

Headspace solid-phase microextraction(HS-SPME)를 이용한 간의 비린내불쾌취에 기인하는 불포화지방산 산화생성물의 휘발성성분

임성임¹ · 최성희*

동의대학교 식품영양학과, ¹동의대학교 한방식품연구소

Volatile Compounds in the Oxidation of Unsaturated Fatty Acids Caused in Off-flavor of Porcine Liver by HS-SPME

Sung Im Im¹ and Sung Hee Choi*

Department of Food Science and Nutrition, Donggeui University

¹Donggeui Food Research Institute, Donggeui University

Headspace solid-phase microextraction(HS-SPME) was used to isolate the off-flavor volatile compounds, which are formed during the oxidation of porcine liver and unsaturated fatty acids in porcine liver induced by iron. Three fibers for HS-SPME method development were tested, and the polydimethylsiloxane/divinylbenzene(PDMS/DVB) fiber was selected as providing the best detection of analyzed compounds. In the oxidized arachidonic acid, the major compounds identified were hexanal, 1-octen-3-one(metallic), (Z)-4-heptenal, (E)-2-octenal, 1-octen-3-ol(mushroom), (Z)-2-nonenal (cardboard-like), and (E,E)-2,4-decadienal(fatty, oily). In the oxidized linolenic acid, the major ones were (E,E)-2,4-heptadienal(fishy), (E,E)-3,5-octadien-2-one and (E,Z)-2,6-nonadienal. Moreover, those of the oxidized porcine liver with iron were hexanal, 1-octen-3-one, (Z)-4-heptenal, (E,Z)-2,4-decadienal and (E,E)-2,4-decadienal. These results showed that the fishy and metallic off-flavor in porcine liver were due to the oxidation of unsaturated fatty acids in porcine liver.

Key words: HS-SPME, PDMS/DVB, porcine liver, arachidonic acid, linolenic acid, off-flavor

서 론

동물간을 식품으로서 이용하려고 할 때, 간 특유의 비린내 불쾌취의 존재가 중요한 문제가 된다. 이러한 문제를 극복하기 위해, 조리가공, 탈취효과, 조리조건 등의 제조조건 간의 식미성(食味性)과의 관계에 대한 연구⁽¹⁻⁶⁾가 보고되어 있지만, 간의 중요한 화학적 특징 중의 하나인 불쾌취(off-flavor)의 생성메커니즘에 관해서는 아직 충분히 연구되어 있지 않다. 신선한 상태의 간은 특유의 비린내가 적거나 거의 느낄 수 없지만, 보존에 의해 간의 독특한 냄새가 증가함을 알 수 있다. 특히, 철 등의 금속과 접촉하게 되면 강한 비린내, 금속취 등으로 표현되는 불쾌취가 생성되는 것을 볼 수 있다. 이것은, 간의 어떤 성분과 금속의 표면 또는 금속이온과의 접촉으로 인한 성분간 반응에 의한 것으로 생각되어진다. 간에는 단백질, 지질, 철 및 칼슘 등의 영양성분이 포함되어 있

으며, 이 중 산화되기 쉬운 지질은 자동산화과정에서 생성되는 휘발성성분으로 인해 많은 식품의 저장, 가공에서의 flavor 변화에 관여하기 때문에 중요시되고 있다. 특히, 인지질과 중성지질의 구성성분인 불포화지방산은 자동산화에 의해 휘발성알데히드, 케톤, 알코올 및 산 등을 생성하는 것이 알려져 있다. 또한, 고도불포화지방산(PUFA)의 경우, 불포화도에 따라 자동산화의 속도가 증대되며, 불포화지방산(18:2, 18:3, 20:4, 20:6)에스테르의 경우, 18:2의 산화속도가 1일 때 PUFA의 속도비가 1:2:3:5인 것이 보고⁽⁷⁾되어 있다. 간의 경우, 약 3.4%의 지질이 함유되어 있으며, 그 주요한 지방산 조성은 palmitic acid(20.9%), stearic acid(20.8%), oleic acid(25.8%), linoleic acid(15.8%), linolenic acid(0.2%) 및 arachidonic acid(11.2%)으로 불포화지방산의 비율이 약 50% 이상을 차지한다⁽⁸⁾. 따라서, 간의 구성성분인 불포화지방산이 산소 또는 금속이온(철 이온)에 의한 산화로 생성되는 휘발성 산화 분해생성물을 검토하는 것은 간의 off-flavor형성을 이해하는 중요한 열쇠가 된다. 즉, 간에 함유된 불포화지방산의 산화로 생성되는 flavor가 간의 특이한 불쾌취(off-flavor)를 형성하게 되면 불포화지방산의 산화는 간의 off-flavor형성에 기여하는 것을 시사하게 된다.

