이었으나, 6일 간 광산화시킨 후 과산화물가는 각각 104.2, 50.0, 41.8, 및 36.3 meq/kg oil이었다 (Fig. 27).

또한 *p*-anisidine value를 측정한 결과에서는 이들 유지간에 큰 차이를 나타내지 않았다. 일반면실유, 및 11, 18, 23% CLA 함유-경화옥배유의 초기 *p*-anisidine value는 각각 3.55, 2.80, 2.62, 2.55 이었다. 옥배유의 경우도 대두유 및 면실유와 마찬가지로 경화가 진행되면서 2-alkenal 함량이 감소하였음을 의미한다. 그러나 이들 유지를 6일간 광 저장한 후에 *p*-anisidine value는 각각 4.38, 3.71, 3.61, 3.59 이었다 (Fig. 28). 일반경화유와 CLA 함유유지가 광저장중 2-alkenal의 생성속도에는 큰 차이가 없음을 의미하는 것이다. 이는 2-alkenal은 과산화물이 분해되어 생산되는 이차산화물이기 때문에 광산화조건과 같이 저온(25°C)에서 과산화물의 파괴가 적어서 이들 alkenal의 생성정도가 미미하기 때문인 것으로 판단된다. 따라서 이들 과산화물가의 실험결과로 해석하면,

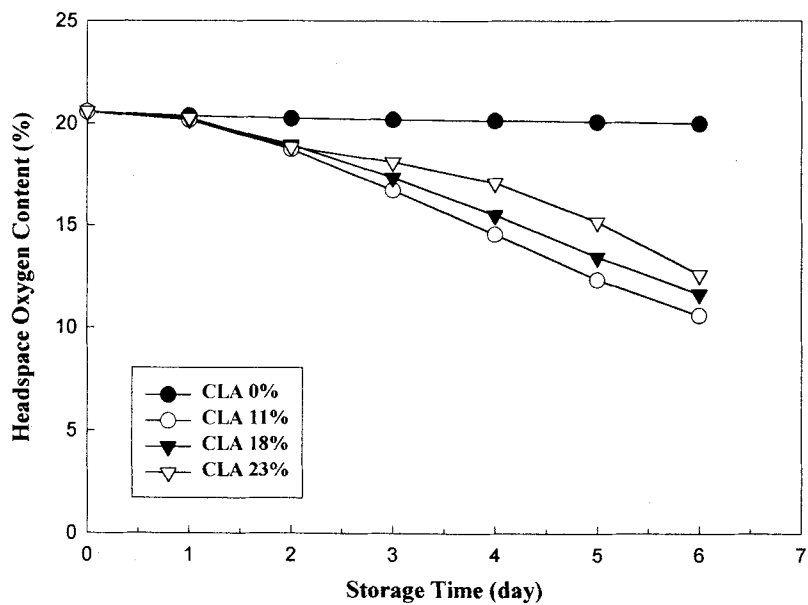


Figure 26. Headspace oxygen consumption in serum bottles containing corn oil and hydrogenated corn oil containing CLA during storage at 60°C under dark

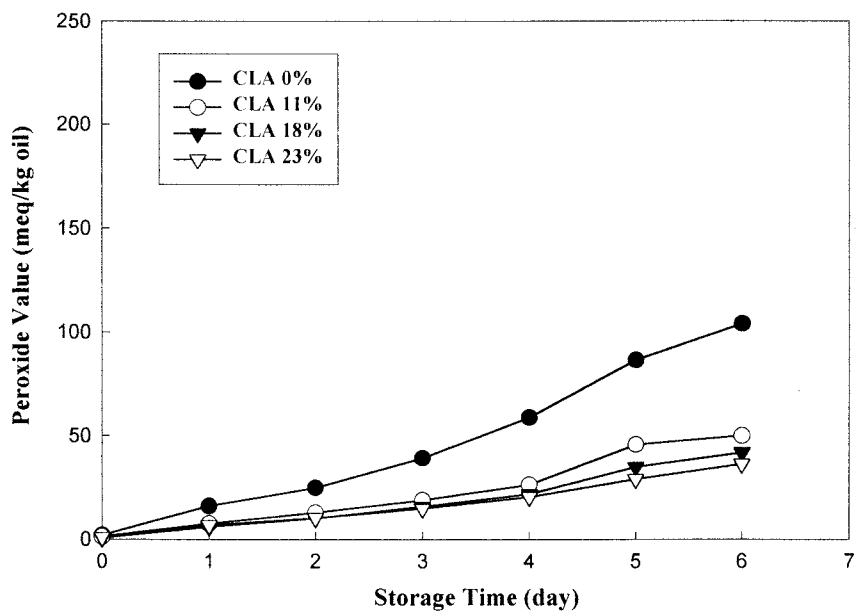


Figure 27. Peroxide formation of corn oil and hydrogenated corn oil during storage under fluorescent light illumination (5,500 lux) at 25°C

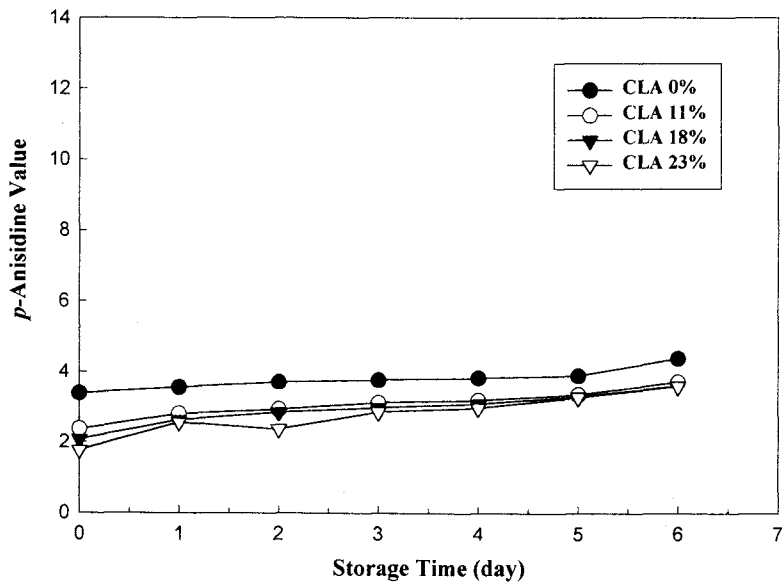


Figure 28. Changes in *p*-anisidine values of corn oil and hydrogenated corn oil during storage under fluorescent light illumination (5,500 lux) at 25 °C

광산화안정성은 일반옥배유에 비하여, CLA함유 경화옥배유가 상당히 우수한 것으로 나타났고, 또 CLA함량이 높을수록 광산화안정성이 증가하는 것으로 나타났다.

#### (8) CLA함량과 refractive index와의 상관관계

반응조에서 얻은 경화유지를 0.45 uL filter를 통하여 촉매를 제거한 후 이들 경화유지의 refractive index (RI)값을 60°C로 조정된 refractometer를 이용하여 측정하였고, iodine value (IV)는 AOCS 방법에 따라 측정하였다. 이때 이용된 샘플로는 CLA함량이 각각 다른 25개의 경화대두유를 이용하였다. 그 결과 경화반응이 진행되면서 일정기간 동안은 CLA함량이 급격히 증가하였고, 그후 그 양이 감소하는 경향을 보였다. CLA함량의 증가와는 상관없이 IV값은 거의 변화가 없어서 그 상관관계를 구할 수 없었다. 그러나 경화유 중의 CLA함량이 증가할수록, refractive index값은 CLA함량의 증가와 함께 크게 동반 상승하는 경향을 보였다 (Figure 29-31). 경화대두유 중의 CLA함량과 RI값과의 상관관계를 linear regression으로 분석하여 보니 그 상관계수  $r^2 = 0.91$ 로서 매우 밀접한 관계가 있음을 밝혀내었다. 또 상관관계식 (linear regression equation)은  $Y = 5235.89 X - 7640.68$ 이었다 (X= refractive index, Y = % CLA content) (Fig. 29). 경화면실유의 경우는 CLA함량과 RI값과의 상관관계  $r^2=0.98$ 에 이르며 상관관계식은  $Y=7717.87 X - 11252.64$  이었다 (X = refractive index, Y = % CLA content) (Fig. 30). 또한 경화옥배유의 경우도 CLA함량과 RI값과의 상관관계가 매우 높아서  $r^2 = 0.98$ 이었다 (Fig. 31). 그리고 linear regression equation 은  $Y = 7695.79 X - 11231.31$  이었다. 이들 공식들을 이용하면 RI값을 측정하여 손쉽게 경화유중의 CLA함량을 구해 낼 수 있게된다. RI값을 측정하는데 소요되는 시간은 불과 1-2분 가량 이어서, 지방산 분석에 의하여 측정하는 CLA함량분석시간인 약 3시간에 비하여 매우 빨리 경화유중의 CLA함량을 측정할 수 있는 방법으로 현장에서 이용 가능할 것으로 사료된다. CLA함

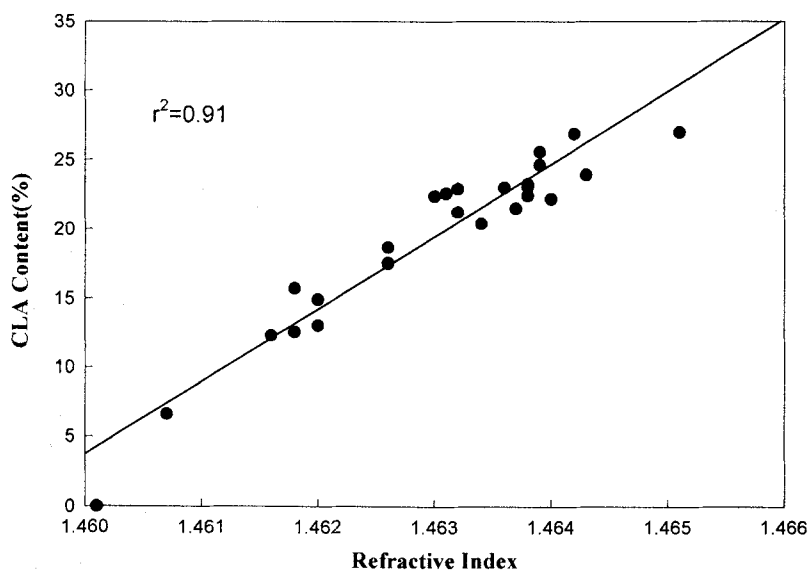


Figure 29. Correlation between CLA contents in hydrogenated soybean oil and their refractive index



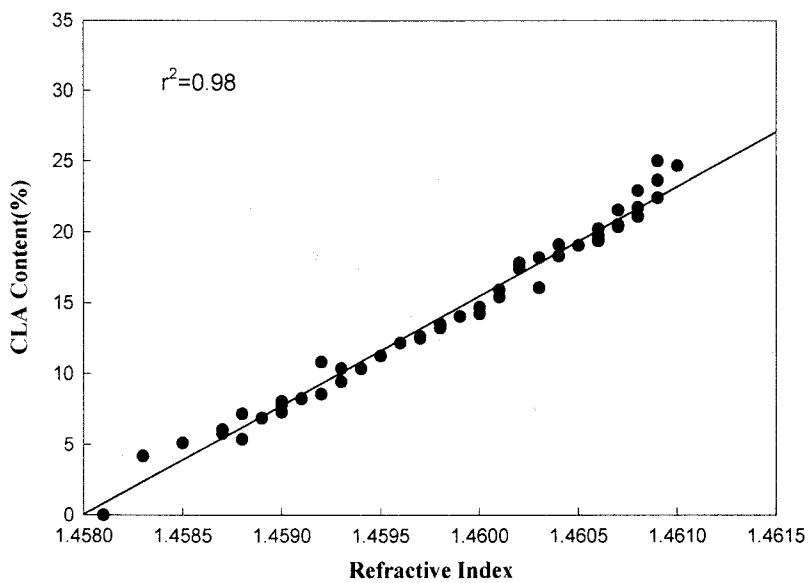


Figure 30. Correlation between CLA contents in hydrogenated cottonseed oil and their refractive index

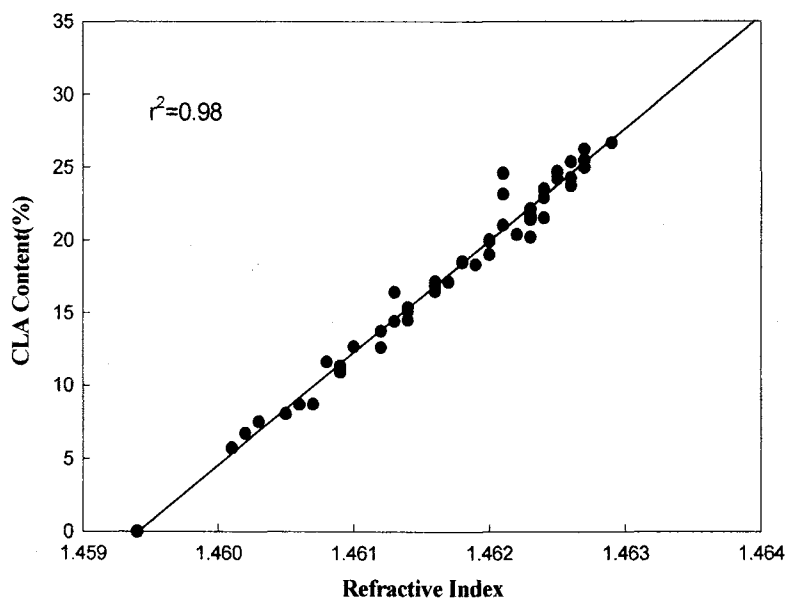


Figure 31. Correlation between CLA contents in hydrogenated corn oil and their refractive index

량과 RI와의 상관관계를 나타내는 이번 결과는 최초로 밝혀낸 것으로서, 본 연구에 의하여 CLA 함량을 작업현장에서 거의 실시간 측정할 수 있는 기술을 개발해낸 것이다.

