

가다랑어 자숙엑스분의 抗酸化性

吳光秀 · 李應吳* · 金明贊* · 李炯熙*

統營水産專門大學 水産加工科, *釜山水産大學 食品工學科
(1987년 6월 29일 수리)

Antioxidative Activities of Skipjack Meat Extract

Kwang-Soo OH, Eung-Ho LEE*, Myung-Chan KIM*, and Kang-Hee LEE*

Department of Fisheries Processing, National Tong-Yeong Fisheries Technical College,
Chungmu, 603 Korea

*Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan,
Nam-gu, Pusan, 608 Korea

(Accepted June 29, 1987)

To develop cheaper and safer natural antioxidative substance instead of synthesized ones, the extract of skipjack meat was examined for the antioxidative effects and factors.

Amino-N of skipjack meat extract was 15.3 mg/100g, and the extract apparently showed inhibitory effect on the oxidation of methyl linoleate. Antioxidative activity of extract revealed a tendency to reduce slightly in proportion to hydrolyzing. When extract was dialyzed in distilled water, the outer fraction had a strong inhibitory effect on the oxidation of methyl linoleate, while the inner fraction showed no effect. From the omission test and chemical analysis, the major antioxidative factors of skipjack meat extract were amino acids such as anserine, histidine, carnosine and alanine. As well nucleotides such as AMP, hypoxanthine seemed to act an auxiliary role in antioxidative effect of that.

서 론

실험하였다.

식품의 가공, 저장, 중에 일어나는 지질산화는 식품의 품질을 저하시키는 요인이 된다. 특히 수산식품은 고도불포화지방산을 많이 함유하고 있으므로 지질산화를 방지하는 것이 중요하다. 지질산화 방지에는 전부터 항산화제를 첨가하는 방법이 이용되어 왔지만 BHA 와 같은 합성항산화제는 항산화력이 강한 반면 식품첨가물로서의 안전성면에서는 문제점을 지니고 있다. 따라서 이들을 대신할 수 있는 보다 안전하고 저렴한 천연항산화제의 개발이 요청되고 있다.

재료 및 방법

재료 : 동결상태가 좋은 동결가다랑어, *Katsuwonus pelamis*, 를 동원산업(주) 창원공장에서 구입하여 실험에 사용하였다.

가다랑어엑스분의 조제 : 가다랑어엑스분은 가다랑어육에 대해 물을 1 : 3의 비율로 가하여 30분간 자숙하여 추출하였다. 가다랑어엑스분의 가수분해정도, 그리고 엑스분 중의 아미노산, 핵산관련물질이 항산화성에 미치는 영향을 검토하기 위해 진한 염산으로 pH 2.0으로 조정하고 가수분해(30°C, 0~50시간)시켰다. 분해후 5% 가성소오다용액으로 중화시켜 가다랑어엑스분 염산가수분해물을 얻었다. 한편 Amberlite IR-120(H⁺ form) 및 Dowex 1×8 (formic

본 연구에서는 가다랑어통조림 제조시 부산물로 얻어지는 자숙엑스분을 풍미향상 목적외에 천연항산화성물질로서의 효능을 검토하기 위해서 가다랑어자숙엑스분의 산화억제효과 및 항산화성인자에 대하여

form) 수지를 이용하여 아미노산 및 핵산관련 물질을 각각 제거한 엑스분을 조제하였다. 또한 가다랑어엑스분의 저분자·고분자물질이 지질의 산화에 미치는 영향을 살펴보기 위해 엑스분을 cellulose tubing으로 증류수 중에서 5°C, 24시간 투석하였다. 투석후 외액을 모아서 감압증발기로서 50ml로 농축하였으며, 투석내액은 침전물을 원심분리하여 제거한 후 상층액을 실험에 사용하였다.

