

Melanoidin과 시판 항산화제의 항산화작용 비교 및 그 상승효과

이문조 · 김현대 · 박진우* · 김동수†

경성대학교 공과대학 식품공학과
*동의공업전문대학 식품공업과

Comparison of the Antioxidant Activity of Melanoidin with Commercial Antioxidants and Their Synergistic Effects

Moon-Jo Lee, Hyun-Dae Kim, Jin-Woo Park* and Dong-Soo Kim†

Dept. of Food Science and Technology, Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea

*Dept. of Food Technology, Dongeui Technical Junior College, Pusan 614-053, Korea

Abstract

The present study was carried out to examine the antioxidative actions between the products of amino-carbonyl reaction and commercial antioxidants, and investigate their synergistic effects. Nondialyzable melanoidins exhibited more significantly in the antioxidative action than unfractionated melanoidins did. Also, in the case of unfractionated melanoidins, both glycine and histidine were more effective than aspartic acid for the antioxidative action. There was no significant difference among amino acids in the action of nondialyzable melanoidins. The unfractionated melanoidin was not as good as antioxidative action of the synthetic antioxidants, butylated hydroxytoluene, tert-butyl hydroquinone and ascorbic acid; however, the one was superior to that of natural antioxidants, α -tocopherol and lecithin. Otherwise, the action of nondialyzable melanoidin was similar to that of synthetic antioxidant. The synergistic effects were increased in using melanoidin with α -tocopherol and lecithin except for the systems of fructose-aspartic acid and fructose-glycine in unfractionated melanoidins.

Key words : melanoidin, antioxidative activity

서 론

식품의 조리, 가공 중 Maillard 반응에 의해 생성된 갈변물질 즉 melanoidin의 유지에 대한 항산화 작용에 관하여는 당-아미노산을 이용한 여러 모델계 및 식품에 이르기까지 많은 연구가 진행되고 있다¹⁻⁴⁾.

Kirigaya 등⁵⁾은 갈변물질의 항산화성은 이 물질에 함유되어 있는 질소량에 기인 된다고 보고하였으며, 加藤

등⁶⁾도 질소함량이 많을수록 항산화성도 강해진다고 밝히고 질소를 함유하지 않은 caramel 색소에는 항산화능이 아주 미약하므로 melanoidin의 항산화성의 발현에는 질소원자가 관계하고 있다고 보고하였다. 또한 Lingnert 등^{7,8)}은 glucose-histidine 및 glucose-arginine계 melanoidin의 항산화성이 크다고 보고하고 있다. 본 연구에서는 아미노산의 특성에 따른 Maillard 반응생성물이 항산화성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 아미노산의 R-그룹 전하특성이 다른 glycine, histidine 및 aspartic acid를 fructose와 반응시켜 생성된 melanoidin에

*To whom all correspondence should be addressed

대하여 비분획성 및 비투석성 혼분으로 나누어 그 항산화성을 검토하여 보았다. 또한 이들 melanoidin과 시판 항산화제와의 항산화 효과를 비교하고, 이들과 병용하였을 경우의 상승효과에 대하여도 분석 검토하였다.

재료 및 방법

시약

Linoleic acid

Linoleic acid (linoleic acid 55%, oleic acid 35%, 기타 10% 함유 : Fruka Chemie AG, Switzerland)를 -2°C 에서 7000rpm으로 15분간 원심분리시켜 상층부만 분취하여 사용하였는데, GC 분석에 의한 순도는 60.7%였다.

항산화제

BHT (butylated hydroxytoluene : Ueno, Japan, 순도 99%), TBHQ (*tert*-butyl hydroquinone : Ueno, Japan,

순도 99%), α -tocopherol (Roche Co, Switzerland, 순도 95%), lecithin (Centrol Soya, U.S.A., 순도 99%) 및 ascorbic acid (Dakeda Co., Japan, 순도 99%)는 식품첨가물용으로서 α -tocopherol (순도 95%)를 제외한 모든 항산화제는 그 순도가 99%이었으며, 이들을 각각 1% 농도로 조제하여 사용하였다.

