

## DHA와 $\alpha$ -아미노산의 褐色化 反應 中 붉은 色素에 關한 動力學的 研究

申 賢 淑·裴 松 子

부산여자대학 식품영양학과  
(1983년 1월 6일 접수)

## Kinetics on the Red Pigment Formation in the Browning of DHA with $\alpha$ -Amino Acids

Hyun-Sook Shin and Song-Ja Bae

Dept. of Food & Nutrition, Busan Women's University  
(Received January 6, 1984)

### Abstract

A red pigment was formed when heating dehydroascorbic acid in the presence of  $\alpha$ -amino acids and thought to be an intermediate amino-reductone in the Strecker degradation.

The reaction of pigment formation can be kinetically expressed as two-step consecutive first-order in the presence of excess of  $\alpha$ -amino acids. The reaction rate constants were successfully determined by employing various amino acids (L-His., L-Gly., L-Thr., L-Ser.) at different pH.

The results suggested the formation of the red pigment was most favorable at the pH 5.0.

### 緒 論

褐色化 反應은 食品을 加工 또는 貯藏하는 過程에서 일어나는 複雜한 變色反應이며, 이 反應 中 아스코르브산 酸化物과 질소化合物의 反應은 독특한 形態의 褐色化反應으로써, 反應 中間體인 붉은 色素를 形成한 후 점차 褐色化로 進행된다<sup>1-4)</sup>.

아스코르브산은 강한 還元力을 가졌으므로 酸化防止劑 및 褐色防止劑로서, 주로 果實, 果汁 등의 加工食品에 이용되고 있다. 그러나 아스코르브산이 비가역적으로 酸化되면 그 酸化生成物의 하나인 dehydroascorbic acid (DHA)가 질소화합물과 反應하여 오히려 褐色化 反應을 促進하게 된다. 즉 아스코르브산을  $H_2O_2$  存在下에서  $\alpha$ -아미노산과 反應시켰을 때 붉은 色素가 形成되었음이 Koppanyi 등<sup>5)</sup>에 의해 처음

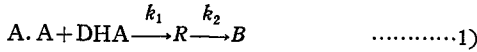
보고되었고, 이에 관한 연구는 Kurata 등<sup>6)</sup>, Namiki 등<sup>7)</sup> 및 Hayashi 등<sup>8,9)</sup>에 의해서도 계속되고 있다.

이런 현상은 흔히 아스코르브산 함량이 많은 감귤류의 加工品인 orange juice<sup>10)</sup>, lemon juice<sup>11)</sup> 및 脫水食品<sup>12,13)</sup>의 變色の 原因이 되기도 한다.

本研究은 DHA와 4종의  $\alpha$ -아미노산(L-histidine, L-glycine, L-threonine, L-serine)을 pH에 따라 反應시키고, 이때 形成된 붉은 色素에 關하여 動力學的으로 檢討하였다.

### 理論的 背景

DHA와  $\alpha$ -아미노산의 褐色化 反應은 다음과 같이 進행된다<sup>4)</sup>고 할 수 있다.



A. A :  $\alpha$ -amino acid  
 R : red pigment  
 B : brown pigment  
 $k_1, k_2$  : reaction rate constants

위 反應은 2次 反應이나 [A. A] >> [DHA]의 條件 下에서는 두 단계로 일어나는 연속 1次 反應으로 간 주할 수 있으며, 褐色化 反應의 中間生成體인 붉은 色素의 濃도 [R]은 다음과 같이 구할 수 있다.

