

## 산화촉진제 공존하에서의 트리글리세리드 분자종의 산화특성

윤형식 · 김선봉 · 박영호  
부산수산대학 식품공학과

### Oxidative Characteristics of Triglyceride Molecular Species in the Presence of Prooxidants

Hyeung-Sik Yoon, Seon-Bong Kim, Yeung-Ho Park

Department of Food Science and Technology, National Fisheries  
University of Pusan, Pusan

#### Abstract

The effect of  $Fe^{2+}$  and myoglobin on the oxidative stability of triglyceride molecular species was investigated at 25 °C. The molecular species of soybean oil triglycerides were analyzed by capillary column gas chromatography and electron impact ionization mass spectrometry utilizing selected ion monitoring. When  $Fe^{2+}$  and myoglobin were added to soybean oil triglycerides, the oxidative stability of each molecular species of triglycerides appeared to decrease in proportion to the increase in the number of double bonds present in the acyl residues, and it was affected by degree of unsaturation of fatty acid when the total degree of unsaturation of triglyceride was the same. But the length of the saturated acyl chain had no influence on the stabilization of unsaturated fatty acid present in the same glyceride when prooxidants were added.

Key words: triglyceride molecular species, oxidative characteristics, prooxidants

#### 서 론

유지 및 유지함유식품의 가공·저장 중에 일어나는 품질저하의 주요 요인은 지질산화이며, 이러한 지질의 산화를 촉진하는 물질중에는 myoglobin 이나 hemoglobin 과 같은 heme 화합물과 철이금속인 무기철 등이 알려져 있다<sup>(1-8)</sup>.

이들 철화합물은 hydroperoxide 를 분해시키 radical 의 생성을 촉진하는데, 이 때 생성된 radical 이 자동산화의 연쇄반응계에 관여함으로서 산화촉진작용을 하는 것으로 밝혀져 있으며<sup>(9,10)</sup>, lipoxygenase 와는 달리 기질특이성이 없고 저온에서도 촉진작용이 강한 것으로 알려져 있다<sup>(11)</sup>. 그런데 non heme iron 과 heme iron 의 산화촉진효과는 반응계의 pH<sup>(12)</sup> 및 기질의 상태<sup>(13,14)</sup>에 따라 영향을 받는 것으로 보고되고 있으나 어느 쪽이 주된 촉진효과를 나타내는가에 대해서는 아직 확실히 밝혀져 있지 않다. 그리고 윤 등<sup>(15)</sup>은 트리글리세리드를 자동산화시킨 경우 각 분자종의

산화안정성은 분자종자체의 구조적인 면과 깊은 관계가 있는 것으로 보고하고 있다. 따라서 동·식물유지의 대부분을 차지하고 있는 트리글리세리드 분자종의 산화안정성에 대한 동·식물조직체에 공존하고 있는 이들 산화촉진제의 영향에 대하여 검토할 필요가 있다고 하겠다.

그래서 본 연구에서는 대두유 트리글리세리드를 모델 시료로 하여, 산화촉진제로서 무기철인  $Fe^{2+}$ 와 heme 화합물인 myoglobin 을 첨가하여 이들 산화촉진제가 트리글리세리드 분자종의 산화안정성에 미치는 영향을 조사·검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### 트리글리세리드

시판 정제유인 대두유(soybean oil, 日本東京都所在 林市次商店製)를 소량의 hexane 에 녹여 규산(silicic acid)과 규조토를 2:1의 비율(w/w)로 섞어서 채운 컬럼(29 mm i.d.×0.5 m)에 주입한 다음 용출액으로서 hexane(240 ml), 6% ether/hexane(300 ml), 10%

Corresponding author: Yeung-Ho Park, Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737

ether/hexane(300 ml)을 차례로 흘려서 15 ml 씩의 획분을 얻었다. 이들 획분 중 TLC(전개용매, petroleum ether : diethyl ether : acetic acid, 80 : 20 : 1, v/v/v ; 발색시약, 2',7'-dichlorofluorescein)에 의해 동정된 트리글리세리드 획분만을 모아서 -70°C 동결고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

