

Histidine과 Alanine의 유지에 대한 항산화 효과

조 회 숙

목포대학교 식품영양학과

Antioxidative Effect of Histidine and Alanine on Oil Rancidity

Hee-Sook Cho

Dept. of Food and Nutrition, Mokpo National University

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the antioxidant and synergistic effects upon different concentrations(0.02, 0.1, 1%) of histidine and alanine in soybean oil during incubation at 60°C. Acid value(AV), peroxide value(POV) and thiobarbituric acid(TBA) value of each oil was monitored. Histidine and alanine showed antioxidative effects in all concentrations. In the case of the incubating antioxidative effect of histidine was lower than that of TBHQ. That of alanine was considerably higher than that of α -tocopherol, but was lower than that of histidine. Synergistic effects among histidine, alanine and some food antioxidants were shown to exist available in all substrates and the best effect was shown in substrate added compound of histidine and α -tocopherol.

Key words: antioxidative effect, histidine, alanine, synergistic effect.

I. 서 론

최근 들어, 우리 나라는 식생활의 서구화로 인하여 육류를 비롯한 instant 식품과 fastfood의 소비 증가로 지방질 식품의 섭취가 급증하고 있다. 이들 지방질을 함유한 식품은 가공, 저장 중 지방질의 산패에 의한 품질저하가 일어나 불쾌한 맛이나 냄새를 갖게 되며, 필수지방산이나 지용성 비타민의 파괴를 일으켜 영양가의 감소를 초래한다¹⁾. 또한 경우에 따라서는 산화 생성물들에 의해 DNA가 손상되거나 체내의 효소를 불활성화시켜 대사 이상을 유발하거나, 암을 발생시키거나, 노화를 촉진시키기도 한다

²⁾. 유지는 지방, 필수지방산, 지용성 비타민과 같은 영양소의 공급은 물론 튀김식품에 고유한 향미를 부여하거나 열매체로 중요하게 사용된다. 그러나 유지를 함유하는 식품은 저장, 가공 중에 여러 가지 이화학적 변화 특히 산화되면 과산화물의 생성이나 중합체의 형성으로 유지식품의 변색, 이취, 영양소 손실 및 독성물질 등을 발생시킨다. 또한 생체내에서는 지질 과산화에 관여하는 활성라디칼과 활성카아보닐 화합물들로부터 유래된 라디칼이 DNA의 손상과 돌연변이, 발암, 노화 등에 관여한다¹⁻²⁾.

지질의 산화를 억제하는 방법으로 산화방지제를 첨가하는 것인데 지금까지 가장 많이 사용되고 있는 BHQ, BHA나 TBHQ등은 항산화 효과는 뛰어나지

만 변이원성 및 발암성이 문제시 되고 있으며 인체에 미치는 독성이 커서 안전성 문제와 소비자들의 거부반응으로 인해 그 사용량이 감소하고 있는 추세이다³⁻⁴⁾. 따라서 항산화능이 높고 안전성이 확보된 천연 항산화제에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. 연구초기에는 주로 천연 향신료에 대한 연구가 많아 rosemary, sage, thyme 등이 다른 향신료에 비해 높은 항산화 활성을 갖는 것으로 보고되었다^{5,6)}. 또한 소목의 추출물⁷⁾ 및 미역, 다시마 등이 항산화능이 높은 것으로 보고되었고⁸⁾ Aloe⁹⁾, 오미자¹⁰⁾ 등도 항산화 활성이 비교적 높게 나타났다. 이미 밝혀진 천연 항산화제로는 단백질과 그의 가수분해물, 아미노산, flavonoid와 그의 유도체, 갈색화 반응물질 및 phenol 유도체 등이 있으며¹¹⁾ 이들의 항산화력은 free radical 연쇄반응의 저해제, 일중항산소 형성의 quencher 혹은 inhibitor, 금속의 불활성제로 작용함으로써 나타난다¹²⁾. 이들중 아미노산은 주로 부족한 아미노산을 보충하는 측면에서 식품에 사용되고 있으나 Janicki 등¹³⁾이 지질의 산화에 대하여 항산화성이 있다고 보고한 이래 그들의 항산화 효과에 대한 많은 연구가 진행되어 왔다. Marcuse¹⁴⁾는 histidine, alanine, lysine 등의 아미노산은 linoleic acid 산화시 산소 흡수율을 50~80% 감소시켰다고 보고하였다. Karel 등¹⁵⁾은 동결건조 system에서 histidine, lysine, cysteine이 methyl linoleate의 산화 초기단계에 관여하여 유도기를 연장하므로 산화 억제력이 있다고 하였으며, Chen 등¹⁶⁾도 유지방의 산화에 대해 아미노산이 유도기간을 연장시키는 항산화제로 작용한다고 보고하였다. 또한 아미노산중 methionine과 lysine의 유지에 대한 항산화력도 우수한 것으로 알려져 있다¹⁷⁾.

