J. Korean Soc. Food Nutr.
24(1), 67 ~ 73 (1995)

리놀레산 함유 고형 모델시스템의 산화에 미치는 토코페롤 및 베타 카로틴의 영향

김 명 · 이숙희* · 최홍식*†
양산전문대학 식품영양과
*부산대학교 식품영양학과

Effect of Tocopherols and β-Carotene on the Oxidation of Linoleic Acid Mixture in the Solid Model System

Myung Kim, Sook-Hee Rhee* and Hong-Sik Cheigh*†
Dept. of Food and Nutrition, Yangsan Junior College, Yangsan 626 - 800, Korea
**Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609 - 735, Korea*

Abstract

Effects of tocopherols and β-carotene on the oxidation of the solid model system of a free fatty acid mixture (64.5% of linoleic acid ; 26.4% of oleic acid ; 5.0% of palmitic acid) with tocopherols and β-carotene were studied. α-tocopherol revealed an antioxidant activity at the concentration below 0.05%, however, it showed a prooxidant activity when the concentration was higher than 0.05%. The antioxidant activity of γ-tocopherol was not affected by the concentrations in the range of 0.01~0.10% in the model and γ-tocopherol showed higher antioxidant activity than that of α-tocopherol. It seemed that α-tocopherol was unstable compared to γ-tocopherol during oxidation. β-carotene showed a weak antioxidative activity at the initial stage of this system while β-carotene showed a prooxidant activity in the presence of tocopherol. β-carotene was highly susceptible to autoxidative degradation during oxidation.

Key words : lipid oxidation, tocopherols, β-carotene, linoleic acid, antioxidant

서 론

식품 중의 지방질은 저장 중 산소와 결합하여 산화 반응이 일어나며 그 결과 식품의 품질이 저하됨은 물론 영양상 바람직하지 못한 여러가지 변화가 일어난다. 지방질의 자동산화는 불포화지방산을 함유하고 있는 지방질에서 일어나며 free radical 반응에 의해서 진행된다. 먼저 monohydroperoxide가 생성되며, 이것이 산화 분해 및 중합반응을 일으키면서 각종 다양한 2차 생성물이 생성되어 변패의 원인 물질을 만드는 것으로 생각된다. 실온에서의 지방질의 변패는 주로 자동산화에 의한 것으로 이는 가열, 광선, 과산화물, 효소, 금속이온 등에 의해 촉진되며 금속제거제나 각종 항산화제는 이들 반응을 억제하는 기능을 지닌다[1]. 토코페롤과 같은 항산화물질들은 지방질의 자동산화 초기에 연쇄반응을 일으키는 활성 radical과 직접 반응하여 활성화된 radical을 안정된 화합물로 만들어 주므로 자동산화의 속도를 억제하는 것으로 보고되고 있다[2,3]. 따라서 항산화능의 차이는 토코페롤 isomer가 가지는 이런 반응성의 차이에 기인한 것으로 이에 대한 연구가 계속되고 있다[4,5]. 특히, 토코페롤의 적정 농도 조건[6]과 산화과정 중 이들의 변화[7] 및 기질에 따른 α-토코페롤의 산화촉진 효과에 대한 보고들[8~10]이 최근에 주목을 받고 있다. 또한 카로티노이드의 conjugated double bond 구조는 쉽게 산화되고, 식품에 존재하는 카로티노이드의 산화는 일반적으로 불포화지방산의 산화산물에 의하여 자동촉매되며 효소, 수분, 산소, 온도, 금속의 영향을 받는다[11]. 그리고 지방질의 자동산화 과정 중 지방질 분자 대신 carotene hydrocarbon이 동일반응계에서 작용하

† To whom all correspondence should be addressed

며 수분활성과 각종 항산화제의 공존 여부에 따라 그 산화양상이 다르게 나타난다고 보고[12,13]되고 있어 저자들은 잣의 지방질에 관한 일련의 실험을 행하였다. 정제 지방질에 토코페롤과 β-카로틴을 첨가하여 이들의 항산화작용을 살펴본 결과 잣 지방질에 가장 많이 들어있으며, 산화과정 중 많은 함량변화를 나타낸 지방산은 리놀레산이었다[14-16]. 일반적인 유지상태에서 triglyceride 상태의 지방질과 유리지방산과는 그 산화양상 및 이때 작용하는 항산화물질들의 영향도 다를 것으로 사료되어 본 연구에서는 리놀레산 혼합물을 이용한 모델시스템(bulk solid model)을 통해 이들의 산화 양상과 토코페롤 및 β-카로틴의 영향을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

시약

리놀레산은 linoleic acid mixture(linoleic acid ; 64.6 %, oleic acid ; 27.4%, palmitic acid ; 5.0%, Fluka Co., Switzerland)를, β-카로틴과 토코페롤 isomer표준품은 Sigma 회사(USA)의 제품을 사용하였다.

