

두유의 광산화 안정성에 영향을 주는 요인

이 상 화

서원대학교 식품영양학과

Factors Affecting the Photooxidative Stability of Soymilk

Sang-Hwa Lee

Dept. of Food and Nutrition, Seowon University, Cheongju 360-742, Korea

Abstract

The effects of chlorophyll, tocopherols(α -tocopherol, γ -tocopherol and δ -tocopherol), carotenoids (β -carotene and lutein), light sources, light intensities and storage temperatures on the photooxidative stability of soymilk were studied by measuring TBA value and depleted headspace oxygen(DHO) of soymilk. The samples were stored in the light storage box for 6 days and evaluated for the photooxidative stabilities. As the concentrations of chlorophyll increased, TBA value and DHO of the sample increased significantly ($p < 0.05$), indicating chlorophyll acting as a photosensitizer. However, as the concentrations of tocopherols(α -tocopherol, γ -tocopherol and δ -tocopherol) and carotenoids (β -carotene and lutein) increased, TBA values and DHO of the samples decreased significantly ($p < 0.05$). The light screening effects of carotenoids on DHO in the samples were not significantly different from the control at $p > 0.05$. Therefore, there was no light screening effects of carotenoids on the oxidative stability of soymilk. The results indicate that tocopherols and carotenoids reduce the photooxidative stability of soymilk. δ -Tocopherol was the most effective in photosensitized oxidation followed by γ - and α -tocopherols in the order of increasing stability. β -Carotene was significantly ($p < 0.05$) more effective than lutein in minimizing the chlorophyll-sensitized photooxidation of soymilk. Visible light was more effective than UV light in decreasing the photooxidative stability of soymilk. Therefore, photooxidation of soymilk containing chlorophyll is mainly due to photosensitized oxidation rather than photolysis reaction. As the intensities of fluorescence light increased, TBA values and DHO of the samples increased significantly at $p < 0.05$. However, as the storage temperatures increased, TBA values and DHO of soymilk did not change significantly at $p > 0.05$.

Key words: tocopherol, carotenoid, storage conditions, soymilk

서 론

두유는 영양이 풍부한 전통적인 동양 식이음료이며 콜레스테롤이 없는 알칼리성 식품으로 최근에는 두유에 과일쥬스나 향료 등을 첨가하여 기호성을 높인 제품이 계속 개발되면서 두유시장은 안정된 성장을 보이고 있다(1). 그러나 이와 같이 영양가가 있고 시장성이 큰 두유는 제조시에 원료로 쓰이는 대두와 대두유에 함유된 많은 양의 불포화지방산 때문에 가공과 저장 중에 지방산화가 일어나기 쉽다(1,2).

지방의 산화는 triplet oxygen 산화와 singlet oxygen 산화의 혼합으로 일어난다(3). 유식식품의 산화 안정성 증진을 위하여 triplet oxygen에 의한 autooxidation의

연구는 지난 50여년간 활발히 이루어져 왔으나, singlet oxygen에 의한 photosensitized oxidation에 관하여는 최근에야 그 연구가 시작되었다(4-9). 지방산화에 있어서 singlet oxygen의 역할이 제시된 이유는 linoleic acid와 singlet oxygen과의 반응속도가 triplet oxygen과의 반응속도 보다 적어도 1,450배 가량 더 빠르기 때문이다(10).

Singlet oxygen은 물리적, 화학적, 효소적, 광화학적 방법에 의하여 생성된다(6,11,12). 광화학적 방법에 의한 singlet oxygen의 생성은 에너지가 빛으로 부터 sensitizer로, sensitizer로부터 triplet oxygen으로 전이됨으로써 의하여 이루어진다(4,12,13). 식용유에 존재하는 chlorophyll과 그 분해산물, 그리고 육류 식품

에 함유되어 있는 myosin은 빛과 triplet oxygen의 존재하에서 singlet oxygen을 생성하는 효과적인 sensitizer로 알려져 있다(9,11,14-16).

유지식품의 광산화 중에 생성되는 singlet oxygen은 불포화지방산과 직접 반응하여 과산화물을 생성한다(17-20). 이 과산화물의 분해물은 이취를 발생케하여 유지식품의 풍미 안정성, 영양성, 산화 안정성, 저장성, 안전성의 열화를 가져오며 결과적으로 소비자의 구매력을 떨어뜨린다(8,9,20).

식용유와 같은 유지식품의 가공과 저장 중에 일어나는 바람직하지 못한 광산화 반응을 억제하기 위하여 이들 제품에 천연으로 존재하는 tocopherol과 carotenoid, 그리고 합성화합물인 nickel(II) chelate 등이 광산화 반응에 주는 영향이 연구되었다(15,21-31). 그러나 빛 저장 조건에서 두유의 광산화 안정성 및 이들 안정성을 향상시키기 위한 연구는 아직 보고된 바 없다.

이에 본 연구에서는 제품 자체에 대두와 대두유를 함유하는 두유에 천연으로 존재하는 chlorophyll, α -, γ -, δ -tocopherol, β -carotene, lutein과 저장조건인 광원, 광도 및 저장온도가 두유의 광산화 안정성에 주는 영향을 알아보았다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 대두는 미국산 대두를 탈피하여 사용하였으며 그 화학적 조성은 수분 9.93%, 탄수화물 34.77%, 조단백질 34.46%, 조지방 6.26%, 회분 4.58%였다.

두유에 첨가한 대두유는 주식회사 정식품에서 미국산을 수입하여 정제한 제품을, 유회제는 일신산업 제품인 모노글리세리드(미리스틴산 2.10~3.86%, 팔미탄산 32.23~37.31%, 스테아린산 51.32~65.68%)를 사용하였다.

클로로필(chlorophyll), 델타-토코페롤(δ -tocopherol), 베타-카로틴(β -carotene), 및 루테인(lutein)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)로 부터, 알파-토코페롤(α -tocopherol)과 감마-토코페롤(γ -tocopherol)은 Hoffman La Roche Inc.(Nutley, NJ)로 부터 각각 구입하였다.

두유의 조제

탈피 대두를 98°C의 끓는 물에서 5분간 blanching한 후 물을 가하여 Waring blender로 마쇄하되 이때 첨가

하는 물의 양은 건조 탈피 콩 중량의 약 9배가 되도록 하였다. 마쇄된 것을 원심분리하고 균질처리를 하되 1차 균질화 압력은 200kg/cm², 2차는 50kg/cm²로 하였고, 균질화된 것은 121°C에서 15분간 살균하여 두유 시료로 하였다. 한편 일부 시료는 균질화하기 전에 대두유와 모노글리세리드를 각각 1.5%와 0.4%를 첨가하고, homomixer로 70°C에서 3,600rpm으로 20분간 혼합한 뒤에 위의 시료와 같은 조건으로 균질, 살균하여 시료로 하였다. 이상의 두유 제조공정은 Fig. 1과 같다.

