Kor. J. Food Hygiene 8 (2), 85-90(1993)

Fababean 중의 Vicine과 Convicine의 안정성에 관한 연구

박 신 인
경원대학교 식품영양학과

Study on the Stability and Fate of Vicine and Convicine in Fababean

Shin-In Park
Department of Food & Nutrition, Kyungwon University, Songnam 461-701, Kc·ea

ABSTRACT—**The aglycones of vicine and convicine have been implicated as the causative factors for favism in fababeans. Thus, the presence of these compounds in fababeans is a potential obstacle to the use of fababeans and fababean preparations in foods.**

Investigations of vicine stability in fababeans and in pure solutions revealed that vicine is very stable, however, divicine derived from vicine by β-glucosidase action or by acid hydrolysis is highly unstable at conditions prevalent in food processing.

Therefore, the possibility of incorporating of β-glucosidase in food products containing fababean preparations was suggested to overcome potential risks of favism related to the consumption of fababean fortified products.

Keywords □ Fababean, vicine, convicine, divicine, favism.

Fababean(*Vicia faba*)은 오래 전부터 유럽, 아시아, 아프리카, 중동 지역에서 단백질 급원으로 식용되어 왔다. Fababean은 단백질 함량이 매우 높으며,[1-3] 황-함유 아미노산(methionone, cystine)이 부족한 반면 lysine의 함량이 높기 때문에, 곡류와 함께 사용하면 곡류에서 부족되는 lysine을 보충하여 영양학적인 가치를 향상시킬 수 있다.[4] 그러나 fababean의 식용으로서의 사용은 fababean 섭취 후 나타나는 favism이라고 하는 질병 때문에 제한되어져 왔다.

Favism은 유전적인 결함으로 적혈구에 glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD)가 결핍된 결과 reduced glutathione(GSH)이 부족한 사람들이 fababean 섭취 후 급성 hemolytic anemia를 나타내는 질병이다.[5] G6PD는 pentose phosphate shunt 경로에서 NADPH를 생성하는 역할을 하며, 생성된 NADPH는 oxidized glutathione(GSSG)을 GSH로 환원시키는 glutathione reductase의 활성에 필요한 인자이다.[6] GSH는 적혈구의 세포막의 완전한 구조 형태를 유지하는데 필요하다.[7]

$$\text{Glucose-6-phosphate} + \text{NADP}^+ \xrightarrow{\text{G-6-P dehydrogenase}} \text{6-Phosphogluconate} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

$$\text{6-Phosphogluconate} + \text{NADP}^+ \xrightarrow{\text{6-P-G dehydrogenase}} \text{Ribulose-5-phosphate} + \text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{CO}_2$$

$$\text{Oxidized glutathione} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{GSSG reductase}} 2\ \text{Reduced glutathione} + \text{NADP}^+$$

Fababean에서 favism을 일으키는 원인 물질은 vicine과 convicine으로서,[8-10] 섭취 후 vicine과 convicine으로부터 분해된 각각의 aglycone인 divicine과 isouramil인 것으로 알려졌다(Fig. 1). 이 aglycone들은 G6PD가 결핍된 적혈구에서 GSH을 급속히 산화시켰다.[11,12]

본 연구에서는 favism의 원인 물질인 fababean에 함유되어 있는 vicine과 convicine의 양을 감소시킬

Received for publication May 25, 1993
Reprint request: S.-I. Park at the above address

