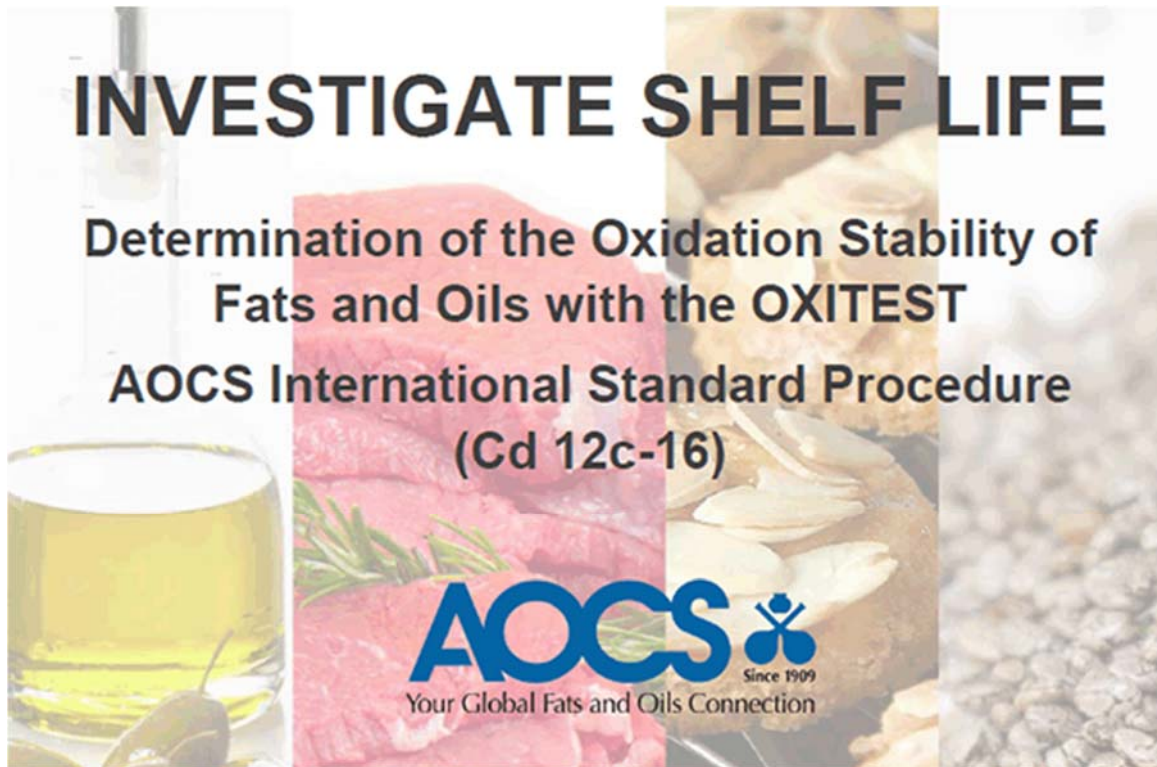


AOCS, OXITEST Method 를 세계 표준 기술로 채택

2017 년 5 월, AOCS (The American Oil Chemists' Society) 는 유럽 VELP 사에서 개발한 Oxidation Stability 측정 장비인 OXITEST 의 산화 안정성 측정방식을 International Standard Procedure 로 채택하였습니다.



지방 산화반응 예측 연구

OXITEST 방법은 식품, 지방, 오일 의 산화안정성 (oxidation stability) 를 측정하는 장비이다 지방을 함유하고 있는 거의 모든 식품, 사료 등은 일정량의 지방을 함유하고 있기 때문에 이로 인해 일정 기간이 지나면 산화가 발생하여 부패하게 된다.

지방의 산화에는 주변온도, 온도, 지방산종류, 산소농도 등의 조건에 영향을 받는다. 식품분야에서는 원료식품 및 가공식품의 산화 안정성 (oxidation stability) 의 예측이 매우 중요하다.

