

글루코오스 산화효소와 수퍼옥사이드 디스뮤타제는 유지의 산화를 억제할 수 있는가?

한대석 · 이옥숙 · 안병학 · 신현경

한국식품개발연구원

Could Glucose Oxidase and Superoxide Dismutase Inhibit the Oxidation of Fats and Oils ?

Daeseok Han, Ock-Sook Yi, Byung-Hak Ahn and Hyun-Kyung Shin

Korea Food Research Institute

Abstract

The effect of glucose oxidase (GO) and superoxide dismutase (SOD) on the oxidative stability of fish oil was investigated from oxygen content and peroxide value determinations of oil samples stored in vial. GO could inhibit the oxidation of the oil by removing headspace oxygen. When SOD was solubilized in the oil, peroxide value was slightly lower than that of a control, indicating that the enzyme also had an effect on retarding the oxidation.

Key words: glucose oxidase, superoxide dismutase, antioxidation, w/o microemulsion, singlet oxygen

서 론

유지가 함유된 식품은 공기에 노출되면 자동산화가 일어나 영양가치가 낮아지고 풍미가 나빠지며, 때로는 산화되어 형성된 산화생성물은 인체에 악영향을 끼친다고 알려져 있다. 이러한 산패를 억제하기 위하여는 산소의 차단이 근본적인 방법이지만 식품가공의 전과정에서 공기예의 노출을 완전히 배제하기란 현실성이 없으며 또한 가공품의 포장 후 빈 공간의 발생이 불가피하여 유통과 저장 중 산패의 원인이 되고 있다.

본 연구에서는 산소를 제거하는 목적으로 이용될 수 있는 글루코오스 산화효소(GO, β -D-Glucose oxidase : oxygen 1-oxidoreductase, EC 1.1.3.4)와⁽¹⁾ 화학반응성이 매우 큰 일중항 산소분자 (1O_2)를 기저상태(ground state)의 산소로 전환(dismutation)시킴으로써 유지의 산패를 억제할 수 있을 것으로 추정되는 수퍼옥사이드 디스뮤타제(SOD, Superoxide : superoxide oxidoreductase, EC 1.15.1.1)가 실제로 유지식품의 산화를 억제할 수 있는지 여부를 검증하기 위하여 효소용액과 기질을 유지에 직접 용해시킨 후 이를 vial에 담아 저장한 단순한 model system에서 상부공간(headspace)의 산소농도 변

화 및 유지의 과산화물값을 측정된 결과이다.

재료 및 방법

어유는 부산에 위치한 이화유지공업(주)으로부터 공급받아 탈산, 탈색, 탈취한 후 시료로 사용하였다. GO와 카탈라아제(hydrogen peroxide : hydrogen peroxide oxidoreductase, EC 1.11.1.6)는 Finnsugar Korea로부터 공급받은 Oxygo 1500으로 여기에 GO 활성은 1500~1650 Titrimetric unit/ml이며 카탈라아제 활성은 약 400 Baker unit/ml이었다. SOD는 소에서 추출된 것으로 활성은 3360 unit/mg protein이며 Sigma에서 구입하였다. 레시틴은 미국 Central Soya사 제품으로 Centrol 1 FUB를 사용하였다.

효소와 기질의 용해

효소와 기질은 w/o microemulsion 방법을 이용하여 어유에 용해시켰다⁽²⁾. 즉, 어유에 레시틴(0.1%, 중량비)을 용해시킨 후 효소와 기질이 용해된 수용액을 첨가하고 교반하면 w/o microemulsion이 형성되면서 이들이 어유에 용해된다. SOD 첨가구의 경우, SOD 10 mg을 1 ml의 증류수에 용해시키고 효소용액을 어유에 0.2%가 되도록 첨가하였으므로 어유내 효소농도는 20 μ g protein/g fish oil 또는 67.2 unit/g fish oil이었다. GO 첨가구의 경우, Oxygo 1500은 어유에 0.2%가 되도록 첨가하였고 기질로는 β -D-glucose 용액(0.73 g/ml)을 어유

Corresponding author: Daeseok Han, Korea Food Research Institute, Hwaolmok 39-1, Sungbuk, Seoul 136-791, Korea