Melanoidin의 조제

비분획성 melanoidin(unfractionated melanoidin)

Fig. 1에 나타낸 바와 같이 1L flask에 D-fructose 1mole과 각 아미노산(L-histidine, glycine : Sigma Chemical Co., U.S.A, L-aspartic acid : Fluka Chemie AG, Switzerland) 1mole 및 NaHCO_3 0.25mole을 넣고 탈이온수를 가하여 완전히 용해한 후 전량을 500ml로 정용하여 water bath에서 10시간 환류하면서 인위적으로 Maillard 반응을 일으켰다. 그 다음 회전 진공 증발기로 농축한 반응액을 진공 동결 건조하여 비분획성 melanoidin으로 얻었다.

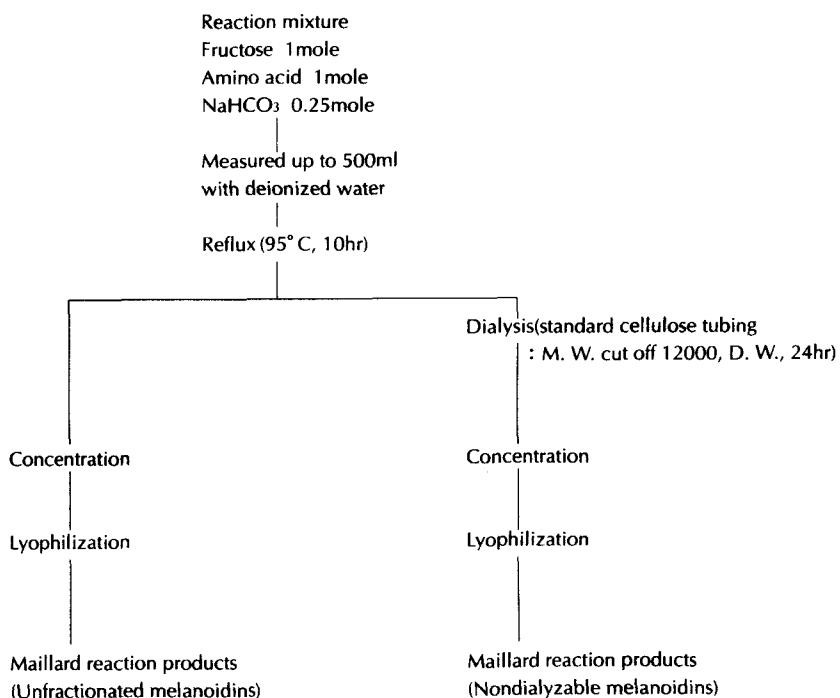


Fig. 1. Preparation of Maillard reaction products (melanoidins) from D-fructose and amino acids (L-histidine, glycine and aspartic acid).

비투석성 melanoidin(nondialyzable melanoidin) 비분획성 melanoidin과 같은 방법으로 조제한 반응용액을 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 cellulose 반투막(cut off M.W. 12000)에 충전하여 탈 이온수 중에서 24시간 투석한 후 투석막 내액을 회수하여 회전 진공 증발기로 농축한 다음 진공 동결 건조하여 비투석성 melanoidin으로 얻었다.

항산화성의 측정

Hayase 등⁹의 방법에 따라 POV(peroxide value)를 측정하여 항산화성의 지표로 삼았다. 즉 250ml 용 샴플 flask에 linoleic acid(POV 3) 1g과 ethanol 20ml 및 소정량의 melanoidin을 첨가후 0.2mole 인산 완충액 2.5ml를 주입하여 50°C에서 일정 기간동안 저장후 이 반응용액을 분액깔대기에 옮겨 chloroform 25ml를 가한 뒤에 하층부만 분취하였다. 이 분취액에 빙초산 25ml와 포화 KI 용액 1ml를 주입후 5분간 방치시켜 중류수 50ml를 가한 다음 전분용액 1ml를 위하여 1/100 N Na₂S₂O₃ 용액으로 적정하여 아래 식에 의거 산출하였으며, 또한 melanoidin과 기존 항산화제의 상승관계를 검토하기 위하여 항산화제(BHT, TBHQ, lecithin, α-tocopherol, ascorbic acid)을 melanoidin과 함께 첨가하였다.

$$\text{POV}(\text{meq/kg}) = \frac{S \times f \times N \times 1000}{\text{linoleic acid (g)}}$$

