

옥수수 전분 및 자당에 의한 Casein 과 포도당 간의 갈변반응 저지효과

이종태 · 우강웅
경남대학교 식품공학과

Effect of Preventing the Maillard Reaction between Casein and Glucose with Corn Starch and Sucrose

Jong-Tae Lee and Kang-Lyung Woo
Department of Food Engineering, Kyungnam University, Masan

Abstract

To estimate the effect of preventing the Maillard reaction between casein and glucose coated by freeze drying with corn starch slurry or mixture slurry of corn starch and sucrose, the reactants were treated into five groups of nonbrowning material(control), uncoated browning material, browning material coated casein alone with starch slurry, browning material coated both of reactants with starch slurry and browning material coated both of reactants with mixture slurry. All samples had a moisture content of about 15%. Browning reaction was carried out by storage for 30 days at 37°C, 67% RH. In vitro available lysine contents were decreased by the browning regardless of coating the reactants and were higher about 20.5% in the browning materials coated with mixture slurry than in the uncoated browning materials. Fructosyl-lysine contents were increased about tenfold by the browning regardless of coating and were decreased about 15.8% in the browning materials coated with mixture slurry as compare with the uncoated browning materials. The materials showing the greatest resistance to the browning reaction in the coated materials were those in which both of reactants were coated with the mixture slurry of corn starch and sucrose.

Key words: Maillard reaction, available lysine, fructosyl-lysine

서 론

식품의 가공 및 저장중에 일어나는 환원당과 아미노산 간의 비효소적 갈변반응은 식품 단백질의 영양적 가치를 현저히 감소시키는 것으로 알려져 왔다⁽¹⁻³⁾.

이러한 영양 손실의 주 원인은 식품중의 유리아미노산, 펩티드 또는 단백질을 구성하고 있는 아미노산의 노출된 아미노기 등이 환원당과 결합하여 deoxy-ketosyl 유도체를 형성하며, 이들 유도체가 동물의 체내에서 단백질 분해효소의 작용을 받지 않으므로 단백질의 소화율이 감소하기 때문에 보고되고 있는데 특히 lysine 의 ε-amino 기와 포도당 간의 결합으로 생성되는 fructosyl

-lysine 이 이들 유도체의 주 생성물로 알려져 있다^(3,4).

식품의 가공이나 저장중 갈변반응을 저지하려는 노력이 다각도로 진행되고 있는데 최근 Mohammed⁽⁵⁾는 환자에게 공급되는 인공 합성식품의 제조 및 저장중 갈변반응을 저지하기 위하여 DE number 0~24사이의 곡류 전분을 사용하여 아미노산과 환원당 간을 분리시켜 반응을 차단시키는 방법을 개발하였다.

본 연구는 casein 과 포도당의 혼합물을 저장할 때 일어나는 비효소적 갈변반응에 대하여 옥수수 전분 처리에 의한 반응 저지효과가 있는지 여부를 검토하고자 수행하였다.

재료 및 방법

재료

Corresponding author: Kang-Lyung Woo, Department of Food Engineering, Kyungnam University, 449, Wolyoung-dong, Masan 630-260

Casein은 Junsei Chemical Co.의 chemical pure grade를 사용하였고 옥수수 전분은 Duksan Pharmaceutical Co.의 GR reagent를 사용하였다.

실험재료의 처리

실험재료는 다음과 같은 다섯가지 방법으로 처리되었다.

T₀구(비갈변구) : Casein 783g 과 포도당 360g(건물기 기준 75% : 25%)을 잘 혼합하여 수분함량을 15%로 조절하여 -20°C에 저장하여 대조구로 사용하였다.

T₁(무보호구) : Casein 783g 과 포도당 360g을 잘 혼합한 후 수분함량을 15%로 조절하여 RH 67%, 37°C, 42°C, 50°C에서 각각 30일간 저장하였다.

T₂(단독보호구) : 옥수수 전분으로 casein만 단독보호한 구로 casein 783g 과 옥수수 전분 144g(건물기 기준 casein 85%, 전분 15%)을 40°C의 더운물에 잘 혼합한 후 냉동 건조하여 포도당 360g 과 잘 혼합하여 수분함량을 15%로 조절 T₁과 같은 조건으로 저장하였다.

T₃(동시보호구) : 옥수수 전분으로 casein 과 포도당을 둘다 보호한 구로 casein 783g 과 옥수수 전분 144g을 40°C의 더운물에 혼합하여 냉동 건조하였고 포도당 360g 과 옥수수 전분 72g(건물기 기준 85% : 15%)을 상기와 같이 처리한 후 두 건조물을 다시 잘 혼합하여 수분함량을 15%로 조절 T₁과 같은 조건으로 저장하였다.

T₄구(자당첨가동시보호구) : Casein 과 포도당을 옥수수 전분과 자당 혼합물로 보호한 구로 casein 783g, 옥수수 전분 115g 및 자당 29g(건물기 기준 85% : 12% : 3%)을 40°C 더운물에 잘 혼합한 후 냉동 건조를 하였고 포도당 360g, 옥수수 전분 58g 및 자당 14g(건물기 기준 85% : 12% : 3%)를 상기와 같이 처리한 후 두 건조물을 다시 잘 혼합하여 T₁과 같은 조건으로 저장하였다.

분석방법

Fructosyl-lysine 표준품 제조 : Fructosyl-lysine 표준품은 Lowy 와 Borsook⁽⁶⁾의 방법을 변형시킨 방법으로 순수 제조 분리하였다.

