

# 유통중인 건강기능식품의 감마-리놀렌산 및 오메가-3 지방산 함량 모니터링

김대경<sup>1</sup> · 신정아<sup>1</sup> · 이기택<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 식품공학과

## Monitoring of compositions of gamma-linolenic and omega-3 fatty acids in some functional foods consumed in market

Dae-Kyung Kim<sup>1</sup>, Jung-Ah Shin<sup>1</sup>, Ki-Teak Lee<sup>1\*</sup>

Dept. of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Received on 10 March 2011, revised on 23 March 2011, accepted on 20 June 2011

**Abstract** : The compositions of health functional food products (HFFP; 18 products) containing gamma linolenic acid (GLA; C<sub>18:3</sub>, n-6) and omega-3 fatty acids (EPA and DHA) were investigated. The contents of index components (especially, GLA and omega-3) in HFFPs were monitored by GC-FID analysis. Among the GLA products (sample No. 1~8), the content of GLA in most samples (except sample No. 6) ranged from 8.04 to 9.98 g/100 g. These results were suitable for the reference standard (more 7.0 g/100 g) of HFF. In the omega-3 products (sample No. 10 and 15) derived from harp seal oil (HSO), the total contents of EPA and DHA were 14.21~15.98 g/100 g, respectively. These values were suitable for the reference standard (more 12.0 g/100 g) of HFF. Besides, among the omega-3 products (sample No. 9, 11~14, 16~18) derived from fish oil, the total content of EPA and DHA ranged from 24.11 to 31.20 g/100 g. These results were suitable for the reference standard (more 18.0 g/100 g) of HFF. In the result of TLC analysis, the HFFPs of 18 were mainly composed of triacylglycerols (TAGs). The content of *trans* fatty acid in 18 HFFPs was detected in less than 0.30 g/100 g. For the detection of *trans* fatty acid, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz) can be used because chemical shift of *trans* fatty acid was observed at 5.3 ppm in this study.

**Key words** : Gamma linolenic acid, Omega-3 fatty acid, *Trans* fatty acid, FT-IR, NMR

## I. 서론

건강기능식품은 인체 내 영양소 조절, 혹은 생리학적 작용 개선 등의 건강보조를 목적으로, 인체에 유용한 기능성을 가진 원료 혹은 성분을 사용하여 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 가공된 식품을 의미한다(Kim 등, 2006). 최근 경제수준의 향상으로 건강과 질병에 대한 영양의 역할에 대한 소비자의 관심이 증가함에 따라 건강기능식품의 보급이 확대되고 있다. 이에 따라 2004년 이후 건강기능식품은 건강기능식품특별체계 내에서 의약품과는 차별이 되도록 건강기능식품법(Health Functional Food Acts, HFFA)에 의하여 관리되고 있다(Kim 등, 2006). 오메가-3 지방산은 docosahexaenoic acid(DHA, C<sub>22:6</sub>)와

eicosapentaenoic acid(EPA, C<sub>20:5</sub>)로서 고등어(mackerel), 참치(tuna), 청어(herring) 등의 등푸른 생선과 바닷물범(*Pagophilus groenlandicus*), 해조류(Algae)등이 주요 공급원이 된다(Kris-Etherton 등, 2003). 오메가-3 지방산은 우리 몸에서 합성되지 않기 때문에 식이를 통하여 섭취해야 하는 필수 지방산으로서, 혈중 중성지방 개선 및 혈행 개선을 통하여 심뇌혈관질환의 발생 감소에 영향을 미친다고 보고되고 있다(Cho와 Park, 2010). 감마리놀렌산(오메가-6 지방산, C<sub>18:3</sub>)은 오메가-3 지방산과 더불어 필수지방산으로서 주로 달맞이꽃(evening primrose) 종자유, 보라지(borage) 종자유, 까막까치밥(black currant) 종자유 등에 주로 함유되어 있다(Cho와 Park, 2010). 감마리놀렌산은 콜레스테롤의 이동과 합성을 조절하여 혈중 HDL 콜레스테롤의 함량은 높이고, LDL 콜레스테롤의 함량을 낮추는데 도움을 주는 것으로 보고되고 있다(Cho와 Park,

