

魚貝肉抽出物이 脂質酸化에 미치는 影響

李康鎬·鄭寅鶴·李鐘祐*

釜山水産大學 食品工學科, *慶尙大學校 食品營養學科
(1984년 9월 2일 접수)

Effects of Muscle Extracts of Fish and Shell-fish on the Oxidation of Methyl Linoleate

Kang-Ho Lee, In-Hak Jeong and Jong-Ho Lee*

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan, Korea

**Department of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju, Korea*

(Received September 2, 1984)

Abstract

Effects of muscle extracts of five species of fish and shell-fish, mackerel, jack mackerel, yellow corvenia, shrimp and baby-neck clam, on lipid oxidation were investigated using a model system consisting of methyl linoleate absorbed in microcrystalline cellulose and extracts of fishes.

Ethanol extracts of both mackerel and jack mackerel apparently showed inhibitory effect on the oxidation of methyl linoleate, while the extract of yellow corvenia, and baby-neck clam showed a slight catalyzed effect on contrary. The ethanol extract of shrimp, however, revealed no effect on the oxidation of methyl linoleate.

When the ethanol extracts were dialyzed, the outer fractions of dark fleshed fish had a strong inhibitory effect on the oxidation of methyl linoleate, while the inner fractions did not. The outer fraction of yellow corvenia showed catalyzed effect, but the inner fraction inhibited the oxidation slightly. The outer fraction of shrimp had a strong inhibitory action, but the inner fraction showed no effect.

The methanol-water fraction of chloroform-methanol extract of shrimp showed a quite strong inhibitory effect on the oxidation, whereas that of four other samples did the same levels of effect as ethanol extracts.

서 언

어육종의 지질의 산화는 외부적인 요인과 어육성분 상호간의 작용 등에 의하여 복잡하게 진행되므로 그 산화과정을 간단히 이해하기는 곤란하나 성분간의 상호작용 또는 한 성분이 다른 성분의 변화에 미치는 영향을 파악한다는 것은 식품의 품질보존과 품질 개선을 위하여 매우 중요하다.

어육성분 중에서는 지질의 산화에 촉진작용을 갖는 것과 억제작용을 갖는 것이 공존하고 그들의 함

량은 어종에 따라 다른 것으로 알려져 있다. Schultz 등¹⁾은 각종 미량금속 및 육색소 등을 촉진물질로서 보고하고 있다. 한편 Porkony 등²⁾ Platt³⁾, Yukami⁴⁾, Taylor 와 Richardson⁵⁾ 등은 단백질의 지질산화에 대한 억제효과를 검토하였고 Olcott 와 Kuta⁶⁾, Karel 등⁷⁾ 山口 등⁸⁾은 아미노산의 항산화 작용에 대하여 보고하였다.

또한 Matsushita 등⁹⁾이 핵산관련물질의 항산화성에 대해서 湯木 等¹⁰⁾은 TMAO의 지질산화에 미치는 영향에 대해서 검토하였으며, 이러한 대부분의 연구는

표준품을 이용한 단일제에서 이루어졌다. 어육성분의 복잡한 영향에 대한 연구는 해산동물육이 지질산화를 촉매하는 금속을 봉쇄하는 작용을 가진다는 Castell 등^{(11), (12)}의 보고와 적색육과 백색육의 Ex 성분은 지질산화에 미치는 영향에 대한 Koizumi 등⁽¹³⁾의 보고가 있다.

근간에는 식품공업계에서 식품함유지질의 산화방지를 위하여 사용해 오던 합성항산화제가 그 잠재적 독성 때문에 사용이 제한되는 추세에 있으므로 천연항산화제의 개발이나 식품성분 중의 산화억제물질을 밝힌다는 것은 매우 가치있는 일로 생각된다.

본 실험에서는 붉은 살 어류의 고등어와 전갱이 흰 살 어류의 조기 연체류의 바지락, 그리고 갑각류의 새우를 시료로 하여 각 육성분을 추출하여 그 추출물이 지질산화에 미치는 영향을 알아보고 그 성분 조성을 검토하여 항산화성 물질과 친산화성 물질을 밝힘으로써 어육가공 저장 중의 품질보존을 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시 료

실험에 사용된 시료어인 흰 살 어류인 조기(*Pseudosciaena manchurica*), 붉은 살 어류인 고등어(*Scomber japonicus*)와 전갱이(*Trachurus japonicus*), 갑각류인 새우(*Parapenaeus fissurus*), 연체류인 바지락(*Venus japonica*) 등은 부산공동어시장에서 구입하여 사용하였다.

