

〈總 說〉

食用油脂의 酸敗 測定法

李 英 哲

韓國食品開發研究院

Measurement of Rancidity of Edible Fats and Oils

Lee, Young-Chul

Korea Food Research Institute

(Received Sept. 29, 1990)

I. 序 論

식품의 주요 성분중 지질은 저장 혹은 가공 중 공기 중의 산소나 원료에 존재하는 수분, 전이금속 등에 의해 물리, 화학적 변화가 일어난다. 이러한 변화 중 유지의 산화에 의해 형성되는 과산화물은 동물의 성장에 영향을 주며, 장시간 가열산화된 유지는 동물의 장에 암을 유발하기도 한다.^{1,2)} 따라서 식용유지의 품질관리는 영양적, 위생적으로 중요하다고 생각된다.

유지의 산화는 크게 자동산화, 광산화와 가열산화로 구분³⁾ 할 수 있으며, 이들의 산화 기구는 다소 다르다고 할 수 있다. 자동산화⁴⁾는 초기반응(initiation reaction), 전파반응(propagation reaction), 종결반응(termination reaction)으로 구분할 수 있으며, 이들 과정을 통해 과산화물의 형성, 축적에서 과산화물이 분해되어 최종 산화생성물의 형성과 축적으로 진행된다. 자동산화는 지방산의 이중결합에 대해 알릴위치(allylic position)로 산소가 결합하여 산화가 진행된다. 광산화는 감광체(photo-sensitizer)가 없는 경우 자동산화와 같은 기구(mechanism)으로 진행되나, 감광체가 존재시 자동산화와는 다른 기구로 산화가 진행된다.^{5,6)} 광선의 조사에 의해 쉽게 활성화 되는 화합물인 감광체는 식물체에 존재하는 클로로필(chloro-

phyll), 동물체에 존재하는 헤모글로빈(hemoglobin)과 마이오글로빈(myoglobin) 등의 색소가 있다.^{5,6)} 이들 감광체는 공기중의 산소를 활성화시켜 반응성이 큰 일중항산소(excited singlet oxygen)로 변화시켜 산화를 가속화 시킨다.⁵⁻⁷⁾ 이 일중항 산소는 자동산화와는 다르게 지방산의 이중결합에 직접 반응하며, 일중항 산소에 의한 산화속도는 자동산화 속도보다 methyl linoleate에 대해서 1500배 이상 빠르다고 한다. 따라서 생성되는 과산화물의 종류가 달라 산화의 최종생성물들도 다르게 된다.⁷⁾ 가열산화^{8,9)}는 유지를 고온으로 가열할 때 일어나는 산화과정으로 자동산화 이외에 지방산의 탄소-탄소 결합의 열분해에 의한 카보닐 화합물의 생성, 에스터 결합의 분해에 따른 유리지방산의 생성, 중합반응, 발연점의 저하와 발포현상 등의 여러 화학적 변화가 일어난다. 그러므로 유지의 사용상태와 산화방법에 따라 적절한 측정방법은 다르다고 할 수 있다.

본 총설에서는 유지의 산패 측정에 일반적으로 많이 사용되는 방법에 대한 특성 및 주의점에 대해 언급하고자 한다.

II. 本 論

유지의 산패 측정법에는 화학적 방법과 물리적

4 李英哲

가를 상당히 감소시키므로 이런 경우 TBA가는 정확한 척도가 되지 못한다. Zipser 등²¹⁾은 아질산염이 존재하는 지방질 식품의 TBA가를 측정할 때는 이 아질산 염들을 설파닐아마이드(sulfanilamide)와 반응시켜 다이 아조늄염(diazonium salt)의 형태로 제거한 후 TBA가를 측정할 것을 제안하고 있다. 여러 문헌^{22,23)}에서 TBA가를 측정하는 방법에 대해 비평하고 있어 유지의 산패정도를 TBA가로 품질 평가하는 데는 신중해야 할 것으로 사료된다.