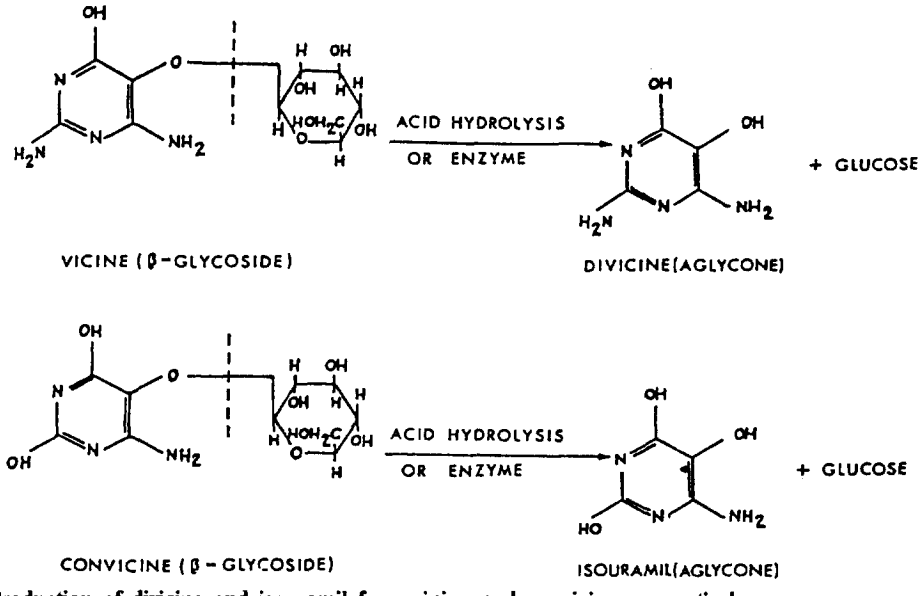

Fig. 1. Production of divicine and isouramil from vicine and convicine, respectively.

수 있는 방법을 찾기 위하여 vicine과 convicine의 안정성에 관해서 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 fababean flour와 정제된 vicine은 Manitoba 대학교 식품가공학과(Canada)로부터 구입하여 사용하였고, $TiCl_4$는 British Drug Houses, β-glucosidase(EC. 3.2.1.21.)는 Sigma사의 제품을 사용하였다.

Fababean으로부터 vicine과 convicine의 분리정제

Fababean에 함유된 vicine과 convicine의 분리정제는 Kim 등[13]의 방법에 따랐으며, 이 과정은 Fig. 2에 나타내었다.

Vicine과 convicine 함량측정

Vicine과 convicine의 양은 titanium reagent(20% $TiCl_4$/conc. HCl)을 이용한 발색 반응법으로부터 측정되었다.[13,14]

취해진 vicine과 convicine 용액은 진한 HCl을 가하여 산 가수분해시켜(80℃, 1.5분) aglycone인 divicine과 isouramil을 생성한 후(Fig. 1), 이 용액에 titanium reagent(0.8 m*l*)를 가하여 발색시킨 다음 Unicam SP 600 Spectrophotometer를 사용하여 480 nm에서 흡광도를 측정하였다(Fig. 2).

Vicine과 convicine은 titanium reagent와 반응을 하지 않으며, 반면 aglycone인 divicine과 isouramil은 C-5의 hydroxyl기와 이 시약이 반응하여 황색의 titanium salt를 형성하여 발색된다.

Divicine의 생성

β-Glucosidase(0.5 mg/mg vicine, pH 5.0)를 가한 vicine 용액을 37℃에서 20분간 반응시켜 vicine을 가수분해하여 divicine을 형성하였다. Divicine의 함량측정은 산 가수분해 과정을 제외하고 바로 titanium reagent을 가하여 발색시킨 후 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

Vicine의 안정성에 대한 열처리의 영향

Fababean flour와 정제된 vicine을 121℃에서 30분간 열처리한 후 vicine과 convicine의 양을 titanium reagent 방법에 의해서 측정한 결과가 Table 1에 나타나있다. 이 표에서 보는 바와 같이 vicine과 convicine은 열에 의해 거의 파괴되지 않는 안정성을

