

CLA (Conjugated linoleic acid) 급이수준에 따른 역동의 CLA 축적량

최병대⁺ · 강석중 · 하영래*

경상대학교 해양생물이용학부/해양산업연구소, *응용화학식품공학부

Accumulation of the Conjugated Linoleic Acid (CLA) in Tilapia (*Tilapia nilotica*) Fed Diets on Various Levels of CLA

Byeong-Dae CHOI, Seok-Joong KANG and Young-Lae HA*

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

*Division of Applied Chemistry and Food technology, Gyeongsang National University,
Chinju 660-701, Korea

Effects of conjugated linoleic acid (CLA), known as an effective anticarcinogen in several animal models, on the tilapia were investigated. The CLA was made from safflower oil by alkaline isomerization method. Isomers in CLA such as *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 occupied over 80%, and other isomers was below 20%. In experiment, 250 fishes (average weight is 32 g) were divided into 15 fishes per five treatment and triplicate group for 8 weeks: control, 1.0% CLA, 2.5% CLA, 5.0% CLA, and 10% CLA diets. Daily growth rate and feed coefficient were measured every week. The most effective diet for the growth rate and feed coefficient of tilapia was 1.0% CLA diet group. Every two weeks, sampled and determined the contents of CLA in the muscle and liver. After 8 weeks, 1.0% and 10.0% of CLA fed group accumulated the CLA as 41.3 and 180.9 mg/g of fat in their muscle respectively. Also, n-9 and n-3 fatty acid (FA) compositions were almost not changed in the muscle and liver. But n-6 fatty acid was changed according to the contents of fed CLA. The 1.0% CLA fed group was shown the highest contents of n-6 FA and the 10.0% CLA group was shown the lowest contents of n-6 FA.

Key words: Conjugated linoleic acid (CLA), Safflower oil, Tilapia, Fatty acids

서 론

WTO 체제 출범으로 수산물 시장도 본격적인 개방·경쟁체제로 돌입하여 1997년 7월부터 수산물 수입이 전면 개방됨에 따라, 여기에 대한 대응책으로 여러 가지 방법이 제시되고 있으나, 그 중에서 국내 수산물의 국제 경쟁력 향상이 가장 절실하다. 따라서 우리나라 담수어 양식산업에서 큰 비중을 차지하는 역돔의 경우에도 기존의 단백질 공급을 위한 어류양식방법에서 상품차별화가 가능한 부가가치를 갖는 질적생산으로의 전환이 불가피하다.

최근 발암물질 등에 노출되었을 때 발암성을 경감시킬 수 있는 항암제에 대한 연구에 많은 관심이 모이고 있다 (Ip et al., 1991; 1994a; 1994b). 식물 및 식품 (대부분 식물에서 유래한 식품)으로부터 많은 항암성분이 분리 동정되었으나, 이들은 미량으로 존재하면서 상당한 독성을 가지므로 (Wattenberg, 1983) 이들을 산업화시키는데는 많은 어려움을 가지고 있다. 그러나 미국 위스콘신대학 독성학 연구실에서 쇠고기 불고기 요리로부터 항암물질을 분리 및 동정하였다 (Ha et al., 1987). 이 항암 물질은 사람의 필수지방산인 리놀산 (18:2n-6)이 요리 중에 열이나, 박테리아에 의해서 변화된 이성체로서 CLA (conjugated linoleic acid)라고 불려지며, 동물의 피부암, 위암 및 유방암 세포를 억제하는 항암물질임이 증명되어 (Ha et al., 1987; 1990), 새로운 천연 항암물질로

분류되었다 (Pariza and Ha, 1990). 이 CLA는 항암성 외에도 성장촉진효과 (Chin et al., 1994), 혈중 콜레스테롤 저하효과 (Pariza and Ha, 1990), 면역증강 효과 (Cook et al., 1993; Miller et al., 1994) 등을 가지기 때문에 새로운 생리활성 물질로도 각광받기 시작했다.

또한, 이 물질은 식품 특히 유제품이나 육제품에 소량으로 존재하는 것이 밝혀져 (Shantha et al., 1992) 식품 중에 CLA의 함량을 높이기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. CLA는 인간의 혈액에 10 ppm 이상 있으며 (Dormandy and Wickens, 1987), 한국인의 모유 속에 최고 28~79 mg/L이 함유되어 있다는 사실이 국내 연구진에 의해서 최초로 밝혀져 (Kim and Ha, 1993), 많은 암학자와 영양학자 등의 관심사로 등장하였으며 (Jensen et al., 1998), 미국 FDA에서는 식품첨가물로서의 안정성 연구에 착수하였다 (Steinhart, 1996).