모델시스템의 조제 및 자동산화 조건

리놀레산에 α-토코페롤을 0.01, 0.05, 그리고 0.10% 첨가한 모델시스템과 리놀레산에 γ-토코페롤을 0.01, 0.05, 0.10% 첨가한 모델시스템과 리놀레산에 α-토코페롤 및 γ-토코페롤을 각각 0.05%, 그리고 리놀레산에 β-카로틴을 0.01% 첨가한 모델시스템 및 β-카로틴 0.01%와 γ-토코페롤 0,05%를 혼합하여 첨가한 모델시스템을 각각 조제하였다. 즉, 첨가 물질을 농도별로 가하고 이들을 모두 hexane에 충분히 녹인 후 회전 진공증발기로서 농축시키고 질소 gas로 완전히 용매를 제거한 시료 3g씩을 직경 9.5cm의 petri dish에 담아 뚜껑을 닫지 않은 상태로 50°C incubator에서 14일간 자동산화시키면서 그 변화를 측정하였다.

분석

자동산화 양상은 과산화물값[17]과 conjugated diene value[18]로 측정하였으며, 토코페롤의 정량에는 Emmerie Engle변법에 의한 비색정량법[19]에 준하여 520nm에서 분석하였으며 흡광도 측정에 사용한 분광광도계는 Cecil CE 292(England)였다. β-카로틴의 변화는 UV-VIS 분광광도계(Cecil CE 599, England)에서 흡수스펙트럼을 살펴보았으며 이때의 기기조건은 scale expension 20mm/cm, speed 5mm/sec였다.

결과 및 고찰

리놀레산과 α-토코페롤을 조합한 모델시스템에서의 산화양상

리놀레산에 α-토코페롤을 농도별로 첨가하여 50°C incubator에서 자동산화시켰을 때 모든 군에서 급격한 산화가 일어났으며 리놀레산 단독군의 경우 3일 후 과산화물값이 1000에 이르렀고 그 후에는 급속히 감소되었다. 따라서 토코페롤류가 관여하는 지방산화의 초기과정을 보다 자세히 살펴보기 위하여 온도를 35°C로 낮추었으며 이 때의 과산화물값과 토코페롤의 함량변화를 Fig. 1에 나타내었다. 리놀레산 단독군의 경우 급격한 과산화물값의 증가를 나타내어 3일 후 그 값이 1200에 이르렀으며 그 후에는 서서히 감소되었다. α-토코페롤 첨가군에서는 리놀레산 단독군의 경우 보다는 과산화물값이 낮았으며 따라서 α-토코페롤이 항산화제로 작용하는 것임을 여기서도 분명히 알 수 있었으나 첨가농도가 증가될수록 초기 1일의 과산화물값은 높았다. 이것은 앞의 정제 잣지방질을 이용한 실험[15]에서와 동일한 결과로 고농도의 α-토코페롤의 경우, 초기에는 오히려 저농도에서 보다 과산화물값이 더 높은 부분적인 산화촉진 효과를 나타낸다고 보며 α-토코

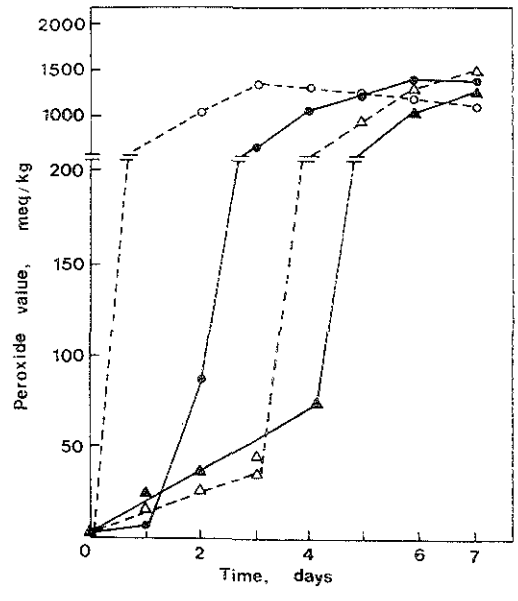

Fig. 1. Time courses of peroxide value of linoleic acid mixture (LA)-α-tocopherol model system during autoxidation at 35°C.
LA(○---○), LA+0.01% α-tocopherol(●——●), LA+0.05% α-tocopherol(△---△), LA+0.10% α-tocopherol(▲——▲).

