

오메가-3 제품의 산화에 대한 안정성 조사

박건영* · 김영숙 · 김양희 · 신상운 · 조상훈 · 엄경숙 · 홍세라 · 윤미혜

경기도보건환경연구원 보건연구기획팀

Omega-3 Oxidation State of Fish and Algae Oil Supplements in South Korea

Geon-Yeong Park*, Young-Suk Kim, Sang-Woon Shin, Sang-Hun Cho, Kyoung-Suk Eum,
Se-Ra Hong, Mi-Hye Yoon

Gyeonggi Province Institute of Public Health and Environment, Public Health Research Planning Team, Suwon, Korea

(Received June 21, 2019/Revised August 8, 2019/Accepted October 14, 2019)

ABSTRACT - To ensure the safety of products containing omega-3 fatty acids, twenty fish and algae oil omega-3 products available in a Gyeonggi Province, South Korea market were analyzed for eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) content, as well as for oxidative status. Of the tested products, 90% complied with the CODEX/FAO fish oil standards on a *p*-anisidine value (*p*-AV) limit of 20, and 80% complied with the CODEX/FAO fish oil standards on the TOTOX limit of 26, respectively. Fully 100% of the products complied with EPA/DHA content levels. In addition, 90% of the tested products met with a peroxide value (PV) limit of 10 meq/kg while 95% of products were within the a *p*-AV limit of 30. Also, 95% of the products had a calculated TOTOX value of 50, which is lower than the stringent limits used by the European and British Pharmacopeia and Australian authorities.

Key words : Omega-3, Acid Value, Peroxide Value, *p*-Anisidine Value, TOTOX

오메가-3 지방산은 eicosapentaenoic acid (EPA, C_{20:5})와 docosahexaenoic acid (DHA, C_{22:6})이며 몸에서 합성되지 않기 때문에 식이를 통하여 섭취해야 하는 필수 지방산으로, 혈중 중성지질 개선 및 혈행 개선을 통하여 심뇌혈관질환의 발생 감소에 영향을 미친다고 보고되고 있다^{1,2}). 오메가-3는 건강기능식품으로 간편하게 섭취 가능하며, 상당히 많은 제품들이 주로 해양자원, 대표적으로 멸치나 대구의 간으로부터 생산되며 일부는 미세조류가 사용되고 있다³).

다중불포화지방산(polyunsaturated fatty acids)은 지방산 사슬에 많은 수의 이중결합을 가지고 있기 때문에 공기 중의 산소에 의한 산화에 매우 민감한 특성을 가지고 있다⁴). 지방산 산화는 식품의 영양적, 관능적 가치를 낮춰 소비자의 선호도를 감소시키고, 과산화지질을 발생시켜 세포에 손상을 일으키며 각종 질병의 원인이 될 수 있다^{5,6}). 이러한 유지의 산화도 측정은 유지에 의해 흡수된 산소의 양, 점도 및 색도 등의 물리적 수치 측정과 peroxides,

aldehydes, alcohols, acids, epoxides, ketones, volatiles 등과 같은 산화 생성물의 양을 직·간접적으로 측정하는 화학적 방법과 관능적 평가 등이 있다. 측정에 사용되는 산화지표물질들은 산화단계에 따라 생성, 분해, 증가 및 감소되기 때문에 한 가지 방법으로만 유지 산화도를 정확하게 측정하는 것은 쉽지 않아 목적에 따라 여러 가지 방법을 병용해야 한다⁷⁻⁹).

일반적으로 오메가-3에서 산화를 측정하는 대표적인 두 가지 방법은 과산화물가 (Peroxide Value)와 아니시딘가 (*p*-Anisidine Value)이다. 과산화물가는 오일에 얼마나 많은 peroxide가 존재하는지를 측정하는 방법이며, 불포화지방산이 산화되면 첫 번째로 생성되므로 일차 산화 측정방법으로 볼 수 있다. 아니시딘가는 이차 산화가 진행되면 단사슬의 aldehyde와 alcohol이 생성되는데 *p*-anisidine과 반응한 2-alkenals와 2,4-alkadienals의 존재를 350nm에서 측정된 값으로 이차 산화 측정법이다. 이 밖에도 총산화가 (TOTOX)는 오메가 3에서 폭넓게 사용되는 수치로써, 과산화물가와 아니시딘가를 합하여 계산한 값이므로 일차 산화와 이차 산화를 포함하기 때문에 종합적인 산화 측정 방법으로 볼 수 있다¹⁰).

우리나라에서는 2018년 2월 28일 식품의약품안전처 고시

*Correspondence to: Geon-Yeong Park, Public Health Research Team, Gyeonggi Province Institute of Health and Environment, 95, Pajang cheon-ro, Jangan-gu, suwon-si 16205, Korea
Tel: 82-31-250-5041, Fax: 82-31-250-2588
E-mail: yaaahoo@gg.go.kr

제2018-12호의 건강기능식품의 기준 및 규격 일부 개정고시에서 EPA 및 DHA 함유 유지에 대하여 산가 및 과산화물가의 규격을 설정하여 건강기능식품의 안전성 확보에 기여하고자 하였으며, 2019년 3월 시행 예정이었다. 그러나 실제적으로 고시가 시행되는 시점에서는 식품의약품안전처 고시 제2019-10호 건강기능식품의 기준 및 규격 일부 개정고시에서는 EPA 및 DHA 함유 유지의 산가 및 과산화물가 규격 적용 범위를 EPA 및 DHA 함유 유지 제품의 제조 현실을 반영하여 산가와 과산화물가를 원료성 제품과 이에 산화방지제가 첨가된 제품에 한하여 적용하고자 고시를 개정하였다.

본 연구는 고시 시행에 앞서 경기지역에 유통되는 EPA 및 DHA 함유 오메가-3 제품에 대한 안전성을 사전 조사하였으며 결과가 나온 시점에서 고시의 내용이 변경된 이유에 대해 알아보하고자 하며 이에 대한 기초자료를 확보하고자 한다.