본 연구자들은 CLA를 값싸게 대량으로 제조할 수 있는 방법을 확립한 후, 역돔 사료에 1.0%, 2.5%, 5.0% 및 10.0% 첨가하여 8주간 사육하면서 축적되는 CLA의 함량, 이성체의 변화, 근육 및 간 중의 지방산조성의 변화를 살펴보았다. 그리고 역돔을 이용한 천연 CLA의 대량생산 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험어 및 사육장치

실험어는 1997년 8월 창녕소재 역돔조합으로부터 활어차를 이

*Corresponding author: bdchoi@nongae.gsnu.ac.kr

용하여 운반한 후 본 대학 어류양식 실험실에서 사육하면서 분석 용 시료로 사용하였다. 사육실험은 각 실험구마다 50마리의 역듬 치어 (평균체중 32 g)를 수용하여 3배수 (5개 실험구×3배수)로 전체 15개의 실험수조를 사용하였다. 사료의 급이량은 하루 체중의 약 3%를 기준으로 최소 3회를 먹는 대로 나누어 주었다.

40 L 직사각형 유리수조를 이용한 반순환여과식 사육시스템으로 3면은 유리로 되어 있으나, 앞면은 아크릴로 만들고 여기에 구멍을 뚫어 부착된 스탠드파이프를 통하여 주수된 양의 공급수만큼 어류의 배설물과 함께 자동적으로 배출되도록 하였다.

사육실험

약 2주간의 예비사육실험을 거친 후 2주마다 어체중, 성장, 사료효율, 성장계수, 일일성장을 등을 측정하고 총 사육기간은 8주로 하였다. CLA 분석을 위한 어류는 동일한 조건의 별도의 수조에서 사육하여 매 2주마다 시료를 채취하여 CLA 분석 및 지방산의 분석에 사용하였다. 각 실험구간의 성장자는 Duncan's New Multiple Range (DNMR) test (Duncan, 1955)로 유의차를 검정하였다.

실험사료

실험사료는 역듬조합에서 제공한 시판용 치어부상사료를 사용하였다. Table 1에 나타난 바와 같이 역듬조합에서 제공한 기본사료에 CLA를 0% (Diet 1), 1.0% (Diet 2), 2.5% (Diet 3), 5.0% (Diet 4), 10.0% (Diet 5)를 각각 첨가하여 침착시켰다. CLA 합성은 Kim et al. (2000)의 alkaline isomerization 방법에 따라 180°C에서 잇꽃유를 이성화하는 방법으로 제조하였다. 합성결과 생성된

Table 1. Composition of the diets used in the experiment

Feed Ingredients	Amount (% , w/w)
Fish meal ¹⁾	45.0
Soybean meal	7.0
Wheat flour	30.0
Dried yeast culture (product)	1.0
Vitamin mixture ²⁾	2.0
Mineral mixture ³⁾	1.0
Lipid supplements	15.0
Diet 1	15.0 SFO ⁴⁾
Diet 2	1.0% CLA + 14.0% SFO
Diet 3	2.5% CLA + 12.5% SFO
Diet 4	5.0% CLA + 10.0% SFO
Diet 5	10.0% CLA + 5.0% SFO

¹⁾ Fish meal: crude protein 45%; crude fat 5%, crude fiber 3%, crude 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 pantothenate, 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⁾ Safflower oil. The chemically isomerized safflower oil has 75% of CLA.

CLA의 순도는 75%였으며 (Fig. 1), 칼로리 조절을 위한 지방첨가는 잇꽃유로서 조절하였다. 실험사료는 -35°C 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

총지질 추출 및 지방산 조성의 분석

총지질의 추출은 Bligh and Dyer 법 (1959)에 따라 chloroform과 methanol을 사용하였다. 지방산 유도체화는 AOCS 법 (1990)에 따랐다. 즉, 시료 일정량과 내부표준물질 ($C_{23:0}$ methyl ester) 1 mL (1 mg $C_{23:0}$)를 cap tube에 취하고, 0.5 N NaOH-methanol 용액 1.5 mL를 가하여 질소 충진한 다음 100°C에서 3분간 가열하여 견화하였다. 방냉 후 12% BF_3 -methanol 2 mL를 가한 후 질소 충진한 다음 tube의 뚜껑을 단단히 죄어서 100°C에서 20분간 가열하여 methylester화 하였다. 이를 약 30~40°C로 냉각한 후 isoctane 1 mL를 첨가하고 질소 충진한 다음 30초간 vortex mixer로 혼합하였다. 그리고 즉시 5 mL의 포화식염수를 가하고 질소 충진한 다음 혼들어 방치하여 isoctane층이 분리되도록 하였다. Isooctane층을 시료병 (4 mL)에 옮긴 후 다시 isoctane 1 mL를 첨가한 다음 혼들어 재 추출하여 시료병에 모으고 이를 지방산 분석용 methyl ester 시료로 하였다.

