

## Amino-Carbonyl 反應에 미치는 溫度의 影響

金容年·金昌睦·韓康完\*·吳成基  
慶熙大學校 産業大學, \*全北大學校 農科大學  
(1982년 1월 15일 수리)

### Effect of Temperature on Amino-Carbonyl Reaction

Yong Nyun Kim, Chang Mok Kim, Kang Wan Han\*, Sung Ki Oh  
Kyung Hee University, Seoul 131, \*Jeonbuk National University, Jeonju 580, Korea  
(Received January 15, 1982)

#### Abstract

The thermal degradation of 0.05M glucose-arginine model system was occurred during heat treatment for 0~7 hours at 60~120°C, and the melanoidin formation was investigated as a function of temperature. The decomposition reaction of glucose and arginine, as well as the reaction of melanoidin formation, followed first-order kinetics, except the reaction at 120°C, and the rate constants ( $\text{hr}^{-1} \times 10^3$ ) of those reactions were ranged from 14.20 to 837. 10. Temperature dependence of the rate constants was characterized by the Arrhenius equation, except the reaction at 120°C. The ranges of activation energy and  $Q_{10}$  values were 12.122~18.142 kcal/mole and 1.65~2.12, respectively.

#### 序 論

식품의 색깔은 製品の 品質뿐 아니라 嗜好를 刺戟하는 主要한 要因으로서 加工食品中에 많이 일어나는 非酵素的 褐變反應인 amino-carbonyl 反應에 대한 研究는 많다. 최근 amino-carbonyl 反應의 主生成物인 melanoidin 色素가 抗酸化作用이 있다<sup>1-3)</sup>는 사실이 밝혀졌으며 이 反應은 食品學的인 面에서 뿐만 아니라 老化抑制作用과도 關係된다<sup>4)</sup>는 점에서 醫學的인 面으로도 중요한 의미를 갖고 있다. 따라서 著者 등은 食品中에 가장 많이 존재하는 glucose 와 arginine 을 시료로 하여 glucose-arginine model system 을 만들어 處理溫度 및 時間에 따른 非酵素的 褐變反應의 影響을 반응속도론적으로 조사하였다. 處理溫度 및 時間에 따라 分解되는 glucose 와 arginine 의 含量變化는 分析用 HPLC 로써 定量하였으며, 이 때 生成되는 melanoidin 色素는 spectrometric 方法에 의하여 色相의 吸光度(OD)變化를 측정하였다. 分解되는 glucose 와 arginine 의 含量變化와 生成되는 melanoidin 色素의 強度로

써 反應速度常數와 半減期를 求하였으며 Arrhenius plot 에 의한 活性化에너지( $E_a$ )와  $Q_{10}$  값 등을 결정하였다. 非酵素的 褐變反應時에 生成되는 roasted-nutty flavor 인 pyrazine 과 褐變色素의 친구체로 알려진 5-hydroxymethyl-2-furfural(HMF) 및 furfural 은 각각 278nm<sup>5-7)</sup>와 285nm<sup>8,9)</sup>의 紫外線部位에서, 또 褐變色素는 400~490nm 의 可視光線部位에서 측정하였으며 그 處理溫도와 時間에 따라 有意性있는 結果를 얻었기에 報告한다.

#### 材料 및 方法

##### 1. 材 料

model system에 使用한 glucose와 arginine은 sigma 製 1 급시약을, HPLC 分析을 위한 히단토인 誘導體(PTH-amino acid) 合成에 使用한 phenylisothiocyanate 및 pyridine 은 Sigma 製 특급시약을, 또 glucose 및 PTH-amino acid 의 分析에 使用한 authentic standards 및 HPLC 分析用 移動相에 使用한 試藥은 모두 특급시약을 使用하였다.

2. 方法

1) 褐色化反應의 誘導

0.1M glucose 水溶液과 0.1M arginine 水溶液을 同量 섞어 0.05M glucose-arginine model system 을 1000 ml 만든 다음 pH 7.0이 되도록 조정하였다. 이 model system 을 삼각 flask 에 150 ml 씩 넣고 Al-foil 로 덮은 후 各 溫度別(60, 80, 100, 120°C)로 조정된 항온기에 넣고 일정시간(0, 1, 3, 5, 7時間)씩 熱處理하였다. 이때 일정시간 熱處理 後 메스린린더에 옮겨 증류수로써 일정량이 되도록 하여 잘 섞은 후 20 ml 씩 Sampling 하였다.

