J. Korean Agric. Chem. Soc.
한국농화학회지 32(1), 37—43(1989)

식용대두유에 대한 Phenolics의 항산화 효과

조미자 · 권태봉* · 오성기**
경희호텔경영전문대학 식품영양학과*, 한림대학 한국영양연구소,
**경희대학교 산업대학 식량자원개발연구소

Antioxidant Effect of some Phenolics on Soybean Oil

Mi-Za Cho, Tae-Bong Kwon* and Sung-Ki Oh**

International College of Hotel Administration, Kyung Hee University, Seoul, Korea
* Korea Nutrition Institute, Hallym College, Chunchon, Korea
** Institute of Food Development, College of Industry, Kyung Hee University, Suwon, Korea

Abstract

Some phenolics were examined as an antioxidant for the autoxidation of soybean oil. Soybean oil was autoxidized under a mild condition (the flow rate of 67ml O_2/min and 50°C). The antioxidant effect was estimated by active oxygen method. Phenolics show distinctive antioxidant effect, and the effect is prominent when cupper or iron was added. Phenolics showed a tendency to increase antioxidant effect with an increase of the number of hydroxyl group, and the increasing order was ferulic acid, quinalizarin, sesamol, alizarin, fisetin and purpurogallin. However, the effect was remarkably low in ferulic acid, alizarin and quinalizarin. It was found that the antioxidant effect was dependent on the functional group and geometric molecular structure of phenolics.

서 론

우리나라의 유지 소비량은 매년 증가하고 있으며, 소비되는 식용유지 중 식용성유지와 동물성유지의 비율은 57 : 43으로 식물성유지의 비율이 더 높고 1984년 국민 1인당 1일 유지 소비량은 50.4g으로 구미제국의 4분의 1 정도에 불과한 실정에 있다. 따라서 국민소득 증대와 식생활개선으로 유지 소비량은 계속 증가될 것으로 생각된다.[1]

1984년도 유지류의 수급상황은 식물성유지의 국내생산이 32,000MT이고 수입이 230,000MT으로 식물성유지의 수입이 크게 증가하고 있다 한편 식물성유지의 1983년도 국내 총수요량은 309,000MT이며 이 중 약 34%인 104,000MT이 대두유가 차지하는 비율이다.[2] 또한 1984년도 전세계 대두 생산량은 89million MT으로 전체 유지작물 생산량의 38.2%에 해당한다.[3]이와 같이 대두유는 현재 소비량이나 생산량에 있어서 중요한 식물성 식용유지 자원이 되고 있다.

그러나 대두유 중에는 oleic, linoleic, linolenic acid 같은 고도불포화 지방산의 함량이 높기 때문에[4,5] 가공, 저장중에 산패되기 쉬운 결점을 가지고 있다.[6~9]

유지의 산패는 불포화지방산의 자동산화에 의한 것으로서 singlet oxygen(O_2)이 지방산의 불포화기를 공격하여 hydroperoxide의 생성과 분해가 연쇄적으로 일어나는 반응이다.[10~13] 이와 같은 유지의

1988년 10월 10일 수리
Corresponding author: S.K. Oh
Abstracted in part from the Ph.D. dissertation of Mi-Za Cho, Kyung Hee University, 1986

산화속도는 유지의 조성, 산화조건, 항산화제와 미량금속의 존재여부에 따라 다르다. 특히 2가나 또는 그 이상의 산화수를 갖는 Co, Cu, Fe, Mn, Ni 등과 같은 transition metals은 주된 prooxidants로서 산화하지 않은 기질과 직접 반응하거나 molecular oxygen을 활성화하여 singlet oxygen과 peroxy radical을 형성하며 hydroperoxide의 분해를 가속화시킴으로서 자동산화의 유도기간이 단축되고 따라서 산화속도를 증가시킨다.[14~16] 식용유가 산패되면 악취를 내고 필수지방산의 손실과 비타민의 파괴를 일으킬 뿐만 아니라 monohydroperoxide의 형성과 decarboxylation으로 여러 종류의 유기산, 알콜, 알데히드, 케톤, 랙톤의 분해산물을생성하므로서 식용유의 품질을 저하시키게 된다.[10]

유지의 항산화제는 천연항산화제와 합성항산화제로 크게 나눌 수 있으며 항산화제의 필수요건[17]에 비추어 볼 때 아민류나 sulfide 계통의 화합물들은 항산화제로서 부적당하며 천연항산화제가 더 바람직한 것으로 되어 있다.[18] 따라서 식용유나 식품에 있는 유지의 산화를 방지하기 위하여 생체내의 천연항산화 물질에 대한 관심이 높아지고 있다.