Gas liquid chromatography (GC)

지방산 분석에 사용하는 GC는 Omegawax-320 (bonded polyglycol phase) open-tubular column (30 m × 0.32 mm, i.d., Supelco PA, USA)을 불인 Shimadzu GC 14A를 이용하였다. 분석조건은 column온도 185°C~230°C (3°C/min), injector온도 250°C, detector온도 250°C 그리고 carrier gas는 He (1.0 kg/cm²)을 사용하였다.

지방산의 분석은 동일조건에서 분석한 표준품의 ECL과 비교하여 동정하였으며, 지방산 표준품은 14:0, 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 18:3n-3, 20:0, 22:1n-9, 24:0 (D-104 Doosan Serdary Research Lab., Kyungki-do, Korea)와 GC-MS로 동정된 menhaden oil을 사용하였다.

결 과

역듬의 성장도

CLA의 첨가량을 달리한 사료를 8주간 공급하였을 때 역듬의 성장도는 Table 2에 나타낸 바와 같다. 역듬의 성장은 8주 후 대조구 및 1.0% CLA 첨가구는 체중증가가 비슷하였으나, 2.5 및 5.0% CLA 첨가구에서는 626.5 및 618.7 g 이었고, 10.0% CLA첨가구에서는 460.1 g으로 급격히 감소하는 경향을 나타내었다.

사료계수에 있어서도 대조구와 1.0% 구는 각각 1.00였으며, 2.5 및 5.0% CLA 첨가구에서는 각각 1.14, 1.15였고, 10.0% CLA 첨가구에서 1.51을 나타내어 다른 실험구에 비하여 저조한 사료효율을 나타내었다. 일일성장을 대조구 및 1.0%는 각각 2.5099 및 2.4837%로 성장률에 차이를 보이지 않았으나, 2.5, 5.0 및 10.0%는 각각 2.4605, 2.4644 및 2.0294%로 나타나 성장을 제한하는 것으로 나타났다.

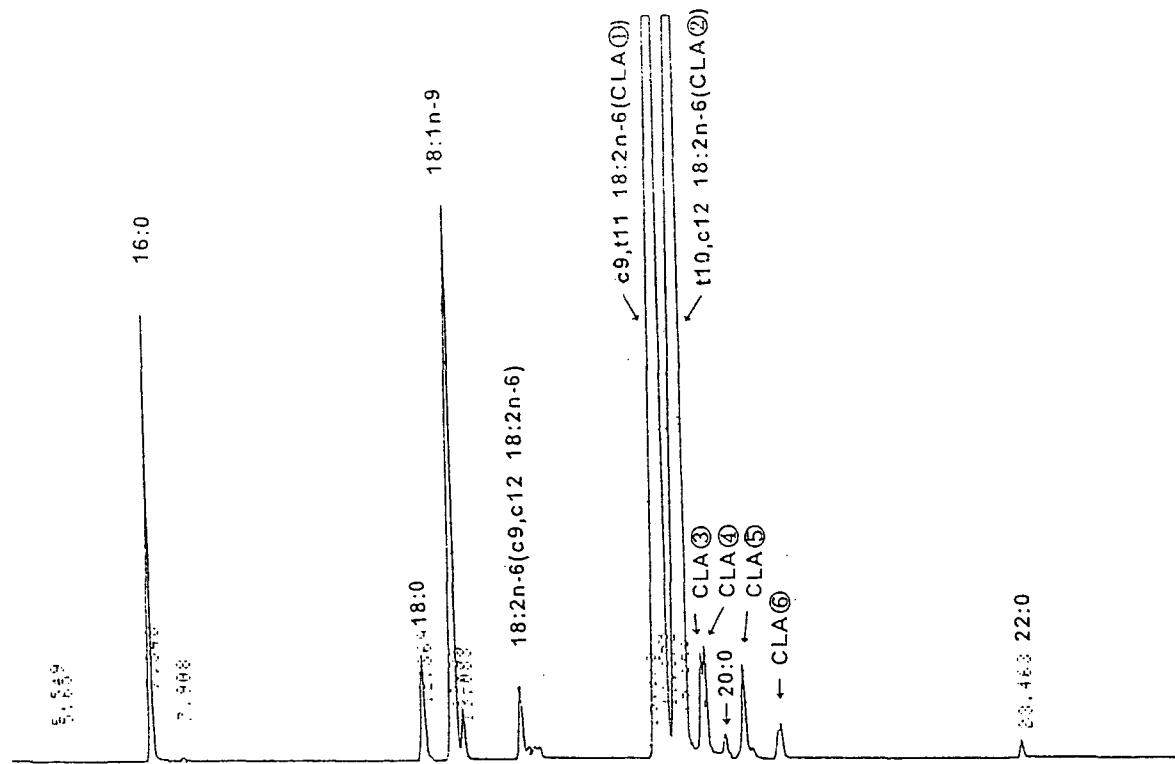


Fig. 1. GC chromatogram of CLA methylester synthesized from safflower oil.