Materials and Methods

실험재료

2018년 10월에서 11월에 사이에 조류(algae) 및 멸치(anchovy), 고등어(mackerel)를 포함한 정제 어유가 원료인 EPA 및 DHA를 함유한 오메가-3 건강기능식품을 경기지역 마트 3곳 및 백화점 1곳, 일반매장 1곳에서 유통 중인 제품 20개를 구입하였다.

시약 및 표준용액

분석에 사용된 표준물질인 EPA 및 DHA (EPA ; eicosapentaenoic acid, DHA ; docosahexanoic acid), 내부표준물질 triundecanoic은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, Mo, USA)의 제품을 사용하였고, 이소옥탄은 DOJINDO Molecular technologies (USA)의 제품과 *p*-anisidine은 Sigma-Aldrich 사의 제품을 이용하였다. 그 외의 시약인 acetic acid, sodium sulfate anhydrous는 Sigma-Aldrich사의 제품을, ethanol과 ethyl ether는 Merck사(Germany)의 제품을 사용하였다.

산가 (Acid Value)

오메가-3 제품의 산가 측정을 위하여 건강기능식품공전 시험법 중 별표 4에 해당하는 식품공전 일반시험법 중 산가를 이용하였다¹¹⁾. 산가는 유지 1 g 중에 함유되어 있는 유리지방산을 중화시키는데 필요한 KOH의 mg 수로 glyceride의 결합 형태로 있지 않는 유리지방산의 양을 측정하는 것이며, 유지 자체가 가지고 있는 산화 정도를 측정하는 방법이다. 시료 5 g을 삼각플라스크에 취한 뒤 에탄올-에테르 혼액 (1:2) 100 mL를 넣어 녹이고 페놀프탈레인 시액을 지시약으로 하여 엷은 홍색이 30초간 지속할 때까지 0.1N 에탄올성수산화칼륨용액으로 적정하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균값을 결과값으로 사용하였다.

산가 =

$$\frac{5.611 \times 0.1N \text{ ethanolic KOH 소비량} \times 0.1N \text{ ethanolic KOH 역가}}{\text{시료 채취량 (g)}}$$

과산화물가(Peroxide Value)

오메가-3 제품의 과산화물가 측정을 위하여 건강기능식품 시험법 중 별표 4에 해당하는 식품공전 일반시험법 중 과산화물가를 이용하였다¹¹⁾. 과산화물가는 유지 1 kg에 함유된 과산화물의 mg 당량수로 과산화물은 유지의 산화가 진행됨에 따라 증가하다가 carbonyl 화합물로 분해되어 결국에는 감소하는 특성이 있다. 이 값이 높을수록 식품으로서 부적당하다. 시료 3 g을 초산·클로로포름 (3:2) 용액 25 mL에 포화요오드화칼륨용액 1 mL를 넣어 흔들어 섞은 다음 어두운 곳에서 10분간 방치하고 물 30 mL를 가하여 세계 흔들어 섞은 다음 전분시액 1 mL를 지시약으로 하여 0.01N 티오황산나트륨용액으로 적정하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균값을 결과값으로 사용하였다.

과산화물가 =

$$\frac{(\text{본실험 } 0.01N \text{ 티오황산나트륨 소비량} - \text{공시험 소비량}) \times \text{역가} \times 10}{\text{시료 채취량 (g)}}$$

아니시딘가(*p*-Anisidine Value)

아니시딘가는 American Oil Chemists Society (AOCS) cd 18-90법¹²⁾에 의해 측정하였다. 2-alkenal과 2,4-alkadienal은 2개 이상의 이중결합을 가지고 있는 지방산의 산화 과정 중에 radical의 발생과 에너지 준위에 의하여 radical 주위의 결합이 끊어지면서 발생하는 물질이다. 이러한 aldehyde류의 물질은 acetic acid 존재 하에 *p*-anisidine 시약과 반응하여 황색 색소를 생성하는데 이를 자외선-가시광선 분광광도계를 이용하여 350 nm의 파장에서 측정 가능하다. 이중결합을 함유한 aldehyde는 350 nm의 파장에서 측정 가능하다. 이중결합을 함유한 aldehyde는 350 nm의 파장에서 흡광도가 증가하므로 anisidine 값은 주로 유지 산화 생성물인 2-alkenal의 추정치가 된다. 총산화나 혹은 oxidation value는 과산화물가와 과산화물의 분해산물인 anisidine 값으로 계산하는데 이는 지방산화의 2차 산화 생성물로 유지의 산화정도를 파악하는데 자주 사용된다¹²⁾.

시료 100 mg을 25 mL의 이소옥탄에 정용하고, UV/VIS spectrophotometer 350 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 용액 2.5 mL에 0.25% (w/v) *p*-anisidine 용액 0.5 mL을 혼합하고 10분 반응시킨 후, 동일 파장에서 흡광도를 측정하고 다음 식에 의해 *p*-AV를 계산하였다¹³⁾. 모든 실험은 3회 반복하여 평균값을 결과값으로 사용하였다.

$$p\text{-Anisidine Value} = \frac{25 \times (1.2 \text{ As} - \text{Ab})}{W}$$

As : 아니시딘 시약과 반응한 후의 시료 용액의 흡광도
 Ab : 아니시딘 시약과 반응하기 전의 시료 용액의 흡광도
 W : 시료 무게 (g)

총산화가 (TOTOX, Total Oxidation Value)

TOTOX는 (2*PV + p-AV)에 따라 계산하였다¹⁴⁾.

