

대두유에 대한 Riboflavin의 항산화효과

식품부

한 선 희 · 박 성 배

Effect of Riboflavin on Soybean Oil during Oxidation at 60°C

Department of Foods

Sun Hee Han and Sung Bae Park

—Abstract—

In order to elucidate the antioxidant activity of riboflavin, soybean oil and soybean oil added riboflavin were incubated at $60 \pm 1^\circ\text{C}$, respectively. Peroxide value and E 1% at 232 nm of soybean oil added riboflavin were lower than those of soybean oil for initial twenty days during oxidation. But carbonyl values of two cases did not almost change. Those results were seemed that riboflavin had the antioxidant activity on soybean oil for initial twenty days at 60°C .

緒 論

食品 中에 存在하는 脂肪은 酸素에 의해 쉽게 酸化되는데 특히 금속이온, 활성산소, 가시광선 및 적·자외선에 의해 酸化·促進되어짐은 널리 알려진 사실이다.^{1~6)} 따라서 脂肪質食品의 산화를 방지하기 위하여 다양한 항산화제가 사용되고 있다. 그 중 널리 사용되어온 항산화제로는 Butylated hydroxy anisol(BHA), Butylated hydroxy toluene(BHT), Tocopherol 등이 있다.

그러나 BHA와 BHT는 Carcinogenicity와 mutagenic activity가 있음이 밝혀짐으로써,^{7~9)} 食品安全性面에서 問題가 제기되고 있다. 또 Tocopherol은 加熱處理한 脂肪質食品에서는 항산화효과가 없어진다고 알려져 있다.²⁴⁾ 따라서 脂肪質食品에 사용할 수 있는 안전한 항산화제의 發見과 개발이 必要하다.

우리나라에서는 食品添加物¹⁴⁾로서 허가되어 있는

Riboflavin과 Riboflavin phosphate sodium이 油脂의 酸化에 어떠한 영향을 미치는 가에 대하여 현재 약간의 研究가 報告되어 있다.

1969年 Ohama 와 Yagi¹⁰⁾는 Riboflavin tetrabutylate를 linoleate와 methyl linoleate에 添加하여 자외선(UV)下의 30°C 항온조에서 반응시킨 結果 과산화물의 生成量이 약 50% 정도로 억제되었다고 보고 하였다.

Terada¹³⁾는 쥐의 간균질물에 Riboflavin tetranicotinate($\text{B}_2\text{-NiC}$)를 첨가하여 UV 조사 후 TBA(Thiobarbituric acid)가를 調査하였을 때 첨가된 $\text{B}_2\text{-NiC}$ 의 농도가 증가함에 따라 TBA가가 낮아짐을 發見하였고 쥐의 간에서의 TBA가의 저하는 $\text{B}_2\text{-NiC}$ 의 flavin部分에 의한 것이라고 報告하였다. Toyosaki^{11,12,19,24)} 등은 Riboflavin tetrabutylate를 linoleate에 emulsion 상태로 하여 암반응상태(30°C)에서 螢光(3,000 Lux)를 조사하였을 때 Riboflavin

tetrabutryrate는 과산화물의 생성을 억제시켰고 또 수용액 중에서 반응시켰을 때도 과산화물생성을 억제시켰다고 보고하였다.

이상과 같이 Riboflavin tetrabutryrate의 linoleate에 대한 항산화효과에 대해서는 一部分의 연구가 보고되어 있지만 아직 식용유지에 관한 Riboflavin의 효과에 대해서는 연구된 바가 없으므로 본 연구에서는 Riboflavin이 대두유에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보하고자 본 연구를 수행하였다.

材料 및 方法

1. 實驗材料

대두유는 항산화제가 첨가되지 않은 것(동방유량제품)을 구입, 사용하였고 Riboflavin(함량 99.9%, Merk), 2,4-dinitrophenylhydrazine (Fluka, Swiss), trichloro acetic acid(A.R., England)와 potassium iodide, sodium hydrosulfate, benzene, ethyl alcohol, hexane 등은 특급시약을 사용하였다.

