

열처리가 Lysine 손상에 의한 단백질의 품질에 미치는 영향

- 총 설 -

이 경 혜

창원대학교 식품영양학과

Effects of Heat Treatment on Protein Quality as Lysine Damage

Kyung-Hea Lee

Dept. of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea

Abstract

During the industrial preparation and the storage of foods, the side chain of some protein-bound amino acids can react chemically each other or with other molecules present in the food. The following reactions have been described : destruction of amino acids, racemization, protein-protein interactions, reactions of proteins with reducing sugars, oxidizing agents, or polyphenols. Apart from total destruction, the main reactions are the forming of Maillard reactions products (e.g. fructoselysine) and the crosslinking with other amino acids in the same or in another protein molecule (e.g. lysinoalanine). The most often involved amino acid is lysine because of its free functional ϵ -amino acid group. Generally derivatives of amino acids or crosslinks in polypeptides influence the bioavailability and the overall digestibility of the protein. This work reviews the technological, analytical, nutritional, and physiological problems related to the formation of fructoselysine and lysinoalanine in human foods, and evaluates the possible health risk for humans. A summary of the available information is of help in considering whether or not the presence of fructoselysine / lysinoalanine in foods represents a danger to man. The reduction in protein quality through these reactions is not a problem for the general population, but it is extremely important in infant foods, since infants are often nourished with a limited number of food products (e.g. formula foods) which are sensitive to the Maillard reaction.

Key words : heat treatment of protein, lysine, lysinoalanine, fructoselysine

서 론

인간이 불을 사용함으로써 획기적인 문명을 창조하는 계기가 되었으며, 이를 식품에도 적용함으로써 조리, 건조 및 훈연 방법을 통하여 식품을 장기간 저장할 수 있게 되었다. 또한 식품을 가열함으로써 함유된 독성물질을 무독화시키거나 독특한 향미 성분이나 맛이 생겨나 식품의 안정성과 기호성이 향상되기도 한다. 그러나 단백질이 풍부한 식품의 가공처리시에는 단백질의 기능기와 다른 영양소 성분간에 상호반응이 일어나게 되며, 이는 단백질 질에 직접, 간접적으로 영향을 미친다. 이때 모든 아미노산들이 균일하게 영향을 받는 않으며, 특히 free amino group을 지닌 유일한 아미노산으로 많은 식물성 단백질에서 제한 아미노산인 lysine은 그의 free ϵ -NH₂-group 때문에 다른 영양소 성분과 쉽게 결합하므로 가공처리 중 가장 많이 손상

되는 아미노산으로 알려져 있다.

지금까지의 연구를(1,2) 통하여 보면 lysine은 낮은 온도처리를 할 때 유일하게 손상되며, 높은 온도에서 열처리할 때에도 다른 아미노산에 비하여 가장 많이 영향을 받는 것으로 나타났는데, 일반적으로 다음의 세가지 경로를 통하여 lysine 손상이 일어나는 것으로 알려져 있다(Fig. 1).

Isopeptide-type

단백질 가열시 inter- 또는 intra molecular isopeptide 결합이 생기는데, 이는 소화효소에 의해 잘 분해되지 않아 소화율과 아미노산 이용율을 떨어뜨리는데 결정적인 역할을 한다(3). 100°C 이상의 가열시 주로 aspartyllysine과 glutamyllysine이 형성된다. 동물 실험 결과 aspartyllysine은 체내 이용이 안되는 반면, glutamyllysine은 효소적 분해로 체내에서 lysine으로써 이

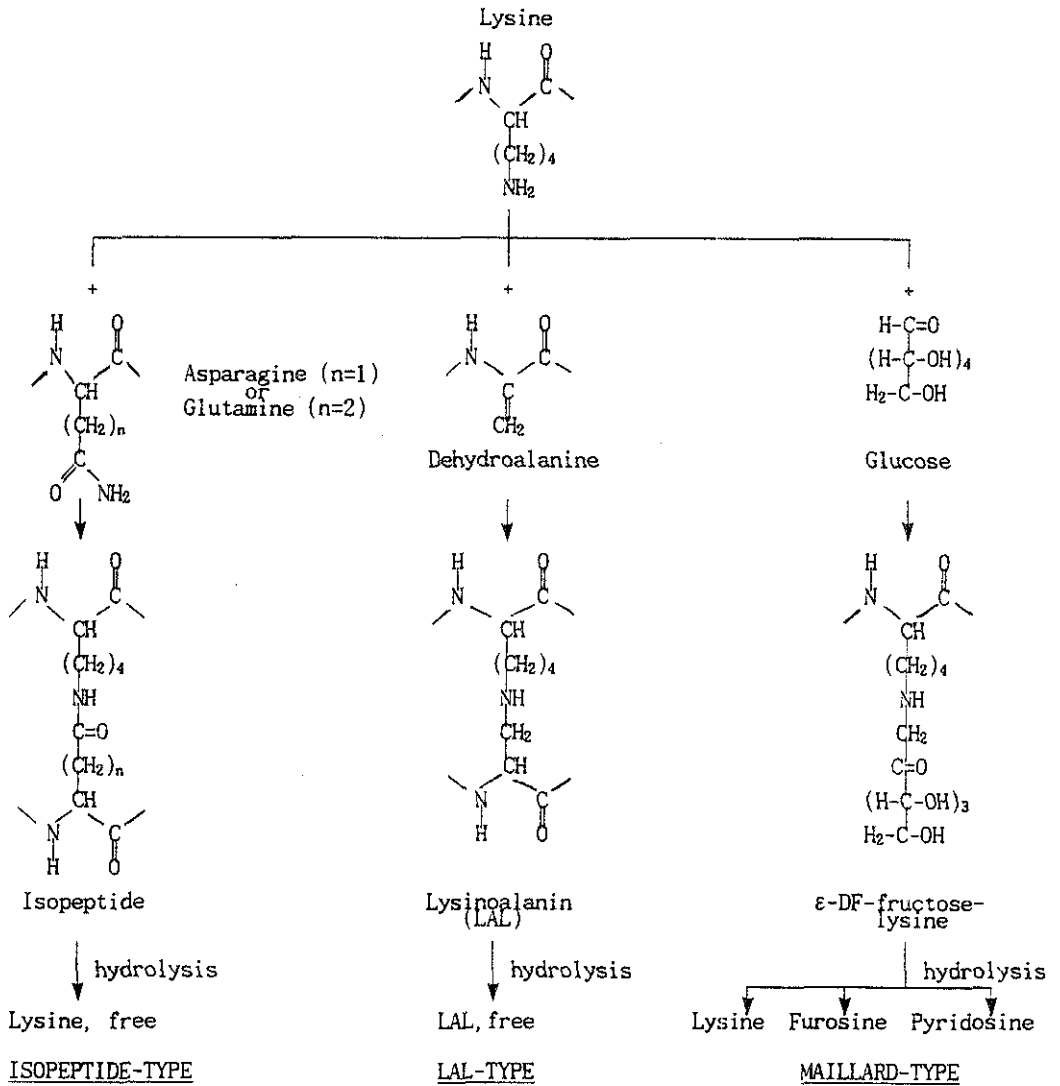


Fig. 1. Types of lysine-damage.

용되는 것으로 나타났다(4-7).

이 isopeptide형들은 산가수분해 과정에서 다시 분해되기 때문에 chromatography로 측정되지 않는다(7).

Lysinoalanine (LAL)-type

알카리 처리나 또는 70°C 이상에서 가열시 cross-linking형의 lysinoalanine이 형성된다. 이는 여러 아미노산들과 dehydroalanine의 작용에 의해 생성되는데, 활성 있는 이중결합을 지닌 dehydroalanine이 cross-linkage 생성물인 lysinoalanine (LAL; ε-N-2-amino-carboxy-

ethyl-L-lysine), lanthionine, ornithinoalanine과 β-aminoalanine을 만든다(8). 이 중 LAL은 열손상 측정시 좋은 indicator로서 안전하게 chromatography로 측정될 수 있다.

Maillard-type

Maillard 반응은 이 반응의 발견자인 Maillard(9)에 의해 이름 붙여졌고 열처리 중 가장 흔히 나타나는 단백질, peptide, amino acids 또는 유리아미노기 등과 환원당간의 복합체를 형성하는 반응이다. Fructoselysine

(ε-N-deoxy-fructosyl-lysine)은 가장 중요한 amadori 반응물로, glucose와 lysine의 반응으로 생성된다. FL은 산 가수분해에서 안전한 분해물인 furosine으로 분해되고, chromatography에 의해 측정된다. 때문에 furosine은 당질이 함유된 protein의 열처리 정도를 측정하는 좋은 인자로 사용되고 있다.