$$-\frac{d[DHA]}{dt} = k_1[DHA] \quad \dots\dots\dots 2)$$

$$\frac{d[R]}{dt} = k_1[DHA] - k_2[R] \quad 3)$$

$$\frac{d[B]}{dt} = k_2[R] \quad \dots\dots\dots 4)$$

式 2)를 적분하면

$$[DHA] = [DHA]_0 e^{-k_1 t} \quad \dots\dots\dots 5)$$

이를 式 3)에 대입하면

$$\frac{d[R]}{dt} = k_1[DHA]_0 e^{-k_1 t} - k_2[R] \quad \dots\dots\dots 6)$$

$$d[R] + k_2[R] \cdot dt = k_1[DHA]_0 e^{-k_1 t} \cdot dt$$

integrating factor를 양변에 곱하면

$$e^{k_2 t} \cdot d[R] + k_2[R] e^{k_2 t} \cdot dt = k_1[DHA]_0 e^{-k_1 t + k_2 t} \cdot dt \quad \dots\dots\dots 7)$$

$$\int_0^R d[e^{k_2 t} \cdot R] = k_1[DHA]_0 e^{-(k_1 - k_2)t} \cdot dt$$

$$e^{k_2 t} \cdot R \Big|_{t=0, R=0}^t = -\frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} e^{-(k_1 - k_2)t} \Big|_{t=0}^t \quad \dots\dots 8)$$

$$e^{k_2 t} \cdot R - 0 = -\frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} e^{-(k_1 - k_2)t} + \frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} \quad \dots\dots\dots 9)$$

처음의  $e^{k_2 t}$ 를 나누면

$$[R] = -\frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} e^{-k_1 t} + \frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} e^{-k_2 t}$$

$$[R] = \frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} (e^{-k_2 t} - e^{-k_1 t}) \quad \dots\dots\dots 10)$$

위 式을 이용하여 feathering method로  $k_1, k_2$ 를 계산할 수 있다. 즉 연속 1次 反應에 있어 1단계가 매우 빨리 일어나는데 반하여 2단계가 느릴 때, 反應 初期에는 1단계 反應만 일어나나 빠른 時間內 中絶 되고, 그 이후는 2단계 反應이 일어나는 것으로 간 주할 수 있다. 따라서 이때  $\log[R]$ 을 시간에 대해 圖示한 직선의 기울기는  $-k_2/2,303$ 가 되며 이 직선 을  $t=0$ 에 연장한 線을 [R] extrapolated라 하면 [R] extrapolated - [R]한 값의 對數值를 시간에 대해 圖 示한 직선의 기울기는  $-k_1/2,303$ 이 된다.

일정한 시간이 지나면  $e^{-k_1 t} = 0$ 이 되므로

$$\log[R]_{\text{ext}} = \log \frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} - \frac{k_2}{2,303} t \quad \dots\dots\dots 11)$$

$$[R]_{\text{ext}} = \frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} e^{-k_2 t} \quad \dots\dots\dots 12)$$

$$[R] = \frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} (e^{-k_2 t} - e^{-k_1 t}) \quad \dots\dots\dots 13)$$

12-13) 즉

$$[R]_{\text{ext}} - [R] = \frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} e^{-k_1 t} \quad \dots\dots\dots 14)$$

$$\log[[R]_{\text{ext}} - [R]] = \log \frac{k_1[DHA]_0}{k_1 - k_2} - \frac{k_1}{2,303} t \quad \dots\dots\dots 15)$$

### 材料 및 方法

#### 1. L-아스코르브산 및 $\alpha$ -아미노산

L-아스코르브산(ASA) 및 L-histidine, L-glycine, L-threonine, L-serine은 化學用純品(guaranteed grade, Hayashi chemicals co.)을 使用하였다.

#### 2. DHA의 調製

DHA는 石井謙二 등<sup>14)</sup>의 方法에 의해 ASA를 酸化 銀으로 酸化시켜 調製하였다.

즉 ASA 10 g을 무수에 탄을 390 ml에 녹이고 調製된 酸化 銀 27 g을 소량씩 가한 후 30分間 교반시키고 나 서 여과한 상등액에 活性炭 5 g을 넣어 加溫하면서 다 시 30分間 교반하였다. 여액의 一部를 取해 H<sub>2</sub>S gas 를 통과시켜 Ag<sub>2</sub>S 沈澱物이 생기지 않을 때까지 계속 活性炭 2 g으로 처리하였다. 감압농축기에서 40°C 를 유지하면서 syrup 狀態가 될 때까지 증발건조 시키고 이를 vacuum oven에서 完全히 濃縮시킨 후 무수에 탄을 20 ml를 넣어 냉장고 (5°C)에서 48시간 방치시켜 미세한 결정을 얻었다. 이 결정을 濾別한 후 무수에 탄을, 냉수, 무수에 탄을의 순으로 세척하여 dehydroascorbic acid (DHA) 粉末을 얻었다.