화학성분 분석

두유에 있는 지방산을 측정하기 위하여 지질을 Daugherty와 Lento의 방법(32)에 따라 추출하였다. 추출물로부터 용매는 회전진공농축기를 이용하여 45°C에서 휘발시키고 지질만을 취하여 삼불화붕소 메탄올법을 이용한 일본기준유지 실험법(33)에 의하여 메틸화시켰다. 즉, 추출된 지방 0.5g을 1/2N NaOH 5ml와 함께 반응용기에서 10분 동안 끓인 후 14% BF₃-methanol 5ml를 가하였다. 여기에 다시 n-hexane 5ml를 넣고 식힌 후 약간의 소금을 넣어 상징액 1 μ l를 GC(HP 5890 ; Avondale, PA, U.S.A.)에 주입시켰다. Column은 10% DEGS(Chromosorb WAW 80/100mesh)를 사용하였고 오븐은 180°C에서 3분간 유지하다가 1분에 3°C씩 250°C까지 증가시켰다. Injector, flame ionization detector의 온도는 모두 280°C였다. 운반 기체로는 헬륨

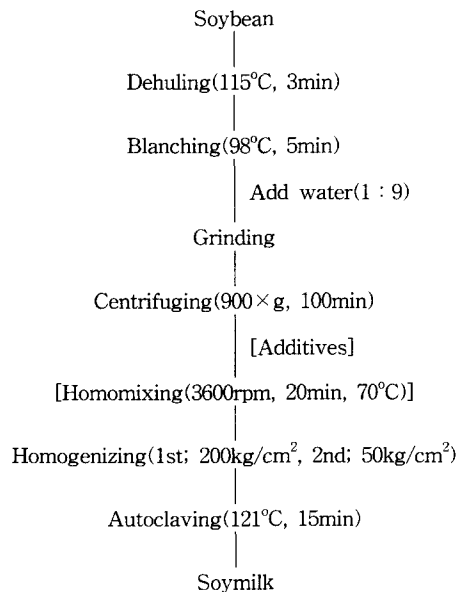


Fig. 1. Outlined process for the preparation of soymilk.

이 사용되었고 분할비는 1 : 50이었다. 토코페롤(tocopherol)은 초고속액체크로마토그래피(HPLC)에 의하여 정량적으로 분석되었다(34). Column은 Nova-Pack C18 (3.9mm×15cm)을, mobile phase는 97% methanol을, detector는 Waters 490E(UV, 292nm)를 사용하였다. 카로테노이드(carotenoid)의 양은 Proctor와 Snyder의 분광광도계를 이용한 방법(35)에 의해 측정하였다.

두유의 광산화 반응에 필요한 빛 저장조건

두유의 광산화 반응을 일으키는데 사용되는 빛 저장상자(Fig. 2.)는 나무상자(80cm×60cm×60cm)를 이용하였다(15). 나무상자의 내부는 가능한 한 균일한 광도(light intensity)를 시료에 조사하기 위해 흰종이로 포장하였다. 시료는 나무상자의 하단에 위치한 광원(fluorescence light)으로부터 10cm 상단에 위치한 철선으로 만들어진 그물망(wire netting)위에 놓았다. 나무상자는 항온기에서 내부온도가 조절되었다. 각각의 시료는 될 수 있는 한 균일한 조도를 받도록 매시간마다 놓인 위치를 재배열하였다.

클로로필(chlorophyll), 토코페롤(α -, γ -, δ -tocopherol), 카로테노이드(β -carotene, lutein)가 두유의 광산화 반응에 주는 영향을 연구하기 위한 시료처리 및 분석

클로로필이 두유의 풍미 안정성 및 광산화 반응에 감광제(photosensitizer)로서 얼마나 효과적인가의 연구를 위하여 0, 5, 10, 20ppm의 클로로필을 두유에 첨가하여 시료를 만들었다. 알파-토코페롤(α -tocopherol),

감마-토코페롤(γ -tocopherol), 델타-토코페롤(δ -tocopherol)과 베타-카로틴(β -carotene), 루테인(lutein)이 클로로필 감광에 의한 두유의 풍미 안정성 및 광산화 반응에 주는 항산화 효과를 연구하기 위하여 0, 100, 500, 1,000ppm의 알파-, 감마- 및 델타-토코페롤과 0, 10, 20, 30ppm의 베타-카로틴 및 루테인을 10ppm의 클로로필 함유하는 두유에 첨가하여 시료를 만들었다.

시료 15ml를 100ml 시료병(serum bottle)에 넣은 후 시료병을 Teflon septa와 aluminum cap으로 밀봉(air-tight sealing)하고 빛 저장상자에서 5°C로 6일 동안 저장하였다. 시료는 반복실험을 위하여 각각 24병씩 만들었다. 두유의 광산화 안정성(photooxidative stability)은 6일 동안 매일 시료의 TBA(thiobarbituric acid)값과 시료병의 소거된 상부공극산소(depleted headspace oxygen)를 측정함으로써 연구하였다.

두유의 TBA값은 King의 ethanol 추출법(36)을 개량한 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 두유 34ml를 취하여 마개달린 삼각플라스크(125ml)에 넣고, 수욕조에서 25°C가 되게 한 후에 95% ethanol 4ml와 TCA(trichloroacetic acid)용액(1g TCA/ml) 10ml를 가한 후 vortex mixer로 섞고 암냉소에서 1시간 동안 정치한 후 whatman #42 여지로 여과하였다. 잔사는 TCA 용액, 95% ethanol, 증류수를 각각 5 : 10 : 85의 비율로 혼합한 용액에 녹이고, 95% ethanol에 녹인 TBA 시약을 반응시켜 60°C의 수욕조에서 60분 동안 가열, 냉각하여 분광광도계로 532nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. TBA값은(μ g malonaldehyde)/(ml 두유)로 표시하였다.

시료병의 소거상부공극산소는 Hewlett Packard 5880A electronic integrator와 thermal conductivity detector를 장착한 가스크로마토그래피(HP 5880A)를 사용하여 측정하였다(15,27,28). 80/100 mesh molecular sieve 13×로 충전된 stainless steel packed column (1.83m×0.31cm i.d.)이 이용되었고, injector, oven, thermal conductivity detector의 온도는 각각 200, 120, 250°C이었다. 질소가스의 흐름 속도는 30ml/min.로 유지되었다. 시료병으로부터 1ml의 상부공극가스(headspace gas)를 취한 다음 2ml gas-tight syringe를 이용하여 가스크로마토그래피에 넣어주었다. 1ml의 gas chromatographic oxygen peak의 electronic unit은 다음의 공식에 의하여(μ mole oxygen)/(ml headspace)로 전환하였다.

