J. Fd Hyg. Safety 9(4), 199-203(1994)

튀김온도에서 가열한 우지 중의 콜레스테롤 산화 생성물

양주홍* · 김종승* · 신효선†
동국대학교 식품공학과, *한국식품연구소

Oxidation Products of Cholesterol in Tallow Heated at Deep-Fat Frying Temperatures

Joo-Hong Yang*, Jong-Seung Kim* and Hyo-Sun Shin
Department of Food Science and Technology, Dongguk University, Seoul 100-715
**Korea Advanced Food Research Institute, Seoul 137-060*

ABSTRACT—The oxidation of cholesterol in tallow heated at three frying temperatures, 130, 150 and 180℃ was studied by assaying cholesterol oxidation products(COP) by GC-MS. The correlation between levels of COP and changes of physicochemical parameters (peroxide value, polymer, polar components and dielectric constant) in tallow heated were studied. As temperature increased, the amount of cholesterol was decreased proportionally with heating time. However, the levels of COP did not increase considerably with increased frying temperature. The rate of cholesterol disappearance was the greatest at 180℃ and the smallest at 130℃. Larger amounts of COP formed were found at 150℃ than at 180℃. The levels of COP formed in tallow heated showed highly correlation with($r=0.94$, $n=30$, $p<0.01$) polymer, polar components and dielectric constant, respectively.

Keywords □ Tallow, Cholesterol, Cholesterol oxidation product

우지는 대표적인 동물성 유지로서 튀김유로 많이 사용되며, 그 중에는 0.15~0.20%의 콜레스테롤을 함유하고 있다. 콜레스테롤은 화학적으로 cyclopentanoperhydrophenanthrene 의 골격구조에 한 개의 이중결합을 갖고 있다. 따라서 콜레스테롤은 불포화 지방산의 경우와 같이 공기 중에 노출되거나, 높은 온도, 광선, 금속 등의 요인들에 의해 쉽게 산화되어 각종 콜레스테롤 산화 생성물(cholesterol oxidation products; COP)을 형성한다.[1] 그런데 이들 COP 중 어떤 것은 실험동물에 대하여 세포독성(cytotoxicity),[2-3] 혈관독성(angiotoxicity),[4] 돌연변이 유발성(mutagenicity),[5] 스테롤 생합성 저해(sterol biosynthesis inhibition)[6,7] 및 발암성(carcinogenicity)[8] 등 생물학적으로 바람직하지 못한 작용을 나타낸다. 따라서 콜레스테롤을 다량 함유하고 있는 동물성 식품을 가공 및 저장할 때 생성되는 COP에 관하여 최근 활발한 연구가 이루어지고 있다.[9,10] 그러나, 우지를 튀김조건으로 가열하였을 때 생성되는 COP와 유지의 이화학적 항수의 변화간의 상관관계를 체계적으로 연구한 보고는 드물다.

따라서 본 연구는 튀김유로 많이 사용되고 있는 우지 중의 콜레스테롤의 가열 안정성에 대하여 연구하기 위하여 우지를 세 가지 튀김온도에서 일정시간 가열하였을 때 콜레스테롤의 손실과 COP 생성과의 관계, 가열한 우지의 과산화물값, 중합물, 극성 화합물, 유전상수 등 몇 가지 이화학적 항수의 변화와 COP 생성과의 상관관계에 대하여 연구하였다.

재료 및 방법

시료

본 실험에 사용한 우지는 항산화제가 첨가되지 않은 신선한 정제유(산값; 0.05, 과산화물값; 0.32, 요오드값; 49.6, 발연점; 235℃)를 구입하여 사용하였다.

† To whom correspondence should be addressed.

콜레스테롤 산화물의 표준품

각종 콜레스테롤 산화물의 표준품들 중 5-cholestene-3β-ol(cholesterol); 5-cholestene-3β-ol-7-one; 5-cholestene-3β,25-diol; 5-cholestane-3β,5α,6β-triol; 5-cholestane-3β,5β,6α-triol; 4-cholestene-3-one; 5α-cholestane-3β-ol-6-one; 20-hydroxycholesterol; 5α-cholestane은 Sigma 회사(St. Louis, MO, U.S.A.)에서, 5-cholestene-3β,7α-diol; 5-cholestene-3β,7β-diol; 3,5-cholestadiene-7-one; cholestane-5α,6α-epoxy-3β-ol; cholestane-5β,6β-epoxy-3β-ol; 5-cholestene-3β,4β-diol; 5α-cholestane-3,6-dione; cholestane-3β,5α-diol-6-one은 Steraloids 회사(Wilton, NH, U.S.A.)에서 각각 구입하여 사용하였다.