Lysine의 ε-amino-group은 생체내에서 여러 물질(예 ; biotin, lipoic acid, retinal 등)을 잡아주는 중요한 생리적 작용을 하기 때문에 lysine의 ε-amino-group이 생물학적 활성을 지니고 있다는 것은 단백질의 품질에 중요한 영향을 미친다.

식품을 가공처리 할 때 위에서 언급한 바와 같이 lysine의 손상이 따르는데, 본 논문에서는 이 손상의 경로와 손상된 lysine이 단백질의 질에 미치는 영양생리적인 특성에 관하여 지금까지 발표된 연구논문들을 통하

여 고찰하여 보았다.

LYSINE 손상의 MECHANISM

Cross-linking reaction

Protein에서 Crosslinking은 β-eliminations-additions-reaction이나 substitutions reaction(8) 통해 이루어지며, 이를 Fig. 2에 표시하였다.

Dehydroalanine은 cysteine, cystine으로부터 뿐만 아니라 α-substituted serine에서도 생성된다. Dehydroalanine은 여러 아미노산의 side chain과 Fig. 2에서 처럼 결합을 형성한다. 여러 cross-links 중 LAL이 가장 lysine 손상을 나타내는 indicator로써 중요한 의미를 지니는데, 이는 LAL이 산가수분해시 안전하고 chromatography 측정이 가능하기 때문이다(8).

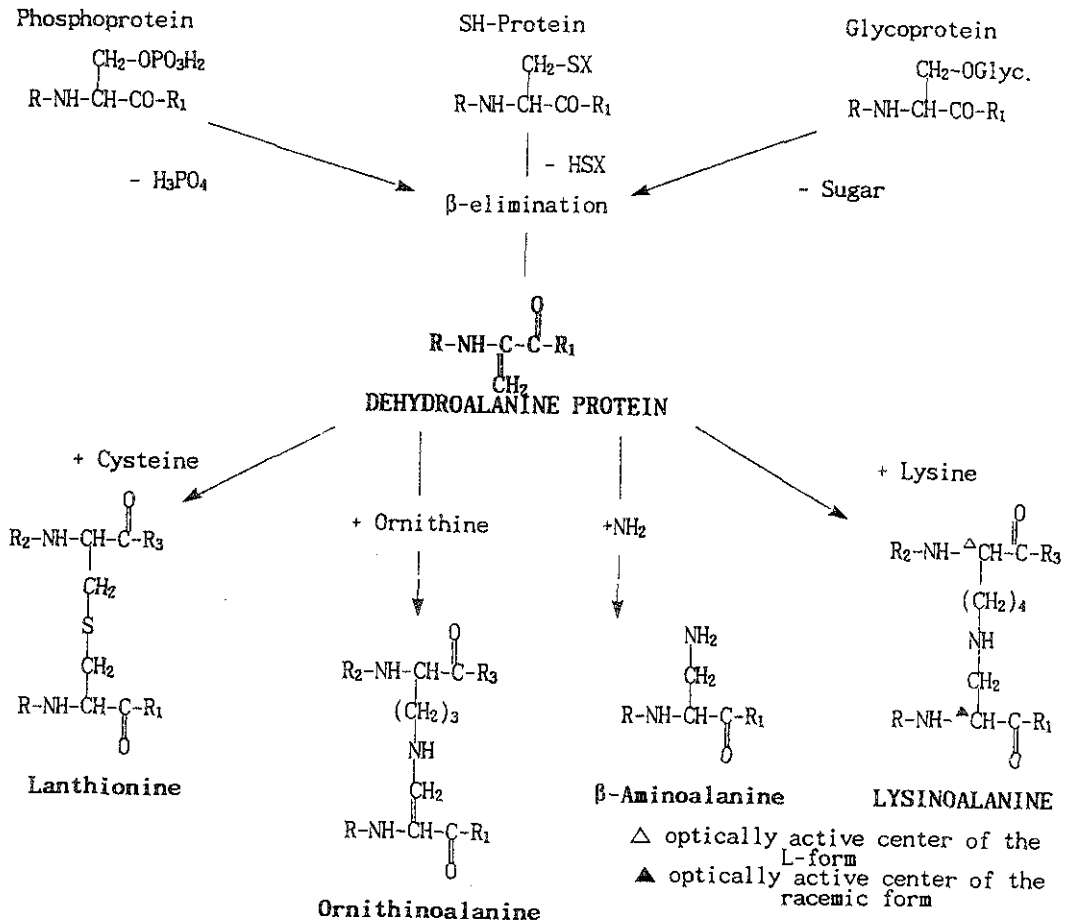


Fig. 2. Formation of lysinoalanine. Modified from references (8,10,11)

LAL의 생성과 측정법

Bohak(12) 및 Ziegler(13)는 1964년 그 때까지 알려지지 않았던 열기성 아미노산을 알카리 처리한 단백질에서 발견하였다. Patchornik과 Sokolowski(14)는 알카리 처리된 ribonuclease에서 ion exchange chromatography로 측정시 lysine 바로 앞에서 나타나는 peak를 발견하였고, 이 물질이 cystine에서 발생하는 dehydroalanine과 lysine의 ε-amino group과의 반응물질임을 증명하였다. 이는 N-ε-(DL-2-amino-2-carboxyethyl)-L-lysine으로 동정되었고, trivialname으로 "lysinoalanine (LAL)"로 명명되었다. Bohak(12)은 또한 LAL의 분해 산물은 lysine, ammonia와 formaldehyde라고 그 구조를 밝혔다.

LAL은 2개의 부제탄소를 갖고 있어 4개의 이성체(LL-, LD, DL과 DD-LAL)를 형성할 수 있다. 식품에서는 LL과 DL-형이 가장 일반적으로 많이 발견된다(15, 16). 그러나 LAL-이성체 구성을 직접 밝히는 것은 산가수분해시 LAL의 alanine 부분이 완전히 racemization 되기 때문에 불가능하다. LAL의 형성은 단백질의 구조에, 특히 cystine 함량에 영향을 크게 받으며(17), 아미노산들의 서열(10), milieu의 pH, 열처리 온도와 시간, 수분함량(18) 등에 달려있다. 그러나 높은 pH 또는 강한 장기간의 열처리시 LAL은 파괴되는 것으로 보고되어(11,18,19), 이 경우 LAL은 열처리 손상을 측정하는 indicator 역할을 상실하게 된다. LAL cross-linkage는 비가역적이어서 체내에서 lysine으로 이용될 수 없는 것(20)으로 보고되었다. LAL은 일반적으로 ion exchange chromatography를 통해 측정되었으며, 최소 측정 단위는 20ppm이다.

식품내 lysinoalanine 함량

LAL은 여러 종류의 식품(우유 및 유제품, 육류, 콩 및 곡류 제품)에 함유되어 있기 때문에, LAL은 다양한 식품에서 측정되었는데, 특히 유제품에서 많이 실시되었다(18,21-23). Casein내 높은 lysine과 phosphoserine 함량 때문에 LAL형성이 유청단백질이나 콩단백질 보다 높다. Table 1은 지금까지 발표된 식품내 LAL 함량 측정 결과 중 대표적인 것 몇가지를 보여주고 있다. Fritsch와 Klostermeyer(22)는 400ppm 이상의 LAL 함량을 지닌 식품은 강한 열처리의 결과라고 결론 내렸고, Fritsch(21)는 조사한 시기에 따른 심한 LAL 함량의 차이는 식품가공 기술의 발전으로 LAL 함량이 낮아진 것으로 해석하였다. 독일 보사부(Bundesgesundheitsamt)(24)는 1986년 유아식에 LAL 허용치를 액상상태 식품의 경우

1000±1000ppm를, 분말형태의 경우 200±100ppm으로 고시하였다. Table 1에서 보면 일부 식품의 경우 이 허용치를 넘고 있는데, 이들은 사실상 소량 섭취되므로 영양 생리적으로 독성작용은 기대되지 않는다. Lee(25)에 의하면 독일인의 경우 보통의 일상 식사시 1일 20mg 정도의 LAL을 섭취하고 있다. 이 LAL 측정은 식품내 단백질 손상 정도를 판정하는 좋은 indicator로 인정되고 있으며, 동시에 적용된 식품가공기술(특히 알카리 처리가 필수적이거나 furosine이 indicator가 될 수 없는 경우)의 적합성을 판정하는 indicator로 사용되고 있다. 측정된 LAL의 양으로 aspartyl-과 glutamyllysine 형성 또는 여러 amino acids의 racemization 정도를 추측할 수 있다(20).

Maillard reaction

Hodge(29)는 처음으로 Maillard reaction의 화학적 반응 기전을 체계화시켜 표현하였다. 이 Maillard 반응은 3단계로 분류될 수 있다.

