(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0075969
(43) 공개일자 2020년06월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C11C 3/10 (2006.01) *C11C 3/08* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C11C 3/10 (2013.01)
C11C 3/08 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0164009
(22) 출원일자 2018년12월18일
심사청구일자 2018년12월18일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
이기택
대전광역시 유성구 어은로 57 107동 1204호 (어은동,한빛아파트)
신정아
대구광역시 동구 계족로 116-2
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

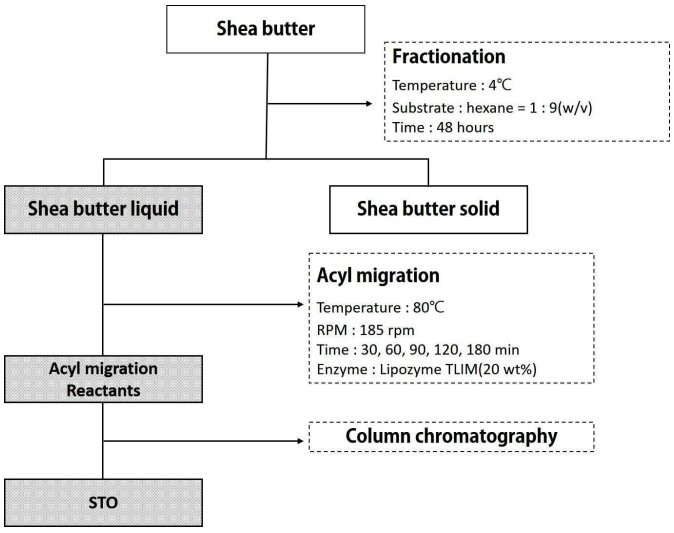
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **저소화성 유지 조성물 및 아실 마이그레이션 반응을 사용한 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 저소화성 유지 조성물 및 아실 마이그레이션 반응을 사용한 이의 제조방법에 관한 것으로, 상기 제조방법으로 제조된 저소화성 유지 조성물은 여러가지 TAG를 특정한 조성으로 함유함으로써, 미정제 및 정제 상태 모두 소장 조건에서 가수분해율이 시어버터 또는 시어버터로부터 추출한 시어버터 액상유보다 낮으며, 총 포화지방산의 함량 또한 시어버터보다 현저하게 낮으므로, 본 발명에 따른 저소화성 유지 조성물의 제조방법은 저소화성 유지 조성물의 제조에 유용하게 사용할 수 있고, 저소화성 유지 조성물은 종래의 유지를 대체하여 저칼로리 기능유지로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

이정희

경상북도 경산시 하양읍 하양로 37길 33 코아루아파트 3차 302동 1205호

조미나

충청북도 청주시 흥덕구 옥산면 장남길 67

명 세 서

청구범위

청구항 1

sn-1위치는 포화 지방산이고, sn-2, sn-3 위치는 불포화 지방산인 TAG (SUU)를 포함하는 유지를 Lipase 존재하에 아실 마이그레이션 반응시키는 단계를 포함하는 저소화성 유지 조성물의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 Lipase는 sn-1,3 specific lipase로서, Lipozyme TLIM (Thermomyces lanuginosus)인 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 SUU를 포함하는 유지는 시어 버터(shea butter)로부터 분획된 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 SUU를 포함하는 유지는 유지 전체 100 중량에 대하여, SUU를 70-80중량%로 포함하는 유지인 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 SUU를 포함하는 유지에서, 불포화 지방산(U)은 C16-26의 단일 또는 다중 불포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상이고, 포화 지방산(S)은 C3-38의 포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 SUU를 포함하는 유지에서, SUU는 1-스테아로일-2,3-디올레오일 글리세롤(1-stearoyl-2,3-dioleoyl-glycerol, SOO)인 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 저소화성 유지 조성물은 유지 내 트리글리세라이드 중 두개 이상의 포화 지방산을 가지는 트리글리세라이드의 함량이 10% 이상인 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 저소화성 유지 조성물은 소장에서의 가수분해율이 50% 이하인 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 아실 마이그레이션 반응은 10 내지 200 분간 수행하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 아실 마이그레이션 반응 후, 정제하는 단계를 더 수행할 수 있는 것을 특징으로 하는 저소화성 유지 조성물.

청구항 11

제1항의 저소화성 유지 조성물의 제조방법으로 제조된 저소화성 유지 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 저소화성 유지 조성물은 소장에서의 가수분해율이 50% 이하인 것을 특징으로 하는 저소화성 유지 조성물.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 저소화성 유지 조성물은 유지 내 트리글리세라이드 중 두개 이상의 포화 지방산을 가지는 트리글리세라이드의 함량이 10% 이상인 것을 특징으로 하는 저소화성 유지 조성물.

청구항 14

제11항에 있어서,

저소화성 유지 조성물 100 중량에 대하여, sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 포화지방산인 TAG(SSS)를 2-8 중량%; sn-1, sn-3위치는 포화지방산이고, sn-2 위치는 불포화지방산인 TAG(SUS)를 4-9 중량%; sn-1, sn-2위치는 포화지방산이고, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG (SSU)를 2-6 중량%; sn-1위치는 포화지방산이고, sn-2, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG (SUU)를 30-40 중량%; sn-2위치는 포화지방산이고, sn-1, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG(USU)를 0.2-6 중량%; 및, sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 불포화지방산인 TAG(UUU)를 5-25 중량%;를 포함하는 것을 특징으로 하는 저소화성 유지 조성물.

청구항 15

포화 지방산 및 불포화 지방산으로 이루어지는 트리글리세라이드를 포함하는 저소화성 유지 조성물이되,

저소화성 유지 조성물 100 중량에 대하여, sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 포화지방산인 TAG(SSS)를 2-8 중량%; sn-1, sn-3위치는 포화지방산이고, sn-2 위치는 불포화지방산인 TAG(SUS)를 4-9 중량%; sn-1, sn-2위치는 포화지방산이고, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG (SSU)를 2-6 중량%; sn-1위치는 포화지방산이고, sn-2, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG (SUU)를 30-40 중량%; sn-2위치는 포화지방산이고, sn-1, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG(USU)를 0.2-6 중량%; 및, sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 불포화지방산인 TAG(UUU)를 5-25 중량%;를 포함하는, 저소화성 유지 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서,

상기 저소화성 유지 조성물은 소장에서의 가수분해율이 50% 이하인 것을 특징으로 하는 저소화성 유지 조성물.

청구항 17

제15항에 있어서,

상기 불포화 지방산은 C16-26의 단일 또는 다중 불포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상이고, 포화 지방산은 C3-38의 포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 저소화성 유지 조성물 및 아실 마이그레이션 반응을 사용한 이의 제조방법에 관한 것으로, 구체적으로, 포화 지방산을 함유하는 유지를 기질로 하고 효소적 아실 마이그레이션 반응을 포함하는 저소화성 유지 조성물의 제조방법을 통해 제조된 저소화성 유지에 관한 것이다. 보다 구체적으로는 shea butter(시어버터)를 아세톤으로 분획하여 얻은 1-stearoyl-2,3-dioleoyl-glycerol(이하 'SOO'라 함)를 포함하는 유지를 효소적 아실 마이그레이션(acyl migration)반응을 통하여 얻은 소화율이 낮은 저소화성 유지 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 유지는 3가 알코올인 글리세롤에 3분자의 지방산이 에스터 결합한 것으로 주로 트리글리세라이드(triglyceride, TG, triacylglycerol, TAG, triacylglyceride)이라고 하며, 동·식물 중에 널리 분포하고 있다. 지방산은 탄화수소사슬의 말단에 카복실기(-COOH)를 갖는 화합물이다. 지방산은 2개의 탄소 단위로 생합성 되는데 식품에 존재하는 지방산의 탄소수는 짝수의 14~22개가 많다. 지방산은 탄소수와 불포화 정도에 따라 나눌 수 있다. 탄소수에 따라서 단쇄지방산(short chain fatty acid, C_4-C_6), 중쇄지방산(medium chain fatty acid, C_8-C_{12}), 장쇄지방산(long chain fatty acid, C_{14} 이상)으로 나뉘며, 불포화정도에 따라 포화 지방산(saturated fatty acid)과 불포화 지방산(unsaturated fatty acid)으로 나뉜다.

[0005] 한편, 지방의 소화는 십이지장으로 이행되면서부터 담즙산에 의해 본격적으로 소화된다. 담즙산은 지방을 micelle로 유화시켜 lipase의 소화작용을 쉽게 한다. 후에 pancreatic lipase는 TAG를 완전히 분해하지 못하고 TAG의 1,3번 위치의 지방산을 가수분해하여 1분자의 2-모노아실글리세롤(Monoacylglycerol, 2-MAG)과 2분자의 지방산이 생성된다. 2-MAG와 지방산은 소장 점막에서 흡수가 되어 다시 TAG로 재합성이 된다. 재합성된 TAG는 인지질, cholesterol, 단백질과 결합하여 chylomicron을 형성하고 림프액을 통해 흉관을 지난 후 정맥혈로 간다.

[0006] 상기와 같은 기작에 의해, 탄소수가 C_{12}-C_{18}인 포화 지방산은 체내에서 비만과 성인병을 일으키는 주된 원인으로

잘 알려져 있고, 포화 지방산의 섭취를 줄이고자 저지방이나 지방이 없는 식품이 개발이 이루어지고 있으나, 이러한 식품은 지방이나 칼로리 섭취를 최소화할 수 있지만 풍미, 입맛(mouth feel), 튀김 적성 등 지방의 감각기능을 유지하기 어렵다. 이에 따라, 지방이 갖는 감각기능은 그대로 유지하면서 건강에 문제를 일으킬 수 있는 포화 지방산의 섭취를 줄이는 방법이 연구되고 있다.

[0008] 한편, shea butter(시어버터)는 적도 북쪽의 아프리카 사바나 지역에서 흔히 볼 수 있는 식물성 유지로 코코아 버터 대체유지 또는 개량제로 사용되어지고 있다. 주로 올레산(oleic acid)과 스테아릭산(stearic acid)으로 이루어져 있으며 일부 리놀레산(linoleic acid)과 팔미트산(palmitic acid)을 함유하고 있다.

[0010] *In vitro* 소화(digestion)에서 사용된 pH-stat은 시뮬레이션 된 소장 조건에서 지질의 소화 특성 연구에서 널리 사용되고 있다. pH-stat은 설정한 pH 값에서 lipase를 첨가한 후 지질, 일반적으로 TAG에서 유리지방산의 방출량을 측정한다. 소화 중에 TAG는 분자 당 2개의 유리지방산과 하나의 모노글리세라이드(monoglyceride, MG, monoacylglycerol, MAG, monoacylglyceride)를 생성한다. 이 때 생성된 유리지방산을 중화시키기 위해 필요한 알칼리(NaOH)의 소비량을 통해 방출된 유리지방산을 정량화 할 수 있다.

[0011] pH-stat은 비교적 간단하고 신속하게 수행할 수 있으며 비슷한 실험 조건에서 여러 가지 지질의 특성을 비교할 수 있다. 따라서 지질의 소화에 영향을 줄 것으로 예상되는 다양한 물리적, 화학적 인자의 영향을 신속하게 스크리닝 하는데 사용될 수 있다.

[0013] pH-stat 방법을 사용하여, 장쇄지방산을 함유한 TAG 보다는 중쇄지방산을 포함한 TAG가 lipid phase로 사용되었을 때, 에멀젼(emulsion)에서 지질의 소화 속도가 범위가 훨씬 더 높음을 발견하였다. 또한, 같은 지방산 조성을 가진 TAG 이더라도 대칭형인지 비대칭형인지에 따라서 소화율이 달라짐이 입증된 바 있다. 보통 포화 지방산이 *sn*-1,3에 위치한 TAG 보다 *sn*-2에 위치한 대칭형의 TAG의 경우 소화율이 높으며, TAG의 구성이 medium-medium-medium(MMM)일수록 가수분해율이 증가하였고, TAG가 saturated-unsaturated-saturated(SUS) 형태이거나 saturated-saturated-unsaturated(SSU) 형태일 때 유지의 가수분해율이 감소한다. 지방산의 길이와 이중결합수, 지방산의 위치에 따라 지질의 소화와 흡수가 달라지는데 지방산의 길이가 짧고 이중결합의 수가 적을수록 췌장 리파아제(pancreatic lipase)가 더 활발하게 작용하여 가수분해율이 증가한다.

