KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 50, No. 3, pp. 267~273 (2018)
https://doi.org/10.9721/KJFST.2018.50.3.267

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

마유(Horse Fat)의 산화안정성에 대한 α-, γ-, δ-토코페롤의 첨가 효과

박윤형[1] · 조만재[1] · 김현정[1,*]
[1]제주대학교 식품생명공학과

Effects of α-, γ-, and δ-tocopherol on the oxidative stability of horse fat

Youn Hyung Park[1], Man Jae Cho[1], and Hyun Jung Kim[1,*]
[1]*Department of Food Bioengineering, Jeju National University*

Abstract Horse fat was extracted from fatty horse meat at 70°C under vacuum conditions. The oxidative stability of horse fat was investigated by the addition of 0, 30, 60, and 150 mg/kg of α-, γ-, or δ-tocopherol during storage of 14 days at 65°C in the dark. Changes of tocopherol concentration and fatty acid composition, peroxide value, and 2-thiobarbituric acid (TBA) value were analyzed during storage. The levels of the added tocopherols were found to decrease during storage. Unsaturated fatty acids contents of horse fat without tocopherol decreased from 60.87% to 57.22% after 14 days. The peroxide value and TBA value increased as storage time increased. The peroxide values of horse fat after addition of 0, 30, 60, and 150 mg/kg of γ-tocopherol were 43.75, 25.17, 20.87, and 15.41 meq/kg, respectively, and the TBA values were 7.87, 5.64, 4.43, and 4.23 mg malonaldehyde (MA)/kg, respectively, after 14 days. At the concentration of 150 mg/kg, both γ- and δ-tocopherol impeded the oxidation of horse fat during storage.

Keywords: horse fat, oxidative stability, tocopherol, peroxide value, TBA value

서 론

마유(Horse Fat)는 말지방육에서 추출한 지방질로 한국, 몽골, 일본 및 중국 등 아시아 전역에서 이미 민간요법으로 오랫동안 이용되어 왔다(Jang 등, 2014). 마유에 관한 효능은 고대 중국으로부터 내려오는 황제내시경 영추 편에서 마고 혹은 마기고를 이용하여 상처나 화상 치료의 효과가 있다고 소개하였고, 남북조시대 의약학자 도홍경의 본초경집주에는 모발을 자라게 하기 위해 마두고를 사용했음이 나타나있다(Lee 등, 2013). 마유는 사람 피하지방의 지방산 구성비와 유사하여 사람의 피부와 친화성이 높으므로 피부의 유수분 밸런스에 도움을 주고, 특히 마유에 함유되어 있는 지방산인 palmitoleic acid ($C_{16:1}$)는 사람 피부에서 분비되는 피지의 주요 성분이기도 하다(Han과 Cho, 2016). 또한 마유가 피부에서 그람양성세균에 대해 항균 및 항염증 효과, 피부의 천연 보호막을 형성하여 피부 보습에 효능이 있는 것으로 보고되었다(Choi 등, 2014). 최근 마유의 피부에 대한 장점이 알려져 한국을 포함한 아시아 국가에서는 마유를 함유한 화장품 생산이 증가하고 있는 추세이지만(Kim 등, 2016) 마유의 성분 분석이나 산화 특성 등에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다.

마유는 동물성 유지이지만 불포화지방산이 포화지방산에 비해 높은 함량을 차지하여 가공 및 저장 기간 동안 유지 산화에 더 민감하여 품질 저하를 일으키기 쉽다(Hur 등, 2005). 유지 산화의 전형적인 메커니즘인 자동산화는 자유라디칼(free radical) 연쇄반응에 의해 중간 생성물질인 과산화물(hydroperoxide)을 형성하는데, 이 과정에서 산화방지제(antioxidant)는 자유라디칼 억제제로서 산화 동안 생성된 자유라디칼을 안정화시켜 과산화물 생성을 억제할 수 있다(Choe와 Min, 2006). 산화방지제로서 비타민 E인 토코페롤은 지용성 식품이나 제품에 널리 사용되고 있다(Faustman 등, 2003; Lee, 1993). 토코페롤 동족체인 α-, β-, γ-, δ-토코페롤은 생물학적 활성과 산화방지 활성이 상이한 것으로 보고되고 있고 첨가되는 매체의 종류에 따라 영향을 받을 수 있어 유지에 따라 이를 검증하는 연구가 필요하다(Lee 등, 1992). 따라서 본 연구에서는 말지방육으로부터 추출한 마유에 토코페롤 동족체인 α-, γ-, δ-토코페롤을 농도별로 첨가하여 저장기간에 따른 산화안정성을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 말 지방육은 농업회사법인 고우니(Jeju, Korea)에서 구입하였다. α-, γ-, δ-토코페롤, GC용 아이소옥테인(2,2,4-trimethylpentane), 14% BF_3-메탄올 용액과 지방산 분석용 내부표준물질(triundecanoin)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 지방산 메틸에스터 혼합물(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)은 표준지방산으로 사용하였다. HPLC용 아세토나이트릴, 메탄올, 아세트산, 테트라하이드로퓨란, 에탄올과 토코페롤 표준물질을 Merck Co. (Darmstadt, Germany)에서 구입하였다.

마유 추출 및 토코페롤 첨가

말 지방육 3 kg을 분쇄기(MN-22S, Hankook Fujee Industries, Hwaseong, Korea)를 이용하여 분쇄한 후에 초고속 감압 저온농

*Corresponding author: Hyun Jung Kim, Department of Food Bioengineering, Jeju National University, Jeju 63243, Korea
Tel: +82-64-754-3614
Fax: +82-64-755-3601
E-mail: hyunjkim@jejunu.ac.kr
Received February 20, 2018; revised April 9, 2018;
accepted April 10, 2018