#### (9) CLA함유 경화유지의 Solid Fat Content (SFC) 및 Melting Points (용점)

CLA함유 유지의 물리적인 특성을 파악하기 위하여 SFC를 NMR을 이용하여 여러 온도대에서 측정하였다. 측정결과 10°C에서 CLA함유경화대두유, CLA함유경화면실유 및 CLA함유경화옥배유들 모두에서 5%이하의 SFC를 함유하는 것으로 나타났다 (data not shown). 이는 10°C에서 23% CLA함유유지의 경우도 대부분 고체지를 약간 함유한 반투명 액상유로 존재하는 것을 의미하였다. 23% CLA함유 경화대두유, 23% CLA함유 경화면실유, 및 23% CLA함유 경화옥배유의 melting points는 각각 33°C, 29.8°C 및 24.8°C이었다 (Table 13). 따라서 이러한 고체지를 완전히 제거한 투명한 액상유를 제조하기 위해서 winterization(분별결정법)을 행하였다. 본 실험에서는 -2°C에 CLA 23% 함유 유지를 1일간 방치한 후 결정유지를 원심분리한 후 0.45 um filter로 여과하여 완전 투명한 액상유지 (liquid portion of hydrogenated oil containing CLA)와 고체상유지 (solid portion of hydrogenated oil containing)를 얻을 수 있었다. 이렇게 얻은 액상유지의 melting point는 0°C 이하인 반면, 고상유지의 melting point는 35.3°C이었다. 고상유지 및 액상유지모두에서 CLA함량은 약 23.0%로 큰 차이가 없었으나, 고상유지의 경우가 액상유지에 비하여 월등히 많은 함량의 stearic acid를 포함하고 있었다. 고상 및 액상유지의 stearic acid의 함량은 각각 8.52% 및 4.57%이었다 (data not shown).

#### (10) Differential Scanning Calorimeter (DSC) 분석

대두유, 면실유 및 옥배유의 DSC결과에 의하면 이들 유지들은 80°C에서 -40°C로 분당 5°C의 속도로 등속감온할 때 -10°C 부근에서만 강한 결정형성을 나타내었다. 그

Table 13. Melting points of oil samples

Sample	Melting Points(℃)
Soybean oil	0℃ 이하
HSO <sup>a</sup> with 11% CLA	0℃ 이하
HSO with 18% CLA	28℃
HSO with 23% CLA	33℃
Liquid portion of HSO with 23% CLA	0℃ 이하
Solid portion of HSO with 23% CLA	35.3℃
Cottonseed oil	0℃ 이하
HCSO <sup>b</sup> with 11% CLA	30.3℃
HCSO with 18% CLA	30.8℃
HCSO with 23% CLA	29.8℃
Corn oil	0℃ 이하
HCO <sup>c</sup> with 11% CLA	0℃ 이하
HCO with 18% CLA	30.5℃
HCO with 23% CLA	24.8℃

HSO<sup>a</sup> : Hydrogenated Soybean oil

HCSO<sup>b</sup> : Hydrogenated Cottonseed oil

HCO<sup>c</sup> : Hydrogenated Corn oil

리고 등온상온상태에서는  $-15^{\circ}\text{C}$  및  $-10^{\circ}\text{C}$ 에서 강한 피크를 보였다 (data not shown). 이 결과는 이들 유지들은  $0^{\circ}\text{C}$ 이하에서 결정성을 갖는다는 것을 의미한다. 그러나 23%CLA함유경화유지들은 등속감온 상태에서  $15^{\circ}\text{C}$  부근에서 1차 결정성을 나타내는 약한 피크를 보였다. 그리고 등속상온상태에서는  $-17^{\circ}\text{C}$  및  $-8^{\circ}\text{C}$ 영역에서 결정용해현상을 나타냈으며, 또  $10-48^{\circ}\text{C}$ 의 넓은 영역에서 적은 양이지만 결정상태를 유지하고 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 이들 CLA함유경화유지는 상온에서 적은 양의 결정을 함유하며 유동성을 갖고 있음을 의미한다 (Fig. 32, some data not shown). 이들 CLA가 함유된 경화유지의 이용성을 높이기 위해서 저온결정화(winterization)시켜 분리한 2개의 액상-CLA함유경화유 및 고상-CLA함유경화유의 DSC분석을 행하였다. 이들 분석결과에 의하면 액상-CLA함유경화유의 경우는 일반대두유와 거의 동일한 DSC분석결과를 얻었다 (Fig. 33). 이 결과는 액상-CLA함유유지의 경우 냉장고온도에서도 액상을 유지할 수 있는 물리적 특성을 갖고 있음을 의미한다. 그리고 고상-CLA함유경화유의 경우에는 등속감온상태에서  $20^{\circ}\text{C}$ 영역에서 강한 피크를 나타냈으며, 등속상온상태에서는  $40^{\circ}\text{C}$ 에서 강한 피크를 나타내었다 (Fig. 34). 따라서 액상-CLA함유경화유는 살라드유로 사용이 가능할 것으로 판단되며, 고상-CLA함유경화유는 마가린제조용 베이스로 사용이 가능하게 된다.

#### (11) CLA 유지 제조 공정용 수소첨가 공정의 최적화

수소경화공정 중 선택적 촉매가 비선택적 촉매보다 경화유중의 CLA생성에 월등히 효과적이었다.

수소첨가공정에서 CLA생산을 극대화하기 위한 최적공정을 찾아내었다. 이러한 공정조건에서 촉매양의 증가, 수소압력의 감소, 교반속도의 감소, 반응온도의 증가시키게 되면 CLA생산량의 증가를 이룰 수 있게된다. 즉 Gas-Liquid Mass Transfer

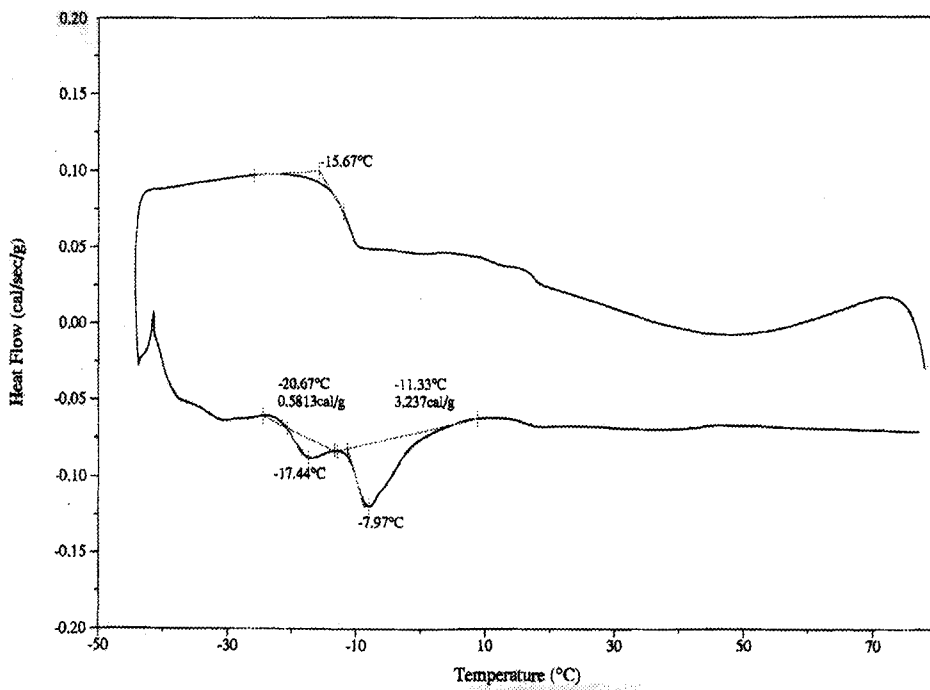


Figure 32. Differential scanning calorimetric analysis of hydrogenated soybean oil containing 23% CLA

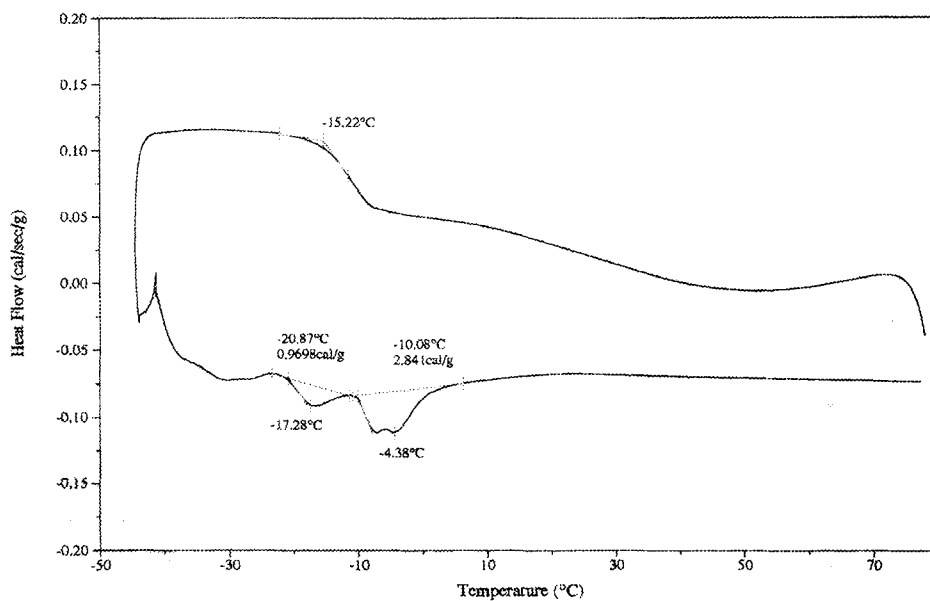


Figure 33. Differential scanning calorimetric analysis of liquid portion of hydrogenated soybean oil containing 23% CLA after winterization

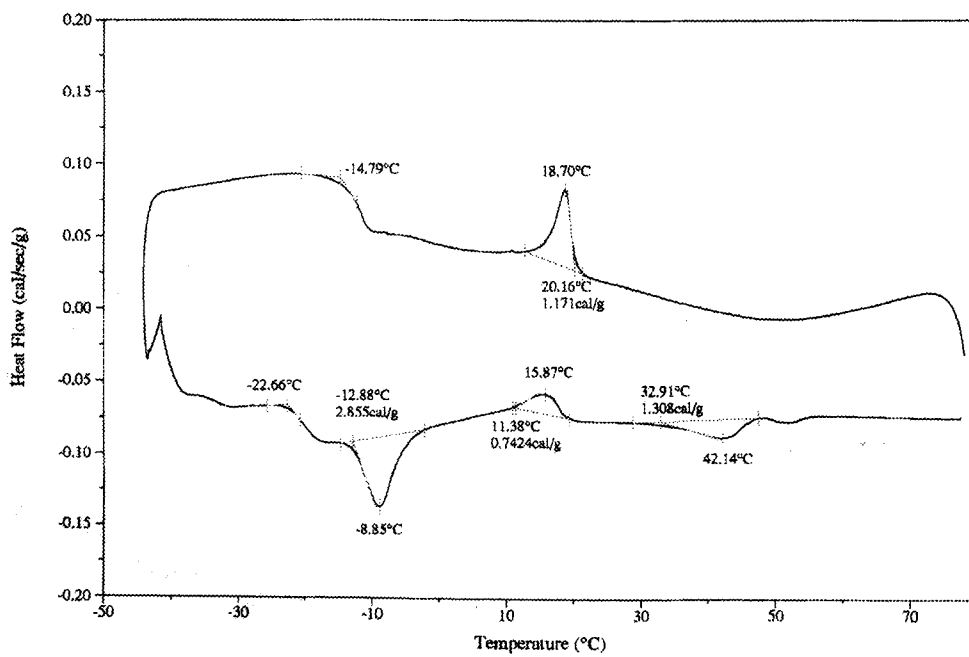


Figure 34. Differential scanning calorimetric analysis of solid portion of hydrogenated soybean oil containing 23% CLA after winterization



Limitation 조건하에서 경화유종의 CLA생성이 극대화된다는 사실을 밝혀내었다.

이들 최적조건하에서 최대 25%함량의 CLA를 함유한 대두유, 면실유 및 옥배유를 얻을 수 있었으며, 이는 기존에 알려진 선택적경화유 중의 CLA함량 10%에 비하여 2.5배의 CLA함량증가를 얻었음을 의미한다.

알콜에 의한 촉매전이수소첨가 기술에 의하여 다량의 CLA를 생산할 수 있다는 사실을 최초로 밝혀내었다. 그리고 이 기술에 의하여 생산된 유지중의 CLA함량은 약 21%에 달하였다. 이는 폭발위험성이 큰 수소가 아닌 알콜에 의하여 안전하게 CLA함유유지를 생산할 수 있는 기술의 개발을 의미한다.

CLA를 다량 함유한 경화유지들은 자동산화안정성이 일반유지에 비하여 현저히 떨어지는 것으로 나타났으나, 광산화안정성은 오히려 일반유지에 비하여 높게 나타났다.

경화유지중의 CLA함량과 Refractive Index를 비교한 실험에서 두 값 사이의 상관계수  $r^2$ 값이 0.91-0.98정도임을 밝혀내었다. 이는 1-2분 이내에 측정할 수 있는 RI값을 이용하여 현장에서 실시간 CLA함량을 분석할 수 있는 기술을 최초로 개발한 것이다.

CLA함유유지의 solid fat content, melting points, DSC 특성등을 조사한 결과 상온에서 유동성을 갖고, 고체지를 약 5%정도 함유한 물리적 특성을 갖는 것으로 나타났다. 이들 CLA함유유지를 winterization기술을 이용하여 액체상의 CLA함유유지와, 고체상의 CLA함유유지로 분리하여 얻은 결과, 이들 유지는 각각 완전한 액상 및 반고상의 특성을 갖는 것으로 나타났으며, 이들 액상 및 고상유지 모두 CLA함량에는 모두 동일한 정도의 CLA (23%)를 갖는 것으로 나타났다. 따라서 이들 유지는 각각 CLA를 다량 함유한 salad유지 및 margarine base로 사용이 가능하다.

## 제 2 절 CLA와 CLTG 유지의 농축 공정

### 1. 유지의 분별결정법에 의한 농축

#### (1) 부분경화 대두유의 CLA의 농축에 미치는 분획 온도, 용매, 단계별 분획법의 영향

부분 경화된 대두유를 8℃에서 정치하면서 정치 시간별로 액상 부분과 고상부분의 지방산 조성을 분석하였다 (Table 14). 12시간 후부터 48시간까지의 냉각 정치는 액상, 고상 부분의 지방산 조성에 유의적인 영향을 미치지 않는었다. CLA 함량은 17.9 - 18.9%로 나타났으며 분획 전의 시료와도 차이를 보이지 않았다. 같은 기간 동안의 액상 부분은 54%에서 15%로 감소하였음에도 불구하고 지방산 조성의 차이는 없었다 (Table 15).

