

## Fructose-Glycine 혼합계에 있어서 Amino-Carbonyl 반응

이진호·한강완

전북대학교 농과대학 농화학과

### The Amino-Carbonyl Reaction in the Fructose-Glycine Mixture System

Jin-Ho Lee and Kang Wan Han

Department of Agricultural Chemistry, Chonbuk National University

#### Abstract

This study was conducted to observe the physico-chemical exchange and effect of amino-carbonyl reaction between fructose and glycine. When various buffer solutions were added to equimolar mixture of fructose and glycine at pH 6.0 and 100 °C, the browning effect was markedly observed by McIlvaine buffer. Among the combinations of temperature and reaction time, the deep browning effect was obtained above 100 °C, 3hr. A marked browning effect obtained above pH 7.0 but little observed below pH 7.0. The browning effect was markedly increased at high fructose concentration. It required 4.0hrs and 32.9hrs to decrease 50% of initial concentration of fructose and glycine at 100 °C and pH 7 but 0.9hrs and 3.8hrs at 120 °C, pH 7.0, respectively. The rate constant of fructose and glycine at 100 °C and 120 °C were  $1.78 \times 10^{-1}$ ,  $2.11 \times 10^{-2}$  and  $7.74 \times 10^{-1}$ ,  $1.83 \times 10^{-1}$ , respectively. The formation of HMF was likely to follow the first order kinetics. The addition of 0.1M sodium sulfite, 0.1M sodium bisulfite and 0.1M calcium chloride to equimolar mixture (0.05M) suppressed the reaction up to 76.8%, 76.8% and 96.4%, respectively.

Key words: amino-carbonyl reaction, McIlvaine buffer, HMF(5-hydroxymethyl-2-furfural)

#### 서 론

식품의 가공 및 저장과정 중에 일어나는 비효소적 갈변반응인 amino-carbonyl 반응은 식품의 맛, 향, 색 등의 질적변화를 가져오며 영양가의 손실을 가져온다는 사실은 잘 알려져 있다<sup>(1-4)</sup>. 그러나 Einarsson 등<sup>(1)</sup>에 의하면 amino-carbonyl 반응생성물이 식품 중에서 발견되는 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* 와 같은 bacteria 의 성장을 저해한다고 보고하였다. 또한 이 등<sup>(5)</sup>은 amino-carbonyl 반응물의 종류수, acetone, alcohol 유출물은 지방산의 산화를 방지하는 작용을 가지며 이는 반응초기에 형성되는 reductions 와 같은 무색 또는 거의 무색인 중간체의 영향이라고 하였고 허 등<sup>(6)</sup>은 amino-carbonyl 반응의 유출물이 당만의 반응에 의하여 생성되는 caramelization 형 갈색화반응액의 유출물보다 더 큰 항산화효과를 가진다고 하였다. 그리고 amino-carbonyl 반응에 대한 연구가

활발히 진행되고 있음에도 불구하고 melanoidin 색소에 대한 구조는 아직 밝혀지지 않고 있는데<sup>(7)</sup> Hiroshi 등<sup>(8)</sup>의 연구에 의하면 chromatography 법으로 melanoidin 색소를 분리하였으나 yellowish-brown 부터 dark-brown 까지 색의 변화가 다양하며 환원당과 amino 산의 종류, 반응조건에 따라 색을 달리하기 때문에 melanoidin 색소의 구조를 밝히지 못하고 일종의 polymer 인 것만으로 보고되었다.

이에 본 연구에서는 fructose 와 가장 간단한 구조인 glycine 을 model 로 선정하여 완충액의 종류, 반응온도, 시간, pH, 농도 및 억제제에 따른 반응물의 물리·화학적 변화를 측정, 그 특성을 재검토하므로써 식품의 질적 향상을 도모하는데 필요한 기초자료를 얻고자 하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

본 실험에 사용한 fructose 및 glucose 는 Sigma 사 제1급 시약을, amino 산 및 5-hydroxymethyl-2

Corresponding author: Jin-Ho Lee, Department of Agricultural Chemistry Chonbuk National University Chonju, Chonbuk 560-756 Korea

-furfural(HMF)과 완충액용 시약, pH 조절용 시약 억제제로 사용한 시약은 동경순정화학사제 특급시약을, 그리고 amino acid analyzer 및 HPLC 분석용 시약은 전용 특급시약을 사용하였다.

## 방법

### 반응액의 조제 및 갈색화반응의 유도

일정농도의 fructose 혹은 glucose 수용액과 glycine을 비롯한 각종 amino 산을 일정 pH가 되도록 조절한 후 screw cap이 달린 시험관에 넣고 완충액의 종류, 반응온도, 시간 및 억제제 별로 처리하여 Lee<sup>(9)</sup>, 양 등<sup>(10)</sup>의 방법에 따라 갈색화반응을 유도시킨 후 sampling하여 측정하였다. 또한 반응액의 pH조절은 0.1M NaOH와 0.1M HCl을 사용하였다.

### 색상변화의 측정

각 처리별로 반응시킨 반응액을 UV-visible spectro-photometer(Shimadzu MPS-5000)을 이용하여 Lee 등<sup>(9)</sup>의 방법에 따라 갈변 중간생성물인 HMF의 주생성물인 melanoidin 색소의 측정파장을 각각 결정하였다.

