

Glucose-아미노산계 Maillard 반응생성물의 아질산염 소거작용

김선봉 · 이동호 · 염동민 · 박진우 · 도정룡 · 박영호
부산수산대학 식품공학과

Nitrite Scavenging Effect of Maillard Reaction Products Derived from Glucose-Amino Acids

Seon-Bong Kim, Dong-Ho Lee, Dong-Min Yeum,
Jin-Woo Park, Jung-Roung Do and Yeung-Ho Park

Department of Food Science and Technology, National Fisheries, University of Pusan, Pusan

Abstract

This research was carried out to investigate the effects of Maillard reaction products and nondialyzable melanoidins on the nitrite-scavenging. Nitrite-scavenging reactions were done at the different pH conditions(pH 1.2, 4.2 and 6.0). Maillard reaction products and nondialyzable melanoidins, produced from the glucose-amino acids(lys., gly., arg., his.)model systems, had a great of nitrite-scavenging effects. Nitrite-scavenging effects of Maillard reaction products and nondialyzable melanoidins were also pH dependent, being higher at pH 1.2 and lower at pH 6.0. By the treatment of Maillard reaction products and nondialyzable melanoidins with sodium borohydride, nitrite-scavenging effects were remarkably decreased at pH 1.2.

Key words: nitrite-scavenging, Maillard reaction products, melanoidin, nitrite

서 론

식품성분간의 상호반응이나 식품의 가공 저장 및 조리 중에 생성되는 발암물질 가운데 하나인 니트로사민은 2급 아민과 아질산과의 반응으로 식품에서 뿐만 아니라 생체의 胃내에서도 생성된다고 보고되고 있다⁽¹⁻⁶⁾.

이러한 N-nitroso 화합물의 전구물질 가운데 하나인 아질산염은 미량이기는 하나 야채류를 비롯하여 각종의 농산물에 널리 함유되어 있으며⁽⁷⁾, 질산염은 식물체내에서나 인체의 소화기 및 식품의 저장중에 질산환원 효소나 환원세균 등의 작용에 의하여 환원되어 아질산염으로 변화하기도 한다⁽⁸⁾.

또한, 아질산염은 단독 혹은 식염과 병행해서 사용할 경우 *Clostridium botulinum* 등 식중독 세균의 증식을 억제하는 효과가 있으며⁽⁹⁾, 육제품에 첨가하면 발색과 풍미 안정효과가 나타나므로⁽¹⁰⁾ 육제품이나 기타의 식품에

보존효과나 발색제로써 널리 이용되고 있으나, 아질산염 자체로도 독성을 나타내기도 한다⁽¹¹⁾. 또한 식품의 안정성 측면으로 보아 니트로사민과 그의 전구물질인 아질산염에 대하여 점차 관심의 대상이 되고 있는 것은 이들 니트로사민이 식품 성분간의 상호반응으로 인하여 식품내에서 뿐만 아니라 nitroso 化 반응이 인체의 胃내의 pH 조건과 유사하며, 胃내에서도 쉽게 생성될 수 있다는데 있다.

따라서, 본 연구에서는 니트로사민의 생성에 있어서 가장 직접적인 생성인자가 아질산이기 때문에 이들 아질산을 효과적으로 분해하는 것이 곧 니트로사민의 생성억제와 직결된다고 볼 수 있으므로 식품의 안정성 평가를 위한 수단의 하나로 식품의 가공, 저장 및 조리중에 식품성분간의 상호반응으로 용이하게 생성되는 Maillard 반응 생성물과 비투석성 melanoidin을 사용하여 아질산염 소거작용에 대하여 연구, 검토하였다.

재료 및 방법

Corresponding author: Seon-Bong Kim, Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-023

시료의 조제

Maillard 반응 생성물 : D-glucose 1M 과 아미노산 (L-arginine, glycine, L-histidine monohydrochloride 및 L-lysine monohydrochloride 이상 Hayashi pure chem. Ind. Co.) 각 1M (glucose-histidine 계는 각각 0.5M) 및 반응촉매로서 NaHCO₃ 0.25M 을 넣고 pH 6.8로 조절하였다. 이 용액 50ml를 100°C water bath에서 7시간 가열하면서 인위적으로 Maillard 반응을 일으켜 얻은 생성물을 Maillard 반응 생성물로 하였다.