PV (Peroxide Value) : 과산화물가

p-AV (p-Anisidine Value) : 아니시딘가

지방산 (EPA 및 DHA) 함량

오메가-3 제품의 지방산 EPA 및 DHA 함량을 분석하기 위하여 건강기능식품 시험법 중 지방산 제 2법을 이용하였다^{1,23)}. 시료 25 mg을 시험관에 취한 후, 내부표준물질인 triundecanoic (C_{11:0}, 1 mg/mL) 1 mL와 0.5N 메탄올성 수산화나트륨 1.5 mL을 가하고 혼합 한 후, 100°C에서 5분간 가열하였다. 이를 냉각한 후 14% 트리플루오르보란메탄올용액 2 mL을 첨가하고 vortex 한 후 100°C에서 30분간 가열하였다. 이를 냉각하여 이소옥탄 1 mL을 가하여 vortex한 후 염화나트륨 포화용액 5 mL을 가하고 진탕하였다. 상온으로 냉각한 후 이소옥탄층을 무수황산나트륨으로 탈수하여 시험용액으로 하였다. 표준용액은 EPA 및 DHA와 내부표준물질 undecanoic acid 메틸에스테르를 이소옥탄에 녹여 0.5 mg/mL이 되도록 조제하였다.

FID 기기분석조건은 주입부 온도는 225°C 검출기 온도는 285°C이며, 오븐 온도는 100°C에서 4분간 유지한 후 3°C/min으로 240°C 까지 승온한 후, 15분 유지하였다. 0.75 mL/min의 유량으로 split ratio 200:1로 설정하였다. 지방산 메틸에스테르로부터 지방산으로의 전환계수와 개별 지방산 및 지방산 함량 계산은 건강기능식품의 기준 및 규격에 따른다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균값을 결과값으로 사용하였다.

$$W_{FAMEi} = \frac{Pti \times Wt_{C11:0} \times 1.0067}{Pt_{C11:0} \times Ri}$$

W_{FAMEi} : 지방산 i의 메틸 에스테르로서의 양 (mg)

Pti : 시험용액 중 지방산 i의 피크면적

Wt_{C11:0} : 시험용액 중 내부표준물질 (C_{11:0} triundecanoic) 첨가량 (mg)

1.0067 : 내부표준물질 (C_{11:0} triundecanoic)의 트리글리세라이드로부터 지방산 메틸 에스테르로의 전환계수

Pt_{C11:0} : 시험용액 중 내부표준물질 (undecanoic acid methyl ester)의 피크면적

지방산 i의 반응계수 (response factor, Ri)의 계산

$$Ri = \frac{Psi}{Ps_{C11:0}} \times \frac{W_{C11:0}}{Wi}$$

Psi : 표준용액 중 지방산 메틸 에스테르 i의 피크면적

Ps_{C11:0} : 표준용액 중 내부표준물질 (undecanoic acid methyl ester)의 피크면적

W_{C11:0} : 표준용액 중 내부표준물질 (undecanoic acid methyl ester)의 양 (mg)

Wi : 표준용액 중 지방산 메틸 에스테르 i의 양 (mg)

개별 지방산 함량 계산

$$\text{지방산(g/100 g)} = \frac{W_{FAi} \times 100}{W_{spl}}$$

W_{FAi} = W_{FAMEi} × f_{FAi}

f_{FAi} : 지방산 I (메틸 에스테르로서)의 지방산 전환계수 (EPA, DHA)

W_{spl} : 시료량 (mg)

통계처리 (Statistical Analysis)

모든 평균값과 통계처리는 R 3.5.0을 이용하여 산출하였다.

Results

산화정도 (Oxidative status)

경기지역의 백화점 1곳, 대형유통매장 4곳에서 수거한 19개의 fish oil과 1개의 algae oil을 원료로 한 건강기능식품 오메가-3에 대한 산가, 과산화물가, 아니시딘가, 총산화가 결과는 Table 1과 같다. 모든 결과는 fish oil의 경우 CODEX/FAO Fish oil의 기준 즉, 산가 3.0, 과산화물가 5, 아니시딘가 20으로 기준 적용하였으며, algae oil의 경우 Australia EPA/DHA-Rich *Schizochytrium* Algae oil의 기준 즉, 산가 0.5, 과산화물가 5, 아니시딘가 20으로 기준 적용하였다¹⁵⁾.

산가는 20개 제품이 CODEX/FAO Fish oil의 기준 3.0 mg/g과 Australia EPA/DHA-Rich *Schizochytrium* Algae oil의 기준 즉, 산가 0.5에 적합하였으며, 결과 값은 0-2.9로 평균 및 표준편차는 0.5 ± 0.6 이었다. 과산화물가의 기준은 5.0 meq/kg인데, 20건 중 11건 (55%)이 적합하고 9건이 기준을 초과하였다. 결과 값은 2.6-14.1로 평균 및 표준편차는 5.5 ± 2.9 이다. 아니시딘가는 국제적 기준 중의 하나인 CODEX/FAO Fish Oil standard인 20의 기준에 따라 적용하였을 때, 20건 중 18건 (90%)이 적합하였고, 2건 (10%)이 기준을 초과하였다. 조류를 이용한 algae oil을 재료로 한 오메가-3의 경우 향에 영향을 받아 아니시딘가 높게 나올 가능성이 있는데¹⁰⁾ 기준초과 2건 중 1건이 조류를 원료로 사용한 제품이었다. 또한 일부의 시료에서 아니시딘가의 결과가 음의 값이 나온 경우가 있었는데 오메가-3의 경우 원료가 100% 순수 오일이 아니므로, 시료가 용매인 이소옥탄에 완전히 녹지 않았기 때문인 것으로 생각된다. 그러므로 결과 값이 음의 값을 나타내는

Table 1. EPA/DHA contents and oxidative status of Omega-3 products.

