

## 잣 지방질의 자동산화에 따른 토코페롤 및 카로티노이드의 변화

김 명

양산전문대학 식품영양과

### Changes in the Concentration of Tocopherol and Carotenoid in Pinenut Oil during Autoxidation

Myung Kim

Dept. of Food and Nutrition, Yangsan Junior College, Yangsan 626-800, Korea

#### Abstract

The changes in the concentration of tocopherol and carotenoid in pinenut oil at various stage of refining are studied during autoxidation. The oxidative stability of pinenut oil decreased with the refining degree increased. The tocopherol content of total crude oil was 55.51mg/100g oil and  $\alpha$ ,  $\gamma$  and  $\beta$ -tocopherol in the crude oil were 25.48mg, 23.94mg and 6.99mg in order, respectively. The amount of  $\delta$ -tocopherol was trace. The concentrations of  $\alpha$ ,  $\gamma$  and  $\beta$ -tocopherol in pinenut oil after degumming or alkaline refining were 23.85mg, 19.79mg and 6.12mg or 24.08mg, 20.04mg and 5.33mg, respectively. The content of  $\beta$ -carotene was 0.63% of total unsaponifiable materials and that of lycopene was trace. The concentrations of carotenoids and tocopherols in pinenut oil decreased while autoxidation progressed. Degrees of destruction of carotenoids and tocopherols were significant at first stage of oxidation. Decrease in  $\alpha$ -tocopherol was found to be faster than that in  $\alpha$ ,  $\gamma$ -tocopherol during oxidation.

**Key words** : tocopherol, carotenoid, stage of refining, pinenut oil, autoxidation

#### 서 론

잣에는 지방질이 65% 이상 함유되어 있고 구성 지방질의 80%가 불포화지방산으로 이루어져 있으며 그 중에서도 리놀레산의 함량이 비교적 높아서 저장 중 공기 중의 산소와 쉽게 반응하여 산화될 것으로 여겨진다<sup>1)</sup>. 그러나 조지방질이 정제단계를 거친 지방질 보다 산화 반응에 안정됨을 나타내어 잣 지방질에는 산화 반응에 억제 기능을 가지고 있는 천연 항산화 물질이 함유되어 있는 것으로 추정되어지며<sup>2)</sup> 정제과정 중 제거되어 버린 물질들이 산화안정성을 감소시키는 요인으로 작용하기 때문이라 여겨진다<sup>3,4)</sup>. 대표적인 천연 항산화제로 작용하는 분자종으로는 flavon 유도체, isoflavons, flavonols, catechins, coumarin, tocopherols, cinnamic acid, phosphatides 및 organic acid 등으로 이러한 천연 항산화제의 기능은 free radical의 포획제로서,  $O_2$ 소광제로서, 그리고 산화 촉진 금속의 불활성제로서 작용한다고 설명되고 있다<sup>5)</sup>. 식물유 속에

함유되어 있는 주요 항산화 작용물질로는 카로티노이드, 인지지방질 및 토코페롤 등이 있으며 이들물질은 정제과정중 제거되기도 한다<sup>6-8)</sup>.

따라서 본 실험에서는 조지방질이 가지는 높은 산화안정성에 대해 그 기전을 규명해 보기위해 먼저 잣에 함유된 토코페롤 및 카로티노이드의 함량을 측정하였으며 정제단계별로 잣 지방질의 산화양상과 산화에 따른 토코페롤 및 카로티노이드의 함량 변화를 살펴보고자 하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

잣 지방질은 앞의 실험<sup>2)</sup>과 동일한 것으로 그 중 조지방질 (crude oil ; C-PNO), 탈검된 지방질 (Degummed oil ; D-PNO), 탈검후 탈산된 지방질 (Degummed and alkali refined oil ; DA-PNO)을 본 실험에 사용하였으며 토코페롤 isomer 표준품 및 카로티노이드는 Sigma

회사(USA)의 것을 각각 사용하였다.

