

BHA 添加抽出 정어리油 貯藏中の 高度不飽和脂肪酸의 安定性

李康鎬 · 鄭寅鶴 · 金仁哲 · 金英玉

釜山水産大學 食品工學科
(1986년 10월 1일 수리)

Stability of Polyunsaturated Fatty Acids in Storage of Sardine Oil Extracted with BHA added Solvent

Kang-Ho LEE, In-Hak JEONG, In-Chul KIM, and Yeong-Ok KIM

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan,
Pusan, 608 Korea

(Received October 1, 1986)

The storage stability of sardine oil and the effect of BHA on the oxidation of fatty acids especially, highly unsaturated fatty acids like EPA and DHA were investigated. The sardine oil was extracted from round sardine, with chloroform-methanol(2:1 v/v) solvent with/without addition of BHA, and then stored at 30°C.

The deterioration of oil was examined periodically by measuring acid value(AV), peroxide value(POV), carbonyl value(COV), and oxygen absorption. The changes in fatty acid composition during the storage was determined by GLC analysis to elucidate the oxidative stability of individual fatty acid.

Formation of free fatty acid increased rapidly according to the storage time elapsed in the BHA free oil while it was obviously inhibited in the BHA added oil. Peroxides and carbonyl compounds were formed very rapidly at the beginning of storage of BHA free oil. But in the oil extracted with BHA, formation of peroxides was somewhat inhibited and formation of carbonyl compounds was very strongly inhibited.

Principal fatty acids of sardine oil were C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:1}, C_{20:5} and C_{22:6} acids, and ω₃-3 polyunsaturated fatty acid (ω₃ PUFA) content was very high as much as 23% of the total fatty acid content.

The oxidative degradation of fatty acids was enhanced at PUFA especially C_{20:5} and C_{22:6} acid in BHA free oil. However, the oxidation was fairly retarded in the oil extracted with BHA and the both C_{20:5} and C_{22:6} acids remained at the end of a month storage.

서 론

우리나라 연근해에서 어획되고 있는 정어리는 최근 해마다 그 어획량이 증가하여 1984년도에는 약 18만톤에 달하였다(수산통계 연보, 1984)¹⁾. 그러나 이렇게 다량 어획되고 있음에도 불구하고 어종 자체의 여러가지 바람직하지 못한 특성 때문에 다른 어종에 비하여 이용도는 매우 낮아 주로 사료용 어분

등으로 이용되고 있는 실정이다.

정어리의 바람직하지 못한 특성으로는 선도의 저하가 빠르고 육의 pH가 낮아 단백질의 변성이 빨리 일어나며 혈합육과 지질의 함량이 많아 어취가 강하며 고도불포화지방산을 다량 함유하기 때문에 그 지질의 산패로 인한 품질의 악변이 전체 품질에 크게 영향을 미친다는 것 등을 들 수 있다.

한편 최근의 연구보고에 따르면 eicosapentaenoic

acid(EPA, C_{20:5}), docosahexaenoic acid(DHA, C_{22:6})는 생체내에서 prostaglandin (PG)이나 leucotrien (LT)과 같은 생리활성 물질로 전환하는데 이들이 혈전증이나 심근경색과 같은 성인병을 방지한다고 한다(久保田, 1983²⁾, Sonders 등³⁾). 정어리, 고등어의 지질은 명태간유, 오징어간유, 크릴유와 함께 EPA 와 DHA 의 함유량이 높은 기름으로 알려져 있고(大鶴 등, 1984⁴⁾) 최근에는 어유중의 고도불포화 지방산을 소재로 한 소위 건강식품으로서 어유 농축물이 이용되고 있다(久保田, 1983²⁾). 그러나 고도불포화지방산은 그 산화 속도가 매우 빠르기 때문에 산화로 인하여 쉽게 그 영양적 가치를 상실할 것으로 여겨진다. 정어리유는 사료용 어분 공장에서 부산물로 얻어지고 있으며 대부분 비누, 페인트 등 공업용과 식용경화유 등의 소재로 이용되어 왔으나 EPA 와 DHA 에 대한 인식이 새로와지면서 건강식품으로서의 이용에 관심이 모아지고 있다.

