

n-3고도 불포화 지방산의 산화억제에 미치는 플라보노이드와 α-토코페롤의 효과

1. 정제어유의 가열 및 저장 중 산화억제 효과

정동윤 · 권미나* · 홍정화* · 변대석
부산수산대학교 식품영양학과 · *인제대학교 식품영양학과

Effects of Flavonoids and α-Tocopherol on the Oxidation of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids

1. Inhibition of Fish Oil Oxidation by Heating and During Storage

Dong-Yun JUNG · Mi-Na KWON* · Jeong-Hwa HONG* and Dae-Seok BYUN
Department of Nutrition and Food Science, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea
**Department of Nutrition and Food Science, Inje University, Kimhae 621-030, Korea*

To evaluate the antioxidant effect of flavonoids and α-tocopherol on purified fish oil (up to 40% of n-3 polyunsaturated fatty acids), lipid peroxidation, and fatty acids content during storage and upon heating were determined. The potential of these compounds for inhibiting and delaying both oxidation and lipoxygenase processes was also evaluated.

The oxidation of fish oil was effectively inhibited by flavonoids and α-tocopherol. The antioxidizing effect of these compounds increased in proportion to their concentration. The addition of α-tocopherol and catechin-α-tocopherol mixture were prolonged induction period of lipid oxidation by 3.5 to 4 times. All other flavonoids also shown more than twice the prolonging effect. Lipoxygenase activity was decreased by catechin and α-tocopherol effectively.

서 론

어유는 eicosapentaenoic acid(EPA)와 docosahe-xaenoic acid(DHA)같은 n-3 고도불포화지방산(n-3 PUFA)의 함량이 높기 때문에 이들이 갖는 혈전, 동맥경화, 염증반응, 면역, 노화억제 등 생리활성작용에 긍정적인 효과를 기대하고 있다(Lands *et al.* 1977, Terano *et al.* 1986, Hwang, 1989). 그러나 어유의 n-3 고도불포화지방산은 그 구조적인 특성 때문에 공기중의 산소, 열, 광선, 효소등에 의해 쉽게

산화를 일으키고 생체내에서도 과산화지질의 생성으로 조직에 이상을 가져오거나 생체막의 변화등 부정적인 영향을 초래할 가능성도 있다.(Bidlack *et al.*, 1973, Vergroeson, 1977, Saito, 1988). Kobatake 등(1984)은 ethyllinoleate를 먹인 군에 비해 n-3지방산 concentrates를 먹인 흰쥐의 혈청과 간에서 지질과산화 정도가 현저히 증가하였다고 하였는데 이는 대구 간유를 먹인 흰쥐의 뇨 중 malondialdehyde(MDA)함량이 증가하였다는 Draper(1984)의 결과나 고등어유를 섭취한 흰쥐가 들기름, 대두유,

이 논문은 1991년도 교육부 지원 한국 학술진흥재단의 지방대 육성과제 학술연구 조성비에 의하여 연구된 결과의 일부임.

채종유 및 쇠기름을 먹인 흰쥐보다 간조직의 지질 과산화물 농도가 현저히 높았다는 최등(1987)의 결과와 유사하였다. 따라서 어유의 산화를 억제할 수 있는 방법의 모색은 대단히 중요한데 어유에는 합성항산화제의 첨가가 허용되어 있지 않으므로 천연물 중 산화억제 기능을 가진 물질을 검색하고 그 효과를 검토할 필요가 있다. 전보(권 등, 1993)에서 어유를 섭취한 동물에 카테킨을 투여하여 그 산화억제효과를 검토한 바 있었는데 본 실험에서는 카테킨을 비롯한 수종의 플라보노이드들과 비타민 E를 어유에 첨가하여 여러가지 조건으로 저장하면서 산화정도를 검토하고, 가열 산화에 따른 이들 물질의 산화억제효과, 지질과산화에 관여하는 효소에 대한 저해능력등을 검토하므로써 어유의 안정적인 이용과 생체내에서의 부정적인 작용을 억제하기 위한 기초자료를 얻었으므로 보고하는 바이다.

재료 및 방법

플라보노이드와 어유

플라보노이드(+)-카테킨의 추출 및 동정은 전보(권 등, 1993)에 따랐으며 모린과 나린진은 Sigma사에서부터 α -토코페롤은 일본 동경화성제품을 구입하여 실험에 사용하였다. 어유는 日本水産(株) 中央研究所로부터 기준받은 정제어유(EPA+DHA:41%)와 항산화제를 첨가하지 않은 EPA ethylester(EPA; 91.3%, n-3 PUFA; 95.2%)를 실험목적에 따라 각각 사용하였다.

어유의 저장 실험

각각 0.05%의 카테킨, 모린, 나린진, α -토코페롤, 그리고 카테킨과 α -토코페롤을 혼합 첨가한 어유 50ml씩을 플라스틱 용기에 넣어 질소충진 후 밀봉과 개봉의 상태에서 4℃, 37℃ 항온기에 저장하면서 과산화물가, 카보닐가의 변화를 측정하였다. 또한 각 시료를 Metcalfe와 Schmitz(1949)의 방법에 따라 BF₃-10% methanol용액으로 100℃에서 2시간 메틸화시켜 가스크로마토그래피로 분석하였다. 이때 분석조건은 Perkin Elmer 8700 gas chromatograph에 DB-225 capillary column(30cm×.248mm)을 사용하였으며 flame ionization detector를 이용하여 검출하였다. 유속은 helium으로 30ml/min, column과 injector 및 검출기의 온도는 각각 200과 230 및 250℃였다.