2) glucose 및 arginine 의 定量

① PTH-amino acid 의 合成 : 시험관에 各 溫度 및 時間別로 處理된 反應物과 試液(PITC) 5 ml 씩을 넣고 Fig. 1의 方法에 따라 PTH-arginine 을 合成하였다. 이때 아미노산의 페닐리탄토인誘導體를 만드는 反應式은 다음과 같다.

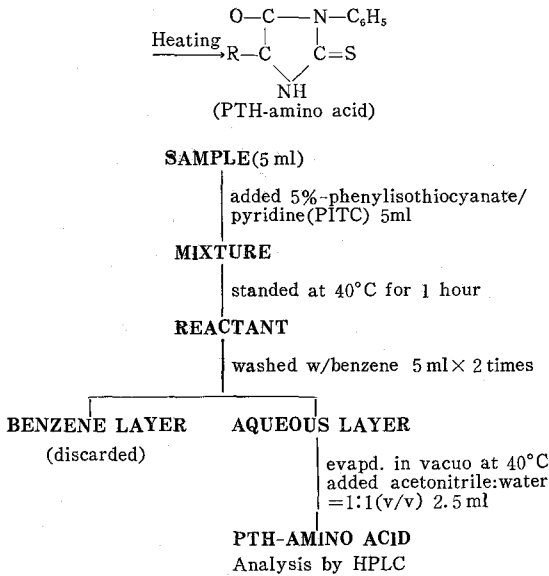
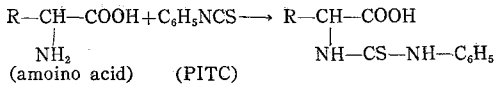


Fig. 1. Flow chart of PTH-amino acid synthesis.

② HPLC 의 分析條件 : Glucose 의 含量은 崔<sup>9)</sup> 등의 方法에 따라 反應液 自體를 HPLC 分析用 시료로 使用하였고, PTH-arginine 의 含量은 金<sup>10)</sup> 등의 方法에 따라 5% phenylisothiocyanate 로써 合成한 PTH-arginine 溶液을 HPLC 分析用 試料로 使用하였다. 分析에 使用한 HPLC 는 分析用인 ALC-244(Waters Associates

Inc., Milford, MA., U.S.A)로써 分析條件은 다음과 같다.

glucose 의 分析條件

Packing & column; carbohydrate analysis (4.0 mm ID×30 cm)

Mobile phase; acetonitrile-water/82-18(v/v)

Flow rate; 1.8 ml/min

Detector; RI, attenuation 8×

PTH-arginine 의 分析條件

Packing & column; μ Bondapak C<sub>18</sub> (4.0mmID×30cm)

Mobile Phase; acetonitrile-0.01M sodium acetate (pH 4.0)/90-10(v/v)

Flow rate; 1.5 ml/min

Detector; UV absorbance-440 at 280 nm, 0.5 aufs (Waters,Data Module)

특히 PTH-arginine 의 acetonitrile 용액에서의 UV 吸收 spectrum 은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 278nm 부근에서 最大吸收值를 나타내므로 PTH-arginine 分析에 使用한 UV-detector 의 波長은 280nm 를 使用하였다.

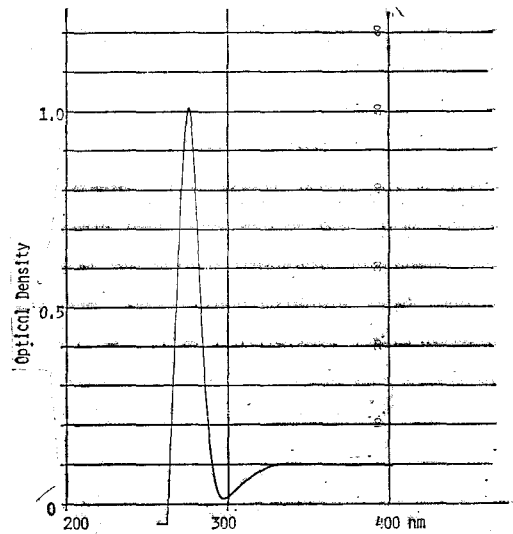


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectrum of PTH-arginine in acetonitrile.

