KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 22, No. 3, 255~260 (1990)

달맞이꽃 종자유의 산화안정성에 대한 토코페롤첨가 효과

표영희·안명수·임웅규*
성신여자대학교 식품영양학과, *서울대학교 농생물학과

Effects of Tocopherols on the Oxidation Stability of Evening Primrose Oil

Young-Hee Pyo, Myung-Soo Ahn and Ung-Kue Yim*
Department of Food & Nutrition, Sung Shin Womens University, Seoul
** Department of Agrobiology, Seoul National University, Suwon*

Abstract

The effects of different concentrations of tocopherols on the oxidation stability of evening primrose oil (EPO) in the dark (35 ± 2 °C) were evaluated by some physicochemical characteristics such as peroxide, conjugated diene value and fatty acid composition. The results of the present study were as follows; Alpha-tocopherol at all concentrations (0.02%, 0.05%, 0.10%) showed a prooxidant effect during autoxidation of EPO. This prooxidant activity of alpha-tocopherol increased as its concentration increased rapidly. Delta-tocopherol showed antioxidant activity as its concentration increases at an early stage of storage. But the activity was fairly poor antioxidant activity and was not greater than antioxidant activity of BHT. However, the antioxidant effect of delta-tocopherol and BHT showed no apparent differences as compared with result of none.

Key words: evening primrose oil, tocopherol, antioxidants, autoxidation, prooxidant effect, antioxidant activity

서 론

달맞이꽃 종자(evening primrose seed)는 전체 종자 무게의 21~23%의 지방을 함유하고 있다[1]. 그 중 7~14% 함유된 감마리놀렌산(gamma-linolenic acid, 18 : 3n6)은 생체의 중요한 생리조절물질인 프로스타글란딘의 전구물질[2,3]이라는 점에서 달맞이꽃 종자유가 세계적인 각광을 받게 되었다. 따라서 달맞이꽃 종자유에 대한 지금까지의 연구경향은 동물실험을 통한 감마리놀렌산의 효율성 검토가 대부분이다[4-8]. 그러나 감마리놀렌산은 분자구조내 이중결합이 모두 cis형(all cis 6 : 9 : 12 double-bond system)으로 이성화, 중합화 및 기타의 화학적인 성분변화가 쉽게 일어날 것[1]으로 예측된다. 한국산 달맞이꽃 종자유의 산화안정성에 관한 연구[9]에서 암소, 냉장, 형광 및 일광조사의 모든 조건에서 달맞이꽃 종자유는 대두유에 비해 산화율이 매우 빠른 것으로 나타나 달맞이꽃 종자유 중의 고도불포화지방산 함량(80% 이상)과 엽록소 등의 색소성분이 크게 작용한 것으로 보고되고 있다. 특히 가열산화에 대한 달맞이꽃 종자유의 영향[10]은 산도, 점도, 자외선흡광도 등은 증가하였고 요오드가, 리놀레산 함량 및 감마리놀렌산의 함량이 감소되었다고 하여 달맞이꽃 종자유가 자동산화 및 가열산화에 대해 불안정한 것으로 보고되고 있다. 따라서 달맞이꽃 종자유의 저장을 위해 미국 특허국은 0.10%의 알파토코페롤의 첨가를 규정[11]하고 있으며 현재 우리나라도 0.10%의 알파토코페롤과 셀레니움이 달맞이꽃 종자유에 혼합되어 시판되고 있다. 토코페롤 동족체간의 산화방지력은 델타가 가장 강하고 그 다음이 감마, 베타, 알파의 순으로 알려져 왔으나[12,13] 이러한 순위는 기질의 종류, 실험조건, 산화율의 측정법 등에 따라 다소 다르게 보고되고 있다. Kanematsu 들[13]은 토코페롤동족체를 돼지기름, 야자유 및 옥수수유를 기질로 항산화효과를 측정했을 때 모든 기질에서 토코페롤잔류량은 알파>감마>델타의 순으로 감소되었으며 특히 알파토코페롤은 야자유에 대하여 산화촉진제로 작용했으나 감마와 델타토코페롤은 항산화제로 작용하였으며 옥수수유에서는 어떠한 토코페롤도 항산화효과가 없었다고 하

