

연사 4

## 콜레스테롤 저하 기능성 우유 및 유제품

곽 해 수

세종대학교 식품공학과



## 콜레스테롤 저하 기능성 우유 및 유제품

곽 해 수

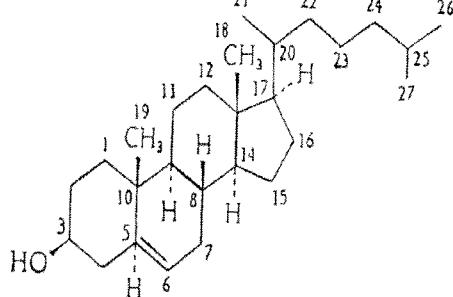
세종대학교 식품공학과

### 1. 서 론

최근 국민소득의 증가와 건강에 대한 관리 수준의 향상에 따른 식생활이 다원화 되어지면서 서구식 식문화가 확산되어가고 있다. 또한 종전까지는 식품의 중요한 기능을 인체의 영양소를 공급하는 영양기능인 제 1차 기능과, 식품의 맛과 향미 등에 영향을 주는 기호성인 제 2차 기능의 향상에 주력해 왔다. 그러나 최근에는 유해 물질의 중화, 해독, 배설, 미네랄의 흡수촉진, 혈압 및 콜레스테롤 감소, 암의 예방 등의 생체조절 기능을 가진 식품의 제 3차 기능이 새로운 식품의 기능으로 자리잡게 되었다. 또한 인구의 노령화와 식생활의 풍요로움은 육체노동이 줄어든 현대인들에게 성인병이라는 다양한 질병을 유발시킨다. 따라서 현대인들에게 가장 많이 발생하는 질병을 식품과 의약품의 경계를 허물어 일상생활에서 보다 편리하고 안정적인 방법으로 예방 또는 치료할 수 있는 기능성 식품의 개발을 필요로 하고 있다.

우유 및 유제품은 서양에서 오래 전부터 중요한 식품으로 사용되어 왔고, 우리나라에서도 약 40여년 전부터 발전하여 지금은 유아로부터 노인에 이르기까지 널리 소비되는 거의 완전식품으로 영양이 풍부하고 콜레스테롤 함량도 비교적 낮으나, 콜레스테롤이 비교적 높은 유제품으로는 버터가 219mg/100g, 37% 유지방을 함유한 크림이 137mg/100g, 크림치즈가 110mg/100g, 체다치즈가 105mg/100g, 15% 유지방을 함유한 아이스크림이 68mg/100g 포함되어 있다. 그러나 시유에는 14mg/100g으로 소량 함유되어 있다<sup>(1)</sup>.

이들 유제품의 과다섭취에 의하여 고혈압, 동맥경화, 관상동맥경화 등과 같은 심장 및 순환계 질환이 성인병으로 문제시 되면서 콜레스테롤(Fig. 1)을 제거하는 연구가 최근 20여년 동안에 활발하게 진행되어왔다. 이 연구의 일환으로, 우유 및 유제품에 내재하는 콜레스테롤을 저하시키는 방법은, 우유 유지방의 일부 또는 전

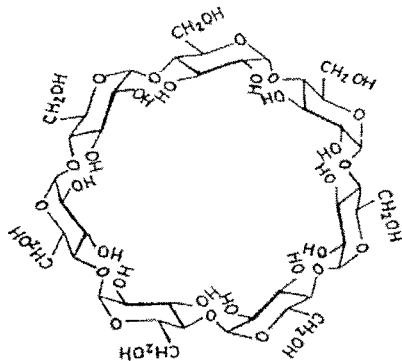


Mol. Wt. : 386.64 ( $C_{27}H_{46}O$ )  
M. P. : 148.5°C (anhydride)  
B. P. : 360°C  
Refractive index :  $[\alpha]^{20}_D = -31.5^\circ$  (ether, 2%)  
 $[\alpha]^{20}_D = -39.5^\circ$  (chloroform, 2%)  
Density (d) : 1.03 (monohydrate)  
1.052 (anhydride)  
Solubility : about 0.2 mg/100 ml ( $H_2O$ )  
1 mg/2.8 ml (ether)  
1 mg/45 ml (chloroform)

Fig. 1. Chemical structure of cholesterol.

체를 감소시키는 방법으로 분류할 수 있다. 그런데 우유의 유지방 함량을 감소시키는 방법은 유제품의 향미와 조직감이 현저하게 저하됨에 따라 제품의 기호성이 문제가 된다. 그래서 소비자의 선호도를 향상시키기 위하여 콜레스테롤만을 선택적으로 감소시킬 수 있는 물리적, 화학적, 생물학적 방법들이 개발되고 있다<sup>(2)</sup>. 이들 방법으로는, 미생물과 효소에 의한 콜레스테롤 분해 방법, 유기용매를 이용한 추출방법, 용융결정방법, 흡착제를 이용한 제거방법, 그리고 초임계 이산화탄소를 이용한 방법 등이 있다. 그런데 현재까지 국내·외적으로 가장 효과적인 콜레스테롤 제거 방법으로는  $\beta$ -cyclodextrin( $\beta$ -CD)를 이용하여 콜레스테롤만을 선택적으로 흡착 또는 결합시켜 복합체를 만들어 제거하는 흡착제 이용 방법이다<sup>(3)</sup>.

$\beta$ -CD는 7개의 글루코스로 구성된 환상형 다당류로써 도우넛과 유사한 형태를 하고 있으며, 분자의 중앙 부위는 콜레스테롤과 직경이 유사하고, 소수성의 원형공 간이므로 비극성 분자인 콜레스테롤과 잘 결합할 수 있는 구조를 가지고 있다(Fig. 2).  $\beta$ -CD는 인체에 대한 안전성도 높고, 식품 첨가물로서의 사용이 여러 나라에서 허용되어 있다<sup>(3)</sup>. 그래서  $\beta$ -CD를 이용하여 우유 또는 유제품에서 콜레스테롤을 제거하는 연구는 지난 15여년 동안 수행되어 왔다(일본 특허 04168198, 대한민국 특허 1997-18599, 1977-37128 등). 이들 연구의 주요 방법은  $\beta$ -CD를 액상 시료에 첨가하여 교반하고 원심분리를 통하여  $\beta$ -CD와 결합된 콜레스테롤을 제거해내는 것으로  $\beta$ -CD가 콜레스테롤을 포집하여 액상 시료인 식품으로부터 제거해내는 기술이다. 이 기술로 우유와 유제품으로부터 콜레스테롤만 선택적으로 90% 이상 제거가 가능하고<sup>(3)</sup>, 우유의 품질은 매우 양호하나 크림의 경우는  $\beta$ -CD의 완전한 분리가 어려우며<sup>(4)</sup>, 체다 치즈의 경우에는 조직의 문제가 있다<sup>(5)</sup>. 또한 콜레스테롤 제거 시  $\beta$ -CD가 1%정도, 크림에서는 약 10%가 필요하므로 대량생산 시 매우 소비



Shape : white powder (crystals)

Mol. Wt. : 1135 ( $C_{42}H_{70}O_{35}$ )

M. P. : 200°C

Glucose No. : 7

Refractive index :  $[a]^{20}_D = +162.5^\circ$  ( $H_2O$ , 1%)

Solubility : 1.85 g/100 ml ( $H_2O$ , 25°C)

Fig. 2. Chemical structure of  $\beta$ -cyclodextrin.