### Fructose의 정량

반응 중 fructose의 경시적 함량변화는 최 등<sup>(11)</sup>의 방법에 따라 HPLC(Water's association, model 214)을 이용, 반응액 자체를 분석용 시료로 사용하였으며 HPLC 분석조건으로 column은 carbohydrate analysis(0.39×30 cm)을 사용하였고 mobile phase는 acetonitrile과 distilled water를 84:16(v/v)으로, flow rate는 1분에 2.0 ml씩 흐르게 하였으며 시료는 20 μl씩 주입하여 attenuation 16X에서 refractive index detector를 사용하여 분석하였다.

### Amino 산의 정량

각 처리별로 amino 산과 fructose를 반응시킨 후 반응액 중에 남아 있는 amino 산을 정량하기 위하여 Mason 등<sup>(12)</sup>의 방법을 응용하였다. 즉 각각의 반응액을 일정량씩 취하여 volumetric flask에 넣고 pH 2.2 sodium citrate buffer (loading)로 동일 회석물로 정용하여 0.2 μm membrane filter로 여과 후 40 μl씩 ultropac-11 cation exchange resin(11 μm±2 μm) column을 이용 amino acid analyzer(LKB 4150 alpha)로 분석하여 표준 amino 산과 비교 정량하였다.

### 반응속도상수 및 반감기

Amino-carbonyl 반응의 rate constant(K)는 in

$\frac{A_0}{A_0-X} = Kt$  식 ( $A_0$ : 초기농도,  $A_0-X$ : 미반응물의 농도)에 의하여 구하였으며, 이 상수로부터 반감기( $\tau$ )는  $\tau = (\ln 2)/K$  식에 의하여 산출하였다.

### 반응차수 결정 및 활성화 Energy

반응차수는 일정한 속도식을 가정하여 이것을 적분형 속도방정식으로 만들고 이 식에 각 시간에 있어서 결정된 반응물질의 양을 대입하여 속도상수가 일정하게 되는 지를 조사하여 결정하였고, activation energy ( $E_a$ )는 Arrhenius의 rate equation, 즉  $K = Ae^{-E_a/RT}$  식에서 구하였다.

## 결과 및 고찰

### HMF 함량 및 melanoidin 색소 측정

Amino-carbonyl 반응물의 optical density(color intensity)를 김<sup>(13)</sup>, Robbins<sup>(14)</sup>, 양 등<sup>(10)</sup>은 278, 285, 400, 490 nm에서 Lee 등<sup>(9)</sup>은 288, 365 nm에서, Montgomery<sup>(15)</sup>, Olcott 등<sup>(16)</sup>은 440 nm에서, Hiroshi<sup>(6)</sup>, Nafisi 등<sup>(17)</sup>은 450 nm에서 측정하였으나 본 실험에서는 Fig. 1과 2에서 보는 바와 같이 melanoidin 색소의 전구물질인 HMF는 282 nm에서 최고의 흡광도를 나타냈으며 이 파장에서는 fructose와 glycine의 흡광부위와 겹치지 않았다. 또한 Fig. 3

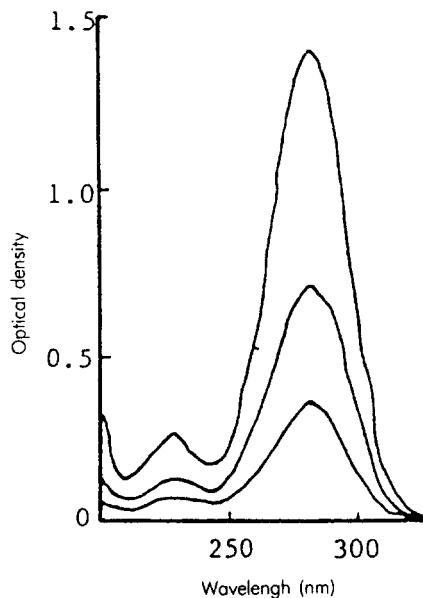


Fig. 1. UV absorption spectra of authentic 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) at different concentration.

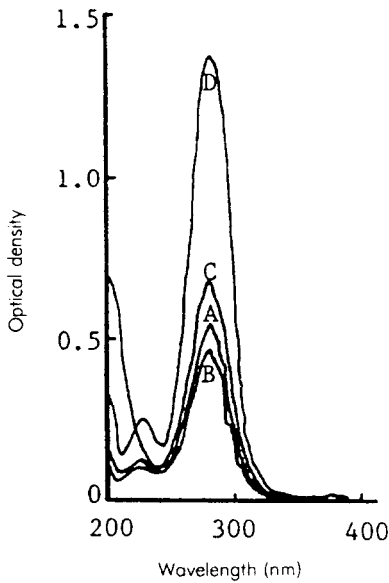


Fig. 2. UV absorption spectra of various reaction products treated for 1hr. at pH 7.0 and 100°C. A; HMF, B; Glycine+HMF, C; Fructose+HMF, D; Fructose+Glycine+HMF.

은 fructose-glycine 반응에 의한 melanoidin 색소의 흡광부위를 나타낸 것으로 375 nm의 파장에서 가장 현저하게 흡광하였다. 따라서 fructose-glycine 반응의 중간생성물인 HMF는 282 nm의 파장에서, 주생성물인 melanoidin 색소는 375 nm의 파장에서 측정하였다. 그리고 측정시 amino-carbonyl 반응물은 시간경과 및 온도상승에 따라 흡광도가 급증하기 때문에 회석 사용하였다.

