J Korean Soc Food Sci Nutr
35(10), 1399~1404(2006)

복합 리놀레산을 함유하는 재구성지질의 산화안정성

유희진[1] · 이기택[1] · 이규희[2] · 오만진[1†]

[1]충남대학교 식품공학과
[2]우송대학교 식품영양 · 식품과학부

Oxidative Stability of Structured Lipid Containing Conjugated Linoleic Acid

Hee-Jin Yu[1], Ki-Teak Lee[1], Gyu-Hee Lee[2] and Man-Jin Oh[1†]

[1]*Dept. of Food Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea*
[2]*Dept. of Food Science and Technology, Woosong University, Daejeon 300-718, Korea*

Abstract

Structured lipid (SL) containing conjugated linoleic and caproic acid was produced from soybean oil through lipase-catalyzed reaction, and its oxidative stability was compared. When heated at 60°C or 150°C, soybean oil as control was more susceptible to oxidation than SL. When the antioxidants, such as ascorbyl palmitate, tea polyphenol, alpha-tocopherol, and rosemary extract, were added in SL, the induction periods of each antioxidant treats in SL were increased. The tea polyphenol showed the most effective antioxidant activity among them. When the emulsion form with SL was heated from oxidation, its oxidation stability was reduced compared to SL. The oxidation stability were also observed in photooxidation of SL.

Key words: structured lipid, conjugated linoleic acid, oxidation

서 론

유지는 영양학적으로 고열량 식품성분일 뿐만 아니라 인체의 생리활성 조절에 영향을 미치는 주요한 영양성분으로서 근래 새로운 지질 소재인 재구성지질에 대하여 많은 연구자들이 주목을 하고 있다.

재구성지질의 합성에 사용될 수 있는 conjugated linoleic acid(CLA)는 최근 관심의 대상이 되고 있는 기능성 지질 소재로` 필수지방산인 linoleic acid의 이성체로서 linoleic acid를 함유하는 중성지질에 수소 첨가할 때 미량으로 생성되거나, 반추위동물에서 유래 제품인 육류나 우유, 치즈 등에 소량 함유되어 있다(1). CLA는 mouse skin cancer, mouse fore stomach cancer, mouse colon cancer 및 rat mammary cancer에 대하여 강력한 항암효과와 항산화작용, 당뇨병의 예방 및 치료효과(2)가 있음이 증명되었으며 이외에도 면역증강, 체지방감소, 고기의 저장성 연장 등의 효과를 갖는 기능성 소재로 알려져 있다(3,4).

기능성 소재인 CLA로 합성한 재구성지질(structured lipid)은 triacylglycerol의 지방산 조성이나 지방산의 위치를 glycerol 분자 안에서 효소반응 또는 물리적, 화학적 반응으로 특성을 바꾸어 합성된 지질로, 유지의 이화학적 특성을 개선시켜 기능성 식품소재로 이용할 수 있다.

재구성지질의 합성은 미생물 lipase를 이용하는 방법, 고온·고압에서 직접 에스테르화시켜 합성하는 방법 등이 있지만 고온·고압에서의 지방질 합성은 반응이 진행되면서 부산물이 생성되는 단점이 있기 때문에 lipase를 이용한 합성방법이 연구되고 있다(4).

이와 같이 얻어진 재구성지질 또한 일반 중성지질과 같이 열, 산소, 광선에 의하여 산화가 일어나 독성을 일으키므로 산화를 방지할 필요가 있어 독성이 없고 인체에 무해하며 경제성이 있는 천연 항산화제에 대한 연구가 진행되어 왔다(5-7). 근래 식물에 존재하는 flavonoid류, 다류의 polyphenol류, 향신료의 각종 phenol류, 두류와 곡류의 phytic acid 등이 천연 항산화제로서 각광을 받고 있다(5). 산화방지제의 효과는 유지의 종류와 유지에 존재하거나 가공 중에 생성되는 산화촉진 물질 및 항산화제의 종류와 그 함량, 항산화제의 이화학적 성질 등에 의하여 크게 영향을 받으므로 유지에 따른 적합한 항산화제를 올바르게 선택하여 사용하여야 할 것이다(8-10).

