

전자선 조사와 저장기간이 우육의 콜레스테롤 산화물질에 미치는 영향

이정일 · 민중석 · 김일석* · 박구부** · 이무하
서울대학교 동물자원과학과, *한국육류수출입협회, **경상대학교 축산학과

Effects of Electron-Beam Irradiation and Storage on Cholesterol Oxides Products of Beef Meat

Jeong-Ill Lee, Joong-Seok Min, Il-Suk Kim*, Gu-Boo Park** and Moo-ha Lee

Department of Animal Science & Technology, Seoul National University,

*Korea Meat Trade Association,

**Department of Animal Science, Gyeongsang National University

Abstract

Some commercial beef loins in raw state were packaged with PVDC as aerobic and vacuum condition. The other beef samples were cooked until core temperature arrived at 70°C and then packaged immediately in the same way as the raw state. These samples were irradiated by electron beam (0, 1, 2 kGy), and then stored in refrigerator (2~4°C). Identity and quantity of cholesterol oxides were analysed at the 0, 7th, 14th day of storage. In the samples that were raw and packaged aerobically, 7 α -hydroxycholesterol, β -epoxide, 7 β -hydroxycholesterol and 7-ketocholesterol were detected over 0.5 μ g/g. Cholestanetriol and α -epoxide were detected at levels below 0.5 μ g/g during storage. In the samples that were raw and vacuum-packaged, 7 α -hydroxycholesterol, 7-ketocholesterol and cholestanetriol were detected. In the samples that were cooked and packaged aerobically, cholestanetriol and α -epoxide were detected below 0.5 μ g/g during storage. 7 α -hydroxycholesterol, β -epoxide, 7 β -hydroxycholesterol and 7-ketocholesterol were detected as 1.53~26.81, 1.07~5.23, 40.64~101.30 and 7.16~33.91 μ g/g, respectively. In all results, total amounts of cholesterol oxide increased significantly as irradiation dose and storage time increased ($P < 0.05$).

Key words: cholesterol oxides products, electron-beam irradiation

서 론

콜레스테롤은 사람 및 동물조직의 주된 sterol 물질로서, free-radical 반응을 통하여 빛 및 산소가 존재하는 상태에서 자동산화될 일으키며, 산화물질은 60가지 이상 발생한다고 보고하였다⁽¹⁾. 이러한 산화물질들은 spray-drying, deep-fat-frying 및 저장기간의 연장과 같은 일반적인 가공조건에서 콜레스테롤이 포함된 식품에서 형성된다. 그리고 저장기간, 빛 및 공기의 접촉, 조리온도와 같은 요인들은 식품에서 콜레스테롤 산화물질의 발생에 중요한 작용을 한다. 콜레스테롤 산화물질은 계란 및 전조계란 제품, 우유 및 유제품, 육 및 육제품, 수산식품 및 가공제품 등에서 발견되었다⁽²⁾.

콜레스테롤 산화물질은 인간질병과 관련하여 산화물질들의 생물학적 작용때문에 상당한 주의를 받아왔다. 최근 연구자들은 어떤 종류의 산화물질들은 세포독성, 돌연 변이성, 축종성형성, 발암성을 유발한다고 보고하였으며, 또한 관상동맥질환 및 특정 암을 유발하는 촉진작용을 한다고 보고하였다^(3,9). 부가적으로 콜레스테롤 산화물질은 arachidonic acid 대사의 장애^(10,11) 및 콜레스테롤 생합성을 억제한다고 보고하였다^(3,5,12,13).

1985년 이후 난황^(6,14), 육⁽¹⁵⁻¹⁷⁾, 수산식품^(18,19)으로부터 콜레스테롤 산화물질의 분리 및 정량에 관한 많은 연구가 보고되었으며, γ -irradiation^(15,20-22), 저장^(23,24), 포장방법⁽²⁰⁾ 등 다양한 처리로 연구가 수행되어졌다.

본 연구의 목적은 첫째, TLC나 saponification의 단계없이 극성이 각기 다른 유기용매를 사용하여 빠르고 · 단순하고 · 정확한 분리의 방법을 이용하여 지질 내에 있는 콜레스테롤 산화물질을 추출, 정량하며 둘

Corresponding author: Jeong-Ill Lee, Department of Animal Science and Technology, College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

재, irradiation과 가열.저장조건이 식육과 가공제품의 콜레스테롤 산화물질의 발생종류와 발생량에 미치는 영향을 조사하고자 한다.

재료 및 방법

시약류

Cholesterol과 cholesterol oxide standard (>99% purity)는 정제된 고순도의 standard 구입하여 사용하였으며, cholesterol (cholest-5-en-3 β -ol), 5 α -cholestane (5 α -cholestane), 19-hydroxycholesterol (cholest-5-en-3 β -19-diol), 7 β -hydroxycholesterol (cholest-5-en-3 β ,7 β -diol), 20 α -hydroxycholesterol (5-cholestene-3 β ,20 α -diol), α -epoxide (5 α ,6 α -epoxycholestane-3 β -ol), β -epoxide (5 β ,6 β -epoxycholestane-3 β -ol), cholestanetriol (cholestane-3 β ,5 α ,6 β -triol), 25-hydroxycholesterol (cholestene-5-en-3 β -25-diol), 22-ketocholesterol (5-cholesten-3 β -ol-22-one), 6-ketocholesterol (5 β -cholestane-3 β -ol-6-one), 7-ketocholesterol (5-cholesten-3 β -ol-7-one)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, O)로부터 구입하였다. Butylatde hydroxytoluene(BHT) 또한 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)로부터 구입하였다. Bis-[trimethylsilyl] trifluoroacetamide (BSTFA)+1% trimethylchlorosilane (TMCS)는 Supelco Inc. (Bellefonte, PA)로부터 구입하였고, Celite 545와 calcium phosphate (CaHPO₄·2H₂O)는 Fisher Scientific Co. (Malvern, PA), 그리고 silicic acid (100~200 mesh)는 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI)로부터 구입하였다. Hexane, Ethyl acetate, Ethyl ether, Acetone과 Methanol은 Fisher Scientific Co. (Malvern, PA)로부터 HPLC 등급을 구입하였다. 그리고 다른 모든 solvents들은 glass-distilled 하여 사용하였다.