#### 3. 緩衝溶液 調製

0.2 M-HCl과 0.2 M-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>로써 pH 3.0 緩衝液 을 만들었고, 0.2 M-NaOH와 0.2 M-Potassium phatolate를 적절히 混合하여 pH 4.0 및 pH 5.0의 緩 衝溶液으로 하였다.

#### 4. 붉은 色素 形成 條件

DHA(0.05 M) 25 ml와 0.5 M  $\alpha$ -아미노산(L-His., L-Gly., L-Thr., L-Ser.) 각 25 ml를 混合하고 緩

衛溶液을 가하여 전체 溶液을 100 ml로 하였다. 이 液을 90°C 水浴上에서 反應시켜 붉은 色素를 얻었고 주기적으로 3 ml를 取해 spectrophotometer (Beckman model 26)로써 510 nm에서 吸光度를 測定하였다.

clitriketo system을 갖는 DHA가 되며 이것이 α-아미노산과 反應하면 Strecker-degradation을 일으켜 amino-reductone인 2-amino-2-deoxy-L-ascorbic acid (SCA)를 形成하고, 이 SCA와 그 酸化物인 dehydro-SCA가 反應하여 붉은 色素인 2,2'-nitrodi-2(2')-deoxy-L-ascorbic acid mono ammonium salt (NDA)의 응축된 構造가 된다. 그 形成 機構를 Fig. 1에 나타내었다.