\*Corresponding author: Tel: +82-42-821-6729

E-mail address: ktleee@cnu.ac.kr

2010). 현행 건강기능식품공전에 따르면, 오메가-3 지방산 함유 유지의 기준규격은 EPA와 DHA의 합으로서 식용 가능한 어류 유래 원료는 180 mg/g 이상, 바닷물범 유래 원료는 120 mg/g 이상, 조류 유래 원료는 300 mg/g 이상 함유되어 있어야 한다(건강기능식품공전, 2006). 또한, 오메가-3 지방산 함유 유지의 일일섭취량은 EPA와 DHA의 합으로서 0.5~2 g/day으로 고시하고 있다(건강기능식품공전, 2006). 감마리놀렌산 함유 유지의 기준규격은 지표성분인 감마리놀렌산이 70 mg/g 이상 함유되어 있어야 하며, 일일섭취량은 감마리놀렌산으로서 240~300 mg/day를 섭취하도록 고시하고 있다(건강기능식품공전, 2006). 이들 지방산 기능성 원료들(감마리놀렌산, 오메가-3 지방산)을 이용한 건강기능식품의 판매는 현대인의 식습관으로 인한 질병의 급증과 더불어 날로 증가하고 있는 추세이다. 따라서 본 연구에서는 시중에서 유통되고 있는 이들 지방산 기능성식품들의 제품 표시량 대비 지표성분들(감마리놀렌산, 오메가-3 지방산)의 실질적인 함량을 모니터링 하였다. 감마리놀렌산 함유 건강기능식품과 오메가-3 지방산 함유 건강기능식품들은 대형할인점 및 인터넷 쇼핑몰에서 유통되고 있는 것들을 총 18 종 구입(감마리놀렌산 8종, 오메가-3 지방산 10종)하였으며, 지방산 조성 및 트랜스 지방 함량, 지질의 형태를 분석하였다. 트랜스지방의 경우, 공인 시험법인 기체 크로마토그래프(GC; gas chromatography) 분석을 수행하였고, 적외선분광분석법(FT-IR; Fourier transform infrared spectroscopy)과 핵자기 공명법(NMR; nuclear magnetic resonance)을 이용하여 트랜스 지방 함량을 분석하기 위하여 적용하였다. Flame ionized detector (FID)가 장착된 GC에 의하여 지방산 메틸에스테르들을 머무름 시간에 따라 분리하여, 트랜스지방을 분석하였다(Kim 등, 2007; Lee 등, 2010). FT-IR은 트랜스 지방산만이 가지는 특이한 분자 굽힘 현상을 이용하여 특정 파장대 피크의 면적을 구하여 트랜스 지방을 분석할 수 있다(Mossoba 등, 2007; Bansal 등, 2009). 또한, NMR을 이용하여 분자 구조별 스펙트럼을 확인함으로써 트랜스 지방을 분석할 수 있다(Pfeffer 등, 1977). 따라서 본 연구에서는 이들 분석법을 이용하여 유통 중인 지방산 건강기능식품들에 대한 트랜스 지방산 모니터링 가능성을 살펴보았다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

대전지역 시중 대형마트와 인터넷 쇼핑몰을 통하여 달맞이꽃 종자유(EPO) 혹은 보라지유(borage oil) 추출 감마리놀렌산 제품 8개과 오메가-3 지방산 제품 10개를 구입하여 각 지방산조성을 모니터링 하였다. 구입한 18종의 건강기능식품들은 Table 1에 제시하였다. 각 기기 분석에 사용된 용매는 분석용 특급 시약들이었다.

### 2. 지방산 조성 분석

시료(대략 25 mg)를 시험관에 취한 후, 내부표준물질인 triundecanoin(TAG C<sub>11:0</sub>, 2 mg/mL) 0.5 mL와 0.5 N의 NaOH 메탄올 용액 1.5 mL를 첨가하여 vortex로 혼합한 뒤에 100°C에서 5분 동안 가열하였다. 다음 찬물에서 냉각

**Table 1.** Description of 18 lipid functional foods marketed in Korea.

Sample No.	Lipid functional foods	
	Product type	Source description
1	GLA <sup>1)</sup> -A	EPO <sup>2)</sup> 100% (Germany)
2	GLA-B	Organic EPO 100%
3	GLA-C	EPO 100%
4	GLA-D	EPO 99.9%
5	GLA-E	EPO 100%
6	GLA-G	EPO 100%
7	GLA-J	BO <sup>3)</sup> 70.5%, EPO 28.94%
8	GLA-K	EPO 99.8%
9	Omega-3-A	Fish oil (Germany)
10	Omega-3-B	HSO <sup>4)</sup> 99.9% (Canada)
11	Omega-3-D	Fish oil 99.89% (Germany)
12	Omega-3-E	Fish oil 100%
13	Omega-3-F	Fish oil 100% (Norway)
14	Omega-3-G	Fish oil 100%
15	Omega-3-H	HSO 100% (Canada)
16	Omega-3-I	Fish oil
17	Omega-3-J	Fish oil 100% (Anchovy)
18	Omega-3-K	Salmon oil 99.9% (USA)

<sup>1)</sup>GLA : gamma-linolenic acid (C<sub>18:3</sub>, n-6)

<sup>2)</sup>EPO : evening primrose seed oil

<sup>3)</sup>BO : borage seed oil

<sup>4)</sup>HSO : harp seal oil

후, BF<sub>3</sub>- 메탄올 용액(약 10%, Supelco, Bellefonte, PA USA) 2 mL를 첨가하고 vortex 한 후에 100°C에서 2분 동안 다시 가열한 후 냉각하였다. 다음 지방산 메틸에스테르(fatty acid methyl ester, FAME)들을 추출하기 위하여 iso-octane 2 mL를 첨가한 후 1분 동안 vortex 하였다. 다음 포화 NaCl용액 1 mL를 가한 후 1분 동안 충분히 vortex 한 후에, 원심분리기(centrifuge, 2000 rpm, 3분)를 이용하여 충분히 하였다. FAME를 포함한 상층액(iso-octane 층)을 anhydrous sodium sulfate column를 통과하여 수분을 제거한 후, GC vial에 옮겨 분석하였다. 각 시료들의 지방산 조성분석을 위한 GC(Hewlett-Packard 6890 series, Avondale, PA, USA) 기기는 FID가 장착되어 있었으며, 칼럼은 SP<sup>TM</sup>-2560(biscyanopropyl polysiloxane, 100 m × 0.25 mm × 0.2 μm)이었다. 주입구(injector)와 검출기(detector)온도는 각각 225°C와 285°C이었다. FAME의 분리를 위한 oven 온도는 100°C에서 4분 동안 유지한 후에 3 °C/min으로 240°C까지 승온한 후, 240°C에서 15분 동안 유지하였다. Carrier gas는 헬륨(He) 이었으며, 0.75 mL/min의 유량으로 split ratio가 200 : 1이 되도록 설정하였다. 각 FAME는 Supelco<sup>®</sup> 37 component FAME mixture(Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 이용하여 동정 및 정량을 수행하였다. FID 전환계수와 지방산 메틸에스테르로부터의 지방산 전환계수는 식약청에서 제시한 방법(식품공전, 2011)에 의해 산출하여 다음의 계산식을 사용하여 지방산의 wt%를 구하였다.