Sample Name	Acid Value	Peroxide Value	<i>p</i> -Anisidine Value	TOTOX	% of label claim
1	0.5	2.7	46.9 ³⁾	52.3 ⁴⁾	116
2	0.1	3.8	0	7.6	109
3	0	5.9 ²⁾	1.5	13.3	111
4	0.7	6.6 ²⁾	0	13.2	95
5	0.3	2.9	0	5.8	82
6	0.3	4.3	2.3	10.9	96
7	0.9	2.6	0	5.2	95
8	0.4	7.4 ²⁾	0.1	14.9	100
9	1.0	14.1 ²⁾	0	28.2 ⁴⁾	103
10	0.6	4.6	0	9.2	101
11	0.2	6.0 ²⁾	2.7	14.7	94
12	0.2	3.9	0	7.8	83
13	0.1	4.7	2.2	11.6	81
14	1.0	3.3	0	6.6	100
15	0.4	8.3 ³⁾	8.0	24.6	94
16	0.7	4.4	2.3	11.1	85
17	0.1	2.8	0	5.6	93
18	0	5.6 ³⁾	9.8	21.0	109
19	2.9 ¹⁾	10.7 ³⁾	6.6	28.0 ⁴⁾	81
20	0.2	5.8 ³⁾	20.9 ³⁾	32.5 ⁴⁾	84

¹⁾Indicates the value exceeded or was very close to the CODEX/FAO standard limit of 3.0 mg/g

²⁾Indicates the value exceeded the CODEX/FAO standard limit of 5.0 meq/kg

³⁾Indicates the value exceeded the CODEX/FAO standard limit of 20

⁴⁾Indicates the value exceeded the calculated limit of 26

경우 0의 값으로 간주하였다. 아니시딘가를 오메가-3의 2차 산화정도 측정에 적용하기 위해서는 따로 정제하는 과정이 필요하다고 생각된다. 종합적인 산화 정도를 파악할 수 있는 총산화가는 20건 중 16건 (80%)이 기준 26에 적합하였으며, 4건 (20%)이 기준을 초과하였다.

2012년에 한국소비자원에서 발행한 오메가-3 건강기능식품 품질시험 결과보고서¹⁴⁾에 따르면 조사대상 22개 제품의 산가는 0.1 mg/g-1.4 mg/g, 과산화물가는 2.7 meq/kg-28.8 meq/kg으로 산가는 본 연구에서 더 높은 수치가 나왔으며, 과산화물가는 한국소비자원에서 조사한 값이 더 높게 나왔다.

EPA 및 DHA 함량 (EPA/DHA content)

각각 제품의 capsule 당 EPA/DHA 함량 분석결과는 표 1과 같다. 건강기능식품의 기준 및 규격에 EPA와 DHA 함량 합의 기준은 제품 표시량에 대하여 80%-120% 인데, 20개의 제품 모두 81%-116%로 평균 및 표준편차는 96% ± 11이었다. 제품에 표시된 원료 및 함량에 대한 결과는 Fig. 1로 나타내었다.

한국소비자원에서 발행한 건강기능식품 품질시험 결과보고서¹⁶⁾에서도 조사한 22개 제품이 모두 함량 기준 80%-120%에 적합하였다.

1차 산화 (PV)와 2차 산화 (*p*-AV)

어유의 질 (oil quality)을 볼 때 오일의 좀더 정확한 상태 파악이 가능하기 때문에 과산화물가 (PV)와 아니시딘가 (*p*-AV)를 동시에 측정하는 것은 매우 중요하다¹⁷⁾. 또한 어유를 원료로 한 제품 (fish oil product)에서 2차 산화 (secondary oxidation : *p*-Anisidine Value, *p*-AV)와 비교하였을 때 1차 산화 (primary oxidation : Peroxide Value, PV)가 많이 진행되었다는 것은 공기 노출로 인하여 최근에 산화가 이루어졌다는 의미이다. 그러므로 다수의 오메가-3 오일 보고서 및 연구결과에 매개변수 (PV 및 *p*-AV)에 대한 내용이 언급되어 있다³⁾. 다시 말해서, 만약 PV/*p*-AV가 1 보다 크면 1차 산화 (PV)가 2차 산화 (*p*-AV)에 비해서 더 많이 진행되었다는 뜻이므로, 아직 2차 산화가 이루어지기에는 다소 이른 시간 즉 최근에 산화가 진행되었다는 의미이다. 예를 들어, 공기에 장시간 노출된 상태

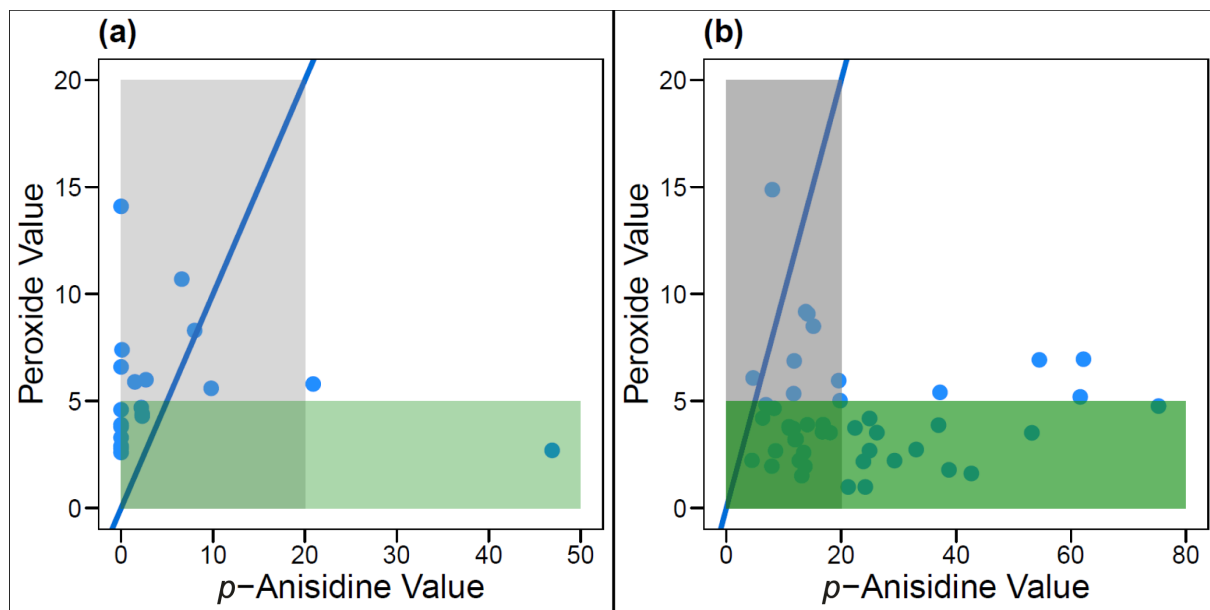


Fig. 1. Comparison of the ratio of PV to *p*-AV of fish and algae oil products tested (Panel a shows the data at all tested products in the current study, and panel b shows the data at all tested products in Bannenberg’s study³⁾). The green- and grey- shaded areas fall below the CODEX/FAO fish oil standard maximum PV and *p*-AV limit of 5.0 meq/kg and 20, respectively. The blue line represents a PV/*p*-AV ratio of 1.