S : 1/100N Na₂S₂O₃ 용액의 소비량

f : 1/100N Na₂S₂O₃ 용액의 factor

N : Na₂S₂O₃ 용액의 normal 농도

결과 및 고찰

Melanoidin의 UV spectra에 의한 흡광도 변화

아미노산중 R-group의 전하 특성에 따른 melanoidin의 항산화 작용을 검토하기 위하여 L-histidine, glycine 및 aspartic acid들을 D-fructose와 반응시켜 조제한 각 모델계의 흡광도를 0.01% 수용액에 대하여 조사하고(UV-spectrophotometer, Shimadzu UV-160A, Japan) 그 결과를 Fig. 2에 나타내었다.

전 모델계에 있어 melanoidin은 짧은 파장 범위에서는 흡광도가 증가하였으나 파장길이가 길어질수록 감소하였다. 이는 Gomyo 등¹⁰이 보고한 melanoidin의 흡

Table 1. Yields of unfractionated and nondialyzable melanoidins derived from D-fructose and amino acid system

Model system	Unfractionated melanoidins	Nondialyzable melanoidins	Yields*
Fructose – Glycine	200g	30g	15%
Fructose – Histidine	180g	22g	12%
Fructose – Aspartic acid	200g	24g	12%

*Nondialyzable melanoidins/unfractionated melanoidins

광도와 비슷한 경향이었다. 또한 fructose-amino acid 계의 반응전 용액에 있어서는 250nm 이하에서 peak를 나타내고 있으나 250nm 이상에서는 파장길이에 따른 peak 변화가 없었다. 반면에 Maillard 반응을 일으킨 melanoidin계는 260~270nm에서 peak를 나타내었으며, 이중 비분획성 melanoidin에서 나타난 이 peak는 비투석성 melanoidin에서는 감소한 것으로 나타났다. 그리고 비분획성 melanoidin에 있어서는 fructose-histidine계의 흡광도가 가장 높았고, 비투석성 melanoidin에 있어서는 fructose-glycine계의 흡광도가 가장 높은 것으로 나타났다. 이같은 모델계간의 흡광도 변화는 Maillard 반응이 일어날 때 생성되는 갈변물질의 착색도 증가에 의한 것으로 보여지며, 이러한 착색도의 증가는 Kirigaya 등¹¹이 melanoidin중에 reductone 구조함량이 많을수록 착색도가 증가한다고 보고한 것으로 미루어보아 Maillard 반응 중간 생성물인 저분자의 reductone류에 기인한 것으로 추측된다.

Melanoidin의 항산화성

Fructose-amino acid(His, Gly, Asp)를 모델계로 하여 비분획성 melanoidin 및 비투석성 melanoidin을 조제하여 linoleic acid(순도 60.7%) 1g에 melanoidin을 모델계별로 0.5mg, 2mg, 5mg 및 10mg을 각각 첨가하고 50°C에서 7일간 저장하여 항산화 효과를 조사하고 그 결과를 Fig. 3, 4에 나타내었다.

비분획성 melanoidin에 있어서 항산화 효과는 melanoidin의 함량이 증가할수록 항산화 효과가 크게 나타났는며, 아미노산의 종류에 따라서도 항산화 효과가 다르게 나타났다. 즉 중성 아미노산인 glycine과 염기성 아미노산인 histidine을 사용하였을 경우가 산성 아미노산인 aspartic acid를 사용한 경우보다 항산화 효과