어유의 산화에 의한 MDA 생성에 미치는 플라보노이드와 α -토코페롤의 효과

Valenzuela 등(1990)의 방법에 따라 어유를 winterization해서 질소 충전된 상태로 4℃의 암소에 보관하고, 이 시료를 60℃, 48시간동안 공기중에 노출시킨 후 MDA 생성 정도를 측정하였다. 이때 플라보노이드와 α -토코페롤의 농도를 0.01%에서 0.2%까지로 달리하여 실험하였다.

어유의 산화 속도 측정

플라보노이드들과 α -토코페롤이 어유의 산화속도에 미치는 영향을 Rancimat(Rancimat 679, Metrohm, Switzerland)으로 측정하였다. 시료온도 98℃, 공기유속 20l/hr의 조건에서 absorption vessel 내의 전기 전도도를 기록한 그림으로부터 산화 유도기간을 결정하여 산화속도에 미치는 각종 플라보노이드들과 α -토코페롤의 영향을 관찰하였다.

Lipoxygenase 조효소액의 조제

신선한 감자를 마쇄하여 0.1M sodium acetate 완충액(pH 4.8)으로 균질화하여 얻은 여액을 10,000g로 20분간 원심분리한후 그 상층액을 (NH₄)₂SO₄ 용액으로 분별 침전시켜 조효소액을 얻었다. lipoxygenase의 활성은 Holman방법(1946)에 따라 측정하였다. 즉 효소를 0.1M potassium phosphate buffer(pH 6.3)에 용해하여 potassium linoleate의 최종 농도가 100 μ M이 되도록 가하여 20℃에서 반응을 시키고 234nm에서 시간에 따른 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소활성은 hydroperoxy acid의 extinction coefficient를 27,000m⁻¹cm⁻¹(Borget과 Samuelsson, 1979)으로 하여 계산하였으며 specific activity는 4.3 μ mole/min/mg이었다.

어유의 가열산화에 미치는 플라보노이드의 효과

정제어유를 60℃에서 48시간 동안 공기중에 노출시켜 산화를 유도시킨 후 이들 첨가제들을 시료에 용량별(0.01, 0.05, 0.1 및 0.2%)로 첨가하여 알데하이드의 생성정도와 과산화물함량을 측정하였다. 또한 첨가시기의 효과비교를 위하여 플라보노이드들을 미리 첨가하여 같은 조건으로 산화시킨 후의 변화도 보았다.

카테킨과 α -토코페롤의 산화 억제 효과

Grossman(1969)의 방법을 개량하여 사용하였다. EPA를 기질로 하여 lipoxygenase의 작용에 의해 과산화물이 생성되는 과정에서 0.01mM~10mM의

1. 정제어유의 가열 및 저장 중 산화억제 효과

카테킨과 α -토코페롤 첨가에 의한 저해 정도를 흡광도치로 비교하였다.

결과 및 고찰

어유 저장중의 산화 억제에 미치는 플라보노이드와 α -토코페롤의 효과

플라보노이드와 α -토코페롤의 첨가에 의한 어유 저장중의 산화 억제 효과를 알아보기 위하여 어유에 카테킨(3', 4'-OH), 모린(2', 4'-OH) 그리고 나린진(3'-OH)과 α -토코페롤을 0.1% 첨가 및 카테킨과 α -토코페롤을 각각 0.05%씩 혼합하여 첨가한 군으로 나누어 4 $^{\circ}$ C, 37 $^{\circ}$ C에서 각각 밀봉 또는 개봉으로 저장하면서 카보닐가와 과산화물가를 측정하였다.

어유에 플라보노이드와 α -토코페롤을 첨가하여 밀봉 상태로 4 $^{\circ}$ C와 37 $^{\circ}$ C에서 저장하였을 때의 과산화물가의 변화를 Fig 1a와 1b에 나타내었다. 과산화물가가 50meq/kg에 달하는데 소요되는 시일은 4 $^{\circ}$ C의 경우 대조군의 6주 정도에 비해 나린진을 제외한 카테킨, 모린등의 플라보노이드와 α -토코페롤

의 첨가시 8~10주로 산화 억제 효과가 보였으며 카테킨과 α -토코페롤을 혼합 첨가한 경우 뚜렷한 효과를 나타내지 않는 것으로 미루어 볼때 양자간의 상승작용은 인정할 수 없었다. 그러나 靑山과 丸山(1985)은 어유에 대한 구연산 등의 상승효과를 인정하였고 정(1987)은 정어리유의 산화 방지를 위해서 레시틴과 BHT를 첨가했을때 레시틴은 효과가 없었으나 EDTA의 상승효과를 확인할 수 있었다고 보고한 바 있으므로 두가지 이상의 물질을 혼합첨가한 경우에는 종류에 따라 상승효과가 달리 나타나는 것으로 생각되어 진다. 37 $^{\circ}$ C의 경우 과산화물가가 50meq/kg에 달하는 시기가 4주 전후로 4 $^{\circ}$ C의 경우에 비해 상당히 빨리 산화가 되었으므로 온도가 산화 속도에 미치는 중요한 요인의 하나임을 알 수 있었다. 같은 조건에서 개봉 상태로 저장하였을 경우(Fig 2a, 2b) 과산화물가가 50meq/kg에 달하는 데 각각 2~4주(4 $^{\circ}$ C), 1주(37 $^{\circ}$ C)로 밀봉의 경우보다 산화 속도가 훨씬 빨랐다. 그러나 본 실험에서의 밀봉은 앰플 상태가 아닌 플라스틱 캔이므로 완전 밀봉을 하게되면 그 차이는 더욱 두드러지게 될 것으로 생각된다. 또한 개봉 상태에서는