페롤이 어느 수준 이상 있을 경우 산화촉진 효과를 나타내는 것에 대해서는 다음과 같은 지방질 산화 기전에서 설명될 수 있다[20].

Chain reaction

$$LH \rightarrow L\cdot \quad (1)$$

$$L\cdot + O_2 \rightarrow LOO\cdot \quad (2)$$

$$LOO\cdot + LH \rightarrow LOOH + L\cdot \quad (3)$$

Antioxidant reaction

$$LOO\cdot + TOC \rightarrow LOOH + TOC\cdot \quad (4)$$

$$LOO\cdot + TOC\cdot \rightarrow \text{nonradical compound} \quad (5)$$

$$TOC\cdot + TOC\cdot \rightarrow \text{nonradical compound} \quad (6)$$

Prooxidant reaction

$$LOOH + TOC\cdot \rightarrow LOO\cdot + TOC \quad (-4)$$

$$LH + TOC\cdot \rightarrow L\cdot + TOC \quad (7)$$

Synergistic effect

$$TOC\cdot + ASA \rightarrow TOC + ASA\cdot \quad (8)$$

LH : lipid, TOC : tocopherol, ASA : ascorbic acid

(1)과 (2)의 반응에서 생성되는 지방질의 peroxy radical은 (2), (3)의 연쇄반응을 일으켜 과산화가 진행되며 이 반응계에 토코페롤이 있을 경우 (4)와 (5)의 반응에 따라 radical 연쇄반응은 정지된다. 토코페롤 isomer의 항산화능의 차이는 (4)반응에서 지방질의 peroxy radical과의 반응성의 차이에 기인하는 것으로 반응속도 상수는 α-토코페롤>β-토코페롤≒γ-토코페롤>δ-토코페롤 순이고 토코페롤의 비타민 E 활성에 비례한다[4,5]. 생성된 토코페롤 radical은 비교적 안정하고 (5), (6)의 반응에 의해 nonradical compound가 된다. α-토코페롤의 경우 지방질 중의 농도가 높게되면 생성된 α-토코페롤 radical은 지방질을 공격해서 (-4)와 (7)반응을 일으킨다. 여기서 생성된 L· 및 LOO· 는 다시 (2)와 (3)의 반응을 일으켜 결국 다량의 hydroperoxide 축적을 가져온다. 한편 α-토코페롤 radical은 ascorbic acid와 반응해서 (8)과 같이 α-토코페롤을 재생하므로 α-토코페롤과 ascorbic acid가 공존하는 반응계에서는 α-토코페롤의 항산화능이 높아진다고 본다[21]. 최근 리놀레산에 대한 α-토코페롤의 효과는 거의 산화촉진제로 작용한다고 보고[8-10]되고 있으며 Cillard와 Cillard는 이런 prooxidant 효과는 단지 aqueous media에서만 일어나고 비극성 용매에서는 일어나지 않는다고 보고[10]하고 있다.

본 모델 실험에서 리놀레산에 대한 α-토코페롤의 작용은 항산화제로 유도기를 지연시키는 효과를 나타내었으나 어느 농도 이상에서는 오히려 산화촉진제로 작용하여 산화초기의 과산화물값을 상승시키므로 본 실험조건에서 산화안정성을 나타내는 α-토코페롤의 적정농도 수준은 0.05% 내외라고 여겨진다. Fig. 2에서와 같이 저농도에 비해 고농도에서 α-토코페롤이 현저하게 감소되었으며, α-토코페롤이 거의 없어졌을 때 모든 군에서 과

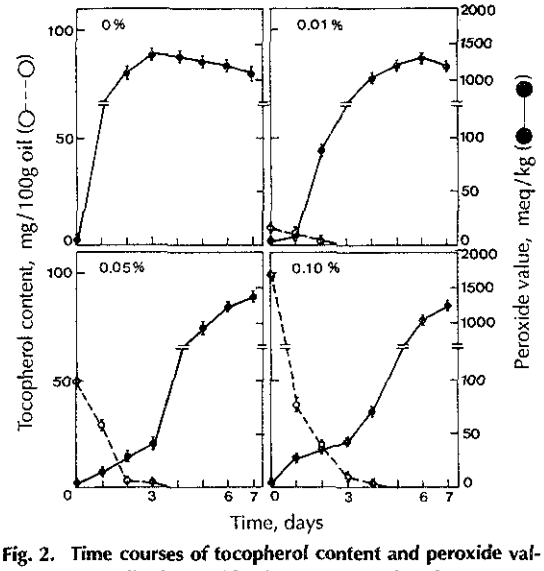

Fig. 2. Time courses of tocopherol content and peroxide value in linoleic acid mixture-α-tocopherol (0~0.10%) model system during autoxidation at 35° C.

