

D-glucose-glycine系 Maillard反應生成物の 抗酸化作用

金善奉 · 朴榮浩 · 朴震宇* · 早瀬文孝** · 加藤博通**

釜山水産大學 食品工學科, *東義工業專門大學 食品工業科

**東京大學 農藝化學科

(1986년 10월 5일 수리)

Antioxidative Action of Maillard Reaction Products Derived from D-Glucose and Glycine System

Seon-Bong KIM, Yeung-Ho PARK, Jin-Woo PARK*, Fumitaka HAYASE** and Hiromichi KATO**

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Nam-gu, Pusan 608, Korea.

*Department of Food Processing, Dong-Eui Technical Junior College, Pusan, Korea,

**Department of Agricultural Chemistry, The University of Tokyo, Tokyo 113, Japan.

(Received October 5, 1986)

The antioxidative activity of each molecular weight (MW) fraction of Maillard reaction products prepared from a D-glucose and glycine system, i. e., MW below 1000, MW between 1000 to 5000 and MW above 5000, nondialyzable melanoidins, reduced melanoidins and ozone-treated melanoidins were estimated in a linoleic acid-aqueous system.

The antioxidative activity and reducing ability of Maillard reaction products increased with increasing molecular weight and color intensity. Maillard reaction products of MW above 1000 showed obvious antioxidative activity and reducing ability, whereas the MW fraction below 1000 showed only weak activities. When nondialyzable melanoidins were reduced with sodium borohydride, their color intensity and reducing ability remarkably decreased, but their antioxidative activity did not decrease so much.

緒 論

食用油脂 및 油脂를 함유하고 있는 食品에 있어서 油脂의 酸化에 의한 食品의 品質低下는 風味의 低下는 물론 毒性物質의 生成등의 측면에서 크다란 문제의 하나로 되고 있다. 때문에 抗酸化劑의 使用이 필요불가결한 것으로 되어, 天然 및 合成抗酸化劑가 사용되고 있다. 토코페롤등의 天然物由來의 抗酸化劑는 그 단독으로 사용할 경우에는 抗酸化能이 충분하지 않아서, BHA나 BHT 등의 合成抗酸化劑가 병용되고 있다. 이들 合成抗酸化劑는 毒性의 면에서

그 使用量이 法的으로 엄격히 제한되고 있으므로, 보다 毒性이 적은 抗酸化劑의 檢索을 위하여 많은 연구가 진행되고 있다(Hayase and Kato, 1984; Hudson, and Ghavami, 1984; 大澤와並木, 1981; Hudson and Lewis, 1983, 卞등, 1986 a, 1986 b). 이 중에서 食品의 成分間反應으로 生成되는 Maillard 反應生成物에 抗酸化作用이 입증된 이래로, Evans 등(1958) 및 Cooney 등(1958)은 amino-hexose reductone을 抗酸化劑로서의 利用에 대하여 시도한 바 있다. 그 후 山口등(1967a)은 糖-아미노산 褐變反應物의 添加에 의하여 油脂의 酸敗臭發生이 크

게 억제될 받는다고 보고하고 있다. 또한, Kirigaya 등(1968) 및 桐ヶ谷 등(1969)은 Maillard 反應生成物의 抗酸化作用은 주로 非透析性 melanoidin 에 의한다고 밝히면서, 그 抗酸化能은 特定の 획분에 한정되어 존재하지 않고, 정제를 계속해도 抗酸化性은 강하게 나타나지 않는다고 하였다. 더우기, melanoidin 을 酸化分解(加藤 등, 1975) 및 還元시켜도(山口와 小田, 1984) 抗酸化活性은 殘存한다고 報告하고 있다.

그러나, 抗酸化機構에 관하여는 melanoidin 의 構造에 관한 정보부족으로 아직 충분히 밝혀져 있지 않고 있다.

따라서, 본연구에서는 melanoidin 의 抗酸化機構를 밝히기 위한 일련의 연구로서 glucose-glycine 의 모델체를 통하여 調製한 Maillard 反應生成物을 分子量別로 分획하고 또한, 脱色 分解시켜서 그 抗酸化能을 비교·검토하였다.