같은 조건에서 부분 경화된 대두유를 2℃에서 정치하면서 정치 시간별로 액상 부분과 고상부분의 지방산 조성을 분석하였다 (Table 16). 12시간 후부터 48시간까지의 냉각 정치는 액상, 고상 부분의 지방산 조성에 유의적인 영향을 미치지 않는었다. CLA 함량은 16.7 - 18.6%로 나타났으며 분획 전의 시료와도 차이를 보이지 않았다. 같은 기간 동안의 액상 부분은 정치 시간이 증가함에 따라 54%에서 10%로 감소하였음에도 불구하고 지방산 조성의 차이는 없었다 (Table 17).

같은 경화 조건에서 부분 경화된 대두유를 8℃에서 정치하면서 정치 시간 12시간까지의 시료별로 액상 부분과 고상부분의 지방산 조성을 분석하였다 (Table 18). 2시간 후부터 12시간까지의 냉각 정치는 액상, 고상 부분의 지방산 조성에 유의적인 영향을 미치지 않는었다. CLA 함량은 18.5% 내외로 나타났으며 분획 전의 시료와도 차이를 보이지 않았다.

Table 14. Fatty acid composition of partially hydrogenated soybean oil resulting from melt crystallization and fractionation as affected by various reaction time at 8°C

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)								
	Unfractionated	12hr		24hr		36hr		48hr	
		liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline
C16:0	11.5	11.09	12.47	10.41	11.61	10.84	12.04	10.99	11.79
C18:0	5.0	4.35	5.90	4.14	3.97	4.37	5.49	4.39	5.17
C18:1	35.0	35.84	35.29	36.66	36.70	35.86	35.22	36.41	35.82
C18:2	28.4	28.98	26.80	29.51	27.49	29.05	27.26	28.51	27.25
C18:2 (CLA)	18.5	18.37	17.96	18.06	18.94	18.44	18.44	18.45	18.46
C18:3	0.6	0.48	0.53	0.53	0.32	0.51	0.55	0.42	0.53
C20:0	0.6	0.52	0.60	0.35	0.63	0.54	0.58	0.54	0.56
C22:0	0.4	0.37	0.45	0.34	0.34	0.39	0.42	0.29	0.42
Sat.	17.5	16.33	19.42	15.24	16.55	16.14	18.53	16.21	17.94
Unsat.	82.5	83.67	80.58	84.76	83.45	83.86	81.47	83.79	82.06

Table 15. Fractional yield of partially hydrogenated soybean oil resulting from melt crystallization and fractionation as affected by various reaction time at 8°C

12hr		24hr		36hr		48hr	
liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline
54	46	40	60	39	61	15	85

Table 16. Fatty acid composition of partially hydrogenated soybean oil resulting from melt crystallization and fractionation as affected by various reaction time at 2°C

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)								
	Unfractionated	12hr		24hr		36hr		48hr	
		liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline
C16:0	11.5	10.3	13.3	10.8	15.2	10.7	12.0	10.3	11.7
C18:0	5.0	4.1	6.3	4.2	10.7	4.4	5.4	4.0	5.1
C18:1	35.0	36.3	35.1	35.4	31.3	35.7	35.0	36.1	35.6
C18:2	28.4	29.8	25.6	29.7	23.9	29.3	27.5	29.6	27.8
C18:2 (CLA)	18.5	18.2	18.1	18.4	16.7	18.5	18.6	18.5	18.4
C18:3	0.6	0.6	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5	0.6	0.5
C20:0	0.6	0.3	0.6	0.5	0.9	0.5	0.6	0.5	0.5
C22:0	0.4	0.4	0.5	0.4	0.8	0.4	0.4	0.4	0.4
Sat.	17.5	15.1	20.7	28.4	27.6	16.0	18.4	15.2	17.7
Unsat.	82.6	84.9	79.3	71.6	72.4	84.0	81.6	84.8	82.3

Table 17. Fractional yield of partially hydrogenated soybean oil resulting from melt crystallization and fractionation as affected by various reaction time at 2°C

12hr		24hr		36hr		48hr	
liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline
54	46	50	50	33	67	10	90

Table 18. Fatty acid composition of partially hydrogenated soybean oil resulting from melt crystallization and fractionation as affected by various reaction time at 8°C

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)												
	Unfractionated	2hr		4hr		6hr		8hr		10hr		12hr	
		liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline
C16:0	11.5	10.7	12.7	10.5	12.9	10.3	13.0	10.4	13.0	10.3	12.7	10.6	12.8
C18:0	5.0	4.3	5.9	4.1	5.9	4.1	6.1	4.0	5.9	3.9	5.7	4.2	5.9
C18:1	35.0	35.4	34.6	35.4	36.1	35.6	34.5	35.4	35.9	35.5	34.7	35.4	34.5
C18:2	28.4	29.5	27.1	30.1	25.4	30.1	26.5	30.1	25.5	30.4	27.0	29.7	26.8
C18:2 (CLA)	18.5	18.6	18.2	18.5	18.2	18.5	18.2	18.5	18.2	18.4	18.4	18.5	18.5
C18:3	0.6	0.6	0.5	0.6	0.5	0.5	0.6	0.6	0.5	0.6	0.5	0.6	0.5
C20:0	0.6	0.5	0.6	0.4	0.6	0.5	0.6	0.5	0.6	0.5	0.6	0.5	0.6
C22:0	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Sat.	17.5	15.9	19.6	15.4	19.8	15.3	20.2	15.3	19.9	15.1	19.4	15.7	19.7
Unsat.	82.5	84.1	80.4	84.6	80.2	84.7	79.8	84.7	80.1	84.9	80.6	84.3	80.3

동일한 수소첨가 공정으로 부분 경화된 대두유를 8℃와 2℃에서 단계별로 6시간 동안 정치시키면서 정치 시간별로 액상 부분과 고상부분의 지방산 조성을 분석하였다 (Table 19). Single fractionation 이나 double fractionation 공정 모두에서 냉각 정치는 액상, 고상 부분의 지방산 조성에 유의적인 영향을 미치지 않는다고, CLA 함량은 18.4 - 18.6%로 나타났으며 분획 전의 시료와도 차이를 보이지 않았다.

부분경화 대두유를 다양한 유기 용매에 용해하여 -20℃에서 24시간 정치시키면서 정치 시간별로 지방산 조성을 분석하였다 (Table 20). Hexane, acetone 등에서 약간 높은 CLA 함량 증가가 관측되었으나 유의적인 차이는 없이 18.5 - 19.1% 수준으로 나타났다.

부분경화 대두유를 가수분해하여 얻은 지방산을 여러 유기 용매에 용해한 후 -20℃에서 24시간 정치시키면서 정치 시간별로 지방산 조성을 분석하였다 (Table 21). 지방산 농축의 경우 triglycerides 보다는 약간 증가하였으나 용매별로 유의적인 차이는 없었다. CLA 함량은 19.4 - 20.5% 수준으로 나타났다.

부분경화된 대두유를 triglycerides 형태로 acetone에 용해하여 -20℃에서 24시간 정치시킨 후 얻은 액상 부분의 지방산 조성을 정치 시간별로 분석하였다 (Table 22). 정치 시간의 증가에 따른 CLA 함량의 유의적인 증가는 보이지 않았고 함량은 19.4% 정도로 나타났다.

부분경화 대두유를 가수분해하여 얻은 지방산을 acetone에 용해하여 -20℃에서 24시간 정치시킨 후 얻은 액상 부분의 지방산 조성을 정치 시간별로 분석하였다 (Table 23). 정치 시간의 증가에 따른 CLA 함량의 유의적인 증가는 보이지 않았으나 함량은 20.7% 정도로 원료유지의 함량인 18.5%보다 약 12% 정도 상승한 것으로 나타났다.

부분경화된 대두유를 triglycerides 형태로 다양한 비율의 acetone에 용해하여 -20℃에서 24시간 정치시킨 후 얻은 액상 부분의 지방산 조성을 용매의 희석 비율별로 분석



Table 19. Fatty acid composition of partially hydrogenated soybean oil resulting from melt crystallization as affected by single and double fractionation at 8 and 2°C for 6hrs

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)				
	Unfractionated	Single fraction 8°C		Double fraction 8°C liquid→2°C	
		liquid	crystalline	liquid	crystalline
C16:0	11.5	10.3	13.0	10.1	11.6
C18:0	5.0	4.1	6.1	3.9	4.7
C18:1	35.0	35.6	34.5	37.0	36.7
C18:2	28.4	30.1	26.5	28.9	27.1
C18:2(CLA)	18.5	18.5	18.2	18.6	18.4
C18:3	0.6	0.5	0.6	0.6	0.5
C20:0	0.6	0.5	0.6	0.5	0.6
C22:0	0.4	0.4	0.5	0.4	0.4
Saturated	17.5	15.3	20.2	14.9	17.3
Unsaturated	82.5	84.7	79.8	85.1	82.7

Table 20. Fatty acid composition of liquid fractions obtained from triglyceride form of partially hydrogenated soybean oil after solvent crystallization with various solvent at -20°C for 24hrs

Solvent	Fatty acids	Methyl esters (% by weight)						
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	CLA	C18:3	C20:0	C22:0
Unfractionated	11.5	5.0	35.0	28.4	18.5	0.6	0.6	0.4
Hexane	10.8	4.2	37.6	27.2	18.8	0.5	0.5	0.4
Acetone	9.5	3.3	37.8	29.0	19.1	0.5	0.5	0.3
95% Acetone/hexane	9.6	3.4	37.9	28.8	19.0	0.5	0.5	0.3
Petroleum ether	10.9	4.3	37.5	27.1	18.8	0.5	0.5	0.4
Diethyl ether	11.2	4.4	37.4	26.8	18.8	0.5	0.5	0.4
Methanol	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylethylketone	11.4	4.5	37.4	26.6	18.6	0.5	0.6	0.4

Table 21. Fatty acid composition of liquid fractions obtained from fatty acid form of partially hydrogenated soybean oil after solvent crystallization with various solvent at -20°C for 24hrs

Solvent	Fatty acids	Methyl esters (% by weight)							
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	CLA	C18:3	C20:0	C22:0
Unfractionated		11.5	5.0	35.0	28.4	18.5	0.6	0.6	0.4
Hexane		6.2	1.9	40.9	30.3	19.8	0.5	0.3	0.2
Acetone		7.1	2.2	40.3	29.4	20.0	0.4	0.4	0.2
95% Acetone/hexane		7.3	2.4	40.1	29.0	20.1	0.5	0.4	0.2
Petroleum ether		6.9	2.2	40.5	29.9	19.4	0.5	0.4	0.2
Diethyl ether		9.2	2.8	39.2	28.6	19.0	0.5	0.4	0.3
Methanol		5.6	1.3	41.0	30.8	20.5	0.5	0.3	0.2
Ethanol		8.7	2.7	39.5	28.6	19.4	0.5	0.4	0.2
Methylethylketone		7.6	2.3	40.3	29.3	19.6	0.5	0.2	0.2

Table 22. Fatty acid composition of liquid fractions obtained from triglyceride form of partially hydrogenated soybean oil after solvent crystallization with acetone at -20°C for 24hrs

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)						
	Unfractionated	4hr	8hr	12hr	16hr	20hr	24hr
C16:0	11.5	9.3	9.2	8.8	8.8	8.8	8.8
C18:0	5.0	3.1	3.1	2.9	2.9	2.9	2.9
C18:1	35.0	37.8	37.8	37.8	37.9	37.9	38.0
C18:2	28.4	29.3	29.6	29.9	29.8	29.8	29.7
C18:2(CLA)	18.5	19.3	19.3	19.4	19.4	19.4	19.4
C18:3	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
C20:0	0.6	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
C22:0	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Saturated	17.5	13.1	13.0	12.4	12.4	12.4	12.4
Unsaturated	82.5	86.9	87.0	87.6	87.6	87.6	87.6

Table 23. Fatty acid composition of liquid fractions obtained from fatty acid form of partially hydrogenated soybean oil after solvent crystallization with acetone at -20°C for 24hrs

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)						
	Unfractionated	4hr	8hr	12hr	16hr	20hr	24hr
C16:0	11.5	5.4	5.3	5.3	5.3	5.3	5.3
C18:0	5.0	1.2	1.2	1.1	1.1	1.1	1.1
C18:1	35.0	41.5	41.5	41.5	41.5	41.5	41.6
C18:2	28.4	30.4	30.5	30.5	30.5	30.5	30.4
C18:2(CLA)	18.5	20.6	20.6	20.7	20.7	20.7	20.7
C18:3	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
C20:0	0.6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
C22:0	0.4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Saturated	17.5	7.0	6.9	6.8	6.8	6.8	6.8
Unsaturated	82.5	93.0	93.1	93.2	93.2	93.2	93.2

하였다 (Table 24). 회석비율을 1:4에서 1:14로 증가시키에 따른 CLA 함량의 유의적인 증가는 보이지 않았고 함량은 19.4% 정도로 나타났다.

부분경화된 대두유를 가수분해하여 얻은 지방산을 다양한 비율의 acetone에 용해하여 -20℃에서 24시간 정치시킨 후 얻은 액상 부분의 지방산 조성을 용매의 회석 비율 별로 분석하였다 (Table 25). 회석비율을 1:4에서 1:14로 증가시키에 따른 CLA 함량은 최고 21.3% (원료유지에 대하여 15.1% 증가)까지 증가하였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

부분경화 대두유를 -20℃와 -70℃에서 24시간 정치시킨 후 액상분과 고상분으로 분획 (single fractionation)하여 지방산 조성을 분석하였다 (Table 26). 또한 -20℃에서 정치시켜 얻은 액상분을 -70℃에서 24시간 정치시킨 후 액상분과 고상분으로 분획 (double fractionation)하여 지방산 조성을 분석하였으며, -70℃에서 24시간 정치시켜 얻은 고상분을 -20℃에서 용해시켜 액상과 고상으로 나누어 (double fractionation) 지방산 조성을 분석하였다 (Table 26).

그러나 단일분획법이나 이중분획법이나 CLA 유지 함량의 증가에는 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타나 CLA 함량은 17.3 - 20% 수준으로 나타났다.