본 연구는 EPA 와 DHA 의 함량이 높은 정어리유의 효율적 이용을 위하여 저장중의 산화안정성, 특히 산화로 인한 EPA 와 DHA 의 변화와 지질추출시에 첨가한 BHA 의 저장중의 지질산화 억제효과에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

1. 시료유의 조제

실험에 사용된 시료유를 조제하기 위하여 부산공동어시장에서 구입한 신선한 정어리를 얼음에 채워 실험실로 운반하였다. Folch 등 (1965⁵⁾)의 방법에 따라 정어리 전체를 마쇄한 후 약 4배량의 클로로포름-메탄올(2:1V/V) 혼합용매를 가하고 blending 하여 지질을 추출하였다. BHA 첨가 시료는 정어리 중량의 0.015% 되게 BHA 를 첨가하여 추출하였다. 위와 같이 하여 추출된 지질을 흡인 여과한 후 여액을 약 5배량의 증류수로 씻은 후에 회전진공농축기에서 용매를 제거하였다. 위와 같이 하여 준비된 시료유를 petri dish(직경 9cm)에 5g씩 취하여 저장 실험하였다.

2. 산가의 측정

시료유의 유리 지방산의 변화를 알아보기 위하여 1/10 N 수산화칼륨-에탄올용액을 사용하여 기준유지 분석법(日本)⁶⁾에 따라 산가를 측정하였다.

3. 산화도의 측정

POV 의 측정 시료유의 과산화물가(POV)는 포화 KI 용액을 사용한 AOAC(1980)법⁷⁾에 따랐으며 meq/kg 으로 표시하였다. 시료유를 1~0.2g 을 250 ml 삼각플라스크에 취하고 여기에 클로로포름-초산(1:2 V/V) 혼합용매를 35 ml 가하고 잘 흔들어 지질을 용해시킨 후 어두운 곳에 5분간 방치한 다음 포화 KI 용액 1 ml 를 가했다. 잘 흔든 다음 다시 어두운 곳에 5분간 방치한 다음 1% 전분용액을 지시약으로 하여 0.01 N Na₂S₂O₃ 용액으로 적정하였다.

COV의 측정 카르보닐가(COV)는 2,4-DNPH를 사용하는 Henick 법(1954⁸⁾)에 준하여 측정 하였다. 즉 산화정도에 따라 시료 50~2 mg 을 50 ml 공전삼각플라스크에 취하고 carbonyl free benzene 5 ml 를 가하여 용해한 후 0.05% 24-DNPH 벤젠 용액(W/W) 5 ml 와 4.3% TCA-벤젠 용액 3 ml 를 각각 가했다. 이것을 60°C 수조에서 30분간 가열 반응시킨 다음 실온에서 방냉한 후 4% KOH-에탄올용액을 10 ml 가하여 발색시켜 400 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

중량증가 실험 지질산화중에 산소의 흡수로 일어나는 중량의 증가를 알아보기 위하여 50 ml beaker 에 시료유 5 g 을 정량한 다음 CaCl₂ 데시케이터 속에 넣고 상온에 보관하면서 중량의 증가를 측정하였다.

