

## Amino 산- Xylose 갈변반응물질의 항산화성

### 3. 용매추출, Column Chromatography 와 Gel 여과에 의한 항산화성 갈변물질의 분리

유 병 진 · 이 강 호\* · 이 중 호\*\*

강릉대학 식품영양학과, \*부산수산대학 식품공학과, \*\*경상대학교 식품영양학과  
(1987년 5월 6일 수리)

## Antioxidant Activity of Amino Acid-Xylose Browning Reaction Products

### 3. Isolation of Antioxygenic Substances from Browning Reaction Products by Solvent Extraction, Column Chromatography and Gel Filtration

Byeong-Jin YOU, Kang-Ho LEE\*, and Jong-Ho LEE\*\*

Department of Food and Nutrition, Kangnung National University,  
Kangnung, 210 Korea

\*Department of Food Science and Technology, National Fisheries University  
of Pusan, Pusan, 608 Korea

\*\*Department of Food and Nutrition, Gyongsang National University,  
Chinju, 620 Korea

(Received May 6, 1987)

In this work the antioxidant effects of browning reaction products prepared by xylose-tryptophan reaction system were discussed.

The antioxygenic brown pigments were separated by solvent extraction, and column chromatography and isolated by gel filtration. The functional groups of the brown pigments which had antioxidant activity were examined.

The brown pigments extracted with methanol showed antioxidant effect and were fractionated in 5 portions on DEAE-cellulose column. The elutes with methanol: acetic acid(10:30 v/v) sol<sup>n</sup>(A), methanol: chloroform(95:5 v/v) sol<sup>n</sup>(C), and chloroform: acetic acid(10:30 v/v) sol<sup>n</sup>(E) only showed antioxidant activity and their compositions were 22.43, 21.51 and 34.43% respectively.

When each fraction on DEAE-cellulose column was re-separated on Sephadex LH-20 column, 2 fractions were obtained from portion A and C respectively. Molecular weights of A, C and E fraction of brown pigments were from 2,600 to 3,700.

By elucidation of IR spectra, the pigment fractions which showed a strong antioxidant activity were bearing the indole group. It is suggested that the antioxidant function of the brown pigment is due to hydroxy and amino group. A higher activity of the brown pigment fraction E might be attributed to carboxylic acid or carboxylic ester compounds.

이 논문은 1986년도 문교부 학술 연구조성비에 의해서 연구되었음.

서 론

합성항산화제의 인체에 대한 독성이 보고된 이후로 천연항산화제의 연구개발에 대한 관심이 높아지고 있는 가운데 Yomaguchi 등(1964)은 식품성분간에 쉽게 일어나는 갈변반응물질이 항산화효과가 있다고 보고함에 따라서 이를 항산화제로 이용하려는 연구가 진행되어왔다.

Maillard 반응물질이 항산화성이 있다는 보고(Lee와 Kim, 1978; Kawashima 등, 1977; Hiromichi 등 1976; Namiki 등, 1982 a, b; El-Zeany, 1973; Yamaguchi, 1969; Rhee와Kim, 1975)는 다수 있으나 항산화효과를 내는 원인물질을 분리하여 보고한 연구는 많지 않은 실정이다. 즉, Kirigaya 등 (1968, 1969)은 비투석성갈변물질이 항산화성이 있다고 하였으며 Kirigaya 등(1971)은 gel 여과를 통하여 갈변반응물질을 분리하였고 Rhee와 Kim (1975)은 갈변반응물질중 ethanol에 추출되는 구분이 항산화효과가 있다고 보고한 정도이다. 그러므로 본 실험은 갈변반응물질의 항산화기구를 밝히기 위한 기초연구로서 tryptophan과 xylose의 반응물질을 만들고 이들 갈변반응물질중 항산화성을 나타내는 물질을 분리하기 위하여 前報(You 등, 1986)에 이어 용매추출, DEAE-Cellulose를 이용한 분획 및 gel 여과를 이용하였고 분리된 획분에 대해서 항산화성과 IR-Spectrum 및 평균분자량을 조사하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 갈변반응물질의 조제

前報(You 등, 1986)에서 적은 바와 동일한 방법으로 갈변반응물질을 조제하였다.

