

식품중 리보플라빈의 화학반응과 안정성

(Chemical Reactions and Stability of Riboflavin in Foods)

전문연구위원 서인석

1. 기술의 개요

- 리보플라빈(riboflavin, 비타민 B₂의 별칭, RF)은 가열 및 비가열 식품처리와 저장중에 비교적 안정하나 빛에는 대단히 예민하게 분해된다. 이 물질은 빛을 받으면 광감작제(光感作劑) 또는 식품성분에 대하여 산화촉진제로 작용한다.
- RF의 광감작화는 초과산화(超過酸化) 음이온, 일중항 산소, 수산화 라디칼 및 과산화수소와 같은 활성산소종의 생성을 초래한다. 라디칼 및 활성산소종은 단백질, 지질, 탄수화물 및 비타민의 분해를 가속화하며, 식품에서 상당한 영양소 손실을 가져온다.
- 탄수화물은 단백질, 지질 또는 비타민보다 RF 광감작화 산화에 덜 민감하다. RF은 일중항 산소생성에 탁월한 광감작제이고, 일중항 산소에 대하여 반응속도 $1.01 \times 10^{10} / \text{M/s}$ 를 가진 최고의 반응물이다.

2. 기술의 내용

- RF, 비타민 B₂는 노란색 화합물로서 대부분의 생물계에 나타나 있다. RF은 화학적 합성 또는 미생물발효법에 의해 상업적으로 제조된다. 연간 RF의 생산량은 3000톤 정도이고, 이 중에서 2500톤은 미생물발효법으로 생산된다.
- RF은 FMN(flavin mononucleotide, 플라빈 모노뉴클레오티드) 및 FAD(flavin adenin dinucleotide, 플라빈 아데닌 디뉴클레오티드) 조효소의 활성부분으로서, 이들 조효소들은 많은 산화-환원반응에서 촉매역할을 한다. 이들 조효소들은 탈수소효소 및 산화효소에서 필수적 역할을 한다.

- RF은 수소원자 쌍을 수용하거나 공여할 수 있다.
 - RF은 빛에 의해 수소원자 또는 전자를 주거나 받음으로서 쉽게 산화 또는 환원되는 능력이 있기 때문에 복잡한 광화학적 성질을 가지고 있다.
 - RF-광감작화계에서 활성산소종의 분포는 이용 가능한 산소, RF농도, 산화가능 기질 및 소광물질(消光物質) 등에 달려있다.
- RF은 고리구조에 많은 짝 이중결합 및 질소를 가지고 있다. pH 4이하에서는 양이온(RFH_2^+), 중성에서는 RFH 형태, pH 9.7이상에서는 음이온형태(RH^-)로 존재한다.
- 양이온 RF은 비형광성, 중성형태는 형광성, 음이온형태는 약한 형광성을 보인다.
 - 메탄올과 같은 유기 양성자성 용매에서 RF는 높은 형광양자 수율을 보이고, dimethylsuloxide와 같은 유황함유 유기용매 또는 물과 같은 무기 양성자성 용매에서 보다 더 긴 수명을 가진다.
 - RF는 어떤 호르몬의 생성 및 조절, 적혈구 세포의 형성 등과 같은 신체의 정상 성장 및 발육에 필수적이다.
 - RF는 탄수화물, 지질 및 단백질 대사에서 중요한 위치를 점유하며, 또한 전자-전달체계에서 생물학적 에너지 생성에 결정적이다.
 - RF는 손톱, 모발 및 피부가 좋은 모습을 유지하는데 필요하다. 감성적 웰빙 및 우울증발생과 관련이 있는 신경전달물질 사용에 관여된다. 이 물질이 부족하면 입의 가장자리 피부와 점액질 막에서 균열 및 상처가 보인다.
 - 눈꺼풀 안에 모래가 끼어있는 것 같은 느낌, 눈의 충혈 및 피로, 동공의 팽창, 각막의 변화 및 빛에 대한 민감한 반응 등과 같은 시력의 교란은 RF의 부족에서 올 수 있으며, 어떤 경우는 백내장이 초래되기도 한다.
 - RF는 신체에 축적되지 않기 때문에 음식물로부터 공급되어야 한다. 섭취 권고량은 1.1~1.6mg/일이고, 우유, 계란, 잎이 많은 채소 및 콩 등은 RF의 좋은 원천식품이다.

