

올리고당의 Maillard 반응물질의 유지에 대한 항산화효과

이수미 · 안명수

성신여자대학교 생활과학대학 식품영양학과
(1997년 6월 8일 접수)

The Antioxidative Effects of Maillard Reaction Mixtures of Oligosaccharides

Su Mi Lee and Myung Soo Ahn

Department of Food and Nutrition, College of Life Science, SungShin Women's University
(Received June 8, 1997)

Abstract

The purposes of this study were to investigate the Maillard reactions of some oligosaccharides with lysine and the antioxidative effects of the ethanol extracts from their reaction mixtures on the soybean oil. The Maillard reactions were carried out of 2% oligosaccharides such as palatinose (PN), fructooligosaccharide (FO), isomaltoligosaccharide (IMO) with 2% lysine (L) for 24 hours heating at 60, 80, 100°C. The color intensity of Maillard reaction mixtures were determined by UV-VIS spectrophotometer upon reaction time and temperature. And the antioxidative effects on the soybean oil of each ethanol extract from Maillard reaction mixture of each oligosaccharide were measured by peroxide value (POV). POV's of soybean oil including reaction extracts were determined regularly every 2 days during 20 days stored at 60±1°C. The results were obtained as follows: 1. The color intensity of the Maillard reaction mixtures were raised highly as the browning temperature and time increased. The color intensity of PN·L browning mixture was the highest. The order of high color intensity at 100°C was PN·L>FO·L>Glu·L>IMO·L. 2. Comparing the antioxidative effect of Maillard reaction product (at 100°C, for 12 hours) of each oligosaccharide to that of BHT and TBHQ, the order of high antioxidative effect was TBHQ>IMO·L>BHT>Glu·L>PN·L>FO·L. 3. From these results, it was known that PN·L shown as high brown color intensity was appeared low antioxidative effect, while IMO·L shown as low brown color intensity was appeared high antioxidative effect. So, it was recognized that there was no relation between brown color intensity and antioxidative effect.

I. 서 론

식품의 가공 및 저장 중에 비 효소적으로 일어나는 Maillard 반응은 식품의 색상과 향미에 영향을 주는 것과 한편으로는 반응특성, 반응메카니즘, 물질생성, 영양손실, 항산화성, 항돌연변이원성 등에 관한 보고들이 있으며¹⁻⁴⁾, 반응속도가 온도, pH, 기질의 종류 및 농도 그리고 여러가지의 염과 이온에 의하여 영향을 받는 것으로 알려져 왔다⁵⁻⁸⁾.

Yamaguchi들⁹⁻¹¹⁾은 포도당과 아미노산을 첨가하여 구운 과자의 유지에 대한 안정성에 관하여 시험한 결과 포도당 5% 첨가구와, 아미노산으로는 valine, glycine, lysine을 첨가했을 때 효과가 뛰어났음을 보고하였다.

Evans¹²⁾와 Griffith들¹³⁾은 갈색화 반응생성물의 유지에 대한 항산화성이 reductone에 기인한다고 보고한 반면 Kirigaya들¹⁴⁾은 갈색도에 비례하여 증가한다고 하였으며, 항산화성의 원인물질은 최종생성물인 melanoidin 이라고 하였고 melanoidin의 갈색도 및 환원력과 항산화성과의 사이에는 비례관계가 있음을 보고하였다.

Hwang¹⁵⁾과 몇몇 연구자들^{16,17)}은 Maillard 반응액에서 얻은 ethanol 추출물의 항산화효과는 반응초기에 생성되는 reducton류와 같은 중간생성물과 밀접한 관계가 있다고 하였다. 또한 Ahn¹⁸⁾은 각종 당류의 caramel형 갈색화반응물이 유지에 대하여 항산화성이 있음을 보고하였으며 Son¹⁹⁾은 Maillard 반응시 caffeic acid 를 첨가시켰을 때에 색깔의 강도 및 반응속도가 더욱 증

가하였음을 보고하였다.

