

온도와 수분활성을 달리한 녹차 저장중의 비효소적 갈변

김영숙 · 정연화 · 전순실 · 김무남

부산여자대학 식품영양학과

The Kinetics of Non-Enzymatic Browning Reaction in Green Tea During Storage at Different Water Activities and Temperatures

Young-Suk Kim, Yeon-Hwa Jung, Soon-Sil Chun and Mu-Nam Kim

Dept. of Food and Nutrition, Pusan Women's University, Pusan, 607-080, Korea

Abstract

Non-enzymatic browning is a carbohydrate dehydration reaction, accelerated through the interaction of amino compounds. Reaction depends on several factors including temperature, reactant concentration, pH, water activity and specific ion concentrations, and results in progressive development of brown pigments in the affected food systems.

The present study was designed to utilize a kinetic approach to analyze the effect of temperature and water activity on the browning development in green tea. The green tea was controlled at a_w of 0.33, 0.44, 0.52 and 0.65 using saturated salt solutions and then stored at 35, 45 and 55°C. Another portion of the sample of which the water activities were controlled in the same manner was stored at 35 and 55°C alternately with 7 days interval. Simplified kinetic models were used to obtain the various kinetic parameters for browning development in green tea subjected to accelerated shelf-life tests(ASLT).

The reaction of browning development was zero order. The activation energies calculated from Arrhenius plot ranged 1.5~2.4Kcal/mole and Q_{10} values were between 1.07 and 1.12. These kinetic parameters were then used to predict browning development under the nonsteady storage. Assessed from the parameters the shelf-lives at 25°C, the time to reach 1.02 O.D./g solid at which severe brown color change could be detectable, ranged 57 to 113 days and showed decrease with increase in a_w . The predicted shelf-lives at different water activities were a little higher than actual values.

서 론

차(*Thea Sinensis L.*) 나무는 동백과에 속하는 다년생 상록식물로 좋은 영양성분과 약리적 성분^{1,2)}을 함유하고 있을 뿐 아니라 기호성이 뛰어나 오랜 식용의 역사와 함께 문화생활의 한 부분이 되어 왔다. 녹차는 녹차생엽을 단시간 가열하여 제차함으로써 ascorbic acid oxidase가 불활성화 되기 때문에 vitamin C가 상당한 기간 안정상태로 잔존하는 점이 특이할 만하다.³⁾

차는 건조식품으로 본래 저장성을 가지고도록 가공된 것으로 다른 생식품에 비하여 저장성이 우수하지만, 저장상태가 좋지 못한 경우는 flavour의 손실, 색깔과 맛의 변화 등 여러가지 화학적 변화를 수반하게 된다. 화학적 변화로서는 저장중 catechin류⁴⁾, polyphenol^{5,6)}, fatty acid ester류⁷⁾, 유리 아미노산의 감소, 유리 지방산의 증가, 또 이로 인한 비효소적 갈변반응과 지질 및 polyphenol류의 산화가 잘 일어나며⁸⁾, 유리 아미노산 중 특히 thiamine은 온도와 수분의 증가와 함께 현저하게 감소하며 그외에도 lysine과 glutamic acid가 갈변반응으로 감소되는 것

으로 알려져 있다.⁹⁾ 녹차는 여름철을 제외하고는 그 렇게 높은 수분활성에서 저장 또는 유통 되지 않으므로 미생물에 의한 오염은 상당히 억제되나, 저장 중의 수분활성이 증가함에 따라 비효소적 갈변반응이 증가하고, 때로는 곰팡이의 번식이 문제가 된다.⁹⁾

본 실험에서는 녹차를 여러 가지 수분활성 조건에서 저장하였을 때의 갈변도를 측정하여 저장에 필요한 적정조건을 도색하고 아울러 실제 유통과정에서의 온도변화와 유사한 온도조건에서의 품질열화에 의한 저장수명을 square wave 변온조건에서 실측한 값과 예측치를 비교·검토하였으며, 이를 accelerated shelf-life tests에서 얻어지는 값으로부터 상온(25°C)에서의 shelf-life를 산출하였다.