#### 산화촉진제의 첨가

크로마토그래피용 Avicel(日本, Chromatography 工業社製) 250g에 FeCl<sub>2</sub>·nH<sub>2</sub>O 17.79 mg(Fe<sup>2+</sup>로서 20 ppm) 및 myoglobin(Sigma社製) 3.75 mg(Fe<sup>2+</sup>로서 5 ppm)을 용해시킨 수용액을 가한 다음 잘 섞은 후 진공동결건조시켰다(대조구용 시료는 Avicel에 산화촉진제를 첨가하지 않은 탈이온수만을 가하였음). 그 후 이를 25°C, Aw 0.75 로 유지시킨 chamber에 넣어 2일간 방치하였다. 여기에 규산 컬럼 크로마토그래피로 분취한 대두유 트리글리세리드를 ether에 녹여 코팅시킨 다음 용매를 증류시키고 25°C, Aw 0.75로 유지되어 있는 chamber에 넣어 저장하면서 산화실험용 시료로 사용하였다.

#### 산화 대두유 트리글리세리드의 분자종 분석

산화된 대두유 트리글리세리드에 내부표준물질로 tripalmitin을 가하여 TLC(전개용매, petroleum ether : diethyl ether : acetic acid, 80 : 20 : 1, v/v/v ; 발색시약, 2',7'-dichlorofluorescein)에 전개시킨 후 트리글리세리드 획분만을 취해 capillary column GLC를 이용하여 내부표준법으로 각 트리글리세리드 분자종의 산화에 따른 함량변화를 정량적으로 분석하였고, 분석조건은 다음과 같다. 컬럼 : MP65HT FSOT capillary column(65% methylphenylsilicone, 0.1 μm in thickness, 25 m×0.25 mm i.d.), carrier gas : helium, 30 ml/min, 컬럼온도 : 345°C, 등온, 검출기온도 : 370°C, FID. 그리고 위의 capillary column GLC에 의해 분리된 각 peak의 동정은 전보(17)와 같이 GC-MS(Shimadzu QP 1000, EI source)의 SIM(selected ion monitoring)을 분석하여 행하였는데, 분석조건 중 GC 부분은 컬럼의 길이(15 m×0.25 mm i.d.)를 제외하고는 위의 GLC 분석조건과 똑같으며 MS 부분의 분석조건은 이온源온도 : 330°C, 이온화전압 : 70 eV, 가속전압 : 3 kV 이었다.

#### 산화에 따른 대두유 트리글리세리드의 잔존량

산화된 대두유 트리글리세리드를 TLC에 전개(전개

용매, petroleum ether : diethyl ether : acetic acid, 80 : 20 : 1, v/v/v)시킨 후 50% 황산용액을 분무하여 120°C에서 30분간 가열하였다. 그리고 TLC 판을 590 nm에서 densitometer(Shimadzu High Speed TLC Scanner CS-920)에 걸어서 트리글리세리드 획분과 산화생성물 획분의 면적비를 백분율로 계산하여, 산화에 따른 트리글리세리드의 잔존량을 산정하였다.

#### 과산화물가(peroxide value, POV)의 측정

John 등(16)의 방법에 준하여 다음과 같이 측정하였다. 즉 50 mg의 시료 트리글리세리드에 chloroform을 가해 50 ml로 정용한 다음, 5 ml을 cap tube에 취하여 45°C에서 질소 gas로 용매를 완전히 제거하였다. 계속하여 질소 gas를 흘리면서 5 ml의 acetic acid : chloroform(3 : 2, v/v) 용액과 증류수 5 ml에 potassium iodide 6g을 녹인 용액에 0.25 ml을 차례로 가한 다음 잘 흔들어 실온, 암소에서 5분간 방치하였다. 그 후 cadmium acetate 0.5g을 100 ml의 증류수에 녹인 용액 15 ml을 가하고, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 353 nm에서 흡광도를 측정하여 아래식에 의해서 시료 용액 1 l 중의 cumene hydroperoxide의 농도로 환산하여 POV를 산출하였다.