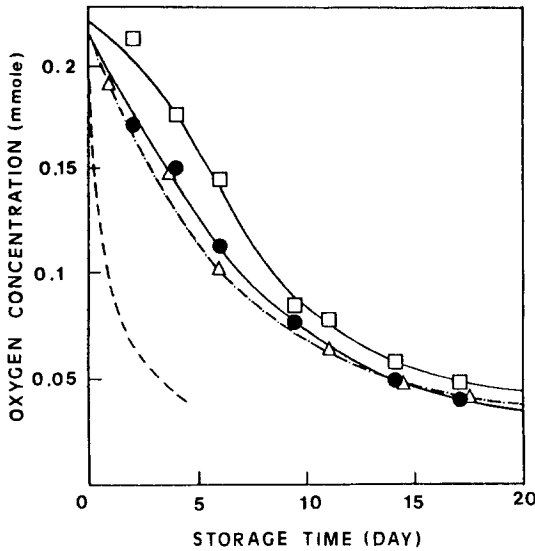


Fig. 1. Changes of headspace oxygen concentration of fish oil (●) and oil samples stabilized with glucose oxidase (Δ) and superoxide dismutase (□)

The oils in the vial were stored at 30°C in the dark. Dotted line indicates headspace oxygen concentration of the vial containing 11 ml of aqueous solution of 30 unit glucose oxidase, 8 unit catalase and 100 mg glucose

에 0.8%가 되도록 첨가하였으므로 어유내 GO 농도는 약 3 unit/g fish oil이고 카탈라아제 농도는 0.8 unit/g fish oil이며, 기질인 글루코오스의 어유내 농도는 5.8 mg/g fish oil이었다.

분석방법

각 시료의 과산화물값(Peroxide value, POV)은 AOCS Method Cd 8-53의 방법에 준하여 측정하였다⁽³⁾.

Vial내 상부공간의 가스조성은 가스크로마토그래피(Varian, Vista 6000)로 분석하였는데 column의 정지상은 molecular sieve 5A였고 이동상은 헬륨이었으며 오븐의 온도는 40°C였다. 공기를 분석하였을 때 O₂와 N₂의 면적비는 21.2% : 78.8%로 나타났으며 산소함량은 integrator상의 산소 peak의 면적비×78.8%÷질소 peak의 면적비의 방식으로 보정하고, 산소의 밀도를 1.429g/l로 산소의 분자량을 32.0으로 가정하여 mmole 단위로 표시하였다.

결 과

GO, 카탈라아제 및 글루코오스와 SOD를 유지에 각각 용해시키고 각 시료 10g씩을 vial에 담아 30°C의 암소에서 저장하면서 저장시간의 경과에 따른 vial내 상부공간의 산소농도 변화를 Fig. 1에 표시하였다. 대조구의 경우

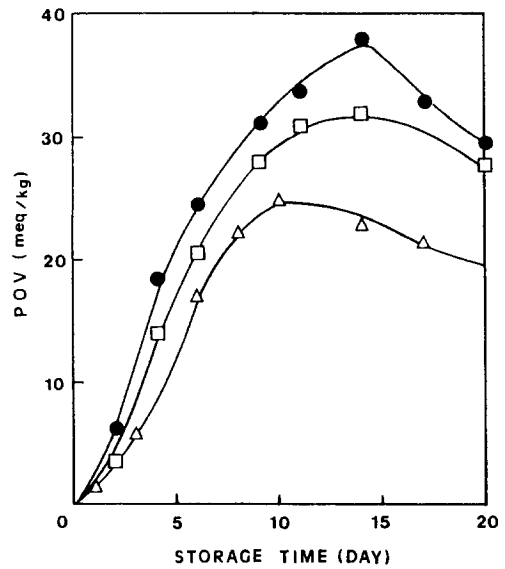


Fig. 2. Changes of peroxide value of fish oil (●) and oil samples stabilized with glucose oxidase (Δ) and superoxide dismutase (□)

The oil in the vial were stored at 30°C in the dark

저장 약 6일까지는 산소농도가 직선적으로 감소하였으나 이후에는 산소 소모속도가 둔화되었는데 이는 산소고갈에 따라 산화속도가 느려진데 기인한다고 생각된다. GO 첨가구에서, 산화 초기에는 산소 소모속도가 대조구보다 약간 빠른 것으로 나타났으나 유의성이 있는 수준은 아닌 것으로 판단되며 저장 6일 후에는 대조구와 비슷한 경향을 보였다. SOD를 첨가했을 때에는 상부공간의 산소 함량이 전반적으로 대조구 보다 1~3% 높은 수준을 유지하였다. 따라서, 이 유지의 산화속도 역시 대조구에서 보다 느릴 것으로 추정된다.