Tocopherol과 같은 phenolics의 primary antioxdant는 단독으로는 산화연쇄반응을 저지하는 능력이 매우 낮기 때문에 천연으로 나타나면서도 산화방지의 상승적 효과를 갖는 다른 항산화물질에 대한 관심이 집중되고 있다. 이러한 물질은 prooxidative substances를 불활성화하거나 산화된 primary antioxidant를 재생시키는 작용을 한다.[19,20] 현재 가장 많이 사용하고 있는 phenolics 항산화제로는 천연물로서 tocopherol과 합성품으로서 propyl gallate, BHA, BHT, TBHQ 등이 있는데 이들은 phenol 계통의 화합물로서 항산화제중의 OH기가 유지의 free radical의 수용체로서 유지의 초기 단계에서 생성된 free radical을 안정된 resonance hybrid를 형성하므로써 산화억제 작용을 하는 것으로 알려져 있다.[10] 최근에는 천연화합물에 대한 식품첨가물의 요구가 증가함에 따라 식용유지의 항산화제로서 천연화합물에 함유되어 있는 phenolics의 항산화 작용에 대한 연구가 많이 진행되고 있다.[19~23]

따라서 본 실험에서는 식용대두유에 대한 prooxidant로서 transition metals, 특히 Cu와 Fe의 산화촉진작용과 여러 종류의 phenolics에 대한 항산화작용에 대하여 연구 검토하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용한 시료는 시판의 정제, 탈취한 식용대두유(동방 유량 사제)를 사용하였다.

시약은 sesamol (3,4-methylene dioxyphenol), ferulic acid (4-hydroxy-3-methoxy cinnamic acid)(이상 sigma제), alizalins(sodium alizalinsulfonate), quinalizarin (1,2,5,8-tetrahydroxy anthraquinone), fisetin (3,7,3′,4′-tetrahydroxy flavone), purpurogallin (2,3,4,6-tetrahydroxy-5H-benzocyclo-hepten-5-one)(이상 일본동경화성사제), ferrous sulfate, cupric sulfate(일본 관동화학)등 특급시약을 사용하였으며 기타 분석용 시약은 특급 내지 일급품을 사용하였다.

기기는 flow meter (Dwyer Inst. Inc., U.S.A.), gas regulator (Union Carbide, N.Y., U.S.A.), water bath 등이다.

식용대두유에 대한 phenolics의 항산화 효과는 A.O.M. 변법으로[24,25] 측정하였다. 즉 시료대두유 20.00g을 정확히 평량하여 plastic 용기에 넣은 다음 여기에 phenolics (0.001mole)와 $CuSO_4$(0.001 mole) 또는 $FeSO_4$(0.001mole) 혼합물을 직접 첨가하여 잘 교반한 후 이것을 50±0.5°C의 water bath상에서 산화장치를 이용하여 67ml/min의 유속으로 O_2 gas를 주입하여 산화시켰다. 이 산화물을 KI-$Na_2S_2O_3$ 적정법으로 24시간마다 적정하여 POV를 계산하였다.[26]

NMR 분석법[25]에 의한 식용대두유의 산화도 측정은 다음과 같다. 즉 시료용액 (10%, v/v) 0.5ml를 NMR tube에 정확히 넣고 여기에 tetramethylsilane(3%, v/v)를 첨가하여 측정하였다. 이 때 측정조건은 Sweep offset (Hz) : 0, Spectrum amplitude : 1, Integral amplitude : 4, Spinning rate (RPS) : 20, Sweep time(sec) : 250, Sweep width (Hz) : 500, Filter : 1, RF power level : 0.05, solvent : DMSO($-d_6$)-$CDCl_3$(1 : 1)이었다.