實驗材料 및 方法

1. Maillard 反應生成物의 調製와 分子量別分劃

D-glucose(1 mol), glycine(1 mol) 및 $\text{NaHCO}_3(0.2 \text{ mol})$ 를 가열비등시킨 脱이온수로 용해시켜서 500 ml 로 하였다(pH 6.8). 이를 100°C 에서 9時間 加熱한 후, 流水로 냉각하여 Maillard 反應生成物로 하였다. 또한, 이 Maillard 反應生成物을 막여과를 통하여 分子量 1,000 以下, 分子量 1,000~5,000, 分子量 5,000 以上の 획분으로 각각 分획한 뒤 凍結乾燥하여 試料로서 사용하였다.

2. 非透析性 melanoidin 의 調製

上記에서 調製한 Maillard 反應生成物을 Hayase 등(1984) 및 金과 朴(1985)의 方法으로, 透析, 凍結乾燥하여 시료로 사용하였다.

3. 非透析性 melanoidin 의 오존酸化物 調製

上記에서 調製한 非透析性 melanoidin 을 Kim 등(1985, 1986 b)의 方法에 따라 오존分解한 후, 凍結乾燥에 의하여 試料로서 사용하였다.

4. 還元 melanoidin 의 調製

Kim 등(1986a)의 方法에 따라, melanoidin 에

NaBH_4 를 處理하여 調製하였다.

5. 還元力の 測定

試料 2g 을 0.3 M 인산완충액(pH 6.5) 5 ml 에 용해시키고, 여기에 1% potassium ferricyanide 용액을 1 ml 加한 후, Kim 등(1986 a)의 方法으로 환원력을 測定하였다.

6. 抗酸化性的의 測定

Hayase 와 Kato(1984)의 方法에 따라, linoleic acid 에 소정량의 Maillard 反應生成物을 加하여 45°C 에서 48 hr 방치한 후 과산화물가(POV)의 측정으로 항산화성을 나타내었다. Maillard 反應生成物의 抗酸化活性은 아래의 式으로 나타내었다.

Antioxidative activity = POV of test samples / pov of control $\times 100$ 上記式에서 구한 값이 낮을수록 항산화성이 강함을 의미한다.

實驗結果

1. Maillard 反應生成物의 抗酸化性

D-glucose-glycine 系로 부터 調製한 Maillard 反應生成物을 막여과에 의하여 分子量 1,000 以下, 分子量 1,000~5,000, 分子量 5,000 以上の 획분으로 分획하고 透析에 의하여 非透析性 melanoidin 을, 더우기 오존酸化에 의하여 오존酸化 melanoidin 및 NaBH_4 還元에 의하여 還元 melanoidin 을 각각 얻었다. 이들 Maillard 反應生成物의 各分획물 및 酸化還元 melanoidin 을 사용하여 linoleic acid 에 대한 抗酸化試驗을 행하여, 그 결과를 Table 1 과 Fig. 1 에 각각 나타내었다.

Maillard 反應生成物의 抗酸化性은 分子量別 分획의 결과, 分子量 1,000 以下の 低分子量 획분보다 分子量 1,000 以上の 比較의 高분자량 획분에 강하게 나타났다. 또한 Maillard 反應生成物의 添加量의 增加와 더불어 抗酸化性도 비례하여 增加하는 경향을 나타내었다. 한편, melanoidin 을 오존으로 脱色 및 分解시켜도 抗酸化力은 오존처리 前에 비하여 약간 低下하는데 불과하였다. melanoidin 을 還元시켜도 抗酸化力은 오존처리한 경우와 마찬가지로 還元 前後에 크다란 차이는 인정되지 않았다.

Table 1. Antioxidative activity* of Maillard reaction products derived from D-glucose and glycine system

Maillard reaction products	Color intensity**	Antioxidative activity per the weight of sample incubated		
		0.5 mg	2.0 mg	5.0 mg
Unfractionated	2.00	65.9	10.8	8.1
Below MW 1000	0.14	118.8	16.6	13.9
MW 1000 to 5000	5.67	18.6	9.4	67.2
Above MW 5000	7.09	13.9	9.6	7.6
Nondialyzable melanoidins	6.89	14.2	9.7	6.5
Ozone-treated melanoidins	0.52	16.4	12.8	11.7
Reduced melanoidins	2.31	16.6	9.0	7.8
Butylated hydroxyanisole	—	7.9	5.4	4.5
Butylated hydroxytoluene	—	4.0	4.0	4.0

* Antioxidative activity of Maillard reaction products was expressed by measuring peroxide value of linoleic acid with and without Maillard reaction products. Peroxide value of linoleic acid alone before and after incubation were 4.0 and 223.0, respectively.

