

계란의 콜레스테롤 함량 조절 기술에 관한 고찰

이복희¹ · 유익중 · 강통삼

한국식품개발연구원

(1993. 10. 22 접수)

A Review on Controlling Technology of Cholesterol Contents in Eggs and Egg Products

B.H. Lee¹, I.J. Yoo and T.S. Kang

Korea Food Research Institute

(Received October 22, 1993)

ABSTRACT

Due to the increased awareness on the relationship between high cholesterol intake and cardiovascular disease, the development of low cholesterol eggs and egg products are necessary at the present time. Largely, two approaches are possible to develop low cholesterol eggs. The first approach is the production of low cholesterol eggs by altering feeds of layers, by administering drugs, by genetic selection of strains and breeds, and by management of laying cycle, age and egg size. The second approach is to manufacture low cholesterol eggs technically treated with adsorbant, solvent, enzyme, edible oil and supercritical fluid. Both approaches have their own pros and cons, respectively, as far as the cholesterol removal rates, the easeness of process, and the economic reasons are concerned. The low cholesterol egg production is quite labor-intensive and has relatively low cholesterol removal rate(30~50%) compared to that of chemically treated eggs. On the other hand, the low cholesterol eggs treated with chemicals have a very high cholesterol removal rate (80~90%) but some of the methods are not completely safe as food processing purposes due to the residual chemicals and the sensory quality is not as good as the low cholesterol eggs without chemical treatment. Therefore, further studies must be conducted to improve the sensory quality of low cholesterol eggs and to eliminate fear about the harmfulness using low cholesterol eggs.

(Key words : cholesterol content, egg, egg products)

I. 서 론

오늘날 동맥경화나 순환기계 질환은 선진 외국은 물론 우리나라에서도 주요 사망의 원인이 되고 있는 질병으로써, 이들 질환의 발병에 콜레스테롤이 주요 인

자로서 작용한다는 사실은 많은 연구결과에 의해 잘 밝혀져 있다(Connor 등, 1981; Lippel 등, 1981; Gordon 등, 1977). 미국의 American National Heart, Lung and Blood Institute(NHLB)에서는 이와 같은 질환의 예방을 위해서 하루에 섭취하는 콜레스테롤량을 300 mg 이하로 제한하고 있으나, 사실

¹한국식품개발연구원 축산물이용연구부

상 이는 실천하기가 매우 어렵다. 왜냐하면 계란 한개에 함유되어 있는 콜레스테롤 함량만 하더라도 평균 272 mg 정도가 되기 때문이다(Bogin, 1991). 그러나 계란의 콜레스테롤이 앞에서 언급한 질병들의 직접적인 원인이 되고 있지는 않으며 계란을 통해 섭취하는 식이 콜레스테롤이 혈중 콜레스테롤치에 영향을 미치지 않는다는 연구결과들(O'Brien과 Reiser, 1980; Flaim 등, 1980)도 있으나 소비자들의 콜레스테롤에 대한 부정적인 인식을 쉽게 불식시키지 못하고 있어서, 지난 수년간 계란의 소비량은 지속적인 감소경향을 면치 못하고 있는 실정이다. 따라서 이러한 추세를 극복하기 위한 일환으로서 콜레스테롤의 함량을 완전히 제거하였거나(무콜레스테롤, 2 mg미만/1회식), 혹은 부분적으로 저하시킨 저콜레스테롤 계란 제품(2~24 mg/1회식)의 개발은 난가공업계는 물론 식품산업계가 직면하고 있는 당면과제임이 분명하다고 하겠다(Kosikowski, 1990).

계란의 콜레스테롤을 낮춰주는 기술적 방법에는 크게 두가지가 있을 수 있다. 첫째는 사양학적 방법에 의한 것으로서 계란에 물리, 화학적 처리를 직접 가하지 않고 사양시에 사료의 조성을 변화시켜 준다든지(Weiss, 1967; Naber, 1976), 콜레스테롤의 흡수, 배설 및 합성과정을 저해시키는 약물을 닭에게 투여한다든지 혹은 닭의 품종이나 계통을 유전적으로 취사선택하거나, 닭의 산란주기, 나이, 계란의 크기 등을 조절하므로써 저콜레스테롤 계란을 생산하는 것이다(Singh 등, 1979; Hausheer와 Fisher, 1978; Bogin, 1991).

두번째 방법은 첫번째 방법과는 달리 계란에 기술적으로 물리, 화학적 처리를 실시하여 콜레스테롤을 저하시키는 방법이다. 계란의 콜레스테롤을 제거하기 위한 기술적인 처리방법에는 흡착제나 효소를 이용하거나(Riccomini 등, 1990; Beitz, 1993), 초임계 추출법이나 용매 추출법을 이용하여 콜레스테롤을 제거하는 방법이 있다(Bradley, 1989; Yano 등, 1980).

또한 식용유를 이용하여 난황의 지질을 제거하는 방법(Bracco 등, 1992; Fioriti 등, 1979) 등을 들 수 있다. 이들 방법은 제각기 장·단점이 있으나 무엇보다도 운영 측면에서 관리비가 저렴하며 공정이 간편하되 효율적으로 콜레스테롤의 제거를 극대화할 수 있는 방법

의 개발이 중요하다 하겠다.

따라서 본고에서는 현재까지 알려져 있는 저콜레스테롤 계란의 생산 방법과 계란에서 콜레스테롤을 제거하기 위한 방법을 총괄적으로 고찰하여 보고자 한다.

II. 닭으로부터 저콜레스테롤 계란의 생산 방법

1. 산란계의 사료조성을 변화시키는 방법

사양학적으로 계란의 콜레스테롤을 제거하는 방법의 근간을 이루는 기본 원리는 닭에게 주는 사료의 조성에 의해 계란의 구성성분이 영향을 받는다는 관찰에서부터 비롯되었다(Hargis, 1988; Naber, 1976: Table 1). Weiss 등(1967)에 따르면 잇꽃유(safflower)를 사료 중량의 30% 정도 첨가하였을 때에 계란의 콜레스테롤 함량은 증가하였으나 혈중 콜레스테롤 함량은 감소하였다고 하며, 반면에 수소첨가 잇꽃유, 코코아유, 동물성 기름 등을 저지방 기초 사료에 첨가하였을 때 혈액과 계란의 콜레스테롤 함량이 모두 증가하였다고 한다. Naber 등(1985)은 사료중의 식물성 스테롤이 산란계의 콜레스테롤의 합성에 미치는 영향을 살펴보았다. 그 결과 콜레스테롤 합성을 촉진하는 HMG-CoA 환원효소(3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase)의 활성은 40% 까지 저하되었으나, 계란의 콜레스테롤 함량은 저하되지 않았다. 그러나 β -sitosterol을 첨가한 경우에는 계란의 콜레스테롤 함량이 현저하게 감소하였다(Clarenburg, 1971). β -Sitosterol이 계란의 콜레스테롤을 저하시킨 이유는 콜레스테롤의 turnover rate에 영향을 미친 결과 콜레스테롤의 배설율이 증가하였기 때문으로 추측된다고 하였다.

