

Conjugated Linoleic Acid 급여 뱀장어(*Anguilla japonica*) 지질의 산화안정성

최병대^{1*} · 강석중¹ · 하영래² · 김소영³ · 이재준⁴

¹경상대학교 해양생물이용학부/해양산업연구소, ²경상대학교 환경생명식품공학부
³진주국제대학교 식품과학부, ⁴조선대학교 식품영양학과

Oxidative Stability of Lipids from Eel (*Anguilla japonica*) Fed Conjugated Linoleic Acid

Byeong-Dae Choi^{1*}, Seok-Joong Kang¹, Young-Lae Ha², So-Young Kim³ and Jae-Jun Lee⁴

¹Division of Marine Bioscience/Institute of Marine Industry,
Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea

²Division of Applied Life Science/Institute of Agriculture and Life Science,
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

³School of Food Science, Jinju International University, Jinju 660-759, Korea

⁴Dept. of Food & Nutrition, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract

The oxidative stability of lipids from eel (*Anguilla japonica*) fed diets containing different concentrations of conjugated linoleic acid (CLA) was studied. Eels, 3 weeks of age, with an average weight of 160 g, were randomly divided into 5 groups (5 fishes/group) by body weight, and assigned to one of the five CLA-supplemented diets at the following concentrations: 0, 0.5, 1.0, 2.5, and 5.0% CLA. After 8 weeks of feeding, eels were sacrificed and the total lipid contents were extracted. The lipids from each treatment groups were stored at 37°C for 5 weeks. Changes in the fatty acid profile, lipid class, weight gained, peroxide value (POV), and carbonyl value (COV) of the lipid from each treatment groups were analyzed weekly. The composition of CLA in the lipids of eels fed with 0.5, 1.0, 2.5, and 5.0% CLA-supplemented diets were 0.5, 1.7, 3.3, and 6.2%, respectively. After 4 weeks of storage, the proportion of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in the lipid of eels fed diets containing 1.0 and 2.5% CLA were 15.3 and 14.8%, respectively. Whereas, lipid extracted from eels fed with 0.5 and 5.0% CLA-supplemented diets contain 11.8 and 7.4% PUFAs, respectively. Lipid from the control sample contained 9.0% PUFAs. POV and COV were found to be the lowest in the lipids samples from 1.0 and 2.5% CLA diets. These results indicate that lipids from diets containing 1.0 or 2.5% CLA were more stable against oxidative rancidity relative to other concentrations, suggesting that these are the appropriate CLA concentrations for the production of stable eel lipids.

Key words: eel, lipid, conjugated linoleic acid, antioxidant, POV, COV

서 론

CLA(conjugated linoleic acid)는 동물성 지질로부터 추출된 물질이며, 인간의 필수지방산인 linoleic acid(C18:2n-6)의 이성체이다. CLA는 1987년 Ha 등(1)이 c9,c11-, t9,c11-t9,t11-, c10,c12-, t10,c12- 및 t10,t12-CLA 등 8개 이성체 혼합물을 종합적으로 CLA라 명명하였다. 화학적으로 linoleic acid로부터 합성한 CLA는 c9,t11-CLA 이성체와 t10,c12-CLA 이성체가 각각 48% 정도로 합성되며, 나머지는 미량으로 함유되어 있다. 합성된 CLA는 항암 효과, 면역증강 효과, 항산화 작용, 항콜레스테롤 효과, 체지방 감소효과, 성장 인자, 항균 효과 등을 보이고 있다(2,3).

CLA는 인체 내에 존재하는 물질로 안정성이 증명되어 있으나, 항산화 작용에 대해서는 여전히 논란이 되고 있다(4,5). 구조상 CLA는 전형적인 항산화성을 가질 수 없다. 그러나 CLA를 먹이로 한 연구에서는 조직의 POV, TBA 치를 측정할 경우 항산화력이 있는 것으로 보고되고 있다(6). *In vitro*에서는 CLA가 산화되면서 항산화성이 있는 구조(β -hydroxy acrolein)로 변형되는 것으로 생각되고 있다(2). 또한 Yurawecz 등(6)은 CLA가 산화되는 동안 furan형으로 되어 생체 내에 존재하는 기질이 O₂에 대해 경쟁을 하는 것으로 보고 있다. 이러한 일련의 연구에서 정확한 원인이 구명되지 않았지만 CLA가 생체막 지질에 포집됨으로서 불포화지방산의 함량이 다소 감소하기 때문에 저장성이 증가하

*Corresponding author. E-mail: bdchoi@gsnu.ac.kr
Phone: 82-55-640-3173. Fax: 82-55-648-2038

는 것으로 생각되어진다.

그러나 포유동물과는 달리 어류 및 어육제품에는 이들 CLA 함량이 극히 적어 무시할 정도인 0.1~0.9 mg/g fat 정도 밖에 되지 않는다(7,8). 어류 소비량이 많은 우리나라 사람들로 부터는 CLA 섭취에 의한 기능성 증강효과를 기대할 수 없다. 우리나라에서 다량 소비되는 뱀장어는 강이나 저수지, 도랑, 늪 등지에 주로 서식하는 회유성 어류로 민물에서 살다가 심해로 가서 알을 낳고, 난류를 따라 이동하며 담수생활을 한다. 우리나라에서는 2~5월에 남해와 서해에서 많이 잡히고 있다(9). 특히, 뱀장어에 있는 지질은 참치에 버금 갈 정도로 많으며 질이 좋은 불포화지방산으로 구성되어 모세혈관을 튼튼하게 해주어 우리 몸에 활력을 넣어 주는 효과가 있다고 알려져 있다(10).