적이고,  $\beta$ -CD는 가격이 저렴하지 않으며(12,000원/kg), 수입에 의존하고 있을 뿐 아니라, 환경오염에도 문제가 있기 때문에 재활용(recycling) 하는 것이 바람직하다.

$\beta$ -CD를 재활용하기 위하여 콜레스테롤과  $\beta$ -CD를 회수하는 방법에는 hydrogen

bond inhibitor를 이용하는 방법, 열처리에 의한 방법, sodium chloride를 이용하는 방법, 유기용매를 이용하는 방법 등이 있으며<sup>(6)</sup>, 또한  $\beta$ -CD의 재활용과 우유 및 유제품의 품질저하를 예방하는 연구로서  $\beta$ -CD의 고정화<sup>(7)</sup>와 가교화에 관한 연구<sup>(8)</sup>도 수행되고 있다.

이상에서와 같이 발전된 연구의 결과로  $\beta$ -CD를 이용하여 우유 및 유제품에서 90%이상의 콜레스테롤을 용이하게 제거하고 품질과 원가절감 면에서도 문제의 해결이 가능하게 되었다. 그러나 우유의 지방산 중에서 혈중 콜레스테롤을 증가시키는 포화지방산들(lauric acid, myristic acid, palmitic acid)이 약 40% 유제품에 포함되어 있기 때문에 콜레스테롤 문제가 완전히 해결되었다고 보기 어렵다. 그리고 현재의 과학기술로는 아직 이를 포화 지방산들을 불포화시킬 수 없기 때문에 이를 해결하는 유일한 방법으로는 혈중 콜레스테롤을 획기적으로 저하시킬 수 있는 물질을 이용하여 콜레스테롤을 제거한 우유 및 유제품의 제조에 적용시키는 것이다<sup>(9)</sup>.

지금까지 혈중 콜레스테롤 저하 기능이 검증된 기능성 식품 소재들은 다양하게 개발되었는데, 예를 들면  $\beta$ -sitosterol, 유리 phytosterol, 선인장 추출물, 천연 생약재, 폴리만 뉴클리이트 추출물, 오렌지, 귤, 레몬 추출물, 유청 단백질, 달맞이꽃 종자유, 레시틴, 올리고키틴, 미강유, 카제인 분해물, 이소플라본, 은행, 마늘, 식이섬유, DHA, 아가리кус 등을 들 수 있다<sup>(9)</sup>.

이들 기능성 물질을 우유 및 유제품의 제조에서 맛, 조직, 저장성 등의 품질이

저하되지 않도록 선별하여 이용하는 것이 중요한 기술이다. 그리고 이를 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 제품들을 개발하여 동물 실험을 하므로써 어떤 기능성 물질이 어떤 제품에 적합하며, 혈중 콜레스테롤 저하 효과가 확실한지를 검정하므로써 제품의 개발이 가능하게 될 것이다.

따라서 본고에서는 최근에  $\beta$ -CD를 이용하여 콜레스테롤을 효과적으로 저하시키는 기능성 우유 및 유제품의 연구결과를 고찰하므로써 이 기능성 증진 기술이 유가공산업 발전과 성인의 건강에 어떻게 기여할 수 있는지에 관하여 살펴보자 한다.

## 2. $\beta$ -Cyclodextrin에 의한 우유 및 유제품의 콜레스테롤 제거

### 1) 우유 와 크림

우유에는 소량의 콜레스테롤 ( $14\text{mg}/100\text{g}$ )이 함유되어 있기 때문에 일반적으로는 이 콜레스테롤을 제거하기 보다는 중요한 영양분으로 섭취하는 것이 바람직하다. 그러나 성인으로부터 발생하는 고혈압, 동맥경화, 관상동맥경화 등과 같은 문제를 예방하는 의미에서는 우유의 맛에 영향을 미치지 않으면서 콜레스테롤만 선택적으로 제거하는 것은 그 의미가 있다. 그래서 이에 관한 연구가 지난 15년 동안에 활발하게 진행되어 연구한 결과 우유에서 콜레스테롤을 제거하는 최적조건이  $\beta$ -CD 사용량이 1%, 교반온도  $10^\circ\text{C}$ , 교반시간 10분, 교반속도 800rpm, 원심분리속도  $111\times g$ , 원심분리시간 10분으로 콜레스테롤 제거율이 최대한 94%가 제거되었다<sup>(3)</sup>. 시유의 표준화와 탈지분유 생산 시 부산물인 크림의 용도는 생크림, 발효크림, 휘핑크림, 크림치즈, 버터 등 다양한 유제품과 다양한 가공식품의 원료로 사용이 되는데, 37% 유지방 함유 크림은  $137\text{mg}/100\text{g}$ 의 비교적 높은 콜레스테롤을 함유하고 있다. 그래서 크림에서 콜레스테롤을 제거하는 것은 우유에서 보다 더욱 그 중요성이 대두되며, 크림에서 콜레스테롤 제거의 최적조건의 연구결과,  $\beta$ -CD첨가량이 10%, 교반시간 30분, 교반속도 800rpm, 교반온도  $40^\circ\text{C}$ 에서 콜레스테롤 제거율이 94%가 또한 제거되었다<sup>(4)</sup>.