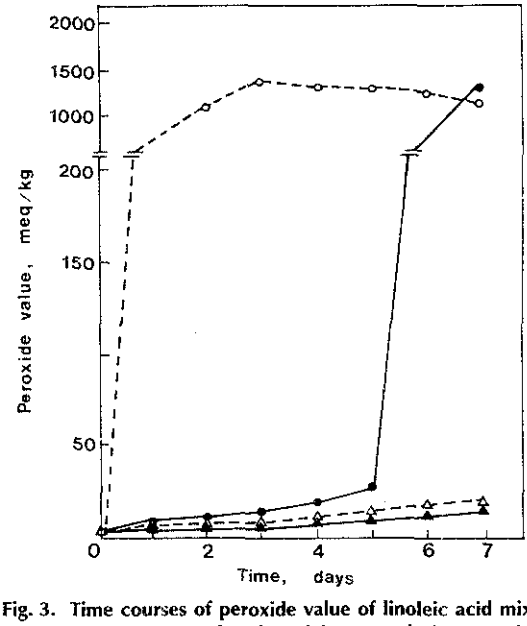

Fig. 3. Time courses of peroxide value of linoleic acid mixture(LA)-γ-tocopherol model system during autoxidation at 35° C.

LA (○---○), LA+0.01% γ-tocopherol (●——●), LA +0.05% γ-tocopherol (△---△), LA+0.10% γ-tocopherol (▲——▲).

산화물값이 급격히 상승되었다.

리놀레산과 γ-토코페롤을 조합한 모델시스템에서의 산화양상

리놀레산에 γ-토코페롤을 농도별로 첨가한 후 그 산화양상과 γ-토코페롤의 함량변화를 비교하여 Fig. 3에 나타내었다. γ-토코페롤 첨가군들에서는 토코페롤의 농도에 의한 초기 과산화물값의 차이는 없었으며, 0.01 % 첨가군에서는 5일 이후 급격히 증가되었다. 이것은 앞의 α-토코페롤에서와 마찬가지로 첨가된 γ-토코페롤의 감소에 기인된다고 여겨지며 따라서 리놀레산의 자동산화에서 γ 토코페롤은 항산화제로 작용하며, α-토코페롤에서 나타났던 초기 산화촉진 효과는 없다고 여겨진다. Fig. 4에서 토코페롤의 함량은 고농도 첨가군에서 저농도 첨가군에 비해 초기에 비교적 빨리 감소되었으며 이후 서서히 감소되었다. 그러나 절대량은 초기농도에 비례하였으므로 각 시료의 산화정도는 상대적인 함량의 차이로 추정할 수 있다고 보며[21] γ-토코페롤의 항산화효과는 정제 잣 지방질을 이용한 앞의 실험에서 보다 매우 크게 나타났다.

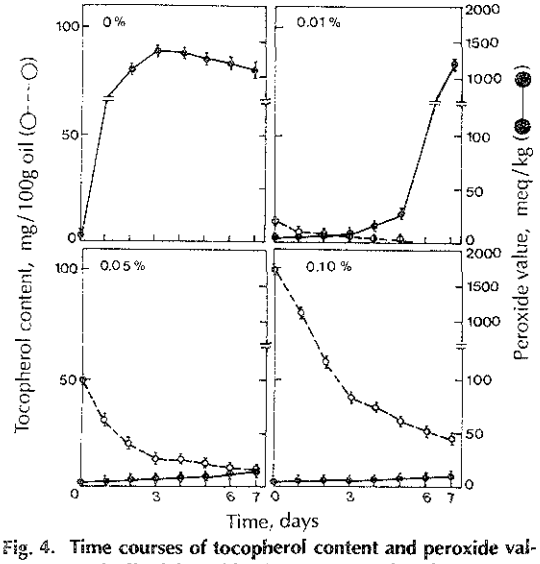

Fig. 4. Time courses of tocopherol content and peroxide value in linoleic acid mixture-γ-tocopherol (0~0.10%) model system during autoxidation at 35°C.

