

가교화 β -Cyclodextrin을 이용한 난황의 콜레스테롤 제거 최적화와 재활용

정태희 · 박홍식 · 안정좌 · 곽해수*

세종대학교 식품공학과

서 론

계란은 영양분을 골고루 갖춘 완전식품이지만 콜레스테롤 함량이 높아 건강상에 문제를 일으킬 수 있다는 인식이 계란의 소비를 위축시키고 있다. 실제로 난황의 콜레스테롤 함유량은 1,030mg/100g으로 매우 높다. 콜레스테롤의 과다 섭취는 고혈압, 동맥경화 등의 순환기계 질환 및 성인병의 발병 요인이 된다. 그러므로 식품으로부터 콜레스테롤을 저하시키려는 노력은 여러 방법으로 시도되고 있다. 그 중 흡착제인 β -cyclodextrin(β -CD)은 분리가 쉽고 무독성이며 저비용으로 효율성이 높다고 보고되고 있다. 그러나 β -CD의 1회 사용으로 인한 경제적 손실과 환경오염 문제 때문에 β -CD 재활용의 필요성이 제기되고 있다. 재활용 방법 중 가장 널리 사용되는 유기용매에 의한 방법은 β -CD가 powder 상태여서 재활용시 원심분리가 매우 어렵고, 재활용한 β -CD와 사용하지 않은 β -CD를 일정 비율로 혼합해야 하기 때문에 이런 결점을 보완하기 위해 β -CD를 가교화하여 사용하였다. 가교결합은 전분을 구성하는 분자 내에서 혹은 인접한 위치에 있는 분자 사이에서 화학적 결합을 형성하여 전분 입자의 구조를 강화시키는 역할을 한다⁽²⁾. 가교제로 사용되는 epichlorohydrin은 β -CD 가교시 낮은 콜레스테롤 제거율을 보이고 식품 첨가물로 부적합하다⁽³⁾. 그러므로 본 연구에서는 가장 효과적인 adipic acid로 가교화한 β -CD를 이용해 난황의 콜레스테롤 최적 조건을 확립하고, 가교화 β -CD의 효율적인 재활용 방법의 개발을 목적으로 하였다.

재료 및 방법

가교화 β -CD 제조를 위하여 β -CD 100g을 증류수 80ml에 현탁시켜 상온에서 2시간 동안 교반한 후, adipic acid를 β -CD의 2% 첨가하였다. 여기에 1M NaOH 용액을 가지고 pH 10으로 조정하고 16시간 교반하여 가교반응을 진행시킨 후 acetic acid를 사용하여 pH 5로 조정하였다. 그 후 Whatman No.2 여과지로 여과한 후 150ml의 증류수로 3번씩 수세하여 여과하였다. 가교화된 β -CD는 60°C dry oven에서 약 20시간 건조 후 100mesh 체를 통과시켰다.

가교화 β -CD에 의한 난황의 콜레스테롤 제거 최적 조건을 확립하기 위해서 갈색란으로부터

터 분리한 난황을 50mesh sieve에 통과시켜 난황막 및 알끈을 제거한 후 50g을 취해 비커에 넣고 콜레스테롤 흡착을 위한 가교화 β -CD 농도, 교반 온도, 교반 시간, 교반 속도, 증류수의 회석 배수의 factor를 여러 조건하에서 처리하여 20℃에서 520×g으로 10min 동안 원심 분리를 한 후 상정액 중 1g을 취한 후 GC를 사용하여 콜레스테롤을 정량하였다.

가교화 β -CD 재활용을 위해 acetic acid와 isopropanol(3:1)의 혼합용매를 콜레스테롤을 흡착한 β -CD와 6:1의 비율로 혼합한 후 ultrasonic cleaner에서 10분 동안 처리하였다. 용해된 시료를 50℃, 100rpm에서 2시간 동안 교반하면서 20min 간격으로 시료를 꺼내 5min 동안 ultrasonic cleaner에서 용해시켰다. 교반한 시료는 실온에서 냉각시키고 630×g에서 5min 동안 원심 분리하여 상정액을 따라낸 후, 침전된 β -CD를 dry oven에서 50℃로 6시간 동안 건조하여 재활용 β -CD를 제조하였다. 모든 실험 결과는 SAS program을 이용하여 분산 분석(ANOVA)과 최소 유의차 검정으로 통계 처리하였다.

결과 및 고찰

가교화 β -CD를 이용한 난황의 콜레스테롤 제거 최적 조건

① 가교화 β -CD의 농도

본 실험에서는 난황의 높은 콜레스테롤 함량으로 인해 가교화 β -CD 첨가량을 10, 15, 20, 25, 30%로 하여 동량의 증류수로 회석된 시료에 각각 첨가한 후, 교반속도 800rpm, 교반온도 40℃, 교반시간 30min로 일정하게 유지하면서 비교실험을 하였다. 콜레스테롤 제거율의 결과는 Table 1과 같다. 가교화 β -CD의 양이 난황의 25%일 때 95.75%로 콜레스테롤 제거율이 가장 높았으며 20%일 때는 93.28% 그리고 30%일 때는 93.68%로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러므로 경제성의 관점에서 볼 때 20%가 최적으로 사료되었다.

② 교반 온도

가교화 β -CD를 사용하여 난황의 콜레스테롤 제거효과를 알아보기 위해 교반 온도를 달리하여 실험하였다. 30℃ 미만의 온도에서는 난황의 점도 증가와 낮은 β -CD 용해도의 문제로 인해 그 이상의 온도에서부터 실험을 실시하였다. 온도가 30℃에서는 82.69%, 35℃에서는 87.99%, 40℃에서는 90.05%, 45℃에서는 88.07% 그리고 50℃에서는 88.15%로 가장 높은 콜레스테롤 제거율을 보인 40℃가 최적 온도라고 사료된다. 이는 Ji 등⁽³⁾의 연구에서 β -CD를 이용한 난황의 콜레스테롤 제거시 35℃를 최적으로 보고한 것과 유사한 결과이다.

