J. Korean Fish. Soc. 30(3), 355~360, 1997 한수지, 30(3), 355~360, 1997

# 진두발, 김 및 굴의 지질에 있어서 광증감 산화에 관한 연구

김귀식 · 小泉千秋* · 배태진
여수수산대학교 식품공학과 · *동경수산대학 식품생산학과

# Studies on Photosensitized Oxidation in the Lipids of Irish moss, Laver and Oyster

**Kui-Shik KIM, Chiaki KOIZUMI* and Tae-Jin BAE**
*Department of Food Science and Technology, Yosu National Fisheries University, Yosu 550-250, Korea*
**Department of Food Science and Technology, The Tokyo University of Fisheries, Konan 4, Minato, Tokyo 108, Japan*

**In order to investigate the influence of photosensitized oxidation in the sun-dried irish moss (*Chondrus Ocellatus*), laver (*Porphyra Yezoensis*) and ultra violet irradiated oyster (*Crassostrea gigas*), the oxidation of lipid and isomers of hydroperoxides were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry.**

**The lipid contents of oyster, irish moss and laver were 2.7%, 0.1%, 0.1% respectively. Peroxide value, 56.7 meq/kg in the raw oyster was increased of 100.9 meq/kg by the U.V, irradiation for 4 hours. Also the peroxide values of the irish moss and laver were increased by the sun-drying. In the identification of hydroperoxides isomers by trimethylsily (TMS) derivative of photo-oxidized lipid from oyster, irish moss and laver, the proportions of positional isomer, 9-OOH and 13-OOH were dominant than those 10-OOH and 12-OOH.**

**Key words** : hydroperoxide isomers, GC-MS, trimethylsilyl (TMS), positional isomers, peroxide value

## 서 론

식품에 함유된 지질의 산화는 산소, 햇빛 및 온도 등의 외적 요소 이외에 구성 성분인 단백질, 탄수화물, 무기질, 비타민류, 수분 및 색소 등의 종류나 함유 비율 등의 내적 요소, 혹은 식품의 대소, 형상, 조직형태 등 여러 가지 요인에 의해 좌우된다 (Kajimato et al., 1994).

지질의 산화에는 산소 종의 차이에 따라 자동 산화와 광증감 산화가 있다. 자동 산화는 분자상 산소 (3중항산소, $^3O_2$)가 불포화 지질에 작용하여 hydroperoxide를 생성하는 형태이고, 광증감 산화는 heme색소 단백질이나 chlorophyll과 같은 광증감제에 빛이 닿으면 색소가 여기되어 공존하는 3중항산소는 1중항산소 ($^1O_2$)로 되어 hydroperoxide를 생성하는 산화 형태이다. 자동 산화나 광증감 산화에 의해 생성된 hydroperoxide는 용이하게 분해되어 free radical을 생성한다. 따라서 지질 산화의 초기에는 자동 산화와 광증감 산화를 구별하는 것은 곤란하므로 위치 이성체로서 이들 산화를 구별할 수 있다 (Chan, 1977 ; Matsushita, 1982).

옛부터 김, 미역, 다시마 및 톳 등의 해조류는 주로 천일 건조에의해 식용으로 이용되어 왔으며, 이들은 천일 건조 과정 중에 불포화 지질이 자동 산화를 일으킨다는 것은 잘 알려져 있다 (Yoshie et al., 1994 ; Lee et al., 1987). 한편 이들 해조류는 chlorophyll을 다량 함유하고 있고 (Lee et al., 1987), 또한 굴은 먹이로서 chlorophyll을 함유한 식물성 plankton을 섭취하여 소화관 내에서 미분해의 chlorophyll이 축적되어 있으며 자외선 살균을 거쳐 생식용으로서 출하, 판매되고 있다.

Chlorophyll은 porphyrin환을 가지는 녹색 색소로서 일중항 산소에 의한 광증감 산화를 촉매 한다는 것이 알려져 있다 (Endo et al., 1984 a, b ; Rawl and Santen, 1970). 따라서 chlorophyll 공존 하에서 햇빛에 의해 여기된 일중항 산소가 불포화 지질을 산화함으로서 산화물의 중간체인 hydroperoxide를 생성하고, 더 나아가 2차 생성물인 저급 aldehyde, alcohol 및 ketone으로 분해됨으로서 제품의 품질저하의 원인이 될 것으로 생각된다.