사료에 첨가하였을 때 계란의 콜레스테롤을 저하시키는 효과가 있다고 알려져 있는 성분이나 식품으로는 식이섬유(Kelly와 Tsai, 1978), 마늘이나 마늘의 추출물(Kendler, 1987), 사포닌을 함유한 알팔파(Turk와 Barnett, 1972)등을 들 수 있으며, 이들을 첨가하였을 때 계란의 콜레스테롤이 감소한다는 것이 실험을 통하여 확인되었다. 한 실험 결과에 따르면 마늘 가루를 사료의 1%, 2%, 3% 수준으로 첨가하여 Single Comb White Leghorn에게 3주간 섭취시킨 결과 난

Table 1. The effect of adding chloesterol to the feed of laying hen on egg cholesterol

Group		Weight (g)			Cholesterol concentration(mg)		
		Egg	Yolk	Shell	/dl blood	/yolk	/egg
Before	C	62.3	17.3	5.7	443±46	14.5	251
	E	63.3	17.9	6.0	471±45	15.1	270
<u>During</u>							
1st week	C	64.9	18.0	5.5	448±60	14.8	266
	E	63.6	18.1	5.8	489±57	15.6	283
2nd week	C	63.1	17.0	6.4	462±33	15.4	262
	E	64.2	16.9	6.1	585±40	20.1	340
3rd week	C	63.9	17.6	6.0	467±42	15.3	270
	E	64.5	16.8	5.8	643±24	22.4	377
<u>After</u>							
1st week	C	64.0	17.1	5.9	428±43	14.7	249
	E	64.9	17.4	6.1	616±27	21.3	362
2nd week	C	64.4	17.0	6.2	441±36	14.9	257
	E	63.8	15.8	5.9	561±29	18.8	325

C=Control group

(Bogin, 1991)

E=Experimetal group

Table 2. Mean yolk cholesterol levels and performance data of Single Comb White Leghorn pullets fed alfalfa of varying saponin content pooled over the five 28-day periods

Treatment or rations	Yolk cholesterol	Body weight gain	Hen day egg production	Feed conversion	Daily feed consumed
	(mg /g)	(g)	(%)	(kg /doz)	(g /hen /day)
Corn-soy(CS)	15.5 ^a	151.0 ^{ab}	81.1 ^a	1.77 ^a	118.9 ^a
CS + 10% dehydrated alfalfa meal	16.6 ^a	105.7 ^a	78.4 ^a	1.92 ^b	123.9 ^a
CS + 10% low saponin alfalfa	15.9 ^a	166.5 ^b	77.9 ^a	1.96 ^b	125.9 ^a
CS + 10% high saponin alfalfa	15.9 ^a	194.4 ^b	79.9 ^a	2.00 ^b	125.7 ^{ab}
					133.0 ^b

^{a, b} P<0.05

(Nakaue et al., 1980)

황 콜레스테롤 함량이 감소하였다고 한다(Sharma 등, 1979). 그러나, Reddy 등(1991)은 대두와 옥수수 사료에 마늘기름을 사료에 0.02% 첨가한 후 10마리의 26주령의 Leghorn에게 56일간 투여한 결과 마늘기름을 첨가하지 않은 대조구와 아무런 유의적 차이를 보

이지 않았다고 하여 상반된 결과를 보여주고 있다. 또한 여러 수준의 사포닌을 함유하는 알팔파 사료가 콜레스테롤 함량에 미치는 영향을 살펴본 결과 역시 계란의 콜레스테롤 함량에 별다른 영향을 주지 않았음이 관찰되었다(Nakaue 등, 1980; Table 2). 따라서, 사

료의 조성을 변화시켜 계란의 콜레스테롤을 감소시켜 주기 위해서는 우선 계란 콜레스테롤 함량 감소에 현저한 효과가 있다고 여겨지는 물질이나 성분의 탐색에 초점이 맞추어져야 하겠으며, 방법 자체가 단순노동 집약적인 점을 감안하여 이러한 측면의 보강이 이루어져야 하겠다.

2. 약물을 투여하는 방법

콜레스테롤 저하에 사용되고 있는 약품에는 2 가지가 있다. 콜레스테롤을 저하시키는 약품의 작용은 콜레스테롤의 합성을 방해하거나 담즙산이나 콜레스테롤의 배설을 증가시키는 것이다. 콜레스테롤의 합성을 방해하는 약품으로는 azasterol이 알려져 있는데, 이는 계란의 콜레스테롤을 감소시키면서도 산란율이나 계란의 크기에는 영향을 주지 않는다고 한다(Singh 등, 1972). 최근 또 다른 콜레스테롤 합성을 방해하는 약물인 lovastatin에 대한 연구가 관심을 끌고 있는데, Yu와 Sim(1989)에 따르면 lovastatin 수준을 0, 40, 80, 160, 320 ppm의 다섯가지로 하여 40주령의 Leghorn에게 40일간 섭취케한 결과 사료섭취량, 산란율, 난중, 난황무게, 난황퍼센트 및 산란계의 체중 등에는 영향을 미치지 않았으나 난황의 콜레스테롤 수준은 유의하게 감소하였다고 한다(Fig. 1). 반면에

triparanol은 지방의 합성을 방해하므로써 콜레스테롤의 감소를 가져오며(Dam 등, 1979), 사람의 동맥경화나 심장계 질환의 치료에 사용되고 있는 chlofibrate를 닭에게 투여했을 때에는 혈청 콜레스테롤이 매우 소폭으로 감소하였으나, 계란의 콜레스테롤은 오히려 증가하였다고 하여 계란의 콜레스테롤 감소작용은 비효율적인 것으로 나타났다. 반면에 cholestyramine은 담즙산과 복합물을 형성하여 콜레스테롤의 흡수를 저하시키는 약물로서 이를 투여하였을 때 계란에 대한 콜레스테롤 저하 효과가 있는 것으로 나타났다(Hausheer와 Fisher, 1978). 비록 사료에 이러한 약품을 투여하여 계란의 콜레스테롤이 저하된다고 하더라도 실질적으로 사용할 때에는 몇가지 문제점이 제기된다. 이 이유는 우선 약물 자체가 가격면에서 매우 비싸다는 단점이 있다. 또한 사료의 약물 잔류물이 계란에까지 전이될 수 있는 가능성과 이러한 계란의 소비가 인체에 미칠 수 있는 유해 효과 때문에, 실용화에 앞서서 이러한 점이 철저히 검토되어야만 하겠다.