지금까지 아미노산의 항산화 작용에 관하여 많이 연구되어 왔으나 이들의 농도에 따른 항산화 효과에 관한 보고나 식품 항산화제와의 상승효과에 관한 보고는 그다지 많지 않은 실정이다. 이에 본 연구에서는 식물성유인 대두유를 기질로 하여 histidine과 alanine의 농도별 항산화 효과를 비교하고 적정농도를 설정하여 기존 항산화제인 TBHQ나 tocopherol과의 비교를 통해 이들의 항산화력의 범위를 추정하고자 하였다. 또한 tocopherol, ascorbic acid,

citric acid와의 상승효과도 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에 기질로 사용한 식용유는 대두유(오뚜기 주식회사)로 항산화제가 첨가되지 않은 것을 구입하여 사용하였다. 항산화력을 측정하기 위하여 사용한 아미노산은 histidine(Tokyo Kasei Co., Japan)과 alanine(Katayama Chemical Co., Japan) 이었으며 그 효과를 비교하기 위하여 기존의 항산화제인 TBHQ(tertiary butyl hydroquinone, Sigma Chemical Co., U.S.A.)와 α -tocopherol (Junsei Chemical Co., Japan)을 사용하였다.

항산화 상승효과 측정을 위하여 α -tocopherol, ascorbic acid(Sigma Chemical Co., U.S.A.), citric acid(Sigma Chemical Co., U.S.A.)를 혼합하여 사용하였다. 또한 아미노산과 항산화제들을 유지에 첨가하기 위하여 유화제로 span 20(Sorbitan monolaurate, Junsei Chemical Co., Japan)을 사용하였다.

2. 시료의 조제

Histidine과 alanine은 대두유에 대하여 0.02%, 0.1%, 1%(w/w)씩 첨가하였으며 TBHQ와 α -tocopherol도 기질유지에 대하여 0.02%가 되도록 첨가하여 시료를 조제하였다. 아미노산과 항산화제는 Shin 등¹⁸⁾의 방법을 이용하여 유지에 첨가하였다. 즉 아미노산과 항산화제들을 각각 30% ethanol 용액에 녹인 후 유화제인 span 20을 용해시킨 유지에 서서히 첨가하면서 hot plate magnetic stirrer로 교반하였다. 이때 hot plate의 온도는 60℃ 였으며 아미노산과 항산화제를 녹인 용액과 span 20은 각각 1%와 0.1%(w/w) 농도가 되도록 유지에 첨가하였다. 그리고 유지에 30% ethanol 용액과 span 20만을 첨가하여 control로 사용하였다. Histidine과 alanine의 식품 항산화제에 대한 상승효과를 측정하기 위하여 유지에 각 아미노산과 항산화제의 동량 혼합물(w/w)을 0.02% 농도가 되도록 첨가하였다.

3. 항온저장 조건

위 시료를 50ml 비이커에 20g씩 분취하여 $60 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지된 항온기에서 40일간 저장하면서 5일 간격으로 시료를 채취하여 유지의 자동산화에 대한 각 항산화제의 효과를 관찰하였으며 상승효과도 같은 방법으로 측정하였다.

