J. KOREAN SOC. FOOD NUTR.
13(3) 326~333 (1984)

◇ 總　說 ◇

Krill 脂質의 抗酸化性과 過酸化物 分解作用

李　鍾　祜

慶尙大學校 食品營養學科
(1984년 6월 27일 접수)

A Review:

Antioxygenic and Peroxide-decomposing Activities of Antarctic Krill Lipids

Jong-Ho Lee

Department of Food and Nutrition, Gyeongsang National University
(*Received June* 27, 1984)

Abstract

The oxidation rate of krill lipids is very slow and no peroxides are accumulated even after long storage. By means of various chromatographic techniques and mass spectrophotometry, the primary antioxidant has been identified as α-tocopherol. The phospholipid fractions did not show any antioxidative activity but peroxide-decomposing properties of total lipids depended upon the phospholipid contents. The peroxide-decomposing activities of phospholipids were due to the presence of polar materials generated during the storage. The most peroxide-decomposing fractions of oxidized krill lecithin by DEAE-cellulose column chromatography was low-molecule fraction (mean molecular weight: 182) and high-molecule fraction (mean molecular weight: 1942) was the next. The separation of peroxide-decomposing properties from low-molecule fraction was achieved by partitioning between chloroform and methanol/water. The methanol/water fraction showed strong peroxide-decomposing activities and main component of this fraction was assumed hydroxyamine compounds derived from choline.

1. 緖　言

南氷洋産 krill(*Euphausia superba*)은 良質의 蛋白質과 脂質의 함량이 높아 중요한 食糧資源으로 개발될 것으로 기대되나[1~5] 특히 krill 脂質은 燐脂質 함량이 높고 高度不飽和脂肪酸이 多量으로 함유되어 있어[6] krill을 加工食品으로 이용할 경우에는 含有脂質의 酸化가 커다란 문제가 될 것으로 예상된다.

그러나 krill 脂質은 脂肪酸 組成으로부터 예상되는 것보다 酸化의 진행이 늦고 長期保存 중에도 過酸化物이 축적되지 않는 특이한 성질을 가지고 있다.

本 論文에서는 이와 같은 krill 脂質의 酸化 安定性의 發現은 어떠한 抗酸化性物質의 作用에 의한 것이며 또 保存 중에 過酸化物이 축적되지 않는 것은 酸化가 억제되기 때문인지 아니면 生成된 過酸化物이 신속히 분해되기 때문인지 그 機構를 解明하기 위하여 遂行된 연구결과[7~9]를 정리하였다.

2. Krill 脂質의 抗酸化性과 過酸化物 蓄積의 抑制效果

2·1 抗酸化性 物質의 檢索

Krill 脂質의 抗酸化性을 조사하기 위하여 全脂質 및 硅酸 칼럼크로마토그래피로 分別[10]한 각 脂質 구분에 대하여 重量法에 의한 oven test[11]를 행한 결과 有効 구분은 中性脂質 구분으로써 燐脂質 구분의 添加에 의해 相乘効果를 나타내었다(Fig. 1)[7].

抗酸化有効 구분인 中性脂質 구분을 硅酸칼럼으로 分別하여 抗酸化効力을 조사한 결과 주성분인 hexane /ether(95 : 5) 溶出구분만이 강력한 抗酸化性을 나타내었다(Fig. 2).

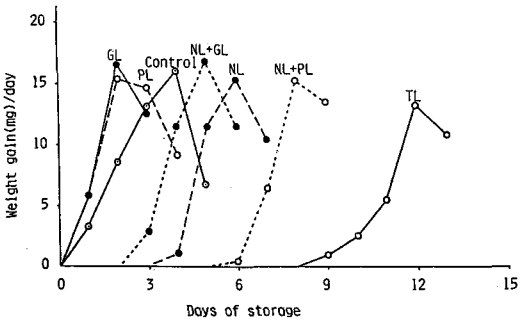

Fig. 1. Increase in weight of methyl esters of safflower oil containing various krill lipid preparations.
Krill lipids were added at a level corresponding to 5% of total lipids and incubated at 45°C.

