

들기름 에멀전의 산화안정성 및 산화방지제에 대한 클로로필 첨가 및 빛의 영향

최지수 · 최은옥[†]
인하대학교 식품영양학과

Effects of Chlorophyll Addition and Light on the Oxidative Stability and Antioxidant Changes of Perilla Oil Emulsion

Jeesu Choe and Eunok Choe[†]
Department of Food and Nutrition, Inha University

Abstract

Lipid oxidation and antioxidants changes in perilla oil emulsion added with chlorophyll were studied during storage in the dark or under 1,700 lux light at 25°C for 48 h. The emulsion was consisted of perilla oil (33.12 g), 5% acetic acid (66.23 g), egg yolk powder (0.5 g), and xanthan gum (0.15 g), and Chlorophyll b was added to the emulsion at 0, 2.5 and 4 mg/kg. The lipid oxidation was evaluated by headspace oxygen consumption and hydroperoxide formation, and tocopherols and polyphenols were monitored by HPLC and spectrophotometry at 725 nm, respectively. The lipid oxidation of the perilla oil emulsion in the dark was not significant regardless of the addition of chlorophyll. Light increased and accelerated the lipid oxidation of the emulsion, and increased addition level of chlorophyll under light increased it further. However, there was no significant change in fatty acid composition in any case. Contents of tocopherols and polyphenols in the emulsion were not significantly changed during storage in the dark regardless of chlorophyll addition, indicating their little degradation. Tocopherols and polyphenols in the emulsion were significantly degraded during storage of the emulsion under light, and the degradation rate of polyphenols was increased with addition level of chlorophyll. The lipid oxidation of the perilla oil emulsion was inversely related with the residual amounts of tocopherols and polyphenols, with more dependent on the retention of polyphenols than that of tocopherols.

Key words : perilla oil emulsion, oxidation, light, chlorophyll, tocopherols, polyphenols

1. 서론

들깨(*Perilla frutescens* var. japonica Hara)는 31-51% 정도로 지방질을 함유하고 있어 유지종자로 국내에서 널리 이용되어 왔다(Hwang H와 Choe E 2011). 들깨를 압착하여 얻은 들기름은 불포화지방산 함량이 90% 이상으로, 특히 n-3 계열의

α -리놀렌산이 식물성 기름 중에서 가장 많이 함유되어 있는데(Yu KM과 Choi HS 1998), 리놀렌산은 고혈압, 알레르기성 질환 등의 성인병을 일으키는 eicosanoid의 합성을 억제하고 신경장해나 피부질환을 억제하며 항암효과도 있는 것으로 알려져 있다 (Sheo HJ 등 1991). 또한 들기름은 생체 내 여러 생리활성을 증진시키는 스테롤, 모노테르펜류, 폴리페놀 등을 함유하고 있으므로, 생리학적, 영양학적으로 우수한 유지라 할 수 있다(Nagatsu A 등 1995).

우리나라에서는 들깨를 압착한 후 정제하지 않은 들기름을 사용하며, 들깨 및 들깨 볶음 과정에서 생성되는 향화합물로 인하여 대개의 경우 들기름을 양념 또는 샐러드드레싱에 사용한다. 샐러드드레싱은 물속에 기름이 인지질과 같은 유화제에 의해 안정된 에멀전 식품으로 가공 또는 저장 중 산소와

[†]Corresponding author: Eunok Choe (Department of Food and Nutrition, Inha University, 100 Inha-ro, Namku, Incheon 402-751, Korea
Tel: +82-32-860-8125
Fax: +82-32-873-8125
E-mail: eochoe@inha.ac.kr

의 접촉에 의해 유지 산화가 발생한다. 그러나 물과 기름이 혼합된 에멀전에서의 가공 및 저장 중 유지 산화에는 중성지방질이 95% 이상을 차지하는 콩기름, 해바라기씨 기름 등의 식용유에서의 산화와는 다른 요인들이 작용할 수 있으며 특히 계면현상이 중요한 인자가 될 수 있다(Frankel EN 등 1994). 또한 대부분의 셀러드드레싱은 소비자의 관심을 끌기 위해 투명한 용기에 담겨져 빛에 노출되는 경우가 많으므로 셀러드드레싱의 유지 산화에서는 자동산화뿐만 아니라 광산화도 중요한 기전으로 작용한다(An S 등 2011). 특히 셀러드드레싱에 바람직한 색 및 향 등 텍스처를 제공하기 위해 첨가하는 채소 및 과일 등에서 유래한 클로로필, 리보플라빈 등의 색소 성분들은 빛 존재에서 감광체로 작용하여 공기 중의 삼중항산소로부터 반응성이 매우 높은 일중항산소를 생성하여 셀러드드레싱의 유지 산화를 더욱 촉진할 수 있다(Min DB와 Boff JM 2002).

들기름을 활용한 셀러드드레싱의 유지 산화는 들기름의 유용한 성분인 리놀렌산은 물론 이와 관련된 토코페롤 등 유용 산화방지제의 손실과 산패취 등을 유발할 수 있으므로 빛에 의한 들기름을 활용한 셀러드드레싱의 유지 산화를 평가하고 다른 유용 산화 방지 성분의 변화를 모니터링 하는 것은 매우 중요하다. 이에 본 연구에서는 들기름을 활용한 셀러드드레싱의 모델시스템으로 들기름 에멀전을 만들고 대표적 채소에 존재하는 색소인 클로로필을 첨가하여 빛을 차단하거나 또는 빛의 존재에서 저장하여 유지 산화 정도를 평가하고 유용한 미량성분들의 함량 변화를 측정하여 들기름을 활용한 셀러드드레싱의 품질 개선에 유용한 자료를 제공하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

강원도 화천군 간동면에서 수확된 국산 들깨(품종: 남천 2호)를 180℃에서 20분 동안 Gene Café' coffee bean roaster(Genesis Co. Ltd., Suwon, Korea)에서 볶은 후 착유기(National ENG Co., Ltd. Goyang)로 압착 추출하여 얻은 들기름을 사용하였으며, 난황가루는 인투푸드사(Incheon)에서 구입하였다. HPLC용 n-헥산과 아이소프로판올, 에틸아세테이트, 메탄올은 J.T. Baker사(Phillipsburg, NJ, USA)의 제품이었으며, 14% BF₃-메탄올, 지방산 메틸 에스테르 표준품, 카페인, 토코페롤 표준품(α -, γ -, δ -tocopherol), 페놀 시약(Folin-Ciocalteu's phenol), 클로로필 b, 잔탄검, cumene hydroperoxide(CuOOH)은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)의 제품이었다. 페오파이틴은 Redfeam ER과 Friend J(1962)의 방법에 따라 클로로필 b 표준품에 0.01 M 염산을 가하여 제조하여 사용하였다. 기타 시약은 모두 1급 시약을 사용하였다.