본 연구에서는 기능성 지질 소재인 CLA를 이용하여 합성한 재구성지질의 산화안정성을 알아보기 위하여 대두유와 재구성지질에 각종 천연 항산화제를 첨가하여 가열처리와 광선을 조사하면서 경시적으로 peroxide value(POV), thiobarbituric acid value(TBA) 및 acid value(AV, 산가)의 변

†Corresponding author. E-mail: ohmj@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6728, Fax: 82-42-821-6728

화를 측정하여 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

대조구로 사용된 soybean oil은 대형 할인점에 판매되고 있는 H사 제품을 이용하였고 재구성지질 원료로는 capric acid와 CLA(Sigma Chemical Co., USA)가 사용되었으며, 합성을 위하여 Chirazyme L-2 lipase(Immobilized lipase B, Roche molecular biochemical, Indianapolis, USA)를 이용하였다. 항산화제로는 rosemary extract와 tea polyphenol extract(Se-woo Co., Korea), ascorbic acid 6-palmitate(Sigma Chemical Co., USA), α-tochopherol(Sigma Chemical Co., USA)를 사용하였고 그 이외에 분석에 사용된 모든 시약은 분석용 특급시약을 사용하였다.

재구성지질 생산방법

재구성지질은 Shin과 Lee(11)의 연구결과에 준하여 대두유(300 g), capric acid(119 g)와 CLA(193 g)를 1:2:2의 몰비율로 혼합하고 이에 Chirazyme L-2 lipase(24.5 g)를 반응조에 넣고 420 rpm으로 교반하면서 55°C에서 24시간 반응시켰다. 반응물을 PTFE syringe filter(0.25 μm, Whatman, USA)로 lipase를 제거하고 0.1 torr, 150°C에서 증류를 시작하여 210°C까지 승온하여 1시간 증류하였다. 이에 n-hexane을 가하여 반응물층을 분리하고 n-hexane층만을 취하여 anhydrous sodium sulfate층을 통과시켜 수분을 제거하고 vacuum rotary evaporator로 hexane을 제거한 후 정제된 재구성지질을 실험에 사용하였다. 재구성지질의 지방산 조성은 $C_{10:0}$ 4.9±0.3 mol%, $C_{16:0}$ 10.2±0.4 mol%, $C_{18:0}$ 3.6±0.1 mol%, $C_{18:1}$ 22.8±0.4 mol%, $C_{18:2}$ 50.0±0.5 mol%, $C_{18:3}$ 4.5±0.0 mol%, CLA: 4.1±0.6 mol%이었다.

유지의 가열처리

대두유, 재구성지질 및 재구성지질에 각종의 항산화제(rosemary extract, tea polyphenol extract, ascorbyl-palmitate, α-tocopherol)를 1 mL의 ethanol에 녹여 200 ppm의 농도로 첨가하여 혼합한 후 60°C, 150°C에서 열처리하면서 시료를 취하여 산화정도를 측정하였다.

유지유탁액의 가열처리

대두유와 재구성지질 각각에 유화제(Tween 20), 증류수를 10:1.5:8.5의 비율로 혼합하고 또한 재구성지질 유화 혼합액에 유지의 가열 처리에서와 같은 방법으로 각종의 항산화제를 200 ppm의 농도로 첨가하여 homogenizer로 10,000 rpm에서 10분간 균질화한 후 유지유탁액을 60°C에서 열처리하면서 산화정도를 측정하였다(12).

광산화 처리

가열처리에 이용한 유지와 유지유탁액들의 제조방법과 같은 방법으로 제조된 시료들 각각에 광감체로 3 ppm(w/v)의 chlorophyll b를 첨가하여 광조사하면서 산화정도를 측정하였다. 이때 광조사는 각 시료를 30 mL serum bottle에 10 mL씩 넣고, 각 시료를 완전히 밀폐시킨 후 15°C의 light storage box에서 3,300 Lux의 밝기로 처리하면서 산화 정도를 측정하였다.

산화정도 측정

유지의 산화정도는 AOAC의 방법(13)을 참고하여 측정하였다.