2. 육성분의 추출

(1) 에탄올 추출

어육을 세절한 후 20g을 취하여 40ml의 에탄올을 가하고 waring blender에서 마쇄하였다. 이것을 원심분리하여 상정액을 분리하고 침전에 60% 에탄올을 40ml가하고 다시 마쇄한 후 원심분리하여 상정액을 취하였다. 얻어진 상정액을 5°C 냉장고에서 24시간 방치하였으며 방치하는 동안 생성된 침전은 여과하여 제거하였다. 여액을 감압증발기로 농축하여 에탄올을 제거한 후 150ml의 에틸에테르 5회 처리하여 지질을 제거하였다.

위에서 얻은 에탄올 추출물은 cellulose tubing (sigma)으로 증류수 중에서 24시간 투석하였다. 투석 후 외액을 모아서 감압증발기로 농축하여 60ml로 정용하여 실험에 사용하였다.

(2) 클로로포름-메탄올(2:1) 혼합용매추출

일반적인 지질추출용매인 클로로포름-메탄올(2:1, v/v) 혼합액을 시료의 4배량 가하여 waring blender에서 마쇄하여 원심분리한 후 상부의 메탄올-물층을 취하여 본 실험에 사용하였다.

3. Methyl linoleate의 조제

실험실에서 safflower oil(日本油脂(株)의 지방산 methyl ester로부터 감압 증류법에 의하여 methyl linoleate를 조제하였다.

4. 모델계의 조제

어육추출물의 지질산화에 미치는 영향을 알아 보기 위하여 다음과 같이 모델계를 조성하였다. 20g의 microcrystalline cellulose에 어육추출물 60ml(魚肉 20g으로부터 추출한 양)을 섞은 혼합물을 진공 동결건조하였다. 동결건조한 시료를 마쇄하여 고무 섞은 후에 헥산 100ml에 녹인 methyl linoleate(최종농도가 전체 모델계의 10%가 되도록)를 가하여 잘 혼합한 후 감압증발기로 헥산을 제거하였다.

완성된 모델계를 petri dish(φ 8cm) 위에 5g씩 퍼서 25°C 항온기내에 보존하면서 peroxide value(POV)와 carbonyl value(COV)를 측정하였다.

5. 실험방법

(1) 지질산화 측정

모델계의 과산화물가는 포화 KI 용액을 사용한 AO AC⁽¹⁴⁾법에 따라 측정하여 meq/kg으로 표시하였다.

카아보닐가는 2,4-DNPH를 사용하는 Henick법⁽¹⁵⁾에 준하여 측정하였다.

(2) 일반성분의 분석

수분은 상압가열건조법, 조회분은 직접탄화법, 조단백질은 semimicro kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법, 탄수화물은 Bertrand법으로 정량하였다.

(3) 아미노질소의 정량

Spies 등⁽¹⁶⁾의 방법에 따라 다음과 같이 정량하였다. 시료 약 5g에 75% 에틸알콜 40ml를 가하고 waring blender에서 마쇄하여 2시간 교반하면서 유리아미노산을 침출시킨 다음 총량을 50ml로 정용하여 원심분리하였다. 상정액 5ml와 Cu₃(PO₄)₂ 현탁액 5ml를 원심관에 취하여 혼합한 후 원심분리하고 상정액을 취하여 620nm에서 흡광도를 측정하였다.

Table 1. Conditions for HPLC analysis of nucleotides

Instrument	Waters Associates HPLC system
Column	μ -Bondapak C18(300mm \times 3.9mm i. d.)
Eluent	1% triethylamine phosphoric acid (pH 6.5)
Flow rate	2.0 ml/min.
Detector	UV-detector (254 nm)
Sample load	5 μ l
Temperature	40°C

(4) TMAO와 TMA의 정량
Dyer 법¹⁷⁾에 따라 정량하였다.