4. 지방산 조성의 분석

시료유의 산화에 따른 지방산 조성의 변화를 알아보기 위하여 DEGS column 을 사용하여 GLC 로 분석하였다. 이때 GLC 의 분석조건은 Table 1 과 같다. 분석 시료의 조제는 다음과 같다. 시료 2~5mg 을 시험관에 취하고 1 ml 의 5% 메탄올성 염산을 만들어 105°C 의 항온조에 넣어 4시간 메칠화하였다. 메칠화 시료에 석유 에테르를 가하고 다시 증류수를 가하여 메칠에스테르를 석유 에테르 층으로 옮긴 후 석유에테르 층을 분취하고 무수황산나타륨을 가하여

Table 1. Operation conditions of GLC

Instrument	Pye-Unicom Series 304
Column	1.5 mm × 4 mm i. d. stainless steel 15% DEGS on 60~80 mesh Chromosorb W
Carrier gas	Nitrogen, 40 ml/min
Column temp.	195°C
Detector temp.	250°C
Injector temp.	250°C

탈수한 후 GLC 분석시료로 사용하였다.

나 본 실험의 결과에서는 유리 지방산의 생성도 강하게 억제하는 것으로 보인다.

결과 및 고찰

1. 시료어의 성분조성

본 실험에 사용된 정어리의 일반 조성을 분석한 결과는 Table 2에서 나타난 것과 같이 지질의 함량이 높은 반면에 수분의 함량이 적으며 또한 조지방 함량도 상당히 높은 편이다.

Table 2. Chemical composition of round sardine (%)

Moisture	Crude protein	Crude lipid	Crude ash
68.5	17.5	10.2	2.3

2. 산가의 증가

지질 저장 중의 유리지방산의 생성은 유리된 지방산 자체가 불쾌취를 유발하는 원인이 될 뿐만 아니라 지질산화를 촉진시키는 첫 단계가 된다(Toyomitsu 등, 1984)⁹⁾, Hoshiguchi(1984)¹⁰⁾ 등의 보고에 따르면 산가는 5°C의 저온에서도 증가하며 적색육에서 그 증가가 다른 어종에서 보다 빠른 것으로 보고하고 있다. 정어리유 저장중의 산가의 증가는 Fig.1에서 보는 바처럼 대조군은 산가의 증가가 시간의 경과와 더불어 급격히 일어나 저장 8일에 이미 20을 넘고 있으나 BHA 첨가구는 유리 지방산의 생성이 매우 억제되어 저장 20일까지 12이하에 머물고 있었다. 그러나 저장 25일경부터 급격히 증가하여 48이상에 달하였다. 일반적으로 BHA는 산화방지제로 알려져 있으

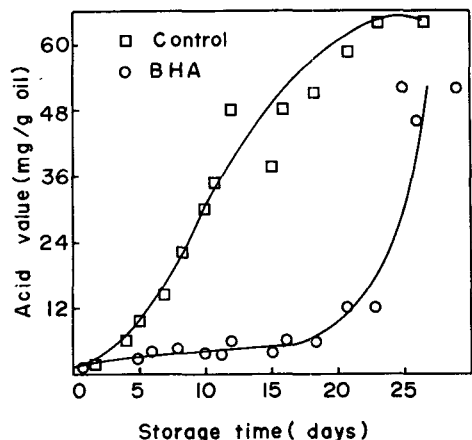


Fig. 1. Changes in free fatty acid content of sardine oil during the storage at 30°C.

3. 시료유의 산화

정어리유의 저장중의 과산화물가의 변화를 Fig.2에 나타내었다. control은 저장 10일에 1400에 달하여 최고치를, 그 후 약간 감소하는 경향이였다. BHA 첨가 추출유는 저장 30일 경에 최고치를 나타내었으며 1500 이상으로 증가하였다. 전체적으로 BHA 첨가유는 control 보다는 과산화물가의 증가가 억제되는 편이나 효과적으로 과산화물가의 증가를 억제하지는 못하였다. 그 원인이 정어리유가 C_{20:5}와 C_{20:6}의 고도불포화지방산의 다량함유로 인한 것인지 아니면 첨가한 BHA의 함량이 적어서인지는 좀 더 연구해 보아야 할 것으로 여겨진다. Fig.3은 카르보닐가의 변화를 나타낸 것으로 control은 저장 15일 경에 최대치에 달한 것으로 나타났다. 그러나 BHA 첨가유는 카르보닐가의 증가가 저장 8일까지 15이하로 억제되었다가 20일 경부터 급격히 증가하여 25일 경에 1,000에 달하였다. control은 POV 증가의 경향과 비슷한 것으로 나타났으나 BHA 첨가유는 카르보닐가의 증가가 저장 18일까지 거의 억제되다가 20일 경부터 갑자기 증가하는 것으로 BHA가 과산화물의 분해를 억제하는 것으로 추측된다. Fig.4는 산화로 인한 산소의 흡수로 일어나는 중량의 증가를 무게%로 나타낸 것으로 Olcott 등 (1959)¹¹⁾에 따라 중량증가율이 0.5%미만인 때를 유도기간으로 잡는