**자동산화 조건**

각각의 시료 10g씩을 100ml 삼각 flask에 담아 뚜껑을 닫지 않은 상태로 35°C의 incubator에서 10주간 자동산화 시키면서 매주 분석시료로 사용하였다.

**토코페롤의 분석**

전처리 조작<sup>9)</sup>을 거친 각 시료의 토코페롤 isomer의 분석은 high performance liquid chromatography (HPLC : Waters Assoc., Model 441, USA)를 이용하였으며  $\mu$ -porasil column (8mm  $\times$  10cm i.d.)에 hexane과 diethyl ether을 95 : 5 (v/v)의 비율로 섞은 용매조건으로 280nm에서 분석하였다. 또한 표준품을 사용하여 각각의 isomer의 함량을 정량적으로 구하였다. 그리고 총 토코페롤 함량의 정량에는 Emmerie-Engel변법<sup>10)</sup>에 의한 비색정량법도 병행하였다.

**카로티노이드의 분석**

카로티노이드분석을 위한 전처리는 AOCS Ca 6a-40 및 AOCS 6b-53에 의했으며<sup>11)</sup> Hsieh 와 Karel의 방법<sup>12)</sup>에 준하여 HPLC에서 분석하였다.  $\mu$ -Bondapack C18 (8mm  $\times$  10cm i.d.)에 acetonitrile 과 chloroform을 92 : 8 (v/v) 비율로 섞은 용매조건으로 436nm에서 측정하였다. UV-VIS 흡수 spectrum은 각 시료를 적절한 농도로 희석하여 UV-VIS 분광광도계 (Cecil CE599, England)로 측정하였다. 분석시 기기조건은 scale expansion 20mm/cm, scan speed 5mm/sec 였다.

**결과 및 고찰**

**작 지방질의 토코페롤과 카로티노이드의 조성**

HPLC에 의해 분석한 작 지방질 중의 토코페롤 함량은 Table 1과 같다. 조지방질(C-PNO)의 경우 토코페롤의 총 함량은 55.51mg/100g oil이었으며, 이 중  $\alpha$ -토코페롤이 24.58mg,  $\gamma$ -토코페롤이 23.94mg,  $\beta$ -토코페롤이 6.99mg이었으며,  $\delta$ -토코페롤은 흔적량에 불과하였다. 탈검, 탈산을 거칠수록 총 토코페롤의 함량이 감소되었으며 탈검후 탈산된 지방질(DA-PNO)의 경우  $\alpha$ -토코페롤은 24.08mg,  $\gamma$ -토코페롤은 20.04mg,  $\beta$ -토코페롤은 5.33mg 이었다. 이 값은 대두유 중의 총 토코페롤 함량 (87~104mg/100g oil)에 비하면<sup>13,14)</sup> 적은 양이나 작의 지방질 함량이 높은 것을 고려

**Table 1. Composition of tocopherols in crude pinenut oil**

| Tocopherols          | In total tocopherols (%) | In total lipid (mg/100g oil) | In pinenut (mg/100g nut) |
|----------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|
| $\alpha$ -Tocopherol | 44.28                    | 24.58                        | 17.21                    |
| $\beta$ -Tocopherol  | 12.59                    | 6.99                         | 4.89                     |
| $\gamma$ -Tocopherol | 43.13                    | 23.94                        | 16.76                    |
| $\delta$ -Tocopherol | Trace                    | Trace                        | Trace                    |
| Total                | 100                      | 55.51                        | 38.86                    |