일반적으로, 휘발성성분의 포집 과정에 있어서는 이차적인

*Corresponding author : Sung Hee Choi, Dept. of Food Science and Nutrition, Donggeui University, San 24, Gaya-dong, Busanjin-gu, Busan 614-714, Korea
Tel: 82-51-890-1590
Fax: 82-51-890-1579
E-mail: choish@donggeui.ac.kr

성분변화가 일어나기 쉽고, 반대로 성분의 변화가 일어나지 않더라도 각 성분의 양·비 관계에 있어서도 원래 시료와 같은 성분비로 휘발성성분이 포집, 분석되지 않는 경우가 많다. 또한, 특성의 냄새를 표현 가능한 특정 향기 성분(character impact compounds)이 존재하는 시료인 경우에는 어떤 방법으로도 그 화합물을 분리·동정 가능하면 된다. 그러나, 휘발성성분이 일정한 비율로 혼재해서 처음으로 그 식품을 특징짓는 냄새를 나타내는 시료인 경우는 그 균형이 깨어질 경우는 전혀 다른 냄새를 나타내게 되고, 본래의 냄새를 나타내는 휘발성성분 농축물을 얻는 것은 곤란하게 된다. 이러한 의미에서 불포화지방산 산화생성물의 경우에도, 후각을 통해 느끼는 것과 동일한 성분 균형을 가지는 헤드스페이스(headspace) 휘발성성분을 포집, 분석할 필요가 있다. 이상과 같은 의미에서, headspace 휘발성성분을 그 성분조성의 변화 없이 능률적으로 포집하여, 그 균형을 유지한 채로 분석 가능한 방법이 요구되며, 고상마이크로추출법(solid-phase microextraction, 이하 SPME라함)이 headspace 휘발성성분을 흡착, 분리하는 간단한 흡착기술로서 보고되어 있다⁽⁹⁻¹²⁾.

본 연구는 간 및 간에 함유된 불포화지방산인 arachidonic, linolenic, linoleic 및 oleic acid을 이용하여 철 이온과 산소의 존재하, 산화반응으로 생성되는 산화 반응생성물을 검토함으로써 간에 포함된 불포화지방산과 간의 불쾌취(off-flavor)형성과의 관련성을 검토하였다. 또한, 간 및 간에 함유된 불포화지방산 산화 반응생성물의 headspace 휘발성성분을 SPME에 의해 흡착 후 GC-MS에서 분석함으로써 후각을 통해 관능적으로 느낄 수 있는 동일한 성분 균형을 가지는 headspace 휘발성성분을 검토하였다. 이 결과를 통해 간을 식품으로서 이용할 때, 문제가 되는 비린내불쾌취의 존재를 재인식하고, 간의 비린내불쾌취를 화학적 분석을 이용하여 밝히고자 한다.

재료 및 방법

시료

본 실험에 사용한 불포화지방산인 arachidonic acid(5, 8, 11, 14-eicosatetraenoic acid from porcine liver, 99% pure)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA), linolenic acid(9, 12, 15-octadecatrienoic acid, 99% pure), linoleic acid(9, 12-octadecadienoic acid, 99% pure), oleic acid(9-octadecenoic acid)은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)제품을 사용하였다. 각 불포화지방산 100 mg에 에탄올 1 mL를 가해 불포화지방산 에탄올용액을 만든 후, 0.2 mL씩 사용하였다. 돼지간은 동경 시바우라장기(주)에서 구입하여, 균질화한 후 실험에 제공하였다. 철은 염화제일철($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 178 μg (철함량 50 μg)을 사용하였다.

SPME를 이용한 불포화지방산의 headspace 휘발성 산화생성물 포집 및 농축

본 실험의 headspace 휘발성성분 포집 및 농축은 Fig. 1의 장치틀을 이용하여 각 불포화지방산을 철 이온 존재하 산소기류에서 60분간 반응을 시킨 후, Fig. 2의 SPME unit를 사용하여 headspace 휘발성성분을 30분간 포집, 농축하였다. 즉,

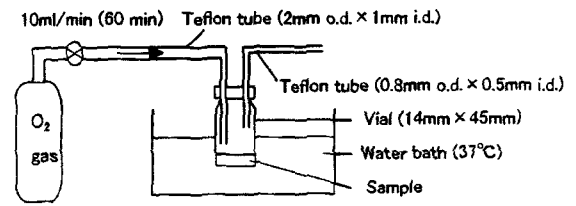


Fig. 1. Apparatus for the oxidation reaction.

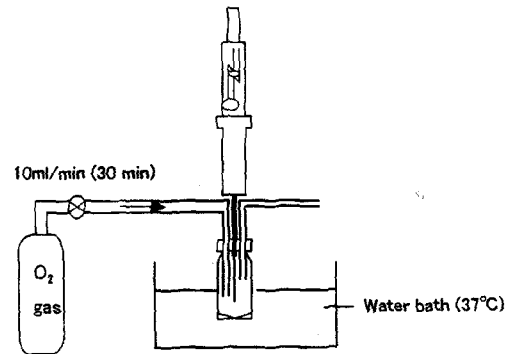


Fig. 2. Apparatus for the headspace sampling by SPME.

각 불포화지방산 에탄올용액 0.2 mL에 염화철(II) 178 μg 을 첨가한 시료에 1% 시클로헥산올 40 μg 을 내부 표준물질로 넣은 후, 37°C의 수욕조에서 산소 10 mL/min의 유속으로 1시간 흐르게 하여, headspace를 생성시킨 후, SPME unit를 사용하여 30분간 headspace를 흡착, 농축하였다. 시료 중에 포함된 용매인 에탄올은 도입된 산소가스에 의해 테플론 튜브를 통해 외부로 배출되도록 하여(Fig. 1), headspace중에 포함된 여분의 용매를 SPME fiber에 흡착시키지 않고, 제거하는 것이 가능하였다. 또한, 균질화한 간 시료 1g에 염화철(II) 10 mg을 첨가하여 사용하였다. 실험에 이용한 septum이 부착된 vial(14 mm×45 mm)은 150°C에서 2시간 가열하여 저비점 휘발성성분을 제거하고 사용하였다. SPME fiber에 흡착된 headspace 휘발성성분은 GC의 주입구 기화실(240°C)에서 가열탈착과 동시에 GC-MS분석이 진행되었다.