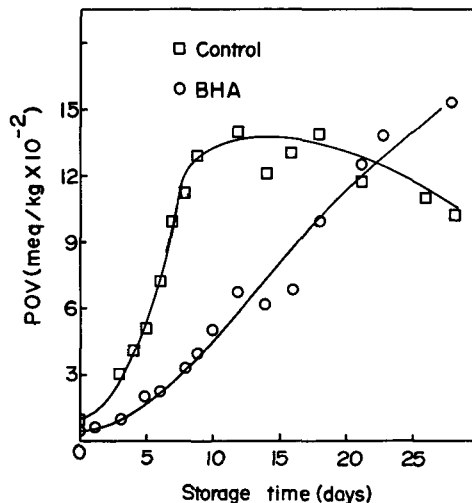


Fig. 2. The changes in peroxide value of sardine oil during the storage at 30°C.

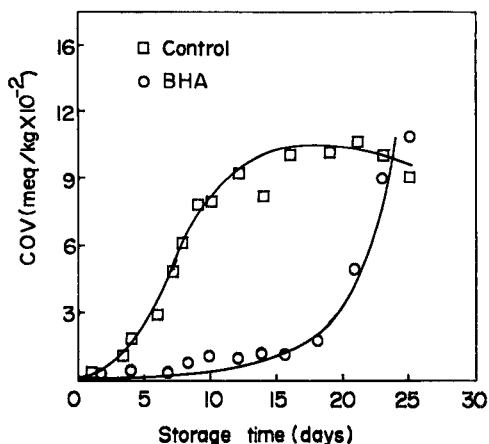


Fig. 3. Changes in carbonyl value of sardine oil during the storage at 30°C.

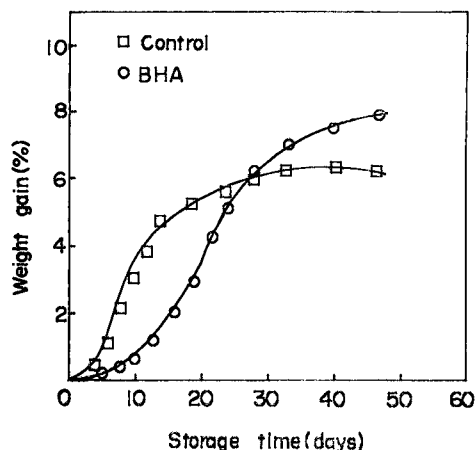


Fig. 4. Changes in weight gains of sardine oil during the storage at 30°C.

다만 control은 3일 BHA 첨가유는 8일로 나타났으며 그 증가율은 대조군이 급격하여 6% 정도에서 정지하였으나 BHA 첨가유는 Sigmoid를 나타내며 8% 이상으로 증가하였다. 이러한 결과는 김 등(1985)¹²⁾의 고등어 지질의 산화 안정성에 대한 보고와 Yamada (1979)¹³⁾의 정어리유에 대한 보고 등을 참고하여 볼

때 정어리 지질의 산화가 다른 어류의 지질보다 심하다는 Toyomitsu 등(1984)¹⁴⁾의 보고와 일치하는 것으로 생각된다.