재료 및 방법

재료

1986년4월 화개제차공장(경남 하동군 화개면 탑리)에서 야생차엽으로 만들어진 녹차를 시중에서 구입하여 실험실로 옮긴 후 포화염용액으로 수분활성을 0.33, 0.44, 0.52, 0.65로 조절하였으며, 일정한 수분활성에 도달한 시료는 5 g씩 polyethylene 피막을 입힌 알루미늄 pouch에 밀봉한 다음 35°C, 45°C 및 55°C에 저장하여 정온저장 실험용으로 사용하였고, 35°C와 55°C에 각각 1주일씩 주기적으로 바꾸어 가면서 저장한 것을 square wave형 변온저장용 시료로 하였다.

수분함량측정

상압가열건조법으로 측정하였다.

수분활성

HI 8064 Digital Hygrometer(HANNA, Instrument Co., Inc.)로 측정하였다.

갈변색소의 측정

Choi¹⁰⁾의 효소분해법을 Saltmarch 등¹¹⁾이 개량한 방법을 이용하였다. 시료 2 g을 100 ml 삼각플라스크에 넣고 재 증류수 50 ml를 가한 다음, 37°C의 회전식 항온조(New Brunswick Sci. Co., INC. Model

G 24)에서 120 oscillation / min으로 30분간 진탕한 다음 3N-NaOH용액으로 pH 8.0으로 조정하였다. 시료에 효소액 1 ml당 trypsin(Type IX, Crystallized, Sigma T-1034) 1.6 mg, α -chymotrypsin(Type II, Sigma C-4129) 3 mg 그리고 peptidase(Grade I, Sigma P-7625) 1.3 mg을 포함하는 용액(pH 8.0) 1 ml을 가하여 37°C 회전식 항온조에서 3시간 반응시킨 다음 50%(w/w) trichloroacetic acid 2 ml을 가하여 반응을 종결시키고 이 혼합액을 whatman No.5 여지 3매로써 여과하였다. 여액을 Beckman Model 26 spectrophotometer를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하고 이를 건물 1 g에 대한 흡광도로서 표시하였다.

결과 및 고찰

단분자층 수분함량

녹차의 흡습특성을 알아보기 위하여 BET식을 이용하여 구한 녹차의 단분자층 수분함량은 5.74%였다. 申¹²⁾의 보고에 의하면 녹차의 수분함량은 5.5~6.0%였으며 품질이 좋은 녹차제품의 경우 수분함량은 6%이하가 될 때까지 건조시켜야 효소활성을 억제시킬 수가 있다고 하였다.

저장 중의 갈변반응

정온저장

속도항수 : 건조식품 저장 중에 영양손실 등의 문제가 되는 갈변은 온도와 수분량에 영향을 받는 것으로 알려져 있으며¹³⁾, zero order로 진행된다고 보고되어 있다.¹⁴⁾

본 실험에서 녹차 저장 중의 갈변반응이 온도 및 수분활성에 따라 어떻게 진행되는가를 알아 보기 위하여 효소분해법으로 측정한 결과는 그림 1-4와 같다. 또 이들로부터 유도된 각 수분활성 및 온도에 있어서의 속도항수는 표1에 표시하였다. 그림 및 표에서 녹차 저장 중의 갈변반응은 zero order로 진행되었으며, 온도 및 수분활성이 증가함에 따라 갈변반응도 증가하는 경향을 보여 수분활성 0.65에서 최대치를 보였다.

활성화 에너지와 Q_{10} 치 : 화학반응의 온도 의존성은

Table 1. Linear regression analysis for browning development.

a_w	Temp.(°C)	$K(O.D. / g \text{ solid}, \text{days}) \times 10^2$	r^2
0.33	35	0.5927	0.7622
	45	0.6496	0.8126
	55	0.6872	0.8833
	fluc. temp.*	0.6574	0.8255
0.44	35	0.6088	0.7920
	45	0.6565	0.8554
	55	0.7509	0.9156
	fluc. temp.*	0.7126	0.8622
0.52	35	0.7200	0.8597
	45	0.7639	0.8889
	55	0.9000	0.9270
	fluc. temp.*	0.8372	0.9259
0.65	35	0.7508	0.8320
	45	0.8630	0.8754
	55	0.9524	0.9323
	fluc. temp.*	0.9066	0.9179

*35–55°C, 7days alternating periods.