SPME fiber의 선택

SPME용 fused silica fiber(이하 fiber라 함)는 액상의 막두께, fiber 고정상 및 추출상 고정타입(화학결합과 비화학결합)에 의해 최적의 분석대상물질이 결정된다. 따라서, 불포화지방산의 headspace 휘발성 산화생성물 포집과 농축에 가장 적합한 fiber를 선택하기 위해 3종류의 향기성분 분석용 fiber를 사용하였다. 즉, polydimethylsiloxane/divinylbenzene(65 mm PDMS/DVB), polydimethylsiloxane/carboxen(75 mm PDMS/Carboxen), polydimethylsiloxane(100 mm PDMS)의 SPME fiber(Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하여 headspace 휘발성성분 포집, 농축의 재현성 및 peak 감도를 검토하였다. 각종의 fiber는 내열성 조건에 따라, 250-270°C(GC 주입구 온도)에서 30분간 aging하여 background가 되는 불순물을 가능한 제거한 후 사용하였다.

간 및 각 불포화지방산의 headspace 휘발성 산화생성물 분석 및 동정

포집, 농축된 간 및 각 불포화지방산 headspace 휘발성 산화생성물의 GC-MS 분석조건은 다음과 같다. GC-MS 장치는 GCQ(Finnigan MAT)이며, column은 CP-WAX 52CB(30 m×0.25 μm i.d.×0.25 film thickness; Chrompack, Netherlands), column 온도는 60°C(4 min)에서 200°C(2°C/min)이며, GC 주입구 온도는 240°C로 설정하였다. MS의 분석조건으로 carrier gas는 helium, linear velocity는 40 cm/sec, ionization mode는 EI, multiplier 전압은 1500 V, ionization voltage는 70 eV, mass range 25-450 m/z로 하였다. 휘발성성분의 동정은, library search system(GCQ library search system: NIST mass spectra data base, 1996년), The Wiley/NBS Registry of Spectral Data, Eight peak Index of Mass Spectra에 의한 검색과 필요에 따라 표준물질(Wako Pure Co., Japan, Sigma Chemical Co., USA, Aldrich Chemical Co., USA)을 입수하여 MS Spectra를 확인하여 동정하였다. 휘발성물질의 정량 분석치는 내부 표준물질인 시클로헥산올의 면적을 기준으로 하여, 내부 표준물질에 대한 각 peak의 상대면적으로 산출하였다.

결과 및 고찰

SPME용 fiber의 선택

Fig. 3은 휘발성성분 분석용으로 최적인 fiber의 선택을 위해 실시된 arachidonic acid headspace 휘발성 산화생성물의 이온크로마토그램을 나타내고 있다. 휘발성성분 분석용인 3 종류의 fiber에 의해 나타난 결과인 이온크로마토그램 패턴의 비교에 의해, 불포화지방산의 headspace 휘발성 산화생성물 포집에 적합한 fiber의 검토가 가능하였다. 동일조건에 의해 행해진 PDMS/DVB, PDMS/Carboxen 및 PDMS에 있어서, 크로마토그램의 패턴과 peak성분의 면적이 fiber에 따라 현저하게 다른 것을 볼 수 있다. 즉, arachidonic acid의 산화생성물에 대한 각 fiber의 선택성에 차이가 있었다. 먼저, PDMS/DVB의 경우, arachidonic acid 산화생성물의 대부분을 차지하고 있는 휘발성 알데히드류, 알코올류 및 지방산등 대다수의 화합물이 검출되었으며, PDMS/Carboxen과 PDMS에 비해 화합물의 흡착과 검출의 감도가 양호하였다. PDMS/Carboxen의 headspace 분석 결과, 알데히드 및 케톤류는 검출되었으나 PDMS/DVB와 비교하여 전체적인 peak면적이 감소하였다. 또한, hexanal의 큰 면적에 비해 전혀 검출되지 않은 성분도 있었는데, 이는 PDMS/DVB보다 화합물의 보유력이 큰 PDMS/Carboxen의 경우, 열탈착시 보다 큰 에너지를 필요로 하기 때문에⁽¹³⁾ PDMS/Carboxen에 흡착된 화합물이 본 실험의 조건에 있어서는 완전하게 탈리되지 않은 것이 그 원인인 것으로 생각되었다. 그리고, PDMS/DVB와 PDMS/Carboxen에서 검출된 butanoic acid 및 pentanoic acid가 PDMS에서는 전혀 검출되지 않았다. 이는 저극성인 PDMS fiber의 경우, 극성의 지방산에 대해서는 친화력이 부족한 것이 원인⁽¹⁴⁾으로 생각되어진다. 또, 검출시 baseline의 불안정과 함께 PDMS/DVB에서 검출된 몇몇 peak가 검출되지 않았다. 이상의 결과에 의해, SPME법은 불포화지방산의 headspace