### 2) 휘핑크림

케이크의 topping 물질로 원래 크림을 휘핑하여 안정성을 발전시킨 휘핑크림이 사용되었는데, 과거 10여년동안 휘핑크림보다 안정성과 가격면에서 양호하고 콜레스테롤이 없는 식물성 유지(palm oil 류)로 만든 휘핑크림 모조품이 대체되는 경향이었다. 그런데 이것은 크림의 고유한 맛이 결여되어서 최근에는 휘핑크림 사용이 매우 증가되는 추세이지만 콜레스테롤이 문제로 남아있다. 그래서 최근에 콜레스테롤이 제거된 크림을 이용하여 콜레스테롤 제거 휘핑크림에 관한 연구가 수행되었는

데, 그 연구결과를 살펴보면, 우선 휘핑크림에 사용되는 유화제와 안정제는 상업적으로 사용되는  $\alpha$ -cellulose 0.2%, Avicell 0.2%, sodium alginate 0.2%, sugar ester 0.1%, sucrose 0.3%가 효과적이었다. 그리고 교반시간이 20분, 교반속도가 800rpm에서 콜레스테롤 제거 휘핑크림의 제조시 안정성이 양호하였으며, 400rpm과 10분간 교반 시 휘핑크림의 overrun이 150%로 양호하였다(Fig. 3)<sup>(10)</sup>. 그리고 최근에 휘핑크림이 많이 사용되면서 크림과 식물성 유지인 palm oil을 적당한 비율

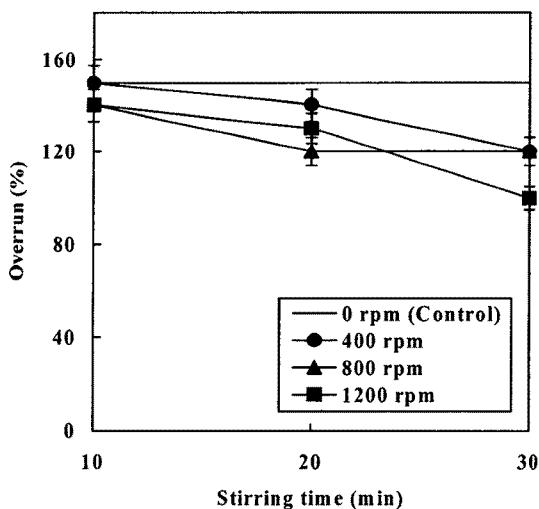


Fig. 3. Change of overrun with different stirring speeds and stirring times in  $\beta$ -cyclodextrin treatment for making cholesterol-removed whipping cream  
Other factors: 10%  $\beta$ -CD added, 166 x g of centrifugation speed, and 10 min

로 혼합한 컴파운드(compound) 휘핑크림이 또한 각광을 받고 있다. 그 이유는 가격과 안정성이 휘핑크림보다 효과적이기 때문이다. 컴파운드 휘핑크림의 연구결과에서는 크림과 식물성 유지의 비율이 8:2일 때 제품의 안정성이 양호하고 overrun은 휘핑크림 실험에서와 동일하였으며, 지방산화도는 식물성 유지의 비율이 높을 때 증가하는 경향을 보였다(Fig. 4)<sup>(11)</sup>.

### 3) 치즈

우유로부터 치즈의 제조는 저장을 연장하는 목적으로 사용되었으며, 500가지 이상의 종류가 있지만 그 중 체다치즈(Cheddar cheese)가 많이 사용되며 이에 대한 연구도 지배적이다. 체다치즈에는 105mg/100g의 콜레스테롤이 포함되어 있어 소비의 증가가 어렵다. 그래서 이를 해결하는 방법 중의 하나가 콜레스테롤을 제거한

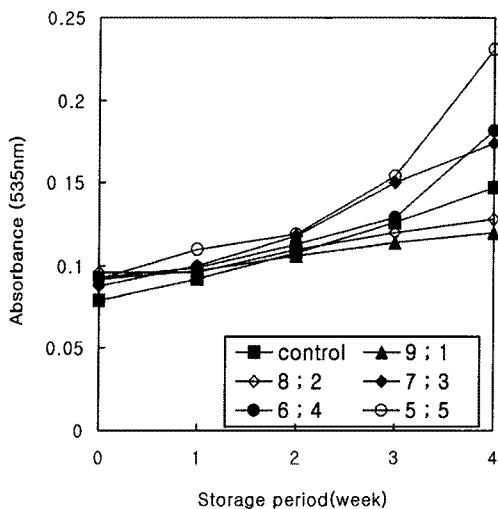


Fig. 4. Change of TBA value in cholesterol-removed compound whipping cream stored for 4 weeks at 4°C

The ratios of cholesterol-removed cream to palm oil were 10:0 as control, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, and 5:5. Factors for  $\beta$ -cyclodextrin treatment for making cholesterol-removed whipping cream were 10%  $\beta$ -CD added, 800 rpm stirring speed, 20 min stirring time,  $166 \times g$  of centrifugation speed, and 10 min centrifugation time.

치즈의 개발이며, 맛과 조직에서 또한 문제가 없어야 한다. 콜레스테롤이 제거된 체다치즈의 연구가 최근에 수행되었으며, 그 연구결과를 살펴보면, 우유를 균질한 후  $\beta$ -CD로 콜레스테롤을 제거하여 체다치즈를 제조하였는데, 이때 콜레스테롤 제거율은 79.3%로 낮았다<sup>(12)</sup>. 그 이유는 균질압력을 1000psi로 낮추어 유지방구의 크기가 충분하게 작아지지(0.2~2 $\mu m$ ) 않았기 때문이다. 동일한 조건에서 모짜렐라 치즈의 콜레스테롤 제거율은 64%로 체다치즈의 경우보다 더 낮았다<sup>(13)</sup>. 체다치즈의 연구결과 낮은 압력에서 균질 후  $\beta$ -CD처리된 우유로 제조된 치즈는 향미성분의 감소가 없었으며, 숙성이 촉진되는 효과가 관찰되었다<sup>(12)</sup>. 그러나 치즈제조에서 유지방이 분리되고 수율이 감소되며 콜레스테롤 제거율이 기대치에 못 미치는 등 결점이 발견되어, 우유에서 크림을 분리하고  $\beta$ -CD를 크림에 적용시킨 후 탈지유로 환원하여 만든 우유로 치즈의 제조를 시도하였다<sup>(14)</sup>. 체다치즈의 콜레스테롤 제거율은 92%로 균질유 사용 시보다 대폭 증가하였으며, 숙성기간은 역시 단축되었다. 그런데 숙성 중에 쓴맛이 증가되고 조직이 좋지 않은 결점이 관찰되었다(Table 1)<sup>(14)</sup>. 따라서 이러한 문제를 해결하는 연구가 계속 진행되어야 할 것이다.