□ RF의 안정성

- RF는 탈수, ⅳ선-조사(照射) 및 여러 가지 식품저장 조건에서도 비교

- 적 안정하다. 탈수된 과일 및 야채를 54℃에서 1년간 저장한 상태에서도 안정하다.
- RF는 60℃의 분유에서도 안정하나, 이때 다른 성분인 엽산(folic acid), 티아민(비타민 B₁), 비타민 B₆ 및 판토텐산(비타민 B₅) 등은 빠르게 분해되었다.
 - 대구토막 중의 RF는 Ψ선-조사에서 6%, 조리에서 9% 감소하였다. 참새우속의 RF는 7kGy 선량으로 Ψ선-조사와 조사 후 100℃에서 10분간 가열했을 경우에도 거의 변하지 않았다.
 - RF의 저장도중 산소가 존재하면 분해율은 현격히 증가하였다. RF를 금속 황화물과 혼합하여 37℃에서 90~180일 저장했을 때 현저히 분해되었다.
 - RF의 안정도는 금속 킬레이트에 의한 영향은 받지 않았다. RF의 안정도에서 수분활성도(water activity, A_w)가 중요한 역할을 한다.
 - 20℃에서 A_w 0.1~0.65 및 30℃, A_w 0.1~0.4에서 8개월 저장후 RF는 거의 100% 유지되었다.
 - 빛이 존재하고 있는 저장조건에서 시료의 교반(攪拌)과 부위별 위치는 RF의 손실에 심대한 영향을 미쳤다. 5일간 빛에 노출된 조건에서 교반되지 않은 상층 우유중의 RF 보유량은 58%에 불과하였다. 그러나 용기의 바닥에 위치한 우유중의 함량은 92%에 달하였다.
- 구운 돼지고기 중의 RF는 높게 유지되었으며, 이때 다른 비타민은 현저히 분해되었다. 열처리 후 RF의 잔류는 가열방법에 무관하게 거의 일정하였다.
- RF는 티아민보다 가열에 더욱 안정하고, 온도에 덜 민감하다. 두유 RF의 열분해는 1차 반응을 따르고 반응속도는 90, 120 및 140℃에서 각각 7.05×10^{-4} , 4.26×10^{-3} 및 2.12×10^{-2} /분이었다.
- RF는 빛에 대단히 예민하다. 암흑조건에서 RF 강화 파스타는 아주 안정하지만, 빛의 존재하에서는 심하게 분해된다. 우유에서 RF는 30분간 끓여도 12% 만 손실되나 햇빛에 노출되면 30% 정도 손실된다. 마카로니중의 RF는 1일 이내에 50%이상 손실한다.
- 건조한 마카로니 및 건조우유에서 RF의 광분해는 2상 메커니즘을 가지며, 초기 신속한 분해에 이어서 느린 손실이 일어난다.
 - 빛에 의한 RF의 손실은 빛의 강도, 노출시간, 빛의 파장, 패키징물질

및 식품의 가공처리과정 등에 따라 다르다.

- 빛의 존재하에 1개월 치즈 저장중 RF의 분해를 보면, 치즈 표면에서는 거의 분해되었고, 내부는 거의 변하지 않았다.

