

중간수분식품 모델계에서의 마이야르 반응에 관한연구

김 운지·최 형택·유 주현·오 두환

연세대학교 식품공학과

Maillard Reaction in an Intermediate Moisture Model Food System

Yun-Ji Kim, Hyeong-Taeg Choi, Ju-Hyun Yu and Doo-Hwan Oh

Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul

Abstract

An intermediate moisture model food system was used to investigate the effects of water activity (A_w), temperature, pH and polyethyleneglycol (PEG) on the Maillard reaction. The initial molar ratio of glucose to lysine was varied from one half to four. The maximum Maillard reaction was obtained from an initial glucose/lysine molar ratio of approximately three. The rate of Maillard reaction showed a maximum in the range of water activity of a normal intermediate moisture food. The model food system was prepared to hold water activity range of 0.47-0.84 and the samples were held at various temperatures. The maximum browning rate occurred at an A_w value of approximately 0.84 at 40°C and 60°C, 0.74 at 30°C and 0.67 at 20°C, respectively. The Arrhenius activation energies for nonenzymatic browning pigment production were 18.03, 15.18 and 9.90 Kcal/mole for the sample with A_w 0.84, 0.74 and 0.67. When the pH of the model system was increased, a significant increase in the browning reaction was observed. On the inhibitive effects of PEG, the higher degree of polymerization, the more inhibition of browning reaction.

서 론

중간수분식품(IMF, intermediate moisture food)은 독특한 조직감을 가지고 있으며 재수화 과정없이 곧바로 섭취할 수 있는 수분활성도(A_w , water activity) 0.6~0.9 사이의 식품을 말한다. 이러한 중간수분식품은 가공 및 저장하는 과정에서 갈색화 반응이 현저하게 일어나는 것으로 알려져 있다.^(1,2)

일반적으로 식품을 저장하거나 가공할때에 일어나는 갈색화 반응의 영향인자에는 온도⁽³⁾, pH^(4,5), 수분활성도⁽⁶⁻¹¹⁾, 화학물질⁽¹²⁻¹⁵⁾등이 알려져 있다.

중간수분식품에 있어서도 갈색화의 영향인자인 온도, 수분함량에 대해 많은 연구가 진행되었으며, Maillard 반응에 있어서의 수분 또는 A_w 의 함량과 역할에 대한 kinetic parameter의 분석을 통해 저장수명을 예견하려는 연구도 보고되고 있다.^(16,17)

식품에 함유되어 있는 수분은 식품의 조직감적인 특성(textural characteristics)을 결정해 줄 뿐만아니라 식품중의 성분과 직접 또는 간접적으로 화학반응을 하여 식품의 상대적 수명을 결정한다고 알려져 있다.^(15,18) Eichner등⁽¹¹⁾에 의하면 A_w 는 pH, 온도 그리고 점도와 더불어 갈색화 반응에 영향을 미치는 중요한

인자의 하나이며 특정의 A_w 범위에서 갈색화 반응이 현저하게 유도된다고 보고하였다. 또 Warmbier^(19,21)에 의하면 식품에 있어서의 최대 갈색화는 A_w 0.65~0.70 사이에서 일어나는데, 이 이하의 A_w 에서는 기질의 이용도가 낮아져서 갈색화가 억제되며, 이 이상의 A_w 에서는 희석효과(dilution effect)에 의해 반응물질의 농도가 낮아지기 때문에 갈색화가 저하된다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 이러한 중간수분식품에서의 갈색화 반응에 대한 영향인자를 알아보기 위해 모델계에서 온도, 수분활성도, pH, 및 polyethylene glycol (PEG)의 첨가가 당과 아미노산의 마이야르반응에 미치는 효과를 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험의 모델계 조성은 glucose 27.9%(w/w), lysine 7.5%(w/w), microcrystalline cellulose 62.5%(w/w), potassium sorbate 2.1%(w/w)이었다. Microcrystalline cellulose는 갈색화 반응에 관여하지 않기 때문에 solid supporter로서 사용하였으며 potassium

sorbate는 저장시 미생물의 생육을 방지하기 위하여 사용하였다.

