

시판 낙농제품 중 Conjugated Linoleic Acid의 함량

문은덕 · 신호선
동국대학교 식품공학과

Conjugated Linoleic Acid Contents in Commercial Dairy Products

Eun-Tuk Mun and Hyo-Sun Shin

Department of Food Science and Technology, Dongguk University

Abstract

The contents of conjugated linoleic acid (CLA) of 36 commercial dairy products (15 fluid milks, 16 yogurts, 5 cheeses) were determined. The CLA contents of fluid milk and cheeses were in the range of 2.24 to 4.10 mg/g and 3.69 to 5.78 mg/g of lipid, respectively. However, the yogurt products showed a large variation (0.13~4.54 mg/g of lipid) of CLA content because the yogurts prepared from skim milk contained lower CLA than those prepared from whole milk. Multiple linear regression test showed good correlations between CLA contents and the contents of selected fatty acids (oleic, linoleic and linolenic acids) of fluid milk and yogurt products.

Key words: conjugated linoleic acid, fluid milk, yogurt, cheese

서 론

Conjugated linoleic acid (CLA)는 linoleic acid (*cis*-9, *cis*-12-octadecadienoic acid)의 위치 및 기하 이성질체의 일종으로, 낙농제품, 육류 및 식물성 유지 등과 같은 식품 중에 부성분으로 존재한다⁽¹⁾.

CLA는 7,12-dimethylbenz(α)anthracene에 의해 유발된 mouse의 skin carcinogenesis를 억제한다는 사실이 발표되면서 새로운 항암 성분으로 주목받기 시작하였다⁽²⁾. 그 후 CLA는 benzo(α)pyrene에 의해 발생하는 mouse의 forestomach neoplasia⁽³⁾와 dimethylbenz(α)anthracene에 의해 발생하는 rat의 mammary tumor⁽⁴⁾를 억제한다는 사실이 밝혀지면서 항암작용이 다시 입증되었다. 한편, CLA는 α -tocopherol보다 강하고 butylated hydroxy toluene과는 비슷한 정도의 항산화 효과를 나타낸다는 것이 보고 되었다⁽⁵⁾. 그 밖에도 CLA는 rabbit을 대상으로 한 실험에서 혈액 중의 total cholesterol, LDL cholesterol 및 triglyceride의 농도를 현저하게 저하시켜 동맥경화증의 발현을 억제시킨다는 것이 보고 되었다⁽⁶⁾. 또한 CLA는 chick, rat, mouse 등의 실험동물에서 immune stimulation의 catabolic effect

를 방지한다는 것이 보고 되고 있다^(6,7).

CLA는 식물성 유지 보다는 동물성 제품 중에 그 함량이 높으며, 동물성 제품 중에서는 비반추 동물보다는 반추동물의 조직 중에 그 함량이 일반적으로 더 높다. 이것은 반추동물의 위 내에 존재하는 혐기성 세균이 생성하는 linoleic acid isomerase에 의해 CLA가 생성되기 때문이다^(8,9). 따라서 독특한 생리작용을 나타내는 CLA는 각종 낙농제품이 식품에서 가장 좋은 공급원이 된다. 그리하여 시판되는 각종 낙농제품 중 CLA의 함량을 조사 연구한 많은 보고가 발표되었다^(1,8,10-12). 또한 낙농제품의 가공 중 CLA의 생성에 관여하는 인자들을 파악하여 그 함량을 증가시키기 위한 연구가 이루어졌다^(1,8). 그러나 우리나라에서는 시판되는 낙농제품 중의 CLA 함량을 연구한 보고는 아직까지 찾아보기 힘들다. 본 연구에서는 우리나라에서 시판되는 낙농제품 중 우유, 요쿠르트 및 치즈 중의 CLA 함량을 분석 조사하였다. 그리고 제품 중의 CLA 함량과 특정 지방산 함량 간의 상관관계를 분석하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 낙농제품은 서울 시내에서 판매