특히, 최근 참살이의 영향으로 수산식품에 대한 관심이 높아지면서 수산지질 특히 DHA, EPA와 같은 기능성 지질에 대한 소비가 증가되고 있다. 그리고 건강기능식품 기준규격 확대품목의 하나로 CLA가 건강기능식품 개별인정형으로 추진됨에 따라 CLA의 소비가 급증할 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 한국인의 식습관상 어류를 많이 섭취하고 있다는 점을 고려하여 CLA를 어류에 급이하여 고기능성 식품을 선호하는 국내 소비자들의 기호를 충족시킬 수 있는 기능성 어류를 생산하여 국민 건강에 기여하고자 한다.

재료 및 방법

시약

항산화 실험에 사용된 크로로포름(chloroform), 헥산(n-hexane), 디에틸에테르(diethyl ether), 메탄올(methanol) 등은 Fisher Scientific Ltd.(Korea)의 제품을 사용하였고, 대두유는 시중에서 판매되는 것을 사용하였다. 2,4-디니트로페닐하이드라진(2,4-DNPH), 황산(H_2SO_4), 빙초산(acetic acid), 개미산(formic acid), 트리클로로아세트산(trichloroacetic acid) 등의 시약은 Junsei Chemical Co.(Japan)의 제품을 사용하였으며 그 외의 시약은 특급을 사용하였다.

재료

CLA 함유 어류지질을 만들기 위하여 지질의 함유량이 높은 뱀장어(*Anguilla japonica*)를 사용하였다. 실험에 사용된 뱀장어는 무게 160 g으로 한 실험구당 5미씩 넣은 수조에서 8주간 사육하였다. 사육장치는 유수식을 겸한 순환여과식 사육장치로 보충수의 지속적인 첨가에 의하여 어류의 배설물이 즉시 사육조 밖으로 유출될 수 있도록 하였다. 실험에 사용된 뱀장어의 식이조성은 Table 1에 나타내었고, CLA는 대두유를 이용하여 alkaline isomerization 방법으로 합성하였으며(11), CLA 함량이 0%, 0.5%, 1.0%, 2.5% 및 5.0%가 되도록 첨가하였다. 8주 후 실험어로부터 지질을 추출하여 농축한 후 37°C에 저장하면서 1주 간격으로 산화에 관련된 실험을 하였다.

Table 1. Composition of basal diet and experimental diets

Ingredient	Amount (%)
Basal diet (BD)	
Fish meal ¹⁾	51.0
Soybean meal	6.0
Flour	15.0
α -Starch	9.0
Yeast	1.0
Vitamin mix ²⁾	2.0
Mineral mix ³⁾	1.0
Experimental diet ⁴⁾	
Control	BD+15.0% soybean oil
CLA 0.5%	BD+0.5% CLA+14.5% soybean oil
CLA 1.0%	BD+1.0% CLA+14.0% soybean oil
CLA 2.5%	BD+2.5% CLA+12.5% soybean oil
CLA 5.0%	BD+5.0% CLA+10.0% soybean oil

¹⁾Fish meal: crude protein 45%, crude fat 5%, crude fiber 3%, ash 16%, P 1.8%, Ca 1.5%, moisture 15%.

²⁾Vitamin mixture (mg/kg diet): thiamin HCl, 2,000; riboflavin, 2,000; D-calcium panthothenate, 5,000; biotin, 10; folic acid, 500; vitamin B₁₂, 5; niacin, 10,000; pyridoxine HCl, 2,000; ascorbic acid, 1,000; inositol, 5,000; choline chloride, 55,000; DL-carnitine, 10,000; vitamin A, 500,000 IU; vitamin D₃, 100,000 IU; vitamin E, 5,000 IU; vitamin K₃, 1,000.

³⁾Mineral mixture (mg/kg diet): manganese, 50; iron, 60; zinc, 120; copper, 25.

⁴⁾CLA was chemically synthesized from soybean oil by alkaline isomerization according to the method of Kim et al. (11).

총 지질의 추출 및 methyl ester화

실험어로부터 지질의 추출은 Bligh와 Dyer(12) 방법에 따랐고, CLA의 지방산 유도체화는 Park 등(13)의 방법으로 조제하였다. 즉, 시료 일정량과 내부표준물질($C_{23:0}$ methyl ester) 1 mL(100 mg $C_{23:0}$ /100 mL chloroform)를 cap tube에 취하고, 1.0 N KOH/ethanol 용액 1.5 mL를 가하여 질소 충전한 다음 100°C에서 5분간 가열하여 검화하였다. 방냉 후 1.0 N H_2SO_4 -methanol 3.0 mL를 가한 후 질소 충전한 다음 tube의 뚜껑을 닫고 55°C에서 5분간 가열하여 methyl ester화 하였다. 실온으로 냉각한 후 hexane 1.0 mL를 첨가하고 질소 충전한 다음 30초간 vortex mixer로 혼합하였다. Hexane 층을 시료 병에 옮긴 후 다시 hexane 1.0 mL를 첨가한 다음 흔들어 재 추출한 다음 Na_2SO_4 로 수분을 제거하여 지방산 methyl esters 시료로 하였다.

