

여러 進行段階에서 抽出된 마이알형 褐色反應液 抽出物の 抗酸化效果에 대하여

黃 迪 仁* · 金 東 勳

高麗大學校 農科大學 食品工學科
(1973년 1월 13일 수리)

The Antioxidant Activity of Some Extracts from Various Stages of A Mailard Type Browning Reaction Mixture

by

Chuk-In Hwang* and Dong-Hoon Kim

Department of Food Technology, College of Agriculture, Korea University

(Received January 13, 1973)

Abstract

The antioxidant activity of some extracts from various stages of a Mailard type browning reaction mixture, a 0.2 M glucose + 0.2 M glycine solution heated at 100°C, was determined, using edible soybean oil as a substrate. The activity was compared with the length of reaction times, and also with the intensity of color of the reaction mixture at various stages.

The absorbance, at 490 m μ , of the reaction mixture appeared to increase almost in proportion to the length of the reaction times. All the extracts from the reaction mixture exhibited considerable antioxidant activity. However, unlike the Absorbance of the reaction mixture, the antioxidant activity of the extracts from the reaction mixture did not appear to increase in proportion to the length of the reaction times. The activity of the extract from the reaction mixture heated for 30 hours was indeed greater than that of the extract from the reaction mixture heated for 2 hours, but the difference of the activity was not so great as one might expect.

The results appear to indicate that most of effective antioxidative compounds formed during the Mailard type browning reaction could not be brown-colored pigments formed during the reaction.

序 論

油脂가 必須成分의 하나가 되고있는 菓子類에 있어서
는 그 속의 油脂成分의 酸敗가 貯藏중인 製品의 變敗의
主要原因이 되는 경우가 많으므로, 이 油脂成分의 酸敗

抑制問題는 製菓業界의 가장 重要한 問題의 하나가 되고
있다.

비스킷類를 비롯한 많은 菓子類는 相當量의 糖類와
아미노酸들을 含有하고 있으며, 따라서 菓子 製造時 必
然的으로 Mailard 型의 褐色化反應이 일어난다.
한편, 이와같은 Mailard 型 褐色化反應의 生成物들이

* 해태製菓工業株式會社 試驗室

製品중의 油脂成分의 酸敗를 抑制하여주는 사실은 오래 전부터 注目되어 왔다.

즉, Hode 들⁽¹⁻⁵⁾은 Maillard 型 褐色化反應의 生成物中의 하나인 還元性 amino-reductones 들이 油脂의 酸敗를 抑制하여주는 事實을 報告하고 있다.

Lip⁽⁶⁾도 蛋白質과 炭水化物을 含有하고 있는 돼지기름을 高温으로 加熱할때는 돼지기름의 酸敗에 대한 安定性이 改善되는 事實을 報告하고 있다.

한편, Yamaguchi 들^(7,8)은 비스킷중의 油脂成分의 酸敗에 대한 安定性의 増大는 Maillard 型 褐色化反應의 結果 形成된 reductones 과 같은 還元性物質들의 抗酸化作用에 起因된다고 報告하고 있다

Griffith⁽⁹⁾도 sugar cookies 에 glucose 를 添加해서 구울때는 그 속에서 形成된 還元性 物質들이 이 菓子の 油脂成分의 安定性의 増大에 기여한다고 報告하고 있다.

그러나 最近에 와서 Kirigaya 들⁽¹⁰⁾은 D-xylose 와 glycine 사이의 amino-carbonyl 反應에 있어서, 이 反應에서 形成된 reductones 들은 뚜렷한 抗酸化효과를 갖고있지 않으며 反應生成物들의 抗酸化효과는 反應生成物의 색깔이 짙을수록, 즉 褐色化反應이 더 進行된 反應液중의 生成物일수록 컸었다고 報告하고 있다.