비투석성 melanoidin : 상기의 방법에 따라 얻은 Maillard 반응생성물을 cellulose 반투막(M.W. cut off 12,000~14,000)에 넣어 중류수중에서 24시간 투석한 다음, 투석막내액을 진공 동결건조하여 비투석성 melanoidin을 얻었다.

還元 Maillard 반응생성물 : 상기의 Maillard 반응 생성물 3ml를 6N NaOH로 pH를 8.0으로 조절한 다음 sodium borohydride(NaBH₄) 600mg을 가하여 실온에서 12시간 교반하면서 환원시켰다. 반응후 잔존하는 sodium borohydride는 6N HCl을 사용하여 분해시켜 반응을 정지시켰다. 이 용액을 환원 Maillard 반응 생성물로 하였다.

還元 비투석성 Melanoidin 비투석성 melanoidin 300mg을 3ml 중류수에 용해한 후 sodium borohydride 600mg을 가하여 실온에서 12시간 교반하면서 환원시킨 후 6N HCl을 사용하여 반응을 정지시킨 다음 중류수중에서 24시간 투석시켜 투석막내액을 진공 동결건조하여 이것을 환원 비투석성 melanoidin으로 하였다.

아질산염 소거능 측정

0.75mM NaNO₂ 용액 2ml에 일정량의 시료 (Maillard 반응생성물의 경우는 각 반응용액 50μl, glucose-his 계는 100μl, 비투석성 melanoidin의 경우는 5mg)를 가한 다음 0.1N HCl과 0.2M 구연산 완충액으로 반응액의 pH를 각각 1.2, 4.2 및 6.0으로 조절하면서 전체량을 10ml로 한뒤에 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 그후 반응용액 1ml를 취하여 2%초산 5ml와 Griess 시약(30%초산 용액으로 조제한 1% sulfanilic acid와 1%naphthylamine을 1:1로 혼합한 것) 0.4ml를 가하여 15분간 방치한 다음 520nm에서의 흡광도를 측정, 검량곡선으로 부터 잔존 아질산의 양을 산출하였다. 아질산염소거능은 시료 첨가전후의 소거된 아질산염의 백분율로서 나타내었다. 또한 풍시험은 상기와

동일조작으로 시료를 가지 않는 경우와 520nm에서의 시료만의 흡광도를 측정하는 경우로 나누어서 행하고, 이 값을 공제하여 아질산염량을 산출하였다.

갈변도의 측정

Maillard 반응생성물 50μl를 취하여 10ml로 정용한 후 420nm에서의 흡광도를 측정하여 나온 값을 갈변도로 하였다.

결 과

Maillard 반응생성물의 아질산염 소거능

Fig. 1은 Maillard 반응 생성물을 50μl씩 첨가하였을 때 (glucose-histidine 계는 100μl)의 아질산염 소거능을 나타낸 것이다. Maillard 반응생성물의 아질산염 소거능은 pH가 낮을수록 높게 나타나 pH 1.2에서는 거의 100%에 가까운 아질산염 소거능을 보였고 pH가 높을수록 시료간에 다소 차이는 있으나 감소하는 경향을 나타내었다.