단일분획법으로 얻어진 액상 부분을 acetone에 용해시켜 온도별로 24시간 정치시킨 후 지방산 조성을 분석하였다 (Table 27). 액상분의 CLA 함량은 -70℃에서 정치시켰을 때 30.2%로 가장 높게 나타났다. 그러나 다른 온도에서는 비분획분의 24.6%에 비하여 정치온도가 내려가면 내려 갈수록 25.1 - 27.5%로 약간 증가하는 추세를 보였다.

Acetone을 용매로 하는 유기용매분획법을 single-step, double-step, multi-step으로 나누어 실험하였다. 이 방법은 주로 triglyceride의 포화지방산 함량에 근거하여 분리가 수행되는데 single-step fractional crystallization (-70℃, -20℃, -10℃, 5℃), double-step fractional crystallization (-20℃ liquid → -70℃), multi-step fractional

Table 24. Fatty acid composition of liquid fraction after solvent fractionation as affected by ratio of partially hydrogenated soybean oil(triglyceride form) to acetone at -20°C for 24hrs

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)						
	Unfractionated	1:4	1:6	1:8	1:10	1:12	1:14
C16:0	11.5	8.8	8.6	8.7	8.3	8.3	8.8
C18:0	5.0	2.9	2.8	2.9	2.6	2.6	2.9
C18:1	35.0	37.6	37.8	37.8	37.8	37.9	37.8
C18:2	28.4	30.1	30.2	30.0	30.7	30.6	30.0
C18:2(CLA)	18.5	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.3
C18:3	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
C20:0	0.6	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
C22:0	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Saturated	17.5	12.4	12.1	12.3	11.6	11.6	12.4
Unsaturated	82.5	87.6	87.9	87.7	88.4	88.4	87.6

Table 25. Fatty acid composition of liquid fraction after solvent fractionation as affected by ratio of partially hydrogenated soybean oil(fatty acid form) to acetone at -20°C for 24hrs

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)						
	Unfractionated	1:4	1:6	1:8	1:10	1:12	1:14
C16:0	11.5	3.3	3.0	3.5	3.2	3.3	4.3
C18:0	5.0	0.5	0.4	0.6	0.6	0.5	1.0
C18:1	35.0	41.7	42.0	41.9	41.8	42.0	41.7
C18:2	28.4	32.5	32.6	32.1	32.5	32.1	31.2
C18:2(CLA)	18.5	21.3	21.3	21.2	21.3	21.3	21.0
C18:3	0.6	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6
C20:0	0.6	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
C22:0	0.4	0	0	0	0	0	0
Saturated	17.5	4.0	4.2	4.3	4.0	4.0	5.5
Unsaturated	82.5	96.1	95.8	95.7	96.0	96.0	94.5



Table 26. Fatty acid composition of partially hydrogenated soybean oil resulting from single and double solvent crystallization as affected by temperature during 24hrs

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)								
	Unfractionated	Single fraction				Double fraction			
		-20°C		-70°C		-20°C liquid → -70°C		-70°C crystalline → -20°C	
		liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline	liquid	crystalline
C16:0	11.5	8.8	15.8	1.5	12.0	2.0	7.5	7.2	16.0
C18:0	5.0	2.9	8.0	0.3	5.3	0.5	2.1	1.9	7.8
C18:1	35.0	38.0	36.8	28.9	37.6	31.8	37.9	37.8	38.2
C18:2	28.4	29.7	20.2	48.3	25.3	44.7	32.5	32.4	18.2
C18:2 (CLA)	18.5	19.4	17.3	19.9	18.4	20.0	19.2	19.8	18.0
C18:3	0.6	0.5	0.3	1.1	0.4	1.0	0.6	0.5	0.3
C20:0	0.6	0.4	0.8	0.1	0.6	0	0	0.2	0.8
C22:0	0.4	0.3	0.6	0	0.4	0	0.2	0.2	0.6
Sat.	17.5	12.4	25.2	1.9	18.3	2.5	9.8	9.5	25.0
Unsat.	82.5	87.6	74.8	98.1	81.7	97.5	90.2	90.5	75.0

Table 27. Fatty acid composition of the liquid fractions of partially hydrogenated soybean oil resulting from single-step fractional crystallization in acetone as affected by temperature for 24hrs

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)					
	Unfractionated	20°C	5 °C	-10 °C	-20 °C	-70 °C
C16:0	12.5	12.1	11.7	10.0	7.6	2.0
C18:0	6.6	5.1	4.6	3.6	2.2	0.4
C18:1	38.3	39.1	39.5	40.1	40.6	35.5
C18:2	16.6	17.2	17.5	19.3	21.6	31.4
C18:2(CLA)	24.6	25.1	25.4	26.4	27.5	30.2
C18:3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2
C20:0	0.8	0.8	0.8	0.2	0.1	0.1
C22:0	0.5	0.5	0.5	0.3	0.2	0.3
Saturated	20.4	18.5	17.6	14.1	10.1	2.8
Unsaturated	79.6	81.5	82.4	85.9	89.9	97.2

crystallization ( $-70^{\circ}\text{C}$  solid  $\rightarrow -20^{\circ}\text{C}$  solid  $\rightarrow 5^{\circ}\text{C}$ ), ( $5^{\circ}\text{C}$  liquid  $\rightarrow -20^{\circ}\text{C}$  liquid  $\rightarrow -70^{\circ}\text{C}$ )의 방법을 사용하였다.

$-20^{\circ}\text{C}$ 와  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 행한 double-step 분획법 (Fig. 35)의 획분별 지방산 조성은 Table 28과 같다. 이 방법에 의하면  $-70^{\circ}\text{C}$ 의 액상분에서는 CLA 함량이 30.5%로 나타났다.

$5^{\circ}\text{C}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $-70^{\circ}\text{C}$ 의 온도를 사용하여 multi-step 분획법 (Fig. 36)으로 얻은 획분의 경우에도 CLA 함량의 증가는 유의적이지 못 하였다 (Table 29).

부분경화 대두유를 10% 농도로 acetone에 용해시켜  $5^{\circ}\text{C}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $-70^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서 multi-step 분획법 (Fig. 37)으로 얻은 획분의 경우에도 CLA의 최고 함량은 30.7%로 나타났다 (Table 30).

## (2) CLA 유지 농축에 미치는 Ag ion의 영향

부분경화 대두유를 10% 농도로  $\text{AgNO}_3$  포화 methanol/acetone 용매에서  $-20^{\circ}\text{C}$ 와  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 double-step 분획법 (Fig. 38)으로 얻은 획분의 경우에도 CLA 함량의 증가는 유의적이지 못 하였다 (Table 31).

결론적으로 부분경화 대두유를 트리글리세리드 형태로  $-20^{\circ}\text{C}$ 와  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 이단계분획법으로 분획하였을 때 CLA 초기 함량 24.6%를 30.5%로 약 24% 증가시킬 수 있었다.

## 2. 초임계 이산화탄소 추출을 이용한 CLA의 정제

### (1) 추출압력 변화에 따른 총 추출량의 변화

일정한 추출온도에서 압력의 변화에 따른 CLA 혼합물의 추출량 변화는  $50^{\circ}\text{C}$ 에서

Partially hydrogenated soybean  
oil triglycerides (PHSO-TG)

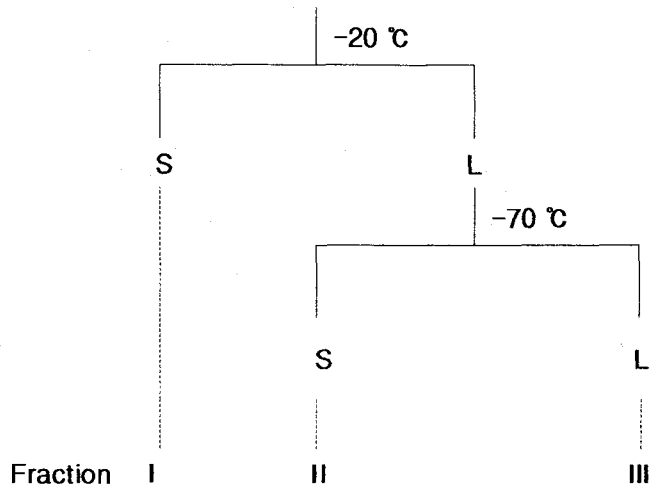


Fig. 35. Fractional solvent crystallization sequence for separating PHSO-TG into three fractions. Samples were double-step crystallized from 10%(w/v) solutions in acetone at the temperatures indicated for 24hrs

Table 28. Fatty acid compositions of the three final fractions of PHSO-TG resulting from double-step solvent crystallization as affected by temperature during 24hrs

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)			
	Unfractionated	Fraction I	Fraction II	Fraction III
C16:0	12.5	19.6	9.2	2.5
C18:0	6.6	22.1	3.1	0.6
C18:1	38.3	29.5	40.9	35.8
C18:2	16.6	7.9	19.2	30.0
C18:2(CLA)	24.6	17.8	26.6	30.5
C18:3	0.1	0	0.1	0.2
C20:0	0.8	1.6	0.6	0.2
C22:0	0.5	1.5	0.3	0.2
Saturated	20.4	44.8	13.2	3.5
Unsaturated	79.6	55.2	86.8	96.5

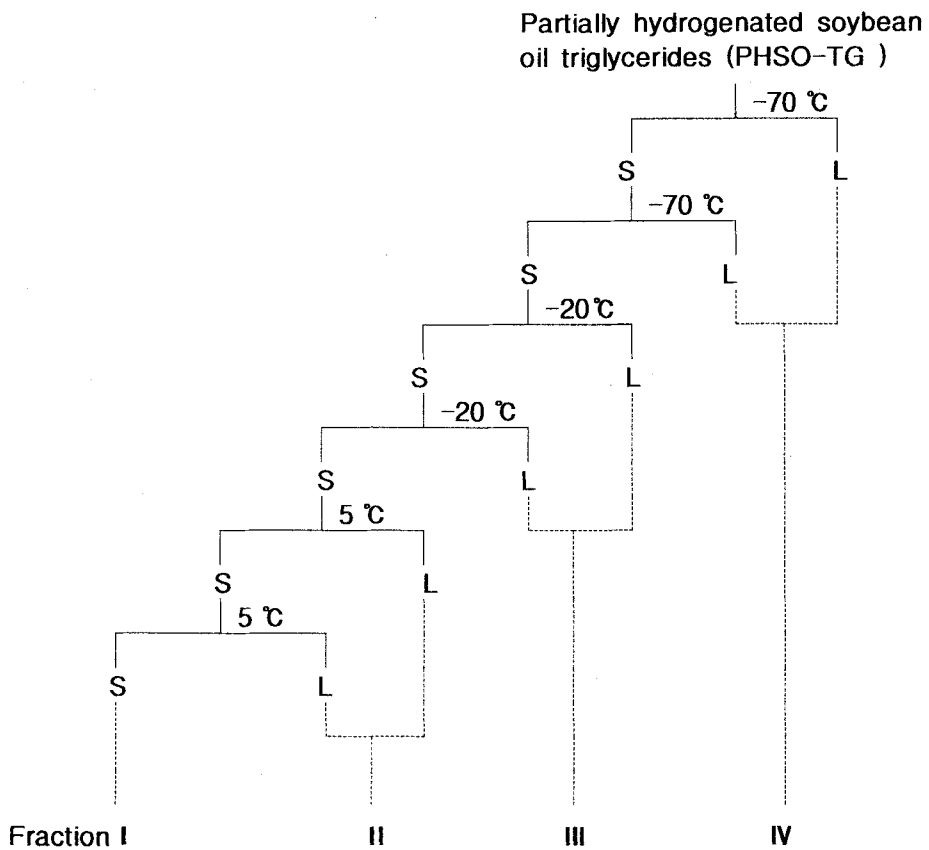


Fig. 36. Fractional solvent crystallization sequence for separating PHSO-TG into four fractions. Samples were multi-step crystallized from 10%(w/v) solutions in acetone at the temperatures indicated for 24hrs

Table 29. Fatty acid compositions of the four final fractions of PHSO-TG resulting from multi-step solvent crystallization as affected by temperature during 24hrs

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)				
	Unfractionated	Fraction I	Fraction II	Fraction III	Fraction IV
C16:0	12.5	23.1	20.7	8.3	2.8
C18:0	6.6	50.2	10.0	2.4	0.7
C18:1	38.3	14.6	36.1	40.8	37.0
C18:2	16.6	0.9	9.2	20.2	28.8
C18:2(CLA)	24.6	7.6	21.6	27.7	30.2
C18:3	0.1	0	0	0.1	0.2
C20:0	0.8	1.8	1.3	0.3	0.1
C22:0	0.5	1.8	1.1	0.2	0.2
Saturated	20.4	76.9	33.1	11.2	3.8
Unsaturated	79.6	23.1	66.9	88.8	96.2

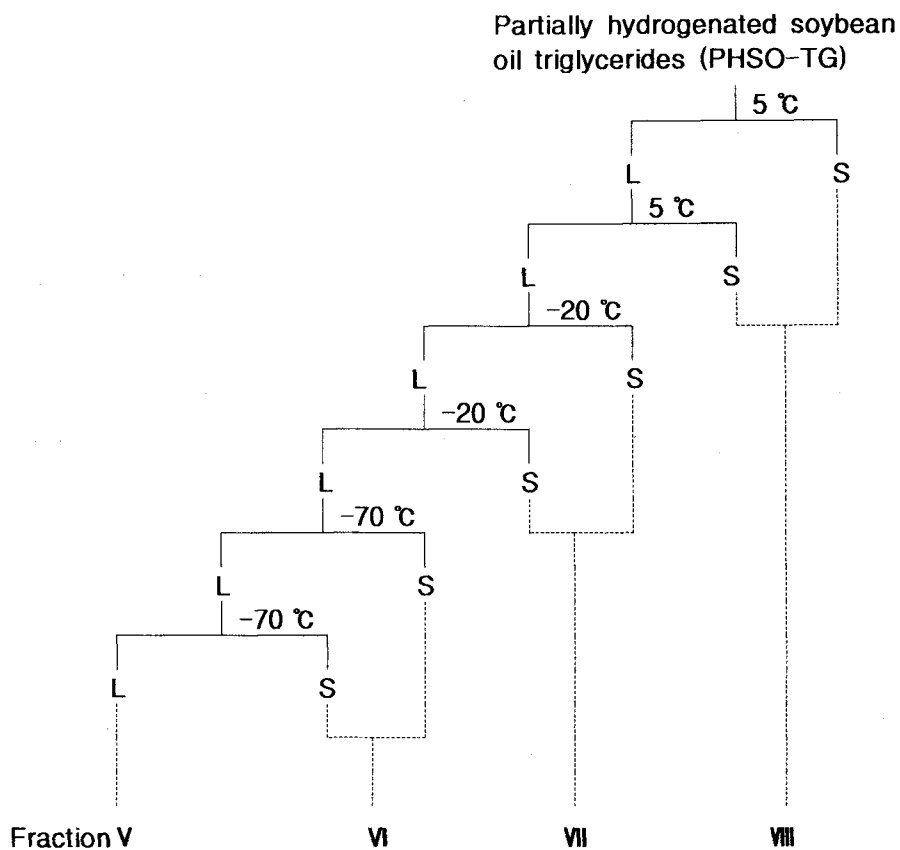


Fig. 37. Fractional solvent crystallization sequence for separating PHSO-TG into four fractions. Samples were multi-step crystallized from 10%(w/v) solutions in acetone at the temperatures indicated for 24hrs



