

## 천연 산화방지제가 어유의 산화안정성에 미치는 영향

한대석 · 이옥숙 · 신현경

한국식품개발연구원

### Effect of Naturally Occurring Antioxidants on the Oxidative Stability of Fish Oil

Daeseok Han, Ock-Sook Yi and Hyun-Kyung Shin

Korea Food Research Institute

#### Abstract

Natural compounds which could improve the oxidative stability of fish oil was screened from spices, herbs and naturally occurring antioxidants. Induction period of fish oil determined from oxidation curve by Rancimat (80°C) was hardly affected with the addition of water-soluble and lipid-soluble fractions of garlic, leek, sesame leave and orange peel, and of organic acids such as citric acid, EDTA and selenium. Caffeic acid, catechin, quercetin and gallic acid laurylester, however, could extend the induction periods by 2.2~3.8 times with the addition level of 0.1%(w/w). Rosemary extract and sesamol have a marked effect in retarding oxidation of fish oil. For example, induction periods of the oil samples stabilized with 0.1% rosemary extract and 0.1% sesamol were 16.4 hr and 11.6 hr, respectively, as compared to 4.0 hr of a control. When rosemary extract was used in combination with ascorbic acid (0.02%) or  $\delta$ -tocopherol (0.2%), induction period could be extended to ca. 28 hr due to the synergism.

Key words: fish oil, antioxidants, oxidation, induction period, synergism

#### 서 론

Dyerberg와 Bang<sup>(1)</sup>의 역학조사를 비롯한 어유에 관한 생화학 및 영양학적 연구 결과, 어유를 구성하는 주요 지방산인 에이코사펜타엔산(EPA)과 도코사헥사엔산(DHA)이 혈액순환기 계통 질병에 예방효과가 있다는 점이 밝혀지고, 특히 DHA는 망막 및 두뇌 인지방질의 구성성분으로 실험동물의 학습능력을 비롯한 뇌기능 향상에 기여한다는 결과가 보고되면서 어유의 섭취에 대한 관심이 집중되고 있다<sup>(2,3)</sup>.

그러나, EPA와 DHA는 이중결합수가 5와 6인 고도 불포화 지방산으로 산화에 극히 취약하여 쉽게 산패되며 어유 가공제품의 경우 원료로 사용했던 어유의 비린내가 재발되어 제품의 풍미가 현저하게 나빠지는 문제점이 있다. 따라서 어유를 식품 또는 식품소재로 사용하기 위하여는 산화를 방지할 수 있는 방법이 강구되어야만 한다.

유지의 산화를 억제하는 방법으로는 산소의 차단, 빛과 열에너지의 차단, 광중감제(photosensitizer) 작용의 억제, 일중항 산소의 불활성화 그리고 자유라디칼의 안정화

등 여러 가지가 있으나 가장 간단한 방법은 산화방지제를 첨가하는 것이다. 이때 천연 산화방지제들은 그 사용에 앞서 제품에 적정농도 첨가시 풍미(flavor)나 색에 영향을 미치지 않으며, 효과를 발휘할 정도의 용해성을 가져야 하며, 독성이 없고, 이행성(carry-through)을 나타내며 또한 경제성이 있어야 할 것이다. 그런데, 국내 식품 관련법규에 따르면 EPA 제품에는 합성 산화방지제의 첨가가 허용되어 있지 않으므로 천연유래의 산화방지제를 사용하여야만 한다.

천연 산화방지제 중 토코페롤과 유중수적형 microemulsion을 이용하여 용해된 아스코르브산이 병용되면 어유 자체의 산화안정성이 약 20배 이상 향상되는 탁월한 효과가 발견된 바 있으나<sup>(4)</sup> 이는 실제 식품으로의 이행성이 낮다는 문제점이 있었다<sup>(5)</sup>. 따라서 본 연구에서는 이제까지 대두유나 돼지기름의 산화안정성을 향상시킬 수 있다고 알려진<sup>(6-8)</sup> 천연유래의 산화방지제 중에서 식물체 추출물, 향신료 추출물, 각종 유기산 등을 대상으로 이들이 어유의 산화에 미치는 영향을 새로이 검색하였으며 이중 산화억제 효과가 비교적 높았던 세사몰 및 로즈마리 추출물과 아스코르브산 또는 토코페롤과의 상승효과에 관하여도 조사하였다. 이 연구에서는 유중수적형 microemulsion<sup>(9)</sup>을 도입하여 수용성 산화방지제를 유지에 용해시킨 상태에서 산화방지 효과를 측정하였으며 이렇게 함으로써 지용성 산화방지제와 단일상