(5) 핵산관련물질의 정량
각 시료의 핵산관련물질의 량을 μ -Bondapak C18 column(300 mm \times 3.9 mm i. d.)을 사용하여 HPLC로 분석한 Lee 등¹⁸⁾의 방법에 따라 정량하였다. 이때 사용한 HPLC의 조건은 Table 1.과 같다. 그리고 각 핵산관련물질의 함량계산은 절대표준법에 의한 peak의 면적으로부터 계산하였다.

결과 및 고찰

1. 시료어의 성분조성

시료어의 일반성분을 분석한 결과는 Table 2.와 같다. 흰 살 어류인 조기과 붉은 살 어류인 전갱이, 고등어를 비교하여 보면 단백질 함량과 지질 함량이 조기가 조금 높았으며 수분함량은 전갱이와 고등어가 조금 높았다. 바지락은 내장을 포함한 전어체를 사용한 결과로 회분 함량이 다른 시료보다 높았으며 새우는 지질함량이 가장 낮았다.

각 시료어의 에탄올 추출물의 질소성분과 회분함

Table 2. Proximate composition of the fish and shell-fish samples (%)

Species	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Carbo-hydrate	Crude ash
Yellow corvenia	74.5	17.5	6.5	0.3	1.4
Jack mackerel	76.2	16.5	5.0	0.4	1.3
Mackerel	176.6	16.0	4.6	0.3	1.7
Shrimp	81.7	15.0	0.7	1.0	1.5
Baby-neck clam	83.0	11.4	1.5	1.5	2.3

량을 분석한 결과를 Table 3.에 나타내었다. 새우와 바지락 추출물의 질소함량과 아미노 질소함량이 전갱이와 조기에 비해서 높았다. 어육 추출물 중의 회분함량을 비교해 보면 바지락이 가장 높았으며 어류에서 낮았다.

Table 4.는 각 시료어의 핵산관련물질을 정량한 결과를 나타낸 것이다. 전체적으로 보아서 고등어, 전갱이, 새우의 핵산관련물질의 함량이 조기와 바지락보다 높았으며 그 중에서도 새우가 가장 높았다.

2. 에탄올 추출물의 영향

어육의 수용성 성분이 지질산화에 미치는 영향을 보기 위한 본 실험에서 에탄올 추출물을 methyl linoleate, microcrystalline cellulose 모델계에 흡착시키고 25°C에서 20일간 보존하면서 POV와 COV의 변화를 측정하였다. 그 결과 Fig. 1.과 Fig. 2.에 나타난 바와 같이 붉은 살 어류인 고등어와 전갱이 추출물은 POV와 COV의 상승을 억제하는 작용을 나타내었다. 이에 반해 흰 살 어류인 조기와 바지락 추출물은 촉진작용을 나타내었으며, 새우는 control과 비슷한 결과를 나타내었다. 일반적으로 붉은 살 어류의 Ex 성분 중에는 histidine 함량이 상당히 높고

Table 3. Constituents in muscle extracts of fish and shell-fish

(mg/100g muscle)

Species	Solid material	Crude ash	Total-N	Amino-N	TMAO	TMA
Yellow corvenia	3150	880	910	198	199	51
Jack mackerel	3300	880	1190	198	189	11
Mackerel	4300	1000	1190	655	42	10
Shrimp	4550	1380	1680	1029	99	23
Baby-neck clam	6300	1580	1470	1055	5	22

Table 4. Nucleotide contents in raw samples of fish and shell-fish

(μ mole/g wet basis)

Species	ATP	ADP	AMP	IMP	HxR	Hx
Yellow corvenia	trace	0.340	trace	7.040	trace	1.294
Jack mackerel	0.009	0.078	0.088	6.540	2.188	0.079
Mackerel	0.017	0.165	0.117	5.537	2.459	0.176
Shrimp	trace	0.396	2.095	3.287	1.728	0.687
Baby-neck clam	3.701	0.882	1.256	0.887	0.625	0.176