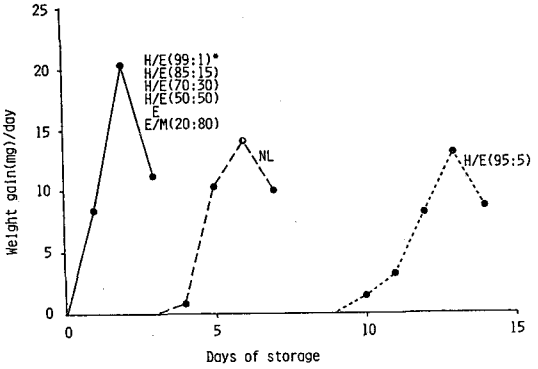

Fig. 2. Comparison of antioxidative effects of individual classes of krill neutral lipids fractionated by silicic acid column chromatography.

이 구분은 triglyceride 구분으로 유효성분은 이 구분에 함유되어 있는 微量成分으로 예상되었으므로 TLC[12] 및 GLC[13]에 의하여 抗酸化成分을 檢出한 결과 유효성분은 430 μg/g·oil의 α-tocopherol로 同定되었다[7].

2·2 過酸化物 蓄積의 억제효과

Krill 脂質은 抗酸化成分으로써 α-tocopherol을 함유하고 있으나 脂質을 장기간 보존하여도 過酸化物價가 上昇하지 않는 사실을 α-tocopherol의 작용만으로는 설명하기 힘들므로, 그 이유를 밝히기 위해 각 脂質구분의 보존 중의 過酸化物價(POV)와 카아보

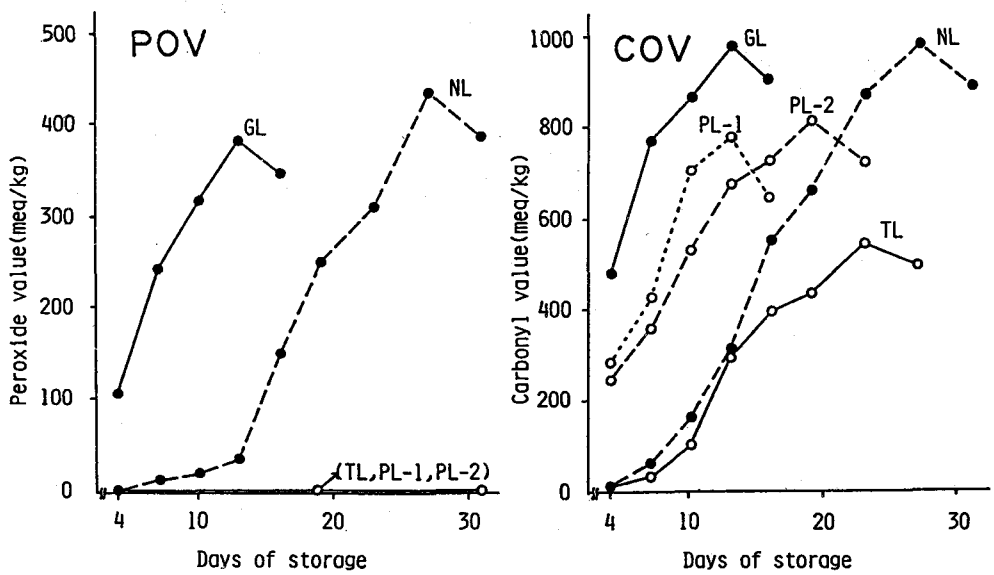

Fig. 3. Changes in POV and COV of krill lipids fractionated by silicic acid column chromatography during storage at 45°C.

닐價(COV)[14]의 변화를 측정하였다. Fig. 3에 나타난 결과를 보면 全脂質 및 抗酸化性을 나타내지 않았던 燐脂質 구분에서는 POV가 上昇하지 않았으나 α-tocopherol을 함유한 中性脂質 구분에서는 誘導期間을 경과한 후 POV가 크게 증가하였다. 따라서 krill 脂質의 보존중 POV의 上昇을 억제하는 물질은 α-tocopherol이 아니고 燐脂質구분에 함유되어 있는 것으로 밝혀졌다. 한편 COV의 변화를 보면 각 구분이 모두 급격한 上昇을 보였으나 특히 POV가 上昇하지 않았던 燐脂質 구분에서는 中性脂質 구분에서보다 早期에 증대하여 POV가 上昇하지 않는 것은 酸化의 진행이 억제되는 것이 아니고 생성된 過酸化物이 즉시 분해되기 때문이라고 판단되었다[7].