Corresponding author: Hyo-Sun Shin, Department of Food Science and Technology, Dongguk University, Pil-Dong, Chung-Gu, Seoul 100-715, Korea

되고 있는 우유 15종, 요쿠르트 16종, 치즈 5종을 구입하여 사용하였다. CLA 표준품인 octadecadienoic acid conjugated methyl ester, 지방산의 methyl ester, 내부표준품인 heneicosanoic acid는 Sigma 회사(St. Louis, MO, USA) 제품을 각각 구입하여 사용하였고, 그 외의 모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

지방질의 추출 및 정량

시료 중의 지방질은 Bligh와 Dyer 방법⁽¹³⁾에 의해 추출하였다. 즉, 시료 일정량에 chloroform-methanol (2:1, v/v)의 추출 용매를 가하여 homogenizer로 마쇄하여 원심분리(500×g, 15분)하고, chloroform 층을 분리하여 여과한 후 무수 Na₂SO₄로 탈수하고 chloroform을 제거한 후 무게분석법에 의해 지방질의 함량을 정량하였고, 이를 냉동저장하면서 CLA 및 지방산 분석 시료로 사용하였다.

CLA 정량

추출한 지방질을 BF₃-MeOH로 지방산을 methyl ester 한 후 CLA 함량은 gas chromatograph (GC, model 5890, Hewlett-Packard, USA)로 분리 정량하였다⁽¹⁴⁾. 즉, 추출한 지방질 50 mg과 heneicosanoic acid (1 mg/mL in hexane) 1 mg을 시험관에 넣고 NaOH (1 mL, 1N in methanol)를 가하여 100°C에서 15분간 가열하여 지방을 가수분해 시킨 후, 여기에 14% BF₃-MeOH을 1 mL 가하여 실온에서 30분간 반응시켜 지방산을 methyl ester화 하였다. GC 분석조건은 oven 온도 240°C, injector 온도 250°C, detector 온도 250°C였으며, detector는 FID를 사용하였다. 사용한 컬럼은 Supelcowax-10 capillary column (60 m×0.75 mm i.d., 1.0 µm film thickness, Supelco, USA)이였으며, 운반기체는 질소로 5 mL/min의 유속으로 용출시켰고, split ratio는 50:1로 하였다. CLA의 동정은 표준물질의 머무름 시간과 비교하여 확인하였으며, 내부표준물질을 이용하여 그 함량을 정량하였다.

지방산 분석

추출한 지방질을 CLA 정량 때와 같이 지방산을 methyl ester 한후 GC로 분리 정량하였다. 이때 컬럼은 HP-FFAP capillary column (0.32 mm i.d., ×25 m, 0.25 µm film thickness, Hewlett-packard, USA)을 사용하여 oven 온도 200°C, injector 온도 200°C, detector 온도 240°C로 하고, 운반기체는 질소를 3 mL/min으로 용출하였고 split ratio는 45:1로 하였다. 각 지방산의

동정은 표준지방산의 methyl ester의 머무름 시간과 비교하여 확인하였고 내부표준물질을 이용하여 정량하였다.

통계분석

낙농제품 중의 CLA 함량과 특정 지방산 함량과의 관계를 위한 다중회귀분석은 SAS (statistical analysis system) 통계 프로그램을 이용하였다⁽¹⁵⁾.

결과 및 고찰

우유류 중의 CLA 함량

시판 우유류 15종의 CLA 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 우유류 중의 CLA 함량은 지방질 g당 최고 4.10±0.17 mg에서 최저 2.24±0.49 mg 였다. CLA 함량은 시료 중의 지방질 함량을 기준으로 하였을 때 시료의 종류에 따라 큰 차이가 없었다. 그러나 시료 습윤물을 기준으로 하였을 때는 시료간에 차이가 있었는데, 이는 지방 함량의 차이 때문이다. 특히 저지방 우유는 다른 우유들에 비해 CLA 함량이 다소 낮았다. 우유 중의 CLA 함량은 계절에 따라 다소 변하는데, 이것은 사료 특히 목초가 싱싱하고 불포화지방산의 함량이 풍부할 때 높다는 보고가 있다⁽¹⁶⁾.