실험재료

실험재료는 시중에서 판매되는 우육(등심) 부위를 이용하였다. 실험재료를 구입한 후 grinder를 이용하여 3 mm plate로 2회 균질한 다음 생육 시료는 호기적 조건에서 PVDC 필름 포장과 PVDC 필름 진공 포장하였다. 실험재료의 전자선 조사는 삼성중공업(주)중앙연구소 내 전자선 가속기를 이용하여 실온에서 1 MeV의 에너지 수준으로 총 흡수선량이 1 kGy와 2 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 전자선의 투과 깊이가 4 mm이기 때문에 위면과 아래면을 각각 1회씩 조사하였다. 전자선 조사 처리된 시료는 비조사 대조시료와 함께 2~4°C의 냉장실에서 보관하면서 저장기간 별(0, 7, 14일)로 실험에 사용하였다. 가열 시료는

oven에서 육 내부가 70°C가 될 때까지 가열한 다음 PVDC 필름을 이용하여 합기포장과 진공포장을 즉시 실시한 후 생육 시료와 같은 조건으로 전자선 조사를 실시한 다음 2~4°C의 냉장실에서 보관하면서 생육 시료와 같은 저장기간별로 cholesterol oxides 생성물의 발생 종류와 발생량을 조사하였다.

지질추출

우육 시료의 지질 추출은 Folch 등⁽²⁵⁾의 방법에 따라 수행하였다. 육 sample 10 g 내외를 50 mL test tube에 넣고 Folch I solution (CHCl₃:CH₃OH=2:1) 30 mL와 BHT (7.2%) 50 μ L를 첨가한 후 polytron를 이용하여 균질화하였다. 균질화한 후 Folch solution 10 mL로 polytron을 세척하였으며, 뚜껑을 단단히 막고 냉장온도에서 2시간동안 방치하였다. 100 mL 메스실린더를 이용하여 균질액을 여과시키고 여과액의 25% 분량을 0.88% NaCl solution을 첨가한 다음 마개를 막고 10회 이상 강하게 흔들어서 주었다. 메스실린더의 내부는 Folch II solution (CHCl₃:CH₃OH:H₂O=3:47:48) 10 mL로 세척하였다. 층 분리가 완전히 이루어진 다음 상층(물과 CH₃OH)을 제거하고, 하층인 CHCl₃은 50°C인 hot plate 위에서 제거하였다. 제거시키는 동안 6-point mini-vap을 이용하여 N₂로 flushing하였다. 추출된 지질은 사용하기 전에 hexane으로 용해한 후 사용하였다.

Cholesterol oxides 생성물 분석

Column 준비: Zubillaga와 maerker⁽¹⁷⁾ 그리고 Park과 Addis⁽²⁶⁾의 cholesterol oxides의 분리를 위한 column chromatography method에 의하여 준비하였다. Silicic acid (100 mesh), celite 545, 그리고 CaHPO₄·2H₂O를 10:9:1로 잘 섞고 chloroform을 첨가하여 혼합물을 만든 다음 glass column (12 mm×30 cm)에 충전하였다. Sample을 column에 넣고 실험하기 이전에 10 mL hexane:ethyl acetate (9:1 v/v, solvent I)를 첨가하였다.

시료 준비: Folch solution (0.2~0.5 g oil per sample)으로 추출된 지질을 column에 0.2 g 넣은 후, 중성지질과 cholesterol (phospholipids)을 제거시키기 위하여 50 mL solvent I과 60 mL solvent II (hexane:ethyl acetate=4:1)를 column에 통과시켰다. Column 속에 있는 cholesterol oxides을 추출하기 위하여 40 mL solvent III (acetone:ethyl acetate:methanol=50:50:5)를 1 mL/min의 유속으로 흐르게 하여 회수하였다. 최종 회수한 solvent III는 질소 증진을 하면서 50°C hot plate에서 건조시켰다. 최종 건조된 cholesterol oxides에 200 μ L pyridine과 100 μ L sylon BFT(Bis-[trimethylsilyl])

trifluoroacetamide (BSTFA)+1% trimethylchlorosilane (TMCS))를 첨가하여 80°C에서 1시간 동안 가열하여 BSTFA/TMCS 유도체를 만들었다.

GLC-분석

Cholesterol oxides의 분석은 capillary column injection과 FID detection이 설치된 Hewlett Packard (HP) 5890 Plus를 가지고 수행하였다. Column은 0.32 mm I.D.×30 μm length ×0.33 μm film thickness (Supelcowax 10 column)을 사용하였다. Carrier gas는 helium을 사용하였으며, 유속은 1.6 mL/min로 하였다. 그리고 head pressure는 14.0 psi, oven의 initial 온도는 70°C이며, 0.5분간 유지시킨 후, 분당 40°C씩 증가시켜 275°C까지 증가시킨 후 0.5분간 유지시킨 후 분당 2°C씩 증가시켜 280°C까지 온도를 상승시켰다. Injection과 detector 온도는 300°C였고, 시료의 주입량은 0.5 μL이었다.

통계분석

SAS⁽²⁷⁾ 통계 프로그램을 이용하여 분산분석과 Duncan의 다중검정을 수행하였다.

결과 및 고찰

5α-cholestane을 internal standard로 하여 11종의 cholesterol oxides standards를 TMCS 유도체로 만든 후 혼합하여 만든 gas chromatogram이 Fig. 1에 나타내었다.

Cholesterol과 7α-hydroxycholesterol^(26,28) 그리고 5,6-epoxides의 이성체와 같은 어떤 COPs (cholesterol oxides products) 또는 overlapping pairs들은 capillary GC에서는 완전 분리가 어렵고, COPs의 정량이 대부분 어렵다.

