

아미노-카르보닐 反應에 관한 연구

梁 隆 · 申 東 範

延世 大學校, 工科 大學, 食品 工學科

(1980년 1월 21일 수리)

A Study on the Amino-Carbonyl Reaction

Ryung Yang and Dong Bum Shin

Department of Food Engineering, Yonsei University

(Received January 21, 1980)

Abstract

Reaction conditions in the amino-carbonyl reaction, and the effect of amino acids on the reactivity of amino-carbonyl reaction were investigated. Results obtained are as follows :

1. When the pH of the reaction mixture was increased above the isoelectric point of an amino acid, a significant increase in the color intensity was observed.
2. The color intensity increased gradually up to 1 : 1 of the molar ratio of reactants. This result was interpreted to show that sugar and free amino group combined in 1 : 1 ratio.
3. Amino-carbonyl reaction showed a significant time and temperature-dependences. The activation energy at 0.2 M glucose and 0.2 M glycine system was 37.5 Kcal/mole.
4. Among amino acids tested, glycine, lysine and β -alanine caused a significant increase in the color intensity, but acidic amino acids showed the least color intensity. The latter was interpreted to show that one of carboxyl groups of acidic amino acid has an inhibiting effect on the reactivity of the amino group.
5. The color intensity of sugars tested was in the order of xylose > arabinose > fructose > glucose > maltose > lactose.

序 論

食品의 加工이나 貯藏 中에 일어나는 복잡한 變色 反應 中에서 Maillard 型 갈색화 반응은 糖類의 카르보닐 基가 아미노酸類의 아미노 基와 相互 反應하므로서 (1-5) 褐色의 형광성 물질인 melanoidin (6)을 형성시키는 것으로 알려져 있으며, 이에 대하여서는 몇몇의 總說 (7-11)이 잘 설명하여 주고 있다. 많은 研究者들은 아미노-카르보닐 (amino-carbonyl) 反應이 糖類가 그 反應 活性體인 furan 및 furfural 유도체로 변하는 유도 단계와 색갈 형성 단계로 구성되어 있다고 보고

하고 있는데 (12-16), Haugaard 등은 induction 기간중 에 형성되는 Schiff's 염기 형성 속도를 1차 반응으로 보고 速度論的인 취급을 행하였고 (17), Song등도 가장 기본적인 glucose-glycine 系에 대하여 速度論的인 接近을 시도하여 反應의 본질을 규명코 지 하였다 (18-21).

아미노-카르보닐 반응은 糖類의 존재없이 는 갈색화 가 거의 일어나지 않으며 (22), Pomeranz 등은 5탄당 > 6탄당 > 2糖類의 順으로 melanoidin 형성 속도가 줄어든다고 보고하고 있다 (23). 그런데, Schroeder 등은 갈색화 반응 (browning)과 아미노-카르보닐 반응은 각각 독립적으로 일어난다고 주장하고 있다 (22). 그에 의하면 갈색화 반응은 糖類에 대한 pH의 영향에 基因되는

것으로 아미노 化合物과 糖類의 相互作用에 기인되는 것이 아니라고 하였다. Joslyn 역시 아미노酸은 갈색화 반응에서 약간의 역할만을 한다고 보고하였다⁽²⁴⁾. 이에 대하여 Lento 등은 갈색화에 대한 아미노酸의 영향을 비교 검토하고 라이신(lysine)이 포도당(glucose)과의 반응에서 가장 많은 melanoidin을 형성하였다고 보고하고 있다⁽²⁵⁻²⁷⁾.

본 연구는 아미노-카르보닐 반응의 反應 條件을 再檢討하고 아미노酸의 構造의인 차이에서 오는 反應性의 차이를 검토하므로써 갈색 반응에 있어서의 아미노酸의 寄與에 대한 識見을 再整理하는 데 그 研究目的을 두고 있다.

材料 및 方法

實驗 材料

본 실험에 사용한 糖類와 아미노酸은 試藥用 特級 시약이었다.

反應液의 調製

反應液 量은 6 ml로 하여 各種 濃度의 糖液 2 ml와 아미노酸 溶液 2 ml 그리고 여러 pH의 緩衝液 2 ml를 screw cap이 달린 試驗管에 넣고 이후의 실험에 사용하였다.

색 강도(color intensity)의 측정

反應液을 넣은 試驗管을 자동 온도 조절이 붙은 오븐에서 반응 시키면서 每 時間마다 색의 강도를 측정하거나 또는 autoclave에서 1.5 kg/cm²의 압력으로 반응시킨 뒤에 물로 냉각시키고 490 nm에서 흡광도를 측정하여 melanoidin 生成量으로 하였다.

結果 및 考察

反應 條件의 검토

가. 완충액의 영향

Schwimmer 등은 D-fructose-glycine 系 및 D-glucose-glycine 系에서의 褐色 色素 形成은 인산 이온이 크게 촉진시킨다고 하였으며⁽²⁸⁾, Wolfrom 등도 反應 溶液의 酸度가 높아짐에 따라 HMF의 형성은 촉진된다고 보고하고 있다⁽³⁶⁾. 그러므로 완충액의 종류에 따라 melanoidin 生成量에는 큰 차이가 있을 것으로 예상되었다.