$$FA_i \text{ (g/100 g 지방산)} = \frac{P_i \times f_i}{R_i} \times \frac{100}{\sum (P_j \times f_j / R_j)}$$

P<sub>i</sub>, P<sub>j</sub> : 지방산 피크면적

R<sub>i</sub>, R<sub>j</sub> : 각 지방산 표준물질에서 구한 FID 전환계수

f<sub>i</sub>, f<sub>j</sub> : 각 지방산 메틸에스테르로부터 지방산으로의 전환계수

### 3. Thin layer chromatography(TLC) 분석

각 시료 50 mg을 200 μl의 chloroform과 혼합한 후, TLC silica plate(20 × 20 cm, Silica gel 60 F<sub>254</sub>, Merck, USA)에 전개하였다. 전개용매는 petroleum ether : diethyl ether : acetic acid(90:10:1, v/v/v)의 혼합용액을 사용하였다. 각 중성지질의 spot 및 이동거리(R<sub>f</sub>) 확인은 요오드

로 충전되어 있는 tank에서 대략 1시간 방치한 후, 각 시료의 band를 확인하였다. 각 시료의 지질형태는 triacylglycerol(TAG) 및 ester, free fatty acid의 표준품으로 R<sub>f</sub>를 비교함으로써 동정하였다. R<sub>f</sub>는 기준선에서 spot의 중심점까지의 거리를 전개용매의 전개거리로 나눈 값으로 구하였다.

### 4. 적외선 분광분석법(FT-IR)을 이용한 트랜스 지방산 분석

GC-FID를 사용하여 트랜스 지방산이 검출된 시료를 선정하여, 적외선 분광분석기(FT-IR 4100, JASCO, Tokyo, Japan) 분석을 통하여 트랜스 지방산의 검출을 시도하였다. FT-IR 분광계는 특정 파장대에서의 트랜스 지방산이 가지는 특정 분자진동에 대한 신호를 이용하여 시료 중 트랜스지방산의 함량을 분석할 수 있다(Kim 등, 2007). 시료는 chloroform에 녹여 분석하였으며, FT-IR 분광계에서 light source는 standard를 사용하고 detector는 DTGS, accumulation은 20, 식별도(resolution)은 4 cm<sup>-1</sup> 으로 분석하였다. 이때 파장 범위는 650~4500 cm<sup>-1</sup> 이었다.

### 5. 핵자기 공명법(NMR)을 이용한 트랜스지방산 분석

핵자기 공명법(NMR Varian Inova 600, Santa Clara, USA)을 이용하여 트랜스 지방산의 검출을 시도하였다. 주로 순도가 높은 물질의 구조분석에 이용되는 NMR을 여러 FAME들로 구성되어 있는 시료들에 적용하기에는 시료 구성성분의 다양성과 낮은 순도 때문에 트랜스지방산 표준품(elaidic acid, C<sub>18:1 trans</sub>, 99%)을 spike한 후에 특정 chemical shift에서의 차이를 확인하였다. 600 MHz NMR 분석을 위하여 시료 10 mg을 dimethyl sulfoxide(DMSO)-d<sub>6</sub>에 용해한 후에 이용하였다. GC-FID 분석으로 elaidic acid가 검출된 시료들에 대하여 10 mg의 elaidic acid 표준액을 spike 한 뒤에 무 처리 대조구와의 NMR 스펙트럼을 비교하였다. 즉, 트랜스 지방산이 검출된 시료들과 검출되지 않은 시료들을 대상으로 elaidic acid를 spike하여 트랜스 지방산이 어느 chemical shift에서 차이점을 나타내는지 확인하였다. 사용된 NMR 분석조건은 Frequency, 600 MHz; Scan 수, 8; Spin, 20 Hz; Lock level, 53.8; Lock Phase, 37 이었다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 지방산 지표성분들의 모니터링