5g의 L-lysine 과 D-glucose 40g을 600ml 무수 methanol에 녹인 후 역류증류 장치에서 증류, 약 1.5시간 후에 Borsook 등⁽⁷⁾의 방법에 의한 ferricyanide reduction test로 용액의 흡광도를 690nm에서 15분간격으로 측정하여 최고 흡광도를 나타낼 때까지 증류한 후 37°C에서 진공 회전증발기로 건조하였다. 건조 잔류물을 적당량의 물에 녹인 후 Dowex-1(OH⁻-form)을

이온 수지를 적당량 가하여 상동액의 pH가 10이 될 때까지 방치하여 Cl⁻이온을 제거한 후 여과하였다. 수지를 200ml의 물로 세척한 후 세척액을 여액과 합하여 Amberlite IRC-50(H⁺-form 32~45 mesh) column (45×600mm)에 서서히 통과시켰다. 그 다음 물을 column에 통과시켜 용출액이 carbohydrate(TTC) test⁽⁸⁾에 음성이 될 때까지 미결합 포도당 및 색소물질을 씻어낸 후 1N acetic acid를 분당 8ml의 속도로 column에 통과시켜 용출액을 80ml씩 분취 채취하여 각 분취액에 대하여 Ferricyanide reduction test⁽⁷⁾ 및 Ninhydrin test⁽⁶⁾(570nm)를 통하여 흡광도를 측정 Fig. 1과 같은 그림을 그렸다. 그림에서 두 peak가 일치하는 점선내에 속하는 분취액만 혼합하여 실온에서 진공 회전증발기로 건조한 후 건조 잔류물을 40ml의 물에 녹여 cellulose powder(sigma cell, type 100 TLC용)를 충분히 넣어 용액을 완전히 흡착시킨 후 실온에서 다시 진공 회전증발기로 건조시켰다. 건조된 cellulose powder를 같은 종류 cellulose powder로 건조된 상태로 충전된 column(45×670mm) 상단부에 넣고 pyridine-water(3:1) 용액으로 용출시켰고 각각 40ml씩 분취하였으며 각 분취액에 대하여 상기 3가지 시험을 한 후 양성반응을 나타낸 분취액에 대하여 paper chromatography를 실시하였다(Fig. 2 참조). 1번과 2번 분취액에서 단일 점적을 나타내었고 3, 4, 5, 6번 분취액에서는 lysine 점적이 같이 나타났다. 3, 4, 5, 6번 분취

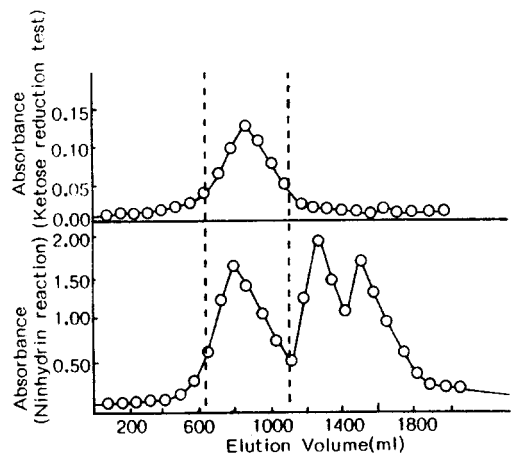


Fig. 1. The absorbance of fractions eluted with 1-N acetic acid through the column(Amberlite IRC-50H⁻form) 42×600mm.

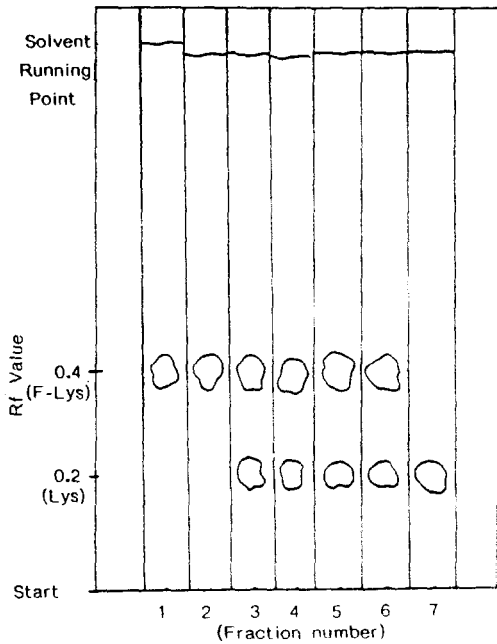


Fig. 2. Chromatography on paper of fractions eluted through the cellulose powder column with pyridine water(3:1) solution. 7; standard lysine chromatography. Running reagent; Pyridine water(3:1), 15hr

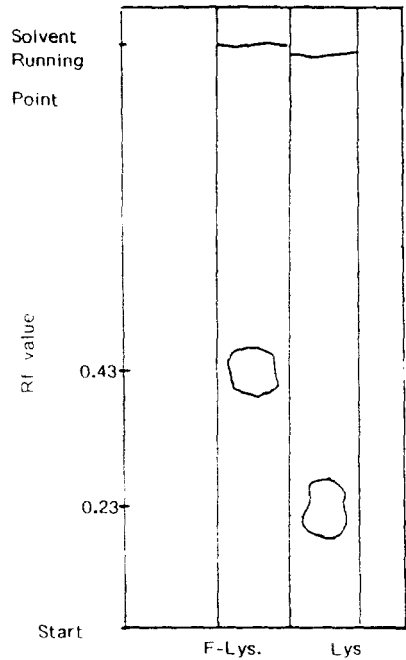


Fig. 3. Chromatography on paper of prepared fructosyl-lysine and standard lysine. Running reagent; n-butanol 12, glacial acetic acid 3, H₂O₅. Color reagent; ninhydrin 0.25g+ethanol 175ml+glacial acetic acid 7.3ml