Maillard 반응생성물의 아질산염 소거능에 대한 환원인자의 영향

Maillard 반응생성물에 존재하는 환원인자가 아질산염 소거능에 미치는 영향을 검토하기 위하여 Maillard 반

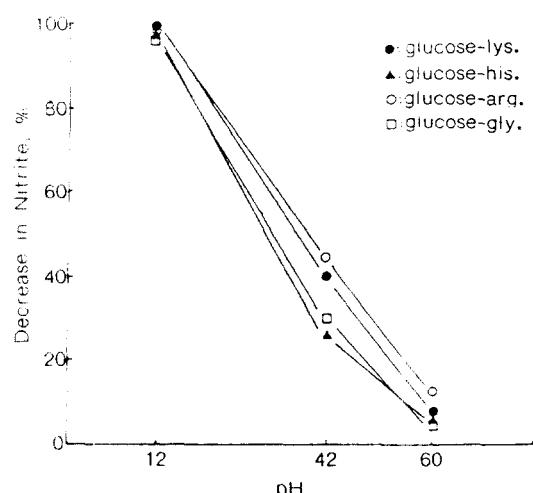


Fig. 1 Nitrite-scavenging effects of glucose-amino acids(llys., gly., arg., his.) systems Maillard reaction products under different pH conditions.

응생성물의 환원능을 소실시키고 난 후의 아질산염 소거능을 측정하였다. Table 1은 환원능소실 전후의 아질산염 소거능을 나타낸 것인데 4가지 반응계 모두에서 환원능이 소실되기 전의 시료보다 아질산염 소거능이 크게 감소하였다. 특히, pH 1.2에서는 환원능이 소실되기 전의 시료보다 아질산염 소거능은 약 50%정도 감소하여 모든 반응계에서 아질산염 소거능이 60%이하로 나타났다. 또한 pH 4.2와 6.0에서도 아질산염 소거능이 다소 감소하였다.

Table 1. Effects of reducing ability on the nitrite-scavenging effect of Maillard reaction products(MRP)

Reaction systems	Maillard reaction products ^a	Decrease in nitrite, %		
		pH 1.2	pH 4.2	pH 6.0
Glucose-lysine	MRP	99.7	39.4	7.7
	Reduced MRP ^b	57.0	28.4	6.5
Glucose-arginine	MRP	98.8	44.0	12.2
	Reduced MRP	56.0	15.5	10.8
Glucose-glycine	MRP	96.9	29.2	4.8
	Reduced MRP	57.3	15.7	3.8
Glucose-histidine ^c	MRP	97.8	25.7	6.8
	Reduced MRP	56.6	18.4	5.7

a: 50 μ l of MRP and reduced MRP were incubated with 2ml of 0.75mM sodium nitrite at 37°C for 1hr.

b: Obtained from MRP treated with NaBH₄ under alkaline pH condition.

c: 100 μ l of MRP and reduced MRP were incubated with 2ml of 0.75mM sodium nitrite at 37°C for 1hr.

Maillard 반응생성물의 아질산염 소거능에 있어서 비투석성 melanoidin의 역할

Table 2는 Maillard 반응생성물의 아질산염 소거능 중에서 비투석성 melanoidin이 기여하는 정도를 나타낸 결과이다. glucose-lysine 계 Maillard 반응생성물 50 μ l 중 비투석성 melanoidin의 생성량은 2.75mg이며 그때의 아질산염 소거능이 pH 1.2에서 81.9%로 나타났으며 glucose-glycine, arginine 및 histidine 계 Maillard 반응생성물 중 비투석성 melanoidin의 생성량은 1.57, 1.07, 0.76mg이며 그때의 아질산염 소거능은 각각 52.1, 36.4 및 23.9%를 나타내어 비투석성 melanoidin의 생성량이 많을수록 아질산염 소거능이 높은 것으로 나타났다.

비투석성 melanoidin의 아질산염 소거능

Fig. 2는 비투석성 melanoidin의 아질산염 소거능을 나타낸 결과이다. 비투석성 melanoidin 5mg을 첨가하여 아질산염 소거능을 검토한 결과 4가지 시료 모두 pH 1.2에서 100%에 가까운 아질산염 소거능을 나타내었다. 그러나 반응액의 pH가 높을수록 시료간에 다소 차이는 있으나 감소하는 경향을 나타내었다.