Table 1에 제시한 것과 같이 시중에서 유통되고 있는 감마리놀렌산 함유 제품 8종 및 오메가-3 지방산 함유 제품 10 종(총 18종)을 구입하여, 각 시료의 지방산 조성에 대한 GC-FID 분석 결과를 Table 2와 3에 나타내었다. 전반적으로 회수된 총 지방산의 함량( $\Sigma$ FA)은 76.75~100.75 g/100 g 을 나타내었고, 이때 감마리놀렌산의 총 지방산 함량은 87.01~100.75 g/100 g 을 나타내었다(Table 2). 감마리놀렌산 함유 유지의 기준규격은 지표성분인 감마리놀렌산이 70 mg/g 이상(7 g/100 g) 함유되어 있어야 하는데(건강기능식품공전, 2006), 6번의 시료를 제외한 나머지 시료들(sample No. 1~5, 7, 8)의 감마리놀렌산 함량은 7 g/100 g 이상 나타내었음을 확인하였다(Table 2). 99.9% 이상의 달맞이꽃 종자유로부터 제조된 시료 1~5번들은 리놀레산( $C_{18:2}$  *cis*, n-6) 함량이 70.42~75.62 g/100 g 으로 가장 높은 수치를 나타내었으며, 다음으로 올레인산( $C_{18:1}$  *cis*, n-9) 함량이 5.34~7.67 g/100 g, 팔미틴산( $C_{16:0}$ ) 함량이 5.97~6.16 g/100 g 으로 함유되어 있었다. 이러한 지방산

조성은 지표성분인 감마리놀렌산 함량이 8.96~9.98 g/100 g 함유되어 기준규격에 적합함을 확인하였다. 이러한 결과는 보고된 달맞이꽃 종자유의 지방산 조성( $C_{18:3}$  n-6, 8.09;  $C_{18:2}$  n-6, 74.89;  $C_{18:1}$  n-9, 6.67;  $C_{16:0}$ , 8.16) 과 유사하였다(Kim 등, 2010). 보라지 종자유 70.5%와 달맞이꽃 종자유 28.94%로부터 제조된 제품인 시료 7번은 지표성분인 감마리놀렌산 함량이 17.41 g/100 g 이었으며, 이외에 주요 구성 지방산은 리놀레산 47.38 g/100 g 과 올레인산 14.26 g/100 g, 팔미틴산 8.93 g/100 g 이었다. 이외에 에루스산( $C_{22:1}$ ) 1.87 g/100 g 와 네르본산( $C_{24:1}$ ) 1.44 g/100 g 을 함유하고 있었다. 감마리놀렌산 함량이 미달된 시료 6번은 감마리놀렌산 5.51 g/100 g 과 리놀레산 59.60 g/100 g, 올레인산 10.80 g/100 g, 팔미틴산 7.37 g/100 g 포함하고 있었다.

오메가-3 지방산을 함유한 제품 10종의 지방산 조성을 분석한 결과를 Table 3에 나타내었다. 시료 10번과 15번의 원료는 하프물범유(harp seal oil, HSO) 이었고, 시료 18번은 연어유(salmon oil) 이었으며, 나머지 오메가-3 지방산 함유 제품들(sample No. 9, 11~14, 16, 17)의 원료는 어유(fish oil) 이었다. 하프물범유로부터 제조된 시료 10번과 15번 시료의 지표성분인 EPA와 DHA의 총 함량은 각각

**Table 2.** Total fatty acid composition of the gamma linolenic acid (GLA) products marketed in Korea.

Fatty acids	Sample number of GLA products							
	1	2	3	4	5	6	7	8
$C_{16:0}$ palmitic	6.16	5.97	6.11	6.16	6.09	7.37	8.93	5.43
$C_{16:1}$ <i>cis</i> palmitoleic, n-7	ND <sup>1)</sup>	ND	ND	ND	ND	0.06	0.10	0.04
$C_{18:0}$ stearic	2.03	2.03	1.79	1.90	1.85	3.16	3.78	1.76
$C_{18:1}$ <i>trans</i> elaidic	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
$C_{18:1}$ <i>cis</i> oleic, n-9	7.67	5.92	6.01	5.52	5.34	10.80	14.26	5.31
$C_{18:1}$ <i>cis</i> vaccenic, n-7	0.73	0.68	0.67	0.74	0.72	0.99	0.64	0.62
$C_{18:2}$ <i>trans</i>	ND	ND	ND	ND	ND	0.30	ND	ND
$C_{18:2}$ <i>cis</i> linoleic, n-6	72.72	72.13	70.42	75.62	73.12	59.60	47.38	65.12
$C_{20:0}$ eicosanoic	0.30	0.29	0.29	0.29	0.27	0.30	0.28	0.26
$C_{18:3}$ <i>cis</i> $\gamma$ -linoleic, n-6	9.17	8.96	9.23	9.98	9.38	5.51	17.41	8.04
$C_{18:3}$ <i>trans</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
$C_{20:1}$ <i>cis</i> eicosenoic	0.38	0.22	0.24	0.21	0.17	0.21	3.81	0.17
$C_{18:3}$ <i>cis</i> $\alpha$ -linoleic, n-3	0.65	0.26	0.23	0.34	0.26	1.61	0.29	0.28
$C_{22:1}$ <i>cis</i> erucic	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.87	ND
$C_{24:1}$ <i>cis</i> nervonic, n-9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.44	ND
$\Sigma$ FA <sup>2)</sup>	99.81	96.45	95.00	100.75	97.19	89.89	100.18	87.01

<sup>1)</sup>ND, not detected.

<sup>2)</sup> $\Sigma$ FA : total sum of the detected fatty acids (g/100 g fatty acid).