Corresponding author: Young-Hee Pyo, Department of Food & Nutrition, Sung Shin Womens University, 249-1 Dong sun-Dong, Sung buk-gu, Seoul, 136-033

여 토코페롤의 항산화력이 기질의 종류에 따라 일정하지 않음을 보고하였다. 알파토코페롤은 특히 자신의 강한 소수성의 특성 때문에 유효한 유리기 제거제로 사용되어 왔으나 지방산의 불포화도가 증가하면 많은 양의 과산화물을 형성하는 것으로 나타나 알파토코페롤의 항산화성은 오래 전부터 논란이 되어왔다[14-16]. 따라서 본 실험에서는 국내에서 생산된 달맞이꽃 종자유의 산화안정성에 대한 토코페롤의 첨가효과를 규명하기 위해 다음과 같은 단계로 실험하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 달맞이꽃 종자유는(원광식품공업사, 1988) 압착법으로 추출하여 생산된 미정제유로 항산화제나 금속제거제가 함유되지 않았으며 기본적인 몇 가지 물리화학적 성질은 Table 1과 같았다.

방법

달맞이꽃 종자유에 알파토코페롤(Sigma Chemical Co., Pureness ; 98~99.5%)과 델타토코페롤(Sigma Chemical Co., Pureness ; approx. 90%)을 각각 0.2%(w/w), 0.05%(w/w) 및 0.10%(w/w)의 농도로 첨가하여 항온의 암소조건(incubation, 35±2℃)에서 40일간 저장하였다. 이들의 항산화능을 비교하기 위해 0.01%(w/w)의 butylated hydroxy toluene(Sigma Chemical Co., BHT)을 첨가하여 무첨가군과 함께 비교군으로 사용하였다. 이 때 이들 첨가물질은 모두 5 m*l*의 에탄올용액에 용해시킨 뒤 수욕상에서(40℃) 수분간 용매를 증발시킨 후 150g의 시료와 잘 혼합조제하였으며 무첨가군의 시료에 대해서도 같은 처리를 한후 함께 저장하였다. 저장 중 이들 시료에 대한 화학적 성질의 변화는 AOCS법[19]에 의한 과산화물가(peroxide value, meq kg^{-1})와 AOCS법[24]에 의한 공액이중산가(conjugated diene value, %) 그리고 HPLC에 의한[22] 지방산조성의 변화를 측정하여 그 결과를 비교하였다.

결과 및 고찰

달맞이꽃 종자유에 알파와 델타토코페롤을 각각 0.02%(w/w), 0.05%(w/w) 및 0.10%(w/w) 농도로 첨가하여 0.01%의 BHT 첨가군 및 무첨가군과 비교한

Table 1. Some physicochemical properties of evening primrose oil (EPO)

Saponification value[17]	194.0 ±1.6[a]
Iodine value[18]	161.6 ±0.4
Peroxide value (meq kg^{-1})[19]	12.1 ±0.2
Free fatty acid (as % oleic acid)[20]	6.08±0.01
Refractive index[21]	1.4750
Fatty acid[22]	
16:0	9.15±1.82
18:0	2.06±0.94
18:1n9	7.16±0.87
18:2n6	72.78±1.32
18:3n6	8.85±1.37
Tocopherol contents (mg/100g)[23]	
Alpha	24.5 ±3.42
Gamma	47.6 ±6.20
Delta	not detected

[a] The mean value of triplicate determinations

Table 2. Measurement of peroxide value (POV) and conjugated diene value (CDNV) during evening primrose oil oxidation with tocopherols in the dark at 35±2 °C