Peak identification of CLA isomers: c9, t11-①, t10, c12-②, c9, c11-③, c10, c12-④, t9, t11-⑤, t10, t12-CLA⑥ by comparison of their equivalent chain lengths (ECL) to those of standard CLA isomers.

Table 2. Growth and feed efficiency of tilapia fed CLA for 8 weeks

Division	Stocking (g)		Yield (g)		Feed (g)	Gain (g)	F.C. ⁽¹⁾	DGR (%) ⁽²⁾
	Weight (No)	Mean	Weight (No)	Mean				
Diet 1	1,721.2 (50)	34.4	2,335.3 (50)	48.7	715.0	714.1	1.00	2.5099 ^a
Diet 2	1,737.6 (50)	34.7	2,448.3 (50)	49.0	715.0	711.7	1.00	2.4837 ^a
Diet 3	1,545.5 (50)	30.9	2,172.0 (50)	43.4	715.0	626.5	1.14	2.4605 ^{ab}
Diet 4	1,516.3 (50)	30.3	2,135.0 (50)	42.7	712.3	618.7	1.15	2.4744 ^{ab}
Diet 5	1,416.5 (50)	28.3	1,876.6 (50)	37.5	696.7	460.1	1.51	2.0294 ^c

ⁱ) Feed coefficient. Feed intake/(W_t-W₀), W_t=W₀e^{rt} (Stickney, 1979), W_t; weight of fish at time t, W₀; the initial weight, e; the natural logarithm, g; the growth coefficient or daily growth rate.

²⁾ Daily growth rate (%). Values in the same column not sharing a common superscript letter are significantly different at P<0.05.

이상과 같은 역동의 성장, 사료계수 및 일일성장율의 결과를 고려할 때 CIA의 적정첨가량은 1.0%인 것으로 나타났다.

액동 근육에의 CLA 축적량 및 이성체의 종류

역동 근육 중에 축적되는 CLA 축적량 및 이성체의 종류는 Table 3과 같다. 사료 급이 8주 후 대조구에서는 CLA가 축적되지 않았으며, 1.0% CLA 첨가구에서는 41.3 mg/g of fat, 2.5% 첨가구에서는 84.0 mg/g of fat, 5.0% 첨가구에서는 118.1 mg/g of fat, 10.0% 첨가구에서는 최대 축적량인 180.9 mg/g of fat을 나타내었다. 첨가함량이 가장 높은 10.0% 첨가구는 전 사육기간을 통하여 초기에는 급격히 증가하였으나 6주 후부터 (174.8 mg/g of fat) 큰 변화가 나타나지 않았으며, 5.0% 첨가구에서는 2주 후부터 거의 일

Table 3. CLA contents and isomers composition in muscle lipid of tilapia fed for 8 weeks

Divisions	Total CLA contents (mg/g of fat)	CLA isomers (%)					
		c9, t11	t10, c12	c9, c11	c10, c12	c9, t11 + t10, c12	
Diet 1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Diet 2	41.3	45.2	41.8	6.9	0.0	0.0	6.2
Diet 3	84.0	45.7	45.2	5.1	0.0	0.0	4.1
Diet 4	118.1	42.2	42.9	4.1	6.1	6.1	4.8
Diet 5	180.9	43.9	44.0	4.3	2.9	2.9	5.0

정량이 축적되는 것이 특징이었다 (4주 후 102.6 mg/g of fat, 6주 후 117.0 mg/g of fat, 8주 후 118.1 mg/g of fat).

한편, 역듬 근육 중에 축적되는 이성체는 6 종류가 검출되었으며, 6번재 peak는 t10, c12 외에 다른 1개의 이성체가 완전히 분리되지 않고 함께 검출되었다. 첨가한 CLA 함량에 상관없이 주요 peak는 CLA 1 ($c9, t11-C18:2$)과 CLA 2 ($t10, c12-C18:2$)였으며, 나머지는 전체 CLA 중의 20% 이하로 적은 량이 축적되었다. CLA 1의 구성비는 42.2~45.7%였으며, CLA 2의 구성비는 41.8~45.2%로 이성체의 80% 이상을 차지하였다.