結果 및 考察

1. 붉은 色素 形成 機構

아스코르브산이 酸化되면 triose-reductone인 cy-

NDA는 DHA와 α-아미노산의褐色化反應의 中間生成物로 추측되며 反應初期에 形成되었다가 反應

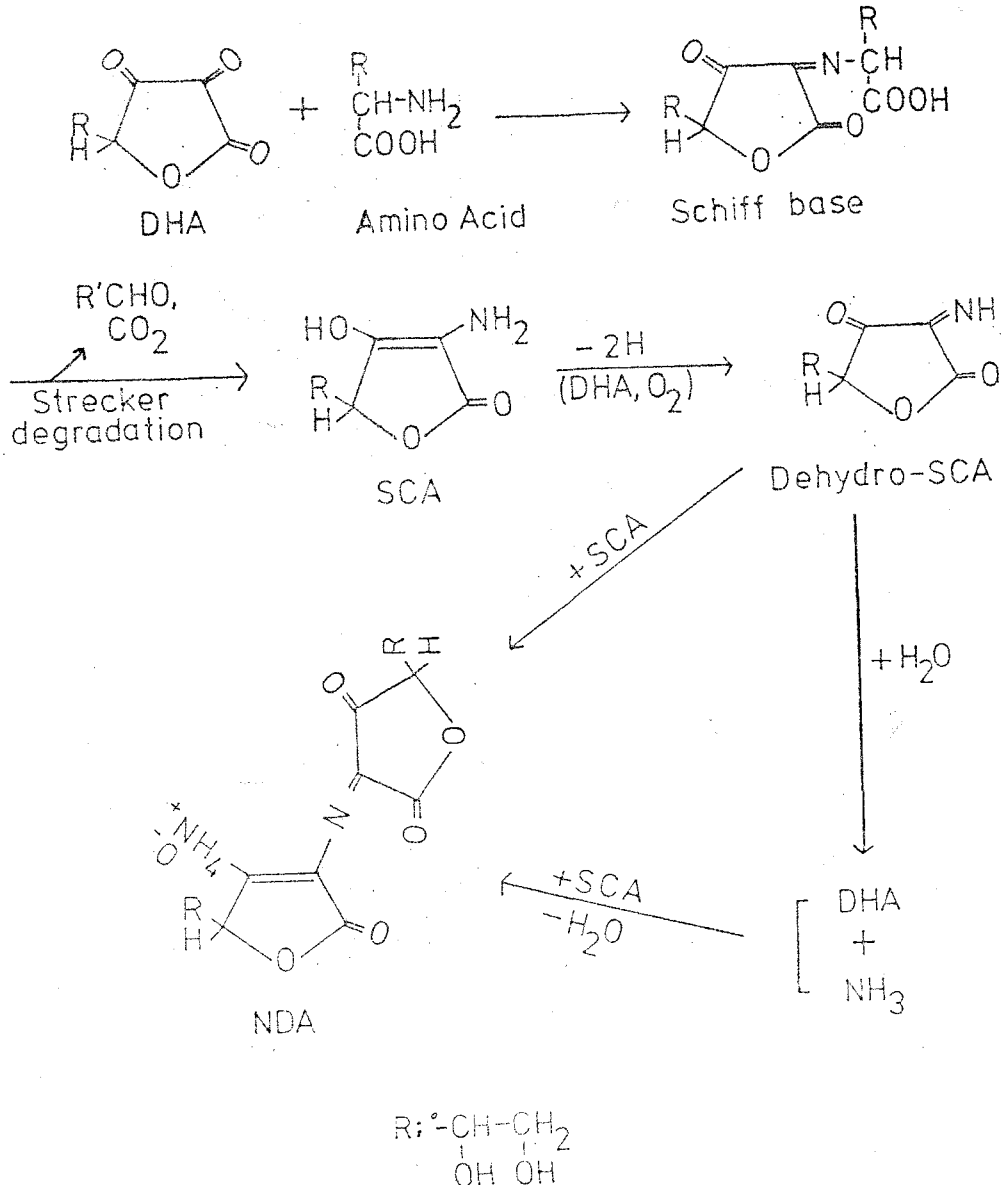


Fig. 1. Possible formation mechanism of the red pigment.

이 계속되면 붉은 색소는 점차 소실되고褐色化로 진행되는 것으로 알려져 있다.

2. 붉은 색소 吸光 spectrum

DHA와  $\alpha$ -아미노산(L-His., L-Gly., L-Thr., L-Ser.) 反應으로 形成되는 붉은 색소의 吸光pattern을 알기 위해 이 混合液을 pH 4.0으로 조절하고 90°C 水浴上에서 10分間 反應시킨 후의 吸光 spectrum은 모든 反應液이 510 nm에서 最大吸光을 보였다.

3. 反應時間에 따른 색소形成

붉은 색소 形成이 最大値에 도달하는데 소요되는 時間은 DHA-His 反應계 경우는 pH 3.0과 pH 4.0에서는 12분이었고 pH 5.0에서는 9분이었으며, pH 3.0, 4.0에 비해 다소 빨리 形成됨을 알 수 있었다. 다른 아미노산과 DHA 反應도 이와 유사한 경향을 보여 붉은 색소 形成이 最大値에 도달하는 時間은 아미노산 종류에 따라 다소 차이는 보였으나 pH가 증가할수록 그 소모시간은 짧은 경향을 나타내었다.

전체적으로 DHA와  $\alpha$ -아미노산과의 反應에서 붉은 색소는 매우 빠른 時間에 最大値에 도달함을 알 수

있었고 反應이 계속됨에 따라 점차褐色化로 진행된다고 생각된다.

4. 붉은 색소 形成 kinetics

DHA- $\alpha$ -아미노산의 反應으로 붉은 색소形成의 정도를 시간에 대하여 圖示한 것을 Fig. 2, 3, 4 및 5에 나타내었다.

그림으로부터 feathering method로 얻은 反應速度恒數  $k_1, k_2$ 는 表 1과 같다.

