



< 총 설 >

β-Cyclodextrin을 이용한 우유 및 유제품의 콜레스테롤 제거

한은미 · 김송희 · 곽해수 *

세종대학교 식품공학과

Cholesterol Removal of Milk and Dairy Products using β-Cyclodextrin

Eun-Mi Han, Song-Hee Kim, and Hae-Soo Kwak *

Department of Food Science and Technology, Sejong University, Seoul 143-747, Korea

Abstract

This review highlights areas of interest in the cholesterol removal of milk and dairy products. The demand for cholesterol removal has increased due to consumer demand for cholesterol-reduced products. At present the best method for producing without changing flavor, taste and texture of the products is entrapping cholesterol by β-cyclodextrin(β-CD). Especially, crosslinking of β-CD is important due to recycling that could be separated the β-CD from treated cream or milk. The recycling can be up to 10 times with keeping the rate of cholesterol removal. Various functional milk and dairy products can be produced in this manner. This report reviews general information including methods of cholesterol removal, crosslinking of β-CD, and recycling of the β-CD in milk and dairy products.

Key words : cholesterol removal, β-cyclodextrin, recycling, crosslinking

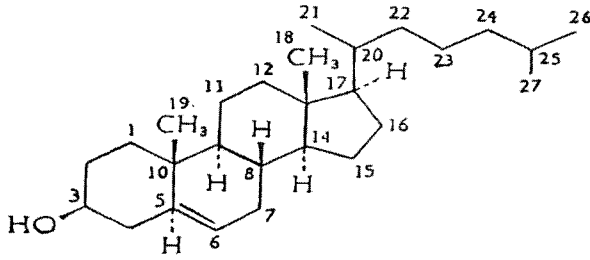
서 론

콜레스테롤은 인체에 필수적인 영양소로서 중요한 기능을 가지고 있으며, 모든 동물세포에 보편적으로 존재하여 특별한 기능과 영향력을 갖는 성분이다(Pyorala, 1986). 콜레스테롤은 체내에서 인지질과 함께 생체막을 구성하는 중요한 물질로 세포원형질막 성분의 원료로 이용되고, 불포화지방산의 중요한 운반체 역할을 하며 막의 유동성 조절에도 관여한다(Glodstein and Brown, 1988). 또한 담즙산과 steroid hormone의 전구체로 작용하고 자외선 조사에 의해서 생성되는 ergosterol은 칼슘이나 인산의 대사에 필요한 비타민 D의 전구물질로서 이용될 뿐만 아니라, 혈액 중 적혈구의 파괴를 보호하는 등 포유동물의 생리 기능에 매우 중요한 역할을 한다(Levy, 1981). 콜레스테롤은 구조적으로 볼 때 sterol로 알려진 복잡한 환상 알코올류의 일종이며(Fig. 1), 정상적인 인

체의 대사 과정으로 간, 내장 등의 기관에서 합성된다(Biss *et al.*, 1971). 콜레스테롤은 체내에 약 140g이 존재하며 이 중 7%이하가 혈장에 분포되어 있으나, 체내의 콜레스테롤 중 매우 적은 부분에 속하는 혈중 콜레스테롤은 심근경색, 뇌혈전 및 동맥경화 등과 같은 순환기계 성인 질환의 발생과 밀접하게 관련되어 있다(Pagington, 1987).

최근 혈중 콜레스테롤과 심혈관계 질환과의 관계에 대한 국민들의 관심이 증대되고 있는데, 심혈관계 질환은 세계적으로 높은 사망률을 나타내고 있으며, 우리나라의 경우에도 사망 원인 중 가장 큰 비중을 차지하고 있다. 심혈 관계 질환 중에서도 대표적인 질환인 관상 동맥 질환(coronary heart disease) 및 동맥경화증(atherosclerosis)등은 혈중의 콜레스테롤과 밀접한 관계가 있다(Bogin, 1991). 혈액중의 콜레스테롤은 그 근원에 따라 내인성과 외인성으로 구분되며, 사람에게 있어서는 식사에 의해 흡수되는 외인성 콜레스테롤보다 체내에서 합성되는 내인성 콜레스테롤의 영향을 더 많이 받는 것으로 되어 있으나, 최근 동물성 식품, 그 중에서도 유제품의 소비가 증가함에 따라 식품내의 포화지방과 콜레스테롤로 인한 고콜레스테롤혈증이 관심을 모으고 있다.

* Corresponding author : Hae-Soo Kwak, Department of Food Science and Technology, Sejong University, 98 Kunja-dong, Kwangjin-ku, Seoul 143-747, Korea. Tel : 82-2-3408-3226, Fax : 82-2-3408-3319, E-mail : kwakhs@sejong.ac.kr



Mol. wt. : 386.64 (C₂₇H₄₆O)
 M. p. : 148.5°C (anhydrate)
 B. p. : 360°C
 Refractive index : [α]²⁰_D = -31.5° (ether, 2%)
 [α]²⁰_D = -39.5° (chloroform, 2%)
 1.052 (anhydrate)
 Solubility : about 0.2 mg/100 ml (H₂O)
 1 mg/2.8 ml (ether)
 1 mg/4.5 ml (chloroform)

Fig. 1. Chemical structure of cholesterol.

현재에는 콜레스테롤 과다 섭취로 인한 질병을 예방하기 위해서는 콜레스테롤이 다량 함유된 식품의 섭취를 줄일 수밖에 없는 실정인데, 유제품의 콜레스테롤 함량을 알아보면, 우유의 경우 100g 당 14mg의 콜레스테롤로 적게 함유하고 있으나, 우유가 버터나 치즈 등의 유제품으로 가공될 경우 콜레스테롤 함량이 크게 증가된다. 그 예로, 버터에 219mg/100g, 체다치즈에 105mg/100g, 크림 치즈에 95mg/100g, 유지방 함량 15%의 아이스크림에 70mg/100g으로 비교적 많은 콜레스테롤이 함유되어 있다(Kosikowski, 1990). 이런 콜레스테롤 섭취를 줄이기 위해 low fat milk나 skim milk 등의 저지방 식품의 소비가 매우 증가했으나 콜레스테롤만을 선택적으로 감소시켜 제품의 맛과 조직을 정상적으로 하면서 콜레스테롤 섭취를 방지하는 것은 매우 바람직하다고 하겠다. 그래서 본고에서는 주로 β-CD를 우유 및 유제품에 적용하여 cholesterol을 선택적으로 제거하는 연구와 β-CD 사용의 산업적 효율성을 향상시키기 위한 재활용의 가능성을 알아보고자 한다.