14.21 g/100 g(sample No. 10; EPA, 5.24 g/100 g; DHA, 8.97 g/100 g)와 15.98 g/100 g(sample No. 15; EPA, 6.33 g/100 g; DHA, 9.65 g/100 g) 이었다(Table 3). 오메가-3 지방산 함유 유지의 기준규격은 EPA와 DHA의 합으로서 바닷물범 유래 원료는 120 mg/g(12 g/100 g) 이상 되어야 하는데, 이들 함량은 기준규격에 적합함을 확인하였다(건강기능식품공전, 2006). 시료 10번과 15번의 주된 지방산 조성은 eicosenoic acid(C<sub>20:1</sub>) 11.77~11.79 g/100 g 과 올레인산 14.21~15.52 g/100 g, palmitoleic acid (C<sub>16:1, cis</sub>) 13.28~14.63 g/100 g, 팔미틴산 7.03~7.72 g/100 g 이었다. 이러한 결과는 Myrnes 등이 보고한 harp seal oil의 지방산 조성과의 유사하였다(Myrnes 등, 1995). 연어유에서 제조된 시료 18번은 EPA와 DHA의 총 함량이 24.11 g/100 g(EPA, 11.60 g/100 g; DHA, 12.51 g/100

g)으로 기준규격인 180 mg/g(18 g/100 g) 이상을 나타내어 기준규격에 적합하였다. 시료 18번의 주요 지방산 조성은 올레인산 13.22 g/100 g과 팔미틴산 11.96 g/100 g, palmitoleic acid 6.53 g/100 g, eicosenoic acid 5.53 g/100 g 이었다. 이러한 결과는 Reyes와 Sepulveda가 보고한 연어유의 지방산 조성과의 유사하였다(Reyes와 Sepulveda, 2006). 어유에서 유래한 시료(sample No. 9, 11~14, 16, 17)들의 EPA와 DHA의 총 함량 범위는 27.06~31.20 g/100 g 으로 시료 18번과 마찬가지로 건강기능식품공전의 기준규격에 적합하였다(Table 3). 오메가-3 지방산 함유 제품들(sample No. 9~18)의 총 지방산 함량은 76.75~87.07 g/100 g 을 나타내었다. 이들 오메가-3 제품들은 GC-FID를 통한 검출 및 동정이 가능한 지방산외에 여러 다양한 지방산들을 함유하기 때문에 감마리놀렌산 제

**Table 3.** Total fatty acid composition of the omega-3 fatty acid products marketed in Korea.

Fatty acids	Sample number of omega-3 products									
	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
C <sub>12:0</sub> lauric	0.14	0.09	0.10	0.10	0.09	0.10	0.08	0.09	0.09	0.06
C <sub>14:0</sub> myristic	6.07	4.30	6.10	6.83	5.94	6.06	4.34	6.75	5.93	4.78
C <sub>14:1</sub> <i>cis</i> myristoleic, n-5	ND <sup>1)</sup>	0.60	0.10	ND	0.09	ND	0.59	0.05	0.04	0.05
C <sub>16:0</sub> palmitic	14.64	7.03	13.39	16.09	12.84	14.76	7.72	15.41	13.56	11.96
C <sub>16:1</sub> <i>cis</i> palmitoleic, n-7	6.85	13.28	7.73	8.18	7.36	7.21	14.63	7.72	7.43	6.53
C <sub>18:0</sub> stearic	3.16	1.13	2.63	3.05	2.51	2.96	1.24	3.07	2.76	2.49
C <sub>18:1</sub> <i>trans</i> elaidic	0.12	0.24	ND	ND	0.27	ND	0.26	ND	ND	0.21
C <sub>18:1</sub> <i>cis</i> oleic, n-9	8.72	14.21	10.67	10.51	9.86	9.30	15.52	10.91	8.90	13.22
C <sub>18:1</sub> <i>cis</i> vaccenic, n-7	2.87	3.57	2.73	2.74	2.39	2.71	3.97	2.79	2.65	3.01
C <sub>18:2</sub> <i>trans</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C <sub>18:2</sub> <i>cis</i> linoleic, n-6	1.31	1.76	1.07	1.08	0.97	1.07	1.83	1.04	0.93	2.45
C <sub>20:0</sub> eicosanoic	0.48	0.08	0.35	0.39	0.32	0.36	0.09	0.40	0.31	0.36
C <sub>18:3</sub> <i>cis</i> γ-linoleic, n-6	0.28	ND	0.23	0.25	0.22	0.23	0.12	0.25	0.21	0.14
C <sub>18:3</sub> <i>trans</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C <sub>20:1</sub> <i>cis</i> eicosenoic	1.90	11.79	1.97	0.50	1.87	0.60	11.77	1.14	0.63	5.53
C <sub>18:3</sub> <i>cis</i> α-linoleic, n-3	0.71	0.47	0.37	0.48	0.35	0.45	0.47	0.40	0.39	0.65
C <sub>20:2</sub> <i>cis</i> eicosadienoic	3.38	1.29	2.31	3.15	2.13	2.64	1.46	2.42	2.49	1.79
C <sub>20:5</sub> <i>cis</i> EPA eicosapentaenoic, n-3	16.59	5.24	16.53	18.05	15.27	16.80	6.33	17.84	16.67	11.60
C <sub>22:5</sub> <i>cis</i> DPA docosapentaenoic, n-3	2.19	4.71	2.68	2.52	2.47	2.31	4.89	2.53	2.71	4.86
C <sub>22:6</sub> <i>cis</i> DHA docosahexaenoic, n-3	12.86	8.97	12.98	13.15	11.79	12.31	9.65	13.01	13.66	12.51
ΣFA <sup>2)</sup>	82.28	78.75	81.93	87.07	76.75	79.87	84.97	85.82	79.37	82.19

