

밀배아 지방질의 산화 안정성과 카로티노이드 및 토코페롤의 변화

김혜경·최홍식
부산대학교 식품영양학과

Oxidative Stability of Wheat germ Lipid and Changes in the Concentration of Carotenoid and Tocopherol during Oxidation

Hae-Gyoung Kim and Hong-Sik Cheigh

Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Abstract

The changes of the lipid composition and of the contents of carotenoid and tocopherol in wheat germ were studied during the storage at 30°C. The contents of triglyceride and free fatty acid were changed from 66% and 7% to 49% and 24% respectively after 30 days. The predominant free fatty acids were lauric acid (29%), palmitic acid (21%) and linoleic acid (20%), however, linoleic acid increased to 30%, lauric acid reduced to 21% after storage of 30 days. The carotenoids in the wheat germ were β -carotene, α -carotene, lutein and taraxanthin, and the contents of these were 306, 59, 383 and 356 ng/g wheat germ, respectively. Their contents, however, were reduced to 36, 4, 203 and 149 ng respectively after 20 storage days. Especially, degradation rate of β -carotene was 22.5 ng/day. The tocopherol isomers in wheat germ were α -, β - and γ -tocopherol, and they reduced from 55, 48 and 38 μ g/g wheat germ to 35, 32 and 32 μ g respectively after 20 storage days. The α -tocopherol was degraded by 1.26 μ g/day at this storage condition.

Key words: carotenoid, tocopherol, wheat germ lipid, oxidative stability

서 론

밀가루 제조시 부산물로 얻어지는 밀배아는 10% 정도 들어 있으며 주요 지방산은 linoleic acid로서 전체 지방산의 60%를 구성하고 있다고 알려져 있다¹⁾. 밀 중에 존재하는 카로티노이드 색소는 주로 xanthophyll과 소량의 xanthophyll ester, 카로틴으로 구성되어 있으며 xanthophyll은 대부분이 lutein과 taraxanthin이라고 보고 되어 있다²⁾. 또한 밀배아 지방질에는 토코페롤 함량이 대단히 많기 때문에 건강식품으로서도 그 가치가 있다고 알려져 있다³⁾. 토코페롤 동족체로는 알파-, 베타-, 감마-, 델타-토코페롤 등이 있으며 알파-토코페롤의 함량이 가장 많다고 한다⁴⁾. 그러나 불포화 지방산이 풍부하므로 산화되기 쉬울 뿐만 아니라 과산화물 형성을 촉매하는 효소인 리폭시게나아제에 의해 여러가지 문제를 야기시킨다고 한다. 즉, 영양적인 면에서는 필수지방산의 산화와 리폭시게나아제와의 coupled oxidation으로 인하여 토코페롤과 카로티노이드가 파괴된다고 보고된 바 있

다⁴⁾. 또한, 과산화반응으로 생성된 hydroperoxide와 이들의 분해산물인 aldehyde, ketone, alcohol 등의 축적으로 산패취를 일으킬 수 있다고 한다⁵⁾.

따라서 본 실험에서는 밀배아 지방질의 자동산화에 따른 토코페롤과 카로티노이드의 산화양상과 이들의 항산화제로서의 역할을 규명하기 위해 먼저 저장중 밀배아 지방질의 구성 성분과 지방산의 함량 변화를 측정하였고 HPLC로써 카로티노이드와 토코페롤 동족체들의 함량 변화를 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 밀배아는 부산에 있는 동아제분에서 구입하였으며 냉동고(-25°C)에 보관하면서 분석시료로 사용하였다.

리폭시게나아제의 추출 및 활성 측정

밀배아 리폭시게나아제는 Wallace 방법⁶⁾에 의해 추출했으며 활성은 modified Surrey's diene conjugation 방법⁷⁾에 의해 측정하였다.

Corresponding author: Hong-Sik Cheigh, Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

지방질의 분석

과산화물가는 AOCS cd 8-53⁽⁸⁾에 의하였으며 지방산의 분석은 藤野 등의 방법⁽⁹⁾에 의해 행하였다. 중성지방질의 성분조성 분석은 Stahl의 방법⁽¹⁰⁾에 준하였다.