[0015] 한편, 재구성 지질(structured lipids)은 화학적 또는 효소적인 반응에 의해서 글리세롤 분자에서 지방산 또는 지방산의 위치 분포(*sn*-1(3), *sn*-2)를 재구성 하거나 변화시킨 것으로 정의할 수 있다. 화학적 반응은 촉매를 사용하여 고온에서 반응이 이루어지기 때문에 에너지 소비가 크며 부반응이 일어나게 된다. 또한, 반응의 무작위한 특성 때문에 위치 특이성을 갖지 않는다. 반면에 효소적 반응은 비교적 온화한 온도에서 반응이 이루어지기 때문에 부반응이 일어나지 않으며, 원하는 아실기를 TAG의 특정 위치에 결합시키는 위치 및 기질특이성을 갖는다. 효소적 반응은 고정화 효소(immobilized lipase)를 사용하기 때문에 재사용이 가능하며, 쉽게 회수가 가능하여 제품의 생산에 있어서 주목받고 있다. 위와 같이 재구성지질을 합성하기 위한 방법에는 에스테르교환반응(interesterification), 산가수분해(acidolysis), 알콜분해(alcoholysis) 등의 반응이 있다. 또한 특정 조건하에서는 TAG를 구성하는 지방산의 아실기가 sn-1(3) 위치에서 sn-2 위치로, 또는 sn-2 위치에서 sn-1(3) 위치로 이동하여 동일 TAG 분자 내에서 또는 TAG 분자 간에서 조성이 재배열 되는 현상인 아실 마이그레이션(Acyl migration)이 일어난다.

[0017] 이러한 acyl migration 반응을 통해 TAG의 위치를 재구성 하여 포화 지방산 함량을 낮출 뿐만 아니라 물리적으로도 변화시킨 대체지를 개발할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0019] 본 발명의 일 목적은 저소화성 유지 조성물을 제조하는 것이다.

[0021] 본 발명의 다른 목적은 저소화성 유지 조성물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0023] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0024] 본 발명의 일 측면에 따라, sn-1위치는 포화 지방산이고, sn-2, sn-3 위치는 불포화 지방산인 TAG (SUU)를 포함하는 유지를 Lipase 존재하에 아실 마이그레이션 반응시키는 단계를 포함하는 저소화성 유지 조성물의 제조방법이 제공된다.

[0026] 본 발명의 다른 측면에 따라, 상기 제조방법으로 제조된 저소화성 유지 조성물이 제공된다.

[0028] 본 발명의 다른 측면에 따라, 포화 지방산 및 불포화 지방산으로 이루어지는 트리글리세라이드를 포함하는 저소화성 유지 조성물이되,

[0029] 저소화성 유지 조성물 100 중량에 대하여, sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 포화지방산인 TAG(SSS)를 2-8 중량%; sn-1, sn-3위치는 포화지방산이고, sn-2 위치는 불포화지방산인 TAG(SUS)를 4-9 중량%; sn-1, sn-2위치는 포화지방산이고, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG (SSU)를 2-6 중량%; sn-1위치는 포화지방산이고, sn-2, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG (SUU)를 30-40 중량%; sn-2위치는 포화지방산이고, sn-1, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG(USU)를 0.2-6 중량%; 및, sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 불포화지방산인 TAG(UUU)를 5-25 중량%;를 포함하는, 저소화성 유지 조성물이 제공된다.

발명의 효과

[0031] 본 발명에 따른 저소화성 유지 조성물의 제조방법으로 제조된 저소화성 유지 조성물은 여러가지 TAG를 특정한 조성으로 함유함으로써, 미정제 및 정제 상태 모두 소장 조건에서 가수분해율이 시어버터 또는 시어버터로부터 추출한 시어버터 액상유보다 낮으며, 총 포화 지방산의 함량 또한 시어버터보다 현저하게 낮으므로, 본 발명에 따른 저소화성 유지 조성물의 제조방법은 저소화성 유지 조성물의 제조에 유용하게 사용할 수 있고, 저소화성 유지 조성물은 종래의 유지를 대체하여 저칼로리 기능유지로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0033] 도 1은 시어버터(shea butter)를 출발물질로 하여, SOO를 포함하는 유지 조성물(Shea butter liquid)을 분획하는 단계, 이를 아실마이그레이션 반응시키는 단계, Column chromatography로 정제하는 단계를 실시예 수준으로 반응 과정을 나타낸 모식도이다.

도 2는 본 발명의 SOO를 포함하는 유지를 출발물질로 하여, Lipase존재하에 아실 마이그레이션 반응시켜 SOO, SOS, SSO, OSO, OOO 또는 SSS가 혼합된 저소화성 유지 조성물 및 부산물(MAG, DAG, FFA)이 제조되는 것을 실시예 수준으로 반응 과정을 나타낸 화학식이다. (SSS: 1,2,3-트리스테아로일 글리세롤(1,2,3-tristearoyl glycerol), SOS: 1,3-디스테아로일-2-올레로일 글리세롤(1,3-distearoyl-2-oleoyl glycerol), SSO: 1,2-디스테아로일-3-올레로일 글리세롤(1,2-distearoyl-3-oleoyl glycerol), SOO: 1-스테아로일-2,3-디올레로일 글리세롤(1-stearoyl-2,3-dioleoyl glycerol), OSO: 2-스테아로일-1,3-디올레로일 글리세롤(2-stearoyl-1, 3-dioleoyl glycerol), OOO: 1,2,3-트리올레로일 글리세롤(1,2,3-trioleoyl glycerol))

도 3은 실시예 2에서 사용된 아실 마이그레이션 반응을 수행하여 제조된 저소화성 유지 조성물을 정제하는 Column chromatography에 사용되는 장치 및 packing 재료를 나타낸 모식도이다.

도 4는 본 발명의 저소화성 유지 조성물의 ^{1}H-NMR spectra를 나타낸 것이다.

도 5는 본 발명의 저소화성 유지 조성물의 RP-HPLC chromatogram을 나타낸 것이다. 1: OOO, 2: SOO/OSO, 3: POS/PSO, 4: PPS/PSP, 5: SOS/SSO, 6: PSS/SPS, 7: SOA/SAO, 8: SSS

도 6은 본 발명의 저소화성 유지 조성물의 Ag-HPLC chromatogram을 나타낸 것이다. 1: SSS, 2: SUS, 3: SSU, 4: SUU, 5: USU, 6: UUU

도 7은 실험예 5에서 수행한 본 발명의 저소화성 유지 조성물의 소장 조건에서의 가수분해율 측정 결과를 나타낸 것이다.

도 8은 본 발명의 저소화성 유지 조성물의 시차주사열량계 분석을 통한 흡열곡성 및 발열곡선을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0036] 본 발명의 일 측면은, sn-1위치는 포화 지방산이고, sn-2, sn-3 위치는 불포화 지방산인 TAG (SUU)를 포함하는 유지를 Lipase 존재하에 아실 마이그레이션 반응시키는 단계를 포함하는 저소화성 유지 조성물을 제공한다.

[0037] 상기 제조방법은 아실 마이그레이션을 통해 SUU 내부 또는 SUU 간에서 조성이 재배열된다.

[0038] 상기 Lipase는 sn-1,3 specific lipase로서, Lipozyme TLIM (Thermomyces lanuginosus)일 수 있다.

[0039] 상기 아실 마이그레이션 반응은 10 내지 200 분간 수행할 수 있다.

[0040] 상기 아실 마이그레이션 반응 후, 정제하는 단계를 더 수행할 수 있다. 상기 정제는 컬럼 크로마토그래피를 통해 수행할 수 있으나, 이는 일례일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.

[0041] 상기 SUU를 포함하는 유지는 유지 전체 100 중량에 대하여, SUU를 70-80중량%로 포함할 수 있고, 나머지는 다른 종류의 트리아실글리세라이드로 이루어질 수 있고, 상기 다른 종류의 트리아실글리세라이드는 포화 지방산 및 불포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 지방산의 조합으로 이루어진 트리아실글리세라이드일 수 있다.

[0043] 상기 SUU를 포함하는 유지는 시어 버터(shea butter)로부터 분획된 것일 수 있다.

[0045] 상기 SUU를 포함하는 유지에서, 불포화 지방산(U)은 C16-26의 단일 또는 다중 불포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상이고, 포화 지방산(S)은 C3-38의 포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.

[0046] 또한, 상기 불포화 지방산은 α-리놀렌산(α-Linolenic acid), 스테아리돈산(Stearidonic acid), 에이코사펜타엔산(Eicosapentaenoic acid), 도코사헥사엔산(Docosahexaenoic acid), 리놀레산(Linoleic acid), γ-리놀렌산(γ-Linolenic acid), 디호모-γ-리놀렌산(Dihomo-γ-linolenic acid), 도코사테트라엔산(Docosatetraenoic acid), 아라키돈산(Arachidonic acid), 리놀레라이드산(Linoelaidic acid), 팔미톨레산(Palmitoleic acid), 박센산(Vaccenic acid), 에루스산(Erucic acid), 파울린산(Paullinic acid), 올레산(Oleic acid), 미리스트올레산(Myristoleic acid), 엘라이드산(Elaidic acid), 곤도산(Gondoic acid), 네르본산(Nervonic acid), 미드산(Mead acid), 스테아리도닌산(Sapienic acid) 및 에루스산(Erucic acid)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있고, 올레산일 수 있고; 포화 지방산은 미리스트산(Myristic acid), 팔미트산(Palmitic acid), 스테아르산(Stearic acid), 아라키드산(Arachidic acid), 베헨산(Behenic acid), 리그노세르산(Lignoceric acid) 및 세로트산(Cerotic acid)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있고, 팔미트산 또는 스테아르산일 수 있고, 스테아르산일 수 있다.

[0047] 또한, 상기 SUU를 포함하는 유지에서, SUU는 1-스테아로일-2,3-디올레오일 글리세롤(1-stearoyl-2,3-dioleoyl-glycerol, SOO)일 수 있다.

[0049] 상기 제조방법으로 제조된 저소화성 유지 조성물은 소장 조건, 구체적으로, 본 발명의 실험예 5와 같은 특정 in vitro 소장조건에서의 가수분해율이 50% 이하로서, 소장에서의 가수분해율이 현저하게 낮은 것을 특징으로 한다.

[0052] 본 발명의 다른 측면은, 상기 제조방법으로 제조된 저소화성 유지 조성물을 제공한다.

[0053] 상기 저소화성 유지 조성물에서, 제조방법에 관한 구체적인 설명은 상기 저소화성 유지 조성물의 제조방법에서 기술한 바와 같다.

[0055] 상기 제조방법으로 제조된 저소화성 유지 조성물은 유지 내 트리글리세라이드 중 두개 이상의 포화 지방산을 가지는 트리글리세라이드의 함량이 10% 이상일 수 있다.

[0056] 상기 불포화 지방산은 C16-26의 단일 또는 다중 불포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상이고, 포화 지방산은 C3-38의 포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.

[0057] 또한, 상기 불포화 지방산은 α-리놀렌산(α-Linolenic acid), 스테아리돈산(Stearidonic acid), 에이코사펜타엔산(Eicosapentaenoic acid), 도코사헥사엔산(Docosahexaenoic acid), 리놀레산(Linoleic acid), γ-리놀렌산(γ-Linolenic acid), 디호모-γ-리놀렌산(Dihomo-γ-linolenic acid), 도코사테트라엔산(Docosatetraenoic acid), 아라키돈산(Arachidonic acid), 리놀레라이드산(Linoelaidic acid), 팔미톨레산(Palmitoleic acid), 박센산(Vaccenic acid), 에루스산(Erucic acid), 파울린산(Paullinic acid), 올레산(Oleic acid), 미리스트올레산(Myristoleic acid), 엘라이드산(Elaidic acid), 곤도산(Gondoic acid), 네르본산(Nervonic acid), 미드산(Mead acid), 스테아리도닌산(Sapienic acid) 및 에루스산(Erucic acid)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있고, 올레산일 수 있고; 포화 지방산은 미리스트산(Myristic acid), 팔미트산(Palmitic acid), 스테아르산(Stearic acid), 아라키드산(Arachidic acid), 베헨산(Behenic acid), 리그노세르산(Lignoceric acid) 및 세로트산(Cerotic acid)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있고, 팔미트산 또는 스테아르산일 수 있고, 스테아르산일 수 있다.

[0059] 상기 저소화성 유지 조성물은 전체 100 중량에 대하여, sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 포화 지방산인 TAG(SSS)를 2-8 중량%; sn-1, sn-3위치는 포화 지방산이고, sn-2 위치는 불포화 지방산인 TAG(SUS)를 4-9 중량%; sn-1, sn-2위치는 포화 지방산이고, sn-3 위치는 불포화 지방산인 TAG (SSU)를 2-6 중량%; sn-1위치는 포화 지방산이고, sn-2, sn-3 위치는 불포화 지방산인 TAG (SUU)를 30-40 중량%; sn-2위치는 포화 지방산이고, sn-1, sn-3 위치는 불포화 지방산인 TAG(USU)를 0.2-6 중량%; 및, sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 불포화 지방산인 TAG(UUU)를 5-25 중량%;를 포함할 수 있다. 나머지는 다른 종류의 트리아실글리세라이드로 이루어질 수 있고, 상기 다른 종류의 트리아실글리세라이드는 포화 지방산 및 불포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 지방산의 조합으로 이루어진 트리아실글리세라이드일 수 있다. 이때, 나머지 다른 종류의 트리아실글리세라이드는 제조과정에서 생성된 MAG, DAG 또는 TAG 형태의 불순물일 수 있다.