□ 광감작제로서의 RF

- RF는 잘 알려진 광감작제이다. 형태 II의 광감작화 과정에서 들뜬 3중항 RF(이중라디칼)은 짝짓지 않은 전자를 가진 3중항 산소와 전자 전달 또는 에너지전달에 의한 일중항 산소와 반응하여 초과산화 음이온을 생성한다.
 - 3중항 산소와 3중항 상태의 RF의 반응속도는 $9 \times 10^8 / \text{M/s}$ 이다. 3중항 RF 및 3중항 산소간의 반응에 의한 초과산화 음이온의 생성율은 낮다.
 - 3중항 RF는 식품성분(R'H)으로부터 전자 또는 수소원자를 추출함으로서 환원되어 음이온 RF라디칼(RFH^\bullet) 및 환원된 RF라디칼(RFH_2^\bullet)을 생성한다. 이를 형태 I 광감작화 메커니즘이라 부른다.
 - 초과산화 음이온 및 일중항 산소와 같은 활성산소종은 빛이 쏘이는 RF의 존재하에 3중항 산소로부터 생성된다.
 - 초과산화 음이온은 과산화수소로부터 불균등화(dismutation, 동종 분자간 주고 받기 반응)로 생성된다.
 - 초과산화 음이온 및 과산화수소는 haber-weiss반응으로 수산화라디칼을 형성한다.
- RF는 빛의 광감작화에 의하여, 수산화 라디칼, 초과산화 음이온, 일중항 산소, RF 양이온 및 음이온 라디칼 등이 형성되고 이들은 식품에서 RF의 파괴에 관여될 수 있다.
 - 환원전위가 2300mV인 수산화 라디칼은 음식물 중의 활성산소종 중에서 가장 강력한 산화제이다. 또한 강한 친전자적 분자로서 이중결합을 함유한 식품과 쉽게 반응한다.
 - 수산화 라디칼의 식품과 반응속도는 $10^9 \sim 10^{10} / \text{M/s}$ 정도이고, 확산으로 제어되는 반응속도이다.
 - 생성된 친전자적 일중항 산소는 RF의 이중결합과 직접 반응할 수 있다. 이때의 반응속도는 $6 \times 10^7 \sim 1.01 \times 10^{10} / \text{M/s}$ 이다.
 - 일중항 산소의 소광제인 sodium azide(NaN_3)은 광감작화된 산화 RF

를 환원시킨다.

- RF는 H₂O에서 보다 D₂O에서 더 빨리 광분해되고, 이는 D₂O에서 일중항 산소수명이 H₂O에서 보다 13배 길기 때문이다.
- 들뜬 3중항 RF는 다른 들뜬 또는 바닥상태의 RF분자와 반응하여 RF 양이온 및 음이온을 형성한다.
- RF, FMN 및 FAD 등 flavin이 알칼리용액의 호기조건에서 광분해하여 luminflavin을 생성하고, 이것이 중성 및 산성에서 광분해하여 lumichrome을 생성한다.
- RF는 주로 ribityl그룹의 제거를 통하여 lumichrome으로 변환되고, 중성 및 산성용액에서 고리구조의 이중결합이 재배열된다. 3중항 RF는 알칼리용액에서 lumichrome으로 변환된다.
- 들뜬 3중항상태 RF를 통하여 광환원 및 광탈알킬반응이 일어난다.

□ 광감작화된 RF는 식품성분을 산화시킨다

- 3중항상태 RF는 아미노산, 단백질, 지질 및 다른 많은 비타민보다 환원전위가 높기 때문에 식품성분의 광분해를 초래한다. 3중항 RF 및 이의 전자결핍 양이온 라디칼(RFH⁺•)은 강한 산화종으로서 이들의 환원전위는 각기 1.7 및 2.28V이다.
- 증류수 중의 티로신(tyrosine, TyrOH, 방향족 α-아미노산의 하나) 및 트립토판(tryptophane, 필수아미노산에 속하는 방향족 α-아미노산)은 빛과 RF(7.5×10⁻⁶M)의 존재 하에서 산화되었다.
- 5%정도의 낮은 산소농도에서 들뜬 3중항 RF는 TryOH와 반응하여 RFH₂• 라디칼을 형성하고 이로부터 전자전달을 통하여 형태 I 반응메커니즘으로 산화된 라디칼 TyrO•을 형성한다.
- RF의 존재 하에서 트립토판의 광산화(光酸化)는 형태 I 및 형태 II 반응경로에 따라 진행된다. 이 광산화는 수산화 라디칼 및 일중항 산소 때문에 일어난다.
- 펩티드 함유 트립토판은 21μM RF 및 형광하에서 pH 7.5에서 주로 일중항 산소에 의해 신속히 산화된다.
- 증류수에서 히스티딘(hystidine, 염기성 아미노산)은 7.5×10⁻⁶M농도의 RF 및 가시광선의 존재 하에서 형태 II 반응메커니즘으로 광산화된다.