시료의 조제

Aw 0.33~0.97사이의 시료는 앞에서와 같은 비율로 만든 시료를 잘 혼합한 뒤 $MgCl_2$ (Aw0.33), K_2CO_3 (Aw0.47), $CuCl_2$ (Aw0.67), $NaNO_3$ (Aw0.74), KCl (Aw0.84), 및 K_2SO_4 (Aw0.97)²²⁾의 포화염용액이 들어있는 desiccator에 25°C에서 3일간 방치하여 조제하였다. 그리고 시료의 Aw는 Novasina humidat ICII hygrometer로 측정하여 확인하였다.

수분함량의 측정

모델계의 수분함량은 Warmbier의 방법¹⁹⁾에 따라 각 시료 2.4g에 80ml의 무수메탄올을 가하여 수분을 추출한 뒤 GLC (Shimadzu GC-7A column; polar pack Q, detector; thermal conductivity detector(TCD))를 사용하여 물과 메탄올의 peak 면적비로 정량하였다.

분석 전처리

Warmbier의 방법¹⁹⁾에 따라 시료에 증류수 100ml를 가하여 20분간 교반한 다음 여과하여 cellulose를 제거하고 여액을 갈색화도의 측정과 glucose정량에 사용하였으며 저장이 완료된 시료는 분석하기 전까지 -20°C 이하의 온도에서 보관하였다.

갈색화도의 측정

전처리를 거친 여액 2ml에 증류수 8ml를 가하여 420nm에서 흡광도를 측정하여 결정하였다.

Glucose의 정량

Glucose는 glucose-oxidase방법²⁰⁾을 이용하여 정량하였다.

pH의 조절

시료의 pH는 pH 4.0, 5.6, 7.0의 citrate-phosphate buffer 및 pH 7.0, 8.0의 phosphate buffer를 모델계에 10ml씩 넣어 조절한 뒤 동결건조 하였다.²³⁾

활성화 에너지의 측정

활성화 에너지는 Arrhenius식: $\ln k = -\frac{E_a}{RT} + \ln A$ 을 이용하여 $\ln k$ 와 $\frac{1}{T}$ 를 plot하고 이때 나타내는 기울기로부터 구하였다. 여기서 k는 저장기간에 따른 흡광도 변화를 나타낸 graph에서의 초기 기울기 값이며, E_a 는 활성화 에너지 (Kcal/mole), T는 절대온도(K), R는

기체상수이며 A는 절편의 값이다.

결과 및 고찰

초기 glucose/lysine mol비의 영향

Glucose와 lysine의 mol비(G/L)에 따른 갈색화 영향을 살펴보기 위해 lysine 2.05 mmol과, glucose를 lysine 에대한 mol비가 0.5, 1, 2, 3, 4가 되게 첨가하여 시료를 제조한 다음 Aw를 0.54로 조절하여 40°C에서 8일과 14일동안 저장한 결과 Fig.1과 같았다. Lysine에 대한 Glucose의 mol비가 증가할 수록 반응속도도 급속히 증가하여 mol비 3까지는 갈색화 반응속도가 계속적으로 증가하였으나 그이상의 mol비에서는 흡광도의 증가가 거의 없었다. 따라서, glucose와 lysine의 몰비가 3일때 갈색화가 최고점에 도달함을 알 수 있었으며 G/L이 3이상인 경우에는 Labuza등²⁴⁾ 및 Warmbier²¹⁾의 보고에서와 같이 glucose에 의해 점도가 증가되고 이로인해 기질의 운동성이 저하되기 때문에 반응속도가 늦어지는 생각되었다.

