

W/O microemulsion 을 이용하여 용해된 아스코르브산이 어유의 산화안정성에 미치는 영향

한 대 석
(식품생화학연구실)

I. 서 론

1978년 Dyerberg 와 Bang 이 그린란드와 덴마크 에스키모들을 대상으로 역학조사를 실시한 결과, 생선을 주식으로 하는 그린란드 에스키모에게서는 식이습관이 유럽인과 비슷한 덴마크 에스키모 보다도 혈액순환기 계통 질병의 발생이 매우 낮다고 보고한 바 있다¹⁾. 또한 일본에서 어부와 농부를 대상으로한 역학조사에서도 비슷한 결과가 보고되었다²⁾. 이러한 효과는 생선에 함유된 5, 8, 11, 14, 17-cis-eicosapentaenoic acid(EPA)와 4, 7, 10, 13, 16, 19-cis-docosahexaenoic acid(DHA)에 기인하는 것으로 알려져 있다³⁾. 그후 여러 연구자들의 체계적인 연구결과로 EPA는 심장질환, 혈액응고, 고혈압 등의 질병에 양호한 예방효과가 인정되며, DHA는 유아의 뇌 조직을 비롯한 생체조직의 중요한 성분인 것으로 밝혀졌다^{4,5)}.

EPA와 DHA의 효능에 대한 인식이 널리 확산되면서 영양학자들은 생선을 보다 많이 섭취할 것을 권장하고 있으나, 이들 지방산의 효과가 발현되기 위하여는 하루에 약 200~300g 정도의 생선을 섭취해야 하는데 사람들이 매일 이렇게 많은 양의 생선을 섭취하기는 곤란하다고 하겠다.

이러한 이유로 식품 및 유지업체에서는 생선으로부터 추출한 어유, 어유 지방산 또는 그 알콜 유도체를 원료로한 제품의 생산을 시도하고 있으며, 실제로 우리나라, 일본, 유럽, 미국, 캐나다 등지에서는 어유 함유 제품의 판매량이 매년 증가하고 있는 것으로 알려지고 있다⁶⁾. 그러나, 기존의 제품들은

EPA와 DHA의 함량이 낮아서(현재 일일 권장량은 2~3g이지만 시판되고 있는 제품 한 캡슐당 EPA와 DHA의 함량이 수백 mg에 불과하다) 이들 성분의 효능이 제대로 발휘될 수 없다는 비판이 일고 있다⁷⁾. 이는 제품이 고도불포화지방산인 EPA와 DHA가 공기중의 산소와 접촉되는 것을 차단하기 위하여 두꺼운 피막을 입힌 연질 캡슐(soft capsule) 형태로 되어 있기 때문이다.

유지는 공기중의 산소와 접촉되면 불포화도가 높을수록 쉽게 산화가 진행된다. 유지의 산패는 그 품질 및 영양가를 저하시키며, 산화과정에서 생성된 카르보닐 화합물을 비롯한 산화산물은 때로 실험동물에 생리학적인 악영향을 끼치는 것으로 알려져 있다⁸⁾. 따라서 고도불포화지방산이 다량으로 함유되어 있는 어유의 이용성을 높이고, 이를 함유한 제품을 생산하기 위하여는 어유의 산화안정성을 향상시킬 수 있는 방법이 강구되어야 한다.

유지의 산화를 억제하는 방안으로 BHA, BHT, propyl gallate 같은 합성 산화방지제가 널리 사용되고 있으나, 최근 소비자들은 화학첨가물이 사용된 식품을 점점 꺼리는 경향이 있으며, 특히 우리나라와 일본에서는 식품위생법상 EPA 제품에는 합성 산화방지제의 사용이 허가되어 있지 않다. 결국, EPA 및 DHA 제품에는 천연 산화방지제를 사용하여야만 한다.