3. 각종動植物性脂質의 過酸化物 分解作用

脂質의 보존중 POV가 上昇하지 않는 성질이 krill 脂質特有의 것인가 아니면 脂質一般의 性質인가를 알아보기 위해 수종의 脂質을 선정하여 보존 중의 POV 및 COV의 변화를 측정하였다. 그 결과 燐脂質 함량(2.2%)이 가장 적었던 해바라기 脂質을 제외하고 다른 脂質에서는 POV의 上昇이 크게 억제되었다(Fig. 4). 따라서 脂質의 長期保存 중 POV의 上昇이 억제되는 것은 燐脂質 함량이 높은 脂質의 공통된 성질로 생각되었으므로 각종 脂質로부터 아세톤沈澱法[15]과 硅酸칼럼크로마토 그래피에 의하여 燐脂質 구분을 分別 精製하여 全脂質과 동일한 방법으로 조사한 결과 모든 燐脂質 구분에서 POV의 上昇이 억제되는 반면 COV는 크게 上昇하여 過酸化物 分解作用이 격렬한 것을 示唆하였다[8].

이상의 결과에서 각종 脂質의 보존 중 POV의 上昇이 억제되는 것은 燐脂質 구분의 過酸化物 分解作用에 의한 것으로 推定되었으므로 이 사실을 밝히기 위해 각종 燐脂質 구분에 5%의 過酸化物을 添加한 후 보존 중의 POV의 변화를 측정하였다. Fig. 5에 나타난 결과를 보면 각 구분에서 POV가 급속히 低下하여 강력한 過酸化物 分解作用을 나타내었다[8].

그러나 각 燐脂質 구분간의 過酸化物 分解作用의 정도와 초기단계의 패턴에는 큰 차이를 보이므로 그 이유는 각종 燐脂質의 組成의 相違에 의한 것이 아닌가 하여 TLC上에서 그 組成을 검토하였다. 그러나 TLC上에 나타난 각종 燐脂質의 組成은 거의 비슷하여 過酸化物 分解作用의 큰 차이를 설명할 수 없었다.

한편 각종 燐脂質의 보존 중의 POV의 변화를 보면 초기에는 어느 정도 증가하고 그 후 급격히 감소하는 경향을 보이므로 燐脂質의 過酸化物 分解作用은 어느 정도 보존기간이 경과한 후에 發現되거나 강해지는 것으로 판단되었다. 그에 대한 원인은 보존 중의 燐脂質의 組成변화에 의한 것으로 생각되어 각종 燐脂質의 45°C, 1개월 보존 전후의 組成 변화를 TLC-Densitometry 法[16]에 의하여 검토하였다(Fig. 6).

그 결과 1개월 보존 후에는 각 成分燐脂質의 함량이 크게 감소하는 반면 重合物로 생각되는 極性物質이 증가하였는데 過酸化物 分解作用이 강한 구분일수록 그 변화가 현저한 경향을 나타내었다[8].

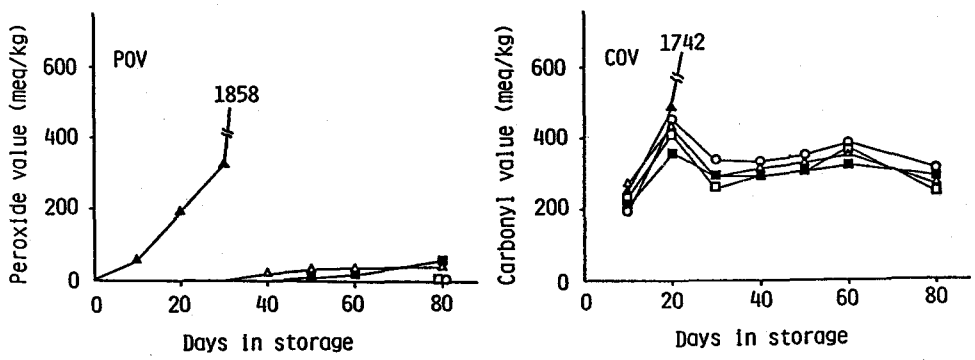

Fig. 4. Changes in POV and COV of total lipids during storage at 45°C.
-△- Soybean; -▲- Sunflower seed; -■- Rice bran; -□- Egg yolk; -○- Krill