액은 다시 혼합하여 실온에서 진공 회전증발기로 건조 후 40ml의 물에 녹인 후 다시 cellulose powder에 흡착 건조시켜 상기 방법으로 되풀이하여 용출시켜 단일물질만 함유한 1,2번 용출액을 얻어 처음 얻은 1,2번 용출액과 혼합하였다. 혼합액을 다시 진공 회전증발기로 실온에서 건조한 후 건조 잔류물을 40ml 무수 methanol에 녹인 후 여과하였고 여액에 80ml의 무수 ether을 가하여 침전을 얻었다. 침전물을 여과하여 무수 ether로 충분히 세척한 후 다시 무수 methanol에 녹인 후 상기 과정을 반복하여 재 침전시킨 후 침전물을 여과 냉동 건조하였다. 건조물에 대하여 paper chromatography를 실시한 결과 Fig. 3과 같은 fructosyl-lysine의 단일 점적을 얻었다.

갈색도 및 fructosyl-lysine의 함량; Rayner와 Fox⁽⁹⁾의 방법에 의하여 실험재료를 in vitro enzymatic procedure로 가수분해시킨 후 여과하여 50ml로 희석한 후 420nm에서 갈색도를 측정하였고 갈색도에서 유의차를 나타낸 37°C 저장구에 대하여서만 fructosyl

-lysine의 함량 및 기타 아미노산 함량을 다음과 같이 측정하였다.

50ml 희석액에다 1% picric acid를 가하여 전체 용량을 150ml로 조절하고 2시간 방치하여 단백질을 침전시킨 후 여과하여 1.2×9cm cation exchange column (AG 50W-×8, 100~200mesh)에 여과액 5ml를 흡착시킨 후 증류수 50ml를 column에 통과시켜 picric acid 및 기타 불순물을 제거하고 3M ammonia 용액 20ml로 흡착된 아미노산을 용출시켰다. 용출액을 진공 회전증발기로 건조시킨 후 pH 2.2 loading buffer (trisodium citrate·2H₂O; 98.00g, conc HCl; 82, 50ml, thiodiglycol; 100ml, phenol 80% v/v 용액, 6ml를 H₂O로 1l로 만든 용액) 5ml에 녹여 아미노산 자동 분석기(LKB)로 유리아미노산 함량을 분석하였다. 이때 앞에서 제조한 fructosyl-lysine 표준품의 retention time과 일치하는 peak를 fructosyl-lysine peak로 하여 fructosyl-lysine 함량을 정량하였고 이때 측정된 유리 lysine 함량을 available lysine 함량으로 하였다.

In vitro 아미노산 소화율 : 실험재료를 6N-HCl 로 110°C 진공 ampule 내에서 24시간 가수분해 시킨 후 정량된 아미노산의 함량과 상기 효소적 가수분해 방법으로 측정된 유리아미노산 함량과의 비로서 계산하였다.

단백질 함량은 Microkjeldahl 방법으로 측정하였다.

결과 및 고찰

갈색도의 변화

저장 온도별 각 처리구에 대하여 갈색도를 측정 한 결과는 Table 1과 같다. 전체적으로 볼 때 37°C 저장시에 비하여 42°C, 50°C로 저장온도가 상승함에 따라 전분 첨가에 의한 보호여부에 관계없이 갈색도가 증가하였고 전분 첨가에 의한 보호효과는 37°C 저장 경우에서만 나타났는 바 무보호구(T₁)에서 0.285, 단독보호구(T₂)에서 0.235, 동시보호구(T₃)에서 0.231, 자당첨가동시보호구(T₄)에서 0.231을 각각 나타내어 전분에 의하여 반응물을 보호하였을 경우가 무보호 경우에 비하여 갈색도가 약간 저하됨을 볼 수 있었다. 그러나 -20°C에 저장한 비갈변화 경우에 비하여서는 저장온도 및 전분에 의한 보호여부에 관계없이 갈변화 경우에 월등히 높은 갈색도를 나타내었다.

Mohammed⁽¹⁵⁾는 아미노산 혼합물과 곡류 전분을 50 : 50 또는 60 : 60으로 혼합한 액을 분무건조하여 환원당과 혼합 저장하였을 경우 수분함량 8%이하에서는 49%에서 24일간 저장하여도 갈변반응이 거의 일어나지 않았다고 보고하였고 이는 전분에 의한 보호막 생성으로 아미노산과 환원당간의 분리효과 때문이라고 하였다. 본

연구에서 37°C 저장시 전분 첨가에 의한 갈색도 저하 효과는 이러한 이유 때문으로 사료되나 그렇게 큰 차이의 저하효과가 없었던 것은 전분 첨가 수준이 보호막을 충분히 형성할 수 있는 수준이 되지 못하였고 수분함량 또한 높았기 때문으로 사료된다. 42°C 및 50°C 저장시 전분 첨가 효과가 전혀 없었던 것도 상기 이유로 설명될 수 있겠다.

조단백질 함량의 변화

갈색도에서 전분 첨가에 의한 유의차를 나타내지 않았던 42°C 및 50°C 저장 경우에 대하여서는 처리간 큰 유의차가 없는 것으로 간주하고 모든 분석을 생략하였다.