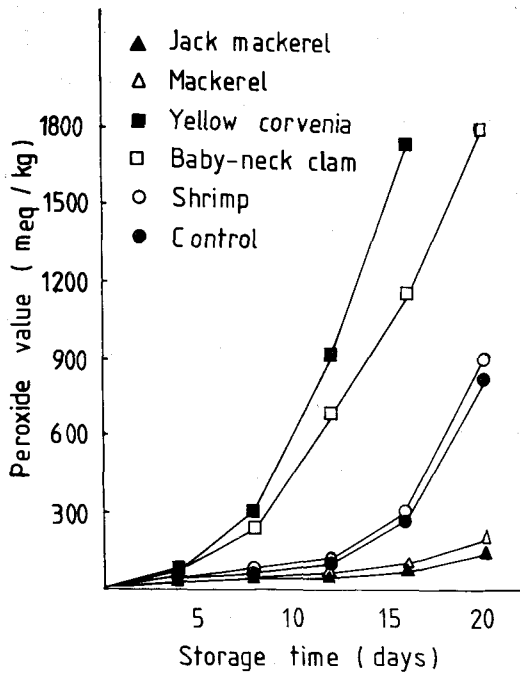


Fig. 1. Effects of ethanol extracts of fish and shell-fish on the oxidation of methyl linoleate stored at 25°C.

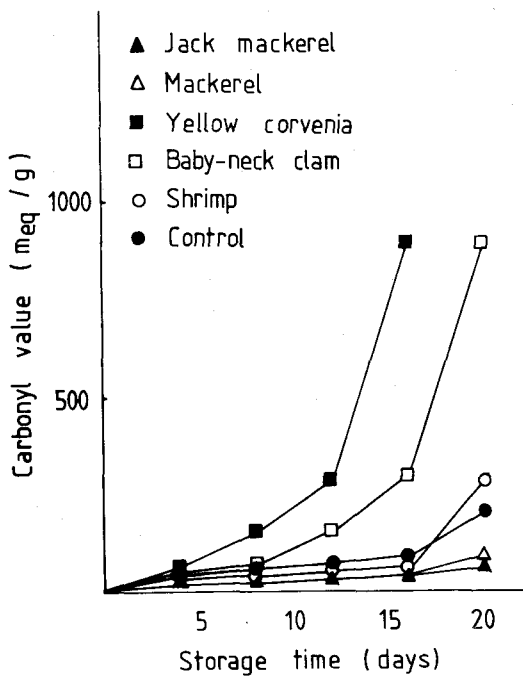


Fig. 2. Effects of ethanol extracts of fish and shell-fish on the oxidation of methyl linoleate stored at 25°C.

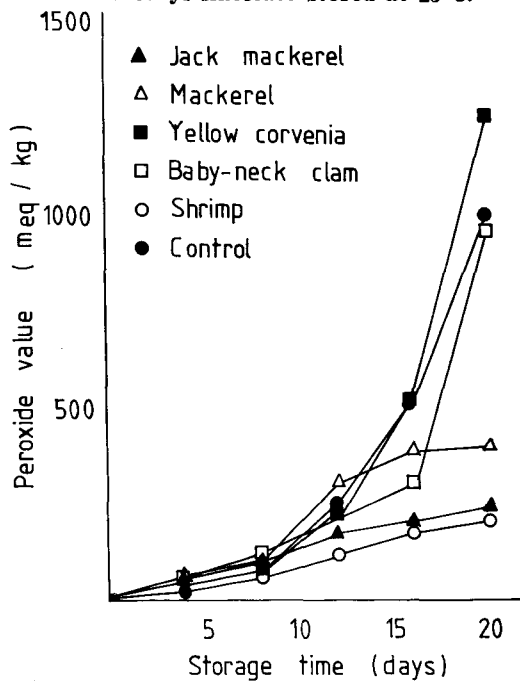


Fig. 3. Effects of dialyzed outer fraction of the ethanol extracts of fish and shell-fish on the oxidation of methyl linoleate stored at 25°C.