항산화반응 모델계의 조제: 가다랑어엑스분의 항산화성을 측정하기 위해 다음과 같은 모델계를 조성하였다. 10g의 celite 545에 조제된 각 가다랑어엑스분을 20ml씩 섞어서 동결건조하였다. 동결건조한 시료에 chloroform에 녹인 methyl linoleate의 최종농도가 전체모델계의 20%가 되도록 가하여 잘 혼합한 후 감압증발기로서 chloroform을 제거하였다. 이를 petridish에 퍼서 35°C에서 보관하면서 과산화물값 및 카르보닐값을 측정하였다.

일반성분, 아미노질소(NH₂-N), 과산화물값 및 카르보닐값의 측정: 일반성분은 상법에 따라, 아미노질소는 Spies와 Chamber¹⁾의 동염법으로 측정하

였고, 과산화물값은 A.O.A.C법²⁾으로, 카르보닐값은 Henick 등³⁾의 방법에 따라 측정하였다.

유리아미노산, 핵산관련물질 및 Trimethylamine oxide (TMAO)의 측정: 유리아미노산은 가다랑어엑스분을 ether로써 탈지하고, 5-sulfosalicylic acid를 가하여 원심분리한 상층액을 감압농축하여 pH2.20 Li-Citrate buffer로써 정용한 것을 분석용시료로 하였으며 Ultropac 8(Li⁺ form) 수지컬럼을 쓰는 LKB 4150- α 형 아미노산자동분석계로서 정량하였다. 핵산관련물질은 Lee 등⁴⁾의 방법과 Ryder 방법⁵⁾을 병용하여 HPLC(Waters Associate HPLC System)로써 정량하였다. HPLC 분석조건 및 핵산관련물질표준품의 HPLC 크로마토그램을 Fig. 1에 나타내었다. 한편 TMAO는 Hashimoto법⁶⁾에 따라 정량하였다.

결과 및 고찰

가다랑어엑스분의 일반성분은 수분 94.5%, 조단백질 3.9%, 조회분이 1.3%였고 아미노질소량은 15.3mg/100g이었다.

가다랑어엑스분의 항산화성분으로 아미노산과 펩티드류 등 단백질가수분해물의 작용을 들 수 있다.^{7),8)} Yamaguchi 등⁹⁾이 대두단백질을 효소 및 염산으로 가수분해시켜 그 분해물의 항산화력에 대하여 보고한 것을 보면 항산화력은 가수분해율에 따라 상당히 달라진다고 하였다. 따라서 본실험에 사용된 가다랑어엑스분의 항산화력이 최대가 되는 조건을 찾기 위해 가다랑어엑스분을 염산분해시켜, 분해시간 및 이에 따른 아미노질소량의 변화를 Table 1에 나타내었다. 염산분해전 엑스분의 아미노질소량은 15.3mg/100g이었고 분해시간이 경과함에 따라 점점 증가하여 분해 50시간째에는 28.0mg/100g이었다. 이들 가수분해물이 지질산화에 미치는 영향을 보기 위하여 Table 1과 같이 가다랑어엑스분을 아미노질소량 별로 A, B, C로 나누어 이를 methyl linoleate, Celite 545 모델계에 흡착시켜 35°C에서 보존하면서

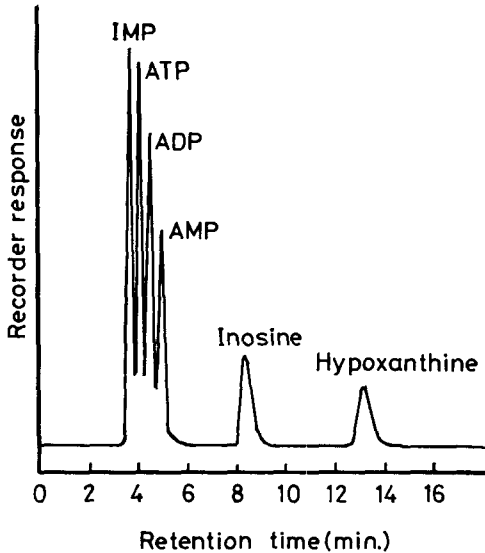


Fig. 1. High performance liquid chromatogram of ATP and its related compounds of standard mixture.