(μ mole oxygen)/(ml headspace gas)=9.35×(electronic units of oxygen peak in 1ml sample headspace)

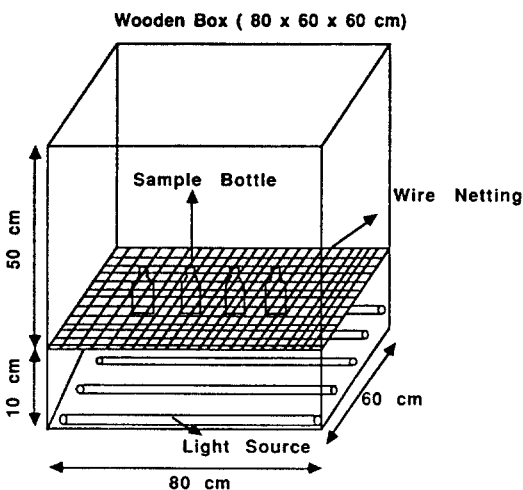


Fig. 2. Light storage box.

gas)/(electronic units of oxygen peak in 1ml of air)

전환 숫자로 9.35가 쓰인 이유는 대기중의 공기가 20.946% 산소를 함유할 때 1ml의 공기는 9.35 μ mole의 산소에 해당하기 때문이다(37). 시료병의 소거상부공극산소는(μ mole 산소)/(ml headspace)로 표시하였다.

광원(light source)의 종류, 광도(light intensity) 및 저장온도(storage temperature)가 두유의 광산화 안정성에 주는 영향의 연구를 위한 시료처리 및 분석

저장조건이 두유의 광산화에 주는 영향을 연구하기 위하여, 광원으로는 가시광선과 자외선이, 광도로는 0, 2,500, 5,000, 7,500 및 10,000lux가, 그리고 저장 온도로는 5, 20, 35°C의 조건을 비교, 측정하였다. 각각의 시료로는 균일하게 클로로필을 10ppm 함유한 두유를 이용하였다.

두유의 광산화 안정성(photooxidative stability)은 6일 동안 매일 시료의 TBA(thiobarbituric acid)값과 시료병의 소거된 상부공극산소(depleted headspace oxygen)를 측정함으로써 연구하였다.

통계처리

본 연구의 TBA(thiobarbituric acid)값과 소거상부공극산소량(depleted headspace oxygen contents)은 반복시료의 평균값으로 표시하였다. 두유의 저장중 클로로필, 토코페롤, 카로테노이드, 광원의 종류, 광도 및 저장 온도가 두유의 TBA값과 소거상부공극산소에 주는 영향을 Duncan's multiple range test(38)로 통계분석하였다.

결과 및 고찰

두유의 화학적 성분

Fig. 1의 방법에 의하여 제조된 두유의 유리지방산(free fatty acids) 조성은 Table 1과 같고, 두유의 카로테노이드(carotenoid) 함량은 1.2ppm, 토코페롤(tocopherol)의 함량은 30ppm이었다.

두유의 유리지방산 중 불포화지방산의 비율이 80% 이상이며, 제조 과정이나 저장 중에 항산화 효과를 갖

을 것으로 기대되는 카로테노이드나 토코페롤의 함량이 적기 때문에 광산화(photosensitized oxidation)를 포함한 지방산화가 잘 일어날 수 있다.

클로로필(chlorophyll)이 두유의 광산화반응(photosensitized oxidation)에 주는 영향

두유를 5°C에서 6일간 암저장(dark storage)했을 때, 클로로필이 두유의 상부공극산소량(headspace oxygen content)에 주는 영향을 Duncan's multiple range test에 의해 통계분석한 결과는 Table 2와 같다. 두유의 클로로필 함량이 0ppm에서 5, 10, 15, 20ppm으로 증가하여도 두유의 상부공극산소량은 통계적으로 유의성(significance)있는 차이를 보이지 않았다($p>0.05$). 즉, 빛이 없는 조건하에서는 클로로필이 감광제(photosensitizer)로서의 역할을 하지 못하였으며, 결과적으로 광산화반응(photosensitized oxidation)도 일어나지 않았다.

두유를 5°C에서 5,000lux의 조도로 6일간 빛 저장(light storage)했을 때, 클로로필이 두유의 TBA(thiobarbituric acid)가에 주는 영향은 Fig. 3과 같다. 빛 저장의 조건하에서는 클로로필의 함량이 0ppm에서 5, 10, 15, 20ppm으로 증가함에 따라 TBA가도 증가하였으며, 일정한 농도의 클로로필 함량에서는 저장일수(storage time)가 길어짐에 따라 TBA가도 증가하였

Table 2. Duncan's multiple range test for the effects of chlorophyll on the headspace oxygen content of soymilk under dark storage at 5°C for 6 days

Chlorophyll in soymilk(ppm)	Headspace oxygen content ¹⁾ (μ mole of O ₂ /ml of headspace)	
	Mean ²⁾	
0	9.35 ^a	
5	9.28 ^a	
10	9.26 ^a	
15	9.29 ^a	
20	9.23 ^a	

¹⁾Headspace oxygen is the mean value of analyses of duplicate samples

²⁾Mean of headspace oxygen after 0, 1, 2, 3, 4, 5, and 6 days of storage : Means in a column of chlorophyll with the same letters are not significantly different at $p>0.05$

Table 1. Free fatty acid contents of soymilk

Fatty acid	Palmitic acid	Stearic acid	Oleic acid	Linoleic acid	Linolenic acid
Content(%)	12.4	4.9	21.2	52.6	8.9

다. 그러나 클로로필을 전혀 함유하지 않은 두유의 TBA가, 빛의 존재 여부와 관계없이, 저장기간이 0에서 6일로 증가하여도 변하지 않았다. 그러므로 빛 저장 조건하에서 클로로필을 함유하는 두유의 TBA가 증가하는 것은 클로로필 감광에 의한 광산화 반응(chlorophyll-sensitized photooxidation)에 기인한다. 클로로필은 유지 식품의 저장 중 빛과 삼중항산소(triplet oxygen)이 함께 존재할 때 일중항산소(singlet oxygen)을 생성하는 감광체로 알려져 왔다(11,14,16,29).

두유를 5°C에서 6일간 빛 저장(5,000lux)했을 때, 클

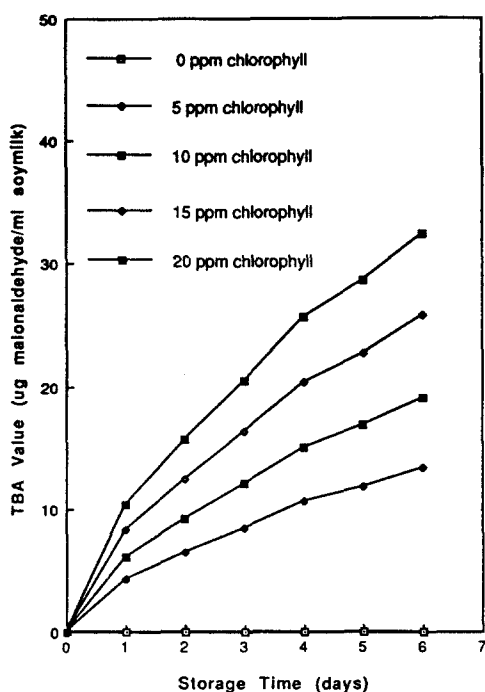


Fig. 3. Effects of chlorophyll on the TBA(thiobarbituric acid) value of soymilk under light storage at 5°C for 6 days.