Table 1. Conjugated linoleic acid (CLA) contents¹⁾ in fluid milk products

Sample	Lipid basis ²⁾	Sample basis ³⁾
Regular fat milk		
Brand 1	3.79±0.21	8.33±0.46
2	3.31±0.10	5.53±0.17
3	3.24±0.16	9.18±0.45
4	4.03±0.22	5.51±0.30
5	3.69±0.17	8.04±0.37
6	3.73±0.38	5.46±0.56
Low fat milk		
Brand 1	2.27±0.18	0.62±0.05
2	2.24±0.49	0.83±0.18
3	2.31±0.17	1.45±0.11
Processed milk		
Brand 1	3.50±0.43	10.3±0.26
2	3.89±0.65	10.2±0.71
3	4.10±0.17	7.34±0.30
4	2.66±0.67	5.59±0.41
5	3.07±0.18	4.71±0.28
6	3.26±0.18	4.43±0.24

¹⁾Values represent mean±SD (n=4).

²⁾Milligrams of CLA (cis-9, trans-11 isomer)/g of lipid.

³⁾Milligrams of CLA (cis-9, trans-11 isomer)/100 g of sample (wet weight basis).

요구르트 중의 CLA 함량

시판 발효 요구르트 16종의 CLA 함량을 정량한 결과는 Table 2와 같다. 발효 요구르트 중의 CLA 함량은 지방질 g당 최고 4.54 ± 0.26 mg에서 최저 0.13 ± 0.09 mg이었다. 원유 함량이 70% 이상인 것과 50% 이상 70% 미만인 요구르트 제품간의 CLA 함량은 지방질 함량을 기준으로 하였을 때 서로 큰 차이가 없었다. 그러나 탈지유로 제조한 요구르트는 원유함유 요구르트에 비해 CLA 함량이 낮았다. 요구르트 제품간에 CLA 함량 차이는 원유의 함량⁽¹⁰⁾, 사용한 발효균주⁽¹⁷⁾, 가공공정^(11,18) 등의 차이 때문일 것이다. 특히 탈지유는 전유에 비해 극성지방질의 함량이 높기 때문에 요구르트 중의 지방질은 보다 용이하게 전환될 수 있을 것이다⁽¹⁸⁾.

치즈 중의 CLA 함량

시판되는 가공치즈 5종 중 CLA 함량을 정량한 결과는 Table 3과 같다. 가공치즈 중의 CLA 함량은 지방질 g당 최고 5.73 ± 0.53 mg에서 최저 3.69 ± 0.26 mg 었다. 치즈 중의 CLA 함량은 시료의 종류에 따라 차이가 없었다. 치즈 중의 CLA 함량은 치즈의 종류⁽¹¹⁾, 숙성기간⁽⁶⁾, 열처리 온도 및 시간 등⁽¹⁸⁾과 같은 가공조건에 따라 차이가 있는 것으로 보고 되고 있다.