CLA가 근육지질의 지방산 조성에 미치는 영향

CLA급이 8주 후 역듬 육의 주요 지방산 조성은 Table 4와 같다. 근육지질 중 CLA가 차지하는 비율은 5.03~23.30%로 첨가량이 증가함에 따라 축적량도 증가하였다. n-9 계열의 합계인 $\Sigma n-9$ 에서 보면 대조구를 제외한 전 실험구에서 17.98~16.25%로서 CLA첨가 함량에 따른 뚜렷한 차이를 볼 수 없었다. 18:1n-9의 경우 CLA 첨가량이 많을수록 대조구 22.35%에서 10.0% 구 14.78%로 감소하였다. n-3 계열의 합계인 $\Sigma n-3$ 에서도 전 실험구에 걸쳐서 12.01~12.85%로 각 실험구 별로 현저한 차이를 볼 수 없었으며, n-3계열

중에서도 탄소수 20 이상인 n-3 고도불포화지방산의 합계인 $\Sigma n-3$ HUFA에서도 11.46~12.18%로 n-3 계열과 비슷한 경향을 나타냈다. 그러나 역듬의 필수지방산으로 알려져 있는 18:2n-6의 조성의 변화는 대조구에서는 25.18%, 1.0% CLA 첨가구에서는 24.87%, 2.5% CLA 첨가구에서는 17.84%, 5.0% CLA 첨가구에서는 12.55%, 10.0% CLA 첨가구에서는 6.33%로 CLA의 함량이 증가할수록 현저히 감소하였다. 이는 CLA의 첨가량의 증가에 따른 상대적인 18:2n-6의 감소현상에 따른 사료지질의 조성이 육지질의 지방산 조성에 그대로 반영된 것으로 생각된다. 따라서 n-6 계열의 지방산도 이와 유사한 경향을 나타내어 CLA 함량이 증가할수록 대조구의 34.53%에서 10% CLA 첨가구의 7.34%로 현저히 감소하였다. 그러나 18:3n-6, 20:4n-6, 22:4n-6 등은 거의 변화가 없었다.

CLA가 간지질의 지방산 조성에 미치는 영향

역듬의 간지질의 지방산 조성은 Table 5와 같다. 간지질 중 CLA가 차지하는 비율은 5.25~27.31%로 첨가량이 증가함에 근육지

Table 4. Major fatty acid compositions (%) of muscle lipid in tilapia fed CLA for 8 weeks

Fatty acids	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5
14:0	3.22 ¹⁾	3.86	3.51	4.29	3.92
16:0	17.60	17.28	19.96	18.80	18.46
16:1n-9	0.45	0.09	0.11	0.10	0.12
16:1n-7	4.97	4.51	4.90	4.78	4.71
18:0	4.48	6.55	8.26	7.57	7.19
18:1n-9	22.35	16.01	15.91	15.11	14.78
18:1n-7	0.01	2.64	2.54	2.63	2.67
18:2n-6	25.18	24.87	17.84	12.55	6.33
18:3n-6	0.44	0.43	0.20	0.14	0.09
18:3n-3	0.61	0.55	0.64	0.55	0.54
CLA 1	0.00	2.38	5.02	6.63	10.07
CLA 2	0.00	2.21	4.94	6.76	10.58
CLA 3	0.00	0.27	0.54	0.63	0.95
20:0	0.19	0.17	0.19	0.19	0.18
CLA 4	0.00	0.00	0.00	0.83	0.56
20:1n-9	1.52	1.47	1.75	1.13	1.22
20:1n-7	0.11	0.13	0.15	0.15	0.16
CLA 5	0.00	0.17	0.42	0.75	1.14
20:3n-6	0.47	0.27	0.19	0.14	0.12
20:4n-6	0.72	0.59	0.51	0.47	0.45
20:4n-3	0.29	0.28	0.33	0.35	0.38
20:5n-3	1.78	1.69	1.85	1.91	1.81
22:1n-11	0.45	0.42	0.50	0.46	0.50
22:1n-9	0.13	0.09	0.11	0.00	0.13
22:4n-6	0.38	0.16	0.13	0.10	0.10
22:5n-6	0.18	0.14	0.12	0.11	0.10
22:5n-3	3.29	3.18	3.32	3.30	3.38
22:6n-3	6.67	6.18	6.44	6.40	6.24
Σ CLA	0.00	5.03	10.92	15.60	23.30
Σ n-9	29.94	17.78	17.98	16.43	16.25
Σ n-6	34.53	26.99	17.91	13.82	7.34
Σ n-3	16.15	12.01	12.82	12.85	12.76
Σ n-3 HUFA ²⁾	14.95	11.46	12.18	12.12	11.96

¹⁾ Standard deviation for these analysis was less than 0.90%.