Corresponding author: Daeseok Han, Korea Food Research Institute, Hawolgok 39-1, Sungbuk, Seoul 136-791, Korea

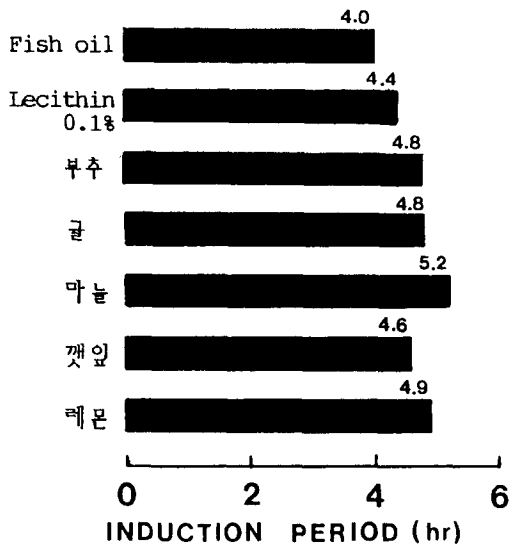


Fig. 1. Effect of water-soluble plant extracts on the induction period of fish oil determined by Rancimat (80°C)

The addition level of the plant extracts was 0.1% (w/w)

(one phase)에서 산화방지에 대한 상승효과를 측정할 수 있었다.

## 재료 및 방법

### 재료

어유는 부산에 위치한 이화유지공업(주)으로부터 공급받아 탈산, 탈색, 탈취과정을 거쳐 정제한 후 사용하였다. 정제된 어유는 식용유지에 관한 식품공전의 규격에 식용으로 적합하였으며 정제 직후에는 비린내가 전혀 발생되지 않았다.

각종 산화방지제는 주로 Sigma에서 구입하였고 로즈마리 추출물만은 일본 Lion사에서 공급받았다. 레시틴은 미국 Central Soya사 제품으로 Centrol 1FUB를 사용하였다.

### 식물체 추출물의 제조

마늘, 깻잎, 꿀외피 및 부추의 수용성 추출물을 얻기 위하여 각 시료 100g에 증류수 200 ml를 첨가하여 균질화시킨 후 하루밤 방치하고 여과지로 여과한 여액을 회전증발기로 건조시켰다.

지용성 추출물을 얻기 위하여는 수용성 추출물 제조와 같은 과정을 거쳤으나 물 대신 석유 에테르를 용매로 사용하였다.

### 산화방지제의 첨가

유기산을 비롯한 수용성 산화방지제는 유중수적형 mi-

croemulsion 방법을 이용하여 어유에 용해시켰다<sup>(9)</sup>. 즉, 어유에 레시틴(0.1%, 중량비)을 용해시킨 후 산화방지제가 용해된 수용액을 첨가하고 교반하면 유중수적형 microemulsion이 형성되면서 수용성 산화방지제가 어유에 용해된다. 이때 어유의 외관은 산화방지제 첨가 전 후에 거의 변화가 없다는 특징이 있으며 어유내 물농도는 0.2%였다.

한편, 지용성 산화방지제는 어유와 직접 혼합하여 첨가하였다.

### 산화속도의 측정

산화방지제가 어유의 산화속도에 미치는 영향을 Rancimat(Rancimat 679, Metrohm, Switzerland)을 사용하여 측정하였다. 가속시험(acceleration test)을 위하여 시료의 온도는 80°C였으며 공기는 15 l/hr의 유속으로 주입되었다. Absorption vessel 내의 전기전도도를 기록한 그림으로부터 어유산화의 유도기와 대수적 상승기간의 기울기가 교차하는 시점까지의 시간을 유도기간(induction period)으로 결정하여 산화속도를 비교하였다.

## 결과 및 고찰

향신료의 산화방지 효과는 그 사용 형태에 의해서도 위상이 다르며 특히 추출용매에 따라 얻어진 분획물 내에 유효성분이 달라진다고 알려져 있다<sup>(10,11)</sup>. 따라서 본 실험에서는 부추, 꿀, 마늘, 깻잎, 레몬 등 식물체를 원료로 수용성 추출물과 지용성 추출물을 각각 분리한 후 이들이 어유의 산화에 미치는 영향을 조사하여 Fig. 1과 2에 표시하였다. Rancimat(80°C)을 이용하여 측정한 대조구 어유의 유도기간은 4.0시간이었으며 식물체 추출물이 각각 0.1% 첨가된 어유의 유도기간은 4.4~5.2시간으로 이들은 전반적으로 어유 산화에 영향을 미치지 못하였다. 지용성 추출물을 어유에 각각 0.1% 첨가했을 때 어유의 유도기간은 4.2~6.1시간으로 나타나 이들 역시 어유의 안정화에 커다랗게 기여하지는 못하는 것으로 판단되며, 부추, 마늘, 깻잎의 경우 어유에 식물체 자체의 강한 향기를 부여하여 실용적이지 못한 것으로 판정되었다.