광증감 산화에 대하여 Chan and Gordon (1977)이 methyl oleate를 이용하여 allylic hydroperoxide의 2개의 위치 이성체를 결정하였고, 또한 methyl linolenate와 methyl oleate의 광증감 산화를 erythrosine과 riboflavin과 같은 광증감제를 사용하여 산화 과정 중의 위치 이성체를 비교, 연구한 바 있다. 또한 Terao and Matsushita (1981)는 trioleoyl glycerol, trilinoleoyl glycerol, trilinolenoyl glycerol 및 채소 유인 triacyl glycerol의 광증감 산화를연구 하였으며, Endo et al. (1984 a)도 pheophytin의 존재하에 methyl linoleate를 광증감 산화시켜 4개의 위

치 이성체의 혼합물을 확인한바 있으나, 수산물을 이용한 광증감 산화에 관한 보고는 찾아볼 수 없었다. 따라서 본 연구에서는 수산물중 chlorophyll을 다량 함유하고 있는 해조류중 김과 진두발의 천일 건조 및 굴에 자외선을 조사시켜 광증감 산화시킨 시료의 총 지질의 과산화물가를 비교, 검토하였으며 아울러 광증감 산화에 의한 과산화물의 위치 이성체의 분리 및 조성을 측정하여 이들이 지질 초기의 산화에 어느 정도 역할을 하는가를 밝히는데 목적을 두었다.

## 재료 및 방법

### 재 료

본 연구에 사용된 굴, *Crassostrea gigas*은 1995년 4월 수산물 가공 공장(東京都品川)으로부터 IQF(개별동결)한 것을 구입하여 -40℃의 동결고에 저장하면서 분석 시료로 사용하였으며 시료의 평균중량은 10 g정도 였다. 진두발(*Chondrus Ocellatus*)은 1995년 9월 그리고 김(*Porphyra Yezoensis*)은 1995년 12월 일본 千葉縣 수산 시험장 수산 가공 실험실에서 구입하여 처리하였다. 즉 진두발과 김은 5 kg씩 발에 널어 하루 8시간씩 3일간 천일 건조시켜 잘게 분쇄한 후 각각 분석 시료로 사용하였다.

### 총 지질의 추출 및 함량 측정

진두발, 김 및 굴의 총 지질은 Bligh and Dyer (1959) 법에 의하여 추출하였으며, 추출중 산화방지를 위해 시료량에 대하여 BHT 200 ppm을 첨가하여 그 함량을 측정했다.

### 과산화물가 측정

굴의 과산화물가 측정 : 추출된 지질을 농축하여 chloroform : methanol (2 : 1)에 녹인후 이것을 둘로 나눠 한쪽은 얼음으로 0℃를 유지하면서 자외선 조사(형광 lamp, 90 LUX)로 1시간, 2시간, 3시간 및 4시간 동안 각각 광증감 산화시켜 과산화물가를 측정했다. 다른 한쪽은 비이커에 지질을 넣고 은박지에 잘 싸서 얼음속에 파묻고 1시간, 2시간, 3시간 및 4시간 동안 암소에 방치하면서 각각의 과산화물가를 측정했다. 과산화물가는 Champer and Mackay (1949)의 방법에 따라 시험관에 Benzene : methanol (7 : 3)의 혼합액 9.9 ml와 시료 지질을 넣고 $NH_4SCN$용액과 $FeCl_3$용액을 1방울씩 떨어뜨려 잘 혼합하였다. 이것을 510 nm의 파장에서 spectrophotometer (Shigma社, UV-160A)를 사용하여 흡광도를 측정하였고 검량선을 작성하여 과산화물가를 측정하였다.

해조류(진두발, 김)의 과산화물가 : 1일, 2일 및 3일간 천일건조한 시료의 지질을 추출하여 위에서와 같은 방법으로 과산화물가를 측정하였다.