#### 완충액의 영향

Fructose와 glucose를 몇 가지 산성, 중성, 염기성 amino산과의 혼합물에 동일 농도의 각종 완충액을 각각 첨가하여 갈변색소 형성에 대한 완충액의 영향을 조사한 결과는 Fig. 4와 같다.

즉 완충액의 첨가는 갈변색소 형성에 크게 영향을 미치고 있으며 구연산과 인산이 들어 있는 Mcllvain buffer에서 가장 현저한 촉진효과를 나타내고 있는데 양<sup>(10)</sup>, Wolfrom 등<sup>(4)</sup>의 연구에 의하면 갈변색소 형성은 인산이온이 크게 촉진시키며 반응액의 산도가 높아감에 따라 HMF의 형성이 촉진되고, 또한 구연산 완충액도 melanoidin 생성을 크게 촉진시킨다고 보고한 바 있다. 이는 갈변반응의 중간과정인 탈수반응을 촉진

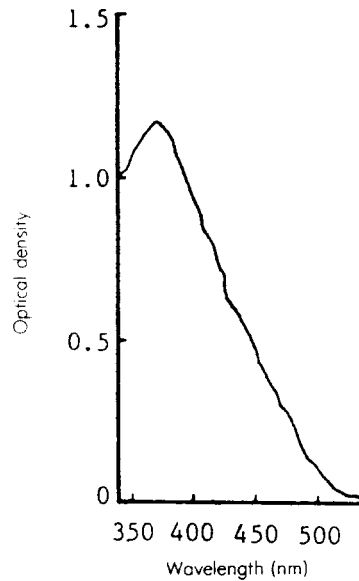


Fig. 3. UV absorption spectra of fructose-glycine reaction mixture at pH 7.0 and 100°C

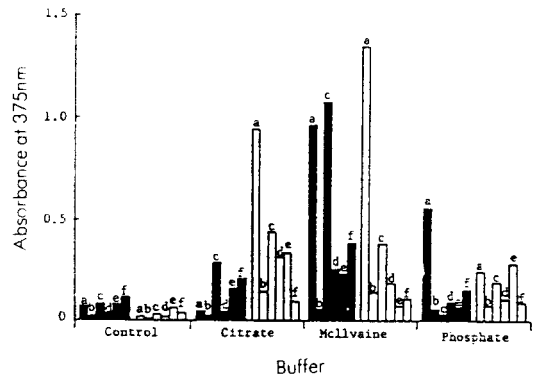


Fig. 4. Effect of buffer solution on the development of melanoidins in amino-carbonyl reaction, ■; fructose-amino acid, □; glucose-amino acid, a; sugar-lysine, b; sugar-arginine, c; sugar-glycine, d; sugar-alanine, e; sugar-glutamic acid, f; sugar-aspartic acid.

시킴으로써 HMF의 생성에 영향을 주기 때문이라고 생각된다. 그리고 각 완충액은 amino산의 종류에 따라서도 갈변촉진의 차이를 나타내고, 특히 glycine과 lysine은 뚜렷한 차이를 보여주고 있다. 또한 Lee 등<sup>(9)</sup>은 lysine이 다른 amino산에 비하여 가장 반응성이 높다고 보고하였으나 fructose와의 반응에서는 오히려 lysine보다 glycine의 반응성이 더욱 높은 것으로 나타났다. 따라서 본 실험에서는 fructose와

Table 1. Comparisons of color intensity of equimolar fructose-glycine mixture model system at various temperature and reaction time.

Temperature & Hours (°C-hours)	Color intensity	
	282 nm	375 nm
Control	0.096	0.017
60-0.5	0.045	0.008
60-1.0	0.052	0.009
60-1.5	0.054	0.010
60-2.0	0.062	0.012
60-3.0	0.063	0.012
60-5.0	0.069	0.014
60-7.0	0.069	0.019
80-0.5	0.080	0.013
80-1.0	0.119	0.028
80-1.5	0.169	0.047
80-2.0	0.231	0.066
80-3.0	0.546	0.134
80-5.0	1.007	0.278
80-7.0	1.785	0.474
100-0.5	0.588	0.175
100-1.0	1.773	0.862
100-1.5	2.424	1.403
100-2.0	5.325	2.125
100-3.0	8.370	3.262
100-5.0	14.044	5.317
100-7.0	19.881	7.747
120-0.5	5.332	1.311
120-1.0	18.585	4.522
120-1.5	28.655	7.212
120-2.0	35.022	10.077
120-3.0	42.062	15.063

glycine 혼합물을 주 model system 으로 사용하였다.

반응온도, 시간, pH, 농도에 따른 영향

온도 및 시간에 따른 색상변화를 관찰하기 위하여 동일농도 (0.1 M)의 fructose와 glycine을 pH 7에서 온도 및 시간별로 반응시킨 결과는 Table 1과 같다.

즉 반응온도가 60, 80°C에서는 시간경과에 따른 변화가 거의 없으나 100, 120°C에서는 색상변화가 급격히 진행되었다. 또한 반응중간생성물인 HMF와 melanoidin 색소의 생성도 유의성 있는 관계를 보여주고 있다. 이는 김<sup>(13)</sup>, Lee 등<sup>(9)</sup>의 연구와 비슷한 경향을 보였다.