시료의 처리 및 가열방법

우지 8 kg을 Hi-temp. bath(Joy Sci. Co., Korea)에 넣고 130±3℃, 150±3℃ 및 180±3℃에서 각각 하루에 10시간씩 총 240시간을 가열하였으며, 매 24시간마다 300 g씩 채취하여 질소가스를 충진하고 −20℃의 냉동고에 보관하면서 분석시료로 사용하였다. 이 때 신유는 첨가하지 않았다.

콜레스테롤 산화물의 분리, 확인 및 정량

콜레스테롤과 그 산화물의 추출은 Itoh 등의 방법[11]에 따랐으며, 콜레스테롤 산화물의 확인 및 정량은 Park과 Addis의 방법[12,13]에 따라 GC-MS로 분석하였다. 이 때 기기는 VG 12~250 mass spectrometer가 부착된 GC(5790A, Hewlett-Packard, U.S.A.)를 사용하였고, 분석조건은 SE-30 capillary column(25 m×0.25 mm I.D., 0.3 μm film thickness, Hewlett-Packard, U.S.A.)을 사용하여 관의 온도는 200℃에서 2분간 유지한후 분당 10℃씩 280℃까지 승온시킨 후 15분간 유지하였다. 시료 주입구의 온도는 270℃로 하였으며, split ratio는 콜레스테롤 산화물의 분석 때는 10 : 1, 콜레스테롤의 분석일 경우는 100 : 1로 조정하였고 ion source(EI^+)는 180℃로 하였다. 또한 운반기체는 헬륨을 사용하였고 그 속도는 2.5 ml/min(15 psig)로 하였으며, ionizing energy는 70 eV, accelerating voltage는 2.8 kV, mass range는 50~800 m/e로 검색하였다. 비비누화물의 trimethylsilylation은 Sylon BTZ 용액(BSA 3 ml, TMCS 2 ml, TSIM 3 ml의 혼합물)에 pyridine 15 ml를 가하여 만든 혼합액을 200 μl 가한 다음, 여기에 pyridine에 녹인 4% 5α-cholestane을 내부 표준물질로서 10 μl를 가하여 5~10분 경과한 후, 이 중 1 ml를 GC-MS에 주입하였다. 각 시료 중의 콜레스테롤 산화물의 동정은 표준 콜레스테롤 산화물의 머무름 시간과 mass spectrum을 비교하여 확인하였고, 정량은 기기에 연결된 integrator(3390A, Hewlett-Packard, U.S.A.)에 의하였다.

이화학적 항수 측정

가열한 우지의 과산화물값은 AOCS의 Cd 8-53법[14]에 따라 측정하였다. 중합물의 함량은 Wu와 Nawar의 방법,[15] 극성화합물의 함량은 Waltking와 Wessels의 방법,[16] 유전 상수는 food oil sensor(NI-21A, Nothern instruments Corp., Lino Lakes, Minnesota, U.S.A.)로 각각 측정하였다.

결과 및 고찰

콜레스테롤 산화물의 생성량 변화

본 실험의 세 가지 튀김온도(130, 150, 180℃)에서 가열한 우지로부터 7α-hydroxycholesterol, 7β-hydroxycholesterol, 5β-epoxycholesterol, 5α-epoxycholesterol, 7-ketocholesterol 및 3,5-cholestadiene-7-one의 6가지 COP가 분리, 확인되었으며, 이들의 GC profile과 mass spectrum은 전보[17]와 같으며, 이들 COP를 정량한 결과는 Table 1과 같다.