UV-visible spectrophotometry에는 가급적 최대 흡광도를 갖도록 시료를 ethanol 용매로 희석하여 190~700nm 부위에서 측정하였으며, IR 역시 일정량의 시료를 KBr disc 상에서 취하여 균등한 얇은 액체막을 만들어 측정하였다.

결과 및 고찰

식용대두유에 대한 sesamol(OH기 1개), ferulic acid(OH기 1개), alizarin(OH기 2개), quinalizarin(OH기 4개), fisetin(OH기 4개), purpurogallin(OH기 4개) 등의 항산화 효과를 측정한 결과 Table 1,2와 같다. 즉 ferulic acid(1.5%)와 quinalizarin (26.7%)를 제외하고는 일반적으로 phenolics의 항산화 효과는 sesamol(49.1%), alizarin(130.7%), fisetin(255.2%), purpurogallin (260.8%)의 순으로 증가하였으며, alcohol group의 수가 증가함에 따라 효과가 증가하는 경향을 나타내었다. 이와같이 phenolics의 OH기 수에 따른 항산화 효과에 대하여 아직까지 보고된 문헌을 찾지 못하였으나, Hudson등[23]이 식물체의 잎으로부터 추출한 천연물 phenolics 중 OH기가 4개인 quercetin이 가장 항산화 효과가 컸으며, Pratt 등[21]이 대두 단백 추출물 중의 phenolics인 genistein (OH기 3개)와 daidzein (OH기 2개), glycitein (OH기 2개)의 항산화 효과에서도 역시 OH기가 많은 phenolics의 항산화 효과가 큰것으로 나타났으며 ferulic acid의 항산화 효과가 낮은 것으로 나타났다. 본 실험에서도 ferulic acid와 quinalizarin을 제외하고는 알콜기의 증가에 따라 항산화 효과가 증가하는 것으로 나타난 것과 비교하여 볼때 phenolics 항산화제에 있어서 OH기가 유지의 자동산화 과정중에 형성되는 free radical을 제거하는 역할을 하는 것으로 추정된다. 따라서 알콜기의 수가 증가할수록 phenolics의 항산화력은 증가할 것으로 생각된다. 특히 ferulic acid가 sesamol에 비하여 낮은 효과를 나타낸 것은 측쇄의 α,β-unsaturated carbonyl system에 의하여 항산화력이 크게 감소되었기 때문이라고 생각된다. 또 4개의 OH기를 가진 phenolics들중에서도 quinalizarin은 quinone 화합물이며 quinone은 일반적으로 산화-환원계의 물질로서 높은 항산화력을 기대하기 어렵다고 생각된다. 금속 첨가에 의한 phenolics의 항산화 효과를 보면 동을 첨가한 경우 ferulic acid(50.0%), alizarin(6.7%) 및 quinalizarin(14.9%)을 제외하고는 sesamol(105.4%), purpurogallin(233.7%), fisetin(264.8%)의 순으로 효과가 증가하였으며, 이것도 역시 대체적으로 알콜기의 수가 증가하는 경향을 나타내었다.

이와는 달리 철의 경우에는 알콜기의 수와 관계없이 alizarin, ferulic acid, quinalizarin의 순으로 산화를 촉진시킨 반면 fisetin(28.5%), purpu-

Table 1. Antioxidative effect of some phenolics on the oxidation of soybean oil by active oxygen method(67ml O_2/min, 50°C)

Additive*	POV**	Index(%)***
SO	359.6	100.0
SO+Cu	248.7	69.2
SO+FA	365.0	101.5
SO+Cu+FA	539.3	150.0
SO+PPG	1,297.3	360.8
SO+Cu+PPG	1,200.0	333.7
SO+SS	536.3	149.1
SO+Cu+SS	738.5	205.4
SO+Fe	450.7	125.3
SO+Fe+FA	248.1	69.0
SO+Fe+PPG	774.2	215.3
SO+Fe+SS	1,352.1	376.0

* SO, soybean oil; FA, ferulic acid; PPG, purpurogallin; SS, sesamol.
** Hours to reach the peroxide value of 20.
*** Soybean oil was used as control.