올리고당은 대부분 식물체내 구조성분으로 존재하지만 최근에 효소를 이용하여 sucrose, lactose, maltose, glucose 및 전분으로 부터 생산하고 있다. α -1,4결합 이외에 glucose, fructose 및 galactose가 주로 α -1,6, β -2,1, β -1,6 linkage로 구성되어 있으며 물리적인 특성과 감미가 설탕과 매우 유사하여 설탕 대용품으로 이용되고 있으며 충치 예방과 인체의 건강에 유익한 점²⁰⁾이 과학적으로 증명되어 여러 식품에 첨가되고 있다. 우리나라에서는 1987년 Fructooligosaccharide가 생산된 이래 여러 회사에서 올리고당(Isomaltoligosaccharide, Maltoligosaccharide, Galactooligosaccharide, Soybean-oligosaccharide)이 생산되고 있다.

본 연구에서는 Maillard 반응 시스템에서 아미노산으로는 lysine을 사용하였고¹⁷⁾, 당류로는 올리고당 중 Palatinose(PN), Fructooligosaccharide(FO), Isomaltoligosaccharide(IMO)와 control로 Glucose(Glu)를 사용하여 60, 80, 100°C에서 가열하면서 가열시간별 중간 생성물의 대두유에 대한 항산화효과를 측정하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 시료

Maillard 반응에 사용한 당류로는 D(+)-Glucose(Junsei Chemical Co., Japan)과 올리고당으로는 Palatinose(제일제당), Fructo-oligosaccharide(삼양 제넥스), Isomaltoligosaccharide(두산중합식품)를, 아미노산으로는 lysine(Sigma Chemical Co.)을 사용하였으며 그의 시약들은 특급 시약을 사용하였다. 항산화성 측정에 사용된 기질 유지는 시판 중인 식용 대두유(제일제당)를 사용하였다.

2) Maillard 반응액의 조제

Amino-carbonyl 즉, Maillard 반응생성물을 얻기 위하여 glucose, palatinose, fructooligosaccharide 및 isomaltoligosaccharide 각각의 2% 용액에 2% lysine 용액을 동량씩 혼합하여 flask에 넣고 60, 80, 100°C로 유지된 항온수조내에서 갈색화 반응을 진행시켰다.

2. 실험방법

1) 각종 Maillard 반응액의 갈색도 측정

각각의 2% sugar 용액 20 ml와 2% lysine 용액 20 ml의 혼합액을 60, 80, 100°C에서 갈색화 반응을 진행시키면서 0, 6, 12, 18, 24시간마다 3 ml씩 취하여 Kim¹⁷⁾의 방법과 같이 UV-VIS Spectrophotometer(Pharmacia Biotech, Ultrospec 2000, Cambridge England)를

사용하여 490 nm에서 갈색도를 측정하였다.

2) 각종 Maillard 반응 ethanol 추출물의 대두유에 대한 항산화효과 측정

각종 올리고당의 lysine과의 Maillard 반응액 20 ml씩을 취하여 Kim¹⁷⁾의 방법과 같이 rotary vacuum evaporator로 45±1.0°C에서 감압 농축시킨 후 남은 잔사에 무수 ethanol 20 ml와 무수 Na₂SO₄를 가하고 1주야간 냉장방치한 후 탈수 여과하였다.

각종의 무수 ethanol 추출물 7.5 ml를 기질 대두유 150g에 첨가하고 magnetic stirrer로 잘 교반하고 용매를 휘발, 제거하였으며 대두유 150g에 무수 ethanol 7.5 ml만을 첨가한 후 용매를 휘발 제거시켜서 control로 하였다. 한편 기존 항산화제 중 BHT와 TBHQ를 기질대두유에 0.02%(w/w)씩 가한 뒤 산패도를 측정하여 이와 비교하였다.

