

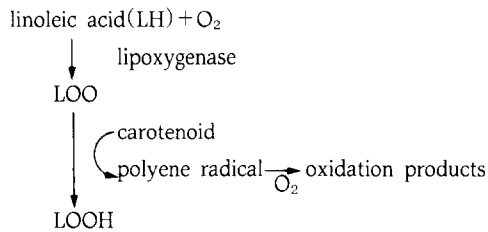
총 설

식품 및 생체 carotenoid의 co-oxidation

김혜경·최흥식
부산대학교 식품영양학과

1. Carotenoid의 co-oxidation

Carotenoid는 비타민A 전구체로서의 영양소역할 외에도 최근에는 항암작용, 노화방지작용, 면역작용강화 등의 여러가지 생리적기능 등이 알려지고 또 많은 연구가 진행되고 있다. Carotenoid는 일반적으로 carotene류(α -, β -, γ -carotene, lycopene)와 xanthophyll류(lutein, zeaxanthin, astaxanthin, taraxanthin, violaxanthin 등)로 분류할 수 있으며 xanthophyll류는 carotene류와는 달리 비타민A의 전구체는 아니지만 그 밖의 생리적활성은 가진다고 알려져 있다. Carotenoid분자는 isoprene단위로 구성되어 있으며 특히 공액이중결합(conjugated double bond)의 구조로 인하여 산화되기 쉬운 특성을 가지고 있다.¹⁾ 이러한 산화적변화에는 co-oxidation과 autoxidation이 있으며 특히 co-oxidation은 carotenoid와 지질이 관련되어 나타나는데 산화효소 lipoxygenase에 의한 경우와 비효소적산화로 나눌 수 있다. 효소에 의한 carotenoid의 co-oxidation현상은 lipoxygenase촉매하에서 지방산인 linoleic acid가 산화되어 이때 만들어진 free radical에 의해 carotenoid가 쉽게 산화되기 때문에 일어나는 현상이다. 이와같이 carotenoid의 co-oxidation에서 lipoxygenase는 free radical을 만들면서 반응 속도를 빠르게 하는 촉매제의 역할을 다음과 같이 담당하고 있다고 할 수 있다.²⁾



Lipoxygenase에 의한 carotenoid의 co-oxidation현상

처음 발견한 것은 대두가루를 밀가루와 혼합하여 사용할 때였다. 대두가루 속에 다량 함유된 lipoxygenase에 의해 밀가루의 carotenoid색소가 표백되는 것을 보고 이 현상은 lipoxygenase에 의해 기질인 지방산이 산화되는 동안 carotenoid가 쉽게 co-oxidation되기 때문이라는 것을 알아냈다. 즉, carotenoid는 지질이 존재하는 반응시스템에서 항산화제로서 혹은 secondary substrate로서 작용한다고 할 수 있다.³⁾

2. 효소에 의한 co-oxidation

Lipoxygenase는 식품에 널리 분포하며 특히 대두에는 함량이 대단히 많기 때문에 결정화되어 시판되고 있으며 그 특성에 대해서도 이미 잘 알려져 있다. 대두 lipoxygenase에는 3개의 이성화 효소들(L-1, L-2, L-3)이 있으며 이 중에서 carotenoid의 co-oxidation에는 L-3가 가장 큰 활성을 가진다고 한다. L-1은 pH 9에서 최대활성을 가지며 co-oxidation을 거의 일으키지 않는 반면, L-2는 pH 6.5~7.0사이에서 최대활성을 가지며 co-oxidation을 강하게 촉매한다고 한다. 이성화효소들의 이러한 단독작용외에도 L-1과 L-3 혹은 L-2와 L-3를 서로 혼합하게 되면 carotenoid co-oxidation에 대해서 상승효과를 나타낼 수 있음을 그림 1에서 보여주고 있다.⁴⁾

L-3는 13-LOOH(hydroperoxide)와 결합하여 carotenoid를 쉽게 산화시키지만 9-LOOH와는 결합하지 않는 특성을 가진다. 그리고 L-3는 L-1이나 L-2에 비해 상당한 peroxidative activity(hydroperoxide의 파괴)를 가진다고 알려져 있다. 또한 carotenoid 존재하에서 L-3에 의한 linoleic acid의 산화는 carotenoid가 존재하지 않는 linoleic acid 단독의 경우보다 40% 이상의 산소흡수를 초래하여 산화를 촉진시킨다고 한다.