Table 2. Antioxidative effect of some phenolics on the oxidation of soybean oil by active oxygen method(67ml O_2/min, 50°C)

Additive*	POV**	Index(%)***
SO	355.6	100.0
SO+Cu	305.7	86.0
SO+AL	820.5	230.7
SO+Cu+AL	379.4	106.7
SO+QZ	450.7	126.7
SO+Cu+QZ	408.5	114.9
SO+FT	1,263.2	355.2
SO+Cu+FT	1,297.3	364.8
SO+Fe	231.9	65.2
SO+Fe+AL	276.7	77.8
SO+Fe+QZ	205.1	57.7
SO+Fe+FT	457.1	128.5

* SO, soybean oil; AL, alizarin red S; QZ, quinalizarin; FT, fisetin.
** Hours to reach the peroxide value of 20.
*** Soybean oil was used as control.

rogallin(115.3%), sesamol(276.0%)의 순으로 항산화 효과를 증가시켰다. 저방산화에 있어서 동은 철보다 산화 촉진작용이 큰 것으로 알려져 있으나[14] 본 실험의 결과에서는 산화력에 있어서 phenolics는 철보다도 동을 첨가했을 경우 항산 화효과를 크게 나타내었으나 동이 철보다 강한 경우와 철이 동보다 강한 경우로 나타나 일정하지 않으며 이것은 금속염의 종류 및 성질과 사용한 항산화제의 종류에 따라 각각 그 특성이 다른 것으로 생각된다. Labuza 등[16]은 EDTA를 cobalt 이온과 함께 사용할 경우 수분함량이 낮은 조건하에서는 수분이 금속을 hydration시켜 항산화 효과를 나타내었지만 수분함량을 증가시키면 물은 오히려 그 활성도가 증가되어 산화 촉진제로서 작용한다고 하였다. 이상과 같이 동을 첨가했을 경우와 ferulic acid, alizarin 및 quinalizarin의 낮은 항산화력, 철을 첨가했을 경우의 alizarin, ferulic acid, quinalizarin의 산화촉진 효과 및 금속이온의 종류에 따른 차이는 *phenolics*의 구조, 금속이온의 redox potential, 금속 착화합물 형성능과 안정성, 유지의 수분함량, 실험조건 등의 차이와 밀접한 관계가 있는 것으로 추정된다. 따라서 각각의 phenolics의 금속에 대한 항산화 작용에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

NMR에 의한 항산화 효과측정

식용대두유에 대한 항산화 효과를 초기단계에서 UV, IR, NMR로 측정하였다. Fig. 1에서 대두유를 *active oxygen method*로 50°C에서 96시간 연속적으로 산화시킨 것과 control을 UV로 측정한 결과 뚜렷한 변화를 볼 수 없었다. 또 phenolics와 철을 대두유에 첨가하여 96시간 산화시킨 것과 control을 비교한 결과 근소한 파장의 *shift*를 볼 수 있었으나 항산화효과를 측정하기에는 미흡하였다. 이들 산화물과 control을 IR로 측정하였으나 역시 큰 변화가 없었다. 이상과 같이 UV와 IR 분석법으로 항산화 효과를 측정하기에는 본 실험조건 (67ml O_2/min, 50°C, 96hrs)이 부적당하다는 것을 알수 있었다. NMR에 의한 *control*과, 96시간 산화시킨 대두유, 철과 purpurogallin을 첨가한 대두유 등을 측정한 결과 Fig. 2, 3, 4와 같으며, Fig. 2에서 control의 chemical shift는 0.90, 1.30, 1.80~2.50, 2.60~2.90, 4.00~4.33, 5.00~5.50ppm으로 나타났으며, 각각의 *assignment*는 CH_3—C—C=C,