2. 實驗方法

1) 반응액의 조제

Riboflavin을 에탄올에 녹여(0.1 mg%; w/v) 항산화제가 첨가되지 않은 대두유 500 g에 잘 혼합한 것과 Riboflavin이 첨가되지 않은 대두유를 각각 $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 의

Sample 0.5 g, Benzene 5 ml as blank in 50 ml volumetric flask
 + 3 ml of 4.3% TCA in benzene sol'n
 + 5 ml of 0.05% 2,4-DNPH in benzene sol'n
 Heating on water bath at 60°C for 30 min.
 Stand 1 hr. at room temp.
 + 10 ml of 4% alcoholic KOH
 Shaking vigorously
 Stand 5 min.
 Filled with Ethyl alcohol
 Determination at 440 nm

Fig. 1. Preparation of samples for carbonyl value.

광선이 차단된 항온기에서 산화시키면서 일정시간 간격으로 시료를 채취하여 밀봉후 냉장고(4°C)에 보관하여 이후 실험에 사용하였다.

2) 과산화물가와 카보닐가의 측정

과산화물가는 AOCS¹⁵⁾에 따라 실험하였고 카보닐가는 일본기준유지분석시험법¹⁶⁾에 준하여 분석하였고(그림 1 참고), 카보닐가는 다음 식에 의해서 계산하였다.

$$\text{Carbonyl value} = \frac{\text{Absorbance of sample} - \text{Absorbance of blank}}{\text{Sample (g)}} \times \text{dilution rate}$$

3) Spectrum의 測定

시료 0.02 g을 정확히 취하여 Hexane-Ethylalcohol (1:1) 100 cc에 용해시킨 후 Hexane-Ethylalcohol (1:1) 용액을 대조액으로 하여 spectrophotometer (Varian DMS-200, England)를 사용하여 190 nm에서 500 nm까지의 spectrum을 측정하였다.

結果 및 考察

1. 과산화물가의 變化

Riboflavin이 첨가된 대두유의 산화중 과산화물가의 경시변화는 그림 2와 같다.

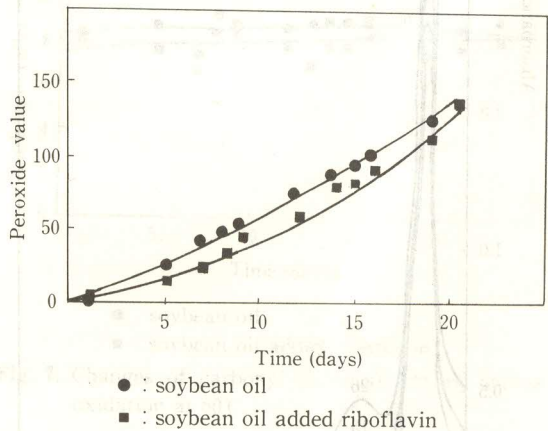


Fig. 2. Changes of POV during oxidation at 60°C .

Riboflavin이 첨가된 것과 첨가되지 않은 것 모두 산화가 進行됨에 따라 과산화물가는 꾸준한 증가를 나타냈으며 Riboflavin이 첨가된 대두유의 경우는 대조구인 대두유의 경우보다 과산화물가가 더 낮게 나타났다. 그러나 反應 20일 이후부터는 Riboflavin이 첨가된 대두유

의 과산화물가가 대조구의 과산화물가보다 약간 더 크게 나타났다.

Ohama와 Yagi¹⁰⁾는 linoleate와 methyl linoleate에 Riboflavin tetrabutryrate를 첨가시켜 UV下의 30°C에서 산화시켰을 때 linoleate hydroperoxides의 생성이 약 50% 정도로 감소되었음을 보고하였고 Terada¹³⁾는 쥐의 간에 Riboflavin tetranicotinate를 첨가시켰을 때 과산화물의 형성이 억제되었다고 보고하였다. 그러나 Aoyama¹⁷⁾ 등은 Tocopherol과 항산화증진제로서 Riboflavin tetrabutryrate를 linoleate에 첨가하였을 때 Riboflavin tetrabutryrate는 항산화효과가 거의 나타나지 않았다고 보고하였으며 Totani¹⁸⁾ 등도 유지의 자동산화억제에 Riboflavin tetrabutryrate는 항산화효과를 나타내지 않았다고 보고하였다. 反面에 Toyosaki와