세 가지 튀김온도에서 모두 가열시간이 경과함에 따라 우지 중의 콜레스테롤은 감소하는 경향이었으며, 그 감소는 튀김 온도가 높을 때가 낮을 때 보다 컸다. 즉 가열하기 전의 우지 중 966 ppm 함유되어 있던 콜레스테롤은 180℃에서 240시간 가열한 후에는 552 ppm으로 42.9% 감소되었으며, 150℃와 130℃에서 같은 시간 각각 가열한 후에는 606 ppm 및 635 ppm으로 각각 37.3% 및 34.3% 감소되었다. 이러한 결과는 콜레스테롤은 높은 온도에서 보다 쉽게 산화되며, 또한 튀김온도에서 조리할 때 산화와 분해가 상당히 일어남을 나타내 주고 있다. 반면, 튀김온도에 따른 COP의 생성량은 콜레스테롤의 감소 경향과 꼭 일치하지는 않았다. 즉, 콜레스테롤의 감소는 세 가지 튀김 온도중에서 180℃에서 가장 컸고 130℃에서 가장 적었으나, 총 COP의 생성량은 150℃에서 가장 컸고 180℃에서는 150℃ 때 보다 오히려 적었다. 이와 같은 현상은 높은 온도에서는 콜레스테롤의 산화보다는 열분해가 일어나기 때문인 것으로 추측된다. 또한 흔히 사용되는 튀김온도에서 콜레스테롤을 함유하는 식품을 가열하였을 때는 유해한 COP가 생성

Table 1. Effect of heating time on the cholesterol oxidation products(COP) contents(ppm) in tallow heated at different temperatures

COP ppm in lipids[a]	Heating temp. (℃)	Heating time (hours)										
		0	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240
Cholesterol	130	966	956	914	873	822	786	750	724	673	656	635
	150		927	873	838	787	730	701	669	651	627	606
	180		897	821	779	727	690	661	645	621	597	552
7α-Hydroxy	130		tr[b]	1.2	3.0	4.0	4.8	6.0	8.1	10.3	12.1	14.2
	150		1.2	2.1	4.5	5.8	6.9	7.8	9.3	11.1	14.1	16.5
	180		tr	1.3	3.7	4.7	5.2	5.6	7.7	9.3	10.8	8.4
7β-Hydroxy	130		tr	1.6	3.2	4.8	6.6	9.0	12.7	15.3	16.7	19.3
	150		2.4	5.5	9.6	12.2	13.7	14.9	16.5	17.7	19.2	24.0
	180		tr	1.6	4.4	5.7	7.3	9.2	11.1	12.0	12.5	9.0
β-Epoxide	130		0.9	1.6	1.7	2.3	3.3	4.5	7.5	9.3	10.1	12.4
	150		1.6	3.3	4.8	6.9	7.5	9.1	9.9	11.7	13.7	17.1
	180		3.3	5.4	6.7	8.4	9.6	12.6	13.5	15.3	18.9	16.2
α-Epoxide	130		tr	0.6	1.3	1.5	1.6	2.0	2.8	4.1	4.4	6.3
	150		0.9	1.2	1.2	1.5	1.8	3.0	4.3	5.6	6.9	9.9
	180		1.2	2.7	3.0	4.2	4.5	5.7	5.7	7.2	9.0	8.3
7-Keto	130		tr	1.1	1.7	2.9	3.5	4.5	5.1	6.0	6.7	8.4
	150		1.4	2.1	4.5	5.4	5.7	6.6	6.6	6.9	8.4	11.7
	180		1.0	1.6	2.7	3.8	4.7	5.3	5.6	6.2	6.8	8.1
3,5-cholesta-diene-7-one	130			0.9	1.7	1.9	2.1	2.5	2.4	2.6	3.9	4.2
	150			1.3	1.4	1.8	1.8	2.1	2.4	2.4	3.6	4.8
	180			0.8	1.8	2.7	3.1	4.1	4.4	4.7	4.7	5.6
Total COP	130		0.9	7.0	12.6	17.4	21.9	28.5	38.6	47.6	53.9	64.8
	150		7.5	15.5	26.0	33.6	37.4	43.5	49.0	55.4	65.9	84.0
	180		5.5	13.4	22.3	29.5	34.4	42.5	48.0	54.7	62.7	55.6

[a] Mean of duplicate analyses. [b] Trace(Ca. less than 0.1 ppm).

됨에 유의할 필요가 있다.

가열 중 생성되는 콜레스테롤 산화물은 같은 튀김온도에서 가열시간이 경과함에 따라 각각 증가하는 경향이었다. 다만 180℃에서 가열 240시간 후에는 7-ketocholesterol과 3,5-cholestadiene-7-one을 제외한 COP는 오히려 감소하였는데, 이것은 생성된 COP가 높은 온도에서 오랫동안 가열하는 동안 분해되기 때문인 것으로 추측된다. 한편, 튀김온도에 따라 생성되는 콜레스테롤 산화물의 양이 달랐다. 7α-hydroxycholesterol은 150℃ 튀김온도에서 그 생성량이 가장 많았고, 그 다음이 130℃였으며 180℃에서 그 생성량이 가장 적었다. 한편, 같은 가열온도에서는 7β-hydroxycholesterol이 7α-hydroxycholesterol보다 항상 그 생성량이 많았다. 그리고 cholesterol epoxide는 튀김온도가 높을수록 그 생성량이 증가하였으며, 또 같은 가열온도에서는 β-epoxide가 α-epoxide보다 그