CLA 함량과 지방산 조성간의 관계

낙농제품 중의 CLA 함량과 CLA의 전구체 및 중간

Table 2. Conjugated linoleic acid (CLA) contents¹⁾ in Yogurt

Sample	Lipid basis ²⁾	Sample basis ³⁾
Whole milk $\geq 70\%$		
Brand 1	4.21 ± 0.33	9.83 ± 0.77
2	3.39 ± 0.17	7.74 ± 0.39
3	4.22 ± 0.74	3.84 ± 0.15
4	4.04 ± 0.44	13.50 ± 0.49
5	3.52 ± 0.47	9.66 ± 0.29
6	3.74 ± 0.34	9.82 ± 0.89
7	4.46 ± 0.18	10.37 ± 0.42
8	4.44 ± 0.20	6.90 ± 0.31
50% \leq whole milk $\leq 70\%$		
Brand 1	3.99 ± 0.37	5.31 ± 0.49
2	3.47 ± 0.17	9.64 ± 0.47
Skim milk $\geq 90\%$		
Brand 1	2.92 ± 0.72	0.35 ± 0.08
2	0.13 ± 0.09	0.02 ± 0.01
3	2.02 ± 0.44	0.14 ± 0.03
4	1.30 ± 0.13	0.11 ± 0.01
Miscellaneous		
Brand 1	3.90 ± 0.20	7.51 ± 0.39
2	4.54 ± 0.26	4.43 ± 0.25

¹⁻³⁾See Table 1.

Table 3. Conjugated linoleic acid (CLA) contents¹⁾ in cheese

Sample	Lipid basis ²⁾	Sample basis ³⁾
Brand 1	3.69 ± 0.26	78.55 ± 0.53
2	4.06 ± 0.22	82.50 ± 0.47
3	3.84 ± 0.33	80.59 ± 0.93
4	5.60 ± 0.42	113.16 ± 0.49
5	5.73 ± 0.53	156.68 ± 0.49

¹⁻³⁾See Table 1.

대사물인 몇가지 특정 지방산 함량간의 관계를 예측하기 위하여 3가지 제품군에 대하여 이들 관계를 다중 회귀 분석한 결과는 Table 4와 같다. 3가지 제품군에서 치즈와 요구르트류는 우유류에 비하여 상관계수가 낮았다. 이것은 치즈와 요구르트류는 우유류에 비해 가공 공정 중 많은 변수들이 관여하기 때문일 것이다. 우유류, 요구르트 및 치즈류에서 CLA 함량과 oleic acid 함량 간에는 모두 정의 상관관계가 있었으며, CLA 함량과 linoleic acid 함량 간에는 모두 부의 상관관계가 있었다. 또한 우유류에서 CLA 함량과 linolenic acid 함량간에는 정의 상관관계가 있었으나 치즈와 요구르트의 발효제품에서는 CLA 함량과 linolenic acid 함량과는 관계가 없었다.

낙농제품 중의 CLA 함량은 반추 동물의 rumen에서 linoleic과 linolenic acid의 이성질화에 의해서 또는 가공 중 자유 라디칼에 의한 linoleic acid의 산화에 의해서 생성되는 것으로 제안되고 있다⁽⁶⁾. Rumen 내 미생물의 효소적 작용에 의하여 linoleic과 linolenic acid가 biohydrogenation 될 때 CLA를 포함한 monoene 산과 diene 산의 이성질체가 형성되고^(8,11,17), 이때 효소의 activity가 CLA 생성에 가장 중요한 인자가 될것이다. 또한 낙농제품의 가공 중 linoleic acid의 산화에 의하여 형성되는 allyl radical에 단백질 등에 의한 re- protonation에 의해 CLA가 형성될 수 있다⁽⁶⁾. 따라서 낙농제품 중의 CLA 생성은 이상과 같은 여러 요인들이 관여하므로 이러한 유의적인 요인들과 CLA 함량간의 관계에 대하여 앞으로 깊은 연구가 요구된다.