식품에서 Cholesterol 제거 방법

식품 중에서 콜레스테롤만을 선택적으로 감소시키는 방법으로는 미생물을 이용한 cholesterol 제거 방법, 유기용매를 이용한 추출방법, 용융 결정방법, 초임계 이산화탄소를 이용한 제거방법, 흡착제를 이용한 제거방법 등이 있다. 미생물을 이용한 cholesterol 제거 방법(Hedges et al, 1993)은 우유에 Kefir를 첨가하므로 콜레스테롤을 41~84% 감소시키는

Streptococcus thermophilus, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum*과 *Lactobacillus acidophilus* 등의 미생물에서도 콜레스테롤 감소 작용이 일어난다고 밝혔다. 그러나 미생물을 이용하여 저 콜레스테롤 제품을 생산하기 위해서는 미생물의 접종으로 인하여 발생할 수 있는 오염에 대해 주의해야 한다. 몇몇 균들은 실제 독성을 가지고 있으며, *Rhodococcus equi*는 중요한 병원균으로 확인되었다. 이 방법은 미생물의 배양시간이 보통 24시간 이상 필요하기 때문에 품질 저하가 발생하게 되는 단점이 있다.

유기 용매를 이용한 추출 방법에 대하여 Sieber 등(1993)은 유기 용매를 이용하여 fish oil과 butter fat의 콜레스테롤을 95% 이상 감소시켰다고 보고하였다. 그렇지만 증기로 처리하므로 콜레스테롤의 제거와 동시에 flavor가 모두 제거되어 무취한 제품이 생산되며, 높은 온도에서 처리하므로 지방의 분해와 중합 반응이 일어날 수 있다는 단점들을 가지고 있다.

용융 결정 방법은 진공에서 지방을 농축한 후 냉각함으로써 결정화하여 분리하는 방법으로 특히 유제품에서 여러 가지 지방으로 구성된 milk fat을 각각 분리하는 것이 가능하다는 장점이 있다. 그렇지만 Shukla 등(1994)은 이 방법으로 콜레스테롤을 제거한 버터를 개발하였으나, 조직이 좋지 않고 용융점이 높은 유지방이 주가 되는 비정상적인 제품으로 소비자의 호응도가 낮다. 이 방법은 우유 및 유제품 품질의 유지가 용이하지 않으며 비용이 많이 드는 단점이 있다.

초임계 이산화탄소를 이용한 방법(Sidhu et al, 1993)은 비교적 신기술로서 임계 온도, 임계 압력 이상의 조건에서 고밀도, 저점도의 가스로 물질을 추출하는 방법이다. 이산화탄소를 사용하여 이미 커피의 카페인 제거, oilseeds로부터 oil의 추출, hops로부터 쓴맛 성분 제거와 여러 식품들의 콜레스테롤 제거에 사용되고 있다. 이 기술은 낮은 에너지 비용, 높은 생산성, 저온에서 처리하므로 고품질의 제품 생산이 가능하고, 폭발성이나 독성이 있는 용매를 사용하지 않는다는 여러 가지 장점이 있으나 아직 실험단계에 있다.

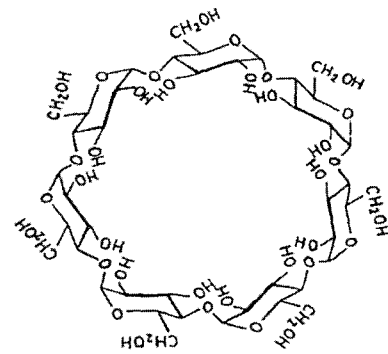
흡착제를 이용한 제거 방법(Chin and Chein, 1990)은 활성탄, coated porous glass, ceramic, plastic, silica gel 등과 같은 흡착제를 사용하여 액체 식품으로부터 콜레스테롤을 제거하는 방법이다. 이들 흡착제는 콜레스테롤과 접촉, 결합하여 불용성을 갖는 복합체를 형성하게 되고, 원심분리와 같은 방법으로 침전시키므로 콜레스테롤을 효과적으로 제거할 수 있다. 흡착제를 이용한 제거 방법 중 하나인 solid-liquid extraction 방법은 활성탄, coated porous glass, ceramic, plastics, silica gel 등과 같은 흡착제를 사용하여 액체 식품으로부터 cholesterol을 제거하는 방법이다. Saponin을 이용한 방법(Sieber, 1993)은 saponin을 사용하여 콜레스테롤과 결합시켜 불용성의 복합체를 형성함으로써 콜레스테롤을 제거하는

복합체 형성 방법이다. Chang 등(2001)은 크림에 함유되어 있는 콜레스테롤을 76.32% 제거하여 저콜레스테롤 크림을 생산하고자 saponin 용액을 이용해 크림으로부터 콜레스테롤을 제거하였다. Saponin은 cholesterol에 대한 선택성이 강하므로 최종 제품의 품질은 변화시키지 않는다는 것이 장점이다. 그렇지만 saponin의 가격이 너무 비싸기 때문에 실용화하는데 어려움이 있다.