3. 유전학적 품종 선별방법과 관리방법의 경영

품종을 개량하여 유전적으로 콜레스테롤이 낮은 계란을 생산하는 방법은 많은 가능성을 제시해 주기는 하지만, 실제로 이러한 유전학적인 품종 선택으로 얻

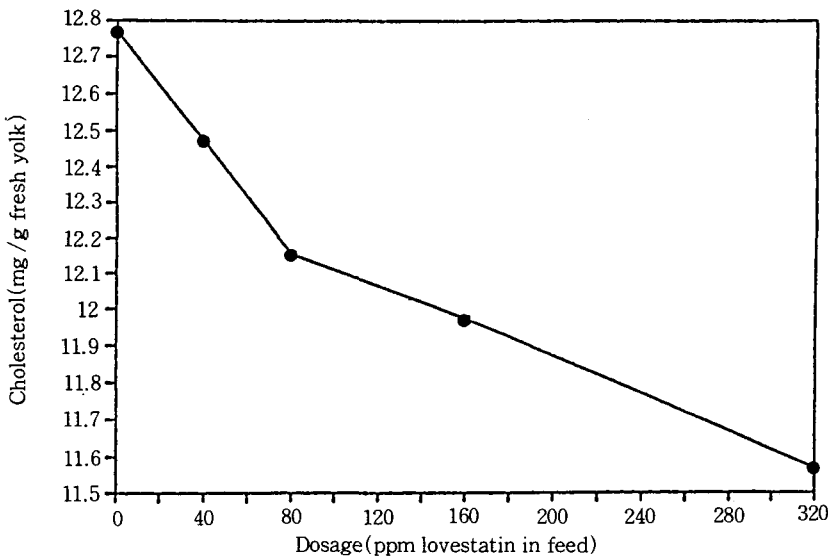


Fig. 1. Effect of lovastatin on egg cholesterol(Yu, M.M. and J.S. Sim, 1989).

Table 3. Egg weight and cholesterol in the egg and yolk of different strains of laying hen

Breed /strain	Egg weight (g)	Yolk weight (g)	Cholesterol (mg /dl)	Cholesterol (mg /egg)	Cholesterol (mg /g yolk)
S.I.	69.6±4.5 ¹	17.0±1.5	523±37	333±18	19.7±1.8
Leg R.	62.0±3.1	18.9±2.3	470±27	294±21	15.6±1.7
N.H.	61.9±4.6	17.4±1.1	475±39	294±23	16.9±1.0
R.I.	6.37±2.9	19.3±2.3	473±34	303±29	15.7±2.7
N.N.	62.3±3.3	16.8±2.1	368±31	210±36	12.5±2.0
G.H.	65.7±4.1	16.0±1.8	330±30	191±23	11.9±1.8

¹ $\bar{X} \pm SD$

(Bogin, 1991)

을 수 있는 계란의 콜레스테롤 함량은 최저 170~180 mg 정도(약 50%의 콜레스테롤 저하율)에 불과하고 품종에 따른 차이도 매우 큰 것으로 나타났다. 또한 산란주기, 닭의 나이 및 계란의 크기 등의 요인들을 적당히 관리하므로써 콜레스테롤 함량은 저하시킬 수 있다. 즉, 난황 콜레스테롤 농도는 산란율에 반비례하여 산란율이 높으면 콜레스테롤 합성능력이 그만큼 제한되게 되어 콜레스테롤의 희석 효과가 생기게 된다 (Bogin, 1991:Table 3).

사양학적 방법에 의해 계란의 콜레스테롤을 저하시키는 방법은 우선 사료 중에 첨가하는 물질의 종류나 성분에 좌우되며 실제로 그 효과가 확실히 밝혀져 있는 성분은 매우 소수에 불과하다. 게다가 이 방법의 사용으로 가져올 수 있는 콜레스테롤의 감소비율은 매우 작은 편이며 특히 약물투여의 방법은 약물 잔류물에 대한 연구가 보완되어야 하겠다. 또한 한가지 방법만을 사용하기 보다는 두가지 이상의 방법을 적당히 혼용하므로써 콜레스테롤의 제거효과를 극대화 할 수 있겠다.

Ⅲ. 생산된 계란으로부터 콜레스테롤을 제거하는 방법

1. 흡착제에 의한 방법

콜레스테롤은 유도 지방의 일종으로써 동물성 식품에만 존재하며, 식물성 식품에는 존재하지 않는다. 중란 크기의 전란에는 콜레스테롤이 약 190 mg 정도 함유되어 있으며 난백에는 거의 존재하지 않고 난황에만 분포되어 있다.

흡착에 의해 콜레스테롤을 제거하는 기본원리는 콜

레스테롤과 구조가 유사한 물질을 이용하여 콜레스테롤과 선택적으로 결합시켜 난용성의 복합체를 형성시킨 후, 원심분리 등을 이용하여 분리해 내는 것이다. 흡착제로 사용할 수 있는 물질들은 β -cyclodextrin (BCD) (Oakenfull 등, 1990), saponin(Riccomini 등, 1990), digitonin(Micich, 1990) 및 silica gel (Davidson, 1990) 등을 들 수 있다.

BCD는 전분에 cyclodextrin glycosyltransferase를 첨가하여 생성되는 환상형의 물질로서, 7개의 포도당 분자가 고리처럼 연결되어 있다. BCD에 의한 콜레스테롤 제거율은 80~90% 정도로 알려져 있으나, 전술한 바와 같이 제거율은 다분히 시료의 화학적 특성과 물리적 성질에 따라서 달라지게 된다. 콜레스테롤은 소수성과 친수성의 성질을 모두 지니는 양극성의 물질로서 수중유지형(oil-water emulsion)인 계란 중에 기름과 물의 경계면(oil-water interface)에 분포되어 있으므로 BCD를 첨가하게 되면 BCD의 친수성과 콜레스테롤의 친수성기가 서로 작용하여 난용성의 복합체를 형성하게 된다(Oakenfull 등, 1991). 이러한 난용성의 복합체는 원심분리에 의하여 쉽게 분리해낼 수 있다(Fig. 2, 3). 호주의 연구기관인 CSIRO에 의해 개발된 방법은 BCD를 이용하여 전란으로부터 콜레스테롤을 최고 95%까지 제거하였으며 ¹⁴C 동위원소로 label을 시킨 scrambled egg mix로 부터도 최고 96.5%까지 콜레스테롤을 제거할 수 있었다고 보고하였다(Table 4, 5).