Lipoxygenase 촉매하의 carotenoid co-oxidation 반응에

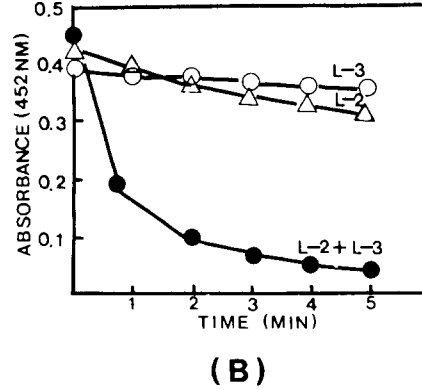
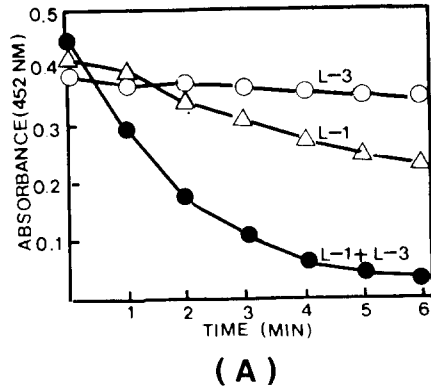
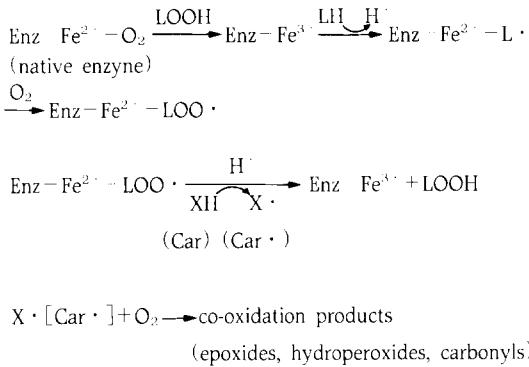


그림 1. Carotene bleaching에 대한 L-1과 L-3(A), L-2와 L-3(B)의 synergistic effect.

대하여 제안된 mechanism은 다음과 같다.⁹⁾



Lipoxygenase는 철 1 원자를 함유하며, 원래는 +2가의 상태이다. 그러나 생산물인 hydroperoxide와 반응하게 되면 +3가로 전환되어 활성화된다. 이 활성화된 효소는 기질인 지방산과 반응하여 free radical을 만들고 이것이 carotenoid와 반응하여 co-oxidation을 일으키게 되며 이로 인해 epoxides, hydroperoxides와 같은 2차생물이 만들어진다.

Lipoxygenase는 cis, cis-penta-1,4-diene unit를 가지는 지방산에 대해서만 작용하는 기질특이성을 가지므로 비타면라 불리는 불포화지방산의 산화에 크게 관여하고 있다고 할 수 있으며 그 중에서도 linoleic acid에 대한 기질 특이성이 강하다. 즉 carotenoid와 linoleic acid가 공존하는 생체계에서는 lipoxygenase에 의한 이들의 손상이 현저하다고 할 수 있다.

Lipoxygenase의 활성은 수분활성도에 따라서 많이 달라지는데 수분활성도가 증가할수록 효소활성도 비례적으로 증가함을 그림 2에 나타내고 있다.¹⁰⁾

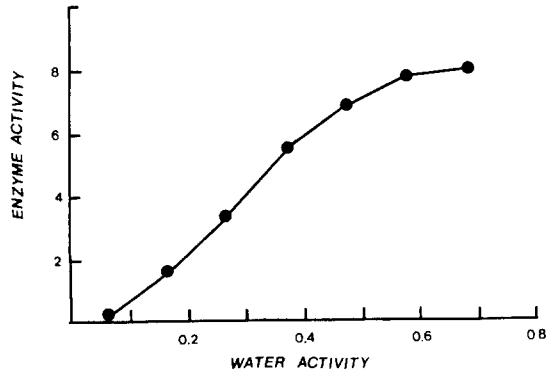


그림 2. 효소 lipoxygenase가 촉매하는 지질의 산화에 미치는 수분활성도의 영향.

