KOREAN J. SOC. FOOD SCI.
Vol. 14, No. 5, December, 1998

기질 system의 유형에 따른 항산화제의 효과에 관한 연구

김찬희 · 안명수
성신여자대학교 생활과학대학 식품영양학과

Efficiency of Antioxidants on Types of Substrate Systems

Chan Hee Kim and Myung Soo Ahn
Department of Food and Nutrition, College of Life Science, Sungshin Women's University

Abstract

The purpose of this study was to investigate any differences in the efficiency of various antioxidants for the three types of substrates such as corn oil in water (O/W) emulsion, water in corn oil (W/O) emulsion, and bulky corn oil. α-Tocopherol (α-Toc) at 0.01 or 0.02%, ascorbic acid (AsA), ascorbyl palmitate (AP), and BHT at 0.02% were added separately to the prepared O/W emulsion, W/O emulsion, and bulk oil, and their antioxidative effects were compared. The mixture of α-Toc and AsA or AP at the level of 0.02% also was tested to observe any synergistic effect. Oxidation was made by storing at 42±1°C for 25 days and the oxidative stability was determined by peroxide value and conjugated dienoic acid with time fluctuation of storage. The results were as follows: 1. In case of O/W emulsion, the order of antioxidative effect was AP> α-Toc+AP>α-Toc+AsA>AsA>BHT. 2. In case of W/O emulsion, the order of antioxidative effect was AsA> AP>α-Toc+AsA>BHT. α-Toc+AP mixture showed the prooxidant effect rather than synergistic effect. 3. In case of bulk oil, the order of antioxidative effect was AsA>AP>α-Toc+AsA>α-Toc+AP?BHT. Therefore, AsA, a hydrophilic antioxidant, was more effective in W/O emulsion system than in O/W emulsion system, while the opposite trend was found in AP, a lipophilic antioxidant. AsA, a hydrophilic antioxidant, was more efficient in bulk oil of anhydrous substrate. α-Toc showed prooxidant effects in all substrates.

Key words:

I. 서 론

식물성기름과 같은 단순한 무수기질인 bulk oil system에서 효과적인 항산화제가 보다 복잡한 기질인 emulsion system에서도 반드시 같은 정도로 효과를 나타내지는 않을 것이다. Emulsion은 본질적으로 불안정한 체계로서 한 액체가 서로 섞일 수 없는 다른 액체 중에 분산되어 있는 colloid이며 水中油滴型(oil in water, O/W)과 油中水滴型(water in oil, W/O)이 있다. Emulsion의 안정성은 유화제의 질, 유화제의 농도, 분산매의 점도, 분산상과 분산매의 비율, 입자의 크기 등에 의해 좌우된다[1].

유화제는 친수성이 강하여 HLB값(Hydrophile-Lipophile balance)이 높은 것은 O/W형에, 친유성이 강한 즉 HLB 값이 낮은 유화제는 W/O형 emulsion에 적합하다. 항산화제의 항산화효과에 대한 연구는 여러 가지 기질유지와 모델계, 산화조건, 지질산화를 측정하는 방법으로 이루어져 왔다. 그 중 기질 system의 유형을 달리한 경우의 항산화효과의 차이는 항산화제가 부분적으로 복합적인 계면현상을 가지고 있기 때문이라고 보고되었다[2]. 즉 bulk oil에서는 oil-air의 계면에 대해, 그리고 emulsion에서는 oil-water의 계면에 대한 항산화제들의 열역학적인 친화력, 상대적인 양극성, oil 기질의 종류, 유화제, pH, 그리고 상(phase)의 성질, 온도에 의하는 것으로 설명되었다[3-5]. Porter들[6]은 표면/부피의 비가 낮은 식품체계, 즉 bulk oil 기질에서는 PG · TBHQ · AsA와 같이 HLB 값이 높은 극성 항산화제들이 BHT · BHA · Toc과 같은 비극성의 친유적인 항산화제보다 효과가 더욱 높았고, 이와 반대로 표면/부피의 비가 높은 식품체계, 즉 emulsion 기질에서는 HLB 값이 낮은 친유성의 항산화제가 매우 좋다고 보고하였다. 본 연구에서는 O/W emulsion system, W/O emulsion system 그리고 무수기질인 bulk oil system에 α-tocopherol(α-Toc), BHT, ascorbic acid (AsA) 그리고 ascorbyl palmitate(AP)를 첨가시켜 3가지 기질의 산화 양상을 비교 측정하고 또 서로 다른