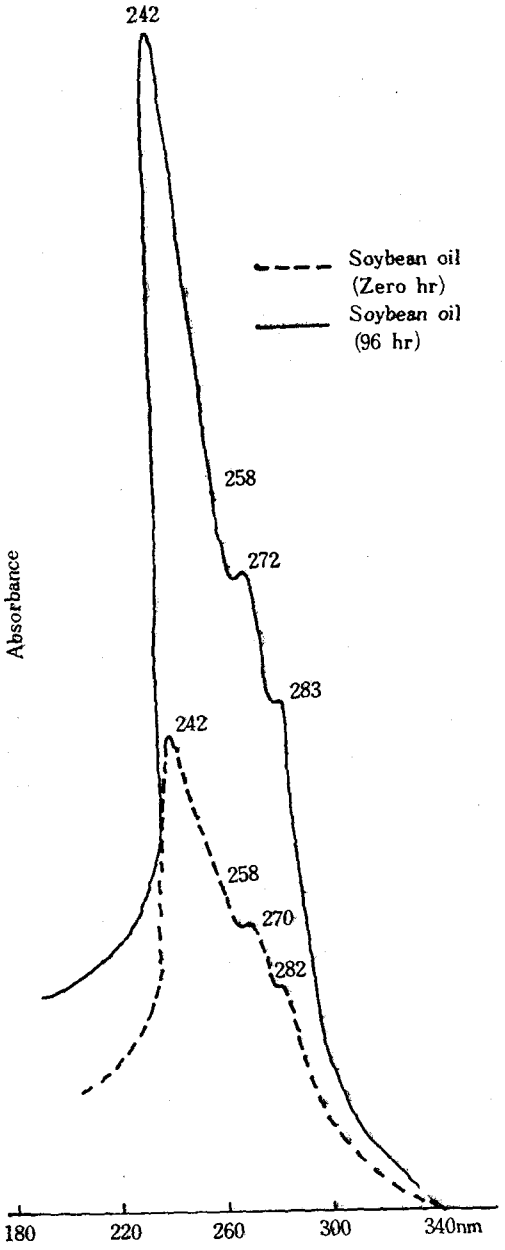

Fig. 1. UV spectra of oxidized soybean oil(67ml O_2/min, 50°C)

—C—CH_2—C—C, C—CH_2—C=C 또는 C=C—CH_2—C—C—, C=C—CH_2—C=C—, —C(=O)—O—CH_2—C,—CH=CH—이었다. 이와 같이 purpurogallin의 vinyl proton의 chemical shift가 겹치지 않고