[0061] 또한, 상기 저소화성 유지 조성물은 전체 100 중량에 대하여, 1,2,3-트리스테아로일 글리세롤(1,2,3-tristearoyl glycerol, SSS)를 2-8 중량%; 1,3-디스테아로일-2-올레로일 글리세롤(1,3-distearoyl-2-oleoyl glycerol, SOS)를 4-9 중량%; 1,2-디스테아로일-3-올레로일 글리세롤(1,2-distearoyl-3-oleoyl glycerol, SOS)를 2-6 중량%; 2,3-디스테아로일-1-올레로일 글리세롤(2,3-distearoyl-1-oleoyl glycerol, SOO)를 30-40 중량; 2-스테아로일-1,3-디올레로일 글리세롤(2-stearoyl-1, 3-dioleoyl glycerol, OSO)를 0.2-6 중량%; 및, 1,2,3-트리올레로일 글리세롤(1,2,3-trioleoyl glycerol, OOO)를 5-25 중량%;를 포함할 수 있다. 나머지는 다른 종류의 트리아실글리세라이드로 이루어질 수 있고, 상기 다른 종류의 트리아실글리세라이드는 스레아릭산 및 올레산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 지방산의 조합으로 이루어진 트리아실글리세라이드일 수 있다. 이때, 나머지 다른 종류의 트리아실글리세라이드는 제조과정에서 생성된 MAG, DAG 또는 TAG 형태의 불

순물일 수 있다.

[0063] 상기 저소화성 유지 조성물은 소장에서의 가수분해율이 50% 이하로서, 구체적으로, 본 발명의 실험예 5와 같은 특정 in vitro 소장조건에서의 가수분해율이 50% 이하로서, 소장에서의 가수분해율이 현저하게 낮은 것을 특징으로 한다.

[0065] 본 발명에 따른 제조방법으로 제조된 저소화성 유지 조성물은 상기와 같은 조성으로 다양한 종류의 TAG를 함유함으로써, 소화율이 현저하게 낮을 것을 특징으로 한다.

[0067] 본 발명의 다른 측면은,

[0068] 포화 지방산 및 불포화 지방산으로 이루어지는 트리글리세라이드를 포함하는 저소화성 유지 조성물이되,

[0069] 저소화성 유지 조성물 100 중량에 대하여, sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 포화지방산인 TAG(SSS)를 2-8 중량%; sn-1, sn-3위치는 포화지방산이고, sn-2 위치는 불포화지방산인 TAG(SUS)를 4-9 중량%; sn-1, sn-2위치는 포화지방산이고, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG (SSU)를 2-6 중량%; sn-1위치는 포화지방산이고, sn-2, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG (SUU)를 30-40 중량%; sn-2위치는 포화지방산이고, sn-1, sn-3 위치는 불포화지방산인 TAG(USU)를 0.2-6 중량%; 및, sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 불포화지방산인 TAG(UUU)를 5-25 중량%;를 포함하는, 저소화성 유지 조성물을 제공한다. 이때, 나머지는 다른 종류의 트리아실글리세라이드로 이루어질 수 있고, 상기 다른 종류의 트리아실글리세라이드는 스레아릭산 및 올레산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 지방산의 조합으로 이루어진 트리아실글리세라이드일 수 있다. 이때, 나머지 다른 종류의 트리아실글리세라이드는 제조과정에서 생성된 MAG, DAG 또는 TAG 형태의 불순물일 수 있다.

[0070] 상기 불포화 지방산은 C16-26의 단일 또는 다중 불포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상이고, 포화 지방산은 C3-38의 포화 지방산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있다.

[0071] 또한, 상기 불포화 지방산은 α-리놀렌산(α-Linolenic acid), 스테아리돈산(Stearidonic acid), 에이코사펜타엔산(Eicosapentaenoic acid), 도코사헥사엔산(Docosahexaenoic acid), 리놀레산(Linoleic acid), γ-리놀렌산(γ-Linolenic acid), 디호모-γ-리놀렌산(Dihomo-γ-linolenic acid), 도코사테트라엔산(Docosatetraenoic acid), 아라키돈산(Arachidonic acid), 리놀레라이드산(Linoelaidic acid), 팔미톨레산(Palmitoleic acid), 박센산(Vaccenic acid), 에루스산(Erucic acid), 파울린산(Paullinic acid), 올레산(Oleic acid), 미리스트올레산(Myristoleic acid), 엘라이드산(Elaidic acid), 곤도산(Gondoic acid), 네르본산(Nervonic acid), 미드산(Mead acid), 스테아리도닌산(Sapienic acid) 및 에루스산(Erucic acid)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있고, 올레산일 수 있고; 포화 지방산은 미리스트산(Myristic acid), 팔미트산(Palmitic acid), 스테아르산(Stearic acid), 아라키드산(Arachidic acid), 베헨산(Behenic acid), 리그노세르산(Lignoceric acid) 및 세로트산(Cerotic acid)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상일 수 있고, 팔미트산 또는 스테아르산일 수 있고, 스테아르산일 수 있다.

[0073] 또한, 상기 저소화성 유지 조성물은 전체 100 중량에 대하여, 11,2,3-트리스테아로일 글리세롤(1,2,3-tristearoyl glycerol, SSS)를 2-8 중량%; 1,3-디스테아로일-2-올레로일 글리세롤(1,3-distearoyl-2-oleoyl glycerol, SOS)를 4-9 중량%; 1,2-디스테아로일-3-올레로일 글리세롤(1,2-distearoyl-3-oleoyl glycerol, SOS)를 2-6 중량%; 2,3-디스테아로일-1-올레로일 글리세롤(2,3-distearoyl-1-oleoyl glycerol, SOO)를 30-40 중량; 2-스테아로일-1,3-디올레로일 글리세롤(2-stearoyl-1, 3-dioleoyl glycerol, OSO)를 0.2-6 중량%; 및, 1,2,3-트리올레로일 글리세롤(1,2,3-trioleoyl glycerol, OOO)를 5-25 중량%;를 포함할 수 있다. 이때, 나머지는 다른 종류의 트리아실글리세라이드로 이루어질 수 있고, 상기 다른 종류의 트리아실글리세라이드는 스레아릭산 및 올레산으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 지방산의 조합으로 이루어진 트리아실글리세라이드일 수 있다. 이때, 나머지 다른 종류의 트리아실글리세라이드는 제조과정에서 생성된 MAG, DAG 또는 TAG 형태의 불순물일 수 있다.

[0075] 상기 저소화성 유지 조성물은 소장 조건, 구체적으로, 본 발명의 실험예 5와 같은 특정 in vitro 소장조건에서의 가수분해율이 50% 이하로서, 소장에서의 가수분해율이 현저하게 낮은 것을 특징으로 한다.

[0077] 본 발명에 따른 저소화성 유지 조성물은 상기와 같은 조성으로 다양한 종류의 TAG를 함유함으로써, 소화율이 현저하게 낮을 것을 특징으로 한다.

[0079] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0080] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0082] **<제조예> 시어버터로부터 1-스테아로일-2,3-디올레오일 글리세롤(1-stearoyl-2,3-dioleoyl-glycerol, SOO)를 포함하는 유지의 분획**

[0083] shea butter(시어버터)를 80℃의 항온수조에서 완전히 녹인 후 2 L beaker에 1:9(w/v) 비율로 shea butter(시어버터)를 200 g, acetone을 1,800 mL 정량하고 50℃의 물로 중탕하며 충분히 교반하였다. 이것을 4℃로 유지되는 냉장고에서 48시간 동안 방치하여 분별한 후 filter paper(grade 4 125 mmø, Whatman, UK)를 이용하여 고체층과 액체층을 분리하였다. 분별한 액체층을 감압농축기(Rotary vacuum evaporator, N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 용매를 제거하여 SOO를 포함하는 유지를 얻었다.

[0085] **<실시예 1> 저소화성 유지 조성물의 제조**

[0086] 250 mL 삼각플라스크에 상기 제조예에서 얻은 SOO를 포함하는 유지 20 g을 정량한 후 총 기질의 20 wt%의 비율로 Lipozyme® TLIM을 첨가하였다. Shaking water bath(LSB-0455, Daihan labtech Co., Ltd., Namyangju, Korea)를 사용하여 80℃, 185 rpm에서 30, 60, 90, 120, 180분 동안 반응을 진행하였으며, 반응이 끝난 각각의 반응물들은 hexane 50 mL을 첨가하여 균질한 뒤 0.5 μm PTFE syringe filter(13JP050AN, ADVANTEC, Tokyo, Japan)로 효소를 제거한 뒤 질소가스로 용매를 모두 제거하여 반응물만을 얻어 저소화성 유지 조성물을 제조하였다.

[0088] **<실시예 2> 저소화성 유지 조성물의 정제**

[0089] 상기 실시예 1에서 SOO를 포함하는 유지를 acyl migration시켜 제조한 저소화성 유지 조성물 중에서, *in vitro* 소화(digestion) 실험에 영향을 줄 수 있는 모노글리세라이드(monoglyceride, MG, monoacylglycerol, MAG, monoacylglyceride), 디글리세라이드(diglyceride, DG, diacylglycerol, DAG, diacylglyceride), 지방산 등을 제거하기 위하여 column chromatography를 진행하여 정제하였다. Chromatographic column(45 cm × 25 mm × 30 mm)에 packing된 충진물의 유실을 억제하기 위해 솜을 소량 넣은 후 sea sand 5 g, sodium sulfate 10 g, silica gel 10 g, activated charcoal 5 g, sodium sulfate 5 g, silica gel 10 g, sodium sulfate 5 g, sea sand 5 g을 평평하도록 하여 나열한 순서대로 packing 하였고 packing한 column은 hexane 200 mL를 흘려주어 conditioning 하였다. 시료는 SOO를 90분 동안 acyl migration 반응하여 얻은 반응물 12 g을 hexane 50 mL에 녹여서 시료를 제조하였다. 제조한 시료를 conditioning한 chromatographic column에 loading한 후에 30분간 holding하여 흡착시켰다. 후에 충진물이 마르지 않도록 hexane 1 L를 흘려주어 column chromatography를 진행하였다. Column chromatography를 통해 얻어진 용매를 감압농축기(Rotary vacuum evaporator, N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 용매를 제거하여 정제상태의 STO(strepped oil)를 얻었다.

[0091] **<실험예 1> ^{1}H-NMR(Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance)을 이용한 저소화성 유지 조성물의 분석**

[0092] 실시예 1의 90분간 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물 및 실시예 2의 90분간 아실 마이

그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물을 정제하여 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물의 ^{1}H-NMR 분석을 통하여 column chromatography 전후로 MAG, DAG, TAG의 mol% 함량을 비교 분석하였다.

[0093] 구체적으로, 각각의 시료 30 mg을 chloroform-d 700 μL에 완전히 녹인 후 NMR tube에 담아서 ^{1}H-NMR(Avance Ⅲ 600, Bruker, Germany)을 이용하여 acquisition time 2.656s, spectral width 12335.5 Hz, 16 scans의 조건에서 분석하였다. ^{1}H NMR spectra를 도 4에, 각 성분의 함량을 백분율로 환산하여 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0095]

	실시예 1 90분 반응물 (%)	실시예 2 STO (%)
TAG	64.8	100.0
1(3)-MAG	3.0	0.0
2-MAG	0.0	0.0
1,2-DAG	12.0	0.0
1,3-DAG	20.2	0.0

[0096] 도 1 및 상기 표 1에 나타난 바와 같이,

[0097] 실시예 1의 Acyl migration을 90분간 수행한 반응물인 미정제 저소화성 유지 조성물은 TAG가 64.8 mol% 1,2-DAG가 12.0 mol%, 1,3-DAG가 20.2 mol%, 1(3)-MAG가 3.0 mol%로 acyl migration 반응을 진행을 하였을 때, 1,2-DAG와 1,3-DAG가 생성이 되고 소량의 1(3)-MAG가 생성됨을 알 수 있다.

[0098] 한편, 실시예 1의 미정제 저소화성을 정제한 실시예 2의 정제된 저소화성 유지 조성물(STO)는 100 mol%가 TAG로 column chromatography 후에 1,2-DAG와 1,3-DAG, 1-MAG가 대부분 제거되고 TAG만 남아, 불순물인 MAG, DAG가 완전히 제거된 것을 spectra에서 확인할 수 있다.