** Indicated as optical density at 470 nm (2 mg of each Maillard reaction product was dissolved into 1 ml of deionized water).

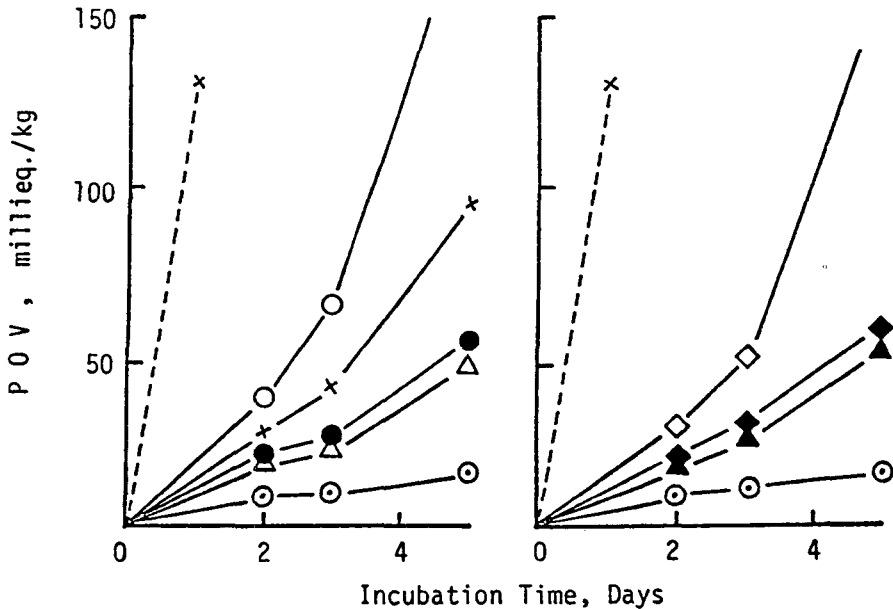


Fig. 1. Antioxidative effect of Maillard reaction products derived from D-glucose-glycine system.

2 mg of each Maillard reaction product was incubated with linoleic acid.

x...x; linoleic acid alone, x-x-x; unfractionated, O-O; below MW 1000, ●-●; MW 1000 to 5000, △-△; above MW 5000, ▲-▲; nondialyzable melanoidins, ◇-◇; ozone-treated melanoidins, ◆-◆; reduced melanoidins, ⊙-⊙; BHT

2. Maillard 反應生成物의 還元力

前記한 抗酸化試驗과 같이, Maillard 反應生成物의 各분획물 및 酸化, 還元 melanoidin 을 사용하여 還元力을 測定하여, 그 결과를 Table 2 에 나타내었다.

Maillard 反應生成物의 還元力은 分子量이 클수록 增加하는 경향을 나타내었다. 한편, melanoidin 의 還元力은 NaBH₄에 의한 還元처리로 약 50%, 오존 산화로 75% 가까이 각각 저하하였고, 着色度の 增加와 더불어 增加하는 경향을 나타내어 還元力과

Table 2. The reducing ability of Maillard reaction products derived from D-glucose and glycine system

Maillard reaction products	Reducing ability*
Unfractionated	0.43
Below MW 1000	0.38
MW 1000 to 5000	1.24
Above MW 5000	1.36
Nondialyzable melanoidins	1.42
Ozone-treated melanoidins	0.34
Reduced melanoidins	0.74

* Indicated as mg of ascorbic acid.

Maillard 反應生成物의 着色도와는 비례관계에 있는 것으로 나타났다.

考 察

Maillard 反應이 食品의 抗酸化性 發現에 크게 기여하는 것은 이미 잘 알려져있다(加藤, 1973).

Maillard 反應의 主要生成物인 melanoidin의 抗酸化性 發現因子로서, 우선 생각할 수 있는 것이 reductone 構造이다.