이상과 같이 각종 반응추출물과 항산화제가 첨가된 대두유를 60±1.0°C로 유지된 항온기내에서 20일간 저장하면서 2일 간격으로 A.O.C.S. 방법²¹⁾에 의하여 과산화물값(Peroxide value)을 측정하여 meq/kg oil로 나타내었다.

3) Relative Antioxidant Effectiveness(RAE)의 산출
각 갈색화 반응액의 무수 ethanol 추출물의 항산화 효과를 Ahn¹⁸⁾이 사용한 방법에 따라 과산화물값이 40 meq/kg oil이 될 때까지를 유도기간으로 정하고 다음 식에 의해 상대적 항산화효과(Relative Antioxidant Effectiveness, RAE)를 산출하여 비교하였다.

$$RAE(\%) = \frac{I_s}{I_c} \times 100$$

I_c: Induction period of control

I_s: Induction period of sample

III. 실험결과 및 고찰

1. 올리고당의 Maillard 갈색화 반응액의 갈색도

2% glucose(Glu), palatinose(PN), fructooligosaccharide(FO), isomaltoligosaccharide(IMO) 용액들을 2% lysine(L) 용액과 동량씩 혼합하여 60, 80 및 100°C에서 24시간동안 가열하여 얻은 갈색화 반응액의 갈색도를 490 nm에서 측정한 결과는 Table 1에서 보는 것과 같았다.

각종 반응액의 반응온도에 따른 갈색도의 변화는 Table 2에서 보는 것과 같이 2% Glu, PN, FO, IMO 용액과 2% lysine 용액을 60, 80 및 100°C에서 가열한 경우 갈색도는 Glu·L의 경우 60°C에서는 6시간 가열시킬 때 0.026, 24시간에 0.033으로 증가폭이 크지 않

Table 1. Color intensity¹⁾ of the Maillard reaction mixtures from each oligosaccharide with lysine upon reaction temperature and time (at 490 nm)

Heating Temp.	Reaction mixture	Heating time(hrs)				
		0	6	12	18	24
60°C	Glu·L	0.025	0.026	0.027	0.030	0.033
	PN·L	0.024	0.029	0.029	0.031	0.034
	FO·L	0.025	0.028	0.028	0.029	0.029
	IMO·L	0.024	0.029	0.029	0.030	0.032
80°C	Glu·L	0.025	0.028	0.034	0.039	0.041
	PN·L	0.024	0.035	0.041	0.061	0.071
	FO·L	0.025	0.030	0.038	0.041	0.043
	IMO·L	0.024	0.032	0.033	0.038	0.039
100°C	Glu·L	0.025	0.045	0.109	0.185	0.278
	PN·L	0.024	0.087	0.217	0.358	0.510
	FO·L	0.025	0.042	0.096	0.173	0.286
	IMO·L	0.024	0.036	0.071	0.107	0.147

¹⁾Absorbance at 490 nm were measured with a Pharmacia Biotech/UV-VIS Spectrophotometer

²⁾Glu: glucose, FO: fructooligosaccharide, PN: palatinose, IMO: isomaltooligosaccharide, L: Lysine

았으며 가열온도 80°C에서도 24시간 반응시켰을 때 0.041 정도였으나, 100°C에서는 6시간 후에 0.045, 24시간 반응 후에는 0.278로 갈색도가 급격히 증가하였다. 한편 PN·L은 60, 80°C에서 24시간 가열시 각각 0.034, 0.071로 Glu·L 보다 다소 높았으며 100°C에서는 0.51로 다른 반응액에 비해 2배 정도 높은 값을 보였다. 또한 80,

100°C에서 24시간 가열시에 각각 0.071에서 0.51로 7배의 매우 큰 차이를 보였다. 그리고 IMO·L은 60, 80°C에서는 Glu·L과 비슷하였으나 100°C에서 24시간 가열시에는 Glu·L은 0.278인데 비해 IMO·L은 0.147로 매우 낮은 갈색도를 보였다.