동일농도 (0.1 M)의 fructose와 glycine을 100°C에서 pH 별로 3시간 반응시킨 결과는 Fig. 5와 같은데

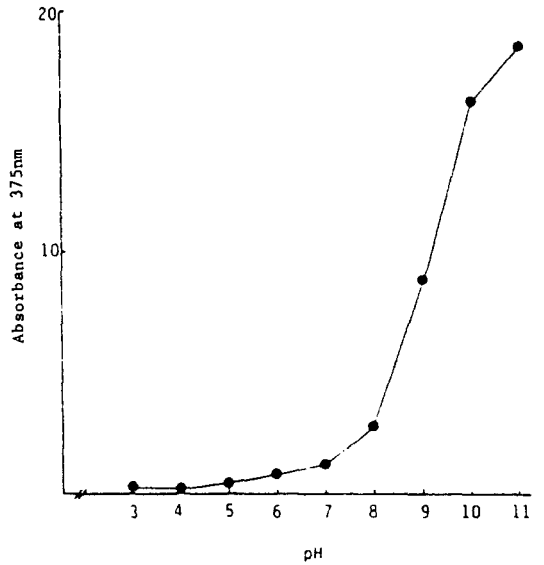


Fig. 5. Effect of pH on the color development of melanoidins.

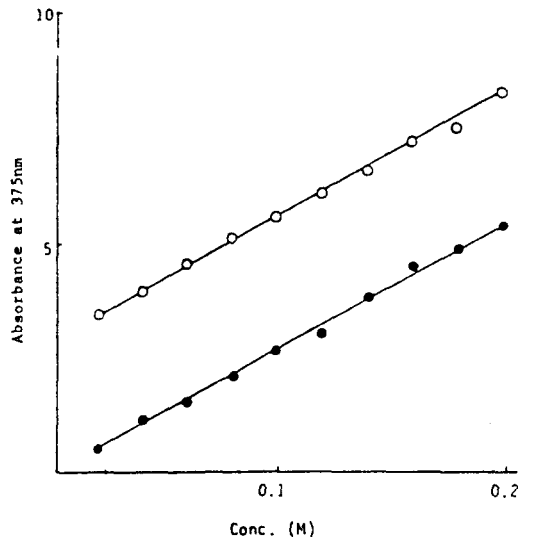


Fig. 6. Color intensity vs. concentration curve of reacted fructose(0.5M) with various concentration of glycine (0.02-0.2M); (○-○) and glycine (0.5M) with various concentration of fructose (0.02-0.2M); (●-●) at pH 7.0 and 100°C.

pH 7에서는 색상의 변화가 미미했으며 특히, pH 4에서는 최저의 갈변현상을 보이고, pH 7 이상 즉, 알칼리 쪽에서는 급격히 증가하였다. 이러한 현상은 Hiroshi 등<sup>(9)</sup>의 연구 즉, pH 4.0-5.5 사이에서는 색상이 별로

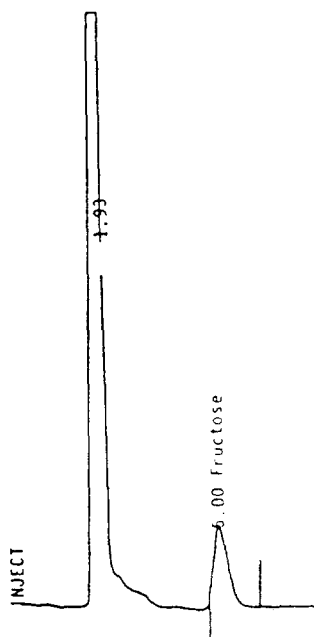


Fig. 7. HPLC chromatogram of authentic fructose.

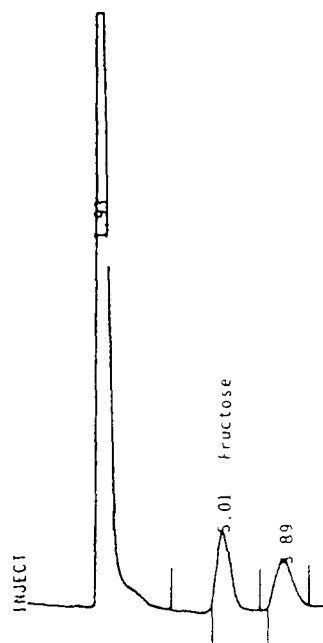


Fig. 8. HPLC chromatogram of fructose in amino-carbonyl reaction mixture.

변하지 않는데 비하여 pH 6 이상이나 pH 3 이하에서는 약간 변하고 pH 값이 높을수록 더욱 큰 갈변도를 나타낸다고 보고한 것과는 일치하나, Nam 등<sup>(18)</sup>의 연구에서와 같이 고온에서는 pH의 영향이 불명확하다는 보고와는 차이를 나타내고 있다.

0.02-0.2 M의 각 농도별 glycine을 0.5 M의 fructose와, 0.02-0.2 M의 각 농도별 fructose를 0.5 M의 glycine과 pH 7, 100°C에서 3시간 반응시킨 결과는 Fig. 6과 같은데 glycine을 고농도로 하였을 때보다 fructose가 고농도일 때 높은 갈변도를 보이고 있다. 이는 amino-carbonyl 반응에 있어서 환원당이 amino 산보다 더 요구됨을 나타낸 것이라고 본다.