일반 조건에서는 수주 또는 수개월이 걸리는 oxidation stability test 를 OXITEST reactor 를 이용하면 산화 반응을 가속화시켜 결과를 정확하고 신속하게 구할 수 있다

국제적으로 공인된 산화 안정성 분석 장비

이탈리아 VELP 사가 최초 개발한 Oxitest Method 는 food, fats, oil 의 산화 안정성을 측정을 위한 AOCS International Standard Procedure (Cd 12c-16) 로 채택되었다.

(May 2017, the Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, American Oil Chemist's Society).



별도의 지방 분리 과정없이 샘플 그대로 산화 안정성 측정

OXITEST reactor 는 지방 산화에 대한 안정성을 아주 빠른 시간안에 측정하기 위해 고압의 산소와 고온하에서 샘플을 처리하게 된다. 이 때 샘플은 고체, 액체 그리고 반죽 등 어떤 형태의 샘플도 별도의 지방 분리 과정없이 바로 지방 산화 안정성을 측정할 수 있다.

OXITEST 는 figure 1 과 같이 OXISoft 소프트웨어에 의해 정밀 제어되고 reactor 는 고순도 산소 탱크에 연결되어 사용된다.

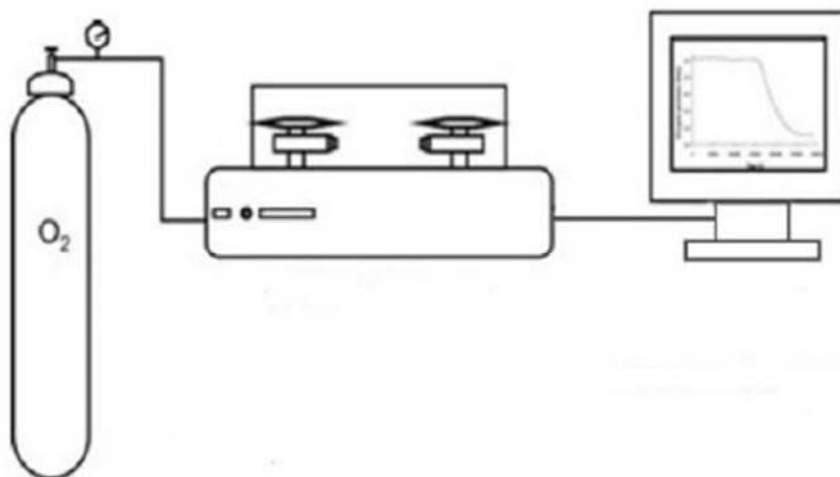


Figure 1- OXITEST Configuration

장비는 온도조절 가능한 2 개의 타이타늄 재질의 chamber 로 구성되어 있으며 각 chamber 에 0 - 8 bar 의 산소압력과 최대 110°C 까지 온도를 가할 수 있다.

chamber 내부의 샘플이 산소를 uptake 하게 되면 chamber 내부의 산소 압력이 변하게 되는데 Oxitest 는 산소 압력변화를 모니터링하여 Induction Period (IP) 값으로 자동 계산하여 준다. IP 값이 길면 길수록 산화에 대한 샘플의 저항성과 안정성이 크다는 것을 의미한다.

Oxitest method 의 유용한 장점

- 각기 다른 온도에서 OXITEST 측정한 결과를 이용하여 상온에서 제품의 유통기한 예측 가능
- 각기 다른 제품의 저장 기간에 따른 산화 반응 연구에 사용할 수 있다.
- 제품 저장 조건에 대한 연구에 사용 가능
- 제품의 포장 조건 연구에 사용
- 각기 다른 조성을 가지는 식품들의 산화안정성을 비교 분석
- 항산화제의 효율성에 대한 연구
- 원료물질의 품질 검사

Accelerated Shelf Life Studies of Extra Virgin Olive Oils Using the Oxitest Method

Lipid Oxidation

Marisa C. Caruso, Fernanda Galgano, Teresa Scarpa, Paola Ornaghi, and Fabio Favati



- VELP Scientifica 사의 Oxitest 장비는 모든 sample 의 지방 산화를 특정할 수 있는 분석 장비이다.
- 이태리 두개의 지역에서 생산되는 olive oil 의 산화안정성을 분석하기 위해 Oxitest Method 를 사용하여 측정하였다.
- 분석 결과 두 종류 olive oil 은 재배방식과 지리적인 차이가 있음에도 불구하고 폴리페놀의 전체 함유량과 산화 안정성 사이에 강력한 관련성이 있었다.

