

## 어유제품과 생선의 EPA, DHA 및 토코페롤 함량

김연경 · 주광지<sup>†</sup>

계명대학교 식생활학과

## EPA, DHA and Tocopherols Contents in Fish Oil Products and Fishes

Yeun-Kyung Kim and Kwang-Jee Joo<sup>†</sup>

Dept. of Food Science and Nutrition, Keimyung University, Daegu 705-701, Korea

### Abstract

Six brands of encapsulated fish oil products and five fishes were analyzed for their contents of eicosapentaenoic acid (EPA 20:5 n-3), docosahexaenoic acid (DHA 22:6 n-3) and tocopherols. In both of the fish oil products and the fishes, major fatty acids were palmitic acid, oleic acid, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid and fatty acid compositions were also similar pattern each other. EPA showed variable amounts from 19.2% to 50.3% in the oil products whereas DHA were 13.2% to 28.3% in the fishes. Tocopherols were studied in relation to the oxidative stability of fish products no relation was observed. However the amount of tocopherols in fish oil products were higher than that of fishes. Contents of EPA, DHA and tocopherols in encapsulated fish oil products were variable comparing with manufacturers' claimed contents.

Key words : fish oil product, fish oil, EPA, DHA, tocopherol

### 서 론

어유에 대한 다각적인 연구가 활발하게 이루어지게 된 것은 생선에 함유된 고도의 불포화 지방산인 eicosapentaenoic acid (EPA C20 : 5 n-3)와 docosahexaenoic acid (DHA C22 : 6 n-3)가 인간의 건강과 질병에 중요한 역할을 하고 있다는 사실이 알려지면서 부터이다<sup>1-3)</sup>. n-3계지방산은 순환기 계통질환의 위험인자를 제거해주거나 혈청내 지질구성이나 혈소판 응집기능에 변화를 주어 동맥경화증에 유익한 효과를 나타낸다고 알려져 있다<sup>4-6)</sup>. 특히 DHA는 망막 및 두뇌 인지질의 구성성분으로 실험동물의 학습능을 비롯한 뇌기능 향상에 기여한다고 한다<sup>7,8)</sup>. 최근 미국·유럽 뿐만 아니라 우리나라에서도 어유를 상용화된 캡슐로 제조하여 건강식품으로 약국, 건강식품원 등에서 시판하게 되어 손쉽게 구입할 수 있게 되었다. 그러나 이들 어유의 지방산은 탄소수가 많고 불포화도가 높기 때문에 쉽게 산화되어 고분자의 산화생성물을 형성하고 추출 및 정

제과정에서도 산화중합반응을 통하여 중합체를 형성할 수 있다. 그러므로 어유의 산화에 따른 질저하가 논의 되기도 하며, 불안정한 n-3 지방산과 이들의 산화물이 잠재적인 독성인자로 노출될 위험을 수반하며 생리적으로 해로운 효과를 초래할 수 있다<sup>9,10)</sup>.

본 연구에서는 캡슐어유에 함유된 지방산 함량과 그 산화정도를 조사하고, 상품에 명시된 EPA, DHA와 항산화제로 첨가된 토코페롤 함량도 조사하였다. 또한 생선에서 어유를 추출하여 상용화된 어유의 것과 비교 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

연질 젤라틴 캡슐로 된 여섯 종류의 각각 다른 어유 제품을 1991년 6월에서 7월 사이에 대구 시내에서 구입하였다. 각제품의 사용유효 기간은 제조일로부터 2년간이었다.

생선은 고등어 (Mackerel), 꽁치 (Mackerel pike), 청어 (Herring), 전갱이 (Horse mackerel), 방어 (Yellow tail)

<sup>†</sup> To whom all correspondence should be addressed

를 대구 수산시장에서 냉동상태로 된 것을 각 세마리씩 또는 열마리를 7월에 구입하였다. 생선의 크기는 30±3cm였다.