축추출기(Cosmos-660, Kyungseo E&P, Incheon, Korea)에 말 지방육과 정제수를 1:1 비율로 넣어 –1기압에서 70°C로 3시간 30분 동안 마유를 추출하였다. 추출된 마유를 분리한 후 남아있는 말 지방육에 다시 정제수를 넣고 –1기압에서 70°C 온도로 3시간 30분 동안 재추출하였다. 재추출된 마유를 수거 후에 1차로 분리된 마유와 함께 다시 추출기에 넣은 뒤 –1기압에서 70°C로 3시간 30분 동안 추출 과정을 추가하였다. 추출된 마유는 거름종이(non-woven fabric, Hana Industry, Gimpo, Korea)를 이용하여 여과한 후 유지 내의 자유 지방산 제거를 위하여 수산화소듐(NaOH, Young Jin Chemistry, Bucheon, Korea) 0.2%를 첨가하여 교반하였고(Shin 등, 2008), 하루 동안 상온에서 중화시켰다. 중화된 마유는 잔존해 있는 검질 제거를 위해 끓는 물에서 30분 동안 중탕 처리하였다. 중탕 처리가 끝난 후에는 여과하여 200 g씩 소분해 삼각플라스크에 옮겨 담았다. 여기에 α-, γ-와 δ-토코페롤을 각각 0, 30, 60, 150 mg/kg 농도로 첨가하여 교반기(MS-D, Daihan Scientific, Wonju, Korea)로 교반 후 65°C로 14일 동안 보관하며 산화안정성 분석을 실시하였다.

토코페롤 분석

마유 추출 후 마유에 함유된 토코페롤 함량과 첨가된 α-, γ-와 δ-토코페롤이 시료에 잘 분산되었는지 확인하기 위해 토코페롤 분석을 Joseph(2011) 방법을 수정하여 다음과 같이 수행하였다. 분석 시료는 마유 1 g을 1 mL 에탄올에 용해시킨 후 10배 희석하여 준비하였고, HPLC (Agilent 1260 series, Agilent Technologies, Waldbronn, Germany)-DAD (Diode Array Detector)와 칼럼은 Zorbax eclipse plus C18 rapid resolution (4.6×100 mm, 3.5 μm, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)을 사용하였다. 이동상 용매(75:25:5=아세토나이트릴:메탄올:0.035% acetic acid in tetrahydrofuran)는 0.45 μm filter (hydrophobic PTFE membrane filter, SciLab Korea Co., Ltd., Seoul, Korea)로 여과 후 초음파기(Power Sonic 410, Hwashin Tech Co., Gwangju, Korea)를 이용하여 기포를 제거하였다. 이동상의 유속은 0.8 mL/min, 시료 주입량은 10 μL였고 칼럼 온도는 45°C로 유지되었으며 검출기 파장은 220 nm에서 분석하였다. 각 토코페롤의 함량은 토코페롤 표준물질(Merck Co.)을 10, 20, 40 mg/L의 농도로 용해시킨 후 분석하여 각 토코페롤의 머무름 시간(retention time)과 피크면적을 비교하여 계산하였다.

지방산 조성 분석

마유 지방산 조성 분석은 AOCS(2004)법에 따라 분석하였다. 지방산 유도체화를 위해 마유 25 mg을 유리시험관에 취하고 내부표준용액(1 mg triundecanoin/mL 이소옥탄) 1 mL을 첨가한 후, 0.5 N 메탄올성 수산화소듐 용액 1.5 mL을 가하여 혼합하였다. 이를 100°C에서 5분간 가열하고 냉각한 뒤 14% BF_3-메탄올 용액 2 mL를 가하고 100°C에서 30분간 가열하였다. 이어 30-40°C로 식힌 후 아이소옥테인 1 mL를 가하여 30초간 격렬히 교반하였고, 포화 염화소듐 용액 5 mL를 가하여 상온으로 냉각한 후 분리된 아이소옥테인 층을 무수황산소듐(Daejung Chemicals Co., Siheung, Korea)으로 탈수하고, FAME (fatty acid methyl ester)을 함유하는 아이소옥테인 층을 분리한 후 가스크로마토그래피(Gas chromatography, GC; QP2010Plus, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 지방산을 분석하였다. 분석에 사용된 칼럼은 SP-2560 (100 m× 0.25 mm i.d., 0.25 m thickness, Sigma-Aldrich)이었으며, GC의 주입구(injector) 온도는 225°C, 오븐 온도는 100°C에서 4분간 유지한 후 3°C/min 속도로 240°C까지 상승시키고 이후 15분 이상 유지하였다. 검출기(flame ionization detector, FID) 온도는 285°C였고, 운반 기체인 헬륨을 0.75 mL/min로 유지하였다. 분석된 각 지방산은 지방산표준물질(Supelco-37 FAME, Sigma-Aldrich)과 머무름 시간(retention time)을 비교하여 분석하였다.

과산화물값과 TBA (Thiobarbituric Acid)값 분석

마유의 산화안정성 분석을 위해 과산화물값(peroxide value)은 AOAC(1995) 방법을 이용하고 TBA값은 Sidwell(1954)이 제시한 방법으로 측정하여 mg malonaldehyde (MA)/kg으로 나타내었다.

통계분석

독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 실험결과를 평균과 표준편차로 나타내었다. 모든 실험 결과의 유의성 검증은 SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 ANOVA 분석 후 Duncan의 다중범위검정을 실시하였다. 각 실험값 사이의 유의적인 차이는 $p<0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

토코페롤 함량 변화

말 지방육을 감압 조건으로 70°C에서 추출한 마유에는 α-토코페롤 9.5 mg/kg과 γ-토코페롤 6.5 mg/kg이 함유되어 있었다(data not shown). 동물성 유지 중 쇠기름은 α-토코페롤 30.4 mg/kg과 γ-토코페롤 3.8 mg/kg을 함유하고 있고(Choe와 Lee, 1998), 돼지기름은 α-토코페롤 18 mg/kg을 함유하고 있다고 보고되었는데(Choe와 Min, 2006), 마유에 함유된 토코페롤 함량은 일반적인 동물성 유지와 마찬가지로 낮은 경향을 나타내었다. 추출된 마유에 α-, γ-, δ-토코페롤을 각각 30, 60, 150 mg/kg 농도로 첨가하였을 때 실험 0일차의 각각의 토코페롤 함량은 24.01-28.25, 48.36-55.47, 123.17-161.37 mg/kg (Table 1)로 분석되었고, 이들을 65°C에서 14일 저장하는 동안 모든 토코페롤의 함량은 감소되었다. 이는 마유에 첨가된 토코페롤이 저장 동안 분해되었음을 말하는데 토코페롤은 잘 알려진 산화방지제로서 유지의 산화 동안 과산화 라디칼에게 수소를 제공하고 자신은 산화되어 퀴논류로 전환되므로 그 함량이 감소된 것으로 보인다(Choe와 Min, 2006). 또한 α-토코페롤 30, 60, 150 mg/kg 첨가 시 저장 2일, 5일, 13일 이후에는 모두 소실되었고, γ-와 δ-토코페롤은 150 mg/kg을 첨가한 경우 저장 14일에 26.19과 31.77 mg/kg을 함유하고 있어 토코페롤의 종류에 따라 마유의 산화안정성 유지에 차이를 나타내었다.