로로필이 두유의 상부공극산소 감소량(depleted headspace oxygen)에 주는 영향은 Table 3과 같다. 가스 크로마토그래피(gas chromatography)에 의한 상부공극산소감소량 측정법의 coefficient variation은 3%였다. TBA가(Fig. 3)와 상부공극산소 감소량(Table 3)과의 correlation coefficient(r)는 -0.99였다. 가스 크로마토그래피에 의한 상부공극산소량의 분석법은 간단하며 분석시간이 5분내에 끝나는 장점이 있다. Duncan's multiple range test(Table 3) 결과 서로 다른 농도의 클로로필이 두유의 상부공극산소 감소량에 주는 영향은 p<0.05에서 유의적인 차이를 나타냈다. 즉 빛의 존재 하에서는 클로로필이 감광체로 작용하며, 결과적으로 두유의 광산화 반응을 일으킨다는 것을 Fig. 3과 Table 3으로부터 알 수 있다.

알파(α)-토코페롤, 감마(γ)-토코페롤 및 델타(δ)-토코페롤이 두유의 광산화에 주는 영향

클로로필 10ppm을 함유하는 두유를 5°C에서 6일간 빛저장(5,000lux)했을 때 알파-, 감마- 및 델타-토코페롤이 두유의 TBA가에 주는 정량적 영향은 각각 Fig. 4, 5 및 6과 같다. 알파-, 감마- 및 델타-토코페롤의 함량이 0ppm에서 100, 500, 1,000ppm으로 증가함에 따라, 두유의 TBA가는 감소하였다.

알파-, 감마- 및 델타-토코페롤이 두유의 상부공극산소 감소량에 주는 영향을 Duncan's multiple range test한 결과는 Table 4와 같다. 서로 다른 농도의 알파-, 감마- 및 델타-토코페롤이 두유의 상부공극산소 감소량에 주는 영향은 p<0.05에서 유의적인 차이를 나타냈다. 위의 결과를 종합하면, 알파-, 감마- 및 델타-토코페롤은 두유의 클로로필 감광에 의한 광산화(chlorophyll-sensitized photooxidation)를 감소시켰다는 것을 알 수 있다. 또한 델타-토코페롤>감마-토코페롤>알파-토코페롤의 순으로 두유의 광산화를 감소시키는 효과

Table 3. Duncan's multiple range test for the effects of chlorophyll on the depleted headspace oxygen of soymilk under light storage at 5°C for 6 days

Chlorophyll in soymilk(ppm)	Depleted headspace oxygen ¹⁾ (μ mole of O ₂ /ml of headspace)							
	0 Day	1 Day	2 Day	3 Day	4 Day	5 Day	6 Day	Mean ²⁾
Chlorophyll(0)	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a
Chlorophyll(5)	0	0.84	0.90	1.13	1.37	1.44	1.61	1.05 ^b
Chlorophyll(10)	0	1.32	1.52	1.91	2.44	2.57	2.86	1.80 ^c
Chlorophyll(15)	0	1.94	2.22	2.83	3.60	3.81	4.23	2.66 ^d
Chlorophyll(20)	0	2.55	2.91	3.75	4.76	5.05	5.60	3.50 ^e

¹⁾Depleted headspace oxygen is the mean value of analyses of duplicate samples

²⁾Mean of depleted headspace oxygen after 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 days of storage ; means in a column of same chlorophyll with different letters are significantly different at p<0.05

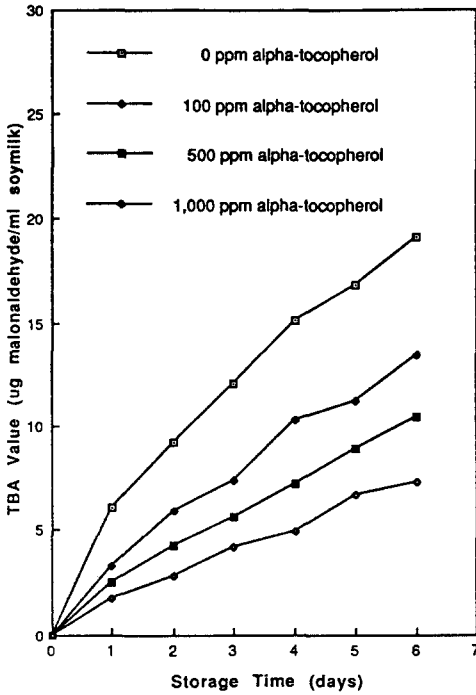


Fig. 4. Effects of α -tocopherol on the TBA(thiobarbituric acid) value of soymilk containing 10ppm chlorophyll under light storage at 5°C for 6 days.

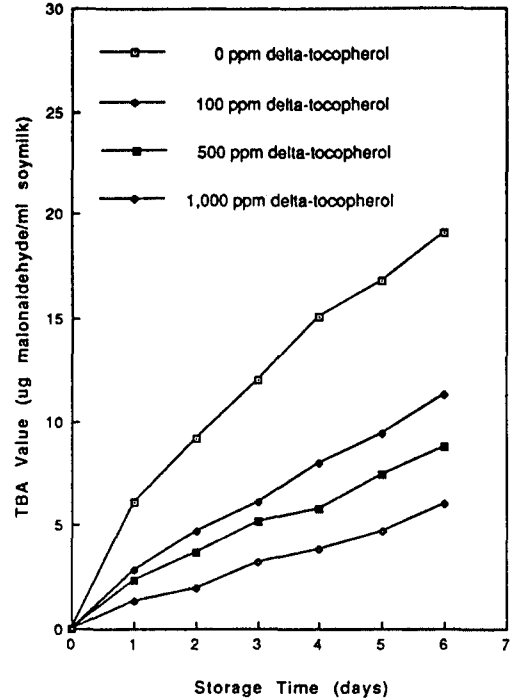


Fig. 6. Effects of δ -tocopherol on the TBA(thiobarbituric acid) value of soymilk containing 10ppm chlorophyll under light storage at 5°C for 6 days.

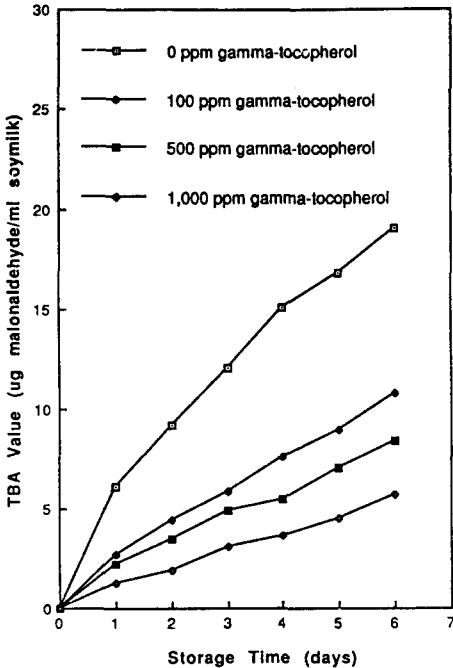


Fig. 5. Effects of γ -tocopherol on the TBA(thiobarbituric acid) value of soymilk containing 10ppm chlorophyll under light storage at 5°C for 6 days.