4. 시료유의 산패도 측정

항온저장시 각 시료유의 산패도를 측정하기 위하여 산가(acid value), 과산화물가(Peroxide value), 및 TBA가(thiobabithuric acid value)를 측정하였다. 산가는 표준유지분석시험법¹⁹⁾, 과산화물가는 AOCS Official Method 8-58²⁰⁾으로 측정하였으며 meq/kg oil로 표시하였다. TBA가는 Sidwell법²¹⁾으로 측정하였다. 한편 유도기간은 각 기질의 저장중의 과산화물가가 40 meq/kg oil에 도달할 때까지의 시간으로 임의적으로 정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 유지의 항온저장시 histidine과 alanine의 항산화 효과

대두유에 histidine과 alanine을 1, 0.1, 0.02%씩 그리고 TBHQ와 α -tocopherol을 각각 첨가하여 60°C 에서 40일간 항온저장하면서 산패도를 측정하여 항산화 효과를 비교하였다. 항온저장시 각 기질 유지의 산가는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 대두유에 대하여 histidine은 첨가량이 증가함에 따라 항산화 효과도 증가하였으며, 저장기간 전반에 걸쳐서 낮은 값을 나타내었고 TBHQ보다는 항산화력이 낮았지만 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다. Alanine은 histidine보다는 항산화력이 낮았으나 α -tocopherol보다는 월등히 높은 항산화 효과를 보였다. 또한 histidine과 alanine의 첨가농도별 항산화 효과는 두 시료 1%를 첨가했을 때 가장 효과가 좋은 것으로 나타나 0.02~1% 농도 범위에서는 일반적으로 첨가농도가 증가할수록 항산화력도 증가하는 것으로 나타났다. Marcuse 등¹⁴⁾이 고농도의 아미노산을 첨가했을 때 산화를 촉진시켰다고 보고한 것에 의하

면 본 실험에서 사용한 농도 이상에서는 산화 촉진 효과가 나타날 수 있을 것으로 생각된다.

각 시료유를 60°C 에서 항온저장시 과산화물가의 변화는 Fig. 2에서 보는 바와 같다. Histidine은 산가의 경우와 비슷하게 첨가량이 증가함에 따라 효과도 증가하였다. Alanine은 첨가량이 높을수록 과산화물가가 낮았고 농도별 항산화 효과는 histidine과 마찬가지로 1% 농도로 첨가한 것이 가장 높은 것으로 나타났다. Park 등¹⁷⁾은 methionine과 lysine을 유지에 첨가하여 항산화 효과를 측정하였는데 α -tocopherol 첨가시 산화가 촉진되었다고 보고하여 본 실험결과와 유사하였다.

아미노산이 항산화 효과를 나타내는 기전은 명확하게 밝혀져 있지 않으나 일부 아미노산의 항산화

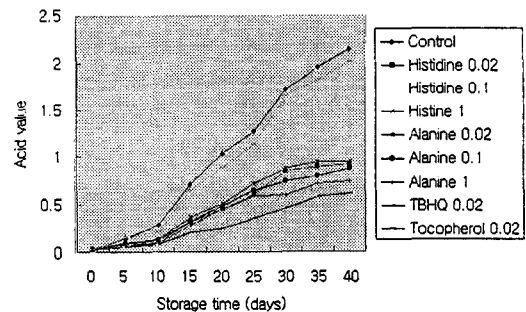


Fig. 1. Changes in acid values of soybean oil after adding histidine and alanine during storage at 60°C .

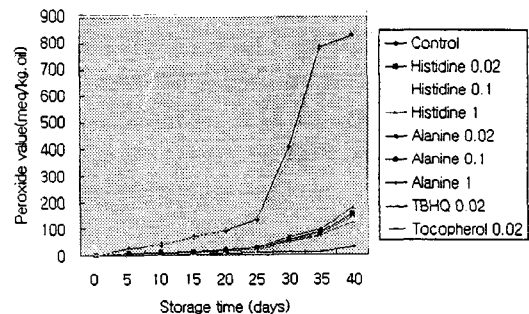


Fig. 2. Changes in peroxide values of soybean oil after adding histidine and alanine during storage at 60°C .