아스코르브산과 토코페롤은 인체의 생리조절 물질로 잘 알려져 있는데, 이들은 또한 자동산화성 물질에 대하여 산소의 작용을 방지할 수 있으므로 식품의 산화방지제로도 사용되고 있다. 이들 화합물은

단독으로 사용되었을 경우 유지의 산화안정성을 크게 향상시키지는 못하나, 함께 사용될 경우 두 성분 간의 상호작용으로 커다란 상승효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다. 그러나, 아스코르브산은 수용성 화합물로 유지에 용해되지 않는 문제점이 있다.

본 연구속보에서는 W/O microemulsion⁹⁾을 이용하여 친수성 물질을 유지에 용해시키는 방법에 관하여 연구하였으며, 개발된 방법으로 어유에 용해된 아이스코르브산이 어유의 산화안정성에 미치는 영향을 조사하였다. 또한, 아스코르브산과 토코페롤을 병용하였을 경우의 효과에 대해서도 서술하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에 사용된 어유는 이화유지공업 주식회사(부산)에서 얻은 것으로 탈산과정까지 거친 정어리 기름이다. 이 조어유를 실험실에서 산성 백토와 활성탄으로 탈색하고 증류기로 탈취한 후, 시료로 사용하였다.

정제된 어유의 몇가지 화학적 특성은 다음과 같다: 과산화물가(peroxide value, POV), 0.1meq/kg, 산가 0.1, 요오드가 148.0, aerosol OT(AOT), cetyltrimethyl ammonium bromide(CTAB), Tween 85, Span 80은 Sigma 사 제품이었다. 레시틴은 Central Soya Co.(미국) 제품으로 Actiflo IF-UB(남영상사 제공)를 사용하였다.

2. 어유 시료의 제조 및 저장

계면활성제를 어유에 0.3%가 되도록 용해시킨 후, 아스코르브산 수용액을 첨가하고 교반하면 아스코르브산이 어유에 균일하게 분포된다. 이때 계면활성제와 물 농도를 적절히 조절하면 수분첨가 전·후에 어유의 외관상 변화는 없다. 안정한 W/O emulsion을 형성할 수 있는 레시틴과 물의 농도를 조사하기 위하여 어유내 레시틴과 물을 0.0~0.5%(w/w) 범위에서 변화시키면서 W/O emulsion을 제조하고, 8일간 방치한 후 외관을 관찰하였다. 합성 산

화방지제와 토코페롤은 어유에 직접 첨가하였다.

위와 같이 제조된 어유 시료 각 10g씩을 petri dish(87×15mm)에 나누어 담아 빛이 차단되고 30°C로 유지되는 항온기에 넣어 저장하였다. 산소의 소모속도를 측정하기 위하여 시료 각 10g씩을 serum vial(내용적 34ml)에 담아 용기를 밀폐한 후 항온기에서 저장하였다.

3. 분석

POV는 AOCS Method Cd 8-53에 준하여 측정하고, 유지 1kg에 함유된 과산화물의 밀리당량(meq/kg)으로 표시하였다¹⁰⁾.

Serum vial내 상부공간(headspace)의 공기조성을 분석하기 위하여 vial을 30°C에서 평형시킨 후, gas-tight 주사기로 0.5ml를 취하여 Hewlett-Packard 가스 크로마토그래프 Model 5890에 주입하였다. Molecular sieve 5A로 충전된 스테인레스 스틸 column은 50°C로 유지되었고, 유동상은 헬륨가스였으며, 유속은 30ml/min이었다. 산소함량은 thermal conductivity detector의 반응을 기록한 각 peak의 면적비로부터 계산한 %로 표시하였다. 이 방법으로 분석한 공기내 산소함량은 21%이다.

III. 결과 및 고찰

아스코르브산은 유지에 용해될 수 있는가? 일부 계면활성제 분자들은 비극성 용매에 용해되면 임계 미셀 농도(critical micellar concentration) 이상에서는 구형 또는 타원형 회합체를 형성한다. 이 회합체를 역미셀(reverse micelles) 또는 W/O microemulsion이라고 하는데, 수용액에서 형성된 미셀과는 반대의 구조로 배열되어 있기 때문에 위와 같이 불리운다. 즉, W/O microemulsion에서 계면활성제의 비극성기는 매질 쪽으로 향하여 배열되어 있고, 극성기는 극성기끼리 구형 또는 타원형의 핵을 이룬다. 이 핵은 극성을 띠므로, 물과 같은 극성용매가 용해될 수 있으며, 그밖의 친수성 화합물

은 극성용매에 용해된 형태로 비극성 매질에 용해될 수 있다.