가 차이가 있음을 Fig. 4, 5, 6 및 Table 4의 결과로 알 수 있다. Grams와 Eskins(25)는 광산화 반응의 안정성(stability)을 증진시키는 순서는 델타-토코페롤> 베타-토코페롤>알파-토코페롤 순이라고 발표하였으며 이는 위의 결과와 일치한다.

베타-카로틴(β -carotene)과 루테인(lutein)이 두유의 광산화에 주는 영향

클로로필 10ppm을 함유하는 두유를 5°C에서 6일간 광저장(5,000lux)했을 때, 베타-카로틴과 루테인이 두유의 TBA에 주는 영향은 각각 Fig. 7 및 8과 같다. 저장기간이 0에서 6일로 증가함에 따라 두유의 TBA가도 증가하였다. 베타-카로틴과 루테인의 농도가 0ppm에서 10, 20, 30ppm으로 증가하면 두유의 TBA가 감소하였다. 베타-카로틴 및 루테인 10ppm을 함유하는 두유는 베타-카로틴 및 루테인을 전혀 함유하지 않은 대조구 두유(control soymilk) 보다 유의적($p < 0.05$)으로 낮은 TBA를 나타내었다. 즉 베타-카로틴과 루테인은 두유의 광산화 반응을 억제하는 효과가 있음을 알 수 있다. 두유의 광산화를 억제하는 효과는 베타-카로틴(공액이중결합 11개)이 루테인(공액이중결합 10

Table 4. Duncan's multiple range test for the effects of α -, γ - and δ -tocopherols on the depleted headspace oxygen of soymilk containing 10ppm chlorophyll under light storage at 5°C for 6 days

Chlorophyll in soymilk(ppm)	Depleted headspace oxygen ¹⁾ (μ mole of O ₂ /ml of headspace)							Mean ²⁾
	0 Day	1 Day	2 Day	3 Day	4 Day	5 Day	6 Day	
α -Tocopherol(0)	0	1.32	1.52	1.91	2.44	2.57	2.86	1.80 ^a
α -Tocopherol(100)	0	0.89	1.12	1.48	1.66	1.78	2.04	1.27 ^b
α -Tocopherol(500)	0	0.81	0.99	1.31	1.41	1.54	1.72	1.11 ^c
α -Tocopherol(1,000)	0	0.72	0.86	1.01	1.25	1.36	1.40	0.94 ^d
γ -Tocopherol(0)	0	1.32	1.52	1.91	2.44	2.57	2.86	1.80 ^a
γ -Tocopherol(100)	0	0.75	1.06	1.47	1.63	1.82	2.01	1.24 ^b
γ -Tocopherol(500)	0	0.66	0.94	1.22	1.38	1.49	1.65	1.05 ^c
γ -Tocopherol(1,000)	0	0.56	0.79	0.91	1.13	1.25	1.30	0.84 ^d
δ -Tocopherol(0)	0	1.32	1.52	1.91	2.44	2.57	2.86	1.80 ^a
δ -Tocopherol(100)	0	0.69	1.02	1.47	1.59	1.87	1.99	1.23 ^b
δ -Tocopherol(500)	0	0.58	0.90	1.16	1.36	1.46	1.61	1.01 ^c
δ -Tocopherol(1,000)	0	0.45	0.74	0.85	1.02	1.16	1.24	0.78 ^d

¹⁾Depleted headspace oxygen is the mean value of analyses of duplicate samples

²⁾Mean of depleted headspace oxygen after 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 days of storage ; means in a column of the same tocopherol with different letters are significantly different at p<0.05

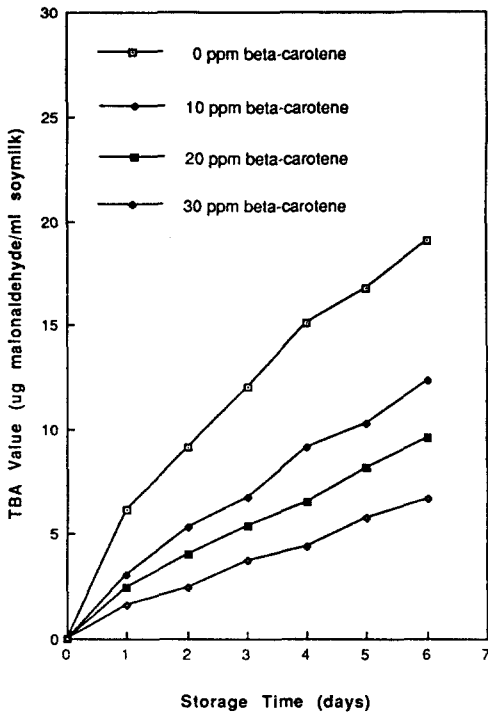


Fig. 7. Effects of β -carotene on the TBA(thiobarbituric acid) value of soymilk containing 10ppm chlorophyll under light storage at 5°C for 6 days.

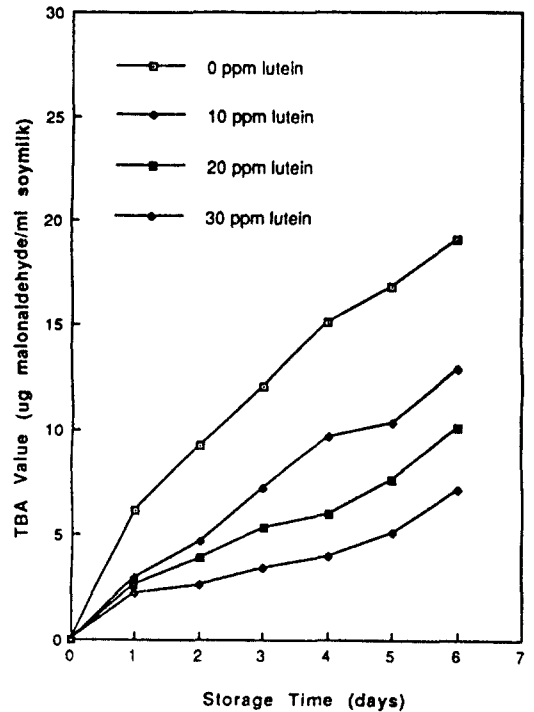


Fig. 8. Effects of lutein on the TBA(thiobarbituric acid) value of soymilk containing 10ppm chlorophyll under light storage at 5°C for 6 days.

