

분유의 유지 산화안정성

최은옥* · 차준환

인하대학교 가정대학 식품영양학과

초록 : DHA(cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid)가 첨가된 분유와 보통분유의 저장중 지방의 산화안정성을 thiobarbituric acid법에 의해 살펴보았다. 두 종류의 분유는 지역의 슈퍼마켓에서 구입하여 시료병에 2 ± 0.05 g씩 넣어 암소와 빛의 존재하에서 저장하였다. DHA가 첨가된 분유 지방 산화는 보통 분유보다 증가되었고 특히 빛의 존재하에서 산화는 더욱 촉진되었다. 빛과 DHA를 포함한 불포화지방산은 분유지방을 산화시킴에 있어 상호 역할을 강화시키고 있었다. DABCO (diazabicyclooctane)를 분유에 첨가하면 빛에 노출된 분유의 지방 산화를 줄였는데 이는 분유에서도 일중항산소에 의한 광산화가 발생함을 암시한다. DABCO에 의한 유지방의 산화 억제 정도는 DHA가 첨가된 분유에서 높게 나타났다(1995년 4월 10일 접수, 1995년 6월 2일 수리).

서 론

지방이 함유된 식품의 저장성을 결정하는 요인 중의 하나인 지방의 산화는 지방 분자에 산소가 반응함으로써 시작되는데 이 반응에 관여하는 산소에는 삼중항산소(triplet oxygen)와 일중항산소(singlet oxygen)의 두 종류가 있다. 이들 산소는 서로 다른 전자 배치를 갖고 있으며 반응성도 다르다. 삼중항산소와 반응하는 지방은 유리기 상태이어야 하며 일중항산소는 이중결합을 가지고 있는 탄소에 직접 반응할 수 있다¹⁾. 일중항산소에 의한 지방 산화는 일단 일중항산소가 생성되기만 한다면 그 속도가 무척 빠르며 이 일중항산소의 생성에는 빛, 감광제, 삼중항산소가 관여함이 알려져 왔다²⁾. 따라서 이들이 지방을 함유한 식품에 함께 존재할 때 지방의 산화는 더욱 촉진되며 그 외에도 지방산의 조성 등, 지방산화에 영향을 미치는 인자는 많다. 최근 어유에 주로 함유되어 있는 DHA (cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid)의 뇌발달과 노화에 대한 긍정적인 효과^{3,4)} 및 암세포 증식 억제 효과⁵⁾에 대한 보고는 이들을 식품에 첨가시키게 하였고 이미 우리나라에서도 유제품과 참치통조림에 DHA를 첨가한 제품들이 시판되고 있다. 그러나 DHA는 높은 불포화도로 인하여 이것이 첨가된 식품의 지방산화에 좋지않은 영향을 끼칠 수 있다. 특히 광산화에서 감광제 역할이 제기된 리보플라빈을 함유한 유제품중 제품개봉후 대개 실온에서 방치되는 분유의 경우에는 DHA첨가가 유지방 산화에 영향을 미칠 수 있으나 이에 대한 연구는 보고된 바 없다. 이에 본 연구에서는 기존의 분유와 DHA가 첨가된 분유의 지방 산화안정성을 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

찾는말 : DHA, powdered milk, lipid oxidation stability

*연락처자

본 실험에서는 서울의 M사에서 제조된 두 종류의 조제분유를 시중에서 구입하여 사용하였다. 이들의 100 g당 조성은 탄수화물(51 g), 단백질(19 g), 지방(23.5 g), 회분(4 g), 비타민 A(1,500 IU), 티아민(0.4 mg), 리보플라빈(1.0 mg), 비타민 B₆(0.3 mg), 비타민 B₁₂(2 µg), 비타민 C(50 mg), 비타민 D₃(380 IU), 비타민 F(2,700 mg), 토코페롤(5 IU), 비오틴(20 µg), 니코틴산아미드(6 mg), 엽산(100 µg), 판토텐산(2 mg), 칼슘(700 mg), 인(380 mg), 철(7.5 mg), 아연(2.7 mg), 구리(320 µg), 인지질(230 mg), 올리고당(1,000 mg)으로 동일한 것으로 표기되었으며 단지한 종류에 분유 100 g당 45 mg의 DHA가 첨가된 차이가 있었다.