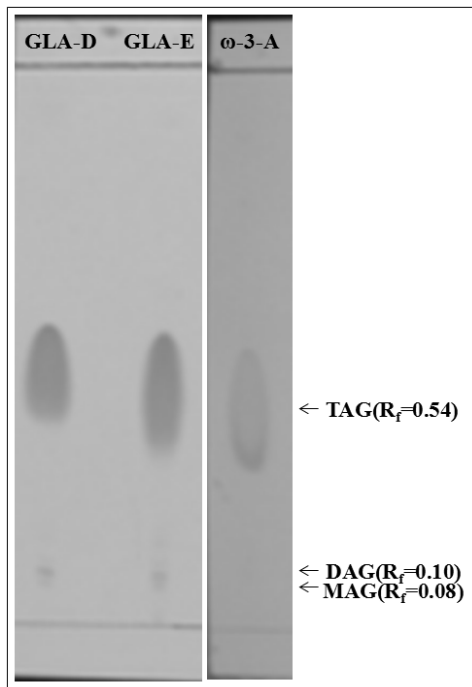
<sup>1)</sup>ND, not detected.

<sup>2)</sup>ΣFA : total sum of the detected fatty acids (g/100 g fatty acid).

품들보다 전반적으로 낮은 총 지방산 함량을 나타내었다. 오메가-3 제품의 오메가-3 지방산 표기사항은 EPA와 DHA의 합, 혹은 별도로 함량을 표기하고 있었으며, 이들의 함량은 모든 오메가-3 시료들(sample No. 9~18)에서 제품 표시량의 80~120% 기준규격의 범위에 적합한 수준이었다.

## 2. TLC 분석을 통한 지질(lipid)의 유형 확인

Silica gel로 얇은 막을 입힌 plate를 사용하는 TLC 분석은 보통 지질들(FAME, fatty acid methyl ester; TAG, triacylglycerol; DAG, diacylglycerol; MAG, monoacylglycerol; free fatty acid, FFA)의 유형을 간단히 확인할 때 이용되고 있다. 전개용매가 petroleum ether : diethyl ether : acetic acid가 90:10:1의 비율일 때 지방산 에스테르들과 중성지방(TAG)들의 분리가 용이한 이점이 있다. 본 실험에서 지방산 건강기능식품들 18종을 TLC 분석한 결과, Fig. 1과 같은 결과를 얻었다. 감마리놀렌산 함유 제품 8종과 오메가-3 지방산 함유 제품 10 종은 대부분이  $R_f$  값이 0.54인 TAG 형태의 지질로 이루어져 있었다. 일부에서

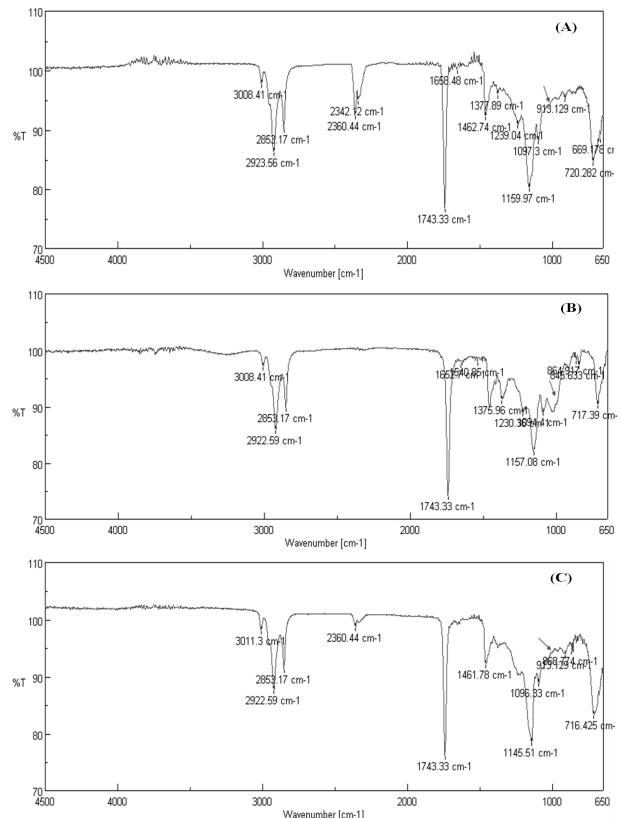


**Fig. 1.** Thin-layer chromatograms of  $\gamma$ -linolenic acid (GLA) products and omega-3 ( $\omega$ -3) product. TAG, triacylglycerol; DAG, diacylglycerol; MAG, monoacylglycerol. GLA-D, sample No. 4; GLA-E, sample No. 5;  $\omega$ -3-A, sample No. 9.

는  $R_f$  값이 0.10인 DAG 형태와  $R_f$  값이 0.08인 MAG 형태도 적은 양 검출되었다. 이로서 시중에 유통되고 있는 지방산 건강기능식품들의 대부분이 TAG 형태의 지질로 구성되어 있음을 확인하였다. 식품공전에서 식품의 일반기준 및 공통규격의 식품의 원료기준에서 정하는 EPA와 DHA의 함량을 조정하기 위해서 TAG 형태가 아닌 methyl ester나 ethyl ester를 첨가해서는 안 된다는 규격에 부합하는 결과를 나타내었다(식품공전, 2010).