아스코르브산을 유지에 용해시키는 원리가 W/O microemulsion의 형성에 있으므로, 유지에 용해될 수 있고 수분용해력이 있는 계면활성제는 모두 본 실험에 사용될 수 있다. Tween 85, Span 80, AOT, CTAB 및 레시틴을 어유의 0.3%가 되도록 첨가하고 물 0.05%를 첨가하여 W/O microemulsion 형성을 유도한 후, 각 시료를 8일간 저장한 후 유지의 외관을 관찰하고 POV를 측정된 결과는 표 1과 같다.

Tween 과 Span의 경우 시료의 외관이 혼탁하여 외관상 품질이 저하되었다. 각 시료의 POV를 비교해 보면 사용된 계면활성제 자체는 거의 어유의 산화안정성에 영향을 미치지 않았으나 레시틴의 경우는 미약하나마 어유의 산화를 지연시킬 수 있다는 점이 인정된다. AOT와 CTAB는 수분용해력이 높기 때문에 유지내 수용성 산화방지제를 다량 용해시킬 수 있다는 장점이 있으나 식용유지에는 사용할 수 없으므로 영양가치와 기능성이 인정되고, 식품위생법상 문제가 없는 레시틴을 앞으로의 실험에 사용하였다.

표 1. 계면활성제(0.3%)와 물(0.05%)이 첨가된 정어리 기름을 8일간 저장한 후 관찰한 시료의 외관과 POV

계면활성제	외관*	POV (meq/kg)
대조구	T	20.1
Tween 85	P	19.4
Span 80	P	18.5
AOT	T	20.3
CTAB	T	19.9
	T	15.8

* T, transparent ; P, precipitated

선별된 레시틴과 수용성 산화방지제를 용해시키기 위하여 첨가되는 물의 적정 농도를 찾기 위해 어유내 레시틴 및 물의 농도를 표 2에 나타나 있는 범

위에서 조절하여 어유 시료를 제조한 후, 각 10g씩을 vial에 넣고 밀봉한 후 30°C가 유지되는 항온기에서 8일간 저장한 후 외관과 POV를 측정하였다. 일반적으로 어유의 POV는 레시틴 농도가 증가할수록 낮아지는 경향을 보였는데 이는 레시틴 자체가 산화방지력을 지니고 있음을 나타낸다.

Hudson과 Ghavami¹¹⁾의 연구에 따르면 각종 인지질이 돼지기름과 대두유의 산화를 지연시킬 수 있었으며, 레시틴의 성분중 phosphatidyl ethanolamine의 산화방지 효과가 phosphatidyl choline 및 phosphatidyl inositol 보다 월등하다고 알려져 있다.

한편, POV는 어유내 물함량에 따라서도 약간 영향을 받는 것으로 나타났다. 레시틴 농도와 관계없이 물 농도가 약 0.05%(w/w) 정도일때, POV가 가장 낮았으며, 그 이상의 농도에서는 점차 약간씩 증가하는 경향이였다. 또한 레시틴 농도가 증가되면 물함량이 낮아도 침전물이 생성되었는데, 이 침전물

표 2. 레시틴과 물 농도가 30°C에서 8일간 저장된 어유의 외관과 POV에 미치는 영향

레시틴 (%)	물 (%)	POV (meq/kg)	침전물 생성
0.0	0.00	35.16	-
0.1	0.00	28.02	-
0.1	0.05	26.55	-
0.1	0.10	27.28	-
0.1	0.30	29.47	-
0.1	0.50	27.74	+
0.3	0.00	23.72	-
0.3	0.05	22.42	-
0.3	0.10	23.39	-
0.3	0.30	25.83	+
0.3	0.50	25.66	++
0.5	0.00	22.23	-
0.5	0.05	20.70	+
0.5	0.10	21.96	+
0.5	0.30	25.63	++
0.5	0.50	25.05	+++

* +의 수는 상대적인 침전물 생성량을 나타낸다.