로 너무 긴 시간 시료 전처리가 이루어졌다거나 플라스틱 튜브나 전이금속 (transition metal)으로 오염된 부적합하게 세척이 된 유리 튜브 등에 캡슐을 분리한 상태로 어유 (fish oil)를 보관하였다든지 빛에 과도하게 노출되는 등 산화를 촉진할 수 있는 환경에 노출될 가능성이 많았다는 의미로 볼 수 있겠다. 그러나 유통과정에서의 보관조건은 다소 안정적이기 때문에 최근 산화에 의한 급격한 산화가 이루어질 수 있는 원인인 산소와 빛 또는 산화촉진 등에 어유 보충제가 노출될 가능성은 다소 적어 보인다³⁾.

PV/*p*-AV ratio는 수거한 20개의 제품 중 7개의 제품 (35%)이 1보다 컸고, 13개의 제품 (65%)이 1보다 작거나 같았다 (Fig. 1a). 이 중에는 *p*-AV 값이 0이므로 PV/*p*-AV ratio 값 역시 0인 9개의 제품을 포함한다. 2016년에 뉴질랜드에서 fish oil를 이용한 오메가-3 제품에 대해 연구한 결과 32개의 제품 중 12개 (38%)에서 PV/*p*-AV ratio가 1보다 컸고 20개의 제품 (62%)이 1보다 작거나 같았는데 (Fig. 1b) 이는 본 연구결과와 비슷하였다. 이것은 국내 유통중인 오메가-3 제품이 뉴질랜드와 마찬가지로 보관이 잘 되어 판매되고 있다는 것을 의미할 수 있다.

유통기한에 따른 비교

20개의 제품 중 수거일 (2018년 11월 2일)을 기준으로 유통기한으로 계산하여 남은 기간이 2년 이하의 제품 11개 (그룹 I)와 2년 이상인 제품 9개 (그룹 II)를 두 개의 그룹으로 나누어 EPA와 DHA 함량 및 산화 정도를 비교

하였다.

함량에서는 그룹 I의 평균과 표준편차가 100.0 ± 9.08 로 그룹 II의 89.7 ± 10.0 보다 높은 수치를 나타내었고, 산가는 그룹 I이 0.464 ± 0.317 이고 그룹 II가 0.611 ± 0.917 로 그룹 II가 더 높았다. 산가는 유지 자체의 산화 정도를 측정하는 것이기 때문에 유통기한과 상관없는 결과를 나타냈다고 볼 수 있으며, 1차 산화의 측정 척도인 과산화물가 (그룹 I : 6.01 ± 3.25 , 그룹 II : 4.92 ± 2.44)와 2차 산화 측정 수치인 아니시딘가 (그룹 I : 7.25 ± 14.6 , 그룹 II : 2.62 ± 3.45) 그리고 1차 산화와 2차 산화의 종합적인 판단 근거인 총산화가 (그룹 I : 19.3 ± 14.0 , 그룹 II : 12.5 ± 7.66)의 경우 그룹 I에서 평균과 표준편차가 큰 것은 유통기한이 짧은 것일수록 유통기한이 많이 남은 그룹 II에 비하여 이미 산화가 많이 진행됐다고 볼 수 있다 (Fig. 2).

본 연구결과를 뉴질랜드에서 유통되는 오메가-3와 비교하여 보았다. 2017년에 뉴질랜드에서 발간된 Gerald Bannenberg et al.³⁾의 최근 연구와 본 연구에서의 산화 정도 비교를 CODEX/FAO Fish Oil standard에 근거하여 표 2에 제시하였다. 과산화물가 (PV)를 제외하고는 본 연구에서의 아니시딘가, 총산화가, EPA/DHA 함량 모두 적합률이 뉴질랜드에서 보고된 결과보다 약간 더 높았다. 일차산화의 지표인 과산화물가의 적합률이 우리나라가 뉴질랜드에 비해 더 낮은 것은 원료 대부분이 수입품이기 때문에 원료가 산소와 접촉하여 산화가 진행될 가능성이 더

