

## DL-Phenylalanine의 수용액내 가공특성

- 연구노트 -

김인호<sup>†</sup> · 신지영 · 한대석 · 박용곤 · 김영언 · 이창호  
한국식품연구원

### Processing Properties of DL-Phenylalanine in Aqueous Solution

In-Ho Kim<sup>†</sup>, Ji-Young Shin, Dae-Seok Han, Yong-Kon Park, Young-Eon Kim and Chang-Ho Lee

Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

#### Abstract

DL-phenylalanine (DLPA) is known as an essential amino acid exhibiting opiate capacities by inhibiting the degradation of enkephalins. From the viewpoint of developing a drink containing DLPA, its solubility and stability in aqueous solutions were investigated at some processing conditions such as temperature and pH. When the solubility was analyzed by transmittance at 600 nm, the solutions containing DLPA of 0.1% to 2% showed transmittance over 98% above 60°C and over 99% at wide range of pH (3.0, 7.0, and 10.0). The valuable stability was also recognized through HPLC analysis for DLPA content, that is, 61-71% DLPA was still remained even after processing at high temperature and wide pH range, indicating the possibility of development of drink containing DLPA. Among flavors considered for the improvement of consumers' acceptability on drink, orange and amino acid flavors were superior to others. Microbial growth was not detected during 6-week storage after drink preparation.

**Key words:** DL-phenylalanine (DLPA), soluble stability, processing characteristics

#### 서 론

Phenylalanine은 필수아미노산으로 식욕억제, 체중감량에 영향을 주며 특히 인체 내 통증, 기분조절 관련 호르몬인 enkephalin, endorphine의 분해를 촉진하는 carboxypeptidase, aminopeptidase의 작용을 억제함으로써 민첩성, 온전한 생각 및 통증 완화 등에 도움을 줄 수 있다(1-3). 또한, phenylalanine은 사랑에 빠진 느낌을 재연하는 것으로 알려진 phenylethylamine(PEA)을 만들기 위해 인체가 사용할 수 있는 유일한 성분으로 알려져 있으며(4) 피부의 재생소화(repigmentation)를 촉진하여 백반으로 인한 하얀 반점을 감소시키는데 도움을 주어, 울병, 언어 장애, 사지 경직 및 도보 어려움 등과 같은 파킨슨병의 증상을 상당히 감소시켰다는 보고(5)도 있다. 방향족 아미노산인 phenylalanine은 자연계에서 거의 대부분 L형으로 존재하며 D형은 항생제 polypeptide의 구성요소로서 존재한다. 현재 식품산업은 고급화, 생체기능성, 안전성을 기초로 발전하고 있으며 생활 속에서 well-being을 넘어 사회적으로 Lifestyle of Health and Sustainability(LOHAS)까지 추구하고 있다. 현대인들은 일상생활에서 스트레스에 노출되어 있으나 스트레스 개선 및 기분전환을 주제로 한 가공품은 대중적으로 개발되어 있지

않아서 현대생활 기능성음료의 출현을 기대할 수 있다.

인체의 필수영양소인 아미노산이 함유된 □□아미노산 음료□□는 경기 침체 속에서도 매출이 증가하고 있어 2004년 500억 원 이상의 매출을 기록하였고 탄산음료와 과즙음료의 판매 감소와 비교되는 시장동향이다. 본 연구에서는 기분전환용 아미노산인 phenylalanine 가운데 수용액내 및 체내이용성에서 안정한(6) DL형을 소재로 하여 가공특성을 검토하고자 온도, pH, 농도별 DL-phenylalanine의 수용해성과 안정성을 조사하였고, 액상시료의 조성물에 대한 관능적 특성을 비교하였다.

#### 재료 및 방법

##### 실험재료

DL-phenylalanine(DLPA)은 (주)엔돌핀 F&B에서 제공하였으며 specific rotation은 -0.5~0.5 degree, 99.0% 순도의 백색분말 제품을 사용하였다. 제품 함유량은 0.20% 미만이며 철함량은 10 mg/kg 이내, 660 nm에서 흡광도는 0.015 미만 이었다.