$$POV(\text{mol/l}) = \frac{A \times D}{\epsilon \times b}$$

A : 353 nm에서 시료의 흡광도

ε : cumene hydroperoxide의 몰흡광계수, 1.73 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup>

b : 시료용기의 길이, 1 cm

D : 희석배수

## 결과 및 고찰

### 트리글리세리드 분자종의 산화안정성에 대한 Fe<sup>2+</sup>의 영향

산화촉진제 공존하에서 트리글리세리드 분자종의 산화특성을 밝히기 위하여 대두유 트리글리세리드에 20 ppm의 Fe<sup>2+</sup>를 첨가하여 25°C(Aw 0.75)에서 저장하면서 실험하였는데 먼저 POV의 경시적인 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 그 결과 Fe<sup>2+</sup>를 첨가하지 않은 대조구에서는 저장 전과정을 통하여 POV의 변화는 거의 없었다. 이에 반해 Fe<sup>2+</sup>를 첨가한 경우는 저장 3일째부터 POV가 급격히 증가하여 저장 6일째에 최고치인 8.77(mol/l)로 되었고, 그 후 약간 감소하였으며

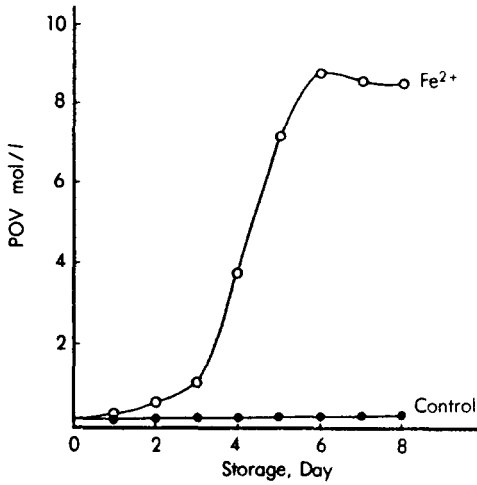


Fig. 1. Changes of peroxide values (POV) of soybean oil triglyceride by addition of 20 ppm of Fe<sup>2+</sup> during storage at 25°C.

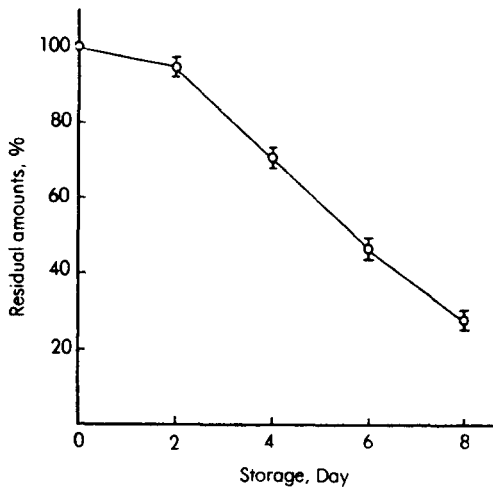


Fig. 2. Changes of residual amounts of soybean oil triglyceride by addition of 20 ppm of Fe<sup>2+</sup> during storage at 25°C.

유도기는 3일 정도로 나타나 Fe<sup>2+</sup>의 첨가에 의해 트리글리세리드의 산화는 상당히 촉진되는 것으로 확인되었다.

또한 Fe<sup>2+</sup>를 첨가하여 산화를 촉진시킨 대두유 트리글리세리드의 잔존량의 경시적인 변화를 Fig.2에 나타내었다. 그 결과 저장 2일째부터 트리글리세리드의 잔존량이 급격히 감소하여 POV가 가장 높은 6일째에는 48%로 원래의 절반으로 줄어들었고, 저장 최종일인 8일째에는 잔존량이 28%에 불과하였다. 이것은 산화촉진제를 첨가하지 않고 60°C에서 산화시킨 경우 저장 20일째에 38%의 잔존량을 나타낸 것과 비교하면 산화가

상당히 촉진되었음을 알 수 있다.