Table 30. Fatty acid compositions of the four final fractions of PHSO-TG resulting from multi-step solvent crystallization as affected by temperature during 24hrs

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)				
	Unfractionated	Fraction V	Fraction VI	Fraction VII	Fraction VIII
C16:0	12.5	2.4	8.9	20.0	19.0
C18:0	6.6	0.6	2.9	9.4	62.6
C18:1	38.3	35.6	41.4	36.5	10.1
C18:2	16.6	30.2	19.2	9.8	0.4
C18:2(CLA)	24.6	30.7	26.7	22.0	4.8
C18:3	0.1	0.2	0.1	0	0
C20:0	0.8	0.2	0.6	1.3	1.6
C22:0	0.5	0.1	0.2	1.0	1.5
Saturated	20.4	3.3	12.6	31.7	84.7
Unsaturated	79.6	96.7	87.4	68.3	15.3

partially hydrogenated soybean  
oil triglycerides (PHSO-TG)

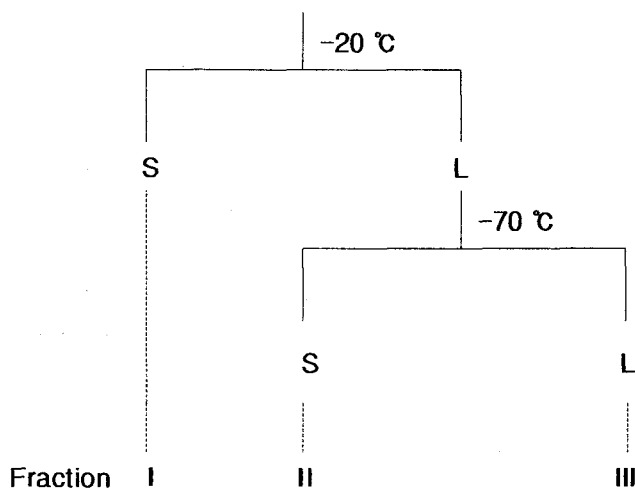


Fig. 38. Separation sequence for PHSO-TG using double-step fractional crystallization in the presence of  $\text{Ag}^+$ . Samples were crystallized from 10%(w/v) solution in  $\text{AgNO}_3$  saturated methanol/acetone (70/30) at the temperatures indicated for 24hrs

Table 31. Fatty acid compositions of the three final fractions of PHSO-TG resulting from double-step solvent crystallization in the presence of Ag<sup>+</sup>.

Fatty acids	Methyl esters (% by weight)			
	Unfractionated	Fraction I	Fraction II	Fraction III
C16:0	12.5	16.0	13.8	2.3
C18:0	6.6	11.9	4.6	0.4
C18:1	38.3	34.9	35.3	42.9
C18:2	16.6	11.9	23.1	29.0
C18:2(CLA)	24.6	23.0	22.1	25.0
C18:3	0.1	0.1	0.2	0.1
C20:0	0.8	1.2	0.6	0.3
C22:0	0.5	1.0	0.3	0
Saturated	20.4	30.1	19.3	3.0
Unsaturated	79.6	69.9	80.7	97.0

Figure 39과 같았으며, 60℃의 경우에는 Figure 40와 같았다. Figures 39와 40을 살펴 보면 일정한 추출온도에서 압력이 증가함에 따라 초임계 이산화탄소에 의한 CLA 혼합물의 추출량이 급격히 증가함을 알 수 있다. 또한 낮은 압력에서의 증가량에 비해 높은 압력에서의 증가량이 월등히 큰 것을 알 수 있다. 이는 초임계 이산화탄소의 추출은 초임계 이산화탄소의 용해력(solvent power)에 의하여 좌우되며, 초임계 이산화탄소의 용해력은 이산화탄소의 밀도에 대한 함수이기 때문이다. 즉, 초임계 이산화탄소의 밀도는 일정한 온도에서는 압력이 증가함에 따라 증가하고, 일정한 압력에서는 온도가 낮아짐에 따라 증가한다는 사실은 이미 밝혀져 있다.

특히 50℃의 추출온도에서 6,000 psi의 추출압력을 사용할 경우 분획 1~3에서 약 12g씩의 추출량을 보인다는 것은 최대 추출속도를 나타내는 것이다. 또한 같은 조건에서 분획 4의 추출량이 급격히 감소하는 것은 추출조에 공급한 시료의 양이 약 50 g이었기 때문에 세 번째 분획까지의 추출로 더 이상의 추제가 거의 존재하지 않게 되어 계속되는 초임계 이산화탄소의 추출에서 추출물의 양이 급격히 감소하기 때문이다.

따라서 초임계 이산화탄소 추출에 의한 CLA 혼합물의 추출은 일정한 추출온도에서는 낮은 압력에서보다는 높은 압력을 사용하는 것이 추출속도를 크게 할 수 있어서 더 경제적이며 더 효율적이라는 것을 알 수 있었다.

## (2) 추출압력 변화에 따른 CLA 추출량의 변화

CLA 추출량만을 비교하여 보면, Figure 41은 50℃에서 CLA 추출량을 %로 나타낸 것이고 Figure 42는 60℃에서의 CLA 추출량을 %로 나타낸 것이다. 양쪽 추출온도 모두에서 가장 낮은 추출압력인 1,500 psi(Figure 41)와 2,000 psi(Figure 42)를 제외하고는 높은 압력에서 CLA의 추출량은 크게 차이를 보이지는 않았다. 그러나 50℃, 6,000 psi의 경우에는 추출 분획이 증가할수록, 즉 추출에 사용된 이산화탄소의 양이 증가할

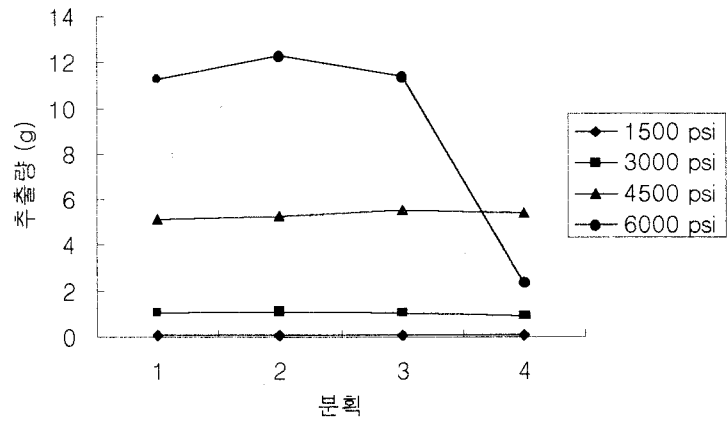


Fig. 39. 50°C의 추출온도에서 압력에 따른 추출량의 변화

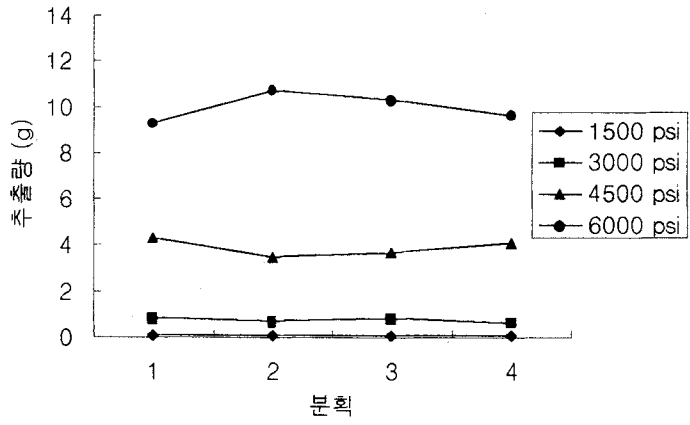


Fig. 40. 60°C의 추출온도에서 압력에 따른 추출량의 변화

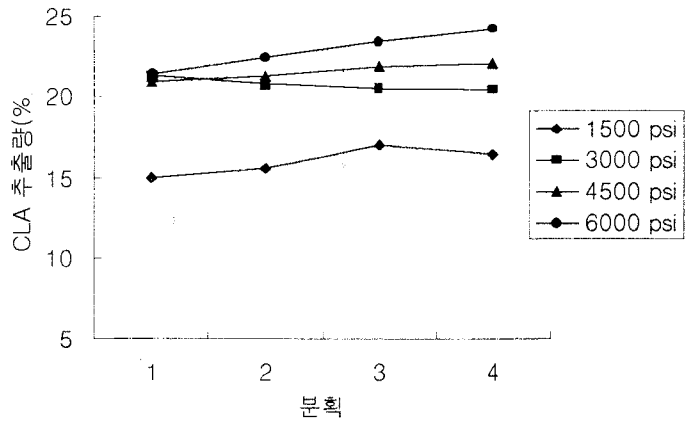


Fig. 41. 압력에 따른 50°C에서 CLA 추출량(%)의 변화

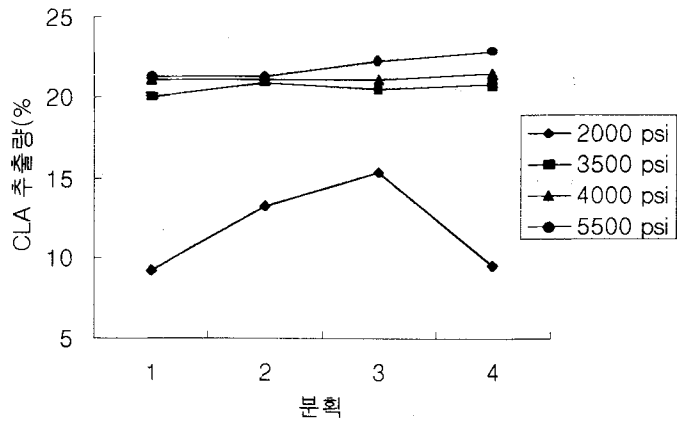


Fig. 42. 압력에 따른 60°C에서 CLA 추출량(%)의 변화



수록 CLA의 추출량도 증가하는 것을 알 수 있다.

따라서 이들 결과를 Figures 39와 40의 결과와 비교하여 보면, Figures 39와 40에서는 전체적인 추출량은 압력의 증가에 따라 증가함을 알 수 있었으나, Figures 41과 42에서는 CLA 추출량이 압력의 증가에 따라 증가하는 결과를 보여주지는 않는다. 즉, 일정한 추출온도에서 압력을 증가시켜도 어느 정도의 압력까지는 CLA의 추출량도 증가하는 것으로 보인다. 그러나 그 이상의 압력에서는 CLA의 추출은 일정한 수준을 유지하는 반면에 CLA보다 더 큰 분자량을 가지는 지방산의 추출량이 커져 전체적인 추출량이 크게 나타나는 것이다. 결과적으로 경제적인 효과를 생각한다면, CLA의 추출은 3,000~3,500 psi의 압력에서 행하되 CLA 추출량을 늘리기 위한 보조적인 방법을 병행하는 것이 바람직 할 것으로 보인다.

### (3) 추출온도 변화에 따른 총 추출량의 변화

일정한 추출압력에서 추출온도를 변화시켰을 때 CLA 혼합물의 추출량 변화는 Figures 43과 44에 나타내었다. 3,000 psi에서의 추출량 변화를 나타내는 Figure 43은 온도가 증가함에 따라 추출량이 감소하는 전형적인 경향을 보여주었다. 즉, CLA 혼합물의 추출은 초임계 이산화탄소의 밀도에 따라 변화하며, 이산화탄소의 밀도는 온도가 감소할수록 증가하기 때문이다.

4,500 psi의 추출압력에서 추출온도의 변화에 따른 CLA 혼합물의 추출량을 보여주는 Figure 44의 결과는 Figure 43와 비교하여 볼 때, 추출압력의 증가에 따라 전체적인 CLA 혼합물의 추출량이 크게 증가하였음을 알 수 있다. 그러나 Figure 44는 Figure 43에서와는 달리 온도의 증가에 따라 CLA 혼합물의 추출량이 감소하는 경향을 보이지는 않았다. 즉, 추출온도가 가장 낮은 35°C에서의 추출량이 50°C나 65°C에서의 추출량에 비해 매우 낮은 값을 보였다. 반면에 50°C와 65°C의 추출량 변화에서는 온도 감소에

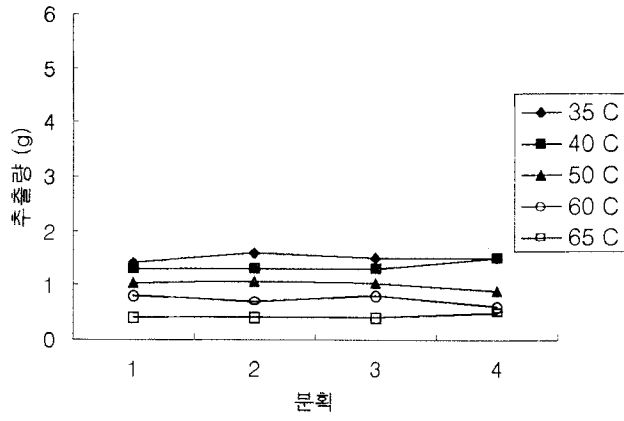


Fig. 43. 3000 psi의 추출압력에서 온도에 따른 추출량

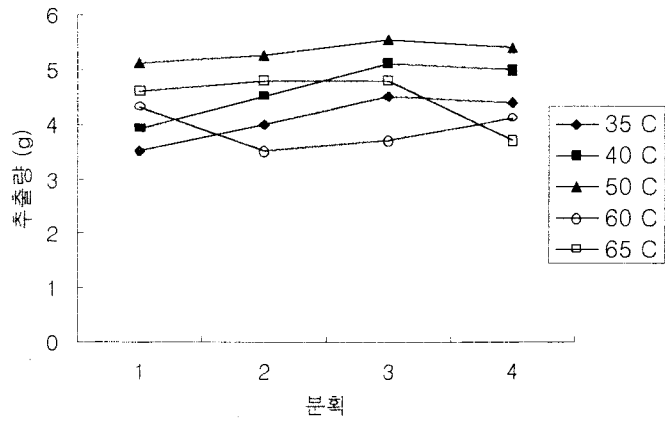


Fig. 44. 4500 psi의 압력에서 온도에 따른 추출량의 변화

따른 추출량 증가라는 일반적인 경향을 보여주었다. 이는 전형적인 retrograde 현상을 나타내는 것으로, 식물성유의 초임계 유체 추출 시 일반적으로 나타나는 현상이다.