Reductone 構造는 melanoidin의 生成量이 增加함에 따라 거의 평행하여 增加한다 (Kirigaya 등, 1968). Reductone 構造의 含量과 還元力이 비례하므로 本研究에 있어서도 還元力을 測定하였다. 그 결과, Maillard 反應生成物(主로 melanoidin)의 分子量이 큰회분일수록 還元力이 크게 나타났으며, 그와 더불어 着色도도 增加하여 melanoidin의 還元力과 着色도와는 密接한 관계에 있음이 밝혀졌다.

또한, Maillard 反應生成物의 抗酸化力도 低分子量 획분에 있어서 보다도 高分子量 획분에서 강하게 나타났다. 前記의 還元力과 抗酸化性의 結果에서 일릿 還元力과 抗酸化性이 密接한 관계에 있는 것처럼 나타났다. 그러나, melanoidin을 還元 및 酸化시켰을 때, 還元力이 각각 1/2 또는 1/4로 감소하였지만, 抗酸化性은 약간 저하하는 정도일 뿐, 크다란 變化는 나타나지 않았다. 이런 점으로 보아 melanoidin의 抗酸化性에는 reductone 構造의 기여가 확실하지만 비례관계에 있다고만은 볼 수가 없다고 생각된다. 山口 및 藤卷(1970)도 melanoidin의 抗酸化性이 還元性 및 着色도와 반드시 비례관계에 있지 않다고 보고하고 있다.

또한 melanoidin은 腐植酸과 性質이 유사하여 이

은고환능을 가지므로 금속이온과 강하게 결합한다고 알려져 있다(Gomyo and Horikoshi, 1976). 따라서 melanoidin-金屬 복합체의 형성에 의한 melanoidin의 금속봉쇄작용으로 抗酸化能을 나타낸다고도 생각할 수 있다. 桐ヶ谷 등 (1969)은 褐變反應時의 條件과 抗酸化性과의 관계에 대하여 검토한 결과, pH가 높을수록, 또한 질소화합물을 많이 사용할수록 反應生成物의 질소함량이 많게 될 뿐만 아니라 抗酸化性도 강해진다고 밝히고, 질소를 함유하지 않는 caramel 색소에는 항산화성이 極微하므로 melanoidin의 抗酸化性의 發現에는 질소원자가 관계하고 있다고 기술하고 있다. 또한, Mitsuda 등 (1965)과 Lessig 및 Baltes(1982)는 糖-아미노酸의 反應으로부터 調製한 melanoidin에는 free radical이 존재하지만, 糖만으로 調製한 caramel 색소에는 free radical이 존재하지 않는다고 보고하고 있으므로, 이들 free radical이 脂肪酸由來의 活性 radical을 봉쇄함으로써 melanoidin의 抗酸化性 發現에 기여한다고 생각된다.

이상과 같이 melanoidin의 抗酸化性은 reductone 構造, 금속봉쇄작용, 질소를 함유하는 부분구조 및 radical 봉쇄작용 등에 의한다고 생각할 수 있다.

한편, melanoidin은 그 自身이 갖는 강한 抗酸化力은 물론, 天然 및 合成抗酸化劑와의 상승작용이 있으므로(山口 및 小山, 1967b), 지극히 有効하지만, 실제로 抗酸化劑로서 사용할 경우 着色하고 있으므로 사용의 限界가 있다. 따라서 본 연구에서는 오존을 사용하여 melanoidin을 탈색(97%)시켜도 抗酸化性이 간존하므로 이용가능 폭이 넓으리라 기대된다. BHA, BHT 등의 合成抗酸化劑는 加熱中에 蒸發에 의하여 손실되는 양이 많고, 또한 열안정성이 적을 뿐만 아니라 安全性에도 문제가 있으므로 사용량이 제한되고 있다. 그러나 melanoidin은 不揮發性으로 耐熱性도 우수하고 또한 安全性面에서도 거의 문제가 없으므로 (Kim 등, 1986 a), 새로운 식품첨가제 또는 식품素材로서 그 기대가 크다고 하겠다.