本實驗에서는 간단한 Maillard 型 褐色化反應의 進行過程에서 그 反應液의 색깔 및 490 m μ 에서의 吸光度를 측정하고 또 이 反應液의 抽出物들의 抗酸化효과를 측정, 비교함으로써 反應時間과 反應生成物의 색깔 그리고 그 抗酸化효과사이의 關係를 科明하고자 하였다.

實驗材料 및 方法

1. 抗酸化효과測定에 사용된 基質

基質로서 사용된 油脂는 市販 食用大豆油였다.

抗酸化효과 測定實驗 實施直前의 상기의 大豆油의 過酸化物價(peroxide value)는 0.4 ± 0.0 였으며, 遊離脂肪酸價(free fatty acid value calculated as % oleic acid)는 0.16 ± 0.0 , 한편 沃度價는 120 ± 2 였다.

過酸化物價는 후술한 方法으로, 遊離脂肪酸價는 Triboid⁽¹¹⁾가 說明한 方法으로 測定하였다. 한편, 沃度價는 AOAC 公定試驗法중의 Hanus 法⁽¹²⁾으로 측정하였다.

2. Maillard 型 褐色化反應과 그 反應進行過程

0.2 M glucose 와 0.2 M glycine 의 混合溶液을 1/3 각 플라스크에 넣고 환류 냉각기를 달은후 100°C 로 加熱하여 褐色化反應을 進行시켰다.

褐色化反應의 進行중 2, 6, 12, 20, 그리고 30時間마다 상기의 反應液에서 10 ml 를 정확히 취하여 그 중의 褐

色化反應 生成物을 다음에 설명하는 方法으로 抽出하여 색깔의 비교 그리고 抗酸化효과測定 및 比較에 사용하였다.

3. 褐色化反應液의 색깔의 比較方法

상기의 褐色化反應液을 일단 濾過한 후 Kirigaya 들⁽¹⁰⁾의 方法에 따라 490 m μ 에서의 吸光度(absorbance)를 Beckman B Spectrophotometer 를 사용해서 측정하였다.

4. 褐色化反應液에서 부터의 抽出液의 調製

상기의 各 褐色化反應液 10 ml 을 rotary vacuum evaporator 를 사용하여 眞空濃縮시킨 후 남은 殘渣를 ethyl alcohol 20 ml 로 다시 抽出^(10,13,14)하여 그 抽出液을 抗酸化효과測定에 사용하였다.

5. 各 抽出液의 基質, 즉 食用大豆油에 대한 抗酸化효과의 測定

전술한 바와같이 해서 얻은 各 抽出液 20 ml 를 基質 50 g 에 넣고 잘 混合하여 溶媒를 水浴上에서 증발 제거한후 같은 規格의 3個의 petri dish 에 나누어 넣었다.

한편, 이 petri dish 들과 抽出液이 添加되지 않는 食用大豆油가 들은 3個의 petri dish 를 함께 $45.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 의 恒溫器속에 넣고 貯藏하여 抗酸化효과 測定에 사용했다.

Maillard 型 褐色化反應液 抽出物이 들어있지 않는 基質을 control 로 정하고 Maillard 型 褐色化反應 進行 2時間후의 反應液에서 抽出된 褐色化反應 生成物들이 들어있는 試料區를 No. 2, 똑같이 해서 反應후 12, 20, 및 30時間이 經過된 反應液에서 抽出된 褐色化反應 生成物들이 들어있는 實驗區를 각각 No. 3, No. 4, No. 5로 표시하였다.

各 抽出液, 따라서 各 褐色化反應 抽出物의 抗酸化효과의 비교는 各 試料區의 過酸化物價를 48時間마다 측정하여 時間의 經過에 따른 過酸化物價의 變化로서 비교 하였다

過酸化物價는 Wheeler⁽¹⁵⁾의 方法과 Lundberg and Chipault⁽¹⁶⁾의 方法을 약간 수정하여 사용하였으며, 各 試料區에 속해있는 3個의 petri dish 속의 基質의 過酸化物價의 平均値로서 各 試料區의 過酸化物價로 하였다. 油脂 1g 중의 過酸化物들의 millimol 수로서 過酸化物價로 하였다.