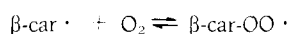
이것은 수분활성도가 증가할수록 기질인 지방산의 유동성이 증가하기 때문이며 이로 인해 효소적산화가 촉진되어진다. 즉, 수분활성도의 영향을 받는 고형상의 반응계에서는 수분활성도가 증가할수록 증가된 유리기로 인해 carotenoid의 산화도 현저해짐을 알 수 있다. 그러나, 낮은 수분활성도에서는 효소의 촉매적활성이 기질유동성의 부적당함으로 인해 제한이 된다.⁷⁾

3. 비효소적 co-oxidation

식품속에서 carotenoid의 산화는 일반적으로 불포화지방산과 관련되어 있다. β -carotene의 경우 conjugated double bond로 인해 peroxy radical의 공격에 매우 영향을 받기 쉽다고 한다.¹¹⁾ 즉,



여기에서 $\beta\text{-car}\cdot$ 은 산소와 쉽게 가역적으로 반응하여 새로운 radical인 $\beta\text{-car-OO}\cdot$ 를 형성한다.



만약 이때 산소압이 낮게 되면 반응은 peroxy radical의 농도를 효율적으로 낮추기 위해 왼쪽으로 이동한다고 알려져 있다. 결론적으로 peroxy radical에 대한 β -carotene의 반응성과 $\beta\text{-car}\cdot$ 의 안정성은 다음과 같은 두가지 특징이 있다. 첫째는 β -carotene의 반응성은 β -carotene이 낮은 농도로 존재할 때조차도 peroxy radical에 대해 경쟁하는 가능성을 가지며, 둘째는 $\beta\text{-car}\cdot$ 의 안정성은 충분히 낮은 산소분압에 의해서만 이루어지는데 이것은 이 조건에서만 $\beta\text{-car}\cdot$ 이 $\beta\text{-car-OO}\cdot$ 의 형태를 취할 수 있기 때문이다. Carotene의 산화는 linoleic acid와의 반응에 의해 현저하게 증가하며 linoleic acid의 농도를 50, 100, 200mg으로 증가시키기에 따라 carotene의 유효기간이 16, 4, 2시간으로 감소되며 linoleic acid를 반응시키지 않은 carotene의 경우 유효기간이 32시간으로 상당히 안정함을 알 수 있었다(그림 3 참조).¹¹⁾

이것으로 보아 linoleic acid의 농도가 높을수록 carotene의 산화속도가 빠름을 알 수 있다. 보통 고정된 linoleic acid농도에서는 carotene과 peroxy radical과의 반응은 빠르게 일어나며 특히 carotene이 높은 농도로 존재할 때에는 free radical과의 반응으로 인해 carotene의 더욱 빠른 파괴를 초래하는 반면에 linoleic acid의 산화속도는 감소된다고 한다. 즉, 지방산과 carotene이 공존하는 반응계에서 carotene 자신이 산화됨으로써 해서 지방산에 대해 항산화효과를 나타내는 것이라고 할 수 있다.

Carotene의 산화속도는 carotene농도에 따라서도 달라지는데 carotene농도가 증가할수록 산화속도도 빠르게 된다. 이것은 형성된 peroxy radical에 대해 carotene과 linoleic acid가 경쟁하기 때문으로 carotene의 산화속도와 carotene의 농도간에는 비례관계에 있다고 한다.¹¹⁾ 이외에도

carotenoid의 산화안정성은 수분활성도의 영향을 크게 받는다(그림 4 참조).¹¹⁾

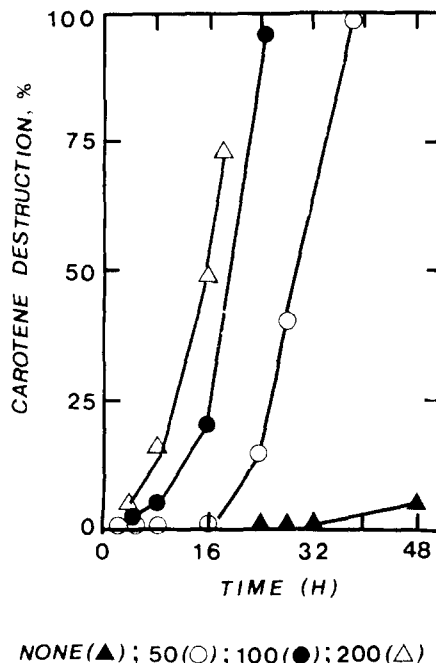


그림 3. Carotene co-oxidation에 대한 linoleic acid농도의 영향.