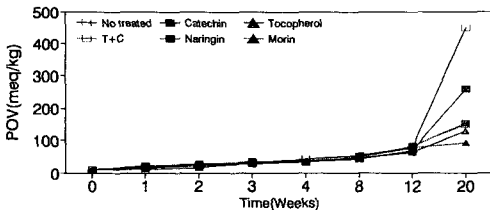


Fig. 1a. Changes in peroxide value of fish oil with flavonoids and α -tocopherol added during storage at 4 $^{\circ}$ C under sealed conditions. T+C:0.05% Tocopherol+0.05% Catechin All others were 0.1%

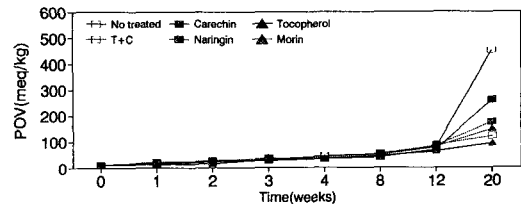


Fig. 2a. Changes in peroxide value of fish oil with flavonoids and α -tocopherol added during storage at 37 $^{\circ}$ C under sealed conditions. T+C:0.05% Tocopherol+0.05% Catechin All others were 0.1%

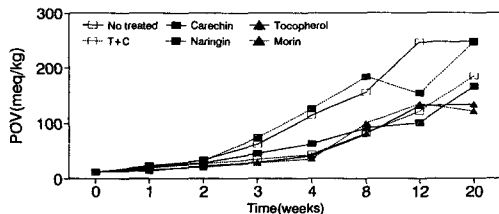


Fig. 1b. Changes in peroxide value of fish oil with flavonoids and α -tocopherol added during storage at 4 $^{\circ}$ C under unsealed conditions. T+C:0.05% Tocopherol+0.05% Catechin All others were 0.1%

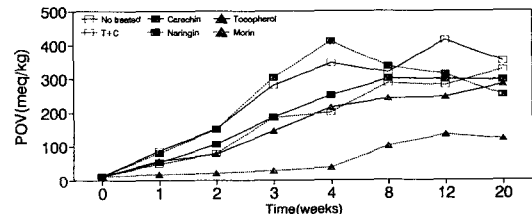


Fig. 2b. Changes in peroxide value of fish oil with flavonoids and α -tocopherol added during storage at 37 $^{\circ}$ C under unsealed conditions. T+C:0.05% Tocopherol+0.05% Catechin All others were 0.1%

저온 저장시에도 산화속도가 밀봉상태에 비해 신속하였고 플라보노이드나 α -토코페롤등의 첨가에 의한 산화 안정 효과도 비교적 낮게 나타났다. 이러한 경향은 4°C보다 37°C의 경우가 더 현저하여 저장 12주까지는 37°C저장의 경우 4°C에 비해 과산화물가가 2~5배 이상의 높은 값을 나타내었으므로 저온어유의 산화에는 온도 의존성 뿐 아니라 공기의 접촉도 중요한 요인이 됨을 알 수 있었다.

같은 방법으로 저장한 어유의 카보닐가를 측정 한 결과를 Fig 3a, 3b, Fig 4a, 4b에 나타내었다. 전체적인 변화의 폭은 과산화물가보다 크지는 않으나 경향은 비슷한 것으로 나타났다. 어유에 다량으로 함유되어 있는 EPA또는 DHA등 고도 불포화 지방산의 자동산화에 있어서 유도기간이 3~4일에 불과하다는 보고(Cho *et al.*, 1987)를 감안해 보면 어유의 저장중 산화 안정에 의한 품질 유지를 위해서는 보다 적절한 산화 억제 방법이 강구되어야 하겠으며 이를 위해서 다양한 산화 안정 효과를 갖는 물질의 검색과 적정 농도 및 처리 방법이 추후 규명되어야 할 것으로 생각된다.

어유의 저장 조건에 따른 지방산 조성의 변화

어유를 4°C와 37°C에서 개봉 또는 밀봉하여 저장했을 때의 주요 지방산 조성의 변화를 Table 1에 나타내었다. 변화가 큰 지방산을 보면 4°C저장의 경우 C_{16:0}, C_{18:1}, C_{22:6}등 이었고 37°C의 경우는 C_{16:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{20:5}, C_{22:6}이었다. 4°C에 비해 37°C 저장시는 시일의 경과에 따른 고도 불포화 지방산의 감소와 monoene산 특히 C_{18:1}의 증가 현상이 뚜렷하였다. 저장 1주째의 EPA함량은 10.94%(밀봉), 10.71%(개봉)이었는데 20주째는 각각 5.44%와 2.81%로 현저하게 감소되었으며 이러한 경향은 DHA가 더 큰 것으로 저장 20주째 개봉한 시료에서는 측정되지 않았다. 반면 C_{16:0}, C_{18:0}등은 20주후 최고 37%까지 증가를 보였다. 저장 온도에 따른 차이를 보면 PUFA의 변화가 4°C일때보다 37°C의 경우 그 감소폭이 큰 것으로 볼 때 저장온도가 높을수록 PUFA의 산화속도가 빨라져 변화는 큰 것을 알 수 있고 대신 C_{16:0}등의 포화 지방산 함량은 그 반대의 경향을 보였다. 歷野(1973)이 고등어를 저온저장하여 실험한 경우 저온저장시에도 지질의