Column : μ -Bondapak C₁₈ (30cm × 3.9mm)
 Eluent : 0.04 M KH₂PO₄ + 0.06 M K₂HPO₄ (pH 7.5)
 Flow rate : 0.8ml/min
 Detector : UV 254nm
 Temperature : 30°C

Table 1. Changes in NH₂-N of skipjack meat extract corresponding to HCl hydrolysis time (mg/100g)

	Sample No.		
	A	B	C
Hydrolysis time(hrs)	0	30	50
NH ₂ -N	15.3	18.5	28.0

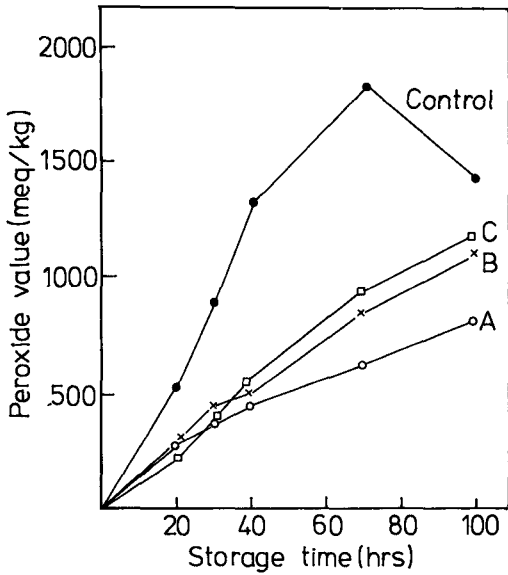


Fig. 2. Effects of skipjack meat extract on oxidation of methyl linoleate during storage at 35°C. A, B, C : refer to the comment in Table 1.

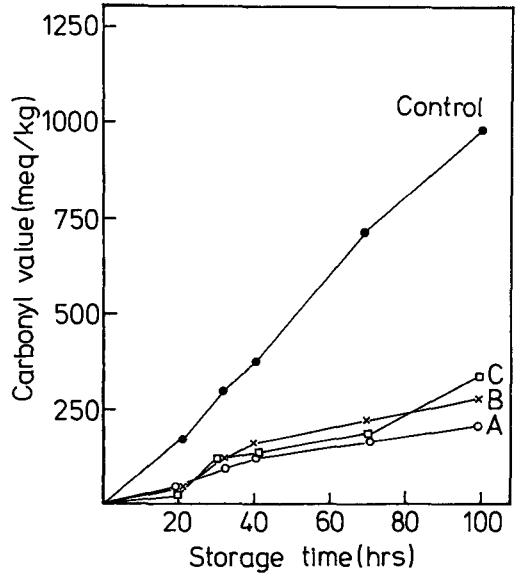


Fig. 3. Effects of skipjack meat extract on oxidation of methyl linoleate during storage at 35°C. A, B, C : refer to the comment in Table 1.

과산화물값 및 카르보닐값의 변화를 측정 한 결과를 Fig.2 및 Fig.3에 나타내었다. Fig. 2,3에서와 같이 가다랑어엑스분은 methyl linoleate에 대하여 과산화물값 및 카르보닐값의 상승을 억제하는 효과를 나타내었고, 엑스분의 아미노질소량, 즉 가수분해율에 따른 항산화력의 차이는 저장초기에는 각 시료별로 거의 차이가 없었으나, 저장 40시간 이후부터 가수분해율이 클수록 항산화력은 저하하였다. 이상에서 가다랑어엑스분은 항산화력을 가지고 있다는 것이 확인되었고, 식품가공시 가다랑어엑스분을 이용할 때 아미노질소량이 15mg/100g 정도인 자숙엑스분을 그대로 사용해도 좋다는 결론을 얻었다.