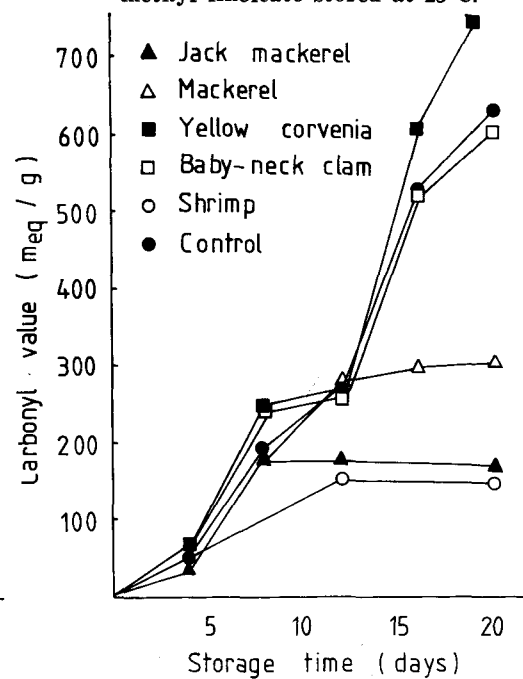


Fig. 4. Effects of dialyzed outer fraction of the ethanol extracts of fish and shell-fish on the oxidation of methyl linoleate stored at 25°C.

清水¹⁹⁾, Manita 등²⁰⁾, 須山²¹⁾, 山口²⁾에 의하면 histidine 이 아미노산 가운데서 항산화성이 가장 강하다고 하며 Marcuse²²⁾, Karel 등⁷⁾의 보고에도 histidine, alanine, lysine, cysteine 등이 항산화제 혹은 상승제로 작용한다고 보고하고 있으므로 이들 붉은 살 어류의 산화억제효과는 histidine 함량과 관계가 있을 것으로 추정된다. 바지락 추출물이 산화를 촉진하는 경향으로 나타난 것에는 에탄올로 육성분을 추출할 때 내장을 포함한 전어체를 마쇄하였기 때문에 내장에서 유래한 미량금속이 지질의 산화에 어느 정도 촉진작용을 하였기 때문이 아닌가 생각된다. 새우 추출물은 대조구와 비슷하여 지질의 산화에 영향을 미치지 않는 것으로 보이나 이는 항산화성 물질과 친산화성 물질의 작용이 대등하기 때문인 것으로도 해석할 수 있다.

그리고 흰 살 어류에서는 산화촉진 인자인 철이온이나 육색소의 영향을 고려할 수는 없지만 유리 아미노산의 양이 상대적으로 적은 것과 관계가 있을 것이며 어육 추출물 중의 어떤 산화촉진인자의 영향으로 볼 수도 있을 것으로 생각된다.

3. 에탄올 추출물의 투석 내·외액의 영향

에탄올 추출물을 cellulose tubing 으로 증류수중에

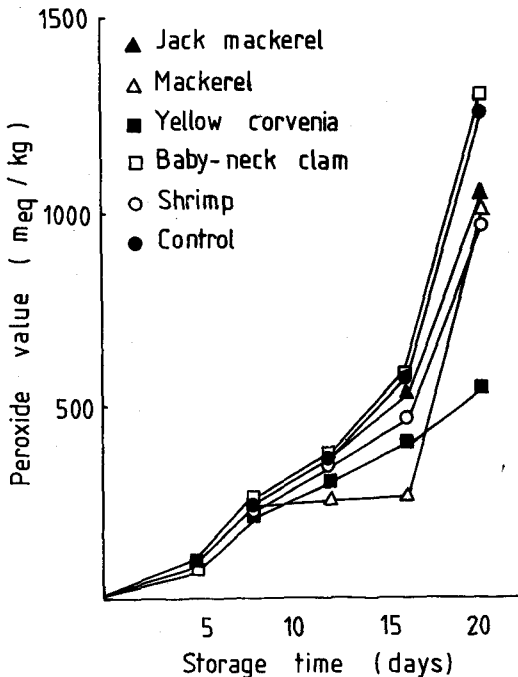


Fig. 5. Effects of dialyzed inner fraction of the ethanol extracts of fish and shell-fish on the oxidation of methyl linoleate stored at 25°C.