③ glucose 및 PTH-arginine 定量 : HLPC 에 注入하기 전에 0.45μm membrane filter 로 여과하였으며 시료용액의 peak 면적을 半值幅法으로 計算하였다. 또 glucose 및 PTH-arginine 의 標準溶液(5 mg/ml)을 사용하여 標準檢量線을 作成하여, 시료용액의 peak 면적으로써 計算하여 比較, 定量하였다.

3) 色相變化의 測定

0.05M glucose-arginine model system 의 色相變化는 處理溫度 및 時間에 따라 反應이 完了된 反應液을 spectrophotometer UV-200S(Shimadzu co., Japan) 로 芳香成分인 pyrazine 은 278nm 에서 褐變前驅物質인 共軛二重結合 carbonyl 化合物 및 褐變中間生成物인 HMF, furfural 등은 285nm 에서, 갈변색소는 400nm 에서, amino-carbonyl 反應 主生成物인 melanoidin 色素는 490nm 에서 각각 測定하였다.

4) 反應速度常數 및 半減期の 決定

熱處理溫度 및 時間에 따른 glucose 및 arginine 의 含量變化를 semi-log paper 에 plot 하여 分解되는 glucose 및 arginine 의 分解速度常數(k) 및 生成되는 melanoidin 의 生成速度常數(k)를 最小自乘法으로 求하였으며 (1), 이 常數로부터 半減期( $t_{1/2}$ )를 計算하였다(2).

$$C = C_0 \exp(-kt) \dots \dots \dots (1), \quad t_{1/2} = \ln 2 / k \dots \dots \dots (2)$$

5) 活性化에너지 및  $Q_{10}$  값의 決定

活性化에너지( $E_a$ )는 速度常數(k)와 溫度의 逆數( $1/T$ )로부터 Arrhenius plot에 의하여 最小自乘法으로 求하였다(3). 또  $Q_{10}$  값은 70~80°C 를 기준으로 하여 活性化에너지( $E_a$ )로써 다음 식(4)에 따라 求하였다.

$$K = K_0 \exp(-E_a/RT) \dots \dots \dots (3),$$

$$\log Q_{10} = 2.18 E_a / T(T+10) \dots \dots \dots (4)$$

結果 및 考察

1. glucose 및 arginine 의 含量變化

處理溫度 및 時間에 따라 反應시킨 試料중의 glucose 및 arginine 의 含量을 定量하였는데 이 때의 HPLC chromatogram 은 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 glucose 는 異性化現象이 일어나고 있는데 60°C에서는 5時間, 80°C에서는 3時間, 100°C 및 120°C에서는 반응 1時間後부터 異性化現象이 나타나 glucose 의 一部分이 fructose 로 變化하고 있다. 또 Fig. 4를 보면 standard PTH-arginine 은 RT가 6.68이던 것이 실제 試料(100°C, 3時間處理後)에서는 RT가 6.86으로 조금 오른쪽으로 shift 되고 있다. 그러나 分離能은 아주 양호하였다. 處理溫度 및 時間에 따른 glucose 및 arginine 의 含量變化는 Fig. 5에서 보는 바와 같다. glucose 는 7時間 反應시켰을 때 60°C에서는 30%, 80°C에서는 45%, 100°C에서는 78%, 120°C에서는 82%의 減少現象을 나타냈으며 glucose 의 分解反應은 80°C 이하에서는 직선관계를 나타내서 1차반응임을 알 수 있었으나, 100°C 이상에서

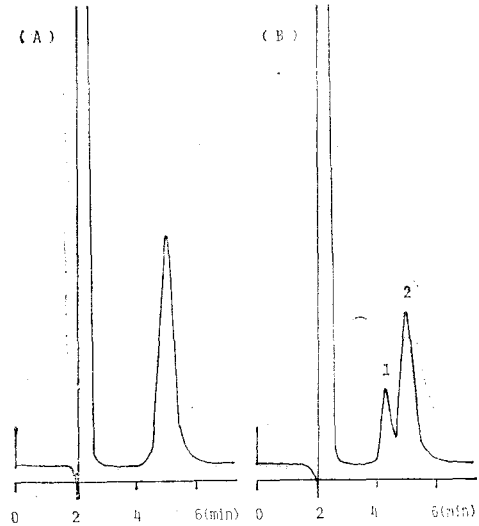


Fig. 3. HPLC chromatograms of glucose; (A) standard glucose and (B) 1-fructose & 2-glucose of glucose-arginine model system at 100°C for 3 hours.