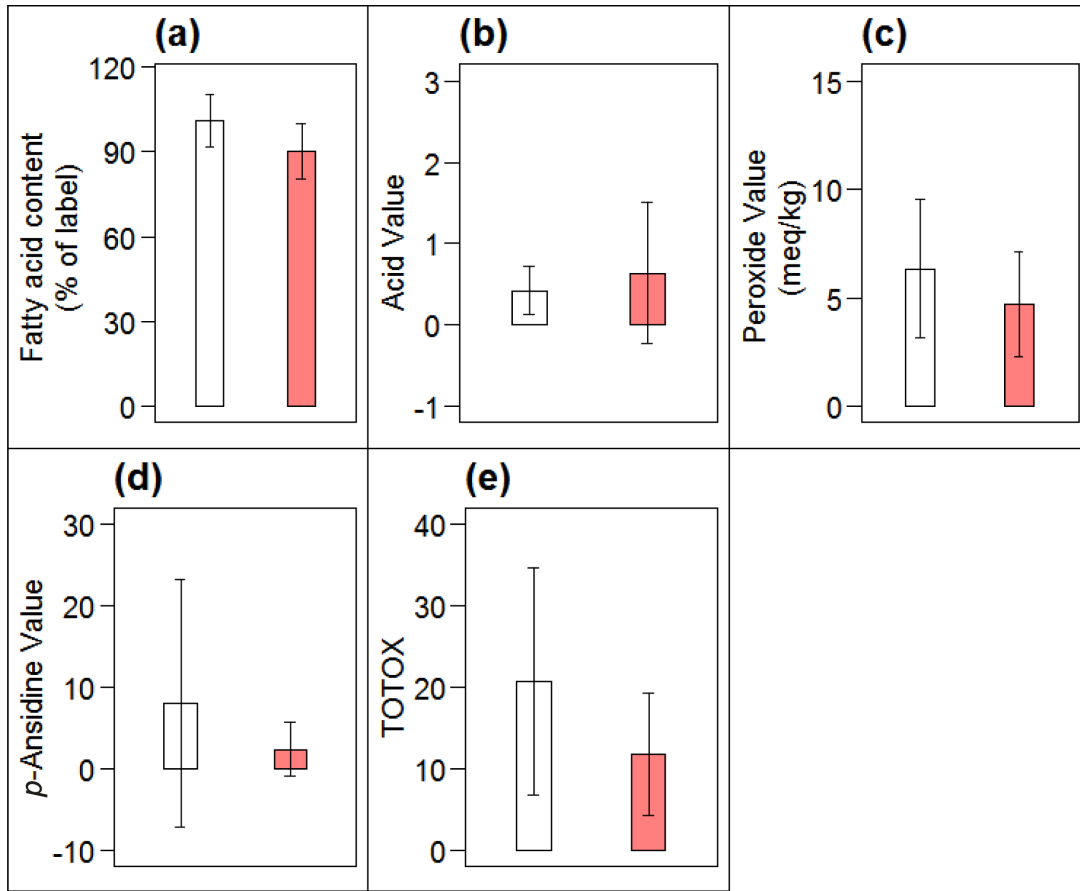


Fig. 2. Content of EPA/DHA and oxidative status of several South Korea fish and algae oil products that were divided into two groups by expiry date (white bar : rest of time below two years. red bar : rest of time over two years). Panel a, EPA and DHA contents expressed as percentage of labeled content (mean ± S.D, n = 20 products); Panel b, Acid Value; Panel c, Peroxide Value; Panel d, *p*-Anisidine Value, Panel e : TOTOX (mean ± S.D, n = 20 products).

Table 2. Comparison of values of oxidative quality and EPA/DHA content in finished products available on the New Zealand market and current study on South Korea.

	Percentage of tested products that complied with CODEX/FAO standard for oxidative status (PV max. 5 meq/kg; <i>p</i> -AV max. 20; TOTOX max. 26), and that adhered to labeled content of EPA and DHA.	
	Current study (n=20)	Gerald Bannerberg et al. (n=47)
PV	55%	72%
<i>p</i> -AV	90%	86%
TOTOX	80%	77%
EPA + DHA content compliance to label claim ¹⁾	100%	9%

¹⁾ South Korea : 80%-120%, New Zealand : over 90%

많기 때문으로 판단되며, 그 외에 아니시딘가, 총산화가에 서는 별다른 차이를 보이지 않았다. 뉴질랜드의 경우에는 오메가-3에 대한 다양한 연구^{3,17,18)}가 진행되는 대표적인 국가중의 하나이기 때문에 Table 2 및 Fig. 1로 나타내어 본 연구결과와 비교하였다(Table 2, Fig. 1).

Discussion

본 연구에서는 경기도에 유통중인 어유(fish oil)와 조류 유(algae oil)를 원료로 한 건강기능식품 오메가-3 20건에 대하여 EPA 및 DHA 함량 및 산가, 과산화물가, 아니시

단가, 총산화가를 알아봄으로써 오메가-3 주성분 및 산화에 의한 안정성을 알아보았다.

수거한 제품 20건 모두 오메가-3의 건강기능식품의 기준 및 규격인 EPA와 DHA 함량 합의 기준인 제품 표시량의 80-120%의 기준에 적합하였으며, 이는 2012년 한국 소비자원에서 실시한 오메가-3 22건의 조사결과 함량이 모두 위의 기준에 적합한 결과와 일치하며¹⁶⁾, 2014년 유통 중인 건강기능식품 10건에 대하여 EPA와 DHA의 함량을 조사한 결과 모두 적합한 국내의 연구와 일치한다¹⁹⁾. 하지만 이는 원료성 제품을 대상으로 하여 바다표범 유래 원료의 경우 120 mg/g 이상의 기준을 적용한 결과라는 점이 상이하다. 국외의 연구에서는 2016년에 호주에서 유통 중인 오메가-3 제품 10건에 대하여 EPA와 DHA 함량 연구에서 평균 109% (표시량의 99%-119%)를 보고한 연구가 있는데²⁰⁾, 이는 국내의 함량기준을 적용하였을 때 적합의 범위이다. 또한 뉴질랜드에서 유통 중인 47개의 오메가-3 제품에 대하여 표시량에 대하여 82-113%의 결과를 나타내어 본 연구의 결과와 일치하는 결과를 나타내었다³⁾.

특히 긴 사슬을 가진 EPA 및 DHA 지방산인 오메가-3 즉, Omega-3 Polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs)는 사람의 건강에 긍정적인 영향을 미치며, 현재 어유 (fish oil)는 오메가-3의 주요 원료이다. EPA 및 DHA는 지방 산화 (lipid oxidation)에 매우 민감하며, 어유 (fish oil)와 다른 다중불포화지방산이 풍부한 식품 (PUFA-rich food)의 지방 산화는 저장성(shelf-life)과 소비자 용인성(consumer acceptability), 기능성(functionality), 영양가(nutritional value)와 안전성 (safety)에 심각한 문제를 야기한다²¹⁾.