서 투석하여 각획분의 지질산화에 미치는 영향을 시험한 결과를 Fig. 3.~6.에 나타내었다. Fig.3.과 Fig. 4.는 외액의 효과를 시험한 결과인데 고등어, 전갱이, 바지락, 조기는 그 효과가 Fig.1.과 Fig.2.에서 살펴 본 전체 추출물의 효과와 큰 차이가 없었다. 그러나 새우의 경우에는 전체 추출물은 효과를 내타 내지 않았으나 투석 후의 외액이 상당한 억제효과를 나타내었다. Fig. 5.와 Fig. 6.에서 투석 내액이 나타내는 효과를 보면 대부분의 내액은 뚜렷한 효과를 나타내지 않았으나 조기추출물의 내액은 약간의 억제효과를 나타내었다. 이것은 Casein(Porkony 등²⁾, Kajimoto & Kamo²⁴⁾, El-Negoumy & Ku²⁵⁾, Taylor & Richardson⁵⁾과 soy proteins(Porkony 등²⁾, Platt³⁾) 그리고 serum albumin(Yukami⁴⁾) 등이 지질산화를 억제한다는 보고가 있는 점으로 미루어 보아 어육에 탄올 추출물의 투석 내액 중의 고분자물질에도 약간의 산화억제효과 물질이 존재하고 있는 것으로 여겨진다.

이상의 결과로 미루어 보아 붉은 살 어류인 고등어와 전갱이에 있어서는 저분자 물질이 산화억제의 주역인 것으로 생각되며 여기에 어느정도 고분자 물질의 영향도 있는 것으로 추정된다. 이와 같은 결과

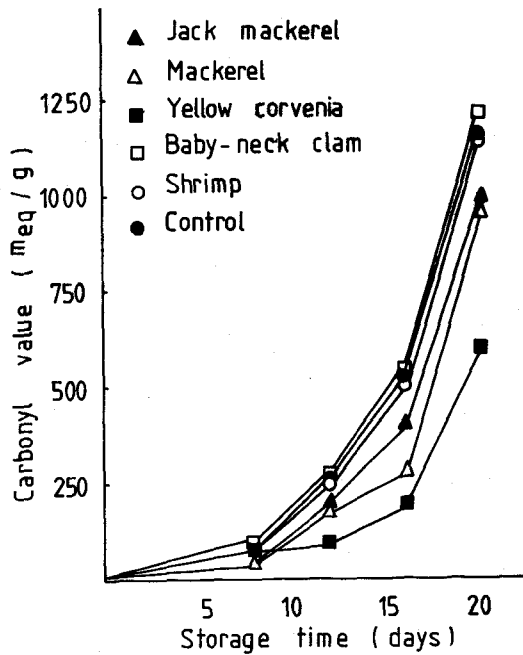


Fig. 6. Effects of dialyzed inner fraction of the ethanol extracts of fish and shell-fish on the oxidation of methyl linoleate stored at 25°C.

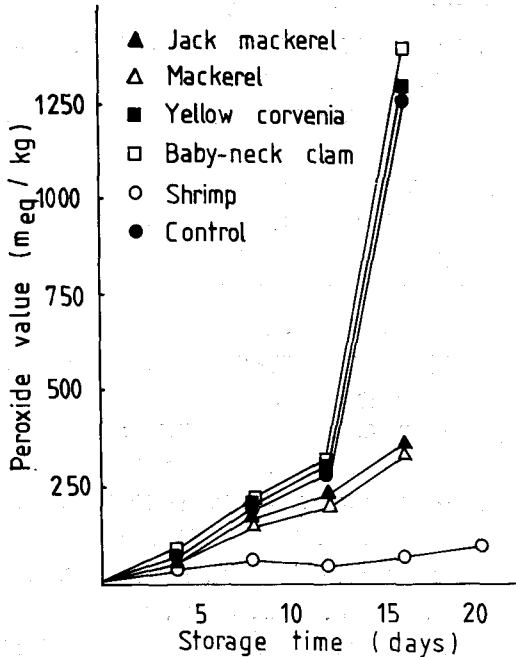


Fig. 7. Effects of methanol-water fraction of fish and shell-fish on the oxidation of methyl linoleate stored at 25°C.