### GC-MS에 의한 과산화물의 분석

광증감 산화시킨 지질 25 mg을 정평 하여 50 ml용 mass flask에 취해 지질 25 mg에 대해 1 mg의 비율로 내부표준물질($C_{23:0}$ methyl ester internal standard)를 가해, 진공회전 증발기에서 용매를 제거하였다. 여기에 $NaBH_4$

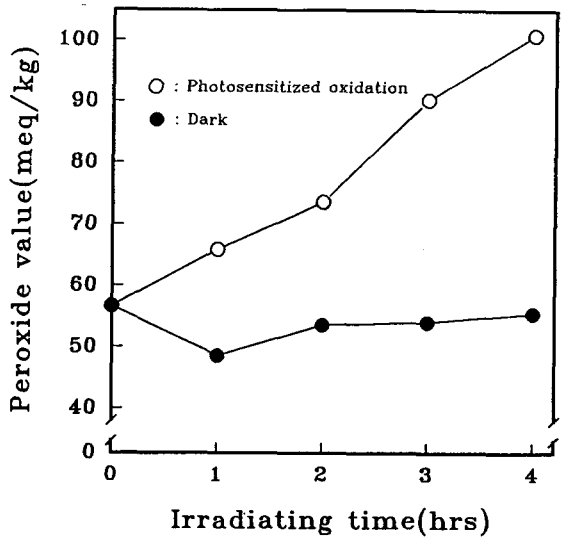


**Fig. 1. The effect of irradiating time on the peroxide value of lipid oxidation of oyster.**

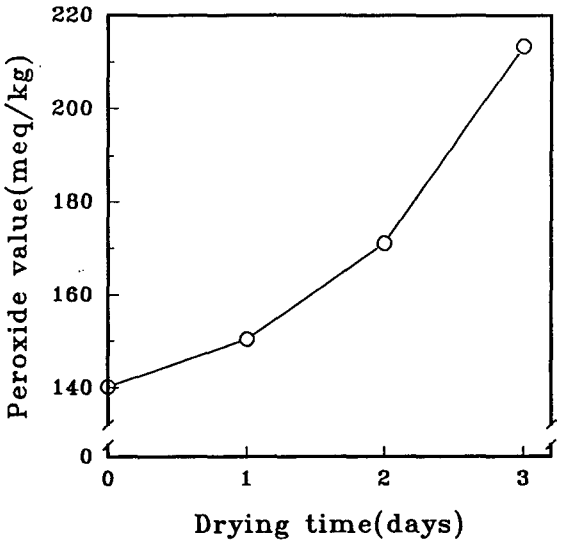


**Fig. 2. The effect of drying time on the peroxide value of irish moss under the sunlight.**

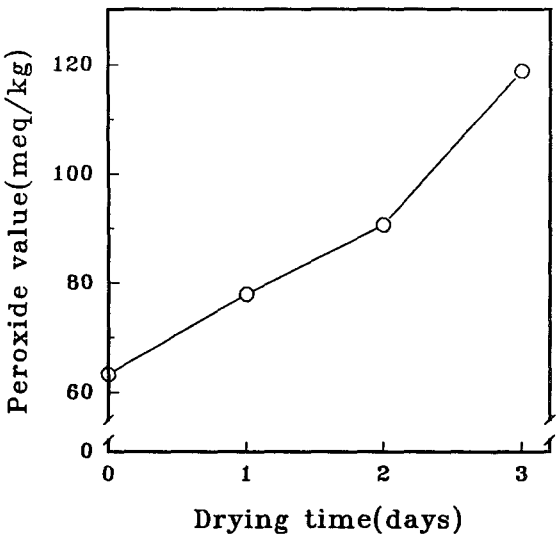


**Fig. 3. The effect of drying time under the sunlight on the peroxide value of laver.**

를 methanol에 용해시킨 것을 4 ml넣고 30분 방치하여 환원시켰다. 다음 촉매로서 $PtO_2$를 소량 넣어서 수소장치에 연결하여 2시간 수소첨가를하여 포화 alcohol로 만들고 여과하여 완전 농축후(30℃이하) 1N KOH-95% ethanol 용액 30 ml를 가하여 검화시키고 불검화물을 제거한 후 혼합 지방산을 얻었다. 혼합 지방산은 diazomethane 2 ml를 넣어 지방산 methyl ester로하여 30분 동안 방치후 질소로 건조시켜 n-hexane 0.2 ml, hexamethyl disilazane 0.2 ml 및 trimethyl chlorosilane 0.1 ml를 각각 넣어 유도체로 만들고 gas chromatography (GC)/mass spectrometry (MS)에 주입하여 분석하였다. (Nakamura and Toyomitu, 1982 ; Ohshima et al., 1993, Hamberg and Samuelsson, 