3가지의 기질에 α-Toc과 함께 AsA 또는 AP를 상승제(synergist)로 첨가하였을 때 기질의 산화과정을 비교하여 유형이 다른 기질에서의 각 항산화제의 항산화 능력을 검토하고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서 사용한 기질 옥수수유(1998년 1월에 제조, 주식회사 신동방)는 항산화제가 첨가되지 않은 것을 구입하여 사용하였다. 항산화제는 α-tocopherol (Kanto Chemical Co., Japan), BHT(Butylated hydroxy-toluene, Kanto Chemical Co., Japan), ascorbic acid(Junsei Chemical Co., Japan), ascorbyl palmitate (Sigma Chemical Co., U.S.A.)를 사용하였고 항산화 상승효과 측정을 위하여 각각의 항산화제들을 혼합하여 사용하였다.

Emulsion 제조시 유화제는 Span 80(Sorbitan mono-laurate, Yakuri Chemical Co., Japan)과 Tween 80(Shinyo Chemical Co., Japan)을 사용하였다. 또한 항산화제들을 유지에 첨가하기 위하여 Span 20(Sorbitan mono-laurate, Junsei Chemical Co., Japan)을 유화제로 사용하였다.

2. 실험방법

(1) Emulsion 기질의 조제

Emulsion 조제는 Acton들[7]의 방법에 따라 유지 50%, 유화제 5%, 증류수 45%로 하여 Sonicator(Cell disruptor, High Intensity Ultrasonic Liquid Processors, Sonics & Materials, Inc., U.S.A)로 조제하였다. O/W emulsion 기질은 oil에 증류수를 넣고 유화제 Tween 80을 첨가하여 sonicator로 10분간 유화시켰고, W/O emulsion 기질은 증류수에 oil을 넣은 다음 유화제 Span 80을 첨가하여 sonicator로 10분간 유화시켰다. Bulk oil 기질은 항산화제만 첨가하되 emulsion 기질과 동일한 조건이 되게 하기 위해 10분간 sonicating하였다.

(2) 항산화제의 첨가

α-Toc은 O/W emulsion 기질, W/O emulsion 기질, bulk oil 기질 각각에 대하여 0.01%, 0.02%(w/w)를, AsA, AP, BHT는 각각 0.02%(w/w)를 Han 등[8]의 microemulsion 방법을 이용하여 유지에 첨가하였다. 그리고 유지에 30% ethanol 용액과 Span 20만을 첨가하여 control로 하였으며 또한 상승제로서 AsA 또는 AP를 α-Toc과 동량으로 혼합하여 α-Toc과 AsA 및 AP의 상승효과를 측정하였다. 이때 위 시료를 42±1°C로 유지된 항온기에서 25일간 저장하면서 5일 간격으로 시료를 채취하여 공시하였다.

(3) Emulsion 기질에서의 유지 추출 방법

Folch들의 방법[9]에 의하여 항온기에 저장 중인 emulsion 기질을 4~5배의 chloroform:methanol(2:1, v/v) 용액과 혼합하여 분액여두에 방치시킨 다음 분리된 추출액을 여과하고 이 여과액을 rotary vaccum evaporator로 40±1°C에서 용매를 제거하여 사용하였다.

(4) 산패도 측정

각 시료의 항온저장 시 산패도의 측정을 위하여 과산화물가(Peroxide value, POV)는 I.U.P.A.C. 방법[10]에 따라 측정하여 meq/kg oil로 나타내었고, 공액이중산가(Conjugated dienoic acid, CDA)는 A.O.C.S. 방법[11]에 따라 UV-VIS Spectrophotometer(Pharmacia Biotech, Ultrospec 2000, Cambridge England)를 사용하여 233 nm에서 흡광도를 측정하였다.

III. 실험결과 및 고찰

서로 다르게 조제한 3가지 상(phase)의 기질, 즉 O/W emulsion과 W/O emulsion 그리고 bulk oil에 α-Toc은 0.01%, 0.02%씩 그리고 BHT, AsA, AP는 0.02%로 첨가하여 42±1°C에서 25일간 항온저장 하면서 산패도를 측정하고 AsA와 AP의 α-Toc에 대한 상승효과 여부와 정도를 살펴본 결과는 다음과 같았다.