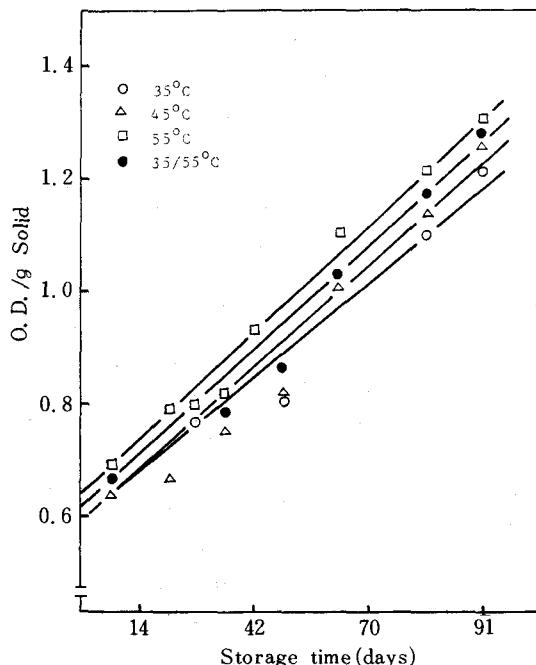


Fig. 1. Non-enzymatic browning development in green tea stored at a_w 0.33.

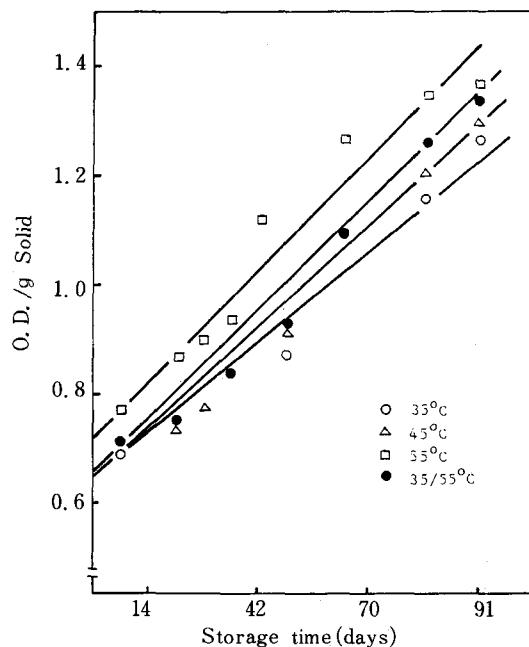


Fig. 2. Non-enzymatic browning development in green tea stored at a_w 0.44.

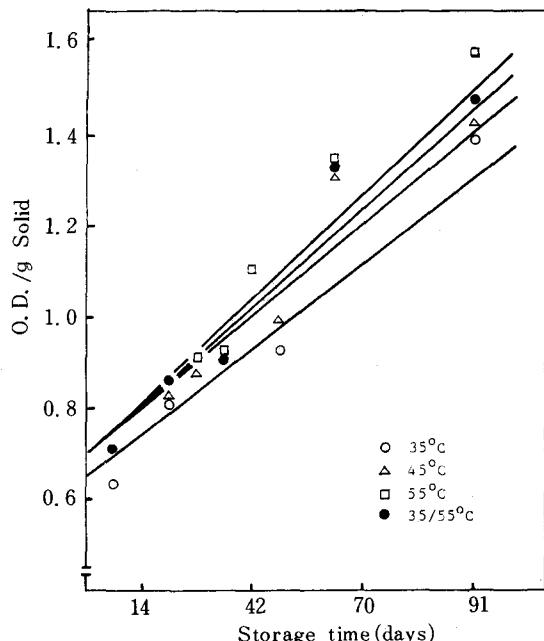


Fig. 3. Non-enzymatic browning development in green tea stored at a_w 0.52.