²⁾ HUFA; Highly unsaturated fatty acid (above 20 carbon fatty acid).

Table 5. Major fatty acid compositions (%) of liver lipid in tilapia fed CLA for 8 weeks

Fatty acids	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5
14:0	3.06 ¹⁾	3.27	3.56	3.81	3.09
16:0	14.19	14.59	15.50	17.64	15.43
16:1n-9	0.63	0.55	0.46	0.50	0.43
16:1n-7	5.14	3.88	3.61	3.74	2.96
18:0	5.75	9.69	10.84	10.03	11.45
18:1n-9	25.53	21.35	17.25	16.03	13.99
18:1n-7	3.61	2.97	2.67	2.64	2.35
18:2n-6	24.12	22.28	16.39	10.37	4.73
18:3n-6	0.40	0.00	0.00	0.00	0.00
18:3n-3	0.35	0.37	0.40	0.42	0.35
CLA 1	0.00	2.51	5.93	7.93	12.03
CLA 2	0.00	1.90	4.76	7.44	11.27
CLA 3	0.00	0.26	0.56	0.75	1.14
20:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.19
CLA 4	0.00	0.38	0.63	0.79	1.31
20:1n-9	1.68	1.16	1.08	1.08	1.20
20:1n-7	0.14	0.00	0.13	0.16	0.21
CLA 5	0.00	0.20	0.33	0.85	1.56
20:3n-6	0.94	0.45	0.25	0.15	0.00
20:4n-6	0.81	0.64	0.61	0.64	0.53
20:4n-3	0.20	0.30	0.39	0.40	0.57
20:5n-3	0.52	0.70	0.80	1.23	0.93
22:1n-11	0.17	0.16	0.23	0.31	0.28
22:1n-9	tr ²⁾	tr	tr	tr	tr
22:4n-6	0.42	0.23	0.15	0.14	0.12
22:5n-6	0.18	0.00	0.00	0.00	0.10
22:5n-3	2.44	2.85	2.99	3.02	2.94
22:6n-3	6.07	7.53	7.81	7.68	7.82
Σ CLA	0.00	5.25	12.15	17.76	27.31
Σ n-9	28.06	23.06	19.00	17.61	15.74
Σ n-6	28.30	24.84	18.28	11.75	5.81
Σ n-3	9.68	11.75	12.64	13.18	13.39
Σ n-3 HUFA ³⁾	9.23	11.38	11.99	12.33	12.38

¹⁾ Standard deviation for these analysis was less than 0.90%.

²⁾ tr; Trace.

³⁾ HUFA; Highly unsaturated fatty acid (above 20 carbon fatty acid).

질의 경우와 같이 축적량도 증가하였다. 포화지방산 중 14:0, 16:0 등은 변화가 거의 없었으나, 18:0 함량은 첨가량에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 8주 후 간의 지방산 조성은 n-9 지방산의 합계인 $\Sigma n\text{-}9$ 를 보면 CLA의 함량이 증가할수록 대조구 28.06%에서 10% CLA 첨가구 15.74%로 감소하는 경향을 나타냈으며, n-6 계열인 $\Sigma n\text{-}6$ 는 근육의 경우와 같이 대조구 28.30%에서 10% CLA 첨가구에서는 5.81%로 현저히 감소하였다. 그러나, n-3 계열의 합계인 $\Sigma n\text{-}3$ 에서는 대조구 9.23%에서 10.0% CLA 첨가구 12.38%로 첨가구 별로 약간씩 증가하는 경향을 나타내었다.

고 찰

사료 중에 CLA를 1.0% 이상 첨가하면 대조구에 비하여 성장이 저조하였다. 이와 같은 결과는 첫째, 잇꽃유에서 CLA 합성시의 겸화(saponification) 단계에서 유리지방산이 형성되었기 때문에 CLA 자체가 성장에 영향을 미쳤을 가능성과 둘째, 사료급이 때 나타나는 현상으로 CLA 함량이 높은 사료일수록 사료에 대한 기호도가 떨어지는 것으로 보아 사료의 기호도가 성장에 관여했을 가능성을 보여주는 것이다. 그래서 연구자들은 사료효율을 개선하기 위하여 triglycerides 형태의 CLA 합성을 연구 중이다 (Park et al., 2000).