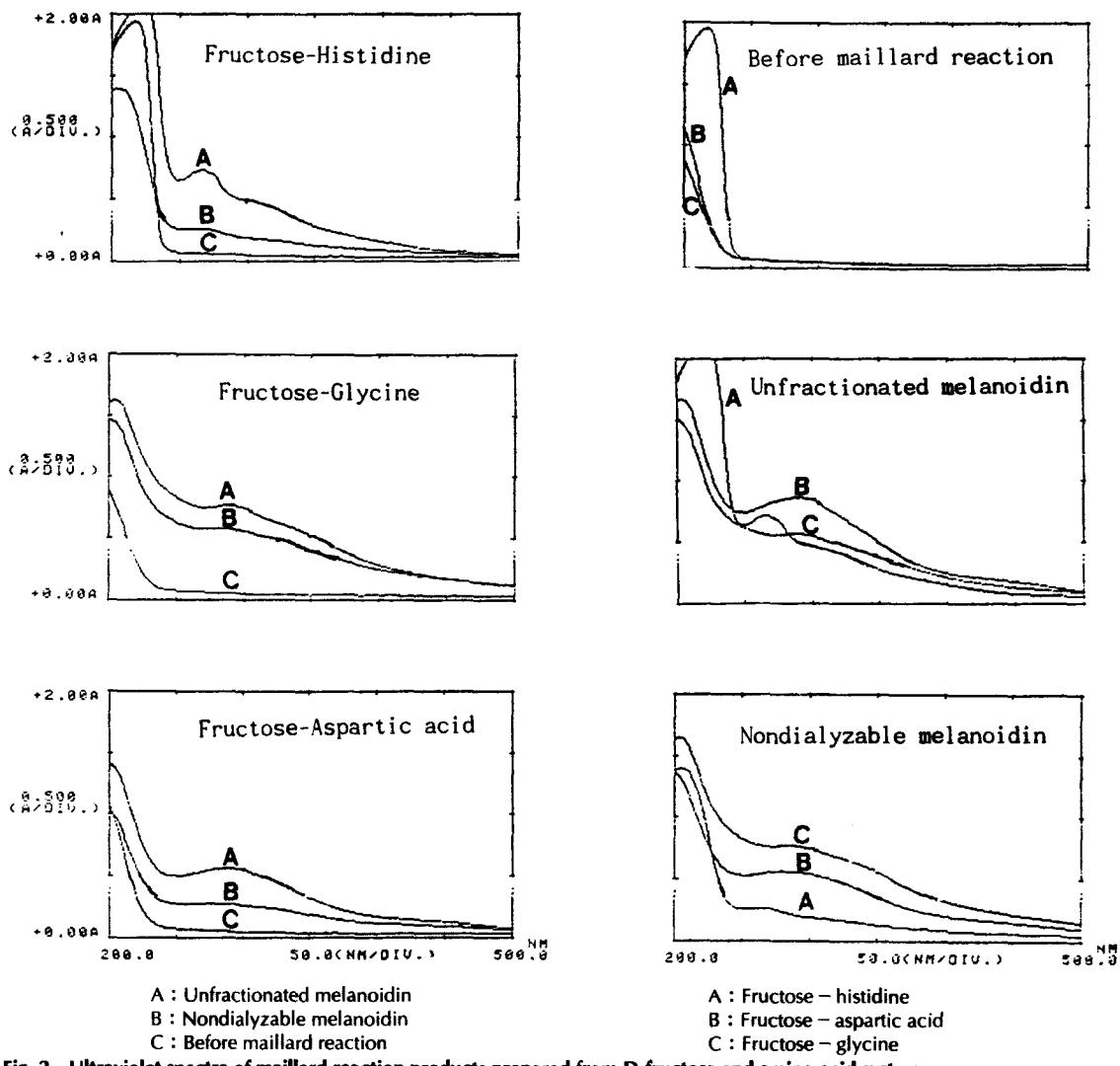


Fig. 2. Ultraviolet spectra of maillard reaction products prepared from D-fructose and amino acid system.

가 큰 것으로 나타났다(Fig. 3). 이러한 것은 아미노산의 R-그룹의 유리기들이 지방산 유래의 유리기들을 봉쇄함으로서 항산화 발현에 기여한다는 박과 이^[2]의 보고로 미루어 보아 아미노산의 R-그룹 특성에 따른 차이가 아닌가 생각된다. 또한 비투석성 melanoidin은 비분획성 melanoidin의 경우보다 전반적으로 항산화 효과가 큰 것으로 나타났다(Fig. 4).

이러한 현상은 melanoidin 가운데 분자량 12000 이상의 고분자 획분이 항산화 효과가 큰 것으로 보고되고 있는 Kirigaya 등^[3]의 보고와 일치하였다. 그리고 본 연구에서 melanoidin의 첨가량이 많을수록 항산화성을 증가하는 경향을 나타내었다. 그리고 비투석성

melanoidin의 경우는 아미노산의 종류에 따른 항산화 작용은 큰 차이를 나타내지 않았는데 이것은 고분자 획분의 경우는 아미노산의 R-그룹의 전하특성 차이에서 오는 영향보다는 분자량의 크기에 따른 영향이 더 크기 때문이 아닌가 생각한다.