(5) 카보닐 價 (Carbonyl value)

일반적으로 유지 및 유지제품은 자동산화 초기에 과산화물을 형성하며, 그 후 과산화물이 복잡한 산화, 분해과정을 거쳐 알코올(alcohol), 알데히드(aldehyde), 케톤(ketone), 산(acid)과 같은 카보닐 화합물(carbonyl compounds)을 형성한다. 결국 최종생성물의 하나인 카보닐 화합물의 전체량을 측정하는 것이 카보닐가이다. 이 방법에 대해서는 아직 정확한 측정법이 없지만, 일반적으로 사용되는 정량법은 2,4-dinitrophenylhydrazine법(2,4-DNP-H법)이다. 이 방법은 2,4-DNPH를 카보닐화합물과 반응시켜서 2,4-DNPH 유도체를 비색정량하는 방법이다. 2,4-DNPH법은 여러가지 방법이 있으나 Henik방법²⁴⁾을 개량하여 일본 유화학회(JOCS)에서 공정법¹⁰⁾으로 정하고 있다. JOCS Method 2.4.22-73¹⁰⁾의 원리는 TCA 존재하는 카보닐화합물이 2,4-DNPH와 반응하여 2,4-dinitrophenylhydrazone 유도체로 전환시켜 이들 유도체에 수산화 칼슘을 가한 후 440nm에서 흡광도를 측정하는 것으로 반응식은 Fig. 2와 같다.¹⁰⁾ 이 외에 430nm와 460nm에서 포화, 불포화 카보닐을 산출하는 Henik법²⁵⁾ 440nm에서 측정하는 熊擇법²⁶⁾ 등이 있다.

카보닐가의 측정시 주의점은 카보닐 자체의 휘발성 때문에 측정시료에 형성된 카보닐의 일부가 휘발되어 상실될 수도 있다는 것이다. 그러나 카보닐가는 과산화물이처럼 자동산화가 지속되는 동안 일단 최고치에 도달했다가, 감소하는 경향이 없기 때문에 오래 산화된 유지일수록 카보닐 함량이 축적되므로 카보닐가는 계속 증가한다. 카보닐가는 유지가 산화되면서 형성되는 전체 카보닐화합물의 양을 정량하고자 하는 방법이므로 이론적으로 매우

타당하지만 실제로 카보닐화합물과 2,4-DNPH의 반응은 종결되지 않으며, 그 평형은 주위 조건에 크게 영향을 받아 역반응이 일어난다는 결점²⁷⁾이 있다. 그러나 이러한 결점만 제거된다면, 정확하고 정밀도가 높은 유용한 측정법이 될 것이다.

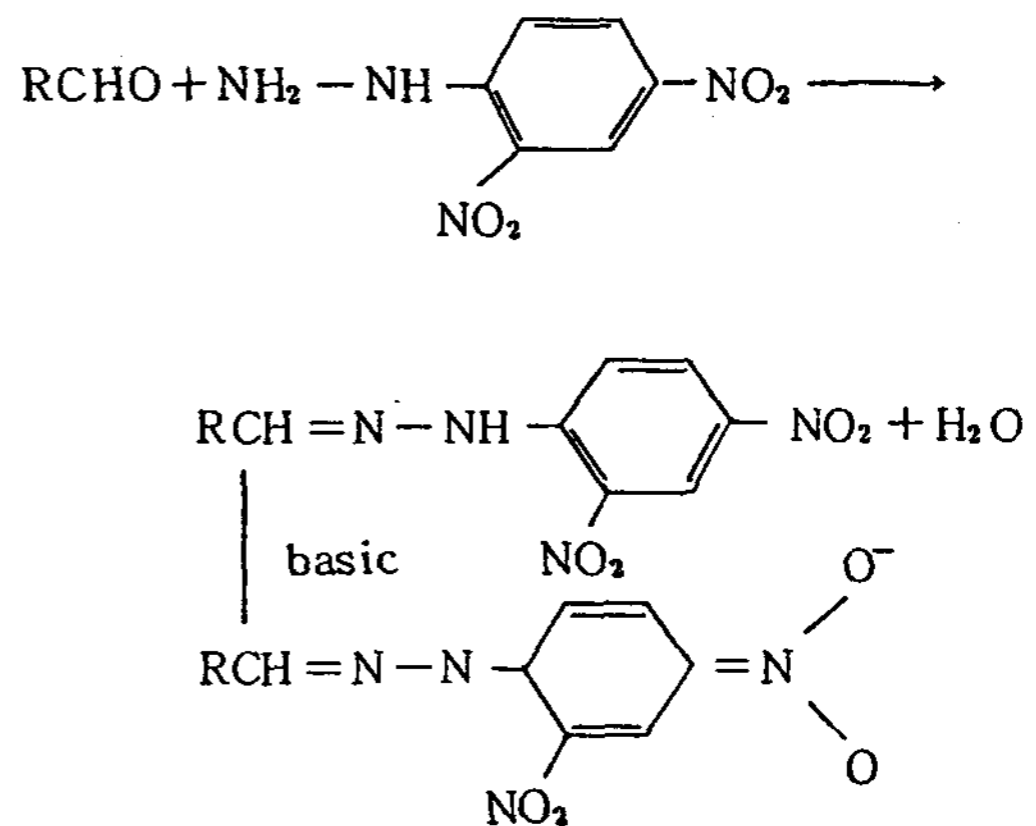
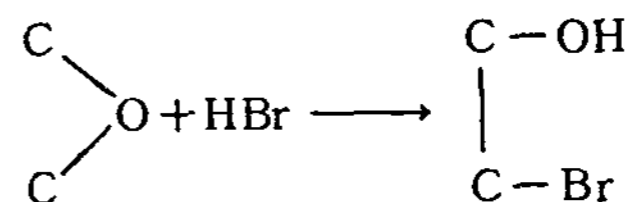