기구가 추정, 보고되고 있다. Riisom²²⁾과 Chen¹⁶⁾은 아미노산의 항산화 효과에서 primary amino group이 주된 역할을 하며 side chain의 amino group도 약하지만 보호작용을 한다고 보고하였다. α -tocopherol은 저장기간 전반에 걸쳐 control과 비슷한 값을 보여 항산화 효과가 없는 것으로 나타났으며 저장초기에는 과산화물가가 control보다 높아 산화 촉진 작용을 나타내었다

Cort 등²³⁾은 천연 항산화제인 토코페롤이 동물성 유지에서는 항산화 효과가 매우 크나 식물성 유지에서는 그 효과가 낮으며 합성항산화제보다 항산화 효과가 매우 낮다고 보고하였는데 본 실험결과와도 일치하였다.

각 항산화물질을 첨가한 기질유지를 항온저장시 키면서 과산화물가가 40meq/kg oil이 될 때까지의 소요시간을 유도기간으로 설정하여 control의 유도기간과 각 기질들의 유도기간을 측정 한 결과는 Table 1과 같다. TBHQ 첨가군의 유도기간이 가장 많이 연장되었고 histidine과 alanine의 유도기간은 control이나 α -tocopherol보다는 매우 연장되었으나 TBHQ와 비교시 단축된 것으로 나타났다. 또한 histidine과 alanine의 첨가 농도별 유도기간을 살펴 보면 histidine은 산가나 과산화물가에서 나타난 경향과 일치하여 농도가 높을수록 유도기간이 연장되는 것으로 나타났다¹⁷⁾.

한편 유지의 항온저장시 TBA의 변화는 Fig. 3에 나타난 바와 같다. 저장중 TBA는 control의 경우 저장 35일경에 최대값을 나타낸 후 약간 감소하였고 histidine은 저장 기간 동안 낮은 값을 나타내어 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다. 특히 histidine 1% 농도에서는 높은 항산화력을 보였다. Alanine은 histidine보다는 항산화 효과가 낮았으나 control 및 α -tocopherol과 비교해 보면 지질 산화가 억제되는 효과를 볼 수 있었고 histidine과 마찬가지로 1% 농도에서 항산화 효과가 가장 크게 나타났다.

2. Histidine과 alanine의 기존 항산화제에 대한 상승효과

Histidine과 alanine을 몇가지 기존의 항산화제와

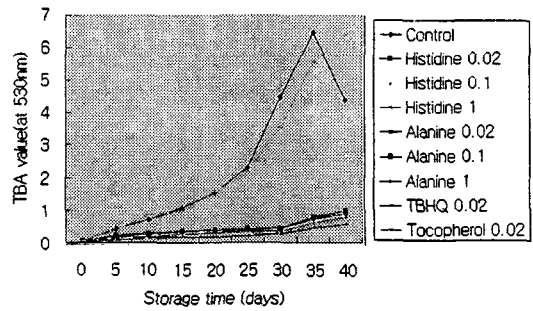


Fig. 3. Changes in TBA values of soybean oil after adding histidine and alanine during storage at 60°C.

Table 1. Effect of histidine and alanine on incubation periods of oil storages at 60°C

Antioxidant (%)	Induction period (days)	
	Soybean oil	
Control	11	
Histidine 0.02	26	
Histidine 0.1	26	
Histidine 1	27	
Alanine 0.02	22	
Alanine 0.1	23	
Alanine 1	24	
TBHQ 0.02	43	
Tocopherol 0.02	12	

병용하여 그들의 상승효과를 살펴보기 위하여 동량의 α -tocopherol, ascorbic acid, citric acid와 혼합한 후 대두유에 0.02% 첨가하여 60 °C에서 30일간 저장하면서 5일 간격으로 산패도를 측정하였으며 각 기질유지의 산가, 과산화물가 및 TBA의 변화는 Fig. 4~6에 나타난 바와 같다. Marcuse¹⁴⁾은 histidine과 alanine이 tocopherol과 synergist들의 항산화성을 증가시켰다고 보고하였는데 본 실험에서도 유사한 결과를 나타내었다. Histidine과 alanine만을 각각 0.02% 첨가한 것과 비교할 때 다른 항산화제와 병용시 값의 증가가 더 낮아 항산화 상승효과가 있음을 알 수 있었으며 alanine 보다는 histidine의 효과가 더 높게 나타났다. α -tocopherol은 단독으로 첨가시 거의 항산화효과가 없는 것으로