대체적으로 반응액의 대부분이 60, 80°C에서 갈색도의 증가는 완만하였으나 100°C에서는 급격한 증가를 보였다. 이와 같은 경향은 Son¹⁹⁾이 Maillard 반응속도에 미치는 카페인산의 영향에서 갈색화 반응속도는 60과 80°C에서 매우 느리나, 100°C에서 크게 증가하였다는 보고와 유사하였다.

2. 올리고당의 Maillard 반응물의 유지에 대한 항산화효과

각종 올리고당의 Maillard 반응액을 각각 60, 100°C에서 12시간과 24시간 가열하여 갈색화 반응액의 무수ethanol 추출물을 기질 대두유에 첨가하여 60±1.0°C에서 저장하면서 2일 간격으로 측정된 과산화물값의 변화는 Table 2 및 Fig. 1에서 보는 것과 같았다.

PN·L의 경우 100°C에서 12시간 및 24시간 가열한 반응물의 무수 ethanol 추출물들은 10일 저장 후 기질대두유의 과산화물값이 40 meq/kg oil에 도달하여 control과 유사하나 20일 후에는 control의 100 meq/Kg oil보다 다소 낮은 76 및 90 meq/kg oil에 달하여 약간의 항산화효과를 보였다. 이와 같은 경향을 FO·L에서도 볼 수 있었으며 단당류인 Glu·L과도 같은 경향을 나타내었다. 반면 IMO·L의 경우는 기질 대두유의 저장

Table 2. The Peroxide values of the soybean oil substrates containing the anhydrous ethanol extracts from the Maillard reaction mixtures of each oligosaccharide with lysine heated at 100°C (meq/Kg.oil)

Reaction mixture	Heating time	Storage period (days)					
		0	4	8	10	12	20
control		3.0	9.07	31.57	44.5	80.07	100.67
Glu·L	0	2.77	16.1	43.2	49.53	71.7	111.51
	12	4.83	13.81	29.54	42.22	42.26	60.06
	24	6.83	19.30	37.05	41.93	53.73	69.05
PN·L	0	2.4	9.27	31.67	45.73	73.43	100.39
	12	2.77	15.50	45.62	36.41	51.47	76.67
	24	3.53	20.29	36.63	45.91	49.81	89.96
FO·L	0	2.47	11.9	33.73	43.03	67.13	102.45
	12	4.0	20.47	33.47	45.60	56.11	85.18
	24	6.97	22.83	40.65	43.01	55.32	72.75
IMO·L	0	2.43	9.97	33.4	47.1	70.7	94.70
	12	4.97	9.55	37.43	39.01	42.47	56.83
	24	2.8	8.50	30.20	37.72	46.12	69.84
BHT		2.3	16.33	28.73	35.1	38.52	67.53
TBHQ		2.0	13.27	8.87	9.63	8.6	10.55

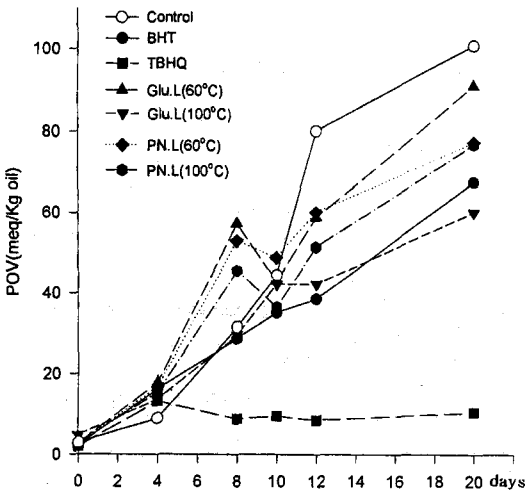


Fig. 1. Changes of the Peroxide values of the soybean oil containing ethanol extracts from the Maillard reaction mixtures of palatinose with lysine heated for 12 hours.