Fig. 2. Reaction between carbonyl compounds and 2,4-dinitrophenylhydrazine

(6) 옥시란 산소(Oxirane oxygen)의 측정

옥시란 산소는 에폭사이드 그룹(epoxide group)으로 알려져 있다. 불포화 지질의 산화 혹은 종실에 존재하는 유지가 산화되면 옥시란 화합물이 존재하게 된다. 이 옥시란 화합물은 초산같은 용매에서 할로젠 화합물(주로 Br)과 반응하므로 이때 소비되는 할로젠 화합물(halogen compounds)의 양에 의해 유지 내의 옥시란 산소 양을 측정할 수 있다.¹²⁾ 그 반응은 다음과 같다.



Fioriti 등²⁸⁾은 피크린酸(picric acid)이 에폭사이드와 반응하는 산성발색단(acidic chromophores) 중에서 가장 좋으며, 가열산화된 유지에 존재하는 옥시란양이 0.1%이하인 경우 재현성이 좋다고 한

다. 이 방법은 AOCS Method Cd 9-57¹²⁾과 JOCS Method 2.4.18¹³⁾로 정해져 있다.

(7) 산가(Acid value)

식용유지의 현재 정도를 측정하는데 가장 널리 사용되고 있는 화학적 측정방법의 하나인 산가는 유리지방산가(free fatty acid value)라고도 한다. 유리지방산가는 1g의 유지에 존재하는 유리지방산을 중화하는 데 필요한 KOH의 mg수로 표시되며, 보통 시료 유지를 알코올에 녹인 후 KOH용액으로 적정하여 계산하며, 페놀프탈레인을 지시약으로 사용한다.

유지내 유리지방산의 함량은 라이페이스(lipase)의 작용과 화학적인 가수분해에 의해 영향을 받게 되므로 정제가 덜된 유지 혹은 오래 저장하거나, 오래 사용한 유지에서도 그 함량은 높다.

튀김 유지에서 유리지방산의 생성은 가수분해와 산화에 의해 형성되며 가열산화가 진행될수록 유리지방산 양이 급격히 증가하는 사실이 알려져 있다. 유리지방산은 튀김유지 개개의 고유한 특성이기 때문에 산패측정시 가열산화 전의 해당 튀김유지의 산가를 미리 알아 둘 필요가 있다.¹⁰⁾

Meltzer등²⁰⁾은 불포화도가 다른 튀김유지를 간헐적으로 감자튀김하였을 때 불포화도에 따라 유리지방산의 생성량은 크게 차이가 없으나, 계속 감자튀김 하였을 때에는 유리지방산의 생성량은 아주 빠르며 이때 생성되는 유리지방산은 총국성물질과 높은 상관관계가 있다고 하였다. 튀김유지에서 형성된 유리지방산은 유지의 발연점을 저하시키므로 튀김유지의 품질을 저하시키는 작용도 갖고 있으며, 서독 유지과학 협회에서는 발연점이 170°C이하일 때는 튀김 유지의 사용이 부적합하다고 정하고 있다.²⁰⁾