리놀레산과 α-, γ-토코페롤 및 β-카로틴을 조합한 모델 시스템에서의 산화양상

리놀레산에 토코페롤을 각각 농도별로 첨가한 A군과 β-카로틴을 함께 첨가한 B군의 산화양상을 살펴보았다. Fig. 5에서는 리놀레산 단독의 경우에 비해 토코페롤을 첨가한 군에서 과산화물의 생성이 느린 것을 알 수 있었다. 0.01% α-토코페롤을 첨가한 군에서는 2일 후,

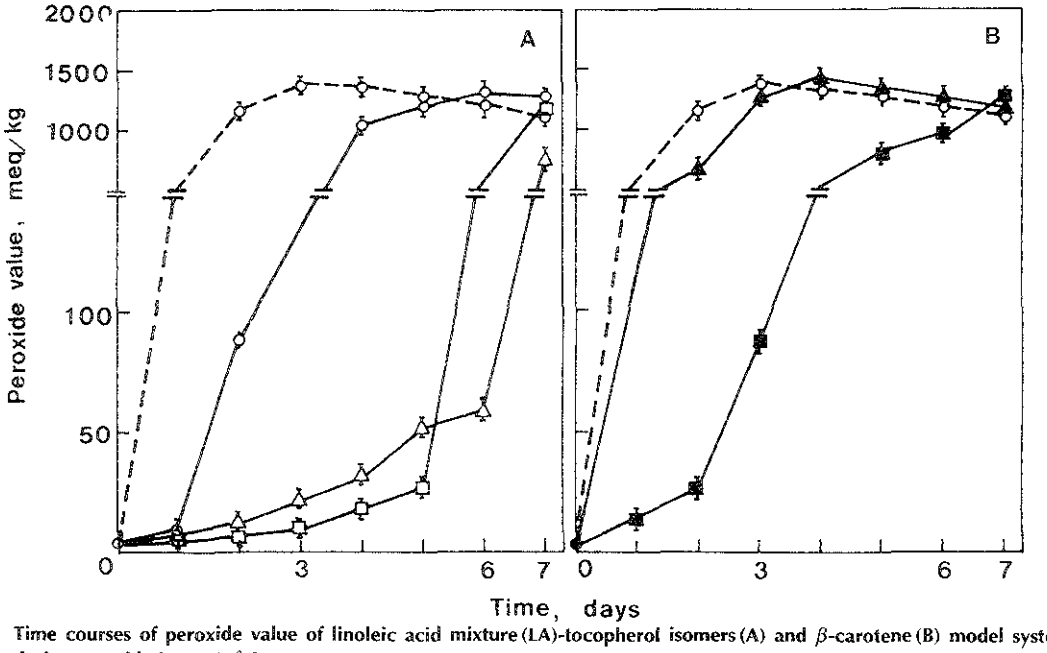

Fig. 5. Time courses of peroxide value of linoleic acid mixture (LA)-tocopherol isomers (A) and β-carotene (B) model system during autoxidation at 35°C.
LA (○---○), LA+0.01% α-tocopherol (○—○), LA+0.01% γ-tocopherol (□—□), LA+0.005% α-tocopherol+0.005% γ-tocopherol (△—△), LA+0.01% β-carotene (▲—▲), LA+0.01% β-carotene+0.01% γ-tocopherol (■---■).