Kirigaya 등^[3]은 당-아미노산계에서 생성된 Maillard 반응 생성물은 저분자 reductone류에는 항산화성이 없으며 항산화성의 원인물질은 최종 생성물의 고분자 melanoidin이라고 보고하였으며, 김 등^[13]은 Maillard 반응 생성물의 항산화성은 저분자 획분보다 고분자 획분에 강하게 나타났고, Maillard 반응 생성물의 첨가량 증가와 더불어 항산화성도 비례하여 증가한다고 보고한

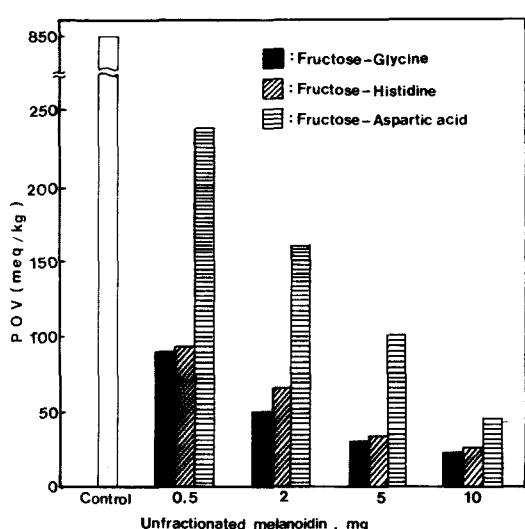


Fig. 3. Effect of unfractionated melanoidins on oxidation of linoleic acid.

Each amount of melanoidins was incubated with linoleic acid at 50°C for 7 days.

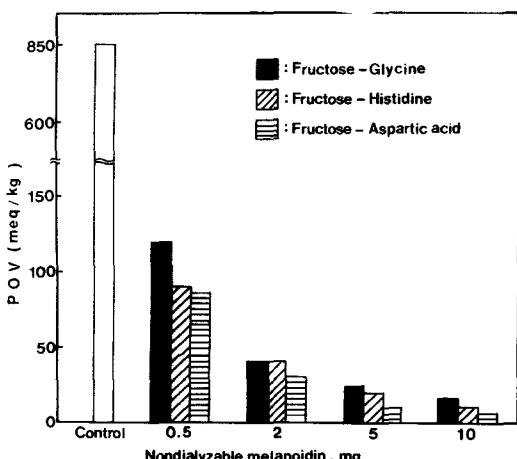


Fig. 4. Effect of nondialyzable melanoidins on oxidation of linoleic acid.

Each amount of melanoidins was incubated with linoleic acid at 50°C for 7 days.

것과 비슷한 경향이었다. 또한 Mitsuda 등¹⁴⁾ 및 Lessig 등¹⁵⁾은 당-아미노산의 반응으로부터 조제한 melanoidin에는 유리기가 존재하지만 당만으로 조제한 caramel 색소에는 유리기가 존재하지 않는다고 보고하여 이들 유리기들이 지방산 유래의 활성기를 봉쇄함으로써 melanoidin의 항산화성을 발현에 기여한다고 하였다.

Melanoidin과 항산화제와의 항산화성 비교

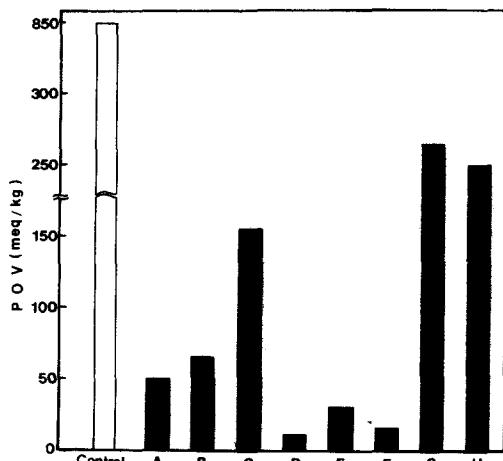


Fig. 5. Comparison of antioxidant effect of unfractionated melanoidins with antioxidants.