식품산업에서는 원료물질과 가공된 식품의 유통기한을 신속히 설정하는 것이 매우 중요하다.

Oxitest 방법은 지방 산화를 신속히 확인할 수 있는 분석기법이다.

지방 산화를 측정하는 일반적인 방법들은 산화반응 측정을 위해 sample 에 함유된 지방을 먼저 추출하여야 하지만 Oxitest 방법은 이런 과정 없이 전체 sample 로부터 직접 산화반응을 측정할 수 있다는 것이 가장 큰 특징이며 장점이다.

이 Oxitest 방법은 이태리 VELP Scientifica 가 여러 대학교와 연구센터와의 협력을 통해 이 방법과 장비를 개발하였으며 AOCS International Standard Procedure (Cd 12c-16) 로 채택되어 전세계적으로 공인된 산화안정성 측정 방법이 되었다.

<https://www.aocs.org/store/shop-aocs/shop-aocs?productId=72560532>.

Lipid oxidation 은 빛, 온도, 지방산 성분, 산소의 특성 및 농도, 항산화물질 같은 미량 물질의 존재 여부, 금속이온, 염료 등 매우 다양한 요소들에 의해 영향을 받는데 식품의 산화안정성을 개선시키기 위한 체계적인 연구가 오랫동안 이루어져 왔다 (Comandini et al. 2009).

Lipid oxidation 은 sample 에 따라 수일에서 수개월동안 매우 천천히 이루어지는 과정이다.

Oxitest reactor 는 sample 에 high-oxidative-stress environment 를 가해주어 sample 이 이러한 조건하에서 견디는 정도를 짧은 시간안에 확인을 가능하게 하는 장비이다 (Comandini et al. 2009).

Oxitest 는 밀봉된 2 개의 타이타늄 재질의 chamber 가 있으며 고순도 산소를 최대 8 bar 의 고압으로 이 chamber 를 채우게 된다. (Fig. 1).

온도는 사용자가 원하는 온도를 최대 110 °C 까지 설정 할 수 있다.

Oxitest 의 chamber 내부에 있는 sample 이 산화가 일어나서 산소를 소모하게 되면 산소의 압력변화가 일어나는데 산소가 소모되기 시작하는 시점까지 걸린 시간을 자동으로 계산하여 Induction Period (IP) 라는 값으로 표시하여 준다.

IP 가 길면 길수록 sample 이 산화반응에 저항하는 능력이 크다는 것을 의미하며 IP 는 결국 sample 의 life time 이 된다.



지난 수년동안 식물성 오일의 shelf life 에 대한 연구가 큰 주목을 받았으며 많은 과학자들이 식물성 오일의 산화테스트 반응에 투자하기 시작하였다.

올리브 오일은 건강에 매우 유익한 지중해 지역의 대표 식품으로 인식되기 시작하면서 이러한 연구의 대표적인 주제가 되었다.

FIG. 1. Sample loading in the Oxitest chambers

Lipid oxidation 은 shelf life 에 가장 크게 영향을 미치는 식품 분해과정이다 (Tura et al. 2007).
올리브 오일은 불포화지방산이 적어 다른 식물성 오일에 비해 산화안정성이 매우 크다 (Martinez et al., 2014).