GC에 의한 지방산조성의 분석

지방산 분석에 사용된 GC는 Omegawax-320 모세관칼럼 (30 m×0.32 mm, i.d., Supelco Co., PA, USA)을 붙인 Shimadzu GC 14A를 이용하였다. 분석조건은 컬럼온도 185°C~230°C(3°C/min), injector 250°C, detector 260°C 그리고 carrier gas는 He(1.0 kg/cm²)를 사용하였다. 지방산의 분석은 동일조건에서 분석한 표준품의 ECL과 비교하여 동정하였으며, CLA의 동정은 Choi 등(14)의 방법에 따라 비교하였다.

중성지질의 class별 조성

중성지질의 class 조성의 분석은 TLC/FID analyzer (Iatron GLC Laboratory Inc., Tokyo, Japan)을 이용한 Oh-

shima와 Ackman의 방법(15)에 준하여 행하였다. 즉, 충분히 활성화시킨 실리카 칼럼(Chromarod SIII, Iatron Laboratory Inc., Tokyo, Japan)에 시료주입기(Drummond Scientific Co., USA)를 사용하여, 적당한 농도로 조제한 시료의 chloroform용액(1 g/100 mL) 1 mL를 주입하였다. 중성지질 분석의 경우, 전개용매로서 n-hexane:diethyl ether:formic acid(97:3:1, v/v/v) 혼합용매를 사용했고, 전개시간은 35분간으로 하였다.

중량증가에 의한 산소소비량 측정

각 시료에 대해 중량증가 실험은 Olcott와 Einset의 방법(16)에 의해 실시하였으며, 시간의 경과에 따른 중량의 차이를 알아보기 위한 것으로, 온도를 사람의 체온과 유사한 약 37°C에서 23일 정도 저장하면서 무게의 변화를 측정하기 위한 것이다. 중량 증가 실험용 petri dish에 시료 1 g을 담아서 무게를 측정된 뒤 37°C incubator에 넣어서 24시간 저장하였다. 저장 기간은 전체 중량의 0.4%가 증가될 때까지로 하였고, triplicate로 실험하여 평균값을 얻었다.

과산화물가(peroxide value) 측정

시료별 추출 지질을 37°C의 incubator에서 보관하면서 일주일 간격으로 AOCS 법(17)으로 POV를 측정하였다. 각 시료를 0.5 g을 정확하게 채취한 다음 chloroform:acetic acid (2:3, v/v)를 35 mL를 넣은 후 포화 KI용액 1 mL를 넣고 질소로 치환하였다. 그런 다음에 뚜껑을 닫은 후 1분간 손으로 흔든 후 5분 동안 상온·암소에서 보관하였다. 5분이 지나면 75 mL씩 증류수를 넣고 뚜껑을 닫은 후 1분간 손으로 격렬히 진탕시켰다. 이렇게 진탕시킨 용액에 5% 전분용액을 스포이드로 5~10방울 넣은 후 0.01 N Na₂S₂O₃ 용액으로 적정하였고, triplicate로 실험하여 평균값을 얻었다.

카아보닐가(carbonyl value) 측정

시료별 추출 지질을 37°C의 incubator에서 보관하면서 일주일 간격으로 Henick 법(18)에 의한 COV를 측정하였다. 100 mL의 마개 달린 삼각 flask에 각 시료를 50 µL씩 넣고, carbonyl free benzene 5 mL, 0.05% 2,4-DNPH benzene 5 mL와 4.3% TCA benzene 3 mL를 넣는다. 60°C water bath에서 60분간 중탕한 후 실온에서 식힌다. 그런 다음 4% KOH-ethanol을 10 mL를 넣어 발색시킨 후, 약 10분간 실온 방치하였다. 440 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였고, triplicate로 실험하여 평균값을 얻었다.

통계처리

뱀장어 육에서 추출한 지질의 저장에 따른 지방산 조성 및 지질조성의 변화에 대한 표준편차 및 유의성 검정은 JMP 통계 프로그램(19)으로 실시하였다.

결과 및 고찰

시료의 지방산 조성

뱀장어 지질 저장 중 지방산 조성 및 CLA 함량의 변화를

Table 2에 나타내었다. 대조구의 포화, 모노엔산 및 불포화산의 함량은 27.4%, 48.7% 및 22.1%이었다. 사육 8주 동안 제조된 사료를 급여한 결과 0.5%, 1.0%, 2.5% 및 5.0% CLA 급여구의 지방산에 함유된 CLA 함량은 각각 0.5%, 1.7%, 3.3% 및 6.2%로 나타나 CLA 공급이 많을수록 축적되는 CLA 함량은 증가하는 것으로 나타났다. Table 1에 나타난 바와 같이 사료 중에 첨가된 대두유의 함량은 5.0%이었으며, 대두유를 이성화시켜 CLA를 제조하였을 때 56%의 CLA가 형성되는 것으로 나타났다. 그러나 Choi 등(14)과 Takeuchi와 Watanabe(20)의 연구결과에서 보고된 것처럼 사료 중 유리 지방산의 함량이 높으면 성장을 저해하는 경향을 나타내므로 CLA 첨가량의 결정은 어종 및 목적에 따라 달라져야 할 것으로 여겨진다.