- RF에 의한 단백질의 광감작화(光感作化) 변형은 효소의 비활성화를 초래한다. RF광감작화에 의해 형성된 활성산소종이 효소의 가교를 촉진하여 단백질의 변성을 야기하고 결과적으로는 효소활성의 손실을 초래한다.
 - α-토코페롤 초산염, β-카로틴(carotene, 신체에서 비타민 A로 변함), sodium azide 및 아스코르브산과 같은 일중항 산소 소광제는 단백질 가교반응 및 효소의 광에 의한 비활성화를 방지할 수 있다.
 - RF 및 lumiflavin은 콜레스테롤 유도체의 광산화반응이 쉽게 진행될 수 있다. 생성된 일중항 산소는 콜레스테롤의 이중결합에 부가된다.
 - Lumiflavin을 광감작제로 사용할 경우, pyridine 및 acetonitrile중의 콜레스테롤은 6-en-5a'-hydroperoxide를 86% 및 5-en-7-hydro-peroxide를 80% 생성하였다.
- 탄수화물은 비교적 광산화(光酸化)에 덜 민감하나, RF는 가시광선에 활성산소종을 통하여 포도당을 산화시킨다. 이는 들뜬 RF의 농도에 직접 비례한다.
- RF-광감작화 산화는 비타민A, 비타민C, 비타민D 및 비타민E의 분해를 야기한다. 우유중의 비타민A의 손실은 빛의 노출강도 및 시간에 따라 증가하나 지방함량이 많으면 덜 손실된다.
 - 아스코르브산은 탁월한 항산화제로서 가시광선을 흡수하지 않는다. 그러나 RF 존재하에 많은 산소를 소비하여 쉽게 광산화 된다.
 - 산소 존재하에 RF 광감작화에 의한 아스코르브산의 광분해는 빛의 강도, RF의 농도, 산소, 아스코르브산의 농도, 온도, 반응매질의 pH 및 기타 다른 물질의 존재 여부 등에 따라 달라진다.
 - 빛의 존재하에 RF는 일중항 산소반응 경로를 통하여 비타민D의 산화를 촉진시킨다.
- 우유에서 햇빛에 의한 향미(香味)형성은 유황향미이다. methional 및 dimethyl 황화물이 햇빛 향미의 원인이다. 메티오닌에서 일중항 산소는 전자가 많은 유황과 반응하여 과산화물을 형성한다.
 - 유황함유 과산화물은 분해하여 methional 및 thiomethyl 라디칼을 형성하고, thiomethyl라디칼들 사이의 반응으로 dimethyl disulfide

를 생성한다. 이 물질의 함량은 햇빛 향미 감각품질과 관련이 크다.