Table 1. Comparison of sensory scores between control and Cheddar cheese ripened at 5°C<sup>1</sup>

Treatment	Ripening period (wk)	Texture	Flavor	Bitterness	Acidity	Overall
Control	0	1.6 <sup>a</sup>	1.6 <sup>a</sup>	1.6 <sup>a</sup>	1.4 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>
	8	2.6 <sup>a</sup>	2.4 <sup>a</sup>	2.4 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	3.8 <sup>b</sup>
	16	3.6 <sup>ab</sup>	3.1 <sup>ab</sup>	3.6 <sup>ab</sup>	2.4 <sup>a</sup>	4.8 <sup>ab</sup>
	24	5.8 <sup>c</sup>	5.4 <sup>bc</sup>	3.4 <sup>ab</sup>	2.4 <sup>a</sup>	5.6 <sup>b</sup>
	32	5.8 <sup>c</sup>	5.6 <sup>bc</sup>	4.6 <sup>b</sup>	3.6 <sup>ab</sup>	6.3 <sup>c</sup>
Cream treatment <sup>2</sup>	0	6.8 <sup>c</sup>	5.4 <sup>bc</sup>	4.2 <sup>b</sup>	3.4 <sup>ab</sup>	6.8 <sup>c</sup>
	2	4.4 <sup>b</sup>	5.2 <sup>bc</sup>	4.8 <sup>b</sup>	4.8 <sup>b</sup>	5.6 <sup>b</sup>
	4	3.4 <sup>ab</sup>	5.4 <sup>bc</sup>	5.6 <sup>c</sup>	4.2 <sup>b</sup>	4.6 <sup>ab</sup>
	6	2.8 <sup>a</sup>	4.2 <sup>b</sup>	6.4 <sup>c</sup>	4.8 <sup>b</sup>	2.6 <sup>a</sup>
	8	2.4 <sup>a</sup>	5.0 <sup>b</sup>	5.8 <sup>c</sup>	5.0 <sup>b</sup>	2.2 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Means within a column with different superscript letter differ ( $p < 0.05$ ). Means of triplicate.

<sup>2</sup>Control: No β-CD treated and ripened for 0, 8, 16, 24, and 32 weeks.

<sup>3</sup>After cream separation, cream was treated with 10% β-CD, and mixed with skim milk at 1000 psi. Then ripened for 0, 2, 4, 6, and 8 weeks.

#### 4) 버터

서양에서는 오래전부터 버터를 중요한 식품으로 이용해 왔으며, 여러 가공식품에 원료로도 사용이 된다. 그런데 버터는 80%가 유지방으로 구성된 유지식품이고 계란 노른자 다음으로 콜레스테롤 함량(210mg/100g)이 높고<sup>(1)</sup> 가격 역시 높기 때문에 마아가린이 대체품으로 개발되어 사용되고 있으며, 높은 콜레스테롤을 치 때문에 전 세계적으로 버터의 소비가 증가되지 못하고 점진적으로 감소되는 경향을 보이고 있다. 그래서 버터에서 콜레스테롤을 제거하려는 연구는 오래전부터 시도되었으나 조직의 결함이 되어 산업화가 어려운 실정이다<sup>(15, 16, 17)</sup>. 그래서 이에 대한 연구를 계속한 결과 콜레스테롤이 93% 제거되고 버터 제조 시와 저장기간 중 물성이 양호하여 버터의 견고성과 응집성이 일반 버터보다 높고, 관능검사에서 조직, 색깔, 선호도 등에서 품질이 향상된 결과를 관찰할 수 있었다(Table 2)<sup>(18)</sup>. 이 버터의

Table 2. Sensory characteristics of cholesterol-removed butter during storage at 4°C for 4 weeks<sup>1</sup>

Storage period (week)	Treatment	Sensory description						Overall acceptability <sup>2</sup>
		Texture	Color	Rancid	Acidity	Greasi-ness		
0	Con. <sup>3</sup>	4.0 <sup>a</sup>	4.0 <sup>b</sup>	4.0 <sup>a</sup>	4.0 <sup>a</sup>	4.0 <sup>a</sup>	1.4 <sup>a</sup>	
	Trt.A <sup>4</sup>	4.2 <sup>a</sup>	4.7 <sup>a</sup>	3.4 <sup>b</sup>	4.1 <sup>a</sup>	4.1 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a</sup>	
2	Con.	4.0 <sup>a</sup>	4.1 <sup>b</sup>	4.8 <sup>a</sup>	4.1 <sup>a</sup>	4.5 <sup>a</sup>	1.7 <sup>a</sup>	
	Trt.A	3.7 <sup>a</sup>	4.8 <sup>a</sup>	4.5 <sup>a</sup>	4.2 <sup>a</sup>	4.6 <sup>a</sup>	1.4 <sup>a</sup>	
4	Con.	4.4 <sup>a</sup>	4.2 <sup>b</sup>	4.2 <sup>a</sup>	4.4 <sup>a</sup>	4.9 <sup>a</sup>	1.2 <sup>b</sup>	
	Trt.A	4.4 <sup>a</sup>	5.0 <sup>a</sup>	4.5 <sup>a</sup>	4.4 <sup>a</sup>	5.0 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	

<sup>1</sup>Means within column by the same letter are not significantly different ( $P<0.05$ )

The Scale of sensory score : 1=very slight, 2=slight, 3=slight-moderate, 4=moderate, 5=moderate-strong, 6=strong, 7=very strong.

<sup>2</sup>The scale of overall score ; 1=like extremely, 5=dislike extremely.

<sup>3</sup>Con. : no added.

<sup>4</sup>Trt. A : butter was treated with 10%  $\beta$ -CD.

제조를 위하여 크림에서 콜레스테롤을 제거하고<sup>(4)</sup> 하루 동안 숙성시킨 후 버터 churn에서 8~10°C에서 10분 정도 churning하고 2회 수세하여 품질이 양호한 버터가 생성되었다<sup>(18)</sup>. 이 결과는 오랫동안 시도한 끝에 얻게 된 것으로 산업화가 가능할 것으로 기대된다.

이상에서와 같이  $\beta$ -CD를 이용하여 다양한 최적조건을 확립하므로써 우유, 요구르트, 크림, 휘핑크림, 각종치즈, 버터 등 콜레스테롤이 90% 이상 제거된 다양한 유제품이 개발될 수 있도록 연구가 수행되었다. 그러나 크림의 콜레스테롤 제거에는 10%의  $\beta$ -CD가 필요하므로 크림의 가격이 1kg에 2500원이라고 가정하면  $\beta$ -CD 100g도 2500원 정도이므로 원가상승에 문제가 되어 산업화에 어려움이 있게 된다. 그래서  $\beta$ -CD를 재활용할 수 있는 연구가 수행되어져야 할 필요가 있다.