結果 및 考察

1. 反應時間 經過에 따른 褐色化反應液의 색깔 및 490 m μ 에서의 吸光度(Absorbance)의 變化
反應時間 經過에 따른 Maillard 型 褐色化反應液의 색갈 및 490 m μ 에서의 吸光度의 變化는 Table 1 과 같다.

Table 1. Variations of color and Absorbance¹⁾ of a Maillard type browning reaction mixture with reaction time in hours

Sample	Control	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
Reaction Time in Hours	0	2	6	12	20	30
Color	colorless	pale yellow	light yellow	yellowish brown	reddish brown	brownish black
Absorbance	0.00	0.05	0.14	0.33	0.55	0.95

1) Absorbance, at 490 mμ, of a Maillard type browning reaction mixture was measured directly with a Beckman B spectrophotometer.

즉, 反應時間 2時間후의 褐色化反應液의 색깔은 미황색(pale yellow)이였으며, 吸光度는 0.330 으로서 6時間후의 測定値의 약 2배가 되었다. 20時間후의 褐色化反應液의 색깔은 赤褐色(reddish brown)으로서 12時間후의 反應液과는 달리 赤色을 약간 띄우고 있었으며 吸光度는 0.550 으로서 12時間후 反應液의 吸光度의 약 2배 가량이였다.

한편, 30時間후의 褐色化反應液의 색깔은 흑갈색(blackish brown)으로서 다른 反應液에 비해 가장 짙은 색깔을 띄우고 있었다. 그 反應液의 吸光度는 0.950 으로서 20時間후 反應液의 吸光度의 약 2배 가량이나 되었다.

全體의으로 볼때 褐色化反應液의 색깔은 反應時間의 經過에 따라 그 색깔이 짙어 졌으며, 또 Fig 1에서 볼 수있듯이 反應液의 490 mμ에서의 吸光度는 적어도 이 實驗의 範圍內에서는 反應時間과 比例하는듯 하였다.

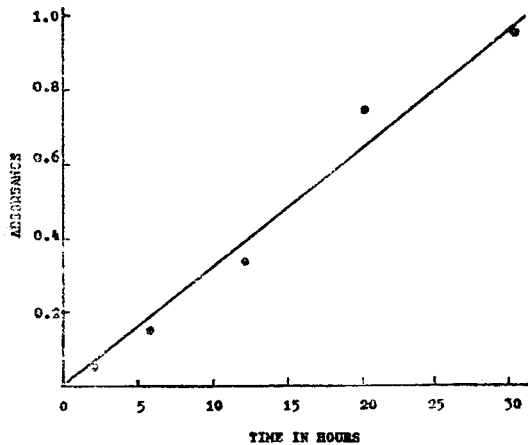


Fig. 1. Variation of Absorbance, at 490 mμ, of a Maillard type browning reaction mixture with reaction time in hours

2. 各 褐色化反應 抽出物의 抗酸化效果의 비교

全 實驗期間을 통하여 control 과 各 實驗區의 過酸化物價는 계속 增加하였으며 그 結果는 Table 2, Table 3 및 Fig. 2와 같다.

Table 2. Variations of Peroxide values of soybean oils, containing the same amount of extracts from a Maillard type browning reaction mixture at various stages, with time in days

Samples	Control	No. 1	No. 2	No. 3
Time in days				
0	0.4±0.03	0.4±0.04	0.4±0.03	0.4±0.03
2	1.2±0.2	0.7±0.05	0.7 ²⁾	0.4±0.03
4	1.8±0.2	1.0±0.1	0.8±0.04	1.0±0.1
6	2.6±0.2	1.3±0.2	1.1±0.1	1.4 ²⁾
8	3.4 ²⁾	1.6±0.1	1.5±0.1	1.8±0.2
10	5.8±0.3	2.1±0.2	2.0±0.3	2.3±0.2
12	9.7±0.4	3.3±0.4	3.7±0.4	3.5±0.3
14	23.1±1.3	5.4±0.2	5.1±0.5	4.8 ²⁾
16	28.9±1.5	6.5±0.3	6.0±0.5	5.5±0.4

- 1) Peroxide values are expressed as a number of millimoles of peroxides per kg oil.
- 2) Figures without SDs are mean values.