각 pH에 따른 붉은 색소 形成의 反應速度恒數  $k_1$ 은 DHA-His반응계가 pH 5.0에서 17.85로 가장 빨랐으며, pH 4.0이 8.74, pH 3.0이 8.47의 순으로 pH가 감소함에 따라 速度恒數  $k_1$ 도 감소함을 알 수 있었다. 다른 반응계도 유사한 경향을 나타내었다.

이와같이 DHA와 反應한 각 아미노산은 모두 pH 5.0에서 붉은 색소 形成 速度가 가장 빨랐으며, pH 4.0, pH 3.0의 순으로 速度恒數가 감소함을 알 수 있었다. 예비실험에서는 보다 넓은 pH 즉 pH 2.0에서 7.0까지 시도하여 본 바 pH 3.0~5.0에서의 붉은 색소 形成은 비교적 뚜렷이 탐지할 수 있었으나 이 보다 낮은 pH 2.0에서는 붉은 색소 形成이 매우 불안정하여

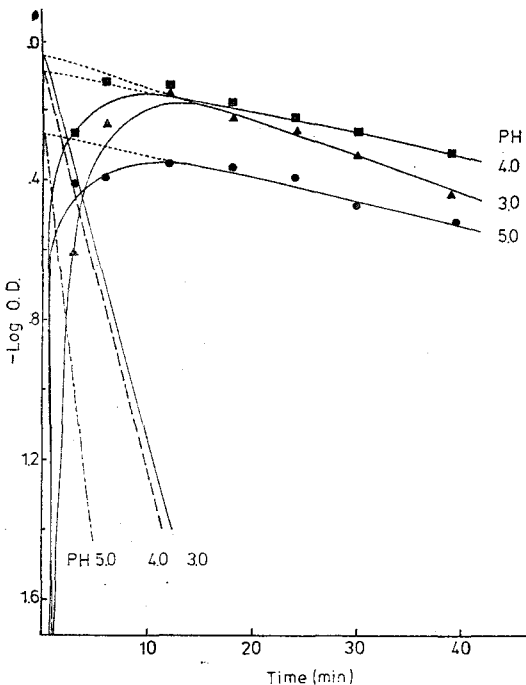


Fig. 2. Logarithm of optical densities at 510 nm vs. time and feathering of DHA (0.05 M) in His. (0.5 M) at pH 3.0, pH 4.0, pH 5.0 in 90°C water bath.

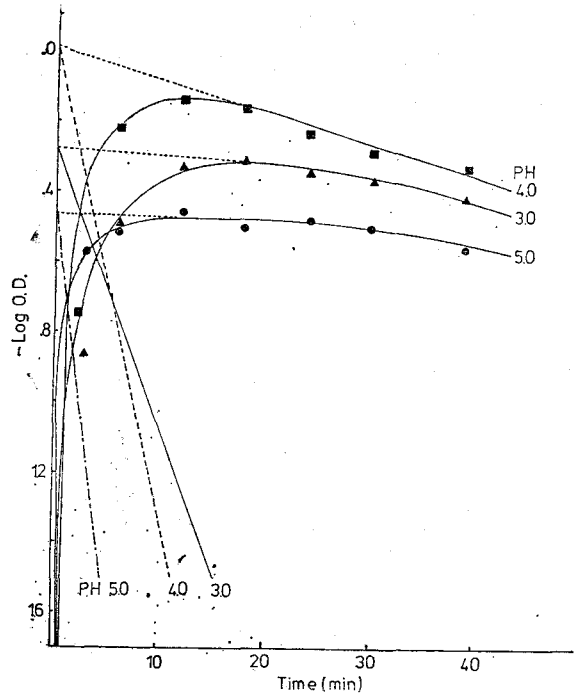


Fig. 3. Logarithm of optical densities at 510 nm vs. time and feathering of DHA(0.05 M) in Gly.(0.5 M) at pH 3.0, pH 4.0, pH 5.0 in 90°C water bath.