2. 에멀전의 제조 및 광산화

들기름 에멀전은 An S와 Choe E(2011a)의 방법을 따라 들

기름(33.12 g), 난황가루(0.5 g), 잔탄검(0.15 g), 5% 아세트산 수용액(66.23 g)의 조성으로 제조하였으며 여기에 클로로필 b를 0, 2.5, 4 mg/kg 농도로 혼합하였다. 즉, 모든 재료를 30초 동안 잘 섞은 후 S25N-25F dispersing tool(IKA Instruments, Staufen, Germany)이 장착된 Ultra-Turrax T25 homogenizer를 이용하여 10,000 rpm으로 6분간 균질화 시켰으며 모든 작업은 빛을 차단한 상태로 실시하였다. 준비된 에멀전을 4 g씩 투명한 20 mL 시료병에 넣고 입구를 고무마개와 알루미늄 캡으로 밀봉한 후 형광등 (1,700 lux)이 부착된 25℃ 항온기(LBI-250, Daihan Labtech Co., Seoul, Korea)에 넣어 48시간 동안 산화시켰고, 0, 6, 12, 30, 48 시간에 꺼내어 분석하였다. 일부시료는 시료병에 알루미늄 호일을 감싸 빛을 차단하였다. 모든 시료는 duplicate로 준비하였다.

3. 에멀전에서의 기름의 산화 분석

들기름 에멀전에서의 기름의 산화 정도는 시료병의 헤드스페이스 산소소비량과 ferric thiocyanate법에 의한 hydroperoxide 생성으로 평가하였다. 시료병의 headspace 산소소비량은 산화 전 시료병의 산소량에서 산화 후 시료병의 산소량을 빼어 구하였으며 시료병 헤드스페이스의 산소량은 가스크로마토그래피법(An S와 Choe E 2011a)에 의해 측정하였다. 사용한 기기는 YL6100 자동시료주입기 (Younglin Co. Ltd., Anyang, Korea), thermal conductivity detector 및 80/100 mesh molecular sieve 13X가 충전된 stainless steel column(1.83 m x 0.32 cm; Alltech, Deerfield, IL, USA)이 장착된 YL 6100 GC(Younglin Co. Ltd.)이었다. 운반 및 보조 기체로 헬륨(99.995%)을 분당 20 mL 속도로 흘려주었고 오븐, 주입구, 검출기 온도는 각각 35, 100, 140℃이었다. 에멀전에서의 과산화물의 농도는 ferric thiocyanate법 (An S와 Choe E 2011a)에 의해 측정하였다. 즉, 에멀전(0.3 mL)에 이소옥탄과 2-프로판올을 혼합액 (3:1, v/v) 1.5 mL를 가하여 10초간 혼합하고 1,000 X g에서 2분 동안 원심분리 후 유기용매 층에 메탄올과 클로로포름 혼합물(2:1, v/v), 3.94 M ammonium thiocyanate 용액, 0.132 M BaCl₂, 0.144 M FeSO₄용액을 가하여 20 분 후 510 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 사용한 기기는 UV-visible spectrophotometer (HP8453; Hewlett Packard, Wilmington, DE, USA)이었고 과산화물 함량은 CuOOH의 농도 (mmole/kg)로 표시하였다.

에멀전 기름의 지방산 조성은 에멀전을 -20℃에서 48시간 동안 냉동하고 24시간 동안 실온에서 해동한 후 10,000 X g에서 20분간 원심분리 (Avanti J, Beckman, Fullerton, CA, USA)로 상분리하여 (Lee Y와 Choe E 2008) 얻은 기름을 14% BF₃-메탄올로 에스테르화 한 후 가스크로마토그래피법 (An S와 Choe E 2011b)에 의해 분석하였다. 기기는 YL6100 자동시료주입기 (Younglin Instrument Co., Ltd.), HP-Innowax capillary column(30 m X 0.53 mm, 1.0 μ m thick; Agilent, Böblingen, Germany)과 불꽃이온화검출기를 장착한 YL 6100 GC (Younglin Instrument Co., Ltd.) 이었으며 오븐, 주입기, 검출기의 온도는 각각 200, 270, 280℃, 이동상으로 헬륨을 분

당 10 mL의 속도로 흘려주었고, split ratio는 10:1이었다. 각 지방산은 표준지방산의 머무를 시간과 비교하여 동정하였다.

4. 산화방지에 및 클로로필의 분석

에멀전의 클로로필, 토코페롤, 폴리페놀 함량은 위의 방법으로 상분리한 후 각각 HPLC, HPLC, visible spectrophotometry에 의해 분석하였다. 클로로필의 분석은 C18 컬럼 (5.0 μm, 4.6 mm i.d, X 150 mm; Waters)과 438 nm의 UV-Vis 감지기 (ACME 930, Younglin Co. Ltd.)가 장착된 Younglin YL9100 HPLC를 사용하여 이루어졌으며 에틸아세테이트, 메탄올, 물의 혼합물 (50:37.5:12.5, v/v/v)을 사용하여 용출시켰다. 토코페롤 함량은 μ-porasil 컬럼 (330 mm X 3.9 mm, 10 μm size; Waters Co., Milford, Mass., USA.)과 형광감지기 (excitation 290 nm, emission 330 nm)가 장착된 Younglin YL9100 HPLC를 사용하여 분석하였으며 이동상은 0.2% 이소프로판올과 n-헥산 혼합물(0.2:99.8, v/v)이었다. 폴리페놀 화합물은 Folin-Ciocalteu 시약을 이용하여 725 nm에서의 흡광도를 측정하고 카테산의 농도로 표시하였다 (An S 와 Choe E 2011b).

5. 자료의 통계처리

자료는 통계처리용 소프트웨어인 SAS/PC(SAS 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 사용하여 분석하였으며, 다중범위검정(Duncan's multiple range test)과 회귀분석(regression analysis)을 포함하였다. 이때 유의수준은 5%로 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 클로로필 첨가 및 빛에 따른 들기름 에멀전의 유지 산화

들기름 에멀전을 빛을 차단한 채 25°C에서 저장하는 동안 산소소비량과 과산화물값 변화는 Table 1과 같다. 저장기간이 6, 12, 30, 48시간으로 증가함에 따라 시료에서의 산소소비량

과 과산화물값은 증가하였으나 그 변화는 미미하였다. 또한 클로로필의 첨가는 빛이 차단된 25°C에서 저장한 들기름 에멀전의 산소소비량과 과산화물값에 유의한 영향을 주지 않았다. 이것은 빛이 차단된 25°C에서 들기름 에멀전의 유지 산화는 미미하였으며, 또한 빛이 차단된 25°C에서 클로로필의 첨가는 들기름 에멀전 유지 산화에 영향을 주지 않았음을 의미한다.