Table 1의 저장 중 마유에 첨가된 토코페롤 함량 변화와 산화시간과의 상관 관계를 Table 2에 나타내었다. 산화시간(즉, 저장일수)과 토코페롤 함량 사이의 회귀직선 기울기로부터 토코페롤의 분해율(k)을 결정하였다. α-, γ-, δ-토코페롤의 첨가량이 30, 60, 150 mg/kg로 증가할수록 k값은 감소되었는데($p<0.05$), 이는 상이한 농도로 첨가된 토코페롤의 분해 속도가 다르다는 것을 의미한다. 따라서 첨가된 토코페놀의 농도가 높을수록 마유의 산화안정도에 대한 기여도가 높게 나타났다. 토코페롤의 종류에 따른 토코페롤의 분해율은 α-토코페롤>γ-토코페롤>δ-토코페롤 순으로 나타났고, k값이 낮은 δ-토코페롤의 분해 속도가 가장 낮았다. 이는 Adam 등(2007)이 콩기름에 존재하는 토코페롤 동족체 중 δ-토코페롤의 분해속도가 가장 낮았고 α-토코페롤의 분해속도가 가장 높았다는 보고와 같은 경향을 나타내었다. Chung 등(2012)은 가열 중 들깨죽에 함유된 토코페롤의 분해속도를 비교하였는데 δ-토코페롤의 분해속도가 가장 낮았고 α-토코페롤의 분해속도가 가장 높았다고 보고하여 마유에 첨가된 토코페롤 변화와 같은 경

Table 1. Changes of α-, γ-, and δ-tocopherol concentration added in horse fat during storage of 14 days at 65°C in the dark

Storage (day)	30 mg/kg Addition			60 mg/kg Addition			150 mg/kg Addition		
	α-Tocopherol	γ-Tocopherol	δ-Tocopherol	α-Tocopherol	γ-Tocopherol	δ-Tocopherol	α-Tocopherol	γ-Tocopherol	δ-Tocopherol
0	28.25±1.30^{a}	24.01±0.38^{a}	25.21±6.50^{a}	55.47±1.48^{a}	48.36±3.28^{ab}	50.70±6.16^{a}	161.37±3.60^{a}	123.17±3.43^{a}	154.15±8.79^{a}
1	19.26±1.25^{b}	21.61±1.03^{ab}	23.35±5.00^{a}	49.79±0.81^{b}	42.81±3.43^{ab}	47.89±2.45^{a}	157.06±3.60^{ab}	116.60±2.55^{b}	151.48±8.49^{a}
2	10.83±1.01^{c}	20.01±1.24^{b}	20.56±4.15^{ab}	44.28±0.43^{c}	37.15±2.46^{bc}	43.53±1.94^{b}	153.02±1.69^{b}	106.69±1.11^{c}	148.74±8.46^{a}
3	ND[1)]	13.64±3.14^{c}	14.89±0.67^{bc}	32.82±0.51^{d}	32.69±5.49^{bc}	38.47±1.89^{c}	145.30±6.90^{c}	94.34±1.82^{d}	134.48±9.93^{b}
4	ND	9.18±1.88^{d}	10.23±0.45^{cd}	21.29±0.49^{e}	29.76±4.57^{cd}	33.02±1.68^{d}	127.64±1.39^{d}	89.08±1.68^{e}	121.62±4.42^{c}
5	ND	4.01±1.27^{e}	5.49±0.55^{d}	11.89±0.87^{f}	25.99±2.39^{de}	28.11±2.02^{e}	114.07±0.22^{e}	83.47±2.02^{f}	114.72±0.96^{d}
6	ND	ND	ND	ND	20.25±5.64^{ef}	23.05±1.86^{f}	109.38±4.79^{e}	73.51±2.50^{g}	106.25±6.87^{e}
7	ND	ND	ND	ND	18.55±5.72^{ef}	19.42±0.87^{f}	86.47±2.17^{h}	69.64±4.58^{h}	96.07±1.91^{ef}
8	ND	ND	ND	ND	16.89±5.95^{f}	14.85±1.75^{g}	72.82±1.96^{i}	61.34±1.67^{i}	87.53±1.66^{fg}
9	ND	ND	ND	ND	15.76±5.74^{f}	11.74±0.90^{g}	62.18±3.32^{j}	50.83±1.84^{j}	79.07±2.61^{g}
10	ND	ND	ND	ND	6.35±1.73^{g}	5.71±1.19^{h}	52.07±1.65^{k}	47.29±1.90^{j}	70.44±4.09^{g}
11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	37.86±1.14^{l}	41.07±1.48^{k}	60.93±1.84^{h}
12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	24.45±0.69^{m}	35.24±2.14^{l}	52.06±1.68^{hi}
13	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12.70±1.05^{n}	28.08±1.56^{m}	45.10±2.67^{i}
14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	26.19±1.56^{m}	31.77±4.60^{j}

Each value is expressed as mean±standard deviation of triplicate determination.
Values in the same row within the same concentration with different letters (a-c) are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).
[1)]ND: not detected.