Peroxide value(POV)

시료 0.5 g에 용매(chloroform:acetic acid=2:3) 35 mL를 가하고 포화 KI 용액 0.1 mL를 첨가하여 진탕한 후 5분간 암소에서 반응시킨 후 증류수 75 mL, 1% 전분용액을 1 mL 가하고, 0.01 N-$Na_2S_2O_3$로 적정하여 표시하였다.

$$POV(meq/kg\ oil)=(V_1-V_0)\times F\times N\times 1{,}000/S$$

이때 V_1는 시료의 0.01 N-$Na_2S_2O_3$ 적정량(mL), V_0는 blank의 0.01 N-$Na_2S_2O_3$ 적정량(mL), F는 $Na_2S_2O_3$의 factor, N은 $Na_2S_2O_3$의 normality, S는 시료의 양(g)을 의미한다.

Acid value(AV)

시료 5 g에 ether · ehanol 혼합용액 30 mL를 가하여 용해한 후 1% phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N-KOH로 적정하여 계산하였다

$$AV=(V_1-V_0)\times 5.611\times F/S$$

이때 V_1은 시료의 0.1 N-KOH 적정량(mL), V_0는 blank의 0.1 N-KOH 적정량(mL), F는 0.1 N-KOH의 factor, S는 시료의 양(g)을 의미한다.

2-Thiobarbituric acid(TBA) value

시료 0.5 g을 1-butanol에 녹여 25 mL로 정용한 후 시료용액 5 mL에 동량의 TBA용액을 넣고 20분간 비등시켜 530 nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$TBA\ value=50\times(A-B)$$

이때 A는 absorbance of sample, B는 absorbance of blank를 의미한다.

결과 및 고찰

재구성지질의 가열 산화안정성

대두유, 재구성지질 및 재구성지질에 항산화제(ascorbyl-palmitate, rosemary extract, tea polyphenol extract, α-tocopherol)를 첨가하여 60°C와 150°C에서 저장하면서 경시적으로 POV, TBA값, AV를 측정한 결과는 Fig. 1~3과 같다.

Fig. 1은 POV의 변화를 측정한 것으로 60°C에서 9일간 저장한 대두유 및 재구성지질의 POV는 100 meq/kg, 76

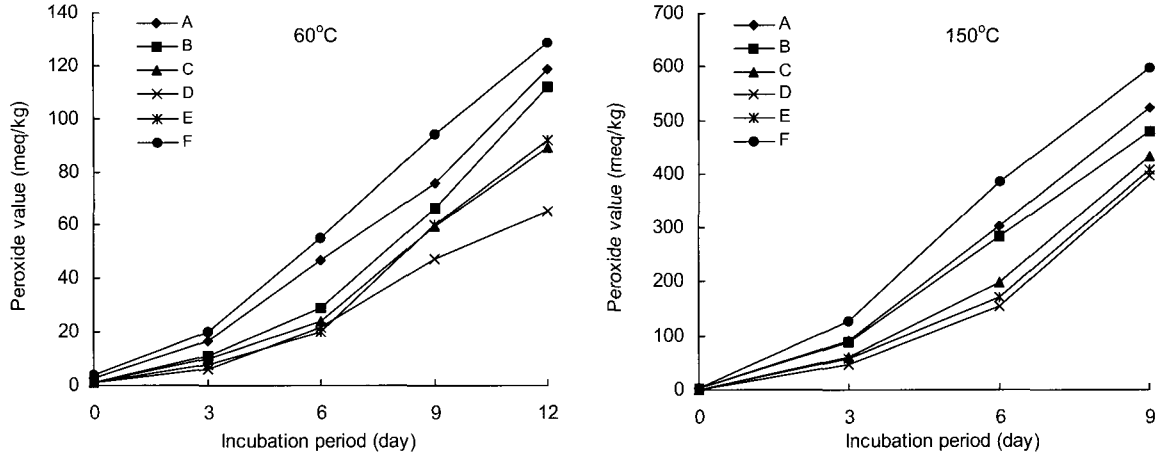

Fig. 1. Changes of POV during the storage of structured oils containing various antioxidants at 60°C and 150°C.
A: Structured lipid (SL), B: SL containing ascorbyl-palmitate 200 ppm, C: SL containing rosemary extract 200 ppm, D: SL containing tea polyphenol extract 200 ppm, E: SL containing α-tocopherol 200 ppm, F: soybean oil.