카로티노이드와 토크페롤의 분석

카로티노이드와 토크페롤을 분석하기 위하여 전처리 조작을 다음과 같이 행하였다⁽¹¹⁾. 밀배아 10 g을 취한 후 여기에 에탄올 100 ml를 가하여 혼합한 다음 90°C의 건조기에서 10분 동안 가열하였다. 다음 80%-KOH 1 ml를 첨가한 후 다시 90°C에서 10분 동안 비누화하였다. 비누화가 끝난 후 증류수 50 ml와 핵산 50 ml를 넣고 혼합하여 원심분리한 후 상등액과 증류수 100 ml를 분액 여두에 옮긴 다음 n-hexane 50 ml로 3번 반복하여 추출하였다. 잔존하는 KOH를 제거하기 위해 증류수로 씻어내고 농축한 후 적절한 농도로 희석하여 HPLC로 분석하였다. 카로티노이드 분석은 μ -Porasil Column (8 mm \times 10 cm i.d.)에 n-hexane과 isopropanol을 969 : 31 (v/v)비율로 섞은 용매 조건으로 436 nm에서 측정하였다⁽¹¹⁾. 토크페롤 동족체들의 분석은 μ -Porasil column에 n-hexane과 diethyl ether를 95 : 5(v/v) 비율로 섞은 용매조건으로 280 nm에서 측정하였다⁽¹²⁾.

밀배아의 자동산화 조건

밀배아를 마쇄하여 가루로 만든 뒤 직경 8.5 cm의 petri dish에 10 g씩 담아 고루 펼쳐 놓은 다음 30°C의 항온기에 저장하면서 산화반응이 일어나도록 하였다.

결과 및 고찰

과산화물가와 리폭시게나아제의 활성 변화

반응기간에 따른 밀배아의 과산화물가와 리폭시게나아제의 활성변화는 Fig. 1과 같다. 밀배아가 산화되는 데는 자동산화 외에도 리폭시게나아제가 상당한 영향을 미칠 것으로 생각되어 밀배아 중에 존재하는 리폭시게나아제의 활성변화를 측정한 결과 반응 30일까지도 상당히 안정함을 나타내었다. 또한 과산화물가 역시 큰 변화를 나타내지 않았다. 밀배아에는 3개의 리폭시게나아제 isoenzyme(L₁, L₂, L₃)이 존재하며 열에 비교적 안정하여 50~55°C에서도 상당히 오랜기간 동안 불활성화되지 않는다고 알려져 있다⁽⁶⁾. 그러므로 밀배아 지방질의 산화에는 리폭시게나아제가 상당한 영향을 미칠 것으로 사료되었다. 따라서 밀배아에는 리폭시게나아제의 기질이 되는 불포화 지방산이 풍부하고 리폭시게나아제의 활성이 크므로 산화가 빨리 진행될 것으로 판단되었다. 그러나 반응기간 동안 과산화물가의 변화를 관찰할 수 없었으며, 이는 밀배아 중에 존재하는 카로티노이드와 토크페롤 등이 항산화제 역할을 하여 산화반응을 저해한 것으로 생각되어진다.

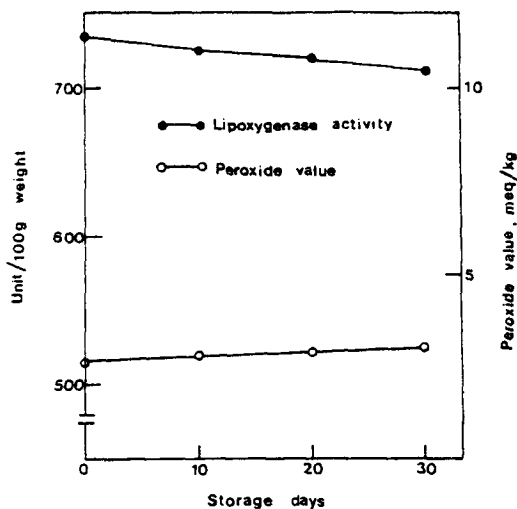


Fig. 1. Changes of lipoygenase activity and peroxide value in wheat germ during storage at 30°C