대두유 트리글리세리드 각 분자종의 저장 0일째의 함량에 대하여 Fe<sup>2+</sup>의 촉매에 의한 산화과정을 통하여 산화되지 않고 남은 각 분자종의 함량을 백분율로 계산하여 각 분자종의 경시적인 함량변화를 Table 1에 나타내었다. 그 결과 트리글리세리드 분자종의 산화안정성은 Fe<sup>2+</sup>의 존재하에서도 대체로 구성불포화지방산의 이중결합수가 적을 수록 증가하는 경향을 보였지만 (POS>PLO>PLnL, OOO>OLL>LLnL), 산화촉진제를 첨가하지 않은 경우<sup>(15)</sup>와는 달리 이중결합수가 많은 LLL+OLnL과 LLnL 사이에서는 산화안정성의 차이가 나타나지 않았다. 이것은 비교적 이중결합수가 많은 분자종들의 경우에는 산화촉진제의 첨가에 의해 산화가 무작위적으로 상당히 촉진되기 때문인 것으로 생각된다.

그리고 윤 등<sup>(15)</sup>이 지적했던 분자종의 이중결합수가 같은 경우 구성지방산의 불포화도 (Ln>L>O)가 산화안정성에 미치는 영향에 있어서 OOO와 SLO의 경우, 구성지방산의 불포화도가 낮은 OOO의 산화안정

Table 1. Changes in residual amounts of soybean oil triglyceride<sup>a)</sup> by addition of 20ppm of Fe<sup>2+</sup> during storage at 25°C

TC:DB <sup>b)</sup>	Molecular species <sup>c)</sup>	Residual amounts <sup>d)</sup> , %				
		Storage time, day				
		0	2	4	6	8
50:1	POP	100	100	95	90	82
50:2	PLP	100	95	81	68	58
52:1	POS	100	100	92	86	80
52:2	POO + PLS	100	97	85	75	66
52:3	PLO	100	94	78	58	43
52:4	PLL	100	92	74	43	20
52:5	PLnL	100	88	65	39	16
54:2	SOO + SLS	100	94	88	74	68
54:3	OOO	100	94	84	70	55
	SLO	100	95	80	56	42
54:4	OLO + SLL	100	93	73	49	26
54:5	OLL	100	92	70	38	18
54:6	LLL + OLnL	100	90	62	33	12
54:7	LLnL	100	85	60	30	12

<sup>a)</sup>Soybean oil triglyceride was stored at Aw 0.75.

<sup>b)</sup>TC, total acyl carbon number; DB, the number of double bonds.

<sup>c)</sup>P, palmitic acid; S, stearic acid; O, oleic acid; L, linoleic acid; Ln, linolenic acid.

<sup>d)</sup>The residual amounts were indicated as relative percentages of each triglyceride molecular species to tripalmitin (internal standard).

성이 SLO 보다 높은 것으로 나타나  $Fe^{2+}$ 의 첨가에 의해서도 구성지방산의 불포화도가 산화안정성에 미치는 영향을 인정할 수 있었으나, PLnL 과 OLL의 경우처럼 이중결합수도 많고 불포화도도 높은 분자종 사이에서는 산화촉진제를 첨가하지 않은 경우와는 달리 그러한 영향을 인정할 수 없었다. 한편 결합되어 있는 불포화지방산의 이중결합수 및 불포화도가 똑같은 경우 공존하고 있는 포화지방산 acyl 기의 사슬길이 트리글리세리드 분자종의 산화안정성에 미치는 영향에 있어서는, 산화촉진제를 첨가하지 않은 자동산화의 경우와는 달리  $Fe^{2+}$ 의 존재하에서는 그러한 영향을 인정할 수 없었다 (PLO, SLO/POO+PLS, SOO+SLS).