Aw에 의한 영향

초기 G/L을 3으로 하여 Aw를 0.33, 0.47, 0.67, 0.74,

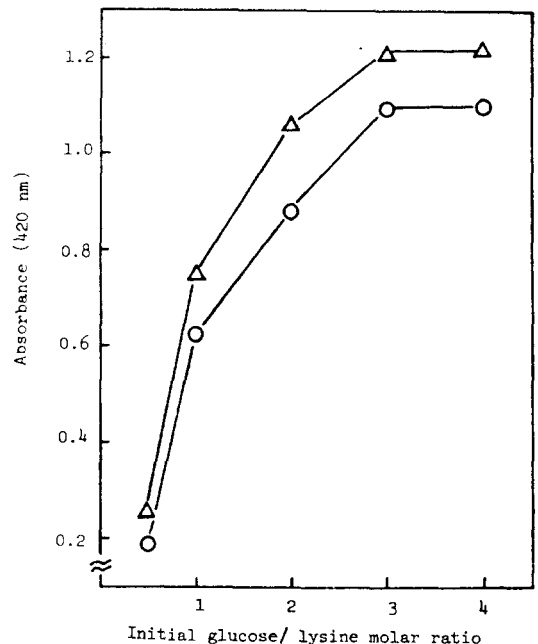


Fig. 1. Effect of initial glucose to lysine molar ratio on the Maillard reaction at 40°C

○: storage for 8 days.

△: storage for 14 days.

0.84, 0.97로 조절하여 40°C에 저장하면서 갈색화 반응에 미치는 Aw의 영향을 살펴 본 결과를 Fig.2에 나타내었다. 저장 8일 후 중간수분활성도인 Aw0.67, 0.74, 0.84에서 갈색화 반응이 활발히 진행되었으며, 건조식품의 수분활성도인 Aw0.33, 0.47에서는 갈색화가 거의 일어나지 않았다. 한편 Aw 0.97에서도 갈색화가 진행되었으나 최대 갈색화가 일어나는 Aw 0.84에 비해서는 그의 흡광도가 18% 정도로서 갈색물질의 생성속도가 매우 늦음을 알 수 있었다.

저장 14일 후에는 Aw에 따른 갈색화 차이를 좀 더 확실하게 볼 수 있었으며 이때에는 Aw 0.33, 0.47에서는 갈색화 반응이 거의 진행되지 않았으나 Aw0.97에서는 8일 동안 저장한 시료에 비해서는 갈색화가 크게 증가되었다.

Aw 0.97의 경우 Aw 0.67, 0.74 및 0.84인 경우보다 반응속도가 느리고 Aw0.33, 0.47에 비해서는 반응이 빠르게 진행된 것은, Warmbier⁽¹⁹⁻²¹⁾의 보고에서와 같이 수분함량이 많은 경우에는 기질의 이동도(mobility)는 좋으나 기질의 회색효과가 나타나기 때문이라고 생각되며, Aw가 낮은 경우에는 기질의 이동도가 낮아져서 갈색화가 억제되는 것으로 생각되었다. 이에 반해 중간수분식품은 적당한 이동도를 갖고 있으며 회색효과도 줄어들어 갈색화 반응이 빨리 진행되었다고 생각된다.

저장온도의 영향

Table 1은 Aw 0.47, 0.67, 0.74, 및 0.84의 모델계를 20, 30, 40, 60°C에서 15일간 저장하였을 때 저장시간과 온도에 따른 갈색화 경향을 나타낸 표이다.

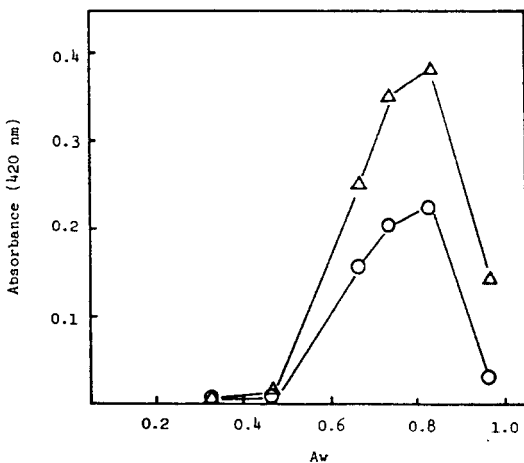


Fig. 2. Effect of Aw on the Maillard reaction at 40°C
O: storage for 8 days.
Δ: storage for 14 days.