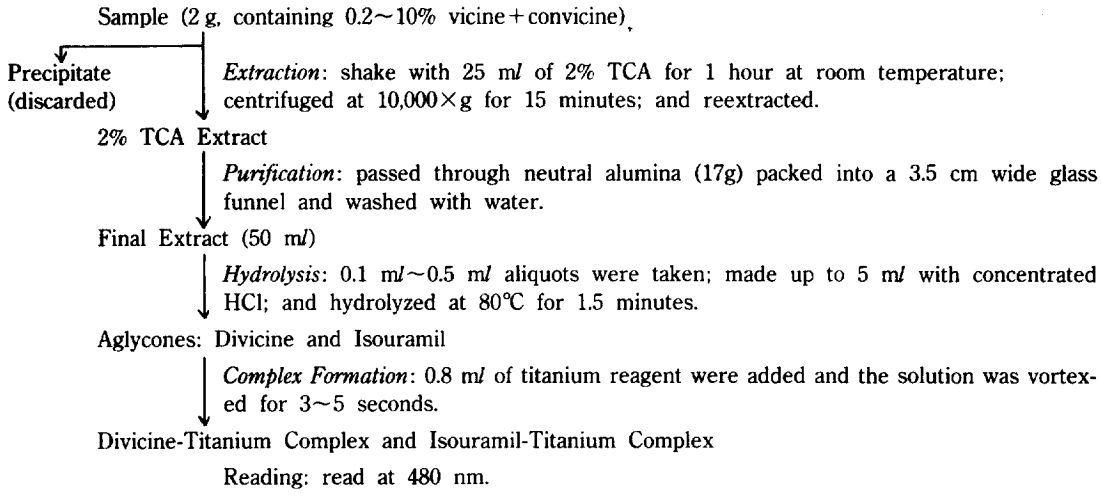

Fig. 2. Procedure for determination of vicine and convicine by titanium reagent method.

나타내었다. 이것은 Marquardt 등[15]이 fababean의 vicine이 강한 열처리 후에도 파괴되지 않았다고 하는 보고와 일치하는 결과이었다.

Vicine의 안정성에 대한 pH의 영향

Vicine의 pH에 대한 안정성에 관한 결과는 Fig. 3에 나타나있다. Vicine 용액(1 mg/ml)의 pH를 각각 2, 5, 10으로 적정한 후 80℃에서 4시간 동안 정치하면서 시간 별로 vicine과 divicine의 양을 측정하였다. pH 2로 적정된 vicine 용액은 80℃에서 1시간 후에 완전히 가수분해되며, 반면 pH 5와 pH 10에서는 매우 안정된 것으로 나타났다. 그리고 모든 pH 조건 하에서 divicine의 양이 매우 적게 나타난 것으로 divicine의 불안정성을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Bendich와 Clements,[16] Mager 등[5]에 의해서도 보고되었다.

Vicine이 divicine과 glucose로 가수분해되면 신속하게 분해된다. 따라서 fababean을 함유하는 식품을 가공할 때에는 vicine과 convicine의 가수분해 과정을 포함시키면 favism의 문제는 해결될 수 있을 것이다. 그러나 실제로 식품 가공시 vicine과 convicine을 가수분해 시키기 위해 pH 2 이하로 산성화한

Table 1. Effect of heat treatment on stability of vicine and convicine

Sample	Glycosides(%, dry basis)[1]	
	Before heat treatment[2]	After heat treatment[2]
Fababeab flour	0.816± 0.034[a]	0.820± 0.028[a]
Pure vicine	100[b]	99.94± 0.031[b]

1. Means± S.E. based on five determinations.
2. Means± S.E. for each value sharing a common superscript letter are not significantly different at P> 0.05.

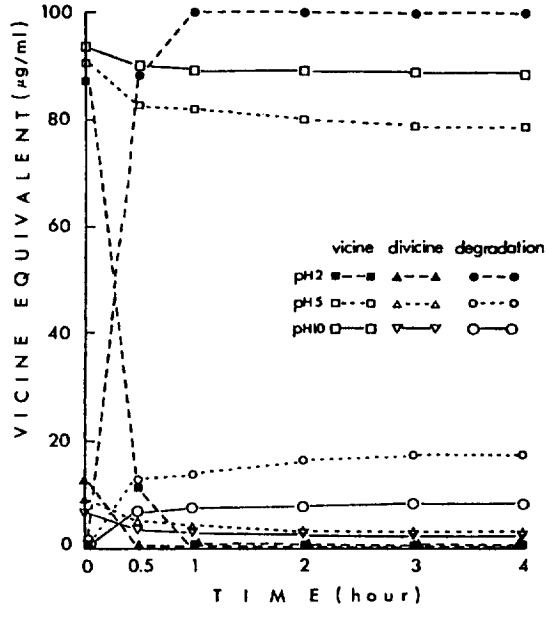

Fig. 3. Influence of pH on stability of vicine.