어류, 단위동물, 식물제품 중에는 CLA 함량이 매우 낮은 반면 반추동물인 소나 양이 생산하는 유제품 등에는 그 함량이 높다(7). 생체 내에서 수소화에 의해 linoleic acid가 stearic acid로 될 때 CLA는 반추동물의 첫째 위에서 장내세균인 *Butyrivibrio fibrisovens*에 의해 중간물질로서 생성된다(8). 따라서 인간의 혈액이나 다른 조직, 우유와 같은 식품으로부터 섭취하게 되면 그 함량이 매우 낮을 수밖에 없다(21).

저장 중 대조구의 경우 불포화산의 함량은 22.1%에서 3주 후 13.7%로 감소하기 시작하여 5주 후 6.2%로 급격히 감소하였으며 이에 따라 포화 및 모노엔산의 함량은 증가하는 경향이 있었다. 0.5% CLA 급여구의 경우 뱀장어 지질 중 CLA 함량은 0.5%를 유지하였고 저장 중에도 CLA의 변화는 거의 없었다. 이 정도의 농도에서는 뱀장어 지질의 산화억제에 영향을 미치지 않는 것으로 여겨진다. 포화산은 29.2%, 모노엔산은 49.7%, 불포화산은 19.1%에서 4주 후부터 불포화산의 함량은 각각 11.8%, 7.4%로 감소하였고, 모노엔산은 각각 53.9%, 56.1%로 증가하였다.

1.0% 및 2.5% CLA 급여구는 뱀장어 지질 중 축적되는 비율이 높아 1.7% 및 3.3%로 나타났다. 이들 두 급여구의 경우 저장 4주 후까지 1.5% 및 2.6%를 유지하였으며, 5주 후부터 함량이 감소하여 각각 1.0% 및 1.5%로 나타났다. 동시에 불포화산의 함량은 각각 11.4% 및 11.1%로 다른 구에 비하여 모노엔산 및 포화산의 증가가 적었다. 이로 미루어 볼 때 뱀장어의 경우 1.0%~2.5% 정도의 첨가가 있어야 지방산의 산화를 억제할 수 있는 것으로 여겨진다. 5.0% CLA 급여구의 경우 지질 축적량은 6.2%로 제일 높았으나, 저장 3주 후부터 CLA 함량이 줄어들어 3.9%, 4주 후 1.9%, 5주 후에는 1.0%이었으며, 모노엔산과 포화산의 함량이 증가되어 저장기간의 연장에 따라 급격히 산화가 진행되는 것으로 나타났다.

Yang 등(22)은 닭에게 2% CLA가 함유된 사료를 26일 동안 급여하고 얻은 달걀을 0~4°C 냉장고에 6개월간 보관한 후 막 얻어진 시료와 비교한 결과 스테아르산(C18:0)은 감소, 올레산(C18:1n-9)과 리놀레산(C18:2n-6)은 증가하였지

Table 2. Changes in fatty acids composition and CLA of eel lipid during the storage at 37°C for 5 week

Diets	Fatty acid composition (wt %)	Storage period (week)				
		0	1	3	4	5
Control	Saturates ¹⁾	27.4±1.4 ^{c5)}	28.2±1.3 ^c	29.8±1.6 ^{bc}	33.2±1.6 ^{ab}	34.2±1.5 ^a
	Monoenes ²⁾	48.7±1.6 ^b	49.7±1.6 ^{ab}	54.1±1.1 ^{ab}	54.9±1.3 ^{ab}	56.6±2.2 ^a
	Polyenes ³⁾	22.1±0.7 ^a	20.3±0.9 ^a	13.7±0.9 ^b	9.0±0.6 ^c	6.2±0.6 ^d
	CLA ⁴⁾	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.5% CLA	Saturates	29.2±1.4 ^b	29.6±1.4 ^b	30.1±1.4 ^{ab}	31.3±1.5 ^{ab}	33.7±1.4 ^a
	Monoenes	49.7±1.2 ^a	49.6±1.5 ^a	50.7±1.4 ^a	53.9±1.9 ^a	56.1±1.9 ^a
	Polyenes	19.1±0.4 ^a	18.5±0.2 ^a	17.1±0.5 ^b	11.8±0.6 ^c	7.4±0.4 ^d
	CLA	0.5±0.1 ^a	0.5±0.1 ^a	0.4±0.1 ^{ab}	0.3±0.1 ^{bc}	0.2±0.0 ^c
1.0% CLA	Saturates	30.1±1.9 ^a	29.7±1.4 ^a	30.8±0.7 ^a	30.3±1.5 ^a	32.2±1.0 ^a
	Monoenes	50.7±1.5 ^a	51.0±1.3 ^a	51.2±1.1 ^a	51.6±1.3 ^a	53.7±1.3 ^a
	Polyenes	16.0±0.7 ^a	16.1±0.5 ^a	15.2±0.7 ^a	15.3±0.2 ^a	11.4±0.6 ^a
	CLA	1.7±0.1 ^{ab}	1.7±0.1 ^a	1.5±0.1 ^b	1.5±0.1 ^{ab}	1.0±0.1 ^c
2.5% CLA	Saturates	30.3±1.8 ^a	30.1±1.8 ^a	30.3±1.9 ^a	31.5±1.3 ^a	33.3±1.8 ^a
	Monoenes	47.7±1.3 ^a	48.3±1.6 ^a	48.2±1.2 ^a	49.5±1.3 ^a	51.8±1.3 ^a
	Polyenes	17.2±0.7 ^a	17.1±0.3 ^a	16.8±0.6 ^a	14.8±0.5 ^b	11.1±0.1 ^c
	CLA	3.3±0.2 ^a	3.1±0.2 ^a	3.1±0.1 ^a	2.6±0.1 ^b	1.5±0.1 ^c
5.0% CLA	Saturates	30.3±1.5 ^c	29.8±0.1 ^c	31.6±1.8 ^{bc}	35.0±1.9 ^{ab}	37.4±1.5 ^a
	Monoenes	47.0±1.7 ^a	47.9±1.7 ^a	50.7±1.7 ^a	52.9±1.8 ^a	53.7±1.8 ^a
	Polyenes	15.1±0.4 ^a	14.9±0.7 ^a	11.4±0.6 ^b	7.4±0.8 ^c	5.3±0.9 ^d
	CLA	6.2±0.6 ^a	5.8±0.1 ^a	3.9±0.2 ^b	1.9±0.1 ^c	1.0±0.2 ^d