1. 각종 항산화제의 O/W emulsion에서의 항산화 효과

O/W emulsion에 AsA, AP, BHT를 첨가한 경우의 과산화물가와 공액이중산가는 Table 1 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이 control에 비해 낮은 값을 보였으며 AsA 첨가시는 저장일수 5일째 11.56 meg/kg oil인데 비해 AP 첨가군은 저장 25일에도 10.10 meg/kg oil로 AP의 항산화력이 우월한 것으로 비교되었다. 이와 같은 결과는 친유성인 AP는 기질의 분산매인 water phase로 이동되지 않고 oil-water 계면에 집중되면서 충분한 표면작용을 하게 되어 항산화력을 높이는 결과가 되고, 친수성인 AsA는 기질의 분산매인 water phase로 이동되면서 희석되기 때문에 자체의 항산화성이 감소되어 기질의 항산화력을 감소시킨다고 보고한 Huang들[12]의 결과와 일치하는 것으로 나타났다. 한편 α-Toc을 0.01%, 0.02% 씩 첨가한 실험군의 과산화물가는 저장 10일에 각각 68.06, 102.68 meg/kg oil로 control의 33.95 meg/kg oil보다 높은 값을 보이는 등 저장기간 전반에 걸쳐 첨가농도에 상관없이 높은 측정치를 나타내어 오히려 산화촉진의 결과를 보였다.

Table 1. Peroxide values of the three substrates with each antioxidant stored at 42°C (meq/Kg oil)

Antioxidants	O/W emulsion			W/O emulsion			Bulk oil			
	15	20	25	15	20	25	15	20	25	days
Control	56.05	70.64	85.18	55.60	68.59	96.82	18.36	37.32	75.41	
BHT	65.52	67.01	77.01	57.01	63.40	96.96	4.63	8.97	17.43	
Toc-1	97.28	108.02	135.98	76.75	112.55	200.86	39.08	104.46	140.45	
Toc-2	135.23	137.84	182.56	125.34	140.60	289.81	47.19	128.51	151.67	
AsA	24.14	37.44	50.56	11.49	20.70	20.80	1.81	2.53	4.02	
AP	2.03	5.01	10.10	14.15	28.06	28.54	2.21	3.01	4.67	
Toc+AsA	8.07	16.59	34.55	39.40	54.75	76.54	4.51	4.98	6.39	
Toc+AP	7.48	14.78	26.47	56.96	65.59	114.54	5.20	5.98	8.06	

Toc-1: α-tocopherol 0.01%, Toc-2: α-tocopherol 0.02%, BHT: 0.02%, AsA: ascorbic acid 0.02%, AP: ascorbyl palmitate 0.02%, Toc+AsA: α-tocopherol (0.01%)+ascorbic acid (0.01%), Toc+AP: α-tocopherol (0.01%)+ascorbyl palmitate (0.01%).

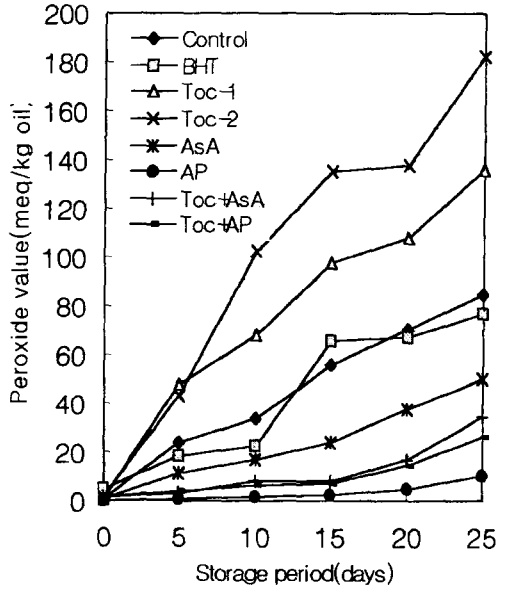

Fig. 1. Changes of peroxide values of O/W emulsion with each antioxidant stored at 42°C for 25 days.