Table 1. Effect of various crosslinked β -CD concentrations on cholesterol removal in egg yolk

β -CD (%)	Cholesterol removal ¹⁾ (%)
10	78.53 ^b
15	82.73 ^b
20	93.28 ^a
25	95.75 ^a
30	93.68 ^a

¹⁾Means within column by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$)
 Factors of cholesterol removal ; Mixing temp. ; 40°C Mixing speed ; 800rpm,
 Mixing time ; 30min, Egg yolk : Distilled water = 1 : 1

③ 교반 시간

가교화 β -CD를 이용해 난황에서 콜레스테롤 제거시 교반 시간을 달리하여 실험하였다. 교반 시간이 30분일 때 91.49%로 콜레스테롤 제거율이 가장 높았으며, 10분일 때 84.54%, 20분일 때 88.07%, 40분일 때 91.39% 그리고 50분일 때 78.92%로 측정되었다. 그러므로 최적의 교반 시간은 30분으로 사료된다. 교반 시간이 30분 이상일 경우 콜레스테롤 제거율의 감소는 과도한 교반으로 인해 β -CD와 콜레스테롤의 복합체가 분리된 것으로 사료된다.

④ 교반 속도

교반 속도를 변화시켜 제거율을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 교반 속도 800rpm에서 91.64%로 제거율이 가장 높았으며, 400rpm에서 85.10%, 600rpm에서 90.50%, 1,000 rpm에서 88.59% 그리고 1,200rpm에서 75.89%로 측정되었다. 그러므로 가교화 β -CD를 이용하여 난황의 콜레스테롤 제거를 위한 최적의 교반 속도는 800rpm이 가장 적당하다고 판단하였다.

Table 2. Effect of mixing speeds of crosslinked β -CD on cholesterol removal in egg yolk

Mixing speed (rpm)	Cholesterol removal ¹⁾ (%)
400	85.10 ^b
600	90.50 ^a
800	91.64 ^a
1,000	88.59 ^a
1,200	75.89 ^c

¹⁾Means within column by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$)
 Factors of cholesterol removal ; crosslinked β -CD ; 20%, Mixing temp. ; 40°C,
 Mixing time ; 30min, Egg yolk : Distilled water = 1 : 1

⑤ 회석 배수

가교화 β -CD를 이용해 난황에서 콜레스테롤 제거시 증류수의 회석 배수를 변화시켜 제거율을 측정한 결과, 동량의 증류수로 회석 했을 때가 94.55%로 콜레스테롤 제거율이 가장 높았으며, 0.5배일 때 76.52%, 1.5배일 때 93.24%, 2배일 때 93.53% 그리고 3배일 때 84.61%로 1, 1.5, 2배 사이에서는 유의적 차이가 없었다. 그러므로 콜레스테롤을 제거하기 위한 난황과 증류수의 회석 비는 1:1이 가장 적당하다고 사료된다.

난황으로부터 가교화 β -CD의 재활용

난황으로부터 가교화 β -CD의 재활용률은 Table 3에 나타내었다. 첫 번째 재활용한 결과 84.86%의 콜레스테롤 제거율을 보였고 여덟 번째까지 80% 이상의 제거율을 보였으며, 열 번째까지 재활용한 결과, 콜레스테롤 제거율은 평균 82.29%라는 높은 수치를 보였고 열 번의 재활용 결과, 재활용률 또한 88.77% 라는 높은 효율성을 보였다.

Table 3. The change of cholesterol removal using crosslinked β -CD with repeated times of recycling in egg yolk

Number of repeated recycling	The rate of recycle (%)	Cholesterol removal ¹⁾ (%)
1 st	91.54 ^a	84.86 ^a
2 nd	91.23 ^a	84.57 ^a
3 rd	90.57 ^a	83.96 ^a
4 th	90.44 ^a	83.84 ^a
5 th	89.65 ^a	83.11 ^a
6 th	89.40 ^a	82.88 ^a
7 th	89.39 ^a	82.86 ^a
8 th	88.92 ^a	82.43 ^a
9 th	84.91 ^{ab}	78.71 ^b
10 th	81.61 ^b	75.65 ^b
average	88.77	82.29

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

Means of triplicate. Recycled crosslinked β -cyclodextrin was treated by following factors

Acetic acid : Isopropanol = 3 : 1, Solvent : Crosslinked β -cyclodextrin = 6 : 1, Centrifugation speed : 1500rpm, Centrifugation time : 5min, Dry oven : 6 hours

요 약

본 연구는 가교화 β -CD를 제조하여 난황의 콜레스테롤 제거 최적 조건을 확립하고, 가교화 β -CD를 재활용하는 것을 목적으로 하였다. 가교화 β -CD를 20% 첨가하여 동량의 증류수를 혼합한 난황을 교반온도 40℃, 교반시간 30분, 교반속도 800rpm으로 처리할 때, 평균 92.70%라는 높은 제거율을 보였고, 10회 재활용 결과 평균 88.77%의 재활용률을 보였으며, 8회 이후에는 유의적으로 감소하였다.

참 고 문 헌

1. Wurzburg, O. B. (1996) *Modified starches*. 6:41-53
2. Song-Hee Kim et al. (2005) *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, Vol. 18, No. 4, p. 584-589
3. J. R. Ji. et al. (1997). *Korean J. Anim. Sci.* 39(5)599-604