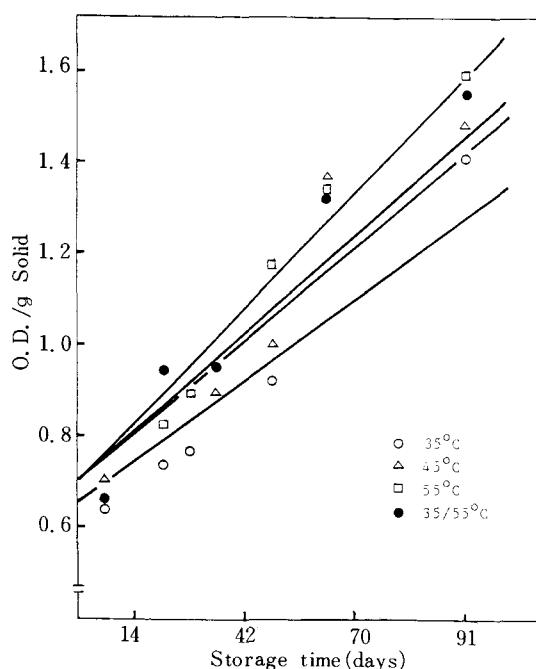


Fig. 4. Non-enzymatic browning development in green tea sotred at a_w 0.65.

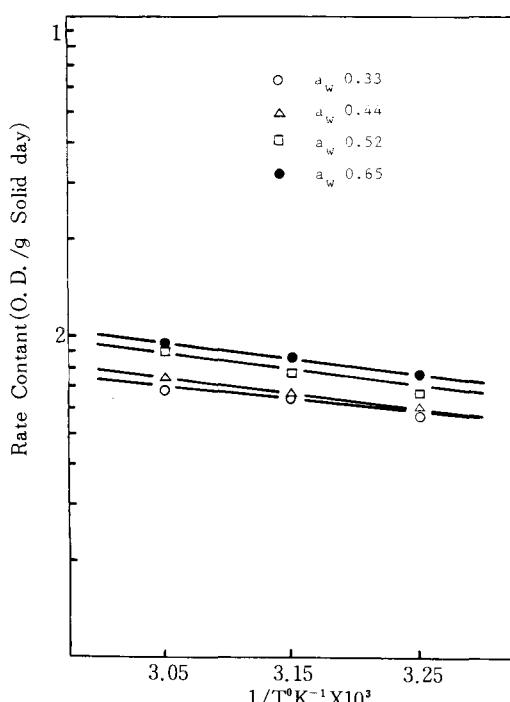


Fig. 5. Arrhenius plot of rate constants for non-enzymatic browning development in green tea.

Table 2. Activation energies and Q_{10} values for browning development in green tea.

a_w	Ea(Kcal / mole)	Q_{10}^*	r^2
0.33	1.49	1.07	0.9859
0.44	2.10	1.11	0.9683
0.52	2.23	1.11	0.9221
0.65	2.39	1.12	0.9936

* Q_{10} : Calculated for $T_1=45^\circ\text{C}$, $T_2=55^\circ\text{C}$

Arrhenius식으로 표시할 수 있으며, 각 수분활성에 따른 browning development에 대한 Arrhenius plot를 그림 5에, 또 이 식으로부터 구한 활성화 에너지와 Q_{10} 치를 표 2에 각각 나타내었다. 활성화 에너지는 1.5~2.4 Kcal / mole의 범위에 있었다. 일반적으로 건조식품의 갈변반응에 대한 활성화 에너지는 20~40 Kcal/mole 정도이나¹⁵⁾ 본 실험에서는 이보다 훨씬 낮은 값을 보였다. 한편 저장온도 45~55°C 사이에서 활성화 에너지로부터 구한 Q_{10} 치는 1.07~1.12의 범위에 있었으며 대체로 수분활성이 증가함에 따라 증가하는 경향이었다.