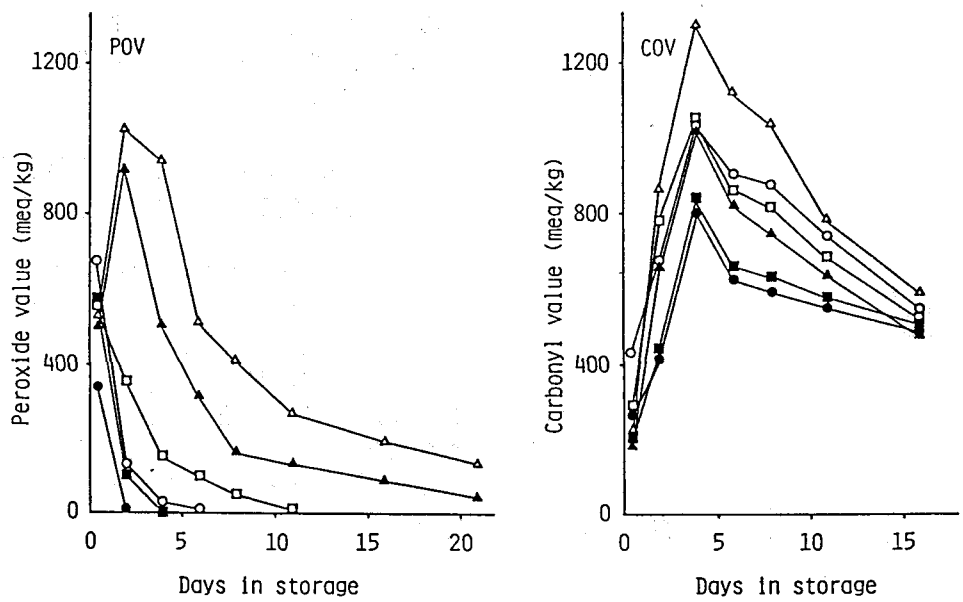

Fig. 5. Changes in POV and COV of phospholipid preparations after addition of methyl linoleate hydroperoxides at a 5% level. -△- Soybean PL-1; -▲- Soybean PL-2; -□- Egg yolk PL-1; -■- Egg yolk PL-2; -○- Krill PL-1; -●- Krill PL-2

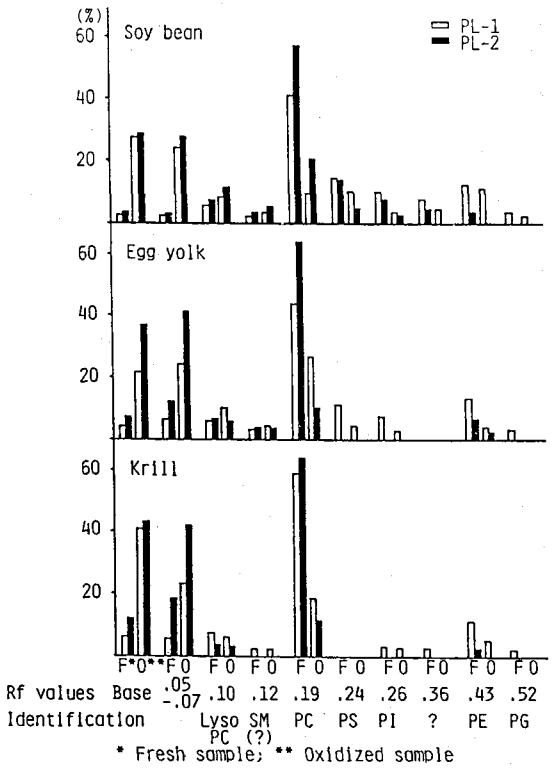

Fig. 6. Changes in phospholipid composition after keeping for 30 days at 45°C.

4. 燐脂質의 褐變과 過酸化物 分解作用과의 相關關係

燐脂質의 褐變에 대하여는 Pokorny 등[17~19]의 常溫褐變機構와 富岡 등[20~22]의 加熱褐變機構에 대한 一連의 研究報告가 있으나 燐脂質의 分解 및 重合이 관여하는 褐變機構에는 아직 不明한 점이 많다.

특히 脂質含有 食品의 加工貯藏 중 燐脂質由來의 褐變生成物이 다른 食品成分에 미치는 영향 등에 관해서는 전혀 밝혀져 있지 않다. 앞의 실험결과에서 燐脂質의 過酸化物 分解作用은 燐脂質의 酸化生成物인 極性物質 구분에 의한 것으로 推定되었고 각 燐脂質 구분은 보존 중 현저하게 褐變하여 過酸化物 分解作用이 강한 구분일수록 褐變度가 높은 경향을 나타내었으므로 이 極性物質의 本體는 燐脂質의 褐變反應物일 것으로 생각되었다.