1967). GC-MS의 분석조건중 GC (shimadzu GC-17APF)부분은 column : methyl silicone capillary column (25×0.25 mm i, d., film thickness 0.25$\mu$), 검출기온도 : 280℃, carrier gas : helium 60 ml/min, column온도 : 150℃→ 250℃ (5℃/min)로 하였고 MS (shimadzu MQ-SP 5000) 부분은 이온온도 : 280℃, 이온화전압 : 70eV, 가속전압 : 1.25KV로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 시료의 총 지질 함량

본 실험에서 시료로 사용한 굴의 총 지질 함량은 2.7%로서 이는 Yoon et al. (1986)이 굴, 피조개 및 진주담치의 총 지질 함량을 조사한 결과 굴에는 3.5% 함유되어 있다는 것과 비교시 그 함량이 적었으나 Son and Ha (1983)는 2매패인 참굴에는 1.8% 함유되어 있다는 것과 비교시 많았는데 이는 계절과 해역 및 수온에 따른 차이 때문으로 생각된다. 진두발 원조의 경우 총 지질 함량은 0.1%였고 김원조는 0.1%였다.

### 시료의 과산화물가

1. 굴의 과산화물가 : 자외선을 조사후 굴에 있어서 과산화물가의 변화는 Fig.1과 같다.

생시료의 경우 56.7 meq/kg이던 것이 자외선을 4시간 조사한 후에는 100.9 meq/kg으로 급격히 증가하여 산화

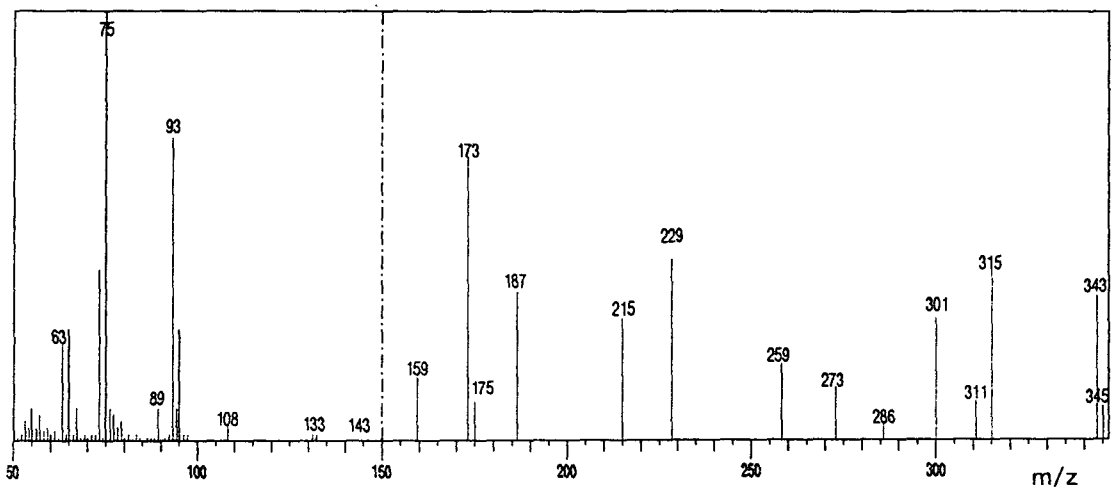


**Fig. 4. Mass spectrum of trimethylsilyl derivatives of hydroperoxide isomers in the oyster lipid irradiated the ultra violet for 3 hrs.**

가 진행되었음을 짐작 할수 있었다. 그러나 암소에 방치하였을 때 큰 변화를 나타내지 않았다. 이것은 Kajimoto et al. (1994)이 chlorophyll은 암소에서 항산화 작용이 있다고 하였는데 porphyrin 자체가 항산화능이 있는 것과 관련이 있기 때문으로 추측된다.