Antioxi. wt. % / Days		None	BHT	Alpha-tocopherol			Delta-tocopherol		
			0.01	0.02	0.05	0.10	0.02	0.05	0.10
POV	0	9.7 ±0.2	9.7 ±0.2	9.7 ±0.2	9.7 ±0.2	9.7 ±0.2	9.7 ±0.2	9.7 ±0.2	9.7 ±0.2
	10	21.7 ±0.3	20.4 ±0.6	25.6 ±0.1	28.6 ±0.7	36.7 ±0.4	21.2 ±0.2	21.1 ±0.6	19.5 ±0.1
	20	29.0 ±0.5	23.4 ±0.5	33.8 ±0.6	43.7 ±0.9	60.9 ±0.7	28.2 ±0.4	25.1 ±0.1	24.8 ±0.3
	30	42.3 ±0.4	33.8 ±0.7	51.3 ±0.6	66.3 ±0.2	90.9 ±0.7	36.9 ±0.2	36.0 ±0.2	32.2 ±0.4
	40	50.3 ±0.4	42.6 ±0.4	65.6 ±0.8	86.1 ±0.4	120.5±0.5	53.2 ±0.4	51.2 ±0.4	47.4 ±0.3
CDNV	0	0.44±0.01	0.44±0.01	0.44±0.01	0.44±0.01	0.44±0.01	0.44±0.01	0.44±0.01	0.44±0.01
	10	0.81±0.01	0.78±0.02	0.81±0.03	0.93±0.01	0.98±0.02	0.80±0.04	0.81±0.01	0.79±0.04
	20	0.98±0.03	0.90±0.02	1.20±0.02	1.23±0.02	1.63±0.02	0.99±0.01	0.98±0.03	0.95±0.04
	30	1.10±0.02	1.00±0.01	1.28±0.04	1.45±0.05	1.90±0.02	0.91±0.02	0.92±0.04	1.01±0.03
	40	1.19±0.03	1.09±0.02	1.34±0.03	1.70±0.03	2.22±0.01	1.12±0.02	1.10±0.02	1.08±0.02

결과는 Table 2와 Fig. 1 및 2와 같으며 지방산조성의 변화는 Table 3과 같았다. Fig. 1과 2에서와 같이 알파토코페롤 첨가군은 모든 농도에서 무첨가군에 비해 모두 산화촉진작용을 나타냈다. 즉 저장 40일에서 무첨가군의 과산화물가는 50.3 meq kg^{-1}인데 비해 0.02, 0.05% 및 0.10%의 첨가군은 각각 65.6 meq kg^{-1}, 85.1 meq kg^{-1} 그리고 120.5 meq kg^{-1}로 나타나 첨가농도가 증대함에 따라 기질의 산화반응률이 가속화되는 경향이었다. 이같은 결과는 Fig. 3에서 처럼 알파토코페롤이 과산화물가 50 meq kg^{-1}이 되는데 0.02, 0.05% 및 0.10% 농도의 첨가군이 각각 29일, 22일 및 16일로 나타나 무첨가군의 40일에 비해 알파토코페롤의 산화촉진작용이 현저하게 가속적인 것을 알 수 있었다. 지방산조성의 변화에서도 비슷한 결과가 나타나 Table 3에서 처럼 저장일에 따라 불포화율(UR)[25]이 점진적으로 감소되어 달맞이꽃 종자유에 다량 함유된 불포화지방산은 산화반응에 의해 분해되면 공액형 이중구조(coujugated diene)의 과산화물의 양을 증가시키는 것으로 생각된다. 이와 같은 알파토코페롤의 산화촉진작용은 액체기질(aqueous media)일 때 특히 고도 불포화지방산의 자동산화율을 증대시킨다고[14,15] 하며 이러한 산화촉진작용은