분유의 지방산 조성 분석

분유에 함유된 지방은 에테르와 석유에테르를 이용한 AOAC 표준방법(AOAC 932.06)⁶⁾에 의해 추출되었다. 추출물로부터 용매는 회전진공농축기를 이용하여 45°C에서 휘발시키고 유지방만을 취하여 삼불화붕소 메탄올법을 이용한 일본기준유지 실험법⁷⁾에 의하여 메틸화시켰다. 즉, 추출된 지방 0.5 g을 1/2 N NaOH 5 ml와 함께 모래증탕에서 10분간 끓인 후 14% BF₃-methanol 5 ml를 넣었다. 여기에 다시 n-hexane 5 ml를 넣고 식힌 후 약간의 소금을 넣어 상징액 1 µl를 GC(Hewlett Packard 5890; Avondale, PA, U.S.A.)에 주입시켰다. SupelcowaxTM-10 column(30 mx0.53 mm id., 1 µm thick)을 사용하였고 오븐은 180°C에서 3분간 유지하다가 1분에 3°C씩 250°C까지 증가시켰다. Injector, flame ionization detector의 온도는 모두 280°C이었다. 운반기체로는 헬륨이 사용되었고 분할비는 1 : 50이었다.

DABCO가 유지방의 산화에 미치는 영향

분유 14 ± 0.05 g을 탈염수에 녹여 100ml로 만들어 사

용하였다. 이때 DABCO(diazabicyclo [2,2,2] octane; Sigma Chemical Co., St. Louis, U.S.A.)를 우유내에서 0 , 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-5} M 농도가 되도록 함께 첨가하였다. 준비된 시료 용액을 10 ml씩 50 ml 시료병에 넣고 parafilm으로 막은 후 항온기에서 2시간동안 빛을 쬐여주었다. 모든 시료는 중복되게 준비하였다.

저장시료의 준비 및 저장 조건

두 종류의 분유를 각각 2 ± 0.05 g씩 정확히 칭량하여 50 ml 시료병(Supelco, Bellefonte, PA, U.S.A.)에 넣고 parafilm을 사용하여 봉한 후 시료로 삼았다. 시료들은 두 군으로 나뉘어져 한 군은 그대로, 다른 한 군은 알루미늄박으로 씌워져 빛의 유입을 막았다. 모든 시료는 중복되게 준비하였다. 준비된 시료는 형광등(10W; 번개표, FL10D; 금호전기)이 2개 내장된 항온기에 넣어 5주간 저장되어 1주일에 두번 산화정도가 분석되었다. 형광등이 켜진 상태에서 항온기내의 온도는 40°C 로 유지되었다.

시료의 유지 산화정도 분석

준비된 시료는 TBA(thiobarbituric acid)방법에 의해 유지지방의 산화에 의해 생성된 malonaldehyde를 측정함으로써 산화정도가 분석되었다. 항온기에서 꺼내어진 시료로부터 위의 AOAC 표준방법에 의해 지방을 추출한 후 용매를 회전진공농축기를 이용하여 45°C 에서 휘발시켰다. 잔사는 1-butanol(Junsei Chemical Co., Japan)에 녹이고 1-butanol에 녹인 TBA시약(MTM Research Chemicals, England)을 반응시켜 95°C 에서 2시간 가열, 냉각하여 비색계로 흡광도를 측정하는 AOCS 표준방법⁸⁾ (AOCS Cd 19-909)에 의해 TBA값을 결정하였다. 사용된 비색계는 곁살분광계(Perkin-Elmer, Germany)로 530 nm

의 파장이 사용되었다.

결과의 통계적 처리

저장 실험에서 얻어진 결과는 SAS⁹⁾를 이용하여 분석되었는데 이때의 유의수준은 5%이었다.

결과 및 고찰

분유의 지방산 조성

분유의 지방산 조성은 Table 1과 같다. 두 종류 모두 팔미틴산, 올레산과 리놀레산이 주를 이루고 있으며 두 분유에 있어서 그 조성은 큰 차이를 보이지 않았으나 DHA가 첨가된 분유의 불포화도가 조금 더 높게 나타났다. 우유 지방의 1~4% 정도 함유되어 있는 것으로 보고¹⁰⁾된 리놀레산이 분유에는 매우 많이 함유되어 있었는데 이것은 본 실험에 사용된 분유가 생후 9개월부터 3세까지의 유아를 대상으로 하는 제품으로 필수지방산인 리놀레산을 강화시킨 때문이다.