4·1 Krill 燐脂質 구분의 分劃과 過酸化物 分解作用

Krill 燐脂質 구분을 硅酸칼럼으로 分劃하여[23] 각 分劃 구분의 過酸化物 分解作用을 조사한 결과 모든 구분이 基質油의 POV 上昇을 억제하였으나 그 중에서도 極性 구분인 methanol 溶出 구분이 가장 강한 효

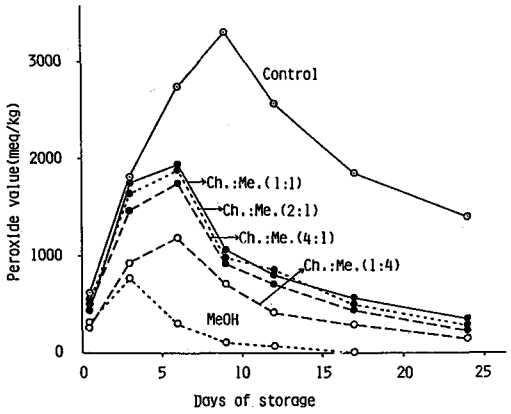

Fig. 7. Changes of POV in methyl linoleate after addition of krill phospholipids fractionated by silicic acid column chromatography at a 20% level.

력을 나타내었다(Fig. 7)[9].

Krill 燐脂質의 主成分인 phosphatidyl choline(lecithin)의 보존 중의 過酸化物 分解作用과 褐變度는 보존기간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 나타내었으므로 이들의 相關關係를 밝히기 위하여 보존기간을 달리함으로써 褐變度가 다른 試料를 調製하여 각 구분의 過酸化物 分解作用을 조사하였다. 그 결과 POV의 低下 즉 過酸化物 分解作用은 保存日數가 경과함에 따라 증가하여 좋은 相關關係를 보였으나 保存日數 30日 이상의 경우에는 오히려 그 작용이 弱化되었으므로 lecithin의 過酸化物 分解作用은 酸化 초기단계의 分解物 또는 重合物에 의한 것으로 생각 되었다(Fig. 8)[9].

한편 lecithin의 過酸化物 分解作用과 褐變反應에 미치는 不飽和脂肪酸의 영향을 보기 위하여 lecithin을 水素添加한 후 보존 중의 변화를 조사한 결과 褐

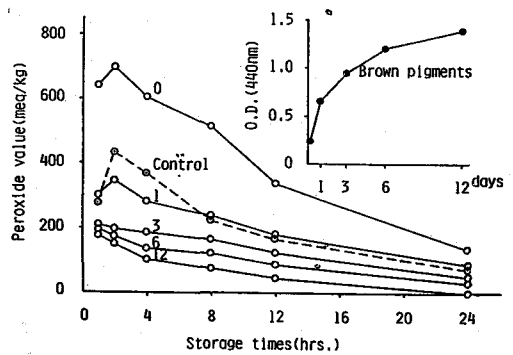

Fig. 8. Comparison of peroxide degradation activities of krill lecithins with various oxidation levels.

變反應이 크게 억제됨과 동시에 過酸化物 分解作用도 거의 消失되어 兩者간에 밀접한 相關이 있는 것으로 밝혀졌다.

5. 酸化 lecithin 구분 중의 過酸化物 分解作用物質의 分離와 化學的 性狀

Krill 燐脂質의 主成分인 lecithin은 강한 過酸化物 分解作用을 보이나 그 작용은 신선한 燐脂質에는 없고 보존기간이 경과할수록 강해지는 경향을 나타내었다. 또한 lecithin 구분은 보존 중 현저하게 褐變하고 過酸化物 分解作用과 褐變度間에는 밀접한 相關關係가 인정되었다. 이와같은 결과들은 lecithin의 過酸化物 分解作用이 보존 중에 생성된 分解物 또는 重合物에 의하여 發現된다는 것을 示唆하고 있다.

5·1 酸化 lecithin 구분의 分劃과 過酸化物 分解作用

酸化 lecithin 구분으로부터 過酸化物 分解作用 物質을 分離檢索하기 위하여 DEAE-cellulose 칼럼을 이용하여[24] 過酸化物 分解作用이 강한 물질구분의 分劃을 試圖하였는데 $CHCl_3$/MeOH(1 : 1)구분보다 過酸化物 分解作用이 강한 MeOH 구분은 MeOH(1) 이후의 極性구분의 溶出量이 많았다(Fig. 9)[9].