Shelf-life : 식품의 품질이 떨어져서 상품적 가치를 잃을 때까지 걸리는 시간을 shelf-life(θ_s)라 한다. 식품에 따라 결정적 품질요인이 다르기 때문에 그 각각의 shelf-life는 달라지게 되나, 본 실험에서는 외관상 갈변이 심하게 일어나고 이취가 나서 식품으로서 부적당하다고 판단 될 때의 녹차의 갈변도가 1.02 O.D. / g solid였으므로 녹차의 shelf-life는 갈변도가 이에 도달될 때까지의 시간으로 표시하였다.

각 온도 및 a_w 별 θ_s 는 표 3과 같다. 표에서 보는 바와 같이 수분활성과 저장온도가 증가함에 따라 shelf-life가 짧아지는 경향을 나타내었다. 이를 θ_s 를 온도에 따라 plot하여 그림 6에 나타내었으며 그림으로부터 구한 상온(25°C)에서의 θ_s 를 표 4에 나타내었다. 수분활성 0.33, 0.44, 0.52, 0.65의 경우 각각 shelf-life는 113, 109, 60, 57일이었다.

변온저장

Shelf-life 예측 : 대부분의 식품은 일정한 온도에서 유지되는 경우가 거의 없으며, 가공 저장 유통 중에 품온변동이 일어나 품질저하의 pattern이나 그 속도

Table 3. Shelf-lives for browning development in green tea at various conditions of temperature and a_w 's.

a_w	Temp. (°C)	θ_s^* (days)
0.33	35	99
	45	91
	55	78
	fluc. temp.	86
0.44	35	88
	45	81
	55	61
	fluc. temp.	74
0.52	35	50
	45	38
	55	33
	fluc. temp.	36
0.65	35	48
	45	36
	55	32
	fluc. temp.	33

* θ_s : time to reach 1.02 O.D. / g solid in days.

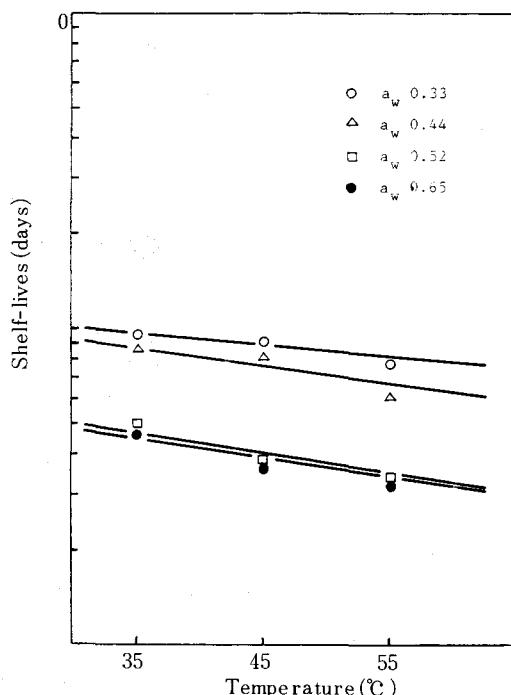


Fig. 6. Shelf-life vs. temperature for browning development.

Table 4. The shelf-lives at 25°C predicted from accelerated shelf-life tests(days).

a_w	θ_s
0.33	113
0.44	109
0.52	60
0.65	57

에 영향을 미치게 된다. 식품의 영양손실에 있어서 주기적인 온도의 영향에 대하여는 Hicks¹⁶⁾, Powers¹⁷⁾ 등에 의하여 연구되었다.

Labuza¹⁸⁾는 영차반응 및 일차반응에 같이 적용시킬 수 있는 식을 제안하였다.

Square wave형 온도변화에 따른 품질열화반응에
서는

$$\frac{\Delta A_{\text{square}}}{\Delta A_{\text{const}}} = \gamma_{\text{square}} = \frac{1}{2} (e^{ba_0} + e^{-ba_0}) \dots\dots (1)$$

ΔA square : Change in quality at fluctuating temp.