은 레시틴과 물의 복합체인 것으로 추정된다. 이는 유지정제 과정에서 탈검의 원리이며, 레시틴이 물과 결합하면 유지에 불용성인 복합체로 된다고 알려져 있다. 시료의 외관과 POV를 고려할때 어유에 수용성 산화방지제를 용해시키기 위한 레시틴과 물의 적정 농도는 각각 0.3%와 0.05%라고 판단된다.

어유에 각종 합성 및 천연 산화방지제를 첨가하고 저장기간에 따른 POV 변화를 도시하여 POV가 40 meq/kg에 도달하는 시간을 유도기간¹²⁾으로 정하여 나타낸 결과는 표 3과 같다.

표 3. 각종 합성 및 천연 산화방지제가 정어리 기름의 유도기간에 미치는 영향

산화방지제(%, w/w)	유도기간(일)
대조구	7.2
BHA(0.02)	7.3
BHT(0.02)	9.5
Propyl gallate (0.01)	14.1
레시틴(0.3)	8.4
레시틴(0.3)+아스코르브산(0.02)	14.0
δ -토코페롤(0.2)	10.6
레시틴(0.3)+아스코르브산(0.02) + δ -토코페롤(0.2)	26.7

산화방지제가 첨가되지 않은 대조구의 유도기간은 7.2일인 것으로 나타났다. BHA(0.02%)의 첨가는 전혀 효과가 없었으나 Propyl gallate(0.01%)는 어유의 산화안정성을 크게 향상시킬 수 있는 합성 산화방지제 이었다. 레시틴(0.3%) 첨가구의 유도기간은 8.4일 이었고, δ -토코페롤 첨가구의 경우 10.6일, 레시틴과 아스코르브산 첨가구의 경우 14.0일, 레시틴과 두가지 천연 산화방지제 첨가구의 경우 26.7일인 것으로 나타났다. 세가지 성분이 단독으로 사용되었을 때보다 함께 사용되었을때, 이들에 의한 유도기간 연장효과가 큰점으로 미루어 볼때 이들 성분간에 산화방지력의 상승작용이 있음을 알수 있다¹³⁾. Bishov와 Henick¹⁴⁾이 제안한 상승효과

효율 계산식에 따르면 아스코르브산과 토코페롤을 병용함으로써 얻어지는 상승효과 효율(synergistic efficiency)은 57.4%인 것으로 나타났다.

표 3에서의 방법으로 제조된 어유 시료 10g씩을 vial에 담아 저장하면서 저장기간에 따른 POV와 상부공간의 산소함량의 변화를 살펴보았다. 산소량이 제한된 경우, 대조구와 토코페롤 첨가구의 과산화물 생성곡선은 일반적인 유지의 산화양상과는 달리 유도기간을 거치지 않고, 산화 초기부터 거의 직선적으로 POV가 증가되었다(그림 1).

저장후 약 8일째부터는 POV의 증가속도가 급격히 저하되었는데, 이는 상부공간내 산소가 많이 소모된 이후에는 과산화물 생성속도 보다는 생성된 과산화물이 카르보닐 화합물 등 2차 산화생성물로 분해되는 속도가 더 빠르기 때문인 것으로 추정된다. 한편, 아스코르브산과 토코페롤이 병용되었을 때에는 산화가 매우 느리게 진행되어 저장 24일 후에도 POV는 약 5meq/kg에 불과했다.