Table 1. Changes of neutral lipid composition in wheat germ during storage at 30°C (%)

Lipids	Storage period(days)		
	0	10	30
Monoglycerides	1.4	2.7	2.5
Diglycerids	1.5	2.2	2.1
Free sterols	0.8	1.1	0.8
Free fatty acids	7.1	16.2	24.1
Triglycerides	66.2	56.4	49.2
Esterified sterols	18.4	15.2	14.0
Linoleic acid hydroperoxide	4.0	5.7	6.9

함유지방질의 성분조성 변화

밀배아를 항온기에 반응시키면서 반응기간에 따른 중성지방질의 구성 성분의 변화를 thin layer chromatography(TLC)로 관찰하였으며 TLC plate상에서 분리된 중성지방질의 구성 성분을 TLC-scanner로 정량한 결과는 Table 1과 같다. 밀배아의 중성지방질을 구성하는 성분 들로는 monoglyceride, diglyceride, free sterol, free fatty acid, triglyceride, esterified sterol 등이 있었다. 밀배아를 저장하기 전에는 triglyceride 함량이 전체 중성 지방질 구성 성분의 66%를 차지하던 것이 30일 저장 후에는 49%로 감소한 반면, 유리지방산의 함량은 저장 전의 7%에서 30일 경과 후에는 24%로 크게 증가하였다. 이러한 결과로 보아 밀배아 속에는 활성이 강한 lipase가 작용함을 간접적으로 알 수 있었으며 가수분해된 유리 지방산은 밀배아 속에 존재하는 리폭시게나아제의 좋은 기질이 될 수 있을 것으로 생각되었다. Barnes는 밀배아 중성지방질의 구성성분에 대해서 보고했는데 유리지방

Table 2. Changes of total fatty acid composition in wheat germ during storage at 30°C (%)

Fatty acids	Storage period(days)			
	0	10	20	30
12:0	0.7	4.0	2.2	0.2
14:0	0.3	2.5	0.3	0.2
16:0	19.2	26.2	19.5	21.7
18:0	1.0	0.3	1.0	0.8
18:1	14.7	6.0	14.4	16.5
18:2	48.0	43.5	46.1	45.6
18:3	7.0	9.0	6.1	7.6
20:1	2.4	5.1	2.9	1.9
20:2	5.9	0.9	6.7	4.8
20:4	0.8	2.5	0.8	0.7

Table 3. Changes of free fatty acid composition in wheat germ during storage at 30°C (%)

Fatty acids	storage period(days)	
	0	30
12:0	28.7	20.7
14:0	1.8	0.7
16:0	21.3	20.3
18:0	5.9	3.5
18:1	17.7	17.9
18:2	20.2	30.1
18:3	2.7	4.2
20:2	1.8	2.6

산은 0.6~22%, triglyceride는 63.9~88.5%라고 하여 본 연구와 유사함을 알 수 있었다¹¹⁾.

밀배아를 30°C 항온기에 저장하면서 저장기간에 따른 총지방질의 지방산 조성의 변화를 살펴 본 결과는 Table 2와 같다. 주요 지방산은 linoleic, linolenic, palmitic, oleic acid였으며, 저장기간별 지방산 조성은 크게 변하지 않았지만 linoleic acid의 함량이 조금씩 감소하는 것은 주목할 일이며 이는 효소가 촉매하는 산화에서 기질로 사용되었거나 자동산화에 의해 소모된 것으로 보여진다. 일반적으로 알려진¹²⁾ 밀배아 지방질의 지방산 조성은 linoleic acid가 52~66%, palmitic acid가 7~21%, oleic acid가 12~23%로¹³⁾ 본 연구에서 사용한 밀배아의 지방산 조성과의 유사한 경향을 보였다.