비투석성 melanoidin의 아질산염 소거능 정도

비투석성 melanoidin이 나타내고 있는 아질산염 소거능을 상대적으로 비교하기 위하여 아질산염 소거능이 강한 것으로 알려져 있는 L-ascorbic acid와 同量(5mg) 첨가하여 아질산염 소거능을 비교한 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 그 결과, pH 1.2에서는 아질산염 소거능이

Table 2. Contribution of nondialyzable melanoidins on nitrite-scavenging effects of Maillard reaction products(MRP)

Reaction systems	Amount of nondialyzable melanoidins (NM)* formed, mg	Decrease in nitrite, %					
		pH 1.2		pH 4.2		pH 6.0	
		MRP	NM	MRP	NM	MRP	NM
Glucose-histidine	0.76	97.8	23.9	25.7	3.9	6.8	1.5
Glucose-lysine	2.72	99.7	81.9	39.4	13.0	7.7	4.0
Glucose-arginine	1.09	98.8	36.4	44.0	6.0	12.2	1.1
Glucose-glycine	1.57	96.9	52.1	29.2	10.6	4.8	2.6

* Obtained by lyophilization after dialysis of each Maillard reaction product(3ml) against distilled water for 24hrs.

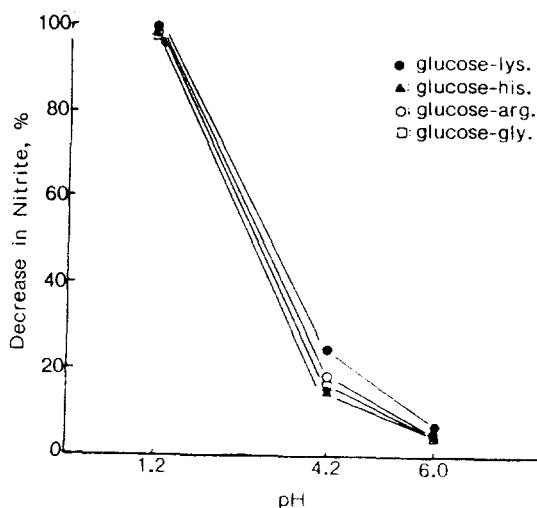


Fig. 2. Nitrite-scavenging effects of glucose-amino acids(lys., gly., arg., his.) systems nondialyzable melanoidins under different pH conditions

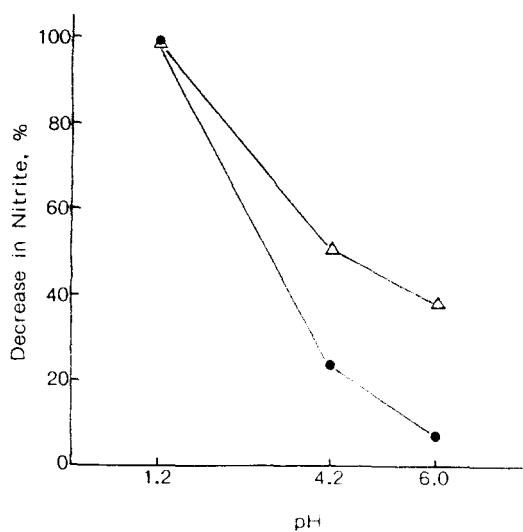


Fig. 3. Comparison of nitrite-scavenging effects between L-ascorbic acid and glucose-lysine system nondialyzable melanoidins.

5mg of L-ascorbic acid and melanoidins were incubated with 2ml of 0.75mM sodium nitrite at 37°C for 1hr
 ●; melanoidin Δ; L-ascorbic acid

ascorbic acid 와 거의 차이가 없었고, pH 4.2 와 6.0 에서는 L-ascorbic acid 가 다소 높은 것으로 나타났다.

비투석성 melanoidin의 아질산염 소거능에 대한 환원인자의 영향

Table 3은 비투석성 melanoidin에 존재하는 환원인자가 아질산염 소거능에 어느정도 영향을 미치는가를 검토한 결과를 나타낸 것이다. 4가지 시료 모두에서 환원성이 소실되기 전의 시료보다 pH 1.2에서 아질산염 소거능이 약 50%정도 감소하였다.