본 연구의 초기 단계에는 HP-1, HP-5, DB-1, 및 DB-5 등의 non polar capillary column을 사용하여 standard의 retention time 작업을 하였으나 일부 standard들이 서로 같은 retention time을 보여 어떤 standard인지 알 수가 없었다. Park과 Addis⁽²⁶⁾의 연구 결과와 같이 cholesterol, 19-hydroxycholesterol, 7β-hydroxycholesterol의 분리가 불가능하였으며, 또한 6-ketocholesterol과 7-ketocholesterol의 retention times이 같은 결과를 보였다. Smith⁽¹⁾는 cholesterol oxides products가 60여종 이상이 된다고 보고하였는데, 각종 COPs들의 물리적 특성이 모두 다르기 때문에 분리시 특성에 맞는 적합한 column의 선택이 필요하다고 판단된다.

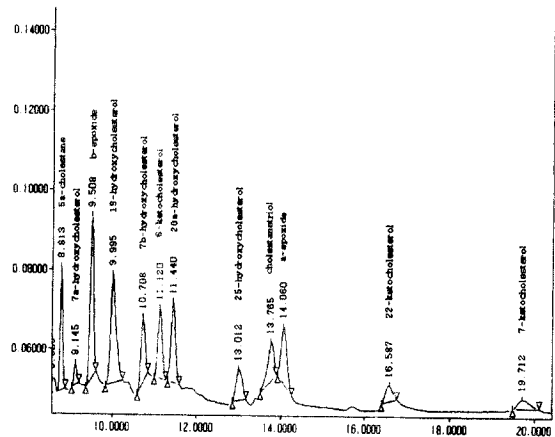


Fig. 1. Gas chromatogram of BSTFA/TMCS derivatives of cholesterol oxides standards. A: 5α-cholestane, B: 7α-hydroxycholesterol, C: β-epoxide, D: 19-hydroxycholesterol, E: 7β-hydroxycholesterol, F: 6-ketocholestanol, G: 20α-hydroxycholesterol, H: 25-hydroxycholesterol, I: cholesterol, J: α-epoxide, K: 22-ketocholesterol, L: 7-ketocholesterol. GC conditions as described under Materials and Methods.

이런 문제점을 해결하고자 본 연구에서는 supelcowax 10 capillary column을 선택한 결과 12종의 standard 물질을 혼합하여 GC에 injection하였을 때 서로 겹치지 않고 완전히 분리할 수 있었다.

11종의 cholesterol oxides는 5α-cholestane을 internal standard로 하여 Table 1에 있는 cholesterol oxides들이 이 연구에서 조사하였다.

일반적으로 6-ketocholesterol은 cholesterol의 auto-oxidation 과정에서 형성되지 않는다고 보고되었다⁽¹⁾. 그러나 Maerker과 Jones⁽²¹⁾은 α,β-epoxide를 irradiation 한결과 6-ketocholesterol이 생성된다고 보고하였으며, 또한 irradiation에 의하여 6-ketocholesterol이 발생하기 때문에 epoxide와 7-ketocholesterol의 GC 분석을 위한 internal standard는 5α-cholestane을 사용하였다. Hwang과 Maerker⁽¹⁵⁾도 돼지의 비장(지라)과 가공된 육 제품에서도 6-ketocholesterol이 존재한다고 보고하였으며, 특히 fresh red meat에서는 6-ketocholesterol이 대부분 검출되었으며, irradiation한 후에는 6-ketocholesterol이 증가한다고 보고하였다.

예전에는 6-ketocholesterol이 cholesterol oxides 생성물이 아니라고 단정짓고 internal standard로 사용하였으나⁽²⁹⁾, 그러나 본 연구에서는 5α-cholestane을 internal standard로 사용하였으며, 5α-cholestane과 관계되는 여러 가지 sterols의 retention time과 relative retention time은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Retention time and relative retention time for cholesterol oxides products

Peak no.	COPs	Retention time (min)	Relative retention ¹⁾ time (min)
1	5 α -cholestane (IS)*	8.813	1.00
2	7 α -hydroxycholesterol	9.145	1.04
3	β -epoxide	9.508	1.08
4	19-hydroxycholesterol	9.995	1.13
5	7 β -hydroxycholesterol	10.708	1.22
6	6-ketocholestanol	11.120	1.26
7	20 α -hydroxycholesterol	11.440	1.30
8	25-hydroxycholesterol	13.012	1.48
9	cholestanetriol	13.765	1.56
10	α -epoxide	14.060	1.60
11	22-ketocholesterol	16.587	1.88
12	7-ketocholesterol	19.712	2.24

¹⁾ Retention time relative to the internal standard (IS), 5 α -cholestane.

가열하지 않은 우유 등심을 합기포장하여 전자선 조사량과 저장기간의 경과에 따른 콜레스테롤 산화물질의 발생 종류와 발생량을 조사한 결과는 Table 2에 나타내었다. 저장 0일째 β -epoxide의 발생량은 trace (0.5 μ g/g 이하)였지만 저장 7일째는 대조구가 1.46, 1 kGy irradiation 처리구가 1.83, 2 kGy irradiation 처리구가 1.90 μ g/g 발생되었으며, 저장 14일째는 2.61, 4.36, 3.63 μ g/g으로 저장기간이 경과함에 따라 발생량이 유의적으로 증가하였고, 조사량이 증가함에 따라 대조구에 비하여 발생량이 유의적으로 증가하였다. Li 등⁽²⁴⁾은 분무-건조된 난황분말의 콜레스테롤 산화물질의 초기 함량은 7~10 ppm 정도이며 저장기간이 경과함에 따라 증가한다고 보고하였다. 이는 실험의 결과와 일치하는 경향이였다.

Cholestanetriol과 α -epoxide는 전 저장기간 동안 trace (0.5 μ g/g 이하) 정도 발생하였다. 그러나 19-hydroxycholesterol, 6-ketocholesterol, 20 α -hydroxycholesterol, 25-hydroxycholesterol, 22-ketocholesterol은 전 처리구와 전 저장기간 동안 검출되지 않았다. Lai 등⁽²⁵⁾은 계란 분말에서 5가지 콜레스테롤 산화물질을 (α -와 β -epoxides, 7 α -와 7 β -hydroxycholesterol, 그리고 7-ketocholesterol) 분리하였는데, 본 실험에서 발생된 종류와 일치하였다. Nourooz-Zadeh와 Appelqvist⁽¹⁷⁾는 저장동안 동량 또는 5~10:1의 비율로 α -epoxide보다 β -epoxide가 많이 발생한다고 보고하였다.