meq/kg이었고 12일 저장한 것은 각각 129 meq/kg, 115 meq/kg로서 재구성지질이 대두유보다 열에 대하여 안정하였다. 식물기름의 경우 시료의 POV가 100 meq/kg 이상이 되면 식품으로서의 가치를 상실하여 식용이 불가능하다고 판단하고 있으므로, 대두유와 재구성지질 모두 9일 이후 12일이 되기 전 이미 식용이 불가능해진다고 볼 수 있다. 대두유는 다량의 토코페롤이 들어있어 천연 항산화제의 효과가 크다고 이미 보고된 바 있어 본 결과와 다소 상이한 결과를 나타내었다. 150°C에서 3일 저장한 대두유와 재구성지질의 POV는 각각 117 meq/kg, 92 meq/kg으로서 저장초기에 식용이 불가능한 상태가 되며, 강한 산패취가 발생되었다.

재구성지질에 대한 항산화제의 항산화효과를 60°C에서 검토한 결과 tea polyphenol extract>α-tocopherol>rosemary extract>ascorbyl palmitate의 순으로 tea polyphenol extract가 항산화력이 가장 우수하였으며 150°C에서도 같은 경향이었다. Tea polyphenol extract는 지질산화에 의한 생체의 순환기장애와 발암 및 노화 억제 등과 같은 생체 조절물질로서 사용될 뿐만 아니라 식용유지 및 식품의 보존에도 일부 사용되고 있는 강력한 항산화제로서(14-16) 재구성지질의 산화안정성을 높이고 생리활성을 증가시키는 면에서 매우 효과적인 것이라 하겠다. 보통 식물성유지에는 적절한 항산화 작용을 나타낼 정도의 tocopherol류가 함유되어 있으나 고도로 정제된 식물성유지의 경우 tocopherol류가 대부분 제거됨으로써 그 정제유의 산화안정성은 급격이 감소되는 것으로 알려져 있다(17).

Fig. 2는 AV를 측정한 결과로서 60°C에서 9일 동안 저장하였을 때 대두유와 재구성지질의 AV는 각각 0.086, 0.038로서 재구성지질이 낮았으며 150°C에서 저장하면서 측정한 AV는 60°C에서 저장하였을 때의 AV보다 10배 정도 높았으며 대두유와 재구성지질 간에는 차이가 없었다. AV를 비교하였을 때 60°C에서 각종 항산화제의 재구성지질에 대한 항산화효과는 POV와 같은 경향이었다. 150°C에서는 항산화

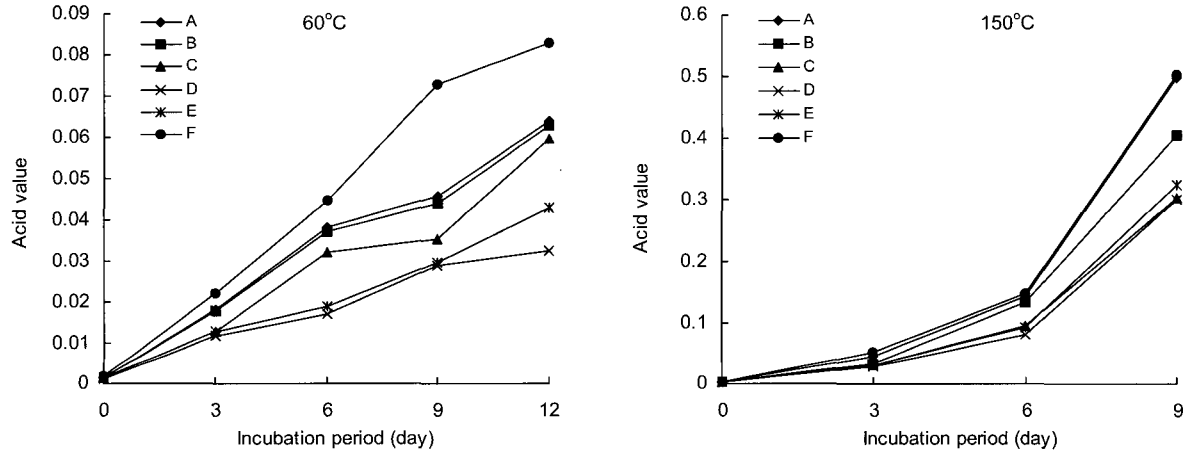

Fig. 2. Changes of AV during the storage of structured oils containing various antioxidants at 60°C and 150°C.
Samples (A~F) are the same as in Fig. 1.