Fig. 2는 저장기간에 따른 vial내 유지시료의 과산화물가의 변화를 보여주는 그림이다. 대조구는 전형적인 유지의 산화곡선을 보여주고 있으나 어유는 여타의 식물성 및 동물성 기름과는 다르게 유도기간이 거의 없이 바로 과산화물값이 증가하는 특징을 나타냈다. 밀폐되지 않은 용기에서 어유를 저장할 경우 과산화물값이 수백에 도달하지만 본 연구에서 대조구의 과산화물값의 최대치가 40에도 못미치는 것은 산소의 공급이 제한적이었기 때문으로 풀이된다. GO 첨가구의 과산화물값의 변화는 대조구와 비슷한 경향을 보였으나 그 값이 대조구보다 낮은 수준을 유지하였다. 따라서 GO와 카탈라아제의 조합은 어유의 산화속도를 억제할 수 있는 효소반응계임이 인정된다. 한편, SOD 첨가구에서도 GO 첨가구보다 효과는 낮았으나 대조구보다는 과산화물값이 낮게 유지되었으므로 이 효소 역시 유지의 산화를 억제하는 효과가 인정되었다.

고 찰

GO는 β -D-glucose + O₂ + H₂O → gluconic acid + H₂O₂ 반응을 촉매하며 카탈라아제는 2H₂O₂ → 2H₂O + O₂ 반응을 촉매하므로 이 두 가지 효소반응의 총괄반응(overall reaction)은 2β-D-glucose + O₂ → 2 gluconic acid이다. 즉, 이 효소반응계는 이론상 글루코오스 두 분자를 소모하여 한 분자의 산소를 제거할 수 있다. 실제로 GO, 카탈라아제 및 글루코오스(9 mg/ml) 용액 11 ml(유지첨가 시료와 vial내 상부공간을 같게하기 위하여)를 vial에 넣었을 때 반응시간에 따른 상부공간의 산소농도는 Fig. 1에서와 같이 급격히 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 그런데, 이와 같은 반응계가 유지내에서도 작용할 것인가? Fig. 1에서 보면 유지에 GO가 첨가되었을 때 상부공간의 산소농도 감소는 대조구와 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. 그러나, 유지시료의 과산화물값은 대조구보다 낮았던 점으로 미루어 볼 때 상부공간 산소의 대부분은 유지의 산화에 소모되었지만 나머지는 GO의 기질로 소모되었다는 점이 인정된다. 따라서 이 효소반응계는 유지내에서도 작용한다는 결론을 지을 수 있으나 그 반응속도는 수용액에서 보다 훨씬 느린 것으로 추정된다.

Fig. 1과 2에서 SOD 첨가구의 산화속도에 관한 결과는 SOD가 $^1\text{O}_2 + ^1\text{O}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ 반응을 촉매하는 효소라는 점에서 유지산화에 있어서 일중항 산소의 역할에 관한 새로운 연구가 필요함을 시사하고 있다. SOD는 불안정하여 반응성이 큰 일중항 상태의 산소를 삼중항의 안정한 상태로 전환시키는 효사이므로 일반적으로 어느 반응이 SOD 첨가에 의해 반응속도가 감소하면 그 반응에는 일중항 산소가 관여한다고 해석할 수 있다. 따라서 SOD가 첨가되었을 때 산소 소모속도가 대조구보다 낮았고 이에 수반되어 과산화물값이 낮았던 점으로 미

루어 볼 때 대조구 어유의 산화에는 일중항 산소가 관여했다고 판단된다. 그런데, 이 연구에서는 시료를 암소에 저장했기 때문에 광에너지 공급이 차단된 상태이므로 감광체의 여기(excitation)에 의한 일중항 산소는 발생되지 않는다고 할 수 있으므로 앞으로 여타의 일중항 산소 발생원에 관한 연구가 필요하다고 하겠다.

요 약

글루코오스 산화효소와 수퍼옥사이드 디스뮤타제가 유지의 산화를 억제할 수 있는지 여부를 알아보기 위하여 이들 효소와 기질을 어유에 직접 용해시키고 시료를 vial에 담아 저장하면서 상부공간의 산소함량과 어유의 과산화물값의 변화를 측정하였다. GO 첨가구의 경우 산소의 감소속도는 대조구와 비슷하였으나 과산화물값은 훨씬 낮은 수준이었다. 이러한 결과는 산소의 일부가 GO의 기질로 소모되어 유지의 산화에 공급된 산소가 제한되었기 때문으로 풀이된다. SOD를 첨가하였을 때에도 유지의 산화가 억제되었는데 이는 SOD가 반응성이 큰 일중항 산소를 기저상태의 산소로 전환시킬 수 있었기 때문으로 생각된다.

문 헌

1. Sarett, B.L.: Stabilizing mayonnaise. *U.S. Patent* 2,940, 860(1960)
2. Han, Daeseok, Yi, O.-S. and Shin, H.-K.: Antioxidative effect of ascorbic acid solubilized in oils via reversed micelles. *J. Food Sci.*, **55**(1), 247(1990)
3. AOCS: *Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society*, 3rd ed. Champaign, IL., Method Cd 8-53(1973)

(1991년 3월 25일 접수)