한다면 상당한 양이 작 속에 존재함을 알 수 있다. 또한 peanut oil중의 총 토코페롤 함량(53mg/100g oil)과는 비슷하였으며 비타민 E의 효력을 나타내는  $\alpha$ -토코페롤 함량 또한 peanut oil (33.4mg/100g oil) 및 sesame oil (28.82mg/100g oil)의 경우와 비슷하였다<sup>15,16)</sup>. 한편, 총 토코페롤의 함량을 비색 정량법으로 측정한 결과 47.35mg/100g oil로 나타났으며, HPLC 방법에서보다 그 함량이 적었다. Carpenter 등<sup>15)</sup>은 일반적으로 시료중의  $\alpha$ -토코페롤의 함량이 높은 경우, 비색정량법이 HPLC를 이용한 방법에 비해 총 토코페롤의 함량이 낮게 측정되기 때문에  $\alpha$ -토코페롤의 함량이 높은 시료의 경우 HPLC 방법이 더욱 효과적임을 보고한 바 있다.

작 지방질 중의 카로티노이드 조성을 살펴보기 위해 HPLC에서 분석한 결과 비비누화 물질중  $\beta$ -카로틴은 0.63% 이었으며 리코펜은 미량 함유되어 있었다. 또한 UV-VIS영역에서 특징적인 흡수 spectrum을 나타내었다.

**작 지방질의 자동산화 과정중 토코페롤 및 카로티노이드의 변화**

C-PNO와 정제단계를 거친 탈검된 지방질 (D-PNO), DA-PNO를 각각 35°C에서 자동산화 시키면서 그 산화 양상을 살펴본 결과, C-PNO는 10주 저장기간 동안 안정하였으며 정제단계를 거칠수록 그 산화 안정성이 감소되었다. Fig. 1에서는 자동 산화과정 중 토코페롤 isomer의 함량 변화를 나타내었다.  $\alpha$ -토코페롤의 경우, C-PNO에 비해 D-PNO 및 DA-PNO에서 그 감소가 현저하였으며  $\beta$ -토코페롤 및  $\gamma$ -토코페롤도 동일한 경향을 나타내었다. 또한 함량이 적은  $\beta$ -토코페롤의 경우 DA-PNO에서는 5주째 그 양이 거의 존재하지 않았다. 토코페롤의 함량은 산화가 진행됨에 따라 거의 직선적인 경향으로 감소되었고 동일한 조건에서도 작 속에 함유되어 있는 각 토코페롤의 감소 속도가 달랐으며  $\alpha$ -토코페롤이  $\gamma$ -토코페롤보다 먼저 감소되어 짐

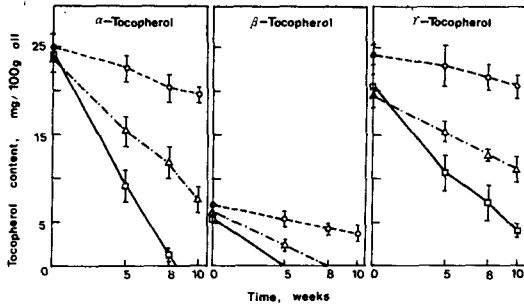


Fig. 1. Changes of  $\alpha$ -  $\beta$ - and  $\gamma$ -tocopherol content in various pinenut oil samples during autoxidation at 35°C. Symbols : crude pinenut oil (O---O), degummed pinenut oil ( $\Delta$ --- $\Delta$ ), degummed and alkali refined pinenut oil ( $\square$ --- $\square$ )

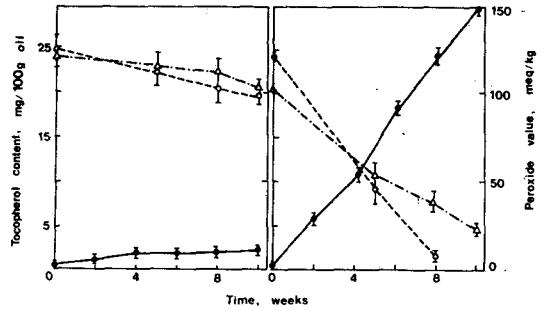


Fig. 2. Changes of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol content and peroxide value in crude pinenut oil (C-PNO) and degummed/alkali refined pinenut oil (DA-PNO) during autoxidation at 35°C. Symbols : peroxide value ( $\bullet$ --- $\bullet$ ),  $\alpha$ -tocopherol content (O---O),  $\gamma$ -tocopherol content ( $\Delta$ --- $\Delta$ )