산화 (oxidation)는 단순하게 지방과 오일에서 발견되는 불포화지방산이 산소에 노출되었을 때 일어나는 아주 단순한 반응이며, 주변의 공기와 반응하였을 때 지방산의 화학결합이 새로운 분자를 형성하는 것을 말한다. 불포화지방산을 함유한 모든 지방은 조리유 든 캡슐형태이든 시간이 지남에 따라 산화되며, 결국엔 산패에 이르게 된다. 그러므로, 소비자는 산화된 유지를 섭취해서는 안되며, 오메가-3의 EPA와 DHA에서 분해 (degradation)는 제품의 맛과 냄새와 관련되어 있어서 오메가-3 생산 공정에서 산화 과정을 줄이기 위하여 여러 가지 단계를 거치는 이유이다²²⁾.

국내에서는 현재까지 오메가-3 건강기능식품에 대하여 산화와 관련된 기준이 마련되어 있지 않았었기 때문에 관련 연구가 매우 부족한 실정이며, 유지의 산화에 의한 안정성에 관련하여서는 시간에 따른 변화에 주로 초점이 맞추어져 유통되는 제품에 대한 연구는 미비한 실정이다. 또한 이번에 시행하는 오메가-3의 기준은 국제적인 기준 보다는 다소 미흡한 부분이 있다.

식약처고시 제 2019-10호 (2019.2.25)에서는 EPA 및 DHA 함유 유지의 산화·과산화물가의 규격 적용 범위가 EPA 및 DHA 함유 유지 제품의 제조 현실을 반영하여 산

가와 과산화물가를 원료성 제품과 이에 산화방지제가 첨가된 제품에 한하여 적용하도록 하였다. 즉, 제품에 산화방지제가 첨가된 제품에 한하여 산가 3.0, 과산화물가 5.0을 적용하도록 하는 것이다. 이는 20개의 제품 중 1건만이 산화방지제가 포함되었고, 나머지 19건은 산화방지제가 포함되지 않았고, 연구의 결과를 산화방지제가 포함되었다는 전제조건을 적용하지 않은 즉, 기준 5.0을 적용하였을 때 20건 중 9건이 기준을 초과한 결과로부터 유추 가능하며, 오메가-3를 함유한 건강기능식품 역시 산패로부터 안전할 수 없다는 것을 보여주는 결과이다. 또한 산패의 결과 생성되는 향(flavor)을 측정하는 아니시딘가 (*p*-Anisidine Value) 역시 20건 중 2건이 부적합이었다.

Marine과 vegetable oil에 대한 국제적으로 통용되는 산화 기준은 매우 다양하며 대표적으로 어유(Fish oil), 조류유(Algal oil), 새우유(Krill oil)과 식물성유(Vegetable oils)로 나눌 수 있다. 어유(fish oil)에 대한 대표적인 국제 기준인 CODEX/FAO (Codex Alimentarius Commission, Food and Agriculture Organization of the United Nation) Fish oil에서는 산가(Acid Value)의 기준이 3.0, 과산화물가(Peroxide value)는 5, 아니시딘가(*p*-Anisidine Value)는 20이며, 이를 반영한 총산화가(Total Oxidation Value, TOTOX)는 26이다. 또한 GOED(Global Organization for EPA and DHA) Voluntary Monograph의 기준은 과산화물가(Peroxide Value) 5와 *p*-Anisidine Value 20을 적용하고 있다. 조류유(Algal oil)에 대해서는 Australia EPA/DHA-Rich *Schizochytrium* Algae Oil에 대하여 산가는 0.5, 과산화물가는 5, 아니시딘가는 20의 기준을 적용하고 있다¹⁵⁾. 현재 우리나라에서 3월에 시행 예정인 오메가-3 건강기능식품의 기준에는 아니시딘가(*p*-Anisidine Value)와 총산화가(TOTOX)가 설정되어 있지 않은 실정이다. 그러나, 식품의약품안전처 4월에 시행한 공고 제 2019-223호의 건강기능식품의 기준 및 규격 일부 개정 고시안에 대한 행정예고에서는 EPA 및 DHA 함유 유지에 아니시딘가와 총산화가 기준 신설을 통해 산패된 유지 제품의 유통을 차단하고, 소비자 신뢰도 제고 및 국민 건강 보호에 기여하고자 EPA 및 DHA 함유 유지의 아니시딘가와 총산화가에 대한 규격 및 관련 시험법을 추가하여 11월에 시행예정이며, 아니시딘가의 경우 원료성 제품과 산화방지제가 첨가된 제품에 한하여 20.0 이하라는 기준을 설정하였고 총산화가 역시 원료성 제품과 산화방지제가 첨가된 제품에 한하여 26.0 이하로 설정되었는데 이는 앞에서 설명한 기준 및 규격 중 GOED Voluntary Monograph의 기준과 같다.

아니시딘가(*p*-Anisidine Value)는 빛의 특정 파장인 350nm의 흡광치에서 *p*-anisidine과 오일액(oil solution) 그리고 초산(acetic acid)을 넣은 후 측정하는 비색법(colorimetric method)이며²³⁾, 오일의 종류에 따라서 아니시딘가는 상당한 다양성이 있다²⁴⁾. 아니시딘가 실험은 강한

색이나 향이 첨가된 오메가-3 오일에는 적합하지 않은 측정법이며, 아니시딘 분석을 방해하는 astaxanthin과 같은 carotenoids를 자연적으로 함유한 새우유(krill oil)나 연어유(virgin salmon oil)의 경우 적합하지 않은 결과를 나타낼 수 있다. 총산화가는 산화를 측정하는 세 번째 방법으로써 과산화물가와 아니시딘가를 합하여 계산한 수치이다. 이 수치는 일차산화와 이차산화를 모두 포함하는 완벽한 방법을 제공한다. 그러나, 몇 가지의 한계점을 가지고 있는데 총산화가는 사용에 있어서 과학적인 기초를 가지고 있지 않고 대신 산화를 측정하는 아주 편리한 방법이다. 총산화가 계산에 아니시딘가를 포함하고 있기 때문에, 이것 역시 강한 색이나 향이 첨가된 오일, 새우유나 연어유에는 적합하지 않다¹⁴⁾. 오메가-3의 경우 특히 산패가 되면 향이 강하므로 국제적인 기준에 포함되어 있는 아니시딘가와 총산화가가 11월 시행 예정인 것은 매우 바람직하며 향후 유통중인 제품에 대한 모니터링 역시 중요할 것으로 생각된다.