초기 단계 : 아미노산이 환원성 당과 갈변화 없이 축

Table 1. Lysinoalanine levels in foods (ppm)

Milk based products				Reference
Milk	0	-	trace	18
Pasteur milk				21
UHT milk				22
Condensed milk (unsweetened)	120	-	320	21
Condensed milk (sweetened)	-	-	90	21
Sterilized milk	170	-	570	21
Autoclaved infant formular food	270	-	920	21
Autoclaved coffeecream	360	-	1160	21
Softcheese	-	-	90	18
Icecream	16	-	31	23
Commercial foods				
Frankfurter sausages	0	-	170	26
Cacaopowder	0	-	379	27
Corn chips			390	26
Processed rice			1000	26
Tortillas			200	21
Pasta and bread			0	21
Home cooked foods				
Chicken thigh	0	-	200	26
Egg white (boiled 3min)			140	26
(boiled 10min)			270	26
Food ingredients				
Dried egg white	160	-	1820	26
Spray dried whole egg			0	28
Soyprotein isolate	0	-	370	26
Sodium caseinate	430	-	6900	20
Whipping agents	6500	-	50,000	26

합하여 더이상 환원될 수 없는 amadori 결합물을 최종으로 형성한다.

중기 단계 : Amadori 결합물은 탈수를 통해 휘발성 또는 용해성 물질을 만드는데, 이는 식품의 방향성 성분과 갈색 색소의 형성에 중요한 역할을 한다.

최종 단계 : 환성이 있는 중간단계 반응물질들이 축합과 중합을 통해 분자가 큰 불용해성 중합체와 갈색을 형성한다(melanoidine). 이 반응의 진행과 반응의 정도는 여러 조건에 따라 영향을 받는다 (Table 2).

Maillard 반응의 가장 부정적인 면은 반응에서 생겨나는 결합으로 몇 아미노산들이 체내에서 이용될 수 없게 되는데 있다. 특히 lysine-sugar복합체의 형성은 체대사에서 lysine의 이용률을 현저히 떨어뜨린다.

Fructoselysine (FL)의 형성과 측정법

Maillard 반응의 초기단계에서 환원당의 carboxyl group과 amino acids, peptide 또는 단백질의 유리아미노기 사이에 축합이 이루어진다. 첫번째 생성되는 첨가반응은 수분의 유리 후 Schiff's base를 거쳐 N-으로 치환된 glycosylamine의 환구조를 이루는 것이다. 이

glycosylamine은 불안정하여 쉽게 구조적으로 전환되므로 aldosylamine은 Amadori 전위반응을 통해 1-amino-1-deoxyketose를 형성한다 (34). Ketosylamine의 경우 Heyns-전위 반응을 거쳐 유사한 2-amino-2-deoxy aldose가 형성될 수 있다 (35). Fig. 3은 Hodge (29)에 의

Table 2. Optimal conditions of Maillard reaction on a maximal protein damage

Factor	Optimal area	Reference
Temperature	Q ₁₀ =3~5	30
pH	3~8	31
Water content	6~15%	32
Amino acid (AA)	basic AA ¹⁾ > alanine > glycine > glutamic acid	31
Sugar ²⁾	pentoses > glucose > lactose > maltose	30
AA : Sugar	1 : 1	30
Free amino groups : Sugar molecules	1 : 3	33

¹⁾A degree of lysine being bound to sugar is 5~15 times greater than that of other basic amino acids, because the ε-amino group residue in the lysine is not used for the peptide bond. Therefore, the lysine is one of the many amino acids that is damaged most in the Maillard Reaction

²⁾Depends on molecular weight

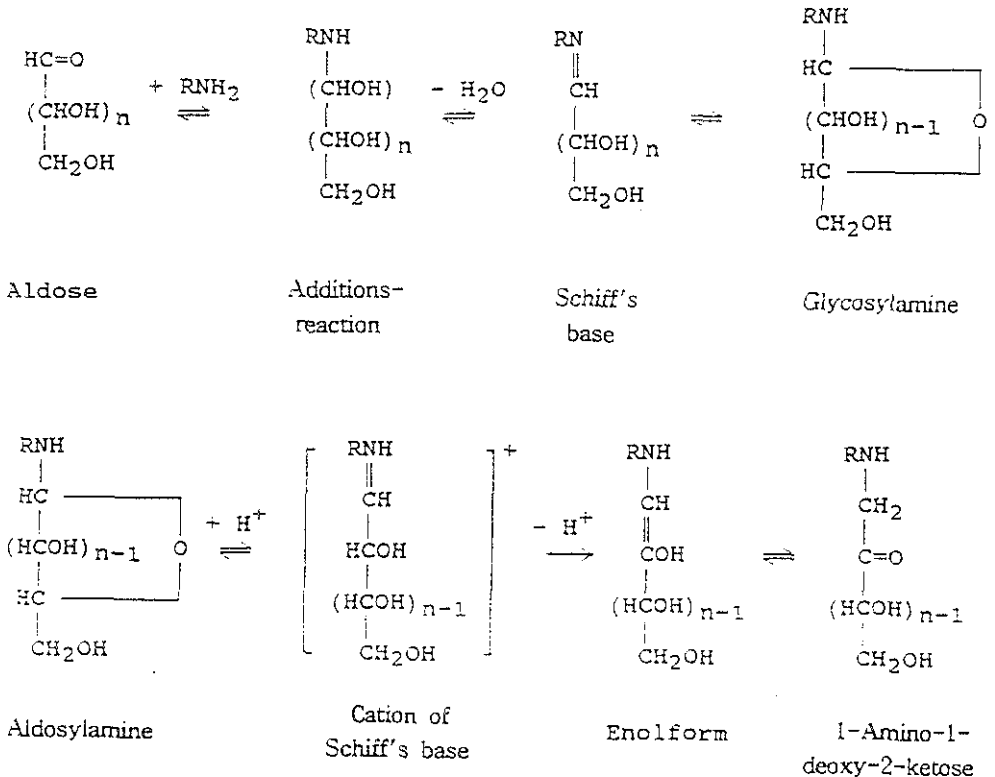


Fig. 3. Initial stadium of Maillard reaction with Amadori transformation according to Hodge (29).

한 Maillard 반응 중 초기 단계에서의 Amadori 전위 반응을 보여주고 있다.

열처리된 단백질에서 lysine의 일부는 Schiff's base의 형태로 존재하는데 이는 생물학적으로 이용될 수 있다(36). 여기서 계속된 비가역적 반응 단계에선 ϵ -DF-lysine (ϵ -N-deoxy-fructose-L-lysine) 생성되는데 이는 "fructoselysine(FL)"으로 불려진다. Lactose와 maltose로부터는 lactuloselysine과 maltuloselysine이 형성된다. 이 lysine과 sugar의 결합은 소화관내에 효소가 없어 분해되지 못하므로 영양생리적으로 lysine으로의 가치가 상실된다(1,37,38). Fructoselysine은 식품 중에 lysine의 잔기가 단백질 결합에 결합되어 있기 때문에 대부분 분석적으로 측정할 수 없는 형태로 존재한다. Erbersdobler(39)는 유제품의 7.8M HCl로 20시간 산가수분해시 50%의 FL이 유리lysine으로, 약 40%가 furosine 그리고 나머지 10%가 pyridosine으로 분해되는 것을 발견하였다.

다른 저자들은(40-42) 다른 시료와 가수분해 조건하에서 각기 위와는 다른 분해산물의 비율을 보고하였다. 각 저자에 따른 furosine의 비율은 29-37% 사이였고, 아직 완전히 정확한 전환율은 아직 알려지지 않고 있다. Furosine 방법에 의한 FL의 측정은 chromatogram에서 염기성 아미노산 부분에 arginine 다음에 나타나고 측정이 쉬워 열손상을 측정할 수 있는 좋은 indicator로 쓰이고 있다. 또한 최근에 Finot에 의해 furosine 합성이 성공되었기에 furosine standard를 이용한 furosine 방법은 더욱 일반적으로 쓰일 가능성이 커졌다(43).

식품 중의 fructoselysine의 존재

열처리가 많이 된 식품의 경우 lysine 손상 정도를 측정하여 단백질의 질을 평가해야 한다. 이때 식품내 주요한 Amadori 반응물질은 fructoselysine(FL), lactuloselysine과 maltuloselysine이다. FL은 lysine의 가장 주된 반응산물로 Maillard 반응의 초기에 생성된다. 때문에 furosine 측정은 식품의 열처리 정도 파악을 위한 주요 indicator로 사용된다(37,39,44).

Klostermeyer(45)과 Henle 등(46)은 furosine방법이 아직 표준화되지 못했다고 비판하였으나, 1992년 Finot의 furosine 합성 성공 이후 또 다른 가능성이 확인되고 있다(43). Indicator로 사용시 furosine의 단점은 형성된 FL이 Maillard 반응이 계속 진행되면 연속반응하여 감소된다는 것이다(47).