코코넛유 같은 로우릭 산(lauric acid)이 많은 유지의 경우 유리지방산 함량이 0.5% 정도에서 비누냄새(soapy flavor)를 생성하나 대두유와 면실유 같은 로우릭산이 적은 유지는 유리지방산 함량이 20% 정도에서도 이취를 생성치 않는다고 한다.²⁰⁾ 이런 이유 때문에 로우릭산 함량이 많은 유지는 가수분해가 잘 일어날수 없는 수분이 적은 식품의 튀김에만 사용된다. 국내에서는 정제 식물성 식용유의

산가를 대부분 0.2 이하로 정하고 있으나, 참기름은 4.0 이하, 들깨기름은 5.0 이하, 옥수수유는 1.0 이하, 미강유는 0.5 이하이며, 동물성유인 우지와 돈지는 0.3 이하로 정하고 있다.²⁰⁾ 이 방법은 AOCS Method Cd 3a-63¹²⁾과 JOCS Method 2.4.1-83¹³⁾으로 정해져 있다.

(8) 요오드가(Iodine value)

요오드는 I₂(iodine)가 유지의 이중결합에 부가반응(addition reaction)을 하는 원리를 이용한 것이다. 실제로 유지의 이중결합에 I₂는 부가반응을 잘 하지 않으므로 ICI(iodine monochloride)을 먼저 작용시킨 후 다시 I₂로 대체하는 방법이 널리 쓰인다.^{12, 13)} 즉 ICI은 I₂의 부가반응에 있어 일종의 촉매작용을 하는 셈이 된다. 그러나 유지의 구성 지방산의 분자구조가 복잡하고 이중결합이 많아질수록 I₂의 부가반응 속도는 느려진다. 유지의 산화는 불포화 지방산이 처음 영향을 받고 산화가 진행됨에 따라 불포화지방산이 중합하거나 이중결합이 작은 분자로 분열된다. 그러므로 산화가 진행될수록 총 지방산에 대한 불포화지방산의 비가 떨어지므로 요오드기도 떨어지게 된다. 결국 유지의 가열산화시 요오드가의 감소는 가열산화된 유지내의 고도 불포화 지방산의 손실과 비례하므로 요오드가의 측정으로 유지내 불포화지방산의 파괴정도를 측정할 수 있는 비교적 빠른 산패 측정 방법의 하나이다.²⁰⁾ Maeng¹⁰⁾은 가열시간과 가열온도에 따라 유지시료의 요오드가의 감소는 규칙성을 보여주며 요오드가의 변화폭이 적더라도 가열산화 동안 산화정도를 나타내는 하나의 척도가 됨을 보고하고 있다. 최근 IR분석법으로 1658cm⁻¹의 파장을 사용하는 요오드가 분석기가 시판되고 있다.²⁰⁾ 이 기계는 하나의 특정유지를 기준물질로 사용하여 상관계수를 통해 다른 여러 유지의 요오드가를 자동분석할 수 있다. 요오드가는 AOCS Method Cd 1-25¹²⁾와 JOCS Method 2.4.5¹³⁾로 정해져 있으며 이들 방법은 Wijs법에 따른 것이다.

(9) 석유에테르에 불용인 산화 지방산 함량(Petroleum ether insoluble oxidized fatty acids)