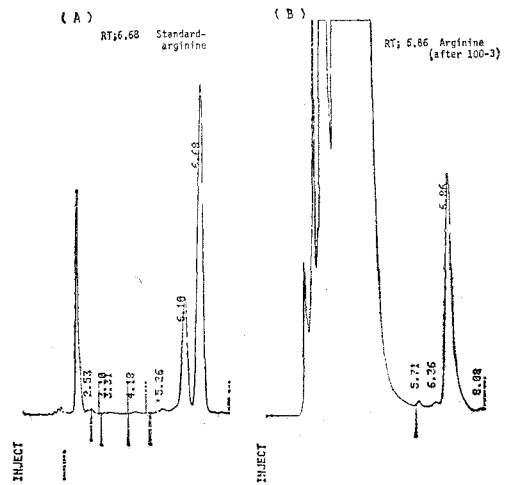


Fig. 4. HPLC chromatograms of PTH-arginine; (A) standard PTH-arginine and (B) PTH-arginine of glucose-arginine model system after 100°C-3 hours.

는 반응 1時間을 기점으로 하여 2개의 직선관계를 나타내므로 2相 1次反應(two-phase first order reaction)임을 알 수 있었다. arginine 의 含量變化는 反應 7時間後에 60°C에서는 15%, 80°C에서는 25%, 100°C에서는 68%, 120°C에서는 76%의 減少現象을 나타내고 있다. arginine 의 分解反應은 모두 직선관계를 나타내므로 1次反應(first order reaction)임을 알 수

었다. 따라서 含量變化를 比較하여 보면 glucose가 arginine보다 amino-carbonyl反應에 의한 melanoidin色素形成에 더 많이 關係하는 것으로 생각된다.

2. 色相의 變化

處理溫度 및 時間에 따른 色相變化는 Table 1과 같다. 芳香成分으로 알려진 pyrazine의 生成을 보면 60°C 및 80°C에서 3時間동안 處理하였을 때에는 큰變化가 없으나 80°C에서 5時間 處理한 後부터 增加하기 시작하였으며 100°C 및 120°C에서 3時間동안 處理하였을 때 가장 높은 값을 나타내고 있다. 그러나 100°C 및 120°C에서 5時間이상 處理하였을 때 增加되지 않

Table 1. Comparisons of optical density of 0.05M glucose-arginine model system at various temperatures and reaction times.

| Temperature & hours<br>(°C-hours) | Optical density(O.D.) |       |       |       |         |
|-----------------------------------|-----------------------|-------|-------|-------|---------|
|                                   | 278nm                 | 285nm | 400nm | 490nm | 285/490 |
| Control                           | 0.095                 | 0.080 | 0.040 | 0.050 | 1.60    |
| 60-1                              | 0.091                 | 0.072 | 0.039 | 0.049 | 1.46    |
| 60-3                              | 0.122                 | 0.103 | 0.043 | 0.053 | 1.94    |
| 60-5                              | 0.199                 | 0.168 | 0.048 | 0.054 | 3.11    |
| 60-7                              | 0.263                 | 0.231 | 0.055 | 0.055 | 4.20    |
| 80-1                              | 0.088                 | 0.071 | 0.038 | 0.048 | 1.47    |
| 80-3                              | 0.376                 | 0.352 | 0.069 | 0.058 | 6.06    |
| 80-5                              | 1.428                 | 1.407 | 0.125 | 0.071 | 19.81   |
| 80-7                              | 1.244                 | 1.241 | 0.245 | 0.102 | 12.16   |
| 100-1                             | 1.504                 | 1.576 | 0.282 | 0.108 | 14.59   |
| 100-3                             | 8.394                 | 8.874 | 2.475 | 0.608 | 14.59   |
| 100-5                             | 6.021                 | 7.209 | 3.618 | 0.837 | 8.61    |
| 100-7                             | 7.329                 | 7.704 | 3.741 | 0.880 | 8.75    |
| 120-1                             | 2.637                 | 2.754 | 0.467 | 0.148 | 17.39   |
| 120-3                             | 8.202                 | 8.628 | 2.439 | 0.628 | 13.73   |
| 120-5                             | 5.814                 | 6.057 | 3.040 | 0.865 | 7.00    |
| 120-7                             | 4.902                 | 5.71  | 3.790 | 1.090 | 5.24    |