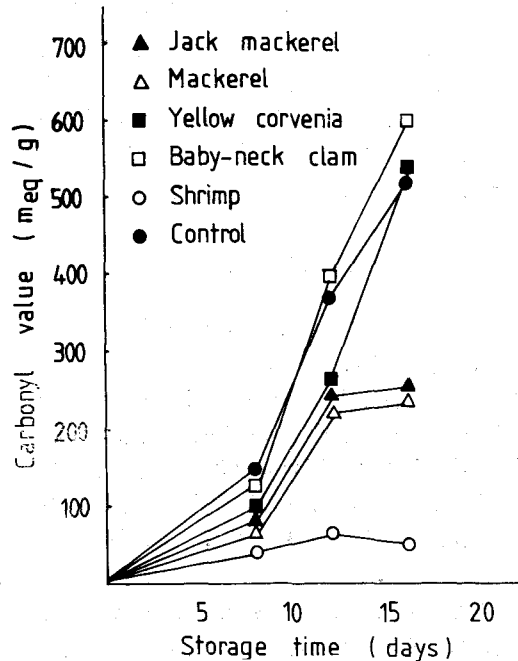


Fig. 8. Effects of methanol-water fraction of fish and shell-fish on the oxidation of methyl linoleate stored at 25°C.

는 Koizumi 등¹³⁾의 bigeye tuna 를 시료로 실험한 결과에서 언급된 바와 같이 붉은 살 어류에는 지질의 산화를 억제하는 저분자 물질이 존재한다는 의견과 일치한다.

바지락은 투석 내액과 외액이 모두 약간의 촉진효과를 나타내었고 조기는 투석 외액이 산화촉진효과를 보인 반면에 투석 내액은 약간의 억제효과를 나타내었다. 이러한 결과는 Koizumi 등¹³⁾이 북양산 넙치를 시료로 하여 얻은 결과와 같은 경향을 보이고 있으므로 흰 살 어류의 저분자 구분에는 지질의 산화를 촉진하는 물질이 존재할 것으로 추정된다.

새우의 에탄올 추출물로부터 고분자 구분을 제거함으로써 저분자 구분이 지질산화에 억제효과를 나타낸 점으로 보아 고분자 구분이 저분자 구분과 공존할 때는 그 효과가 상쇄되는 것으로 생각되나 고분자 구분은 그다지 뚜렷한 촉진효과를 보이지는 않았다.

Matsushita 등⁹⁾에 따르면 핵산 관련물질이 항산화성을 가진다고 하며 그 중에서도 hypoxanthine 과 xanthine 등 분해생성물의 효과가 크다고 한다.

Table 4. 의 핵산관련물질의 량과 Fig.1., Fig.2., Fig.3., Fig.4. 의 결과와의 관계를 보면 지질에 대

해 항산화성을 나타내는 고등어, 전갱이, 새우의 경우 핵산관련물질의 함량이 조기와 바지락의 함량보다 많았다. 이러한 결과로부터 고등어, 전갱이, 새우의 추출물이 가지는 항산화능에 핵산관련화합물이 어느 정도 관여하고 있을 것으로 생각된다.

4. 클로로포름-메탄올 추출물의 영향

앞에 기술한 에탄올 추출물 조제시처럼 에틸 에테르로 지방을 제거하는 조작과는 달리 클로로포름-메탄올 혼합액을 이용하여 지방을 추출 제거함과 동시에 그 때 얻은 메탄올-물층을 취하여 지질의 산화에 대한 영향을 실험하였다. 그 결과 Fig. 7. 과 Fig. 8. 에서 보는 바와 같이 전체적으로는 에탄올 추출물의 경우와 비슷한 경향이였으나 새우의 경우만은 특별히 두드러진 차이를 나타내었다. 즉 control의 POV 변화율을 보면 보존 20일 경과 후 약 4000에 달하였으나 새우 추출물 첨가구는 500 이하에 머물고 있었으며 COV의 경우도 이와 유사한 결과를 보여 강한 항산화작용을 나타내었다. 이는 클로로포름-메탄올 추출시 메탄올-물획분에 강한 항산화 작용을 가지는 성분이 존재한다는 것을 시사하고 있다. 한편 전갱이와 고등어의 경우에도 산화억제효과가 에탄올 추

출물의 효과보다도 메탄올-물층의 효과가 월등히 높다는 것을 알 수 있다. 이것은 앞에서 지적한 산화억제와 촉진 작용의 균형이 추출과 농축과정에서 깨뜨려져 즉 산화촉진력이 있는 성분이 제거되었거나 혹은 에탄올 보다는 메탄올에 추출되는 강한 항산화 작용을 가지는 성분이 존재한다고 추측할 수 있다.