4A const : Change in quality at constant temp.

a_s : amplitude of temp

b : slope of rate constant vs temp

상기 b는 Arrhenius plot에서의 직선의 기울기이며, 이는 shelf-life로 부터도 구할 수 있다. a_0 의 값이 작은 경우에는 (1)식을 이용하여도 무방하나 온도변화폭이 큰 경우에는 활성화 에너지로 부터 유도된 Q_{10} 치를 이용하는 것이 바람직하다.¹⁸⁾

따라서 식(1)은 Q_{10} 치를 써서 다음과 같이 표시된다.

$$\gamma_{square} = \frac{1}{2} [Q_{10}^{\frac{a_0}{10} (\frac{Tm+10}{Tm+a_0})} + Q_{10}^{-\frac{a_0}{10} (\frac{Tm+10}{Tm-a_0})}] \dots \dots (2)$$

이런 경우 일정시간 t_1 후의 갈변 반응의 양 B 는

B=t_T후의 갈변색소의 형성

초기의 갈변색소의 형성

K_{T_m} : 중간온도 T_m 에서의 반응속도항수

t_T : 시간

이 경우 변온저장에 있어서 열화반응은 그 온도변화의 중간온도인 T_m 에서의 정온저장시의 반응속도

보다 빨리 진행되며, 이때의 유효온도차 ΔT_{effect} 는

$$b : \frac{\ln Q_{10}}{10}$$

ΔT_{effec} : effective increase in temperature above T_m

그러므로 변온저장을 정온저장으로 가정하였을 때의 예상온도(predicted mean temperature)는

$$T_{predicted} = T_m + \Delta T_{effec}$$

변온조건 T_m 에서의 유효속도항수는

$$K_{\text{predicted}} = K_{\text{Tm}} \cdot \gamma_{\text{square}} \quad \dots \dots \dots \quad (6)$$

로 표시된다.

실측치와 예측치의 비교: 이상의 식들을 이용하여 정온저장시의 자료로부터 구한 변온저장에서의 예측치와 실측치를 비교한 결과를 표 5에 나타내었다. 예상유효온도차는 $0.23\sim 0.36^{\circ}\text{C}$ 의 범위에 있었으며, 실측치는 $3.02\sim 5.87^{\circ}\text{C}$ 로서 실측치와 예측치 사이에는 수분활성에 따라 $2.66\sim 5.64^{\circ}\text{C}$ 의 차이를 보였으며, 각 수분활성에 있어 실측치가 예측치보다 높게 나타났다.

Table 5. Comparison of effective temperature for browning development in green tea subjected to square wave fluctuations.

a_w	Predicted $\Delta T_{effec.}$	Actual $\Delta T_{effec.}$	Predicted $T_{effec.}$	Actual $T_{effec.}$
0.33	0.36	3.02	45.36	48.02
0.44	0.23	5.87	45.23	50.87
0.52	0.23	4.98	45.23	49.98
0.65	0.28	5.16	45.28	50.16

표 6은 범오저장에 있어서의 예상 밤옹속도 합수

Table 6. Comparison of rate constants for browning development in green tea subjected to square wave temperature fluctuations.

a_w	$K_{predicted}$	K_{actual}	Predicted Θ_s	Actual Θ_s
0.33	0.006498	0.006574	87	86
0.44	0.006581	0.008372	78	74
0.52	0.007657	0.007327	42	36
0.65	0.008657	0.009066	37	33

와 그로부터 구한 shelf-life를 실측치와 비교하여 표시하였다. 표에서 알 수 있는 바와 같이 예측치가 실측치보다 1~6일 정도 높게 나타났다.

이상의 결과로부터 변온저장에서의 갈변형성은 예측치와 실측치가 다소 차이가 있다고 하더라도 이방면의 연구가 더 진행된다면 직접 변온저장실험을 행하지 않더라도 정온저장실험에서 얻어진 자료로부터 변온저장에서의 품질요인의 변화를 예측할 수 있다고 믿어진다.