어유

캡슐속에 든 어유는 일회용 주사기를 사용하여 어유를 뽑아서 사용하였다. 생선으로부터 어유추출은 생선의 가식부 50g에 methanol 50ml를 가하여 1분간 균질화시킨 후 chloroform 100ml를 가하여 2분간 다시 균질화하였다. 이것을 여과한 후 잔사에 같은 조작을 일회 더 반복하여 추출액을 모두 분액 깔대기에 옮겼다. 추출 총액의 1/4량의 0.88% KCl수용액을 분액 깔대기에 가하여 격렬하게 흔들어서 한동안 정지한 후 Chloroform층을 분리하여 다시 1/4량의 물로 세척한 후 무수황산나트륨으로 탈수시킨 후 여과하였다<sup>11)</sup>. 용매는 감압농축하여 제거하고 어유를 얻었다. 이 어유는 갈색병에 넣고 질소 가스를 주입하여 -24°C에 저장하였다.

지방산 분석

어유의 지방산 구성은 methanolic-NaOH로 작용시킨 후 BF<sub>3</sub>-methanol로서 methyl ester를 만들었다<sup>12)</sup>. 분석기기는 FID를 부착한 Hewlett Packard 5890A GC로서 SE 30 fused silica coloumn, 30m×0.25mm×0.25 μm(Supelco)을 사용하였다. 온도는 125°C에서 4분간 유지한 후 260°C까지 6°C/min로 승온한 후 260°C에서 4분간 유지하였다. 총 분석시간은 30분, Split ratio는 100 : 1로 하였으며, 운반기체는 질소를 24ml/min로 사용하였다. 지방산 표준품은 EPA, DHA 등 16개를 Sigma사에서 구입하였다. 시료중의 지방산은 표준품을 시료와 같은 조건에서 주입하여 머무름시간과 비교하여 동정하였다. 지방산 조성은 크로마토그램의 각 피크면적을 총면적에 대한 백분율로 나타내었다.

토크페롤 함량

토크페롤 함량 측정은 HPLC(Waters 501)를 사용하였다. 토크페롤 표준품은 α-, γ-, δ-tocopherol과 β-tocopherol은 mixed isomer(Sigma사 USA)를 사용하였다. Column(Waters)은 4.6mm×300mm μ-Porasil(5 μm), 검출기는 Toyo UV 8011로서 280nm에서 측정하였고 용매는 hexane : diethyl ether(95 : 5v/v)를 2ml/min 사용하였다. 시료중의 토크페롤 손실을 최소화하고자 전처리 과정을 거치지 않고 시료를 hexane에 용해시킨후 분석용 시료로 사용하였다. 함량계산은 Carpe-

nter 등<sup>13)</sup>의 방법으로 표준곡선(Calibration curves)을 그려서 측정하였다. 그의 유리지방산가, 요오드가, 과산화물가, 아니시딘가는 AOCS<sup>14)</sup>법에 의하여 시행하였다.

결과 및 고찰

캡슐어유와 생선추출어유의 과산화물가, 아니시딘가, 유리지방산 등을 Table 1에 나타내었다. 캡슐어유에 존재하는 과산화물과 2차 산화생성물의 가능성을 의미하는 알데히드량을 측정하는 아니시딘가는 비교적 산화가 진전된 것으로 나타났다. EPA와 DHA의 산화과정은 다른 지방산 즉 리놀레닌산보다 훨씬 빠르게 생성된 과산화물이 불안정하기 때문에 과산화물가가 이들의 산화상태를 나타내는 지표로서 바람직하지 못하다고 하나<sup>15)</sup> Shukla와 Perkins<sup>16)</sup>이 보고한 캡슐어유 제품들의 과산화물가가 4이하인데 비하여 본 어유제품은 4.4~33.8(meq/kg)로 대단히 높게 나타났다. 한편 생선에서 추출한 어유의 분석값은 캡슐어유의 것에 비하여 과산화물가가 현저히 낮았다. 그러나 캡슐어유의 유리지방산 함량은 추출어유에 비하여 일률적이고 낮은 값을 나타내어 정제과정을 거친 기름의 특성을 나타내었다.