각종 유기산, 무기산, 무기물 및 천연유래의 산화방지제로 알려져 있는 화합물이 어유의 산화안정성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 3에 나타난 바와 같다. 구연산, 사과산, 옥살산, 숙신산, 탄닌산은 200 ppm 농도에서 어유의 안정화에 영향을 미치지 못하였으며 무기산인 EDTA를 법적 최대허용치인 75 ppm 첨가하여도 어유의 산화안정성은 향상되지 않았다. 이들 유기산과 무기산은 명확한 의미에서 산화방지제로 분류되지 않지만 금속이온 제거제 또는 차폐제로서 대두유의 산화를 억제한다는 보고<sup>(12)</sup>로 미루어 볼 때 본 실험에 사용된 어유에는 금속이온의 함량이 매우 낮은 것으로 추정된다. 생체 내에서의 산화방지 기작에 관여한다고 알려져 있는 selenium을 sodium selenite 형태로 200 ppm 첨가하였으나

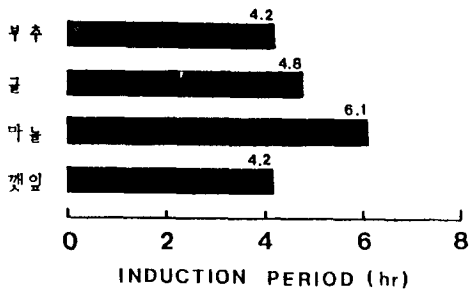


Fig. 2. Effect of lipid-soluble plant extracts (0.1% by wt) on the induction period of fish oil determined by Rancimat (80°C)

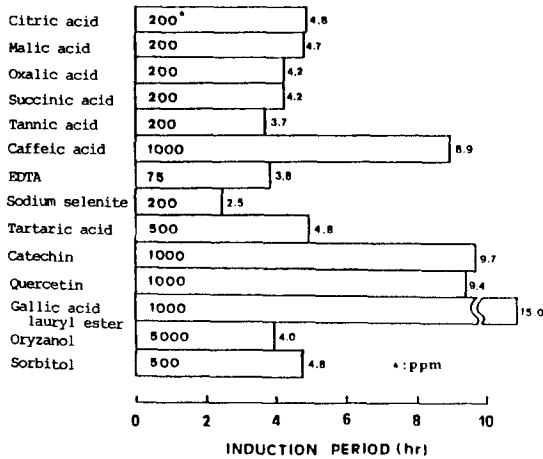


Fig. 3. Effect of organic acids, inorganic compounds and naturally occurring antioxidants on the induction period of fish oil determined by Rancimat (80°C)

어유의 유도기간은 오히려 대조구 보다 단축되었다. 즉, selenium은 생체내 산화방지에 기여하는 보효소로서 작용을 하며 그 자체가 산화방지 효과를 발휘하는 1차 산화방지제는 아닌 것으로 판단된다<sup>(13)</sup>.

어유의 안정성은 다갈알콜인 sorbitol에 의해서는 영향을 받지 않았고 미강유의 안정화에 기여하는 것으로 알려진 oryzanol의 경우 0.5%를 첨가하여도 어유의 유도기간은 변화가 없었다. Caffeic acid, quercetin, catechin을 0.1% 첨가한 어유의 유도기간은 8.9~9.7시간으로 대조구보다 2.2~2.4배 연장되는 것으로 나타났다. 플라본(flavone) 및 폴리페놀 계통의 화합물인 이들은 돼지 기름과 식물성 기름의 산화억제에도 효과적인 것으로 알려져 있으며<sup>(14)</sup> 식물체에 광범위하게 분포되어 있으므로 차후 이들 물질이 다량함유된 식물체를 탐색할 필요가 있다고 생각된다. 한편, 오미자를 비롯하여 주로 차이에 존재하는 갈산은 산화방지능이 있으나 유지에 용해도가 낮아 propyl 또는 lauryl ester 유도체로 사용된다. 어유에 갈산 라우릴 에스테르를 0.1% 첨가했을 때