Table 3은 밀배아를 30일 동안 30°C 항온기에 저장시킨 후에 유리지방산 회분을 TLC상에서 분취하여 지방산 조성을 분석한 것이며 이를 밀배아 저장 전의 유리지방산의 조성과의 비교하여 나타낸 것이다. 주요 유리지방산은 lauric, palmitic, oleic, linoleic acid였으며 lauric acid 함량이 28.7%에서 30일 후에는 20.7%로 감소한 반면 linoleic acid는 20.2%에서 30.1%로 증가하여 밀배아 중에 존재하는 lipase가 linoleic acid만을 특이하게 유

Table 4. Changes of carotenoid content in wheat germ during storage at 30°C (µg/g)

Storage period (days)	Carotenoids			
	β-Carotene	α-Carotene	Lutein	Taraxanthin
0	306(100) ^D	59(100)	383(100)	356(100)
5	155(50.7)	56(94.9)	345(90.1)	264(74.2)
10	81(26.5)	27(45.8)	306(79.9)	224(62.9)
15	57(18.6)	12(20.3)	257(67.1)	193(54.2)
20	36(11.8)	4(6.8)	203(53.0)	149(41.9)

^DValues in parentheses indicate the % left compared to the originals (before the storage)

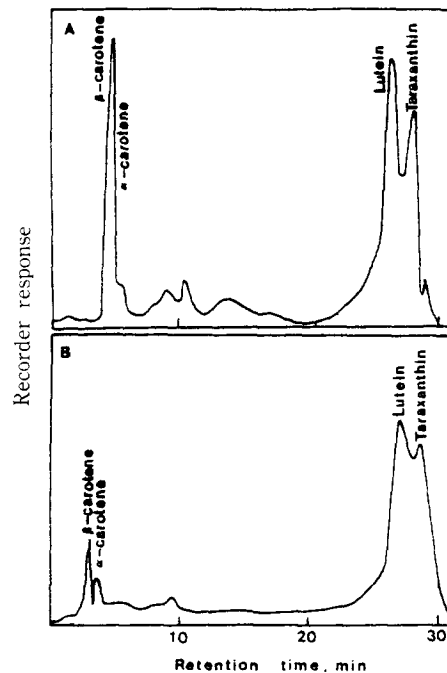


Fig. 2. HPLC chromatograms of carotenoids in wheat germ on 0 day(A) and after 20 days of storage at 30°C (B)

리하거나 가장 함량이 많은 linoleic acid가 저장 중에 자동적으로 가수분해되는 것으로 사료된다. 이렇게 유리된 linoleic acid는 리폭시게나아제의 기질이 되어 산화반응이 더 촉매될 것으로 여겨졌다. 대두 리폭시게나아제의 기질 특이성에 대한 보고에서는 linoleic acid에 대한 활성을 100이라고 볼 때 methyl linoleate에 대해서는 0.63으로 현저한 차이를 보여¹⁴⁾ ester결합의 지방산에 대해서는 리폭시게나아제가 거의 작용하지 않는 것으로 보여지므로 밀배아에 존재하는 리폭시게나아제 역시 triglyceride에 결합되어 있는 지방산보다는 유리된 지방산에 대해서 활성이 높을 것으로 사료된다.

Table 5. Changes of tocopherol content in wheat germ during storage at 30°C (µg/g)

Storage period(days)	Tocopherols		
	α-Tocopherol	β-Tocopherol	δ-Tocopherol
0	54.5(100) ¹⁾	47.9(100)	38.4(100)
5	49.1(90.1)	44.8(93.5)	37.1(96.6)
10	41.9(76.9)	38.9(81.2)	35.6(92.7)
15	36.7(67.3)	31.9(66.6)	32.8(85.4)
20	34.5(63.3)	31.9(66.6)	31.8(82.8)

¹⁾Values in parentheses indicate the % left compared to the originals (before the storage)