¹⁾Includes 14:0, 15:0 iso, 15:0, 16:0 iso, 16:0, 18:0, 19:0 and 20:0.

²⁾Includes 14:1n-7, 16:1n-9, 16:1n-7, 16:1n-5, 18:1n-9, 18:1n-7, 18:1n-5, 20:1n-11, 20:1n-9, 20:1n-7 and 22:1n-7.

³⁾Includes 16:2n-4, 16:4n-3, 18:2n-6, 18:2n-4, 18:3n-4, 18:3n-3, 18:3n-1, 18:4n-3, 18:4n-1, 20:2n-6, 20:3n-6, 20:4n-6, 20:3n-3, 20:4n-3, 20:5n-3, 22:5n-6, 22:5n-3 and 22:6n-3.

⁴⁾Includes c9,t11-CLA, t10,c12-CLA, c9,c11-CLA, c10,c12-CLA, t10,t12-CLA and t9,t11-CLA.

⁵⁾Values with different superscripts within the same row are significantly different at $\alpha=0.01$ level by Duncan's multiple range test.

만, 160~180°C에서 40초간 튀겼을 때도 큰 변화는 없었다고 하였다.

중성지질의 class 조성

뱀장어는 약 20%의 지질을 함유하고 있으며, 이 지질의 63%는 불포화지방산으로 구성되어 있어 불포화지질의 좋은 공급원이다(23). 예로부터 뱀장어는 강장식품으로도 알려져 있어 널리 식용되어 있으며, 최근 포화 지방산의 과잉 섭취에 의한 성인병에 관심이 높아지면서 불포화 지방산 및 n-3 고도 불포화 지방산 함유 식품에 대한 평가가 새로이 정립되고 있다(24).

뱀장어로부터 추출한 지질의 class 조성을 Table 3에 나

타내었다. 뱀장어 지질은 많은 중성지질(TG)과 소량의 인지질(PL)로 구성되어 있었으며, 각 시료구의 중성지질 함량은 대조구 및 0.5% CLA 급여구가 각각 99.1%, 1.0% 및 2.5% CLA 급여구는 98.4% 및 98.8%인 반면, 5.0% CLA 급여구는 96.8%였다. 인지질의 함량은 0.9%~3.2%로 5.0% CLA 급여구가 가장 높았다. 저장 중의 변화를 살펴보면, 대조구, 0.5% 및 5.0% CLA 급여구는 저장 4주째부터 중성지질의 함량이 급속히 감소하여 각각 45.7%, 58.4% 및 45.8%였으며, 5주 후에는 중성지질의 함량이 더욱 감소하여 36.1%, 39.9% 및 42.2%로 낮아졌다. 그러나 1.0% 및 2.5% CLA 급여구는 중성지질의 함량이 4주까지 98.2% 및 97.5%였으며, 5주 후 각각 46.1% 및 35.7%로 낮아졌지만 Table 2의 지방산 조성결

Table 3. Changes in lipid classes of eel lipid during the storage at 37°C for 5 week

Diets	Lipid classes (%)	Storage period (week)				
		0	1	3	4	5
Control	TG ¹⁾	99.1±0.2 ^{a3)}	98.9±0.1 ^a	98.6±0.2 ^a	45.7±0.4 ^b	36.1±0.4 ^c
	PL ²⁾	0.9±0.1 ^c	1.1±0.1 ^c	1.4±0.2 ^c	54.3±0.2 ^b	63.9±0.3 ^a
0.5% CLA	TG	99.1±0.3 ^a	98.9±0.2 ^a	98.9±0.3 ^a	58.4±0.3 ^b	39.9±0.3 ^{ac}
	PL	0.9±0.2 ^c	1.1±0.2 ^c	1.1±0.1 ^c	41.6±0.3 ^b	60.1±0.2 ^a
1.0% CLA	TG	98.4±0.4 ^a	98.4±0.3 ^a	98.4±0.2 ^a	98.2±0.3 ^a	53.9±0.2 ^b
	PL	1.6±0.1 ^b	1.6±0.1 ^b	1.6±0.1 ^b	1.8±0.1 ^b	46.1±0.3 ^a
2.5% CLA	TG	98.8±0.2 ^a	98.8±0.3 ^a	98.7±0.2 ^a	97.5±0.2 ^b	64.3±0.3 ^c
	PL	1.2±0.2 ^c	1.2±0.1 ^c	1.3±0.2 ^c	2.5±0.2 ^b	35.7±0.2 ^a
5.0% CLA	TG	96.8±0.3 ^a	96.7±0.2 ^a	95.0±0.3 ^b	45.8±0.3 ^c	42.2±0.2 ^d
	PL	3.2±0.3 ^d	3.3±0.2 ^d	5.0±0.2 ^c	54.2±0.2 ^b	57.8±0.2 ^a

¹⁾TG: triglyceride. ²⁾PL: phospholipids.