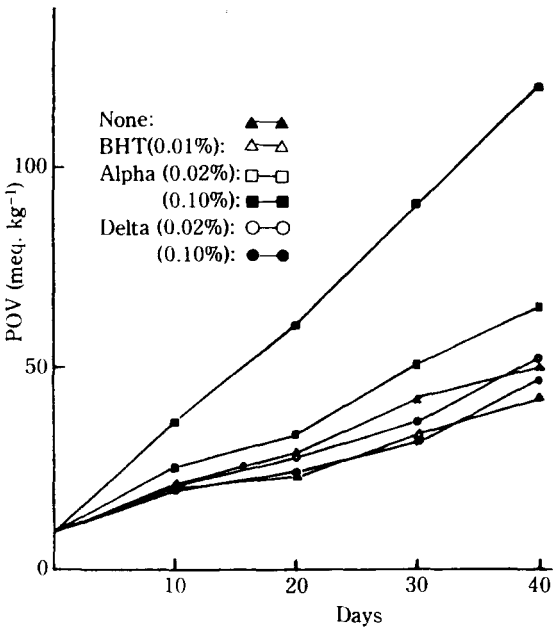

Fig. 1. Measurement of peroxide value during evening primrose oil oxidation with tocopherols in the dark at 35±2°C

Table 3. Measurement of fatty acid composition during evening primrose oil oxidation with tocopherols in the dark at 35±2°C

area: %

Antioxi.	Days	Fatty acid					
		16:0	18:0	18:1n9	18:2n6	18:3n6	UR[a]
None	0	7.54	1.80	7.36	74.19	9.12	9.71
	10	7.66	1.88	7.39	73.92	9.15	9.48
	20	7.99	2.09	7.42	73.40	9.10	8.92
	30	7.78	2.24	7.52	73.04	9.13	8.82
	40	8.07	2.40	8.27	72.70	8.85	8.70
BHT(0.01%)	0	7.54	1.80	7.36	74.19	9.12	9.71
	10	7.70	1.65	7.52	74.00	9.13	9.70
	20	7.68	1.78	7.34	74.10	9.10	9.57
	30	7.71	1.99	7.69	73.56	9.05	9.31
	40	7.99	2.02	7.59	73.49	8.91	8.99
Alpha-tocopherol (0.10%)	0	7.54	1.80	7.36	74.19	9.12	9.71
	10	7.68	2.04	7.07	74.10	9.11	9.29
	20	8.02	2.28	7.62	73.12	8.96	8.71
	30	8.36	2.21	7.31	73.23	8.89	8.46
	40	8.58	2.65	8.29	71.98	8.50	7.90
Delta-tocopherol (0.10%)	0	7.54	1.80	7.36	74.19	9.12	9.71
	10	7.64	1.89	7.12	73.21	9.14	9.49
	20	7.91	1.84	7.28	73.93	9.04	9.26
	30	7.60	2.22	7.88	73.40	8.90	9.18
	40	7.83	2.30	7.75	73.10	9.02	8.87

[a] Unsaturation ratio: $(C_{18:1} + C_{18:2} + C_{18:3})/(C_{16:0} + C_{18:0})$

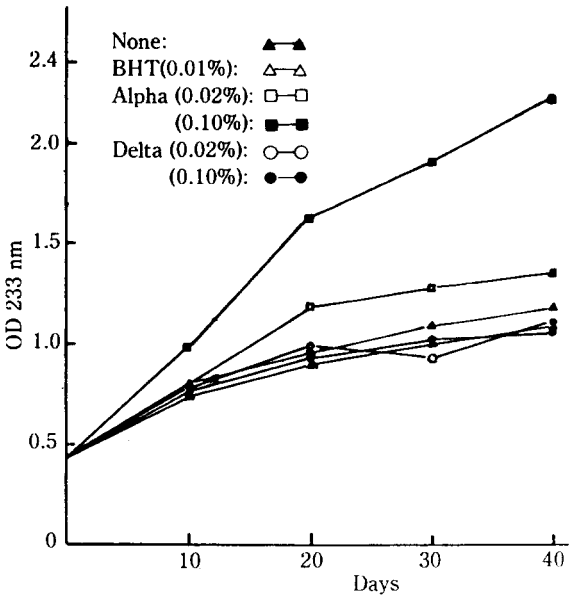

Fig. 2. Measurement of conjugated diene value during evening primrose oil oxidation with tocopherols in the dark at 35±2°C