Saponin은 인삼, 대두 및 알팔파 등의 식물에 다량 함유되어 있으며 α -chymotrypsin, protease, cholinesterase 등의 효소작용을 억제하는 물질로서 혈중 콜레스테롤을 낮추는 생리효과도 잘 알려져 있다

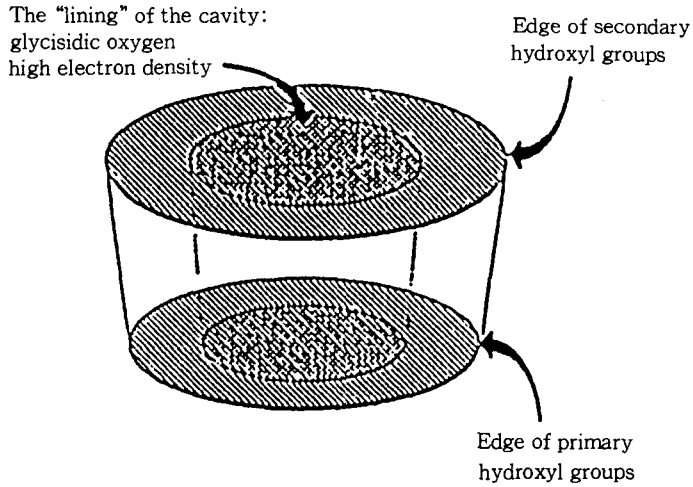


Fig. 2. Schematic diagram of the β -cyclodextrin molecule showing the hydrophobic cavity(Oakenfull, 1991)

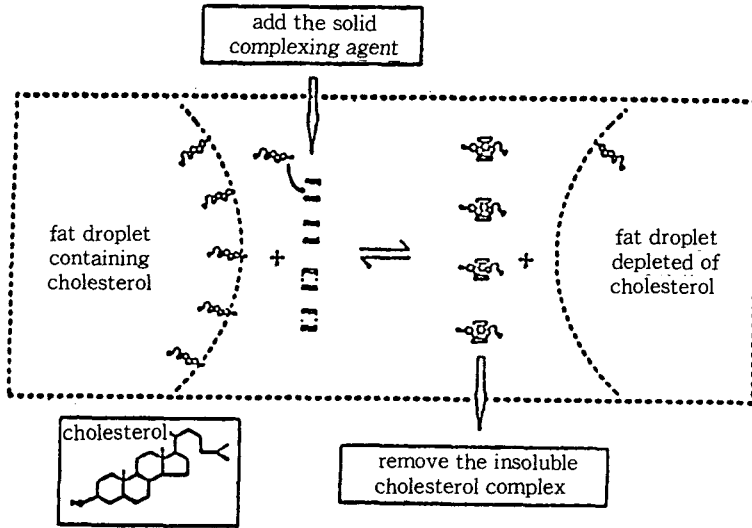


Fig. 3. Schematic diagram showing extraction of cholesterol from a fat droplet by formation of an inclusion complex with β -cyclodextrin. (Oakenfull, 1991)

(Ishaaga and Birk, 1965). Saponin 구조는 saponin unit의 3번째 탄소에 당분자가 몇개 결합된 상태로 존재하며, 구조중의 탄수화물 분자는 수용성이며 saponin은 지용성이기 때문에 콜레스테롤의 제거

역할을 수행할 수 있다.

Riccomini 등(1990)은 saponin을 사용하여 크립과 무수 버터지방에서 콜레스테롤을 제거한 바 있다. 대략의 공정은 시료와 saponin을 65℃에서 1시간 동

Table 4. Removal of cholesterol from liquid whole egg

Cyclodextrin concentration (% w / v)	Cholesterol concentration in yolk plasma (mg / dl)	Molar ratio of CD:CH	Cholesterol	
			% left	% removed
2	Australorp Dilution 1 + 3 (NaCl) 1.13	6.1	5	95
	Leghorn Dilution 1 + 3 (water) 1.54			
2	Australorp Dilution 1 + 2 (NaCl) 2.41	2.8	37	63
2	Leghorn Dilution 1 + 4 (NaCl) 1.40	4.9	11	89

(CSIRO, 1990)

Table 5. Removal of cholesterol from labelled and scrambled egg mix by β -cyclodextrin

Cyclodextrin (% w / v)	Contact time (min)	Temp. (C)	DPM		Cholesterol removed (%)	Molar ratio of CH:CH
			Initial	Final		
4.0	5	40	719	51	92.9	4.3
4.0	10	40	719	32	95.5	4.3
4.0	15	40	719	25	96.5	4.3
4.0	30	40	719	36	95.6	4.3
4.0	5	10	719	35	95.5	4.3
4.0	10	10	719	41	94.4	4.3
4.0	15	10	719	48	93.3	4.3
4.0	30	10	719	48	93.3	4.3

(CSIRO, 1990)

안 교반시킨 후 celite filter cake을 통과시켜 여과하고 물로 세척하여, 그 상태에서 크림을 다시 분리시켜 완료된다. 콜레스테롤의 제거율은 크림에서 80%, 무수 버터 지방에서는 90%까지 콜레스테롤을 제거할 수 있었다. 그들은 최대 콜레스테롤 제거율을 얻기 위해서는 saponin을 시료 중량 당 2% 정도 첨가하는 것을 제안하였다.

Digitonin도 saponin과 유사한 구조를 갖는 Digi-

talis purpurea의 배당체인 cardioactive steroid glycoside로서 심장병 치료에 많이 사용되고 있으며, 콜레스테롤을 정량하는 시약으로도 사용되고 있다. Digitonin은 digitogenin이라는 스테로이드 골격 중 3번 탄소에 젓당, 포도당 및 xylose의 당이 연결되어 있는 구조를 지니고 있다. Micich(1990)는 cross-linked styrene-divinylbenzene copolymers를 지지체로 사용하여 버터유로부터 콜레스테롤을 제거하였

다. 이 때 종합체는 불용성이며, 기능성을 유지하면서 안정성도 지녀야 한다고 하였다.

흡착제를 이용하여 콜레스테롤을 제거할 때 일반적인 제거율은 약 80~90% 정도으로써 제거율의 효율성은 시료의 물리 화학적 성질에 의해 영향을 받는다. 또한 경제적 측면에서 saponin과 digitonin 등은 가격이 비싸며, 이를 이용하여 처리하는 공정 또한 쉽지 않다. 반면에 최근에 관심을 모으고 있는 물질인 BCD는 가격이 저렴하고, 계란이나 유제품에 직접 첨가할 수 있어 매우 간편한 이점이 있다. 또한 BCD는 일부 선진 외국인 독일, 일본, 네덜란드 및 다른 유럽 국가에서 식품 첨가물로서 그 안전성이 인정된 바 있다.