엑스트라 버진 올리브 오일은 특히 원료 물질의 품질이 뛰어나고 부드러운 추출법으로 인해 특히 산화에 대한 저항성이 탁월하다. 사실 엑스트라 버진 올리브 오일은 polyphenol 과 α -tocopherol 과 같은 천연 항산화물질의 함량이 높은것으로 알려져 있다 (Favati et al. 2013).

Further reading

Comandini, P., V. Verardo, P. Maiocchi, and M.F. Caboni, Accelerated oxidation: Comparative study of a new reactor with oxidation stability instrument, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 111: 933–940, 2009

Favati, F., N. Condelli, F. Galgano, and M.C. Caruso, Extra virgin olive oil bitterness evaluation by sensory and chemical analyses, *Food Chem.* 139: 949–954, 2013

Martínez, M., M. Fuentes, N. Franco, J. Sánchez, and C. De Miguel, Fatty acid profiles of virgin olive oils from the five olive-growing zones of Extremadura (Spain), *J. Am. Oil Chem.* 91: 1921–1929, 2014

Tura, D., C. Gigliotti, S. Pedò, O. Failla, D. Bassi, and A.

Serraiocco, Influence and cultivar and site cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea europea L.*) and correlations with oxidative stability, *Sci. Hort.* 112:108–119, 2007

이태리 Basilicata 대학교, Verona 대학교와 VELP Scientifica 사의 연구진들은 엑스트라 버진 올리브 오일의 산화 스트레스에 대한 저항성을 규명하기 위한 Eufolia Mediterranea 프로젝트의 일환으로 엑스트라 버진 올리브오일의 산화 안정성을 테스트하였다.

이태리 남부의 Basilicata 지역에서 재배한 Ogliarola del Bradano 올리브 품종에서 동일한 방법과 설비로 추출된 세개의 엑스트라 버진 올리브오일 sample 에 대한 산화 안정성 테스트를 실시하였다. 온도는 90°C, 산소압력은 600 kPa (6 bar) 하였으며 각 sample 당 3 회 반복하여 측정하였다.

세개의 샘플은 재배연도와 재배방법이 각기 다른 엑스트라 버진 올리브오일이다.

첫번째 샘플 (PFI 2013 C) 은 전통적인 방법으로 2013 년 재배된 올리브에서 추출한 오일이며 두번째 샘플 (PFI 2014 C) 은 전통적인 방법으로 2014 년 재배된 올리브에서 추출한 오일이고 세번째 샘플 (PFI 2014 E) 은 2014 년에 최신 기술과 최적의 조건으로 재배된 올리브에서 추출한 엑스트라 버진 올리브오일 이다.

측정 후 세가지 오일의 IP 값을 비교한 결과 전통적인 방법으로 2013 년 재배된 sample 이

전통적으로 2014 년 재배된 sample 보다 더 산화 안정성이 더 뛰어났는데 이것은 기후조건의 차이에 의한것으로 추정된다.

그러나 최적의 조건에서 실험적으로 2014 년 재배된 sample 은 같은 해 전통적 방식으로 재배된 sample 보다 약 10 시간 정도 더 IP 값이 길 정도로 산화 안정성이 탁월하였다.

이를 통해 실험적인 재배 기법이 엑스트라 버진 올리브오일의 산화안정성에 매우 긍정적인 영향을 끼쳤다는 것을 알 수 있다.

이 프로젝트에 사용된 3 개의 sample 의 산화안정성을 다른 올리브 품종 (Ogliarola del Bradano, Leccino, Coratina) 의 올리브 오일과 비교하였다. 이 오일 중에서 Leccino 품종의 오일의 IP 값이 19.5 시간으로 가장 낮았고 Coratina 품종의 오일이 62 시간으로 가장 높았다.

또한 이태리 북부지방에 있는 Garda 호수 지역에서 생산된 5 종류의 엑스트라 버진 올리브오일의 산화 안정성은 38 시간에서 78 시간의 IP 값을 가질 정도로 매우 뛰어났다.