2. 진두발과 김의 과산화물가 : 1일, 2일 및 3일간 천일건조후의 진두발 및 김의 과산화물가는 Fig.2 및 Fig.3과 같다.

진두발의 경우 Fig.2에서와 같이 원조의 140.2 meq/kg에서 3일간 천일건조 후에는 213.4 meq/kg로 급격한 증가를 보였고, Fig.3의 김의 경우도 원조의 63.3 meq/kg에서 3일간 건조후에는 118.8 meq/kg으로 거의 2배로 증가하였다.

Endo et al. (1984 a)은 pheophytin과 chlorophyll이 함유된 methyl linoleate를 광조사시 산화를 촉진시켜 과산화물가가 급격히 증가하였으나 암소에서는 완만하였다고 하였다. 또한 pheophytin에 의한 일중항산소의 존재를 확인 하기위해 β-carotene이나 α-tocohperol과 같은 항산화제를 첨가시 광증감 산화가 억제 되었다고 보고 하였다. 지질산화의 초기 자동산화와 광증감산화는 위치 이성체로서 구별하수 있으므로 본 시료의 과산화물가 증가는 확실치 않으나 chlorophyll을 함유하고 있기 때문에 주로 광증감에 의한 산화라고 예측된다 (Chan, 1977 ; Matsushita, 1982).

### 광증감산화에 의한 과산화물 위치이성체의 조성

Fig.4는 굴의 총지질을 3시간 자외선 조사후 광증감산화시켜 trimethylsilyl (TMS) 유도체로 만든후 GC-MS로 분석한 chromatogram이다.

Fig.4에서와 같이 trimethylsilyl 유도체의 총 분자량이 229 m/z, 259 m/z, 215 m/z, 273 m/z, 186 m/z, 301 m/z, 173 m/z 및 315 m/z peak등의 분자 조각들이 분리 되었는데 이는 18:1 (n-9)와 18:2 (n-6)의 9-cis, trans와 10-cis, trans 이성체 및 18:2 (n-6)의 12-cis, trans와 13-cis, trans의 입체 이성체로 생각된다 (Matushita, 1982). 그러나 그 이외의 이성체는 확인 할수 없었다.

Table. 1은 Fig.4에서 분리한 굴의 18:2 (n-6)의 과산화물 위치이성체의 조성의 변화를 나타냈다.

**Table 1. Changes of composition of hydroperoxide isomers in the 18:2 (n-6) formed during the photosensetized oxidation of oyster lipid** (%)

| Composition | Irradiating time (hrs) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 9-OOH | 29.6 | 29.4 | 29.2 | 28.4 |
| 10-OOH | 14.6 | 14.6 | 14.8 | 16.2 |
| 12-OOH | 22.2 | 20.0 | 19.6 | 14.8 |
| 13-OOH | 33.6 | 35.6 | 36.4 | 40.6 |