본 결과에서 20°C에 저장하였을 때에는 Aw 0.67에서 최대의 갈색화 반응을 보였으며, 그 다음이 Aw 0.74 및 0.84이었다. 한편 Aw 0.47에서는 갈색화가 거의 일어나지 않았고 glucose소모도 매우 적었으며 한편 갈색화가 많이 진행된 경우에 있어서는 glucose소모도 현저하게 증가됨을 알 수 있었다.(Table 2)

또한 30°C의 경우에는 Aw 0.74에서 최대 갈색화가 일어났다. Glucose는 Aw 0.74 및 0.67인 경우 저장 하루 동안에 빠르게 감소하였고 그 후에는 완만한 감소 추세를 보여주었다. Aw 0.84의 경우에는 Aw 0.74나 0.57에 비해서 glucose의 소비속도가 늦지만 저장 10일까지 지속적으로 glucose 잔존량이 감소되었다. 이와함께 30°C에서는 Warmbier⁽¹⁹⁾의 보고에서와 같이 Aw 0.47에서도 갈색화 생성물이 생성되는 것을 알 수 있었다.

또한 40°C에서는 Aw 0.84에서 갈색화가 잘 일어났으며 Aw 0.74, 0.67 및 0.47의 순이었고 60°C에서 저장한 결과도 40°C와 같이 Aw가 높을수록 갈색화가 빠르게 진행되었다.

따라서 저장온도가 높은 경우에는 Warmbier⁽²⁰⁾의 보고에서와 같이 기질의 이동도가 갈색화 반응속도를 좌우하는 것으로 생각되었다. 한편 Aw0.84의 경우 저장 6일 이후에는 420nm에서의 흡광도가 감소하였다. 이는 낮은 온도에서는 중간물질의 축적이 많으나 저장온도가 높을수록 갈색화의 최종산물의 축적이 빨리 물에 녹지않는 melanoidin류가 생성되므로 흡광도가 감소되는 것으로 생각되었다.⁽²⁵⁾이와 함께 Aw 0.84 및 0.74에서와 Aw 0.67, 0.47에서의 반응속도가 크게 차이가 난 것으로 보아 온도가 높을수록 갈색화 반응은 Aw의존성이 높음을 알 수 있었다.

Table 1에서와 같이 저장온도에 따라 최대 갈색화가 일어나는 Aw에는 차이가 있어 20, 30, 40, 60°C에서 저장하였을 때의 최대 갈색화는 각각 Aw 0.67, 0.74, 0.84 및 0.74에서 일어났다. 이와같이 온도에 따라 최대 갈색화가 일어나는 Aw가 달라지는 것은 Warmbier⁽¹⁹⁾의 보고에서와 같이 온도가 높을 때에는 갈색화 반응이 빨리 진행되어 기질의 이동도가 반응속도에 영향을 미치며 온도가 낮은 경우에는 높은 수분함량에 따른 기질의 회색효과에 의해 반응이 저해되기 때문이라고 생각되었다.

각 Aw에서의 활성화 에너지는 Aw 0.67, 0.74, 0.84일때 각각 9.90, 15, 18, 81.03Kcal/mole이었다. 이 값은 Tihio 등⁽²⁶⁾이 보고한 Aw 0.82의 glucose-glycine수용액계의 활성화 에너지 22.0Kcal/mole에 비해서는 약간 낮은 값이었으나 pH 4~7 범위에서 glucose-lysine수

Table 1. Absorbance at 420 nm

Temp. (°C)	Aw day	1	3	6	10	15
20	0.47	0.001	0.002	0.003	0.005	0.008
	0.67	0.010	0.021	0.045	0.090	0.129
	0.74	0.007	0.015	0.020	0.055	0.100
	0.84	0.006	0.010	0.015	0.037	0.067
30	0.47	0.010	0.010	0.010	0.011	0.012
	0.67	0.040	0.060	0.075	0.097	0.125
	0.74	0.050	0.070	0.080	0.115	0.150
	0.84	0.045	0.054	0.067	0.080	0.100
40	0.47	0.010	0.020	0.030	0.050	0.060
	0.67	0.020	0.040	0.080	0.150	0.180
	0.74	0.050	0.120	0.250	0.380	0.490
	0.84	0.060	0.190	0.290	0.490	0.660
60	0.47	0.070	0.080	0.100	0.120	0.150
	0.67	0.180	0.200	0.201	0.411	0.620
	0.74	0.450	0.700	1.211	1.220	1.250
	0.84	0.580	1.110	1.370	1.240	0.904