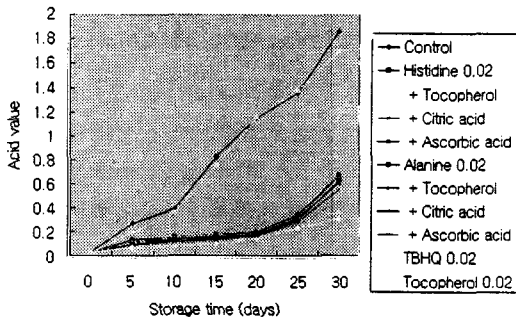


Fig. 4. Synergistic effects of histidine and alanine for antioxidant by acid values of soybean oil during storage at 60°C.

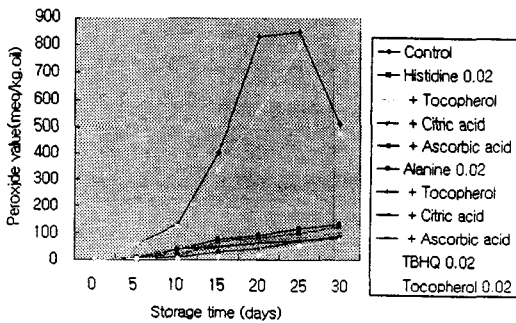


Fig. 5. Synergistic effects of histidine and alanine for antioxidant by peroxide values of soybean oil during storage at 60°C.

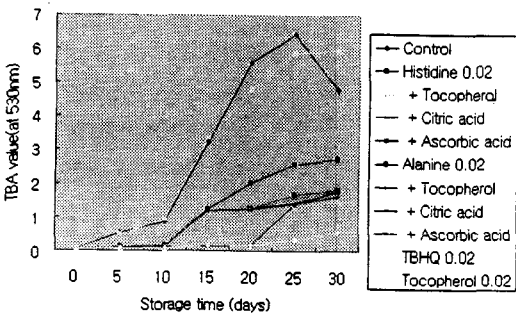


Fig. 6. Synergistic effects of histidine and alanine for antioxidant by TBA values of soybean oil during storage at 60°C.

나타났는데 histidine이나 alanine과 병용시 항산화

효과가 매우 크게 나타났으며 특히 histidine과 α -tocopherol 혼합 첨가군은 산가의 경우 TBHQ첨가군과 비슷한 항산화 효과를 보였고, 과산화물에서는 저장 20일까지는 TBHQ보다 항산화 효과가 떨어졌으나 저장 25일 이후부터 거의 비슷하였다. 또한 TBA는 저장 20일까지는 TBHQ보다 항산화 효과가 높았으나 그 이후부터 감소되었다. 따라서 histidine과 alanine이 기존의 항산화제에 대하여 상승효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 1차 항산화제로 작용하는 α -tocopherol에 대한 이들 아미노산의 상승효과가 synergist로 작용하는 citric acid나 ascorbic acid에 대한 상승효과보다 더 높게 나타났다. 이는 손등²⁾이 양파껍질의 메탄올 추출물을 천연 토코페롤과 병용하여 사용할 때 항산화 효과가 가장 높았다는 결과와 유사하였다. 또한 Park 등¹⁷⁾이 methionine과 lysine에 천연 토코페롤을 병용시 토코페롤 단독으로 사용했을 때 보다 항산화 효과가 월등히 높게 나타났다고 보고한 결과와도 유사하였다.

IV. 요약 및 결론

본 연구는 대두유의 항온저장시 histidine과 alanine의 첨가농도에 따른 항산화 효과 및 기존 항산화제들의 항산화력에 대한 상승효과를 규명하고자 실시하였다. 본 실험에서 얻어진 결과는 다음과 같았다.

1. 유지의 항온저장시 histidine과 alanine을 각 농도별로 첨가한 경우 모든 시료에서 항산화 효과를 나타냈으며 histidine과 alanine첨가시료는 α -tocopherol보다 훨씬 높은 항산화 효과를 보였다. 또한 이들의 항산화 효과는 농도가 증가함에 따라 비례적으로 증가하였는데 1% 첨가 농도의 효과가 가장 좋은 것으로 나타났다.
2. Histidine과 alanine을 α -tocopherol, ascorbic acid 및 citric acid와 혼합하여 대두유에 첨가했을 때 α -tocopherol과의 혼합물이 상승효과가 가장 높았다. 또한 citric acid나 ascorbic acid의 혼합물도 약하지만 상승효과를 보였다.