그러나 빛의 존재 하에 25°C에서 저장한 들기름 에멀전의 산소소비량과 과산화물값은 Fig. 1과 같이 저장기간이 증가함에 따라 뚜렷하게 증가하였으며, 첨가한 클로로필의 농도가 증가할수록 들기름 에멀전의 산소소비량과 과산화물값이 유의하게 증가하였다. 이것은 빛과 클로로필에 의해 들기름 에멀전의 유지 산화가 증가했음을 의미하며 빛이 차단된 상태에서 클로로필이 들기름 에멀전의 유지 산화에 유의한 영향을 보이지 않았던 결과와 비교할 때 일중항산소 생성을 위한 클로로필의 감광제로서의 역할(Choe E와 Min DB 2005)에 기인한 것으로 생각된다. 클로로필 무첨가, 2.5 mg/kg 첨가, 4 mg/kg 첨가군에서의 산소소비량 및 과산화물 생성을 기준으로 한 들기름 에멀전의 유지 산화 속도는 Table 2에서 보는 바와 같이 각각 0.007, 0.018, 0.022 μmole O₂/mL/h, 0.0158, 0.0665, 0.0928 mmol CuOOH/kg/h이었다. 이 결과는 클로로필이 들기름 에멀전의 유지 산화를 가속화시켰음을 의미하며 클로로필이 빛에너지를 흡수하여 공기 중의 삼중항산소로부터 일중항산소를 생성하여 들기름 에멀전의 유지 산화를 가속화시킨 데서 기인했을 것으로 생각된다. 기름에 대한 일중항산소의 반응 속도는 삼중항산소에 비해 1500배 이상 빠른 것으로 알려져 있다(Choe E와 Min DB 2006).

한편, 들기름 에멀전의 지방산 조성은 Fig. 2와 같이 리놀렌산이 전체 지방산의 57.97%로 함량비가 가장 높았으며 올레산(17.91%), 리놀레산(14.60%), 팔미트산(6.67%), 스테아르산(2.85%)이 그 뒤를 이었다. 들기름 에멀전은 25°C에서 48시간 동안 저장했을 때 빛의 존재 또는 클로로필 첨가와 관계없이 지방산 조성에 큰 변화가 없었다. 이것은 들기름 에멀전을 25°C에서 48시간 동안 저장하였을 때 들기름을 구성하고 있는 여러 지방산의 산화 속도가 크게 다르지 않았음을 암시한다(Hwang H와 Choe E 2011). 지방산의 불포화도가 높을수록 자동산화 속도는 증가하는 것으로 알려져 있으나(Choe E와

Table 1. Effects of chlorophyll on the headspace oxygen consumption and hydroperoxide contents in perilla oil emulsion during storage at 25°C in the dark

Oxidation parameter	Addition level of chlorophyll (mg/kg)	Storage time (h)				
		0	6	12	30	48
Headspace oxygen consumption (μmole O ₂ /mL)	0	0.00±0.05 ^{il}	0.05±0.02 ^{hi}	0.08±0.00 ^{ghi}	0.10±0.00 ^{gh}	0.15±0.04 ^{fg}
	2.5	0.00±0.05 ^{ij}	0.05±0.05 ^{hi}	0.08±0.00 ^{ghi}	0.07±0.00 ^{ghi}	0.09±0.00 ^{ghi}
	4	0.00±0.05 ^{ij}	-0.04±0.08 ^j	0.03±0.02 ^{hij}	0.04±0.04 ^{hij}	0.11±0.03 ^{gh}
Hydroperoxide contents (mmole CuOOH/kg)	0	0.44±0.12 ^{ij}	0.41±0.02 ^{ij}	0.46±0.02 ^{ij}	0.47±0.02 ^{ij}	0.55±0.01 ^{hij}
	2.5	0.44±0.12 ^{ij}	0.45±0.04 ^{ij}	0.51±0.03 ^{ij}	0.52±0.03 ^{ij}	0.55±0.03 ^{hij}
	4	0.44±0.12 ^{ij}	0.36±0.05 ^j	0.44±0.02 ^{ij}	0.54±0.00 ^{hij}	0.63±0.02 ^{hi}

^{ij} Different superscript means a significant difference among samples in each oxidation parameter by Duncan's multiple range test at 5%.

Table 2. Regression analysis between storage time and headspace oxygen consumption or hydroperoxide contents of the perilla oil emulsion added with chlorophyll b during storage at 25°C for 48h under light

Addition level of chlorophyll (mg/kg)	Regression parameters ¹⁾					
	Headspace oxygen consumption			Hydroperoxide contents		
	a	b	r ²	a	b	r ²
0	0.007	0.007	0.994	0.0158	0.523	0.967
2.5	0.018	-0.006	0.999	0.0665	0.466	0.987
4	0.022	0.043	0.994	0.0928	0.594	0.982

¹⁾ Headspace oxygen consumption ($\mu\text{mole O}_2/\text{mL}$) or Hydroperoxide contents ($\text{mmole CuOOH}/\text{kg}$) = a x storage time (h) + b, r²=determination coefficient

Min DB 2006) 본 실험의 산화 온도가 높지 않았고 또한 산화 시간도 길지 않아서 지방산 종류에 따른 산화 속도 차이를 관찰하지 못한 것으로 생각된다. 또한 빛 존재 하에서 클로로필에 의해 생성된 일중항산소에 의한 산화는 자동산화에 비해 지방산의 불포화도에 따른 산화속도 차이가 적은(Choe E와 Min DB 2006) 것도 본 실험에서 지방산 구조에 따른 산화 속도 차이를 발견하지 못한 부분적인 이유가 될 수 있을 것으로 생각되었다.

2. 들기름 에멀전의 저장 중 미량 성분의 변화

들기름 에멀전에는 들기름에 천연으로 존재하는 토코페롤과 폴리페놀화합물 (Wang S 등 2010)과 함께, 첨가한 클로로필 등의 미량 성분들이 검출되었으며, 에멀전의 저장 조건에 따라 그 함량이 변화하였다. 예측한대로 클로로필이 첨가되지 않은 들기름 에멀전에서는 클로로필이 검출되지 않았으며, 들기름 에멀전에 첨가된 클로로필은 산성 조건에서 모두 페오파이틴으로 전환되어 클로로필 대신 페오파이틴만이 검출되었다. 클로로필 뿐 아니라 페오파이틴도 일중항산소 생성을 위한 감광제 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다(Kim N과 Choe E 2012). 클로로필 첨가 시료에서의 페오파이틴 함량은 빛이 차단된 상태에서 25°C에서 48 시간의 저장시간 동안 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 3). 그러나 빛의 존재 하에서 저장한 들기름 에멀전에서는 페오파이틴 함량이 저장 시간에 따라 유의하게 감소하여 25°C에서 48 시간 후 초기값의 약 69%만이 잔존하였다. 이것은 페오파이틴이 빛의 존재 하에서 들기름 에멀전의 유지 산화 중 분해되었음을 의미한다. 클로로필은 빛은 물론 자신에 의해 생성된 일중항산소에 의해서도 산화되어 분해된다(Rontani JF 등 2003; Choe E와 Min DB 2006). 25°C에서 48 시간 동안의 들기름 에멀전의 광산화 중 클로로필의 분해 속도는 클로로필 2.5 또는 4 mg/kg 첨가군에서 각각 0.677(r²=0.934), 0.707(r²=0.903)%/h로, 클로로필 첨가 농도에 따라 크게 차이가 나지는 않았다.