역동의 성장에 역점을 두고 정상적인 성장을 유지하면서 CLA의 축적을 기대한다면 1.0%의 첨가가 적당한 것으로 사료된다. 역동의 근육 중에 축적되는 CLA의 함량은 사료 중의 첨가량이 증가할수록 축적량도 증가하였다. 2주째 축적량에 예외적인 현상이 나타났었는데, 5.0% CLA 첨가구에서 10.0% 첨가구보다도 높은 축적량을 나타낸 결과에 대해서는 좀더 연구가 진행되어야 될 것으로 생각된다. 역동의 성장을 무시하고 CLA의 축적량에 비중을 둔다면 2.5%의 첨가만으로 84.0 mg/g of fat를 얻을 수 있으며, 5.0% 첨가시에는 118.1 mg/g of fat 이상을, 10.0% 첨가시에는 180.9 mg/g of fat의 높은 함량을 얻을 수 있다.

잉어에 CLA 함유 사료를 8주간 급이한 결과 근육 중 약 218.4 mg/g of fat의 CLA가 축적되었다는 보고도 있으며 (Choi et al., 1999), Chin et al. (1992)은 우유에 함유된 량은 5.5 mg/g of fat, 유제품은 3.6~7.0 mg/g of fat, 쇠고기는 2.9~4.3 mg/g of fat이라 하였다. 그리고 식물유를 이성화하여 생산한 합성 CLA에는 c9, t11 및 t10, c12가 가장 풍부한 이성체이며 각각 43%, 40% 함유되어 있으며, 반추동물, 천연 치즈 및 유제품에 함유된 CLA의 약 80% 이상은 c9, t11 이성체인 것으로 알려져 있으나 (Chin et al., 1992), 어류의 육에는 c9, t11 및 t10, c12 이성체가 80% 이상 축적되었으며 이는 어류가 섭취하는 CLA 조성에 따라 영향을 받는 것으로 생각되어 진다.

체지방의 지방산 조성에 미치는 영향을 보면, 다른 계열의 지방산 조성에는 큰 영향을 미치지 않았으나, 18:2n-6 지방산과 n-6 지방산의 합계인 $\Sigma n\text{-}6$ 에 많은 영향을 미쳤다. 이는 CLA를 많이 첨가할수록 상대적으로 잇꽃유 중에 함유되어 있는 linoleic acid의 함량이 비례해서 감소한 것에 기인된 것으로 생각된다. 기타 다른 지방산의 함량은 큰 변화가 없었다.

새로운 기능성물질을 이용하고자 하는 경우 안전성과 경제성은 반드시 성립되어야 한다. 지금까지 많은 종류의 항암제가 식물에서 발견되었으나, 이들 속에 독성물질이 함께 함유되어 있었기 때문에 안전성에서 문제가 되고 있다. 또한, 최근 많은 종류의 해양동·식물로부터 기능성물질을 찾기 위하여 전 세계적으로 많은 연구가 행해지고 있으며 그 결과 많은 종류의 항암제가 발견되고 있다. 그러나, 이들은 대부분이 소량 함유되어 있기 때문에 경제성이 문제가 되어 실용화되지 못하고 있다. 또한 경제성이 있다고 하더라도 이들의 안전성을 검정하고 평가하는데 장기간의 시간과 비용이 소요되는 등 어려운 점이 많다.

그러나, CLA의 경우에는 이미 항암성, 성장촉진효과, 면역증강효과 등 그 기능성이 알려져 있고, 우리가 상식하고 있는 유제품 속에 소량이지만 이미 4~6 mg/g of fat을 함유하고 있으며 (Ha et al., 1987), 인간의 혈액 속에도 최고 10 ppm 정도 존재한다는 것이 밝혀져 있다 (Dormandy and Wickens, 1987). 그리고 한국인의 모유 속에도 28~79 mg/L 존재한다는 것이 국내 과학자에 의하여 밝혀졌다 (Kim and Ha, 1993). 또한, 미국에서는 CLA 캡슐이 건강식품보조제로 시판되고 있기 때문에 기존의 기능성물질에 비하여 안전성 면에서 아주 유리하며, 어류를 통한 TG 형태의 CLA를 대량생산할 수 있는 방법을 이용하면 경제성도 확보할 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

기능성물질인 CLA를 양어사료에 첨가하여 기존의 어류와는 다른 기능성 역동 생산을 시도하였다. 사육 8주간 매 2주마다 어체내의 CLA 축적도를 측정한 결과 8주 후 1.0% CLA 첨가구에서는 41.3 mg/g of fat였으며, 10.0% CLA 첨가구에서는 180.9 mg/g of fat으로 역동의 정상적인 성장을 고려하지 않는다면 10.0%의 사료내 첨가도 가능한 것으로 생각된다. 그러나 정상적인 성장을 고려하면 CLA의 적정 첨가량은 1.0%로 나타났으며, 그 이상의 첨가시에는 성장 저하 현상을 나타내었다.

합성된 CLA는 총 6 종류의 이성체로 구성되어 있었고, 그 중 c9, t11 및 t10, c12 이성체가 85~90%를 이루고 있었으며, 첨가된 CLA 함량에 따라 축적되는 양도 달라졌다.