12일에 40 meq/kg oil에 달하여 BHT를 첨가한 경우와 거의 유사한 경향을 보여 포도당이나 다른 올리고당의 경우보다 낮은 과산화물값을 보여 항산화효과가 있음을 보여 주었다.

한편 Fig.1에서 보는 것과 같이 PN·L의 경우 60°C에서 가열한 반응물의 첨가시 기질 대두유의 과산화물값은 Glu·L과 유사하게 control보다 낮고 100°C가열인 때보다는 높은 값을 보였다. FO·L의 경우는 Fig.2

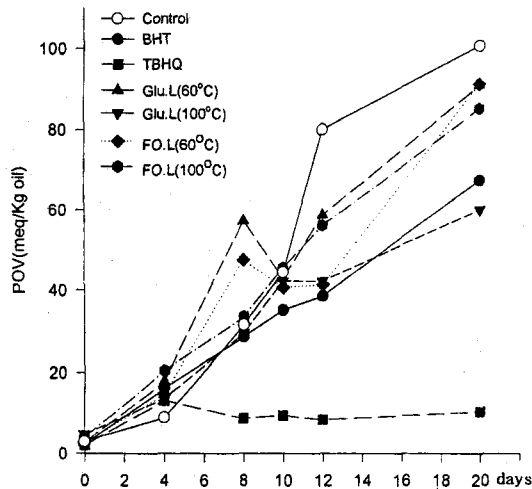


Fig. 2. Changes of the Peroxide values of the soybean oil containing ethanol extracts from the Maillard reaction mixtures of fructooligosaccharide with lysine heated for 12 hours.

에서와 같이 60°C에서 가열한 반응물의 첨가시 100°C로 가열한 반응물보다 초기에는 다소 높은 과산화물값을 보이나 10일 이후부터는 오히려 다소 낮은 경향을 나타내었다. 또한 Glu·L의 60°C와 100°C가열시와 거의 유사한 경향을 보이며 control보다는 낮은 과산화물값을 보였다.

IMO·L의 경우는 Fig.3에서 보는 것과 같이 60°C에서 12시간 가열한 때의 반응물은 대두유의 8일 저장시까지는 100°C에서와 거의 유사한 과산화물값을 보이나 그 이후는 월등히 높은 값을 보였다. 또한 Glu·L과 비교하면 60°C에서 반응시 100°C인 때와 달리 반응물의 첨가효과가 Glu·L의 100°C의 경우는 물론 60°C에서 가열시의 반응물보다도 높은 과산화물값을 보였다.

3. 올리고당의 Maillard 반응물의 Relative Antioxidant Effectiveness(RAE)

2% glucose(Glu), palatinose(PN), fructooligosaccharide(FO), isomaltoligosaccharide(IMO)와 2% lysine(L) 용액의 각각의 혼합액을 60, 80 및 100°C에서 12시간 갈색화 반응시켜 얻은 반응액의 무수 ethanol 추출물을 첨가한 기질 대두유의 과산화물값이 40 meq/Kg oil에 도달될 때까지를 유도기간으로 정하고 control의 유도기간과 비교한 relative antioxidant effectiveness(RAE)는 Fig.4에서 보는 것과 같았다.

즉 60°C에서 가열 반응한 경우에는 FO·L이 105.59%로 약한 항산화효과가 있음을 알 수 있으나 다른 올리고당의 반응물에서는 거의 없는 것으로 나타났다.

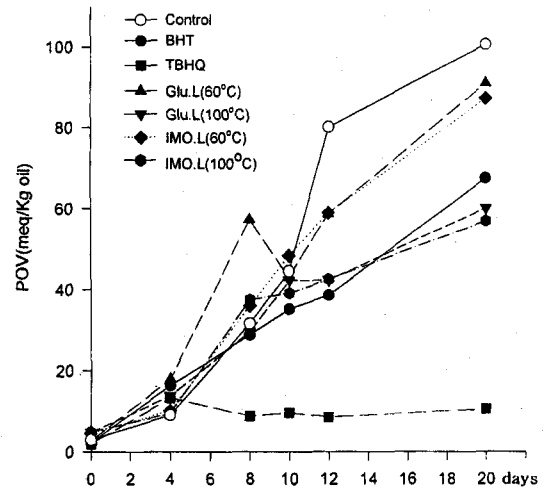


Fig. 3. Changes of the Peroxide values of the soybean oil containing ethanol extracts from the Maillard reaction mixtures of isomaltoligosaccharide with lysine heated for 12 hours.