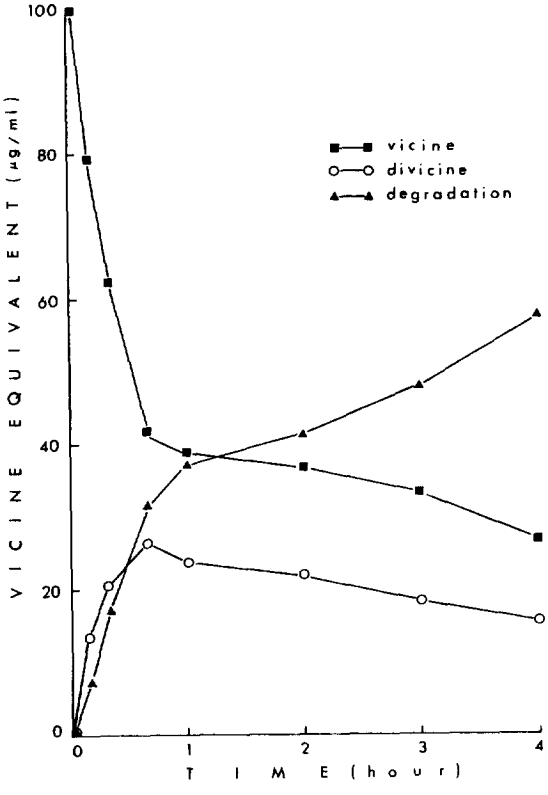

Fig. 4. Enzymatic hydrolysis of vicine with β-glucosidase at pH 5, 37°C.

후 열처리하는 과정은 사용될 수가 없다. 그러므로 단백질과 같은 식품 성분들의 변화를 일으키지 않는 온화한 조건 하에서 vicine과 convicine을 가수분해하기 위해 효소를 사용하기로 하였다.

Vicine의 효소에 의한 가수분해

Vicine 용액에 β-glucosidase를 반응시켜(pH 5, 37℃, 4시간) 시간별로 vicine이 가수분해되는 정도를 측정한 결과는 Fig. 4와 같았다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 vicine의 가수분해는 매우 빠르게 진행되었으며, 4시간 반응 후 잔존하는 vicine의 양은 30% 이하였으며, 생성된 divicine도 매우 불안정하게 나타났다.

Divicine의 분해에 대한 온도와 pH의 영향

Divicine의 온도와 pH 변화에 따른 안정성과 분해률을 측정하기 위하여 divicine의 half-life time과

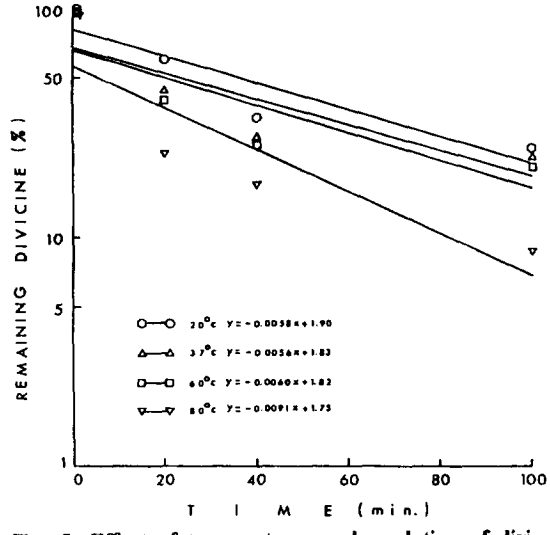

Fig. 5. Effect of temperature on degradation of divicine at pH 2.

rate constant(k)를 구하였다.