음료 제조 시 사용한 향(포도향, 오렌지맛, 레몬맛)과 사과 농축액은 (주)삼정의 제품을 사용하였고 과당은 (주)삼양제

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: skihs@kfri.re.kr  
Phone: 82-31-780-9221, Fax: 82-31-780-9226

넥스 제품을 사용하였다. 구연산, Vit. C 등은 대항약품에서 구입하여 사용하였으며 그 외 시약은 분석용 시약급 이상을 사용하였다.

#### 처리별 DL-phenylalanine의 용해도 분석

수용액 중에서 DLPA의 용해 특성을 조사하기 위하여 용해지표로서 660 nm에서 투광도(transmittance, %T)로서 측정하였다. 농도, 온도 및 pH에 따른 용액의 transmittance (%T) 특성을 spectrophotometer(Jasco V-530, Japan)로 분석하였다. 이를 위해 20, 40, 60, 80, 100°C의 온도에서 DLPA를 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2% 농도로 녹여 %T를 비교하였고, pH에 따른 용해특성 분석을 위해 Clark and Lubs buffer(7) (pH 3.0, 7.0, 10.0)에 DLPA를 1%(10 mg/mL) 농도로 녹인 후 %T 값을 측정하였다.

#### 용해된 DL-phenylalanine의 안정성 분석

온도별(80°C, 100°C, 121°C autoclave), pH별(3.0, 7.0, 10.0) 조건에서 1%로 녹인 DLPA 수용액을 시료로 하였다. 시료는 완전 건조 후 5 mg을 vial에 취한 후 phenylisothiocyanate로 유도체화 시킨 다음, 이동상 A 용액(Table 1) 200  $\mu$ L에 녹여 원심분리시켰다. 그 후 분리된 상층액은 0.45  $\mu$ m membrane filter를 통과시킨 후 Table 1의 분석조건 하에서 HPLC로 그 함량을 분석하였으며 정량을 위해 표준 DLPA를 사용하였다.

#### DL-phenylalanine 함유 음료 시제품의 미생물 검사

음료를 4°C 냉장고에 보관하면서 미생물 검사를 실시하였다. 즉, 총 균수 분석을 위해 plate count agar(Difco, USA) 배지에 시료를 접종하고 37 $\pm$ 1°C에서 48 $\pm$ 3시간 동안 배양을 한 후 나타나는 colony를 계수하였다. *E. coli*/coliform 균의 확인은 petri film(MN 55144-1000, 3M사, USA)에 시료를 접종하고 37 $\pm$ 1°C에서 24 $\pm$ 3시간 동안 배양한 후 나타나는 colony를 계수하였다.

#### 관능평가 및 통계 분석

기호성 적합한 음료를 개발하기 위해 5종의 음료를 제조하

였다. 과일향 첨가 음료 3종(A, A-1, A-2), 시중 식품용 비타민향 첨가 음료(B), 약국용 비타민향 첨가 음료(C)에 대해 관능평가를 실시하였다. 식품용 향(삼정향료)은 0.1%(v/v), DL-phenylalanine은 0.1%(w/v), 당은 10%(w/v), 구연산은 0.2%(w/v)의 비율로 조성하였고 정제수로 100 mL까지 채운 후 용해하였다. 관능평가는 연령별로 훈련된 전문 관능요원 30명으로 하여금 시료에 대한 종합적인 기호도를 9점 척도로 평가하도록 하였으며 Duncan's multiple range test로 유의성(p<0.05)을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

#### DL-phenylalanine의 온도, 농도, pH 변화에 따른 용해 특성

온도 및 농도에 따른 DLPA의 수용액중에서의 용해도 특성을 비교하기 위해 각 용액의 transmittance(%T)를 분석하였다(Fig. 1).