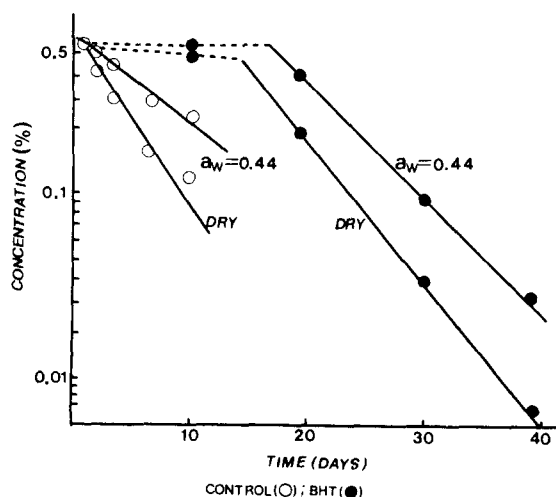


그림 4. β -carotene의 함량변화에 대한 수분활성도의 영향.

그림 4에서와 같이 carotenoid의 산화에 대해 수분은 protective agent로 작용함을 알 수 있다. 지질산화시 낮은 수분활성도에서 물의 항산화효과는 다음과 같다.

첫째, free radical 반응이 진행되는 동안 생성된 hydroperoxide와 물이 수소결합을 형성하여 peroxide 농도를 낮추고 따라서 전체적인 산화속도를 감소시키게 된다.

둘째, 물은 지질과 산소가 반응하지 않도록 지질로부터 산소를 차단하는 역할을 한다.

셋째, 지질산화시 촉매제로 작용하는 금속을 수화하여 촉매제의 효력을 감소시키고 결국 산화속도를 느리게 한다.

4. 생체시스템에서 lipoxygenase에 의한 carotenoid의 co-oxidation

식물조직에서 lipoxygenase에 의한 carotenoid bleaching의 활성은 잘 알려져 있다. Alfafa현탁액에 linoleic acid를 반응시켜서 carotenoid의 분해속도를 측정할 때 있고 또 최근에는 호박에서 lipoxygenase를 부분정제하여 carotene-bleaching의 활성을 밝혔다(그림 5 참조).¹²⁾

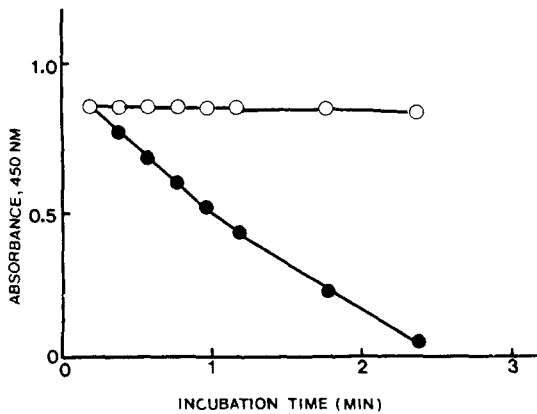


그림 5. 호박에서 추출한 조효소에 의한 carotene의 산화.

효소를 반응시킨 시스템에서는 효소액 중의 lipoxygenase에 의해 linoleic acid와 β -carotene이 함께 산화되어 carotene의 손실이 현저한 반면에 효소가 없는 시스템에서는 carotene의 산화현상을 관찰할 수 없었다. 또한 밀 lipoxygenase의 lutein bleaching 활성이 알려져 있고 이러한

lipoxygenase에 의한 lutein의 산화로 인해 스페케터를 가공하는 동안에 색깔의 손실을 야기시킬 수 있다고 한다.¹³⁾

이류의 경우 껍질의 붉은 색소를 구성하는 것은 carotenoid에 주로 기인이 되는데 이러한 carotenoid로서 astaxanthin과 tunaxanthin 등이 있다.¹⁴⁾ 그림 6은 탈지된 skin extract와 불포화지방산에 의한 astaxanthin과 tunaxanthin 그리고 β -carotene의 산화양상을 나타낸 그림이다.⁸⁾ 효소 추출액을 반응시키지 않았을 때는 carotenoid가 상당히 안정한 반면, 효소액과 지질을 반응시켰을 때는 carotenoid의 산화가 현저하였다. 특히 ester결합의 지방산보다 유리형태의 다가불포화지방산을 반응시켰을 때 carotenoid의 감소가 더 뚜렷하였다.