빛의 존재 또는 클로로필 첨가에 따른 들기름 에멀전의 저장 중 토코페롤 함량 변화는 Table 3과 같다. 들기름 에멀전의 총 토코페롤 함량은 168.8 mg/kg으로, α -, δ -, γ -토코페롤이 각각 17.33, 122.99, 28.49 mg/kg 농도로 함유되어 있었다. 빛이 차단된 상태로 25°C에서 48시간의 저장 동안 들기름 에멀전에서의 토코페롤 총 함량은 큰 변화없이 서서히 감소하여 48시간 이후에도 96% 이상(163.45 mg/kg)이 잔존하였다. 또한 들기름 에멀전에 첨가한 클로로필 농도가 0, 2.5, 4 mg/kg으로 증가함에 따라 토코페롤 총 함량이 초기값과 유의한 차이를 보이는 시간이 48, 30, 12시간으로 조금씩 빨라졌으나, 동일 저장 시간에서 클로로필 첨가량 차이에 의한 총 토코페롤 함량 차이는 유의하지 않았다. 빛이 차단된 상태로 저장한 들기름 에멀전에서의 토코페롤의 여러 이성질체 즉 α -, δ -, γ -토코페롤의 함량 변화 또한 총 토코페롤 함량 변화와 유사하였다. 본 결과는 빛이 차단된 상태에서 들기름

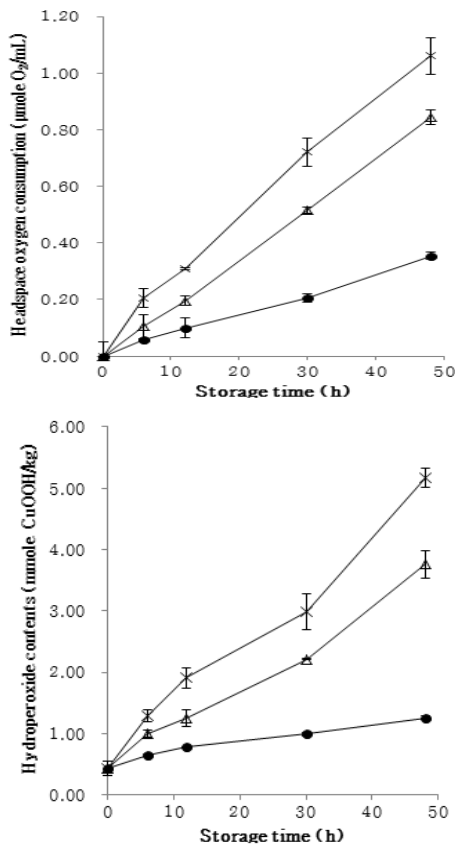


Fig. 1. Effects of chlorophyll on the headspace oxygen consumption and hydroperoxide contents in perilla oil emulsion during storage at 25°C under 1,700 lux light (● ; chlorophyll addition at 0 mg/kg, △ ; 2.5 mg/kg, × ; 4 mg/kg)

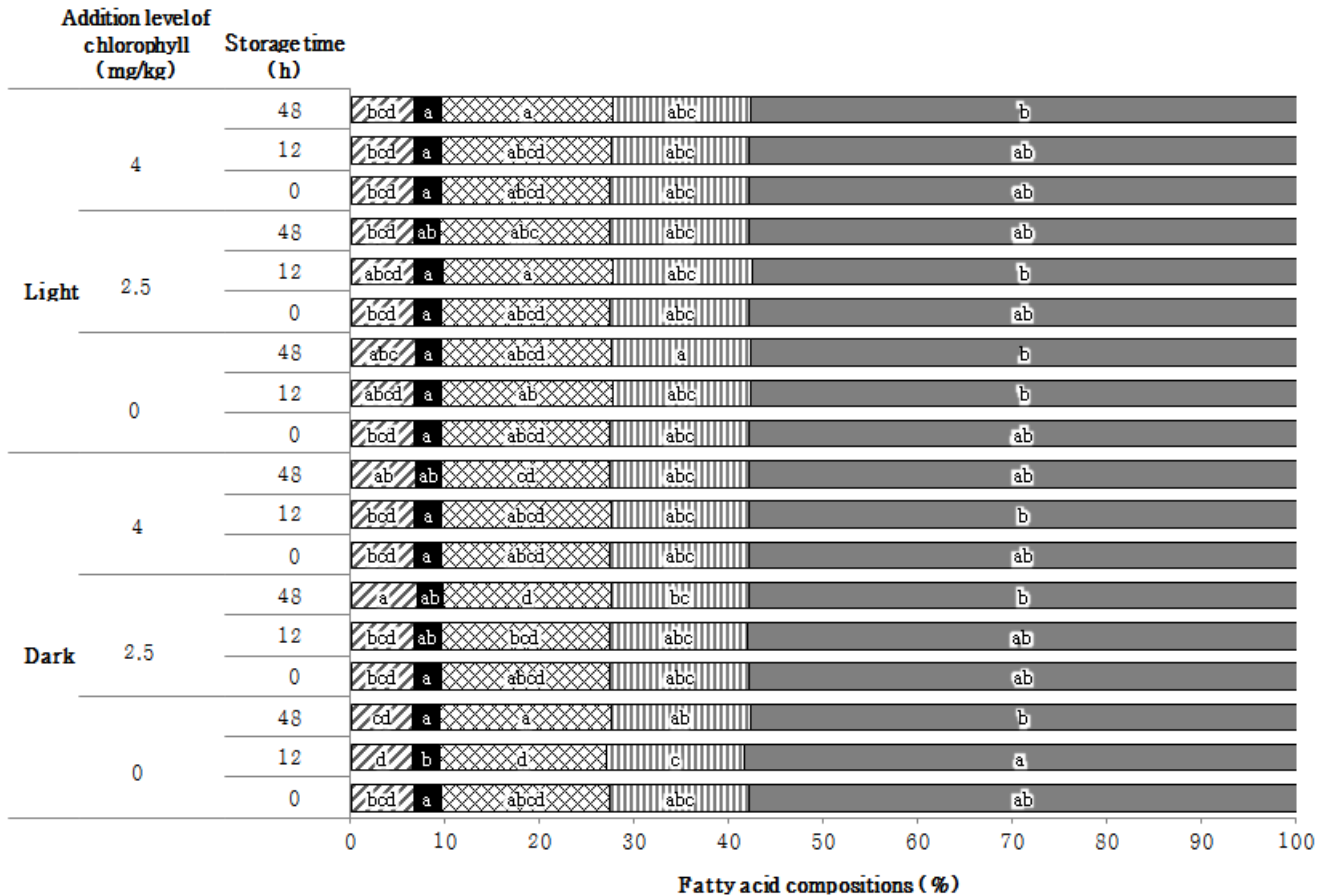


Fig. 2. Fatty acid compositions(relative %) of perilla oil emulsion during storage at 25°C in the dark and under light (/; palmitic acid, ■; stearic acid, ▨; oleic acid, ▩; linoleic acid, ▪; linolenic acid).

¹⁾ Different letters in the bar mean significant differences among samples in each fatty acid by Duncan's multiple range test at 5%.