서독의 유지 과학 협회에서 튀김유의 사용한도를

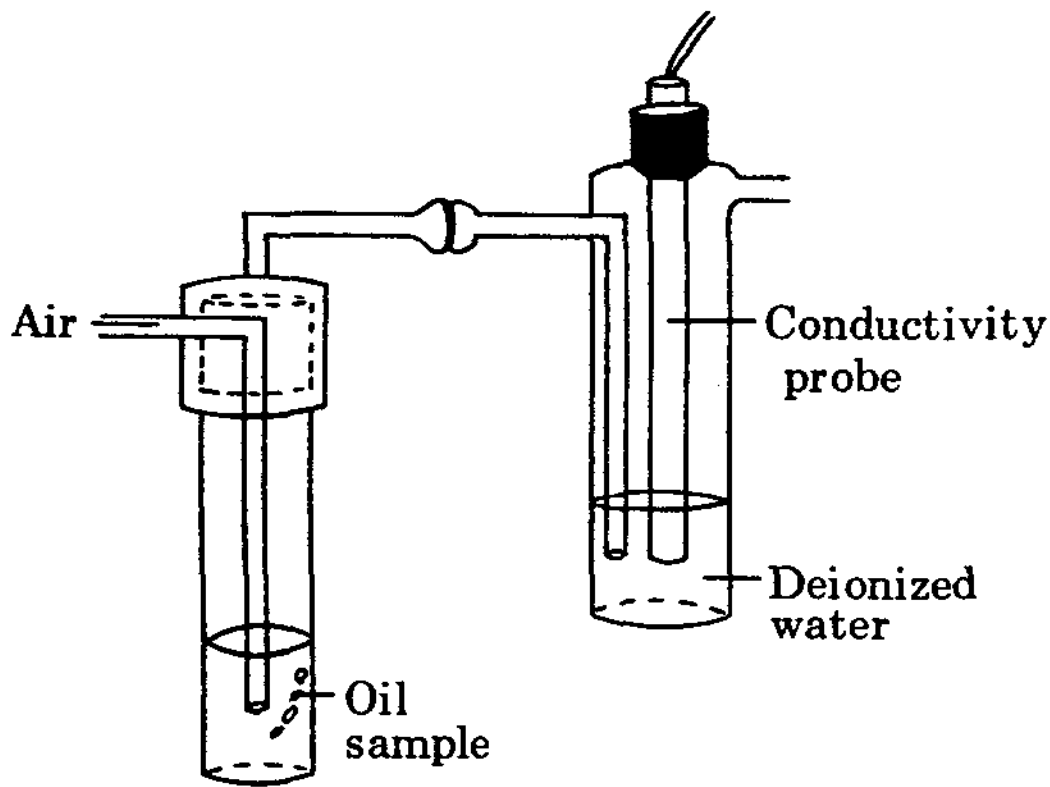


Fig. 3. Rancimat cell flow digaram

감소 속도를 측정하여 유도기간을 측정한다. Rancimat에 의해 측정하는 휘발성 카보닐 화합물에 의한 전도도의 변화는 유지의 산소 흡수 보다 산화과정의 나중 단계에서 생성되므로 FIRA AsetII에 의해 측정된 유도기간은 Rancimat보다 유도기간이 짧게 나온다.¹⁵⁾

(5) 형광분석법(Fluorimetry)

형광분석법은 산화된 지방산과 유리 아미노기 (free NH₂ group)의 반응산물을 검출하여 생물조직에서 지질산화정도를 결정하는 방법으로 사용되어 왔다. 형광화합물은 지질산화에 의해 형성되는 카보닐화합물과 유리 아미노기를 가진 물질의 상호작용에 의해 생성된다.^{16,17)} Dillard 등¹⁶⁾과 Tappel¹⁷⁾은 유리아미노기를 갖는 단백질, 핵산관련효소, 디옥시리보핵산(deoxyribosenucleic acid), 인지질같은 세포성분과 산화된 지방산의 반응에 의해 생성되는 물질은 365~370nm 사이의 들뜨기 최대(excitation maxma)와 435~440nm에서 방출최대(emission maxma)특성을 갖는 N,N-disubstituted-1-amino-3-iminopropene(R-N=CH-CH=CH-NHR)의 일 반식을 가진 형광화합물의 일종이라고 보고하였다. 이 형광을 갖는 발색물질은 피하조직막에 있는 고도 불포화 지방산의 과산화(oxidation)에 의해 형성되는 리포푸신(lipofuscin) 색소와 유사하다.¹⁸⁾