#### (4) 추출온도 변화에 따른 CLA 추출량의 변화

일정한 추출압력에서 온도의 변화에 따른 CLA 추출량(%)의 변화를 측정한 결과는 Figures 45와 46에 보여주고 있다. 이들 결과는 추출온도나 추출압력에 관계없이 CLA의 추출량은 20~23%로써 유의적인 차이를 나타내지 않음을 알 수 있다. 그러나 3,000 psi에서의 추출 경향은 분획이 진행될수록 점차 낮아지고 있으며, 4,500 psi에서는 거의 비슷한 추출 경향을 유지하고 있는 미세한 차이는 존재하고 있다. 그렇다할지라도 이는 CLA 추출의 경우에 추출온도의 변화는 추출압력의 변화에 비하여 영향력이 낮음을 나타내는 것이다. 따라서 최적 CLA 추출온도는 유지에 대한 온도의 영향을 고려할 때 낮을수록 유리하며, 이는 경제적인 측면에서도 유용할 것으로 생각된다.

#### (5) 보조용매 사용 시 온도에 따른 추출량의 변화

일반적으로 보조용매는 추출하고자 하는 용질의 초임계 이산화탄소에 대한 용해도를 증진시키기 위하여 사용한다. 따라서 보조용매의 용해력은 초임계 이산화탄소와 용질의 중간 정도에 위치하는 것이 가장 효과가 큰 것으로 보고가 되어있다. 그러나 식품에 보조용매를 사용할 때에는, 초임계 이산화탄소 추출 후 남아 있을지도 모르는 잔류용매에 대한 문제 때문에 보조용매의 종류가 제한될 수밖에 없다. 그러므로 식품에서는 보조용매로 주로 에탄올이 사용되고 있으며 호프에서 쓴 맛 성분의 추출과 같은 특수한 경우에는 물도 보조용매로 사용이 되고 있다. 본 실험에서는 보조용매로 에탄올을 사용하였는데, 이는 다른 유기용매의 보조용매의 사용은 원천적으로 제한이 될 수밖에 없고, 물은 초임계 이산화탄소를 이용한 유지의 추출에서는 물과 유지의 성분 모두(지

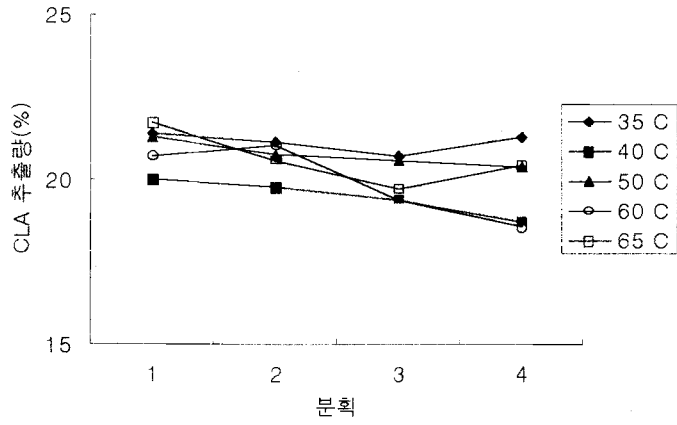


Fig. 45. 추출압력 3000 psi에서 CLA 추출량(%)의 변화

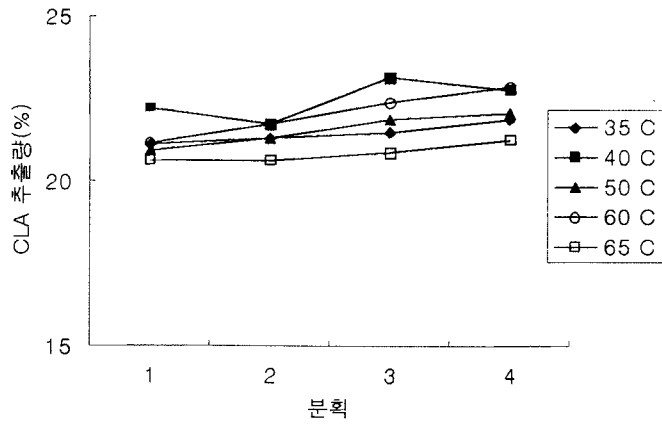


Fig. 46. 추출압력 4500 psi에서 온도에 따른 CLA 추출량(%)

방산 또는 트리글리세리드)와 서로 경쟁 화합물로 작용할 뿐 보조용매로서의 작용이 없는 것으로 보고되어 있기 때문이다.

보조용매로서 에탄올을 초임계 이산화탄소의 가압 후 사용되는 초임계 이산화탄소의 양에 따라 3%(w/w)의 비율로 섞어서 CLA 혼합물의 추출에 사용하였다. 추출압력이 3,000 psi와 4,500 psi로 일정할 때 각 온도에서 추출된 CLA 혼합물의 추출량 변화는 각각 Figure 47 및 Figure 48과 같다. Figure 47에서는 사용된 추출온도에 따라서, 즉 온도가 감소함에 따라 추출량이 증가함을 뚜렷하게 알 수 있었다. 그러나 압력을 3,000 psi 이상으로 증가했을 경우에는 온도에 따른 효과를 얻기가 힘들었다. Figure 48에서는 보는 바와 같이 온도에 따라 추출량이 약간씩 변화를 보이기는 하지만 유의적 차이를 얻기가 힘들었다. 이는 보조용매의 사용에 따른 유지의 용해도 증가속도가 추출조건의 변화에 따른 용해도 변화량을 능가하기 때문으로 보인다.

그러나 이들의 추출량을 보조용매를 사용하지 않았을 때인 Figures 39와 40을 비교해보면 보조용매를 사용했을 때의 추출량이, 추출조건에 따라서 어느 정도의 차이를 보이고는 있으나, 5 내지 10 배의 추출량 향상이 이루어지는 것을 알 수 있다. 그러므로 CLA 혼합물로부터 빠른 추출속도로 효율을 높이기 위해서는 보조용매를 사용하는 것이 유리할 것으로 판단된다.

따라서 보조용매 사용 시에는 같은 추출량의 효과를 얻기 위해서는 굳이 높은 압력을 사용할 필요가 없으며 추출조건에 따른 효과를 명확히 판별하기 위한 3,000 psi 이하의 추출압력을 사용하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

#### (6) 보조용매 사용 시 온도에 따른 CLA 추출량의 변화

보조용매로서 에탄올을 3%(w/w) 사용하고 추출압력이 3,000 psi와 4,500 psi로 일정하였을 때, 추출온도의 변화에 따른 CLA 혼합물로부터 CLA 추출량의 변화는 각각

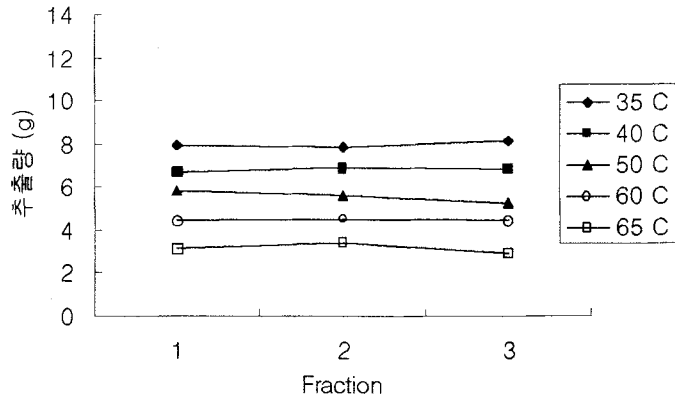


Fig. 47. 보조용매 사용 시 3000 psi에서 온도에 따른 추출량



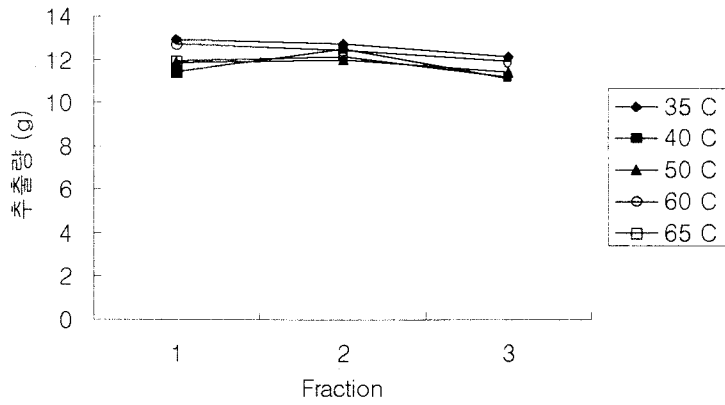


Fig. 48. 보조용매 사용 시 4500 psi에서 온도에 따른 추출량

Figure 49 및 Figure 50과 같다.

에탄올을 보조용매로 사용하여 추출된 각 분획에서 CLA 양은 보조용매를 사용하지 않았을 때의 결과들인 Figures 45 및 46과 비교하여 보았을 때 약 10% 정도의 농축 효과가 있는 것으로 나타났다. 각 온도별 영향을 비교하여 보면 3,000 psi의 추출압력에 비하여 4,500 psi의 추출압력으로 하였을 때 CLA 농축이 더 큰 것으로 보이지만 유의적인 효과가 있는 것은 아니었다. 또한 3,000 psi에서는 추출온도가 낮아짐에 따라 CLA의 초임계 이산화탄소에 대한 용해도가 증가하여 CLA 농축효과가 명확히 보였으나 4,500 psi 이상의 높은 추출압력에서는 추출온도에 따른 CLA 농축량이 혼재되어 온도에 따른 효과를 알아보기 힘들었다. 따라서 낮은 추출압력에서는 온도별 추출효과가 명확히 나타났지만 4,500 psi 이상의 높은 추출압력에서는 온도에 따른 효과는 거의 없는 것으로 보인다. 이와 함께 보조용매를 사용하지 않고 4,500 psi에서 추출 시 나타났던 retrograde 효과가 보조용매를 사용할 때에는 나타나지 않았다. 이는 보조용매에 의한 용해도의 증가가 retrograde 현상을 보이던 용해도 억제 능력을 상실하게 한 것으로 보인다.

보조용매를 사용하였을 때 CLA의 농축효과는 보조용매를 사용하지 않은 초임계 이산화탄소의 추출에 비하여 획기적으로 개선되지는 않았다. 이는 초임계 이산화탄소에 대한 CLA의 용해도를 모르는 상태에서 다른 지방산들의 용해도와 비교해볼 때 CLA의 용해도가 클 것이라는 초기 예상을 깨는 결과이기도 하다. 일반적으로 포화지방산의 경우에는 초임계 이산화탄소에 대한 지방산의 용해도는 지방산의 분자량이 커질수록 즉, 지방산의 사슬길이가 길어질수록 용해도는 낮아지게 된다. 그러나 불포화지방산의 경우에는 같은 사슬길이를 가지는 지방산에서 불포화도가 증가할수록 초임계 이산화탄소에 대한 용해도는 증가하게 된다. 따라서 초임계 이산화탄소에 대한 CLA의 용해도는 상당히 클 것으로 예상했으나, 이는 CLA 혼합물을 구성하고 있는 다른 지방산들과

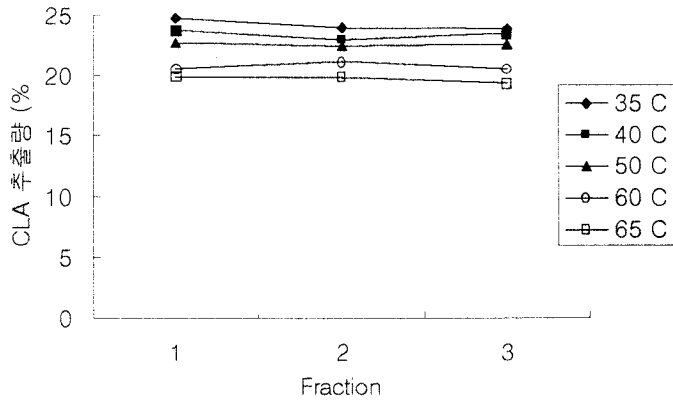


Fig. 49. 보조용매 사용 시 3000 psi에서의 CLA 추출량(%) 변화

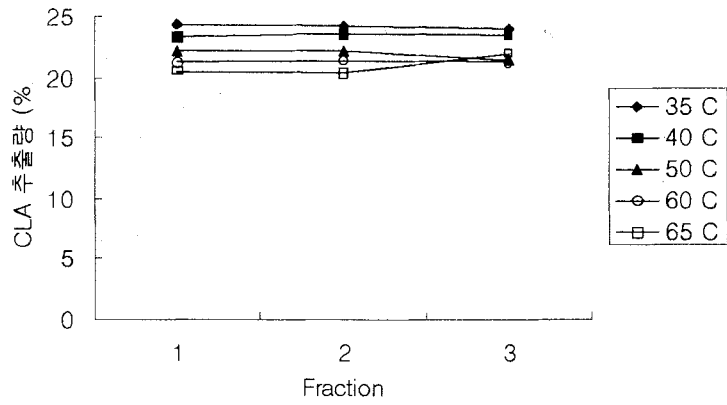


Fig. 50. 보조용매 사용 시 4500 psi에서의 CLA 추출량(%) 변화

의 상대적인 비교를 하지 않았기 때문에 본 실험의 결과들을 놓고 본다면 오히려 추출 원료물질인 CLA 혼합물에는 CLA보다 훨씬 큰 용해도를 갖는 지방산들의 함량이 무척 많아서 오히려 CLA의 초임계 이산화탄소 용해도는 작은 것으로 나타난다. 또한 보조용매 사용 시 일반적으로는 용해도가 큰 지방산에 비하여 용해도가 낮은 지방산의 추출을 더 크게 향상시킨다는 다른 논문들의 결과와 비교해보면, CLA의 용해도는 보조용매를 사용한다 할지라도 크게 향상되는 결과를 얻지는 못하였다. 이는 CLA 혼합물 중에 CLA의 용해도보다 낮은 지방산들이 많아서 CLA의 용해도 향상보다는 용해도가 낮은 다른 지방산들의 추출효과만 높인 결과로 보인다. 따라서 초임계 이산화탄소에 대한 CLA의 용해도는 추개로 사용된 CLA 혼합물에서 중간 정도의 용해도를 가지고 있는 것으로 보인다.