#### Fructose와 glycine을 비롯한 각종 amino 산의 경시적 함량변화

본 실험에서 fructose와 amino 산의 함량을 정량한 HPLC 및 amino acid analyzer의 chromatogram은 Fig. 7, 8과 10이다. 그리고 Fig. 11은 100°C, pH 7에서 동일농도(0.1 M)의 fructose와 glycine을, Table 2는 120°C, pH 7에서 동일농도(0.1 M)의 fructose와 glycine을 비롯한 각종 amino 산의 함량변화를 비교한 결과이다.

즉, Color intensity가 증가함에 따라 fructose와

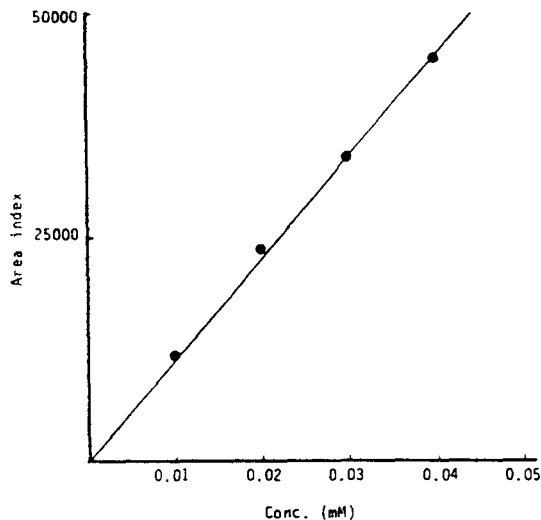


Fig. 9. Standard curve of fructose by HPLC method.

glycine의 양은 점점 감소하였다. 또한 Fig. 6에서 예상할 수 있었던 바와 같이 fructose의 미반응물은 100°C, 4hr에서 48.7%로, 120°C, 1hr에서 45.7%로 감소하였던 바 반감기는 4시간 및 1시간 이하이며, glycine의 미반응물은 100°C, 12hr에서 77.8%로,

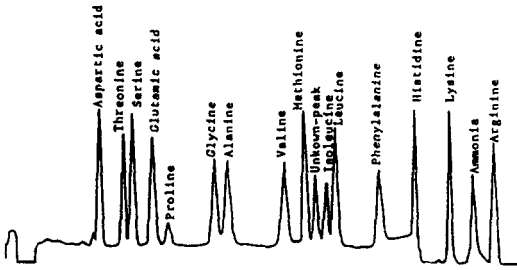


Fig. 10. Amino Acid Analyzer chromatogram of amino acids in aminocarbonyl reaction mixture.

120°C, 4 hr에서 48.4%로 나타났다. 그리고 Table 2에서 보는 바와 같이 fructose의 미반응물과 amino산의 미반응물의 경시적 함량변화는 유의성이 없는 것으로 보아 amino-carbonyl 반응은 당과 amino산의 종류 및 반응조건에 따라 달리 나타난다는 것을 예상할 수 있다.

반응속도상수와 반감기

Table 3은 amino-carbonyl 반응에서 온도와 시간에 따라 당과 amino산이 감소하는 경향을 알아보기

Table 2. Relative concentration changes of equimolar fructose-amino acid reaction mixture with time at pH 7.0, 120°C using HPLC and amino acid analyzer.

Amino acids	Relative conc. of fructose (%)				Relative conc. of glycine (%)				
	0 hr	1 hr	2 hr	4 hr	0 hr	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr
Aspartic acid	100	31.2	9.6	—	100	61.0	37.2	18.4	5.6
Threonine	100	35.4	12.5	1.6	100	77.0	63.1	36.4	21.2
Serine	100	38.8	15.0	2.3	100	69.1	46.9	22.5	10.5
Glutamic acid	100	34.9	12.3	1.5	100	84.2	71.0	50.1	35.5
Proline	100	51.4	26.0	6.8	100	95.8	91.7	84.0	77.5
Glycine	100	45.7	22.3	4.3	100	83.3	69.2	48.5	33.6
Alanine	100	31.8	10.5	1.2	100	90.5	82.0	67.2	54.8
Valine	100	31.4	9.8	—	100	89.7	80.5	64.5	52.0
Methionine	100	39.5	15.8	2.5	100	94.0	88.5	78.1	67.0
Iso-Leucine	100	37.9	14.1	2.0	100	90.8	82.5	68.5	56.0
Leucine	100	41.2	16.6	2.8	100	82.0	67.3	44.8	30.5
Histidine	100	39.3	15.6	2.4	100	93.6	87.5	77.0	67.5
Lysine	100	37.6	13.9	1.9	100	70.4	49.5	24.5	12.0
Arginine	100	41.3	16.9	3.0	100	82.3	67.8	46.0	31.0

Table 3. Calculating procedure of the decreasing rate of fructose and glycine at pH 7.0, 100°C and 120°C.