Table 2. Changes of peroxide value, polymer and polar component contents, dielectric constant and cholesterol oxidation products in tallow during heating time at 150°C[a]

Heating time (hr)	POV[b] (meg/kg)	POLY (%)	POLC (%)	DIEC	COP (ppm)
0	0.32	0.5	2.7	0.52	–
24	2.40	3.2	7.5	1.25	7.5
48	3.37	6.4	8.9	1.57	15.5
72	2.73	9.4	10.2	1.76	26.0
96	1.33	14.4	13.3	2.26	33.6
120	3.52	16.6	13.5	2.57	37.4
144	3.35	18.2	15.8	2.89	43.5
168	2.58	20.5	17.0	3.24	49.0
192	2.08	23.7	18.9	3.63	55.0
216	2.85	26.5	21.8	3.84	65.9
240	3.17	28.5	25.2	4.39	84.0

[a] Mean of duplicate determinations except for COP (N=4). [b] Abbreviations used; POV, peroxide value; POLY, polymers; POLC, polar components; DIEC, dielectric constant; COP, cholesterol oxidation products.

생성량이 많았다. 이러한 결과는 β-epoxide가 α-epoxide보다 많이 생성된다고 보고한 Sugino 등의 보고[10]와 비슷한 결과이다. 7-ketocholesterol의 생성량은 같은 튀김온도에서 가열시간이 경과함에 따라 계속적으로 증가하였으며, 150℃에서 튀김했을 때가 130℃와 180℃에서 같은 시간 튀김했을 때 보다 그 생성량이 많았다. 3,5-cholestadiene-7-one은 튀김온도가 높을 때가 낮을 때보다 또 튀김시간이 경과함에 따라 그 생성량이 증가하였다.

콜레스테롤 산화물의 함량과 유지의 이화학적 항수 간의 상관관계

우지를 150℃에서 가열하는 동안 과산화물값, 중합물, 극성화합물, 유전상수, 총 콜레스테롤 산화물 함량의 변화를 측정한 결과는 Table 2와 같으며, 이들 측정값들 간의 상관계수는 Table 3와 같다.

Table 3. Correlation matrix among physicochemical characteristics of tallow heated at 150°C

	COP[b]	POV	POLY	POLC
COP	–	–	–	–
POV	0.39	–	–	–
POLY	0.94[a]**	0.64*	–	–
POLC	0.95**	0.59*	0.91**	–
DIEC	0.94**	0.68*	0.87*	0.92**

[a] Simple correlation coefficient(n=30).
** $p<0.01$, * $p<0.05$.
[b] See abbreviations in Table 2.

즉 가열시간의 경과에 따라 유지 중의 중합물 및 극성화합물의 함량, 유전상수는 총 콜레스테롤 산화물 생성량의 증가와 함께 거의 직선적으로 증가하였으며, 다만 과산화물값은 계속적으로 증가하지 않았다. 중합물 및 극성화합물의 함량, 유전상수는 COP의 생성량과 높은 상관관계($r=0.94$, $p<0.01$)를 나타냈다. 그러나 과산화물값은 COP의 생성량과 매우 낮은 상관관계($r=0.39$)을 보였다. Zhang과 Addis[18]는 우지와 면실류의 혼합유(90 : 10)를 가열하였을 때 유리 지방산의 증가와 COP 생성량과는 매우 높은 상관관계가 있다고 하였으며, 이것은 유리 지방산이 콜레스테롤의 산화를 가속시키기 때문이라고 하였다. 일반적으로 유지는 가열산화에 의하여 중합물과 극성화합물의 함량이 증가되므로 유전상수가 증가하는 것으로 알려져 있다.[19] 본 연구에서 중합물 및 극성화합물의 함량 증가가 COP의 생성량을 증가시키는 원인은 앞으로 더 연구해야할 과제라 생각된다. 한편, 본 연구에서 우지 가열 중 중합물 및 극성화합물의 함량과 유전상수를 측정하므로써 COP의 생성량을 어느 정도 추정할 수 있음을 알 수 있었다.