그 외에 distillation 방법으로도 fish oil과 butter fat의 cholesterol을 90% 이상 감소시켰다고 보고되었다(Lee et al, 1993). 그렇지만 증기로 처리하므로 cholesterol의 제거와 동시에 flavor가 모두 제거되어 무취한 제품이 생산되며, 높은 온도에서 처리함으로써 지방의 분해와 중합반응이 일어날 수 있는 단점들을 가지고 있다. 이상에서와 같이 대부분의 물리, 화학, 생물학적인 콜레스테롤 제거방법들은 콜레스테롤만을 선택적으로 제거하지 못하고, 콜레스테롤과 함께 향미와 영양 성분까지 제거하는 경향이 있으며, 몇몇 방법은 비용이 매우 많이 드는 단점을 가지고 있다. 그러나 흡착하는 방법의 하나인 β -cyclodextrin이 우유 및 유제품에서 콜레스테롤을 제거하는 여러 방법들 중에서 가장 효과적인 것으로 나타났다.

기존의 콜레스테롤 제거 방법의 단점을 보완할 수 있는 방법이 콜레스테롤을 흡착할 수 있는 β -cyclodextrin(β -CD)를 이용하는 것이다. β -CD를 이용한 방법에서 β -CD는 중앙 직경이 콜레스테롤의 크기와 거의 비슷한 소수성의 원형 공간이므로 비극성 분자인 콜레스테롤과 잘 결합하고, 복합체가 형성되면 매우 안정하여 200°C 이하에서 가열해도 분리되지 않는 특징이 있다. 또한 β -CD는 화학적으로 glucose 7개가 α -1,4 결합을 하고 있는 환상형 다당류로서 도우넛과 같은 형태를 가지고 있다(Fig. 2).

우유의 cholesterol은 약 80% 이상이 유지방구에 존재하고 있으며, 약 20%만이 유청에 부유하기 때문에 β -CD와의 결합으로 cholesterol을 효과적으로 제거하기 위해서는 유지방구에 내재하는 80%의 cholesterol을 유지방구에서 분리시킬 수 있는 균질화가 반드시 필요하다. 또한 β -CD는 미생물로부터 추출한 cyclodextrin glycosyltransferase를 이용하여 전분을 분해한 후 재합성하는 방법으로 생산되므로 안전성이 높은 것으로 알려져 있다. β -CD의 독성 실험 결과 β -CD를 mouse에 경구 투여했을 때 LD₅₀ 값이 12,500 mg/kg으로 보고되고 있다. 따라서 β -CD는 식품중의 cholesterol 제거를 위한 적절한 물질로 사료된다. β -CD는 유지방에서 직접 콜레스테롤 제거가 가능하고 5°C 정도의 낮은 온도에서 처리가 가능하여 미생물의 오염에 의한 변패 및 향미 성분의 손실을 최소화할 수 있으며, 처리 비용이 저렴하여 매우 선택적으로 콜레스테롤을 제거할 수 있는 장점이 있다(Weu et al, 1995).



Shape : white powder (crystals)

Mol. wt. : 1135 (C₄₂H₇₀O₃₅)

M. p. : 200°C

Glucose No. : 7

Refractive index : $[\alpha]^{20}_D = +162.5^\circ$ (H₂O, 1%)

Solubility : 1.85 g/100 ml (H₂O, 25°C)

Fig. 2. Chemical structure of β -cyclodextrin.

그리고 β -CD는 우리나라를 위시한 미국, 일본, EU, 러시아 등 전 세계에서 식품 첨가제로 인증되고 있다. 따라서 β -CD는 식품 중의 콜레스테롤 제거를 위한 적절한 물질이라고 사료된다.

β -Cyclodextrin에 의한 Cholesterol 제거

최근에 β -CD를 이용하여 우유 및 유제품에서 cholesterol을 효과적으로 제거한 내용을 구체적으로 살펴보면 다음과 같다. Lee 등(1999)의 연구 결과에서는, β -CD를 이용하여 유지방 함량 3.6% 원유의 콜레스테롤 제거 시, β -CD를 우유의 1% 농도로 첨가하여 교반온도 10°C, 교반시간 10분, 교반속도 800 rpm으로 처리할 경우 94%의 콜레스테롤이 제거된다고 보고하였다. Ahn과 Kwak(1999)은 cream에 β -CD를 사용하여 β -CD의 농도 15%, 교반온도 40°C, 교반시간 20분, 교반속도가 1,200rpm에서 97.8%의 콜레스테롤을 제거할 수 있다고 보고하였다. 그리고 Kwak 등(2001)의 연구 결과에서는 β -CD를 2% 첨가해 원유의 콜레스테롤 제거 후, Mozzarella cheese를 제조한 결과 81.47mg/100g의 콜레스테롤량이 20.15mg/100g으로 감소해 86.05%의 제거율을 보였다. Kwak 등(2003)과 Ahn과 Kwak(1999)이 제조한 cream에서 콜레스테롤을 제거하여 체다 치즈 제조 시 콜레스테롤 제거율이 92%라고 보고하였다. Shim 등(2003)의 연구 결과에서는 제과나 제빵의 데코레이션시 사용되는 유지방 함량이 36% 이상인 휘핑 크림은 콜레스테롤 함량이 100g당 138mg으로 높아 β -CD를 이용하여 콜레스테롤을 제거한 휘핑 크림을 개발하였다. 이 때 β -CD의 농도 10%, 교반시간 20분, 교반속도 800 rpm으로 콜레스테롤을 90% 이상 제거한 크림을 이

용해 휘핑 크림을 제조한 후 안정성을 우수하게 유지하는 것으로 보고되었다. Kwak 등(2003)은 β -CD를 이용해 크림에서 콜레스테롤을 제거하여 Cheddar cheese를 제조하고 혈중 콜레스테롤 저하물질인 phytosterol을 에스테르화 하여 적용한 결과 콜레스테롤 제거율이 92.1%으로 보고되었다. Hwang 등(2005)은 β -CD를 처리해 우유에서, Kim 등(2005)은 체다 치즈에서, Jung 등(2005)은 버터에서 콜레스테롤을 92.7%에서 93.5%까지 제거한 후 EPO(evening primrose oil)의 GLA (gamma linolenic acid) 7%를 첨가해 콜레스테롤 제거 유제품에서 더욱 발전해 혈중 콜레스테롤까지 감소시키는 기능성 우유 및 유제품의 우수성을 입증하였다.