처리구에 따른 콜레스테롤 산화물질의 전체 발생량은 0일째 대조구가 13.00, 1 kGy irradiation 처리구가 22.82, 2 kGy irradiation 처리구가 33.69 μ g/g 발생되어 irradiation 처리가 콜레스테롤 산화를 촉진하며 조사

수준이 증가할수록 산화가 촉진되어 콜레스테롤 산화물질이 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$). 저장기간에 따른 콜레스테롤 산화물질의 전체 발생량의 변화에 있어서는 저장기간이 경과함에 따라 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$).

가열하지 않은 우유 등심을 진공포장하여 전자선 조사량과 저장기간의 경과에 따른 콜레스테롤 산화물질의 발생 종류와 발생량을 조사한 결과는 Table 3에 나타내었다. 저장 0일째와 7일째는 7 α -hydroxycholesterol, β -epoxide, cholestanetriol, α -epoxide, 7-ketocholesterol은 trace (0.5 μ g/g 이하)였고, 저장 14일째 β -epoxide는 대조구가 1.97, 1 kGy irradiation 처리구가 1.83, 2 kGy irradiation 처리구가 1.90 μ g/g 발생되었다. 7 β -hydroxycholesterol은 전 처리구에서 발생되었으며, irradiation 수준이 증가할수록 유의적으로 증가하였으며($P < 0.05$), 저장기간이 경과할수록 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$). 19-hydroxycholesterol, 6-ketocholesterol, 20 α -hydroxycholesterol, 25-hydroxycholesterol, 22-ketocholesterol은 전 처리구와 전 저장기간 동안 검출되지 않았다. Ohshima 등⁽¹⁶⁾은 콜레스테롤의 가장 대표적인 산화 분해 산물은 7 β -hydroxycholesterol과 7-ketocholesterol이라고 보고하였다. 본 연구의 결과에서는 7-ketocholesterol의 발생량보다는 7 β -hydroxycholesterol의 양이 더 많이 발생하였다. Huber 등⁽²³⁾은 저장동안 콜레스테롤 산화물질의 수준은 일반적으로 증가하며, 특히 7-ketocholesterol이 증가한다고 보고하였다. Emanuel 등⁽⁶⁰⁾은 분무건조된 계란 분말에서 4가지 콜레스테롤 산화물질을(α -와 β -epoxides, 7 β -hydroxycholesterol, 그리고 7-ketocholesterol)을 발견하였다고 보고하였는데, 본 연구에서는 4가지외에 7 α -hydroxycholesterol이 더 발생하였다.

처리구에 따른 콜레스테롤 산화물질의 전체 발생량은 0일째 대조구가 8.02, 1 kGy irradiation 처리구가 10.11, 2 kGy irradiation 처리구가 15.76 μ g/g 발생되어 irradiation 처리가 콜레스테롤 산화를 촉진하며 조사 수준이 증가할수록 산화가 촉진되어 콜레스테롤 산화물질이 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$). Irradiation 처리 후 저장된 우유의 콜레스테롤 산화물질의 발생량은 무처리 우유에 비하여 유의적으로 높다고 보고하였다⁽¹⁵⁾. 저장기간에 따른 콜레스테롤 산화물질의 전체 발생량의 변화에 있어서는 저장기간이 경과함에 따라 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$).

우유 등심을 가열직후 합기포장하여 전자선 조사량과 저장기간의 경과에 따른 콜레스테롤 산화물질의 발생 종류와 발생량을 조사한 결과는 Table 4에 나타

Table 2. Identification and quantification of cholesterol oxides products in raw beef meat with aerobic package¹⁾

COPs	Storage period (day)						
	0		7		14		2
Treatments (kGy)	0	1	2	0	1	2	0
7 α -hydroxycholesterol	1.23 \pm 0.1 ^{Bc}	2.50 \pm 0.2 ^{Cb}	3.64 \pm 0.3 ^{Ca}	1.46 \pm 0.1 ^{Bc}	5.54 \pm 0.2 ^{Bb}	5.87 \pm 0.1 ^{Ba}	2.32 \pm 0.2 ^{Ac}
β -epoxide	tr ^c	tr ^c	tr ^c	1.46 \pm 0.1 ^{Bb}	1.83 \pm 0.25 ^{Ba}	1.90 \pm 0.2 ^{Ba}	2.61 \pm 0.1 ^{Ac}
19-hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0
7 β -hydroxycholesterol	11.77 \pm 1.1 ^{Bc}	17.01 \pm 0.8 ^{Cb}	23.07 \pm 0.6 ^{Ba}	16.47 \pm 0.6 ^{Ab}	45.82 \pm 1.5 ^{Ab}	47.47 \pm 2.7 ^{Ba}	16.49 \pm 0.5 ^{Ac}
6-ketocholesterol	0	0	0	0	0	0	0
20 α -hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0
25-hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0
Cholestanetriol	tr ²⁾	tr	tr	tr	tr	tr	tr
α -epoxide	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22-ketocholesterol	0	0	0	0	0	0	0
7-ketocholesterol	tr ^f	3.31 \pm 0.4 ^{Cb}	6.98 \pm 0.6 ^{Ba}	tr ^f	5.52 \pm 0.3 ^{Bb}	7.91 \pm 0.3 ^{Ba}	tr ^f
Total amounts	13.00 \pm 1.1 ^{Cc}	22.82 \pm 1.2 ^{Cb}	33.69 \pm 0.3 ^{Ca}	19.39 \pm 0.4 ^{Bc}	58.71 \pm 1.8 ^{Ab}	63.15 \pm 2.4 ^{Ba}	21.42 \pm 0.2 ^{Ac}

¹⁾Results are expressed in micrograms per gram of oil for the cholesterol oxides products.