2. 식물성 유지를 첨가하여 주는 방법

난황의 콜레스테롤을 저하시키기 위한 한 방법으로서, 신선란 중의 난황의 pH를 감소시켜서 유화 상태를 불안정화 시킨 후에, 미세한 분산상을 만들기 위해 식물성 기름을 첨가한다. 일단 식물성 기름을 첨가한 시료는 원심분리 시켜서 난황층과 기름층으로 분리하게 된다(Bracco 등, 1992; Fioriti 등, 1978).

난황의 pH는 보통 6.68 정도로서 이 이하로 pH를 저하시켜주면 불안정한 유화상태를 이루게 되며, 난황

의 점도도 낮아지게 된다. 난황의 점도가 감소하게 되면 더 많은 양의 콜레스테롤이 기름층으로 옮겨가게 되는 장점이 있다. 그러나 pH가 너무 낮아서도 안되며, 최적의 pH 범위는 4~6이다. pH를 낮추기 위해서는 염산이나 인산 등을 첨가하며, 첨가 수준은 난황 중량의 0.05%~0.5% 정도가 적당하다. 미세한 분산성을 만들기 위해 사용하는 식물성유로는 옥수수유, 잇꽃유, 대두유, 참깨유, 해바라기씨유, 면실유, 쌀겨유, 포도종유, 호박씨유, 낙화생유 등 매우 다양하다. 식물성 기름을 사용하게 되면 난황의 불포화지방산의 비율을 높여주는 장점이 있다. 이때 다가불포화지방산의 비율이 적어도 50% 정도가 되어야 하며 75%가 최적 비율이다. Bracco 등(1992)은 낙화생유를 이용하여 콜레스테롤을 80~90% 까지 제거하였으며, 이들은 pH의 영향을 살펴보기 위하여 pH를 저하시킨 군(1, 2, 3, 4)과 저하시키지 않은 군(A, B, C, D)에서의 콜레스테롤 제거율을 비교하였다(Table 6).

또한 식물성 기름 monoglyceride를 첨가하여 사용할 수도 있다(Conte 등, 1992). Monoglyceride를 첨가한 식용유를 사용하는 목적은, 계란에 물을 첨가하여 만든 수용액 상태의 계란으로부터 지방과 지단백질의 작용을 용이하게 해주기 위해서이며 가열과 교반을

Table 6. Removal of egg cholesterol from fresh egg yolk and reconstituted freeze dried egg-yolk using peanut oil

Treatments	Fresh egg-yolk cholesterol content 1.24%	
	Cholesterol % on egg-yolk	Decrease on cholesterol level %
1 ¹	0.25	79.84
A ²	0.3119	74.85
2	0.1333	89.25
B	0.1820	85.32
	Reconstituted freeze dried egg-yolk cholesterol content 2.74%	
	Cholesterol % on egg-yolk	Decrease on cholesterol level %
3	0.55	79.93
C	0.69	74.82
4	0.29	89.42
D	0.40	85.40

¹ Treatments 1, 2, 3, 4 = treated with acid

² Treatments A, B, C, D = treated without acid

(Bracco et al., 1992)

Table 7. Removal of egg yolk cholesterol treated with 8 percent monoglyceride containing sunflower oil at different temperatures

Temperature, C	54	57	60
Cholesterol in starting untreated yolk, g	9.42	9.42	9.42
<u>Fractions recovered after centrifugation</u>			
Oil phase, wt %	60.9	65.5	66.1
Membrane phase, wt %	6.5	5.5	6.7
Fat, wt %	55.2	57.8	53.4
Cholesterol, g	1.28	1.06	1.16
Product phase, Weight percent	32.6	29.0	27.2
Fat, wt %	10.8	8.72	9.6
Cholesterol, g	1.71	0.88	0.87
Cholesterol reduction, %	82	91	91

(Conte, 1992)

실시하여 불안정한 유화 상태를 만들어 준다. 교반 시간은 충분히 길어야 하며, 가열온도는 계란의 단백질이 변성되지 않는 온도 범위 이내로써 70℃를 넘어서는 안되며 최적 온도 범위는 55~60℃가 좋다. Monoglyceride의 함량은 계란 중량의 5% 정도가 적당하다. Table 7은 8% monoglyceride를 함유한 해바라기씨 기름을 사용하여 54℃, 57℃, 60℃, 63℃에서 콜레스테롤을 추출한 결과를 보여 주고 있다. 이 중 63℃에서는 단백질 변성이 일부 생겨났으며 점도가 증가하여 콜레스테롤을 제거할 수 없었다고 한다.

위와 같은 방법의 장점은 다른 방법과는 달리 유기용매를 사용하지 않아도 되며 따라서 잔류 유기용매의 회수 문제와 인체에 대한 유해 여부를 걱정하지 않아도 된다는 것이다.

3. 효소를 이용하는 방법

미생물이 생산하는 콜레스테롤 분해효소(cholesterol oxidase, cholesterol reductase 등)를 이용하여 콜레스테롤을 중간 대사물로 분해시켜 콜레스테롤의 함량을 낮춰주는 방법은 가장 경제적이며 품미에도 영향을 적게 주는 바람직한 방법으로 알려져 있다. 콜레스테롤의 중간대사물(4-cholesten-3-one)은 빠르게 산화되어 최종적으로 이산화탄소를 생성하며 (Loomeijer, 1958), 일부 중간 대사물(coprostanol)은 체내에서 흡수되지 않는 장점이 있다.

Cholesterol oxidase를 생성하는 미생물로서는 *Nocardia*, *Streptomyces*, *Brevibacterium*, *Rhodococcus* 등이 있다. 콜레스테롤을 분해할 수 있는 박테리아(16개 strain)가 동물성 식품인 버터, 베이컨, 돈육 및 계육지방 등에서 분리되었으며, 이들의 대부분은 *Rhodococcus erythropolis*와 *Rhodococcus equi*이었다 (Watanabe 등, 1986).

Streptomyces species로부터 얻어진 cholesterol oxidase를 이용하여 콜레스테롤을 제거했을 때, 25℃나 37℃에서 24시간 이내에 콜레스테롤이 완전히 제거된다. 생성되는 중간 대사물은 4-cholesten-3-one으로써, 우유에서 콜레스테롤을 제거할 경우 온도가 25℃ 이하일 때 콜레스테롤의 농도가 1/2이하가 되었다(Xiansheng 등, 1990). 반면에 *Rhodococcus equi* MIL1037은 토양으로 부터 분리된 균주로서 kerosene 이나 cholesterol을 유일한 탄소급원으로 사용하여 콜레스테롤과 β -sitosterol에 대한 기질 특이성을 갖는다(Iida 등, 1990). Aihara(1986)는 균주(strain)가 다른 미생물로부터 분리된 cholesterol oxidase의 활성을 비교한 결과 버터로 부터 분리된 *Rhodococcus equi* No. 23이 활성이 가장 컸으며, ATCC 6939가 그 다음으로 활성이 좋았고, 베이컨으로부터의 *Rhodococcus* sp. No. 33이 활성이 가장 낮았음을 밝혀냈다(Table 8).