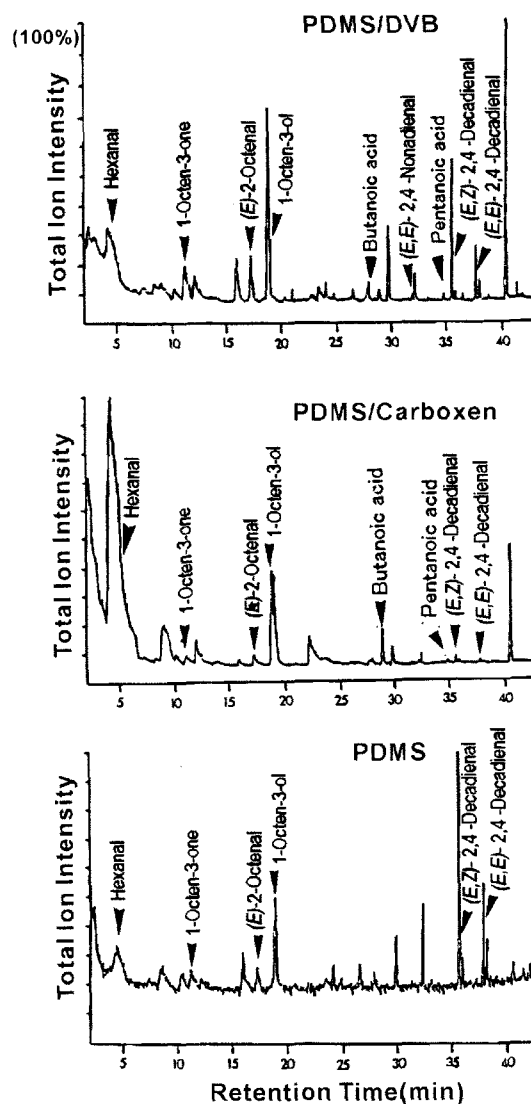


Fig. 3. Comparison of different SPME fibers for arachidonic acid analysis.

휘발성 산화생성물의 분석에 유효한 것이 시사되었다. 결과적으로, PDMS/DVB fiber는 불포화지방산 headspace 휘발성 산화생성물의 대부분을 차지하는 알데히드류, 케톤류 및 알코올류에 대한 높은 선택성과 흡착 및 탈착 감도가 양호하여 GC분석에 있어서도 고감도의 검출이 가능한 fiber인 것이 확인되었다.

SPME를 이용한 불포화지방산의 headspace 휘발성 산화생성물

간에 함유된 각 불포화지방산인 arachidonic, linolenic, linoleic 및 oleic acid을 철 이온 존재 하 및 비존재 하 headspace 휘발성 산화생성물의 관능평가를 실시한 결과, 비린내, 금속취 및 간장취(肝臟臭)는 유의차가 인정되었다. 특히, arachidonic acid 및 linolenic acid에서는 특징적인 금속취(metallic off-flavor)와 비린내불쾌취(fishy off-flavor)의 생성이 확인되었다. 이와 같이, 철 이온 존재하 생성된 headspace 휘발성 산화생성물을 PDMS/DVB fiber에 흡착후 탈착하여 냄

Table 1. Headspace volatile compounds of unsaturated fatty acids in porcine liver during oxidation purged with O₂ gas

Peak No. ¹⁾	<i>t_R</i> (min)	Compound ²⁾	Estimated conc. (ng/mg) ³⁾				ID ⁴⁾
			A	B	C	D	
1	4.14	Hexanal		6.4		18.1	ms, std
2	5.59	1-Penten-3-ol			0.7		ms, std
3	6.48	Heptanal	0.3				ms, std
4	10.39	Octanal	0.8				ms, std
5	11.02	1-Octen-3-one		0.2		3.2	ms, std
6	11.57	(Z)-4-Heptenal		3.5		4.0	ms, std
7	15.39	Nonanal	6.0				ms, std
8	17.13	(E)-2-Octenal		2.4		6.4	ms, std
9	18.34	1-Octen-3-ol		0.3		9.6	ms, std
10	19.16	Heptanol	0.1				ms, std
11	19.22	(E,Z)-2,4-Heptadienal			6.0		ms, std
12	20.46	(E,E)-2,4-Heptadienal			5.1		ms, std
13	21.14	Decanal	0.1				ms, std
14	21.23	(E)-2-Nonenal		0.6		0.3	ms, std
15	22.19	(E,Z)-3,5-Octadien-2-one			0.8		ms
16	24.57	(E,E)-3,5-Octadien-2-one			0.7		ms
17	25.50	(E,Z)-2,6-Nonadienal			0.4		ms, std
18	29.00	Octanol	0.3				ms, std
19	31.44	(E,E)-2,4-Nonadienal				0.2	ms
20	35.25	(E,Z)-2,4-Decadienal		0.2		3.5	ms, std
21	35.53	Nonanol	0.1				ms, std
22	37.32	(E,E)-2,4-Decadienal		0.8		1.4	ms, std
23	37.58	(E,Z)-3,5-Undecadien-2-one				0.5	ms
24	40.07	Hexanoic acid				2.3	ms, std
25	41.47	(E,E)-3,5-Undecadien-2-one				0.3	ms

¹⁾Peak numbers in Fig. 4. ²⁾All identifications not confirmed by retention indices are considered to be tentative. ³⁾Estimated conc. with respects to the internal standard (cyclo-hexanol). ⁴⁾Compounds identified on the basis of the following criteria: ms; mass spectra were consistent with those of Wiley/NBS and generated libraries, std; GC retention time were confirmed with that of standard sample. A: Oleic acid+FeCl₂, B: Linoleic acid+FeCl₂, C: Linolenic acid+FeCl₂, D: Arachidonic acid+FeCl₂.