Fig. 1에 나타난 바와 같이, 완충액의 첨가는 melanoidin 生成量에 큰 영향을 미치고 있다. 특히 구연산 완충액은 melanoidin 生成에 현저한 촉진 효과를 나타내고 있으며, 인산 완충액의 경우에는 아미노酸의 종류에 따라 melanoidin 生成量에 차이를 나타내고 있다

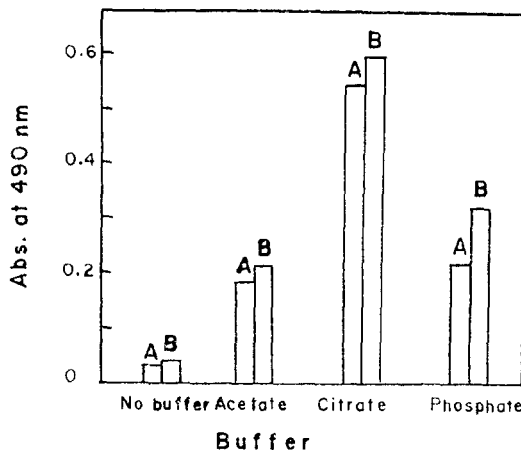


Fig. 1. Effect of buffer systems on the color development of melanoidins

Melanoidins were prepared by autoclaving a mixture of 0.1 M glucose and 0.1 M amino acid in 0.06 M various buffer systems, pH 6.0, at 1.5 kg/cm² for 20 min

A : Glucose and glycine system

B : Glucose and lysine system

이러한 結果는 갈색화 반응에서 중요한 中間 反應이 되고 있는 脫水 反應을 촉진시키므로써 HMF의 生成을 촉진시키는 때문이며^(36,37), 酸의 종류에 따라 그 촉진 효과에 차이가 있는 것이라고 해석되었다.

나. pH의 영향

Wolfrom 등은 아미노-카르보닐 반응에서 염기성인 아미노 基가 감소됨에 따라 반응액의 pH는 감소하며 일반적으로 아미노酸들은 그 等電點 이상의 pH에서 반응에 관여하게 된다고 하였다^(16,22,29).

Fig. 2는 pH 5.7~8.0에서 포도당에 대한 lysine, glycine 및 glutamic acid의 반응성을 비교한 결과로서 glucose-lysine系와 glucose-glycine系에서는 pH 6.0 이상에서 melanoidin 生成量은 직선적으로 증가되고 있으나, glucose-glutamic acid 系에서는 pH 7.0 부근에서 낮은 기울기를 가진 직선 형태로 증가되고 있다.

위의 結果에서 알 수 있는 바와 같이, glycine (pI=6.06)과는 달리, lysine(pI=9.74)은 그의 等電點 보다 훨씬 낮은 pH에서 높은 melanoidin 生成能을 보이고 있으며, glutamic acid(pI=3.22)는 그의 等電點 보다 훨씬 높은 6.8 이상의 pH에서 서서히 색소가 형성되고 있는 실험 결과는 아미노-카르보닐 반응이 일률적으로 취급될 수 없는 복잡한 반응임을 시사하고 있다.

Fig. 2의 結果는 melanoidin 生成이 알칼리쪽에서 크게 증가됨을 보이고 있는데, 이것은 포도당과 아미노酸이 1:1로 결합된 glycosylamine 化合物이 알칼리성에서 케토(keto)형으로의 轉位(rearrangement)

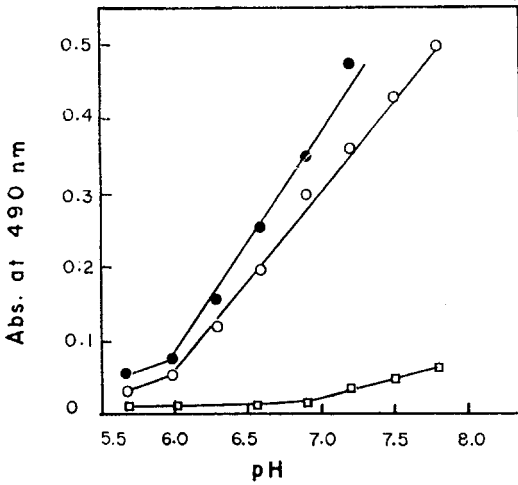


Fig. 2. Effect of pH on the color development of melanoidin

Melanoidins were prepared by autoclaving a mixture of 0.05 M glucose and 0.05 M amino acid in 0.06 M phosphate buffer at 1.5 kg/cm² for 20 min

- : Glucose and lysine system
- : Glucose and glycine system
- : Glucose and glutamic acid system

가 크게 촉진되기 때문이며⁽³⁸⁾, 아미노酸的 종류에 따라 그 轉位 速度에 차이가 있는 것이라고 해석되었다. 酸性쪽에서 melanoidin 生成 速度가 낮는데 대하여서는 Wolfrom등은 糖類의 活性 中間 物質인 furan 化合物의 重合이 melanoidin 生成의 律速 段階가 되는 때문이라고 보고하고 있다⁽³⁰⁾.