고 오히려 減少하는 傾向을 나타내므로 芳香成分의 生成은 100°C 및 120°C에서 약 3時間동안 處理하였을 때 거의 生成이 完了되는 것으로 생각된다. 또 갈변색소의 前구물질로 알려진 공액이증결합을 갖는 Cabonyl化合物 및 갈변중간생성물인 HMF 및 furfural 등도 pyrazine生成과 거의 같은 傾向을 나타내고 있으며 amino carbonyl反應의 主生成物인 melanoidin色素生成과는 有意性있는 關係를 보여주고 있다. 또 285nm에서의 갈변前구물질 및 중간생성물과 490nm에서의 melanoidin色素와의 比(285/490)를 보면 處理溫度 및 時間의 經過에 따라 차차 增加하다가 100°C 및 120°C에서 5時間이상 處理하였을 때 急激한 減少現象을 나타내는 것으로 보아, 褐變이 거의 완료된 것으로 생각된다. 또 處理溫度 및 時間에 따라 生成되는 melanoidin

의 含量變化를 semi-log에 plot한 結果는 Fig. 5와 같다. melanoidin色素의 生成反應은 60°C 및 80°C에서는 직선關係를 나타내므로 1차반응임을 알 수 있으나 100°C 및 120°C에서는 반응 3時間을 기점으로 하여 2개의 직선關係를 나타내므로 2相 1次反應임을 알 수 있었다.

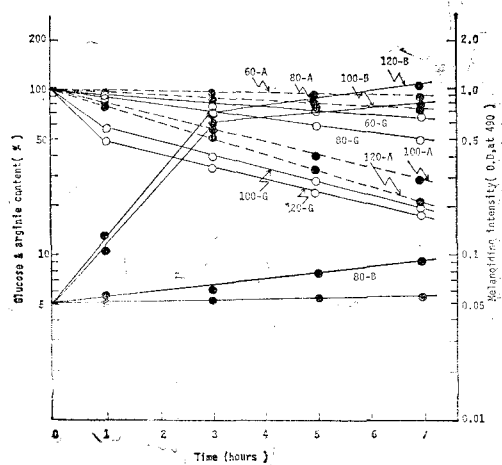


Fig. 5. Interrelationship between the changes in glucose-arginine model system on browning reaction for formation of melanoidin; G, glucose; A, arginine; B, brown color. ※ 60, 80, 100 and 120 indicates treated temperatures

3. 反應速度常數 및 半減期의 變化

處理溫度 및 時間에 따른 glucose 및 arginine의 分解反應速度常數와 이에 따른 半減期 및 melanoidin生成反應의 速度常數를 求한 結果는 Table 2와 같다. glucose와 arginine의 分解速度常數는 100°C 및 120°C에서 현저한 增加現象을 나타내어, 分解反應이 急激히 일어나고 있음을 알 수 있다. 또 半減期의 變化를 보면 100°C 이상에서는 glucose는 1.3-1.0時間, arginine은 3.9~3.6時間으로 나타나 이들 物質의 分解反應이 주로 100°C 이상에서 일어남을 알 수 있었고 또 glucose가 arginine보다 3배정도 분해반응이 빨리 일어남을 알 수 있었다. melanoidin生成反應의 速度常數를 比較하여 보면 100°C 및 120°C에서 현저한 增加現象을 보여주고 있는데 60°C에서보다 52배, 80°C에서보다 8배 이상의 높은 값을 가지므로 주로 100°C 및 120°C에서 melanoidin生成反應이 일어나고 있음을 알 수 있었다. 100°C 및 120°C에서의 glucose의 分解反應과 melanoidin生成反應은 2相 1次反應(two-phase first

**Table 2.** Effect of temperatures on rate constant and half life of browning reaction in glucose-arginine model system.