우유 및 유제품은 높은 lysine과 환원당 함량 때문에 Maillard 반응에 대단히 민감하다. 따라서 furosine의 측

정은 지금까지 열처리된 또는 건조된 유제품에 가장 많이 적용되었다. 우유는 수분 함량이 많아서 분유 보다 갈변화 반응에서 안전한 편이다. Lysine 손상의 정도는 열처리 방법에 크게 달려있는데, 가장 안전한 방법은 pasturization인 것으로 알려져 있다(39).

과일과 야채류에는 단백질 함량과 pH가 낮아서 Maillard 반응을 위해선 불리한 조건을 갖고 있다(30). 단지 바람직하지 못한 건조 조건하에서는 Maillard 반응을 통한 영양생리적, 관능적인 질 저하를 가져온다(48). Eichner와 Wolf(49)는 식물성 식품의 적절한 건조 방법과 조절을 위한 적절한 분석법으로 Maillard 반응의 초기 반응인 Amadori 결합물을 측정하는 방법을 발전시켰다.

육류와 육제품에서는 Maillard 반응이 그의 산성 pH 값과 낮은 환원당 함량으로 인해 거의 발생하지 않는다(31).

곡류와 곡류제품에서 lysine은 제한 아미노산이다. 따라서 구운 것, 반죽 제품류 등이 열처리시 문제가 될 수 있다(27,50). 구워서 만든 빵과 과자류의 경우 lysine 손상을 특히 많이 받는데, 이는 전분의 일부가 yeast 등의 amylase에 의해 분해되기 때문이다(31).

단백질, glucose 또는 전분을 함유한 식품의 살균처리를 할 때 FL-형성을 막기 위해 Harmuth-Hoene(51)은 radiation 처리방법을 권하고 있다.

손상된 LYSINE의 영양생리적 특성

Lysinoalanin의 영양생리적 특성

LAL의 분해와 흡수

Racemisation과 LAL의 형성은 pH값과 온도가 올라갈수록 상승한다. 이에 따라 pepsin, trypsin, chymotrypsin 등에 의한 단백질 소화율이 감소된다(52,53). Trypsin은 peptide 결합 중 특히 lysine과 arginine의 carboxyl 기의 자리를 분해하는데, 알카리 처리시 arginine의 파괴나 L-lysine과 dehydroalanine이 비가역적인 cross-linkage가 형성되면 protease에 의한 가수분해는 저해된다. 또한 racemization에 의해 D-amino acid가 형성되면 단백질 분해효소의 작용장소가 차단되게 된다(54,55). 따라서 알카리 처리된 단백질은 처리안된 단백질 보다 장에 오래 머물게 된다(53). Protein-bound-LAL로 동물실험을 하였을 때, 사료에 LAL-농도가 높을수록 단백질의 소화율이 감소되었다(54).

Immobilized digestive enzyme assay (IDEA) 방법에 따

르면 소화율의 감소와 LAL과 racemization 형성 정도는 높은 상관관계($r=0.87$)를 보였다(55). 즉 심한 알카리 처리로 racemization 또는 cross-linkage가 다량 형성되면 LAL은 소장에서 전혀 흡수되지 못하는 것으로 알려졌다. LAL이 어느 정도 체내에서 흡수되는가 Finot(8)과 Struthers 등(56)은 radioactive labeled ^{14}C -LAL을 사용하여 쥐실험하였는데 유리 LAL(50~60%)이 protein-bound-LAL(1.3~18%) 보다 훨씬 높은 많이 흡수되었다. Liardon 등은(16) 소변에서 LL-LAL(80~90%)을 LD-LAL보다 훨씬 많이 발견하였는데, 이는 장에서 LD-LAL이 단백질 분해에 의해 분리되지 못하는 것을 나타낸다. 분리된 LAL은 더 이상 분해되지 못하고 분백으로 유입된다(53).

LAL의 대사

Finot 등(57)은 rat, mouse, hamster, quail 등을 대상으로 구강으로 ^{14}C -LAL를 식이와 함께 섭취시킨 후 LAL의 체내 체류 기간을 측정하였다. 모든 실험동물에서 ^{14}C -LAL은 장으로 흡수되었고, 섭취 후 24시간 뒤 뇌, 폐, 간 및 눈물과 침, 땀, 장벽 등에서는 단지 소량만이 검출되었으며, LAL은 장내 미생물 또는 장기관에서 대사되어 $^{14}\text{CO}_2$ 로 약 12% 가량 호흡을 통해 배출되었다. 24시간 뒤 활성의 8~30%만이 동물 체내에 잔류하였는데, 이의 대부분이 신장에서 특히 근위 세뇨관의 운상감상부(pars recta)에서 발견되었다. Kim(58)은 인간의 신장균질물에 LAL을 혼합하여 37°C에서 5~21시간 배양시켰을 때 15~26%의 LAL이 재검출되었으나 lysine 함량에는 변화가 없었다고 보고하였다. 이는 LAL이 인간의 신장에서 효소에 의해 분해될 수 있음을 의미한다. Robbins 등(59)은 닭의 신장에서 LAL이 alkyllysinease에 의해 lysine으로 분해됨을 발견하였고, Kim(58)의 쥐 실험에서도 일부 lysine으로 분해되는 것으로 나타났다. 이들 일련의 결과들은 lysine이 LAL의 대사산물 가운데 하나임을 뜻한다. LAL이 생체조직에서 어느 정도 lysine으로 이용될 수 있는지 Sternberg와 Kim(60)은 여러 미생물(특히 세균)을 가지고 실험하였다. 이때 성장을 위해 lysine을 필요로 하는 *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*와 *Aspergillus niger*의 돌연변이형은 모두 LAL을 lysine원으로 사용할 수 있었으나, 쥐와 mouse는 사용 못하는 것으로 나타났다. 닭에서는 LAL을 일부($38 \pm 13\%$) lysine원으로 이용되는 것으로 나타났다(59). 이들 결과로 볼 때 LAL을 분해하여 lysine을 유리시키는 정도의 차이는 분해효소 alkyllysinease 또는 ϵ -N-methyl-lysine-demethylase의 존재 여부와 관련

있다(8,58).

LAL의 독성

1967년과 1969년에 Woodard와 Short(61)는 공업적으로 생산된 대두단백추출물(SPI)을 일정기간 섭취한 쥐의 신장에 나타난 조직의 변화를 보고하였다. 신장 변화의 초기에는 주로 피질의 부분에서 나타났고, 그 후 근위 세뇨관의 운상감상부 세포내에 DNA 함량이 증가하여 핵분열이 증가되었음을 보고하였다. 이들은 이 현상이 콩 단백질의 알카리처리 과정 중에 생성된 LAL에 의한 것임을 밝혀내고, LAL을 쥐에서 신장낭종 증대현상(nephrocytomegaly)을 유발하는 독성물질로 규정하였다. 그 후 여러 연구자들이 LAL의 독성에 관해 연구되었는데 Groot와 Slump(62)는 Woodard 등(63)과 같은 시료로 실험한 결과 쥐의 신장에서 석회화 현상은 발견하였으나 신장낭종증대현상은 찾지 못했다. 후에 free LAL로 한 실험에서는(54) cytomegaly현상을 증명하였다. 이런 모순된 결과들을 Gould와 MacGregor(63) 그리고 Finot(8)은 사료의 기타 여러 성분의 차이와(LAL함유한 oligopeptide, amino acid 종류, 당질, 무기질 등) LAL의 이성체간의 생물학적 활성의 차이에 기인하는 것으로 보고 있다. 그러나 여러 종류의 동물을 대상으로 실험한 결과 cytomegaly 증상은 지금까지 쥐에서만 나타났고, mouse 실험에선 10,000ppm까지 유리 LAL을 높여서 식이에 공급했을 때 아주 약한 정도의 증후를 보였다.

LAL이 무기질과 복합물을 만든다는 많은 보고들이(63-66) 있는데, 이로 인해 미량원소의 흡수와 이용에 큰 영향을 주는 것으로 나타났다. 이는 LAL이 3개의 아미노기와 2개의 carboxyl기를 갖고 있어 구조적으로 ethylene diamine tetra acetic acid(EDTA)와 유사하여 무기질과 복합체를 형성하는 특성을 지니기 때문이다. 따라서 LAL은 metalloenzyme인 carboxypeptidase A, B 및 alcohol-dehydrogenase로 부터 active center내의 Zn^{++} 를 완전히 불활성화 시킬 수 있다. LAL 농도가 5~8mM 일 때 pH 6.2~6.8 사이에서 이 효소의 작용을 완전히 방해하는 것으로 나타났다(65). Friedman와 Pearce(67)는 알카리 처리되어 LAL을 함유한 식이 단백질(casein, lactalbumin, soyprotein isolate 등)도 유리 LAL과 같은 영향을 주어 Zn 함유한 carboxypeptidase A, Cu 함유한 tyrosinase 그리고 Fe 함유한 cytochrom C 등의 효소를 불활성화 시켰다고 보고하였다. 이런 효소의 불활성화는 1) 식이 단백질의 체내소화의 저하 2) 식이내 필수 미량 원소의 흡수 방해 3) LAL의 epithelial cell내 축적

및 4) 쥐에서 신독성(nephrotoxicity)을 유발시키는 원인이 된다고 Friedman과 Pearce (67)는 고찰하였다.