다. 反應 物質의 물 분비(mole fraction)의 영향

Glucose-lysine 系 및 glucose-glycine 系에서 포도당의 물 분비에 따른 melanoidin 生成量의 차이를 Fig. 3에 나타내었다.

포도당과 아미노酸의 물 分比가 1 : 1일 때를 정점으로 하여 낮은 물 분비인 때는 직선적으로 증가되다가 포도당의 물 분비가 높아짐에 따라 곡선을 그리며 감소되고 있다.

Joslyn등은 아미노酸은 갈색화 반응에서 약간의 역할만을 한다고 보고하고 있으나, Ellis는 lysine이 포도당과 상호 반응하여 melanoidin 生成에 직접 참여한다고 보고 하였으며⁽⁷⁾, Fig. 3에서 보는 바와 같이 포도당의 물 분비가 0.1일때 glycine 및 lysine과의 반응에 의한 melanoidin 형성량은 차이가 없으나, 포도당의 물 분비가 0.9일 때에는 두 아미노酸과의 반응에 의한 melanoidin 형성량은 현저한 차이를 보이고 있다. 이러한 結果는 포도당과 아미노酸이 1 : 1로 結合한다는

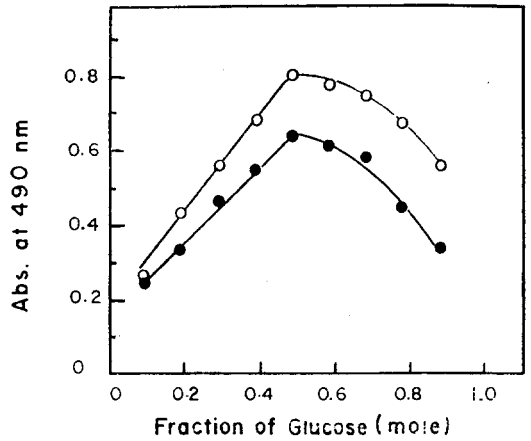


Fig. 3. Effect of mole fraction of glucose on the color development of melanoidins

Melanoidins were prepared by autoclaving a mixture of glucose and amino acid in 0.06 M phosphate buffer (pH 6.9) at 1.5 kg/cm² for 20 min.

- : Glucose and glycine system
- : Glucose and lysine system

것을 분명히 나타내고 있으며, 아미노酸의 종류에 따라 melanoidin 生成 速度가 다르다는 사실 및 아미노酸과의 반응에 의한 포도당의 변화가 melanoidin 生成 反應을 主導하고 있는 사실을 나타내고 있다고 해석되었다. 그런데 Reynolds는 아미노酸과 aldose와의 縮合 反應에서는 1 : 1로 결합된 glycosylamine 化合物에 또 하나의 glycosyl radical이 縮合되어 diglycosylamine 化合物이 될 수 있으며, 이 경우에는 두개의 glycosyl radical 중에서 하나의 radical은 다른 radical이 Amadori complex로 남아있는 데도 쉽게 분해되어 HMF→melanoidin으로의 분해 경로를 밟는다고 하였다⁽³⁹⁾. 그러므로 포도당의 물 분비가 0.1일 때 보다 0.9일 때 높은 melanoidin 生成量을 보이는 Fig 3의 結果는 diglycosylamine 化合物의 生成 可能性도 보이는 것이며, 이에 대하여서는 보다 자세한 연구를 기다려야 한다고 생각되었다.

라. 反應 時間의 영향

Fig. 4와 Fig. 5는 시간 경과에 따른 melanoidin 生成을 나타낸 것이다. Haugaard등은 glucose-lysine 系에서 색의 강도는 時間의 제곱에 대하여 직선적인 증가 현상을 보인다고 보고 하였으며⁽⁴⁷⁾, Song등도 glycine-glucose 系에서 時間과 時間의 제곱에 대하여 일정 시간이 지난 뒤에는 직선적인 증가 현상을 나타내었다고 하였다⁽⁴⁸⁾. 그는 直線性이 나타나기 전을 induction period로 보고 각 온도에서의 induction rate

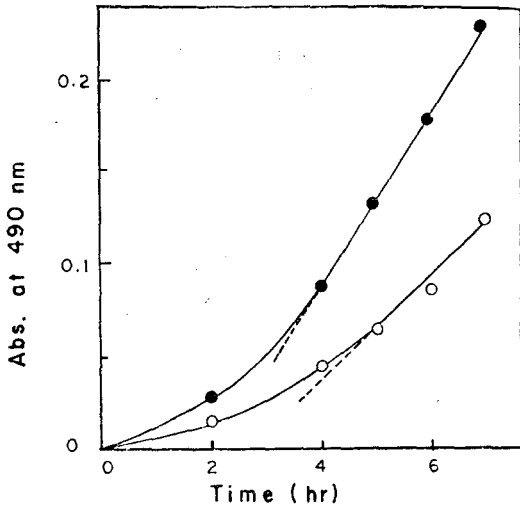


Fig. 4. Effect of reaction time on the color development of melanoidins

Melanoidins were prepared by heating a mixture of 0.1 M glucose and 0.1 M amino acid in 50 ml aqueous solution at pH 7.0