그림 1에서 유지 시료가 담긴 vial내 상부공간의 산소함량 변화는 그림 2에 표시하였다. 대조구의 경우 산소함량이 초기 21%에서 저장기일이 경과함에 따라서 거의 직선적으로 감소되어 저장 24일만에 약 5% 수준으로 낮아졌다. 토코페롤 첨가구와 아스코르브산 첨가구는 대조구에 비하여 초기에는 산소 소모속도가 약간 느렸으나 저장 말기에는 대조구와 같은 수준으로 낮아졌다. 아스코르브산과 토코페롤이 함께 첨가된 실험구에서는 상부공간의 산소함량 감소속도가 대조구 또는 토코페롤 첨가구에서 보다 월등히 낮았고, 산소의 감소는 직선적이었으나 저장 24일 후에도 산소함량이 17%였다.

산화방지제로서 아스코르브산은 1) 산소 제거제, 2) 수소 공여체, 3) 상승제로 작용하든지, 또는 4) 산화·환원전위를 변화시킴으로써 산화억제 효과를 나타낼 수 있다고 알려져 있다. 표 3에서 아스코르브산은 첨가구의 산화가 대조구의 산화보다 느리게 진행되는 점으로 미루어 볼때, 아스코르브산이 primary antioxidant로 작용함을 알수 있다.

또한 그림 1과 2에서 아스코르브산 첨가구의 상부공간 산소함량은 대조구와 비슷했음에도 불구하고

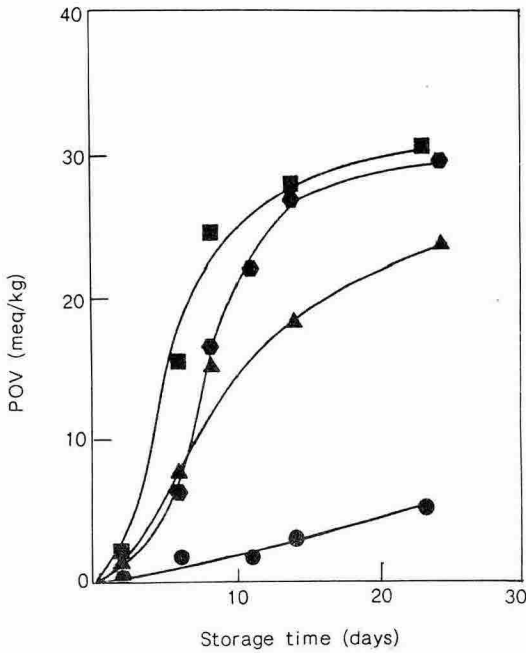


그림 1. 아스코르브산 또는 토코페롤이 어유의 산화에 미치는 영향.

■, 대조구; ▲, 아스코르브산(0.02%)+레시틴(0.3%) 첨가구; ●, 토코페롤(0.2%) 첨가구; ●, 레시틴(0.3%)+아스코르브산(0.02%)+토코페롤(0.2%) 첨가구.

POV는 낮은점으로 미루어 볼때 아스코르브산이 산소 제거제로 작용한 것으로 생각된다. 한편, 토코페롤과 함께 사용되었을 때에는 산소 소모속도가 느리고, 어유의 POV가 낮은 점으로 미루어 볼때 이는 어유 기질의 산화·환원 전위가 환원쪽으로 변화되었기 때문인 것으로 풀이된다. 결국, 아스코르브산의 산화방지 기작은 유지의 저장조건을 비롯한 실험 조건과 여타의 산화방지제 공존 여부에 따라서 발휘되는 기작이 달라지는 것으로 판단된다.

IV. 요약

W/O microemulsion을 이용하여 아스코르브산을 유지에 용해시킬 수 있었다. 이때·계면활성제로는 레시틴이 가장 적합한 것으로 생각되며, 적정 농