가다랑어엑스분을 cellulose tubing으로 투석하여 저분자물질인 외액과 고분자물질인 내액으로 분리하여 이들이 지질산화에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig.4와 같다. Fig.4에서 보면 투석외액은 상당한 지질산화 억제효과를 나타낸 반면, 투석내액은 거의 효과를 나타내고 있지 않았다. 이로 미루어 가다랑어엑스분의 항산화력에는 저분자물질이 큰 역할을 할 것으로 추정된다. Koizumi등¹⁰⁾은 Bigeye tuna 엑스분을 증류수 중에서 투석했을때 아미노산, 펩티드 등 저분자물질인 투석외액이 강한 지질산화억제효과를 나타낸 반면 myoglobin과 같은 투석내액은 오히려 산화를 촉진시켰다고 하였고, Lee 등¹¹⁾도 고등어,

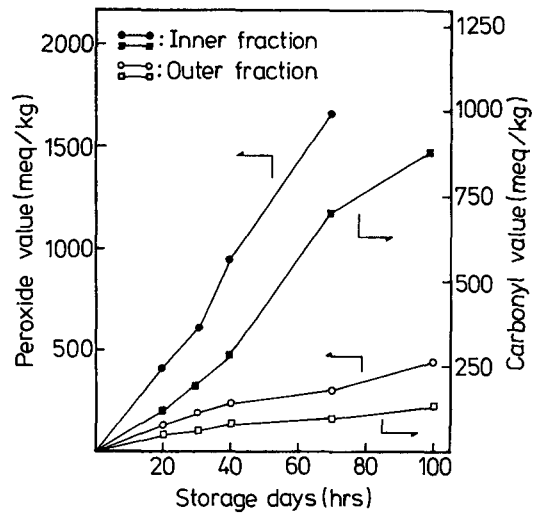


Fig. 4. Effects of dialyzed outer fraction and inner fraction of skipjack meat extract on oxidation of methyl linoleate during storage at 35°C.

전갱이 등 적색육어류의 엑스분 중에는 지질산화를 억제하는 저분자물질이 존재한다고 본실험과 비슷한 결과를 보고한 바 있다.

한편 가다랑어엑스분 중의 아미노산, 핵산관련물질이 항산화성에 미치는 영향을 보기 위하여 Amberlite IR-120(H⁺ form) 및 Dowex 1×8(formic form)

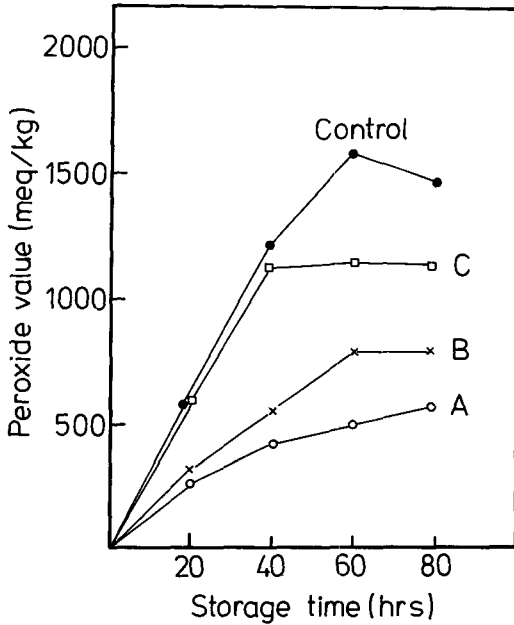


Fig. 5. Effects of amino acids, nucleotides of skipjack meat extract on oxidation of methyl linoleate during storage at 35°C.
 A : The original extract
 B : The extract from which nucleotides were eliminated
 C : The extract from which amino acids were eliminated

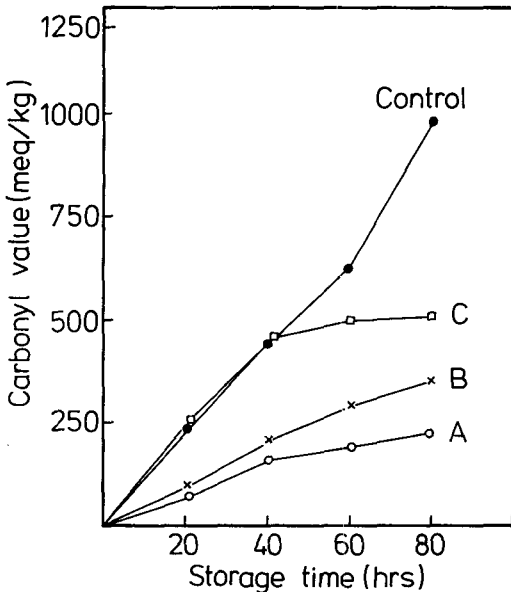


Fig. 6. Effects of amino acids, nucleotides of skipjack meat extract on oxidation of methyl linoleate during storage at 35°C.
 A, B, C : refer to the comment in Fig. 5.