새의 질을 평가하였다. 그 결과, arachidonic acid의 headspace 휘발성 산화생성물의 경우 금속취를 포함한 비린내 및 oily 한 냄새를 가지는 것이 확인되었다. 따라서 SPME법은 불포화지방산의 산화로 생성된 headspace 휘발성성분의 포집 및 분석에 적절한 방법으로 시사되었다. Fig. 4는 철 이온 존재 하 각 불포화지방산 headspace 휘발성 산화생성물의 이온크로마토그램을 나타내고 있다. 비교적 소량의 시료(A, B, C 및 D)에서 headspace 휘발성성분을 효율적으로 흡착하여 검출하는 것이 가능하였다. SPME에서 얻어진 각 성분의 *t_R*은 GC분석에서 얻어지는 *t_R*과 거의 일치하였다. GC-MS 데이터 해석 및 *t_R*의 비교에 의해 동정된 각 화합물을 Table 1에 나타내었다.

Arachidonic acid의 headspace 휘발성 산화생성물: Fig. 4의 (D)에는 철 이온 존재하 arachidonic acid 휘발성 산화생성물의 이온크로마토그램으로서 12성분이 검출되었으며, 이들은 주로 C₆₋₁₀의 alkanal, alkenal, 2,4-dienal, 케톤, 알코올 및 지방산이었다. 알데히드류는 hexanal을 비롯하여 enal류의 (Z)-4-heptenal, (E)-2-octenal, (E)-2-nonenal, dienal류의 (E,E)-2,4-nonadienal, (E,Z)-2,4-decadienal 및 (E,E)-2,4-decadienal의 7종류였다. 그 외, 1-octen-3-one, 1-octen-3-ol, (E,Z)-3,5-undecadien-2-one, (E,E)-3,5-undecadien-2-one 및 hexanoic

acid 등이었다. 이들 화합물의 flavor와 냄새 한계값(threshold = T)은, hexanal(green · grassy⁽¹⁵⁾, T = 4.5 ppb⁽¹⁶⁾), (E)-2-nonenal (cucumber · cardboard-like^(15,17), T = 0.08 ppb⁽¹⁶⁾), (E,Z)-2,6-nonadienal(cucumber^(15,17), T = 0.01 ppb⁽¹⁸⁾) 등으로 C₆ 및 C₉의 알데히드류는 PUFA에서 생성된 신선한 해산물의 냄새성분으로 냄새의 한계값은 0.01-4.5 ppb인 것으로 보고되어 있다⁽¹⁹⁾. 또한, (Z)-4-heptenal(T = 0.04 ppb⁽¹⁷⁾)은 버터의 불쾌취⁽²⁰⁾ 및 대두유에서 생성되는 것으로 밝혀져 있다⁽²¹⁾. C₁₀의 알데히드류인 (E,Z)-2,4-decadienal(T = 20 ppb⁽²⁰⁾), (E,E)-2,4-decadienal(T = 0.5 ppb⁽²²⁾)은 신선한 해산물에 존재하며, PUFA의 자동산화에 의해 증가되는 것이 보고되어 있다⁽¹⁹⁾. 또한, arachidonic acid의 산화생성물로 chicken flavor를 형성하는 성분인 (E,Z,Z)-2,4,7-tridecatrienal^(20,23)도 생성이 예상되었으나, 본 실험의 SPME법으로는 검출되지 않았다. 한편, C₈의 케톤인 1-octen-3-one(0.005 ppb⁽¹⁸⁾)은 유제품의 산화에 의해 생성되는 금속취(metallic flavor)⁽²⁴⁾ 원인물질로 보고되어 있다. 이들 알데히드류 및 케톤은, 낮은 한계값과 냄새의 질적인 면에서 산화된 arachidonic acid에서 생성되는 특유한 불쾌취로 생각되어진다.

Linolenic acid의 headspace 휘발성 산화생성물: Linolenic acid의 headspace 휘발성 산화생성물의 주성분으로서는, 1-

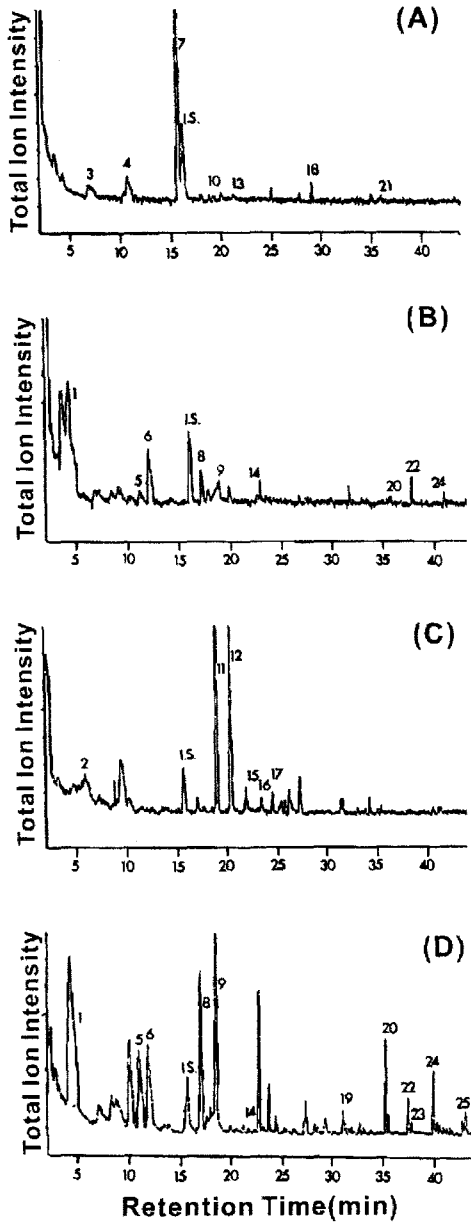


Fig. 4. Total ion chromatogram of headspace volatile compounds of FeCl₂ added unsaturated fatty acids using SPME (Purged with O₂ gas). (A) Oleic acid (B) Linoleic acid (C) Linolenic acid (D) Arachidonic acid