형광분석법으로 유지산화를 나타내는 형광물질 1ppm 정도까지 검출할 수 있으며, TBA법보다 10~

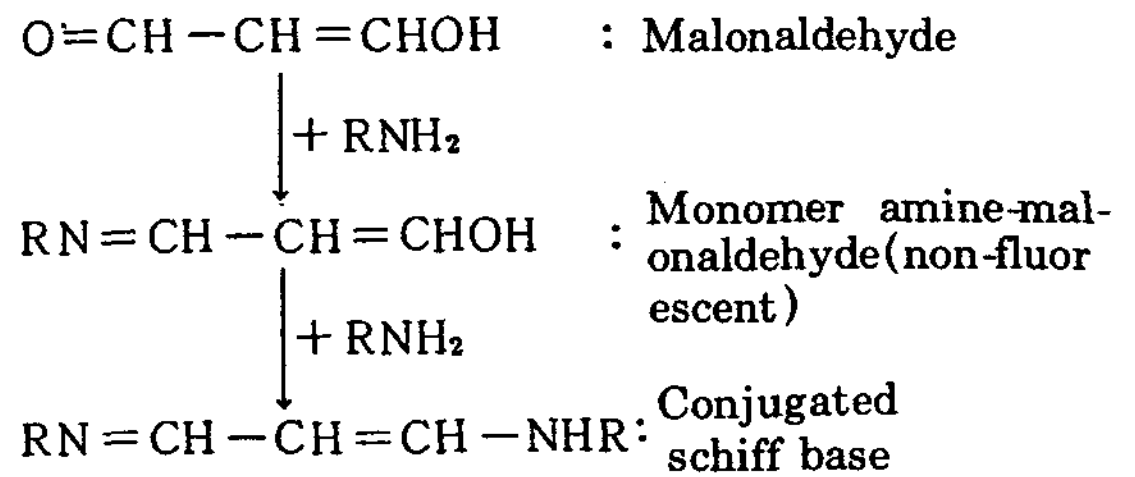


Fig. 4. Production of fluorescent chromophores

100배 감도가 좋다.¹⁹⁾ Chio 등²⁰⁾은 쥐의 간의 미토콘드리아(mitochondria), 원형질(microsome), 리소좀(lysosome)에서 지질산화가 일어나면 형광물질이 증가한다고 하였으며 미토콘드리아(mitochondria)와 원형질계(micrsomal system)에서 형광성의 강도도 TBA가와 밀접한 관련이 있다고 한다. 형광물질의 생성은 과산화(oxidation) 후기 단계에서도 산소 흡수와 비례하므로 생물시료에서 산패정도를 정량적으로 평가하는 데 사용할 수 있다. Dillard 등¹⁶⁾은 카보닐 화합물중 주로 말론알데히드(malonaldehyde)와 아미노기의 반응에 따라 형광성 물질이 생성되는 정도를 조사하였는데 이들은 mono-substituted product는 형광성이 없고, 형광성을 나타내는데는 conjugated schiff base 구조를 필요하다고 하였다. Buttkus 등²¹⁾은 형광성의 생성은 세포내 유리 아미노기와 말론알데히드 사이에 축합생성물이 형성되든지 하여야 하며, 축합생성물의 양은 아미노기의 치환의 성질에 의존하다고 보고하였다. 지질산화에서 형성되는 형광화합물의 생성에 대한 기작은 보다 많은 연구가 필요한 듯하다.

III. 結 論

유지는 산화형태에 따라 생성, 분해 및 축적되는 물질들이 달라지므로 산화형태에 따라 적절한 측정법을 선택해야 한다. 실험자는 각 측정법의 특징과 주의점을 파악함은 물론 유지의 산화에 따른 물리화학적 변화를 정확히 알아 적당한 측정법을 선택해야 한다. 또한 유지를 품질 평가함에 있어 한가지 측정법보다 여러 측정법을 동시에 이용하는 것이 좋다. 여러 측정

법에 의해 얻어진 결과들은 종합적으로 검토하여 유지의 품질 평가를 해야만 하며, 여러 결과들 사이의 상관관계를 구하는 것도 신뢰성을 갖는 방법이 될 것이다. 최종적으로 국내에서도 국내실정에 맞게 유지의 품질 분석법에 대한 공정법이 체계화되었으면 하는 것이 저자의 바램이다.