Table 4. Regression statistics for prediction of conjugated linoleic acid (CLA) content based on content of selected fatty acids

	Fluid milk	Yogurt	Cheese
R ²	0.873	0.815	0.673
Intercept	7.76	4.23	2.01
C _{18:1}	4.52	1.35	0.27
C _{18:2}	-2.10	-1.24	-2.14
C _{18:3}	1.86		

요 약

시판되는 우유 15종, 요쿠르트 16종, 치즈 5종에 대하여 항암성분으로 알려진 CLA 함량을 분석하였다. 우유와 치즈 중 CLA 함량은 지방질 g 당 각각 4.10~2.24 mg 및 5.78~3.69 mg 였으며, 제품간에 큰 차이가 없었다. 요쿠르트 중의 CLA 함량은 지방질 g 당 4.54~0.13 mg 이었으며, 탈지유로 제조한 것은 원유로 제조한 것에 비해 그 함량이 낮았다. 낙농제품 중 CLA 함량과 특정 지방산 함량과의 상관관계를 알아보기 위하여 다중회귀분석을 하였다. 3가지 낙농제품에서 CLA 함량은 oleic acid 함량과는 정의 상관관계가, linoleic acid 함량과는 부의 상관관계가 각각 있었다. 우유 중의 CLA 함량은 linolenic acid 함량과 정의 상관관계가 있었으나 치즈와 요쿠르트 중의 CLA 함량은 linolenic acid 함량과는 서로 상관관계가 없었다.

문 헌

- Shantha, N.C., Decker, E.A. and Ustunol, Z.: Conjugated linoleic acid concentration in processed cheese. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**, 425-428 (1992)
- Ha, Y.L., Grimm, N.K. and Pariza, M.W.: Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*, **8**, 1881-1887 (1987)
- Ha, Y.L., Storkson, J. and Pariza, M.W.: Inhibition of benzo(α) pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res.*, **50**, 1097-1101 (1990)
- Ip, C., Chin, S.F., Scimeca, J.A. and Pariza, M.W.: Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res.*, **51**, 6118-6124 (1991)
- Lee, K.N., Kritchevsky, D. and Pariza, M.W.: Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbit. *Atherosclerosis*, **108**, 19-25 (1994)
- Cook, M.E., Miller, C.C., Park, Y. and Pariza, M.W.: Immune modulation by altered nutrient metabolism: Nutritional control of immune-induced growth depression. *Poultry Sci.*, **72**, 1301-1305 (1993)
- Miller, C.C., Park, Y., Pariza, M.W. and Cook, M.E.: Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **198**, 1107-1112 (1994)
- Ha, Y.L., Grimm, N.K. and Pariza, M.W.: Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: identification and quantification in natural and processed cheeses. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 75-81 (1989)
- Hunter, W.J., Baker, F.C., Rosenfeld, I.S., Keyser, J.B. and Tove, S.B.: Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. *J. Biol. Chem.*, **251**, 2241- 2251 (1976)
- Lin, H., Boylston, T.D., Chang, M.J., Luedecke, L.O. and Schultz, T.D.: Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. *J. Dairy Sci.*, **78**, 2358-2365 (1995)
- Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L. and Pariza, M.W.: Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acids, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.*, **5**, 185-197 (1992)
- Parodi, P.W.: Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Aust. J. Dairy Tech.*, **49**, 93-97 (1994)
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physical*, **37**, 911-917 (1959)
- Shantha, N.C., Decker, E.A. and Hennig, B: Comparison of methylation methods for the quantitation of conjugated linoleic acid isomers. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **76**, 644-649 (1993)
- SAS User's Guide: Statistics, version 5. Ed., SAS Inst., Inc., Cary, NC (1985)
- Jiang, J., Bjoerck, L., Fonden, R. and Emanuelson, M.: Occurrence of conjugated *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen. *J. Dairy Sci.*, **79**, 438-445 (1996)
- Werner, S.A., Luedecker, L.O. and Shultz, T.D.: Determination of conjugated linoleic acid content and isomer distribution in three cheddar-type cheeses: effects of cheese cultures, processing and aging. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1817-1821 (1992)
- Shantha, N.C., Ram, L.N., O'leary, J., Hicks, C.L. and Decker, E. A.: Conjugated linoleic acid and concentrations in dairy products as affected by processing and storage. *J. Food Sci.*, **60**, 695-697 (1995)

(1998년 8월 7일 접수)