Table 3. Effects of reducing ability on the nitrite-scavenging effect of nondialyzable melanoidins(NM)

Reaction systems	Nondialyzable melanoidins*	Decrease in nitrite, %		
		pH 1.2	pH 4.2	pH 6.0
Glucose lysine	NM	99.2	24.2	7.0
	Reduced NM**	56.8	22.4	5.9
Glucose arginine	NM	98.3	18.3	4.2
	Reduced NM	56.5	12.1	3.1
Glucose glycine	NM	97.6	16.1	5.0
	Reduced NM	55.8	13.2	3.8
Glucose histidine	NM	98.0	14.4	5.2
	Reduced NM	49.3	10.2	3.4

* 5mg of NM and reduced NM were incubated with 2ml of 0.75mM sodium nitrite at 37°C for 1hr.

** Obtained from NM treated with NaBH₄ under alkaline pH condition.

고 챠

아질산과 2급 아민과의 반응으로 식품 및 생체내에서 용이하게 생성되는 나이트로사민은 그 주요 전구물질이 아질산이기 때문에 아질산염소거가 곧 나이트로사민 생성 억제에 직접적인 영향을 미친다고 볼 수 있다. 본 실험에서 사용한 Maillard 반응생성물과 비투석성 melanoidin의 아질산염 소거능은 전반적으로 높게 나타났다(Fig. 1, 2). 1. 정도는 강산성 영역(pH 1.2)에서 높게 나타났고 반응액의 pH가 증가할 수록 낮게 나타나 아질산염 소거 능은 pH의존성이 강한 것으로 나타났다. 나이트로사민은 강산성 조건 특히 생체내 胃의 pH 조건에서 용이하게 생성되므로 본 실험에서 본 바와같이 강산성 영역에서 Maillard 반응 생성물과 비투석성 melanoidin의 아질산염 소거능이 높게 나타난 것으로 보아 생체의 위내에서 이를 시료가 나이트로사민의 생성 억제에 크게 기여하리라 생각된다.

또한 Maillard 반응 생성물이 나타내는 아질산염 소거 능중 비투석성 melanoidin이 기여하는 정도를 검토한 결과(Table 2), 생성된 비투석성 melanoidin의 양이 많을수록 아질산염 소거능이 높은 것으로 나타나 Maillard 반응 생성물이 나타내는 아질산염 소거능 중 분자량이 큰 비투석성 melanoidin이 기여하는 정도가 큰 것으로 생각된다.

한편, Maillard 반응 생성물과 비투석성 melanoidin에 존재하는 환원성이 아질산염 소거능에 미치는 영향을 검토한 결과, 모든 시료에서 모두 환원성이 소실되기 전 보다 환원성이 소실되고 난 후의 아질산염 소거능이 급격히 감소하는 것으로 나타났는데(Table 1, 3) 저자등⁽¹²⁾은 환원된 melanoidin은 원래의 melanoidin 보다 환원성이 1/2정도 감소한다고 보고한 바 있다. 또한, 저자 등⁽¹³⁾은 실제 melanoidin을 사용해서 실험한 결과 pH1.2에서 환원성이 소실되기 전후의 아질산염 소거능이 각각 99.0%와 53.0%로 나타난 것으로 보고한 바 있어 이들 시료에 존재하는 환원인자가 아질산염 소거능에 크게 관여하는 것으로 밝혀졌다. 그리고 저자등⁽¹⁴⁻¹⁵⁾은 해조 및 야채추출물이 나타내는 아질산염 분해능에도 ascorbic acid 이외의 환원인자가 크게 관여한다고 보고한 바 있다.

따라서, 강력한 환원제로 알려져 있는 ascorbic acid의 아질산염 소거경로가 아질산이 ascorbic acid의 환원작용에 의해 nitric oxide(NO)로 분해된다고 보고되고⁽¹⁶⁾ 있는 것으로 보아 이들 Maillard 반응 생성물과 비투석성 melanoidin에 존재하는 환원능의 아질산염 소거 기구도 이와 유사할 것으로 생각되지만, melanoidin 분자중의 NH기와 HNO₃와의 직접반응 및 melanoidin에 의하여 HNO₂가 NO 및 HNO₃등으로의 변화 등도 추측될 수 있다.