결론 및 요약

조기, 전갱이, 고등어, 바지락, 새우 등 어패류의 추출물이 지질의 산화에 미치는 영향을 보기 위하여 각 시료의 에탄올 추출물과 이의 투석 내·외액 및 클로로포름-메탄올 추출시의 메탄올-물획분을 methyl linoleate 와 microcrystalline cellulose 모델제에 가하고 25°C 보존중의 POV 및 COV를 측정하여 지질의 산화에 미치는 영향을 검토하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

(1) 조기와 바지락의 에탄올 추출물은 산화촉진 작용을, 고등어와 전갱이의 에탄올 추출물은 산화억제 작용을 나타내었으며 새우의 에탄올 추출물은 뚜렷한 효과를 나타내지 않았다.

(2) 에탄올 추출물을 투석하였을 때의 투석내액은 뚜렷한 경향을 보이지 않았으나 조기의 경우는 약간 산화억제적 경향을 보였다.

(3) 에탄올 추출물의 투석 외액이 미치는 영향은 에탄올 추출물과 비슷하였으나 전갱이와 고등어의 경우 보다 강한 산화억제효과를 나타내었다. 그러나 바지락과 조기의 투석 외액은 오히려 촉진작용을 보였다.

(4) 시료 어패류를 클로로포름-메탄올로 추출한 경우 전갱이 고등어 새우의 메탄올-물 획분이 현저한 산화억제효과를 보였다.

문 헌

1. Schultz, H. W., Day, E. A. and Shinhuber, R. O. : *Lipids and their oxidation* Avi Pub. Co., Westport, Conn., 161(1962)
2. Porkorny, J., Janicek, G. and Vasakova, M. *Sb. Vysoke Skoly Chem-Tech. Praze, Potravinarska Technol.*, 5, 161 (1961)
3. Platt, D.E. : *J. Food Sci.*, 37, 322 (1972)

4. Yukami, S. : *Agr. Biol. Chem.*, 36, 871(1972)
5. Taylor, M. J. and Richardson, T. : *J. Dairy Sci.*, 63, 1783 (1967)
6. Olcott, H. S. and Kuta, J. : *Nature*, 183, 1812 (1959)
7. Karel, M., Tannenbaum, S. R., Wallace, D. H. and Maloney, H. : *J. Food Sci.*, 31, 892(1966)
8. 山口直彦 : *調理科學*, 9 (2), 88 (1976)
9. Matsuhista, S., Ibuki, F. and Aoki, A. : *Arch. Biochem. Biophys.*, 102, 446 (1963)
10. 湯木悦二 · 石川行弘 · 山岡室 · 吉和哲朗 : *日本食品工業會誌*, 20(9), 411 (1973)
11. Castell, C. H. and Bishop, D. M. : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 26(9), 2299 (1969)
12. Castell, C. H., Smith, B. and Neal, W. : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 27(4), 701 (1970)
13. Koizumi, C., Ohshima, T. and Wada, S. : *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 47(11), 1485(1991)
14. AOAC : "Official methods of analysis", 13th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. (1980)
15. Henick, A. S., Benca, M. F. and Mitchell Jr., J. H. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 51, 928(1954)
16. Spies, J. R. : *J. Biol. Chem.*, 191, 781(1951)
17. Dyer, W. J. : *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 8(5), 351 (1945)
18. 이용호 · 구재근 · 안창범 · 차용준 · 오광수 : *韓國水産學會誌*, 17(5), 368 (1984)
19. 清水亘 · 遠藤金次 : *日本水産學會誌*, 21(2) 127 (1955)
20. Manita, H., Koizumi, C. and Nonaka, J. : *Bull. Jap. Soc. Fish.*, 36(9), 963 (1970)
21. 須山 三千三 : *白身の魚と赤身の魚, エキス成分*, 日本水産學會編(恒星社厚生閣, 東京), (1976)
22. Marcuse, R. : *Fette. Seifen. Anstr.*, 63, 547 (1961)
23. Marcuse, R. : *Nature*, 186, 886 (1960)
24. Kajimoto, G. and Kamo, K. : *Eiyo To Shokuryo*, 16, 510 (1964)
25. El-Negoumy, A. M. and Ku, P. S. *J. Dairy Sci.*, 51, 928 (1968)