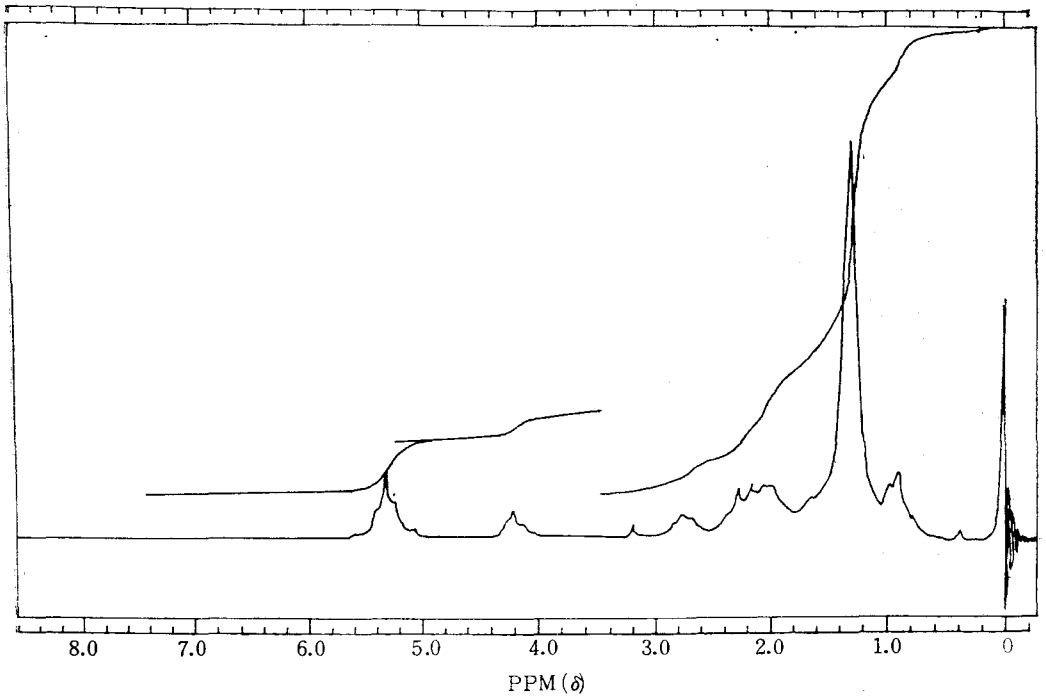

Fig. 2. NMR spectrum of soybean oil (Zero hr)

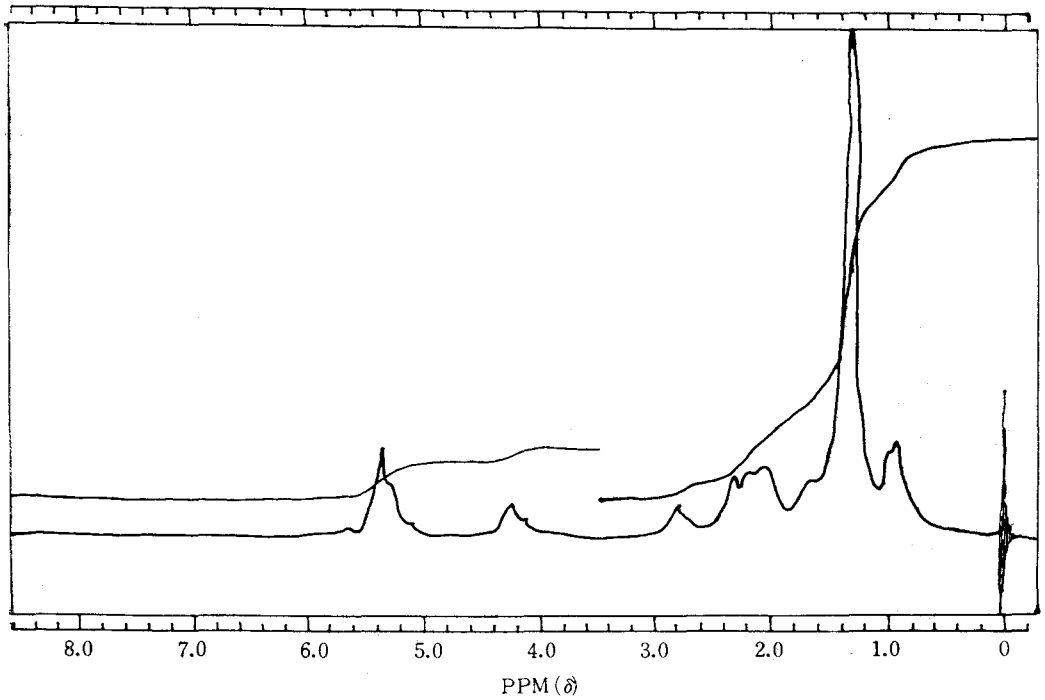

Fig. 3. NMR spectrum of oxidized soybean oil(67ml O_2/min, 50°C, 96hrs)