Table 2. Glucose content (mM)

Temp. (°C)	Aw day	1	3	6	10	15
20	0.47	37.0	36.8	36.4	35.9	34.5
	0.67	32.2	28.2	25.1	28.3	20.0
	0.74	36.6	35.4	32.5	31.0	26.0
	0.84	36.4	36.3	35.0	33.6	31.4
30	0.47	36.4	35.9	33.5	32.7	30.2
	0.67	27.5	25.2	23.5	22.4	19.5
	0.74	26.5	23.4	21.6	20.0	18.3
	0.84	35.0	33.0	28.1	25.0	22.5
40	0.47	34.0	33.1	32.1	30.5	29.6
	0.67	32.6	31.0	30.0	28.4	26.3
	0.74	26.8	25.2	24.1	23.4	20.2
	0.84	22.4	21.2	20.1	19.7	17.8
60	0.47	36.5	33.3	30.4	29.7	28.2
	0.67	32.0	27.0	25.5	24.5	22.0
	0.74	20.0	16.4	11.5	10.0	7.0
	0.84	14.2	11.1	8.6	4.7	2.5

용액계의 활성화 에너지가 18.0~5.1Kcal/mole이라는 Lee등⁽²⁷⁾의 보고와는 비슷한 값을 보였다.

실험값으로부터 구한 활성화 에너지 값에 의하여 Aw가 높을 수록 갈색화 반응의 온도 의존성이 커지는 것을 알 수 있었다.

GLC를 사용하여 각 Aw의 수분함량을 살펴 본 결과 Aw가 0.47, 0.67, 0.74 및 0.84일때 수분함량은 각각 4, 17, 10.42, 12.08, 13.75 g H₂O/100g solid로서 Aw 0.67, 0.74, 0.84는 중간수분식품의 수분함량(10~14 g H₂O/100 g solid)에 해당되었다.^(1,2)

pH의 영향

Fig.3은 Aw 0.84인 모델계의 pH를 4.0, 5.6, 7.0, 8.0으로 조절하여 저장하면서 저장에 따른 갈색물질의 생성량과 glucose소모량을 나타낸 그림이다. pH가 높을수록 glucose의 소모량이 높아 pH8의 경우 15일 저장 후에는 39%의 glucose만이 유리상태로 남아 있었으나, pH4의 경우에는 79%의 glucose가 남아있었다.

한편 그림으로 표시하지는 않았으나 동일 pH에서는 수분활성도가 높아짐에따라 갈색화에 따른 흡광도와 glucose소모량이 컸다.

Euler등⁽²⁸⁾은 여러 pH의 완충용액의 polarity를 측정한 결과 높은 pH에서 rotation변화가 더 컸으며 이것은 당과 아미노산간의 상호작용에 의한 것이라고 보고하였다. 갈색화 반응은 산성쪽에서는 반응이 매우 미약하였으며 이는 Wolforn등⁽²⁹⁾의 보고에서와 같이 산성 조건에서의 갈색화는 furan화합물의 중합에 의존하기 때문이라고 생각되었다.