각 分劃 구분의 過酸化物 分解作用을 조사한 결과를 보면 대체로 極性의 크기에 따라 過酸化物 分解作用이 강한 경향을 보였으나 그 중에서도 MeOH(1) 溶出 구분의 작용이 최대이었다(Fig. 10).

각 分劃구분의 평균분자량을 蒸氣壓平衡法으로 측정한 결과 가장 分解作用이 강했던 MeOH(1) 구분은 186과 151로써 分解物 구분이었으며 다음으로 효과가 있었던 $CHCl_3$/MeOH(80 : 20)-NH_4 鹽구분은 1900 이상의 높은 값을 나타내어 重合物 구분임을 알 수 있었다. 각 구분의 P[25]와 choline[26]의 함량을 측정해 보면 MeOH(1) 구분에는 거의 함유되어 있지 않은 반면 $CHCl_3$/MeOH(80 : 20)-NH_4 鹽 구분은 두성분 모두 약 2몰 정도 함유되어 있고 또 DPPH 원력을 보면 前者는 약하고 後者는 강한 환원력을 나타내었다[9]. 따라서 krill 燐脂質의 過酸化物 分解作用의 원인 물질은 燐脂質의 分解에 의해 생성된 低分子 구분과 重合에 의한 高分子 구분의 성질이 다른 두 종류로 大別할 수 있었다.

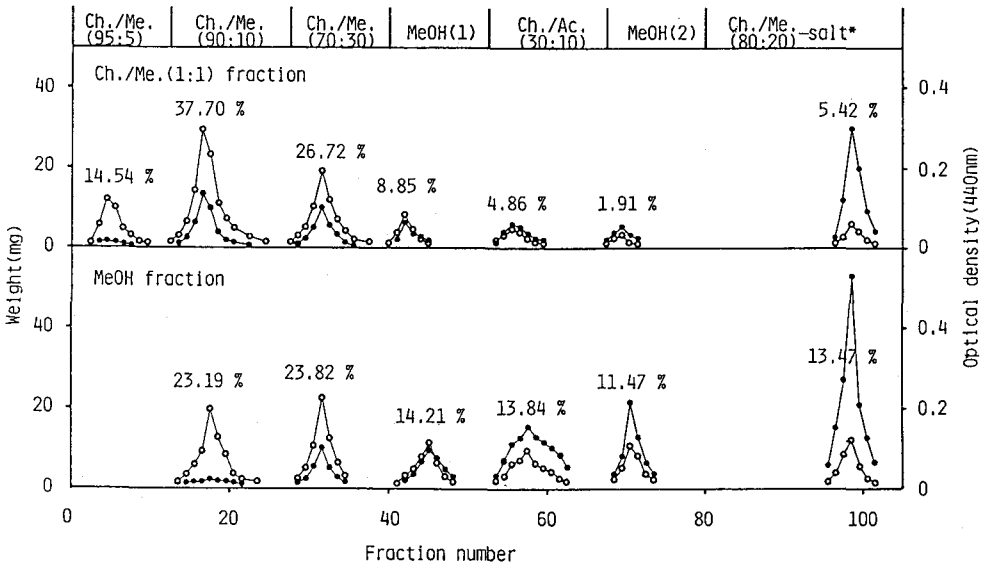

Fig. 9. Fractionation of oxidized krill lecithins by DEAE-cellulose column chromatography.
∘ ∘ Weight, • • Optical density at 440 nm
*Contained 2 % of NH_4OH and 0.1 M of AcOH

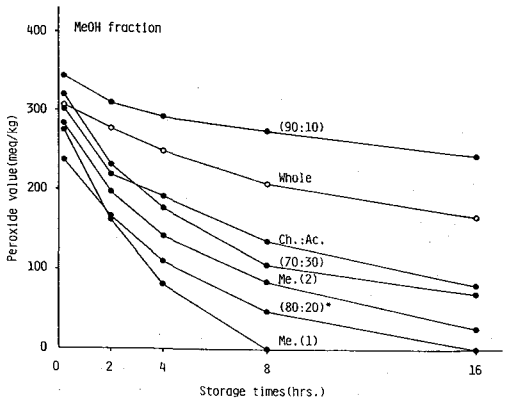

Fig. 10. Changes in POV of DEAE-cellulose column fractions of oxidized krill lecithin after addition of methyl linolate hydroperoxide at a 5% levels.