●—● : Glucose and lysine system
○—○ : Glucose and glycine system

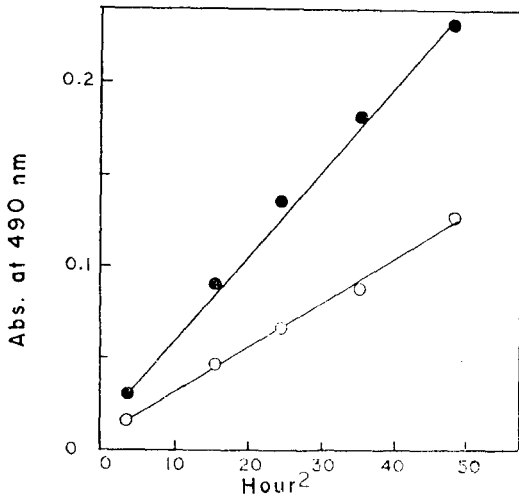


Fig. 5. Effect of reaction time on the color development of melanoidins

Assay conditions: same as in Fig. 4

●—● : Glucose and lysine system
○—○ : Glucose and glycine system

constant를 구할수 있으며, 直線性이 성립하는 시간대에서 겉보기 속도 상수(rate constant)를 구할수 있다고 하였다^(18,19).

본 실험에서도 melanoidin 生成은 일정 시간이 지난 뒤에 時間에 대하여 1次的으로 증가되고 있으며 (Fig.

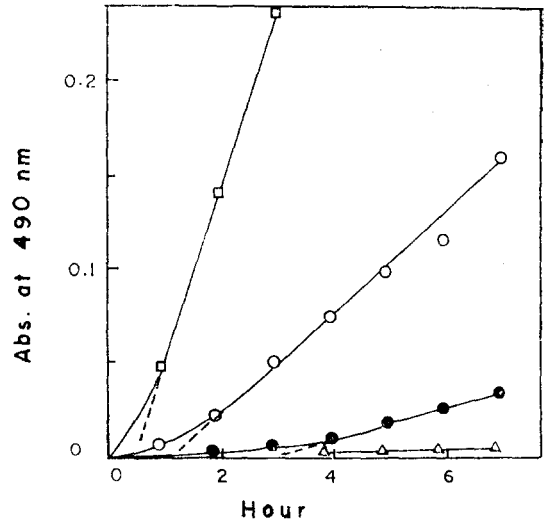


Fig. 6. Effect of temperature on the color development of melanoidins.

Melanoidins were prepared by heating a mixture of 0.2 M glucose and 0.2 M glycine in 0.06 M phosphate buffer (pH 7.5) at various temperature

△—△ : at 70°C, ●—● : at 80°C,
○—○ : at 90°C, □—□ : at 100°C

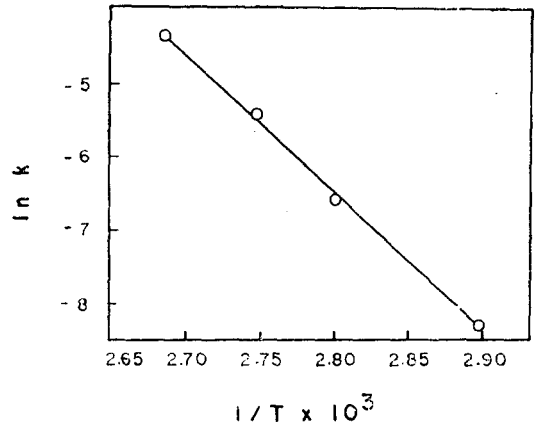


Fig. 7. Arrhenius plot of reaction rate constant vs temperature

Rate constant was evaluated for the reaction mixture consisting of 0.2 M glucose and 0.2 M glycine in 0.06 M phosphate buffer (pH 7.5). $E_a=37.5$ Kcal/mole

4), 時間의 제곱에 대하여서는 反應 開始 부터 1次 函數的으로 증가되고 있다(Fig. 5). 이 結果는 反應 物質의 濃度와 pH 條件의 차이에서 온 때문일 수도 있는 것으로 아미노-카르보닐 反應은 反應 조건에 따라 차이를 나타낼 수 있는 것이며 一律的인 傾向을 추적하

기 어려운 것으로 생각되었다.

마. 溫度의 영향

아미노-카르보닐 반응의 反應 速度는 溫度 依存性 이 높다는 사실에 대하여서는 여러 연구자들에 의하여 정량적인 실험 결과가 제시되고 있는데, 일반적으로 생물학적 내지 영양 손실의 면에서 취급되어 왔다(7,31).

Fig. 6은 아미노-카르보닐 반응에 대한 온도 효과를 보여주며 Fig 7은 Fig. 6의 결과를 Arrhenius 도식법에 의해 표시하였으며 反應 速度 定數의 溫度 依存性을 나타낸 것이다.

Song등은 induction period를 지나 steady state에 이르렀을 때 직선의 기울기로부터 反應 速度 定數를 구하고 있으며(18), 본 실험에서도 Fig. 6의 직선상에서 그 기울기를 측정하여 겉보기 속도 정수를 구하고 Arrhenius 圖示를 행하였다(Fig. 7).