개) 보다 우수했으며, 이는 공액 이중결합(conjugated double bonds)의 갯수에 기인한 것으로 사료된다. Foote와 Denny(24), 그리고 Lee와 Min(26)은 베타-카로틴

이 식용유의 일중항산화(singlet oxygen oxidation)를 억제한다고 발표하였다. Lee와 Min(27)은 루테인(lutein), 지아크산틴(zeaxanthin), 리코펜(lycopene),

Table 5. Duncan's multiple range test for the effects of β -carotene and lutein on the depleted headspace oxygen of soymilk containing 10ppm chlorophyll under light storage at 5°C for 6 days

Chlorophyll in soymilk(ppm)	Depleted headspace oxygen ¹⁾ (μ mole of O ₂ /ml of headspace)							
	0 Day	1 Day	2 Day	3 Day	4 Day	5 Day	6 Day	Mean ²⁾
δ -Tocopherol(0)	0	1.32	1.52	1.91	2.44	2.57	2.86	1.80 ^a
δ -Tocopherol(10)	0	0.76	1.07	1.47	1.62	1.82	2.02	1.25 ^b
δ -Tocopherol(20)	0	0.70	0.94	1.23	1.38	1.50	1.66	1.06 ^c
δ -Tocopherol(30)	0	0.58	0.80	0.93	1.13	1.26	1.32	0.86 ^d
Lutein(0)	0	1.32	1.52	1.91	2.44	2.57	2.86	1.80 ^a
Lutein(10)	0	0.81	1.14	1.57	1.73	1.95	2.16	1.34 ^b
Lutein(20)	0	0.75	1.01	1.32	1.48	1.61	1.78	1.14 ^c
Lutein(30)	0	0.62	0.86	1.00	1.21	1.35	1.41	0.92 ^d

¹⁾Depleted headspace oxygen is the mean value of analyses of duplicate samples

²⁾Mean of depleted headspace oxygen after 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 days of storage ; means in a column of the same carotenoids with different letters are significantly different at $p < 0.05$

아이소시아크산틴(isozeaxanthin), 아스타크산틴(asta-xanthin)과 같은 카로테노이드가 대두유(soybean oil)의 일중항산소산화(singlet oxygen oxidation)를 억제한다고 발표하였다. Duncan's multiple range test 결과(자료는 제시되지 않았음) 서로 다른 농도의 베타-카로틴 및 루테인은 두유의 TBA에 유의적($p < 0.05$)으로 영향을 주었다.

베타-카로틴과 루테인이 두유의 상부공극산소 감소량에 주는 영향은 Table 5와 같다. 베타-카로틴 및 루테인의 농도가 증가하면, 두유의 상부공극산소 감소량은 감소하였다. Duncan's multiple range test 결과, 다른 농도의 베타-카로틴 및 루테인이 두유의 상부공극산소 감소량에 주는 영향은 $p < 0.05$ 에서 유의적으로 차이가 났다. 위의 결과를 종합하면 베타-카로틴 및 루테인이 두유의 클로로필-감광에 의한 광산화 반응(chlorophyll-sensitized photooxidation)을 억제하였고 그 효과는 베타-카로틴이 루테인 보다 큰 것으로 나타났음을 알 수 있다.

베타-카로틴과 루테인의 광차단 효과(light screening effect)가 두유의 산화 안정성에 주는 영향을 연구하기 위하여, 베타-카로틴 및 루테인 10ppm이 두유에 미치는 광차단 효과를 Fakourelis 등의 방법(15)에 의한 상부공극산소량을 측정함으로써 연구하였다. 두유 시료병의 상부공극산소량에 미치는 베타-카로틴 및 루테인의 광차단 효과는 대조구(control)와 비교하여 $p > 0.05$ 에서 유의성있는 차이를 나타내지 않았다. 결과적으로 두유의 광산화 안정성에는 베타-카로틴과 루테인의 광차단 효과가 영향을 주지 않았다.

광원(light source)이 두유의 광산화에 주는 영향

클로로필(10ppm)을 함유하는 두유를 5°C에서 6일간 저장했을 때 가시광선, 자외선, 암저장이 두유의

TBA에 주는 영향은 Fig. 9와 같다. 가시광선의 광산화 진행이 가장 심했으며, 자외선은 가시광선 보다 적게 산화가 일어났고, 빛이 없는 조건에서는 산화가 거의 일어나지 않았다. Duncan's multiple range test 결과(자료는 제시하지 않았음) 가시광선과 자외선은 유의적인($p < 0.05$) 차이를 보였다. Table 6에서 보는 바와 같이 가시광선과 자외선, 그리고 암저장이 두유의 상부공극산소 감소량에 주는 영향은 각각 유의적인

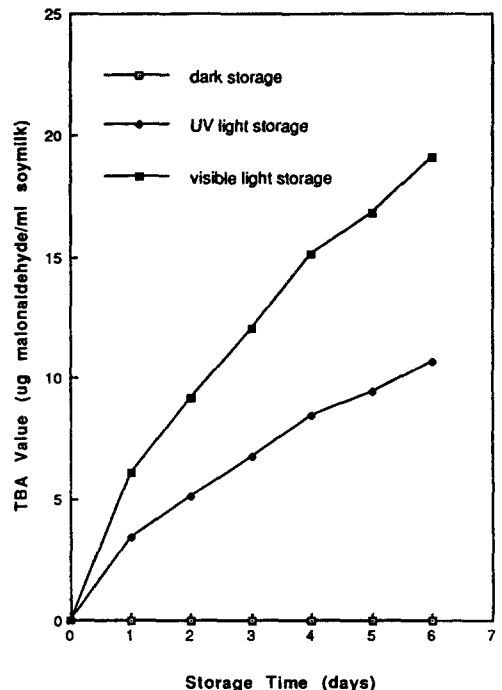


Fig. 9. Effects of light sources on the TBA(thiobarbituric acid) value of soymilk containing 10ppm chlorophyll stored at 5°C for 6 days.

Table 6. Duncan's multiple range test for the effects of light source on the depleted headspace oxygen of soymilk containing 10ppm chlorophyll stored at 5°C for 6 days

Light source(lux)	Depleted headspace oxygen ¹⁾ (μ mole of O ₂ /ml of headspace)							
	0 Day	1 Day	2 Day	3 Day	4 Day	5 Day	6 Day	Mean ²⁾
Dark	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a
UV light	0	0.67	0.72	0.90	1.10	1.15	1.29	0.84 ^b
Visible light	0	1.32	1.52	1.91	2.44	2.57	2.86	1.80 ^c

¹⁾Depleted headspace oxygen is the mean value of analyses of duplicate samples

²⁾Mean of depleted headspace oxygen after 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 days of storage ; means in a column of the same light source with different letters are significantly different at $p < 0.05$

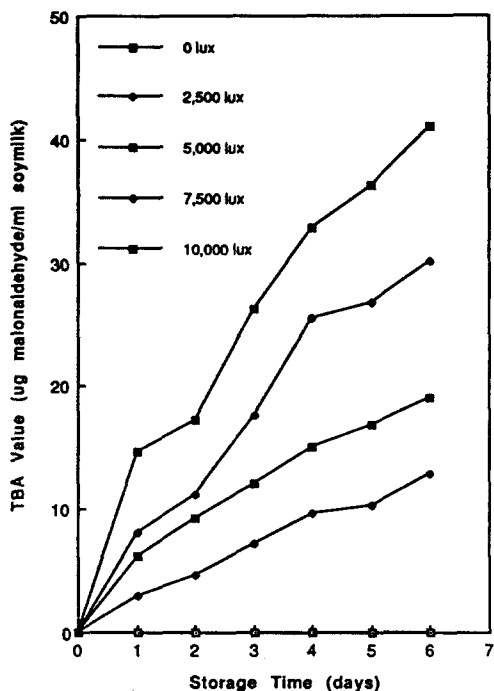


Fig. 10. Effects of light intensity on the TBA(thio-barbituric acid) value of soymilk containing 10ppm chlorophyll stored at 5°C for 6 days.