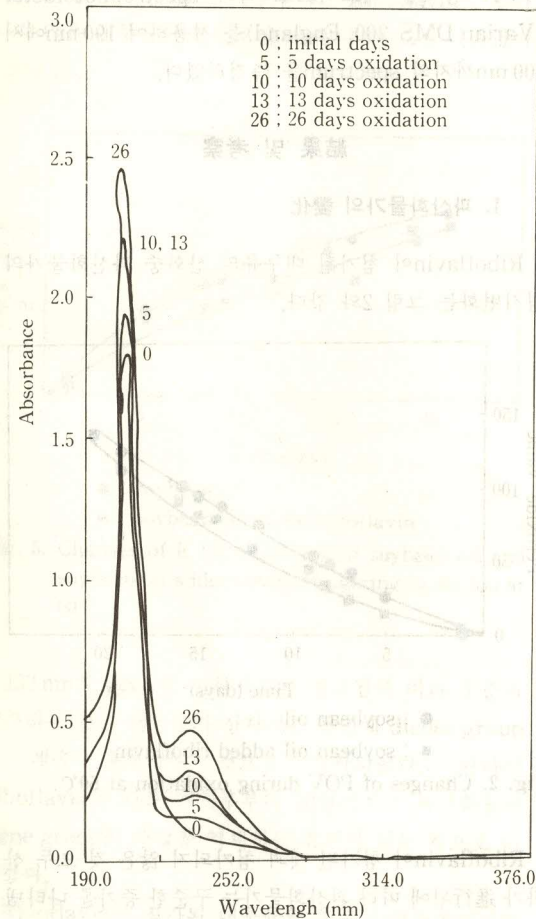


Fig. 3. Changes of UV spectra in soybean oil during oxidation at 60°C. Samples were diluted in 5000 fold.

Mineshita¹⁹⁾는 dichlorofluorescein (DCF)이 hydroperoxides와 반응하면 형광을 잃는다는 성질을 이용하여, Protein-bound-riboflavin과 free riboflavin의 methyl linoleate sodium phosphate 완충액 (pH 7.0)을 광도를 달리하여 조사하는 동안의 DCF의 양을 측정하였을 때 protein-bound riboflavin과 free riboflavin이 첨가된 경우가 대조구보다 DCF 소멸량이 적은 것으로 나타나서 과산화물 생성을 억제했다고 보고했다.

本實驗의 결과 Riboflavin은 대두유의 산화중 (60°C) 초기 20일간에는 항산화효과가 있다고 생각된다.

2. UV-visible spectrum의 변화

산화된 대두유를 에탄올 : 헥산 (1 : 1)에 녹인 후 190~500 nm의 흡수 spectrum은 그림 3, 4와 같다. Riboflavin이 첨가된 대두유와 Riboflavin이 첨가되지 않은 대두유 모두 초기에는 205 nm에서 최대흡광도를

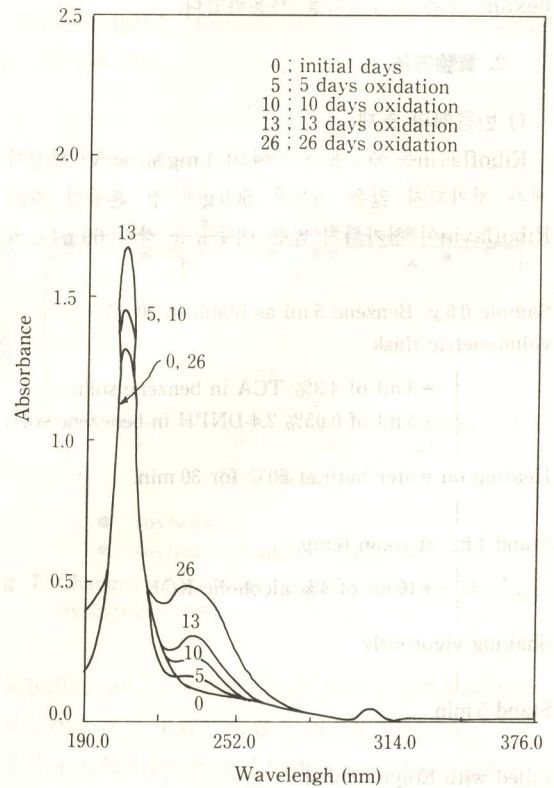


Fig. 4. Changes of UV spectra in soybean oil added riboflavin during oxidation at 60°C. Samples were diluted in 5000 fold.