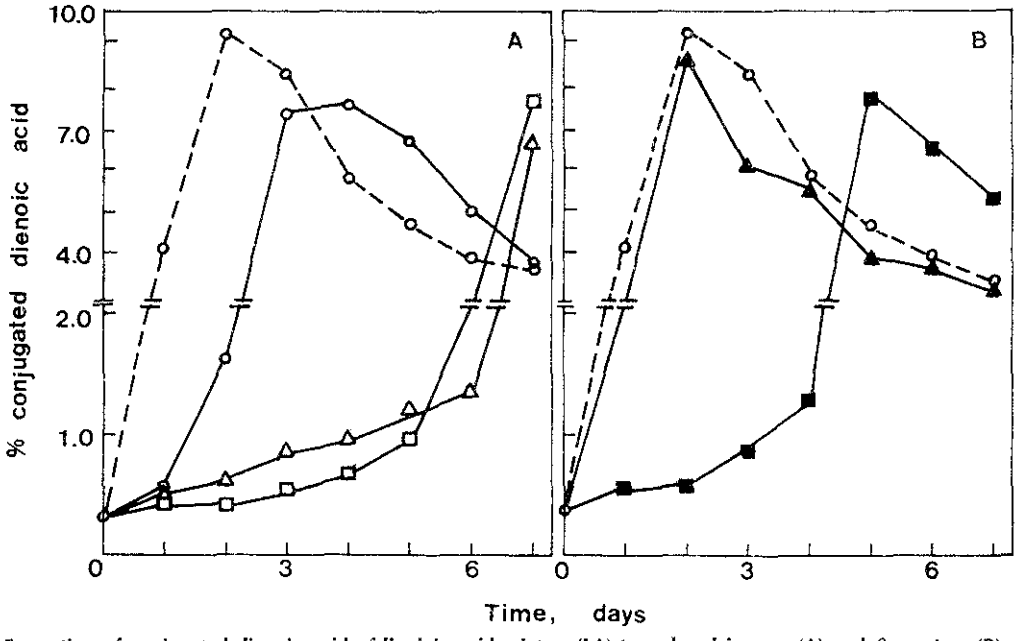

Fig. 6. Formation of conjugated dienoic acid of linoleic acid mixture (LA)-tocopherol isomers (A) and β-carotene (B) model system during autoxidation at 35°C.
LA (○----○), LA+0.01% α-tocopherol (○ ··○), LA+0.01% γ-tocopherol (□-·-□), LA+0.005% α-tocopherol+0.005% γ-tocopherol (△——△), LA+0.01% β-carotene (▲——▲), LA+0.01% β-carotene+0.01% γ-tocopherol (■——■).

0.01% γ-토코페롤을 첨가한 군에서는 5일 후 급격한 과산화물값의 증가를 보였으며 α-0.05%, γ-0.05%씩 동량 혼합한 군에서는 6일 이후 과산화물값의 증가가 시작되었다. 따라서 α-, γ-토코페롤 혼합에 의해 다소 유도기가 길어진 것 같았으며, 초기 과산화물값은 토코페롤을 혼합하여 첨가한 군에서 γ-토코페롤만을 첨가한 군에 비해 높게 나타났다. Premavalli와 Arya는 스테아르산과 올레산은 카로티노이드의 안정성을 증대시키며, 리놀레산은 초기 카로티노이드의 안정성을 증대시키나 곧 산화되어지며, 따라서 카로티노이드의 분해를 촉진시키는 작용을 한다고 하며[22] 본 실험에서도 리놀레산은 초기에 β-카로틴의 안정성에 관여하여 자동산화 초기에 항산화효과를 나타낸다고 여겨진다. 그러나 지방질이 존재할 때 카로티노이드는 coupled oxidation을 일으켜 증가된 과산화물의 농도가 카로티노이드의 산화속도를 증가시킨다고 보고된 바 있다[23]. 이와 같은 보고를 고려해 볼 때 0.01% γ-토코페롤 첨가군에 비해 β-카로틴이 함께 첨가된 군에서 산화가 빨리 진행되었고 리놀레산에 대한 항산화작용은 β-카로틴 보다 토코페롤이 우세함을 알 수 있었다. Fig. 6은 conjugated dienoic acid의 생성을 나타내고 있다. 과산화물값에서와 마찬가지로 α-, γ-토코페롤을 혼합한 군에서 초기 conjugated dienoic acid 생성은 γ-토코페롤만 존재하는 군에 비해 다소 높았으나 급격한 생성은 지연되었다. 그리고 β-카로틴 단독으로는 다소 항산화효과를 보였으나 γ-토코페롤과 혼합시에는 산화가 촉진되었다. 이

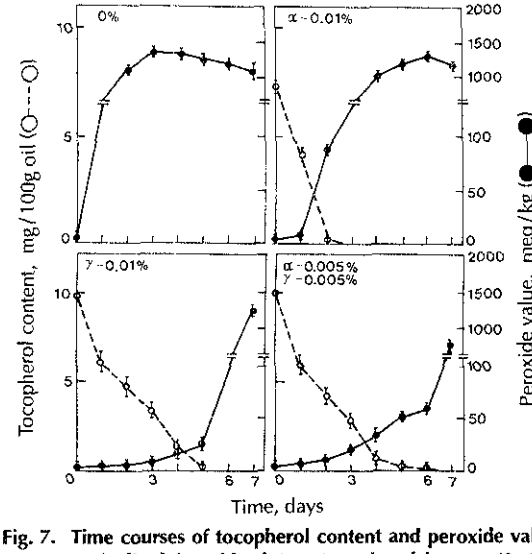

Fig. 7. Time courses of tocopherol content and peroxide value in linoleic acid mixture-tocopherol isomers (0~0.05%) model system during autoxidation at 35°C.