| Materials product        | Temperatures | Rate constant $k(\text{hr}^{-1}) \times 10^3$ | Half life $t_{1/2}(\text{hr})$ | correlation coefficient |
|--------------------------|--------------|---|--------------------------------|-------------------------|
| Glucose                  | 60°C         | 48.51   | 14.2                           | 0.974                   |
|                          | 80°C         | 88.90   | 7.8                            | 0.990                   |
|                          | 100°C        | 544.00<br>(172.00)                            | 1.3<br>(4.0)                   | 1.000<br>(0.995)        |
|                          | 120°C        | 673.00<br>(151.00)                            | 1.0<br>(4.6)                   | 1.000<br>(0.975)        |
| Arginine                 | 60°C         | 14.20   | 48.8                           | 0.950                   |
|                          | 80°C         | 39.53   | 17.5                           | 0.980                   |
|                          | 100°C        | 178.30  | 3.9                            | 0.990                   |
|                          | 120°C        | 193.00  | 3.6                            | 0.959                   |
| Brown color (Melanoidin) | 60°C         | 16.26   |                                | 0.933                   |
|                          | 80°C         | 98.30   |                                | 0.963                   |
|                          | 100°C        | 837.10<br>(92.43)                             |                                | 0.996<br>(0.921)        |
|                          | 120°C        | 826.20<br>(159.70)                            |                                | 0.994<br>(0.999)        |

\* Scores in parentheses indicate two-phase first order reaction.

order reaction)을 보여주고 있으며 발효안은 이 값을 나타낸다.

4. 活性化에너지 및  $Q_{10}$  값의 變化

glucose-arginine model system의 反應速度常數의 溫度 依存性을 究明하기 위하여 分解되는 glucose 및 arginine의 含量變化와 生成되는 melanoidin 色素의 強度로써 semi-log paper에 plot한 結果는 Fig. 6과 같다.

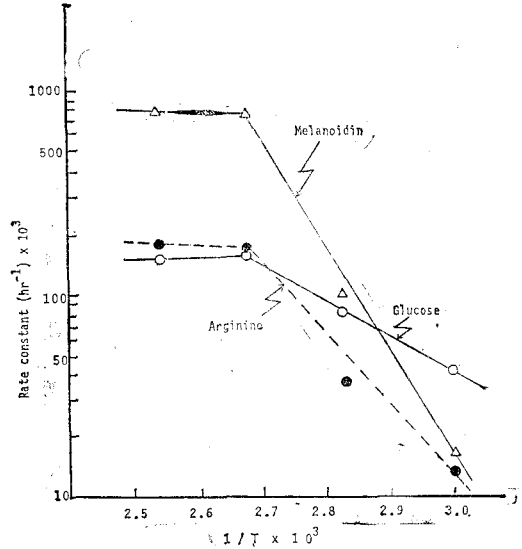
**Table 3.** Effect of temperature on rate constant, activation energy, and  $Q_{10}$  value of browning reaction in glucose-arginine model system.

| Materials                | Temperatures |       |                      |                    | Arrhenius coefficients |                   | $Q_{10}$ Value (70-80°C) | Correlation coefficient r |
|--------------------------|--------------|-------|----------------------|--------------------|------------------------|-------------------|--------------------------|---------------------------|
|                          | 60°C         | 80°C  | 100°C                | 120°C              | Ea(kcal/mole)          | ko*               |                          |                           |
| Glucose                  | 48.51        | 88.90 | 554.00<br>(172.00)** | 673.00<br>(151.00) | 12.512<br>(5.326)      | 15.978<br>(5.214) | 1.68<br>(1.25)           | 0.959<br>(0.927)          |
| Arginine                 | 14.20        | 39.53 | 178.30               | 193.00             | 12.122                 | 14.328            | 1.65                     | 0.966                     |
| Brown color (melanoidin) | 16.26        | 98.30 | 837.10<br>(92.43)    | 826.20<br>(159.70) | 18.142<br>(3.909)      | 23.804<br>(9.852) | 2.12<br>(1.45)           | 0.958<br>(0.894)          |

\* : frequency factor

\*\* : scores in parentheses indicate two-phase first order reaction

arginine의 分解反應과 melanoidin 生成反應의 活性化 에너지( $E_a$ ) 및  $Q_{10}$  값을 나타낸 것이다. glucose 및 arginine의 分解反應에 對한 活性化에너지는 12.512 kcal/mole 및 12.122 kcal/mole 이고 melanoidin 生成反應의 活性化에너지는 18.142 kcal/mole 로서 melanoidin의 生成反應은 glucose 및 arginin의 分解反應보다 溫度에 더 민감한 영향을 받고 있음을 알 수 있다. 또  $Q_{10}$  값에 있어서도 glucose 및 arginine의 分解