4. 지방산조성 및 저장중의 변화

정어리유의 지방산 조성은 Table.3과 Table.4에서

Table 3. Changes in fatty acid composition of sardine oil during the storage at 30°C

Fatty acid	Storage time (days)						
	0	1	4	10	15	20	29
14:0	7.05	7.71	8.60	11.13	15.29	15.10	21.50
15:0	0.89	0.80	1.01	1.66	2.48	2.38	1.18
16:0	20.20	21.73	23.43	28.80	34.78	32.73	36.77
17:0	1.47	1.20	1.20	1.92	1.77	1.95	0.62
18:0	4.97	4.81	4.94	6.35	6.94	6.82	7.03
20:0	1.79	1.09	1.10	1.39	0.63	1.21	0.95
22:0	1.99	2.52	2.56	2.65	2.36	2.17	1.83
Saturated	36.89	39.86	42.84	53.90	64.25	62.36	69.88
16:1	8.86	9.30	9.88	11.40	12.22	11.21	10.34
18:1	11.97	12.27	12.79	14.96	15.31	14.71	13.87
20:1	2.69	2.12	2.32	3.17	3.00	3.32	2.53
22:1	1.07						
Monoenoic	24.59	23.69	24.99	29.53	30.55	29.24	26.74
16:2	1.61	1.39	1.48	2.16	2.55	2.60	1.45
18:2	1.69	1.78	1.21	1.19	1.46	2.22	0.94
18:3	1.71	1.31	1.36	2.54	—	—	—
20:2	3.11	2.18	2.01	1.29	—	—	—
20:4	2.09	1.50	1.35	1.54	—	—	—
20:5	13.16	13.61	11.72	3.74	1.19	1.68	—
22:3	0.42	0.96	1.29	0.48	—	0.04	—
22:4	1.00	1.28	0.80	0.89	—	0.60	—
22:5	1.88	1.98	1.49	1.21	—	1.28	0.86
22:6	10.41	10.97	9.46	1.52	—	—	0.12
Polyenoic	37.08	36.46	32.17	16.56	5.20	8.42	3.37

Table 4. Changes in fatty acid composition of the oil extracted with BHA during the storage at 30°C

Fatty acid	Storage time (days)							
	0	1	4	10	15	20	28	
Saturated	14 : 0	7.40	7.67	7.79	8.12	9.34	11.19	14.42
	15 : 0	0.95	0.86		1.19		1.83	1.46
	16 : 0	19.39	21.26	21.10	21.47	25.39	28.94	38.84
	17 : 0	1.70	1.34	1.73	1.61	1.56	1.62	0.67
	18 : 0	4.81	5.07	5.55	5.33	5.94	6.45	7.05
	20 : 0	1.75	1.14	0.72	1.71	0.39	1.46	0.66
	22 : 0	1.41	2.27	2.18	2.62	2.00	1.88	2.11
		37.44	38.61	39.07	42.05	44.62	53.37	65.23
	16 : 1	10.41	9.20	9.28	9.22	9.99	10.62	11.97
	18 : 1	11.57	11.98	12.48	12.00	12.86	13.63	16.48
Monoenoic	20 : 1	2.17	1.74	2.44	2.20	1.57	3.86	3.00
	22 : 1	1.06	0.43					
		25.21	23.35	24.20	23.42	24.42	28.11	31.45
	16 : 2	2.24	1.50	1.71	1.60	1.63	1.83	1.55
	18 : 2	2.26	1.35	1.92	1.49	1.41	1.03	1.09
	18 : 3	1.87	1.37	2.81	2.24	2.10	2.35	—
	20 : 2	2.69	2.09	2.61	2.35	2.14	—	—
	20 : 4	1.63	1.53	2.36	2.14	1.54	0.86	—
	20 : 5	12.78	13.21	11.45	11.23	10.50	5.97	0.67
	22 : 3	0.29	0.87	0.21	1.28	0.58	0.39	—
Polyenoic	22 : 4	1.75	1.96	0.17	1.40	1.16	1.17	—
	22 : 5	0.01	1.70	1.06	1.63	1.33	0.61	—
	22 : 6	10.32	12.48	11.51	9.25	8.56	4.31	—
		35.84	38.08	36.71	34.51	30.95	18.52	3.31