### 3. $\beta$ -cyclodextrin의 재활용

$\beta$ -CD를 재활용하는 방법은 여러 가지가 있으나, 그 중 유기용매를 이용하는 방법이 간단하고 경제적이며 산업적으로 응용이 용이하다<sup>(6)</sup>. 그런데 사용된 유기용매가 식품에 남아있을 때 잔존량을 고려해야 하며, 주로 사용되는 유기용매들은

ethanol, hexane, chloroform, methanol, isopropanol, acetic acid, butanol 등이 있다.  $\beta$ -CD의 재활용에 관한 연구를 살펴보면, 크림에 적용했던  $\beta$ -CD와 콜레스테롤의 복합체를 acetic acid와 butanol을 3:1로 혼합용액을 제조하여 콜레스테롤 제거율을 관찰한 결과 82%의 분리율이 나타났으며, 재활용  $\beta$ -CD와 새로운  $\beta$ -CD의 비율을 6:4로 했을 때 95.6%의 최대분리가 가능하였다<sup>(6)</sup>. 위의 연구에서와 같이 유기용매를 이용한  $\beta$ -CD의 재활용은  $\beta$ -CD가 분말 상태이어서 콜레스테롤 제거 시 일정한 비율로 새로운  $\beta$ -CD를 사용해야 하는 결점이 있다. 그래서 이러한 문제를 해결하고 환경오염을 방지하며 원가절감을 위하여  $\beta$ -CD를 고정화(immobilization)하는 연구를 시도하였다. 이 방법은  $\beta$ -CD를 고밀도로 집적된 지름 1mm 크기의 glass bead에 20mM 3-isocyanatopropyltriethoxysilane를 30mM  $\beta$ -CD에 혼합하여 고정시키는 것이다. 이 연구의 실험결과 7mm의 직경 tube에서 10°C, 6시간 처리 후 콜레스테롤이 40.2% 제거되었으며, 이의 재활용율은 거의 100%로 관찰되었다<sup>(7)</sup>. 고정화  $\beta$ -CD는 매우 안정한 형태로 glass beads 양에 따라 콜레스테롤이 비례적으로 제거되고, 재활용이 용이하여 원가가 절감되고 환경오염을 방지할 수 있는 기술이지만, beads에  $\beta$ -CD이용이 매우 제한적이어서 콜레스테롤의 제거율이 낮고, 크림에 적용 시 beads의 양이 너무 많아서 사용이 불가능한 결점이 있다. 이와 같은 결점을 해결하는 방법으로  $\beta$ -CD를 가교화(crosslinkage)하는 실험을 시도하였는데(Fig. 5), 가교화에 사용되는 화학물질에는 phosphorus oxychloride, epichlorohydrin, sodium trimetaphosphate, formaldehyde 등의 가교제가

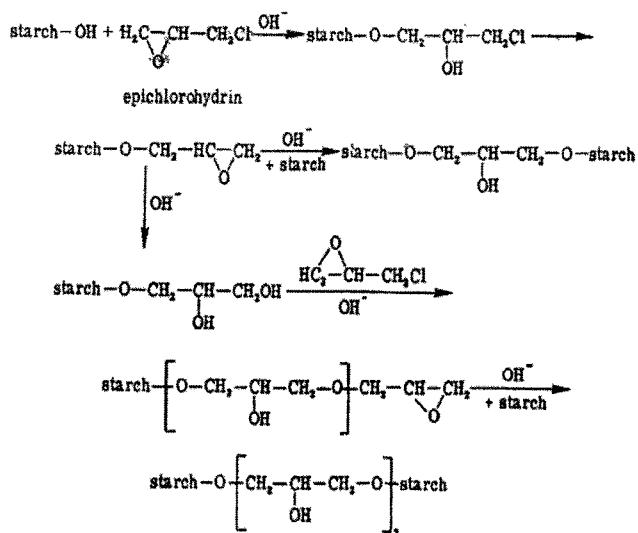


Fig. 5. Mechanism of crosslinking reaction of epichlorohydrin with  $\beta$ -cyclodextrin

있는데, 그 중 epichlorohydrin이 가장 효과적인 것으로 알려져 있다. 그래서  $\beta$ -CD를 epichlorohydrin을 이용하여 가교화 한 후 우유에서 콜레스테롤 제거 최적조건으로 가교화  $\beta$ -CD 1%, 교반온도 10°C, 교반시간 10분, 교반속도 400rpm으로 콜레스테롤 제거율은 81.1%였으며, 크림의 실험에서는 가교화  $\beta$ -CD 10%와 다른 조건은 동일하였으며, 제거율도 81.1%로 나타났고, 이의 재활용율도 역시 거의 100%로 관찰되어 지금까지 수행된 연구결과에서 가장 효과적인 것으로 확인되었다<sup>(8)</sup>.

그래서 이렇게 개발된 가교화  $\beta$ -CD로 콜레스테롤을 저하시키는 크림치즈의 실험을 수행한 결과, 콜레스테롤 제거율은 기대한 바와 같이 82%였고, 이화학적 및 관능적으로 대조군보다 우수하였으며 쓴맛의 결점이 없어졌으며 저장기간이 길어지는 등 기존의 크림치즈보다 발전된 결과가 관찰되었다(Table 3)<sup>(19)</sup>. 그리고 또한 사

Table 3. Production of short-chain fatty acids treated with crosslinked  $\beta$ -CD in cream cheese during storage at 4°C for 4 weeks<sup>1</sup>

Treatment	Storage period (wk)	SCFA production (ppm)				
		C4	C6	C8	C10	Total SCFA*
Cont.	0	19.5 <sup>a</sup>	18.5 <sup>a</sup>	20.5 <sup>a</sup>	18.2 <sup>a</sup>	76.7 <sup>a</sup>
	1	22.7 <sup>b</sup>	20.9 <sup>a</sup>	23.1 <sup>b</sup>	22.9 <sup>b</sup>	89.6 <sup>b</sup>
	2	24.4 <sup>b</sup>	22.2 <sup>b</sup>	26.1 <sup>c</sup>	23.2 <sup>b</sup>	95.9 <sup>b</sup>
	3	25.7 <sup>bc</sup>	24.6 <sup>bc</sup>	28.2 <sup>c</sup>	23.5 <sup>b</sup>	102.0 <sup>bc</sup>
	4	27.1 <sup>c</sup>	26.5 <sup>c</sup>	28.1 <sup>c</sup>	23.1 <sup>b</sup>	104.8 <sup>c</sup>
Trt. 1 <sup>2</sup>	0	19.1 <sup>a</sup>	20.4 <sup>a</sup>	20.1 <sup>a</sup>	19.8 <sup>a</sup>	79.4 <sup>a</sup>
	1	21.8 <sup>a</sup>	24.9 <sup>b</sup>	24.9 <sup>b</sup>	20.9 <sup>a</sup>	92.5 <sup>b</sup>
	2	24.6 <sup>b</sup>	26.7 <sup>b</sup>	25.4 <sup>b</sup>	21.5 <sup>a</sup>	98.2 <sup>b</sup>
	3	25.1 <sup>b</sup>	27.3 <sup>c</sup>	26.1 <sup>c</sup>	25.1 <sup>b</sup>	103.6 <sup>bc</sup>
	4	27.8 <sup>c</sup>	29.3 <sup>c</sup>	28.1 <sup>c</sup>	27.2 <sup>c</sup>	112.4 <sup>c</sup>
Trt. 2 <sup>3</sup>	0	20.4 <sup>a</sup>	18.4 <sup>a</sup>	19.4 <sup>a</sup>	19.3 <sup>a</sup>	77.5 <sup>a</sup>
	1	21.8 <sup>a</sup>	19.6 <sup>a</sup>	20.9 <sup>a</sup>	20.1 <sup>a</sup>	82.4 <sup>a</sup>
	2	22.5 <sup>a</sup>	19.9 <sup>a</sup>	21.6 <sup>a</sup>	20.6 <sup>a</sup>	84.6 <sup>a</sup>
	3	23.5 <sup>b</sup>	20.1 <sup>a</sup>	22.7 <sup>a</sup>	21.5 <sup>a</sup>	87.8 <sup>a</sup>
	4	23.8 <sup>b</sup>	20.2 <sup>a</sup>	23.3 <sup>b</sup>	22.2 <sup>a</sup>	89.5 <sup>a</sup>

\*Short-chain fatty acid.