Two milligrams of each melanoidin and antioxidant were incubated with linoleic acid(1g) at 50°C for 7 days.

A : LA+Fru-Gly, B : LA+Fru-His, C : LA+Fru-Asp, D : LA+BHT, E : LA+TBHQ, F : LA+ascorbic acid, G : LA+ α -tocopherol, H : LA+lecithin.

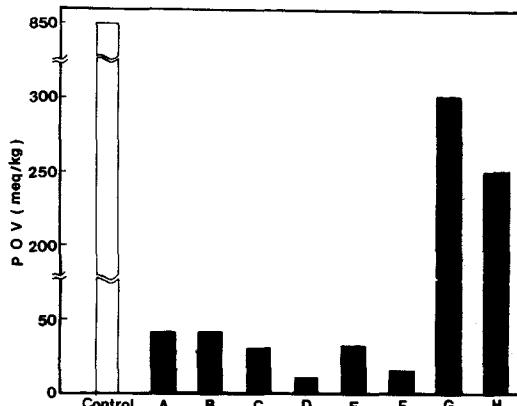


Fig. 6. Comparison of antioxidant effect of nondialyzable melanoidins with antioxidants.

Two milligrams of each melanoidin and antioxidant were incubated with linoleic acid(1g) at 50°C for 7 days.

A : LA+Fru-Gly, B : LA+Fru-His, C : LA+Fru-Asp, D : LA+BHT, E : LA+TBHQ, F : LA+ascorbic acid, G : LA+ α -tocopherol, H : LA+lecithin

식품에 많이 이용되고 있는 항산화제와의 항산화성을 비교하기 위하여 합성 항산화제(BHT, TBHQ, ascorbic acid) 및 천연 항산화제(α -tocopherol, lecithin)와 melanoidin의 항산화성을 비교한 결과를 Fig. 5 와 6에 나타내었다. 즉 linoleic acid 1g에 각 모델계 melanoidin 2mg 및 항산화제 2mg을 각각 첨가하여 50°C에서 7

일간 저장시킨 후 항산화성을 측정한 결과 비분획성 melanoidin 모델계는 BHT, TBHQ, ascorbic acid보다는 항산화성이 떨어지는 경향을 나타내었으나, α -tocopherol 및 lecithin보다는 항산화성이 우수한 것으로 나타났다(Fig. 5).

반면에 비투석성 melanoidin 모델계에 있어서는 BHT, TBHQ, ascorbic acid와 거의 같은 항산화성을 나타되었으며, α -tocopherol, lecithin보다는 아주 우수한 항산화성을 나타내었다(Fig. 6).

Melanoidin과 항산화제와의 상승작용

유지 및 유지식품에 많이 사용되고 BHT, TBHQ, ascorbic acid, α -tocopherol, lecithin 등의 항산화제와의 상승효과를 조사하기 위하여 melanoidin 1mg과 항산화제를 각각 1mg을 첨가하여 50°C에서 7일간 저장시킨 후 항산화성을 측정한 결과를 Fig. 7과 8에 나타내었다. 그 결과 BHT, TBHQ, ascorbic acid와 같은 합성 항산화제와의 병용 사용시에는 산화가 거의 일어나지 않았기 때문에 상승효과를 측정할 수 없었다. 이는 합성 항산화제와 melanoidin 그 자체가 상당히 우수한 항산화능을 갖고 있으므로 산화가 거의 일어나지 않았기 때문으로 추측된다. 반면에 α -tocopherol 및 lecithin과 같은 천연 항산화제와 melanoidin과의 병용 사용시에

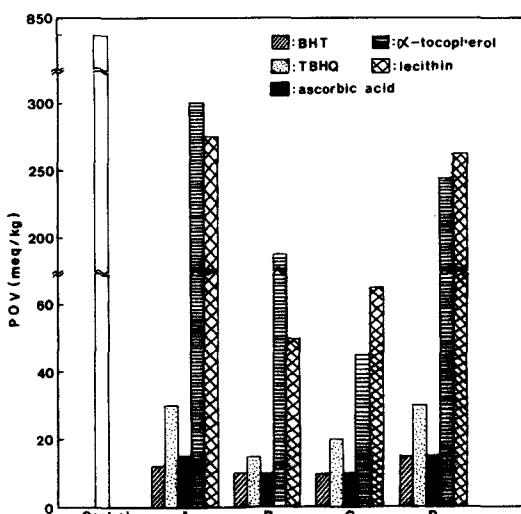


Fig. 7. Synergistic effects of unfractionated melanoidins on antioxidative action of antioxidants.