## 3. 트랜스지방산의 검출 및 동정

GC-FID를 이용한 지방산 조성 분석결과, 감마리놀렌산 제품 8종 가운데, 시료 6번에서 0.30 g/100 g의 C18:2 *trans*가 미량 확인되었다(Table 2). 오메가-3 지방산 함유 제품은 시료 9, 10, 13, 15, 18번에서 각각 0.12, 0.24, 0.27, 0.26, 0.21 g/100 g의 C18:1 *trans*가 미량 확인되었다(Table 3). 검출된 트랜스 지방산의 함량은 식약청 트랜



**Fig. 2.** FT-IR spectra of samples on specific wavenumber ( $966\text{ cm}^{-1}$ ) (A)  $\gamma$ -linolenic acid product (sample No. 1) with no *trans* fatty acid (B)  $\gamma$ -linolenic acid product (sample No. 6) with *trans* fatty acid, (C) Omega-3 product (sample No. 10) with *trans* fatty acid.

스지방 규격에 적합한 수준이었다(식약청, 2009). 현재 트랜스지방의 기준은 식용유지류의 경우, 100 g 당 2 g 미만 일 경우 “0”으로 표기 가능하다(식약청, 2009).

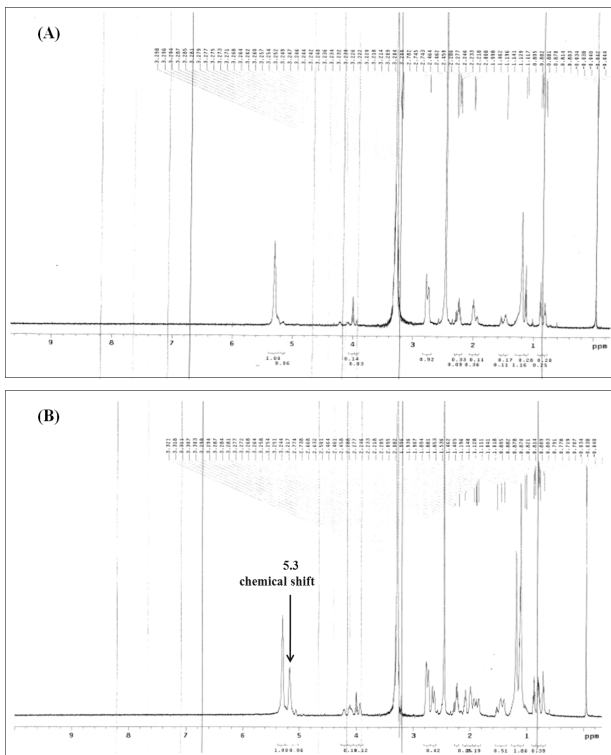
FT-IR은 트랜스 지방의 분석을 위하여 널리 이용되고 있는 기기중의 하나이다(Mossoba 등, 2007). 따라서 FT-IR을 이용하여 트랜스 지방산을 함유한 시료들(sample 6 번과 10번)과 함유하지 않은 시료 1번을 분석한 spectrum을 Fig. 2에 나타내었다. 트랜스 지방산이 나타나는 파장대인 990~945 cm<sup>-1</sup> 에서의 측정치를 비교하였으나, Fig. 2와 같이 대조구(sample No. 1)와 뚜렷한 차이점이 확인되지 않았다(Mossoba 등, 2007). Mahesar 등 FT-IR을 이용한 트랜스 지방산의 연구에서 트랜스 지방산의 농도는 2.5~16 g/100 g 의 수준에서 이루어진 반면에, 본 연구에서는 트랜스 지방산의 농도가 0.24~0.30 g/100 g으로 낮은 수준이었기 때문에 그 차이점을 확인하지 못한 것으로 사료된다(Mahesar 등, 2010).

이에 따라서 트랜스 지방의 확인을 위해 NMR을 이용하여 분자구조분석을 통하여 트랜스 지방산 분석을 시도하였다(Fig. 3). 트랜스 지방산이 검출되었던 시료(sample No.

6)를 DMSO-d<sub>6</sub> 에 녹인 후 트랜스 지방산(elaidic acid, 18:1 *trans*)을 10 mg을 첨가한 시료(Fig. 3B)와 첨가하지 않은 시료(Fig. 3A)로 NMR 분석한 결과, spectrum을 비교하였다(Fig. 3). 시료 6번(감마리놀렌산 제품)과 elaidic acid가 첨가된 시료 간에 5.3 chemical shift에서 차이를 나타내었다. NMR 분석을 이용한 지방산 분석보고에 따르면, methyl oleate(C<sub>18:1</sub> ester)의 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에 의하면 두 개의 olefinic protons는 5.3~5.4 ppm에서 chemical shift가 관찰되었다(Knothe와 Kenar, 2004). 또한, 8번 탄소와 11번 탄소 사이의 4개의 allylic protons(-C=C-CH<sub>2</sub>-)는 2.05 chemical shift에서 관찰되는 점과 비교할 때, elaidic acid의 *trans*형 구조로 인한 <sup>1</sup>H의 chemical shift는 5.3 ppm에서 확인되었다. 이러한 결과는 Knothe와 Kenar의 연구에서 methyl oleate에서 두 개의 olefinic protons의 chemical shift와 유사한 결과를 나타내었다(Knothe와 Kenar, 2004).