여기서 얻어진 활성화 에너지는 37.5 Kcal/mole로서 Song등이 1 M glucose-0.25 M glycine 系 (pH 5.6, 55.5°C)에서 얻은 22.1 Kcal/mole 보다 비교적 높은 값을 나타내었다. 이 차이는 반응 조건의 차이에 기인 되는 것이겠으나, 본 실험에서의 반응 조건이 melanoidin 생성에 보다 유리한 조건임에도 불구하고 활성화 에너지가 높게 나타나는 것으로 보아, 아미노-카르보닐 반응은 一律적으로 취급될 수 없는 복잡한 반응임을 재차 시사하고 있으며, 반응 조건의 선택도 melanoidin 생성에 중요한 요인이 될 수 있다고 생각되었다.

Chichester등은 100°C에서 glucose-glycine 系으로부터 얻은 갈색 색소는 56.5°C에서 얻은 갈색 색소 보다 탄소(carbon) 비율이 높았다고 하였다. 즉, 56.5°C에서 CO₂ 몰당 더 많은 색소가 생성 되었으므로 단위 吸光度당 CO₂ 발생량은 100°C에서 더 많았다고 하였으며, 100°C에서 2시간 반응 후의 색의 강도는 56.5°C에서 250 시간 반응시켰을 때의 색 강도와 같았다고 하였다(32,33). 그러므로 반응 조건에 따라 색소 조성은 물론 반응 정도도 크게 달라질 수 있다고 해석되었다.

아미노酸의 反應性 比較

가. 中性, 酸性 및 鹽基性 아미노酸의 反應性 比較

Table 1에 glycine, lysine 및 glutamic acid를 포도당이나 果糖과 반응시킬 때 melanoidin 생성량에 어떤 차이를 나타내는가를 보였다.

pH가 상승함에 따라 melanoidin 생성량은 증가되고 있는데, 포도당과 반응 시킨 경우, lysine이 glycine 보다 더 많은 melanoidin을 생성하였다. 그러나 果糖과 반응 시킬 때에는 glycine이 lysine 보다 더 많은 melanoidin이 생성되고 있어서 lysine의 반응성이 크다

Table 1. Effect of individual amino acids and pH on the color developed in 0.05 M glucose and fructose solutions heated for 20 min at 1.5 kg/cm² in an autoclave

Component	pH (Phosphate buffer)	Amount of browning (Abs. at 490 nm)	
		Glucose	Fructose
Glycine	5.7	0.015	0.050
	6.3	0.057	0.155
	7.0	0.210	0.310
	7.5	0.320	0.570
L-Glutamic acid	5.7	0.001	0.015
	6.3	0.001	0.010
	7.0	0.001	0.013
	7.5	0.015	0.015
L-Lysine	5.7	0.040	0.060
	6.3	0.130	0.100
	7.0	0.350	0.260
	7.5	0.410	0.310

Table 2. Effect of amino acids and amides on the color developed in 0.05 M glucose solution heated for 20 min at 1.5 kg/cm² in an autolave

Component	pH (Phosphate buffer)	Amount of browning (Abs. at 490 nm)	
		Amino acid	Amide
Aspartic acid & asparagine	5.7	0.015	0.010
	6.3	0.018	0.030
	7.0	0.019	0.062
	7.5	0.020	0.065
Glutamic acid & glutamine	5.7	0.005	0.020
	6.3	0.010	0.021
	7.0	0.012	0.082
	7.5	0.012	0.090

는 일반적 식견은 상대적인 의미만을 갖는 것으로 나타나고 있다.

Glutamic acid는 glycine과 lysine에 비교할 때 현저하게 낮은 반응성을 보이고 있다. 이 결과는 glutamic acid의 카르복실 基가 아미노-카르보닐 반응에 立體效果(steric effect)를 나타내는 것이라고 해석되었다. 이러한 立體 效果의 한 가능성으로는 glutamic acid의 分子內 環 形成으로 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid의 생성에 의한 glutamic acid의 아미노 基의 반응성의 감소도 배제할 수 없다고 생각되었다.

나. 酸性 아미노酸의 機能基의 영향

Table 3. Effect of amino acids and amines on the color developed in 0.1 M glucose solution heated for 20 min at 1.5 kg/cm² in an autoclave

Component	Formula	pH (Phosphate buffer)	Amount of browning (Abs. at 490 nm)
α-Alanine	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2\text{-C-H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	5.7	0.040
		6.3	0.144
		6.9	0.450
		7.5	0.680
		8.0	0.850
β-Alanine	$\begin{array}{c} \text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-} \\ \\ \text{CH}_2\text{-COOH} \end{array}$	5.7	0.18
		6.3	0.43
		6.9	0.99
		7.5	1.70
		8.0	2.10
Ethylamine	$\begin{array}{c} \text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	"	very high*
Ethanolamine	$\begin{array}{c} \text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-} \\ \\ \text{CH}_2\text{-OH} \end{array}$	"	very high*

* Melanoidins formed were so dark that their Abs. values were not detectable

Table 4. Effect of individual amino acids on the color developed in 0.1 M glucose solution heated for 20 min at 1.5 kg/cm² in autoclave