보는 것처럼 C_{14:0} 산이 7.05~7.40%, C_{16:0} 산이 19.39~20.20%, C_{16:1} 산이 8.86~10.41%, C_{18:0} 산이 4.81~4.97%, C_{18:1} 산이 11.57~11.97%, C_{20:5} 산이 12.78~13.6%, C_{22:6} 산이 10.3~10.41%로 polyene 산의 비율이 35~37% 이고 monoene 산의 비율은 24~25%, 포화지방산은 36~37% 였다. polyene 산 중 C_{20:5} 와 C_{22:6} 의 함량이 23%로 매우 높았다. 저장

기간이 경과함에 따르는 지방산 조성의 변화를 살펴보면 C_{14:0} 산과 C_{16:0} 산 등의 포화산은 별반 감소가 확인되지 않았으나 monoene 산과 polyene 산은 그 감소가 심하였으며 특히 polyene 산은 급격히 감소하였다.

Fig.5와 Fig.6에서는 중요한 불포화지방산의 저장 중의 산화안정성을 보기 위하여 저장중 변화량이 적

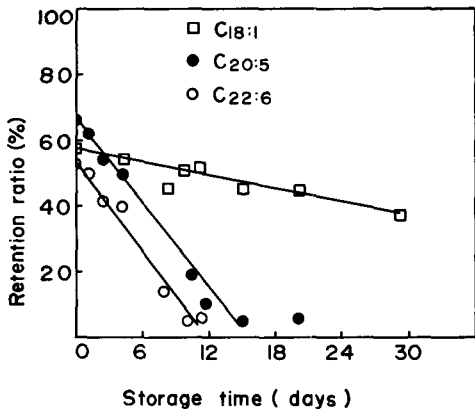


Fig. 5. Retention ratio of fatty acids to the content of C_{16:0} acid in sardine oil during the storage at 30°C.

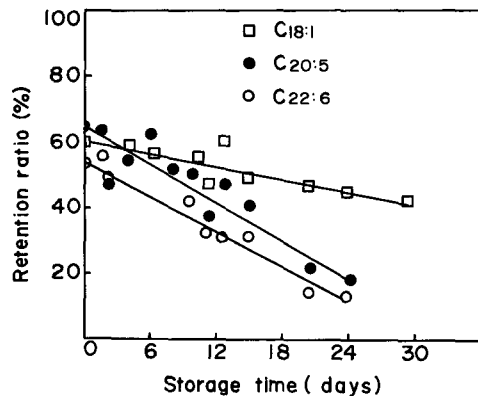


Fig. 6. Retention ratio of fatty acids to the content of C_{16:0} acid in sardine oil extracted with BHA during the storage at 30°C.

은 C_{16:0} 산에 대한 백분율로 나타내었다. C_{18:1} 산이 control에서 저장 0일 때 C_{16:0}의 59% 정도였으나 저장 29일에도 38%로서 크게 감소하지 않았으나 C_{20:5}와 C_{22:6}은 저장 0일에 C_{16:0}의 65%, 52%이던 것이 저장 11일 경에 모두 10%이하로 감소하고 있는 것으로 나타나 지방산의 감소가 고도불포화지방산인 C_{20:5}와 C_{22:6} 산에 중점적으로 일어나는 것을 알 수 있다. 그러나 BHA 첨가유는 이러한 감소율이 상당히 적으며 C_{18:1}이 저장 0일에 54%에서 저장 29일에 41%로 control구와 크게 차이가 보이지 않았으나 C_{20:5}산과 C_{22:6}산은 저장 11일 경에 모두 30% 이상 남아 있으며 저장 24일 후에도 C_{16:0}산의 10% 이상 잔존하고 있었다. 이와 같은 결과는 POV, COV 및 중량증가의 결과와 함께 고찰해 보면 시료유의 산화는 주로 polyene 산에 중점적으로 일어나며 특히 과산화물은 control과 BHA 첨가유는 상당한 과산화물 분해 안정성을 나타내는 점과 지방산 감소율에서 C_{20:5}와 C_{20:6}의 감소가 상당히 안정한 점 등으로 미루어 보아 추출시에 첨가한 BHA가 정어리유의 저장중에도 지방산의 산화를 상당히 억제하는 것으로 보여진다.