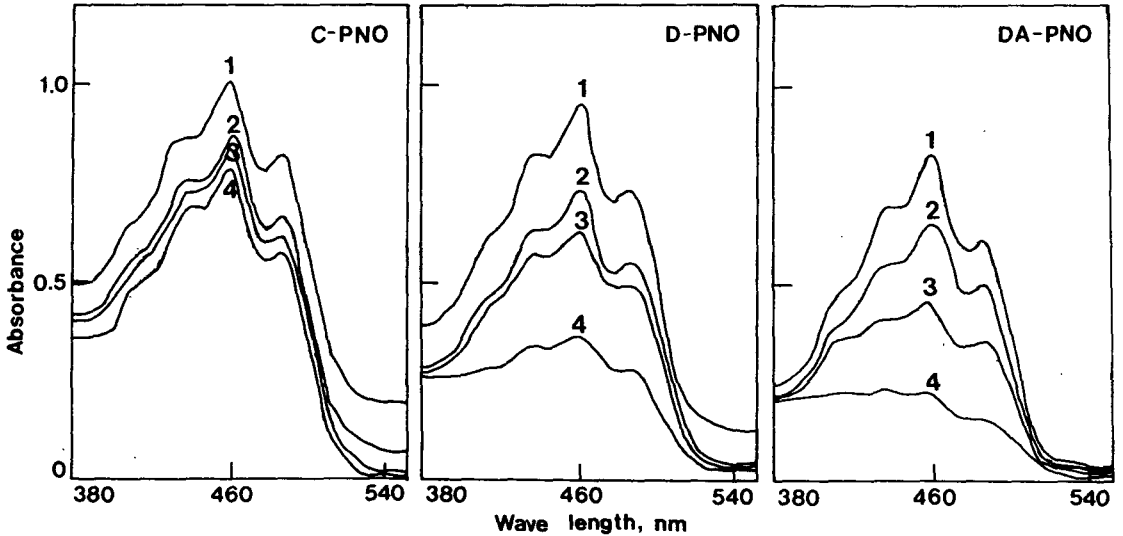


Fig. 3. Changes of absorption spectra of carotenoids in various pinenut oil during autoxidation.

1, 2, 3 and 4 are the absorption spectra after 0, 4, 8 and 12 weeks storage at 35°C.

C-PNO : crude pinenut oil, D-PNO : degummed pinenut oil, DA-PNO : degummed and alkali refined pinenut oil.

을 알 수 있었다. 일반적으로 토코페롤의 비타민 E로서의 활성은  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ 순이나, 항산화력의 크기는 그 역으로  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$ ,  $\alpha$ 순으로 알려져 있다<sup>5)</sup>. 그러나 그 감소순서에 대해서 Koskas 등<sup>17)</sup>은 리놀렌산 인산 완충용액에서 토코페롤의 감소 경향은 농도에 따라 다소 차이가 있으나  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ 순으로 됨을 보고한 바 있고 이것은 본 실험의 결과와 일치한다. 또한  $\alpha$ -토코페롤 및  $\gamma$ -토코페롤의 변화량과 이때의 과산화물값의 관계를 Fig. 2에서 비교해 보았다. 과산화물값의 증가와 토코페롤 함량은 반비례 관계를 나타내었고, 8주 경과 후 DA-PNO의 과산화물값이 120에 이르렀을 때  $\alpha$ -토코페롤은 1.29mg,  $\gamma$ -토코페롤은 7.43mg까지 감소되었으나, C-PNO의 경우 과산화물값은 7.2이었으며,  $\alpha$ -토코페롤은 20.54mg,  $\gamma$ -토코

페롤은 22.55mg으로 그 감소속도가 느렸다.