온도 20°C에서 DLPA를 1.5%, 2% 농도로 용해시킬 경우에 %T 값은 각각 92.85 $\pm$ 0.29 및 61.24 $\pm$ 1.42로서 농도가 증가함에 따라 부분적으로 용해되지 않았으며 온도 40°C의 경우도 2% 농도의 DLPA는 95.43 $\pm$ 0.46%T로서 유사한 경향을 보였다. 반면 DLPA가 0.1%의 경우에는 용해온도 20°C~40°C에서 %T가 98.99 $\pm$ 0.65 및 98.08 $\pm$ 1.05이었으며, 2%의 경우 61.25 $\pm$ 1.42와 95.44 $\pm$ 0.47로 나타나 DLPA는 농도가 높을수록 %T 값은 감소하였다. 그러나 용해온도 60°C 이상에서는 DLPA가 0.1% 농도에서 2% 농도까지의 범위에서 %T가 98% 이상으로 높게 나타나 음료로의 가공에 적합한 것으로 나타났다. pH에 따른 용해 특성을 분석하기 위해 DLPA를 pH 3, 7, 10의 Clark and Lubs buffer 용액에 1% 농도로 용해시킨 다음 측정된 transmittance 값을 분석하였다. 그 결과, pH 3 용액의 경우 99.00 $\pm$ 0.05, pH 7 용액은

**Table 1. Conditions for HPLC analysis**

Column	Waters Symmetry C <sub>18</sub> (4.6 $\times$ 250 mm, 5 $\mu$ m)
Oven temp.	46°C
Detector	Variable wavelength detector HP 1100 series, 254 nm
Solvent	A) 1.4 mM NaHAc <sup>1)</sup> , 0.1% TEA <sup>2)</sup> , 6% CH <sub>3</sub> CN, pH 6.1 B) 60% CH <sub>3</sub> CN
Elution	Linear gradient of solvent B (0~100%)
Run time	50 min
Equil. time	10 min
Injection vol.	Standard 4 $\mu$ L, sample 2 $\mu$ L
Flow rate	1.0 mL/min

<sup>1)</sup>NaHAc: sodium acetate trihydrate.

<sup>2)</sup>TEA: triethylamine.

**Fig. 1. Transmittance of DL-phenylalanine solutions according to temperature and concentration.**

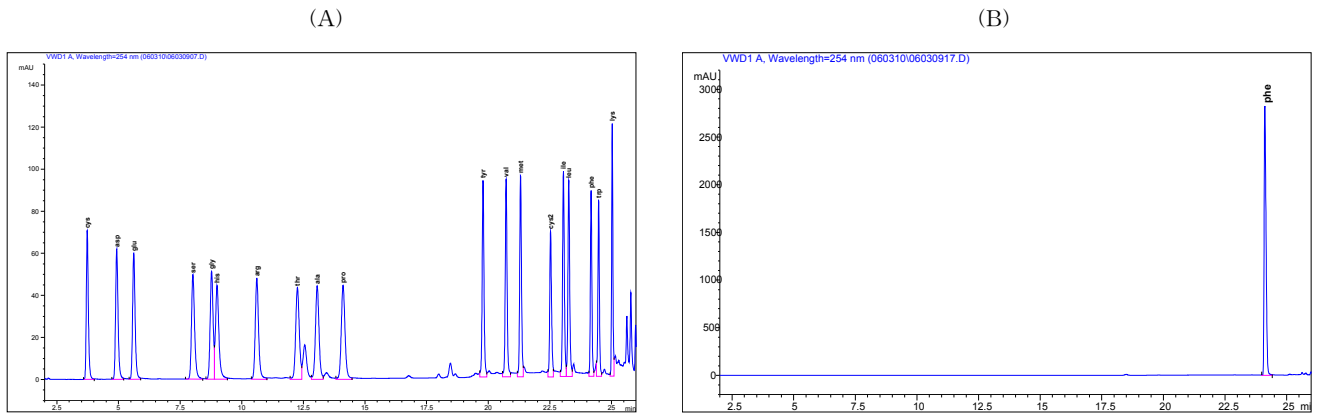


Fig. 2. HPLC chromatograms of standard amino acids (A) and DL-phenylalanine (B).

99.03±0.04, pH 10 용액의 경우는 99.05±0.07를 나타내 분석한 모든 pH 범위에서 99%T 이상의 값을 나타내었고 유의적인 차도 없는 것으로 확인되어 산, 중성, 염기 조건에 관계없이 DPLA는 완전히 용해됨을 알 수 있었다.