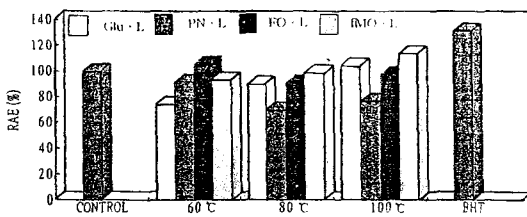


Fig. 4. Relative antioxidant effectiveness (RAE) of BHT and ethanol extracts from the Maillard reaction mixtures of each oligosaccharide with lysine heated for 12 hours.

한편 100°C에서는 IMO·L의 경우가 113.66%로 다른 올리고당의 반응시는 물론 Glu·L의 103.76%보다도 높은 RAE를 보여 항산화효과가 있음을 보여주었다.

또한 PN·L은 갈색도에 비해 항산화효과는 적게 나타난 반면 갈색도가 가장 낮았던 IMO·L은 오히려 항산화효과가 가장 높은 것으로 나타나 Kirigaya들¹⁴⁾의 갈색도와 항산화효과 사이에 비례관계가 성립한다는 결과와 다른 경향을 보였으며, Hwang들¹⁵⁾의 Maillard 반응물의 식용대두유에 대한 항산화효과는 시간이 경과할수록 증가되는 갈색도와 반드시 비례하지 않는다는 보고와 유사한 경향을 보였다.

IV. 결 언

2%의 glucose(Glu), palatinose(PN), fructooligosaccharide(FO) 및 isomaltoligosaccharide(IMO)와 2% lysine(L) 용액의 혼합액을 60, 80 그리고 100°C에서 각각 24시간동안 Maillard형 갈색화 반응시 갈색도의 변화와 각 반응 온도별 반응액의 ethanol 추출물의 기질 대두유에 대한 항산화효과를 측정된 결과는 다음과 같았다.

1. 각종 올리고당의 Maillard 반응시 갈색도는 PN·L이 월등히 높았으며, 반응온도가 높을수록 갈색도는 증가되었고 100°C에서의 반응시간에 대한 의존성은 PN·L>FO·L>Glu·L>IMO·L 순이었다.

2. 100°C에서 12시간 진행된 Maillard 반응 생성물의 항산화효과를 기존의 항산화제와 비교하면 TBHQ>IMO·L>BHT>Glu·L>PN·L>FO·L의 순이었으며, 특히 IMO·L의 항산화효과는 BHT와 거의 같거나 유사한 항산화효과를 나타내었다.

3. RAE도 IMO·L의 경우 100°C에서 12시간 반응시켰을 때 113.66%로 다른 반응온도, 반응시간에 비해 높은 값이었으며 포도당과 다른 올리고당 중 가장 높은 항산화효과를 보였다.

이와 같은 결과에서 갈색도가 가장 높았던 PN·L은

항산화효과가 낮은 반면 갈색도가 가장 낮았던 IMO·L은 100°C에서 반응시킨 경우 상당히 높은 항산화효과를 나타내어 갈색도와 항산화효과는 비례하지 않음을 보여주었다.