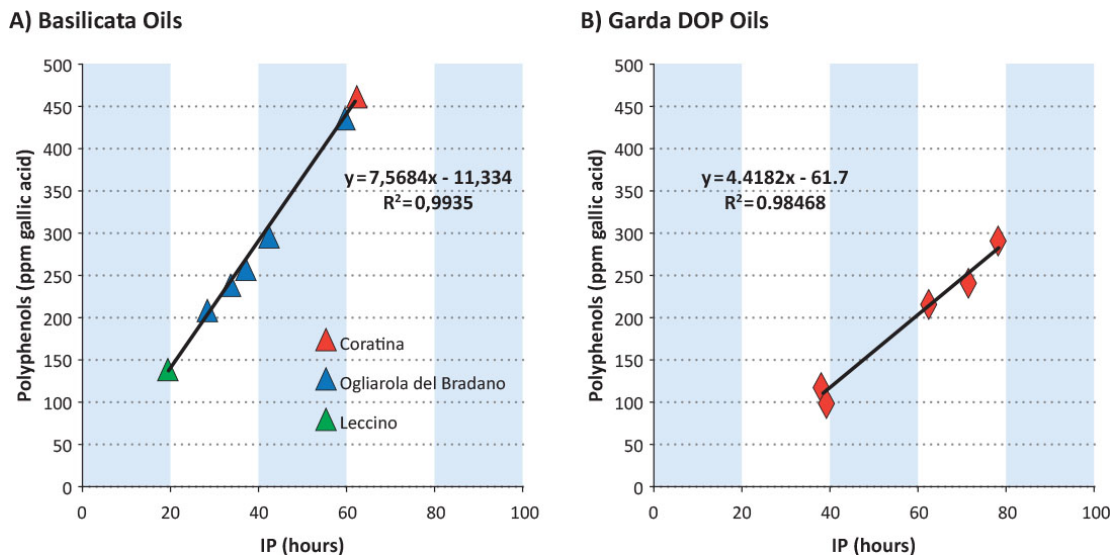


FIG. 2. Correlation between IP values and total polyphenol content for Basilicata(a)and Garda(b)extra virgin olive oils

연구진들은 엑스트라 버진 올리브오일의 어떤 인자들 (acidity, peroxides, K232, K270, p-Anisidine, chlorophyll, carotenoids, tocopherols, and total polyphenols) 이 산화 안정성에 영향을 끼치는 지에 대한 연구를 계속한 결과 폴리페놀 (polyphenols) 의 함량과 산화 안정성 사이의 관련성이 매우 높다는 사실을 확인하였다 (Fig. 2). 다른 요소들은 이런 연관성이 없었다.

Oxidation Stability of Butter

Reference: EURACHEM GUIDELINES

Tested with VELP Scientifica OXITEST Oxidation Stability Reactor (Code F30900248)

Introduction

버터는 약 80%의 지방으로 구성된 water-in-oil 형태의 emulsion이다. 품질이 좋은 버터에서 수분은 미세 방울 형태로 버터 전체에 고루 분산되어 있다. 버터는 우유 또는 크림으로부터 만들 수 있으나 크림에서 버터를 만드는 것이 더 효율적이다.

전통적으로 버터는 상품으로 완성되기 전에 발효처리를 하거나 가열처리를 하게 된다.

버터의 품질은 버터의 향, 색깔, 식감 등에 대한 고객의 반응으로 설명될 수 있는데 사실은 개인의 음식에 대한 초기의 느낌에 의해 결정되는 경우가 많다.

Oxidation Stability of Food

식품의 품질 변성에 가장 큰 영향을 미치는 것은 불포화지방산 등에 의한 산소 uptake 때문이다. 지방의 자가 산화반응은 빛, 고온, 미량의 금속 그리고 때로는 효소등에 의해 촉진된다.

OXITEST를 이용하면 sample로부터 지방을 분리하는 별도의 과정없이 다양한 형태로 존재하는 sample의 산화 안정성을 확인할 수 있다.