²⁾tr=trace (below 0.5 μ g/g).

^{A,B,C}Means \pm SD not sharing a common superscript in the same raw in the same treatment are significantly different (P < 0.05).

^{a,b,c}Means \pm SD not sharing a common superscript in the same raw in the storage days are significantly different (P < 0.05).

Table 3. Identification and quantification of cholesterol oxides products in raw beef meat with vacuum package¹⁾

COPs	Storage period (day)						
	0		7		14		2
Treatments (kGy)	0	1	2	0	1	2	0
7 α -hydroxycholesterol	tr ²⁾	tr ^B	tr	tr	tr ^B	tr	tr
β -epoxide	tr ^B	tr ^B	tr ^B	tr ^B	tr ^B	tr ^B	1.97 \pm 0.1 ^{Ab}
19-hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0
7 β -hydroxycholesterol	8.02 \pm 1.9 ^{Bb}	10.11 \pm 1.0 ^{Bb}	15.76 \pm 1.2 ^{Ca}	9.69 \pm 0.3 ^{Bc}	24.81 \pm 0.9 ^{Ab}	31.81 \pm 0.6 ^{Ba}	12.14 \pm 0.8 ^{Ac}
6-ketocholesterol	0	0	0	0	0	0	0
20 α -hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0
25-hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0
Cholestanetriol	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
α -epoxide	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22-ketocholesterol	0	0	0	0	0	0	0
7-ketocholesterol	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Total amounts	8.02 \pm 1.9 ^{Bb}	10.11 \pm 1.1 ^{Cb}	15.76 \pm 1.2 ^{Ca}	9.69 \pm 0.3 ^{Bc}	24.81 \pm 1.0 ^{Bb}	31.81 \pm 0.6 ^{Ba}	14.11 \pm 0.8 ^{Ac}

¹⁾Results are expressed in micrograms per gram of oil for the cholesterol oxides products.

²⁾tr=trace (below 0.5 μ g/g).

^{A,B,C}Means \pm SD not sharing a common superscript in the same raw in the same treatment are significantly different (P < 0.05).

^{a,b,c}Means \pm SD not sharing a common superscript in the same raw in the storage days are significantly different (P < 0.05).

Table 4. Identification and quantification of cholesterol oxides products in cooked beef meat with aerobic package¹⁾

COPs	Storage period (day)														
	0				7				14						
Treatments (kGy)	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2
7 α -hydroxycholesterol	2.23±0.1 ^b	5.61±0.1 ^c	1.53±0.1 ^c	14.18±0.6 ^{bc}	26.81±0.4 ^a	23.28±0.8 ^{ab}	14.87±0.2 ^{bc}	13.60±0.2 ^{bc}	20.52±0.3 ^{bc}	14.87±0.2 ^{bc}	13.60±0.2 ^{bc}	20.52±0.3 ^{bc}	14.87±0.2 ^{bc}	13.60±0.2 ^{bc}	20.52±0.3 ^{bc}
β -epoxide	1.07±0.1 ^c	1.30±0.3 ^b	1.13±0.2 ^c	4.70±0.2 ^a	3.77±0.4 ^{ab}	3.59±0.2 ^{bc}	3.64±0.5 ^{bc}	4.33±0.2 ^{ab}	5.23±0.2 ^a	3.64±0.5 ^{bc}	4.33±0.2 ^{ab}	5.23±0.2 ^a	3.64±0.5 ^{bc}	4.33±0.2 ^{ab}	5.23±0.2 ^a
19-hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 β -hydroxycholesterol	40.64±1.0 ^{bc}	47.83±0.8 ^{bc}	71.22±1.4 ^{bc}	65.40±1.8 ^{bc}	83.20±0.8 ^{bc}	101.30±2.6 ^a	63.08±1.9 ^{bc}	82.24±0.7 ^a	74.07±1.4 ^{bc}	63.08±1.9 ^{bc}	82.24±0.7 ^a	74.07±1.4 ^{bc}	63.08±1.9 ^{bc}	82.24±0.7 ^a	74.07±1.4 ^{bc}
6-ketocholesterol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 α -hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25-hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cholestanetriol	tr ^{b)}	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
α -epoxide	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22-ketocholesterol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7-ketocholesterol	7.16±1.3 ^{bc}	9.83±0.3 ^{cb}	12.35±1.1 ^{ca}	21.74±1.2 ^{ac}	25.68±0.8 ^{bc}	27.73±0.9 ^{bc}	23.61±0.5 ^{ab}	19.41±0.3 ^{bc}	33.91±0.3 ^a	23.61±0.5 ^{ab}	19.41±0.3 ^{bc}	33.91±0.3 ^a	23.61±0.5 ^{ab}	19.41±0.3 ^{bc}	33.91±0.3 ^a
Total amounts*	51.18±0.9 ^{bc}	64.57±0.7 ^{cb}	86.23±2.2 ^{ca}	106.02±2.7 ^{ac}	139.46±1.6 ^{bc}	155.90±3.0 ^a	105.20±1.4 ^{bc}	119.58±1.0 ^{bc}	133.73±2.0 ^{bc}	105.20±1.4 ^{bc}	119.58±1.0 ^{bc}	133.73±2.0 ^{bc}	105.20±1.4 ^{bc}	119.58±1.0 ^{bc}	133.73±2.0 ^{bc}

¹⁾Results are expressed in micrograms per gram of oil for the cholesterol oxides products.

²⁾tr=trace (below 0.5 μ g/g).

^{a,b,c}Means \pm SD not sharing a common superscript in the same raw in the same treatment are significantly different (P < 0.05).

^{a,b,c}Means \pm SD not sharing a common superscript in the same raw in the storage days are significantly different (P < 0.05).