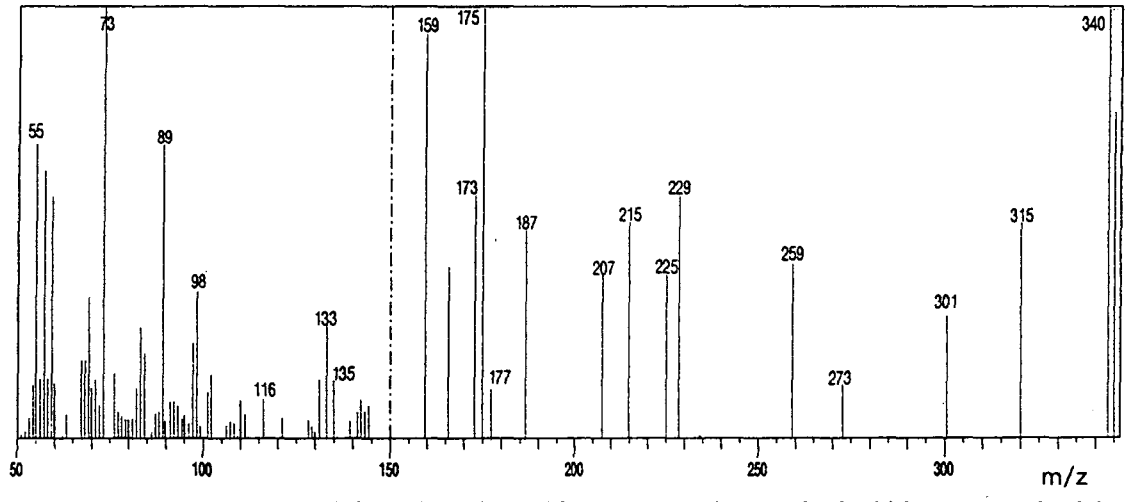


**Fig. 5. Mas spectrum of trimethylsilyl derivatives of hydroperoxide isomers in the irish moss sun-dried for 2 days.**

**Table 2. Changes of composition of hydroperoxide isomers in the 18:2 (n-6) formed during the photosensitized oxidation of irish moss and laver lipid** (%)

| | Dried days | Composition | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 9-OOH | 10-OOH | 12-OOH | 13-OOH |
| Inirish moss | 1 | 36.8 | 14.8 | 19.2 | 29.2 |
| | 2 | 36.3 | 15.2 | 18.1 | 30.4 |
| | 3 | 35.8 | 16.3 | 17.6 | 30.3 |
| Laver | 1 | 35.6 | 17.1 | 16.8 | 30.5 |
| | 2 | 34.8 | 18.6 | 16.0 | 30.6 |
| | 3 | 34.1 | 18.8 | 16.2 | 30.9 |

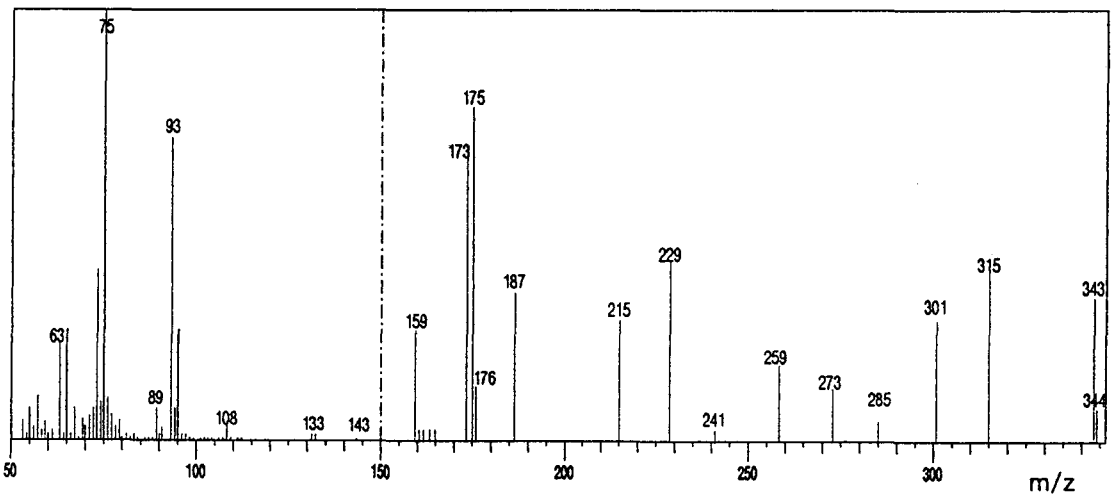


**Fig. 6. Mas spectrum of trimethylsilyl derivatives of hydroperoxide isomers in the laver sun-dried for 2 days.**

Table. 1에서와 같이 4개의 이성체가 분리되었는데 1시간 조사후 18:2 (n-6)의 과산화물 위치이성체인 9-OOH가 29.6%, 10-OOH가 14.6%, 12-OOH가 22.2% 그리고 13-OOH의 비율이 33.6%로서 9-OOH와 10-OOH의 비율이 비교적 높았다. 또한 조사 시간에 따라서 9-OOH와 12-OOH의 비율은 감소 하였고 10-OOH와 13-OOH의 비율은 다소 증가하는 경향을 보였다.