#### 트리글리세리드 분자종의 산화안정성에 대한 myoglobin의 영향

Heme 화합물이 트리글리세리드 분자종의 산화안정성에 미치는 영향을 밝히기 위하여 대두유 트리글리세리드에 5 ppm ( $Fe^{2+}$ 로서)의 myoglobin을 첨가하여 25°C (Aw 0.75)에 저장하면서 실험하였는데 먼저 POV의 경시적인 변화를 Fig.3에 나타내었다. 그 결과 myoglobin을 첨가한 경우는 유도기 없이 저장초부터 정을 통하여 POV의 변화는 거의 없었다. 이에 반해 myoglobin을 첨가한 경우는 유도기 없이 저장초부터 POV가 급격하게 증가하기 시작하여 저장 3일째에 최고치인 9.98(mol/l)로 되었고, 그 후 약간 감소하여 myoglobin 첨가에 의하여 트리글리세리드의 산화가 초기부터 상당히 빨리 진행된 것으로 나타났다.

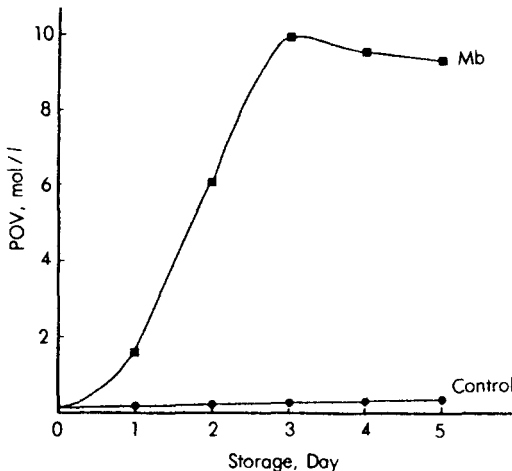


Fig. 3. Changes of peroxide values (POV) of soybean oil triglyceride by addition of 5 ppm of myoglobin (Mb) during storage at 25°C.

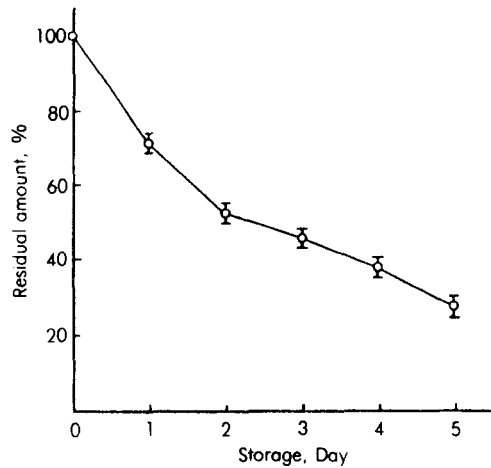


Fig. 4. Changes in residual amounts of soybean oil triglyceride by addition of 5 ppm of myoglobin during storage at 25°C.

또한 myoglobin을 첨가하여 산화를 촉진시킨 대두유 트리글리세리드의 잔존량의 경시적 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 그 결과 저장초부터 트리글리세리드의 잔존량이 급격히 감소하여 저장 2일째에 52%로 반으로 줄어들었으며 4일째는 38%의 잔존량을 나타내었는데, 이것은  $Fe^{2+}$ 첨가의 경우 저장 7일째에 38%의 잔존량을 나타낸 것과 비교할 때 본 실험의 조건에서는 myoglobin이  $Fe^{2+}$ 보다 산화촉진 효과가 강한 것으로 나타났다.