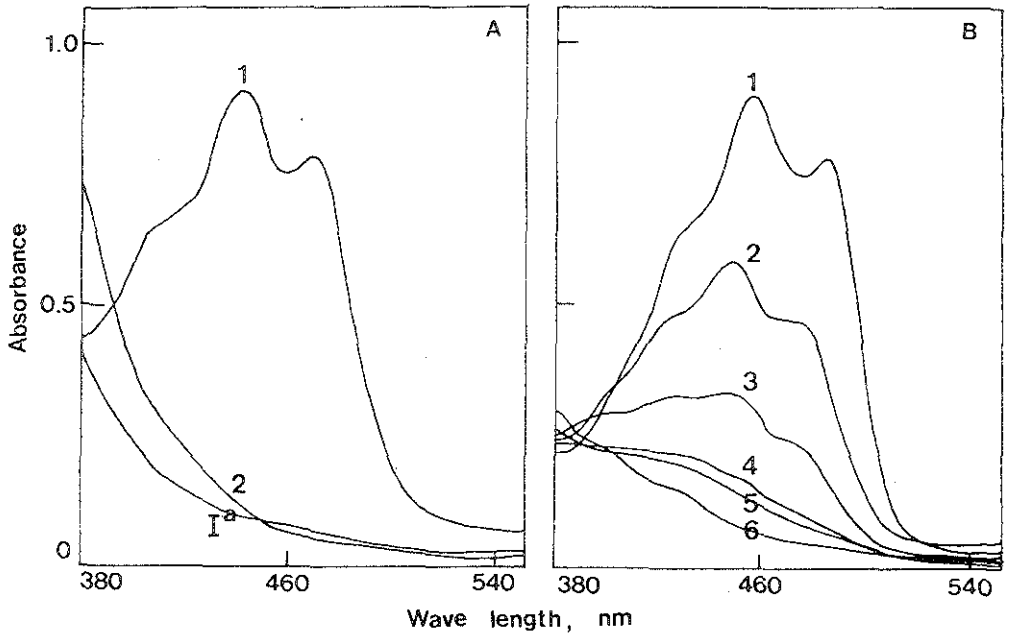

Fig. 8. Time courses of absorption spectra of β-carotene in linoleic acid mixture model system during autoxidation.
1, 2, 3, 4, 5 and 6 are the absorption spectra after 0, 1, 2, 3, 4 and 5days storage at 35°C. I^a : Linoleic acid mixture only, Linoleic acid mixture with 0.01% β-carotene (A), Linoleic acid mixture with 0.01% β-carotene & 0.01% γ-tocopherol (B).

때의 토코페롤과 α-카로틴의 감소 경향을 Fig. 7에 나타내었다. α-토코페롤이 급격히 감소되었음에 비해 γ-토코페롤은 비교적 서서히 감소되었고 α-, γ-토코페롤을 혼합한 군에서는 γ-토코페롤과 거의 비슷한 감소 경향을 보이나 5일 후에도 잔존하였다. 따라서 토코페롤 isomer의 혼합이 총 토코페롤의 감소를 지연시켜 산화안정성을 오래 유지시키는 요인이 된다고 여겨진다. 그러나 6일 후에는 토코페롤의 감소와 더불어 과산화물값이 급격히 증가되었다. 리놀레산에 첨가된 β-카로틴의 특징적인 흡수 spectrum의 변화를 Fig. 8에 나타내었다. 0.01% β-카로틴만 첨가한 군에서는 β-카로틴이 급격히 감소되어 1일 후에는 찾아 볼 수 없었으며, γ-토코페롤과 혼합한 군에서는 서서히 감소되었으므로 산화에 의해 급속한 β-카로틴의 감소가 일어남은 분명하며 이 때 γ-토코페롤이 공존하면 산화속도가 느려지며 동시에 β-카로틴의 분해도 서서히 진행됨을 알 수 있었다.

요 약

리놀레산 혼합물(리놀레산 64.6%, 올레산 27.4%, 기타 8.0%)에 토코페롤 isomer 및 β-카로틴을 조합한 모델시스템에서는 정제 잣 지방질에 비해 비교적 낮은 온도인 35°C에서도 급속한 산화가 일어났으며 α-토코페롤은 항산화제로 작용하나 첨가농도가 0.05% 보다 높을수록 오히려 산화촉진 효과를 나타내어 본 실험에서도 0.05% 첨가가 산화 안정성을 유지하는 적정 농도라고 추정되었다. γ-토코페롤은 항산화작용을 나타내었고 이 때는 α-토코페롤과는 달리 농도에 다른 항산화력의 차이는 나타나지 않았다. 또한 동일 농도에서 α-토코페롤에 비해 γ-토코페롤의 항산화효과가 크며, 동량 혼합시에는 다소 유도기가 연장되었으며 토코페롤의 감소 경향은 α-, γ-순이었다. β-카로틴은 자동산화 초기에 항산화제로 작용하였으나 γ-토코페롤이 함께 존재할 경우에는 산화를 촉진하는 것으로 나타났으며 β-카로틴의 분해는 지방질의 산화가 진행됨에 따라 급격히 일어났다. 따라서 지방질(유리지방산 상태)의 산화안정성에는 β-카로틴 보다 토코페롤의 영향이 크다고 볼 수 있었다.