($p < 0.05$) 차이를 보였다. 결과적으로 클로로필을 함유하는 두유는 자외선의 에너지에 의한 photolysis 보다

는 감광체에 의한 photosensitized oxidation으로 인한 광산화임을 알 수 있다.

광도(light intensity)가 두유의 광산화에 주는 영향

클로로필을 10ppm 함유하는 두유를 5°C에서 6일간 저장했을 때 빛이 두유의 TBA가에 주는 영향은 Fig. 10 과 같다. 광도가 0lux에서 2,500, 5,000, 7,500, 10,000 lux로 증가함에 따라 두유의 TBA가도 증가하였다. 광도 5,000lux에서 저장한 두유는 광도 0lux에서 저장한 대조구 두유(control soymilk) 보다 유의적으로($p < 0.05$) 높은 TBA가를 나타내었다. 광도가 두유의 상부공극 산소 감소량에 주는 영향은 Table 7과 같다. 광도가 증가하면 두유의 상부공극산소 감소량도 따라서 증가하였다. Duncan's multiple range test 결과 서로 다른 광도가 두유의 상부공극산소 감소량에 주는 영향은 $p < 0.05$ 에서 유의적인 차이를 나타냈다. 위의 결과를 종합하면 광도가 증가할수록 두유의 클로로필에 의한 광산화도 증진적으로 잘 일어남을 알 수 있다.

저장온도(storage temperature)가 두유의 광산화에 주는 영향

클로로필 10ppm을 함유하는 두유를 5,000lux의 조건에서 6일간 빛 저장했을 때 저장온도가 두유의 TBA

Table 7. Duncan's multiple range test for the effects of light intensity on the depleted headspace oxygen of soymilk containing 10ppm chlorophyll stored at 5°C for 6 days

Light source(lux)	Depleted headspace oxygen ¹⁾ (μ mole of O ₂ /ml of headspace)							
	0 Day	1 Day	2 Day	3 Day	4 Day	5 Day	6 Day	Mean ²⁾
0	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^a
2,500	0	0.76	0.81	1.02	1.30	1.37	1.53	0.97 ^b
5,000	0	1.32	1.52	1.91	2.44	2.57	2.86	1.80 ^c
7,500	0	2.10	2.44	3.11	4.14	4.38	4.86	3.00 ^d
10,000	0	3.31	3.78	3.75	4.88	6.46	7.22	4.20 ^e

¹⁾Depleted headspace oxygen is the mean value of analyses of duplicate samples

²⁾Mean of depleted headspace oxygen after 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 days of storage ; means in a column of the same light intensity with different letters are significantly different at $p < 0.05$

가에 주는 정량적 영향은 Fig. 11과 같다. 저장온도가 5°C에서 20°C, 35°C로 증가함에 따라, 두유의 TBA는 미미한 증가를 하였으나, Duncan's multiple range test 결과(자료는 제시하지 않았음) 유의적인(p>0.05) 차이를 보이지 않았다. 저장 온도가 두유의 상부공극산소 감소량에 주는 영향은 Table 8과 같다. 저장 온도가 증가하여도 두유의 상부공극산소 감소량은 크게 증가하지 않았다. Tukey's range test 결과 서로 다른 저장 온도가 두유의 상부공극산소 감소량에 주는 영향은 p>0.05에서 유의적인 차이가 없었다. 위의 결과를 종합하면 유리기의 자동산화(free radical autoxidation)의 경우와는 달리 저장온도는 두유의 클로로필에 의한

광산화(chlorophyll-sensitized photooxidation)에 유의적인 영향을 주지 않음을 알 수 있다.

요 약

두유에 천연으로 존재하는 chlorophyll, α -, γ -, δ -tocopherol, β -carotene, lutein과 저장조건인 광원, 광도 및 저장 온도가 두유의 광산화 안정성에 주는 영향을 시료의 TBA값과 시료병의 소거된 상부공극산소를 측정함으로써 연구하였다. 빛이 없는 조건하에서는 클로로필이 감광체로서의 역할을 하지 못하였으나, 빛의 존재하에서는 감광체로서 작용했으며 결과적으로 두유의 광산화 반응을 일으켰다. 알파-, 감마- 및 델타-토코페롤은 두유의 클로로필 감광에 의한 광산화 반응을 감소시켰으며 델타-토코페롤>감마-토코페롤>알파-토코페롤의 순으로 두유의 광산화를 감소시키는 정도에 차이가 있었다. 베타-카로틴 및 루테인이 두유의 클로로필-감광에 의한 광산화 반응을 억제하였고, 그 효과는 베타-카로틴이 루테인 보다 크게 나타났다. 베타-카로틴과 루테인의 광차단 효과의 영향은 없었다. 클로로필을 함유하는 두유는 자외선의 에너지에 의한 photolysis 보다는 감광체에 의한 photosensitized oxidation으로 인한 광산화임을 알 수 있다. 광도가 증가할수록 두유의 클로로필에 의한 광산화도 증진적으로 잘 일어났다. 자유라디칼 자동산화(free radical autoxidation)의 경우와는 달리 저장온도는 두유의 클로로필에 의한 광산화(chlorophyll-sensitized photooxidation)에 유의적인 영향을 주지 않았다.

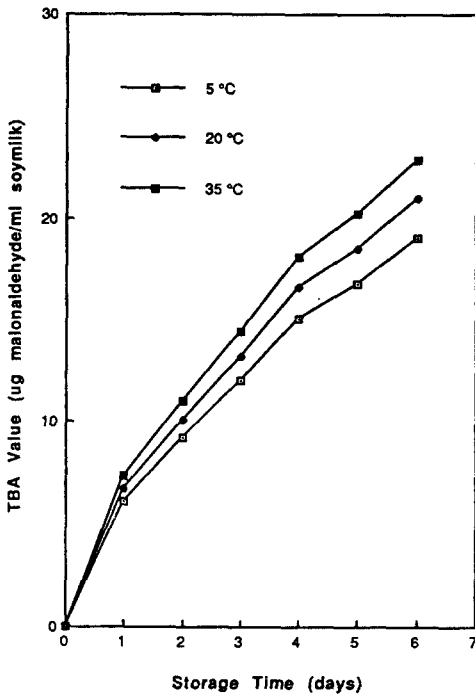


Fig. 11. Effects of storage temperature on the TBA(thiobarbituric acid) value of soymilk containing 10ppm chlorophyll under light storage for 6 days.

감사의 글

이 논문은 1994년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구된 과제중의 일부이며 지원에 감사드립니다.