에멀전의 산화 중 토크페롤의 분해는 적었으며, 클로로필의 첨가는 토크페롤 분해에 큰 영향을 주지 않았음을 의미한다. 그러나 빛의 존재 하에서 들기름 에멀전을 저장하는 동안 토크페롤의 분해는 증가하여 48시간 후 총 함량은 초기의 85% 미만(137.85 mg/kg) 이었다. 이것은 빛의 존재가 들기름 에멀전에서 토크페롤의 분해를 증가시켰음을 의미하며 토크페롤의 산화방지제로서의 작용과 관련이 있을 것으로 생각된다. 토크페롤은 유지의 광산화에서 라디칼 소거 및 일중항산소 소거를 통하여 유지 산화를 억제시키는 유용한 산화방지제로 알려져 있다(Choe E와 Min DB 2009). 또한 토크페롤의 여러 이성질체들의 함량도 빛 존재하에서 저장 시간에 따라 유의하게 감소하였으며, α-토크페롤이 다른 이성질체에 비해 감소비율이 컸다.

들기름 에멀전의 각 토크페롤 이성질체의 함량은 큰 차이가 있었으므로 에멀전 저장 중 토크페롤의 분해속도는 Table 4와 같이 초기값 대비 상대 함량으로 구하였다. 클로로필 첨가량이 0, 2.5, 4 mg/kg인 들기름 에멀전의 48시간 저장동안 총 토크페롤의 분해 속도는 빛을 차단한 상태에서 각각 0.046, 0.049, 0.056%/h, 빛 존재 하에서는 각각 0.307, 0.357,

0.351%/h로 빛의 존재에 의해 토크페롤 분해는 매우 가속화되었으나 클로로필 첨가량에 따른 차이는 크지 않았다. 이것은 빛 존재하에 클로로필에 의해 생성된 일중항산소에 대한 토크페롤의 소거 작용이 화학적 기전보다는 물리적 기전에 의해 이루어졌음을 암시한다. 즉, 높은 농도의 클로로필은 더 많은 양의 일중항산소를 생성하므로 이를 소거하기 위한 토크페롤이 더욱 많이 필요하고 따라서 화학적 기전에 의한 일중항산소 소거의 경우 토크페롤의 분해는 클로로필 농도가 높은 시료에서 더 많이 그리고 더 가속화되어야 한다. 그러나 본 실험에서는 빛 존재 하에서 감광제인 클로로필 첨가량과 관계없이 토크페롤의 분해가 유사하였으므로 토크페롤이 분해되는 화학적 기전보다는 일중항산소의 에너지만 소실시켜 삼중항산소로 전환시키는 물리적 기전에 의한 산화 방지 작용 (Choe E와 Min DB 2005)이 크게 기여했을 것으로 생각된다. 한편, 토크페롤 이성체 중 빛이 차단된 경우 δ-토크페롤, 빛이 존재한 경우에는 α-토크페롤의 분해 속도가 높았다. 이것은 빛의 존재에서 발생한 들기름 에멀전의 산화에 일중항산소가 관련되었음을 간접적으로 보여주는 결과이다. 자유라디칼 반응만에 의한 자동산화와 일중항산소가 관련된

Table 3. Effects of the chlorophyll addition on the content change of tocopherols in perilla oil emulsion during storage at 25°C in the dark and under light.

	Addition level of chlorophyll (mg/kg)	Storage time (h)	Tocopherol contents (mg/kg)			
			α -	γ -	δ -	Total
Dark	0	0	17.33±0.36 ^{abc1)} (100) ²⁾	122.99±0.51 ^a (100)	28.49±0.17 ^a (100)	168.80±0.86 ^a (100)
		6	17.50±0.03 ^a (100.99)	122.80±0.85 ^a (99.85)	27.18±0.07 ^{abcd} (95.42)	167.48±0.81 ^{ab} (99.22)
		12	17.43±0.31 ^{ab} (100.56)	122.77±0.62 ^a (99.83)	26.70±0.11 ^{abcdef} (93.74)	166.91±0.19 ^{abc} (98.88)
		30	17.27±0.19 ^{abc} (99.62)	122.09±0.85 ^a (99.27)	26.41±0.61 ^{bcd} (92.69)	165.76±0.27 ^{abcd} (98.20)
		48	17.13±0.09 ^{abcd} (98.83)	121.19±0.32 ^{ab} (98.54)	26.36±0.32 ^{bcd} (92.54)	164.68±0.09 ^{bcd} (97.56)
	2.5	0	17.33±0.36 ^{abc} (100)	122.99±0.51 ^a (100)	28.49±0.17 ^a (100)	168.80±0.86 ^a (100)
		6	17.05±0.03 ^{abcde} (98.37)	122.33±0.26 ^a (99.47)	27.38±0.40 ^{abc} (96.11)	166.76±0.16 ^{abc} (98.79)
		12	16.96±0.02 ^{abcdef} (97.88)	121.91±0.22 ^a (99.13)	27.28±0.10 ^{abc} (95.77)	166.16±0.35 ^{abcd} (98.43)
		30	16.84±0.20 ^{abcdef} (97.14)	121.52±0.47 ^{ab} (98.80)	26.85±0.06 ^{abcde} (94.24)	165.20±0.61 ^{bcd} (97.86)
		48	16.66±0.01 ^{defg} (96.15)	121.01±0.12 ^{ab} (98.39)	26.49±0.32 ^{bcd} (92.98)	164.16±0.20 ^{cd} (97.25)
	4	0	17.33±0.36 ^{abc} (100)	122.99±0.51 ^a (100)	28.49±0.17 ^a (100)	168.80±0.86 ^a (100)
		6	16.95±0.38 ^{abcdef} (97.80)	121.77±0.12 ^a (99.01)	27.41±0.71 ^{abc} (96.21)	166.13±0.21 ^{abcd} (98.41)
		12	16.80±0.26 ^{bcd} (96.91)	121.23±0.89 ^{ab} (98.57)	27.06±0.19 ^{abcd} (94.98)	165.08±0.34 ^{bcd} (97.79)
		30	16.57±0.01 ^{defg} (95.61)	120.82±0.57 ^{ab} (98.24)	26.52±0.05 ^{bcd} (93.09)	163.91±0.51 ^{cd} (97.10)
		48	16.41±0.17 ^{efgh} (94.67)	120.74±0.47 ^{ab} (98.18)	26.30±0.30 ^{bcd} (92.33)	163.45±0.94 ^{def} (96.83)
	0	0	17.33±0.36 ^{abc} (100)	122.99±0.51 ^a (100)	28.49±0.17 ^a (100)	168.80±0.86 ^a (100)
		6	15.85±0.08 ^{hi} (91.43)	120.32±0.14 ^{ab} (97.83)	27.77±0.20 ^{abc} (97.48)	163.93±0.14 ^{cd} (97.11)
		12	15.23±0.41 ^{jk} (87.86)	116.28±0.91 ^c (94.55)	27.20±0.28 ^{abc} (95.49)	158.71±0.78 ^e (94.02)
		30	14.28±0.37 ^l (82.38)	111.03±0.57 ^d (90.28)	26.15±0.22 ^{def} (91.81)	151.46±0.98 ⁱ (89.73)
		48	11.40±0.40 ^m (65.75)	106.56±0.02 ^e (86.64)	24.87±0.56 ^{fg} (87.31)	142.82±0.05 ^k (84.61)
2.5	0	17.33±0.36 ^{abc} (100)	122.99±0.51 ^a (100)	28.49±0.17 ^a (100)	168.80±0.86 ^a (100)	
	6	16.17±0.03 ^{ghi} (93.28)	116.42±0.01 ^c (94.66)	28.12±0.36 ^{ab} (98.70)	160.70±0.40 ^{fg} (95.20)	
	12	15.55±0.06 ^{ij} (89.74)	110.89±0.76 ^d (90.16)	27.65±0.13 ^{abc} (97.07)	154.09±0.56 ^{hi} (91.29)	
	30	14.50±0.05 ^l (83.68)	105.11±0.81 ^{ef} (85.46)	26.02±0.17 ^{def} (91.35)	145.63±0.60 ^j (86.27)	
	48	11.66±0.01 ^m (67.27)	101.19±0.17 ^g (82.27)	25.00±0.13 ^{efg} (87.78)	137.85±0.28 ^l (81.66)	
4	0	17.33±0.36 ^{abc} (100)	122.99±0.51 ^a (100)	28.49±0.17 ^a (100)	168.80±0.86 ^a (100)	
	6	16.32±0.55 ^{gh} (94.15)	118.58±0.83 ^{bc} (96.42)	27.22±0.34 ^{abc} (95.55)	162.12±0.05 ^{ef} (96.04)	
	12	15.84±0.38 ^{hi} (91.39)	113.49±0.24 ^d (92.28)	26.57±0.02 ^{bcd} (93.27)	155.89±0.12 ^h (92.35)	
	30	14.70±0.31 ^{kl} (84.81)	107.49±0.76 ^c (87.40)	25.30±0.30 ^{defg} (88.82)	147.49±0.15 ^j (87.38)	
	48	11.78±0.30 ^m (67.98)	102.91±0.93 ^{fg} (83.67)	24.12±0.02 ^g (84.67)	138.81±0.65 ^l (82.23)	