Component	Molecular weight	Amount of browning (Abs. at 490 nm)
Gly	75.1	0.180
L-Ala	89.1	0.154
L-Val	117.1	0.110
L-Leu	131.2	0.040
L-Ile	131.2	0.035
L-Phe	165.2	0.046
L-Trp	204.2	0.074
L-Ser	105.1	0.035
L-Thr	119.1	0.025
L-Asp	133.1	0.018
L-Asn	132.1	0.034
L-Glu	147.1	0.011
L-Gln	146.1	0.040
L-Lys	146.2	0.210
L-Arg·HCl	174.2	0.050
L-His·HCl·H ₂ O	155.2	0.025
L-Met	149.2	0.055
L-Pro	115.1	0.030
β-Ala	89.1	0.245

The pH of this solution was 6.6 with 0.06 M phosphate buffer

Glutamic acid의 낮은 반응성을 검토하기 위하여 포도당에 대한 aspartic acid와 glutamic acid 그리고 그 amide 들의 반응성을 Table 2에 나타내었다.

Table 2에서 보는 바와 같이, 포도당에 대한 aspartic acid와 glutamic acid의 반응성에는 거의 차이가 없게 나타나고 있다. 이 결과는 glutamic acid의 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid의 형성에 의한 반응성의 감소가 主因은 아님을 시사하고 있다. 더우기 amide들의 반응성은 크게 증가하고 있으므로 酸性 아미노酸的 測鎖에 있는 카르복실基(side chain carboxyl group)가 직접적으로 아미노基의 반응성을 감소시키고 있다고 해석되었다.

Kubota는 카르복실基가 아미노基의 반응성에 阻害 效果를 나타낸다고 보고하고 있는데⁽³⁴⁾, Table 2의 결과는 카르복실基 중에서도 測鎖의 카르복실基가 그 阻害 效果가 큰 것임을 시사하고 있다.

다. 아미노基의 반응성 비교

아미노基의 반응성에 대한 機能基, 아미노基의 위치 및 測鎖의 영향을 비교한 것을 Table 3에 나타내었다.

Table 3에서 보는 바와 같이, pH의 상승은 melanoidin 생성량을 크게 증가시켰다. 또한 α-alanine에 비하여 β-alanine의 반응성이 훨씬 높았다. 이것은 아미노基가 카르복실基로부터 떨어져 나가므로 아미노基의 반응성은 증대되는 때문이라고 생각되었다. 한편, 카르복실基를 가지고 있지 않은 아민(amine)류의 경우에는 낮은 pH에서 부디 급속하게 melanoidin을 생성시키므로서 아미노酸의 카르복실基의 阻害 效果를 명백하게 보이고 있다.

Ethylamine과 ethanolamine을 비교하였을 때, 兩者 사이에는 거의 차이가 없었다. 이 結果는 hydroxyl 基는 아미노基의 반응성에 거의 영향을 미치지 않을 가능성은 보이는 것으로 해석되었다.

라. 아미노酸의 종류에 따른 반응성 비교

이상의 연구 結果를 再 整理하기 위하여 단백질을 구성하는 전체 아미노酸의 반응성을 비교하여 보았다.

Table 4에서 알 수 있듯이 脂肪族 아미노酸의 경우 測鎖의 길이가 길어질 수록 melanoidin 생성량은 감소되는 것으로 나타나고 있다. 그러나 非 極性 아미노酸 중에서 indole 環을 가진 tryptophan은 구성 원소수가 비교적 많음에도 불구하고 비교적 높은 melanoidin 생성량을 보이고 있으며, 測鎖에 hydroxyl基를 가진 serine과 threonine의 경우에는 鎖의 길이가 짧음에도 불구하고 뚜렷한 阻害 效果를 보이고 있다.

Lento등에 의하면 炭素數가 2~4개인 monoamino acid와는 달리 炭素數가 5~6개인 monoamino acid는

分子가 구부러져서 아미노기를 카르복실기에 접근 시키기 때문에 아미노기의 반응성을 감소시킨다고 하였으나⁽²⁸⁾, 分子의 屈曲性과 함께 測鎖의 카르복실기와 hydroxyl기가 아미노기의 반응성에 현저한 阻害 效果를 나타내고 있음을 Table 4에서 알 수 있다. 특히 ethanolamine의 경우에는 아미노기의 반응성에 hydroxyl기는 거의 영향을 보이지 않았으나 (Table 3), 아미노酸의 測鎖 중의 hydroxyl기는 뚜렷한 阻害 效果를 나타내는 것은 주목할만 하다고 생각된다 (Table 4).

鹽基性 아미노酸의 경우에는 lysine만이 높은 melanoidin 생성량을 보이고 있으며, 질소 함량이 높은 arginine의 guanidyl기와 histidine의 imidazole기는 melanoidin 생성에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. Motai는 lysine, histidine, glutamic acid 및 aspartic acid가 모든 아미노酸 中에서 높은 melanoidin 생성량을 보인다고 하였으나⁽³⁵⁾, 본 결과와는 많은 점에서 상반되고 있다. 다만 lysine의 경우에는 Ellis의 결론⁽⁷⁾과 같이 ε-amino기가 반응성이 높아 melanoidin 생성량이 높았다.