분유의 광산화에 미치는 DABCO의 영향

DABCO의 존재하에 빛에 노출된 분유 지방의 산화에 의한 시료의 TBA값은 Table 2와 같다. 빛에 노출된 두 종류의 분유는 DABCO가 첨가되었을 때 그렇지 않은 경우보다 낮은 TBA값을 보였다. 이는 DABCO에 의하여 유지지방의 광산화가 억제되었음을 나타낸다. 일중항산소의 소거제로 널리 알려진 DABCO에 의해 유지지방의 광산화가 억제된다는 사실은 본 실험에 사용된 분유지방의 산화에 일중항산소가 관련되었음을 간접적으로 나타낸다. 즉 분유에 10 ppm정도 존재하는 리보플라빈이 감광제로 작용하여 공기 중의 삼중항산소와 빛에너지를 이용하여 일중항산소를 생성하는 일련의 과정이 분유에서도 진행되고 있음을 암시한다. 리보플라빈은 쉽게 산화, 또는 환원될 수 있거나 높은 친수성으로 인하여 유지에 더 잘 용해되는 산소와의 반응이 잘 일어날 수 없기 때문에 광산화중 흔히 type I 경로를 취하는 것으로 알려져 왔다¹¹⁻¹³⁾. 즉, 리보플라빈이 빛을 받아 들뜨고 다시 계간전이(intersystem crossing)에 의하여 삼중항상

Table 1. Fatty acid composition of milk powder

Fatty acid	Relative area ratio (%)	
	OM ^{a)}	DM ^{b)}
C _{8:0}	0.28	0.31
C _{10:0}	0.69	0.69
C _{12:0}	4.45	4.61
C _{14:0}	5.61	5.55
C _{14:1}	0.21	0.21
C _{15:0}	0.18	0.18
C _{15:1}	0.37	0.36
C _{16:0}	28.06	26.65
C _{16:1}	0.68	0.76
C _{17:0}	0.20	0.21
C _{17:1}	0.27	0.27
C _{18:0}	7.87	7.90
C _{18:1}	31.35	30.79
C _{18:2}	18.66	20.02
C _{18:3}	0.41	0.64
C _{22:6}	nd ^{c)}	0.17

^{a)}Ordinary milk powder ^{b)}DHA-added milk powder ^{c)}not detected

Table 2. TBA values of milk fat illuminated for 2 hours at 40°C in the presence of DABCO

Samples	TBA values
OML ¹⁾	8.86
OML+DABCO(10^{-5} M)	8.80
OML+DABCO(10^{-4} M)	8.43
OML+DABCO(10^{-2} M)	9.53
DML ^{b)}	10.36
DML+DABCO(10^{-5} M)	10.22
DML+DABCO(10^{-4} M)	9.30
DML+DABCO(10^{-2} M)	8.14

^{a)}Ordinary milk powder under light ^{b)}DHA-added milk powder under light

Table 3. TBA values of fat in milk powder stored for 5 weeks

Samples	Storage Days (days)										
	0	3	7	10	14	17	21	24	28	31	35
DML ^{a)}	10.76	16.01	11.79	10.49	11.80	7.89	11.03	9.63	9.52	11.85	10.02
OML ^{b)}	9.30	10.90	9.20	8.33	9.01	4.84	7.85	7.67	6.84	9.59	7.76
DMD ^{c)}	10.76	17.26	9.91	7.13	9.25	5.44	6.53	6.71	6.97	5.81	4.41
OMD ^{d)}	9.30	11.20	7.50	6.83	8.34	5.16	5.99	6.27	5.56	3.95	4.44
R1(% ^{e)}	0	-7.2	19.0	47.1	27.5	45.1	68.9	43.4	36.6	103.8	127.1
R2(% ^{f)}	0	-2.7	22.6	22.0	8.0	-6.2	31.0	22.2	22.9	142.7	74.8
R3(% ^{g)}	15.6	46.9	28.1	25.9	31.0	62.8	40.6	25.5	39.3	23.6	29.1
R4(% ^{h)}	15.6	54.1	32.1	4.4	11.0	5.3	9.1	7.0	25.3	47.2	-0.7