文 獻

1. Vergroesen, A.J. : *Nutr., Rev.*, **35**, 1(1977)
2. Andrews, S.J., Wendell, H.G., James, F.A. and Rober, A.J. : *J.Nutr.*, **70**, 199(1960)
3. Kim, D.H. : *Food Chemistry*, p.543~582, Tamgudang, Seoul Korea (1988)
4. Ozilgen, S. and Ozilgen M. : *J. Food Sci.*, **55**, 498(1990)
5. Lee, E.C. and Min, D.B. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **65**, 481 (1988)
6. Frankel, E.N. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 1902(1984)
7. Terao, J. and Matsushita, S. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **54**, 234(1977)
8. Min, D.B. and Smouse, T.H. : *Flavor Chemistry of Fats and Oils*, p.39~78, AOCS, Chicago, USA, (1985)
9. Ramanathane, V., Sakaragi, T. and Kummerow, F. A. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **36**, 244(1959)
10. Maeng, Y.S. : *Thesis for the degree of doctor*, Korea Univ. (1985)
11. Sims, R.P.H. : "Oxidative polymerization" in *Autoxidation and antioxidants*, II. p.632~636, ed. by Lundberg, W.O. Interscience Pub., N.Y. (1962)
12. A.O.C.S. : *Official and Tentative Methods*, 3rd. ed., Champaign, III (1972)
13. 日本油化學會 : 基準油脂 分析試驗法, 東京, 日本, (1981)
14. Holm, U., Ekblom, K. and Wode, G. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **34** 606 (1957)
15. Allen, J.C. and Hamilton, R.J. : *Rancidity in Foods*, p. 21-58, Applied Sci. Pub. Ltd., London, England, (1983)
16. Jakson, H.W. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 227 (1981)
17. List, G.R., Evans, C.D., Kwolek, W.F., Warner, K. and Boundy, B.K. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **51**, 17 (1974)
18. Pquot, C. and Hautfenne, A. : *Standard Methods for the analysis of oils, fats and derivatives*, Method II.b.26, Pergamon Press, p. 143 (1979)
19. Gunstone, F.D. : *Lipid in Foods*, p.157, Pergamon Press Ltd., Oxford, England (1983)
20. Yu, T.C. and Shinhuber, R.O. : *Food Technol.*, **16**, 117 (1962)
21. Stevenson, S.G., Varisey-Gensor, M. and Eskin, N.A.M. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 1102 (1984)
22. Zipser, M.W. : *Food Technol.*, **16**, 102 (1962)
23. Gray, J.I. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **55**, 539 (1978)
24. Kakuda, Y., Stanly, D.W. and Van de Voort, F.R. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 773 (1981)
25. Henik, A.S., Benca, M.F. and Mitchell, J. H. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 88 (1954)
26. 態澤, 大山 : *油化學*, **22**, 273 (1973)
27. Fioriti, J.A., Bentz, A.P. and Sims, R.J. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **43**, 37 (1966)
28. Meltzer, J.B., Frankel, E.N., Bessler, T.R. and Perkins, E.G. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 779 (1981)
29. Fritsch, C.W. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 272 (1981)
30. 보건사회부 : *식품공전*, 한국식품공업협회, 서울 (1988)
31. Walking, A. and Bleffert, G.W. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**, 96 (1975)

32. Slecter, R.T. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **60**, 343 (1983)
33. Arnes, M. and Guhr, G. : *Fette. Seifen. Anstrichim.*, **79**, 310 (1977)
34. Graziano, V.J. : *Food Technol.*, **35**, 50 (1979)
35. Fritsch, C.W., Egberg, D.C. and Magnuson, J.S. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 746 (1979)
36. Paradis, A.J. and Nawar, W.W. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 635 (1981)
37. 신애자, 김동훈 : 한국식품과학회지, **17**, 141 (1985)
38. Araya, S.S., Ramaujam, S. and Viy-araghavan, P.K. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **46**, 28 (1969)
39. Laubli, M.W. and Bruttel, P.A. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **63**, 792 (1986)
40. Fennema, O.R. : *Food Chemistry*, p.195, Mercel Dekker, Inc., N.Y. U.S.A. (1985)
41. Pearson, A.M., Gray, J.I., Wolzak, A.M. and Horenstein, N.A. : *Food Technol.*, **39**, 121 (1983)
42. Dillard, J. and Tappel, A.L. : *Lipids*, **8**, 183 (1973)
43. Tappel, A.L. : *Fed. Proc.*, **32**, 1870 (1973)
44. Chio, K.S. and Tappel, A.L. : *Science*, **166**, 1535 (1969)
45. Buttkus, H. and Rose, R.J. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, 387 (1972)