文 獻

卞韓錫·尹好東·金善奉·朴榮浩. 1986a. 생강추출물의 魚油에 대한 抗酸化効果. 韓水誌 19, 327-332.
 卞韓錫·尹好東·金善奉·朴榮浩. 1986b. 양파 및 겨자 추출물의 魚油에 대한 抗酸化効果. 韓水誌 19, 453-458.
 Cooney, P. M., J. E. Hodge and C. D. Evans.

1958. Development of color in fats stabilized with amino-hexose reductones. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 35, 167.
- Evans, C. D., H. A. Moser, P. M. Cooney and J. E. Hodge. 1958. Amino-hexose reductones as antioxidants. 1. Vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 35, 84.
- Gomyo, T. and M. Horikoshi. 1976. On the interaction of melanoidins with metallic ions. *Agric. Biol. Chem.* 40, 33—40.
- Hayase, F. and H. Kato. 1984. Antioxidative components of sweet potatoes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 30, 37—46.
- Hayase, F., S. B. Kim and H. Kato. 1984. Decolorization and degradation products of the melanoidins by hydrogen peroxide. *Agric. Biol. Chem.* 48, 2711—2717.
- Hudson, B. J. F. and J. I. Lewis. 1983. Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. Structural criteria for activity. *Food Chem.* 10, 47—55.
- Hudson, B. J. F. and M. Ghavami. 1984. Phospholipids as antioxidant synergists for tocopherols in the autoxidation of edible oils. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 17, 191—194.
- 加藤博通. 1973. アミノカルボニル反応生成物の抗酸化性. *日食衛誌*, 14, 343—351.
- 加藤博通・石川久隆・樫尾一・土田廣信・藤巻正生. 1975.メラノイジンの酸化分解および還元生成物の抗酸化性について. *日農化誌*. 49, 179—183.
- Kim, S. B., F. Hayase and H. Kato. 1985. Decolorization and degradation products of melanoidins on ozonolysis. *Agric Biol. Chem.* 49, 785—792.
- Kim, S. B., F. Hayase and H. Kato. 1986a. Desmutagenic effects of melanoidins against amino acid and protein pyrolyzates. *Devel. in Food Sci.* 13, 383—392.
- 金善奉・朴榮浩. 1985. 活性酸素種에 의한 melanoidin의 脱色 및 分解生成物(I), 釜山水大研報(自然科学), 25, 100—109.
- Kim, S. B. and Y. H. Park. 1986b. Decolorization and degradation products of melanoidin by active oxygens(II). *Bull. Korean Fish. Soc.* 19, 36—44.
- Kirigaya, M., H. Kato and M. Fujimaki. 1968. Studies on antioxidant activity of nonenzymatic browning products. Part 1. Relations of color intensity and reductones with antioxidant activity of browning reaction products. *Agric. Biol. Chem.* 32, 287—290.
- 桐ヶ谷紀昌・加藤博通・藤巻正生. 1969, 非酵素的褐變反應生成物の抗酸化性に関する研究(第2報). 非透析性褐變反應生成物の抗酸化性について. *日農化誌*, 43, 484—491.
- Lessig, U. und W. Baltes. 1982. Model-Untersuchungen zur Maillard-Reaktion. VII. Freie radikale in einigen ausgesuchten Melanoidinen. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 175, 13—14.
- Mitsuda, H., K. Yasumoto and K. Yokoyama. 1965. Studies on the free radical in amino-carbonyl reaction. *Agric. Biol. Chem.* 29, 751—756.
- 大澤俊彦・並木満夫. 1981. 植物中の新天然抗酸化剤, *化学と生物*, 19, 364—365.
- 山口直彦・藤巻正生. 1970. 還元糖とアミノ酸との褐變反應物に関する研究, *日食工誌*. 17, 136—147.
- 山口直彦・小田恒郎. 1984. 水素添加によるメラノイジンの抗酸化力の變化. *日食工誌*, 31, 577—580.
- 山口直彦・小山吉人. 1967a. 還元糖とアミノ酸との褐變反應物に関する研究(第4報), フェリシアン化カリウム還元力と油脂の安定性との關係. *日食工誌*, 14, 10—13.
- 山口直彦・小山吉人. 1967b. 還元糖とアミノ酸との褐變反應物に関する研究(第5報), 褐變反應物と法定抗酸化剤との油脂の安定性におよぼす効力の比較. *日食工誌*, 14, 281—285.