지방산 조성

어유제품의 지방산 조성을 Table 2에 나타내었다. 확인된 지방산은 16종이었으며 주요 지방산은 16 : 0, 18 : 1 n-9, 20 : 5 n-3, 22 : 6 n-3 등이었다. 각 어유제품의 지방산 조성은 생선어유와 매우 유사한 형태로

Table 1. Analytical values of encapsulated fish oils and fish oils extracted from frozen fishes

*Product	Iodine value (%, I absor.)	Peroxide value (meq/kg)	Anisidine value (%, trans)	Free fatty acid (%, oleic)
A	175.7	13.9	39.8	0.3
B	188.5	28.0	30.5	0.4
C	190.7	8.2	59.3	0.3
D	193.9	33.8	38.4	0.2
E	196.4	7.6	39.4	0.3
F	294.8	4.4	49.8	0.5
Fish oil				
Mackere!	151.0	2.0	19.7	1.6
Mackerei pike	91.8	2.4	31.6	3.1
Horse mackerel	98.4	2.0	13.2	-
Herring	95.2	1.5	26.7	2.6
Amber fish	121.7	1.6	8.4	-

\*Expiration date A : 08/ 91, B : 10/92, C : 10/92, D : 07/ 92, E : 06/92, F : 01/93

나타났으며 EPA의 함량이 가장 높았고 EPA(19.2~50.3%)와 DHA(4.3~15.5%)의 함량비는 2:1 혹은 그 이상이었다. 제조회사에 따른 지방산 조성의 차이는 제품 F를 제외하고는 별로 없었다.

상업용 어유제품은 일반적으로 22:5 n-3을 첨가하는데 그량은 DHA 함량의 1/2까지를 첨가하도록 한다. 그 이유는 EPA가 DHA로 전환되고 다시 EPA로 역전환 되는 과정에서의 중요한 중간체로 작용하기 때문이라고 한다<sup>16)</sup>. 그러나 본 실험에서는 22:5 n-3을 표준품으로 사용하지 않았으므로 그 함량을 측정할 수가 없었다.

확인된 총 지방산의 함량은 제품 F가 79.6%로 가장 낮았고 그 다음 제품 A가 89.4%, 제품 D가 90.5% 등으로 나타났는데 상품화된 어유에 함유된 EPA, DHA는 제조과정이나 농축단계에서 산화가 될 수 있고 중합체가 생길 수도 있다. 특히 지방산이 교차 결합된 것

Table 2. Fatty acid composition of encapsulated fish oil products

Fatty acid	(area %)					
	A	B	C	D	E	F
14:0	7.3	5.3	5.5	10.8	6.1	0.2
15:0	2.0	2.4	2.4	2.2	3.3	0.1
16:0	16.1	9.2	16.3	12.3	13.8	1.0
16:1 n-7	9.1	8.6	8.9	7.9	8.2	1.9
17:0	1.9	5.4	2.8	1.4	2.8	0.2
18:0	3.5	2.5	3.0	2.5	3.5	0.3
18:1 n-9	12.9	11.0	13.4	14.8	15.2	0.7
18:2 n-6	2.6	1.0	1.7	2.5	2.4	0.8
18:3 n-3	0.1	0.2	0.6	-	-	-
20:1 n-9	0.2	-	0.3	-	-	-
20:2 n-6	0.7	1.5	0.8	1.1	0.8	1.8
20:3 n-3	0.2	1.8	0.6	0.8	0.2	0.9
20:4 n-6	2.2	3.6	2.3	1.7	2.4	7.9
20:5 n-3	19.2	27.4	22.8	28.0	20.8	50.3
22:1 n-11	0.3	-	0.3	0.2	0.1	0.2
22:6 n-3	11.1	15.5	12.8	4.3	11.4	13.3
Total acids	89.4	95.4	94.5	90.5	91.0	79.6

Table 3. Claimed and experimental contents of EPA and DHA in encapsulated fish oils

Product	EPA (%)		DHA (%)	
	*Manufacturer's claim	Experimental	*Manufacturer's claim	Experimental
A	20	19.2	12	11.1
B	-	27.4	-	15.5
C	25	22.8	12	12.8
D	28	28.0	5	4.3
E	18	20.8	12	11.4
F	50	50.3	12	13.3