또한 LAL의 기타 영양가 감소에 미치는 원인으로 Friedman 등(52)은 a) LAL의 아미노산 흡수 방해 작용, b) 단백질 합성에서 lysine과 기타 아미노산과 경쟁적으로 작용하며 c) lysine catabolism의 강력한 저해제로써(LAL이 α -ketoglutarate와 반응하므로) lysine에서 saccharopine(중요한 lysine대사의 중간 산물)으로의 전환을 방해하는데 기인한다고 주장하였다. 그러나 이 가설을 입증하기 위해선 아직 더 많은 연구가 필요하다.

Fructoselysine의 영양 생리적 특성

FL의 분해와 흡수

In vitro 실험에서 lysine의 ϵ -amino기에 결합된 fructose는 trypsin과 carboxypeptidase를 방해하는 것으로 나타났다(37,68). 때문에 fructoselysine의 단백질 분자에서의 분리는 어렵고, 단백질의 일반적인 소화율은 떨어지게 된다. 쥐 실험에서 FL은 소화관내에서 약 30~40% 정도 단백질 분자에서 분리되고, FL자체는 소화관내 또는 조직내 효소에 의해 더 이상 분해되지 않았다(69). 그러므로 조직내에서 이용될 수 없는 것으로 나타났다(44,59,68), 이는 성장기 쥐를 이용한 동물실험에서 열 손상을 받은 분유의 단백질 질이 lysine을 보충하자 향상된 결과를 통해 입증되었다(70). 한편 고등동물의 장내내 미생물들은 FL-복합체를 분해 할 수 있어 분해시 생성되는 ammonia가 장내 미생물의 단백질 합성에 이용되거나 조직으로 흡수되는 것으로 보고되었다(32). ^{14}C -labeled FL를 통한 연구에서(70) FL은 확산을 통해 장흡수되므로 lysine 보다 훨씬 늦은 속도로 문맥에 도달하며, 또한 쥐의 소장을 분리하여 everted sac-

method로 실험한 결과 FL은 능동수송될 가능성은 완전히 배제되었다(78). Finot(37)에 의하면 섭취된 lactuloselysine은 10% 미만만 소화, 흡수되며 FL존재시 threonine, proline, glycine의 흡수율 또한 감소되었다. Methionine과 lysine의 흡수율은 FL에 영향받지 않았으나(71), ^{14}C -FL에 lysine을 첨가하자 신장을 통한 lysine의 배설은 증가하였다(72). 이는 신장에서 lysine의 재흡수율이 FL에 의해 방해 받음을 시사한다. FL 존재가 glucose의 수송체계에 전혀 영향을 주지 않았다(71).

FL의 대사

FL은 문맥을 거쳐 간과 말초 순환계에 이른다. ^{14}C -FL을 이용한 연구에서 FL은 간과 근육세포로 흡수되고 부신피질에선 축적되는 것으로 나타났다(70). FL은 mucopolysaccharide chain의 acid기나 미소용모(brush border)의 지질층에 축적되는 성질이 있기 때문에 신장을 통한 배설은 천천히 이루어진다(73). FL의 대사에 관한 연구의 결과가 Table 3에 요약되었다.

FL의 배설은 변화받지 않은 상태로 비교적 빠른 시간내에 소변으로 배설된다(25). ^{14}C -FL-protein의 구강 섭취 후 $^{14}\text{CO}_2$ 가 호기 gas중에서 검출되었는데(68,70), 이는 소화되지 못한 FL이 대장의 미생물에 의해 분해되었음을 뜻한다. 기타의 당과 아미노산 복합체들도 같은 대사의 결과를 보이고 있는데, fructosephenylalanine 경우 쥐와 조류에서 phenylalanine원으로 이용되지 못하고(75), fructosemethionine 경우도 쥐에서 전혀 이용되지 못하는 것으로 나타났다. 장에서 확산에 의해 흡수된 FL은 소변 통해 배설된다. 간과 신장 조직에는 축적된 확산에 의해 들어간다.

Fructosemethionine을 microorganism으로 실험한 결

Table 3. Overview of the studies on fructose lysine (FL) metabolism

	FL-excretion		Decomposition by intestinal flora ($^{14}\text{CO}_2$)	Storage in liver	Reference
	Urine	Feces			
<u>Free FL</u>					
Rats					
ϵ -FL (intravenous)	64	12.4	+		68
ϵ - ^{14}C -FL ("	80	0.8	2.6	0.9	70
ϵ -fructose- ^{14}C -lysine (oral)	29	0.6	34	3.2	68
<u>Protein-bound-FL</u>					
Rats					
Fructose- ^{14}C -lysine (casein)	4~15	2~24			68
	27		17	2	69
ϵ -FL (oral)	22	1.0	47		
Infants	9.7	1.5			25
Adults	16	55			74
	2.7	1.0	96.3 (?)		25

과 (76) methionine과 비교해서 약 80%의 성장율을 보였다. Fructoseglycine은 단지 적은 양만 간과 신장피질 조직으로 흡수되고 근육조직으로는 흡수되지 않으며 (90), glycine과 비교해 68%의 microorganism 성장율을 보였다 (76). Fructosetryptophan도 쥐의 대장내 flora에 의해 분해되며, 호흡에서 발견된 radioactivity는 1% 정도였으며, 소장에서 흡수된 것은 더 이상 대사되지 못하고 소변으로 배설되었다 (77).

Fructoseleucine은 leucine과 비교할 때 60% 까지 흡수되었다 (78). 한편 *Escherichia coli*를 사용한 미생물학적 방법에 따른 실험에서 FL은 lysine원으로 이용될 수 있었다 (7).

인체에서의 FL-대사를 다룬 논문은 적은데, 유아를 대상으로 연유를 사용한 실험에서 (74) 유아는 FL을 거의 이용하지 못하며, 대장에서도 분해되지 않는 것으로 나타났다. Hurrell (79)의 보고에서 미숙아의 경우 섭취된 lactuloselysine의 3%만 소변에 나타났는데, 그는 이의 신장에서의 재흡수나 배설은 섭취한 양에 크게 영향을 받는다고 하였다. 성인을 대상으로 한 실험에서 (25) 최대 약 3.5%의 FL가 소변으로 배설되었으므로 95% 가량은 대장의 flora에 의해 분해되었을 것으로 사료된다. 아직까지 보고된 연구들에 의하면 FL은 인체나 쥐에서는 lysine으로 이용될 수 없다.

FL의 영양생리적으로 불리한 측면

식품내 Maillard 반응물질의 생리적 영향은 (80) a) 구성 성분인 lysine의 질적 감소, b) 식이 단백질이 Maillard 반응산물들의 영향을 받아서 대사의 변화가 나타나고, 또한 c) 단백질이 기능적인 면에서 변화를 받는다는 것이다. 지금까지 연구된 amino acid와 protein-sugar complex의 생리적 효과에 관한 연구들의 결과를 Table 4에 요약하였다.

여러 연구자들은 Maillard 반응이 일어난 단백질들의 경우 쥐실험에서 생물가, 성장율(체중 증가율)과 PER값의 저하가 있음을 보고하였다. 이는 Maillard 반응산물의 존재시 소화율과 필수아미노산의 이용율이 감소되기 때문이다. 또한 Finot (80)은 식이섭취가 맛에 의해서가 아니라 식이의 질에 의해서 조절되기 때문에 식이섭취가 감소하였다고 하였고, 한편 몇 연구자 (31,81)는 Maillard 반응에 의해 형성된 부수물질이 체대사에 부정적인 영향을 주고 심지어 독성을 지닐 수 있다고 추측하였다. Adrian (31)은 신장의 비대(nephrohypertrophy), 약간의 간의 비대(liver hypertrophy), 높은 태아사망율을 보고하였다. 그러나 다른 연구자들 (44,94,95) 은 쥐

의 성장 실험에서 독성의 증후를 발견하지는 못했다. Stegink 등 (88)과 Freeman 등 (96)은 어린아이에게 장기간에 걸친 비경구적 영양을 실시할 때 나타나는 미량원소의 결핍현상이, 주입액을 열살균처리시 생기는 아미노산과 당의 복합체 때문이라고 보고 있다. 이때 수분의 손실 증가와 아미노산과 당의 복합체의 소변배설 증가, 그리고 건강하거나 환자인 어린이와 성인 모두의 경우 Zn의 배설이 2~5배 증가되고 Cu와 Fe 배설도 증가됨을 보고하였다. Finot (80)은 소변내 Zn의 배설과 FL의 배설 사이에 높은 상관관계를 발견하였고, 이는 Stegink 등 (88)의 가정을 뒷받침하였다. Intestinal flora에 대한 Maillard 반응산물의 부정적 영향 또한 생각할 수 있다. 아미노산과 당의 복합체와 함께 소화안된 건