FO : Fish oil  
 RM : Rosemary extract  
 AA : Ascorbic acid  
 TOC :  $\delta$ -tocopherol  
 SM : Sesamol

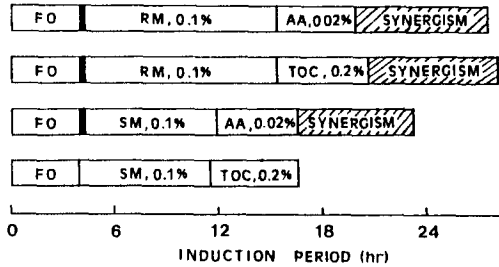


Fig. 4. Effect of rosemary extract and sesamol on the induction period of fish oil determined by Rancimat (80°C) and their synergism with ascorbic acid or  $\delta$ -tocopherol

Closed bar indicates the increment of induction period due to 0.1% lecithin which was used to help the solubilization of water-soluble antioxidants

어유의 유도기간은 15.0시간으로 나타나 이제까지 검토해왔던 화합물 중 어유의 산화억제에 가장 높은 효과를 보였다. 그러나 갈산 라우릴 에스테르가 첨가된 어유는 저장기간이 지날수록 갈변이 일어나는 문제가 있어 이를 실제로 이용할 경우 해결방법이 강구되어야만 한다.

다음으로, 향신료의 일종인 로즈마리 추출물과 참기름의 산화방지물질로 알려진 세사몰 및 이들 델타 토크페롤 또는 아스코르브산을 병용했을 때 나타나는 산화방지 효과를 Fig.4에 표시하였다. 로즈마리 추출물 0.1% 첨가구의 유도기간은 16.8시간으로 대조구보다 3.8배, 세사몰 0.1% 첨가구의 유도기간은 11.6시간으로 대조구보다 2.9배로 연장되어 이들 천연화합물은 어유의 안정화에 뛰어난 산화방지 효과를 발휘하는 것을 알 수 있었다. 한편, 아스코르브산 0.02% 첨가구의 유도기간은 9.0시간으로 아스코르브산 첨가에 의한 유도기간 증가분은 4.6시간이었으며 로즈마리 첨가에 의한 유도기간 증가분은 12.0시간이었으므로 두 산화방지제를 단독으로 사용했을 때 유도기간 증가분의 합은 16.6시간이 된다. 그런데, 실제로 이 두 화합물을 함께 첨가했을 때 유도기간 증가분은 24.2시간이었다. 즉, 두 가지 산화방지제가 병용되면 7.6시간의 유도기간 증가가 추가로 이루어지는 것으로 나타났으며 이는 로즈마리 추출물과 아스코르브산 사이에 상승효과가 있음을 시사하는 것이다. 로즈마리 추출물과 델타 토크페롤을 함께 첨가했을 때에도 비슷한 방식으로 계산하면 상승효과에 의한 유도기간 추가 상승분은 7.4시간으로 나타났다. 여기서, 로즈마리 추출물을 유지에 용해시키기 위하여 0.1% 레시틴이 첨가되었으므로 델타 토크페롤과 레시틴 간에 또한 델타 토크페롤과 로즈마리 추출물 간에 상승효과를 조사하면 전자 사이의 상승효과<sup>(15)</sup>에 의한 유도기간 증가분은 2.0시간이었으며 후자 사이의 상승효과에 의한 유도기간 증가분은 5.4시

간이었다. 결국, 로즈마리 추출물과 델타 토크페놀을 병용하면 이들 사이의 상승효과에 의하여 어유의 산화가 괄목할만하게 억제될 수 있었다.

Fig. 4에서, 세사몰과 아스코르브산 또는 토크페놀을 병용하였을 때 세사몰과 델타 토크페놀 사이에는 상승효과가 인정되지 않았으나 세사몰과 아스코르브산 사이에는 상승효과가 발휘되어 이로인한 유도기간 증가분이 6.6시간에 이르렀다. 전술한 방법으로 이 6.6시간을 분석하면, 세사몰과 레시틴 간의 상승효과에 의한 증가분이 2.6시간이었고 세사몰과 아스코르브산 간의 상승효과에 의한 증가분이 4.0시간인 것으로 나타났다.