2. 갈변반응물질의 분리와 정제

항산화효과가 있는 갈변반응물질을 분리·정제하기 위하여 앞에서 조제한 갈변반응물질을 Fig.1과 같은 조작으로 분리·정제하였다. 먼저 갈변반응물질을 투석막(Sigma 250-7U)에 넣고 10배량의 증류수속에서 12시간마다 외액을 갈아주면서 48시간 투석하였다. 투석된 내액은 진공동결건조시킨 후 chloroform, ethanol, acetone과 증류수의 순으로 각각 30 ml씩 넣어 30분간 교반하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하는 조작을 3회 반복한 후 남은 잔

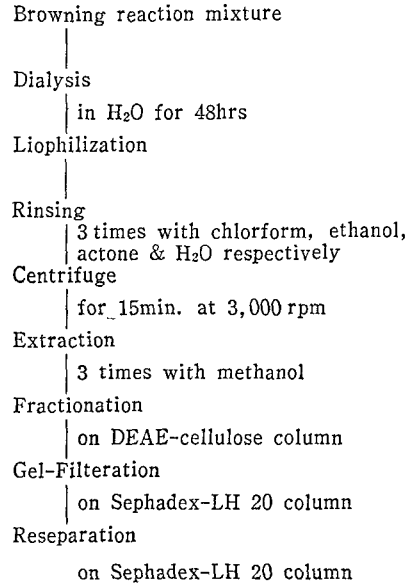


Fig. 1. Separation of browning reaction products prepared by xylose-amino acid reactions.

사에 다시 methanol을 가하여 교반시키면서 30분간 3회 추출하여 원심분리하고 methanol 용액에 추출된 갈변반응물질을 DEAE-cellulose column(φ 3×25 cm)으로 분획하였다. 용출은 methanol/chloroform(95:5 v/v), methanol/chloroform(50:50 v/v), chloroform/acetic acid(10:30 v/v), methanol/chloroform(50:50 v/v) 및 methanol/acetic acid(10:30 v/v)의 혼합용매순으로 각각 250 ml씩 가하여 용출시켰다. 이때 분취량은 tube 당 3.5 ml로 하였다. DEAE-cellulose column에서 분획된 각 획분은 Sephadex LH-20의 column(φ 2.5×80 cm) 상에서 DEAE-cellulose column에서와 동일한 용매를 사용하여 재분획하였다. 이때 유출속도는 40 ml/hr 이었고 분취량은 3.5 ml로 하였다.

3. Methylinoleate의 조제 및 반응계의 조성

Methylinoleate의 조제방법과 반응계의 조성방법은 前報(You 등, 1986)와 동일하게 하였다.

4. 실험방법

1) 과산화물가, Carbonyl가의 측정

과산화물가와 Carbonyl가는 前報(You 등, 1986)

와 동일하게 측정하였다.

2) 갈변도와 흡광스펙트럼의 측정

前報(You 등, 1986)와 같은 방법으로 측정하였다.

3) 원소분석

갈변반응물질의 원소분석은 CHN Coder (Yanaco 社製 MT-2)로써 측정하였다. 이때 사용한 표준물질은 antipyrine (C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>ON<sub>2</sub>)이 있으며 측정제기의 조건은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Conditions for element (C, H, N) analysis

|                   |    |            |
|-------------------|----|------------|
| Carrier gas       | He | 18 ml/min  |
| Oxygen            |    | 7.0 ml/min |
| Atmosphere Press. |    | 764.5 mmHg |
| Combustion Temp.  |    | 800°C      |
| Reduction Temp.   |    | 500°C      |
| Detector Temp.    |    | 55°C       |
| Bridge current    | H  | 65 mA      |
|                   | C  | 65 mA      |
|                   | N  | 110 mA     |

4) 평균분자량의 측정

빙점강하법으로 측정하였는 예 시료 0.1~0.5 g 을 정확히 달아서 초산 20 g 에 용해시킨 뒤 서서히 교반하면서 냉각시켜 냉각곡선을 구하고 동시에 Beckman 온도계로써 온도를 측정하여 평균분자량을 계산하였다.

5) IR Spectrum 의 측정

시료를 10%외게 초산용액에 녹여 NaCl cell 에 0.5 mm 두께로 도포한 후 IR Spectro-photometer (Shimadzu 社製 IR-400)에서 스펙트럼을 측정하였다.

결과 및 고찰

1) 유기용매추출에 의한 갈변반응물질의 분리

Trp-Xylose 갈변반응물질의 투석내액부분을 등결 건조시켜 얻은 갈변반응물질을 chloroform, ethanol, acetone, methanol 및 증류수로 추출하고 각 추출구분의 항산화성을 조사하였다(Fig.2). chloroform, acetone 및 증류수 추출구분을 첨가한 methyl linoleate 의 과산화물가는 보존 130시간 이후 각각 2,792, 2,773, 2,294 meq/kg 에 달하였고 ethanol 및 methanol 추출구분은 보존 200시간 후 387 및 147 meq/kg 정도로 나타나 chloroform 과 acetone 추출구분은