Temp. (°C)	Time (hr)	Fructose			Glycine		
		Ao-x	$\frac{1}{T} \log \frac{1}{A_0-X}$	K (hr <sup>-1</sup> )	Ao-X	$\frac{1}{T} \log \frac{1}{A_0-X}$	K (hr <sup>-1</sup> )
100	0	100.0			100.0		
	1	83.6	$7.7 \times 10^{-2}$	$1.78 \times 10^{-1}$	97.9	$9.30 \times 10^{-3}$	$2.14 \times 10^{-2}$
	2	70.5	$7.6 \times 10^{-2}$	$1.75 \times 10^{-1}$	95.8	$9.12 \times 10^{-3}$	$2.11 \times 10^{-2}$
	4	48.7	$7.8 \times 10^{-2}$	$1.79 \times 10^{-1}$	91.9	$9.18 \times 10^{-3}$	$2.11 \times 10^{-2}$
	6	35.5	$7.5 \times 10^{-2}$	$1.72 \times 10^{-1}$	88.2	$9.07 \times 10^{-3}$	$2.09 \times 10^{-2}$
	8	24.9	$7.6 \times 10^{-2}$	$1.74 \times 10^{-1}$	84.5	$9.16 \times 10^{-3}$	$2.11 \times 10^{-2}$
	12	12.6	$7.5 \times 10^{-2}$	$1.72 \times 10^{-1}$	77.8	$9.09 \times 10^{-3}$	$2.09 \times 10^{-2}$
120	0	100.0			100.0		
	1	45.7	$3.4 \times 10^{-1}$	$7.83 \times 10^{-1}$	83.3	$7.90 \times 10^{-2}$	$1.83 \times 10^{-1}$
	2	22.3	$3.3 \times 10^{-1}$	$7.51 \times 10^{-1}$	69.2	$8.00 \times 10^{-2}$	$1.84 \times 10^{-1}$
	4	4.3	$3.4 \times 10^{-1}$	$7.87 \times 10^{-1}$	48.5	$7.80 \times 10^{-2}$	$1.81 \times 10^{-1}$
	6	—	—	—	33.6	$7.90 \times 10^{-2}$	$1.82 \times 10^{-1}$

위해 반응속도상수와 반감기 및 반응차수를 산출하기 위한 것으로 100°C에서 fructose 및 glycine의 반응속도상수 ( $K = \frac{2.303}{t} \log \frac{A_0}{A_0 - X}$ )는  $1.78 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 과  $2.11 \times 10^{-2} \text{ hr}^{-1}$ 이고 120°C에서는  $7.74 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 과  $1.83 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 로서 온도상승에 따라 현저한 차이를 보여주고 있다. 또한 반응차수에 있어서 1차 반응차수 방정식  $\frac{1}{t} \log \frac{A_0}{A_0 - X}$ 에 대입한 결과 일정한 수치를 나타낸 것으로 보아 100, 120°C에서 amino-carbonyl 반응 중 fructose와 glycine의 감소반응은 first-order kinetics를 따른다는 것을 알 수 있다.

그리고 반응과정 중 fructose와 glycine이 초기농도의 50%까지 감소하는데 걸린 시간 즉, 반감기는 100°C에서 3.96시간과 32.9시간이었고, 120°C에서는

0.9시간과 3.8시간이었다.

Table 4는 HMF의 생성반응 속도상수와 반응차수를 알아보기 위한 것으로서 pH 5.2 100°C에서 동일농도(0.03 M)의 fructose와 glycine을 시간별로 반응시켜 측정된 것이다. HMF의 생성량은 color intensity와의 상대적인 값으로 정하였으며 Wolfrom 등<sup>(4)</sup>의 보고 즉, HMF의 생성 peak가 15시간 이후 잘 발달하였다는 것을 근거로 하여 반응초부터 20시간까지를 induction period로 보았으며 Color intensity가 가장 높게 나타나는 60시간까지를 반응종결기로 보고 산출한 속도상수(K)는  $2.76 \times 10^{-2} \text{ hr}^{-1}$ 이었으며  $\frac{1}{t} \log \frac{A_0}{A_0 - X}$  값이 거의 일정하게 나타난 것으로 보아 first-order kinetics를 따른다는 것을 알 수 있다.

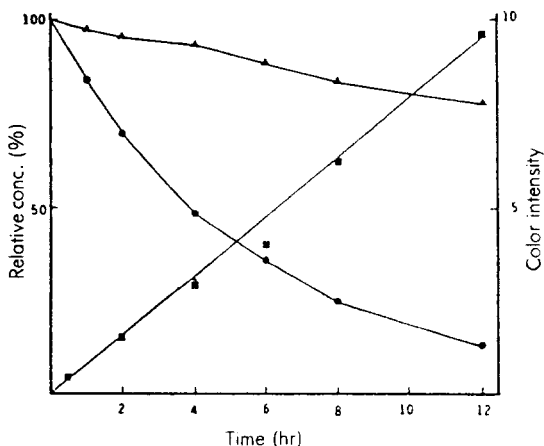


Fig. 11. Relative concentration vs. reaction time of equimolar fructose-glycine mixture at pH 7.0, 100°C; ●-● : fructose, ▲-▲ : glycine ■-■ : color intensity.

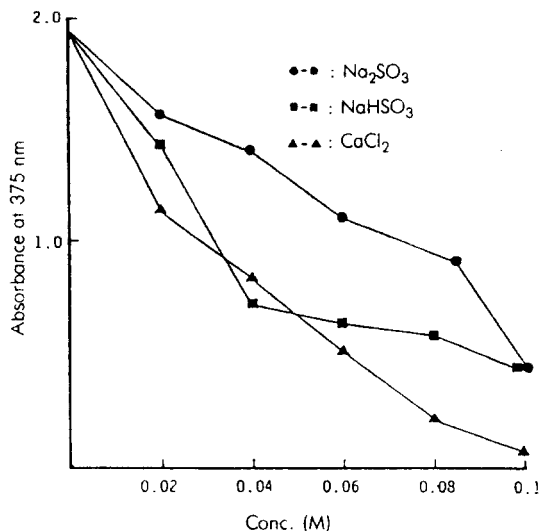


Fig. 12. Effect of inhibitors on amino-carbonyl reaction.