본 실험 결과 각 토코페롤은 과산화물값이 100에 이르기전에 그 함량이 현저히 감소되었으며, 이는 항산화제로 작용하는 대부분의 물질들이 산화과정중 과산화물의 형성과정에서 이들의 생성속도를 효과적으로 억제시키나 이미 형성된 과산화물의 분해단계에는 작용치 않는다는 사실들로써 설명될 수 있으며, 본 실험에서도 잣속에 존재하는 토코페롤들이 산화의 초기 단계에 항산화제로서 작용하였기 때문이라고 사료된다.

또한 C-PNO, D-PNO 및 DA-PNO를 앞에서와 같은 조건에서 자동산화를 시키면서 총 카로티노이드 함량의 변화를 살펴보았다. 각각의 잣 지방질을 적절한 농도로 n-hexane에 녹여 가시 영역 (380~540nm)에서 흡

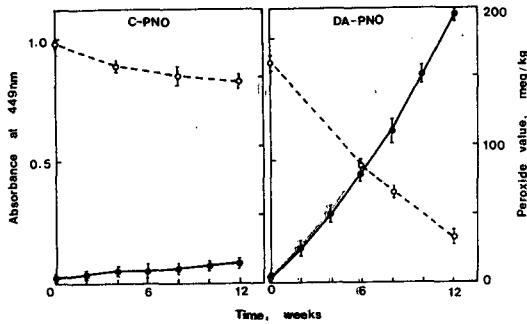


Fig. 4. Comparison of absorbance and peroxide value in crude pinenut oil (C-PNO) and degummed/alkali refined pinenut oil (DA-PNO) during autoxidation at 35°C. Symbols : peroxide value (●—●), absorbance at 449nm (○---○)

광도를 살펴본 결과 Fig. 3에서와 같이 파장 410, 432, 454 및 482nm에서 4개의 흡수대를 갖는 특징적인 카로티노이드의 흡수 spectrum을 얻을 수 있었다. C-PNO의 최대 흡광도는 454nm에서 0.99이었고 자동산화가 진행됨에 따라 D-PNO, DA-PNO에서는 상당히 감소되었으며, 12주 후의 DA-PNO의 흡광도는 0.4이하로 떨어졌다. Palm oil의 주된 색소인  $\beta$ -카로틴이 frying중 현저히 줄어들며<sup>10)</sup>, 당근 및 수박 등에 함유된  $\beta$ -카로틴 역시 산화과정중 그 함량이 감소 되었음이 보고 되었다<sup>11)</sup>. 또한 카로티노이드의 변화와 이때의 과산화물값과의 관계를 비교해 보면 Fig. 4와 같다. C-PNO의 경우 12주에서 과산화물값은 15이었으며 이때 카로티노이드의 흡광도는 0.80으로 그다지 감소되지 않았으나, DA-PNO의 경우 과산화물값은 200에 이르며 이때 카로티노이드의 흡광도는 0.21로 그 감소가 현저하였다. 따라서 자동산화과정중 카로티노이드는 토코페롤과 마찬가지로 과산화물값이 상승됨에 따라 그 함량이 급격히 줄어들게 됨을 알 수 있었다.

요 약

갯 지방질을 정제 단계를 달리하여 자동산화 시키면서 토코페롤 및 카로티노이드의 변화를 살펴 보았다. 정제 단계를 거칠수록 산화 안정성이 감소되었으며 총 토코페롤의 함량은 조지방의 경우 55.51mg/100g oil이었으며 이 중  $\alpha$ -토코페롤 25.48mg,  $\gamma$ -토코페롤 23.94mg,  $\beta$ -토코페롤 6.99mg순으로 함유되어 있었으며  $\delta$ -토코페롤은 흔적량 존재하였다. 탈검된 지방질 및 탄산된 지방질에서도  $\alpha$ -토코페롤이 23.85mg, 24.08mg,  $\gamma$ -토코페롤이 19.79mg, 20.04mg, 그리고  $\beta$ -토코페롤은 6.12mg, 5.33mg함유되어 있었다. 카로티노