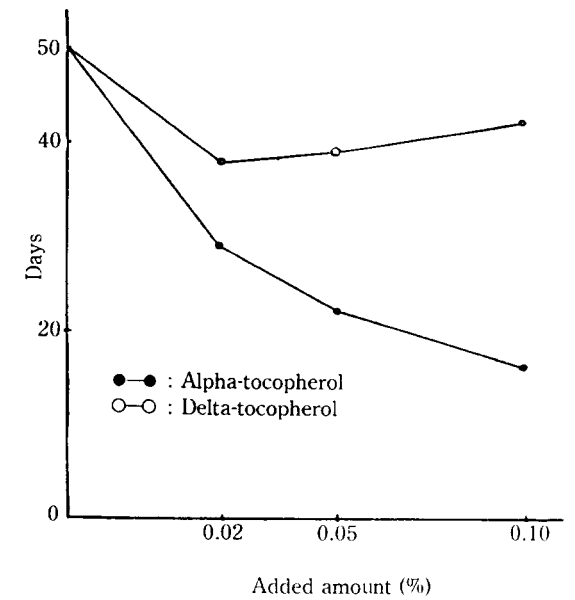

Fig. 3. Relationship between induction period[a] and added amount of tocopherols in evening primrose oil

a) Days to reach 50 meq kg^{-1} POV

토코페롤자체의 산화율과도 관계되는 것으로 보고[26]되고 있다. 즉, 액체기질에서 토코페롤의 산화율은 알파>감마>델타의 순으로 증가된다고 하여 알파토코페롤의 산화촉진작용이 자신의 산화에 따른 수소공여능의 차이로 설명되고 있다. 최근에 정제대두유에 대한 토코페롤의 항산화효과 측정에서도 알파토코페롤은 첨가농도(100, 300, 500 ppm)가 증가함에 따라 산화촉진작용을 나타내었다[27]고 하여 본 실험의 결과와 일치되는 것을 알 수 있었다. 특히 Mahoney 들[28]은 알파토코페롤이 고농도일 때 전이금속이온(transition metal, Fe^{2+})을 환원시켜 반응력이 강한·OH을 생성시킴으로써 유지식품을 무차별 산화시키는 것으로 보고하고 있다. 한편, 델타토코페롤은 Table 2와 Fig. 1 및 2에서와 같이 저장초기에는 무첨가군에 비해 첨가농도가 증가할 수록 약간의 항산화효과가 인정되었으나 저장일이 경과됨에 따라 그 효과는 저하되어 오히려 산화촉진의 경향을 나타내었다. 즉, Fig. 3에서 과산화물가 50 meq kg^{-1}이 되는데 0.02, 0.05% 및 0.10%의 첨가군이 각각 38일, 39일 및 42일로 나타나 무첨가군의 40일에 비해 큰 차이가 없었으며 Table 3의 불포화율(UR)의 비율에서도 비슷한 경향을 보여주었다. 델타토코페롤의 항산화능은 0.10%의 첨가군이 BHT 첨가군의 능력과 비슷했으나 모두 무첨가군에 비해 큰 차이가 인정되지 않았다. 이와 같은 결과는 저장전 시료의 과산화물가, 공액이중산가 및 유리지방산 함량의 측정치가 각각 9.7 meq kg^{-1}, 0.44% 및 6.09%로 높게 나타나 유리기에 의한 자동산화반응이 진행된 기질에서 토코페롤의 항산화능력은 효과가 없거나 오히려 유리기의 연쇄반응에 함께 참여하여 산화속도를 증가시킨다[29]는 내용과 유사한 결과로 사료된다. 특히 본 실험에 사용된 시료의 총 토코페롤 함량은 평균 72.1 mg/100g으로써 Kanematsu 들[30]이 보고한 다음의 미정제유의 토코페롤 함량(mg/100g), 즉 대두유 114.9, 면실유 87.7, 채종유 63.8, 미강유 47.6, 참기름 44.7 및 해바라기유 67.3 등에 비해 비교적 높은 함량으로 비교될 수 있다. 보통 유지 중의 토코페롤의 농도는 0.10% 전후일 때 항산화력이 최대가 되는 것으로 알려지고 있으며 그 이상의 농도에서는 산화촉진의 작용으로 보고[31]되고 있다.