PEG 첨가의 효과

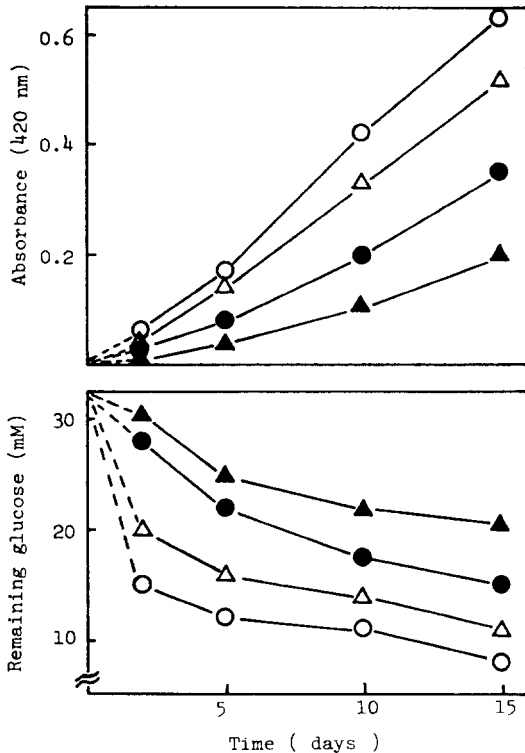


Fig. 3. Effect of pH on the Maillard reaction at Aw 0.84 (40°C)
 ○: pH 8.0, △: pH 7.0
 ●: pH 5.6, ▲: pH 4.0

Sloan등⁽³⁰⁾은 중간수분식품의 실용화에 있어서 새로운 보습제(humectant)의 개발이 시급함을 지적한 바 있다. 그러나 조직감, 비용, 안정성, Aw저하정도, pH, 식품성분으로서의 적합성을 고려해야 하므로 새로운 보습제의 개발은 어려운 문제이다.

최근 보수력(water holding capacity)면에서 가장 바람직한 보습제^(1,2)로 주목되고 있는 다가알코올류의 일종인 PEG 400, 600, 1000, 2000, 6000을 70% 수용액으로 만들어 모델계에 1ml씩 첨가하여 Aw를 0.84로 조절한 후 40°C에서 15일간 저장시킨 결과 Fig.4와 같은 결과를 얻었다.

PEG의 첨가효과는 중합도가 클수록 갈색화 반응 저해효과가 큰 것으로 나타났으며, PEG 6000을 첨가했을 경우 15일 저장하였을때 갈색물질의 생성이 50%정도 감소하였다. Glucose소모는 PEG를 첨가하였을때 저장 12일까지 거의 소모되지 않았으며, 15일 저장시에 급격히 소모되었다. 이와같은 실험결과로부터 PEG는 갈색화 반응의 유도기간을 연장시켜 준다고 생각되어진다.

각 종류의 PEG의 갈색화 반응 저해효과는 중합도가

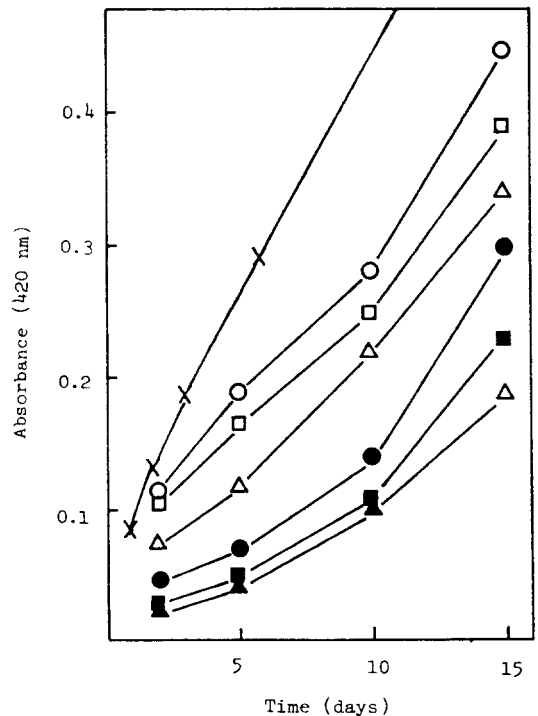


Fig. 4 Effect of PEG on the inhibition of Maillard reaction at 40°C
 □: PEG 600,
 ○: PEG 400, ●: PEG 2000,
 △: PEG 1000, ▲: PEG 6000,
 ■: PEG 4000,
 ×: control.

클수록 좋은 것으로 나타났다.