이상의 결과에서 histidine과 alanine은 유지에 대하여 항온저장시 항산화 효과가 있었으며 다른 항산화제와 병용시 상승효과가 크게 나타났음을 알 수 있었다.

V. 참고문헌

1. Frankel, E. N.: Lipid oxidation ; Mechanism, products and biological significance, J. Am. Oil Chem. Soc., 61, 1984.
2. 손종연, 손홍수, 조원대: 양파껍질 추출물의 항산화 및 상승효과, 한국조리과학회지, 14, 15, 1998.
3. Branen, A. L.: Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene, JAOCS, 52:59, 1975.
4. Choe, S. Y. and Yang, K. H.: Toxicological studies of antioxidants butylated hydroxytoluene(BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA), K. J. S. Thechnol., 14:283, 1982.
5. Frag, R. S., Badei, A. Z. M. A., Hawe, F. M. and Elbaroty, G.S.A.: Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media, JAOCS, 66:792, 1989.
6. Frag, R. S., Have, F. M. and Chen, Z. Y.: Influence of thyme and clove essential oils on cottonseed oil oxidation, JAOCS, 66:800, 1989.
7. 임대관, 최웅, 신동화: 소목 추출물의 항산화효과, 한국식품과학회지, 28(1):77, 1996.
8. 조순영, 유병진, 장미화: 이수정, 성낙주, 이용호 : 수산 미이용 자원중에 존재하는 항산화물질의 검색, 한국식품과학회지, 26(4):417, 1994.
9. 우나리아, 안명수, 이기영: Aloe 추출물의 유지에 대한 항산화효과, 한국조리과학회지, 11(5):536, 1995.
10. 장은희, 표영희, 안명수: 오미자 추출물의 항산화효과, 한국조리과학회지, 12(3):372, 1996.
11. 최웅, 신동화, 장영상, 신재익: 식용유지에 대한 붉나무 추출물의 항산화 효과, 한국식품과학회지, 24:320, 1992.
12. 김은정: 생강추출물의 항산화 효과에 관한 연구, 성신여자대학교 대학원 석사학위논문, 1991.
13. Janicki, J. and Gogolewski, M.: Synergistic effect of α -amino acid on oxidative property of α -tocopherol, Przemysl sposywesy, 12:412, 1958.
14. Marcuse, R. and Sims, R. J.: The effect of amino acid on the oxidation of linoleic acid and it's methyl ester, J. Am. Oil Chem. Soc., 39:97, 1962.
15. Karel, M. I., Tannenbaum, S. R. and Wavace, D. H.: Antioxidation of Methyl linoleate in freeze-dried model system. III. Effect of added amino acid, J. Food Sci, 31:892, 1966.
16. Chen, Z. Y. and Nawar, W. W.: The role of amino acids in the autoxidation of milk fat, JAOCS, 68:47, 1991.
17. Park, S. W. and Ahn, M. S.: Antioxidative effect of methionine and lysine on oil rancidity, Korean J. Soc. Food Sci., 10(1):57, 1994.
18. Shin, H. K. and H. D.: Antioxidative effect of ascorbic acid solubilized in oil via reversed micelle, J. Food Sci., 55:247, 1990.
19. 日本油化學協會: 標準油脂分析試驗法, 2.4. 1-83, 1994.
20. AOCS : Method Cd 1-25. In : "AOCS Official and Tentative Methods". 4th edition. American Oil Chemists Society, Chicago, 1990.
21. Sidwell, C. G., Salwin, H., Benca, M. and Mitdndll, J. H. Jr.: The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation, J. of the Ame. Oil. Chemists Society 31:603, 1954.

22. Riisom, T. and Sims, R. J.: Effect of amino acids on the autoxidation of safflower oil in emulsions, JAOCS, 57 : 354, 1980.
23. Cort, W. H.: 6-hydroxy chroman-2-carboxylic acid ; Novel antioxidant, JAOCS, 51(6) :200-207, 1974.