대두유 트리글리세리드 각 분자종의 저장 0일째의 함량에 대하여 myoglobin 촉매에 의한 산화과정을 통하여 산화되지 않고 남은 각 분자종의 함량을 백분율로 계산하여 각 분자종의 경시적인 함량변화를 Table 2에 나타내었다. 그 결과 트리글리세리드 분자종의 산화안정성은  $Fe^{2+}$ 첨가의 경우에서 처럼 myoglobin의 첨가에 의해서도 대체로 구성불포화지방산의 이중결합수기 적을수록 증가하는 경향을 보였지만 (POS > PLO > PLnL, OOO > OLL > LLnL), 불포화도가 높은 LLL+OLnL과 LLnL 사이에서는 역시 산화안정성의 차이는 드러나지 않았다. 그리고 분자종의 이중결합수가 같은 경우 구성지방산의 불포화도가 산화안정성에 미치는 영향에 있어서는 전항의  $Fe^{2+}$ 첨가의 경우처럼, OOO와 SLO의 경우 구성지방산의 불포화도가 낮은 OOO의 산화안정성이 SLO보다 높은 것으로 나타나 myoglobin의 첨가에 의해서도 구성지방산의 불포화도가 산화안정성에 미치는 영향을 인정할 수 있었으나, PLnL과 OLL의 경우처럼 이중결합수도 많고 불포화도도 높은 분자종 사이에서는 역시 그러한 영향을 인정

Table 2. Changes in residual amounts of soybean oil triglyceride<sup>a)</sup> by addition of 5 ppm of myoglobin during storage at 25°C.

TC:DB <sup>b)</sup>	Molecular species <sup>c)</sup>	Residual amounts <sup>d)</sup> , %					
		Storage time, day					
		0	1	2	3	4	5
50:1	POP	100	100	100	91	87	81
50:2	PLP	100	91	79	72	65	51
52:1	POS	100	100	100	95	85	79
52:2	POO + PLS	100	94	88	82	72	60
52:3	PLO	100	81	72	61	46	30
52:4	PLL	100	72	57	48	36	20
52:5	PLnL	100	60	48	42	31	17
54:2	SOO + SLS	100	95	82	76	67	58
54:3	OOO	100	90	85	75	56	44
	SLO	100	85	79	67	44	32
54:4	OLO + SLL	100	80	67	51	38	27
54:5	OLL	100	66	54	44	32	18
54:6	LLL + OLnL	100	58	43	26	18	11
54:7	LLnL	100	50	36	29	26	14

<sup>a)</sup>Soybean oil triglyceride was stored at Aw. 0.75.

<sup>b)</sup>TC, total acyl carbon number; DB, the number of double bonds.

<sup>c)</sup>P, palmitic acid; S, stearic acid; O, oleic acid; L, linoleic acid; Ln, linolenic acid.

<sup>d)</sup>The residual amounts were indicated as relative percentages of each triglyceride molecular species to tripalmitin (internal standard).

할 수 없었다. 한편, 결합되어 있는 불포화지방산의 이중결합수와 불포화도가 같은 경우 공존하고 있는 포화지방산 acyl 기의 사슬길이가 트리글리세리드 분자종의 산화안정성에 미치는 영향에 있어서는, Fe<sup>2+</sup> 첨가의 경우에서와 같이 포화지방산 acyl 기의 사슬길이는 트리글리세리드 분자종의 산화안정성에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다(PLO, SLO/POO+PLS, SOO+SLS).

이처럼 천연금속이온인 Fe<sup>2+</sup>와 heme 화합물인 myoglobin 을 각각 첨가한 경우 이들 산화촉진제가 트리글리세리드 각 분자종의 산화안정성에 미치는 영향에 있어서 산화촉진제의 종류에 따른 차이는 크지 않은 것으로 나타났으나, 산화촉진제를 첨가하지 않은 경우<sup>(15)</sup>와는 트리글리세리드 각 분자종의 산화특성에 차이를 나타내었다. 따라서 이러한 결과로부터 트리글리세리드 분자종의 산화안정성은 분자종자체의 구조적인 면과 깊은 관련이 있고, 또 산화촉진제의 존재하에서는 분자종의 산화패턴이 달라진다는 것을 추측할 수 있다.