penten-3-ol, (*E,Z*)-2,4-heptadienal, (*E,E*)-2,4-heptadienal, (*E,Z*)-3,5-octadien-2-one, (*E,E*)-3,5-octadien-2-one, (*E,Z*)-2,6-nonadienal이었다. 1-Penten-3-ol(T = 400 ppb⁽¹⁵⁾)은 담수어에서 검출된 성분⁽²⁵⁾으로, 선도 저하된 정어리에서 특이적으로 다량 검출되는 성분이다⁽²⁶⁾. C₈의 케톤인 (*E,Z*)-3,5-octadien-2-one, (*E,E*)-3,5-octa-dien-2-one, C₇의 알데히드류인 (*E,Z*)-2,4-heptadienal, (*E,E*)-2,4-heptadienal은 신선한 해산물에 존재하며, PUFA의 자동산화에 의해 증가하는 것으로 보여진다⁽¹⁹⁾. (*E,Z*)-2,4-Heptadienal 및 (*E,E*)-2,4-heptadienal은 호수와 늪지에서 대량으로 발생하여 비린내를 느끼게 하는 황금조류(藻類)에서 유래되는 비린내 물질⁽²⁷⁾로서 보고되어 있다. 또한,

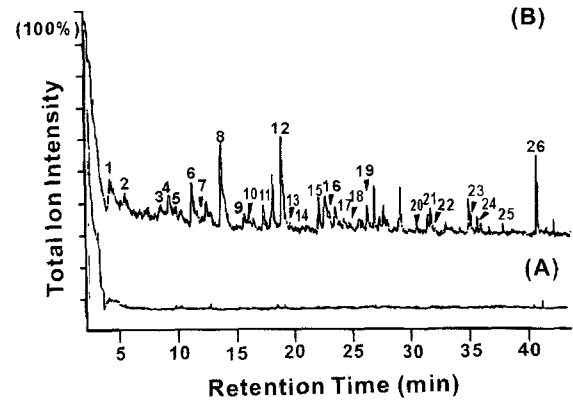


Fig. 5. Total ion chromatogram of headspace volatile components of FeCl₂ added porcine liver using SPME (purged with O₂ gas). (A) Porcine liver (B) Porcine liver+FeCl₂. Peaks: (1) hexanal (4) 3-octanone (5) 2-octanone (6) 1-octen-3-one (7) (*Z*)-4-heptenal (8) hexanol (9) nonanol (11) (*E*)-2-octenal (24) (*E,Z*)-2,4-decadienal (25) (*E,E*)-2,4-decadienal (26) hexanoic acid

(*E,Z*)-3,5-Octadien-2-one, (*E,E*)-3,5-octadien-2-one, (*E,Z*)-2,4-heptadienal 및 (*E,E*)-2,4-heptadienal은 정어리의 선도 저하시 현저하게 증가하는 것으로 보고되어 있다⁽²⁸⁾. 한편, (*E,Z*)-2,6-nonadienal은 cucumber-like를 나타내며⁽²⁹⁾, 우유지방의 자동산화로 생성되는 grassy flavor 화합물로 알려져 있다⁽³⁰⁾.

Linoleic acid 및 oleic acid의 headspace 휘발성 산화생성물: Linoleic acid의 headspace 휘발성 산화생성물로는, hexanal, 1-octen-3-one, (*Z*)-4-heptenal, (*E*)-2-octenal, (*E*)-2-nonenal, 1-octen-3-ol, (*E,Z*)-2,4-decadienal 및 (*E,E*)-2,4-decadienal이 확인되었다. Hexanal, octenal 및 2,4-decadienal은 면실유에 포함된 linoleic acid의 산화 분해생성물로 보고되어 있다⁽³¹⁾. (*E,Z*)-2,4-decadienal 및 (*E,E*)-2,4-decadienal은 야자유, 낙화생유⁽³²⁾ 및 산화된 linoleic acid 유래의 대두유 분해생성물⁽³³⁾로 알려진 것으로, 본 연구의 arachidonic acid의 산화 분해생성물로도 동정되었다. Oleic acid의 headspace 휘발성 산화생성물로는 heptanal, octanal, nonanal 및 decanal의 알데히드류와 알콜류의 heptanol, octanol 및 nonanol이 동정되었다.