Cholesterol reductase의 활성을 지니는 식품으로

Table 8. Amounts and percentages of the remaining cholesterol and the converted 4-cholesten-3-one in the surroundings of the colonies of the three strains

	Cholesterol		4-cholesten-3-one	
	%	(ng)	%	(mg)
<i>Rhodococcus equi</i> 23	35	(6.7)	65	(12.7)
<i>Rhodococcus equi</i> 33	91	(20.5)	9	(2.1)
<i>Rhodococcus equi</i> ATCC 6939	85	(17.7)	15	(3.2)
Control	99	(19.5)	1	(0.1)

Values in parentheses show the amounts of remaining cholesterol and converted-4-cholesten-3-one. (Aihara et al, 1986)

는 알팔파잎, 완두콩류, 오이 등을 들 수 있으며, 알팔파잎의 추출물을 우유, 같은 고기나 난황에 첨가하였을 때 식품 중의 콜레스테롤로부터 coprostanol이 만들어졌다(Beitz, 등, 1993). 콜레스테롤로부터 coprostanol이 만들어지는 과정은 여러가지 복잡한 단계를 거친다. 콜레스테롤을 coprostanol로 전환시키는 혐기성 박테리아의 급원은 소, 양, 말, 사람 등의 변 그리고 강, 냇가, 연못 등의 침전물과 돼지 오물 등으로서 특별히 돼지 오물로부터 추출된 박테리아는 *Eubacterium* sp. strain HL로 명명되었다. 이 박테리아의 특징은 gram-positive, 혐기성으로써 성장시 레시틴을 필요로 하고 인지질 분해효소력을 지니고 있다(Beitz 등, 1993).

4. 초임계추출법을 이용하는 방법

초임계추출방법은 임계온도와 임계압력 이상의 조건에서 초임계액체(supercritical fluid)를 이용하여 물질을 추출하는 방법으로서 산업적으로 커피로부터 카페인을 추출하는데 가장 많이 이용되고 있다(Zosel, 1981). 맥주의 원료인 홉으로부터 쓴맛의 제거, 향신료로부터 기름의 분리, 어유로부터 오메가 지방산을 정제할 때도 활용되고 있다. 최근에는 초임계추출법을 이용하여 식품에서 콜레스테롤을 추출하려는 연구가 활발히 진행되고 있으며, Shishikura 등(1986)은 이산화탄소를 이용하여 버터유 중의 콜레스테롤을 제거하기도 하였다.

초임계액체는 임계치 이상의 온도에서 액체 상태의 물질을 말하며, 초임계상태에서는 액체와 고체일 때의 성질이 동일해지게 된다. 초임계액체의 특징은 고밀

도, 저비중 상태로서 표면장력이 없다. 따라서 용매로서의 수행력이 뛰어나며, 표면장력이 없기 때문에 식품재료에 쉽게 침투되고 확산 또한 잘 된다. 초임계 액체로서는 액체나 기체 모두 사용할 수 있으며, CO₂는 가격이 저렴, 비독성, 저임계온도, 비폭발성 및 비부식성의 장점들로 인하여 널리 사용되고 있다(Bradley, 1989).

일반적으로 초임계추출방법을 이용하여 난황분으로부터 콜레스테롤의 제거율은 약 70% 정도이며 액체 난황으로부터 콜레스테롤을 제거하는 것은 효율성이 매우 떨어지는 것으로 알려져 있다. Zeidler(1992)는 주용매로서 CO₂와 보조용매로서 알코올을 이용하여 액체 난황으로부터 콜레스테롤을 제거한 결과, CO₂만을 사용했을 때에 제거율은 71.4%였으나 알코올을 부용매로 썼을 경우 제거효율이 83%로 향상되었다(Fig. 4).

초임계추출방법을 이용한 계란으로부터 콜레스테롤 제거율은 70~80% 정도으로써 비록 chlorinated hydrocarbon과 같은 산업용 용매에 대한 통제가 강화되고, 에너지 비용의 급격한 상승으로 인해 생겨난 방법이기도 하나, 설치비가 매우 바싸다는 단점이 있다. 따라서 대량생산을 목적으로 하는 경우 투자의 가치가 있는지 여부에 대한 검토가 이루어져야할 것이다.

5. 용매 추출을 이용한 방법

용매 추출법은 용매를 이용하여 콜레스테롤을 제거하는 방법이다. 흔히 사용되고 있는 용매의 종류로는 diethyl ether, methylene chloride, ethyl acetate, hexane, benzene 등으로 단백질의 변성을 방지하지

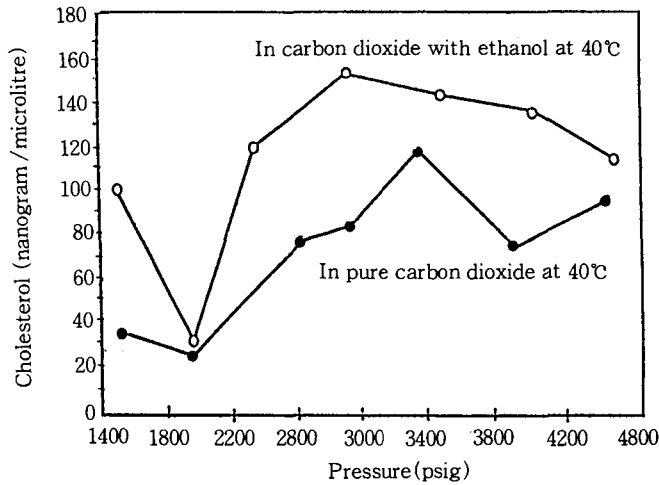


Fig. 4. Cholesterol solubility in supercritical carbon dioxide in the presence and absence of ethanol (Zeidler et al., 1992).

위해서 용매 추출 후 회수 온도가 60~70℃ 이하여야 한다. 용매 추출시 열처리에 의한 단백질의 변성은 단백질의 분해와 손실을 초래하여 제품의 품질에 지대한 영향을 미치므로, 처리 공정시 고려되어야 할 매우 중요한 문제이다. 일반적으로 비극성 용매만으로 난황의 콜레스테롤을 모두 제거할 수는 없다. 그러나 알코올성 극성 용매를 비극성 용매와 함께 사용할 경우, 단백질과 인지질 사이에 있는 친수성 결합과 정전기적 결합이 깨어지므로서 콜레스테롤의 완전 제거를 피할 수 있는 장점이 있다(Yano 등, 1980).