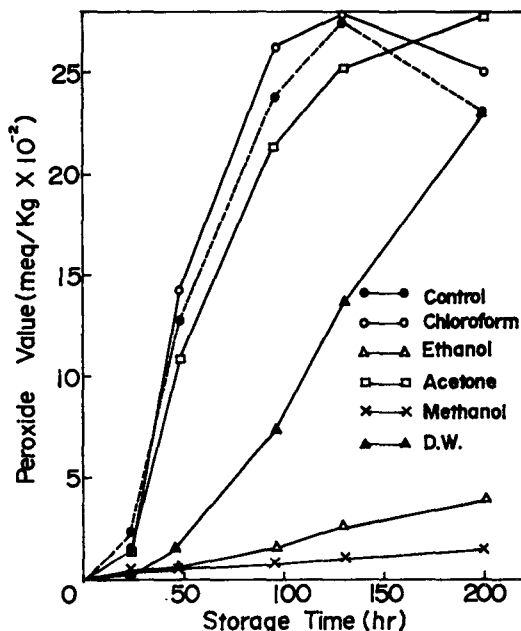


Fig. 2. Antioxidant effect brown pigments extracted with various solvents from nondialyzed browning reaction product formed by xylose and tryptophan.

전혀 항산화효력이 없었으나 methanol 과 ethanol 부분은 강한 항산화력을 나타내었다. 이것은 Hwang 과 Kim(1973) 등이 갈변반응물질중 ethanol 가용성성분이 항산화효과가 있다고 한 보고와 비슷한 결과였다.

Table 2은 비투석성갈변물질의 각 용매에 의한 추출량을 나타낸 표이다. 이 표에서 나타난 바와 같이 chloroform, acetone 및 증류수 추출구분의 량은 각각 1.16, 7.26 및 3.89%로 소량이었으나 ethanol 과 methanol 의 추출구분은 34.05 및 49.21%로 전체의 80%이상을 점하여 비투석성갈변반응물질의 주성분은 알콜가용성물질임을 알 수 있었다.

Table 2. Extraction recovery of brown pigments from nondialyzed browning reaction product formed by xylose and tryptophan

| Solvent            | Polarity index | Recovery (%) |
|--------------------|----------------|--------------|
| Chloroform         | 4.3            | 1.16         |
| Ethanol            | 5.2            | 34.05        |
| Acetone            | 5.4            | 7.26         |
| Methanol           | 6.6            | 49.21        |
| Water              | 9.0            | 3.89         |
| Unsoluble material | —              | 10.83        |

2) 갈변반응물질의 DEAE-cellulose column에 의한 분리

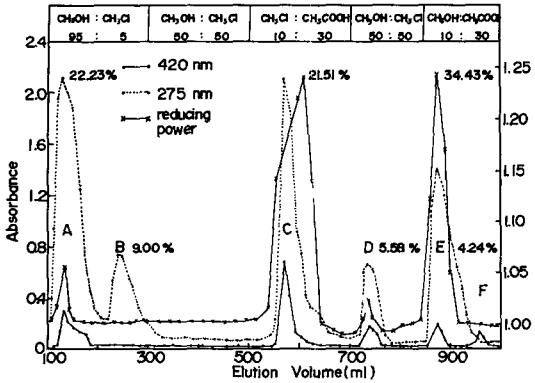


Fig. 3. Elution profiles on DEAE-cellulose column (3×20 cm) of brown pigments extracted with methanol from nondialyzed browning reaction products formed by xylose and tryptophan.

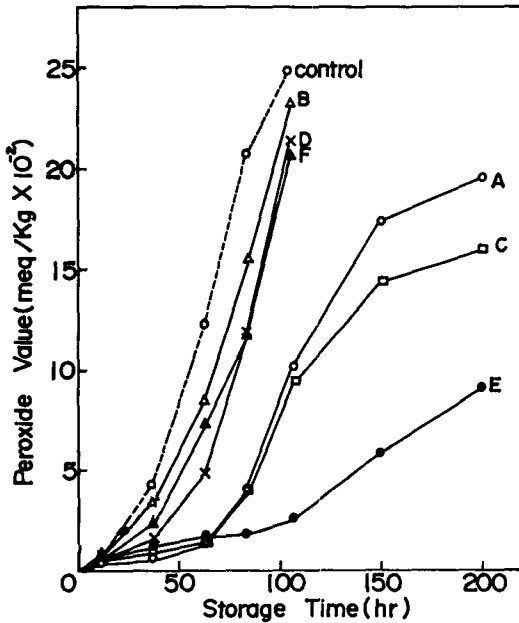


Fig. 4. Antioxidant effect of brown pigments fractionated by DEAE-cellulose column from the methanol extracted fractions of nondialyzed browning reaction product formed by xylose and tryptophan.

Trp-Xylose 갈변반응물질중 가장 항산화효력이 큰 methanol 추출구분중 항산화성물질을 분리하기 위하여 DEAE-cellulose column chromatography를 행한 결과는 Fig.3과 같다. 각 peak는 275와 420 nm에서의 흡광도로써 나타낸 것인 데 주된 peak는 A, C, E로써 각각 22.23, 21.51 및 34.43%의 함량비였고 그의 3개의 작은 peak B, D 및 E는 각각 9.00, 5.58 및 4.24%의 함량을 나타내었다. 6개의 획분중 B, F를 제외한 모든 획분이 환원력을 나타내었고 B는 420 nm에서의 흡수를 나타내지 않았으므로 갈변 물질이 아닌 것으로 생각되었다.