^{a)}DHA-added milk powder stored under light, ^{b)}Ordinary milk powder stored under light, ^{c)}DHA-added milk powder stored under dark, ^{d)}Ordinary milk powder stored under dark, ^{e)}(TBA value of DML-TBA value of DMD)/TBA value of DMD, ^{f)}(TBA value of OML-TBA value of OMD)/TBA value of OMD, ^{g)}(TBA value of DHA-added milk powder-TBA value of ordinary milk powder)/TBA value of ordinary milk powder when stored under light, ^{h)}(TBA value of DHA-added milk powder-TBA value of ordinary milk powder)/TBA value of ordinary milk powder when stored under dark.

태로 된다. 이것은 기질인 유지와 반응하여 수소 또는 전자 교환을 거쳐 유지를 유리기 상태로 만들고 다시 삼중항산소와 반응하여 과산화물을 만들기 때문에 일중항산소가 관련되지 않는 것으로 알려져 왔다¹⁴⁾. 그러나 본 실험에서는 일중항산소의 소거제인 DABCO에 의해 유지지방의 산화가 억제되는 것으로 보아 Aurand¹⁵⁾가 지적한 것처럼 유지지방의 산화에 type II경로도 관련되는 것으로 생각된다. 분유에 존재하는 리보플라빈이 빛에 의해 들뜬 상태로 되고 다시 공기 중의 삼중항산소와 반응하여 일중항산소를 만든 후 직접 유지의 탄소-탄소 이중결합에 작용하여 과산화물을 만든 것으로 생각된다.

저장에 따른 분유 지방의 산화

40°C 항온기에서 5주간 저장된 분유의 TBA값의 변화는 Table 3과 같다. 빛의 존재에 의하여 저장중인 두 종류의 분유는 높은 TBA값을 보이고 있다. 이는 Aurand의 연구¹⁵⁾와 마찬가지로 빛이 사용된 두 종류의 분유의 지방산화를 촉진하고 있음을 나타낸다. 그러나 빛의 존재가 유지지방의 산화를 촉진하는 정도는 두 종류의 분유에서 다르게 나타났다. 리놀레산, 리놀렌산, DHA등이 더 많이 함유된 DM의 경우 빛의 존재에 의한 TBA값의 차이 백분율인 R1 {(빛의 존재하에 저장된 분유의 TBA값-어두운 곳에 저장된 분유의 TBA값)/어두운 곳에 저장된 분유의 TBA값}은 불포화도가 낮은 보통 분유에서의 빛의 존재에 의한 TBA값의 차이백분율인 R2에 비해 높은 값을 보이고 있다. 이는 빛의 존재가 DHA가 첨가된, 불포화도가 높은 분유의 지방산화를 더욱 촉진시키고 있음을 나타낸다. 불포화도에 따라 광산화 또는 자동산화에 올레산, 리놀레산, 리놀렌산이 미치는 영향은 다른 것으로 알려져 왔다.

한편, 빛의 존재하에서, DHA가 첨가된, 불포화도가 높은 분유와 보통분유의 TBA값의 차이백분율인 R3 {(DHA가 첨가된 분유의 TBA값-보통분유의 TBA값)/보통 분유의 TBA값}는 어두운 곳에서의 DHA가 첨가된,

Table 4. Means of TBA values of fat in milk powder stored for 5 weeks

Sample	Mean	Tukey's Grouping ^{a)}
DML ^{b)}	10.98	A
OML ^{c)}	8.30	B
DMD ^{d)}	8.18	B
OMD ^{e)}	6.78	C

^{a)}Means with the same letter are not significantly different at $\alpha=5\%$, ^{b)}DHA-added milk powder stored under light, ^{c)}Ordinary milk powder stored under light, ^{d)}DHA-added milk powder stored under dark, ^{e)}Ordinary milk powder stored under dark

불포화도가 높은 분유와 보통분유의 TBA값의 차이백분율인 R4보다 대체로 높은 값을 보이고 있다. 이것은 예측된 것처럼 불포화도가 높은 분유는 그렇지 않은 분유에 비해 특히 빛에 민감하여 지방 산화가 많이 일어나며 따라서 산화안정성이 떨어짐을 의미한다. 불포화도가 높은 분유의 경우 그렇지 않은 분유에 비해 일중항산소 생성에 절대적인 빛의 존재에 의해 산화가 촉진된 것으로 생각된다. 또한 위의 관찰들은 유지지방의 불포화도와 빛의 존재가 분유지방의 산화에 서로의 기능을 강화시키고 있음을 암시한다.