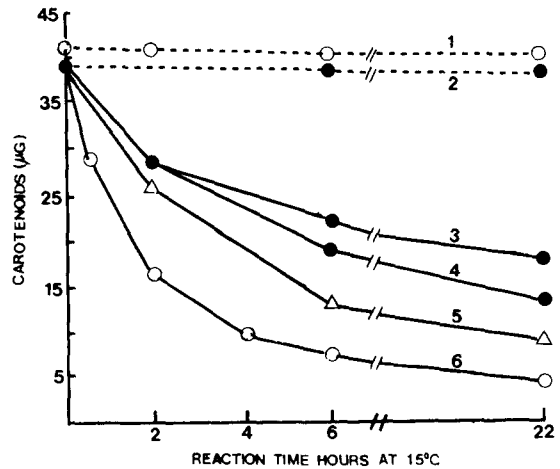


그림 6. Rockfish skin extract와 불포화지방산들에 의한 β -carotene 등의 산화양상.

(Curve 1, control(butter solution+tunaxanthin); curve 2, control(β -carotene, heat treated); curve 3, β -carotene+methyl linoleate; curve 4, β -carotene+highly unsaturated fatty acids; curve 5, astaxanthin+highly unsaturated fatty acids; curve 6, tunaxanthin+highly unsaturated fatty acids).

그리고 송어아가미에 존재하는 lipoxygenase는 기질인 carachidonic acid에 작용하여 12-hydroxyeicosapentaenoic acid로 전환시키므로 이 효소를 12-lipoxygenase라고 명명한 바 있으며¹⁵⁾, 불포화지방산의 존재하에서 송어아

가미에 있는 lipoygenase에 의한 β -carotene의 co-oxidation현상에 대해 연구한 결과 기질인 linoleic acid에 대해서는 대두 15-lipoygenase와 그 활성이 비슷하였으나 arachidonic acid에 대해서는 활성이 훨씬 크다고 하였다.¹⁶⁾

밀배아와 무지개송어는 carotenoid의 co-oxidation에 미치는 lipoygenase의 영향을 연구하기 위한 좋은 생체모델시스템이다. 밀배아의 지질과 밀배아에서 추출한 효소액을 반응시킨 다음 30°C의 항온기에 저장하면서 carotenoid 함량의 변화를 관찰한 결과는 그림 7과 같다.

초기에는 효소액을 반응시킨 군과 대조군 사이에 차이를 보이지 않는데 이것은 xanthophyll류(lutein, taraxanthin)에 기인되는 것으로 여겨진다. 즉, xanthophyll류는 효소 촉매하의 co-oxidation보다는 자동산화나 지질촉매하의 co-oxidation에 의해 초기에 그 감소가 심한 것으로 나타났다. 그러나 반응 24시간 이후로는 두 반응계간에 큰 차이를 보이는데 반응 72시간째 잔존하는 carotenoid 함량을 비교해 보면 효소액을 반응시킨 군에 비해 대조군에서는 8배나 많은 잔존량을 보였다(그림 7 참조). 이것은 지질 존재하에서 carotenoid는 co-oxidation을 일으키므로 lipoygenase의 촉매 작용으로 인하여 증가된 과산화물이 carotenoid

의 산화속도를 빠르게 한 것으로 볼 수 있다.

무지개송어의 carotenoid를 구성하는 성분들로는 canthaxanthin, lutein, zeaxanthin, β -carotene, α -carotene 등으로 나타났다. 송어지질과 송어에서 추출한 효소액을 반응시킨 뒤 23°C의 항온기에 저장하면서 반응경과에 따른 carotenoid의 변화를 관찰하였다. 특히, carotene(α -, β -carotene)함량은 초기에 급속한 감소를 보였는데 대조군에 비해 효소와의 반응에 의해 7배정도 빨리 carotene이 산화되었다. 또한 carotenoid ketone형태인 canthaxanthin은 무지개송어 carotenoid의 주성분으로서 효소촉매에 의한 산화정도가 함량면에서 볼 때는 가장 큰 것으로 나타났다. 이 canthaxanthin은 비타민A의 전구체로서의 영양적인 가치는 없지만 다른 생리적인 활성은 가진다고 알려져 있다.¹⁷⁻¹⁹⁾