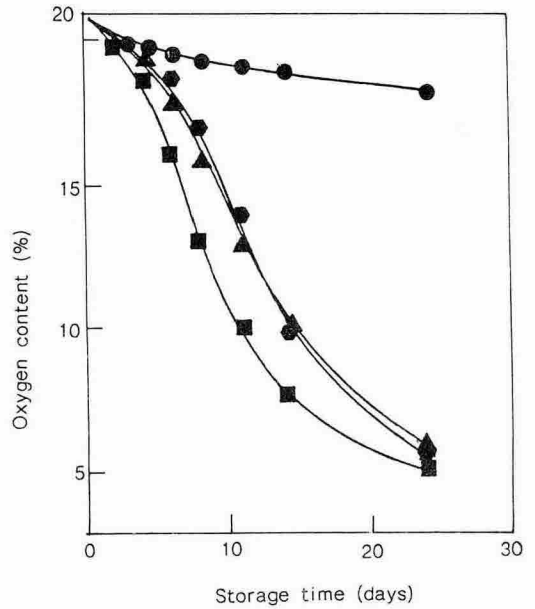


그림 2. 아스코르브산 또는 토코페롤이 첨가된 어유가 담긴 serum vial 내 상부공간의 산소함량의 변화.

■, 대조구; ▲, 아스코르브산(0.02%)+레시틴(0.3%) 첨가구; ●, 토코페롤(0.2%) 첨가구; ●, 레시틴(0.3%)+아스코르브산(0.02%)+토코페롤(0.2%) 첨가구.

도는 0.3%였다. 최근 순환기계통 질병에 예방효과가 있다고 알려진 EPA와 DHA를 다량 함유하고 있는 어유의 산화를 억제하기 위하여 합성 및 천연 산화방지제가 어유의 산화 안정성에 미치는 영향을 조사하였다. BHA, BHT, propyl gallate 중에서는 후자의 산화방지 효과가 가장 높은 것으로 밝혀졌다. W/O microemulsion을 이용하여 어유에 용해된 아스코르브산과 토코페롤은 단독으로 사용되었을 경우에는 산화방지의 효과가 미약하였으나 이들이 함께 사용되었을 때에는 유효기간이 7.2일에서 26.7일로 증가되었다. 두 산화방지제 사이의 synergistic efficiency는 57.4%로 나타났다. 아스코르브산은 산소제거제로서 뿐만 아니라, 어유 매질의 산화·환원 전위를 환원쪽으로 변화시킴으로써 유지의 안정성 향상에 기여하는 것으로 추정된다.

V. 참고 문헌

1. Dyerberg, J. and H.O. Bang: Lancet, ii: 117(1978)
 2. Kagawa, Y., M. Nishizawa and M. Suzuki: J. Nutr. Sci. Vit., **24**, 441(1982)
 3. Sanders, T.A.B.: Proc. Nutr. Soc., **44**, 391(1985)
 4. Kromhout, D., E.B. Bosschietor and C.D.L. Coulander: New Engl. J. Med., **312**, 1205(1987)
 5. Salem, N., Jr., H.Y. Kim and J.A. Yergey: In Health Effect of Polyunsaturated Fatty acids in Seafoods, edited by A.P. Simopoulos, R.R. Kifer and J.R.E. Martin, Academic Press, Orlands, pp.263-318(1986)
 6. Ackman, R.G., W.M.N. Ratnayake and E. J. Macpherson: J. Am. Oil Chem. Soc., **66**, 1162(1989)
 7. Tufts University Diet & Nutrition Letter, 5(No. 11):1(1988)
 8. Alexander, J.C.: J. Am. Oil Chem. Soc., **55**, 711(1978)
 9. Luisi, P.L.: Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **24**, 439(1985)
 10. AOCS: In Official and Tentative Method of the American Oil Chemists' Society, 3rd ed., Champaign, IC., Method Cd 8-53(1973)
 11. Hudson, B.J.F. and M. Ghavami: Lebensmittel-Wiss, u-Technol., **17**, 191(1984)
 12. Blank, F.C.: In Handbook of Food and Agriculture, Reinhold Publ. Corp., N.Y.(1955)
 13. Leung, H.W., M.J. Vang and R.D. Davis: Biochem. Biophys. Acta, **66**, 266(1981)
 14. Bishov, S.J. and A.S. Henick: J. Food Sci., **40**, 345(1975)
-