또한 오히려 추출 후에 추출조에 남아있는 잔류물의 CLA 양을 분석하여 본 결과 초기 23~24%의 CLA 농도를 가지고 있던 CLA 혼합물에서 CLA 농도가 25~26%로 오히려 증가하는 양상을 보였다. 이는 CLA의 초임계 이산화탄소의 친화력이 보조용매를 사용함에도 불구하고 다른 지방산들에 비하여 크지 않다는 사실을 증명하는 것으로 보인다. 따라서 CLA 농축을 위해서는 초임계 이산화탄소 추출 후에 남은 잔류물을 이용하여 2 단계 초임계 이산화탄소 추출을 행하는 것이 CLA 농축을 위해서는 더 효과적인 것으로 생각된다.

#### (7) 보조용매 사용 시 압력에 따른 추출량의 변화

보조용매를 사용하여 CLA 혼합물을 초임계 이산화탄소로 추출 시, 일정한 온도에서 압력의 변화에 따른 추출량의 변화를 알아보았다. 50℃와 65℃로 일정한 추출온도에서 추출압력을 달리 했을 때 얻어지는 CLA 혼합물의 초임계 이산화탄소와 에탄올에 의한 추출량은 각각 Figures 51 및 52와 같았다.

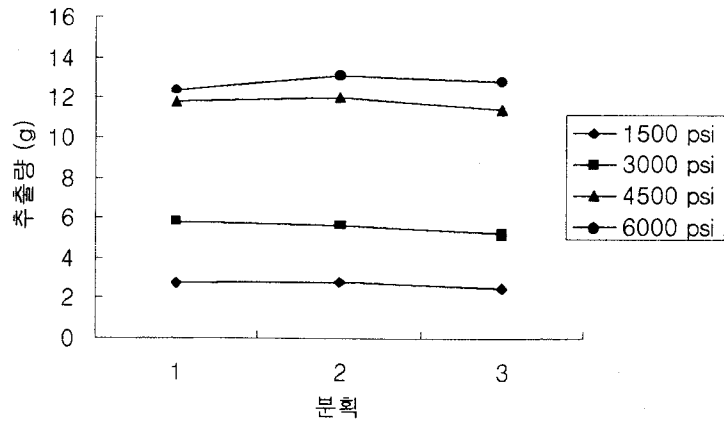


Fig. 51. 보조용매 사용 시 50°C에서 추출량의 변화

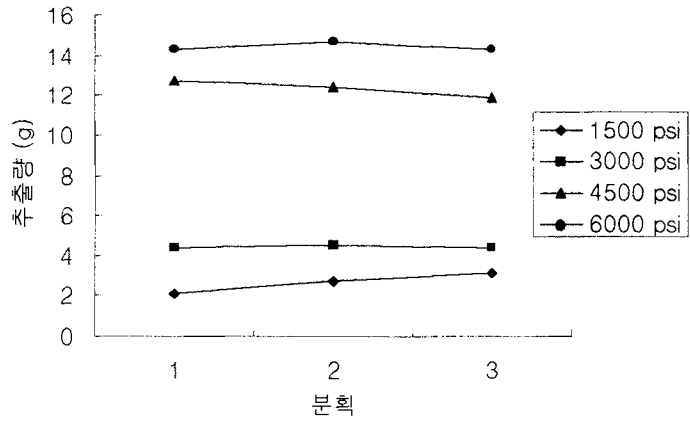


Fig. 52. 보조용매 사용 시 65°C에서 추출량의 변화

Figures 51과 52는 일정한 추출온도를 유지했을 때 CLA 혼합물의 추출량은 압력이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보이며, 추출속도 또한 거의 일정하게 유지하는 것으로 나타났다. 그러나 압력을 증가시키에 따라 증가하는 추출량의 증가량은 사용된 추출압력에 따라 차이를 나타내었다. 일반적으로 낮은 압력인 1,500 psi와 3,000 psi에서 낮은 추출속도를 보이는 것에 비하여 높은 압력인 4,500 psi와 6,000 psi에서 더 큰 추출속도를 보여주고 있다. 이는 보조용매를 사용할 경우에도 추출속도에 미치는 영향이 추출온도에 비해서 추출압력이 미치는 영향이 큰 것을 의미하며, 특히 높은 추출압력에서 그 효과가 극대화됨을 의미하는 것이다.

#### (8) 보조용매 사용 시 압력에 따른 CLA 추출량의 변화

이와 함께 보조용매로 에탄올을 사용 시 일정한 온도에서 압력을 달리하여 추출된 각 분획에서의 CLA 함량을 분석한 결과는 50℃에서는 Figure 53과 같고 65℃에서는 Figure 54와 같았다.

에탄올 보조용매 사용 시 CLA 추출량에 대한 압력에 의한 영향은 각 온도에서 그리 크지 않았다. 다만, 50℃ 이하의 추출온도에서 1,500 psi의 경우에 더 낮은 CLA 농축 효과를 볼 수 있었을 뿐 50℃ 이상의 추출온도에서 3,000 psi 이상의 추출압력을 사용하면 CLA 농축 효과는 거의 차이를 보이지 않았다. 또한, 50℃ 이하의 추출온도에서는 전체적으로 50℃ 이상에서의 추출온도를 사용한 것에 비하여 CLA 농축효과는 급격히 떨어지는 것으로 나타났다.

따라서 보조용매 사용 시 초임계 이산화탄소 추출에 의하여 CLA를 농축하고자 한다면 50℃ 이상의 추출온도와 3,000 psi 이상의 추출압력을 사용해야만 많은 CLA를 추출할 수 있을 것이다.



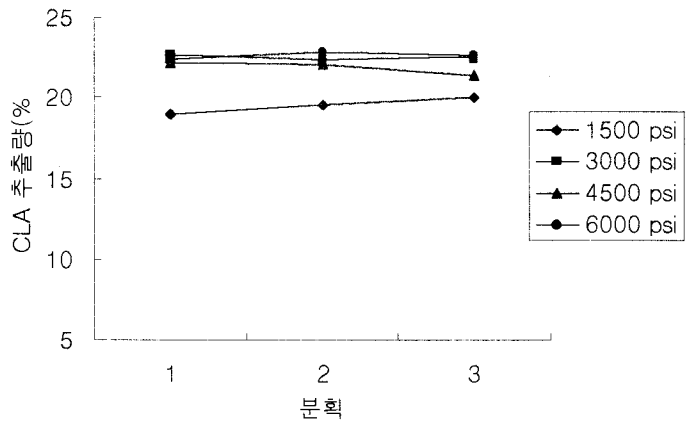


Fig. 53. 보조용매 사용 시 50°C에서 CLA 추출량(%)의 변화

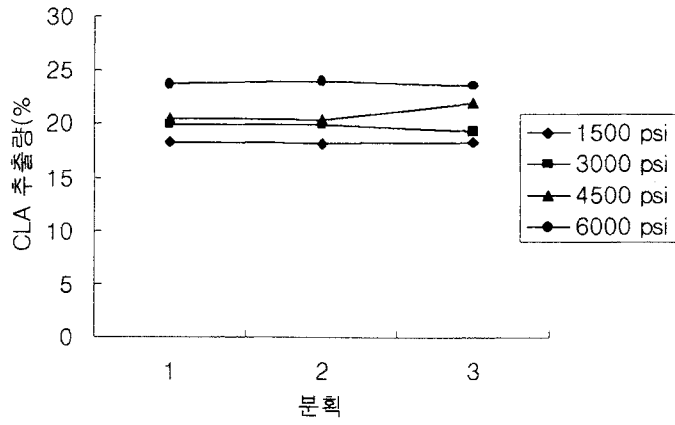


Fig. 54. 보조용매 사용 시 65°C에서 CLA 추출량(%)의 변화

(9) 초임계 이산화탄소 추출기술을 이용한 CLA 함유유지의 농축

현재까지 실험된 결과들을 고려할 때 CLA 추출은 추출온도에 의한 영향이 미미하며, 추출압력에 대한 영향은 낮은 압력에서는 크지만 3,000 psi 이상의 추출압력에서는 큰 차이를 보이지 않음을 알 수 있었다. 그러나 이러한 추출조건에서 충분한 CLA 농축의 효과를 보이고 있지 않음으로 현 단계의 추출을 보완할 수 있는 보조적인 방법으로 보조용매로써 에탄올을 3%(w/w) 첨가하여 추출하는 방식을 실행하였다. 이는 보완적인 보조방법으로 가장 쉽게 접근할 수 있는 방법은 보조용매의 사용이기 때문이었다. 보조용매의 사용은 용질 전체의 용해도를 크게 증가시킨다는 점에서 보조용매의 사용이 없었던 추출에 비하여 추출량을 획기적으로 증가시킬 수 있을 것으로 생각하였다. 그러나 보조용매로 에탄올을 사용하였음에도 불구하고 CLA의 농축율은 획기적으로 증진되지는 않았다. 이는 사용될 수 있는 보조 용매의 종류는 무수히 많지만 식품의 경우에는 추출 후 제품의 안전성을 고려할 때, 물이나 에탄올과 같은 몇몇 종류의 보조용매로 한정된다는 점에서 한계를 가지고 있다. 이론적인 보조용매의 선택 방법은 용매인 초임계 이산화탄소의 용해도와 용질의 용해도 사이의 가장 중간적인 용해도를 갖는 보조용매를 선택함으로써 용해도를 증가시키는 것으로 되어 있으나 보조용매의 선택의 제한으로 말미암아 추출량 증진이, 특히 CLA의 농축에는 큰 영향을 미치지 않은 것으로 보인다. 이를 해결하기 위한 방법으로는 현재 CLA의 추출이 주로 후반부에 이루어진다는 점을 감안하면 흡착제(adsorbent)의 이용도 검토 가능한 방법이 될 것이다.

원래 흡착제의 이용은 서로 다른 성질을 갖는 화합물에서 흡착제에 친화적인 물질과 비친화적인 물질의 분리에 주로 사용이 되고 있다. 그러나 유지에 흡착제를 사용할 경우 지방산의 흡착제에 대한 친화력은 거의 비슷하므로 추출 초기에 빨리 추출이 이루어지는 저분자량의 지방산이 흡착제에 주로 흡착이 될 것으로 보인다. 따라서 흡착제가 포화된 이후에 추출이 이루어지는 CLA와 같은 고분자량의 지방산은 흡착제에 대한

영향이 별로 없이 추출이 이루어 질 것으로 생각하여, 흡착제의 사용도 하나의 방법이 될 것이다. 하지만 흡착제를 사용하기 위해서는 사용 가능한 흡착제의 종류 및 양(농도) 등을 결정해야 하는 부가적인 실험이 병행되어야 하는 어려움이 따른다.

또 다른 방법으로는 보조용매 사용 시 온도에 의한 영향에서 일부 언급했듯이, 보조용매 사용으로 전체적인 추출량에서는 급격하게 증가하는 것을 보이지만 CLA 추출량에 있어서는 급격한 증가가 이루어지지 않았으며, 오히려 잔류물의 CLA 함량이 증가하는 것을 이용하여 2단 추출을 행해야 할 것으로 생각된다. 이는 CLA가 초임계 이산화탄소에 대하여 낮은 용해도를 보이는 것을 이용하여, 1차로 보조용매를 이용한 추출을 통하여 저분자 지방산의 많은 양을 뽑아내고 남은 잔류물을 모아서 2차로 재추출을 하여 남아있는 저분자 지방산을 없앴으로써 잔류물 쪽에 CLA가 더욱 농축될 것으로 보이므로 이를 이용하는 방법을 모색해 보는 것이 좋을 것으로 생각된다.

### 제 3 절 CLA 유지를 이용한 제품의 개발

#### 1. CLA 유지의 산화안정성

##### (1) 대두유, 홍화유, 면실유의 저장 기간중 산가의 변화

각각의 유지를 반응온도 210℃, 교반속도 500rpm, 반응시간 90분, 수소압력 0.5kg/cm<sup>2</sup>의 조건으로 경화하여 탈색, 탈취공정을 거쳐 정제하여 200g용기에 100g의 유지를 담은 후 상온에서 보관하며 관찰하였다.

산가의 변화는 유종에 따라 거의 변화가 없었으나, 대두유가 다른 유종에 비해 우수하게 나타났다 (Table 32, Fig. 55)

Table 32. 대두유, 홍화유, 면실유의 저장 기간중 산가의 변화

유종 \ 개월	1개월	2개월	3개월	4개월	5개월
대두유	0.05	0.19	0.23	0.31	0.38
홍화유	0.06	0.2	0.26	0.33	0.38
면실유	0.05	0.22	0.28	0.35	0.4

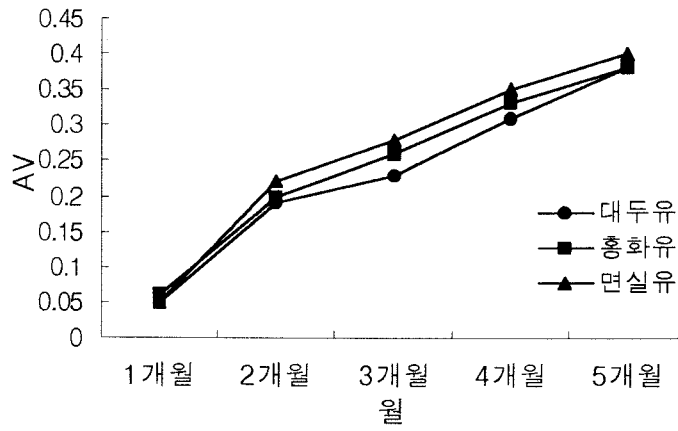


Fig. 55. 유지의 저장 중 산가의 변화

(2) 대두유, 홍화유, 면실유의 저장 기간 중 과산화물가의 변화

각각의 유지를 반응온도 210℃, 교반속도 500rpm, 반응시간 90분, 수소압력 0.5kg/cm<sup>2</sup>의 조건으로 경화하여 탈색, 탈취공정을 거쳐 정제하여 200g용기에 100g의 유지를 담은 후 상온에서 보관하며 관찰하였다.