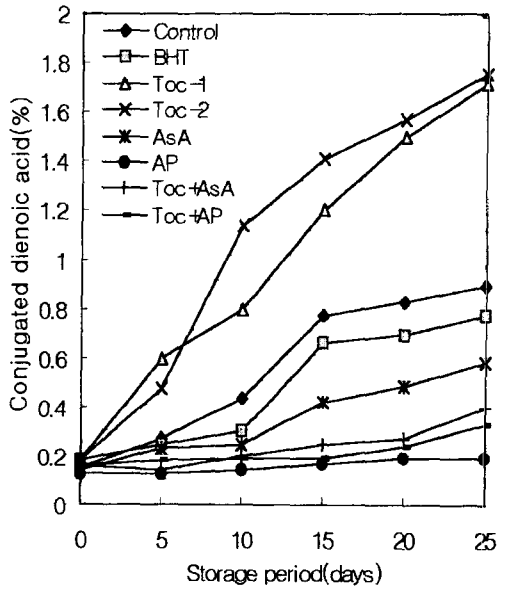

Fig. 2. Changes of conjugated dienoic acid of O/W emulsion with each antioxidant stored at 42°C for 25 days.

이러한 경향은 α-Toc의 첨가농도가 높을 수록 더 크게 나타났고 Fig. 2에서 볼 수 있듯이 공액이중산가도 같은 결과를 보였다. α-Toc의 산화촉진 결과는 액체기질일 때 특히 고도불포화지방산의 자동산화율을 증대시킨다고 하며 이러한 산화촉진 작용은 α-Toc 자체의 산화율과도 관계되는 것[13]으로 보인다. 즉 액체기질에서 Toc의 산화율은 α>γ>δ의 순으로 증가된다고 하며 이러한 α-Toc의 산화촉진 작용은 자신의 산화에 따른 수소공여능의 차이에 의한 것으로 생각된다. 한편 AP와 BHT는 같은 친유성 항산화제이나 항산화 효과에 있어서는 차이를 보였다. 이는 phenol계 항산화제인 BHT의 이화학적인 성질[14]에 의한 것으로 생각되며 Sherwin[15]이 불포화도가 높은 식물성유나 어유에는 BHT가 부적합했다는 결과와 같은 경향으로 나타났다. α-Toc+AP 첨가군, α-Toc+AsA 첨가군의 과산화물가와 공액이중산가는 낮은 값을 나타내어 α-Toc 단독 첨가군이 control과 비교시 산화촉진 효과를 나타냈던 결과와는 상이하게 2배 이상의 뚜렷한 항산화 효과를 보였으며 또한 AsA 보다는 AP의 상승효과가 더 우세한 것으로 비교되었다. 또한 Berner[16]가 emulsion이 분리되면 이에 대응하여 산소흡수 속도는 감소한다고 한 보고와 달리 본 실험에서 emulsion 기질이 저장기간 중 과산화물가와 공액이중산가가 계속 증가한 것을 보이는 것은 system이 상당히 안정한 때문인 것으로 생각된다.

Table 2. Conjugated dienoic acid of the three substrates with each antioxidant stored at 42°C (%)

Antioxidants	O/W emulsion			W/O emulsion			Bulk oil			
	15	20	25	15	20	25	15	20	25	days
Control	0.77	0.83	0.89	0.73	0.74	1.03	0.33	0.37	0.62	
BHT	0.66	0.69	0.77	0.60	0.62	0.93	0.21	0.22	0.33	
Toc-1	1.20	1.50	1.71	0.82	1.15	1.35	0.46	1.37	1.58	
Toc-2	1.41	1.57	1.75	1.20	2.13	2.27	0.54	1.56	1.64	
AsA	0.42	0.49	0.58	0.26	0.25	0.30	0.17	0.21	0.22	
AP	0.17	0.19	0.19	0.32	0.33	0.43	0.19	0.21	0.27	
Toc+AsA	0.25	0.27	0.40	0.43	0.57	0.71	0.20	0.21	0.22	
Toc+AP	0.19	0.24	0.33	0.60	0.72	1.14	0.22	0.24	0.27	