OXITEST Principle

OXITEST는 높은 온도와 고압의 산소를 가하여 sample의 산화 반응을 가속화 시키게 한다.

Sample내 성분들이 산소를 uptake함에 따라 chamber내부에 압력 변화가 발생하게 되는데 OXITEST는 chamber내부의 압력변화를 측정하여 압력변화가 발생하기 시작한 시간을 의미하는 IP value를 자동으로 계산하여 준다.

IP 란? : IP는 induction period의 약어로서 반응 시작에서부터 산화가 일어나기 시작하는 시점까지 걸린 시간을 의미하는 것으로서 산화 반응이 급속히 일어나기 시작하여 약취가 발생하기 시작하는 시점과 동일하다. Induction Period가 길다는 것은 (IP 값이 크다는 것과 같은 의미) 해당 물질이 산화에 대한 안정성 (저항성)이 크다는 것을 의미한다.

Sample

Butter formula F1 :: Fat labeled value: 81.0 g / 100 g

Butter formula F2 :: Fat labeled value: 82.0 g / 100 g

Equipment and Chemicals

- Analytical balance, 3 decimals
- Silicone grease
- Oxygen, purity grade 5.0 (99.999%)

Sample Preparation

2 개의 titanium sample holder 에 잘 mixing 한 sample 10g 을 각각 넣고 각 sample holder 를 두개의 reaction chamber A, B 에 위치시킨다.

Analysis Procedure

Silicon grease 를 바른 O-ring 을 chamber cover 에 설치한 후 chamber cover 를 이용하여 chamber 를 밀봉 시킨 후 discharge valve 를 open 시킨다.

PC 의 OXISoft™ software 에 다음 반응 조건을 입력한다.

- Temperature: 80 °C
- Oxygen Pressure: 6 bars

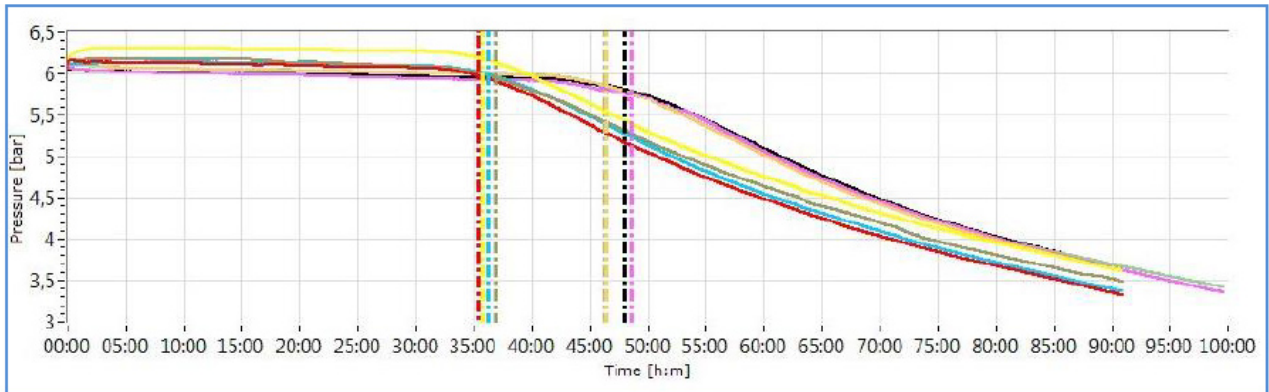
Chamber 내부가 설정된 온도에 도달하면 discharge valve 를 잠그고 산소를 주입하기 시작한다. 지금부터 software 는 데이터 인식을 자동으로 시작하게 된다.

Typical Results on Butter

각 sample 은 4 번씩 산소 농도를 자동으로 monitoring 하게 된다.

산화 테스트 마지막 시점이 되면 OXISoft™ software 가 monitoring 한 각각의 (각 sample 당 4 개씩 총 8 개의 monitoring) IP 값을 계산하게 된다.