[0100] **<실험예 2> RP-HPLC(Reverse-phase HPLC)를 이용한 저소화성 유지 조성물의 분석**

[0101] 실시예 1의 각 시간별로 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물 및 실시예 2의 90분간 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물을 정제하여 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물의 RP-HPLC 분석을 수행하였다. 그 결과를 도 5 및 표 2에 나타내었다.

[0103] shea butter(시어버터)와 SOO 및 Acyl migration 반응물과 STO의 TAG 조성을 확인하기 위하여 reverse-phase high performance liquid chromatograph(RP-HPLC, Younglin, Anyang, Korea)를 사용해 분석하였다. Column은 Nova-pak® C18 column(60 ÅA, 3.9 mm × 150 mm, 4 μm I.d., Waters, Milford, Ireland)을 사용하였으며 검출기는 Sedex 75 evaporative light scattering detector(ELSD, Dedere, Alfortville, France)를 사용하였다. ELSD의 온도 및 압력 조건은 40℃, 2.2 bar로 설정하였고, N_2 가스를 사용하였다. Flow rate는 1 mL/min으로 설정하였으며 이동상 용매는 기울기 용리 조건으로 용매A(acetonitrile)와 용매B(hexane : iso-propanol = 1:2, v/v)를 사용하였고 시료들은 1 uL/1 mL의 농도로 혼합용매(chloroform : hexane = 1:4, v/v)에 녹여서 20 uL를 주입하여 분석하였다. 분석시료가 주입될 때에는 용매 A와 B를 80:20의 비율로 설정하고 45분까지 54:46의 비율로 변화시킨 후 15분간 유지하였다. 이후에 65분까지 80:20의 비율로 변화시키고 5분간 유지함으로써 분석을 완료하였다. 각 시료의 TAG 확인 및 area% 확인은 다음과 같은 partition number(PN) 계산식과 불포화 지방산의 수를 바탕으로 이루어졌다. PN = Total carbon number (CN) - 2 × total number of double bonds (ND). RP-HPLC chromatogram을 도 5에, 각 TAG의 조성 area %를 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0105]

PN	TAG 종류	shea butter	제조예 Shea butter liquid	실시예 1 Reaction time					실시예2 STO
				30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	
48	OOO	3.8±1.7^{c}	6.4±0.7^{bc}	18.2±2.8^{ab}	18.7±2.4^{a}	19.1±2.7^{a}	17.8±3.2^{ab}	12.4±10.2^{ab}	12.3±9.2^{ab}
50	SOO/OSO	29.0±5.9^{d}	77.6±3.3^{a}	42.1±1.7^{b}	38.0±2.4^{c}	37.9±2.0^{c}	36.5±4.4^{c}	38.5±5.3^{bc}	37.5±5.1^{b}
	POS/PSO	2.5±0.2^{a}	0.9±0.4^{b}	1.2±0.1^{b}	1.4±0.3^{b}	1.0±0.2^{b}	1.3±0.4^{b}	1.3±0.4^{b}	1.3±0.3^{b}
	PPS/PSP	3.0±0.1^{ab}	0.7±0.2^{c}	2.2±0.6^{b}	2.1±0.1^{b}	2.2±0.5^{b}	2.5±0.7^{ab}	2.2±1.0^{b}	2.3±0.4^{b}
52	SOS/SSO	44.7±6.6^{b}	1.0±0.3^{e}	10.3±0.1^{c}	11.3±0.6^{c}	11.2±0.0^{c}	12.0±1.0^{c}	9.9±0.1^{c}	10.9±0.0^{c}
	PSS/SPS	0.3±0.3^{ab}^{cd}	0.7±0.1^{a}	0.3±0.0^{cd}	0.5±0.2^{ab}^{c}	0.3±0.0^{bc}^{d}	0.6±0.1^{ab}	ND	ND
54	SOA/SAO	1.0±0.1^{ab}	ND	0.6±0.0^{b}	0.5±0.1^{bc}	0.8±0.1^{ab}	0.7±0.3^{b}	0.6±0.3^{b}	0.7±0.1^{b}
	SSS	0.5±0.0^{ab}	ND	0.6±0.3^{ab}	0.8±0.3^{ab}	1.0±0.0^{a}	0.9±0.3^{a}	0.4±0.3^{ab}	0.7±0.4^{ab}
Unknown		15.3 ±10.5	12.6 ±2.3	24.5±3.5	26.8±5.3	26.4±4.4	27.6 ±12.9	34.3±13.4	33.9±13.0
Total		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

[0106] ND : Not detected

[0107] Unit: area%

[0108] Unknown: 미분석 TAG로 구성되는 불순물

[0109] 윗첨자 a, b, c 및 d: 통계유의차

[0110] Shea butter liquid: 제조예의 SOO를 포함하는 유지

[0111] SSS: 1,2,3-트리스테아로일 글리세롤(1,2,3-tristearoyl glycerol)

[0112] SOS: 1,3-디스테아로일-2-올레로일 글리세롤(1,3-distearoyl-2-oleoyl glycerol)

[0113] SSO: 1,2-디스테아로일-3-올레로일 글리세롤(1,2-distearoyl-3-oleoyl glycerol)

[0114] SOO: 1-스테아로일-2,3-디올레로일 글리세롤(1-stearoyl-2,3-dioleoyl glycerol)

[0115] OSO: 2-스테아로일-1,3-디올레로일 글리세롤(2-stearoyl-1, 3-dioleoyl glycerol)

[0116] OOO: 1,2,3-트리올레로일 글리세롤(1,2,3-trioleoyl glycerol)

[0117] POS: 1-팔미토일-2-올레로일-3-스테아로일 글리세롤 (1-palmitoyl-2-oleoyl-3-stearoyl glycerol)

[0118] PSO: : 1-팔미토일-2- 스테아로일-3-올레로일 글리세롤(1-palmitoyl-2- stearoyl-3-oleoyl glycerol)

[0119] PPS: 1,2-디팔미토일-3- 스테아로일 글리세롤(1,2-dipalmitoyl-3-stearoyl glycerol)

[0120] PSP: 1,3-디팔미토일-2- 스테아로일 글리세롤(1,3-dipalmitoyl-2-stearoyl glycerol)

[0121] PSS: 1-팔미토일-2,3-디스테아로일 글리세롤(1-palmitoyl-2,3-stearoyl glycerol)

[0122] SPS: 1,3-디스테아로일-2-팔미토일 글리세롤(1,3-distearoyl-2-palmitoyl glycerol)

[0123] SOA: 1-스테아로일-2-올레로일-3-아라키도일 글리세롤 (1-stearoyl-2-oleoyl-3-arachidoyl glycerol)

[0124] SAO: 1-스테아로일-2- 아라키도일-3-올레로일 글리세롤 (1-stearoyl-2- arachidoyl-3-oleoyl glycerol)

[0126] shea butter(시어버터)의 경우 TAG 조성은 PN 48~54로, PN 52의 SOS/SSO가 44.7 area%로 가장 높았으며 그 뒤로 PN 50의 SOO/OSO가 29.0 area%로 이루어져 있었다.

[0127] 제조예에서 얻은 SOO를 포함하는 유지(Shea butter liquid)의 경우 PN 50을 가지는 SOO/OSO가 77.6 area%로 가장 많이 차지하고 있었다.

[0128] 실시예 1에서 얻은 SOO를 포함하는 유지를 시간별로 acyl migration 반응하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물과 실시예 2에서 90분간 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물을 정제하여 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물(STO)의 TAG 조성의 PN 범위는 48~54에서 나타났다. Acyl migration 반응물의 경우 PN 50의 SOO/OSO(36.5-42.1 area%)가 SOO와 비교했을 때 모두 감소하였다. 반면에 PN 52를 갖는 SOS/SSO(9.9-12.0 area%)가 증가하였고 PN 54의 SSS(0.4-1.0 area%) 또한 증가하였다. Acyl migration을 통해 생성된 SOS/SSO와 SSS 및 PPS/PSP, PSS/SPS도 가수분해율 저하에 영향을 주었을 것으로 사료된다.

[0129] 구체적으로, 실시예 2에서 90분간 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물을 정제하여 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물(STO)의 TAG 조성은 PN 50의 SOO/OSO(46.7 area%), PN 52의 SOS/SSO(12.0 area%), PN 48의 OOO(12.1 area%)가 대부분을 이루었고 일부 PN 54의 SSS(0.5 area%)로 column chromatography 전과 비교하였을 때 PN 48의 TAG가 줄고 PN 50, 52의 TAG가 소량 증가하였다. 또한 ester와 FFA가 제거되었음을 확인할 수 있었다. 이러한 TAG 조성의 변화는 *in vitro* digestion에서 가수분해율에 영향을 주는 것으로 보인다.

[0131] **<실험예 3> Ag-HPLC을 이용한 저소화성 유지 조성물의 분석**

[0132] 실시예 1의 각 시간별로 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물 및 실시예 2의 90분간 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물을 정제하여 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물의 Ag-HPLC 분석을 수행하여 그 결과를 도 6 및 표 3에 나타내었다.

[0134] RP-HPLC에서 확인할 수 없는 TAG 이성질체(대칭형 구조 및 비대칭형 구조)를 분리하기 위해 Ag-HPLC(Younglin, Anyang, Korea)를 이용하여 분석하였다. Column은 Silver ion column(Chromspher 5 lipids 250 mm × 4.6 mm i.d., Varian, Netherlands)을 사용하였으며 검출기는 Sedex 75 evaporative light scattering detector(ELSD, Dedere, Alfortville, France)를 사용하였다. ELSD의 온도 및 압력 조건은 40℃, 2.2 bar로 설정하였고, N_2 가스를 사용하였다. Flow rate는 1.5 mL/min으로 설정하였으며 이동상 용매는 기울기 용리 조건으로 용매 A(hexane : iso-propanol : acetonitrile = 100:0.1:0.1, v/v/v)와 용매 B(hexane : iso-propanol : acetonitrile = 100:1:1, v/v/v)를 사용하였고 시료들은 1 uL/1 mL 농도로 혼합용매(chloroform : hexane = 1 : 4, v/v)에 녹여서 20 uL를 주입하여 분석하였다. 분석시료가 주입될 때에는 용매 A와 B를 100:0의 비율로 설정하고 5분간 흘려주다가 50분까지 80:20의 비율로 변화시켰다. 이후에 60분까지 50:50의 비율로 변화시키고 1분 동안 유지하였으며 62분까지 100:0의 비율로 변화시킨 후 70분까지 유지함으로써 분석을 완료하였다. 각 peak의 retention time(RT) 확인은 OPO standard(Samyang, Seoul, Korea)를 통하여 확인하였다.

표 3

[0136]

TAG 종류	shea butter	제조예 SOO 유지	실시예 1 Reaction time					실시예 2 STO
			30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	
SSS	0.8±0.3	0.9±0.3	2.8±0.8	3.6±1.2	3.5±0.4	3.2±0.8	2.1±0.3	7.1±3.8
SUS	50.7±1.6	0.7±0.3	7.3±0.7	6.4±0.8	4.8±0.5	4.1±0.6	6.7±0.2	8.9±1.8

SSU	0.5±0.1	0.3±0.1	2.1±0.6	3.2±0.4	4.7±0.4	5.1±0.5	1.3±0.5	3.4±3.5
SUU	35.4±0.4	76.7±2.8	37.1±4.1	31.1±4.5	31.4±3.2	30.2±2.2	34.8±5.8	38.8±3.6
USU	0.2±0.1	0.4±0.2	1.4±1.3	3.1±1.2	4.1±0.6	5.1±0.5	1.0±0.2	1.6±0.9
UUU	3.0±0.5	6.6±0.3	21.2±4.2	22.0±6.2	24.1±4.5	22.1±1.5	17.0±0.0	16.2±5.1
Unknown	9.4±1.3	14.9±2.1	28.0±5.7	30.6±7.0	27.8±3.8	29.6±0.4	37.1±5.4	24.1±2.3
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

[0137] Unit: area%, S=포화 지방산, U=불포화 지방산

[0138] Unknown: 미분석 TAG로 구성되는 불순물

[0139] SSS: sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 포화 지방산인 TAG

[0140] SUS: sn-1, sn-3위치는 포화 지방산이고, sn-2 위치는 불포화 지방산인 TAG

[0141] SSU: sn-1, sn-2위치는 포화 지방산이고, sn-3 위치는 불포화 지방산인 TAG

[0142] SUU: sn-1위치는 포화 지방산이고, sn-2, sn-3 위치는 불포화 지방산인 TAG

[0143] USU: sn-2위치는 포화 지방산이고, sn-1, sn-3 위치는 불포화 지방산인 TAG

[0144] UUU: sn-1, sn-2, sn-3위치 모두 불포화 지방산인 TAG

[0146] 도 6 및 상기 표 3에 나타난 바와 같이,

[0147] SOO는 SUU의 형태의 TAG를 나타낸다.

