

특별강연 10

중금속 이온 존재 하에서의 아스코르빈산 자동산화반응에 관한 연구

김 미 옥

울산대학교 식품영양학과

L-아스코르빈산(L-ascorbic acid, AsA)은 식품 및 생체계에 존재하는 수용성 항산화물질로, 특히 인간에게 있어서는 필수 불가결한 수용성 비타민으로써 중요한 역할이 알려져있다. AsA의 자동산화반응은 철(Fe)이나 동(Cu) 등의 전이중금속 이온의 촉매작용에 의해 쉽게 진행된다. 그러나, 이 AsA의 자동산화반응에 대해서는 유리중금속 이온의 산화촉진효과를 비롯하여 상세한 것에 대해서는 밝혀지지 않은 점이 많다. 그러므로, 본 연구에서는 식품 및 생체계에 있어서 AsA항산화 기작의 기초가 되는 자동산화반응의 기작을 규명하기 위한 제 1 단계로써, 중금속 이온 존재 하에서의 AsA 자동산화 반응기작에 대해 검토하였다. 또한, 생체 내에서 AsA의 대사와 철의 대사는 상호간 대단히 밀접히 관련되어 있음에도 불구하고 그 상세한 것에 대해서 충분하게 밝혀지지 않은 점에 주목해, ferritin으로부터의 철의 유리(遊離)에 따른 AsA의 관여에 대해서도 검토하였다.

AsA수용액(50 μ M) 및 메탄올 용액 중에 Fe(III)이온(5 μ M) 및 Cu(II)이온(0.1 μ M)을 용해하고, 실온(25°C)에서 일정시간 산소를 통기(通氣)(200ml/min)해서 자동산화반응을 촉진하였다. AsA잔존율을 UV또는 HPLC에 의해 측정한 결과, 중금속이온 존재에 따라 AsA산화반응이 촉진되는 것을 알 수 있었다. 또한, AsA비해리형 경우는 중금속이온 존재에 따른 AsA의 산화촉진작용은 용매의 종류에 따라 크게 다르고, 해리형 AsA쪽의 산화반응속도가 크다는 것을 확인하였다. 한편, AsA산화반응에 대한 비효소단백질로써 bovine serum albumin, ovalbumin, γ -globulin 등을 공존시킨 경우, AsA의 산화반응에 대한 이들 단백질의 비특이적이며 강한 억제작용이 밝혀졌다.

AsA의 초기 자동산화 반응생성물인 threonolactone(THL) 및 threonic acid(THA)는 TMS유도체화 한 후, GC 및 GC-MS에 의해 정량했다. 그 결과, 메탄올 용액 중에서는 비해리형 AsA 및 해리형 AsA 양쪽에서 Fe(III)이온 존재하에서는 비존재하의 경우보다 약 2배 크고, 수용액 중에서는 중금속이온 존재의 유무에 그다지 관계없이 거의 같게, AsA의 C(2)-C(3)간의 개열(開裂) 반응 생성물인 THL 및 THA의 생성이 확인되었다. 더욱이, 해리형AsA 경우는 비해리형AsA 경우보다도 THA생성량이 현저하게 많고, 알칼리성(pH 10.5)경우에는 THL은 생성되지 않고 THA만 생성되는 것이 실험적으로 확인되었다. 더욱이, AsA수용액을 산소가스를 통기하지 않고, 공기 중에서 실온에 방치한 경우에도, THL 및 THA의 생성수율은 꽤 적지만 무시할 수 없는 정도로 생성되는 것이 밝혀졌다. 한편, Fe(III)이온 및 Cu(II)이온 존재 하에서의 AsA 자동산화 반응에 있어서 O_2^- 생성을 수용성 용액 중에서는 SOD(superoxide dismutase) 등을 사용하고, 메탄올 용액 중에서는 NBT(nitro blue tetrazolium)를 사용해서 조사한 결과, 어느 경우에서도 O_2^- 생성이 강하게 시사되었다. 이들 결과에 의해, 중금속 이온 존재 하에서의 AsA 자동산화 반응경로에 있어서 지금까지 알려져 있던 반응경로 이외에 새로운 경로가 존재하는 가능성을 시사하고 있다.

또한, AsA와 ferritin과의 상호작용에 있어서는 가시부 흡광도 변화의 측정 결과, 호기적 조건하에서 유리되는 철의 50%이상이 AsA자신에 의해, 나머지는 AsA과 산소분자와의 반응에 의해 생기는 O_2^- 에 의해 생성되는 것으로 평가되었다. 나아가, BIACORE2000을 이용한 측정 결과는 AsA이 ferritin과 상호작용하고 있을 가능성을 강력히 시사하고 있으며, AsA에 의한 ferritin으로부터의 철의 유리는 AsA분자가 ferritin의 core부분까지 도달해, Fe(III)에서 Fe(II)으로 환원되어, Fe(II)이 ferritin의부로 유리되는 것으로 사료된다.