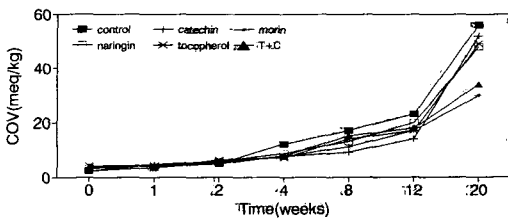


Fig. 3a. Changes in carbonyl value of fish oil with flavonoids and α -tocopherol added during storage at 4°C under sealed conditions. T+C:0.05% Tocopherol+0.05% Catechin All others were 0.1%

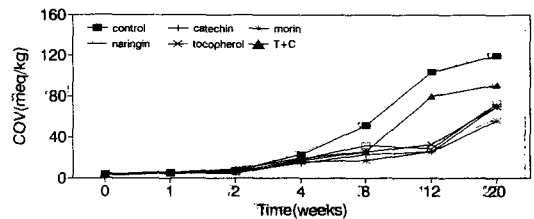


Fig. 4a. Changes in carbonyl value of fish oil with flavonoids and α -tocopherol added during storage at 37°C under sealed conditions. T+C:0.05% Tocopherol+0.05% Catechin All others were 0.1%

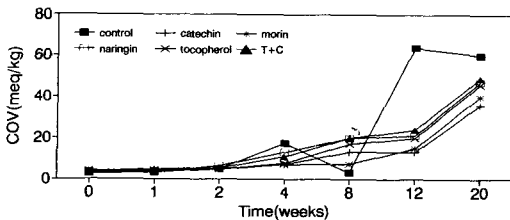


Fig. 3b. Changes in carbonyl value of fish oil with flavonoids and α -tocopherol added during storage at 4°C under unsealed conditions. T+C:0.05% Tocopherol+0.05% Catechin All others were 0.1%

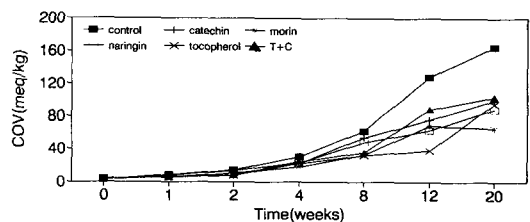


Fig. 4b. Changes in carbonyl value of fish oil with flavonoids and α -tocopherol added during storage at 37°C under unsealed conditions. T+C:0.05% Tocopherol+0.05% Catechin All others were 0.1%

1. 정제어유의 가열 및 저장 중 산화억제 효과

Table 1. Changes in fatty acid composition of fish oil during the storage at 4°C and 37°C under sealed and unsealed conditions (area %)

Fatty acid	0 wk	1 wk		4 wk		20 wk	
		sealed	unsealed	sealed	unsealed	sealed	unsealed
(4°C)							
Saturated							
14:0	8.80	8.21	7.34	6.87	6.85	8.72	9.81
16:0	21.76	19.90	18.08	17.93	15.59	20.01	27.83
18:0	3.68	3.45	3.24	4.20	3.11	3.67	4.86
Monoene							
16:1	7.35	7.00	6.54	5.99	5.49	7.03	7.87
18:1	11.76	10.62	10.07	8.67	11.16	10.14	15.61
20:1	2.56	2.57	2.25	3.51	1.86	1.48	2.62
22:1	1.82	2.44	5.42	0.41	6.84	1.68	7.39
Polyene							
18:2	1.56	1.43	1.25	2.48	1.07	1.39	1.70
18:3	1.22	1.23	1.13	2.61	0.95	1.01	1.02
20:4	1.47	1.60	1.37	2.33	1.17	1.45	N.D.
20:5	12.31	10.83	11.74	10.92	10.84	7.24	7.79
22:6	9.33	8.93	9.04	8.49	7.34	6.53	5.91
(37°C)							
Saturated							
14:0		8.95	7.91	8.21	8.95	7.68	13.40
16:0		21.28	18.40	19.88	24.65	26.52	34.49
18:0		0.36	3.21	3.12	4.15	4.24	5.52
Monoene							
16:1		7.39	6.69	6.98	7.56	7.38	10.54
18:1		9.20	13.68	11.46	14.84	4.15	15.46
20:1		2.03	2.36	2.57	4.99	1.26	3.76
22:1		2.15	9.58	2.34	8.35	0.96	2.91
Polyene							
18:2		1.10	1.19	1.43	1.34	1.06	N.D.
18:3		1.08	0.97	1.23	2.54	0.96	N.D.
20:4		1.45	1.44	1.60	1.36	0.88	N.D.
20:5		10.94	10.71	10.90	9.83	5.44	2.81
22:6		8.18	8.54	8.14	8.18	3.85	N.D.

N.D.:Not determined

산화와 가수분해로 인한 유리지방산의 증가가 진행되어 특히 DHA의 감소가 격심하다고 보고하였다. 한편 橋口(1984)도 고등어를 5°C에서 저장하였을 때 지방산 변화중 주로 monoene산의 변화가 크다고 보고하였다.

어유에 카테킨을 첨가한 경우를 보면(Table 2) 전체적인 경향은 어유만을 저장했을 경우와 비슷한 경향이나 변화의 정도는 적은 것으로 나타났다. 특히 PUFA의 변화를 보면 카테킨에 의한 산화 안정 효과를 인정할 수 있다. 그러나 이 경우도 37°C는 4°C일때보다 EPA와 DHA함량이 50%정도 감소되는 것을 볼때(20주째) 저장 온도의 영향이 특히 PUFA에 크게 미치는 것을 알 수 있다. 이러한 경향은 α -토코페롤의 첨가의 경우에도 비슷한 경향을 보여(Table 3, 4) 전반적으로 산화 안정제에 의해

서 지방산의 변화를 어느 정도 억제할 수 있었으나 저장온도가 높아지면 그 효과는 감소되는 것으로 나타났다. 또한 개봉과 밀봉 상태의 차이는 어유만을 저장한 경우가 가장 현저하게 나타났지만 카테킨, α -토코페롤의 첨가시에도 볼 수 있었고 시일이 경과할수록 그 차이는 크게 나타났다. 어유 저장 중의 지방산 조성 변화는 연구자에 따라 조금씩 다른 것으로 보고 되고 있는데(Kanematzu *et al.*, 1983, 정, 1988)이는 어유의 상태와 정제 정도, 저장 조건등의 차이에 기인되는 것으로 생각된다.