[0148] 제조예에서 얻은 SOO를 포함하는 유지는 76.7 area%로 SUU가 대부분이었다.

[0149] 반면, 실시예 1에서 얻은 Acyl migration 반응 시간별 미정제 저소화성 유지 조성물의 경우는 SOO에 비해 SUU(30.2-37.1 area%)가 크게 감소하고 SSS(2.1-3.6 area%) 및 SUS(4.1-7.3 area%), SSU(1.3-5.1 arae%)가 크게 증가하였다. SSS와 SUS, SSU는 SUU보다 소화율이 저해되기 때문에 acyl migration 반응을 통해 얻어진 반응물에서 이들의 증가에 의해 소화율이 저해 된다.

[0150] 아울러, 실시예 2에서 Column chromatography를 통하여 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물(STO)의 대칭형 및 비대칭형 TAG는 SSS(7.1 area%), SUS(8.9 area%), SSU(3.4 area%), SUU(38.8 area%)가 대부분으로 acyl migration 반응물과 마찬가지로 SSS와 SUS, SSU 조성이 증가하였으며, 이들의 증가에 의해 소화율이 저해 된다.

[0152] **<실험예 4> GC을 이용한 저소화성 유지 조성물의 분석**

[0153] 실시예 1의 각 시간별로 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물 및 실시예 2의 90분간 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물을 정제하여 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물의 Ag-HPLC 분석을 수행하여 그 결과를 표 4-6에 나타내었다.

[0155] Gas chromatograph(YL6100, 6000 series, Younglin, Anyang, Korea)를 이용하여 지방산을 분석하였다. Methylation은 지방산의 카르복실기(-COOH)를 메틸에스테르기(-$COOCH_3$)로 치환하는 방법으로, 시료를 20 μL를 취해 chloroform 200 μL에 희석하여 TLC(silica gel 60 F_{254}, 25 Glass plates, 20 × 20 cm, Merck KGaA, Germany)에 전개용매(hexane:diethyl eter:acetic acid=50:50:1, v/v/v)로 전개하였다.

[0156] 전개한 TLC plate에서 TAG 부분을 취한 후 1.5 mL의 0.5N methanolic NaOH를 첨가하여 30초 동안 진탕한 뒤 100℃의 water bath에서 5분간 반응하였다. 반응이 끝나면 찬물로 충분히 냉각 시킨 후 BF_3-methanol 용액을 2 mL 첨가하여 30초 동안 진탕한 뒤 100℃의 water bath에서 3분간 반응하였다. 반응 후에 다시 찬물로 충분히 냉각시킨 후 2 mL의 Iso-octane과 포화 NaCl 용액 1 mL을 첨가 후 1분 동안 충분히 진탕한 후 2500 rpm에서 3분간 원심분리 하였다. 원심분리를 통해 분리된 상층액을 anhydrous sodium sulfate로 채워진 pasteur pipet column에 통과시켜 수분과 불순물을 제거하고 GC vial에 모아 GC로 분석하였다. Column을 통과시켜 얻은 액을

시료로 하여 gas chromatography(GC)로 분석하였다. GC분석에는 flame ionized detector(FID)를 사용하였으며 column은 SP™-2560(biscyanopropylpolysiloxane, PA, USA)을 사용하여 분석하였다. Carrier gas는 고순도 He을 1 mL/min으로 유지하였다. Injector와 detector의 온도는 250℃와 260℃이었다. 시료는 1 μL를 주입하였으며 oven의 온도는 초기 150℃이며, 이를 5분간 유지한 후 4℃/min으로 온도를 상승시켜 220℃에서 30분간 유지하여 분석하였다. TAG 내 *sn*-2 위치의 지방산 조성을 확인하기 위하여 pancreatic lipase를 이용하여 가수분해한 후 TLC를 사용해 2-monoacylglycerol(MAG)을 분리하였다. 20 mL glass test tube에 시료 10 mg, 7 mL의 1M Tris-HCl buffer(pH 7.6), 1.75 mL의 0.05% bile salt 용액, 0.7 mL의 2.2% $CaCl_2$ 용액을 첨가하였다. 이후 시료와 동일한 양의 pancreatic lipase를 첨가하여 1분 동안 교반한 후 37℃의 water bath에서 3분간 반응하였다. 반응이 끝나고 30초간 교반한 후 동일한 조건에서 3분간 반응하였고 다시 30초간 교반한 후 이 반응과정을 2번 반복하였다. 교반이 끝난 후 diethyl ether(DE) 4 mL를 test tube에 넣고 1분간 교반하여 원심분리(2500 rpm, 3 min)를 하였다. 이후에 상층액(DE)을 anhydrous sodium sulfate로 채워진 pasteur pipet column에 통과시켜 수분과 불순물을 제거한 뒤 N_2 gas를 사용하여 DE를 제거하였다. DE가 제거된 glass test tube에 DE 150 uL를 다시 넣은 후 30초 동안 교반하여 TLC(silica gel 60 F_{254}, 25 Glass plates, 20 × 20 cm, Merck KGaA, Germany)에 전개용매(hexane:diethyl eter:acetic acid=50:50:1, v/v/v)로 전개하였다. 전개가 끝난 TLC plate에 드라이로 열을 주어 용매를 날린 후 0.1% 2',7'-Dichlorofluorescein 용액(in 95% ethanol)을 분무하였고 UV-spectrophotometer를 통해 254 nm에서 확인하여 2-MAG band를 분리하였다. 분리한 2-MAG의 methylation의 모든 과정을 위와 동일하게 진행하였다.

[0158] 상기 실험예 4 수행에 따른 총 지방산의 지방산 %를 평가하여 표 4에 나타내었다.

표 4

[0159]

Fatty acid	shea butter	제조예 SOO 유지	실시예 1 Reaction time					실시예 2 STO
			30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	
C16:0	4.3±0.2^{a}	4.3±0.1^{a}	4.2±0.1^{a}	4.2±0.0^{a}	4.2±0.0^{a}	4.3±0.1^{a}	4.2±0.1^{a}	4.0±0.1^{b}
C18:0	36.9±2.2^{b}	20.2±0.9^{b}	18.9±0.1^{cd}	17.7±1.3^{cd}	17.2±0.9^{cd}	18.5±1.5^{cd}	16.4±1.9^{d}	16.7±2.3^{cd}
C18:1(n-9)	50.4±2.2^{d}	63.3±0.1^{c}	65.1±0.7^{bc}	66.6±0.2^{b}	66.4±0.3^{b}	65.4±0.5^{bc}	67.2±1.5^{ab}	69.2±1.3^{a}
18:2	6.6±0.1^{c}	10.5±0.7^{a}	10.5±0.5^{a}	10.2±1.2^{a}	10.7±0.4^{a}	10.4±0.7^{a}	10.8±0.0^{a}	8.5±1.2^{b}
20:0	1.8±0.1^{ab}	1.3±0.2^{b}	1.3±0.2^{b}	1.3±0.3^{b}	1.4±0.2^{b}	1.4±0.2^{b}	1.4±0.3^{b}	1.7±0.1^{ab}
∑SFA	43.0±2.2^{b}	25.8±0.9^{c}	24.4±0.2^{cd}	23.3±1.0^{cd}	22.9±0.7^{cd}	24.2±1.2^{cd}	21.9±1.5^{d}	22.3±2.5^{d}
∑USFA	57.0±2.2^{c}	74.2±0.9^{b}	75.6±0.2^{ab}	76.7±1.0^{ab}	77.1±0.7^{ab}	75.8±1.2^{ab}	78.1±1.5^{a}	77.7±2.5^{a}
Total	100.00	100.00	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

[0160] Unit: area%

[0161] 윗첨자 a, b, c 및 d: 통계유의차

[0163] 상기 표 4에 나타난 바와 같이,

[0164] shea butter(시어버터)의 경우 총 지방산 중 oleic acid(50.4 area%)와 stearic acid(36.9 area%)가 대부분을 구성하고 있음을 알 수 있다.

[0165] 제조예에서 얻은 SOO를 포함하는 유지는 oleic acid(63.3 area%), stearic acid(20.2 area%)로 가장 많이 구성되어있다.

[0166] 총 포화 지방산(∑SFA)과 총 불포화 지방산(∑USFA)을 비교해 보면 shea butter(시어버터)가 43.0 area%의 ∑SFA와 57.0 area%의 ∑USFA의 함량을 이루고 있었다. 이를 분획한 제조예의 SOO를 포함하는 유지는 25.8 area%

의 ∑SFA와 74.2 area%의 ∑USFA로 대부분이 unsaturated fatty acid였다.

[0168] 한편, 실시예 1의 미정제 저소화성 유지 조성물은 Acyl migration 반응 시간이 증가함에 따른 반응물간의 함량에서 유의적인 차이는 발견되지 않았으며, 대부분 oleic acid(65.1-67.2 area%), stearic acid(16.4-18.9 area%)로 이루어져있었다.

[0169] 아울러, 실시예 1의 미정제 저소화성 유지 조성물의 ∑SFA(21.9-24.4 area%)와 ∑USFA(75.6-78.1 area%)로 shea butter(시어버터)에 비해 총 포화 지방산양을 약 54%를 줄일 수 있었다. ∑SFA와 ∑USFA는 제조예 1의 SOO를 포함하는 유지와 유사하였는데 이는 acyl migration 동안 TAG를 구성하는 지방산이 TAG 내부나 TAG 간에서만 조성이 재배열되기 때문이다.

[0170] 실시예 2의 정제된 저소화성 유지 조성물(STO)의 경우 oleic acid(69.2 area%), stearic acid(16.7 area%)로 대부분 구성되어 있고, column chromatography 전과 유사한 조성비를 나타내었다.

[0172] 상기 실험예 4 수행에 따른 sn-2 위치의 지방산 %를 평가하여 표 5에 나타내었다.

표 5

[0173]

Fatty acid	shea butter	제조예 SOO 유지	실시예 1 Reaction time					실시예 2 STO
			30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	
C16:0	1.3±0.9^{b}	2.9±2.5^{ab}	3.0±0.1^{ab}	4.5±1.9^{a}	4.7±1.1^{a}	4.4±0.4^{a}	2.9±0.2^{ab}	1.2±0.4^{b}
C18:0	6.8±2.0^{d}	8.9±4.7^{d}	19.2±0.2^{bc}	24.2±2.5^{ab}	26.0±3.3^{a}	24.1±3.4^{ab}	15.2±2.5^{c}	5.1±2.0^{d}
C18:1(n-9)	77.9±2.7^{a} b	71.5±6.4^{b} c	64.8±1.1^{cd} e	60.5±0.7^{de}	57.1±4.7^{e}	61.2±5.3^{de}	68.3±3.5^{cd}	78.3±3.2^{a} b
18:2	14.0±0.2^{a} bc	16.6±0.8^{a}	12.7±1.0^{bc} de	10.4±3.2^{de}	11.4±1.4^{cd} e	9.7±0.7^{e}	13.4±0.4^{bc} d	15.2±0.7^{a} b
20:0	ND[3)]	ND	0.3±0.4^{a}	0.4±0.6^{a}	0.8±1.2^{a}	0.5±0.8^{a}	0.3±0.4^{a}	0.1±0.1^{a}
∑SFA	8.13±2.9^{d}	11.8±7.2^{c} d	22.5±0.1^{ab}	29.1±3.9^{a}	31.5±3.3^{a}	29.1±4.6^{a}	18.3±3.1^{bc}	6.5±2.5^{d}
∑USFA	91.9±2.9^{a}	88.2±7.2^{a} b	77.5±0.1^{cd}	70.9±3.9^{d}	68.5±3.3^{d}	70.9±4.6^{d}	81.7±3.1^{bc}	93.2±2.5^{a}
Total	100.00	100.00	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

[0174] ND : Not detected

[0175] Unit: area%

[0176] 윗첨자 a, b, c 및 d: 통계유의차

[0178] 상기 실험예 4 수행에 따른 sn-1,3 위치의 지방산 %를 평가하여 표 6에 나타내었다.