One milligram of each antioxidant and melanoidin were incubated with linoleic acid(1g) at 50°C for 7 days.

A : Linoleic acid (LA) + antioxidants

B : LA + antioxidants + Fru-Gly

C : LA + antioxidants + Fru-His

D : LA + antioxidants + Fru-Asp

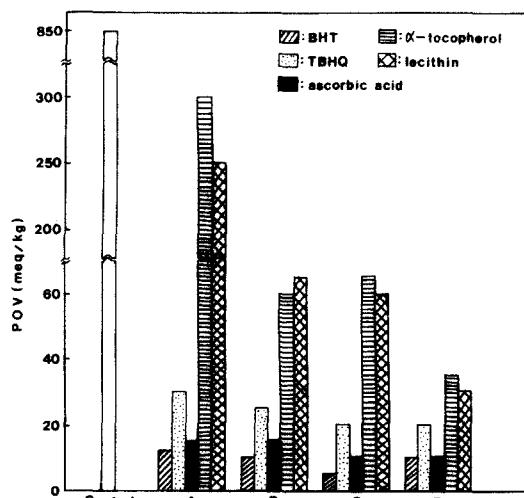


Fig. 8. Synergistic effects of nondialyzable melanoidins on antioxidative action of antioxidants.

One milligram of each antioxidant and melanoidin were incubated with linoleic acid(1g) at 50°C for 7 days.

A : Linoleic acid (LA) + antioxidants

B : LA + antioxidants + Fru-Gly

C : LA + antioxidants + Fru-His

D : LA + antioxidants + Fru-Asp

는 fructose-aspartic acid계 및 fructose-glycine계 비분획성 melanoidin외에는 서로간의 항산화성에 대한 상승효과는 상당히 큰 것으로 나타났다. 이는 그 단독만으로는 항산화능이 떨어지는 천연 항산화제는 항산화성이 우수한 melanoidin에 의해 상대적으로 항산화 효과가 커진 것으로 추측된다. 山口 등¹⁶은 melanoidin 그 자신이 항산화능을 갖는 것은 물론, 천연 및 합성 항산화제와의 상승작용이 있다고 보고하고 있다.

요 약

아미노산의 전하 특성에 따른 Maillard 반응생성물이 항산화성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 amino-carbonyl 반응 화합물과 시판 항산화제의 항산화작용을 비교하고 이들간의 상승작용을 검토하였다. 즉 fructose-amino acid(glycine, histidine, aspartic acid) 모델계를 사용하여 비분획성 melanoidin과 비투석성 melanoidin을 조제하여 이들 모델계의 melanoidin과 항산화제인 BHT, TBHQ, ascorbic acid, α -tocopherol, lecithin을 각각 linoleic acid에 소정량 첨가하고 50°C에서 일정기간 저장하여 linoleic acid의 산화 안정성을 비교 검토하였으며 또한 이들을 혼합 사용하였을 경우

의 상승효과를 조사한 결과는 다음과 같다. Melanoidin의 항산화성은 비분획성보다 고분자 melanoidin인 비투석성의 경우가 전반적으로 항산화성이 큰 것으로 나타났다. 그리고 아미노산의 종류에 따른 항산화 작용에 있어 비분획성의 경우는 glycine과 histidine이 산성아미노산인 aspartic acid를 사용한 경우보다 항산화성이 더 큰 것으로 나타났으며, 비투석성의 경우는 아미노산의 종류에 따른 차이는 크지 않은 것으로 나타났다. 한편 melanoidin의 농도가 높을수록 항산화 효과는 크게 나타났다. Melanoidin과 항산화제의 항산화성의 비교에 있어서는 비분획성 melanoidin계는 합성 항산화제인 BHT, TBHQ, ascorbic acid보다는 항산화성이 떨어졌으나 천연 항산화제인 α -tocopherol과 lecithin보다는 항산화성이 우수한 것으로 나타났다. 반면에 비투석성 melanoidin계에 있어서는 합성 항산화제의 항산화성과 거의 동일하게 인정되었으며, 천연 항산화제 보다는 항산화성이 매우 우수한 것으로 나타났다. 항산화제와의 상승효과는 천연 항산화제인 α -tocopherol과 lecithin에 melanoidin 모델계 6종류를 각각 병용하여 사용한 결과 fructose-aspartic acid계 및 fructose-glycine계 비분획성 melanoidin을 제외한 4종류는 그 상승효과가 매우 큰 것으로 나타났다. 한편 합성 항산화제인 BHT, TBHQ, ascorbic acid와 melanoidin을 병용사용한 경우는 상승효과를 측정하기가 곤란하였는데, 이것은 합성 항산화제만으로도 강력한 항산화 효과를 나타내었기 때문이라 생각한다.