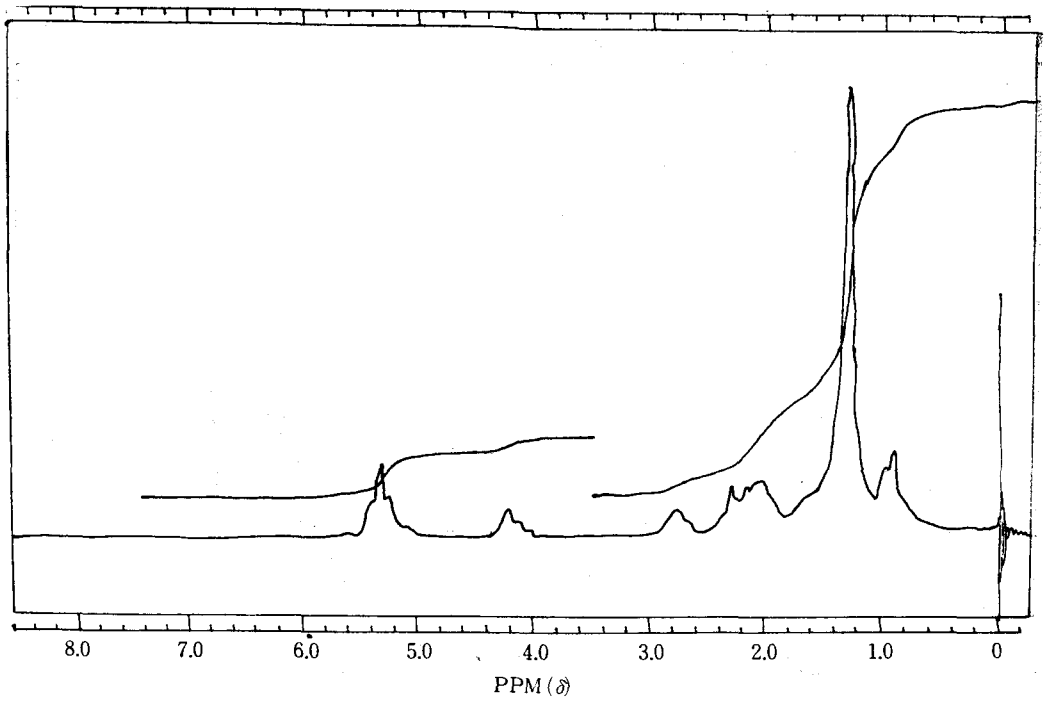

Fig. 4 NMR spectrum of oxidized soybean oil containing Fe and purpurogallin(67ml O_2/min, 50°C, 96hrs)

또 이들 additives에 methylene proton이 없는 한 식용대두유의 자동산화는 double bond에서 일어나며 double bond의 migration과는 관계없이 total methylene proton 수에는 변화가 없기 때문에 NMR에 의한 항산화효과 측정이 가능하다고 본다 실제로 purpurogallin의 chemical shift는 5.65ppm 이상에서만 나타났다. 대두유의 산화가 진행됨에 따라 5.30ppm region의 vinyl proton 수가 감소될 것임으로 본실험에서도 integration에 의하여 5.30 ppm(X)과 1.30ppm(Y)의 ratio를 구하였다. Control과, 96시간 산화시킨 대두유, 철과 purpurogallin 첨가군의 X/Y ratio는 각각 0.194, 0.173, 0.155이었으며 control에 비하여 각각 19.4, 17.3 및 15.5%로서 역시 96시간 산화시킨 phenolics첨가군이 같은 산화시간의 대두유보다 항산화효과를 나타내었다. 이상의 결과로 보아 mild한 산화조건하의 유지의 항산화효과를 초기단계에서 측정할때는 UV와 IR법보다는 NMR분석법을 이용하는 것이 바람직하다고 생각한다.

초　록

식용대두유의 산화방지를 위하여 항산화제로서 phenolics의 항산화 효과를 mild한 조건 (67ml O_2 /min, 50°C) 하에서 active oxygen method로 측정하였다. phenolics의 항산화 효과는 OH group의 수의 증가와 더불어 증가하는 경향을 나타내었으며, ferulic acid(101.5%), quinalizarin(126.7%), sesamol(149.1%), alizarin(230.7%), fisetin(355.2%), purpurogallin(360.8%) 순으로 증가하였다. 또한 control에 비하여 각각 1.5, 26.7, 49.1, 130.7, 255.2, 260.8% 증가하였다. 금속이온을 첨가할 경우 역시 항 산화효과를 나타내었으나 ferulic acid, alizarin, quinalizarin의 경우는 그 효과가 적었다. 본 실험과 같이 mild한 산화조건하에서 NMR 분석법을 이용하여 항산화효과를 측정할 수 있었으나 UV와 IR 분석법은 적당치 않았다.