37°C 저장의 경우 조단백질 함량의 변화를 저장전 처리 원료물질의 조단백질 함량과 비교하면 Table 2에 나타난 바와 같이 자당첨가 동시보호구(T₄)를 제외하고는 무보호구(T₁)에서 1%, 단독보호구(T₂)에서 2.1%씩 유의적 증가를 보였고 동시보호구(T₃)는 비록 유의차는 없었으나 0.7%의 증가를 보였다. 이와 같은 사실은 Mizrahi 등⁽¹⁰⁾이 건조 양배추의 저장중 갈변반응에 기인되는 수분생성 보거나 carbonyl-ammine 반응에서 물 분자가 빠져나오는 사실⁽¹¹⁾등으로 미루어 갈변반응 중 건물 손실이 질소보다는 수소나 산소쪽에서 더 많이 일어나기 때문으로 조단백질 함량이 증가한 것이 아닌가 사료된다.

아미노산의 함량 변화

Table 3에 나타난 바와 같이 비갈변(T₀)의 경우와 갈변(T₁~T₄)의 경우 산 가수분해법에 의하여 측정된 아

Table 1. The absorbance of enzymatic hydrolysis solution of browned materials at 420nm⁶

Items	Treatments					
		T0 ¹	T1 ²	T2 ³	T3 ⁴	T4 ⁵
Storage temperature	37°C	0.175 ^A	0.285 ^B	0.235 ^C	0.231 ^C	0.231 ^C
	42°C	0.175 ^A	0.250 ^B	0.348 ^B	0.351 ^B	0.349 ^B
	50°C	0.175 ^A	0.505 ^B	0.510 ^B	0.500 ^B	0.503 ^B

1. Casein (3): glucose (1) $\xrightarrow{\text{mix}}$ control to 15% moisture \rightarrow storage for 30 days at -20°C
2. Casein (3): glucose (1) $\xrightarrow{\text{mix}}$ control to 15% moisture \rightarrow storage for 30 days at 67% RH
3. Casein (3)+Corn starch (15%) $\xrightarrow[40^\circ\text{C}]{\text{water}}$ freeze drying \rightarrow glucose (1) $\xrightarrow{\text{mix}}$ control to 15% moisture \rightarrow Storage as 2
4. Casein (3)+Corn starch (15%) $\xrightarrow[40^\circ\text{C}]{\text{water}}$ freeze drying
Glucose (1)+Corn starch (15%) $\xrightarrow[40^\circ\text{C}]{\text{water}}$ freeze drying $\left. \vphantom{\begin{matrix} \text{Casein (3)+Corn starch (15\%)} \\ \text{Glucose (1)+Corn starch (15\%)} \end{matrix}} \right\} \xrightarrow{\text{mix}}$ control to 15% moisture \rightarrow storage as 2
5. Casein (3)+Corn starch (12%)+Sucrose (3%) $\xrightarrow[40^\circ\text{C}]{\text{water}}$ freeze drying
Glucose (1)+Corn starch (12%)+Sucrose (3%) $\xrightarrow[40^\circ\text{C}]{\text{water}}$ freeze drying $\left. \vphantom{\begin{matrix} \text{Casein (3)+Corn starch (12\%)+Sucrose (3\%)} \\ \text{Glucose (1)+Corn starch (12\%)+Sucrose (3\%)} \end{matrix}} \right\} \xrightarrow{\text{mix}}$ Control to 15% moisture \rightarrow storage as 2
6. Values on the same horizontal line with different large superscripts are significantly different at P < 0.01

Table 2. The crude protein content and change of experimental materials after and before storage at 37°C, 67% RH for 30 days(DM basis)^{1,2}

Items	T 1	T 2	T 3	T 4
	A ³	a ⁴		
C P % of raw materials (before storage)	62.8(63.8) ±0.08	58.3(57.0) ±0.21	56.4(54.2) ±0.45	56.0(54.0) ±0.33
	B	b		
C P % of browned materials(after storage)	63.8 ±0.14	60.4 ±0.27	57.1 ±0.29	56.0 ±0.16
Change of CP %	1.0±0.22	2.1±0.06	0.7±0.33	0

1. Mean ± SD.
2. (): Calculated values.
3. Values on the same perpendicular line with different large superscripts are significantly different at P < 0.01. (t-test)
4. Values on the same perpendicular line with different small supecripts are significantly different at P < 0.05. (t-test)

미노산의 함량을 질소 16g 당 g 수로 표시하였을 때 갈변의 경우가 비갈변의 경우보다 Arg, Cys을 제외한 거의 모든 아미노산들의 함량이 증가하는 경향을 보였고 총 필수 아미노산의 경우 비갈변구(T₀) 37.29에 비하여 무보호구는 42.85로 14.7%, 단독보호구는 42.24로 13.3%, 동시보호구는 40.48로 8.6%, 자당첨가동시보호구는 40.01로 10%정도씩 증가하였고, 총 아미노산 함량은 비갈변구 79.47에 비하여 무보호구는 91.05로 14.6%, 단독보호구는 91.22로 14.8%, 동시보호구는 86.87로 9.3%, 자당첨가 동시보호구는 89.13으로 12%정도 증가하는 경향을 보였다. 이와 같은 사실은 Fig. 4에서 총 질소에 대한 아미노태 질소의 비를 살펴볼 때 비갈변의 경우에 비하여 갈변의 경우가 훨씬 높게 나타난 것으로 미루어 갈변반응중 아미노태 질소보다 비아미노태 질소의 손실이 훨씬 많았기 때문으로 추정할 수 있겠다. 한편 아미노산 중 lysine은 ε-NH₂기가 노출되어 있기 때문에 갈변반응시 가장 극심한 손실을 받는 것으로 알려져 있는데^(3,4,11-13) Table 3에서 lysine 함량을 질소 16g 당 g 수로 표시하였을 경우 오히려 갈변반응물에서 높게 나타나는 것은 위에서 언급된 이유와 Friedman⁽¹²⁾이 주장한 것처럼 비효소적갈변반응시 생성되는 lysine의 ε-NH₂기와 환원당의 carbonyl기 간에 형성된 isopeptide bond와 불안정한 schiff's base는 단백질을 산가수분해 시킬 때 파괴되므로 극심한 갈변이 아닌 경우에는 갈변생성물의 경우가 갈변전의 경우보다 lysine 함량이 종종 높게 측정되는 경우가 있다는 사실 등이 복합적으로 작용한 것이 그 원인으로 추정될 수 있겠다. 이러한 사실은 갈변반