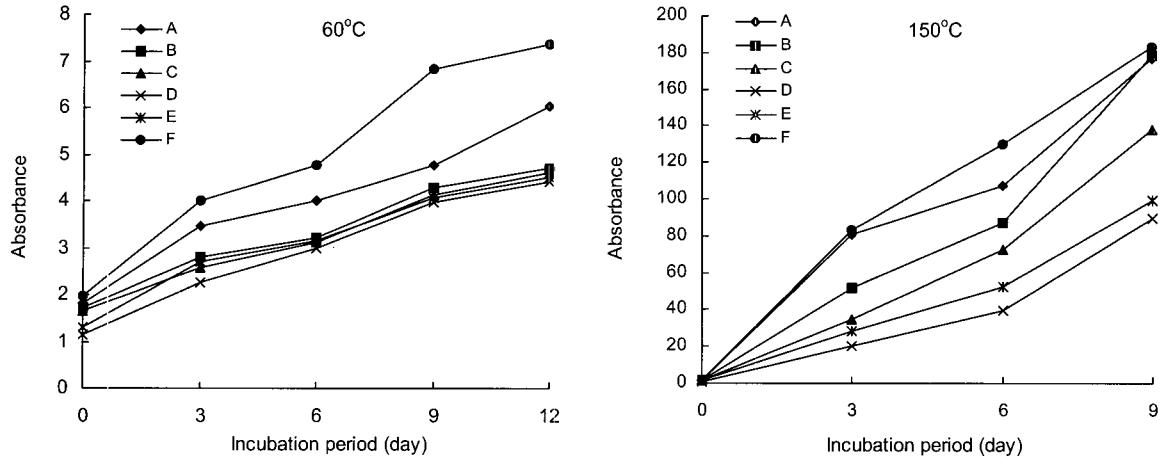

Fig. 3. Changes of TBA value during the storage of structured oils containing various antioxidants at 60°C and 150°C. Samples (A~F) are the same as in Fig. 1.

효과는 인정되었으나 항산화제 간에는 차이가 없었다.

Fig. 3은 TBA값을 측정한 결과로서 60°C에서 저장하였을 때 대두유가 재구성지질보다 TBA값이 높았으며 저장 6일 후에 그 차이가 크게 나타났다. 재구성지질에 항산화제를 첨가한 것은 12일 경과 후 ascorbyl palmitate, rosemary extract, tea polyphenol extract, α-tocopherol 첨가구간에 4.7~5.0으로서 차이가 없었다.

또한, 150°C에서 저장한 시료의 TBA값은 초기에는 대두유와 재구성지질 간에 큰 차이가 없었으나 저장 3일이 지나면서 큰 차이를 나타내었고 POV 측정에서와 같이 재구성지질이 대두유보다 안정하였고 tea polyphenol extract가 가장 효과적인 항산화제이었다.

재구성지질 유탁액의 가열 산화안정성

식용유지는 유탁액 상태로 가공되어 식품으로 많이 이용되므로 유탁액 상태의 대두유와 재구성지질을 가열하였을 때 산화안정성을 측정하기 위하여 유지유탁액을 60°C에서 저장하면서 POV와 TBA값을 측정한 결과는 Fig. 4, 5와 같다.

Fig. 4는 대두유, 재구성지질 및 재구성지질에 항산화제를 첨가한 각각의 유탁액을 60°C에서 12일간 저장하였을 때 POV를 나타낸 것으로 저장 9일 후 POV는 대두유가 147 meq/kg, 재구성지질이 124 meq/kg로서 재구성지질의 유도기간이 대두유보다 긴 것을 알 수 있으며 유지 자체와 유지 유탁액을 비교할 때 유탁액 상태의 것이 산화가 빨리 진행되었다. 이는 유지유탁액의 지방구가 유지자체보다 작아져 표면적이 증가하여 공기와 접촉면이 커짐으로서 산화안정성이 감소하는 것이라 생각된다.