표 6

[0180]

Fatty acid	shea butter	SOO	Reaction time					STO
			30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	

C16:0	5.8±0.2^{a}	5.0±1.1^{ab}	4.8±0.1^{abc}	4.1±0.9^{bc}	4.0±0.5^{c}	4.2±0.1^{bc}	4.8±0.1^{abc}	5.3±0.3^{ab}
C18:0	52.0±2.3^{b}	25.9±1.0^{c}	18.7±0.1^{de}	14.5±0.6^{e}	12.9±0.3^{e}	15.8±4.0^{e}	17.0±4.1^{de}	22.5±4.5^{cd}
C18:1(n-9)	36.6±1.9^{d}	59.7±3.0^{c}	65.3±0.4^{abc}	69.6±0.6^{ab}	71.0±1.8^{a}	67.5±3.5^{ab}	66.7±4.0^{ab}	64.6±3.6^{bc}
18:2	3.0±0.0^{d}	7.5±0.7^{b}	9.4±0.3^{ab}	10.0±0.2^{a}	10.4±1.3^{a}	10.8±0.7^{a}	9.5±0.1^{ab}	5.1±1.5^{c}
20:0	2.7±0.2^{ab}	2.0±0.2^{cd}	1.8±0.1^{d}	1.8±0.1^{d}	1.6±0.3^{d}	1.8±0.1^{d}	1.9±0.2^{d}	2.4±0.2^{bc}
∑SFA	60.4±1.9^{b}	32.9±2.3^{c}	25.4±0.2^{de}	20.4±0.4^{ef}	18.5±0.6^{f}	21.7±4.2^{ef}	23.7±3.8^{ef}	30.3±5.1^{cd}
∑USFA	39.6±1.9^{e}	67.1±.2.3^{d}	74.6±0.2^{bc}	79.6±0.4^{ab}	81.5±0.6^{a}	78.3±4.2^{ab}	76.3±3.8^{ab}	69.7±5.1^{cd}
Total	100.00	100.00	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

[0181] Unit: area%

[0182] 윗첨자 a, b, c 및 d: 통계유의차

[0184] 상기 표 5 및 6에 나타난 바와 같이,

[0185] shea butter(시어버터)는 *sn*-2를 이루고 있는 지방산이 대부분 oleic acid(77.9 area%), *sn*-1,3은 stearic acid(52.0 area%)와 oleic acid(36.6 area%)로 이루어져 있었다.

[0186] 제조예에서 얻은 SOO를 포함하는 유지는 *sn*-2가 대부분 oleic acid(71.5 area%), sn-1,3은 oleic acid(59.7 area%), stearic acid(25.9 area%)로 이루어져 있다.

[0187] 실시예 1에서 얻은 Acyl migration 반응시킨 미정제 저소화성 유지 조성물의 경우 sn-2는 주로 oleic acid(57.1-68.3 area%)이고 sn-1,3은 oleic acid(65.3-71.0 area%)와 stearic acid(12.9-18.7 area%)이었다.

[0188] 실시예 2에서 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물(STO)의 경우 sn-2는 주로 oleic acid(69.76 area%), sn-1,3은 oleic acid(65.73 area%)와 stearic acid(18.98 area%)로 이루어져 있었다.

[0190] 상기 결과를 통하여, 본 발명의 저소화성 유지 조성물은 아실 마이그레이션을 통해 TAG 내부 또는 TAG간의 지방산의 이동으로 인해, 새로운 조성의 TAG 분자들이 생성되었고, 이러한 조성 변화가 유지의 가수분해율을 감소시킨 요인 중 하나라고 보여진다.

[0191] 따라서, 본 발명에 따른 저소화성 유지 조성물의 제조방법은 유지 가수분해율이 감소된 저소화성 유지를 제조할 수 있고, 본 발명의 저소화성 유지 조성물은 가수분해율이 감소된 바, 다른 유지에 대한 대체 유지로 유용하게 사용될 수 있다.

[0193] **<실험예 5> pH-stat을 이용한 *in vitro* 소화(digestion) 실험**

[0194] 실시예 1의 각 시간별로 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물 및 실시예 2의 90분간 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물을 정제하여 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물의 소장 조건에서의 가수분해율을 측정하였으며, 도 8에 수행한 본 발명의 저소화성 유지 조성물의 소장 조건에서의 가수분해율 측정 결과를 나타내었고, 표 7에 측정한 initial rate 및 Φmax 값을 나타내었다.

[0196] pH-stat digestion model을 이용하여 유지가 소장에서 가수 분해되는 정도를 알아보았다. TAG가 pancreatic lipase에 의해 가수분해 되면서 생성된 2개의 유리지방산을 중화시키기 위해 필요한 0.05N NaOH의 소비량(mL)을 측정하여 유리지방산을 정량화 하여 가수분해율을 측정하였다. Digestion juice제조에 사용되는 duodenal juice와 bile juice는 하기 표 7에 따라 제조하였다. 도 8에 수행한 본 발명의 저소화성 유지 조성물의 소장 조건에서의 가수분해율 측정 결과를 나타내었고, 표 7에 측정한 initial rate 및 Φmax 값을 나타내었다.

[0198] 구체적으로, 50 mL 정용병에 inorganic solution과 organic solution을 섞어 정용한 후 1N-HCl solution을 사용하여 각각의 pH로 조정하였다. 이 후 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ solution, BSA, Bile salt를 각각 조성에 맞게 넣고 1시간 30분 동안 magnetic stirring bar(PTEE, crosshead, H × D 9 mm × 20 mm)를 이용하여 균질하였다. 이 후 100 mL 비커에 24 mL의 duodenal juice와 12 mL의 bile juice를 섞고 효소는 pancreatin lipase 108 mg, pancreatic lipase 72 mg을 duodenal juice와 bile juice를 혼합 juice에서 1 mL을 취하여 진탕하여 녹인 뒤 사용하였다. 비커에 담긴 juice에 유지 500 mg을 넣은 뒤 1분간 ultrasonic processor(GE 750, Sonics&Materials., Inc., Canbury, Conn., USA)를 사용하여 유화액을 제조하였다. 제조된 유화액의 비커에 magnetic stirring bar(PTFE-coated octagonal, size 7/8 in. × 5/16 in., white,)를 넣은 뒤 stirring hotplate를 사용하여 37℃로 유지되는 증류수가 담긴 비커에 넣어 150 rpm의 조건에서 가수 분해를 진행하였다. 이후 유화액의 거품이 사라지면 1 mL의 혼합 juice에 녹인 효소를 0.2 mL을 취하여 유화액에 넣은 후 15분간 가수 분해를 진행하였다. 초기 pH는 8.9로 조정하였으며 조정한 pH를 유지하기 위해 사용되는 0.05N NaOH의 소비량(mL)을 1분 간격으로 측정하였다. 이때 potentiometer automatic titrator(AT-40E, Kyoto Electronics MFG. Co., LTD, Japan)와 auto piston buret(APB-410, Kyoto Electronics MFG. Co., LTD, Japan)을 사용하여 유리지방산 양을 적정하였다. 적정에 사용된 NaOH의 소비량(mL)으로부터 가수 분해로 생성된 유리지방산의 양(μmole)으로 환산하였다. 이 후에 *in vitro* digestion에 사용된 시료의 양을 500 mg으로 보정하고, 분자량은 soybean oil의 분자량인 876으로 보정하여 계산하였다. 총 15분간 가수분해를 진행 후 최종적으로 반응시간에 따라 생성된 FFA의 양에서 hydrolysis rate(%)로 나타내었다. 이 때, control로 soybean oil을 사용하였다.

[0199] [수학식 1]

[0200] $$\text{Released FFA}(\mu M) = V_{NaOH(mL)} \times M_{NaOH} \times 1000 \times \frac{500}{\text{oil weight}(mg)}$$

[0202] [수학식 2]

[0203] $$\text{Hydrolysis rate}(\%) = \frac{\text{FFA}(\mu\text{mole})}{\text{oil weight}(mg)/Mw \times 2 \times 10^3} \times 100$$

[0205] 초당 방출되는 FFA의 농도로 초기 가수분해 반응 속도를 나타내는 initial rate와 지방구 안의 FFA의 몰수에 대하여 가수분해를 진행하는 동안(15분) 생성된 FFA의 몰수의 비율, 즉 가수분해율을 뜻하는 Φmax를 이용하여 가수분해율을 비교하였다.

[0207] [수학식 3]

[0208] $$\text{Initial rate}(mM/s) = \frac{\text{FFA}(1min)(\mu\text{mole})}{\text{Total volume}(1min)(mL)} \div 60$$

[0210] [수학식 4]

[0211] $$\Phi max(\%) = \frac{V_{NaOH}(15min) \times M_{NaOH}}{\text{oil weight(mg)}/Mw \times 2 \times 10^3} \times 100$$

표 7

[0213]

	Duodenal juice	Bile juice
Inorganic solution	4 mL NaCl(175.3 g/L) 4 mL $NaHCO_3$(84.7 g/L) 1 mL KH_2PO_4(8 g/L) 0.63 mL KCl(89.6 g/L) 1 mL MgCl2(5 g/L)	3 mL NaCl(175.3 g/L) 6.38 mL $NaHCO_3$(84.7 g/L) 0.42 mL KCl(89.6 g/L)
Organic solvent	0.4mL Urea(25 g/L)	1 mL Urea(25 g/L)
pH	8.1±0.2	8.2±0.2
Add to mixture	0.9 mL $CaCl_2 \cdot 2H_2O$(22.2 g/L) 0.1 g BSA	1 mL $CaCl_2 \cdot 2H_2O$(22.2 g/L) 0.18 BSA 1.5 g Bile salt

[0215] 하기 표 7에 측정한 initial rate 및 Φmax 값을 나타내었다.

표 8

[0216]

		Intial rate	Φmax
SBO		0.21±0.0[a]	79.3±0.7[a]
shea butter		0.12±0.1[b]	51.7±6.3[c]
제조예 SOO 유지		0.18±0.0[a]	58.6±5.0[b]
실시예 1 Reaction time	30 min	0.09±0.0[b]	46.5±1.5[cd]
	60 min	0.10±0.0[b]	41.5±4.4[de]
	90 min	0.09±0.0[b]	45.7±1.2[d]
	120 min	0.09±0.0[b]	42.9±2.6[d]
	180 min	0.09±0.0[b]	45.1±2.0[d]
실시예 2 STO		0.12±0.0[b]	32.0±0.7[f]

[0217] SBO: soybean oil

[0219] 도 7 및 상기 표 8에 나타난 바와 같이,

[0220] Initial rate(mM/S)는 SBO이 0.21 mM/s, shea butter(시어버터) 0.12 mM/s, 제조예의 SOO를 포함하는 유지가 0.18 mM/s로 shea butter(시어버터)가 가장 낮았다. 최종 가수분해율을 나타내는 Φmax(%)가 콩유(SBO)는 79.3%, shea butter(시어버터)는 51.7 %, SOO는 58.6%로 모두 유의적 차이가 있었다. 제조예의 SOO를 포함하는 유지는 shea butter(시어버터)에 비하여 총 가수분해율이 증가하는 것을 알 수 있다.

[0222] 한편, 실시예 1의 Acyl migration 반응시켜 제조한 미정제 저소화성 유지 조성물의 경우 Initial rate(mM/s)는

0.09-0.10 mM/s로 SBO에 비해서 현저하게 낮은 값을 나타내었으며, 실시예 2의 정제된 저소화성 유지 조성물(STO) 또한 0.12 mM/s로 SBO에 비해서 현저하게 낮은 값을 나타내었다.

[0223] 최종 가수분해율 Φmax(%)의 경우 실시예 1의 미정제 저소화성 유지 조성물은 41.5 - 46.5 %로 SBO에 비해 40 % 이상 가수분해율이 감소하였으며, shea butter(시어버터)와 비교하여 10% 이상 가수분해율이 감소하였고, 제조예의 SOO를 포함하는 유지보다 20 % 이상 가수분해율이 감소하였다.

[0224] 또한, 실시예 2의 정제된 저소화성 유지 조성물은 실시예 1의 미정제 저소화성 유지 조성물보다 더 감소된 Φmax 32.0 %를 나타내어, 현저하게 낮은 가수분해율을 나타내었다.

[0226] **<실험예 6> Melting point 측정**

[0227] 실시예 1의 각 시간별로 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물 및 실시예 2의 90분간 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물을 정제하여 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물의 Melting point를 측정하였으며, 그 결과를 표 9에 나타내었다.

[0229] 구체적으로, 각 시료를 완전히 녹인 후 Capillary tube(75 mm × 1.2 mm. I.d., Chase Scientific Glass Inc., Rock wood, TN, USA)의 하단에 1 cm의 높이만큼 시료를 취해 -20℃ 냉동고에서 4시간 동안 굳혔다. 이 후 capillary tube를 온도계 하단에 부착하고 이를 열전도율이 높은 cupric sulfate($CuSO_4$) 용액이 담긴 관에 장착하였다. 이 관을 0℃의 증류수로 채워진 비커에 장착하였다. Stirring hotplate(PC-420D, Corning, Corning, NY, USA)와 magnetic bar를 이용하여 분당 1℃씩 균일하게 온도를 상승시켜 측정하였다. 시료가 녹아 capillary tube 벽면을 타고 올라가기 시작하는 온도를 slip melting point, 시료가 투명하게 완전히 녹은 상태의 온도를 complete melting point로 하였다.