\*Fish oil products' level claim values

은 GLC로 분석이 곤란하고 또한 용매, sterol, hydrocarbon, waxes 등도 EPA와 DHA 함량을 감소시킬 수 있다<sup>17)</sup>. Berner<sup>18)</sup>는 어유제품에 함유된 n-3계 고도의 불포화지방산을 더 정확히 측정하기 위하여 내부표준방법으로 tricosanoic acid(23:0)를 사용하여 만족할 만한 결과를 얻었다고 보고하였으나 본 실험에서는 그 방법은 실시하기에 무리가 있었다.

Table 3에는 제조회사가 각 제품의 품질내용에 표시한 EPA와 DHA 함량과 본 실험의 결과를 비교하여 보았다. 제품 B는 품질 내용상 EPA와 DHA의 함량을 표시하지 않았고 제품 F는 EPA의 함량이 총 지방산의 50%로써 대단히 높은 양을 표시하고 있었다. 일반적으로 제조회사가 표시한 양이 실험값보다 다소 미달되었으나 과잉으로 함유된 것도 있었다.

한편 고등어, 꽁치, 전갱이, 방어 등의 생선으로부터 추출한 어유의 지방산 조성을 Table 4에 표시하였다. 이들 생선은 일반적으로 각 가정의 식탁에서 자주 먹을 수 있는 것이며, 지방산 조성은 어유제품의 결과와 유사하였으며 주요지방산의 구성 분포도 동일하였다. 다만 DHA의 함량(13.2~28.3%)이 EPA(8.4~14.6%)보다 많아서 어유제품의 EPA와 DHA조성과는 상반되는 결과를 나타내었다. 각 생선유의 EPA와 DHA 함유량은 확인된 총 지방산의 30%정도였으며 이중 꽁치의 함량(38.1%)이 상대적으로 높았다. 대체적인 어유 지방산 조성의 비는 우리나라 근해에서 어획한 주요 어종의 것과 비슷한 결과였다<sup>19)</sup>.

Table 4. Fatty acid composition of fish oils extracted from frozen fishes

Fatty acid	(area %)				
	Msckerel	Mackerel pike	Herring	Horse mackerel	Yellow tail
14:0	5.5	7.7	8.6	3.5	3.0
15:0	1.1	0.9	0.6	0.5	0.8
16:0	20.3	18.6	19.5	16.8	20.3
16:1 n-7	4.6	5.3	11.2	3.5	4.5
17:0	1.0	0.7	0.3	0.7	0.2
18:0	2.0	6.7	5.3	2.8	3.9
18:1 n-9	20.6	9.8	18.2	22.1	15.2
18:2 n-6	5.7	2.9	1.9	6.2	8.7
18:3 n-3	0.1	0.3	0.3	0.5	0.5
20:1 n-9	0.4	0.5	0.5	0.3	0.2
20:2 n-6	0.5	0.8	0.3	0.6	1.8
20:3 n-3	0.8	1.4	0.9	1.2	0.4
20:4 n-6	0.2	0.8	0.9	1.2	0.8
20:5 n-3	10.7	9.8	14.6	9.7	8.4
22:1 n-11	0.2	1.2	0.4	0.4	0.6
22:6 n-3	21.9	28.3	13.2	24.6	27.7
Total acids	95.6	95.7	96.7	94.6	97.0

토크페롤 함량

고도의 불포화 지방산인 EPA와 DHA의 산화는 빠르고 캡슐제품으로 완성된 후에도 캡슐제조시의 가소제나 저장조건에 의해서, 또는 부드러운 캡슐속에 산소가 침투되므로 어유의 산화는 진전 되어진다. 그러므로 항산화제로 토크페롤을 첨가하나 다른 항산화제에 비하여 그 능력이 미약하다<sup>10)</sup>. 토크페롤은 불포화지방산, 산소, 알칼리, 자외선, 금속이온 등의 존재하에서 불안정하고 주로 불포화지방산과 공존할때 파괴된다<sup>19)</sup>. 제품 A는 토크페롤이 전혀 검출되지 않았다(Table 5). 토크페롤의 함유량은 제품의 유통기한과 저장조건에 밀접한 관계가 있으므로 A제품을 시료로 사용한 시기가 제품의 유통기한이 끝나는 직전이기 때문이라 생각되어진다. 그의 다섯 제품에는  $\alpha$ 형 토크페롤이 존재하였고 제품 F는  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$  형이 고루 분포되어 있었다.