사육 8주 후, 육 및 간 중의 지방산 조성은 n-9, 3 계열은 거의 변화를 나타내지 않았으나, n-6 계열은 첨가된 CLA의 함량에 따라 육 및 간에 축적되는 양은 5~27%로, 1.0% CLA 첨가구가 가장 높았고, 10% CLA 첨가구가 가장 낮은 함량비를 나타내었다.

참 고 문 헌

- A.O.C.S. 1990. AOCS official method Ce 1b-89. In *Official Methods and Recommended Practice of the AOCS*, 4th edition, AOCS ed., AOCS Press, Champaign, IL.
- Bligh, E.G. and W.T. Dyer. 1959. A rapid method of lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911~917.
- Chin, S.F., J.M. Storkson, K.J. Albright, M.E. Cook and M.W. Pariza.

1994. Conjugated linoleic acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improved feed efficiency. *J. Nutri.*, 124, 2344~2349.
- Chin, S.F., W. Liu, J.M. Storken, Y.L. Ha and M.W. Pariza. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid. A newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.*, 5, 185~197.
- Choi, B.D., S.J. Kang, Y.L. Ha and R.G. Ackman. 1999. Accumulation of conjugated linoleic acid (CLA) in tissues of fish fed diets containing various levels of CLA. In *Quality Attributes of Muscle Foods*. Y.L. Xiong, C.T. Ho and F. Shahidi, eds. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 61~71.
- Cook, M.E., C.C. Miller, Y. Park and M.W. Pariza. 1993. Immune modulation by altered nutrient metabolism: Nutritional control of immune-induced growth depression. *Poultry Sci.*, 72, 1301~1305.
- Dormandy, T.L. and D.G. Wickens. 1987. The experimental and clinical pathology of diene conjugation. *Chem. Phys. Lipids*, 45, 353~361.
- Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, 11, 1~42.
- Ha, Y.L., N.K. Grimm and M.W. Pariza. 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: Heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*, 8, 1881~1887.
- Ha, Y.L., M. Stroksen and M.W. Pariza. 1990. Inhibition of benzo[a]pyrene-induces mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res.*, 50, 1097~1101.
- Ip, C., S.F. Chin, J.A. Scimeca and M.W. Pariza. 1991. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res.*, 51, 6118~6124.
- Ip, C., M. Singh, H.J. Thompson and J.A. Scimeca. 1994a. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res.*, 54, 1212~1215.
- Ip, C., J.A. Scimeca and H.J. Thompson. 1994b. Conjugated linoleic acid: A powerful anticarcinogen from animal fat sources. *Cancer*, 74, 1050~1054.
- Jensen, R.G., C.J. Lammi-Keefe, D.W. Hill, A.J. Kind and R. Henderson. 1998. The anticarcinogenic conjugated fatty acid, 9c,11t-18:2, in human milk: confirmation of its presence. *J. Hum. Lact.*, 14, 23~27.
- Kim, J.O. and Y.L. Ha. 1993. Conjugated linoleic acid and branched-chain fatty acids in Korean mother's milks. *Pasteur Milk Report*, 1~73 (in Korean).
- Kim, S.J., K.A. Park, J.H.Y. Park, J.O. Kim and Y.L. Ha. 2000. Preparation of a large quantity of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers from synthetic CLA. *J. Food Sci. Nutr.*, 5, 86~92.
- Miller, C.C., Y. Park, M.W. Pariza and M.E. Cook. 1994. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic response due to endotoxin injection. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 198, 1107~1112.
- Pariza, M.W. and Y.L. Ha. 1990. Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid: A new class of anticarcinogens. *Med. Oncol. Tumor Pharmacother.*, 7, 169~171.
- Park, W.S., S.J. Kim, S.J. Park, J.O. Kim, D.G. Lim and Y.L. Ha. 2000. Chemical synthesis of conjugated linoleic acid (CLA) derivatives with glycerol. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29, 389~394 (in Korean).
- Shantha, N.C., E.A. Decker and Z. Ustunol. 1992. Conjugated linoleic acid concentration in processed cheese. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 69, 425~428.
- Steinhart, C. 1996. Conjugated linoleic acid. The good news about animal fat. *J. Chem. Edu.*, 73, A302~A303.
- Stickney, R.R. 1979. Principle of warmwater aquaculture. In *Fish Nutrition*, R.R. Stickney, ed., John Wiley & Sons, New York, pp. 168~174.
- Wattenberg, L.W. 1983. Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents. *Cancer Res.*, 43, 2448~2453.

2001년 5월 30일 접수

2001년 9월 13일 수리