표 9

[0231]

		Slip Melting point(℃)	Complete melting point(℃)
shea butter		32.0 ± 0.7^{b}	33.5 ± 0.7^{b}
SOO		11.0 ± 0.0^{f}	13.5 ± 0.0^{g}
Reaction time	30min	22.0 ± 0.7^{d}	30.5 ± 0.7^{c}
	60min	25.3 ± 0.4^{c}	27.8 ± 0.4^{d}
	90min	22.5 ± 0.7^{d}	24.5 ± 0.4^{e}
	120min	21.0 ± 1.4^{d}	24.5 ± 0.7^{e}
	180min	21.3 ± 0.4^{d}	26.8 ± 0.4^{de}
STO		16.0 ± 0.0^{e}	18.0 ± 0.0^{f}

[0233] 상기 표 9에 나타난 바와 같이,

[0234] shea butter(시어버터)의 slip melting point(32.0℃)와 complete melting point(33.5℃)에 비해 제조예의 SOO를 포함하는 유지의 slip melting point(11.0℃)와 complete melting point(13.5℃)가 낮아진 것을 알 수 있다. 이는, 포화 지방산 함량의 감소와 연관이 있다.

[0235] 한편, 실시예 1의 Acyl migration 반응시킨 미정제 저소화성 유지 조성물은 slip melting point(21.0-25.3℃)와 complete melting point(24.5-30.5℃)가 acyl migration 반응 전의 SOO보다 더 높았다. 이는 acyl migration반응 후 SSS와 SUS, SSU와 같이 융점이 높은 TAG의 조성이 증가하여 융점이 증가하였기 때문으로 보인

다.

[0236] 실시예 2의 정제된 저소화성 유지 조성물(STO)의 경우 slip melting point가 16.0 ℃, complete melting point가 18.0 ℃로 acyl migration 반응물보다 모두 낮았다.

[0238] **<실험예 7> 시차주사열량계(Differential scanning calorimetry: DSC) 분석**

[0239] 실시예 1의 각 시간별로 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물 및 실시예 2의 90분간 아실 마이그레이션하여 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물을 정제하여 얻은 정제된 저소화성 유지 조성물의 시차주사열량계 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[0241] 구체적으로, Differential scanning calorimetry(DSC 1, Mettler-Toledo, Ohio, USA)를 사용하여 각 시료가 물리적으로 변화할 때 얻어지는 열량변화로부터 물리적인 상태를 측정하였다. 시료와 기준물질의 온도를 일정한 속도로 변화시키면서 둘 사이의 온도차를 0℃로 유지하기 위하여 필요한 에너지의 양을 측정하여 열의 흐름을 피크로 나타내었다. 시료를 일정 속도로 가열 또는 냉각할 때의 열량 변화를 측정하여 흡열 및 발열 곡선을 얻었다. 완전히 녹여 균질한 시료를 aluminum pan에 1~2 mg 넣고 aluminum lid를 닫아 압착하였다. Reference cell로는 빈 aluminum pan을 사용하였다. 분석 조건은 초기 80℃까지 승온 시킨 후 10분 동안 유지시키고 10℃/min의 비율로 -60℃까지 냉각하여 10분 동안 유지시켰다. 이후 다시 5℃/min의 비율로 80℃까지 승온시켜 분석하였다.

[0243] 도 8에 나타난 바와 같이,

[0244] shea butter(시어버터)의 경우 흡열곡선에서 -4.5, 7.9, 13.0℃에서 피크를 나타내었고 발열곡선에서는 -5.1, 7.5, 11.1, 23.1℃에서 피크를 나타내었다.

[0245] 제조예의 SOO를 포함하는 유지의 경우 흡열곡선에서 -15.8, 14.3, 1.6℃에서 피크를 나타내었고, 발열곡선에서는 5.9℃에서 하나의 피크가 검출되었다. shea butter(시어버터)에 비해 SOO를 포함하는 유지의 융점이 저하된 것을 확인할 수 있었는데 이는 포화 지방산 함량 저하와 관계가 있다.

[0246] 실시예 1의 Acyl migration 반응시켜 얻은 미정제 저소화성 유지 조성물의 경우 흡열곡선 및 발열곡선에서 반응시간에 따라 큰 차이는 없었으며 제조예의 SOO를 포함하는 유지에 비해서는 더 넓은 범위에서 다양한 피크를 보였다. TAG 이 외의 MAG, DAG 등의 생성으로 인해 다양한 피크가 생긴 것으로 사료된다.

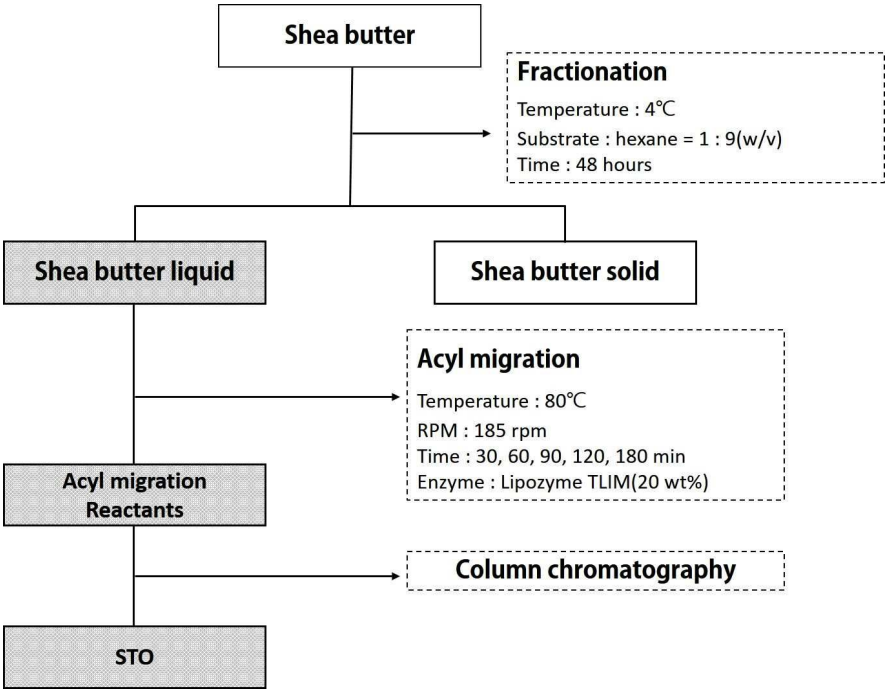
[0247] 실시예 2의 정제된 저소화성 유지 조성물(STO)의 경우 발열곡선에서 -24.0, 1.3, 6.2, 9.6℃에서 피크를 보였고, 흡열곡선에서 -19.7, 3.4, 15.6, 28.6℃에서 피크를 보였다. Column chromatography 전의 반응물과 비교하였을 때 column chromatography 후에 융점과 어는점이 더 낮은 것을 알 수 있었다.

[0249] 상기 실험예들의 결과로부터, 본 발명에 따른 저소화성 유지 조성물의 제조방법으로 제조된 저소화성 유지 조성물은 미정제 및 정제 상태 모두 소장 조건에서 가수분해율이 시어버터 또는 시어버터로부터 추출한 시어버터 액상유(제조예의 SOO를 포함하는 유지)보다 낮으며, 총 포화 지방산의 함량 또한 시어버터보다 현저하게 낮은 것을 알 수 있다.

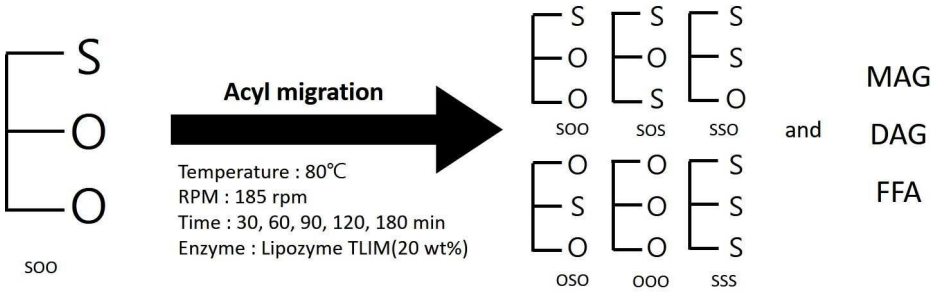
[0250] 따라서, 본 발명에 따른 저소화성 유지 조성물의 제조방법은 저소화성 유지 조성물의 제조에 유용하게 사용할 수 있고, 저소화성 유지 조성물은 종래의 유지를 대체하여 저칼로리 기능유지로 유용하게 사용될 수 있다.