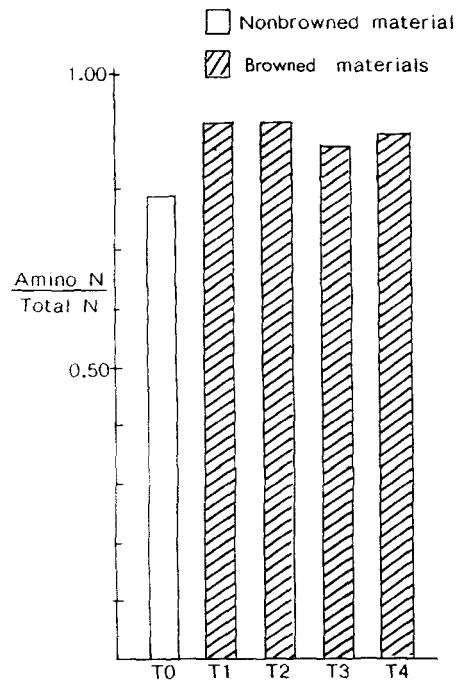


Fig. 4. The ratio of amino N on total N of browned and nonbrowned materials.

응시 일어나는 아미노산의 영양적 손실을 단순히 산가수분해에 의한 함량차로서 결정할 수 없는 중요한 이유가 되겠다. 한편 전분 첨가에 따른 효과를 살펴보면 동시보호구에서 총 필수 및 총 아미노산의 함량이 무보호구에

비하여 5.5% 및 4.6% 감소하고 있으나 단독 및 자당첨가 동시보호구에서는 거의 차이가 없었다. 이는 전분 첨가가 갈변반응시 비아미노태와 아미노태 질소간의 손실 비율에 거의 영향을 미치지 않는다는 것을 말해 준다 하겠다.

In vitro 아미노산 소화율

Table 3에서 나타난 산가수분해에 의하여 측정된 아미노산의 함량과 효소적 가수분해에 의하여 측정된 함량과의 비로서 측정된 개별 및 총 아미노산의 in vitro 소화율을 Table 4에 나타내었다.

총 필수아미노산의 소화율은 비 갈변구의 경우 82.7%에 비하여 무보호구는 74.4%로 10%, 단독보호구는 73.0%로 11.7%, 동시보호구는 76.3%로 7.7%, 자당첨가 동시보호구는 77.7%로 6.0% 정도씩 감소하였다. 총 비필수아미노산의 소화율도 비갈변구의 경우 43.7%에 비하여 무보호구는 41.1%로 5.9%, 단독보호구는 41.8%

로 4.3%, 동시보호구는 42.1%로 3.7%, 자당첨가동시보호구는 41.5%로 5.0% 정도씩 감소하였다. 총 아미노산의 경우 비갈변구의 경우 62.0%에 비하여 무보호구는 56.8%로 8.4%, 단독보호구는 56.2%로 9.4%, 동시보호구는 58.0%로 6.5%, 자당첨가 동시보호구는 58.2%로 6.1% 정도씩 감소하였다. 또한 갈변화 여부에 관계없이 모든 처리구에서 필수아미노산의 소화율이 비필수아미노산의 소화율보다 훨씬 높게 나타났다. 개별 아미노산의 경우 갈변화에 의하여 격심한 소화율 감소를 보인 것이 lysine으로 비갈변구의 경우 77.1%인 것에 비하여 무보호구는 43.8%로 43.2%, 단독보호구는 42.1%로 45.4%, 동시보호구는 45.5%로 41.0%, 자당첨가 동시보호구는 51.9%로 32.7%정도씩 감소하였다.

Plakas 등⁽³⁾은 어류단백질과 포도당간의 갈변반응 생성물에 대한 아미노산의 함량을 산가수분해 및 pronase에 의한 효소적 가수분해 방법으로 측정 비교한 결과 총 아미노산의 71% 정도가 pronase에 의하여 유리되었고

Table 3. Individual amino acid content of nonbrowned materials(NBM) and browned materials(BM) hydrolyzed by 6N-HCl and of browned materials hydrolyzed by the enzymatic hydrolysis(EH) (g/16gN)