카로티노이드 및 토코페롤의 함량 변화

밀배아를 마쇄한 후 30°C에 저장하면서 밀배아에 존재하는 카로티노이드의 산화 양상을 저장기간별로 살펴본 결과는 Table 4와 같다. 그리고 이러한 산화 양상을 HPLC상에서 비교해 본 결과는 Fig. 2와 같다. 밀배아 중에 존재하는 카로티노이드는 lutein, taraxanthin, 베타-카로틴, 알파-카로틴 등이 있었으며 이 중에서 lutein의 함량이 밀배아 1g당 383 ng으로 가장 많았다. 그러나 카로티노이드의 감소 현상은 현저하였으며 특히 저장기간 10일째까지는 베타-카로틴의 감소율이 가장 높았는데 이러한 베타-카로틴의 산화 양상은 前報⁽¹⁴⁾에서의 베타-카로틴의 산화 양상과 유사하였다. 또한 lutein과 taraxanthin도 베타-카로틴보다는 산화속도가 느렸지만 감소되는 경향을 보였다. 20일 반응 경과 후 카로틴류는 초기 함량의 7~12%의 잔존량을 보인 반면 xanthophyll류는 42~53%의 잔존량을 보여 밀배아 저장 중에는 xanthophyll류보다는 비타민A의 전구체인 카로틴의 산화가 더 심함을 알 수 있었다. 당근에 함유된 카로티노이드가 산화과정 중 그 함량이 감소됨이 보고되어 있으며⁽¹⁵⁾, 효소에 의한 당근 카로티노이드의 co-oxidation 현상에 대해서도 보고된 바 있다⁽¹⁶⁾. McDonald⁽¹⁷⁾는 밀 리폭시게나아제의 lutein에 대한 bleaching 활성을 측정할 바 있으며 lutein의 산화로 인해 스파게티 가공 동안 색깔의 손실을 초래할 수 있다고 하였다.

저장기간별로 밀배아에 존재하는 토코페롤의 함량변화를 나타낸 결과는 Table 5와 같다. 밀배아 중에 존재하는 토코페롤 동족체로는 알파, 베타, 감마-토코페롤 등이 있었으며 이 중에서 알파-토코페롤의 함량이 밀배아 1g당 54.5 µg으로 가장 많았고 베타-와 감마-토코페롤은 각각 47.9 µg, 38.4 µg이 함유되어 있었다. 이 값을 대두 및 잣 지방질 중의 토코페롤 총합량과 비교해 보면 대두보다는 약 1.5배⁽¹⁸⁾, 잣보다는 약 3배⁽¹⁹⁾ 정도 많은 함량이었다. 그러나 저장 중 이들의 감소는 현저하였으며 특히 알파-토코페롤의 감소율이 가장 높았다. 이러한 현상은 리놀레산의 자동산화 동안 알파-토코페롤은 처음 농도에 상관없이 완전히 산화되는 반면, 감마-토코페롤은 부분적인 산화를 일으킨다는 보고와⁽²⁰⁾ 일치하는 경향을 보였다. 15일 저장 후에 알파-, 베타-, 감마-토코페롤 모

두에서 감소율이 둔화되는 것은 저장 중 밀배아의 수분함량이 감소되어 효소들의 작용 특히 산화에 관여하는 효소인 lipase와 리폭시게나아제의 활성이 미약했기 때문인 것으로 사료되었다.

결론적으로 볼 때 밀배아 저장 중 카로티노이드와 토코페롤의 이러한 감소 현상은 지방질의 산화에서 이들이 항산화제로 작용하여 자신이 도리어 산화된 결과로 보여진다. 또한 밀배아 지방질의 산화에는 리폭시게나아제와 같은 산화효소들이 촉매작용을 하며 유리기(free radical)를 많이 만들어 내고 따라서 카로티노이드와 토코페롤의 감소 현상이 더욱 현저한 것으로 생각되었다.