이와 같이 최근에 우유 및 유제품에서 다양한 실험이 수행되면서 β -CD가 콜레스테롤을 제거하는데 효과적이라는 것이 증명되었다. 그러나, β -CD가 실질적으로 산업화에 이용되기 위해서는 문제가 있다. 그래서 β -CD를 1회만 사용한 경우에 경제적으로 문제가 야기되는데, 그 예로 크림(유지방 36%) 1kg(1,800~2,000원)의 콜레스테롤 제거에 100g의 β -CD(2,000원~2,500원)가 소요되어 산업적인 측면에서 이용이 사실상 불가능하다. 또한 우유와 크림에 적용시 분리가 용이하지 않다. 그래서 β -CD를 재활용할 수 있는 연구가 필요하다(Shaw *et al.*, 1984).

β -Cyclodextrin의 재활용

β -Cyclodextrin의 재활용 방법에는 hydrogen inhibitor를 이용한 방법, resin을 이용한 방법, heating 처리에 의한 방법, sodium chloride를 이용한 방법, 유기용매를 이용한 방법 등이 있다. 첫째, hydrogen inhibitor를 이용한 방법은 non- β -CD 물질의 침전을 방지하기 위하여 hydrogen inhibitor를 첨가하여 순수한 β -CD만 침전시키고 crystal 형태로 만들어 회수하는 방법이다. 이 방법은 간단하고 시간이 적게 들며 비용이 저렴하다는 장점이 있으나, Weu 등(1995)은 non- β -CD 물질이 순수한 β -CD와 함께 침전하여 haze를 유발하기 때문에 투명성을 요구하는 제품에 적용하기에는 부적합하다고 지적하였다.

두 번째로 Resin을 이용한 방법은 콜레스테롤 또는 다른 지방류들과 내부 결합한 수용액인 β -CD를 비극성, 다공성 그리고 소수성인 흡착력을 갖는 resin에 통과시켜 콜레스테롤을 흡착시키고 β -CD만 통과시켜 회수하는 방법이다. 이 방법(Nobnyuki *et al.*, 1995)은 resin이 β -CD와의 흡착 또는 결합력이 β -CD가 내부 결합 물질과의 결합력보다 작은 점을 이용한 것으로 β -CD의 회수율이나 경제적 효율성은 높지만 대량 회수하기에는 어려운 점이 있다.

세 번째로 heating 처리에 의한 방법(Mentink *et al.*, 1990)

이 있는데, 이는 β -CD를 물에 희석시켜 고온에서 처리한 후 수용액 층에 있는 β -CD를 냉각처리에 의해 고체형태로 만들어 β -CD와 콜레스테롤을 분리하는 방법으로, 간단하지만 회수량이 적고 회수된 β -CD에 많은 지방이 존재하여 쉽게 오염될 수 있는 문제점이 있다. 네 번째로 sodium chloride를 이용한 방법(Schroder *et al.*, 1990)은, β -CD 수용액에 적정량의 소금을 첨가하여 100°C 이하에서 고온 압력솥을 이용하여 복합체를 분리시키는 방법이다. 그러나 산이나 효소가 β -CD를 파괴시킬 수 있다는 문제점을 고려하면 안전한 방법이지만, 고온처리로 인한 β -CD의 물성 변화를 초래할 수 있는 단점이 있다.

마지막으로 유기 용매를 이용한 방법은, 적정한 용매를 선정하여 온도, 시간, 속도 등의 최적변수를 이용하여 β -CD와 복합체가 된 콜레스테롤을 분리하여 남은 β -CD를 회수하는 방법(Kobayash *et al.*, 1975)이다. 이 방법은 간단하고, 경제적으로 효율성이 있고, 산업적으로 응용하기는 쉽지만, 유기용매의 잔존량이 있어 이를 섭취할 수 없다는 문제점이 있다. 이러한 문제점을 해결할 수 있는 유기용매로는 식품 첨가물로 허가되어 있는 acetic acid와 isopropanol 등이 있다. Kwak 등(2001)의 연구 결과에서는, 크림의 콜레스테롤을 제거하기 위해 사용한 β -CD의 재활용 실험에서 β -CD : 유기용매(acetic acid : isopropanol = 3 : 1) = 1 : 6의 비율로 혼합하여 교반온도 50°C, 교반시간 2시간, 교반속도 100 rpm로 처리한 결과, 콜레스테롤 분리율이 97%로 나타났다고 하였다. 그러나 위에서와 같이 유기용매를 이용하여 β -CD를 재활용할 경우, β -CD가 powder 상태이기 때문에 원심분리해야 하고, 크림에 적용시 분리가 원만하게 되지 않으며, 사용한 β -CD와 사용하지 않은 β -CD를 혼합해 주어야 하는 문제점이 있었다.