어유의 가열산화에 미치는 플라보노이드의 효과

플라보노이드들이 지질의 가열산화에 미치는 영향을 검토하기 위하여 몇 종류의 플라보노이드,

Table 2. Changes in fatty acid composition of fish oil with catechin added during the storage at 4°C and 37°C under sealed and unsealed conditions

Fatty acid	0 wk	1 wk		4 wk		20 wk	
		sealed	unsealed	sealed	unsealed	sealed	unsealed
(area %)							
(4°C)							
Saturated							
14:0	7.65	7.43	8.58	8.53	7.33	7.87	8.55
16:0	18.79	17.71	18.26	19.69	18.18	19.44	20.30
18:0	3.22	3.12	3.01	3.62	3.10	3.52	3.44
Monoene							
16:1	6.48	6.30	6.73	6.97	6.36	6.33	7.25
18:1	9.80	9.62	13.55	11.07	12.59	9.99	11.20
20:1	1.09	2.39	2.45	2.13	2.01	2.24	N.D.
22:1	2.43	2.79	8.91	2.19	6.92	3.31	8.59
Polyene							
18:2	1.19	1.30	1.22	1.45	1.22	1.33	1.24
18:3	1.09	1.00	1.06	1.10	1.08	0.93	1.12
20:4	1.46	1.49	1.61	2.38	1.34	1.49	1.41
20:5	12.74	11.91	11.16	11.06	11.21	10.81	11.06
22:6	9.90	8.87	8.84	8.57	6.83	8.12	8.81
(37°C)							
Saturated							
14:0		7.94	7.82	8.21	10.27	6.89	10.59
16:0		17.50	16.08	19.16	25.04	16.80	10.59
18:0		3.10	2.72	3.37	3.84	5.73	5.00
Monoene							
16:1		6.53	6.46	6.82	8.57	5.64	8.20
20:1		8.14	9.77	10.57	16.27	8.09	15.62
22:1		2.17	1.97	1.99	4.42	2.09	3.01
Polyene							
18:2		1.11	1.25	1.34	1.17	0.89	1.75
18:3		1.16	1.30	0.95	0.71	0.91	0.98
20:4		1.42	1.32	2.33	0.80	0.88	0.79
20:5		10.87	10.89	10.72	11.92	9.65	5.81
22:6		8.21	8.38	7.66	8.59	7.23	4.77

N.D.:Not determined

α -토코페롤 및 이들의 혼합첨가 효과를 비교하였다. 첨가제의 종류와 첨가농도에 관계 없이 TBA값은 전부 대조군보다 낮은 값을 보임으로써 이들의 효과는 인정되었으며 첨가농도에 따른 차이는 그다지 크지 않았다. 0.2% 첨가시는 카테킨과 α -토코페롤의 혼합이 가장 효과적이었다며 플라보노이드들의 종류에 따른 차이는 크게 나타나지 않았다 (Table 5).

한편 과산화물가의 경향도 TBA값과 비슷하였으나 (Table 6) 대체적으로 첨가농도가 높아짐에 따라 과산화물가가 감소하는 경향을 보였다. 카테킨, 카테킨과 α -토코페롤 혼합첨가의 경우 이들의 농도가 낮을 때는 다른 첨가제와 큰 차이를 보이지 않았으나, 0.2% 첨가했을 경우는 대조군에 비하여 각각 35%, 27%의 생성을 보여 현저한 효과가 인정되었

다.

Prior 등(1991)은 캐놀라 압착유에 농도를 달리 한 토코페롤의 첨가가 산화안정성에 미치는 효과를 검토한 결과 농도에 따른 현저한 차이는 인정되지 않았다고 하였으며 Torel 등(1986)은 리놀산의 자동산화에 대한 플라보노이드들의 첨가는 산화억제 효과를 나타내었으며 이 때 종류에 따라 그 효과도 조금씩 다른 것으로 보고하였다.

가열전에 미리 첨가할 경우는 전체적으로 가열 후 첨가시보다 높은 값을 나타내었는데 이는 가열 중 이들 성분의 파괴로 인하여 충분한 효과를 얻지 못하는게 아닌가 생각된다. 그러나 이 경우도 카테킨과 α -토코페롤의 혼합첨가만을 우수한 효과를 보였으며 전체적으로는 첨가농도가 높을수록 효과적이었다. 과산화물가도 TBA값과 비슷한 경향을

1. 정제어유의 가열 및 저장 중 산화억제 효과

Table 3. Changes in fatty acid composition of fish oil with α -tocopherol added during the storage at 4°C and 37°C under sealed and unsealed conditions. (area %)