Table 4. List of the different physiological effects described with the amino acid- and protein-sugar model system (modified from Finot (80))

Physiological effects	Complex		Reference
	Amino acid + sugar	protein + sugar	
Growth inhibition	+	+	31
(Food intake,		+	41
Food efficiency)	+	+	81
		+	82, 25
Organ hypertrophy	+		81
(Stomach cecum,	+	+	81
liver, kidney)		+	82
Cellular change		+	70
(in kidney)			
Intestinal enzyme			
-Protease	+		31
-Disaccharidase	+	+	81
	+		83
-Aminopeptidase	+		83
Pancreas enzyme	+		84
		+	85
Hepatic drug metabolizing enzymes		+	86
Serum transferase alkaline phosphatase		+	81
Amino acids resorption	+		81,69
Protein digestibility	+		31
		+	2,39,25
Diarrhea	+		81
		+	87
Mineral metabolism			
Ca	+		31, 84
Ca, Mg, Cu	+		88
Zn	+		91
		+	89
Allergy, skinreactivity		+	90
Cholesterol metabolism	+		91
Antioxidative effect	+	+	92
Antibacterial effect	+		93

peptide chain들이 소화관 아랫부분에 오면 장내 세균에 의해 탈아미노화, 휘발성 지방산류를 형성하여, 장의 환경을 변화시켜고 소화를 방해하여 쥐와 소 등에서 설사를 유발시켰다는 보고가 있다 (81,87).

Wostmann 등(97)은 열 손상된 lactose-casein 식이의 투여가 대변에 담즙산의 배설 형태를 변화시킨다고 하였다. 이들은 구강투여된 항생제의 작용과 유사하게 grampositive bacteria의 성장을 방해하고 변화를 초래하는 것으로 나타났다. 지금까지 진행된 연구결과에서 Maillard 반응에 의해 생기는 수많은 물질 중 어떤 물질이 나타나는 생리적 현상에 직접적 원인을 제공하는가는 아직 불분명하다. 이때 생물학적으로 활성이 있는 물질들은 Maillard 반응의 초기단계에서 생성되는 물질일 것으로 추측되고 있다. Adrian의 연구에 의하면 (31), 쥐의 성장 실험에서 Maillard 반응에서 갈변이 진행될수록 부정적인 영향은 오히려 감소되었다. 즉, 비용해성 melanoidine은 생리적으로 활발치 못하였다. 생리적으로 활성있는 물질을 밝히기 위해서는 각각의 당-아미노산-복합체가 동물 체내에 미치는 영향을 연구하는 것이 필수적이다.

Johnson 등(98)은 조류를 대상으로 radioactive labeled된 phenylalanine과 fructose-phenylalanine을 투여하였고, 이들의 간에서 단백질 합성에 phenylalanine의 이용이 대조군에 비해 현저히 떨어지는 것을 발견하였다. 이들은 조류의 체내에서 fructosephenylalanine은 대사되고, 대사시 생긴 대사산물이 간 단백질의 합성에 영향을 미친다고 결론내렸다. FL은 Ames-test에서 돌연변이원이 아닌 반면 (7), premelanoidine과 melanoidine이 돌연변이원으로 활성이 있었다 (80). 따라서 FL이 동물 체내에 독성이 있음을 증명할 뚜렷한 증거는 아직 없다고 볼 수 있다.

요 약

식품의 가공처리나 저장 중에 단백질에 결합된 아미노산의 side chain이 상호간 또는 식품내 다른 분자들과 화학적으로 반응할 수 있다. 이 반응으로 아미노산의 구조적 파괴, racemization, 단백질간의 상호작용들, 또한 환원성 당과, 산화제 및 polyphenol류와의 결합을 들 수 있다. 이들 중 Maillard 반응(예 ; fructoselysine)과 아미노산 간의 cross-linking(예 ; lysinoalanine)에 의한 반응이 주를 이룬다. 이때 가장 영향을 받는 아미노산이 lysine으로, 이는 lysine이 기능성 유리 ε-amino group을 갖고 있기 때문이다. 일반적으로 아미노산의 derivatives나

polypeptides내 cross-links는 단백질의 체내 이용율과 소화율을 감소시켜 단백질 식품의 품질을 떨어뜨린다. 본 논문에서는 식품내의 lysinoalanine과 fructoselysine의 형성과 관련된 기술적, 분석적, 영양적 그리고 생리적인 문제들에 관하여 문헌고찰하였다. 결론적으로 식품내 이들의 존재가 여러가지 영향을 체내에서 미칠 수 있으나 정상 성인에게는 전혀 위험한 물질이 아님을 알 수 있었다. 그러나 제한된 formular foods를 주로 먹는 유아에게는 성장에 lysine이 필수적이므로 lysine 손상을 통한 단백질의 질 저하는 대단히 중요한 의미를 지닌다. 따라서 유아식의 가공처리와 저장에 주의를 해야 할 필요가 있다고 본다.

문 헌

1. Erbersdobler, H. F. : Protein utilization and amino acid availability in milk products after technological treatment. *Kieler Milchwirtschaftl Forsch-ber.*, 35, 301 (1983)
2. Mauron, J., Mottu, F., Bujard, E. and Egli, R. H. : The availability of lysine, methionine, tryptophane in condensed milk and milk powder : *In vivo* digestion studies. *Arch Biochem Biophys.*, 59, 433 (1955)
3. Hurrell, R. F. and Carpenter, K. J. : Nutritional significance of crosslink formation during food processing. In "Protein crosslinking, nutritional and medical consequences" Friedman, M. (ed.), Plenum, New York, 86B, 225 (1977)
4. Waibel, P. E. and Carpenter, K. J. : Mechanisms of heat damage in proteins : 3. Studies with ε-(r-L-glutamyl)-L-Lysine. *Br. J. Nutr.*, 27, 509 (1972)
5. Finot, P. A., Magnenat, E., Mottu, F. and Bujard, E. : Disponibilit  biologique et transit m tabolique des acides amines modifi s par les traitements technologiques. *Ann. Nutr. Aliment.*, 32, 325 (1978)
6. Anderson, T. R. : Assessment of lysine damage during food processing. *Ph. D. Thesis*, University Natal, Pietermaritzburg (1985)
7. Mauron, J. : The Maillard reaction in food : A critical review from the nutritional standpoint. *Prog. Fd. Nutr. Sci.*, 5, 5 (1981)
8. Finot, P. A. : Lysinoalanine in food proteins. *Nutr. Abs. Rev.*, 53, 67 (1983)
9. Maillard, L. C. : Action des acides amines sur les sucres. ; Formation des Melanoldines par voie m thodologique., *C. R. Acad. Sci.*, 154, 66 (1912)
10. De Koning, J. P. and Rooijen, P. J. : Aspects of the formation of lysinoalanine in milk and milk products. *J. Dairy Research*, 49, 725 (1982)
11. Annan, W. D. and Manson, W. : The production of lysinoalanine and related substances during processing of proteins. *Food Chem.*, 6, 255 (1981)
12. Bohak, Z. : N^c-(DL-2-amino-2-carboxylethyl)-L-lysine, a new amino acid formed on alkaline treatment