Fig. 5와 6은 진두발과 김의 총지질을 2일간 천일 건조후 광증감 산화시켜 trimethylsilyl (TMS) 유도체로 만든 후 GC-MS로 분석한 chromatogram이다. Fig. 4에서와 같이 18:1 (n-9)와 18:2 (n-6)로부터 생성된 것으로 추정되는 hydroperoxides의 입체이성체는 분리할수 있었으나 그외의 이성체는 확인 할수 없었다.

Table. 2는 Fig. 5와 6에서 분리한 진두발과 김에 있어서 18:2 (n-6)의 과산화물 위치이성체의 조성의 변화를 나타냈다. 진두발의 경우 1일동안 천일건조후 18:2 (n-6) 과산화물의 이성체인 9-OOH가 36.8% 그리고 13-OOH가 29.2%로서 이둘의 이성체의 비율이 높았다. 또한 건조기간이 길어짐에 따라서 9-OOH와 12-OOH의 비율이 다소 감소 하였고 10-OOH와 13-OOH의 비율은 다소 증가 하였다. 김의 경우도 진두발과 비슷한 경향을 보였다. 따라서 위의 결과로 미루어 보아 산화 초기 단계에서는 자동산화와 아울러 일중항산소가 과산화물을 생성하여 산화의 과정에 상당히 관여 한것으로 추측된다.

이와 같은 결과는 Matsushita (1982)가 광증감산화에 의해 생성한 monohydroperoxide (MHP)를 환원, 수소첨가 및 silyl화 한후 GC-MS로 위치이성체를 분석한 결과 18:1은 2종 18:2는 4종 및 18:3은 6종의 hydroperoxides 위치이성체가 생성된다고 보고 하였고, 이들 위치이성체의 비율은 18:1로 부터는 10-OOH, 18:2로 부터는 9와 13-OOH 및 18:3로 부터는 9와 16-OOH의 비율이 비교적 높았다고하여 본 시료와 유사하였으나, 본 시료에서는 18:3 (n-3)으로 부터의 hydroperoxides는 분리되지 않았다.

또한 Chan (1977)은 methyl linolenate와 methyl oleate를 광증감제인 erythrosine과 riboflavin을 사용하여 광증감 시킨 결과 methyl linolenate의 경우 9와 10, 12와 13 및 15와16 위치에 이성체을 갖고 있다고 하였다. 그리고

methyl oleate의 경우 9와 10 위치에 위치 이성체를 갖는다고 보고 하였다.

그리고 Terao and Matsushita (1981)는 trioleoyl glycerol (TO), trilinoleoyl glycerol (TL), trilinolenoyl glycerol (TLn) 및 채소유 TL을 시료로하여 methylene blue를 광증감제로서 광증감산화 시킨결과 위치이성체의 비율은 다르지만 위치 이성체의 종류는 Matsushita (1982)의 결과와 같았으며 본 실험과도 유사하였다.

그러나 본 시료에서는 18:1 (n-9)와 18:2 (n-6)이외의 지방산으로부터 생성된 위치이성체의 분리가 이루어지지 않았는데 그것은 아마도 본 연구에서는 일반시료를 그대로 사용한 결과 여러지방산이 혼재하였기 때문에 상대적으로 양이 많은 지방산인 18:1 (n-9), 18:2 (n-6)로부터 생성된 것만이 분리되었다고 생각된다. 따라서 이것을 좀더 심도있게 연구하기 위해서는 본 시료에서 18:1 (n-9), 18:2 (n-6) 및 18:3 (n-3) 등을 순수하게 분리하여 광증감산화시켜 GC-MS로 위치 이성체의 확인을 시도해야 할것으로 사료된다.

## 요 약

김, 미역, 다시마, 톳 등의 해조류는 chlorophyll을 다량 함유하고 있고 굴은 소화관 내에는 미분해의 chlorophyll이 축적되어 있다. chlorophyll은 일중항 산소에 의한 광증감 산화를 촉매 한다는 것이 알려져 있다. 따라서 홍조류인 김과 진두발의 천일건조 및 굴의 자외선 조사시 광증감 산화가 지질산화에 어느정도 기여하는가를 밝히기 위해 광증감 산화 시킨시료의 총 지질의 과산화물가를 비교, 검토 하였고 과산화물의 위치이성체의 조성을 측정하였다. 굴의 총 지질 함량은 2.7%였고, 또한 진두발과 김의 총 지질 함량은 각각 0.1%였다.