2. 각종 항산화제의 W/O emulsion에서의 항산화 효과

W/O emulsion에 AsA와 AP 첨가군의 25일째 과산화물가와 공액이중산가는 Tables 1, 2에서 보는 것과 같이 control에 비해 월등히 낮은 반면 α-Toc은 첨가농도에 상관없이 상당히 높은 값을 보였다. 이 기질에서는 O/W emulsion에서와는 다르게 AsA의 항산화 효과가 AP보다 컸다. 즉 Fig. 3에 나타난 것과 같이 AsA와 AP를 첨가한 경우 5일째 과산화물가는 각각 2.99, 5.01 meq/kg oil이던 것이 25일째도 각각 20.80, 28.06 meq/kg oil을 나타내어 AsA 첨가군이 더 높은 항산화력을 보였다. 이같은 결과는 친수성인 AsA가 분산매인 oil phase로 이동되지 않고 water-oil 계면에 존재하면서 표면작용을 하여 항산화력을 높인 것으로 보이며 이에 비하여 친유성인 AP는 oil phase로 용해되기 때문에 water-oil 계면에서 작용할 수 있는 항산화능이 낮아진 때문인 것으로 생각된다.

또한 BHT 첨가군의 과산화물가를 근거로 보았을 때 항산화효과가 일정하지 못한 것은 BHT가 AP보다 친유성이 더 커서 분산매인 oil phase로 이행되는 성질이 더 큰 때문으로 생각된다. α-Toc의 경우는 모든 첨가군에서 O/W emulsion에서와 같이 control보다 높은 과산화물값을 보였다. 그러나 α-Toc에 AsA를 혼합하여 첨가한 경우는 항산화 효과를 보인 반면 AP를 혼합한 경우는 α-Toc 단독 첨가군에서와 같이 control에 비해 오히려 높은 값을 나타내어 상승효과도 보이지 않았다. 이상에서 본 바와 같이 α-Toc+AsA 첨가군과 α-Toc+AP 첨가군의 W/O emulsion 기질에 대한 산화양상은 control에 비해 산화억제와 산화촉진의 반대 현상을 보였으므로 W/O emulsion 기질에서의 α-Toc에 대한 AP 및 AsA 같은 상승제의 병용효과는 상승제의 선택에 유의할 필요가 있을 것으로 사료된다. 이와 같은 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 공액이중산가에서도 대체로 일치하는 경향을 보이고 있다.

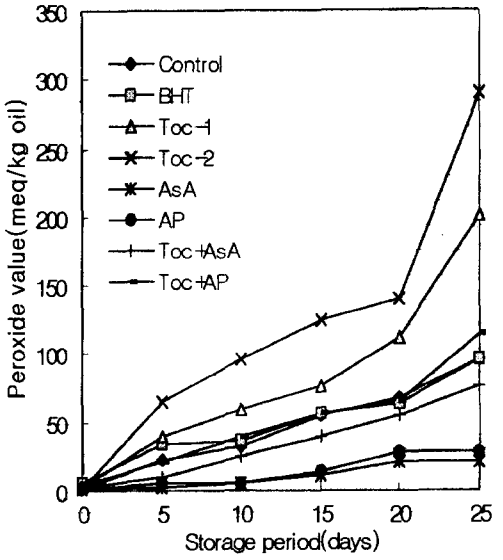

Fig. 3. Changes of peroxide values of W/O emulsion with each antioxidant stored at 42°C for 25 days.

3. 각종 항산화제의 bulk oil에서의 항산화 효과

Bulk oil에 있어서의 각종 항산화제의 효과는 Tables 1, 2 및 Figs. 5, 6에서 보는 것과 같이 두 유형의 emulsion에 비해 과산화물가와 공액이중산가가 현저히 떨어지는 매우 완만한 산패도 증가를 보였다. AsA 및 AP 첨가군에서 나타나는 항산화력의 차이는 이들의 복합적인 계면 때문이며 친수성인 AsA는 bulk oil에서 oil phase로 이동되지 않고 oil-air 계면에 우선적으로 위치하는 성질이 있으므로 oil phase로 용해되므로써 항산화력이 감소되는 친유성의 AP보다 항산화효과가 더 좋다고 하는 Frankel 등[17]의 연구와 일치하는 것으로 나타났다.