Table 3. Variations of Peroxide values of soybean oils, containing the same amount of extracts from a Maillard type browning reaction mixture at various stages, with time in days

Samples	Control	No.4	No.5
Time in days			
0	0.4±0.03	0.4±0.02	0.4±0.03
2	1.2±0.2	0.6±0.02	0.4±0.03
4	1.8±0.2	0.9±0.1	0.8±0.1
6	2.6±0.2	1.3±0.1	0.9±0.01
8	3.4 ²⁾	1.7 ²⁾	1.4±0.1
10	5.8±0.3	2.2±0.2	2.0 ²⁾
12	9.7±0.4	3.4±0.2	2.9±0.2
14	23.1±1.2	4.6±0.3	3.5±0.4
16	28.9±1.5	5.2±0.4	4.3±0.4

- 1) Peroxide values are expressed as a number of millimoles of peroxides per kg oil.
- 2) Figures without SDs are mean values.

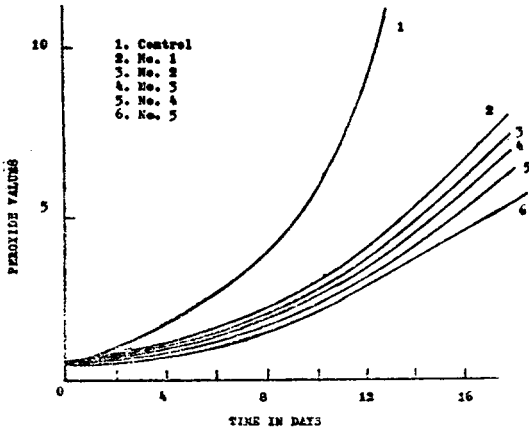


Fig. 2. Variations of peroxide values of soybean oils, containing the same amount of extracts from a Maillard type browning reaction mixture at various stages, with time in days

Table 2, 3 및 Fig. 2에서 볼 수 있듯이 control의 過酸化物價는 貯藏日數가 經過함에 따라 크게 增加하였으나 기타의 實驗區 즉, Maillard型 褐色化反應液 抽出物들이 添加된 基質의 경우, 그 過酸化物價의 增加는 현저히 抑制되었다.

Maillard型 褐色化反應液에서 얻은 抽出物들의 抗酸化效果에는 分명한 差異가 있었으며 各 實驗區에 대한 그 效果의 順序는 No.5) No.4) No.3) No.2) No.1) 였다.

3. Maillard型 褐色化反應液의 색깔의 強度 및 反應液 抽出物의 抗酸化效果와 反應時間사이의 關係

褐色化反應液 抽出物의 색깔의 強度 및 이 抽出物의 油脂에 대한 抗酸化效果와의 關係를 볼때 大體로 색깔이 짙어질수록, 좀 더 具體的으로 말해서 反應液의 490 m μ 에서의 吸光度가 클수록 강한 抗酸化效果를 나타냈으며 이러한 實驗結果는 Kirigaya들⁽¹⁰⁾과 Okada들⁽¹⁴⁾의 實驗報告들과 大體로 一致하였다.

反應時間의 길이와 褐色化反應液의 吸光度사이에는 Fig 1에서 보는바와 같은 直線關係, 즉 比例關係가 成立되었으나, 한편, 反應時間의 길이와 褐色化反應液 抽出物의 抗酸化效果 사이에는 이와같은 關係를 찾아볼수없었다.