Sample	Weight (g)	Set Point (bars)	Set Point (°C)	IP (hh:mm)	Line
Butter F1	10,000	6,00	80,0	35:28	Red
Butter F1	10,000	6,00	80,0	36:54	Green
Butter F1	10,000	6,00	80,0	35:44	Yellow
Butter F1	10,000	6,00	80,0	36:14	Cyan
Butter F2	10,000	6,00	80,0	46:24	Orange
Butter F2	10,000	6,00	80,0	48:35	Pink
Butter F2	10,000	6,00	80,0	46:17	Grey
Butter F2	10,000	6,00	80,0	48:00	Black



Repeatability Test

OXISoft™ software 는 재현성 테스트 (repeatability test) 를 시행할 수 있다.

즉 동일한 sample 을 두 개 이상 준비하여 동일 조건하에서 테스트를 시행하여 IP 값을 측정한다. 다음 각 sample 의 IP 값의 평균, 상대편차, 표준상대편차 (RSD, relative standard deviation) 값을 구하여 실험의 재현성을 판단할 수 있게 한다. 다음 테이블은 위 측정값에 대한 결과이다.

Sample	IP average (hh:mm)	SD (hh:mm)	RSD %
Butter F1	36:05	0:37	1.7
Butter F2	47:19	1:09	2.4

Oxidation test 에서 측정한 IP 값이 신뢰성을 가지기 위해서는 RSD 값이 5% 이내여야 한다.

Formula Comparison

OXISoft™ software 는 같은 조건에서 테스트한 다른 조성을 가진 sample 들의 IP 값을 비교하여 어떤 sample 의 산화안정성이 뛰어난 지를 쉽게 확인 할 수 있다.



Conclusion

OXISoft™ software 에 의한 IP 측정 값과 Formula comparison 기능에 의해 어느 버터가 산화에대한 저항성이 큰지를 확인할 수 있다. 위 테이블에서 우리는 버터 F2 sample 이 산화에 매우 안정하다는 것을 알 수 있다.

두 샘플의 총 지방함유량이 비슷함에도 불구하고 버터 F1 sample 의 IP value 는 짧았고 산화 안정성은 매우 낮았다. 이는 두 버터의 지방 성분이 다를 가능성이 크다는 것을 의미한다 불포화지방산의 함유량이 많으면 많을수록 포화지방산에 비해 산화반응이 훨씬 크게 일어난다.

Comparison between the rate of oxygen absorption by saturated and unsaturated fatty acids	
Stearic acid	1
Oleic acid	11
Linoleic acid	114
Arachidonic acid	179

Table bibliography: "Food Chemistry" - page 166 - Cappelli, Vannucchi

버터는 식품산업에서 매우 중요한 성분으로 사용되므로 버터의 산화 안정성을 확인하는 것은 최종 식품의 조성을 설계하는데 매우 중요한 역할을 하는 것이다.

OXITEST 장점

- 샘플로부터 지방 분리와 같은 전처리 과정없이 sample 로부터 직접 산화안정성 테스트 가능
- whole sample 의 산화안정성 테스트
- reaction chamber 타이타늄 재질로 되어 내구성이 탁월
- 전통적인 산화 반응 측정 방식에 비해 측정 시간이 매우 단축
- R&D 와 제품개발 그리고 품질관리에 필수적인 장비
- software OXISoft™ 를 이용하여 다양한 분석이 가능
 1. Repeatability test : 측정한 데이터의 정확성과 재현성을 확인하기 위한 테스트 가능
 2. Freshness test : 각각 다른 batch 에서 생산된 제품들의 품질 비교에 사용 가능
 3. Formula comparison : 각기 다른 조성을 가진 제품의 품질을 비교 측정하는데 사용
 4. Packaging comparison : 각기 다른 포장방법이 제품의 신선도에 미치는 영향 분석
 5. IP during ageing : 유통 기간의 변화에 따른 제품의 산화 안정성 분석
 6. Estimated shelf life : 산화 안정성을 기반으로 제품의 유통 기한 예측.