유기 용매를 이용한 β -CD의 재활용 방법에서의 문제점을 해결하기 위해 우유 및 유제품의 콜레스테롤 제거에 사용하는 β -CD를 glass beads에 고정화 하는 방법을 최근에 시도 하였다. 이 방법은, β -CD를 고밀도로 집적된 지름 0.2mm 크기의 glass beads에 고정시키는 것이다(Takahashi *et al.*, 1984). 고정체로 glass beads를 사용하는 이유는 고정화 반응을 시키기에 용이할 뿐 아니라, 재활용 시 유기 용매로 씻을 때 아무 문제가 없기 때문이다(Fig. 3). 고정화 β -CD는 매우 안정한 형태로 그 glass beads가 콜레스테롤을 제거하고, β -CD의 재활용이 용이하여 원가가 절감되고 환경오염을 방지할 수 있는 유제품을 개발할 수 있는 기술이다. Kwak 등(2004)의 연구 결과에서는, 우유의 콜레스테롤 제거를 위하여 β -CD : beads(지름 0.2mm) = 1 : 1일 때, 교반온도 5°C, 교반시간 6시간, 교반속도 140 rpm으로 처리했을 경우, 콜레스테롤 제거율이 52%로 낮게 나타났다. 그러나 고정화 β

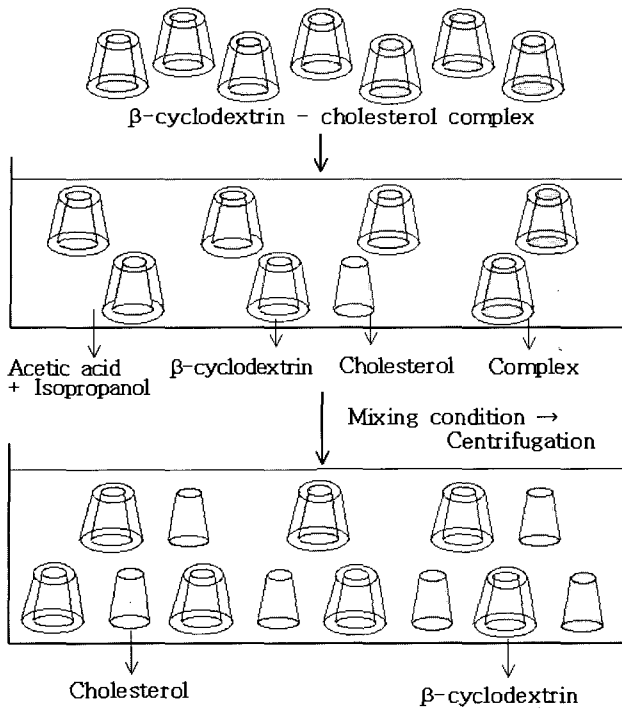


Fig. 3. Schematic illustration of cholesterol dissociation from β -cyclodextrin complex.

-CD 제조에 의한 β -CD의 재활용률은 95%로 매우 높게 나타났다. 이와 같이 고정화 β -CD는 재활용률은 높으나 콜레스테롤 제거율이 낮아서 이를 보완하기 위해 발전된 방법이 β -CD의 가교화(crosslinking)이며, 매우 효과적인 것으로 나타났다.

β -Cyclodextrin의 가교화

고정화의 단점을 해결하기 위한 방법으로 β -CD를 가교화 시키는 방법이 최근에 개발되었다. 식품 산업 분야에서는 전분의 이용 분야를 더욱 확대시키기 위하여 가공 적성에 적합한 성질을 가지도록 전분을 변형시켜 사용하고 있는 추세이며, 이 중 가장 널리 이용되고 있는 방법이 가교화이다 (Kim and Lee, 1996). 가교화란, 전분을 구성하는 분자 내 혹은 인접한 위치에 있는 분자 사이에 화학적 결합을 형성하여 전분의 입자 구조를 강화시키는 방법이다(Wurzburg, 1986). 가교화된 전분은 내열성과 내산성, 내전단성 등의 성질을 갖게 되어 식품 산업에서 증점제 등으로 사용되고 있다(Mun and Shin, 2002). 가교화 반응을 진행시키는 가교제로는 phosphorous oxychloride, epichlorohydrin, sodium trimetaphosphate, formaldehyde, adipic acid 등이 있으며, 이중 epichlorohydrin이 가장 효과가 큰 것으로 알려져 있다(De Miguel, 1999). 그래서 이 가교화 기법을 β -CD에 적용함으로써 우유 및 유제품에서 콜레스테롤을 제거하는 기술을 개발하여 산업화를

위한 연구를 시도하였다.

Kim 등(2004)은 epichlorohydrin으로 가교시킨 β -CD를 이용하여 우유 및 유제품의 콜레스테롤 제거 실험에 이용한 결과, β -CD 자체의 재활용률은 매우 높았으나, 콜레스테롤 제거율이 82%로 나타나 powder β -CD를 이용했을 때보다 제거율이 낮게 나타났다. 뿐만 아니라, epichlorohydrin은 식품 첨가물로의 사용이 적합하지 않기 때문에 식품 산업에 적용할 수 없는 문제점이 있다(Woo *et al*, 2001). 그래서 Han 등(2005)의 연구 결과에서는 위의 Kim 등(2005)의 연구 결과에서의 문제점을 해결하기 위해 가교제로는 식품 첨가물로 허가되어 음료, 냉과, 디저트과자류의 산미료와 보존 향상제로 사용되고 있는 adipic acid를 사용하여 수분 함량이 55%인 비숙성 치즈로 맛이 부드럽고 매끄러우며, 일반 치즈와는 달리 짠맛 대신 약간 신맛이 나고 특유의 고소한 맛이 있어 카나페, 샌드위치, 샐러드드레싱, 디저트, 쿠키, 치즈케이크 등의 재료로 사용되는 크림치즈에서 가교화 β -CD를 이용해 콜레스테롤을 제거하였다 (Kartha and Strivastava, 1985). 원유를 72°C에서 15초 동안 살균하고, 55°C에서 크림 분리하여 유지방 함량 36%의 크림을 생산하고 skim milk를 첨가하여 유지방 함량 11%로 표준화 시켜 크림 치즈를 제조하였다. 제거 최적 조건은 가교화 β -CD 10%, 교반온도 40°C, 교반시간 30분, 교반속도 1,400rpm으로 나타났으며, 콜레스테롤 제거율이 평균 91.42%라고 보고되었다. 그리고 이 크림 치즈와 같은 조건으로 가교화 β -CD를 이용해 콜레스테롤을 제거 후 Blue cheese(Kim *et al*, 2006), Feta cheese(Bea *et al*, 2006), 그리고 Camembert cheese(배현영, 2007)도 성공적으로 개발되었다. Kim 등(2006)은 크림에서 가교화 β -CD를 이용해 콜레스테롤을 제거한 후 혈중 콜레스테롤 저하 물질인 phytosterol 5%를 EPO 3%에 용해하여 버터에 첨가해 콜레스테롤을 제거한 결과 90.0%로 보고하였다.