各 反應液 抽出物들의 抗酸化效果는 大體로 No.1 및 No.2에 添加된 抽出物들 <No.3과 No.4에 添加된 抽出物들 <No.5에 添加된 抽出物의 順序였으나, 反應時間이 不遇 2時間인 褐色化反應液의 抽出物의 抗酸化效果와 反應時間이 30時間이 되는 反應液 抽出物의 抗酸化效果의 差異는 反應時間의 길이의 差異에 비할때 큰 差異로 볼수는 없었다.

따라서 褐色化反應 生成物들의 投酸化效果는 Kirigaya들⁽¹⁰⁾이 報告한바 와같이 褐色化反應 生成物들의 색깔

과 비례하는것 같지는 않다.

以上の 結果들은 Maillard型 褐色化反應에 있어서 褐色化反應중 形成되는 大部分의 抗酸化力을 가진 褐色化反應生成物質들은 反應중에 形成된 褐色色素들이 아닌 可能性을 強하게 示唆하여 주고 있는 듯하다.

要 約

여러 進行過程에 있는 Maillard型 褐色化反應液의 490 m μ 에서의 吸光度를 측정하고 또 이 反應液에서 그 生成物를 抽出하여 그 抗酸化效果를 측정하여 褐色化反應液 색깔의 強度와 反應時間의 길이, 그리고 反應時間의 길이 또는 褐色化反應液 색깔의 強度와 反應液 抽出物의 抗酸化效果의 크기 사이의 關係를 糾明하고자 하였다.

褐色化反應液의 490 m μ 에서의 吸光度는 反應時間의 길이에 比例하여 增加하는듯 하였다. 反應液 抽出物들은 다같이 相當한 抗酸化效果를 보여주었다.

그러나 反應液의 색깔, 즉 490 m μ 에서의 吸光度와는 달리 反應液 抽出物의 抗酸化效果는 反應液의 反應時間이 길수록 커지기는 하였으나 反應時間의 길이와 比例하지는 않았다.

以上の 結果들은 Maillard型 褐色化反應에 있어서 褐色化反應중 形成되는 大部分의 抗酸化效果를 가진 褐色化反應生成物質들은 反應중에 形成된 褐色色素들이 아닌 可能性을 強하게 示唆하여주고 있는 듯하다.

參 考 文 獻

- 1) Hodge, J. E. and Rist, C. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 316 (1953).
- 2) Evans, C. D., Moser, H. A., Cooney, P. M., and Hodge, J. E.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **35**, 84 (1958).
- 3) Hodge, J. E. and Rist, C. E.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **35**, 167 (1958).
- 4) Hodge, J. E. and Rist, C. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 322 (1953).
- 5) Hodge, J. E.: *J. Agr. Food Chem.*, **1**, 928 (1953).
- 6) Lips, H. J.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **28**, 58 (1951).
- 7) Yamaguchi, N., Yokoo, Y., and Koyama, Y.: *J. Food Sci. Technol.*, **11**, 184 (1964).
- 8) Yamaguchi, N. and Koyama, Y.: *J. Food Sci. Technol.*, **14**, 110 (1967).
- 9) Griffith, T. and Johnson, J.: *J. Am. Cereal Chem.*, **34**, 156 (1957).

- 10) Kirigaya, N., Kato H., and Fujimaki, M.: *Agr Biol. Chem.*, **3**, 287 (1968).
- 11) Tribold, H.O. and Aurand, L. W.: "*Food Composition and Analysis*" p.164, Van Nostrand Co., Inc., New York, U.S.A. (1963).
- 12) Association of Official Agricultural Chemist: "*Methods of Analysis of A.O.A.C.*" 9th ed., p.361, Washington D.C., U.S.A. (1960).
- 13) Yamaguchi, N. and Koyama, Y.: *J. Food Sci. Technol.*, **14**, 106 (1967).
- 14) Yamaguchi, N. and Okada, Y.: *J. Food Sci. Technol.*, **15**, 187 (1968).
- 15) Wheeler, D. H. · *Oil and Soap*, **9**, 89 (1932).
- 16) Lundberg, W.O. and Chipault, J. R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 833 (1947).