5·2 過酸化物 分解作用物質의 分離

酸化 lecithin의 DEAE-cellulose 칼럼 각 分劃 구분의 IR 측정결과를 보면 1440, 1580, 1720 및 3300 cm^{-1}에 특징적인 흡수를 보였으나 특히 過酸化物 分解作用이 강한 구분일수록 1580 cm^{-1}의 흡수가 크게 증대하고 ester나 carbonyl의 흡수는 적었다. 여기서 1580 cm^{-1}의 흡수는 carbon酸의 鹽에 의한 것으로 推定되었으므로 過酸化物 分解作用이 가장 강하고 1580 cm^{-1}의 흡수가 특징적이었던 MeOH(1) 구분으로부터 鹽을 형성하고 있는 酸과 鹽基구분을 分劃하였다. 즉 MeOH(1) 구분을 1 normal 鹽酸 溶液으로 처리한 후 chloroform/methanol(2 : 1) 混液을 가하여 chloroform 層과 methanol/water 層(MeOH/H_2O 層)의 分配를 행하였다. 分配 후의 두 구분의 IR 측정결과를 보면 1580 cm^{-1}의 흡수가 완전히 없어지는 반면 chloroform 구분에는 1720 cm^{-1}의 흡수가 크게 증대하였고 MeOH/H_2O 구분에는 1630 cm^{-1}의 흡수가 나타났으며, 또 3200부터 3500까지의 폭넓은 흡수가 강해졌다(Fig. 11)[9].

이들 구분의 過酸化物 分解作用을 측정한 결과 MeOH/H_2O 구분이 강력한 효과를 나타내었으므로 MeOH(1) 구분 중의 過酸化物 分解作用物質은 이 구분 중에 존재하는 choline 由來의 鹽基性 化合物로 생각되었다(Fig. 12).

한편 MeOH/H_2O 구분의 元素 組成을 보면 窒素함량이 4.8%이었고 炭素에 대한 酸素의 比率이 대단히 높은데 이 酸素는 IR에서 1720 cm^{-1}의 흡수가 전혀 나타나지 않는 점과 NMR에서 carbonyl이 檢出되지 않는 점으로 미루어 보아 hydroxy 基로써

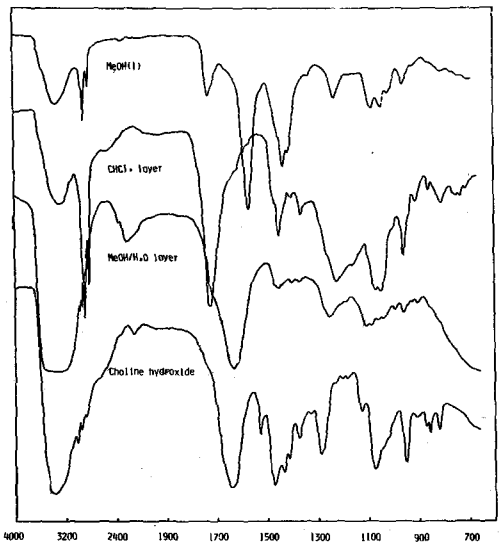

Fig. 11. IR spectra of MeOH(1) preparations by partition between chloroform and methanol/water.

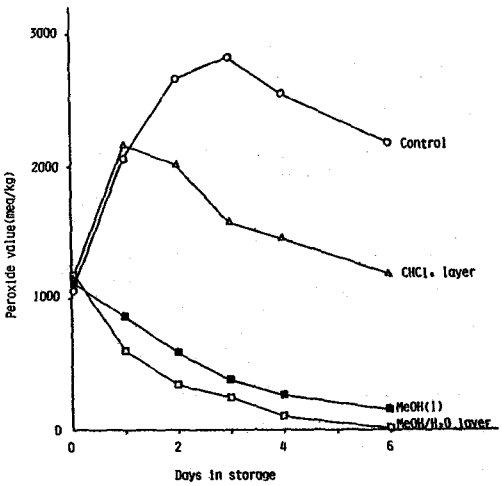

Fig. 12. Changes in POV of methyl linoleate after addition of MeOH (1) preparations by partition between chloroform and methanol/water.

존재하고 있는 것으로 판단되었으므로 이 구분의 主成分은 hydroxyamine 化合物로 推定되었다[9].

6. 結 言

Krill 脂質의 過酸化物 分解作用에 관하여 研究한 결과 燐脂質의 初期酸化에 의한 低分子의 分解生成物과 高分子의 重合物의 複合的인 작용에 의한 것임을 알 수 있었다.