<sup>1</sup> Means within column by the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>2</sup> After cream separation, cream was treated with powdered  $\beta$ -CD 10% and blended with skim milk at 680psi.

<sup>3</sup> After cream separation, cream was treated with crosslinked  $\beta$ -CD 10% and blended with skim milk at 680psi.

용한  $\beta$ -CD를 원만하게 재활용할 수 있어서 산업화의 가능성도 기대된다<sup>(19)</sup>. 그러나 콜레스테롤의 제거율이 82% 정도로 충분하지 못하므로 90% 이상의 제거율이 되는 연구를 긍정적으로 수행중이다.

#### 4. 혈중 콜레스테롤 저하 기능성 우유 및 유제품

위에서 본 바와 같이, 분말 상태의  $\beta$ -CD와 가교화  $\beta$ -CD에서 콜레스테롤의 제거가 용이하게 되고, 품질과 환경오염, 그리고 원가절감 면에서도 문제의 해결이 가능하게 되었다. 그러나 우유의 지방산 중에는 혈중 콜레스테롤을 증가시키는 것으로 lauric acid, myristic acid, palmitic acid와 같은 포화지방산들이 함유되어 있기 때문에 유제품의 콜레스테롤 제거만으로는 문제가 해결되었다고 보기는 어렵다. 또한 포화지방산을 불포화시키는 것도 어렵고, 이들 포화지방산만 선택적으로 제거할 경우에 유제품의 조직(texture)의 문제가 야기된다<sup>(16, 17)</sup>. 그래서 이러한 문제를 해결하는 방법으로 혈중 콜레스테롤 저하 기능성 물질을 콜레스테롤 제거 제품에 적용시키는 것인데 최근에 이에 관한 연구를 수행하여 다음과 같은 긍정적인 결과를 얻었다<sup>(9)</sup>.

##### 1) 카토 올리고당을 첨가한 우유

카토 올리고당(chitooligosaccharide)은 높은 수용성으로 체내의 흡수율이 뛰어나며 다양한 기능성이 있는데, 그 중에 혈중 콜레스테롤 저하 기능의 효과가 알려져 이를 우유에 적용시키는 연구를 수행하였다. 이 당은 우유에 적용 시 맛과 색깔에서 문제가 있기 때문에 우선 미세캡슐화를 하여야 하며, 이 실험의 결과 코팅제

Table 4. Effects of experimental diets on the change of blood triacylglycerol, total cholesterol and high-density lipoprotein in rats fed for 16weeks<sup>1</sup>

Treatment	Total CH		TG		HDL	
	Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final
(mg/dL)						
Control <sup>2</sup>	120.8 <sup>b</sup>	166.0 <sup>a</sup>	45.8 <sup>a</sup>	51.0 <sup>a</sup>	41.8 <sup>a</sup>	53.3 <sup>a</sup>
CO <sup>3</sup>	105.8 <sup>b</sup>	160.4 <sup>a</sup>	44.3 <sup>a</sup>	47.6 <sup>a</sup>	36.7 <sup>b</sup>	63.7 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Means in a column with the same letter are not significantly different ( $P<0.05$ )

<sup>2</sup>Milk with no chitooligosaccharide addition no cholesterol removal

<sup>3</sup>Chitooligosaccharide-added cholesterol-reduced milk (50mg/day)

로 polyglycerol monostearate(PGMS)와 이 당의 비율을 10 : 1로 했을 때 88%의 수율로 나타났고 관능적으로 양호하였으며, 쥐(rat)를 이용하여 동물실험을 수행한 결과 키토 올리고당의 섭취량이 소량이어서 총 콜레스테롤과 중성지질은 약간 증가되었지만, HDL 콜레스테롤 치가 높게 나타나 긍정적인 결과를 얻었다(Table 4)<sup>(20)</sup>.

## 2) 이소플라본을 첨가한 우유

이소플라본(isoflavone) 역시 다양한 기능성이 있으며, 그 중 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 기능이 있는 물질로 알려져 있다. 그래서 이소플라본을 우유에 적용시키는 연구를 수행하였다. 그런데 이소플라본 역시 맛과 색깔에서 문제가 있어서 미세캡슐화 하는 실험이 진행되었는데, PGMS를 코팅제로 사용하여 70%의 수율이 나왔다. 미세캡슐한 이소플라본을 우유에 첨가하여 저장기간 동안에 양호하였으며, 이 미세캡슐의 안정성 시험으로 인공위액에서 pH와 시간에 경과함에 따라 이소플라본의 유리량은 증가하였으나 15%를 초과하지 않았다. 반면에 인공소장에서는 1시간에 pH 7과 8에서는 95%의 이소플라본이 방출되어 매우 긍정적인 결과가 관찰되었다(Fig. 6)<sup>(18)</sup>.

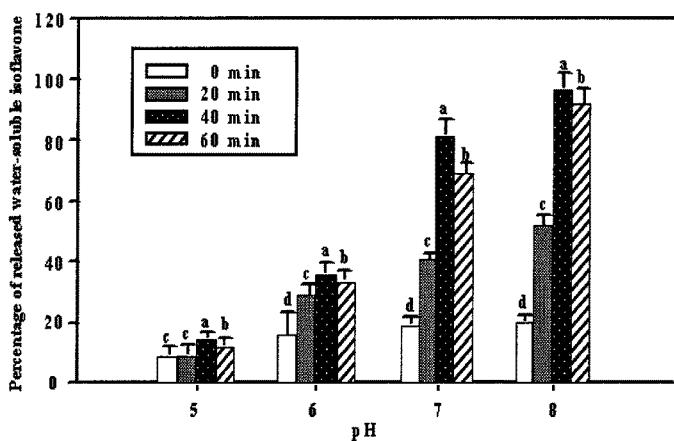


Fig. 6. Effect of different pH on water-soluble isoflavone release from microcapsules incubated simulated intestinal condition *in vitro*.

Coating material : Polyglycerol monostearate.

Core material : Water-soluble isoflavone.