#### IV. 결론

시중에서 유통되고 있는 감마리놀렌산 함유 제품 8종 및 오메가-3 지방산 함유 제품 10 종(총 18종)을 구입하여, GC-FID 분석을 통하여 각 지방산 지표성분들을 모니터링 하였다. 감마리놀렌산 함유 제품(sample No. 1~8)의 경우, 시료 6번을 제외한 대부분의 시료들에서 감마리놀렌산 함량이 8.04~9.98 g/100 g으로 기준규격인 7.0 g/100 g 보다 높은 함량을 나타내어 적합한 시료들을 확인하였다. 오메가-3 지방산 함유 제품(sample No. 9~18)에서는 EPA와 DHA의 총합이 하프물범유의 경우(sample No. 10, 15), 14.21~15.98 g/100 g 으로 기준규격인 12 g/100 g 보다 높은 함량을 보이며 적합한 시료임이 확인되었다. 연어(sample No. 18) 및 어유(sample No. 9, 11~14, 16, 17)들의 경우, 24.11~31.20 g/100 g 으로 기준규격(18 g/100 g 이상)에 적합함을 확인하였다. TLC 분석을 통한 지질의 유형을 확인한 결과, 시료 18종 모두가 중성지방(triacylglycerol)의 형태로 이루어져 있어서 식품의 일반기준에 부합함을 확인하였다. 트랜스 지방산 함량은 0.30 g/100 g 이하로 검출되어, 식약청 트랜스지방 규격에 적합한 수준이었다. NMR 분석결과, 트랜스 지방산(elaidic acid)을 다량 함유한 경우, 5.3 ppm에서 chemical shift를 나타내어 트랜스 지방의 검출이 가능할 것으로 예측되었다.



**Fig. 3.** Specific chemical shift on 5.3 ppm of spectrum of the <sup>1</sup>H-NMR 600Hz. (A)  $\gamma$ -linolenic acid product (sample No. 6), (B)  $\gamma$ -linolenic acid product (sample No. 6) added elaidic acid (C<sub>18:1</sub> *trans*). Samples were dissolved in DMSO - d<sub>6</sub> solvent.

## 감사의 글

이 논문은 2011년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업입니다 (2011-0006110).

## 참고 문헌

- Bansal G, Zhou W, Tan TW, Neo FL, Lo HL. 2009. Analysis of trans fatty acids in deep frying oils by three different approaches. *Food Chem.* 116: 535-541.
- Cho KH, Park YM. 2010. Cardiovascular disease and health functional foods. *Korean J. Fam. Med.* 31: 587-594.
- Kim HJ, Lee KS, Lee KT. 2010. Synthesis and characterization of structured lipids from evening primrose seeds oil and rice bran oil. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1156-1164.
- Kim JY, Kim DB, Lee HJ. 2006. Regulation on health/functional foods in Korea. *Toxicology* 221: 112-118.
- Kim YK, Himmelsbach DS, Kays SE. 2007. ATR-fourier transform mid-infrared spectroscopy for determination of trans fatty acids in ground cereal products without oil extraction. *J. Agric. Food Chem.* 55: 4327-4333.
- Kim YM, Heo OS, Lee KT. 2007. Monitoring of crude fat and trans fatty acids contents of take-out foods in Daejeon, Chungcheong province. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 1010-1014.
- Knothe G, Kenar JA. 2004. Determination of the fatty acid profile by <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 106: 88-96.
- Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. 2003. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23: e20-e31.
- Korea Food & Drug Administration. 2006. *Law of Health Functional Foods in Korea*. Seoul, Korea.
- Korea Food & Drug Administration. 2009. *Department of Food Standardization, Labeling of Trans Fats*. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea.
- Korea Food & Drug Administration. 2010. *Department of Food Standardization, Raw material standardization of EPA, DHA*. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea.
- Korea Food & Drug Administration. 2011. *Regulation of the Korea Food and Drug Administration*. Public Comment No. 2011-17, Seoul, Korea.
- Lee JH, Adhikari P, Kim SA, Yoon T, Kim IH, Lee KT. 2010. Trans fatty acids content and fatty acid profiles in the selected food products from Korea between 2005 and 2008. *J. Food Sci.* 75: C647-C652.
- Mahesar SA, Kandhro Aftab AA, Cerretani L, Bendini A, Sherazi STH, Bhanger MI. 2010. Determination of total trans fat content in Pakistani cereal-based foods by SB-HATR FT-IR spectroscopy coupled with partial least square regression. *Food Chem.* 123: 1289-1293.
- Mossoba MM, Milosevic V, Milosevic M, Kramer JKG, Azizian H. 2007. Determination of total trans fats and oils by infrared spectroscopy for regulatory compliance. *Anal. Bioanal. Chem.* 389: 87-92.
- Myrnes B, Barstad H, Olsen RL, Elvevoll EO. 1995. Solvent-free enzymatic glycerolysis of marine oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72: 1339-1344.
- Pfeffer PE, Luddy FE, Unruh J. 1977. Analytical <sup>13</sup>C NMR: A rapid, nondestructive method for determining the cis,trans composition of catalytically treated unsaturated lipid mixtures. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 54: 380-386.
- Reyes JF, Sepulveda MA. 2006. PM-10 emissions and power of a diesel engine fueled with crude and refined biodiesel from salmon oil. *Fuel* 85: 1714-1719.