Treatments Amino acid	T 0		T 1		T 2		T 3		T 4	
	NBM	EH	BM	EH	BM	EH	BM	EH	BM	EH
Thr	3.47	2.84	3.98	2.96	4.15	2.94	3.88	3.02	3.98	2.96
Val	4.73	3.84	5.24	4.24	5.06	4.12	5.25	4.25	5.40	4.20
Met	2.67	2.45	2.84	2.80	2.83	2.38	2.68	2.56	2.60	2.46
Ile	4.41	3.63	4.91	4.34	4.98	3.76	4.82	3.90	4.95	3.88
Leu	6.60	4.92	7.47	5.55	7.77	5.24	7.58	5.42	7.61	5.39
Phe	4.35	3.41	5.04	3.73	5.09	3.58	4.91	3.47	4.96	3.57
His	3.12	3.14	3.87	3.88	4.23	4.45	4.05	4.10	3.98	4.00
Lys	5.60	4.32	5.92	2.59	6.27	2.64	5.80	2.64	6.01	3.12
Arg	2.28	2.30	1.93	1.78	1.86	1.74	1.50	1.53	1.55	2.30
TEAA	37.29	30.85	42.85	31.87	42.24	30.85	40.48	30.89	41.01	31.88
ASP	5.51	1.57	6.10	1.55	6.31	1.53	6.12	1.53	6.05	1.47
Ser	4.24	4.27	4.77	4.79	5.03	5.31	4.74	4.79	4.82	5.20
Glu	14.87	3.65	16.83	3.64	17.23	3.67	16.77	3.62	16.68	3.67
Pro	9.25	1.34	10.82	1.47	10.79	1.52	10.07	1.42	10.71	1.42
Gly	1.64	1.25	1.88	1.18	1.88	1.33	1.77	1.19	1.78	1.16
Ala	2.77	2.55	3.13	2.71	3.18	2.63	2.91	2.65	2.91	2.58
Cys	0.32	0.22	0.42	0.24	0.12	0.13	0.20	0.23	1.10	0.21
Tyr	2.58	3.59	4.25	4.25	4.44	4.33	3.81	4.08	4.07	4.26
TNEAA	42.18	18.44	48.20	19.83	48.98	20.45	46.39	19.51	48.12	19.97
TAA	79.47	49.29	91.05	51.70	91.22	51.30	86.87	50.40	89.13	51.85

NBM; storage at -20°C

BM; storage at 37°C for 30 days

Table 4. In vitro digestibility of amino acid estimated by the enzymatic hydrolysis procedure(%)

Treatments	T 0*	T 1	T 2	T 3	T 4
Amino acid					
Thr	81.8	74.4	70.8	77.8	75.0
Val	81.2	80.9	81.4	81.0	77.8
Met	91.8	98.6	84.1	95.5	94.6
Ile	82.3	88.4	75.5	80.1	78.4
Leu	74.5	74.3	67.4	71.5	70.8
Phe	78.4	74.0	70.3	70.7	72.0
His	100	100	100	100	100
Lys	77.1	43.8	42.1	45.5	51.9
Arg	100	92.2	93.5	100	100
TEAA	82.7	74.4	73.0	76.3	77.7
Asp	28.5	25.4	24.2	25.0	24.3
Ser	100	100	100	100	100
Glu	24.5	21.6	21.3	21.6	22.0
Pro	14.5	13.6	14.1	14.1	13.3
Gly	76.2	62.8	70.7	67.2	65.2
Ala	92.1	86.6	82.7	91.1	88.7
Cys	68.8	57.1	100	100	19.1
Tyr	100	100	97.5	100	100
TNEAA	43.7	41.1	41.8	42.1	41.5
TAA	62.0	56.8	56.2	58.0	58.2

* : Nonbrowned materials

lysine의 경우 저장기간이 길어질수록 극심한 손실을 보여 40일 저장시 83%의 손실을 나타내어 다른 개별 아미노산 보다 훨씬 높은 손실을 일으켰다고 보고 하였고 Rayner와 Fox⁽⁹⁾도 가열 처리한 유채분말(rapeseed meal)에서 pronase에 의한 필수아미노산의 in vitro 소화율을 50~80%로 보고하였고 가열시간의 증가에 따라 lysine 소화율이 격심하게 감소한다고 하였다. 이러한 사실은 lysine의 ϵ -NH₂기와 당의 carbonyl기 간의 반응으로 형성된 schiff's base가 Amadori 전위로 fructosyl-lysine를 형성 불소화물로 되기 때문⁽¹²⁾이며 또한 lysine의 ϵ -NH₂기와 aspartic acid, glutamic acid, glutamine과 asparagine 등의 amide기 및 carbonyl기와의 isopeptide 결합을 통한 결합생성물(link products)의 형성^(22,23)등으로 lysine의 불활성화가 일어나기 때문으로 사료되는데 본 연구에서 비필수아미노산간의 소화율이 많은 차이를 보인 사실과 특히 Asp, Glu의 소화율이 극히 낮았던 원인으로도 볼 수 있겠다. 비필수아미노산간의 소화율 격차는 이런 이유 외에

도 단백질을 구성하고 있는 아미노산의 peptide 결합이 아미노산의 종류에 따라 효소에 의하여 받는 가수분해도에 차이가 있으며⁽¹⁴⁾, in vitro 소화에서는 소화가 진행됨에 따라 소화 생성물의 축적에 의하여 소화진행의 장애가 일어나므로 아미노산의 종류에 따라 소화율의 차이가 일어나는 것⁽¹⁵⁾으로 사료되며 필수아미노산이 비필수아미노산보다 소화속도가 훨씬 빠른 것으로 추정된다.