요약

변온조건하에서 녹차를 저장하였을 때 수분활성에 따른 browning development를 반응속도론적으로 고찰한 결과 brownung development는 영차반응으로 증가하였으며, 반응속도는 수분활성이 높을수록, 저장속도가 높을수록 빨랐고, 각 수분활성에서의 활성화 에너지는 $1.5 \sim 2.4 \text{Kcal/mole}$, Q_{10} 치는 $1.07 \sim 1.12$ 였다.

Accelerated shelf-life test로부터 구한 25°C에서의 shelf-life는 57~113일의 범위였으며, 온도와 수분활성이 증가함에 따라 단축되었다. 변온조건에서의 실측치와 예측치를 비교한 결과 유효온도차는 2.66~5.64°C였고, shelf-life는 예측치가 높게 나타났으나 이 방면의 연구가 더욱 진행된다면 변온저장의 결과를 효율적으로 예측할 수 있을 것으로 예상된다.

참 고 문 헌

1. Stagg, G.V., and Millin, D.J. : *J. Sci. Food Agric.* **26**, 1439(1975)
 2. 前田清一 : 녹차의 화학 일본 조리과학, 72-74 (1969)
 3. Akinyaju, P., and Yudkin, J. : Effect of coffee and tea on the serum lipids in the rat. *Nature* **214**, 426(1967)
 4. Zarnadze, D.N. : Biochemical study of the preservation of a tea at a low temperature. *Subtrop. Kul't* **50**, 148(1971)
 5. Nakagawa, M. and Torii H. : Studies in the flavonols of tea. III. Variation in the flavanolic constituents during the development of tea leaves. *Agric. Biol. Chem.* **28**, 497(1964)
 6. Bhatia IS and Ullah, M.R. : Polyphenols of

- tea. IV. Qualitative and quantitative study of the polyphenols of different organs of some cultivated varieties of tea plant. *J. Sci. Food Agric.* **19**, 535(1968)
7. Saijo, R. and Takeo, T. : The important of lnoleic acid and linolenic acid as precursors of hexanol and trans-2-hexenal in black tea. *Plant Cell Physiol.* **13**, 991(1972)
8. Roberts, E.A.H., and Smith, R.E. : The phenolic substances of manufactured tea. IX. The spectro-photometric evaluation of tea liquors. *J. Sci. Food Agric.* **14**, 689(1963)
9. Stagg, G.V. : Chemical changes occurring during the storage of black tea. *J. Sci. Food Agric.* **25**, 1015(1974)
10. Choi, R.P., Koncus, A.F., O'Malley, C.M., and Fairbank, B.W. : A proposed method for the determination of color of dry products of milk. *J. Dairy Sci.* **32**, 580(1949)
11. Saltmarch, M. : The influence of temperature, water activity, and physico-chemical state of lactose on the kinetic of the maillard reaction in spray dried sweet whey powders stored under steady-state and non-steady state storage conditions. Ph.D. thesis, University of Minnesota (1979)
12. Shin, Mi Goung : Studies on the quality of Korean wild green tea(1985)
13. Mizrahi, S., Labuza, T.P., and Karel, M. : Computer aided predictions on extent of browning in dehydrated cabbage. *J. Food Sci.* **35**, 799 (1970)
14. Labuza, T.P. : The properties of water in relationship to water binding in foods. *J. Food Proc. Pres.* **1**, 167(1977)
15. Labuza, T.P. and Saltmarch, M. : The nonenzymatic browning reaction as affected by water in foods in water relation in foods(L. Rockland, Academic press, New York (1980))
16. Hicks, E.W. : Note on the estimation of the effect of diurnal temperature fluctuation on reaction rates in stored foodstuff and other materials. *J. Counc. Sci. Ind. Res.(Australia)* **17**, 111(1944)
17. Powers, J.J., Lukasewica, W., Wheeler, R., and Dorusseter, T.P. : Chemical and microbial activity ratio under square wave sinusoidal temperature fluctuation. *J. Food Sci.* **30**, 520(1965)
18. Labuza, T.P. : A theoretical comparison of loss in food under fluctuating temperature sequences. *J. Food Sci.* **44**, 1162(1979)

(Received July 18, 1988)