가공처리시 수용액중 DL-phenylalanine의 잔존함량 변화

DLPA 1% 용액을 기준으로 가공 중 온도 및 pH 변화에 따른 DLPA의 함량 변화를 분석하였으며 용해도와는 별도로 DLPA의 안정성 조사를 위하여 HPLC를 통한 DLPA 함량분석도 실시하였다(Fig. 2). 온도 및 pH의 처리는 가공조건을 30분 이상 처리하였으며 가공조건 처리후 1개월 이상 보관 후 잔존함량의 변화를 반영하였다.

가온조건 80°C의 경우 6.71 mg/g으로 잔존함량이 높았으며 100°C는 6.32 mg/g, 121°C의 경우는 6.56 mg/g을 나타내어 열처리 가공 후 유의차 없이 약 6.3~6.7 mg/g의 함량을 보였다.

pH에 따른 DLPA 잔존량은 pH 3.0에서 6.43 mg/g, pH 7.0에서 7.06 mg/g, 그리고 pH 10에서 6.75 mg/g으로 나타났으며 이들 pH에 따른 DLPA 함량에서의 유의적인 차이는 없는 것으로 확인되었다(Fig. 3).

결론적으로 DLPA는 음료로서의 가공과 관련되어 색, 맛 그리고 향 등의 기호성을 위하여 사용되는 첨가물에 의한 pH 변화, 그리고 저장성 향상을 위한 열처리 등의 가공공정에 의해서도 약 63~71%의 비교적 안정한 잔존량을 보이는 것으로 나타났다. 이는 가공중이나 체내에서나 비교적 손실 없이 잔존량이 안정적으로 유지되어 제품 안정성 및 생리활성의 유지될 수 있음을 간접적으로 시사하는 것이라 하였다. 따라서 특정 DLPA의 함량을 지닌 제품의 제조를 위해서는 초기 농도에 대한 잔존함량의 역함수 값의 DLPA를 투여하는 방안이 적절하다고 판단된다.

DL-phenylalanine 함유 음료 시제품의 미생물 검사

시제품을 제조하고 레토르트 살균 후 6주간 미생물 trace 검사를 실시하였다. 검사기간 동안 시제품에서는 일반세균 및 E. coli/coliform 균 모두 검출되지 않았으며 안전한 결과

Fig. 3. Residual contents of DL-phenylalanine after thermal and pH treatments of drink.

Solution containing 1% DL-phenylalanine was treated as follows; thermal treatments at 80°C (1), 100°C (2) and 121°C (3), and pH treatments at pH 3.0 (4), 7.0 (5) and 10.0 (6).

를 보였다. 그러나 검사기간이 상대적으로 짧은 만큼 향후 가공 완제품 제조 시에는 보다 지속적이고 주기적인 정기검사가 필요하다고 판단되었다.

관능평가

제조된 DLPA 함유 음료의 종합적인 선호도를 조사하기 위하여 9점 척도법으로 실시한 관능평가의 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 과일향(grapefruit flavor)을 첨가한 음료에 대한 평가 결과, 20대 패널은 4.6~5.3의 낮은 기호도를 보인 반면 30대 패널은 5.0~8.0, 40대 패널은 5.0~6.2으로 다소 높은 기호도를 보였다. 시중 비타민 음료 맛을 지닌 음료에 대해서는 20대 패널과 30대 패널에서 3.0~3.6으로 낮았으며 40대 패널은 7.5로 높았다. 약국용 비타민 음료맛을 지닌 음료는 20대 패널과 30대 패널에서 4.0~4.3으로 낮았으나 40대 패널에서는 7.0으로 높아 시중 비타민 음료맛 음료와 유사한 경향을 나타내었다.

DLPA 함유 음료 개발 시 기호도가 높은 향은 과일향이었

**Fig. 4. Sensory evaluation of drinks containing DL-phenylalanine.**

A, A-1, A-2, B and C indicated drinks prepared by the recipe A containing fruit flavor, B and C containing orange-pineapple flavor, respectively.