굴의 과산화물가는 생시료의 경우 56.7 meq/kg 이던 것이 4시간동안 자외선 조사 후에는 100.9 meq/kg으로 증가하였다. 진두발의 경우 원조의 140.2 meq/kg에서 3일간 천일건조후에는 213.4 meq/kg으로 증가 하였고, 김은 원조의 63.3 meq/kg에서 3일간 천일건조후에는 118.8 meq/kg으로 증가하여 산화가 진행되었음을 예측할수 있었다.

각 시료의 광증감 산화에 의해 생성한 과산화물의 위치이성체의 조성을 GC-MS로 측정한 결과 18:1 (n-9)와 18:2 (n-6)로부터 생성된 것으로 추정되는 위치 이성체를 분리하였다. 또한 9-OOH와 13-OOH의 비율이 비교적 높았으나 18:1 (n-9)와 18:2 (n-6)이외의 지방산으로부터 생성될 것으로 추정되는 위치이성체는 분리 확인할수 없었다.

## 참 고 문 헌

Bligh, E. G. and W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipids extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37, 911~917.

Champer & Mackay. 1949. Determination of Peroxide value. JAOCS. 26, 360~363.

Chan. H. W-S, and L. Gordon. 1977. Oxidation of methyl Oleate : Separation of isomeric methyl hydroperoxyoctadecenoates and methyl hydroxystearates by high performance liquid chromatography. Chemistry and Industry 20, 692~693.

Endo, Y., U. Riichiro., and K. Takashi. 1984 a. Pheophytin Sensitized Photoxidation of Methyl Linoleate. Yukagaku 33, 37~38.

Endo. Y., U. Riichiro., and K. Takashi. 1984 b. Prooxidant Activities of Chlorophylls and Their Decomposition Products on the Photooxidation of Methyl Linoleate. JAOCS. 61, 781~784.

Henry W. -S. CHAN. 1977. Photo-sensitized Oxidation of Unsaturated Fatty Acid Methyl Esters. The Identification of Different Pathways. J. Am. Oil Chem. Soc. 54, 100~104.

Kajimoto, G, M. Yamaguchi, S. Kasutani, H. Yoshida., and A.Shibahara. 1994. Influence of Synthetic Feed Colorants of Oxidative Deterioration of Oil. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 41, 793~796.

Lee, K. H., S. H. Song and I. H. Jeong. 1987. Quality changes of dried lavers during processing and storge. 1. Quality evaluation of different grades of dried lavers and its changes during storage. Bull. Korean. Fish. Soc., 20 (5), 408~418.

Ralph R. and P. J. Van Santen. 1970. A Possible Role for Singlet Oxygen in the Initiation of Fatty Acid Autoxidation. J. Am. Oil Chem. Soc. 47, 121~124.

Setsuro Matsushita. 1982. Oxidation Products of Unsaturated Fatty Acids. J. Japan. Soc Nutr. & Food Sci. 35, 375~390.

Son, Y. O. and B. S. Ha. 1983. Studies on the lipid composition in the species of shellfish. Korean J. Food & Nutrition, 12 (4), 407~419.

Terao. J., and S. Matsushita. 1981. Analysis of Photosensitized Oxidation Products of Unsaturated Triglycerides and Vegetable Oils by Gas Chromatography Mass Spectrometry. Agric. Biol. Chem. 45, 601~608.

Yoon, H. O,. H. S. Byun, S. J. Chun, S. B. Kim and Y. H. Park. 1986. Lipid composition of oyster, arkshell and sea-mussel. Bull. Korean Fish. Soc., 19 (4), 321~326.

Yoshie, Y., S. Takeshi, S. Takaaki., and H. Toshiyuki. 1994. Changes in the Contents of Dietary Fibers, Minerals, Free Amino Acids, and Fatty Acids during Processing of Dried Nori. Nippon Suisan Gakkaishi 60, 117~123.

鴻巢章二. 1984. 水產食品가營養. 恒星社厚生閣. 東京. pp.54.

1996년 8월 13일 접수
1997년 5월 6일 수리