Yano 등(1980)은 액체 dimethyl ether를 사용하여 건조난분이나 난황분으로 부터 콜레스테롤과 중성 지방을 95% 이상 제거하였으며, 인지질 분획도 30% 까지 보유되었다. Dimethyl ether는 비극성 휘발 용매로서 비등점이 -25℃로 대단히 낮아 가열을 할 필요가 없고 휘발성이 매우 강하여 완전히 회수되는 장점이 있다(Table 9, 10). 반면에 Melnick(1971)은 hexane을 이용하여 난황 고형물에서 약 50%의 콜레스테롤과 50~90%의 지방을 추출하였다. 또한 단일 비극성 용매만을 사용하는 것보다 극성과 비극성용매

Table 9. Cholesterol extraction rates using liquid dimethylether and hexane as a solvent for egg cholesterol removal

	Results on defatted whole egg production using liquid dimethylether or hexane	
	Liquid dimethylether	n-Hexane
Yield	93.5g	94.0g
Neutral fat content (extraction %)	0.7% (98.0%)	1.2% (96.6%)
Phospholipid content (extraction %)	8.9% (53.9%)	11.0% (33.1%)
Cholesterol content (extraction %)	0.8mg /g (97.3%)	12.3mg /g (57.6%)
Nitrogen solubility index (N.S.I., %)	88.0	78.0

(Yano et al., 1980)

Table 10. Recovery rates of residual solvent from defatted whole egg after cholesterol extraction with two different solvents

	Amount of residual solvent in defatted whole eggs with lapse of time of solvent removal treatment					
	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h	10 h
 ppm					
Liquid dimethyl ether	7,000	25	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Hexane	8,200	7,200	1,500	980	980	820

*N.D.=Not detected(detection limit 0.1 ppm)

(Yano et al., 1980)

의 혼합물을 사용하는 것이 더 좋다고 하는 것이 Warren 등(1988)에 의해서도 밝혀졌다. Hexane만을 용매로 사용한 경우와 hexane:isopropanol(2:1)나 chloroform:methanol(2:1)등의 혼합물을 사용한 경우를 비교한 결과, hexane만을 사용했을 때가 비극성 용매와 극성 용매의 혼합물을 사용했을 때에 비해 지방과 인지질 분획이 더 많이 제거되었으며 콜레스테롤과 색소의 제거는 더 적었다고 한다. 즉, hexane용액으로 지방과 콜레스테롤을 제거한 난황에서는 인지질 함량의 저하가 커서 지방 대체제와 레시틴의 보충이 필요하였다.

따라서 용매 추출에 의한 콜레스테롤의 제거시, 전술했던 바과 같이 잔류용매의 회수 문제와 안정성에 대한 보완만 이루어진다면 콜레스테롤 제거율이 매우 높다는 장점을 적극 활용할 수 있겠다.

IV. 요약

콜레스테롤의 섭취와 심장질환과의 밀접한 상관관계에 대한 일반인들의 인식도가 점차로 높아지면서, 계란과 같이 콜레스테롤의 함량이 높은 식품으로 부터 콜레스테롤을 제거한 저콜레스테롤 계란이나 무콜레스테롤 계란에 대한 요구는 자연발생적인 현상이라고 할 수 있겠다. 저콜레스테롤 계란을 생산하는 데는 두 가지 방법이 있을 수 있다.

첫번째 방법은 닭으로부터 콜레스테롤 함량이 낮은 계란을 직접 생산하는 것이다. 이것은 닭의 사료 조성을 변화시키거나 콜레스테롤의 흡수, 배설 및 합성과정을 저해시키는 약물을 닭에게 투여한다든지 혹은 닭의 품종이나 계통을 유전적으로 선발, 개량하거나 닭

의 산란주기, 나이, 계란의 크기 등을 관리하므로써 이루어질 수 있다.

두번째 방법은 일반란에 흡착제, 식물성 기름, 효소, 용매 및 초임계액체 등을 직접 처리하므로써 저콜레스테롤 계란을 생산하는 것이다. 이들 방법은 제각기 장단점을 지니고 있어서 최우선의 한가지 방법만을 선택하기는 어렵다. 즉, 사양학적 방법에 따른 저콜레스테롤 계란의 생산은 그 생산방법이 매우 노동집약적이며, 콜레스테롤의 제거율(30~50%)도 두번째 방법(80~90%)에 비해 상당히 낮은 편이다. 반면에 두번째 방법에 의한 저콜레스테롤의 생산법은 제거율이 매우 높은 편이나, 일부 방법은 인체에 안정성의 문제와 관능적 품질이 매우 저조해지는 단점이 있어서 문제가 되고 있다. 따라서 가까운 장래에 이와 같은 문제점이 해결, 보강된 저콜레스테롤 계란 및 계란 제품의 생산 방법에 대한 연구가 더 많이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

(색인:계란, 계란 가공품, 콜레스테롤 함량).

V. 인용문헌

1. Aihara, H., K. Watanabe and R. Nakamura. 1986. Characterization of production of cholesterol oxidases in three *Rhodococcus* strains. *J. Appl. Bacteriology* 61:269-274.
2. Bogin, E. 1991. Low cholesterol eggs. *Proceedings of the 4th European symposium on the quality of eggs products*. Pages 97-101.
3. Braccoo, U. and V. Jean-Louis. 1982.