달맞이꽃 종자유에 대한 토코페롤 첨가시 과산화물가와 공액이중산가의 상관관계는 Table 4와 같이 나타나 두 측정치간에 높은 정의 비례관계가 성립되는 것을 알 수 있었다.

Table 4. Regression analysis between the peroxide value and the conjugated diene value during evening primrose oil oxidation with tocopherols in the dark at 35±2℃

Tocopherols	%(w/w)	Regression equation	Correlation coefficient
Alpha	0.02	Y = −0.437X + 0.016X	0.914
	0.05	Y = −0.460X + 0.015X	0.968
	0.10	Y = −0.472X + 0.016X	0.974
Delta	0.02	Y = −0.460X + 0.014X	0.905
	0.05	Y = −0.450X + 0.014X	0.914
	0.10	Y = −0.421X + 0.017X	0.902
BHT	0.01	Y = −0.367X + 0.018X	0.941
None	—	Y = −0.423X + 0.017X	0.946

X axis: peroxide value
Yaxis: conjugated diene value

요 약

달맞이꽃 종자유의 산화안정성에 대한 0.02%(w/w), 0.05%(w/w) 및 0.10%의 알파와 델타토코페롤의 첨가효과를 과산화물가, 공액이중산가 및 지방산조성의 측정치로 비교한 결과는 다음과 같다. 알파토코페롤은 첨가농도에 비례하여 모든 측정치에서 무첨가군에 비해 가속적인 산화촉진작용을 나타냈으며 델타토코페롤은 무첨가군에 비해 약간의 항산화효과가 저장초기에 첨가농도에 비례하여 나타났으나 저장일이 경과됨에 따라 그 효과는 저하되는 경향이었다. 따라서 자체내 분자구조 및 높은 함량의 고도 불포화지방산으로 인해 저장성이 취약할 것으로 예측된 달맞이꽃 종자유의 산화안정성에 대한 토코페롤의 첨가는 기름제조 단계에서부터 이화학적 변화에 대한 각별한 주의와 함께 첨가전의 토코페롤의 함량 등이 신중하게 고려되어 결정되어야 할 것으로 사료된다.