유제품 이외에도 이 방법의 발전으로 가교화 β -CD를 이용해 lard에서 콜레스테롤을 제거하였다. Lard는 소비량이 아주 많은 소시지와 햄류 제조 시 식품에 이용되는 원료 지방제로서 평균 콜레스테롤 함량이 90~120mg/100g으로 콜레스테롤 함량이 매우 높다. Yen 등(1955)은 lard에서 cholesterol을 효과적으로 제거하기 위해 lard : distilled water=1:3, β -CD 10%를 첨가, 교반온도 50°C, 교반시간 20분, 교반속도 200rpm으로 실험한 결과 cholesterol 제거율이 평균 90%로 보고되었다. 또한 Kim 등(2006)은 교반온도 40°C, 교반시간 10분, 교반속도 150rpm에서 lard : distilled water=1:1로 증류수의 양을 감소시켜 실험에 있어 효율성을 더했으며, 가교화 β -CD 5%를 첨가해 Yen 등(1955)이 β -CD 10%를 사용해 콜레스테롤을 제거한 것보다 적은 양으로 콜레스테롤을 92.32% 줄여 lard에서의 콜레스테롤 제거 조건을 더욱

발전시켰다. 이 같은 lard에서의 콜레스테롤의 감소는 콜레스테롤이 저하된 여러 육가공 제품 개발의 가능성을 시사하였다(Kim *et al.*, 2006). 또 다른 식품으로 계란은 영양분을 골고루 갖춘 완전식품이지만 콜레스테롤 함유량은 1,030mg/100g으로 매우 높아 건강상에 문제를 일으킬 수 있다는 인식이 계란의 소비를 위축시키고 있다고 판단하여, 관련연구에서 Smith 등(1995)은 distilled water : egg yolk = 3 : 1의 배율로 희석하는 방법으로 egg yolk의 cholesterol을 89.2% 감소하였다고 보고하였다. Jung 등(2005)은 교반온도 40℃, 교반시간 30분, 교반속도 800rpm, distilled water : egg yolk = 1 : 1의 최적조건에서 평균 92.70%의 콜레스테롤 제거율을 보였다. 이는 희석액을 최소화하여 더 많은 콜레스테롤을 제거 egg yolk를 제조해 더 높은 이용가치를 시사하였다.

Han 등(2006)의 연구에서 adipic acid를 가교시킨(Fig. 4) β-CD의 재활용에 따른 가교화 특성을 살펴본 결과, powder β-CD의 수율은 재활용 횟수가 증가함에 따라 매우 큰 폭으로 감소하여 4회 재활용 이후에는 실험의 진행에 어려움이 있었다. 그러나 가교화 β-CD의 수율은 9회 재활용할 때까지 90% 이상으로 매우 높은 수준을 유지하였다. 가교화 β

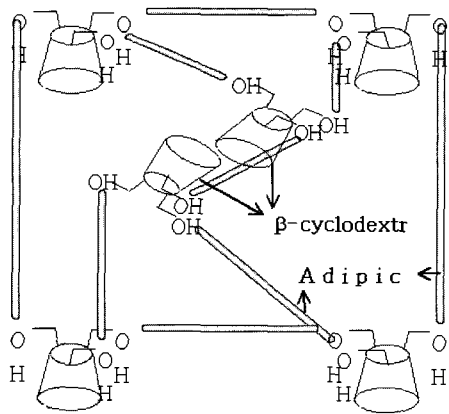
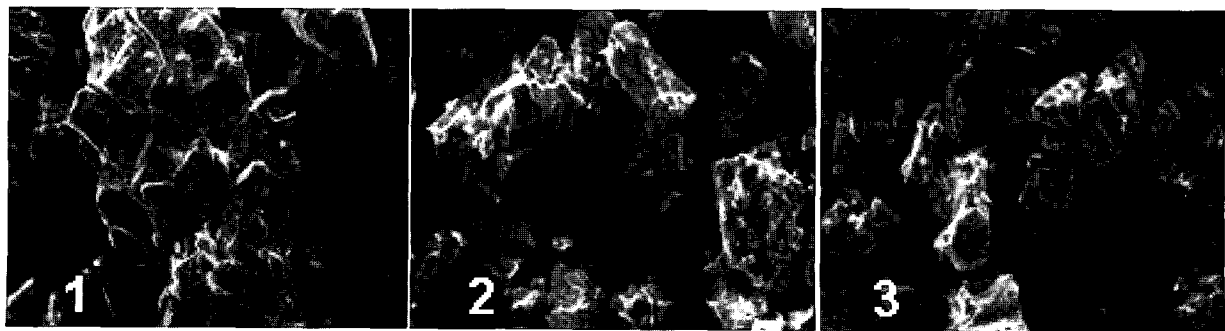


Fig. 4. Mechanism of crosslinking reaction of adipic acid with β-cyclodextrin.

-CD의 구조 역시, 8회 재활용할 때까지는 분자간의 가교결합이 일정하게 유지되다가 9회 재활용부터는 많은 가교결합이 끊겨 powder β-CD 상태로 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 가교화 β-CD 내에 존재하는 콜레스테롤 제거가 가능한 β-CD를 정량한 결과, 8회 재활용할 때까지는 콜레스테롤 제거가 가능한 β-CD가 가교 결합에 의해 거의 변화 없이 유지된다는 것을 확인할 수 있었다(Jung *et al.*, 2005). 가교화 된 β-CD의 재활용의 효율을 주사전자 현미경(JSM-5410LV, JEOL, England)으로 촬영한 결과 가교화 β-CD를 제조한 초기는 가교 결합이 강하게 보여지는 반면 6회 사용 시 많이 약해진 것이 나타났고, 10회시에는 가교화가 거의 풀어진 모습을 보여(Fig. 5) 9회 사용 시 재활용률이 낮아지는 결과를 뒷받침하고 있다. 결론적으로 이와 같이 β-CD의 가교화 기술이 발전되면서 콜레스테롤 제거 기술의 산업화가 가능한 전기를 마련하였다고 할 수 있다.