Table 5. Tocopherols composition of encapsulated fish oils

Product	Tocopherol (ppm)				Total	Vitamin E activity *(mg/100g)
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$		
A	-	-	-	-	-	-
B	241.0	-	219.5	128.2	558.7	26.42
C	772.1	-	297.3	338.1	920.6	80.56
D	228.6	-	80.6	-	309.2	23.66
E	719.6	105.5	-	-	825.1	77.16
F	43.8	15.5	753.5	106.1	919.0	5.15

\*Vitamin E activity is calculated according to reference No.21 and expressed as mg  $\alpha$ -tocopherol equivalent per 100g oil

Table 6. Claimed and experimental contents of tocopherols in encapsulated fish oils (%)

Product	Claimed	Experimental
A	0.1	0.0
B	1.2	0.6
C	1.0	1.1
D	0.38	0.31
E	1.0	0.8
F	1.0	0.9

Table 7. Tocopherols composition of fish oil from frozen fishes

Product	Tocopherol (ppm)				Total	Vitamin E activity (mg/100g)
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$		
Mackerel	236.1	129.5	-	-	365.6	30.08
Mackerel pike	109.0	-	-	-	109.0	10.90
Herring	-	-	-	-	-	-
Horse mackerel	-	327.7	6.0	-	333.7	16.34
Yellow tail	130.2	-	-	-	130.2	13.02

각 제품에 표시된 토크페롤함량을 실험값과 비교한 것은 Table 6과 같다. 역시 실험값이 제품에 명시된 함량보다 낮았다.

다섯종류의 생선근육으로 부터 추출한 어유의 총 토크페롤 함량은(Table 7) 어유제품에 비하여 낮았고 정어에서는 토크페롤이 전혀 검출되지 않았다.  $\delta$ 토크페롤은 전어종에 걸쳐서 역시 검출되지 않았다. 북해근처에서 어획한 청어, 대구류 등의 생선근육, 어란, 간으로부터 추출한 토크페롤의 96.5~100%가  $\alpha$ 형이었으며  $\beta$ 와  $\gamma$ 는 미량 확인 되어졌다. 그리고 저지방 어체가 고지방 함유어체보다 더 많은 토크페롤을 함유하는 것으로 보고되고 있다<sup>20)</sup>. 본 실험에서는 생선에서 추출한 어유의 토크페롤 함량 분포에서 Syvaaja 등<sup>20)</sup>의 보고와 같은 뚜렷한 결과를 찾아낼수가 없었다.

생선은 비타민 E의 좋은 급원이 되므로 어유제품과 생선 추출어유에서 확인된 토크페롤량에서 비타민 E의 활성을 산출하였다<sup>21)</sup>. 어유 100g에 해당되는  $\alpha$ 토크페롤의 mg당량으로 나타내었다.

요 약

시중에서 판매되고 있는 6종류의 연질 캡슐어유제품과 5종의 냉동 생선에서 추출한 어유의 지방산 조성 과 EPA, DHA 그리고 토크페롤량을 조사하였다. 어유제품의 과산화물가와 아니시딘값은 생선에서 추출한 어유에 비하여 각각 2~10배, 2배이상 높아서 어유제품의 산패가 생선어유보다 더 진전된 것으로 나타났다. 어유제품과 생선어유의 지방산 조성의 비는 상호 유사하였고 주요 지방산도 16:0, 18:1 n-9, 20:5 n-3, 22:6 n-3로서 공통점을 나타내었다. 그러나 어유제품에는 EPA(19.2~50.3%)가 DHA(4.3~15.5%)보다 높은 함량을 나타내었고 생선어유에서는 DHA(13.2~28.3%)가 EPA(8.4~14.6%)보다 많이 함유되어 있어서 EPA와 DHA 함량비는 어유제품과 생선어유가 서로 상반되게 나타났다. 토크페롤함량은 어유제품에서는 생선어유보다  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ 형이 고루 높게 나타났다. 제조회사가 어유제품에 표시한 EPA, DHA, 토크페롤 함량은 대체로 미달되었다.