요 약

정어리유의 산화 안정성과 지질추출시에 첨가한 BHA에 의한 저장중의 산화방지효과를 검토하고 산화로 인한 지방산 조성의 변화를 조사한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. BHA는 유리 지방산의 생성을 현저히 억제하는 효과가 있었다.
2. BHA는 과산화물 생성을 억제하였으며 특히 카르보닐 화합물의 생성을 아주 강하게 억제하였다. 즉 BHA는 과산화물 분해를 억제하는 작용이 있었다.
3. 정어리유는 C_{20:5}와 C_{22:6}의 함량이 23% 이상으로서 매우 높았다.
4. 산화에 의한 지방산의 감소는 polyene 산에서 급격하였으며 특히 C_{20:5}와 C_{22:6}산이 급격히 감소하였다. BHA첨가는 C_{22:5}와 C_{22:6}산의 산화를 크게 억제할 수 있었다.

문 헌

1. 농수산부. 1984. 어업생산량통계, 하반기, p.45.
2. 久保田絃. 1982. Japan Food Science 22, 49-54.
3. Sanders, T. A. B., S. M. Vickers, and A. P.

- Haimer. 1981. Effect on blood lipids and haemostasis of a supplement of cod liver oil, rich in EPA and DHA in healthy young men, Clin Sci. 61, 317-324.
4. 大鶴勝·藤井美由紀·石永正隆·鬼頭誠. 1984. 魚の脂肪酸組成—山口縣近海産魚の脂肪酸組成, 日本農藝學誌 58(1), 35-42.
5. Folch, J., I. Ascolli, M. Lees, J. A. Neath and F. N. Lebaron. 1957. Preparation of lipid extracts of brain tissues. J. Biol. Chem. 191, 833-841.
6. 日本油化學協會. 1983. 基準油脂分析試驗法. 1.1.6.4-83.
7. AOAC. 1980. "Official methods of analysis", 13th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
8. Henick, A. S., M. F. Bence and J. H. Mitchell Jr. 1954. Estimating carbonyl compounds in rancid fats and foods, J. Am. Oil Chem. Soc. 51, 928.
9. Toyomizu, M., K. Hanaoka, and K. Yamaguchi. 1981. Effect of release of free fatty acids by enzymatic hydrolysis of phospholipids on lipid oxidation during storage of fish muscle at -5°C. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 47(5), 615-620.
10. Hashiguchi, M., K. Suzuki, and F. Matsumoto. 1984. Changes in K-value and deterioration of total lipids of fresh fish during chilled storage. Nippon Shokuhin Kogyo Cakkaiishi 31(1), 1-9.
11. Olcott, H. S. and E. J. Kuta. 1959. Basic substances as synergists for fat antioxidants, Nature 183, 1812.
12. 金仁深·朴榮浩. 1984. 고등어脂質의 酸化安定성에 관한 研究, 韓國水産學會誌 17(4), 327-332.
13. Yamada, J. 1979. Lipid oxidation in various tissues of sardine. Bull. Tokai Reg. Lab. 99(10), 23-26.
14. Toyomizu, M. and K. Hanaoka. 1980. Lipid oxidation of the minced ordinary muscle of fish during storage at -5°C and susceptibility to lipid oxidation. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 45(8), 1007-1010.