문 헌

1. Fennema, O. R. : Food chemistry. Marcel Dekker, 2nd ed., p.176 (1985)
2. Chudel, P. S., Mayer, H. and Isler, O. : The vitamins.

Academic Press, New York, 2nd ed., Vol.5, p.168 (1972)
3. Scott, M. L. : The fat soluble vitamins. Plenum Press, New York, p.133 (1978)
4. Burton, G. W. and Ingold, K. U. : Autoxidation of biological molecules, 1. The antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants *in vitro*. *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 6472 (1981)
5. Niki, E., Tsuchiya, J., Yoshikawa, Y., Yamada, Y. and Kamiya, Y. : Oxidation of lipids, antioxidant activities of α-, β-, γ- and δ-tocopherols. *Bull. Chem. Soc. Japan.*, **59**, 497 (1986)
6. Cort, W. M. : Hemoglobin peroxidation test screens antioxidants. *Food Technol.*, **28**, 60 (1974)
7. Yuki, E. and Ishikwa, Y. : Tocopherol contents of nine vegetable frying oils and their changes under simulated deep-fat frying condition. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **53**, 637 (1976)
8. Terao, J. and Masushita, S. : The peroxidizing effect of α-tocopherol on autoxidation of methyl linoleate in bulk phase. *Lipids*, **21**, 255 (1986)
9. 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)
10. Cillard, J., Cillard, P. and Cormier, M. : α-tocopherol peroxidant effect in aqueous media increased autoxidation rate of linoleic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **57**, 255 (1980)
11. Richardson, T. R. and Finley, J. W. : Chemical changes in food during processing. Avi Publ. Co., Chicago, p.415 (1985)
12. Goldmen, M., Horev, B. and Saguy, I. : Decolorization of β-carotene in model system simulating dehydrated foods, mechanism and kinetic principles. *J. Food Sci.*, **48**, 751 (1983)
13. Kanner, J. and Budowski, P. : Carotene oxidizing factors in red pepper fruits (*Capsicum annuum* L.) : Effect of ascorbic and copper in a β-carotene-linoleic acid solid model. *J. Food Sci.*, **43**, 524 (1978)
14. 김명, 이숙희, 유정희, 최홍식 : 잣 지방질의 산화안정성에 관한 연구. 한국식품과학회지, **20**, 868 (1988)
15. 김명 : 잣 지방질의 자동산화에 따른 토코페롤 및 카로티노이드의 변화. 한국영양식량학회지, **22**, 96 (1993)
16. 김명, 이숙희, 최홍식 : 토코페롤 및 카로틴이 정제 잣 지방질의 산화에 미치는 효과. 한국영양식량학회지, **24**, 60 (1995)
17. AOCS : *Official and Tentative Method of AOCS.*, 3rd ed., Am. Oil Chem. Soc., Champaign, Cd 8-53 (1973)
18. AOCS : *Official and Tentative Method of AOCS.*, 3rd ed., Am. Oil Chem. Soc., Champaign, Ti La-64 (1973)
19. Tsen, C. C. : An improved spectrophotometric method of the determination of tocopherols using 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline. *Anal. Chem.*, **33**, 1849 (1961)
20. Yamauchi, R. : Antioxidant effect of tocopherols on lipid peroxidation and their oxidation products. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **62**, 163 (1988)
21. Atsuyoshi, N. : Antioxidant effect of tocopherols and L-ascorbic acid on ethyl eicosapentaenoate and methyl linoleate. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1665 (1991)
22. Premavalli, K. S. and Arya, S. S. : Stability of water melon carotenoid extract in isolated model system. *J. Food Technol.*, **20**, 359 (1985)
23. Arya, S. S., Natesan, V., Parihar, D. B. and Vijayaraghavan, P. K. : Stability of carotenoids in dehydrated carrots. *J. Food Technol.*, **14**, 579 (1979)

(1994년 10월 17일 접수)