- of proteins. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2878(1964)
13. Ziegler, K. L. : Preliminary communications : New crosslinks in alkali-treated wool. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2713 (1964)
 14. Patchornik, A. and Sokolowski, M. : Chemical interactions between lysine and dehydroalanine in modified bovine pancreatic ribonuclease. *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 1860(1964)
 15. Pintauro, S. J., Philipposian, G. and Finot, P. A. : Lysinoalanine : absence of mutagenic response in the salmonella mammalian-microsome mutagenicity assay. *Food Chem. Toxic.*, **23**, 763(1985)
 16. Liardon, R., Friedman, M. and Philipposian, G. : Racemization kinetics of free and protein-bound lysinoalanine in strong acid media ; Isomeric composition of bound lysinoalanine in processed proteins. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 531 (1991)
 17. Dworschak, E., Orsi, F., Zsigmond, A., Trezl, L. and Rusznak, I. : Factors influencing the formation of lysinoalanine in alkali treated proteins. *Nahrung*, **25**, 441 (1981)
 18. Erbersdobler, H. F. and Holstein, A. B. : Untersuchungen über vorkommen und bildung von lysinoalanin in milchprodukten ; 1. Mitteilung. *Milchwiss.*, **35**, 734 (1980)
 19. Friedman, M. : Protein-alkali reactions : chemistry, toxicology and nutritional consequences. In "Nutritional and toxicological aspect of food safety" Friedman, M., Gumbmann, M. R. and Masters, P. M. (eds.), Plenum, New York, p.367 (1984)
 20. Erbersdobler, H. and Trautwein, E. : Lysinoalanin-indikator der proteinschädigung oder toxischer lebensmittelbestandteil. *Ernährungs-Umschau*, **31**, 147 (1984)
 21. Fritsch, R. J. : Lysinoalanin-analytik, entstehen und vorkommen in milcheiwei ßhaltigen lebensmitteln. *Ernahr/Nutr.*, **8**, 532 (1984)
 22. Fritsch, R. J. and Klostermeyer, H. : Bestandsaufnahme zum vorkommen von lysinoalanin in milcheiwei ßhaltigen lebensmitteln. *Z. für Lebensm. Unters. Forsch.*, **172**, 440 (1981)
 23. Antila, P., Pallinen, E. and Antila, V. : The formation and determination of lysinoalanine in foods containing milk protein. *Meijeritieteellinen Aikakauskirja*, **1**, 1 (1987)
 24. Bundesgesundheitsblatt : Lysinoalanin in hitzebehandelten milcherzeugnissen : Säuglingsmilchfertigernahrung. *Bundesgesundheitsblatt*, **29**, 166 (1986)
 25. Lee, K. H. : Untersuchungen zur bilanzierung des proteins sowie des fructoselysins und des lysinoalanins bei hitzebehandeltem casein an ratten mit der homocystein-technik und an menschen. *Ph. D. Thesis*, University Kiel, Germany (1992)
 26. Sternberg, M., Kim, C. Y. and Plunkett, R. A. : Lysinoalanine determination in proteins. *J. Food Sci.*, **40**, 1168 (1975)
 27. Erbersdobler, H. F. and Hupe, A. : Determination of lysine damage and calculation of lysine bioavailability in several processed foods. *Z. Ernährungswiss.*, **30**, 46 (1991)
 28. Struthers, B. J., Brielmaier, J. R., Raymond, M. L., Dahlgren, R. R. and Hopkins, D. T. : Excretion and tissue distribution of radioactive lysinoalanine, N-ε-DL-(2-amino-2-carboxyethyl)-U-¹³C-L-lysine (LAL) in Sprague-Dawley rats. *J. Nutr.*, **110**, 2065 (1980)
 29. Hodge, J. E. : Chemistry of browning reactions in model systems. *Agric. Food Chem.*, **1**, 928 (1953)
 30. Görnhardt, L. : Die nichtenzymatische bräunung von lebensmitteln I. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **57**, 270 (1955)
 31. Adrian, J. : Nutritional and physiological consequences of the Maillard reaction. In "World Rev Nutr Diet" Bourne, G. H. and Atlanta, G. A. (eds.), Krager, Basel, **19**, 71 (1974)
 32. Erbersdobler, H., Gunsser, I. and Weber, G. : Abbau von fruktoselysin durch die darmflora. *Zentralblatt Vet. Med. A*, **17**, 573 (1970)
 33. Klostermeyer, H., Herlitz, E., Jurgens, R. H., Reimerdes, E. H. and Thomason, J. : Lactasebehandlung von magermilch zur herstellung lactosereduzierten magermilchpulvers. *Kieler Milchwirtsch. Forschungsber.*, **30**, 295 (1978)
 34. Kuhn, R. and Weygand, F. : Die amadori-umlagerung. *Ber. Deuts. Chem. Gesells.*, **70**, 769 (1937)
 35. Heyns, K., Heukeshoven, J. and Borse, K. H. : Der abbau von fructose-aminosäuren zu N-(2-Furoylmethyl) aminosäuren ; Zwischen-produkte von braunungsreaktionen. *Angew. Chem.*, **80**, 627 (1968)
 36. Finot, P. A., Bujard, E., Mottu, F. and Mauron, J. : Availability of the true Schiff's bases between lysine and lactose in milk. In "Protein crosslinking, nutritional and medical consequences" Friedman, M. (ed.), Plenum, New York, **86B**, 343 (1977)
 37. Finot, P. A. : Non-enzymatic browning. In "Proteins in human nutrition" Porter, J. W. G. and Rolls, B. A. (eds.), Academic Press, New York, p.501 (1973)
 38. Hurrell, R. F. and Carpenter, K. J. : The estimation of available lysine in foodstuffs after Maillard reactions. *Prog. Food Nutr. Sci.*, **5**, 159 (1981)
 39. Erbersdobler, H. : Zur schädigung des lysins bei der herstellung und lagerung von trockenmilch. *Milchwiss.*, **25**, 280 (1970)
 40. Finot, P. A. and Mauron, J. : Le blocage de la lysine par la reaction de Maillard ; II. Proprietes chimiques des derives N-(desoxy-1-D-fructosyl-1) et N-(desoxy-1-D-lactulosyl-1) de la lysine. *Helvetica Chimica Acta*, **55**, 1153 (1972)
 41. Möller, A. B., Andrews, A. T. and Cheeseman, G. C. : Chemical changes in ultra-heat-treated milk during storage ; II. Lactuloselysine and fructoselysine formation by the Maillard reaction. *J. Dairy Res.*, **44**, 267 (1977)
 42. Bujard, E. and Finot, P. A. : Mesure de la disponibilite et du blocage de la lysine dans les laits industriels. *Ann. Nutr. Aliment.*, **32**, 291 (1978)
 43. Hartkopf, J. and Erbersdobler, H. F. : Stability of furosine during ion-exchange chromatography in comparison with reversed-phase high performance liquid chromatography. *J. Chromatography*, **635**, 151 (1993)
 44. Erbersdobler, H. F. : Twenty years of furosine-better kno-