Simulated intestinal condition include enzymes such as lipase (5mg) and pancreatin (20mg), 37°C incubated for 60min.

Each bar represents an average of three trials.

Error bar indicates a standard deviation and bar with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ).

동물실험에서는 총 혈중 콜레스테롤 량이 대조군보다 반 정도 증가하였고 중성지방은 반 이상 감소하였다. 그러나 HDL 콜레스테롤의 증가는 거의 동일하였다(Table 5)<sup>(18)</sup>.

Table 5. Effect of experimental diets on the change of blood triacylglycerol, total cholesterol and high-density lipoprotein in rats fed for 13weeks<sup>1</sup>

Treatment	Total CH		TG		HDL	
	Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final
(mg/dL)						
Control <sup>2</sup>	112.5 <sup>b</sup>	209.0 <sup>a</sup>	20.0 <sup>b</sup>	5.8 <sup>b</sup>	33.0 <sup>a</sup>	43.6 <sup>a</sup>
Isoflavone <sup>3</sup>	124.6 <sup>b</sup>	174.1 <sup>a</sup>	38.3 <sup>a</sup>	7.0 <sup>b</sup>	31.6 <sup>a</sup>	41.6 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Means in a column with the same letter are not significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>2</sup>Milk with no isoflavone addition no cholesterol removal.

<sup>3</sup>Isoflavone-added cholesterol-reduced milk (10mg/day).

### 3) 달맞이꽃 종자유를 이용한 요구르트

달맞이꽃 종자유(evening primrose oil : EPO)은 7~14%의 gamma-linolenic acid(GLA)라는 불포화지방산이 포함되어 있는데 이 지방산이 혈중 콜레스테롤을 저하하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다. 그래서 콜레스테롤이 제거된 우유에 EPO를 첨가하여 요구르트를 제조하여 이화학적 변화와 물성 및 관능적 특성을 규명하고, 동물 실험을 통하여 혈중 콜레스테롤 저하 기능성 요구르트의 실험을 수행하였다. 이 연구결과, short-chain fatty acid, γ-linolenic acid, total free fatty acid의 함량이 EPO의 함량과 저장기간의 증가에 따라 두 배까지 증가하는 경향을 보였다. 그리고 자방산화도(TBA)는 저장기간에 두 배 정도까지 증가하였다(Fig. 7)<sup>(18)</sup>. 동물실험의 결과에서는 총 콜레스테롤과 중성지방 농도가 대조군에 비하여 감소하였으나, HDL 콜레스테롤 농도는 거의 차이가 없었다(Table 6)<sup>(18)</sup>.

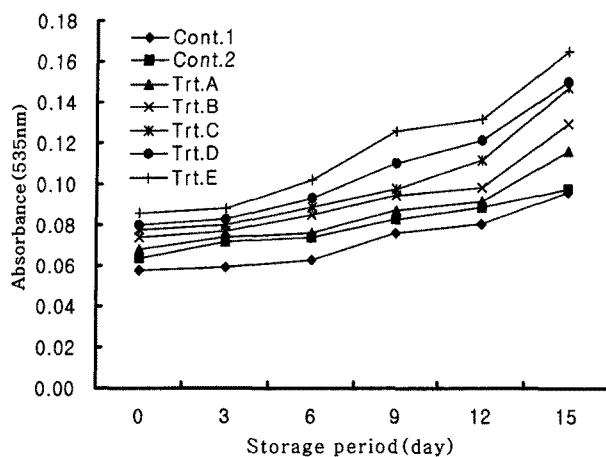


Fig. 7. Changes of thiobarbituric acid(TBA) values at 535nm in evening primrose oil added and cholesterol-reduced yogurt stored at 4°C for 15days<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Milk used was treated with 1%  $\beta$ -cyclodextrin for Trts.

<sup>2</sup>Cont .1 : no added.

Cont. 2 : yogurt was treated with 1%  $\beta$ -cyclodextrin.

Trt A , Trt B, Trt C, Trt D, Trt E : 2, 4, 6, 8 and 10% evening primrose oil was added in each treated cholesterol-reduced yogurt, respectively.

Table 6. Effects of experimental diets on the change of blood triacylglycerol, total cholesterol and high density lipoprotein in rats fed for 16weeks<sup>1</sup>

Treatment	Total CH		TG		HDL	
	Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final
	(mg/dL)					
Control <sup>2</sup>	117.3 <sup>b</sup>	175.0 <sup>a</sup>	51.8 <sup>b</sup>	61.2 <sup>a</sup>	35.2 <sup>a</sup>	57.6 <sup>a</sup>
EPO <sup>3</sup>	132.8 <sup>a</sup>	172.0 <sup>a</sup>	73.5 <sup>a</sup>	63.0 <sup>a</sup>	37.0 <sup>a</sup>	58.4 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Means in a column with the same letter are not significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>2</sup>Control : no added.

<sup>3</sup>10% EPO-added cholesterol-reduced yogurt (2mL/day).

#### 4) Phytosterol을 첨가한 체다치즈

혈중 콜레스테롤을 저하시키는 물질로 잘 알려진 phytosterol은 물에 잘 녹지 않으므로 선행실험으로 에스테르화 화합물을 제조하여 고형 유제품에 첨가제로 사용할 수 있다. 그래서 phytosterol ester를 치즈 제조에 적용시켜 저장 중 치즈의 이화학적 및 관능검사를 실시하였다. Short-chain fatty acid 와 아미노산의 생성이 저장기간에 대조군보다 증가율이 더 높았고 관능검사에서 쓴맛, 산패취 등 이취가 매우 증가되어 부정적인 결과가 관찰되었다. 동물 실험에서는 8%의 phytosterol ester 첨가시 총 콜레스테롤이 18% 감소되는 경향을 보였다(Table 7)<sup>(21)</sup>.

Table 7. Effects of experimental diets on the change of blood triacylglycerol, total cholesterol and high-density lipoprotein in rats fed 6 weeks<sup>1</sup>

Treatment	TG		Total CH		HDL	
	Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final
(mg/dL)						
Control <sup>2</sup>	64.5 <sup>a</sup>	63.5 <sup>a</sup>	153.4 <sup>a</sup>	165.8 <sup>a</sup>	32.3 <sup>a</sup>	31.4 <sup>a</sup>
EPO <sup>3</sup>	58.9 <sup>a</sup>	61.4 <sup>a</sup>	161.9 <sup>a</sup>	132.9 <sup>b</sup>	39.5 <sup>a</sup>	41.0 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Means in a column with the same letter are not significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>2</sup>Cholesterol-reduced Cheddar cheese with no phytosterol ester addition.

<sup>3</sup>8% phytosterol ester-added cholesterol-reduced Cheddar cheese.