Table 2. Degradation of α-, γ-, and δ-tocopherol in horse fat during storage of 14 days at 65°C in the dark

Tocopherol	Concentration (mg/kg)	Regression parameters[1)]		
		k	$t_{1/2}$ (days)	r^2
α-Tocopherol	30	0.447	1.55	0.997
	60	0.226	3.32	0.984
	150	0.091	7.58	0.991
γ-Tocopherol	30	0.211	3.29	0.978
	60	0.124	5.59	0.976
	150	0.085	8.16	0.991
δ-Tocopherol	30	0.205	3.38	0.981
	60	0.120	5.79	0.998
	150	0.075	9.21	0.996

[1)]Estimated by regression assuming 1st-order kinetics, ln ($[A]/[A]_0$)=k ×time, where [A] and $[A]_0$ are the tocopherol concentration (mg/kg) at times t and 0, respectively, $t_{1/2}$, half-life, and r^2, determination coefficient.

향을 나타내었다. 결과적으로 토코페롤 동족체의 종류에 따라 상이한 분해율을 보였으며 이는 마유의 저장 중 산화안정성에 다르게 영향을 준 것으로 판단된다.

지방산 조성 변화

감압 조건으로 70°C에서 추출한 마유에서 미량의 lauric acid ($C_{12:0}$), myristoleic acid ($C_{14:1}$), arachidic acid ($C_{20:0}$), eicosadienoic acid ($C_{:20:2}$)와 7종의 주요 지방산을 확인하였고, 마유에 α-, γ-, δ-토코페롤을 30, 60, 150 mg/kg 농도로 첨가하여 65°C에서 14일 저장 후 주요 지방산 조성의 변화를 Table 3에 나타내었다. 주요 지방산의 종류는 myristic acid ($C_{14:0}$), palmitic acid ($C_{16:0}$), palmitoleic acid ($C_{16:1}$), stearic acid ($C_{18:0}$), oleic acid ($C_{18:1}$), linoleic acid ($C_{18:2}$), linolenic acid ($C_{18:3}$)이었으며, oleic acid> palmitic acid>linoleic acid>palmitoleic acid>stearic acid>linolenic acid 순으로 많이 함유되어 있었다. 총포화지방산과 불포화지방산의 함량은 39.13%와 60.87%로 약 4:6 비율로, 동물성 유지인 쇠기름(6:4)과 돼지기름(5:5)에 비해 불포화도가 높게 나타났다(Choe와 Min, 2006). 특히, 사람 피하지방의 주요 지방산인 palmitoleic acid의 함량은 마유가 쇠기름과 돼지기름에 비해 2-3배 더 많이 함유하는 경향을 나타내었다(Enig 등, 1983). α-, γ-, δ-토코페롤을 첨가하여 저장한 마유는 지방산 조성의 변화가 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 불포화도가 높은 linoleic acid ($C_{18:2}$)와 linolenic acid ($C_{18:3}$)의 함량이 15.88%와 4.27%에서 토코페롤을 첨가하지 않은 마유의 경우에는 11.44%와 3.37%로 14일 저장 후에 감소하였다. 또한 α-토코페롤을 첨가한 마유에 비해 γ-와 δ-토코페롤을 첨가한 마유에서 linoleic acid와 linolenic acid 함량 감소가 적게 나타났다. 전체적으로 토코페롤을 첨가하지 않은 마유의 불포화지방산 함량은 60.87%에서 14일 후 57.22%으로 감소하였고 포화지방산의 함량은 39.13%에서 42.78%로 증가하였으며 토코페롤을 첨가한 마유에서 불포화지방산 감소량이 적은 경향을 나타내었다. 이는 Lee 등(1994)이 연구한 저장 기간에 따라 돈육의 불포화지방산 함량이 감소하는 것과 같은 결과로 유지는 가열 산화에 의해 불포화지방산의 비율이 감소하고 상대적으로 포화지방산 비율은 증가하게 된다(Choe와 Min, 2006).

과산화물값에 의한 저장 중 산화안정성

감압 조건으로 70°C에서 추출한 마유에 α-, γ-, δ-토코페롤을 0, 30, 60, 150 mg/kg 농도로 첨가하여 암실에서 65°C로 14일 저장하는 동안 과산화물값의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 마유의 과산화물값은 저장기간이 증가할수록 높게 나타나 토코페롤을 첨가하지 않은 마유의 과산화물값은 저장 14일 후에 3.45에서 43.75 meq/kg으로 증가하였다(p<0.05). α-토코페롤을 마유에 첨가한 경우 저장 6일 동안 과산화물값이 첨가하지 않은 마유에 비해 낮게 나타났으나 그 이후에는 증가하는 경향을 나타내었고, 그 농도가 30, 60, 150 mg/kg으로 증가함에 따라 과산화물값은 저장 14일 후에 각각 77.47, 73.90, 71.44 meq/kg으로 토코페롤을 첨가하

Table 3. Changes in fatty acid composition of horse fat with α-, γ-, and δ-tocopherol stored at 65°C for 0 day and 14 days in the dark.

Day	Toco-pherol	Conc. (mg/kg)	Fatty acids (% weight)							Saturated FA	Unsat. FA
			Myristic acid ($C_{14:0}$)	Palmitic acid ($C_{16:0}$)	Palmitoleic acid ($C_{16:1}$)	Stearic acid ($C_{18:0}$)	Oleic acid ($C_{18:1}$)	Linoleic acid ($C_{18:2}$)	Linolenic acid ($C_{18:3}$)		
0	None	0	3.78±0.04	25.74±0.16	6.10±0.06	4.91±0.06	33.61±0.11	15.88±0.03	4.27±0.05	39.13±0.06	60.87±0.05
14	None	0	4.36±0.18	27.47±0.71	7.03±0.80	5.59±0.55	34.57±0.75	11.44±1.09	3.37±0.49	42.78±0.17	57.22±0.47
	α	30	4.21±0.08	27.27±0.59	7.29±1.68	4.84±0.40	35.10±0.95	11.73±2.88	3.67±0.75	45.62±0.20	54.38±0.92
		60	4.27±0.28	27.60±0.55	7.54±1.76	4.81±0.54	34.99±0.03	11.10±2.25	3.69±0.74	41.64±0.23	58.36±0.73
		150	4.34±0.54	27.29±0.62	7.53±1.63	4.79±0.42	34.70±0.20	11.73±3.09	3.72±0.74	41.18±0.28	58.83±0.84
	γ	30	4.15±0.30	26.86±0.91	6.97±2.11	4.71±0.28	34.58±0.88	12.65±3.98	4.30±0.40	40.44±0.24	59.56±1.08
		60	4.15±0.25	26.88±0.94	7.34±1.76	4.66±0.47	34.28±1.03	12.60±3.94	4.36±0.26	40.39±0.26	59.61±1.03
		150	4.20±0.47	26.75±1.32	7.38±2.02	4.67±0.42	34.10±0.90	12.78±4.26	4.38±0.21	40.37±0.34	59.63±1.08
	δ	30	4.20±0.45	27.31±1.01	7.49±1.86	4.74±0.52	34.52±0.58	11.79±3.34	3.84±0.58	41.25±0.32	58.75±0.93
		60	4.07±0.40	26.93±1.21	7.07±1.34	4.77±0.26	34.73±1.23	12.48±3.73	4.23±0.33	40.46±0.31	59.54±0.99
		150	4.15±0.30	26.64±1.29	7.26±1.75	4.72±0.24	34.50±1.20	12.77±3.98	4.47±0.22	40.03±0.38	59.97±1.06