도면

도면1

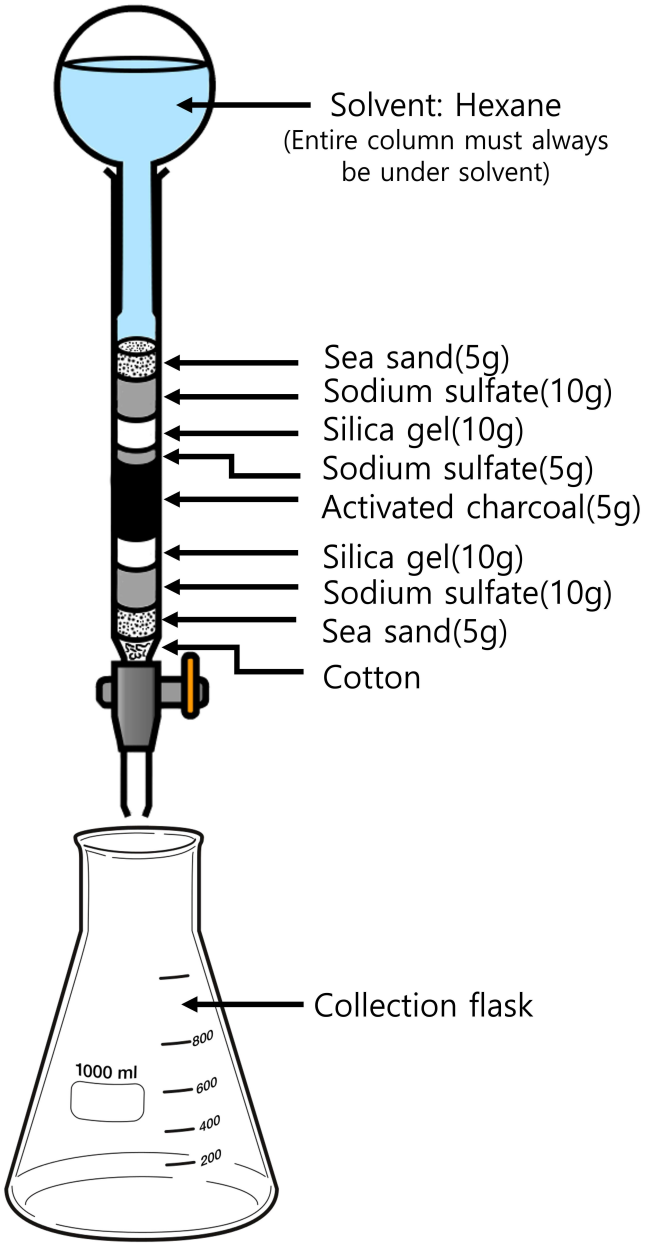


도면2

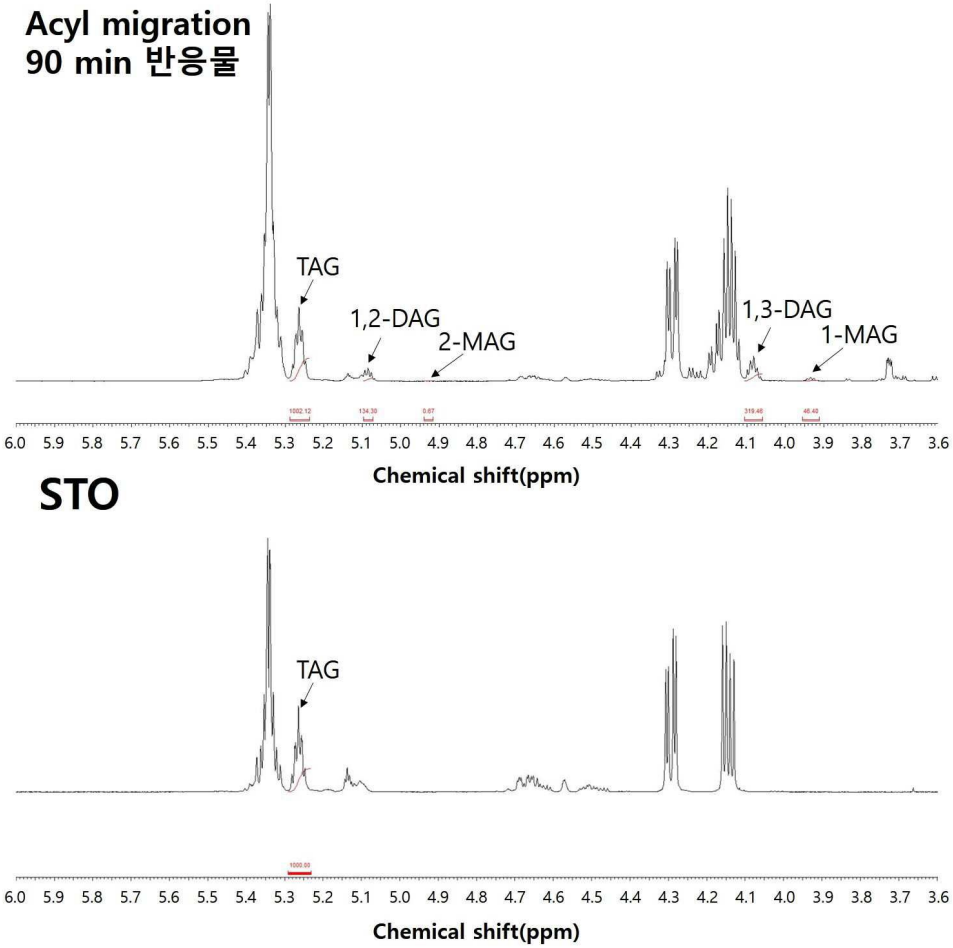


Acyl migration reactants

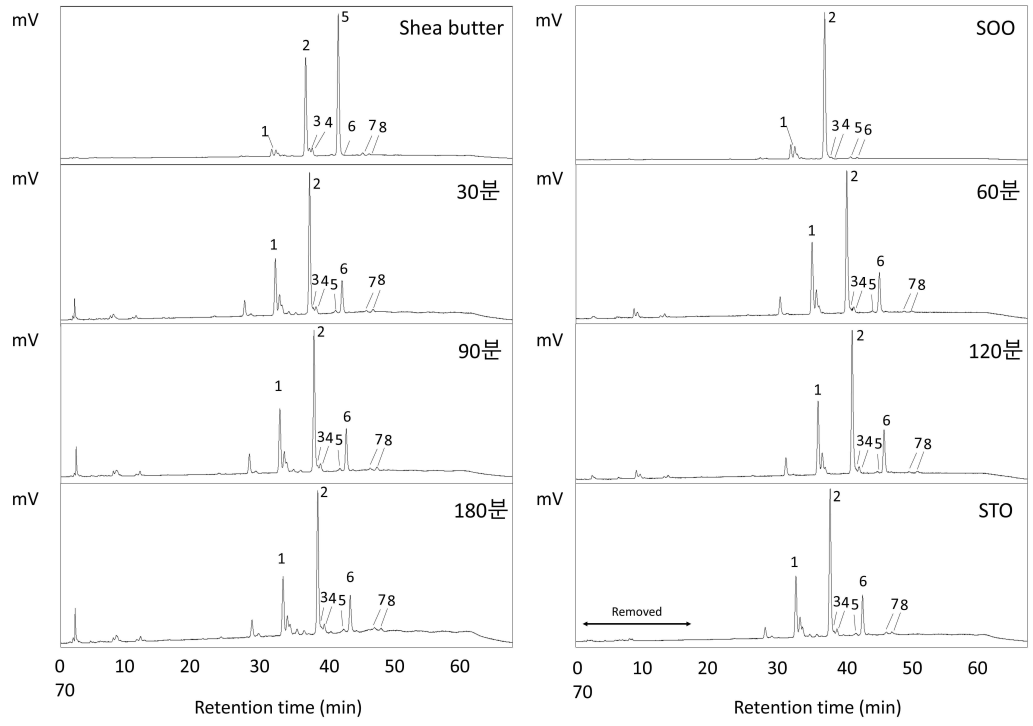
도면3


Solvent: Hexane
(Entire column must always be under solvent)
Sea sand(5g)
Sodium sulfate(10g)
Silica gel(10g)
Sodium sulfate(5g)
Activated charcoal(5g)
Silica gel(10g)
Sodium sulfate(10g)
Sea sand(5g)
Cotton
Collection flask
1000 ml
800
600
400
200

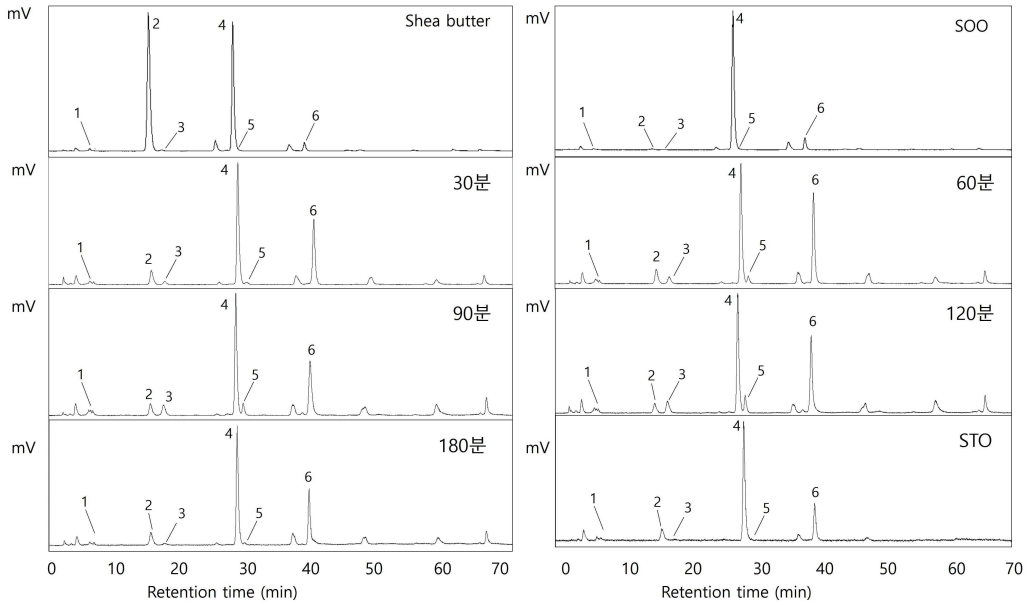
도면4


Acyl migration
90 min 반응물
TAG
1,2-DAG
2-MAG
1,3-DAG
1-MAG
6.0 5.9 5.8 5.7 5.6 5.5 5.4 5.3 5.2 5.1 5.0 4.9 4.8 4.7 4.6 4.5 4.4 4.3 4.2 4.1 4.0 3.9 3.8 3.7 3.6
Chemical shift(ppm)
STO
TAG
6.0 5.9 5.8 5.7 5.6 5.5 5.4 5.3 5.2 5.1 5.0 4.9 4.8 4.7 4.6 4.5 4.4 4.3 4.2 4.1 4.0 3.9 3.8 3.7 3.6
Chemical shift(ppm)

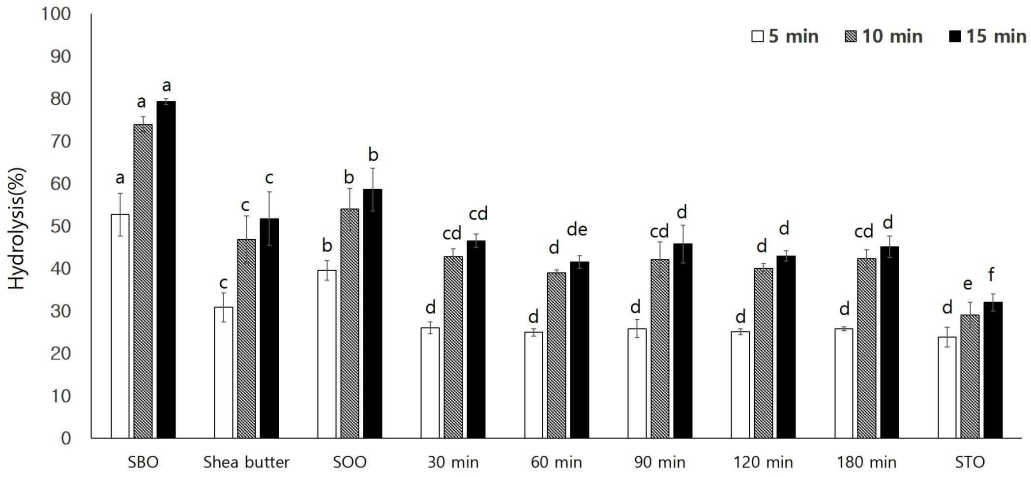
도면5


mV
Shea butter
30분
90분
180분
SOO
60분
120분
STO
Removed
0 10 20 30 40 50 60 70
Retention time (min)

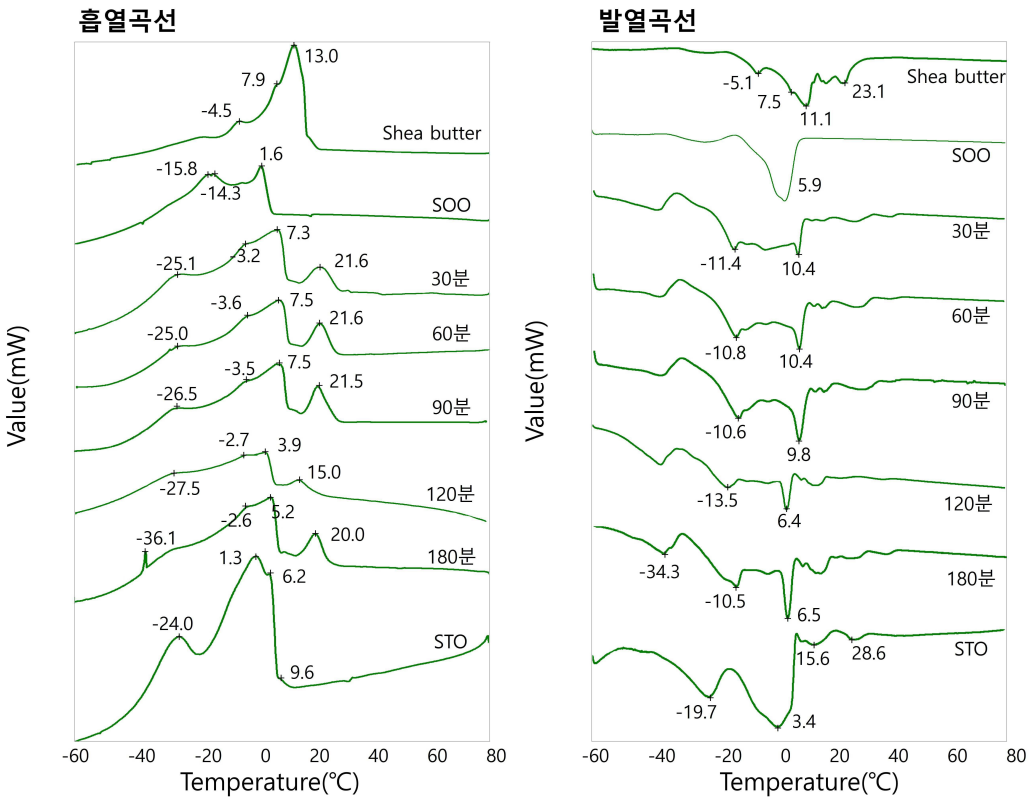
도면6


mV
Shea butter
SOO
30분
60분
90분
120분
180분
STO
1
2
3
4
5
6
0
10
20
30
40
50
60
70
Retention time (min)

도면7


5 min
10 min
15 min
Hydrolysis(%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
SBO
Shea butter
SOO
30 min
60 min
90 min
120 min
180 min
STO

도면8


흡열곡선
Value(mW)
13.0
7.9
-4.5
Shea butter
1.6
-15.8
-14.3
SOO
7.3
-25.1
-3.2
21.6
30분
-3.6
7.5
21.6
-25.0
60분
-3.5
7.5
21.5
-26.5
90분
-2.7
3.9
15.0
-27.5
120분
-2.6
5.2
20.0
-36.1
1.3
6.2
180분
-24.0
9.6
STO
-60 -40 -20 0 20 40 60 80
Temperature(℃)
발열곡선
Value(mW)
-5.1
7.5
11.1
23.1
Shea butter
5.9
SOO
-11.4
10.4
30분
-10.8
10.4
60분
-10.6
9.8
90분
-13.5
6.4
120분
-34.3
-10.5
6.5
180분
15.6
28.6
STO
-19.7
3.4
-60 -40 -20 0 20 40 60 80
Temperature(℃)