Divicine의 분해반응은 산화반응으로서 다량의 산소 존재하에서 이 반응은 first order reaction으로 반응속도는 divicine의 농도에 비례한다.

divicine + O_2 → breakdown product

각 pH에서(pH 2, 5, 10) 반응시간(0～100분)과 잔존하는 divicine 양과의 관계를 semi-log graph에 나타낸 결과는 Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7에서 보는 바와 같으며, 이 결과로부터 divicine 분해 반응 동안의 half-life time과 rate constant(k)를 계산하여 Table 2에 요약하였다. 이 표로부터 온도가 상승함에 따라 divicine의 분해 반응 속도가 빨라지면서 half-life time이 크게 감소하였으며, 또한 pH가 강한 산성일수록 divicine의 분해가 빨리 진행되는 것이 밝혀졌다. Mager 등[5]이 실온에서 중성 용액의 divicine의 half-life time은 30～40분이었다고 보고한 결과와 비교하면 본 실험 결과의 half-life time이 길게 나타났다.

80℃에서(pH 5) divicine의 half-life time은 14.35분으로서 빵 제조 과정 중 굽는(baking) 공정에서의 온도가 80℃ 이상이 되며 시간도 15～18분이기 때문에 dough에 존재하는 divicine이 baking 후에는 90% 이상 분해될 것으로 생각한다. 따라서 fababean

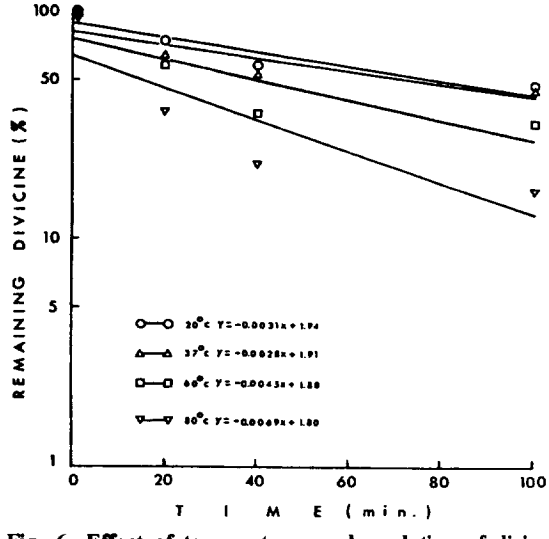

Fig. 6. Effect of temperature on degradation of divicine at pH 5.

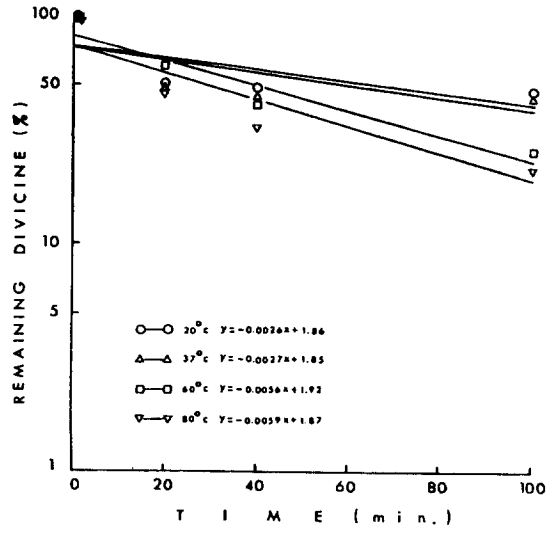

Fig. 7. Effect of temperature on degradation of divicine at pH 10.

Table 2. Effect of pH and temperature on half-life time and rate constant of divicine degradation

Temperature	Half-life time(min.)			Rate constant(k)		
	pH 2	pH 5	pH 10	pH 2	pH 5	pH 10
20℃	35.00	78.73	60.08	−0.014	−0.0076	−0.0080
37℃	23.77	77.51	56.13	−0.015	−0.0074	−0.0083
60℃	19.50	41.35	38.81	−0.016	−0.011	−0.014
80℃	5.01	14.35	28.01	−0.024	−0.018	−0.015

flour가 첨가된 밀가루로 제빵된 식빵에서 vicine의 양은 크게 감소될 것으며, 또한 favism의 위험성도 제거될 것으로 추측되며 이에 대한 연구가 필요하다고 본다.

국문요약

Fababean에 존재하는 vicine과 convicine은 고온의 열처리에서 안정하였으며, vicine 용액도 약산성(pH 5)과 알카리성 pH(pH 10)에서 열에 대한 안정성이 높게 나타났다. 반면 산성 pH에서 vicine은 산 가수분해되어 aglycone인 divicine을 형성하며, 생성된 divicine은 매우 불안정하여 쉽게 분해되었다.