**Fig. 6.** Arrhenius plots of the rate constant vs. temperature on browning reaction of glucose-arginine model system.

Fig. 6에서 보는 바와 같이 處理溫度 100°C까지는 직선관계를 나타내므로 glucose와 arginine의 分解반응과 melanoidin의 生成反應은 Arrhenius式에 따르는 것을 알 수 있었다. 그러나 100°C 이상의 高溫에서는 이 式에 따르지 않았다. 이러한 사실로 100°C 이상에서는 5~7時間동안에 反應이 거의 完되는 단계에 도달하고 있음을 알 수 있었다. Table 3은 glucose 및

反應은 1.68 및 1.65인데 反하여 melanoidin 生成反應은 2.12로서 活性化에너지와 거의 같은 傾向을 보여주고 있다.

要 約

加工食品의 가장 重要한 色素形成으로 알려진 非酵素的 褐變反應인 amino-carbonyl 反應에 對한 溫度의 影響을 究明하기 위하여 0.05 M glucose-arginine 을

model system 으로 선정하여 處理溫度 및 時間에 따라 分解되는 glucose 및 arginine 의 含量變化와 生成되는 melanoidin 色素의 強度로써 反應速度常數와 半減期를 求하였으며, 또 Arrhenius 式에 따라 反應速度常數의 溫度依存性を 調査하였다.

1. 處理溫度 및 時間別로 分解되는 glucose 및 arginine 의 定量은 carbohydrate analysis 및  $\mu$  Bondapak C<sub>18</sub> column 을 使用한 HPLC 를 利用함이 效果적이었다.

2. glucose 및 arginine 의 分解反應은 100°C 및 120°C에서의 glucose 를 제외하고는 모두 1次反應에 따랐으나, 100°C 이상에서의 glucose 에 있어서는 2相 1次反應(two-phase first-order reaction)에 따랐다. 또 melanoidin 生成反應에 있어서 60°C 및 80°C에서는 1次反應에 따랐으나 100°C 이상에서는 역시 2相 1次反應에 따랐다.

3. glucose-arginine 反應에 의한 melanoidin 色素의 生成反應은 100°C 및 120°C에서 3~5時間동안에 거의 완성단계에 있었으며 100°C 이상에서는 거의 差가 없었다.

4. glucose 및 arginine 의 分解反應과 melanoidin 의 生成反應의 速度常數가 100°C 및 120°C에서 현저한 增加現象을 나타내므로 amino-carbonyl 反應에 의한 褐色色素形成은 100°C 이상의 고온에서 심하게 일어남을 알 수 있었다.

5. glucose 및 arginine 의 分解反應과 이에 따른 melanoidin 의 生成反應에 對한 反應速度常數의 溫度依存성은 100°C 이하에서는 Arrhenius 式에 따랐으나

120°C 이상의 高溫에서는 이에 따르지 않았다.

6. glucose 및 arginine 分解反應의 活性化에너지는 각각 12.512 kcal/mole 과 12.122 kcal/mole 로서 거의 비슷하고 melanoidin 生成反應의 活性化에너지는 18.142 kcal/mole 로서 melanoidin 生成反應이 溫度에 더 민감함을 보여주었다.

## 文 獻

1. 市川朝子, 藤井聰, 河本正彦: 日本食品工業學會誌, 22(4), 159(1975)
2. 山口直彦, 藤卷正生: 日本食品工業學會誌, 21(1), 6(1974), *ibid*, 20(11), 507(1973), *ibid*, 20(10), 485(1973)
3. 李聖洙, 李 哲, 金東勲: 韓國食品科學會誌, 7(1), 43(1975)
4. kawashima S.: *Nagoya J. med. sci.* 32, 303 (1970)
5. 崔鎮浩, 金友政, 朴吉童, 成絢淳: 高麗人蔘學會誌, 4(2), 165(1980)
6. Koehler, P.E., Mason, M.E. and Newell, J.A.: *J. Agr. Food chem.*, 17(2), 393(1969)
7. Shibamoto, T and Berzhard, R.A.: *J. Agr. Food chem.* 24(4), 847(1978)
8. Burton, H.S.: *J. Food sci.* 28, 631(1963)
9. 崔鎮浩, 張辰奎, 朴吉童, 朴明漢, 吳成基: 韓國食品科學會誌, 13(2), 107(1981)
10. 金萬旭, 崔康注, 曹榮鉉: 人蔘研究報告書, 355, (1980)