결론

식생활의 서구화와 섭취뿐만 아니라 기능성까지 고려하는 현재의 식문화 도래는 유제품에 있어서 양질의 원유로 다양한 기능이 첨가된 우유 및 유제품의 생산을 요구하게 되었다. 유제품의 소비가 증가함에 따라 그에 내재한 관상동맥 질환 등의 원인이 되는 콜레스테롤을 제거하고 이를 이용해 다양한 기능성 우유 및 유제품을 생산하는 것은 중요한 일이다. 기존의 다양한 콜레스테롤 제거 방법 중 adipic acid로 가교시킨 β-CD를 이용해 콜레스테롤을 선택적으로 제거하고 이의 재활용이 가능하며, 우유 및 유제품의 콜레스테롤을 90% 이상 제거 후 이를 이용해 다양한 콜레스테롤 저하 기능성 우유 및 유제품들을 개발할 수 있는 가능성을 시사하였다. 특히 β-CD의 재활용률이 매우 높게 나타난 것은, 이를 육가공 산업에 적용 시, 환경오염 방지나 비용 절감에 있어서 경제적인 효율성은 물론 제품의 품질 향상도 높아질 것이라고 사료된다.



1 : First time recycling 2 : Sixth times recycling 3 : Tenth times recycling

Fig. 5. Scanning electron microscope(SEM) of crosslinked β-cyclodextrin by adipic acid (15kv × 750)

참고문헌

1. Ahn, J. and Kwak, H. S. (1999) Optimizing cholesterol removal in cream using β -cyclodextrin and response surface methodology. *J. Food Sci.* **64**, 629-632.
2. Bea, H. Y., Kim, H. Y., Jung, T. H., and Kwak, H. S. (2006) Effects of crosslinked β -cyclodextrin treatment on cholesterol removal, and chemical and sensory properties in Feta cheese. *J. Dairy Sci.* **89**, Suppl.1.W34.
3. Biss, K., Ho, K. J., Mikkeisen., B. B., Lowis., L., and Taylor, C. H. (1971) Some unique biological characteristics of the Maasai of east Africa. *N. Engl. J. Med.*, **284**, 694-699.
4. Bogin, E. (1991) Low cholesterol eggs. Proceeding of the 4th European symposium on the quality of eggs products. **97**.
5. Chang, E. J., Oh, H. I., and Kwak, H. S. (2001) Optimization of cholesterol removal conditions from homogenized milk by treatment with saponin. *Asian-Aust. J. Animal Sci.* **14**, 844-849.
6. Chin, P. Y. and Chein, S. S. (1990) Methods of recovering and separation water-soluble cyclodextrin from cyclodextrin formation liquid. U. S Patent 4970164.
7. De Miguel, I., Rieumajou, V., and Betbeder, D. (1999) New methods to determine the extent of reaction of epichlorohydrin with maltodextrins. *Carbohydrate Research.*, **319**, 17-23.
8. Glodstein, J. L. and Brown, M. S. (1977) The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Annu. Rev. Biochem.* **46**, 897-930.
9. Han, E. M., Kim, S. H., Kim, K. W., and Kwak, H. S. (2006) Recycling efficiency of crosslinked β -cyclodextrin in milk and cream. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* (submitted)
10. Han, E. M., Kim, S. H., Ahn, J., and Kwak, H. S. (2005) Cholesterol removal from homogenized milk with crosslinked β -cyclodextrin by adipic acid. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **18**, 1794-1799.
11. Hedges, A., Shieh W., and Ameral, R. (1993) Process for removal of residue of cyclodextrin. Australia Patent WO 93/24022.
12. Hwang, J. H., Lee, S. J., and Kwak, H. S. (2005) Change of properties and cholesterol lowering effect in evening primrose oil-added and cholesterol-reduced milk. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **18**, 1041-1047.
13. Jung, T. H., Park, H. S., and Kwak, H. S. (2005) Optimization of cholesterol removal by crosslinked β -cyclodextrin in egg yolk. *Food Sci. Biotechnol.* **14**, 793-797.
14. Jung, T. H., Kim, J. J., Yu, S. H., Ahn, J., and Kwak, H. S. (2005) Properties of cholesterol-reduced butter and effect of gamma linolenic acid added butter on blood cholesterol. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **18**, 1646-1654.
15. Kartha, K. P. R., and Srivastava, H. C. (1985) Reaction of epichlorohydrin with carbohydrate polymer II. *Starch.* **37**, 297-301.
16. Kim, H. S. and Lee, Y. E. (1996) Influence of crosslinking on gelatinization behavior and morphological change of potato starch. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **28**, 580-586.
17. Kim, H. Y., Bea, H. Y., Kim, S. Y., and Kwak, H. S. (2006) Removal of cholesterol from Blue cheese by crosslinked β -cyclodextrin. *J. Dairy Sci.* **89**, Suppl. 1. W34.
18. Kim, J. J., Jung, T. H., Ahn, J., and Kwak, H. S. (2006) Properties of cholesterol-reduced butter made with β -CD and added evening primrose oil and phytosterols. *J. Dairy Sci.* **89**, 4503-4510.
19. Kim, J. J., Yoo, S. H., Ahn, J., Jeon, W. M., and Kwak, H. S. (2005) The effect of evening primrose oil on chemical properties and lowering blood cholesterol in nutraceutical Cheddar cheese. *Arch. Pharm. Res.* **19**, 450-458.
20. Kim, S. H., Ahn, J., and Kwak, H. S. (2004) Crosslinking of β -cyclodextrin on cholesterol removal from milk. *Arch. Pharm. Res.* **27**, 1183-1187.
21. Kim, S. H., Han, E. M., Ahn, J., and Kwak, H. S. (2005) Effect of crosslinked β -cyclodextrin on quality of cholesterol-reduced cream cheese. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **18**, 584-589.
22. Kim, S. H., Kim, H. Y., and Kwak, H. S. (2006) Cholesterol removal from lard with crosslinked β -cyclodextrin. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* (submitted).
23. Kobayash, S., Kainuma, K., and Suzuki, S. (1975) Cyclodextrin-production and utilization of cyclodextrin. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.* **28**, 132-141.
24. Kosikowski, F. V. (1990) "Cholesterol-Free" milk and milk products : limitations in production and labeling. *Food Technol.* **11**.
25. Kwak, H. S., Chung, C. S., and Ahn, J. (2002) Flavor compounds of cholesterol-reduced Cheddar cheese slurries.

- Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **15**, 117-123.
26. Kwak, H. S., Jung, C. S., Seok, J. S., and Ahn, J. (2003) Cholesterol removal and flavor development in Cheddar cheese. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **16**, 409-416.
27. Kwak, H. S., Kim, S. H., Kim, J. H., Choi, H. J., and Kang, J. (2004) Immobilized β -cyclodextrin as a simple and recyclable method for cholesterol removal in milk. *Arch. Pharm. Res.* **27**, 873-877.
28. Kwak, H. S., Nam, C. G., and Ahn, J. (2001) Low cholesterol Mozzarella cheese obtained from homogenized and β -cyclodextrin-treated milk. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **14**, 268-275.
29. Kwak, H. S., Suh, H. M., Ahn, J., and Kwon, H. J. (2001) Optimization of β -cyclodextrin recycling process for cholesterol removal in cream. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **14**, 548-552.
30. Lee, D. K., Ahn, J., and Kwak, H. S. (1999) Cholesterol removal from homogenized milk with β -cyclodextrin. *J. Dairy Sci.* **82**, 2327-2330.
31. Lee, J. S., Ustunol, Z., and Smith, D. M. (1993) Cholesterol removal from cream β -cyclodextrin and derivatives. *J. Dairy Sci.* Abs. 158.
32. Levy, R. I. (1981) Cholesterol, lipoproteins, apoproteins, and heart disease : present status and future prospects. *Clin. Chem.*, **27**, 653-662.
33. Mentink, L., Serpelloni, M., Roquette, F. (1990) Process of refining mixture obtained from treatments of fatty media with cyclodextrin and containing complexes of cyclodextrin mainly with lipophilic substances other than fatty acids. Canadian Patent 90/01007.
34. Mun, S. H. and Shin, M. S. (2002) The effects of annealing on resistant starch content of cross-linked maize starches. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **34**, 431-436.
35. Nobnyuki, N. M., Mishima, Y., and Hideyuki, S. (1995) Method for recovering cyclodextrin. U. S. Patent. 544 9771.
36. Patington, J. S. (1986) Beta-cyclodextrin. *Perfumer & Flavorist*.
36. Patington, J. S. (1987) β -cyclodextrin (the success of molecular inclusion). *J. Br. Chem.* **452**.
37. Pyorala, K. (1987) Dietary cholesterol in relation to plasma cholesterol and coronary heart disease. *Am. J. Chem. Nutr.* **45**, 1176-1184.
38. Schroder, B. G. and R. J. Baer. (1990) Utilization of cholesterol-reduced milk fat in flued milks. *Food Technol.* **16** : 342-347.
39. Shaw, P. E., Tatum, J. H., and Wilson, C. W. (1984) Improved flavor of navel orange and grapefruit juices by removal of bitter components with β -cyclodextrin polymer. *J. Agric. Food Chem.* **32**, 832-836.
40. Shim, S. Y., Ahn, J., and Kwak, H. S. (2003) Functional properties of cholesterol-removal whipping cream treated by β -cyclodextrin. *J. Dairy Sci.* **86**, 2767-2772.
41. Shukla, A., Bhaskar, A. R., Rizvi, S. H., and Mulvaney, S. J. (1994) Physicochemical and rheological properties of butter made from supercritically milk fat. *J. Dairy Sci.* **77**, 45-54.
42. Sidhu, G. S., Oakenfull, D. G., and Rooney, M. L. (1993) Composition and method for reducing cholesterol concentration. Australia Patent WO 93/05084.
43. Sieber, R. (1993) Cholesterol removal from animal food - can it be justified. *Fed. Dairy Res. Inst.* **45**, 1243-1247.
44. Smith, D. M. and Bennink, J. L. (1995) Cholesterol reduction in liquid egg yolk using β -cyclodextrin. *J. Food Sci.* **60**, 691-694.
45. Takahashi, K., Hattori, K., and Toda, F. (1984) Monosylated and β -cyclodextrin prepared in an alkaline aqueous solution. *Tetrahedron Lett.* **25**, 3331-3334.
46. Weu, S., Timothy, C. P., and Allan, H. C. (1995) Cyclodextrin refining process. U. S. Patent 5393880.
47. Woo, K. S., Hong, J. Y., and Lim, S. T. (2001) Physical properties of reversibly swellable cross-linked wheat starch. *Food Eng. Prog.* **5**, 25-28.
48. Wurzburg, O. B. (1986) Cross-linked starches. *Modified starches.* **6**, 41-53.
49. Yen, G. and L, Tasi (1995) Cholesterol removal from a lard-water mixture with β -cyclodextrin. *J. Food Sci.* **60**, 561-564.
50. 배현영 (2006) 콜레스테롤 저하 Camembert cheese 숙성 및 저장 기간 동안의 이화학적 및 관능적 특성에 관한 연구. 세종대학교 석사학위 논문.