이상에서와 같이 콜레스테롤을 제거한 우유, 요구르트, 치즈에 혈중 콜레스테롤 저하 기능성 물질들을 이용하여 유제품의 품질을 관찰하였고, 동물실험을 통하여 혈중 콜레스테롤이 어떻게 저하되는지를 규명하였다. 지금까지의 연구 결과에 의하면, 우유 및 유제품의 품질을 저장기간에 저하시키지 않으면서 혈중 콜레스테롤 까지 저하시킬 수 있는 기능성 유제품의 개발이 가능할 것으로 기대된다. 이와 같은 기능성 유제품들은 다른 가공식품의 원료로도 많이 사용되어(우유, 크림 등), 여러 가공식품의 품질을 향상시키면서 기능성을 부여하는 역할도 할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 5. 결 론

지금까지  $\beta$ -CD를 이용하여 우유 및 유제품의 콜레스테롤을 제거하고, 이것을 재활용 하므로써 산업화를 가능하게 하며, 혈중 콜레스테롤을 저하시킬 수 있는 기능성 제품의 연구를 수행한 결과를 정리해 보았다. 본고에서 언급한 연구의 내용은

기능성 유제품 연구의 극히 일부이며 계속해서 다양한 기능성이 부여된 연구가 요구된다. 이와 같이 기능성이 향상되는 기능성 유제품의 연구를 위하여 우선 어린이용 위주에서 벗어나 성인용으로 확대되어야 하고, 또한 우유의 소비가 지금보다 몇 배 증가되어야 한다. 성인용 우유를 위해서는 우선 소화가 잘 되는 우유, 환자용으로 특별한 영양분이 강화된 우유 등이 필요하며, 이러한 기능성 우유의 연구를 위하여 미세캡슐화 기술이 중요하다. 그리고 기능성 제품의 부가가치를 향상시키기 위하여 나노 기술이 필요한데, 이것은 나노캡슐기술과 나노분체화 기술로 분류할 수 있으며, 이 기술에 의해 미지의 기능이 발생할 가능성도 있다. 시간이 지나면 미래의 기능성 식품이 나노식품으로 발전할 것으로 예측된다.

앞으로도 기능성 식품개발의 일환으로 유제품의 연구가 선진 기술을 융합시켜 지속된다면, 유가공 산업과 낙농산업의 발전에 큰 도움이 될 것이고 인류 건강에도 크게 기여할 것이다.

## 6. 참고문헌

1. USDA, 1976. Composition of foods ; Dairy and egg products, Agriculture HB 8-1, Agriculture Research Service.
2. Kwak, H. S. 2001. Health for adult and functional dairy products. Annual symposium(Spring) of Kor. Dairy Tech. Sci. Assoc. Proceedings : 19-27.
3. Lee, D. K., J. Ahn and H. S. Kwak. 1999. Cholesterol removal from homogenized milk with  $\beta$ -cyclodextrin. J. Dairy Sci. 82(11) : 2327-2330.
4. Ahn, J. and H. S. Kwak. 1999. Optimizing cholesterol removal in cream using  $\beta$ -cyclodextrin and response surface methodology. J. Food. Sci. 64(4) : 629-632.
5. Kwak, H. S., C. S. Chung, S. Y. Shim and J. Ahn. 2002. Removal of cholesterol from Cheddar cheese by  $\beta$ -cyclodextrin. J. Agric. and Food Chem. 50(25) : 7293-7298.
6. Kwak, H. S., H. M. Suh, J. Ahn and H. J. Kwon. 2001. Optimization of  $\beta$ -cyclodextrin recycling process for cholesterol removal in cream. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 14(4) : 548-552.
7. Kwak, H. S., S. H. Kim, J. H. Kim, H. J. Choi and J. Kang. 2004. Immobilized  $\beta$ -cyclodextrin as a simple and recyclable method for cholesterol removal in milk. Arch. Pharm. Res. 27(8) : 873-877.
8. Kim, S. H., J. Ahn and H. S. Kwak. 2004. Crosslinking of  $\beta$ -cyclodextrin

- for cholesterol removal in milk. *Arch. Pharm. Res.* (in process)
- 9. Kwak, H. S. 2003. Development of functional milk and dairy products for increase of consumption. *J. Kor. Dairy Tech Sci.* 21(1) : 13–22
  - 10. Shim, S. Y., J. Ahn and H. S. Kwak. 2003. Functional properties of cholesterol-removed whipping cream treated by  $\beta$ -cyclodextrin. *J. Dairy Sci.* 86(9) : 2767–2772.
  - 11. Shim, S. Y., J. Ahn and H. S. Kwak. 2004. Functional properties of cholesterol-removed compound whipping cream by palm oil. *Asian–Aust. J. Anim. Sci.* 17(6) : 857–862.
  - 12. Kwak, H. S., C. S. Chung, S. Y. Shim and J. Ahn. 2002. Removal of cholesterol from Cheddar cheese by  $\beta$ -cyclodextrin. *J. Agri. and Food Chem.* 50(25) : 7293–7298.
  - 13. Kwak, H. S., C. G. Nam and J. Ahn. 2001. Low cholesterol Mozzarella cheese obtained from homogenized  $\beta$ -cyclodextrin-treated milk. *Asian–Aust. J. Anim. Sci.* 14(2) : 268–275.
  - 14. Kwak, H. S., C. S. Chung, J. S. Seok and J. Ahn. 2003. Cholesterol removal and flavor development on Cheddar cheese. *Asian–Aust. J. Anim. Sci.* 16(3): 409–416.
  - 15. Kwak, H. S. 1998. Development of cholesterol removed milk and dairy products. Final Research Report. Ministry of Agriculture Forestly and Fisheries–Special Grants Research Program.
  - 16. Shukla, A., A. R. Bhaskar, S. S. H. Rizvi and S. J. Mulvaney. 1994. Physicochemical and rheological properties of butter made from supercritically fractionated milk fat. *J. Dairy Sci.* 77 : 45–54.
  - 17. Shukla, A. and S. S. H. Rizvi. 1996. Relationship among chemical composition, microstructure and rheological properties of butter. *Milchwissenschaft* 51(3) : 144–147
  - 18. Kwak, H. S. 2004. Development of blood cholesterol lowering functional milk and dairy products. Final Research Report. Ministry of Agriculture and Forestly–Special Grands Research Program
  - 19. Kim, S. H. 2004. Immobilization and crosslinking of  $\beta$ -cyclodextrin, and development of cholesterol removed milk and cream cheese. MS thesis. Sejong University.
  - 20. Choi, H. J. 2004. Effects of microencapsulated chitooligosaccharide addition on improving HDL-cholesterol in milk. MS thesis. Sejong University.

21. Kwak, H. S., H. J. Ahn and J. Ahn. 2004. Development of phytosterol ester-added Cheddar cheese for lowering blood cholesterol. Asian-Aust. J. Anim. Sci. (in process)