Values are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

으며 비타민 음료 맛의 경우 40대 이상의 소비자층에 부합하였다. 그러나 20대 소비자층에서는 전반적으로 기호도가 높지 않아 정서안정, 기분전환용 음료개발을 위하여는 보다 새롭고 상쾌한 느낌의 향 개발도 동시에 시도되어야 할 것으로 판단되었다. 아미노산은 종류에 따라 각각 특징이 있는 맛을 지니고 있으므로 제조단가, 향, 기능이 복합된 가공품의 개발이 보완되어야 할 것으로 고려되었다(8,9).

## 요 약

Phenylalanine은 enkephalin, endorphine의 분해를 촉진하는 carboxypeptidase, aminopeptidase의 작용을 억제하는 필수아미노산으로 식욕억제, 정서 안정, 통증, 기분조절 관련 아미노산이다. 자연계의 L-phenylalanine과 비교하여 물리화학적 당량반응으로 구조가 보다 안정한 DL-phenylalanine(DLPA)을 소재로 가공적성을 조사하였다. DLPA는 60°C 이상의 온도와 농도변화에서 용해 시 98%T 이상의 값을 나타내어 가공 적합성을 보였고, 다양한 pH 범위에서도 99%T 이상의 값을 보여 용해 안정성을 확인하였다.

DLPA는 가공조건의 가온과 체내 pH 조건에서 소실률이 20% 이내로 유지되어 가공 중이나 체내에서도 함량이 유지됨을 알 수 있었으며 68~71%의 함량의 잔존량을 보완하기 위하여 초기 농도를 높여 투여하면 목적 용량에 도달할 것으로 판단하였다. 제품 안전성을 검사하기 위해 실시한 미생물 trace 검사에서는 일반세균 및 *E. coli*/coliform 모두 검출되지 않았다. 그리고 DLPA의 제품개발을 위하여 flavor를 달리하여 제조한 음료의 관능적 특성을 조사한 경우에서 과일 향이 최적인 것으로 나타났다. 결론적으로 DLPA는 음료 등 가공공정에 적합함을 확인하였으며 정신건강 및 기분전환용 새로운 제품의 기초소재로 활용할 수 있을 것으로 판단하였다.

## 감사의 글

이 연구는 2005년도 중소기업청 산·학·연 공동기술개발 컨소시엄과제 연구결과의 일부이며 지원에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Ehrenpreis S. 1982. D-phenylalanine and other enkephalinase inhibitors as pharmacological agents: implications for some important therapeutic application. *Acupunct Electrother Res* 7(2-3): 157-172.
2. Russell AL, McCarty MF. 2000. DL-phenylalanine markedly potentiates opiate analgesia-an example of nutrient/pharmaceutical up-regulation of the endogenous analgesia system. *Medical Hypotheses* 55: 283-288.
3. C.T.M.D. 1997. *Taber's Cyclopedic Medical Pictionary*. 18th ed. FA Davis Co., Philadelphia.
4. Moon BJ, Cha JW. 1992. Inhibition of enkephalin aminopeptidase by synthetic peptide inhibitors. *J Korean Biochem* 2: 183-187.
5. Lin C, Choi WS, Ronnekleiv OK. 1997. Maternal cocaine treatment alters dynorphin and enkephalin mRNA expression in brains of fetal rhesus macaques. *J Neuroscience* 17: 1112-1121.
6. Russell I. 1998. Advances in fibromyalgia: possible role for neurochemicals. *Am J Med Sci* 315: 377-380.
7. Bates RG. 1978. Concept and determination of pH. In *Treatise on Analytical Chemistry*. Kolthoff IM, Elving PJ, eds. Wiley-Interscience, New York, NY. Vol 1, p 821.
8. Park JH, Kim KS, Kim SW, Choi HK, Kim SC. 1997. Chemical components of Korean native tea plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 5: 217-224
9. Jeon BG, Lee JR, Ji JM. 2000. The development of functional beverage from the inner skin of the chestnut, *Castanea crenata* (L). *Korean J Food Nutr* 13: 226-234.

(2006년 10월 23일 접수; 2007년 1월 25일 채택)