環의 imino기를 가진 proline도 낮은 melanoidin 생성량을 나타내고 있으나, aspartic acid와 glutamic acid 보다는 반응성이 크게 나타나고 있으며, 이 결과는 測鎖의 카르복실기의 melanoidin 생성에 대한 阻害 效果가 機能基 中에서는 가장 強力한 것임을 명백히 하고 있다.

이상의 결과를 종합하면, R-group의 測鎖 길이가 길어지거나 分子 크기가 커짐에 따라 melanoidin 생성 속도는 감소되는 경향을 보이며, 測鎖의 카르복실기와 hydroxy기는 강한 阻害 效果를 나타내는 것을 알 수 있었다.

마. 糖類의 反應性 比較

이미 Schroeder 등은 아미노-카르보닐 반응에서는 糖類가 큰 영향을 끼친다고 밝힌 바 있으며⁽²²⁾, 본 연구에서는 糖과 아미노酸의 물 분비에 따른 反應性의 검토에서 糖類가 아미노-카르보닐 반응을 主導하고 있음을 나타내었다 (Fig. 3).

Fig. 8은 여러 종류의 糖類에 대하여 3종류의 아미노酸을 반응시킬 때의 melanoidin 생성량을 비교한 것이다.

본 실험 조건에서는 D-xylose가 L-arabinose 보다 melanoidin 생성량이 많은 것으로 나타났으며, D형과 L형의 糖類 사이에 반응성의 차이를 나타낼 가능성을 시사하고 있다.

果糖은 glycine과의 반응에서 더 많은 melanoidin을 생성하고 있으며, 이 결과는 果糖이 포도당 보다 평형

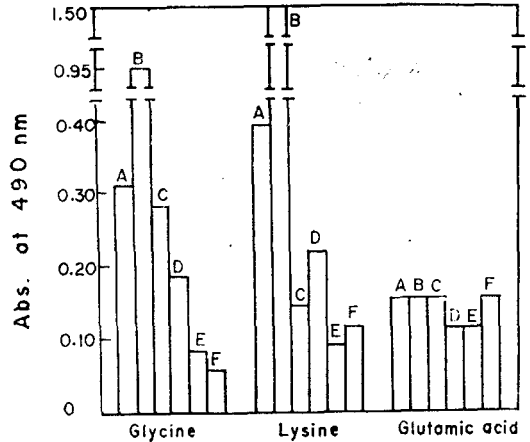


Fig. 8. Effect of sugars on the color development of melanoidins

Melanoidins were prepared by autoclaving (1.5 kg/cm²) the mixture of 0.1 M sugar and amino acid in 0.06 M phosphate buffer (pH 6.6) for 20 min

A : Arabinose, B : Xylose, C : Fructose, D : Glucose, E : Lactose, F : Maltose

용액 상태에서 還元型의 占有 比率이 큰 때문⁽⁴⁰⁾으로 해석되었다. 그러나 lysine과의 반응성에서는 포도당이 더 많은 melanoidin을 생성하고 있다. 또한 lysine과 glutamic acid에 대하여서는 maltose가 lactose 보다 반응성이 큰 것으로 나타나고 있으나, glycine에 대하여서는 lactose가 반응성이 낮지 않은 것으로 나타나고 있다.

Pomeranz 등은 아미노-카르보닐 반응에서 반응성이 월등하게 큰 것을 제외하고는 그 반응 생성물 량은 pH, 온도 및 아미노酸의 종류에 따라 달리 나타난다고 하였으며⁽²³⁾, 본 실험 결과에서도 나타난 바와 같이, 반응 조건의 선택과 반응 물질의 선택에 따라 반응 경로까지 달라질 가능성을 시사하고 있다.

이미 잘 알려지고 있는 바와 같이, 아미노-카르보닐 반응은 enolization, dehydration, fragmentation 및 air oxidation 등 상당히 복잡한 경로로 일어나는 수백 내지 수십 단계의 반응의 綜合으로, 일률적으로 이 반응을 규정짓고 있는 Haugaard의 식⁽¹⁷⁾, $Y=k[S][A]^2 [T]^2$ 은 특정 조건에서만 성립되는 것으로 고찰되었다.

要 約

아미노-카르보닐 반응에 대한 반응 조건을 검토하고 반응성에 미치는 아미노酸의 영향에 대하여 검토한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 아미노-카르보닐 반응은 알칼리성이 강할수록 melanoidin 생성량은 크게 증대되었으며, 아미노산의 등전점 이상에서 반응 속도는 더욱 증가되는 것으로 나타났다.

2. 糖과 아미노酸의 물 分比가 1:1일 때까지 melanoidin 생성량은 직선적으로 증가되었으며, 당과 아미노酸은 1:1로 결합함을 알 수 있었다.

3. 아미노-카르보닐 반응은 반응 시간과 반응 온도에 높은 의존성을 보였으며, 同 물의 glucose-glycine 系에서의 활성화 에너지는 37.5 Kcal/mole이었다.