요 약

식품의 가공, 저장 및 조리중 있어서 Maillard 반응으로 용이하게 생성되는 Maillard 반응 생성물과 비투석성 melanoidin의 아질산염 소거작용에 관하여 검토하였는데 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. Maillard 반응 생성물과 비투석성 melanoidin의 아질산염 소거능은 우수한 것으로 나타났다.
2. 반응용액의 pH 변화에 따른 아질산염 소거능은 pH1.2에서 가장 컸으며 pH가 증가 할 수록 아질산염

소거능은 감소하였다.

3. 환원능을 소실시키고 난 후의 아질산염 소거능은 pH1.2에서 1/2이하로 감소하였다.
4. Maillard 반응 생성물이 나타내는 아질산염 소거작용에는 melanoidin이 크게 관여하는 것으로 나타났다.

문 헌

1. Sen, N.P., Smith, D.C. and Schwinghamer. : Formation of N-nitrosamines from secondary amines and nitrite in human and animal gastric juice. *Food Cosmet. Toxicol.*, 7, 301(1969)
2. Mirvish, S.S. : Kinetics of dimethylamine nitrosation in relation to nitrosamine carcinogenesis. *J. Nat. Cancer Inst.*, 44, 633(1970)
3. Shigeyoshi, O. : Advances in chemical carcinogenesis by N-nitroso compounds. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 15(6), 419(1974)
4. Foreman, J.K. and Goodhead, K. : The formation and analysis of N-nitrosamines. *J. Sci. Fd. Agric.*, 26, 1771(1975)
5. Scanlan, R.A. : Formation and occurrence of nitrosamines in food. *Cancer Res.*, 43, 2435(1983)
6. Wanger, D.A. and Tannenbaum, S.R. : In-vivo formation of N-nitroso compounds. *Food Tech.*, 39(1), 89(1985)
7. Walker, R. : Naturally occurring nitrate/nitrite in foods. *J. Sci. Fd. Agric.*, 26, 1735(1975)
8. Leonard, B. : *Nitrogen metabolism plants*, Edward Arrold, 1st ed., p.19(1976)
9. Johnston, M.A., Pivnick, H. and Samson, J.M. : Inhibition of Clostridium botulinum by sodium nitrite a bacteriological medium and in meat. *Can. Inst. Food Tech. J.*, 2, 52(1969)
10. Macdougall, D.B., Mottram, D.S. and Rhodes, D.N. : Contribution of nitrite and nitrate to the colour and flavor of cured meats. *J. Sci. Food Agric.*, 26, 1743(1975)
11. Swann, P.F. : The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food Agric.*, 26, 1761(1975)
12. Kato, H., Kim, S.B., Hayase, F. and Chuyen, N.V. : Desmutagenicity of melanoidins against mutagenic pyrolysates. *Agric. Biol. Chem.*, 49, 3093(1985)

13. Kato, H., Lee, I.H., Chuyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F. : Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 1333(1987)
14. 김동수, 안방원, 염동민, 이동호, 김선봉, 박영호: 천연식품 성분에 의한 발암성 니트로사민 생성인자 분해작용, 1. 야채 주 출물의 아질산염 분해작용. *한국수산학회지*, **20**(5), 463(1987)
15. 김선봉, 안방원, 염동민, 이동호, 박영호, 김동수: 천연식품 성분에 의한 발암성 니트로사민 생성인자 분해작용, 2. 해조 추출물의 아질산염 분해작용. *한국수산학회지*, **20**(5), 469(1987)
16. Kawabata, T., Shazuki, H. and Ishibashi, T. : Effect of ascorbic acid on the formation of N-nitroso-dimethylamine *in vitro*. *Bull. Japanese Soc. Sci. Fish.*, **40**, 1251(1974)
(1988년 4월 12일 접수)