간의 headspace 휘발성 산화생성물: 간에 함유된 불포화지방산의 휘발성 산화생성물이 간의 비린내 불쾌취에 관여하는 것을 보다 명확히 하기 위해서는 간의 휘발성 산화생성물과 비교하는 것이 필요하다. 따라서, 철 이온 존재하 간의 headspace 휘발성 산화생성물을 검토하는 것에 의해, 불포화지방산의 산화생성물과 간의 불쾌취 생성과의 관련성을 검토하였다. 철 이온 존재하 간의 headspace 휘발성 산화생성물의 관능평가 결과 강한 금속취 및 비린내 불쾌취를 나타내는 것이 확인되었다. 이는 철 이온 존재하의 arachidonic acid 및 linolenic acid에서 생성되는 금속취와 비린내 불쾌취의 형성과의 관련성을 시사하고 있다. Fig. 5는 철 이온 존재하 간의 산화 반응생성물을 SPME법에 의해 포집한 headspace 휘발성 산화생성물의 이온크로마토그램을 나타내고 있다. 각 화합물의 유지시간은 GC의 t_R치와 일치하였으며, GC-MS 데이터의 해석과 표준물질의 t_R치 비교에 의해 각 화합물을 동정하였다. 주요성분으로, 알데히드류는 hexanal, nona-

nal, (Z)-4-heptenal, (E)-2-octenal, (E)-2-nonenal, (E,Z)-2,4-decadienal 및 (E,E)-2,4-decadienal, 케톤류는, 3-octanone, 2-octanone 및 1-octen-3-one, 알코올류는 hexanol, 1-octen-3-ol, heptanol, octanol 및 nonanol과 산류인 butanoic acid, pentanoic acid 및 hexanoic acid 등이 동정되었다. 이와 같이 간에서 생성된 headspace 휘발성 산화생성물은 간에 포함된 각 불포화지방산 headspace 휘발성 산화생성물과 비교하면 휘발성 알데히드를 비롯하여 많은 화합물이 arachidonic, linolenic, linoleic 및 oleic acid에서 생성된 것과 일치함을 알 수 있다. 또한, 1-octen-3-one 및 hexanol은 가열한 간장의 휘발성성분으로 검출되었으며, 특히, 1-octen-3-one은 우유지방의 산화로 생성되는 금속취 원인물질로도 알려져 있으며⁽³⁰⁾, GC-olfactometry의 결과 강한 금속취를 나타내는 성분으로 동정되었다. 철 이온 존재하 산화된 arachidonic acid은 강한 금속취를 나타내는데, 이는 arachidonic acid의 산화에 의해 생성된 1-octen-3-one에 의한 것이며, 간의 금속취 또한 간에 함유된 고도불포화지방산인 arachidonic acid의 산화로 인해 생성된 1-octen-3-one이 원인물질인 것으로 사료된다. Arachidonic acid과 linoleic acid의 산화생성물로서도 동정된 성분으로, 냉동 보존한 대구의 불쾌취^(34,35), 버터의 불쾌취⁽²⁰⁾ 및 대두유에서 생성되는 off-flavor로 알려진 (Z)-4-heptenal이 동정되었다⁽²¹⁾.

요 약

간 및 간에 함유된 불포화지방산인 arachidonic, linolenic, linoleic 및 oleic acid의 철 이온 존재하에서의 headspace 산화 반응생성물을 SPME법을 이용하여 포집, 분석하는 것에 의해 간에 함유된 불포화지방산의 산화생성물과 간의 비린내 불쾌취 형성과의 관련성을 검토하였다. SPME fiber중 불포화지방산의 headspace 산화생성물인 휘발성 알데히드류, 알코올류 및 지방산 등 대다수의 화합물을 검출에는 PDMS/DVB fiber가 적합하였다. 간의 headspace 산화생성물은 arachidonic acid을 비롯한 간에 함유된 각 불포화지방산의 headspace 산화생성물과 일치하였으며, 간의 불쾌취 형성은 간에 함유된 불포화지방산의 산화로 생성되는 산화 반응생성물에 의한 것이 시사되었다. 간의 불쾌취를 형성하는 주요성분으로는, arachidonic acid에서 생성되어 간의 금속취를 형성하는 화합물로 생각되어지는 1-octen-3-one 및 hexanol과 linolenic acid에서 형성되어 간의 비린내를 형성하는 (E,E)-2,4-heptadienal이 그 원인물질인 것으로 사료된다. 산화에 의해 생성된 각 불포화지방산의 산화 반응생성물은 간의 불쾌취인 비린내, 금속취등을 생성하며, 주로 arachidonic acid 및 linolenic acid의 산화에 의해 생성된 산화 반응생성물에 의한 것으로 밝혀졌다.

문 헌

- Kimura, T. and Ogawa, Y. Effect of ultrasonic wave irradiation on cooking (part 3). A study on removal of blood from chicken liver and its deodorizing effect. J. Home Econ. Japan 36: 851-860 (1985)
- Kimura, T., Kagaya, M., Fukuya, Y. and Kosugi, S. Properties of chicken liver preserved in Miso. J. Home Econ. Japan 41: 629-