Each value is expressed as mean±standard deviation of triplicate determination.

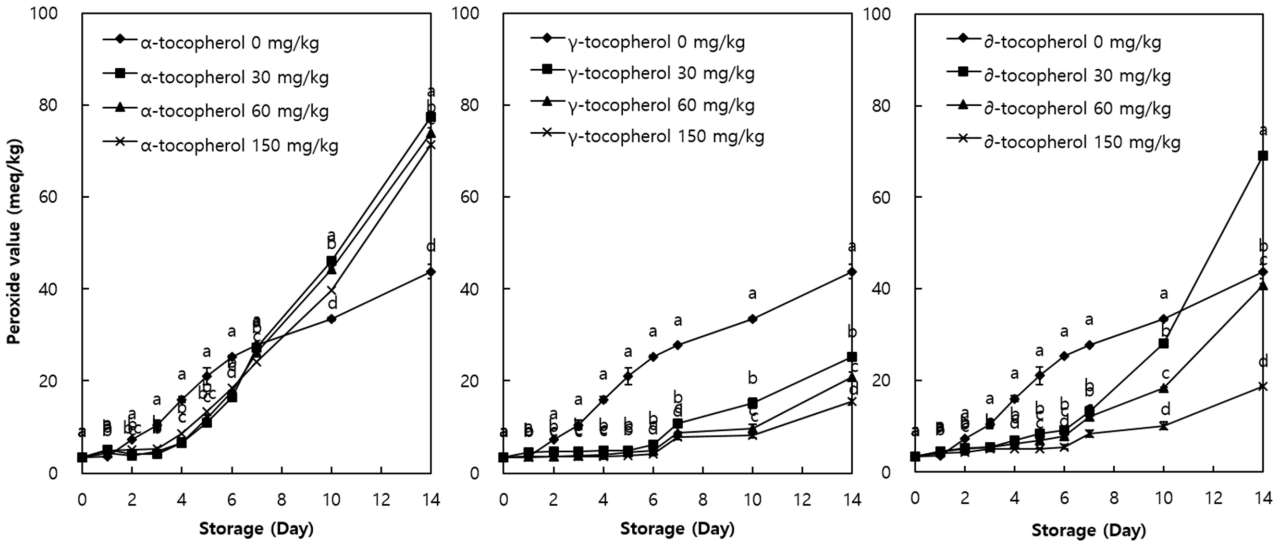

Fig. 1. Changes in peroxide values of horse fat added with α-, γ-, and δ-tocopherol at different concentrations during storage of 14 days at 65°C in the dark. Mean±standard deviation. Means with different small letters on the bar indicate significant difference within storage days at $p<0.05$

지 않은 마유보다 유의적으로 높았다($p<0.05$). 하지만 γ-토코페롤을 30, 60, 150 mg/kg 첨가한 마유의 과산화물값은 14일 후에 각각 25.17, 20.87, 15.41 meq/kg으로, δ-토코페롤을 60과 150 mg/kg 첨가한 마유의 과산화물값은 14일 후에 각각 40.74와 18.60 meq/kg으로 토코페롤을 첨가하지 않은 마유에 비해 매우 낮게 나타났다($p<0.05$). α-토코페롤을 제외한 γ-와 δ-토코페롤의 첨가가 마유의 유지 산화 중 1차 산화생성물인 과산화물(peroxide)의 형성을 감소시켰으며, 특히 γ-토코페롤을 첨가한 마유에서는 모든 농도별로 과산화물의 형성을 현저히 줄였기 때문에 산화 억제 효과가 가장 높았다고 볼 수 있었다. Pyo 등(1990)의 연구 보고에 따르면 달맞이 종자유에 α-토코페롤을 첨가하였을 때가 첨가하지 않았을 때보다 과산화물값이 높게 나타났으며, δ-토코페롤을 0.1% 이상 첨가한 달맞이 종자유에서는 첨가하지 않은 경우보다 낮은 경향을 나타내었다. Lee(1989)의 연구 결과를 보면 정제 콩기름에 α-토코페롤을 첨가하면 오히려 산화를 촉진하는 것으로 나타났다. 본 연구 결과 마유의 가열 산화 동안 γ-와 δ-토코페롤은 산화방지 작용을 나타냈으나 α-토코페롤은 초기에는 산화방지 작용을 나타내다 일정 시간이 지난 후에는 산화촉진(prooxidant) 작용을 보여 마유의 산화 방지를 위해서 적절한 토코페롤과 농도의 설정이 필요할 것으로 판단된다.