이드 중  $\beta$ -카로틴은 비 비누화물질 중의 0.63%이었으며 리코펜은 미량 함유되어 있었다. 지방질의 자동산화가 진행되는 동안 카로티노이드와 토코페롤은 감소되었으며, 특히 자동산화의 초기과정에서 항산화제로 작용하여 상당량이 감소된 것으로 여겨졌으며 그 감소 속도는  $\alpha$ -토코페롤,  $\gamma$ -토코페롤 순이었다.

문 헌

1. 김명, 이숙희, 최홍식 : 갯 지질 성분의 분획정량 및 각 획분의 지방산 조성. 한국영양식량학회지, 13, 406(1984)
2. 김명, 이숙희, 유정희, 최홍식 : 갯 지방질의 산화 안정성에 관한 연구. 한국식품과학회지, 20, 868(1988)
3. Kwon, T. W., Snyder, H. E. and Brown, H. G. : Oxidative stability of soybean oil at different storage of refining. J. Am. Oil Chem. Soc., 61, 1843(1984)
4. Park, D. K., Terao, J. and Matsushita, S. : The isomeric compound of hydroperoxide formed by autoxidation of unsaturated triglycerides and vegetable oil. Agric. Biol. Chem., 45, 2071(1981)
5. Simic, M. C. and Karel, M. : Autoxidation in food and biological systems. Plenum Press, New York, p.261(1980)
6. Burton, G. W. and Ingold, K. U. :  $\beta$ -carotene : An unusual type of lipid antioxidant. Science, 224, 569(1984)
7. Brandt, P., Hollstein, E. and Franzke, C. : The pro- and antioxidant effects of phosphatides. A literature survey. Lebensmittel-Ind., 20, 31(1973)
8. Dugan, L. R. and Kraybill, H. R. : Tocopherols as carry through antioxidants. J. Am. Oil Chem. Soc., 33, 527(1956)
9. Dittmer, J. C. and Lester, K. L. : Notes on methodology. J. Lipid Res., 5, 126(1964)
10. Tsen, C. C. : An improved spectrophotometric method of the determination of tocopherols using 4, 7-diphenyl-1, 10-phenanthroline. Anal. Chem., 33, 849(1961)
11. AOCS : Official and tentative method of AOCS, 3rd ed., JAOCS, Champaign(1973)
12. Hsieh, Y. C. and Karel, M. : Rapid extraction and determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotenes in foods. J. Chromatogr., 259, 515(1983)
13. Sleeter, R. T. : Effects of processing on quality of soybean oil. J. Am. Oil Chem. Soc., 58, 239(1981)
14. Syvaoja, E. L., Piironen, V., Varo, P., Kovistoinen, P. and Salminen, K. : Tocopherols and tocotrienols in Finnish foods : Oils and fats. J. Am. Oil Chem. Soc., 63, 328(1986)
15. Carpenter, Jr. A. P. : Determination of tocopherols in vegetable oils. J. Am. Oil Chem. Soc., 56, 668(1979)
16. McLanghlim, P. J. and Weihranch, J. L. : Vitamin E content of foods. J. Am. Diet. Assoc., 75, 647(1979)
17. Koskas, J. P., Cillard, J. and Cillard, P. : Autoxidation

- of linoleic acid and behavior of its hydroperoxides with and without tocopherols. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 466 (1984)
18. Rajagopal, M. V. and Mudambi, S. R. :  $\beta$ -carotene loss in palm oil used for frying Nigerian snacks. *J. Food Technol.*, **13**, 87(1978)
19. Premavalli, K. S. and Arya, S. S. : Stability of water-melon carotenoid extract in isolated model system. *J. Food Technol.*, **20**, 359(1985)  
(1993년 1월 3일 접수)