過酸化物 分解作用이 가장 강한 低分子의 MeOH(1) 구분은 carbon 酸鹽으로 판정되었고 이 구분을 酸처리하여 分劃한 鹽基구분인 MeOH/H_2O 구분은 강력한 過酸化物 分解作用을 나타내었으며 hydroxyamine 化合物로 推定되었다.

한편 이 구분의 鹽基性 化合物은 choline 由來의 것으로 판단되므로 choline 의 過酸化物 分解作用을 조사한 결과 choline hydroxide 는 강력한 效力을 나타냄을 알 수 있었다.

또 遊離型의 choline 과 ethanolamine 의 過酸化物 分解作用을 比較 檢討한 결과[27]를 보면 choline 의 效力이 훨씬 강하였고 脂質의 hydroperoxide 基는 遊離의 choline 과 ethanolamine 의 존재하에 hydroxyl 基로 還元되는 것으로 밝혀졌다.

이상에서 燐脂質의 過酸化物 分解作用物質을 밝히고 分解機構를 解明하려고 하였으나 燐脂質이 다른 食品 성분의 변화에 미치는 영향이나 反應性 등에 관하여 더 많은 研究가 遂行되어야 할 것이며, 특히 酸化的 劣化와 變色에 관련되는 문제들이 檢討되어야 할 것으로 생각된다.

文 献

1. G.J. グランサム："オキアミの 利用", 64 pp, FAO 刊, 海洋水產資源開發センター資料, No.8 (1978)
2. 衣巻豊輔："南氷洋オキアミ資源の 有效利用に關する總合研究報告書", 科學技術廳, 59(1978)
3. 渡邊武彦, 杉井麒三郎, 湧口浩也, 衣巻豊輔：東海水研報, **85**, 13(1976)
4. 柳本正勝, 加藤典子, 横山能子, 小林登史夫, 木村進：日本產水學會誌, **45**, 369(1979)
5. 簗瀬正明：東海水研報, **77**, 97(1974)
6. 露木英男, 成瀬宇平, 望月篤, 伊藤眞吾：油化學, **13**, 477(1964)
7. Lee, J.H., Fujimoto, K. and Kaneda, T: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **47**, 881(1981)
8. Lee, J.H., Fujimoto. K. and Kaneda, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 2001(1983)
9. Lee, J.H.: Ph. D. Thesis of Tohoku University (1983)

10. Rouser, G., Kritchevsky, G., and Yamamoto, A.: in "*Lipid Chromatographic Analysis* Vol. 1" ed. by Marinetti, G.V., Marcel Dekker, New York, pp. 116(1967)
11. Olcott, H.S., and Einset, E.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **35**, 161(1958)
12. 清野肇, 渡邊昭一郎, 阿部芳郎：油化學, **20**, 218 (1971)
13. 阿部皓一, 湧口泰男, 勝井五一郎：榮養と食糧, **27**, 329(1974)
14. 熊澤恒, 大山保：油化學, **14**, 167(1965)
15. Kates, M.: "*Techniques of Lipidology*" ed. by Work, T. S., Work, E., North-Holland, Amsterdam, pp. 330(1972)
16. Touchstone, J.C., Chen, J.C., and Beaver, K.M.: *Lipids*, **15**, 61(1979)
17. Pokorny, J., Tai, P. T., and Janicek, G.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **153**, 322(1973)
18. Tai, P.T., Pokorny, J., and Janicek, G.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **156**, 257(1974)
19. Pokorny, J., Tai, P.T., and Janicek, G.: *Nahrung*, **20**, 149(1976)
20. Tomioka, F., and Kaneda, T.: 油化學, **23**, 777 (1974)
21. Tomioka, F., and Kaneda, T.: 油化學, **23**, 782(1974)
22. Tomioka, F., and Kaneda, T.: 油化學, **25**, 784(1976)
23. Hanahan, D.J., Dittmer, J.C., and Warashina E.: *J. Biol. Chem.*, **228**, 685(1957)
24. Rouser, G., Kritchevsky, G., Heller, D., and Lieber, E.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **40**, 425 (1963)
25. Glick, D.: *J. Biol. Chem.*, **156**, 643(1944)
26. Bartlett, G.R.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 466(1959)
27. Miyazawa, T., Yamaguchi, M., Lee, J.H., Fujimoto, K. and Kaneda, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **48**(5), 1375(1984)