¹⁾ Different superscript means significant differences among samples in each oxidation parameter by Duncan's multiple range test at 5%.

²⁾ Retention based on the content at zero time

Table 4. Effects of chlorophyll addition on the regression analysis between storage time and tocopherol retention of perilla oil emulsion during storage at 25°C for 48 h in the dark and under light

Addition level of chlorophyll (mg/kg)	Tocopherol	Regression parameters ¹⁾					
		Dark			Light		
		a	b	r ²	a	b	r ²
0	α-	-0.036	100.68	0.697	-0.634	97.646	0.950
	γ-	-0.030	100.08	0.973	-0.274	99.115	0.971
	δ-	-0.122	97.226	0.604	-0.252	99.253	0.988
	Total	-0.046	99.660	0.939	-0.307	98.987	0.981
2.5	α-	-0.068	99.215	0.864	-0.621	98.711	0.964
	γ-	-0.030	99.732	0.902	-0.341	97.068	0.895
	δ-	-0.118	98.096	0.769	-0.264	100.06	0.992
	Total	-0.049	99.403	0.849	-0.357	97.741	0.944
4	α-	-0.097	98.861	0.854	-0.615	99.467	0.964
	γ-	-0.031	99.401	0.673	-0.327	98.228	0.945
	δ-	-0.136	97.930	0.775	-0.295	98.132	0.953
	Total	-0.056	99.097	0.748	-0.351	98.339	0.966

¹⁾Tocopherol retention (% based on zero time) = a x storage time (h) + b, r²=determination coefficient

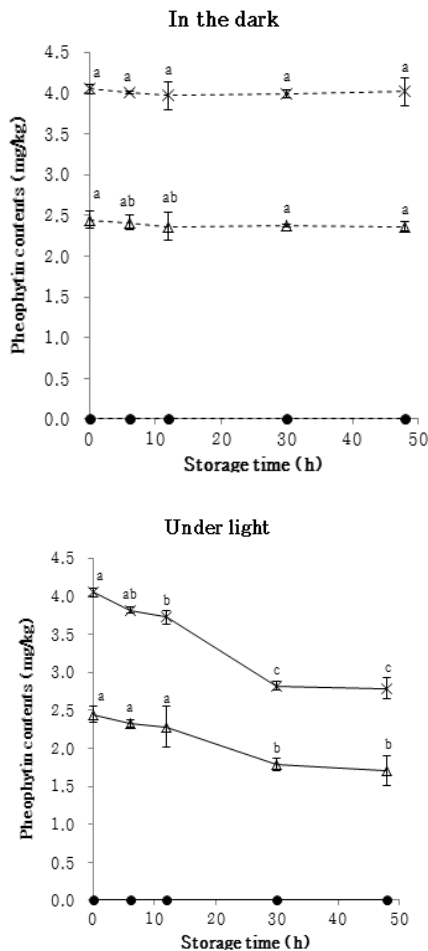


Fig. 3. Content changes in pheophytin added to the perilla oil emulsion during storage at 25°C in the dark and under light (●; chlorophyll addition at 0 mg/kg, △; 2.5 mg/kg, ×; 4 mg/kg)

광산화의 경우 각각 δ-토코페롤과 α-토코페롤의 산화방지활성이 높음이 보고된 바 있다(Reische DW 등 2002; Yanishlieva NV 등 2002). 그러나 반대의 경우도 보고되었는데(Jung MY와 Min DB 1990), 토코페롤 이성질체에 따른 안정성 및 산화방지 활성 차이는 다른 미량 성분의 존재 및 식품 구조 등 여러 요인에 따라 달리 나타날 수 있다 (Lea CH와 Ward RJ 1959).

클로로필 첨가 또는 빛의 존재에 따른 들기름 에멀전의 저장 중 폴리페놀 화합물 함량 변화는 Fig. 4와 같다. 들기름 에멀전의 총 폴리페놀 화합물 함량은 19.02 mg/kg이었으며 빛이 차단된 상태에서 48시간동안 저장한 후 클로로필 첨가에 따른 유의한 차이없이 91%(17.3 mg/kg)이상의 폴리페놀 화합물이 잔존하였다. 이것은 빛이 차단된 상태에서 들기름 에멀전의 산화 중 폴리페놀 화합물의 분해는 크지 않았음을 나타낸다. 그러나 빛의 존재 하에서 클로로필이 첨가되지 않은 들기름 에멀전에서 폴리페놀 화합물의 분해는 증가하여 48시간 후 총 함량은 초기의 76% 미만 (14.29 mg/kg)이었다. 또한 클로로필의 첨가량이 0, 2.5, 4 mg/kg으로 증가할수록 폴리페놀 화합물의 분해도 증가하여 30시간 저장 후 각각 초기값의 76.29, 69.92, 62.74%가 잔존하였다. 이것은 빛의 존재가 들기름 에멀전에서 폴리페놀 화합물의 분해를 증가시켰으며 클로로필의 첨가는 이를 더욱 증가시켰음을 의미하였다. 이와 같이 빛과 클로로필에 의해 증가된 폴리페놀 화합물의 분해는 빛은 물론 빛 존재에서 클로로필에 의해 생성된 일중항산소로 인한 증가된 들기름 에멀전의 산화를 억제하기 위하여 폴리페놀 화합물이 산화방지제로서 작용한 것과 관련이 있을 것으로 생각된다. 폴리페놀 화합물은 토코페롤과 마찬가지로 유지의 광산화에서 라디칼 및 일중항산소 소거를 통하여 유지 산화를 억제시켰다(Choe E와 Min DB 2009).