Table 4. Calculating procedure of the formation rate of 5-hydroxymethyl-2-furfural.

Time (hr)	Color intensity		Relative conc. of HMF (%)	A <sub>0</sub> -X	$\frac{1}{T} \log \frac{1}{A_0 - X}$	K (hr <sup>-1</sup> )
	375nm	282nm				
0	—	—	0.00	100.00	—	—
5	0.06	0.36	7.77	95.23	$4.20 \times 10^{-3}$	$0.97 \times 10^{-2}$
10	0.17	0.83	10.99	89.01	$5.10 \times 10^{-3}$	$1.17 \times 10^{-2}$
20	0.68	2.80	37.48	62.52	$1.02 \times 10^{-2}$	$2.35 \times 10^{-2}$
30	1.08	3.98	52.72	47.28	$1.08 \times 10^{-2}$	$2.49 \times 10^{-2}$
40	1.31	5.25	69.53	30.47	$1.29 \times 10^{-2}$	$2.97 \times 10^{-2}$
50	1.84	6.05	80.13	19.87	$1.46 \times 10^{-2}$	$3.23 \times 10^{-2}$
60	2.10	7.55	100.00	0.00	—	—
70	2.23	7.29	—	—	—	—

### 활성화 Energy

Fructose-glycine model system의 반응속도상수에 대한 온도의존성을 규명하기 위하여 Arrhenius의 rate equation 즉,  $K=Ae^{-Ea/RT}$  을 두 온도사이에서 적분한  $\log k_1 - k_2 = -\frac{Ea}{2.303R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$ 에서 산출한 activation energy ( $Ea$ )는 21.7 kcal mol<sup>-1</sup>과 31.4 kcal mol<sup>-1</sup>로서 김 등<sup>(13)</sup>의 glucose-arginine model system과 Lee 등<sup>(19)</sup>의 glucose-tryptophan, fructose-tryptophan model system의 연구결과와 비교할 때 다소 높으나, Lee 등<sup>(20)</sup>의 glucose-lysine model system의 연구결과 보다는 다소 낮다.

### Amino-carbonyl 반응의 저해

Amino-carbonyl 반응의 화학적 저해물질로 알려진<sup>(14)</sup> Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, NaHSO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>를 fructose-glycine model system(0.05 M)에 농도별로 첨가하여 반응 억제효과를 비교한 결과는 Fig. 12와 같다.

즉, 각각의 저해물질을 0.05 M씩 첨가하였을 때 sodium sulfite는 36%, sodium bisulfite와 calcium chloride는 65.5%를, 0.1 M씩 첨가하였을 때는 sodium sulfite와 sodium bisulfite는 76.8%, calcium chloride는 96.4%의 억제효과가 있었다. 이는 당과 SO<sub>2</sub>가 반응하여 hydrosulfonic acid를 용이하게 형성하여 carbonyl group을 불활성화 시키기 때문이며, calcium chloride는 Ca이 amino산과 chelation으로 결합하기 때문이라고 생각된다<sup>(7,21)</sup>.

## 요 약

본 연구는 amino-carbonyl 반응물로서 fructose와 glycine을 model로 선정하여 완충액, 반응온도, 시간, pH, 농도 및 억제제의 영향에 의한 반응물 및 반응생성물의 물리·화학적 변화를 측정하였다.

Citrate buffer, McIlvaine buffer, phosphate buffer 용액을 동일농도(0.1 M)의 fructose-glycine 혼합물에 처리하여 pH 6, 100°C에서 2시간 반응시켰을 때 인산과 구연산이 들어 있는 McIlvaine buffer 혼합물에서 최고의 갈변효과를 나타내었다.

McIlvaine buffer 용액(pH 7) 중에서 동일농도(0.1 M)의 fructose와 glycine을 온도 및 시간별로 반응시킨 결과 100°C, 3시간 이상에서 현저한 갈변증가를 나타내었다.

pH 3-11의 영역에서 동일농도(0.1 M)의 fructose

와 glycine을 반응시켰을 때 pH 7 이하에서는 낮은 갈변반응이 나타났으며 pH 7 이상에서는 급격하게 증가하였다.

0.02-0.2 M의 각 농도별 glycine을 0.5 M의 fructose와 0.02-0.2 M의 각 농도별 fructose를 0.5 M의 glycine과 pH 7, 100°C에서 3시간 동안 각각 반응시킨 결과 fructose가 고농도 일때 더 높은 갈변도를 나타내었다.

100°C 및 120°C에서 경시적 반응에 대한 fructose와 glycine의 반감기는 각각 100°C에서 3.96시간과 32.9시간, 120°C에서는 0.9시간과 3.8시간이었다.