요 약

밀배아를 저장온도 30°C에서 산화반응을 시키면서 밀배아 지방질의 구성성분과 지방산의 함량변화를 관찰하였고, 이에 따른 카로티노이드와 토코페롤의 산화양상을 살펴보았다. 밀배아 지방질 구성성분의 변화를 보면 초기에는 triglyceride 함량이 66%, 유리지방산 함량이 7%였는데 30일 저장 후에는 각각 49%, 24%로 변하였다. 유리지방산의 조성은 초기에 lauric acid(29%), palmitic acid(21%), linoleic acid(20%)이던 것이 30일 후에는 linoleic acid가 30%로 크게 증가하였다. 밀배아 중에 있는 카로티노이드로는 베타, 알파-카로틴, lutein, taraxanthin 등이 있었으며 이들의 함량은 저장 전에는 밀배아 1g당 각각 306, 59, 383, 356 ng이던 것이 20일 저장 후에는 36, 4, 203, 149 ng으로 현저하게 감소하였는데 특히 베타-카로틴의 산화가 심하여 22.5 ng/day의 최대 산화속도를 나타냈다. 밀배아 중의 토코페롤 동족체로는 알파-, 베타-, 감마-토코페롤 등이 있었는데 이들의 함량은 밀배아 1g당 각각 55, 48, 38 µg이었고, 특히 가장 산화가 심하였던 알파-토코페롤의 최대 산화속도는 1.26 µg/day를 나타내었다.

문 헌

1. Barnes, P.J.: *Lipids in Cereal Technology*, Academic Press, New York, p.389 (1983)
2. Dahle, L.: Factors affecting oxidative stability of carotenoid pigments of durum milled products. *J. Agr. Food Chem.*, 13(1), 12 (1965)
3. Gunstone, F.D. and Harwood, J.L.: *The Lipid Handbook*, Chapman and Hall Ltd., New York, p.96 (1986)
4. Friedrich, W.: *Vitamins*, Walter de Gruyter(ed.), Berlin, p.235 (1988)
5. Graveland, A.: Enzymatic oxidations of linoleic acid and glycerol-1-monolinoleate in doughs and flour-water suspensions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 47, 352 (1970)
6. Wallace, J.M. and Wheeler, E.L.: Lipoyxygenase from wheat. An examination of its reaction characteristics. *J. Agr. Food Chem.*, 23(2), 146 (1975)
7. Magee, J.: *Methods of enzymatic analysis*, Academic Press, New York, p.411 (1965)

8. AOCS: *Official and Tentative Method of AOCS*, 3rd ed., JAOCS, Champaign, (1973)
9. 藤野安彦: 脂質分析法入門, 學會出版 センター 東京, p. 155 (1980)
10. Stahl, E.: *Thin layer chromatography*, Academic Press, New York, p.1 (1969)
11. Weber, E.J.: Carotenoids and tocopherols of corn grain determined by HPLC, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **64**(8), 1129 (1987)
12. Dittmer, J.C. and Lester, K.L.: Notes on methodology, *J. Lipid Res.*, **5**, 126 (1964)
13. Richardson, T. and Finley, J.W.: *Chemical changes in food during processing*, AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, p.410 (1985)
14. 김혜경, 최홍식: 베타-카로틴과 알파-토코페롤의 산화안정성에 대한 리폭시게나아제의 영향. 한국식품과학회지, **24**, 37 (1992)
15. 송은승, 김혜경, 송영욱, 전영수, 최홍식: 당근 카로티노이드의 자동산화에 미치는 수분활성도 및 광선의 영향. 한국식품과학회지, **25**, 775 (1993)
16. 송은승, 김혜경, 송영욱, 전영수, 최홍식: 모델시스템에 있어서 효소에 의한 당근 카로티노이드의 co-oxidation. 한국식품과학회지, **25**, 753 (1993)
17. McDonald, C.E.: Lipoxygenase and lutein bleaching activity of durum wheat semolina, *Cereal Chem.*, **56**, 84 (1979)
18. Sleeter, R.T.: Effects of processing on quality of soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 239 (1981)
19. 김명: 잣 지방질의 자동산화에 따른 토코페롤 및 카로티노이드의 변화, 한국영양과학회지, **22**(1), 96 (1993)
20. 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**, 1466 (1984)

(1995년 2월 18일 접수)