Table 5. Identification and quantification of cholesterol oxides products in cooked beef meat with vacuum package¹⁾

COPs	Storage period (day)														
	0				7				14						
Treatments (kGy)	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2	0	1	2
7 α -hydroxycholesterol	1.76±0.1 ^c	1.71±0.1 ^c	1.87±0.2 ^c	3.43±0.3 ^{ab}	3.45±0.4 ^{bc}	5.29±0.1 ^{bc}	2.89±0.1 ^b	3.97±0.1 ^a	3.15±0.9 ^a	3.43±0.3 ^{ab}	3.45±0.4 ^{bc}	5.29±0.1 ^{bc}	2.89±0.1 ^b	3.97±0.1 ^a	3.15±0.9 ^a
β -epoxide	tr ^c	tr ^c	tr ^c	1.54±0.3 ^{bc}	0.74±0.2 ^{bc}	2.10±0.2 ^{bc}	2.19±0.3 ^{ab}	3.05±0.1 ^a	3.09±0.2 ^a	1.54±0.3 ^{bc}	0.74±0.2 ^{bc}	2.10±0.2 ^{bc}	2.19±0.3 ^{ab}	3.05±0.1 ^a	3.09±0.2 ^a
19-hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 β -hydroxycholesterol	9.57±1.1 ^{cb}	17.21±0.8 ^{ca}	20.00±2.5 ^{ca}	13.46±0.8 ^{bc}	22.91±0.4 ^{bc}	36.08±1.2 ^{bc}	16.76±0.7 ^{bc}	32.08±2.5 ^{ab}	61.32±0.4 ^a	13.46±0.8 ^{bc}	22.91±0.4 ^{bc}	36.08±1.2 ^{bc}	16.76±0.7 ^{bc}	32.08±2.5 ^{ab}	61.32±0.4 ^a
6-ketocholesterol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 α -hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25-hydroxycholesterol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cholestanetriol	tr ^{b)}	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
α -epoxide	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22-ketocholesterol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7-ketocholesterol	4.18±0.2 ^{bc}	3.82±0.4 ^{cb}	5.19±0.6 ^{ca}	6.23±0.3 ^{ac}	6.71±0.2 ^{bc}	7.19±0.2 ^{bc}	6.21±0.3 ^{ac}	9.17±0.4 ^{ab}	9.97±0.2 ^a	6.23±0.3 ^{ac}	6.71±0.2 ^{bc}	7.19±0.2 ^{bc}	6.21±0.3 ^{ac}	9.17±0.4 ^{ab}	9.97±0.2 ^a
Total amounts*	15.51±1.2 ^{ca}	22.74±1.2 ^{cb}	27.06±2.4 ^{ca}	24.66±0.9 ^{bc}	33.81±0.4 ^{bc}	50.66±1.5 ^{bc}	28.05±1.2 ^{ac}	48.27±3.0 ^{ab}	77.53±0.8 ^a	24.66±0.9 ^{bc}	33.81±0.4 ^{bc}	50.66±1.5 ^{bc}	28.05±1.2 ^{ac}	48.27±3.0 ^{ab}	77.53±0.8 ^a

¹⁾Results are expressed in micrograms per gram of oil for the cholesterol oxides products.

²⁾tr=trace (below 0.5 μ g/g).

^{a,b,c}Means \pm SD not sharing a common superscript in the same raw in the same treatment are significantly different (P < 0.05).

^{a,b,c}Means \pm SD not sharing a common superscript in the same raw in the storage days are significantly different (P < 0.05).

내었다.

가열처리하지 않은 신선 난황 분말에는 6~11 ppm 정도 콜레스테롤 산화물이 포함되어 있지만 가열 후에는 150~290 ppm으로 콜레스테롤 산화물이 증가하였다고 보고하였다⁽²⁴⁾. 가열 후 전자선 조사된 우유 등심을 합기포장하여 저장한 결과는 Table 2와 3의 콜레스테롤 발생량에 많은 차이가 있는데, 이는 Li 등⁽²⁴⁾의 보고와 일치하였다. 전 처리구와 전 저장기간동안 7 β -hydroxycholesterol이 가장 많이 발생하였으며, 다음으로 7-ketocholesterol, 7 α -hydroxycholesterol, β -epoxide 순이었다. Cholestanetriol과 α -epoxide는 전 저장기간 동안 trace (0.5 μ g/g 이하)였다. 그리고 생육 sample과 마찬가지로(Table 2와 3) 19-hydroxycholesterol, 6-ketocholesterol, 20 α -hydroxycholesterol, 25-hydroxycholesterol, 22-ketocholesterol은 전 처리구와 전 저장기간 동안 검출되지 않았다. Cholesta-3,5-dien-7-one는 7-ketocholesterol로부터 인공적으로 유래되며, 그리고 cholestanetriol은 분석절차 동안 epoxide의 분해로부터 발생한다고 보고하였다^(1,31).

처리구에 따른 콜레스테롤 산화물의 전체 발생량은 0일째 대조구가 51.18, 1 kGy irradiation 처리구가 64.57, 2 kGy irradiation 처리구가 86.27 μ g/g 발생되어 irradiation 처리가 콜레스테롤 산화를 촉진하며 조사 수준이 증가할수록 산화가 촉진되어 콜레스테롤 산화물이 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$). 10 kGy의 조사량으로 닭고기에 전자선 조사시 6-ketocholesterol의 발생량이 조사하지 않은 육에 비하여 4배이상 발생된다고 보고하였는데, 이는 연구에서는 2 kGy 수준까지 조사시 6-ketocholesterol이 발생되지 않았다. Irradiation 처리 후 저장된 육의 콜레스테롤 산화물의 발생량은 무처리 육에 비하여 유의적으로 높다고 보고하였는데⁽¹⁵⁾, 본 연구와 일치하였다. 저장기간에 따른 콜레스테롤 산화물의 전체 발생량의 변화에 있어서는 저장기간이 경과함에 따라 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$). Pie 등⁽³²⁾은 육을 가열한 후 냉장 저장하는 동안 콜레스테롤 산화물이 유의적으로 증가한다고 하였다. 또한 신선육의 가열 중 2차 산화 유도체(Cholesterol epoxide와 cholestanetriol) 보다 1차 oxysterols (7 α -hydroxycholesterol, 7 β -hydroxycholesterol, 7-ketocholesterol)이 많이 발생한다고 보고하였다⁽³²⁾.