이상의 실험으로부터 천연물에서 분리된 로즈마리 추출물과 세사몰이 어유의 산화방지에 커다란 효과를 발휘한다는 것을 알 수 있었으며 이들은 생리활성 물질이며 산화방지 효능이 있는 아스코르브산 또는 토크페놀과 함께 사용될 때 각각의 산화방지 효과 뿐만 아니라 병용에 의한 상승효과도 나타나 어유의 유도기간을 7배 이상 연장시킬 수 있었다. 따라서 이들은 어유의 산화방지에 실제로 사용될 수 있을 것으로 판단된다. 앞으로 어유가 함유된 식품을 제조하고 이들이 실제 식품에서도 산화방지 효과를 발휘하는지 여부에 관한 연구, 다시 말하면 유지에서 나타난 산화방지 효력이 실제 식품으로의 이행성에 관한 연구가 필요하다고 생각된다.

## 요 약

식물체 추출물, 천연유래의 산화방지제, 향신료 추출물 등을 대상으로 이들이 어유의 산화안정성에 미치는 영향을 조사하였다. 산화방지 효과는 Rancimat을 이용한 가속시험(acceleration test)을 통하여 얻은 유지산화의 유도기간을 결정하여 비교하였는데, 부추, 깻잎, 갈, 마늘의 지용성 및 수용성 추출물, 구연산을 비롯한 각종 유기산과 EDTA 및 selenium은 어유의 산화안정성에 별로 영향을 미치지 못하였다. 카페인산, quercetin, catechin, 갈산 라우릴 에스테르같은 플라본(flavone) 및 폴리페놀 계통의 화합물은 어유의 유도기간 4.0시간을 2.2~3.8배 연장시킬 수 있는 것으로 나타났다. 천연물 유래의 산화방지제 중 세사몰 0.1% 첨가구와 로즈마리 추출물 0.1% 첨가구의 유도기간은 각각 11.6시간과 16.4시간으로 산화방지 효과가 높은 것으로 나타났다. 로즈마리 추출물은 0.02% 아스코르브산 또는 0.2% 델타 토크

페놀과 병용될 경우에는 어유의 유도기간이 약 7배 연장되었는데 이는 각 산화방지제의 개별적인 산화방지 효과 뿐만 아니라 산화방지제 사이의 상승효과에도 기인한 결과로 풀이된다.

## 문 헌

1. Dyerberg, J. and Bang, H.O.: Hemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet* II (8140), 433(1979)
2. Neuringer, M. and Connor, W.E.: n-3 Fatty acids in the brain and retina: evidence for their essentiality. *Nutr. Rev.*, 44, 285(1986)
3. Singh, G. and Chandra, R.K.: Biochemical and cellular effect on fish and fish oils. *Pro. Food Nutr. Sci.*, 12, 371(1988)
4. 신현경, 김철진, 남궁 배, 이옥숙, 최원균 : 어유의 고도 불포화 지방산 추출 및 활용에 관한 연구. 한국식품개발연구원 연구보고서 (N2007-0049) (1989)
5. 신현경, 김철진, 한대석, 남궁 배, 이옥숙, 최원균 : 어류의 고도불포화 지방산 추출 및 활용에 관한 연구. 한국식품개발연구원 연구보고서 (E2068-0115) (1990)
6. 太田靜行 : 天然物中の 酸化防止劑. *New Food Ind.*, 27 (2), 53(1985)
7. 太田靜行 : 天然物中の 酸化防止劑. *New Food Ind.*, 27 (5), 49(1985)
8. Chang, S.S., Ostric-Matijasevic, B., Hsieh, O.A.L. and Huang, C.-L.: Natural antioxidants from rosemary and sage. *J. Food Sci.*, 42, 1102(1977)
9. Han, D., Yi, O.-S. and Shin, H.-K.: Antioxidative effect of ascorbic acid solubilized in oils via reversed micelles. *J. Food Sci.*, 55(1), 247(1990)
10. Nakatani, N.: Antioxidative compounds of spices-Diterpenes from rosemary and their activities. *香料*, 143 (7), 11(1984)
11. Yamaguchi, N., Naito, S. and Yokoo, Y.: Antioxidative activity of pigment extracted from cacao bean husk. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 29, 534(1982)
12. Ohta, S.: Synergist(I). *New Food Ind.*, 27(10), 74(1985)
13. Tappel, A.L.: Will antioxidant nutrients slow aging process? *Geriatrics*, Oct., 97(1968)
14. Ohta, S.: Natural antioxidants. *New Food Ind.*, 27(2), 53(1985)
15. Hudson, B.J.F. and Ghavami, M.: Phospholipids as antioxidant synergists for tocopherols in the autoxidation of edible oils. *Lebensm. -Wiss. u.-Technol.*, 17, 191 (1984)

(1991년 3월 25일 접수)