국문요약

우지 중 콜레스테롤의 가열 안정성을 연구하기 위하여 130, 150 및 180℃의 세 가지 튀김온도에서 일정시간 가열하였을 때 콜레스테롤 산화물 생성량과 유지의 몇 가지 이화학적 항

수들의 변화간의 상관관계를 연구하였다. 세 가지 튀김온도에서 모두 가열시간이 경과함에 따라 우지 중의 콜레스테롤은 감소하는 반면 콜레스테롤 산화물의 양은 증가하는 경향이었다. 그러나 일정한 튀김온도에서 콜레스테롤의 감소와 콜레스테롤 산화물의 증가는 꼭 일치하지 않았다. 즉 세 가지 튀김온도 중 콜레스테롤 감소는 180℃에서 가장 크고 130℃에서 가장 적었으나, 콜레스테롤 산화물의 생성량은 150℃에서 가장 많았고 180℃에서는 적었다. 가열한 우지 중 중합물 및 극성화합물의 함량, 유전상수의 변화는 콜레스테롤 산화물의 생성량과 높은 상관관계 ($r=0.94$, $n=30$, $p<0.01$)가 있었다.

참고문헌

1. Smith, L.L.: *Cholesterol Autoxidation*. Plenum Press, New York, pp. 125-197 (1981).
2. Peng, S.K., Taylor, C.B., Tham, P., Werthessen, N.T. and Mikkelson, B.: Effect of auto-oxidation products from cholesterol on aortic smooth muscle cells. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **102**, 57 (1978).
3. Baranowski, A., Adams, C.W.M., Bayliss high, O.B. and Bowyer, D.B.: Connective tissue responses to oxysterols. *Atherosclerosis*, **41**, 255 (1982).
4. Tokuyasu, K., Imai, H., Taura, S., Cho, B.H.S. and Kummerow, F.A.: Aortic lesions in nonlaying hens with endogenous hyperlipidemia. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **104**, 41 (1980).
5. Smith, L.L., Smart, V.B. and Ansari, G.A.S.: Mutagenic cholesterol preparations. *Mutation Res.*, **68**, 23 (1979).
6. Kandutsch, A.A. and Chen, H.W.: Inhibition of cholesterol synthesis by oxygenated sterols. *Lipids*, **13**, 704 (1978).
7. Brown, M.S. and Goldstein, J.L.: Suppression of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme A reductase activity and inhibition of growth of human fibroblasts by 7-ketocholesterol. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7306 (1974).
8. Bischoff, F.: Carcinogenesis through cholesterol and derivatives. *Progr. Exp. Tumor Res.*, **3**, 412 (1963).
9. Nourooz-Zadeh, J. and Appelqvist L.A.: Cholesterol oxides in swedish foods and food ingredients; Butter and cheese. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **65**, 1635 (1988).
10. Sugino, K., Terao, J., Murakami, H. and Matsushita, S.: High-performance liquid chromatographic method for the quantification of cholesterol epoxides in spray-dried egg. *J. Agr. Food Chem.*, **34**, 36 (1986).
11. Itoh, T., Tamura, T. and Matsumoto, T.: Methylsterol compositions of 19 vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **50**, 300 (1973).
12. Park, S.W. and Addis, P.B.: Capillary column gas-liquid chromatographic resolution of oxidized cholesterol derivatives. *Anal. Biochem.*, **149**, 275 (1985).
13. Park, S.W. and Addis, P.B.: Further investigation of oxidized cholesterol derivatives in heated fats. *J. Food Sci.*, **51**, 1380 (1986).
14. American Oil Chemists' Society: *Official and Tentative Method of the American Oil Chemists' Society*. vol. II. 3rd ed., Chicago (1979).
15. Wu, P.F. and Nawar, W.W.: A technique for monitoring the quality of used frying oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **63**, 1363 (1986).
16. Waltking, A.E. and Wessels, H.: Chromatographic separation of polar and nonpolar components of frying fats. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **64**, 1329 (1981).
17. 장영상, 양주흥, 신효선: 상이한 조건에서 저장한 버터로부터 생성된 콜레스테롤 산화물의 양적 변화, 한국식품과학회지, **22**, 767 (1990).
18. Zhang, W.B. and Addis, P.B.: Prediction of levels of cholesterol oxides in heated tallow by dielectric measurement. *J. Food Sci.*, **55**, 1673 (1990)
19. Croon, L.B., Rogstad, A., Leth, T. and Kiutamo, T.: A comparative study on analytical methods for quality evaluation of frying fat. *Fette seifen austerchmittel*, **88**, 87 (1986).