3. 결론

- RF는 빛에 노출되는 것을 제외하고는 식품가공 및 저장중 비교적 안정하다. 그러나 빛에너지를 흡수하여 들뜬 3중항상태 RF를 생성한다. 들뜬 3중항 RF는 형태 I 반응경로로 RF라디칼 및 초과산화 음이온을 생성하고 형태 II 반응경로를 통하여 일중항 산소와 같은 활성산소종을 생성한다.
- 활성산소종은 식품성분의 산화를 촉진하며 영양소 손실을 초래한다. 영양소의 분해는 빛, 산소 및 RF의 농도와 다른 물질의 존재여부에 따라 달라진다.
- 빛의 존재하에 RF의 광감작화에 의한 단백질의 분해는 저산소 농도에서는 주로 형태 I의 반응경로에 의하고, 고산소 농도에서는 형태 II 반응경로로 발생된다. 메티오닌과 RF 광감작제에 의해 생성된 일중항 산소와 반응하여 dimethyl disulfide를 생성하고, 이는 우유의 햇빛 향미 원인이 된다.
- 탄수화물은 RF 광감작산화에 대하여 단백질 및 지질보다 덜 민감하나, 고농도 포도당에서는 형태 I 반응경로가 촉진된다. RF와 빛의 존재하에 비타민A, C, 및 D는 형태 I 또는 형태 II인 일중항 산소에 의해 분해된다.
- RF는 일중항 산소형성에 탁월한 광감작제이며, 빛의 존재하에 RF자체의 신속한 분해로서 일중항 산소생성에 대한 최고의 반응물이다.

◁ 전문가 제언 ▷

- 비타민 B₂는 수용액 중에서 형광을 띠는 오렌지색 또는 노란색 결정체로서 RF(rivoflavin)이라고 불린다. RF는 세포에서 인산화되어 탈수소효소의 조효소인 FMN 및 FAD의 구성성분이 된다. RF, FAD 및 FMN은 ribityl부분의 10번 위치 질소 원자에 치환된 isoalloxazine그룹에 의하여 특성화된다. 이 탈수소효소는 어떤 물질로부터 수소를 받아서 다른 물질로 전달하고 열량소로부터 수소와 산소가 결합하여 물이 되도록 하는 생체의 산화/환원반응에 관여한다. 그러므로 RF는 탄수화물, 지방, 단백질 등 열량의 대사에 없어서는 안되며, 만일 결핍되면 이들의 대사가 저해되어 신체장애를 일으키게 된다. 결핍증으로서 설염, 구순염, 구각염, 피부병, 결막염이나 백내장과 같은 눈병이 나타난다. RF는 미생물이나 고등식물에서 합성되고 동물에서는 생성되지 않기 때문에 음식으로부터 필요량을 섭취해야 한다. 우유, 치즈, 간, 달걀, 돼지고기 및 녹색채소에 많이 함유되어 있다. RF는 의약품, 가축사료 첨가제로 널리 사용되고 국내외의 시장규모가 상당하므로 이의 국내생산 및 공급에 대하여 세심한 고려가 필요하다.

- RF는 광화학적 광감작제로 작용할 수 있고, 가시광선을 흡수하지 않는 분자의 광분해를 자극한다. RF는 일중항 산소 또는 라디칼 종들, 즉 초과산화 이온, 수산화 라디칼 및 과산화수소 등과 같은 활성산소종 생성을 통하여 효율적인 광감작제로 작용한다. 더욱이 RF는 분자산소가 없는 상태에서 전자추출에 의해 적절한 기질을 직접 산화시킬 수 있다. 3중항 RF의 산화환원 전위는 1.7V정도로서 중요한 생체분자인, 아미노산, 단백질, 지질 및 핵산보다 산화환원 전위가 높기 때문에 RF존재 하에 이들 물질들의 광분해가 진행될 수 있다. 비이온화된 RF종은 이온화된 종에 비하여 광분해가 더 민감하게 영향받는다. pH 5.0~10.0에서의 광분해율의 증가는 주로 비이온화 상태의 분자에 의한 것이고, pH 2.0이하 및 pH 10.0이상에서의 비교적 낮은 광분해율은 양이온 및 음이온 형성에 기인한다. 이들은 비형광성이고 들뜬 일중항 상태의 산-염기에 의한 소광 때문이다. 생체, 식품 및 음료수 시료 중의 수용성 RF 및 관련 화합물의 정량은 생화학적, 영양학적 및 진단측면에서 중요하다. 자연산물의 태생적 변화성 때문에 방대한 시료채취가 요구되고 이를 위해 시료채취, 추출 및 분석 등에 실험실 자동화가 필요하다.