Fatty acid	0 wk	1 wk		4 wk		20 wk	
		sealed	unsealed	sealed	unsealed	sealed	unsealed
(4°C)							
Saturated							
14:0	7.39	8.23	7.69	8.59	7.85	10.44	7.89
16:0	18.16	20.05	17.50	20.21	18.38	10.00	20.77
18:0	3.29	3.38	3.10	3.54	3.16	4.18	3.54
Monoene							
16:1	6.22	6.56	7.01	7.04	6.46	7.09	6.87
18:1	9.90	9.97	10.30	10.68	9.69	8.99	11.56
20:1	2.22	2.37	2.34	2.32	2.18	3.20	N.D.
22:1	2.58	8.33	2.42	9.15	2.33	3.30	N.D.
Polyene							
18:2	1.13	1.37	1.16	1.24	1.12	1.30	1.27
18:3	0.88	1.15	1.14	0.97	1.26	1.09	1.16
20:4	1.46	1.47	1.54	1.14	1.44	1.32	0.56
20:5	11.49	13.61	11.78	11.14	10.83	10.75	10.82
22:6	9.44	10.49	8.93	8.97	8.51	8.27	8.75
(37°C)							
Saturated							
14:0		8.61	8.19	8.56	9.25	8.23	11.74
16:0		20.80	19.68	20.05	22.86	20.05	26.67
18:0		3.49	3.43	3.44	3.84	3.38	4.26
Monoene							
16:1		7.16	6.91	7.09	7.95	6.55	9.43
18:1		10.93	10.77	10.80	15.27	9.97	17.12
20:1		2.60	2.61	2.33	0.39	2.31	3.35
22:1		2.39	9.42	1.96	5.51	2.15	3.87
Polyene							
18:2		1.25	3.42	1.27	1.29	1.37	1.25
18:3		1.13	1.12	1.22	1.17	1.13	1.18
20:4		1.39	1.50	1.46	1.37	1.46	0.89
20:5		11.63	12.09	10.29	9.81	10.03	7.18
22:6		8.61	9.24	7.69	5.43	5.47	6.53

N.D:Not determined

보여 가열중의 변화로 인한 효과 감소 현상을 보였다(자료생략).

어유의 산화 속도 측정

어유의 산화 속도에 미치는 플라보노이드와 α -토코페롤의 영향을 검토하기 위하여 rancimat을 이용하여 산화 유도 기간을 측정하였다(Fig. 5). 에탄올만 첨가한 어유를 대조군으로 하였을 때 모든 플라보노이드와 α -토코페롤은 어유의 산화 유도 기간을 연장하는데 큰 효과가 있는 것으로 나타났다. 각각 대조군의 경우 산화유도기간이 3.1시간인데 비해 α -토코페롤과 α -토코페롤에 카테킨을 혼합 첨가한 경우 13시간, 10.5시간으로 3.5~4배의 연장 효과를 보였으며 나머지 플라보노이드들도 2.5~2.8배의 연장 효과를 보였다. Otha(1985)는 이들

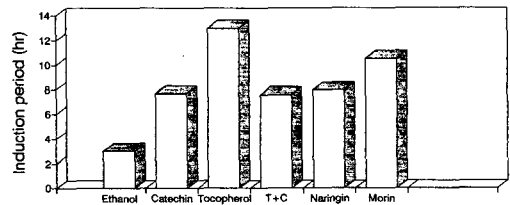


Fig. 5. Effects of flavonoids and α -tocopherol on the induction period of fish oil oxidation determined by Rancimat at 98°C

플라보노이드들이 돼지기름과 식물성 기름의 산화 억제에도 효과적인 것으로 보고하였으며, 한 등(1991)의 결과도 본 실험의 결과와 유사하였다. 본 실험에 사용한 플라보노이드 이외에도 식물체에

Table 4. Changes in fatty acid composition of fish oil with catechin and α -tocopherol added during the storage at 4°C and 37°C under sealed and unsealed condition.

Fatty acid	0 wk	1 wk		4 wk		20 wk	
		sealed	unsealed	sealed	unsealed	sealed	unsealed
(area %)							
(4°C)							
Saturated							
14:0	8.19	7.76	8.18	7.85	7.58	8.55	8.13
16:0	19.96	18.36	20.41	18.38	17.70	20.25	20.38
18:0	3.27	3.20	3.24	3.16	3.27	3.50	3.47
Monoene							
16:1	6.93	6.33	7.12	6.46	6.31	7.08	6.70
18:1	10.34	9.91	10.41	9.69	9.84	10.75	10.79
20:1	2.24	2.24	3.24	2.18	2.37	2.49	2.32
22:1	2.47	2.01	9.11	2.33	8.59	2.19	9.94
Polyene							
18:2	1.41	1.45	1.05	1.12	1.26	1.25	1.20
18:3	1.11	1.00	1.05	1.26	1.16	1.49	1.10
20:4	1.43	1.49	1.39	1.44	1.66	1.37	1.37
20:5	12.51	12.55	11.57	10.83	12.12	12.11	11.79
22:6	10.42	10.47	9.14	8.51	8.51	9.25	9.81
(37°C)							
Saturated							
14:0		9.09	8.34	8.91	7.85	8.48	9.08
16:0		19.78	19.25	21.01	18.93	20.23	21.35
18:0		2.89	3.24	3.58	3.46	3.55	3.62
Monoene							
16:1		7.67	6.71	6.62	6.67	6.77	7.54
18:1		9.93	10.07	10.94	10.17	10.54	15.29
20:1		2.17	2.00	2.54	2.74	2.18	2.69
22:1		2.41	9.54	8.90	2.57	1.92	2.36
Polyene							
18:2		1.24	1.22	1.21	1.27	1.15	1.41
18:3		1.19	0.87	1.07	1.54	1.65	1.06
20:4		1.49	1.34		1.33.29	1.41	1.48
20:5		11.54	11.13	11.09	10.81	11.36	11.14
22:6		10.01	9.42	8.87	8.09	7.97	8.52

N.D.:Not determined

Table 5. Thiobarbituric acid values of heated fish oil treated with flavonoid and α -tocopherol

Concentration (%)	No Treated	Catechin	Morin	Naringin	α -tocopherol	Catechin + α -tocopherol	(Meq/kg)
							309
0.01		195	199	190	195	220	
0.05		197	204	198	193	215	
0.10		209	199	198	199	203	
0.20		199	187	202	190	183	

* Fish oil was incubated under unsealed conditions at 60°C for 48h.