14일 저장하는 동안 과산화물값과 토코페롤 함량 사이의 회귀분석 결과를 Table 4에 나타내었다. 마유에 첨가된 토코페롤 함량과 과산화물값의 상관관계를 나타내는 결정계수(determination coefficient, r^2)는 0.70-0.98이었다. 또한 α-토코페롤 농도에 대한 과산화물값 증가의 비례상수(a)는 각각 –0.057, –0.233, –0.411으로 잔존하는 토코페롤 함량이 높을수록 과산화물값은 감소하여 α-토코페롤은 첨가되는 농도가 높을수록 산화방지 역할이 감소함을 알 수 있었다. γ-토코페롤과 δ-토코페롤 농도에 대한 과산화물값 증가의 비례상수(a)는 각각 –0.081, –0.149, –0.111와 –0.220, –0.300, –0.113으로 γ-와 δ-토코페롤을 150 mg/kg 첨가한 경우가 α-토코페롤 150 mg/kg 첨가하였을 때보다 산화방지제 활성이 높아짐을 확인시켜주었다.

Table 4. Regression analysis between peroxide value and α-, γ-, or δ-tocopherol concentration added in horse fat during storage of 14 days at 65°C in the dark

Tocopherol	Concentration (mg/kg)	Regression parameters[1)]		
		a	b	r^2
α-Tocopherol	30	-0.057	5.146	0.976
	60	-0.233	14.752	0.813
	150	-0.411	64.565	0.957
γ-Tocopherol	30	-0.081	5.754	0.766
	60	-0.149	9.505	0.702
	150	-0.111	14.887	0.731
δ-Tocopherol	30	-0.220	9.181	0.979
	60	-0.300	17.278	0.854
	150	-0.113	19.592	0.880

[1)]Peroxide value=a×tocopherol content+b, r^2=determination coefficient

Table 5. Regression analysis between peroxide value and TBA value of horse fat added with α-, γ-, or δ-tocopherol during storage of 14 days at 65°C in the dark

Tocopherol	Concentration (mg/kg)	Regression parameters[1)]		
		a	b	r^2
None	0	6.104	-6.669	0.940
α-Tocopherol	30	6.854	-10.969	0.974
	60	6.955	-11.325	0.970
	150	8.505	-15.059	0.877
γ-Tocopherol	30	3.900	-2.844	0.738
	60	3.558	-2.192	0.631
	150	3.493	-2.116	0.821
δ-Tocopherol	30	7.718	-11.332	0.739
	60	5.487	-5.316	0.842
	150	3.594	-0.839	0.836

[1)]Peroxide value=a×TBA value+b, r^2=determination coefficient

TBA값에 의한 저장 중 산화안정성

감압 조건으로 70°C에서 추출한 마유에 α-, γ-, δ-토코페롤을 0, 30, 60, 150 mg/kg 농도로 첨가하여 암실에서 65°C로 14일 저장하는 동안 TBA값(thiobarbituric acid value)의 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 과산화물값과 마찬가지로 마유의 TBA값도 저장기간이 증가할수록 높게 나타나 토코페롤을 첨가하지 않은 마유의 TBA값은 산화되기 전에는 1.03 mg MA/kg에서 저장 14일 후에 7.87 mg MA/kg으로 증가하였다. TBA값은 유지산화의 2차 생성물인 말론알데하이드(malonaldehyde, MA)의 농도를 측정하는 것으로 산패된 유지 중 말론알데하이드는 TBA와 적색 복합체를 생성하게 되어 유지 산화가 진행됨에 따라 그 값이 계속 증가하게 된다(Kim 등, 2008). 마유 유지의 가열산화가 증가되어 저장기간이 증가함에 따라 TBA값도 증가하였으며, Gheisari 등(2011)과 Lee와 Cho(1995) 연구에서도 육류 보관 시 저장기간이 길어질수록 TBA값은 증가하는 유사한 경향을 나타내었다.

α-토코페롤을 0, 30, 60, 150 mg/kg으로 첨가한 마유의 경우 저장 기간이 증가함에 따라 TBA값이 증가하여 저장 14일 후에는 각각 7.87, 12.61, 11.94, 8.41 mg MA/kg으로 증가하였고, 토코페롤을 첨가하지 않은 마유(0 mg/kg)보다 유의적으로 높았다(p<0.05). γ-토코페롤을 30, 60, 150 mg/kg 첨가한 마유의 TBA값은 14일 후에 각각 5.64, 4.43, 4.23 mg MA/kg이고, δ-토코페롤을 30, 60, 150 mg/kg 첨가한 마유의 TBA값은 14일 후에 각각 7.62, 6.91, 4.46 mg MA/kg으로 토코페롤을 첨가하지 않고 저장한 마유에 비해 낮게 나타났다(p<0.05). 마유의 TBA값도 과산화물값과 마찬가지로 α-토코페롤을 첨가한 경우보다 γ-토코페롤과 δ-토코페롤을 첨가한 경우에 유지로부터 말론알데하이드 형성을 감소시켜 유지 산화 억제에 도움을 주었고, 특히 150 mg/kg 농도의 γ-토코페롤을 첨가한 마유에서 효과가 높았다. Kang 등(2008)의 연구결과에 따르면 콩기름에 α-토코페롤을 첨가한 경우가 오히려 첨가하지 않은 경우보다 저장기간 중 TBA값이 높게 나타나 본 결과와 유사하였고, Oh 등(1990)의 연구에서는 쇠기름에 토코페롤을 첨가하여 저장기간 중 말론알데하이드 형성을 억제하였다.