Fig. 4는 DEAE-cellulose column 각 획분의 항산화성을 측정된 결과인 데 B, D와 F는 보존 106시간후에 과산화물가가 이미 2,000 meq/kg을 넘어 거의 항산화성이 없는 것으로 나타났으나 peak A, C와 E는 1052, 942 및 228 meq/kg으로 항산화효력을 나타내었는데 특히 peak E 획분이 두드러지게 강한 항산화효력을 나타내었다.

Fig.5의 각 획분의 흡광스펙트럼을 보면 모든 획분이 275 nm에서 최대 흡광치를 나타내었고 획분 A는 308 nm에서 특이한 흡수를 보였다.

3) 갈변반응물질의 gel filtration에 의한 분리

DEAE-cellulose column의 획분을 Sephadex LH-20 column으로 재분획한 결과(Fig. 6,7) A, B 및 C는 각각 2개의 큰 peak로 나뉘어졌으며 E는 1개의 peak로 나타났다. 이들 peak A-1, A-2, B-1,

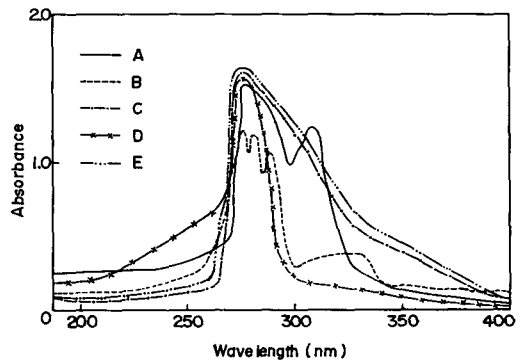


Fig. 5. UV-spectra of the brown pigments fractionated by DEAE-cellulose column.

Amino 산- Xylose 갈변반응물질의 항산화성

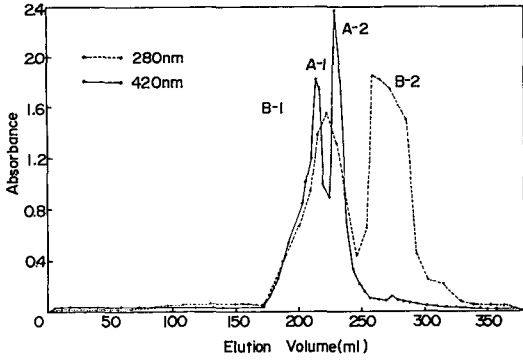


Fig. 6. Elution profiles on sephadex LH-20 column (2.5x80 cm) of the brown pigments fractionated by DEAE-cellulose column.

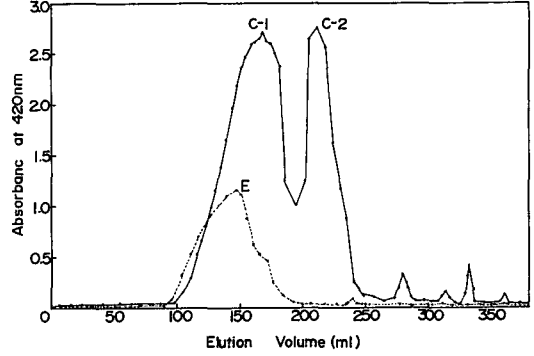


Fig. 7. Elution profiles on Sephadex LH-20 column (2.5x30 cm) of the brown pigments fractionated by DEAE-cellulose column.

B-2, C-1, C-2 및 E의 첨가구는 보존 198시간 이후에 과산화물가가 각각 1,435, 1,228, 774, 908과 298 meq/kg 으로 항산화효과가 있는 것으로 나타났는데 특히 E는 강력한 항산화효과가 있었다. 따라서 Trp-Xylose 갈변반응물질의 항산화효력은 단일물질에 의한 것이 아니고 수종의 화학적 성상이 상이한 물질들의 작용에 의한 것으로 추정되었다.

Fig. 9은 gel여과에 의해서 분리된 각 분획분의 흡광스펙트럼을 나타낸 그림으로 275 nm에서 모두 최대흡광치를 나타내어 DEAE-cellulose column의 각

분획분 A, B, C와 E의 스펙트럼과 비슷한 양상을 나타내었다.