참 고 문 헌

1. George, B. and Goodwin, T. W., In *Carotenoid Chemistry and Biochemistry*, Pergamon Press, London, p. 316 (1981).
2. Simic, M. G. and Karel, M., In *Autoxidation in Food and Biological Systems*, p. 463, Plenum Press, New York(1980).
3. Stumpf, P. K. and Conn, E. E., In *The Biochemistry of Plants*, Academic Press, New York, 4, 132(1980).
4. Ramadoss, C. S., Pistorius, E. K. and Axelrod, B., *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 190(2), 549 (1978).
5. Kahl, G., In *Biochemistry of Wounded Plant Tissue*, Walter de Gruyter, Berlin, New York, p. 178(1978).
6. Duckworth, R. B., In *Water Relations of Foods*, Academic Press, London, New York(1975).
7. Rockland, L. B. and Beuchat, L. R., In *Water Activity: Theory and Applications to Food*, p. 44, Marcel Dekker, Inc., New York(1987).
8. Olson, J. A., *J. Nutri.*, 119(1), 94(1989).
9. Kanner, J. and Budowski, P., *J. Fd. Sci.*, 43, 524 (1978).
10. Barimalaa, I. S. and Gordon, M. H., *J. Agric. Food*

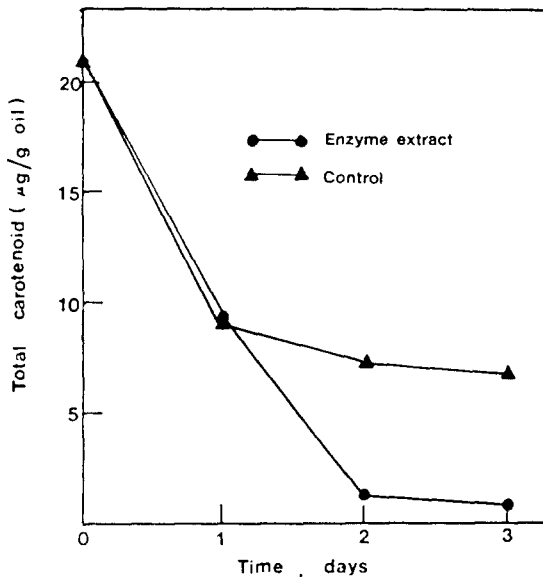


그림 7. 밀배아 carotenoid 함량변화에 대한 lipoygenase의 영향(30°C).

- Chem.*, **36**(4), 685(1988).
11. Eskin, N. A. M., In *Plant Pigment, Flavors and Textures*, p. 17, Academic Press, New York(1981).
 12. Toshiro, H., Sunao, K., Yasuo, N., and Seiichiro, N., *J. Food Biochemistry*, **10**, 55(1986).
 13. Dahle, L., *J. Agr. Food Chem.*, **13**(1), 12(1965).
 14. Tsukuda, N. and Amano, K., *Bull. Japan Soc. Sci. Fish*, **33**(10), 1962(1967).
 15. German, J. B., Bruckner, G. G., and Kinsella, J. E., *Biochim. Biophys. Acta*, **875**, 12(1986).
 16. Stone, R. A. and Kinsella, J. E., *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 806(1989).
 17. 김혜경, 생체모델시스템에 있어서 필수지방산, 토코페롤 및 카로티노이드의 co-oxidation에 대한 lipoxigenase의 영향, 부산대학교 박사학위 논문(1990).
 18. 김혜경, 최홍식, 한국식품과학회지, (1992), (인쇄중).
 19. 김혜경, 최홍식, 한국영양식품학회지, (1992), (인쇄중).

생명과학 편집 원고 모집

생명과학의 편집계획과 관련된 원고들은 수시로 모집하오니, 회원동정에 관한 부분까지도 본 연구회 사무실로 보내주시기 바랍니다.

편집은 권두언, 총설, 최근연구동향, 세미나리포트, 학회참관기, 생명과학중계실, 생명과학에세이, 오류도 게시판, 자유 칼럼 순으로 계획되어 있으니 관련원고를 적극적으로 투고하여 주시면 보다 충실한 생명과학지로 성장할 수 있을 것으로 믿습니다.

또한 총설 및 미니리뷰의 경우에는 본지에 개제된 투고요령을 참고 하시기 바랍니다.