나타내었다. Riboflavin이 첨가되지 않은 대두유의 경우 이 peak는 산화시간이 경과함에 따라 증가하는 것으로 나타났으나 Riboflavin이 첨가된 대두유에서는 산화시간이 경과됨에 따라 이 peak는 계속 증가하다가 반응 26일에는 오히려 감소되었다.

205 nm 부근의 peak는 포화 carboxylic group에 의하여 흡수되는 것으로 알려져 있다.^{20,21)} 따라서 205 nm의 peak가 증가되는 것은 대두유의 산화가 진행됨에 따라 지방분자가 산화분해되어 저급의 carboxyl group이 보다 더 많이 생성되는 것으로 생각된다.

Conjugated dienes^{20~23,25,26)}에 의해 특징적으로 흡수되는 것으로 알려져 있는 232 nm에서의 흡수 peak는 모두 반응 1日 후에는 나타나지 않았으나(그림 3, 4), 산화가 진행됨에 따라 지속적으로 증가하였으며 Riboflavin이 첨가된 대두유의 경우 과산화물가의 변화에서와 같이 반응 20일 이후부터는 Riboflavin이 첨가되지 않은 대두유의 경우보다 peak가 더 크게 나타났다가(그림 5).

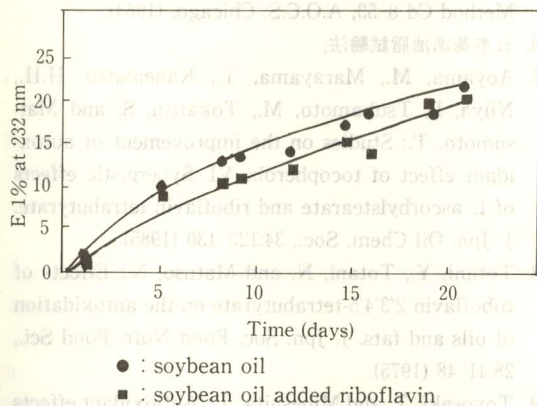


Fig. 5. Changes of E 1% at 232 nm of soybean oil and soybean oil added riboflavin during oxidation at 60°C.

232 nm의 peak가 산화시간이 경과됨에 따라 꾸준히 증가하는 것은 대두유가 산화되는 동안에 dienes group도 계속 축적되는 것으로 생각되었다. 따라서 Riboflavin은 반응 개시후부터 20일까지는 과산화물과 diene group의 생성을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다.

Riboflavin이 첨가된 대두유와 무첨가 대두유에서의 E_{232nm}의 흡광물질과 과산화물가간의 상관관계는 그림 6과 같다.

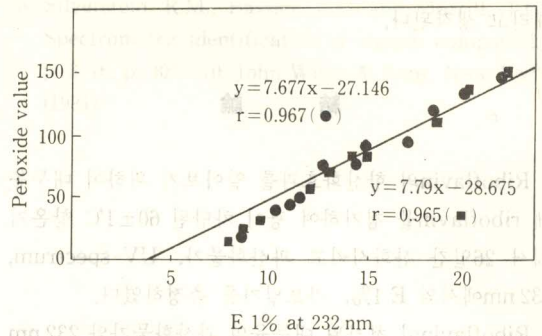


Fig. 6. Relationship between POV and ABS in soybean oil during oxidation at 60°C.

산화가 진행되는 동안 생성되는 과산화물과 E_{232nm} 흡광물질간에는 고도의 상관관계가 있는 것으로 나타났다.

3. 카보닐가의 변화

대두유의 산화중 440 nm에서 측정된 카보닐가의 변화는 그림 7과 같다.