효소(β-glucosodase)에 의해 vicine을 가수분해시킨 후 생성된 divicine의 산화에 의한 분해 반응 동안(pH 5, 80℃), half-life time과 rate constant는 각각 14.35분과 −0.018이었다. 따라서 fababean을 함유한 식품을 가공하는 동안 효소(β-glucosidase)처리를 하여 vicine과 convicine을 가수분해시키면 이들의 양은 크게 감소될 것이다.

참고문헌

1. Marquart, R.R., McKirdy, J.A., Ward, T. and Campbell, L.D.: Amino acid, hemagglutinin and trypsin inhibitor levels, and proximate analysis of fababeans(*Vicia faba*) and fababean fractions, *Can. J. Anim. Sci.*, **55**, 421 (1975).
2. Kaldy, M.S. and Kasting, R.: Amino acid composition and protein quality of eight fababean cultivars, *Can. J. Plant Sci.*, **54**, 869 (1974).
3. Kaldy, M.S.: Amino acid composition and protein quality of two fababean cultivars, *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, **11**, 97 (1978).
4. Patel, K.M. and Johnson, J.A.: Horsebean as protein supplement in breadmaking. I. Isolation of horsebean protein and its amino acid composition, *Cereal Chem.*, **51**, 693 (1974).
5. Mager, J., Ragin, A. and Hershko, A.: Favism. *In Toxic Constituents of Plant Foodstuffs* (Liener, I.E. Ed.) Academic Press, N.Y., p. 293 (1969).
6. Szeinberg, A., Sheba, C.H. and Adam, A: Enzymatic abnormality in erythrocytes of a population sensitive to *Vicia faba* or hemolytic anemia induced by durgs, *Nature*, **181**, 1256 (1958).
7. Harley, J.D.: Hematology: Role of reduced glutathione in human erythrocytes, *Nature*, **206**, 1054 (1965).
8. Lin, J.Y. and Ling, K.H.: Studies on favism. 1. Isolation of an active principle from fababean (*Vicia faba*), *J. Formosan Med. Assoc.*, **61**, 484 (1962).
9. Lin, J.Y. and Ling, K.H.: Studies on favism. 3. Studies on the physiological activities of vicine *in vitro*, *J. Formosan Med. Assoc.*, **61**, 579 (1962).
10. Jamalian, J., Aylward, F. and Hudson, B.J.F.: Favism-inducing toxins in broad beans (*Vicia faba*): Biological activities of broad beans extracts in favism-sensitive subjects, *Qual. Plant-Plant Foods Hum. Nutr.*, **27**, 213 (1977).
11. Mager, J., Glaser, G., Ragin, A., Izak, G., Bien, S. and Noam, M.: Metabolic effects of pyrimidines derived from fababean glycosides on human erythrocytes deficient in glucose−6−phosphate dehydrogenase, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **20**, 235 (1965).
12. Razin, A., Hershko, A., Glaser, G. and Mager, J.: The oxidant effect of isouramil on red cell glutathione and its synergistic enhancement by ascorbic acid or 3,4-dihydroxyphenylalanine, *Israel J. Med. Sci.*, **4**, 852 (1968).
13. Kim, S.I., Hoehn, E., Eskin, N.A.M. and Ismail, F.: A simple and rapid colorimetric method for determination of vicine and convicine, *J. Agric. Food Chem.*, **30**, 144 (1982).
14. Hoehn, E., Kim, S.I., Eskin, N.A.M. and Ismail, F.: Chromogenic reagent for vicine and covicine on thin-later plates, *J. Chromatography*, **194**, 251 (1980).
15. Marquardt, R.R., Campbell, L.D. and Ward. T.: Studies with chicks on the growth depressing factors in fababeans(*Vicia faba* L. var. minor), *J. Nutr.*, **106**, 275 (1976).
16. Bendich, A. and Clements, G.C.: A revision of the structural formulation of vicine and its pyrimidine aglucone, divicine, *Biochim. Biophys. Acta.*, **12**, 462 (1953).