한편 Kirigaya 등 (1969)은 갈변반응물질의 항산화성이 구성원소중의 질소함량과 관계있다고 보고한 바 있으므로 Sephadex LH-20 column에서 분리된 각분획분의 원소조성을 측정해 본 결과(Table 3) 항산화성이 인정된 획분인 A-1, A-2, C-1, C-2 및 E 등의 질소함량은 각각 1.58, 9.28, 5.00, 4.61 및 3.57%로 Fig. 8에 나타낸 항산화성과 비교하면 A-1를 제외한 분획분들간에는 오히려 질소함량이 증가함에 따라 항산화력은 다소 약해지는 경향을 보였으나 양자간에 큰 상관관계가 없는 것으로 생각되었다. 이러한 결과는 Yamaguchi와 Fujimaki(1974) 등에 의해서도 지적되었는데 질소원자가 melanoidin의 항산화작용에 중요한 역할을 하지만 질소의 함량보다는 melanoidin 내의 질소원자의 결합방식이나 존재형태가 더 큰 영향을 주기 때문인 것으로 생각된

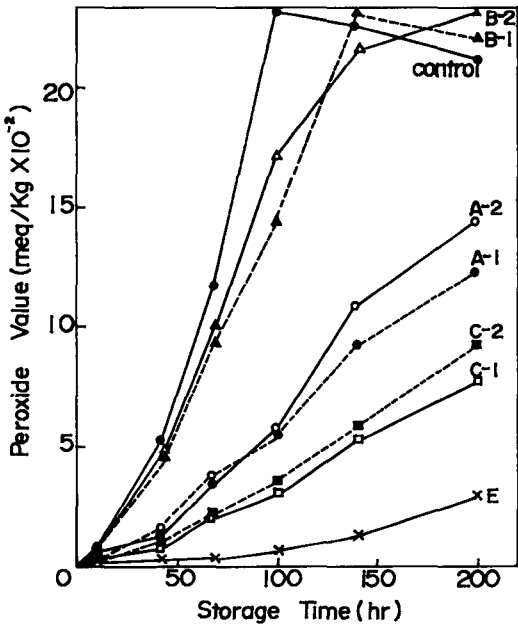


Fig. 8. Antioxidant effect of the brown pigments fractionated by Sephadex LH-20 column.

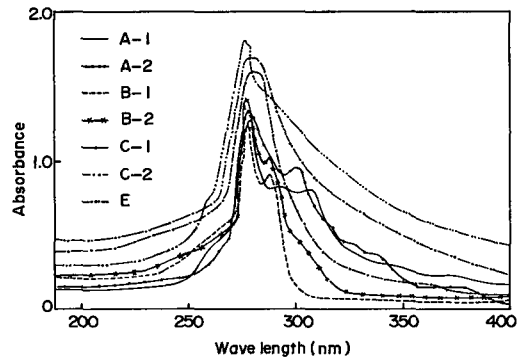


Fig. 9. UV-spectra of brown pigments fractionated by Sephadex LH-20 column.

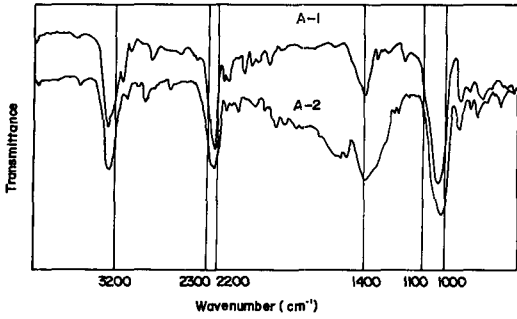


Fig. 10. IR spectra of the bands A-1 and A-2 fractionated by Sephadex LH-20 column.

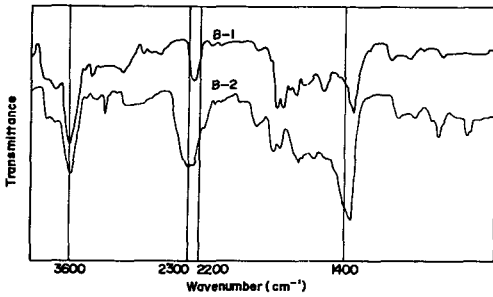


Fig. 11. IR spectra of the B-1 and B-2 fractionated by Sephadex LH-20 column.

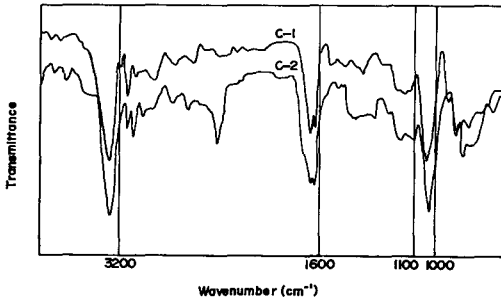


Fig. 12. IR spectra of the bands C-1 and C-2 fractionated by Sephadex LH-20 column.

다. 또한 Maruyama 등(1970)도 산화유지와 휘발성 아미노태질소로 만들어진 갈변반응물질의 항산화성은 질소함량과는 큰 관계가 없고 질소원자가 결합하고 있는 부분의 구조와 관계있다고 보고하였다.