재구성지질 유탁액에 항산화제를 첨가하여 12일간 저장하였을 때 항산화효과가 가장 높은 tea polyphenol의 POV는 109 meq/kg이었고 유지만을 저장하였을 때 POV는 60 meq/kg으로서 항산화제의 산화 억제능은 유탁액상태보다 유지로 존재할 때 더욱 컸다. 또한, 재구성지질의 유탁액에

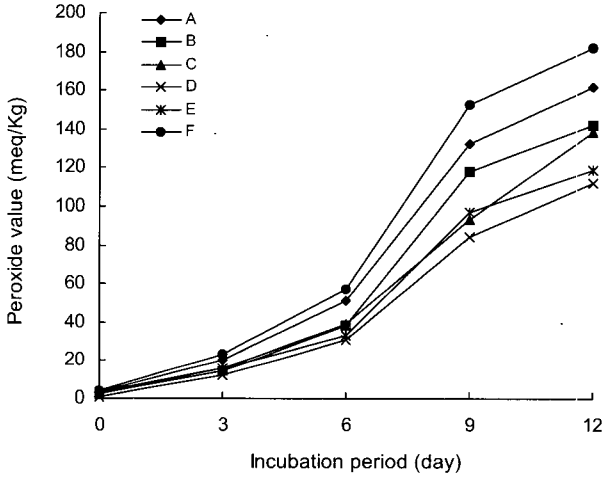

Fig. 4. Changes of POV during the storage of structured oil emulsion containing various antioxidants at 60°C. Samples (A~F) are the same as in Fig. 1.

대한 항산화제의 산화억제효과는 유지에서와 같은 경향이었다.

Fig. 5는 대두유, 재구성지질 및 재구성지질에 항산화제를 첨가한 유탁액을 60°C에서 12일간 저장하였을 때 TBA값을 나타낸 것으로 12일 후에 재구성지질 유탁액의 TBA값은 8로서 재구성지질 6보다 산화안정성이 낮았다. TBA값은 유지 중의 malonaldehyde의 함량으로 표시되는바 저장 조건에 따라 그 생성이 증가하는데, 보통의 oil 상태보다 유탁액 상태에서 더 커진다고 보고한 결과와 비슷한 경향이었다(18). 항산화제를 첨가한 재구성지질의 유탁액은 항산화제 간에 큰 차이가 인정되지 않았다.

재구성지질과 유탁액의 광산화 안정성

Fig. 6은 대두유, 재구성지질 및 재구성지질에 항산화제(ascorbyl palmitate, rosemary extract, tea polyphenol extract, α-tocopherol)를 첨가한 각각의 유지에 광감체로

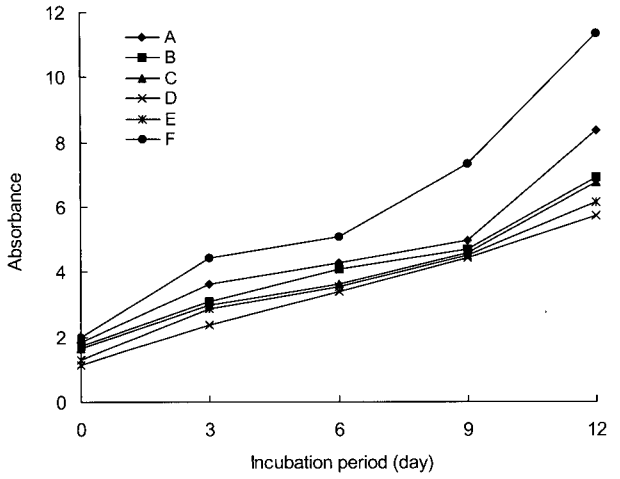

Fig. 5. Changes of TBA value during the storage of structured oil emulsion containing various antioxidants at 60°C.
Samples (A~F) are the same as in Fig. 1.