국문요약

오메가-3 제품의 안전성을 알아보기 위하여, 경기지역에 유통되는 20개의 fish oil과 algae oil을 원료로한 건강기능식품 오메가-3에 대하여 EPA와 DHA의 함량과 산화 정도를 조사하였다.

산가의 결과값은 0-2.9 mg/g으로 평균 및 표준편차는 0.5 ± 0.6이며 CODEX/FAO의 기준 3.0 mg/g을 적용하였을 때 모두 적합하였으며, 과산화물가의 경우 2.6-14.1 meq/kg로 평균 및 표준편차는 5.5 ± 2.9이며, 기준 5.0 meq/kg을 적용하였을 때 20건 중 11건이 적합하고 9건이 기준을 초과하였다. 아니시딘가는 국제적인 기준을 20을 적용하였을 때 18건이 적합하였으며 2건이 기준을 초과하였다. 총산화가는 기준 26을 적용하였을 때 16건이 적합하였으며 4건이 기준을 초과하였다. 오메가-3의 산화에 대한 안전성 확보를 위하여 새롭게 설정되어 3월부터 시행되고 있는 산가 및 과산화물가에 대한 기준 올해 11월 시행예정인 아니시딘가와 총산화가에 대한 시행은 매우 바람직하며 지속적인 감시를 통하여 산화로부터의 안전성 확보에 기여할 것으로 보인다.

References

1. Cho, K.H., Park, Y.M., Cardiovascular Disease and Health Functional Foods. *KJFM*, **31(8)**, 587-94 (2010).
2. Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S., Appel, L.J., Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *circulation.*, **106(21)**, 2747-57 (2002).
3. Bannenberg, G., Mallon, C., Edwards, H., Yeadon, D., Yan, K., Johnson, H., et al., Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid content and oxidation state of fish oil supplements in New Zealand. *Sci Rep.*, **7(1)**, 1488 (2017).
4. Song, J.-H., Inoue, Y., Miyazawa, T., Oxidative stability of docosahexaenoic acid-containing oils in the form of phospholipids, triacylglycerols, and ethyl esters. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61(12)**, 2085-8 (1997).
5. Choe, E., Min, D.B., Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *J. Food Sci.*, **70(9)**, R142-R59 (2005).
6. Min, D.B., Boff, J.M., Lipid oxidation of edible oil. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker*. 335-64 (2002).
7. Jeleń, H.H., Obuchowska, M., Zawirska-Wojtasiak, R., Wasowicz, E., Headspace solid-phase microextraction use for the characterization of volatile compounds in vegetable oils of different sensory quality. *J. Agric. Food. Chem.*, **48(6)**, 2360-7 (2000).
8. Beltran, E., Pla, R., Yuste, J., Mor-Mur, M., Lipid oxidation of pressurized and cooked chicken: role of sodium chloride and mechanical processing on TBARS and hexanal values. *Meat Sci.*, **64(1)**, 19-25 (2003).
9. Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., Bauer, F., The antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. *Meat Sci.*, **72(3)**, 446-56 (2006).
10. Ismail, A., Bannenberg, G., Rice, H.B., Schutt, E., MacKay, D., Oxidation in EPA-and DHA-rich oils: an overview. *Lipid. Technol.*, **28(3-4)**, 55-9 (2016).
11. Ministry of Food and Drug Safety.: Food Code; Available from: http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=11046. Accessed Mar. 20, (2019).
12. Society AOC, Firestone D. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society: AOCS press, 1994.
13. Lee, M.L., Chang, P.H., Lee, J.H., Comparison of Oxidation Stability for the Thermally-oxidized Vegetable Oils using a DPPH Method. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **39(2)**, 133-137(2007).
14. Shahidi, F., Zhong, Y., Lipid oxidation: measurement methods. *Bailey's industrial oil and fat products*. 2005.
15. De Boer, A.A., Ismail, A., Marshall, K., Bannenberg, G., Yan, K.L., Rowe, W.J., Examination of marine and vegetable oil oxidation data from a multi-year, third-party database. *Food Chem.*, **254**, 249-55 (2018).
16. Retrieved from http://www.kca.go.kr/brd/m_46/view.do?seq=211&itm_seq_1=2
17. Turner, R., McLean, C.H., Silvers KM. Are the health benefits of fish oils limited by products of oxidation? *Nutr. Res. Rev.*, **19(1)**, 53-62 (2006).
18. Albert, B.B., Derraik, J.G., Cameron-Smith, D., Hofman, P.L., Tumanov, S., Villas-Boas, S.G., et al., Fish oil supplements in New Zealand are highly oxidised and do not meet label content of n-3 PUFA. *Sci. Rep.*, **5**, 7928 (2005).
19. Kim, D.K., Shin, J.A., Lee, K.T., Monitoring of compositions of gamma-linolenic and omega-3 fatty acids in some functional foods consumed in market.

- CNU J. of Agric. Sci.*, **38(2)**, 277-84 (2011).
20. Nichols, P., Dogan, L., Sinclair, A., Australian and New Zealand fish oil products in 2016 meet label omega-3 claims and are not oxidized. *Nutrients*, **8(11)**, 703 (2016).
 21. Arab-Tehrany E., Jacquot M., Gaiani C., Imran M., Desobry S., Linder M., Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Trends. Food Sci. Technol.*, **25(1)**, 24-33 (2012).
 22. Kolanowski W., Omega-3 LC PUFA contents and oxidative stability of encapsulated fish oil dietary supplements. *Int. J. Food Prop.*, **13(3)**, 498-511 (2010).
 23. von Elbe J., Schwartz S., Colorants. In "Food Chemistry Third Edition"(OR Fennema, ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, 1996.
 24. Guillén, MaD, Cabo, N., Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chem.*, **77(4)**, 503-10 (2002).