참고문헌

- Hofeman, D.G. and Hoekstra, W.G.: Protein against carbon tetrachloride induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E and selenium and methionine as measured by ethane evolution. *J. Nutr.*, **107**, 667(1977).
- Matano, K.: Toxicity of oxidized and heated fats. *J. Japan. Oil Chem. Soc.*, **19**, 197(1970).
- Fujimoto, K. and Kaneda, T.: Screening test for antioxygenic compounds from marine algae and fractionation from *Eisenia bicyclis* and *Undaria pinnatifida*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 1125(1980).
- Cort, W.M.: Antioxidant activity of tocopherols and ascorbyl palmitate and ascorbic acid and their mode of action. *JAOC*, **51**, 321(1984).
- Hayashi, T. and Namiki, M.: Role of sugar fragmentation in the Maillard reaction. In *Amino-Carbonyl Reactions in food and Biological Systems*, Proceeding of the 3rd Intl. Sym. on the Maillard Reaction, Susono, Shizuoka, Japan, p.29 (1985).
- Sheldon, S., Russell, G.F. and Shibamoto, T.: Photochemical and thermal activation of model Maillard reaction systems. In *Amino-Carbonyl Reactions in food and Biological Systems*, Proceeding of the 3rd Intl. Sym. on the Maillard Reaction, Susono, Shizuoka, Japan, p.145 (1985).
- Ledl, F., Fritsch, G., Hiebl, J., Pachmayr, O. and Severin, T.: Degradation of Maillard products. In *Amino-Carbonyl Reactions in food and Biological Systems*, Proceeding of the 3rd Intl. Sym. on the Maillard Reaction, Susono, Shizuoka, Japan, p.173 (1985).
- 金容年, 金昌睦, 韓康完, 吳成基: Amino-Carbonyl 反應에 미치는 溫度的 影響. *Korean J. Nutrition & Food*, **11**(1), 52(1982).
- 山口直彦, 横尾良夫, 小山吉人: 환원당과 갈변 반응물에 관한 연구, *食品工誌*, **11**, 184(1964).
- N. Yamaguchi and M. Fujimaki: Studies on browning reaction products from reducing sugars and amino acids, *日本食品工業學會誌*, **21**(1), 13(1974).
- N. Yamaguchi and M. Fujimaki: Studies on browning reaction products from reducing sugars and amino acids, *日本食品工業學會誌*, **21**(6), 280(1974).
- C.D. Evans, H.A. Moser, P.M. Cooney, and J.E. Hodge, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **35**, 84(1958).
- Griffith, T. and Johnson, J.A.: Relation of the browning reaction to storage stability of sugar cookies,

- Cereal Chem.*, **34**, 159(1959).
14. Kirigaya, N., Kato, H. and Fujimaki, M.: Studies on antioxidant activity of non-enzymatic browning reaction products (1), Reaction of color intensity and reductones with antioxidant activity of browning reaction products, *Agric. Biol. Chem.*, **32**(3), 287(1968).
 15. Hwang, C.I. and Kim, D.H.: The antioxidant activity of some extracts from various stages of a Maillard-type browning reaction mixtures, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **5**(2), 84(1973).
 16. Paik, H.D. and Kim, D.H.: Antioxidant activity of methylene chloride extracts obtained from glucose-ammonia(1M+8M) browning mixtures, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **11**(2), 93(1979).
 17. Maeng, Y.S. and Kim, D.H.: Antioxidant activity of ethanol-extracts from a Maillard browning mixture and some antioxidants in soybean oil and soybean oil-water emulsion systems, *Korea J. Food Sci. Technol.*, **13**(4), 273(1981).
 18. Ahn, M.S.: Effects of reaction temperature, time and presence of organic acids or their salts on the antioxidant activity of caramelization mixtures, Thesis for the Degree of Doctor, Korea University (1984).
 19. Ahn, M.S. and Son, J.H.: Effects of caffeic acid on the Rates of Maillard reaction, *韓國調理科學會* **10**(2), 161(1994).
 20. Hidaka, H., Eida, R., Takizawa, T., Tokunaga, T. and Tashiro, Y.: Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health. *Bifidobacteria Microflora*, **5**, 37(1986).
 21. A.O.A.C.: Official methods of analysis 13th, ed., Association of official analytical chemists, Washiton D. C., 440 (1980).