갈변반응물질의 항산화작용에 관계되는 구조적 특징을 알기 위하여 항산화효력이 인정된 A-1, A-2, C-1, C-2와 E 및 항산화효과가 없는 것으로 인정된 B와 D의 IR spectrum을 측정하였다(Fig. 10~14).

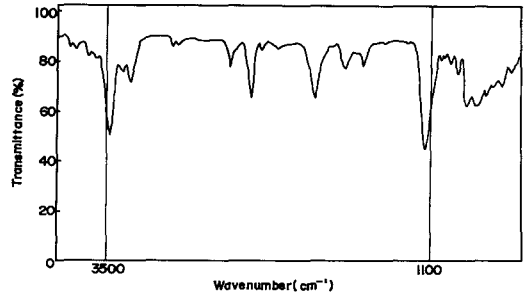


Fig. 13. IR spectra of the band D fractionated by Sephadex LH-20 column.

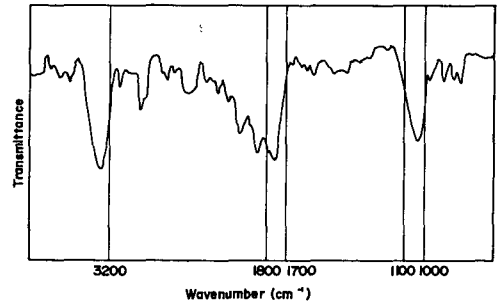


Fig. 14. IR spectra of the band E fractionated by Sephadex LH-20 column.

그 결과 A-1과 A-2는 거의 비슷한 spectrum을 나타내었는데 3,320  $cm^{-1}$ 의 강한 흡수는 -OH에 의한 것이고 2,200~2,280  $cm^{-1}$ 는 탄소원자와 질소원자간의 2중결합으로 인한 Schiff's base 형태의 화합물에 의한 것이며 또 1,400  $cm^{-1}$ 에서  $CH_3-CH_2$ -의 흡수와 1,045~1,130  $cm^{-1}$ 에서 지방족 제1급아민(- $CH_2-NH_2$ )의 강한 흡수를 나타내었다. 그리고 B-1과 B-2도 거의 같은 양상의 spectrum을 보였는데 A-1, A-2와 비교할 때 2,200~2,800  $cm^{-1}$ 와 1,400  $cm^{-1}$ 에서 공통된 흡수를 나타내어 Schiff's base의 형태임을 알 수 있었으나 -OH기와 제1급아민에 의한 흡수는 없었다. C-1과 C-2의 spectrum에서는 3,320  $cm^{-1}$ 와 1,045~1,130  $cm^{-1}$ 의 흡수이외에 1,620~1,630  $cm^{-1}$ 에서 지방족 제1급아민(= $CH-NH_2$ )의 특징적인 흡수를 보였는데 Lee(1983)는 인지질의 갈변반응물질중에서 항산화성과 과산화물분해작용을 가진 물질을 분리하여 IR spectrum을 측정된 결과 1,620  $cm^{-1}$ 에서 특징적인 흡수를 나타낸다고 보고하였으므로 C-1, C-2 분획본의 항산화성은 이 부분구조에 기인된 것으로 생각된다.

항산화성이 거의 없는 것으로 판정된 D는 A, C 및

E와 공통되는 흡수대가 없었으며 항산화성이 가장 강한 E의 spectrum에서는 3,320 $cm^{-1}$ 와 1,045~1,130  $cm^{-1}$ 의 흡수는 A, C와 동일하였으나 1,700~1,800  $cm^{-1}$ 에서 특이적인 흡수를 보였으므로 E는 카아본산에스테르(-H-C-O-R)와 카아본산(R-COOH)의



구조를 하고 있는 것으로 추정된다. 위의 실험결과에서 항산화성을 나타내는 A, C 및 E는 3,320  $cm^{-1}$ , 1,700~1,800  $cm^{-1}$ , 1,620~1,630  $cm^{-1}$ 과 1,045~1,130  $cm^{-1}$ 에 특징적인 흡수가 있음을 알 수 있었다. 따라서 갈변반응물질의 항산화성은 -OH, amine 및 카아본산 구조에 의한 것으로 생각된다. Maruyama 등(1970)은 산화지질에 아미노산과 당을 가하여 만든 항산화성 갈변물질도 -OH에 의한 3,320  $cm^{-1}$ 에서의 흡수가 크다고 하였고 Thumann과 Herrmann(1980)은 hydroxy cinnamic acid와 hydroxy benzoic acid와 같은 phenol 화합물이 항산화효과가 있는 것은 -OH에 의한 것이라고 보고한 바 있다. 아미노화합물의 항산화성에 대하여 Adamic 등(1970)은 amine 화합물의 항산화성은 아미노기가 peroxy radical과 반응하여 안정한 화합물을 형성하기 때문이라 하였으며 Totani 등(1975)은 hexylamine이 과산화물을 감소시키는 것은 아미노기와 과산화물과의 반응에 의한 것이라고 보고하였다. 또한 Kirigaya 등(1969)은 melanoidin의 항산화성에 관한 연구에서 melanoidin의 항산화성은 질소함유부분구조에 기인되나 그 효력은 원소결합상태에 좌우된다고 주장하였다. 그리고 가장 항산화효력이 큰 E에서는 1,700~1,800  $cm^{-1}$ 의 카아본산에스테르 혹은 카아본산의 흡수가 특징적이었는데 이에 대하여는 Olcott와 Mattill (1936)이 카아본산과 카아본산에스테르화합물의 항산화성을 조사하고 그 효력을 인정한 바 있다.