- Decholesterolization of egg yolk. U.S. Pat. No. 3,333,959.
4. Bradley, R.L. 1989. Removal of cholesterol from milk fat using supercritical carbon dioxide. *J. Dairy Sci.* 72:2834-2840.
 5. Beitz, C., P.A. Hartman, H.W. Young and A. Zaks. 1993. Use of enzyme to decrease cholesterol content of dairy products. Progress Report to Wisconsin Milk Marketing Board.
 6. Clarenburg, R., I.A. Kim Chung and L.M. Wakefield. 1971. Reducing the egg cholesterol level by including emulsified sitosterol in standard chicken diet. *J. Nutr.* 101: 289-298.
 7. Connor, W.E., D.S. Lin and W.S. Harris. 1981. A comparison of dietary polyunsaturated ω -6 and ω -3 fatty acids in human : Effect upon plasma lipids, lipoproteins and sterol balance (Abstr). *Atherosclerosis* 1:363.
 8. Conte, J.A., B.R., Johnson, R.J. Hsieh and S.S. Ko. 1992. Method for removing cholesterol from eggs. U.S. Pat. 5,091, 203.
 9. Dam, R., E. LaBate, S.W. Tam, C. Cuervo Torey. 1979. Effects of diazcholesterol, triparanol, and β -sitosterol on egg cholesterol deposition in cournix quail. *Poult. Sci.* 58:985-987.
 10. Davidson, S. 1990. Low cholesterol milk and eggs. *Rural Research* 148:27.
 11. Fioriti, J.A., H. D. Stahl, R.J. Sims and C. H. Spotholz. 1972. Low cholesterol egg product and process. U.S. Pat. No. 4,103,040.
 12. Flaim, E., L.F. Ferreri, F.W. Thye, J.E. Hill and S.J. Ritchey. 1981. Plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations in adult males consuming normal and high cholesterol diets under controlled conditions. *Am. J. Clin. Nutr.* 34:1103-1108.
 13. Gordon, T., W.P. Castelli and M.C. Hjortland. 1977. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease : The Framingham Study : Summary. *Am. J. Med.* 62:707-714.
 14. Hargis, P.S., 1988. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl-a review. *World's Poult. Sci. J.* 44:17-29.
 15. Hausheer, W.C. and H. Fischer. 1978. The antihypercholesterolemic activity of candicidin as a function of dietary cholesterol in cockerels. *J. Nutr.* 108:712-718.
 16. Iida, M., Y. Iwama and S. Mineki. 1990. Properties of cholesterol oxidase produced by *Rhodococcus equi* MIL 1037. *J. Japan. Oil Chem. Soc.* 39:16-22.
 17. Kelly, J.J. and A.C. Tsai. 1978. Effect of pectin, gum arabic and agar on cholesterol absorption, synthesis, and turnover in rats. *J. Nutr.* 108:630-639.
 18. Kendler, B.S. 1987. Garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) : A review of their relationship to cardiovascular disease. *Prev. Med.* 16:670-685.
 19. Kosikowski, F.V. 1990. "Cholesterol-free" milks and milk products : Limitations in production and labeling. *Food Tech.* Vol. :130-140.
 20. Lippel, K., H.A. Tyroler and H. Eder. 1918. Meeting summary : relationship of hypertriglyceridemia to atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1:406-417.
 21. Loomer, F.J. 1958. The microbiological oxidation of cholesterol. *Biochem. Biophys. Acta.* 29:168-174.
 22. Melnick, D. 1971. Low cholesterol dried egg yolk and process. U.S. Patent 3,563,765.
 23. Micich, T.J. 1990. Behavior of polymer-supported digitonin with cholesterol in the absence and presence of butter oil. *J. Agri.*

- Food Chem. 38:1839.
24. Naber, E.C. 1976. The cholesterol problem, the egg and lipid metabolism in the laying hen, Poul. Sci. 55:14-30.
 25. Naber, E.C., J.B. Allred, C.J. Winger and A. E. Stock. 1985 Effect of cholesterol oxidation products on cholesterol metabolism in the laying hen. Poul. Sci. 64:675-680.
 26. Nakaue, H.S., R.R. Lowry, P.R. Cheeke and G.H. Arscott. 1980. The effect of dietary alfalfa of varying saponin content of yolk cholesterol level and layer performance. Polul. Sci. 59:2744-2748.
 27. Oakenfull, D.G., S.S. Gurcharan and M.L. Rooney. 1990. Cholesterol removal. Australian patent, Au-A-54768/90, 1598.
 28. Oakenfull, D.G., R.J. Pearce and G.S. Sidhu. 1991. Low-cholesterol dairy products. Aust. Dairy Tech. 46:110-112.
 29. O'Brien, B.C. and R. Reiser. 1980. Human plasma lipid responses to red meat, poultry, fish, and eggs. Am. J. Clin. Nutr. 33:2578-2580.
 30. Reddy, R.V., S.F. Lightsey and D.V. Maurice. 1991. Research Note: Effect of feeding garlic oil on performance and egg yolk cholesterol concentration. Poul. Sci. 70:2006-2009.
 31. Riccomini, M., C. Wick, A. Peterson, R. Jimenez-Flores and T. Richardson. 1990. Cholesterol removal from cream and anhydrous butter fat using saponins. J. Dairy Sci. 73:107-113.
 32. Sharma, R.K., R.A. Singh, R.N. Pan and C. K. Aggarwal. 1979. Cholesterol content of chicken egg as affected by feeding garlic (*Allium sativum*), sarpagandha (*Rowlfia serpentina*) and nicotinic acid. Haryana Agric. Univ. J. Res. IX:263-265.
 33. Shishikura, A., K. Fujimoto, T. Kaneda, K. Arai and S. Saito. 1986. Modification of butter oil by extraction with supercritical carbon dioxide. Agri. Bio. Chem. 50:1209-1215.
 34. Singh, R.A., J.F. Weiss and E.C. Naber. 1972. Effect of azasterols on sterol metabolism in the laying hen. Poul. Sci. 51:449-457.
 35. Turk and Barmett, 1972. Diet and egg cholesterol content. Poul. Sci. 51:1881-1890.
 36. Warren, M.W., H.G. Brown and D.R. Davis. 1988. Solvent extraction of lipid components from egg yolk solids. J. Amer. Oil Chem. Soc. 65:1136-1139.
 37. Watanabe, K., H. Shimizu, H. Aihara, R. Nakamura, K. Suzuki and K. Komagata. 1986. Isolation and identification of cholesterol-degrading *Rhodococcus* strains from food of animal origin, and their cholesterol oxidase activities. J. General Appl. Microbiology 32:1317-1417.
 38. Weiss, J.F., E.C. Naber and R.M. Johnson. 1967a. Effect of dietary fat and d-thyroxine on the incorporation of acetate-1 ¹⁴C into egg yolk lipids. J. Nutr. 93:142-152.
 39. Xiansheng, W., T.V. Hung, P.G. Drew and K. Versteeg. 1990. Enzymatic degradation of cholesterol in milk. Australian J. Dairy Technol.
 40. Yano, N., I. Fukinbara, K. Yoshida and Y. Wakuyama. 1980. Decholesterolized and defatted egg powder and method producing same. U.S. Patent. 4,234,619.
 41. Yu, M.M. and J.S. Sim. 1989. Effect of feeding an enzyme inhibitor on egg yolk cholesterol levels. University of Alberta:68th Annual Feeder's Day Report. Pages 50-51.
 42. Zeidler, G., G. Pasin and A. King. 1992. Removing cholesterol from liquid egg yolk by CO₂-supercritical fluid extraction. University

of California at Davis.

43. Zosel, K. 1981. Process for the decaffeination of coffee. U.S. Patent 4,247,570.