- wledge about the biological significance of Maillard reaction in food and nutrition. In "Aminocarbonylreaction in food and biological systems" Fjimaki, M., Namiki, M. and Kato, H. (eds.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p.481 (1986)
45. Klostermeyer, H. : Neues zur frühen Maillard-Reaktion. *Monatsschr. für Brauwiss.*, **39**, 231 (1986)
 46. Henle, T., Walter, H. and Klostermeyer, H. : Evaluation of the extent of the early Maillard reaction in milk products by direct measurement of the Amadori-product lactuloselysine. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **193**, 119 (1991)
 47. Hurrell, R. F. and Finot, P. A. : Storage of milk powders under adverse conditions : Losses of lysine and of other essential amino acids as determined by chemical and microbiological methods. *Br. J. Nutr.*, **49**, 243 (1983)
 48. Sulser, H. and Buchi, W. : Abbauprodukte von fructoselysine in pflanzlichen trockenlebensmitteln und in einem modellgemisch nach thermischer behandlung. *Lebensm. Techn.*, **2**, 105 (1969)
 49. Eichner, K. and Wolf, W. : Produkte der Maillardreaktion als leitsubstanzen zur steuerung der trocknung pflanzlicher lebensmittel. *Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.*, **37**, 91 (1983)
 50. Steinig, J. and Montag, A. : Studien über veränderungen des lysins im nahrungsprotein. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **174**, 453 (1982)
 51. Harmuth-Hoene, A. E. : The effect of non-protein food contents on the nutritive value of radiation-sterilized casein. *Intern. J. Vitamin Nutr. Res.*, **46**, 348 (1976)
 52. Friedman, M., Zahnley, J. C. and Masters, P. M. : Relationship between *in vitro* digestibility of casein and its content of lysinoalanine and D-amino acids. *J. Food Sci.*, **46**, 127 (1981)
 53. Abe, K., Arai, H., Homma, S., Fujimaki, M. and Arai, S. : Peptide bound lysinoalanine absorbed and transported to the kidney ; Observation in a feeding test with rats. *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 1921 (1981)
 54. De Groot, A. P., Slump, P., Feron, V. J. and Van Beek, L. : Effects of alkali treated proteins ; Feeding studies with free and protein bound LAL in rats and other animals. *J. Nutr.*, **106**, 1527 (1976)
 55. Chung, S., Swaisgood, H. E. and Catignani, G. L. : Effects of alkali treatment and heat treatment in the presence of fructose on digestibility of food proteins as determined by an immobilized digestive enzyme assay. *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 579 (1986)
 56. Struthers, B. J., Dahlgren, R. R. and Hopkins, D. T. : Biological effects of feeding graded levels of alkali-treated soybean protein containing lysinoalanine (N⁶-2-(carboxyethyl)-L-lysine) in Sprague-Dawley and Wistar rats. *J. Nutr.*, **107**, 1190 (1977)
 57. Finot, P. A. : Metabolic transit of lysinoalanine bound to protein and of free radioactive ¹⁴C-lysinoalanine. In "Protein crosslinking, nutritional and medical consequences" Friedman, M. (ed.), Plenum, New York, **86B**, 51 (1977)
 58. Kim, C. Y. : Processing of foods with heat or alkali to improve texture, palatability and digestibility may cause the formation of lysinoalanine. Paper at the Inter. Food Congress, Kyoto, Japan (1978)
 59. Robbins, K. R., Baker, D. H. and Finley, J. W. : Studies on the utilization of lysinoalanine and lanthionine. *J. Nutr.*, **110**, 907 (1980)
 60. Sternberg, M. and Kim, C. Y. : Enzymatic release of lysinoalanine from proteins and its utilization by lysine dependent microorganisms. Paper at the Inter. Food Congress, Kyoto, Japan (1978)
 61. Woodard, J. C. and Short, D. D. : Toxicity of alkali-treated soyprotein in rats. *J. Nutr.*, **103**, 569 (1973)
 62. De Groot, A. P. and Slump, P. : Effects of severe alkali treatment of proteins on amino acid composition and nutritive value. *J. Nutr.*, **98**, 45 (1969)
 63. Gould, D. H. and Macgregor, J. T. : Biological effects of alkali-treated protein and lysinoalanine ; An overview. In "Protein crosslinking, nutritional and medical consequences" Friedman, M. (ed.), Plenum, New York, **86B**, p.29 (1977)
 64. Pettit, L. D. and Hefford, R. J. W. : Stereoselectivity in the metal complexes of amino acids and dipeptides. In "Metal ions in biological systems" Sigel, H. (ed.), Marcel Ekker, New York, p.5 (1979)
 65. Hayashi, R. : Lysinoalanine as a metal chelator : An implication for toxicity. *J. Biol. Chem.*, **257**, 13896 (1982)
 66. Kawamura, Y. and Hayashi, R. : Lysinoalanine-degrading enzymes of various animal kidneys. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2289 (1987)
 67. Friedman, M. and Pearce, K. N. : Copper(II) and Cobalt (II) affinities of LL- and LD-LAL diastereomers ; Implications for food safety and nutrition. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 123 (1989)
 68. Finot, P. A. and Magnenat, E. : Metabolic transit of early and advanced Maillard products. *Prog. Food Nutr. Sci.*, **5**, 193 (1981)
 69. Erbersdobler, H. : The biological significance of carbohydrate-lysine crosslinking during heat treatment of food proteins. In "Protein crosslinking, nutritional and medical consequences" Friedman, M. (ed.), Plenum, New York, **86B**, 367 (1977)
 70. Erbersdobler, H. F., Brandt, A., Scharrer, E. and Von Wangenheim, B. : Transport and metabolism studies with fructose amino acids. In "Maillard-reaction in food" Eriksson, C. (ed.), Pergamon Ltd., Oxford, p.257 (1981)
 71. Summer, F. : Beeinflussung des intestinalen aminosäuren und monosaccharid transports durch α -Fructoselysine. *Ph. D. Thesis*, University Munchen, Germany (1976)
 72. Sherr, B., Lee, C. M. and Jelesiewicz, C. : Absorption and metabolism of lysine Maillard products in relation to utilization of L-lysine. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 119 (1989)
 73. Ullrich, K. J. : "Anatomie" eines Epithels ; analyse des stofftransportes durch den proximalen nierentubulus. *Naturwiss.*, **60**, 290 (1973)
 74. Niederwieser, A., Giliberti, P. and Matasovic, A. : N⁶-(L-Desoxy)-fructosyl-lysine in urine after ingestion of a lactose free, glucose containing milk formula. *Pediatric Research*, **9**, 867 (1975)

75. Perkins, E. G., Baker, D. H., Johnson, G. H. and Makowski, E. : The metabolism of fructose-phenylalanine in the rat. *Prog. Food Nutr. Sci.*, **5**, 229 (1981)
76. Brandt, A. : Untersuchungen zum transport von fructose-aminosäuren ; Ein beitrag zur ernährungsphysiologischen charakterisierung der Maillard-Reaktion. *Ph. D. Thesis*, Universität Göttingen, Germany (1978)
77. Tanaka, M., Lee, T. C. and Chichester, C. O. : Nutritional consequences of Maillard reaction ; The absorption of fructose-L-tryptophan in the large intestine of the rat. *J. Nutr.*, **105**, 989 (1975)
78. Sgarbieri, V. C., Amaya, J., Tanaka, M. and Chichester, C. O. : Nutritional consequences of the Maillard reaction ; Amino acid availability from fructoseleucine and fructosetryptophane in the rat. *J. Nutr.*, **103**, 657 (1978)
79. Hurrell, R. F. : Influence of the maillard reaction on the nutritional value of foods. In "The Maillard Reaction in Food Processing and Human Nutrition and Physiology" Finot, P. A., et al. (eds.), Birkhauser, Basel, p.245 (1990)
80. Finot, P. A. : Metabolism and physiological effects of Maillard reaction products. In "The Maillard Reaction in Food Processing and Human Nutrition and Physiology" Finot, P. A., et al. (eds.), Birkhauser, Basel, p.259 (1990)
81. Kimiager, M., Lee, T. C. and Chichester, C. O. : Long-term feeding effects of browned egg albumin to rats. *J. Agric. Food Nutr. Sci.*, **5**, 243 (1980)
82. Westring, M. E. and Potter, N. N. : Rat feeding studies using unheated and heated mixtures of casein with fructose, glucose and fructos, and sucrose. *Nutr. Rep. Intern.*, **29**, 371 (1984)
83. Oste, R., Miller, R., Sjostrom, H. and Noren, O. : Effect of Maillard reaction products on protein digestion studies on pure compounds. *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 938 (1987)
84. O'Brien, J. and Morrissey, P. A. : Nutritional and toxicological aspects of the Maillard browning reaction in foods. *Critical Rev. in Food Sci. Nutr.*, **28**, 211 (1989)
85. Schneemann, B. O. and Dunaif, G. : Nutritional and gastrointestinal response to heated nonfat dry milk. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 477 (1984)
86. Pintauro, S. J. and Lucchina, L. A. : Effects of Maillard browned egg albumin on drug-metabolizing enzyme system in the rat. *Food Chem. Toxicol.*, **25**, 369 (1987)
87. Lakssevela, B., Slagsvold, P. and Lansverk, T. : Indigestion in young calves ; 3. The influences of powders from heat-treated skim milk and whey. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **19**, 159 (1978)
88. Stegnik, L. D., Freeman, J. B., Den Bestein, L. and Filer, L. J. : Maillard reaction products in parenteral nutrition. In "Maillard reaction in food" Eriksson, C. (ed.), Pergamon Press, Oxford, p.265 (1981)
89. Furniss, D. E., Vuichoud, J., Finot, P. A. and Hurrell, R. F. : The effect of Maillard reaction products on zinc metabolism in the rats. *Br. J. Nutr.*, **62**, 739 (1989)
90. Bleumink, E. : Food allergy ; The chemical nature of the substances eliciting symptoms. In "World Review of Nutrition Dietetics" Bourne, G. H. and Atlanta, G. A. (eds.), Krager, Basel, **12**, 505 (1970)
91. Miura, M. and Gomyo, T. : Effect of melanoidin on cholesterol in plasma, liver and faces in rats fed a high cholesterol diet. In "The Maillard Reaction in Food Processing and Human Nutrition and Physiology" Finot, P. A. et al. (eds.), Birkhauser, Basel, p.291 (1990)
92. Chuyen, N. V., Utsunomiya, N., Hidaka, A. and Kato, H. : Antioxidative effect of Maillard reaction products in vivo. In "The Maillard Reaction in Food Processing and Human Nutrition and Physiology" Finot, P. A. et al. (eds.), Birkhauser, Basel, p.285 (1990)
93. Stecchini, M. L., Giavedoni, I. S. and Lericci, C. R. : Effect of Maillard reaction products on the growth of selected food poisoning microorganisms. *Letters Appl. Microbiol.*, **13**, 93 (1991)
94. Atkinson, J. and Carpenter, K. J. : Nutritive value of meat meals ; I. Possible growth depressant factors. *J. Sci. Food Agric.*, **21**, 360 (1970)
95. Bocter, A. M. and Happer, A. E. : Measurement of available lysine in heated and unheated foodstuffs by chemical and biological methods. *J. Nutr.*, **94**, 289 (1968)
96. Freeman, J. B., Stegink, L. D., Meyer, P. D., Fry, L. K. and Den Besten, L. : Excessive urinary zinc losses during parenteral alimentation. *J. Surg. Res.*, **18**, 463 (1975)
97. Wostmann, B. S., Beaver, M., Chang, L. and Madsen, D. : Effect of autoclaving of a lactose-containing diet on cholesterol and bile acid metabolism of conventional and germ-free rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**, 1999 (1977)
98. Johnson, G. H., Baker, D.H. and Perkins, E. G. : Nutritional implications of the Maillard reaction ; The availability of fructose-phenylalanine to the chick. *J. Nutr.*, **107**, 1659 (1977)

(1995년 6월 2일 접수)