Table 4는 빛의 존재 여부에 따른 시료의 TBA값의 평균값들이다. 평균적으로 DHA가 첨가된, 불포화도가 높은 분유가 빛의 존재하에 저장될때 가장 높은 값을 보였으며 암소에 저장된 보통 분유가 가장 낮은 값을 보였다. 이들은 5% 유의수준에서 서로 다른 산화정도를 보였다.

감사의 글

본 연구는 1993년도 인하대학교 부설 생활과학연구소 연구비 지원으로 이루어졌기에 이에 감사를 드립니다.

참고 문헌

1. Korycka-Dahl, M. B. and T. Richardson (1978) Activated oxygen species and oxidation of food constituents. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **10**, 209-241.
2. Stevens, B. (1978) Kinetics of singlet oxygen peroxidation. In 'Singlet Oxygen,' Ranby, B. and J. F. Rabek, (ed.), p.54, John Wiley & Sons, Inc., New York.
3. 이양자 (1994) w3계 지방산의 영양생화학적 기능. *한국영양학회지* **27**, 600-615.
4. 최진호, 윤형식, 도코사헥사엔산(DHA)과 노화. *한국영양학회지* **27**, 646-654.
5. 황우익, 지유환, 우미정, 이지영, 참치 DHA의 암세포 증식 억제효과. *한국영양학회지* **27**, 655-662.
6. A. O. A. C. (1990) Official Methods of Analysis, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
7. 일본유지화학협회 (1983) 일본기준유지실험법. 일본유지화학협회 동경
8. A. O. C. S. (1990) Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 4th ed., American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois.
9. 최병선 (1991) PC SAS 입문, p221-247, 박영사
10. Walstra, P. and R. Jenness (1984) Dairy Chem. and Physics. p64-65, John Wiley & Sons, Inc., New York.
11. Fritz, B. J., K. Matsui, S. Kasai, and A. Yoshimura (1987) Triplet lifetimes of some flavins. *Photochem. Photobiol.* **45**, 539-541.
12. Penzer, G. R. (1970) The chemistry of flavins and flavoproteins: Aerobic photochemistry. *Biochem. J.* **116**, 733-743.
13. Grodowski, M. S., B. Veyret, K. Weiss (1977) Photochemistry of flavins. II. Photophysical properties of alloxazines and isoalloxazines. *Photochem. Photobiol.* **26**, 341-352.
14. Min, D. B., S. H. Lee and E. C. Lee (1989) Singlet oxygen oxidation of vegetable oils, In 'Flavor Chemistry of Lipid Foods' p64-65 A.O.C.S. Champaign, Illinois.
15. Aurand, L. W., N. H. Boone and G. G. Giddings (1976) Superoxide and singlet oxygen in milk peroxidation. *J. Dairy Sci.* **60**, 363-369.

Oxidative Stability of Fat in Milk Powder

Eunok Choe* and Joonhwan Cha (*Department of Food Science and Nutrition, The Inha University, 253 Yonghyondong, Namgu, Incheon 402-751, Korea*)

Abstract: Oxidative stabilities of fat in DHA(*cis*-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid)-added dry milk and ordinary dry milk during storage were studied by determining thiobarbituric acid values of samples. Two kinds of milk powder samples were purchased in the local supermarket and 2 ± 0.05 g of samples were transferred into serum bottles, which were stored under the light or under dark. The oxidation of fat in DHA-added milk powder was higher than that of fat in ordinary milk powder and the acceleration was more evident in the presence of light. Light and unsaturated fats accelerated synergistically oxidation of milk fat. Addition of DABCO(diazabicyclooctane), which is an efficient singlet oxygen quencher, significantly decreased the photooxidation of milk fat. This result clearly suggested that singlet oxygen oxidation (Type II reaction) was involved in the system. Deceleration of milk fat oxidation by DABCO was higher in the DHA-added milk powder.

*Corresponding author