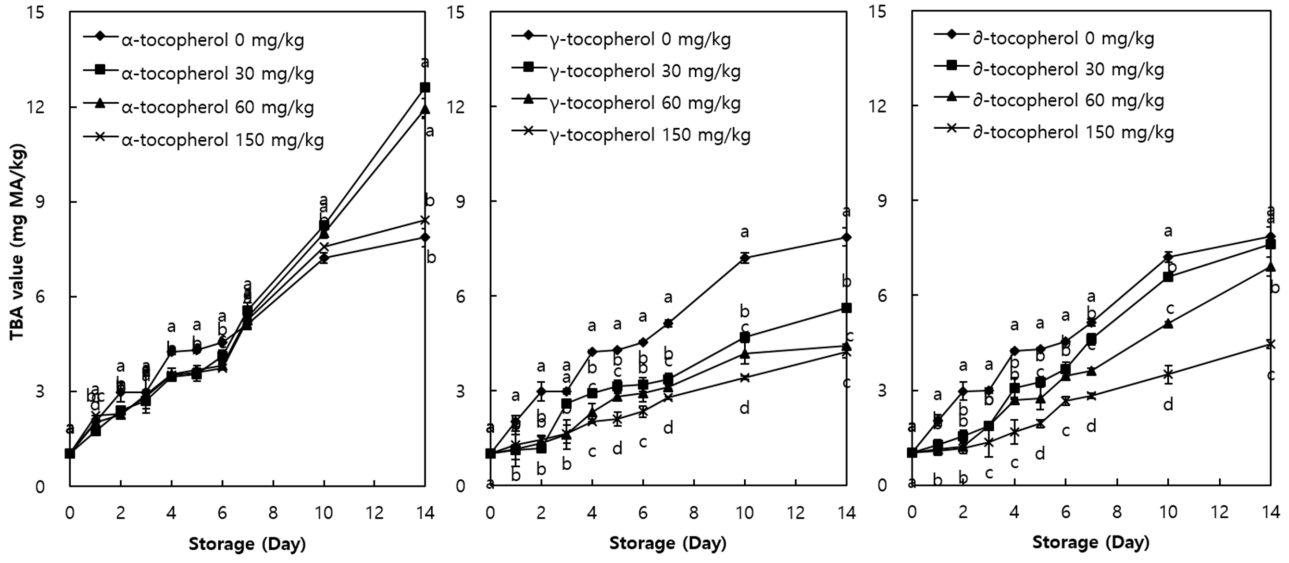

Fig. 2. Changes in TBA values of horse fat added with α-, γ-, and δ-tocopherol at different concentrations during storage of 14 days at 65°C in the dark. Mean±standard deviation. Means with different small letters on the bar indicate significant difference within storage days at p<0.05

TBA값도 과산화물값과 마찬가지로 마유의 가열 산화 동안 γ-와 δ-토코페롤은 산화방지 작용을 나타냈으나 α-토코페롤은 산화촉진(prooxidant) 작용을 보여 마유 산화안정성을 높이기 위한 토코페롤 선정이 필요할 것으로 생각된다.

Table 5는 암실에서 저장하는 동안 측정한 과산화물값과 TBA값의 회귀분석 결과를 나타낸 것이다. 과산화물값과 TBA값의 상관관계를 나타내는 결정계수(determination coefficient, r^2)는 0.63-0.97을 나타내었다. 토코페롤을 첨가하지 않은 마유의 TBA값 증가량에 대한 과산화물값의 비례상수(a)는 6.104 이다. 그리고 α-토코페롤을 첨가한 마유의 TBA값 증가량에 대한 과산화물가의 비례상수(a)는 각 농도별로 6.854, 6.955, 8.505으로 α-토코페롤 첨가량이 증가할수록 높아져 토코페롤을 넣지 않은 마유와 비교하였을 때(6.104) 산화안정제 역할을 하지 못하고 있음을 확인하였다. 반면에, γ-토코페롤을 첨가한 마유의 TBA값과 δ-토코페롤 첨가한 마유의 TBA값 증가량에 대한 과산화물값 증가의 비례상수(a)는 각각 3.900, 3.558, 3.493와 7.718, 5.487, 3.594으로 δ-토코페롤을 30 mg/kg 첨가한 마유를 제외하고 γ-와 δ-토코페롤 첨가량이 증가할수록 저장 중 마유의 산화를 효과적으로 방지하였음을 알 수 있었다.

토코페롤을 첨가하지 않은 마유에서는 1차 산화생성물인 과산화물과 2차 산화생성물인 말론알데하이드가 높게 생성되어 r^2값이 0.940으로 높게 나타났다. α-토코페롤을 30과 60 mg/kg 첨가한 마유의 r^2값은 각각 0.974와 0.970으로 첨가하지 않은 마유와 마찬가지로 높게 나타났는데, 이는 1차 산화생성물인 과산화물 생성량도 많았고 2차 산화생성물인 말론알데하이드의 생성도 많았던 것으로 판단된다. 하지만 α-토코페롤을 150 mg/kg 첨가한 마유의 r^2값은 0.87로 토코페롤을 첨가하지 않은 마유보다 r^2값이 낮았고, γ-토코페롤과 δ-토코페롤을 30, 60, 150 mg/kg 첨가한 마유의 r^2값도 각각 0.738, 0.631, 0.821, 0.739, 0.842, 0.836으로 첨가하지 않은 마유보다 r^2값이 낮았다. 이러한 결과는 토코페롤의 종류와 농도에 따라 1차 산화생성물인 과산화물이 생성된 후 2차 산화생성물인 말론알데하이드의 생성 시기를 늦추어 마유의 산화안정성에 도움을 주었던 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 70°C로 저온 감압 추출한 마유에 α-, γ-, δ-토코페롤을 0, 30, 60, 150 mg/kg 농도로 첨가한 뒤 토코페롤 함량 변화와 지방산 조성 변화, 과산화물값, TBA값을 측정하여 저장 중 산화안정성을 조사하였다. 마유를 구성하고 있는 주요 지방산은 oleic acid>palmitic acid>linoleic acid>palmitoleic acid>stearic acid>linolenic acid 순이었으며 65°C, 14일 저장 동안에는 대부분의 지방산 사이에는 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 하지만 불포화지방산 함량은 토코페롤을 첨가한 마유가 토코페롤을 첨가하지 않은 마유에 비해 감량 변화가 적어 토코페롤이 마유 유지의 산화안정성에 도움을 준 것으로 나타났다. 과산화물값의 경우, 토코페롤을 첨가하지 않은 마유는 65°C에서 저장 14일 후 3.45에서 43.75 meq/kg으로 증가하였고 γ-와 δ-토코페롤을 첨가한 마유의 과산화물값은 α-토코페롤을 첨가한 마유의 과산화물값보다 낮아 γ-와 δ-토코페롤이 α-토코페롤에 비해 마유의 산화안정성을 증가시킨 것으로 나타났다. 마유의 TBA값도 저장 14일 후 1.03에서 7.87 mg MA/kg으로 증가하였지만 α-토코페롤을 150 mg/kg 첨가한 마유와 δ-토코페롤을 30 mg/kg을 첨가한 경우를 제외하고 과산화물값과 같은 경향의 결과를 나타내었다. α-, γ-, δ-토코페롤 종류에 따른 토코페롤의 분해율은 α-토코페롤>γ-토코페롤>δ-토코페롤 순으로 결과가 나타나 γ-와 δ-토코페롤을 마유에 첨가하였을 경우 마유의 산화안정성에 도움을 주었다. 마유를 재료로 생산되는 화장품 제품에는 주로 α-토코페롤을 첨가하여 저장성을 향상시키는데 본 연구에서 측정한 토코페롤 종류별 산화안정성과 불포화지방산의 저장 중 변화 및 토코페롤의 분해율을 고려하였을 때 α-토코페롤에 비해 γ-와 δ-토코페롤이 마유의 저장성 향상에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 2017년도 과학기술정보통신부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(NRF-2017R1C1B5016456)의 결과입니다.