과산화물가는 3개월 후부터는 변화가 완화된 것을 알 수 있다 (Table 33, Fig. 56).

(2) CLA유지의 유도기간

유지의 산화안정성을 Racimat 방법으로 측정하였다. 시료를 98℃에서 20 Liter/hr의 공기를 주입하면서 산화시켜 얻은 유도시간을 조사하였다 (Table 34).

대두유가 유종 중 산화안정성이 가장 우수함을 알 수 있었다.

2. CLA함유 유지를 이용한 마아가린, 쇼트닝의 제조

(1) 마아가린의 제조 공정

CLA유는 대두유를 수소경화하여 요오드가 113인 부분경화유를 사용하였다. 이는 액체유 (대두유, 옥배유, 채종유, 면실유 등)의 물성과 유사하므로 액체유 대용으로 사용이 가능하였으며, 콤비네이터로 마아가린을 제조하였다.

마아가린 제품의 일반적인 성상과 분석치는 다른 액체유를 사용하여 제조하였을 때와 유의적인 차이는 없었다 (Table 35).

Table 33. 대두유, 홍화유, 면실유의 저장 기간중 과산화물가의 변화

유종 \ 개월	1개월	2개월	3개월	4개월	5개월
대두유	0.51	1.33	1.89	2.29	2.22
홍화유	0.41	1.23	2.01	2.11	2.31
면실유	0.51	1.11	2.22	2.10	2.33



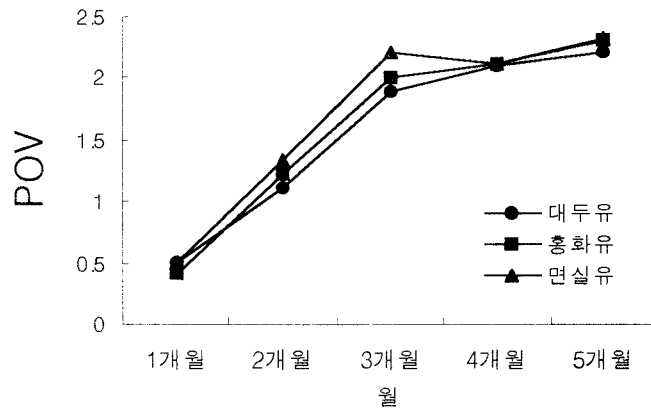


Fig. 56. 유지의 저장 중 과산화물가의 변화

Table 34. 대두유, 홍화유, 면실유의 저장 기간중 유도기간의 변화

	유도시간 (hr)
대두유	13.3
홍화유	10.1
면실유	12.2

Table 35. 마아가린 제품의 일반 분석

		마아가린	비 고
성 상		이미,이취가 없다	
산 가		0.23	
요오드가		51.2	
SFC (%)	10.0℃	44.8	
	21.1℃	23.0	
	26.7℃	18.7	
	33.3℃	10.3	
	37.8℃	5.1	

## (2) 쇼트닝의 제조 공정

CLA유는 대두유를 수소경화하여 얻은 부분경화유(IV, 113)를 사용하였다. 이는 액체유 (대두유, 옥배유, 채종유, 면실유 등)의 물성과 유사함으로 액체유 대용으로 사용 가능하였다.

쇼트닝 제품의 일반적인 성상과 분석치는 성상과 분석치는 다른 액체유를 사용하여 제조하였을 때와 유의적인 차이는 없었다 (Table 36).

## (3) 마아가린을 이용한 페스트리의 제빵성 실험

CLA 유지를 함유한 마아가린을 이용하여 페스트리를 제조하여 분석한 결과는 Table 37과 같았다. 1차 롤링성과 2차 롤링성, 발효상태, Oven 특성 및 관능 특성에서 모두 양호하게 나타나 CLA 유지는 페스트리 제조에 사용할 수 있다는 결과를 얻었다.

## (4) 튀김실험

Fryer에 4kg의 oil을 넣고 140℃에서 매일 감자 1.0kg씩 튀긴 후 분석 후 산가 및 과산화물가, 발연점 변화를 측정하였다.

튀김유를 저장하면서 산가, 과산화물가, 발연점을 측정하였다 (Table 38, Fig. 57 - 59). 튀김실험결과 대두경화유가 팜유, 팜오레인보다 산패정도가 느려 오래도록 신선한 튀김물을 얻을 수 있을 뿐만 아니라 발연점이 높아 쾌적한 작업환경을 유지할 수 있었다.

관능테스트 결과 대두경화유를 사용함으로써 튀김물이 바삭바삭한 양호한 식감과 부드럽고 후레쉬한 풍미를 가지는 반면에 팜유, 팜오레인은 식감이 뒤떨어지고 약간은 매운 맛이 남는 것으로 나타났다 (Fig. 60).

결론적으로 식물성유지의 경화공정(수소첨가공정) 중에 생성되는 CLA를 이용하여

Table 36. 쇼트닝 제품의 일반 분석

		쇼트닝	비 고
성 상		이미,이취가 없다	
산 가		0.33	
요오드가		47.2	
SFC (%)	10.0℃	38.7	
	21.1℃	19.0	
	26.7℃	17.2	
	33.3℃	10.8	
	37.8℃	6.4	

Table 37. 마아가린을 이용한 페스트리의 제빵성 실험

구 분	일반마아가린	CLA함유마아가린
유 지 품 온(℃)	14.5	14.5
1차 롤링 시 생지 품온(℃)	2.0	2.0
1차 롤링성	유지 물성이 단단하여 유지의 신전성 다소 불량함.	양호
2차롤링성	유지가 부숩짐	양호
발효 상태	유지가 배어나옴	양호
OVEN	Oven-spring 양호	양호
관능 특성 (panel : 8명)	식감,풍미 양호	식감,풍미 양호

Table 38. 유지의 연속 튀김 시 산가, 과산화물가, 발연점의 변화

	CLA대두경화유(IV:113)			팜유			팜오레인유		
	AV	POV	발연점 (℃)	AV	POV	발연점 (℃)	AV	POV	발연점 (℃)
0일	0.027	0.31	235	0.038	0.30	220	0.031	0.28	218
1일	0.077	1.80	232	0.125	3.54	216	0.119	3.61	214
2일	0.106	2.39	222	0.310	6.47	208	0.210	8.10	210
3일	0.172	2.54	216	0.452	8.15	201	0.342	10.5	196

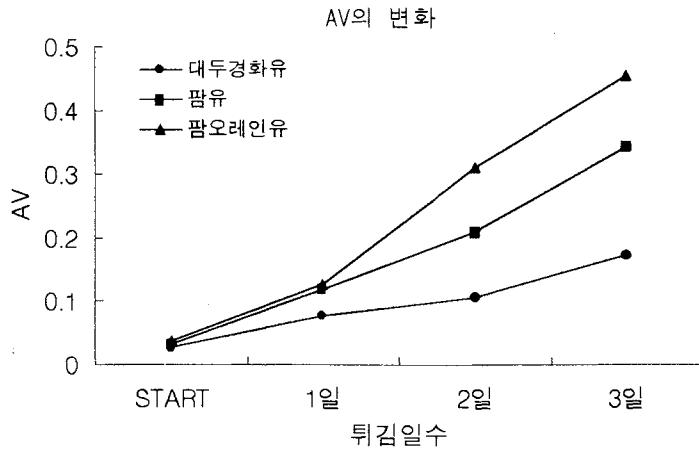


Fig. 57. 수소경화유의 저장 중 산가의 변화



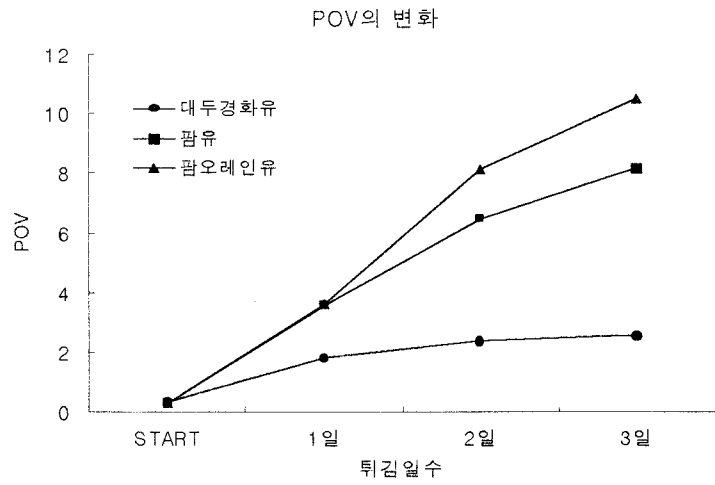


Fig. 58. 수소경화유의 저장 중 과산화물가의 변화

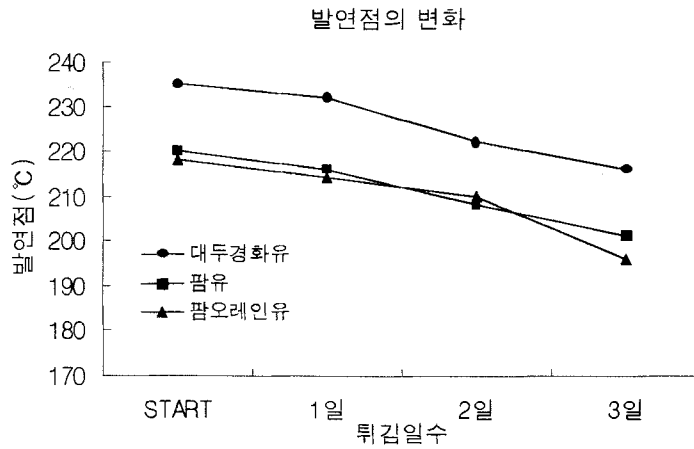


Fig. 59. 수소경화유의 저장 중 발연점의 변화

관능비교(%)

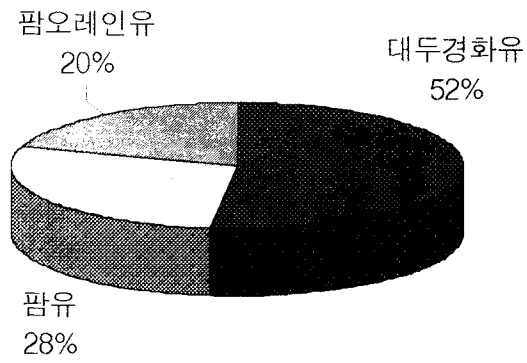


Fig. 60. 수소경화유로 튀긴 감자 튀김의 관능테스트 결과

기능성을 강조한 튀김유, 마아가린, 쇼트닝의 제조에 적용하였다. 마아가린, 쇼트닝, 튀김유 제조에 있어서 CLA함유 유지를 이용 시 큰 어려움은 없었으며, 산화안정성에 있어서는 기존의 일반 유지보다 더 우수함을 알 수 있었다.

## 제 4 장 참고문헌

1. Chin, S.F., Storkson, J.M., Albright, K.J. Cook, M.E. and Pariza, M.W. (1994) Conjugated linoleic acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improved feed efficiency, *Biochemical and Molecular Roles of Nutrients* 2344-2349.
2. Cook, M.E., Miller, C.C. Park, Y. and Pariza, M.W. (1993) Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression. *Poult. Sci.* 72,1301-1305.
3. Doyle, E. (1998) Scientific forum explore CLA knowledge. *INFORM*, 9(1), 69-72.
4. Ha, Y.L., Grimm, N.K. and Pariza, M.W. (1987) Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*, 8(12):1881-1887.
5. Ha, Y.L., Grimm, N.K. and Pariza, M.W. (1989) Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: Identification and quantification in natural and processed cheeses. *J. Agri. Food Chem.* 37, 75-81.
6. Ha, Y.L., Storkson, J. and Pariza, M.W. (1990) Inhibition of benzo[a]pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Research*, 50, 1097-1101.
7. Houseknecht, K.L., Vanden Heuvel, J.P., Moya-Camarena, S.Y., Portocarrero,

- C.P., Peck, L.W., Nickel, K.P., Belury, M.A., (1998) Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker Diabetic Fatty fa/fa Rat. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 244, 678-682.
8. Ip, C, Chin, S.F. Scimeca, J.A., and Pariza, M.W. (1991). Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Research*, 51, 6118-6124.
  9. Ip, C., Briggs, S.P., Haegeler, A.D., Haegeler, A.D., Tompson, H.J. Storkson, J. and Scimeca, J.A. (1996) The efficiency of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is independent of the level or type of fat in the diet. *Carcinogenesis* 17, 1045-1050.
  10. Jung, M.Y. and Ha, Y.L. (1999) Conjugated linolenic acid isomers in partially hydrogenated soybean oil obtained during hydrogenation processes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 704-709.
  11. Miller, C.C., Park, Y., Pariza, M.W. and Cook, M.E. (1994) Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 198,1107-1112.
  12. Pariza, M. W., Loretz, L.J., Storkson, J.M. and Holland, N.C. (1983) Mutagens and modulator of mutagenesis in fried ground beef. *Cancer Research*, 43, 2444s-2446s.
  13. Pariza, M.W. and Hargraves, W.A. (1985) A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene.

Carcinogenesis, 6(4), 591-593.

14. Shantha, N.C. and Decker, E.A. (1993) Conjugated linoleic acid concentrations in processed cheese containing hydrogen donors, iron and dairy-based additives. Food Chemistry, 47, 257-261.
15. Shantha, N.C., Ram, L.N., O'leary, J., Hicks, C. and Decker, E.A. (1995) Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. J. Food Sci. 60, 695-697 & 720.
16. Sultz, T.D., Chew, B.P., Seaman, W.R., and Luedecke, L.O. (1992) Inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and b-carotene on the in vitro growth of human cancer cells. Cancer Letters, 63, 125-133.