한편 전분첨가에 따른 아미노산의 in vitro 소화율 변화를 보면 총 필수아미노산의 경우 무보호구에 비하여 동시보호구 및 자당첨가동시보호구에서 각각 2.6% 및 4.4%의 소화율 증가를 보였고 lysine 소화율의 경우 동시보호구에서 3.9%, 자당첨가동시보호구에서 18.5%나 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 Met, Ile, Leu, Phe 등은 오히려 무보호구에서 소화율이 증가하였고 총 비필수아미노산의 소화율은 전분 첨가 여부에 따른 차이가 거의 없으므로 전분보호 효과는 갈변에 의하여 격심한 손상을 받는 lysine에 주로 영향을 미치는 것으로 사료된다.

In vitro available lysine 및 fructosyl-lysine 함량

Available lysine의 측정 방법에는 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene(FDNB)(Carpenter procedure) method⁽¹⁶⁾, 2,4,6-Trinitrobenzene sulfonic acid(TNBS) method⁽¹⁷⁾등 화학적 방법과 미생물학적 정량, in vitro에서 효소적 소화에 의한 정량 또는 in vivo 정량 등 생물학적 방법으로 구분할 수 있겠다. 화학적 방법인 FDNB 방법에서는 ϵ -DNP-lysine이 산가수분해 중 약간의 파괴가 일어나며 TNBS 방법은 생성된 ϵ -TNP-lysine이 산가수분해에 의하여 파괴되지 않은 장점 대신에 아미노당을 함유하고 있는 casein에 적용할 경우 아미노당과 TNBS 간에 형성된 착색 유도체들 때문에 available lysine 함량이 높게 측정되는 결점이 있다고 보고되고 있다⁽¹⁸⁾. 한편 in vitro에서 효소적 소화에 의한 방법도 소화기 내의 환경을 완전히 재현시킬 수 없으므로 이 방법으로 측정된 available 또는 unavailable 아미노산이 검출조건에 영향을 받게 되므로 엄격한 구분이 힘들며 단지 소장내의 효소에 의하여 유리될 수 있는 아미노산들의 양을 추정할 수 있는 척도를 제공해 줄 뿐이라고 알려져 있으나^(16,19) Rayner와 Fox⁽⁹⁾는 pronase에 의한 in vitro 방법으로 측정된 available 아미노산과 in vivo available 아미노산간에는 잘 일치한다고 보고하고 있다.

본 연구에서 pronase에 의하여 측정된 in vitro

에서 Amadoir 전위물로서 반드시 거쳐야 하는 초기 단계이며⁽¹²⁾ 또한 갈색도에서 무보호구에 비하여 전분 첨가구들이 유의적으로 낮았던 사실을 감안하여 보면 전분에 의한 반응물의 보호효과가 인정되는 것으로 사료된다. 한편 in vitro available lysine 함량과 fructosyl-lysine 함량간에는 상호 가역적인 상관관계($r = -0.9689$, $Y = -1.775X + 4.303$, Y : Lys, X : F-Lys, $n=10$)가 있어 lysine의 영양적 손실은 주로 fructosyl-lysine의 생성 때문으로 추정할 수 있겠다. 총 lysine 함량에 대한 fructosyl-lysine의 함량 백분율을 살펴보면 비갈변구에서 1.5%의 불과한 것이 갈변구($T_1 \sim T_4$)에서는 13.2%에서 16.0%까지의 분포를 나타내어 비갈변구에 비하여 10배 이상 증가하고 있고 nonavailable lysine 함량에 대한 fructosyl-lysine의 함량 백분율은 비갈변구에서 6.6%인 것이 갈변구($T_1 \sim T_4$)에서는 22.9%에서 28.5%까지의 분포를 나타내어 4배 정도 증가하고 있다. 이와 같은 사실은 Erbersdobler⁽¹³⁾가 온화한 또는 중간 정도의 조건에서 열 손상을 받는 식품에서 가장 중요한 반응생성물의 fructosyl-lysine으로서 분무 건조한 탈지분유에서 건물 100g 당 0.4g 정도(16g N 중으로 계산하면 약 1.33g) 생성된다는 사실로 볼 때 단백질의 당과의 갈변반응시 fructosyl-lysine의 생성량이 갈변 생성물의 상당한 부분을 차지하는 것으로 추정할 수 있겠다.

요 약

옥수수 전분에 의한 casein 과 포도당간의 갈변반응 저지효과를 검토하기 위하여 반응물에 전분을 15% 첨가한 용액을 냉동건조하여 전분 보호막을 설치하는 방법으로 casein 만 보호한 경우, casein 과 포도당을 동시에 보호한 경우, 동시보호시 자당을 첨가한 경우와 무보호 경우 등으로 구분하여 RH 67%, 저장온도 37°C, 42°C 및 50°C에서 30일간 저장하여 갈변반응을 시킨 후 비갈변구를 대조구로 하여 갈색도를 측정하였다. 전분 보호효과를 인정할 수 있는 유의차를 보인 37°C 저장 경우에 한하여 아미노산 함량변화, in vitro 아미노산 소화율, in vitro available lysine 함량 및 fructosyl-lysine 생성량 등을 조사한 결과는 다음과 같다.

아미노산의 함량은 16g 질소당 g 으로 표시하였을 경우 Arg 과 Cys 을 제외하고는 전분 첨가에 관계없이 갈변에 의하여 증가하였고 전분 첨가효과는 없었다.

In vitro 아미노산의 소화율은 총 펩수 및 비펩수아미

노산에 있어서 전분첨가에 관계없이 갈변에 의하여 6.0~11.7% 및 3.7~5.9% 감소하였고 개별 아미노산의 경우 lysine 이 32.7~45.4% 감소하여 갈변에 의한 가장 격심한 소화율 감소를 나타내었다. 전분 첨가에 의한 보호효과를 보면 전분 및 자당을 동시첨가한 자당첨가동시보호구가 무보호갈변 경우에 비하여 18.5%의 lysine 소화율 증가를 나타내었다.