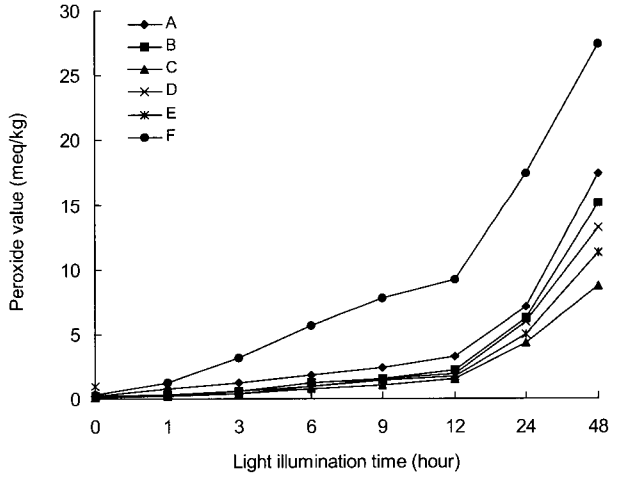

Fig. 6. Changes of POV during light illumination of structured oil containing various antioxidants for 3,300 Lux at 15°C.
Samples (A~F) are the same as in Fig. 1.

chlorophyll b를 첨가하여 15°C에서 3,300 Lux의 광선으로 48시간 동안 저장하면서 POV를 측정한 결과이다.

대두유의 POV는 초기, 12시간, 24시간 후에 측정하였을 때 각각 0.3 meq/kg, 8.7 meq/kg, 23.7 meq/kg으로 증가하였으나, 재구성지질의 POV는 0.2 meq/kg, 3.2 meq/kg, 19.4 meq/kg으로 대두유에 비하여 현저하게 산화가 지연되었음을 알 수 있었다. Bonora 등(19)은 대두유가 빛에 매우 민감하다고 보고하였는데 이는 본 연구 결과와 유사함을 알 수 있었다. 재구성지질에서의 항산화제의 산화억제 효과를 비교해 보면 tea polyphenol extract>α-tocopherol>rosemary extract>ascorbyl palmitate의 순이었다.

Fig. 7은 대두유, 재구성지질 및 재구성지질에 항산화제를 첨가한 각각의 유탁액을 광산화시켰을 때 POV의 변화를 나타낸 것으로 대두유 유탁액의 POV는 초기농도 0.36

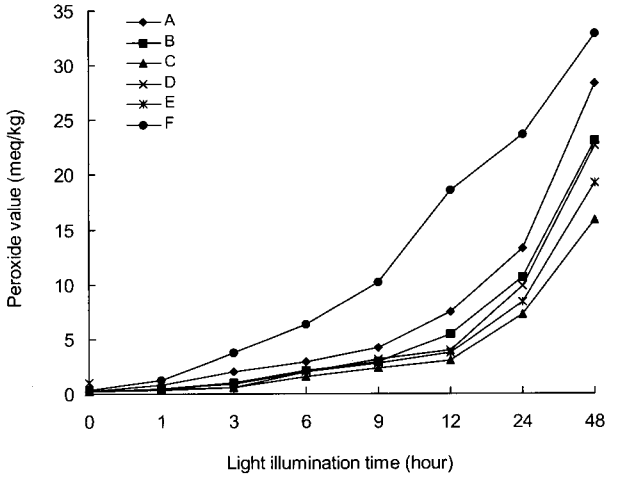

Fig. 7. Changes of POV during light illumination of structured oil emulsion containing various antioxidants for 3,300 Lux at 15°C.
Samples (A~F) are the same as in Fig. 1.

meq/kg에서 48시간 후 30.6 meq/kg로 증가하였고, 재구성지질 유탁액은 0.32 meq/kg에서 27.4 meq/kg으로 재구성지질이 산화속도가 늦었다. 항산화제를 첨가한 시료와 비교해 볼 때 저장 초기에는 산화 속도가 비슷하나, 시간이 지날수록 항산화제를 첨가한 것이 훨씬 낮았으며 광산화에서도 가열산화와 마찬가지로 유지에서보다 유탁액 상태에서 산화가 빨랐다.