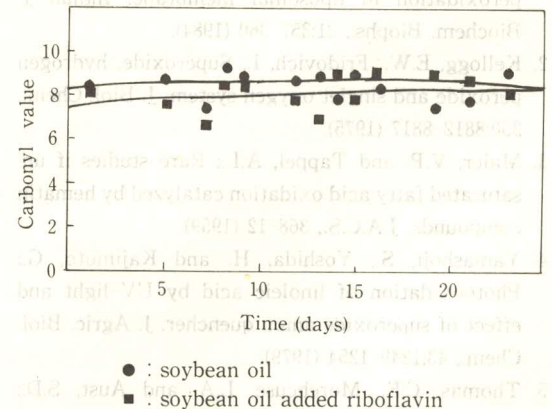


Fig. 7. Changes of carbonyl value at 440 nm during oxidation at 60°C.

Riboflavin이 첨가된 대두유와 무첨가 대두유에서의 카보닐가는 거의 변화하지 않은 것으로 나타났다.

유지의 산화과정에서 생긴 hydroperoxides는 산화가 진행됨에 따라 carbonyl compound로 분해되어 가는데 본 실험에서 나타난 카보닐가의 결과와 과산화물가의 변화를 고려해 볼 때 60°C에서 26일간 대두유가 산화되는

동안은 과산화물이 축적되는 과정이며 carbonyl compound로의 산화분해과정은 아직 진행되지 않은 상태라고 생각된다.

結 論

Riboflavin의 항산화효과를 알아보기 위하여 대두유에 riboflavin을 첨가하여 광이 차단된 $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 항온기에서 26일간 산화시키고 과산화물가, UV-spectrum, 232 nm에서의 E 1%, 카보닐가를 측정하였다.

Riboflavin이 첨가된 대두유의 과산화물가와 232 nm에서의 E 1%는 산화 개시후 20일까지는 riboflavin이 첨가되지 않은 대두유의 경우보다 낮게 나타났고 카보닐가는 riboflavin이 첨가된 대두유와 무첨가대두유 모두 거의 변화가 없는 것으로 나타났다. 따라서 riboflavin은 60°C 의 대두유 산화중 초기 20일간에는 항산화효과가 있다고 생각된다.