Table 2. Contents of amino acids, nucleotides and TMAO of skipjack meat extract (mg/100g)

Amino acids and related compounds	
Phosphoserine	1.9 (0.3) ^{a)}
Taurine	63.8 (11.9)
Phosphoethanolamine	1.5 (0.3)
Urea	5.6 (1.0)
Aspartic acid	0.7 (0.1)
Hydroxyproline	trace
Threonine	3.8 (0.7)
Serine	0.5 (0.1)
Glutamic acid	6.6 (1.2)
α -Amino adipic acid	0.4 (0.1)
Proline	4.5 (0.9)
Glycine	6.5 (1.2)
Alanine	20.3 (3.8)
α -Aminobutyric acid	0.6 (0.1)
Valine	5.7 (1.1)
Cystine	trace
Methionine	4.8 (0.9)
DL-Allocystathion	0.8 (0.2)
Isoleucine	3.3 (0.6)
Leucine	8.3 (1.6)
Tyrosine	4.0 (0.7)
Phenylalanine	4.4 (0.8)
β -Aminoisobutyric acid	0.7 (0.1)
Ethanolamine	0.3 (0.1)
Ammonia	4.7 (0.9)
DL-Allohydroxylysine	trace
Ornithine	1.5 (0.3)
Lysine	1.1 (0.2)
Histidine	133.4 (24.9)
3-Methylhistidine	trace
Anserine	200.3 (37.4)
Carnosine	41.7 (7.8)
Arginine	3.1 (0.6)
Total	533.5(100.0)
Nucleotides and their related compounds	
ATP	-
ADP	3.4 (0.6)
AMP	51.7 (8.8)
IMP	267.8 (45.3)
Inosine	244.9 (41.5)
Hypoxanthine	17.2 (2.9)
Total	590.8(100.0)
TMAO	
TMAO	5.8

^{a)} % to total content

수치를 이용하여 이들 성분을 각각 제거시킨 시료를 조제하여 이들이 methyl linoleate의 산화에 미치는 영향을 실험한 결과를 Fig. 5와 Fig. 6에 나타내었고,

이 가다랑어 자숙엑스본 중의 유리아미노산 및 관련 화합물, 핵산관련물질, 그리고 TMAO의 함량은 Table 2와 같다.

Fig.5와 6에서 알 수 있듯이 가다랑어 엑스본의 항산화효과는 주로 아미노산에 의한 것이며, Table 2의 아미노산조성 및 太田,⁷⁾ 山口등,¹²⁾ Karel등¹³⁾의 보고로 미루어 가다랑어엑스본의 항산화성에는 디펩티드인 anserine(β -alanyl-1-methylhistidine), carnosine(β -alanyl-histidine), 그리고 histidine, alanine 등과 같은 아미노산의 역할이 클 것으로 추정된다. 핵산관련물질은 저장 40시간까지 거의 항산화효과가 없었으나 그 이후부터는 약간의 산화억제효과를 나타내고 있는 것으로 보아 핵산관련물질중의 AMP 및 hypoxanthine 등도 항산화성에 보조적 역할을 할 것으로 생각된다. Matsushita등,¹⁴⁾ Bishov 등¹⁵⁾도 hypoxanthine, xanthine 및 AMP 등의 핵산관련물질이 지질산화억제 및 유도기 연장효과가 있었다고 하였다. 또한 Yuki등¹⁶⁾은 TMAO도 항산화제와 공존하던 강한 상승효과를 나타낸다고 하였는데 Table 2의 TMAO 함량으로 미루어 항산화 효과는 거의 기대할 수 없을 것 같다.