분포되어 있는 이들 플라보노이드계 화합물들도 유지의 산화안정, 특히 초기 유도기간의 연장에 효과가 있을 것으로 예상되므로 이들을 탐색하여 이

용 가능한 방법의 제시를 위한 계속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

1. 정제어유의 가열 및 저장 중 산화억제 효과

Table 6. Peroxide value of heated fish oil treated with flavonoid and α -tocopherol

Concentration (%)	No Treated	Catechin	Morin	Naringin	α -tocopherol	Catechin + α -tocopherol
83.0						
0.01		67.3	67.0	50.6	52.2	68.9
0.05		58.9	66.1	46.5	52.6	32.8
0.10		50.9	44.0	46.1	51.7	25.5
0.20		29.0	36.9	-	47.3	22.7

※ refer to Table 5

(-; not complete)

Lipoxygenase에 의한 EPA의 산화에 미치는 카테킨과 α -토코페롤의 영향

Lipoxygenase는 아라키돈산을 기질로 하여 hydroperoxyeicosatetraenoic acid를 거쳐 leukotriene들을 생성하게 되는데 이 때 EPA도 이 효소의 좋은 기질이 될 수 있음은 이미 밝혀져 있다(Leitch et al., 1984, Terano et al., 1986).

본 실험에서는 어유에 다량 함유되어 있는 EPA를 기질로, lipoxygenase가 작용하여 지질과산화물을 생성하는 과정에서 카테킨과 α -토코페롤이 이 반응을 어느 정도 억제할 것인지를 검토하였다. Fig. 6에서 보면 카테킨과 α -토코페롤의 농도가 증가함에 따라 MDA 생성량은 감소 하였으며 이러한 효과는 α -토코페롤이 현저한 것으로 나타났다. 이들은 각각 0.01mM일 때는 거의 비슷한 감소를 보였으나 10mM의 경우는 확실히 볼 때 각각 1/2과 1/10로 감소하여 농도별 증가에 따라 그 효과는 차이가 큰 것으로 나타났다. 기대한 바와는 달리 lipoxygenase에 대한 카테킨의 저해 효과는 미약한 편이었다. Baumann등(1980)도 카테킨은 lipoxygenase에 대해서는 저해효과가 낮은 반면 또 다른 산화효소인 cyclooxygenase에 대해서는 비교적 효과적으로 저해한다고 보고한 바 있다.

Yoshimoto 등(1983)은 아라키돈산을 기질로 할

때의 lipoxygenase 작용에 대한 저해 효과는 플라보노이드들의 구조에 관련이 많으며 특히 B환의 3', 4'위치에 수산기가 결합된 플라보노이드들이 강한 저해 효과를 갖는다는 보고를 하였는데 아라키돈산이나 EPA의 분해산물들이 체내에서 다양한 생리 작용을 갖고 있기 때문에 기질의 종류와 플라보노이드의 종류, 농도 등에 따른 효과에 대해서는 추후 면밀한 검토가 필요할 것으로 생각된다.

결론 및 요약

n-3고도 불포화 지방산의 산화 억제에 미치는 플라보노이드와 토코페롤의 효과를 검토하기 위하여 저장조건에 따른 지질 성분들의 변화, 가열에 의한 변화, 산화유도기의 연장, lipoxygenase에 대한 저해능 등을 측정하였다. 플라보노이드와 토코페롤의 첨가에 의해 어유 저장중의 지질 과산화는 상당히 억제되었으며 이때 저장 온도와 공기접촉은 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 저장중의 지방산의 변화는 주로 EPA, DHA등 n-3 PUFA가 컸으며 이들이 어유의 지질 과산화에도 큰 영향을 미치는 것으로 보였다. 가열에 따른 지질 과산화물의 생성에도 플라보노이드들과 α -토코페롤은 효과적으로 산화를 억제하는 것으로 보였다. 어유의 효과적인 저장을 위해서는 산화 유도기의 연장이 가장 바람직한데 토코페롤, 토코페롤과 카테킨의 혼합 첨가시는 아무런 첨가를 하지 않은 경우에 비해 3.5~4배의 유도기간 연장 효과를 보였으며 다른 플라보노이드들도 2배 이상의 연장 효과를 갖는 것으로 나타나 어유 또는 이를 이용한 제품의 산화억제제로서 긍정적인 결과를 얻었다. 어유의 n-3 PUFA중의 하나인 EPA를 기질로 했을때 lipoxygenase에 의한 과산화물 생성을 억제할 수 있는 가능성을 검토한 결과 카테킨과 토코페롤은 용량 의존성으

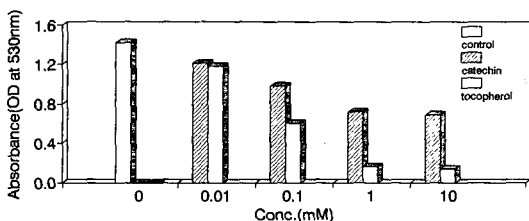


Fig. 6. Inhibitory effects of catechin and α -tocopherol on malondialdehyde forming on the eicosapentaenoic acid caused by potato lipoxygenase.

로 효과가 있었으며 카테킨보다 토코페롤이 더욱 큰 효과를 보였다. 이상의 결과로 볼때 카테킨과 토코페롤은 어유의 저장중, 가열산화 또는 산화 유도기의 연장에 의한 산화억제 및 지질 과산화 효소에 대한 저해 작용등 효과적인 산화안정제의 기능을 가지고 있는 것을 알 수 있었다.