Table 3. Compositions of the elements of the brown pigments fractionated by Sephadex LH-20 column

| Sample | Elements (%) |       |       |       |
|--------|--------------|-------|-------|-------|
|        | H            | C     | N     | O     |
| A-1    | 6.32         | 52.81 | 1.58  | 39.29 |
| A-2    | 5.00         | 47.06 | 9.28  | 38.66 |
| B-1    | 5.63         | 33.00 | 16.33 | 45.04 |
| B-2    | 6.51         | 40.10 | 8.11  | 45.28 |
| C-1    | 6.10         | 59.56 | 5.00  | 28.94 |
| C-2    | 2.88         | 28.98 | 4.61  | 63.53 |
| D      | 7.60         | 58.73 | 2.03  | 31.64 |
| E      | 3.36         | 38.51 | 3.57  | 54.56 |

Table 3는 Sephadex LH-20 column 분획분의 평균 분자량을 나타낸 것인 데 항산화성이 있는 A-1, A-2, C-1, C-2 및 E의 평균분자량은 각각 3,200~3,500, 3,600~3,900, 3,500~3,700, 3,200~3,400 및 3,400~3,600 정도였으며 항산화력이 없는 D의 평균분자량은 8,500~9,000으로 고분자의 중합물이었다. 따라서 갈변반응물질중에서 항산화력의 원인물질은 갈변반응초기에서 생성되는 저분자의 reductone류보다는 분자량 3,000~3,500정도의 중합생성물일 것으로 추정하였다. Yamaguchi와 Fujimaki (1970)에 의하면 glycine과 xylose를 반응시킨 갈변반응물질중에서 항산화성을 나타내는 것은 분자량 4,500정도의 저분자 melanoidin 이었고 고분자의 melanoidin에서는 오히려 산화촉진작용을 나타낸다고 보고하고 있어 본 실험의 결과를 잘 뒷받침해 주고 있다.

### 결론 및 요약

Tryptophan과 Xylose를 반응시켜 얻어진 갈변반응물질중 항산화성을 나타내는 물질을 분리하기 위하여 용매추출, gel 여과 및 DEAE-cellulose column을 이용하고 분리된 성분에 대한 구조적 특징을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 비투석성갈변반응물질중 항산화유효성분은 methanol과 ethanol 가용성물질이었으며 각 용매에 대한 추출량은 49.21과 34.05%였다.

2. methanol 가용성 갈변반응물질은 DEAE-cellulose column에서 5획분으로 분획되었는데 그 중 methanol/chloroform (95:5 v/v) 용액(A), chloroform/acetic acid (10:30 v/v) 용액(C) 및 methanol/acetic acid (10:30 v/v) 용액(E)의 용출구분이 항산화효력을 나타내었으며 이들의 조성비는 각각 22.23, 21.51 및 34.43%이었다.

3. DEAE-cellulose column의 각 분획분을 Sephadex LH-20 column으로 분획했을 때 A와 C는 각각 2개의 획분으로 분리되었으며 이들 A-1, A-2, C-1, C-2의 평균분자량은 각각 3,200~3,700, 2,600~2,900, 3,500~3,700 및 3,200~3,400 이었고 단일 획분인 E는 3,400~3,600이었다.

4. Sephadex LH-20 column 분획분의 IR spectrum을 측정 한 결과 항산화성에 관계되는 관능기는 -OH기와 지방족 제1급 아민(-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, =CH-NH<sub>2</sub>)이었으며 항산화성이 가장 강한 E 획분은 카아본산

(R-COOH) 또는 카아본산에스테르( $-\text{HC}-\text{O}-\text{R}$ )화

$$\begin{array}{c} \parallel \\ \text{O} \end{array}$$

합물로 추정되었다.