Table 5는 들기름 에멀전의 저장 조건에 따른 폴리페놀 화합물의 분해속도를 초기값 대비 상대 함량으로 구한 결과를 보여준다. 클로로필 첨가량이 0, 2.5, 4 mg/kg인 에멀전의 48

Table 5. Effects of chlorophyll addition on the regression equation between storage time and polyphenols retention in perilla oil emulsion during storage at 25°C for 48 h in the dark or under light

Addition level of chlorophyll (mg/kg)	Regression parameters ¹⁾					
	Dark			Light		
	a	b	r ²	a	b	r ²
0	-3.766	18.86	0.891	-9.282	18.01	0.766
2.5	-2.682	18.81	0.871	-11.11	17.56	0.714
4	-3.424	18.86	0.941	-13.35	17.17	0.717

¹⁾ Polyphenols retention (% based on the content at zero time) = a x storage time (h) + b, r²=determination coefficient

Table 6. Effects of chlorophyll addition on the regression equation between contents of tocopherols/ polyphenols and headspace oxygen consumption/ peroxides contents in perilla oil emulsion during storage at 25°C for 48 h in the dark or under light

Antioxidants	Addition level of chlorophyll (mg/kg)	Regression parameters ¹⁾						
		Dark			Light			
		a	b	r ²	a	b	r ²	
Headspace oxygen consumption	Tocopherols	0	-0.0340	5.7354	0.9759	-0.0135	2.2657	0.9830
		2.5	-0.0183	3.1008	0.8565	-0.0274	4.5325	0.9346
		4	-0.0176	2.9481	0.4830	-0.0357	5.9806	0.9795
Polyphenols		0	-0.0635	1.2263	0.8292	-0.0585	1.0918	0.7582
		2.5	-0.0532	1.0306	0.7538	-0.1114	2.0502	0.6940
		4	-0.0663	1.2356	0.7208	-0.1203	2.2157	0.7606
Hydroperoxide contents	Tocopherols	0	-0.0277	5.0183	0.7271	-0.0304	5.5980	0.9938
		2.5	-0.0261	4.8293	0.8570	-0.1027	17.490	0.9210
		4	-0.0342	6.1474	0.4572	-0.1513	25.755	0.9631
Polyphenols		0	-0.0538	1.4403	0.6845	-0.1393	3.0804	0.8590
		2.5	-0.0828	2.0088	0.8999	-0.4112	8.0704	0.6615
		4	-0.1371	2.9781	0.7748	-0.4957	9.5969	0.7075

¹⁾ Headspace oxygen consumption (μ mole O₂/mL) or Hydroperoxide contents (mmole CuOOH/kg) = a x antioxidant contents (mg/kg) + b, r²=determination coefficient

시간 저장동안 총 폴리페놀 화합물의 분해 속도는 빛을 차단한 상태에서 각각 3.766, 2.682, 3.424 %/h, 빛 존재 하에서 각각 9.282, 11.11, 13.35 %/h로 빛의 존재에 의해 폴리페놀 화합물의 분해는 토코페롤과 유사하게 매우 가속화되었으며 빛 존재하에서 클로로필 첨가량이 증가함에 따라 폴리페놀 화합물의 분해 속도는 증가하였다. 이와 같은 들기름 에멀전의 광산화 중 초기값 대비 상대 함량으로 구한 폴리페놀 화합물의 분해 속도는 토코페롤의 분해 속도 (0.307~0.357%/h)와 비교할 때 매우 높아, 빛 존재하에 클로로필에 의해 생성된 일중항산소에 대한 화학적 소거 작용이 토코페롤에 비해 폴리페놀 화합물에 의해 더 많이 이루어졌음을 암시한다. 일중항산소의 화학적 소거는 산화방지제의 산화 및 분해를 초래한다(Choe E와 Min DB 2006).

3. 들기름 에멀전의 저장 중 유지 산화와 미량 성분과의 관계

들기름 에멀전의 저장 중 산화방지제 잔존량과 유지 산화와의 관계에 대한 빛과 클로로필 첨가 영향은 Table 6과 같다. 들기름 에멀전의 총 토코페롤 및 폴리페놀 화합물 잔존량은 산소소비량 및 과산화물값과 비교적 높은 상관관계를

보였다. 회귀선의 기울기인 'a' 는 음의 값으로 이는 토코페롤 및 폴리페놀 화합물 잔존량이 높을수록 들기름 에멀전의 산소소비량 및 과산화물값이 낮았음을 의미하여 이들 화합물의 유지 산화 방지 작용을 확인할 수 있었다. 한편, 클로로필을 첨가하지 않은 들기름 에멀전을 빛을 차단한 채 저장하였을 때 토코페롤 및 폴리페놀 화합물 잔존량에 대한 산소소비량 회귀선의 기울기인 'a' 값은 -0.0340, -0.0635 μ mole O₂/mL/mg/kg으로, 이것은 토코페롤 및 폴리페놀 화합물 잔존량이 1 mg/kg 증가할수록 들기름 에멀전의 산소소비량은 각각 0.0340, 0.0635 μ mole O₂/mL 감소함을 의미한다. 또한 클로로필을 첨가하지 않은 들기름 에멀전을 빛 존재 하에서 저장하였을 때 토코페롤 및 폴리페놀 화합물 잔존량이 1 mg/kg 증가할수록 들기름 에멀전에서의 과산화물 생성은 각각 0.0277, 0.0538 mmole CuOOH/kg 감소하였다. 또한 빛 존재 하에서 클로로필을 4 mg/kg으로 첨가한 들기름 에멀전을 저장하였을 때 토코페롤 및 폴리페놀 화합물 잔존량에 대한 산소소비량 회귀선의 기울기인 'a' 값은 -0.0357, -0.1203 μ mole O₂/mL/mg/kg으로 이것은 토코페롤 및 폴리페놀 화합물 잔존량이 1 mg/kg 감소할수록 들기름 에멀전의 산소소비량은 각각 0.0357, 0.1203 μ mole O₂/mL 증가함을 의미한다. 이와

유사하게 빛 존재 하에서 클로로필을 4 mg/kg으로 첨가한 들기름 에멀전을 저장하였을때 토코페롤 및 폴리페놀 화합물 잔존량에 대한 과산화물값에 대한 회귀선의 기울기인 'a' 값은 -0.1513, -0.4957 mmole/kg/mg/kg으로 이것은 토코페롤 및 폴리페놀 화합물 잔존량이 1 mg/kg 감소할수록 들기름 에멀전의 과산화물값은 각각 0.1513, 0.4957 mmole/kg 증가함을 의미한다. 이상의 결과는 모두 토코페롤보다는 폴리페놀 화합물의 농도 변화가 들기름 에멀전의 산소소비량 및 과산화물값에 더 큰 변화를 초래하며 따라서 들기름 에멀전의 유지산화는 토코페롤에 비해 폴리페놀의 농도에 의존성이 더 높음을 의미한다.