³⁾Values with different superscripts within the same row are significantly different at $\alpha=0.01$ level by Duncan's multiple range test.

과와 잘 일치함을 보여주고 있다.

이에 대한 정확한 기작은 밝혀지지 않았지만 적절한 양의 CLA가 함유된 생체조직 내에서는 산화 안정성을 가진다는 Yurawecz 등(6)의 주장과 일치하고 있으며, 이와 같은 기작에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 생각된다. 또한, Yang 등(25)은 CLA를 유리지방산의 형태로 공기에 노출시켜 저장하면 극도로 불안정하여 DHA(C22:6n-3)가 산화되는 속도와 비슷하지만, 중성지질의 형태가 되면 매우 안정해지는 결과를 보였다고 보고하고 있다. 특히 인지질에 CLA가 결합하게 되면 단백질과 함께 항산화제로서의 역할을 한다는 Chen과 Nawar(26)의 연구결과와도 일치하는 것으로 생각된다.

Oxygen consumption ratio(중량증가)

지질은 공기와 접촉하면 산소를 흡수하게 되고 흡수된 산소는 유지를 산화시켜 산화생성물을 형성하여 산패가 일어난다. 일반적으로 지질이 산소를 흡수하는 속도는 일정기간 동안 거의 변화 없이 일정하거나, 그 기간을 지난 후에는 급격하게 증가하게 된다. 이와 같이 지질의 산소 흡수 속도가 일정한 기간을 유도기간(induction period)라 하며 생성되는 2차 생성물들의 중량으로 인해 무게가 증가되게 된다(16).

각 구로부터 추출한 지질 1g을 37°C에서 저장하면서 지질산화 중에 일어나는 중량의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 대조구는 저장 14일째부터, 0.5% CLA 굽이구는 저장 6일째부터 중량증가가 급속히 일어났으며, 5.0% CLA 굽이구는 저장 22일째부터, 1.0% 및 2.5% CLA 굽이구는 저장 23일까지 유도기간이 유지되는 것으로 나타났다. CLA 함량에 따른 산화정도와 중량변화에 대한 자료가 없어 비교할 수는 없었지만 PL 및 ester의 종류에 따라 달라진다는 보고(27)가 있어 이에 대한 검토가 필요한 것으로 여겨진다.

저장 중의 과산화물가(POV)의 변화

저장기간 중의 과산화물가의 변화를 Fig. 2에 나타내었다.

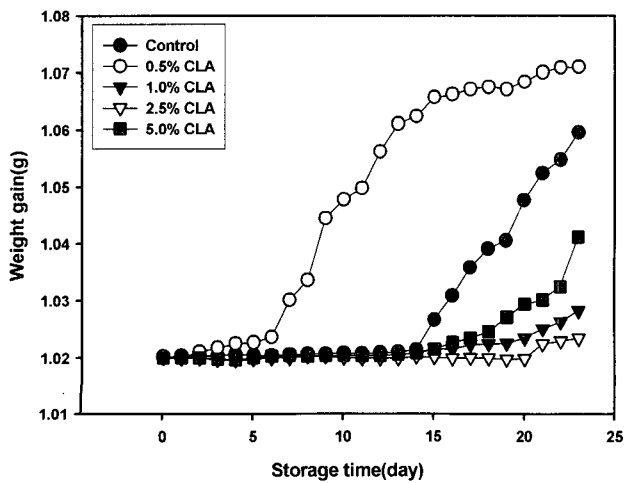


Fig. 1. Changes in weight of eel lipid during the storage at 37°C.

0.5% CLA 굽이구의 경우 산화속도가 가장 빨라 저장 1주 후부터 가장 높은 값을 보여 9.45 meq/kg이었고, 4주 후부터는 기준 값(15 meq/kg 이하)을 넘어서 15.27 meq/kg에 이르렀다. 그리고 대조구의 경우 4주 후 각각 12.36 meq/kg, 12.68 meq/kg으로 나타났다. 1.0% 및 2.5% CLA 굽이구는 저장 4주째까지 산화가 지연되었고, 2.5% CLA 굽이구가 가장 안정된 결과를 보여주었다. 따라서 초기상태의 지표로 이용되고 있는 POV 값으로 미루어 볼 때 초기 산패에 가장 안정한 실험구는 2.5% CLA 굽이구로 볼 수 있었다. 0.5% CLA 굽이구를 제외한 대부분의 실험구에서 식품위생법에서 규정한 15 meq/kg 이하로 나타나 37°C 암소에서 5주간 저장 가능한 것으로 여겨진다.

저장 중의 카아보닐가(COV)의 변화

초기산화는 ROO· 및 RO·와 같은 라디칼의 생성정도를 기준으로 삼고, 2차산화는 aldehydes, hydrocarbons, fatty acids 등을 기준으로 측정한다. 2차 산화에 대한 변화를 살펴보기 위하여 각 실험구의 카아보닐가를 측정하여 Fig. 3에 나타내었다.