우유 등심을 가열직후 진공포장하여 전자선 조사량과 저장기간의 경과에 따른 콜레스테롤 산화물질의 발생 종류와 발생량을 조사한 결과는 Table 5에 나타내었다.

β -epoxide는 저장 0일째 전처리구에서 trace ((0.5 μ g/

g 이하)정도 발생하였으나 저장 7일째는 대조구가 1.54, 1 kGy irradiation 처리구가 0.74, 2 kGy irradiation 처리구가 2.1 μ g/g 발생되었다. 그리고 저장 14일째는 2.19, 3.05, 3.09 μ g/g 발생하였다. 전 처리구와 전 저장기간 동안 7 β -hydroxycholesterol이 가장 많이 발생하였으며, 다음으로 7-ketocholesterol, 7 α -hydroxycholesterol, β -epoxide 순이었다. Cholestanetriol과 α -epoxide는 전 저장기간 동안 trace (0.5 μ g/g 이하)였다. Cholesterol epoxides는 콜레스테롤 산화물질의 6~7%를 차지한다고 보고하였다⁽³³⁾. Monahan 등⁽³⁴⁾은 콜레스테롤 산화물의 발생량은 생육과 비교하여 조리된 육에서 더 많이 발생한다고 보고하였다. 일광에 노출된 콜레스테롤은 다른 산화물에 비하여 β -epoxide의 양이 증가하며, 반면에 가열은 C-7 산화 콜레스테롤 유도체들의 함량을 증가시키는 원인이라 보고하였다. 그리고 콜레스테롤 산화의 정도는 저장조건에 의존한다고 보고하였다⁽³⁵⁾. 본 연구의 결과 α -epoxide의 양은 전 저장기간 동안 trace (0.5 μ g/g 이하)정도 발생하였다. 이와같은 결과에 대해 Rankin과 Pike⁽³⁵⁾는 α -epoxide의 발생량이 아주 작으며, 그리고 빠르게 Cholestanetriol로 산화되어 진다고 보고하였는데 본 연구와 일치하는 경향이였다.

처리구에 따른 콜레스테롤 산화물의 전체 발생량은 0일째 대조구가 15.51, 1 kGy irradiation 처리구가 22.74, 2 kGy irradiation 처리구가 27.06 μ g/g 발생되었으며, 저장 7일째 24.66, 33.81, 50.66 μ g/g, 저장 14일째 28.05, 48.27, 77.53 μ g/g으로 irradiation 처리가 콜레스테롤 산화를 촉진하며 조사 수준이 증가할수록 산화가 촉진되어 콜레스테롤 산화물이 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$). Irradiation 처리 후 저장된 육의 콜레스테롤 산화물의 발생량은 무처리 육에 비하여 유의적으로 높다고 보고하였다⁽¹⁵⁾. 저장기간의 경과에 따른 콜레스테롤 산화물의 전체 발생량의 변화에 있어서는 저장기간이 경과함에 따라 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$).

요 약

실험재료는 시중에서 판매되는 우유(등심) 부위를 이용하였으며, 생육 시료의 합기포장과 진공포장은 폴리에틸렌 필름을 이용하였고, 전자선 조사(0, 1, 2, kGy)를 실시한 후 2~4°C의 냉장실에서 보관하면서 저장기간 별(0, 7, 14일) 실험에 사용하였다. 가열 시료는 oven에서 육 내부가 70°C가 될 때까지 가열한 다음 합기 포장과 진공포장을 즉시 실시한 후 생육 시료와 같은 조건으로 전자선 조사를 실시한 다음 2~4°C의

냉장실에서 보관하면서 생육 시료와 같은 저장기간별 콜레스테롤 산화물의 발생 종류와 발생량을 조사한 결과는 다음과 같다. 가열하지 않은 우육 등심의 합기 포장에서는 7 α -hydroxycholesterol, β -epoxide, 7 β -hydroxycholesterol, 7-ketocholesterol이 0.5 μ g/g 이상 발생하였으며, 전 저장기간 동안 cholestanetriol과 α -epoxide은 극소량(0.5 μ g/g 이하) 발생하였다. 가열하지 않은 우육 등심의 진공포장에서는 전 저장기간 동안 7 α -hydroxycholesterol, 7-ketocholesterol, cholestanetriol과 α -epoxide은 극소량(0.5 μ g/g 이하) 발생하였다. 우육 등심을 가열한 후 합기포장에서는 전 저장기간 동안 cholestanetriol과 α -epoxide은 극소량(0.5 μ g/g 이하) 였지만, 7 α -hydroxycholesterol (1.53~26.81), β -epoxide (1.07~5.23), 7 β -hydroxycholesterol (40.64~101.30), 7-ketocholesterol (7.16~33.91). 모든 결과에서 처리구에 따른 콜레스테롤 산화물의 전체 발생량은 조사 수준이 증가할수록 유의적으로 증가하였으며(P < 0.05), 저장기간이 경과함에 따라 전체 발생량이 유의적으로 증가하였다(P < 0.05).