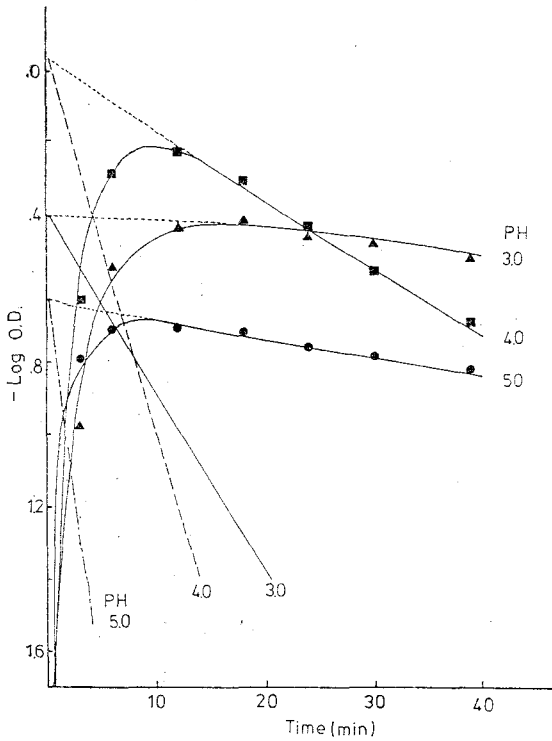


Fig. 4. Logarithm of optical densities at 510 nm vs. time and feathering of DHA (0.05 M) in Thr. (0.5 M) at pH 3.0, pH 4.0, pH 5.0 in 90°C water bath.

Table 1. Reaction rate constants calculated data by feathering method

reaction system	pH	reaction rate constant( $\text{min}^{-1}$ )	
		$k_1$	$k_2$
DHA-His	3	8.47	0.74
	4	8.74	0.44
	5	17.85	0.49
DHA-Gly	3	5.92	0.16
	4	10.38	0.70
	5	16.41	0.07
DHA-Ser	3	5.25	1.17
	4	8.44	1.15
	5	18.12	0.96
DHA-Thr	3	3.58	0.06
	4	7.94	1.48
	5	10.27	0.40

實測할 수 없었고 pH 6.0 이상에서는 붉은 色素 形成이 너무 빨라 바로 褐色化로 진행됨을 알 수 있었다. 이 결과는 kurata 등이 붉은 色素을 0.01 N-HCl에 용해하거나 혹은 그 水溶液을 酸으로 처리할 때 酸化

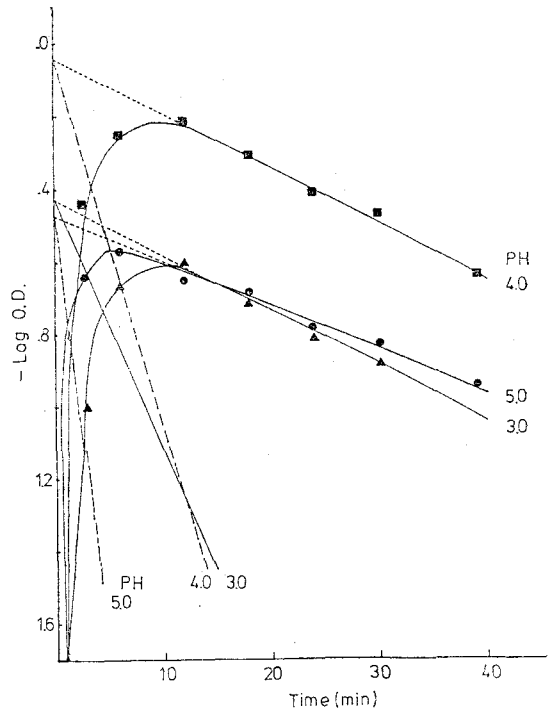


Fig. 5. Logarithm of optical densities at 510 nm vs. time and feathering of DHA (0.05 M) in Ser. (0.5 M) at pH 3.0, pH 4.0, pH 5.0 in 90°C water bath.