문 헌

1. Hudson, B.J.F.: Evening primrose(oenothera Spp.) oil and seed. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, 540(1984)
2. Albert L., Leninger: *Principles of Biochemistry*, worth publishers, INC., p.595(1982)
3. 森田育男 : 過酸化脂質と生體, 學會出版センタ, p. 229(1988)
4. Sugano, M., Ide, T., Ishida, T. and Yoshida, K.: Hypocholesterolemic effect of gamma-linolenic acid as evening primrose oil in rats, *Ann. Nutr. Metabol.*, 30, 289(1986)
5. Sugano, M., Ishida, T., Yoshida, K., Tannaka, K., Niwa, M., Arima, M. and Morita, M.: Effects of mold oil containg GLA on the cholesterol and eicosanoid in rats, *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2483(1986)
6. Cedric, H., Hassall and Stephen J. Kirtland: Dihomo-gamma linolenic acid reverses hypertention induced in rats by diets in saturated fat, *Lipid*, 19, 699(1984)
7. O'Brien, P.M.S., Morrison, K. and Broughton Pipkin, F.: The effects of dietary supplementation with linoleic and GLA on the pressor response to angiotensin I, *Br. J. Clin. Pharmc.*, 19, 335(1985)
8. Vericel, E., Lagarde, M. and Mendy, F.: Effects of linoleic acid and GLA in take on platelet function in elderly people. *Thromb. Res.*, 42, 499(1986)
9. 표영희, 안명수 : 한국산 달맞이꽃 종자유의 산화안정성에 관한 연구, 한국조리과학회, 5, 27(1989)
10. Bottazi, F., Iggo, R. and Lotti, G.: *Agrochemica*, 29, 331(1985)
11. Horrobin: Pharmaceutical and dietary composition. *U.S. Patent*, 4, 302, 447(1981)
12. Kanematsu, H., Aoyama, M., Maruyama, T., Nhya, I., Tsukamoto, M., Tokairin, S. and Matsumoto, T.: Studies on the improvement of antioxidant effect of tocopherols. *Yukagaku*, 32, 475(1983)
13. Kanematsu, H., Aoyama, M., Maruyama, T., Nhya, I. and Matsumot, T.: Relationship between antioxidant effect of tocopherols and kinds of substrates, *Yukagaku*, 33, 241(1984)
14. Cillard, J., Cillard, P., Cormier, M. and Girre, L.: Alpha-tocopherol prooxidant effect in acqueous media, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 57, 252(1980)
15. Cillard, J., Cillard, P. and Comier, M.: Effect of experimental factors on the prooxidant behavior of alpha-tocopherol. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 57, 255(1980)
16. Koskas, J., Cillard, P. and Cillard, P.: Autoxidation of linoleic acid and behavior of its hydroperoxides with and without tocopherol. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, 1466(1984)
17. Stenesh, J.: *Experimental Biochemistry*, Allyn and Bacon, INC., p.299(1984)
18. A.O.A.C.: *Official method of analysis*, 13th ed., association of official analytical chemists, washington, D. C., p.440(1980)
19. A.O.C.S.: *Official and tentative methods of american*

oil chemists' society, 3rd ed., champaign, IL, method Cd 8-53(1974)

20. Pearson, D.: *Laboratory techniques in food analysis,* Batterworths and Co., Ltd., London, p.125(1970)
21. A.O.A.C.: *Official methods of analysis,* 13th ed., association of official analytical chemists, washington, D. C., p.437(1980)
22. 표영희 : 한국산 달맞이꽃 종자유의 이화학적 특성에 관한 연구, 성신여자대학교 박사학위논문(1989)
23. Carpenter, Jr. A.P.: Determination of tocopherols in vegetable oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.,* **56**, 668(1979)
24. A.O.C.S.: *Official and tentative methods of the american oil chemists' society,* 2nd ed., chicago, method Ti-la-64(1964)
25. Ke, P.J., Ackman, R.G. and Linke, B.A.: Autoxidation of polyunsaturated fatty compounds in mackerel oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.,* **52**, 349(1975)
26. Cillard, J. and Cillard, P.: Behavior of alpha, gamma and delta tocopherols with linoleic acid in aqueous media, *J. Am. Oil Chem. Soc.,* **57**, 39(1980)
27. Lee. Y.C.: Effects of tocopherols and beta-carotene on the stability of soybean oils undergoing various modes of oxidation, *D. Sc. Thesis,* Korea Uni., (1989)
28. Mahoney, J.R., Graf, E., Bryant, R.G. and Eaton, J.W.: Ironcatalyzed hydroxyl radical formation, *J. Biol. Chem.,* **259**, 3620(1984)
29. Sherwin, E.R.: Antioxidants for vegetable oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.,* **53**, 430(1976)
30. Kanematsu, H., Ushigusa, T. and Maruyama, T.: Comparison of tocopherol contents in crude and refined edible vegetable oils and fats by high performance liquid chromatography, *Yukagaku,* **32**, 56(1983)
31. 酸化防止對策の新潮流, 食品開發, **19**, 11(1984)

(1990년 1월 5일 접수)