- 636 (1990)
- Kimura, T., Fukuya, Y. and Kagaya, M. Changes in properties of chicken liver cured in aged sake lees. J. Cookery Sci. Japan 23: 267-274 (1990)
- Kimura, T., Fukuya, Y. and Kagaya, M. The conditions for preparing chicken marinade and the effect of the addition of Sake. J. Home Econ. Japan 42: 151-159 (1991)
- Kimura, T., Kagaya, M., Fukuya, Y. and Sugahara, T. Conditions for preparing chicken liver cured in rice-bran paste and the effect of the addition of white liquor and sugar. J. Home Econ. Japan 44: 845-854 (1993)
- Kimura, T., Fukuya, Y., Kagaya, M. and Sugahara, T. Effect of addition of sodium chloride on chicken liver cured in aged sake lees. J. Cookery Sci. Japan 28: 218-223 (1995)
- Cosgrove, J.P., Church, D.F. and Pryor, W.A. The kinetics of the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Lipids 22: 299-304 (1987)
- Chung, R.A. and Lin, C.C. Fatty acid content of pork cuts and variety meats as affected by different dietary lipids. J. Food Sci. 30: 860-864 (1965)
- Arthur, C.L. and Pawliszyn, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. Anal. Chem. 62: 2145-2148 (1990)
- Jia, M., Zhang, Q.H. and Min, D.B. Optimization of solid-phase microextraction analysis for headspace flavor compounds of orange juice. J. Agric. Food Chem. 46: 2744-2747 (1998)
- Marsili, R.T. Comparison of solid-phase microextraction and dynamic headspace methods for the gas chromatographic-mass spectrometric analysis of light-induced lipid oxidation products in milk. J. Chromato. Sci. 37: 17-23 (1999)
- Choi, H.S. Characterization of *Citrus unshiu* (*C. unshiu* Marcov. forma *Miyagawawase*) blossom aroma by solid-phase microextraction in conjunction with an electronic nose. J. Agric. Food Chem. 51: 418-423 (2003)
- Chromatography products for analysis and purification. SPME guide. Supelco Co., Sigma-Aldrich Japan K.K (1999)
- Yang, X. and Peppard, T. Solid phase microextraction for flavor analysis. J. Agric. Food Chem. 42: 1925-1930 (1994)
- Josephson, D.B., Lindsay, R.C. and Stuber, D.A. Identification of compounds characterizing the aroma of fresh whitefish (*Coregonus clupeaformis*). J. Agric. Food Chem. 31: 326-330 (1983)
- Frazzolari, F.A. Compilations of Odor and Taste Threshold Value Data. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, USA (1978)
- Josephson, D.B. Mechanisms for the formation of volatiles in fresh seafood flavors, Ph. D. dissertation, University of Wisconsin Madison, USA (1987)
- Buttery, R.G. Vegetable and fruit flavors, pp. 193-211. In: Flavor Research-Recent Advances. Teranishi, R., Flath, R. A. and Sugisawa, H. (eds.), Marcel Dekker, New York, USA (1981)
- Josephson, D.B. Seafood, pp. 179-202. In: Volatile Compounds in Foods and Beverages. Maarse, H. (ed.), Marcel Dekker, New York, USA (1991)
- Bading, H.T. Cold-storage defects in butter and their relation to the autoxidation of unsaturated fatty acids. Neth. Milk Dairy J. 24: 146-256 (1970)
- Seals, R.G. and Hammond, E.G. Some carbonyl flavor compounds of oxidized soybean and linseed oils. J. Am. Oil Chem. Soc. 47: 278-280 (1970)
- Patton, S., Barnes, I.J. and Evans, L.E. n-Deca-2,4-dienal, its origin from linoleate and flavor significance in fats. J. Am. Oil Chem. Soc. 36: 280-283 (1959)
- Harkes, P.D. and Begemann, W. J. Identification of some previously unknown aldehydes in cooked chicken. J. Am. Oil Chem. Soc. 51: 356-359 (1974)
- Stark, W. and Forss, D.A. A compounds responsible for metallic flavour in dairy products. J. Dairy Res. 29: 173-180 (1962)
- Josephson, D.B. and Lindsay, R.C. Enzymic generation of volatile

- aroma compounds from fresh fish, pp. 201-209. In: Biogeneration of Aromas. Parliment, T.H. and Croteau, R. (eds.), ACS Symposium Series 317, American Chemical Society, Washington, DC, USA (1985)
26. Yoshiwa, T., Morimoto, K., Sakamoto, K. and Ishikawa, Y. Analysis of volatile components in sardine by purge-and trap method. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58: 2105-2110 (1992)
27. Nakahara, M., Takano, R., Ito, H., Yano, H., Hirase, S. and Hara-maya, K. Volatile constituents of *Uroglena americana* (Chrysophyceae). *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 62: 157-159 (1988)
28. Yoshiwa, T., Morimoto, K., Sakamoto, K., Ishikawa, Y., Tokita, M. and Morita, M. Volatile compounds of fishy odor in sardine by simultaneous distillation and extraction under reduced pressure. *Nippon Suisan Gakkaishi* 63: 222-230 (1997)
29. Forss, D.A., Dunstone, E.A., Ramshaw, E.H. and Stark, W. The flavor of cucumbers. *J. Food Sci.* 27: 90-93 (1962)
30. Hammond, E.G. and Hill, F.D. The oxidized-metallic and grassy flavor components of autoxidized milk fat. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 41: 180-184 (1964)
31. Swift, C.E., O'connor, R.T., Brown, L.E. and Dollear, F.G. The aldehydes produced during the autoxidation of cottonseed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 26: 297-300 (1949)
32. Hoffmann, G. and Keppler, J.G. The stereo-configuration of 2,4-decadienals isolated from oils containing linoleic acid. *Nature* 185: 310-311 (1969)
33. Hoffmann, G. Isolation of two pairs of isomeric 2,4-alkadienals from soybean oil-reversion flavor concentrate. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 38: 31-32 (1961)
34. McGill, A.S., Hardy, R., Burt, J.R. and Gunstone, F.D. Hept-*cis*-4-enal and its contribution to the off-flavour in cold stored cod. *J. Sci. Food Agric.* 25: 1477-1489 (1974)
35. McGill, A.S., Hardy, R. and Gunstone, F.D. Further analysis the volatile components of frozen cold stored cod and the influence of these on flavour. *J. Sci. Food Agric.* 28: 200-205 (1977)

(2003년 5월 7일 접수; 2003년 6월 11일 채택)