요 약

산화촉진제 존재하에서의 트리글리세리드 분자종의 산화특성을 밝히기 위하여, 규산 컬럼으로 분획한 대두유 트리글리세리드에 Fe<sup>2+</sup>와 heme 화합물인 myoglobin 을 첨가하여 이들 산화촉진제가 트리글리세리드 각 분자종의 산화안정성에 미치는 영향을 조사하였다. 대두유 트리글리세리드에 대한 산화촉진효과는 본 실험의 조건에서는 myoglobin 이 Fe<sup>2+</sup>보다 컸으나, 트리글리세리드 분자종의 산화안정성에 있어서는 첨가한 산화촉진제의 종류에는 큰 영향을 받지 않았다. 또 산화촉진제의 효과는 분자종의 구성지방산의 불포화도가 낮은 경우는 뚜렷하였으나 불포화도가 높은 경우는 뚜렷하지 않았다. 그리고 산화촉진제를 첨가하였을 때 트리글리세리드 분자종의 산화안정성은 분자종의 이중결합수가 같은 경우는 구성지방산의 불포화도가 낮을수록 높았으나, 구성지방산의 불포화도가 같은 경우 공존하는 포화지방산 acyl 기의 사슬길이에에는 영향을 받지 않았다.

문 헌

1. Waters, W.A.: The kinetics and mechanism of metal-catalyzed autoxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **48**, 427 (1971)
2. Sutin, N. and Yandell, J.K.: Autoxidation reactions catalyzed by iron (III) and iron (IV) dicholate complexes. *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 4847 (1973)
3. Shibata, N. and Kinumaki, T.: Effect of iron compounds on the oxidation of fish oils. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, **95**, 97 (1978)
4. Frankel, E.N., Neff, W.E., Selke, E. and Brooks, D.D.: Thermal and metal-catalyzed decomposition of methyl linolenate hydroperoxides. *Lipids*, **22**(5), 322 (1987)
5. King, N.K. and Winfield, M.E.: The mechanism of metmyoglobin oxidation. *J. Biol. Chem.*, **238**(4), 1520 (1963)
6. Eriksson, C.E., Olsson, P.A. and Svensson, S.G.: Denatured hemoproteins as catalysts in lipid oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **48**, 442 (1971)
7. Castro, C.E.: Theory of heme protein reactivity. *J. Theor. Biol.*, **33**, 475 (1971)
8. Love, J.D.: The role of heme iron in the oxidation of lipids in red meats. *Food Technol.*, **7**, 117 (1983)
9. Ingold, K.U.: Metal catalysis. In *Symposium on Foods; Lipids and Their Oxidation*, Avi Publishing Co., Penn., p.93 (1962)

10. Tappal, A.L.: Hematin compounds and lipoxidase as biocatalysts. In *Symposium on Foods; Lipids and Their Oxidation*, Avi Publishing Co., Penn., p.122 (1962)
  11. 八木一文, 秋浴年見: 食品の酸化とその防止. 光琳書院, 東京, p.178(1967)
  12. Liu, H.P.: Catalyst of lipid peroxidation in meats. 1. Linoleate peroxidation catalyzed by metMb or Fe(II)-EDTA. *J. Food Sci.*, **35**, 590 (1970)
  13. Labuza, T.P.: Kinetics of lipid oxidation, *CRC Crit. Rev. Food Technol.*, **2**, 355 (1971)
  14. Igene, J.O., King, J.A., Pearson, A.M. and Gray, J.I.: Influence of heme pigments, nitrite and non-heme iron on development of warmed-over flavor (WOF) in cooked meat. *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 838 (1979)
  15. 윤형식, 김선봉, 박영호: 트리글리세리드 분자종의 산화 안정성에 관한 연구, *한국영양식량학회지*, **18**(2), 205(1989)
  16. John, A.B. and Steven, D.A.: Microsomal lipid peroxidation. In *Method in Enzymology*, **52**, 302 (1978)
  17. 윤형식, 김선봉, 박영호: Capillary Column GC-MS 에 의한 트리글리세리드 분자종의 분석, *한국식품과학회지*, **21**(3), 391(1989)
- 
- (1989년 2월 20일 접수)