4. 사용된 아미노酸 中에서 glycine, lysine 및 β -alanine이 당과의 반응성이 현저하게 높았으며, 酸性 아미노酸의 반응성은 아주 낮았다. 따라서 酸性 아미노酸의 測鑛의 카르복실기는 아미노基의 반응성에 가장 阻害 效果를 나타내었다.

5. 사용된 糖類의 반응성은 다음의 순서로 나타났다.
Xylose > arabinose > fructose > glucose > maltose > lactose.

Acknowledgement

본 연구는 文教郡 學術 研究 助成費에 의하여 이루어진 것으로 文教郡 當局에 감사드립니다.

References

1. Ferretti, A., Flanagan, V. P., and Ruth, J. M. : *J. Agr. Food Chem.*, **18**, 13 (1970)
2. Ferretti, A. and Flanagan, V. P. : *J. Agr. Food Chem.*, **19**, 245 (1971)
3. Kato, S., Yano, N., Suzuki, I., Ishii, T., Kubata, T. and Fugimaki, M. : *Agr. Biol. Chem.*, **38**, 2425 (1974)
4. Dixon, H. B. F. : *Biochem. J.*, **129**, 203 (1972)
5. Clark, A. V., and Tannenbaum, S. R. : *J. Agr. Food Chem.*, **18**, 891 (1970)
6. Adhikari, H. R. and Tappel, A. L. : *J. Food Sci.*, **38**, 486 (1973)
7. Ellis, G. P. : *Adv. Carbohydrate Chem.*, **14**, 63 (1059)
8. Coulter, S. T., Jennes, R. and Geddes, W. F. : *Adv. Food Research*, **3**, 45 (1951)
9. Stadtman, E. R. : *Adv. Food Research*, **1**, 325 (1948)
10. Danehy, J. P. and Pigman, W. W. : *Adv. Food Research*, **3**, 45 (1951)
11. Hodge, J. E. : *Agr. Food Chem.*, **1**, 928 (1953)
12. Cole, S. J. : *J. Food Sci.*, **32**, 246 (1967)
13. Rice, R. G., Kertesz, Z. I. and Stotz, E. H. : *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 1798 (1947)
14. Tan, T. L., Wolfrom, M. L. and Langer, A. W. : *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 5090 (1950)
15. Singh, B., Dean, G. R. and Cantor, S. M. : *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 517 (1948)
16. Wolfrom, M. L., Schuetz, R. D. and Cavalieri, L. F. : *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 3518 (1949)
17. Haubaard, G., Tumerman, L. and Silverstri, H. : *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 4594 (1951)
18. Song, P. S., Chichester, C. O. and Stadman, F. H. : *J. Food Sci.*, **31**, 906 (1966)
19. Song, P. S. and Chichester, C. O. : *J. Food Sci.*, **31**, 914 (1966)
20. Song, P. S. and Chichester, C. O. : *J. Food Sci.*, **32**, 98 (1967)
21. Song, P. S. and Chichester, C. O. : *J. Food Sci.*, **32**, 107 (1967)
22. Schroeder, L. J., Iacobellis, M. and Smith, A. H. : *J. Biol. Chem.*, **212**, 973 (1955)
23. Pomerranz, Y., Jonson, J. A. and Shellenberger, J. A. : *J. Food Sci.*, **27**, 350 (1962)
24. Joslyn, M. A. : *Food Research*, **22**, 1 (1957)
25. Willits, C. O., Underwood, J. C. and Lento, H. G. : *Food Research*, **23**, 61 (1958)
26. Lento, H. G., Underwood, J. C. and Willits, C. O. : *Food Research*, **23**, 68 (1958)
27. Underwood, J. C., Lento, H. G. and Willits, C. O. : *Food Research*, **24**, 181 (1959)
28. Schwimmer, S. and Olcott, H. S. : *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4835 (1953)
29. Wolfrom, M. L. and Cavalieri, L. F. : *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 2411 (1947)
30. Wolfrom, M. L., Kolb, D. K., and Langer, A. W. : *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 3471 (1953)
31. Cladinin, D. R., Sstevens, J. M., Morrison, A. B. and Robblee, A. R. : *J. Biol. Chem.* **190**, 219 (1951)
32. Chichester, C. O., Stadtmab, F. H. and Mackinny, G. : *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3418 (1952)
33. Stadman, F. H., Chichester, C. O. and Mackinny, G. : *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3194 (1952)
34. Kubota, T. : *Chem. Abst.*, **45**, 1177 (1951)
35. Motai, H. : *Agr. Biol. Chem.*, **37**, 1979 (1973)

36. Wolfrom, M. L., Schuetz, R. D. and Cavalieri, L. F. : *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 514 (1948)
37. Anet, E. F. L. : *J. Adv. Carbohydrate Chem.*, **19**, 181 (1964)
38. Speck, Jr., J. C. : *Adv. Carbohydrate Chem.*, **13**, 63 (1958)
39. Reynolds, T. M. : in *Symposium on Food Carbohydrate and their Roles* (Schultz, H. W. Ed), Avi Publ., Westport, Conn., 1969, Chapter 12.
40. Sherman, W. R. and Goodwin, S. L. : *J. Chromatog. Sci.*, **7**, 167 (1969)