요 약

기능성식품 소재로 사용할 수 있는 재구성지질의 산화안정성을 검토하기 위하여 대두유, CLA와 caproic acid에 lipase를 가하여 반응시켜 합성한 재구성지질과 이의 유탁액에 각종 항산화제를 첨가하고 60°C, 150°C의 열처리한 것과 광을 조사하면서 저장과정 중 POV, TBA 값, AV를 측정한 결과는 다음과 같았다. 대두유와 재구성지질을 60°C에서 열처리하였을 때 대두유가 재구성지질에 비하여 산화가 더 빠르게 진행되었으며 항산화제를 첨가한 재구성지질은 산화유도기간이 길어졌으나 10일이 지나면서 POV가 100 meq/kg에 도달해 식용이 불가능한 상태가 되었다. 재구성지질에 항산화제를 첨가하였을 때 산화억제 효과는 tea polyphenol extract>α-tocopehrol>rosemary extract>ascorbyl palmitate의 순으로 tea polyphenol extract가 가장 우수하였으며 150°C에서 열처리하였을 때에도 저장 3일에 대두유의 POV가 117 meq/kg, 재구성지질이 92 meq/kg로서 3일이 지나면서 식용이 불가하였으며 고온에서의 항산화제의 산화억제 정도는 저온에서와 같은 경향이었다. 유지유탁액이 일반적인 유지 상태보다 산화속도가 빨랐으며 유탁액 상태에서도 항산화제의 산화억제효과는 가열처리 때와 유사하였다. 대두유와 재구성지질에 대하여 광을 조사하여 산화시킬 때 가

열산화에서와 같이 재구성지질이 더욱 안정하였으며 조사 기간이 길수록 산화정도는 차이가 심하였으며 유탁액 상태에서 더욱 불안정하였다.

문 헌

1. Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8: 1881-1887.
2. Ip C, Singh M, Thompson HJ, Scimeca JA. 1994. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res* 54: 1212-1215.
3. Ha YL, Michael WP. 1991. Naturally occuring novel anticarcinogen conjugated dienoic derivatived of linoleic acid (CLA). *J Korean Soc Food Nutr* 20: 401-407.
4. Cho EJ, Lee KT. 2003. Syenthesis of structured lipids from corn oil and conjugated linoleic acid with immobilized lipase-catalyzed reaction. *Korean J Food Sci Technol* 35: 797-802.
5. Lee YJ, Ahn MS, Oh WT. 1998. A study on the catechin contents and antioxidative effect of various solvent extracts of green oolong and black tea. *J Fd Hyg Safety* 13: 370-376.
6. Giese J. 1996. Antioxidants: tools for preventing lipid oxidation. *Food Technol* 50: 73-81.
7. Ji CI, Byun HS, Kang JH, Lee TG. 1992. The antioxidative activities of spices extracts on edible soybean oil. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 551-556.
8. Han DS, Yi OS, Shin HG. 1991. Effect of naturally occurring antioxidants on the oxidative stability of fish oil. *Korean J Food Sci Technol* 23: 433-436.
9. Uri N. 1961. Mechanism of autoxidation. In *Autoxidation and antioxidants*. Lundberg WO, ed. Interscience, New York. p 133-169.
10. Labuza TP. 1971. Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Crit Rev Food Technol* 2: 355-405.
11. Shin JA, Lee KT. 2004. Lipase catalyzed synthesis of the structured lipids with capric acid and conjugated linoleic acid in a stirred batch type reactor. *J Korean Soc Food Soc Nutr* 33: 1175-1179.
12. Kwon HJ. 1999. Phooxidative effect of berberine in oils and fats. *MS Thesis*. Chungnam National University.
13. AOAC. 1990. *Official Method of Analysis*. Association of official analytical chemists, Arlington, Virginia. p 965.
14. Rhi JW, Shin HS. 1993. Antioxidant effect of aqueous extract obtained from green tea. *Korean J Food Sci Technol* 25: 759-763.
15. Namiki M. 1990. Antioxidants/antimutagens in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 29: 273-300.
16. Boo YC, Jeon CO. 1993. Antioxidative components of green tea. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 36: 326-331.
17. Cort WM. 1974. Antioxidant activity of tocopherol, ascorbyl palmitate, ascorbic acid and their mode of action. *J Am Oil Chem Soc* 51: 321-325.
18. Siu GM, Draper HH. 1978. A survey of the malonaldehyde content of retail meat and fish. *J Food Sci* 43: 1147-1149.
19. Bonora A, Tosi B, Dall O, Bruni A. 1990. Occurence and phytogenetical implications of quaternary alkaloids in fanunculus sercius. *Pyton Annales Reibotanicae* 30: 256-272.

(2006년 7월 25일 접수; 2006년 11월 30일 채택)