요 약

가다랑어농조립 제조시 부산물로 얻어지는 가다랑어 자숙엑스본의 천연항산화성물질로서 효능을 검토하기 위하여 이의 지질산화억제효과 및 항산화성인자에 대하여 실험하였다.

가다랑어 자숙엑스본의 아미노질소량은 15.3mg/100g이었으며, methyl linoleate에 대해 뚜렷한 산화억제작용을 나타내었고 가수분해정도가 클수록 항산화력은 약간씩 저하하였다. 가다랑어엑스본을 증류수 중에서 투석시켰을때 투석외액은 상당한 항산화효과를 나타낸 반면, 투석내액은 거의 효과가 없었다. 가다랑어엑스본의 항산화성인자로서 anserine, carnosine, histidine 및 alanine 등과 같은 아미노산의 역할이 컸으며, AMP, hypoxanthine 등의 핵산관련물질도 항산화성에 보조적 역할을 하였다.

문 헌

1) Spies, T.R. and D.C. Chamber. 1951. Spectrophotometric analysis of amino acids and peptides with their copper salt. J. Biol. Chem.

191, 787—797.
 2) A.O.A.C. 1975. Official method of analysis, 12th ed. p.487. Assoc. of Offic. Agr-Chem-ist, Washington D.C.
 3) Henick, A.S., M.F. Benca and J.H. Michell Jr. 1954. Estimating carbonyl compounds in rancid fat and foods. J. Am. Oils Chem. Soc. 31, 88—91.
 4) Lee, E.H., J.G. Koo, C. B. Ahn, Y. J. Cha and K.S. Oh. 1984. A rapid method for determination of ATP and its related Compounds in dried fish and shellfish products using HPLC. Bull. Korean Fish. Soc. 12(4), 235—240.
 5) Ryder, J.M. 1985. Determination of ATP and its breakdown products in fish muscle by HPLC. J. Agric. Food Chem. 33(3), 678—680.
 6) Hashimoto, Y. and T. Okaichi. 1957. On the determination of TMA and TMAO. A modification of Dyer method. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 23(5), 269—272.
 7) 太田静行. 1985. 天然物中の酸化防止劑. New Food Industry 27(3), 85—91.
 8) Nakamura, K., H. Iida and T. Tokunaka. 1984. Antioxidative activities of cod, ordinary muscle hydrolyzates. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 114, 117—123.
 9) 山口直彦·内藤茂三·横尾良夫·藤巻正生. 1980. 乾燥系モデル食品に對する大豆蛋白質加水分解物の抗酸化力. 日食工誌 27(2), 51—55.
 10) Koizumi, C., T. Ohshima and S. Wada. 1981. Effect of fish extract on sodium chloride-catalyzed oxidation of linoleate. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 47(11), 1485—1491.
 11) Lee, K.H., I.H. Jeong and J.H. Lee. 1984. Effects of muscle extracts of fish and shellfish on the oxidation of methyl linoleate. J. Korean Soc. Food Nutr. 13(4), 444—450.
 12) 山口直彦. 1976. 含窒素系天然抗酸化物質について. 調理科學 9(2), 88—93.
 13) Karel, M., S. R. Tannenbaum, D.H. Wallace and H. Maloney. 1966. Antioxidation of methyl linoleate in freeze-dried model system. 3. Effects of added amino acid. J. Food Sci. 31, 892.

- 14) Matsushita, S., F. Ibuki and A. Aoki. 1963. Antioxidative ability of nucleic acids and their related substance on the oxidation of unsaturated fatty acids. Arch. Biochem. Biophys. 102, 446-451.
- 15) Bishov, S.J. and A.S. Henick. 1972. Antioxidant effects of protein hydrolyzates in freeze-dried model system. J. Food Sci. 37,873-875.
- 16) Yuki, E., Y. Ishikawa, I. Yamacka and T. Yoshiwa. 1973. Studies on the antioxidative properties of TMAO. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkashi 20(9), 411-414.