사 사

본 연구의 수행을 위하여 정제어유 및 EPA를 기증해준 日本水産(株)中央研究所 秦和彦 先生에게 謝意를 표합니다.

참 고 문 헌

- Baumann, J., F. V. Bruchhausen. and G. Wurm. 1980. Flavonoids and related compound as inhibitors of arachidonic acid peroxidation, Prostaglandin, 20(4), 627
- Bidlack, W. R. and A. L. Tappel. 1973. Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipids*, 8, 177
- Borget, P. and B.salmulesson.1979. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76(5), 2148
- Cho, S. Y., K. Miyashita and T. Miyazawa. *et al.* 1987. Autoxidation of ethyl eicosapentaenoate and docosahexaenoate, J. Am. Oil Chem. Soc., 64(6), 876
- Choi, K. W., M. H. Park., K. S. Chang. and S. H. Cho., Effect of dietary fish oil on lipid peroxidation and antiperoxidative system in rat liver and brain. *J. Korean Soc, Food, nutr*, 16(2), 147 (1987)
- Drper, H. H., I. Polensek, and M. Hadley., Malondialdehyde excreting by rats consuming liver oil vs a concentrate of n-3 fatty acids. *Lipid*, 19 (11), 836(1984)
- Grossman, S., A. Ben Aziz., P. Budowski., I. Ascarelli. and A. Gertler. *et al.* 1969. Phytochemistry, 8, 2287
- Holman, R. T. 1946. Arch. Biochem. Biophys., 10, 519
- Hwang, D. 1989. Essential fatty acids and immune response, FASEB J., 3, 2052
- Kanematzu, H., M. Aoyama., T. Maruyama., I. Niiya. and M. Tsukamoto. 1983. Studies on the improvement of antioxidant effect of tocopherol, I. Addition levels of tocopherols and oxidation stability of edible fat, Yukakagu, 32(9), 475
- Kobatake, Y., K. Kuroda, H. Jinnouchi., J. Hideaki., E. Nishide. and I. Satoishi.:Differential effects of dietary EPA and DHA fatty acids on lowering of triglyceride and cholesterol levels in the serum of rats on hypercholeserolemic diet. *J. nutr. Sci. Vitaminol.*, 30(4), 357(1984)
- Lands, W. E. M., M. E. Hemler. and C. G. Crawford. 1977. Functions of polyunsaturated fatty acids; biosynthesis of prostaglandins. In Polyunsaturated Fatty Acids, p193~228, Am. Oil Chem. Soc., Champaign, Illinois
- Leitch, A. G., T. H. Lee., E. W. Ringel., J. D. Prickekt., D. R. Robinson., S. G. Pyne., E. J. Corey., J. M. Drazen., K. F. Austen. and R. A. Lewis. 1984. *J. Immun.*, 132(5), 2559
- Metefe, L. D. and A. A. Schmitz. 1949. The rapid preparation of fatty esters for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, 177, 751
- Otha, S. 1985. Natural antioxidants, New food nd;, 27(2), 53
- Prior, E. M., V. S. Vadke. and F.W. Sosulski. 1991. Effect of heat treatment of canola oils II. Oxidative stability *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68(6), 407
- Saito, M. 1988. Interaction between lipid peroxide formation and nutritional status. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food sci.*, 41(5), 343
- Terano, T., A. Hirai., Y. Tamura., S. Yoshida., J. Salmon. and S. Moncada. 1986. Effect of eicosapentaenoic acid on eicosanoids formation by stimulated human polymorphonuclear leukocytes, *Prog. Lipid Res.*, 25, 129
- Torel, j., J. Cillard. and P. Cillard. 1986. Antioxidant activity of flavonoid and reactivity with peroxy radical, *Phytochemistry*, 25(2),383
- Valenzuela, A., J. Sanhueza. and L. A. Loyola. *et al.* 1990. Flavonoids as stabilizer of fish oil: An alternative to the use of synthetic antioxidants. In international conference on the health effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids in seafoods, Washington, D.C
- Vergroeson, A. T. 1977. Physiological effects of

1. 정제어유의 가열 및 저장 중 산화억제 효과

- dietary linoleic acid. *Nutr. Rev.*, 35, 1
- Yoshimoto, T., M. Furukawa., S. Yamamoto., T. Horie. and S. Watanabe-kohro. 1983. Flavonoids potent inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 116(2), 612
- 橋口亮, 錦木和. 1984. 鮮魚の鮮度低下に伴うに直の變化と總指質の變について, *日食工誌*, 31(1), 1~9
- 歷野壽, 農水正道. 1973. 低溫貯藏中におけ漁肉の指質變化-II, *日水誌*, 39(4), 417
- 青山捻, 丸山武. 1985. トコフェロホルの酸化防止效果向上に關する研究 ワエン酸イソワロヒルひフェノール性酸化防止劑との相乗性, *油化學*, 34(7), 558
- 권미나, 최재수, 변대석. 1993. 어유 및 과산화 어유를 섭취한 흰쥐에 있어서 플라보노이드(+)-카테킨의 산화안정 효과, *한국영양식량학회지*, 22(4), 381
- 정인학. 1988. 정제 정어리유의 고도불포화지방질의 이용, 부산수산대학교 박사학위 논문
- 한대석, 이옥숙, 신현경. 1991. 천연 산화방지제가 어유의 산화안정성에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, 23(4), 433
-
- 1993년 11월 5일 접수
1994년 3월 2일 수리