문 헌

1. 並木滿夫, 林建樹 : Maillard 反應 - 最近の進歩. 化學と生物, **21**, 368 (1982)
2. Evens, C. D., Moser, H. A., Cooney, P. M. and Hodge, J. E. : Aminohexose-reductones as antioxidants. I. Vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **35**, 84 (1958)
3. Yamaguchi, N. : Effects of 3-deoxy-xylosone and its browning reaction product on the stabilities of fat and oil. *J. Food Sci. Technol.*, **16**, 94 (1969)
4. Yamaguchi, N. and Koyama, Y. : Studies on the browning reaction products yielded by reducing sugar amino acid. Part I. Effect of the substance extracted from biscuits and cookies by several organic sol-

- vents on the stability of fat. *J. Food Sci. Technol.*, **14**, 106 (1967)
5. Kirigaya, N., Kato, H. and Fujimaki, M. : Studies on antioxidant activity of nonenzymatic browning reaction product. Part II. Fractionation of browning reaction solution between ammonia and D-glucose and antioxidant activity of resulting fractions. *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, **45**, 292 (1971)
6. 加藤博通, 桐田谷紀昌, 藤巻正生 : 非酵素的褐変反応生成物の抗酸化性に関する研究(第2報). 非透析性褐変反応生成物の抗酸化性について. 日農化誌, **43**, 484 (1969)
7. Lingnert, H. and Waller, G. R. : Stability of antioxidants formed from histidine and glucose by the maillard reaction. *J. Agric. Food Chem.*, **31**, 27 (1983)
8. Lingnert, H. and Hall, G. : Formation of antioxidative maillard reaction products during food processing. *Develop. Food Sci.*, **13**, 273 (1986)
9. Kato, H. and Hayase, T. : Antioxidative components of sweet potatoes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **30**, 37 (1984)
10. Gomyo, T., Kato, H., Ueda, K., Horikoshi, M. and Fujimaki, M. : Chemical studies on melanoidins. Part II. Effects of heating on chemical properties of melanoidin prepared from glycine-xylose system. *Agric. Bio. Chem.*, **36**, 126 (1972)
11. Kirigaya, N., Kato, H. and Fujimaki, M. : Studies on antioxidant activity of nonenzymatic browning reaction. Part I. Relations of color intensity and reductones with antioxidant activity of browning reaction products. *Agric. Bio. Chem.*, **32**, 287 (1968)
12. Park, J. W. and Lee, Y. W. : Biochemical actions of maillard reaction products derived glucose-amino acid system. 東義工業専門大學論文集, p.185 (1990)
13. Kim, S. B., Park, Y. H., Park, J. W., Hayase, F. and Kato, H. : Antioxidative action of maillard reaction products derived from D-glucose and glycine system. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **20**, 52 (1987)
14. Mitsuda, H., Yasumoto, K. and Yokoyama, K. : Studies on the free radical in amino-carbonyl reaction. *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 751 (1965)
15. Lessig, U. and Baltes, W. : Model experiments for the maillard reaction IV. Free radicals in some selected melanoidins. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **175**, 13 (1982)
16. 山口直彦, 小山吉人 : 還元糖とアミノ酸とのかつ變反応物に関する研究(第5報)かつ變應物と法定抗酸化剤との油脂の安全性におよぼす效力の比較. 日食工誌, **14**, 281 (1967)

(1992년 8월 14일 접수)