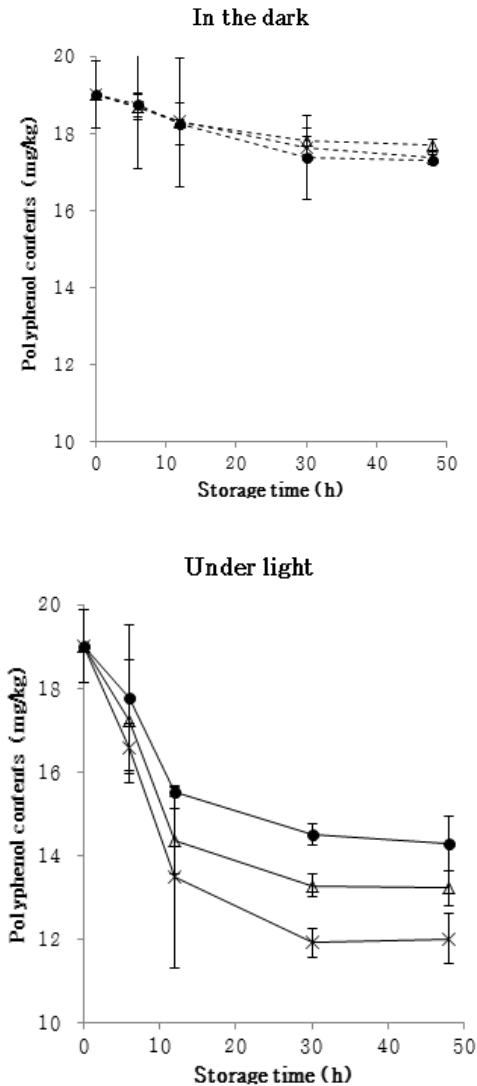


Fig. 4. Effects of chlorophyll addition on the content change of polyphenols in perilla oil emulsion during storage at 25°C in the dark and under light (● ; chlorophyll addition at 0 mg/kg, △ ; 2.5 mg/kg, × ; 4 mg/kg)

IV. 요약 및 결론

클로로필을 첨가하여 제조한 들기름 에멀전을 빛에서 또는 빛을 차단한 상태로 25°C에서 저장하면서 유지 산화 및 산화방지제 분해를 평가하였다. 빛이 차단된 상태에서 들기름 에멀전의 유지 산화 및 토코페롤 및 폴리페놀 화합물 함량 변화는 미미하였으며, 클로로필의 첨가 또한 영향을 주지 않았다. 그러나 빛은 클로로필 농도 증가와 함께 들기름 에멀전의 유지 산화를 가속화시켰으며, 토코페롤과 폴리페놀 화합물의 분해가 증가되었고 특히 클로로필 첨가량 증가에 따라 폴리페놀 화합물의 분해 속도가 증가하였다. 빛의 존재 또는 클로로필 첨가와 관계없이 들기름 에멀전의 지방산 조성에는 유의한 변화가 없었으며, 클로로필 첨가 여부와 관계없이 들기름 에멀전 유지의 광산화는 토코페롤보다는 폴리페놀의 농도 의존성이 더 높았다.

참고문헌

An S, Choe E 2011a. Effects of unrefined vegetable oil addition on the flavor acceptability and oil oxidation of tuna oil enriched emulsion under singlet oxygen, *Food Sci and Biotechnol* 2: 743-750

An S, Choe E. 2011b. Effects of adding unrefined oil on the antioxidant activity of a tuna oil-enriched emulsion, *Korean J Food Cookery Sci* 27: 39-49

An S, Lee E, Choe E. 2011. Effects of solubility of sensitizer and pH on the photooxidation of oil in tuna-oil-added acidic O/W emulsions, *Food Chem* 128: 358-363

Choe E, Min DB. 2005. Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods, *Journal of food science* 70: R142-R159

Choe E, Min DB. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation, *Comp Rev Food Sci Food Safety* 5: 169-186

Choe E, Min DB. 2009. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods, *Comp Rev Food Sci Food Safety* 8: 345-358

Frankel EN, Huang SW, Kanner J, German JB. 1994. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: Bulk oils vs emulsions, *J Agric Food Chem* 42: 1054-1059

Hwang H, Choe E. 2011. Effects of seed germination on oil oxidation and tocopherol stability of perilla oil, *Korean J Food Sci Technol* 43: 255-262

Jung MY, Min DB. 1990. Effects of α -, γ -, and δ -tocopherols on oxidative stability of soybean oil, *J Food Sci* 55: 1464-1465

Kim N, Choe E. 2012. Effects of monoacylglycerols on the oil

- oxidation of acidic water/Perilla oil emulsion under light in the presence of chlorophyll, *Food Sci Biotechnol* 21(1): 183-189
- Lea CH, Ward RJ. 1959. Relative antioxidant activities of the seven tocopherols, *J Sci Food Agric* 10: 537-548
- Lee Y, Choe E. 2008. Singlet oxygen quenching effects of phosphatidylcholine in emulsion containing sunflower oil. *J Food Sci* 73: C506-C511
- Min DB, Boff JM. 2002. lipid oxidation of edible oil, pp. 335-363. In: *Food lipids*, 2nd ed. Akoh CC, Min DB. CRC Press, New York, USA
- Nagatsu A, Tenmaru K, Matsuura H, Murakami N, Kobayashi T, Okuyama H, Sakakibara J. 1995. Novel antioxidants from roasted perilla seed, *Chem Pharm bull* 43: 887-891
- Redfearn ER, Friend J. 1962. Studies on plastoquinone-1, Determination of the concentration and oxidation-reduction state of plastoquinone in isolated chloroplasts, *Phytochemistry* 1: 147-151
- Reische DW, Lillard DA, Eitenmiller RR. 2002. Antioxidants, pp. 489-516. In: *Food lipids*, 2nd ed. Akoh CC, Min DB. CRC Press, New York, USA
- Rontani JF, Rabourdin A, Marchand D, Aubert C. 2003. Photochemical oxidation and autoxidation of chlorophyll phytyl side chain in senescent phytoplanktonic cells: Potential sources of several acyclic isoprenoid compounds in the marine environment, *Lipids* 38: 241-254
- Sheo HJ, Kim SH, Jung DL. 1991. The effect of the unsaturated oil on the normal liver and lipid metabolism of rats fed several plant oils, *J Korean Soc Food Nutr* 20: 426-432
- Wang S, Hwang H, Yoon S, Choe E. 2010. Temperature dependence of autoxidation of perilla oil and tocopherol degradation, *J Food Sci* 75: C498-C505
- Yanishlieva NV, Kamal-Eldin A, Marinova EM, Toneva AG. 2002. Kinetics of antioxidant action of α - and γ -tocopherols in sunflower and soybean triacylglycerols, *Eur J Lipid Sci Technol* 104: 262-270
- Yu KM, Choi HS. 1998. Nutritional characteristics and industrial application of perilla oil, *Food Indus Nutr* 3: 30-36

2012년 12월 26일 접수; 2013년 2월 13일 심사; 2013년 2월 13일 채택