In vitro available lysine 의 함량은 전분첨가에 관계없이 갈변에 의하여 27.8~40.0% 감소하였고, 전분 첨가에 의한 보호효과를 보면 전분과 자당을 동시첨가한 자당첨가동시보호구가 무보호 갈변경우에 비하여 20.5% 정도 증가하였다.

Fructosyl-lysine의 함량은 전분 첨가에 관계없이 갈변에 의하여 10배 이상 증가하였고 전분 첨가에 의한 보호효과를 보면 보호 방법에 관계없이 보호구가 무보호 갈변구에 비하여 12.6~15.8% 정도 감소하였다.

감사의 말

본 연구는 문교부 연구비 일부 지원으로 수행된 연구이며 이에 깊이 감사드립니다.

문 헌

- Henry, K.M. and Kon, S.K.: Effect of reaction with glucose on the nutritive value of casein. *Biochim. Biophys. Acta.*, 5, 455(1950)
- Tanaka, M., Lee, T.C. and Chichester, C.O.: Effect of browning on chemical properties of egg albumin. *Agric. Biol. Chem.*, 39, 863(1975)
- Plakas, S.M., Lee, T.C., Wolke, R.E. and Meade, T. L.: Effect of Maillard browning reaction on protein utilization and plasma amino acid response by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutr.*, 115, 1589(1985)
- Mori, B. and Nakatsuji, H.: Utilization in rats of C¹⁴-L-lysine-labeled casein browned by amino-carbonyl reaction. *Agric. Biol. Chem.*, 41, 345(1977)
- Mohammed, K.: Preventing the Maillard reaction in synthetic dietary compositions. *U.S. Patent.* 4, 144, 357(1979)
- Lowy, P.H. and Borsook, H.: Preparation of N-substituted 1-amino-1-deoxy-D-arabino-hexuloses of arginine, histidine and lysine II. *J. Amer.*

- Chem. Soc.*, **78**, 3175(1956)
7. Borsook, H., Abrams, A. and Lowy, P.H. : Fructose-amino acid in liver ; stimuli of amino acid incorporation in vitro. *J. Biol. Chem.*, **215**, 111(1955)
 8. Horn, M.J., Lichtenstein, H. and Womack, M. : Availability of amino acids; A methionine-fructose compound and its availability to microorganisms and rats *J. Agr. Food Chem.*, **16**(5), 741(1968)
 9. Rayner, C.J. and Fox, M. : Amino acids digestibility studies of autoclaved rapeseed meals using an in vitro enzymatic procedure. *J. Sci. Food. Agric.*, **27**, 643(1976)
 10. Mizrahi, S., Labuza, T.P. and Karel, M. : Computer-aided prediction of extent of browning in dehydrated cabbage. *J. Food. Sci.*, **35**, (1970)
 11. Feeney, R.E. and Whitaker, J.R. : The Maillard reaction and its prevention. In *Food Protein Deterioration, Mechanism and Functionality*, Cherry, J.P. (ed.), American Chemical Society, Washington, D. C., p.201(1982)
 12. Friedman, M. : Chemically reactive and unreactive lysine as an index of browning. *Diabetes*, **31**(3), 5(1982)
 13. Erbersdobler, H.F. : The biological significance of carbohydrate-lysine crosslinking during heat-treatment of food proteins. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **86B**, 367(1977)
 14. Gauthier, S.F., Vachon, C., Johnes, J.D. and Savoie, L. : Assessment of protein digestibility by in vitro enzymatic hydrolysis with simultaneous dialysis. *J. Nutr.* **122**, 1718(1982)
 15. Robbins, R.C. : Effect of ratio of enzymes to substrate on amino acid patterns released from protein in vitro. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **48**, 44(1978)
 16. Carpenter, K.J. and Booth, V.H. : Damage to lysine in food processing ; its measurement and its significance. *Nutr. Rev.*, **43**, 424(1973)
 17. Okuyama, T. and Stake, K. : On the preparation and properties of 2,4,6-trinitrophenyl-amino acids and peptides. *J. Biochem.(Tokyo)*, **47**, 454(1960)
 18. Holsinger, V.H. and osati, L.P. : Chemical estimation of available lysine in dehydrated dairy products. In *Protein Nutritional Quality of Food and Feeds : Part 1*. Friedman, M.(ed), Marcel Dekker, Inc., New York, p.479(1975)
 19. Szmelcman, S. and Guggenheim, K. : Availability of amino acids in processed plant-protein foodstuffs. *J. Sci. Food Agric.*, **18**, 347 (1967)
 20. Finley, J.W. and Friedman, M. : Chemical methods for available lysine. *Cereal Chem.*, **50**, 101(1973)
 21. Erbersdobler, H.F. : Zur schädigung des Lysins bei der Herstellung und Lagerung von Trockenmilch. *Milchwissenschaft*, **25**, 280(1970)
 22. Bjarnation, J. and Carpenter, K.J. : Mechanism of heat damage to proteins. 1. Chemical change in pure proteins. *Br. J. Nutr.*, **24**, 313(1970)
 23. Waibel, P.E. and Carpenter, K.J. : Mechanism of heat damage in proteins with ϵ -(γ -L-glutamyl)-L-lysine. *Br. J. Nutr.*, **27**, 509(1972)

(1988년 4월 9일 접수)