요 약

중간수분식품 모델계를 사용하여 마이야르반응에 대한 Aw, 저장온도, pH, PEG첨가의 영향을 살펴 본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

모델계의 초기 glucose와 lysine의 mol비를 0.5에서 4까지 변화시켜 저장한 결과 mol비가 증가함에 따라 갈색화가 촉진되어 mol비 3까지 급격히 증가하였으며 그 이상에서는 큰 변화가 없었다. Aw의 영향을 살펴 본 결과 중간수분식품의 Aw범위인 0.67~0.84의 Aw에서 갈색화가 촉진되었다. 저장온도의 영향은 온도가 높을 수록 갈색화가 촉진되었고 저장온도에 따라 최대 갈색화가 일어나는 Aw가 변화하여 60, 40°C의 경우 Aw0.84, 30°C에서는 Aw 0.74, 20°C에서는 0.67에서 최대 갈색화 현상을 보여 주었다. Aw 0.84, 0.74, 0.67에서의 각각의 활성화 에너지는 18.03, 15.18, 9.90Kcal/mole이었다. 완충액을 사용하여 모델계의 pH를 조절하여 저장한 결과 알칼리쪽에서 갈색화가 촉진되었으며, PEG첨가에 따른 영향은 중합도가 높을 수록 갈색화 저해효과가 컸다.

문 헌

- Davies, R., Birth, G.G. and Parker, K.J.: Intermediate Moisture Foods, Applied Science Publishers, London, p.6 (1976)
- Christian, J.H.B. and Troller, J.A.: Water activity and Food, Academic Press, London, p. 61 (1970)
- Lea, C.H. and Hannan, R.S.: *Biochem. et Biophys. Acta*, **4**, 518 (1950)
- Burton, H.S.: *J. Sci. Food Agric.*, **12**, 911 (1963)
- Ellis, G.P.: *Adv. in Carbohydrate Chem.*, **14**, 63 (1959)
- Morinaga Milk Industry Co., Ltd.: Japanese patent #14-890/72
- Tannenbaum, S.R.: *J. Food Sci.*, **31**, 53 (1966)
- Schwartz, H.M. and Lea, C.H.: *J. Biochem.*, **50**, 713 (1952)
- Reynold, T.M.: *Adv. Food Res.*, **12**, 1 (1963)
- Reynolds, T.M.: *Adv. Food Res.*, **14**, 167 (1965)
- Eichner, K. and Karel, M.: *J. Agric. Food Chem.*, **20**, 218 (1972)
- Ingles, D.L.: *Chemistry and Industry*, Nov. **30**, 1901 (1963)
- Mcweeny, D.J. and Burton, H.S.: *J. Sci. Food Agric.*, **14**(5), 291 (1963)
- Song, P.S. and Chichester, C.O.: *J. Food Sci.*, **31**(6), 906 (1966)
- Song, P.S. and Chichester, C.O.: *J. Food Sci.*, **31**(6), 914 (1966)
- Rockland, L.D. and Stewart, G.F.: *Water Activity: Influencesson Food Quality*, Academic Press (1981)
- Duckworth, R.B.: *Water Relations of Foods*, Academic Press (1975)
- Rockland, L.B.: *Food Technol.*, **23**, 1241 (1969)
- Warmbier, H.C.: Ph.D. Thesis, University of Minnesota St. Paul, Minn. (1975)
- Warmbier, H.C.: *J. Food Sci.*, **41**, 528 (1976)
- Warmbier H.C.: *J. Food Sci.*, **41**, 981 (1976)
- Labuza, T.P., Acott, K., Tatini, S.R. and Lee, R.Y.: *J. Food Sci.*, **41**, 910 (1976)
- Flink, J.M.: *J. Food Sci.*, **48**, 539 (1983)
- Labuza, T.P., Tannenbaum, S.R. and Karel, M.: *Food Technol.*, **24**, 543 (1970)
- Fennema, O.R.: *Food Chemistry*, Marcel Dekker, New York, p85 (1976)
- Tihio, K., Labuza, T.P. and Karel, M.: *J.O.A.C.S.*, **46**, 577 (1969)
- Lee, S.M. and Labuza, T.P.: *J. Food Sci.*, **40**, 370 (1975)
- Euler, E.V. and Josepson, K.: *Z. Physiol. Chem.*, **153**, 1 (1926)
- Wolfrom, M.L. and Calvalieri, L.F.: *J.O.A.C.S.*, **71**, 3518 (1949)
- Sloan, E.A. and Labuza, T.P.: *Food Prod. Dev.*, **9**, 75 (1975)

(1986년 11월 25일 접수)