AP와 BHT의 항산화성 비교는 W/O emulsion 기질에서와 같이 분산매가 oil인 것에 기인한다고 생각된다. α-Toc에 AP 및 AsA를 혼합하여 첨가한 실험군은 이 기질에서 항산화력이 가장 우수한 AsA 단독 첨가

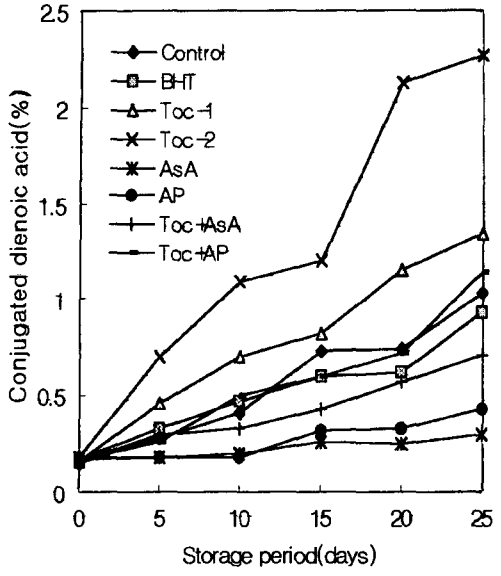

Fig. 4. Changes of conjugated dienoic acid of W/O emulsion with each antioxidant stored at 42°C for 25 days.

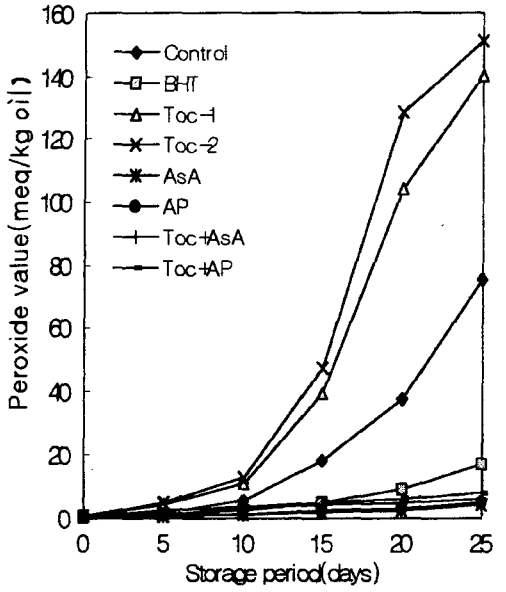

Fig. 5. Changes of peroxide values of bulk oil with each antioxidant stored at 42°C for 25 days.

군 보다는 과산화물가와 공액이중산가가 약간 높긴 해도 첨가농도에 상관없이 산화촉진을 보이는 α-Toc 단독 첨가때보다는 항산화력이 현저하게 향상되었다. 이같은 결과는 α-Toc radical이 AsA와 반응하면 α-Toc이 재생되므로 α-Toc과 AsA가 공존하는 반응계에서는 α-Toc의 항산화능이 높아진다는 것과 α-Toc

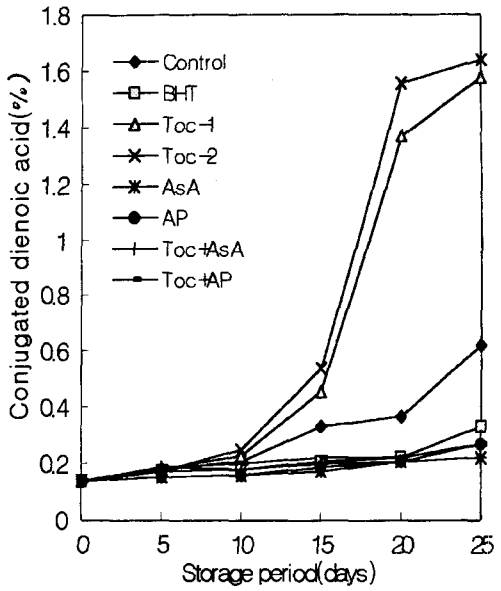

Fig. 6. Changes of conjugated dienoic acid of bulk oil with each antioxidant stored at 42°C for 25 days.

이 citric acid, AsA, AP, 인산과 같은 산성물질에 의해 항산화력은 상승되나 유지의 종류에 따라 상승효과에 차이가 있었다는 Atsuyoshi[18]의 결과와 같은 경향으로 나타났으며 또한 AP도 AsA와 같은 작용으로 α-Toc에 안정성을 부여하는 것으로 생각되었다.