참 고 문 헌

1. 한국농촌경제연구원 : 1984 식품수급표(1985)
2. 농수산부 : 농림통계연보(1984)
3. FAO: Production Yearbook, Vol. 38, p.142 (1984)
4. Collins, F.I. and Sedwick, V.E.: JAOCS,

34 : 491(1957)
5. Collins, F.I. and Sedwick, V.E.: JACOS, 36 : 641(1959)
6. Sonntag, N.O.V.: Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 4th Ed., by D. Swern, John willey and Sons, N.Y., p.429 (1979)
7. Erickson, D.R.: Handbook of Soy Oil Processing and Utilization, Am. Soybean Assoc., p.299.
8. Privett, O.S. and Blank, M.L.: The Initial stage of Autoxidation, JAOCS, 39 : 465(1962)
9. Coleman, J.E., Hampson, J.W. and Saunders, D.H.: Autoxidation of Fatty Materials in Emulsion. II. Factors Affecting the Histidine Catalyzed Autoxidation of Emulsified Methyl Linoleate, JAOCS, 41 : 347(1964)
10. Buck, D.F.: Antioxidants in Soya Oil, JAOCS, March : 275(1981)
11. Porter, Ned A., Weber, B.A., Weenen, H. and Khan, J.A.: Autoxidation of polyunsaturated Lipids, Factors Controlling the Stereochemistry of Product Hydroperoxides, JAOCS, 102 : 5597(1980)
12. Baterman, L., Hughes, H. and Morris, A.L.: Hydroperoxide Decomposition in Relation to the Initiation of Radical Chain Reactions, Discussion Faraday Soc., 14 : 190(1953)
13. Bolland, J.L., Farmer, E.H. and Bloomfield, G.F.: Kinetic Studies in the Chemistry of Rubber and Related Materials, Trans. Faraday Soc., 42 : 236(1946)
14. Flider, F.J. and Orthoefer, F.T.: Metal in Soybean Oil, JAOCS, March : 270(1981)
15. Zama, K., Takama, K. and Mizushima, Y.: Effect of Metal Salts and Antioxidants on the Oxidation of Fish Lipids During Storage Under the Conditions of Low and Intermidiate moisture, J. Food Processing and Preservation, 3 : 249(1979)
16. Labuza, T.P., Silver, M., Cohn, M., Heidelbaugh, N.D. and Karel, M.: Metal-Catalyzed Oxidation in the Presence of Water in Foods, JAOCS, 48 : 527(1971)
17. Potter, N.: Food Science : 697(1978)
18. Hayes, R.E.: J. Food Sci., 42(6) : 1527(1977)
19. Hudson, B.J.F. and Ghavami, M.: Stabilising Factors in Soybean Oil-Natual Components with Antioxidant Activity, Lebensm-Wiss. U. Technol., 17(2) : 82(1984)
20. Hudson, B.J.F. and Lewis, J.I.: Polyhydroxy Flavonoid Antioxidants for Edible Oils. Phospholipid as Synergists, Food Chem., 10 : 111(1983)
21. Pratt, D.E. and Birac, P.M.: Source of Antioxidant Activity of Soybeans and Soy Products: J. Food Sci., 44 : 1720(1979)
22. Hudson, B.J.F. and Ghavami, M.: Phospholipids as Antoxidant Synergists for Tocopherols in the Autoxidation of Edible Oils, Lebensm-Wiss. U. Technol., 17(4) : 191 (1984)
23. Hudson, B.J.F. and Mahgaub, S.E.O.: Naturally-Occuring Antioxidants in Leaf Lipids, J. Sci. Food Agric., 31 : 646(1980)
24. DeMan, J.M. and DeMan, L.: Autiomated A.O.M. test for Fat Stability, JAOCS, 61 (3) : 534(1984)
25. Ahn, J.K. and Oh, S.K.: Kinetic Study on the Autoxidation of Metyl Linoleate by NMR, Master's thesis, Kyung Hee Univ., Seoul (1982)
26. Sidney Williams: AOCS Method cd 8-53, Official Method of Analysis of the AOAC, 14th Ed., p.507 (1984)