저장 1주 후 모든 실험구에서 산화가 진행되어 카아보닐가의 급격한 증가를 보였고, 2주 후부터 대조구, 0.5% 및 5.0% CLA 굽이구가 9.14 meq/kg, 10.17 meq/kg, 9.32 meq/kg으로 1.0% 및 2.5% CLA 굽이구 7.92 meq/kg, 7.68 meq/kg보다 많은 산화생성물을 형성하는 것으로 나타났다. 과산화물가의 측정 결과와 같이 저장 5주 후 대조구와 0.5% CLA 굽이구(14.26 meq/kg, 14.79 meq/kg)는 1.0%, 2.5% 및 5.0% CLA 굽이구(11.69 meq/kg, 10.75 meq/kg, 12.01 meq/kg)보다 높은 값을 나타내었다. Takeuchi 등(28)은 연어와 연어알로부터 추출한 지질을 30°C에서 저장하면서 POV 및 COV를 측정된 결과 인지질의 함량이 없는 연어지질이 약 33%의 인지질이 함유된 연어알 지질보다 약 1,600시간 빨리 산화되는 것으로 보고하고 있다.

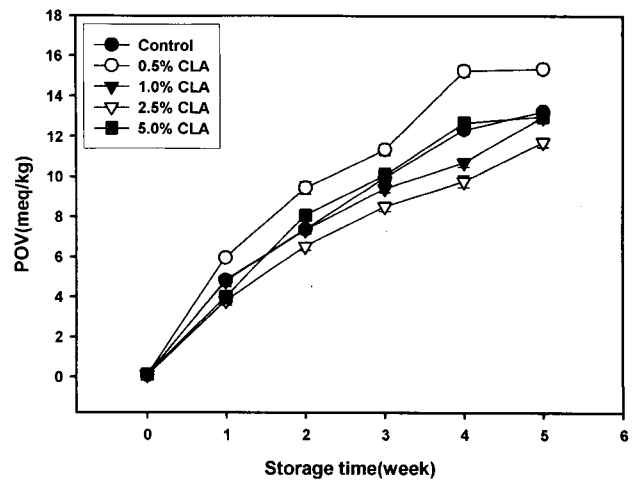


Fig. 2. Changes in POV of eel lipid during the storage at 37°C.

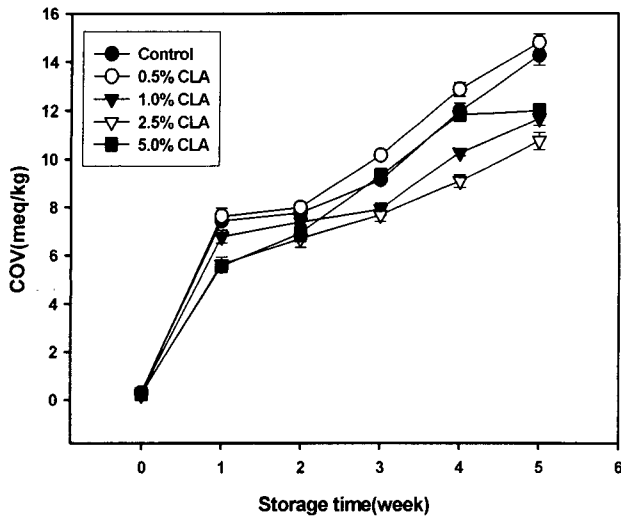


Fig. 3. Changes in COV of eel lipid during the storage at 37°C.

요 약

최근 건강기능식품에 대한 관심이 높아지면서 기능성을 나타내는 원료에 대한 평가가 이루어지고 있다. 한국인의 식습관 상 어류 섭취가 많고 이로부터 DHA, EPA와 같은 기능성지질의 섭취도 증가하고 있는 추세에 있다. 본 논문에서는 개별인정 형으로 추진되고 있으며 항암성, 체지방 감소 효과 등을 보이고 있는 CLA를 어류사료에 첨가하여 안정성이 높은 중성지질의 형태로 바꾸어 항산화효과를 평가하고자 하였다. 뱀장어 사료에 CLA 함량을 0%, 0.5%, 1.0%, 2.5% 및 5.0%로 성형하여 순환여과식 사육장치에서 8주간 사육하였다. 사육 후 이들 시료로부터 지질을 추출하고 37°C에 저장하면서 지방산조성의 변화, 지질 class의 변화, 산소 소비에 따른 중량증가, 과산화물가, 카아보닐가 등으로 항산화능을 측정하였다. 측정결과 CLA 축적량은 0.5%, 1.7%, 3.3% 및 6.2%로 나타나 CLA 공급이 많을수록 축적되는 CLA량은 증가하였다. 대조구의 경우 저장 3주 후부터 불포화산의 함량이 감소하여 13.7%에서 5주 후에는 6.2%로 급감하였다. 0.5% CLA 급이구는 저장 4주째 불포화산의 함량이 11.8%, 5주째는 7.4%로 감소하였으며, 1.0% 및 2.5% CLA 급이구에서는 불포화산의 함량이 4주째 15.3% 및 14.8%로 변화가 적었다. 중성지질의 class 조성은 1.0% 및 2.5% CLA 급이구는 저장 5주째 중성지질과 인지질의 비가 53.9:46.1 및 64.3:35.7로 낮아졌으며, 다른 구에서는 저장 4주째부터 산화가 진행되었다. 과산화물가와 카아보닐가의 변화에서도 1.0% 및 2.5% CLA 급이구가 산화에 가장 안정한 것으로 나타났다.