Fructose-glycine 혼합물을 pH 7, 온도 100, 120°C에서 반응시켜 fructose와 glycine이 감소하는 경향을 알아보기 위해 반응속도상수, 반응차수, activation energy를 구한 결과, 반응속도상수는 100°C에서 각각  $1.78 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 과  $2.11 \times 10^{-2} \text{ hr}^{-1}$ 이고 120°C에서는  $7.74 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 과  $1.83 \times 10^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 이었으며 activation energy는 21.7 kcal mol<sup>-1</sup>과 31.4 kcal mol<sup>-1</sup>이었다. 또한 fructose(0.03 M)과 glycine(0.03 M) 혼합물을 pH 5.2, 100°C에서 반응시켰을 때 HMF의 생성반응 속도상수는  $2.6 \times 10^{-2} \text{ hr}^{-1}$ 이었고, fructose와 glycine의 감소반응 및 HMF의 생성반응은 모두 first-order의 반응으로 나타났다.

Fructose와 glycine의 혼합물(0.05 M)에 Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, NaHSO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>를 농도별(0.02-0.1 M)로 첨가하여 pH 7, 100°C에서 반응시켜 갈변 억제효과를 비교한 결과 0.1 M을 첨가하였을 때 Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>와 NaHSO<sub>3</sub>는 76.8%, CaCl<sub>2</sub>는 96.4%의 억제효과를 나타내었다.

## 문 헌

1. Einarsson, H., Snygg, B.G. and Eriksson, C.: Inhibition of bacterial growth by Maillard reaction products. *J. Agric. Food Chem.* 31, 1043-1047(1983)
2. Hiromi, S., Hiromichi, K. and Masao, F.: Formation of 1-butyl-5-hydroxymethylpyrrole-2-carboxyaldehyde in the Maillard reaction between lactose and n-butylamine. *Agric. Biol. Chem.*, 41, 609-610(1976)
3. Hiromi, S., Hiromichi, K. and Masao, F.: Formation of 2-(5'-hydroxymethyl-2'-formyl-pyrrol-1'-yl) alkanolic acid and its lactone in the Maillard reaction between D-glucose and amino acid. *Agric. Biol. Chem.*, 41, 711-712(1976)



4. Wolfrom, M.L., Schuetz and Cavalieri, L.F.: Chemical interaction of amino compounds and sugars. III. The conversion of D-glucose to 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde. *J. Amer. Chem. Soc.*, **70**, 514-518(1948)
5. 이성수, 이 철, 김동훈: Maillard 형 갈색화반응에서 얻어진 Asolute Ethyl Alcohol 과 90% Ethyl Alcohol 유출물의 항산화 효과의 비교. *한국식품과학회지*, **7**, 37-42(1983)
6. 허태련, 이동일, 김동훈: Maillard 형 및 Caramelization 형 갈색화반응물에서 얻어진 알콜 유출물들의 항산화 효과의 비교. *한국식품과학회지*, **7**, 43-49(1975)
7. Nursten, H.E.: Recent development in studies of the Maillard reaction. *Food Chem.*, **6**, 263-277(1980)
8. Hiroshi, M.: Color tone of various melanoidins produced from model systems. *Agr. Biol. Chem.*, **38**, 1697-1685(1973)
9. Lee, H.J., kwon, T.B., cho, M.Z., shim, S.C. and Oh, S.K.: Nonenzymatic browning in a glucose-lysine model system under various conditions. *Theses Collection, Kyung Hee Univ.*, **11**, 255-267(1982)
10. 양 룡, 신동범: 아미노-카르보닐반응에 관한 연구. *한국식품과학회지*, **12**, 88-96(1980)
11. 최진호, 장진규, 박길동, 박명환, 오성기: 고속 액체크로마토그래피에 의한 인산제품 중의 유리당의 정량. *한국식품과학회지*, **13**, 107-113(1981)
12. Mason, V.C., Bech-Andersen, S. and Rudemo, M.: Hydrolysate preparation for amino acid determinations in feed consistuents. *Proc. 3rd EAAP Symp. on protein metabolism and nutrition*, **1**(1980)
13. 김용연, 김창목, 한강완, 오성기: Amino-carbonyl 반응에 미치는 온도의 영양화학회지, **11**, 51-56(1982)
14. Robbins, K.R. and Baker, D.H.: Evaluation of the resistance of lysine sulfate to Maillard destruction. *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 25-28(1980)
15. Montgomery, M.W.: Cysteine as an inhibitor of browning in pear juice concentrate. *Journal of Food Science*, **48**, 951-952(1983)
16. Olcott, H.S. and Dutton, H.J.: Changes in stored dried eggs; Source of fluorescence. *Ind. and Eng. Chem.*, **37**, 1119-1122(1945)
17. Nafisi, K. and Markakis, P.: Inhibition of sugar-amine browning by aspartic and glutamic acids. *J. Agric. Food Chem.*, **31**, 1115-1117(1980)
18. Nam, S.S. and Lee, M.S.: Browning pattern and pigment of glucose/glycine model systems. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**, 218-222(1984)
19. Lee, C.M., Lee, T.C. and Chichester, C.O.: Kinetics of the production of biologically active Maillard browned products in apricot and glucose-L-tryptophan. *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 478-482(1979)
20. Lee, H.J. and Oh, S.K.: Kinetics of nonenzymatic browning reaction of glucose-lysine model system. *Theses Collection, Kyung Hee Univ.*, **13**, 465-470(1984)
21. 이서래, 신호선: 식품의 갈변화반응. *최신식품화학*, 254-278(1983)

(1988년 12월 27일 접수)