Table 8. Duncan's multiple range test for the effects of storage temperature on the depleted headspace oxygen of soymilk containing 10ppm chlorophyll under light storage for 6 days

Storage temp.(°C)	Depleted headspace oxygen ¹⁾ (μ mole of O ₂ /ml of headspace)							
	0 Day	1 Day	2 Day	3 Day	4 Day	5 Day	6 Day	Mean ²⁾
5	0	1.32	1.52	1.91	2.44	2.57	2.86	1.80 ^a
20	0	1.45	1.67	2.10	2.68	2.83	3.15	1.98 ^a
35	0	1.58	1.82	2.29	2.93	3.08	3.43	2.16 ^a

¹⁾Depleted headspace oxygen is the mean value of analyses of duplicate samples

²⁾Mean of depleted headspace oxygen after 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 days of storage ; means in a column of the same storage temperature with same letters are not significantly different at p<0.05

문헌

1. Haumann, B. F. : Soymilk-New processing, packaging, expand markets. *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 1784(1984)
2. Matsuura, M., Obata, A. and Fukushima, D. : Objectional flavor of soy milk developed during the soaking of soybeans and its control. *J. Food Sci.*, **54**, 602(1989)
3. Frankel, E. N. : Chemistry of free radical and singlet oxygen oxidation of lipids. *Prog. Lipid Res.*, **23**, 197 (1985)
4. Foote, C. S. : Photosensitized oxygenation and the role of singlet oxygen. *Acc. Chem. Res.*, **1**, 104(1968)
5. Frankel, E. N. : Lipid oxidation : Mechanisms, products and biological significance. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 1908(1984)
6. Korycka-Dahl, M. B. and Richardson, T. : Activated oxygen species and oxidation of food constituents. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **10**, 209(1978)
7. Labuza, T. P. : Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **2**, 355(1971)
8. Richardson, T. and Korycka-Dahl, M. : Lipids. In "Developments in dairy chemistry" Fox, P. F.(ed.), Applied Sci., London, Vol.2, p.241(1983)
9. Whang, K. and Peng, I. C. : Photosensitized lipid peroxidation in ground pork and turkey. *J. Food Sci.*, **53**, 1596(1988)
10. Rawls, H. R. and VanSanten, P. J. : A possible role for singlet oxygen in the initiation of fatty acid autoxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **47**, 121(1970)
11. Clements, A. H., van Den Engh, R. H., Frost, D. J., Hoogenhout, K. and Nooi, J. R. : Participation of singlet oxygen in photosensitized oxidation of 1,4-dienoic systems and photooxidation of soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, 325(1973)
12. Krinsky, N. I. : Singlet oxygen in biological systems. *Trends Biochem. Sci.*, **2**, 35(1977)
13. Foote, C. S. : Quenching of singlet oxygen. In "Singlet oxygen" Wasserman, H. H. and Murray, R. W.(eds.), Academic Press, New York, p.139(1979)
14. Endo, Y., Usuki, R. and Kaneda, T. : Prooxidant activities of chlorophylls and their decomposition products on the photooxidation of methyl linoleate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 781(1984)
15. Fakourelis, N., Lee, E. C. and Min, D. B. : Effects of chlorophylls and β -carotene on the oxidative stability of olive oil. *J. Food Sci.*, **52**, 234(1987)
16. Usuki, R., Endo, Y. and Kaneda, T. : Prooxidant activities of chlorophylls and pheophytins on the photooxidation of edible oils. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 991(1984)
17. Frankel, E. N., Neff, W. E., Selke, E. and Weisleder, D. : Photosensitized oxidation of methyl linoleate : secondary and volatile thermal decomposition products. *Lipids*, **17**, 11(1982)
18. Neff, W. E., Frankel, E. N., Selke, E. and Weisleder, D. : Photosensitized oxidation of methyl linoleate monohydroperoxides : Hydroperoxy cyclic peroxides, dihydroperoxides, keto-esters and volatile thermal decomposition products. *Lipids*, **18**, 868(1983)
19. Neff, W. E., Frankel, E. N. and Weisleder, D. : Photosensitized oxidation of methyl linolenate : Secondary products. *Lipids*, **17**, 780(1982)
20. Terao, J. and Matsushita, S. : Products formed by photosensitized oxidation of unsaturated fatty acid esters. *J. Am. Chem. Soc.*, **54**, 234(1977)
21. Carlsson, D. J., Mendenhall, T., Sprunchuk, T. and Wiles, D. M. : Singlet oxygen quenching in the liquid phase by metal chelates. *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 8960 (1972)
22. Fahrenholtz, S. R., Doleiden, F. H., Trozollo, A. M. and Lamola, A. : On the quenching of singlet oxygen by α -tocopherol. *Photochem. Photobiol.*, **20**, 505(1974)
23. Foote, C. S., Ching, T-Y and Geller, G. G. : Chemistry of singlet oxygen. XVII. Rates of reaction and quenching of α -tocopherol and singlet oxygen. *Photochem. Photobiol.*, **20**, 511(1974)
24. Foote, C. S. and Denny, R. W. : Chemistry of singlet oxygen quenching by β -carotene. *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 6233(1968)
25. Grams, G. W. and Eskins, K. : Dye-sensitized photooxidation of tocopherols : Correlation between singlet oxygen reactivity and vitamin E activity. *Biochemistry*, **11**, 606(1972)
26. Lee, E. C. and Min, D. B. : Quenching mechanism of β -carotene on the chlorophyll sensitized photooxidation of soybean oil. *J. Food Sci.*, **53**, 1894(1988)
27. Lee, S. H. and Min, D. B. : Effects, quenching mechanisms, and kinetics of carotenoids in chlorophyll-sensitized photooxidation of soybean oil. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 1630(1990)
28. Lee, S. H. and Min, D. B. : Effects, quenching mechanisms, and kinetics of nickel chelates in singlet oxygen oxidation of soybean oil. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 642(1991)
29. Min, D. B. and Lee, E. C. : Factors affecting the singlet oxygen oxidation of soybean oil. In "Frontiers of flavor" Charalambous, G.(ed.), Elsevier, Amsterdam, p.473(1988)
30. Warner, K. and Frankel, E. N. : Effects of β -carotene on light stability of soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **64**, 213(1987)
31. Yamauchi, R. and Matsushita, S. : Quenching effects of tocopherols on the methyl linoleate photooxidation and their oxidation products. *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 1425(1977)
32. Daugherty, C. E. and Lento, H. G. : Chloroform-methanol extraction method for determination of fat in foods : Collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **66**, 927(1983)
33. 일본유지화학협회 : 일본기준유지시험법. 일본유지화학협회, 동경(1983)
34. Carpenter, A. P. Jr. : Determination of tocopherols in vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 668(1979)

35. Proctor, A. and Snyder, H. E. : Adsorption of lutein from soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **64**, 1163(1987)
36. King, R. L. : Oxidation of milk fat globule membrane material : 1. Thiobarbituric acid reaction as a measure of oxidized flavor in milk and model systems. *J. Dairy Sci.*, **45**, 1165(1962)
37. Parker, S. P. : McGraw-Hill encyclopedia of science and technology. MacGraw-Hill, New York(1982)
38. S.A.S. : Statistical analysis system user's guide. Cary, NC(1985)

(1996년 2월 27일 접수)