문 헌

1. Dyerberg, J., Bang, H. O. and Stohersen, E. : Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. *Lancet*, 2, 117 (1978)
2. Bang, H. O., Dyerberg, J. and Hjorne, N. : The com-

- position of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med. Scand.*, **69**, 200 (1976)
3. Bang, H. O., Derberg, J. and Sinclair, H. M. : The composition of the Eskimo food in North western Greenland. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 2657 (1980)
  4. Herold, P. M. and Kinsella, J. E. : Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease ; A comparison of finding from animal and human feeding trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, **107**, 890 (1986)
  5. Mori, T. A., Codde, J. P., Vandongen, R. and Beilin, L. J. : New findings in the fatty acid composition of individual platelet phospholipids in man after dietary fish oil supplementation. *Lipids*, **22**, 744 (1987)
  6. Kinsella, J. E. : Effect of polyunsaturated fatty acid on factors related to cardiovascular disease. *Am. J. Cardiol.*, **60**, 23 (1987)
  7. Neuringer, M. and Connor, W. E. : n-3 fatty acids in the brain and retina ; Evidence for their essentiality. *Nutr. Rev.*, **44**, 285 (1988)
  8. Singh, G. and Chandra, R. K. : Biochemical and cellular effect on fish and fish oils. *Pro. Food Nutr. Sci.*, **12**, 371 (1988)
  9. Pinche, L. A., Draper, H. H. and Cole, P. D. : Malondialdehyde excretion by subjects consuming cod liver oil vs a concentrate of n-3 fatty acid. *Lipids*, **23**, 370 (1988)
  10. Shukla, V. K. S. and Perkins, G. E. : The presence of oxidative polymeric materials in encapsulated fish oils. *Lipids*, **36**, 23 (1991)
  11. Christie, W. W. : *Lipid analysis*. 2nd ed., Pergamon Press, New York, p.21 (1982)
  12. Berner, D. : Omega-3 PUFA in marine oil products. *J. Am. Oil Chem. Soci.*, **64**, 499 (1987)
  13. Carpenter, A. P. Jr. : Determination of tocopherols in vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soci.*, **56**, 668 (1939)
  14. AOCS : *American oil chemists' society official method*, Ca 5a-40, Cd 1-25, Cd 8-53, Cd 18-90, 4th ed., Champaign, Illinois (1990)
  15. Cho, S. Y., Kazuo, M., Teruo, M., Kenshiro, F. and Takashi, K. : Autoxidation of ethyl eicisapentaenoate and docosahexaenoate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **64**, 876 (1987)
  16. Ackman, R. G., Ratnayake, W. M. N. and Olsson, B. : The "Basic" fatty acid composition of atlantic fish oils potential similarities useful for enrichment of polyunsaturated fatty acids by urea complexation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **65**, 136 (1988)
  17. Ackman, R. G., Ratnayake, W. M. N. and Macpherson, E. J. : EPA and DHA contents of encapsulated fish oil products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**, 1162 (1989)
  18. 안병학, 신현명 : 한국 주요 어종의 지방산 조성 및  $\omega$ -3 고도불포화 지방산의 함량. *한국식품과학지*, **19**, 181 (1987)
  19. Guzman, G. J. and Patricia, A. M. : Tocopherols of soybean seeds and soybean curd. *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 791 (1986)
  20. Syvaaja, E. L., Salminen K., Piironen, V., Varo, P., Kerojoki, O. and Koivistoinen, P. : The tocopherols and tocotrienols in Finnish foods : fish and fish products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **62**, 1245 (1985)
  21. National Research Council : *Recommended dietary allowances*. 9th ed., National Academy of Science, Washington D. C., p.66 (1980)

(1993년 9월 5일 접수)