문 헌

1. Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. 1987. Anticarcinogens from

fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8: 1881-1887.

2. Ha YL, Storkson J, Pariza MW. 1990. Inhibition of benzo[a]pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res* 50: 1097-1101.

3. Ip C, Chin SF, Scimeca JA, Pariza MW. 1991. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res* 51: 678-6124.

4. Decker EA. 1995. The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. *Nutr Rev* 53: 49-58.

5. Chen Z, Chan Y, Kwan KY, Zhang A. 1997. Reassessment of the antioxidant activity of conjugated linoleic acids. *J Am Oil Chem Soc* 74: 749-753.

6. Yurawecz MP, Hood JK, Mossoba MM, Roach JA, Ku Y. 1995. Furan fatty acids determined as oxidation products of conjugated octadecadienoic acid. *Lipids* 30: 595-598.

7. Szymczyk B, Pisulewski P, Szczurek W, Hanczakowski P. 2000. The effects of feeding conjugated linoleic acid (CLA) on rat growth performance, serum lipoproteins and subsequent lipid composition of selected rat tissues. *J Sci Food Agric* 80: 1553-1558.

8. Lawson RE, Moss AR, Givens DI. 2000. The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: a review. *Nutr Res Rev* 14: 153-172.

9. 김무상. 2003. 어류의 생체. 아카데미서적, 서울. p 316-323.

10. Jeong BY, Choi BD, Moon SK, Lee JS. 1998. Fatty acid composition of 72 species of Korean fish. *J Fish Sci Tech* 1: 129-146.

11. Kim YR, Lee YH, Park KA, Kim JO, Ha YL. 2000. A simple method for the preparation of highly pure conjugated linoleic acid (CLA) synthesized from safflower seed oil. *J Food Sci Nutr* 5: 10-14.

12. Blish EG, Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917.

13. Park SJ, Park CW, Kim SJ, Kim JK, Kim YR, Park KA, Kim JO, Ha YL. 2002. Methylation methods for the quantitative analysis of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in various lipid samples. *J Agric Food Chem* 50: 989-996.

14. Choi BD, Kang SJ, Ha YL, Ackman RG. 1999. Accumulation of conjugated linoleic acid (CLA) in tissues of fish fed diets containing various levels of CLA. In *Quality attributes of muscle foods*. Xiong YL, Ho CT, Shahidi F, eds. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. p 61-71.

15. Ohshima T, Ackman RG. 1991. New developments in chromatography (Iatroscan TLC/FID): Analysis of lipid class composition. *J Planar Chromatogr* 4: 27-34.

16. Olcott HS, Einset E. 1957. A weighting method for measuring the induction period of marine and other oils. *J Am Oil Chem Soc* 35: 161-165.

17. AOCS. 1998. *Peroxide value, acetic acid-chloroform method*. AOCS official method Cd-853. AOCS 15th ed. Champaign, Illinois.

18. Henick AS, Bence MF, Mitchell Jr JH. 1954. Estimating carbonyl compounds in rancid fat and foods. *J Am Oil Chem Soc* 31: 88-91.

19. JMP. 2002. *Statistics and graphics guide*. Version 5.0. SAS Institute, Cary, NC. p 179-209.

20. Takeuchi T, Watanabe T. 1982. Effects of various polyunsaturated fatty acids on growth and fatty acid compositions of rainbow trout *Salmo gairdneri*, Coho salmon *Oncorhynchus kisutch* and chum salmon *Oncorhynchus keta*.

- Nippon Suisan Gakkaishi* 48: 1745-1752.
21. Yang L, Leung LK, Huang Y, Chen Z. 2000. Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers. *J Agric Food Chem* 48: 3072-3076.
 22. Yang L, Ying C, Chen ZY. 2004. Stability of conjugated linoleic acid isomers in egg yolk lipids during frying. *Food Chem* 86: 531-535.
 23. Kim HY, Shin JW, Sim GC, Park HO, Kim HS, Kim SM, Cho JS, Jang YM. 2000. Comparison of the taste compounds of wild and cultured eel, puffer and snake head. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1058-1067.
 24. Ackman RG. 1995. Composition and nutritional value of fish and shellfish lipids. In *Fish and fishery products*. Ruitter A, ed. CAB International, Wallingford, Oxon. p 117-156.
 25. Yang L, Huang Y, James AE, Lam LW, Chen ZY. 2002. Different incorporation of conjugated linoleic acid isomers into egg yolk lipids. *J Agric Food Chem* 50: 4941-4946.
 26. Chen ZY, Nawar WW. 1991. Prooxidative and antioxidative effects of phospholipids on milk fat. *J Am Oil Chem Soc* 68: 938-940.
 27. Jeong BY, Ryu SN, Hur HS. 1997. Antioxidant effect of sesame lignins on α -linoleic acid-concentrated perilla fatty acid esters. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 1033-1038.
 28. Takeuchi M, Hara S, Totani Y, Hibino H, Tanaka Y. 1997. Autoxidative behavior polyunsaturated phospholipids. I. Oxidative stability of marine oil containing polyunsaturated phospholipids. *Japan Oil Chem Soc* 46: 175-181.

(2005년 10월 25일 접수; 2005년 12월 27일 채택)