參 考 文 獻

1. Agarwal, S., Banerjee, S. and Chatterjee, S.N.: Effect of oxygen on ascorbic acid induced lipid peroxidation in liposomal membrane. *Indian J. Biochem. Biophys.*, 21:357-360 (1984).
2. Kellogg, E.W., Fridovich, I.: Superoxide, hydrogen peroxide and singlet oxygen system. *J. Biol. Chem.*, 250:8812-8817 (1975).
3. Maier, V.P. and Tappel, A.L.: Rare studies if unsaturated fatty acid oxidation catalyzed by hematin compounds. *J.A.C.S.*, 368-12 (1959).
4. Yamashoji, S., Yoshida, H. and Kajimoto, G.: Photooxidation of linoleic acid by UV-light and effect of superoxide anion quencher. *J. Agric. Biol. Chem.*, 43:1249-1254 (1979).
5. Thomas, C.E., Morehause, L.A. and Aust, S.D.: Ferritin and superoxide dependent lipid peroxidation. *J. Biol.*, 260:3275-3280 (1985).
6. Truby, M.G., Richardson, T. and Fennema, O.: Hematin catalyzed oxidation of linoleate as influenced by casein. *J. Food Chem.*, 24:247-261 (1987).
7. Ito, N., Fukushima, S. and Tsuda, H.: Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT and other antioxidants. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, 15:109-150 (1985).
8. Ponder, D.L., Green, N.R.: Effects of dietary fats and butylated hydroxytoluene on mutagen activation in rats. *Cancer Res.*, 45:558-560 (1985).
9. Witschi, H.P., Morse, C.C.: Cell kinetics in mouse lung following administration of carcinogens and butylated hydroxytoluene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 78:464-472 (1985).
10. Ohama, H. and Yagi, K.: Studies on fatty acid esters of flavins, reaction of riboflavin tetrabutryrate with linoleic acid under light irradiation. *J. Jpn. Soc. Vitaminol.*, 40(3):142-148 (1969).
11. Toyosaki, T., Yamamoto, A. and Mineshita, T.: Antioxidant effect of riboflavin tetrabutryrate in emulsion. *J. Food Sci.*, 52:1377-1380 (1987).
12. Toyosaki, T., Yamamoto, A. and Mineshita, T.: Partial purification of an antioxidizing component in raw cow milk. *J. Food Sci.*, 52:88-90 (1987).
13. Terada, O.: Studies on riboflavin tetranicotinate, decomposition by riboflavin-tetranicotinate of lipoperoxide formed in rat liver homogenate. *J. Jpn. Soc. Vitaminol.*, 49:99-103 (1975).
14. 식품첨가물공전 : 보건사회부, (1988).
15. A.O.C.S. AOCs official and tentative method. Method Cd 8-53, A.O.C.S. Chicago, (1964).
16. 日本基準油脂試験法.
17. Aoyama, M., Marayama, T., Kanematsu, H.H., Niiya, I., Tsukamoto, M., Tokairin, S. and Matsumoto, T.: Studies on the improvement of antioxidant effect of tocopherols. VI. Synergistic effects of L-ascorbyl stearate and riboflavin tetrabutryrate. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, 34:123-130 (1985).
18. Totani, Y., Totani, N. and Matuso, N.: Effects of riboflavin 2'3'4'5-tetrabutryrate on the autoxidation of oils and fats. *J. Jpn. Soc. Food Nutr. Food Sci.*, 28:41-48 (1975).
19. Toyosaki, T. and Mineshita, T.: Antioxidant effects of proteinbound riboflavin and free riboflavin. *J. Food Sci.*, 53:1851-1853 (1988).
20. Holman, R.T. and Burr, G.O.: Spectrophotometric studies of the oxidation of fats. VI. Oxygen absorption chromophore production in fatty esters. *J. Am. Chem. Soc.*, 68:562-566 (1946).
21. Lundberg, W.O. and Chipault, J.R.: The oxidation of methyl linoleate at various temperature. *J. Am. Chem. Soc.*, 69:833-836 (1947).
22. Chipault, J.R. and Hawkins, J.M.: Lipid autoxidation in freeze dried meats. *J. Agr. Food Chem.*, 19: 495-499 (1971).
23. Brown, H.G. and Snyder, H.E.: Conjugated dienes of curde soybean oil; Detection by UV spectro-

photometry and separation by HPLC. J. Am. Oil Chem. Soc., 59:280-283 (1982).

24. Toyosaki, T. and Mineshita, T.: Antioxidant effect of riboflavin in aqueous solution. J. Agr. Food Chem., 37:286-289 (1989).

25. Shenstone, F.S.: Ultraviolet and visible spectroscopy of lipids. Ch. 11. in "Biochemistry and Methodology of Lipids," Johnson, A.R. and Davenport, J.

B. (Eds.) p. 219-230, Wiley-Interscience. New York (1971).

26. Silverstein, R.M., Bassler, G.C. and Morrill, T.C.: Spectrometric identification of organic compounds. p. 3-16, p. 305-310, John Wiley & Sons, New York (1981).

A Survey on Heavy Metal Concentration of Meat and Skin in *Epilabretus burgeri*

Han Bin Jo, Chan Soo Lee, Byong Mok Son

Byong Tae Ju, Duk Haeng Lee and Sung Hae Park

This survey was conducted to offer basic data for the contents of heavy metal in *Epilabretus burgeri*. The determination of heavy metals (As, Pb, Cd, Cu, Zn, Fe, Mn) was carried out by Atomic Absorption Spectrometry from May 1989 to June 1989. The samples were collected at imported leather factory and Ja. Katchi fishery market in Seoul. The result was as follows:

1. The order of heavy metal concentration in meat was $Fe > Zn > Mn > Cu > Pb > Cd > As$.

2. The concentration of Chromium (Cr) was the highest in complete finished skin of all samples with 334.82 $\mu g/kg$ ($p < 0.01$).

3. There was no significant between heavy metal concentration of meat which imported from Seoul and marketing *Epilabretus burgeri*.

4. There was no significant correlation between each heavy metal element and chromium. There was significant correlation between As and Cu, Zn, Fe and Cu. An amount of casual correlation between As and Cu, Zn, Fe and Cu.