문 헌

- Smith, L.L.: Cholesterol autoxidation. Plenum press. New York (1981)
- Paniangvait, P., King, A.J., Jones, A.D. and German, B. G.: Cholesterol oxides in foods of animal origin. *J. Food Sci.*, **60**, 1159-1174 (1995)
- Addis, P.B.: Conory heart disease: an update with emphasis on dietary lipid oxidation products. *Nutr. Rev.*, **62**, 7-10 (1990)
- Addis, P.S. and Warner, G.J.: The potential health aspects of lipid oxidation products in food. Ch. 5. In Free Radical and Food Additives, O.I. Aruoma and B. Halliwell (Ed.), p.77-119. Taylor and Francis L.T.D. London, Great Britain., (1991)
- Bosinger, S., Luf, W. and Brandl, L.: Oxysterol: their occurrence and biological effects. *Int. Dairy J.*, **3**, 1-33 (1993)
- Morgan, J.N. and Armstrong, D.J.: Quantification of cholesterol oxidation products in egg yolk powder spray-dried with direct heating. *J. Food Sci.*, **57**, 43-45 (1992)
- Morin, R.J. and Peng, S.K.: Cholesterol oxides in plasma and tissues. Ch. 5, in Biological Effects of Cholesterol Oxides, S.K. Peng and R.J. Morin (Ed.). CRC Press, Ann Arbor, MI. (1992)
- Peng, S.K., Hu, B. and Morin, R.J.: Effects of cholesterol oxides on atherogenesis. In: Biological Effects of Cholesterol Oxides, ed Peng, S.K. and Moarin, R.J. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p.167 (1992a)
- Peng, S.K., Sevanian, A. and Morin, R.J.: Cytotoxicity of cholesterol oxides. In: Biological Effects of Cholesterol Oxides, ed Peng, S.K. and Moarin, R.J. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p.147 (1992b)
- Seillan, C.: Oxysterol mediated changes in fatty acid distribution and lipid synthesis in cultured bovine aortic smooth muscle cells. *Lipids*, **52**, 172-176 (1990)
- Seillan, C. and Dubuquoy, C.: Effects of oxysterols on arachidonic acid metabolism and prostacyclin synthesis in bovine aortic smooth muscle cells in culture. Prostaglandin, Leukotrienes Essent. *Fatty Acids*, **39**, 11-18 (1990)
- Kandutsch, A.A. and Chen, H.W.: Inhibitions of cholesterol synthesis by oxygenated sterols. *Lipids*, **13**, 704-707 (1978)
- Peng, S.K., Tham, P., Taylor, C.B. and Mikelson, B.B. S.: Cytotoxicity of oxidation derivatives of cholesterol on cultured aortic smooth muscle cells and their effect on cholesterol biosynthesis. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 1033-1042 (1979)
- Fontana, A., Antonizzi, F., Cimino, G., Mazza, G., Trivellone, E. and Zanone, B.: High-resolution NMR detection of cholesterol oxides in spray-dried egg yolk. *J. Food Sci.*, **57**, 869-872 (1992)
- Hwang, K.T. and Maerker, G.: Quantification of cholesterol oxidatin products in unirradiated and irradiated meats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **70**, 371-375 (1993)
- Park, S.W. and Addis, P.B.: Cholesterol oxidation products in some muscle foods. *J. Food Sci.*, **52**, 1500-1503 (1987)
- Zubillaga, M.P. and Maerker, G.: Quantification of three cholesterol oxidation products in raw meat and chicken. *J. Food Sci.*, **56**, 1194-1196 (1991)
- Ohshima, T., Li, N. and Koizumi, C.: Oxidative decomposition of cholesterol in fish products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **70**, 595-600 (1993)
- Osada, K., Kodama, T., Cui, L., Yamada, K. and Sugano, M.: Levels and formation of oxidized cholesterols in processed marine foods. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 1893-1898 (1993)
- Lebovics, V.K. and Gaal, O.: Influence of packaging atmosphere on the formation of cholesterol oxides in γ -irradiated egg powder. *J. Sci. Food Agric.*, **66**, 71-73 (1994)
- Maerker, G. and Jones, J.C.: Gamma-irradiation of individual cholesterol oxidation products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**, 451-455 (1992)
- Maerker, G. and Jones, J.C.: A-ring oxidation products from γ -irradiation of cholesterol in liposomes. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **70**, 255-259 (1993)
- Huber, K.C., Pike, O.A. and Huber, C.S.: Antioxidant inhibition of cholesterol oxidation in a spray-dried food system during accelerated storage. *J. Food Sci.*, **60**, 909-912 (1995)
- Li, S.X., Cherian, G. and Sim, J.S.: Cholesterol oxidation in egg yolk powder during storage and heating as affected by dietary oils and tocopherol. *J. Food Sci.*, **61**, 721-725 (1996)
- Folch, J., Lees, M. and Sloan-Stanley, G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Bio. Chem.*, **226**, 497-507 (1957)
- Park, S.W. and Addis, P.B.: HPLC determination of C-7 oxidized cholesterol oxidation derivatives in foods. *J.*

- Food Sci.*, **50**, 1437-1441 (1985)
27. SAS: SAS/SATT Software for PC. Release 6.11, SAS Institute, Cray, NC, U.S.A. (1995)
 28. Sander, B.D., Smith, D.E. and Addis, P.B.: Effects of processing stage and storage conditions on cholesterol oxidation products in butter and cheddar cheese. *J. Dairy Sci.*, **71**, 3173-3178 (1989)
 29. Lai, S.M., Gray, J.I. and Zabik, M.E.: Evaluation of solid phase extraction and gas chromatography for determination of cholesterol oxidation products in spray-dried whole egg. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1122-1126 (1995)
 30. Emanuel, H.A., Hassel, C.A., Addis, P.B., Bergmann, S. D. and Zavoral, J.H.: Plasma cholesterol oxidation products (oxysterols) in human subjects fed a meal rich in oxysterols. *J. Food Sci.*, **56**, 843-847 (1991)
 31. Smith, L.L.: The oxidation of cholesterol. Ch. 2, in Biological Effects of Cholesterol oxides, S.K. Peng and R.J. Morin(Ed.). CRC Press, Ann Arbor, MI. (1992)
 32. Pie, J.E., Spahis, K. and Seillan, C.: Cholesterol oxidation in meat products during cooking and frozen storage. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 250-254 (1991)
 33. Maerker, G. Cholesterol autoxidation - current status. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **64**, 388-392 (1987)
 34. Monahan, F.J., Gray, J.I., Booren, A.M., Miller, E.R., buckley, D.J., Morrissey, P.A. and Gpmaa, E.A.: Influence of dietary treatment on lipid and cholesterol oxidation in pork. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1310-1315 (1992)
 35. Rankin, S.A. and Pike, O.A.: Cholesterol autoxidation inhibition varies among several natural antioxidants in an aqueous model system. *J. Food Sci.*, **58**, 653-655 (1993)

(1998년 6월 4일 접수)