水分解가 일어나서, 形成된 붉은 色素가 쉬이 소실된다는 보고와 일치하였다. DHA를 알카리로 처리하면 DHA가 分解되어 2,3-DKG (2,3-diketo gulonic acid)의 enol形을 形成함으로 붉은 色素은 形成하나 매우 빨리 褐色化 反應으로 이행되어 버린다는 보고와도 일치함을 알 수 있었다<sup>15)</sup>.

褐色으로 점차 진행되는 과정에서는 붉은 色素 分解物과 褐色化로 진행되는 중간물질이 함께 共存하는 것으로 보여진다.

붉은 色素 形成 速度恒數인  $k_1$ 은 褐色으로 이행되는 速度恒數  $k_2$ 보다 매우 빨랐으며 각 반응계에 따라서 다소 차이는 있다고 하더라도 一般적으로  $k_1$ 이 증가할 때  $k_2$ 는 감소하는 경향을 보였다. 이는 빠른 속도로 붉은 色素가 形成된 것일수록 안정성이 높아 그 다음 단계로 넘어가는 速度恒數  $k_2$ 가 느리다는 것을 의미한다고 생각된다.

結論 및 要約

DHA와  $\alpha$ -아미노산과의 褐色化 反應中 초기단계에서의 붉은 色素 形成을 動力學的으로 규명하기 위

하여 4종의 아미노산을 pH를 달리하여 DHA와 반응시킨 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 붉은 색소의 吸光 spectrum은 각 아미노산의 종류에 관계없이 4종의 반응계 모두 510 nm에서 最大 吸光을 보였다.

2) 각 pH에서 붉은 색소 形成에 소모되는 時間은 pH 5.0의 경우 pH 3.0, 4.0에 비해 비교적 빠른 時間에 最大值에 도달함을 알 수 있었고 反應이 계속됨에 따라 점차 褐色化로 진행된다.

3) 붉은 색소 形成 反應 速度恒數  $k_1$ 은 4종의 反應계 모두 pH 5.0에서 가장 빨랐고 pH 4.0, 3.0의 순으로 감소하였다.

4) 一般적으로 붉은 색소 形成 速度恒數  $k_1$ 이 클수록 다음 反應 단계인 褐色 색소 形成 速度恒數  $k_2$ 가 감소하였다.

## 文 獻

- 1) Song, P. and Chichester, C. O. : *J. Food Sci.*, **31**, 906(1966)
- 2) Song, P. and Chichester, C. O. : *J. Food Sci.*, **32**, 107(1967)
- 3) Warmbier, H. C., Schnickel, R. A. and Labuza, T. P. : *J. Food Sci.*, **41**, (1976)
- 4) 金武男: 釜山水産大學 理學博士學位請求論文 (1980)
- 5) Koppanyi, T., Vivino, A. E. and Veitch, F. P. : *J. Sci.*, **101**, 541(1945)
- 6) Kurata, T., Fujimaki, M. and Sakurai, Y. : *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 6(1973)
- 7) Namiki, M., Hayashi, T. and Shigeto, A. : *J. Agric. Food Chem.*, **46**(5), 1207(1982)
- 8) Hayashi, T., Manou, F. and Namiki, M. : *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 4(1981)
- 9) Hayashi, T., Hoshii, Y. and Namiki, M. : *J. Agric. Biol. Chem.*, **47**, 5(1983)
- 10) Joslyn, M. A. : *Food Res.*, **22**, 1(1957)
- 11) Cligge, K. M. : *J. Sci. Food Agric.*, **15**, 878 (1964)
- 12) Yamaguchi, N., et al : *J. Food Sci. and Technol.*, **14**, 110(1967)
- 13) Rangnna, S. and Setty, L. : *J. Agric. Food Chem.*, **16**, 529(1968)
- 14) 石井謙二, 櫻井英敏, 小野豊樹: 日本食品工業會誌, **15**(10), 473(1968)
- 15) Joslyn, M. A. : *Food Res.*, **22**, 14(1957)