## 문 헌

- Ademic, K., D.F. Bowman and K.U. Ingold. 1970. The inhibition of autoxidation by aromatic amines. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 47, 109—113.
- El-Zeany, A., J. Pokorny, J. Velisek, J. Davidek and G. Janicek. 1973. Antioxidant activity of some brown pigments in lipid. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 153, 316—320.
- Hiromichi, K., T. Horie and M. Fujimaki. 1976. Antioxidant activity of the browning oils prepared from D-glucose and L-Leucine and its synergism with tocopherols. *J. Japan. Soc. Food and Nutr.* 29, 179—185.
- Hodge, J.E. 1955. The amadori rearrangement. *Advances in Carbohydrate Chem.*, 10, 169.
- Hwang, C.I. and D.H. Kim. 1973. The antioxidant oxidants. *Wld. Hlth. Org. Techn. Rept. Ser.* 228—232.
- Kawashima, K., H. Itoh and I. Chibata. 1977. Antioxidant activity of browning products prepared from low molecular carbonyl compounds and amino acids. *J. Agric. Food Chem.* 25, 202—207.
- Kirigaya, N., H. Kato and M. Fujimaki. 1968. Studies on antioxidant of nonenzymatic browning products. part 1, Relations of color intensity and reductones with antioxidant activity of browning reaction products. *Agric. (Japan)* 3, 287—292.
- Kirigaya, N., H. Kato and M. Fujimaki. 1969. Studies on antioxidant activity of nonenzymatic browning reaction products. Part 2. Antioxidant activity of nondialyzable browning reaction products. *J. Agric. Chem. Soc. (Japan)* 43, 484—490.
- Kirigaya, N., H. Kato and M. Fujimaki. 1971. Studies on antioxidant activity of nonenzymatic browning reaction product Part 3. Fractionation of browning reaction solution between ammonia and D-glucose and antioxidant activity of resulting fractions. *J. Agric. Chem. Soc. Japan* 45, 292—296.
- Lee, H.H. and D.H. Kim. 1978. Comparison of antioxidant activity of ethanol-extracts obtained from a glucose-ammonia and a glucose glycine browning mixtures. *Korean J. Food Sci. & Technol.* 10, 350—356.
- Maruyama, M., K. Fujimoto and T. Kaneda. 1970. Antioxidative activity of browning products derived from autoxidized oil. Part I. Comparison of antioxidative activity in several model system. *J. Food Sci. & Technol. (Japan)* 17, 281—287.
- Namiki, M., A. Shigeta and T. Hayashi. 1972a. Antioxidant effect of the reaction mixture of dehydroascorbic acid with tryptophan. *Agric. Biol. Chem.* 46, 1207—1211.
- Namiki, M., T. Hayashi and A. Shigeta. 1972b. Isolation and identification of antioxidant product from the reaction mixture of dehydroascorbic acid with tryptophan. *Agric. Biol. Chem.* 46, 1207—1212.
- Olcott, H.S. and H.A. Mattill. 1936. Antioxidants and autoxidation of fats. 7. Preliminary classification of inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.* 58, 2204—2209.
- Rhee, C. and D.H. Kim. 1975. Antioxidant activity of acetone extracts obtained from a caramelization-type browning reaction. *J. Food Sci.* 40, 460—464.
- Thumann, I. and A. Herrmann. 1980. Uber die antioxidative wirkung hydroxizimtsauren und hydroxibenzosauren. *Deutsche Lebensmittel Rundschau* 76, 344—349.
- Totani, N., Y. Nakayama, Y. Totani and N. Matsuo. 1975. Decrease in the hydroperoxide of fatty acid ester caused by amines. *J. Japan Soc. Food and Nutr.* 28, 485—491.
- Yamaguchi, N. 1969. Effects of 3-deoxy-xylosone and its browning reaction product on the stabilities of fat and oil. *J. Food Sci. & Technol. (Japan)* 16, 94—100.
- Yamaguchi, N. and M. Fujimaki. 1970. Studies on



- browning reaction products from reducing sugars and amino acids. Part 10. Fractionation of browning reaction products of antioxidative activities of browning reaction products between D-Xylose and L-amino acids or amines during storage. J. Food Sci. & Technol. (Japan) 20, 485—491.
- Yamaguchi, N. and M. Fujimaki. 1974a. Studies on browning reaction oxidative activities of purified melanoidins and their comparison with those of legal antioxidants. J. Food Sci. & Technol. (Japan). 21, 6—10.
- Yamaguchi, N. and M. Fujikaki. 1974b. Studies on browning reaction products from reducing sugars and amino acids. Part 15. Comparison of antioxidative activity of melanoidin with that of each tocopherol homologue and synergistic effect of melanoidin on tocopherols. J. Food Sci. & Technol. (Japan) 21, 130—136.
- You, B.J., K.H. Lee, and J.H. Lee. 1986. Antioxidant activity of amino acid-xylose browning reaction products. 2. Isolation of antioxygenic substrates from browning reaction products by TLC and dialysis. Proc. Nat. Sci. Res. Inst. KANU, 2, 2, 19—26.