IV. 결 론

두가지 유형의 emulsion system, 즉 O/W emulsion과 W/O emulsion, 그리고 bulk oil system을 기질로 조제한 다음 성질이 다른 항산화제를 첨가하여 각 기질들의 산화과정과 기질에 적합한 최적 항산화제를 살펴보고 각 항산화제를 혼합하여 기질에 첨가했을 때 항산화 상승효과도 비교 연구하였다. O/W emulsion 기질에서는 항산화 효과가 AP>α-Toc+AP>α-Toc+AsA>AsA>BHT의 크기로 나타났고 W/O emulsion 기질에서는 AsA>AP>α-Toc+AsA>BHT의 순으로 α-Toc+AP 혼합물의 첨가 경우는 기질에 대해 산화촉진의 결과를 나타냈다. Bulk oil 기질에서는 AsA>AP>α-Toc+AsA>α-Toc+AP>BHT의 순으로 항산화력이 좋았다. 따라서 emulsion system에서의 최적 항산화제와 상승제의 종류는 emulsion의 유형에 따라 다르다는 결론을 얻었다. 즉 O/W emulsion 기질에서는 AP, W/O emulsion 기질에서는 AsA가 가장 우수한 항산화력을 나타내어 emulsion을 이루는 분산매와 분산상의 성질

이 바뀜에 따라 항산화제들의 oil-water 계면에 대한 친화력의 차이를 보였다. 그리고 bulk oil 기질 내의 air-oil 계면에 대하여도 AsA가 가장 항산화 효과가 큰 것으로 나타나 oil이 분산매인 경우는 친수성 항산화제, water가 분산매인 경우는 친유성 항산화제가 더 우수한 항산화력이 있음이 확인되었다.

참고문헌

1. 安明秀: 食品과 調理原理(調理科學), 295-305 (1993).
2. Frankel, E.N., Huang, S.-W., Kanner, J. and German, J.B.: Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils versus emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1054-1059 (1994).
3. Huang, S.-W., Frankel, E.N., Schwarz, K. and German, J.B.: Effect of pH on antioxidant activity of α-tocopherol and Trolox in oil - in - water emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 2496-2502 (1996).
4. Koga, T. and Terao, J.: Phospholipids increase radical-scavenging activity of vitamin E in a bulk oil model system. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1450-1454 (1995).
5. Huang, S.-W., Frankel, E.N., German, J.B. and Aeschbach, R.: Partition of selected antioxidants in corn oil-water model systems. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1991-1994 (1997).
6. Porter, W.L., Black, E.D. and Drolet, A.M.: Use of polyamide oxidative fluorescence test on lipid emulsions: contrast in relative effectiveness of antioxidants in bulk versus dispersed systems. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 615-624 (1989).
7. Acton, J.C. and Saffle, R.L.: Stability of oil - in - water emulsions. 1. Effects of surface tension, Level of oil, Viscosity and Type of Meat protein. *J. Food Sci.*, **35**, 852 (1970).
8. Han, D., Yi, O.-S. and Shin, H.-K.: Antioxidative effect of ascorbic acid solubilized in oils via reversed micelles. *J. Food Sci.*, **55**(1), 247 (1990).
9. Folch, J., Lees, M. and Sloane-tanley, G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1958).
10. Paguot, C. and Hautfenne, A.: Standard Methods for the Analysis of oils, Fats and Derivatives (7th revised). Blackwell Scientific Publication, London, 199 (1987).
11. A.O.C.S., Official, and Tentative Methods, 2nd ed., Am. Oil Chem. Soc., Chicago, Method Ti-la-64 (1964).
12. Huang, S.-W., Frankel, E.N., German, J.B. and Aeschbach, R.: Partition of selected antioxidants in corn oil-water model systems. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1991-1994 (1997).
13. Cillard. J., Cillard, P. and Comier, M.: Effect of experimental factors on the proxidant behavior of alph-tocopherol. *JAOCS*, **57**, 255 (1980).
14. Branen, A.L.: Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCS*, **52**, 59 (1975).
15. Sherwin, E.R.: Antioxidants for vegetable oils. *JAOCS*, **53**, 430 (1976).
16. Berner, D.L., Conte, J.A. and Jacobson, G.A.: Rapid method for determining antioxidant activity and fat stability. *JAOCS*, **51**, 292 (1974).
17. Frankel, E.N., Huang, S.-W., Kanner, J. and German, J.B.: Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils versus emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1054-1059 (1994).
18. Atsuyoshi, N.: Antioxidant effect of tocopherols and L-ascorbic acid on ethyl eicosapentaenoate and methyl linoleate. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1665 (1991).

(1998년 11월 11일 접수)