References

AOAC. Official Methods of Analysis. 16th ed. Method 969.17. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA (1995)

AOCS. Official Methods and Recommended Practices. 5th ed. Method Cd 8b-90 and Ch 2a-94. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA (2004)

Adam SK, Sulaiman NA, Top AGM, Jaarin K. Heating reduces vitamin E content in palm and soy oils. Malays. J. Biochem. Molecular Biol. 15: 76-79 (2007)

Choe EO, Lee JY. Thermooxidative stability of soybean oil, beef tallow and palm oil during frying of steamed noodles. Korean J. Food Sci. Technol. 30(2): 288-292 (1998)

Choe EO, Min DB. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. Comp. Rev. Food Sci. Saf. 5: 169-186 (2006)

Choi KH, Lee YS, Yoon JH, Yoo WK, Kim MR, Lee KS, Cho JW. Effect of horse oil on anti-bacterial, inflammatory cytokines, and type I collagen expressions in human HaCaT keratinocytes and fibroblasts. Korean J. Dermatol. 52(1): 1-6 (2014)

Chung LN, Lee JY, Oh SJ, Choe EO. Effects of chlorophyll and carotene on lipid oxidation and tocopherols during heating for manufacturing of perilla and rice porridge. Korean J. Food Sci. Technol. 30(2): 680-685 (2012)

Enig MG. PallanschJ LA. Sampugna J. Keeney M. Fatty acid composition of the fat in selected food items with emphasis on trans components. J. Am. Oil Chem. Soc. 60(10): 1788-1795 (1983).

Faustman C, Lynch PM, Jeong JY, Joo TS. Improvement of oxidative stability of myoglobin and lipid with vitamin E in meat. Korean J. Food Sci. Ani. Res. 23(1): 86-95 (2003)

Gheisari HR. Correlation between acid, TBA, peroxide and iodine values, catalase and glutathione peroxidase activities of chicken, cattle and camel meat during refrigerated storage. Veterinary World 4(4): 153-157 (2011)

Han CH, Cho YH. Liposome included horse oil, the method preparing thereof and composition for treating burn or UV-cut containing the same. Korea Patent 10-1621194 (2016)

Hur SJ, Park GB, Joo ST. Effect of fatty acid on meat qualities. Korean J. Int. Agri. 17(1): 53-59 (2005)

Jang SK, An SK, Jeon SH. The moisturizing effect and formulation test of the cosmetics composed by horse oil liposomes. Korean J. Aesthet. Cosmetol. 12(6): 813-820 (2014)

Joseph S. Analysis of fat-soluble vitamins from food matrix for nutrition labeling. Publication Number 5990-8668EN. Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA (2011)

Kang MJ, Seo JK, Lee SJ, Cha JY, Sung NJ, Shin JH. Antioxidant activity of shred garlic on soybean oil. Korean J. Food Cookery Sci. 24(5): 645-651 (2008)

Kim KB, Kang KP, Lee YK, Park KH. A method for refining horse oil, the refined horse oil and a cosmetic composition comprising the refined horse oil. Korea Patent 10-10-1632601 (2016)

Kim HJ, Yang SA, Lim NK, Jee KH, Lee IS. Antioxidant effect of oil containing cellulase-treated red ginseng. J. Life Sci. 18(3):

323-328 (2008)
Lee HO. Antioxidant effect of tocopherols and tocotrienols and cis/trans-, trans/trans-hydroperoxide isome from linoleic acid methyl-ester. Korean J. Food Sci. Technol. 25(4): 307-312 (1993)
Lee YC. Effects of tocopherols and beta-carotene on the stability of soybean oils undergoing various modes of oxidation. Ph D thesis, Korea University, Seoul, Korea (1989)
Lee JM, Cho JS. Effects of storage days and cooking method on lipid oxidation in processed meat products. Korean J. Oil. Chem. Soc. 12(1): 69-79 (1995)
Lee IB, Choi KJ, Yu KK, Chang KW. Tocopherols and fatty acids in plant seeds from Korea. Korean J Agric. Chem. Soc 35(1): 1-5 (1992)
Lee NH, Kang TS, Sung KS, Han CK, Lee BH, Kim YJ, Yoon CS. Changes in lipid components of highly unsaturated-pork at storage. Korean J. Agric. 36(2): 160-167 (1994)
Lee YS, Yoon JH, Kim BA, Park CI, Yoo WK, Cho JW, Kim MR. Effects of horse oil on the DNCB-induced contact hypersensitivity in balb/c Mice. Korea. J. Herbology. 28(4): 77-81 (2013)
Oh MJ, Son HY, Kang JC, Lee KS. Antioxidative effect of pueraria root extract on edible oils and fats. Korean J. Soc. Food Nutr. 15(5): 448-456 (1990)
Pyo YH, Ahn MS, Yim UK. Effects of tocopherols on the oxidation stability of evening primrose oil. Korean J. Food Sci. Technol. 22(3): 255-260 (1990)
Shin SB, Min BW, Yang SH, Park MS, Kim HS, Baik DH. A study of the influence of pretreatment of animal fat recovered from fleshing scrap on the elimination FFA and fatty acid composition. Korean J. Oil. Chem. Soc. 25(1): 58-64 (2008)
Sidwell CG, Salwin H, Benca M, Mitchell JH. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. J. Am. Oil Chem. Soc. 31(12): 603-606 (1954)